

## 마우스를 이용한 발효쌍화탕의 급성독성 실험

이지혜, 엄영란, 심기석, 전원경, 이재훈, 마진열  
한국한의학연구원

### Acute Toxicity Study on Fermented *Ssanghwa-tang* Extracts in Mice

Ji-hye Lee, Young-ran Um, Ki-suck Shim, Won-kyung Jeon, Jae-hoon Lee, Jin-yeul Ma  
Korea Institute of Oriental Medicine

#### ABSTRACT

**Purpose** : This study was carried out to investigate the acute toxicity and safety of fermented *Ssanghwa-tang* extract.

**Methods** : To evaluate their acute toxicity and safety, 0(control group), 1250, 2500 and 5000 mg/kg of *Ssanghwa-tang* and fermented *Ssanghwa-tang* extracts were orally administered to 20 male and 20 female ICR mice. After a single administration, we observed survival rates, general toxicity, changes of body weight, and autopsy.

**Results** : Compared with the control group, we could not find any toxic alteration in any of the treated groups (1250, 2500 and 5000 mg/kg).

**Conclusions** : LD<sub>50</sub> of *Ssanghwa-tang* and fermented *Ssanghwa-tang* extracts might be over 5000 mg/kg and it is very safe for ICR mice.

**Key words** : *Ssanghwa-tang*, Fermentation, Acute toxicity, Safety, LD<sub>50</sub>

## 1. 서론

쌍화탕은 사물탕(四物湯)과 황기건중탕(黃芪建中湯)의 합방으로 백작약, 숙지황, 황기, 당귀, 천궁, 계피, 감초, 생강, 대추로 처방되며 동의보감<sup>1</sup> 및 그 처방서인 방약합편<sup>2</sup>에 의하면 혈기가 손상되었을 때나 강정 및 피로회복, 병 후 기가 허약하고 식은땀이 날 때 매우 효과가 있다고 하였다. 쌍화

탕은 현재 약제로서 뿐 아니라 기호식품 및 건강식품으로도 널리 이용되고 있는 한방처방으로 항피로효과<sup>3,4</sup>, 간 기능 개선효과<sup>5</sup>, 항염증효과<sup>6,7</sup>, 진통 및 항경련효과<sup>8</sup>, 성호르몬 분비 증가 효과<sup>9</sup>, 골다공증 개선효과<sup>10</sup>, 모발 성장효과<sup>11</sup> 등에 대한 기초 실험연구와 임상연구가 다양하게 이루어지고 있다.

생약제제는 경구로 섭취 시, 비극성이 높은 알카로이드 등은 위에서 흡수 될 수 있으나 배당체 등의 성분들은 장내 유산균에 의해 비배당체로 생물 전환되어야 흡수되어 약리효과를 나타낼 수 있다<sup>12</sup>. 즉, 쌍화탕의 구성 약재인 작약의 paeoniflorin, 감

· 교신저자: 마진열 대전시 유성구 전민동 461-24번지  
한국한의학연구원 신환방제제연구센터  
TEL: 042-868-9466 FAX: 042-868-9573  
E-mail: jyma@kiom.re.kr

초의 glycyrrhizin, 숙지황의 aucubin 등이 흡수되어 약리효과가 발생되기 위해서는 식물이나 동물조직의  $\beta$ -glucosidase의 작용이 필요하다<sup>13</sup>. 장내 세균에 의해 일어나는 이러한 일련의 소화 과정은 같은 약제를 복용하여도 개개인에게서 그 효과가 다르게 나타나는 이유로 주목받고 있으며<sup>14</sup>, 유산균 발효를 통하여 특정성분을 활성성분으로 전환시키기 위한 연구가 식품 및 한의학계에서 다양하게 진행되고 있다<sup>12,15,16</sup>.

