약제학회지(1994), 제24권 제 4호
J. Kor. Pharm. Sci., Vol. 24, No. 4, 233-243 (1994)

바이칼린 함유생약의 제제화 및 생체이용률 (제 1보) : 황금 및 황련 공침물의 확인 및 물리화학적 성질

양재헌† · 김동수 · 박현구 · 이남희
전주우석대학교 약학과

(1994년 9월 15일 접수)

Preparation and Bioavailability of Oriental Medicine Containing Baicalin (I) : Identification and Physicochemical Properties of Coprecipitated Product of Scutellariae Radix and Coptidis Rhizoma

Jae-Heon Yang,† Dong-Su Kim, Hyun-Goo Park and Nam-Hee Lee
College of Pharmacy, Jeon Ju Woosuk University, Jeonju 565-800, Korea

(Received September 15, 1994)

Precipitation was formed during the preparation of decoction from a mixture of Scutellariae Radix and Coptidis Rhizoma or Phellodendri Cortex according to the prescription of Hwang-ryean-hae-dog-tang. Baicalin and berberine were identified in coprecipitated product and these components were the active ingredients of two herbal medicine. The coprecipitated product was very slightly soluble in water and sparingly soluble in ethanol. The stoichiometric ratio of baicalin and berberine was found to be 1:1. The lipid-water partition coefficients of coprecipitated product were increased more than baicalin and berberine in chloroform, but were decreased in other organic solvents. The content of baicalin and berberine in coprecipitated product, determined by HPLC, were 23.08% and 26.75%, but the content of active ingredients in supernatant were 0.66% and 0.26%, respectively. The dissolution profile of baicalin of coprecipitated product was increased more than extract of Scutellariae Radix in artificial gastric juice, but was decreased in artificial intestinal juice. The dissolution rate of berberine of coprecipitated product was lower than extract of Coptidis Rhizoma in artificial gastric juice and intestinal juice commonly.

Keywords—Scutellariae Radix, Coptidis Rhizoma, Coprecipitated product, Identification, Physicochemical properties

바이칼린 (5,6-dihydroxy-4-oxo-2-phenyl-4H-1-benzopyran-7-yl β-d-glucopyranosiduronic acid)은 황금에 함유되어 있는 훌라보노이드의 일종으로서 해열작용, 이뇨작용, 항균작용, 항진균작용, 항바이러스작용, 담즙분비 촉진작용, 위액분비 억제작용, 진정작용, 혈압강하작용 및 죽상동맥경화 방지작용 등 황금 엑스가 나타내는 약리작용의 유효성분은 주로 바이칼린에 기인한 것으로 알려져있다.[1] 황금은 한방에서 주로 황련해독탕, 삼황사심탕, 반하사심탕, 감초사심탕, 생강사심탕 및 황금탕 등으로 처토혈, 비혈, 안저출혈, 불면증, 신경통, 고혈압, 피부소양증, 피부질환, 숙취, 구내염, 혈뇨, 하혈, 열성질환, 변비, 정신불안, 위염, 위하수, 급만성 위장염 및 하리 등의 치료에 폭넓게 사용되고 있다.[2] Takagi 등[3]은 「황금의 수용성 성분에 관한 연구」에서 바이칼린외에 새로운 5종의 훌라보노이드를 분리하여 확인하였고, Tomimori 등[4-6]은 「황금의 훌라보노이드 성분에 대한 연구」에서 황금의 메탄올 엑스로부터 20여종의 훌라보노이드를 분리하여 보고하였다. Takino 등[7]은 「고속액체 크로마토 그래피에 의

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

한 황금중 훌라보노이드 정량」에서 주성분인 바이칼린을 위시하여 7종의 훌라보노이드를 분리 정량하였으며 Choi 등 [8]은 「황금 지표 성분의 확인 및 바이칼린의 정량」에서 박층크로마토그래피 및 고속액체크로마토그래피에 의하여 바이칼린 및 wogonine 등을 분리 동정하였다.

Kimura 등[9-11]은 황금성분이 흰쥐의 간에서 지질산화 작용을 억제함으로써 혈청중 중성지방과 유리지방산의 함유량을 감소시키고 에탄올 섭취에 의하여 유발된 고지혈증에도 효과가 있음을 보고하였다.

한방제제의 특징은 단일 생약을 투여하는 경우는 드물고 주로 2종 이상의 생약을 일정량씩 배합하여 열탕으로 침출한 후 전제, 엑스제, 과립제 및 환제 등으로 제조하여 사용하고 있지만 개별 생약의 약효, 작용점 및 작용기전이 불명확한 경우가 많고 여러 종류의 생약을 배합한 경우에는 더욱 복잡한 양상을 띠게 된다. 생약중에는 기지 또는 미지의 다종 다양한 활성 성분들이 함유되어 있으며 이들 유효 성분들간에 침전반응, 상승작용 및 상반작용 등 복잡한 상호작용으로 말미암아 그 작용 기전은 물론 일정한 약효를 기대하기가 힘들 뿐만 아니라 활성성분의 분리와 정량에 어려움이 따르므로 의약품으로서의 품질관리 및 약효평가 등 많은 문제점을 안고 있다.

저자등은 황금을 함유한 한방제제중 황련해독탕, 삼황사심탕 및 반하사심탕 등 여러종류의 탕제에서 다량의 침전이 생성되는 것을 관찰하였고 이들 침전반응이 유효성분의 활성을 저하시킴으로써 약효를 감소시킬 뿐만 아니라 이들 제제의 품질관리에 막대한 지장을 초래할 것으로 생각되어, 침전물의 조성을 확인하고 물리화학적 성질을 검토하며 이들을 제제화하기 위한 방법을 모색함으로써 생체이용율을 높이고 약효를 증진시키기 위하여 본 연구에 착수하였다.

실험방법

시약 및 기기

시료생약으로는 우리나라에서 흔히 재배되고 있는 황금 (Scutellaria baicalensis Georg.), 황련 (Coptis japonica Makino), 황백 (Phellodendron amurense Ruprecht) 및 산치자 (Gardenia jasminoides Ellis)을 시중 건재상에서 구입하여 사용하였고 바이칼린 (Wako chem. Co.) 및 염화베르베린 (Sigma chem. Co.)은 표준품을 사용하였으며 기타 시약은 특급 및 일급 시약을 사용하였다.

