

복령의 품질표준화를 위한 지표성분 탐색 및 정량법 개발

황 람 · 권순호 · 김경아¹ · 허종문 · 강영화 · 송경식*

경북대학교 농업생명과학대학 응용생명과학부, ¹천연섬유학과

Chemical Standardization of *Poria cocos*

Lam Hoang, Soon-Ho Kwon, Kyung-Ah Kim¹, Jong-Moon Hur,
Young-Hwa Kang, and Kyung-Sik Song*

School of Applied Biosciences, and ¹Department of Natural Fiber, College of Agriculture and Life Sciences,
Kyungpook National University, Deagu 702-701, Korea

Abstract – For the purpose of the quality control of *Poria cocos*, three major compounds were isolated and identified as pachymic acid (**1**), 3 β -hydroxylanosta-7,9(11),24-trien-21-oic acid (**2**), and dehydroeburicoic acid (**3**). The optimal extraction conditions for the quantification of pachymic acid and its analogues were the 3 hours of reflux with 15 g of *P. cocos* in 100 ml 95% ethanol. HPLC conditions were as follows: Column; ZORBAX Eclipse XDB C18 (4.6 \times 250 mm, Agilent), mobile phase; 1% HOAc in 70% MeOH \rightarrow 1% HOAc in 100% MeOH for 25 min, then 1% HOAc in 100% MeOH for 15 min, detector; ELSD, flow rate; 1 ml/min. The mean contents of **1**, **2**, and **3** in *Poria cocos* cultivated at 18 different site were 0.65 \pm 0.19, 0.88 \pm 0.72, and 0.84 \pm 0.54 mg/g, respectively, and these values might be the guide line for the quality control of *P. cocos*.

Key words – *Poria cocos*, pachymic acid, 3 β -hydroxylanosta-7,9(11),24-trien-21-oic acid, dehydroeburicoic acid, standardization, quantification

구멍쟁이버섯과 (Polyporaceae)에 속하는 진균인 복령 (*Poria cocos* Wolf)은 소나무류 뿌리 주위에 기생하는 균핵으로 담백색을 백복령, 갈색을 적복령, 송근을 포함하고 있는 것을 복신이라 한다.^{1,2)} 복령은 예로부터 전통의학에서 진정, 이뇨, 강장 등의 목적으로 십전대보탕, 오적산, 오령산, 소풍산 등의 많은 처방에 빈용되고 있는 한약재로^{3,4)} 현재는 항암활성,⁵⁾ 항염증활성⁶⁾ 등이 보고되어 있는 약전 등재 중요 생약이다. 주요성분은 pachymic acid로 대표되는 lanostane type의 triterpene계 화합물이며 그 동족체인 tumulosic acid, eburicoic acid, dehydropachymic acid, poricoic acid 등이 알려져 있다.⁷⁻¹¹⁾ 또한 국내의 한약재 생산 현황 (한국제약협회자료, 2003)을 볼 때, 연간 생산량 803,126 kg으로 녹용과 감초를 제외하고는 1위를 차지하고 있으며 (2002년 기준), 생산금액으로는 연간 1,583,998천원으로 녹용, 녹각, 감초, 반하, 숙지황에 이어 5위를 기록하고 있고 수입물량으로 볼 때도 수량으로서는 감초에 이어

2위, 금액으로서는 녹용, 우황, 녹각, 감초, 생녹용, 사인에 이어 7위를 기록할 정도로 활발하게 유통되고 있다 (한국의약품수출입협회통계, 2003).

현재 당귀, 택사 등의 빈용 한약재를 대상으로 품질의 규격화와 약재의 진위여부를 판단할 수 있는 지표성분에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으나 한약재 생산량 5위 이내의 생약 중 녹용과 녹각에 대하여는 그 특성상 활성화 화합물로서의 지표물질을 선정하기 어려운 측면이 있으며, 식물성 생약인 숙지황에 대해서는 이미 약전에 지표성분의 분석법이 수록되어 있고, 반하의 경우는 그 약효성분 (진토작용)의 대부분이 cerebroside 등¹²⁾ lipid의 혼합물로 되어 있어 대표적인 지표물질을 선정하기 곤란한 측면이 있다. 복령의 경우, 이 생약에서만 비교적 특이적으로 발견되는 lanostane type의 triterpene 화합물인 pachymic acid 및 이의 동족체가 활성의 주체인 것으로 알려져 있으므로 활성 성분의 지표성분으로 이용 가능할 것으로 판단된다.^{5,13)}

