

# 機器分析法을 應用한 生藥의 品質管理



朴 萬 基 교수  
서울大學校 藥學大學

有史 以前부터 病苦에서 解放을 求하려고 天然物을 對象으로 多數의 藥物을 찾아왔다고 생각된다. 이들 藥物은 時代와 더불어 엄격한 評價와 淘汰를 받아 가면서 單一 生藥 또는 複合 處方에 依하여 治療効果의 飛躍을 발휘하게 되었다.

1800年 初期부터 西歐의 藥師들의 손에 依하여 얻어진 生藥의 有効成分의 單離는 生藥의 明確한 藥物으로써의 實證과 認識을 달리하게 되었다.

生藥에 依한 治療効果의 發見은 이것이 構成하고 있는 化學物質에 依한 것이라는 것은 論할 必要마저 없는 것이다.

個個의 生藥이 合目的으로 藥物으로써 사용되게 된 것은 生藥마다 그 特有의 作用 物質 즉 有効成分을 保有하고 있기 때문이다.

有効成分의 單離와 應用은 최근 점점 積極의 으로 進行되고 있으며 더우기 合成品이나 單離된 主成分 以外 生藥 그 자체 또는 生藥의 複合劑으로써의 特異性을 고려하여 商品으로써의 生藥製劑가 속출하고 있는 실정이다.

이에 대한 問題는 生藥學 그 자체에 대한 研究보다도 醫藥品의 製造管理에 초점이 있다고 본다. 즉 生藥의 鑑定과 評價法의 確立과 簡易化 客觀의 立場에서의 品質 評價法이 確立되어야 할 것이다.

生藥을 一般 有機藥品 수준과 같이 品質管理하는 것이 急先務이며 生藥의 存在 價値를 支配하는 決定的 要素라고 생각한다. 그러나 生藥은 產地, 貯藏, 調製法에 따라 規格이 複雜한 關係로 이 問題는 아직도 요원하지만 현재 藥典에 기재된 사항만으로는 너무도 부족을 느끼지 않을 수 없는 것이다.

日本 藥국방의 確認 試驗은 거의 대부분이 被檢 生藥을 일단 粉末로 하여 形態學的 견지에서 하도록 되어 있으나 定性的인 確認에 不過하며 어떤 規定을 定하기는 힘든 일이다.

중건의 化學的 確認法中 시약에 의한 方法은 어느 特定 成分에만 국한되어 비슷한 成分이 있을 때는 區分하기가 힘이 들었다. 機器分析法도 여러가지 方法이 있을 수 있겠으나 우선 分離分析法과 共存分析法으로 크게 나누어 생각한다면

分離分析에는 주로 各種 Chromatography를 들 수가 있고 共存分析法으로는 電氣的, 光學的, 磁場을 應用한 것, 熱을 利用하는 등의 方法이 이 있다. 그러나 大部分의 生藥은 많은 種類의 成分을 含有하고 있으므로 역시 Chromatography가 가장 적당하다고 생각된다.

1897년 D. T. DAY가 炭水化合物을 液體 Chromatography로 分離한 以來 1906년 Tswett, W 씨가 크로로필(Chrolophyl)을 탄산칼슘을 充塡한 칼럼(Column)에서 吸着Chromatography로 分離하는데 성공하여 Chromatography는 分離分析의 가장 좋은 수단으로 등장했다. 그후 계속하여 1935년에 Adams, Holmes의 Ion Exchanger의 合成, 1941년에 A. J. R. MARTIN과 R. L. M. SYNGE氏의 Silicagel에 의한 分配 Chromatography, 1944년 같은 사람이 分配여지 Chromatography (Partition PaperC)를 발표하여 그들은 1952년 NOBEL상을 수상했다. 1949년 J. E. MEINHARD와 N. F. HALL등에 의하여 박층 Chromatography(Thin Layer C.), 1952년 A. J. JAMES와 A. J. P. MARTIN에 의하여 처음으로 Gas Chromatography가 시작되어 발전을 거듭하여 이제는 기계적인 면에 次나 試料處理 기술 면에서 놀라운 발전을 이룩하였다.

