

LC-ESI-MS/MS를 이용한 평위산 주요 성분의 함량 분석

서창섭 · 신현규*

한국한의학연구원 한약연구부

Quantitative Determination of the Marker Components in Pyungwi-San Using LC-ESI-MS/MS

Chang-Seob Seo and Hyeun-Kyoo, Shin*

Herbal Medicine Research Division, Korea Institute of Oriental Medicine,
1672 Yuseong-daero, Yuseong-gu, Daejeon, 34054, Korea

Abstract – Pyungwi-san has been used to treat the digestive system diseases, physconia, nausea, anorexia, and dyspepsia in Korea. In this study, an ultra-performance liquid chromatography–electrospray ionization–mass spectrometry (UPLC-ESI-MS/MS) method was optimized for simultaneous determination of the 14 marker components, spinosin, liquiritin apioside, liquiritin, narirutin, 6''-feruloylspinosin, hesperidin, liquiritigenin, glycyrrhizin, 6-gingerol, atractylenolide III, honokiol, atractylenolide II, magnolol, and atractylenolide I in Pyungwi-san extract. All analytes were separated on a Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ analytical column (2.1×100 mm, 1.7 μm) with maintained at 45°C. The mobile phase consisted of 0.1% (v/v) aqueous formic acid and acetonitrile. The MS conditions were as follows: capillary voltage 3.3 kV, extractor voltage 3.0 V, RF lens voltage 0.3 V, source temperature 120°C, desolvation temperature 300°C, desolvation gas 600 L/h, cone gas 50 L/h and collision gas 0.14 mL/min. The coefficient of determination of 14 analytes was 0.9989–1.0000. The limits of detection and quantification values of the all analytes were 0.04–2.56 and 0.13–7.69 ng/mL, respectively. As a result of the analysis using the established LC-ESI-MS/MS method, the 5 components, spinosin, 6''-feruloylspinosin, atractylenolide III, II, and I derived from *Zizyphi Fructus* and *Atractylodis Rhizoma*, were not detected in this extract. On the other hand, the 9 components except for the 5 components were 4.15–498.87 mg/kg in lyophilized Pyungwi-san extract. Among these components, glycyrrhizin, marker compound of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*, was detected the most amount as a 498.87 mg/kg.

Keywords – Pyungwi-san, Quantitative determination, LC-ESI-MS/MS

평위산(平胃散)은宋代 陳師文의 『太平惠民和制局方』¹⁾에 최초로 수록된 처방으로蒼朮(蒼朮), 진피(陳皮), 후박(厚朴), 생강(生薑), 대조(大棗) 및 감초(甘草) 등 6종의 생약으로 구성되어 있다. 이후 우리나라에서도 許浚의 『東醫寶鑑』²⁾에 비위(脾胃)의 불화(不和)로 인한 식욕부진(食慾不振), 복통(腹痛), 오심(惡心), 복부팽만(腹部膨滿) 등 소화기계 질환을 치료하는데 사용된다고 기록되어 있으며, 한의원 처방 사용 빈도 5위와 한방의료기관 급여 한약제제 투약일수에서 6위를 차지할 만큼 사용 빈도가 높은 처방이다.³⁾ 본 처방의 현대과학적 생리활성 연구로는 galactosamine으로 유도된 간독성에 대한 보호 효과,⁴⁾ 카탈간질세포의 활성을

통한 위장관 운동 개선 효과,⁵⁾ 평위산 전탕액과 파우치의 보관 방법 및 온도에 따른 항염증 효과^{6,7)} 및 평위산 약침액을 이용한 항산화 효과⁸⁾ 등이 보고되었다. 또한 평위산의 안전성 평가를 위한 급성 및 유전 독성 연구가 보고되었다.^{1,9,10)} 평위산을 구성하는 구성 생약의 성분에 관한 연구는 창출로부터 sesquiterpenoid(atractylenolide I, II 및 III),¹¹⁾ 진피로부터 flavonoid(hesperidin),¹²⁾ 후박으로부터 lignans(honokiol과 magnolol),¹³⁾ 생강으로부터 phenols(6-, 8- 및 10-gingerol),¹⁴⁾ 대조로부터 flavonoids(spinosin과 6''-feruloylspinosin)¹⁵⁾ 및 감초로부터 triterpene saponin(glycyrrhizin)과 flavonoids(liquiritin 및 liquiritin apioside)¹⁶⁾ 등이 분리 보고되었다. 이에 저자들은 소화기계 질환에 주로 처방되어 사용되고 있는 평위산의 품질관리를 위해 각 구성 생약들의 지표물질을 선정하고 선정된 지표물질들에 대한 함량을 비교 분석

*교신저자(E-mail): hkshin@kiom.re.kr
(Tel): +82-42-868-9464

하고자 하였다. 지표물질의 선정은 창출의 atractylenolide I, II 및 III, 진피의 narirutin과 hesperidin, 후박의 honokiol과 magnolol, 생강의 6-gingerol, 대조의 spinosin과 6"-feruloylspinosin 및 감초의 liquiritin apioside, liquiritin, liquiritigenin, glycyrrhizin의 14종에 대하여 질량분석기가 결합된 초고성능 액체크로마토그래피(ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometer, UPLC-MS)를 이용하여 평위산에 함유되어 있는 이들 성분의 함량을 분석하였다.

