

야생 및 재배 지치뿌리의 Shikonin 화합물 확인

김진숙^{1*} · 한영실² · 강명화³

¹농업과학기술원 농촌자원개발연구소

²숙명여자대학교 식품영양학과

³호서대학교 식품영양학과

Identification of Shikonin and Its Derivatives from *Lithospermum erythrorhizon*

Jin-Sook Kim^{1*}, Young-Sil Han² and Myung-Hwa Kang³

¹National Rural Resources Development Institute, RDA, Suwon 441-853, Korea

²Dept. of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

³Dept. of Food Science and Nutrition, Hoseo University, Asan 336-795, Korea

Abstract

In this study, phytochemicals from the wild and cultivated *Lithospermum erythrorhizon* (gromwell), which has been used for medicinal purpose or natural coloring material from the old days, were extracted by methanol and fractionated with hexane. The shikonin compounds in the fraction was isolated and their chemical structures were identified by ¹H and ¹³C-NMR. It was found that compound I was the shikonin substance with molecular weight of 288.3 and chemical formula of C₁₆H₁₆O₅, and compound II being deoxyshikonin substance with molecular weight of 272.3 and chemical formula of C₁₆H₁₆O₄. The quantities of these compounds in the wild and cultivated gromwells was determined.

Key words: *Lithospermum erythrorhizon*, gromwell, shikonin, identification

서 론

지치(*Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc., gromwell)는 뿌리의 외피 부위에 적색 색소를 함유하고 있는 지치과(*Boraginaceae*) 식물로 지초(芝草), 자초(紫草), 자근(紫根), 혹은 자단(紫丹) 등으로 불리는 여러 해살이 풀이며, 주로 남부지역의 야산에서 흔하게 볼 수 있었지만 현재는 남부지방에서 야생종이 소실되어 가고 있는 실정으로 중국 산이 많이 유통되고 있다. 일반적으로 지치는 2년생 이후부터 약효가 발현되는 것으로 보고, 그 이상의 것을 민간요법, 전통식품에 사용하는데(1,2) 보통 지치 뿌리의 성상은 종에 따라 다른데 야생종은 한두 번 뒤틀리면서, 재배종은 바로 땅속을 파고들면서 자라는 것으로 알려져 있으며 종에 따른 명칭은 정립되어 있지 않는 상태이다(2).

지치과 식물 중에서 지치 품목에 관한 국내외의 연구 성과는 단순하게 지치과 식물의 종(spices)의 분류 없이 일반적 내용에 관해서만 다루어져 왔다. 지치의 성분 확인에 관한 연구로는 naphthoquinone pigments 유도체가 함유되어 있는 shikonin 물질 및 그 이성질체로 alkannin이 존재한다고 알려져 있으며, 지치 추출물의 용매 분획에 의한 성분 분리

로부터 NMR에 의한 물질 확인으로 shikonin과 그 유도체들의 구성 성분을 동정 분리해냈다(3-8). 또한 산출지에 따른 동양산과 서양산 지치의 구성성분이 다름을 확인하였는데, 동양산의 색소 성분은 shikonin(2- α -hydroxy- δ -methyl-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone)이며, 대개 monoacetyl 유도체로 함유되어 있는 반면에 서양산의 색소 성분은 alkannin과 광학이성질체 관계인 것으로 알려져 있고, 재배 방법에 따라서도 성분이 달라질 수 있다고 한다(3-11).

이제까지 알려진 지치 성분을 보면 shikonin, acetylshikonin, teracrylshikonin, isovalerylshikonin, α -methyl-n-butylshikonin, β,β -dimethylacrylshikonin, deoxyshikonin, isobutylshikonin, propionylshikonin, β -hydroxy-isovalerylshikonin 등의 naphthoquinone pigment 화합물, lithospermans A, B, C 등의 polysaccharide 및 lithospermic acid와 rosmarinic acid 등의 phenolic acid로 이루어져 있다고 전한다(3-13). 이들 연구에 의하면 shikonin 및 그 유도체는 색소 물질로 80°C 이상에서는 불안정한 화합물이며 다른 용매보다는 특히 극성이 낮은 n-hexane에 의해 물질이 확인되는 경우가 많고, 일부 acetylshikonin 등의 물질 분리는 가수분해 등의 전처리 공정을 거쳐 인위적인 유도체 화합물

*Corresponding author. E-mail: preetyjs@rda.go.kr
Phone: 82-31-299-0581. Fax: 82-31-299-0553

을 shikonin으로부터 만들어 물질을 정량한 경우가 대부분이다(5-7,14).

