

## 마우스 및 랫드에서 자양강장제 황제공진보의 단회투여독성시험

이정남<sup>1</sup> · 박창신<sup>2</sup> · 김홍표<sup>2</sup> · 황성연<sup>3</sup> · 정운계<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>가천의과대학원 외과, <sup>2</sup>인하대학교 의과대학, 약리학교실, <sup>3</sup>(주)한국의과학연구소

### Single Dose Toxicity Study of Hwangjaegongjinbo, an Invigorator, in Mice and Rats

Jung-Nam Lee<sup>1</sup>, Chang-Shin Park<sup>2</sup>, Hong-Pyo Kim<sup>2</sup>, Sung-Yeoun Hwang<sup>3</sup>  
and Woon-Gye Chung<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Surgery, Gachon Medical School

<sup>2</sup>Department of Pharmacology and Medicinal Toxicology Research Center,  
College of Medicine, Inha University

<sup>3</sup>Korea Medical Science Institute Co., Ltd. Seoul, Korea

(Received January 29, 2002)

(Accepted February 14, 2002)

**ABSTRACT** : The single dose toxicity of Hwangjaegongjinbo, an invigorator, developed by Korea Medical Science Institute was evaluated in ICR mice and Sprague-Dawley rats. The aqueous solution of freeze-dried powder of Hwangjaegongjinbo or its original solution was once administrated orally to both sexes of mice and rats at dose of 2000 mg/kg, the recommended upper limit dose for acute toxicity. Water was administered to another group as control. After single administration, signs of toxicity were observed every hour for the first 6 hours and every day for 14 days. Neither significant toxic signs nor death was observed during the observation period. In addition, no pathological changes were noticed in macroscopic examination at necropsy in those treated group. These results indicated that LD<sub>50</sub> of Hwangjaegongjinbo is greater than 2000 mg/kg in ICR mice and Sprague-Dawley rats.

**Key Words** : Single dose toxicity test, LD<sub>50</sub>, Invigorator, Hwangjaegongjinbo, Mice, Rat

#### I. 서 론

1940년대 페니실린을 시작으로 하여 많은 항생제가 임상에 사용되며 근대 사회의 주된 사망 요인이었던 감염질환의 감소로 인류의 평균 수명이 크게 증가하였다(Harrison과 Svec, 1998). 한국인의 평균 수명 역시 1997년을 기준으로 남자 70.6세, 여자 78.1세로 20년 전에 비해 9세 이상, 10년 전에 비해서는 4세 이상 늘어난 것으로 조사되었다(통계청, 1999). 2050년에는 한국인의 수명은 10년 정도 더 늘어날 것으로 예상되고 있다. 그러나 질병 없이 건강하게 살아가는 기간을 나타내는 건강수명은 1998년 현재 64.3세로 조사돼 국민들이 평균 10년 이상을 각종 만성 질병에 시달리며 살아가는 것으로 분석되었다. 이와 같이 수명은 늘어나지만 이에 따른 질병 역시 증가함에 따라 말년

까지 건강한 몸을 유지하는데 대한 관심이 매우 높아졌다.

특히 한국에서는 40대들의 과중한 업무에서 오는 피로감으로 한국 중년층 특유의 보신에 대한 요구가 높은 것이 사실이다. 이를 겨냥하여 많은 강장제들이 개발되고 있다. (주)한국의과학연구소에서 생식 기능이 감퇴됨으로 발생하는 노쇠현상을 보강해주는 목적으로 산수유, 복분자, 토사자, 구기자와 오미자 등을 혼합하여 황제공진보를 개발하였다. 이 제품은 간장과 신장의 기능을 강화하여 항노화 작용뿐만 아니라 nitric oxide synthase의 발현을 증진시키며 cGMP의 반감기를 증가시켜 발기부전을 억제해주는 효능을 보강하는 것으로 증명되었다(unpublished data).

황제공진보가 저독성의 생약 물질들을 혼합하여 만들었다 할지라도 사람에게 투여되기 때문에 독성에 대한 검증이 필요하다. 본 시험에서는 (주)한국의과학연구소에서 개발한 한방 자양강장제인 황제공진보의 안전성 시험의 일환으

\*To whom correspondence should be addressed

로 단회투여에 의한 독성 여부를 ICR 마우스와 Sprague-Dawley 랫드의 모델에서 확인하기 위하여 식품의약품안전청 고시 제 1999-61호 의약품 등의 독성 시험 기준 (1999. 12. 22)에 준하여 단회투여독성 시험을 실시하였다.