발효란 미생물이 자신이 가지고 있는 효소를 이용하여 유기물을 산화, 환원 또는 분해 합성시키는 반응으로, 발효과정을 통해 소화, 흡수가 용이해지며, 약성을 강화시키고 새로운 약효를 얻을 수 있는 장점이 있다<sup>17</sup>. 최근 한의학계에서도 약효성분의 체내 흡수율 및 생체 이용률을 강화시키는 발효 한약에 대한 관심이 급증하고 있으나, 아직 발효쌍화탕에 대한 연구는 전무한 실정이다. 이에 본 연구에서는 가장 널리 사용되는 한방처방 중 하나인 쌍화탕의 효능을 강화하기 위하여 대표적인 장내 유산균인 *Lactobacillus fermentum*을 이용하여 발효하였으며, 발효쌍화탕의 효능평가 이전에 안전성을 검증하고자 한계용량을 단회 투여하는 급성독성 시험을 식품의약품안전청 고시 제 2005-60호 의약품등의 독성시험방법의 “비임상시험 관리기준”(2005년 10월 25일)에 따라 암·수 ICR 마우스를 이용하여 실시했다.

## II. 연구대상 및 방법

### 1. 시험물질

실험에 사용한 쌍화탕의 처방 내용은 Table 1과 같으며, 백작약, 황기, 당귀, 천궁, 대추는 영천현대약업사(경북 영천시 완산동 925-15)에서, 숙지황은 진영(경북 영천시 대전동 596-1)에서, 계피는 풍산제약(경북 안동시 수하동 311-1)에서, 감초는 류수(경북 영천시 금노동 377-26)에서, 생강은 농협에서 각각 생산자 및 재배지역이 명확한 한약재를

구입하였다.

처방구성에 따른 각 한약재들은 중량의 10배에 달하는 생수(화이트, 경남 산청군 삼장면 덕교리 800)에 1시간동안 침적시킨 다음 180분간 전탕추출법(한국, 경서추출기 cosmos-660)에 의한 시험물질 추출을 실시하였다. 시험물질의 발효는 한국식품연구원(Korea Food Research Institute: KFRI) 식품미생물 유전자은행에서 분양받은 *Lactobacillus fermentum* (KFRI 164, ATCC 14931, NRRL B-4524)을 1%(v/v)로 하여 접종 한 후, 37°C의 항온실에서 48시간동안 통기배양하여 액체 발효를 실시하였으며, 동결건조기(한국, 일신 FD5512)를 사용하여 분말 형태로 조제하였다(수율 : 29.77%).

Table 1. The Prescription of *Ssanghwa-tang*

Herb	Scientific Name	Dose(g)
白芍藥	<i>Paeoniae Radix Alba</i>	468.5
熟地黃	<i>Rehmanniae Radix Preparat</i>	187.5
黃芪	<i>Astragali Radix</i>	187.5
當歸	<i>Angelicae Gigantis Radix</i>	187.5
川芎	<i>Cnidii Rhizoma</i>	187.5
桂皮	<i>Cinnamomi Cortex</i>	140.5
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	140.5
生薑	<i>Zingiberis Rhizoma Recens</i>	74.5
大棗	<i>Zizyphi Fructus</i>	100.0
Total weight		1674.0

### 2. 실험동물 및 사육환경

실험구역은 한국한의학연구원 동물실험실에서 실시하였으며, 암·수 ICR 마우스(오리엔트 바이오, 경기도 성남시 중원구 상대원동 143-1) 4주령을 사용하였다. 동물입수 시, 외관을 육안으로 검사한 후, 일주일간 시험을 실시하는 동물실에서 순화시키고 그 중 건강한 동물을 골라 실험에 사용하였다. 순화 기간 중, 일반 임상증상을 관찰하여 건강한 동물을 암·수 35마리씩 선정하여 체중범위에 따른 무작위법에 의하여 군 분리를 실시한 후, 본 실험에 사용하였다. 본 실험은 실험동물윤

리위원회 심의를 거쳤으며(승인번호: 09-101(♂), 09-102(♀)), 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(PMI nutrition, USA)와 물은 자유 섭취 조건으로 하였다.

