DOI:10.3831/KPI.2008.11.3.079

원저

Gas Chromatography/Mass Spectrometry를 이용한 팔강약침액 성분에 대한 연구

김 협* · 안병수

*대한약침학회

The Study on the Composition in Pharmacopunctures of Eight Principles by Gas Chromatography/Mass Spectrometry

Hyub Kim* · Byung Soo Ahn

*KOREAN PHARMACOPUNCTURE INSTITUTE

ABSTRACT

Objective The purpose of this study was to investigate the composition for pharmacopunctures of eight principles hydrodistillation layer.

Methods The study was determined the hydrodistillation layer for pharmacopunctures of eight principles by hydrodistillation method.
The effective components in hydrodistillation layer for pharmacopunctures of eight principles were extracted with ethyl ether or dichloromethane, and then analyzed by Gas Chromatography/Mass Spectrometry(GC/MS).

Results
1. Analyzed pharmacopunctures of eight principles by GC/MS, a lot of differences according to extraction solvent by each pharmacopunctures of eight principles and specific peak patterns were seen.
2. The main compound in pharmacopunctures of eight principles was a kind of hexaoxacyclohydrocarbon that has long hydrocarbon chain.

Key words *pharmacopunctures of eight principles, hydrodistillation layer, Gas Chromatography/Mass Spectrometry.*

I. 서론

약침요법은 그 동안의 침구요법이 질병의 치료나 예방을 목적으로 일정한 경혈에 물리적인 자극을 주던 치료형태에서 한 단계 더 발전하여 약재의 화학적인 자극을 경혈에 추가한 독특한 한국 한의학의 치료행위로, 수 천년 동안 한의학이 전수되어 내려오면서 새로운 기술들과 약물을 추가하는 형태로 한의학은 발전되어 왔으며 경락경혈학, 침구학, 본초학, 방제학 등에 근본적인 기반을 두고 새롭게 발전한 최첨단 한의학이다. 이러한 약침요법은 약물 사용량을 줄이면서도 치료효과를 높일 수 있는 방법으로 경혈, 침, 약물이 삼위일체 되어있다.

약침의 종류는 남상천〈經絡〉에서 제시하고 있는 경락약침 중 현재 임상에서 사용되고 있는 웅담, 우황, 사향 관

※ 교신저자 : 서울 강서구 가양동 26-27 대한한의사협회 4층
Tel : 02-2658-9051~3, FAX : 02-2658-9136, E-mail : khlyj2004@dreamwiz.com
Received 2008.7.28, Accepted 2008.8.11

련 기제와 호도, 홍화, 녹용 등의 윤제 약침을 경락 약침으로, 김정언〈기적의 약침요법〉등에서 제시하고 있는 증류약침의 형태를 팔강약침으로 분류하였고, 벌의 독을 치료에 이용하는 봉약침, 태반 가수분해 추출물인 자하거 약침, 단일 한약을 약침제제로 만든 단미약침, 현재 임상에 경구용으로 사용되고 있는 복합 처방을 이용한 복합 약침, 상기의 분류에 포함하기 애매한 양약제제나 cobra 독 등을 이용한 기타의 약침이 있다.[1]

다양한 종류의 약침 중 팔강약침은 질병을 진단하는 한의학의 기본이론인 팔강변증을 위주로 하여 진단하고 그에 따라 적합한 한약을 방제학의 이론에 따라 처방하여 배수혈, 복모혈 등 주요 경혈에 주입하여 각 장부에 허실을 조절하는 약물중심의 약침이다.

경락의 기능적 · 생리적인 면이 강조된 경락이론만으로는 약침을 통한 질병치료에 대하여 이해하기 어려운 부분이 발생하게 됨에 따라 한의학의 원리를 응용한 팔강약물을 사용함으로써 보다 효과적인 치료를 할 수 있게 되었으며, 이로 인해 약의 성질에 따른 약리효과와 장부의 기능적 · 생리적인 면을 결합시킨 팔강약침이 새롭게 발달하게 되었다. 즉, 장부의 병증에 대한 내성, 중독성, 습관성이 없는 장점을 가지고 있다. 팔강약침의 사용으로 효과 있는 질환으로는 첫째, 고혈압, 당뇨 등 성인병 둘째, 위장관 질환(위염, 위궤양, 장염 등) 셋째, 관절염좌, 근육경결 동통 넷째, 요각통(좌골신경통, 요추간판 탈출증) 다섯째, 정신과 질환 중 심인성 질환 여섯째, 전신허약, 장부 상호간 기능조절 일곱째, 기타 난치성 질환 등이 있다.[2]

약침요법의 장점으로는 배우기가 쉽고 사용이 간편하며 치료효과가 빠른 등의 장점으로 인해 현재 한의사들에게 많이 활용되고 있는 한방 의료행위로, 무한한 발전 가능성의 장점을 가지고 있는 반면, 팔강약침의 제조법에서 한약재 중 약물의 성분을 추출하는 방법으로 사용하는 수증기 증류법은 높은 온도로 인한 예상되는 성분의 변성, 긴 추출시간 및 복합처방의 한약제제 중 정확히 어떠한 성분이 어느 정도 추출되는지에 관한 정성 및 정량 데이터가 없다는 단점을 가지고 있다.

