

국내 유통품 남강활 및 북강활의 HPLC 성분패턴 비교분석

김효선 기술연구원, 서영혜 기술연구원, 이아영 책임연구원, 류승목 선임연구원, 최고야 선임연구원,
문병철 책임연구원, 이준 책임연구원*

한국한의학연구원 한약자원연구센터

Comparative Analysis of HPLC Component Patterns of
Angelica reflexa roots by two cultivation types
distributed in Korea

Hyo Seon Kim, Young Hye Seo, A Yeong Lee, Seung Mok Ryu, Goya Choi, Byeong Cheol Moon,
Jun Lee*

Herbal Medicine Resources Research Center, Korea Institute of Oriental Medicine

Abstract

As a part of a comparative study of the chemical components of *A. reflexa* roots by two cultivation types, Namganhwal and Bukganhwal, which are the same taxonomic origin but are classified according to their cultivation method and ecological type, seven samples of Namganhwal and six samples of Bukganhwal, currently distributed in Korea, were collected and their chemical components were identified by high-performance liquid chromatography with photodiode array detector (HPLC-PDA). Through this study, a total of ten major peaks were detected, and eight of them were identified as chlorogenic acid (1), ferulic acid (4), oxypeucedanin hydrate (5), bisabolangelone (6), oxypeucedanin (7), imperatorin (8), osthole (9), and isoimperatorin (10), respectively. Based on these analyses, as a result of comparing the component patterns of Namganhwal and Bukganhwal, the major component patterns of the two groups showed significant differences. In particular, oxypeucedanin (7), imperatorin (8), and isoimperatorin (10) were detected with higher levels in Namganhwal samples, and ferulic acid (4) was detected with higher levels in Bukganhwal samples. In this study, we report the analysis method of chemical components of *A. reflexa* roots, identification of the components, and comparative

Correspondence: 이준(Jun Lee)

Herbal Medicine Resources Research Center, Korea Institute of Oriental Medicine, Naju 58245, Rep. of Korea

Tel: +82-61-338-7129, E-mail: junlee@kiom.re.kr

Received 2020-08-31, revised 2020-09-22, accepted 2020-09-29, available online 2020-10-06

doi:10.22674/KHMI-8-2-6



analysis of the component patterns of two types of *A. reflexa* roots, Namganghwal and Bukganghwal.

Keywords: *Angelica reflexa*, Umbelliferae, ganghwal, Namganghwal, Bukganghwal

서론

《대한민국약전》에서 강활의 기원은 '강활 *Ostericum koreanum* Maxim.의 뿌리 또는 중국강활(中國羌活) *Notopterygium incisum* Ting 또는 관엽강활(寬葉羌活) *Notopterygium forbesii* Boissier(산형과 Umbelliferae)의 뿌리줄기 및 뿌리'로 규정되어 있으며¹⁾, 중국의 《한방의학대사전》에 의하면 강활은 산한(散寒), 풍습(風濕), 제습(除濕), 지통(止痛)하는 효능이 있어 풍한감모(風寒感冒)에 의한 두통(頭痛), 풍습비통(風濕臂痛), 견배산통(肩背冷痛) 등에 치료에 상용되고 있는 한약재이다²⁾. 강활(羌活)은 《신농본초경(神農本草經)》에서 일품독활(一品獨活)이라 하여 독활의 다른 이름으로 수록되었으며, 명나라의 이시진은 '독활 중 강족의 땅에서 생산된 품질이 좋은 것을 강활이라 한다'고 기재하였다³⁾. 현재 국내에서 재배·유통되고 있는 강활은 *Ostericum koreanum* (Maxim.) Kitag.이라는 학명이 사용되어 왔으나 이는 신감채[*Ostericum grosseserratum* (Maxim.) Kitag.]의 이명으로 간주되며³⁾, 강활을 강후리(*Ostericum praeteritum* Kitag.) 또는 왜천궁(*Angelica genuflexa* Nutt. ex Torr. & A.Gray)과 동일한 종으로 보는 견해가 있어 학명의 혼란이 있어왔다³⁾. 최근 강활의 기원 연구에서는 강활의 학명을 *Angelica reflexa* B.Y.Lee 로 새로이 명명하였다^{3,4)}.

