

조선왕조실록 갈피에서 발견된 잎 조각의 실체 및 천궁의 식물학적 기원

서영배^{1#,*} · 김영식^{1#,*} · 이채민¹ · 박지수¹ · 고혜진¹ · 이상찬² · 정진숙³ · 최호영⁴

¹서울대학교 약학대학 천연물과학연구소, ²서울대학교 인문대학 국사학과,
³한국산업기술대학교, ⁴경희대학교 한의과대학

Taxonomic Identity of Leaf Fragments Found in the Annals of the Joseon Dynasty and Botanical Origin of a Herbal Medicine ‘Cheongung’

Youngbae Suh^{1#,*}, Yeong Sik Kim^{1#,*}, Chaemin Lee¹, Jisoo Park¹, Hye Jin Ko¹, Sang Chan Lee²,
Jinsuk Jeong³ and Ho Young Choi⁴

¹Natural Products Research Institute, College of Pharmacy, Seoul National University

²Department of Korean History, College of Humanities, Seoul National University

³Korea Polytech University

⁴College of Korean Medicine, Kyunghee University

Abstract – Tiny leaf fragments were found in the Annals of the Joseon Dynasty, which were compiled about 500 years ago. The records describing the detailed process of compiling the Annals indicate that silk bags packed with the powders of ‘Cheongung’ and ‘Changpo’, which have been used as traditional herbal medicines in the northeast Asian countries such as China and Japan as well as Korea, were put in the wooden storage boxes together with the volumes of the Annals. However, there is no record that parts of plants were used in the process of compiling the Annals. The botanical origin of leaf fragments was identified as *Ligusticum sinense* ‘Chuanxiong’ by the analysis of *trnK* of chloroplast DNA as well as the examination of leaf surface with SEM. The comparative analysis of *trnK* sequences showed that the chloroplast DNA haplotype of ‘Tocheongung’, a triploid species cultivated in Korea, was identical with *Cnidium officinale*, but different from *L. sinense* ‘Chuanxiong’. The molecular results provide a new suggestion on the botanical origin of crude drugs used as ‘Cheongung’, which has been disputed in Korea.

Key words – Annals of Joseon Dynasty, Botanical origin, Chloroplast DNA, *Cnidium officinale*, *Ligusticum sinense* ‘Chuanxiong’, *trnK* sequence

조선왕조실록은 1997년 유네스코 세계기록문화유산으로 등재되어 전 인류적 가치를 인정받고 있다. 이는 조선 시대의 정치, 문화, 경제, 생활뿐만 아니라, 당시 주변의 아시아 국가들의 정세를 포함하고, 기후, 천문, 지리 등의 과학 분야에 이르기까지 약 500 년 동안의 총체적인 역사가 독립적 지위를 보장받은 사관에 의하여 작성되었기 때문에 전 세계적으로 유래가 없는 정확성과 객관성을 지니는 역사 기록으로 높이 평가되었기 때문이며, 한편으로는 수백 년에 걸친 장구한 시간 동안 온전한 상태로 유지되어 인류 공동의 문화재로서의 가치를 인정받았기 때문이다.

실록청의례의 기록에 의하면 조선왕조실록 봉안 과정에 천궁가루와 창포가루로 채운 부대를 실록과 함께 넣었는데, 이는 충해 방지가 목적이었을 것으로 사료된다. 한편으로는 봉안 후에도 주기적으로 실록을 꺼내어 그늘에서 말려 습기를 제거하고 충해를 막았던 ‘포쇄’ 과정도 왕조실록의 보존의 중요한 절차였으며, 포쇄 후에도 천궁가루 및 창포가루 부대를 채우는 과정은 반복되었다.^{1,2)}

세종시대부터 왕조실록의 안전한 보존을 위하여 여러 본을 제작하여 중앙의 춘추관과 지방에 충주, 성주, 전주의 3개 사고를 지어 보관하였다. 1592년에 발발한 임진왜란으로 인하여 춘추관, 충주, 성주에 보관되었던 3본의 실록이 소실되고, 전주사고 보관본만이 유일하게 남게 되었으며, 임진왜란과 정유재란(1597년)중에 여러 곳으로 옮겨지다가 선

#These authors contributed equally to this work
*교신저자(E-mail): ysuh@snu.ac.kr, kims@snu.ac.kr
(Tel): +82-2-880-2486, +82-2-880-2479

조 36년(1603년)에 강화도에 안치되었다.²⁾ 임진왜란의 화를 유일하게 면한 전주사고본은 전란의 고초를 겪으면서 도처를 돌다가 현종 원년(1660년)에 신축된 정족산사고로 옮겨지고, 일제 강점기가 끝나면서 태백산사고본과 함께 서울대학교로 이관되어 지금까지 이르고 있다.

서울대학교 규장각이 소장하고 있는 정족산사고본 조선왕조실록의 보존실태조사가 여러 차례 수행된 바 있으며, 이 과정에서 실록의 책갈피 사이에서 식물체 잎의 조각이 발견되었다. 기록에 의하면, 실록의 보존을 위하여 봉안 시에, 그리고 이후 시행되었던 포쇄 과정에서 천궁 및 창포 가루를 넣은 부대를 사용하였을 뿐, 식물체를 직접 넣은 역사적 기록은 전무하기 때문에 본 연구에서는 일차적으로 왕조실록의 책갈피에서 발견된 식물체 조각의 분류학적 실체를 규명하고자 하였다.

천궁은 원래 국내에서는 산형과에 속하는 다년생 초본인 *Cnidium officinale* Makino(천궁)의 지하경을 사용하는 것으로 오랫동안 정의되었으나, 2012년 대한약전 제 10개정부터 천궁의 기원식물로 *C. officinale* 과 더불어 *Ligusticum chuanxiong* Hort. ex Qiu et al.(중국천궁)이 추가되어 현재에 이르고 있다,³⁾ 이는 일본에서는 *C. officinale*이 천궁으로 사용되고 있으나, 중국에서는 *L. chuanxiong*이 사용되어, 국내에서 이 두 종의 약재가 함께 유통되는 현실을 반영한 것으로 사료된다.^{4,5)} 이 뿐만 아니라 국내에서는 천궁으로 궁궁이(*Angelica polymorpha* Maxim.)의 지하경이 간혹 민간에서 대응되기도 한다.^{6,7)}

비록 약전에는 중국천궁의 학명이 *L. chuanxiong*으로 기재되어 있으나, 최근 중국의 *Ligusticum* 속 식물을 종합적으로 정리한 식물지적 연구에 의하면 *L. chuanxiong*은 개화나 종자의 결실이 이루어지지 않으며, 형태적으로 *L. sinense* Oliver 와 유사하기 때문에 동종의 한 재배품종으로 인식하여, *L. sinense* 'Chuanxiong' S.M. Fang & H.D. Zhang으로 기재하고 있다.⁸⁾ 따라서, 본 논문에서는 이와 같은 분류학적 견해를 중시하여 중국천궁 *L. chuanxiong*의 학명을 *L. sinense* 'Chuanxiong' S.M. Fang & H.D. Zhang으로 채택하였다.