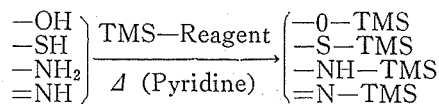
현재는 Pyro Gas Chromatography를 비롯 G. C. -Mass 또는 I. R. N. M. R등에 연결하여서 까지 應用이 되고 있는 실정이다.

定量에 있어서도 종전에는 抽出물질을 어떤 鹽類狀態로 分離하거나 溶媒에 의한 分離에 依存했으나, 점차 Paper 및 Thin Layer Chromatography에 의하여 分離한 후 그것의 농도를 Densitometer에서 직접 측정하는 방법을 쓰고 있다. 그 중에서도 Gas Chromatography가 生藥分析에 있어서는 현재 가장 많이 사용되게 될 가능성이 크다. 검출기(Detector)의 선택과 他機器와의 연결에 의한 다양한 應用등이 가능하다는 點 외에도 P. P. C와 T. L. C에서는 檢出不可能한 微量成分들도 同時에 測定할 수 있으며 특히 P. P. C와 T. L. C보다 정밀한 Pattern을 찾아 볼 수가 있다는 點등이 어느 分析法보다 우

수한 까닭이다.

앞으로는 高速액체 Chromatography (High Speed Liquid C.)의 應用度도 높을 것으로 예상되나 아직은 그렇게 一般的이 못되어 發展도상에 있는 실정이다. 그러나 이 方法도 揮發性物質, 精油등에 대해서는 Gas Chromatography보다 못하리라는 것을 예상할 수 있다.

試料의 처리도 최근에는 Alkaloid, Steroid 배당체, Cumarine, Phenol류 Terpene류 등의 成分中에 -OH, -NH<sub>2</sub>, -NH, -SH, -COOH의 Radical만 있으면 Trimethyl Silylating Reagent (T. M. S)로 처리하여 TMS유도체화한 후 應用하는 方法이 가능하게 되었다.



특히 Saccharide에는 TMS-HT, Alcohol에는 TMS-BA, Phenol에는 TMS-PZ, Steroid에는 HMDS, Amino Acid에는 BSA, Peptide에는 BSTFA, Nucleic Acid에는 SIM을 사용하는 등 수많은 TMS化劑中 가장 적합한 것을 선택 사용할 수가 있다.

一般的으로 TMS化劑는 無水物의 試料에만 사용하도록 되어 있으나 TMS-PZ 같은 것은 糖의 경우 水溶液 그대로에 사용이 가능하다. 예를 들면 10% 糖水溶液 5~10 $\mu$ l에 TMS-PZ 1ml를 加하여(이때 發熱함) 30秒間 振湯後 室溫에서 약 5分間 放置(필요할 때 약 60°C로 15분간 가열함)한 후 透明溶液을 그대로 Gas Chromatography에다 감도에 맞추어 注入하면 된다.

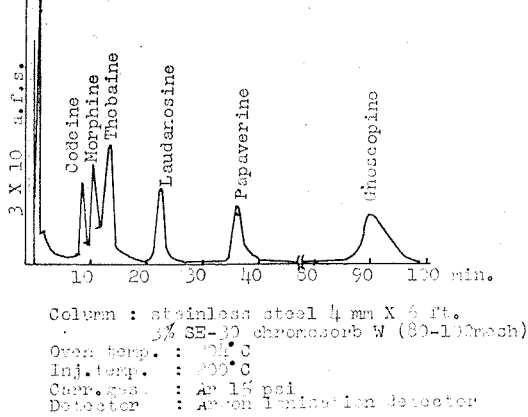
이렇듯 종전의 Sample 前處理에 比하여 매우 간편하게 Sample을 처리할 수 있으며 또한 Column의 충전제(擔體 및 分配劑)도 발전을 거듭하여 球形의 均質 擔體가 개발되었으며 分配劑에도 Silan化合物을 Coating 함으로써 극성을 감소시켜 高沸點 試料 및 極性 化合物까지도 分析이 가능하게 되었다.

