

HPLC/DAD를 이용한 6種 牛膝의 분류기준 연구

— 牛膝(쇠무릎, *Achyranthes japonica* N_{AKAI})로부터 20-hydroxyecdysone
분리·동정 및 산지별 우슬의 HPLC 패턴 비교 —

김정희**, 김종문, 강대훈

우석대학교 한의과대학 본초학교실

A Study on Discriminative Criteria of 6 Kinds of *Achyranthis Radix* Using HPLC/DAD

Isolation and Identification of 20-hydroxyecdysone from *Achyranthes japonica* N_{AKAI}
and Comparison of Patterns of *Achyranthis Radix* from Different Locations by
HPLC

Jeong-Hi Kim, Jong-Mun Kim, Dae-Hoon Kang

Dept. of Herbology, College of Oriental Medicine, Woosuk University

ABSTRACT

Objectives : This study was performed to investigate the discriminative criteria of 6 kinds of *Achyranthis Radix* by HPLC/DAD.

Methods : 20-hydroxyecdysone is isolated by silica gel column chromatography (CHCl₃:MeOH, 7:1-1:1 v/v) and identified by nuclear magnetic resonance. A high-performance liquid chromatographic method with diode array detection was used to identify 20-hydroxyecdysone in *A. japonica*. The analysis was performed using C₁₈ column with isocratic elution consisted of 18% acetonitrile and 82% water and the detection was carried out by DAD at 254 nm. 6 kinds of *Achyranthis Radix* from different locations were extracted in MeOH. Each extracts was analyzed by HPLC in same condition as used in analysis of 20-hydroxyecdysone. The identities of each extracts were determined by comparing the retention time and UV spectrum with that of reference compound.

Results : 1. *A. japonica* and *A. bidentata* showed the similar patterns of HPLC chromatogram and 20-hydroxyecdysone was present in both of them because the peaks having the same retention time and UV spectrum as 20-hydroxyecdysone were shown in the HPLC chromatograms of *A. japonica* and *A. bidentata*. 2. *Cyathula officinalis* and *C. capitata* showed the similar patterns of HPLC chromatogram. The peak having the same retention time and UV spectrum as 20-hydroxyecdysone was shown in the HPLC chromatogram of *C. capitata* but not shown in the HPLC chromatogram of *C. officinalis*. 3. Two species of medicinal drugs from Sacheon province showed similar patterns of HPLC chromatogram. *Achyranthis Radix* from Sacheon(wild) did not have 20-hydroxyecdysone but *Achyranthis Radix* from Sacheon(cultivated) showed the peak having the same retention time as 20-hydroxyecdysone but UV

spectrum of the peak was different from that of 20-hydroxyecdysone.

Conclusions : These results suggested that 20-hydroxyecdysone could be the discriminative criteria for *Achyranthis Radix* contain 20-hydroxyecdysone though they belong to different genus and species. And the patterns of HPLC chromatogram also could be the discriminative criteria as the different species of *Achyranthis Radix* belonging to the same genus showed similar patterns of HPLC chromatogram.

Key Words : NMR, HPLC/DAD, 20-hydroxyecdysone, *Cyathula*, *Achyranthes*

서론

최근 良質의 한약재를 찾고자 하는 요구는 높아지고 있으며 한의학계는 이러한 요구에 부응해야 할 필요성을 절감하고 있는 상황이다. 근래에 이루어지는 한약재에 대한 기본적인 각종 연구¹⁾의 根幹은 이러한 필요성에 바탕을 두고 있으며, 이를 토대로 다음 단계의 연구가 이루어지고 이러한 연구 결과들이 연관분야에 응용되고 있다. 그 내용을 보면 한약재의 基原을 위시로 한 客觀성의 확보와 그에 따른 유효성의 확대까지 매우 많은 부분을 포괄하고 있는 것을 알 수 있다. 하지만 실제적인 면에서의 접근은 여전히 부분적으로 이루어지고 있으며 이 또한 초보적인 수준에 머물고 있다고 말할 수 있다. 이번 연구는 위에서 언급한 부분에 있어 조금 더 실제적인 접근을 하고자 진행하였다.

牛膝은 비름과(莧科 *Amaranthaceae*)에 속한 懷牛膝(*Achyranthes bidentata* BLUM)과 土牛膝(쇠무릎, *A. japonica* NAKAI), 川牛膝(*Cyathula officinalis* KAUN)의 뿌리를 건조한 것으로, 한국·중국·일본의 경우 나라에 따라 기원식물을 구분하여 사용하고 있다²⁻⁵⁾.