## II. 실험 재료 및 방법

### 1. 시험 물질

(주)의과학연구소(서울시 마포구)에서 무게로 홍삼 0.15%, 녹용 0.05%, 당귀 0.4%, 산수유 0.2%, 구기자 1%, 산약 0.5%, 감초 1%, 천궁 0.8%, 숙지황 1.5%, 토사자 0.8%, 오미자 0.2%, 복분자 0.2%, 갈근 0.6%, 인진 0.6%, 대추 1%, 육계 0.8%, 생강 0.3%와 물 89.9%를 넣고 80°C에서 6시간 동안 가열하여 황제공진보를 생산하였다. (주)의과학연구소에서 제공된 황제공진보 원액과 황제공진보를 본 실험실에서 동결 건조하여 얻은 것을 다시 수용액으로 만들어 사용하였다. 황제공진보를 동결 건조하였을 때 황제공진보 원액 1 m<sup>3</sup>/당 63±2 mg의 분말이 얻어졌다.

### 2. 실험동물 및 사육조건

단회 투여독성시험을 위하여 35~40 g의 특정병원체 부재(specific pathogen-free) ICR계 마우스 암수과 150~200 g의 Sprague Dawley계 랫드를 인하대학교 생명공학연구실에서 구입하여 약 1주일간 순화 적응시킨 후 건강한 동물을 선택하여 온도는 23±3°C를, 상대습도는 50±10%를 유지하였으며 조명은 형광등으로 12시간 간격으로 전멸하는 조건에서 사육하였다. 고형 삼양 사료(제일상사, 경기도 안성)를 구입하여 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였고 음수는 정제된 수돗물을 자유롭게 섭취할 수 있게 하였다.

### 3. 단회투여독성시험

#### 1) 시험군의 구성 및 용량 설정

순화기간 중 건강하다고 판정한 동물을 무작위로 군 분리를 실시하고 체중을 측정하였다. 각 군은 암수 각 5마리씩 10마리로 구성되었으며 투여용량은 한의학 제품들의 저독성을 고려하여 단회 경구 독성 투여 한계용량인 2000 mg/kg으로 설정하였으며(Yamanaka 등, 1990; Glaser와 Hecker, 1996; OECD, 2000) 대조군은 상응하는 양의 물을 경구로 투여하였다. 황제공진보 원액을 투여하는 경우에는 동결 건조하였을 때 얻어지는 분말을 기준(63 mg/ml)으로 2000 mg(32.7 m<sup>3</sup>/kg)의 용량이 투여되도록 원액을 경구로 투여하였다.

#### 2) 투여액의 조제 및 투여방법

황제공진보를 동결 건조하여 얻은 분말을 500 mg/m<sup>3</sup>의 농도가 되도록 증류수에 용해하여 40 g의 마우스에는 0.16 m<sup>3</sup>를 경구로 투여하였고 200 g의 랫드에는 0.8 m<sup>3</sup>를 경구로 투여하였다. 황제공진보 원액을 투여하는 경우에는 동결 건조한 분말과 같은 2000 mg/kg이 실질적으로 투여되도록 계산하여 40 g의 마우스를 기준으로 총 1.27 m<sup>3</sup>의 원액을 투여하였다. 설치류에 수용액을 경구 투여할 경우 한번에 몸무게 100 g당 2 ml 이상을 투여할 수 없다는 의약품 등의 독성 기준(1999)에 따라 20분 간격으로 3회에 나누어 0.42 m<sup>3</sup>씩 경구 투여하였다. 마우스 대조군은 1.27 m<sup>3</sup>의 물을 20분 간격으로 3회에 0.42 m<sup>3</sup>씩 경구 투여하였다. 200 g의 랫드를 기준으로 총 6.35 m<sup>3</sup>의 황제공진보 원액을 20분 간격으로 2회에 나누어 3.18 m<sup>3</sup>씩 경구 투여하였다. 랫드 대조군은 6.35 m<sup>3</sup>의 물을 20분 간격으로 2회에 걸쳐 3.18 m<sup>3</sup>씩 경구 투여하였다.

