

## 랫트에서 한약재 복합물 BDR-29의 단회 경구투여 독성에 관한 연구

김은순 · 장보윤 · 이안숙<sup>1</sup> · 강대길<sup>1</sup> · 이호섭<sup>1</sup> · 김병두 · 김성연\*  
원광대학교 약학대학, <sup>1</sup>원광대학교 한의학전문대학원

### Acute Oral Toxicity Study on BDR-29 in Rats

Eun Soon Kim, Bo Yoon Chang, An Sook Lee<sup>1</sup>, Dae Gill Kang<sup>1</sup>, Ho Sub Lee<sup>1</sup>,  
Byung Doo Kim, and Sung Yeon Kim\*

College of Pharmacy, Wonkwang University, Shinyoung-dong 344-2, Iksan Chungbuk 570-749  
<sup>1</sup>Korea Professional Graduate School of Oriental Medicine, Research Institute (MeRRI),  
Wonkwang University, Iksan, Jeonbuk, 570-749, Republic of Korea.

**Abstract** – Acute toxicity of BDR-29, a combined preparation of *Cassia Semen*, *Prunellae Spica*, *Tribuli Fructus*, and *Uncariae Rhamulus et Uncus* was examined using male and female Sprague-Dawley rats. Rats were treated with the BDR-29 intragastrically at 0 mg/kg, 5 mg/kg, 50 mg/kg, 500 mg/kg or 2,000 mg/kg and observed for two weeks. At the doses used no mortality or abnormal clinical signs in animals were shown during at the observation period. Also there was no difference in net body weight gain, gross pathological findings, and urine analysis at the terminal sacrifice among the groups rats treated with different doses of the test substance. The results suggested that acute oral toxicity of BDR-29 in rats is very low at the conditions employed in this study.

**Key words** – BDR-29, Acute oral toxicity, Rats

생활수준의 향상과 의료기술의 발달로 현대사회는 급속한 고령화가 이루어지고 있으며, 이에 따라 암, 당뇨, 뇌혈관 질환 및 심장질환 등의 만성질환이 급격히 증가하고 있다. 이들 질병들은 현대의학의 발전에도 불구하고 근본적인 치료가 어려우며, 또한 합성물질을 이용한 약물요법은 여러 가지 형태의 부작용을 유발하는 것이 알려져 있다. 최근 국내외적으로 천연물을 이용한 식품이나 의약품 개발에 관한 관심이 증가되고 있으며, 많은 한약재들이 한약제제의 원료로서 뿐만 아니라 건강기능성 식품의 재료나 일반인들에게 민간요법용으로 사용되고 있다. 현재 건강의 증진과 질병을 예방할 수 있는 천연물에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.<sup>1-3</sup> 그러나 일부 한약재들은 잠재적 독성을 가지고 있어 장기간 복용하는 경우 건강에 치명적인 영향을 초래할 수 있다.<sup>4</sup> 따라서 한방제제가 의약품 또는 건강식품으로서 기능을 수행하기 위해서 독성에 관한 체계적인 연구가 필수적이다.

여러 가지 만성 질환 중 뇌혈관질환의 경우, 우리나라에서 1995-2005년까지 10년 동안 뇌혈관 질환으로 1일 평균 93명이 사망하는 것으로 확인되었으며, 이는 암에 이어 두

번째로 높은 사망률을 나타내는 질환이다. 사망률 3위인 심혈관질환에 의한 사망자가 1일 49 명인 것과 비교할 때 2 배 이상의 높은 수치를 나타내고 있다.<sup>5</sup> 한국인에 있어서 뇌혈관질환의 가장 주요한 위험요인은 고혈압이며, 고지혈증, 당뇨병, 심장질환 등도 위험요소이다. 고혈압을 억제하는 약물로 알파, 베타 수용체 등의 차단제나 칼슘길항제, 안지오텐신 전환효소 억제제, 혈관확장제 등이 임상에서 사용되고 있으나 장기간 복용해야하기 때문에 사용하는 약의 종류에 따라서 체위성 저혈압, 저칼륨혈증, 기침, 두통, 현기증, 부종, 식용부진 등의 부작용을 동반할 수 있다.<sup>6</sup>