천궁은 국내에서 재배되어 공급되기도 하지만, 중국으로부터 상당량이 수입되어 유통되는데, 국내에서 생산되는 천궁은 명확한 식물학적 근거가 없는 상태에서 시중에서 재배하여 유통되는 재배품종을 토천궁이라고 하여, 천궁이 민간에서 일천궁과 토천궁이라는 품목으로 구별되어 유통되기 때문에, 이들의 효능과 품질에 대한 비교 연구가 수행되기도 하였다.⁹⁻¹²⁾ 이와 함께, *C. officinale*과 *L. sinense* 'Chuanxiong'의 두 종의 지하경이 천궁으로 사용되어 왔기 때문에, 천궁의 기원식물에 대한 분류학적 실체 및 정확한 감별을 위한 연구가 국내외에서 활발하게 전개되었으나,^{7,13-16)} 아직까지 *C. officinale* 과 토천궁의 식물분류학적 실체 및

기원에 대하여 명확한 결과가 제시되지 못하고 있다. 한편으로는 *C. officinale*과 *L. sinense* 'Chuanxiong'이 엽록체 유전체에 존재하는 *trnK* 구간의 염기서열에서 일관된 차이로 명확하게 구분될 수 있는 것으로 밝혀졌다.¹⁶⁾ 따라서 본 연구에서는 왕조실록에서 발견된 식물체 파편을 주사전자현미경을 통하여 미세구조를 비교 관찰하고, *trnK*의 염기서열을 분석함으로써 본 식물체의 분류학적 실체를 파악하고자 하였으며, 이 과정에서 논란이 이어져오던 토천궁을 비롯한 천궁의 식물학적 기원을 재검토하였다.

재료 및 방법

시료 - 서울대학교 규장각한국학연구원에 소장되어있는 조선왕조실록 정족산사고본 중에서 여러 책자의 갈피에서 식물체 조각이 발견되었으며, 이 중에서 성종실록, 연산군일기, 중종실록의 책자 갈피에 끼워져 있는 식물체 조각들을 채취하여, 선별한 12 개의 시료를 대상으로 주사전자현미경 관찰 및 DNA 염기서열 분석을 통하여 식물분류학적 실체를 규명하였다(Fig. 1, Table I). 그 외, 국내에서 재배되거나 유통되는 천궁의 식물학적 기원을 추정하기 위하여 한국과 중국에서 재배되거나, 유통되는 천궁 약재 및 식물체 16 종을 산지, 수입상, 약재상 및 지역 약재시장에서 수집하여 DNA 분석을 실시하였다(Table II).

미세형질 관찰 - 조선왕조실록에서 수집된 식물체 파편을 일차적으로 육안과 광학현미경으로 관찰한 후 미세형질의 특성을 주사전자현미경으로 세밀하게 조사하였다. 왕조실록



Fig. 1. Leaf fragments in the circle were found in the Annals of Yeonsangun compiled in 1509. According to the literature describing the compilation process of the Annals of Yeonsangun, powders of Cheongung and Changpo, traditional herbal medicines used in Korea and China, were kept in silk bags, which were put together in the storage case to protect books from insect damage.

Table I. Leaf fragments found in the Annals of the Joseon Dynasty

Sample	Source	Volume	Year of Compilation
KJG12727 V.122	The Annals of King Seongjong	122	1499
KJG12727 V.123	"	123	1499
KJG12727 V.124	"	124	1499
KJG12727 V.133	"	133	1499
KJG12728 V.1	The Annals of Yeonsangun	1	1509
KJG12728 V.25	"	25	1509
KJG12728 V.30	"	30	1509
KJG12728 V.35	"	35	1509
KJG12728 V.41	"	41	1509
KJG12729 V.34	The Annals of King Jungjong	34	1550
KJG12729 V.36	"	36	1550
KJG12729 V.57	"	57	1550
KJG12729 V.64	"	64	1550

Table II. Plant materials used for DNA analysis to identify chloroplast DNA haplotype. Voucher specimens are kept in the herbarium of Natural Products Research Institute of Seoul National University(NPRI)

Sample No.	Common name* (Part used)	Collection	Chloroplast DNA haplotype**
VS13032001	Chuanxiong (Plant)	China: Sichuan: Chengdu, 2013.3.20, YS Baek	<i>Ligusticum sinense</i> 'Chuanxiong'
VS13071510	Cheongung (Plant)	Korea: Gyeonggi Prov: Yongin, 2013.7.15, HY Choi	<i>Cnidium officinale</i>
VS13082325	Cheongung (Plant)	Korea: Gyeongbuk Prov: Angong, 2013.8.23, HY Choi & BJ Kim	<i>C. officinale</i>
VS13082326	Cheongung (Plant)	Korea: Gyeongbuk Prov: Angong, 2013.8.23, HY Choi & BJ Kim	<i>C. officinale</i>
VS13083014	Tocheongung (Plant)	Korea: Gangwon Prov: Donghae, 2013.8.23, HY Choi & BJ Kim	<i>C. officinale</i>
VS13091415	Tocheongung (Plant)	Korea: Gangwon Prov: Jungseon, 2013.9.14, HY Choi	<i>C. officinale</i>
CH20131019	Chuanxiong (Plant)	China; Hubek: Anguo, 2013.10.19, HY Choi	<i>C. officinale</i>
MG150511-1	Tocheongung (Plant)	Korea: Gyeonggi Prov: Goyang: SNU Medicinal Plant Garden, 2015.5.11, HJ Ko	<i>C. officinale</i>
MG150511-2	Cheongung (Plant)	Korea: Gyeonggi Prov: Goyang: SNU Medicinal Plant Garden, 2015.5.11, HJ Ko	<i>C. officinale</i>
KDSR1404212117	Cheongung (Crude drug)	Korea: Gyeongbuk Prov: Bonghwa, Cultivated by KB Kim, 2014.4.21, HY Choi	<i>C. officinale</i>
KDSR1404212118	Cheongung (Crude drug)	Korea: Gyeongbuk Prov: Yuisung, Human Herb, 2014.4.21, HY Choi	<i>C. officinale</i>
KDSR1404212120	Cheongung (Crude drug)	Korea: Gyeongbuk Prov: Bonghwa, Dongyihanjae, 2014.4.21, HY Choi	<i>C. officinale</i>
KDSR1404212121	Cheongung (Crude drug)	Korea: Gyeongbuk Prov: Yeongyang, Samheung-geonjae, 2014.4.21, HY Choi	<i>C. officinale</i>
KDSR1404212122	Cheongung (Crude drug)	Korea: Gangwon Prov: Pyeongchang, Cultivated by SI Joo, 2014.4.21, HY Choi	<i>C. officinale</i>
KDSR1405082019	Cheongung (Crude drug)	Korea: Gyeongbuk Prov: Angong, Gwangmyeong-dang, 2014.5.8, HY Choi	<i>C. officinale</i>
KDNR1405082032	Cheongung (Crude drug)	Korea: Gyeongbuk Prov: Bonghwa, Cultivated by YG Won, 2014.5.8, HY Choi	<i>C. officinale</i>

