

대한약전 (KPⅧ) 수재 생약의 지표성분 정량법

김관수*† · 김호철**

*목포대학교, **경희대학교

I. 서 언

의약품으로 이용되는 생약들의 규격은 공정서인 대한약전 (The Korean Pharmacopoeia Eighth Edition)에서 정의하고 있는데, 약전수재 품목 중 지표성분과 성분정량법이 설정되어 있는 식물성 생약은 갈근의 puerarin 2.0 % 등 29 개 품목이 있다. 지표성분 (standard compound, marker substance)이란 해당 생약의 진위나 기원을 확인하거나 품질 평가의 기준이 되는 성분이며, 유효(약리)성분, 고유(특이)성분, 그리고 주성분이라 할 수 있다. 지표성분의 조건은 활성이 크며 함량이 많고 대상 생약의 고유성분이며 또한 분석이 가능한 성분이어야 한다. 본 고에서는 이들 품목들의 기원 및 지표성분 정량법을 알아보기 위해 대한약전 제8개정 (KPⅧ, 2002. 12. 30)을 주로 참고하고 여러 분석 문헌을 비교하여 정리하였다. 주로 사용되는 정량법으로는 액체크로마토그래프법 (HPLC법), 기체크로마토그래프법 (GC법), 자외부흡광광도법 (UV법), 적정법, 중량법 등이 있는데, 대한약전에 수재된 생약으로 지표성분과 정량법이 설정되어 있는 29 개 품목 중 적정법 2 개 품목 (개자의 allyl isothiocyanate, 아편가루의 morphine)과 디기탈리스의 생물검정법 (동물시험)을 제외한 26 개 품목에 대해서 모두 HPLC법으로 규정되어 있다. 이 품목들에 대해 대한약전의 정량법을 제시하고 설명을 하여 정리하고자 한다.

생약의 지표성분 정량기술은 최근에 우수한 분석기기 (HPLC, GC)가 많이 보급되어서 그다지 어려운 분석기술은 아니라고 생각된다. 시험의 오차는 분석기기 자체보다는 오히려 시료의 선택, 저장조건, 분쇄방법 등 시료의 상태와 전처리 방법 등 기기분석에 들어가기 전 분석시료액 제조시에 대부분이 발생하는 것으로 예측되며, 특히 HPLC법은 분석시험자, 기기종류, 용매조건 등에 따라 달라지므로 각 실험실에서 적합한 조건을 만들어야 정밀하고 정확한 분석이 될 것이다. 본 고에서 제시된 방법은 약사법상 생약 유통시 규격품 여부를 결정하는 의약품공정서로서 대한약전에 제시된 것이지만, 약전에서 제시된 추출방법, 기기조건 등은 얼마든지 변형이 가능하며 각 분석자 나름대로의 변형된 방법을 각 실험실 조건 및 실험내용에 따라 적용시킬 수 있을 것이다.

†Corresponding author: (Phone) +82-61-450-2661 (E-mail) kskim@mokpo.ac.kr

II. 분석방법

일반적인 정량분석 과정을 살펴보면, 우선 문헌자료 조사 및 분석물질 설정을 한 후 지표 성분이 되는 표준품 (standard compound)을 확보하는 것이 정량분석의 첫 번째이다. 국내외 시약상에서 구입할 수 있으면 좋으나 생약 지표성분은 그렇지 못한 경우가 많으므로 지표성분을 분리한 실험자를 통하여 분양받거나 직접 또는 의뢰하여 지표성분을 분리하여야 할 것이다.

두 번째로 분석할 시료를 준비하는 것인데 우선 처리나 조사될 시험재료의 반복이 있어야 분석 후 자료에 대한 통계분석을 할 수 있다. 준비된 분석시료는 세척, 건조, 쇄절, 마쇄 등을 하는데, 생약은 보통 60℃ 이하에서 건조하도록 대한약전 통칙에 규정되어 있다. 특히 마쇄하여 가루로 된 생약을 추출시료로 사용하게 되는데, 이때 분석될 시료의 충분한 개체수 (크기에 따라 5~20 개체 이상)를 가지고 균일하게 마쇄하여야 한다. 균일하게 마쇄하지 않은 상태로 체를 쳐서 일부만을 추출한다면 많은 오차가 생긴다. 시료 부위별로 성분의 분포가 다르기 때문이다. 그리고 정선과정을 거쳐야 하는데, 이물이나 혼입물을 기준함량 이하가 되도록 하고 부패물 등 위화물을 제거하여야 한다. 예를 들면 뿌리를 사용하는 생약은 비약용부위인 줄기, 잎 등이 가급적 포함되지 않아야 한다.

세 번째로 적당한 용매로 추출하게 되는데, 추출 시료량, 용매종류, 추출시간 및 횟수, 온도 등 추출조건이 다양하다. 추출방법은 가온환류추출, 상온추출, 초음파추출 등의 방법이 있다. 보통 1 g의 시료를 80% 메탄올을 추출용매로 하여 30 mL씩 넣어 1 시간 동안 가온 (75~80℃) 수욕상의 환류조건에서 3 회 추출한 후 여과한 추출액을 합하여 최종적으로 100 mL로 정용한다. 환류추출이란 냉각관을 달은 추출 플라스크에 분석시료와 추출용매를 넣고 끓이는 것으로 일반적으로 사용하는 추출방법이다.

네 번째로 추출액에 대한 전처리 및 검액 (시료용액) 제조를 하게 되는데, 전처리 없이 그대로 추출액 중 일부만을 작은 10~20 mL 시료병에 담아 놓거나 바로 기기분석에 주입하기도 하며 산처리, 농축 또는 희석 등이 필요하기도 한다. 검액에 침전물이나 현탁물이 있을 경우 membrane filter로 여과하거나 원심분리기로 침전시킨 후 기기분석 주입액으로 사용한다.

다섯 번째로 기기분석을 하게 되는데, 대한약전의 일반시험법에 액체크로마토그래프법에 관한 장치, 구조, 조작법, 정량, 피크측정법 등이 설명되어 있다. 일반적인 HPLC 기기의 구조와 기능, 그리고 이용방법에 대한 설명과 같다. 최근에는 새로운 컬럼, 검출기 등 분석기기의 개발로 변형된 HPLC 분석방법이 계속 보고되고 있다.

여섯 번째로 얻어진 크로마토그램을 가지고 농도를 계산하는데, 정량에는 내부표준법과 절대검량선법을 보통 사용한다. 내부표준법은 내부표준물질 일정량을 넣어 내부표준물질에 대한 표준액 (지표성분)의 비를 구하여 검량선 (여러농도의 표준액에 대한 피크면적이나 피크 높이의 직선회귀식)을 써서 검액의 지표성분 함량을 계산하는 방법이며, 절대검량선법은 외부표준법이라고도 하며 내부표준물질 없이 직접 농도별로 표준액을 만들어 작성된 검량선을 써서 검액의 지표성분 함량을 계산하는 방법이다. 작성된 검량선 (calibration curve)은 직선회귀식이므로 회귀계수의 유의성 여부를 통계적으로 확인하고 사용하여야 정확한 함량계산이 될 것이다.

검액은 분석대상인 시료의 추출된 용액이며 표준액은 검사될 지표성분 (표준품)의 용액을 말한다. 대한약전에서는 검량선이 직선이 되는 농도범위에 들어가는 하나의 표준액 및 표준액의 농도에 가까운 농도의 검액을 만들어 HPLC 기기주입 후 얻어진 표준액의 피크면적 (A_S)에 대한 검액의 피크면적 (A_T)의 비를 구한다. 이에 표준액의 표준품 (지표성분) 함량 (C_S)을 곱하여 검액의 지표성분 함량 (C_T)을 구한다. 그리고 검액의 최종용량 (V_T)과 표준액의 최종용량 (V_S), 검액의 희석배수 (D_T)와 표준액의 희석배수 (D_S)를 적용하여 계산한다. 즉 $C_T = C_S \times (A_T/A_S) \times [(V_T \times D_T)/(V_S \times D_S)]$ 가 된다. 최종적으로 계산되어 나온 C_T , 즉 검체의 지표성분의 함량 (mg)은 추출시료량으로 나누어 퍼센트 함량 (100 g당 g)이나 g당 mg으로 나타낸다.

여러농도의 표준액을 만들어 검량선을 만들지 않고 하나의 표준액을 가지고 검액의 성분 함량을 구하는 것은 이상적인 분석법이 아니지만 대한약전에서 설정된 성분함량규격은 기준량 이상이므로 해당생약의 성분규격 검사를 할 때 지표성분 함량이 기준량 이상인지 이하인지 판별하여 합격과 불합격을 판정하면 된다. 따라서 제시된 추출방법과 농도는 표준액과 검액의 농도를 비슷하게 측정되도록 한 것이므로 실용적으로 문제가 되지 않는다.

피크측정법은 보통 피크면적을 사용하나 크로마토그램상 피크분리가 잘 안되거나 baseline이 일정하지 않은 경우 피크높이법을 사용하기도 한다.

아래에 나타낸 각 생약의 지표성분 정량법은 추출 및 검액제조, 표준액 제조, 기기분석 및 함량계산, 기기조건, 그리고 다른 분석의 예의 순으로 정리하였다.

1. 갈근 (葛根, Pueraria Root) Puerariae Radix

1) 기원 및 성분

기원은 칩 *Pueraria lobata* (콩과 Leguminosae)의 주피를 제거한 뿌리이며, 성분규격은 푸에라린 (puerarin) 2.0 % 이상이다. 갈근은 감기약, 해열진통소염약으로 해열, 혈압강하, 뇌혈류량 증가, 기억력 증강, 관상동맥 확장, 심장기능 개선, 항부정맥, 평활근이완, 혈소판응집 억제 등의 약리작용이 있다.

2) 정량법 (HPLC법)

(1) 추출 및 검액 (Test solution) 제조

갈근 가루 약 2.0 g을 메탄올 (methanol) 60 mL를 넣고 2 시간 환류추출한 다음 여과한다. 잔류물에 메탄올 30 mL를 넣어 같은 방법으로 조작한다. 여액을 모두 합하여 메탄올을 넣어 100 mL로 맞춘다. 이 액 10 mL를 취하여 메탄올을 넣어 100 mL로, 즉 10 배 희석한 액을 검액으로 한다.

(2) 표준액 (Standard solution) 제조

표준품 puerarin 약 10 mg을 메탄올 100 mL에 녹여 표준액 (모액, Standard stock solution)으로 한다. 보통 최소 3 개 이상의 여러 농도의 표준액을 만들고 이에 대한 피크면적을 계산한 직선회귀식, 즉 표준품의 검량선을 사용한다. 여러농도의 표준액은 먼저 보통 표준품 2~10 mg을 10 mL의 용매로 녹여 만든 모액 (stock solution)을 단계적으로 희석하

여 만든다. 만들어진 여러개의 표준액의 농도 범위는 여러 검액들의 농도를 포함하여야 할 것이다.