강활은 재배 방법의 차이에 의하여 종자로 번식하는 남강활과 종근으로 번식하는 북강활로 구분된다. 최⁵⁾의 연구에 따르면 남강활과 북강활의 ITS 염기서열을 비교 분석한 결과 유사한 계통의 식물임을 보고한 바 있으며, 형태적 비교분석에 의하면 북강활이 남강활에 비해 잔뿌리가 적고 붉은 무늬를 뚜렷하게 가지고 있는 특징적인 차이가 있다³⁾. 남강활과 북강활은 분류학적으로 동일한 기원종이지만 재배 방법과 생태형의 차이로 인한 성분과 효능의 차이가 있을 수 있으며, 국내 약재시장에서 품명이 남강활 및 북강활로 구별되어 유통되고 있음에도 불구하고 실제 임상에서는 구별하여 사용하고 있지 않다⁶⁾. 따라서 두 강활간의 다성분 프로파일링을 통하여 그 차이를 과학적으로 규명해야 할 필요성이 있다. 남강활과 북강활의 성분 비교 연구로서, 최 등⁶⁾은 2003 년도 유통품 남강활과 북강활의 정유성분에 대한 비교 결과를 제시하였고, 김 등⁷⁾은 2012 년도에 두 강활의 주요 성분 5 종에 대한 분석 결과를 보고한 바 있다.

이에 본 연구에서는 HPLC-PDA 를 이용하여 최근 국내에서 유통되고 있는 남강활과 북강활의 주요 성분 패턴을 분석하여 총 8 종의 강활 주요성분을 확인·동정하였고, 이를 바탕으로 동일 기원인 두 강활의 재배 방식 차이에 따른 주요 성분의 조성 차이를 비교분석하였으며, 향후 후속 연구 및 유통품 강활의 품질관리를 위한 기초자료로 활용하고자 한다.



본론

1. 재료 및 방법

1) 약재

본 연구에서 사용한 건조 남강활 7 점 및 북강활 6 점 시료는 국내 한약 판매업체 통해 구입하였으며, 한국한의학연구원 한약자원연구센터 내 본초학 전문가의 관능검사를 거쳐 기원종을 확증하였다. 각 시료는 표본번호를 부여하여 한국한의학연구원 한약표준표본관(KIOM)에 증거표본으로 보관하였다 (Table 1).

Table 1. Commercial samples of *A. reflexa* roots

Name	Origin			Voucher no.
	Purchased year	Country	Region	
Nam-ganghwal	2019	Korea	-	2-19-0251
	2019	Korea	-	2-19-0366
	2020	Korea	Pyeongchang, Gangwon-do	2-20-0313
	2020	Korea	-	2-20-0310
	2020	Korea	-	2-20-0314
	2020	Korea	-	2-20-0311
	2020	Korea	-	2-20-0312
Buk-ganghwal	2019	Korea	-	2-19-0253
	2019	Korea	-	2-19-0359
	2020	Korea	Bonghwa, Gyeongsangbuk-do	2-20-0315
	2020	Korea	-	2-20-0316
	2020	Korea	-	2-20-0317
2020	Korea	-	2-20-0318	

2) 시약 및 기기

추출 및 분석에 사용한 HPLC 등급의 ethanol, acetonitrile, water 는 J.T. Baker Inc (Phillipsburg, NJ, USA), formic acid 는 Sigma-Aldrich (St. Louis MO, USA)를 통해 구입하였다. 8 종의 표준품 (chlorogenic acid, ferulic acid, oxypeucedanin hydrate, bisabolangelone, oxypeucedanin, imperatorin, osthole, isoimperatorin)은 모두 순도 98% 이상으로 ChemFaces (Wuhan, China)에서 구입하였다. 시료 추출은 초음파 추출기(8510E-DTH, Branson ultrasonic, Danbury, CT, USA)를 사용하였다.

3) 검액 제조

시료를 분쇄하여 체에 거른 후, 0.2g 씩 20mL 바이알에 옮겨 담고 70% 에탄올 10mL 를 넣어 잘 흔들어 준 후, 25°C의 상온에서 1 시간 동안 초음파 추출하였다. 상등액 1mL 을 취하여 0.2µm mem-

brane filter 로 여과한 후 HPLC 분석을 수행하였다. 8 종 성분의 표준품을 각각 1mg 을 취한 후 메탄올 을 1mL 에 녹여 각각의 원액을 제조한 뒤 이를 1μL 씩 섞어 표준품 혼합액을 제조하였다.

