생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacog
12(3):119~124 (1981)

生藥複合製劑의 品質管理에 關한 硏究(第1報)

TLC Scanner에 依한 三拗湯의 品質管理

洪 南 斗·金 鍾 禹·金 南 宰·孫 楨 坤
慶 熙 醫 療 院

Studies on the Quality Control Method of Crude Drug Preparations (I)

Studies on the Quality Control by the TLC Profiles Analysis of "Samyo-Tang"

N. D. Hong, J. W. Kim, N. J. Kim and J. G. Shon
Kyung-Hee Medical Center

In our country, in order to cure diseases, a large number of crude drug preparations has been available. Nevertheless, the development of crude drug preparations have been inhibited, because the quality control is not completed so far. Therefore, we have eontinued on studing the quality control method by Zig-zag TLC. profile analysis. The water extract of "Samyo-Tang" and componental crude drug (*Glycyrrhizae Radix, Ephedrae Herba, Armenicae Semen*) were developed on Silica gel $60F_{254}$ plate (E. Merck) useing elution solvent.

The developed plate were examined useing Dual Wavelength Zig-zag Scanner (Shimadzu). According to the results of the experiment, it could be summerized as follow:

1) Original patterns of TLC profiles of "Samyo-Tang" componental crude drug and mixing two crude drugs of "Samyo-Tang" were observed.
2) Original patterns TLC profile of each extract after spraying with 2% ninhydrine were observed.
3) In the extract of addition and subtraction of *Ephedrae Herba*, peak area of Rf 0.48 and Rf 0.60 were varied quantitatively.

生藥複合製劑의 藥效는 長久한 歲月동안 人類保健에 크게 功獻한 寄與度와 天然物化學 및 現代醫學의 發達은 漢方古書에 收錄된 內容의 追究에서 그 效能이 認定되어 藥物로서 再評價를 받게 된것은 周知의 事實이다. 그러나 生藥複合製劑는 天然物의 複合物로서 多種한 活性物質과 多樣한 活性에 依하여 活性物質의 均一性, 作用性의 一定化 및 安定性등의 諸問題로 醫藥品 品質評價方法이 確立되지 못하여 現代醫學에서 醫藥品으로서의 價値를 認定하려 하지않은 實情이다.

現在 生藥製劑의 品質管理의 方案으로 構成處方中 特殊成分을 갖이고 있는 生藥으로서 確認試驗이 可能한 品目에 對하여는 確認試驗을 行하고 含量試驗은 그中 一成分 以上을 施行하도록 規定하고있으며, 藥典收載品目이 아닌 生藥에 對하여는 起源등 原料規格을 設定하도록하여 良質의 生藥을 精選 使用할것을 要求하고 있으며 그

의 品質管理의 一環으로 水性, 묽은 메타놀 및 에텔엑기스量, 灰分量을 設定토록 조치하여 最大限의 良質 製品을 製造하도록 유도하고 있으나, 生藥의 藥效가 單一成分이 아닌 複合的인 活性成分의 構成을 이루고있어 相反된 活性作用, 複合物質의 抽出의 差와 活性成分의 相互間의 關聯作用으로 因한 分析의 防害등으로 現今의 規制로서는 品質管理의 實效를 거두지 못하여 處方中의 生藥單位의 把握과 構成成分 相互間의 連關에 依한 綜合的인 品質管理가 要望되어지고 있다.

著者등은 品質管理 方法의 缺如로 生藥製劑 開發의 沮害要因이 되어 있는 것을 鑑案하여 漢方古書에 收錄된 處方을 中心으로 各種器機를 利用하여 單一生藥의 規格 및 生藥複合劑의 品質管理 方案을 確立하고저 本 試驗에 着手하였다. 먼저 方藥合編[1]에 收載되어있으며 臨床에 많이 쓰여지고 있는 三拗湯을 Zig-Zag TLC Scanner를 利用한 生藥複合劑 및 生藥個個에 對한 TLC profile의 pattern을 比較分析 檢討한바 若干의 知見을 얻었기에 報告한다.

