

## SD 랫트를 이용하여 八物湯의 4주 반복투여 독성에 관한 연구

마진열#, 유영범, 하혜경, 황대선, 신현규\*

한국한의학연구원

### Subacute Toxicity Study on *Palmultang*(*Bawu-Tang*) in SD Rats

Jin Yeul Ma<sup>#</sup>, Young Beob Yu, Hye Kyung Ha, Dae Sun Huang, Hyun Kyoo Shin<sup>\*</sup>

Korea Institute of Oriental Medicine

#### ABSTRACT

**Objectives :** *Pamultang*(*Bawu-tang*) has been traditionally prescribed as a restorative. The present study was undertaken to determine the possible toxic effects of *Palmultang* on SD rats.

**Methods :** In this study, we investigated the subacute toxicity of water-extracted *Pamultang*(*Bawu-tang*) on SD rats. Twenty rats were orally administered *Palmultang* for 28 days at a dose of 0 mg/kg(control group) or 1500 mg/kg(treated group), respectively.

**Results :** All of subjects was survived. No significant difference in abnormal clinical signs, related to hematological values, serum biochemical values, water and feed intake, coagulation time, autopsy analysis, organ weight, tissue microscopically, funduscopy, urine intake and urinalysis, was detected.

**Conclusions :** Compared with the control group, we could not find any subacute toxic alteration in treated group (1500 mg/kg) for 28 days. This result suggests that *Palmultang*, a herbal medicine prescription, is a safe prescription to body.

**Key word :** *Pamultang*(*Bawu-tang*), Subacute toxicity, Safety

---

\* 교신저자: 신현규, 한국한의학연구원 한약제제연구부  
· Tel : 042-868-9464 · Fax 042-868-9471 · E-mail: hkshin@kiom.re.kr  
#제1저자 : 마진열, 한국한의학연구원 한약제제연구부  
· Tel : 042-868-9466 · Fax 042-868-9471 · E-mail: jyma@kiom.re.kr  
· 접수 : 2007년 11월 2일 · 수정 : 2007년 12월 11일 · 채택 : 2007년 12월 21일

## 서론

韓醫學에서 四君子湯과 四物湯은 氣血을 補하는 處方으로, 氣血不足으로 因하여 發生되는 諸 症狀을 해결하는 대표 方劑이며 모두 中國 宋代 陳師文의 「太平惠民和劑局方」에 최초로 수재된 것으로 알려져 있다. 두 처방의 주치는 각각 氣虛와 血虛로 發生하는 病症에 特化되어, 四君子湯은 氣虛를 다스리는 補氣劑로, 四物湯은 血虛 및 血不和를 다스리는 補血劑로 사용되어왔고, 金元代에 이르러서는 두 處方을 합하여 氣血이 모두 虛한 것을 치료하는데 八物湯이 處方되었다. 四君子湯과 四物湯은 의서에 따라 그 용량이 조금씩 달라지나, 補劑로 사용될 때 四君子湯은 人蔘, 白朮, 茯苓, 甘草로, 四物湯은 當歸, 川芎, 地黃, 芍藥으로 구성되며 변화가 거의 없다. 단, 四物湯은 수재된 서적 간에 白芍藥과 赤芍藥, 熟地黃과 生地黃의 차이가 있기도 한데, 이는 病症에 따라 구별하여 사용한 것으로 보인다. 최근의 연구에서는 八物湯과 그 구성 약재 투여에 대한 면역 조절작용<sup>1,2)</sup>과 항암작용<sup>3)</sup>, 병리적 변화<sup>4)</sup>, 빈혈회복, 피로회복<sup>5,6)</sup>, 산화방지에 의한 노화방지 효과<sup>7,8)</sup>, 골다공증에 대한 효과 등이 발표되고 있다. 효능평가와 별개로 근래 논쟁이 되고 있는 韓藥處方의 독성과 안전성 문제에 대한 자료를 확보하기 위하여 한약 處方중에서 補氣 및 補血의 가장 기본적인 方劑인 八物湯을 대상으로 SD 랫트를 이용하여 반복 투여 亞急性毒性을 실험적으로 평가하고자 연구를 진행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시험물질

