

생약복합제 GCSB-5의 품질 표준화를 위한 구척의 지표성분 탐색 및 HPLC 분석

차배천* · 이은희

상지대학교 보건과학대학 제약공학과

HPLC Analysis and Screening of Standard Compound on Cibotii Rhizoma for Standardization of GCSB-5 Preparation

Bae Cheon Cha* and Eun Hee Lee

Department of Pharmaceutical Engineering, College of Health Sciences, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

Abstract – GCSB-5 preparation is a purified extract from a mixture of 6 medicinal plants(Acanthopanax Cortex, Achyranthis Radix, Saposhnikoviae Radix, Cibotii Rhizoma, Glycine Semen Nigra, Eucommiae Cortex) that have been widely used for the treatment of various bone disorders. The aim of this study was to investigate HPLC analysis method and screening of standard compound on Cibotii Rhizoma for quality standardization of a medicinal crude drug GCSB-5. Onitin-4-O-β-D-glucopyranoside was isolated from Cibotii Rhizoma as the standard compound and identified on the basis of spectroscopic data such as NMR. HPLC analysis method for the determination of onitin-4-O-β-D-glucopyranoside was established for the quality control of the medicinal plants of Cibotii Rhizoma species, GCSB-5 raw material and GCSB-5 preparation. And validation of HPLC analysis methods were conformed for verification of HPLC methods by check to specificity, linearity, intra-day precision, inter-day precision and accuracy following ICH guideline.

Key words – HPLC analysis method, a medicinal crude drug, GCSB-5, Cibotii Rhizoma, *Cibotium barometz* J. Smith, onitin-4-O-β-D-glucopyranoside, validation

GCSB-5는 오가피(Acanthopanax Cortex, *Acanthopanax sessiliflorum* Seeman), 우슬(Achyranthis Radix, *Achyranthes bidentata* Blume), 방풍(Saposhnikoviae Radix, *Saposhnikovia divaricata* Schischkin), 구척(Cibotii Rhizoma, *Cibotium barometz* J. Smith), 흑두(Glycine Semen Nigra, *Glycine max* Merrill) 및 두충(Eucommiae Cortex, *Eucommia ulmoides* Oliver)으로 구성된 생약복합제로서 예로부터 골다공증, 관절염, 디스크 등의 각종 골질환 치료제로 널리 사용되어 오고 있는 추나약물(양근탕, 청파전 등 자생한방병원 고유 처방)을 바탕으로 하여 관절염, 소염, 항경련 및 골세포 퇴행감소 치료제로 개발되고 있는 천연물신약이다.¹⁾ 이와 같이 다수의 생약으로 혼합된 생약복합제들은 천연물신약으로서의 약효의 유효성과 제품의 안전성 확립을 위해서는 함유된 생약들에 대한 품질 규격화 연구가 필요하다.

이에 본 연구자들은 GCSB-5에 함유된 6종의 생약 중 지표 성분이 보고되어 있는 오가피,^{2,3)} 우슬,^{4,5)} 흑두^{6,7)} 및 두충^{8,9)}에 대해서는 생약의 품질 표준화를 위해 이들 지표 성분에 대하여 GCSB-5 원료 및 GCSB-5에 있어서 HPLC 분석법 및 함량 분석을 실시하여 그 결과를 보고하였다.^{10,11)} 또한 GCSB-5에 대해 보다 완전한 품질 관리를 위해 6종의 생약 중 지표 성분이 보고되어 있지 않은 2종의 생약인 방풍과 구척 가운데 먼저 방풍에 대해서도 지표 성분의 설정과 함께 방풍류와 GCSB-5 원료 및 GCSB-5에 있어서 지표 성분의 HPLC 분석법을 보고 하였다.¹²⁾ 본 연구에서는 지표 성분이 보고되어 있지 않은 나머지 생약인 구척에 대하여 GCSB-5의 품질 표준화를 위한 기준 및 시험방법 연구의 일환으로 구척으로부터 지표 성분의 선정과 함께 지표 성분의 HPLC 분석법 등을 연구하고자 하였다. 이를 위해 구척으로부터 column chromatography에 의해 구척 특이 성분 또는 주성분을 분리한 후 기기 분석 등의 물리화학적 방법에 의한 구조 결정 연구를 통하여 구척의 지표

