

## 당귀와 천궁 및 시호의 병용 경구 투여에서 흰쥐 혈중 Decursinol 농도의 비교 검토

박노정 · 김남재 · 이경태<sup>1</sup> · 서성훈<sup>1,\*</sup>

경희대학교 동서의학연구소, <sup>1</sup>경희대학교 약학대학

### Comparative Studies on Concentration of Decursinol in Plasma after Oral Administration of *Angelicae Gigantis Radix* Extract and Combined Use of Decursin and *Cnidii Rhizoma* Extract or *Bupleuri Radix* Extract in Rats

Roh-Jeong Park, Nam-Jae Kim, Kyung-Tae Lee<sup>1</sup> and Seong-Hoon Seo<sup>1,\*</sup>

East-West Medical Research Institute and <sup>1</sup>College of Pharmacy,  
Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

**Abstract** – This study was performed to elucidate the influence on the plasma decursinol concentration after administration of combined decursin and *Cnidii Rhizoma* or decursin and *Bupleuri Radix* extracts in comparison with single decursin administration. The identification of decursinol isolated from *Angelica gigas* was carried out by GC/MS and the concentration of decursinol in the plasma after oral administration was determined by HPLC. The value of area under the plasma concentration (AUC) and the maximal concentration (Cmax) of decursinol after administration of methanol and ether *Angelicae Gigantis Radix* extract was higher than those of single decursin-treated group. It was also found that the AUC and the Cmax of decursinol after combined administration with decursin and *Cnidii Rhizoma* were higher than those of decursin administration, whereas those of combined with decursin and *Bupleuri Radix* was lower. Moreover, the studies were performed with decursinol only or with combined decursinol and *Cnidii Rhizoma/Bupleuri Radix*, both of combined treatment increased the plasma decursinol concentrations compared with decursinol-treated group in rats. On the basis of these results, it is concluded that co-existing substances or co-administration with other drugs may influence the plasma levels of decursinol after oral administration.

**Key words** – Decursin, Decursinol, *Angelicae Gigantis Radix*, *Cnidii Rhizoma*, *Bupleuri Radix*, AUC.

한방약물은 수종 한약의 조합 또는 비율을 조정하여 약효를 증강시키며 부작용 경감의 목적으로 사용되어왔다. 그러나, 이들 전통약물에는 수많은 성분들이 함유되어있고, 이들 성분간의 상호작용 등에 의하여 흡수, 대사, 분포 및 배설 등을 촉진 또는 저해시킬 수 있으며, 이는 약리작용의 발현과 매우 복

잡하고, 밀접한 관계를 갖고 있을 것으로 추정되고 있다.

한방약물의 유효성에 관한 연구는 여러 방면에서 시도되고 있으며, 특히 한의학에서는 수종의 약물을 조합하여 투여되는 대표적인 combined therapy로서 이들 약물상호간의 작용변화에 따라 약효가 다르게 나타날 수있다. 따라서, 이러한 일련의 연구 중에서 한약 중에 비교적 다량으로 함유된 감초의 glycyrrhi-

\*교신저자 : Fax : 02-966-3885

zin,<sup>1,2)</sup> 인진의 esculetin,<sup>3)</sup> 소시호탕의 baicalin,<sup>4)</sup> 오수유의 evocarpine,<sup>5)</sup> 황련의 berberine,<sup>6)</sup> 방기의 tetrandrine<sup>7)</sup> 등과 같은 주요성분의 생체내의 흡수, 분포, 대사에 관한 구성물질 또는 다른 약물에 의한 영향을 pharmacokinetic parameter를 지표로 하여 한방약물의 유효성을 평가할 수 있음이 보고되었다.

저자들은 한방약물의 유효성을 평가하기 위한 연구의 일환으로 당귀의 유효성을 평가하고자 하였다. 당귀는 방약합편에 수록된 처방을 구성하는 한약의 출현빈도 중에서 감초 다음으로 출현빈도가 높은 약물이며<sup>8)</sup> 한방의 중요한 약물 중의 하나이다.