韓方處方인 八物湯의 韓藥材 구성은 人蔘(Ginseng Radix Alba), 白朮(*Atractylodes Rhizome White*), 白茯苓(*Poria cocos Wolf*), 甘草(*Glycyrrhizae Radix*), 當歸(*Angelica Gigas 川芎*(*Cnidium Rhizome*), 熟地黃(*Steamed Rehmannia Root*), 芍藥(*Peony Root*)으로 생산자 및 재배지역이 명확한 韓藥材를 구입하였다(Table 1). 본 연구에서는 전탕 추출법(한국, 경서추출기 cosmos-600)에 의한 시험 물질 조제를 실시하였다. 각 韓藥材 100 g을 8000 ml의 증류수에 넣어 120분간 열탕 추출한 후, 건조 분무기(Japan, Eyela SD-1000)를 사용하여 분말

형태로 조제하였다. 이를 투여 직전에 3차 증류수에 용해하여 실험에 공시하였다(수율 17.8%).

Table 1. Buy of Raw Material Herbs

약재명	생산자(수입자)	제조자	소매자
인삼	충청남도 금산군	충남 금산군 금산읍	대전 동구 중동
		하유리 386-22	23-1번지
백출	강원도 영월군 음덕포 5리 화림백출		백제전제대매 부산광역시 남구
			용호 3동 377-3
백복령	강원도 고성군 거진읍 거진 7리 2반	경북 영주시 화양동	시범공단내 화림제약(주)
		548-3	서울 동대문구
감초(炙)	중국 서울동대문구 제기동 86호 지이엠유통	강조당 약업사	농림생약
		전남여주시 오천동	174-1 신홍제약
당귀	강원도 평창군	강원 평창진부	강원 평창진부
		하진부 681-1	하진부 681-1
천궁	전북 무주군 설천면 삼거리 226	전북 무주군 무주읍	
		가옥리 631-2 남영제약	전북 정읍시 용동면
숙지황	전북 정읍	칠석리 150-2 칠보 농협	
		용동제약사	
작약	전라남도 화순군	전남 화순군 능주면	전남 화순군 화순읍
		백암리 871-1	교리 213-5 전남생약농업협동조합

### 2. 실험동물 및 사육환경

흰쥐 수컷 (오리엔트, 서울시 금천구 가산동 459-24) 4주령을 사용하였다. 동물입수 시, 외관을 육안으로 검사한 후, 7일간 시험을 실시하는 동물실에서 순화시키고 그 중 건강한 동물을 골라 실험에 사용하였다. 순화 기간 중, 일반 임상증상을 관찰하여 건강한 동물을 20마리씩 선정하여 체중범위에 따른 무작위법에 의하여 군분리를 실시한 후, 본 실험에 사용하였다. 순화 및 실험기간 동안의 사육환경은 온도 23±3℃, 상대습도 50±10%, 환기횟수는 시간당 12~16회, 조명은 12시간 명암주기(점등 7:00, 소등 19:00), 조도는 150~300 Lx로 조정하여 일정한 사육환경 조건을 유지하였다. 그리고 실험동물용 고형사료(삼양사료주식회사)와 물은 자유 섭취 조건으로 하였다.

### 3. 실험군 및 韓藥材투여

급성독성 실험시 고농도군(5000 mg/kg/day)에서 아무런 임상증상이 관찰되지 않았으므로, 본 실험에서는 아급성 경구독성을 평가하기 위하여 임상 1일 복용용량의 20배인 1500 mg/kg/day으로 투여량을 설정하였다. 투여 경로는 韓方 임상에서 가장 널리 이용되고 있는 경구 투여법을 사용하였으며, 군당 SD(rat) 숫컷 10례를 사용하였다. 투여 volume은 10 ml/kg로 설정하였다.

### 4. 임상증상 및 부검

임상 증상은 투여기간(1일 1회) 동안의 일반증상 관찰법에 의하여 조사되었다. 모든 동물에 대하여 매주 체중변화 및 사료음수 섭취량을 관찰하였으며, 실험 4주차에 뇨검사, 안저검사 등을 실시하였다. 실험 종료 후, 에테르로 마취하여 후대정맥에서 채혈후 혈구검사, 혈액 생화학검사 등을 분석하였다.

### 5. 통계처리

대조군과 투여군 사이의 통계학적 유의차는 Dunnett test에 의하여 평균과 표준편차를 구하고 통계처리(\*p<0.05, \*\*p<0.01) 하였다.

