

평위산 전탕액의 보관 온도 및 기간에 따른 항염증 효능 비교

하혜경, 신인식, 임혜선, 전우영, 김정훈, 서창섭, 신현규
한국한의학연구원 한약기초연구그룹

ABSTRACT

Changes in Anti-inflammatory Effect of *Pyungwi-san* Decoction According to the Preservation Temperature and Period

Hyekyung Ha, In-Sik Shin, Hye-Sun Lim, Woo-Young Jeon,
Jung-Hoon Kim, Chang-Seob Seo, Hyeun-Kyoo Shin

Basic Herbal Medicine Research Group, Herbal Medicine Research Division, Korea Institute of Oriental Medicine

Objectives : To provide the information of preservation method for herbal decoction, we evaluated the anti-inflammatory effects according to preservation temperature and period of *Pyungwi-san* (PWS, *Ping wei-san*) decoction.

Methods : The anti-inflammatory activity of PWS was investigated by carrageenin-induced paw edema in SD rats. At 0 month, PWS extract was administrated 100, 300 and 1000 mg/kg/day orally for seven days prior to induction of edema. Edema was induced by subcutaneous injection

-
- 교신저자 : 신현규
 - 대전시 유성구 유성대로 1672 한국한의학연구원 한약기초연구그룹
 - Tel : 042-868-9464 Fax : 042-864-2120 E-mail : hkshin@kiom.re.kr
 - 접수 : 2012/ 10/ 08 채택 : 2012/ 12/ 05
 - 본 연구는 한국한의학연구원에서 지원하는 '표준한방처방 EBM 구축사업 (K12031)' 과제로 수행되었습니다.

of 1% carrageenin into the right hind paw. The paw volume was measured at 4 hr following carrageenin-induced paw edema in rats. At 6 and 12 months, PWS extracts according to preservation temperatures (room temperature, 4°C and -20°C) were administrated in rats and then carrageenin-induced paw edema volume was measured.

Results : PWS showed inhibitory effect on carrageenin-induced paw edema in rats and the optimal dose was 1000 mg/kg/day at 0 month of storage. At 6 month of storage, PWS stored at 4°C and -20°C were inhibited paw edema but that stored at room temperature was not reduced paw edema in rats.

Conclusions : These results suggest that PWS decoction pouch has anti-inflammatory activities at both 4°C and -20°C during 6 month storage.

Key word : Preservation method, *Pyungwi-san*(*Ping wei-san*), Anti-inflammation

1. 서 론

전통적으로 한약은 1첩씩 달여서 복용하였으나 1980년대 후반에 들어 한약추출기가 출시되고 이후 전국적으로 거의 대부분의 한의원에서는 한약추출기를 사용하여 전탕액 파우치를 제공하는 방식을 사용하고 있다¹⁾. 그러나 한약 전탕액 파우치의 보관방법이나 유효기한에 대한 기준이 없는 실정이다. 식품의약품안전청 고시에 따르면 의약품의 사용(유효) 기간은 허가 한약제제의 경우 자료 제출의약품 중 일반의약품으로 별도의 안정성 시험 자료 없이 이미 품목허가·신고된 품목의 사용기간을 준용하여 설정할 수 있으며, 그 기간은 36개월을 초과하여서는 안된다고 되어있어²⁾ 시판되는 한약제제의 경우 36개월로 정해져 있다. 그러나 한방의료기관에서 환자에게 주로 투여되는 한약의 형태인 전탕액은 식품의약품안전청의 허가 의약품이 아니므로, 이에 대한 기준 시험법이나 유효

효기간에 대한 법적 기준이 없다.

이에 많은 연구자들이 한약 전탕액의 유효기간을 설정하고자 한약 전탕액의 보관기간이나 보관 온도에 따른 성분 함량 또는 유효성을 평가하여 발표하고 있으나, 한약 처방의 종류에 따라, 성분 함량, 효능 등 평가 지표가 모두 다르게 설정되어 있어 유효기간의 기준 설정에 혼선을 주고 있다. 본 연구에서는 이화학적 성분 분석법이 확립된 한약 처방 평위산을 선택하여 한약 처방의 전탕액 파우치를 제조하여 보관 온도 및 보관 기간에 따른 유효성을 평가하였다.