기기로는 자외부 분광광도계 (Shimadzu, Model UV-250), 가시부 분광광도계 (Smart, Model 190 DUV), 용출시험기 (Tokyo Rikakikai Co.), 회전감압건조기 (Tokyo Rikakikai Co.), 동결건조기 (Labconco Co. USA), 고속액체크로마토그래피 (YoungIn, Model M 720), 장환기 (Samsung Pharm. Co.), 및 제환기 (Samsung Pharm. Co.) 등을 사용하였다.

침전 생성의 관찰

한방에서 고혈압, 정신불안, 불면증 및 약물중독 등에 흔히 쓰이는 황련해독탕[2] (동의 보감, 황련 2.0, 황백 2.0, 황금 3.0, 산치자 3.0 g)을 조절로하여 물 100 ml를 넣고 100℃에서 60분간 추출한 후 온시에 무명으로 여과한 다음 여액을 실온에서 방치한 결과 다량의 침전이 생성되었다. 침전반응을 확인하기 위하여 각각의 생약을 온수로 개별 추출하고 여과한 후 여액을 온시에 생약별로 조합하여 침전 현상을 관찰하였다.

공침물의 제조 실험

황금 및 황련 50 g 씩을 조절로하여 각각 다른 플라스크에 넣고 물 500 ml 씩을 넣어 100℃에서 1시간 동안 가열 추출한 후 온시 무명으로 여과하고 양쪽 여액을 혼화시킨 다음 실온에서 하루밤 방치하였다. 생성된 침전을 여과지를 사용하여 여과하고 침전을 취하여 동결건조기 (−66℃, 10 mmHg)내에서 24시간 건조시켜 황색 분말을 얻었다 (Scheme I).

공침물의 확인 실험

황금과 황련 공침물의 함유성분을 확인하기 위하여 박층크로마토그래피 및 흡광도 측정실험을 시행하였다.

TLC 전개용매는 부탄올 · 빙초산 · 물 (7:1:2) 혼합용매를 사용하였고 박층은 Kieselgel 60F_{254}, 반점의 확인은 UV Lamp (254 nm, 365 nm)를 사용하였다. UV 측정은 황련 및 황금 엑스와 공침물을 50% 에탄올에 녹여 20 μg/ml 농도에서 200 nm에서 500 nm까지의 흡수 스펙트럼을 측정하였다.

용해도 측정 실험

황금과 황련 공침물의 용해도 측정은 Higuchi 등[12]

의 방법에 따라 다음과 같이 실험하였다.

각 생약 엑스 분말 및 공침물 일정과량 (50 mg)을 정밀하게 달아 물 10 ml를 가하여 20℃ 및 37℃에서 48시간 흔들어 주어 평형에 도달하게 한 다음, 이 용액을 멤브레인 필터 (0.45 μm)로 여과하고 여액에 증류수를 가하여 희석시킨 후 330 nm에서 흡광도를 측정하여 공침물의 용해도를 비교 측정하였다.

결합조성비 결정실험

황금과 황련 엑스 분말의 결합조성비 결정은 Otagiri 등[13]의 연속변화 비법에 의하여 실험하였다. 황금 및 황련을 각각 주성분인 바이칼린과 베르베린을 기준으로 하여 10^{-4}M 수용액으로 한다음 각각의 몰비를 1:9, 2:8, 4:6, 5:5, 6:4, 8:2 및 9:1의 비율로 혼합하여 실온에서 가끔 진탕시키면서 48시간 방치하여 생성된 침전을 여취하고 50% 에탄올에 녹인 다음 330 nm에서 그 흡광도를 측정하였다.

유수분배계수 측정실험

바이칼린과 베르베린 및 생약 공침물의 유수 분배계수 실험은 Higuchi 등[14]의 방법에 의하여 실험하였다. 수상용매로서는 0.1 N 염산용액과 0.1 M 인산완충액 (pH 6.8)을 사용하였고 유상용매로는 옥틸알코올, 헥산, 벤젠, 클로로포름 및 사염화탄소 등 5종의 용매를 사용하였다.

공침물 10 mg을 분액 깔대기내에서 수상 10 ml에 용해시키고 유상 10 ml를 넣어 실온에서 2시간 동안 진탕시켜 평형에 도달시킨 후 3000 rpm으로 15분 동안 원심분리하고 수층을 분취하여 330 nm에서 흡광도를 측정한 다음 다음식에 의하여 유수분배계수 ($K_{o/w}$)를 산출하였다.

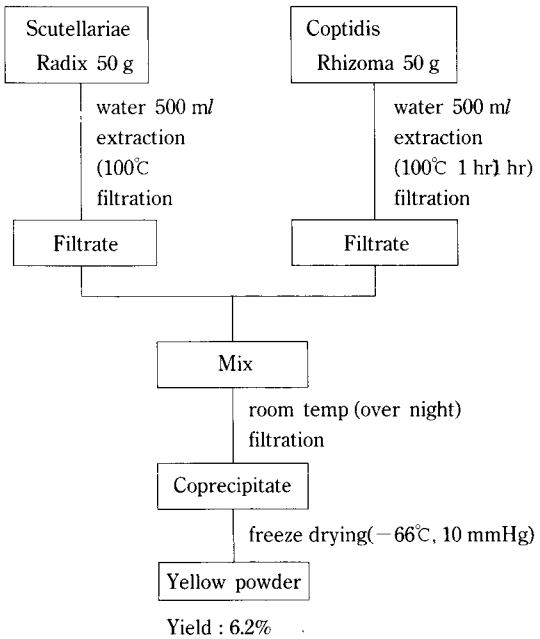
$$K_{o/w}=\frac{A_s-A_w}{A_w}=\frac{C_s-C_w}{C_w}$$

여기에서 A_s 및 A_w는 평형에 도달하기 전 및 도달한 후의 수층에서의 약물의 흡광도를, C_s 및 C_w는 평형에 도달하기 전 및 도달한 후의 수층에서의 약물농도를 각각 나타낸다.

HPLC 확인 및 정량실험

생약 공침물중에 함유되어 있는 바이칼린의 확인 및 정량은 Choi 등[8]의 HPLC 정량법을 이용하였다.

황금 엑스 분말과 생약 공침물 20 mg을 달아 50% 에탄올에 가온하여 녹이고 전량을 200 ml로 한 후



Scheme I — Coprecipitation of decoction of Scutellariae Radix and Coptidis Rhizoma.

