

柴胡함유 漢方劑중 黃芩 指標成分의 確認 및 Baicalin 定量

崔 康 注 · 高 成 龍 · 梁 宰 源

韓國人蔘煙草研究所

Identification of Index Components of Scutellariae Radix and Quantitative Determination of Baicalin from Crude Drug Preparation Containing Bupleuri Radix

Kang Ju Choi, Sung Ryong Ko and Jae Won Yang

Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, 311-860, Korea

Abstract—As a part of studies on the quality control of crude drug preparation, *So-Shi-Ho-Tang*, index components of *Scutellariae Radix* were identified by TLC and quantified by HPLC. Wogonin and baicalein were identified in ethyl ether fraction on silica gel plate with benzene/ethyl acetate (1:1, v/v). The content of baicalin was determined by HPLC on μ -Bondapak C₁₈ column with 0.5%-phosphoric acid/acetonitrile (73:27, v/v). Its recovery rate in the extract granules, compared to the content in the *Scutellariae Radix*, was 52.1±0.7%.

Keywords—*Scutellariae Radix* · index components · crude drug preparation, *So-Shi-Ho-Tang* · TLC · HPLC

黃芩은 꿀풀과(Labiata)에 속하는 속씨은 풀 (*Scutellaria baicalensis* Georgi)의 주괴¹⁻³⁾를 벗긴 것으로 熱病, 黃膽, 腹痛, 下痢 등의 藥效⁴⁾가 있다고 보고되고 있다. 黃芩도 역시 漢方에서는 주로 수종의 生藥材와 배합하여 湯劑로 服用하여 왔고 최근에는 복용이 간편하도록 제제화되어감에 따라 品質管理의 科學化도 중요한 문제로 대두되고 있다. 특히 生藥材는 그 자체의 함량차 뿐만 아니라 抽出 濃縮 및 제제화 과정에서 他 生藥成分의 영향으로 品質管理에 어려움이 많다고 할 수 있다. 生藥複方劑중 黃芩의 指標成分에 대한 品質管理는 HPLC^{5,6)}에 의한 baicalin, baicalein, wogonin 및 wogonin glucuronide 등 定量方法이 보고되고 있으며, 黃芩의 指標成分도 生藥複方劑에 따라 最終 製品중으로 그 移行量이 크게 차이가 나는 것으로 보고되고 있

다.⁶⁾ 본연구에서는 生藥複方劑의 指標成分에 관한 品質管理 研究 일환으로 小柴胡湯 試製品중의 黃芩 指標成分에 대한 TLC 확인 시험방법을 설정하고 HPLC에 의한 baicalin의 함량과 그 移行量을 조사하였다.

實驗 方法

材 料

1) 人蔘 및 生藥材

前報⁷⁾와 동일한 原料紅蔘 및 生藥材를 사용하였다.

2) 試藥類

Baicalin 標準品은 Wako chemicals標準品(020-07741)을 사용하였다. TLC plate는 silicagel 60 plate(layer thickness 0.2 mm, E. Merck Co., Art

5553)를, HPLC 분석용매類는 E. Merck Co.의 HPLC용 용매를 사용하였으며 기타 抽出용매類 및 TLC 展開용매類는 一級試藥을 각각 사용하였다.

方 法

小柴胡湯 試製品 製造

漢方醫書인 處方分量集⁸⁾의 小柴胡湯處方比率에 따라 제조된 前報⁷⁾와 동일한 小柴胡湯 標準湯液, 小柴胡湯 엑기스 및 小柴胡湯 顆粒劑를 分析用試料로 사용하였다.

黃芩 指標成分의 TLC確認

(1) TLC 檢液製造

小柴胡湯 試製品 顆粒劑 1日 服用量 10.5g을 취하여 조인트(₩24/40)가 부착된 환저후라스크에 넣고 benzene 100 ml를 가한후 환류냉각기를 부착시켜 水浴上에서 2時間 還流抽出한 다음 benzene 抽出液을 제거하여 脫脂시켰다. 脫脂된 殘溜物에 물 100 ml를 가하여 水浴上에서 2時間 抽出後 여과하여 250 ml 분취여두에 넣고 ethyl ether 100 ml로 抽出 分劃한 다음 分離된 ethyl ether 抽出液을 anhydrous sodium sulfate로 반복 脫水 정제시킨후 減壓濃縮하여 ethyl ether 2 ml에 溶解시켜 TLC 檢液으로 하였다.