*교신저자(E-mail): bccha@sangji.ac.kr
(Tel): +82-33-730-0554

성분을 탐색하였다. 계속하여 설정된 지표 성분에 대하여 구척 원생약류와 GCSB-5 원료와 GCSB-5에 있어서의 HPLC 분석 조건을 검토하여 확보된 구척의 지표 성분이 구척류에 적용 가능한 지표 성분 및 HPLC 분석법인지를 확인하였다. 또한 확립된 HPLC 분석법의 검증은 위해서는 ICH 가이드라인에¹³⁾ 따라 특이성(specificity), 직선성(linearity), 정확도(accuracy), 정밀도(precision) 등을 고려한 validation을 수행하였으므로 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험 재료 - 본 실험에 사용한 GCSB-5 원료는 6 종 생약(오가피 2.143 g, 우슬 2.143 g, 방풍 2.143 g, 구척 1.429 g, 흑두 1.429 g 및 두충 0.714 g의 비율)을 혼합하여 80-100°C의 열수로 3시간 추출 한 후 여액을 UF막을 사용하여 단계적으로 여과하여 분자량 10000 이하인 분획을 얻고 이를 저온 농축하여 5.1% 수율로 얻어지는 분말이며, GCSB-5는 1캡슐(350 mg)당 GCSB-5 원료 300 mg, 부형제인 이산화규소 48.5 mg, 활택제로서 스테아린산 마그네슘 1.5 mg으로 혼합 후 제조된 생약복합제이다. 이들 GCSB-5 원료와 GCSB-5 그리고 원생약인 구척(*Cibotii Rhizoma*)과 구척 유사 생약은 영창약업사 제품을 한풍제약(한국, 전주)으로부터 제공 받아 사용하였다.

기기 및 시약 - 실험에 사용된 HPLC는 Varian Prostar Workstation System(USA)을 사용하였으며, column은 Thermo(USA)사의 ODS Hypersil (4.6 × 250 mm, 5 μm)을 사용하였다. FT-NMR은 Varian Mercury 300 MHz(USA)를 이용하여 TMS를 내부 표준물질로 사용하여 측정하였으며, chemical shift는 δ로 나타내었다. 용점은 Mettler FR-5(Swiss) 용점 측정기를 사용하였고 보정은 하지 않았다. FT-IR은 Nicolet Impact 420(USA)을 사용하여 KBr법으로 측정하였고, UV는 Milton-Roy Spectronic Genesys-5(USA) 분광계를 사용하였다. 질량 분석은 JEOL JMSAX 505-WA(JAPAN) 질량 분석계를 사용하여 측정하였다. 지표 성분 분리를 위한 순상 column chromatography용 silical gel은 Kiesel gel 60(particle size 70-230 mesh, ASTM, Merck)을 사용하였고, Lipophilic Sephadex-LH 20은 Sigma사, 성분 확인용 TLC plate는 Kiesel gel 60F₂₅₄(ART. 5715, Merck)를 사용하였다. HPLC 용매인 acetonitrile과 MeOH은 HPLC용인 J. T. Baker사 제품을 사용하였고, 증류수는 3차 증류수를 여과하여 사용하였으며, 그 외에 시료 추출을 위한 용매는 특급 시약을 사용하였다.

지표 성분의 분리 - 음건한 구척 300 g에 증류수 700 ml를 가하여 수욕 상에서 3시간 2회 환류 추출하고, 여과 후 농축하여 구척 H₂O ext.(25.1 g)를 얻었다. 이 H₂O ext.를 CHCl₃과 MeOH을 20 : 1에서 5 : 1로 단계적으로 극성을

높인 용출 용매를 사용한 silica gel column chromatography를 실시하여 4개의 소분획인 fraction 1(5.5 g), fraction 2(3.4 g), fraction 3(4.7 g) 및 fraction 4(7.7 g)로 나누었다. TLC 등에 의한 주성분의 확인에 의해 지표 성분이 함유된 fraction 3을 CHCl₃과 MeOH 10 : 1에서 3 : 1의 용출 용매로 silica gel column chromatography에 의해 다시 3개의 소분획인 fraction 3-1(0.6 g), fraction 3-2(0.9 g) 및 fraction 3-3(1.3 g)으로 나누었고, 계속하여 fraction 3-2를 다시 MeOH과 H₂O 4 : 6에서 6 : 4의 용출 용매를 사용한 Lipophilic Sephadex LH-20으로 정제하여 화합물 1(0.45 g)를 얻었다.

