

마우스에서 황토국화 추출물의 급성독성 연구

마진열^{1#}, 박화용¹, 최한², 지옥표², 이재훈^{1*}

1: 한국한의학연구원, 2: 성균관대학교 약학대학 생약학실

Acute Toxicity Study on *Mud chrysanthemum Indicum* in Mice

Jin Yeul Ma^{1#}, Hwayong Park¹, Han Choi², Ok Pyo Zee², Jae Hoon Lee^{1*}

1: Korea Institute of Oriental Medicine

2: Pharmacognosy Lab, College of Pharmacy, SungKyunKwan University

Abstract

Objectives : The aim of this study is to collect data for toxicity and safety of *Mud chrysanthemum indicum*.

Methods : In this study, we investigated the acute toxicity for buthanol-extracted *Mud schrysanthemum indicum*. 25 male and 25 female mice were observed for 14days after one day oral administration of *Mud chrysanthemum indicum* at the respective doses of 0(control group), 1024, 1280, 1600 and 2000mg/kg.

Results : We observed survival rates, general toxicity, change of body weight and autopsy. No abnormality was found for all cases.

Conclusions : The data confirmed that *Mud chrysanthemum indicum* is free from the toxicity and safety problems. Compared with the control group, we could not find any toxic alteration in all treated groups (1024, 1280, 1600 and 2000mg/kg). In conclusion, LD50 of *Mud chrysanthemum indicum* was over 2000 mg/kg and it is very safe to mice.

Key words : *Mud chrysanthemum indicum*, Acute toxicity, LD50, Safety

서 론

현대는 산업화로 지구환경에 급격한 변화가 초래되어 사람의 건강에 심각한 영향을 미치게 되었다. 그 결과 각종 만성 및 난치성 질환이 급속히 증가하고 있으며 사람의 몸을 둘러싸고 있는 피부에도 여러 질환들이 유발되고 있다. 아토피성 피부염은 원인을 알기 어렵고 따라서 치료가 힘든 난치성 질환이

며 흔히 태열이라고 부르는 유아습진으로 시작하여 나이가 들면서 증상이 대체로 호전되나 최근에는 성인기까지 중증의 피부염이 지속되고 있다. 아토피 피부염은 천식, 비염과 함께 지난 수십 년 동안 증가하는 경향이며 2000년 오레곤주의 학생들을 대상으로 조사한 결과 17%가 앓고 있었다. 또한 2003년 발표에는 핀란드의 5세 이하 아가에서 16%가 아토피 피부염을 앓고 있는 것으로 나타났다. 한국의 경우 아

* 교신저자 : 이재훈, 대전시 유성구 엑스포로 483 한국한의학연구원

· Tel : 042-868-9367 · E-mail : daniel-jhlee@kiom.re.kr

제1저자 : 마진열, 대전시 유성구 엑스포로 483 한국한의학연구원

· Tel : 042-868-9466 · E-mail : jyama@kiom.re.kr

· 접수 : 2008년 5월 14일 · 수정 : 2008년 6월 12일 · 채택 : 2008년 6월 20일

토피 환자수가 최근 급격히 증가하고 있으며 이미 선진화, 공업화가 진행된 일본은 아토피 환자수가 1,000만 명에 육박하고 있다. 특히 미국의 경우 과거 30년 동안 30% 이상 증가해 전 인구의 5~12%가 이 질병을 앓고 있다는 점 등을 살펴볼 때 사회적으로 문제시 되는 질병 중의 하나이다. 서양의학 관점에서 황토국화의 객관적인 효능을 확인하기 위해 현대 약학적인 다양한 효능 연구를 통해 항 박테리아, 항진균, 항염증 효과, HIV virus 억제 효과^{1,2)}, 항돌연변이 효과³⁾, 항암 효과^{4,5)} 등이 연구된 바 있다.