(3) 기기분석 및 함량계산

검액 및 표준액 10 μL씩을 기기에 주입하여 (4)의 조건으로 액체크로마토그래프법 (HPLC 법)에 따라 시험하여 각각의 액의 puerarin의 피크면적 A_T (검액) 및 A_S (표준액)를 측정한다. 분석시료액의 기기주입량은 보통 5~20 μL이다.

$$\text{검액의 puerarin의 함량(mg)} = \text{puerarin 표준품의 양(mg)} \times \frac{A_T}{A_S} \times 10$$

계산식에서 10은 표준액 용량 100 mL에 대한 검액 용량 10 mL의 비에 검액의 희석배수인 10을 곱하여 계산된 값이다. 최종적인 시료의 puerarin 함량은 계산식에서 나온 검액의 puerarin 함량 (mg) [C_T]에 처음에 추출에 사용된 시료의 양 (mg으로 환산) [W_S]으로 나누어 100을 곱하면 % 함량으로 계산된다. 이 내용을 미국약전(USP)에 따르면 Content of puerarin in the sample = [C_T/W_S]×[A_T/A_S]×100으로 나타낼 수 있으며, C_T 는 Weight of puerarin for assay (mg) 이고 W_S 는 Weight (mg) of the sample 이다.

(4) 기기조건

검출 자외부흡광광계 (UV) 254 nm; 칼럼 ϕ 4~6 mm, 길이 15~25 cm, 입자크기 5~10 μm인 ODS (octadecyl silyl, C18) 역상칼럼; 이동상 MeOH:water=25:75(v/v%); 유량 (유속) 1.0 mL/min.

일반적으로 사용되는 HPLC 칼럼은 ODS 역상 칼럼이며 칼럼온도는 보통 실온조건 (상온)으로 한다. 이동상의 조성비는 보통 용량비 (용량백분율, vol %)이다. 이동상은 보통 두가지 이상의 용매가 혼합된 단일용매를 사용하나, 분리능을 높이거나 여러 성분을 동시에 신속히 분리하여 분석하고자 할 때 농도구배 (gradient)로 용매조성을 변화시키는 방법이 있다. 단일 혼합용매를 사용하는 것이 분석의 용이성과 안정성에 유리할 것이다. 이동상의 유속 (flow rate)은 보통 1.0 mL/min이지만 컬럼 길이나 이동상 조성에 따라 달라질 수 있다. 메탄올 (methanol)을 MeOH로, 에탄올 (ethanol)을 EtOH로, ethyl acetate를 EtOAc, acetonitrile를 ACN 또는 CH₃CN으로 줄여 표기하기도 한다.

3) 다른 분석의 예

Yu *et al.*, (2002)은 갈근 함유 한약의 puerarin 성분의 HPLC 분석과 추출용매, 추출방법에 대한 실험을 하여, 초음파 메탄올추출 및 역상컬럼 HPLC가 적당하였으며 HPLC 분석전 검액의 정제를 강조하였다. 그리고 Zhang *et al.* (2004)은 Flow injection-chemiluminescence (FI-CL)법을 사용하여 puerarin을 정량하기도 하였다.

2. 감초 (甘草, Glycyrrhiza, Liquorice Root) Glycyrrhizae Radix

1) 기원 및 성분

기원은 감초 *Glycyrrhiza uralensis*, 광과감초 (光果甘草) *Glycyrrhiza glabra* 또는 기타 동

속식물 (콩과 Leguminosae)의 뿌리와 주출경 (走出莖)을 그대로 (껍질이 붙어 있는 감초) 또는 주피를 제거한 것 (껍질 벗긴 감초)이며, 성분규격은 글리시리진산 (glycyrrhizic acid) 2.5 % 이상이다. 감초는 진통진경약 (위장약), 거담약으로 Mineralocorticoid, Glucocorticoid와 같은 부신피질호르몬 유사작용, 항위궤양, 평활근이완, 간기능보호와 같은 소화기계에 대한 작용, 소염, 항알러지, 항바이러스, 해독, 진해, 거담, 진통, 항균, 항지방간 등의 약리작용이 있다.

2) 정량법

(1) 추출 및 검액제조

감초 가루 약 0.5 g을 원심분리관에 넣고 묽은에탄올 (ethanol) 70 mL 를 넣어 15 분간 흔들어서 섞어 원심분리하여 상징액 (上澄液)을 취한다. 잔류물은 다시 묽은에탄올 25 mL 를 넣어 동일하게 조작하여 위의 추출액에 합한 다음 묽은에탄올을 넣어 100 mL로 하여 검액으로 한다. 묽은에탄올은 47.45-50.00 % 에탄올이다.

(2) 표준액 제조

표준품 glycyrrhizic acid (glycyrrhizin) 약 25 mg을 묽은에탄올 100 mL로 녹여 표준액으로 한다.

(3) 기기분석 및 함량분석

검액 및 표준액 20 µL씩을 가지고 (4)의 조건으로 HPLC법에 따라 시험하여 glycyrrhizic acid의 피크면적 A_T 및 A_S 를 측정한다.

$$\text{검액의 glycyrrhizic acid의 함량(mg)} = \text{glycyrrhizic acid 표준품의 양(mg)} \times \frac{A_T}{A_S}$$

(4) 기기조건

검출 UV 254 nm; 칼럼 ODS 역상; 이동상 acetic acid(1 → 15):ACN=3:2

(1 → 15)는 1 g 또는 1 mL를 용매에 녹여 전체량을 15 mL로 희석하는 비율을 나타낸 것이다.

3) 분석의 예

조 등 (1997)은 국내 유통 감초를 HPLC 분석한 결과 2.1~5.7%의 함량을 보였다고 하였으며, Jang *et al.* (2004)은 high-speed counter-current chromatography를 이용하여 정량하기도하였다.

3. 건강 (乾薑, Ginger) *Zingiberis Rhizoma*

1) 기원 및 성분

기원은 생강 *Zingiber officinale* (생강과 Zingiberaceae)의 뿌리줄기를 말린 것이며, 성분규격은 6-징게롤 (6-gingerol) 0.4 % 이상이다. 건강은 건위약 (健胃藥)으로 혈관 확장, 강심, 혈압상승, 소화촉진, 항위궤양, 장운동 증가 또는 억제, 이담, 구토억제, 진정, 진통, 해열, 소염, 혈소판응집 억제, 항알러지, 항균, 진해, 거담 등의 약리작용이 있다.

2) 정량법 (HPLC법)

(1) 추출 및 검액제조

건강 가루 약 2.0 g을 메탄올 60 mL를 넣고 2 시간 환류추출한 다음 여과한다. 잔류물에 메탄올 30 mL를 넣어 같은 방법으로 조작한다. 여액을 모두 합하여 메탄올을 넣어 100 mL로 하여 검액으로 한다.

(2) 표준액 제조

표준품 6-gingerol 약 10 mg을 메탄올 100 mL로 녹여 표준액으로 한다.

(3) 기기분석 및 함량분석

검액 및 표준액 10 μ L씩을 가지고 (4)의 조건으로 HPLC법에 따라 시험하여 각각의 액의 6-gingerol의 피크면적 A_T 및 A_S 를 측정한다.

$$\text{검액의 6-gingerol의 함량(mg)} = \text{6-gingerol 표준품의 양(mg)} \times \frac{A_T}{A_S}$$

(4) 기기조건

검출 UV 280 nm; 컬럼 ODS 역상; 이동상 ACN : water = 45 : 55

3) 다른 분석의 예

강 등 (1997)은 지역별 수집된 건강의 6-gingerol을 HPLC 분석한 결과 0.15~0.43 %의 분포를 나타냈다고 하였다. 건강의 gingerol 정량분석은 HPLC-electrospray MS 방법 (He *et al.*, 1998)이나 HP-TLC 방법 (Phadke *et al.*, 1998)이 사용되기도 하였다.

4. 계피 (桂皮, Cinnamon Bark) Cinnamomi Cortex

1) 기원 및 성분

기원은 육계 (肉桂) *Cinnamomum cassia* 또는 기타 동속 근연식물 (녹나무과 Lauraceae)의 수피 또는 주피를 다소 제거한 수피이며, 성분규격은 신남산 (cinnamic acid) 0.03 % 이상이다. 계피 (육계)는 건위약으로 교감신경, 부신수질홍분, 혈관확장, 혈액동력학과 좌심실에 대한 작용과 같은 심혈관에 대한 작용, 혈소판응집 억제, 항응혈, 진정, 진통, 해열, 소화기에 대한 작용, 항균, 혈압강하, 갑상선기능에 대한 영향 등의 약리작용이 있다.

2) 정량법 (HPLC법)

(1) 추출 및 검액제조

계피 가루 약 2.0 g을 속슬렛추출기 (soxhlet extractor)에 넣고 에텔 (diethyl ether) 60 mL를 넣어 2 시간 추출한 다음 추출액을 분액깔때기에 옮긴다. 다시 에텔 60 mL를 넣어 같은 방법으로 조작한다. 추출액을 모두 합하여 물로 씻고 (물층과 에텔층 분리) 무수황산나트륨 (anhydrous Na_2SO_4)으로 건조한 다음 감압하에서 에텔을 날려 보낸다. 보통 진공

회전농축기 (rotary evaporator with aspirator)를 사용한다. 잔류물에 메탄올을 넣어 10 mL로 하여 검액으로 한다.

(2) 표준액 제조

표준품 cinnamic acid 약 10 mg을 메탄올 100 mL로 녹여 표준액으로 한다.

(3) 기기분석 및 함량계산

검액 및 표준액 10 µL씩을 가지고 (4)의 조건으로 HPLC법에 따라 시험하여 각각의 액의 cinnamic acid의 피크면적 A_T 및 A_S 를 측정한다.

$$\text{검액의 cinnamic acid의 함량(mg)} = \text{cinnamic acid 표준품의 양(mg)} \times \frac{A_T}{A_S} \times \frac{1}{10}$$

(4) 기기조건

검출 UV 280 nm; 칼럼 ODS 역상; 이동상 MeOH:water:빙초산 (glacial acetic acid)=12:88:1; 유속 2.0 mL/min

3) 다른 분석의 예

장 등 (1998)은 HPLC 분석하여 methanol 추출물과 ether 추출물의 cinnamic acid 함량은 거의 비슷하였다고 보고한 바 있으며, Xu *et al.* (2001)은 탕약에서의 cinnamic acid 함량조사를 위해 이동상을 CH₃CN-0.01 % H₃PO₄ (27:73)로 하여 HPLC 분석하였다.

5. 구기자 (枸杞子, Lycium Fruit) *Lycii Fructus*

1) 기원 및 성분

기원은 구기자나무 *Lycium chinense* 또는 기타 동속식물 (가지과 Solanaceae)의 열매이며, 성분규격은 베타인 (betaine) 0.5 % 이상이다. 구기자는 강장약 (強壯藥)으로 면역증강 및 조절, 조혈기능 촉진, 항암, 항노화, 지질강하, 간기능보호, 혈당강하 등의 약리작용이 있다.

