

원저

점안용 소염약침액의 안점막자극실험

서형식

상지대학교 한의과대학 안이비인후피부과 교실

Eye Irritation Test of Soyeom Pharmacopuncture Solution for Eye Drop

Hyeong-sik Seo

Dept. of Ophthalmology, Otorhinolaryngology & Dermatology,
College of Korean Medicine, Sangji University

ABSTRACT

- Objectives** This study was done to investigate the safety of *Soyeom* pharmacopuncture solution manufactured with freezing dryness method to use eye drop.
- Methods** The eye irritation test of this material was performed according to the Regulation of Korea Food & Drug Administration(2005. 10. 21, KFDA 2005-60). After *Soyeom* pharmacopuncture solution was medicated in the left eye of the rabbits, the auther observed eye irritation of the cornea, iris, conjunctiva at 1, 2, 3, 4 & 7day.
- Results**
1. After *Soyeom* pharmacopuncture solution was medicated in the left eye of the rabbits, there wasn't physical problem at 9 rabbits .
 2. After *Soyeom* pharmacopuncture solution was medicated in the left eye of the rabbits, there wasn't eye irritation of the cornea, iris, conjunctiva at 1, 2, 3, 4 & 7day.
- Conclusions** I suggested that *Soyeom* pharmacopuncture solution didn't induced eye irritation in rabbits.

key words *Soyeomp pharmacopuncture solution, eye irritation test, eye drop.*

1. 서론

안제는 의약품의 용액, 현탁액 또는 의약품을 쓸 때 녹이거나 현탁하여 쓰는 것으로 결막낭에 적용하는 무균으로 만든 제제¹⁾를 말하며, 직접 안점막에 작용하므로 자극이 없어야 한다.

점안제는 다양한 안과질환에 사용되는 치료제로 특히 각막은 혈관분포가 없기 때문에 약물의 경구투여보다는 국소 점안하는 것이 약물침투에 용이하며²⁾, 세균이나 세균

에서 나오는 여러 가지 독소와 효소를 씻어내는 효과가 있으므로 다른 치료방법보다 점안제를 통한 치료방법이 유리하다³⁾. 현재 한의학적으로 안질환에 사용할 수 있는 점안제는 과립제를 생리식염수에 녹여서 또는 한약을 煎湯하여 사용할 수 있는 방법이 있다. 이러한 방법은 제제학의 전제와 침제에 해당하는 것으로 원칙적으로 2일 이상의 보존이 어렵고⁴⁾ 신속하게 사용하기에도 불편하며 눈에 이물감을 동반하는 등 이용이 간편하지 않다. 따라서 한의학의 안과영역에서는 장기간 보관이 가능하고 사용하기

※ 교신저자 : 서형식 | 강원도 원주시 우산동 238번지 상지대학교부속한방병원 안이비인후피부과

Tel : 033-741-9266, E-mail : aran99@sangji.ac.kr | Received(2008.4.22), Revised(2008.5.12),

Accepted(2008.5.14)

편리하며 효과적인 점안제의 개발이 필요하다.

본 연구에서는 염증성 안질환을 치료하기 위한 목적으로 蒲公英, 金銀花, 生地黃, 連翹, 黃芩, 黃連, 黃柏, 梔子로 구성되어 淸熱효과를 보일 수 있는 동결건조분(기제)을 이용한 소염약침액을 점안제로 활용하기 위하여 안점막자극에 미치는 영향을 관찰하고자, 식품의약품안전청 고시 제2005-60호 “의약품 등의 독성시험기준(2005. 10. 21. 개정)”에⁴⁾ 따라 토끼를 이용한 안점막자극 시험을 시행하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

본 실험에 사용한 소염약침의 처방은 다음과 같다 (Table 1).