최근 한약재 오남용으로 인하여, 효능평가는 별개로 한약재의 독성^{6,7,8)}과 안전성에 대한 연구 필요성이 대두되고 있어, 이에 실험동물 ICR mouse를 이용하여 급성독성 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

1. 시험물질 조제

실험한약재인 황토국화는 전북 고창군 읍내리 648-18(고창국화산업, 이영빈)에서 구입하여 50% Acetone 수용액으로 60℃에서 2시간 환류 추출한다. 여과후 40℃에서 감압 농축하여 Acetone 성분을 제거하고 수상만 남도록 한다. 동량의 부탄올을 가하여 액체 분리한 후, 부탄올 층을 감압 농축한다. 잔류 부탄올을 없애기 위하여 물을 첨가하여 용매를 제거했으며 완전 건조한 후, 50% 에탄올 수용액에 용해하여 재 건조하여 잔류 부탄올을 완전히 제거하여 실험에 사용하였다(Fig. 1).

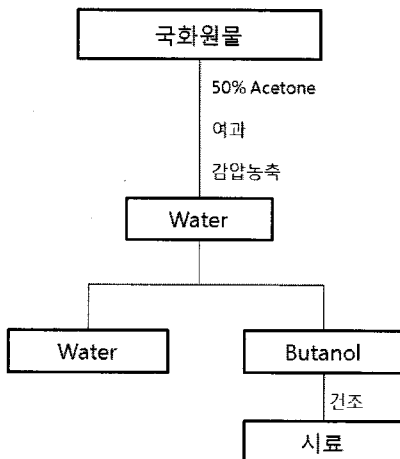


Fig. 1. Test material extraction method

2. 실험동물 및 사육환경

Mouse(ICR) 암·수컷(오리엔트, 서울시 금천구 가산동 459-24) 4주령을 사용하였다. 동물 입수시, 외관을 육안으로 검사한 후, 7일간 시험을 실시하는 동물실에서 순화시키고 그 중 건강한 동물을 골라 실험에 사용하였다. 암·수 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 한약재 투여

5주령 마우스에 대한 급성 경구독성을 평가하기 위하여 암·수 마우스를 각각 5개의 용량군으로 나누었다(Table 1). 투여 경로는 한방 임상에서 가장 널리 이용되고 있는 경구투여법을 사용하였으며, 본 연구에서 설정된 투여 용량은 고농도 2,000 mg/kg를 기준으로 하여 공비 0.8로 5개의 군을 설정하였다.

Table 1. Experimental Groups

Group	Number of animal	Volume	Dose (mg/kg/day)
MC	5	10	0
MT1	5	10	1024
MT2	5	10	1280
MT3	5	10	1600
MT4	5	10	2000
FC	5	10	0
FT1	5	10	1024
FT2	5	10	1280
FT3	5	10	1600
FT4	5	10	2000

MC: Control male group, MT1: Extraction of *Mud chrysanthemum indicum* 1024mg/kg(day) medication male group, MT2: Extraction of *Mud chrysanthemum indicum* 1,280mg/kg(day) medication male group. MT3: Extraction of *Mud chrysanthemum indicum* 16,000mg/kg(day) medication male group. MT4: Extraction of *Mud chrysanthemum indicum* 2,000mg/kg(day) medication male group. FC: Control female group, FT1: Extraction of *Mud chrysanthemum indicum* 1,024mg/kg(day) medication female group, FT2: Extraction of *Mud chrysanthemum indicum* 1,280mg/kg(day) medication female group. FT3: Extraction of *Mud chrysanthemum indicum* 16,000mg/kg(day) medication female group. FT4: Extraction of *Mud chrysanthemum indicum* 2,000mg/kg(day) medication female group.

4. 임상증상 및 부검

임상 증상은 투여 직후부터 6시간 동안 매시간 관찰하였으며, 그 후 14일(1일 1회) 동안 일반증상 관찰법에 의하여 관찰하였다⁹⁾. 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.

