

인삼패독산(人蔘敗毒散) 및 발효인삼패독산의 급성독성 연구

임가영 · 황윤환 · 이지혜 · 오유창 · 조원경 · 마진열*

한국한의학연구원 신한방제제연구센터

Acute Toxicity Study on *Insampaedok-san* and Fermented *Insampaedok-san*

Ga-Young Im, Yoon-Hwan Hwang, Ji-Hye Lee,
You-Chang Oh, Won-Kyung Cho & Jin-Yeul Ma

Center for Herbal Medicine Improvement Research, Korea Institute of Oriental Medicine

ABSTRACT

Objective: This study was carried out to investigate the acute toxicity and safety of *Insampaedok-san* and Fermented *Insampaedok-san*.

Methods: SPF ICR male and female mice were administered orally with *Insampaedok-san* and Fermented *Insampaedok-san*. of 0(control group), 1,250, 2,500 and 5,000 mg/kg. After single administration, we daily examined number of deaths, clinical signs, gross findings and changes of body weight for 14 days. Hematological parameters and isolated organ weights were determined after 14 days of administration.

Results: No dead animal and no significant changes of body weights were found during experimental period. In addition, no differences were found between control and all of treated groups in clinical signs, organ weights, hematology, and other findings.

Conclusions: *Insampaedok-san* and Fermented *Insampaedok-san*. did not show any toxic effects and oral LD₅₀ values of the extracts was over 5,000 mg/kg in ICR mice.

Key words : *Insampaedok-san*, Fermented *Insampaedok-san*., Acute Toxicity, LD₅₀, Safety.

· 접수: 2011년 11월 9일 · 수정접수: 2011년 12월 9일 · 채택: 2011년 12월 16일

* 교신저자: 마진열, 대전광역시 유성구 엑스포로 483 한국한의학연구원 한의융합연구본부 신한방제제연구센터
전화: 042-868-9466, 팩스: 042-868-9573, 전자우편: jyma@kiom.re.kr

I. 서론

한약은 한의학의 기본이론을 바탕으로 질병의 예방 및 치료를 위해 사용되는 천연물 또는 가공된 약제를 혼합조제한 약물이며, 발효한약은 한약의 체내흡수율과 생체이용률을 모두 극대화시켜 약리 기능을 향상시킨 새로운 한약제제이다. 발효한약은 전통적으로 임상에서 사용되어 왔으며 최근에는 건강기능식품, 신약개발의 소재 및 발효한방화장품의 소재로 수요가 증가하고 있다. 발효한약은 고부가가치 한약제품 개발의 소재로서 한약산업에 신규 수요를 창출하여 최근 한의약산업에서 주목받고 있으나 독성 및 안전성평가에 대한 연구자료는 다소 부족하다. 또한 원료 한약재는 국산 뿐만 아니라 중국, 베트남 및 인도네시아 등 여러 국가에서 수입되어 수집, 가공, 유통 등의 품질 관리 문제와 한약재 오남용으로 인하여 독성 및 안전성에 대한 연구는 매우 중요하다.

인삼패독산(人蔘敗毒散)은 傷寒類證活人書에 최초로 수록된 처방으로 대표적인 扶正解表劑이다. 인삼패독산은 風寒濕邪을 外感하여 발생하는 표증과 유행성 감기에서 나타나는 惡寒發熱, 胸膈痞滿, 無汗, 項背強痛, 鼻塞聲重, 咳嗽有痰 등에 사용하는 方劑로 활용된다.¹⁾ 처방구성은 감초(甘草), 강활(羌活), 길경(桔梗), 독활(獨活), 시호(柴胡), 인삼(人蔘), 전호(前胡), 적복령(赤茯苓), 지각(枳殼), 천궁(川芎), 박하(薄荷) 그리고 생강(生薑)으로 구성되어 있다.²⁾ 인삼패독산은 頭痛項強 壯熱惡寒에 응용하며 四時傷寒溫疫으로 寒熱, 身體疼痛 및 風濕眩暈을 치료하는데 복용한다고 하였다.³⁾ 또한 진통과 해열작용, 신체의 면역능 강화 및 알러지로 인한 염증증상 완화에 대한 효과가 실험적 연구를 통하여 보고되었다.⁴⁾

한약 및 생약 복용은 급성독성의 많은 원인

을 차지하고 있다. 한약의 경우 다양한 약제가 섞여 있는 경우가 대부분으로 한약에 의한 독성간염의 경우 더욱 임상경과를 예측하기 어렵다.⁵⁾ 급성독성은 생체에 대한 독성영향을 실험하는 일반 독성실험의 한 종류로서 단회투여에 의해 발생하는 체중, 임상증상, 사망률, 반수치사량, 소화관의 부검소견 및 혈중변화 등의 독성 증상을 관찰하는 시험방법이다.⁶⁾ 인삼패독산은 임상에서 활용도가 높으며 효능 연구가 활발히 진행되고 있으나 안전성 자료의 보고는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 인삼패독산 및 발효인삼패독산의 반수치사량 및 급성독성을 확인하기 위하여 식품의약품 안전청 고시 제2009-116호에 따라 실시하여 시험물질의 급성독성영향을 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험물질