*Common name claimed in cultivation or commercial trade. **Haplotype was determined by the analysis of chloroplast *trnK* sequences.

시료는 연산군일기 1권에서 채집된 시료 KJG12728 V.1을 사용하였으며(Table I), 대조 시료로서 산지에서 채집한 *L. sinense* ‘Chuanxiong’, *C. officinale* 과 토천궁 식물체의 석엽표본(시료 VS13032001, CH20131019, VS13091415, Table II)에서 일부분을 채취하여 사용하였다. 주사전자현미경 촬영은 건조된 식물 시료를 서울대학교 기초과학공학기원에 비치되어 있는 108 Auto Sputter Coater(Cressington Scientific Instrument Ltd, England)를 이용하여 백금으로 코팅한 후, JSM-7600F(JEOL, Japan) 전계방출주사전자현미경으로 10 kV 출력에서 관찰하였다.

DNA 추출 - 약재 및 수집 식물체의 시료 0.3-0.5 g을 채취하여 막사사발에서 액체질소와 함께 분말 상태로 마쇄한 후 DNeasy Plant Mini Kit(Qiagen, Germany)를 이용하여 제조사의 사용방법에 따라 전체 DNA를 추출하였다. 조선왕조실록에서 채취된 식물체의 시료는 해부현미경 하에서 크기가 가로 세로 2-5 mm 정도 되는 조각 하나만을 선택하여 같은 방법으로 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA의 농도는 0.75 µg λ DNA-Hind III digest(Takara Bio Inc., Japan)와 함께 0.5 µg/ml ethidium bromide를 포함하는 0.7% agarose gel에서 100 볼트로 45분간 전기영동 한 후, UV 조명하에서 밝기를 상호 비교하여 확인하였다.

PCR 기법을 이용한 *trnK* 유전자 증폭 - PCR 기법을 이용하여 엽록체 유전체에 위치하는 *trnK* 유전자를 증폭하였다. PCR 증폭은 TaKaRa Ex Taq(Takara Bio Inc., Japan)를 사용하여 수행하였는데, 50 µm 반응액은 TaKaRa Ex Taq 0.2 U, 1X Ex Taq Buffer, MgCl₂ 1.5 mM, 각 dNTP 0.2 mM, 각 primer 0.2 µM과 추출 DNA 20-100 ng을 포함하도록 하였다. PCR 증폭 대상은 2 개의 구간이었는데, 일차적으로는 *L. sinense* ‘Chuanxiong’, *C. officinale* 및 토천궁 사이의 차이를 정확하게 검증하기 위하여 *matK* 유전자가 내포되어 있는 intron 구간을 포함하는 전체 *trnK* 유전자 구간을 각 분류군을 대표하는 시료를 대상으로 PCR로

증폭하였으며, 이차적으로는 *trnK* 유전자 구간 중에서 *C. officinale*과 *L. chuanxiong* 사이에 염기서열이 다르게 나타나는 intron의 특정 구간만을 대상으로 PCR을 수행하여, 전체 시료에 대한 chloroplast DNA haplotype을 결정하였다.

전체 *trnK* 유전자 구간의 증폭을 위하여 primer로는 *trnK*-3914F(5'-TGG GTT GCT AAC TCA ATG G-3')와 *trnK*-2R(5'-AAC TAG TCG GAT GGA GTA G-3')을 사용하여,¹⁷ GeneAmp PCR System 9700(Applied Biosystems Co., CA)을 이용하여, 94°C에서 2분간 전처리한 다음, 94°C에서 40초, 52°C에서 1분, 그리고 72°C에서 2분로 구성된 온도 변화 과정을 35회 반복한 후, 72°C에서 20분간 최종 처리하였다. PCR 반응 완료 후, 1.0% agarose gel로 전기영동하여 증폭된 PCR 산물을 확인한 후, High Pure PCR Product Purification Kit(Roche, Germany)를 사용하여 정제한 후 염기서열 분석 실험 시까지 -20°C에서 냉동 보관하였다.

trnK 유전자 intron의 일부 구간만을 증폭하기 위하여서는 primer Chu-*trnK* 493F(5'-ATG TGT GTG TAG AAG AAA CAG-3')과 Chu-*trnK* 1217R(5'-GGG TAT TAG TAT CTC TAA CAC-3')을 사용하였고,¹⁶⁾ 반응은 94°C에서 3분간 전처리한 다음, 94°C에서 40초, 50°C에서 30초, 그리고 72°C에서 1분으로 구성된 온도 변화 과정을 35회 반복한 후, 72°C에서 10분간 최종 처리함으로써 완료하였으며, 그 외 PCR 반응 및 정제 과정은 동일하였다.