#### 3) 관찰항목

##### 가. 일반 증상 관찰

모든 시험 동물에 대한 임상 증상은 투여 당일에는 투여 후 1시간에서 6시간까지는 매시간, 투여 1일부터 14일까지는 1일 1회 이상씩 일반 상태의 변화, 중독증상 발현, 사망 동물의 유무 및 시험물질 투여 후 시험 물질에 의하여 나타날 가능성이 있는 증상에 대하여 주의하여 관찰하였다.

##### 나. 체중과 사료 섭취량 측정

시험에 사용된 모든 동물에 대하여 시험 투여 당일(0일), 1, 3, 5, 7, 10, 14일째에 체중과 사료 섭취량을 측정하여 비교하였다.

##### 다. 부검

14일의 시험기간이 끝난 후 생존한 모든 마우스와 랫드를 chloral hydrate(Sigma Chemical Co.)로 마취시킨 후 치사시켜 외관 및 내부 장기의 이상 유무를 육안으로 상세히 관찰하였다.

##### 라. 통계학적 분석

통계학적 처리는 ANOVA(one way analysis of variance)를 이용하였으며 p < 0.05의 수준으로 대조군과의 군간 유의성을 검정하였다.

## III. 결 과

### 1. 사망 동물 및 임상 증상의 관찰

마우스에서 물 투여 대조군과 황제공진보를 동결 건조 후 얻은 분말의 수용액 투여군 또는 황제공진보 원액 투여군에서 시험기간 14일 동안 사망한 동물은 관찰되지 않았다(Table 1). 황제공진보를 동결 건조 후 얻은 분말의 수

**Table 1.** Mortality of male and female mice after single oral administration of 2000 mg/kg of the aqueous solution of freeze-dried powder of Hwangjaegongjinbo or its original solution

Sex	Treatment	Hours after treatment						Days after treatment							Final mortality		
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7		14	
Male	Con <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)
	Dry <sup>c</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)
	Soln <sup>d</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)
Female	Con	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)
	Dry	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)
	Soln	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)

<sup>a</sup>Con: Control animals received equivalent volume of water.

<sup>b</sup>Number of dead animals.

<sup>c</sup>Dry: The aqueous solution of freeze-dried powder of Hwangjaegongjinbo was administrated at dose of 2000 mg/kg.

<sup>d</sup>Soln: Hwangjaegongjinbo solution was administrated as equivalent volumes of dried 2000 mg (32.7 ml) per kg body weight.

**Table 2.** Mortality of male and female rats after single oral administration of 2000 mg/kg of the aqueous solution of freeze-dried powder of Hwangjaegongjinbo or its original solution

Sex	Treatment	Hours after treatment						Days after treatment							Final mortality		
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7		14	
Male	Con <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)
	Dry <sup>c</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)
	Soln <sup>d</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)
Female	Con	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)
	Dry	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)
	Soln	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)

<sup>a</sup>Con: Control animals received equivalent volume of water.

<sup>b</sup>Number of dead animals.

<sup>c</sup>Dry: The aqueous solution of freeze-dried powder of Hwangjaegongjinbo was administrated at dose of 2000 mg/kg.

<sup>d</sup>Soln: Hwangjaegongjinbo solution was administrated as equivalent volumes of dried 2000 mg (32.7 ml) per kg body weight.

용액 투여군과 황제공진보 원액 투여군에서 5마리 중 3마리가 투여후 5시간에서 6시간까지 대략 한 시간 동안 입 주위와 배 부분을 앞발로 긁는 모습이 관찰되었다. 이는 본 시험 물질에 의한 영향이라고 사료된다.

