

## 마우스를 이용한 十全大補湯 발효물의 단회투여 독성 연구

이지혜, 김태수, 곽동훈, 마진열  
한국한의학연구원

### Single Oral Dose Toxicity Test of Fermented *Sipjeondaebo-tang* Extracts in Mice

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

#### ABSTRACT

**Objectives** : *Sipjeondaebo-tang* is a medicine traditionally prescribed as a restorative. The aim of this study was to investigate the single oral dose toxicity and safety of extract of fermented *Sipjeondaebo-tang* in ICR mice.

**Methods** : In single oral dose toxicity study, non-fermented or fermented *Sipjeondaebo-tang* were administered by oral gavage to ICR mice (5 males, 5 females) at single doses of varying concentrations: 1250, 2500 and 5000 mg/kg. Changes of body weight, general behavior, adverse effects and mortality were determined throughout the experimental period. Hematological parameters, organ weights and necropsy findings were evaluated at the end of the experiment.

**Results** : There were no mortality or signs of toxicity in single oral dose toxicity studies. There were also no significant differences in body weight, organ weight, or hematological parameters between the treatment and control groups.

**Conclusions** : Fermented *Sipjeondaebo-tang* did not cause remarkable adverse effects in ICR mice. The oral lethal dose of fermented *Sipjeondaebo-tang* is more than 5000 mg/kg and no-observed-adverse-effect level (NOAEL) of the extract for both male and female mice is 5000 mg/kg.

**Key words** : *Sipjeondaebo-tang* (*Shiquan dabu-decoction*), fermentation, acute toxicity, safety, LD<sub>50</sub>

## 1. 서론

十全大補湯은 혈액순환 촉진, 식욕부진 및 빈혈 치료제로 임상에서 다빈도로 처방되는 한방처방으로, 대한약전 외 한약생약 규격집에 따르면 인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer), 백출(*Atractylodes japonica* Koidz.), 복령(*Poria cocos* Wolf), 당귀(*Angelica gigas* Nakai), 천궁(*Cnidium officinale* Makino), 숙지황(*Rehmannia glutinosa*), 생강(*Zingiber*

*officinale* Roscoe), 대조(*Zizyphus jujube* var. *inermis* Mil.), 작약(*Paeonia lactiflora* Pall.), 황기(*Astragalus membranaceus* Bunge), 육계(*Cinnamomum cassia* Blume.), 감초(*Glycyrrhiza glabra* L.)로 구성되어 있다.十全大補湯은 만성 허증 질환에 사용되는 것으로 알려져 있는 한방처방이나, 최근에는 면역증강<sup>1-3</sup>, 항암효과<sup>4,5</sup>, 항산화작용<sup>6</sup>, 산화적 손상에 대한 뇌신경 세포에서의 세포보호 활성<sup>7</sup>등이 이화학적 연구를 통하여 보고되었으며, 약리적 효과 이외에도 실험동물의 태자 및 모체에 미치는 독성시험<sup>8,9</sup>, SD 랫드를 이용한 급성독성시험<sup>10</sup>, 세균을 이용한 복귀 돌연변이 시험<sup>11</sup>, 골수세포를 이용한 소핵시험<sup>12</sup>, Chinese hamster lung cell에 대한 염색체 이상

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

시험<sup>13</sup> 등 안전성에 대한 연구도 다양하게 보고되었다.

자연계에 존재하는 많은 배당체 화합물들은 그 자체의 활성보다 당을 분해하여야만 더 많은 약효를 발휘한다고 알려져 있다<sup>14</sup>. 한방처방은 다양한 배당체 형태의 생약성분이 함유되어 있으며 이는 경구로 투여 시 장관을 통과하면서 장내 세균의 동화 및 이화작용을 거치게 되면서 소화 흡수된다<sup>15</sup>. 이러한 이유로 최근 장내 세균총의 구성과 약효 발현에 연관성이 있다는 주장이 제기되고 있으며, 약효발현을 증진시키고자 하는 연구가 다수 진행되고 있다<sup>16-17</sup>. 본 연구에서는 한방제제의 효능을 강화시키기 위하여 *Lactobacillus fermentum*을 이용하여十全大補湯을 발효하였다. *Lactobacillus fermentum*은 당류를 발효하여 젖산을 생성하는 세균의 일종으로 다양한 미생물이 존재하는 장내에서 우세균으로 분포하고 체내 유익균의 성장을 촉진하는 생균 활성제로서 존재한다. 주로 우유를 이용하여 유산균 발효음료 제조에 이용되었으나, 최근 다양한 형태의 건강 기능식품 수요가 증가하면서 다양한 식품소재를 이용하여 발효하거나 첨가하여 기능성 강화 및 관능적 품질을 향상시키고자 하는 시도가 이루어지고 있다<sup>18</sup>. 그러나 한방처방 및 한약제를 발효한 연구는 미비하며, 특히十全大補湯을 직접 발효시켜 사용한 예는 전무하다. 이에 본 연구에서는十全大補湯의 효능을 강화하기 위하여 특정 유산균으로 발효하였으며, 발효물은 이전에 연구 및 개발되지 않아, 사용례가 없는 물질로 규정하고 그 안전성에 대한 연구를 실시하였다. 안전성에 대한 연구는 암·수 ICR 마우스를 대상

으로 식품의약품 안전청 고시 제 2009-116호 의약품 등의 독성시험방법<sup>19</sup>에 따라 단회투여 급성독성 시험을 실시하였다.