평위산은 한의학적으로 비위(脾胃)의 습체(濕滯)로 인하여 완복창만(腕腹脹滿), 불사음식(不思飲食), 구담무미(口淡無味), 오심구토(惡心嘔吐), 애기탄산(噯氣吞酸), 지체침중(肢體沈重), 권태기와(倦怠嗜臥), 대변자리(大便自利)를 치료하는데 사용되며³⁾, 위장관 운동 조절, 점액 분비량 조절 및 위장점막 손상 회복 등 위장관 질환 뿐만아니라^{4,5)}

항염증 및 진통 효과^{6,7)} 등이 알려져 있다. 특히 이전의 연구에서 평위산 추출물이 carrageenin 유발 족부종 모델에서 항염증 효과를 나타냄을 확인하였기에⁸⁾ 본 연구에서는 평위산 전탕액 파우치의 보관 온도와 기간별에 따른 항염증 효능을 평가하고 이에 따른 전탕액의 보관 유효 기한을 설정하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 평위산 전탕액의 조제 및 보관

본 실험에 사용된 평위산의 구성 원료 약재인 진피(Citri Unshius Pericarpium), 생강(Zingiberis Rhizoma) 및 대조(Zizyphi Fructus)는 (주)옵니허브(Yeongcheon, Korea)에서 구입하였으며, 창출(Atractylodis Rhizoma), 후박(Magnoliae Cortex) 및

감초(Glycyrrhizae Radix)는 (주)HMAX(Chungbuk, Korea)에서 각각 구입하여 사용하였고 평위산 1첩의 각 약재 함량은 Table 1과 같다.

평위산 전탕액 파우치 제조를 위하여 평위산 3제 분량(1.575 kg)의 약재와 약재 무게의 10배 부피에 해당하는 약 15 L의 증류수를 넣고 한약추출기(경서메디텍 COSMOS660)를 사용하여 105℃에서 2시간 증기를 배출하지 않은 가압식 방법으로 전탕하였다. 전탕액은 자유조절 롤포장기(MH205 Tower, 경서기계)를 사용하여 파우치 팩으로 포장하였고 이를 상온(25℃), 냉장(4℃) 및 냉동(-20℃)에 보관하면서 0, 6, 12개월에 개봉하여 동결 건조 후 항염증 동물실험에 사용하였다. 평위산 전탕액의 동결건조 추출물의 추출 수율은 19.6%였다.

Table 1. Composition of *Pyungwi-san*

Latin Name	Scientific Name	Content (g)
Atractylodis Rhizoma	<i>Atractylodes japonica</i>	7.50
Citri Unshius Pericarpium	<i>Citrus unshi</i>	5.25
Glycyrrhizae Radix	<i>Glycyrrhizia uralensis</i>	2.25
Magnoliae Cortex	<i>Magnolia officinalis</i>	3.75
Zingiberis Rhizoma	<i>Zingiber officinale</i>	3.75
Zizyphi Fructus	<i>Zizyphus zizyphus</i>	3.75
Total		26.25
Extraction yield (%)		19.6

2. Carrageenin 유발 족부종 모델

1) 실험 동물

생후 4주된 수컷 SD rat(오리엔트바이오, 성남)을 분양받아 온도 23±3℃, 상대습도 50±10%, 12시간 간격으로 명암이 조절되는 동물사육실에서 1주일간 환경에 적응하도록 순화시켰다. 순화기간 중 육안적으로 관찰하여 건강한 동물을 선별하여 실험에 사용하였다. 동물실험은 한국한의학연구원의

동물실험윤리위원회의 승인을 받아 진행하였다(동물실험 승인번호 10-103).