재료 및 방법

실험재료 - Table I과 같이 창출을 비롯한 6종의 평위산 구성 생약은 HMAX(Jecheon, Korea)와 Omniherb(Yeongcheon, Korea)로부터 구입하여 대전대학교 한의과대학 본초학교실 서영배 교수(Daejeon, Korea)로부터 한약재 관능검사 해설서^{17,18)}에 따라 감정 후 사용하였다. 본 처방을 구성하는 각각의 생약(2008-KE18-1~2008-KE18-6)과 평위산 물 추출물(KE18)은 한국한의학회 연구원 한약연구부에 보관하였다.

시약 - 평위산에 함유된 주요 성분의 함량 분석을 위해 사용된 14종의 표준품 중 spinosin(PubChem CID: 155692, purity 98.8%), 6"-feruloylspinosin(PubChem CID: 21597353, purity 99.7%), narirutin(PubChem CID: 442431, purity 99.5%) 및 hesperidin(PubChem CID: 10621, purity 98.6%)은 Biopurify Phytochemicals(Chengdu, China), liquiritin(PubChem CID: 503737, purity 99.6%), glycyrrhizin(PubChem CID: 14982, purity 99.0%) 및 6-gingerol(PubChem CID: 442793, purity 98.0%)은 Wako Chemicals(Osaka, Japan), liquiritigenin(PubChem CID: 114829, purity 98.0%), honokiol(PubChem CID: 72303, purity 98.0%) 및 magnolol(PubChem CID: 72300, purity 98.0%)은 ChemFaces(Wuhan, China), atractylenolide I(PubChem CID: 5321018, purity 99.0%), atractylenolide II(PubChem CID: 14448070,

purity 99.0%) 및 atractylenolide III(PubChem CID: 155948, purity 99.0%)는 KOC Biotech(Daejeon, Korea) 및 liquiritin apioside(PubChem CID: 10076238, purity 98.0%)는 Shanghai Sunny Biotech(Shanghai, China)로부터 각각 구입하였다(Fig. 1). 이들 표준품의 표준용액 제조를 위한 메탄올과 LC-MS 분석에 사용된 물과 아세트나이트릴은 모두 high-performance liquid chromatography(HPLC)용으로 J.T. Baker(Phillipsburg, NJ, USA), 개미산은 Merck KGaA(Darmstadt, Germany)로부터 각각 구입하여 사용하였다.

평위산 물 추출물 조제 - Table I과 같이 창출, 진피, 후박, 생강, 대조 및 감초 등 6종의 생약으로 구성된 평위산 물 추출물은 총 약 3.5 kg의 약재에 물 35 L를 넣은 후 초고속진공저온추출기(Cosmos 660, Kyungseo Machine Co., Incheon, Korea)를 이용하여 98 kPa 압력으로 100°C에서 2시간 전탕하였다. 냉각 후 표준체(No. 270, 53 µm, Chung Gye Sang Gong Sa, Seoul, Korea)를 이용하여 여과하였으며, 여과된 액은 819.5 g(23.4%)의 파우더 시료를 얻기 위해 PVT100 동결건조기(IIShinBioBase, Yanju, Korea)를 이용하여 동결 건조하였다. 동결 건조된 시료는 냉장 보관하면서 실험에 사용하였다.

표준용액 및 분석용 검액 조제 - Spinosin을 포함한 14종의 표준품에 대한 표준용액은 메탄올을 이용하여 1,000 µg/mL의 농도로 조제한 후 냉장 보관하면서 분석 전에 희석하여 사용하였다. 평위산의 주요 성분에 대한 분석용 검액은 조제된 물 추출물 약 21.7 mg에 70% 메탄올 5 mL을 넣은 후 5분간 초음파 추출 후 1분간 잘 섞어 주었다. 추출된 용액을 70% 메탄올을 이용하여 100배 희석하여 검액으로 하였다. 조제된 검액은 LC-MS/MS에 주입하기 전에 0.22 µm 멤브레인 필터(Pall, Ann Arbor, MI, USA)하였다.

UPLC 및 LC-MS/MS 분석 조건 - 제조된 평위산 물 추출물의 주요 성분에 대한 함량 분석은 Waters의 ACQUITY UPLC system(Milford, MA, USA)을 사용하였다. 평위산의

Table I. Composition of Pyungwi-san

Scientific name	Latin name	Using part	Family	Amount (kg)	Company of purchase	Origin
<i>Atractylodes chinensis</i> Koidzumi	<i>Atractylodis Rhizoma</i>	Rhizome	Compositae	1.0	HMAX	China
<i>Citrus unshiu</i> Markovich	<i>Citri Unshius Pericarpium</i>	Peel	Rutaceae	0.7	Omiherb	Jeju, Korea
<i>Magnolia officinalis</i> Rehder et Wilson	<i>Magnoliae Cortex</i>	Bark	Magnoliaceae	0.5	HMAX	China
<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	<i>Zingiberis Rhizoma Recens</i>	Rhizome	Zingiberaceae	0.5	Omiherb	Yeongcheon, Korea
<i>Zizyphus jujube</i> Miller var. <i>inermis</i> Rehder	<i>Zizyphi Fructus</i>	Fruit	Rhamnaceae	0.5	Omiherb	Gunwi, Korea
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer	<i>Glycyrrhizae Radix et Rhizoma</i>	Rhizome	Leguminosae	0.3	HMAX	China
Total amount				3.5		