실질적인 生藥의 分析 예를 들어 본다면 H. A LLOYD<sup>(1)</sup>는 Papaveraceae Alkaloid를 3% SE-30, Chromosorb W (80-100 mesh) 充塡劑

를 충전한 Stainless Steel Column(口徑4mm 길이 6ft)를 사용하여 Oven 온도 204°C 항온에서 Argon Ionization Detector로 分析하였다.

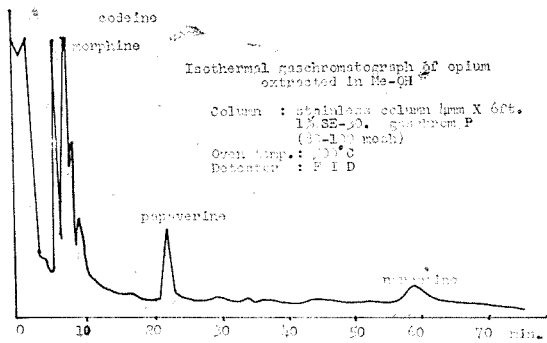
로 恒溫과 昇溫으로 實際 生藥을 Gas Chromatography로 分離 定量한 예이다.

Gaschromatograph of Papaveraceae Alkaloids



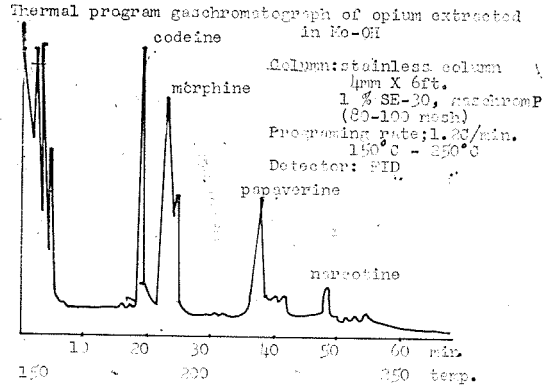
(fig 1)

기지 Alkaloid의 분석에 성공한 후 직접 阿片 80mg을 Methanol 50ml로 15分間 還流冷却 抽出하여 여과한 다음 濃液을 減壓 濃縮하여 잔사를 Methanol 1ml에 녹여 이액 2μl를 Gas Chromatograph에 注入한 결과 Fig 2와 같은 Chart를 얻었다.



(fig 2)

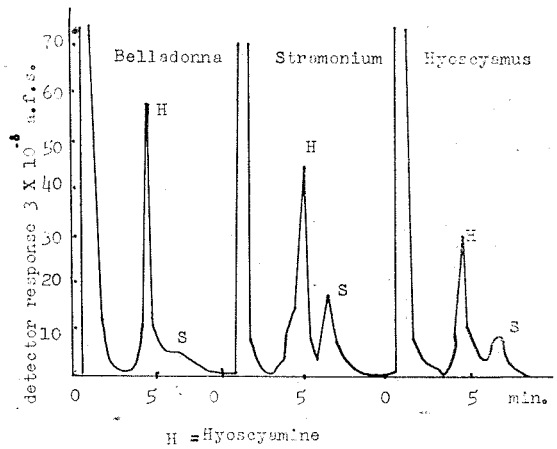
同一한 試料를 가지고 充填劑 및 其他 條件은 일치시켜 놓고 昇溫으로 실시한 결과는 Fig 3과 같다. 이 실험은 Eddy<sup>(2)</sup>에 의하여 시행된 것으



(fig 3)

그 외에도 E. Brocmann-Hanssen, A. B. Svendsen<sup>(3)</sup>이 1.15% SE-30 (3mmφ×8ft) 200°C에서 Cinchona cortex中 (Cinchonine+Cinchonidine)과 (Quinine+Quinidine)의 分離에 성공한 예와 또 이들이 Strychnos Nux Vomica의

