

원저

점안용 우황약침액의 안점막자극실험

서형식

상지대학교 한의과대학 안이비인후피부과 교실

Eye Irritation Test of *Bovis Calculus* Pharmacopuncture Solutions for Eye Drop

Hyeong-sik Seo

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

ABSTRACT

- Objective** This study was done to investigate the safety of *Bovis Calculus* 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 *Bovis Calculus* 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 *Bovis Calculus* pharmacopuncture solution was medicated in the left eye of the rabbits, there wasn't physical problem at 9 rabbits.
 2. After *Bovis Calculus* 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 *Bovis Calculus* pharmacopuncture solution didn't induced eye irritation in rabbits.

key words *Bovis Calculus* pharmacopuncture solution, eye irritation test, eye drop.

1. 서론

점안제는 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 세균에서 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 어렵고¹⁾ 신속하게 사용하기에도 불편하며 눈에 이

※ 교신저자 : 서형식 | 강원도 원주시 우산동 238번지 상지대학교 부속한방병원 안이비인후피부과
Tel : 033-741-9266, E-mail : aran99@sangji.ac.kr(이 논문은 2007년도 대한약침학회의 연구비 지원에 의한 것임)

물감을 동반하는 등 이용이 간편하지 않다. 따라서 한의학의 안과영역에서는 장기간 보관이 가능하고 사용하기 편리하며 효과적인 점안제의 개발이 필요하다.

본 연구에서는 염증성 안질환을 치료하기 위한 목적으로 동결건조분(기제)을 이용한 제제중에서 淸熱解毒과 解熱의 효능이 黃芩, 黃連, 連翹보다 우수하며 감염성질환을 치료하는⁴⁾ 牛黃을 점안제로 활용하기 위하여 안점막자극에 미치는 영향을 관찰하고자, 식품의약품안전청 고시 제 2005-60호 “의약품 등의 독성시험기준(2005. 10. 21. 개정)”에⁵⁾ 따라 토끼를 이용한 안점막자극 시험을 시행하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 재료

1) 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(420Wx500Dx310Hmm)를 이용하여 개체사육하였으며 사료(신촌 Co.)는 자유섭취 시키고, 음수는 상수도수를 자유섭취 시켰다.

2. 방법

1) 우황약침액 제조방법

(1) 우황약침액 추출

우황을 막자사발에 넣고 분쇄한 후, 멸균된 D.W.를 우황가루가 녹을 만큼 넣어 5시간 정도 교반 후 냉장 침전시켜 상층액을 분리 보관한다(이 과정을 3일정도 반복한다).

(2) 90% alcohol교반과 감압농축

① 우황 농축액의 양을 측정하여 alcohol 90%((농축액*90)/10)를 첨가하여 magnetic stirrer로 3시간

이상 교반한다.

② decompressor기를 이용하여 추출한다.

③ 자석 교반이 끝나면 등근 플라스크에 90% alcohol 교반액을 넣고 감압농축 한다.

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

(6) 80% alcohol교반과 감압농축

90% alcohol감압농축액의 양을 측정하여 alcohol 80%로 조정한 후 3시간 이상 교반한다(예: 90% alcohol 감압농축액 200cc+alcohol 800cc). 자석 교반이 끝나면 등근 플라스크에 80% alcohol교반액을 넣고 감압농축 한다.

(7) 70% alcohol교반 후 여과

① 80% alcohol 감압농축액의 양을 측정하여 alcohol 70%로 조정한 후 3시간 이상 교반한다(예: 80% alcohol감압농축액 300cc+alcohol 700cc).

② 자석 교반이 끝나면 부후너 깔대기로 여과하여 여액을 감압농축 한다.

(8) 재감압농축 및 여과

70% alcohol 교반까지 3단계 완료 후 증류수를 넣어서 재감압농축 한다.(마지막 단계이므로 caramel상태가 될 때까지 충분히 감압농축 한다). 이때 잔여 alcohol이 완전히 휘발될 수 있도록 최대한 감압농축한 후 0.1µm 여과지(Whatman, Germany)까지 여과한다.

