

太陰調胃湯 추출액이 ICR mouse에서의 경구 투여 급성독성에 미치는 영향

마진열 · 황대선* · 서창섭* · 이시우** · 김종열** · 신현규*

한국한의학연구원 한의융합연구본부

*한국한의학연구원 표준화연구본부

**한국한의학연구원 체질의학연구본부

Abstract

Acute Toxicity Study on Taeumjowi-tang in Mice

Jin-Yeul Ma, Dae-Sun Huang*, Chang-Seob Seo*, Si-woo Lee**, Jong-Yeol Kim**, Hyeun-Kyoo Shin*

TKM Converging Research Division, Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon, 305-811, Korea

*Standard Research Division, Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon, 305-811, Korea

**Constitutional Medicine Research Division, Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon, 305-811, Korea

1. Objectives

The aim of this study is to investigate the acute toxicity and safety of Taeumjowi-tang.

2. Methods

We investigated the acute toxicity for water-extracted Taeumjowi-tang. 25 male and 25 female mice were observed for 14 days after one day oral administration of Taeumjowi-tang at the respective doses of 0(control group), 2560, 3200, 4000 and 5000 mg/kg.

3. Results

We observed survival rates, general toxicity, change of body weight and autopsy.

4. Conclusions

The data confirmed that Taeumjowi-tang is free from the toxicity and safety problems in oral route respectively. Compared with the control group, we could not find any toxic alteration in all treated groups(2560, 3200, 4000 and 5000 mg/kg). In conclusion, LD50 of Taeumjowi-tang was over 5000 mg/kg and it is very safe to mice.

Key Words: Taeumjowi-tang(Taiyintiaowei-tang), Acute toxicity, Safety, LD50

-
- 본 연구는 한국한의학연구원에서 지원하는 '표준한방처방 EBM 구축사업'에 의해 수행되었다.
 - 접수일 2009년 10월 05일; 심사일 2009년 11월 03일; 승인일 2009년 11월 29일
 - 교신저자 : 신현규
대전시 유성구 엑스포로 483
한국한의학연구원 한약EBM연구센터
Tel : +82-42-868-9464 Fax : +82-42-864-2120
E-mail : hkshin@kiom.re.kr

I. 緒論

太陰調胃湯은 李濟馬의 『東醫壽世保元』에 처음으로 소개된 처방으로 肝大肺小한 생리적 臟腑形局을 지니는 太陰人의 胃脘受寒表寒病에 쓰이는 대표적인 처방이다¹. 太陰調胃湯의 약재 구성은 薏苡仁, 乾栗, 蘿菔子, 五味子, 麥門冬, 石菖蒲, 桔梗, 麻黃의 祛濕, 祛痰하는 약이 주류를 이루고 있으며 비만의 치료에 좋은 효과가 있는 것으로 알려져 있다^{2,3}. 또한 肺의 呼散之力을 강화시켜주고 상대 장기인 肝의 吸聚力이 過旺되는 것을 억제해주는 효과가 있다⁴. 太陰調胃湯에 관한 연구로는 과체중 이동의 체중 감소 효과⁵, 절식요법 시행 후 태음인비만에 대한 연구⁶, 백서의 비만증 및 유도비만세포에 미치는 효과², 비만 백서의 leptin에 미치는 영향⁷, 항산화 효과에 의한 간세포 보호 효과⁸, 흰쥐의 간 기능 효소와 간 내 지방축적에 미치는 영향^{9,10} 등이 있다. 최근의 한의학계에서는 소비자들의 한약에 대한 신뢰를 회복시키기 위한 연구로 四君子湯, 四物湯(마침표 제거), 八物湯, 十全大補湯 등의 급성 독성¹¹⁻¹³과 아급성독성^{14,15}에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있으나 사상체질처방에 대한 독성 실험은 이루어지지 않고 있는 실정이다. 따라서 본 실험에서는 전권에 발표한 太陰人의 대표처방인 熱多寒少湯¹⁶에 이어 太陰調胃湯을 가지고 급성 독성시험에 대한 안정성을 평가하기 위한 연구를 수행하여 다음과 같은 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 試驗 方法

