

전탕 용기에 따른 보중의기탕과 육미지황탕 전탕액 비교 연구

김정훈¹ · 이나리² · 신현규² · 서창섭^{2*}

¹부산대학교 한의학전문대학원, ²한국한의학연구원 한약방제연구그룹

Compositional Differences of Bojungikgi-tang and Yukmijihwang-tang Decoctions Produced by the Extractors Made of Various Materials

Jung-Hoon Kim¹, Nari Lee², Hyeun-Kyoo Shin², and Chang-Seob Seo^{2*}

¹Pusan National University School of Korean Medicine, Yangsan city, Gyeongnam 626-870, Korea

²Herbal Medicine Formulation Research Group, Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 305-811, Korea

Abstract – This study compared Bojungikgi-tang (BIT) and Yukmijihwang-tang (YJT) decoctions produced using the extractors made of various materials, such as glass, earthenware, and stainless steel, for 60, 90, and 120 min. The extraction yield was measured and the amounts of marker compounds in decoctions were determined by quantitative analysis using high performance liquid chromatography. The extraction yields of BIT decoctions produced by three extractors were not significantly different, whereas the extraction yield of YJT produced using glass extractor was significantly higher than that of YJT produced using earthenware extractor after 90 min. The amounts of most marker compounds were highest in BIT decoctions produced using glass extractor. However, variations of the amounts of marker compounds were observed in YJT decoctions and the volatile compound was not easily vaporized in YJT decoction produced using earthenware extractor. This study suggests that the extractor made of various materials may affect the extraction efficiency and the contents of marker compounds, especially in the decoction produced using earthenware extractor, although the results were dependent on the characteristics of herbal formula.

Key words – Bojungikgi-tang, Yukmijihwang-tang, Materials of extractor, Extraction yield, Marker compound

전탕은 한약재에 주로 물을 이용하여 일정 온도로 가열하여 추출하는 열수추출방식으로 한약의 제형 중 가장 활용도가 높고, 환제나 산제와 같은 제형에 비해 체내 흡수가 빨라 한방의료기관에서 다용되는 한약의 추출 방식이다. 전탕법은 열수를 이용한 가열식 추출법이기 때문에 전탕시간, 온도, 압력 등의 요인이 전탕액의 이화학적 성질이나 지표성분의 함량, 그리고 약리 효능 등에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.^{1,2)}

이러한 요인 이외에 전탕 용기의 재질 또한 전탕액의 성질에 영향을 미치는 요인으로 생각할 수 있다. 전통적인 방식인 옹기 약탕기는 질흙으로 만든 옹기에 약재를 넣고 약한 불로 오랜 시간 가열하여 추출하는 방식이나 화력이 일정하지 않고, 전탕 시간이 고정적이지 않으며, 노동력이 많이 소요되는 단점으로 인해, 최근에는 전탕 시간 및 온도 조

절이 가능하여 작업 효율을 증대시킬 수 있는 스테인리스 철 재질의 전기식 약탕기가 많이 사용되고 있다. 하지만, 전기식 약탕기 경우, 철 재질의 높은 열전도성과 입력 유지 방식으로 인해 고온, 고압 상태에서 처방의 추출이 이루어지므로, 이로 인해 유효 성분이 변성 또는 파괴되거나 독성 물질이 남아있을 가능성이 있다. 그리고 전탕 용기 재질의 차이는 전탕액의 이화학적 성질이나 약효에도 영향을 미칠 수 있기 때문에, 이에 대한 연구가 필요한 실정이다.

약탕기 재질이 전탕액에 미치는 영향에 관한 기존 연구를 살펴보면, 황련해독탕의 유효성분이나 약효는 유리 재질이나 세라믹 재질 전탕기 간에 차이가 없었고, 압력식 약탕기와 황토 약탕기에서 추출한 가미조경탕 전탕액 모두 항혈전, 항염증, 항산화 효과가 인정되었으나, 두 약탕기 재질 간에 차이는 없는 것으로 보고되었다.^{3,4)} 이에 본 연구에서는 한의원 다용 처방 상위 1, 2위 및 건강보험 한방 56처방 요양급여 비용 심사실적 중 요양급여비용과 투약일수에서 각각 6, 8위로 한방의료기관에서 다빈도로 사용되는 보중의

*교신저자(E-mail): csseo0914@kiom.re.kr
(Tel): +82-42-868-9361

기탕과, 육미지황탕을 대상으로^{5,6)} 유리재질, 옹기재질, 철재질 등의 전탕용기의 재질이 전탕액에 미치는 영향에 대하여 이화학적 분석 방법을 이용하여 비교하였다.