이에 본 연구에서는 지치과 식물 중의 하나인 지치에 대한 약리성만이 아닌 식품 소재로서 활용되기 위한 정확한 품질 구분을 위해 화합물의 확인작업이 필요하다. 따라서 지치 뿌리의 shikonin 화합물에 대한 기능성은 일부 밝혀졌으나(8,15-20) 기능성 식품 원료로서 사용되게 하려면 지치의 종에 따른 정확한 성분물질 동정이 우선적으로 고려되어야 할 사항이므로(15), 지치로부터 추출한 용매 분획물을 안정화 된 화합물로 유도하지 않고 원성분을 변형하지 않고 그대로 사용하여 재배방법에 대한 화합물의 구성 차이를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

지치 및 시약

본 실험에 사용한 지치뿌리는 2003년 경북 영천지역에서 재배한 것과 산출지역의 오차를 줄이기 위해 같은 지역에서 생산되는 것을 한약상회로부터 구입하였다. 이를 물에 3회 씻은 다음, -70°C 에서 1일간 급속 냉동시키고 진공동결건조기(Bondiro, Ilshin Lab Co., Korea)로 건조한 후, -20°C 의 냉동고(CA-G11XZ, LG Electronics, Korea)에 보관하면서 사용하였다.

추출용 용매는 시약용 1급(Duksan Pure Chemical Co., Ltd., Korea)으로 methanol과 n-hexane을 사용하였고, column chromatography용으로 acetonitrile(Aldrich Chemical Co., USA) 등을 사용하였다.

또한 shikonin 및 유도체 화합물의 물질동정을 위해서 shikonin, deoxyshikonin, β,β -dimethylacrylshikonin, 2-methyl-n-butyrylshikonin 등의 표준품(Tokyo Ksei Kogyo Co., Ltd., Japan) 4종을 사용하였다.

Methanol 추출물 및 n-hexane 분획물(fraction) 조제
진공동결 건조한 야생 지치(100 g)는 3~4 cm 길이로 잘라 70%의 methanol로 상온에서 24시간씩 3회 반복 추출한 후 여과하고 rotary evaporator(R-205, Buchi Labortechnik AG Co., Switzerland)로 40°C 이하에서 감압 농축하여 짙은 적색을 갖는 methanol 추출물(29.22 g)을 얻었고(16), 이 물에 현탁한 후 n-hexane을 가하여 분획하고 여과한 후 감압 농축하여 n-hexane 분획물(1.21 g)을 얻었다. 건조한 재배 지치(100 g)에 대하여서도 야생 지치의 경우와 같은 방법으로 methanol 추출물(36.23 g)과 n-hexane 분획물(2.47 g)을 조제하였다(16).

Shikonin 화합물 분리

야생 및 재배 지치의 n-hexane 용매 분획물이 구성하고 있는 shikonin 화합물의 분리는 지치의 주 색소물질로 알려진 shikonin과 그 유도체 화합물의 표준품(4종)으로부터 알아

내었다. 본 연구의 야생 및 재배 지치의 n-hexane 분획물은 어떠한 전처리 공정을 거치지 않고 acetonitrile 용매(HPLC grade, Aldrich Chemical Co., USA)에 0.01 M formic acid를 녹여 HPLC로 분석하였다(16). HPLC 분석은 UV/VIS 검출기 U2000이 장착된 Thermo Finnigan AQA P4000(Thermo Finnigan Co., Japan)을 사용하였으며, 용매 A(acetonitrile with 0.01 M formic acid)와 용매 B(distilled water)의 gradient condition은 concave 5번(0~10분 50:50, 10~20분 60:40, 20~40분 75:25, 40~60분 95:5%(v/v))으로 실시하였다. 이와 같은 조건으로 야생 및 재배 지치의 n-hexane 용매 분획물이 구성하고 있는 색소 물질을 분리하였으며, 물질 확인은 표준품의 retention time(RT)과 비교하였다.

