

황련해독탕 약침의 장기보존시험에 관한 연구

이진호 · 하인혁 · 김미령 · 정화진 · 이재웅 · 김민정 · 김은지 · 이인희
자생의료재단 척추관절연구소

Study on Long-Term Preservation of *Hwangnyunhaedok-Tang* Pharmacopuncture

Jin-Ho Lee, K.M.D., In-Hyuk Ha, K.M.D., Me-Riong Kim, K.M.D., Hwa-Jin Chung, Ph.D.,
Jae-Woong Lee, M.S., Min-Jeong Kim, B.S., Eun-Jee Kim, M.S., In-Hee Lee, M.S.
Jaseng Spine and Joint Research Institute, Jaseng Medical Foundation

본 연구는 (재)한국한방산업진흥원
용역과제 (용역명 : 약침약제 규격
표준화사업- 약침약제 제조공정 및
품질관리 방안 위탁연구용역, 공고번호:
제20150602383호)에 의해 수행된
과제로 연구비 지원에 감사드립니다.

RECEIVED March 22, 2016
ACCEPTED April 11, 2016

CORRESPONDING TO
In-Hee Lee, Jaseng Spine and Joint
Research Institute, Jaseng Medical
Foundation, 858 Eonju-ro, Gangnam-
gu, Seoul 06034, Korea

TEL (02) 3218-2250
FAX (02) 3218-2244
E-mail ini3355@jaseng.co.kr

Copyright © 2016 The Society of
Korean Medicine Rehabilitation

Objectives We studied long-term preservation in stability of a mixed preparation of distilled and 70% alcohol extracted *Hwangnyunhaedok-tang* pharmacopuncture to establish standards for expiration date and quality control.

Methods Three lots of consecutively prepared *Hwangnyunhaedok-tang* pharmacopuncture were each tested in triplicate to a total 5 tests at 3 month intervals over a period of 12 months for analysis of appearance, pH, specific gravity, index component content, endotoxins, microbial sterility, residual organic solvents, heavy metals, and pesticides. Items with no difference by elapsed time were tested at the initial and final timepoints, and data of items with potential difference by elapsed time were analyzed for trends to establish individual quality control standards.

Results All tested items were stable over the study period, and therefore the expiration date was set as 12 months. pH quality control standards were set as 3.66 ~ 5.69, and that of specific gravity as 0.802 ~ 1.203, respectively. In index component content standards, berberine was set at 4.96 ~ 8.98 μ g/vial, baicalin at 6.47 ~ 10.31 μ g/vial, and geniposide at 116.03 ~ 189.55 μ g/vial, respectively. Standards for other items with no difference by elapsed time were set according to general Korean herbal medicine standards in the Korean Pharmacopoeia.

Conclusions Manageable expiration date and quality control standards were established through long-term preservation testing of *Hwangnyunhaedok-tang* pharmacopuncture, furthering standardization of Korean medicine pharmacopuncture. (**J Korean Med Rehab 2016;26(2):51-59**)

Key words *Hwangnyunhaedok-tang* pharmacopuncture, stability, long-term preservation test, standardization

서론»»»»

황련해독탕 약침은 황련(*Coptis japonica*), 황금(*Scutellaria baicalensis*), 황백(*Phellodendron amurense*), 치자(*Gardenia jasminoides*)로 구성된 복합 처방인 황련

해독탕을 약침으로 변경한 처방이다¹⁾. 황련해독탕은 해독 작용²⁾, 항염증 작용³⁾, 알레르기 천식⁴⁾, 등의 효능이 보고 되어 있으며 이를 기반으로 개발된 황련해독탕 약침은 자율신경 조절⁵⁾, 기능성 두통⁶⁾, 흉부 상열감⁷⁾, 만성 결막염 또는 안구건조증⁸⁾, 지루성피부염⁹⁾ 등의 효과가 있고 매선

과 병행하였을 때는 두피 열감, 발적, 상열감을 호전시키기도 한다는 것이 임상적으로 보고¹⁰⁾되어 있다. 최근 연구동향으로 조 등은 황련해독탕 약침의 iNOS 생성 억제를 통한 항염증 효과가 알레르기성 비염의 치료에 효과적이라고 하였으며¹¹⁾, 조 등은 심박변이도에도 영향을 미친다고 하였다^{5,12)}. 강 등은 급성기 족관절 염좌에 체침, 봉약침과 더불어 황련해독탕 약침도 효과가 있다는 임상보고를 하였다¹³⁾. 이렇게 황련해독탕 약침의 효능에 대한 연구는 많이 진행되어 있어도 표준화에 관련된 연구는 많지 않은 실정이다. 이에 본 연구에서는 표준화 중 안정성에 관련된 장기보존 시험을 진행하여 성분의 안정성 등을 확인하려 하였다. 황련해독탕 약침은 구성 약재를 증류수로 전탕하고 전탕시 발생하는 증기를 다시 냉각시켜 액화된 성분을 사용하는 방식이었으나 최근에는 그 효능을 높이고 각 약재의 지표성분들인 berberine, baicalin, geniposide의 분석을 통해 품질관리가 가능하도록 증기액과 70% 주정으로 추출하여 얻은 산물을 혼합하여 사용하는 새로운 방식의 황련해독탕 약침에 대한 연구도 진행되어 있다¹⁴⁾.

약침은 일반적인 탕약과는 투여 경로가 다르기 때문에 유효 물질들은 남기고 무효 물질 등은 제거하는 정제법을 사용하여 조제되어야만 한다. 또한 한약은 단일 성분이 아닌 여러 가지 복합적인 성분들로 이루어져 있기에 각 유효 성분들은 자연계에서보다 안정성이 떨어질 수 있으며 안정성이 떨어지면 원활하게 환자들에게 공급되기 어렵다.