본 연구에 사용한 인삼패독산의 처방 내용은 Table 1과 같으며 전탕 추출법에 의해 열수추출하였다. 인삼패독산은 구성 한약재의 총중량의 10배(v/w)에 해당하는 생수(화이트, 경남 산청군 삼장면 덕교리 800)를 넣어 1시간 침적한 다음 115℃, 3시간 열탕 추출기(한국, 경서추출기 Cosmos-660)로 열수 추출한 후 동결건조기(한국, 일신 FD5512)로 건조하여 실험에 사용하였다. 발효 인삼패독산은 인삼패독산 열수추출액을 1M NaOH로 pH를 7.0으로 조절한 후, 멸균하여 유산균을 접종하였다. 발효 균주로 사용된 *Lactobacillus plantarum* KFRI 144를 초기 $1-5 \times 10^7$ CFU/mL로 맞춘 후 인삼패독산 열수추출액의 1%(v/v)를 접종하여 37℃에서 48시간 발효시킨 다음 동결건조기로 건조하여 실험에 사용하였다.

Table 1. The Prescription of *Insampaedok-san*

No.	Herb	Origin	Scientific Name	Dose(g)
1	감초(甘草)	중국	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	200
2	강활(羌活)	한국	<i>Osterici Radix</i>	200
3	길경(桔梗)	한국	<i>Platycodi Radix</i>	200
4	독활(獨活)	한국	<i>Araliae Continentalis Radix</i>	200
5	시호(柴胡)	한국	<i>Bupleuri Radix</i>	200
6	인삼(人蔘)	한국	<i>Ginseng Radix Alba</i>	200
7	전호(前胡)	한국	<i>Angelicae Decursivae Radix</i>	200
8	적복령(赤茯苓)	북한	<i>Poria cocos wolf</i>	200
9	지각(枳殼)	중국	<i>Aurantii Fructus Immaturus</i>	200
10	천궁 (川芎)	한국	<i>Cnidii Rhizoma</i>	200
11	박하(薄荷)	한국	<i>Mentha arvensis L.</i>	74.5
12	생강(生薑)	한국	<i>Zingiber officinale Roscoe</i>	74.5
Total weight				2,149

2. 실험동물 및 사육환경

본 실험에서는 오리엔트(주)로부터 4주령의 암수 ICR마우스를 입수시켜 한국한의약연구원 동물실험실에서 실시하였다. 실험에 사용된 동물들은 입수 시 외관을 육안으로 검사한 후, 1주일간 동물실에서 순화시켰다. 순화기간 중, 일반 임상증상을 관찰하여 건강한 동물을 암·수 각 25마리씩 선정하여 체중범위에 따른 무작위법에 의하여 균분리를 실시한 후, 본 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 동물들은 인수 및 순화기간 동안 이상 증상이 관찰되지 않았다. 실험은 실험동물윤리위원회의 승인을 거쳐 이루어졌으며, 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 150~300Lx로 조정하여 일정한 사육환경 조건을 유지하였다. 그리고 실험동물용 고형사료(PMI Nutrition, USA)와 물(tap water)은 자유 섭취 조건으로 하였다.

3. 실험군 및 한약재투여

투여용량 및 방법은 식품의약품안전청의 독성시험기준⁷⁾ 및 OECD Guideline⁸⁾에 따라 5,000 mg/kg을 최고 용량으로 설정하였다. 5주령 ICR 마우스에 대한 급성독성을 평가하기 위하여 Table 2와 같이 각 주령의 마우스를 각각 4개의 용량군으로 나누었다. 본 연구에서 설정된 투여용량은 실험물질 용해 시 점도 및 실험동물에 투여 가능한 용량, 그리고 일반적으로 독성실험에서의 무독성 기준 5,000 mg/kg를 고농도로 설정하였으며, 각 용량군의 인삼패독산 및 발효인삼패독산 추출물은 투여 직전에 멸균생리식염수에 희석하여 실험에 공시하였으며 동물을 하룻밤 절식시킨 후 경배부 피부 고정법으로 고정된 뒤 경구투여용 존대와 주사관을 이용하여 위내에 직접주입하였다.

4. 임상증상 및 부검

임상증상은 식품의약품안전청의 독성시험기

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
IS [†] ₁	6~10	5	Male	10	1,250
IS ₂	11~15	5	Male	10	2,500
IS ₃	16~20	5	Male	10	5,000
FIS [‡] ₁	21~25	5	Male	10	1,250
FIS ₂	26~30	5	Male	10	2,500
FIS ₃	31~35	5	Male	10	5,000
CON	36~40	5	Female	10	0
IS ₁	41~45	5	Female	10	1,250
IS ₂	46~50	5	Female	10	2,500
IS ₃	51~55	5	Female	10	5,000
FIS ₁	56~60	5	Female	10	1,250
FIS ₂	61~65	5	Female	10	2,500
FIS ₃	66~70	5	Female	10	5,000

* : Control group

† : *Insam-paedok-san* Extract-Treated group

‡ : Fermented *Insam-paedok-san* Extract-Treated group.

