

ICR 마우스를 이용하여 四物湯의 급성 독성에 관한 연구

마진열, 유영범, 하혜경, 황대선, 마충제, 신현규
한국한의학연구원 한약제제연구부

ABSTRACT

Acute Toxicity Study on Samul-tang(Siwu-tang) in Mice

Jin-Yeul Ma, Young-Beob Yu, Hye-Kyung Ha, Dae-Sun Huang, Choong-Je Ma, Hyun-Kyoo Shin
Dept. of Herbal Pharmaceutical Development, Korea Institute of Oriental Medicine

Objectives : Samul-tang(Siwu-tang) has been traditionally prescribed a medicine as a restorative.

Methods : In this study, we investigated the acute toxicity about water-extracted Samul-tang(Siwu-tang). Twenty-five mice completed 14 days of oral Samul-tang(Siwu-tang) at the respective doses of 0(control group), 2560, 3200, 4000 and 5000mg/kg.

Results : We observed survival rates, general toxicity, change of body weight, and autopsy.

Conclusions : Compared with the control group, we could not find any toxic alteration in all treated groups (2560, 3200, 4000 and 5000mg/kg). LD₅₀ of Samul-tang(Siwu-tang) was over 5000mg/kg and it is very safe to ICR mice.

Key word : Samul-Tang(Siwu-tang), Acute toxicity, Safety, LD₅₀

- 교신저자 : 신현규
- 대전광역시 유성구 전민동 461-24 한국한의학연구원, 한약제제연구부
- Tel : 042-868-9464 Fax : 042-861-9471 E-mail : hkshin@kiom.re.kr
- 접수 : 2007/ 11/ 16 채택 : 2007/ 12/ 17

I. 서 론

四物湯은 營衛氣血과 衝任脈이 虛損된 病症을 해결하는 補劑로 중국 宋代 陳師文의 『太平惠民和劑局方』에 최초로 수재된 것으로 알려져 있다. 이후 四物湯은 月經不調, 崩漏, 下血, 少腹痛, 胎動不安, 惡露不下 등 血虛 및 血不和로 인한 증세를 다스리는 대표적인 補血劑로 사용되어왔고, 金元代에 이르러서는 氣虛를 다스리는 대표처방인 四君子湯과 합하여 氣血이 모두 虛한 것을 치료하는 八物湯의 부속 처방이기도 하다.

韓醫學의 관점에서 造血작용을 하는 四物湯에 대해 보다 객관적인 효능을 확인하기 위해 다양한 효능 평가가 이루어지고 있다. 이러한 시도는 4가지 원료만으로 구성된 四物湯을 비롯하여 다른 약재를 첨가한 加味四物湯에까지 광범위하게 시도되고 있다. 四物湯의 효능 연구에는 면역기능¹⁻³⁾에 미치는 영향을 평가하기 위해 수행된 실험이 다수 있으며, 혈당⁴⁾에 미치는 효과를 확인하기 위해 스트렙토조독신으로 유도된 당뇨 쥐에서의 인슐린 함량 실험과 항당뇨 효과에 대한 실험이 실행되기도 하였다. 이외에도 난소가 적출된 실험동물에서의 골 대사 지표와 뇌 위축에 미치는 영향을 평가

한 실험⁵⁾ 및 자궁수축력에 미치는 효과⁶⁾, 세포독성에 대한 방어작용⁷⁾, 항스트레스 효과⁸⁾, 四物湯 복용이 성장에 미치는 영향 등이 연구된 바 있다.

본 연구에서는 한약처방의 독성과 안전성 문제에 대한 자료를 확보하기 위하여 한약方劑學에서 가장 기본적이고 널리 사용되는 대표적 處方 중 하나인 四物湯을 대상으로 ICR 마우스를 이용하여 四物湯에 대한 급성독성¹⁰⁾을 실험적으로 평가하고자 연구를 진행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험물질

본 연구의 시험물질인 當歸(Angelica Gigas Root), 川芎(Cnidium Rhizome), 熟地黃(Steamed Rehmannia Root), 芍藥(Peony Root)은 생산자 및 제조자, 소매자가 명확한 韓藥材를 구입을 하여(Table 1), 전탕 추출법(한국, 경서추출기 cosmos-600)에 의한 시험 물질 조제를 실시하였다. 각 韓藥材 100g¹¹⁾을 8000ml의 증류수에 넣어 120분간 열탕 추출한 후, 건조분무기(Japan, Eyela SD-1000)를 사용하여 분말 형태로 조제하였다. 이를 투여 직전에 3차 증류수에 용해하여 실험에 공시하였다(수율 21.1%).

