

## 랫드에서 생약복합제 SKI306X의 급성독성에 관한 연구

안재석 · 김훈택 · 조용백 · 김환수 · 박광식 · 박병욱\*

선경인더스트리 생명과학연구소

### Acute Toxicity of SKI306X, an Antiinflammatory Herbal Extract, in Rats

Jae Suk AHN, Hun-Taek KIM, Yong-Baik CHO, Hwan-Su KIM,  
Kwang Sik PARK and Pyeong-uk PARK\*

Life Science R & D Center, Sunkyong Industries, 600, Jungja-dong, Changan-ku,  
Suwon-si, Kyungki-do 440-745, Korea

(Received February 1, 1996; accepted February 15, 1996)

**Abstract** - SKI306X is a herbal extract prepared from three herbs *Clematis mandshurica*, *Trichosanthes kirilowii* and *Prunella vulgaris*. It showed strong antiinflammatory actions on carrageenan-induced edema, acetic acid-induced pain, adjuvant-induced arthritis, and oxygen radical-generated reactions. In this study, the acute toxicity of SKI306X was evaluated in rats by a single oral administration. Thirty male and thirty female rats were divided into 6 groups according to the dose levels, respectively. After oral administration of SKI306X with several doses (5.0 g/kg, 3.3 g/kg, 2.2 g/kg, 1.5 g/kg, 1.0 g/kg), mortality, clinical signs, body weight, and gross findings in organs were examined. No toxic effect was shown in terms of mortality, clinical signs, body weight changes and gross findings. It is suggested the LD<sub>50</sub> of SKI306X would be more than 5.0 g/kg in rats.

**Keywords** □ SKI306X, antiinflammation, acute toxicity, rats

만성 류마티스 관절염은 아직까지 그 병인이 명확히 밝혀져 있지 않은 질환이며 소염 진통제 등의 대증요법적 약물외에는 뚜렷한 치료제가 개발되어 있지 않다. 이는 만성 류마티스 관절염의 병인과 증상이 매우 복잡하고 다양하여 소염 작용을 갖는 항염제만으로는 류마티스 관절염의 전체 병인을 효과적으로 조절하지 못하기 때문일 것으로 생각된다(Lipsky, 1991; Pearson, 1964). 선경인더스트리 생명과학연구소에서는 풍, 한, 습으로 인해 발생하는 비증(근육관절의 동통 혹은 감각이 둔해지거나 없어지는 증세)을 치료하는 것으로 기록된 위령선, 과루근 및 하고초를 이용하여 류마티스 관절염 질환을 효율적으로 조절할 수 있을 것으로 기대되는 SKI306X를 추출 분리하였고 이의 생리활성에 대해서도 보고한 바 있다(Park 등, 1995).

본 연구에서는 이 SKI306X에 대한 안전성 평가 연구의 일환으로서 랫드에 대한 급성독성 시험을 실시하였다.

#### 실험방법

본 연구는 국립보건안전연구원 고시 94-3호 '의약품 등의 독성 시험 기준(1994년 4월 14일)'에 준하여 실시하였다.

#### 시험물질

SKI306X는 위령선, 천화분 및 하고초(Ho 등, 1989, Lee 등, 1984, Shaw 등, 1994)를 1 : 2 : 1의 생약 중량비로 혼합하여 알콜성 수용액으로 추출하고 동량의 수포화 부탄올로 분획하여 제조한 황갈색 분말로서 대표적 활성 지표 물질로는 oleanolic acid와 rosmarinic acid가 알려져 있다.

#### 실험동물 및 사육환경

4주령의 SPF(특정병원체 부재) SD계(Sprague Dawley) 랫드를 Charles River Japan으로부터 구입하여 사용하였다. 동물 입수 후 environmental safety cabinet(FLUFRANCE)에서 약 1주일간 순화시키고 순화 기간중 일반상태를 관찰하여 건강한 동물만을 시험에 사용하였다. 온도 23±3°C, 상대습도 50±10%, 환기 회수 10-12회/hr, 형광등 명암 12 hr cycle, 조도 300-500 Lux의 사육 환경에서 polycarbonate 사육상자(26×42×18 cm, 명진기계 제작)에 5마리씩 넣어 사육하였다.