현재, 각각의 생약의 지표성분 탐색 및 확인을 위해 TLC, column chromatography 및 HPLC를 이용하여 시호함유 한방제 중 황금지표 성분인 baicalin과 복령 지표성분로 pachymic acid, 3β-hydroxyanosta-7, 9(11), 24-trien-21-oic acid와 dehydroeburic acid를 정성하는 등 단일 생약에 대한 연구[3-11] 및 약침분야에서는 HPLC를 사용하여 꿀벌에서 추출한 봉독을 가지고 조제한 봉약침의 melittin의 정성 및 정량분석은 활발히 진행되고 있다.[12-13] 반면, 단일 생약을 잘게 분쇄하여 다양한 유기용매를 사용하여 물리적 힘으로(가열, 진탕, 가압, 초음파) 성분을 추출하는 방식과는 달리 복합처방의 다 성분 한방제제를 물을 사용하여 100℃ 부근에서 5 시간 이상 가열하여 증류된 수증기를 응축하는 방식의 수증기 증류법으로 제조하는 팔강약침에 대한 성분 분석연구는 전혀 없는 실정이다.

본 연구에서는 팔강약침 중 "중성어혈", "마황천오", "황련해독탕" 및 "습담"의 약침액에 대하여, 기존의 연구에서 권 등이 제안한 경락약침 분석방법을[14] 참고로 팔강약침액에 대하여 추출용매의 극성 및 용해도에 따른 극성별, 용해도별 추출되는 성분을 알아보고, 각 약침액별, 성분별 크로마토그램 패턴을 분석하여 추후 팔강약침액의 품질관리를 위한 정성 및 정량분석의 기초자료로 사용하고자 하였다.

II. 실험

1. 팔강약침 약재 준비

1) 약재구입

약재들은 「농림생약(서울, Korea)에서 자가시험 기준인 성분검사, 중금속검사(heavy metal test), 미생물검사(biological test), SO_2검사, 잔류농약검사(residual pesticide test) 등의 기준에 적합판정을 받은 약재를 구입하여 사용하였다.(Table 1)

2) 약재의 처리

각각의 약재는 진공 동결건조 방법을 사용하여 -30 ~ -40℃에서 각각의 약재를 진공을 유지하면서 동결건조하여 수분을 제거하고, 색, 맛, 조직, 형태 등의 변화를 줄여 보관이 용이하게 하였다.

2. 팔강약침액 제조

1) 세척

작은 크기로 절단된 약재를 채반에 담아 3차 증류수(Balmann, Korea)로 세척하였다.

2) 약재의 침출

반응조 하부에 약재를 넣고 약재의 부피를 고려하여 3차 증류수를 부어 impeller, 반응조 하부, 반응조 상부 환류냉각관, 분액여두를 설치하고, controller를 설치 한 뒤 약 90분 동안 약재를 불렸다.

Controller는 온도를 105℃로 설정해 10분 이상 예열하도록 설정하였으며, impeller를 작동시키고, 환류냉각관에 호수를 꽂아 냉각수가 환류냉각관 내부에 흐르도록 하였다.

3) 전탕

약재의 불림이 끝나고 105℃로 120분 동안 전탕을 시작하였다. 이때 impellar 속도는 4.5 ~ 5정도로 작동하여 팔강약재가 가열되고 있는 용기바닥에 고정되어 타거나 변성되는 것을 최소화하였고, 전압 조절스위치를 고정하여 105℃가 유지하도록 하였으며, 환류냉각관 내에 냉각수가 흐르도록 하여 팔강약침 수증기 증류성분이 반응조와 환류냉각관 내부에서 반복 순환하도록 하였다.

4) 추출

전탕이 끝나면 호스의 위치를 환류냉각관 쪽에서 증류냉각관 쪽으로 바꿔 흐르게 한 후, 온도를 107℃로 올려주었다(추출시간 3시간). 시간의 경과함에 따라 105℃에서 전탕되고, 충분히 끓었던 약재의 온도가 높아지고(107℃) 냉각수 순환위치가 바뀜에 따라 반응조와 환류냉각관 내부에서만 순환하던 팔강약침 수증기 증류성분이 증류냉각관 내부에서 액체화되어 분액여두로 한 방울씩 받아지게 된다.