재료 및 방법

시약 – HPLC 등급의 acetonitrile과 water, 그리고 GR 등급 acetic acid는 각각 JT Baker Inc(Phillipsburg, USA)와 Junsei(Tokyo, Japan)를 통해 구입하였다. HPLC 분석에는 liquiritin, glycyrrhizin, morroniside, loganin, paeoniflorin, paeonol(이상 ≥ 98.0%, Wako Pure Chemical Industries Ltd, Osaka, Japan), hesperidin(≥ 98.0%, Chengdu Biopurity Phytochemicals Ltd, Chengdu, China), nodakenin(99.0%, NPC BioTech, Geumsan, Korea), 그리고 gallic acid, 5-hydroxymethyl-furaldehyde(5-HMF)(이상 99.0%, Aldrich, USA) 등을 지표물질로 사용하였다. 각 성분의 화학구조식은 Fig. 1에 나타내었다.

전탕 용기별 전탕액 제조 – 보중의기탕과 육미지황탕 약재 구성은 Table I과 같다. 구성 약재는 저자(김정훈)에 의해 동정되었다. 각 처방의 구성약재를 혼합하여 각각 유리재질 전탕기(DW-290, Daewoongbio, Korea), 옹기재질(Oseong, Korea) 및 철재질 약탕기(KSNP-B1130-240L, Cosmos 660, Kyeongseo machine, Korea)에 넣은 후, 약재 무게의 10배에 해당하는 부피의 중류수를 첨가하여 100°C

에서 각각 60, 90, 120분 동안 전탕하였다.

수득률 측정 – 각 처방의 용기별 전탕액 중 50 mL를 취하여 동결건조 한 후, 동결건조물의 무게를 측정하고 이를 전체 전탕액 부피로 환산하여 용기별 전탕액의 추출 수득률을 계산하였다.

지표성분 검액 제조 – 정확하게 청량한 지표성분을 HPLC 등급 methanol에 1000 µg/mL의 농도가 되도록 용해시켜 stock solution을 만든다. 이후 stock solution을 순차적으로 희석하여 검량선 작성에 사용될 working solution을 만든다.

전탕액 검액 제조 – 각 전탕용기별 보중의기탕과 육미지황탕 전탕의 동결건조물을 100 mg 취하여 10 mL 중류수에 녹인 후, 이를 0.2 µm syringe filter(SmartPor®, Woongki science, Korea)로 여과하여 검액으로 사용하였다.

HPLC 분석조건 설정 – 처방 내 지표성분의 정량분석을 위해서 solvent delivery unit(LC-20AT), auto sampler(SIL-20AC), column oven(CTO-20A), photo-diode array detector (SPD-M20A), degasser(DGU-20A3) 등으로 구성된 HPLC system(LC-20A, Shimadzu, Japan)을 사용하였다. 컬럼은 Gemini C₁₈(4.6×250 mm, 5 µm, Phenomenex, USA)을 사용하였고, 컬럼 온도는 40°C, 유속은 1.0 mL/min, 시료 주입량은 10 µL로 설정하였다. 이동상은 water(1.0% acetic acid 포함, A)와 acetonitrile(1.0% acetic acid 포함, B)로 구성하였고, 기울기 용리법을 이용하여 분석을 진행하였다. 각 처방의 기울기 용리 조건은 Table II와 같다. 검출파장은 각