Shikonin 화합물 구조 분석

야생 및 재배 지치의 shikonin 화합물 구조 확인은 단순하게 표준품과 비교하지 않고 HPLC-MS에서 분리된 peak로부터 분취 HPLC(Acme, Younglin Ins. Co., Ltd., Korea)를 이용하여 원하는 peak 물질을 얻은 후 NMR(nuclear magnetic resonance spectrophotometer)로부터 물질구조를 확인하였다. ^1H , ^{13}C -NMR spectrum은 Varian Unity Inova 300 MHz(Varian Inc., USA)로 측정하였으며, CDCl_3 (Deuteriochloroform) 용매(Aldrich Chemical Co., USA)를 사용하였고 ppm 단위로 나타내었다(16,17).

Shikonin 화합물 정량

야생 및 재배 지치에서 용매 분획물의 shikonin 화합물 정량은 HPLC-MS를 통하여 표준품과 비교 확인하는 방법으로 실시하였다. 색소 물질인 shikonin과 deoxyshikonin 등의 표준품에 대하여 농도와 peak 면적과의 상관관계를 알아보고 검량선을 각기 구하여 야생 및 재배 지치의 용매 분획물에서 각각 확인된 물질 함량 측정은 해당 물질의 검량선에 대입하여 일정한 농도를 구한 다음 용매 분획물 분석 시 소요된 총량으로 나누어 계산하였다(18).

결과 및 고찰

Shikonin 화합물 분리

야생 및 재배 지치의 정확한 품질 조사를 위해 지치의 methanol 추출물로부터 n-hexane 용매 분획물을 조제, 이들 각각의 용매 분획물이 구성하고 있는 물질을 HPLC로 분석하기 위해 shikonin 및 그 유도체 화합물인 표준품의 RT(retention time)는 shikonin이 15.97분, deoxyshikonin은 30.37분, β,β -dimethylacrylshikonin은 35.18분, 2-methyl-n-butyrylshikonin은 36.77분인 것으로 확인하였다.

어떠한 전처리 공정을 거치지 않고 acetonitrile 용매에 0.01 M formic acid를 녹여 HPLC로 분석한 야생 지치의 n-hexane 분획물은 Fig. 1과 같이, 재배 지치의 n-hexane 분획물은 Fig. 2와 같이, 총 9개의 peak가 확인되었다. 이를

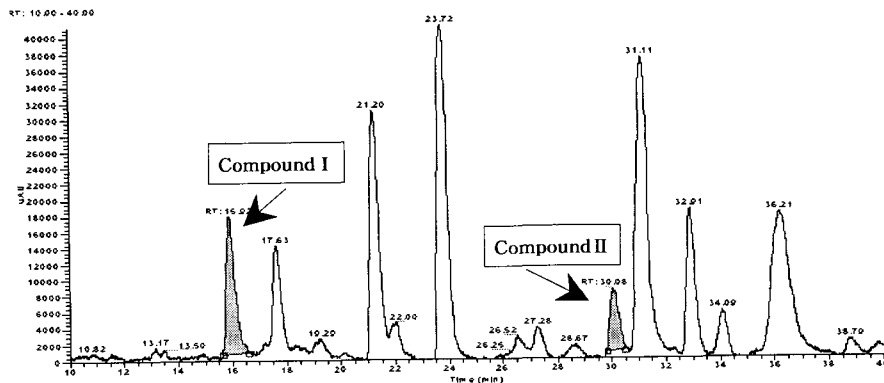


Fig. 1. HPLC chromatogram of n-hexane fraction from wild gromwell.