한편, TLC, 또는 HPLC를 이용한 pachymic acid 등의 정량법은 10여년 전 개발되었으나 200 nm의 낮은 UV 파장을

*교신저자(E-mail) : kssong@knu.ac.kr
(FAX) : 053-956-5715

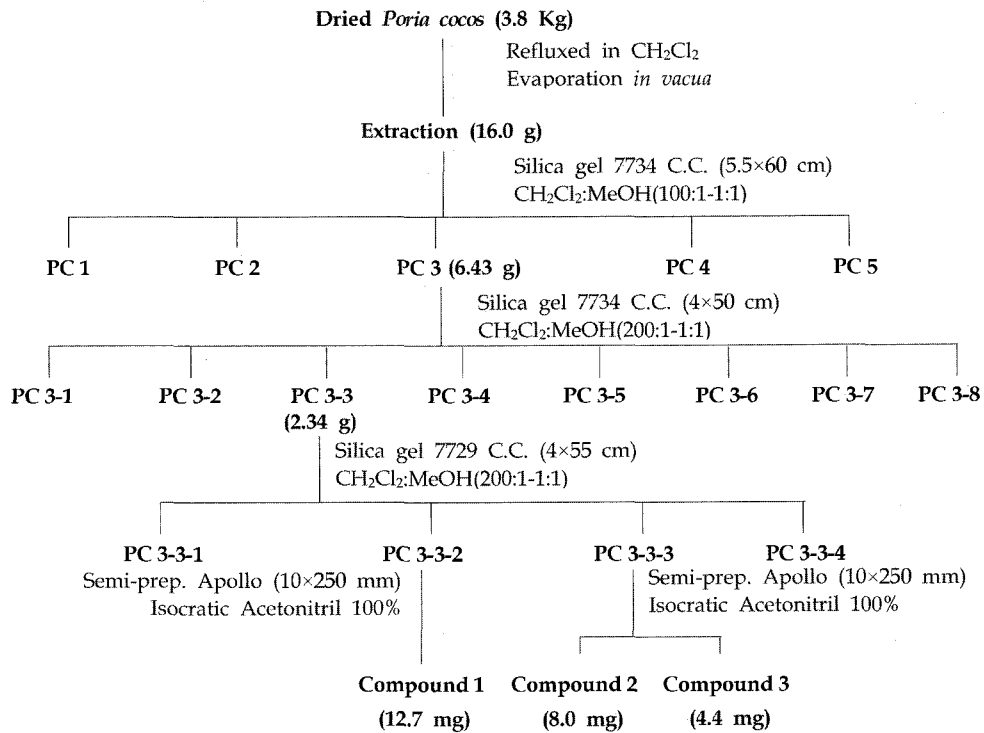
이용하여 안정된 base line을 얻기 어려우며, 인산 등의 buffer를 사용해야 하는 점 등의 단점이 있다.¹⁴⁾ 따라서 이와 같은 배경에서 생각할 때, 복령의 품질 표준화를 위한 기초자료를 시급히 구축할 필요가 있을 것으로 생각되어, 본 연구에서는 복령의 지표물질 분리, 지표물질의 정량법 개발 및 국내의 18종의 복령 중 지표물질의 함량을 조사하여 대한 약전의 기준 및 시험방법에 반영할 수 있는 품질 표준화 방안을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약 - 실험에 사용된 국내의 18종의 복령은 대구, 금산, 제천, 서울, 안동 등의 한약재상에서 구입하여 사용하였으며 본 연구실에서 외형 등 외관에 의하여 확인하였고, 표본은 경북대학교 천연물화학실에 보관하고 있다. ¹H- 및 ¹³C-NMR은 Bruker Avance Digital 400 Spectrometer(Karlsruhe, Germany)로 400과 100 MHz에서 각각 측정하였다. Chemical shift는 TMS를 표준물질로 하여 δ (ppm)로 나타내었다. HPLC는 Jasco사의 PU2080 pump, AS2055 autosampler, MD2010의 PDA (photodiode array) 와 Alltech 2000 ELSD (evaporative light scattering detector)로 구성하였다. TLC는 precoated silica gel plate(Kieselgel 60F₂₅₄, Merck, NJ, USA)을 이용하였으며, silica gel column

chromatography는 Kieselgel 60 (Art. 7734, 70-230 mesh, Merck, NJ, USA)을 사용하였다.

복령 중 지표물질의 추출, 분리 - 복령을 건조하여 잘게 부순 3.8 kg에 대하여 7 L의 dichloromethane으로 3회 환류 추출한 다음 여지를 이용하여 고형물을 제거하고 여액을 감압농축하여 추출물 16.0 g을 얻었다. 추출물 16.0 g에 대하여 silica gel column chromatography (Merck Art. 7734, 5.5 × 60 cm, CH₂Cl₂-MeOH = 100 : 1~0 : 100)하여 PC 1부터 5까지의 5개의 분획을 얻었고, 영남대학교에서 제공받은 pachymic acid 함유분획 중의 major spot과 일치하는 화합물을 함유하는 PC 3 (6.43 g)에 대하여 2차 silica gel chromatography (Merck Art. 7734, 4 × 50 cm, CH₂Cl₂-MeOH = 100 : 1~1 : 1)하여 PC 3-1~3-8의 8개의 분획을 얻었다. 이들을 TLC와 HPLC로 확인하여 그들 중 pachymic acid로 생각되어지는 peak가 나타난 PC 3-3 (2.34 g)에 대하여 3차 silica gel chromatography (Merck Art. 7729, 4 × 55 cm, CH₂Cl₂-MeOH = 200 : 1~1 : 1)를 실시하여 PC 3-3-1~3-3-4의 4개의 분획을 얻었고, PC 3-3-2 200.0 mg에 대하여 semi-prep. HPLC (Alltech, Apollo 10 × 250 mm, 100% MeCN)를 이용하여 compound 1 (12.7 mg)을 얻었다. PC 3-3-3 580.0 mg에 대하여는 PC 3-3-2와 동일한 방법으로 HPLC를 행하여 compound 2 (8.0 mg) 및 3 (4.4 mg)의 두 가지 화합물을 분리하였다 (Scheme).



Scheme. Isolation procedure of pachymic acid and its analogues from the dichloromethane extract of *Poria cocos*. C.C; column chromatography.

HPLC에 의한 지표물질의 정량

1. 검액의 조제

국내산 복령 15종, 중국산 2종, 북한산 1종을 세절하여 각각 15 g을 EtOH 100 ml로 3시간 환류냉각 추출한 후 여과하여 1 ml를 취하여 검액으로 사용하였다.

2. 분석용 칼럼의 선정

분리된 지표성분을 Symmetry C18 (4.6 × 150 cm, Waters), Chromolith Performance C18e (4.6 × 100 cm, Merck) 및 ZORBAX Eclipse XDB C18 (4.6 × 250 mm, Agilent) 이상 3종의 HPLC column을 이용하여 분리능을 비교분석하였다.

3. 정량곡선의 작성

정제된 3종의 지표성분을 ELSD에서의 peak 면적 (Y) 과 화합물의 양 (X)과의 상관관계를 이용하여 정량곡선을 작성하였다. 정량식의 경우, compound 1은 $Y=460684X(\mu\text{g})-146223$ ($r^2=0.995$), compound 2는 $Y=386465X(\mu\text{g})-23583$ ($r^2=0.995$)였으며, compound 3은 $Y=51359X(\mu\text{g})-165299$ ($r^2=0.996$)으로 매우 양호한 직선상의 상관관계를 나타내었다. 이때의 HPLC 조건은 다음과 같다. Column: ZORBAX Eclipse XDB C18 (4.6 × 250 mm, Agilent), Mobile phase : 1% HOAc in 70% MeOH → 1% HOAc in 100% MeOH for 25 min, 1% HOAc in 100% MeOH for 15 min, Detector: ELSD, flow rate 1 ml/min.