Table 1. Prescription of Soyeom

| Herb | Botanical Name | Relat |
|--------------|---------------------|-------|
| | Amount (g) | |
| 蒲公英 | Taraxaci Herba | 77.4 |
| 金銀花 | Lonicerae Flos | 77.4 |
| 生地黃 | Rehmanniae radix | 77.4 |
| 連翹 | Forsythiae Fructus | 77.4 |
| 黃芩 | Coptidis Rhizoma | 47.6 |
| 黃連 | Scutellariae Radix | 47.6 |
| 黃柏 | Phellodendri Cortex | 47.6 |
| 梔子 | Gardeniae Fructus | 47.6 |
| Total Amount | | 500.0 |

2) 동물

실험동물은 3-4개월령(체중 3kg 전후) 뉴질랜드 백색종 수토끼를 공급받아 입수 시 snuffle, ear mite, coccidium 감염여부, 피모이상 유무 및 배변상태 등을 조사하고 사육실에 순화시키는 기간을 약 1주일 두어 그 기간 중 일반증상을 관찰하고 시험 24시간 전에는 안검사를 실시하여 결막, 안구, 각막 등에 이상이 없는 동물만을 골라서 사용하였다. 토끼는 스테인레스로 제작된 토끼용 케이지(420W×500D×310Hmm)를 이용하여 개체사육하였으며 사료(신촌 Co.)는 자유섭취시키고, 음수는 상수도수를 자유섭취시켰다.

2. 방법

1) 소염약침액 제조 방법

(1) 소염약침액 추출

소염약침의 처방 500g을 준비하여, 3차 증류수로 먼지를 제거한다.

(2) 약재불림

반응조하부에 소염약침의 처방 500g당 증류수 2,500cc를 넣고, 반응조상부와 환류 냉각관만을 설치하여 1시간 동안 불린다.

(3) 전탕

Controller의 온도와 시간을 설정한 후 전원을 켜면 impellar가 회전하면서 반응조 내부의 소염을 저어주게 된다. 이때 냉각관으로 약 5℃의 냉각수가 흐르면 전탕이 되는 동안 소염 성분이 외부로 빠져 나가지 않고, 반응조 내에서만 순환한다(팔강약침의 전탕원리와 동일, 전탕온도:105℃, 시간:120분).

(4) 상층액 분리

전탕이 끝난 소염 농축액을 부후너 깔대기(Buchner Funnel)로 걸러서 찌꺼기는 버리고 여액은 갈색 병에 담아, 알코올 용매를 이용하여 추출한다.

(5) 90% alcohol 교반과 감압농축

① 소염 농축액의 양을 측정하여 alcohol 90%((농축액*90)/10)를 첨가하여 magnetic stirrer로 3시간 이상 교반한다.

② Decompressor기를 이용하여 추출한다.

③ 자석 교반이 끝나면 둥근 플라스크에 90% alcohol 교반액을 넣고 감압농축한다.

④ 감압농축이 되면 alcohol은 끓는점의 차이에 의한 추출법으로 날아가고, 농축된 소염만 플라스크에 남는다(온도:65℃, vacuum:15정도 설정, 약 5℃의 냉각수).

(6) 80% alcohol 교반과 감압농축

90% alcohol 감압농축액의 양을 측정하여 alcohol 80%로 조정후 3시간 이상 교반한다(예:90% alcohol 감압농축액 200cc+alcohol 800cc). 자석 교반이 끝나면

등근 플라스크에 80% alcohol 교반액을 넣고 감압농축한다.

(7) 70% alcohol 교반 후 여과

- ① 80% alcohol 감압농축액의 양을 측정하여 alcohol 70%로 조정한 후 3시간 이상 교반한다(예:80% alcohol 감압농축액 300cc+alcohol 700cc).
- ② 자석 교반이 끝나면 부후너 깔대기로 여과하여 여액을 감압농축한다.

(8) 재감압농축 및 여과

70% alcohol 교반까지 3단계 완료 후 증류수를 넣어서 재감압농축한다(마지막 단계이므로 caramel상태가 될 때까지 충분히 감압농축한다). 이때 잔여 alcohol이 완전히 휘발될 수 있도록 최대한 감압농축한 후 0.45 μ m→0.2 μ m까지 여과한다.

