약제학회지(2009), 제 39 권 제 4 호
J. Kor. Pharm. Sci., Vol. 39, No. 4, 257-261 (2009)

신부전 치료제 WHW 엑스의 pH 특이적인 방출 제형 연구

소재우 · 강희철 · 박용기[1] · 김영호 · 강종성 · 조정원†
충남대학교 약학대학, [1]동국대학교 한의과대학
(2009년 6월 24일 접수 · 2009년 8월 5일 수정 · 2009년 8월 10일 승인)

A pH-specific Released Formulation Study of WHW Extract for Therapeutics of Renal Failures

Jae-Woo So, Hee-Chul Kang, Yong-Ki Park[1], Young-Ho Kim, Jong-Seong Kang and Cheong-Weon Cho†
College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea
[1]DongKuk University, Korea
(Received June 24, 2009 · Revised August 5, 2009 · Accepted August 10, 2009)

ABSTRACT – Effective therapeutics for renal failures have not yet been developed until now. Recently, there was a report showing that Wen-pi-tang-Hab-Wu-ling-san (WHW) prescriptions had the potential to prevent renal failures through the increased expression of HSP-27 and HSP-72 after ischemia/reperfusion. Therefore, formulation studies by pH-specific released systems were carried out to exhibit the optimal activity of WHW prescriptions in this study. WHW prescriptions were separately extracted using water into two parts of stomach-released (SR) and intestine-released (IR) extracts. Subsequently, the double-layered tablet was prepared using the SR extracts and pharmaceutical additives and enteric-coated IR tablet. Dissolution studies were carried out to figure out the release of cinnamic acid and icarrin from SR tablet, IR tablet and double-layered tablet, respectively. The complete release of cinnamic acid from SR tablet showed 90min after dissolution in pH 1.2 and insignificant drug released from IR tablet. As well as, icarrin from IR tablet completely released in pH 6.8 and 7.4 as enteric-coating film dissolved.

Key words – Herbal medicine, WHW extract, renal failure, double-layered tablet, pH-specific

신부전은 신장이 장기간에 걸쳐 서서히 제 기능을 하지 못해 체내에 노폐물이 축적되고 수분이나 전해질의 불균형이 일어나며, 고혈압과 빈혈 등이 나타나는 질환으로서 특히 만성신부전은 신장의 배설기능이 정상의 25% 이하로 저하된 경우를 말하는 것으로서,[1] 초기 증상이 요독증의 초기에 나타나는 메스꺼움, 식욕부진, 야뇨증, 수면장애, 피로, 소화불량 등과 같이 지나치기 쉬운 것이 대부분이어서 예방하거나 초기에 진단하기가 어렵고, 신부전이 심해지면, 숨을 쉴 때 소변 냄새가 나고, 부기, 가려움증, 기억력 감퇴 등을 보이다가 심하면 호흡곤란, 경련, 혼수 등의 증상이 발생된다. 그러나 신부전 치료를 위한 치료제가 현재는 전무한 상태이지만,[2] 만성신부전은 신장 세포의 섬유화 및 대식세포의 과도한 증가로 인해 염증반응이 주로 나타나기 때문에, 염증을 억제하면 신장세포의 섬유화를 줄여줌으로써 계속해서 신장세포가 파괴되는 것을 막아줄 수 있는 것으로 알려져 있다.[3] 따라서, 현재 만성신부전의 치료는 주로 항염증 효과를 나타낼 수 있는 치료제를 사용하고 있는 실정이다. 그러나 만성신부전의 경우 항염증제를 지속적으로 복용해야 하고, 이에 대한 부작용이 대두되었다.