4. 지표성분의 정량

검체중의 지표성분의 함량은 조제한 검액 1 ml중 10 μl를 취하여 HPLC 분석을 3회씩 행하여 면적 평균값을 구하고 회귀직선 방정식을 이용하여 3종 화합물의 함량을 구하였다.

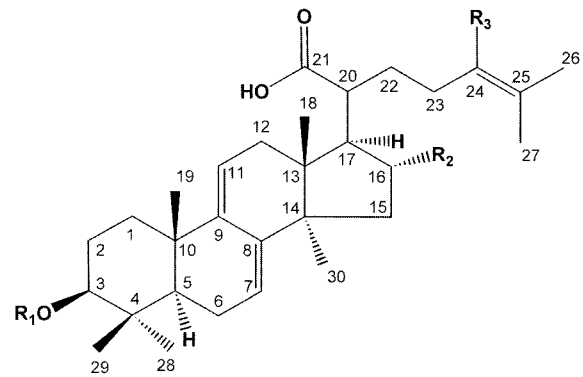
지표물질의 최적 추출조건 - 최적 추출용매를 결정하기 위하여 복령 15 g씩을 500 ml 둥근플라스크에 넣고 MeOH, 95% EtOH, CH₂Cl₂, acetone을 각각 100 ml씩 가하여 3시간 환류추출한 다음 여과하고 여액을 각각의 추출용매를 첨가하여 100 ml로 맞추었다. 이 중 1 ml를 취하여 3종 화합물의 함량을 HPLC를 이용하여 비교분석하였다. 가장 좋은 추출효과를 나타낸 95% EtOH를 이용하여 1~5시간까지 추출시간에 따른 효과를 비교하였으며 최적 용질/용매의 비를 결정하기 위하여 15 g의 복령에 대하여 50~150 ml의 95%를 이용하여 상기 방법에 준하여 추출효과를 비교하였다.

결과 및 고찰

복령에서 분리된 주요 화합물의 동정 - 복령 dichloromethane 추출물을 용출용매 조건을 달리하여 수회 silica gel column chromatography를 반복하여 얻은 PC 3-3-2 분획에 대하여 semi-prep. HPLC를 이용하여 compound 1을 얻었다 (PDA 및 ELSD 하 순도 99% 이상). Compound 1의 ¹H NMR spectrum 분석결과 δ 0.92 (s), 0.93 (s), 0.97 (s), 0.99

(d, $J=7.0$ Hz), 1.00 (d, $J=7.0$ Hz), 1.12 (s), 1.48 (s)에서 총 7개의 methyl proton들이 발견되었으며, δ 2.05 (s)에서 acetyl group의 methyl기로 예상되어지는 signal이 관측되어 lanostane 골격의 triterpene 유도체일 것으로 예상되었다. 또한 δ 4.85 (brs)와 4.98 (d, $J=1.0$ Hz)에서 exomethylene 유래의 olefin signal이 관측되었으며, δ 4.67 (1H, dd, $J=12.0, 4.0$ Hz)에서 oxygenated methine signal이 관측된 것으로 미루어 이 화합물은 pachymic acid, 또는 그 유도체일 것으로 판단되었다. ¹³C NMR에서는 총 33개의 signal 들이 나타났으며 δ 134.4 및 135.0, 그리고 156.1 및 107.0에서 네 개의 sp^2 carbon이, δ 178.6과 170.5에서 두 개의 carbonyl carbon이, δ 80.6에서 oxymethine carbon resonance가 확인되었다. 또한 DEPT spectrum에서 총 8개의 methyl, 10개의 methylene, 6개의 methine 및 9개의 quaternary carbon이 관측되었다. 이상의 결과로 미루어 compound 1은 복령의 대표적 화합물인 pachymic acid로 판단되었으며, 최종적으로 기보 고된 문헌치¹⁰⁾와의 비교에 의하여 동정하였다 (Fig. 1, Table I 및 II).

Compound 2는 PDA 및 ELSD 상 순도 99% 이상으로 얻어졌으며 ¹H NMR spectrum에서 δ 1.67 (s), 1.62 (s), 1.22 (s), 1.13 (s), 1.07 (Me × 2), 1.00 (s)에서 7개의 singlet methyl proton들이 발견되어 lanostane 골격 중 24위에 이중결합을 가지며 25위에 두 개의 methyl group이 결합된 골격을 가진 것으로 예상할 수 있었다. 또한 δ 5.30-5.60 사이에서 총 3H에 해당하는 olefinic proton 들이 발견되었으며, δ 3.45



1. R₁ = Ac R₂ = OH R₃ = H
2. R₁ = H R₂ = H R₃ = H
3. R₁ = H R₂ = H R₃ = =CH₂

C-24 and C-25 of compound 3 is saturated.

Fig. 1. Chemical structure of standard compounds isolated from *Poria cocos* (1; pachymic acid, 2; 3β-hydroxylanosta-7,9(11),24-trien-21-oic acid, 3; dehydroeburicoic acid).

