

## 오갈피나무의 부위별 Eleutheroside B와 Eleutheroside E의 정량

이상현 · 강삼식<sup>1</sup> · 조선행<sup>2</sup> · 류수노<sup>3</sup> · 이범종\*

인제대학교 바이오헬스소재연구센터, <sup>1</sup>서울대학교 천연물과학연구소

<sup>2</sup>공주교육대학교, <sup>3</sup>한국방송대학교 농학과

### Determination of Eleutherosides B and E in Various Parts of *Acanthopanax* Species

Sanghyun Lee, Sam Sik Kang<sup>1</sup>, Seon Haeng Cho<sup>2</sup>, Su-Noh Ryu<sup>3</sup>, and Burm-Jong Lee\*

Biohealth Products Research Center, Inje University, Gimhae 621-749, Korea

<sup>1</sup>Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea,

<sup>2</sup>Gongju National University of Education, Gongju 314-711, Korea

<sup>3</sup>Dept. of Agricultural Science, Korea National Open University, Seoul 110-791, Korea

**Abstract** – High performance liquid chromatography (HPLC) was used for the determination of eleutherosides B and E in various parts of *Acanthopanax* species. Eleutheroside B was detected in the stem (1.45 mg/g) and the root (0.59 mg/g) of *A. senticosus* and the stem (0.31 mg/g) of *A. senticosus* grafted on *A. sessiliflorus*. But there is no detection of eleutheroside B in *A. sessiliflorus* and the root of *A. senticosus* grafted on *A. sessiliflorus*. Eleutheroside E was detected in the stem (0.92, 0.97 and 0.30 mg/g, respectively) and the root (0.65, 0.94, 0.34 mg/g, respectively) of *A. senticosus*, *A. sessiliflorus* and *A. senticosus* grafted on *A. sessiliflorus*.

**Key words** – *Acanthopanax senticosus*, *A. sessiliflorus*, *A. senticosus* grafted on *A. sessiliflorus*, Araliaceae, eleutheroside B, eleutheroside E, HPLC

가시오갈피나무(*Acanthopanax senticosus*)는 두릅나무과(Araliaceae)에 속하는 오가피속(*Acanthopanax*) 식물로 낙엽 활엽 관목이다. 대부분의 오가피속 식물은 고산 지대나 아한대 지방에 분포하는 저온성 식물로서 예로부터 중국과 우리나라에서는 오가피속 식물의 근피(根皮)와 수피(樹皮)를 오가피(五加皮)라고 하여 한약재로 사용되어 왔다.<sup>1)</sup> 신농본초경(神農本草經), 본초강목(本草綱目), 동의보감(東醫寶鑑) 등에서는 강장(強壯), 강정(強精), 중풍(中風), 신경통(神經痛), 당뇨(糖尿) 등에 이용된다고 하였다.

Lignan계 성분인 eleutheroside B와 eleutheroside E는 오가피속 식물의 주요 성분이다. Lignan계 성분의 분석관련 연구로 가시오갈피나무에서 eleutheroside B와 eleutheroside E 함량은 뿌리보다는 줄기에서 높다고 보고되었으며, 오갈피나무 속을 크게 두 그룹으로 분류하였는데 하나는 eleutheroside B가 거의 없는 그룹과 eleutheroside B와 eleutheroside E가

다 포함된 그룹으로 나누었다.<sup>2)</sup> 그리고 가시오갈피나무 성분 중 eleutheroside B와 eleutheroside E의 분석에 질량 분석기의 응용을 위해 ESI와 APCI에 의한 MS의 검출능을 비교 분석한 결과 ESI에 의한 검출능이 월등히 높음을 확인하였다.<sup>3)</sup> 오갈피나무에서  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub> column과 MeCN:H<sub>2</sub>O(1:1) 용매를 사용하여 eleutheroside E를 분석하였다.<sup>4)</sup> 그 외 여러 방법으로 오갈피나무에서 lignan계 성분 등을 정량 하였다.<sup>5-8)</sup> 그러나 오갈피나무의 주요 성분인 eleutheroside B와 eleutheroside E의 부위별 함량을 비교 분석한 연구 결과는 없는 것으로 사료된다.