화합물 1 - Light brown powder; m.p. : 178-180°C; UV max(MeOH) : 212, 239, 271 nm, IR_v^{KBr} max(cm⁻¹) 3397(OH), 1686(C=O), 1603(C=C); ¹H-NMR(CD₃OD) δ: 3.63(2H, t, J=9.9Hz, H-4), 3.08(2H, t, J=8.1Hz, H-14), 2.79(2H, s, H-3), 2.56(3H, s, H-13), 2.32(3H, s, H-15), 1.15(3H, s, H-11), 1.15(3H, s, H-12), 4.32(1H, d, J=7.8Hz, Glc-1'), 3.83(1H, dd, J=9.9, 1.8Hz, Glc-6'), 3.66(1H, dd, J=12.0, 5.4Hz, Glc-5'), 3.37(1H, dd, J=9.0, 0.9Hz, Glc-3'), 3.30(1H, m, Glc-6'), 3.28(1H, dt, J=5.4, 0.9Hz, Glc-4'), 3.20(1H, dd, J=7.8, 9.0Hz, Glc-2'); ¹³C-NMR(CD₃OD) δ: 213.6(C-1), 150.3(C-8), 137.4(C-5), 136.3(C-6), 131.4(C-7), 130.7(C-9), 129.0(C-10), 68.1(C-4), 45.4(C-2), 38.4(C-14), 29.6(C-3), 24.8(C-13), 12.1(C-11), 11.9(C-12), 103.3(Glc-1'), 78.3(Glc-5'), 76.9(Glc-3'), 73.9(Glc-2'), 70.3(Glc-4'), 61.4(Glc-6'); EI-MS m/z 410 [M]⁺

HPLC 분석을 위한 표준액의 제조 - 구척으로 분리한 지표 성분인 화합물 1을 표준물질로 하여 50% MeOH에 녹여 농도를 0.5 mg/ml로 만들었다. 이 용액을 단계적으로 희석하여 농도가 각각 5, 10, 20, 50, 100 μg/ml가 되도록 시료를 만들고, 15초 간 vortexing 한 후 0.45 μm membrane filter로 여과하여 사용하였다.

검액 제조

원생약의 검액 제조 - 구척의 지표 성분 분리에서의 실험과 동일하게 구척류 생약들로부터 추출 및 농축에 의해 구척류 H₂O ext.를 얻고, 검체는 구척류 H₂O ext. 0.3 g을 50% MeOH 10 ml로 녹이고, 15초 간 vortexing 한 후 0.45 μm membrane filter로 여과하여 검액으로 하였다.

GCSB-5 원료의 검액 제조 - GCSB-5 원료 0.3 g을 50% MeOH 10 ml로 녹이고, 15초 간 vortexing한 후 0.45 μm membrane filter로 여과하여 검액으로 하였다.

GCSB-5의 검액 제조 - GCSB-5의 캡슐 내용물 0.3 g을 취하여 50% MeOH 10 ml로 녹이고, 15초 간 vortexing한 후 0.45 μm membrane filter로 여과하여 검액으로 하였다.

HPLC 분석 조건 - 구척으로 분리한 화합물 1을 지표 물

질로 하여 **Oh** 등¹⁴⁾의 유사 화합물의 HPLC 분석 방법을 기초로 하여 분석 조건을 검토하였다. 칼럼은 ODS Hypersil (4.6 × 250 mm, 5 μm, Thermo)를 사용하였고, 칼럼 온도는 40°C, 검출기는 UV 210 nm, 이동상으로는 acetonitrile과 물을 사용하여 gradient profile로 실시하였고, 유속은 1 ml/min를 사용하여 실험하였다.

Gradient profile	Time (min)	Flow (ml/min)	Mobile phase	
			A (Acetonitrile)	B (Water)
	0:00	1.0	25	75
	8:00	1.0	25	75
	15:00	1.0	30	70
	30:00	1.0	30	70

분석 방법의 검증(validation)

특이성(Specificity) – ICH(International Conference on Harmonization) 가이드라인¹³⁾에 의한 분석법 validation을 수행하였다. 그 중 특이성은 불순물, 분해 산물, 기질 물질과 같이 예상할 수 없는 구성 성분의 존재 하에서 분석 물질을 확실하게 분석하는 능력으로, 다른 물질과의 간섭 없이 성분이 분리되는 것에 의해 특이성을 확인하였다.