검액으로 하였으며 따로 바이칼린 표준품 20 mg을 50% 에탄올 200 ml에 녹인 후 표준액으로 사용하였다. 칼럼은 μ-Bondapak C_{18} (Waters Associates, ID 3.9 mm×30 cm), 검출기는 UV-detector (280 nm), 이동상으로는 아세토니트릴 : 0.5% 인산 (27:73 v/v)을 사용하였다.

한편 공침물중에 함유된 베르베린의 확인 및 정량은 Hattori 등[16]의 HPLC 정량법을 이용하였다. 생약 공침물과 베르베린 표준품은 물에 가온 용해하였으며, 측정농도는 100 μg/ml로 하였다. 칼럼은 바이칼린과 동일하게 사용하였고 검출기는 UV-detector (340 nm), 이동상으로는 아세토니트릴 : pH 5.2 인산염 완충액 (60 : 40, v/v)을 사용하였다.

환제제조 및 용출실험

황금 및 황련 공침물에 대한 환제 제조 및 용출실험은 Miyazaki 등[17]의 방법을 응용하여 실험하였다. 먼저 황금 및 황련 엑스 분말과 공침물을 분쇄하여 50 호체를 통과시키고 유당과 옥수수전분 (paste)를 넣어 혼합하고 반죽한 다음 장환기를 사용하여 pill pipe를 만들고 제환기 및 성환기를 이용하여 100mg 중량의 환제를 제조하였다 (Table I).

대한 약전 용출시험법의 Paddle법에 따라 제조한

Table I—*Formulas of Pills of Scutellariae Radix, Coptidis Rhizome and Coprecipitated Product*

No	Ingredients	A	B	C
1	Scut. Radix (extract)	45.0	-	-
2	Copt. Rhizome (extract)	-	38.0	-
3	Coprecipitate	-	-	23.0
4	Lactose	35.5	42.5	57.5
5	Corn starch (paste)	15.5	15.5	15.5
6	Kaolin	4.0	4.0	4.0
	Total	100.0	100.0	100.0(mg)

환제를 인공위액 및 인공 장액에 넣고 100 rpm으로 회전 시키면서 시간별로 검액을 취하여 HPLC에 의하여 바이칼린 및 베르베린의 양을 측정하였다.

실험 결과

침전생성양상

황련해독탕을 전제로 하기 위하여 물을 넣고 100 ℃ 가온 추출했을 때 다량의 침전이 생성되었으며 이 침전발생의 원인을 규명하고자 각각의 생약을 따로 가온 추출한 후 온시에 생약별로 조합하였을 때 황금과 황련 및 황금과 황백의 조합에서 난용성 침전이 생성되는 것을 확인하였다 (Table II).

공침물의 제조

황금과 황련의 개별 추출액을 온시 여과한 후 여액을 혼합했을 때 다량의 침전이 생성되었고 하룻밤 방치했을 때 침전량은 서서히 증가하였다. 이 침전을 취하여 동결건조 시켰을 때 황색 분말을 얻을 수 있었으며 그 수득율은 6.2%였다.

공침물의 확인

UV Lamp를 조사하여 나타난 반점을 비교한 결과 바이칼린의 반점이 Rf치 0.33이었고 베르베린의 Rf 치는 0.42에서 나타났으며 생약엑스의 TLC 실험에서는 황금엑스에서 바이칼린이, 황련엑스에서 베르베린이 확인되었으나 각각 3개의 반점을 나타내었고 공침물에서는 Rf치 0.33 및 0.42에서 바이칼린 및 베르베린이 동시에 확인되었으나 Rf치 0.24에서도 반점이 나타났다 (Fig. 1). 베르베린의 흡수 스펙트럼은 425, 343 및 262 nm에서 흡수 극대를 나타내었고 황련엑스도 유사한 스펙트럼을 나타내었으나 공침물에서는 343 nm의 파장이 330 nm로

Table II—*Precipitation Reaction of Mixed Decoctions of Hwang-ryean-hae-dog-tang*

No	Class	Copt.	Pellod.	Scutell.
1	Coptidis Rhizoma	−	−	+
2	Phellodendri Cortex	−	−	+
3	Scutellariae Radix	+	+	−
4	Gardeniae Fructus	−	−	−

Key : +; precipitation reaction, −; No reaction

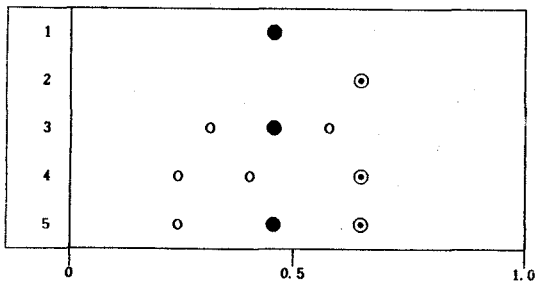


Figure 1—Thin-layer chromatogram of coprecipitated product formed in a mixed decoctions of Scutellariae Radix and Coptidis Rhizoma.
Key : 1; Baicalin, 2; Berberine HCl, 3; Scutellariae Radix, 4; Coptidis Rhizoma, 5; Coprecipitated Product.

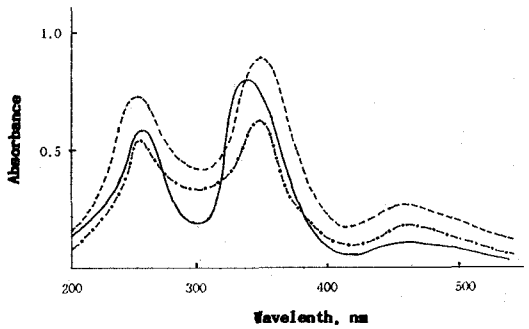


Figure 2—Absorption spectra of berberine HCl, Coptidis Rhizoma and coprecipitated product.
Key : ---; Berberine HCl, -·-·-; Cotidis Rhizoma, ———; Coprecipitated Product.

단파장 이동되었고 425 nm의 극대점은 훨씬 낮아졌다 (Fig. 2). 한편 바이칼린의 스펙트럼은 318 nm, 275 nm에서 흡수 극대가 나타났고 황금엑스도 유사한 스펙트럼을 나타내었으나 공침물에서는 318 nm의스펙트럼이 330 nm로 장파장 이동되었고 425 nm에서 새로운 극대점이 나타났다 (Fig. 3).