(9) 예비동결

재감압농축이 완료되면 동결건조기용 플라스크에 나누어 -30정도에서 예비동결한 후 동결건조기(PVTFD10A, Ilshin lab, 한국)에서 건조한다(동결 건조된 우황 분말은 평균적으로 100g 당 12g이 얻어진다).

2) 시험군의 구성 및 투여방법

식품의약품안전청 고시 제2005-60호 “의약품등의독성시험기준(2005. 10. 21. 개정)”의⁶⁾ 제 10조 국소독성시험법에 따라 시험토끼 9마리를 택하여 시험물질 0.1mL를 왼쪽 눈에 점안하고, 반대쪽(오른쪽) 눈에는 0.9%(w/v) saline을 동일량 점안하였다. 투여방법으로는 동물의 아

래 눈까풀(하안검)을 안구로부터 멀리 당겨 컵 모양을 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)”의⁵⁾ 제 10조 국소독성시험의 안구병변의 등급표(Table 1)에 따랐다.

III. 결과

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

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 면제한 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, 沙澀不便 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 있다⁶⁾.

이에 본 연구에서는 염증성 안질환을 치료하기 위한 목적으로 동결건조분(기제)을 이용한 제제중에서 清熱解毒과 解熱의 효능이 黃芩, 黃連, 連翹보다 우수하며 감염성 질환을 치료하는⁴⁾ 牛黃을 점안약으로 사용하기 위하여 국소독성 여부를 규명하기 위해 토끼를 이용한 안점막자극

Table 1. Irritation index of eye Irritation.

Rating	Evaluation value		
	A.O.I	M.O.I	Day-7 I.O.I
Nonirritant	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 animals)
Severely irritant	60~80	≥40(after 7days)	≥60(all of tested animals)
Extremely irritant	80~100		

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

시험을 수행하였다.

우황약침과 관련된 연구로는 관절염, 간손상 회복 및 독성에 대한 실험⁷⁻¹⁰⁾이 있고, 점안을 위한 안점막자극실험은 아직까지 진행된 바 없다.

실험기간 동안 모든 토끼에서 우황약침액 적용 후 체중의 변화, 식사량의 변화, 운동 상태의 변화와 같은 신체상의 이상은 관찰되지 않았으며, 우황약침액을 국소 점안하고 난 후 1, 2, 3, 4 및 7일에 각각 각막, 홍채, 결막에 대한 안구병변 등급의 점수는 Table 2에 나타난 바와 같이

투여 1, 2, 3, 4일째 및 7일째에 우황약침액을 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 우황약침액은 토끼의 안점막에 어떠한 자극도 유발하지 않는 안전한 것을 알 수 있었다. 향후 우황약침액의 항균성 실험과 함께 염증성 外障眼病에 소염약침액을 활용한 임상적 연구가 이루어지길 기대하는 바이다.

Table 2. Eye irritation score of New zealand White male rabbits treated with Bovis Calculus

Group	Rabbit No.	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 : Bovis Calculus Pharmacopuncture solution washed group

II group : Bovis Calculus Pharmacopuncture solution non-washed group

V. 결론

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

1. 실험에 이용된 9마리의 토끼 모두에게서 우황약침액에 의해 발생된 임상증상, 체중변화의 이상은 관찰되지 않았다.
2. 우황약침액 투여 후 1, 2, 3, 4 및 7일에 각각 각막, 홍채, 결막에 검액에 의해 유발된 안구병변은 관찰되지 않았다.

이상의 결과로 보아 우황약침액은 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 Lens사용 중 발생한 녹농균성 각막염 3예. 대한안과학회지. 1990;31(5):681-6.
4. 이상인, 안덕균, 신민교. 한약임상응용. 서울:성보사. 1982:477-8.
5. 식품의약품안전청 제2005-60호 “의약품 등의 독성 시험기준(2005. 10. 21. 개정)
6. 서형식, 이용구, 노석선. 안병의 외치법에 대한 문헌적 고찰. 한방안이비인후피부과학회지. 1997;10(1):185-208.