이에 본 연구에서는 증기액과 70% 주정 추출물의 혼합으로 조제된 황련해독탕 약침에 대하여 정상, pH, 비중, 각 한약재의 지표성분인 berberine, baicalin, geniposide의 High performance liquid chromatography (HPLC)를 이용한 함량분석, endotoxin test, 미생물 무균 실험, 조제 과정에서 잔류될 수 있는 유기용매, 중금속, 잔류농약의 품질관리 항목을 설정하였으며 식약처 생물의약품 안정성시험 가이드라인에 따라 장기 보존 시험으로 안정성을 검증하였다¹⁵⁾. 총 12개월 간 3개월마다 진행하였으며 각 항목 중 경시변화가 없는 항목은 최초와 최종시험에서만 진행하였고 연속으로 조제된 3 lot (동일한 제조공정으로 조제되어 균질성을 가지는 의약품의 일정한 분량)에 대하여 각각 3회씩 검체를 수집하고 각 샘플당 3회 반복 실험을 진행하였다.

본 장기보존시험의 데이터를 토대로 황련해독탕 약침

의 안정성 확인과 동시에 각 항목의 경향을 분석하고 기준을 설정하여 차후 품질관리의 기준을 설정하는 데에도 참고하려 한다.

재료 및 방법»»»»

1. 기기 및 시약

본 연구에서 사용된 황련, 황금, 황백, 치자는 모두 hGMP 허가된 그린 명품 제약(남양주, 한국)에서 구입하여 사용하였다. 시료의 추출과 알코올 수침에 사용한 주정은 (주)대정화학(시흥, 한국)에서 생산한 1급 시약을 사용하였다. pH의 측정에 사용한 pH meter는 Thermofisher scientific (Bremen, Germany)의 Orionstar A214를 사용하였으며 비중계는 경안 과학(광주, 경기도)의 비중계 세트틀을 사용하였다. 지표물질 함량분석 및 잔류 농약, 잔류 중금속에 사용된 표준품은 모두 Sigma aldrich (Milwaukee, WI)에서 구입하였다. 이동상 조제에 사용된 증류수, acetonitrile (ACN), methanol (MeOH)은 HPLC grade (JT Baker, Phillipsburg, NJ, USA), Acetic acid는 Junsei chemical (Japan)을 사용하였다. 본 실험에 사용된 HPLC는 waters사의 waters 600s controller, watersTM 626 pump, waters temperature control module, waters In-Line degasser, watersTM 717plus autosampler and watersTM 996 photodiode array detector (PDA)를 사용하였으며 잔류 유기용매 및 잔류 농약에 사용된 Gas chromatography (GC)는 Agilent (USA)사의 7890A 모델을 사용하였다. 잔류 중금속에 사용된 Atomic absorption spectrometry (AAS)는 Agilent사의 240FS AA였으며 무균 실험은 Millipore (USA)의 steritester equinox pump를 사용하였다.

2. 황련해독탕 약침의 조제

동량의 황련, 황금, 황백, 치자 200 g을 흐르는 주사용수로 세척하여 둥근 플라스크에 넣고 주사용수 2.5 L를 첨가하였다. 103°C의 온도로 열탕하면서 부착된 냉각기를 이용하여 증류된 증기를 액화시켜 2 L의 증류액을 모았다. 남은 전탕액에 주정을 첨가하여 70%로 조절하고

85°C에서 다시 전탕하였다. 전탕액을 여과하고 80%, 90% 단계별로 알코올 수침하여 정제, 여과하고 최종적으로는 주사용수에 용해시켜 동결건조하였다. 얻어진 전량의 동결건조 분말을 2 L의 증류액에 녹이고 바이알에 옮겨 담은 후 고무전과 알루미늄 캡을 씌우고 121°C에서 20분간 멸균하여 약침으로 사용하였다. 위와 같은 과정으로 연속되게 3회 조제하였다. 조제된 모든 약침은 냉장보관하며 실험시에만 꺼내어 사용하였다.

3. 장기보존 시험

연속된 3 lot에 대하여 각각 3회씩 검체 수집 후 3회 반복 실험 진행하였으며 모든 실험은 최초, 3개월 차, 6개월 차, 9개월 차, 최종 총 5회간 실험 진행하는 것을 원칙으로 하였다. 하지만 미생물 무균 실험, 잔류 유기용매, 잔류 중금속, 잔류 농약은 경시변화가 없는 항목이므로 최초와 최종시험에만 실시하였다.

1) 성상, pH, 비중

육안으로 이물이 생기지 않고 황색 투명한 액이 유지되는가를 확인하여 성상을 측정하였다. pH meter는 calibration을 거쳐 검증된 장비를 사용하였으며 각각 3회씩 실시하여 평균값을 pH로 하였다. 비중은 100 ml 메스실린더에 약침액을 채우고 비중계를 넣었을 때, 메니스커스의 위 가장자리의 수치를 측정하였다.

2) 함량분석

모든 지표성분의 함량은 HPLC를 이용하여 각각 분석하였다. 대한 약전에 황련과 황백은 둘 다 지표물질이 berberine으로 되어있기 때문에 총합으로 계산하였으며 분석하고자 하는 berberine의 peak가 잘 분리되었는지 확인하기 위하여 palmatine도 같이 분석하였다. 황금은 baicalin, 치자는 geniposide를 지표물질로 선정하여 분석하였다. 분석은 TC-C18 (2) column (5 μ m, 4.6 I.D. \times 250 mm, Aglient) 칼럼을 35°C로 사용하였으며, 유속은 1.0 ml/min이었다. Berberine의 이동상은 40% ACN (0.34% KH₂PO₄, 0.17% SLS)이고 검출기의 UV 파장은 345 nm이었다. Baicalin의 이동상은 25% ACN (1% Acetate)이고 검출기의 UV 파장은 277 nm이었다. Geniposide의 이동상은 15% Methanol (1% Acetate)이고

검출기의 UV 파장은 254 nm이었다.

