

황금(*Scutellariae radix*)의 주요 성분의 정성 및 정량분석에 관한 연구

이재성 · 우은란* · 김남혁 · 이은주* · 안덕균** · 이재현** · 박성규** · 박호균*

한국과학기술연구원 특성분석센터

*한국과학기술연구원 응용과학부

**경희대학교 한의과대학 본초학교실

(1996. 8. 2. 접수)

A Study on Qualitative and Quantitative Analysis of Major ingredients in *Scutellariae radix*

Jae-Seong Rhee, Eun Ran Woo**, Nam-Hyuk Kim, Eun-Ju Lee**,
Duk-Kyun An**, Je-Hyun Lee**, Seong Kyu Park**, Ho-Koon Park**

Advanced Analysis center, Korea Institute of Science and Technology, Seoul, 156-791, Korea

*Department of Applied Science, Korea Institute of Science and Technology, Seoul, 156-791, Korea

**Department of Chinese Natural Products, Oriental Medical College, Kyung Hee University, Seoul, 130-701, Korea

(Received Aug. 2, 1996)

요약 : 황금은 예로부터 한방의학에서 해독작용에 사용되어 왔다. 이제까지 황금의 분석적인 관점은 황금의 주성분에 대한 분리와 감도를 증대시키는 데 있었다. 황금에 존재하는 세 가지 다른 flavonoid인 baicalin, baicalein, wogonin을 분석하기 위하여 diode array 검출기(280nm)와 ODS 역상 컬럼을 사용하여 HPLC로 측정하였다. 이 때 이동상은 아세토니트릴과 0.1M 인산을 사용하고, flow rate는 1mL/min로 하였다. 이 조건에서의 검출시간은 baicalin이 7.65분, baicalein이 11.65분, wogonin이 14.12분이었다. 이 분석방법으로서 산지에 따른 황금성분의 양을 비교한 결과 baicalin은 전북 순창산에서, baicalein과 wogonin은 전남 벌교산에서 많이 검출되었다. 추출효율 실험결과 상온용출도 우수하였다. 산의 종류 중 특히 0.1M 초산을 사용했을 때 추출효율이 가장 좋았으며, 추출의 효율성이나 안정성을 고려할 때 혼합 용매의 비율은 아세토니트릴/0.2M 인산(75:25)의 조건에서 추출하는 것이 우수하였다.

Abstract : *Scutellariae radix* has been used on the control of body fever as oriental medicine for thousand years. Analytical aspect for the main components of *Scutellariae radix* was set up improving sensitivity and resolution. The analysis of 3 different flavonoids present in *Scutellariae radix*—baicalin, baicalein, wogonin—was conducted by means of high performance liquid chromatography with ODS reverse phase column in conjunction with a Photo Diode Array UV detector(280nm) at 40°C. Mobile phase was carried out at 1mL/min, composed of acetonitrile and 0.1M phosphoric acid in the form of a gradient method. Under these circumstances the retention time for baicalin, baicalein, wogonin was 7.65, 11.65 and 14.12 minutes respectively. As a result for the efficiency on extraction of active ingredients with proposed analytical process according to it's growing districts, Sunchang in Junbuk for baicalin and Bulkyo in Junnam for bicaicin and wogonin have shown the best results.

Even the extraction at room temperature was satisfactory. Among acids, 0.1M acetic acid revealed the best achievements. The mixture of acetonitrile and 0.2M phosphoric acid (75:25) has been shown the best efficiency as well as stability for the extraction of active ingredients.

Key words : *Scutellariae radix*, baicalin, baicalein, wogonine

1. 서 론

신농본초경(神農本草經)에 주제열황달(主諸熱黃疸), 축수(逐水), 하혈폐(下血閉), 악창저식(惡瘡疽蝕), 화양(火瘍)이라고 수록된 황금은 치장열변갈(治壯熱煩渴), 습열사리(濕熱瀉痢), 열림(熱淋), 붕루(崩漏), 태동불안(胎動不安), 제습열(除濕熱)하는 작용이 있어 임상에서 광범위하게 사용되는 약초 중의 하나이다.²

황금의 뿌리에는 baicalein, baicalin, wogonin, wogonoside, neobaicalein이 함유되어 있으며, 안식향산, sitosterol 등도 포함되어 있다. 경엽 속에는 scutellarin이 함유되어 있고, 진황금의 뿌리에는 wogonin, baicalein, wogonoside, hispidulin 등이 주성분으로 함유되어 있다.^{2,4} 성분 연구는 flavonoids에 관한 것이 대부분으로 황색 결정성 성분인 wogonin을 처음 추출하여 구조가 밝혀졌으며, 황금의 뿌리에서 wogonin보다도 함량이 월등히 많은 선행색 결정인 baicalin을 분리하였다.³ Baicalin은 뿌리에서 함량이 가장 많은 주성분으로 가수분해되어 baicalein과 glucuronic acid로 분리된다고 알려져 있다.⁵ 1923년도에 Shibata⁶ 등은 뿌리에서 추출한 화합물 중에 소량의 wogonin을 검출하였고, 주성분은 flavone glycoside baicalein이라고 보고하였으며, bargellini⁷는 1919년에 황금의 뿌리에서 baicalin을 추출했다는 보고가 있다.

약리작용으로는 혈당 상승작용과 혈압 강하작용, 해열작용 등이 밝혀졌으며 항알레르기, 이완작용, 모세혈관 투과성 억제작용 등이 보고되었다.⁸ 또 항염증작용, 지질대사 개선작용, 해독, 항균작용, 이뇨작용, 항암작용 등이 보고되었으며, 이들 약리활성 발현은 flavonoid 성분과 밀접한 관계가 있는 것으로 되어 있다.⁹⁻¹¹ Takato 등¹²은 황금식물의 꽃, 잎, 줄기, 뿌리의 부위별로 baicalin, wogonin 7-O-glucuronide, baicalein, wogonin의 함량을 분석하여 꽃과 잎에서는 검출이 안 되며, 모근에서 baicalein, wogonin의 함량이