사료는 멸균된 실험동물용 고형사료(신촌사료 주식회사)

\* To whom correspondence should be addressed.

를 자유섭취 시켰으며, 음수는 평균 상수도수를 자유섭취 시켰다. 실험 동물은 시험 물질 투여 전 18시간 동안 절식 시킨 후 사용되었다.

**투여량의 결정 및 시험군의 구성**

투여 가능 최대 용량인 5 g/kg를 최고 용량으로 하고 공비×0.66으로 모두 5개의 투여 용량군을 설정하였다. 실험 동물은 각 군당 평균 체중이 비슷하게 되도록 군 분리를 하였으며 각 용량군당 암·수 각각 5마리가 되도록 하였다. 동물 개체 식별은 꼬리 마킹법과 사유상자별 Tag 표시법을 사용하였다.

**시험물질의 투여**

황갈색 분말인 SKI306X는 0.5% Na carboxymethyl cellulose에 현탁시켜 예상되는 임상 적용 경로인 경구로 1회 투여하였다. 투여 액량은 20 ml/kg로 하였다.

**관찰 및 검사항목**

1) LD<sub>50</sub>

2) 임상증상 및 사망의 관찰: 모든 실험 동물에 대하여 투여 당일은 투여 후 6시간까지는 매 시간마다, 투여 다음날 부터 관찰 종료일인 14일까지는 1일 1회씩 동물의 일반 상태의 변화, 중독 증상 및 폐사 동물의 유무를 관찰하였다.

3) 체중변화: 시험 물질 투여 직전과 투여 후 4, 7, 11일 그리고 부검일인 14일에 체중을 측정하였다.

4) 부검: 관찰기간 종료 후 부검하여 외관 및 내부 장기의 이상 유무를 육안적으로 상세히 관찰하였다.

**통계학적 분석**

LD<sub>50</sub>치의 산출에는 Litchfield-Wilcoxon법을 이용하였으며, 체중에 대한 유의성 검정을 위해 one-way ANOVA test를 하였다.

**실험결과**

**폐사율**

**Table I.** Mortality of SD rats treated orally with SKI306X

Sex	Dose (g/kg)	Hours after treatment						Days after treatment						Final Mortality		
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	.....	12	13		14	
Male	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	1.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	1.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	2.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	3.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	5.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
Female	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	1.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	1.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	2.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	3.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	5.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5

**Table II.** Clinical signs of SD rats treated orally with SKI306X

Sex	Dose (g/kg)	Clinical sign	Hours after treatment						Days after treatment							
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	.....	12	13	14	
Male	0	NAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1.0	NAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1.5	NAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2.2	NAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3.3	NAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5.0	NAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Female	0	NAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1.0	NAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1.5	NAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2.2	NAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3.3	NAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5.0	NAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

NAD, -: no abnormality detected.

**Table III.** Body weight changes of SD rats treated orally with SKI306X

Sex	Dose (g/kg)	Days after treatment				
		0	4	7	11	14
Male	0	119.08±3.73	162.55±4.21	189.20± 4.74	215.57± 3.33	237.30± 3.89
	1.0	116.00±2.38	157.00±4.80	182.79± 6.93	210.00± 9.04	231.24± 8.78
	1.5	118.35±6.21	160.35±9.81	187.25±10.92	212.12±11.30	235.56±12.86
	2.2	117.97±2.93	160.58±3.43	187.44± 4.42	218.39± 5.35	240.47± 5.50
	3.3	115.33±3.93	157.27±5.95	185.02± 6.90	212.11± 8.11	235.81± 7.86
	5.0	116.35±3.57	156.49±4.19	186.68± 5.36	212.66± 5.83	235.75± 7.43
Female	0	104.26±2.18	140.04±5.46	155.01±5.58	168.22± 8.21	176.74±10.42
	1.0	105.06±2.96	139.36±7.22	158.15±9.09	172.88±11.16	182.41±12.61
	1.5	102.73±5.49	137.96±5.72	157.63±4.16	173.15± 5.43	184.75± 5.12
	2.2	103.92±3.07	138.18±3.88	156.11±4.89	170.23± 4.48	181.06± 7.70
	3.3	102.24±4.91	134.11±4.68	152.07±5.56	167.59± 5.01	175.78± 6.84
	5.0	103.00±4.54	136.17±8.09	154.32±8.20	172.88± 8.18	185.32± 9.53

Each value represents the mean±S.D. of 5 rats.