3) Endotoxin test

엔도톡신은 대한약전 일반시험법¹⁷⁾ 중 겔화 법을 이용하여 시험하였다. 겔화 법은 존재하는 엔도톡신에 의해 lysate 시액이 응고반응을 일으키는 것에 기초하여 검출 또는 정량하는 방법으로 Charles river (USA)의 규격화된 0.25 EU/ml single test tube를 구입하여 사용하였다. 약침액 200 μ l를 single test tube에 넣고 lysate 시액을 녹인 후 heat block에 tube를 장착한 후 37°C로 60분간 유지하였다. 180°로 가만히 돌려 내용물을 관찰하였을 때 흘러내리지 않고 견고하게 겔을 형성하면 endotoxin이 0.25 EU/ml 이상인 것으로 하였다.

4) 미생물 무균 시험

미생물 무균 실험은 대한약전 일반시험법의 미생물 무균 시험법에 의거하여 멤브레인필터 법으로 진행하였으며 무균 작업 중의 실험오차를 줄이기 위해 steritester로 실험을 진행하였다. 세균 및 진균 각각의 시험에 사용한 약침의 개수는 해당 lot 전체를 대표하도록 채취하였다. 2 ml씩 충전되었기에 20개의 바이알을 이용하여 무균 실험하였다. 14일 동안 세균은 32.5°C, 진균은 22.5°C에서 배양하고 배양 최종일에 균의 발육 유무를 관찰하였다.

5) 잔류 유기용매 측정

본 약침은 주정을 이용하여 추출 및 정제하였고 최종적으로는 주사용수에 녹여내었기에 잔류된 에탄올에 대하여 검사하였다. head space가 장착된 GC 불꽃이온화 검출기에 HP-50+ ((50% phenyl)-methylsiloxane)칼럼을 이용하였고 이동 가스는 헬륨을 사용하였다. 검체 도입부는 140°C, 검출기 온도는 250°C, 칼럼 온도는 처음 20 min 간 40°C로 유지하고 1 min 간 10°C의 속도로 240°C까지 올리고 240°C에서 20 min 간 유지하였다.

6) 중금속 측정

대한약전 일반시험법 중 원자 흡광광도법에 따라 납, 비소, 수은, 카드뮴에 대한 검출을 실시하였다. 검액 10 ml에 요오드화칼륨 시액 1 ml를 넣은 후 0.5 mol/L 염산으로 정확하게 50 ml로 하여 측정용 검액으로 하였다. AAS를 이용하여 각 중금속의 원자흡광분석용 표준 원액

(1,000 mg/L)을 0.5 mol/L 질산으로 희석하여 검량선을 작성하고 검액의 흡광도를 측정하였다.

7) 잔류농약 측정

GC 전자포획 검출기를 이용하여 총 BHC (total benzene hexachloride), 총 DDT (total dichlorodiphenyltrichloroethane), aldrin, endrin, dieldrin을 측정하였다. 약 침액에 acetone 90 ml를 넣고 5분간 균질화한 후 감압여과하고 포화 식염수 50 ml과 증류수 100 ml을 가하였다. Dichloromethan 70 ml을 넣고 진탕하고 감압 농축한 후 hexane 4 ml에 녹였다. 분석 조건은 HP-5+ ((50% phenyl)-methylsiloxane)컬럼을 이용하였고 이동 가스는 질소를 사용하였다. 검체 도입부는 260°C, 검출기 온도는 280°C를 유지하였다. 컬럼온도는 80°C에서 시료를 주입하고 2 min 간 유지한 후 min 당 10°C의 비율로 280°C까지 온도를 상승시켜 10 min 이상 유지하였다.

4. 각 시험항목의 임의 기준 설정

경시변화가 없어 최초와 최종만 실험한 항목 외에는

모두 경향을 분석하였다. 분석된 경향을 토대로 최저치와 최대치 값을 구하였으며 각 값의 20% 여유를 두어 기준을 설정하였다.

결과»»»»

1. 성상, pH, 비중

시기별로 측정된 모든 약침은 황색의 투명한 액으로 육안으로 이물이 확인되지 않았다. pH는 각 lot에 대하여 최저 4.58±0.011이고 최고 4.74±0.047였다. 각 개월 차 별로 큰 변화는 없었다. 비중은 1.0021±0.0008부터 1.0028±0.0010 사이의 값을 모두 유지하였다(Fig. 1, 2).

2. 함량분석

각 성분의 분석은 농도별 표준품의 표준곡선을 그리고 그 값에 대입하여 수치를 측정하였다. 측정 결과 황련 및 황백의 지표물질인 berberine의 최저치는 6.19±0.95 µg/