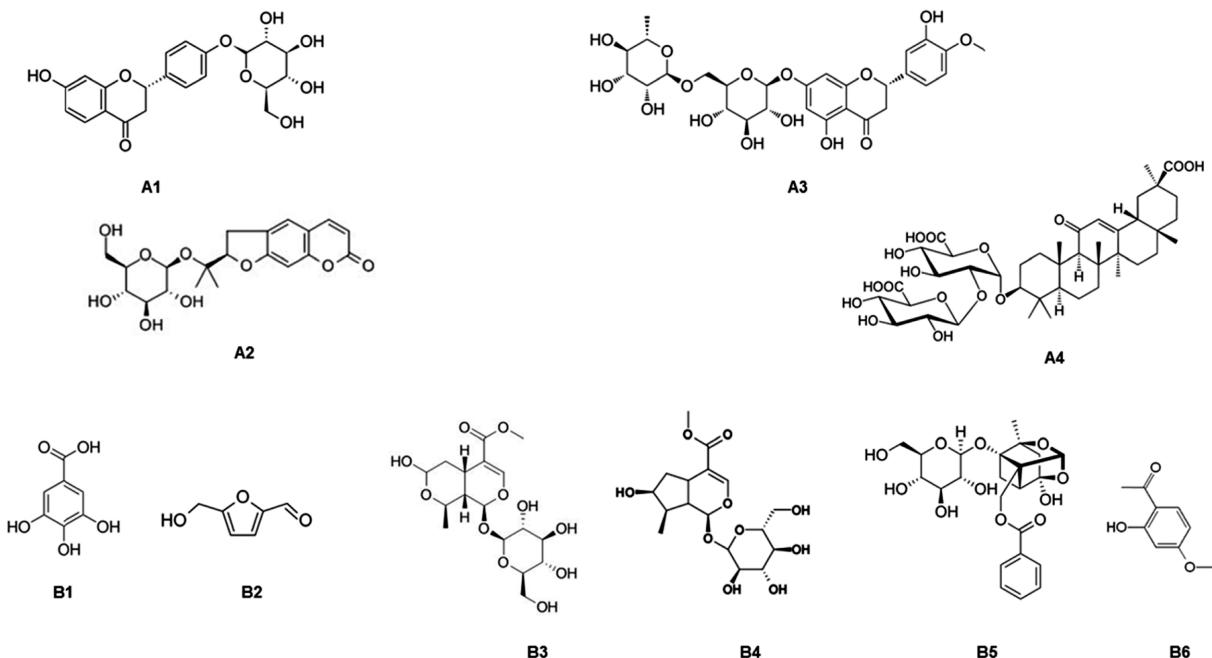


Fig. 1. Chemical structures of standard compounds in Bojungikgi-tang (BIT) and Yukmijihwang-tang (YJT). A1, liquiritin; A2, nodakenin; A3, hesperidin; A4, glycyrrhizin. B1, gallic acid; B2, 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF); B3, morroniside; B4, loganin; B5, paeoniflorin; B6, paeonol.

Table I. Composition of medicinal herbs in Bojungikgi-tang (BIT) and Yukmijihwang-tang (YJT)

| Herbal formula | Scientific name | Origin | Amount (g) |
|----------------|--|-----------------------------|------------|
| BIT | <i>Astragalus membranaceus</i> (Fisch.) Bunge | Namwon, Jeonbuk, Korea | 6.0 |
| | <i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch. | China | 4.0 |
| | <i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer | Yeongju, Gyeongbuk, Korea | 4.0 |
| | <i>Atractylodes macrocephala</i> Koidz. | China | 4.0 |
| | <i>Angelica gigas</i> Nakai | Pyeongchang, Gangwon, Korea | 2.0 |
| | <i>Citrus unshiu</i> (Swingle) Marcow. | Namjeju, Jeju, Korea | 2.0 |
| | <i>Cimicifuga heracleifolia</i> Kom. | China | 1.2 |
| | <i>Bupleurum falcatum</i> L. | Namwon, Jeonbuk, Korea | 1.2 |
| YJT | <i>Rehmannia glutinosa</i> Libosch. ex Steudel | Euisseong, Gyeongbuk, Korea | 8.0 |
| | <i>Dioscorea batatas</i> Decne. | Andong, Gyeongbuk, Korea | 4.0 |
| | <i>Cornus officinalis</i> Sieb. et Zucc. | Gurye, Jeonnam, Korea | 4.0 |
| | <i>Paeonia suffruticosa</i> Andrews | Jecheon, Chungbuk, Korea | 3.0 |
| | <i>Poria cocos</i> F.A. Wolf | Pyeongchang, Gangwon, Korea | 3.0 |
| | <i>Alisma plantago-aquatica</i> L. | Namyangju, Gyeonggi, Korea | 3.0 |

Table II. Conditions for HPLC gradient elution of BIT and YJT

| Herbal formula | Time (min) | A (%) | B (%) |
|----------------|------------|-------|-------|
| BIT | 0 | 93 | 7 |
| | 40 | 30 | 70 |
| | 45 | 0 | 100 |
| | 50 | 0 | 100 |
| | 60 | 93 | 7 |
| | 70 | 93 | 7 |
| | 70 | 93 | 7 |
| | 70 | 93 | 7 |
| YJT | 0 | 95 | 5 |
| | 30 | 60 | 40 |
| | 40 | 0 | 100 |
| | 45 | 0 | 100 |
| | 50 | 95 | 5 |
| | 60 | 95 | 5 |

A, 1% acetic acid in water; B, 1% acetic acid in acetonitrile.

분석 성분의 최대 흡수 파장을 적용하여 보중익기탕의 지표성분 중 glycyrrhizin은 250 nm, liquiritin은 275 nm, hesperidin은 280 nm, 그리고 nodakenin은 335 nm로 설정하였고, 육미지황탕 지표성분 중 morroniside, loganin, paeoniflorin은 240 nm, gallic acid는 270 nm, paeonol은 275 nm, 그리고 5-HMF는 280 nm로 설정하였다.