본 연구에 사용된 BDR-29는 결명자(決明子, *Cassia Semen*), 하고초(夏枯草, *Prnuellae Spica*), 백질려(白蒺藜, *Tribuli Fructus*), 조구등(釣鉤藤, *Uncariae Rhamulus et Uncus*) 혼합물로 뇌혈관질환 및 뇌혈관질환의 직접적인 원인이 되는 고혈압, 고지혈증, 동맥경화증 등의 치료를 목적으로 구성된 처방이다. BDR-29의 각각의 원료물질에 대한 약리학적 작용과 임상적 이용가치에 대해서는 다수의 정보가 있으나 그의 안전성과 독성에 관한 지식은 극히 미흡한 형편이며, 결명자(決明子), 하고초(夏枯草), 백질려(白蒺藜), 조구등(釣鉤藤) 네 가지의 물질이 복합적인 독성에 관한 것은 알려진

\*교신저자(E-mail): sungkim@wonkwang.ac.kr  
(FAX): 063-850-7309

바가 없다. 본 연구는 새로운 한방처방으로 최근 발생이 증가하고 있는 뇌혈관 질환의 예방과 치료를 목적으로 조성된 BDR-29 을 응성과 자성 랫트를 이용하여 급성독성학적 안전성을 확인하고자 한다.

## 재료 및 방법

**실험동물 및 사육 환경** - 본 실험에서는 샘타코 BIO KOREA (주)로부터 입수한 7주령의 Sprague-Dawley 랫트를 사용하였다. 1주일간 적응기를 둔 후 체중범위에 따른 무작위법에 의하여 군 분리를 실시한 후, 본 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 동물들은 인수 시 및 순화기간 동안 이상증상이 관찰되지 않았다. 사육상자당 5 마리씩 실험에 공시하였다. 순화 및 실험 기간 동안 사육 환경은 온도  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ , 상대습도  $55 \pm 5\%$ , 조명시간 12 시간 및 조도 150~300 Lux로 설정하였고, 실험동물용 고품사료(오리엔트 바이오(주))와 물(tap water)은 자유섭취 조건으로 하였다.

**시료의 제조** - BDR-29는 다음과 같은 방법으로 제조되었다. 결명자, 하고초, 백질려, 각 50 g을 증류수 3,000 ml에 넣고 냉각기가 설치된 삼각플라스크에 넣은 후 120 분간 가열한 후 조구등 50 g을 추가하고 30 분간 더 가열하였다. 추출액을 3,000 rpm으로 20 분간 원심 분리 하여 얻은 상등액을 감압 농축하여 500 ml로 만든 후, 동결 건조 하였다. 수율은 25 g(12.5%)이었다.

**용량 및 시험물질의 투여** - 분말상태의 BDR-29를 식품의약품안전청의 독성시험기준<sup>7)</sup>에 따라 2,000 mg/kg을 최고 용량으로 정하고, 정제 증류수로 희석하여 500 mg/kg, 50 mg/kg, 5 mg/kg의 시험물질을 제조하였다. 투여는 임상에서의 주요 적용경로인 경구투여로 하였으며, 투여방법은 동물을 경배부 피부 고정법으로 고정 후 급속제 경구투여용 존대를 이용하여 위내에 직접주입 하였다. 투여 횟수는 1일 1회 당일 체중을 기준으로 체중 kg당 5 ml를 투여액량으로하여 투여하였다.

**일반 임상증상 관찰** - 식품의약품안전청의 독성시험기준<sup>7)</sup>에 따라 투여 당일에는 투여 후 6시간까지 매시간 일반상태의 변화, 중독증상, 운동성, 외관, 자율신경 및 사망 유무를 관찰하였다. 투여 후 14일 동안 1일 1회씩 일반 임상증상을 관찰하고 체중을 측정하였다.