1. 검액의 제조

太陰調胃湯의 급성독성시험을 하기 위하여 식품의약품안전청고시 제1999-61호(1999년 12월 22일)의 ‘의약품등의 독성시험기준’을 변형하여 실시하였다. 한약처방 太陰調胃湯의 한약재는 대한약전 및 대한약전의한약(생약)규격집을 기준으로 蘿菔子(Raphani Semen), 石菖蒲(Acori Gramineri Rhizoma) 및 麻黃(Ephedrae Herba)은 (주)HMAX(Chungbuk, Korea)에서 구입하였으며, 薏苡仁(Coicis Semen), 乾栗(Castanea Semen), 五味子(Schisandrae Fructus), 麥門冬(Liriopsis Tuber) 및 桔梗(Platycodi Radix)은 (주)옴니허브(Yeongcheon, Korea)에서 구입하였다.

太陰調胃湯의 구성은 『東醫壽世保元』³을 참고하였으며 추출은 Table 1의 비율에 따라 경서기계산업의 열수추출기(COSMOS 660)로 시료의 10배수에 해당되는 물을 첨가하여 100℃에서 120분간 전탕하였다. 전탕 후 여과하여 농축기(Eyela N-11)로 농축 후 동결건조기(일신랩 PVTFD100R)를 사용하여 분말 시료를 얻었으며(수율 29.0%), 시료는 한국한의학연구원 한약EBM연구센터(Specimen No. KE-29)에 보관하였다.

2. 실험동물 및 사육환경

4주령의 ICR Mouse(오리엔트, 서울시 금천구 가산동 459-24)를 사용하였다. 3주령의 마우스를 입수하여

Table 1. Prescription of Taeumjowi-tang

Crude drugs	Crude drug ratio (%)
薏苡仁 Coicis Semen	11.25
乾栗 Castanea Semen	11.25
蘿菔子 Raphani Semen	7.5
五味子 Schisandrae Fructus	3.75
麥門冬 Liriopsis Tuber	3.75
石菖蒲 Acori Gramineri Rhizoma	3.75
桔梗 Platycodi Radix	3.75
麻黃 Ephedrae Herba	3.75

Table 2. Experimental Groups

Sex	Groups	Number of animals	No.	Volume of medication (ml/kg)	Dose (mg/kg)
Male	C	5	1~5	10	0
	T1	5	6~10	10	2560
	T2	5	11~15	10	3200
	T3	5	16~20	10	4000
	T4	5	21~25	10	5000
Female	C	5	26~30	10	0
	T1	5	31~35	10	2560
	T2	5	36~40	10	3200
	T3	5	41~45	10	4000
	T4	5	46~50	10	5000

7일간 시험동물실에서 순화하고 마우스의 체중을 측정 후 2 g 간격으로 구분하여 암·수 각각 25마리씩 건강한 동물을 선정하여 각 군에 5마리씩 균등한 체중으로 분배되도록 순위화한 체중과 난수를 이용한 무작위법으로 분배하였다. 동물의 개체식별은 피모의 색소염색법과 개체식별카드 표시법으로 실시하였다.

순화 및 실험기간 동안의 사육환경은 온도 23±3℃, 상대습도 50±10%, 조명시간 12시간(오전 8시~오후 8시), 환기횟수 10~20회/hr. 및 조도 150~300 Lux로 조정하여 일정한 사육환경을 유지하였으며 실험동물용 고형사료(삼양사료 주식회사)와 물은 자유섭취 조건으로 한국한의약연구원 실험 동물실에서 시험하였다. 또한 모든 실험 절차는 NIH 가이드라인과 실험동물보호법에 따라 수행하였다.

