

## 멸균에 따른 작약감초약침의 지표 성분변화 및 해결방안

이종환<sup>1</sup>, 전재운<sup>1</sup>, 임수진<sup>1</sup>, 김해솔<sup>1</sup>, 김호선<sup>1</sup>, 배영현<sup>1</sup>, 이인희<sup>3</sup>,  
 김민정<sup>3</sup>, 김은지<sup>3</sup>, 하인혁<sup>2,3</sup>, 이진호<sup>2,3</sup>, 이재웅<sup>3,\*</sup>

<sup>1</sup>자생한방병원 침구의학과

<sup>2</sup>자생한방병원 재활의학과

<sup>3</sup>자생한방병원 R&D센터



### [Abstract]

The Effects of Sterilization on *Jakyakgamcho* Decoction(*Shaoyaogancao* Decoction) Pharmacopuncture: an Investigation to Minimize Loss of Principal Components

Jong Hwan Lee<sup>1</sup>, Jae Yun Jun<sup>1</sup>, Su Jin Lim<sup>1</sup>, Hae Sol Kim<sup>1</sup>, Ho Sun Kim<sup>1</sup>,  
 Young Hyeon Bae<sup>1</sup>, In Hee Lee<sup>3</sup>, Min Jeong Kim<sup>3</sup>, Eun Jee Kim<sup>3</sup>, In Hyuk Ha<sup>2,3</sup>,  
 Jin Ho Lee<sup>2,3</sup> and Jae Woong Lee<sup>3,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Acupuncture and Moxibustion Medicine, Gang-Nam Jaseng Oriental Medicine Hospital

<sup>2</sup>Department of Rehabilitation Medicine, Gang-Nam Jaseng Oriental Medicine Hospital

<sup>3</sup>R&D Center, Gang-Nam Jaseng Oriental Medicine Hospital, Seoul

**Objectives :** *Jakyakgamcho* decoction is a traditional prescription known to be an effective pain control medication and muscle relaxant. For more localized treatment outcomes achieved in a shorter period of time, *Jakyakgamcho* decoction was reprocessed into a form of pharmacopuncture. An analysis of *Jakyakgamcho* decoction pharmacopuncture showed that there was a significant loss of paeoniflorin(*Jakyak's* index component). This study was designed to investigate ways to minimize this loss.

**Methods :** After making changes to the processing methods of *Jakyakgamcho* decoction pharmacopuncture, we measured the quantity of paeoniflorin using high performance liquid chromatography(HPLC) for a before-and-after analysis

**Results :** Paeoniflorin loss was observed 15 minutes after sterilization with Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> at 121 °C

**Conclusions :** It was found that paeoniflorin loss did not occur when pH was not controlled for during processing.

#### Key words :

*Jakyak*;

*Gamcho*;

*Jakyakgamcho* decoction

pharmacopuncture;

Paeoniflorin

Received : 2014. 11. 04.

Revised : 2014. 11. 04.

Accepted : 2014. 11. 26.

On-line : 2014. 12. 20.

\* Corresponding author : R&D Center, Gang-Nam Jaseng Oriental Medicine Hospital, 2F, 858,

Eonju-ro, Gangnam-gu, Seoul, 135-896, Republic of Korea

Tel : +82-2-3218-2153 E-mail : leejw@jaseng.co.kr

© This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

*The Acupuncture* is the Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society. (<http://www.TheAcupuncture.org>)

Copyright © 2014 KAMMS, Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society. All rights reserved.

## I. 서 론

芍藥甘草湯은 백작약과 감초가 1:1로 구성된 처방으로 《傷寒論》에 처음 언급되었다. 그 구성 본초의 효능을 보면 다음과 같다.

白芍藥은 性味가 苦酸 微寒하고 歸經은 肝脾經에 入하므로 한의학적으로 柔肝止痛, 養血斂陰, 平肝抑揚하며 解痙, 止痛, 抗潰瘍, 消炎 작용 등을 하고 평활근과 골격근의 抗痙攣 작용과 중추신경에는 鎮靜작용이 있어 鎮痙, 鎮痛의 효과가 있는 것으로 알려져 있다<sup>1)</sup>.

甘草는 性味가 甘平하며 心脾胃肺經에 入하여 補裨益氣, 和中緩急, 潤肺止咳, 調和諸藥의 효능과 解毒, 鎮痙, 위산분비 억제, 祛痰, 抗炎症, 항알레르기 작용 등이 보고되어 있다<sup>2)</sup>.