한편, 한방 임상에서는 만성신부전 환자들에게 사용되어지는 WHW (Wen-pi-tang-Hab-Wu-ling-san, 가감온비탕합오령산(加減溫脾湯合五苓散)) 처방[4,5]이 항산화 및 항염증 생리활성을 나타냄으로써 만성신부전의 염증 치료에 효과적임과 TGF-β 의해 유도되는 신장 세포의 섬유화의 진행을 억제시킴으로써 만성신부전 치료 효과가 있음이 발표되었다.[6] WHW 처방의 구성성분은 만삼, 단삼, 반하, 황련, 오수유, 음양곽, 대황, 소엽, 감초, 인진, 택사, 백복령, 백출, 저령 및 계지로 이루어지는 15가지의 혼합 한약재의 추출물로 이루어져 있다.[7] 이러한 한방 만성신부전 치료제의 약제학적 조성물이 동시에 용출 및 흡수되어질 수 있으나, 특히 위장 기능이 약한 신부전 환자의 경우에는 위장 기능의 활성화가 먼저 이루어질 필요가 있다. 따라서, 한방 신부전 치료용 약제학적 조성물을 구성하는 각 한약재의 기능을 살펴보고 이들

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 042)821-5934, E-mail : chocw@cnu.ac.kr

중 위장 기능의 활성화에 효과가 있는 한약재를 선별하여 만삼, 소엽, 감초, 인진, 택사, 백복령, 백출, 계지 등은 속을 편안하고 따뜻하게 하는 건위약[8]으로써 소화불량 및 위장 기능 향상에 사용될 수 있어, 위장 운동을 보호 및 강화하는 역할을 하기 때문에 이들의 이러한 효과를 적절히 발휘시키기 위해서는 각각 위와 장에서 따로 용출되는 제형을 제조하고자 하였다. 본 연구에서는 위장 기능이 약한 신부전 환자의 복약 순응성과 치료 효과의 향상을 위해, 한방 만성 신부전 치료제의 약제학적 조성물 중 만삼, 소엽, 감초, 인진, 택사, 백복령, 백출, 계지의 추출물을 이용하여 위용외부정을 제조하고, 이어서 십이지장 및 소장에서 단삼, 반하, 황련, 오수유, 음양곽, 대황, 저령의 추출물을 이용하여 장용핵정을 제조하여, 이를 이중정으로 제조하는 방법을 확립하고자 한다.

Table I–*Composition and Criteria Components of SR and IR Components of WHW Prescriptions*

	Herbal medicines	Criteria components
Stomach-released(SR) components	Glycyrrhizae Radix	glycyrrhizin, liquiritin
	Atractylodies Rhizoma alba	
	Cinnamomi Ramulus	cinnamic acid
	Perillae Herba	
	Artemixiae capillaris Herba	
	Alimatis Rhizoma	
	Codonopsis Pilosulae Radix	
	Hoelen	
Intestine-released(IR) components	Salviae Radix	
	Pinelliae Rhizoma	
	Coptidis Rhizoma	berberine
	Evodiae Fructus	evodiamine, rutacarpine
	Epimedii Herba	icariin
	Rhei Rhizoma	
	Polyporus	

실험 방법

시료 및 기기

당삼 (Codonopsis Pilosulae Radix), 단삼 (Salviae Radix), 반하 (Pinelliae Rhizoma), 황련 (Coptidis Rhizoma), 오수유 (Evodiae Fructus), 음양곽 (Epimedii Herba), 대황 (Rhei Rhizoma), 소엽 (Perillae Herba), 감초 (Glycyrrhizae Radix), 인진호 (Artemixiae capillaris Herba), 택사 (Alimatis Rhizoma), 백복령 (Hoelen), 백출 (Atractylodies Rhizoma alba), 저령 (Polyporus), 계지 (Cinnamomi Ramulus)는 광명당 제약 (대구광역시, 한국)에서 제공받았다. HPLC용 아세토니트릴, 아세트산 (JT Baker, 미국)을 사용하였고, 증류수는 Milli Q (Milford, MA, 미국)에서 약 18 MΩ로 통과시킨 것을 사용하였다. 미결정셀룰로오스, 콜로이드성이산화규소, 옥수수전분, 크로스포비돈, 전젤라틴화전분, 글리세릴베헤네이트, 유드라짓 L100은 대웅제약 (용인, 한국)에서 제공받았다. 사용한 기기는 저울 (AG204, METLER TOLEDO, 스위스), Mixer (CM-1000, EYELA, 일본), Ultrasonification cleanser (BRANSON, 미국), spray dryer (SD-1000, EYELA, 일본), 단발타정기 (ERWEKA, 독일), 경도측정기 (ERWEKA, 독일)이었다. 분석기기로는 HPLC (Shimadzu 10A, Shimadzu, 일본)를 사용하였고, 컬럼은 안지름 약 4.6 mm, 길이 15 cm 인 스테인레스강관에 5 μm 의 액체크로마토그래프용옥타데실실리카겔을 충전한 것 (Phenomenex, 미국)을 사용하였다.