### 3. 실험군 및 한약재투여

5주령 마우스에 대한 급성 경구독성을 평가하기 위하여 쌍화탕 및 발효쌍화탕의 투여 용량은 경구 투여 한계용량 5000 mg/kg를 기준으로 하여 공비

0.5로 각각 3개 군을 설정하였으며, 대조군을 포함하여 암·수 ICR 마우스를 각각 7개의 용량군으로 나누었다(Table 2). 본 연구에서는 대조군과 비교하여 시험물질 투여로 인한 급성독성 여부를 관찰하였고, 쌍화탕과 발효쌍화탕을 투여한 시험물질 투여군 간의 체중 및 임상증상 등을 비교함으로써, 쌍화탕의 발효로 인한 급성독성 여부를 관찰하였다. 투여 경로는 한방 임상에서 가장 널리 이용되고 있는 경구투여법을 이용하였으며, 각 용량군의 한약재는 투여 직전에 3차 증류수에 희석하여 실험에 공시하였으며 동물을 하룻밤 절식시킨 후 배부 피부 고정법으로 고정하고 경구투여용 금속제 존테와 주사관을 이용하여 강제 경구 투여 하였다.

Table 2. Experimental Groups

Group	Animal Number	Number of Animal	Sex	Volume(ml/kg)	Dose (mg/kg/day)
CON*	1~5	5	Male	10	0
SWT <sup>†</sup> <sub>1</sub>	6~10	5	Male	10	1250
SWT <sub>2</sub>	11~15	5	Male	10	2500
SWT <sub>3</sub>	16~20	5	Male	10	5000
SFT <sup>‡</sup> <sub>1</sub>	21~25	5	Male	10	1250
SFT <sub>2</sub>	26~30	5	Male	10	2500
SFT <sub>3</sub>	31~35	5	Male	10	5000
CON	36~40	5	Female	10	0
SWT <sub>1</sub>	41~45	5	Female	10	1250
SWT <sub>2</sub>	46~50	5	Female	10	2500
SWT <sub>3</sub>	51~55	5	Female	10	5000
SFT <sub>1</sub>	56~60	5	Female	10	1250
SFT <sub>2</sub>	61~65	5	Female	10	2500
SFT <sub>3</sub>	66~70	5	Female	10	5000

\* : Control group

† : *Ssanghwa-tang* Extract Treatment group

‡ : Fermented *Ssanghwa-tang* Extract Treatment group.

### 4. 임상증상 및 부검

임상 증상은 투여 직후부터 6시간 동안 매시간 관찰하였으며, 그 후 14일(1일 1회) 동안 일반증상 관찰법에 의하여 관찰하였다<sup>18</sup>. 모든 동물에 대하여 투여 전과 투여 후 1, 3, 7, 14일에 체중변화를 측정

하였으며 실험 종료 후, CO<sub>2</sub> gas로 마취하여 후대 정맥을 통한 방혈을 실시한 후, 모든 장기에 대한 육안적 병변을 관찰하였다.

### 5. 통계학적 방법

실험결과는 SPSS package program(version 12.0)을 이용하여 평균과 표준편차를 구하였으며 각 군의 평균치간의 차이에 대한 유의성은 one-way ANOVA (analysis of variance)와 Duncan's multiple comparison test에 의하여  $p < 0.05$  수준에서 검증하였다.

### III. 결 과

#### 1. 치사율 및 LD<sub>50</sub>

Table 3과 같이 1250, 2500, 5000 mg/kg 용량의 쌍화탕 및 발효쌍화탕 추출물을 경구로 단회 투여한 시험물질 투여군과 3차 증류수를 단회 경구 투여한 대조군의 암·수 ICR 마우스를 14일 동안 관찰한 결과 사망동물은 관찰되지 않았다.

따라서 본 실험의 경우 한계용량(5000 mg/kg/day)까지 경구 투여하여도 사망을 관찰할 수 없어 LD<sub>50</sub> 값은 산출되지 않았다.

#### 2. 임상 증상

Table 4와 같이 1250, 2500, 5000 mg/kg 용량의 쌍화탕 및 발효쌍화탕 추출물을 경구로 단회 투여한 시험물질 투여군과 대조군의 암·수 ICR 마우스를 14일 동안 관찰한 결과 보행장애, 행동이상, 웅크림, 설사, 부종, 호흡축박, 몸단장, 튀어오름, 유루, 무기력증, 구토, 비루, 마비, 유연 등 시험 물질 투여와 관련된 어떠한 임상증상의 이상소견도 관찰되지 않았다.

