

한약수치에 관한 연구(제 8보): 오수유 탕포법

박성환 · 이우정 · 최혁재 · 송보완 · 김동현¹ · 김남재*
경희대학교 동서의학연구소, ¹약학대학

Studies on the Processing of Crude Drugs(VIII): The Changes of Physico-chemical Parameter and Biological Activities by Processing of Evodia Fruit

Sung-Hwan Park, Woo-Jung Lee, Hyuck-Jai Choi, Bo-Whan Song,
Dong-Hyun Kim¹, and Nam-Jae Kim*

East-West Medical Research Institute and ¹College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul 130-702, Korea

Abstract – We have studied the physico-chemical change and pharmacological transformation of traditional herbal medicines with processing. Evodia fruit (EF) has processed for the purpose of detoxification and reduction of its bitter taste. There are various methods of processing EF in Oriental medicinal references. Among them, we processed EF according to the method of Sang-han theory, the most famous medicinal reference. We processed EF with washing in hot water, and then dried. Processed EFs (PEFs) were prepared according to the above procedure through repetition of 1, 3, 5 and 7 times respectively. The contents of weight loss, water extract, diluted ethanol extract, ether extract, total ash, acid insoluble ash, alkaloids and limonin in non-processed EF (NPEF) and PEFs were examined. The weight loss, and contents of water extract and dilute ethanol extract in PEF showed decrease in proportion to increase of washing time, while the contents of ether extract, total ash and acid insoluble ash showed little change as compared with those of NPEF. And the content of evodiamine and rutaecarpine was not changed distinctly. However, the content of limonin decreased in the final processed material in proportion to increase of washing times with hot water. And the intense of bitter taste in PEF was also reduced. These results were ascribed to the flowing-out of the water-soluble portion. The biological activities of NPEF and PEF were also investigated. In the test of DPPH scavenging effect, xanthine oxidase inhibition effect and TBA-R_s effect, PEF was more effective than NPEF *in vitro*. Also, both NPEF and PEF showed potent analgesic and anti-inflammatory effects against in mice. Especially, PEF by 3 times washing with hot water was more effective than other PEFs. From these results, it is considered that PEF should be prepared by 3 times washing with hot water.

Key words – *Evodia officinalis*, Evodia fruit, herb processing, evodiamine, rutaecarpine, limonin

吳茱萸(*Evodiae Fructus*, Evodia Fruit)는 *Evodia officinalis* Dode 또는 오수유(吳茱萸) *Evodia rutaecarpa* Bentham (운향과 Rutaceae)의 열매이다.^{1,2)}

吳茱萸는 神農本草經 中品에 「溫中下氣, 止痛, 咳逆寒熱, 除濕血痺, 逐風邪, 開腠理」으로 기록되어 있고 대표적인 溫理藥으로 散寒, 行氣, 除濕, 止痛, 疎肝下氣, 溫中止瀉하는 효능이 있어 腕腹疼痛, 脚氣, 厥陰頭痛, 吞酸, 嘔吐, 寒濕泄瀉, 痢疾 등에 이용되고 있다. 특히 각종 만성질환에 의해 전신기능이 虛하여 신진대사가 저하된 상태 또는 寒의 환

경에 노출되거나 찬 음식 등에 의하여 생기는 腹痛, 嘔吐, 下痢 등에 이용되며, 溫經湯, 吳茱萸湯, 當歸四逆加吳茱萸生薑湯 등에 배합된다.^{3,4)}

吳茱萸는 진통작용, 항구토작용, 혈압강하작용, 기관지 확장작용, 중추신경흥분작용, 체온상승작용, 자궁수축작용, 항균작용 등의 효과가 있음이 밝혀졌다.⁵⁻⁸⁾

吳茱萸 중에 함유된 성분으로는 indole alkaloids로서 evodiamine, hydroxyevodiamine, dehydroevodiamine, rutaecarpine, rhexifine, evocarpine, 5-methoxy-N-dimethyltryptamine, (-)-synephrine, higenamine 등, 정유(약 2%)로 evodene과 그 이외에 고미질로 limonin, evodol(비고미질) 등을 함유한다.⁵⁻⁸⁾

*교신저자(E-mail): njkim@khmc.or.kr
(FAX): 02-958-9531

吳茱萸는 辛熱하고 小毒이 있으며, 특히 맛이 매우 쓰기 때문에 경구투여시 복용에 어려움이 있어 포제법을 이용하고 있다. 또한 「陳久者良」이라 하여辛苦의 준열한 성질이 있는 吳茱萸를 오래 보관하여 그 성질이 완화된 것을 선택하여 사용하도록 한 것은 吳茱萸를 신중하게 사용하여 왔음을 알 수 있다.⁹⁻¹²⁾ 따라서, 吳茱萸는 독성이 있고 燥性이 아주 강하여 임상에서 炮製(수치)를 하여 사용하며 그 방법은 다양하며 포제법으로는 泡法, 煮法, 炒法, 蒸法, 鹽製法, 醋製法, 酒製法, 甘草製法, 黃蓮製法, 薑製法 등이 있다.⁹⁻¹²⁾ 특히 오수유의 포제법으로 「湯洗七遍」이라 하여 수세하여 이용하도록 하였으며, 洗法에 관해서는 많은 문헌에 기록되어 있으나, 오수유의 洗法은 뜨거운 물로 검은 물이 나오지 않을 때까지 씻어 고미를 제거하는 것으로 생각된다.¹¹⁾ 그러므로, 苦味를 제거하기 위하여 「湯洗」, 「浸」, 「泡」 등 끓는 물에 넣어 뜨는 거품을 제거하거나 또는 검은 물을 제거하여 건조하는 湯泡의 방법이 이용되며, 또한 감초탕에 넣거나 소금물에 담갔다가 微炒하는 방법을 각각 製吳茱萸와 鹽吳茱萸라고 한다.¹²⁾