지금까지 牛膝에 대해 각종 문헌과 실제적인 연구진행⁶⁻¹¹⁾을 통하여 보다 良質의 한약재를 선택하는 기준이 마련되어 왔으며, 후속연구를 통하여 이를 입증 혹은 보완을 한 바 있다. 이의 다음단계는 각종 牛膝類에 대한 이화학패턴을 통한 기준정립이며, 최종단계는 역시 효능에 근거한 감별기준의 정립이 되어야 할 것이다.

현재 효능에 따른 牛膝의 구분으로, 중국에서 수입되는 牛膝은 통칭 川牛膝이라고 불리는데, 여기에는 懷牛膝을 포함하여 麻牛膝(*Cyathula capitata*) 혹은 牻牛膝(川牛膝) 등이 혼입되어 있다. 이중 懷牛膝은 補肝腎強筋骨의 작용이 있어 腰膝酸軟 등의 증상에 주로 쓰이는데 이때에는 주로 蒸하여 사용된다. 국산 牛膝인 土牛膝(쇠무릎)과 수입산인 麻牛膝 혹은

은 牻牛膝(川牛膝)은 活血祛瘀의 효능이 강하므로 破血劑 등에 응용되며, 주로 生用한다. 이를 이론적으로 세분하면, 懷牛膝은 補肝腎強筋骨, 土牛膝은 清熱解毒·利尿, 川牛膝은 活血祛瘀·通利關節, 麻牛膝은 祛風利濕·活血通經의 효능이 있는 것⁴⁾으로 구분된다.

대한약전에는 牛膝을 懷牛膝과 土牛膝(쇠무릎)로 인정하고 있으나 이론상 효능으로 보면 懷牛膝은 虛證에 대해 補하는 작용을 하고, 土牛膝은 實證에 대해 瀉하는 작용을 하여 서로 반대의 작용을 한다고 볼 수 있다. 식물 분류상으로 이 둘은 모두 *Achyranthes*屬에 속하는 식물로 이론상으로 구분된 효능차이가 실제 약재에서 어느 정도 유의성이 있게 나타나는지에 대해 확인할 필요가 있다.

그리고 중국에서 유통되는 懷牛膝, 川牛膝, 麻牛膝 또한 각각 *Achyranthes*屬, *Cyathula*屬으로 구분되어 식물분류상 서로 다른 屬에 속하는 식물이지만 현재 牛膝로 통용되어 유통되고 있으므로 이에 대한 구분의 타당성 또한 검토해 봐야 한다.

최근 牛膝에 대한 연구가 많이 이루어져, 이제까지 밝혀진 쇠무릎에 관한 성분으로 triterpenoids, polysaccharide, phytoecdysteroid 등이 보고되었다^{12,13)}. 본 연구에서는 土牛膝(쇠무릎)의 약효성분인 20-hydroxyecdysone을 분리·정제하여 지표물질로 확보하고 국내에서 유통되고 있는 牛膝의 품질확보 및 규격기준을 설정하고자 하였다.

지표물질로 선정된 20-hydroxyecdysone은 쇠무릎(*A. japonica*)의 주요성분이며 1개의 ketone기를 가지고 있어 UV검출기에 검출이 용이하므로 이를 지표물질로 선정하여 품질 및 분류기준으로 삼았다. 그리고 현재 牛膝로 유통되는 쇠무릎, 懷牛膝, 川牛膝, 麻牛膝 그리고 중국 운남성 牛膝(야생, 재배)에 대해 HPLC를 이용하여 패턴분석을 실시하였으며, 同屬異種, 異屬 牛膝 간의 차이점에 대한 유의한 결과를 얻었기에 그 결과를 보고하는 바이다.

실험재료 및 방법

1. 실험재료

(1) 약재

국내 지역의 여러 지역에서 牛膝로 유통되고 있는 쇠무릎(AC1), 懷牛膝(하남성재배, AC2), 川牛膝(사천성 재배, AC3), 麻牛膝(AC4), 중국 운남성 야생 牛膝(AC5), 중국 운남성 재배 牛膝(AC6)의 건조 약재를 시중 견계약방에서 구입하여 분쇄기로 분말로 제조한 다음 시료로 사용하였다.

