

UPLC-DAD를 이용한 불환금정기산의 다성분 동시분석법 개발

이경희¹ · 라미차네 라마칸타¹ · 서르마 디박 쿠마르¹ · 판데야 프라카스 라즈¹ · 김세건² · 정현주^{1*}
¹원광대학교 약학대학 한약학과, ²농촌진흥청 국립농업과학원 농업생물부

Development of an UPLC-DAD Method for Simultaneous Analysis of Eight Marker Compounds of Bulhwangeumjeonggi-san

Kyung-hee Lee¹, Ramakanta Lamichhane¹, Sharma Dipak Kumar¹, Pandeya Prakash Raj¹,
Se-Gun Kim² and Hyun-Ju Jung^{1*}

¹Department of Oriental Pharmacy and Wonkwang-Oriental Medicines Research Institute, College of Pharmacy,
Wonkwang University, Iksan 54538, Korea

²Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Science,
Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

Abstract – Bulhwangeumjeonggis (BHGJGS) is a traditional herbal formulation generally used in the treatment of cold and gastritis. BHGJGS consists of eight herbal plants; *Atractylodes Rhizoma*, *Magnoliae Cortex*, *Citri Pericarpium*, *Glycyrrhizae Radix*, *Agastachis Herba*, *Pinelliae Rhizoma*, *Zingiberis Rhizoma* and *Zizyphi Fructus*. Complete standardization of this formulation has not been done yet. So, a simple and accurate method was developed and validated using Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) with Diode Array Detector (DAD) for the standardization of BHGJGS. UPLC conditions were optimized using a c18 RP-Amide column with mobile phase; 0.1% phosphate buffer and acetonitrile, detection wavelength; 210 and 325 nm. The linearities of calibration curves were acceptable ($R^2 > 0.9994$), and the limit of detection and quantification were within the ranges of 0.011-0.091 and 0.034-0.277 $\mu\text{g/ml}$ respectively. The relative standard deviation (RSD) of intra- and inter-day precisions were under 3.61%. The RSD of repeatability was under 0.68 %. The results of recovery test were 94.4-107.9%, and the RSD were under 4.6%. The developed method was used to find the contents of standard constituents in BHGJGS mix extract powder, and two commercial formulation (A and B). The data show that the developed method was specific, sensitive, accurate, and precise for analysis of BHGJGS components.

Key words – Bulhwangeumjeonggis, UPLC, Method validation, Simultaneous analysis of multiple components, Herbal formulation

불환금정기산(不換金正氣散)은 소화제에 해당하는 평위산을 기본으로 하는 다빈도 처방이지만 소화불량, 식욕부진, 설사, 위염, 위하수 등 소화기 질환에 광범위하게 사용되는 평위산과는 다르게 상한음증으로 인한 감기증세, 위장 질환 등을 치료할 목적으로 처방되고있다.³⁾ 불환금정기산은 평위산의 구성 약재인 창출(蒼朮, *Atractylodes lancea*), 후박(厚朴, *Machilus thunbergii*), 진피(陳皮, *Citrus unshiu*), 감초(甘草, *Glycyrrhiza uralensis*)에 곱향(藿香, *Agastache rugosa*), 반하(半夏, *Pinellia ternata*), 생강(生薑, *Zingiber officinale*),

대추(待秋, *Ziziphus jujuba*)를 추가한 처방이다.⁴⁾ 현재까지 이루어진 불환금정기산에 대한 연구들은 위장 및 대장의 활동 촉진, 소화 촉진 등의 활성과 더불어 항알러지 활성을 나타낸다고 하였으나, 구성 성분 및 분석법에 대한 연구는 미비하였다.⁵⁻⁷⁾ 또한 불환금정기산은 총 여덟 가지의 약재를 사용하지만, 현재 식약처에서 지정한 불환금정기산의 지표 성분은 평위산과 마찬가지로 진피의 hesperidin, 감초의 glycyrrhizin뿐이므로 평위산과의 차이점을 확인하기 어려운 실정이다.⁸⁾ 진피 및 감초는 한약제에 널리 쓰이는 약재들 중 하나로 수많은 한약제에 사용되기 때문에 이 두 가지 약재의 지표 성분만으로는 불환금정기산의 품질을 평가하는 것이 불가능하다고 판단되었다. 이에 본 연구에서는 대

*교신저자(E-mail): hyun104@wku.ac.kr
(Tel): +82-63-850-6814

추를 제외한 불환금정기산 각각의 구성 약제마다 적어도 한 가지 이상의 지표 성분을 설정하였다. UPLC-DAD를 사용하여 모든 지표 성분을 동시에 분석할 수 있는 새로운 분석법을 개발하였고, 그 분석법의 타당성을 검증하기 위하여 직선성, 범위, 특이성, 정확성, 정밀성, 검출한계, 정량한계 등의 분석법 밸리데이션을 수행하였다. 그리고 시판되는 불환금정기산 제제의 품질 균일성을 알아보기 위하여 대한약전의 한약(생약)규격집에 따라 제조한 불환금정기산 혼합단미엑스제와 서로 다른 두 제조사의 시판 불환금정기산의 지표 성분 함량을 비교분석하였다.