직선성(Linearity) – 각 표준액에 대하여 확립된 HPLC 조건에 의하여 5개의 농도(5, 10, 20, 50, 100 μg/ml)별로 피크 면적비를 구하여 표준품 농도 (X축)와 피크 면적비 (Y축)에 대한 검량선을 작성하였고, 검량선으로부터 직선성의 상관계수를 구하여 확인하였다.

정밀성(Precision) – 일정 농도의 표준액을 일간 및 일내 변동을 알아보기 위해 설정한 5가지 농도를 하루에 5개씩 3일간 반복하여 측정된 결과를 피크 면적비의 변이계수(%)로 검토하였다.

정확성(Accuracy) – 표준액 3개 농도를 각 3회 주입하여 얻은 결과를 검량선에 대입하여 얻은 결과와 참값의 오차 정도(회수율, %)로서 정확성을 평가하였다.

$$\text{회수율(Recovery, \%)} = \frac{\text{측정농도}}{\text{이론농도}} \times 100$$

결과 및 고찰

오가피, 우슬, 방풍, 구척, 흑두 및 두충의 6종 생약으로 구성된 생약복합제 GCSB-5는 추나약물(양근탕, 청파전 등 자생한방병원 고유 처방)을 바탕으로 하여 관절염, 소염, 항경련 및 골세포 퇴행감소 치료제로 개발되고 있는 천연물 신약이다. 본 연구에서는 천연물신약으로 개발되고 있는

GCSB-5의 약효와 안전성 확립을 위한 품질 규격화 연구의 하나로, 6 가지 생약 중 지표 성분이 알려져 있지 않은 구척에 대하여 지표 성분의 분리와 구조 결정, 지표 성분의 HPLC 분석법 연구를 수행하였다.

구척은 구척과(Dicksoniaceae)의 고비(*Cibotium barometz* J. Smith)인 금모구척의 뿌리 줄기로서, 약재의 모양이 개의 척추 뼈와 비슷하다고 하여 구척이라 불리고 황금색의 털이 달려 있다고 하여 식물명이 금모구척이라 이름이 붙여진 것이다. 구척의 효능으로는 이뇨, 부종이 알려져 있으며 민간에서는 각기, 수종, 허리와 등의 동통에 쓰인다.^{15,16)} 또한 중약대사전의 기록에 의하면 구척은 진통 작용이 있는 것으로 보고되어져 있다.¹⁷⁾ 성분으로는 triterpene 성분인 woodwardinic acid, 아스파라긴산, 탄닌 등¹⁸⁾과 onitin, onitin-4-O-β-D-glucopyranoside, pterosin R(4-deoxy-4-chloro-onitin)¹⁹⁾이 알려져 있으며, 이 중 onitin은 평활근 이완 작용²⁰⁾과 간보호 및 free radical 소거 효과¹⁴⁾가 있는 것으로 보고되어 있다. 이와 같은 구척에 대하여 GCSB-5에 함유되어 있는 다른 생약의 성분들과 구별할 수 있는 지표 성분의 분리와 NMR 등의 기기 분석 실험에 의한 지표 성분의 구조 결정 및 구척류 생약과 GCSB-5 원료 및 GCSB-5에 있어서 지표 성분의 HPLC 분석 연구를 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

지표 성분의 분리 및 구조 확인 – 구척은 함량 규격화를 위한 지표 성분이 설정되어 있지 않으므로 GCSB-5 내에서 구척을 확인 및 정량할 수 있는 지표 물질을 단리 하였다. 구척 H₂O ext.를 CHCl₃과 MeOH 용매계에서 silica gel column chromatography에 의한 1차 분리에 이어 MeOH과 H₂O를 용매로 이용한 Lipophilic Sephadex LH-20으로 정제하여 주성분인 화합물 **1**을 분리하였다. 화합물 **1**은 갈색의 분말로서, TLC에서 10% 황산 발색에서 의해 짙은 갈색을 나타내었다. IR spectrum을 보면 3397 cm⁻¹에서 -OH에 의한 흡수대가 나타나고, 1686 cm⁻¹와 1603 cm⁻¹에서 각각 C=O기와 benzene기의 존재를 알 수 있었다. ¹H-NMR spectrum에서 d 2.56(s)과 2.32(s)에서 allylic methyl signal을 보였다. ¹³C-NMR에서는 δ 213.6에서 carbonyl 탄소를, δ 137.4, 136.3, 131.4, 150.3, 130.7, 129.0에서 나타나는 6개의 피크를 보아 aromatic ring에 치환체가 있음을 알 수 있었고, 이 비당부는 onitin의 NMR data와 유사하였다.²¹⁾ 한편 ¹H-NMR spectrum의 δ 4.32에서 당 유래의 anomeric proton이 J=7.8Hz의 doublet으로 나타나므로 glucose가 β 결합하고 있음을 추정할 수 있었고, 동시에 onitin의 ¹³C-NMR data에서 4번 탄소는 δ 61.3에서 관측되나 화합물 **1**의 ¹³C-NMR data에서 4번 탄소는 δ 68.1에서 나타나 glycosylation 효과가 관찰되므로 화합물 **1**은 onitin의 4번 탄소에 포도당이 β 결합하고 있음을 알 수 있었다. 이상의 기기 분석 data를 기존 문헌^{19,22-24)}과 비교 분석한 결과 화합물 **1**은 Fig. 1