2) 정량법 (HPLC법)

(1) 추출 및 검액제조

구기자 가루 약 1 g을 희석시킨 메탄올(1 → 2) 50 mL를 넣고 2 시간 환류추출한 다음 여과한다. 잔류물에 희석시킨 메탄올(1 → 2) 50 mL를 넣어 같은 방법으로 조작한다. 여액을 모두 합하여 감압으로 용매를 날려 보낸 다음 잔류물에 탈이온수 30 mL를 넣어 녹이고 묽은염산 (염산 HCl 23.6 mL에 물을 넣어 100 mL로 한 10 % 염산용액)을 넣어 pH를 3.0으로 조정한다. 이 용액을 칼럼 I에 부어 서서히 통과시키고 칼럼 I에 탈이온수 60 mL를 통과시켜 흘러나온 액을 버린다. 칼럼 I에 희석시킨 암모니아시액(2 → 5) 15 mL, 탈이온수 15 mL 씩을 순차적으로 통과시키면서 흘러나온 액을 받아 약 5 mL가 될 때까지 감압농축한다. 이 액을 칼럼 II에 붓고 계속하여 탈이온수 10 mL를 부어 칼럼을 흘러나온 액을 모두 합하여 감압하에서 용매를 날려보낸 다음 잔류물을 물 1 mL에 녹여 검액으로 한다.

(2) 표준액 제조

표준품 betaine 약 10 mg을 물 1 mL에 녹여 표준액으로 한다.

(3) 기기분석 및 함량계산

검액 및 표준액 10 μL씩을 가지고 (4)의 조건으로 HPLC법에 따라 시험하여 각각의 액의 betaine 피크면적 A_T 및 A_S 를 측정한다.

$$\text{검액의 betaine의 함량(mg)} = \text{betaine 표준품의 양(mg)} \times \frac{A_T}{A_S}$$

(4) 기기조건

검출 UV 210 nm; 칼럼 dimethylaminopropylsilyl silica gel을 충전한 HPLC 컬럼(NH_2 phase); 이동상 ACN:water=85:15; 유속 1.0 mL/min

(5) 유리컬럼 (open column)

HPLC 주입액이 되는 검액의 전처리를 위해 사용되는 이온교환수지가 충전된 open 컬럼이 두개 사용되는데, 칼럼 I은 ϕ 1.0~1.2 cm, 길이 10 cm인 유리관에 강산성양이온교환수지 (H^+ 형태)를 5 cm의 높이로 충전한 것이며, 칼럼 II는 ϕ 1.0~1.2 cm, 길이 10 cm인 유리관에 약산성양이온교환수지 (H^+ 형태)와 강염기성음이온교환수지 (OH^- 형태)를 1:2의 비율로 하여 5 cm의 높이로 충전한 것이다.

3) 다른 분석의 예

Bessieres *et al.* (1999)은 식물에 함유된 glycine betaine의 신속간이정량법을 개발하였는데, 일반 역상컬럼을 사용한 HPLC법이며 HPLC 정량전에 cationic acid ion-exchange resin (AG1, OH^-)으로 충전한 컬럼을 이용하여 정제하였으며, 이 방법이 betaine 정량법으로 적당한지를 NMR을 이용하여 검증하였다.

6. 당약 (當藥, Swertia Herb) Swertiae Herba

1) 기원 및 성분

기원은 쓴풀 *Swertia japonica* 및 동속식물 (용담과 Gentianaceae)의 개화기의 전초이며, 성분규격은 스웨르티아마린 (swertiamarin) 2.0 % 이상이다. 당약은 고미건위 (苦味健胃) 및 지사정장약 (止瀉整腸藥)으로 위약 (胃弱), 식욕부진, 소화불량 등에 사용된다.

2) 정량법 (HPLC법)

(1) 추출 및 검액제조

당약 가루 약 1 g을 원심분리관에 넣고 메탄올 40 mL를 넣고 15 분간 흔들어서 섞은 다음 원심분리하여 상정액을 따로 취한다. 잔류물에 메탄올 40 mL를 넣어 같은 방법으로 조작하여 위의 추출액에 합한 다음 메탄올을 넣어 100 mL로 한다. 이 액 5 mL를 취하고 이동상을 넣어 20 mL로, 즉 4 배 희석하여 검액으로 한다.

(2) 표준액 제조

표준품 swertiamarin 약 10 mg을 메탄올을 넣어 20 mL로 한 다음 이 액 5 mL를 취하고 이동상을 넣어 20 mL로 하여 표준액으로 한다.

(3) 기기분석 및 함량계산

검액 및 표준액 10 µL씩을 가지고 (4)의 조건으로 HPLC법에 따라 시험하여 각각의 액의 swertiamarin의 피크면적·A_T 및 A_S를 측정한다.

$$\text{검액의 swertiamarin의 함량(mg)} = \text{swertiamarin 표준품의 양(mg)} \times \frac{A_T}{A_S} \times 5$$

(4) 기기조건

검출 UV 238 nm; 칼럼 φ 약 4.6 mm, 길이 약 15 cm, 입자크기 5 µm의 ODS 역상컬럼; 칼럼온도 50 °C; 이동상 ACN:water=9:91

3) 다른 분석의 예

HPLC법을 이용하지 않고 전기영동방법을 사용한 분석 예들이 있다. Zhao *et al.* (2004)은 *Gentiana* 속 식물의 gentiopicroside와 swertiamarin의 분리 및 정량시험에서 micellar electrokinetic electrophoresis 방법을 이용하였으며, Takai *et al.* (2001)은 *Swertia japonica* 식물에 함유되어 있는 swertiamarin 성분을 capillary electrophoresis 방법으로 분석하였다.

7. 대황 (大黃, Rhubarb) Rhei Rhizoma

1) 기원 및 성분

기원은 장엽대황 (掌葉大黃) *Rheum palmatum*, 당고특대황 (唐古特大黃) *Rheum tanguticum*, 약용대황 (藥用大黃) *Rheum officinale* (마디풀과 Polygonaceae)의 뿌리줄기이며, 성분규격은 센노사이드 A (senoside A)로서 0.25 % 이상이다. 대황은 사하약 (瀉下藥), 건위약으로 사하, 향균, 이담, 지혈, 항암, 간기능보호, 혈청지질강하, 면역조절, 소화효소분비 억제 등의 약리작용이 있다.

2) 정량법 (HPLC법)

(1) 추출 및 검액제조

대황 가루 약 0.5 g을 탄산수소나트륨 (NaHCO₃) 용액(1 → 1000) 500 mL를 넣어 30 분간 흔들어 섞은 다음 여과하여 여액을 검액으로 한다.

(2) 표준액의 제조

표준품 senoside A 약 10 mg을 탄산수소나트륨용액(1 → 1000)에 녹여 500 mL로 한 다음 이 액 5 mL를 취하여 탄산수소나트륨용액(1 → 1000)을 넣어 20 mL로, 즉 4 배 희석하여 표준액으로 한다.

(3) 기기분석 및 함량계산

검액 및 표준액 10 µL씩을 가지고 (4)의 조건으로 HPLC법에 따라 시험하여 각각의 액의 *sennoside A*의 피크면적 A_T 및 A_S 를 측정한다.

$$\text{검액의 sennoside A의 함량(mg)} = \text{sennoside A 표준품의 양(mg)} \times \frac{A_T}{A_S} \times 0.25$$

(4) 기기조건

검출 UV 340 nm; 칼럼 ODS 역상; 칼럼온도 40 °C; 이동상 acetic acid(1→80):ACN=4:1

3) 다른 분석의 예

Hazra *et al.* (2004)은 여러 생약들에 함유되어 있는 *sennoside A* 성분을 포함한 지표성분들에 대한 정량방법에 대해 고찰하였다.

8. 도인 (桃仁, Peach Kernel) *Persicae Semen*

1) 기원 및 성분

기원은 복숭아나무 *Prunus persica* 또는 산복사 *Prunus persica* var. *davidiana* (장미과 Rosaceae)의 씨이며, 성분규격은 아미그달린 (amygdalin) 0.5 % 이상이다. 도인은 부인약 (婦人藥), 사하약으로 혈관확장, 항혈전, 사하, 진통, 소염, 진해 등의 약리작용이 있다.

2) 정량법 (HPLC법)

(1) 추출 및 검액제조

도인 가루 약 2.0 g을 메탄올 50 mL를 넣고 3 시간 환류추출하여 여과한다. 잔류물에 메탄올 50 mL를 넣어 같은 방법으로 조작한다. 여액을 모두 합한 다음 감압하에서 용매를 날려 보내고 잔류물에 물 70 mL와 헥산 (hexane) 70 mL 를 넣어 흔들어 섞은 다음 헥산층을 버린다. 다시 에틸 약 70 mL를 넣어 흔들어 섞은 다음 에틸층을 버리고 물층을 여과하여 물을 넣어 100 mL로 하여 검액으로 한다.

(2) 표준액 제조

표준품 amygdalin 약 10 mg을 물 100 mL로 녹여 표준액으로 한다.

(3) 기기분석 및 함량계산

검액 및 표준액 10 µL씩을 가지고 (4)의 조건으로 HPLC법에 따라 시험하여 각각의 액의 amygdalin의 피크면적 A_T 및 A_S 를 측정한다.

$$\text{검액의 amygdalin의 함량(mg)} = \text{amygdalin 표준품의 양(mg)} \times \frac{A_T}{A_S}$$

(4) 기기조건

검출 UV 214 nm; 칼럼 ODS 역상; 이동상 MeOH:water=20:80; 유속 1.0 mL/min

3) 다른 분석의 예

Berenguer-Navarro *et al.* (2002)은 porous graphitic carbon column을 사용한 HPLC법으로 식물 추출물에 함유된 amygdalin과 prunasin 성분을 정량하였으며, Frank & Santamour (1998)는 *Prunus* 속 식물들의 잎으로부터 amygdalin 함량분석을 통해 화학적 식물분류를 시도하기도 하였다.

9. 마황 (麻黃, Ephedra Herb) Ephedrae Herba

1) 기원 및 성분

기원은 초마황 (草麻黃) *Ephedra sinica* 또는 동속식물 (마황과 Ephedraceae)의 초질경이며, 성분규격은 총알칼로이드 [에페드린 (ephedrine) 및 슈도에페드린 (pseudoephedrine)]로서 0.7% 이상이다. 마황은 진해거담약으로 발한, 평천 (平喘), 이뇨, 소염, 항알러지, 진해, 거담, 해열, 항균, 항바이러스, 중추신경계 흥분, 강심, 혈압상승, 평활근이완 등의 약리작용이 있다.

2) 정량법 (HPLC법)

(1) 추출 및 검액제조

마황 가루를 데시케이터 (실리카겔)에서 24 시간 건조한 다음 약 5.0 g을 원심분리관에 넣고 회석시킨 메탄올(1 → 2) 20 mL를 넣어 30 분간 흔들어 섞은 다음 원심분리하여 상정액을 취한다. 잔류물에 회석시킨 메탄올(1 → 2) 20 mL를 써서 다시 이 조작을 2 회 반복한다. 추출액을 모두 합하여 회석시킨 메탄올(1 → 2)을 넣어 100 mL로 하여 검액으로 한다.

(2) 표준액 제조

표준품 염산에페드린 (ephedrine · HCl) 약 50 mg을 회석시킨 메탄올(1 → 2)을 넣어 20 mL로 한 다음 이 액 2 mL를 취하여 회석시킨 메탄올(1 → 2) 100 mL로 녹여 표준액으로 한다.