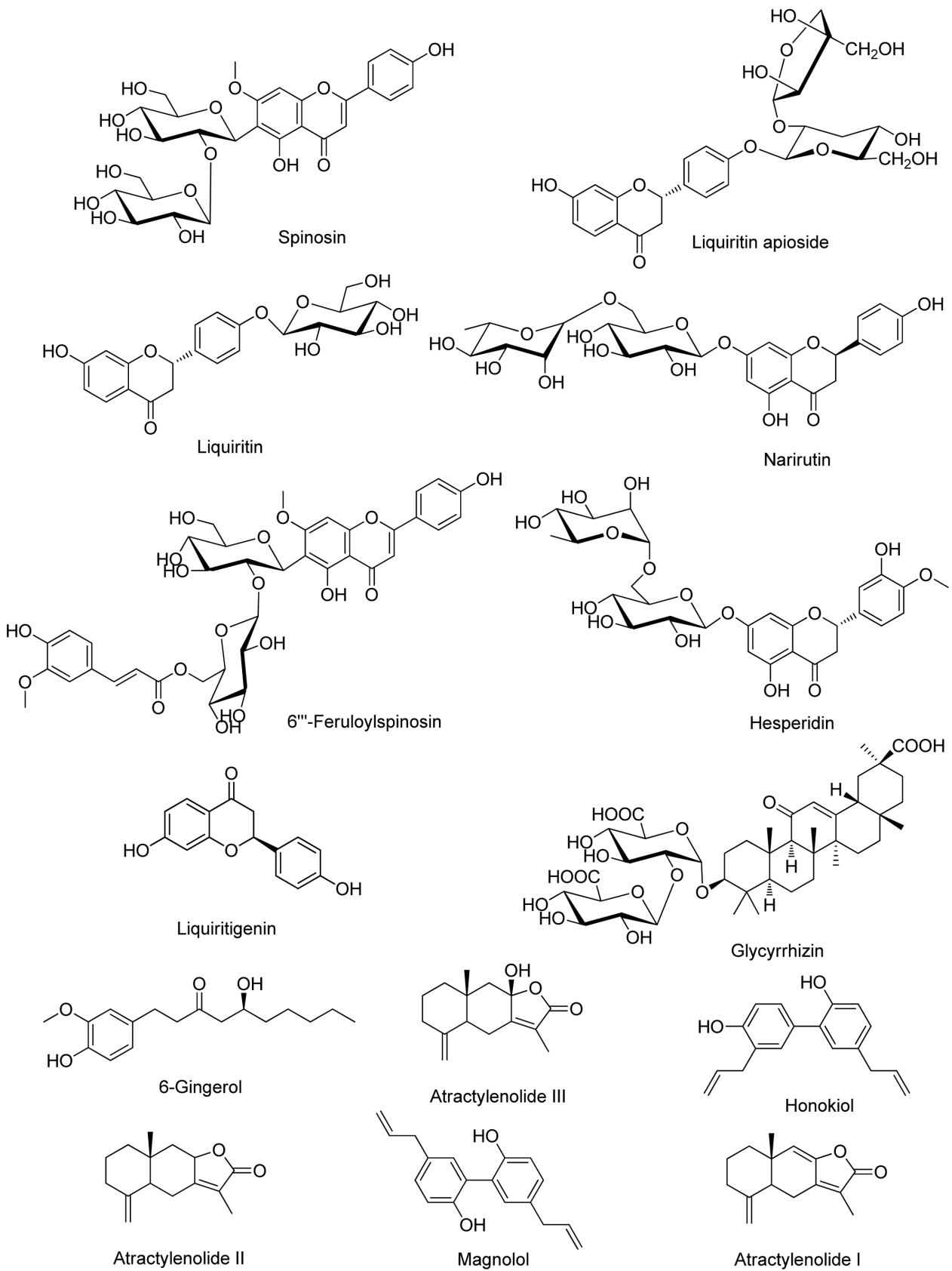


Fig. 1. Chemical structures of biomarker compounds of Pyungwi-san.

주요 성분은 45°C로 유지되는 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (2.1×100 mm, 1.7 μm) 칼럼과 0.1%(v/v) 개미산이 함유된 물(용매 A)과 아세트나이트릴(용매 B)로 구성된 이동상을 이용하여 다음과 같은 조건으로 분리하였다: 20–95% B(0–14분), 95–100% B(14–15분) 및 100–20% B(15–15.1분). 그 후 3분동안 기기를 안정화시켰다. 함량 분석을 위한 평위산 시료는 5°C로 유지되었으며, 유속은 분당 0.3 mL, 주입량은 2.0 μL였다. 질량분석기는 전자분무이온화(electrospray ionization; ESI) 소스가 장착된 탠덤 사중극자 질량분석기 (ACQUITY TQD LC-MS/MS, Waters, Milford, MA, USA) 를 사용하여 다중반응탐색법(multiple reaction monitoring, MRM)으로 다음과 같은 조건으로 분석하였다: capillary voltage 3.3 kV, extract voltage 3.0 V, source temperature 120°C, RF lens 0.3 V, desolvation temperature 300°C, desolvation gas 600 L/h, cone gas 50 L/h 및 collision gas 0.14 mL/min. 모든 크로마토그래피 및 질량분석 데이터는 Waters MassLynx software(version 4.1, Milford, MA, USA)에 의해 수집되고 처리되었다.

