

## 더덕의 품질 관리에 관한 연구

유혜현 · 백승훈 · 박연경 · 이승호<sup>1</sup> · 김창민<sup>2</sup> · 이경순<sup>3</sup> · 박만기 · 박정일\*

서울대학교 약학대학, <sup>1</sup>영남대학교 약학대학

<sup>2</sup>강원대학교 약학대학, <sup>3</sup>충북대학교 약학대학

## Quality Control of Dried Roots of *Codonopsis lanceolata*

Hye Hyun Yoo, Seung Hoon Baek, Yun Kyung Park, Seung Ho Lee<sup>1</sup>, Chang Min Kim<sup>2</sup>,  
Kyung Soon Lee<sup>3</sup>, Man Ki Park and Jeong Hill Park\*

College of Pharmacy, Seoul National University,

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Yeungnam University, Kyongsan

<sup>2</sup>College of Pharmacy, Kangwon National University

<sup>3</sup>College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju

**Abstract** – This study is to establish the quality control method of *Codonopsis Radix*, the root of *Codonopsis lanceolata* (S. et Z.) Trautv. 1,2,3,4-Tetrahydro- $\beta$ -carboline-3-carboxylic acid (1) isolated from this plant was adequate as an analytical marker. Content of 1 in *Codonopsis Radix*, determined by HPLC, was  $0.0012 \pm 0.0005\%$  (n=13). Total ash was  $5.0 \pm 2.7\%$ , and loss on drying was  $11.9 \pm 1.3\%$ .

**Key words** – *Codonopsis lanceolata*,  $\beta$ -carboline, 1,2,3,4-tetrahydro- $\beta$ -carboline-3-carboxylic acid, determination

더덕은 도라지과(*Campanulaceae*)에 속하는 *Codonopsis lanceolata*(S. et Z.) Trautv의 뿌리로, 굵게 비대하고 긴 방추형이며 섬유질이 많고 가로로 주름이 많이 잡혔으며 울퉁불퉁한 흑이 달려 있다.<sup>1)</sup> 예로부터 인삼 등과 함께 오삼의 하나로 불리웠으며, 식품으로도 사용되어 왔다.<sup>2)</sup>

더덕의 성분으로는 N-formylharman,<sup>3)</sup> perlolyne,<sup>3)</sup> norharman,<sup>3)</sup> cycloartenol<sup>4)</sup> 등이 보고되어 있으며, 한방에서는 소종, 해독, 배농, 거담, 하유즙의 효능이 있고 폐옹, 유선염, 나력, 유즙부족, 백대하를 치료하는 것으로 알려져 있다.<sup>5)</sup>

이처럼 식품 또는 민간약으로 널리 사용되고 있는 더덕의 약효와 성분에 관한 연구자료가 보고되어 있으나 의약품으로서의 품질관리 기준에 관한 연구는 아직 확립되어 있지 않다. 따라서 더덕의 품질관리 기준을 설정할 필요가 있다.

이에 본 실험에서는 생약 규격화 연구의 일환으로 더덕의 품질관리를 위한 지표성분을 설정하고 실제 더덕 중의 함량을 분석하여 더덕의 품질관리 기준을 설정하고자 하였다.

## 재료 및 방법

**실험재료** – 본 실험에서는 2001년 4월에 우리나라 여러 지역에서 시판되고 있는 더덕 13종을 구입하여 감별한 후 건조하여 사용하였다.

**시약 및 기구** – HPLC용 용매는 덕산 케미컬사 제품을, NMR용 용매는 Aldrich사 제품을, 그 외 분리, 분석용 시약은 모두 특급시약을 사용하였다. 크로마토그래피에는 Diaion<sup>®</sup> HP-20(Supelco Inc. USA), Kieselgel(230-400 mesh ASTM, Merck Art. 9385), Kieselgel 60 F254(Merck Art. 5715)를 사용하였다. 기기로는 NMR(Jeol, JNM-GSX 500, 500 MHz), Mass(Jeol, JMS-AX 505 WA), HPLC system(Hitachi, Pump L-7000, Autosampler L-7200, Diode Array Detector L-7450 A, Japan)을 사용하였다.