Table 3. Mortality of Male and Female ICR Mice Treated with *Ssanghwa-tang* and Fermented *Ssanghwa-tang* Extracts

Sex	Group	Days after treatment														LD <sub>50</sub> (mg/kg)	
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		14
Male	CON	0/5*	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	>5000 mg/kg
	SWT <sub>1</sub>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
	SWT <sub>2</sub>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
	SWT <sub>3</sub>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
	SFT <sub>1</sub>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
	SFT <sub>2</sub>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
	SFT <sub>3</sub>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
Female	CON	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	>5000 mg/kg
	SWT <sub>1</sub>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
	SWT <sub>2</sub>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
	SWT <sub>3</sub>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
	SFT <sub>1</sub>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
	SFT <sub>2</sub>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
	SFT <sub>3</sub>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	

CON; Control group, SWT<sub>1</sub>; Extraction of *Ssanghwa-tang* 1250 mg/kg(day) Medication Group, SWT<sub>2</sub>; Extraction of *Ssanghwa-tang* 2500 mg/kg(day) Medication Group, SWT<sub>3</sub>; Extraction of *Ssanghwa-tang* 5000 mg/kg(day) Medication Group, SFT<sub>1</sub>; Extraction of Ferment *Ssanghwa-tang* 1250 mg/kg(day) Medication Group, SFT<sub>2</sub>; Extraction of Ferment *Ssanghwa-tang* 2500 mg/kg(day) Medication Group, SFT<sub>3</sub>; Extraction of Ferment *Ssanghwa-tang* 5000 mg/kg(day) Medication Group.

\* : Values are expressed as No. Dead/No. animal.

Table 4. Clinical Signs of Male and Female ICR Mice Treated with *Ssanghwa-tang* and Fermented *Ssanghwa-tang* Extracts

Variable	Sex		Male						Female						
	Group	CON	SWT <sub>1</sub>	SWT <sub>2</sub>	SWT <sub>3</sub>	SFT <sub>1</sub>	SFT <sub>2</sub>	SFT <sub>3</sub>	CON	SWT <sub>1</sub>	SWT <sub>2</sub>	SWT <sub>3</sub>	SFT <sub>1</sub>	SFT <sub>2</sub>	SFT <sub>3</sub>
	No. of animal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Ataxia		0/5*	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5*	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Bizarre Behavior		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Crouching		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Diarrhea		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Edema		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Gasping		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Grooming		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Jumping		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Lacrimation		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Lethargy		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Nausea		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Nasal Discharge		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Paralysis		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Salivation		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

CON; Control group, SWT<sub>1</sub>; Extraction of *Ssanghwa-tang* 1250 mg/kg(day) Medication Group, SWT<sub>2</sub>; Extraction of *Ssanghwa-tang* 2500 mg/kg(day) Medication Group, SWT<sub>3</sub>; Extraction of *Ssanghwa-tang* 5000 mg/kg(day) Medication Group, SFT<sub>1</sub>; Extraction of Ferment *Ssanghwa-tang* 1250 mg/kg(day) Medication Group, SFT<sub>2</sub>; Extraction of Ferment *Ssanghwa-tang* 2500 mg/kg(day) Medication Group, SFT<sub>3</sub>; Extraction of Ferment *Ssanghwa-tang* 5000 mg/kg(day) Medication Group.

\* : Values are expressed as No. abnormal/No. animal.

### 3. 체중 변화

1250, 2500, 5000 mg/kg 용량의 쌍화탕 및 발효쌍화탕 추출물을 경구로 단회 투여한 시험물질 투여군 및 대조군의 체중 변화를 관찰한 결과는 Table 5와 같다. 경구 투여 후 시험물질 투여군과 대조군 모두 개시체중에 비하여 체중이 증가하였으며, 투여 전, 투여 후 1, 3, 7, 14일 모두 대조군과 쌍화탕 및 발효쌍화탕 추출물 투여군 간의 유의적인 체중 변화의 차이는 관찰할 수 없었으며, 쌍화탕 추출물 투여군과 발효쌍화탕추출물 투여군 간의 유의적인

체중변화 차이 또한 관찰할 수 없었다.