결과 및 고찰

LC-MS/MS 분석 조건 확립 – 평위산을 구성하는 6종의 구성 생약 중 창출의 atractylenolide I, II 및 III, 진피의 narirutin과 hesperidin, 후박의 honokiol과 magnolol, 생강의 6-gingerol, 대조의 spinosin과 6'''-feruloylspinosin 및 감초의 liquiritin apioside, liquiritin, liquiritigenin, glycyrrhizin의 14종에 대하여 LC-MS/MS MRM 분석법을 이용하여 동시

정량을 실시하였다. UPLC BEH C₁₈(2.1×100 mm, 1.7 μm) 분석용 칼럼을 사용하여 14종 성분의 분리를 실시하였으며, 이동상으로는 물과 유기용매(메탄올 또는 아세트나이트릴)에 산의 첨가 여부를 확인하여 최적의 분석 조건을 탐색하였다. 분석대상 물질의 분리, 피크 모양 및 꼬리 끌림 현상 등을 종합하여 분석 조건을 선정한 결과 0.1%(v/v) 개미산이 함유된 물과 아세트나이트릴 두 용매를 이용하여 기울기 용매조건으로 정성 및 정량 분석을 실시하였다. 최적의 칼럼 오븐 온도는 45°C로 설정하였으며, 유속은 분당 0.3 mL로 흘러주었다. ESI 소스의 양이온 모드와 음이온 모드에서 MRM 방법으로 Table II와 같은 조건으로 분석한 결과 14종의 성분 모두 10분 이내로 분리되었다(Fig. 2).

검량선, 직선성, 검출한계 및 정량한계 작성 – Spinosin을 비롯한 14종의 분석 성분에 대한 검량선은 10–500 ng/mL의 농도 범위에서 각각의 농도에 대한 피크 면적을 이용하여 작성하였으며, 결정계수(coefficient of determination, r^2)로 직선성을 판단하였다. 또한 각 성분의 검출한계(limit of detection, LOD)와 정량한계(limit of quantification, LOQ)는 신호 대 잡음 비(S/N)를 이용하여 3과 10으로 계산하였다. 그 결과 검량선의 직선성을 나타내는 결정계수 값이 0.99이상으로 우수한 직선성을 보였으며, 0.04–2.56 ng/mL의 검출한계 값과 0.13–7.69 ng/mL의 정량한계 값을 나타내었다(Table III).

평위산 물 추출물 중 14종 성분의 동정 – LC-MS/MS를 이용하여 창출, 진피, 후박, 생강, 대조 및 감초로 구성된 평위산에서 spinosin 등 14종의 주요 성분에 대한 분석을 위해 0.1%(v/v) 개미산이 포함된 물-아세트나이트릴 시스템의 이

Table II. Chromatographic retention time, MRM parameters, cone voltage, and collision energy for 14 marker compounds

Compound	Mode	Retention time (min)	Molecular weight (Da)	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)
Spinosin	[M+H] ⁺	1.37	608.5	609.5	327.2	40	25
Liquiritin apioside	[M-H] ⁻	1.53	550.5	549.3	255.0	45	30
Liquiritin	[M-H] ⁻	1.65	418.4	417.4	255.2	30	15
Narirutin	[M+H] ⁺	1.84	580.5	581.0	273.0	15	15
6'''-Feruloylspinosin	[M+H] ⁺	1.95	784.7	785.5	327.1	35	25
Hesperidin	[M+H] ⁺	2.13	610.6	611.5	303.2	20	15
Liquiritigenin	[M+H] ⁺	2.99	256.2	257.2	137.0	35	25
Glycyrrhizin	[M-H] ⁻	5.20	822.9	821.9	351.2	45	40
6-Gingerol	[M+H] ⁺	6.16	294.4	295.3	177.1	13	10
Atractylenolide III	[M+H] ⁺	6.73	248.3	249.3	231.2	25	10
Honokiol	[M-H] ⁻	7.85	266.3	265.3	224.2	45	25
Atractylenolide II	[M+H] ⁺	8.26	232.3	233.3	187.1	35	15
Magnolol	[M-H] ⁻	8.65	266.3	265.3	247.2	45	20
Atractylenolide I	[M+H] ⁺	9.34	230.1	231.2	185.1	35	20