**부검** - 투여 후 14일째에 랫트를 ethyl ether로 마취하고, 방혈 치사시킨 후 모든 장기를 적출하고, 육안적 병변 관찰하고 장기의 무게를 측정하였다.

**노 검사** - 노검사는 투여 후 24시간 채뇨하여 얻은 검체에 대해 유리스캔 10 에스지엘 시험지(URISCAN, 영동제약)를 이용하여 잠혈(occult blood), 빌리루빈(bilirubin), 우로빌리노겐(urobilinogen), 케톤체(ketones), 단백질(protein), 아질산염(nitrite), 포도당(glucose), pH, 비중(specific gravity), 백혈구(white blood cell)를 측정하였다.

**통계처리** - 본 시험에서는 사망동물이 관찰되지 않아 반수치사량(LD<sub>50</sub>)의 산출을 위한 통계처리는 실시하지 않았다.

## 결 과

**사망동물 및 치사량** - 시험물질 투여 후 14일간 사망유무 관찰한 결과 투여된 전 용량에서 BDR-29 투여에 의한 사망은 관찰되지 않았다. 본 실험결과 독성학적 영향을 받지 않는 시험물질의 최소치사량은 자용성 랫트 모두에서 2,000 mg/kg을 상회하는 것으로 나타났다.

**임상증상** - 자용성 랫트의 대조군 및 5, 50, 500, 2,000 mg/kg 투여군 모두에서 투여 직후 및 2 주간의 전 관찰기간을 통하여 특이한 임상증상의 이상은 관찰되지 않았다.

**체중측정** - 자용성의 랫트 모두 전 시험기간을 통하여 각 군의 체중은 계속 증가하였으며, 자성 랫트 BDR-29 5 mg/kg 투여군의 체중증가가 다소 적었으나, 대조군과 시험물질 투여군 간에 유의적인 차이를 보이지 않았다 (Fig. 1, 2). 응성

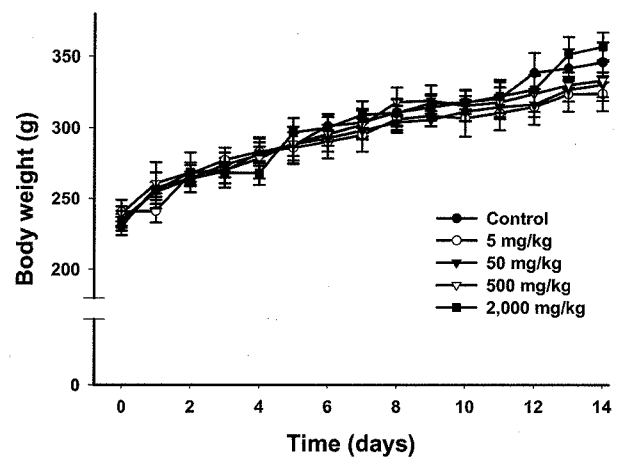


Fig. 1. Body weight increases in male rats treated with BDR-29.

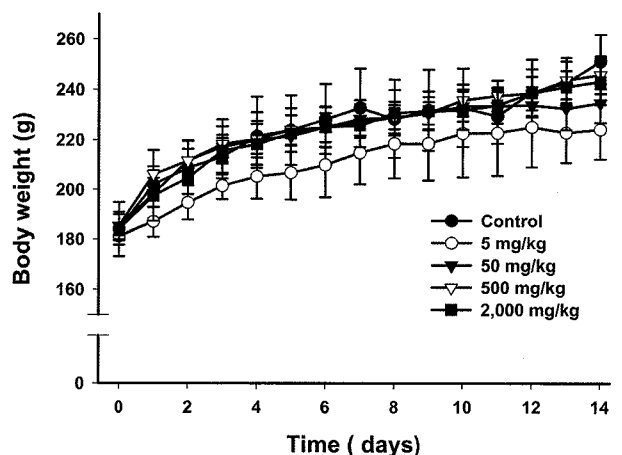


Fig. 2. Body weight increases in female rats treated with BDR-29.