직선성, 범위, 검출한계 및 정량한계 – 보중익기탕의 지표성분인 liquiritin 3.75-60.00 µg/mL, nodakenin 5.00-80.00 µg/mL, hesperidin 9.38-150.00 µg/mL, glycyrrhizin 11.25-180.00 µg/mL 등과 육미지황탕의 지표성분인 gallic acid 5.00-80.00 µg/mL, 5-HMF 12.50-200.00 µg/mL, morroniside

2.50-40.00 µg/mL, loganin 5.00-80.00 µg/mL, paeoniflorin 6.25-100.00 µg/mL, paeonol 11.25-180.00 µg/mL 등의 농도 범위에 대하여 검량선을 작성하였고, 검량선의 직선성은 상관계수(correlation coefficient, r^2)를 이용하여 측정하였다. 각 처방 지표성분의 검출한계(limit of detection, LOD)와 정량한계(limit of quantification, LOQ)는 다음의 공식을 통해 계산되었다.

LOD = 3.3 × standard deviation of the response/slope of the calibration curve, LOQ = 10 × standard deviation of the response/slope of the calibration curve

통계 분석 – 통계분석에는 각 전탕용기별 추출 수득률과 지표성분 함량의 비교를 위해 SYSTAT 10(SPSS Inc, Chicago, USA)을 이용한 two-tailed t-tests와 Bonferroni 검정이 사용되었다. 전탕용기별 수치 차이는 $P<0.05$, $P<0.01$, 또는 $P<0.001$ 에서 유의성이 인정되었다.

결과 및 고찰

전탕 용기별 전탕액의 추출 수득률 비교 – 전탕용기별 보중익기탕과 육미지황탕 전탕액의 추출 수득률을 추출 시간에 따라 비교한 결과는 Fig. 2와 같다. 추출 시간별로 비교했을 때, 유리재질, 옹기재질, 철 재질 약탕기를 이용하여 추출한 보중익기탕 전탕액 간에는 유의한 추출 수득률 차이를 확인할 수 없었다.

육미지황탕의 경우, 60분에서는 세 가지 전탕 용기 간 전탕액 추출 수득률이 유의한 차이를 보이지 않았다. 그러나, 추출 시간이 증가할수록 유리재질 전탕기와 철 재질 전탕

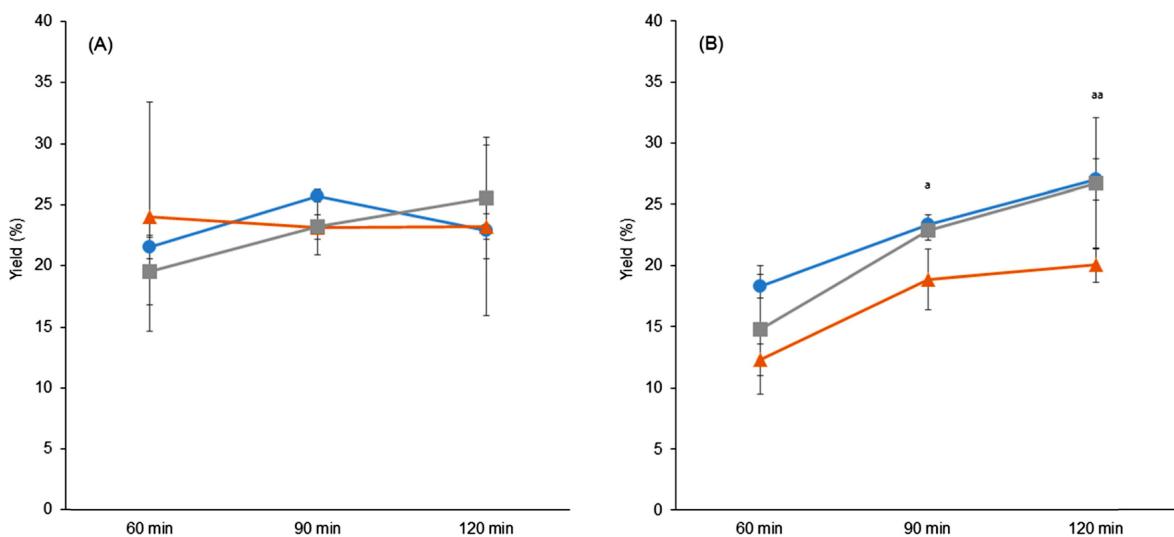


Fig. 2. Extraction yields of the decoctions of BIT (A) and YJT (B) produced from glass extractor (●), earthenware extractor (▲), and stainless steel extractor (■). ^aGlass vs. earthenware, $P<0.05$; ^{aa}glass vs. earthenware, $P<0.01$.

