

전탕에 의한 약침 황금제제의 제조에 관한 연구

고병섭 주혜정 마진열* 박갑주** 안상우***

한국한의학연구소 한약연구부 한약제제연구실

* 한국한의학연구소 공동실험실

** 한국한의학연구소 기초연구부 기초이론연구실

*** 한국한의학연구소 임상연구부 임상연구실

1. 서론

약침은 경락학설을 근거로 한약재를 사용하여 추출액을 경혈에 주입하는, 약과 침으로 구성된 신침요법으로 탁월한 효과를 나타내어 임상에서 관심이 고조되고 있으며, 양방에서도 통증치료의 방법으로 약침과 유사한 치료법이 최근 연구 발표되고 있다.

약침제제는 제조방법에 있어서 많은 연구가 진행되고 있으나¹⁾²⁾³⁾, 약침액의 원료가 자연적 조건에서 생산 되는 천연물인 관계로 여러 가지 해결해야 할 문제들을 내포하고 있다. 제제의 문제점으로 이와 최는¹⁾ 원론적인 방향을 제시하고 있으며, 이등²⁾은 품질의 규격화 및 안전의 면에서 연구의 방향,

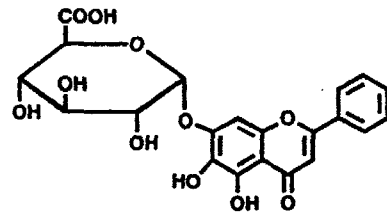
주와 황³⁾은 제조법의 규격화와 안정성에 관한 문제를 지적하고 있다.

약침제제의 제조는 에탄올침전법과 수증기증류법으로 크게 대별되고⁴⁾, 이 방법들을 응용하여 여러 가지 약침제제들을 만들고 있는데 많은 문제점들을 내포하고 있다. 약침제제의 기본재료인 한약재는 다성분으로 구성되어 있는데, 일반적으로 비슷한 물리·화학적 특성을 가진 성분들은 未知 혹은 既知의 화합물로 되어 있더라도 동등한 비율로서 제제중에 이행(이행율)⁵⁾된다고 생각되어진다. 성분이 행율의 산출은 약침제제의 규격화, 통일화 그리고 다양화의 측면에서 매우 중요한 인자라고 생각되어진다.

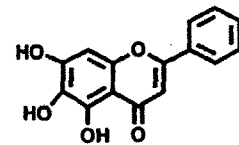
본 연구에서는 약침제제의 공정에 있어 효율성과 재현성을 조사하기 위한 연구의 일환으로서 탱액을 만드는 방법인 전탕법과 잡질을 제거하기 위한 여과방법들을 응용하여 약침 황금제제를 만들고 각 공정별 성분이행율과 희석에 의한 영향을 살펴보았는데, 약침제제의 규격화, 통일화 그리고 다양화면에서 유용한 결과를 얻었기에 보고한다.

료주입기는 AS3500으로 구성된 Spectra System^R을 사용하였다.

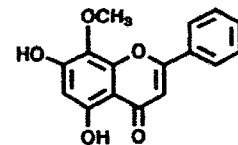
黃芩 (*Scutellariae Radix*, 봉화)



Baicalin 1



Baicalein 2



Wogonin 3

II. 재료 및 방법

실험재료 및 기기

본 실험에 사용한 황금(*Scutellariae Radix*)은 금년 3월에 경동시장의 국산한약재 전시장에서 구입한 것(생산지: 봉화)을 사용하였다. 지표성분으로 사용한 표준시약은 baicalin(1), baicalein(2), wogonin(3)을 선정하여 Wako社에서 시판하고 있는 생약시험용을 사용하였다. 박층크로마토그래피(TLC)는 Merck사의 RP18F254S(20×20cm, thickness 0.25mm)를 사용하였다. 여과용필터는 Toyo No. 2, Nalgene membrane 0.8, 0.45 와 0.2 μ m, 그리고 Sartorius사의 Ultrafilter EasyFlow^R M.W 30,000, M.W. 5,000과 Toyo사의 USY-1 M.W. 10,000을 사용하였다. 자동운송 여과장치를 위한 운송시스템은 Sartorius사의 Peristaltic pump 16697를 사용하였다. 고속액체크로마토그래피(HPLC)는 Thermo사의 제품으로 펌프는 P4000, 검출기는 UV1000, 그리고 자동시