용해도

Table III—*Apparent Solubility(%) of Coprecipitated Product of Scutellariae Radix and Coptidis Rhizoma*

No	Class	20℃	37℃
1	Scut. Radix (extract)	2.27	2.75
2	Copt. Rhizoma (extract)	2.01	2.32
3	Coprecipitate	0.10	0.17
4	Baicalin	0.05	0.06
5	Berberine	0.15	0.27

Table IV—*Comparison of Lipid-Water Partition Coefficient of Coprecipitated Product of Scutellariae Radix and Coptidis Rhizoma in 0.1 N-HCl under Various Organic Solvent*

No	Solvent	Baicalin	Berberine	Coprecipitated
1	n-Octanol	0.120	0.496	0.545
2	n-Hexane	0.277	0.250	0.068
3	Benzene	0.234	0.206	0.119
4	Chloroform	0.253	0.767	11.055
5	Carbon tetra-chloride	0.133	0.052	0.058

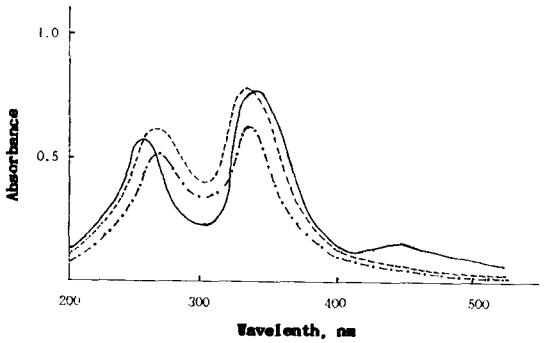


Figure 3—Absorption spectra of baicalin, Scutellariae Radix and co-precipitated product.
Key : ---; Baicalin, -·-·-; Scutellariae Radix, ———; Co-precipitated Product.

황금 및 황련 엑스 분말과 공침물의 용해도를 비교해보면 20℃에서 황금엑스의 용해도가 2.27%, 황련엑스의 용해도는 2.01%이었는데 공침물의 용해도는 0.1%에 불과하였고 37℃에서도 0.17%만이 용해되어 극히 낮은 수치를 나타내었는데 공침물의 용해도는 바이칼린과 베르베린의 중간 정도의 용해성을 보여주었다 (Table III). 한편 용매로써 에탄올을 사용했을 때 물보다는 더 잘 녹았다.

결합 조성비

Table V—*Comparison of Lipid-Water Partition Coefficient of Coprecipitated Product of Scutellariae Radix and Coptidis Rhizoma in 0.1 M Phosphate Buffer (pH 6.8) under Various Organic Solvent*

No	Solvent	Baicalin	Berberine	Coprecipitated
1	n-Octanol	0.188	0.162	1.625
2	n-Hexane	0.161	0.199	1.707
3	Benzene	0.159	0.195	1.531
4	Chloroform	0.170	0.272	50.432
5	Carbon tetra-chloride	0.163	0.236	1.432

Table VI—comparison of Baicalin and Berberine Content (%) in Scutellariae Radix, Coptidis Rhizoma and Coprecipitated Product by HPLC Determination

No	Class	Baicalin	Berberine
1	Scut. Radix (powder)	3.42	-
2	Copt. Rhizoma (powder)	-	5.14
3	Scut. Radix (extract)	20.12	-
4	Copt. Rhizoma (extract)	-	30.58
5	Coprecipitate	23.08	26.75
6	Supernatant	0.66	0.26

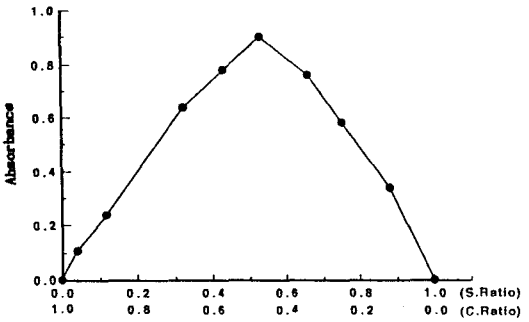


Figure 4—Continuous variation plots for coprecipitated product of Scutellariae Radix and Coptidis Rhizoma.

연속변화비법에 의하여 330 nm에서의 흡광도 수치를 비교해보면 황금과 황련의 공침현상이 각각 바이칼린과 베르베린으로서 5:5 비율일 때 가장 높은 흡광도 치를 나타냄으로써 바이칼린과 베르베린의 침전반응 결합조성비는 1:1 몰비임을 알 수 있었다 (Fig. 4).

유수분배 계수

0.1 N 염산을 수상용매로 사용한 공침물의 분배

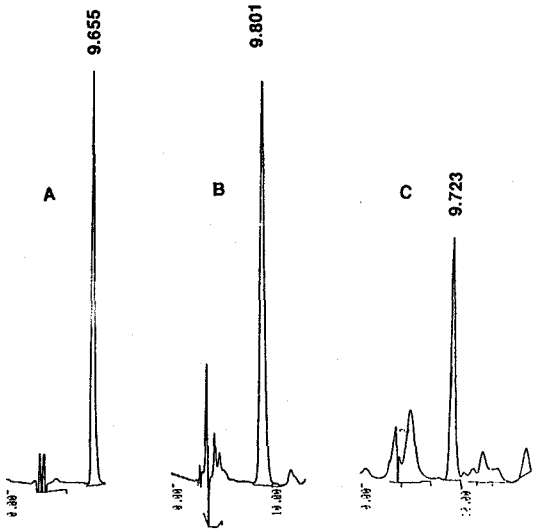


Figure 5—HPLC patterns of baicalin, extract of Scutellariae Radix, coprecipitated product of Scutellariae Radix and Coptidis Rhizoma.
Key : A; Baicalin, B; Scutellariae Radix, C; Coprecipitated of Product of Scut. Radix and Copt. Rhizoma.

계수는 유상용매로써 클로로포름을 사용한 것이 11.055로써 바이칼린 및 베르베린에 비하여 훨씬 높아졌고 옥틸알코올에서는 0.545로써 베르베린보다 약간 높았으나 다른 용매에서는 아주 낮은 수치를 나타내었다 (Table V).