3. 실험 군 및 한약재 투여

4주령 마우스에 대한 단회 투여에 의한 독성을 조사하기 위하여 암·수 마우스를 각각 5개의 용량 군으로 나누었다. 투여 경로는 한방 임상에서 사용하는 경구 투여법을 사용하였으며 경구 투여 가능 최대용량인 5000 mg/kg/day을 기준으로 공비 0.8로 하여 0, 2560, 3200, 4000 및 5000 mg/kg의 용량으로 단회 경구 투여하고 14일간의 사망률, 일반증상, 체중변화 및 부검소견을 관찰하였다. (Table 2)

4. 시험물질의 투여

太陰調胃湯 추출 분말 10g 을 멸균증류수 20 ml

에 녹여 고농도(T4군)로 사용하였으며, 나머지군은 주사용 멸균 증류수를 첨가하여 차례로 희석하여 투여물질로 사용하였다. 투여방법은 피부 고정법으로 고정하고 경구 투여용 금속제 sonde와 주사관을 이용하여 투여 당일 투여당일의 측정된 체중을 기준으로 하여 각각의 군별 투여량에 맞게 투여액량을 계산하여 오전에 개체별로 1회 강제 경구 투여하였다.

5. 임상증상 및 부검

실험동물의 임상 증상관찰은 투여당일은 최종 투여 후 1시간에서 6시간까지는 매 시간마다 탈모, 설사, 다뇨증, 변, 활동성, 떨림 및 부종 등과 같은 일반증상을 관찰하였고, 투여 익일부터 14일까지는 매일 1회 일반증상의 변화, 독성증상 및 사망동물의 유무를 관찰하였다.

6. 체중측정

시험에 사용된 모든 동물에 대하여 경구 투여개시 전과 투여 후 1, 3, 7일과 부검 직전인 14일에 체중을 측정 하였다.

7. 부검소견 관찰

투여 후 14 일째에 모든 생존동물의 외관 이상 유무를 관찰하였으며, 내부 장기의 이상 유무는 Ether 마취 하에서 개복한 후에 복대동맥을 절단하여 방혈치사시킨 후 간, 신장, 폐 등의 장기 이상 유무를 육안으로 관찰하였다.

8. 통계학적 방법

모든 실험군에서 동물측정용 저울을 이용하여 체중을 측정하여 평균과 표준 편차를 구하였다. 용매 대조군과 처치군 사이의 통계학적 유의차는 ANOVA 후에 사후 분석으로 Dunnett test에 의하여 검증하였고, $p < 0.05$ 를 실험군간의 유의성 있는 차이로 판정하였다. 그리고 사망동물이 관찰되지 않아 LD50 값의 산출은 실시하지 않았다.

III. 結果

1. 사망률 및 LD50값

太陰調胃湯을 경구 투여한 후 암수 ICR 마우스를 14일 동안 관찰한 결과 사망동물과 LD50 값은 Table 3과 같다. 본 실험에서 경구 투여의 최대용량인 5000 mg/kg까지 투여하여도 ICR 마우스의 사망은 관찰되지 않았다. 따라서 본 시험에서 LD50값은 암·수 모두 5000 mg/kg 이상으로 사료된다.

Table 3. Mortality of Male and Female ICR Mice Treated Orally with Taeumjowi-tang

Sex	Dose (mg/kg)	Days after treatment					Final Mortality	LD50 (mg/kg)
		0	1	3	7	14		
Male	C Vehicle	0/5*	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	T1 2560	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	T2 3200	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	T3 4000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	T4 5000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Female	C Vehicle	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	T1 2560	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	T2 3200	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	T3 4000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	T4 5000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

*Values are expressed as number of dead animals/number of animals examined.

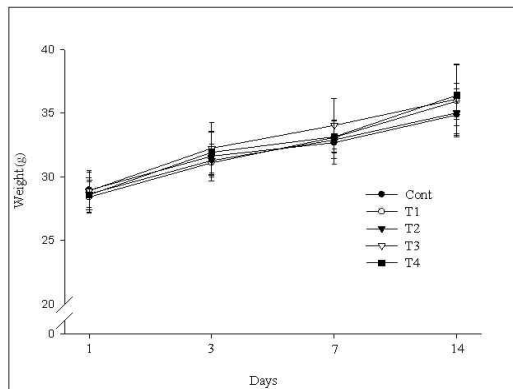


Fig. 1. Mean body weight changes of male ICR mouse orally treated with Taeumjowi-tang.

C; Control group, T1; Extraction of Taeumjowi-tang 2560mg/kg(day) medication group, T2; Extraction of Taeumjowi-tang 3200 mg/kg(day) medication group, T3; Extraction of Taeumjowi-tang 4000mg/kg(day) medication group, T4; Extraction of Taeumjowi-tang 5000mg/kg(day) medication group.