(2) 시약 및 기기

Open Column chromatography 충전용 silica gel로는 Kiesel gel 60(40-60 mm, 230-400 mesh, Art. 9385, Merck, Germany)을 사용하였고, thin layer chromatography(TLC)용 plate로는 precoated silica gel Kiesel gel 60 F254(5715, Merck, Germany), 발색시약으로는 10% H₂SO₄를 사용하였다. 추출 및 분리용 유기용매는 Koryo pure chemical Eng. Co., Ltd.(Korea) 제품을 사용하였으며 HPLC용 유기용매는 Fisher Scientifics (Germany) 제품을 사용하였으며 기타 시약은 특급시약을 사용하였다. 본 연구에 지표물질의 분리에 사용한 prep-HPLC는 JAIGEL(W252-W253, Japan), 구조동정에 사용한 NMR은 Bruker DMX-500을 사용하였다.

2. 방법

(1) 지표물질의 분리 및 동정

陰乾하여 細切한 쇠무릎(770g)을 70% MeOH로 70℃에서 8시간 2회 열수추출하였다. 추출액을 여과한 뒤 감압 농축하여 MeOH 추출물(75g)을 얻었다. MeOH 추출물을 증류수에 현탁시킨 후 같은 양의 hexane으로 분획을 하였다. 이 분획물을 각각 n-BuOH로 분획하였다.

그 중에서 20-hydroxyecdysone이 함유되어 있는 n-BuOH 분획물 13.9g을 얻어 증류수로 2회 세척하여 7.2g을 얻었다. 이 7.2g을 silica gel column chromatography(Merck Kieselgel 60 ; 0.063-0.2 mm particle size; 3×20cm)를 이용하여 CHCl₃ : MeOH(7:1-1:1 v/v) 혼합용매로 용출시킨 후 분획을 6개(B1-B6)를 얻었다. 이중 분획 5의 0.82g으로부터 20-hydroxyecdysone

를 분리하기 위하여 prep-LC로(JAIGEL, W252-W253) 용매 MeOH, 검출기(UV) 252nm, retention time 58분에서 20-hydroxyecdysone이 용출되었다.

(2) HPLC 분석조건

본 실험에 사용한 HPLC는 Agilent Technologies 1200 series로서 Column은 Shim-pack HRC-ODS(5μm, 150×4.6mm)를 사용하였고, Column의 온도는 35℃로 유지하였으며, 이동상은 CH₃CN-H₂O(18:82), Flow rate은 1.0mL/min, 검출기는 UV 254nm이었다.

(3) 검액의 제조

시중에서 구입한 6種 牛膝(쇠무릎, 懷牛膝, 川牛膝, 麻牛膝, 중국 운남성 야생 牛膝, 중국 운남성 재배 牛膝)을 분쇄한 후 각각 10g씩 취한 뒤 MeOH을 가하여 60℃에서 2시간씩 환류 추출한 후 여과하여 감압농축한다. 이 농축물 중 20mg을 1mL MeOH에 녹인 다음 0.45μm micro filter로 여과 하여 검액으로 사용하였다.

결 과

1. 지표물질 구조동정

분리한 화합물은 백색 무정형 가루로 TLC 분석 시 CHCl₃ : MeOH (7 : 1)의 전개용매 조건에서 Rf치가 0.59였다. 이를 10% H₂SO₄ 발색 시 진한 갈색을 나타내었다.

¹H-NMR spectrum을 Fig. 2에 나타냈으며 Fig. 2에서 δ 0.89(3H, s, H-18), 0.96(3H, s, H-19) 및 1.20 (9H, s, H-21, 26 and 27)에서 5개의 methyl기를 확인할 수 있었다. 또한 하나의 olefinic proton이 δ 5.81(1H, d, J = 2.1Hz, H-7)에서 확인할 수 있었다. 또한 Fig. 3의 ¹³C-NMR spectrum에서는 carbon signal이 27개이고, 특히 C-6이 δ 206.6에서 1개의 ketone 있음을 확인할 수 있었다. Carbon의 종류를 알기위해 Fig. 4의 DEPT spectrum으로부터 7개 C, 7개 CH, 8개의 CH₂ 및 5개 CH₃ 등 27개의 탄소를 확인할 수 있었다. COSY, HMBC, HMQC 및 ROESY 등 기기분석 결과(Fig. 5~8) 및 문헌¹²⁾과의 비교로 20-hydroxyecdysone으로 확인 동정하였다(Fig 1)