5. 통계처리

통계분석법은 일원배치분산분석(one-way analysis of variance, ANOVA)을 실시하였으며 대조군과 투여군 사이의 통계학적 유의차는 Dunnett test에 의하여 평균과 표준편차를 구하고 통계처리(*p<0.05, **p<0.01) 하였다.

결 과

1. 치사율

시험기간 중 황토국화 모든 투여군 및 대조군에서 사망동물은 관찰되지 않았다(Table 2).

Table 2. Mortality of Animals

DOSE (mg/kg)	No. Dead/No. Animal	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
0	0/10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1024	0/10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1280	0/10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1600	0/10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2000	0/10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2. 임상 증상

암·수 모든 동물에 있어서 황토국화 투여에 의한 독성증상은 관찰되지 않았다(Table 3).

3. 체중 변화

황토국화 투여에 의한 체중변화는 암·수 모두에서 관찰되지 않았다(Fig. 2, 3).

4. 부검 소견

실험 종료시 암·수 모든 동물의 장기에 대하여 육안적으로 관찰하였으나, 이상 병변은 관찰되지 않

았다(Table 4).

Table 3-1. Clinical Signs of Male ICR Mice Treated with *Mud chrysanthemum Indicum*

Variable	\Sex	Male				
	\Group	MC	MT1	MT2	MT3	MT4
	\Dose(mg/kg)	0	1024	1280	1600	2000
	\No. of animal	5	5	5	5	5
normal		5	5	5	5	5
abnormal		0	0	0	0	0

MC; Control group, MT1; Extraction of *Mud chrysanthemum indicum* 1024 mg/kg(day) medication group, MT2; Extract of *Mud chrysanthemum indicum* 1280 mg/kg(day) medication group, MT3; Extract of *Mud chrysanthemum indicum* 1600 mg/kg(day) medication group, MT4; Extract of *Mud chrysanthemum indicum* 2000 mg/kg(day) medication group.

Table 3-2. Clinical Signs of Female ICR Mice Treated with *Mud chrysanthemum Indicum*

Variable	\Sex	Female				
	\Group	FC	FT1	FT2	FT3	FT4
	\Dose(mg/kg)	0	1024	1280	1600	2000
	\No. of animal	5	5	5	5	5
normal		5	5	5	5	5
abnormal		0	0	0	0	0

FC; Control group, FT1; Extraction of *Mud chrysanthemum indicum* 1024 mg/kg(day) medication group, FT2; Extract of *Mud chrysanthemum indicum* 1280 mg/kg(day) medication group, FT3; Extract of *Mud chrysanthemum indicum* 1600 mg/kg(day) medication group, FT4; Extract of *Mud chrysanthemum indicum* 2000 mg/kg(day) medication group.

Table 4-1. Autopsy Finding of Male ICR Mice Orally Treated with *Mud chrysanthemum Indicum*

Variable	\Sex	Male				
	\Group	C	T1	T2	T3	T4
	\Dose(mg/kg)	0	1024	1280	1600	2000
	\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 Female ICR Mice Orally Treated with *Mud chrysanthemum indicum*

Variable	\Sex	Female				
	\Group	C	T1	T2	T3	T4
	\Dose(mg/kg)	0	1024	1280	1600	2000
	\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.

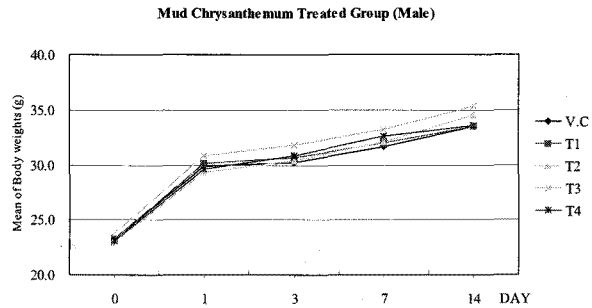


Fig. 2. Mean body weight changes of ICR mouse(male) orally treated with Mud chrysanthemum indicum in acute toxicity
 V.C: control group, T1: 1024 mg/kg(day) administered group, T2: 1280 mg/kg(day) administered group, T3: 1600 mg/kg(day) administered group, T4: 2000 mg/kg(day) administered group