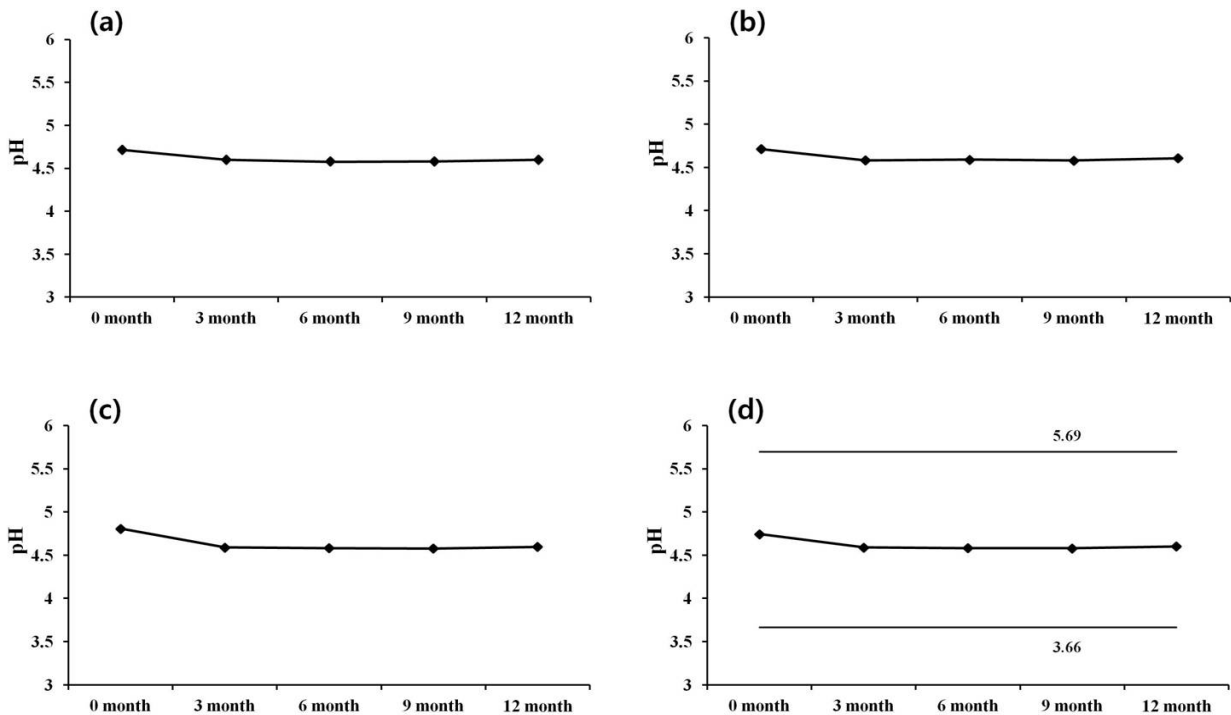


Fig. 1. pH by timepoint and establishment of quality control standard. (a) 1 lot; (b) 2 lot; (c) 3 lot; (d) Total average and establishment of quality control standard.

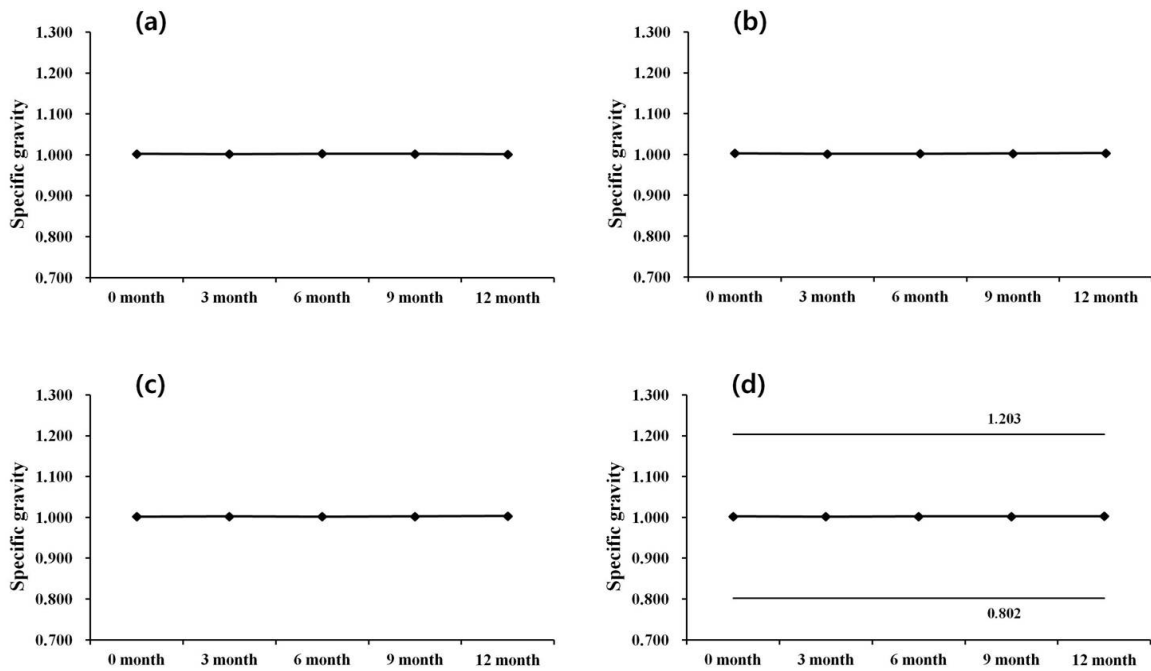


Fig. 2. Specific gravity by timepoint and establishment of quality control standard. (a) 1 lot; (b) 2 lot; (c) 3 lot; (d) Total average and establishment of quality control standard.

