

## 초고성능액체크로마토그래프법에 의한 황경피엑스에서 베르베린의 정량

윤정호, 리현희, 최경희

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《제약공업부문과 의료기구공업부문에서는 생산을 정상화하고 의약품과 의료기구의  
가치수를 높이며 그 질을 더욱 높여야 하겠습니다.》(《김정일전집》 제23권 202페이지)

황경피는 오래전부터 건위약, 열물내기약, 소염약, 장내살균약으로 널리 쓰이고있으  
며 주요성분인 베르베린을 추출하여 치료사업에 적용하고있다. 베르베린은 대장균, 티브  
스균, 콜레라균, 포도알균, 그람음성균, 그람양성균, 림균에 대하여 센 항균작용을 하며  
염증치료작용, 위액분비작용, 담즙분비작용, 심장피줄계통에 대한 작용, 자궁수축작용, 폐  
염쌍알균, 결핵균에 대한 증식억제작용을 나타낸다.

황경피엑스속에 들어있는 베르베린은 비색법[1], 얇은층크로마토그래프법[2], 자외선  
분광광도법[7], 고성능액체크로마토그래프법[3, 4], 액체크로마토그래프-질량분석법[5, 6]  
으로 분석하고있다.

우리는 황경피엑스에서 베르베린을 초고성능액체크로마토그래프법(UPLC)으로 정량  
하기 위한 연구를 하였다.

### 실 험 방 법

기구로는 초고성능액체크로마토그래프(《ACQUITY UPLC》), 빛2극소자배렬검출기, 전  
자천평(《AEG-120》), 초음파분산기(《KM-410L》), 10 및 25mL 눈금플라스크, 질량검출기  
(《SQD-2》)를, 시약으로는 아세토니트릴(HPLC급), 메틸알콜(HPLC급), 베르베린(표준용액),  
초순수, 0.1% 개미산, 1% 염산을 리용하였다.

베르베린의 초고성능액체크로마토그래프특성은 일정한 량의 베르베린표준용액을  
UPLC체계에 주입하여 연구하였다. 탑으로는 ACQUITY HSS T3(1.8 $\mu$ m, 2.1mm $\times$ 150mm)을,  
이동상으로는 0.2% 개미산(A)과 아세토니트릴(B)을 리용하여 류속 0.2mL/min으로 구배용  
출(표 1)을 진행하였으며 시료주입체적 10 $\mu$ L, 측정시간 13min, 측정파장 348nm인 조건에  
서 측정하였다.

표 1. 구배용출조건

No.	시간/min	류속/(mL $\cdot$ min <sup>-1</sup> )	이동상 A함량/%	이동상 B함량/%
1	0	0.20	80	20
2	9	0.20	30	70
3	11	0.20	80	20
4	13	0.20	80	20

시료에서 베르베린의 추출은 일정한 량의 시료를 취하여 1% 염산 10mL에 풀고 초  
음파분산기로 20min동안 분산시켰다. 그 다음 용액을 원심분리하고 적당한 량의 상등액  
을 취하여 초고성능액체크로마토그래프측정을 진행하였다.

## 실험결과 및 고찰

베르베린의 크로마토그램 위의 측정조건에서 측정한 베르베린표준물질의 초고성능액체 크로마토그램은 그림 1과 같다.

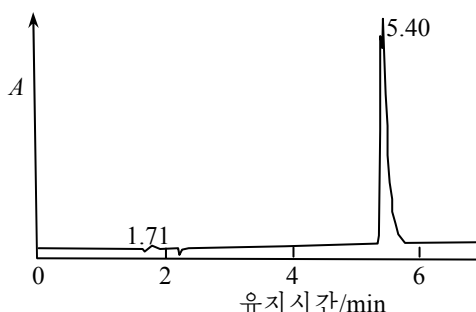


그림 1. 베르베린표준물질의 초고성능액체크로마토그램

그림 1에서 보는바와 같이 베르베린의 유지시간은 5.40min이라는것을 알수 있다.

황경피엑스에서 추출한 베르베린의 초고성능액체크로마토그램은 그림 2와 같다.

그림 2에서 보는바와 같이 황경피엑스에서 추출한 베르베린의 유지시간은 5.38min으로서 베르베린표준물질의 유지시간과 약간 차이난다. 따라서 베르베린의 초고성능액체크로마토그래프분리정도를 질량스펙트럼검출기로 확인하였다.(그림 3)

그림 3에서 보는바와 같이  $m/z$  335는 베르베린(분자량 336)의  $[M-H]^+$ 이다. 그리고 질량스펙트럼에 다른 이온들이 나타나지 않으므로 UPLC체계에서 분리가 원만히 진행되었다고 볼수 있다.

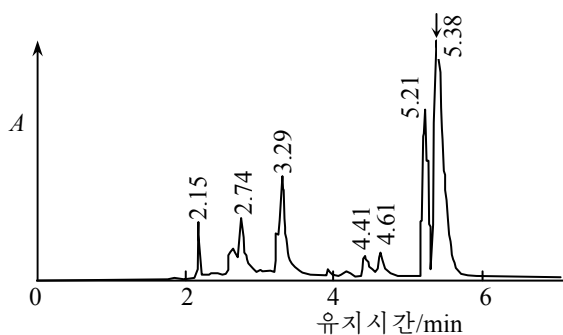


그림 2. 황경피엑스에서 추출한 베르베린의 초고성능액체크로마토그램

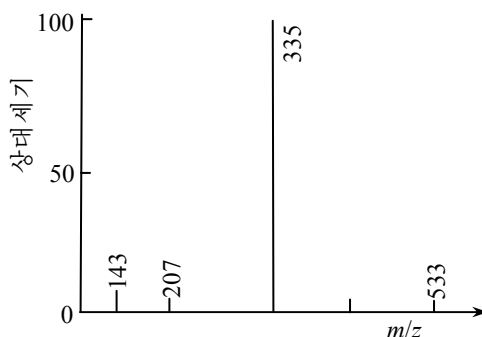


그림 3. 그림 2의 5.38min에서 나타난 봉우리의 질량스펙트럼

용매의 영향 시료에서 베르베린의 추출에 미치는 여러가지 용매의 영향은 표 2와 같다.