기간에 비해 옹기 재질의 전탕기로 추출한 경우 두 재질의 전탕기보다 유의하게 적은 추출 수율을 보였는데, 이는 전통 옹기 추출이 순환식이나 압력식 추출에 비해 수득율이 낮다는 기존의 보고와 일치하였다.⁷⁾

분석법의 직선성, 검출한계 및 정량한계 – 확립된 분석조건을 이용하여 전탕용기별 보중익기탕과 육미지황탕 전탕액 분석을 시행한 결과, 각 지표성분 모두 전탕액 내에서 주변 성분의 방해 없이 양호한 분리도를 보였다(Fig. 3과 4). 검량선 작성성을 통해 각 지표성분의 직선성을 확인한 결과, 보중익기탕 지표성분의 상관계수(r^2)는 0.9994 이상이었고, 육미지황탕 지표성분의 상관계수(r^2)는 0.9998 이상으로 모두 양호한 직선성을 보였다. 보중익기탕 지표성분의 검출한계와 정량한계는 각각 0.66-2.40 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 2.00-7.26 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이

었고, 육미지황탕 지표성분의 검출한계와 정량한계는 각각 0.01-0.07 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.03-0.20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 으로 나타났다(Table III).

전탕 용기별 전탕액의 지표성분 함량 비교 – 전탕용기별 보중익기탕 전탕액 내 지표성분 함량을 시간별로 비교한 결과, liquiritin의 함량은 철 재질 약탕기에서 통계적으로 유의하게 가장 높은 함량을 보였고, 옹기재질에서 가장 낮은 함량을 나타내었다. 이에 반해, nodakenin, hesperidin, glycyrrhizin의 함량은 대체적으로 유리재질 약탕기로 추출했을 때가 다른 재질의 약탕기로 추출했을 때보다 통계적으로 유의하게 높았고, 함량순서는 유리재질>철 재질>옹기 재질로 나타났다(Fig. 5).

육미지황탕 전탕액 내 지표성분 함량 비교 결과, gallic acid는 철 재질 약탕기로 추출할 때 전탕 시간이 증가할수

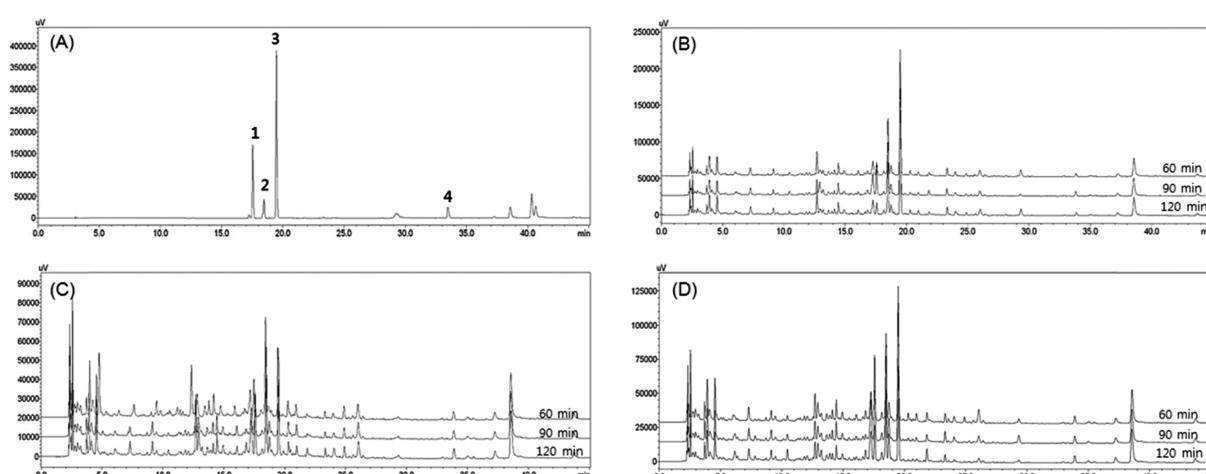


Fig. 3. Chromatograms of standard compound mixture (A) and the decoctions of BIT extracted in glass extractor (B), earthenware extractor (C), and stainless steel extractor (D) at UV 275 nm. 1, Liquiritin; 2, nodakenin; 3, hesperidin; 4, glycyrrhizin.

