

ICR마우스를 이용하여 八物湯의 급성독성에 관한 연구

마진열[#], 황대선, 유영범, 하혜경, 신현규^{*}

한국한의학연구원

Acute Toxicity Study on Palmul-tang(Bawu-tang) in Mice

Jin Yeul Ma[#], Dae Sun Huang, Young Beob Yu, Hye Kyung Ha, Hyun Kyoo Shin^{*}

Korea Institute of Oriental Medicine

ABSTRACT

Objectives : Palmul-tang(Bawu-tang) has been traditionally prescribed a medicine as a restorative.

Methods : In this study, we investigated the acute toxicity about water-extracted Palmul-tang(Bawu-tang). Twenty-five mice completed 14 days of oral Palmul-tang(Bawu-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 : To be confirmed the data for the toxicity and safety problems of oriental medicine prescription. 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 Palmul-tang(Bawu-tang) was over 5000mg/kg and it is very safe to ICR mice.

Keyword : Palmul-tang(Bawu-tang), Acute toxicity, Safety, LD50

#제1저자 마진열, 한국한의학연구원 한약제제연구부

· Tel:(042) 868-9466 · Fax:(042) 868-9471 · E-mail: jyma@kiom.re.kr

*교신저자 : 신현규, 한국한의학연구원 한약제제연구부

· Tel:(042) 868-9464 · Fax:(042) 868-9471 · E-mail: hkshin@kiom.re.kr

· 접수 : 2007년 04월 25일 · 수정 : 2007년 06월 20일 · 채택 : 2007년 06월 25일

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 발생되는 諸 症狀을 해결하는 대표 方劑이며 모두 중국 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 발생하는 病症에 특화되어, 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 조절작용과 항암작용, 병리적 변화, 빈혈회복, 피로회복, 산화방지에 의한 노화방지 효과, 골다공증에 대한 효과 등이 발표되고 있다. 효능평가와 별개로 근래 논쟁이 되고 있는 韓藥處方의 독성과 안전성 문제에 대한 자료를 확보하기 위하여 본 연구자들은 ICR 마우스를 이용하여 八物湯에 대한 급성독성을 실험적으로 평가 하고자, 한의학에서 상용하는 전탕추출법으로 시험물질을 조제하여 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 Root), 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 시험물질 조제를 실시하였다. 각 韓藥材 100 g을 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%).

Table 2. Buy of Raw Material Herbs

약재명	생산자 (수입자)	제조사	소재자
인삼	충청남도 금산군	충남 금산군 금산읍 하옥리 386-22	대전 동구 중동 23-4번지 백계건재도매 부산광역시 남구 용호 3동 377-3
	강원도 영월군 읍덕포 5리 화림백출		시범공단내 화림제약(주)
백복령	강원도 고성군 거진읍 거진 7리 2반 구강물산	경북 영주시 하망동 548-3 감초당 약업사	서울 동대문구 계기동 837번지 농림생약
	중국	전남여수시	
감초 (灸)	서울동대문구 계기동 86호 지이엠유통	오천동 174-1 신흥제약	
	강원도 평창군	강원 평창진부 하진부 681-1	강원 평창진부 하진부 681-1
천궁	전북 무주군 설천면 삼거리 226	전북 무주군 무주읍 가옥리 631-2 남영제약	
	전북 정읍	전북 정읍시 용동면 칠석리 150-2 칠보농협 용동제약사	
작약	전라남도 화순군	전남 화순군 능주면 백암리 871-1	전남 화순군 화순읍 교리 243-5 전남생약농협협동조합

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 25마리씩 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 자유섭취 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 韓方 임상에서 가장 널리 이용되고 있는 경구법을 이용하였으며 본 연구에서 설정된 투여 용량은 고농도 5000 mg/kg를 기준으로 하여 공비 0.8로 5개의 군을 설정하였다.

Table 3. Experimental Groups

Group	Number of animal	Volume	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 연속관찰과, 그후 14일(1일 1회) 동안의 일반증상 관찰법에 의하여 조사되었다(Hayes, 1984). 모든 동물에 대하여 투여전 그리고 투여 후 1, 3, 7, 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 경구 투여시 대조군 및 팔물탕 2560, 3200, 4000, 5000 mg/kg 투여군에서 시험물질 투여후 1일부터 14일까지 사망한 예는 관찰되지 않았다(Table 3).