**회분시험** – 대한약전의 회분시험법에 따라 사기제 도가니를 550°C에서 1시간 강열하여 방냉한 다음 그 무게를 정밀하게 달았다. 더덕 시료 약 2g을 앞의 도가니에 넣어 그 무게를 정밀하게 달고 처음에는 약하게 가열하고 천천히 온도를 올려 향량이 될 때까지 550°C에서 강열하였다. 방냉한 후 그 무게를 측정하였다.

\*교신저자(E-mail) : hillpark@snu.ac.kr

**건조감량시험** - 대한약전의 건조감량시험법에 따라 사기 계 도가니를 105°C에서 1시간 건조하여 방냉한 다음 그 무게를 정밀하게 달았다. 더덕 시료 약 2g을 앞의 도가니에 넣어 그 무게를 정밀하게 달고 처음에는 약하게 가열하고 천천히 온도를 올려 향량이 될 때까지 105°C에서 건조하였다. 방냉한 후 그 무게를 측정하였다.

### 지표성분의 분리

**추출 및 전처리** - 더덕 3.3kg에 MeOH을 가하고 3시간씩 3회 환류추출한 후 추출액을 감압농축하여 500g의 추출물을 얻었다. 이 추출물을 물에 현탁시킨 후 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>로 3회 추출하여 비극성 성분을 제거하고 수층을 취하였다. HP-20을 충전한 컬럼에 수층을 통과 시키고 물로 용출시킨 다음 MeOH로 용출시켜 MeOH 용출액을 모아 감압상태에서 증발시켜 20g의 추출물을 얻었다. 이 추출물에 대하여 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 실시하였다.

**Compound D의 분리** - 이동상의 조성을 CHCl<sub>3</sub>:MeOH:H<sub>2</sub>O로 하여 단계적 기울기용리(30:10:1→10:5:1→6:4:1)하면서 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 실시하여 총 7개의 분획으로 나누었고, 이 중 3번 분획을 CHCl<sub>3</sub>:MeOH:H<sub>2</sub>O (12:5:1)의 조건으로 다시 실리카겔 컬럼크로마토그래피하여 compound D를 분리하였다.

**Compound D** - White powder, FAB-MS:  $m/z=217$  [M+H]<sup>+</sup>, 원소분석: C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 계산치: C 66.67; H 5.55; N 12.96, 실측치: C 65.87; H 5.55; N 12.80; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz,  $\delta$  ppm): 7.5 (1H, d,  $J=7.6$ ), 7.3 (1H, d,  $J=7.9$ ), 7.1 (1H, t,  $J=6.7$ ), 7.0 (1H, t,  $J=7.2$ ), 4.2 (2H, dd,  $J=15.6, 35.1$ ), 3.6 (1H, q,  $J=5.1$ ); <sup>13</sup>C-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz,  $\delta$  ppm): 23.0, 40.6, 56.9, 106.9, 111.6, 118.3, 119.3, 121.9, 126.5, 127.3, 136.5, 169.7

### 지표성분의 함량분석

**표준액의 조제** - Compound D 0.95 mg을 정확히 달아 MeOH:H<sub>2</sub>O (1:1) 50 mL에 녹였다. 이 액을 100, 200, 400  $\mu$ L를 취하여 시험관에 넣은 후 질소 기류하에서 증발 건조시켰다. 그 잔사에 MeOH:H<sub>2</sub>O (1:1) 용액 1 mL를 가하여 녹인 액을 표준액으로 하였다.

**검액의 조제** - 더덕 1g을 취하여 마개 있는 시험관에 넣은 후 MeOH 5 mL를 가하고 50°C에서 1시간 동안 초음파 추출하였다. 추출액을 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상정액을 검액으로 하였다.

**HPLC 조건** - 표준액 및 검액의 HPLC 조건은 다음과 같다. Column: Mightysil RP-18(5  $\mu$ m, Kanto chemical), Injection volume : 25  $\mu$ L, Eluent: MeOH:H<sub>2</sub>O (5:95→

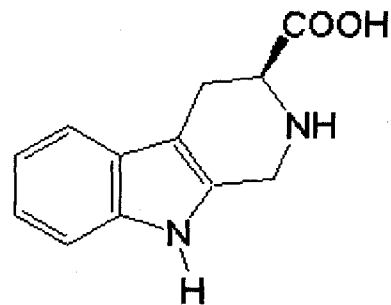
100:0, 60분간 linear gradient), Flow rate: 1 mL/min, Detector: UV detector (254 nm).