준⁷⁾에 따라 투여 후 6시간 동안 시험동물의 피부, 털, 눈, 점막, 호흡기, 순환기, 자율신경계, 중추신경계, 신체 운동 활동성, 행동형태, 진정, 경련, 유연, 설사, 기면, 수면 및 혼수 등을 관찰하였다. 그 후 14일동안 1일 1회씩 일반증상 관찰법에 의하여 관찰하였다.⁹⁾ 모든 동물에 대하여 투여 전 그리고 투여 후 1, 3, 7, 및 14일째에 체중변화를 측정하였으며 실험 종료 후, Zoletil 50(Virbac S.S, France)과 Rompun(바이엘 코리아 주식회사, 경기도)으로 마취한 뒤 복부대정맥을 통하여 채혈을 수행하였다. 육안적 병변의 발현 유무에 대한 관찰은 혈액 채취 후 방혈하여 주요 내부 장기 관찰하는 것으로 이루어졌다. 채혈한 혈액은 즉시 항응고를 위하여 EDTA-2K 처리를 한 뒤, 혈구분석기(Fully automated veterinary hematology, Adivia 2120i, simens healthcare diagnostics, U.S.A)와 생화학 분석기(Automatic clinical chemistry analyzer, Erba mannheim, Erba diagnostics mannheim,

Germany)를 이용하여 혈액검사를 수행하였다.

5. 통계학적 방법

통계분석법은 SPSS Package program(Ver 12.0)을 이용하여 일원배치분산분석(one-way analysis of variance, ANOVA)을 실시하였으며 대조군과 투여군 사이의 유의성을 결정하기 위하여 Dunnet test에 의하여 사후검증을 실시하였다.

III. 결 과

1. 치사율 및 LD₅₀

인삼패독산(人蔘敗毒散) 및 발효인삼패독산 추출물을 1,250, 2,500, 5,000 mg/kg 용량으로 단회 경구투여 후 14일 동안 관찰한 결과 사

망동물은 관찰되지 않았다. 따라서 본 실험의 경우 한계용량(5,000 mg/kg/day)까지 경구 투여하여도 사망을 관찰할 수 없어 LD₅₀값은 산출되지 않았다.

2. 임상증상

인삼패독산(人蔘敗毒散) 및 발효인삼패독산 추출물을 1,250, 2,500, 5,000 mg/kg 용량으로 단회 경구투여 후 14일 동안 관찰한 결과 Table 3과 같이 보행장애, 행동이상, 웅크림, 설사, 부종, 호흡축박, 몸단장, 뛰어오름, 유루, 무기력증, 구토, 비루, 마비, 유연 등 시험 물질 투여

와 관련된 어떠한 임상증상의 이상소견도 관찰되지 않았다.

3. 체중 변화

인삼패독산(人蔘敗毒散) 및 발효인삼패독산 추출물을 1,250, 2,500, 5,000 mg/kg 용량으로 단회 경구투여 후 14일 동안 체중변화를 관찰한 결과 Table 4와 같다. 경구 투여 후 시험물질 투여군과 대조군 모두 개시체중에 비하여 체중이 증가하였으며, 투여 전, 투여 후 1, 3, 7, 및 14일 췌에서 대조군과 시험물 투여군 간의 유의적인 체중변화의 차이는 나타나지 않았다.

Table 3. Clinical signs in ICR mice treated with *Insampaedok-san* and fermented *Insampaedok-san* extracts

Variable	Sex Group No. of animal	Male							Female						
		CON*	IS ₁	IS ₂	IS ₃	FIS ₁	FIS ₂	FIS ₃	CON	IS ₁	IS ₂	IS ₃	FIS ₁	FIS ₂	FIS ₃
		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, IS₁; *Insampaedok-san* 1,250 mg/kg(day) Medication Group, IS₂; *Insampaedok-san* 2,500 mg/kg(day) Medication Group, IS₃; *Insampaedok-san* 5,000 mg/kg(day) Medication Group, FIS₁; Fermented *Insampaedok-san* 1,250 mg/kg(day) Medication Group, FIS₂; Fermented *Insampaedok-san* 2,500 mg/kg(day) Medication Group, FIS₃; Fermented *Insampaedok-san* 5,000 mg/kg(day) Medication Group Values are expressed as No. Dead/No. animal.

Table 4. Body weights of ICR mice treated with *Insam paedok-san* and fermented *Insam paedok-san* extracts