많음을 보고하였다. Kimura와 Takago^{13,14} 등은 황금의 고지혈증과 지방분해에 대한 효과를, Konoshima 등은 황금의 항피부종양에 대한 효과를 보고하였다. Abe 등¹⁵은 황금에서 5, 7, 2'-trihydroxy-8-methoxyflavone과 5, 3', 6'-trihydroxy-7, 8-dimethoxyflavone, 5, 7, 2'-trihydroxy-6'-methoxyflavone, 5, 7, 2', 3'-tetramethoxyflavone, 3, 5, 2', 6'-pentamethoxy-flavone, (2S)-7, 2'-trihydroxy-5-methoxyflavone, 2, 6, 2', 4'-trihydroxy-6'-methoxy-chalcone의 분리를 보고하였다. 현재 제시된 황금의 정량법과 비슷한 과정으로 황금을 아세트니트릴/0.1M 인산(28/72)에서 환류추출하여 HPLC에 의한 baicalin, baicalein, wogonin의 분석¹⁶이 보고되어 있다. 황금의 유효성분으로 보고된 baicalin, baicalein, wogonin의 HPLC를 이용한 분석방법으로는 Radial pak C₁₈/CORASIL 컬럼을 사용하여 테트라아이드로 푸란/다이옥산/메탄올/초산/5% 인산/탈이온수(145:125:50:20:2:1000)의 이동상에서 처음 1mL/min에서 8분 후 1.5mL/min으로 하여 정량한 보고가 있으나⁵ 분리가 만족스럽지 못하였다. 또한 Yoshino 등¹⁷은 Radial pak C₁₈(8×100mm) 컬럼과 메탄올/초산/탈이온수 (5:5:90)에서 메탄올/초산/탈이온수 (90:5:5)로 40분간 gradient method의 이동상에서 baicalin, baicalein, wogonin 등의 정량을 보고하였으나, 검출에 장시간 소요되어 본 연구에서는 동일 종류의 역상 컬럼을 사용하여 HPLC의 분석조건을 확립한 후, 정성 및 정량분석을 수행하였다.

본 연구에서는 이러한 약리작용을 이루는 황금의 주성분을 효율적으로 용출, 분리하는 방법을 밝혀내어 표준화 방법을 개량 제시하고, 본 연구에서 얻어진 방법에 의거하여 원산지별로 주성분에 대한 함량의 차이를 측정하여 정립된 분석방법의 유용성을 검증하려 하였다.

2. 실험

다.

2.1. 시약, 시료 및 사용 기기

2.1.1. 시료

실험에 사용한 황금은 전라남도 벌교에서 재배된 것을 서울특별시 동대문구 제기동의 경동시장에서 구입하여 음건한 후 절단하여 vacuum desiccator에서 2일간 건조시키고 분쇄기를 사용하여, 세밀 분쇄하여 각각의 실험에 사용하였다.

2.1.2. 표준품 및 시약

baicalin 표준품(99.0%), baicalein 표준품(99.0%), wogonin 표준품(98.0%)은 Wako(Tokyo, Japan)사에서 구입하여 사용하였고, 아세트니트릴, 메탄올, 에탄올, 클로로포름은 HPLC급으로서 J. T. Baker사(Phillipsburg, U. S. A)에서 구입하였다. 초산, 황산, 염산과 인산은 J. T. Baker사(Phillipsburg, U. S. A)의 분석시약급을 사용하였다.

2.2. 사용 기기

황금 중 주요 성분을 분석하기 위해 사용된 고성능 액체크로마토그래피는 Hewlett Packard사의 HP 1050으로서 diode array detector가 부착되어 190~500nm까지 측정할 수 있으며, UV 감지기로도 사용할 수 있는 장점이 있다. 증류수 제조는 Millipore사의 Milli-Q water system을 사용하였으며, 한약재는 분쇄기(Thomas사, Philadelphia, U. S. A.)를 사용하여 20~40mesh로 갈아 사용하였고, HPLC column은 C₁₈(ODS, 10 μ m, 4.6 \times 250mm, Shandon)을 사용하였

2.3. 표준액의 제조

Baicalin 표준품 2.04mg을 정확히 평량하여 10mL 부피 플라스크에 옮긴 후 아세트니트릴/0.1M 인산(1:1)에 녹여 정확히 10mL로 만든 다음, 이 용액 중 7.5mL를 취하여 다시 10mL의 용량 플라스크에 옮긴 후 아세트니트릴/0.1M 인산(1:1)을 희석 용매로 하여 정확히 10mL로 만들었다. 희석한 표준용액 중 6.67mL를 취하여 동일한 희석 용매를 가하여 정확히 10mL의 용액으로 만들고, 이 용액 중 5mL를 취하여 동일한 희석 용매로 정확히 10mL로 만들어 각각 204ppm, 153ppm, 102ppm, 51ppm의 baicalin 검량 표준액으로 조제하였다. baicalein은 표준품 3.02mg을 취하여 10mL의 용량 플라스크에 옮긴 후 동일한 아세트니트릴/0.1M 인산(1:1)에 녹여 정확히 10mL로 만들고, 이 용액 중 5mL를 취하여 옮긴 후 희석 용매를 가하여 정확히 10mL로 채운 후, 이 용액에서 7.5mL를 취하여 정확히 10mL로 희석하고, 이 용액에서 다시 7.5mL를 희석 용매로 정확히 10mL를 만들어 각각 320ppm, 160ppm, 120ppm, 90ppm의 baicalein 검량 표준액으로 조제하였다. wogonin은 표준품 0.94mg을 정확히 평량하여 baicalin과 같은 방법으로 각각 94ppm, 71ppm, 47ppm, 24ppm으로 조제하여 시험하였다.

2.4. 검량선의 작성

각각의 표준액을 Table 1에 표기된 조건에 의하여

Table 1. HPLC conditions for the measurement of index compounds in *Scutellariae radix* after extraction.

Column : ODS HYPERSIL 10 μ m(Shandon, Cheshire, UK.)		
4.6mm \times 250mm		
Detector : UV / VIS Diode Array, 280nm		
Mobile phase : Gradient method		
	Acetonitrile	0.1M Phosphoric acid
Initial :	20%	80%
15 min :	70%	30%
19 min :	70%	30%
20 min :	20%	80%
Flow rate : 1 mL/min		
Column temp. : 40 $^{\circ}$ C		
Injection volumn : 10 μ L		

HPLC에 주사하여 검량선을 작성하였다(Fig. 5).

2.5. Thin Layer Chromatography를 이용한 HPLC

조건 설정

HPLC의 분석조건을 설정하기 위하여 황금의 유효 성분인 baicalin, baicalein, wogonin 표준품을 사용하여 Whatman사의 역상용 thin layer chromatography(TLC, 200 μ m layer, fluorescent at 254nm, U. S. A)로 실험하였다. TLC의 용매 조건은 아세트니트릴과 0.1M 인산을 30:70, 50:50, 70:30, 80:20, 90:10으로 변화시켜 R_f 를 계산하였고, 그 결과 k' 값을 도시하였다.