염기서열 결정 및 비교 분석 - 정제된 PCR 산물의 염기서열은 ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit(Applied Biosystems, CA)를 사용하여 PTC-225 Peltier Thermal Cycler(MJ Research Inc., MA)로 thermal cycle sequencing 반응을 수행한 후에, ABI PRISM 3730XL Analyzer(Applied Biosystems, CA)로 염기서열을 분석하였다. *trnK* 유전자 전체 구간의 염기서열 결정은 PCR primer 이외에 추가적인 sequencing primer를 사용하였고(Table

Table III. Sequencing primers for chloroplast *trnK* analysis

Primer	Sequence (5' to 3')	Ref.
Forward primer		
<i>trnK</i> -3914F	TGG GTT GCT AAC TCA ATG G	Johnson and Soltis (1994)
Chu- <i>trnK</i> 493F	ATG TGT GTG TAG AAG AAA CAG	Zhu <i>et al.</i> (2007)
N-IRD- <i>trnK</i> PT2045F	TAT ACT TCG ACT GTC TTG TGC	Modified from Zhu <i>et al.</i> (2007)
SNU- <i>matK</i> -1312F	CTA GAA CTT TGG CTC GTA AAC	Designed for this study
Reverse primer		
N-IRD- <i>trnK</i> PT713R	TGA AAC ATA GTG CGA TAC AG	Modified from Zhu <i>et al.</i> (2007)
Chu- <i>trnK</i> 1217R	GGG TAT TAG TAT CTC TAA CAC	Zhu <i>et al.</i> (2007)
N-IRD-CX- <i>trnK</i> 2R	ACC ATA GAC TGT CCT GAA AGG	Modified from Zhu <i>et al.</i> (2007)
IRD- <i>matK</i> 1219R	GTC GAA GTA TAT ACT TTA TTC G	Zhu <i>et al.</i> (2007)
<i>trnK</i> -2R	AAC TAG TCG GAT GGA GTA G	Johnson and Soltis (1994)

III),^{16,17)} *trnK* 유전자 intron의 일부 구간을 부분적으로 증폭한 PCR 산물의 염기서열은 PCR과 동일한 primer를 사용하여 결정하였다.

분석된 염기서열은 Sequencher version 4.5(Gene Codes Inc., MI)를 이용하여 재확인하였다. 염기서열의 차이를 상호 비교하기 위한 분석은 일단 Clustal X 1.64b¹⁸⁾를 이용하여 염기서열을 정렬한 후, 재차 육안으로 확인하고 보정하여 염기서열의 차이를 비교 분석하였다.

결 과

주사전자현미경에 의한 미세구조 - 서울대학교 규장각에

소장되어 있는 조선왕조실록 정족산사고본 중에서 성종실록, 연산군일기, 중종실록에서 발견된 식물체의 잎조각을 대상으로(Fig. 1; Table I), 분류학적 실체를 구명하기 위하여 일차적으로 해부현미경 및 광학현미경으로 관찰한 결과 천궁의 잎일 것으로 추정되었다. 국내에서는 천궁의 기원식물은 *Cnidium officinale* 혹은 *Ligusticum sinense* ‘Chuanxiong’ (= *L. chuanxiong*)으로 정의되어 있으므로,³⁾ 왕조실록 연산군일기 1권에서 발견된 시료 KJG12727 V.1(Table I)과 직접 산지에서 채집한 *L. sinense* ‘Chuanxiong’, *C. officinale* 및 토천궁의 식물체로 제작한 석엽표본에서의 시료(CH20131019, VS13032001, VS13091415; Table II)의 형태학적 특성을 주사전자현미경으로 관찰한 결과, 실록시료,

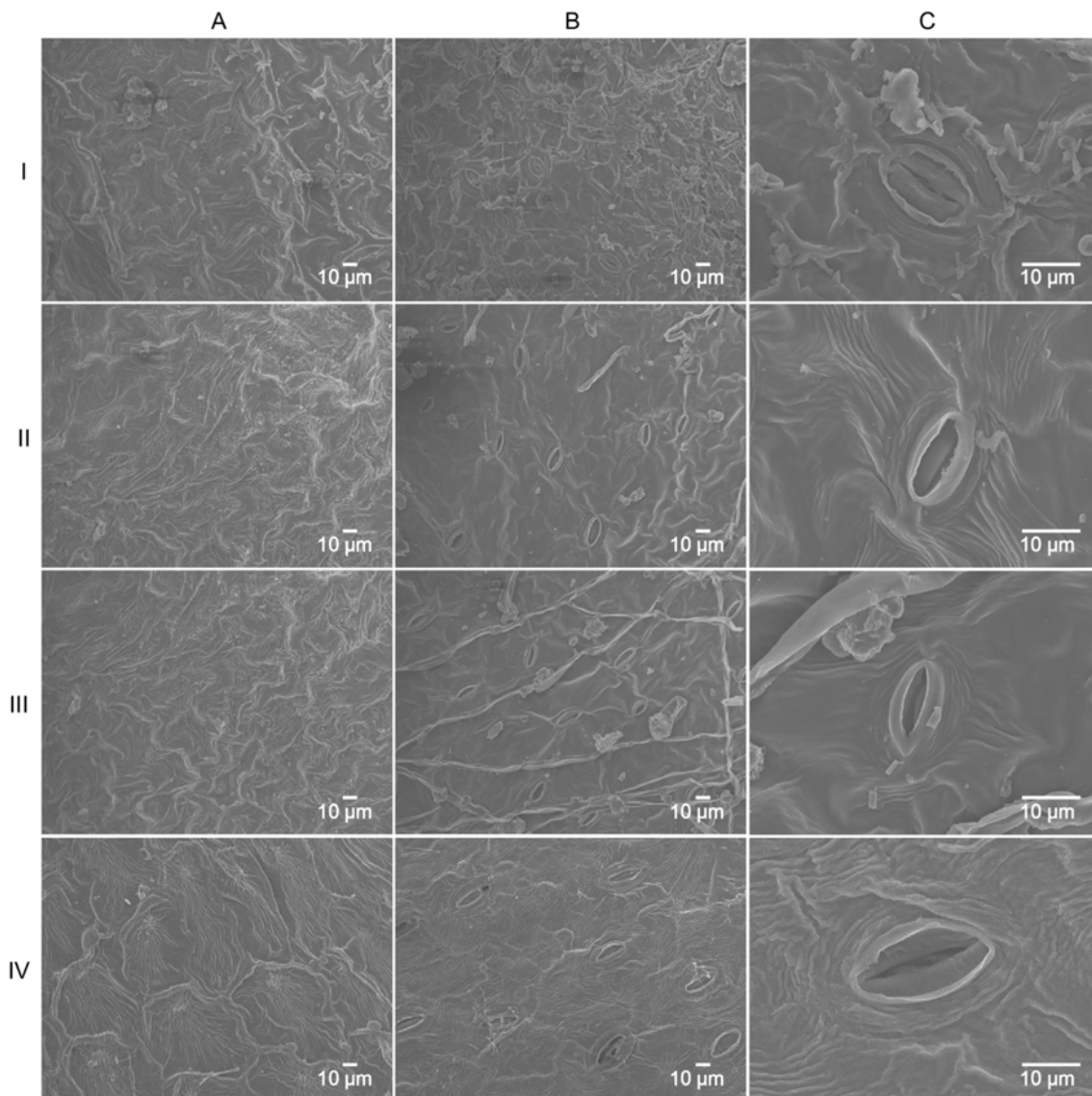


Fig. 2. Leaf surface viewed in SEM. I. Leaf sample (KJG12727 V.1) from the Annals of Choseon Dynasty; II. *Ligusticum sinense* ‘Chaungxiong’ (VS13032001); III. *Cnidium officinale* (CH20131019); IV. ‘Tocheongung’ (VS13091415); A. Adaxial surface of leaf material; B, C. Abaxial surface showing stomata. See Tables I and II for the information on samples.