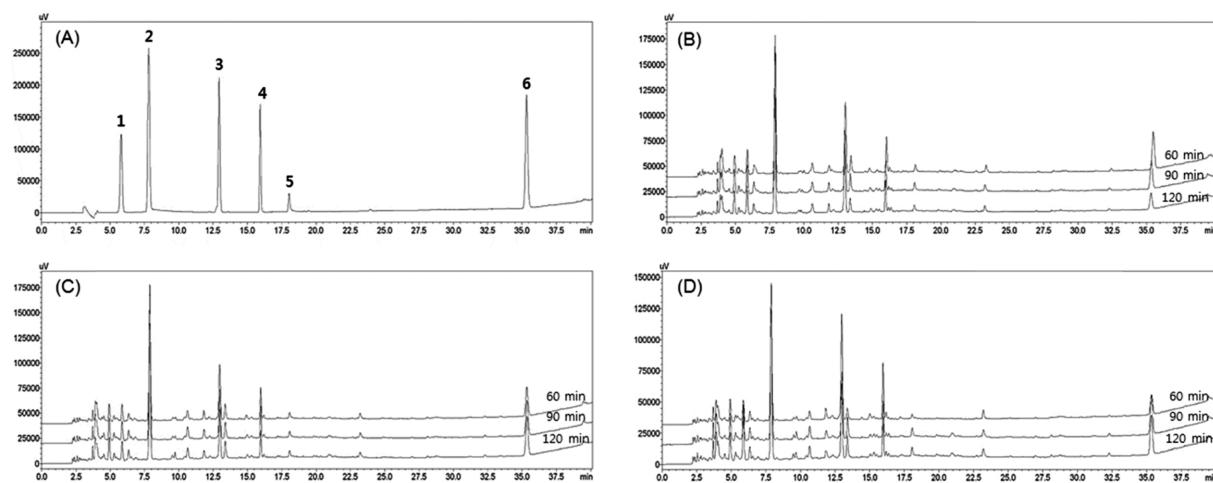


Fig. 4. Chromatograms of standard compound mixture (A) and the decoctions of YJT extracted in glass extractor (B), earthenware extractor (C), and stainless steel extractor (D) at UV 240 nm. 1, Gallic acid; 2, 5-HMF; 3, morroniside; 4, loganin; 5, paeoniflorin; 6, paeonol.

Table III. Regression equation, correlation coefficient (r^2), linear range, limit of detection (LOD), and limit of quantification (LOQ)

| Herbal formula | Compound | Regression equation | r^2 | Linear range (μg/mL) | LOD (μg/mL) | LOQ (μg/mL) |
|----------------|--------------|----------------------|--------|----------------------|-------------|-------------|
| BIT | Liquiritin | $y=18,511x +2,333$ | 0.9999 | 3.75-60.00 | 1.07 | 3.24 |
| | Nodakenin | $y=30,001x +4,423$ | 0.9999 | 5.00-80.00 | 0.66 | 2.00 |
| | Hesperidin | $y=19,004x +41,481$ | 0.9994 | 9.38-150.00 | 1.04 | 3.16 |
| | Glycyrrhizin | $y=8,268x +128$ | 0.9999 | 11.25-180.00 | 2.40 | 7.26 |
| YJT | Gallic acid | $y=34,351x - 21,629$ | 0.9999 | 5.00-80.00 | 0.02 | 0.07 |
| | 5-HMF | $y=79,221x - 42,741$ | 0.9999 | 12.50-200.00 | 0.01 | 0.03 |
| | Morroniside | $y=60,356x - 15,838$ | 0.9999 | 2.50-40.00 | 0.01 | 0.04 |
| | Loganin | $y=20,600x - 8,959$ | 0.9999 | 5.00-80.00 | 0.04 | 0.11 |
| | Paeoniflorin | $y=11,835x - 19,807$ | 0.9998 | 6.25-100.00 | 0.07 | 0.20 |
| | Paeonol | $y=58,654x +123,531$ | 0.9999 | 11.25-180.00 | 0.01 | 0.04 |