오수유의 수치에 관한 연구로는 Kano 등¹³⁾이 탕포에 의한 엑스함량 및 alkaloid 함량 변화, 김 등¹⁴⁾이 제오수유의 alkaloid 함량변화에 관한 연구 등이 보고되었다. 따라서, 저자 등은 탕포에 의한 오수유의 수치시 탕포의 횟수와 생리활성 및 물리화학적 변화를 검토하여 적절한 탕포 횟수를 규정하여 오수유 탕포의 표준화를 위한 연구결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 및 수치 - 본 실험에서는 오수유는 농림생약(주)에서 구입하여 염선한 것을 대한약전 오수유 항에 적합한 것을 사용하였다.¹⁾ 오수유 100 g을 상한론의 탕포법에 준하여 실시하였으며,¹¹⁾ 탕포의 횟수는 1, 3, 5 및 7회 실시하여 비교관찰하였다. 탕포는 오수유 100 g을 70°C의 증류수 3 L를 가하여 15분간 약간 교반한 후 가제로 여별하여 상정액을 따라 내어 제거하였다. 이 조작을 1, 3, 5 및 7회 반복하여 행하고, 각 단계에서 얻어진 탕포 오수유를 상온에서 건조하여 시료로 사용하였다. 오수유 및 수치 오수유의 voucher sample은 본 연구소에 보관하였다.

시약 및 기구 - Evodiamine, rutaecarpine 및 limonin은 각각 Wako Pure Chemical Co. Ltd(일본), xanthine, xanthine oxidase, bovine serum albumin, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), nitro blue tetrazolium(NBT)는 Sigma사(미국), HPLC용 H₂O와 acetonitrile은 J.T. Baker사(미국)의 것을 사용하였고, 기타 분리 및 분석용시약은 특급시약을 사용하였다. 본 실험에 사용한 기계는 감압농축기(EYELA Co., Model NE-1, 일본), 동결건조기(EYELA Co., Model FD-1,

일본), 분광광도계(Model UV-160A, Shimadzu Co., 일본), TLC Scanner(CS-9000, Shimadzu Co., 일본), HPLC system (Alliance 2690 Separation Module, Column heater, Photodiode array detector 996, Waters, 미국), Millennium 32 Workstation(Waters, 미국) 등을 사용하였다.

실험동물 - 본 실험에서 사용한 실험 동물은 (주) 샘타코 BOKOREA에서 구입한 20 g 전후의 ICR계 웅성 생쥐를 사용하였다. 사료는 삼양유지(주)의 소동물용 고품사료를 사용하였고, 물은 상수를 사용하여 충분히 공급하면서 실험실 환경에서 2주간 순응시킨 후 사용하였다. 특별히 명시하지 않는 한 실험은 24 ± 2°C, 습도 60%의 항온, 항습 장치가 되어 있는 실험실내에서 실시하였다.

탕포 오수유의 중량변화, 엑스함량, 회분 및 산불용성 회분 함량 - 수치한 각 탕포 오수유 시료를 대한약전 일반시험법 중 생약시험법 항 건조감량, 엑스함량, 회분 및 산불용성 회분 함량 시험법에 따라 실시하였고,¹⁾ 각 시험은 3회 실시하여 평균치로 나타내었다.

TLC densitometry법에 의한 limonin 정량 - 수치전 오수유 및 탕포한 수치 오수유 각각 1.0 g을 정밀하게 달아 메탄올 20 mL를 가하여 수욕상에서 30분간 환류추출하고 여과하여 정확하게 20 mL로 하여 검액으로 하였다. 따로 limonin 표준품 20 mg을 정밀하게 달아 메탄올 10 mL를 가하여 표준액으로 하였다. 검액 및 표준액을 각각 10 uL씩 정확하게 pre-coated TLC plate에 점적하고 hexane-ethylacetate 혼합액 (2 : 1)을 전개용매로 하여 약 10 cm 전개시킨 다음 plate를 바람에 말리고 다음의 발색법을 이용하여 확인하였다. 발색제로 10% H₂SO₄ 시약을 분무한 다음 105°C에서 15분간 가열하여 발색시켰다. 발색된 TLC plate를 TLC Scanner를 이용하여 limonin spot의 density를 530 nm에서 zig-zag scanning하여 정량하였다. 정량은 limonin 표준액을 4단계로 희석하여 얻은 검량선으로부터 검액 중 limonin 함량을 산출하였다.