Table I. ^1H NMR data* of compounds 1, 2, and 3 isolated from *P. cocos*

No.	1	2	3
1 α	1.12, td, (13.0, 4.0)		
1 β	1.57, dt, (13.0, 3.0)		
2 α	c 1.60, m		
2 β	1.71, ddd, (14.0, 12.0, 3.0)		
3	4.67, dd, (12.0, 4.0)	3.45, brt, (8.0)	3.46, brt, (8.0)
5	1.16, dd, (10.0, 2.0)		
6 α	1.65, m		
6 β	1.50, m		
7	ca 2.1 ca 2.1	5.61, brd, (5.0)	5.61, brd, (5.0)
11	ca 1.9 ca 1.9	5.37, brd, (6.0)	5.38, brd, (6.0)
12 α	2.20, dt, (13.0, 9.0)		
12 β	ca 2.0		
15 α	1.70, d, (13.0)		
15 β	2.38, dd, (13.0, 8.0)		
16	4.52, dd, (8.0, 6.0)		
17	2.80, dd, (11.0, 6.0)		
18	1.12, s	1.00, s	1.02, s
19	0.97, s	1.07, s	1.08, s
20	2.93 td 11, (3.0)	2.67, td, (11.3)	2.67, td, (11.3)
22	2.66, m ca 2.5		
23	ca 2.4 2.54, brt, (12.0)		
24		5.33, tt, (7.1)	
25	2.29, m		2.29, m
26	0.99**, d, (7.0)	1.67, s	1.03, d, (7.0)
27	1.00**, d, (7.0)	1.62, s	1.04, d, (7.0)
28	0.92, s	1.22, s	1.23, s
29	0.93, s	1.13, s	1.14, s
30	1.48, s		1.09, s
31	4.98, d, (1.0) 4.85, s		4.90, brs 4.95, brs
Ac	2.05, s		

*Chemical shifts in δ ppm, multiplicity, (J in Hz).**Assignment can be changed. Measured in pyridine- d_5 with 400 MHz NMR.

(brt, $J=8.0$ Hz)에서 oxymethine proton이 발견되는 등 pachymic acid와 유사한 양상을 나타내었으나 3-*O*-acetyl group의 존재는 확인되지 않았다. ^{13}C NMR에서도 acetyl 유래의 methyl peak는 검출되지 않았으며, δ 178.5에서 carbonyl carbon이, 146.6, 142.8, 131.7, 124.8, 121.2 및 116.6에서 총 6개의 olefinic carbon이 검출되어 3개의 이중결합이 존재할 것으로 예상하였다. 또한 δ 78.0에서 한 개의 oxymethine carbon이 검출되어 compound 2는 pachymic acid의 deacetylated form인 tumulosic acid 골격 중 한 개의 hydroxyl

Table II. ^{13}C NMR data of compounds isolated from *P. cocos*

No.	1	2	3
1	35.4	36.4	36.4
2	24.5	28.7	28.7
3	80.6	78.0	78.0
4	38.0	39.3	39.3
5	50.7	49.8	49.8
6	18.4	23.5	23.6
7	26.8	121.2	121.3
8	134.4	142.8	142.8
9	135.0	146.6	146.6
10	37.2	37.8	37.9
11	20.9	116.6	116.6
12	29.7	36.0	36.0
13	45.3	44.3	44.3
14	48.8	50.5	50.5
15	43.6	31.6	31.6
16	76.6	27.3	27.3
17	57.3	48.1	48.1
18	17.8	16.3	16.3
19	19.2	23.0	23.0
20	48.6	48.9	49.1
21	178.6	178.5	178.4
22	31.6	33.3	31.8
23	33.2	26.7	32.8
24	156.1	124.8	155.8
25	34.1	131.7	34.2
26	*22.0	25.8	22.0*
27	*21.9	17.7	21.9*
28	28.0	28.8	28.8
29	16.8	16.6	16.6
30	25.4	25.9	25.9
31	107.0		107.0
CH ₃ CO	21.1		
CH ₃ CO	170.5		

*Assignment can be changed. Measured in pyridine- d_5 with 100 MHz NMR.

group만이 존재하는 3 β -hydroxylanosta-7,9(11),24-trien-21-oic acid인 것으로 추정되었으며 최종적으로 NMR data를 문헌치⁸⁾와 비교하여 동정하였다(Fig. 1, Table I 및 II).

Compound 3 역시 PDA 및 ELSD 상에서 순도 99% 이상을 나타냈으며, ¹H NMR에서는 pachymic acid와 마찬가지로 5개의 singlet methyl proton 및 두 개의 doublet methyl proton들이 발견되어 lanostane 골격 중 24/31 위에 2중결합을 가지며 25위에 두 개의 methyl group이 결합된 골격을 가질 것으로 예상하였다. 또한 pachymic acid 유도체의 terminal methylene group에서 전형적으로 발견되는 olefinic singlet proton이 δ 4.90 (brs)과 4.95 (brs)에서 검출되었으며 H-7과 H-11의 olefinic proton이 δ 5.38 (brd, $J=6.0$ Hz)과 5.61 (brd, $J=5.0$ Hz)에서 발견되었고 oxymethine proton이 δ 3.46 (brt, $J=8.0$ Hz)에서 나타나는 등 pachymic acid와 유사한 양상을 나타내었으나 3-O-acetyl group의 존재는 확인되지 않았다. 이상의 결과로 미루어 compound 3은 lanostane 계통의 화합물로 복령에서 분리된 바 있는 dehydroeburicoic acid로 예측되었으며 문헌상¹⁵⁾ ¹H NMR 및 ¹³C NMR data를 비교한 결과 dehydroeburicoic acid와 정확히 일치하였다(Fig. 1, Table I 및 II).

HPLC에 의한 복령 중 지표물질 정량법 확립 - 분석용 column의 선정을 위해 서로 다른 종류의 HPLC column인 Symmetry C18 (4.6 \times 150 mm, Waters), Chromolith Performance C18e (4.6 \times 100 mm, Merck) 및 ZORBAX Eclipse XDB C18 (4.6 \times 250 mm, Agilent) column을 이용해 본 결과, 복령 (정선산) 중 pachymic acid 및 이들의 동

족체로 예상되어지는 화합물의 분리능은 ZORBAX Eclipse XDB C18에서 가장 좋게 나타났으므로 (Fig. 2) 이후의 실험은 이 column을 이용하여 분석하였다. 또한 HPLC detector의 선정을 위해 pachymic acid rich fraction에 대하여 PDA 및 ELSD에 의한 검출을 시도한 결과 UV 235 nm 및 254 nm에서 약하게 검출되었으나, 상대적으로 ELSD보다 감도가 낮은 것으로 나타나 복령 중 pachymic acid 및 이들의 동족체의 분석에는 ELSD가 적합할 것으로 판단하였다 (Fig. 3).