이러한 진통, 진경 효과가 있는 본초로 구성된 작약감초탕은 원문에서 “傷寒 脈浮 自汗出 小便數 心煩 微惡寒 脚攣急 … 若厥愈足溫者 更作芍藥甘草湯與之 其脚即伸”이라 하여, 痛症 및 四肢痛, 痙攣, 腹痛 등에 널리 활용되고 있으며<sup>3)</sup> 특히 근 골격계 질환에 많이 사용되고 있다.

작약감초탕의 선행된 연구들을 살펴보면 2003년도에 Lee et al<sup>4)</sup>은 작약감초탕이 구성약물 개별보다 더 강한 진통효과가 있다는 것을 연구하였고, Lee et al<sup>5)</sup>은 토끼의 서혜동맥에서 norepinephrine으로 유발한 수축에 대한 이완 실험을 진행하여 작약감초탕이 근 이완효과가 있다는 것을 보여주었다. 또 다른 연구로서 2010년도에 Kim et al<sup>6)</sup>은 실험연구를 통하여 작약감초탕의 항염증효과를 입증하였다.

약침은 한약의 귀경성미와 경혈 이론에 입각하여 치료하는 치료법으로 본래의 탕약의 효과를 구경투여가 아닌 직접 통증 부위나 치료하고자 하는 부위에 직접 주입함으로써 원하는 효과를 보다 빠르게 직접 얻는 치료법이다<sup>7)</sup>. 작약감초탕도 약침으로 연구되었는데 Jang et al<sup>8)</sup>이 1993년도에 작성한 작약감초탕 수침자극 논문에서 약침도 진통 및 항경련에 효과가 있다는 것을 보여주었다. 즉 탕약의 효과가 약침으로 사용되어도 효과가 있다는 것을 보여주었다.

이에 저자는 약침을 만드는 과정에서 한의학적으로는 의미 있는 방법으로 만들어져도 성분이 된 약재의 효능에 대한 지표성분이 간혹 검출되지 않아서 유효 여부에 대한 논란이 학계에서 있었기에 임상에 응용하기 전에 작약감초탕 약침에 대하여 지표성분을 분석 실험하게 되었다.

저자는 작약감초약침 조제 후 《대한약전》에 공시된 백작약의 지표물질인 paeoniflorin과 감초의 지표물질인 glycyrrhizin의 지표성분함량을 high performance liquid chromatography(HPLC) 분석을 통해 분석하였고 그 결과, 작약감초추출물을 약침으로 조제할 때 paeoniflorin의

함량이 큰 폭으로 감소하는 것을 확인하였다. 이에 저자는 감소하는 원인을 찾고, 나아가 해결방법을 찾고자 실험을 진행하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 기기 및 시약

작약감초약침 조제를 위하여 사용한 작약과 감초는 그린 명품제약(남양주, 한국)에서 구입하였다. 시료의 추출과 알코올수침에 사용한 주정은 대정화학주식회사(시흥, 한국)에서 생산한 1급 시약을 사용하였다. 표준품으로 사용된 paeoniflorin과 glycyrrhizin은 Sigma Aldrich(Milwaukee, WI)에서 구입하였고, 각각 98.0 %, 95.0 %의 순도를 사용하였다. 정량분석에 사용된 water, acetonitrile (ACN)은 HPLC grade(JT Baker, Phillipsburg, NJ, USA)용, phosphoric acid는 Junsei chemical(Japan)을 사용하였다.

본 실험에 사용된 HPLC는 waters사의 waters 600s controller, waters™ 626 pump, waters temperature control module, waters In-Line degasser, waters™ 717plus autosampler and waters™ 996 photodiode array detector(PDA)를 사용하였다.

### 2. 작약감초약침의 조제방법

작약 150 g과 감초 150 g을 넣고 70 % 주정을 이용하여 3시간 동안 환류 추출하였다. 추출액을 여과 후 여액을 감압 농축하였다. 농축된 추출물을 80 %, 90 % 주정을 이용하여 알코올 수침하여 정제하였으며 정제된 추출물은 여과 후 동결 건조하여 약침의 원료로 사용하였다. 정제된 약침 원료를 정제수에 녹이고 NaCl을 이용하여 염도를 0.9 %로 보정하였으며 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>를 이용하여 pH를 7.0으로 보정하여 약침을 조제하였다. 조제된 약침은 121 °C에서 15분 멸균하여 사용하였다.

### 3. Paeoniflorin과 glycyrrhizin의 HPLC 분석법

표준물질 paeoniflorin과 glycyrrhizin은 methanol에

녹여 0.1 mg/ml, 0.4 mg/ml 농도로 조제하여 4 °C에서 보관하여 사용하였다.