## 결 과

#### 1. 치사율

시험기간 중 사망동물은 관찰되지 않았다.

#### 2. 임상 증상

임상용량의 20배인 팔물탕 4주간 연속경구투여에 의한, 어떠한 독성증상도 관찰되지 않았다.

#### 3. 체중 변화

Fig 1에 나타난 것과 같이 팔물탕 투여에 의한 체중변화는 관찰되지 않았다.

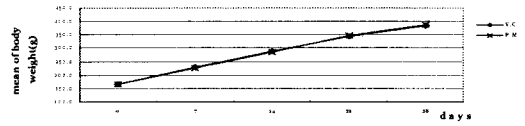


Fig. 1. Mean body weight changes of rat orally treated with herbal prescriptions for 4 weeks. V.C; Vehicle Control group, P.M; PalMufTang group.

### 4. 부검 소견

실험 종료 시, 모든 동물의 장기에 대하여 육안적으로 관찰하였으나 이상 병변은 관찰되지 않았다.

### 5. 혈구검사(Table 2)

혈액검사는 모든 실험군에서 정상범위내의 수치로 분석되었다.

Table 2. Hematological values of male rats orally treated with PalMufTang.

Teste	WBC	#LY	#MO	#NE	#EO	#BA	RBC	HG	HC	MC	MC	MC	PLT
d	x10 <sup>6</sup>	M	%	%	%	%	x10 <sup>6</sup>	B	T	V	H	HC	x10 <sup>3</sup>
Unit	0	%	%	%	%	%	6	g/dl	%	f1	pg	g/dl	0
Group : V.C(0 mg/kg/day)													
Mean	17.96	82.7	3.34	10.14	0.98	2.78	7.52	15.3	40.5	53.9	20.4	37.8	1061
SD	4.82	5.68	1.64	4.51	0.49	0.78	0.25	0.52	1.30	1.48	0.51	0.57	3
Group : P.M(1500 mg/kg/day)													
Mean	16.54	83.5	2.89	10.1	0.99	2.67	7.27	14.9	39.7	54.7	20.6	37.6	1003
SD	5.06	3.62	0.98	2.95	0.24	0.71	0.33	0.50	1.46	1.24	0.48	0.39	3
													95.7

All hematological values were measured at 4 weeks treatment of herbal prescriptions, V.C; Vehicle control group, P.M; Extraction of PalMufTang group. a ;Values were expressed as mean, b :±S.D., Statistically significantly different from vehicle control group.

### 6. 혈액 생화학검사(Table 3)

팔물탕의 열수추출액 28일 연속경구 투여 시, AST 효소는 대조군에 비해 13.55 % 감소하였다. 또한 크레아틴과 혈당의 양은 통계적으로 유의성(p<0.01) 있게 감소되었으나 정상범위내의 수치로 분석되었다.

Table 3. Serum biochemical values of rats orally treated with PalMulgang.

Teste	ASTIU/	ALTIU/	ALP(U/	BUN(mg/	CRE(mg/	CPK(U/	GLU(mg/	CHO(mg/
d	l)	l)	l)	d)	d)	l)	d)	d)
Unit	SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD
Group : V.C(0 mg/kg/day)								
Mean	139.8a	36.38	185.38	16.47	0.42	375.07	144.33	70.05
SD	(44.3)b	(9.06)	(49.38)	(1.82)	(0.02)	(237.66)	(17.67)	(19.47)
Group : P.M(1500 mg/kg/day)								
Mean	120.24	37.2	182.25	14.35	0.38**	243.48	119.95*	66.59
SD	(20.86)	(13.67)	(32.3)	(1.68)	(0.03)	(95.18)	(13.34)	(18.3)

Teste	TG(mg/	PRO(g/	ALB(g/	AG(mg/	T-BIL(mg	Ca(mg/	IP(mg/dl	Na(nmol
d	d)	d)	d)	d)	/d)	d)	)	/l)
Unit	SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD
Group : V.C(0 mg/kg/day)								
Mean	56.60	6.01	3.15	1.11	0.13	9.40	8.82	143.1
SD	(20.71)	(0.22)	(0.12)	(0.05)	(0.01)	(0.27)	(0.56)	(0.99)
Group : P.M(1500 mg/kg/day)								
Mean	55.56	5.93	3.06	1.07	0.14	9.28	8.55	142.4
SD	(15.76)	(0.27)	(0.10)	(0.08)	(0.01)	(0.24)	(0.41)	(0.52)

