

## 베르베린 제제의 생체이용율에 관한 연구(II): 황련과 감초 공침물의 항균효과 및 생체이용율

양재현<sup>†</sup> · 은재순 · 이남희

우석대학교 약학과  
(1995년 6월 20일 접수)

### Studies on the Bioavailability of Berberine Preparations(II) : Antibacterial Activity and Bioavailability of Coprecipitate of Coptidis Rhizoma and Glycyrrhizae Radix

Jae-Heon Yang<sup>†</sup>, Jae-Soon Eun and Nam-Hee Lee

College of Pharmacy, Woosuk University, Jeonju 565-800, Korea  
(Received June 20, 1995)

Precipitation reaction occurred between berberine in *Coptidis Rhizoma* and glycyrrhizin in *Glycyrrhizae Radix* when they were boiled together in aqueous solution and the supernatant solution thus obtained did not show any antibacterial activity which was derived from berberine. The content of berberine in BG and CGP by HPLC analysis were 41.1%, 8.3% respectively. BG was occurred mostly at pH 5.0. The solubility of berberine was 0.15%, while that of BG and CGP was 0.07%, 0.12%, respectively. CGP shown more increased antibacterial activity to gram positive bacteria, *S. dysenteriae* and *K. pneumoniae* than berberine. The absorption rates of CGP in stomach, duodenum and jejunum of rats were compared with those of *Coptidis Rhizoma* water extracts (CR), which were increased more than CR. The time required for the maximum serum concentration of berberine from CGP in mice was 90 minutes after oral administration. The maximum serum concentration of berberine from CGP was higher than that from CR. The dissolution of CGP was increased more than berberine and BG in both artificial gastric and intestinal fluids. The dissolution of CGP pill made from gelatin was 63.4% in artificial gastric fluids and that made from CMC was 76.0% in artificial intestinal fluids.

**Keywords**—Berberine, *Coptidis Rhizoma*, *Glycyrrhizae Radix*, Coprecipitate, Antibacterial activity, Dissolution

황련 배합 처방의 한방탕제에서 베르베린의 이용율은 베르베린이 수용성임에도 불구하고 낮은 경우가 많은데 그 원인은 각 생약 중에 함유되어 있는 일부성분들이 베르베린과 침전 반응을 일으켜 생성된 침전물이 생약 잔사의 여과시에 제거되기 때문이다. 특히 황련과 감초를 혼합해 전제로 하면 다량의 침전을 생성해 전제의 고미(苦味)가 소실되며 상징액의 항균성이 없어진다는 보고가 있었는데<sup>1)</sup> 이러한 보고는 침전물에 강한 약리작용을 가진 물질이 존재할 수 있음을 의미하는 것으로 이 침전반응에 관여하는 물질은 베르베린형 알카로이드와 글리시리진으로 보고 되어 있다.<sup>2,4)</sup>

Eun 등<sup>5)</sup>은 이 침전물이 베르베린보다 경구투여시 흡수가 용이하고 부작용이 적으며 암세포 증식억제 작용을 가지고 있다고 보고하였다.

Noguchi 등<sup>6)</sup>은 황련의 주성분인 베르베린과 감초의 주성분인 글리시리진이 이온결합을 하여 글리시리진산베르베린을 생성함으로써 베르베린의 약리작용에 변화를 초래한다고 보고하였으며 Mori 등<sup>7)</sup>은 글리시리진산베르베린을 무고미 위장관 치료제로, Hayashi 등<sup>8)</sup>은 항염증, 항궤양 치료제로, 사용할 수 있음을 보고하였다. 澤田 등<sup>9)</sup>은 베르베린 제제의 생체이용율을 향상시키기 위하여 염화베르베린의 매탄올용액에 탄닌산을

<sup>†</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

가하여 염산염의 강한 쓴 맛을 없앤 탄닌산베르베린을 합성하였으며 Yang 등<sup>10)</sup>은 파모인산베르베린을 합성하여 베르베린의 장내 농도를 높게 유지시키므로써 장내 살균 및 시사효과를 증대시키고자 하였다.

이에 저자 등은 황련과 감초의 혼합 전제로부터 생성된 침전물의 그람 양성·음성균에 대한 항균효과를 검토해 보고 체내 흡수를 증진시켜 생체이용율을 높인 새로운 베르베린 함유제제의 개발 가능성을 검토하고자 황련과 감초의 혼합 전제로부터 침전물을 분리해 베르베린을 정량하였고 pH에 따른 수득률, 용해도를 비교측정하였으며 항균력 측정과 위장관 내 흡수 실험, 혈중농도 측정 및 용출실험을 행한 결과 약간의 지견을 얻게 되어 보고하고자 한다.

## 실험방법

### 재료 및 시약

황련(*Coptis japonica*)과 감초(*Glycyrrhiza uralensis*)는 시중 건재상에서 구입, 염색하여 사용하였고 염화베르베린(Sigma Chemical Co.)과 글리시리진산 암모늄(Sigma Chemical Co.)은 표준품을 사용하였으며 기타 시약은 특급 및 일급 시약을 사용하였다.

