

## 보중익기탕 및 발효보중익기탕의 단회투여 독성에 대한 연구

이지혜, 황윤환, 광동훈, 김태수, 마진열  
한국한의학연구원

### Single Oral Dose Toxicity Test of *Bojungikgi-tang* (*Buzhongyiqi-tang*) and Fermented *Bojungikgi-tang* (*Buzhongyiqi-tang*) Extracts in Mice

Ji-hye Lee, Yoon-hwan Hwang, Dong-hoon Kwak, Tae-soo Kim, Jin-yeul Ma  
Korea Institute of Oriental Medicine

#### ABSTRACT

**Objectives** : The aim of this study was to evaluate the single oral dose toxicity and safety of *Bojungikgi-tang* (*Buzhongyiqi-tang*) and fermented *Bojungikgi-tang* (*Buzhongyiqi-tang*) extracts in male and female ICR mice.

**Methods** : In the single oral dose toxicity study, non-fermented and fermented *Bojungikgi-tang* (*Buzhongyiqi-tang*) were administered to male and female ICR mice as an oral dose of 1250, 2500 and 5000 mg/kg. Changes of body weights, general behaviors, adverse effects and mortality were determined throughout the experimental period. Hematological parameters, serum chemistry, organ weights and necropsy findings were evaluated at the end of the experiment.

**Results** : There was no mortality or sign of toxicity in the single oral dose toxicity study. There were also no significant differences in body weights, organ weights, and hematological parameters, serum chemistry values between treatment and control groups.

**Conclusions** : The results obtained in this study suggest that the 50% lethal dose of fermented *Bojungikgi-tang* (*Buzhongyiqi-tang*) in both female and male mice can be considered as well over 5,000 mg/kg, so these medicines can be safe in clinics.

**Key words** : *Bojungikgi-tang* (*Buzhongyiqi-tang*), fermentation, acute toxicity, safety, LD<sub>50</sub>

## 1. 緒論

보중익기탕은 李杲의 《脾胃論》에 수재된 처방으로 脾胃虛弱에 의한 제반 임상증상에 활용되고 있으며, 현재 과립제가 국내의 의료보험 수재 처방에 포함되어 있다<sup>1</sup>. 보중익기탕은 *in vivo* 연구, *in vitro* 연구, 증례보고 및 임상연구 등의 방법으로 다양한 효능에 대한 실험연구가 이루어졌다. 가장

중점적으로 보고된 것은 면역계에 관련된 효과로, 강 등<sup>2</sup>은 생쥐에서 분리한 골수세포에 보중익기탕 추출물 처리 시 대식세포 분화 유도 효과가 있음을 보고 하였고, 채 등<sup>3</sup>은 보중익기탕 추출물 경구 투여가 BALB/c 마우스에서 T 세포 증식 유도 효과가 있음을 보고하였으며, 이 등<sup>4</sup>은 보중익기탕에 의해 IFN- $\gamma$ 가 증가됨을 보고하여 면역증강효과가 있음을 발표하였다. 또한 강 등<sup>5</sup>은 ICR 마우스에 대한 즉시형 및 지연형 알레르기에 유의한 영향을 미침을, 김 등<sup>6</sup>은 ovalbumin으로 알레르기를 유발한 BALB/c 마우스에서 보중익기탕의 투여가 total IgE에 대한 억제작용이 있음을 보고하여 항 알레

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

르기에 대한 효능을 보고하였다. 그 밖에도 항암<sup>7</sup>, 항당뇨<sup>8</sup>, 피부손상에 대한 효과<sup>9</sup>등이 보고되었다.

한방처방은 다양한 배당체 형태의 생약성분이 함유되어 있으며 비배당화가 생리활성을 증진시키는 방법으로 알려져 있다. 비배당화 방법으로는 가수분해, 효소적 변화 그리고 미생물에 의한 비배당화등을 들 수 있는데, 특히 미생물에 의한 생물전환은 epimerization, hydration, hydroxylation과 같은 부가반응이 적은 장점이 있다<sup>10</sup>. 유산균은 자연계에 널리 존재하며 유산을 생산하는 미생물로, 카르노박테리움속, 엔테로코커스속, 락토바실러스속, 락토코커스속, 스트렙토코커스속, 비피더스속 균주등이 포함된다. 그 중 락토바실러스속 균주는 정상적으로 사람을 포함한 동물의 장관에 일정한 균총을 생성하고 유해독소 중화 및 합성차단, 영양분의 소화흡수의 증대 등 여러 유익한 생리활성을 나타내고 안전성도 우수하여 여러 연구 및 발효산업에 사용되고 있으며 동물은 물론 사람에게도 많이 투여되고 있다<sup>11-13</sup>. 본 연구에서는 한방제제의 효능을 강화시키기 위하여 *Lactobacillus fermentum*을 이용하여 보중익기탕을 발효하였다. 본 실험에 사용된 보중익기탕 및 발효 보중익기탕은 선행연구에서 liquiritigenin, isoliquiritigenin 두 성분이 발효 전에 비하여 20배가량 증가하였음을 보고하였다<sup>14</sup>. 하지만 보중익기탕 발효물은 이전에 사용례가 없는 물질로, 효능평가 이전에 안전성에 대한 검증이 반드시 필요하다. 이에 본 연구에서는 보중익기탕 발효 전후 물질의 안전성을 규명하기 위하여 단회투여

독성시험을 실시하였다. 단회투여 독성시험은 암·수 ICR 마우스를 대상으로 하였으며, 식품의약품안전청 고시 제 2009-116호 의약품 등의 독성시험방법<sup>15</sup>에 따라 실시하였다.

## II. 연구대상 및 방법

### 1. 시험물질

실험에 사용한 처방 내용은 Table 1과 같으며, 황기, 백출, 당귀, 진피, 시호는 국산을 영천현대약업사에서, 승마는 중국산을 영천현대약업사에서, 인삼은 국산을 농협중앙회에서, 감초는 중국산을 허브팜에서 각각 구입하였다.