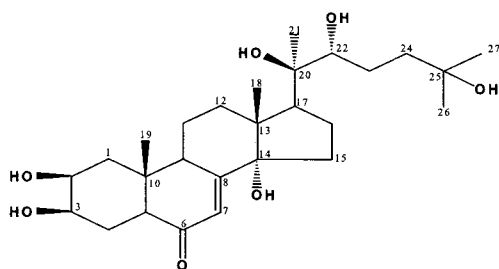


Fig. 1. Chemical structure of 20-hydroxyecdysone

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ 0.89 (3H, s, H-18), 0.96 (3H, s, H-19), 1.20 (9H, s, H-21, 26 and 27), 2.36-2.40 (2H, m, H-5 and H-17), 3.15 (1H, m, H-9), 3.31 (1H, d, $J = 10.0\text{Hz}$, H-22), 3.85 (1H, m, H-2), 3.94 (1H, brd, $J = 2.4\text{Hz}$, H-3), 5.81 (1H, d, $J = 2.1\text{Hz}$, H-7). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD): δ 206.6 (C-6), 168.1 (C-8), 122.2 (C-7), 85.3 (C-14), 78.5 (C-22), 78.0 (C-20), 71.4 (C-25), 68.8 (C-2), 68.6 (C-3), 51.9 (C-5), 50.6 (C-17), 49.7 (C-13), 42.5 (C-24), 39.4 (C-10), 37.5 (C-1), 35.2 (C-9), 33.0 (C-11), 32.6 (C-4), 31.9 (C-15), 29.8 (C-27), 29.0 (C-26), 27.4 (C-23), 24.5 (C-19), 21.67 (C-16), 21.64 (C-10), 21.1 (C-21), 18.1 (C-18).

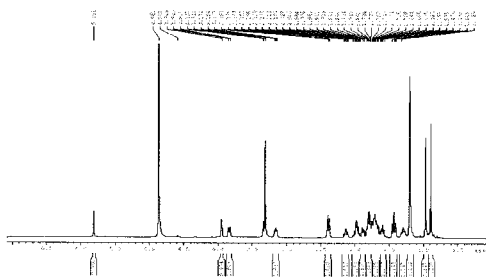
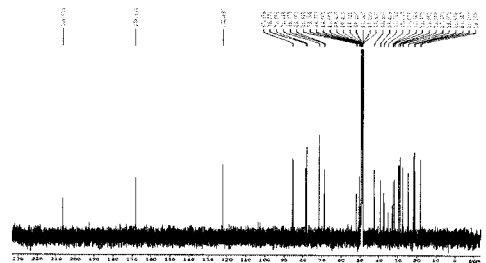
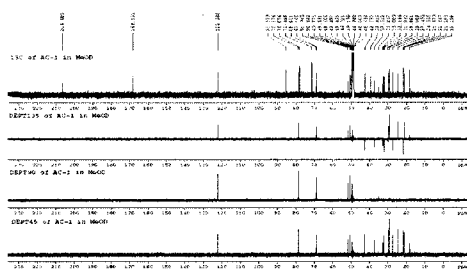
Fig. 2. $^1\text{H-NMR}$ spectrum of 20-hydroxyecdysone (500MHz, CD_3OD)Fig. 3. $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of 20-hydroxyecdysone (125MHz, CD_3OD)