對照檢液은 小柴胡湯 1日 服用量 27g중 黃芩 3g을 제외한 6種 生藥材를 處方대로 배합하여 小柴胡湯 原料엑기스와 동일한 方法으로 물抽出物 extract를 分離한 다음 以下 上記와 동일한 方法으로 抽出 및 精製하여 TLC 檢液으로 제조하였다.

黃芩 標準檢液은 黃芩 1日 服用量 3g을 동일한 方法으로 추출 및 정제하여 TLC 檢液으로 하였다.

(2) TLC 展開용매 및 發色劑

Silicagel 60 plate에 benzene/ethyl acetate(1:1)의 展開용매 造成으로 展開시킨 다음 20%—sulfuric acid을 분무하여 110°에서 약 10분간 加溫 發色시켰다.

Baicalin의 HPLC 定量

(1) HPLC 檢液製造

黃芩粉末 및 小柴胡湯 試製品을 baicalin으로 약 100 mg(본제품 1回 服用量 3.5g)에 해당하는 양을 정밀히 달아 50% 에탄올 100 ml씩으로 1時

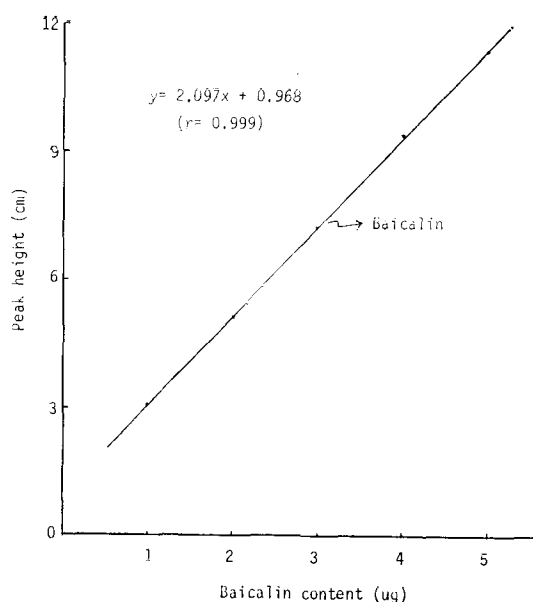


Fig. 1. Calibration curve of baicalin by HPLC.

間씩 水浴上에서 2회 還流抽出 여과한 다음 50% 에탄올 50 ml로 세척하여 정확히 250 ml로 定溶하여 檢液으로 하였다.^{5,6)} 따로 baicalin 標準品の 檢量線 作成은 HPLC 注入量이 1~6 μg 범위 가 되도록 標準檢液을 제조하였다.

(2) HPLC 定量

上記와 같은 方法으로 製造된 檢液을 다음과 같은 HPLC 定量方法으로 baicalin을 定量하였다. HPLC는 Waters Associates Model 224를, column은 μ-Bondapak C₁₈ (waters, ID 3.9 mm×30 cm), 檢出器는 UV-detector(280 nm)를 사용하였고 mobile phase는 0.5%—phosphoric acid : acetonitrile(73:27, v/v)을 사용하였다. 한편 HPLC로 分析하여 얻은 baicalin의 peak 높이로 作成된 檢量線은 Fig. 1과 같다. 이 檢量線의 回歸方程式은 $y=2.097x+0.968$ 이며, 直線性을 檢定한 結果 그 相關係數가 $r=0.999$ 로서 1.0에 接近하여 baicalin의 量과 peak height ratio間에 直線性이 인정되었다.

實驗 結果 및 考察

小柴胡湯 製劑중 黃芩 指標成分의 TLC 確認試驗

본시험에서 제조한 小柴胡湯 試製品중 黃芩成

분의 TLC 確認試驗은 小柴胡湯, 小柴胡湯에서 黃芩을 뺀 試料 및 黃芩을 각각 동일한 방법으로 처리 후 TLC로 展開시켜 小柴胡湯製劑중 黃芩 指標成分을 確認하였다.