L. sinense 'Chuanxiong'과 *C. officinale*의 잎 표면의 미세구조는 서로 상당히 유사하였다(Fig. 2). 토천궁에서는 기공을 이루는 공변세포의 크기가 다른 3종의 시료보다 길이로 약 1.5배 정도 크게 나타나서 확연히 구분되었다(Fig. 2).

주사전자현미경에 의하면 잎의 뒷면은 4 개의 시료 전체에서 잔주름이 구불구불하게 잡힌 큐티클 층이 관찰되었는데, 이는 건조과정에서 초래된 조직의 수축으로 인한 것이지만, 주름의 깊이, 모양, 밀도 등의 특징으로 판단할 때 매우 유사한 양상으로 나타났다(Fig. 2. IA-IV). 잎의 뒷면은 일반적인 잎의 특징과 같이 기공이 산재하고 있다(Fig. 2. B, C). 기공의 크기는 왕조실록 시료, *L. sinense* 'Chuanxiong' 및 *C. officinale*의 3개 시료에서 폭 10 μm , 길이 17 μm 내외로 기공의 크기가 매우 유사하였으나, 토천궁의 기공의 크기는 폭 15 μm , 길이 25 μm 로 다른 3 종의 시료와 비교하여 상당히 큰 것으로 나타났다(Fig. 2C). 기공의 주위에는 표면을 덮고 있는 표피 큐티클 층이 기공을 감싸고 있는 모양이었다. 실록의 시료에서는 상대적으로 표피 큐티클 층이 기공의 주위를 감싸는 정도가 가장 미약하였으나, *C. officinale*에 비해 *L. sinense* 'Chuanxiong'과 더 비슷한 모양을 나타냈다. 잎 뒷면에 분포하는 기공의 밀도는 상대적으로 큰 기공을 가지는 토천궁을 제외한 3개 시료에서 유사한 것으로 관찰되었고, 그 수는 2,100-2,300개/mm²일 것으로 추정되었다(Fig. 2B).

trnK 유전자 염기서열 비교 분석 - 천궁의 기원식물로 알려진 *L. sinense* 'Chuanxiong'과 *C. officinale* 사이에 차이를 나타내는 것으로 알려진 *trnK* 유전자의 염기서열을 확인하기 위하여 산지에서 직접 채집한 표본 시료를 분석한 결과, *trnK* 유전자의 exon은 2,521 bp 크기의 intron에 의해 2 개의 구간으로 나누어져 있었으며, intron 내에 1,518 bp 크기의 *matK* 유전자가 자리 잡고 있는 것이 확인되었다(Fig. 3). 본 연구에서 분석된 *L. sinense* 'Chuanxiong', *C. officinale* 및 토천궁의 *trnK* 유전자 구간은 PCR primer를 포함하여 전체 2,569 bp 중에서 *trnK* intron 구간의 세 군데에서 서로 염기서열이 달랐는데, 그 위치는 767, 924, 964 site에서 *L. chuangxiong*은 각각 G, A, G였으나, *C. officinale*과 토천궁에서는 T, C, T로 나타났다, 767 site는 *trnK* intron 내의 *matK* coding 구간 앞에 위치하였으며, 924 및 964 site는 *matK* 유전자 coding 구간에 위치하였다(Fig. 3).

이와 같은 *trnK* 유전자 구간의 exon과 intron의 배열 및 *matK* 유전자의 양상은 이전의 연구에서 제시된 결과와 일치하였다,^{16,19)} 특히, *L. sinense* 'Chuanxiong'과 *C. officinale*의 두 종이 *trnK* 유전자의 intron 구간에서 세 군데의 염기서열이 차이를 보이는 것은 Zhu et al.(2007)에서 제시된 결과와 동일하였다.

trnK 염기서열 분석에 따르면 *L. sinense* 'Chuanxiong'은 *C. officinale* 및 토천궁과 다른 엽록체 haplotype을 가지고

있으므로, 이를 바탕으로 조선왕조실록 시료, 중국 및 국내의 산지에서 채집한 시료 및 약재 시장에서 수집한 유통약재 시료 등 전체 시료에 대하여 식물분류학적 기원을 추정할 수 있었다(Tables I, II). 3개 site의 변이를 포함하는 site 776에서 site 1,237까지의 크기 462 bp의 *trnK* 유전자 intron 부분을 선택적으로 PCR 증폭하여 염기서열을 비교 분석한 결과, 조선왕조실록의 성종실록, 연산군일기, 중종실록에서 수집된 잎의 조각은 전부 *L. sinense* 'Chuanxiong'과 동일한 것으로 판명되었다(Table I). 조선왕조실록의 시료의 분석은 Table I에 포함되어 있는 시료 이외에 연산군일기 25 권에서 수집된 시료도 분석하였으나, 이 시료에서는 PCR 증폭이 이루어지지 않아 염기서열을 결정할 수 없었다. 결국 조선왕조실록 시료의 DNA 분석은 전체 14개 시료를 시도하여, 그 중 13 개의 시료에 대하여 모계유전을 하는 엽록체 DNA 분석에 의한 종동정이 가능하였다.