처방구성에 따른 각 한약재들은 중량의 10배에 달하는 생수(화이트, muhak, Korea)에 1시간동안 침적시킨 다음 180분간 전탕추출법(cosmos-660, Gyeongseo extractor, Korea)에 의한 열수 추출을 실시하였다. 발효과정은 다음과 같다. 추출된 보중익기탕은 1M NaOH로 pH를 7.0으로 조정하였으며, 121 °C 1.5기압에서 15분간 가압멸균하고, 상온까지 냉각시킨 후, 유산균을 1%로(v/v)로 접종하고 37 °C의 항온배양기에서 48시간동안 통기 배양하여 발효하였다. 발효에 사용한 유산균 *Lactobacillus fermentum*은 한국식품연구원(Korea Food Research Institute: KFRI) 식품미생물 유전자은행에서 분양받았다. 시료는 동결건조기(FD5512, IlshinBioBase, Korea)를 사용하여 분말 형태로 조제하였으며, 보중익기탕과 발효 보중익기탕의 함량 수율은 각 28.43과 28.40% 이다.

Table 1. The Prescription of *Bojungikgi-tang* (*Buzhongyiqi-tang*).

No.	생약명	원산지	학명	영문 생약명	Dose (g)
1	황기(黃芪)	한국	<i>Astragalus membranaceus</i> Bunge	<i>Astragali Radix</i>	300
2	인삼(人蔘)	한국	<i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer	<i>Ginseng Radix Alba</i>	200
3	백출(白朮)	한국	<i>Atractylodes japonica</i> Koidz	<i>Atractylodis Rhizoma Alba</i>	200
4	감초(甘草)	중국	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	200
5	당귀(當歸)	한국	<i>Angelica gigas</i> Nakai	<i>Angelicae Gigantis Radix</i>	100
6	진피(陳皮)	한국	<i>Citrus unshiu</i>	<i>Aurantii Nobilis Pericarpium</i>	100
7	승마(升麻)	중국	<i>Cimicifuga heracleifolia</i> Komarov	<i>Cimicifugae Rhizoma</i>	60
8	시호(柴胡)	한국	<i>Bupleurum Falcatum</i>	<i>Bupleuri Radix</i>	60

## 2. 실험동물 및 사육환경

단회투여 독성 실험은 한국한의학연구원 동물실험실에서 실시하였으며, 암·수 ICR 마우스(Orientbio, Korea)를 사용하였다. 외관을 육안으로 검사한 후 입고하였으며, 실험 실시 전 일주일간의 순화과정을 거친 후 실험을 수행하였다. 순화 기간 중, 일반 임상증상을 관찰하여 이상증상이 관찰된 동물은 실험에서 제외시켰으며, 체중범위에 따른 무작위법에 의하여 군 분리를 실시한 후, 본 실험에 사용하였다. 본 실험은 실험동물윤리위원회의 심의를 거쳤으며, 순화 및 실험기간 동안의 사육환경은 온도  $23\pm 3$  °C, 상대습도  $50\pm 10\%$ , 환기횟수는 시간당 12~16회, 조명은 12시간 명암주기(점등 7:00, 소등 19:00), 조도는 150~300 Lx로 조정하여 일정한 사육환경 조건을 유지하였다. 그리고 실험동물용 고품사료(PMI nutrition, USA)와 물은 자유 섭취 조건으로 하였다.

## 3. 실험군 및 한약재투여

5주령 암·수 ICR 마우스에 대한 급성 경구독성을 평가하기 위하여 실험군은 대조군을 포함하여 총 7개 군을 설정하였다. 투여 용량은 OECD guide line<sup>16</sup> 및 식품의약품안전청 고시에서 2000 mg/kg 에서 사망이 나타나지 않는 물질을 무독성물질로 규정하고 있음을 바탕으로, 고용량 5000 mg/kg를 기준으로 하여 공비 0.5로 각각 5000, 2500, 1250 mg/kg, 암·수 각 3개의 용량군을 설정하였다. 본 연구에서는 대조군과 비교하여 시험물질 투여로 인한 급성독성 여부를 관찰 하였고, 보중익기탕과 발효보중익기탕을 투여한 시험물질 투여군 간의 체중 및 임상증상 등을 비교함으로써, 발효로 인한 독성물질 생성 여부를 관찰하였다. 투여 경로는 한방 임상에서 주로 적용되고 있는 경구투여법을 이용하였으며, 경구투여용 일회용 존대와 주사관을 이용하여 배부 피부 고정법으로 몸체를 고정 한 후 위내에 경구 투여 하였다. 각 용량군의 한약재는 투여 직전에 멸균생리식염수로 희석하여 실험에 사용 하였다. 실험물질에 의한 독성을 평가하

기 위하여 실험물질 투여 전 동물을 하룻밤 절식시켰으며, 투여 후 6시간 후 식이를 공급하였다.

## 4. 임상증상 및 부검

임상 증상은 투여 직후부터 6시간 동안 매시간 관찰하였으며, 그 후 14일(1일 1회) 동안 일반증상 관찰법에 의하여 동물의 행동, 자극에 대한 반응성, 각성도 및 경계성, 자세 및 보행이상 등에 대한 일반 증상을 관찰하였다<sup>17</sup>. 모든 실험동물의 체중은 모든 동물에 대하여 투여 전과 투여 후 1, 3, 7, 14일에 일정한 시간에 측정하였다. 실험동물을 희생하기 전날 밤 18시간 절식시킨 후 부검하였으며, 마취제는 Zoletil 50(Virbac S.A, France)과 Rompun 2%(Bayerkorea, Korea)을 사용하였다. 혈액 채취 및 방혈 후, 주요 내부 장기의 병변을 육안적으로 관찰하였고, 간, 심장, 신장, 폐, 비장을 적출하여 생리식염수로 3회 이상 세척 후 수분을 제거하고 무게를 측정하였다.

## 5. 혈구분석

혈액학적 검사는 WBC(white blood cell), RBC(red blood cell), HGB(hemoglobin), HCT(hematocrit), MCH(Mean Corpuscular Hemoglobin), MCV(Mean Corpuscular Volume), MCHC(Mean Corpuscular Hemoglobin Boncentration), PLT(platelet), Neut(Neutrophil), Lymph(Lymphocyte), Mono(Monocyte)를 혈구분석기 ADVIA2120i(Siemens, Germany)를 이용하여 측정하였다.

## 6. 혈액생화학적 분석

혈액 생화학적 분석은 GOT(glutamic oxaloacetic transaminase), GPT(glutamic-pyruvic transaminase), LDH(lactate dehydrogenase), ALP(alkaline phosphatase), urea, creatinine을 자동생화학분석기XL-200(MS Korea Co., Ltd, Korea)를 이용하여 측정하였다. 분석 시 사용한 시료는 부검시 복부 대정맥에서 채취한 혈액을 5000 rpm, 10분 조건에서 원심분리하여 얻은 혈청을 사용하였다.