黃芩의 ethyl ether 抽出分劃物(抽出方法은 實驗方法에 기재)을 silica gel plate에 benzene : ethyl acetate(1 : 1)으로 展開시켜 Fig. 2에서와 같이 wogonin($R_f=0.5$)과 baicalein ($R_f=0.24$)을 同定할 수 있었다. 그러나 baicalein의 配糖體 成分이라고 할 수 있는 baicalin은 본시험에서 사용한 展開溶媒 造成으로는 이동이 되지 않았으며 展開溶媒造成을 바꾸어 TLC 조사결과 黃芩의 ethyl ether 抽出分劃에는 移行되지 않음을 알 수 있었다. 또한 Fig. 3에서와 같이 黃芩과 小柴胡

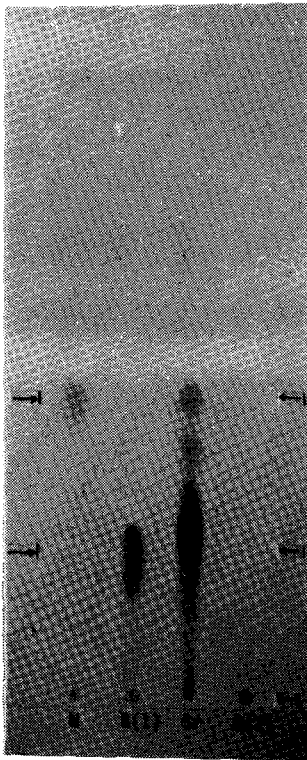
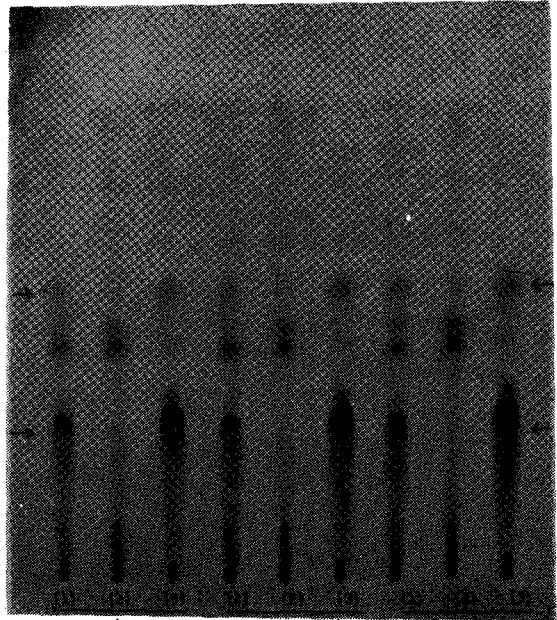


Fig. 2. Thin layer chromatogram of standard components and ethyl ether fraction of Scutellariae Radix.

*Silica gel plate developed in solvent system (benzene : ethyl acetate=1 : 1, v/v) and detected with 20%-sulfuric acid

**The samples were as follows; W: wogonin, B(1): baicalein, Sr: Scutellariae Radix, B(2): baicalin



Lot A Lot B Lot C

Fig. 3. Thin layer chromatogram of ethyl ether fraction of So-Shi-Ho-Tang and Scutellariae Radix.

*Silica gel plate developed in solvent system (benzene : ethyl acetate=1 : 1, v/v), and detected with 20%-sulfuric acid

**The samples were as follows; (1) So-Shi-Ho-Tang granules, (2) So-Shi-Ho-Tang extract without Scutellariae Radix, (3) Scutellariae Radix

湯에서는 baicalein과 wogonin을 확실하게 확인할 수 있었으나 小柴胡湯에서 黃芩을 제외시킨 경우는 이들 成分이 檢出되지 않았다. 따라서 이들 成分은 小柴胡湯중 黃芩의 指標成分을 TLC로 品質管理하는데 적합한 成分임을 알 수 있었다.