5) 무기 염류의 침강

추출이 끝난 분액여두 속의 팔강약침액 성분을 1 L PYREX병에 옮겨, 하루 동안 냉장 보관하여 무기 염류를 침강시켰다.

6) 등장액 및 pH조절

무기염류를 침강시킨 팔강약침액의 상층액을 분리한 후, Na_3PO_4를 첨가하여 pH가 7.25 ~ 7.35가 되도록 조절하고, 약전소금을 첨가하여 염도계(DEMTRA, Japan)로 0.9 % 등장액이 되도록 하였다.

7) 여과

Filter장치에여과지(Whatman, USA와 ADVANTEC, Japan)를 사용하여, 처음 0.45 μm 여과지를 사용하여 여과한 다음, 0.2 μm 여과지를 사용하여 여과하고 마지막으로 0.1 μm 여과지를 사용하는 순서로 팔강약침액 성분을 진공 여과하였다.

8) 소분 및 멸균

멸균된 vial을 자동분주기(EMakku-drivedispenser, Germany)를 사용하여 여과된 팔강약침액을 20 mL 주입 한 후 cap을 씌웠다. 고압증기멸균기(신진, Korea)에 넣어 30분간 121℃, 1.5 기압으로 고압 멸균하였다.

9) 냉장보관

변질을 방지하기 위해 제조한 각각의 팔강약침액은 냉장 보관하였다.

3. 팔강약침 선별

실험에 사용한 팔강약침액으로는 중성어혈, 마황천오, 황련해독탕 및 습담에 대하여 가장 최근에 제조된 각각의 약침액을 선별하여 사용하였다.

4. 팔강약침액 성분 용매추출

선별된 각각의 팔강약침액 2 mL에 서로 극성과 용해도가 다른 에틸 에테르(ethyl ether)와 디클로로 메탄(dichloromethane)을 각각 1 mL 첨가하여 3분 동안 볼텍스 믹스를 사용하여 격렬하게 추출한 후, 유기용매별 용매층만을 따로 모으는 과정을 1회 반복하여 이것을 팔강약침액 각각의 분석용 검액으로 하였다.

5. GC/MS 분석

1) GC/MS 분석 조건

각각의 팔강약침액의 성분을 분석하기 위한 GC/MS로는 Agilent 5890 plus기체 크로마토그래피와 MSD ChemStation 프로그램이 설치된 펜티엄 III컴퓨터(Samsung, KOREA)가 연결된 5972질량분석기(Agilent, USA)로 구성되어진 것을 사용하였다. GC/MS 분석을 위한 컬럼은 InoWax cross linked

polyethylene glycol fused silica capillary colmn(30 m x 0.25 mm I.D., 0.25 μm film thickness)을 사용하여, 이온 원과 직접 연결하였다. 오븐 온도는 처음 60℃에서 1분 동안 머물게 한 후 1분당 10℃씩 올려 280℃까지 올리고 20분 동안 머물게 하였다.

시료 2 μL를 분할(split) 주입법을 사용하여 주입하였으며, 유속은 1.0 mL/min으로 흘려주었다. 시료 주입구의 온도, 연결부분의 온도, 이온 원의 온도는 각각 260℃, 200℃ 및 200℃로 맞추었다.

이온화 전압을 70 eV 가하여 질량분석범위 50～600 m/z를 가지는 이온들을 순차적으로 반복 검출하는 방법(scan monitoring)을 사용하여 분석하였다.

2) 성분분석

팔강약침액의 분석은 그 RT(retention time)에 대하여 Wiley 7 library를 기준으로 library 검색하였다.

III. 결과

1. GC/MS분석에 의한 팔강약침액 정성 및 peak pattern 분석

본 연구에서 4종의 팔강약침액에 대한 서로 극성과 용해도가 다른 에틸 에테르와 디클로로 메탄을 사용하여 4종의 팔강약침액을 용매추출하여 GC/MS 분석하고자, 추출용 용매로 사용한 에틸 에테르와 디클로로 메탄이 GC/MS system에서 팔강약침의 미량분석을 하기 위해 적합한지 blank 검토를 하여 불순물 peak가 없는 것을 확인한 후 사용하였다.(Fig. 1) 각각의 팔강약침액을 GC/MS로 분석하여 보면 팔강약침별 추출용매에 따른 기체 크로마토그래피 성질은 많은 차이와 특이한 peak pattern을 보였다.(Fig. 2, 3, 4, 5)

"중성어혈"의 경우 8가지 약재에서 에틸 에테르로 추출한 경우 14개의 peak가 디클로로 메탄으로 추출한 경우 13개의 peak가 분석되었으며, 전체적인 peak의 pattern이 비슷한 결과를 보인다. 특히, 12.855분에서 에틸 에테르로 추출한 경우 3,7-dimethyl-1,3,6-octriene인 반면 디클로로 메탄으로 추출한 경우 linalool L로 다르게 정성되는 것은 추출하는 용매에 따른 극성과 용해도에 따른 차이로 사료된다.