4) HPLC 분석조건 설정

남강활 및 북강활 70% ethanol 추출물의 다성분 동시분석을 위하여 2695 separation module, 2998 photodiode array detector 로 구성된 HPLC system (Waters, Mildford, MA, USA)을 사용하였으며, 분석 조건은 Table 2 와 같다.

Table 2. Analytical conditions of *A. reflexa* 70% ethanol extract.

Column	XSelect HSST3 (4.6 × 250 mm, 5 μm, Waters, Mildford, MA, USA)
Mobil phase	(A) 0.1% formic acid in water, (B) Acetonitrile Gradient elution: 0-40 min, 10-80% (B)
Flow rate	1.0 mL/min
Injection volume	10 μL
Detection wavelength	247 nm (190-400 nm)
Temperature	30°C

5) 통계처리

남강활과 북강활 주요 성분패턴 비교 분석은 각 피크 면적 값을 이용하여 모수검정인 독립표본 t-test 및 비모수검정인 Mann-Whitney 검정을 실시하였으며, 통계적 유의수준은 $p < 0.05$ 로 설정하였다.

2. 결과 및 고찰

1) HPLC-PDA 이용한 남강활 및 북강활의 성분패턴 분석

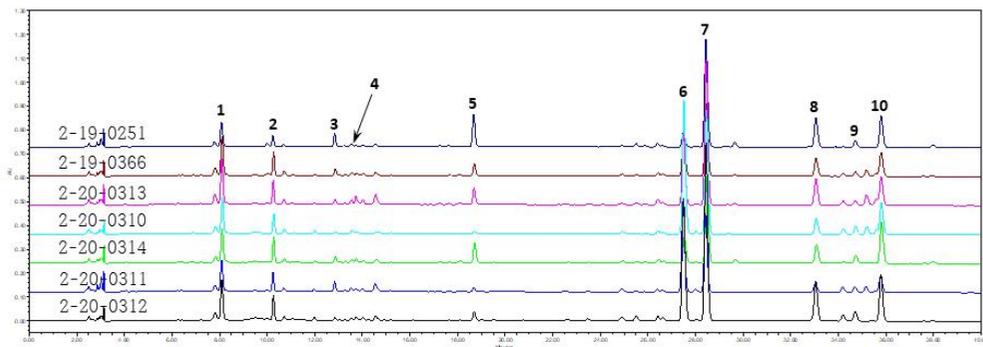


Figure 1. Chromatograms of commercial 7 Namganghwal samples (UV=247 nm).

최근(2019년~2020년) 구입한 남강활 유통품 7 점 시료 추출물의 HPLC-PDA 성분패턴 분석 결과,

각각의 크로마토그램 Figure 1 과 같다. 7 점의 시료에서 10 개의 주요 성분 피크가 관찰되었으며, 각 성분의 머무름 시간과 UV 스펙트럼을 표준품과 비교 확인한 결과(Figure 2), 이중 8 개의 피크는 각각 chlorogenic acid (1), ferulic acid (4), oxypeucedanin hydrate (5), bisabolangelone (6), oxypeucedanin (7), imperatorin (8), osthole (9), isoimperatorin (10)로 확인·동정되었고, 피크 2, 3 은 동정되지 않았으며 각각의 머무름 시간은 Table 3 과 같다. 김 등⁷⁾의 2012 년도 연구에서, 남강활의 주요 성분으로 bisabolangelone (6), oxypeucedanin (7), imperatorin (8), isoimperatorin (10), nodakenin 을 보고한 바 있으며, 이 중 nodakenin 을 제외한 4 종의 성분(6, 7, 8, 10)은 본 연구에서 분석한 유통품 남강활의 주요 성분 4 종과 일치하였다. 본 연구에서는 위 참고문헌에서 제시한 성분 외 4 종의 성분인 chlorogenic acid (1), ferulic acid (4), oxypeucedanin hydrate (5), osthole (9)을 추가로 확인·동정하였다.