**Compound D의 정량** - 위의 표준액을 이용하여 검량선을 작성한 후, 더덕 13종의 각각의 검액에 대해 HPLC를 실시하여 얻은 크로마토그램의 면적으로부터 Compound D를 정량하였다.

### 결과 및 고찰

생약의 품질관리를 위하여는 분석지표성분이 있어야 한다. 분석지표성분은 실험 대상 생약의 특이 성분이면서 함량이 비교적 많고 그 편차가 작으면서 분석이 쉬워야 한다. 본 연구에서는 더덕 성분의 분석방법으로 HPLC를 선정하고 다음 조건을 만족하는 물질을 분석지표성분으로 고려하였다. 첫째, 더덕 시료에서 공통으로 나타나는 물질일 것, 둘째, 비교적 피크강도가 강하여 쉽게 분석할 수 있을 것, 셋째, 더덕과 혼동해서 사용하기 쉬운 사삼에는 없거나 있더라도 함량이 매우 낮아 더덕과 사삼을 구분할 수 있는 물질일 것.

실제 13개의 더덕 시료의 추출물을 HPLC 분석한 결과 이와 같은 세가지 조건을 모두 만족하는 피크를 확인할 수 있었다. 이 성분을 compound D라 명명하고 더덕 추출물을 실리카겔 컬럼크로마토그래피 하여 compound D 약 52 mg 분리하였다. <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, mass 스펙트럼 등을 문헌과 비교한 결과 compound D는 1,2,3,4-tetrahydro- $\beta$ -carboline-3-carboxylic acid (1)로 밝혀졌다(Fig. 1).<sup>6)</sup> 이제까지 여러  $\beta$ -carboline계 알칼로이드 성분들이 더덕으로부터 분리되고 되었으나<sup>3)</sup> 이 화합물은 아직 더덕에서는 보고되지 않은 물질이다. 실제 더덕으로부터  $\beta$ -carboline계 알칼로이드 성분을 보고한 장 등<sup>3)</sup>은 더덕의 추출물을 유기용매와 산, 염기 추출을 통하여 염기성 물질 분획을 얻은 후 성분을 연구하였다. 따라서 같은  $\beta$ -carboline계 화합물이지만 carboxylic acid인 1 화합물은 알칼로이드 분획으로 추출되지 않았기 때문에 분리되지 않았던 것으로 생각된다.



**Fig. 1.** Structure of 1,2,3,4-tetrahydro- $\beta$ -carboline-3-carboxylic acid.

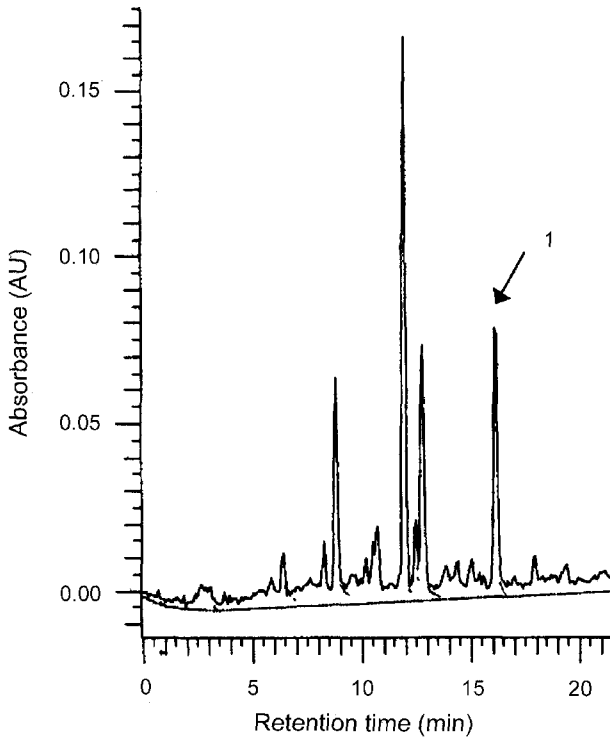


Fig. 2. HPLC chromatogram of *Codonopsis lanceolata* (1: 1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline-3-carboxylic acid).