2.6. 추출실험 과정

2.6.1. 75 $^{\circ}$ C에서 환류용출에 의한 황금의 유효 성분 추출효율 비교

황금 10.00g을 정확히 평량하여 1000mL의 둥근바닥 플라스크에 옮긴 후 아세트니트릴/0.1M 인산(28:72) 500mL로 75 $^{\circ}$ C에서 교반하여 주면서 10분, 20분, 30분, 1시간, 2시간, 3시간, 4시간, 6시간, 8시간, 12시간 후에 각각 1mL씩을 취하여 0.45 μ m membrane syringe filter로 여과하고 10 μ L를 HPLC에 주사하여 baicalin, baicalein, wogonin의 추출효율을 비교하였다.

2.6.2. 상온 용출에 의한 황금의 유효 성분 추출효율 비교

황금 10.00g을 정확히 평량하여 1000mL의 둥근바닥 플라스크에 옮긴 후 아세트니트릴/0.1M 인산(28:72) 500mL로 상온에서 교반하여 주면서 10분, 20분, 30분, 1시간, 2시간, 3시간, 4시간, 6시간, 8시간, 33시간 후에 각각 1mL씩을 취하여 2.6.1과 동일한 방법으로 처리하여 분석하였다.

2.6.3. 알코올의 종류에 따른 황금의 유효 성분 추출효율 비교

황금 2.00g을 정확히 평량하여 각각 250mL의 둥근바닥 플라스크에 옮긴 후 메탄올/0.1M 인산(1:1), 에탄올/0.1M 인산(1:1) 200mL로 상온에서 교반하여 주면서 30분, 1시간, 2시간, 3시간, 4시간 후에 각각 1mL씩을 취하여 2.6.1과 동일한 방법으로 분석하였다.

2.6.4. 산의 종류에 따른 황금의 유효 성분 추출효율 비교

황금 2.00g을 정확히 평량하여 250mL의 둥근바닥

플라스크에 옮긴 후 0.1M 인산, 0.1M 황산, 0.1M 염산, 0.1M 초산 등을 추출용매로 하여 200mL로 상온에서 교반하여 주면서 3시간, 24시간, 48시간 후에 각각 1mL씩을 취하여 2.6.1과 동일한 방법으로 분석하였다.

2.6.5. 아세트니트릴과 인산의 비율에 따른 황금의 유효 성분 추출효율 비교

최종 용매는 수소이온농도가 일정하도록 0.05M 인산(100%), 아세트니트릴/0.07M 인산(25:75), 아세트니트릴/0.1M 인산(50:50), 아세트니트릴/0.2M 인산(75:25)과 아세트니트릴(100%)로 조제하여 각각의 추출용매로 사용하였다. 황금 2.00g을 정확하게 평량하여 추출용매 200mL로 상온에서 교반하여 주면서 2시간, 24시간, 48시간 주기로 주사기를 사용하여 반응 용기로부터 용액을 1mL씩 취하여 2.6.1과 동일한 방법으로 분석하였다.

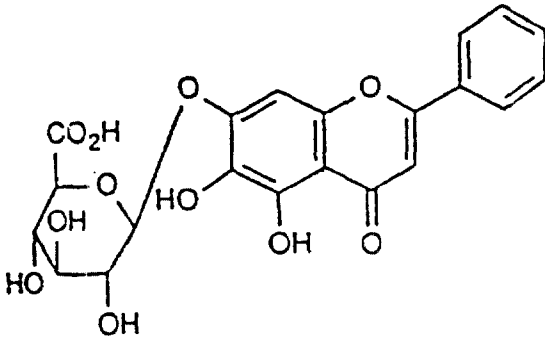
2.7. 산지별에 따른 황금시료 중에서 유효 성분의 함량 분석

산지별로 수거한 시료를 세척, 음건한 후에 40 mesh 이상의 크기로 세밀 분쇄한 후 각각 2.00g을 취하여 이를 250mL의 둥근바닥 플라스크에 옮겨서 200mL 아세트니트릴/0.1M 인산(1:1)으로 실온에서 교반시켜 준다. 3시간, 24시간, 48시간마다 각각 1mL씩 취하여 syringe filter로 여과한 후 HPLC에 10 μ L씩 주사하여 baicalin, baicalein, wogonin의 함량을 계산하였다.

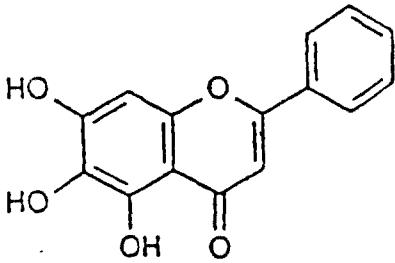
3. 결과 및 고찰

3.1. Thin Layer Chromatography를 이용한 개량된 HPLC의 분석 조건 설정

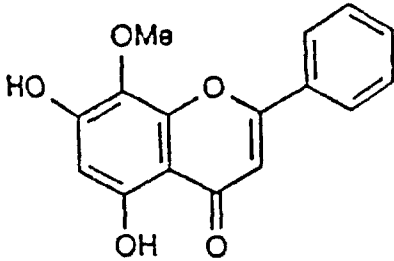
HPLC의 분석 조건을 설정하기 위하여 황금의 유효 성분인 baicalin, baicalein, wogonin(Fig. 1) 표준품을 사용하여 Whatman사의 역상용 thin layer chromatography(TLC)로 실험하였다. TLC의 용매 조건은 0.1M 인산과 아세트니트릴의 비율을 변화하여 그 결과 R_f 에서 k' 를 계산하였다(Table 2). 0.1M 인산과 아세트니트릴의 비율이 70:30에서 20:80까지 baicalin, baicalein과 wogonin의 capacity factor의 차이가 적당하므로 본 연구에서는 정지상으로 TLC와 동일한 ODS hypersil(10 μ m, 4.6 \times 250mm) 컬럼을 사용하였다. 이등상으로는 TLC의 실험결과를 토대로 Table 1



Baicalin



Baicalein



Wogonin

Fig. 1. The molecular structures of baicalin, baicalein and Wogonin.

과 같이 용매의 기율기 변화를 주었으며, 이 때 컬럼의 온도는 기존의 문헌보다 낮은 40℃로 하였다. 천연물은 열에 약한 성분이 있을 확률이 크기 때문에 HPLC 분석 온도를 낮출 필요가 있다. 기존 방법인 silica ODS 컬럼과 0.1M 인산/아세토니트릴(72:28)을 이동상으로 50℃의 컬럼 온도와 1mL/min의 이동속도에서 황금의 주요 성분을 분리한 경우(Fig. 2)보다 본 분석법으로 측정하였을 분석 시간이 단축되었는데, baicalein은 24.5분에서 11.6분으로, wogonin은 55.3분에서 14.1분으로 단축되었다(Fig. 3, 4).