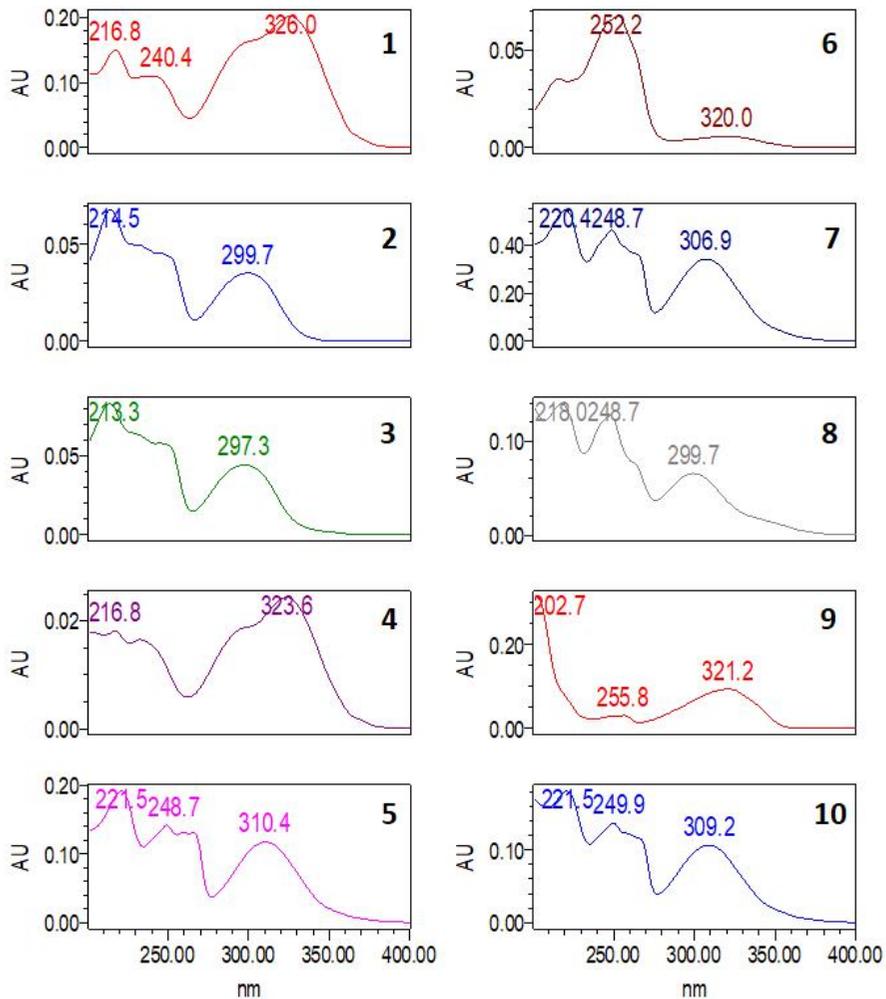


Figure 2. UV spectra of ten components of 70% ethanol extract from *A. reflexa* roots.

Table 3. Analyzed components in HPLC profile of 70% ethanol extract of *A. reflexa* roots.

Peak No.	Name	Rt (min)	λ max (nm)
1	Chlorogenic acid	8.1	240.4, 326.0
2	Unknown 1	10.2	214.5, 299.7
3	Unknown 2	12.8	213.3, 297.3
4	Ferulic acid	13.5	216.8, 323.6
5	Oxypeucedanin hydrate	18.7	248.7, 310.4
6	Bisabolangelone	27.5	252.2, 320.0
7	Oxypeucedanin	28.4	248.7, 306.9
8	Imperatorin	33.0	248.7, 299.7
9	Osthole	34.7	255.8, 321.2
10	Isoimperatorin	35.8	249.9, 309.2

북강활 유통품 6 점 시료 추출물의 HPLC-PDA 성분패턴 분석 결과(Figure 3), 주요성분으로 chlorogenic acid (1), ferulic acid (4), bisabolangelone (6)이 검출되었으며, oxypeucedanin hydrate (5), oxypeucedanin (7), imperatorin (8), osthole (9), isoimperatorin (10)은 6 점 시료 모두에서 비교적 낮은 수준으로 검출되는 경향을 보였다. 특히 이들 중 두 개의 미동정 피크(2, 3)는 2점의 북강활 시료(2-20-0316, 2-20-0317)에서, 그리고 osthole (9)은 1 점의 북강활 시료(2-20-0317)에서만 각각 낮은 수준으로 검출되었다.

