

원 저

ICR 마우스를 이용하여 四君子湯의 급성 독성에 관한 연구

마진열, 황대선, 유영범, 하혜경, 신현규

한국한의학회연구원

Acute Toxicity Study on *Sagunja-tang*(*Sijunzi-tang*) in ICR Mice

Jin-yeul Ma, Dae-sun Huang, Young-beob Yu, Hye-kyung Ha, Hyun-kyoo Shin

Korea Institute of Oriental Medicine

Objectives : The purpose of this study was to investigate acute toxicity of orally-treated *Sagunja-tang*(*Sijunzi-tang*) in ICR mice.

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

Results : We observed survival rates, clinical signs of male ICR mice with acute toxicity, change of body weight and autopsy.

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

Key Words : *Sagunja-tang*(*Sijunzi-tang*), acute toxicity, safety, LD50

서 론

四君子湯은宋代 陳師文의『太平惠民和劑局方』에서 최초로 기재된 처방이다.營衛氣가虛하고臟腑가怯弱하여心腹이脹滿하거나음식생각이없고,腸鳴泄瀉하는嘔噦吐逆하는등의병증에사용되는대표적인補氣健脾劑이다.또한四君子湯은補氣濟의基本處方이되어대부분의補氣濟는四君子湯에몇몇藥物을加減하여구성된다.

四君子湯은기재된醫書마다藥物用量에차이가있기는하지만,중국은明代이후로人蔘,白朮,茯苓각2錢,甘草1錢으로통일되고있으며,한국은『東醫寶鑑』이후로人蔘,白朮,茯苓,甘草각1錢2分5厘등분으로고정된다¹⁾.

四君子湯의다양한效能평가연구에는면역기능과항암효과¹⁻⁵⁾,혈전⁶⁻⁹⁾,성장^{10,11)},혈압¹²⁾등이발표되었지만,독성과안전성문제에대한연구는없었다.따라서본연구에서는四君子湯을대상으로ICR마우스를이용하여급성독성¹³⁾을실험적으로평가하고자연구를진행하였다.

· 접수 : 2007년 5월 17일 · 논문심사 : 2007년 5월 19일
· 채택 : 2007년 6월 5일
· 교신저자 : 신현규, 한국한의학회연구원 한약제제연구부.
(Tel : 042-868-9464, Fax : 042-868-9471,
E-mail : hkshin@kiom.re.kr)

재료 및 방법

1. 시험물질

四君子湯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*)로 생산자 및 재배지역이 명확한 韓藥材를 구입하였다(Table 1). 본 연구에서는 전탕 추출법(한국, 경서추출기 cosmos-600)에 의한 시험물질 조제를 실시하였다. 각 韓藥材 100g을 8000 ml의 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 17.8%).

2. 실험동물 및 사육환경

실험 구역은 한국한의학연구원 동물실험실에서 실시하였으며, 흰쥐 수컷 (오리엔트, 서울시 금천구 가산동 459-24) 4주령을 사용하였다. 동물입수 시, 외관을 육안으로 검사한 후, 7일간 동물실험실에서 순화시키고 그 중 건강한 동물을 골라 실험에 사용하였다. 순화 기간 중, 일반 임상증상을

관찰하여 건강한 동물을 25마리씩 선정하여 체중 범위에 따른 무작위법에 의하여 군 분리를 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

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 4개 군을 설정하고, 대조군을 포함하여 모두 5개 군으로 정하였다.

Table 1. Buy of Raw Material Herbs

약재명	생산자(수입자)	제조사	소매자
인삼	충청남도 금산군	충남 금산군 금산읍 하옥리 386-22	대전 동구 중동 23-4번지 백제건제도매
백출	강원도 영월군 읍덕포 5리 화림백출		부산광역시 남구 용호 3동 377-3 시범공단내 화림제약(주)
백복령	강원도 고성군 거진읍 거진 7리 2반 구강물산	경북 영주시 하망동 548-3 감초당 약업사	서울 동대문구 제기동 837번지 농림생약
감초(炙)	중국, 서울 동대문구 제기동 86호 지이엠유통	전남여수시 오천동 174-1 신흥제약	

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 조사되었다¹⁾. 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

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

결 과

1. 치사율

마우스에 대한 경구투여 시 대조군 및 사군자

탕 2560, 3200, 4000, 5000 mg/kg 투여군에서 시험물질 투여 후 1일부터 14일 까지 사망한 예는 관찰되지 않았다. (Table 3)

2. 임상 증상

시험물질 사군자탕 투여에 의한 독성증상은 관찰되지 않았다.(Table 4)

3. 체중 변화

사군자탕 투여에 의한 유의한 체중변화는 모든 시험군에서 투여 후 꾸준히 체중이 증가하였으나, 모두 정상적인 체중증가가 관찰되었다.(Fig 1)

4. 부검 소견

실험 종료 시, 모든 동물의 장기에 대하여 육안적 병변을 관찰하였으나 이상 병변은 관찰되지 않았다.(Table 5)

Table 3. Mortality of Male

DOSE (mg/kg)	No. Dead/ No. Animale	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	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Table 4. Clinical Signs of Male ICR Mice with 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 SaGunJaTang 2560 mg/kg(day) medication group, T2; Extraction of SaGunJaTang 3200 mg/kg(day) medication group, T3; Extraction of SaGunJaTang 4000 mg/kg(day) medication group, T4; Extraction of SaGunJaTang 5000 mg/kg(day) medication group.