재료 및 방법

불환금정기산

불환금정기산의 구성생약인 후박, 감초, 곽향, 반하는 휴먼허브(Kyungsan, Korea, 휴먼허브 검사)에서 구입하였고, 창출, 진피는 움니허브(Daegu, Korea, 동우당 제약 품질관리실 검사)에서 구입하였으며 생강, 대추는 원광허브(Jinan, Korea, 원광허브 품질관리실 검사)에서 구입하여 사용하였다. 각각의 약제는 200 g씩 취하여 대한약전에 따라 10배수 환류 추출을 3회 시행한 후 0.45 µm membrane Filter (Milipore, Bedford, MA, USA)를 사용하여 여과하였다. 여과한 여액을 농축한 뒤 동결 건조하여 각 약제의 엑스산을 얻었고, 각 엑스산들을 대한약전의 한약(생약)규격집에 따라 조합하여 불환금정기산 혼합 단미엑스산을 제조하였다.⁴⁾ 실험에 사용된 모든 약제는 원광대학교 김윤경 교수가 감별하였고, 원광대학교 약학대학(10-0225RV)에 보관중이다.

시약 및 기기

지표성분으로 사용한 Chlorogenic acid, Rosmarinic acid, Guanosine은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, US)에서, Glycyrrhizic acid는 Chromadex(Irvine, CA, US)에서, 6-Gingerol은 Wako(Osaka, Japan)에서 구입하여 사용하였으며, Magnolol, Honokiol, Hesperidin은 식약처(Chungju, Korea)에서 분양받아 사용하였다.

사용한 장비는 Agilent Technologies(Santa Clara, CA, US)의 1290 Infinity UPLC와 검출기로는 DAD를 사용하여 210 nm, 325 nm의 파장으로 측정하였다. 컬럼은 AMT (Wilmington, DE, US) Halo™ RP-Amide(4.6×100 mm, 2.7 µm)을 사용하여 분석을 시행하였다.

분석법 밸리데이션

식약처에서 고시한 의약품 밸리데이션 가이드라인⁵⁾에 따라 특이성, 정확성, 정밀성, 직선성, 검출한계, 정량한계, 범위를 확인하였다.

분석 시료의 준비 - UPLC 분석을 위한 시료는 불환금정기산 혼합 단미엑스산 20 mg를 취해 30분간 70% 메탄올 1 mL로 초음파 추출하여 0.2 µm membrane Filter(Milipore,

Bedford, MA, USA)를 사용하여 여과하였다.

지표성분의 표준품은 각각의 지표성분을 1 mg씩 취해 30 분간 70% 메탄올 1 mL로 초음파 추출하여 0.2 µm membrane Filter(Milipore, Bedford, MA, USA)를 사용하여 여과하였다.

UPLC 분석 조건 - 이동상은 (A) acetonitrile, (B) 0.1% phosphoric acid를 사용하였고, 이동상의 조건은 기울기로 설정하였다(Table II). 유속은 0-10 min 0.5 mL/min, 10-71 min 1.5 mL/min으로 설정하였고, 컬럼의 온도는 45°C로 유지하였으며, 시료의 주입량은 4 µL로 하였다.

직선성 및 범위 - 지표성분들을 다섯 가지 농도로 희석하여 3회 분석 후 얻은 결과를 토대로 검량선(Calibration curve) 및 회귀방정식(Regression equation)을 작성하여 직선성을 평가했다.

특이성 - 불환금정기산 혼합 단미엑스산과 각각의 지표성분들을 혼합한 표준품 혼합액을 제조한 뒤, 분석하여 얻은 크로마토그램을 시각적으로 평가하고, 해당 지표성분의 UV 스펙트럼을 시료와 표준품 혼합액의 크로마토그램에서 추출하여 비교하는 것으로 평가하였다.

정확성 및 정밀성 - 정확성과 정밀성 모두 지표성분의 피크의 적분 값을 비교하는 방법으로 측정하였다. 정확성은 세 가지 농도의 표준품을 시료에 첨가하여 분석한 후 회수율을 측정하는 방법으로 평가하였고, 정밀성은 각각의 표준품을 세 가지 농도로 만들어 반복 분석하고, 그것을 토대로 검량선을 작성하는 것으로 평가하였다.