Table I. Analytical results of *Codonopsis lanceolata*

Sample No.	Loss on drying(%)	Total ash (%)	Contents <sup>a)</sup> (%)
1	14.13	4.40	0.0013
2	12.63	4.83	0.0010
3	11.40	5.22	0.0019
4	11.11	4.29	0.0011
5	12.62	2.60	0.0007
6	11.77	2.56	0.0009
7	12.62	13.39	0.0011
8	11.90	4.03	0.0016
9	12.87	4.61	0.0016
10	12.45	6.08	0.0007
11	10.33	3.40	0.0007
12	9.17	4.98	0.0021
13	11.28	4.10	0.0014
mean	11.87	4.96	0.0012
S.D.	1.3	2.7	0.0005

<sup>a)</sup>Contents of 1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline-3-carboxylic acid

더덕 검액의 HPLC 크로마토그램은 Fig. 2와 같고, 1의 피크는 16.1분에 나타났는데 사삼에서는 일부 매우 작게 이 피크가 나타나는 시료도 있었으나 대부분의 경우 이 피크가 검출되지 않았다. 표준액의 농도와 피크 면적을 이용하

여 검량선을 작성한 결과 농도 1.9~7.9 μg/mL에서 좋은 직선성을 보였다( $R^2=0.999$ ). 표준액의 검량선으로부터 각 시료 중 1의 함량을 구한 결과는 Table I과 같고, 13개 더덕 중의 함량은  $0.0012 \pm 0.0005\%$ 였다.

13종의 더덕 시료에 대해 대한약전의 회분시험법과 건조감량시험법에 따라 시험한 결과, 회분함량과 건조감량은 각각  $5.0 \pm 2.7\%$ ,  $11.9 \pm 1.3\%$  였다(Table I).

### 결론

더덕의 품질 관리를 위한 기준을 확립코자 우리 나라에서 유통되고 있는 13종의 더덕을 수집하여 대한약전 일반시험법 중 생약시험법에 따라 건조감량과 회분 함량을 측정하였고, 더덕의 지표성분을 설정하고 이를 정량할 수 있는 분석법을 연구하여 더덕의 품질 관리 기준을 설정하고자 하였다. 13종의 시료를 분석한 결과 건조감량은  $11.9 \pm 1.3\%$ , 회분 함량은  $5.0 \pm 2.7\%$ 로 나타났다. 더덕의 건조감량 기준은 13.0% 이하로, 회분함량 기준은 8.0% 이하로 설정하는 것이 타당할 것으로 생각된다.

더덕 성분 중 1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline-3-carboxylic acid(1)는 더덕의 특이성분이며 HPLC로 분리가 잘 되고 강한 자외부 흡광이 있기 때문에 더덕 1g 정도의 소량의 시료로도 HPLC를 이용한 분석이 가능하였다. 특히 1은 더덕과 같이 혼용되기 쉬운 사삼에서는 잘 나타나지 않았으므로 더덕의 품질관리 지표성분으로 적합한 것으로 생각된다. 실제로 13종의 더덕 시료를 분석한 결과, 더덕 시료 중의 1의 함량은  $0.0012 \pm 0.0005\%$ ( $n=13$ )이었다. 따라서 더덕 중의 1의 함량 기준은 0.0005% 이상이 적합할 것으로 사료된다.

### 인용문헌

1. 김종현, 정명현(1975) 더덕의 생약학적 연구. 생약학회지 6: 43-47.
2. 김수철, 안상득, 이상래(1994) 원색백두산자원식물, 632. 아카데미서적, 서울.
3. 장영경, 김상열, 한병훈(1986) 더덕의 알칼로이드 성분에 관한 연구. 약학회지 30: 1-7.
4. Chung, B.S., Lah, D.S. (1977) Studies on the terpenoid component of the roots of *Codonopsis lanceolata* Benth et Hook. *Kor. J. Pharmacog.* 8: 49.
5. 배기환(2000) 한국의 약용식물, 482. 교학사, 서울.
6. Takuo, O., Takashi, Y., Noriko, S. and Junko, N. (1975) 1-3-Carboxy-1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline, a new amino acid from seeds of *Aleurites fordii*. *Phytochemistry* 14: 2304-2305.

(2002년 3월 29일 접수)