본 연구는 양질의 가시오갈피나무 원료를 안정적으로 공급할 수 있는 재배체계 확립의 기초자료로 활용하고자 가시오갈피나무의 주요 성분인 eleutheroside B와 eleutheroside E를 각 오갈피나무의 부위별로 HPLC 분석하여 비교한 결과를 보고하고자 한다.

\*교신저자(E-mail) : chembj@inje.ac.kr  
(FAX) : 055-331-0422

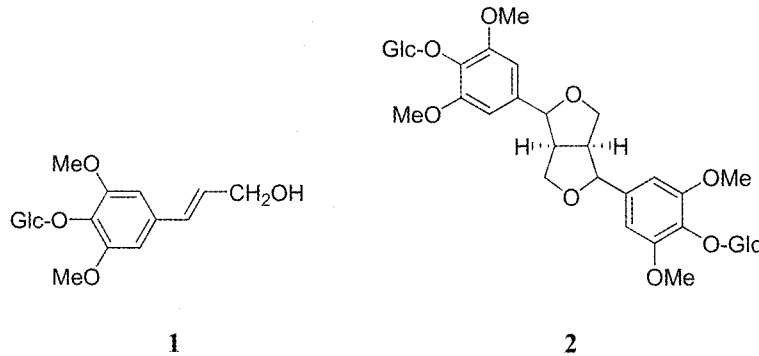


Fig. 1. Structures of eleutherosides B (1) and E (2).

재료 및 방법

**실험재료** - 본 연구에 사용한 가시오갈피나무(*Acanthopanax senticosus*), 무경오갈피나무(*A. sessiliflorus*) 및 접목재배 가시오갈피나무(*A. senticosus* grafted on *A. sessiliflorus*)의 재료는 충남 공주에서 재배한 3년생을 2003년 10월 하순에 채취하여 사용하였다. 그리고 eleutheroside B(1)와 eleutheroside E (2)는 가시오갈피나무의 줄기를 methanol로 추출하고, 분획한 후 *n*-butanol층을 open column chromatography(용출용매 chloroform:methanol)를 실시하여 분리 정제한 후 FAB-MS, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR 등을 이용하여 구조를 동정하였다. 그 각각의 구조는 Fig. 1에 나타내었다.

**Eleutheroside B (1)** - FAB-MS: *m/z* 373 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 6.73 (2H, s, H-2,6), 6.46 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-7), 6.33 (1H, dt, *J* = 15.9, 5.1 Hz, H-8), 4.84 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, glucosyl H-1), 4.11 (1H, dd, *J* = 5.1, 1.4 Hz, H-9a), 4.09 (1H, dd, *J* = 5.1, 1.4 Hz, H-9b), 3.77 (6H, s, 2×OMe); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 152.7 (C-3,5), 133.0 (C-4), 131.0 (C-7), 129.0 (C-8), 128.1 (C-1), 104.5 (C-2,6), 103.1 (Glc C-1), 77.4 (Glc C-5), 76.5 (Glc C-3), 74.9 (Glc C-2), 71.0 (Glc C-4), 62.0 (C-9), 60.5 (Glc C-6), 56.3 (OMe).

**Eleutheroside E (2)** - FAB-MS: *m/z* 743 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 6.67 (4H, s, H-2',6'), 4.88 (2H, d, *J* = 7.3 Hz, glucosyl H-1), 4.67 (2H, d, *J* = 3.6 Hz, H-2), 4.28 (2H, dd, *J* = 8.5, 6.6 Hz, H-4<sub>eq</sub>), 4.20 (2H, dd, *J* = 8.5, 3.0 Hz, H-4<sub>ax</sub>), 3.76 (12H, s, 4×OMe), 3.19 (2H, m, H-1); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 153.2 (C-3',5'), 138.1 (C-4'), 134.1 (C-1'), 104.6 (C-2',6'), 103.3 (Glc C-1), 85.7 (C-2), 77.5 (Glc C-5), 76.7 (Glc C-3), 74.5 (Glc C-2), 72.1 (C-4), 70.2 (Glc C-4), 61.2 (Glc C-6), 57.0 (OMe), 54.2 (C-1).