검출한계 및 정량한계 - 검출한계 및 정량한계는 작성한 검량선을 토대로 아래의 식을 사용하여 계산하였다.

$$\text{검출한계} = 3.3 \times \frac{\text{반응의 표준편차}(\sigma)}{\text{검량선의 기울기}(S)}$$

$$\text{정량한계} = 10 \times \frac{\text{반응의 표준편차}(\sigma)}{\text{검량선의 기울기}(S)}$$

함량 평가 - 작성한 검량선을 토대로 직선의 식에 특정 표준품의 면적값을 대입하고, 비례식을 이용하여 계산하였다.

결과 및 고찰

지표 성분 선정

후박, 진피, 감초, 생강의 지표 성분은 대한약전의 규정⁶⁾을 참고하여 후박은 honokiol, magnolol 2종, 진피는 hesperidin, 감초는 glycyrrhizin, 생강은 6-gingerol로 설정하였다. 반하와 곽향의 지표 성분은 현재까지 연구된 논문⁹⁻¹⁰⁾을 참고하고, 직접 반하, 곽향 엑스산을 제조하여 분석한 결과, 반하의 guanosine, 곽향의 rosmarinic acid의 분석 시간과 UV 흡광도가 현재 분석 조건에 알맞으므로 지표 성분으로 선택되었다.^{11,12)} 창출의 지표 성분은 대한약전의 규정대로 atractylon으로 설정하려고 하였으나, 물을 사용하여

추출했을 경우 *atractylon*의 함량이 알코올을 사용하여 추출했을 경우보다 현저하게 낮아져, 현재 분석 조건에서 검출되지 않았다. 따라서 불환금정기산의 구성 약재 중 창출에만 포함되어 있고, 물 추출물에 다량 함유되어 있는 chlorogenic acid를 지표 성분으로 설정하였다(Table I, Fig. 1).¹³⁾

UPLC 분석

사용한 컬럼은 RP-Amide, 용매는 acetonitrile (A), phosphate buffer (B)를 사용하였으며, 용매 조성을 시간별로 바꾸는 단계 분석법(stepwise)을 시행하였다(Table II). 표

Table II. UPLC Solvent System for analysis of BHGJGS

Time (min)	Solvent A (%)	Solvent B (%)
0	0	100
0-11	0	100
11-13	7	93
13-26	8	92
26-27	15	85
27-41	15	85
41-49	29	71
49-54	32	68
54-71	52	48

Table I. Composition of Bulhwangeumjeonggi-san(BHGJGS) and standard compounds of each herbal plants

Scientific name	Standard compound	Amount of Extract Powder in BHGJGS (g)
<i>Pinellia ternata</i>	guanosine (1)	2.7
<i>Atractylodes lancea</i>	chlorogenic acid (2)	5.3
<i>Citrus unshiu</i>	hesperidin (3)	2.7
<i>Agastache rugosa</i>	rosmarinic acid (4)	2.7
<i>Zingiber officinale</i>	6-gingerol (5)	4.9
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	glycyrrhizin (6)	2.7
<i>Magnolia officinalis</i>	honokiol (7), magnolol (8)	2.7
<i>Ziziphus jujuba</i>	*None	5.0