Table 1. Buy of Raw Material Herbs

약재명	생산자(수입자)	제조자	소매자
당귀	강원도 평창		강원 평창진부 하진부 681-1
천궁	전북 무주군 설천면 삼거리 226	전북 무주군 무주읍 가옥리 631-2 남영 제약	
숙지황	전북 정읍	전북 정읍시 응동면 칠석리 150-2 칠보농협 응동제약사	
작약	전남 화순	전남 화순군 능주면 백암리 871-1	전남 화순군 화순읍 교리 243-5 전남생약농업협동조합

2. 실험동물 및 사육환경

시험 구역은 한국한의학연구원 동물 실험에서 실시하였으며, 흰쥐 수컷 (오리엔트, 서울시 금천구 가산동 459-24) 4주령을 사용하였다. 동물입수

시, 외관을 육안으로 검사한 후, 7일간 동물실에서 순화시키고 그 중 건강한 동물을 골라 실험에 사용하였다. 순화 기간 중, 일반 임상 증상을 관찰하여 건강한 동물을 25마리씩 선정하여 체중범위에

따른 무작위법에 의하여 군분리를 실시한 후, 본 실험에 사용하였다. 순화 및 실험기간 동안의 사육환경은 온도 23 ± 3 °C, 상대습도 50 ± 10 %, 환기 횟수는 시간당 12~16회, 조명은 12시간 명암주기 (점등 7:00, 소등 19:00), 조도는 150~300 Lx로 조정하여 일정한 사육환경 조건을 유지하였다. 그리고 실험동물용 고품 사료(삼양사료주식회사)와 물은 자유섭취 조건으로 하였다.

Table 2. Experimental Groups

Group	Number of animal	Volume (ml)	Dose (mg/kg/day)
Control	5	10	0
T1	5	10	2560
T2	5	10	3200
T3	5	10	4000
T4	5	10	5000

4. 임상증상 및 부검

임상 증상은 투여 직후부터 6시간 동안의 연속 관찰과, 그 후 14일(1일 1회) 동안의 일반증상 관찰법에 의하여 조사되었다.¹⁰⁾ 모든 동물에 대하여 투여 전 그리고 투여 후 1일, 3일, 7일, 14일에 체중변화를 관찰하였으며 실험 종료 후, 에테르로 마취하여 후대정맥을 통한 방혈을 실시한 후, 모든 장기에 대한 육안적 병변을 관찰하였다.

5. 통계처리

3. 실험군 및 韓藥材투여

5주령 마우스에 대한 급성 경구독성을 평가하기 위하여 각 주령의 마우스를 각각 5개의 용량군으로 나누었다(Table 2). 투여 경로는 경구법을 이용하였으며 본 연구에서 설정된 투여 용량은 고농도 5000 mg/kg를 기준으로 하여 공비 0.8로 4개의 군을 설정하고, 대조군을 포함하여 모두 5개 군으로 정하였다.

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

III. 결 과

1. 치사율

마우스에 대한 경구투여 시 대조군 및 사물탕 2560, 3200, 4000, 5000 mg/kg 투여군에서 시험물질 투여 후 1일부터 14일 까지 사망한 예는 관찰되지 않았다(Table 3).

Table 3. Mortality of Male ICR Mice.

DOSE (mg/kg)	No. Dead/No. Animal	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
0	0/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2560	0/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3200	0/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4000	0/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5000	0/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2. 체중 변화

四物湯투여에 의한 유의한 체중변화는 모든 시

험군에서 투여 후 꾸준히 체중이 증가하였으나, 모두 정상적인 체중증가가 관찰되었다(Fig 1).

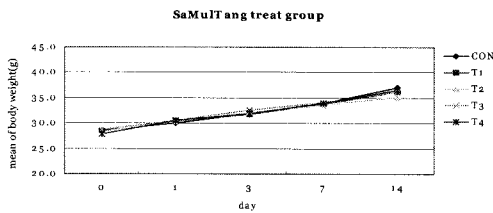


Fig. 1. Mean body weight changes of ICR mouse by oral acute toxicity.

C: Control group. T1: Extraction of Samul-tang

(Siwu-tang) 2560mg/kg(day) medication group, T2: Extraction of Samul-tang(Siwu-tang) 3200mg/kg(day) medication group, T3: Extraction of Samul-tang(Siwu-tang) 4000mg/kg(day) medication group, T4: Extraction of Samul-tang(Siwu-tang) 5000mg/kg(day) medication group.

3. 임상 증상

시험물질 四物湯 투여에 의한 독성증상은 관찰되지 않았다(Table 4).