표 2에서 보는바와 같이 베르베린은 1% 염산에 제일 잘 추출되므로 황경피엑스에서 베르베린의 추출은 1% 염산으로 하였다.

초음파분산시간의 영향 황경피엑스에서 베르베린의 추출에 미치는 초음파분산시간의 영향은 표 3과 같다.

표 3에서 보는바와 같이 초음파분산시간 15min이상에서는 추출되는 베르베린의 함량이 일정하므로 초음파분산시간을 20min으로 정하였다.

표 2. 베르베린의 추출에 미치는 여러가지 용매의 영향

No.	용매	베르베린의 함량/%
1	0.5% 염산	3.59
2	1.0% 염산	3.71
3	1.5% 염산	3.70
4	증류수	2.72
5	99% 메타놀	2.68
6	75% 메타놀	2.90
7	50% 메타놀	3.04

선형범위와 검출한계 베르베린의 농도와 초고성능액체크로마토그램봉우리면적사이에

는  $0.05 \sim 40 \mu\text{g/mL}$ 의 범위에서 선형관계가 성립된다.(그림 4)

표 3. 베르베린의 추출에 미치는 초음파분산시간의 영향

시간/min	3	6	9	12	15	18	21
베르베린함량/%	0.80	1.78	2.31	2.96	3.71	3.71	3.71

이때 상관결수( $R^2$ )는 0.997이며 검출한계( $S/N=3$ )는  $0.05 \mu\text{g/mL}$ 이다.

대상물분석 표준첨가법으로 대상물분석을 진행하였다.

저울질한 일정한 량의 시료(황경피에서 추출하여 얻은 엑스)와 베르베린표준용액을 10mL 눈금플라스크에 넣고 눈금까지 1.0% 염산용액을 넣었다. 20min동안 초음파분산시킨 후 원심분리관에 옮겨 7 000r/min에서 원심분리하고 일정한 량의 상등액을 취해 UPLC체계에 주입하였다. 분석결과는 표 4와 같다.

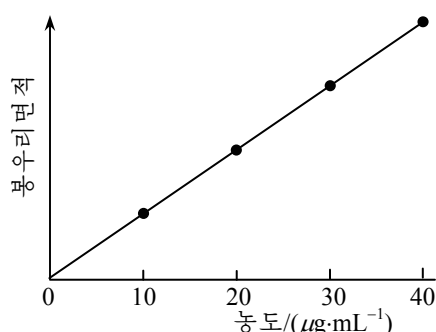


그림 4. 베르베린의 농도와 크로마토그램 봉우리면적사이 관계

표 4. 분석결과

시료번호	함량/%	변동결수/%	회수률/%
1	3.71	2.25	98.4
2	3.55	2.81	97.1
3	3.63	2.01	98.0
4	3.80	3.16	98.8
5	3.46	3.86	96.5

황경피엑스에서 베르베린을 정량할 때 변동결수( $n=5$ )는 3.86%이하였으며 실제 시료에 첨가한 베르베린의 회수률은 96.5%이상이었다.

## 맺는 말

초고성능액체크로마토그래프법(UPLC)으로 황경피엑스속의 베르베린정량방법을 확립하였다.

검량선의 선형범위는  $0.05 \sim 40 \mu\text{g/mL}$ , 검출한계( $S/N=3$ )는  $0.05 \mu\text{g/mL}$ 이며 황경피엑스에서 베르베린을 정량할 때 변동결수는 3.86%이하, 회수률은 96.5%이상이다.

## 참고 문헌

- [1] 신혁철 등; 조선약학, 4, 2, 주체103(2014).
- [2] Zeeshan Ahmed Sheikh et al.; Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 5, 955, 2015.
- [3] Xiaoyuan Ding et al.; J. Sep. Sci., 38, 374, 2015.
- [4] Lihong Liu et al.; Analytica Chimica Acta, 737, 99, 2012.
- [5] Yan-Xu Chang et al.; Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 117, 1, 2016.
- [6] Yu Ai et al.; Journal of Mass Spectrometry, 50, 567, 2015.
- [7] 王丽峰 等; 天津中医药大学学报, 33, 36, 2014.

## **Determination of Berberine in Bark Extract of Amur Cork by Ultra Performance Liquid Chromatography**

*Yun Jong Ho, Ri Hyon Hui and Choe Kyong Hui*

We established the method to determine berberine in bark extract of amur cork by ultra performance liquid chromatography(UPLC).

The linear range of calibration of berberine is  $0.05 \sim 40 \mu\text{g/mL}$ , the detection limit( $S/N=3$ ) is  $0.05 \mu\text{g/mL}$ , the variation coefficient is below 3.86% and the recovery is up to 96.5%.

Keywords: UPLC, berberine