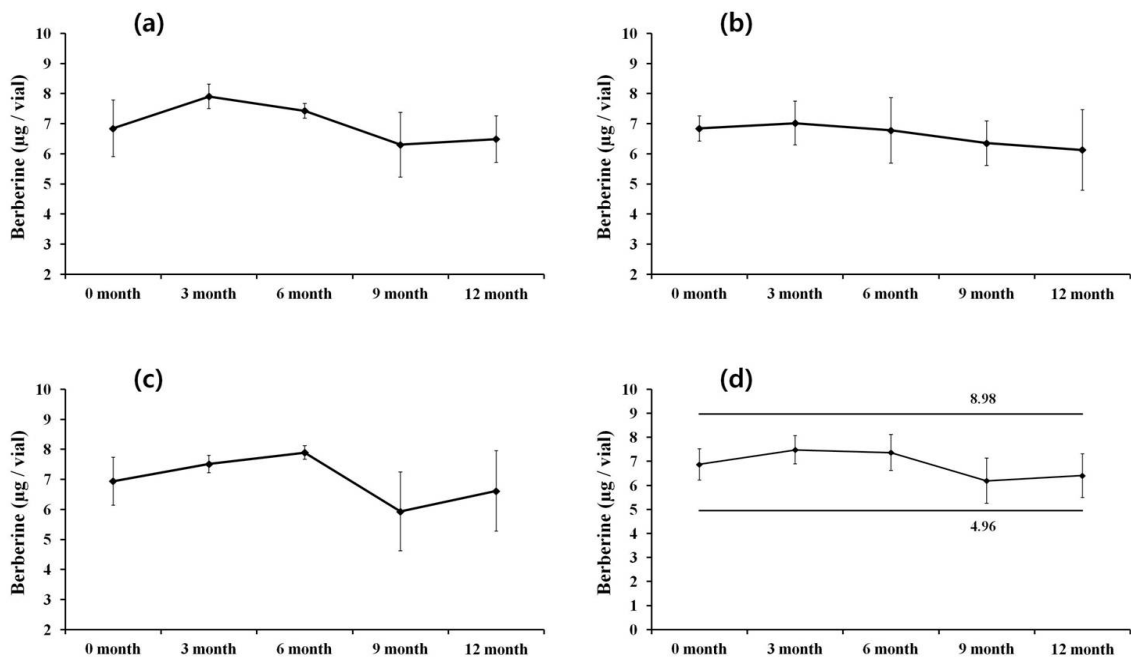


Fig. 3. Berberine content by timepoint and establishment of quality control standard. (a) 1 lot; (b) 2 lot; (c) 3 lot; (d) Total average and establishment of quality control standard.

vial이고 최고치는 7.48 ± 0.59 ug/vial였으며 황금의 baicalin의 최저치는 8.09 ± 0.17 ug/vial이고 최고치는 8.59 ± 0.31 μ g/vial였다. 치자의 지표물질인 geniposide의 최저치는

145.04 ± 6.88 ug/vial, 최고치는 157.96 ± 8.75 ug/vial였다(Fig. 3~5).

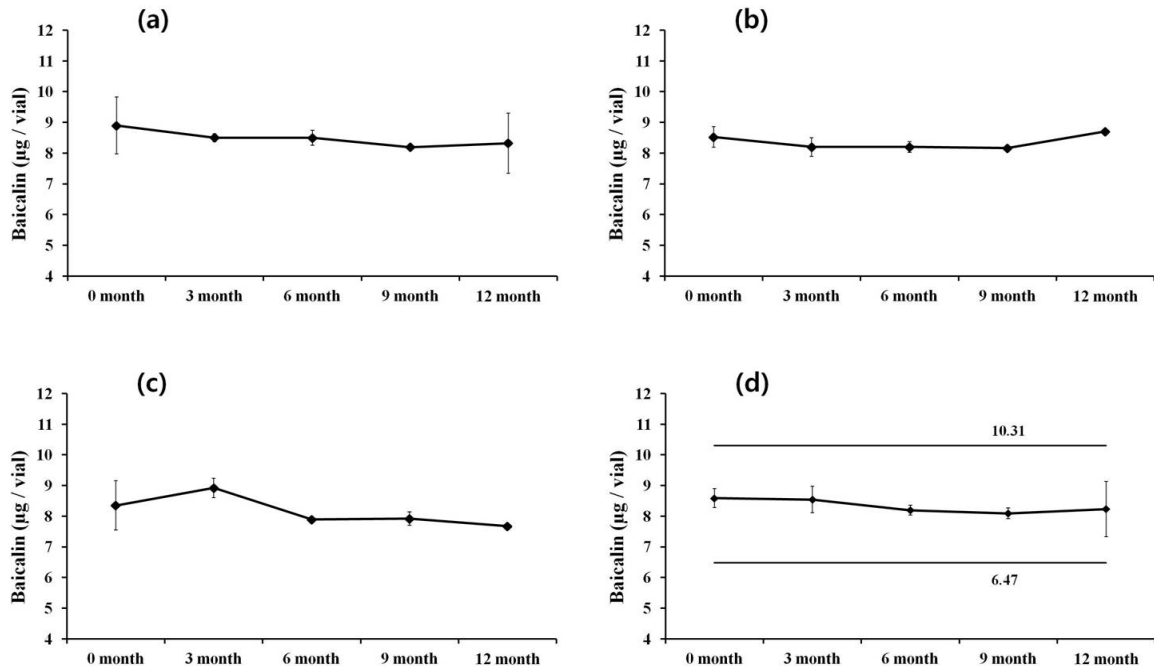


Fig. 4. Baicalin content by timepoint and establishment of quality control standard, (a) 1 lot; (b) 2 lot; (c) 3 lot; (d) Total average and establishment of quality control standard.