또한, 12.855분의 성분을 제외한 나머지 peak를 동정해 보면, 같은 RT에 동일한 성분으로 정성되는 것으로 보아 에틸 에테르와 디클로로 메탄으로 추출 시 동일한 추출효율을 가지는 것으로 사료된다.(Table 2)

"황련해독탕"의 경우에는 위에서 언급한 "중성어혈"과 동일한 이유로 에틸 에테르와 디클로로 메탄으로 추출 시, 각각의 8개의 peak가 동일한 RT에서 분석되었으며, peak의 pattern도 비슷하게 용출되어 나오는 것으로 사료된다.(Table 4)

반면, "마황천오"와 "습담"의 경우 에틸 에테르와 디클로로 메탄으로 추출 시에는 추출용매 별로 "마황천오"의 경우, 에틸 에테르 추출용매의 경우 16개의 peak가 분석된 반면 디클로로 메탄 추출용매의 경우 5개의 peak가 분석되었다.(Table 3) "습담"의 경우 에틸 에테르 추출용매의 경우 7개의 peak가 분석된 반면 디클로로 메탄 추출용매의 경우 12개의 peak가 분석되었고 상이한 peak pattern을 보이며, 성분들도 상이한 성분으로 정성되어졌다.(Table 5)

2. Mass spectrum interpretation

GC에서 분리된 각각의 팔강약침액 성분이 mass에서 70 eV의 전기충격을 받아 분자간의 결합이 깨어져서 산소분자와 환형구조를 포함하는 long hydrocarbon chain 기본구조를 가지는 hexaoxacyclooctadecane fragment ion이 가장 많이 생성되었다.(Fig. 6) 이러한 결과는 동일한 기본골격을 가지면서 탄소골격의 수가 다른 화합물들이 GC column에서 정지상과 interaction 차이에 따라 분리된 후, mass에서 동일한 fragment ion이 생성되는 것으로 사료된다.

또한, 동일한 분석시료 중 동일한 mass ion의 peak가 RT에 따라 다양하게 나오는 것은 원생약 성분 중 존재하는 다양한 위치 이성질체와 위에서 언급한 동일한 기본골격을 가지면서 탄소골격의 수가 다른 화합물들이 팔강약침액 중 다 성분으로 존재하여, 수증기증류법에 의해 수증기 성분과 동시에 추출되어진 후, 분석되어진 것으로 사료된다. 특히, 디클로로 메탄으로 추출 시 "마황천오"에서는 38.457분대의 상당히 뒷 부분에서 hexaoxacyclooctadecane fragment ion이 용출되는 것으로 보아, 상당히 긴 long hydrocarbon chain을 가지고 있는 hexaoxacyclohydrocarbon 구조 성분이 있는 것으로 사료된다.

Ⅳ. 고찰

전통적인 한약요법과 침술요법 외에 한약재에서 추출한 약침액을 신침요법으로 약침요법이 있는데, 이 요법은 경락학의 원리와 본초학의 기미론이 접목된 한방치료 기술로서 최근 그 활용도가 증가하고 있다.[15]

팔강약침 약재성분은 수증기 증류법을 이용하여 추출하며, 약침액에 함유된 정유성분의 약리작용보다는 구성된 처방의 기미론에 근거하여 치료에 적용하고 있지만 그 구성성분의 분석에 대해서는 아직까지 연구된 바 없다.

천연물이나 약재에서 유효성분을 추출해 내는 방법으로는 전탕이나 유기용매 추출법이 있고, 이중 전탕 후 수증기 성분만을 모으는 방법을 약침제조법으로 사용하고 있다. 이렇게 모아진 팔강약침액에 대한 서로 극성과 용해도가 다른 에틸 에테르와 디클로로 메탄을 사용하여 용매추출하여 극성에 따른 성분을 분석하였다.

성분분석 결과, “중성어혈”과 “황련해독탕”에서는 에틸에테르로 추출하였을 시, 13, 14, 15, 16분대 peak가 공통으로 1, 4, 7, 10, 13, 16-hexaoxacyclooctadecane로 검색되어, 두 처방에 공통으로 들어가는 “치자” 성분에 의한 long hydrocarbon chain peak로 사료되며, “중성어혈”과 “마황천오”에서는 13분대에서 benzaldehyde가 “중성어혈”과 “습담”에서는 17.5분대에서 benzyl alcohol 류 성분 peak가 공통으로 검색되었다. 반면, 디클로로 메탄을 사용하여 용매추출하여, 추출된 비극성 성분을 비교하여 본 결과 15분대에서 “중성어혈”, “마황천오”, “황련해독탕” 및 “습담” 모두 공통으로 1, 4, 7, 10, 13, 16-hexaoxacyclooctadecane로 검색됨에 따라 동일한 비극성 성분에 의한 long hydrocarbon chain peak로 사료되며, 14분대에서는 “중성어혈”, “황련해독탕” 및 “습담”에서, 17분대에서는 “중성어혈”과 “황련해독탕”에서 hydrocarbon chain 수가 상이한 각각의 동일한 비극성 성분에 의한 long hydrocarbon chain peak 종류인 1, 4, 7, 10, 13, 16-hexaoxacyclooctadecane로 검색된 것으로 사료된다.