시료의 조제

환류냉각기가 부착된 플라스크에 황금가루(100mesh) 10g당 증류수 100ml를 넣고 마그네틱 각반기로 저어주면서 서서히 열을 가해서 2시간동안 환류하고 전탕액이 약 40℃가 될때까지 방치

후, 원심분리(4000×g)하여 상등액을 정성여과지 No. 2위에 celite를 깔고 여과하였다. 여과액을 냉장고(4℃)에서 하루밤 방치후 침전물을 제거하고, Ultrafilter M.W. 30,000가 설치된 자동운송여과장치를 이용하여 여과하고 0.8 μ m membrane 필터로 여과하였다. 여과액을 0.45 μ m membrane와 Ultrafilter M.W. 5,000가 설치된 자동운송여과장치로 여과하고, 여과액의 총부피를 황금 10g당 250ml비율로 한 후, 무균실에서 0.2 μ m membrane 필터로 여과하여 약침제제로 사용하였다.

미생물검사 및 이물질검사

1) 미생물검사 : ① 세균검사~한천배지(중류수 1L당 육즙 3g, 펩톤 10g, 식염 5g, 한천분말 15g)에 약침 황금제제를 접종하고 37℃, 16시간 평판배양하여 콜로니를 관찰하였다. ② 진균검사~포테토·스크로스배지(중류수 1L당 감자 300g, 설탕 20g, 한천분말 15g)에 약침 황금제제를 접종하고 28℃, 72시간 평판배양하여 콜로니를 관찰하였다.

2) 이물질검사 : ①약침 황금제제를 현미경용 커버글라스위에 한방울 떨어뜨리고 현미경으로 관찰하였고, ② 일주일에 두 번 3개월간 침전의 발생여부를 육안으로 관찰하였다.

희석액의 조제

조제된 약침 황금제제 1ml를 무균수를 사용하여 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000배로 순차적으로

로 각각 희석하여 시료로 사용하였다.

정량 및 정성분석⁵⁾

1) 표준액의 조제 ; 지표성분으로 선정된 baicalin(1), baicalein(2), wogonin(3)을 각각 1mg씩 정확히 칭량하고 메칠알콜 10ml에 녹여 사용하였다.

2) HPLC의 조건

칼 램; Alltech Alphabond C18 125A 10U

이동상; MeOH : 0.1M Phosphate buffer (pH

2.3) = 55 : 45

유 속; 1ml/min

온 도; 30℃

검출기; UV 254nm

주입량; 20 μ l

3) TLC의 조건

박 층; Merck RP₁₈F₂₅₄S(20×20cm, thickness 0.25mm)

전개용매; 0.1M Phosphate buffer(pH 2.3) = 55 : 45

검 출; UV 254nm, 20% H₂SO₄

III. 결과 및 고찰

약침수액제제의 제법은 현재 규격화, 통일화 그리

고 다양화의 측면에서 연구된 적이 없어 재현성에 많은 의문을 가지고 있다. 주와 황³⁾에 의하면 가장 많이 이용되고 있는 물추출 에탄올침전법외에 7가지 방법을 사용하고 있다고 보고하고 있는데, 그 공정을 보면 제제의 유효성(Availibility)과 안정성(Stability), 그리고 안전성(Safety)을 전혀 고려하지 않고 있어서 많은 문제를 내포하고 있다.

한약재는 천연품이어서 자연조건에 따라 성분량도 달라지고 제제과정중에서 성분의 분해, 변화가 일어나기도 한다. 또한, 한약재는 약효와 관련되는 성분과 그외의 성분들을 함유하고 있는데, 이러한 성분들은 이미 알려진 것들도 있으나 알려지지 않은 성분들도 많이 있어 성분면으로부터의 일정성(Constancy)만의 접근은 한계가 있다.

본 연구에서는 이러한 문제를 해결하기 위해 약침제제의 규격화, 통일화측면에서 재현성있는 제법을 강구하고자 공정의 각단계별로 성분이행율(Availibility)을 도입하였다. 그리고, 회석법을 도입하여 안정성(Stability)과 안전성(Safety)의 측면에서 다양화의 가설을 설정하고자 하였다.