0.1 M 인산염 완충액 (pH 6.8)을 사용한 공침물의 분배 계수는 유상용매로써 클로로포름을 사용한 것이 50.432로써 월등하게 높은 수치를 나타내었고 옥틸알코올에서는 1.625이었으며 다른 용매에서도 옥틸알코올과 유사한 수치를 보여주었다 (Table V).

HPLC 확인 및 정량

바이칼린의 50% 에탄올 용액을 HPLC에 주입하였을때 9.66분에 바이칼린 피크가 나타났고 황금 엑스에서는 9.80분에 피크가 나타났으며 황금 및 황련 공침물에서도 9.72분에 피크가 나타남으로써 공침물속에 바이칼린이 함유되어 있음을 확인할 수 있었다 (Fig. 5).

따로 베르베린 수용액을 HPLC에 주입했을 때 6.55분에 피크가 나타났고 황련 엑스에서는 6.63분에 피크가 나타났으며 황금 및 황련 공침물에서도 6.56분에 피크가 나타남으로써 공침물속에는 베르베린이 함께 함유되어 있는 것을 확인하였다 (Fig. 6).

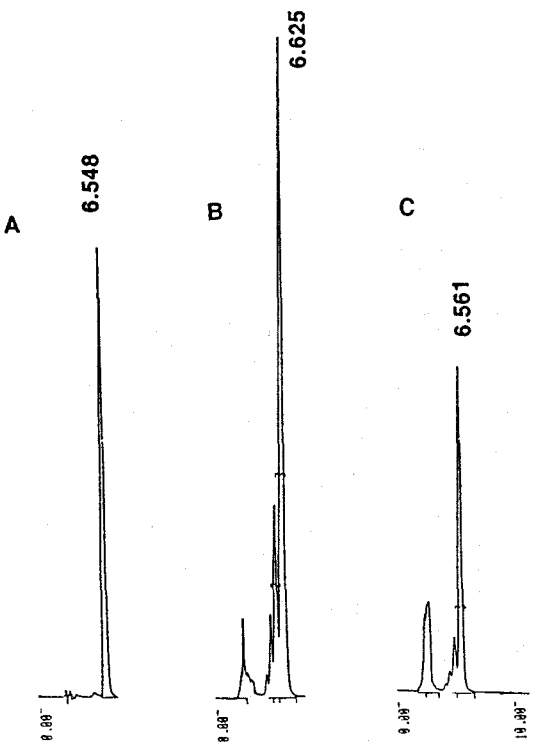


Figure 6—HPLC patterns of berberine, extract of Coptidis Rhizoma, coprecipitated product of Scutellariae Radix and Coptidis Rhizoma.
Key : A; Berberine, B; Coptidis Rhizoma, C; Coprecipitated of Product of Scut. Radix and Copt. Rhizoma.

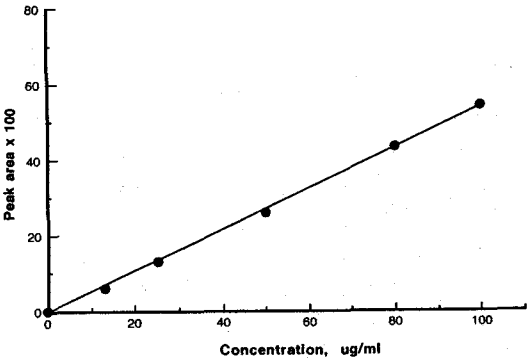


Figure 7—Calibration curve of baicalin by HPLC determination. ($y=5.34x-20.02$, $r=0.999$)

바이칼린의 피크면적으로 작성된 검량선의 회귀방정식은 $y=5.34x-20.02$였고 직선성을 검정한 결과 그 상관계수 (r)가 0.999로써 1.0에 접근하여 100 μg/ml이하의 농도에서는 바이칼린의 양과 피크 면

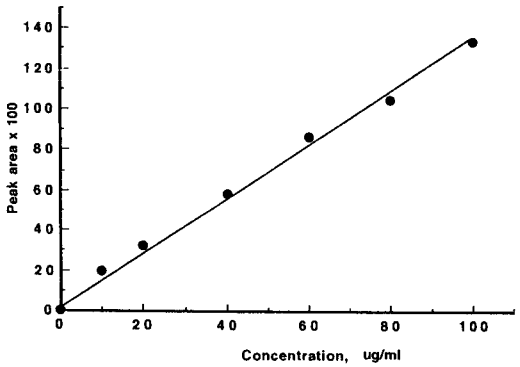


Figure 8—Calibration curve of berberine by HPLC determination. ($y=124x-63.87$, $r=0.996$)

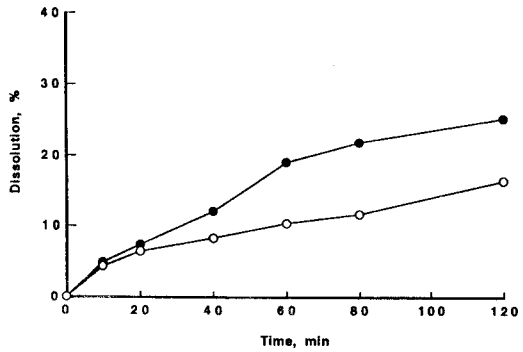


Figure 9—Dissolution profiles of baicalin in Scutellariae Radix and coprecipitated product under artificial gastric juice (pH 1.2). Each point represents the mean of six determinations.
Key : ●; Coprecipitated Product, ○; Scurellariae Radix.

적비간에 직선성이 인정되었다 (Fig. 7).

또한 베르베린의 회귀방정식은 $y=124x+63.87$ 이였고 직선성을 검정한 결과 그 상관계수 (r)가 0.996으로서 베르베린의 양과 피크 면적비 간에 직선성이 인정되었다 (Fig. 8).

각각의 검량선에 의하여 생약 및 공침물에 함유되어 있는 바이칼린의 함량을 측정한 결과 황금분말에서 3.42%이었고 황금엑스에서는 20.12%이었는데 공침물에서는 23.08%의 바이칼린을 함유하고 있는데 비하여 상징액에는 0.66%로서 함유량이 아주 낮게 나타났다.