수증기 증류법으로 추출한 팔강약침액의 수증기 성분을 용매추출법으로 추출하여 GC/MS 분석법으로 확인해 본 결과 “중성어혈”, “마황천오”, “황련해독탕” 및 “습담”에서 주성분은 long hydrocarbon chain을 가지고 있는 hexaoxacyclohydrocarbon 구조 성분이라고 사료된다.

추후, 비교 표준품과의 동시 분석을 통한 mass spectrum의 mass library 및 정성자료 system 구축이 필요하다고 판단되며, 약재에 잔존하는 잔류농약에 의한 false positive peak에 의한 오판의 가능성을 줄이기 위하여 약재에 잔류되는 잔류농약에 대한 분석도 연구되어야 한다고 사료된다.

Ⅴ. 결론

수증기 증류법으로 추출한 팔강약침액 성분을 용매추출법으로 추출하여 GC/MS 분석법으로 확인해 본 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. “중성어혈”의 경우 8가지 약재에서 에틸 에테르로 추출한 경우 14개의 peak가 디클로로 메탄으로 추출한 경우 13개의 peak가 분석되었으며, 전체적인 peak의 pattern이 비슷한 결과를 보였다.

2. “황련해독탕”의 경우에는 위에서 언급한 “중성어혈”과 동일한 이유로 에틸 에테르와 디클로로 메탄으로 추출 시, 각각의 8개의 peak가 동일한 RT에서 분석되었으며, peak의 pattern도 비슷하게 용출되어 나오는 것으로 사료된다.

3. “마황천오”의 경우, 에틸 에테르 추출용매의 경우 16개의 peak가 분석된 반면 디클로로 메탄 추출용매의 경우 5개의 peak가 분석되었다. 디클로로 메탄으로 추출 시 “마황천오”에서는 38.457분대의 상당히 뒷부분에서 hexaoxacycloocta-decane fragment ion이 용출되는 것으로 보아, 상당히 긴 long hydrocarbon chain을 가지고 있는 hexaoxacyclohydrocarbon 구조 성분이 있는 것으로 사료된다.

4. “습담”의 경우 에틸 에테르 추출용매의 경우 7개의 peak가 분석된 반면 디클로로 메탄 추출용매의 경우 12개의 peak가 분석되었고 상이한 pattern을 보이며, 성분들도 상이한 성분으로 정성되어졌다.

이상의 결과를 바탕으로 수증기 증류법으로 추출한 팔강약침의 다양한 성분 및 각 팔강약침액별 특이한 peak pattern을 알 수 있었다. 이러한 결과는 GC/MS를 이용한 팔강약침액별 정성 및 정량분석을 통한 품질관리 및 유효 약리성분을 동정할 수 있으며, 더 나아가 임상에 사용

하기에 앞서 새로운 약침을 개발하는 데에도 많은 도움이 있을 것으로 사료되었다.