랫트의 14 일간의 체중증가량은 역시 대조군과 BDR-29 투여군간의 차이를 인정할 수 없었다. 체중측정 결과 모든 투여에 의해 실험기간 동안 자웅 랫트 모두 정상적인 체중증가를 나타내었고, 이상 소견은 관찰 되지 않았다.

**노 검사** - 투여 후 24시간 채뇨하여 얻은 검체에 대한 검사결과, 자웅성 랫트 모두에서 뇨의 잠혈(occult blood), 빌리루빈(bilirubin), 우로빌리노겐(urobilirubin), 케톤체(ketones), 단백질(protein), 아질산염(nitrite), 포도당(glucose), pH, 비중(specific gravity), 백혈구(white blood cell) 측정결과는 대조군과 시험물질 BDR-29 투여군 사이에 차이를 보이지 않았다 (Table I).

**부검** - BDR-29 투여 후 14 일째, 모든 장기에 대하여 육안적 병변(색깔 및 형태) 을 관찰결과 투여에 의하여 발생하였다고 인정되는 조직 및 장기의 변화는 관찰 되지 않았다. 장기의 무게(Table II, III) 또한 유의적인 변화는 없었다.

## 고 찰

뇌질환의 예방 및 치료를 목적으로 조성된 시험물질 BDR-29의 단회 경구투여에 의한 급성독성을 식품의약품안전청 독성 시험기준<sup>7)</sup> 및 국제협력기구 OECD 급성독성 시험 가이드라인<sup>8)</sup>에 근거하여 연구하였다. 동량의 결명자, 하고초, 백질려, 조구등의 물추출물을 감압농축, 동결건조시켜 제조된 BDR-29를 단회 경구투여하고 14일간의 사망률, 일반증상, 체중변화, 뇨, 부검소견 및 장기 무게를 관찰하였다.

BDR-29는 뇌혈관질환 및 뇌혈관질환의 직접적인 원인이 되는 고혈압, 고지혈증, 동맥경화증 등의 치료를 목적으로 본 연구자들이 자체 구성한 처방이다. 결명자(決明子)는 완하, 명목(明目) 등의 효능을 가진 생약으로서, 주성분은 안트라퀴논(anthraquinone) 유도체가 알려져 있다.<sup>9)</sup> 결명자는 혈압을 낮추고 혈액 중 콜레스테롤을 강하시켜주는 작용을 하

**Table II.** Absolute organ weights (g) of male rats orally tested with BDR-29

Parameters	\sex		Male				
	\Dose (mg/kg)		0	5	50	500	2,000
	\No. of animals		5	5	5	5	5
Body weight (g)			346.2 ± 14.0	337.3 ± 11.4	315.9 ± 39.0	327.1 ± 23.8	327.1 ± 11.2
Liver (g)			13.3 ± 1.26	12.19 ± 1.12	12.22 ± 0.51	13.42 ± 3.25	11.7 ± 0.51
Spleen (g)			0.79 ± 0.14	0.77 ± 0.15	0.78 ± 0.08	0.78 ± 0.08	0.72 ± 0.08
Heart (g)			1.13 ± 0.03	1.20 ± 0.10	1.26 ± 0.17	1.24 ± 0.17	1.01 ± 0.07
Lung (g)			1.48 ± 0.03	1.40 ± 0.10	1.33 ± 0.10	1.42 ± 0.16	1.36 ± 0.26
Brain (g)			1.98 ± 0.06	1.92 ± 0.03	1.94 ± 0.05	1.88 ± 0.10	1.97 ± 0.05
Testis (g)	Right		1.72 ± 0.06	1.63 ± 0.07	1.56 ± 0.11	1.60 ± 0.13	1.67 ± 0.11
	Left		1.70 ± 0.06	1.64 ± 0.08	1.59 ± 0.09	1.62 ± 0.13	1.67 ± 0.09
Kidney (g)	Right		1.20 ± 0.08	1.49 ± 0.79	1.18 ± 0.05	1.15 ± 0.12	1.18 ± 0.04
	Left		1.21 ± 0.04	1.20 ± 0.10	1.19 ± 0.05	1.22 ± 0.08	1.19 ± 0.03