(3) 기기분석 및 함량계산

검액 및 표준액 10 µL씩을 가지고 (4)의 조건으로 HPLC법에 따라 시험할 때 검액의 에페드린 및 슈도에페드린 (에페드린에 대한 상대유지시간 약 0.9)의 피크면적 A_{TE} 및 A_{TF} 와 표준액의 에페드린 피크면적 A_S 를 측정한다.

검액의 총알칼로이드의 함량(mg)

$$= \text{염산에페드린 표준품의 양(mg)} \times \frac{A_{TE} + A_{TF}}{A_S} \times \frac{1}{10} \times 0.819$$

총알칼로이드 함량은 ephedrine (C₁₀H₁₅NO: 165.23)과 pseudoephedrine (C₁₀H₁₅NO: 165.23)의 합으로 구하는데, 계산식의 계수 0.819는 ephedrine과 pseudoephedrine의 염산염 (C₁₀H₁₅NO·HCl: 201.70)을 유리체 (C₁₀H₁₅NO: 165.23)로 환산한, 즉 165.23/201.70의 값이다.

(4) 기기조건

검출 UV 210 nm; 칼럼 ODS 역상; 칼럼온도 45 °C; 이동상 라우릴황산나트륨 (sodium lauryl sulfate) 용액(1→128):ACN:인산(phosphoric acid)=640:360:1

3) 다른 분석의 예

Schaneberg *et al.* (2003)은 *Ephedra* 속 식물들을 역상 HPLC법으로 분석하고 ephedrine alkaloid 성분들에 대한 chemical fingerprinting 방법을 사용하여 식물의 종을 구분하였다. Roman (2004)은 마황과 마황이 들어있는 식품에 함유되어 있는 ephedrine alkaloid를 조사하였으며, 사용된 HPLC는 polar-embedded phenyl column을 장착하여 사용하였다.

10. 목단피 (牡丹皮, Moutan Root Bark) Moutan Cortex Radicis

1) 기원 및 성분

기원은 목단 *Paeonia suffruticosa* (작약과 Paeoniaceae)의 뿌리껍질이며, 성분규격은 페오놀 (paeonol) 1.0 % 이상이다. 목단피는 부인약으로 소염, 항혈전, 죽상동맥경화증 억제, 항심근허혈, 항부정맥, 혈압강하, 진정, 최면, 항경련, 진통, 해열, 체온강하, 항균, 이뇨, 유산 등의 약리작용이 있다.

2) 정량법 (HPLC법)

(1) 추출 및 검액제조

목단피 가루 약 0.3 g을 메탄올 40 mL를 넣어 환류냉각기를 달고 수욕에서 30 분간 가열하여 식힌 다음 여과한다. 잔류물에 메탄올 40 mL를 넣어 같은 방법으로 조작한다. 여액을 모두 합하여 메탄올을 넣어 100 mL로 한 다음 이 액 10 mL를 취하고 메탄올을 넣어 25 mL로 하여 검액으로 한다.

(2) 표준액 제조

표준품 paeonol 약 10 mg을 메탄올을 넣어 100 mL로 한 다음 이 액 10 mL를 취하고 메탄올을 넣어 50 mL로 하여 표준액으로 한다.

(3) 기기분석 및 함량계산

검액 및 표준액 20 µL씩을 가지고 (4)의 조건으로 HPLC법에 따라 시험하여 각각의 액의 paeonol의 피크면적 A_T 및 A_S 를 측정한다.

$$\text{검액의 paeonol의 함량(mg)} = \text{paeonol 표준품의 양(mg)} \times \frac{A_T}{A_S} \times \frac{1}{2}$$

(4) 기기조건

검출 UV 274 nm; 칼럼 ODS 역상; 칼럼온도 20 °C; 이동상 water:ACN:glacial acetic acid=65:35:2

3) 다른 분석의 예

명 등 (2000)은 목단피의 paeonol과 paeoniflorin 분석에 있어서 HPLC 방법을 대신할 수 있는 CE (capillary electrophoresis) 방법을 제시하였다.

11. 벨라돈나근 (Belladonna Root) *Belladonnae Radix*

1) 기원 및 성분

기원은 벨라돈나 *Atropa belladonna* (가지과 Solanaceae)의 뿌리이며, 성분규격은 총알칼로이드 [히요스시아민 (hyoscyamine)으로서] 0.4 % 이상이다. 벨라돈나는 잎과 뿌리를 사용하는 진통진경약 (鎮痛鎮痙藥)으로 위산과다, 위통, 복통 등에 사용된다.

2) 정량법 (HPLC법)

(1) 추출 및 검액제조

벨라돈나근 가루를 60 °C에서 8 시간 건조한 다음 이 약 0.7 g을 원심분리관에 넣고 암모니아시액 (NH₄OH를 2 → 5로 한 10 % 용액) 15 mL를 넣어 적신다. 여기에 에텔 25 mL를 넣고 마개를 막아 15 분간 흔들어 섞은 다음 원심분리하여 에텔층을 따로 취한다. 잔류물에 에텔 25 mL를 넣어 다시 이 조작을 2 회 반복한다. 모든 추출액을 합하여 수욕에서 에텔층을 날려 보낸다. 잔류물을 이동상 5 mL에 녹이고 내부표준액 3 mL를 넣은 다음 다시 이동상을 넣어 25 mL로 한다. 이 액을 공경 0.8 μm 이하의 여과지 (membrane filter)로 여과하고 처음 여액 2 mL는 버리고 다음 여액을 검액으로 한다.

(2) 표준액 제조 (내부표준법 적용)

표준품 황산아트로핀 [(C₁₇H₂₃NO₃)₂·H₂SO₄: 676.81] 약 25 mg을 이동상에 녹여 25 mL로 하여 표준원액으로 한다. 표준원액 5 mL를 취하여 내부표준액 3 mL를 넣고 다시 이동상을 넣어 25 mL로 하여, 즉 5 배 희석하여 표준액으로 한다. 사용되는 내부표준액은 부루신 (brucine)의 이동상용액(1→2500)이다.

(3) 기기분석 및 함량계산

검액 및 표준액 10 μL씩을 가지고 (4)의 조건으로 HPLC법에 따라 시험한다. 각각의 액의 내부표준물질의 피크면적에 대한 hyoscyamine (아트로핀)의 피크면적비 Q_T (검액) 및 Q_S (표준액)를 구한다.

검액의 히요스시아민 (C₁₇H₂₃NO₃)의 함량양(mg)

$$= \text{건조물로 환산한 황산아트로핀 표준품의 양(mg)} \times \frac{Q_T}{Q_S} \times \frac{1}{5} \times 0.8551$$

계산식의 0.8551은 황산아트로핀 (atropine sulfate) (C₁₇H₂₃NO₃)₂ · H₂SO₄: 676.81)에 대한 hyoscyamine [(C₁₇H₂₃NO₃: 289.37×2)]으로 환산한 계수이다.

(4) 기기조건

검출 UV 210 nm; 칼럼 ϕ 약 4 mm, 길이 약 15 cm인 ODS 역상; 이동상 인산시액: ACN=9:1, 인산시액은 인산이수소칼륨 (KH_2PO_4) 6.8 g을 물 900 mL에 녹여 트리에틸아민 (triethylamine) 10 mL를 넣고 인산을 넣어 pH를 3.5로 조정한 다음 물을 넣어 1000 mL로 한 액이다.

칼럼 선정시 표준액 10 μL 를 가지고 위의 조건으로 조작할 때 아트로핀, 내부표준 물질의 순서로 유출하고 각각의 피크를 완전히 분리하는 것을 쓴다.

3) 다른 분석의 예

Baricevic *et al.* (1999)은 벨라돈나를 온실에서 포트 재배시 수분과 질소시용량을 조절하여 hyoscyamine과 scopolamine 함량 변화를 조사하였는데 정량은 CE (capillary electrophoresis) 법을 사용하였다. Dost & Davidson (2000)은 atropine 분석에 packed-column supercritical fluid chromatography / atmospheric pressure chemical-ionisation mass spectrometry (pSFC-APCI/MS) 방법을 사용하였다.

12. 산수유 (山茱萸, Cornus Fruit) Corni Fructus

1) 기원 및 성분

기원은 산수유나무 *Cornus officinalis* (층층나무과 Cornaceae)의 과육 (果肉)으로 씨를 될 수 있는 대로 제거한 것이며, 성분규격은 로가닌 (loganin) 0.5 % 이상이다. 산수유는 보건강장약 (保健強壯藥)으로 면역기능 조절, 혈당강하, 백혈구기능 증가, 소염, 항균 등의 약리작용이 있다.

2) 정량법 (HPLC법)

(1) 추출 및 검액제조

산수유 가루 약 1.0 g을 메탄올 50 mL를 넣어 환류냉각기를 달고 수욕에서 2 시간 가운하여 식힌 다음 여과한다. 여액에 메탄올을 넣어 100 mL로 하여 검액으로 한다.

(2) 표준액 제조

표준품 loganin 약 10 mg을 메탄올 100 mL로 녹여 표준액으로 한다.

(3) 기기분석 및 함량계산

검액 및 표준액 10 μL 씩을 가지고 (4)의 조건으로 HPLC법에 따라 시험하여 각각의 액의 loganin의 피크면적 A_T 및 A_S 를 측정한다.

$$\text{검액의 loganin의 함량(mg)} = \text{loganin 표준품의 양(mg)} \times \frac{A_T}{A_S}$$

(4) 기기조건

검출 UV 240 nm; 칼럼 ODS 역상; 이동상 MeOH:water=30:70; 유속 1.0 mL/min

3) 다른 분석의 예

원 등 (1997)은 산수유의 지표성분 loganin의 HPLC 정량 결과, 지역별 유통되는 산수유는 0.46~0.90 % 함량을 나타낸다고 하였다.

13. 센나엽 (Senna Leaf) *Sennae Folium*

1) 기원 및 성분

기원은 협엽번사 (狹葉番瀉) *Cassia angustifolia* 또는 침엽번사 (尖葉番瀉) *Cassia acutifolia* (콩과 Leguminosae)의 작은 잎이며, 성분규격은 총센노사이드 [센노사이드 A (sennoside A) 및 센노사이드 B (sennoside B)]로서 1.0 % 이상이다. 센나엽은 사하약, 건위약으로 변비와 변비로 인해 수반되는 식욕부진 (식욕감퇴), 복부팽만, 장내 이상발효, 치질 등의 증상 완화에 사용된다.

2) 정량법 (HPLC법)

(1) 추출 및 검액제조

센나엽 가루 약 0.5 g을 원심분리관에 넣고 희석시킨 메탄올(7 → 10) 25 mL를 넣어 30 분간 흔들어 섞은 다음 원심분리하여 상정액을 취한다. 잔류물은 희석시킨 메탄올(7 → 10) 10 mL씩 2 회 넣어 각각 10 분간 흔들어 섞은 다음 원심분리하여 상정액을 취한다. 전 추출액을 합하여 희석시킨 메탄올(7 → 10)을 넣어 50 mL로 하여 검액으로 한다.