實 驗

가) 實驗材料

本 實驗에서 使用한 材料는 아래와 같은 것을 서울市內 乾材藥房에서 購入하여 使用하였다.

甘草 : *Glycayrhizae Radix*

麻黃 : *Ephedrae Herba*

杏仁 : *Armenicae Semen*

나) 檢液의 調製

위의 實驗材料들을 Table I에서와 같이 組合하여 蒸溜水로 還流冷却器下에서 2回, 2時間 加熱抽出하고 吸入 濾過한 濾液을 濃縮한 다음 粘稠性의 抽出物로 하여 試料로 하였다. 各 檢液은 개개의 試料를 實驗에 必要한 濃度로 희석하여 使用하였다.

다) 展 開

위에서 얻은 各 檢液을 常法에 따라 固定相으로 E. Merck製 TLC plate(Kieselgel $60F_{254}$, 20×20cm)를, 展開溶媒로는 *n*-BuOH:AcOH:H_2O (15:3:2)를 使用하여 TLC를 行하였다.

Table I. Composition of samples

Sample	Composition	
S-Ⅰ-1	*Glycyrrizae Radix*	25g
S-Ⅰ-2	*Ephedrae Herba*	25g
S-Ⅰ-3	*Armenicae Semen*	25g
S-Ⅱ-1	*Glycyrrhizae Radix*	25g
	Eqedrae Herba	25g
S-Ⅱ-2	*Ephedrae Herba*	25g
	Armenicae Semen	25g
S-Ⅱ-3	*Armenicae Semen*	25g
	Glycyrrhiazae Radix	25g
S-Ⅲ-1	*Glycyrrhizae Radix*	25g
	Armenicae Semen	25g
	Ephedrae Herba	25g
S-Ⅲ-2	*Glycyrrhizae Radix*	25g
	Armenicae Semen	25g
	Ephedrae Herba	32.5g
S-Ⅲ-3	*Glycyrrhizae Radix*	25g
	Armenicae Semen	25g
	Ephedrae Herba	22.5g
S-Ⅲ-4	*Glycyrrhizae Radix*	25g
	Armenicae Semen	25g
	Ephedrae Herba	10g

呈色은 呈色試藥으로 2% nihydrine試液을, air compressor(1.5kg/cm²)를 利用하여 Nebulizer(Schimadzu, Japan)로 균등히 spray한 다음 110°C에서 10分間 加熱하였다.[5]

라) TLC scanning[2,3,4]

위의 方法에 의해 TLC를 行한 後 Dual Wavelength TLC Scanner C.S 910(Schimadzu, Japan)로 UV(λ_R 350nm, λ_S 250nm). Vis.(λ_R 700nm, λ_S 350nm)波長에서 scaning하였으며 ninhydrine 試液으로 정색시킨것을 Vis.(λ_R 720nm, λ_S 500 nm)波長에서 scanning하였다.

結果 및 考察

三拗湯과 개개의 生藥들을 Vis(λ_r 700nm, λ_s 350nm) 波長에서의 profile(Fig. 1)을 分析하여 볼때 *Rf* 0.64, 0.80의 두 peak(c, d)가 甘草에 依해 나타난 것으로, *Rf* 0.39, 0.57의 두 peak