**Table III.** Absolute organ weights (g) of female rats orally tested with BDR-29

Parameters	\Sex		Female				
	\Dose (mg/kg)		0	5	50	500	2,000
	\No. of animals		5	5	5	5	5
Body weight (g)			250.9 ± 10.7	235.4 ± 15.3	231.8 ± 9.3	235.0 ± 17.6	248.6 ± 10.5
Liver (g)			9.08 ± 0.94	8.32 ± 0.78	7.81 ± 0.85	8.41 ± 0.71	8.05 ± 0.79
Spleen (g)			0.70 ± 0.07	0.64 ± 0.13	0.61 ± 0.02	0.65 ± 0.15	0.70 ± 0.05
Heart (g)			0.84 ± 0.03	0.99 ± 0.11	1.17 ± 0.45	1.04 ± 0.07	0.83 ± 0.04
Lung (g)			1.28 ± 0.10	1.16 ± 0.07	1.19 ± 0.10	1.31 ± 0.24	1.21 ± 0.06
Brain (g)			1.87 ± 0.06	1.81 ± 0.02	1.73 ± 0.08	1.80 ± 0.10	1.90 ± 0.04
Ovary (g)	Right		0.07 ± 0.01	0.06 ± 0.02	0.08 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.08 ± 0.01
	Left		0.07 ± 0.02	0.08 ± 0.02	0.07 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.08 ± 0.01
Kidney (g)	Right		0.85 ± 0.09	0.78 ± 0.06	0.80 ± 0.08	0.81 ± 0.04	0.84 ± 0.06
	Left		0.85 ± 0.09	0.81 ± 0.05	0.83 ± 0.07	0.85 ± 0.07	0.87 ± 0.04

며, 고콜레스테롤 식이를 통해 증가하는 지질의 함량을 감소시키는 효과가 있음이 보고되었다.<sup>10)</sup> 또한 간장의 glucose-6-phosphate dehydrogenase 와 magic enzyme 활성을 측정 한 결과, 결명자 추출물군에서는 대조군에 비하여 활성이 유의하게 감소하였으며, 결명자 추출물의 첨가농도가 높을수록 현저한 것으로 밝혀졌고, 사염화탄소로 유발한 간독성을 억제하는 것으로 알려져있다.<sup>11)</sup> 하고초(夏枯草)는 한방과 민간에서 고혈압, 자궁염등의 치료목적으로 쓰이고, 밀원, 방향성 식물이다.<sup>9)</sup> 우리나라에서는 부드러운 새싹과 잎은 나물로 먹고 꽃이삭, 꽃차례는 이노제로 널리 쓰이고 있으며, 최근 하고초의 소염 및 항암작용등이 보고되고 있다.<sup>12,13)</sup> 백질려(白蒺藜)는 간신기능부족으로 인한 요통, 무릎시림증, 유정, 조루, 빈뇨, 유노증, 소변출혈, 백대하 등에 사용한다.<sup>14)</sup> 약리작용으로 항염증작용, 면역증강작용, 혈압강하, 고지혈증강화작용, 간보호작용 등이 보고되었다.<sup>15,16)</sup> 조구등(釣鉤藤)은 꼭두서니과(Rubiaceae)에 속하며 가시가 달린 줄기를 혈압강하 목적으로 이용되고 있다.<sup>17)</sup>

BDR-29를 투여하고 사망유무를 관찰한 결과 본 실험물질의 반수치사량(minimal lethal dose)은 암수 모두에서 2,000 mg/kg을 상회하는 것으로 관찰 되었다. 또한 투여에 의한 어떠한 임상증상도 관찰되지 않았으며 관찰기간 중 일 반증상 변화 및 시험물질 투여에 의한 유의적인 체중의 변화는 없었다. BDR-29의 단회투여는 자웅 랫트 모두에서 특이한 독성이 관찰되지 않았다. 국제경제협력기구(Organization for Economic Cooperation and Development, OECD)의 급성독성시험 가이드라인에 의하면 2,000 mg/kg에서 사망개체가 없는 경우 무독성으로 간주하고 있으며, 미국환경보호청(US Environmental Protection Agency, EPA)에서도 OECD와 동일한 원칙을 적용하고 있다.