2) 평위산 추출물의 용량 설정

평위산 추출물의 족부종 억제효과에 대한 최적의 용량을 설정하기 위하여 전탕액 제조 시점(0 month)의 동결건조 추출물을 100, 300 및 1000 mg/kg/day로 7일간 경구 투여하였다. 양성대조군으로는 indomethacin(10 mg/kg/day)을 단회 투여

하여 사용하였으며 대조군에는 0.1% Tween 80 수용액을 5 mL/kg의 용량으로 투여하였다. 이후 rat의 오른쪽 발바닥 피하에 1% carrageenin(Sigma, USA)을 포함하는 생리식염수를 0.1 mL씩 주사하여 족부종을 유발하였다. 발생한 족부종을 수용적 방법으로 carrageenin 주사 직전과 주사 4시간 후 plethysmometer(Ugo Basile, Italy)를 이용하여 측정하였다. 측정된 발의 부피를 이용하여 산출법에 의하여 부종증가율을 계산하였으며, 이후 대조군의 부종 증가율을 기준으로 약물의 부종 억제율(%)을 계산하였다. 계산식은 다음과 같다. 각 군은 6마리로 구성하였으며 결과 값은 mean±SEM으로 표현하였다.

부종증가율(%) =

$$\frac{(\text{족부종유발 후 발의 부피} - \text{족부종유발 전 발의 부피})}{\text{족부종 유발 전 발의 부피}} \times 100$$

부종억제율(%) =

$$100 - \frac{\text{약물투여군의 부종증가율}}{\text{대조군의 부종증가율}} \times 100$$

3) 보관 온도 및 기간에 따른 족부종 억제

위 용량설정 실험에서 설정된 용량(1000 mg/kg/day)으로 실온, 4°C 및 -20°C에서 보관된 전당팩의 6개월 및 12개월 동결 건조물을 7일간 투여하고 상기와 동일한 방법으로 족부종을 유발시키고 부종 증가율을 계산하였다.

4) 통계처리

모든 측정 결과는 mean±S.E.M.으로 나타냈으며 실험군 및 기간에 따른 차이는 ANOVA를 사용하여 1차 분석하고 Bonferroni multiple comparison method로 2차 분석하였다. 통계학적 분석에는 SYSTAT 8.0 program(SPSS Inc., USA)을 사용하였으며 p<0.05일 경우에 유의성이 있다고 하였다.

III. 결 과

1. 평위산의 용량별 족부종 억제 효과

보관 온도 및 기간별 효능 비교 전 평위산 추

출물이 항부종 효과를 나타내는 유효 용량을 결정하기 위하여 보관 기간 0 개월의 추출물을 100, 300 및 1000 mg/kg/day로 투여한 후 족부종 억제 효과를 평가하였다. 대조군은 carrageenin으로 인해 족부종이 34.56±1.51% 증가되었고 양성대조군으로 사용한 indomethacin의 투여는 증가된 족부종을 50.15±9.99% 억제시켰다(p<0.01). 평위산 추출물을 용량별로 투여한 결과, 모든 용량에서 유의성 있는 족부종 억제 효과를 나타냈으며(p<0.05), 최고 용량인 1000 mg/kg/day 투여군의 경우 양성대조군으로 사용한 indomethacin과 유사한 수준의 족부종 억제효과를 나타냈으므로(48.00±6.88% 억제, p<0.01) 최적용량을 1000 mg/kg/day로 설정하였다(Fig. 1).

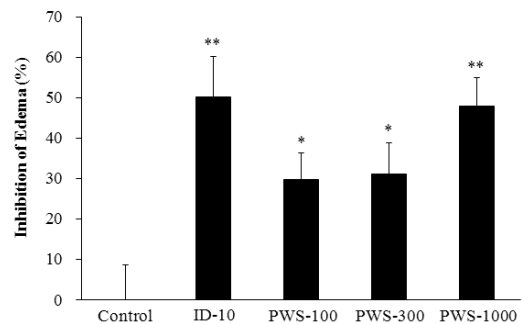


Fig. 1. Inhibition effects of *Pyungwi-san* decoction (PWS) on paw edema in rats induced by carrageenin.