Fig. 4. DEPT spectrum of 20-hydroxyecdysone

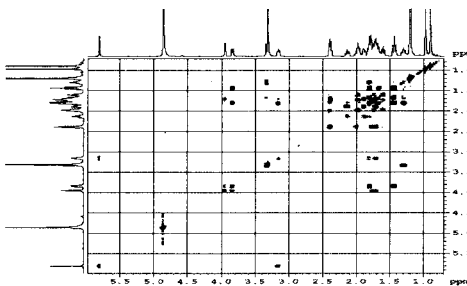


Fig. 5. COSY spectrum of 20-hydroxyecdysone

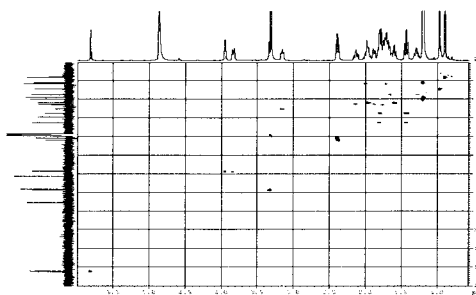


Fig. 6. HMQC spectrum of 20-hydroxyecdysone

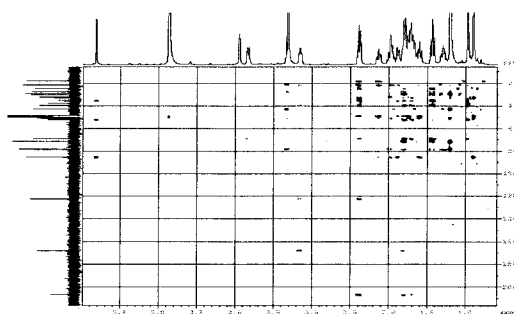


Fig. 7. HMBC spectrum of 20-hydroxyecdysone

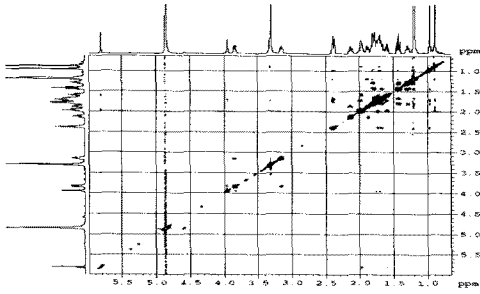


Fig. 8. ROESY spectrum of 20-hydroxyecdysone

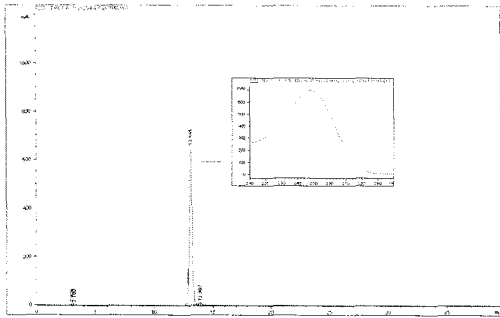


Fig. 9. HPLC chromatogram of 20-hydroxyecdysone

인 chromatogram 패턴에서 유사한 형태를 나타냈다. 지표물질인 20-hydroxyecdysone에 해당하는 peak이 각각 13.116분, 13.232분에서 주요 성분으로 검출되었고 이 성분의 UV spectrum 또한 지표물질과 일치하였다. 두 약재 간에 지표물질을 나타내는 peak 이외에 16.054분, 23.877분 및 16.229분, 23.113분에 나타나는 두드러지는 peak에 대한 UV spectrum 비교에서도 서로 일치하는 패턴을 나타내었다. 그리고 쇠무릎에서는 보이지 않는 peak가 懷牛膝에서 9.225분에 나타났었다(Fig. 10, 11).

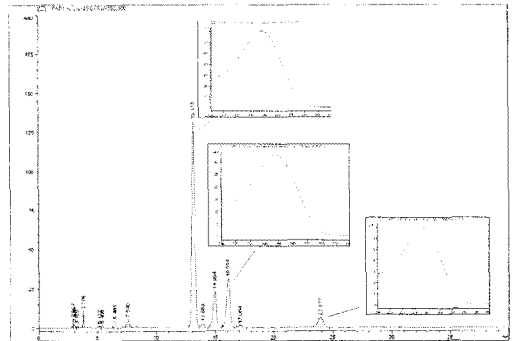


Fig. 10. HPLC chromatogram of extract of *A. japonica*

2. 지표물질에 대한 HPLC 분석

국내에서 유통되는 6종의 牛膝에 대한 20-hydroxyecdysone 표준품을 대조 물질로 하여 HPLC pattern을 비교 하였다.

쇠무릎의 성분 중 지표물질인 20-hydroxyecdysone을 분리하여 ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR data를 기준 문헌 내용과 비교한 결과 문헌¹²⁾의 보고와 완전히 일치하였다.

6종 牛膝 중의 20-hydroxyecdysone의 분석조건을 검토하기 위하여 HPLC chromatogram을 얻고 이들을 비교해 본 결과 CH₃CN : H₂O(18:82)를 이동상으로 하였을 때 분리능이 가장 좋았다. 이때 20-hydroxyecdysone에 대한 HPLC chromatogram을 Fig. 9에 나타내었다. 20-hydroxyecdysone에 해당하는 peak는 13.145분에서 검출되었다(Fig. 9).