Alkaloid 정량 - 生吳茱萸 및 포제 吳茱萸 중의 evodiamine의 정량은 황 등의 방법에 준하여 측정하였다.¹⁵⁻¹⁹⁾ 즉, 분석용 검체 약 1.0 g을 정밀하게 달아 마개달린 공전시험관에 넣고 메탄올 15 mL를 가한 후 실온에서 24시간 추출하여 여과하고 정확히 15 mL를 하였다. 이를 0.45 uL membrane filter로 여과한 후 HPLC로 분석하여 아래의 검량선으로부터 시료 중 evodiamine 함량을 산출하였다. 표준액 조제 및 검량선 작성은 표준품 evodiamine 및 rutaecarpine 각각 10 mg을 메탄올 10 mL에 용해하고 이것을 메탄올로 희석하여 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL 및 500 µg/mL의 농도로 만들어 검량선용 표준액으로 하였다. 각각 표준액을 취하여 3회 반복하여 HPLC chromatogram을 얻고 이로부터 농도와 peak 사이의 검량선을 작성하여 산출하였다. HPLC 조작조건은 다음과 같다.

검출기 : Waters Photodiode™ Array Detector 996(측정 파장 254 nm), 칼럼 : Waters Spherisorb ODS1 column (4.0 × 250 mm), 칼럼온도 : 실온, 이동상 : CH₃CN : HOH : Tetrahydrofuran : AcOH (450:550:15:1,v/v/v/v)

고미평가 - 오수유 및 각 탕포 오수유 10 g을 취하여 증류수 50 mL를 가하여 수욕상에서 1시간 환류추출하고 여과하여 여액을 정확히 50 mL로 하여 원액으로 하였다. 이 원액을 1:1의 비율로 5단계 희석하여 쓴맛을 평가하였다. 쓴맛의 판별은 사람의 미각을 이용하여 측정하였고, 5명의 사람이 서로 미각을 측정하여 네 단계로 나누어 판별하였다.¹³⁾

3 : 매우 쓰다, 2 : 약간 쓰다, 1 : 쓰다는 느낌이 든다, 0 : 쓰지 않다.

활성 검색용 검액 조제 - 오수유 및 탕포 오수유 각각 500 g을 취하여 50% 에탄올을 가하여 2시간씩 2회 반복 환류추출하여 여액을 감압농축하여 동결건조하여 생리활성용 검액으로 하였다.

항산화 활성 - Free radical scavenging 작용은 비교적 안정한 free radical인 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)을 이용한 Blois의 방법,¹⁹⁾ xanthine oxidase 저해활성은 NBT (Nitro blue tetrazolium)법,^{20,21)} 지질과산화형성 저해활성은 흰쥐 간 homogenate를 이용한 Yokozawa 등²²⁾의 방법에 따라 측정하여 비교관찰하였다.

초산법에 의한 진통작용 - Whittle의 방법²³⁾에 준하였다. 즉 생쥐 1군을 5마리로 하여 검액 300 mg/kg을 각각 경구 투여한 다음 30분 후에 0.7% 초산생리식염수액 0.1 ml/10 g을 복강내 투여한 다음 10분 후 10분간의 생쥐가 나타내는 writhing syndrome의 빈도를 측정하여 비교관찰하였다.

Histamine에 의한 혈관투과성억제작용 - 생쥐 1군을 7마리로 하여 Whittle의 방법²³⁾에 준하여 0.5% histamine 생리식염수액 0.1 ml/10 g을 생쥐 복강내에 주사하고 30분 후에 4% pontamine sky blue 0.1 ml/10 g을 꼬리정맥내에 주사하였다. 색소투여 20분 후에 생쥐를 방혈치사시킨 후에 상법에 따라 개복하고 복강에 삼출된 색소를 증류수 10 ml로 세척하였다. 세정액을 3,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 상정액 중의 색소량을 분광광도계를 이용하여 580 nm에

서 흡광도를 측정하여 검량선으로부터 pontamine sky blue 량을 산출하였다. 검액은 각각 300 mg/kg을 histamine 생리식염수액 투여 30분전에 경구투여 하여 비교관찰하였다.

통계처리 - 모든 실험결과는 평균치와 표준오차를 사용하여 나타내었고, 각 군간의 비교는 Student's t-test를 사용하였으며, 대조군과 비교하여 P 값이 5% 미만일 때를 통계학적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

실험 결과

수치에 의한 물리화학적 변화 - 오수유의 탕포는 오수유를 끓는 물에 1회당 15분간 저으면서 방치하는 방법으로 1, 3, 5 및 7회 반복하여 탕포 오수유를 제조하였으며, 탕포 오수유의 수치 정도를 중량의 감소, 엑스함량, 회분 및 산불용성 회분으로 하여 검토한 결과를 Table I에 제시하였다.

그 결과 탕포하는 과정에서 횡수가 증가함에 따라 현저한 중량 감소를 보였으며, 수치 전을 100으로 하였을 때 1, 3, 5 및 7회 탕포 시 각각 78.7%, 70.2%, 67.7% 및 63.4%이었다. 엑스함량으로 물엑스, 묽은에탄올엑스 및 에틸엑스 함량을 측정된 결과 수치 횡수에 따라 물 및 묽은 에탄올 엑스함량은 현저하게 감소하였으나, 에틸엑스 함량은 별다른 차이를 보이지 않았다. 그리고, 회분 및 산불용성 회분은 수치 횡수에 별 영향을 받지 않는 경향을 보였다.