### 기기

자의가시부 분광광도계(Shimadzu UV-250), 회전 감압건조기(Tokyo Rikakikai Co.), 동결건조기(Labconco Co.), 용출시험기(Tokyo Rikakikai Co.), HPLC(Young In Co.), 원심분리기(Vision Scientific Co.), 장환기(Samsung Pharm. Co.), 고압증기 멸균기(Dong Yang Scientific Co.) 등을 사용하였다.

### 실험동물

랫트(SD계 수컷)는 체중  $200 \pm 20$  g, 마우스(ICR계 수컷)는 체중  $20 \pm 2$  g을 사용하였으며 고품사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 하였다.

### 사용 균주

*Staphylococcus aureus*(ATCC 6538), *Staphylococcus epidermidis*(ATCC 12228), *Bacillus subtilis*(ATCC 6633), *Bacillus cereus*(ATCC 11778), *Escherichia coli*(ATCC 10536, 25922, 12014), *Pseudomonas aeruginosa*(NCTC 10490, ATCC 29336), *Salmonella typhimurium*(ATCC 13311), *Salmonella enteritidis*(ATCC 13076), *Shigella dysenteriae*(ATCC 9764), *Klebsiella pneumoniae*(ATCC 10031)를 국립보건원에서 분양받아 사용하였다.

### 시료 제조

황련 50 g을 조절로 하여 증류수 500 ml로 100°C에서 1시간 가열추출한 후 여과하여 얻은 여액을 감압농축하고 동결건조(-66°C, 10 mmHg)시켜 분말(이하 GR로 약함)로 하였다. 황련과 감초를 각각 50 g씩 조절로 하여 증류수 500 ml로 100°C에서 1시간 가열하여 추출한 후 여과하여 얻은 여액을 혼합시켜 실온에서 하룻밤 방치한 후 생성된 침전물(이하 CGP로 약함)을 동결건조 하였다.<sup>11)</sup> Noguchi 등<sup>4)</sup>의 방법에 준하여 염화베르베린 3.72 g과 글리시리진산암모늄 4.20 g을 각각 1,000 ml의 증류수에 가열용해하여 혼합하고 pH 5.0으로 조정한 후 하룻밤 방치하여 생성된 침전물(이하 BG로 약함)을 동결건조하였다.

### pH에 따른 BG의 생성 실험

$1.0 \times 10^{-2}$  M 염화베르베린과  $0.5 \times 10^{-2}$  M 글리시리진산 암모늄 용액을 각 50 ml씩 혼합하여 묽은 염산과 1N NaOH로 각각의 pH를 조정한 후 24시간 방치하였다.

생성된 침전을 glass filter로 여과한 다음 50% 에탄올에 녹여 343 nm에서 흡광도를 측정하고 미리 작성한 검량선(5~30 µg/ml)에 준하여 수득률을 계산하였다.

### 용해도 실험

Higuchi 등<sup>13)</sup>의 방법에 따라 용해도를 측정하였다. 베르베린, BG 및 CGP를 일정과량 취해 물 10 ml를 가하고 20°C 및 37°C에서 48시간 진탕하여 평형에 도달하게 한 다음 이 용액을 멤브레인 필터(0.45 µm)로 여과하고 여액을 증류수로 희석하여 343 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 항균력 측정

각 시료에 대한 최소발육저지농도 측정은 고체 배지 희석법(Agar serial dilution method)<sup>14)</sup>으로 하였다. 시험용 균을 3회 계대 배양시킨 후 0.9% NaCl용액으로 적당히 희석시켜 배양액의 탁도가 표준탁도 기준(turbidity standard, 투과율 35%)과 같도록 조절하여 각각의 균액으로 하였다.

Petri dish에 멤브레인 필터(0.2 µm)를 통과시킨 각각의 시료를 베르베린을 기준으로 하여 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 µg/ml가 되도록 2배씩 단계적으로 희석하여 2 ml씩 넣고 멸균한 Mueller Hinton Agar를 18 ml씩 가해 잘 섞어 균화 후 위의 균액을 5 µl씩 자동분주기로 접종하였다. 그리고 37°C에서 18시간 배양시켜 균주의 증식을 억제한 최소농도를 육안으로 관찰하였다.

또한 멸균한 각각의 test tube에 Mueller Hin-

ton broth를 8 ml, 멤브레인 필터(0.2 μm)를 통과시킨 베르베린, CR 및 CGP(1,000 μg/ml)를 1 ml 및 위의 방법으로 만든 균액을 1 ml씩 가해 37°C에서 18시간 배양하고 600 nm에서 각각의 투과도를 측정해서 다음 식에 의해 세균의 성장억제율<sup>15)</sup>을 산출하였다. 시료를 넣지 않고 배지에 균만 배양시킨 것을 대조군으로 하였다.

$$\text{Inhibition rate of growth (\%)} = \frac{(S - C)}{(100 - C)} \times 100$$

여기에서 C는 대조군의 투과도를 S는 각 시료의 투과도를 나타낸다.