이상의 결과를 바탕으로 복령 중 3종의 지표성분 분석을 위한 최적 HPLC 조건을 확립하였다. 즉, Column: ZORBAX Eclipse XDB C18 (4.6 \times 250 mm, Agilent), Mobile phase : 1% HOAc in 70% MeOH \rightarrow 1% HOAc in 100% MeOH for 25 min, 1% HOAc in 100% MeOH for 15 min, Detector: ELSD, Flow rate : 1 ml/min.와 같다.

복령 중 지표물질 정량을 위한 최적 추출법 확립 - 복령 중 3종의 지표물질의 추출에 가장 적합한 용매를 선택하기 위하여 15 g의 복령에 각각 100 ml의 methanol (MeOH), 95% ethanol (EtOH), CH₂Cl₂, acetone을 가하여 추출효과를 확인한 결과, EtOH를 용매로 사용했을 때 다른 용매에 비하여 20%이상의 높은 pachymic acid 추출효과를 나타내었다. Compound 2 및 3에 대하여도 용매의 종류에 따른 추출효과를 검토한 결과, 역시 EtOH에서 가장 좋은 추출효과를 나타내었다 (Fig. 4).

최적 추출용매인 95% EtOH 100 ml를 이용하여 복령 15 g에 대하여 시간별로 최장 5시간까지의 추출량을 비교분석

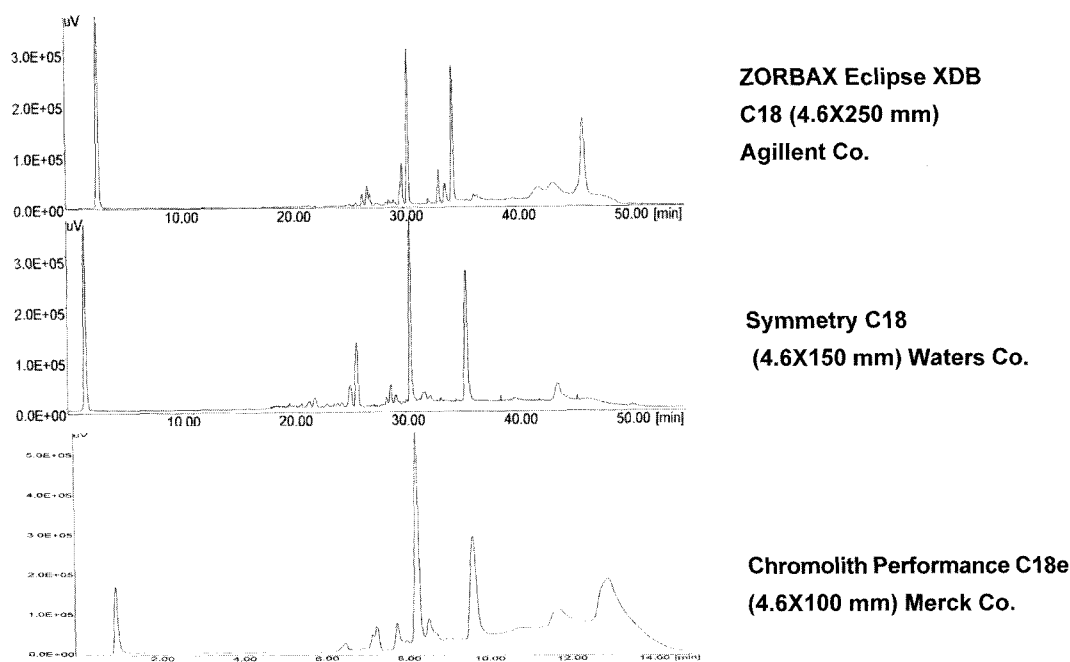
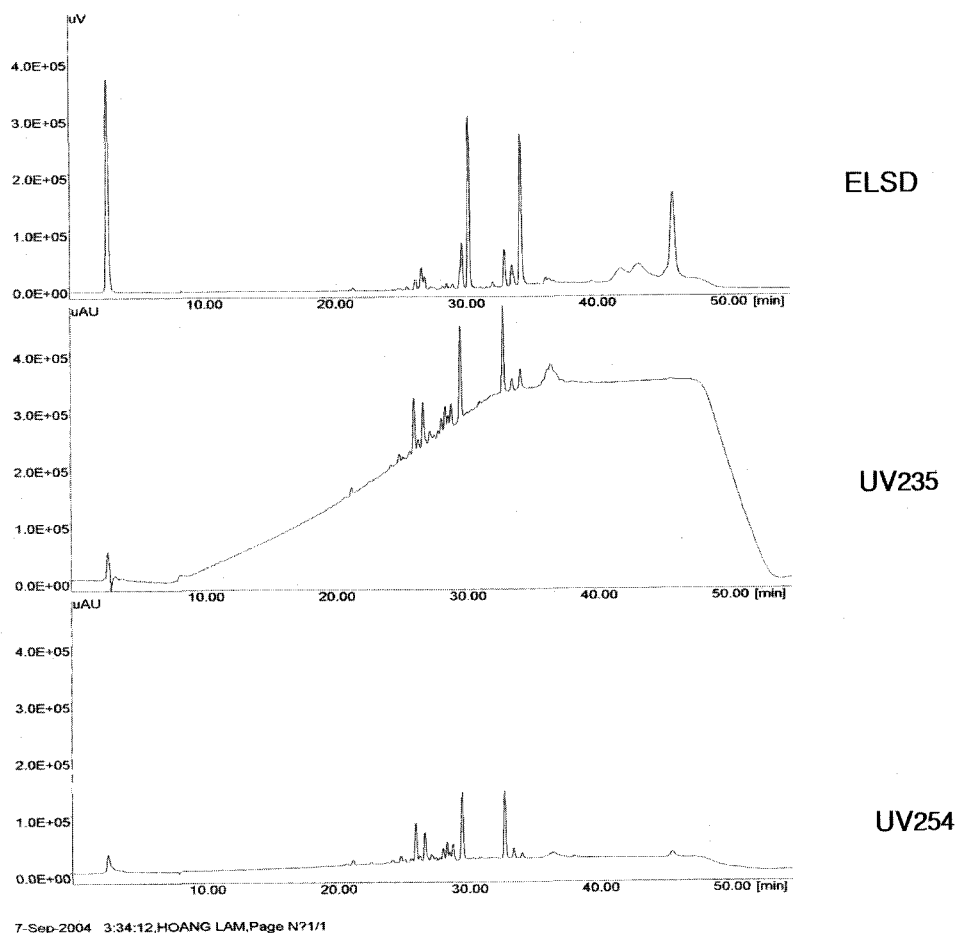