위용부 추출물 및 장용부 추출물의 제조

만삼 150 g, 소엽 100 g, 감초 50 g, 인진 300 g, 택사 200 g, 백복령 80 g, 백출 80 g, 계지 40 g을 혼합하여 부피의 10 배의 물을 넣고, 3시간 동안 약 100°C에서 가열하여 열수 추출한 다음, 상기 추출물을 거어즈로 여과하여 수득한 추출액을 입구온도 120°C, 추출액 유입속도 2 mL/min, 공기유입압력 10 kPa 조건으로 분무 건조하여 위용부 추출물을 제조하였다. 단삼 150 g, 반하 100 g, 황련 60 g, 오수유 60 g, 음양곽 160 g, 대황 100 g, 저령 80 g을 혼합하여 위용부 추출물과 동일한 방법으로 장용부 추출물을 제조하였다 (Table I).

위용외부정, 장용핵정 및 이중정 제조

Table II의 위용외부정 (SR tablet) 조성성분의 비율로 칭량한 물질을 혼합 한 후 단발타정기를 이용하여 타정하고 경도계를 사용하여 경도를 측정하였다. 총 중량 600 mg의 위용외부정 (직경 11 mm, 경도 8 kPa)을 제조하였다. Table II의 장용핵정 (IR tablet) 조성성분의 비율로 칭량한 물질을 혼합 한 후 타정한 후, Eudragit L100으로 5% 피복하여 총 중량 210 mg의 장용핵정 (직경 8 mm, 경도 8 kPa)을 제조하였다. 또한, 이중정을 제조하기 위하여 우선 장용핵정 조성 비율로 혼합, 타정하였다. 이 때, 장용핵정의 경도를 4 kPa로 낮추어서 타정하고, Eudragit L100으로 5% 피복하였다. 이어서 위용외부정의 조성물을 장용핵정 위에 놓고, 통상의 방법에 따라 타정하여 총 중량 810 mg의 이중정 (직경

Table II–*Composition of SR tablet and IR tablet, respectively*

IR tablet

Ingredient	Content (mg)
IR components	123.5
Microcystalline cellulose	30.0
Colloidal silicon dioxide	2.1
Corn starch	12.4
Crospovidone	6.2
Pregelatinized starch	15.2
Glyceryl behenate	10.3
Total	200.0

SR tablet

Ingredient	Content (mg)
SR components	176.0
Microcystalline cellulose	312.0
Colloidal silicon dioxide	5.0
Corn starch	30.0
Crospovidone	15.0
Pregelatinized starch	37.0
Glyceryl behenate	25.0
Total	600.0

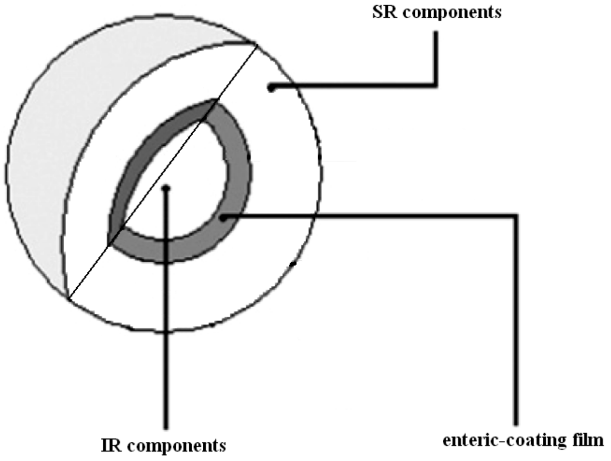

Figure 1–Representative tablet of double-layered tablet composed of SR and IR components of WHW prescriptions.