당귀는 참당귀(*Angelica gigas*)의 뿌리를 건조한 것으로 한방 문헌<sup>9)</sup>에서는 진정, 진통 및 빈혈증에 사용되며 부인병약으로 통경과 진정에 유효하다고 알려져 왔다. 함유 성분으로는 decursin, decursinol, imperatonin 등을 분리 보고한 이래 decursin이 당귀의 주성분으로 알려져 있다.<sup>10,11)</sup> 류<sup>12)</sup>등은 구조이성체인 decursinol angelate와 decursin이 당귀에 공존하고 있으며(Fig. 1), 이성체 분리용 컬럼 또는 가스 크로마토그래프법에 의해 분리 정량법을 보고하였다.

한편, 김<sup>13)</sup>은 decursinol이 초산법에 의한 진통시험에서 강한 억제효과가 있음을 보고하였고, 또한 decursin과 시호 추출물 또는 천궁 추출물과의 병용투여시 천궁은 decursinol의 진통효과를 증가시킨 반면

에 시호는 억제시킴을 보고하였다. 그리고, 당귀와 천궁의 두 가지 약물만으로 구성되어 있으나 조합비에 따라 궁귀탕과 불수산이라 하여 치료의 방향을 달리하고 있으며,<sup>14)</sup> 당귀와 시호는 비교적 여러 방제에 동시에 조합되어 이용되고 있다.

따라서, 당귀와 다른 한방약물의 병용투여에 의한 약물상호작용을 규명하고자 당귀의 주성분인 decursin 및 구조 이성체인 decursinol angelate를 경구 투여시 decursinol로 대사되는것을 확인하였으며, 또한 이를 지표물질로 하여 decursin 단독 또는 당귀의 메탄올 추출물 및 에테르 추출물 투여시의 decursinol 혈중농도를 측정하였다. 그리고, decursin 또는 decursinol과 시호 추출물 및 천궁 추출물을 병용투여시 decursinol의 흡수, 대사에 미치는 영향을 단독 투여시와 비교하여 decursinol의 체내 동태를 관찰하였다.

### 재료 및 방법

시약 및 기기 - HPLC에 의한 decursinol 분석시 내부표준물질로 사용한 prednisolon은 Sigma사 (St. Louis, MO) 제품을, HPLC용 methanol, acetonitrile은 Merck사 (Darmstadt, Germany) 제품을 사용하였다. Acetone, ethylacetate, ether는 순정화학 (Kyoto, Japan)사의 특급품을 사용하였다. 참당귀(*Angelica gigas*), 시호(*Bupuleum falcatum*)와 천궁(*Cnidium officinale*)은 대한약전에 적합한 것을 사용하였다.

HPLC system은 Waters사의 (MA, U.S.A.) liquid chromatography (6000A dual pump), autoinjector (Water 717 plus), U.V. detector (Model 450) 그리고  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub> column (Waters Co.)을 사용하였고 chromatograph analyzing software system은 Interface Engineering사 제품을 사용하였다. GC-Mass Hewlett Packard (Calif., U.S.A.) 기기를 사용하였다.

실험동물 - 체중 180 g 전후의 수컷 Sprague-Dawley 계 흰쥐를 구입하여 동물 사육실에서 일주일간 사료와 물을 충분히 공급하면서 환경에 적응시킨 후 200-250 g이 되었을 때 사용하였다. 실험은 특별한 규정이 없는 한 24±2°C에서 실시하였다.