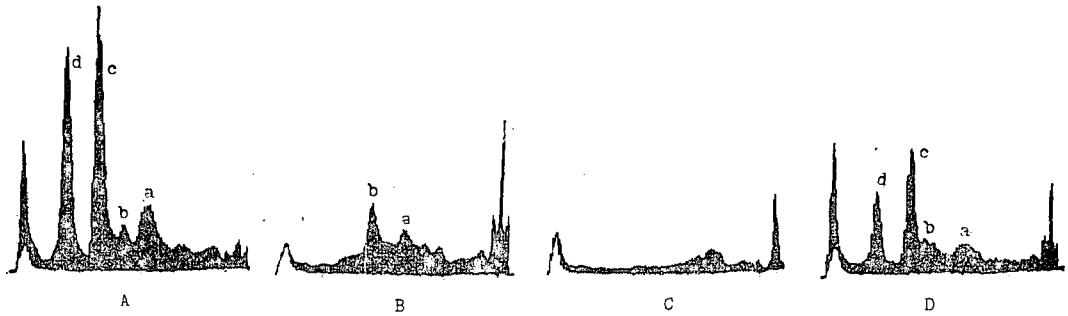

Fig. 1. Comparison of Zig-zag TLC scanning profiles of sample. (λs: 350nm. λr: 700nm)
A: Gly. Radix. B: Ep. Herba. C: Ar. Semen. D: Samyo-Tang.
Solvent: BuOH:AcOH:HOH(15:3:2) Kieselgel $60F_{254}$, 0.25mm (Merck)

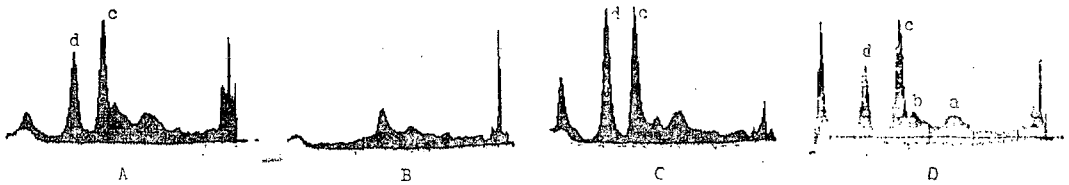

Fig. 2. Comparison of Zig-zag TLC scanning profiles of sample. (λs: 350nm, λr: 700nm)
A: Gly. Radix+Ep. Herba. B: Ar. Semen+Ep. Herba
C: Ar. Semen+Gly. Radix. D: Samyo *Tang.
Solvent: BuOH:AcOH:HOH(15:3:2) Kieselgel $60F_{254}$, 0.25mm(Merck)

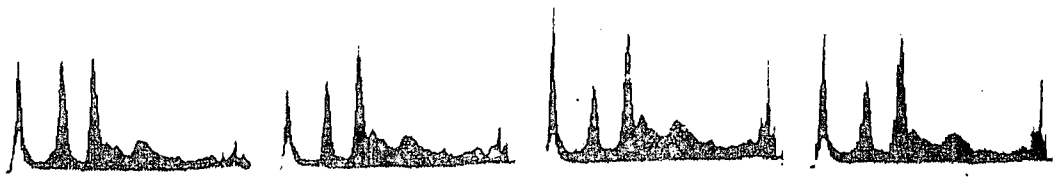

Fig. 3. Comparison of Zig-zag TLC scanning profiles of sample. (λs: 350nm, λr: 700nm)
A: Gly. Radix+Ar. Semen+Ep. Herba (40%)
B: Gly. Radix+Ar. Semen+Ep. Herba (90%)
C: Gly. Radix+Ar. Semen+Ep. Herba (130%)
D: Gly. Radix+Ar. Semen+Ep. Herba (100%)
Solvent: BuOH:AcOH:HOH(15:3:2) Kieselgel $60F_{254}$, 0.25mm(Merck)

(a, b)는 甘草, 麻黃, 杏仁의 모든 生藥에 依해 나타나는 것으로 推定되었으며 2種씩 複合한 것과의 比較(Fig. 2)에서 *Rf* 0.64, 0.80의 두 peak (c, d)가 역시 甘草에 依한 것으로 確認되었다.

또한 Fig. 2의 A와 C의 profile을 比較하여 볼 때 甘草에 依한 것으로 생각되는 *Rf*. 0.64, 0.80의 두 peak의 크기는 麻黃의 複合과 관계가 깊은것을 觀察할 수 있었다.