공정의 각단계별 성분이행율(Fig.1)과 회석법(Fig.2)에 의한 성분이행의 정량은 HPLC를 이용하여 외부표준물질법으로 실험하였다. 성분이행율(X)은 황금 1g에 포함된 지표성분의 함량을 mg으로 계산하여 백분율로 나타냈다. 그 결과들은 Table. 1과 Table. 2로 정리하였다. 성분이행율을 정량하기 위해 baicalin(1), baicalein(2), wogonin(3)을 지표성분으로 정하였는데, 이들의 보지시간(Rt)은 각각 4.64, 8.62, 12.52분이었다. 검량선은

baicalin(1)이 $Y=0.00314x+2.0$,

baicalein(2)이 $Y=0.00174x-7.0$,

wogonin(3)이 $Y=0.00198x+6.0$ 으로 직선상을 나타냈고, TLC의 결과에서도 baicalin(1), baicalein(2), wogonin(3)이 각각 확인되었다⁵⁾.

공정의 각단계별 성분이행율은 Table. 1에서 보면 여과에 의해 지표성분이 전체적으로 손실됨을 알 수 있다. A단계 → B단계에서 이행율에 대한 손실이 가장 컸는데, 예비실험에서 A단계를 거치지 않고 직접 B단계를 했을 때 오랜 시간이 걸렸는데 A단계를 실시함으로써 이 문제가 용이하게 해결되었다. 또한, B단계에서 약액을 냉장보관 했을 경우 3주가 경과하면 침전물들이 발생하였는데, E단계까지의 공정을 거치면 3개월이 지나더라도 전혀 침전물이 발생하지 않았다. 마지막 공정단계인 E의 조작은 완전한 무균상태에서 행하여, 세균과 진균에 대하여 미생물검사를 했는데 전혀 검출이 되지 않았다.

회석에 의한 성분이행율은 변화는 Table. 2에 정리하였다. 지표성분은 회석배율 100배와 25배에서부터 baicalein과 wogonin이 각각 관측이 되지않았다. 지표성분중함량이 가장 많은 baicalin은 회석비율에 따라 일정하게 감소함을 알 수있었다. 약침황금제제는 색상이 노란색인데, 회석배율을 높이면 무색으로 되어 색도 조절이 가능함을 보여주었다.

이상의 결과에서 지표성분의 이행율을 도입하므로써 약침제제의 규격화, 통일화 그리고 다양화를 기

할 수 있다고 판단된다. Noguchi⁶⁾는 전탕에서 한약재중의 미지·기지의 성분이 물리화학적 성질에 따라 각각 일정한 비율로 탕액에 이동하므로 동일한 원료 한약재를 사용하여 전탕한다면 성분의 유효성은 확보할 수 있다고 보고하고 있다. 한약재는 천연물이므로 지표성분의 함량차는 그 폭이 넓고 제제방법의 차이에 따라서 성분행동이 일정하게 되지 않는 문제를 가지고 있다. 이러한 문제는 원료 한약재의 품질규격을 설정하여 관리하고, 최종제품(약침제제)중의 지표성분의 함량과 그 이용율을 전탕액의 값과 비교하는 것으로 품질의 평가 및 관리가 가능하리라 생각된다.

한약재중의 성분중에는 약효와 관계가 있는 것과 그렇지 않은 것이 있는데, 성분행동을 위한 지표성분의 결정은 반드시 약효와 연결시킬 필요는 없다고 생각한다. 일본의 후생성⁷⁾은 1985년에 발표한 “의료용 한방제제의 제조신청가이드인”에서 2개 이상의 성분을 지표성분으로 정하여 정성과 정량을 하도록 하고 있다.

한방처방에서 두가지 혹은 세가지 성분이 약효를 대표할 수는 없기 때문에 약침제제의 제조에 있어서 지표성분은 유효성분을 의미하는 것이 아니라 제조관리용 성분으로 활용됨이 바람직하다고 제안하고 싶다. 따라서, 지표성분의 함량이 약침제제의 약효를 규정하는 것이 아니고 품질관리의 면에서 이해하여야 한다고 생각한다.

약침제제의 안정성과 안전성의 문제는 희석법의 도입으로 해결할 수 있는 가능성을 가지고 있다고 생각되어 진다. 어떤 물질에 함유되어 있는 미지·

기지의 성분들은 물리화학적 성질에 따라 외부의 조건에 많은 영향을 받는데, 한약재중의 어떤 성분이 독성을 가지고 있다면 고배율로 희석함으로써 독성의 문제를 해결할 수 있다면 안전성은 확보될 것이다. 또한 성분들은 희석하면 할수록 희석액과 성분간의 상호관계에서 서로 인력이 작용하게 되어 일반적으로 안정화된다. 약침제제의 희석은 엄격한 공정관리(예를들면 무균조작)와 정확한 희석배율을 지킴으로서 안정성의 문제를 해결하고 다양한 제제를 만들 수 있다고 생각된다.