### 7. 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 Tukey HSD에 의하여  $p < 0.05$  수준에서 검증하였다.

단회투여 독성시험 실시 기간 동안 실험동물의 사망 및 임상증상을 관찰한 결과는 Table 2, 3과 같다. 시험물질 투여 후 14일간 실험동물을 관찰한 결과, 정상대조군과 비교하여 보행장애, 행동이상, 응크림, 설사, 부종, 호흡축박, 몸단장, 뛰어오름, 유루, 무기력증, 구토, 비루, 마비, 유연 등 시험 물질 투여와 관련된 어떠한 임상증상의 이상소견도 관찰되지 않았다. 또한 고용량 5000 mg/kg을 투여한 실험동물을 포함 모든 실험군에서 사망이 관찰되지 않았으므로, LD<sub>50</sub> 값은 5000 mg/kg 이상으로 산출된다.

## III. 결 과

### 1. 임상 증상 및 LD<sub>50</sub>

Table 2. Number of Death of Male and Female ICR Mice Treated with *Bojungikgi-tang* (*Buzhongyiqi-tang*) and Fermented *Bojungikgi-tang* (*Buzhongyiqi-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	
Male	CON	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	>5000 mg/kg
	OBT <sub>1</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	OBT <sub>2</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	OBT <sub>3</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	FBT <sub>1</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	FBT <sub>2</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	FBT <sub>3</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Female	CON	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	>5000 mg/kg
	OBT <sub>1</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	OBT <sub>2</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	OBT <sub>3</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	FBT <sub>1</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	FBT <sub>2</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	FBT <sub>3</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

CON: Control Group, OBT<sub>1</sub>: Extraction of *Bojungikgi-tang* 1250 mg/kg(day) Medication Group, OBT<sub>2</sub>: Extraction of *Bojungikgi-tang* 2500 mg/kg(day) Medication Group, OBT<sub>3</sub>: Extraction of *Bojungikgi-tang* 5000 mg/kg(day) Medication Group, FBT<sub>1</sub>: Extraction of Ferment *Bojungikgi-tang* 1250 mg/kg(day) Medication Group, FBT<sub>2</sub>: Extraction of Ferment *Bojungikgi-tang* 2500 mg/kg(day) Medication Group, FBT<sub>3</sub>: Extraction of Ferment *Bojungikgi-tang* 5000 mg/kg(day) Medication Group.

\* : Values are expressed as number of death.

Table 3. Clinical Signs of Male and Female ICR Mice Treated with *Bojungikgi-tang* (*Buzhongyiqi-tang*) and Fermented *Bojungikgi-tang* (*Buzhongyiqi-tang*) Extracts.

Variable	Sex	Male						Female							
	Groups	CON	OBT <sub>1</sub>	OBT <sub>2</sub>	OBT <sub>3</sub>	FBT <sub>1</sub>	FBT <sub>2</sub>	FBT <sub>3</sub>	CON	OBT <sub>1</sub>	OBT <sub>2</sub>	OBT <sub>3</sub>	FBT <sub>1</sub>	FBT <sub>2</sub>	FBT <sub>3</sub>
	No. of animal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Ataxia		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bizarre Behavior		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Crouching		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Diarrhea		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Edema		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gaspings		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Grooming		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Jumping		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lacrimation		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lethargy		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nausea		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nasal Discharge		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Paralysis		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Salivation		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

CON: Control Group, OBT<sub>1</sub>: Extraction of *Bojungikgi-tang* 1250 mg/kg(day) Medication Group, OBT<sub>2</sub>: Extraction of *Bojungikgi-tang* 2500 mg/kg(day) Medication Group, OBT<sub>3</sub>: Extraction of *Bojungikgi-tang* 5000 mg/kg(day) Medication Group, FBT<sub>1</sub>: Extraction of Ferment *Bojungikgi-tang* 1250 mg/kg(day) Medication Group, FBT<sub>2</sub>: Extraction of Ferment *Bojungikgi-tang* 2500 mg/kg(day) Medication Group, FBT<sub>3</sub>: Extraction of Ferment *Bojungikgi-tang* 5000 mg/kg(day) Medication Group.

\* : Values are expressed as number of abnormal animals.

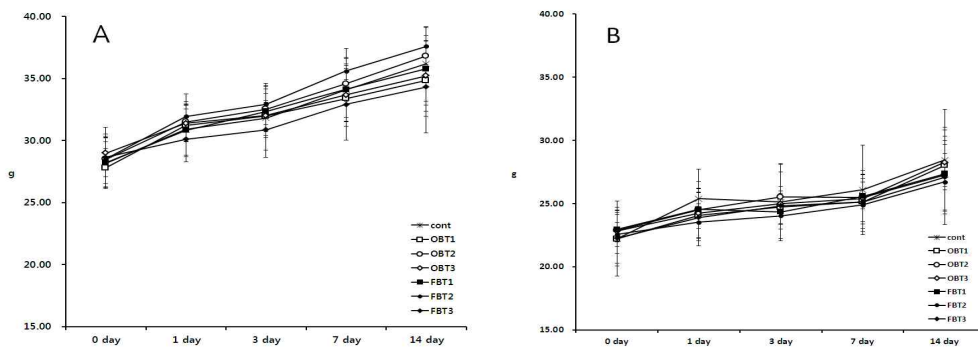


Fig. 1. Means of body weights of male (A) and female (B) ICR mice treated with *Bojungikgi-tang* (*Buzhongyiqi-tang*) and fermented *Bojungikgi-tang* (*Buzhongyiqi-tang*) extracts. The data are presented as mean ± standard deviations.

CON: Control Group, OBT<sub>1</sub>: Extraction of *Bojungikgi-tang* 1250 mg/kg(day) Medication Group, OBT<sub>2</sub>: Extraction of *Bojungikgi-tang* 2500 mg/kg(day) Medication Group, OBT<sub>3</sub>: Extraction of *Bojungikgi-tang* 5000 mg/kg(day) Medication Group, FBT<sub>1</sub>: Extraction of Ferment *Bojungikgi-tang* 1250 mg/kg(day) Medication Group, FBT<sub>2</sub>: Extraction of Ferment *Bojungikgi-tang* 2500 mg/kg(day) Medication Group, FBT<sub>3</sub>: Extraction of Ferment *Bojungikgi-tang* 5000 mg/kg(day) Medication Group.