한편 베르베린의 함량은 황련 분말에서 5.14%이었고 황련 엑스에서는 30.58%이었는데 공침물에서는 26.75%의 베르베린을 함유하는데 비해 상징액에는 0.26%로써 역시 아주 낮은 수치를 보여 주었다

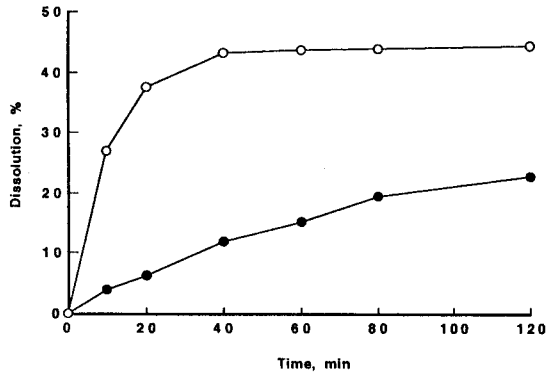


Figure 10—Dissolution profiles of baicalin in Scutellariae Radix and coprecipitated product under artificial intestinal juice (pH 6.8). Each point represents the mean of six determinations.
Key : ●; Coprecipitated Product, ○; Scurellariae Radix.

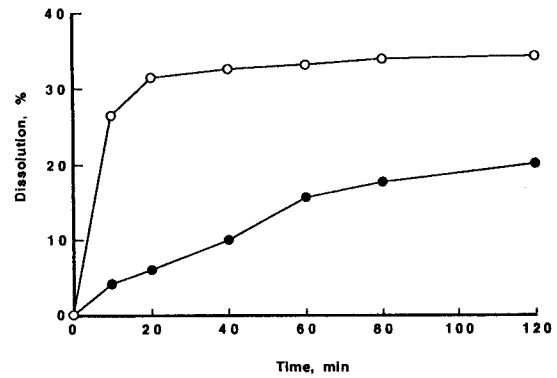


Figure 11—Dissolution profiles of berbering in Coptidis Rhizoma and coprecipitated product under artificial gastric juice (pH 1.2). Each point represents the mean of six determinations.
Key : ●; Coprecipitated Product, ○; Coptidis Rhizoma.

(Table V).

환제의 용출

황금 및 황련 엑스와 이들 공침물을 환제로 만들어 주성분의 용출률을 비교한 결과 바이칼린의 용출률은 인공위액에서 60분 후에 황금엑스가 10.4%인 반면 공침물에서는 19.0%로 2배 정도 높았고, 120분 후에 황금 엑스는 16.3%인데 비하여 공침물에서는 25.1%로써 9% 정도 높은 용출률을 나타내었다 (Fig. 9). 그러나 인공장액에서는 60분 후에 황금엑스가 43.6%의 높은 용출률을 나타낸 반면 공침물은 15.3%로써 훨씬 낮은 수치를 보여 주었고 120분 후

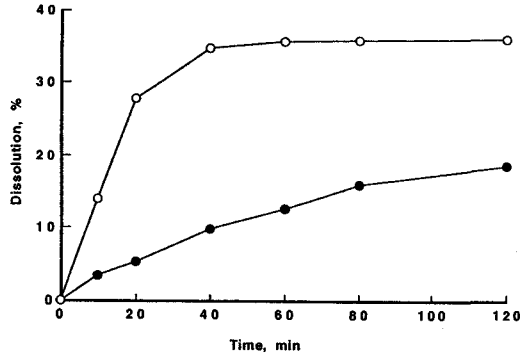


Figure 12—Dissolution profiles of berberne in Coptidis Rhizoma and coprecipitated product under artificial intestinal juice (pH 6.8). Each point represents the mean of six determinations.
Key : ●; Coprecipitated Product, ○; Coptidis Rhizoma.

에도 황금 엑스는 44.3%가 용출되었으나 공침물에서는 22.8%로써 절반 정도에 불과하였다 (Fig. 10).

한편 베르베린의 용출률은 인공 위액에서 60분 후에 황금엑스가 33.2%인 반면 공침물은 15.5%로써 낮은 수치를 나타내었고, 120분 후에도 황금엑스가 34.4%인 반면 공침물은 20.1%에 불과하였다 (Fig. 11).

인공장액에서 베르베린의 용출률은 60분 후에 황금 엑스가 35.7%인 반면 공침물은 12.5%로써 훨씬 낮은 수치를 보여주었고, 120분 후에는 황금 엑스가 36.03%의 용출률을 나타낸 반면 공침물에서는 18.6%로써 절반 정도로 용출률이 낮아졌다 (Fig. 12).

고 찰

황련해독탕에 물을 넣고 가온 추출한 후 온시 무명으로 여과하고 방치한 결과 다량의 침전을 생성하였으며 이 침전을 다시 가온하여도 침전은 용해되지 않았다.

각각의 생약을 따로 가온추출하여 2종씩 조합하면서 침전의 양을 관찰한 결과 황금과 황련 추출액을 혼합했을 때가 황금과 황백의 조합보다 훨씬 많이 생성되었는데 침전속에 유효 성분을 함유할 경우 약효에 막대한 지장을 초래할 것으로 생각되어 황금의 주성분인 바이칼린과 황련의 주성분인 베르베린을 대상으로하여 TLC 및 UV 확인 실험을 시행하였다.

생성된 침전은 물에 난용성이었으므로 새로운 염의 생성이 예측되었으나 TLC 실험결과는 Fig. 1로 황금 및 황련 공침물이 새로운 위치에서 반점이 나타나지 않고 각각 바이칼린과 베르베린의 위치에서 반점이 나타남으로써 염 형성의 가능성은 희박한 것으로 여겨지며 난용성 침전물 생성의 원인은 더 연구되어야 할 과제로 생각된다.

공침물의 흡수 스펙트럼은 Fig. 2와 같이 425 nm, 330 nm 및 268 nm에서 흡수극대를 나타냄으로써 바이칼린과 베르베린을 모두 함유하는 것으로 확인되었다. 황금과 황련엑스의 용해도는 Table III과 같이 모두 2%를 조금 넘었으나 공침물의 용해도는 20℃에서 0.1%로 극히 낮았고 37℃에서도 0.17%에 불과함으로써 두 생약이 난용성 침전을 형성하고 있음을 알 수 있었다.