**Table IV.** Gross findings in organs of SD rats treated orally with SKI306X

Organ	Male						Female					
	Dose (g/kg)						Dose (g/kg)					
	0	1.0	1.5	2.2	3.3	5.0	0	1.0	1.5	2.2	3.3	5.0
Brain	0/5 <sup>a</sup>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Heart	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Liver	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Lung	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Stomach	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Spleen	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Kidney L.	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
R.	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Adrenal Gland L.	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
R.	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Testis L.	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5						
R.	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5						
Ovary							0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

<sup>a</sup>the number of animals with abnormality/the number of animal per group.

시험 기간을 통하여 암·수 랫드 모두에서 폐사 동물이 관찰되지 않았다(Table I).

#### 임상증상

시험 기간을 통하여 암·수 랫드 모두에서 비정상적인 임상증상이 관찰되지 않았다(Table II).

#### 체중변화

투여 직전 그리고 투여 후 4, 7, 11 및 14일 째에 체중을 측정된 결과 시험물질 투여군과 대조군 사이에 유의성있는 체중 변화가 관찰되지 않았다 (Table III).

#### 육안적 해부소견

시험 종료 후 생존 동물 모두를 ether로 마취하고 방혈 치사 시킨 후 내부 장기의 이상 유무를 육안적으로 상세히 관찰한 결과, 약물에 기인한 내부 장기의 이상 소견은 관찰

되지 않았다(Table IV).

## 고 찰

SKI306X에 대한 경구 급성독성 시험을 SD 랫드에서 실시한 결과 전 시험 기간 동안 대조군과 투여군 암·수 모두에서 폐사 및 비정상적인 임상증상이 관찰되지 않았고 모든 약물 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있는 체중 변화가 나타나지 않았다. 시험 종료 후 부검을 실시한 결과 육안적 해부 소견에서 시험 물질의 투여에 기인한 변화가 관찰되지 않았다.

그러므로 만성관절염 치료제 개발 후보 물질인 SKI 306X는 경구 투여시 랫드에서 LD<sub>50</sub> 값이 암·수 모두에서

추정 임상 사용량의 1,000배인 5.0 g/kg 이상일 것으로 사  
료된다.

**참고문헌**

Ho, C. S., Wong, Y. H. and Chiu, K. W. (1989). The hypotensive action of *Desmodium Styracifolium* and *Clematis chineisis*. *Am. J. Chin. Med.* **17**, 189-202.

Lee, H. and Lin, J.-Y. (1988). Antimutagenic activity of extracts from anticancer drugs in Chinese medicine. *Mutation Research* **204**, 229-234.

Lipsky, P. E. (1991). Rheumatoid Arthritis. In Harrison's principles of internal medicine. twelfth edition. (Wilson, J. D., Braunwald, E., Isselbacher, K. J., Petersdorf, R. G., Martin, J. B., Fauci, A. S. and Root, R. K. Eds.), vol. 2. pp. 1437-1439. McGraw Hill Inc., New York.

Park, K. S., Kim, H. S., Ahn, J. S., Kim, T. S., Park, P. U., Kwak, W. J., Han, C. K., Cho, Y. B. and Kim, K. H. (1995). Preparation of antiinflammatory herbal drug, SKI 306X. *Yakhak Hoeji* **39**(4), 385-394.

Pearson, C. M. (1964). Experimental models in rheumatoid disease. *Arthritis and Rheumatism* **7**, 80-86

Shaw, P. C., Chan, W. L. and Yeung, H. W. (1994). Minireview: trichosanthin-a protein with multiple pharmacological properties. *Life Sci.* **55**(4), 253-262.

국립 보건안전연구원 (1994). 의약품등의 독성시험기준, 국립 보건안전연구원 고시 94-3호.