(9) 예비동결

재감압농축이 완료되면 동결건조기용 플라스크에 나누어 -30℃ 정도에서 예비동결한 후 동결건조기에서 건조한다(동결 건조된 소염 분말은 평균적으로 500g당 10g이 얻어진다).

2) 시험군의 구성 및 투여방법

식품의약품안전청 고시 제2005-60호 “의약품등의독성시험기준(2005. 10. 21. 개정)”의⁴⁾ 제 10조 국소독성 시험법에 따라 시험토끼 9마리를 백하여 시험물질 0.1mL를 왼쪽눈에 점안하고, 반대쪽(오른쪽) 눈에는 0.9%(w/v) saline을 동일량 점안하였다. 투여방법으로는 동물의 아래 눈꺼풀(하안검)을 안구로부터 멀리 당겨 컵모양을 만들어 이 결막낭에 검체를 0.1mL 점안하고 약 1초간 눈을 감은 상태로 유지시켜서 검체의 손실을 방지하였다. 9마리 중 3마리(세척군)는 검체투여 20-30초 후에 양쪽 눈을 미온 무균 생리식염수 20mL로 1분간 세안하고, 나머지 6마리(비세척군)는 세안치 않고 그대로 방치하였다.

3) 관찰자료의 해석 및 평가

시험물질을 투여하지 않은 다른 쪽 눈을 대조로 하여, 시험물질 투여 후 1일, 2일, 3일, 4일 및 7일에 각막의 혼탁 및 혼탁된 각막의 범위, 홍채의 반응, 결막의 발적, 부종 및 배출물 유무 등의 변화를 관찰하거나 확대경 및 손전등을 이용하여 관찰하였으며 안구병변의 판정은 식품의약품안전청 고시 제2005-60호 “의약품등의독성시험기준(2005. 10. 21. 개정)”의⁴⁾ 제 10조 국소독성시험의 안구병변의 등급표(Table 2)에 따랐다.

Table 2. Irritation index of eye Irritation.

| Rating | Evaluation value | | |
|---------------------|------------------|------------------|-------------------|
| | A.O.I | M.O.I | Day-7 I.O.I |
| Noniirritant | 0~5 | 0(after 48hrs) | |
| Minimally irritant | 5~15 | ≥5(after 48hrs) | |
| Mildly irritant | 15~30 | ≥5(after 4days) | |
| Moderately irritant | 30~60 | ≥20(after 7days) | ≥30(all of tested |
| Severely irritant | 60~80 | ≥40(after 7days) | animals) |
| Extremely irritant | 80~100 | | ≥60(all of tested |

A.O.I(Acute Ocular Irritation Index) : total score/tested animal No. in each observation time
 M.O.I(Mean Ocular Irritation Index) : Max among M.O.I
 Day-7 I.O.I(Individual Ocular Irritation Index) : Score of each animal on Day-7

III. 결과

소염약침액을 국소 점안하고 난 후 1, 2, 3, 4 및 7일에 각각 각막, 홍채, 결막에 대한 안구병변 등급의 점수는 Table 3에 나타난 바와 같이 세척군과 비세척군의 왼쪽 눈에 있어서, 대조군인 오른쪽 눈과 비교할 때 9마리 모두의 경우에서 무자극적인 것으로 나타났다.

