

쌍화탕 급성독성에 대한 안전성 연구

마진열, 박대훈, 박경수¹, 도경탁, 신현규

한국한의학연구원, ¹자생한방병원

Acute Toxicity Study on *SsangHwaTang* in Mice

Jin Yeul Ma, Dae-Hun Park, Kyeong Soo Park¹, Kyoung Tag Do, Hyun Kyoo Shin

Korea Institute of Oriental Medicine, ¹JaSeng Hospital Oriental Medicine

SsangHwaTang has been traditionally prescribed a medicine as a restorative. In this study, We investigated the acute toxicity about water-extracted *SsangHwaTang*. Twenty-five mice completed 14 days of oral *SsangHwaTang* at the respective doses of 0(control group), 2560, 3200, 4000 and 5000mg/kg. And then we observed survival rates, general toxicity, change of body weight, and autopsy.

Compared with the control group, we could not find any toxic alteration in all treated groups (2560, 3200, 4000 and 5000mg/kg). In conclusion, LD50 of *SsangHwaTang* was over 5000mg/kg and it is very safe to ICR mice.

key words : *SsangHwaTang*, Acute toxicity, Safety, LD50

I. 서 론

쌍화탕은 雙和散이라고도 하며 송나라때 太醫局에서 편찬한 方書인 “太平惠民和劑局方”에 가장 먼저 기록되어 있으며 동의보감 雜病篇 虛勞의 항에 기술되어 있다. 그리고 다양한 醫書에서도 이에 대한 기록을 찾을 수 있다. 쌍화탕은 주로 心力이 피로하고 氣·血이 모두 손상되었거나, 큰 병 후 虛勞 하고 氣가 모자라며 땀이 나는 증상 등에 사용한다. 체내의 陰陽·氣血 등을 雙으로 조화롭게 和해준다는 뜻에서 그 이름도 쌍화탕이며 白灼藥, 熟地黃, 當歸, 川芎으로 구성된 四物湯과 黃芪, 桂皮, 甘草, 生薑, 대추로 조합된 黃芪建中湯을 合方한 처방이다. 모두 9가

지 한약재로 이루어져 있으며 백작약은 차가운 성질을 가지고 있어 血을 보충하고 길러주며 특히 간장을 풀어주는 효능을 가지고 있어 補血養陰藥으로 상용한다. 熟地黃은 補血生精하며 滋腎養肝하여 백작약과 더불어 간장의 기능을 활성화하는 약제이다. 즉 숙지황에 당귀를 배오하면 補血하며, 백작약을 배오하면 養肝한다. 黃芪는 주로 固表止汗하고 능히 補中益氣, 補氣生血 한다.

한의학의 관점에서 쌍화탕의 객관적인 효능을 확인하기 위해 현대과학적인 다양한 효능 연구에는 항 피로효과¹⁻²⁾, 항 염증효과³⁻⁴⁾, 성행위 및 성호르몬⁵⁾, 지방암 전이억제⁶⁾, 항 경련효과⁷⁾ 등이 연구된 바 있다.

따라서 본 연구에서는 韓方處方 雙和湯의 效能에 비해 毒性⁸⁻⁹⁾ 유·무 정도를 알아보기 위하여 ICR(Mouse) 수·암컷의 한계용량 실험을 실시하여 쌍화탕의 안전성을 확보하고자 한다.

□ 접수 ▶ 2007년 2월 23일 수정 ▶ 2007년 4월 4일 채택 ▶ 2007년 4월 16일

□ 교신저자 ▶ 마진열, 대전광역시 유성구 전민동 461-24 한국한의학연구원

Tel 042-868-9466 Fax 042-868-9471 E-mail jyma@kiom.re.kr

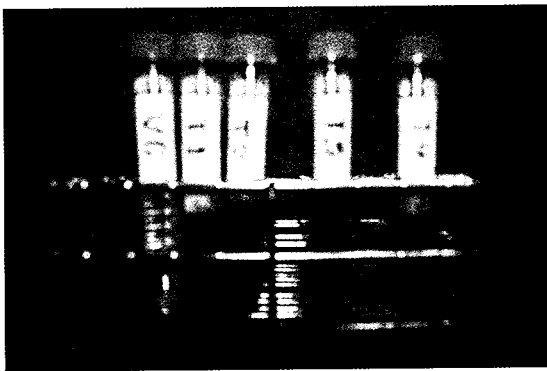
II. 재료 및 방법

1. 시험물질

빈용 한방처방인 쌍화탕의 한약재 구성은 白芍藥, 熟地黃, 當歸, 川芎, 黃芪, 桂皮, 甘草, 생강, 대추로 한국생약협회로부터 구입하여 한국한의학연구원의 본초, 생약학 전공자로부터 품질 감정을 받았다. 전탕추출법은 한방 임상에서 널리 이용되고 있는 한약 조제 방법이기 때문에 본 연구에서는 전탕 추출법에 의한 시험물질 조제를 실시하였다. 각 한약재 100g을 8000 ml의 증류수에 넣어 120분간 열탕 추출한 후, 건조분무기를 사용하여 분말 형태로 조제하였다. 이를 투여 직전에 3차 증류수에 용해하여 실험에 공시하였다.