검액의 조제 - 당귀의 에테르 및 메탄올 추출물은 당귀 20 g을 각각 에테르와 메탄올 300 ml로 3시간 추출한 후 감압 농축한 점조성 추출물을 사용하였으며, 당귀, 시호 및 천궁 물 추출물의 조제는 증류수로

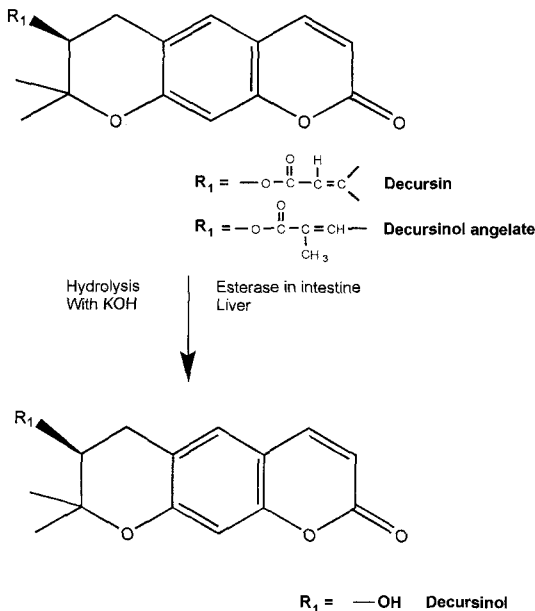


Fig. 1. Metabolism of decursin and decursinol angelate.

가열 환류 추출하여 이를 동결 건조한 것을 사용하였다. Decursin, 당귀 에테르 및 메탄올 추출물은 각각 필요로 하는 농도로 tween 80으로 현탁시켜 검액으로 사용하였다. Decursinol은 5% CMC-Na 용액으로 현탁시켰으며, 시호 및 천궁 추출물은 생리식염수에 용해하여 사용하였다.

**Decursin 및 decursinol의 분리** - 당귀에서 decursin의 분리는 류 등<sup>12)</sup>이 보고한 분리조건에 따랐으며, decursinol은 decursin을 알칼리로 가수분해하여 메탄올로 재결정하였다. Decursin 및 decursinol의 동정은 GC/MS의 기기분석 data를 표준품과 비교하여 구조를 동정 확인하였다.

**Decursin, 당귀의 에테르 추출물 및 메탄올 추출물 투여군** - 흰쥐 5마리씩 3군으로 나누어, 1군에 decursin 300 mg/kg를 투여하고, 같은 양의 decursin을 함유하는 당귀 에테르 및 메탄올 추출물을 각각 나머지 두 군에 투여하였다.

**Decursin과 천궁 추출물 또는 시호 추출물과 병용투여군** - 흰쥐 5마리씩 3군으로 나누어, 1군에 천궁 추출물 1 g/kg과 decursin 300 mg/kg를 경구투여 하였고, 2군에 시호 추출물 1 g/kg과 decursin 300 mg/kg를 경구투여 하였다. 그리고 3군에는 decursin 300 mg/kg만을 단독으로 경구투여 하였다.

**Decursinol과 천궁 추출물 또는 시호 추출물과 병용 투여군** - 흰쥐 5마리씩 3군으로 나누어, 1군에 천궁 추출물 1 g/kg과 decursinol 200 mg/kg, 2군에 시호 추출물 1 g/kg과 decursinol 200 mg/kg 그리고, 3군에 decursinol만 200 mg/kg를 경구 투여하였다.

**혈액 채취** - 흰쥐를 실험 24시간 전부터 절식시킨 후, Zoletil 50<sup>®</sup> (25 mg/kg i.p.)으로 마취된 흰쥐의 좌측 대퇴부와 목등쪽의 털을 제거하고 수술대에 고정시킨 뒤 수술부위를 70% 에탄올로 소독하였다. 좌측 대퇴부의 동맥과 정맥을 분리하고 동맥내에 PE-50 polyethylene tubing(i.d. 0.58 mm, o.d. 0.965 mm, intramedic<sup>®</sup>, Clay Adams, USA)을 약 4 cm 정도 삽입시키고 silk suture를 사용하여 고정시킨 후 목 뒷부분을 약간 절개하여 두 개의 polyethylene tubing을 빼낸 뒤 봉합사로 수술부위를 봉합하였다. 흰쥐의 혈액은 시료 투여 후 0 및 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 12 및 24시간에 채혈하여 12,000 rpm에서 원심분리하여 혈장을 취해 분석 전까지 -70°C에 냉동 보관하였다.