Data are presented as mean±S.E.M (*: p<0.05, **: p<0.01 compared with the control group).

2. 보관온도 및 기간에 따른 족부종 억제 효과

보관온도를 실온, 냉장(4°C), 냉동(-20°C)로 하여 0, 6, 12개월간 보관한 평위산 전당액 파우치의 동결건조 추출물을 1000 mg/kg/day로 투여하여 족부종 억제효과를 비교하였다. 보관 0개월에는 48.00±6.88%의 부종억제율을 나타냈으나(p<0.01), 실온 보관시료의 경우 6개월 보관시 6.29±7.34%의 부종 억제율을 나타냈고 12개월 시료는 오히려 족

부종을 증가시키는 것으로 나타나 실온 보관 시료는 6개월 이전에 항염증 효과가 상실되는 것으로 나타났다(Fig. 2). 냉장 및 냉동 보관 시료의 경우 6개월 보관시 각각 38.18±3.63%와 29.48±3.09%의 부종 억제율을 나타냈으나(p<0.01), 12개월 보관시 15.48±10.71%와 8.82±12.01%의 부종억제율을 나타내 12개월 보관시 항염증 효능을 상실하는 것으로 나타났다(Fig. 2). 양성대조군으로 사용한 indomethacin의 경우 0, 6, 12개월에 족부종 억제 효과가 각 50.15±9.99%, 44.44±4.74% 및 41.52%± 5.96%로 일정하게 나타났다(p<0.01).

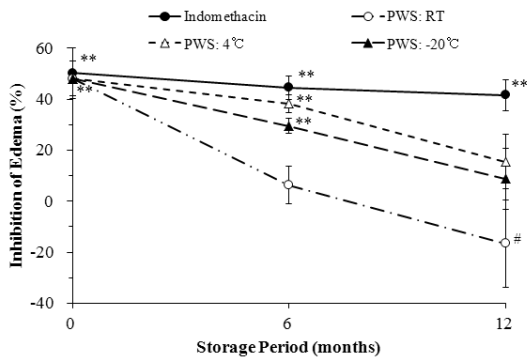


Fig. 2. Changes in Inhibition percent of carrageenin-induced paw edema according to the preservation temperature and period of *Pyungwi-san* decoction (PWS).

Data are presented as mean±S.E.M (*: p<0.05, **: p<0.01 compared with the control group, #: p<0.05 compared with the 0 month group).

IV. 고 찰

한약 전탕액의 보관 유효 기한을 설정하고자 한 연구는 이화학적 지표와 효능 지표 연구로 크게 나눌 수 있다. 이화학 지표 연구에 의한 유효 기한 연구로 손⁹⁾ 등은 감초, 지실, 인진 3종류의 한약물 탕전액 성분 변화를 연구하여 8주의 유효 기간을 제시한바 있다. 전탕액의 효능지표 연구에 의한 유효기간을 설정 연구로 금¹⁰⁾ 등은 대황복단

피탕의 경시적인 효능변화 실험을 통해 9일 이상 보존은 피해야한다고 했으며, 한¹¹⁾ 등은 소시호탕 전탕액 효능실험을 통해 보관이 10일이하가 타당하다고 하였으며, 길¹²⁾ 등은 연교패독산의 생취 소염 및 항균효과에서 9일을 넘어서는 안된다고 하였으며, 최¹³⁾ 등은 영선제통음 전탕액의 진통 소염실험을 통해 9일, 김¹⁴⁾ 등은 인진호탕 전탕액으로 흰쥐의 혈중 활성도를 관찰하여 보관이 10일 이하를 제시하였고, 윤¹⁵⁾ 등은 작약감초탕 전탕액의 효과를 관찰한바 10일 이상 보존은 지양한다고 하였다. 따라서 이들 처방 전탕액의 활성실험에서 유효기한은 9일이나 10일 이하를 제시하고 있다. 이처럼 한약 전탕액 파우치의 이화학적 기준에 의한 안정성과 효능 기준에 의한 안정성은 큰 격차를 나타내고 있다.