### HPLC에 의한 정량

BG, CR 및 CGP 중에 함유된 베르베린의 양은 Hattori 등<sup>12)</sup>의 HPLC 정량법을 이용하여 측정하였는데 BG, CR 및 CGP를 증류수에 녹여 측정농도를 100 μg/ml로 하였다. 칼럼은 μ-Bondapak C<sub>18</sub> (Waters, 3.9 mm×300 mm), 검출기는 UV detector (343 nm), 이동상으로는 아세트니트릴: pH 5.2 인산염 완충액 (60:40 v/v)을 사용하였다. 검량선은 염화베르베린 표준용액(1~10 μg/ml)을 면적비법으로 작성하였다.

### 흡수 실험

Barr법<sup>16)</sup>을 변형하여 실험하였다.<sup>17)</sup> CR 및 CGP를 베르베린 기준으로 5 mg/ml가 되도록 0.5% sodium CMC로 현탁시켜 잘라낸 장에 1 ml씩 가하고 양단을 묶은 후 saline 100 ml 속에 넣고 37±0.5°C 수욕상에서 95% O<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub> 가스를 계속 공급하고 10, 20, 40, 80, 120분 후에 검액 1.0 ml를 취하여 HPLC 정량법에 따라 베르베린의 흡수량을 측정하였다.

### 혈중농도 측정

마우스를 24시간 동안 절식시킨 후 CR과 CGP를 베르베린 기준으로 800 μg/ml가 되도록 0.5% sodium CMC에 현탁시켜 0.5 ml(20 mg/kg)씩 경구투여하였다. 30, 60, 90, 120, 150, 180분 경과 후 단두하여 혈액을 채취하고 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 혈장을 취하여 메탄올을 가하고 다시 원심분리하여 상정액을 멤브레인 필터(0.45 μm)를 통과시킨 다음 HPLC로 피크의 면적비를 측정하여 혈중 베르베린 농도를 구하였다.

### 환제 제조 및 용출 실험

베르베린, BG 및 CGP에 각각 유당과 전분(paste)을 넣어약 100 mg의 환제를 제조하고 카올린으로 환의를 입

Table I—Formulas of Pills of BE, BG and CGP

Ingredients*	A	B	C
BE	20.0	-	-
BG	-	20.0	-
CGP	-	-	20.0
Lactose	60.0	60.0	60.0
Starch paste	16.0	16.0	16.0
Kaolin	4.0	4.0	4.0
Total	100.0	100.0	100.0 (mg)

\*BE: Berberine chloride, BG: Berberine glycyrrhizinate, CGP: Coprecipitate of Coptidis Rhizoma and Glycyrrhizae Radix.

Table II—Formulas of CGP Pills by Various Binders

Ingredients	D	D	F	G
CGP	20.0	20.0	20.0	20.0
Corn starch	19.0	19.0	19.0	19.0
Lactose	34.0	50.0	45.0	35.0
Arabia gum	21.0	-	-	-
CMC	-	5.0	-	-
Tragacanth	-	-	10.0	-
Gelatin	-	-	-	20.0
Glycerin	3.0	3.0	3.0	3.0
Precipitated calcium carbonate	3.0	3.0	3.0	3.0
Total	100.0	100.0	100.0	100.0

혀 50°C에서 3시간 열풍건조하였다(Table I). 또한 CGP를 결합제로 각각 arabia gum, CMC, 트라가칸타, 젤라틴을 사용하여 환제로 만들고 침강탄산칼슘으로 환의를 입혀 실온에서 48시간 통풍건조하였다(Table II)

제조한 환제를 대한약전 용출시험법의 회전검체통법에 따라 인공위액(pH 1.2) 및 인공장액(pH 6.8)에 담그고 100 rpm으로 회전시키면서 일정시간 후에 일정량의 용출액을 채취하여 여과한 후 343 nm에서 흡광도를 측정하여 용출율을 계산하였다.

## 실험결과

### pH에 따른 BG의 수득율

pH에 따른 글리시리진산 베르베린의 혼합물의 수득율이 pH 2.0에서 15.1%, pH 3.0에서 20.2%인데 비해 pH 4.0에서는 61.8%, pH 5.0에서는 66.7%로 높은 수득율을 나타내었다. 한편 pH 6.0에서는 22.7%로 수득율이 급격히 떨어졌고 중성 및 약알칼리성에서도 저조한 수득율을 보였다.(Fig. 1)

### 용해도

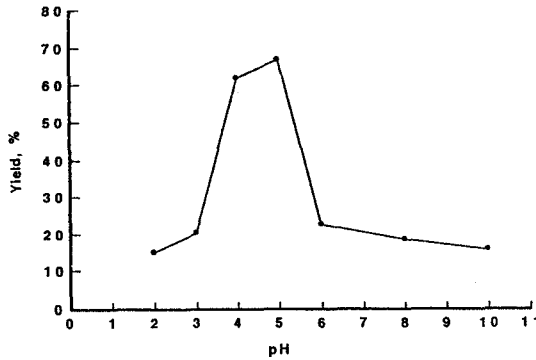


Figure 1—Yield of BG under various pH conditions.