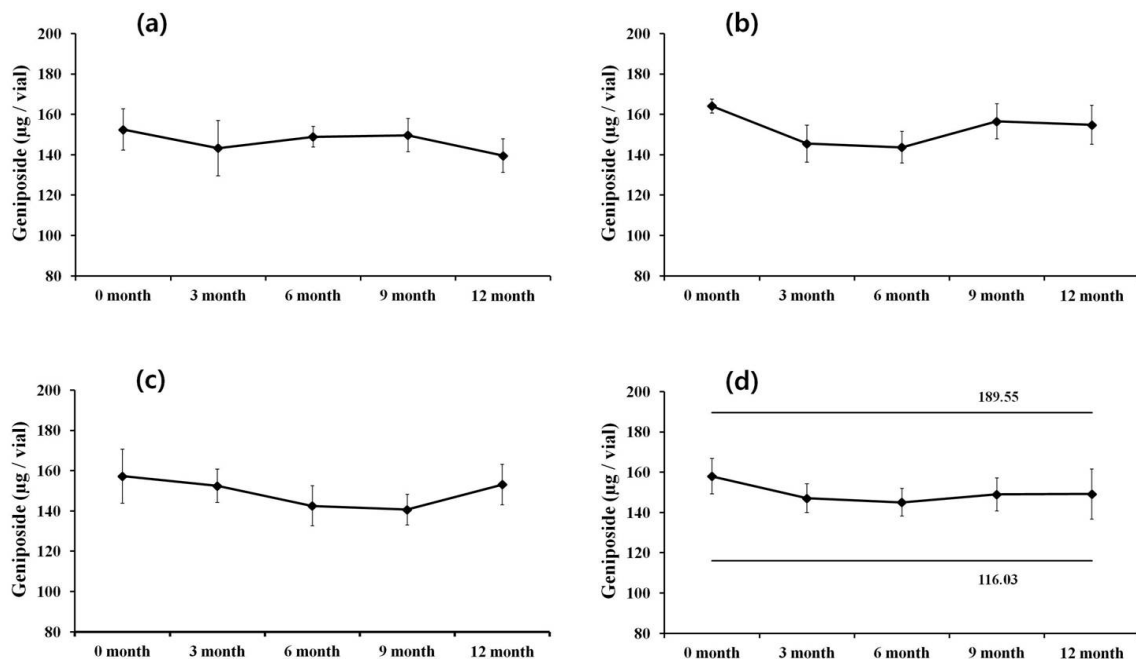


Fig. 5. Geniposide content by timepoint and establishment of quality control standard, (a) 1 lot; (b) 2 lot; (c) 3 lot; (d) Total average and establishment of quality control standard.

3. Endotoxin test

Endotoxin은 200 ul를 넣었을 때 0.25 EU/ml 이상의

농도에서는 굳어버리는 tube를 사용하였다. 모든 실험에서 결화가 관찰되지 않아 본 약침은 endotoxin에 노출되어 있지 않다는 것이 확인되었다.

4. 미생물 무균 시험

미생물 무균시험법은 단 하나의 세균 및 진균도 허용되지 않는 시험이기에 최초 시험에서 미생물이 발견되지 않았다면 지속적으로 미생물이 발견될 수 없는 시험이다. 본 시험에서는 시험의 정당성을 위하여 억제인자 확인시험 및 배지 성능시험을 거쳐 검증된 배지만을 사용하였으며 경시변화가 없는 항목이므로 최초와 최종만 시험을 진행하였고 최초 및 최종 시험에서 미생물이 검출되지 않았다.

5. 잔류 유기용매 측정

약침 조제 시에 전탕 및 정제 과정에서 주정을 사용하기 때문에 에탄올에 대한 잔류 함량을 측정하였다. 경시변화가 없는 항목이므로 최초와 최종만 측정을 하였으며, 모든 약침에서 에탄올은 검출되지 않았다.

6. 중금속 측정

원료 약재 자체에 잔류되어 있을 수 있는 중금속을 측정하였다. 대한약전 일반시험법 중 생약 시험법에 의거하여 진행하였으며 경시변화가 없는 항목이므로 최초와 최종만 측정하였고 AAS 장비를 이용하였다. 측정 결과는 Table I과 같다. 측정된 값들은 일반적인 토양 등에 존재할 수 있는 극소량의 수치였다.

7. 잔류농약 측정

본 약침에 사용된 한약재는 모두 식물성 한약재로써 기준치 이상의 농약에 노출되어 있을 수 있으므로 잔류농약을 측정하였다. 대한약전 일반시험법 중 생약 시험법에 의거하여 실험하였으며 경시변화가 없는 항목이므로 최초와 최종에만 측정하였다. 총 BHC (total benzene hex-

Table I. Analysis of Heavy Metals

	Lead (ppm)	Arsenic (ppm)	Mercury (ppm)	Cadmium (ppm)
Initial test	0.04	0.01	0.01	N,D*
Final test	0.34	0.02	0.01	0.07

*N,D: NotDetected.

achloride), 총 DDT (total dichlorodiphenyltrichloroethane), aldrin, endrin, dieldrin에 대하여 측정하였으며 모든 샘플에서 검출되지 않았다.

8. 각 시험항목의 임의 기준 설정

모든 임의 기준은 최고치에 120% 최저치의 80%에서 설정하였고 endotoxin test, 미생물 무균 시험, 잔류 유기용매 등은 모두 검출되지 않는 것을 원칙으로 설정하였다. 잔류 중금속과 잔류 농약은 대한약전 생약 규격집의 한약재 기준으로 설정하였다¹⁶⁾(Table II).

고찰»»»»

팔강약침의 한 종류인 황련해독탕 약침은 기미론에 입각하여 주로 증류 추출된 약침을 사용하고 있다. 하지만 증류 추출은 휘발성이 있는 성분만을 포집할 수 있는 추

Table II. Establishment of Quality Control Standards

Items for Quality Control	Standards for Quality Control
Appearance	Clear Yellow Liquid
pH	3.66~5.69
Specific Gravity	0.802~1.203
Content Analysis (ug/vial)	
Berberine	4.96~8.98
Baicalin	6.47~10.31
Geniposide	116.03~189.55
Endotoxin test (EU/ml)	0.25
Sterility test	Aseptic
Residual Organic Solvent	
Ethanol	Not Detected
Residual Heavy Metals (mg/kg)	
Lead (Pb)	5
Arsenic (As)	3
Mercury (Hg)	0.2
Cadmium (Cd)	0.3
Pesticide Residue (mg/kg)	
Total BHC*	0.2
Total DDT [†]	0.1
Aldrin	0.01
Endrin	0.01
Dieldrin	0.01

*BHC: Benzene Hexachloride, [†]DDT: Dichloroiphenyltrichloroethane.