**Decursin의 흰쥐 뇨에서의 대사체 확인** - Decursin을 흰쥐에 300 mg/kg 경구투여 후 뇨는 metabolic

cage에서 0-6, 6-12 및 12-24시간에 채취한 뇨를 각각 증류수로 10배 희석한 후 TLC, HPLC 및 GC/MS를 사용하여 뇨에서 대사체를 확인 및 구조를 동정하였다.

**Decursinol의 분석** - 채취한 혈장 0.2 ml에 내표준 물질로 prednisolon 100 µg/ml을 첨가하여 최종농도 100 ng/ml로 조정한 후 2 ml 아세트산으로 제 단백 시킨 다음, 에칠아세테이트 7 ml을 넣어 15분간 진탕하였다. 이것을 3000 rpm에서 10분간 원심분리한 다음 유기용매층 6 ml를 다른 시험관에 옮기고, 질소기류 하 40°C에서 유기용매를 증발시킨 후, 남은 잔사에 100% 메탄올 200 µl을 넣어 vortex mixer로 2분 동안 용해 시켰다. 이 용액을 13,000 rpm에서 10분간 원심분리 시켜 용해되지 않은 물질을 침전시킨 후 상등액 20 µl를 HPLC에 주입하였다. HPLC 조건은 다음과 같다. 컬럼은 µ-Bondapak C<sub>18</sub>을, 이동상은 메탄올 : 아세트나이트릴 : 물 [50 : 5 : 45 (v/v/v)] 비율로 섞고 탈기한 후 사용하였으며 flow rate는 1.0 ml/min, UV 흡광도는 280 nm, 컬럼 온도는 30°C에서 측정하였다.

**Pharmacokinetic parameter의 계산** - 혈중농도 분포곡선의 면적(AUC)은 Winnonlin<sup>®</sup> 프로그램으로 계산하였다.

## 결과 및 고찰

한방에서 널리 이용되고 있는 당귀의 decursin과 에테르 또는 메탄올 추출물의 단독 투여시와 decursin 또는 decursinol과 시호 및 천궁 추출물과의 병용 투여시, 생체내로 흡수되는 decursinol을 지표 물질로 혈중농도를 측정하여 약물 상호 작용에 의한 흡수 정도를 검토하였다.

**혈장중 decursinol의 정량** - Decursin 비처리 흰쥐 혈장을 분리하여 decursinol을 가하고, 분석 방법에 따라 추출 및 분석하여 decursinol 농도와 피크면적에서 검량선은 양호한 직선성( $y=0.0065x+1.93$ ,  $r^2=0.9967$ )을 보였으며 회수율은 약 95% 이상이었다. 혈장중 대표적 크로마토그램은 Fig. 2와 같다.

**Decursin의 대사체 확인** - 당귀로부터 분리한 decursin을 표준품인 decursin과 GC/MS로 분석한 결과 동일함을 확인하였다.<sup>12)</sup> Decursin 투여시 생체내의 대사체를 검토하기 위해, 흰쥐의 뇨를 TLC 및 HPLC를 사용하여 주 대사체와 몇 가지 소량의 대사체를