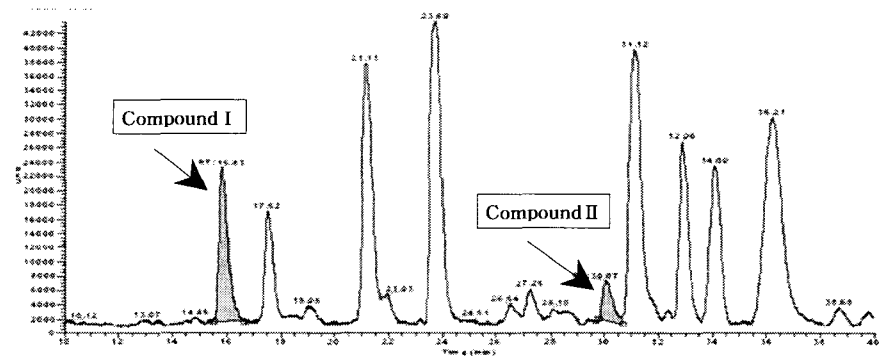


Fig. 2. HPLC chromatogram of n-hexane fraction from cultivated gromwell.

표품 4종의 RT와 비교했을 때, 2개의 peak로부터 shikonin 물질로 추정되는 compound I 과 deoxyshikonin 물질로 추정되는 compound II를 찾아낼 수 있었다. 확인된 2개의 peak를 제외한 7개의 peak는 β,β -dimethylacrylshikonin, 2-methyl-n-butylshikonin의 peak라고 보기 어려우며, 또 다른 shikonin 유도체 화합물이거나 다른 물질일 것으로 추정되었다. 이처럼 shikonin 유도체 화합물의 큰 분자구조가 열, 산, 알칼리에 의해 가수분해되어 쉽게 적은 분자로 나누어지므로 기존보고에서는 인위적인 유도체 화합물로 만들어 물질을 확인한 것으로 보인다(5-7,19)

Shikonin 화합물 구조 확인

야생 및 재배 지치의 n-hexane 분획물의 구성 물질을 HPLC 상에서 표준품의 shikonin과 deoxyshikonin의 RT 비교만 가지고 정확한 물질동정을 했다고 할 수 없으므로 분취 HPLC를 이용해 shikonin으로 추정되는 compound I 과 deoxyshikonin으로 추정되는 compound II의 물질을 받아 ^1H , ^{13}C -NMR 스펙트럼을 이용해서 구조 확인을 실시하였다.

분리된 compound I 에 대하여 ^1H -NMR(300 MHz, CDCl_3)를 측정 한 결과는 δ 12.59(1H, s), 12.48(1H, s), 7.19(2H, d, $J=1.37$), 7.16(1H, $J=1.22$), 5.21(1H, m), 4.91(1H, m), 2.62(1H, m), 2.45(1H, s), 2.35(1H, m), 1.76(3H, d, $J=0.76$),

1.65(3H, s)에서 proton이 16개 관찰되었다. 또한 분리된 compound I 에 대하여 ^{13}C -NMR(75 MHz, CDCl_3)를 측정 한 결과는 δ 180.81, 180.00, 165.81, 165.20, 151.74, 137.63, 132.63, 132.57, 132.14, 118.74, 112.28, 111.80, 68.59, 35.93, 26.21, 18.35로 carbon이 16개 관찰되었다. 이러한 모든 분석 결과는 Table 1에서 보는 바와 같이 화학식이 $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_5$ 이며, 분자량은 288.3의 shikonin 화합물로 확인되었는데 이는 표품의 NMR 측정 결과와 일치하였고, Yoo(20)와 Hiroshi 등(21)의 지치성분 구조분석 결과와 일치하였다.