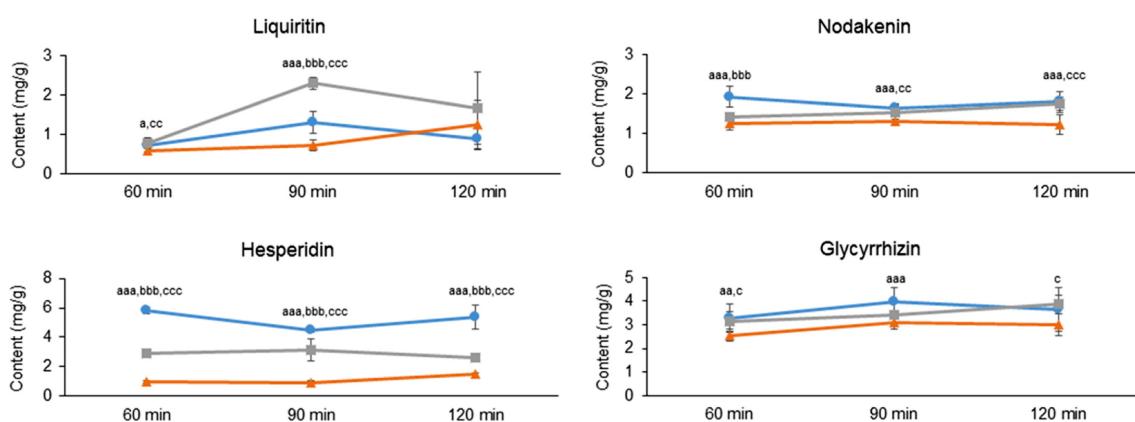


Fig. 5. The contents of marker compounds of BIT decoctions produced from glass extractor (●), earthenware extractor (▲), and stainless steel extractor (■). ^aGlass vs. earthenware, $P<0.05$; ^{aa}glass vs. earthenware, $P<0.01$; ^{aaa}glass vs. earthenware, $P<0.001$. ^bEarthenware vs. steel, $P<0.05$; ^{bb}earthenware vs. steel, $P<0.01$; ^{bbb}earthenware vs. steel, $P<0.001$. ^cGlass vs. steel, $P<0.05$; ^{aa}glass vs. steel, $P<0.01$; ^{aaa}glass vs. steel, $P<0.001$.

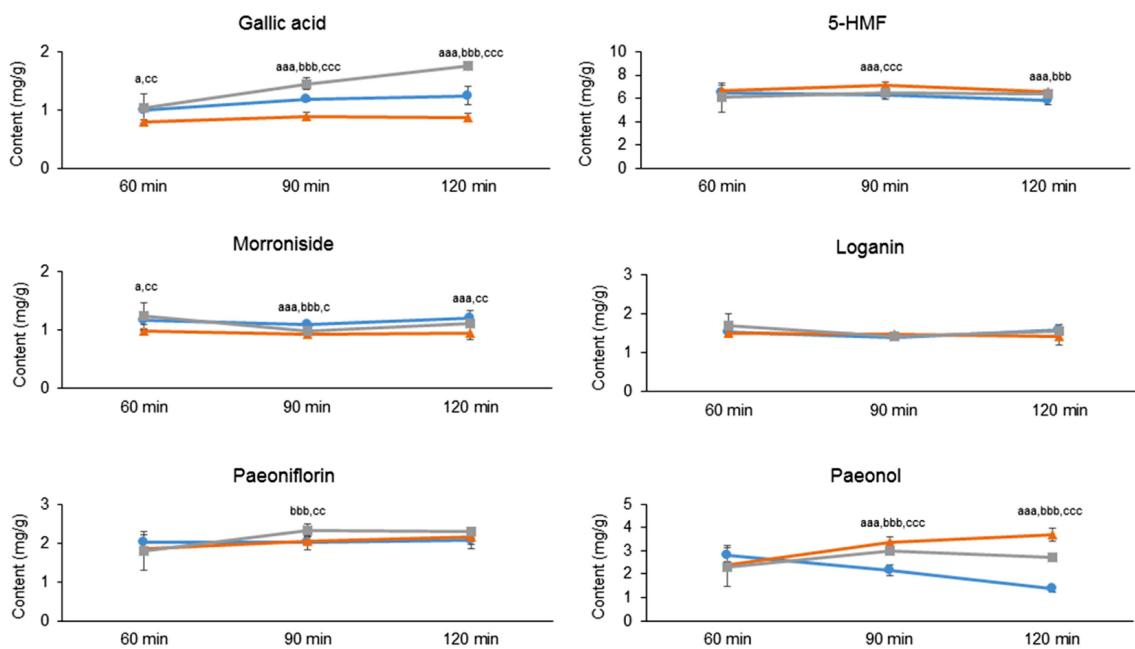


Fig. 6. The contents of marker compounds of YJT decoctions produced from glass extractor (●), earthenware extractor (▲), and stainless steel extractor (■). ^aGlass vs. earthenware, $P<0.05$; ^{aa}glass vs. earthenware, $P<0.01$; ^{aaa}glass vs. earthenware, $P<0.001$. ^bEarthenware vs. steel, $P<0.05$; ^{bb}earthenware vs. steel, $P<0.01$; ^{bbb}earthenware vs. steel, $P<0.001$. ^aGlass vs. steel, $P<0.05$; ^{aa}glass vs. steel, $P<0.01$; ^{aaa}glass vs. steel, $P<0.001$.