중국과 국내 산지에서 재배되거나, 시장에서 유통되고 있는 천궁류에 대하여 식물분류학적 종감별을 위하여 상기의 *trnK* 유전자 intron 일부 구간의 염기서열을 분석하였다. 일단 국내에서 수집된 14종의 천궁, 혹은 왜천궁, 토천궁 등으로 재배되거나 유통되는 시료는 모두 *C. officinale*의 엽록체 haplotype으로 나타났다(Table II). 국내에서는 상당수 토천궁이라는 이름으로 재배되어 유통됨으로써, 보통 천궁으로 불리는 *C. officinale*과 다른 식물로 일반에서 취급되기도 하지만, 국내에서 재배되는 토천궁의 *trnK* 유전자형은 모두 *C. officinale*와 동일하여, 모계유전을 하는 엽록체 게놈의 특성상 최소한 모계가 동일한 것으로 확인되었다. 중국 하북성 안국시에서 수집된 시료도 *trnK* 유전자형이 *C. officinale*로 판명되었으며, 이는 일본에서 재배 생산되는 *C. officinale*이 역으로 중국으로 유입되어 재배되었을 것이라고 이전의 연구 결과를 뒷받침하고 있다.¹⁶⁾

고 찰

천궁은 애초 '신농본초경'에서 약재명이 '궁궁'으로 기록되어 있어, 우리나라에서도 향약구급방, 향약집성방, 조선실록 등의 과거 문헌에서는 약재의 명칭이 궁궁으로 기록되어 있다. 이로 인하여 우리나라에서는 '궁궁'의 향재로 사용하던 식물을 '궁궁이'로 칭하게 되어 현재 *Angelica polymorpha* Maxim.(식물명; 궁궁이)의 근경이 일시 천궁으로 오용되는 혼란이 초래된 것으로 사료된다. 한편으로는, '본초강목'에 사천성에서 생산되는 것을 '천궁'이라 하여, 우리나라에서는 현재 천궁은 *C. officinale* Makino 천궁 또는 *L. sinense* 'Chuanxiong' 중국천궁의 근경을 사용하는 것으로 정의되고 있다.³⁾ 그러나 중국에서는 *L. sinense* 'Chuanxiong'을, 일본에서는 *C. officinale*만을 사용하기 때문에 우리나라의 천궁의 기준은 중일 양국의 입장을 포괄적 적용하고 있는 실정

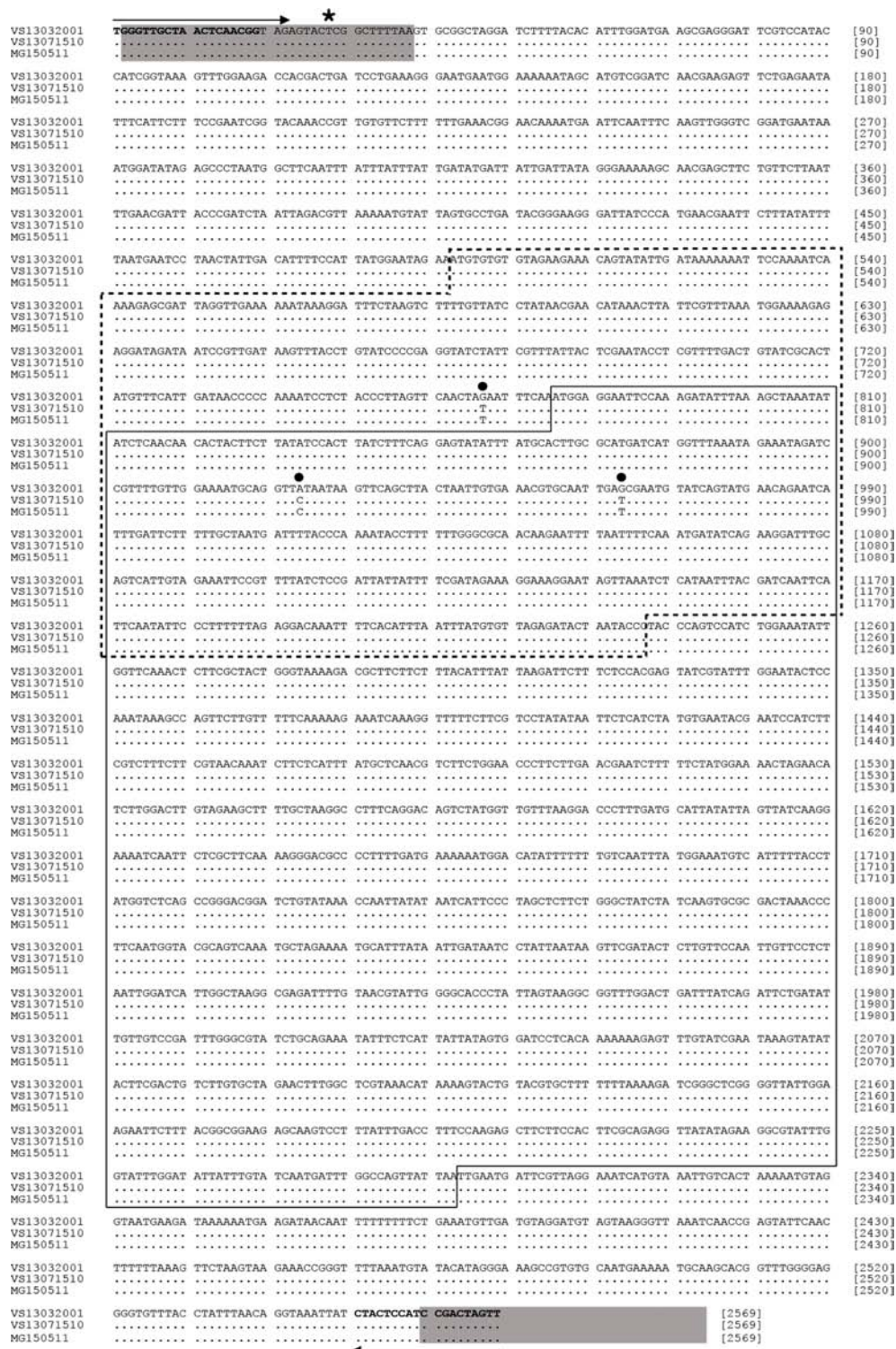


Fig. 3. Aligned sequences of *trnK* from *Ligusticum sinense* 'Chuanxiong' (VS13032001), *Cnidium officinale* (VS13071510) and 'Tocheongung' (MG150511). Shade boxes at 5' and 3' ends are two parts of *trnK* exon, and arrows are the primers used for PCR amplification. The solid line box delimits *matK* gene, which is nested in the intron of *trnK* gene. Dark circles indicate the base differences between *L. chuanxiong* and *C. officinale*. Dotted line box is the region, which was analyzed to determine species for all other samples included in this study (see Tables I and II). This study determined that the site 28 (★) was T in stead of A, which was reported in a previous study (Zhu *et al.*, 2007). Since this site is in the stem region of tRNA-Leucine, which must be very conserved and complimentary, the base sequence at the site 28 should be T as shown in this study.