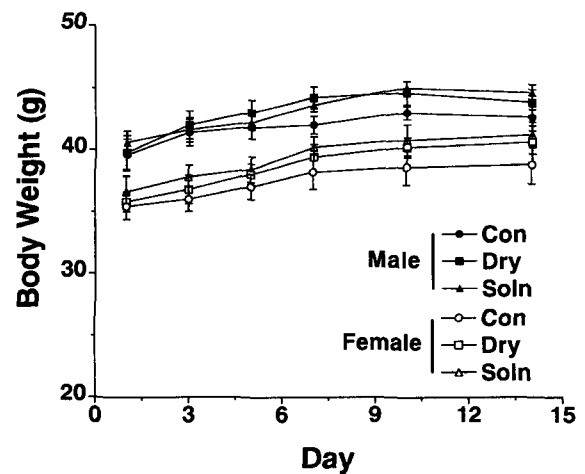
랫드에서도 마우스에서와 마찬가지로 대조군과 투여군에서 시험 기간동안 사망한 동물은 관찰되지 않았다 (Table 2). 그러나 마우스에서 관찰되었던 입 주위와 배 부분을 앞발로 긁는 증상은 랫드에서는 어느 시간대에서도 관찰되지 않았다.

**2. 체중과 사료 섭취량의 측정**

마우스에서 황제공진보 동결건조 분말의 수용액 투여군 또는 황제공진보 원액 투여군에서 대조군과 비교하여 유의성있는 체중 변화의 차이는 관찰되지 않았다(Fig. 1). 사료의 섭취량에도 군간 차이가 없었다. 랫드에서도 마찬가지로 대조군과 비교하여 유의성있는 체중 변화의 차이는 관찰되지 않았다(Fig. 2). 마찬가지로 사료의 섭취량에도 차이가 없었다. 따라서 황제공진보의 투여가 식욕을 감소시키거나 체중을 변화시키는 독성을 유발하지 않은 것으로 사료된다.

**3. 육안적 부검 소견**

마우스에서 대조군과 투여군에서 투여 후 14일 동안의



**Fig. 1.** Body weight change of mice treated with 2000 mg/kg of the aqueous solution of freeze-dried powder of Hwangjaegongjinbo or its original solution. Con: Control treated with water, Dry: The aqueous solution of freeze-dried powder of Hwangjaegongjinbo, Soln: The original solution of Hwangjaegongjinbo.

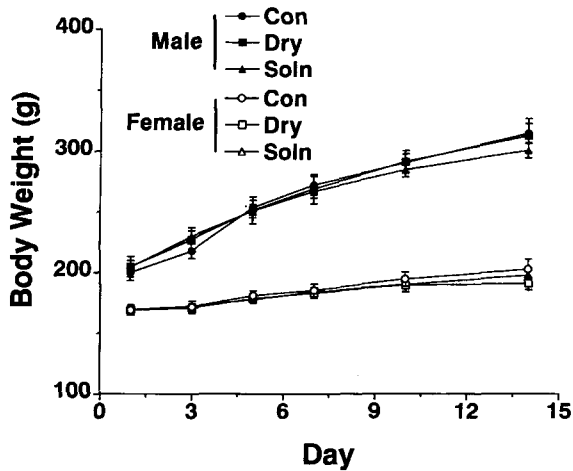


Fig. 2. Body weight change of rats treated with 2000 mg/kg of the aqueous solution of freeze-dried powder of Hwangjaegongjinbo or its original solution. Con: Control treated with water, Dry: The aqueous solution of freeze-dried powder of Hwangjaegongjinbo, Soln: The original solution of Hwangjaegongjinbo.

관찰 기간 중 사망한 개체는 없었으며 생존 개체를 부검한 결과 시험 물질 투여와 관련된 특이할만한 독성 관련 부검 소견은 발견되지 않았다.

랫드에서도 마찬가지로 대조군과 투여군에서 14일 동안 사망한 개체는 없었으며 생존 개체에서도 특이할만한 부검 소견은 발견되지 않았다.

#### 4. 황제공진보의 반수치사용량(LD<sub>50</sub>)과 안전성

급성독성시험에서 국제적으로 권장되는 단회 경구 투여 허용 한계용량인 2000 mg/kg로 정하고 있으며 이 투여 용량에서 독성이 발견되지 않으면 그 이상의 용량에서 독성 시험을 하지 않는 것으로 알려져 있다(Yamanaka 등, 1990; Glaser와 Hecker, 1996; OECD, 2000). 본 시험에서는 황제공진보를 원액 또는 동결 건조 수용액 형태로 2000 mg/kg로 투여한 후 마우스나 랫드에서 사망한 개체가 관찰되지 않음에 따라 황제공진보의 반수치사용량(LD<sub>50</sub>)은 2000 mg/kg 이상이라고 할 수 있다. 따라서 본 제품은 급성독성 면에서 안전한 제품이라고 결론 내릴 수 있다.