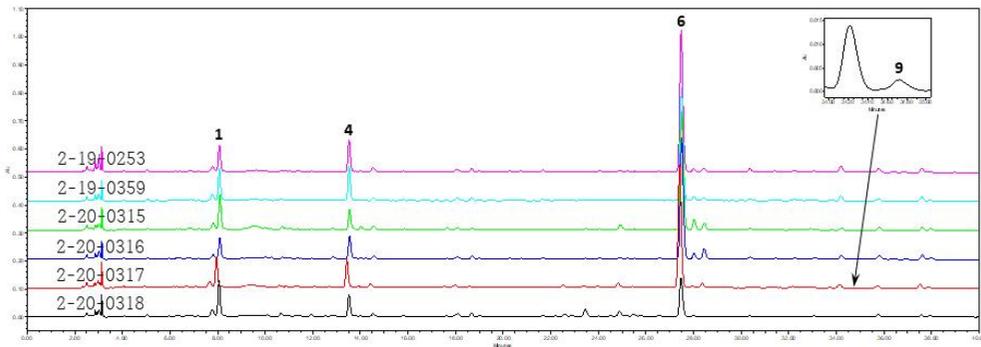


Figure 3. Chromatograms of commercial 6 Bukganghwal samples (UV=247 nm).

2) 남강활과 북강활 유통품의 HPLC-PDA 성분패턴 비교 분석

HPLC-PDA 를 이용하여 국내 유통되고 있는 남강활(7 점)과 북강활(6 점) 시료의 다성분 패턴 비교 분석을 수행하였다. 각 주요 성분 피크의 확인 및 성분패턴 비교를 위해, 모든 시료 내 공통적으로 검출되는 주요 피크를 포함하는 시료(남강활: 2-19-0251, 북강활: 2-19-0253)를 각각의 대표 크로마토그램으로 제시하였다(Figure 4). 동일한 방법으로 제조된 각 추출물의 피크 면적 평균값을 비교하였을 때(Figure 5 와 Table 4), chlorogenic acid (1), unknown 1 (2), unknown 2 (3), oxypeucedanin



hydrate (5), oxypeucedanin (7), imperatorin (8), osthole (9), isoimperatorin (10)은 남강활 시료에서 더 높은 수준으로 검출되었고, 반면 ferulic acid (4)와 bisabolangelone (6)은 북강활 시료에서 더 높은 수준으로 검출되었다. 특히 oxypeucedanin (7), imperatorin (8), isoimperatorin (10)은 북강활에서는 매우 낮은 감도 수준으로 검출되는 반면 남강활에서 현저히 높은 수준으로 검출되는 상이한 성분패턴 경향을 나타내었다. 10 종 성분의 피크 면적 평균값을 이용하여 t-test 분석 결과(Table 4), bisabolangelone (6) 외 나머지 9 종 성분(chlorogenic acid, unknown 1과 2, ferulic acid, oxypeucedanin hydrate, oxypeucedanin, imperatorin, osthole, isoimperatorin)의 유의확률이 0.05 보다 작은 값을 나타내어 두 강활 간에 통계적으로 유의한 차이가 있음을 확인하였다.