Sex	Group	Body Weights(g)				
		Days after treatment				
		0	1	3	7	14
Male	CON	28.28±1.95	30.92±2.30	32.12±2.58	34.66±2.99	36.68±3.21
	IS ₁	29.23±1.17	30.96±1.19	32.14±0.93	33.88±1.03	36.01±1.20
	IS ₂	28.19±1.89	30.38±0.95	30.97±0.96	33.30±1.15	34.69±1.65
	IS ₃	28.44±2.59	31.55±1.38	33.15±2.07	34.99±2.13	36.83±2.34
	FIS ₁	28.76±1.80	31.33±1.48	32.11±1.81	34.21±2.26	36.16±3.24
	FIS ₂	28.71±1.14	31.30±1.35	32.30±1.65	33.87±2.09	35.92±2.33
	FIS ₃	27.79±1.83	31.39±1.94	32.48±2.15	35.21±2.31	36.93±2.61
Fe-male	CON	23.02±2.07	24.37±2.48	24.66±2.38	26.20±2.88	28.07±2.76
	IS ₁	23.42±1.05	23.68±0.79	24.38±1.37	25.49±0.93	26.61±1.44
	IS ₂	23.83±1.91	24.54±1.91	25.24±2.11	26.21±2.00	26.73±2.53
	IS ₃	23.79±1.14	23.69±1.04	24.31±1.46	25.53±1.71	26.91±3.21
	FIS ₁	23.16±1.43	23.40±0.83	24.35±1.72	25.95±2.86	28.02±1.07
	FIS ₂	23.05±1.27	23.57±0.90	24.58±1.61	25.57±1.49	27.41±2.07
	FIS ₃	23.13±1.21	24.17±1.21	24.79±0.65	25.56±0.58	26.86±2.04

CON; Control group, IS₁; *Insam paedok-san* 1,250 mg/kg(day) Medication Group, IS₂; *Insam paedok-san* 2,500 mg/kg(day) Medication Group, IS₃; *Insam paedok-san* 5,000 mg/kg(day) Medication Group, FIS₁; Fermented *Insam paedok-san* 1,250mg/kg(day) Medication Group, FIS₂; Fermented *Insam paedok-san* 2,500mg/kg(day) Medication Group, FIS₃; Fermented *Insam paedok-san* 5,000 mg/kg(day) Medication Group Values are expressed as No. Dead/No. animal. The data are presented as mean ± S.E.M.

4. 장기무게 및 부검 소견

모든 실험동물을 부검하여 주요 내부 장기 의 육안적 소견을 관찰한 결과 1,250, 2,500, 5,000 mg/kg 용량의 투여군과 대조군 모두에서 심장, 폐, 흉선, 간, 신장, 부신, 비장, 위, 대장 맹장 등의 주요 내부 장기에 대한 외관상의 어떠한 이상 병변도 발견되지 않았다. 또한 주요 장기인 간, 신장, 비장, 심장 및 폐의 장기 무게를 측정된 결과 Table 5와 같이 대조군과 시험물 투여군 간의 유의적인 무게변화의 차이는 나타나지 않았다.

5. 혈액 분석 소견

인삼패독산(人蔘敗毒散) 및 발효인삼패독산 추출물을 1,250, 2,500, 5,000 mg/kg 용량으로 단회 경구투여 후 14일째 혈액을 취하여 혈액 변화를 관찰한 결과 Table 6 및 7과 같다. 암·수 ICR 마우스의 혈액변화는 대조군 및 시험물질 투여군에서 WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT, #NEUT, #LYMPH 및 #MONO가 유의성 있는 차이가 나타나지 않았다. 또한 SGOT, SGPT, Alkaline phosphatase, Lactate dehydrogenase, UREA 및 Creatinine 을 측정된 결과도 유의적인 변화는 없었다.

Table 5. Organ weights in ICR mice treated orally with *Insam paedok-san* and fermented *Insam paedok-san* extracts

Sex	Group	No. of animal	Organ(g)					
			Liver	Kidney(L)	Kidney(R)	Spleen	Heart	Lung
Male	CON	5	1.867 ±0.202	0.267 ±0.040	0.272 ±0.031	0.128 ±0.024	0.166 ±0.010	0.212 ±0.011
	IS ₁	5	1.853 ±0.026	0.281 ±0.032	0.293 ±0.028	0.124 ±0.009	0.162 ±0.031	0.195 ±0.009
	IS ₂	5	1.919 ±0.185	0.281 ±0.052	0.287 ±0.051	0.142 ±0.039	0.156 ±0.007	0.199 ±0.020
	IS ₃	5	1.868 ±0.173	0.281 ±0.012	0.277 ±0.018	0.111 ±0.017	0.161 ±0.010	0.229 ±0.028
	FIS ₁	5	1.878 ±0.240	0.291 ±0.039	0.295 ±0.039	0.116 ±0.022	0.158 ±0.014	0.243 ±0.038
	FIS ₂	5	1.917 ±0.117	0.287 ±0.016	0.288 ±0.017	0.131 ±0.019	0.170 ±0.026	0.234 ±0.027
	FIS ₃	5	1.950 ±0.239	0.288 ±0.031	0.285 ±0.030	0.175 ±0.091	0.182 ±0.024	0.212 ±0.015
	Fe- male	CON	5	1.213 ±0.166	0.163 ±0.025	0.165 ±0.012	0.121 ±0.044	0.129 ±0.013
IS ₁		5	1.274 ±0.146	0.173 ±0.013	0.178 ±0.013	0.141 ±0.031	0.123 ±0.011	0.199 ±0.008
IS ₂		5	1.333 ±0.076	0.169 ±0.014	0.175 ±0.011	0.127 ±0.022	0.128 ±0.014	0.196 ±0.036
IS ₃		5	1.322 ±0.159	0.186 ±0.012	0.182 ±0.014	0.143 ±0.036	0.132 ±0.011	0.205 ±0.006
FIS ₁		5	1.263 ±0.135	0.184 ±0.007	0.178 ±0.009	0.145 ±0.028	0.131 ±0.010	0.205 ±0.018
FIS ₂		5	1.291 ±0.094	0.171 ±0.015	0.177 ±0.012	0.125 ±0.022	0.128 ±0.014	0.202 ±0.018
FIS ₃		5	1.322 ±0.162	0.175 ±0.016	0.184 ±0.023	0.128 ±0.033	0.126 ±0.012	0.196 ±0.021