### 4. 부검 소견

실험 종료 시, 모든 실험동물을 부검하여 주요 내부 장기의 육안적 소견을 관찰한 결과 Table 6과 같이 1250, 2500, 5000 mg/kg 용량의 쌍화탕 및 발효쌍화탕 추출물 투여군과 대조군 모두에서 심장, 폐, 흉선, 간, 신장, 부신, 비장, 위, 대장 맹장 등의 주요 내부 장기에 대한 외관상의 어떠한 이상 병변도 발견되지 않았다.

Table 5. Means of Body Weights of Male and Female ICR Mice Treated with *Ssanghwa-tang* and Fermented *Ssanghwa-tang* Extracts

Sex	Group	Body Weights (g)				
		Days after treatment				
		0	1	3	7	14
Male	CON	26.77±2.55	29.41±1.80	31.19±2.23	33.43±2.43	35.27±2.62
	SWT <sub>1</sub>	27.57±2.49	30.22±2.84	32.11±2.89	34.93±3.65	38.03±3.98
	SWT <sub>2</sub>	26.98±1.62	30.00±1.21	31.37±1.33	33.72±1.77	36.08±2.45
	SWT <sub>3</sub>	27.70±1.50	30.34±1.75	31.79±1.75	34.28±2.56	36.31±3.12
	SFT <sub>1</sub>	27.33±1.65	30.92±2.13	32.21±2.19	34.93±2.25	37.72±2.66
	SFT <sub>2</sub>	27.20±1.71	29.56±2.21	30.79±2.81	32.92±2.92	35.06±3.46
	SFT <sub>3</sub>	26.88±1.93	30.09±1.74	31.44±2.10	33.52±2.91	35.88±2.46
Female	CON	22.87±1.09	24.91±1.09	25.82±1.18	26.59±1.66	28.50±1.99
	SWT <sub>1</sub>	23.75±0.25	25.57±0.45	26.08±1.02	27.52±1.66	28.72±0.89
	SWT <sub>2</sub>	22.87±1.25	25.53±1.47	25.21±1.18	26.70±1.20	28.45±2.65
	SWT <sub>3</sub>	23.38±0.61	25.29±0.88	26.17±0.39	27.26±1.20	28.64±0.99
	SFT <sub>1</sub>	23.11±0.88	24.58±0.83	25.47±1.25	26.33±1.13	27.69±1.62
	SFT <sub>2</sub>	22.97±0.96	25.20±0.86	26.13±1.35	26.84±1.19	28.31±1.71
	SFT <sub>3</sub>	23.57±1.29	25.02±1.14	26.19±1.49	27.15±1.24	28.17±1.00

The data are presented as mean±SD  
 CON; Control group, SWT<sub>1</sub>; Extraction of *Ssanghwa-tang* 1250 mg/kg(day) Medication Group, SWT<sub>2</sub>; Extraction of *Ssanghwa-tang* 2500 mg/kg(day) Medication Group, SWT<sub>3</sub>; Extraction of *Ssanghwa-tang* 5000 mg/kg(day) Medication Group, SFT<sub>1</sub>; Extraction of Ferment *Ssanghwa-tang* 1250 mg/kg(day) Medication Group, SFT<sub>2</sub>; Extraction of Ferment *Ssanghwa-tang* 2500 mg/kg(day) Medication Group, SFT<sub>3</sub>; Extraction of Ferment *Ssanghwa-tang* 5000 mg/kg(day) Medication Group.

Table 6. Autopsy Finding of Male and Female ICR Mice Orally Treated with *Ssanghwa-tang* and Fermented *Ssanghwa-tang* Extracts

Variable	Sex	Male							Female						
	Group	CON	SWT <sub>1</sub>	SWT <sub>2</sub>	SWT <sub>3</sub>	SFT <sub>1</sub>	SFT <sub>2</sub>	SFT <sub>3</sub>	CON	SWT <sub>1</sub>	SWT <sub>2</sub>	SWT <sub>3</sub>	SFT <sub>1</sub>	SFT <sub>2</sub>	SFT <sub>3</sub>
	Dose(mg/kg)	0	1250	2500	5000	1250	2500	5000	0	1250	2500	5000	1250	2500	5000
	No. of animal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Heart		0/5*	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5*	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Lung		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Thymus		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Liver		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Spleen		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Kidney		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Adrenal gland		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Intestines		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