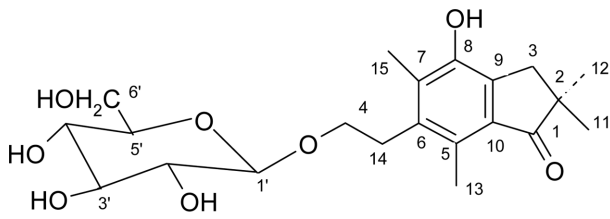


Fig. 1. Structure of onitin-4-O-β-D-glucopyranoside(compound 1) isolated from H₂O extract of *Cibotium barometz* J. Smith.

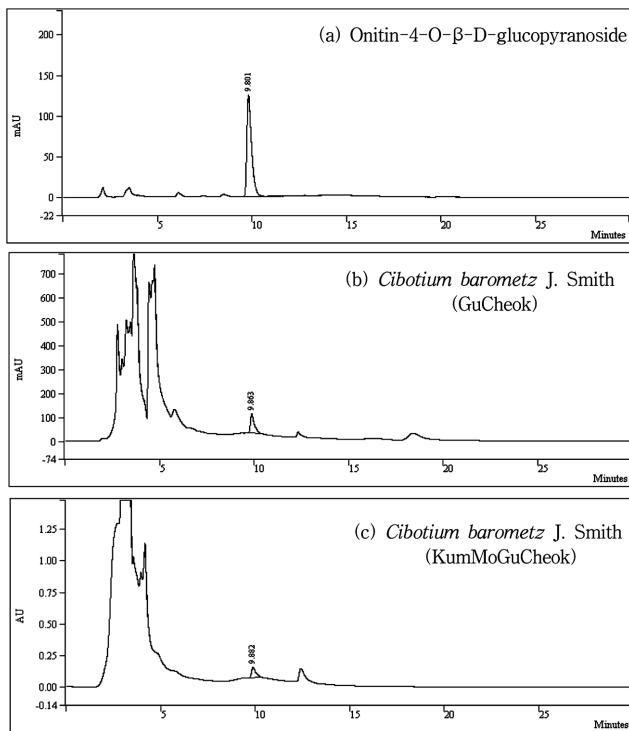


Fig. 2. HPLC chromatogram of onitin-4-O-β-D-glucopyranoside(a) and H₂O extract of *Cibotium barometz* J. Smith species.

에 나타낸 것과 같이 onitin을 비당부로 하고 그의 4번 탄소에 D-glucopyranosyl기가 β 결합된 배당체로서 약한 간보호 효과¹⁴⁾와 human Caco-2 cell 침투효과가 있는 것으로 알려진²⁵⁾ onitin-4-O-β-D-glucopyranoside로 구조를 확인 할 수 있었다.

HPLC 분석 - 표준액 및 검액의 분석을 위하여 기존의 유사 화합물을 분석한 HPLC 분석 조건¹⁴⁾을 기초로 ODS Hypersil(4.6×250 mm, 5 μm, Thermo) 칼럼과 40°C의 칼럼 온도, UV 210 nm 파장, 1 ml/mln의 유속에서 acetonitrile 과 물의 이동상을 이용한 gradient 시스템에서 구척의 지표 성분인 onitin-4-O-β-D-glucopyranoside의 분석 조건을 검토한 결과 기존의 분석 방법에서는 겹치던 피크를 이동상의 비율과 시간을 조절하여 9분대로 옮겨 분리하는 새로운 분석 조건을 개발하였다. 이를 생약복합체의 원료로 사용된