CON; Control group, IS₁; *Insam paedok-san* 1,250 mg/kg(day) Medication Group, IS₂; *Insam paedok-san* 2,500 mg/kg(day) Medication Group, IS₃; *Insam paedok-san* 5,000 mg/kg(day) Medication Group, FIS₁; Fermented *Insam paedok-san* 1,250 mg/kg(day) Medication Group, FIS₂; Fermented *Insam paedok-san* 2,500 mg/kg(day) Medication Group, FIS₃; Fermented *Insam paedok-san* 5,000 mg/kg(day) Medication Group Values are expressed as No. Dead/No. animal. The data are presented as mean ± S.E.M.

Table 6. Hematological values of ICR mice treated with *Insam paedok-san* and fermented *Insam paedok-san* extracts

Sex	Group	No. of animal	Variable											
			WBC (x1,000)	RBC (x 10 ⁶)	HGB (g/dl)	HCT (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dl)	PLT (x1,000)	#NEUT	#LYMPH	#MONO	
Male	CON	5	2.58 ±1.76	8.12 ±0.90	13.18 ±0.92	44.88 ±3.63	55.43 ±2.41	16.33 ±0.93	29.43 ±0.40	1244.75 ±78.53	0.53 ±0.35	1.86 ±1.44	0.04 ±0.02	
	IS ₁	5	3.17 ±1.31	8.02 ±0.72	13.15 ±0.83	45.28 ±3.11	56.50 ±1.37	16.43 ±0.46	29.10 ±0.49	1298.25 ±45.89	0.60 ±0.30	2.42 ±1.24	0.06 ±0.03	
	IS ₂	5	4.56 ±2.31	8.22 ±0.25	13.48 ±0.72	45.04 ±1.75	54.82 ±1.99	16.38 ±0.87	29.90 ±0.55	911.40 ±537.38	1.14 ±1.34	3.09 ±1.24	0.08 ±0.04	
	IS ₃	5	3.38 ±1.18	8.02 ±0.37	13.24 ±0.62	45.80 ±1.83	57.14 ±0.65	16.52 ±0.22	28.92 ±0.56	1237.00 ±131.80	0.72 ±0.69	2.40 ±0.88	0.10 ±0.07	
	FIS ₁	5	3.14 ±1.98	7.46 ±2.00	12.30 ±3.14	42.84 ±11.83	57.26 ±1.54	16.56 ±0.50	28.98 ±1.09	1019.60 ±569.89	0.49 ±0.16	2.50 ±1.77	0.05 ±0.04	
	FIS ₂	5	2.31 ±0.81	8.24 ±0.14	13.54 ±0.32	46.32 ±0.79	56.24 ±0.59	16.46 ±0.25	29.30 ±0.62	1316.20 ±78.63	0.40 ±0.15	1.80 ±0.67	0.04 ±0.01	
	FIS ₃	5	2.72 ±1.63	7.93 ±0.97	12.74 ±1.36	43.62 ±4.88	55.06 ±2.05	16.08 ±0.50	29.20 ±1.10	957.00 ±574.52	0.56 ±0.27	2.02 ±1.35	0.04 ±0.03	
	Fe-male	CON	5	3.48 ±1.77	8.32 ±0.33	13.44 ±0.57	46.24 ±0.81	55.62 ±1.33	16.18 ±0.40	29.08 ±0.79	1170.00 ±38.26	0.43 ±0.18	2.92 ±1.59	0.03 ±0.02
		IS ₁	5	3.33 ±1.38	8.21 ±0.48	13.46 ±1.48	46.30 ±3.67	56.32 ±1.62	16.34 ±1.05	29.04 ±1.29	1041.20 ±142.86	0.41 ±0.27	2.73 ±1.09	0.02 ±0.01
IS ₂		5	3.72 ±0.51	8.65 ±0.62	14.32 ±0.64	48.20 ±2.64	55.82 ±2.65	16.64 ±0.57	29.78 ±0.78	1158.20 ±63.57	0.39 ±0.10	3.14 ±0.43	0.03 ±0.03	
IS ₃		5	2.90 ±0.88	8.36 ±0.73	13.70 ±1.49	41.26 ±9.31	55.78 ±1.91	16.38 ±0.41	29.42 ±0.65	921.60 ±292.96	0.41 ±0.16	2.30 ±0.69	0.02 ±0.01	
FIS ₁		5	3.37 ±1.62	8.47 ±0.26	14.14 ±0.65	47.60 ±1.22	56.14 ±1.00	16.68 ±0.54	29.70 ±0.94	985.40 ±346.02	0.40 ±0.09	2.82 ±1.59	0.02 ±0.01	
FIS ₂		5	4.78 ±1.50	8.76 ±0.52	14.48 ±0.84	49.14 ±2.31	56.12 ±1.16	16.54 ±0.37	29.48 ±0.49	1140.80 ±69.75	0.59 ±0.12	4.14 ±1.62	0.02 ±0.01	
FIS ₃		5	4.64 ±1.65	8.85 ±0.40	13.45 ±1.77	49.60 ±2.99	56.05 ±1.86	15.23 ±2.24	27.18 ±3.66	1287.00 ±214.52	0.67 ±0.38	3.75 ±1.19	w0.03 ±0.01	