**추출** - 10 g의 각 가시오갈피나무, 무경오갈피나무 및 접목재배 가시오갈피나무의 줄기 및 뿌리 재료를 마쇄하여,

50% MeOH로 4시간씩 5회동안 환류 추출한 후, 여과하여 농축하였다. 건조된 추출물은 50% MeOH에 녹인 후 0.45 μm filter로 여과하였다.

**표준액의 조제** - 가시오갈피나무 줄기에서 분리한 eleutheroside B와 eleutheroside E를 50% MeOH로 희석하여 검량선용 표준용액으로 하였다.

**HPLC 분석 방법** - 사용기기는 Spectra Physics(SP-8800) HPLC이었다. 분석방법으로는 μ-Bondapak C<sub>18</sub> reverse-phase column(4.6 × 220 mm) column을 사용하였고, 용매조건은 MeCN:H<sub>2</sub>O(+0.05%-TFA)로 30분 후 50 : 50으로 하는 농도구배(gradient)로 하였다. Flow rate은 1 ml/min하였고, UV detector로 Spectra 100으로 파장 210 nm에서 측정하였다. Injection양은 10 μl로 하였고 3회에 걸쳐 실험하였다.

결과 및 고찰

가시오갈피나무(*A. senticosus*)의 주요 성분인 지표물질을 가시오갈피나무 줄기로부터 순수 분리하고 각종 spectrum을 비교 분석하여 eleutheroside B와 eleutheroside E로 각각 동정하였다.<sup>9)</sup> Eleutheroside B와 eleutheroside E를 methanol에 용해 시킨 후 μ-Bondapak C<sub>18</sub> reverse-phase column에 주입하고, 분리능이 양호한 용매계로 MeCN:H<sub>2</sub>O 농도구배 혼합용매를 사용하여 HPLC한 결과 eleutheroside B와 eleutheroside E의 t<sub>R</sub>은 각각 7.79 min과 11.77 min이었다 (Fig. 2). 대상물질의 calibration curve에서 eleutheroside B

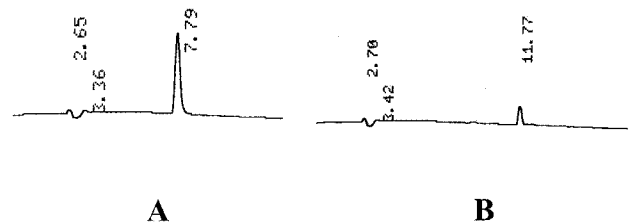


Fig. 2. HPLC chromatograms of eleutherosides B (A) and E (B) as standards.