CON; Control group, SWT<sub>1</sub>; Extraction of *Ssanghwa-tang* 1250 mg/kg(day) Medication Group, SWT<sub>2</sub>; Extraction of *Ssanghwa-tang* 2500 mg/kg(day) Medication Group, SWT<sub>3</sub>; Extraction of *Ssanghwa-tang* 5000 mg/kg(day) Medication Group, SFT<sub>1</sub>; Extraction of Ferment *Ssanghwa-tang* 1250 mg/kg(day) Medication Group, SFT<sub>2</sub>; Extraction of Ferment *Ssanghwa-tang* 2500 mg/kg(day) Medication Group, SFT<sub>3</sub>; Extraction of Ferment *Ssanghwa-tang* 5000 mg/kg(day) Medication Group.

\* : Values are expressed as No. abnormal/No. animal.

#### IV. 고 찰

쌍화탕은 음양의 기운을 조화시킨다는 뜻을 가진 한방처방으로 현재 감기 몸살을 풀어주는 처방으로 흔히 알려져 있다. 본 연구에서는 약리성분을 강화하기 위하여 유산균을 이용하여 발효쌍화탕을 제조하였으며, 그 안전성에 대한 자료를 마련하기 위하여 실험동물에 대한 급성 독성실험을 실시하였다. 시험물질인 쌍화탕의 임상적용 경로가 경구이므로, 경구 투여용 주사기를 이용하여 단회 경구 투여를 수행하였으며, 투여용량은 단회 경구투여 최고용량인 5000 mg/kg<sup>19</sup>을 농도로 설정하였다. 즉, 쌍화탕 및 발효쌍화탕 추출물은 암·수 ICR 마우스에 0(control), 1250, 2500, 5000 mg/kg 용량으로 단회 경구투여 하였고, 이후 14일 간 사망율, 체중, 임상증상 및 부검 후 내부 장기의 이상 병변 유무에 대한 육안적 소견을 관찰하였다. 쌍화탕 및 발효쌍화탕 추출물에 대한 급성독성 시험을 실시한 결과 0, 1250, 2500, 5000 mg/kg 용량으로 투여한 모든 암·수 ICR 마우스에 대하여 사망이 관찰되지 않았고, 이로 인하여 LD<sub>50</sub>은 산출 할 수 없었다. 또한 시험기간 동안 각 농도의 쌍화탕 및 발효쌍화탕 추출물을 투여한 시험물질 투여군과 대조군에서 경구 투여 후 1, 3, 7, 14일의 체중에서 유의한 차이가 나타나지 않았고, 전 시험기간 동안 특이한 임상증상이 나타나지 않았으며, 부검소견에서도 내부 장기에 대한 어떠한 육안적 이상병변도 관찰되지 않았다. 본 실험에서는 단회투여 독성시험의 경우, 육안적 이상소견이 관찰된 장기 및 조직에 대하여 병리조직학적 검사가 포함되어야 한다는 “의약품등의 독성시험기준(식품의약품안전청고시 제 2005-60호, 2005. 10.21)”에 따라 모든 실험동물에서 이상소견이 관찰되지 않았기에 조직검사는 시행하지 않았으나, 단회경구투여 독성시험의 저독성 기준인 2000 mg/kg을 훨씬 상회하는 5000 mg/kg 용량에서 실험동물에 독성이 나타나지 않았기에 쌍화탕 및 발효쌍화탕은 급성독성이 없는 안전한 물질로 생각된다.

다. 이와 같은 결과는 이전에 실시된 쌍화탕의 급성독성 실험결과<sup>20</sup>와 같으며, 암·수 ICR 마우스에 있어 쌍화탕 및 발효쌍화탕의 LD<sub>50</sub>은 5000 mg/kg을 상회할 것으로 생각되어 발효로 인한 급성독성이 발생하지 않는 것으로 사료되나, 추후 실험적 연구를 통하여 포괄적인 연구가 필요할 것이다.