Serum biochemical values at 28 days after treatment of herbal prescriptions, V.C: Vehicle control group, P.M: Extraction of PalMulgang group. a ;Values were expressed as mean, b :±S.D., Statistically significantly different from vehicle control group(\*\*p<0.01))

Pituitary gland	0.0030	0.0033
	(0.0005)	(0.0005)
	0.59	0.56
Brain	(0.14)	(0.05)
	0.42	0.42
Lung	(0.03)	(0.02)
	0.37	0.36
Heart	(0.03)	(0.02)
	3.05	3.09
Liver	(0.13)	(0.18)
	0.20	0.20
Spleen	(0.02)	(0.02)
	0.16	0.16
Thymus	(0.04)	(0.02)
adrenal gland	0.0091	0.0085
left	(0.0009)	(0.0016)
adrenal gland	0.0082	0.0081
right	(0.0008)	(0.0008)
Kidney left	0.39	0.40
	(0.03)	(0.02)
Kidney right	0.39	0.40
	(0.02)	(0.02)
Testis left	0.44	0.44
	(0.04)	(0.04)
Testis right	0.47	0.44
	(0.13)	(0.04)

Relative organ weight at 28 days after treatment of Herbal prescriptions, a : Values were expressed as mean, b ; ±S.D., Statistically significantly different from vehicle control group.

### 7. 음수 및 사료 섭취량

음수 및 사료 섭취량의 변화는 나타나지 않았다.

### 8. 혈액응고 시간

시험물질 팔물탕은 혈액응고 기전에 관련된 PT 및 aPTT 인자에 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

### 9. 장기무게의 변화(Table 4)

팔물탕 28일 연속 경구투여 후, 장기무게의 변화는 관찰되지 않았다.

Table 4. Relative organ weight of rats orally treated with herbal prescriptions.

Sex Group	Male	
	V.C	P.M
Dose(mg/kg)	0	1500
No. of animal	10	10
Body weight(g)	350.6a	356.3
	(32.0)b	(36.1)

### 10. 장기조직 변화(Fig 2-3, Table 5)

한약 복합처방 4 주간 독성시험에서 용매대조군의 경우, 부신에서는 피질공포형성(Cortical vacuolation)이 1/10 레에서 관찰되었고 뇌하수체는 낭포형성(Cyst formation)이 1/10 레에서 관찰되었으며 신장에서는 만성경색(Chronic renal infarct, Fig. 2.)이 1/10 레에서 관찰되었다. 그 외에 폐장에서는 간질성 폐렴(Interstitial pneumonia, Fig. 3.)이 4/10 레와 출혈성 폐포염(Hemorrhagic alveolitis)이 1/10 레에서 관찰되었다. 시험물질 처리군의 경우, 부신에서는 피질공포형성이 4/10 레와 덧부신조직(Accessory adrenocortical tissue)이 1/10 레에서 관찰되었다. 간장에서는 다발 국소성 간염(Multifocal hepatitis)이 1/10 레에서 관찰되었으며 갑상선에서는 아가미끝 소체(Ultimobranchial cyst)가 2/10 레와 갑상선의 국소성 림프양 세포 침윤(Focal lymphoid cell infiltration)이 1/10 레에서

관찰되었다. 그 외에 폐장에서는 간질성 폐렴이 6/10 레에서 관찰되었다.

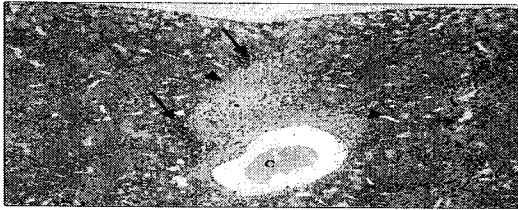


Fig. 2. Focal chronic renal infarct. Note a wedge-shaped lesion and interstitial lymphocyte infiltration (arrows) and, fibrosis (arrowheads) with a cortical cyst(C). H&E. x100.