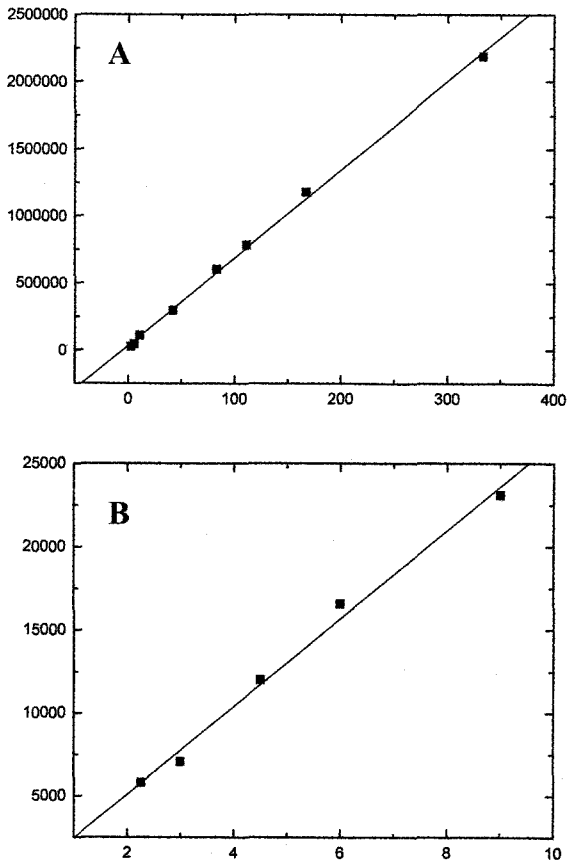


Fig. 3. Calibration curve for eleutherosides B (A) and E (B)-(X axis: µg/ml; Y axis: Area).

와 eleutheroside E의 회귀방정식은 각각  $Y = 6560.2X + 35675.9$ 와  $Y = 2642.8X - 154.1$ 였고,  $r^2$ 은 각각 0.9992와 0.9959으로 직선성이 인정 되었다(Fig. 3).

실험부의 HPLC조건에 따라 가시오갈피나무, 무경오갈피나무 및 접목재배 가시오갈피나무의 각 부위를 methanol로 추출하여 추출물을 HPLC 분석하였다. 그 중 각 오갈피나무의 일년생 줄기의 HPLC chromatogram을 Fig. 4에 나타내었다. 그리고 표준 물질인 eleutheroside B와 eleutheroside E로 spike test를 실시하여 각각의 peak를 확인하여 Fig. 5에 나타내었다.

가시오갈피나무, 무경오갈피나무 및 접목재배 가시오갈피나무의 줄기(일년생 및 이년생 줄기)의 methanol 추출물 분석에서 eleutheroside B와 eleutheroside E는 가시오갈피나무 및 접목재배 가시오갈피나무에서는 둘 다 확인이 되었고, 무경오갈피나무의 경우는 eleutheroside E만 확인되었다. 가시오갈피나무, 무경오갈피나무 및 접목재배 가시오갈피나무의 뿌리(主根 및 細根)의 경우에는 가시오갈피나무에서는 eleutheroside B와 eleutheroside E 둘 다 확인된 반면에, 무경오갈피나무 및 접목재배 가시오갈피나무의 경우에는 eleutheroside B는 확인되지 않고 eleutheroside E만 확인되었다. 각 오갈피나무의 eleutheroside B 및 eleutheroside E의 함량은 Table I에 나타내었다.

그 동안 우리나라에서 가시오갈피나무는 생육이 느려 다량의 유효성분을 단기간에 확보하는데 어려움이 많아 대부분 수입에 의존해 오고 있다. Table I에서 나타난 바와 같이