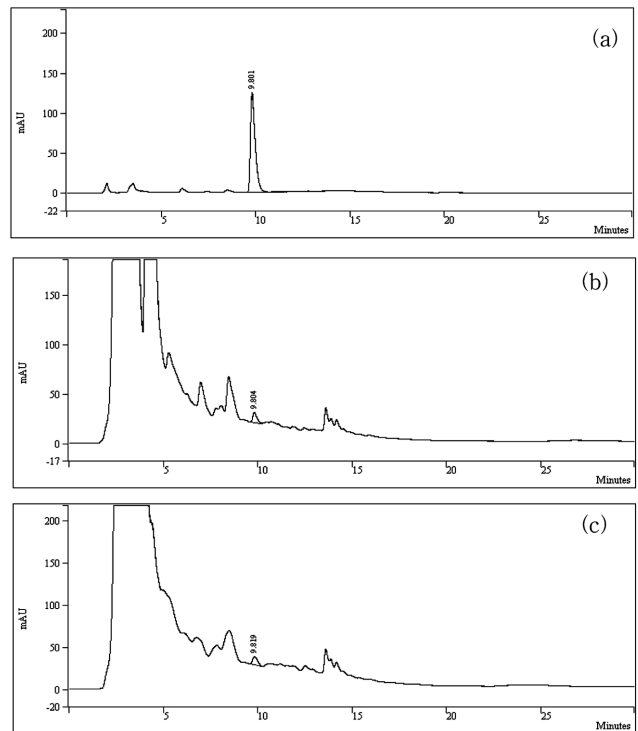


Fig. 3. HPLC chromatogram of onitin-4-O-β-D-glucopyranoside(a), GCSB-5-R(b) and GCSB-5(c).

구척과 유통품인 금모구척의 H₂O ext.에 대하여 분석을 실시한 결과, Fig. 2에 나타낸 것과 같이 onitin-4-O-β-D-glucopyranoside의 피크가 9.8분대에서 구척과 금모구척 H₂O ext.에서 모두 관측되었다. 이는 지표 성분이 보고되어져 있지 않는 구척의 품질 관리를 위한 지표 성분으로 onitin-4-O-β-D-glucopyranoside가 유용하게 이용될 수 있을 것으로 생각되었다. 동시에 구척의 지표 성분인 onitin-4-O-β-D-glucopyranoside를 이용하여 확립된 HPLC 분석 조건으로 GCSB-5 원료 및 GCSB-5에서도 분석을 실시한 결과 onitin-4-O-β-D-glucopyranoside가 다른 피크의 간섭 없이 분리되어 GCSB-5 중에서도 구척의 품질 관리가 가능한 분리능이 우수한 분석 조건이 확립되었음을 확인할 수 있었다.

분석법의 검증(Validation)

특이성 - 확립된 HPLC 조건으로 분석한 구척의 지표 물질, GCSB-5 원료인 GCSB-5-R과 GCSB-5의 HPLC 크로마토그램은 Fig. 3과 같다. Onitin-4-O-β-D-glucopyranoside의 피크 유지 시간은 9.8분대이고, GCSB-5 원료와 GCSB-5에서도 9.8분대로 onitin-4-O-β-D-glucopyranoside가 다른 성분들과 명확히 분리되었고 다른 물질과의 간섭이 없음이 확인되었다.

직선성 - 구척의 지표 물질인 onitin-4-O-β-D-glucopyranoside를 5, 10, 20, 50, 100 μg/ml의 농도별로 제조하고 확립된

Table I. Calibration curve equations, LOD and LOQ of onitin-4-O-β-D-glucopyranoside

Sample	Equation	R ²	LOD (μg/ml)	LOQ (μg/ml)
Onitin-4-O-β-D-glucopyranoside	y = 11578x - 2223.6	1	0.05	0.15

LOD : 3.3×(SD of the response / slope of the calibration curve)
 LOQ : 10×(SD of the response / slope of the calibration curve)

Table II. Precision and accuracy for the determination of onitin-4-O-β-D-glucopyranoside

Onitin-4-O-β-D-glucopyranoside concentration (μg/ml)	Precision CV(%) ^a		Accuracy (%)
	Intra-day (n=5)	Inter-day (n=5)	
5	0.20	0.09	98.60
10	0.07	0.30	
20	0.29	0.30	98.95
50	0.28	0.09	
100	0.04	0.03	99.98

^aCoefficient of variation = 100×(S.D./mean)

HPLC 조건으로 분석을 실시하여 x축은 농도, y축은 피크 면적으로 하여 검량선을 작성한 결과, Table I에 나타낸 것과 같이 직선성(R²)이 1.000인 상관관계를 나타내어 직선성이 인정되었다.