VI. 참고 문헌

1. 이종영, 한영주, 김진호, 김영진, 권기록. 대한약침학회지에 개재된 약침관련논문의 유형 분석. 대한약침학회지. 2006;9(3):147-154.
2. 대한약침학회. 대한약침학회 소개. 서울 : 대한약침학회. 2008;15-16.
3. 임소영, 김성은, 김대근, 신태용, 임종필, 엄동옥. 흡광도측정법에 의한 제제 중 황련 알카로이드의 정량. 생약학회지. 2002;33(3):182-186.
4. 최건주, 고성용, 양신원. 시호함유 한방제 중 황금 지표성분의 확인 및 Baicalin 정량. 생약학회지. 1990;21(2):158-162.
5. 황 람, 권순호, 김경아, 허종문, 강영화, 송경식. 복령의 품질표준화를 위한 지표성분 탐색 및 정량법 개발. 생약학회지. 2005;36(3):177-185.
6. 임동술, 유승조, 지형준. 한국산 창출의 성분연구. 생약학회지. 1988;19(4):228-232.
7. 김호경, 김영아, 천진미, 고병섭. 곽향과 광곽향의 패턴분석 연구. 생약학회지. 2003;34(4):274-277.
8. 이향이, 김종원. 들현호색으로 부터 Berberine과 Coptisine의 분리 및 함량분석. 생약학회지. 1999;30(3):332-334.
9. 강삼식, 김주선, 윤혜숙, 한병훈. 작약의 성분에 관한 연구. 생약학회지. 1993;24(3):247-250.
10. 손건호, 박미정, 이승호, 박정일, 강신정, 장승엽, 이경순. 단삼으로 부터 Tanshinone II A의 분리 및 함량분석. 생약학회지. 1999;30(2):158-162.
11. Ding L., Luo X. B., Tang F., Yuan J. B., Guo M., Yao S. Z. Quality control of medicinal herbs Fructus gardeniae, Common Andrographis Herb and their preparations for their active constituents by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection-electrospray mass spectrometry. Talanta. 2008;74:1344-1349.
12. 장성봉, 차배선, 권기록. 봉독침의 봉독함량 분석. 대한약침학회지. 2005;8(2):53-58.
13. 장성봉, 권기록. 봉독침의 봉독함량과 LD_{50} 및 조직학적 소견관찰. 대한약침학회지. 2006;9(1):155-165.
14. 대한약침학회. 대한약침학회 연구과제(수종 약침의 GC분석 결과). 서울 : 대한약침학회. 2007;52-58.
15. 대한약침학회. 약침요법 시술지침서. 서울 : 한성인쇄. 2000;123-133.

Table 1. Components of pharmacopunctures of eight principles

Name	Herb	Scientific Name
Chungsungauhyul	Gardenia fruit	Gardeniae fructus
	Corydalis tuber	Corydalis ternata
	Olibanum	Olibanum
	Myrrh	Myrrha
	Peach kernel	Persicae seme
	Reony root	Paeoniae radix
	Salvia miltiorrhiza root	Salvia miltiorrhizae radix
	Sappan wood	Sappan lignum
Mahwangchouno	Ephedra herb	Ephedrae herba
	Aconite	Aconiti tuber
Hwanglyunheadok	Coptis rhizome	Coptidis rhizoma
-tang	Scutellaria root	Scutellariae radix
	Phellodendron bark	Phellodendri cortex
	Gardeniae fructus	Gardenia jasminoide
Subdam	Jackinthepulpit tuber	Arisaematis rhizoma
	Pinellia tuber	Pinelliae tuber
	Atractylodes rhizome white	Atractylodes rhizoma alba
	Poria sclerotium	Poria cocos
	Atractylodes rhizome	Atractylodis rhizoma
	Agastache herb	Agastachis herba
	Aucklandia root	Aucklandiae radix
	Citrus unshiu peel	Citri unshii pericarpium
	Liquorice root	Glycyrrhizae radix

Table 2. Compounds of pharmacopunctures of Chungsungauhyul extracted ethyl ether or dichloromethane by GC/MS

Ethyl ether Ext.	
RT	Compound
8.055	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
9.984	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
11.332	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
11.671	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
12.077	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
12.855	3,7-Dimethyl-1,3,6 octriene
13.008	Pentylcyclopropane
13.172	Benzaldehyde
14.027	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
14.323	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
15.221	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
16.208	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
17.522	Benzenemethanol
21.631	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane

Dichloromethane Ext.	
RT	Compound
8.105	1,8-Cineole(1,8-epoxy-p-menthane)
10.001	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
11.666	1-(methyl-carboyl)-2-(trideuterio)Acetylethane
12.083	Furan-3-carboxaldehyde
12.861	Linalool L
13.014	Pentylcyclopropane
13.179	Benzaldehyde
14.033	3-Cyclohexen-1-ol
14.329	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
15.217	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
16.203	O-Piperitenone
17.309	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
21.637	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane

Table 3. Compounds of pharmacopunctures of Mahwangchouno extracted ethyl ether or dichloromethane by GC/MS

Ethyl ether Ext.	
RT	Compound
8.798	Dodecane
9.006	Tridecane
9.280	3,3-Dimethyl-1-hexene
9.412	1,2,3,5-Tetramethylcyclohexane
10.562	Tetradecane
10.852	Octacosane
11.735	Octadecane
12.282	Tetramethylpyrazine
13.269	Benzaldehyde
14.353	Octacosane
15.175	3-Furanmethanol
15.285	3-Cyclohexene-1-methanol
16.731	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
17.290	5-Indanol
17.892	4-Methyl-2, 6-di-tert-butylphenol
18.879	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane

Dichloromethane Ext.	
RT	Compound
12.324	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
15.217	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
15.315	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
17.277	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
38.457	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane

Table 4. Compounds of pharmacopunctures of Hwanglyunheadok-tang extracted ethyl ether or dichloromethane by GC/MS