2. 임상 증상

시험물질 八物湯 투여에 의한 일반증상은 관찰되지 않았다(Table 4).

Table 4. Mortality of males.

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

Table 5. Clinical signs of male ICR Mice with Acute Toxicity.

Variabl	\Sex	Male				
		C	T1	T2	T3	T4
e	\Group	0	2560	3200	4000	5000
	\Dose(mg/kg)	5	5	5	5	5
	\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 Palmul-tang(Bawu-tang) 2560mg/kg(day) medication group, T2; Extraction of Palmul-tang(Bawu-tang) 3200mg/kg(day) medication group, T3; Extraction of Palmul-tang(Bawu-tang) 4000mg/kg(day) medication group, T4; Extraction of Palmul-tang(Bawu-tang) 5000mg/kg(day) medication group.

3. 체중 변화

Fig 1에 나타난 것과 같이 八物湯 투여에 의한 유의한 체중변화는 관찰되지 않았다.

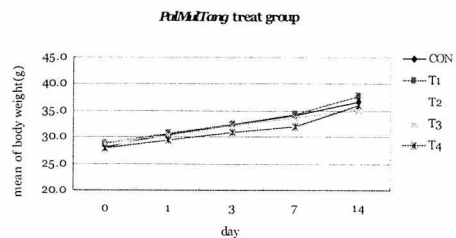


Fig. 1. Mean body weight changes of ICR mouse orally treated with Acute Toxicity. C: Control group, T1: Extraction of Palmul-tang(Bawu-tang) 2560mg/kg(day) medication group, T2: Extraction of Palmul-tang(Bawu-tang) 3200mg/kg(day) medication group, T3: Extraction of Palmul-tang(Bawu-tang) 4000mg/kg(day) medication group, T4: Extraction of Palmul-tang(Bawu-tang) 5000mg/kg(day) medication group

4. 부검 소견

실험 종료시, 모든 동물의 장기에 대하여 육안적으로 관찰하였으나, 이상 병변은 관찰되지 않았다 (Table 5).

Table 5. Autopsy finding of ICR Mice orally treated with Acute Toxicity.

Variab le	\Sex \Group \Dose(mg/kg) \No. of animal	Male				
		C	T1	T2	T3	T4
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 Palmul-tang(Bawu-tang) 2560mg/kg(day) medication group, T2: Extraction of Palmul-tang(Bawu-tang) 3200mg/kg(day) medication group, T3: Extraction of Palmul-tang(Bawu-tang) 4000mg/kg(day) medication group, T4: Extraction of Palmul-tang(Bawu-tang) 5000mg/kg(day) medication group.

5. LD50 값

韓方처방 八物湯 1회 경구투여 시, 사망동물은 관찰되지 않아서 LD50 값은 산출되지 않았다.

결론 및 고찰

한약처방의 단회 독성과 안전성 문제에 대한 자료를 확보하기 위하여 八物湯 전탕액 분말가루에 대한 급성독성 시험을 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 韓方 類用處方 八物湯은 투여와 관련된 어떠한 독성 증상도 관찰되지 않았으며, 숫컷 ICR 마우스 생체내 안전한 물질로 작용되는 것으로 생각된다. 또한 LD50값은 5000 mg/kg을 훨씬 상회할 것으로 사료된다.

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 면역조절작

용에 미치는 영향. 동의병리학회지. 1995;9(2)295-31
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 보중익기탕 전탕액의 운동부하조건에 따른 근육피로회복. 대전대학교. 1991;12(2)185-202.
7) 윤진환. 八物湯 급성투여가 점증적부하 운동후 혈중젖산및 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, A.Wallace. Principles and Methods of Toxicology. New York: Raven press. 1984;17-19
10) 이경구, 황대선, 유영범, 마진열, 하혜경, 신현규. 사군자탕, 사물탕, 팔물탕 및 십전대보탕의 처방 구성 및 용량 용법에 관한 연구. 한국한의학원전학회지. 2006;219-26