본 연구팀에서는 이미 평위산을 『의약품등의안정성시험기준』에 따라 신약에 준하는 12개월간의 장기보존시험을 통하여, 평위산 전탕액 유효기한 설정으로는 상온 보관 41개월, 냉장 보관 24개월 및 냉동 보관 34개월로 보고하였고¹⁶⁾, 8개월 동안 평위산 탕액의 주요성분의 함량변화를 평가한 결과 감초의 주요성분인 liquiritin과 glycyrrhizin의 성분 함량은 큰 변화를 보이지 않았으나 진피의 주요성분인 hesperidin은 냉장 보관에서는 함량이 약 18%, 상온 보관에서는 약 38% 감소한 것으로 나타났다¹⁷⁾. 본 연구에서는 위와 동일한 시료로 보관온도(실온, 냉장, 냉동) 및 보관 기간 0, 6, 12개월 시점에서 동물 모델을 이용한 항염증 효과를 비교하였다. 한방의료기관에서는 환자에게 한약 파우치를 대체적으로 7, 10, 15일 정도의 복용량으로 제공하면서 유효기간이 3개월이라고 하나, 환자들이 기간 내에 복용하지 못하고 장기간 보관 및 복용하는 사례가 빈번하다. 따라서 보관기간 12개월을 상한선으로 임의로 설정하고 파우치 제조 직후, 보관 6개월 및 12개월을 각 보관 온도에 따른 유효성 검증 시기로 결정하였다. 보관기간 0개월에서 평위산의 항염증 효과에 대한 최적 용량

설정 실험을 수행한 결과 평위산 추출물 100, 300 및 1000 mg/kg/day 투여군 모두 유의성 있는 항염증 효과를 나타냈으며 그 중 1000 mg/kg/day 투여군이 양성대조군으로 사용한 indomethacin 10 mg/kg과 유사한 수준의 항염증 효과를 나타냈다. 평위산 1첩은 26.25 g의 약재로 구성되며 전탕액 추출물의 수율은 19.6%이므로 이를 평위산 1일 복용량(2첩)으로 계산하면 사람에게 대한 1일 복용량은 171.5 mg/kg/day(26.25 g/첩×2첩×19.6%/60 kg human)이고 사람대비 실험동물 동일용량 계산식에 따라¹⁸⁾ rat 대한 용량은 1063.3 mg/kg/day이 된다. 이에 따라 본 연구에서는 평위산의 최적 용량을 1000 mg/kg/day로 결정하여 6개월 및 12개월 보관기간에 대한 평위산 추출물의 항염증효과를 평가한 결과, 냉장 및 냉동 보관 시료는 6개월에도 유의한 항염증 효과를 나타냈으나 12개월에서는 효능을 상실하였으며 실온 보관 시료는 6개월에도 효능을 상실한 것으로 나타났다.

결과적으로 같은 전탕액 파우치를 사용하더라도 성분 함량 변화에서 실온 보관의 경우 냉장이나 냉동 보관시보다 특정 성분의 감소폭이 크고 효능의 상실도 커지므로 냉동 또는 냉장 보관이 약효 유지에 도움이 될 것으로 예상된다. 한약 처방의 구성 약재의 종류 및 성질에 따라 달라질 수 있으므로 다양한 한약 처방에 대해 성분 변화와 효능 변화를 동시에 평가하여 각 처방의 보관 방법 기준을 제시하는 것이 필요하다고 판단된다.