Ethyl ether Ext.	
RT	Compound
12.143	3,5-Dimethylpyrazole
13.260	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
13.819	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
14.389	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
15.024	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
16.164	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
16.263	2,6,6-Trimethyl-2,4-cycloheptadien
17.884	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane

Dichloromethane Ext.	
RT	Compound
12.149	15-Crown-5
14.384	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
15.030	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
15.173	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
16.159	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
16.258	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
17.287	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
17.879	21-Krone-7

Table 5. Compounds of pharmacopunctures of Subdam extracted ethyl ether or dichloromethane by GC/MS

Ethyl ether Ext.	
RT	Compound
11.731	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
12.126	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
13.255	Benzaldehyde
14.076	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
15.062	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
17.572	Benzyl alcohol
17.867	21-Krone-7

Dichloromethane Ext.	
RT	Compound
10.618	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
11.713	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
12.119	2-Furancarboxaldehyde
13.456	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
14.080	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
14.332	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
15.066	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
15.176	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
15.263	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
16.732	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane
17.269	21-Krone-7
17.882	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane

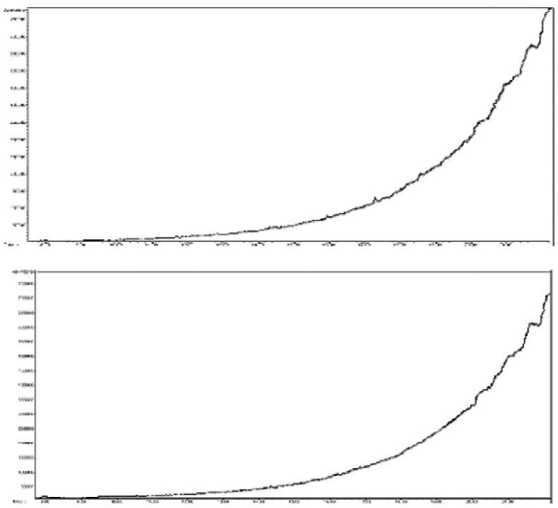

Fig. 1. Total ion chromatogram of solvent blank by ethyl ether(upper trace) or dichloromethane (lower trace).

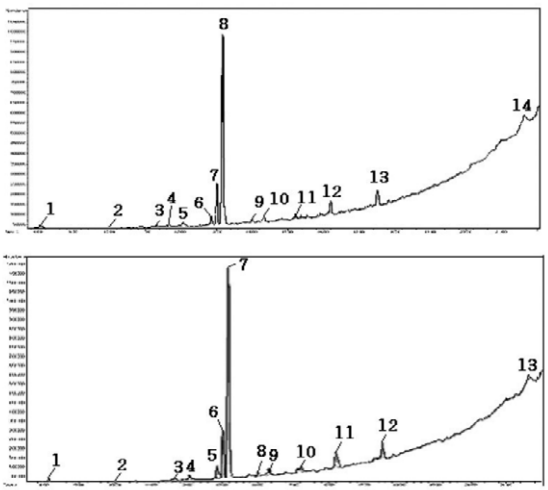

Fig. 2. Total ion chromatogram of pharmacopunctures of Chungsungauhyul extracted ethyl ether (upper trace) or dichloromethane(lower trace). Peaks identity as fellow(upper trace) : 1, 2, 3, 4, 5. 1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane, 6. 3,7-dimethyl-1,3,6-octriene 7. pentylcyclopropane, 8. benzaldehyde, 9, 10, 11, 12. 1,4,7,10,13,16-hexa-oxacyclooctadecane, 12. benzenemethanol, 13. 1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane, (lower trace) : 1. 1,8-epoxy-p-menthane, 2.1, 4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane, 3. 1-(methyl-carboyl)-2-(trideu-terio) acetylethane, 4. furan-3-carboxaldehyde, 5. linalool L, 6. pentyl-cyclopropane, 7. benzaldehyde, 8. 3-cyclohexen-1-ol, 9, 10. 1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane, 11. O-piperitenone, 12, 13. 1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane

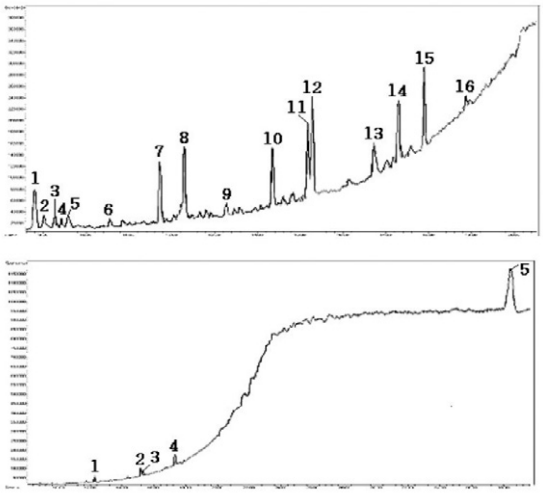

Fig. 3. Total ion chromatogram of pharmacopunctures of Mahwangchouno extracted ethyl ether (upper trace) or dichloromethane(lower trace). Peaks identity as fellow(upper trace) : 1. dodecane, 2. tridecane, 3. 3,3-dimethyl-1-hexene, 4. 1,2,3,5-tetramethylcyclohexane, 5. tetradecane, 6. octacosane, 7. octadecane, 8. tetramethylpyrazine, 9. benzaldehyde, 10. octacosane, 11. 3-furanmethanol, 12. 3-cyclohexene-1-methanol, 13. 1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane, 14. 5-indanol, 15. 4-methyl-2,6-di-tert-butylphenol, 16. 1,4, 7,10,13,16- hexaoxacyclooctadecane, (lower trace) : 1, 2, 3, 4, 5. : 1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane

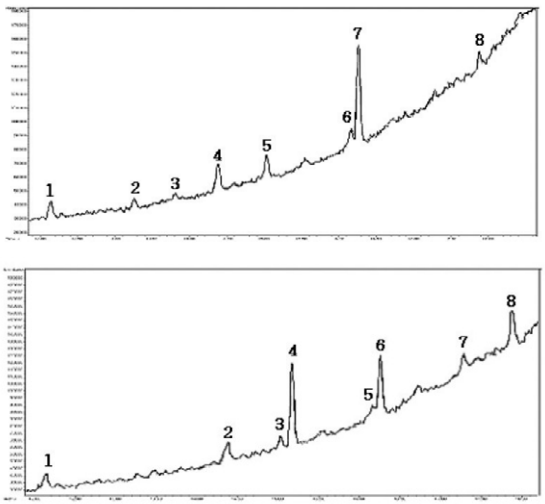

Fig. 4. Total ion chromatogram of pharmacopunctures of Hwanglyunheadok-tang extracted ethyl ether(upper trace) or dichloromethane (lower trace). Peaks identity as fellow(upper trace) : 1. 3,5-dimethylpyrazole, 2, 3, 4, 5, 6. 1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane, 7. 2,6,6-trimethyl- 2,4-cycloheptadien, 8. 1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane, (lower trace) : 1. 15-Crown-5, 2, 3, 4, 5, 6, 7. 1,4,7,10,13,16-hexaoxacycloocta-decane, 8. 21-krone-7

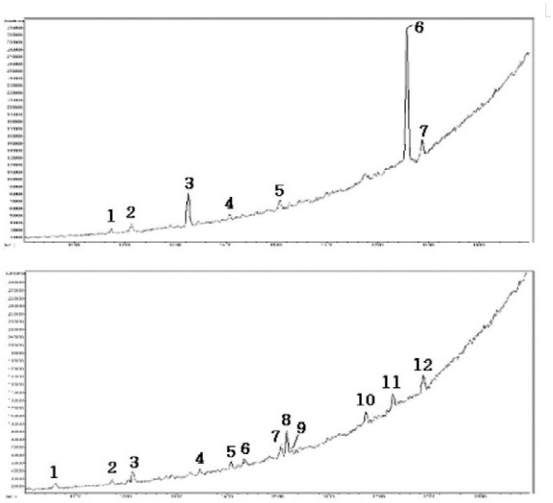

Fig. 5. Total ion chromatogram of pharmacopunctures of subdam extracted ethyl ether(upper trace) or dichloromethane(lower trace). Peaks identity as fellow(upper trace) : 1, 2. 1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane, 3.benzaldehyde, 4, 5. 1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane, 6. benzyl alcohol, 7. 21-krone-7, (lower trace) : 1, 2. 1,4,7,10, 13,16-hexaoxacyclooctadecane, 3. 2-furancarboxaldehyde, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10. 1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane, 11. 21-krone-7, 12. 1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane

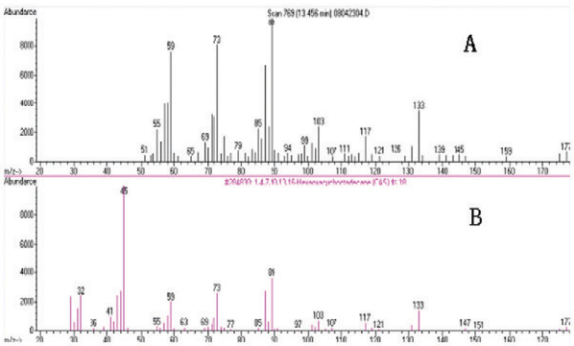

Fig. 6. Mass spectrum of sample (A) and reference (B) of 1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane in pharmacopuncture of eight principles