정밀성 - 일내 정밀도로서 구척의 지표 물질인 onitin-4-O-β-D-glucopyranoside의 5, 10, 20, 50, 100 μg/ml 농도의 표준액을 5회 측정하여 피크의 면적을 구하고, 이로부터 구한 일내 정밀도는 Table II에 나타낸 것과 같이 0.04-0.29%로 양호한 값을 나타내었다.

일간 정밀도에 있어서는 일내 정밀도를 측정한 동일한 농도의 표준액을 1일 1회 3일간 반복 측정하여 농도에 따른 피크의 면적을 구하고, 이로부터 구한 구척의 onitin-4-O-β-D-glucopyranoside 일내 정밀도는 0.03-0.30%로 양호하였으며 Table II에 나타내었다.

정확성 - 구척의 지표 물질인 onitin-4-O-β-D-glucopyranoside의 5, 20, 100 μg/ml 농도의 표준액을 각각 3회 측정하여 Table I에 나타난 검량선을 이용하여 원래의 농도로 환산하였다. 이로부터 구한 구척의 onitin-4-O-β-D-glucopyranoside 분석법의 정확도 평균은 Table II에 나타낸 것과 같이 각각의 농도에서 98-99%로 양호한 수치를 보였다.

결 론

골다공증, 관절염, 디스크 등의 골질환 치료제로 개발 중

인 천연물신약 GCSB-5의 품질 표준화에 관한 연구의 일환으로 6종의 구성 생약 중 지표 성분이 규정되어 있지 않은 구척에 대하여 지표 물질의 선정, HPLC 분석법 개발 및 validation 연구를 실시하였다. 지표 성분이 알려져 있지 않은 구척에 있어서 GCSB-5에 포함된 다른 생약들과 구별되는 지표 성분의 설정을 위해 구척으로부터 주성분의 추출, 분리 정제 및 구조 확인에 의해 onitin-4-O-β-D-glucopyranoside를 지표 성분으로 선정하였다. 계속하여 onitin-4-O-β-D-glucopyranoside를 지표 물질로 하여 HPLC 분석과 validation을 실시한 결과, 피크유지 시간은 9.8분대로 다른 물질과의 간섭이 없는 특이성을 나타내었고, 상관계수는 1.000으로 직선성을 나타내었다. 또한 1% 이하의 일내 정밀도와 일간 정밀도, 90% 이상의 분석 정확도를 나타내었다. 따라서 구척으로부터 분리한 onitin-4-O-β-D-glucopyranoside는 생약복합제 GCSB-5에 있어서 구척에 대한 품질 규격 기준을 마련하기 위한 지표 성분으로 규정하였다.

사 사

본 연구는 상지대학교 2008년 교내 연구비에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. Lee, C. H., Kim, S. H., Lee, J. S., Cho, K. H., Kim, J. S., Cho, S. H. and Lee, S. M. (2005) Evaluation of the anti-nociceptive properties of GCSB-5, a herbal formulation. *Kor. J. Pharmacogn.* **36**: 299-304.
2. Lee, S. H., Kang, S. S., Cho, S. H., Ryu, S. N. and Lee, B. J. (2005) Determination of Eleutheroside B and E in various parts of *Acanthopanax* species. *Kor. J. Pharmacogn.* **36**: 70-74.
3. Hong, S. S., Hwang, J. S., Lee, S. A., Hwang, B. Y., Ha, K. W., Ze, K. R., Seung, R. K., Ro, J. S. and Lee, K. S. (2001) Isolation and quantitative analysis of acanthoside D from *Acanthopanax* Cortex. *Kor. J. Pharmacogn.* **32**: 316-321.
4. Shi, Q., Yan, S., Liang, M., Yang, Y., Wang, Y. and Zhang, W. (2007) Simultaneous determination of eight components in *Radix Tinosporae* by high-performance liquid chromatography coupled with diode array detector and electrospray tandem mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **43**: 994-999.
5. Son, K. H., Hwang, J. H., Lee, S. H., Park, J. H., Kang, S. J., Chang, S. Y. and Lee, K. S. (1999) Isolation and quantitative determination of 20-hydroxyecdysone from *Achyranthis Radix*. *Kor. J. Pharmacogn.* **30**: 335-339.
6. Kim, K. S., Kim, M. J., Park, J. S., Sohn, H. S. and Kwon, D. Y. (2003) Compositions of functional components of tra-