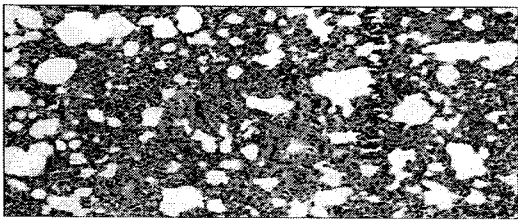


Fig. 3. Interstitial pneumonia with diffuse alveolar septal thickening by congestion inflammatory cell infiltrates and mild fibrosis. H&E. x200.

Table 5. Incidence of non-neoplastic microscopic in rats orally treated with herbal prescriptions.

Variable	\Sex \Group \Dose(mg/kg) \No. of animal	Male	
		V.C	P.M
		0	1500
Hypophy sis			
Thyroid gland	cyst formation	1	0
	Ultimobranchial cyst	0	2
	Focal lymphoid cell infiltration	0	1
Liver	Multifocal hepatitis	0	1
Adrenal gland	Cortical vacuolation	1	4

	Accessory adrenocortical tissue	0	1
Kidney	Chronic renal infarct	1f.2)	0
Lung	Interstitial pneumonia	4	6f.3)
	Hemorrhagic alveolitis	1	0
	Chronic inflammation	0	0
Prostate gland	Focal lymphoid cell infiltration	0	0

V.C; Vehicle control group, P.M; Extraction of PalMultang group.

### 11. 안저검사(Fig 4)

시험물질 투여 4주후 안저 촬영시, 시험물질 투여와 관련된 이상은 관찰되지 않았다.

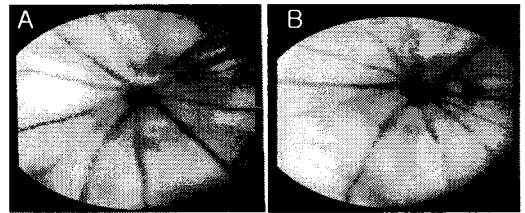


Fig. 4. Photomicrograph of rats administered herbal prescriptions orally; Fundus (X 40). A. Photomicrograph of V.C(0 mg/kg), B. Photomicrograph of P.M.(1500 mg/kg)

### 12. 뇨검사(Table 6)

한약처방 팔물탕 4주 연속경구 투여 후, 신선뇨 및 24시간 뇨량을 채뇨하여 뇨 분석기를 통하여 분석하였다. 그 결과 시험물질에 의한 뇨량 및 요의 화학적 변화는 관찰되지 않았다.

Table 6. Urinalysis in rats orally treated herbal prescriptions subacute toxicity.

Parameter	WSex WUrine WGroup WDose(mg/kg) WNo. of animal	Male			
		Fresh		24 hour Urine	
		V.C	P.M	V.C	P.M
		0	1500	0	1500
		5	5		5
		Trace	-	-	-
Glucose (g/dl)		-	-	-	-
		-	-	-	-

Bilirubin	-	-	-	-
Ketone body (mg/dl)	-	Trace	-	+(1)
	Trace	+(1)	Trace	+(1)
	Trace	Trace	Trace	Trace
	+(1)	+(1)	+(1)	+(1)
Gravity	1.025	1.010	1.020	1.025
	1.015	1.015	1.020	1.020
	1.025	≥1.030	1.025	1.025
	1.025	1.020	≥1.030	1.025
	≥1.030	1.025	1.025	1.020
pH	8.0	≥9.0	8.5	8.5
	8.0	≥9.0	8.5	≥9.0
	8.0	7.5	8.0	8.0
	8.0	8.5	8.0	8.5
	8.0	8.0	8.0	8.5
Protein (mg/dl)	-	Trace	+(2)	+(1)
	+(2)	+(2)	+(2)	+(2)
	+(1)	+(1)	+(1)	+(1)
	+(2)	+(2)	+(1)	+(1)
Urobilinogen (Ehrlich unit/dl)	0.2	0.2	0.2	1.0
	0.2	1.0	0.2	0.2
	0.2	0.2	0.2	0.2
	0.2	0.2	0.2	0.2
	0.2	1.0	0.2	0.2
Nitrite	-	-	-	-
	-	-	-	-
	-	-	-	+
	-	-	-	-
Occult Blood	-	-	+(1)	-
	-	-	-	-
	-	-	-	-
	-	-	-	-
WBC	-	Trace	-	Trace
	+(1)	Trace	Trace	Trace
	+(1)	+(1)	Trace	Trace
	-	Trace	-	-