수치에 의한 Evodiamine, Rutaecarpine 및 Limonin 함량 - 오수유의 탕포 횡수에 따른 지표성분 evodiamine, rutaecarpine 및 limonin 함량 변화를 Fig. 3과 Fig. 4에 제시하였다. Evodiamine 및 rutaecarpine의 정량은 HPLC를 이용하였고, 그 결과 수치하지 않은 오수유 중 evodiamine 및 rutaecarpine 함량은 각각 0.35%와 0.21%이며, 수치 횡수에 따라 함량의 감소 혹은 증가를 보이지 않았고, 7회 수치한 탕포 오수유에서도 각각 0.34%와 0.23%를 보였다(Fig. 1).

Limonin의 정량은 TLC densitometry법에 따라 측정하였으며, 그 TLC chromatogram에 나타난 바와 같이 Rf 0.43에서 뚜렷한 limonin 반점을 확인할 수 있었으며 이 반점의 농도를 densitometry법을 이용하여 limonin 함량을 측정하

Table I. Contents of Weight loss on processing, Loss on drying, Water extract, d-EtOH extract, Ether extract, Total ash and Acid insoluble ash in Processed Evodia Fruit

Processing time	Weight loss (%)	Water Ex(%)	d-EtOH Ex(%)	Ether Ex(%)	Total ash (%)	Acid insoluble ash(%)
0	100	13.7	17.5	2.6	6.7	2.3
1	78.7	8.0	9.3	3.1	6.5	2.1
3	70.2	5.2	5.3	3.4	6.4	2.0
5	67.7	3.8	3.8	3.2	6.4	2.0
7	63.4	3.5	3.5	3.2	6.2	1.6

Each data represents mean of 3 experiments

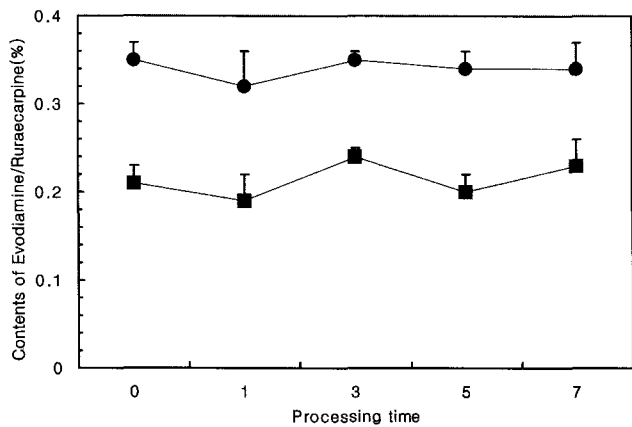


Fig. 1. Contents of Evodiamine and Rutaecarpine in Processed Evodia fruit.

Detector: Waters Photodiode™ Array Detector 996(UV 254 nm), Column: Waters Spherisorb ODS1 column (4.0 × 250 mm), Column temp.: Room temp., Eluent: CH₃CN-HOH-Tetrahydrofuran-AcOH (450-550-15-1, v/v/v/v).

● : Evodiamine, ■ : Rutaecarpine

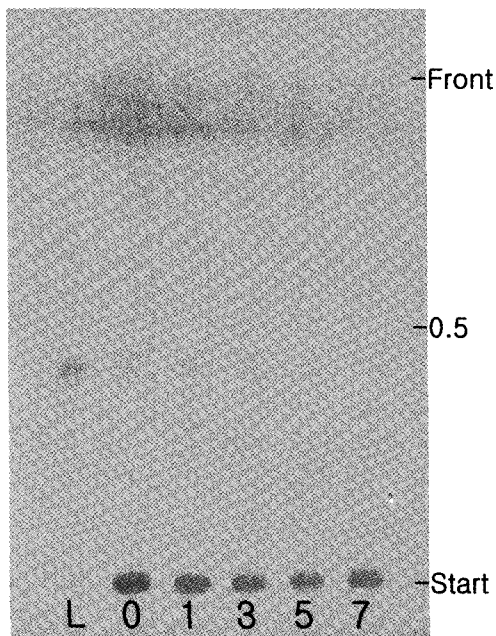


Fig. 2. TLC Chromatogram of Processed Evodia fruit(PEF) and Limonin.

Adsorbent; HPTLC Plate[Silicagel GF₂₅₄(E. Merck. Co.)], Solvent: Hexane-EtOAc(2-1). Detection; 10% H₂SO₄(105°C, 15 min.).

Lane; L: Limonin std, 0: Non-processed Evidia fruit, 1, 3, 5, 7: Washing times of PEP with hot water respectively.

었다(Fig. 2). 그 결과 limonin 함량은 수치하지 않은 오수유는 0.82%이고 1, 3, 5 및 7회 수치한 탕포 오수유에서는 각각 0.66%, 0.32%, 0.06% 및 0.02%으로 수치에 의하여 현

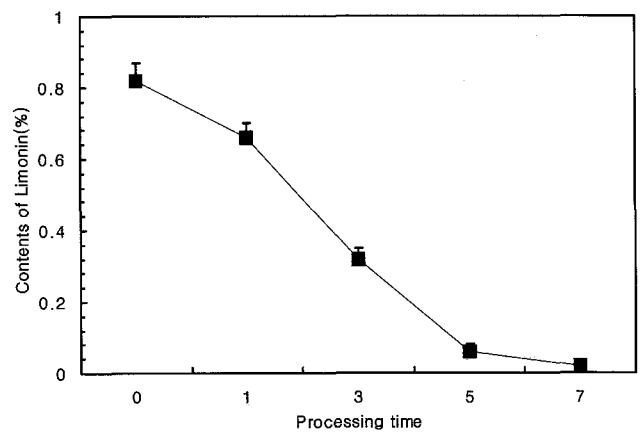


Fig. 3. Limonin Content in Processed Evodia fruit.