Fig. 2. HPLC profile of *Poria cocos* extracts according to the stationary phase.



7-Sep-2004 3:34:12,HOANG LAM,Page N?1/1

Fig. 3. HPLC profile of *Poria cocos* extracts according to detection conditions.

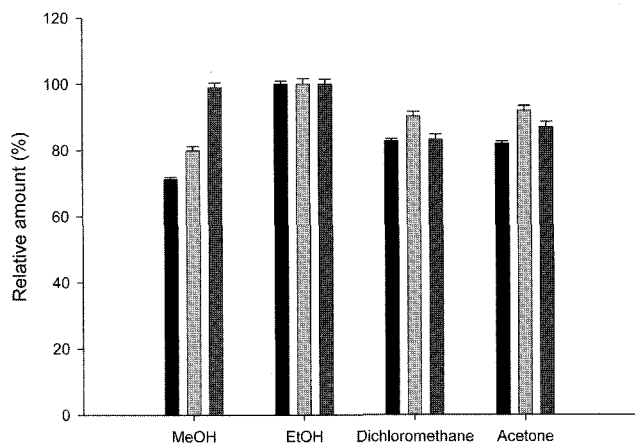


Fig. 4. Extraction efficiency of various solvents on compounds 1, 2, and 3.

■; compound 1, ▨; compound 2, ▩; compound 3.

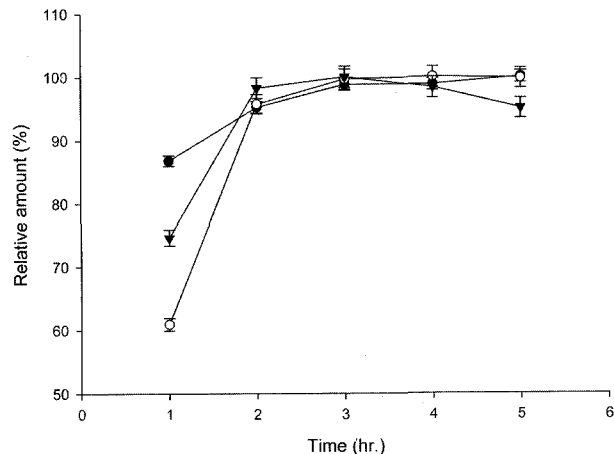


Fig. 5. Extraction efficiency on compounds 1, 2, and 3 according to extraction time.

●; compound 1, ○; compound 2, ▼; compound 3.

한 결과, 3시간 이후에는 1, 2 및 3은 모두 더 이상 추출이 되지 않는 것으로 확인되었으며 (Fig. 5), 3시간 추출된 잔사에 대하여 재추출을 시도한 결과 pachymic acid 및 그 유

도체들이 실험 조건에서 검출 되지 않음으로서 3시간 이내에 3종의 화합물은 거의 전량 추출되는 것으로 확인하였다 (data 미제시).

용매 - 용질의 최적비율을 결정하기 위하여 15 g의 복령에 50 ml, 100 ml, 150 ml의 95% EtOH을 가한 다음 상기의 결과에 따라 3시간 환류추출 후 추출되는 pachymic acid의 함량을 비교한 결과, 용매의 양에 의한 큰 변화는 없었으나, 15 g의 복령에 100 ml, 또는 150 ml의 EtOH를 이용하여 추출한 경우가 다소 좋은 결과를 나타내었다. Compound 2 및 3의 경우는 150 ml의 EtOH를 이용하였을 때 가장 추출효과가 좋았으나, pachymic acid가 복령의 대표적인 지표물질이라는 점 및 추출효과의 차이가 그다지 크지 않아 100 ml를 최적 용매량으로 결정하고 이 조건에 따라 이후의 실험을 수행하였다 (Fig. 6). 상기 최적조건에서 정선산에 대하여 분석한 크로마토그램은 Fig. 7과 같으며 이 때 compound 1, 2, 3의 t_R 는 각각 22.29, 25.37 및 28.36 min이었다. 한편

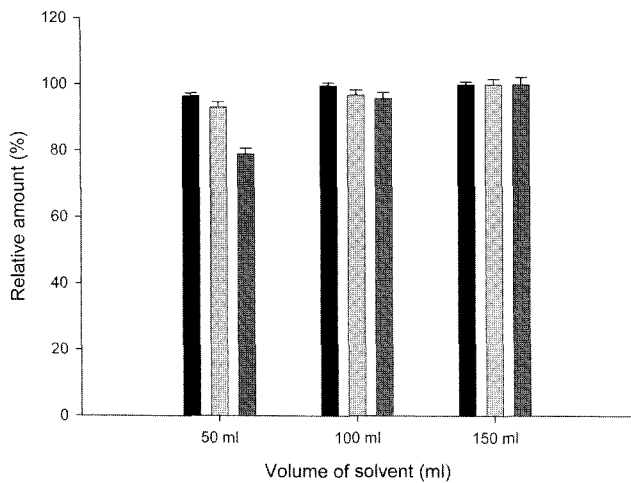


Fig. 6. Extraction efficiency on compounds 1, 2, and 3 according to the solvent volume. ■; compound 1, ▨; compound 2, ▩; compound 3.