이다.^{3,4)} 그러나 실질적으로 국내에서는 *C. officinale* 및 *L. sinense* ‘Chuanxiong’ 외에 토천궁이라고 불리는 품종이 재배 유통되고 있으나, 토천궁의 명확한 분류학적 실체는 아직까지 파악되지 못하고 있다.

우리나라의 전통의학은 중국 의료를 기준으로 삼았음에도 불구하고, 일부 약재가 토산 약재로 대체되어 사용되는 과정에서 약재명과 대체 약재의 오류가 발생하였으며, 이를 바로잡기 위한 노력은 오래 전에 시도되었다. 특히, 중국 약재명과 다른 토산약재명의 오류를 바로잡기 위하여, 항명과 중국의 당명을 비교 검토한 향약집성방의 간행이 이루어지기도 하였다(세종 15년, 1433). 향약집성방 편찬에 앞서 세종 5년(1423)에는 향재와 당재가 일치하는가를 검증하기 위하여 의관을 중국에 파견한 바 있으며, 이 때 우리나라에서 사용되는 향재 중, 천궁(궁궁)을 포함한 8종은 당재와 일치하지 않기 때문에 향재로 쓰이던 천궁은 사용을 금지하였다.²⁰⁾ 따라서, 왕조실록의 보존에는 천궁은 당연히 중국천궁(*L. sinense* ‘Chuanxiong’)을 사용했을 것으로 사료되며, 왕조실록에서 발견된 모든 식물체가 중국천궁으로 확인된 *trnK* 염기서열의 결과는 이 사실을 명확하게 뒷받침하고 있다.

중국내 *Ligusticum* 속 식물의 종합식물지적 연구에서 *L. chuanxiong* 은 *L. sinense*의 한 재배품종으로 처리됨으로써 *L. sinense* subsp. *sinense*로 정리된 중국고본의 동일종 내 하위 분류군으로 인식되고 있다.⁸⁾ 일본에서 사용되고 있는 *C. officinale*은 일본 에도시대에 중국에서 유래되어 현재까지 재배되고 있는 식물로서, 현재 중국에서도 야생종을 확인할 수 없기 때문에, 본 식물의 분류학적 실체에 대하여 상당한 논란이 이어져 왔으며, 열매의 결실이 일어나지 않고, 일부 염색체가 상동염색체의 짝을 이루지 않는 점으로 두 근연종의 잡종일 것으로 추정되었으며,²¹⁾ 특히 nrDNA ITS 분석에 의하여 *L. sinense*와 *L. jeholense* 혹은 근연종 사이의 잡종일 것으로 추정되었다.¹⁶⁾ 한편으로, 세포분류학적 연구에 의하면 토천궁은 염색체수가 $2n=33$ 의 삼배수체로,²²⁾ $2n=22$ 인 이배체의 *C. officinale* 이나 *L. sinense* ‘Chuanxiong’ 과 명확하게 구분된다. 주사전자현미경으로 잎의 표면에서 기공과 공변세포를 관찰한 결과는 토천궁이 삼배체인 것을 재차 뒷받침하고 있다. 일반적으로 삼배체의 세포의 크기는 이배체보다 크게 나타나는 것으로 알려져 있다. 특히, Jones and Reed(2007)의 보고에서 *Hydrangea macrophylla*의 삼배체 개체의 공변세포가 이배체의 공변세포보다 큰 것으로 확인되었으며,²³⁾ 토천궁에서도 공변세포의 크기가 이배체인 *L. sinense* ‘Chuanxiong’의 *C. officinale* 보다 매우 크게 나타나는 결과는 확연하게 크게 관찰되는 것이 토천궁이 삼배체일 것이라는 이전의 세포학적 연구 결과를 사실을 재차 뒷받침하고 있다.²²⁾

최근 분류학적 처리에 의하면 *L. sinense*의 종의 범위는 확대되어 다수의 변종과 재배품종으로 세분되고 있다.⁸⁾ 이

중에서 특히 *L. sinense* ‘Fuxiong’과 *L. sinense* ‘Jinxiong’ 두 재배품종의 염색체 수는 $2n=33$ 으로 알려져 있고, *L. sinense* ‘Fuxiong’은 염색체 수에서 뿐만 아니라, 매우 드물게 개화가 일어나고, 종자의 결실이 거의 일어나지 않으며, 형태적으로 국내 토천궁의 특성과 매우 흡사하기 때문에, 토천궁의 분류학적 실체를 규명하기 위해서는 이들 두 분류군에 대한 분류학적 연구가 반드시 병행되어야 한다.^{24,25)}

국내에서는 현재 천궁 약재로는 천궁(일천궁, *C. officinale*), 중국천궁(*L. sinense* ‘Chuanxiong’), 토천궁의 세 종류가 유통되고 있으며, 토천궁은 국내에서 비교적 활발하게 재배되고 있음에도 불구하고, 토천궁의 분류학적 실체에 대한 논의는 정확한 분류학적 실체를 규명하지 못하고, 단지 일천궁과 구분하여, 토천궁의 기원은 중국천궁 *L. sinense* ‘Chuanxiong’이거나, 혹은 그로부터 기인한 품종으로 주장되어 오고 있다.^{7,26,27)}

세포분류학적 연구에 의하면 토천궁은 염색체수가 $2n=33$ 의 삼배수체로, $2n=22$ 인 이배체의 일천궁과는 명확하게 구분되지만, 분류학적 기원에 대한 논의는 이루어진 바가 없다.²²⁾ 사배체와 이배체의 교배로 인한 삼배체 형성을 가정한다면, 사배체인 $2n=44$ 의 *L. pteridophyllum*과 이배체로 확인된 *L. sinense* 및 근연 분류군을 대상으로 한 삼배체 형성의 충분화 추적은 현재까지 규명되지 못한 토천궁의 실체에 관한 분류학적 근거를 제시할 수 있을 것으로 사료되며, 중국에서 보고된 삼배체 천궁 재배품종과의 비교 검토가 반드시 수행되어야 한다. 특히 이 과정에서 본 연구의 결과는 동일한 *trnK*의 염기서열을 공유하는 *C. officinale*과 토천궁은 최소한 모계의 기원이 동일한데 반하여, *L. sinense* ‘Chuanxiong’은 토천궁과 모계의 기원이 다르다는 것을 명확하게 시사하고 있다.