Table III—Apparent Solubility of BE, BG, CR and CGP

Sample	20°C	37°C (mg/ml)
BE	1.5	2.7
BG	0.7	1.1
CR*	20.1	23.2
CGP	1.2	1.9

\*CR: Coptidis Rhizoma water extracts

20°C에서 베르베린의 용해도는 0.15%인데 비해 BG는 0.07%로써 절반이하로 떨어졌고 CR의 용해도는 2.01%인데 비해 CGP의 용해도는 0.12%로써 1/20 이하로 용해도가 감소되었다. 37°C에서도 비슷한 양상을 보여주었으며 각 시료에서 20°C에 비하여 37°C에서 용해도가 약간 증가되었다.(Table III)

**항균력**

각 균주들에 대한 베르베린, CR 및 CGP의 최소발육저지농도는 *S. aureus*와 *S. epidermidis* 등 그람양성구균에 대해 CR이 50 µg/ml인 반면 CGP가 12.5 µg/ml로 강한 항균력을 나타내었고, *B. subtilis*와 *B. cereus* 등 그람양성간균에 대해서는 CR이 100 µg/ml인 반면 CGP가 50 µg/ml로 나타났다. *S. dysenteriae*와 *K. pneumoniae* 등의 그람음성균에 대해서도 베르베린과 CR이 50 µg/ml인 반면 CGP가 각각 25 µg/ml, 12.5 µg/ml로 베르베린보다 강한 항균작용을 나타냈으나 *E. coli*와 *P. aeruginosa*, *S. typhimurium* 및 *S. enteritidis* 등의 그람음성균에 대해서는 베르베린, CR 및 CGP가 모두 200 µg/ml 이상으로 항균효과가 낮게 나타났다.(Table IV)

또한 세균의 성장억제율을 비교해 본 결과 베르베린이 *S. aureus*와 *S. epidermidis*의 성장을 75% 정도 억제하였으나 CGP는 80% 이상을 보였고 *S. dysen-*

Table IV—Antibacterial Activity of BE, CR and CGP

Microorganisms (ATCC No.)	Minimum inhibitory concentration (µg/ml)		
	BE	CR*	CGP <sup>b</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> (6538)	50.0	50.0	12.5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (12228)	50.0	50.0	12.5
<i>Bacillus subtilis</i> (6633)	100.0	100.0	50.0
<i>Bacillus cereus</i> (11778)	100.0	100.0	50.0
<i>Escherichia coli</i> (10536)	>200.0	>200.0	>100.0
<i>Escherichia coli</i> (25922)	>200.0	>200.0	>200.0
<i>Escherichia coli</i> (12104)	>200.0	>200.0	>200.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (NCTC 10490)	>200.0	>200.0	>200.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (29336)	>200.0	>200.0	>200.0
<i>Salmonella typhimurium</i> (13311)	>200.0	>200.0	>200.0
<i>Salmonella enteritidis</i> (13076)	>200.0	>200.0	>200.0
<i>Shigella dysenteriae</i> (9764)	>200.0	>200.0	>200.0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (10031)	50.0	50.0	25.0
	50.0	50.0	12.5

\*based on berberine contents in CR, <sup>b</sup>based on berberine contents in CGP

*teriae*와 *K. pneumoniae*에 대해서도 7%정도 증가된 억제율을 보였으며 *E. coli*에 대해서도 베르베린보다 3~10% 정도 억제율을 증가시켰으나 *P. aeruginosa*와 *S. typhimurium*, *S. enteritidis*에 대해서는 20% 미만의 매우 낮은 억제율을 나타내었다.(Table V)

**HPLC에 의한 정량**

베르베린용액을 HPLC에 주입했을 때 5.94분에 피크가 나타났고 BG도 5.90분으로써 거의 같은 시간에 나타났으며 새로운 피크는 발견되지 않았다. 한편 CGP는 5.93분에 베르베린 피크가 확인되었고 2.94 및 5.32분에 미지의 피크가 나타났다(Fig. 2). 베르베린의 피크 면적으로 작성된 검량선의 회귀방정식은 Y=124.895X이었고 상관계수가 r=0.996으로써 1에 접근하여 베르베린의 양과 피크 면적비간에 직선성이 인정되었다. 검량선에 의해 BG, CR 및 CGP 중에 함유되어 있는 베르베린의 함량을 측정된 결과 각각 41.1%, 23.3% 및 8.3%이었다.

**위, 소장 흡수**

CR과 CGP의 위, 십이지장 및 공장에서의 흡수율을 측정된 결과 위에서의 흡수율이 CGP가 CR에 비해 약간 높았으나 모두 저조한 흡수율을 나타내었고 십이지장에서는 CGP의 흡수율이 CR보다 약간 높았으며 공장 역시 CR이 CGP보다 좋은 흡수율을 나타내었다(Table VI).