이와 같이 새로 정립된 HPLC 조건은 baicalin, baicalein, wogonin의 검출 시간이 짧고 이동상의 조건이 비교적 간단하며, 컬럼의 높은 온도에 의해 생길 수 있는 시료성분의 변화 및 컬럼 변성을 최소화할 수 있도록 하였다.

3.2. 추출 방법 결과

3.2.1. 75℃에서 환류용출에 의한 황금의 유효 성분 추출효율 비교

황금 성분의 추출효율을 극대화하기 위한 조건 및 성분 안정성을 연구하기 위하여 아세토니트릴/0.1M 인산(28:72)을 용매로 하여 75℃에서 환류용출하여 시간의 경과에 따른 baicalin, baicalein, wogonin의 추출효율을 비교하였다. Table 3에서와 같이 baicalin은 1시간 환류용출하였을 때 9.91%로 최대치를 보이다가 그 이후로는 점차적으로 감소하였다. 이것은 용출용매에 의한 효능과 셀룰로스 matrix 표면개질로 인한 흡착현상의 상호작용의 결과라 사료된다. baicalein과 wogonin은 12시간이 경과할 때까지 함량이 증가하였다. 이러한 결과로부터 baicalin은 75℃에서 1시간까지 안정함을 알 수 있었으며, baicalein과 wogonin은 12시간 안정함을 알 수 있었다.

Table 2. Capacity factor (k') at given eluent on TLC. (C₁₈ from Merck Co.)

Solvent		Capacity factor(k')		
Acetonitrile	+ 0.1M Phosphoric acid	Baicalin	Baicalein	Wogonin
30	70	0.72	15.7	24.0
50	50	0.19	1.22	2.70
70	30	0.03	0.22	0.56
80	20	0.02	0.12	0.27
90	10	0.01	0.18	0.22

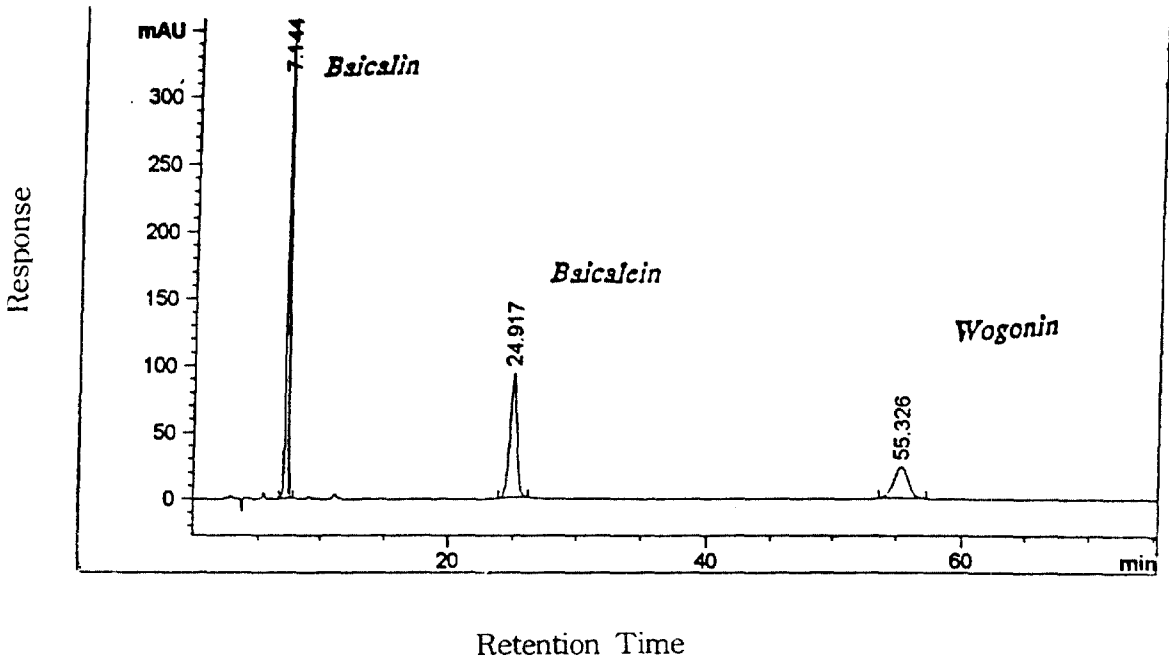


Fig. 2. HPLC chromatogram of baicalin, baicalein and wogonin in 0.1M phosphoric acid/ acetonitrile (72:28) as mobile phase with ODS Hypersil 10 μ m column at 280nm, flow rate 1mL/min, 50 $^{\circ}$ C.

3.2.2. 상온 용출에 의한 황금의 유효 성분 추출 효율 비교

앞의 75 $^{\circ}$ C에서의 추출방법과 상온에서의 추출방법에 대한 효율성을 고찰하고 열에 불안정한 물질의 분해 가능성을 배제하기 위하여 상온에서 아세토니트릴/0.1M 인산(28:72)을 용매로 하여 baicalin, baicalein, wogonin의 추출효율을 비교하였다. 그 결과 Table 4에서와 같이 baicalin은 1시간대에서 10.54%로 최대치를 나타내었으나 그 이후로 8시간까지 급격히 감소하여 3.48%가 되었으며, baicalein은 2시간대에서 1.43%로 최고치를 나타내었으나 그 이후 점차적인 감소를 나타내었고, wogonin은 2시간까지는 서서히 증가하여 0.56%를 나타내었고, 그 후에는 거의 일정하였다. 이러한 현상은 상온에서 부풀어진 셀룰로스 matrix의 흡착효율이 커져 용해된 주요 성분들이 역이동하는 현상에서 기인되리라 예측된다.

상온에서 아세토니트릴/0.1M 인산(28:72)을 용매로 한 추출방법은 75 $^{\circ}$ C에서 추출방법에 비하여 그 변화량이 많았으며, 특히 시간에 따른 baicalin의 증가량은 그 폭이 심하였으나 1시간대에서의 추출량은 많아

상온에서 추출이 가능함을 증명하였다.