構成 生藥中 麻黃의 含量을 變化시켰음에도 그 基本 profile(Fig. 3)에는 變化가 없었으며 단지 麻黃의 成分이 關與하는 것으로 思料되는 *Rf*. 0.39, 0.59의 peak area가 含量 增加에 따라 比例的으로 커졌으며 反對로 甘草에 依한 peak로 생각되는 *Rf*. 0.64, 0.80의 두 peak는 比例的으로 줄어드는 것을 볼수 있었다.

U.V(λ_R 350nm, λ_S 250nm) 波長에서도 Vis波長에서와 같은 現象을 볼수 있었다(Fig. 4).

본방의 *Rf*. 0.27, 0.65, 0.80의 3개의 peak가 (a,e,f) 甘草에 依해 나타난 것으로, *Rf*. 0.47, 0.65의 두 peak(b,c)는 모든 生藥에 依해 나타

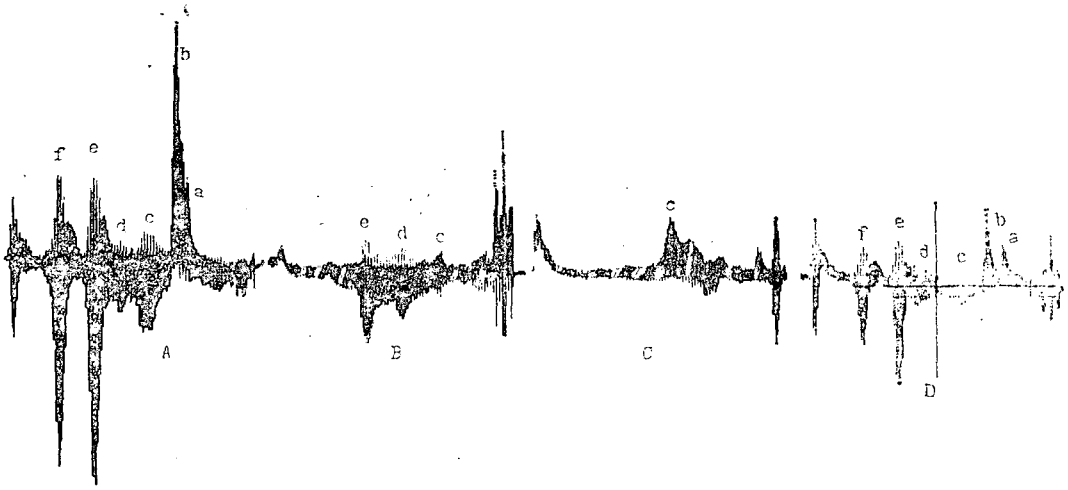

Fig. 4. Comparison of Zig-zag TLC scanning profiles of sample (λs: 250nm, λr: 350nm)
A: Gly. Radix. B: Ep. Herba. C: Ar. Semen. D: Samyo-Tang.
Solvent: BuOH:AcOH:HOH(15:3:2) Kieselgel $60F_{254}$, 0.25mm(Merck)

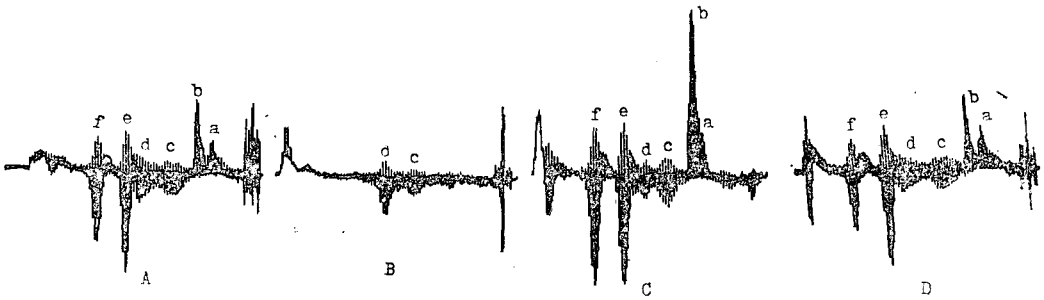

Fig. 5. Comparison of Zig-zag TLC scanning profiles of sample (λs: 250nm, λr: 350nm)
A: Gly. Radix+Ep, Herba. B: Ar Semen+Ep. Herba
C: Gly. Radix+Ar. Semen. D: Samyo-Tang.
Solvent: BuOH:AcOH: HOH(15:3:2) Kieselges $60F_{254}$, 0.25mm(Merck)