Gaschromatograph of leaves extracted in ethanol

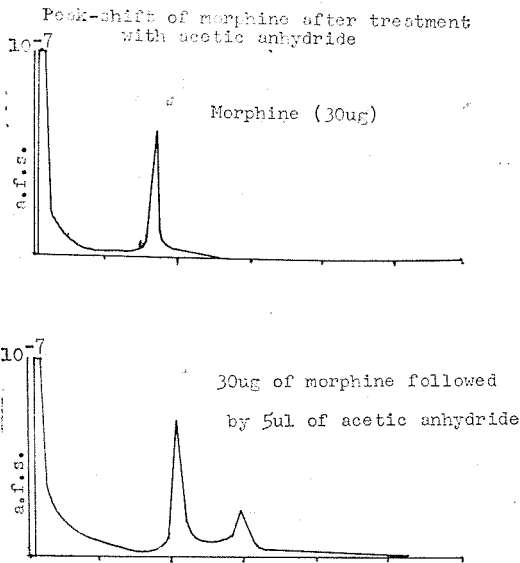


(fig 4) H=Hyoscyamine S=Scopolamine  
Column: Stainless Steel. 3mm×85t  
1.15% S-E30. gaschromp

種子 抽出物 中에서 Strychnine과 Brucine를 각각 分離하여 定性, 定量한 예가 있다.

특히 Belladonna, Stramonium, Hyoscyamus는 主成分이 같은 Hyoscyamine과 Scopolamine의 含有하고 있는 生藥으로서 化學적 方法으로는 區分하기 힘들지만 Gas chromatogram上에서는 含有成分의 比에 따른 pattern을 보고 區別 感識할 수가 있다. (fig. 4)

특히 Gas Chromatograph에서는 동일 위치 에 나타나는 peak가 시료를 다른 유도체로 變換이 주었을 때 shift하는 정도를 가지고도 분석이 가능하다. 그 예로 M. W. Anders and G. J. MANNERING<sup>(4)</sup> Morphine을 Acetic Anhy



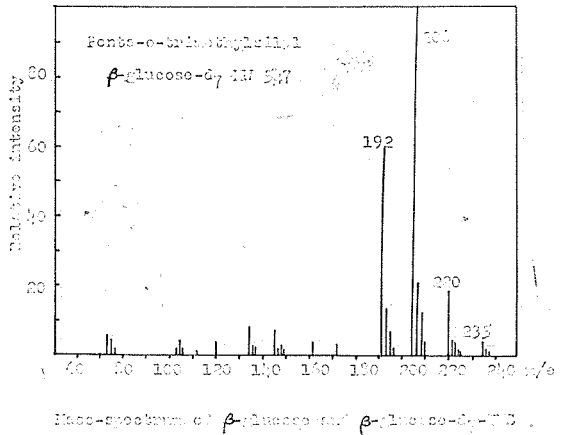
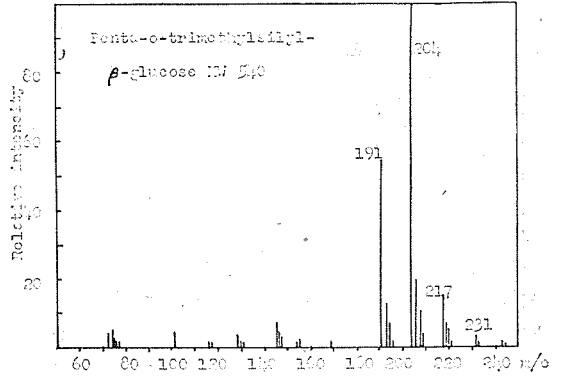
Column; U-shaped borosilicat glass 7mm X 6ft  
2% SE-30, Gas-Chrom S (80 - 100 mesh)

Oven Temp; 215°C

Carr. gas; Ar. 250ml/min. 20p.s.i.

Detector; Sn<sup>99</sup> argon ionization

(fig 5)



(fig 6)

dride로 Acetyl 化하여 Gas Chromatograph 상에서 Peak가 Shift하는 것을 관찰하였는 바 이는 fig 5와 같다.

이런 현상을 여러가지 藥品에 대하여 조사하여 표로 만들면 다음 tab. 1.과 같다.

Norcodeine과 Codeine의 Retention time을 보면 Norcodeine이 14.1분, Codeine이 14.3분으로 거의 區分하기 힘들으나 무수초산으로 처리한 후에 peak가 shift한 것을 보면 Norcodeine의 것은 먼저 위치에는 없어지고 41.2분 위치로 Shift하고 Codeine은 먼저 자리 근처에 남아 있고 유도체로된 것은 20.9분 위치로 Shift 하였다.