V. 결 론

평위산 전탕액 파우치를 제조하여 실온, 냉장 및 냉동 조건에서 0, 6, 12개월 보관한 시료의 항염증 효과를 비교한 결과 냉장 및 냉동 시료는 6개월까지 항염증 효능을 유지하였으나 실온 보관 시료는 6월에도 그 효능을 유지하지 못하였다. 평위산 전탕액은 파우치 제조 후 냉장 또는 냉동 보

관하여 6개월 내에 복용할 것을 권장한다.

감사의 말씀

본 연구는 한국한의학연구원에서 지원하는 '표준한방처방 EBM 구축사업 (K12031)'에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 김호철. 한의신문(2010. 10. 30.). http://www.akomnews.com/subpage/search__detail.php?code=A001&uid=57903&page=/subpage/search.php&nowpage=1&search__word=한약파우치&search__key=all&sadop__date=--&eadop__date=
2. 식품의약품안전청. 고시 제2012-54호 『의약품등의안정성시험기준』.
3. 한의과대학 방제학 교수 공편저. 방제학. 영림사. 1999:486.
4. Park SH, Kim JS, Ryu BH, Park DW, Ryu KW. A study on the effects of Pyungwee-san and compounding of medicine in Pyungwee-san on the movement of gastrointestinal smooth muscles, anticatharsis and central nervous system. J. Oriental Chr. Dis. 2000;6(1):184-96.
5. Shin CH. Effects of Pyeong yoe san extract and Jo gi pyeong yoe san extract on the experimental gastric ulcer in rats. J. Const. Med. 1990;2(1):189-97.
6. Chang IK, Heu IM. Experimental studies on the efficacy of Pyungwee-san, Hyangsapyungwee-san and Bulwhangumchungglsan. K. H. Univ. O. Med. J. 1990;13:427-61.
7. Kim YK, Ryu BH, Park DW, Ryu KW. A study on the effects of Pyungwee-san in the movement

- of gastrointestinal smooth muscles, anticatharsis and central nervous system. *K. H. Univ. O. Med. J.* 1999;22(1):185-202.
8. Lee JA, Ha H, Jung DY, Lee HY, Lee JK, Huang DS, Shin HK. Comparative study of 25 herbal formulas on anti-inflammatory effect. *J. Orient. Obst. Gynecol.* 2010;23(3):101-11.
 9. Son JY, Shin JW, Son CG. Stability study for herbal drug according to storage conditions and periods. *J Korean Oriental Med.* 2009;30(2):127-32.
 10. Keum HK, Lee SI. A study on the effect changes of Dae Hwang Mo Nan Pi Tang due to the time elapse. *Kor. J. Herbology.* 1991;5(1):83-98.
 11. Han KS, Chio YB, Lee YJ. A study on the degraded effect of decocted Sosihotang over a period. *Kor. J. Herbology.* 1998;13(2):7-12.
 12. Kil GJ, Lim DB, Lee YJ. A study on the degraded effect of decocted Yeonkyopaedogsan over a period. *Kor. J. Herbology* 1998;13(1):173-86.
 13. Choi YB, Lim DB, Lee YJ. A study on the degraded effect of decocted Youngsunjetongem over a period. *Korean J. Orient. Med.* 1998;19(1):410-8.
 14. Kim WG, Choi YB, Lee YJ. A study on the degraded effect of decocted Injinhotang over a period. *Kor. J. Herbology* 1998;13(2):14-8.
 15. Yun SJ, Lee SI. Study of Jagyakgamchotang's effect change by time. *Kor. J. Herbology* 1992;6(1):29-34.
 16. Seo CS, Kim JH, Lim SH, Shin HK. Estimation of shelf-life by long-term storage test of Pyungwisan. *Korean J Oriental Medical Prescription.* 2011;19(1):183-94.
 17. Seo CS, Shin HK, Kin JH, Shin KS. Changes of principal components and microbial population in Pyungwi-san decoction according to the preservation temperature and period. *J. Koran Oriental Med.* 2011;32(5):41-9.
 18. US Department of health and human services, Food and Drug Administration, Center for drug evaluation and research. Guidance for industry on Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. 2005. (<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm078932.pdf>)