小柴胡湯 製劑중 Baicalin의 HPLC 定量試驗

小柴胡湯중 黃芩成分의 定量은 그 함량이 많은 baicalin을 指標成分으로 定量하였으며 原料로부터 最終 製品중의 移行量을 조사하였다. 生藥 複方劑중 baicalin의 定量方法으로는 황 등이 보고한 HPLC 分析方法^{5,6}이 주로 통용되고 있으나 이 分析方法은 mobile phase의 溶媒造成이 복잡하고 flow rate을 변경해주어야 하고 pump에 압력이 많이 걸리는 단점이 있었다. 본실험에서는

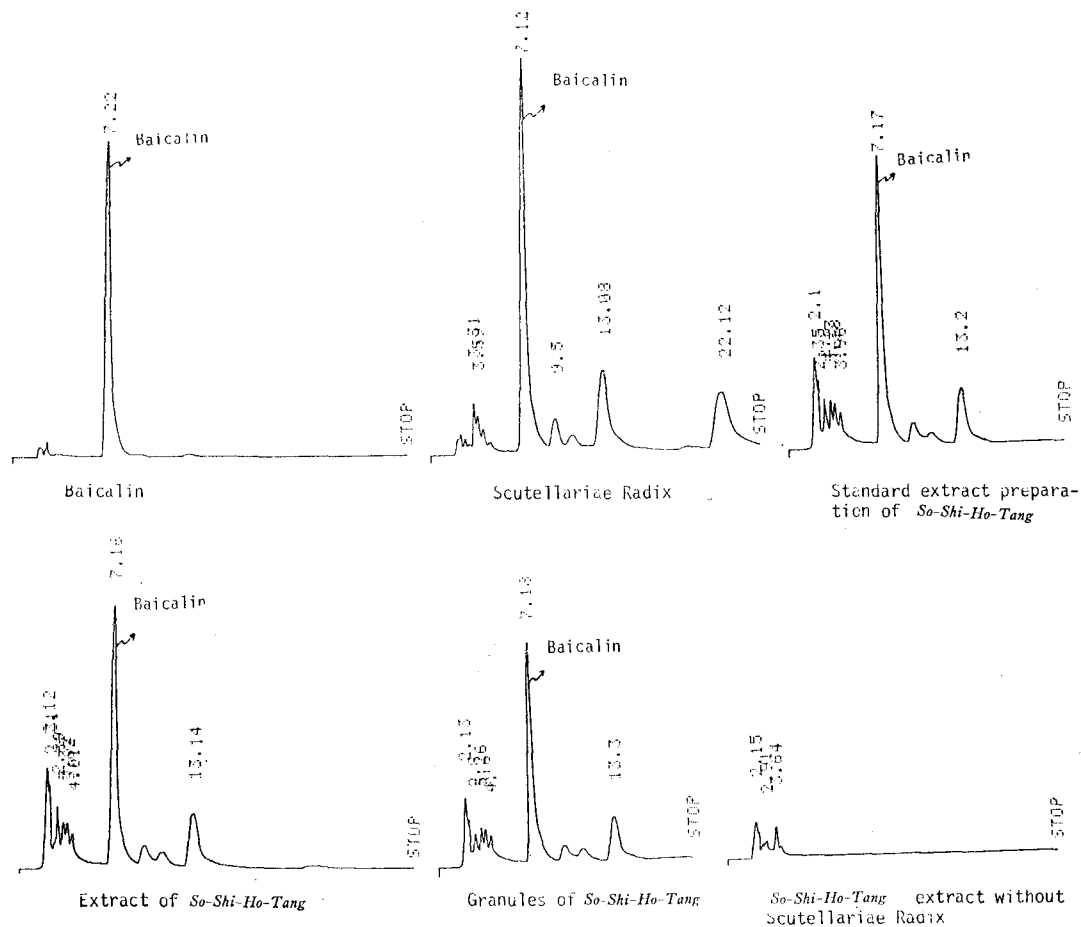


Fig. 4. HPLC patterns of baicalin and 50% ethanol extracts of *Scutellariae Radix* and *So-Shi-Ho-Tang* preparations

Table 1. Recovery contents of baicalin to *So-Shi-Ho-Tang* preparations (Unit: mg)

Lot No.	Sample	Scutellariae radix (2g)	Standard* preparation	Extract*	Granules*
Lot A	1	286.5	156.8	156.3	151.5
	2	292.5	162.0	165.0	148.5
	3	282.8	159.8	159.0	149.3
	Average	287.3	159.5	160.1	149.8
Lot B	1	352.3	201.0	183.0	191.3
	2	327.8	204.0	201.0	178.5
	3	347.5	202.5	197.3	172.5
	Average	342.5	202.5	193.8	180.8
Lot C	1	308.8	169.5	169.5	163.5
	2	306.0	171.8	166.5	166.5
	3	323.5	171.0	171.8	152.3
	Average	312.8	170.8	169.3	160.8

*From 27 g of *So-Shi-Ho-Tang*.