2. 체중 변화

단회 투여 전 및 후 실험동물의 체중 변화는 Fig. 1과 같다. 시험기간 동안 시험물질 투여군과 대조군 모두 개시체중에 비하여 체중이 증가하였으며, 투여 전과 투여 후 1, 3, 7, 14일 모두 대조군과 시험군 간의 유의적인 체중변화의 차이는 관찰할 수 없었으며, 보중익기탕 발효 전·후 추출물 투여군 간의 유의적인 체중변화 차이 또한 관찰할 수 없었다.

3. 부검 소견 및 장기무게 측정

실험 종료 시, 모든 실험동물을 부검하여 주요 내부 장기의 육안적 소견을 관찰한 결과 Table 4와 같이 보중익기탕 발효 전·후 추출물 투여군 및 대조군 모두에서 심장, 폐, 흉선, 간, 신장, 부신, 비장, 위, 대장 맹장 등의 주요 내부 장기에 대한 외관상의 어떠한 이상 병변도 발견되지 않았다. 실험물질 단회 투여 14일 후 실험동물의 장기의 무게는 Table 5와 같다.

간 및 신장에서 산발적인 간 및 신장 무게의 수컷에서는 증가가 암컷에서는 감소가 관찰되었으나, 용량의존적이지 않으며, 통계적으로도 유의하지 않았다.

4. 혈구분석

혈액학적 검사를 실시한 결과는 Table 6과 같다. WBC, RBC, HGB, HCT, MCH, MCV, MCHC 그리고 PLT 항목을 측정된 결과 모든 실험군의 혈액학적 검사 결과 수치가 정상대조군과 비교하여 유의한 증가나 감소는 관찰되지 않았다.

5. 혈액 생화학적 분석

혈액생화학적 분석을 실시한 결과는 Table 7과 같다. GOT, GPT, LDH, UREA, Creatinine 항목을 측정된 결과 모든 실험군의 혈액학적 검사 결과 수치가 정상대조군과 비교하여 유의한 증가나 감소는 관찰되지 않았다.

Table 4. Autopsy Finding of Male and Female ICR Mice Orally Treated with *Bojungikgi-tang* (*Buzhongyiqi-tang*) and Fermented *Bojungikgi-tang* (*Buzhongyiqi-tang*) Extracts.

Variable	Sex	Male						Female							
	Group	CON	OBT <sub>1</sub>	OBT <sub>2</sub>	OBT <sub>3</sub>	FBT <sub>1</sub>	FBT <sub>2</sub>	FBT <sub>3</sub>	CON	OBT <sub>1</sub>	OBT <sub>2</sub>	OBT <sub>3</sub>	FBT <sub>1</sub>	FBT <sub>2</sub>	FBT <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	5
Heart		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lung		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Thymus		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Liver		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Spleen		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kidney		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Adrenal gland		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Intestines		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

CON: Control Group, OBT<sub>1</sub>: Extraction of *Bojungikgi-tang*(*Buzhongyiqi-tang*) 1250 mg/kg(day) Medication Group, OBT<sub>2</sub>: Extraction of *Bojungikgi-tang*(*Buzhongyiqi-tang*) 2500 mg/kg(day) Medication Group, OBT<sub>3</sub>: Extraction of *Bojungikgi-tang* 5000 mg/kg(day) Medication Group, FBT<sub>1</sub>: Extraction of Ferment *Bojungikgi-tang* 1250 mg/kg(day) Medication Group, FBT<sub>2</sub>: Extraction of Ferment *Bojungikgi-tang* 2500 mg/kg(day) Medication Group, FBT<sub>3</sub>: Extraction of Ferment *Bojungikgi-tang* 5000 mg/kg(day) Medication Group.

\* : Values are expressed as number of abnormal animals.

Table 5. Organ Weights of Male and Female ICR Mice Orally Treated with *Bojungikgi-tang* (*Buzhongyiqi-tang*) and Fermented *Bojungikgi-tang* (*Buzhongyiqi-tang*) Extracts.

Sex	Groups	No. of animal	Organ weight (g)					
			Liver	Kidney-L	Kidney-R	Spleen	Heart	Lung
Male	CON	5	1.673±0.095	0.278±0.043	0.276±0.045	0.110±0.021	0.165±0.017	0.219±0.023
	OBT <sub>1</sub>	5	1.709±0.180 <sup>NS</sup>	0.305±0.050 <sup>NS</sup>	0.296±0.051 <sup>NS</sup>	0.117±0.020 <sup>NS</sup>	0.159±0.014 <sup>NS</sup>	0.209±0.016 <sup>NS</sup>
	OBT <sub>2</sub>	5	1.633±0.096 <sup>NS</sup>	0.288±0.040 <sup>NS</sup>	0.284±0.036 <sup>NS</sup>	0.129±0.010 <sup>NS</sup>	0.156±0.010 <sup>NS</sup>	0.235±0.021 <sup>NS</sup>
	OBT <sub>3</sub>	5	1.544±0.275 <sup>NS</sup>	0.290±0.045 <sup>NS</sup>	0.293±0.030 <sup>NS</sup>	0.123±0.021 <sup>NS</sup>	0.160±0.011 <sup>NS</sup>	0.200±0.020 <sup>NS</sup>
	FBT <sub>1</sub>	5	1.694±0.320 <sup>NS</sup>	0.310±0.040 <sup>NS</sup>	0.310±0.034 <sup>NS</sup>	0.105±0.023 <sup>NS</sup>	0.158±0.013 <sup>NS</sup>	0.215±0.022 <sup>NS</sup>
	FBT <sub>2</sub>	5	1.810±0.095 <sup>NS</sup>	0.275±0.020 <sup>NS</sup>	0.287±0.026 <sup>NS</sup>	0.118±0.021 <sup>NS</sup>	0.162±0.015 <sup>NS</sup>	0.216±0.024 <sup>NS</sup>
	FBT <sub>3</sub>	5	1.620±0.118 <sup>NS</sup>	0.262±0.023 <sup>NS</sup>	0.266±0.019 <sup>NS</sup>	0.102±0.008 <sup>NS</sup>	0.152±0.009 <sup>NS</sup>	0.217±0.014 <sup>NS</sup>
Female	CON	5	1.632±0.263	0.176±0.025	0.181±0.023	0.124±0.029	0.135±0.013	0.194±0.021
	OBT <sub>1</sub>	5	1.488±0.078 <sup>NS</sup>	0.175±0.011 <sup>NS</sup>	0.164±0.010 <sup>NS</sup>	0.134±0.017 <sup>NS</sup>	0.130±0.009 <sup>NS</sup>	0.192±0.005 <sup>NS</sup>
	OBT <sub>2</sub>	5	1.440±0.265 <sup>NS</sup>	0.176±0.021 <sup>NS</sup>	0.161±0.047 <sup>NS</sup>	0.125±0.039 <sup>NS</sup>	0.120±0.008 <sup>NS</sup>	0.191±0.005 <sup>NS</sup>
	OBT <sub>3</sub>	5	1.610±0.181 <sup>NS</sup>	0.170±0.010 <sup>NS</sup>	0.176±0.020 <sup>NS</sup>	0.137±0.011 <sup>NS</sup>	0.124±0.003 <sup>NS</sup>	0.182±0.006 <sup>NS</sup>
	FBT <sub>1</sub>	5	1.445±0.152 <sup>NS</sup>	0.170±0.014 <sup>NS</sup>	0.169±0.014 <sup>NS</sup>	0.118±0.028 <sup>NS</sup>	0.126±0.007 <sup>NS</sup>	0.183±0.013 <sup>NS</sup>
	FBT <sub>2</sub>	5	1.415±0.198 <sup>NS</sup>	0.159±0.019 <sup>NS</sup>	0.163±0.026 <sup>NS</sup>	0.131±0.034 <sup>NS</sup>	0.122±0.009 <sup>NS</sup>	0.186±0.017 <sup>NS</sup>
	FBT <sub>3</sub>	5	1.586±0.178 <sup>NS</sup>	0.167±0.016 <sup>NS</sup>	0.169±0.016 <sup>NS</sup>	0.125±0.032 <sup>NS</sup>	0.130±0.010 <sup>NS</sup>	0.187±0.021 <sup>NS</sup>