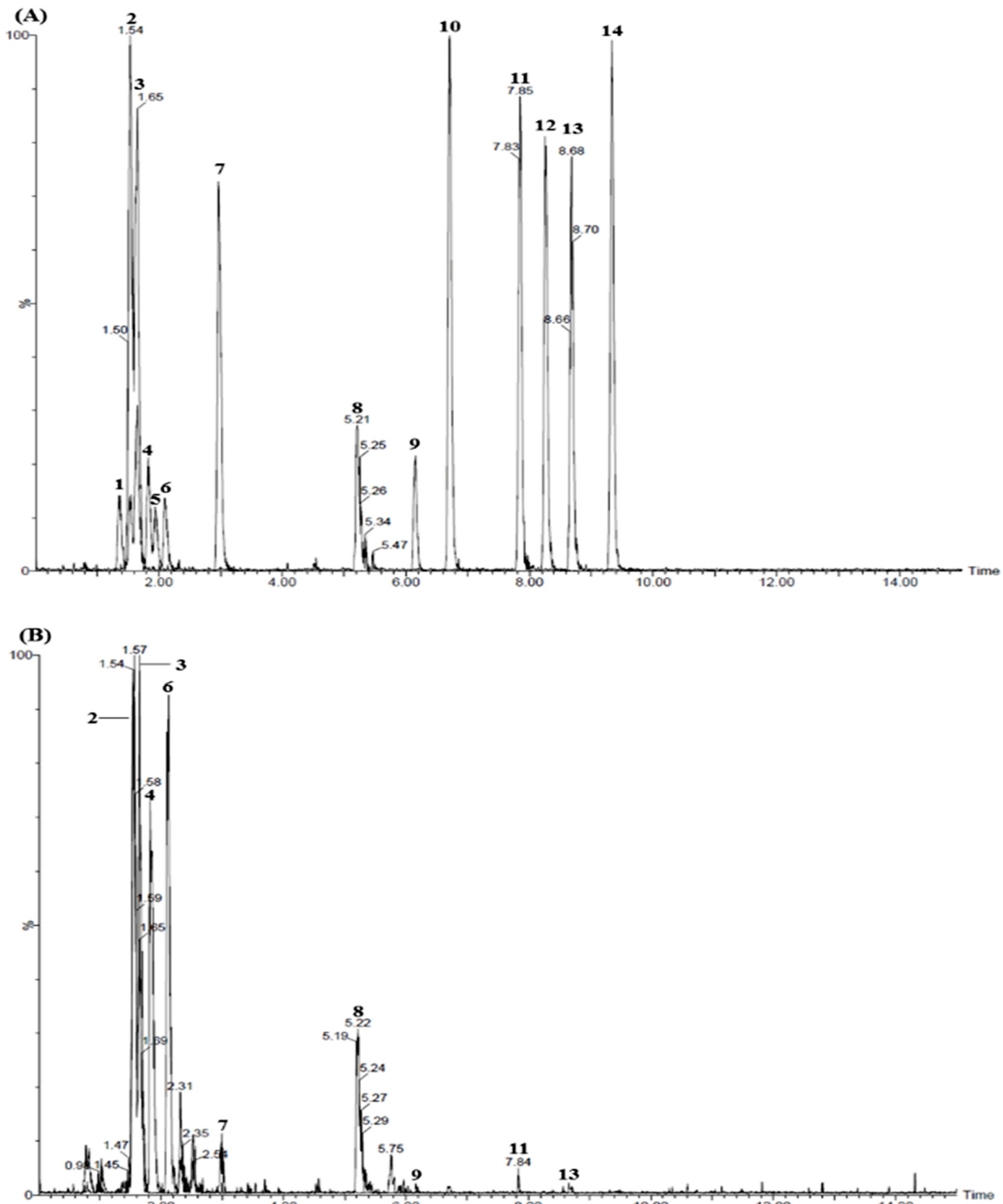


Fig. 2. Total ion chromatograms of the 14 reference standard mixtures (A) and lyophilized Pyungwi-san decoction sample (B) by LC-ESI-MS/MS MRM mode. Spinosin (1), liquiritin apioside (2), liquiritin (3), narirutin (4), 6'''-feruloylspinosin (5), hesperidin (6), liquiritigenin (7), glycyrrhizin (8), 6-gingerol (9), atractylenolide III (10), honokiol (11), atractylenolide II (12), magnolol (13), and atractylenolide I (14).

동상을 이용하여 각 성분에 대한 분자 이온을 동정하였다. 그 결과 spinosin, narirutin, 6'''-feruloylspinosin, hesperidin, liquiritigenin, 6-gingerol, atractylenolide III, atractylenolide II 및 atractylenolide I 등 9종의 성분은 각각 m/z 609.5,

581.0, 785.5, 611.5, 257.2, 295.3, 249.3, 233.3 및 231.2에서 $[M+H]^+$ 형태로 분자 이온 피크가 검출되었으며, liquiritin apioside, liquiritin, glycyrrhizin, honokiol 및 magnolol의 5 종은 m/z 549.3, 417.4, 821.9, 265.3 및 265.3에서 $[M-H]^-$

형태로 분자 이온 피크가 각각 검출되었다(Table II).