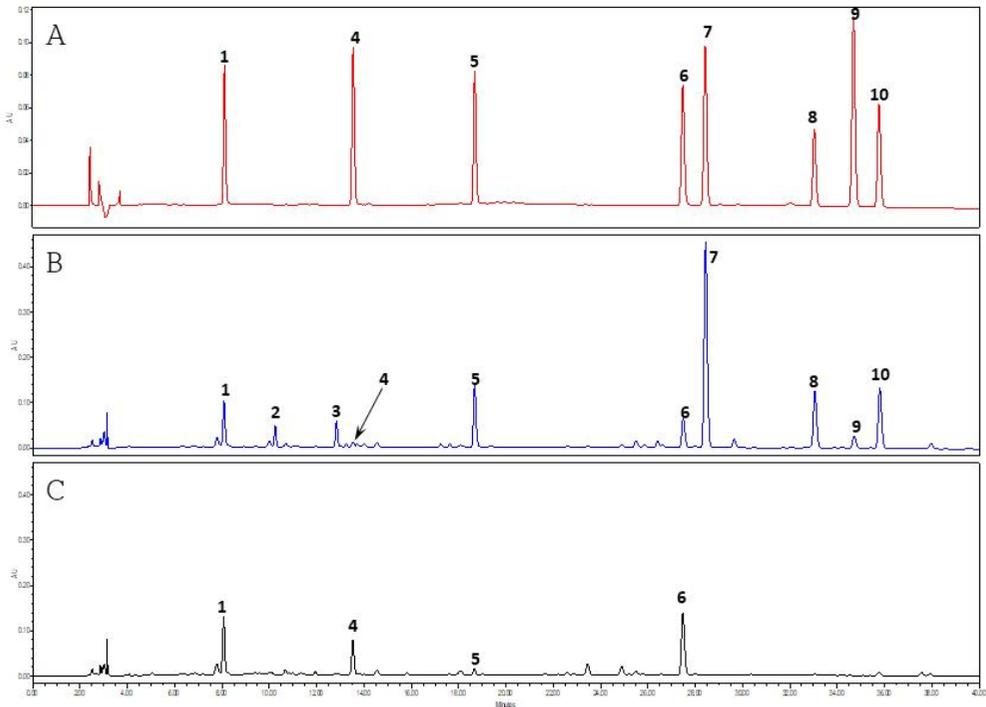


Figure 4. Typical fingerprinting chromatograms of Namgangghwal and Bukgangghwal. Standard mixture (A), Namgangghwal (2-19-0251) (B), Bukgangghwal (2-19-0253) (C).

최 등⁶⁾은 2003 년도에 GC-MS 기기를 이용하여 남강활과 북강활의 정유 성분을 비교하였으며 그 결과, 북강활에서는 검출되지 않고 남강활에서만 검출되는 osthole 성분을 두 강활을 구별할 수 있는 지표물질로서 제안한 바 있다. 본 연구에서 최근 수집한 유통품 남강활 7 점의 시료 모두에서 위 선행 연구결과와 같이 osthole 이 검출되었으나, 반면 북강활 시료 6 점 중 1 점(2-20-3017)에서 osthole 이 낮은 감도로 검출되는 상이한 성분패턴이 확인되었다(Figure 3). 이는 유통품 수집 연도에 따른 특정 성분들의 유무나 그 함량의 차이가 있을 수 있음을 나타내며, 또한 성분분석 방법의 차이에 기인할 수 있다. 현재 강활은 《대한민국약전》에 그 지표성분 함량 기준이 마련되어 있지 않은 실정이며, 재배 방법 및 수집 연도에 따라 성분 함량의 뚜렷한 차이를 나타낼 수 있어 이에 국내 유통품의 지속적인 품질평가 모니터링을 통한 지표성분 정량법 및 품질기준 마련이 필요하다고 판단된다.

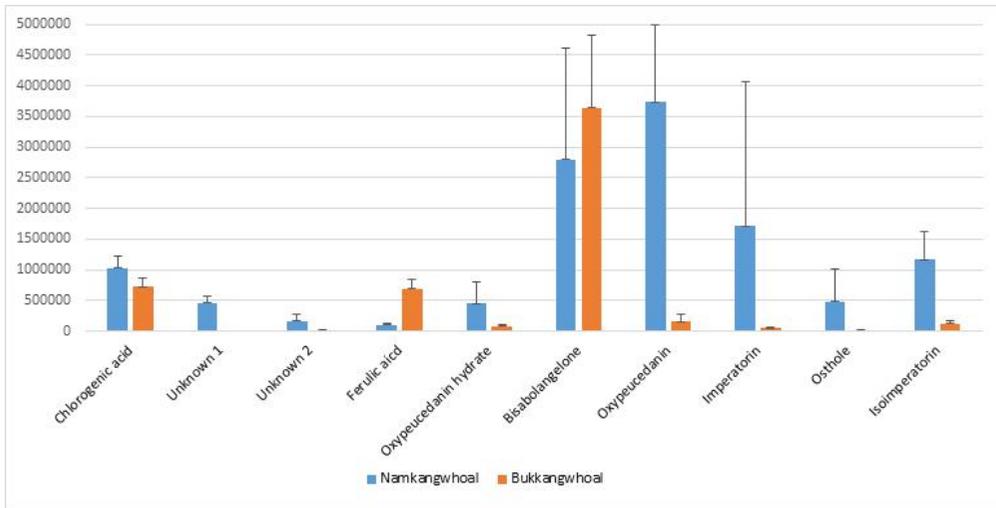


Figure 5. Bar graph represents mean ± SD of peak areas for ten components in 70% EtOH extract of Namganghwal and Bukganghwal.