CON: Control Group, OBT<sub>1</sub>: Extraction of *Bojungikgi-tang* 1250 mg/kg(day) Medication Group, OBT<sub>2</sub>: Extraction of *Bojungikgi-tang* 2500 mg/kg(day) Medication Group, OBT<sub>3</sub>: Extraction of *Bojungikgi-tang* 5000 mg/kg(day) Medication Group, FBT<sub>1</sub>: Extraction of Ferment *Bojungikgi-tang* 1250 mg/kg(day) Medication Group, FBT<sub>2</sub>: Extraction of Ferment *Bojungikgi-tang* 2500 mg/kg(day) Medication Group, FBT<sub>3</sub>: Extraction of Ferment *Bojungikgi-tang* 5000 mg/kg(day) Medication Group. The Data are Presented as Mean±SD

<sup>NS</sup> : Not significantly different(p<0.05) from the CON group by Tukey HSD's multiple comparison test.

Table 6. Levels of Haematological Analysis in Male and Female ICR Mice Orally Treated with *Bojungikgi-tang* (*Buzhongyiqi-tang*) and Fermented *Bojungikgi-tang* (*Buzhongyiqi-tang*) Extracts.

Sex	Groups	WBC ×10 <sup>3</sup>	RBC ×10 <sup>6</sup>	HGB g/dl	HCT %	MCV fl	MCH pg	MCHC g/dl	PLT ×10 <sup>3</sup>	#NEUT	#LYMPH	#MONO	
Male	CON	mean	3.60	8.39	13.54	46.66	55.66	16.18	29.04	1083.20	0.56	2.90	0.03
		SD	0.54	0.41	0.74	2.21	1.64	0.58	0.44	441.51	0.07	0.48	0.01
	OBT <sub>1</sub>	mean	4.04 <sup>NS</sup>	8.15 <sup>NS</sup>	13.16 <sup>NS</sup>	44.62 <sup>NS</sup>	54.82 <sup>NS</sup>	16.22 <sup>NS</sup>	29.54 <sup>NS</sup>	1323.80 <sup>NS</sup>	0.60 <sup>NS</sup>	3.27 <sup>NS</sup>	0.05 <sup>NS</sup>
		SD	1.94	0.85	1.08	3.81	1.75	0.80	0.68	119.83	0.27	1.66	0.02
	OBT <sub>2</sub>	mean	5.44 <sup>NS</sup>	8.42 <sup>NS</sup>	13.36 <sup>NS</sup>	46.02 <sup>NS</sup>	54.66 <sup>NS</sup>	15.84 <sup>NS</sup>	29.02 <sup>NS</sup>	1384.40 <sup>NS</sup>	0.67 <sup>NS</sup>	3.60 <sup>NS</sup>	0.05 <sup>NS</sup>
		SD	2.10	0.31	0.63	2.46	1.36	0.37	0.60	230.06	0.08	0.85	0.02
	OBT <sub>3</sub>	mean	4.37 <sup>NS</sup>	8.30 <sup>NS</sup>	13.38 <sup>NS</sup>	45.72 <sup>NS</sup>	55.08 <sup>NS</sup>	16.10 <sup>NS</sup>	29.26 <sup>NS</sup>	1315.60 <sup>NS</sup>	0.79 <sup>NS</sup>	3.41 <sup>NS</sup>	0.05 <sup>NS</sup>
		SD	1.94	0.23	0.60	1.73	1.68	0.44	0.51	326.73	0.56	1.35	0.05
	FBT <sub>1</sub>	mean	4.09 <sup>NS</sup>	8.45 <sup>NS</sup>	13.50 <sup>NS</sup>	45.68 <sup>NS</sup>	54.18 <sup>NS</sup>	15.98 <sup>NS</sup>	29.54 <sup>NS</sup>	1384.60 <sup>NS</sup>	0.49 <sup>NS</sup>	3.47 <sup>NS</sup>	0.03 <sup>NS</sup>
		SD	1.58	0.53	0.58	1.40	2.66	0.70	0.61	133.89	0.14	1.45	0.02
	FBT <sub>2</sub>	mean	4.22 <sup>NS</sup>	8.46 <sup>NS</sup>	13.72 <sup>NS</sup>	46.40 <sup>NS</sup>	54.62 <sup>NS</sup>	16.14 <sup>NS</sup>	29.56 <sup>NS</sup>	1451.20 <sup>NS</sup>	0.63 <sup>NS</sup>	3.37 <sup>NS</sup>	0.06 <sup>NS</sup>
		SD	1.29	0.57	0.69	2.12	1.50	0.36	0.29	83.17	0.26	1.19	0.06
	FBT <sub>3</sub>	mean	4.29 <sup>NS</sup>	8.80 <sup>NS</sup>	14.10 <sup>NS</sup>	47.54 <sup>NS</sup>	54.04 <sup>NS</sup>	16.06 <sup>NS</sup>	29.70 <sup>NS</sup>	1515.20 <sup>NS</sup>	0.75 <sup>NS</sup>	3.34 <sup>NS</sup>	0.06 <sup>NS</sup>
		SD	2.12	0.58	0.66	2.57	2.03	0.52	0.50	140.47	0.32	1.84	0.06