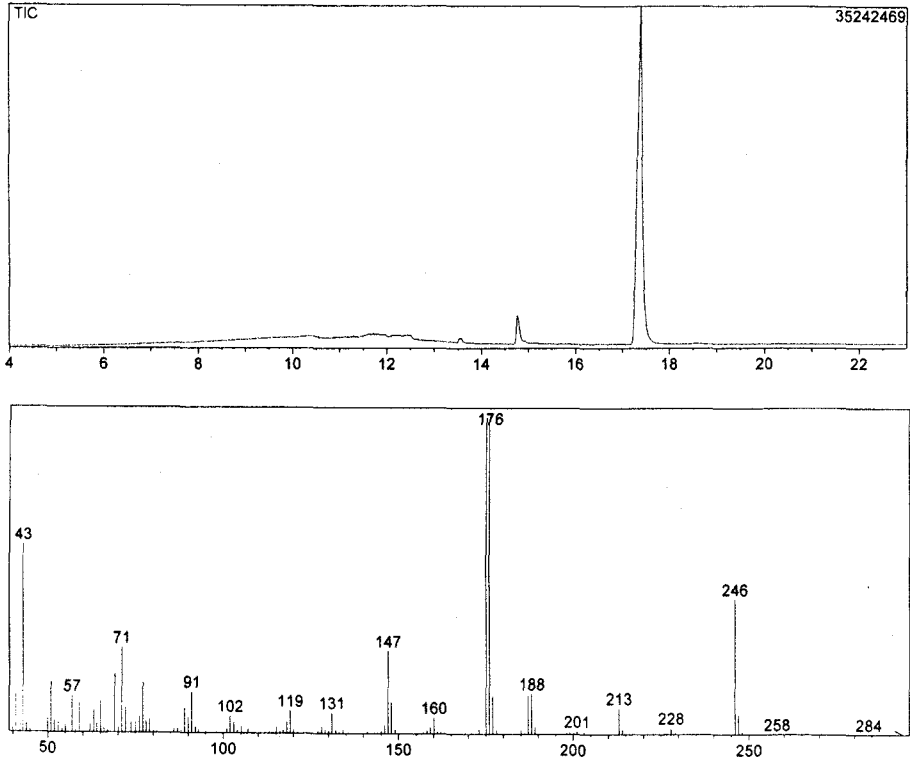


Fig. 2. GC-mass chromatogram of decursinol in urine.

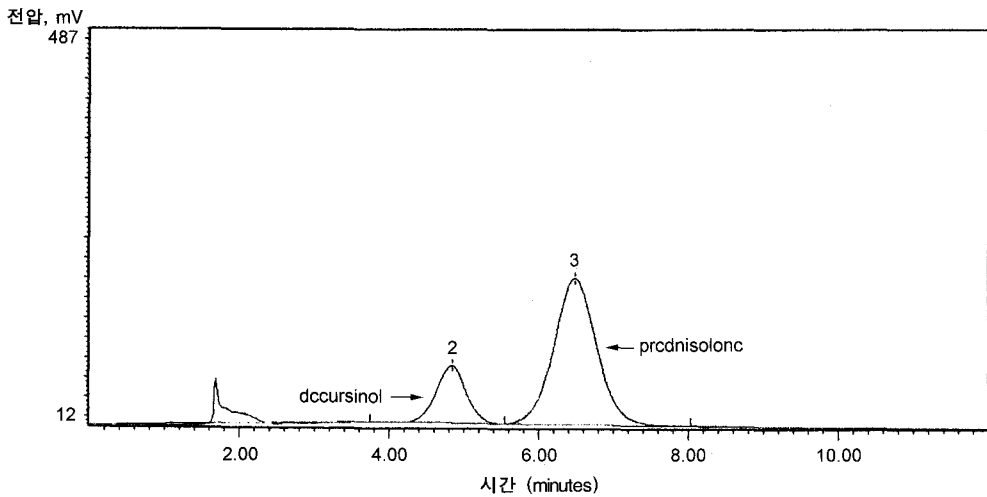
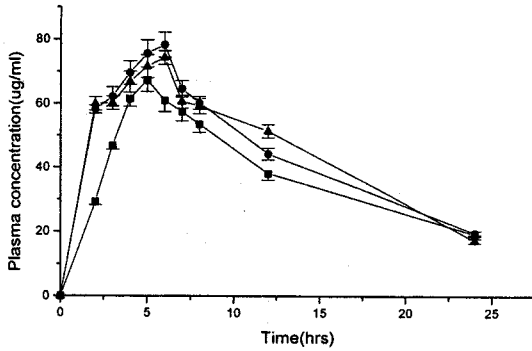


Fig. 3. HPLC chromatogram of decursinol (100 µg/ml) and internal standard (prednisolone) extracted from plasma in rats.