출범이기에 황련해독탕 구성 약재의 모든 유효 성분을 추출하였다고 볼 수는 없다. 본 연구에 사용한 약침은 증류 추출액과 70% 주정 추출물을 혼합하여 조제한 약침으로 기존 황련해독탕 약침에 비하여 항염증에서 우수한 효능을 보였다¹⁴⁾. 하지만 조제법이 변경된 만큼 그에 대한 여러 가지 안전성 및 안정성 시험이 필요하였기에 본 연구를 진행하였다. 안정성시험으로는 장기 보존시험, 가속 시험, 가혹 시험 등이 있지만 유효기간 등의 기준을 정확하게 설정하기 위하여는 장기보존시험이 가장 적합하기 때문에 가속, 가혹 실험보다는 장기 보존시험을 진행하였다¹⁵⁾. 미생물 검사는 대한약전 일반시험법 중 미생물 무균시험법¹⁷⁾에 따라 진행하였다. 무균시험법은 일반적인 미생물한도시험과는 달리 단 하나의 균도 허용이 되지 않는 시험이다. 단 하나의 균도 없어야 적합 판정을 할 수 있는 시험이므로 최초 시험에서 균이 존재하지 않았다면 지속적으로 균이 존재하지 않는 시험이기에 경시변화가 없는 항목으로 선정하고 최초와 최종시험에만 실시하였다. 지표성분의 함량분석에서는 단일물질이 아닌 천연물이라는 특성상 분석치가 매번 일정하지는 않았다. 이는 전처리 과정에서 발생할 수 있는 여러 가지 변수, 예를 들어 사용된 한약재의 생산시기, 부위의 차이나 HPLC 분석에서 분석하고자 하는 물질이 약침 중에 극히 소량만을 차지하고 있으므로 발생할 수 있는 오차 범위 등이 이러한 변수들이다. 이러한 여러 가지 문제로 인하여 한약재에서의 성분분석은 범위를 비교적 크게 설정할 수밖에 없다. 단일 성분으로 이루어진 양방의 주사제의 경우 식약처 고시에 따르면 품질관리 기준을 설정할 때, 첨가한량을 100%로 하면 $\pm 10\%$ 까지의 범위는 허용이 된다. 하지만 천연물의 경우에는 품질관리 기준 설정시 $\pm 50\%$ 까지 혹은 50% 이상으로 허용이 된다. 이처럼 천연물은 단일 성분에 비하여 분석오차가 발생할 수 있다. Endotoxin은 gram 음성 세균의 세포벽에 존재하는 lipopolysaccharide (LPS) 성분으로 세균의 세포벽이 파괴되면 방출될 수 있는 성분이다. Endotoxin이 동물의 체내에 유입되면 주로 발열을 일으키며 심하면 죽음에 이르게 할 수도 있다. 더욱이 일반적인 멸균법인 고온고압증기멸균(121°C)에서는 파괴되지 않고 250°C 이상의 온도에서 30 min 이상 노출되어야만 제거가 가능하다. 이러한 endotoxin은 주로 유리에 잘 흡착되기 때문에 약침 조제 시 바이알의 세척에 신경 써야만 한다. 본 연구의 endotoxin test에서는 0.25

EU/ml의 농도에서 endotoxin이 검출될 수 있는 single test tube를 사용하였다. 이 수치는 아직까지 약침에 대한 endotoxin 기준이 설정되어 있지 않기 때문에 양방의 주사제를 만드는 주사용수의 기준¹⁷⁾이며 사람에게 영향을 미칠 수 있는 수치가 아니기에 임의적으로 설정하였다. 잔류 유기용매 측정에서는 약침 조제에 사용되는 유기용매인 주정(ethanol)에 대한 잔류 정도를 측정하였다. 비록 감압 농축 및 동결건조과정을 거치고 육안으로는 분말 상태까지 건조가 되지만 보이지 않은 에탄올의 함량을 측정하는 것이다. 에탄올의 특성상 HPLC보다는 GC로 측정을 하였다.

황련해독탕 약침의 장기보존시험은 연속으로 조제된 3 lot를 12개월 동안 3개월 단위로 실험을 진행하였기에 각 검사치의 대체적인 경향을 분석할 수 있었으며 경향분석을 토대로 품질관리의 기준을 설정하였다. 더욱이 실험 결과가 12개월 동안 안정하였으므로 본 약침의 유효기간은 1년으로 책정하는 것도 가능하였다. 품질관리의 기준은 주로 식약처의 대한약전 및 생약 규격집에 따라 한약재로서 품질관리가 가능한 수준으로 설정하였다. 황련해독탕 약침의 효능외의 보고로는 임상적으로 뇌졸중 후 우울증에 대하여 황련해독탕 약침을 처방하였을 때 임상적으로 안전성을 평가하였고¹⁸⁾, 랫트를 이용하여 단회투여에 대한 독성을 확인한 보고가 있다¹⁹⁾. 하지만 약침의 품질관리를 위하여 안정성을 확인한 경우는 아직 보고된 바가 없다. 이처럼 약침의 표준화와 관련된 연구는 효능 및 안전성 연구에 비하여 많은 관심을 갖지 않고 있는 실정이다. 본 연구는 약침 중 다빈도로 사용되어지는 황련해독탕 약침에 대한 표준화 중 안전성에 관련된 보고이며 이러한 연구들의 결과가 한방 약침의 표준화, 나아가 한방업계의 표준화, 과학화를 이끌어 한방업계의 발전에 기여할 수 있기를 기원하고 아울러 본 연구가 약침표준화 연구의 시발점이 될 수 있기를 바란다.