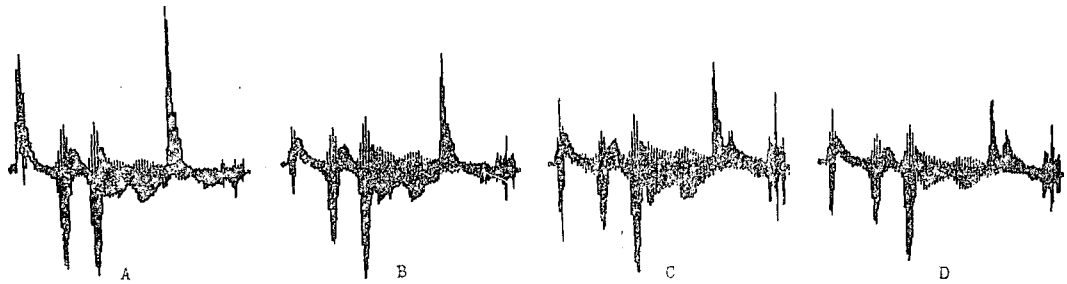

Fig. 6. Comparison of Zig-zag TLC scanning profiles of sample. (λs: 350nm, λr: 350nm)
A: Gly. Radix+Ar. Semen+Ep. Herba(40%)
B: Gly. Radix+Ar. Semen+Ep. Herba(90%)
C: Gly. Radix+Ar. Semen+Ep. Herba(130%)
D: Gly. Radix+Ar. Semen+Ep. Herba(100%)
Solvent: BuOH:AcOH:HOH(15:3:2) Kieselgel $60F_{254}$, 0.25mm(Merck)

나는 것으로 推定되었으며 2개씩 組合한 profile (Fig. 5)에서 *Rf*. 0.27, 0.65, 0.80의 peak(a,e, f)가 甘草에 依한 것으로 確認되었다. 또한 *Rf*. 0.27, 0.65, 0.80의 peak(a,e,f)크기가 麻黃과의 複合에서 더 줄어들었음을 볼수 있었다.

處方構成 生藥中 麻黃의 含量을 變化시켰을때 Vis波長 (Fig. 6)에서와 마찬가지로 含量의 變化에 따르는 基本 profile에는 變化가 없었으며 *Rf*. 0.47, 0.65의 peak area가 含量增加에 비례적으로 커졌으며 反對로 麻黃의 장애로 因해 甘草의 *Rf*. 0.27, 0.65 0.80 peak가 비례적으로 줄어 드는것을 볼수 있었다.

Vis. UV波長에서 scanning한 plate를 2% ninhydrine試液으로 정색 시킨 후 Vis(λ_R 720nm, λ_S 500nm)波長에서 scanning하여 나타난 Fig. 7,8,9를 分析하여 볼때, 개개 生藥의 profile (Fig. 7) *Rf*. 0.15, 0.25, 0.35(a,b,c)의 세 peak는 모든 生藥에 依한 것으로 認定되고, *Rf*. 0.48 0.60(d,e)의 두 peak는 麻黃에 依한 것이라고 推定되었으며 2개 生藥씩 組合했을 때의 profile (Fig. 8)에서 이를 確認할 수 있었다.