각 물질에 대한 분석은 《대한약전》의 분석법 등을 기초로 하여 분석조건을 설정하였다<sup>9,10</sup>. Column은 TC-C18 (5 um, 4.6 ID × 250 mm, Aglient), column temperature는 35 °C, flow rate는 1.0 ml/min을 유지하였다. Mobile phase는 paeoniflorin은 10 % ACN을 이용하였고, glycyrrhizin은 0.1 % phosphoric acid를 넣은 35 % ACN을 이용하였다. Injection volume은 각각 20 ul씩 주입하였으며, UV는 paeoniflorin은 230 nm를 이용하였고, glycyrrhizin은 245 nm를 이용하여 측정하였다.

분석 후 함량 계산은 아래와 같은 공식을 이용하여 계산하였다.

Calculation : (sample area / standard area) (standard injection vol. / sample injection vol.) standard conc, standard purity = sample conc. mg/mL

### III. 결 과

#### 1. 작약감초약침과 원료의 성분비교

작약감초추출물과 그 추출물을 이용하여 조제한 작약감초약침을 동일 농도로 희석 후 HPLC를 이용하여 분석한 결과 glycyrrhizin함량은 큰 변화가 없었으나 paeoniflorin 함량은 97.8 % 감소하는 것을 확인할 수 있었다(Table 1).

Table 1. Analysis of *Jakyakgamcho* Decoction (*Shaoyaogancao* Decoction) Pharmacoacupuncture

Compound	Paeoniflorin	Glycyrrhizin
Sample(ug/mL)		
<i>Jakyakgamcho</i> ( <i>Shaoyaogancao</i> ) extract	89.2	23.3
<i>Jakyakgamcho</i> decoction( <i>Shaoyaogancao</i> decoction) pharmacoacupuncture	2.0	27.4

#### 2. pH와 염도 보정에 따른 paeoniflorin의 함량 비교

작약감초약침을 pH와 염도를 각각 보정한 시료와 보정하지 않은 시료를 이용하여 멸균 전과 후의 paeoniflorin 함량을 비교해본 결과(Table 2.) 보정을 하지 않은 시료와 염도만 보정한 시료에서는 paeoniflorin 함량의 감소가 없었지만 pH를 보정한 시료는 paeoniflorin 함량이 전량 감소한 것을 확인 할 수 있었다(Fig. 1).

Table 2. Compound Difference after Pharmacy Change

Compound	Before sterilizing	After sterilizing
Sample(ug/mL)		
Before correction	110.4	111.2
After pH correction	103.1	ND
After salinity correction	102.2	112.1

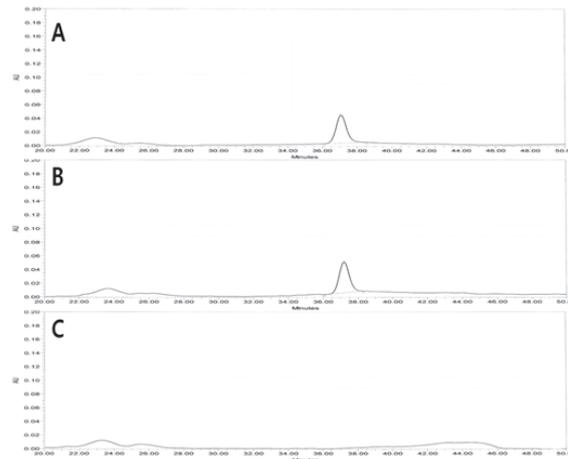


Fig. 1. Liquid chromatograms using UV detection at 230 nm

A : paeoniflorin standard 0.1mg/mL,  
 B : *Jakyakgamcho* decoction(*Shaoyaogancao* decoction) pharmacoacupuncture before sterilizing, pH correction,  
 C : *Jakyakgamcho* decoction(*Shaoyaogancao* decoction) pharmacoacupuncture after sterilizing, pH correction

### IV. 고 찰

Jang et al<sup>8)</sup>이 1993년도에 작성한 작약감초탕 수침자극 논문에서 진통 및 항경련에 효과가 있다는 것을 보고하였고, 1995년도에 Cheon et al<sup>11)</sup>이 연구한 논문에서는 진통 효과가 경혈에 주입했을 때 더 강하게 나타난다고 보고하였다. 즉 진통 항경련 등의 효과와 기본 처방으로서 갖는 근 이완 효과 등을 치료에서 기대해 볼 수 있으므로 근육의

경결이나 단축, 수축으로 인한 여러 근 골격계 병변에 다양하게 응용할 수 있다.