Table 4. Clinical Signs of Male ICR Mice by Acute Toxicity.

Variable	Sex	Male				
	Group	C	T1	T2	T3	T4
	Dose(mg/kg)	0	2560	3200	4000	5000
	No. of animal	5	5	5	5	5
normal		5	5	5	5	5
abnormal		0	0	0	0	0

C: Control group, T1: Extraction of Samul-tang(Siwu-tang) 2560mg/kg(day) medication group, T2: Extraction of Samul-tang(Siwu-tang) 3200mg/kg(day) medication group, T3: Extraction of Samul-tang(Siwu-tang) 4000mg/kg(day) medication group, T4: Extraction of Samul-tang(Siwu-tang) 5000mg/kg(day) medication group.

4. 부검 소견

실험 종료 시, 모든 동물의 장기에 대하여 육안

적 병변을 관찰하였으나 이상 병변은 관찰되지 않았다(Table 5).

Table 5. Autopsy View for Oral Acute Toxicity of ICR Mice.

Variable	Sex	Male				
	Group	C	T1	T2	T3	T4
	Dose(mg/kg)	0	2560	3200	4000	5000
	No. of animal	5	5	5	5	5
normal		5	5	5	5	5
abnormal		0	0	0	0	0

C: Control group, T1: Extraction of Samul-tang(Siwu-tang) 2560mg/kg(day) medication group, T2: Extraction of Samul-tang(Siwu-tang) 3200mg/kg(day) medication group, T3: Extraction of Samul-tang(Siwu-tang) 4000mg/kg(day) medication group, T4: Extraction of Samul-tang(Siwu-tang) 5000mg/kg(day) medication group.

5. LD₅₀ 값

四物湯 1회 경구 투여 시, 무독하여 아무런 급성 독성을 나타내지 않았고, LD₅₀ 값은 산출되지 않았다. 다만 경구 투여용량인 5000mg/kg 이상일 것으로

사료된다.

VI. 고찰 및 결론

四物湯 추출 분말에 대한 단회 경구투여 독성시

험을 ICR 계통의 마우스 숫컷에 각각 0, 2560, 3200, 4000 및 5000 mg/kg 용량으로 경구 투여하고 14일간 사망률, 일반증상, 체중변화 및 부검소견을 관찰하여 독성증상의 발현 여부를 관찰하였다. 본 연구에서 四物湯은 투여와 관련된 어떠한 독성 증상도 관찰되지 않았으며, 숫컷 ICR 마우스 생체내 안전한 물질로 작용되는 것으로 생각된다. 또한 LD₅₀ 값은 5000 mg/kg을 훨씬 상회할 것으로 사료된다.

참고 문헌

1. 조무상, 이봉교. 사물탕의 계절별 배미, 가미가 체중변화 및 면역기능에 미치는 실험적 연구. 동서의학. 1990;4:41-66
2. 김성훈. 사군자탕, 사물탕 및 팔물탕이 prednisolone으로 유발된 생쥐의 면역반응저하에 미치는 영향. 대한동의병리학회지. 1987;1:42-59
3. 김길수. 월국환합 사물탕이 전기자극 스트레스를 받는 Mouse의 면역기능에 미치는 영향. 동국대학교. 2000:51-71
4. 장세환. 가미사물탕이 당뇨에 미치는 영향에 관한 실험적 연구. 대구한의과대학. 1990:37
5. 김기욱. 사물탕과 사물탕가지모황백이 난소적출 흰쥐의 17 β -Estradiol, 골대사 지표 및 뇌위축에 미치는 영향. 경희대학교. 2002:63
6. 김양호. 사군자탕, 사물탕 및 팔물탕이 백서 자궁근의 수축력과 자발운동에 미치는 영향. 원광대학교. 1992:29
7. 김도환. Nitric Oxide에 의해 유발된 C6 glial 세포독성에 대한 사물탕의 방어효과. 원광대학교. 2000:35
8. 김도순. 육미지황탕, 사물탕, 사군자탕의 항stress 효과에 관한 실험적 비교 연구. 경희대학교. 1995:46
9. 배종국. 사군자탕과 사물탕 Extract 투여가 rat의 성장에 미치는 영향. 경희대학교. 1978:17
10. Hayes, A.Wallace. Principles and Methods of Toxicology. New York: Raven press. 1984:17-19
11. 이경구, 황대선, 유영법, 마진열, 하혜경, 신현규. 사군자탕, 사물탕, 팔물탕 및 십전대보탕의 처방 구성 및 용량 용법에 관한 연구. 대한한의학원전학회. 2006:219-26