12.5 mm, 경도 8 kPa)을 제조하였다. Fig. 1은 완성된 이중정의 구조이다.

용출시험

각각 제조한 장용핵정, 위용외부정 및 이중정을 용출 실험하였다.[9] 먼저 pH 1.2의 인공위액에서 2시간 동안 1차 용출을 하였고, 이어서 pH 6.8의 십이지장 2시간 및 pH 7.4의 소장에서 6시간 동안 2차 용출을 하였다. 장용부 추출물의 지표성분 중 이카린과 위용부 추출물의 지표성분[10] 중 신남산을 대상물질로 하여 고성능액체크로마토그래피를 이용하여 분석하였다. 이카린의 분석은 검출기로 측정파장 214 nm의 자외부흡광광도계를 사용하였고, 컬럼은 안지름 4.6 mm, 길이 150 mm의 옥타데실실리카겔이 충전된 역상의 C18컬럼을 사용하였고, 상온에서 이동상으로 아세토니트릴과 물 혼합액 (35.2 : 64.8)을 1.0 mL/분으로 흘려주었다. 반면에, 신남산은 검출기로 측정파장 280 nm의 자외부흡광광도계를 사용하였고, 컬럼은 안지름 4.6 mm, 길이 150 mm의 옥타데실실리카겔이 충전된 역상의 C18컬럼을 사용하였고, 상온에서 이동상으로 아세트산액 (1→15), 아세토니트릴혼합액(56.4 : 43.6)을 1.0 mL/분으로 흘려주었다.

결과 및 고찰

위용부, 장용부 추출물의 제조 및 이중정 타정

위용외부정을 제조하기 위한 위용부 추출물 (SR)의 제조를 위하여 만삼, 소엽, 감초, 인진, 택사, 백복령, 백출, 계지를 혼합하여 추출하였고, 그 추출물을 통해서 분무 건조한 수율은 2.4%이었고, 장용핵정을 제조하기 위한 장용부 추출물 (IR)은 단삼, 반하, 황련, 오수유, 음양곽, 대황, 저령을 추출함으로써 얻었고, 그 추출물을 통해서 분무 건조한 수율은 2.1% 였다.

이중정 제조 시 핵정이 너무 두껍게 되면 핵정의 두께에 의한 이중정 타정 시 라미네이팅 현상이 빈번하게 일어난다. 이번 연구에서 이러한 라미네이팅을 방지하기 위하여 얇은 핵정을 이용하여 이중정을 제조하였다. 이중정 타정 시 라미네이팅, 캡핑 현상은 발견되지 않았다.[11]

장용핵정, 위용외부정 및 이중정에서의 이카린과 신남산의 용출 양상

Table II에서와 같은 조성으로 제조된 각각의 장용핵정, 위용외부정, 이중정에서의 지표성분의 용출양상을 살펴보고자 하였다. 위용외부정의 구성 성분의 지표성분에 해당되어지는 신남산과 장용핵정에의 구성성분의 지표성분에 해당되어지는 이카린을 분석하였다. Fig. 2는 이카린 표준품과 장용핵정, 이중핵정에서의 이카린 크로마토그램과 신남산 표준품과 외용외부정, 이중핵정에서의 신남산 크로마토그램이다. 위용외부정의 방출은 신남산의 방출 양상을 통하여 연구하였다. 이중정에서의 신남산의 방출은 위용외부정에서의 이카린 방출 양상과 유사하였고 인공 위액에서 30분 내에 80% 이상