3.2.3. 알코올 종류에 따른 황금의 유효 성분 추출 효율 비교

메탄올/0.1M 인산(1:1)의 용매로 추출한 결과는 Table 5에서 나타낸 바와 같이 baicalin의 양은 30분에서 7.45%로 최대량을 보였고, 시간이 경과함에 따라 감소하였으며, baicalein과 wogonin의 양은 시간이 경과할수록 증가하여 4시간 후에 각각 1.97%, 0.92%를 나타내었다. 에탄올/0.1M 인산(1:1)에서 추출하였을 때, baicalin은 30분에 7.45%를 나타내어 시간 경과에 대하여 거의 일정하였으며, baicalein과 wogonin은 시간이 경과할수록 증가하여 4시간 후에는 각각 1.84%, 0.80%를 나타내었으며, 그 결과를 Table 5에서 종합하였다. 특히 황금의 전처리에 있어 메탄올/0.1M 인산(1:1)에 비하여 에탄올/0.1M 인산(1:1)에서 추출이 안정적인 것으로 나타났다. 이것은 용매에 부풀어진 셀룰로스 matrix의 흡착 active site를 크기가 비슷한 메탄올이 막으므로 용출된 유효성분의 역이동평형을 막기 때문이라 예측된다.

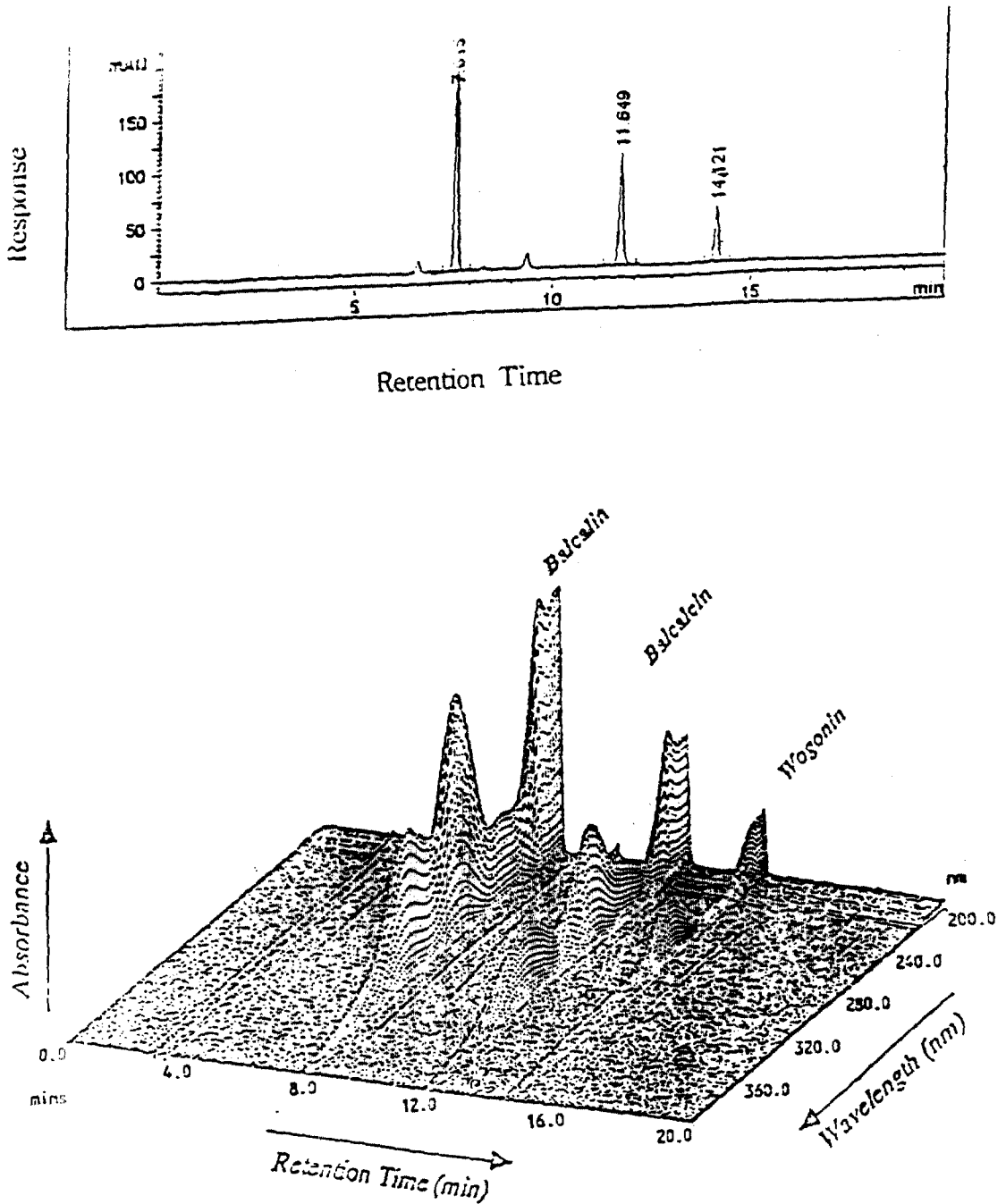


Fig. 3. HPLC chromatogram of baicalin, baicalein and wogonin in gradient system of 0.1M phosphoric acid/ acetonitrile with ODS Hypersil 10 μ m column at 280nm(upper) or 200-400 nm(Diode Array UV Detector), 1mL/min as flow rate, 40 $^{\circ}$ C as column temperature. The gradient program which is one of key step for better separation is listed on Table 1. Note the time interval for the separation of whole ingredients.