Contents of limonin was analyzed by TLC densitometry according to TLC condition of Fig. 2. Wave length : 530 nm.

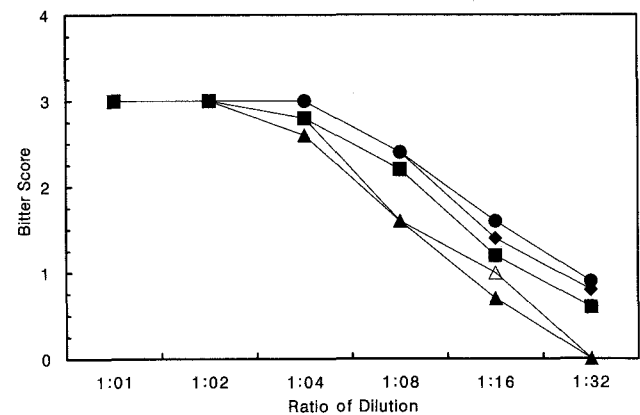


Fig. 4. Bitterness of Decoctions of Evodia Fruit and Processed Evodia fruit.

● : Non-processed Evodia fruit, ◆ : Processed Evodia fruit 1 time washing with hot water, ■ : Processed Evodia fruit 3 times washing with hot water, △ : Processed Evodia fruit 5 times washing with hot water, ▲ : Processed Evodia fruit 7 times washing with hot water.

Biter Score ; 0 : none, 1 : a little, 2 : slightly, 3 : exceedingly.

저하게 감소됨을 알 수 있었다. 이는 limonin이 물에 가용성으로 탕포 과정에서 손실된 것으로 사료된다(Fig. 3).

수치에 의한 고미 변화 - 수치전 오수유 와 수치 오수유의 고미를 평가하여 Fig. 4에 나타내었다. 그 결과 수치 하지 않은 오수유는 32배 희석까지 고미를 느꼈지만 5회 및 7회 탕포한 수치 오수유에서는 고미를 느끼지 못하였고, 탕포의 횟수에 따라서 고미 정도가 감소됨을 보였다.

항산화 효과 - 수치과정의 생물학적 활성의 변화를 항산화활성을 지표로 DPPH scavenging 효과, xanthine oxidase 저해효과 및 지질과산화형성 저해효과로 하여 그 결과를 Table II에 나타내었다. 우선 비교적 안정한 유리기 인 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)을 이용하여 유리기 소거효과

Table II. Inhibitory effects of superoxide anion radical generation TBA-Rs formation in rat liver homogenate, and scavenging effects of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) radical of Processed Evodia fruit

Groups	Processing time of processed Evodia fruit					Sodium Ascorbate
	0	1	3	5	7	
DPPH ^{a)} IC ₅₀ (μg/mL)	11.25	7.21	7.28	7.97	7.52	1.05
NBT ^{b)} IC ₅₀ (μg/mL)	6.68	5.44	4.88	6.97	6.72	1.25
TBA-Rs ^{c)} IC ₅₀ (mg/mL)	5.91	3.70	3.55	3.59	3.10	1.04

Each data represents mean of 3 experiments

^{a)}Concentration required for a 50% reduction in absorbance of DPPH radical at 520 nm

^{b)}Concentration required for a 50% reduction in absorbance of nitro blue tetrazolium(NBT) at 560 nm

^{c)}Concentration required for a 50% reduction in absorbance of TBA-RS at 535 nm

를 검토하였으며 그 결과 수치하지 않은 오수유의 IC₅₀ 11.25 μg/ml이었으며, 수치 횡수에 따라 7.97 μg/ml에서 7.21 μg/ml로 수치전에 비하여 양호한 항산화활성이 인정되었고, 수치 횡수에 따른 영향은 크지 않았다. 그리고, xanthine oxidase 저해효과를 NBT(Nitro blue tetrazolium)법을 이용하여 검토한 수치 전 오수유의 IC₅₀는 6.68 μg/ml이고, 3회 탕포한 수치 오수유는 4.88 μg/ml이고, 7회 탕포한 오수유는 6.72 μg/ml로 3회 탕포 시 가장 양호한 xanthine oxidase 저해활성을 보였다.

또한, 지질과산화반응은 다가불포화지방을 많이 함유하는 지질로 구성되어 있는 생체막에서 일어나기 쉬운 반응으로 지질과산화반응은 생체막 기능장해를 초래하여 생체에 부반응으로 각종 성인병이나 노화 등과 관련하여 중용한 요인으로 대두되고 있으며, 지질과산화반응의 억제활성을 항산화 활성의 지표로 검토하였다. 그 결과 수치 전 오수유의 IC₅₀는 8.91 mg/ml이고, 탕포 횡수에 따라 3.10 mg/ml에서 3.70 mg/ml로 수치에 의하여 지질과산화 형성 저해활성이 증대됨을 알 수 있었다.