## IV. 고 찰

본 연구는 (주)한국의과학연구소가 한방 비아그라로 허가 받기 위하여 개발한 자양강장제 황제공진보에 대한 안정성 평가의 일환으로 식품의약품 안전청 고시 제 1999-61호(1999. 12. 22.) 의약품 등의 독성시험 기준에 준하여 마우스 및 랫드에서 단회독성시험을 수행하였다.

한방 제품의 특성상 여러 가지 물질이 혼합되어 있으며

효능을 증가시키면서도 각각 구성 성분의 고유 독성은 감소시키는 정보를 이용하여 제품을 만들기 때문에 독성이 매우 적을 것으로 판단하였다. 따라서 단회투여독성시험에서 한계용량인 2000 mg/kg의 용량을 설정하여 마우스와 랫드에 단회 경구 투여하였다. 투여 용량은 (주)한국의과학연구소에서 제공한 황제공진보 원액의 무게를 이용한 것이 아니라 동결 건조하여 얻은 분말을 기준으로 다시 수용액으로 만들어 투여하였다. 그리고 동결 건조하는 동안 혹시 구성 물질의 성질에 변화가 일어났을 가능성을 고려하여 같은 양(63 mg/m)의 분말이 들어 있는 황제공진보 원액도 투여하였다. 마우스나 랫드에서 동결 건조 용액이나 황제공진보 원액은 사망 개체가 없는 것과 마우스에서의 투여 후 5~6시간에 잠시 나타난 약리 작용 등으로 볼 때 동일한 성질임을 알 수 있었다.

동결 건조 용액이나 황제공진보 원액 처리후 5~6시간 사이에 마우스에서 관찰된 입주 위를 굽는 증상은 본 제품 투여 5~6시간 후에 본 제품의 약리 효과가 강하게 나타나서 일시적으로 나타난 현상으로 사료된다.

단회투여 허용 한계용량인 2000 mg/kg의 황제공진보를 투여한 후 마우스나 랫드에서 사망한 개체가 관찰되지 않음에 따라 황제공진보의 반수치사용량(LD<sub>50</sub>)은 2000 mg/kg 이상이라고 할 수 있다. 혼합 물질의 독성은 단순 첨가, 상승 또는 감소 등 여러 가지의 경우가 있으나(Nair 등 1996) 한방 제품이 수 천년 동안 사람에게 직접 투여되면서 사실상의 임상 실험을 거치면서 독성 물질을 자율적으로 조절하며 왔음을 고려할 때 황제공진보는 사람에게서도 매우 안전할 것으로 사료된다.

## 감사의 말씀

본 연구는 (주)한국의과학연구소의 연구비(2001년) 지원으로 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- 식품의약품안전청 고시 제 1999-61호(1999): 의약품 등의 독성시험 기준.
- 대한민국 통계청(1999): 한국인 생명표.
- Glaser, S. and Hecker, H. (1996): Maximum Likelihood classification rule for assessing acute toxicity, *ALTEX*, **13**, 88-94.
- Harrison, J.W. and Svec, T.A. (1998): The beginning of the end of the antibiotic era? Part I. The problem: abuse of the "miracle drugs", *Quintessence Int.*, **29**, 151-162.
- Nair, R.S., Dudek, B.R., Grothe, D.R., Johannsen, F.R., Lamb, I.C., Martens, M.A., Sherman, J.H. and Stevens, M.W. (1996): Mixture risk assessment: a case

- study of Monsanto experiences, *Food Chem. Toxicol.*, **34**, 1139-1145.
- OECD (2000): Guidelines for the testing of Chemicals  
Revised Draft Guideline 423: Acute oral toxicity.
- Yamanaka, S., Hashimoto, M., Tobe, M., Kobayashi, K., Sekizawa, J. and Nishimura, M. (1990): A simple method for screening assessment of acute toxicity of chemicals, *Arch. Toxicol.*, **64**, 262-268.