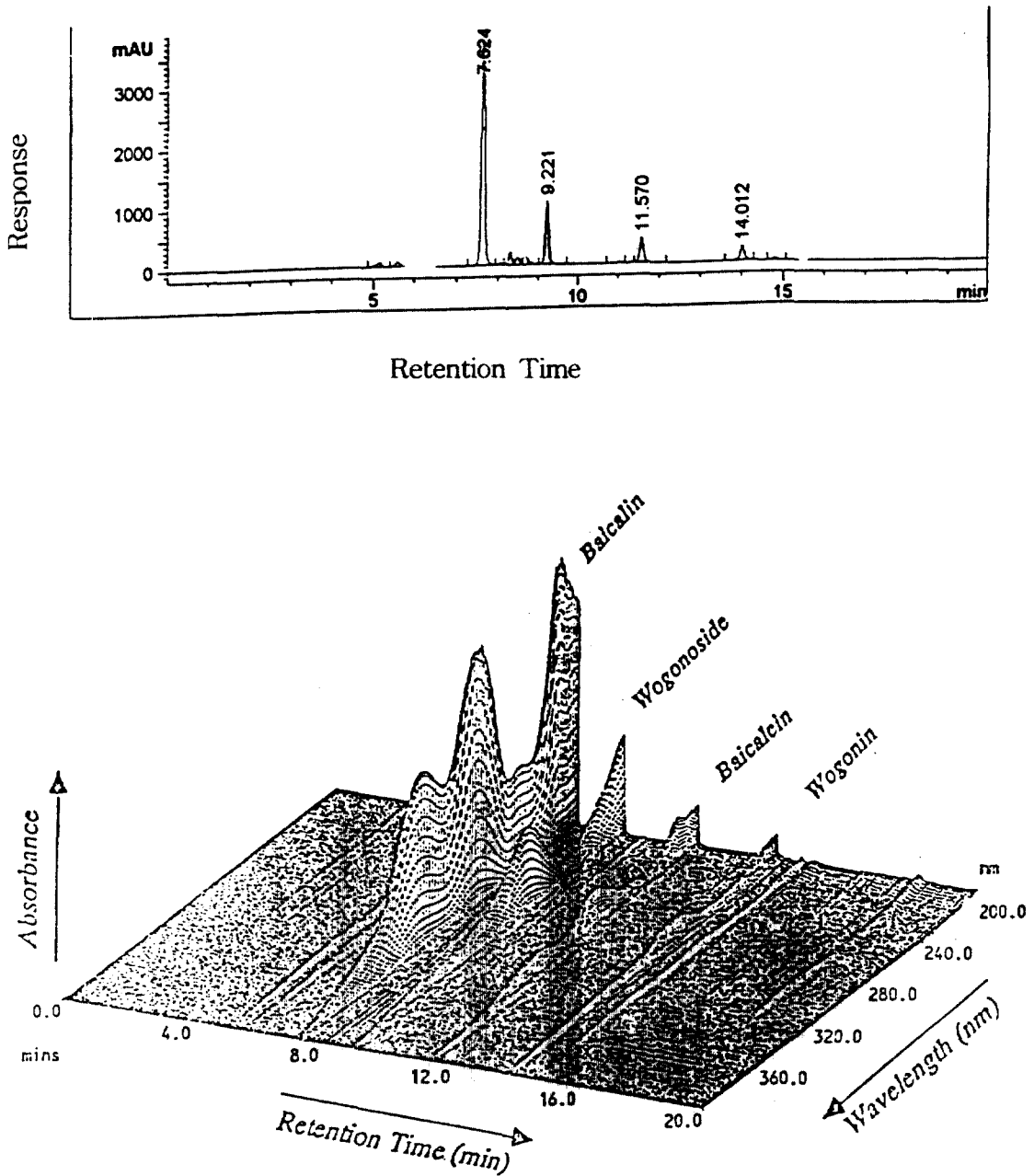


Fig. 4. HPLC chromatogram of extract from *Scutellariae radix* in gradient system of 0.1M phosphoric acid/acetonitrile with ODS Hypersil 10 μ m column at 280nm(upper) or 200-400 nm(Diode Array UV Detector), 1mL/min as flow rate, 40 $^{\circ}$ C as column temperature. For exact mobile phase program, see Table 1. Because of shorter time for whole separation, incresement of sensitivity is achieved.

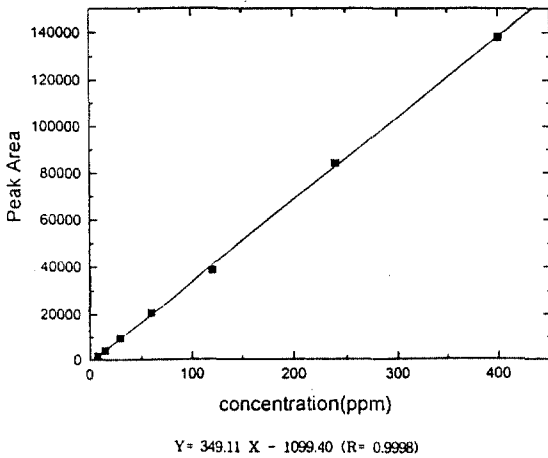


Fig. 5. The calibration curve of baicalin standard in methanol by HPLC at the range between 7.5 ppm to 400 ppm. For suitable response with given HPLC system, the sample solution could be diluted at appropriate ratio.

3.2.4. 산의 종류에 따른 황금의 유효 성분 추출효율 비교

0.1M 인산, 0.1M 황산, 0.1M 염산, 0.1M 초산 등을 추출 용매로 하여 상온에서 산의 종류에 따른 baicalin, baicalein, wogonin의 추출효율을 비교하였다. Table 6과 같이 각각의 용매 모두 3시간대에서 baic-

alin은 각각 0.95%, 1.31%, 0.95%, 6.01%로 최대를 나타냈으며, 이후 급격히 감소하였고, 특히 0.1M 초산에서는 3시간대에서 baicalin, baicalein, wogonin이 각각 6.01%, 0.90%, 0.10%로 다른 조건에 비하여 많았으나, 그 이후에는 감소하여 24시간 이후에는 baicalein과 wogonin은 검출이 불가능하였다. 0.1M 인산, 0.1M 황산, 0.1M 염산의 조건에서는 baicalein과 wogonin이 검출되지 않았다.

3.2.5. 아세토니트릴과 인산의 비율에 따른 황금의 유효 성분 추출효율 비교

아세토니트릴과 인산의 비율에 따른 추출한 결과는 Table 7에서 나타낸 바와 같이 아세토니트릴/0.2M 인산(75:25)은 3시간에서 baicalin, baicalein 및 wogonin의 추출이 각각 11.58%, 1.94%, 0.71%를 나타내어 아세토니트릴과 인산의 비율에 따른 추출효율에서 다른 비율에 비하여 우수하고 시간에 대하여 안정적으로 나타났으며, 아세토니트릴/0.1M 인산(1:1)도 아세토니트릴/0.2M 인산(75:25)과 비슷한 추출효율 및 시간에 대한 안정성을 나타내었다. 그러나 아세토니트릴을 단일 용매로 사용하였을 때 baicalin이 추출되지 않았으며, 이로 보아 황금의 유효성분 추출에서 아세토니트릴과 인산의 용매 비율은 75/25의 비율에서 수행되는 것이 추출의 안정성이나 추출의 효율로 보아 바람직할 것으로 추정된다.

Table 3. The extraction efficiency by reflux technique with acetonitrile/0.1M phosphoric acid(28:72) in *Scutellariae radix* according to time passage.