이런 사실로부터 두 물질을 완전히 구별할 수가 있는 것이다.

그 외에도 他機器와 연결 사용하여 좋은 결과를 얻을 수가 있다. 그 예로서 Sweeley<sup>(5)</sup>는  $\beta$ -glucose를 TMS 한 물질과 重水素化合物인  $\beta$ -glucose-d<sub>7</sub>-TMS와의 분리가 Gas-chromatograph 상에서는 되지 않으나 Mass Spectrum에 연결하면 이 두 물질의 分離定量이 가능함을 알았다.

Resine이나 Gum 또는 Gum-Resine등에 대해서는 Pyro Gas Chromatography(P. G. C)가 위력을 발휘하고 있다. 天然樹脂의 分析法으로는 용점 측정, 軟化點 측정, 溶解性, 酸價, 검화價, 比重, 屈折率등의 측정법<sup>(6,7)</sup>이 있다. 最近에는 PPC<sup>(8)</sup>, TLC<sup>(9)</sup>, UU<sup>(10)</sup>, IR<sup>(11)</sup> 法등이 定性法으로 報告되어 있다. 天然樹脂中에는 多種類의 化合物이 同時에 存在하므로 이것 역시 Gas Chromatography가 좋은 방법임은 말할 필요도 없다.

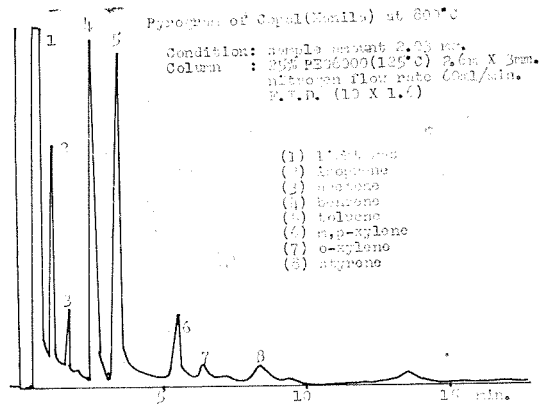
특히 熱分解 Gas Chromatography는 最近에 高分子 化合物의 同定, 組成決定 熱安定度 측정에 利用되고 있다<sup>(12)</sup>.

실지 天然樹脂를 PGC에 의하여 定性分析에 應用한 예<sup>(13)</sup>를 들면 Manila產 Copal을 800°C로 불활성 Carrier gas 기류 중 熱分解시켜 분해 생

성물을 25% PEG 6000을 충전시킨 column (내경 3mm $\phi$ ×2.6m Stainless)으로 Oven 온도 125°C, 검출기(FID)로 측정한 결과 Fig 7을 얻었다.

天然樹脂, 植物 Gum의 試料를 800°C로 P. G. C로 측정하여 나타난 benzene, toluene m-p-Xylene, Styrene의 生成量을 基準으로 各樹脂를 分類하여 본 것이 다음 Table II이다.

앞에서 사용했던 同一한 Copal을 450°C 정도의 저온 熱分解를 시키면 앞에서와 다른 또 하나의 특징 Pyrogram을 얻을 수가 있다. (fig. 8)



(fig 8)

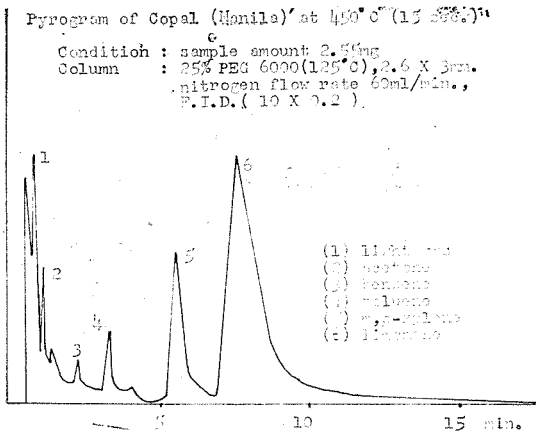
특히 樹脂類에서는 450°C 저온열분해 조건으로 Acetone 生成이 현저하다.