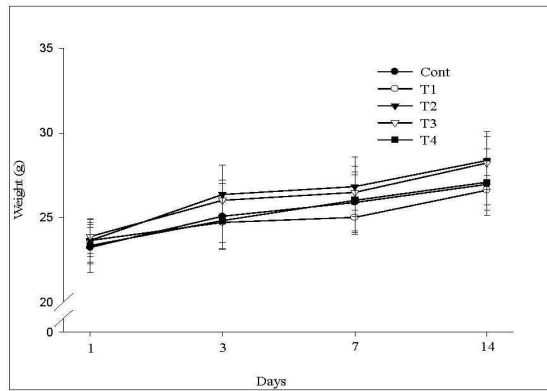


Fig. 2. Mean body weight changes of female ICR mouse orally treated with Taeumjowi-tang. C; Control group, T1; Extraction of Taeumjowi-tang 2560mg/kg(day) medication group, T2; Extraction of Taeumjowi-tang 3200 mg/kg(day) medication group, T3; Extraction of Taeumjowi-tang 4000mg/kg(day) medication group, T4; Extraction of Taeumjowi-tang 5000mg/kg(day) medication group.

Table 4. Clinical Signs in Male and Female ICR Mice Treated Orally with Taeumjowi-tang.

Sex	Dose (mg/kg)		Signs						
			Loss of Fur	Diarrhea	Polyuria	Soft Stool	Decreased Motor Activity	Tremor	Edema
Male	C	Vehicle	0/5*	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	T1	2560	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	T2	3200	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	T3	4000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	T4	5000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Female	C	Vehicle	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	T1	2560	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	T2	3200	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	T3	4000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	T4	5000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

*Values are expressed as number of animals with the sign/number of animals examined.

Table 5. Autopsy Finding in ICR Mouse Orally Treated with Taeumjowi-tang.

Sex Organs	C (Vehicle)		T1 (2560)		T2 (3200)		T3 (4000)		T4 (5000)	
	male	female	male	female	male	female	male	female	male	female
Liver	0/5*	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Heart	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
Lung	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
Stomach	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

*Values are expressed as number of animals with the abnormal/number of animals examined.

2. 체중변화

太陰調胃湯을 경구로 단회투여한 후 체중 증감의 변화는 암컷(Fig. 1)과 수컷(Fig. 2) 모두 대조군과 시료 투여군간의 차이 없이 정상적인 체중의 증가가 관찰되었다.

3. 일반증상

太陰調胃湯을 투여한 경구 투여급성독성시험의 일반증상을 관찰한 결과는 어떠한 독성 증상도 관찰되지 않았다. (Table 4)

4. 부검소견

부검소견에서는 암·수 모든 투여군에서 시험물질 투여와 관련된 이상소견이 관찰되지 않았다. (Table 5)

IV. 考察 및 結論

본 연구는 太陰調胃湯 추출 분말가루에 대한 단회 경구 투여 독성시험을 ICR 계통의 Mouse 암·수컷에 각각 0, 2560, 3200, 4000 및 5000 mg/kg 용량으로 경구 투여하고 14일간의 사망률, 일반증상, 체중의 변화 및 부검소견을 관찰하여 독성증상 발현 여부를 관찰하였다. 본 시험에서 시험물질 太陰調胃湯 투여와 관련된 어떠한 독성 증상도 관찰되지 않았으며 LD50값은 5000 mg/kg을 훨씬 상회할 것으로 사료된다. 체중변화에 있어서 모든 실험군에서 유의성 있는 차이를 나타내지 않았으며, 외관 및 부검결과 내부 장기의 육안적 이상소견도 관찰되지 않았으며, 시험동물에서 사망례가 없어서 평균치사량 산출은 불가능 하였다.

이상의 실험결과에서 太陰調胃湯 추출 분말액의 LD50은 실험동물 마우스 암·수컷에 경구 투여가 5000 mg/kg 이상으로 저독성인 안전한 물질로 작용되는 것으로 사료된다. 또한 장기적인 투여에 의한 독성 실험 뿐만 아니라 요량, 혈액학적 변화 및 조직학적 검사 등과 같은 실험도 병행되어야 할 것으로 사료된다.