Female	CON	mean	3.11	8.19	13.38	46.80	57.04	16.38	28.76	1272.00	0.47	2.48	0.03
		SD	0.70	0.67	0.84	5.37	2.30	0.44	1.44	106.46	0.17	0.70	0.02
	OBT <sub>1</sub>	mean	3.38 <sup>NS</sup>	8.29 <sup>NS</sup>	13.74 <sup>NS</sup>	47.16 <sup>NS</sup>	56.92 <sup>NS</sup>	16.56 <sup>NS</sup>	29.14 <sup>NS</sup>	1231.40 <sup>NS</sup>	0.46 <sup>NS</sup>	2.74 <sup>NS</sup>	0.03 <sup>NS</sup>
		SD	0.94	0.50	0.73	2.47	1.05	0.29	0.27	58.41	0.11	0.81	0.02
	OBT <sub>2</sub>	mean	2.40 <sup>NS</sup>	8.00 <sup>NS</sup>	13.16 <sup>NS</sup>	45.40 <sup>NS</sup>	56.78 <sup>NS</sup>	16.44 <sup>NS</sup>	28.98 <sup>NS</sup>	868.80 <sup>NS</sup>	0.25 <sup>NS</sup>	2.01 <sup>NS</sup>	0.03 <sup>NS</sup>
		SD	1.04	0.40	0.72	2.42	1.33	0.29	0.27	428.57	0.06	0.92	0.03
	OBT <sub>3</sub>	mean	4.43 <sup>NS</sup>	8.05 <sup>NS</sup>	13.54 <sup>NS</sup>	46.36 <sup>NS</sup>	57.64 <sup>NS</sup>	16.80 <sup>NS</sup>	29.20 <sup>NS</sup>	1240.00 <sup>NS</sup>	0.40 <sup>NS</sup>	3.79 <sup>NS</sup>	0.07 <sup>NS</sup>
		SD	1.57	0.30	0.78	2.78	2.16	0.50	0.67	81.65	0.15	1.30	0.03
	FBT <sub>1</sub>	mean	3.38 <sup>NS</sup>	8.29 <sup>NS</sup>	13.32 <sup>NS</sup>	45.22 <sup>NS</sup>	54.58 <sup>NS</sup>	16.06 <sup>NS</sup>	29.48 <sup>NS</sup>	874.80 <sup>NS</sup>	0.30 <sup>NS</sup>	2.95 <sup>NS</sup>	0.04 <sup>NS</sup>
		SD	1.48	0.37	0.34	1.59	1.79	0.77	1.08	432.50	0.15	1.30	0.03
	FBT <sub>2</sub>	mean	4.46 <sup>NS</sup>	8.36 <sup>NS</sup>	13.64 <sup>NS</sup>	46.90 <sup>NS</sup>	56.20 <sup>NS</sup>	16.34 <sup>NS</sup>	29.04 <sup>NS</sup>	1226.80 <sup>NS</sup>	0.58 <sup>NS</sup>	3.69 <sup>NS</sup>	0.06 <sup>NS</sup>
		SD	1.13	0.68	0.81	2.87	2.29	0.80	0.42	71.07	0.30	0.91	0.03
	FBT <sub>3</sub>	mean	2.82 <sup>NS</sup>	8.21 <sup>NS</sup>	13.26 <sup>NS</sup>	45.72 <sup>NS</sup>	45.54 <sup>NS</sup>	16.18 <sup>NS</sup>	29.04 <sup>NS</sup>	1159.20 <sup>NS</sup>	0.42 <sup>NS</sup>	2.28 <sup>NS</sup>	0.03 <sup>NS</sup>
		SD	0.58	0.54	0.64	2.41	22.57	0.35	0.13	93.79	0.07	0.54	0.01

CON: Control Group, OBT<sub>1</sub>: Extraction of *Bojungikgi-tang* 1250 mg/kg(day) Medication Group, OBT<sub>2</sub>: Extraction of *Bojungikgi-tang* 2500 mg/kg(day) Medication Group, OBT<sub>3</sub>: Extraction of *Bojungikgi-tang* 5000 mg/kg(day) Medication Group, FBT<sub>1</sub>: Extraction of Ferment *Bojungikgi-tang* 1250 mg/kg(day) Medication Group, FBT<sub>2</sub>: Extraction of Ferment *Bojungikgi-tang* 2500 mg/kg(day) Medication Group, FBT<sub>3</sub>: Extraction of Ferment *Bojungikgi-tang* 5000 mg/kg(day) Medication Group. The Data are Presented as Mean±SD

<sup>NS</sup> : Not significantly different(p<0.05) from the CON group by Tukey HSD's multiple comparison test.

Table 7. Levels of Serum Chemistry Analysis in Male and Female ICR Mice Orally Treated with *Bojungikgi-tang* (*Buzhongyiqi-tang*) and Fermented *Bojungikgi-tang* (*Buzhongyiqi-tang*) Extracts.