결 론

약 500 여 년 전에 편찬된 조선왕조실록의 책갈피에서 발견된 식물 잎조각의 분류학적 실체는 주사전자현미경을 통한 외부 미세구조 분석 및 엽록체 DNA의 *trnK* 유전자 염기서열의 비교분석을 통하여 중국산 천궁으로 규명되었으며, 최근 분류학적 처리에 따라 중국산 천궁은 *Ligusticum sinense* ‘Chuanxiong’ S.M. Fang & H.D. Zhang으로 확인되었다. 현재 유통되는 천궁 약재로 천궁(*Cnidium officinale*)과 중국천궁(*L. sinense* ‘Chuanxiong’) 외에 국내에서 활발하게 재배되어 유통되는 토천궁은 염색체가 $2n=33$ 의 삼배수체로 *trnK* 유전자가 천궁(*Cnidium officinale*)과 동일하여 모계의 기원이 서로 동일할 것으로 추정되며, 특히 중국에서 보고된 삼배수체인 *L. sinense* ‘Fuxiong’과 *L. sinense* ‘Jinxiong’과의 비교 연구를 통하여 토천궁의 분류학적 실체를 정확하게 규명할 수 있을 것으로 사료된다.

사 사

이 논문은 2014년도 SNU Brain Fusion Program 지원사업 및 2015년도 서울대학교 약학대학 학술연구비의 지원을 받아 수행된 연구임.

인용문헌

- 배현숙(2002) 조선실록연구서설, 태일사, 서울.
- 송기중, 신병주, 박지선, 이인성(2005) 조선왕조실록의 편찬과 봉안, 조선왕조실록 보존을 위한 기초 조사연구 (1), 13-36. 서울대학교출판부, 서울.
- Ministry of Food and Drug Safety (2014) The Korean Pharmacopoeia, Eleventh Edition. Cheongju, Korea.
- Ministry of Health, Labour and Welfare (2011) The Japanese Pharmacopoeia, Sixteenth Edition. Tokyo, Japan.
- China Pharmacopoeia Committee (2010) Pharmacopoeia of the People's Republic of China. China Medical Press. Beijing, China.
- 전국한의학대학교 공동교재편찬위원회 (2004) 본초학, 영림당, 서울.
- Song, I.-G., An, B.-R., Seo, B.-I. and Park, S.-J. (2009) Molecular marker to identify and origin of *Cnidii Rhizoma* from Korea and China. *Kor. J. Herbology* **24**: 1-8.
- Fading, P. and Watson, M. F. (2005) *Ligusticum*. In Wu, Z. and Raven, P. H. (eds.), *Flora of China*, Vol. 14: 140-151. Science Press, Beijing, China.
- 이숙연 (1980) 천궁류의 생약학적 연구. 삼육대학교 논문집 **12**: 407-412.
- 이숙연 (1985) 토천궁의 성분 연구 1. 삼육대학교 논문집 **17**: 399-405.
- Park, Y.-K. (1998) The study on anti-oxidant effects and quality comparison of *Ligusticum chuanxiong*, *Cnidium officinale* (I). *Kor. J. Herbology* **12**: 103-114.
- 이항우, 조현국, 박용기 (1999) 토천궁과 일천궁의 효능 및 품질 비교에 관한 연구(II) - 두 종류의 천궁과 천궁-당귀 배합시 혈관 이완효능. *대한본초학회지* **14**: 55-60.
- Choi, H., Kim, D.-W., Kim, D.-E., Suh, Y. and Ham, I. (2005) The relative identification of *C. officinale* and *L. chuanxiong* by PCR-mediated fingerprinting. *Kor. J. Herbology* **20**: 151-161.
- Fushimi, H., Komatsu, K., Isobe, M. and Namba, T. (1996) A new approach for the identification of a Chinese traditional medicine, "Chuanxiong" by 18S ribosomal RNA gene sequences. *Phytomedicine* **3**: 387-389.
- Kondo, K., Terabayashi, S., Okada, M., Yuan, C. and He, S. (1996) Phylogenetic relationship of medicinally important *Cnidium officinale* and Japanese Apiaceae based on *rbcL* sequences. *J. Plant Res.* **109**: 21-27.
- Zhu, S., Fushimi, H., Han, G., Tsuchida, T., Uno, T., Takano, A. and Komatsu, K. (2007) Molecular identification of "Chuanxiong" by nucleotide sequence and multiplex single base extension analysis on chloroplast *trnK* gene. *Biol. Pharm. Bull.* **30**: 527-531.
- Johnson, L. A. and Solitis, D. E. (1994) *matK* sequences and phylogenetic reconstruction in Saxifragaceae s. str. *Syst. Bot.* **19**: 143-156.
- Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., and Higgins, D. G. (1997) The CLUSTRAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.* **25**: 4876-4882.
- Sugita, M., Shinozaki, K. and Sugiura, M. (1985) Tobacco chloroplast tRNA Lys(UUU) gene contains a 2.5-kilobase-pair intron: An open reading frame and a conserved boundary sequence in the intron. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **85**: 3557-3561.
- 이경록 (2011) 향약집성방의 편찬과 중국 의료의 조선화. *Korean J. Med. His.* **20**: 225-262.
- Hatano, K., Nishioka, I. and Iwasa, S. (1970) Studies on "Senkyu". I. On the sterility of *Cnidium officinale* Makino. *Syoyakugaku Zasshi* **24**: 81-87.
- 도정애 (1969) 토천궁과 일천궁의 세포분류학적 연구. *한국문화연구원논집*. **2**: 121-123.
- Jones K. D. and Reed S. M. (2007) Analysis of ploidy level and its effects on guard cell length, pollen diameter, and fertility in *Hydrangea macrophylla*. *HortScience* **23**: 483-488.
- Fang, S.-M. and Zhang, H.-D. (1984) Studies on the origin of the traditional Chinese drug Fuxiong and its relationships with *Ligusticum chuanxiong* and *L. sinense*. *Acta Phytotaxonomica Sinica* **22**: 38-42.
- Zhang, H.-D., Fang, S.-M. and Wu, L.-K. (1990) Studies on the origin of the traditional Chinese drug "Jinxiong". *Acta Phytotaxonomica Sinica* **28**: 477-482.
- Park, Y.-K. (2007) The anti-oxidant effects of *Ligusticum chuanxiong*, *Cnidium officinale* and their mixture with *Angelica gigas*. *Kor. J. Herbology* **22**: 101-108.
- Choi, J.-K., Lim, D.-B. and Lee, Y.-J. (2005) A study on a morphological identification of *Cnidium Rhizome* and *Ligusticum Rhizome*. *Kor. J. Herbology* **20**: 95-101.

(2016. 3. 24 접수; 2016. 5. 13 심사; 2016. 6. 1 게재확정)