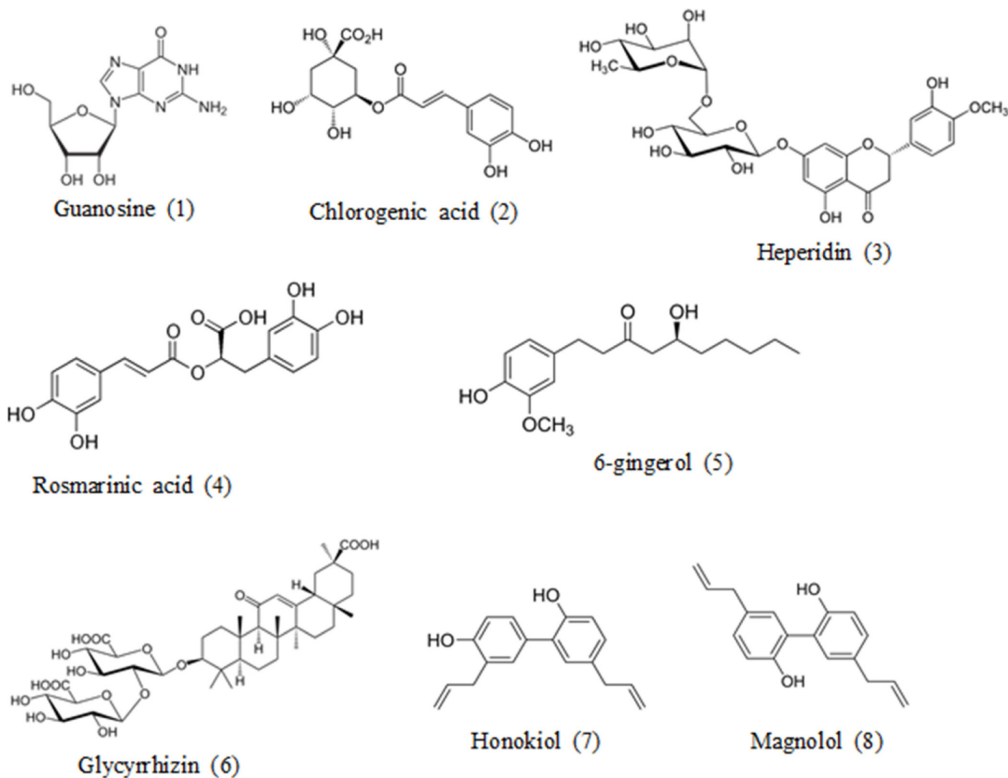


Fig. 1. Structure of eight standard compounds of BHGJGS.

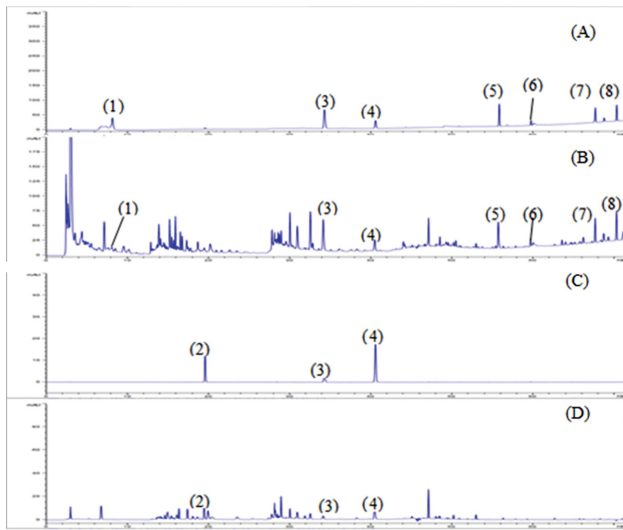


Fig. 2. UPLC chromatogram of standard mixture at 210 nm (A), 325 nm (C), BHGJGS mix extract powder at 210 nm (B), and 325 nm (D); guanosine (1), chlorogenic acid (2), hesperidin (3), rosmarinic acid (4), 6-gingerol (5), glycyrrhizin (6), honokiol (7), magnolol (8).

준품 중 chlorogenic acid는 325 nm, 나머지 표준품은 210 nm의 파장에서 높은 흡광도를 보여, 두 파장을 선택하여 분석을 시행하였으며, 실험실에서 제조한 불환금정기산 혼합단미엑스산을 분석한 결과 각 약재의 지표성분들이 모두 검출되는 것을 확인하였다(Fig. 2).

분석법 밸리데이션

특이성 - 시료의 크로마토그램과 표준품의 크로마토그램을 서로 비교하였을 때, 시료의 크로마토그램 중의 피크는 표준 물질들의 분석 시간과 일치하였고(Fig. 2), UV 흡광도를 비교하였을 때 서로 일치하므로(Fig. 3), 시료 중에는 설정한 지표 성분이 정확히 존재한다는 것을 알 수 있다.

정확성 및 정밀성 - 먼저 정밀성은 일내정밀성, 일간정밀성으로 평가하였으며, 상대표준편차(RSD)는 식약처 가이드라인의 기준치인 5% 이하를 만족하였다(Table III). 또한 반복성을 평가하였으며, 상대표준편차는 식약처 가이드라인의 기준치인 1% 미만을 만족하였다(Table IV). 마지막으로 회수율을 통해 정확성을 측정한 결과, 회수율은 식약처 가이드