평위산 물 추출물 중 14종 성분의 함량 분석 - LC-MS/MS에서 양이온 또는 음이온 모드에서 동정된 각각의 지표 성분들에 대하여 Table II와 같이 cone voltage, collision energy, precursor ion(Q1) 및 product ion(Q3) 등과 같은 LC-MS/MS MRM 모드 조건을 설정하였다. 각 성분별 Q1 및 Q3에 대한 MRM 분석 조건은 다음과 같다. Spinosin는 m/z 609.5의 Q1 피크에서 glucose 1분자와 $C_4H_6O_4$ 가 이탈

된 $[M+H-Glu-C_4H_6O_4]^+$ 의 형태인 m/z 327.2를 Q3로 설정하였으며,¹⁹⁾ liquiritin apioside는 m/z 549.3의 Q1 피크에서 apiosyl 그룹과 glucosyl 그룹이 이탈된 $[M-H-apiosyl-glucosyl]^-$ 형태인 m/z 255.0을 Q3로 설정하였다.²⁰⁾ Liquiritin과 glycyrrhizin은 m/z 417.4와 821.9에서 확인된 각각의 Q1 피크에서 glucose 1분자와 glucose 2분자가 각각 떨어진 $[M-H-Glu]^-$ 와 $[M-H-2Glu]^-$ 의 형태인 m/z 255.2와 351.2를 각각의 Q3로 설정하였으며,²¹⁾ narirutin과 hesperidin은

Table III. Linearities, regression equation, correlation coefficients, LOD, and LOQ for 14 marker compounds

Compound	Linear range (ng/mL)	Regression equation	r^2	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
Spinosin	10 - 500	$y = 6.49x + 3.49$	0.9991	0.46	1.38
Liquiritin apioside	10 - 500	$y = 4.47x - 1.33$	1.0000	0.61	1.83
Liquiritin	10 - 500	$y = 3.54x + 4.16$	0.9995	0.58	1.73
Narirutin	10 - 500	$y = 8.98x - 13.88$	0.9999	2.56	7.69
6'''-Feruloylspinosin	10 - 500	$y = 5.33x - 18.40$	0.9997	0.85	2.56
Hesperidin	10 - 500	$y = 6.34x + 1.67$	0.9993	0.59	1.77
Liquiritigenin	10 - 500	$y = 32.34x + 53.73$	0.9998	0.11	0.33
Glycyrrhizin	10 - 500	$y = 1.08x - 9.00$	0.9992	1.09	3.26
6-Gingerol	10 - 500	$y = 8.63x - 32.82$	0.9992	0.38	1.15
Atractylenolide III	10 - 500	$y = 40.22x + 64.05$	0.9998	0.07	0.20
Honokiol	10 - 500	$y = 3.01x - 4.92$	1.0000	0.31	0.94
Atractylenolide II	10 - 500	$y = 34.00x + 76.49$	0.9998	0.04	0.13
Magnolol	10 - 500	$y = 2.66x - 22.47$	0.9989	1.10	3.31
Atractylenolide I	10 - 500	$y = 40.39x + 39.47$	0.9998	0.11	0.34

Table IV. Amount of marker compounds in Pyungwi-san (n=3)

Compound	Amount (mg/kg)			Source
	Mean	SD	RSD (%)	
Spinosin	ND ¹	-	-	<i>Z. jujube</i>
Liquiritin apioside	374.13	4.90	1.31	<i>G. uralensis</i>
Liquiritin	170.57	7.56	4.43	<i>G. uralensis</i>
Narirutin	245.40	11.27	4.59	<i>C. unshiu</i>
6'''-Feruloylspinosin	ND	-	-	<i>Z. jujube</i>
Hesperidin	365.63	15.60	4.27	<i>C. unshiu</i>
Liquiritigenin	6.27	0.55	8.79	<i>G. uralensis</i>
Glycyrrhizin	498.87	27.65	5.54	<i>G. uralensis</i>
6-Gingerol	4.15	0.78	18.74	<i>Z. officinale</i>
Atractylenolide III	ND	-	-	<i>A. chinensis</i>
Honokiol	5.70	0.57	9.92	<i>M. officinalis</i>
Atractylenolide II	ND	-	-	<i>A. chinensis</i>
Magnolol	14.00	1.65	11.76	<i>M. officinalis</i>
Atractylenolide I	ND	-	-	<i>A. chinensis</i>

¹ND: not detected.