작약감초약침 조제 후 성분이 된 약재의 효능에 대한 지표성분인 paeoniflorin과 glycyrrhizin을 분석한 결과 paeoniflorin 함량이 급격하게 감소하는 것을 확인할 수 있었다. Paeoniflorin은 melting pot가 196 °C인 비교적 안정된 화합물<sup>12)</sup>로 알려져 있으나, 121 °C에서 10분간 멸균하면 소량의 paeoniflorin 손실이 생긴다고 보고되어 있다<sup>13)</sup>. 본 실험에서 사용한 작약감초약침에서는 97 % 이상의 paeoniflorin 손실이 발생하였고 그 원인이 단순멸균 외에 NaCl과 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>에 의해 paeoniflorin 손실 정도가 커질 것으로 가설을 세우고 실험을 진행하였다. 실험 진행 결과 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>를 이용하여 pH를 보정한 원료를 멸균하면 paeoniflorin이 검출되지 않음을 확인할 수 있었고, paeoniflorin이 pH가 산성에서는 안정하지만 중성 또는 염기성 조건에서는 불안정한 것을 확인하였다.

pH를 보정하기 전 작약감초약침의 경우 pH가 4.0~5.0 이고 《대한약전》에서 주사제는 “혈액 또는 체액과 등장으로 만들기 위하여 염화나트륨 또는 다른 적당한 첨가제를, 또 pH를 조절하기 위하여 무해한 산 또는 알칼리를 넣을 수 있다”고 명시되어 있고 약침 역시 이에 준해 만들고자 하여 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>를 이용하여 pH를 7.0으로 보정하였다. 하지만 미국약전(United States Pharmacopoeia)에서 추천하는 pH범위는 3.5~7.0로 작약감초약침을 pH를 보정하지 않더라도 문제가 되는 범위는 아니고, 약침의 표준화를 위하여 지표물질의 분석이 필요한 사항이기 때문에 pH를 보정하지 않고 제품을 만드는 것이 좋다고 판단된다.

## V. 결 론

작약감초약침 조제 후 분석한 결과 121 °C에서 15분 멸균하면 paeoniflorin이 소실되는 것을 확인하였고, 원인을 분석한 결과 pH를 보정하지 않으면 paeoniflorin이 소실되지 않음을 확인하였다.

## VI. References

1. Jointly Textbook Compilation Committee Of Korea Medicine University, Herblology, Seoul : Younglim-sa, 2007 : 634-5.
2. Jointly Textbook Compilation Committee Of Korea Medicine University, Herblology, Seoul : Younglim-sa, 2007 : 583-5.
3. Mun JJ et al, *Sanghanron*, Seoul : Editorial Department of Kyung Hee University, 2001 : 104-5.
4. Lee KO, Kuk YB, Yun YG, Effects of *Jakyakgamchotang* extract on the Analgesic effect in Mice, *Korean J Oriental Medical Prescription*, 2003 ; 11(1) : 161-70.
5. Lee YS, Kim HC, Whang EH, Jo SK, Lim IG, Han JH, Study on the effect of *Jakyakgamcho-tang*, *Korean J Oriental Physiology & Pathology*, 2003 ; 17(2) : 493-8.
6. Kim BW, Anti-inflammatory effect of *Jakyakgamcho-tang*, *Korean J Orient Int Med*, 2010 ; 31(2) : 365-71.
7. Korean Pharmacopuncture Institute, *Pharmacopuncturology*, Seoul : Elsevier Korea , 2011 : 6-8.
8. Jang JJ, Kim KH, Yun JH, Kim KS, Studies on the analgesic and anticonvulsive effects of *Jakyakgamchotang* extract aqua-acupuncture stimulation in mice, *The Acupuncture* 1993 ; 10(1) : 247-64.
9. Zhou M, Cai H, Huang Z, Sun Y, HPLC method for the determination of paeoniflorin in paeonia lactiflora pall and its preparations, *Biomed Chromatogr*, 1998 ; 12(1) : 43-4.
10. Junbo X, Yanqing Z, Wenquan W, HPLC analysis of glycyrrhizin and licochalcone a in glycyrrhiza inflata from *Xinjiang*(China), *Chemistry of Natural Compounds*, 2010 ; 46(1) : 148-51.
11. Cheon YS, Kim JK, Study on analgesic effect of *JakYak GamCho Tang*-herbal acupuncture, *Kyung Hee University*, 1995 ; 18(1) : 117-22.
12. Asakawa N, Hattori T, Ueyama M, Shinoda A, Miyake Y, Determination of paeoniflorin in peony extract by high performance liquid chromatography (author's transl), *Yakugaku Zasshi*, 1979 ; 99(6) : 598-601.
13. Kim TK, Kim KJ, Joo GJ, Rhee IK, Changes of paeoniflorin content in peony roots by heat-treatment, *Korean J Post-harvest SCI, Technol Agri Products*, 1997 ; 4(1) : 69-75.