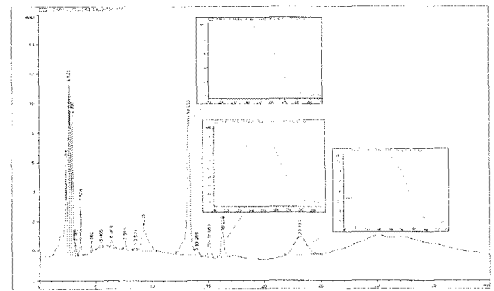


Fig. 11. HPLC chromatogram of extract of *A. bidentata*

3. 6종 牛膝의 HPLC pattern 비교

이상의 조건에서 6종의 牛膝로 제조된 검액으로 HPLC 분석을 실시하여 Fig. 10~15에 나타냈다.

(1) *Achyranthes*屬 牛膝의 HPLC 분석 결과

쇠무릎(AC1)과 懷牛膝(하남성재배, AC2)은 전체적

(2) *Cyathula*屬 牛膝의 HPLC 분석 결과

川牛膝(사천성재배, AC3)과 麻牛膝(AC4) 역시 전체적인 chromatogram상에서 비슷한 패턴을 보였다. 하지만 川牛膝에서 13.190분에 나타나는 peak은 지표물질인 20-hydroxyecdysone의 UV spectrum과는 전혀 다른 패턴을 보였다. 麻牛膝에서도 역시 13.103분에 peak이 나타나는데 이는 지표물질인 20-hydroxyecdysone의 UV spectrum과 비슷한 양상을 나타내었다. 이 두 종의 牛膝에서 각각 26.964분, 25.746분에 두드러지는 peak이 나타나는데, 각 peak의 UV spectrum 모두 두 종간에 유사한 패턴

을 보였다. 그리고 두 약재에서 각각 8.785분, 16.193분 및 8.759분, 16.055분에 나타나는 peak의 UV spectrum 역시 비슷한 패턴을 보였다(Fig. 12, 13).

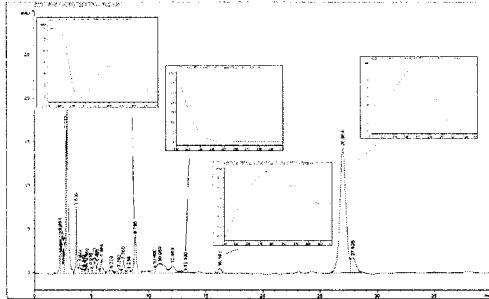


Fig. 12. HPLC chromatogram of extract of *C. officinalis*

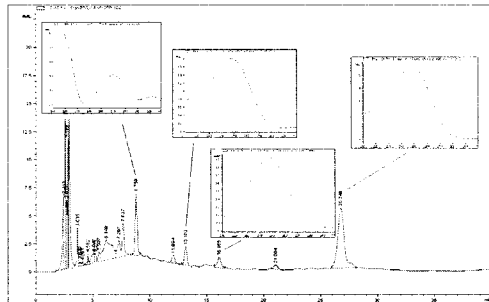


Fig. 13. HPLC chromatogram of extract of *C. capitata*

(3) 운남성 牛膝의 HPLC 분석 결과

운남성 야생 牛膝(AC5)과 운남성 재배 牛膝(AC6)에서 전체적인 chromatogram 패턴이 유사하게 나타났다. 이 두 약재에서는 지표물질인 20-hydroxyecdysone은 검출되지 않았다. 반면 두 약재에서 각각 26.507분, 31.612분 및 26.766분, 31.537분에서 두드러지는 peak이 나타났고, 이중 26분대에 나타나는 peak의 UV spectrum은 서로 유사하였다. 그리고 AC6에서는 AC5에서 나타나지 않은 peak들이 더 나타났다(Fig. 14, 15).

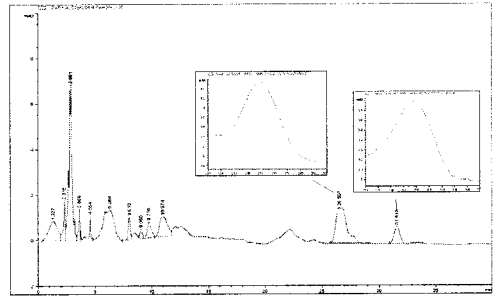


Fig. 14. HPLC chromatogram of extract of *Achyranthis Radix* from Sacheon(wild)

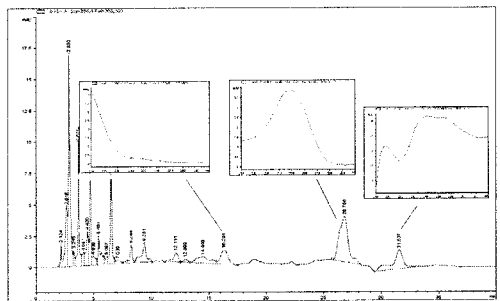


Fig. 15. HPLC chromatogram of extract of *Achyranthis Radix* from Sacheon(cultivated)