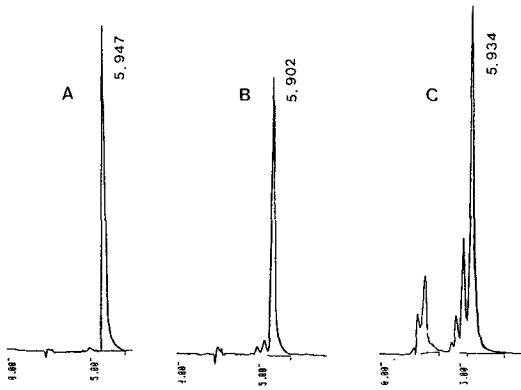
**혈중농도**

**Table V**—Inhibition Ratio(%) of Bacterial Growth of BE, CR and CGP

Microorganisms (ATCC No.)	Inhibition Ratio(%)		
	BE	CR	CGP
Staphylococcus aureus(6538)	74.9±3.5	78.8±3.2	80.6±3.7
Staphylococcus epidermidis(12228)	75.9±3.6	71.0±3.6	83.9±4.5
Bacillus subtilis(6633)	66.2±3.7	58.3±3.1	69.2±0.9
Bacillus cereus(11778)	61.6±2.9	41.7±2.2	60.4±2.1
Escherichia coli(10536)	46.5±1.4	42.4±4.9	56.0±0.9*
Escherichia coli(25922)	30.4±5.7	37.7±5.4	32.9±3.7
Escherichia coli(12014)	52.1±2.2	54.2±1.8	58.8±2.1
Pseudomonas aeruginosa (NCTC10490)	36.8±1.6	34.5±2.7	30.1±5.2
Pseudomonas aeruginosa(29336)	40.2±1.7	24.1±2.0	17.0±2.1
Salmonella typhimurium(13311)	26.7±1.6	29.7±1.3	17.2±3.4
Salmonella enteritidis(13076)	22.3±2.9	30.5±2.2*	23.4±3.0
Shigella dysenteriae(9764)	65.0±2.9	69.6±2.5	71.6±2.4
	52.1±1.0	55.3±5.2	59.8±5.1

Each value represents the mean±SE from four experiments.

\*Significantly different from BE group (p<0.05)



**Figure 2**—Representative chromatograms of BE (A), BG (B) and CGP (C).

CR과 CGP를 마우스에 경구투여한 후 혈중 농도를 측정한 결과 CR은 120분 후 0.49 µg/ml로 최고 혈중 농도에 도달하였으며 CGP는 90분 후 0.77 µg/ml로 최고 혈중 농도에 도달한 후 CR보다 높은 혈중 농도

를 유지하였다.(Fig. 3)

**환제의 용출**

베르베린, BG 및 CGP를 환제로 만들어 용출율을 비교한 결과 인공위액에서 베르베린의 용출율이 120분 후에 7.7%인 반면 BG의 용출율은 20.1%로 BG가 베르베린보다 3배정도 높은 용출율을 나타내었고 CGP는 45.5%로 베르베린의 6배, BG의 2배 이상의 용출율을 나타내었다.(Fig. 4) 한편, 인공장액에서는 베르베린의 용출율이 120분 후에 25.9%인 반면 BG 및 CGP의 용출율은 각각 33.8%, 35.5%로 용출율이 8~10% 정도 향상되었다.(Fig. 5)

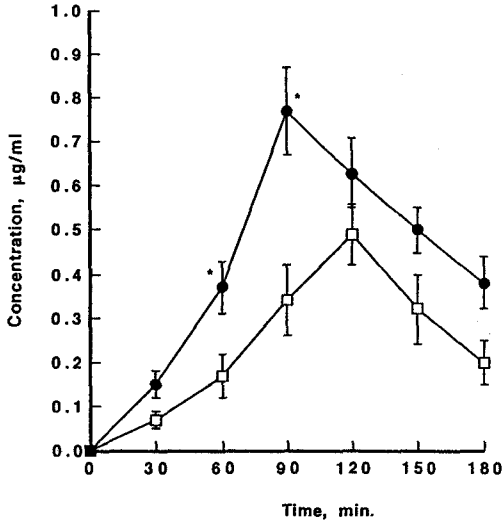
또한 CGP의 용출율을 향상시키기 위하여 4종의 결합제를 사용하여 환제를 만들고 그 용출율을 비교한 결과, 인공위액에서는 arabia gum을 결합제로 사용한 환제가 120분 후 35.1%의 용출율을 나타낸 반면 젤라틴을 사용한 환제는 63.4%로 가장 높은 용출율을 나타내었으며 인공장액에서는 결합제로 arabia gum을

**Table VI**—Absorption Rate(%) of Berberine of CR and CGP in Stomach, Duodenum and Jejunum of Rats

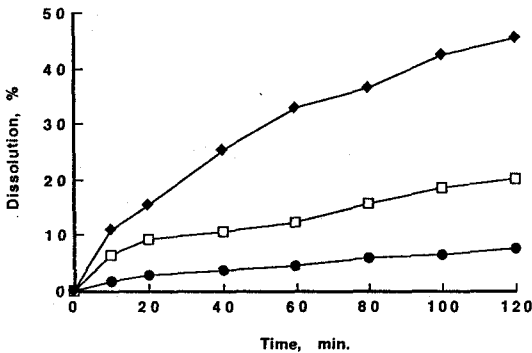
Time (min.)	Stomach		Duodenum		Jejunum	
	CR	CGP	CR	CGR	CR	CGP
10	1.3±0.3	2.3±0.3	5.6±0.3	8.1±1.1*	4.5±0.9	6.9±1.4
20	2.1±0.5	3.9±0.4	9.1±1.1	10.3±1.7*	7.2±1.5	12.9±0.8
40	3.1±0.4	4.7±0.8	12.0±1.2	16.7±0.8**	12.0±0.9	15.3.1±1.4**
80	3.6±0.9	5.1±1.6	18.4±1.7	21.8±1.4*	15.4±1.6	21.9±1.3
120	4.3±0.3	5.6±0.9	24.1±1.3	27.6±1.4*	23.4±1.7	26.7±1.4

Each value represents the mean±SE from five experiments.