2. 시험물질 조제 및 투여법

쌍화탕 20 g을 멸균증류수 40 ml에 녹여 고농도(T4군)로 사용하였으며, 나머지군은 주사용 멸균 증류수를 첨가하여 차례로 희석하여 투여물질로 사용하였다. 동물을 하룻밤 절식시킨 후 배부 피부 고정법으로 고정하고 경구투여용 금속제 존데와 주사관을 이용하여 위내에 강제 경구 투여하였으며 투여경로는 사람에게 예상되는 경로로서 경구 투여를 선택하였다.



3. 실험동물

ICR(Mouse) 수·암컷(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 암·수

25마리씩 선정하여 체중범위에 따른 무작위법에 의하여 군분리를 실시한 후, 본 실험에 사용하였다. 순화 및 실험 기간 동안의 사육환경은 온도 $23 \pm 3^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 10\%$, 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 자유섭취 조건으로 하였다.

4. 실험군 및 한약재투여

5주령 마우스에 대한 급성 경구독성을 평가하기 위하여 각 주령의 마우스를 각각 5개의 용량군으로 나누었다 (Table 1). 투여 경로는 한방 임상에서 가장 널리 이용되고 있는 경구 투여법을 이용하였으며 본 연구에서 설정된 투여 용량은 고농도 5000 mg/kg를 기준으로 하여 공비 0.8로 5개의 군을 설정하였다.

Table 1. Experimental groups

Group	Animal Number	Number of animal	Sex	Volume	Dose (mg/kg/day)
Control	1~5	5	Male	10	0
T1	6~10	5	Male	10	2560
T2	11~15	5	Male	10	3200
T3	16~20	5	Male	10	4000
T4	21~25	5	Male	10	5000
Control	26~30	5	Female	10	0
T1	31~35	5	Female	10	2560
T2	36~40	5	Female	10	3200
T3	41~45	5	Female	10	4000
T4	46~50	5	Female	10	5000

5. 임상증상 및 부검

임상 증상은 투여 직후부터 6시간 동안 매시간 관찰하였으며, 그 후 14일(1일 1회) 동안 일반증상 관찰법에 의하여 관찰하였다(Hayes, 1984). 모든 동물에 대하여 투여 전 그리고 투여 후 1, 3, 7, 14일에 체중변화를 측정하였으며 실험 종료 후, 에테르로 마취하여 후대정맥을 통한 방혈을 실시한 후, 모든 장기에 대한 육안적 병변을 관찰하였다.

6. 통계학적 방법

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

III. 결 과

1. 치사율(Table 2)

시험기간 중 사망동물은 관찰되지 않았다.

Table 2-1. Mortality of Male.

MORTALITY SUMMARY																
LIMIT TEST MALE																
NUMBER OF DEATHS																
DAYS AFTER DOSING																
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 2-2. Mortality of Female.

MORTALITY SUMMARY																
LIMIT TEST FEMALE																
NUMBER OF DEATHS																
DAYS AFTER DOSING																
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	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2. 임상 증상(Table 3)

시험물질 쌍화탕 투여에 의한 어떠한 독성증상도 관찰되지 않았다.

Table 3-1. 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 *SsangHwaTang* 2560mg/kg(day) medication group, T2: Extraction of *SsangHwaTang* 3200mg/kg(day) medication group, T3: Extraction of *SsangHwaTang* 4000mg/kg(day) medication group, T4: Extraction of *SsangHwaTang* 5000mg/kg(day) medication group.

Table 3-2. Clinical signs of female ICR Mice with Acute Toxicity.

Variable	\Sex	Female				
	\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 *SsangHwaTang* 2560mg/kg(day) medication group, T2: Extraction of *SsangHwaTang* 3200mg/kg(day) medication group, T3: Extraction of *SsangHwaTang* 4000mg/kg(day) medication group, T4: Extraction of *SsangHwaTang* 5000mg/kg(day) medication group.

3. 체중 변화(Fig 1)

Fig 1에 나타난 것과 같이 대조군에 비해 쌍화탕 투여에 의한 유의한 체중변화는 관찰되지 않았다.