이와같은 단점을 보완하기 위하여 μ -Bondapak C₁₈ column에 0.5%-phosphoric acid : acetonitrile (73 : 27, v/v)을 이동상으로 하여 UV 280 nm에서 검출 정량하였으며 Fig. 4에서와 같이 분리패턴이 매우 양호하였다. 또한 小柴胡湯중 黃芩을 제외한 6종의 生藥材를 小柴胡湯 比率대로 배합한 抽出物의 HPLC 패턴에서는 baicalin의 peak와 retention time이 동일한 成分의 peak가 검출되지 않아서 小柴胡湯중 黃芩의 指標成分으로 정량하는데 매우 적합하였다.

본 試製品의 1日量을 기준하여 原料黃芩 2g, 小柴胡湯 1일분의 原料生藥材 27g에서 抽出된 標準湯液, 엑기스 및 最終顆粒製品중의 baicalin함량 分析結果는 Table I과 같다.

小柴胡湯 製劑중 baicalin을 指標成分으로 하여 HPLC로 정량할 경우 原料 黃芩으로부터 最終 小柴胡湯엑기스 顆粒製品까지의 品質管理가 가능하였다. 그리고 原料 黃芩으로부터 小柴胡湯중의 平均 移行率을 볼때 標準湯液은 56.4±2.4%, 엑기스는 55.5±1.3%, 最終 顆粒製品은 52.1±0.7%였다.

황 등이 금귀당귀산, 膠艾止血湯, 太陰人熱多寒少湯, 加味防風通聖散와 같은 生藥複方劑중 baicalin의 移行率 減少를 보고한 바와 같이 小柴胡湯 製劑의 경우도 baicalin의 移行率이 감소됨을 알 수 있었으며 따라서 品質檢査基準 設定時 이와같은 移行率의 감소가 고려되어야 할 것으로 사료된다.

結 論

小柴胡湯 製劑중 黃芩의 指標成分에 대한 品

質管理研究의 일환으로 TLC에 의한 確認條件을 設定하고 HPLC에 의한 baicalin의 移行率을 調査하였다. TLC 確認은 ethyl ether抽出 分割物을 silicagel plate에 benzene/ethyl acetate(1 : 1, v/v)로 展開시킨 다음 20%-sulfuric acid으로 發色시켜 黃芩 特異의 指標成分으로 wogonin과 baicalein을 確認하였다. HPLC에 의한 baicalin 移行率調査는 50%-ethanol 抽出物을 μ -Bondapak C₁₈ column에 0.5%-phosphoric acid/acetonitrile(73 : 27, v/v)을 이동상으로하여 baicalin을 정량하였으며 小柴胡湯 엑기스 顆粒劑중의 平均 移行率은 52.1±0.7%였다.

(1990년 3월 2일 접수 : 4월 28일 수리)

文 獻

1. 이서진 : 도해본초강목, 고문사, 서울 (1975).
2. 한대석 등 : 본초학, 동명사, 서울 (1964).
3. 대한보건의공정서협회 : 대한약전(제 5개정), 한국메디칼인덱스사, 서울 (1975).
4. 高本敬次郎 等 : 和漢藥物學, 南山堂, 東京 (1980).
5. 국립보건원 : 생약시험방법집(국립보건원 예규 제 283호), 국립보건원, 서울 (1986).
6. 황영식, 원도희, 윤태보, 조정희, 강신정, 노희원 : 생약 및 생약 제제의 규격에 관한 연구(Ⅲ. 황금 및 그 함유제제의 분석법, 국립연구원보 제22권, pp. 375-381 (1985).
7. 최강주, 고성룡, 전병선, 성현순 : 생약학회지 20 (3) 175 (1989).
8. 日藥連漢方專門委員會(趙弼衡 譯編) : 一般用漢方處方の 길잡이, 大韓科學漢方藥研究會, 서울 (1980).