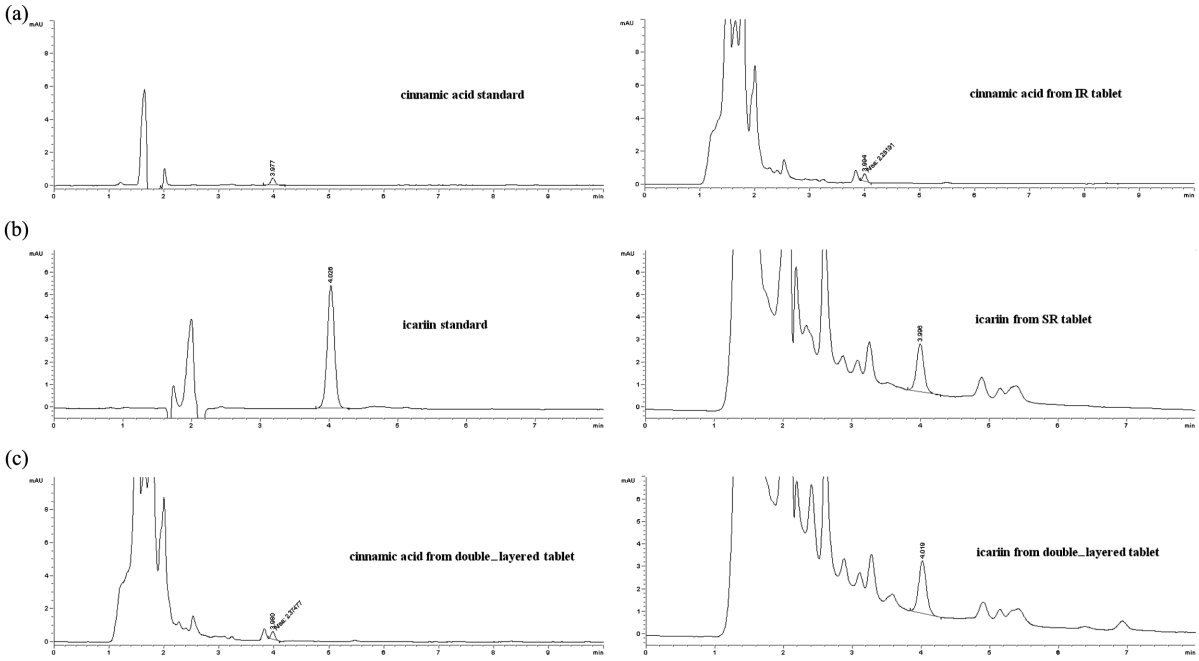

Figure 2–Representative chromatograms of cinnamic acid and icariin after dissolution test. (a), the chromatogram of cinnamic acid from standard (10 ng/mL) and that of cinnamic acid from IR tablet 90 min after dissolution in pH 1.2 solution; (b), the chromatogram of icariin from standard (1 μg/mL) and that of icariin from SR tablet 9 hr after dissolution in pH 7.4 solution; (c), the chromatograms of cinnamic acid from double-layered tablet 90 min after dissolution in pH 1.2 solution and of icariin from double-layered tablet 9 hr after dissolution in pH 7.4 solution.