각 생약의 주성분인 바이칼린과 베르베린 수용액은 그자체 성분만으로서는 침전 생성이 쉽게 이루어지지 않음으로써 생약중의 다른 성분에 의하여 공침현상이 유발된 것으로 생각되며 바이칼린과 베르베린의 침전반응 결합조성비는 연속변화 비법에 의하여 Fig. 4와 같이 1:1 몰비임이 확인되었다.

공침물의 유수분배계수는 염산산성에서 Table IV와 같이 클로로포름을 제외한 다른 용매에서 낮은 수치를 보여주었고 pH 6.8 인산염 완충액에서는 Table V와 같이 바이칼린 및 베르베린에 비하여 비교적 높은 수치를 나타내었으나 클로로포름에서만 50.432로서 월등하게 높은 수치를 나타내고 인체의 피부와 가장 유사한 지용성을 갖는 옥틸알코올에서는 1.625에 불과함으로써 공침물을 경구투여할 경우 높은 체내흡수율을 기대하기는 어려울 것으로 생각된다.

바이칼린과 베르베린의 HPLC에 의한 확인은 한가지 용매조건에서 두가지 성분의 동시확인이 어려웠으므로 아세토니트릴을 공통 용매로하고 바이칼린은 0.5% 인산을, 베르베린 분리시에는 pH 5.2 인산염 완충액을 사용함으로써 Fig. 5 및 6과 같이 양호한 분리양상을 보여주었는데 양쪽용매에서 염형성으로 간주될만한 새로운 피크는 발견되지 않았다. 바이칼린과 베르베린의 검량선을 작성한 후 각 생약과 공침물의 함량을 측정한 것은 Table VI과 같이 황금 및 황련엑스에서의 주성분 함량이 각 생약 분

말에 비하여 약 6배 정도 높아졌고 이 두가지 성분을 전제로하여 혼합했을 경우에는 공침물중에 바이칼린이 23.08%, 베르베린은 26.75%가 함유됨으로써 공침물 중에 50%정도의 유효성분이 함유되어 있었고 상징액중에 용해되어 있는 주성분은 함유비율이 1% 미만에 불과하였다.

황금 및 황련 전제의 공침물속에는 유효성분인 바이칼린과 베르베린을 다량 함유하고 있으므로 이들 침전물을 환제로 만들어 각 생약의 엑스와 용출률을 비교함으로써 이들을 생체에 경구투여했을 때 위장관내 흡수 가능성을 검토하였다. Fig. 9 및 10과 같이 황금 엑스에 함유되어 있는 바이칼린은 인공위액에서 60분 후에 10%정도의 낮은 용출률을 나타낸 반면 인공장액에서는 40%이상으로 용출률이 높아졌다. 그러나 공침물중에 함유되어 있는 바이칼린은 인공위액에서 60분 후에 20%에 가까운 용출률을 나타내었으나 인공장액에서는 15%로 낮아짐으로써 산성보다 중성 영역에서 용출률이 더 낮아지는 현상을 관찰할 수 있었다.

Fig. 11 및 12와 같이황련엑스에 함유되어 있는 베르베린은 인공위액에서 60분 후에 30%가 넘는 용출율을 나타낸 반면 공침물에서는 약 15%로써 절반 이하의 용출률을 보여 주었고, 인공장액에서는 황련엑스가 60분 후에 36%의 용출률을 보인 반면 공침물의 용출률은 약 12%로써 삼분의 일정도에 불과하였다.

인공장액에서 공침물이 단일 생약엑스에 비하여 용출률이 절반 이하로 떨어진 것은 생약중 유효성분인 바이칼린과 베르베린이 난용성 침전을 생성한데 기인한 것으로 생각되며 이들의 침전 생성을 방지하든가 또는 공침물에서의 용출률을 높이기 위한 제제화 연구가 필요할 것으로 사려된다.

결 론

황련해독탕을 전제로 제조하였을 때 다량의 침전이 생성되었고 이 침전을 취하여 확인시험, 결합조성비 결정, 유수분배계수실험, HPLC 확인 및 정량실험, 환제제조 및 용출실험 등을 시행한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 생성된 침전은 물에 난용성이었고 TLC 실험결과 각 생약의 활성성분인 바이칼린과 베르베린이 확인되었다.

2) 황금과 황련의 결합조성비는 주성분인 바이칼린과 베르베린이 1:1 몰비로 이루어졌다.

3) 공침물의 유수분배계수는 클로로포름을 사용한 용매에서만 높은 수치를 나타냈으나 염산산성 및 pH 6.8 완충용액에서 모두 낮은 수치를 보여주었다.

4) 황금과 황련 공침물은 HPLC 실험에 의하여 바이칼린과 베르베린이 각각 확인되었으나 염형성으로 간주될만한 새로운 피크는 발견되지 않았다.

5) 황금과 황련을 전제로하여 혼합하였을 경우 생성된 공침물중에는 바이칼린이 23.08%, 베르베린이 26.75%가 함유되어 주성분이 50% 정도를 차지하였고, 상징액 중에 잔류되어 있는 주성분은 1% 미만에 불과하였다.

6) 공침물중에 함유되어 있는 바이칼린의 용출률은 인공위액에서는 황금엑스 보다 높게 나타났으나 인공장액에서는 훨씬 낮아졌다.

7) 공침물중에 함유되어 있는 베르베린의 용출률은 인공위액 및 인공장액에서 모두 황련엑스 보다 훨씬 낮은 수치를 나타내었다.

이상의 실험결과 황금과 황련이 복합처방되어 있는 한방제제는 전제로 할 경우 활성성분들이 난용성 침전을 생성함으로 말미암아 약효에 막대한 지장을 초래할 것으로 생각되며 이에 대한 대비책이 강구되어야 할 것으로 생각된다.