m/z 581.0과 611.5의 Q1 피크에서 두 성분 모두 rutinoid (rhamnosylglucose) 그룹이 이탈된 aglycone으로 $[M+H-rutinoid]^+$ 형태인 m/z 273.0과 303.2를 각각 Q3로 설정하였다.^{22,23)} 6'''-Feruloylspinosin은 m/z 785.5의 Q1 피크에서 spinosin의 MS fragmentation에서 하나의 feruloyl group이 더 이탈된 $[M+H-feruloyl-Glu-C_4H_6O_4]^+$ 의 형태인 m/z 327.1을 Q3로 설정하였으며,¹⁹⁾ liquiritigenin, 6-gingerol 및 honokiol은 m/z 257.2, 295.3 및 265.3에서 확인된 각각의 Q1 피크에서 $C_8H_8O_8$, $C_6H_{12}O_2$ 및 C_3H_5 분자가 각각 이탈된 $[M+H-C_8H_8O_8]^+$, $[M+H-C_6H_{12}O_2]^+$ 및 $[M-H-C_3H_5]^+$ 의 형태인 m/z 137.0, 177.1 및 224.2를 Q3로 설정하였다.^{21,24)} Atractylenolide III와 magnolol은 m/z 249.3와 265.3의 Q1 피크에서 두 성분 모두 1개의 물 분자가 떨어진 $[M+H-H_2O]^+$ 와 $[M-H-H_2O]^+$ 형태로 m/z 231.2와 247.2를 Q3로 설정하였으며,^{24,25)} atractylenolide II와 atractylenolide I은 m/z 233.3과 231.2의 Q1 피크에서 두 성분 모두 물 분자 1개와 CO가 이탈된 $[M+H-H_2O-CO]^+$ 의 형태인 m/z 187.1과 185.1을 각각의 Q3로 설정하였다.²⁵⁾ 이와 같이 평위산의 지표 성분으로 선정한 14종의 성분에 대하여 Q1 및 Q3를 설정한 후 LC-MS/MS MRM으로 분석하였다. 분석 결과 spinosin, liquiritin apioside, liquiritin, narirutin, 6'''-feruloylspinosin, hesperidin, liquiritigenin, glycyrrhizin, 6-gingerol, atractylenolide III, honokiol, atractylenolide II, magnolol 및 atractylenolide I의 머무름시간이 14종의 성분은 1.37, 1.53, 1.65, 1.84, 1.95, 2.13, 2.99, 5.20, 6.16, 6.73, 7.85, 8.26, 8.65 및 9.34분으로 10분 이내에 모든 성분이 분리되었다(Table II 및 Fig. 2). 설정된 LC-MS/MS MRM 분석법을 적용하여 평위산 물 추출물을 분석한 결과 창출로부터 유래된 atractylenolide I, atractylenolide II 및 atractylenolide III와 대조로부터 유래된 spinosin과 6'''-feruloylspinosin 등 5종은 검출이 되지 않았으며, 이를 제외한 9종의 함량이 4.15-498.87 mg/kg으로 나타났다(Table IV).

결 론

평위산은 창출, 진피, 후박, 생강, 대조 및 감초로 구성되어 복통, 구토 및 설사 등의 소화기 계통의 질병의 치료에 처방되어지는 한약 처방으로, 품질관리의 기초 자료로 활용하고자 주요 성분인 spinosin, liquiritin apioside, liquiritin, narirutin, 6'''-feruloylspinosin, hesperidin, liquiritigenin, glycyrrhizin, 6-gingerol, atractylenolide III, honokiol, atractylenolide II, magnolol 및 atractylenolide I 14종에 대하여 LC-MS/MS MRM 방법으로 함량 분석을 실시하였다. 그 결과 본 한약 처방의 구성 생약인 감초의 주요 성분인 glycyrrhizin이 498.87 mg/kg으로 가장 많이 검출되었다. 이

외에도 hesperidin(진피), liquiritin apioside 및 liquiritin(이상 감초)이 365.63, 374.13 및 170.57 mg/kg으로 검출되었다. 이러한 분석 결과는 평위산을 비롯한 관련 한약 처방의 성분 분석을 위한 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 한국한의학연구원에서 지원하는 ‘한약 처방의 과학적 근거 기반 구축사업(K17251)’와 ‘한약처방 안전성·유효성 연구(K18241)’에 의해 수행되었으며 이에 감사 드린다.

인용문헌

- Shin, I. S., Kim, J. H., Ha, H. K., Huang, D. S., Huh, J. I. and Shin, H. K. (2010) Study on safety of Pyungwi-san in Sprague-Dawley rats. *Korean J. Oriental Physiol. Pathol.* **24**: 426-429.
- Heo, J. (2004) Donguibogam, 150. Namsandang, Seoul.
- Seo, C. S., Kim, J. H., Lim, S. H. and Shin, H. K. (2011) Estimation of shelf-life by long-term storage test of Pyungwi-san. *Korean J. Orient. Med. Prescr.* **19**: 183-194.
- Jin, S. E., Jeong, S. J., Shin, H. K. and Ha, H. (2013) Hepatoprotective effect of 25 herbal formulas in primary rat hepatocytes. *Korean J. Oriental Physiol. Pathol.* **27**: 617-624.
- Lee, M. C., Park, J. R., Shim, J. H., Ahn, T. S. and Kim, B. J. (2015) Effect of traditional Chinese herbal medicine Shengmai-san and Pyungwi-san on gastrointestinal motility in mice. *J. Korean Med. Obes. Res.* **15**: 68-74.
- Seo, C. S., Lee, J. A., Jung, D., Lee, H. Y., Lee, J. K., Ha, H., Lee, M. Y. and Shin, H. K. (2011) Simultaneous determination of liquiritin, hesperidin, and glycyrrhizin by HPLC-photodiode array detection and the anti-inflammatory effect of Pyungwi-san. *Arch. Pharm. Res.* **34**: 203-210.
- Ha, H., Shin, I. S., Lim, H. S., Jeon, W. Y., Kim, J. H., Seo, C. S. and Shin, H. K. (2012) Change in anti-inflammatory effect of Pyungwi-san decoction according to the preservation temperature and period. *Herb. Formula Sci.* **20**: 29-35.
- Lee, H. S. and Moon, J. Y. (2007) Scavenging property of Pyungwi-san herbal acupuncture solution on ROS and RNS. *Korean J. Orient. Physiol. Pathol.* **21**: 165-170.
- Jang, D. R., Hwang, Y. H., Jung, K. Y., Ha, J. H., Park, H. Y. and Ma, J. Y. (2013) A study on acute oral toxicity of Pyungwi-san and fermented Pyungwi-san in ICR mice. *J. Orient. Obstet. Gynecol.* **26**: 59-68.
- Shin, I. S., Seo, C. S., Ha, H. K., Lee, M. Y., Huang, D. S., Huh, J. I. and Shin, H. K. (2011) Genotoxicity assessment of Pyungwi-san (PWS), a traditional herbal prescription. *J. Ethnopharmacol.* **133**: 696-703.
- Tsai, C. J., Liang, J. W. and Lin, H. R. (2012) Sesquiter-