CON; Control group, IS₁; *Insam paedok-san* 1,250 mg/kg(day) Medication Group, IS₂; *Insam paedok-san* 2,500 mg/kg(day) Medication Group, IS₃; *Insam paedok-san* 5,000 mg/kg(day) Medication Group, FIS₁; Fermented *Insam paedok-san* 1,250mg/kg(day) Medication Group, FIS₂; Fermented *Insam paedok-san* 2,500 mg/kg(day) Medication Group, FIS₃; Fermented *Insam paedok-san* 5,000 mg/kg(day) Medication Group Values are expressed as No. Dead/No. animal. The data are presented as mean ± S.E.M.

Table 7. Serum chemistry of ICR mice treated with *Insam paedok-san* and fermented *Insam paedok-san* extracts

Sex	Group	No. of animal	Variable						
			SGOT	SGPT	Alkaline phosphatase	Lactate dehydrogenase	UREA	Creatinine	
Male	CON*	5	74.00 ±24.85	31.67 ±7.64	71.00 ±24.60	1842.00 ±289.80	21.00 ±4.76	0.20 ±0.00	
	IS ₁	5	55.00 ±7.07	32.00 ±4.47	64.00 ±18.51	1792.00 ±899.43	21.70 ±5.73	0.20 ±0.00	
	IS ₂	5	68.00 ±7.58	45.00 ±8.66	87.00 ±33.47	1863.00 ±719.00	28.90 ±3.75	0.20 ±0.00	
	IS ₃	5	67.00 ±16.05	38.00 ±10.37	96.00 ±42.78	2350.00 ±1339.85	20.10 ±4.84	0.20 ±0.00	
	FIS ₁	5	46.00 ±6.52	32.00 ±4.47	80.00 ±14.14	1142.00 ±521.39	17.50 ±2.72	0.20 ±0.00	
	FIS ₂	5	52.00 ±16.05	30.00 ±12.75	62.00 ±16.81	1223.00 ±570.30	18.10 ±5.24	0.20 ±0.00	
	FIS ₃	5	115.00 ±78.82	41.00 ±7.42	91.00 ±37.32	2969.00 ±2025.71	22.20 ±2.46	0.20 ±0.00	
	Fe- male	CON	5	54.00 ±8.94	23.00 ±2.74	127.00 ±10.37	1297.00 ±601.34	28.20 ±5.27	0.20 ±0.00
		IS ₁	5	53.00 ±14.83	24.00 ±4.18	90.00 ±11.73	1368.00 ±763.40	24.00 ±5.00	0.20 ±0.00
IS ₂		5	49.00 ±13.87	28.00 ±4.47	106.00 ±23.02	941.00 ±601.30	26.20 ±4.62	0.20 ±0.00	
IS ₃		5	55.00 ±9.35	29.00 ±6.52	94.00 ±17.10	1521.00 ±459.04	22.90 ±1.52	0.20 ±0.00	
FIS ₁		5	58.00 ±18.91	32.00 ±10.37	95.00 ±35.88	1475.00 ±379.90	21.10 ±3.65	0.20 ±0.00	
FIS ₂		5	57.00 ±19.87	26.00 ±10.25	96.00 ±11.40	1191.00 ±762.11	26.00 ±5.12	0.24 ±0.09	
FIS ₃		5	50.00 ±9.13	26.25 ±4.79	105.00 ±28.87	1037.50 ±420.49	27.13 ±2.56	0.20 ±0.00	

CON; Control group, IS₁; *Insam paedok-san* 1,250 mg/kg(day) Medication Group, IS₂; *Insam paedok-san* 2,500 mg/kg(day) Medication Group, IS₃; *Insam paedok-san* 5,000mg/kg(day) Medication Group, FIS₁; Fermented *Insam paedok-san* 1,250mg/kg(day) Medication Group, FIS₂; Fermented *Insam paedok-san* 2,500 mg/kg(day) Medication Group, FIS₃; Fermented *Insam paedok-san* 5,000mg/kg(day) Medication Group Values are expressed as No. Dead/No. animal. The data are presented as mean ± S.E.M.