Table III. Results of intra- and inter-day precision of BHGJGS

Marker	Concentration (µg/mL)	Intra-day		Inter-day	
		Mean±SD (µg/mL)	*RSD (%)	Mean±SD (µg/mL)	*RSD (%)
1	10.00	9.21±0.15	1.64	10.06±0.36	3.61
	5.00	4.73±0.14	2.99	4.97±0.14	2.77
	2.50	2.48±0.08	3.09	2.72±0.09	3.13
2	10.00	9.97±0.31	3.07	9.96±0.22	2.18
	5.00	4.96±0.05	0.98	4.95±0.07	1.45
	2.50	2.47±0.04	1.50	2.66±0.07	2.71
3	50.00	48.91±0.16	0.32	49.79±1.16	2.33
	25.00	24.92±0.40	1.60	24.81±0.52	2.10
	12.50	12.39±0.22	1.74	12.68±0.29	2.29
4	10.00	9.81±0.02	0.18	9.95±0.18	1.80
	5.00	4.95±0.07	1.32	4.96±0.08	1.52
	2.50	2.48±0.05	2.13	2.49±0.07	2.89
5	10.00	9.80±0.03	0.27	9.97±0.23	2.32
	5.00	4.95±0.05	1.08	4.97±0.10	1.97
	2.50	2.43±0.03	1.04	2.62±0.05	1.82
6	100.00	98.0±0.44	0.44	97.46±0.29	0.30
	50.00	50.43±0.20	0.40	49.51±1.02	2.07
	25.00	25.57±0.30	1.19	26.18±0.67	2.58
7	5.00	4.89±0.11	2.29	5.01±0.08	1.56
	2.50	2.43±0.02	0.82	2.46±0.06	2.39
	1.25	1.20±0.02	1.26	1.30±0.01	1.03
8	5.00	4.94±0.01	0.29	4.99±0.09	1.81
	2.50	2.48±0.01	0.48	2.48±0.05	2.11
	1.25	1.19±0.01	0.82	1.28±0.09	3.37

*RSD: relative standard deviation.

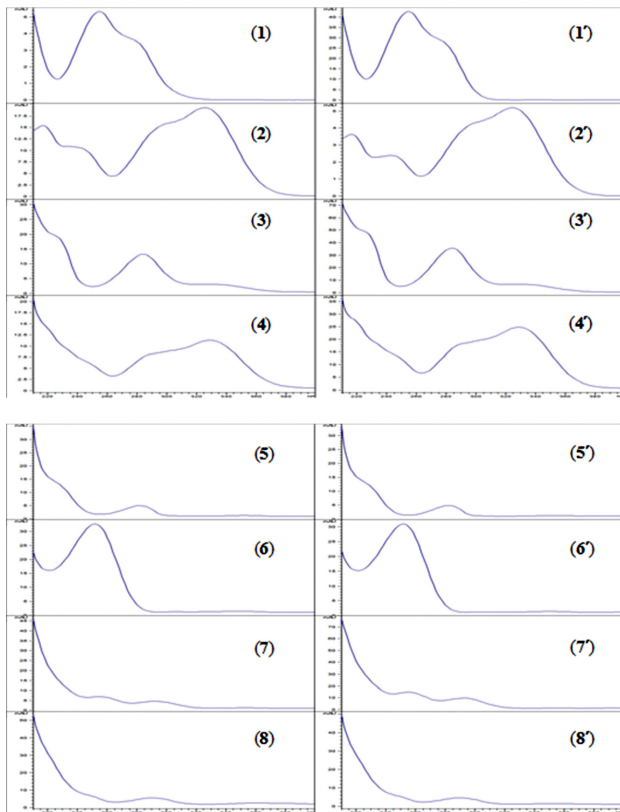


Fig. 3. UV spectra for marker compounds of BHGJGS. Standard mixture (1)-(8), BHGJGS mix extract powder (1')-(8'); guanosine (1, 1'), chlorogenic acid (2, 2'), hesperidin (3, 3'), rosmarinic acid (4, 4'), 6-gingerol (5, 5'), glycyrrhizin (6, 6'), honokiol (7, 7'), magnolol (8, 8').

드라인 기준치인 회수율 오차 10% 이내, 상대표준편차 5% 이하를 만족하였다(Table V).

검출한계 및 정량한계 – 먼저 표준품을 반복 주입하여 검량선을 얻었다(Fig. 4). 검량선의 R^2 값은 모두 0.9994 이상 이었고, 검량선을 토대로 검출한계 및 정량한계를 계산한 결과, 검출한계는 0.011-0.091 $\mu\text{g/mL}$ 로 측정되었고, 정량한계는 0.034-0.921 $\mu\text{g/mL}$ 로 측정되었다(Table VI).

함량 평가 – 불환금정기산 혼합단미엑스산을 제조한 뒤, 시판 제제 두 종류를 무작위로 구입해 분석한 결과, A사의 시료에서는 지표 성분 중 반하의 guanosine이 검출되지 않았으며 그 외의 지표 성분들은 모두 검출되었다. B사의 시료에서는 지표 성분 중 식약처에서 고시한 지표 성분인 hesperidin, glycyrrhizin만이 검출되었고, 다른 여섯 가지의 지표 성분은 검출되지 않음을 확인하였다(Fig. 5). 또한 각 시료의 지표 성분 함량을 측정하여 비교하였으며, A사의 제제는 실험실에서 제조한 혼합단미엑스산의 지표 성분 함량

Table IV. Repeatability data for marker compounds of BHGJGS

Marker	Mean \pm SD ($\mu\text{g/mL}$)	*RSD (%)
1	11.99 \pm 0.06	0.53
2	12.09 \pm 0.04	0.30
3	60.83 \pm 0.19	0.31
4	12.11 \pm 0.04	0.29
5	11.99 \pm 0.03	0.28
6	124.39 \pm 0.84	0.68
7	6.08 \pm 0.02	0.39
8	6.20 \pm 0.02	0.38

*RSD: relative standard deviation.