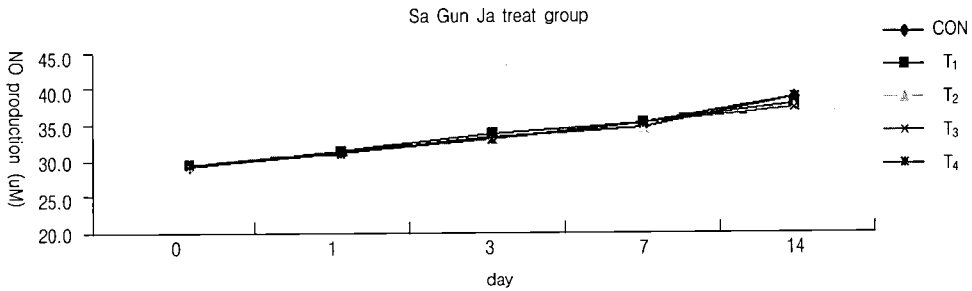


Fig. 1. Mean body weight changes of ICR mouse orally treated with acute toxicity(**p<0.01). C; Control group, T1; Extraction of SaGunJaTang 2560 mg/kg(day) medication group, T2; Extraction of SaGunJaTang 3200 mg/kg(day) medication group, T3; Extraction of SaGunJaTang 4000 mg/kg(day) medication group, T4; Extraction of SaGunJaTang 5000 mg/kg(day) medication group.

5. LD50 값

사군자탕 1회 경구 투여 시, 무독하여 아무런 급성 독성을 나타내지 않았고, LD50 값은 산출되지 않았다. 다만 경구 투여용량인 5000mg/kg 이상 일 것으로 사료된다.

여와 관련된 어떠한 독성 증상도 관찰되지 않았으며, 숫컷 ICR 마우스 생체내 안전한 물질로 작용되는 것으로 생각된다. 또한 LD50값은 5000 mg/kg을 훨씬 상회할 것으로 사료된다.

결론 및 고찰

四君子湯 추출물에 대한 단회 경구투여 독성시험을 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 한약 기본 처방인 四君子湯은 투

참고문헌

- 이경구, 황대선, 유영범, 마진열, 하혜경, 신현규. 사군자탕, 사물탕, 팔물탕 및 십전대보탕의 처방 구성 및 용량 용법에 관한 연구. 한국한의 학원전학회지. 2006;219-26
- 김성훈. 사군자탕, 사물탕 및 팔물탕이 Prednisolone으로 유발된 생쥐의 면역반응 저하에 미치는 영향. 대한동의병리학회지. 1987;2(1):42-59

Table 5. Autopsy Finding of ICR Mice Orally Treated with 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

Autopsy finding at 1 day treatment of test Substances. C; Control group, T1; Extraction of SaGunJaTang 2560mg/kg(day) medication group, T2; Extraction of SaGunJaTang 3200mg/kg(day) medication group, T3; Extraction of SaGunJaTang 4000mg/kg(day) medication group, T4; Extraction of SaGunJaTang 5000mg/kg(day) medication group.

- 3 이남규, 이창현, 주영승. 사군자탕이 생쥐의 면역반응 및 NK세포의 세포독성에 미치는 영향. 대한한의학회지. 1989;10(2):115-122
- 4 이영찬, 전병훈. 파두를 가미한 사군자탕 및 사물탕의 항암효과에 대한 연구. 동의병리학회지. 1994;9(1): 79-100
- 5 정우영, 류봉하, 김진성, 윤상협, 류기원. 사군자탕 및 사군자탕가반묘가 위암세포에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2001;22(4): 579-587
- 6 김영석. 혈전증 및 고점도혈증에 대한 당귀음과 사군자탕의 실험적 연구. 대한한의학회지. 1993;14(1):114-128
- 7 이영우, 유도곤, 한종현, 강순수. 사군자탕, 사물탕, 십전대보탕 및 보중익기탕이 cisplatin투여로 유발된 체중감소와 혈액 변화에 미치는 영향. 원광한의학지. 1992;2(1): 155-175
- 8 하지용, 최승훈, 안규석. 사물탕 및 사군자탕이 Endotoxin으로 유발된 혈전증에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1988;11:113-121
- 9 강성수, 성락기, 신민규. 기아회복시(飢餓恢復時) 대사가질·호르몬·혈액성분 변화에 미치는 사군자탕, 사물탕 및 팔물탕의 효과. 동의생리학회지. 1994;9(2):35-60
- 10 배종국, 신민규, 김완희. 사군자탕과 사물탕 Extract 투여가 Rat의 성장에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1978;1:105-109
- 11 안수현, 임규상, 이기남. 사군자탕, 사군자탕가황기 전탕액이 생리 작용에 미치는 영향. 대한외관과학회지. 1989;2(1): 17-31.
- 12 정완우. 사군자탕이 혈압 및 체온에 미치는 영향. 원광대학교. 1990
- 13 Hayes, A.Wallace. Principles and Methods of Toxicology. New York: Raven press. 1984:17-19