록 통계적으로 유의하게 가장 높은 함량을 보였고, 옹기 재질 약탕기에서 가장 낮은 함량을 나타냈다. 이에 반해, 5-HMF는 옹기 재질 약탕기로 전탕 시 유의하게 높은 함량을 보였으나, 전탕 시간에 따른 변화는 확인되지 않았다. Morroniside의 경우, 전탕 시간이 증가할수록 유리재질 약탕기로 추출한 전탕액에서 함량이 높게 나타났고, 모든 시간에서 옹기 재질 약탕기 전탕액 내에서 가장 낮은 함량을 보였다. Paeoniflorin은 90분 전탕 시에만 타 재질 약탕기에 비해 철 재질 약탕기에서 가장 높은 함량을 보였고, loganin의 함량에서는 약탕기 재질별로 유의한 차이를 확인할 수 없었다. 휘발성 성분인 paeonol의 경우,⁸⁾ 증기가 자유롭게 배출되는 유리재질 약탕기에서는 전탕시간이 증가할수록 함량이 감소하여 타 재질의 약탕기에 비해 가장 낮은 함량을 보였으나, 옹기 재질 약탕기에서는 다른 성분들과는 달리 가장 높은 함량을 나타냈다(Fig. 6).

종합해 보면, 유리 재질 전탕기와 철 재질 전탕기 간에서는 두 처방 내 지표물질 함량에 있어서 일정한 규칙성을 찾기 어려웠지만, 옹기 약탕기의 경우, 휘발성 성분을 제외한 대부분 성분에서 위 두 재질의 약탕기에 비해 낮은 성분 함량을 보였다. 이는 옹기 재질이 타 재질, 특히 금속재질에 비해 열차단율이 높고, 열전도도가 낮아서⁹⁾ 동일 시간 동안 가열되는 열량이 적어 성분 추출률이 낮고, 휘발성 물질이 비교적 잘 보존되는 것으로 판단할 수 있었으나, 이에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 판단된다.

결 론

전탕용기의 재질이 전탕액의 이화학적 성질에 미치는 영향을 알아보기 위해 한방의료기관에서 다용되는 처방인 보중익기탕과 육미지황탕을 대상으로 유리재질, 옹기재질, 철재질 약탕기를 이용하여 60, 90, 120분 동안 추출한 후, 이에 대한 수득률과 지표성분 함량을 비교하였다. 보중익기탕의 추출 수득률은 전탕 용기간 차이가 없었지만, 육미지황탕은 옹기 전탕기에서 가장 낮은 수율을 보였다. 보중익기탕의 지표성분 함량은 대체로 옹기 전탕기에서 가장 낮게 나타났고, 육미지황탕의 지표성분은 전탕 용기에 따라 다르게 나타났지만, 옹기 약탕기에서 휘발성 성분이 보존되는 것을 확인할 수 있었다. 이에 본 연구가 전탕 용기 재질이 전탕액에 미치는 영향에 대한 기초자료로 활용될 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 한국한의학연구원 한약처방의 과학적 근거 기반 구축 사업(K14030)의 지원으로 진행되었습니다.

인용문헌

- Seo, B. I., Park, J. H., Jung, P. N., Kim, M. R. and Lee, E. S.

- (2002) The effects of Ojeoksan water extract by various decoction method on inhibition of pain and inflammation. *J. Applied Oriental Med.* **2**: 33-39.
2. Seok, G. H., Moon, J. M. and Cho, S. I. (2012) Comparative study of Pyungwi-san extracted by different decoction extractor and extraction Time. *Kor. J. Herbology* **27**: 63-69.
3. Kim, H. C., An, D. G., Lee, S. I. and Kim, Y. J. (1993) The study of extraction efficiency according to the material of extractor and extraction time. *J. Herbology* **8**: 29-36.
4. Ahn, K. H., Choe, C. M., Kim, S. B. and Cho, H. B. (2009) The study of antithrombosis and inflammation according to the broth preparation method of Gamijoukyungtang. *J. Orient. Obstet. Gynecol.* **22**: 53-78.
5. Kim, J. D. and Kang, Y. G. (2013) 2012 National health insurance statistical yearbook, 296. National health insurance corporation, health insurance review & assessment service, Seoul.
6. Lee, J. T. (2006) Research on Intake of Chinese Medicine by Korean, 94. Korea Food and Drug Administration, Seoul.
7. Yoon, S. C, Park, S. H. and Cui, X. (2012) The simple comparative study on Soyosan decoctions extracted by different extraction method and extraction time. *J. Applied Oriental Med.* **12**: 7-13.
8. Chu, K., Chen, L., Xu, W., Li H., Zhang, Y., Xie, W. and Zheng, J. (2013) Preparation of a paeonol-containing temperature-sensitive in situ gel and its preliminary efficacy on allergic rhinitis *Int. J. Mol. Sci.* **14**: 6499-6515.
9. Seo, G. H., Song, B. S., An, D. S., Chung, S. K. and Lee, D. S. (2006) Physical properties of Korean earthenware (Onggi) as food container. *J. Korea Soc. Packag. Sci. & Tech.* **12**: 87-90.

(2014. 8. 12 접수; 2014. 9. 4 심사; 2014. 9. 11 게재확정)