Elapsed Time	Baicalin		Baicalein		Wogonin	
	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*
10 min	8.78	0.87	1.39	0.13	0.63	0.064
20 min	9.14	0.91	1.62	0.16	0.65	0.065
30 min	9.57	0.95	1.86	0.18	0.74	0.075
1 hrs	9.91	0.99	2.19	0.22	0.90	0.091
2 hrs	9.85	0.98	2.34	0.23	0.97	0.097
3 hrs	9.68	0.96	2.33	0.23	0.98	0.10
4 hrs	9.45	0.94	2.36	0.23	1.01	0.10
6 hrs	9.47	0.94	2.79	0.28	1.13	0.11
8 hrs	9.06	0.90	2.82	0.28	1.13	0.11
12 hrs	9.02	0.90	3.46	0.34	1.35	0.13

*Indicates the weight measured in 10.00g sample

Table 4. The extraction efficiency with acetonitrile/0.1M phosphoric acid(28:72) at room temperature in *Scutellariae radix* according to time passage.

Elapsed Time	Baicalin		Baicalein		Wogonin	
	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*
10 min	9.08	0.90	1.20	0.12	0.44	0.045
20 min	9.59	0.96	1.26	0.12	0.46	0.047
30 min	9.50	0.95	1.28	0.12	0.47	0.048
1 hrs	10.55	1.05	1.43	0.14	0.53	0.053
2 hrs	9.64	0.96	1.43	0.14	0.56	0.056
3 hrs	6.23	0.62	1.26	0.12	0.54	0.055
4 hrs	5.02	0.50	1.26	0.12	0.54	0.055
6 hrs	4.37	0.43	1.31	0.13	0.60	0.061
8 hrs	3.48	0.34	1.18	0.11	0.56	0.056
33 hrs	2.90	0.29	1.25	0.12	0.59	0.059

*Indicates the weight measured in 10.00g sample

Table 5. The effect of alcohol for the extraction of active ingredient in *Scutellariae radix* in the presence of 50% 0.1 phosphoric acid according to time passage.

A) Methanol/0.1M Phosphoric acid (1:1)

Elapsed Time	Baicalin		Baicalein		Wogonin	
	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*
30 min	7.45	0.14	1.38	0.028	0.60	0.012
1 hrs	5.99	0.12	1.53	0.031	0.67	0.013
2 hrs	5.58	0.11	1.65	0.033	0.76	0.015
3 hrs	4.94	0.09	1.58	0.032	0.73	0.015
4 hrs	5.52	0.11	1.97	0.039	0.92	0.018

B) Ethanol/0.1M Phosphoric acid (1:1)

Elapsed Time	Baicalin		Baicalein		Wogonin	
	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*
30 min	7.45	0.14	1.56	0.031	0.67	0.013
1 hrs	7.32	0.14	1.69	0.034	0.71	0.014
2 hrs	7.45	0.14	1.80	0.036	0.77	0.015
3 hrs	7.35	0.14	1.77	0.035	0.76	0.015
4 hrs	7.45	0.14	1.84	0.037	0.80	0.016

*Indicates the weight measured in 2.00g sample

Table 6. The effect of various acids for the extraction of active ingredients in *Scutellariae radix*.

A) 0.1M Phosphoric acid

Elapsed Time	Baicalin		Baicalein		Wogonin	
	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*
3 hrs	0.951	0.019	ND	ND	ND	ND
24 hrs	0.470	0.009	ND	ND	ND	ND
48 hrs	0.425	0.009	ND	ND	ND	ND

B) 0.1M Sulfuric acid

Elapsed Time	Baicalin		Baicalein		Wogonin	
	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*
3 hrs	1.31	0.026	ND	ND	ND	ND
24 hrs	0.54	0.011	ND	ND	ND	ND
48 hrs	0.62	0.013	ND	ND	ND	ND

C) 0.1M Hydrochloric acid

Elapsed Time	Baicalin		Baicalein		Wogonin	
	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*
3 hrs	0.95	0.019	ND	ND	ND	ND
24 hrs	0.49	0.010	ND	ND	ND	ND
48 hrs	0.52	0.010	ND	ND	ND	ND

D) 0.1M Acetic acid

Elapsed Time	Baicalin		Baicalein		Wogonin	
	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*
3 hrs	6.016	0.120	0.908	0.018	0.108	0.002
24 hrs	0.389	0.008	ND	ND	ND	ND
48 hrs	ND	ND	ND	ND	ND	ND

*Indicates the weight measured in 2.00g sample

*ND represents for the abbreviation of "non-detectable" with proposed HPLC.

3.3. 산지에 따른 황금의 유효 성분의 함량

전남 벌교와 전북 순천, 경북 의성에서 수거한 황금과 중국에서 수입한 황금 등 4가지의 황금을 수집하여 추출한 후 HPLC로 분석한 후 유효 성분의 함량을 비

교하였다. 추출효율은 시간이 경과함에 따라 소량씩 증가하는 경향을 보였다.

Baicalin의 함량은 전북 순천산이, wogonin의 함량은 전남 벌교산이 가장 많았으며, baicalein도 전남 벌

Table 7. Comparison of the extraction efficiency of active ingredients in *Scutellariae radix* according to the ratio of acetonitrile and phosphoric acid.

A) 0.05M Phosphoric acid

Elapsed Time	Baicalin		Baicalein		Wogonin	
	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*
3 hrs	0.95	0.019	ND	ND	ND	ND
24 hrs	0.47	0.009	ND	ND	ND	ND
48 hrs	0.43	0.009	ND	ND	ND	ND

B) Acetonitrile/0.07M Phosphoric acid (25/75)

Elapsed Time	Baicalin		Baicalein		Wogonin	
	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*
3 hrs	10.02	0.200	1.79	0.036	0.66	0.013
24 hrs	3.78	0.076	1.54	0.031	0.66	0.013
48 hrs	3.97	0.079	1.66	0.033	0.71	0.014

C) Acetonitrile/0.1M Phosphoric acid (1/1)

Elapsed Time	Baicalin		Baicalein		Wogonin	
	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*
3 hrs	11.10	0.22	1.86	0.037	0.69	0.014
24 hrs	11.16	0.22	1.93	0.039	0.72	0.014
48 hrs	10.95	0.21	1.83	0.036	0.69	0.014

D) Acetonitrile/0.2M Phosphoric acid (75/25)

Elapsed Time	Baicalin		Baicalein		Wogonin	
	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*
3 hrs	11.58	0.23	1.94	0.039	0.71	0.014
24 hrs	12.49	0.25	2.38	0.048	0.81	0.016
48 hrs	11.52	0.23	2.32	0.046	0.77	0.015

E) Acetonitrile without Phosphoric acid

Elapsed Time	Baicalin		Baicalein		Wogonin	
	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*
3 hrs	ND	ND	0.24	0.005	0.12	0.001
24 hrs	ND	ND	0.42	0.008	0.18	0.004
48 hrs	ND	ND	0.53	0.011	0.22	0.004

Indicates the weight measured in 2.00g sample

*ND represents for the abbreviation of "non-detectable" with proposed HPLC.