(2) 표준액 제조

표준품 sennoside A 약 10 mg을 탄산수소나트륨용액(1 → 100) 20 mL로 녹여 표준원액 SA로 한다. 또 sennoside B 약 10 mg을 탄산수소나트륨용액(1 → 100) 20 mL로 녹여 표준원액 SB로 한다.

표준원액 SA 5 mL 및 표준원액 SB 10 mL를 각각 취하여 메탄올 50 mL로 녹여 표준액으로 한다.

(3) 기기분석

검액 및 표준액 10 μL씩을 가지고 (4)의 조건에서 HPLC법에 따라 시험할 때 검액의 sennoside A 및 sennoside B의 피크면적 A_{TA} 및 A_{TB} 와 표준액의 sennoside A 및 sennoside B의 피크면적 A_{SA} 및 A_{SB} 를 측정한다. 다음 식에 따라 sennoside A와 sennoside B의 양을 계산하여 그 합계를 총센노사이드의 양으로 한다.

$$\text{검액의 sennoside A의 함량(mg)} = \text{sennoside A 표준품의 양(mg)} \times \frac{A_{TA}}{A_{SA}} \times \frac{1}{4}$$

$$\text{검액의 sennoside B의 함량(mg)} = \text{sennoside B 표준품의 양(mg)} \times \frac{A_{TB}}{A_{SB}} \times \frac{1}{2}$$

(4) 기기조건

검출 UV 340 nm; 칼럼 ODS 역상; 칼럼온도 50 °C; 이동상 1 mol/L 초산 · 초산나트륨

완충액(1 → 10) (pH 5.0):ACN (17:8) 용액 1000 mL에 브롬화테트라-*n*-헵틸암모늄 (tetra-*n*-heptylammonium bromide) 2.45 g을 넣어 녹인 용액, 초산·초산나트륨완충액 (1 mol/L, pH 5.0)은 초산나트륨 (sodium acetate) 시액에 묽은초산을 넣어 pH 5.0으로 조정하는 것인데, 초산나트륨시액은 초산나트륨삼수화물 (CH₃COONa·3H₂O) 13.6 g에 물을 넣어 녹여 100 mL로 한 1 mol/L 용액이고 묽은초산은 초산 CH₃COOH 6 g에 물을 넣어 100 mL로 한 1 mol/L 용액이다.

3) 다른 분석의 예

Sun & Su (2002)는 Ion-pair HPLC를 이용하여 senna tablets에 함유된 sennoside 성분을 분석하였는데 컬럼, 용매, 유속 등의 여러 조건을 검토한 바 있다.

14. 숙지황 (熟地黃, Steamed Rehmannia Root) Rehmanniae Radix Preparata

1) 기원 및 성분

기원은 *Rehmannia glutinosa* var. *purpurea* (현삼과 Scrophulariaceae)의 뿌리를 포제가공한 것이며, 성분규격은 5-히드록시메틸-2-푸르알데히드 (5-HMF, 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde) 0.1 % 이상이다. 숙지황은 보혈 (補血), 강장, 해열약으로 면역에 대한 작용, 항노화, 갑상선 기능항진에 대한 영향 등의 약리작용이 있다.

2) 정량법 (HPLC법)

① 추출 및 검액제조

숙지황을 가능한 한 잘게 잘라 그 약 2.0 g을 희석시킨 메탄올(1 → 2) 100 mL를 넣고 3 시간 환류추출하여 여과한다. 잔류물에 희석시킨 메탄올(1 → 2) 100 mL를 넣어 같은 방법으로 조작한다. 여액을 모두 합한 다음 헥산 200 mL씩으로 2 회 추출하여 헥산층은 버린다. 남은 물층을 부피가 반 이하가 되도록 감압 농축한 후 에칠아세테이트 (ethyl acetate) 100 mL씩으로 2 회 추출하고 추출액을 합하여 감압하에서 용매를 날려보낸다. 잔류물을 메탄올에 녹여 20 mL로 하여 검액으로 한다.

② 표준액 제조

표준품 5-HMF 약 10 mg을 메탄올 100 mL로 녹여 표준액으로 한다.

③ 기기분석 및 함량계산

검액 및 표준액 10 μL씩을 가지고 (4)의 조건으로 HPLC법에 따라 시험하여 각각의 액의 5-HMF의 피크면적 A_T 및 A_S를 측정한다.

$$\text{검액의 5-HMF의 함량(mg)} = \text{5-HMF 표준품의 양(mg)} \times \frac{A_T}{A_S} \times \frac{1}{5}$$

④ 기기조건

검출 UV 280 nm; 컬럼 ODS 역상; 컬럼온도 25 °C; 이동상 water:ACN=95:5; 유속 1.0 mL/min

3) 다른 분석의 예

Xu *et al.* (2003)은 dextrose의 열분해산물인 5-HMF과 dextrose의 정량을 위하여 RI와 UV로 동시에 검출하여 동시 정량하였다.

15. 스코폴리아근 (莨菪根, *Scopolia Rhizome*) *Scopoliae Rhizoma*

1) 기원 및 성분

기원은 미치광이풀 *Scopolia japonica* (가지과 Solanaceae) 또는 기타 동속식물의 뿌리줄기와 뿌리이며, 성분규격은 총알칼로이드 [히요스시아민 (hyoscyamine) 및 스코폴라민 (scopolamine)으로서] 0.3 % 이상이다. 스코폴리아근은 진통진경약으로 위통, 복통, 위산과다, 위염, 위·십이지장궤양에 사용된다.

2) 정량법 (HPLC법)

(1) 추출 및 검액제조

스코폴리아근 가루를 60 °C에서 8 시간 건조한 다음 이 약 0.7 g을 원심분리관에 넣고 암모니아시액 15 mL를 넣어 적신다. 여기에 에텔 25 mL를 넣고 마개를 막아 15 분간 흔들어 섞은 다음 원심분리하여 에텔층을 따로 취한다. 잔류물에 에텔 25 mL씩을 넣어 다시 이 조작을 2 회 반복한다. 모든 추출액을 합하여 수욕에서 에텔층을 날려보낸다. 잔류물을 이동상 5 mL에 녹이고 내부표준액 3 mL를 넣은 다음 다시 이동상을 넣어 25 mL로 한다. 이 액을 공경 0.8 μm 이하의 여과지 (membrane filter)로 여과하고 처음 여액 2 mL는 버리고 다음 여액을 검액으로 한다.

(2) 표준액의 제조

표준품 황산아트로핀 약 25 mg을 이동상 25 mL로 녹여 표준원액 A로 한다. 또 브롬화 수소산스코폴라민 (C₁₇H₂₁NO₄ · HBr) 약 25 mg을 이동상 25 mL로 녹여 표준원액 B로 한다.

표준원액 A 5 mL 및 표준원액 B 1 mL를 취하여 내부표준액 3 mL를 넣고 다시 이동상을 넣어 25 mL로 하여 표준액으로 한다. 내부표준액은 부루신 (brucine)의 이동상용액(1 → 2500)을 사용한다.

(3) 기기분석 및 함량계산

검액 및 표준액 10 μL씩을 가지고 (4)의 조건으로 HPLC법에 따라 시험한다. 각 액의 내부표준물질의 피크면적에 대한 hyoscyamine (아트로핀)의 피크면적비 Q_{TS} 및 Q_{SA}와 scopolamine의 피크면적비 Q_{TS} 및 Q_{SS}를 구하여 다음 식에 따라 hyoscyamine 및 scopolamine의 양을 계산하여 이들의 합계를 총알칼로이드의 양으로 한다.

$$\text{검액의 hyoscyamine의 함량(mg)} = C_1 \times \frac{Q_{TA}}{Q_{SA}} \times \frac{1}{5} \times 0.8551$$

$$\text{검액의 scopolamine의 함량(mg)} = C_2 \times \frac{Q_{TS}}{Q_{SS}} \times \frac{1}{25} \times 0.7894$$

C₁ : 건조물로 환산한 황산아트로핀 표준품의 양 (mg)

C₂ : 건조물로 환산한 브롬화수소산스코폴라민 표준품의 양 (mg)

계산식의 계수 0.8551은 벨라돈나근의 hyoscyamine 정량과 같고, 계수 0.7894는 브롬화수소산스코폴라민 (scopolamine hydrobromide) (C₁₇H₂₁NO₄ · HBr: 384.25)에 대한 scopolamine (C₁₇H₂₁NO₄: 303.35)으로 환산한, 즉 303.35/384.25의 값이다.

(4) 기기조건

검출 UV 210 nm; 칼럼 φ 약 4 mm, 길이 약 15 cm, 입자크기 5 μm의 ODS 역상; 이동상 인산시액:ACN=9:1, 인산시액은 벨라돈나근의 hyoscyamine 정량시 사용된 것과 같다. 칼럼 선정시 표준액 10 μL를 가지고 위의 조건으로 조작할 때 스코폴라민, 아트로핀, 내부표준물질의 순서로 유출하고 각각의 피크를 완전히 분리하는 것을 쓴다.

3) 다른 분석의 예

벨라돈나의 hyoscyamine 정량법을 적용할 수 있으며, Choi *et al.* (1999)은 초임계추출법을 이용하여 alkaloid 성분과 그 염 (salt)의 추출 효율을 비교하였다.

16. 시호 (柴胡, Bupleurum Root) Bupleuri Radix

1) 기원 및 성분

기원은 시호 *Bupleurum falcatum* 또는 그 변종 (산형과 Umbelliferae)의 뿌리이며, 성분규격은 사이코사포닌 a (saikosaponin a)로서 0.3 % 이상이다. 시호는 정신신경용약 (精神神經用藥), 소염배농약 (消炎排膿藥), 보건강장약으로 해열, 진정, 진통, 진해, 항균, 항바이러스, 소염, 면역증강, 혈청지질강화, 간기능보호, 이담, 항게양, 평활근에 대한 작용, 물질대사에 대한 작용, 이뇨 등의 약리작용이 있다.

2) 정량법 (HPLC법)

(1) 추출 및 검액제조

시호 가루 약 0.5 g을 수산화암모늄 (ammonium hydroxide, NH₄OH)·메탄올혼합액(1 → 20) 50 mL를 넣어 초음파 처리하여 2 시간 추출한 다음 여과한다. 여액에 메탄올을 넣어 50 mL로 한 다음 이 액 30 mL를 취하여 날려 보낸 다음 잔류물에 메탄올을 넣어 녹여 5 mL로 하여, 즉 6 배 농축하여 검액으로 한다.

(2) 표준액 제조

표준품 saikosaponin a 약 10 mg을 메탄올 20 mL로 녹여 표준액으로 한다.