### 결론 및 고찰

八物湯 추출분말 28일간 연속 경구투여에 의한 야급성 독성 및 안전성을 조사하기 위하여, SD 계통의 랫트 수컷에 八物湯을 임상복용 1일 용량의 20배(1500 mg/kg/day)의 용량으로 각 10마리씩 4주간 경구투여하고 사망동물, 일반증상, 체중변화, 혈액검사, 생화학검사, 음수 및 사료섭취량, 혈액응고시간, 부검소견, 병리조직검사, 장기무게 변화, 안구촬영 및 노검사 등을 분석하여 八物湯의 독성정도를 판단하였다. 이와 같이 실험한 결과 시험기간 중 사망동물, 부검소견 및 시험물질 투여와 관련된 일반 독성증상은 관찰되지 않았다. 분석항목인 체중변화, 혈구분석, 음수, 사료섭취량, 혈액응고와 관련된 지표, 24시간 뇨량 및 뇨의 성분변화 등에도 이상변화가 관찰되지 않았다. 용매대조군과 八物湯에서 나타난 병리조직소견은(Table 5), 자연에서 발생할 수 있는 병변<sup>10-13)</sup>으로 시험물질과는 무관하게 나타난 것으로 사료된다. 혈액생화학 검사는 AST 농도가 용매대조군에 비해 13.5% 감소하는 경향을 보였다. 이는 간 조직내의 염증현상을 일부 완화시키는 물질로 팔물탕이 작용하는 것으로 추측된다.

이상의 실험 결과에서, 수컷 랫드에 한방처방 팔물탕 추출분말 4주간 연속 경구투여 시, 용매대조군에 비해 시험물질 투여군에서 다른 특별한 毒性症狀이 나타나지 않았으므로 본 시험물질 八物湯은 랫트에서 無毒하게 작용하는 안전한 物質이라 판단된다.

### 참고문헌

1. 손재형, 정진홍, 유동열. 팔물탕이 생쥐 임신 말기에 면역세포의 cytokines 생성에 미치는 영향. 대한한방부인과회지. 2000;13(1):342-375.
2. 하지용, 남우열. 팔물탕이 항암 및 면역조절작용에 미치는 영향. 동의병리학회지. 1995;9(2):295-315.
3. 박혜준, 고우신. 팔물탕이 항암 및 면역기능에 미치는 실험적 효과. 대한한의학회지. 1998;19(1):327-338.
4. 박철훈. 팔물탕이 뇌허혈 억제효과에 미치는 실험적 연구. 동신대학교. 2004:37-44.
5. 권오봉. 팔물탕 및 팔물탕가오가피가 항피로에 미치는 영향. 경원대 대학원. 2002:28
6. 한대희, 쌍화탕 팔물탕·육미지황탕 및 보중의기탕 전탕액의 운동부하조건에 따른 근육피로회복. 대전대학교 논문집. 1991;12(2):185-202.
7. 윤진환. 八物湯 급성투여가 점증적부하 운동후 혈중젖산 및 혈액가스 변화에 미치는 영향. 한국사회체육학회. 2001;15(1):635-647.
8. 임은경. 八物湯이 저산소증에 의한 배양심근세포고사에 미치는 영향. 원광대학교. 2004:29.
9. Hayes AW. Principles and Methods of Toxicology. New York: Raven press. 1984:38-44
10. 이경구, 황대선, 유영범, 마진열, 하혜경, 신현규. 사군자탕, 사물탕, 팔물탕 및 십전대보탕의 처방구성 및 용량 용법에 관한 연구. 한국한의학원전학회지. 2006:219-226.
11. 강진석, 남기택, 박인승, 안병우, 양기화, 윤창용, 이국경, 장동덕, 제정환, 홍충만. 독성병리학 도감. 2001:80-81.
12. Ewell MR, Mahler JF. Have you seen this. Inflammatory lesions in the lungs of rats. Toxicology and Pathology. 1997;125(5):529-531.
13. Slaoui M, Dreef HC. Inflammatory lesions in the lungs of wistar rats. Toxicology and Pathology. 1998;26(5):712-713.