處方構成 生藥의 含量變化에 따르는 기본 profile

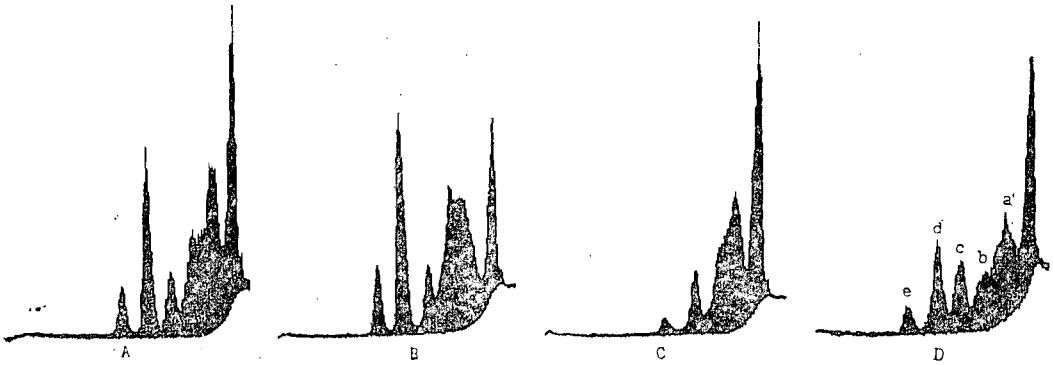

Fig. 7. Comparison of Zig-zag TLC scanning profiles of sample. (λs: 500nm, λr:720nm)
A: Gly. Radix. B: Ep. Herba. C: Ar. Semen. D: Samyo-Tang.
Solvent: BuOH:AcOH:HOH(15:3:2) Kieselgel 60F_{254}, 0.25mm(Merck)
Color reagent: 2% ninhydrine sol.

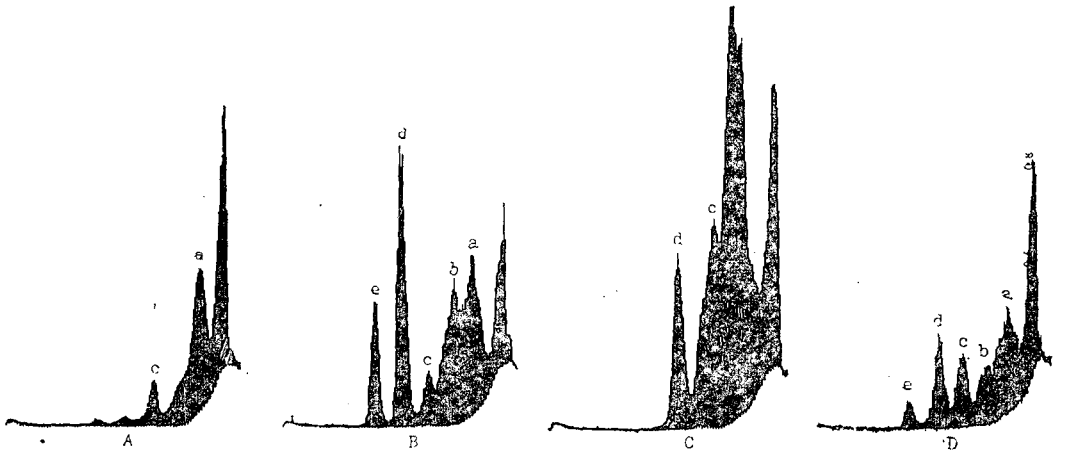

Fig. 8. Comperison of Zig-zag TLC scanning profiles of sample. (λs: 500nm, vr: 720nm)
A: Gly. Radix+Ep. Herba. B: Ep. Herba+Ar. Semen.
C: Gly. Radix+Ar. Semen. D: Samyo-Tang.
Solvent: BuOH: AcOH:HOH(15:3:2) Kieselgel 60F_{254}, 0.25mm(Merck)
Color reagent: 2% ninhydrine sol.