- penoids from *Atractylodes macrocephala* act as farnesoid X receptor and progesterone receptor modulators. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **22**: 2326-2329.
12. Liu, E. H., Zhao, P., Duan, L., Zheng, G. D., Guo, L., Yang, H. and Li, P. (2013) Simultaneous determination of six bioactive flavonoids in Citri Reticulatae Pericarpium by rapid resolution liquid chromatography coupled with triple quadrupole electrospray tandem mass spectrometry. *Food Chem.* **141**: 3977-3983.
 13. Jiang, Y., Vaysse, J., Gilard, V., Balayssac, S., Déjean, S., Malet-Martino, M., David, B., Fiorini, C. and Barbin, Y. (2012) Quality assessment of commercial *Magnoliae officinalis* cortex by ¹H-NMR-based metabolomics and HPLC methods. *Phytochem. Anal.* **23**: 387-395.
 14. Zick, S. M., Ruffin, M. T., Djuric, Z., Normolle, D. and Brenner, D. E. (2010) Quantitation of 6-, 8- and 10-gingerols and 6-shogaol in human plasma by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Int. J. Biomed. Sci.* **6**: 233-240.
 15. Niu, C. and Zhang, J. (2011) Quantitative analysis and chromatographic fingerprinting of the Semen Zizyphi Spinosae by ultra-high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector. *J. Sep. Sci.* **34**: 2989-2996.
 16. Zhang, Q. and Ye, M. (2009) Chemical analysis of the Chinese herbal medicine Gan-Cao (licorice). *J. Chromatogr. A.* **1216**: 1954-1969.
 17. Moon, C. J. (2006) The guideline on the visual and organoleptic examination of herbal medicine I, 17, 64, 90. Ministry of Food and Drug Safety, Seoul.
 18. Yoon, Y. P. (2008) The guideline on the visual and organoleptic examination of herbal medicine II, 29, 100, 125. Ministry of Food and Drug Safety, Seoul.
 19. Ren, Y., Wang, P., Wu, C., Zhang, J. and Niu, C. (2013) Identification of the metabolites after oral administration of extract of Zizyphi Spinosae Semen to rats or dogs by high-performance liquid chromatography/linear ion trap FTICR hybrid mass spectrometry. *Biomed. Chromatogr.* **27**: 17-26.
 20. Li, L., Liang, S., Du, F. and Li, C. (2007) Simultaneous quantification of multiple licorice flavonoids in rat plasma. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **18**: 778-782.
 21. Tan, G., Zhu, Z., Jing, J., Lv, L., Lou, Z., Zhang, G. and Chai, Y. (2011) Characterization of constituents in Sini decoction and rat plasma by high-performance liquid chromatography with diode array detection coupled to time-of-flight mass spectrometry. *Biomed. Chromatogr.* **25**: 913-924.
 22. Wang, C., Pan, Y., Fan, G., Chai, Y. and Wu, Y. (2010) Application of an efficient strategy based on MAE, HPLC-DAD-MS/MS and HSCCC for the rapid extraction, identification, separation and purification of flavonoids from Fructus Aurantii Immaturus. *Biomed. Chromatogr.* **24**: 235-244.
 23. Zhou, D., Xu, Q., Xue, X., Zhang, F. and Liang, X. (2006) Identification of O-diglycosyl flavanones in Fructus Aurantii by liquid chromatography with electrospray ionization and collision-induced dissociation mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **42**: 441-448.
 24. Yu, Q., Xiang, J., Tang, W. F., Liang, M. Z., Qin, Y. P. and Nan, F. (2009) Simultaneous determination of the 10 major components of Da-Cheng-Qi decoction in dog plasma by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* **877**: 2025-2031.
 25. Chen, L., Qi, J., Chang, Y., Zhu, D. and Yu, B. (2009) Identification and determination of the major constituents in Traditional Chinese Medicinal formula Danggui-Shaoyao-San by HPLC-DAD-ESI-MS/MS. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **50**: 127-137.
- (2018. 8. 30 접수; 2018. 9. 17 심사; 2018. 9. 19 게재확정)