V. 感謝의 글

본 연구는 한의학연구원에서 지원한 ‘표준한방처방 EBM 구축사업’에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

VI. 參考文獻

1. Lee JM. Dongeuisusebowon. Seoul:Yeogang Publishing Co. 1992:243-271.
2. Shin DJ, Kim DL, Kim SH. The effect of Taemjowee-tang and herba ephedrae on the obese mRNA and TNF- α mRNA in obesity-induced rats. J Sasang Constitut Med. 2001;13(1):79-87. (Korean)
3. Lee JM, Lim YT. Effect of taeeumuweetang herbal-acupuncture on plasma and liver lipid composition and antioxidative capacity in fat fed high fat diet. Kor J Meridian & Acupoint. 2005;22(2):151-161. (Korean)
4. Cho SW, Park SS. Effects of Taeyumjowee-tang on loss in body weight, plasma lipids and UCP I revelation of fated white rats. J Kor Oriental Med. 2004;25(2): 87-97. (Korean)
5. Yoo JH, Lee EJ, Kwak CK, Sohn EH, Koh BH, Song IB, et al. Clinical trial of herbal formula on weight loss in obese Korean children. Am J Chin Med. 2005;33(5): 713-722.
6. Song MY. The clinical study about the effect of Chungpaesagan-Tang and Taemjowui-Tang on the Taemin obesity after fasting therapy. J Oriental Rehab Med. 1998;18(1):34-56. (Korean)
7. Lee GJ, Kim KY, Jeon BH. Effects of Thaeumjowee-tang on the obesity of mouse and induced adipocyte 3T3-L1. Kor J Oriental Physiology & Pathology. 1996; 10(1):88-98. (Korean)
8. Kim MW, Park SS. Effects of Taemjowee-tang on lipid peroxidation by free radicals and oxidative damage of hepatocytes by tert-butyl hydroperoxide. J Sasang Constitut Med. 2001;13(1):51-60. (Korean)
9. Yoon JH, Ryu SH, Chung KH, Choi DG, Jeong IG, Lee HH, et al. Effects of Taeyumjowee-tang and exercise

- administration on enzymes and fat accumulation of the liver tissue in rats. *Kor Society of Exercise Physiology*. 2002;11(1):53-65. (Korean)
10. Yoon JH, Ryu SH, Chung KH, Choi DG, Jeong IG, Lee HH, et al. Effects of 12 weeks Taeyumjoweeatang administration on enzymes and fat accumulation in rat liver cells. *Kor Society of Exercise Physiology*. 2002;11(2):345-357. (Korean)
 11. Ma JY, Yu YB, Ha HK, Huang DS, Ma CJ, Shin HK. Acute toxicity study on Samul-tang(Siwu-tang) in mice. *Kor J Oriental Medical Prescription*. 2007; 15(2):113-117. (Korean)
 12. Ma JY, Huang DS, Lee NH, Ha HK, Yu YB, Shin HK. Acute toxicity study on Sipjeondaabo-tang in rats. *Kor J Oriental Physiology and Pathology*. 2008;22(5): 1192-1195. (Korean)
 13. Ma JY, Huang DS, Yu YB, Ha HK, Shin HK. Acute toxicity study on Palmul-tang(Bawu-tang) in mice. *Kor J Herbology*. 2007;22(2):13-16. (Korean)
 14. Ma JY, Yu YB, Ha HK, Huang DS, Shin HK. Subacute toxicity study of Sagunja-tang(sijunzi-tang) in SD rats. *Kor J Oriental Med*. 2007;13(3):151-156. (Korean)
 15. Ma JY, Yu YB, Ha HK, Huang DS, Shin HK. Subacute toxicity study on Palmultang(Bawu-Tang) in SD rats. *Kor J Herbology*. 2007;22(4):59-64. (Korean)
 16. Ma JY, Huang DS, Lee SW, Kim JY, Shin HK. Acute toxicity study on Yeoldahanso-tang in mice. *J Sasang Constitut Med*. 2009;21(1):247-253. (Korean)