樹脂 종류에 따라 Acetone의 生成量만 比較한 것이 tab. II인데 이 표에서와 같이 天然樹脂類는 Acetone이 많고 加工樹脂類에는 낮은 값을 보이는 사실도 알 수가 있다.

### 結 論

生藥 및 漢藥의 發展을 위해서는 商品으로서의 評價를 할 수 있는 규격이 定해져야 하겠고 그 目的을 위해서는 객관적인 品質관리법이 하루 빨리 이루어져야 하겠다.

複合 試料를 同時에 定性, 定量하는 方法으로는 Gas Chromatography가 현재 제일 좋다고



(fig 7)

Peak-Shift after Treatment with 5 ul of Acetic Anhydride

Compound	Column Temp., C.	ul. of 0.5 % solution	Without Acetic Anhydride Retention Time Min. (area, sq. cm)	With Acetic Anhydride	
				Area, sq. cm., of unreacted Parent Compound	Retention time, min. (area sq. cm.) of shifted peaks
Amphetamine	125	0.5	2.8(7.0)	0	18.7(4.8)
Ephedrine	125	4.0	9.2(21.0)	0	63.0(10.8)
Norcodeine	215	1.5	14.1(8.3)	0	41.2(5.8)
Codeine	215	1.0	14.3(18.2)	16.6	20.9(0.3)
Morphine	215	6.0	16.5(15.8)	0	20.3(22.5), 29.2(11.5)
Dihydromorphine	215	5.0	17.2(2.2)	0	25.0(2.3)
Thebaine	215	2.0	20.2(15.3)	15.3	No derivative formed.
Androsterone	235	1.0	9.2(9.7)	7.6	11.8(0.8)
Estrone	235	1.5	11.7(13.2)	2.3	15.3(10.9)
Testosterone	235	1.0	12.4(10.4)	8.6	16.8(0.6)
Digitoxigenin	275	5.0	23.7(21.7)	16.9	28.0(0.6)

The amount of pyrolysis products of natural resins and plant gums

	benzene	toluene	m, p-xylene	styrene
Amber	24.4	32.7	17.2	7.7
Dammar	24.0	31.4	14.2	4.5
Copal (Manila)	22.1	32.6	15.4	4.5
Resina Pini	12.3	14.7	5.4	3.0
Gamboge	8.9	10.4	11.9	2.0
Myrrh	6.8	9.6	20.9	0.7
Guaiaicum resin	3.8	3.2	4.3	0.3
Dragon's Blood	3.6	2.3	0.6	0.7
Peru Balsam	36.0	34.9	7.7	28.2
Canada Balsam	21.9	31.3	16.9	6.0
Gum Arabic	2.3	0.6	0	0
Gum Tragacanth	1.7	1.1	0	0
Siam Benzoin	100.0	4.8	2.4	0.5

Base peak : Siam Benzoin, benzene peak area to sample amount=100  
 Condition : column 25% PEG 6000 (100°C), 2.6m×3mm.  
 nitrogenflow rate 60ml/min., F.I.D. (10×1.6) pyro. temp. 800°C

Table II. The amounts of acetone produced from Rosins and some related compounds

	acetone
Resina Pini	78
Gum Rosin	77
Wood Rosin	60
Tall oil Rosin	82
Hydrogenated Rosin	11
Disproportionated Rosin	12
Polymerized Rosin	15
Abietic acid	100
Cholesterol	54
Cholic acid	0

Base peak : Abietic acid/acetone peak height to sample amount=100

생각되며 이 방법은 어느 분석법 보다는 특징적인 Pattern을 얻을 수가 있다.

또한 他 機器와 연결사용이 가능하므로 여러 가지 특징있는 분석이 가능하다. 시료처리 방법이 발달됨에 따라 사용이 편하게 되었으며 高感度로 微量의 시료를 取扱할 수가 있다.

단점으로는 국내 생산이 되지 못해 기계구입이 高價이나 우리나라 제약회사는 거의 이 기기를 갖고 있는 것으로 생각된다.