Table V. Recovery data for marker compounds of BHGJGS

Marker	Spiked amount ($\mu\text{g/mL}$)	Measured amount (Mean \pm SD)	*Recovery (%)	**RSD (%)
1	10.0	10.45 \pm 0.31	104.5	3.0
	5.0	5.17 \pm 0.17	103.4	3.4
	2.5	2.53 \pm 0.07	101.4	2.7
2	10.0	9.7 \pm 0.07	97.0	0.7
	5.0	4.87 \pm 0.22	97.4	4.5
	2.5	2.52 \pm 0.12	101.0	4.6
3	20.0	20 \pm 0.59	99.9	2.9
	10.0	10.7 \pm 0.04	107.4	0.4
	5.0	5.4 \pm 0.16	107.9	3.0
4	10.0	9.49 \pm 0.38	94.9	4.0
	5.0	4.98 \pm 0.06	99.6	1.2
	2.5	2.61 \pm 0.03	104.4	1.3
5	10.0	9.44 \pm 0.22	94.4	2.3
	5.0	4.99 \pm 0.13	99.8	2.6
	2.5	2.45 \pm 0.02	98.1	0.8
6	40.0	38.9 \pm 0.40	97.2	1.0
	20.0	21.2 \pm 0.33	106.1	1.5
	10.0	9.9 \pm 0.40	99.1	4.1
7	5.0	4.936 \pm 0.019	98.7	0.4
	2.5	2.612 \pm 0.048	104.5	1.8
	1.25	1.272 \pm 0.043	101.7	3.4
8	5.0	4.900 \pm 0.036	98.0	0.7
	2.5	2.692 \pm 0.078	107.7	2.9
	1.25	1.244 \pm 0.028	99.5	2.2

*Recovery(%) = [(amount found - original amount) / amount spiked] \times 100

**RSD: relative standard deviation.

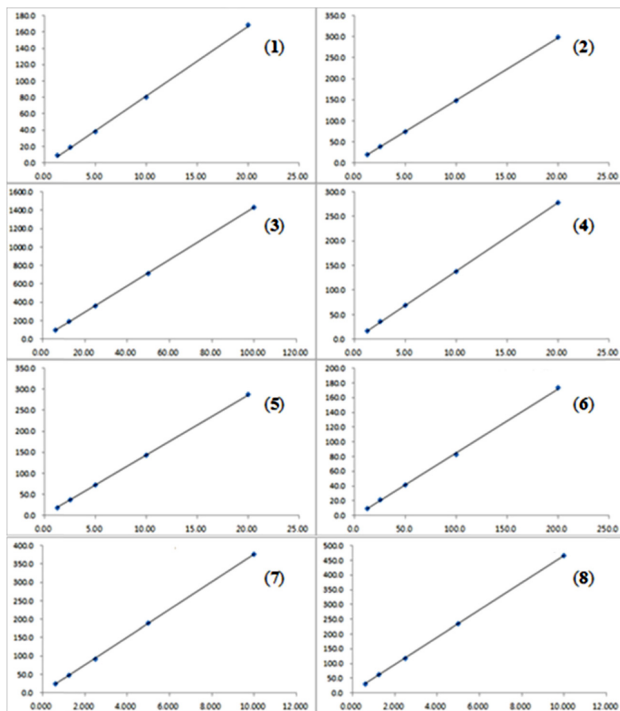


Fig. 4. Calibration curves and regression equation for marker compounds of BHGJGS.

과 비교하였을 때, chlorogenic acid는 약 11.7%, hesperidin은 약 65.6%, rosmarinic acid은 약 6.7%, 6-gingerol은 약 3.4%배, glycyrrhizin은 약 24.3%, honokiol은 약 2.7%, magnolol은 약 1.4% 함유된 것을 알 수 있었고, B사의 제제는 hesperidin은 약 84.2%, glycyrrhizin은 약 26.3% 함유되어 있음을 알 수 있었다(Table VII).