결론적으로 Sprague-Dawley 계통의 랫트에서 뇌질환의 예방 및 치료를 목적으로 조성된 시험물질 BDR-29의 단회 경구투여는 2,000 mg/kg에서 사망하는 개체가 관찰되지 않았으며, 사용한 어떠한 용량에서도 독성을 유발하지 않았다. 본 시험조건 하에서 최소 치사량은 2,000 mg/kg을 상회하는 것으로 나타났다. 따라서 BDR-29는 급성독성시험 권고 최대 용량인 2,000 mg/kg에서도 독성이 없이 안전함을 확인하였으며, 의약품이나 기능성식품으로서의 개발 가능성을 확인하였다.

## 사 사

본 연구는 보건복지부의 뇌질환한방연구센터의 연구비(03-PJ9-PG6-SO02-0001)에 의하여 수행되었음.

## 인용문헌

1. Flood, M.T. and Kondo, M. (2004) Toxicity evaluation of a beta-galactosidase preparation produced by *Penicillium multicolor*. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **40**: 281-292.
2. Flood, M.T. and Kondo, M. (2003) Safety evaluation of lipase produced from *Rhizopus oryzae*: summary of toxicological data. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **37**: 293-304.
3. Wolf, B.W. and Weisbrode, S.E. (2003) Safety evaluation of an extract from *Salacia oblonga*. *Food Chem. Toxicol.* **41**: 867-874.
4. Mei, N., Arlt, V.M., Phillips, D.H., Heflich, R.H., and Chen T. (2006) DNA adduct formation and mutation induction by aristolochic acid in rat kidney and liver. *Mutat. Res.* **602**: 83-91.
5. 통계청 (2006) 2005년 사망원인 통계결과.
6. 약물학분과회 (2002) 약물학. 426-486. 신일상사, 서울.
7. 식품의약품안전청 (1999) 의약품등의 독성시험기준, 식품의약품안전청고시 제 1999-61호.
8. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) (2001) OECD Guideline for the Testing of Chemicals revised draft guideline 420.
9. 생약교재편찬위원회 (1997) 생약학. 257. 동명사, 서울.
10. 하태열, 조일진, 성기승, 이상효 (2001) 결명자 에탄올 추출물이 고콜레스테롤 식이를 섭취한 흰쥐의 체내 지질함량에 미치는 영향. *한국식품영양학회지* **30**: 1171-1176.
11. 하태열, 조일진, 이현유 (2001) 흰쥐에 있어서 사염화탄소 유발 간손상에 미치는 결명자 에탄올 추출물의 영향. *한국식품과학회지*, **33**: 789-794.
12. 유승조, 이은방, 고인자 (1986) 한국산 하고초류의 약물학적 연구 (I) 소염작용에 대하여 생약학회지, **17**: 232-241.
13. 남경수 (2003) 하고초 에탄올추출물이 지방암 예방효소에 미치는 영향. *생약학회지*, **34**: 161-165
14. 김호철 (2001) 한약약리학. 401. 집문당, 서울.
15. 강성용 (1998) 백질려가 血管, 血壓, 局所腦血流量 및 腦軟膜動脈에 미치는 影響. 박사학위논문, 원광대학교.
16. 강성용 (1998) 백질려가 局所腦血流量 및 腦軟膜動脈에 미치는 影響. *한국전통의학지*, **8**: 82-88.
17. 육창수 외 8인 (1981) 한국본초학. 305. 계축문화사, 서울.

(2007년 2월 5일 접수)