분리하였다. 주 대사체는 GC/MS로 분석하여 retention 값과 fragment 패턴을 비교한 결과 표준품의 decursinol과 일치함으로서 decursinol은 decursinol로 대사됨을 확인하였다(Fig. 3). Decursinol 단독 투여

군에서는 decursinol 이외 다른 대사체를 관찰할 수 없었다.

당귀의 에테르 추출물, 메탄올 추출물과 decursinol 경구 투여시 혈중 decursinol 농도 - Decursinol 300



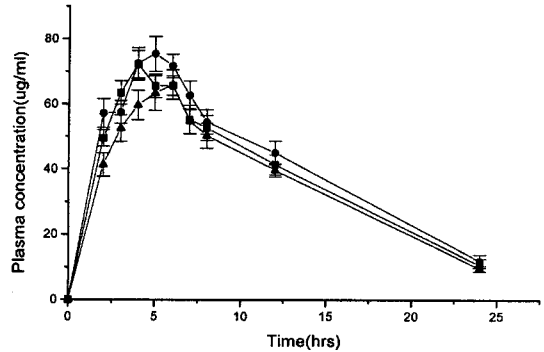
**Fig. 4.** Plasma concentrations-time profiles of decursinol after oral administration of decursin (■, 300 mg/kg, n=5), methanol (●, n=5), and ether extract (▲, n=5) of *Angelicae Gigantis Radix*. Values represent the mean  $\pm$  S.D.

mg/kg 및 그 양에 해당하는 당귀 에테르 추출물과 메탄올 추출물을 흰쥐에 경구 투여 후 decursin의 대사체인 decursinol을 혈중내 지표물질로 하여 당귀 추출물 중에 공존하는 다른 성분에 의해 decursin의 decursinol로의 흡수 및 대사에 미치는 영향을 알 수 있었다.

Decursin, 당귀 에테르 추출물 및 메탄올 추출물 투여시 혈중내 decursinol의 AUC( $\mu\text{g/ml} \cdot \text{min}$ )는 각각 1062.29, 1384.53 및 1247.80을 보였다(Fig. 4). 혈중 decursinol의 AUC는 decursin 단독 투여군에 비해 에테르 추출물과 메탄올 추출물이 각각 30.34%와 17.5%의 증가를 보였으며, 이는 당귀 내 특정 성분이 장관내에 존재하는 esterase의 활성에 영향을 주어 decursin이 decursinol로 가수분해되어 흡수를 증가시키는 것으로 추정하였다.

**Decursin과 천궁 추출물 또는 시호 추출물과 병용 투여시 혈중 decursinol 측정** - 천궁 또는 시호가 당귀와의 처방시 증상에 따라 가감을 하는 이유를 밝히고자, decursin 300 mg/kg에 천궁 추출물 1000 mg/kg 또는 시호 추출물 1000 mg/kg를 동시에 혼합 경구투여 하였다. Decursin 단독 투여군에서는 투여 후 약 5시간에서 혈중 decursinol의 최고 농도를 보였으며, AUC( $\mu\text{g/ml} \cdot \text{min}$ )는 978.23이었고, decursin과 천궁 추출물 병용투여시 AUC는 1083.59로서 10.78% 증가를 보였다. Decursin과 시호 추출물 병용투여시 AUC는 892.88로서 8.72% 저하를 보였다(Fig. 5).