결론»»»»

증류 추출액과 70% 주정추출물을 혼합하여 조제한 황련해독탕 약침은 3 lot를 12개월간 3개월마다 각각의 lot에 대하여 3번 검체를 수집하고 검체 당 3회씩 반복 시험을 하였을 때, 성장, pH, 비중, 함량분석, endotoxin test,

무균 시험, 잔류 유기용매, 중금속, 잔류 농약의 시험항목에서 안정하여 유효기간을 12개월로 설정하였다. 또한 경향분석을 통하여 약침의 품질관리의 기준을 설정하였다.

References>>>>

1. Seo HS. The experimental study on anti-bacterial potency of *Coptidis rhizoma* extract compare with quantity on *Staphylococcus aureus*. J pharmacopuncture. 2006; 9(2): 99-103.
2. Kim SM, Seo BI, Choi HS. The effect of *Hwangryunhaedoktang* on the toxicity of dried *Mylabris phalerata* extract. Kor. J. Herbology. 2010; 25(2): 41-54.
3. Yang HJ, Joo HA, Baek SC, Park JS, Hong SH. Anti-inflammatory effects of *Hwangryunhaedok-tang* and Fermented *Hwangryunhaedok-tang*. J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol. 2011; 24(2): 1-15.
4. Choi JM, Kim HT. Effect of *Hwangryunhae-dok-tang* in TNF- α and IL-4 stimulated TARC, eotaxin, RANTES in the human bronchial epithelial A549 cells. Korean J. oriental physiology & pathology. 2006; 20(6): 1649-53.
5. Seol H, Yook TH. Effect of *Hwangryunhaedoktang* herbal-acupuncture at G21(kyonjong) on the heart rate variability. The Acupuncture. 2004; 21(6): 37-50.
6. Kim HK, Youn HM, Ahn CB. Clinical studies on *Hwangryunhaedoktang* herbal-Acupuncture Therapy on functional Headache. J Pharmacopuncture. 2006; 9(3): 131-8.
7. Cho GI, Kim JU, Lee YJ et al. Two cases of Chest Heating Sensation treated by *Hwangryunhaedok-tang* Herbal-Acupuncture. J Pharmacopuncture. 2003; 6(2): 127-35.
8. Lee CY, Park IB, Kim SW et al. The clinical study on chronic conjunctivitis or xerophthalmia treated with The *Hwangryunhaedock-tang* Herbal Acupuncture Therapy. J Acupuncture. 2003; 20(4): 77-84.
9. Hong CH. Two cases of Seborrheic Dermatitis treated by *Hwangryunhaedok-tang* Pharmacopuncture Therapy. J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol. 2012; 25(2): 68-75.
10. Yun JH, Kim KH, Jang SJ, Sin MS. One case treated alopecia areata with herbal acupuncture. J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol. 2001; 14(1): 105-10.
11. Cho JY, Kim YJ, Kim EJ, Lee SD, Kim KS. The Effects of *Hwangryunhaedok-tang* Pharmacopuncture by the Anti-inflammatory Action of Suppression of iNOS Production on Mice with Allergic Rhinitis. The Acupuncture. 2012; 29(1): 89-101.
12. Cho SY, Ha SY, Jang JY, Nam SS, Kim YS. Effect of *Hwangryunhaedok-tang* Pharmacopuncture at CV17(jeonjung) for mental stress on short-term analysis of heart rate variability. The Acupuncture. 2009; 26(5): 49-56.
13. Kang I, Moon JY, Lim MJ, Cho JH, Lee HE. The comparison study between different interventions for treating acute ankle sprain-using dry needle, Bee venom acupuncture, *Hwangryunhaedoktang* herbal acupuncture -. The Acupuncture. 2008; 25(5): 89-95.
14. Lee JH, Kim MJ, Lee JW, Kim MR, Lee IH, Kim EJ. Comparison of the Ingredient Quantities, and Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of *Hwangryunhaedok* Decoction Pharmacopuncture by Preparation Type. The Acupuncture. 2014; 31(4): 45-55.
15. The Ministry of Food and Drug Safety[Internet]. Legal Information, Guideline. Guideline on Stability Testing of Biological Product[cited 2015 Nov 27]. Available from : <http://www.mfds.go.kr/index.do?mid=1161&seq=10200&cmd=v>.
16. The Ministry of Food and Drug Safety[Internet]. Legal Information, Revised notice. Food and Drug Administration notice No. 2012-135. Available from : <http://www.mfds.go.kr/index.do?mid=686&pageNo=40&seq=6065&cmd=v>.
17. The Ministry of Food and Drug Safety[Internet]. Legal Information, Revised notice. Food and Drug Administration Notice No. 2012-129. The Korean Pharmacopoeia Tenth Edition[cited 2015 Nov 27]. Available from : <http://www.mfds.go.kr/index.do?mid=686&pageNo=40&seq=6049&cmd=v>.
18. Je JT, Lee SK. The Clinical pilot study of *Hwangryunhaedok-tang* Pharmacopuncture therapy on Post-stroke depression. J Pharmacopuncture. 2010; 13(2): 67-73.
19. Cho SG, Cho KH, Kim YS, Bai HS, Lee KS. Study on Efficacy and safety of Drug-acupuncture with *Hwangryunhaedoktang*. K H Univ O Med J. 1994; 17(1): 85-119.