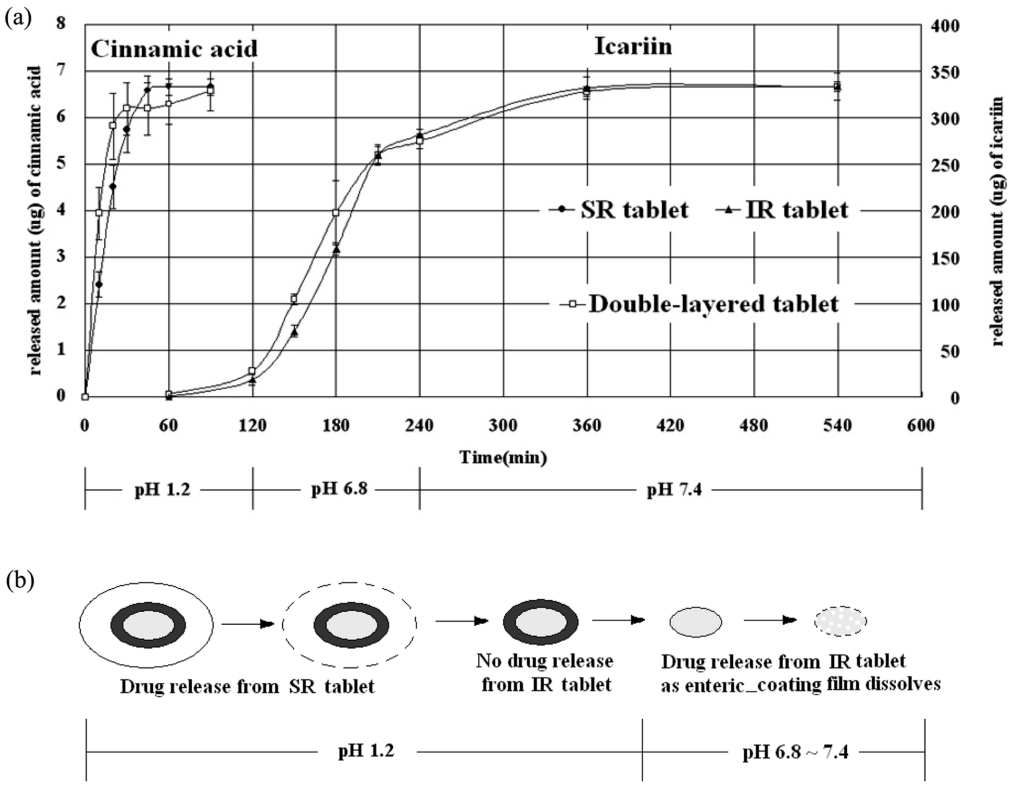

Figure 3–Dissolution profiles of cinnamic acid and icariin from SR tablet, IR tablet and double-layered tablet, respectively (a), and dissolution mechanism of double-layered tablet (b).

의 약물이 방출되었다. 장용핵정의 방출은 이카린의 방출 양상을 통하여 연구하였다. 이중정에서의 이카린의 방출은 장용핵정에서의 이카린 방출 양상과 유사하였다. 이카린은 초기 두 시간 까지는 거의 방출 되지 않았고 인공위액을 거친 후, 인공장액에서 두 시간이 지난 후 이중정에서의 이카린 방출은 82.4(± 2.2)%가 방출되었다 (Fig. 3, (a)). 이 결과를 바탕으로 볼 때, 초기 2시간 동안 위액조건에서는 위용외부정 (SR tablet)의 붕해와 용출이 일어나지만, 장용핵정 (IR tablet)의 용출은 나타나지 않고, 그 후 4시간 동안 장액에서 장용핵정 (IR tablet)의 완벽한 용출이 이루어질 것으로 예측할 수 있다 (Fig. 3 (b)). 이로서 기대되어지는 효과는 위용외부정의 방출에 의하여 위장 기능이 약한 신부전 환자의 경우에는 위장 기능의 활성화가 먼저 이루어지게 되고, 위장이 편안하고 따뜻하게 되어 소화불량 및 위장 기능 향상을 기대할 수 있다. 위용외부정의 방출에 의한 위장 운동의 보호 및 강화가 일어난 후에 연달아서 소장에서 장용핵정의 구성 성분인 단삼, 반하, 황련, 오수유, 음양곽, 대황, 저령의 용출 및 흡수가 유도되어 신부전 치료가 극대화 될 수 있다.