(3) 기기분석 및 함량계산

검액 및 표준액 5 μL씩을 가지고 (4)의 조건으로 HPLC법에 따라 시험하여 각각의 액의 saikosaponin a의 피크면적 A_T 및 A_S를 측정한다.

$$\text{검액의 saikosaponin a의 함량(mg)} = \text{saikosaponin a 표준품의 양(mg)} \times \frac{A_T}{A_S} \times \frac{5}{12}$$

(4) 기기조건

검출 UV 203 nm; 칼럼 ODS 역상; 이동상 ACN:water=35:65; 유속 0.8 mL/min

3) 다른 분석의 예

Ebata *et al.* (1996)은 HPLC를 이용하여 saikosaponin a, c, d 이외에 산처리하여 변화된 hydroxysaikosaponins a, c, d 성분이 시호 뿌리에 함유되어 있음을 확인한 바 있으며, Zhu *et al.* (2004)은 ELISA 방법으로 saikosaponin a 정량을 하고 HPLC 방법과 비교하여 확인하기도 하였다.

17. 작약 (芍藥, Peony Root) *Paeoniae Radix*

1) 기원 및 성분

기원은 작약 *Paeonia lactiflora* 또는 기타 동속 근연식물 (작약과 *Paeoniaceae*)의 뿌리이며, 성분규격은 페오니플로린 (paeoniflorin) 2.0 % 이다. 작약은 진통진경약 (위장약)으로 면역에 대한 작용, 중추신경계 억제, 평활근이완, 혈소판응집 억제 등의 약리작용이 있다.

2) 정량법 (HPLC법)

(1) 추출 및 검액제조

작약 가루 약 0.5 g을 희석시킨 메탄올(1 → 2) 50 mL를 넣어 환류냉각기를 달고 수욕에서 30 분간 가열하여 식힌 다음 여과한다. 잔류물에 희석시킨 메탄올(1 → 2) 40 mL를 넣어 같은 방법으로 조작한다. 여액을 모두 합하여 희석시킨 메탄올(1 → 2)을 넣어 100 mL로 하여 검액으로 한다.

(2) 표준액 제조

표준품 paeoniflorin 약 10 mg을 희석시킨 메탄올(1 → 2) 100 mL로 녹여 표준액으로 한다.

(3) 기기분석 및 함량계산

검액 및 표준액 20 μ L씩을 가지고 (4)의 조건으로 HPLC법에 따라 시험하여 각각의 액의 paeoniflorin의 피크면적 A_T 및 A_S 를 측정한다.

$$\text{검액의 paeoniflorin의 함량(mg)} = \text{paeoniflorin 표준품의 양(mg)} \times \frac{A_T}{A_S}$$

(4) 기기조건

검출 UV 230 nm; 칼럼 ODS 역상; 이동상 water : ACN = 4 : 1

3) 다른 분석의 예

정 (2002)은 작약 식물체 부위별 성분 분포를 조사한 바 있으며, Chen *et al.* (2004)은 high-speed counter-current chromatography를 사용하여 paeoniflorin을 분취하고 HPLC로 순도를 확인하였다.

18. 지실 (枳實, Poncirus Fruit) *Ponciri Fructus*

1) 기원 및 성분

기원은 탕자나무 *Poncirus trifoliata* (운향과 Rutaceae)의 익지 않은 열매를 그대로 또는 반으로 자른 것이며, 성분규격은 폰시린 (poncirin) 2.0% 이상이다. 지실은 항바이러스, 소염 등의 약리작용이 있다.

2) 정량법 (HPLC법)

(1) 추출 및 검액제조

지실 가루 약 0.5 g을 희석시킨 메탄올 (7 → 10) 60 mL를 넣고 2 시간 환류추출한 다음 여과한다. 잔류물에 희석시킨 메탄올 (7 → 10) 30 mL를 넣어 같은 방법으로 조작한다. 여액을 모두 합하여 희석시킨 메탄올 (7 → 10)을 넣어 100 mL로 하여 검액으로 한다.

(2) 표준액 제조

표준품 poncirin 약 20 mg을 희석시킨 메탄올(7 → 10) 100 mL로 녹여 표준액으로 한다.

(3) 기기분석 및 함량계산

검액 및 표준액 10 μ L씩을 가지고 (4)의 조건으로 HPLC법에 따라 시험하여 각각의 액의 poncirin의 피크면적 A_T 및 A_S 를 측정한다.

$$\text{검액의 poncirin의 함량(mg)} = \text{poncirin 표준품의 양(mg)} \times \frac{A_T}{A_S}$$

(4) 기기조건

검출 UV 313 nm; 칼럼 ODS 역상; 이동상은 MeOH:물의 농도구배 (gradient) 조건으로, 30 : 70 부터 1 %/min로 20 분간 MeOH를 증가시킨 후, 50 : 50 부터 25 %/min로 10 분간 증가시켜 최종 농도비가 70 : 30이 되도록 하는 조건이다; 유속 1.0 mL/min

3) 다른 분석의 예

Mouly *et al.* (1998)은 감귤류 주스에 함유된 flavonoid성분인 poncirin, hesperidin 등을 동시에 정량하여 품종 및 종별 비교를 하였다.

19. 진피 (陳皮, Citrus Unshiu Peel) *Citri Unshii Pericarpium*

1) 기원 및 성분

기원은 귤 *Citrus unshiu* 또는 기타 동속 근연식물 (운향과 Rutaceae)의 성숙한 과피이며, 헤스페리딘 (hesperidin) 4.0 % 이상이다. 진피는 건위약으로 위장평활근이완, 위액분비 촉진, 항위궤양, 이담, 거담, 평천, 심장에 대한 작용, 혈관과 혈압에 대한 작용, 소염, 자궁억제 등의 약리작용이 있다.

2) 정량법 (HPLC법)

(1) 추출 및 검액제조

진피 가루 약 0.5 g을 메탄올 60 mL를 넣고 2 시간 환류추출한 다음 여과한다. 잔류물에 메탄올 30 mL를 넣어 같은 방법으로 조작한다. 여액을 모두 합하여 메탄올을 넣어 100 mL로 하여 검액으로 한다.

(2) 표준액 제조

표준품 hesperidin 약 20 mg을 메탄올 100 mL로 녹여 표준액으로 한다.

(3) 기기분석 및 함량계산

검액 및 표준액 10 µL씩을 가지고 (4)의 조건으로 HPLC법에 따라 시험하여 각각의 액의 hesperidin의 피크면적 A_T 및 A_S 를 측정한다.

$$\text{검액의 hesperidin의 함량(mg)} = \text{hesperidin 표준품의 양(mg)} \times \frac{A_T}{A_S}$$

(4) 기기조건

검출 UV 280 nm; 칼럼 ODS 역상; 이동상 MeOH:water=40:60; 유속 1.0 mL/min

3) 다른 분석의 예

Nogota *et al.* (1994)은 진피를 포함한 감귤류에 함유된 hesperidin 등 25 종의 flavonoid 성분을 정량하는데 PDA를 장착한 HPLC를 사용하였다. Belajova & Suhaj (2004)는 감귤류 주스에 있는 여러 flavonoid 성분의 동시 정량을 위해 C6-phenyl-phase column과 diode array detector를 장착한 HPLC 정량방법을 보고하였다.

20. 토근 (吐根, Ipecac) Ipecacuanhae Radix

1) 기원 및 성분

기원은 토근 *Uragoga ipecacuanha* (꼭두서니과 Rubiaceae)의 뿌리 및 뿌리줄기이며, 성분 규격은 총알칼로이드 [에메틴 (emetine) 및 세파에린 (cephaeline)로서] 2.0% 이상이다. 토근은 진해거담약 (鎮咳祛痰藥), 최토약 (催吐藥)으로 사용된다.

2) 정량법 (HPLC법)

(1) 추출 및 검액제조

토근 가루 0.5 g을 원심분리관에 넣고 0.01 mol/L 염산시액 30 mL를 넣어 15 분간 흔들어서 섞은 다음 원심분리하여 상정액을 따로 취한다. 잔류물은 0.01 mol/L 염산시액 30 mL씩을 써서 다시 이 조작을 2 회 반복한다. 추출액을 합하고 0.01 mol/L 염산시액을 넣어 100 mL로 하고 검액으로 한다. 0.1 mol/L 염산은 1 L 중 염산 (HCl: 36.461) 3.6461 g을 함유하는 시액으로 9 mL에 물을 넣어 1 L로 한 것이며 이 것을 10 배 희석한 것이 0.01 mol/L 염산이다.

(2) 표준액 제조

표준품 엠파넨에메틴 (emetine·HCl) 약 10 mg을 0.01 mol/L 염산시액 100 mL로 녹여 표준액으로 한다.

(3) 기기분석 및 함량계산

검액 및 표준액 10 µL씩을 취하여 (4)의 조건으로 HPLC법에 따라 시험하고 검액의 emetine 및 cephaeline의 피크면적 A_{TE} 및 A_{TC} 와 표준액의 에메틴의 피크면적 A_{SE} 를 측정한다.

총알칼로이드 (에메틴 및 세파에린)의 함량(mg)

$$= \text{엠파넨에메틴 표준품의 양(mg)} \times \frac{A_{TE}+A_{TC} \times 0.971}{A_{SE}} \times 0.868$$

계산식의 계수 0.971은 emetine ($C_{29}H_{40}N_2O_4$: 480.65)에 대한 cephaeline ($C_{28}H_{38}N_2O_4$: 466.62)의 분자량비이며, 0.868은 emetine hydrochloride ($C_{29}H_{40}N_2O_4 \cdot 2HCl$: 553.52)에 대한 emetine으로의 환산계수이다.

(4) 기기조건

검출 UV 283 nm; 칼럼 ODS 역상; 칼럼온도 50 °C; 이동상은 1-헵탄설폰산나트륨 (sodium 1-heptanesulfonate) 2.0 g을 물 500 mL에 녹이고 빙초산을 넣어 pH를 4.0으로 조정한다. 음 메탄올 500 mL를 넣은 용액이다.

3) 다른 분석의 예

Eldawy *et al.* (2003)은 emetine 함량을 emetine hydrochloride로서 HPLC 분석하여 정량하였으며, Asano *et al.* (2001)은 사람의 혈장과 소변에 함유된 cephaeline과 emetine 성분 검출을 위해 형광검출기를 장착한 HPLC 분석을 하기도 하였다.

21. 행인 (杏仁, Apricot Kernel) *Armeniaca Semen*

1) 기원 및 성분

기원은 살구나무 *Prunus armeniaca* var. *ansu* 및 개살구나무 *Prunus mandshurica* var. *glabra* 또는 기타 동속 근연식물 (장미과 Rosaceae)의 씨이며, 성분규격은 아미그달린 (amygdalin) 3.0 % 이상이다. 행인은 거담약으로 진해, 평천, 면역증강, 혈당강하, 사하, 항암, pepsin 활성화 억제, 살충, 항균 등의 약리작용이 있다.

2) 정량법 (HPLC법)

행인 가루 약 0.5 g을 메탄올 50 mL를 넣고 2 시간 환류추출한 다음 여과한 이후, 도인의 amygdalin 정량법과 동일하다.

22. 호미카 (馬錢子, *Nux Vomica*) *Strychni Semen*

1) 기원 및 성분

기원은 마전 (馬錢) *Strychnos nux-vomica* (마전자과 Loganiaceae)의 씨이며, 성분규격은 스트리크닌 (strychnine) 1.05 % 이상이다. 호미카는 건위약으로 식욕부진, 소화불량, 타액 및 위액분비촉진 등에 사용된다.