결론

현재까지 식약처에서 지정한 불환금정기산의 지표 성분으로 진피의 hesperidin과 감초의 glycyrrhizin만 지정되어있으므로 이 지표 성분만으로는 불환금정기산의 품질관리가 엄격히 진행될 수 없다고 판단되어 대추를 제외한 나머지 약재에서 각각 한 가지 이상의 지표 성분, 즉, guanosine, chlorogenic acid, rosmarinic acid, 6-gingerol, honokiol, magnolol의 총 6종을 추가로 설정하여 총 8개의 지표 성분 에 대한 동시분석법을 개발하고, 분석법의 밸리데이션을 수행하였다. 분석 결과, 불환금정기산 시료에 설정한 지표성분이 정확히 존재하고 있음을 확인하였다. 또한 개발한 분석법의 정확성, 정밀성, 직선성 등을 확인하여 불환금정기산의 품질평가에 매우 유용한 분석법임을 확인하였다. 개발

Table VI. Data of linearity regression, LOD and LOQ for marker compounds of BHGJGS

Marker	*Regression equation	**R ²	LOD (µg/mL)	LOQ (µg/mL)
1	Y = 8.4957x-2.6528	0.9994	0.069	0.208
2	Y = 24.865x+0.4431	0.9999	0.018	0.550
3	Y = 14.264x+5.9028	0.9999	0.030	0.921
4	Y = 13.919x+0.0069	0.9999	0.014	0.432
5	Y = 14.289x+0.9431	0.9999	0.019	0.056
6	Y = 0.8689x-1.7167	0.9996	0.091	0.277
7	Y = 37.668x-0.0847	0.9999	0.021	0.065
8	Y = 46.202x+2.8931	0.9999	0.011	0.034

*Y: peak area, x: standard concentration.

**R²: correlation coefficient.

Table VII. Content for marker compounds of BHGJGS

Marker	Company A (mg/g)	Company B (mg/g)	BHGJGS mix extract powder (mg/g)
1	*ND	ND	10.517±0.033
2	0.883±0.004	ND	7.521±0.033
3	25.341±0.125	32.557±0.059	38.622±0.050
4	6.329±0.007	ND	14.411±0.132
5	0.370±0.003	ND	25.685±0.401
6	50.313±1.202	19.066±0.081	72.237±0.244
7	0.375±0.006	ND	13.094±0.028
8	0.588±0.005	ND	16.009±0.010

*ND: not detected.

Values were express as the mean±SD.

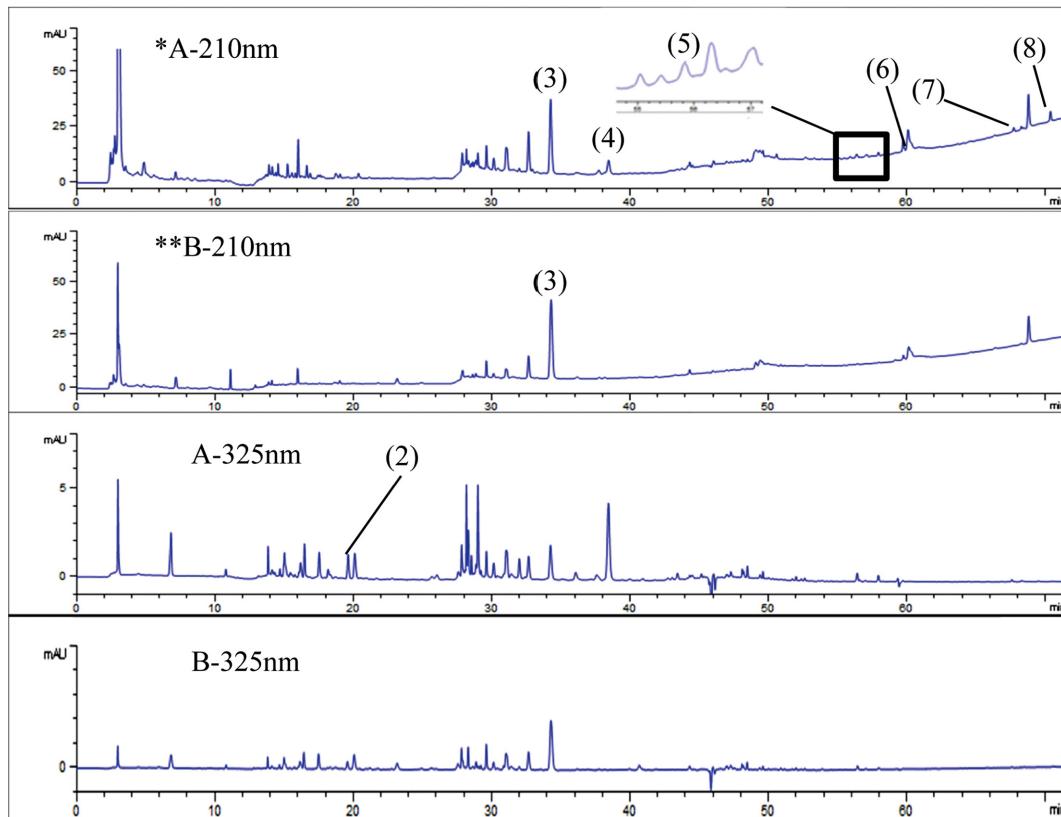


Fig. 5. UPLC chromatograms of commercial products; chlorogenic acid (2), hesperidin (3), rosmarinic acid (4), 6-gingerol (5), glycyrrhizin (6), honokiol (7), magnolol (8).