초산법에 의한 진통효과 - 수치에 따른 오수유의 진통작용을 초산법을 이용하여 검토한 결과를 Table III에 제시하였다. 그 결과 생쥐에 생리식염수와 0.7% 초산생리식염수액을 투여한 대조군의 writhing syndrome의 빈도 32.8 ± 2.38 회/10분에 비하여 1, 3, 5 및 7회 탕포한 각 수치 오수유 300 mg/kg 투여군에서는 각각 26.0 ± 2.15회/10분, 25.4 ±

1.92회/10분, 22.8 ± 1.78회/10분, 21.8 ± 1.78회/10분 및 22.6 ± 0.91회/10분으로 대조군에 비하여 P<0.05와 P<0.01의 유의한 억제효과가 인정되었다. 그리고, 이러한 효과는 탕포 횡수에 영향이 있음을 알 수 있었다.

Histamine에 의한 혈관투과성 항진에 대한 억제효과 - 수치 오수유의 histamine에 의한 혈관투과성 항진억제효과를 Table IV에 제시하였다. 그 결과 생리식염수만을 처치한 대조군의 복강내 색소삼출량은 493.7 ± 29.7 μg/mouse로 정상군의 색소삼출량 199.7 ± 20.0 μg/mouse에 비하여 p<0.001의 유의한 증가를 보였고, 수치전 오수유 및 탕포 횡수에 따른 수치 오수유 각각 300 mg/kg 처치군에서는 대조군에 비하여 각각 P<0.01과 P<0.01의 유의한 색소삼출량 감소효과를 보였다. 탕포 횡수에 따른 검체는 3회 탕포 오수유에서 241.2 ± 21.8 μg/mouse로 85.9%의 유의한 억제효과가 인정되어 탕포에 따라 영향을 미침을 알 수 있었다.

고찰 및 결론

한약의 수치는 약효의 증강이나 독성의 감약 또는 보존성을 높이기 위한 전통적인 제약공정의 하나이다. 오수유는 기미가 辛苦熱, 有小毒하여 다양한 방법으로 수치하여 사용하고 있으나, 고미 제거는 물론 독성이 감소와 동시에 진통 작용에는 영향을 주지 않는 방법 등이 필요시 되고 있다. 일반적으로 널리 이용되고 있는 오수유 수치법으로는 감초 추

Table III. Effects of Processed Evodia Fruit on writhing syndrome induced by acetic acid in mice

Groups	Dose(mg/kg, p.o.)	No. of animals	Number of writhing syndrome(10 min)	Inhibition(%)
Control	-	5	32.8±2.38 ^{a)}	-
0 ^{b)}	300	5	26.0±2.15*	20.7
1	300	5	25.4±1.92*	22.6
3	300	5	22.8±1.78**	30.5
5	300	5	21.8±1.78**	33.5
7	300	5	22.6±0.91**	31.1

a) : Mean±Standard error

b) : Each number represents processing times of Evodia fruit

* : Statistically significant compared with control data(* : p<0.05 and ** : p<0.01)

Table IV. Effect of Processed Evodia Fruit on the Increase Vascular Permeability induced by 0.5% Histamine in Mice

Groups	Dose(mg/kg, p.o.)	No. of animals	Leakage of Dye(μ g/mouse)	Therapeutic value(%)
Normal	-	6	199.7 \pm 20.0 ^{a)}	-
Control	-	6	493.7 \pm 29.7 ^{###}	147.2
0 ^{b)}	300	6	368.5 \pm 27.5 ^{**}	42.6
1	300	6	316.0 \pm 30.5 ^{**}	60.4
3	300	6	241.2 \pm 21.8 ^{***}	85.9
5	300	6	338.7 \pm 23.4 ^{**}	52.7
7	300	6	328.5 \pm 22.1 ^{***}	56.2

a) : Mean \pm Standard error

b) : Each number represents processing times of Evodia fruit

; Statistically significant compared with normal data(### : p<0.001)

* : Statistically significant compared with control data(** : p<0.01 and *** : p<0.001)

The therapeutic values are % of protection that is calculated as 100(values of histamine control-values of sample)/(values of histamine control-values of normal)

출액을 사용하는 제오수유, 소금을 이용하는 염오수유 및 뜨거운 물로 우려내는 탕포 오수유 등이 있다.^{9,12)}

저자 등은 한약의 수치의 과학적 해석 및 수치 방법의 표준화를 위한 일련의 연구를 수행하고 있으며,^{24,30)} 본 연구는 한방의료에서 이용되고 널리 있는 오수유의 탕포방법과 효능과의 상관성을 검토하여 탕포 오수유 제법의 표준화를 하고자 하였다.

오수유의 탕포 방법은 상한론의 방법에 준하여 뜨거운 물로 종종 저어가면서 15분간 우려내는 방법을 이용하였고, 이 방법을 1, 3, 5 및 7회 반복하여 적절한 횟수를 도출하고자 하였다. 탕포 오수유 제법의 타당성 평가를 위한 물리화학적 지표로는 엑스함량, 회분 및 산불용성 회분, 지표성분으로 evodiamine, rutaecarpine, limonin 함량과, 생물학적 활성으로 미각의 변화와 초산법에 의한 진통효과 및 histamine에 의한 혈관투과성 항진에 대한 억제효과를 평가한 바 다음과 같은 고찰 및 결론을 얻었다.