\*, \*\*Significantly different from Cr group(\*:p<0.05, \*\*: p<0.01)



**Figure 3**—Berberine contents in serum of mice after CR and CGP was administered orally 20 mg/kg. Amounts of CR and CGP administered were based on the contents (20 mg/kg) of berberine. Each points represents the mean  $\pm$  SE from five experiments. \*Significantly different from CR group ( $p < 0.05$ ). Key :  $\square$ : CR,  $\bullet$ : CGP

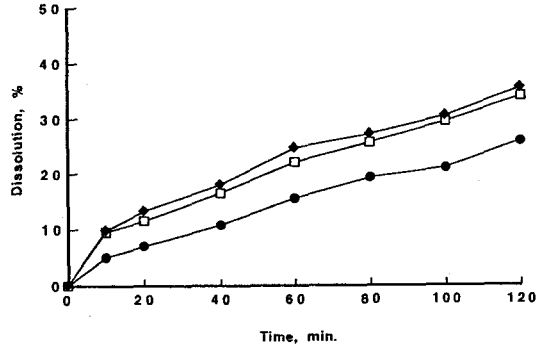


**Figure 4**—Dissolution profiles of pills of BE, BG and CGP in artificial gastric fluid (pH 1.2). Key :  $\bullet$ : BE,  $\square$ : BG,  $\blacklozenge$ : CGP

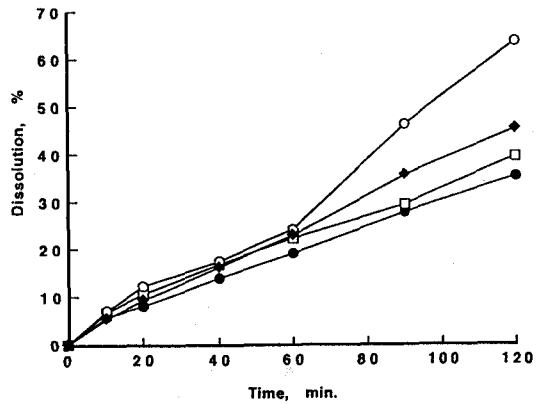
사용한 환제가 불과 15.0%의 용출율을 보여준 반면 CMC를 사용한 환제는 76.0%의 용출율을 나타냄으로써 용출율을 증가시킬 수 있었다.(Fig. 6, 7)

### 고찰

글리시리진산베르베린은 항균작용,<sup>15)</sup> 항염증작용, 중추신경억제작용 및 항암작용 등<sup>18-23)</sup>이 있는 황련의 알칼로이드 일종인 베르베린과 항염증작용, 항바이러스



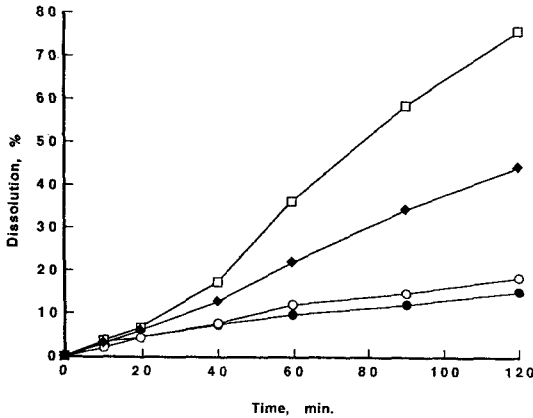
**Figure 5**—Dissolution profiles of pills of BE, BG and CGP in artificial intestinal fluid (pH 6.8). Key :  $\bullet$ : BE,  $\square$ : BG,  $\blacklozenge$ : CGP



**Figure 6**—Dissolution profiles of CGP pills made from various binders in artificial gastric fluid (pH 1.2). Key :  $\bullet$ : Arabia gum,  $\square$ : cmc,  $\circ$ : Gelatin,  $\blacklozenge$ : Tragacanth

스작용, 항궤양작용 및 항알러지작용 등<sup>24-27)</sup>이 있는 감초의 글리시리진이 이온결합을 함으로써 생성된 이온쌍 침전으로서 이를 함유하고 있는 황련과 감초의 공침물은 베르베린보다 경구투여시 흡수가 용이하고 높은 혈중농도를 유지해 베르베린의 항균작용 및 항염작용 등을 증가시킬 것으로 생각된다.

BG의 수득율은 pH 4.0 및 5.0에서 60% 이상을 보였으며 특히 pH 5.0에서 66.7%로 가장 높은 수치를 나타내었는데 이는 pH 5.0에서 2 mol의 베르베린이 글리시리진의 glucuronic acid와 이온결합을 한다는 Noguchi 등<sup>2)</sup>의 보고와 일치하는 것이다. 또한 BG 및 CGP는 물에 매우 난용성이었으나 37°C에서는 용해도가 증가함으로써 이들의 약리작용의 발현이 온도에 영



**Figure 7**—Dissolution profiles of CGP pills made from various binders in artificial intestinal fluid (pH 6.8). Key : ●: Arabia gum, □: CMC, ○: Gelatin, ◆: Tragacanth

향을 받을 것으로 생각된다.