약침제제의 규격화, 통일화 그리고 다양화는 안전하고 질 높은 의료를 하기 위해서 중요한 문제이므로 이에 대한 보다 깊은 연구가 되어야 하겠다.

Table 1. Availability of Bacalin, Baicalein, and Wogonin in manufacture steps of Aqua-acupuncture from *Scutellaria Radix*

Scutellaria Radix		Content (mg/g)				
Compound	Time (n=3)	A	B	C	D	E
Baicalin	1	78.41	51.20	30.67	22.75	19.21
	2	73.10	50.01	31.91	20.12	20.11
	3	74.81	50.81	31.11	22.03	18.70
	X (%)	7.54	5.06	3.12	2.16	1.93
Baicalein	1	10.53	2.67	1.95	0.51	0.49
	2	9.81	3.14	1.91	0.58	0.52
	3	10.11	2.87	2.04	0.49	0.48
	X (%)	1.15	0.87	0.19	0.05	0.05
Wogonin	1	3.12	0.71	0.63	0.12	0.15
	2	2.98	0.89	0.60	0.15	0.09
	3	3.01	0.74	0.56	0.11	0.10
	X (%)	0.30	0.08	0.06	0.01	0.01

A: Ultrafilter M.W. 30,000, B: Membrain filter 0.8 μ m→Membrain filter 0.45 μ m,
 C: Ultrafilter M.W. 10,000, D: Ultrafilter M.W. 5,000, E: Membrain filter 0.2 μ m
 $T(\text{mg}) = S_a(\text{mg}/\text{ml}) \times A_c/A_s \times 1/W(\text{mg}/\text{ml})^{\text{⑤}}$

Table 2. Availability of Bacalin, Baicalein, and Wogonin in dilute solution of Hwangggum Aqua-acupuncture. (mg/g)

Compound	Time(n=3)	Dilution ratio							
		1	10	25	50	100	250	500	1000
Baicalin	1	48.858	5.304	2.032	0.982	0.476	0.159	0.076	0.039
	2	48.423	5.123	2.124	0.997	0.523	0.161	0.042	0.027
	3	47.987	5.002	2.764	0.912	0.487	0.158	0.057	0.031
	X(%)	4.842	0.514	0.231	0.096	0.050	0.016	0.006	0.003
Baicalein	1	4.859	0.130	0.023	0.007	-	-	-	-
	2	5.012	0.110	0.031	0.008	-	-	-	-
	3	4.912	0.145	0.021	0.010	-	-	-	-
	X(%)	0.493	0.013	0.003	0.001	-	-	-	-
Wogonin	1	0.946	0.035	-	-	-	-	-	-
	2	0.987	0.042	-	-	-	-	-	-
	3	0.964	0.038	-	-	-	-	-	-
	X(%)	0.097	0.004	-	-	-	-	-	-

$T(\text{mg}) = S_a(\text{mg}/\text{ml}) \times A_c/A_s \times 1/W(\text{mg}/\text{ml})^{\text{⑤}}$