Table 3. Eye irritation score of New zealand White male rabbits treated with Soyeom Pharmacopuncture solution.

| Group | Rabbit | Check area | Tissue score | Days | | | | | Total score | M.O.I |
|-------|-------------|-------------|--------------|-------------|---|---|---|------|-------------|-------|
| | | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 7 | | |
| I | 1 | Cornea | A × B × 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/80 | 0 |
| | | Iris | A × 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | |
| | | Conjunctiva | (A+B+C) × 2 | (0+0+0) × 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/20 | |
| | 2 | Cornea | A × B × 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/80 | 0 |
| | | Iris | A × 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | |
| | | Conjunctiva | (A+B+C) × 2 | (0+0+0) × 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/20 | |
| | 3 | Cornea | A × B × 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/80 | 0 |
| | | Iris | A × 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | |
| | | Conjunctiva | (A+B+C) × 2 | (0+0+0) × 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/20 | |
| | 4 | Cornea | A × B × 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/80 | 0 |
| | | Iris | A × 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | |
| | | Conjunctiva | (A+B+C) × 2 | (0+0+0) × 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/20 | |
| 5 | Cornea | A × B × 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/80 | 0 | |
| | Iris | A × 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | | |
| | Conjunctiva | (A+B+C) × 2 | (0+0+0) × 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/20 | | |
| 6 | Cornea | A × B × 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/80 | 0 | |
| | Iris | A × 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | | |
| | Conjunctiva | (A+B+C) × 2 | (0+0+0) × 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/20 | | |
| 7 | Cornea | A × B × 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/80 | 0 | |
| | Iris | A × 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | | |
| | Conjunctiva | (A+B+C) × 2 | (0+0+0) × 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/20 | | |
| 8 | Cornea | A × B × 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/80 | 0 | |
| | Iris | A × 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | | |
| | Conjunctiva | (A+B+C) × 2 | (0+0+0) × 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/20 | | |
| 9 | Cornea | A × B × 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/80 | 0 | |
| | Iris | A × 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | | |
| | Conjunctiva | (A+B+C) × 2 | (0+0+0) × 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/20 | | |

A : redness, B : chemosis, C : discharge

I group : Soyeom Pharmacopuncture solution washed group / II group : Soyeom Pharmacopuncture solution non-washed group

IV. 고찰

안과 각 질환에서 점안제의 사용이 보편화된 치료의 한 부분을 차지하고 있는 현재 한의학적으로 점안제는 개인적인 조제 방법을 통하여 안전성 및 효과성에 대하여 객관적인 실험적 자료 없이 식약청에서 안전성의 입증을 면제 한 治方에 한해서 환자에 적용하는 수준에 불과한 상태이다. 이러한 방법은 안전성의 입증을 면제한다고 하여도 편리성 및 보관상의 불편으로 인하여 사용에 제한이 있는 것이 현실이다. 또한 안전성의 입증이 면제되지 않은 治方에

있어서는 편리성 및 보관상의 문제가 해결된다 하여도 안전성을 입증하여야 하며, 이는 임상에 있어서 다른 어떤 부분보다 우선하여야 할 사항이다.

안질환에 사용할 수 있는 가장 적절한 외치방법은 點法과 適法이 있으며, 이 중 適法이 현재 사용하기에 가장 적절한 방법으로 소개되고 있다. 適法의 활용도는 點法과 동일하여 胞臉, 兩毗, 白睛, 黑睛에 발생한 紅赤, 腫脹, 糜爛, 流淚, 眵多粘或乾結, 生翳, 膜, 星, 努肉 및 痛痒羞明, 沙澁不便 등의 外障眼病과 기타 소수의 瞳神 및 안내부 조직의 黃精, 神膏, 視衣, 目系에 발생한 蚊蠅飛舞, 黑花飄蕩,

視灯火如彩虹, 視物昏朦, 夜盲, 甚則暴盲 등의 內障眼病에 응용할수 있다⁹⁾.

이에 본 연구에서는 염증성 안질환을 치료하기 위한 목적으로 蒲公英, 金銀花, 生地黃, 連翹, 黃芩, 黃連, 黃柏, 梔子로 구성되어 清熱효과를 보일 수 있는 동결건조분(기제)을 이용한 소염약침액을 점안제로 활용하기 위하여 국소독성 여부를 규명하기 위해 토끼를 이용한 안점막자극 실험을 수행하였다.