2) 정량법 (HPLC법)

(1) 추출 및 검액제조

호미카 가루를 60 °C에서 8 시간 건조하고 약 1.0 g을 원심분리관에 넣고 강암모니아수 1 mL를 넣어 적신다. 여기에 에틸 20 mL를 넣고 마개를 막은 채 15 분간 흔들어서 원심분리하여 그 상정액을 취한다. 잔류물은 에틸 20 mL씩을 써서 다시 이 조작을 3 회 반복한다. 추출액을 합하고 수욕에서 에틸을 날려 보낸다. 잔류물을 이동상 10 mL에 녹이고 내부표준액 10 mL를 넣고 다시 이동상을 넣어 100 mL로 한다. 이 액을 공경 0.8 μm 이하의 여과지 (membrane filter)로 여과하여 처음 여액 2 mL는 버리고 다음 여액을 검액으로 한다.

(2) 표준액 제조 (내부표준법 적용)

표준품 질산스트리크닌 (strychnine nitrate) 약 75 mg을 달아 이동상에 녹여 50 mL로 한다. 이 액 10 mL를 취하여 내부표준액 10 mL를 넣고 다시 이동상을 넣어 100 mL로 하여 표준액으로 한다. 내부표준액은 바르비탈나트륨 (sodium barbital)의 이동상용액 (1 → 500)으로 사용한다.

(3) 기기분석 및 함량계산

검액 및 표준액 5 μL씩을 가지고 (4)의 조건으로 HPLC법에 따라 시험한다. 각 액의 내부표준물질의 피크면적에 대한 스트리크닌의 피크면적비 Q_T 및 Q_S 를 구한다.

검액의 스트리크닌의 함량(mg)

$$= \text{건조물로 환산한 질산스트리크닌 표준품의 양(mg)} \times \frac{Q_T}{Q_S} \times \frac{1}{5} \times 0.8414$$

계산식의 계수 0.8414는 질산스트리크닌 ($C_{21}H_{22}N_2O_2 \cdot HNO_3$; 397.42)에 대한 strychnine ($C_{21}H_{22}N_2O_2$; 334.41)으로 환산한, 즉 $334.41 / 397.42$ 의 값이다.

(4) 기기조건

UV 210 nm; 칼럼 φ 약 4 mm, 길이 약 15 cm, 입자크기 5 μm의 ODS 역상컬럼; 이동상은 (인산이수소칼륨 6.8 g을 물에 녹여 1000 mL로 한 액):ACN:triethylamine=45:5:1 혼합액을 인산으로 pH를 3.0으로 조정된 용액이다.

칼럼 선정시 표준액 5 μL를 가지고 위의 조건으로 조작할 때 내부표준물질, 스트리크닌의 순서로 유출하고 각각의 피크가 완전히 분리되는 것을 쓴다.

3) 다른 분석의 예

Choi *et al.* (2004)은 호미카의 strychnine 정량을 위하여 HPLC-ESI/MS 방법을 사용하였으며, 호미카는 포제가공처리되어 그 함량이 10 분의 1로 감소되었음을 확인하였다. Frederich *et al.* (2003)은 ¹H-NMR을 이용하여 strychnine과 brucine을 정량하였으며 HPLC 방법과 비교하였다.

23. 황금 (黃芩, *Scutellaria Root*) *Scutellariae Radix*

1) 기원 및 성분

기원은 속썩은풀 *Scutellaria baicalensis* (꿀풀과 Labiatae)의 주피를 벗긴 뿌리이며, 성분규격은 바이칼린 (baicalin) 10.0 % 이상이다. 황금은 건위약으로 항균, 항바이러스, 소염, 항알러지, 진정, 혈압강하, 혈중지질강하, 간기능보호, 이담, 항산화, 항혈액응고 및 항혈전, 세포면역 촉진, 항암 등의 약리작용이 있다.

2) 정량법 (HPLC법)

(1) 추출 및 검액제조

황금 가루 약 0.5 g을 이동상 30 mL를 넣어 환류냉각기를 달고 수욕에서 30 분간 가열한다. 식힌 다음 원심분리관에 옮겨 원심분리하여 상정액을 취한다. 환류추출한 용기에 이동상 30 mL를 넣어 씻고 씻은 액을 원심분리관에 옮겨 5 분간 흔들어서 섞은 다음 원심분리하여 상정액을 취한다. 잔류물에 이동상 30 mL를 넣고 5 분간 잘 흔들어서 섞은 다음 원심분리하여 상정액을 취한다. 추출액을 모두 합하여 이동상을 넣어 100 mL로 한 다음 이 액 2 mL를 취하고 이동상을 넣어 20 mL로 하여 검액으로 한다.

(2) 표준액 제조

표준품 baicalin 약 10 mg을 메탄올 20 mL로 녹인 다음 이 액 2 mL를 취하여 이동상으로 20 mL로 하여 표준액으로 한다.

(3) 기기분석 및 함량계산

검액 및 표준액 20 μL씩을 가지고 (4)의 조건으로 HPLC법에 따라 시험하여 각 액의 baicalin 피크면적 A_T 및 A_S 를 측정한다.

$$\text{검액의 baicalin의 함량(mg)} = \text{baicalin 표준품의 양(mg)} \times \frac{A_T}{A_S} \times 5$$

(4) 기기조건

검출 UV 277 nm; 칼럼 ODS 역상; 칼럼온도 50 °C; 이동상 묽은인산(1 → 146) : ACN = 18 : 7

3) 다른 분석의 예

명 등 (1999)은 황금의 baicalin, baicalein, wogonin 등의 정량시험에서 CE와 HPLC 방법을 비교하였으며, Li *et al.* (2004)은 황금의 유효성분의 정성 및 정량방법에 대하여 전반적으로 비교 및 고찰하여 보고하였다.

24. 황련 (黃連, *Coptis Rhizome*) *Coptidis Rhizoma*

1) 기원 및 성분

기원은 황련 *Coptis japonica* 또는 기타 동속식물 (미나리아재비과 Ranunculaceae)의 뿌리를 거의 제거한 뿌리줄기이며, 성분규격은 베르베린 (berberine) [염화베르베린 (berberine · Cl)으로서] 4.2 % 이상이다. 황련은 건위약, 지사약 (止瀉藥)으로 항균, 항바이러스, 해독, 해열, 소염면역증강, 항부정맥, 강심, 혈압강하, 혈소판응집 억제, 혈당강하, 항암 등의 약리작용이 있다.

2) 정량법 (HPLC법)

(1) 추출 및 검액제조

황련 가루 약 0.5 g을 메탄올·물은염산혼합액(100 : 1) 30 mL를 넣고 환류냉각기를 부착하고 수욕에서 30 분간 가열하여 식힌 다음 여과한다. 잔류물은 메탄올·물은염산혼합액(100 : 1) 30 mL 및 20 mL를 써서 다시 이 조작을 2 회 반복한다. 마지막 잔류물에 메탄올 10 mL를 넣어 잘 흔들어 섞은 다음 여과한다. 모든 여액을 합하고 메탄올을 넣어 100 mL로 하여 검액으로 한다.

(2) 표준액 제조

표준품 염화베르베린 (berberine chloride, $C_{20}H_{18}ClNO_4$; 371.81) 약 10 mg을 메탄올 100 mL로 녹여 표준액으로 한다.

(3) 기기분석 및 함량계산

검액 및 표준액 20 μ L씩을 취하여 (4)의 조건으로 HPLC법에 따라 시험하여 각 액의 베르베린의 피크면적 A_T 및 A_S 를 측정한다.

검액의 베르베린 [염화베르베린으로]의 함량(mg)

$$= \text{무수물로 환산한 염화베르베린 표준품의 양(mg)} \times \frac{A_T}{A_S}$$

(4) 기기조건

검출 UV 345 nm; 칼럼 ODS 역상; 칼럼온도 40 °C; 이동상은 water : ACN = 1 : 1 혼합용액 1000 mL에 인산이수소칼륨 3.4 g 및 라우릴황산나트륨 (sodium lauryl sulfate) 1.7 g을 넣어 녹인 용액이다.

3) 다른 분석의 예

Yang *et al.* (1998)은 황련의 alkaloid 성분의 분리 및 정량을 high-speed counter-current chromatography를 사용하였으며, Kim *et al.* (2004)은 ELISA 방법을 사용하기도 하였다.

25. 황백 (黃柏, *Phellodendron Bark*) *Phellodendri Cortex*

1) 기원 및 성분

기원은 황백나무 *Phellodendron amurense* 또는 기타 동속식물 (운향과 Rutaceae)의 주피를

벗긴 수피이며, 성분규격은 베르베린 (berberine) [염화베르베린 (berberine·Cl)으로서] 0.6% 이상이다. 황백은 황련과 같이 berberine이 주성분이며, 건위약, 지사약으로 향균, 항궤양, 혈압강하, 항부정맥 등의 약리작용이 있다.

2) 정량법 (HPLC법)

황련의 berberine 정량법과 같다.

26. 후박 (厚朴, Magnolia Bark) Magnoliae Cortex

1) 기원 및 성분

기원은 일본목련 *Magnolia ovobata*, *Magnolia officinalis* 또는 *Magnolia officinalis* var. *biloba* (목련과 Magnoliaceae)의 수피이며, 성분규격은 마그놀롤 (magnolol) 0.8% 이상이다. 후박은 건위약, 진통진경약 (위장약)으로 건위, 평활근이완, 항궤양, 향균, 항바이러스, 근육이완, 진정, 항알러지 등의 약리작용이 있다.

2) 정량법 (HPLC법)

(1) 추출 및 검액

후박 가루 약 0.5 g을 희석시킨 메탄올(7 → 10) 40 mL를 넣어 환류냉각기를 달고 수욕에서 20 분간 가열하고 식힌 다음 여과한다. 잔류물에 희석시킨 메탄올(7 → 10)을 넣어 같은 방법으로 조작한다. 여액을 모두 합하여 희석시킨 메탄올(7 → 10)을 넣어 100 mL로 하여 검액으로 한다.

(2) 표준액 제조

표준품 magnolol 약 10 mg을 희석시킨 메탄올(7 → 10) 100 mL로 녹여 표준액으로 한다.

(3) 기기분석 및 함량분석

검액 및 표준액 10 μL씩을 가지고 (4)의 조건으로 HPLC법에 따라 시험하여 각각의 액의 magnolol의 피크면적 A_T 및 A_S 를 측정한다.

$$\text{검액의 magnolol의 함량(mg)} = \text{magnolol 표준품의 양(mg)} \times \frac{A_T}{A_S}$$

(4) 기기조건

검출 UV 289 nm; 칼럼 ODS 역상; 칼럼온도 20 °C; 이동상 water:ACN:glacial acetic acid = 50 : 50 : 1

3) 다른 분석의 예

조 등 (1998)은 후박 등 유통 생약의 지표성분함량을 분석하였으며, PDA를 장착한 HPLC법 (Tsai & Chen, 1992)과 high-speed counter-current chromatography 분석방법 (Wang *et al.*, 2004)이 사용되기도 하였다.