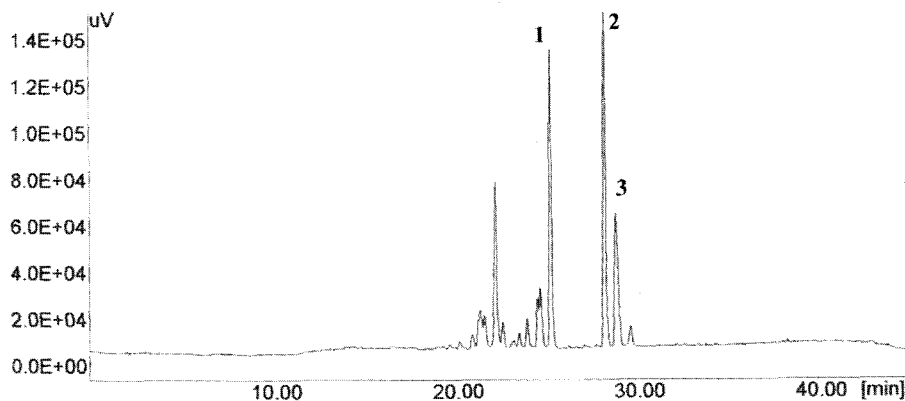


Fig. 7. Typical HPLC chromatogram of 95% ethanolic extract of *P. cocos*. Column; ZORBAX Eclipse XDB C18 (4.6 × 250 mm), mobile phase; 70% → 100% aq. MeOH (containing 1% HOAc) for 25 min then 100% → 100% aq. MeOH (containing 1% HOAc) for 25~40 min, flow rate; 1.0 ml/min, detector; ELSD. 1; compound 1, 2; compound 2, 3; compound 3.

t_R 19.20 min의 peak는 LC-UV의 pattern으로 미루어 pachymic acid의 동족체와는 다른 골격의 화합물로 생각되어 지표물질로 선정하지 아니하였다 (data 미제시).

또한 복령에서 분리한 3종의 화합물은 극히 일부 곰팡이와 버섯에도 함유되어 있다고는 하나,¹⁶⁾ 복령처럼 약용으로 사용되고 있지 않으므로 pachymic acid를 비롯한 3종의 화합물을 복령의 품질표준화 및 지표성분으로 사용해도 무방할 것으로 생각된다.

산지에 따른 복령 중 지표물질의 함량 분석 - 상기에서 확립된 3종 지표화합물의 정량법을 이용하여 현재 국내에서 유통되고 있는 국내산 15종, 중국산 2종 및 북한산 1종의 총 18종을 수집하여 함량분석을 실시하였다. 그 결과 compound 1인 pachymic acid의 함량은 강원도 정선 및 충북 제천시산이 가장 높았으며 강원도 양양산이 가장 낮았고 그 양은 가장 높은 제천시산에 비하여 33.9%에 그치는 것으로 나타났다. Compound 2의 경우는 단양2 및 강원도 오대산, 정선에서 수집한 것이 가장 함량이 높았고, 양양산이 가장 낮아 단양2의 8.3-14.4%에 불과한 것으로 나타나 개체별로 매우 차이가 큰 것을 알 수 있었다. 그러나 복령의 경우 가공 공장에서 여러 장소에서 재배된 복령을 일괄 수매하여 출하하기 때문에 정확한 산지를 알 수 없는 경우가 많아 산지별 차이라고 인정하기는 어려운 측면이 있다. 3종 지표화합물의 함량을 합계한 경우 정선산이 가장 높았으며, 다음으로 단양2, 강원도 오대산의 순이었으며, 강원도 양양산이 가장 낮아 정선산의 10.8%에 불과하였다 (Table III).

건조 복령 중 pachymic acid의 함량은 Table III에서 얻은 평균값인 0.65 ± 0.19 mg/g (0.065 ± 0.019 w/w%)의 범위 내에 속하는 것을 규격으로 하는 것이 바람직할 것으로 판단되며, compound 2의 경우는 0.88 ± 0.72 mg/g (0.088 ± 0.072 w/w%), 3은 0.84 ± 0.54 mg/g (0.084 ± 0.054 w/w%),

Table III. Contents of compounds 1, 2, and 3 in *Poria cocos* cultivated at different sites

Location	1*	2*	3*	Total*
N. Korea	0.68±0.01	1.48±0.01	1.30±0.00	3.46
Kangwon	0.60±0.00	0.69±0.00	0.70±0.01	1.93
Youngyang	0.69±0.00	0.34±0.01	0.44±0.01	1.47
China 1	0.58±0.01	0.23±0.02	0.35±0.01	1.16
China 2	0.61±0.00	0.22±0.01	0.35±0.01	1.18
Jinbu	0.42±0.01	0.32±0.01	0.43±0.01	1.17
Gangreung	0.67±0.00	0.35±0.00	0.44±0.02	1.46
Danyang 1	0.67±0.01	0.55±0.01	0.60±0.01	1.82
Danyang 2	0.66±0.00	2.29±0.01	1.90±0.02	4.85
Uljin	0.69±0.01	0.94±0.01	0.89±0.01	2.52
Mt. Odae	0.45±0.00	2.11±0.00	1.77±0.02	4.33
Jeongsun	1.03±0.02	2.26±0.01	1.88±0.03	5.17
Jechon	1.18±0.01	1.22±0.02	1.02±0.01	3.42
Sancheong 1	0.58±0.00	0.46±0.01	0.53±0.01	1.57
Sancheong 2	0.53±0.00	0.51±0.00	0.56±0.00	1.60
Youngwol 1	0.66±0.01	0.52±0.01	0.58±0.01	1.76
Youngwol 2	0.62±0.00	1.18±0.01	1.07±0.01	2.87
Yangyang	0.40±0.00	0.19±0.01	0.33±0.01	0.56
Average	0.65±0.19	0.88±0.72	0.84±0.54	2.35±1.37

*mg/g

세계지 지표물질의 함은 2.35 ± 1.37 mg/g (0.235 ± 0.137 w/w%) 이상인 것을 규격으로 제시할 수 있으나 복령의 대표적인 성분이며 다른 생약재에는 함유되어 있지 않고, 비교적 산지에 따른 표준편차가 적은 pachymic acid를 기준으로 복령의 품질규격을 평가하는 것이 바람직할 것으로 판단된다.