소염약침액과 관련된 연구로는 서⁶⁻⁸⁾의 증류약침인 소염약침액의 항균효과에 관한 연구와 윤⁹⁾등의 동결건조분의 소염약침액의 염증관련 사이토카인의 억제에 관한 실험이 있고, 점안을 위한 안점막자극실험은 아직까지 진행된 바 없다.

실험기간 동안 모든 토끼에서 소염약침액 적용후 체중의 변화, 식사량의 변화, 운동상태의 변화와 같은 신체상의 이상은 관찰되지 않았으며, 소염약침액을 국소 점안하고 난 후 1, 2, 3, 4 및 7일에 각각 각막, 홍채, 결막에 대한 안구병변 등급의 점수는 Table 3에 나타난 바와 같이 투여 1, 2, 3, 4일째 및 7일째에 소염약침액을 점안한 후 미온 무균생리식염수로 세척한 군과 비세척한 군의 왼쪽 눈에 있어서, 대조군인 오른쪽 눈과 비교할 때 9마리 모두의 경우에서 무자극적인 것으로 나타났다.

이상의 결과로 보아 소염약침액은 토끼의 안점막에 어떠한 자극도 유발하지 않는 안전한 것을 알 수 있었다. 향후 소염약침액의 항균성 실험과 함께 염증성 外障眼病에 소염약침액을 활용한 임상적 연구가 이루어지길 기대하는 바이다.

V. 결론

염증성 안질환을 치료하기 위한 목적으로 소염약침액을 점안제로 활용하기 위하여 안점막자극에 미치는 영향을 관찰하고자, 식품의약품안전청 고시 제2005-60호 “의약품 등의 독성시험기준(2005. 10. 21. 개정)”에⁵⁾ 따라 토끼를 이용한 안점막자극 실험을 시행한 결과는 다음과 같았다.

1. 실험에 이용된 9마리의 토끼 모두에게서 소염약침액에 의해 발생된 임상증상, 체중변화의 이상은 관찰되지 않았다.

2. 소염약침액 투여 후 1, 2, 3, 4 및 7일에 각각 각막, 홍채, 결막에 검액에 의해 유발된 안구병변은 관찰되지 않았다.

이상의 결과로 보아 소염약침액은 토끼의 안점막에 있어서 어떠한 안구병변도 유발하지 않는 무독성, 무자극성 약물로 판단되었다.

VI. 참고 문헌

1. 약제학분과회. 제제학. 한림원. 2000:127,432.
2. 최규동 채병윤. 黃連, 진피, 秦皮散이 녹농균성 각막염에 미치는 효과에 관한 실험적 연구. 대한외관과학회지. 1999;12(1):18-35.
3. 이상준, 이주화. Soft Contact Lens 사용 중 발생된 녹농균성 각막염 3예. 대한안과학회지. 1990;31(5):681-6.
4. 식품의약품안전청 제2005-60호 “의약품 등의 독성 시험기준(2005. 10. 21. 개정)
5. 서형식, 이용구, 노석선. 안병의 외치법에 대한 문헌 고찰. 한방안이비인후피부과학회지. 1997;10(1):185-208.
6. 서형식. 소염약침액이 Staphylococcus aureus와 Staphylococcus epidermidis에 미치는 항균효과에 대한 실험적 연구. 대한약침학회지. 2006;9(2):73-8.
7. 서형식. 소염약침액, 황련해독탕, 황련이 Staphylococcus epidermidis에 미치는 항균효과에 대한 실험적 연구. 대한약침학회지. 2006;9(2):87-92.
8. 서형식. 소염약침액, 황련해독탕, 황련이 Staphylococcus epidermidis에 미치는 항균효과에 대한 실험적 연구. 한방안이비인후피부과학회지. 2006;19(2):19-25.
9. 윤미영, 유화승. 소염약침의 LPS로 유도된 RAW 264.7 세포의 염증성 사이토카인 발현에 미치는 영향. 대한약침학회지. 2007;10(3):21-8.