항균력을 측정해 본 결과 Table IV, V와 같이 베르베린, CR 및 CGP는 *E. coli*나 *P. aeruginosa*와 같은 그람음성균에 대해서는 별다른 작용을 나타내지 못했으나 *Staphylococcus* sp.나 *Bacillus* sp. 등의 그람양성균이나 *S. dysenteriae*와 *K. pneumoniae*에 대해서는 강한 항균작용을 나타내었고 CGP가 베르베린이나 CR에 비해 약간 높은 항균작용을 가지고 있었다. 그러나 BG의 항균력은 베르베린과 동일한 양상을 보여 CGP 중의 어떤 물질이 이러한 항균효과를 나타내는지는 추후에 더 연구되어야 할 것이다.

CR과 CGP의 위, 십이지장 및 공장에서의 베르베린 흡수율을 비교한 결과 Table VI과 같이 모든 부위에서 CGP가 CR보다는 약간 높은 흡수율을 나타내었으며 CGP의 흡수율은 약물 주입 120분 후 위에서 5.6%인 반면 십이지장이나 공장에서는 각각 27.6%, 26.7%로 위보다는 소장에서 5배 정도 흡수가 잘 되는 것을 알 수 있었다. 또한 CR과 CGP를 경구투여하면 CR은 Fig. 3과 같이 약물 투여 120분 후에 최고혈중농도를 나타내었고 CGP는 90분 후에 최고혈중농도에 도달하였으며 CR보다 높은 수치를 나타냄으로써 CGP가 CR보다 경구투여시 흡수가 용이함을 알 수 있었다.

BG와 CGP를 환제로 만들어 베르베린과 용출율을 비교함으로써 이들을 생체에 경구투여했을 때 위장관 내 흡수 가능성을 검토하였는데 Fig. 4와 같이 인공위액에서 120분 후 용출율이 BG는 베르베린의 3배 이상, CGP는 6배 이상을 나타냄으로써 염화베르베린이

위액에서 염화이온의 공동이온효과로 인해 낮은 용출율을 보이는 점<sup>28)</sup>을 보완할 수 있는 가능성이 있었으며 CGP 환제의 용출율을 더 증가시키기 위하여 arabia gum, CMC, 젤라틴, 트라가칸타 등의 결합제를 사용하여 환제를 만들고 용출 실험을 한 결과 Fig. 6, 7과 같이 인공위액에서는 젤라틴으로 만든 환제의 용출율이, 인공장액에서는 CMC로 만든 환제의 용출율이 가장 높게 나타나 전분(paste)을 사용했을 때보다 좋은 용출율을 기대할 수 있었다.

이상의 결과로 볼 때 CGP가 CR에 비하여 항균효과 및 흡수율이 증대되었는데 CGP 중에 함유되어 있는 물질에 대해서는 더욱 연구해야 할 것이다.

## 결론

황련과 감초를 혼합전제로 할 때 생성된 침전물을 분리해 염화베르베린, 글리시리진산베르베린 및 황련엑스와 생체이용율 등을 비교검토한 결과는 다음과 같다.

1. BG중에 함유되어 있는 베르베린의 양은 41.1%이었고 CGP 중에 함유되어 있는 베르베린의 양은 8.3%이었다.
  2. 그람 양성균과 *S. dysenteriae*, *K. pneumoniae*에 대해서는 CGP가 강한 항균작용을 나타내었고 *E. coli*에 대해서도 베르베린보다는 좋은 항균 효과를 나타내었다.
  3. 위, 십이지장 및 공장에서의 흡수율은 CGP가 CR보다 높게 나타났다.
  4. CGP는 경구투여 90분 후에 최고 혈중농도에 도달하였으며 CR보다 높은 혈중농도를 나타내었다.
  5. 인공위액에서의 용출율은 120분 후 베르베린보다 BG가 3배, CGP가 6배 정도 높게 나타났으며, 인공장액에서는 BG가 33.8%, CGP가 35.5%로 베르베린보다 10% 정도 높은 용출율을 나타내었다.
  6. 인공위액에서는 젤라틴을 결합제로 사용하여 만든 CGP 환제가 인공장액에서는 CMC를 결합제로 사용하여 만든 CGP 환제가, 가장 높은 용출율을 나타내었다.
- 이상의 실험결과로 보아 황련과 감초의 공침물이 수종의 그람양성균과 그람음성균에 대한 항균력이 베르베린보다 강하고 위장관내 흡수율과 경구투여시의 혈중 농도가 높으므로 이를 제제 개발에 이용할 수 있을 것이라 사료된다.