분리된 compound II 에 대하여 ^1H -NMR(300 MHz, CDCl_3)를 측정 한 결과는 δ 12.62(1H, s), 12.46(1H, s), 7.20(2H, s), 6.84(1H, dd, $J=1.22, 1.22$), 5.14(1H, m), 2.63(2H, m), 2.32(2H, q, $J=7.50$), 1.70(3H, d, $J=1.07$), 1.61(3H, dd, $J=1.07, 0.92$)에서 proton이 16개 관찰되었다. 한편 compound II 에 대하여 ^{13}C -NMR(75 MHz, CDCl_3)를 측정 한 결과는 δ 183.36, 183.30, 163.11, 162.45, 151.73, 134.77, 133.89, 131.38, 131.07, 122.18, 111.94, 29.93, 26.79, 25.93, 18.05로 carbon이 16개 검출되었다. 이러한 모든 결과는 Table 2에서와 같이 화학식이 $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_4$ 이며, 분자량은 272.3의 deoxyshikonin 화합물로 확인되었는데(Fig. 3) 이는 표품의 NMR 측정 결과와 일치하였는데 이러한 결과는 Yoo(20)와 Hiroshi 등(21)의 지치성분 구조분석 결과와 일치하였다.

Table 1. ^1H and ^{13}C -NMR chemical shift of the compound I isolated of n-hexane fraction from gromwell (300 and 75 MHz, CDCl_3)

Proton and carbon No.	Compound I (ppm)	
	δ H	δ C
1	12.59 (1H, s)	180.81 (non-protonated carbon)
2	12.48 (1H, s)	180.00 (non-protonated carbon)
3		165.81 (non-protonated carbon)
4		165.20 (non-protonated carbon)
5		151.74 (non-protonated carbon)
6	7.16 (1H, $J=1.22$)	137.63
7	7.19 (1H, d, $J=1.37$)	132.63
8	7.19 (1H, d, $J=1.37$)	132.57
9		132.14 (non-protonated carbon)
10	5.21 (1H, m)	118.74
11		112.28 (non-protonated carbon)
12	2.45 (1H, s)(-OH)	111.80
13	4.91 (1H, m)	68.59
14	2.35 (1H,m), 2.62 (1H, m)	35.93
15	1.76 (3H, d, $J=0.76$)	26.21
16	1.65 (3H, s)	18.35

Table 2. ^1H and ^{13}C -NMR chemical shift of the compound II isolated of n-hexane fraction from gromwell (300 and 75 MHz, CDCl_3)

Proton and carbon No.	Compound II (ppm)	
	δ H	δ C
1	12.62 (1H, s)(-OH)	183.36 (non-protonated carbon)
2	12.46 (1H, s)(-OH)	183.30 (non-protonated carbon)
3		163.11 (non-protonated carbon)
4		162.45 (non-protonated carbon)
5		151.73 (non-protonated carbon)
6	6.84 (1H, dd, $J=1.22, 1.22$)	134.77
7		133.89 (non protonated carbon)
8	7.20 (1H, s)	131.38
9	7.20 (1H, s)	131.07
10	5.14 (1H, m)	122.61
11		112.18 (non-protonated carbon)
12		111.94 (non-protonated carbon)
13	2.63 (2H, m)	29.93
14	2.32 (2H, q, $J=7.50$)	26.79
15	1.70 (3H, d, $J=1.07$)	25.93
16	1.61 (3H, dd, $J=1.68, 0.92$)	18.05

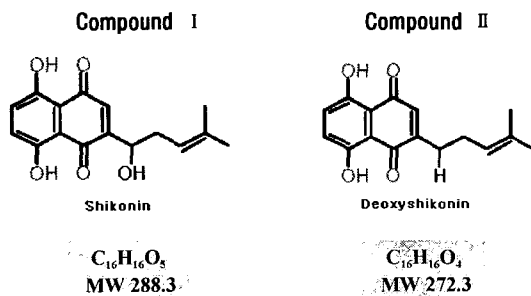


Fig. 3. Chemical structures of the compound isolated of n-hexane fraction from gromwell.