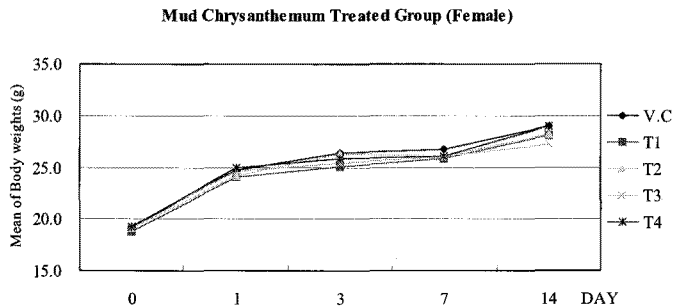


Fig. 3. Mean body weight changes of ICR mouse(female) orally treated with Mud chrysanthemum indicum in acute toxicity

5. LD50값

한약재 황토국화 추출물 1회 경구투여 시, 사망동 물은 관찰되지 않아서 LD50 값은 산출되지 않았다.

결론 및 고찰

한약재 황토국화에 대한 일회 독성과 안전성 문제에 대한 자료를 확보하기 위하여 ICR 계통의 mouse 자웅에 각각 0, 1024, 1280, 1600 및 2000 mg/kg 용량으로 경구 투여하고 14일간의 사망율, 일반증상, 체중의 변화 및 부검소견을 관찰하여 독성증상 발현 여부를 관찰하였다. 본 시험 모든 동물에서 시험물질 황토국화 투여와 관련된 어떠한 독성 증상도 관찰되지 않았으며 LD50값은 2,000 mg/kg을 훨씬 상회할 것으로 사료된다. 이상의 결과에서 한약재인 황토국화는 ICR Mouse 자웅에 의한 일회 경구 투여시 체내에 안전한 물질로 작용되는 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Hu C-Q, Chen K, Shi Q, Kilkuskie RE, Cheng Y-C, Lee K-H. Anti-AIDS agents, 10. Acacetin-7-O-b-D-galactopyranoside, an anti-HIV principle from Chrysanthemum morifolium and a structure-activity correlation with some related flavonoids. Journal of Natural Products. 1994 ; 57 : 42-51.
2. Lee JS, Kim HJ, Lee YS. A new anti-HIV flavonoid glucuronide from Chrysanthemum morifolium. Planta Medica. 2003 ; 69 : 859-61.
3. Miyazawa M, Hisama M. Antimutagenic activity of flavonoids from Chrysanthemum morifolium. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry. 2003 ; 67 : 2091-9.
4. Ukiya M, Akihisa T, Tokuda H, Suzuki H, Mukainaka T, Ichiishi E, Yasukawa K, Kasahara Y,

Nishino H. Constituents of Compositae plants: III. Anti-tumor promoting effects and cytotoxic activity against human cancer cell lines of triterpene diols and triols from edible chrysanthemum flowers. *Cancer Letters*. 2002 ; 177 : 7-12.

5. Zheng Y, Wang X-S, Fang J. Two acidic polysaccharide from the flowers of *Chrysanthemum morifolium*. *Journal of Asian Natural Products Research*. 2006 ; 8 : 217-22.

6. Wallace Hayes A. Principles and Methods of

Toxicology. New York : Raven press. 1984 : 17-9.

7. Mandel NS, James D Henderson, Jr JD, Hung LY, Wille DF, Wiessener JH. A Porcine model of Calcium Oxalate Kidney Stone Disease. *The J of Urology*. 2004 ; 171 : 1301-3.

8. Yamaguchi S, Wiessner JH, Hasegawa AT, Hung LY, Mandel GS, Mandel NS. Study of a rat model for calcium oxalate crystal formation without severe renal damage in selected conditions. *Int J of Urology*. 2005 ; 12 ; 290-8.