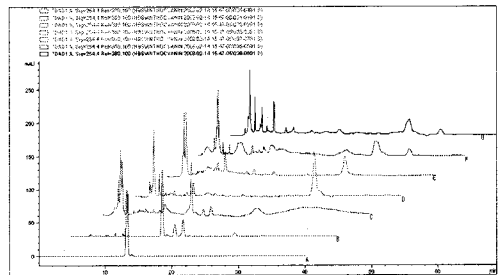


Fig. 16. HPLC chromatograms of 20-hydroxyecdysone and extracts of *Achyranthis Radix*

(A) 20-hydroxyecdysone; (B) *A. japonica*; (C) *A. bidentata*; (D) *C. officinalis*; (E) *C. capitata*; (F) *Achyranthis Radix* from Sacheon(cultivated); (G) *Achyranthis Radix* from Sacheon(cultivated)

Table 1. The condition of HPLC analysis

Column	Shimadzu Shim-Pack HRC-ODS (5µm, 150×4.6mm)
Mobile phase	Acetonitrile:water=18:82
Temperature	35°C
Flow rate	1.0mL/min
Detector	UV 254nm

고찰

쇠무릎(AC1)과 懷牛膝(하남성재배, AC2)에서 모두 20-hydroxyecdysone이 검출됨으로써 지표 물질을 포함하고 있음을 알 수 있고 두 약재의 전체적인 HPLC chromatogram이 비슷하게 나타난다. 하지만

懷牛膝의 HPLC chromatogram에서 최무릎에 없는 peak들이 있는 것으로 보아 이 둘의 유사성은 인정되나 몇 가지 성분에서 약간의 차이를 보인다고 할 수 있다.

이 두 종 약재는 모두 *Achyranthes*屬에 속하는 식물로 種이 다르더라도 屬이 같은 경우 비슷한 양상의 HPLC chromatogram이 나타나는 것을 알 수 있다. *Achyranthes*屬에 속하는 牛膝類에서 懷牛膝(*A. bidentata*)은 補肝腎強筋骨, 土牛膝(*A. japonica*)은 清熱解毒·利尿로 이론상으로는 상반된 효능을 보이지만 실제 HPLC chromatogram상에서는 유사한 패턴을 보이는 것으로 미루어 볼 때, 이화학적 패턴으로는 이 두 약재 간 효능이 서로 유사하다고 추정된다. 이 두 종 약재에 대한 효능의 차이를 추가로 확인하기 위해서는 유전자 감식, 생리활성 탐색 등의 다양한 연구가 필요하다.

川牛膝(AC3)과 麻牛膝(AC4) 또한 전체적인 HPLC chromatogram상으로는 서로 비슷한 패턴을 보였다. 하지만 川牛膝에서 13.190분에 나타나는 peak은 지표물질인 20-hydroxyecdysone와는 UV spectrum에서 서로 다르게 나타나 川牛膝에는 20-hydroxyecdysone이 함유되어 있지 않는 것으로 추정된다. 이와는 반대로 麻牛膝에서는 13.103분에 나타나는 peak이 지표물질과 retention time 및 UV spectrum이 비슷하여 麻牛膝에는 20-hydroxyecdysone이 함유되어 있는 것으로 볼 수 있다.

川牛膝과 麻牛膝은 모두 *Cyathula*屬에 속하는 식물로 이 두 식물간의 種은 다르지만 같은 屬에 속하여 서로 비슷한 성분을 함유하고 있는 것으로 볼 수 있다. 한편 20-hydroxyecdysone을 기준으로 할 때에는 麻牛膝이 *Achyranthes*屬과 가까운 종으로 추정할 수 있었다. 川牛膝과 麻牛膝의 경우 이론상 서로 유사한 효능을 지니고 있다고 볼 수 있고, 실제 HPLC chromatogram에서도 비슷한 패턴이 나타나는 것으로 보아, 이화학적 패턴 분석상 麻牛膝의 효능은 川牛膝과 유사함을 확인할 수 있었다.

또한 기원이 확인된 4종의 牛膝(土牛膝, 懷牛膝, 川牛膝, 麻牛膝)에서 약 16분대에 나타나는 peak의 UV spectrum이 비슷하게 보이고 있어 차후에 이 성분에 대한 연구가 필요한 것으로 보인다.