Table 8. Comparison of contents for baicalin, baicalein, wogonin in *Scutellariae radix* samples harvested at different places.

A) Eisung

Elapsed Time	Baicalin		Baicalein		Wogonin	
	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*
3 hrs	10.50	0.21	1.14	0.023	0.42	0.009
24 hrs	10.80	0.21	0.95	0.019	0.35	0.007
48 hrs	11.57	0.23	1.02	0.021	0.36	0.007

B) Sunchang

Elapsed Time	Baicalin		Baicalein		Wogonin	
	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*
3 hrs	11.37	0.22	1.37	0.028	0.50	0.010
24 hrs	11.63	0.23	1.43	0.030	0.59	0.012
48 hrs	11.32	0.22	1.42	0.029	0.60	0.012

C) Bulkyo

Elapsed Time	Baicalin		Baicalein		Wogonin	
	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*
3 hrs	11.09	0.22	1.85	0.037	0.69	0.014
24 hrs	11.15	0.23	1.93	0.039	0.71	0.014
48 hrs	10.95	0.21	1.82	0.039	0.69	0.014

D) Chinese I

Elapsed Time	Baicalin		Baicalein		Wogonin	
	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*
3 hrs	11.12	0.21	1.95	0.039	0.50	0.001
24 hrs	10.40	0.21	1.95	0.039	0.50	0.001
48 hrs	10.73	0.21	0.09	0.042	0.49	0.001

E) Chinese II

Elapsed Time	Baicalin		Baicalein		Wogonin	
	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*	contents wt(%)	(g)*
3 hrs	11.12	0.22	1.02	0.020	0.48	0.010
24 hrs	12.40	0.24	1.31	0.026	0.40	0.008
48 hrs	11.32	0.22	1.21	0.024	0.40	0.008

*Indicates the weight measured in 2.00g sample

교산이 중국산보다 우수함을 알 수 있었다(Table 8).

4. 결론

1. TLC 방법을 활용하여 개량된 HPLC 정량법은 이동상의 비율을 변화시킴으로써 기존에 보고된 정량법에 비해 분석시간이 20분 이내로 단축되었으며, 이동상의 조건이 간단하고, 컬럼의 온도를 제시된 온도보다 낮은 40℃에서 수행하여 온도 증가에 의한 천연물 성분의 분해현상을 예방할 수 있었고, 분리도를 증가시킬 수 있었다.

2. 추출 용매의 선정에 있어서 유기용매, 산 등을 혼합하여 사용하는 것이 추출효율이 우수함을 알 수 있었다. 추출 온도에서는 상온용출도 추출효율이 만족할 만하나 시간에 따른 변화성이 많았다. 산의 종류 중 특히 0.1M 초산에서 추출효율이 좋았으며, 혼합 용매의 비율은 아세트니트릴/0.2M 인산(75:25)의 조건에서 황금의 추출을 수행하는 것이 추출의 효율성이나 안정성을 고려할 때 최적의 상태였다.

3. 한약재의 품질평가를 위한 지표로서 활용할 수 있는 baicalin, baicalein, wogonin의 양을 정량한 결과 전남 벌교, 전북 순창, 경북 의성산의 황금이 중국에서 수입한 황금에 비해 유효 성분의 함량이 많이 함유되어 있고, 그 중 전남 벌교산과 전북 순창산이 가장 우수하여 국산 약재의 우수성을 측정할 수 있었다.

감사의 글

본 논문의 일부는 과거처 주관 KIST2000 program에 의해 지원받아 연구 수행한 것이며, 지원을 아끼지 않은 관계 기관과 KIST 의과학센터 정서영 박사에게 감사드린다.

참고문헌

1. 손성연, "신농본초경", 2권, p. 13., 의도한국사영인, 서울
2. 이상인, 안덕균, "본초학", p. 178, 영림사, 서울, 1992.
3. 중화인민공화국위생부 약전위원회, "중화인민공화국 약전", p. 178, 인민위생출판사, 북경, 1977.
4. 이영종, "황금의 채취시기에 따른 성분정량과 효능에 관한 연구", 경희대학교, 서울, 1986.
5. 富森毅, 神久德, 宮一論起範, 豊福信吾, 難波恒雄, "Scutellaria屬 植物の 成分研究(제6보) 黄芩의 플라호이트 成分について その 크로마토크라피에 의한 定量", *藥學雜誌*, **105**, 148(1985).
6. K. Shibata, S. Iwata and M. Nakamura, *Acta. Phytochim.*, **1**, 105(1923).
7. G. Bargellini, *Gazz. Chim. Ital.*, **49**, 47(1919).
8. N. Ihara and S. Arichi, *Wakanyaku Shinpojum*, **14**, 45(1981).
9. M. Kubo, Y. Kimura, T. Odani and K. Tani, *Planta Med.*, **43**, 194(1981).
10. H. Y. Hsu, *J. Taiwan. Pharm. Assoc.*, **6**, 7(1954).
11. T. F. Taso, M. G. Newman, Y. Y. Kwon and A. K. Horikoshi, *J. Dent. Res.*, **61**, 1103(1982).
12. T. Takato, K. Tadahisa, K. Michinori and A. Shigeru, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 4894(1985).
13. Y. Kimura, M. Kubo, T. Tani, S. Arichi, H. Ohminami and H. Okuda, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 230(1981).
14. K. Takago, K. Midori and K. Mutsuo, *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 531(1992).
15. E. Abe., O. Inoue, E. Yumioka, "Biliary excretion of metabolites of baicalin and baicalein in rats", *Chem. Pharm. Bull.*, **38**(1), 209(1990).
16. 황영식, 원도희, 윤태보, 조정희, 강신창, 노희원, "생약 및 생약제제의 규격화에 관한 연구(Ⅲ)", vol. 22, p. 375, 국립보건원보, 서울, 1985.
17. T. Yoshino, M. Taketsune, A. Eiko, A. Shigeru, H. Teruaki and K. Masami, *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 3494(1987).