Sex	Groups		GOT	GPT	ALP	LDH	UREA	CREATININE
			IU/L	IU/L	IU/L	IU/L	mg/dl	mg/dl
Male	CON	mean	51.00	32.00	82.00	1528.00	29.00	0.32
		SD	16.73	4.47	29.50	455.37	9.06	0.18
	OBT <sub>1</sub>	mean	41.00 <sup>NS</sup>	29.00 <sup>NS</sup>	72.00 <sup>NS</sup>	1068.00 <sup>NS</sup>	21.00 <sup>NS</sup>	0.24 <sup>NS</sup>
		SD	13.42	15.57	19.56	621.91	4.11	0.09
	OBT <sub>2</sub>	mean	44.00 <sup>NS</sup>	33.00 <sup>NS</sup>	100.00 <sup>NS</sup>	804.00 <sup>NS</sup>	19.80 <sup>NS</sup>	0.24 <sup>NS</sup>
		SD	6.52	4.47	20.31	311.01	5.53	0.09
	OBT <sub>3</sub>	mean	49.00 <sup>NS</sup>	29.00 <sup>NS</sup>	84.00 <sup>NS</sup>	1209.00 <sup>NS</sup>	22.90 <sup>NS</sup>	0.24 <sup>NS</sup>
		SD	12.45	7.42	14.32	708.27	5.98	0.09
	FBT <sub>1</sub>	mean	50.00 <sup>NS</sup>	31.00 <sup>NS</sup>	84.00 <sup>NS</sup>	1478.00 <sup>NS</sup>	20.90 <sup>NS</sup>	0.24 <sup>NS</sup>
		SD	6.12	6.52	14.75	496.29	3.76	0.09
	FBT <sub>2</sub>	mean	43.00 <sup>NS</sup>	34.00 <sup>NS</sup>	113.00 <sup>NS</sup>	963.00 <sup>NS</sup>	23.80 <sup>NS</sup>	0.24 <sup>NS</sup>
		SD	11.51	4.18	25.64	413.24	6.07	0.09
	FBT <sub>3</sub>	mean	52.00 <sup>NS</sup>	32.00 <sup>NS</sup>	83.00 <sup>NS</sup>	1637.00 <sup>NS</sup>	19.60 <sup>NS</sup>	0.24 <sup>NS</sup>
		SD	5.70	4.47	10.37	449.58	4.10	0.09
Female	CON	mean	55.00	25.00	84.00	1237.00	21.90	0.20
		SD	15.00	7.91	20.43	742.28	5.14	0.00
	OBT <sub>1</sub>	mean	65.00 <sup>NS</sup>	28.00 <sup>NS</sup>	92.00 <sup>NS</sup>	1985.00 <sup>NS</sup>	26.20 <sup>NS</sup>	0.20 <sup>NS</sup>
		SD	16.58	4.47	14.40	731.95	5.79	0.00
	OBT <sub>2</sub>	mean	63.00 <sup>NS</sup>	30.00 <sup>NS</sup>	110.00 <sup>NS</sup>	916.00 <sup>NS</sup>	23.20 <sup>NS</sup>	0.20 <sup>NS</sup>
		SD	22.80	10.00	38.57	586.27	4.74	0.00



OBT <sub>3</sub>	mean	70.00 <sup>NS</sup>	46.00 <sup>NS</sup>	104.00 <sup>NS</sup>	1751.00 <sup>NS</sup>	26.30 <sup>NS</sup>	0.20 <sup>NS</sup>
	SD	12.75	22.47	19.49	900.38	3.82	0.00
FBT <sub>1</sub>	mean	72.00 <sup>NS</sup>	32.00 <sup>NS</sup>	107.00 <sup>NS</sup>	2197.00 <sup>NS</sup>	26.60 <sup>NS</sup>	0.20 <sup>NS</sup>
	SD	26.83	12.04	40.56	1256.30	4.05	0.00
FBT <sub>2</sub>	mean	57.00 <sup>NS</sup>	25.00 <sup>NS</sup>	84.00 <sup>NS</sup>	1426.00 <sup>NS</sup>	23.60 <sup>NS</sup>	0.20 <sup>NS</sup>
	SD	21.97	7.91	40.22	1016.87	3.63	0.00
FBT <sub>3</sub>	mean	52.00 <sup>NS</sup>	21.00 <sup>NS</sup>	81.00 <sup>NS</sup>	1539.00 <sup>NS</sup>	21.80 <sup>NS</sup>	0.20 <sup>NS</sup>
	SD	14.83	6.52	25.35	631.81	7.61	0.00

CON: Control Group, OBT<sub>1</sub>: Extraction of *Bojungikgi-tang* 1250 mg/kg(day) Medication Group, OBT<sub>2</sub>: Extraction of *Bojungikgi-tang* 2500 mg/kg(day) Medication Group, OBT<sub>3</sub>: Extraction of *Bojungikgi-tang* 5000 mg/kg(day) Medication Group, FBT<sub>1</sub>: Extraction of Ferment *Bojungikgi-tang* 1250 mg/kg(day) Medication Group, FBT<sub>2</sub>: Extraction of Ferment *Bojungikgi-tang* 2500 mg/kg(day) Medication Group, FBT<sub>3</sub>: Extraction of Ferment *Bojungikgi-tang* 5000 mg/kg(day) Medication Group. The Data are Presented as Mean±SD

<sup>NS</sup> : Not significantly different(p<0.05) from the CON Group by Tukey HSD's multiple comparison test.

#### IV. 고찰

보중익기탕은脾胃의氣가虛하고中氣가下陷되어 나타나는諸證을 치료하는 방제로, 황기, 인삼, 당귀, 감초, 진피, 백출, 시호, 승마로 구성되어 있다. 임상에서 주로氣血陰陽俱虛를 치료하는 목적으로 사용되나, 최근 면역증강, 항알레르기, 항암, 항당뇨 등에 대한 효과가 실험적 연구를 통하여 보고되었다. 본 연구에서는 유산균을 이용한 발효를 통하여 배당체 성분을 비배당체로 전환시켜 약리성분을 강화하고자 하였다. 생물전환 정도가 높은 보중익기탕 개발을 위하여 9종류의 균주에 의하여 보중익기탕이 발효되었으며, 우수한 균주를 검색하기 위하여 성분분석 및 생물전환 성분 분리, 동정이 실시되었다. 김 등<sup>14</sup>이 선행 발표한 연구결과에서, 보중익기탕 발효물의 생물전환 성분으로 isoliquiritigenin, liquiritigenin이 분리, 동정되었으며, 본 연구에 사용한 *Lactobacillus fermentum* 발효물이 생물전환 정도가 우수한 것으로 보고되었다. 하지만 보중익기탕 발효물은 이전에 사용례가 없는 물질로, 효능평가가 이전에 그 안전성에 대한 연구가 선행되어야 한다. 이에 본 연구에서는 발효이전의 당제 및 발효물의 실험동물에 대한 단회투여 독성실험을 실시하였다. 실험에 사용된 동물 수는 시험결과의 해석 및 평가가 용이한 최소한의 수로 하였다. 본 시험물질