IV. 고 찰

천연물을 이용한 기능성식품 및 의약치료제의 개발은 전세계적으로 증가하고 있으며, 국내에서도 천연물 유래 의약품 개발에 관심이 증가하고 있다. 또한 많은 한약 및 생약들의 효능이 검증되면서 다양한 형태로 수요가 증가하고 있다. 그러나 여러 생약제를 복합처방한 한약의 경우 성분 및 규격이 설정되어 있지 않으므로 여러물질의 혼합이 나타낼 수 있는 안전성과 독성에 대한 평가가 요구되고 있다.

발효(醱酵)는 식품에서 널리 사용되고 있는 친환경 가공기술로 한의학에서는 한약의 효능을 변화시키거나 높이는 포제법의 하나로 발효법(醱酵法)을 이용한다. 발효한약은 약리적 기능성뿐만 아니라 한약의 제형개량과 포제 방법을 향상시켜 최근 신기능 한약제품 개발분야에서 주목받고 있다. 발효한약은 효능평가 이외에 작용기전, 미생물 생육특성 및 재현성 확보 등에 대한 연구가 진행되고 있으나 안정성 및 독성에 대한 연구는 미비하다.¹⁰⁾ 인삼패독산(人蔘敗毒散)은 邪氣를 발산시키는 동시에 邪毒을 푸는 효능이 있어서 敗毒이라 명명된 것으로, 주¹¹⁾의 傷寒類證活人書에 최초로 수록된 처방으로 일명 活人敗毒散이라고도 한다. 인삼패독산(人蔘敗毒散)은 感冒風寒濕邪로 발현하는 憎寒壯熱과 頭痛項強하며 無汗한 證에 응용하는 방제로 여러 학자에 의하여 활용되었다.¹²⁻¹⁵⁾ 발효에 사용된 균주는 *Lactobacillus plantarum*으로 그람양성 간균에 통성 혐기성균이다. 자연계에서 가장 분포가 넓은 젖산균 및 프로바이오틱스로서 인삼패독산에 발효하였다.

본 연구에서는 한의학에서 활용이 높은 인삼패독산 및 발효인삼패독산의 안전성에 대한 자료를 마련하기 위하여 ICR 마우스를 이용한 급성독성실험을 실시하였다. 인삼패독산은 독성이

유발되지 않는다고 보고 되었으며 이를 한약제품에 활용하기 위하여 한약제의 구성을 표준화하여 인삼패독산을 제조하였다.²⁾ 인삼패독산과 발효시킨 신규물질인 발효인삼패독산은 모두 비교평가하였다.¹⁶⁾ 인삼패독산 및 발효인삼패독산 추출물은 단회 경구투여하였으며, 투여용량은 단회 경구투여 최고용량인 5,000 mg/kg¹⁷⁾을 고농도로 설정하였다. 암·수 ICR 마우스에 0(control), 1,250, 2,500, 5,000 mg/kg 용량으로 단회 경구투여한 후 14일 간 사망률, 체중, 임상증상 및 부검 후 내부 장기의 이상 병변 유무에 대한 육안적 소견을 관찰하였다. 인삼패독산 및 발효인삼패독산 추출물에 대한 급성독성 시험을 실시한 결과 0, 1,250, 2,500, 5,000 mg/kg 용량으로 투여한 모든 암·수 ICR 마우스에 대하여 사망이 관찰되지 않았고, 이로 인하여 LD₅₀은 산출할 수 없었다. 또한 시험기간 동안 각 농도의 시험물질 투여군과 대조군에서 경구투여 후 1, 3, 7, 14일의 체중에서 유의한 차이가 나타나지 않았고, 전 시험기간 동안 특이한 임상증상이 나타나지 않았으며, 부검조건에서도 내부 장기에 대한 어떠한 육안적 이상병변도 관찰되지 않았다. 특히 인삼패독산과 신규물질인 발효인삼패독산 모두에서 시험물질 투여로 인한 혈액학적 변화가 나타나지 않았다. 단회투여 독성시험의 경우, 육안적 이상소견이 관찰된 장기 및 조직에 대하여 병리조직학적 검사가 포함되어야 한다는 “의약품등의 독성시험 기준(식품의약품안전청고시 제2009-116호)”에 따라 모든 실험동물에서 이상소견이 관찰되지 않았기에 조직검사는 시행하지 않았다. 급성독성 분류에 의하면 경구투여 반수치사량이 kg당 500~5,000mg이면 약한 독성물질이고, 5,000~15,000mg이면 실질적인 무독성 물질이다.¹⁸⁾ 따라서 단회 투여 용량이 5,000 mg/kg에서 사망동물이 관찰되지 않고, 체중 감소 및 이상병변 발현, 부검 시 내부장기에 대한 이상소견이 관찰되지 않으면 독성이 유발되지 않는다고 보고

된다.¹⁹⁻²²⁾ 본 연구에서는 5,00 mg/kg 용량 이하의 어떠한 용량에서도 실험동물에 독성이 유발되지 않았으므로 인삼패독산과 인삼패독산을 기질로 발효시킨 신규물질인 발효인삼패독산은 급성독성이 없는 안전한 물질로 여겨지며, 암·수 ICR 마우스에 있어 인삼패독산 및 발효인삼패독산의 LD₅₀은 5,000 mg/kg을 상회할 것으로 사료된다.