Table. 4 Statistical analysis by independent sample t-test using ten components of *A. reflexa* roots.

Peak No.	Components	Group*	Mean of Peak area	SD	Significance [†]
1	Chlorogenic acid	NKH	1027099.857	196462.029	0.010*
		BKH	727772.500	138030.618	
2	Unknown 1	NKH	463286.857	112784.670	0.003*
		BKH	4230.000	7912.662	
3	Unknown 2	NKH	166115.714	100954.632	0.003*
		BKH	11726.833	18214.722	
4	Ferulic acid	NKH	103233.714	24192.566	0.003*
		BKH	692074.500	152522.084	
5	Oxypeucedanin hydrate	NKH	450574.286	342005.892	0.012*
		BKH	76485.500	25400.529	
6	Bisabolangelone	NKH	2799846.571	1804826.711	0.355
		BKH	3636806.833	1197127.595	
7	Oxypeucedanin	NKH	3730140.000	1259980.970	0.003*
		BKH	159192.667	121010.716	
8	Imperatorin	NKH	1712080.286	2359523.812	0.003*
		BKH	49614.500	20852.772	
9	Osthole	NKH	476216.286	540493.199	0.003*
		BKH	4355.000	10667.528	
10	Isoimperatorin	NKH	1170914.571	444879.295	0.003*
		BKH	122205.833	40896.092	

NKH, Namganghwal; BKH, Bukganghwal; [†]Significance, statistically difference by independent sample t-test and Mann-Whitney test ($P < 0.05$)



결론

동일한 기원종이지만, 재배 방법의 차이가 있는 남강활과 북강활의 구성 성분을 비교 분석하고자, 최근 유통품 남강활 시료 7점 및 북강활 시료 6점을 각각 수집하여 HPLC-PDA 를 이용한 다성분 동시분석을 수행한 결과, 두 강활은 7 종의 주요 성분(chlorogenic acid, ferulic acid, oxypeucedanin hydrate, oxypeucedanin, imperatorin, osthole, isoimperatorin) 및 2 종의 미지 성분에 있어 유의한 피크 면적 차이가 있음을 확인할 수 있었다. 이는 동일 기원종이라 할지라도 재배 방식의 차이에 따라 그 성분 함량의 뚜렷한 차이가 있을 수 있음을 나타내며, 특히 유효성분의 함량 차이는 효능의 차이로 이어질 수 있으므로 이에 대한 후속 연구가 필요하다고 판단된다. 이와 같이 동일 기원종인 강활의 재배 방법 및 수집 연도에 따른 성분 함량 변이가 클 수 있어 강활의 품질관리를 위한 지속적인 유통품 성분 모니터링 연구의 수행 및 그 기초자료를 바탕으로 《대한민국약전》 내 강활의 지표성분 정량법이 확립되어야 할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 한국한의학연구원 주요사업인 ‘지속가능한 한약표준자원 활용기술 개발’(과제번호 KSN2012320)의 지원을 받아 수행하였습니다.

참고문헌

1. Korea Institute of Oriental Medicine. *Defining Dictionary for Medicinal Herbs* [Korean, 'Hanya k Giwon Sajeon'](2020). Published on the Internet: <http://boncho.kiom.re.kr/codex/> (accessed 2020-07-20).
2. 진재인. 도설 한방의학대사전(중국약학대전). 강담사. 1985:62-5.
3. 주영승, 최고야. 임상가를 위한 한약재 감별과 응용. 한국한의학연구원. 2016:1-2.
4. Lee BY, Kwak M, Han JE, Jung E-H, Nam G-H. Ganghwal is a new species, *Angelica reflexa*. *Journal of Species Research*. 2013;2(2):245-8.
5. 최봉재. 강활류 한약재의 유전자 감식연구. 경희대학교 석사학위 논문. 2003.
6. 최호영, 서영배, 함인혜. GC/MS에 의한 남강활과 북강활의 정유 비교 분석. *대한본초학회지*. 2004; 19(4):169-78.
7. Kim S, Kim KY, Han CS, Kim SK, Kim JM, Xiaodan Z, Wan KW. Simultaneous analysis of six major compounds in *Osterici Radix* and *Notopterygii Rhizoma et Radix* by HPLC and discrimination of their origins from chemical fingerprint analysis. *Archives of Pharmacol Res*. 2012;35(4):691-9.