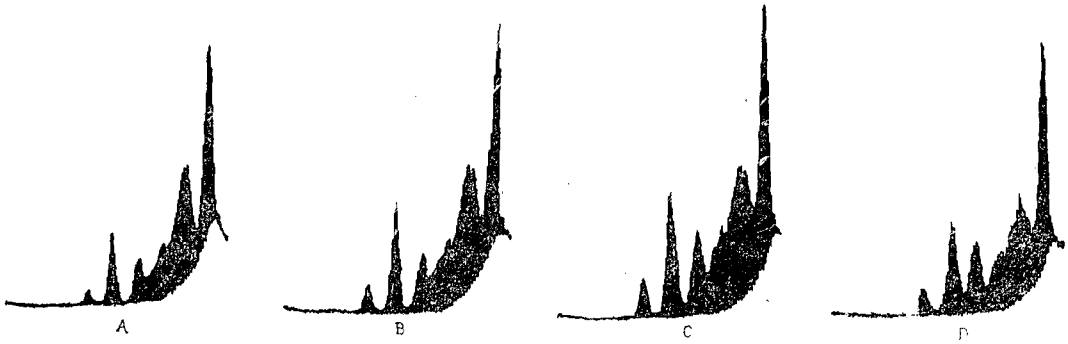

Fig. 9. Comparison of Zig-zag TLC. scanning profiles of sample (λs: 500nm, γr: 720nm)
A: Gly. Radix+Ar, Semen+Ep. Herba(40%)
B: Gly. Radix+Ar. Semen+Ep. Herba(90%)
C: Gly. Radix+Ar. Semen+Ep. Herab(139%)
D: Gly. Radix+Ar. Semen+Ep. Herba(100%)
Solvent: BuOH:AcOH:HOH(15:3:2) Kieselgel $60F_{254}$, 0.25mm(Merck)
Color reagent: 2% ninhydrine sol.

(Fig. 9) pattern은 변함이 없었고 麻黃에 의한 두 peak(*Rf*. 0.48, 0.60)의 면적이 含量 增加에 따라 커졌음을 볼 수 있었으며, 두 面積을 Table II에서 比較하여 볼때 生藥製劑中의 構成生藥의 分布에 따른 profile의 상관관계가 거의 一定하다는 것을 관찰할 수 있었다.

Table II. Peak area of Rf value in each samples

Sample	*Rf* 5.4	*Rf* 6.0
S-Ⅲ-1	0.55(100%)	0.17(100%)
S-Ⅲ-2	0.72(130.9%)	0.22(129.4%)
S-Ⅲ-3	0.50(90.9%)	0.14(82.4%)
S-Ⅲ-4	0.25(45.5%)	0.06(35.3%)

結　論

이상과 같은 結果들을 종합할때 生藥複合劑인 三拗湯의 構成生藥인 甘草, 麻黃, 杏仁 및 각각을 2개씩 組合한 群과 本方을 Zig-zag TLC scanning한 profile은 UV(λ_R 350nm, λ_S 250nm), Vis(λ_R 700nm, λ_S 350nm)波長에서 각각 고유의 pattern을 나타내었다.

위의 plate에 ninhydrine으로 呈色하여 Vis(λ_R 720nm, λ_S 500nm)波長에서의 profile을 比較 觀察해 본 결과, *Rf*. 0.48, 0.60에서 麻黃의 一成分으로 認定되는 독립된 2개의 특유 peak를 觀察할 수 있었다.

麻黃을 40, 90, 100, 130%씩 加減한 sample의 TLC profile을 비교 검토한 바 2개의 特有 peak *Rf*. 0.48, 0.60位의 peak area가 定量的으로 變化되는 것을 알수 있었다.

이것으로 미루어 보아 現在 使用하는 特殊成分을 標準物質로 하여 含量을 測定하는 品質管理法과는 다른 TLC profile에 依한 生藥複合劑에 複合되어진 構成 生藥을 標準으로 하는 品質管理法이 可能한 것으로 思料된다.

〈1981년 12월 9일 접수〉

參 考 文 獻

1. 陸昌洙：現代方藥合編, p-204, 癸丑文化社 (1977)
2. 平賀敬夫 外：生藥學雜誌, **33**, (1) 38-42 (1979)
3. 富森毅 外：生藥學雜誌, **34** (2) 138-144 (1980)
4. 名取信策 外：天然有機化合物實驗法, 講談社, p-454, 472 (1977)
5. 橋本庸平：生藥分析, 廣川書店, p-245-266. (1978)