## 문헌

- 1) M. Noguchi, M. Kubo and Y. Hayashi, Studies on the pharmaceutical quality evaluation of crude drug precipitations used in orient medicine "Kampoo"(I), *Shoyakugaku Zasshi*, **32**(2), 104-110 (1978).
- 2) M. Noguchi, M. Kubo and Y. Hayashi, Studies on the pharmaceutical quality evaluation of crude drug precipitations used in orient medicine "Kampoo"(III), *Chem. pharm. Bull.*, **26**(12), 3652-3657 (1978).
- 3) M. Noguchi and Y. Hashimoto, Studies on the pharmaceutical quality evaluation of crude drug precipitations used in orient medicine "Kampoo"(V), *Shoyakugaku Zasshi*, **37**(1), 56-61 (1983).
- 4) M. Noguchi, Y. Hashimoto and A. Kato, Studies on the pharmaceutical quality evaluation of crude drug precipitations used in orient medicine "Kampoo"(VI), *Shoyakugaku Zasshi*, **39**(2), 101-105 (1985).
- 5) J. S. Eun, Cytotoxicity of reaction-precipitate from *Coptidis japonica* and *Glycyrrhiza uralensis* aqueous mixture, *Kor. J. Pharmacogn.* **25**(4), 356-362 (1994).
- 6) M. Noguchi, Studies on the pharmaceutical quality of crude drug precipitations used in orient medicine "Kampoo"(II), *Chem. Pharm. Bull.*, **26**(9), 2624-2629 (1971).
- 7) N. Mori and T. Toyama, Berberine glycyrrhizinate, Japan, 1394(67), (CI.30)(2). Jan. 23, Appl. 3 (1965).
- 8) T. Hayashi, M. Kubo and E. Noguchi, Anti-inflammatory and antiulcer berberine glycyrrhizinate, Japan Kokai, 7862. 1817(Ce. Co 7D445/00), 05 (1978).
- 9) 澤田弘ら, 日本公定書協會會報, **16**, 7 (1966).
- 10) J. H. Yang, Studies on bioavailability of berberine-pamoate(I), *J. Kor. Pharm. Sci.*, **16**(2), 78-84 (1986).
- 11) J. H. Yang, D. S. Kim, H. G. Park and N. H. Lee, Preparation and bioavailability of oriental medicine containing baicalin(I), *J. Kor. Pharm. Sci.*, **24**(4), 233-243 (1994).
- 12) T. Hattori, N. Kamiya and M. Inoue, Analytical studies on the active constituents in crude drugs(II). Determination of berberine in *Coptidis Rhizoma* by high performance, *Yakugaku Zasshi*, **97**(12), 1305-1308 (1977).
- 13) T. Higuchi and J. L. Lach, Investigation of some complex formed in solution by caffeine, *J. Amer. Pharm. Asso.*, **43**(6), 349-353 (1953).
- 14) 微生物學分科會, 實驗綜合微生物學, 大學社, pp. 95-99 (1992).
- 15) A. H. Amin, K. M. Abbasi, T. V. Subbaiah, Berberine sulfate, antimicrobial activity, bioassay and mode of action, *Can. J. Microbiol.*, **15**, 1067-1076 (1976).
- 16) W. H. Barr and S. Riegelman, Intestinal drug absorption and metabolism I. Comparison of methods and models to study physiological factors of *in vitro* and *in vivo* intestinal absorption, *J. Pharm. sci.*, **59**(2), 154-163 (1970).
- 17) J. H. Yang and Y. I. Kim, Studies on the bioavailability of berberine preparations, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **22**(1), 55-62 (1992).
- 18) 生藥學研究會, 現代生藥學, 學窓社, pp. 179, 421 (1994).
- 19) T. Sawada, J. Yamahara, K. Goto and M. Yamamura, Studies on the evaluation of crude drugs by bioassay(IV), *Shoyakugaku Zasshi*, **25**(2), 74-78 (1971).
- 20) H. Fujimura, T. Sawada and M. Goto, Screening test of antiinflammatory action on the constituents of crude drugs and plants, *Yakugaku Zasshi*, **90**(6), 782-783 (1970).
- 21) 陸昌洙, 金成萬, 漢藥의 藥理·成分·臨床應用, 癸丑文化社, pp. 406-409 (1982).
- 22) M. H. Akhter, M. Sabir and W. K. Bhide, Possible mechanism of antidiarrheal effect of berberine, *Indian J. Med. Res.*, **70**, 233-241 (1979).
- 23) W. A. Creasey, Biochemical effect of berberine, *Biochem. Pharmacol.*, **28**, 1081-1084 (1979).
- 24) K. K. Tnagri, P. K. Seth and S. S. Parmar, Biochemical study of antiinflammatory and antiarthritic properties of glycyrrhetic acid, *Biochem. pharmacol.*, **14**, 1277 (1965).
- 25) R. Pompei, O. Flore, M. A. Marcciaalis and A.P. Ani, Glycyrrhizic acid inhibits virus growth and inactivates virus particles, *Nature*, **281**, 689 (1979).
- 26) K. Takagi and Y. Ishii, Peptic ulcer inhibiting properties of a new fraction from Licorice root (FM100), *Arzneim.-Forsch.*, **18**, 53 (1968).
- 27) K. Fujisawa, Y. Watanabe and K. Kimura, Therapeutic approach to chronic active hepatitis with glycyrrhizin, *Asian Med. J.*, **23**, 745 (1980).
- 28) S. Miyazaki, M. Oshiba and T. nadai, Dissolution properties of salt forms of berberine, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**(3), 883-886 (1981).