우선 탕포에 따른 중량의 변화를 검토한 결과 수치 전 오수유를 100으로 볼 때 횟수에 비례하여 탕포로 인한 중량이 현저하게 감소하였으며, 7회시에는 36.4%의 중량감소를 보였다. 이는 탕포하는 과정에서 가용성인 물질이 용출되는 것에 기인하는 것으로 생각된다. 또한 엑스함량에서도 수성 엑스함량 및 묽은 에탄올엑스함량 역시 탕포 횟수에 비례하여 감소되었고, 7회 탕포시 수치 전에 비하여 각각 74.4%와 80.0%의 감소를 보였다. 반면에 에텔엑스 함량은 다소 증가하는 경향을 보였다. 그리고 회분 및 산불용성 회분량은 탕포에 의하여 다소 감소하는 경향을 보이거나 커다란 차이는 없었다. 한편, 탕포 오수유의 수치과정에서 종말점을 검정색의 물이 나오지 않을 때까지라고 기록된 문헌도 있지만 물에 가용성 성분의 현저한 소실과 더불어 활성물질의 손실에 따른 효과의 감약이 우려될 수 있으므로 적절한 탕포 횟수가 필수적이라고 생각된다.

오수유는 hydroxyevodiamine, evodiamine, rutaecarpine

등 indole계 alkaloid와 evocarpine 등 quinolone계 alkaloid, synerphrine 및 고미물질로 limonin 등을 함유하고 있다. 따라서, 수치과정에서의 성분함량변화를 검토하고자 오수유의 대표적 성분인 evodiamine 및 rutaecarpine 함량분석을 한 결과 수치 전후 및 탕포 횟수에 따라서 이들 alkaloid 함량의 변화는 없었다. 반면에 물에 가용성이고 고미물질 중의 하나인 limonin 함량은 탕포에 의하여 상당량 소실됨을 알 수 있었고, 5회 탕포 시에는 92.7%의 소실률을 보였다.

한편, 오수유는 limonin 등에 기인하는 강한 고미를 가지고 있어 탕포에 따른 고미 정도를 사람의 맛을 통하여 평가한 바 수치 전 오수유 물추출액의 32배 희석액에서도 고미를 느낄 수 있었지만 5회 및 7회 탕포한 오수유 물추출액의 32배 희석액에서는 고미를 느끼지 않아 고미가 소실됨이 인정되었다. 이는 앞서 limonin 함량의 감소와 상관성이 있는 것으로 사료된다.

탕포 횟수에 따른 물리화학적 parameter의 변화가 인정되어 오수유 탕포 시 제법의 표준화를 검토하기 위하여 생물학적 활성과의 상관성을 평가하였다. 우선 *in vitro*에서 항산화 활성을 지표로 평가하고자 DPPH 소거효과, xanthine oxidase 저해활성 및 지질과산화물 형성저해효과를 이용하여 비교검토하였다. 그 결과 수치 전 오수유에 비하여 수치 오수유에서 각각 강한 활성을 보였고, 특히 DPPH scavenging 효과 및 xanthine oxidase 저해활성은 탕포 횟수가 3회에서 가장 양호한 효과가 인정되었고, 지질과산화물 형성저해효과는 탕포 횟수에 비례하여 효과가 증가되었다.

또한 오수유의 주요한 효능이 散寒止痛, 頭痛, 寒疝 등 진통 및 소염작용이며, 이러한 약리활성이 보고된 바 있다. 따라서, 탕포에 따른 고미 등 부작용은 감소되거나 진통, 소염작용의 변화는 최소화하는 방법을 추구할 필요가 있다. 따라서, 진통작용은 초산법을 이용하였으며, 그 결과 수치 전 오수유는 20.7%의 진통효과를 보이거나 탕포 횟수에 따라 22.6%, 30.5%, 33.5% 및 31.1%의 진통효과가 인정되었으

며, 특히 5회에서 가장 높았다. 그리고, 오수유는 강한 항 histamine 작용과 소염작용이 밝혀져 있어, histamine으로 유발된 혈관투과성 항진에 대한 저해효과를 지표로 탕포 횡수에 따른 소염효과를 평가한 바 수치전 오수유는 42.6%의 치료률을 보였고, 탕포 횡수에 따라 각각 60.4%, 85.9%, 52.7% 및 56.2%의 치료률을 보였고, 3회 탕포시 가장 양호한 치료효과가 인정되었다.

한편 오수유의 탕포에 따른 물리화학적 성분의 변화로 중량의 감소, 물 엑스 및 묽은 에탄올 엑스함량의 감소와 evodiamine 및 rutaecarpine의 alkaloid함량은 별로 영향을 주지 않았으며 이는 Kano 등¹³⁾과 김 등¹⁴⁾의 실험결과와도 일치하였다.

이상의 결과로 미루어 보아 탕포 오수유의 제조시에는 끓는 물을 이용하여 3회 탕포하는 것이 타당한 것으로 사료되면 탕포 오수유 제법의 표준화로 활용하고자 한다. 앞으로 표준화된 방법에 따라 탕포 오수유의 규격품을 제조하고 탕포 오수유의 규격제정을 위하여 연구하고자 한다.