#### V. 결 론

본 연구에서는 발효쌍화탕의 급성독성을 실험적으로 평가하고자 ICR 마우스에 시험물질을 투여한 후 임상증상 및 부검소견, 치사율과 체중변화 등을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 시험기간 중 모든 실험동물에서 사망동물이 관찰되지 않아, LD<sub>50</sub> 값은 산출되지 않았다.
2. 시험물질 쌍화탕 및 발효쌍화탕 추출물 투여에 의한 어떠한 독성증상도 관찰되지 않았다.
3. 쌍화탕 및 발효쌍화탕 추출물 투여로 인한 체중 변화 역시 관찰되지 않았다.
4. 실험 종료 시, 모든 동물의 장기에 대하여 육안적 병변을 관찰하였으나 이상 병변은 관찰되지 않았다

이상의 결과로 보아 발효쌍화탕은 실험동물에 대하여 급성 독성이 없는 한의약물로서 그 효능규명을 통한 활용이 기대된다.

#### 감사의 글

이 연구는 교육과학기술부 지원 한국한의학연구원 기관고유사업 K09040의 지원을 받아 수행되었음.

#### 참고문헌

1. 허준. 동의보감. 서울: 남산당; 1976, p. 447.

2. 방약합편. 황도연. 서울: 송원문화사; 1978, p. 69.
3. 한대회, 이철완. 쌍화탕 · 팔물탕 · 육미지황탕 및 보중익기탕 전탕액의 운동부하조건에 따른 근육 피로회복. 대한한의학회지. 1975;9:185-202.
4. 박원경, 박순달. 쌍화탕이 백서의 운동부하후 항피로와 Monoamine 함량 변화에 미치는 영향. 대구한의대학교 제한동의학술원 논문집. 1995; 1(1):x130-45.
5. 조태영, 심창구, 이민화, 김신근. 쌍화탕이 슬포 브로모프탈레인의 간클리어란스에 미치는 영향. 약제학회지. 1987;17(2):89-93.
6. 김일혁, 황규진. 쌍화탕의 항염증작용에 관한 연구. 생약학회지. 1981;12(3):131-5.
7. 정지창, 박대규. 쌍화탕의 중추억제 및 항염증작용에 관한 연구. 약제학회지. 1986;16(1):24-30.
8. 한대석, 이형규, 조희재. 쌍화탕의 진통 및 항경련 효과에 관한 연구. 생약학회지. 1983;14(2):60-3.
9. 김용복, 권강범, 박준수, 박관하, 김복량, 이호섭 등. 구기쌍화탕 전탕액이 웅성 백서의 성행동 및 성호르몬에 미치는 영향. 대한동의병리학회지. 1999;13(1):152-7.
10. 이혁, 임형호. 난소적출 흰쥐의 골밀도 및 골대사에 쌍화탕가득용이 미치는 영향. 한방재활의학과학회지. 2003;13(2):45-67.
11. 윤정훈, 김남권, 임규상, 노석선, 황충연. In vivo 와 In vitro 실험에서 가미쌍화탕 및 구성한약재가 마우스의 모발 성장에 미치는 실험적 연구. 동의생리병리학회지. 2004;18(2):561-70.
12. 김동현. 성분대사연구. 최신고려인삼연구. 2007; 1:71-88.
13. 김동현. 한방미생물학. 서울: 효일; 2002, p. 175-84.
14. Bae EA, Han MJ, Kim EJ, Kim DH. Transformation of ginseng saponins to ginsenoside Rh2 by acids and human intestinal bacteria and biological activities of their transformants. Arch Pharm Res. 2004;27:61-7.
15. 박성진, 성동호, 박동식, 김승섭, 고정유, 안주희 등. 발효더덕의 화학성분. 한국식품영양학회지. 2009;38(3):396-400.
16. 함성호, 임병락, 유가화, 가선오, 박병현. 발효에 의한 오가피의 항당뇨 활성 촉진. 2008;22(2): 340-5.
17. 서성숙, 정승기. 발효 금은화의 인플루엔자 바이러스 A형에 대한 저해효과. 대한한방내과학회지. 2009;30(3):465-80.
18. Hayes AW. Hayes Toxicology. New York: Raven press; 1984, p. 17-9.
19. 조수인, 김형우, 이근진. 동백 발효 추출물 단기 투여의 활성에 대한 연구. 대한본초학회지. 2006 ;21(2):55-62.
20. 마진열, 박대훈, 박경수, 도경탁, 신현규. 쌍화탕 급성독성에 대한 안전성 연구. 한국한의학회지. 2000;6(1):117-22.