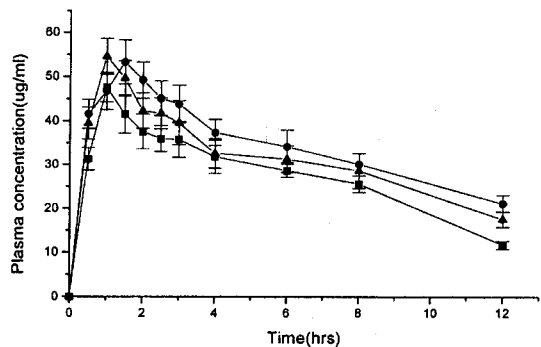
시호 추출물과 천궁 추출물을 decursin과 병용 투여



**Fig. 5.** Plasma concentrations-time profiles of decursinol after oral administration of decursin (■, 300 mg/kg, n=5), combined use of decursin plus *Cnidii Rhizoma* (●, 300 mg/kg+1 g/kg, n=5) and decursin plus *Bupleuri Radix* (▲, 300 mg/kg+1 g/kg, n=5). Values represent the mean  $\pm$  S.D.

시 흡수에 미치는 영향은 경구 투여시 천궁 추출물은 decursinol의 농도를 증가시켰으나 시호 추출물은 감소시킨 경향을 나타냈다. 이와 같은 경향은, 이들 두 추출물 중의 특정 성분이 장내 esterase의 활성에 영향을 주어 decursin이 decursinol로 가수분해되어 흡수되는데 영향을 주었을 것으로 추측하였다.

**Decursinol을 천궁 추출물, 시호 추출물과 병용 투여시 혈중 decursinol의 농도** - Decursin의 대사체인 decursinol과 천궁 추출물 또는 시호 추출물을 병용투여하여 decursin의 병용 투여시와 비교하기 위하여, decursinol 200 mg/kg과 앞에서 실험한 동량의 천궁 및 시호 추출물을 병용 경구투여하고 혈중내



**Fig. 6.** Changes of decursinol in plasma after oral administration of decursinol (■, 200 mg/kg, n=5), combined use of decursinol and *Cnidii Rhizoma* (▲, 200 mg/kg+1 g/kg, n=5), and decursinol plus *Bupleuri Radix* (●, 200 mg/kg+1 g/kg, n=5).

decursinol을 측정하였다. 그 결과 decursinol은 경구 투여 후 약 1시간 전후에 Cmax를 나타내며, decursinol 단독 투여군에서의 AUC( $\mu\text{g/ml} \cdot \text{min}$ )는 470.24 이었으며, decursinol과 천궁 추출물 병용투여시 AUC는 653.74로서 39.02% 증가를 보였고, 시호 추출물과 decursinol의 병용투여시 AUC는 552.81로서 17.6% 증가시켰다(Fig. 6).

Decursinol과 시호 추출물 또는 천궁 추출물의 병용 투여시 흡수에 미치는 영향에서 두 가지 병용 모두에서 증가시키는 것으로 나타났다. 본 실험에서 천궁 및 시호 추출물 모두 ester 결합이 없는 decursinol의 흡수율을 증가시키는 결과에서 시호 추출물이 장내 esterase의 효소 활성을 저해함으로써 decursinol에서 decursinol로의 전환을 억제하여 혈중내 decursinol의 감소를 나타낸 것으로 추정된다. Decursinol 또한 다른 한약 추출물의 병용투여에서도 흡수에 영향을 받는 것으로 나타났다.

## 결 론

천연약물의 유효성에 관한 실험으로 당귀중 decursinol과 그 대사물인 decursinol을 지표물질로 하여 약 불상호간의 작용을 검토하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 흰쥐에서 decursinol 경구투여 후 뇨에서 주 대사로 decursinol이 검출됨을 확인하였으며, 최고혈중농도는 투여 후 약 5시간 전후에 나타났다.

2. 흰쥐에서 decursinol 단독투여보다 당귀 에테르 추출물 또는 메탄올 추출물 경구 투여시 decursinol의 혈중농도가 증가되었으며, decursinol과 천궁 추출물과의 병용 투여군에서는 혈중 decursinol의 농도를 증가시켰으나, 시호 추출물과 decursinol의 병용 투여군에서는 혈중 농도를 저하시켰다.