Shikonin 화합물 정량

야생 및 재배 지치의 n-hexane 분획물의 구성 물질로 밝혀진 shikonin과 deoxyshikonin 화합물의 정확한 품질 지표 설정을 위해 함량을 측정하였다. 이때 shikonin과 deoxy-

shikonin의 표준 각각에 대하여 농도와 peak 면적으로 검량 선을 구하였다. 이를 기준으로 하여 야생 및 재배 지치 n-hexane 분획물의 shikonin과 deoxyshikonin 함량을 Table 3과 같이 계산하였다. 야생 및 재배지치에서의 n-hexane 분획물의 중량 당 shikonin의 함량은 야생지치가 2.23%, 재배지치가 2.24%이었고, n-hexane 분획물의 중량 당 deoxyshikonin의 함량은 야생지치가 0.87%, 재배지치가 0.41%로

Table 3. Content of isolated compounds in n-hexane fraction from gromwell by HPLC-MS

Gromwell	Content (%)		
	Shikonin	Deoxyshikonin	Total
Wild	2.23 \pm 0.00 ¹⁾	0.87 \pm 0.01	3.12 \pm 0.03
Cultivated	2.24 \pm 0.02	0.41 \pm 0.03	2.64 \pm 0.03
t-value (p-value)	1.40 (0.23)	-24.01* (<0.01)	20.90* (<0.01)

¹⁾Values are mean \pm SD (n=3). *p<0.05.

측정되었다.

결론적으로 지치에 있어서 shikonin과 deoxyshikonin 물질의 총함량은 야생지치가 3.12%, 재배지치가 2.64%로서 야생지치가 재배지치보다 약 0.48%로 많았다($p < 0.05$). 다만 shikonin과 deoxyshikonin 이외의 다른 acetylshikonin, teracrylshikonin, isovalerylshikonin, isobutyrylshikonin, propionylshikonin, α -methyl-n-butylshikonin, β, β -dimethylacrylshikonin, β -hydroxyisovalerylshikonin 등의 유도체 화합물이 더 존재할 수도 있으므로 야생 및 재배지치에 대해 shikonin 유도체 화합물의 총량을 비교하는 것은 무리라고 추정되었다.

한편, Tetsuya(22)는 지치와 유사한 shiunko(Japanese traditional medicine plant)에 대하여 야생 및 재배의 shikonin 함량을 비교하였는데, 이때 shiunko를 chloroform로 추출한 후 알칼리에 가수분해하여 shikonin을 안정된 화합물로 만들어 HPLC로 정량하여 야생 shiunko 1.15%, 재배 shiunko 0.14% 정도로서 야생 shiunko가 함량이 높다고 밝혔다.

지치의 적색 색소는 일반적으로 p-quinoid 구조를 가진 naphthoquinone 유도체로서 야생 및 재배 지치의 물질 분석에서 검색된 결과에서와 같이 shikonin 및 그의 유도체 화합물로 구성되어 있는데 산출지 및 재배 방법 등의 품질 결정 요소에 따라 지치를 구성하는 화합물이 달라질 수 있다고 전하는 기존 보고와 같은 경향으로 확인되었다(18).

요 약

야생 및 재배지치의 methanol 추출물로 조제한 n-hexane 용매 분획물에 대하여 shikonin 및 그 유도체 화합물을 표품으로 해서 HPLC/MS로 물질을 분리하였다. 분리된 물질의 구조 확인을 위해 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 을 통해 분석한 결과, compound I 은 화학식이 $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_5$ 이며 분자량이 288.3인 shikonin이었고, compound II는 화학식이 $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_4$ 이며 분자량이 272.3인 deoxyshikonin 것으로 밝혀내었다. 야생지치에 함유된 shikonin과 deoxyshikonin은 2.23%, 0.87%이었고, 재배지치에는 각각 2.24%, 0.41%이었다. 지치의 동정된 색소물질 총량은 야생지치 3.12%, 재배지치 2.64%로 야생지치가 재배지치보다 유의적으로 많았다($p < 0.05$).