문 헌

1) 陸昌洙, 金成萬, 漢藥의 藥理·成分·臨床應用, 癸丑文化社, 403-406 (1982).
2) 趙弼衡, 藥局의漢方, 大韓科學漢方研究會, 118-129 (1982).
3) S. Takagi, M. Yamaki and K. Inoue, Studies on the water-soluble constituents of the roots of Scutellaria baicalensis, *Yakugaku Zasshi*, **100**(12), 1220-1224 (1980).
4) T. Tomimori, Y. Miyaichi and Y. Imoto, Studies on the constituents of Scutellaria Species (2), *Yakugaku Zasshi*, **103**(6), 607-611 (1983).
5) T. Tomimori, Y. Miyaichi and Y. Imoto, Studies on the constituents of scutellaria Species (3), *Yakugaku Zasshi*, **104**(5), 524-528 (1984).
6) T. Tomimori, Y. Miyaichi and Y. Imoto, Studies on the constituents of Scutellaria Species

(4), *Yakugaku Zasshi*, **104**(5), 529-534 (1984).
7) Y. Takino, T. Miyahara and E. Arichi, Determination of some flavonoids in Scutellariae Radix by HPLC, *Chem. Pharm. Bull.*, **35**(8), 3494-3497 (1987).
8) K.J. Choi, S.R. Ko and J.W. Yang, Identification of index components of Scutellariae Radix and quantitative determination of baicalin from crude drug preparation, *Kor. J. Pharmacogn.*, **21**(2), 15-162 (1990).
9) Y. Kimura, M. Kubo and T. Tani, Studies on Scutellariae Radix (3), Effects on lipid metabolism in serum, liver and fat cells of rats, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**(8), 2308-2312 (1981).
10) Y. Kimura, M. Kubo and T. Tani, Studies on Scutellariae Radix (4), Effects on lipid peroxidation in rat liver, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**(9) 2610-2617 (1981).
11) Y. Kimura, M. Kubo and K. Kusaka Studies on Scutellariae Radix (5), Effects on ethanol-induced hyperlipemia and lipolysis in isolated fat cells, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**(1), 219-222 (1982).
12) T. Higuchi and J.L. Lach, Investigation of some complexes formed in solution by caffeine, *J. Amer. Pharm. Assoc.*, **43**(6), 349-353 (1953).
13) M. Otagiri, K. Uekama and K. Ikeda, Inclusion complexes of β-cyclodextrin with tranquilizing drugs phenothiazines in aqueous solution, *Chem. Pharm. Bull.*, **23**(1), 188-195 (1975).
14) T. Higuchi and K.A. Connors, Phase solubility technics, *Adv. Anal. Chem. Instr.*, 117-212 (1965).
15) S. Miyazaki, M. Oshiba and T. Nadai, Dissolution properties of salt forms of berberine, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**(3), 883-886 (1981).
16) S. Takagi, M. Yamaki and K. Inoue, On the minor constituents of the roots of Scutellaria baicalensis, *Yakugaku Zasshi*, **101**(10), 899-903 (1981).
17) M. Kubo, Y. Kimura and T. Odani, Studies on Scutellariae Radix, the antibacterial substance, *Planta Medica*, **43**, 194-201 (1981).
18) T. Kimura, Recent progress in manufacturing technology of crude drug preparations, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **18**(4), 217-227 (1988).
19) K. Sagara Y. Ito and T. Oshima, Simultaneous determination of baicalein, wogonin, oroxylin and their glucuronides in Scutellariae Radix by HPLC, *J. Chromatogr.*, **328**, 289-297 (1985).
20) T. Tomimori, H. Jin and Y. Miyaichi, Studies on the constituents of Scutellaria species (6), *Yakugaku Zasshi.*, **105**(2), 148-155 (1985).
21) Y. Kikuchi, Y. Miyaichi and Y. Yamaguchi, Studies on the constituents of Scutellaria species (14), *Chem. Pharm. Bull.*, **39**(1), 199-201 (1991).
22) M. Kubo, H. Matsuda and T. Tani, Studies on Scutellaliae Radix (12), Anti-thrombic actions of various flavonoids from Scutellaliae Radix, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**(6), 2411-2415 (1985).
23) K. Abe, O. Inoue and E. Yumioka, Biliary excretion of metabolites of baicalin and baicalein in Rats, *Chem. Pharm. Bull.*, **38**(1), 208-211 (1990).
24) K. Sekiya and H. Okuda, Selective Inhibition of platelet lipoxygenase by baicalein, *Biochem. Biophys. Res. Com.*, **105**(3), 1090-1095 (1982).
25) J.H. Yang and Y.I. Kim, Studies on the bioavailability of berberine preparations, *J. Kor. Phram. Sci.*, **22**(1), 55-62 (1992).
26) M. Noguchi, M. Kubo and T. Hayashi, Studies on the pharmaceutical quality evaluation of the crude drug preparations used in orient medicine Kampoo (1), *Shoyakugaku Zasshi*, **32** (2), 104-110 (1978).
27) M. Noguchi, Studies on the pharmaceutical quality evaluation of crude drug preparations used in orient medicine Kampoo (2), *Chem. Pharm. Bull.*, **26**(9), 2624-2629 (1978).
28) M. Noguchi, M. Kubo and T. Hayashi, Studies on the pharmaceutical quality evaluation of crude drug preparations used in orient medicine Kampoo (3), *Chem. Pharm. Bull.*, **26** (12), 3652-3657 (1978).
29) M. Noguchi and Y. Hashimoto, Studies on the pharmaceutical quality evaluation on crude drug preparations used in oriental medicine Kampoo (5), *Shoyakugaku Zasshi*, **37**(1), 56-61 (1983).

30) M. Noguchi, Y. Hashimoto and A. Kato, Studies on the pharmaceutical quality evaluation of crude drug preparations used in oriental medicine Kampoo (6), *Shoyakugaku Zasshi,* **39**(2), 101-105 (1985).
31) T. Hattori, N. Kamiya and M. Inoue, Analytical studies on the active constituents in crude drugs(2). Determination of berberine in Coptidis Rhizoma by HPLC, *Yakugaku Zasshi,* **97**(12), 1305-1308 (1977).
32) Y. Ozaki, H. Suzuki and M. Satake, Comparative studies on concentration of berberine in plasma after oral administration of Coptidis Rhizoma extract, *Yakugaku Zasshi,* **113**(1), 63-69 (1993).
33) S.H. Lee and K.S. Ryu, Determination of berberine in crude drug preparations by HPLC, *Bull. K. H. Pharm. Sci.*, **12**, 33-40 (1984).
34) A.H. Amin, T.V. Subbaiah and K.M. Abbasi, Berberine sulfate; Antimicrobial activity, bioassay and mode of action, *Can. J. Microbiol.*, **15**, 1067-1076 (1969).
35) J.S. Eun, E.S. Suh and J.N. So, Effect of baicalin on the differentiation of 3T3-L1 cells, *Yakhak Hoeji,* **38**(3), 238-249 (1994).