- ditional korean soybeans. *Food Sci. Biotechnol.* **12**: 157-160.
7. Fukutake, M., Takahashi, M., Ishida, K., Kawamura, H., Sugimura, T. and Wakabayashi, K. (1996) Quantification of genistein and genistin in soybeans and soybean products. *Food Chem. Toxicol.* **34**: 457-461.
 8. Ran, X., Liang, Q., Luo, G., Liu, Q., Pan, Y., Wang, B. and Pang, C. (2006) Simultaneous determination of geniposide, baicalin, cholic acid and hydoxycholic acid in rat serum for the pharmacokinetic investigations by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B.* **842**: 22-27.
 9. Son, K. H., Lee, J. M., Chang, S. Y. and Lee, K. S. (2001) Isolation and quantitative determination of geniposide from *Eucommia ulmoides* Oliver. *Kor. J. Pharmacogn.* **32**: 89-92.
 10. Lee, E. H. and Cha, B. C. (2009) Quantitative analysis of Glycine Semen Nigra and Eucommiae Cortex for standardization of GCSB-5 preparation. *Kor. J. Pharmacogn.* **40**: 18-24.
 11. Lee, E. H. and Cha, B. C. (2008) Quantitative analysis of Acanthopanax Cortex and Achyranthis Radix for standardization of GCSB-5 preparation. *Kor. J. Pharmacogn.* **39**: 316-323.
 12. Cha, B. C. and Lee, E. H. (2009) HPLC analysis and screening of standard compound on Saposchnikovia Radix for standardization of GCSB-5 preparation. *Kor. J. Pharmacogn.* **40**: 103-108.
 13. 의약품평가부 (2004) 의약품 등 분석법의 밸리데이션에 대한 가이드라인. 식품의약품안전청, 5-12.
 14. Oh, H. C., Kim, D. H., Cho, J. H. and Kim, Y. C. (2004) Hepatoprotective and free radical scavenging activities of phenolic petrosins and flavonoids isolated from *Equisetum arvense*. *J. Ethnopharmacol.* **95**: 421-424.
 15. 안덕균 (1998) 원색 한국본초도감, 724. (주)교학사, 서울.
 16. 한의학대사전편찬위원회 (1998) 한의학대사전, 178. 도서출판 정담, 서울.
 17. 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순 (1999) 중약대사전, 477. 도서출판 정담, 서울.
 18. Namba, T. (1993) The Encyclopedia of Wakan-Yaku with Color Pictures(I), 86. Hoikusha Pub. Co., Osaka, Japan.
 19. Murakami, T., Satake, T., Ninomiya, K., Iida, H., Yamauchi, K., Tanaka, N., Saiki, Y. and Chen, C. M. (1980) Pterosin-derivate aus der Familie Pteridaceae. *Phytochemistry* **19**: 1743-1746.
 20. Ho, S. T., Yang, M. S., Wu, T. S. and Wang, C. H. (1985) Studies on the Taiwan folk medicine III. A smooth muscle relaxant from *Onychium siliculosum*, onitin. *Planta Med.* **51**: 148-150.
 21. Kim, S. T., Han, Y. N., Son, Y. K., Jang, H. S., Kim, S. J. and Shin, J. S. (2002) Isolation of efficacy constituent for neuronal regeneration from *Cibotium barometz*. *Yakhak Hoeji* **46**: 398-404.
 22. Satake, T., Murakami, T., Saiki, Y., Chen, C. M. and Gomez, P. L. D. (1984) Chemical and chemotaxonomical studies on filices L. Chemical studies on the constituents of *Costa Rican* Ferns. *Chem. Pharm. Bull.* **32**: 4620-4624.
 23. Wada, H., Gaino, M. and Saito, S. (1974) Furochromones of *Eranthis Pinnatifida*. *Phytochemistry* **13**: 297-299.
 24. Banerji, A., Ramakrishnan, G. and Chadha, M. S. (1974) Onitin and onitisin, new phenolic pterosins from fern *Onychium auratum*. *Tetrahedron Lett.* **15**: 1369-1370.
 25. Wu, Q. and Yang, X. W. (2009) The constituents of *Cibotium barometz* and their permeability in the human Caco-2 monolayer cell model. *J. Ethnopharmacol.* **125**: 417-422.

(2010년 1월 23일 접수)