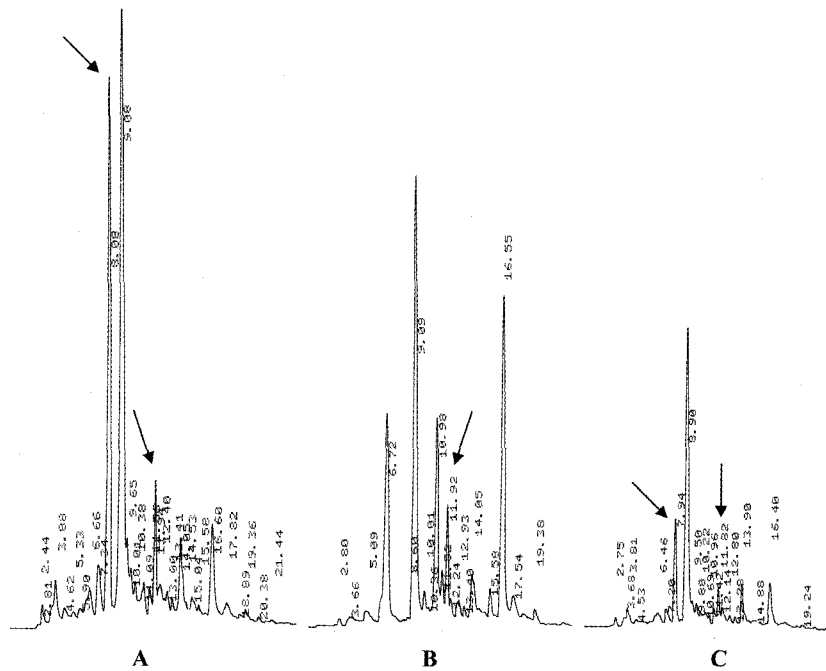
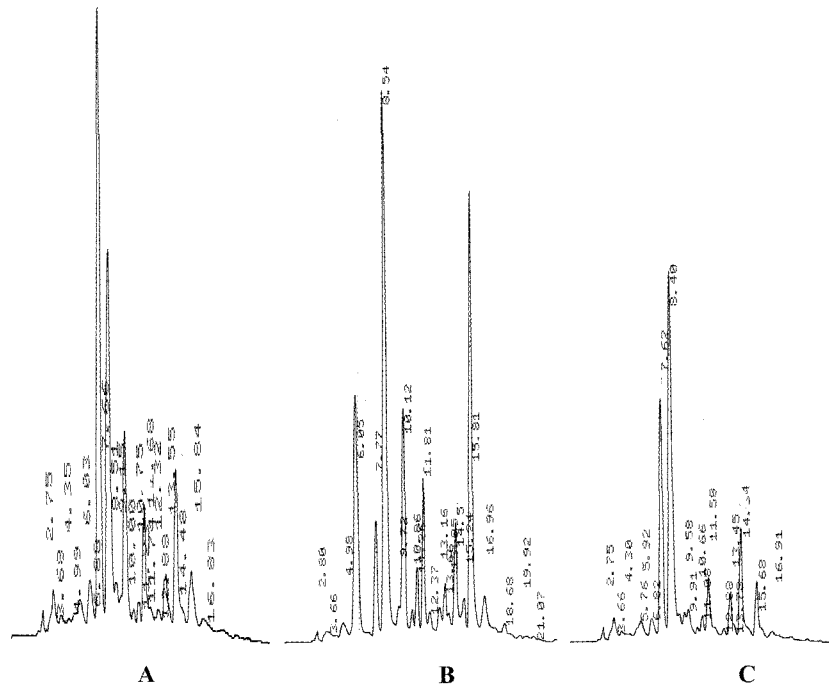


Fig. 4. HPLC chromatograms of the MeOH extracts from the one year-grown stem of *A. senticosus* (A), *A. sessiliflorus* (B) and *A. senticosus* grafted on *A. sessiliflorus* (C).



**Fig. 5.** HPLC chromatograms of the MeOH extracts from the one year-grown stem of *A. senticosus* (A), *A. sessiliflorus* (B) and *A. senticosus* grafted on *A. sessiliflorus* (C) spiked with the standards-eleutherosides B and E.

**Table I.** Contents of eleutherosides B (1) and E (2) in various parts of *A. senticosus* (A), *A. sessiliflorus* (B) and *A. senticosus* grafted on *A. sessiliflorus* (C)

Samples	Contents (mg/g)	
	1	2
<b>A</b>		
One year-grown stem	1.86 ± 0.05	0.95 ± 0.03
Two years-grown stem	1.04 ± 0.01	0.86 ± 0.11
Main root	0.67 ± 0.06	0.82 ± 0.24
Branch root	0.50 ± 0.03	0.48 ± 0.04
<b>B</b>		
One year-grown stem	-	0.87 ± 0.16
Two years-grown stem	-	1.06 ± 0.05
Main root	-	1.56 ± 0.04
Branch root	-	0.31 ± 0.01
<b>C</b>		
One year-grown stem	0.36 ± 0.01	0.36 ± 0.03
Two years-grown stem	0.25 ± 0.02	0.24 ± 0.16
Main root	-	0.63 ± 0.22
Branch root	-	0.05 ± 0.04