결 론

복령을 dichloromethane으로 추출하여 얻은 추출물로부터 silica gel column chromatography 등을 이용하여 3종의 화합물을 분리하여 pachymic acid (1), 3 β -hydroxylanosta-7,9(11),24-trien-21-oic acid (2), and dehydroeburicoric acid (3)로 구조동정하였다. 이들 3종의 화합물에 대한 용매에 따른 추출효과를 비교한 결과, 95% EtOH이 가장 효과가 높게 나타났으며, 15 g의 복령을 100 ml의 95% EtOH로 3시간씩 1회 추출하였을 때 거의 전량 추출되었다. 또한 3종의 화합물을 분석하기 위한 최적의 HPLC 조건은 detector로서 ELSD를, 분석용 column은 ZORBAX Eclipse XDB C18 (4.6×250 mm, Agilent)을 이용하는 것이 가장 좋은 것으로 나타났다. 산지가 다른 18종의 복령을 수집하여 분석한 결과 pachymic acid의 함량은 0.65 ± 0.19 mg/g (0.065 ± 0.019 w/w %)의 범위 내에 속하는 것을 규격으로 하는 것이 타당할 것으로 판단되며, 복령의 대표적 성분이며 다른

생약재에는 함유되어 있지 않고, 비교적 산지에 따른 표준편차가 적은 pachymic acid를 기준으로 복령의 품질규격을 평가하는 것이 바람직할 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 2004년도 식품의약품안전청 대구지청의 용역 과제 지원에 의해 수행되었기에 이에 감사를 드립니다. 또한 김경아 박사를 지원해주신 경북대학교 2004 post-doc. 연구 지원에도 감사드립니다.

인용문헌

1. 정보섭, 신민교 (1998) 도해 향약(생약)대사전, 40: 영림사, 서울.
2. 생약학교재편찬위원회 (2004) 생약학, 289: 동명사, 서울.
3. 소학관 (1975) 중약대사전, 4: 2312, 상해과학기술출판사, 상해.
4. Zhu, Y. P. (1998) Chinese Materia Medica. 311. Harwood Academic Publisher, Amsterdam.
5. Kaminaga, T., Yasukawa, K., Kanno, H., Tai, T., Nunoura, Y., and Takido, M. (1996) Inhibitory effects of lanostane-type triterpene acids, the components of *Poria cocos*, on tumor promotion by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in two-

- stage carcinogenesis in mouse skin. *Oncology* **53**: 382-385.
6. Prieto, J. M., Recio, M. C., Giner, R. M., Manez, S., Giner-Larza, E. M., and Rios, J. L. (2003) Influence of traditional Chinese anti-inflammatory medicinal plants on leukocyte and platelet functions. *J. Pharmacy Pharmacol.* **55**: 1275-1282.
 7. Tai, T., Shingu, T., Kikuchi, T., Tezuka, Y., and Akahori, A. (1995) Isolation of lanostane-type triterpene acids having an acetoxyl group from sclerotia of *Poria cocos*. *Phytochemistry* **40**: 225-231.
 8. Tai, T., Shingu, T., Kikuchi, T., Tezuka, Y., and Akahori, A. (1995) Triterpenes from the surface layer of *Poria cocos*. *Phytochemistry* **39**: 1165-1169.
 9. Yasukawa, K., Kaminaga, T., Kitanaka, S., Tai, T., Nunoura, Y., natori, S., and Takido, M. (1998) 3 β -*p*-Hydroxybenzoyldehydrotumulosic acid from *Poria cocos*, and anti-inflammatory effect. *Phytochemistry* **48**: 1357-1360.
 10. Ukiya, M., Akihisa, T., Tokuda, H., Hirano, M., Oshikubo, M., Nobukuni, Y., Kimura, Y., Tai, T., Kondo, S., and Nishino, H. (2002) Inhibition of tumor-promoting effects by poricoic acids G and H and other lanostane-type triterpenes and cytotoxic activity of poricoic acid A and G from *Poria cocos*. *J. Nat. Prod.* **65**: 462-465.
 11. Tai, T., Akahori, A., and Shingu, T. (1993) Triterpenes from the *Polia cocos*. *Phytochemistry* **32**: 1239-1244.
 12. Kubo, M., Okui, Y., Maruno, M., and Nijima, A. (1994) Extraction of antiemetic agents from *Pinellia ternata*. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho* 7 pp. JP 06271598 A2 19940927 Heisei.
 13. Sekiya, N., Goto, H., Shimada, Y., Endo, Y., Sakakibara, I., and Terasawa, K. (2003) Inhibitory effects of triterpenes isolated from hoelen on free radical-induced lysis of red blood cells. *Phytotherapy Res.* **17**: 160-162.
 14. Tai, T., Mikage, M., Tsuda, Y., and Akahori, A. (1994) Analytical studies on *Poria cocos*, II. The relationship between the triterpene contents and the color of the sclerotium. *Natural Medicines* **48**: 219-222.
 15. Yang, S. W., Shen, Y. C., and Chen, C. H. (1996) Steroids and triterpenoids of *Antrodia cinnamomea*-A fungus parasitic on *Cinnamomum micranthum*. *Phytochemistry* **41**: 1389-1392.
 16. Rosecke, J. and Konig, W. A. (2000) Constituents of various wood-rotting basidiomycetes. *Phytochemistry* **54**: 603-610.

(2005년 5월 25일 접수)