은 경구용 제제로 임상에서 널리 사용되므로, 투여 경로는 경구로 하였으며, 투여용량은 5000 mg/kg을 고농도로 설정하였다. 즉, 보중익기탕 및 발효보중익기탕 추출물은 암·수 ICR 마우스에 0(control), 1250, 2500, 5000 mg/kg 용량으로 단회 경구투여 하였고, 이후 14일 동안 사망율, 체중, 임상증상을 관찰하였다. 투여 14일 후 부검하여 내부 장기의 이상 병변 유무에 대한 육안적 소견을 관찰하였고, 주요 내부장기의 무게, 혈액 생화학 검사 및 혈구검사를 실시하였다. 실험결과, 0, 1250, 2500, 5000 mg/kg 용량으로 투여한 모든 암·수 ICR 마우스에 대하여 사망이 관찰되지 않았고, 이로 인하여 LD<sub>50</sub>은 5000 mg/kg 이상으로 산출된다. 또한 시험기간 동안 각 농도의 보중익기탕 및 발효보중익기탕 추출물을 투여한 시험물질 투여군과 대조군에서 경구 투여 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. 혈구 검사 및 혈액 생화학적 검사 결과를 분석한 결과, 정상대조군과 비교하여 감소나 증가가 산발적으로 보였으나, 이는 용량의존적이지 않았으며, 통계적으로도 유의하지 않았다. 보중익기탕 원물은 이미 단회투여 독성연구가 실시되었으며, 안전한 물질로 보고되었다<sup>18</sup> 본 연구에서 또한 보중익기탕이 단회

경구투여 독성실험의 저독성 기준인 2000 mg/kg을 훨씬 상회하는 5000 mg/kg 용량에서 실험동물에 독성이 나타나지 않았기에 김 등<sup>18</sup>의 연구결과와 같이 급성독성이 없는 안전한 물질로 생각되며, 보중익기탕 발효물에서도 독성 증상이 나타나지 않아, 암·수 ICR 마우스에 있어 보중익기탕 및 발효보중익기탕의 LD<sub>50</sub>은 5000 mg/kg이상으로 산출된다. 즉, 보중익기탕 발효물은 발효로 인한 급성독성이 발생하지 않는 것으로 사료되나, 추후 실험적 연구를 통하여 포괄적인 연구가 필요할 것이다.

## V. 결 론

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

1. 시험기간 중 모든 실험동물에서 사망동물이 관찰되지 않아, ICR 마우스에 대한 LD<sub>50</sub> 값은 5000 mg/kg 이상으로 산출된다.
2. 시험기간 중 모든 동물에서 임상증상의 이상례는 관찰되지 않았다
3. 보중익기탕 및 발효보중익기탕 추출물 투여로 인한 체중변화 역시 관찰되지 않았다.
4. 실험 종료 시, 주요 내부 장기에 대하여 육안적 병변을 관찰하였으나 이상 병변은 관찰되지 않았으며, 용량의존적인 장기무게의 증가나 감소도 관찰되지 않았다.
5. 혈액검사 결과, 정상대조군과 비교하여 유의한 수치의 변화가 관찰되지 않았다.

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

## 감사의 글

이 연구는 교육과학기술부 지원 한국한의학연구원 기관고유사업 K11050의 지원을 받아 수행되었음.

## 참고문헌

1. 김동일, 최민선, 노진주, 양정민. 보중익기탕 과립제(보로)의 한방부인과 임상응용 경향 분석과 월경기간 중 활용에 대한 제언. 대한한방부인과학회지 2005;18(2):148-58.
2. 강혜인, 신성해, 조영숙, 조성기, 변명우, 이성태. 보중익기탕 추출물의 대식세포 분화 유도 효과. 한국식품영양학회지 2005;34(3):330-5.
3. 채수연, 신성해, 하미혜, 조성기, 김성호, 변명우, 등. 보중익기탕의 T세포 증식 유도 효과. 한국식품영양학회지 2004;33(7):1085-91.
4. 이상훈, 이승언, 이시형, 신조영. 보중익기탕가미방의 면역기능 증진 효과. 동의생리병리학회지 2004;18(2):528-33.
5. 강대성, 감설우, 박동일. 보중익기탕이 알레르기 반응에 미치는 영향에 대한 실험적 연구. 생명과학회지 2003;13(1):73-82.
6. 김선민, 심성용, 변학성, 김경준. 보중익기탕이 알레르기 비염 유발 마우스에 미치는 효과. 한방안이비인후피부과학회지 2005;18(3):26-36.
7. 이승언, 홍재의, 이시형, 신조영, 노승석. 폐암세포주 H460에 대한 보중익기탕의 세포고사효과 및 기전연구. 대한한방내과학회지 2004;25(4-2):274-88.
8. 박선동, 고원도, 신화석. 보중익기탕, 소음인 보중익기탕과 그 구성약물군이 alloxan으로 유발된 고혈당 백서에 미치는 영향. 방제학회지 2001;9(1):215-30.
9. 김중선, 이해준, 송명섭, 서흥식, 문창중, 김종춘,

- 등. 자외선 B 조사 마우스에서 피부손상에 대한 보충익기당의 효과. *대한수의학회지* 2009;49(1): 17-22.
10. 이영경, 김미현, 이영철, 노정해, 마진열, 조장원. 유산균 발효에 의한 갈근당의 특성변화 분석. *한국식품과학회지* 2011;42(5):655-8.
  11. Ella MB, Clive SI, Doreen MC. Manipulation of the crop and intestinal flora of the newly hatched chick. *Am J Clin Nutr* 1980;33:2426-33.
  12. Salanitro JP, Blake IG, Muirhead PA. Isolation and identification of fecal bacteria from adult swine. *Appl Environ Microbiol* 1977;33(1):79-84.
  13. Stiles ME, Holzapfel WH. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int J Food Microbiol* 1997;36(1):29.
  14. 김동선, 노주환, 조장원, 마진열. 발효보충익기당들의 생물전환성분 분석. *약학회지* 2011;55(5): 361-6.
  15. 식품의약품안전청. 의약품등의 독성시험기준, 식품의약품안전청 고시2009-116호. 서울: 식품의약품안전청; 2009.
  16. U.S. Environmental Protection Agency. Health Effects Test Guidelines OPPTS 870.00, Acute Toxicity Testing Background. Washington: US EPA August; 1998.
  17. Hayes AW. Hayes Toxicology. New York: Raven press; 1984, p. 17-9.
  18. 김종대. 보충익기당의 마우스 경구 단회 투여 독성시험. *대한예방의학회지* 2011;15(2):21-38.