한편 운남성 야생 牛膝(AC5)과 운남성 재배 牛膝(AC6)의 전체적인 HPLC chromatogram이 서로 비슷한 양상을 보이고 AC6에서 AC5에 없는 peak이 추가로 나타남에 따라 운남성 재배 牛膝이 야생 牛膝보다 약효를 나타내는 성분이 더 많이 있음을 추정할 수 있다. 하지

만 두 약재에서 모두 20-hydroxyecdysone은 검출되지 않아 운남성에서 생산되는 약재에는 지표 물질이 함유되지 않는다고 볼 수 있고 chromatogram 패턴 역시 나머지 4종 牛膝(土牛膝, 懷牛膝, 川牛膝, 麻牛膝)의 chromatogram 패턴과는 많은 차이를 나타내고 있어 운남성에서 수입된 약재를 牛膝로 유통시키는 데 있어서는 더욱 다양한 평가기준이 요구되는 바이다.

결론

최무릎에서 20-hydroxyecdysone을 분리·동정하고 이를 바탕으로 6種 牛膝의 HPLC 분석을 시행한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. *Achyranthes*屬 牛膝에 20-hydroxyecdysone이 포함되어 있고, 두 종간 HPLC chromatogram도 유사한 양상을 보였다.

2. *Cyathula*屬 牛膝 중 麻牛膝에만 20-hydroxyecdysone이 포함되어 있고 川牛膝에는 포함되어 있지 않으나, 두 종간 HPLC chromatogram은 유사한 양상을 보였다.

3. 운남성에서 수입된 牛膝에서는 20-hydroxyecdysone이 검출되지 않았으나 두 종간 HPLC chromatogram은 유사한 양상을 보였다.

이상의 결과로 미루어 보아 20-hydroxyecdysone을 지표 물질로 선정하여 牛膝의 품질관리 및 분류기준으로 제시한 것은 타당하며, 다른 種에 속하는 牛膝이라도 屬이 같으면 효능을 나타내는 물질이 유사함을 알 수 있다. 그리고 지표 물질이 함유되지 않거나, HPLC chromatogram상에서 유사성이 발견되지 않을 경우 해당 약재의 감별에 대한 유전자 검사 또는 생리 활성의 측정 등의 연구가 추가로 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 고병섭, 주영승, 김호경, 황완균, 오승은 등. 표준한약개발연구. 2004년 보건복지부 정책과제. 2005.
2. 韓大錫, 韓德龍, 劉承兆, 白完淑. 韓國, 中國, 日本의 生藥比較研究. 永林社. 1996 : 136, 137
3. 全國韓醫科大學 本草學공동교재편찬위원회 編 : 本草學. 永林社. 2003 : 460-470.

4. 주영승 : 운곡본초학(하). 서림재. 2004 : 108-112.
5. 김종문, 강대훈, 김정희, 나승영, 주영승. 4종 牛膝의 외내부형태 연구. 大韓本草學會誌. 2007 ; 22(1) : 71-79.
6. 鄭盛旭, 林德彬, 李映鍾. 牛膝 粉末의 顯微組織에 관한 研究. 大韓本草學會誌. 2003 ; 18(4) : 109-118
7. 이영순. 한약재진위감별도감. 식품의약품안전청. 호미출판사. 2002 : 68, 69, 181, 182.
8. 毛文山, 嚴智慧, 馬興民, 劉勝利. 中藥眞僞鑑別. 陝西科學技術出版社. 1986 ; 147-152.
9. 任仁安. 中藥鑑定學. 上海科學技術出版社. 1986 : 55-58.
10. 國家中醫藥管理局 《中華本草》 編委會. 中華本草(2). 上海科學技術出版社. 1999 : 830, 831, 657-859.
11. 林靜, 于崇田, 趙叢玲. 中藥鑑定學. 中醫古籍出版社. 1999 : 49-52.
12. 손건호, 황지현, 이승호, 박정일, 강신정, 장승업, 이경순. 牛膝로부터 20-hydroxyecdysone의 분리 및 함량비교. 생약학회지. 1999 ; 30(3) : 335-339.
13. Meng DL and Li X. Progression of researchers on chemical constituents and pharmaco-activity of Radix Achyranthis Bidentatae. Journal of Chinese Medicinal Chemistry(Zhongguo Yaowuhuaxue Zazhi) ; 2001 : 11 : 120-124.