All experiments were triplicates.  
not determined

eleutheroside B 및 eleutheroside E의 함량이 가시오갈피나무보다 접목재배 가시오갈피나무에서 전체적으로 줄어들을 확인할 수 있었다. 그러나, 생장이 왕성한 무경오갈피나무

에 가시오갈피나무를 접목함으로써 가시오갈피나무의 유효 성분인 eleutheroside B와 eleutheroside E를 접목재배 가시오갈피나무의 일년생 및 이년생 줄기를 통하여 대량 확보할 수 있는 재배체계를 마련하는 계기가 될 것으로 사료되며, 가시오갈피나무의 수입 대체효과가 있을 것으로 전망된다.

### 결론

본 연구는 가시오갈피나무, 무경오갈피나무 및 접목가시오갈피나무의 methanol 추출물 중의 eleutheroside B와 eleutheroside E 함량을 확인한 결과 줄기의 경우에 eleutheroside B와 eleutheroside E는 가시오갈피나무 및 접목재배 가시오갈피나무에서는 둘 다 확인이 되었고, 무경오갈피나무의 경우는 eleutheroside E만 확인되었다. 그리고 뿌리의 경우에는 가시오갈피나무에서는 eleutheroside B와 eleutheroside E 둘 다 확인 된 반면에, 무경오갈피나무 및 접목재배 가시오갈피나무의 경우는 eleutheroside B는 확인되지 않고 eleutheroside E만 확인되었다.

### 감사의 글

본 연구는 산업자원부의 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

1. Yook, C. S., Lee, D. H., and Seo, Y. K. (1976) A new forma of *Acanthopanax* species (I). *Kor. J. Pharmacogn.* **7**: 179-190.
2. Kang, J. S., Linh, P. T., Cai, X. F., Kim, H. S., Lee, J. J., and Kim, Y. H. (2001) Quantitative determination of eleutheroside B and E from *Acanthopanax* species by high performance liquid chromatography. *Arch. Pharm. Res.* **24**: 407-411.
3. Choi, Y. H. and Kim, J. (2002) Quantitative analysis of eleutherosides B and E using HPLC-ESI/MS. *Kor. J. Pharmacogn.* **33**: 88-91.
4. Wagner, H., Heur, Y. H., Obermeier, A., Tittel, G., and Blatt, S. (1982) Die DC- und HPLC-Analyse der *Eleutherococcus* Droge. *Planta Med.* **44**: 193-198.
5. Ahn, J. K., Lee, W. Y., Oh, S. J., Park, Y. H., Hur, S. D., and Choi, M. S. (2000) The contents of chlorogenic acid and eleutheroside E in *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms. *J. Kor. For. Soc.* **89**: 216-222.
6. Kim, Y.-J., Park, M.-S., Park, H.-K., Kim, S., and Sung, C. K. (1996) Eleutheroside E content in *Eleutherococcus* spp. *Kor. J. Med. Crop Sci.* **4**: 333-339.
7. Slacanin, I., Maston, A., Hostettmann, K., Geudon, D., and Abbe, P. (1991) The isolation of *Eleutherococcus senticosus* constituents by centrifugal partition chromatography and their quantitative determination by high performance liquid chromatography. *Phytochem. Anal.* **2**: 137-142.
8. Yat, P. N., Arnason, J. T., and Awang, D. V. C. (1998) An improved extraction procedure for the rapid, quantitative high-performance liquid chromatographic estimation of the main eleutheroside (B and E) in *Eleutherococcus senticosus* (Eleuthero). *Phytochem. Anal.* **9**: 291-295.
9. Ryu, J., Son, D., Kang, J., Lee, S. Y., Kim, H.-S., Shin, K. H., and Lee, S. (2003) Phytochemical constituents of *Acanthopanax senticosus* (Rupr. & Maxim.) Harms stem. *Kor. J. Med. Crop Sci.* **11**: 306-310.

(2005년 2월 4일 접수)