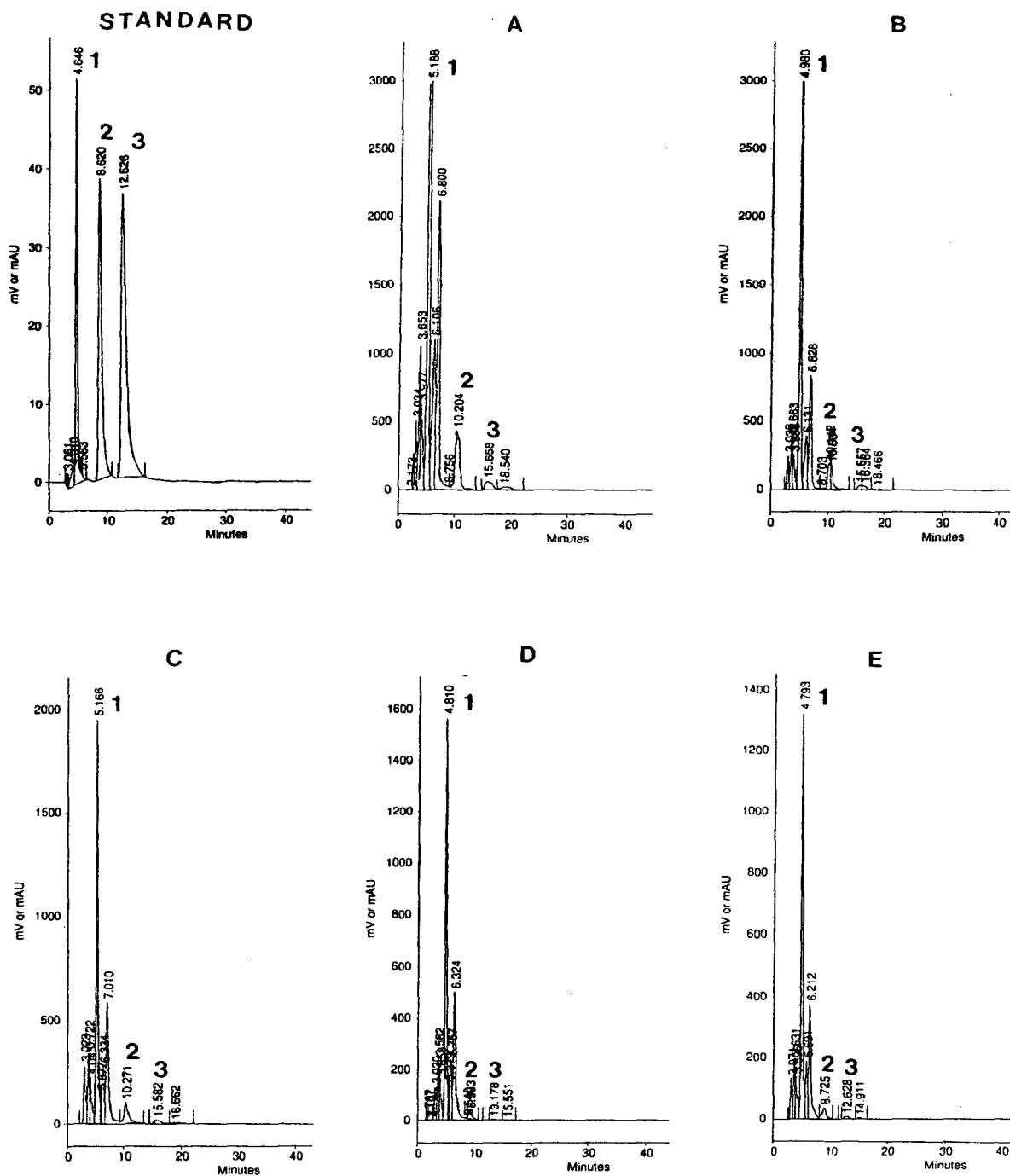


Fig 1. HPLC Chromatogram of manufacture steps from Scutellaria Radix (A: Ultrafilter M.W 30,000, B: Membrin filter 0.8 μ m→Membrin filter 0.45 μ m, C: Ultrafilter M.W. 10,000, D: Ultrafilter M.W. 5,000, E Membrin filter 0.2 μ m, 1: Baicalin, 2: Baicalein, 3: Wogonin)