결 론

본 연구는 신부전 예방 및 치료용 이중핵정에 관한 것으로서, 단삼, 반하, 황련, 오수유, 음양곽, 대황 및 저령으로 이루어진 한약재의 혼합 추출물을 포함하는 장용핵정과 그 위에 둘러쌓인 채 위장보호 및 강화 성분으로 만삼, 소엽, 감초, 인진, 택사, 백복령, 백출 및 계지로 이루어진 한약재의 혼합 추출물을 포함하는 위용외부정이 타정되어 있고, 상기 장용핵정과 위용외부정 사이에는 장용피가 코팅되어 있음으로써, pH 특이적인 방출양상을 갖는 이중정이 제조되어 신부전 치료를 위한 생리활성을 이룰 수 있고 소화관 부작용을 최소화하고 위장기능을 향상시키는 효과를 얻을 수 있을 것이라 기대된다.

감사의 말씀

본 연구는 보건복지부의 한의약연구개발사업 (B070044)의 지원에 의해 수행되었습니다.

참고문헌

1) J.Y. Guh, H.C. Chen, J.F. Tsai and L.Y. Chuang, Herbal therapy is associated with the risk of CKD in adults not using analgesics in Taiwan, Am. *J. Kidney Disl*., 49(5), 626-633 (2007).
2) P. Wesolowski, M. Saracyn, Z. Nowak and Z. Wankowicz, Peritoneal dialysis and insulin resistance in patients with chronic kidney disease due to nondiabetic nephropathy, *Pol. Merkur. Lekarski*., 24, 359-363 (2008).
3) Y. Naiki, Y. Maeda, K. Matsuo, S. Yonekawa, M. Sakaguchi, I. Iwamoto, H. Hasegawa and A. Kanamaru, Involvement of TGF-beta signal for peritoneal sclerosing in continuous ambulatory peritoneal dialysis, *J. Nephrol*., 16, 95-102 (2003).
4) Y.M. Seok, J. Kim, M.J. Park, Y.C. Boo, Y.K. Park and K.M. Park, Wen-pi-tang-Hab-Wu-ling-san attenuates kidney fibrosis induced by ischemia/reperfusion in mice, *Phytother Res*., 22(8), 1057-1063 (2008).
5) H.W. Jung, C.H. Yoon, Y.H. Kim, Y.C. Boo, K.M. Park and Y.K. Park, Wen-Pi-Tang-Hab-Wu-Ling-San extract inhibits the release of inflammatory mediators from LPS-stimulated mouse macrophages, *J. Ethnopharmacol*., 114(3), 439-445 (2007).
6) Y.M. Seok, J. Kim, K.C. Choi, C.H. Yoon, Y.C. Boo, Y. Park and K.M. Park, Wen-pi-tang-Hab-Wu-ling-san attenuates kidney ischemia/reperfusion injury in mice. A role for antioxidant enzymes and heat-shock proteins, *J. Ethnopharmacol*., 112(2), 333-340 (2007).
7) 박용기, 윤철호, 박권무, 부용출, 신부전 예방 및 치료용 약제학적 조성물 (Pharmaceutical composition for preventing andtreatmenting from disease related to renal failure) KR10-0770634 (2006).
8) A. Gawron-Gzella, E. Witkowska-Banaszczak and M. Dudek, Herbs and herbal preparations applied in the treatment of gastric hyperacidity, gastric and duodenal ulcer in cigarette smokers, *Przegl Lek*., 62(10), 1185-1187 (2005).
9) 약전분과회 편저, 한국약학대학협의회, 대한약전 제9개정 해설서, 신일상사 (2008).
10) 식약청고시 2005-57호, 의약품등 기준 및 시험방법 심사의뢰서 심사규정 (별표 6)
11) S.Y. Lin, K.H. Lin and M.J. Li, Formulation design of double-layer in the outer shell of dry-coated tablet to modulate lag time and time-controlled dissolution function: studies on micronized ethylcellulose for dosage form design (VII), *AAPS J*., 6(3), article 17 (2004).