감사의 말씀

본 연구는 식품의약품안전청 2004년도 연구용역비(04082 생약품521)의 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. 한국약학대학협의회 약전분과회 편저 (2003) 대한약전 제 8개정 해설서, 1209-1210, 도서출판 신일상사, 서울.
2. 이창복 (1982) 대한식물도감, 503, 향문사, 서울.
3. 전국한외과대학 본초학교수 공편저 (1991) 본초학, 167-168, 도서출판 영림사, 서울.
4. 서부일, 최호영 (2004) 임상한방본초학, 451-453, 도서출판 영림사, 서울.
5. 생약학연구회 (1992) 현대생약학, 274-276, 학창사, 서울.
6. 北川 勳, 三川 潮, 庄司順三, 友田正司, 西岡五夫 (1992) 生藥學(第 4版), 213-215, 廣川書店, 東京.
7. 高木敬次郎, 木村正康, 原田正敏, 大塚恭男 (1982) 和漢藥物學, 107-108, 南山堂, 東京.
8. 鳥居塚 和生 編著 (2003) 生藥の藥效・藥理, 121-129, 醫齒藥出版株式會社, 東京.
9. 동의학연구소 편저 (1994) 동약법제. 여강출판사, 서울.
10. 안덕균, 김호철 (2000) 한약포제학, 362-364, 일중사, 서울.
11. 김호철 (2001) 한약재 수치법제의 규격화 연구 보고서, 보건복지부.
12. 國家藥典委員會 (2000) 中華人民共和國藥典(2000年版, 1部), 136, 化學工業出版社, 北京.
13. Kano, Y., Qine, Z. and Komatsu, K. (1991) On the evaluation of the preparation of Chinese Medicinal Prescriptions. VI. The change of the alkaloid contents by processing of Evodiae fruit. *Yakugaku Zasshi* **111**: 32-35.
14. 김진숙, 김현정, 마진열, 김종문 (2002) 한약재 수치에 관한 연구(II) 오수유, 황기의 수치전·후 지표물질의 함량 분석. *생약학회지* **33**: 305-307.
15. 황석연, 황방연, 주혜경, 박정일, 손건호, 이승호, 장승엽, 강신정, 노재섭, 이경순 (2001) 시판 오수유로부터 evodiamine의 분리 및 함량분석. *생약학회지* **32**: 98-102.
16. Kano, Y., Yasuda, M., Saito, K. and Komatsu, K. (1989) Simultaneous and quantitative analysis of alkaloids in Evodiae Fruit. *Shoyakugaku Zasshi* **43**: 339-342.
17. Kubo, M., Chen, Y., Hirose, N., Asano, T. and Matsuda, H. (1995) Studies on Evodiae Fructus I. Qualitative evaluation of various Evodiae Fructus by pharmacognostical and pharmacological methods. *Natural Medicines* **49**: 451-454.
18. 김성은, 김대근, 신태용, 임종필, 엄동욱 (2004) 흡광도 측정법에 의한 오수유탕 중 오수유 알칼로이드의 정량. *생약학회지* **35**: 88-91.
19. Blois, M. S. (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* **181**: 1199-1200.
20. Okamura, H., Mimura, A., Yakou, Y., Niwano, M. and Takahashi, Y. (1993) Antioxidant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata*. *Phytochem.* **33**: 557-561.
21. Amakura, Y., Umino, Y., Tsuji, S., Ito, H., Hatano, T., Yoshida, T. and tonogai, Y. (2002) Constituents and their antioxidative effects in eucalyptus leaf extract used as a natural food additive. *Food Chem.* **77**: 47-56.
22. Yokozawa, T., Dong, E., Wu, Liu, Z., Oura, H. and Nishioka, I. (1996) Antioxidation activity of Wen-Pi-Tang *in vitro*. *Natural Med.* **50**: 243-246.
23. Whittle, B. A. (1964) The use of changes in capillary permeability to distinguish between narcotic and analgesic. *Brit. J. Pharmacol.* **22**: 246-253.
24. 홍남두, 김종우, 최승기, 김남재, 손정곤 (1982) 죽력의 약리작용에 관한 연구. *경희약대논문집* **10**: 69-75.
25. 김남재, 진영호, 홍남두 (1995) 한약수치에 관한 연구(제 4보) -수치에 의한 감초종 Glycyrrhizin의 물리화학적 변화. *생약학회지* **26**: 31-39.
26. 김남재, 홍남두 (1996) 한약수치에 관한 연구(제 5보) -수치에 의한 감초의 성분변화 및 생리활성. *생약학회지* **27**: 196-206.
27. 송보완, 김남재, 주수만, 김종우 (1998) 黃芪의 가공방법에 따른 물리화학적 변화. *병원약사회지* **15**: 65-68.
28. 김남재, 정은아, 주수만, 송보완, 김종우 (1999) 한약의 수치에 관한 연구. -*草烏*의 수치에 의한 성분변화 및 생리활성. *병원약사회지* **16**: 190-201.
29. 김남재, 정은아, 김희정, 심상범, 김종우 (2000) 지황의 품질평가. *생약학회지* **31**(2): 130-141.
30. 신용욱, 김남재, 김동현 (2003) 한약의 수치에 관한 연구 -치자의 수치에 의한 성분변화 및 생리활성-. *생약학회지* **34**: 45-54.

(2005년 3월 18일 접수)