*A: Company A, **B: Company B.

된 분석법을 이용하여 실험실에서 제조한 불환금정기산 혼합단미엑스산과 두 종의 시판 불환금정기산에 대한 함량평가를 시행한 결과, 대한약전의 한약(생약)규격집에 따라 직접 제조한 혼합단미엑스산에서는 총 8종의 지표 성분들이 모두 검출되었다. 그러나, A사의 시료에서는 총 8종의 지표 성분 중 반하의 guanosine만이 검출되지 않았고, 그 외 7종의 지표 성분들은 모두 확인되었으나, 확인된 지표 성분들의 함량은 실험실에서 제조된 혼합단미엑스산의 함량에 비하여 적게는 1.5배, 많게는 70배까지 적게 검출된 것을 확인할 수 있었다. 또한 B사의 시료에서는 식약처에서 지정한 지표 성분인 hesperidin과 glycyrrhizin만이 검출되었고, 나머지 6종의 지표 성분은 검출되지 않는 것으로 확인되었다. 이는 원료 또는 제조과정에 문제가 있음을 추정할 수 있으며, 제조사마다 한약제제의 품질에 큰 차이가 있음을 나타낸 것이라 추정할 수 있었다.

이상의 결과, 제조사마다 불환금정기산 제제의 품질이 큰 차이를 나타냄에 따라 이에 따른 품질관리법 및 관련 사항의 개선이 시급히 요구되고 있음을 확인할 수 있었다.

인용문헌

1. 김성조, 정두채, 권기태, 김용우, 윤상헌, 이종근, 김은주 (2001) 다빈도한약재 소비형태 및 가격구조 실태조사 연구. 32-37. 식품의약품안전처. 청원.
2. 조재국, 김남순, 도세록, 이연희, 윤강재, 박진한, 장동현, 천재영, 김화영, 이난희, 유형석, 서성우 (2011) 한방의료이용 및 한약소비 실태조사. 87-136. 한국보건사회연구원. 서울.
3. 허준, 현대성인병예방연구회 (1993) 동의보감. 682. 민중서원, 서울
4. 황도연, 남산당편집국 (1992) 증맥 방약합편. 140. 남산당, 서울.
5. Im, S. U. (1990) An experimental research of the efficacy of Boolwhangumjeonggisan. *J. Int. Korean Med.* **11**: 15-27.
6. Huh, I. M. (1990) Experimental studies on the efficacy of Pyungwee-san, Hyang-sapyungwee-san and Bulwhangumchungglsan. *경희한의대논문집.* **13**: 427-461
7. Lim, K. M. (2006) Effect of Bulhwangumjeonggi-san on cytokine levels of muse Th1/Th2 cells and anti-allergic activity in Ovalbumin-sensitized allergic inflammation

- model. *Korean J. Oriental physiology & Pathology* **20**: 1467-1476.
8. 식품의약품안전처 (2012) 대한약전의한약(생약)규격집 제 4개정. 1077-1078. 식품의약품안전처. 청원.
 9. 식품의약품안전처 (2012) 의약품등 시험방법 벨리데이션 가이드라인. 5-15. 식품의약품안전처. 청원.
 10. 식품의약품안전처 (2010) 생약(한약)제제의 성분 프로파일 설정 가이드라인. 9-23. 식품의약품안전처. 청원.
 11. Kim, H. G., Kim, Y. A., Cheon, J. M. and Go, B. S. (2003) Pattern analysis of *Agastachis Herba* and *Pogostemonis Herba*. *Kor. J. Pharmacogn.* **34**: 274-277.
 12. Jo, J. E., Lee, A. Y., Kim, H. S., Moon, B. C., Choi, G. Y., Ji, Y. U. and Kim, H. K. (2013) Content Comparative Analysis and Classification for *Piniellia ternate*, *P. pedatisecta* and *Typhonium flagelliforme* by HPLC-PDA analysis. *Kor. J. Herbology.* **28**: 95-101.
 13. Im, D. S., You, S. C. and Chi, H. J. (1988) Phytochemical Study on the Rhizome of *Atractylodes japonica* from Korea. *Kor. J. Pharmacogn.* **19**: 228-232.
- (2016. 8. 16 접수; 2016. 9. 21 심사;
2016. 10. 13 게재확정)