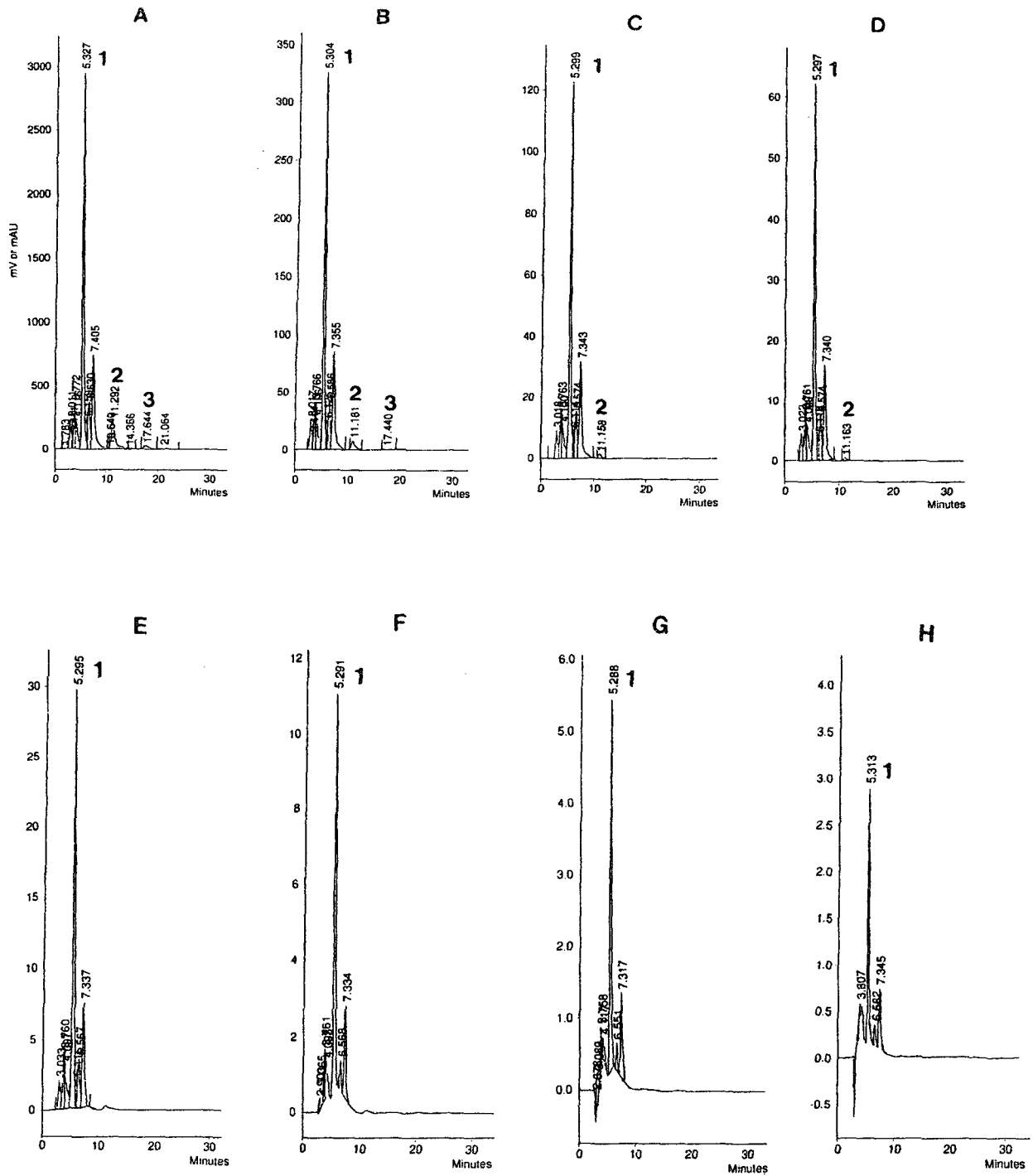


Fig. 2 HPLC Chromatogram of dilute solution of Hwanggum Aqua-acupuncture (A: D.R.* 1 D.R. 10, C: D.R. 25, D: D.R. 50, E: D.R. 100, F: D.R. 250, G: D.R. 500, H: D.R. 1000, 1: Baicalin, 2: Baicalein Wogonin * D.R. is dilution ratio.)

감사의 글

본 연구는 보건복지부 연구비에서 수행한 것으로 이에 감사를 드리며, 또한 연구를 보조해준 박종남 씨, 이정복 씨, 홍대기 씨에게 깊은 감사를 드립니다.

참 고 문 헌

1. 이동녕, 최익선, : 수침체제에 관한 연구, 대한한의학회지, Vol. 7, No. 2, pp. 22-34, 1986
2. 이해정, 박영배, 강성길 : 수침 연구의 동향과 당면 과제, 대한한의학회지, Vol. 9, No.1, pp.27-34, 1988
3. 주혜정, 황재옥 : 약침의 연구 동향, 제1회 한국한의학연구소 학술세미나, 한국한의학연구소, pp.193-210, 1995
4. 이해정, 황재옥, 박종배 : 약침조제의 표준방법과 시설, 경희대학교 한의과대학 경혈학교실, 1995
5. 고병섭, 주혜정, 마진열, 박갑주, 안상우 : 전탕에 의한 황금의 성분이행률에 관한 연구, 한국한의학연구소 논문집, Vol.2, 1996
6. 野口 衛 : 韓方製劑の藥劑學的品質評價をめぐって, 現代東洋醫學, Vol.3, No.2, pp.102-115, 1982
7. 일본약국방해설서편집위원회, 제13개정 일본약국방해설서, 1996

ABSTRACT

Studies on manufacture system of Hwanggum (黃芩) aqua-acupuncture by Boiling water Method

In order to study the reproducibility and efficiency of the manufacture system, Hwanggum(黃芩) aqua-acupuncture was prepared. The filtration and dilution have been mainly employed in the study of the manufacture step. These methods were showed possibility of standardization and variety for aqua-acupuncture.

【Key words】 Hwanggum(黃芩), *Scutellariae Radix*, Baicalin, Baicalein, Wogonin, Availability, Aqua-acupuncture.