3. 흰쥐에서 decursinol은 경구투여 후 1시간 전후에 최고 혈중농도를 나타내며, decursinol과 천궁 추출물 또는 시호 추출물의 병용투여에서는 decursinol 혈중농도를 모두 상승시켰다.

이상의 실험 결과에서 decursinol과 그 대사물인 decursinol의 흡수는 공존성분과 첨가약물에 의하여 영향을 받을 수 있었고, 천연약물 중 특정성분들의 kinetics를 연구, 검토하면 처방의 구성원리와 가감에 관한 보다 많은 자료를 얻을 수 있을 것으로 기대된다.

## 인용문헌

- Ozaki, Y., Moguchi, M., Kamakura, H. and Harada, M. (1990) Studies on concentration of glycyrrhizin in plasma and its absorption after oral administration of Licorice extract and glycyrrhizin. *Yakugaku Zasshi*, 110: 77-81.
- Miyamura, M., Ono, M., Kyotani, S. and Nishioka, Y. (1996) Properties of glycyrrhizin in Kampo extract including Licorice root and changes in the blood concentration of glycyrrhetic acid after oral administration of Kampo extract. *Yakugaku Zasshi*, 116: 209-216.
- Yamahara, J., Fukuda, Y., Sawada, T. and Fujimura, H. (1981) The effectiveness of Chinese prescription. The pharmacokinetic study on the blood concentration after the administration of Capillaris Flos and 6,7-dimethylscutellin. *Shoyakugaku Zasshi*, 35: 108-114.
- Muto, R., Motozuka, T., Nakano, M., Tatsumi, Y., Sakamoto, F. and Kosaka, N. (1998) The chemical structure of new substance as the metabolite of baicalin and time profiles for the plasma concentration after oral administration of Sho-Saiko-To in human. *Yakugaku Zasshi*, 118: 79-87.
- Kano, Y., Chen, X-F., Kanemaki, S., Zong, Q. and Komatsu, K. (1991) Pharmacological properties of galenical preparation. XV. Pharmacokinetics study of evocarpine and its metabolite in rats. *Chem. Pharm. Bull.* 39: 3064-3066.
- Ozaki, Y., Suzuki, H. and Satake, M. (1993) Comparative studies on concentration of berberine in plasma after oral administration of Coptidis Rhizoma extract, its cultured cell extract, and combined use of these extracts and Glycyrrhizae Radix extract in rats. *Yakugaku Zasshi*, 113: 63-69.
- Kano, Y., Qing, Z., Sakurai, T., Komatsu, K. and Saito, K. (1989) Pharmacological properties of galenical preparation (XI). Qualitative and quantitative analysis of tetrandirine, component of Stephania root, in rat urine or bile by high performance liquid chromatography. *Shoyakugaku Zasshi*, 43: 35-41.
- 홍문화 (1972) 한방처방의 통계적 연구(I). 생약의 처방출현빈도 및 기원분포. *생약학회지* 3: 57-64.
- 전국한의과대학 본초학교수 공동편저 (1991) 본초학. 영림사, 서울, p. 578-580.
- Rhu, K. S. and Yook, C. S. (1967) Studies on the coumarins of the root of *Angelica gigas* Nakai. *Yakhak Hojei*, 11: 22-26.
- Jee, H. J. (1967) Studies on the components of umbelliferous plants in Korea. *Yakhak Hojei*, 11: 39-40.
- 김남재 (1991) 전통약물의 약효평가방법. 경희의료원 20주년 기념 국제학술대회 proceedings. p. 217-249.

- 경희의료원, 서울.
13. Rhu, K. S., Hong, N. D., Kim, N. J. and Kong, Y. Y. (1990) Studies on the coumarin constituents of the root of *Angelica gigas* Nakai. *Kor. J. Pharmacogn.* 21: 64-68.
  14. 이태호 편저(황도연 원저) (1977) 신정대역 대방약합편. p. 211-212. 행림출판사, 서울.

(2001년 2월 10일 접수)