참고문헌

1. Asano, T., C. Sadakane, K. Ishihara, T. Yanagisawa, M. Kimura, and H. Kamei. 2001. High-performance liquid chromatographic assay with fluorescence detection for the determination of cephaeline and emetine in human plasma and urine. *J. of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 757(2): 197-206.
2. Baricevic, D., A. Umek, S. Kreft, B. Maticic, and A. Zupancic. 1999. Effect of water stress and nitrogen fertilization on the content of hyoscyamine and scopolamine in the roots of deadly nightshade (*Atropa belladonna*). *Environmental and Experimental Botany* 42(1): 17-24.
3. Belajová, E. and M. Suhaj. 2004. Determination of phenolic constituents in citrus juices: Method of high performance liquid chromatography. *Food Chemistry* 86(3): 339-343.
4. Berenguer-Navarro, V., R. M. Giner-Galvan, N. Grane-Teruel, and G. Arrazola-Paternina. 2002. Chromatographic determination of cyanoglycosides prunasin and amygdalin in plant extracts using a porous graphitic carbon column. *J. Agric. Food & Chem.* 50(24): 6960-6963.
5. Bessieres, M. A., Y. Gilbon, J. C. Lefeuvre, and F. Larher. 1999. A single-step purification for glycine betaine determination in plant extracts by isocratic HPLC. *J. Agric. Food & Chem.* 47(9): 3718-3722.
6. Chen, F., H. T. Lu, and Y. Jiang. 2004. Purification of paeoniflorin from *Paeonia lactiflora* Pall. by high-speed counter-current chromatography. *J. of Chromatography A* 1040(2): 205-208.
7. Choi, Y. H., Y. M. Sohn, C. Y. Kim, K. Y. Oh, and J. W. Kim. 2004. Analysis of strychnine from detoxified *Strychno nux-vomica* seeds using liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. *J. of Ethnopharmacology* 93(1): 109-112.
8. Choi, Y. H., Y. W. Chin, J. W. Kim, S. H. Jeon, and K. P. Yoo. 1999. Strategies for supercritical fluid extraction of hyoscyamine and scopolamine salts using basified modifiers. *J. of Chromatography A* 863(1): 47-55.
9. Dost, K., and G. Davidson. 2000. Development of a packed-column supercritical fluid chromatography/atmospheric pressure chemical-ionisation mass spectrometric technique for the analysis of atropine. *J. Biochem. Biophys. Methods* 43(1-3): 125-134.
10. Ebata, N., K. Nakajima, K. Hayashi, M. Okada, and M. Maruno. 1996. Saponins from the root of *Bupleurum falcatum*. *Phytochemistry* 41(3): 895-901.
11. Eldawy, M. A., M. M. Mabrouk, and F. A. El-Barbary. 2003. Determination of chlorpheniramine maleate and tincture ipecac in dosage form by liquid chromatography with ultraviolet detection. *J. AOAC Int.* 86(4): 675-680.
12. Frank, S. and Jr. Santamour. 1998. Amygdalin in *Prunus* leaves. *Phytochemistry* 47(8): 1537-1538.
13. Frederich, M., Y. H. Choi, and R. Verpoorte. 2003. Quantitative analysis of strychnine and brucine in *Strychnos nux-vomica* using ¹H-NMR. *Planta Med.* 69(12): 1169-1171.
14. Hazra, B., M. D. Sarma, and U. Sanyal. 2004. Separation methods of quinonoid constituents of plants used in oriental traditional medicines. *J. of Chromatography B.* in press.
15. He, X. G., M. W. Bernart, L. Z. Lian, and L. Z. Lin. 1998. High-performance liquid chromatography·electrospray mass spectrometric analysis of pungent constituents of ginger. *J. of Chromatography A* 796(2): 327-334.

16. Jiang, Y., H. T. Lu, and F. Chen. 2004. Preparative purification of glycyrrhizin extracted from the root of liquorice using high-speed counter-current chromatography. *J. of Chromatography A* 1033(1): 183-186.
17. Kim, J. S., H. Tanaka, and Y. Shoyama. 2004. Immunoquantitative analysis for berberine and its related compounds using monoclonal antibodies in herbal medicines. *Analyst*. 129(1): 87-91.
18. Li, H., B. Li, Y. Jiang, and F. Chen. 2004. Separation methods used for *Scutellaria baicalensis* active components. *J. of Chromatography B*. in press.
19. Mouly, P., E. M. Gaydou, and A. Auffray. 1998. Simultaneous separation of flavanone glycosides and polymethoxylated flavones in citrus juices using liquid chromatography. *J of Chromatogrphy A* 800(2): 171-179.
20. Nogata, Y., H. Ohta, K. I. Yoza, M. Berhow, and S. Hasegawa. 1994. High-performance liquid chromatographic determination of naturally occurring flavonoids in Citrus with a photodiode-array detector. *J. of Chromatography A* 667(1-2): 59-66.
21. Phadke, M., R. T. Sane, S. N. Menon, P. S. Hijli, M. Shah, and P. H. Patel. 1998. Accelerated stability study on gingerol from *Zingiber officinale* using high performance thin layer chromatographic method. *Toxicology Letters* 95(S1): 152.
22. Roman, M. C. 2004. Determination of ephedrine alkaloids in botanicals and dietary supplements by HPLC-UV: collaborative study. *J. AOAC Int.* 87(1): 1-14.
23. Schaneberg, B. T., S. Crockett, E. Bedir, and I. A. Khan. 2003. The role of chemical fingerprinting: application to *Ephedra*. *Phytochemistry* 62(6): 911-918.
24. Sun, S. W. and H. T. Su. 2002. Validated HPLC method for determination of sennosides A and B in senna tablets. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 29(5): 881-894.
25. Takei, H., K. Nakauchi, and F. Yoshizaki. 2001. Analysis of swertiamarin in *Swertia* herb and preparations containing this crude drug by capillary electrophoresis. *Anal. Sci.* 17(7): 885-888.
26. Tsai, T. H. and C. F. Chen. 1992. Identification and determination of honokiol and magnolol from *Magnolia officinalis* by high-performance liquid chromatography with phtodiode-array UV detection. *J. of Chromatography A* 598(1): 143-146.
27. Wang, X., Y. Wang, Y. Geng, F. Li, and C. Zheng. 2004. Isolation and purification of honokiol and magnolol from cortex *Magnolia officinalis* by high-speed counter-current chromatography. *J. of Chromatography A* 1036(2): 171-175.
28. Xu, H., A. C. Templeton, and R. A. Reed. 2003. Quantification of 5-HMF and dextrose in commercial aqueous dextrose solutions. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 32(3): 451-459.
29. Xu, Y. C., L. X. Wei, and Y. L. Wang. 2001. Determination of cinnamic acid in *Cinnamomum cassia* Presl after compatibility in *Coptis chinensis* Franch. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 26(1): 47-49.
30. Yang, F., T. Zhang, R. Zhang, and Y. Ito. 1998. Application of analytical and preparative high-speed counter-current chromatography for separation of alkaloids from *Coptis chinensis* Franch. *J. of Chromatography A* 829(1-2): 137-141.
31. Yu, B. S., X. P. Yan, G. B. Zhen, and Y. P. Rao. 2002. RP-HPLC determination of puerarin in Chinese traditional medicinal preparations containing pueraria. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 30: 843-849.
32. Zhang, Q., A. Myint, L. Liu, X. Ge, and H. Cui. 2004. Flow injection-chemiluminescence determination of puerarin in pharmaceutical preparations. *J. of Pharm. Biomed. Anal.* in press.

33. Zhao, S., Q. Liu, X. Chen, and Z. Hu. 2004. Separation and determination of gentiopicroside and swertiamarin in Tibetan medicines by micellar electrokinetic electrophoresis. *Biomed. Chromatogr.* 18(1) : 10-5.
34. Zhu, S. H., S. Shimokawa, H. Tanaka, and Y. Shoyama. 2004. Development of an assay system for saikosaponin a using anti-saikosaponin a monoclonal antibodies. *Biol. Pharm. Bull.* 27(1): 66-71.
35. 강신복, 조정희, 김혜수, 김영립, 오미현, 강인호, 심영훈, 지선경, 함일권, 원도희, 김영중. 1997. 생약제제의 약제학적 연구(XI): 건강 및 그 함유제제의 성분추출량에 관한 연구. *식품의약품안전본부 연보 1*: 236-241.
36. 김호철. 2001. *한약약리학*. 집문당.
37. 명노홍, 채영주, 김명희. 1999. 모세관전기영동장치 및 고속액체 크로마토그래피에 의한 황금의 성분 분석법 비교 연구. *서울특별시보건환경연구원. 보건환경연구논문집 34*: 42-50.
38. 명노홍, 채영주, 이강문. 2000. 모세관전기영동장치 및 고속액체 크로마토그래피에 의한 목단피의 성분 분석법 비교 연구. *서울특별시보건환경연구원. 보건환경연구논문집 36*: 39-45.
39. 식품의약품안전청 대한약전제8개정편찬위원회. 2002. *대한약전 제8개정*. (주)약업신문.
40. 식품의약품안전청. 2002. *대한약전외한약(생약)규격집*. 동원문화사.
41. 원도희, 조정희, 김혜수, 고정현, 이종필, 박상애, 이하정, 육창수, 김일혁, 원봉필. 1997. 생약 및 생약제제의 규격에 관한 연구(XIV) -산수유의 분석법. *식품의약품안전본부연보 1*: 197-201.
42. 원도희. 1991. *상용생약의 성분정량*. 성은.
43. 일본약국방해설서편집위원회. 2001. *제14개정 일본약국방해설서*. 광천서점.
44. 장승엽, 강신정, 이종필, 박상용, 신지현, 정영자, 박진영, 하광원, 박종희, 박정일. 1998. 계피, 계지 및 계심의 규격 및 품질평가법에 관한 연구. *식품의약품안전청연보 2*: 223-232.
45. 정명근. 2002. 작약 식물체 부위별 성분 함량 변이. *한국약용작물학회지 10(5)*: 392-398.
46. 조정희, 강신복, 김혜수, 김영립, 오미현, 강인호, 박성수, 심영훈, 지선경, 함일권, 하광원, 김영중, 박만기. 1998. 생약의 표준화에 관한 연구(IV); 후박, 창출 및 백출의 표준화에 관한 연구. *식품의약품안전청연보 2*: 238-252.
47. 조정희, 강신복, 김혜수, 김영립, 오미현, 강인호, 박성수, 지선경, 함일권, 박만기. 1997. 생약표준화에 관한 연구(III) -글리시리진산 표준품 규격에 관한 연구. *식품의약품안전청연보 1*: 242-249.

Analytical Method for the Determination of Standard Compounds in Oriental Medicine Materials Listed in the Korean Pharmacopoeia (KPVIII)

Kwan-Su Kim[†] and Hocheol Kim*

[†]*Dept. of Medicinal Plant Res., College of Nat. Sci., Mokpo Nat'l Univ., Muan 534-729, Korea*

^{*}*Dept. of Herbal Pharmacology, College of Oriental Medicine, Kyung Hee Univ.,*

Seoul 130-701, Korea

+82-61-450-2661, kskim@mokpo.ac.kr