문 헌

1. 이창복. 2003. 대한식물도감(하). 향문사, 서울. p 97-107.
2. 이춘녕, 김우정. 1985. 천연향신료와 식용색소. 향문사, 서울.
3. Kyogoku K, Terayama H, Tachi Y, Suzuki T, Komatsu M. 1973. Studies on the constituents of "Shikonin" I. Structure of three new shikonin derivatives and isolation of anhydroalkannin. *Shoyakugaku Zasshi* 27: 24-30.
4. Hsu HY, Chen YP, Hong M. 1982. *The chemical constituents*

5. Hisamichi S, Yoshizaki F. 1982. Studies on the shikonin I. Structures of new minor pigments and isolation of two isomers of shikonin derivatives from *Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc. *Shoyakugaku Zasshi* 36: 154-159.
6. Morito L, Kishi T, Ikegami S. 1985. Naphthoquinone derivatives from *Lithospermum erythrorhizon* Siebold et Zuccarint. *Tetrahedron Letters* 52: 4739-4745.
7. Morito I, Hirata Y. 1966. New naphthoquinone derivatives from *Lithospermum erythrorhizon*. *Tetrahedron Letters* 31: 3677-3680.
8. Tang W, Eisenbrand G. 1992. *Chinese drugs of plant origin*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany. p 613-619.
9. Schmid HV, Zenk MH. 1971. p-Hydroxybenzoic acid and mevalonic acid as precursors of the plant naphthoquinone alkanin. *Tetrahedron Letters* 44: 4151-4158.
10. Tusukada M, Fukui H, Hhabara C, Tabata M. 1983. Comparative studies on naphthoquinone derivatives in various crude drugs "Zicao (shikonin)". *Shoyakugaku Zasshi* 37: 299-303.
11. 谷村顯雄, 片山條, 遠藤英美, 黒川和男, 吉積智司. 1979. 天然着色料. 光琳, 東京. p 373-403.
12. Han TY, Back YS, Kim SY, Jung YS, Yoon HY. 1998. Development and utilization of natural food colorants. Korea Food Institute, Sungnam, Korea.
13. Hwang SY, Hwang BY, Kang SS, Kim CM, Park JH, Bae KH, Son KH, Lee SH, Chang SY, Kamg SJ, Lee KS. 2000. Isolation and quantitative analysis of acetylshikonin from *Lithospermum radix*. *Kor J Pharmacogn* 31: 295-299.
14. Konnol C, Mizuno T, Hikino H. 1985. Isolation and hypoglycemic activity of *Lithospermum erythrorhizon* roots. *Planta Medica* 51: 157-158.
15. Kang MY, Shin SY, Nam SH. 2003. Correlation of antioxidant and antimutagenic activity with content of pigments and phenolic compounds of colored rice seeds. *Korean J Food Sci Technol* 35: 968-974.
16. Kim JS. 2005. Identification of coloring substance from *Lithospermum erythrorhizon* and the quality of *Kangjung* with its extract. *PhD Dissertation*. Sookmyung Women's Univ., Seoul, Korea.
17. Kim BH, Park KW, Kim JY, Jeoung IY, Yang GH, Cho YS, Yee ST, Seo KI. 2004. Purification and characterization of anticarcinogenic compound from *Corni fructus*. *Korean J Food Sci Tech* 36: 1001-1007.
18. Lee JH. 1996. The antioxidizing, nitrate-scavenging and antimutagenic activities of *Ecklonia stolonifera*. *MS Thesis*. Bukyoung National Univ., Busan, Korea.
19. Nishida K, Kobayash K. 1992. Dyeing properties of natural dyes under aftertreatment using metallic mordants. *American Dyestuff Reporter* 81(5): 61-63.
20. Yoo KS. 1980. Studies on an analytical method and indicative characters on shikonin. *PhD Dissertation*. Seoul Univ., Seoul, Korea.
21. Hiroshi F, FerojHasan AFM, Tomohiro U, Masaharu K. 1998. Formation and secretion of new brown benzoquinone by hairy root cultures of *Lithospermum erythrorhizon*. *Phytochemistry* 47: 1037-1039.
22. Tetsuya A, Changqi Z, Hajime M, Keisuke K, Toshihiro Y, Shirou F, Setsuko S, Motoyoshi S, Yukio O. 2000. Quantitative determination of shikonin on Shiunko. *Natural Medicine* 54: 81-85.

(2005년 11월 3일 접수; 2006년 1월 31일 채택)