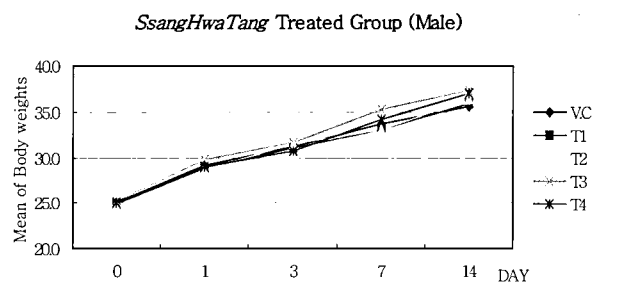


fig. 1. Mean of body weight changes of ICR mouse(male) orally treated with *SsangHwaTang* in Acute Toxicity(* $p < 0.05$) C; control group, T1; 2560mg/kg(day) administered group, T2; 3200mg/kg(day) administered group, T3; 4000mg/kg(day) administered group, T4; 5000mg/kg(day) administered group

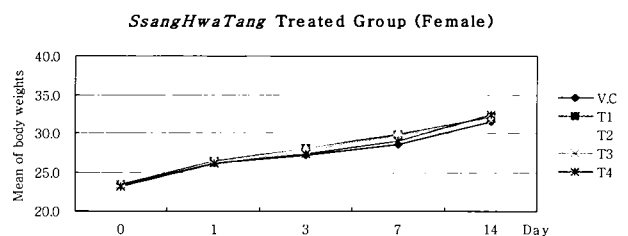


fig. 2. Mean of body weight changes of ICR mouse(female) orally treated with *SsangHwaTang* in Acute Toxicity(* $p < 0.05$) C; control group, T1; 2560mg/kg(day) administered group, T2; 3200mg/kg(day) administered group, T3; 4000mg/kg(day) administered group, T4; 5000mg/kg(day) administered group

4. 부검 소견(Table 4)

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

Table 4-1. 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.

Table 4-2. Autopsy finding of ICR Mice orally treated with Acute Toxicity.

Variable	\Sex	Female				
	\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.

5. LD₅₀ 값

한방처방 쌍화탕 한계용량(5000mg/kg/day) 1회 경구투여 시, ICR(Mouse) 암·수컷에 무독하여 LD₅₀ 값은 산출되지 않았다.

IV. 결론 및 고찰

쌍화탕에 대한 단회 경구투여 독성시험을 ICR 계통의 Mouse 수암컷에 각각 0, 2560, 3200, 4000 및 5000 mg/kg 용량으로 경구 투여하고 14일간의 사망율, 일반증상, 체중

의 변화 및 부검소견을 관찰하여 독성증상 발현 여부를 관찰하였다. 본 시험에서 시험물질 쌍화탕 투여와 관련된 어떠한 독성 증상도 관찰되지 않았으며 LD₅₀값은 5000 mg/kg을 훨씬 상회할 것으로 사료된다.

이상의 결과에서 쌍화탕은 ICR Mouse 수암컷에 의한 단회 경구투여 급성독성시 안전한 물질로 작용되는 것으로 사료된다.

V. 참고문헌

1. 박원경, 박순달, 「쌍화탕이 백서의 운동부하후 항피로와 Monoamine 함량 변화에 미치는 영향」, 『제한동의 학술논문집』, 1995;1(1):130-145.
2. 손낙원, 「쌍화탕이 흰쥐의 간 및 근육 Glycogen함량에 미치는 영향에 대한 조직화학적 연구」, 『대한본초학회지(본초분과학회지)』, 1994;9(1):115-125.
3. 김일혁, 황규진, 「쌍화탕의 항염증 작용에 관한 연구」, 『생약학회지』, 1981;13(3):131-135.
4. 정지창, 박대규, 「쌍화탕의 중추억제 및 항염증작용에 관한 연구」, 『약제학회지』, 1986;16(1):24-30.
5. 金容福, 李昊燮, 朴俊秀, 朴寬夏, 柳道坤, 權康範, 金福亮, 「枸杞雙和湯 煎湯液이 雌性 白鼠의 性行動 및 性호르몬에 미치는 影響」, 『동의병리학회지』, 1999;13(1): 152-157.
6. 최달영, 김준기, 현동환, 김철호, 박원환, 「加味雙和湯의 유방암 발생 및 전이억제에 대한 실험적 연구」, 『동의병리학회지』, 1997;11(2):108-112.
7. 한대석, 이형규, 조희재, 「쌍화탕의 진통 및 항 경련효과에 관한 연구」, 『생약학회지』, 1983;12(3):60-63.
8. 이은방, 신국현, 정명숙, 김연자, 윤기영, 「가미쌍화탕류의 독성 및 약효연구」, 『생약학회지』, 1990;21(2):179-185.
9. Hayes, A. Wallace, 『Hayes Toxicology』, New York:Raven press, 1984:17-19.