V. 결론

본 연구에서는 인삼패독산(人蔘敗毒散) 및 발효인삼패독산의 급성독성 여부를 실험적으로 평가하고자 ICR 마우스에 시험물질을 투여한 후 치사율, 체중변화, 임상증상, 혈구 변화, 혈액생화학적 변화, 장기 무게 및 부검소견 등을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 시험기간 중 모든 실험동물에서 사망동물이 관찰되지 않아, LD₅₀값은 산출되지 않았다.
2. 시험물질인 인삼패독산 및 발효인삼패독산 투여에 의한 어떠한 독성증상도 관찰되지 않았다.
3. 시험물질인 인삼패독산 및 발효인삼패독산 투여로 인한 체중변화 역시 관찰되지 않았다.
4. 실험 종료 시, 모든 동물에 대하여 혈구 검사 및 주요 장기의 육안적 병변 검사 결과 및 장기 무게에서 인삼패독산 및 발효인삼패독산 투여로 인하여 비정상적인 변화는 나타나지 않았다.

이상의 결과로 보아 인삼패독산(人蔘敗毒散) 및 발효인삼패독산은 ICR 마우스에 대하여 급성 독성이 없는 한의약물로서 그 효능규명을 통한 활용이 기대된다.

감사의 글

이 연구는 교육과학기술부 지원 한국한의학연구원 기관고유사업 K11050의 지원을 받아 수행되었음.

참고문헌

1. 채육선. 중의약학회. 서울: 성보사. 1978: 694-700.
2. 보건복지가족부. 한의약 관련 법령집. 2009: 206-207.
3. Shim JY, Kim BW; A study of effects of insampaedok-san and kamiinsampaedok san on the analgesi, antipyresis and thioacetamide induced liver damage in rats and mice. KH Univ O Med J. 1984;7: 323-334.
4. 박영순. 한방의 약리해설. 서울: 아카데미서적. 2002: 1071.
5. 이원익, 박병출, 김희성, 정기옥, 윤수인, 권순길, 김혜영. 단기간의 한약 복용후 독성 간염과 함께 발생한 급성 간질성 신염 1예. 대한내과학회지. 2007; 73(1): 103-106.
6. 한국약학대학협의회 예방약학분과회, 독성학 — 생명, 환경, 생태계—. 서울: 신일북스. 2008: 251.
7. 식품의약품안전청. 의약품등의 독성시험기준 식품의약품안전청고시, 2009-116, 2009.
8. Organization for Economic Cooperation and Development(OECD). OECD Guideline for the Testing of Chemicals revised draft guideline 420. 2001.
9. Wallace HW. Principles and methods of toxicology. New York: New York press. 1984: 17-19.

10. Choi JH, Hwang SJ, Jeong SN, Lee YK, Jin MH, Park SG, Lee CK; Anti-aging Effect on Skin with 9 Repetitive Steaming and Fermenting Process Herbal Composition Extract. *Kor. J. Herbology*. 2009; 24(4): 101-106.
11. 주 평. 상한류증환인서. 홍콩: 상해운서루인행. 1907: 14-18.
12. 황도연. 의종손익. 서울: 의약사. 1976: 372-73.
13. 문기홍. 체세보감. 서울: 행림서원. 1975: 213.
14. 서대춘, 서영태. 의서삼이중. 서울: 경희대학교. 1974: 1191.
15. 오 겸. 의종금람. 서울: 대성문화사. 1983: 67-68.
16. Eum HA, Lee JH, Kim DS, Chung TH, Lee YH, Um YR, Lee JH, Ma JY. Acute toxicity study on Insampaedok-san extracts in mice. *Kor. J. Oriental Preventive Medical Society*. 2010; 14(3): 27-35.
17. Cho SI, Kim HW, Lee GJ; Biological activities of extracts fermented camellia japonica leaf and flower. *Kor. J. Herbology*. 2006; 21(2): 55-62.
18. Shin JY, Park SC, Kim KH, Bae CS, Kim SH, Shin DH, Kim JC. Acute toxicity evaluation of lemon grass(*Cymbopogon citratus*) Essential Oil in Rats. *Lab Animal Research*. 2005; 21(2): 122-128.
19. Ma JY, Huang DS, Seo CS, Lee SW, Kim JY, Shin HK. Acute toxicity study on Cheongsimyeonja-tang in mice. *J of Sasang Constitutinal Medicine*. 2010; 22(1): 59-65.
20. 이지혜, 엄영란, 심기석, 전원경, 이재훈, 마진열. 마우스를 이용한 발효쌍화당의 급성독성 실험. *대한한방내과학회지*. 2009; 30(4): 780-787.
21. Ma JY, Huang DS, Lee NH, Ha HK, Yu YB, Shin HK. Acute toxicity study on Sipjeondaebo-tang in Rats. *Kor. J. Oriental Physiology & Pathology*. 2008; 22(5): 1192-1195.
22. 이재훈, 심기석, 박화용, 전원경, 엄영란, 마진열. 마우스에서 방풍통성산의 급성독성 연구. *한방비만학회지*. 2009; 9(1): 71-78.