## II. 연구대상 및 방법

### 1. 시험물질

실험에 사용한十全大補湯의 처방 내용은 Table 1과 같으며, 백출, 백복령, 백작약, 천궁, 당귀, 황기, 대조는 영천현대약업사(경북 영천시 완산동)에서, 숙지황은 진영(경북 영천시 대전동)에서, 계피는 풍산제약(경북 안동시 수하동)에서, 감초는 태경제약(서울 동대문구 제기동)에서, 인삼 및 생강은 농협에서 각각 생산자 및 재배지역이 명확한 한약재를 구입하였다.

처방구성에 따른 50첩 분량의 각 한약제들은 중량의 10배에 달하는 생수(화이트, 경남 산청군 삼장면 덕교리 800)에 1시간동안 침적시킨 다음 180분간 전탕추출법(한국, 경서추출기 cosmos-660)에 의한 열수 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 통기 배양하여 액체 발효를 실시하였다. 발효 후 시료는 동결건조기(한국, 일신 FD5512)를 사용하여 분말 형태로 조제하였으며, 십전대보탕과 발효 십전대보탕의 함량 수율은 각 29.88와 29.09 % 이다.

Table 1. The Prescription of *Sipjeondaebo-tang*

No.	생약명	원산지	학 명	영문 생약명	Dose(g)
1	인삼(人蔘)	한국	<i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer	Ginseng Radix Alba	240
2	백출(白朮)	한국	<i>Atractylodes japonica</i> Koidz	Atractylodis Rhizoma Alba	240
3	백복령(白茯苓)	한국	<i>Poria cocos</i> Wolf	Hoelen	240
4	감초(甘草)	중국	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	Glycyrrhizae Radix	240
5	숙지황(熟地黃)	한국	<i>Rehmannia glutinosa</i>	Rehmanniae Radix Preparata	240
6	백작약(白芍藥)	한국	<i>Paeonia lactiflora</i> Pall.	Paeoniae Radix	240
7	천궁(川芎)	한국	<i>Cnidium officinale</i> Makino	Cnidii Rhizoma	240
8	당귀(當歸)	한국	<i>Angelica gigas</i> Nakai	Angelicae Gigantis Radix	240
9	황기(黃芪)	한국	<i>Astragalus membranaceus</i> Bunge	Astragali Radix	200
10	육계(肉桂)	중국	<i>Cinnamomum cassia</i> Blume.	Cinnamomi Cortex	200
11	생강(生薑)	한국	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Zingiberis Rhizoma Crudus	74.5
12	대조(大棗)	한국	<i>Zizyphus jujube var. inermis</i> Mil.	Ziziphi Fructus	100

2. 실험동물 및 사육환경

단회투여 독성 실험은 한국한의학연구원 동물 실험실에서 실시하였으며, 암·수 ICR 마우스(나라바이오텍, 서울특별시)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 난괴법에 의하여 군 분리를 실시한 후, 본 실험에 사용하였다. 본 실험은 실험동물윤리위원회 심의를 거쳤으며, 순화 및 실험기간 동안의 사육환경은 온도 23±3 °C, 상대습도 50±10%, 환기 횟수는 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 암·수 ICR 마우스에 대한 급성 경구독성을 평가하기 위하여 실험군은 고용량 5000 mg/kg를 기준으로 하여 공비 0.5로 각각 5000, 2500, 1250 mg/kg, 암·수 각 3개의 용량군을 설정

하였으며, 대조군을 포함하여 총 7개 군을 설정하였다(Table 2). 투여 용량은 OECD guide line<sup>20</sup> 및 식품의약품안전청 고시를 바탕으로 설정하였다. 본 연구에서는 대조군과 비교하여 시험물질 투여로 인한 급성독성 여부를 관찰 하였고, 십전대보탕과 발효십전대보탕을 투여한 시험물질 투여군 간의 체중 및 임상증상 등을 비교함으로써, 십전대보탕의 발효로 인한 급성독성 여부를 관찰하였다. 투여 경로는 한방 임상에서 주로 적용되고 있는 경구투여법을 이용하였으며, 투여볼륨은 모든 실험동물에게 10 ml/kg로 맞추었으며, 실험군은 각 용량에 맞는 시험물질을 멸균 생리식염수로 희석하여 사용하였고, 대조군은 부형제를 정해진 투여볼륨에 맞게 투여하였다. 실험물질에 의한 독성을 평가하기 위하여 실험물질 투여 전 동물을 하룻밤 절식시켰으며, 경구투여용 일회용 존데와 주사관을 이용하여 배부 피부 고정법으로 몸체를 고정한 후 위내에 경구 투여 하였다.

Table 2. Experimental Groups

Group	Number of Animal	Sex	Volume (ml/kg)	Dose (mg/kg/day)
CON*	5	male	10	0
SWT <sup>†</sup> <sub>1</sub>	5	male	10	1250
SWT <sub>2</sub>	5	male	10	2500
SWT <sub>3</sub>	5	male	10	5000
SFT <sup>‡</sup> <sub>1</sub>	5	male	10	1250
SFT <sub>2</sub>	5	male	10	2500
SFT <sub>3</sub>	5	male	10	5000
CON	5	female	10	0
SWT <sub>1</sub>	5	female	10	1250
SWT <sub>2</sub>	5	female	10	2500
SWT <sub>3</sub>	5	female	10	5000
SFT <sub>1</sub>	5	female	10	1250
SFT <sub>2</sub>	5	female	10	2500
SFT <sub>3</sub>	5	female	10	5000

\* : Control group.

† : *Sipjeondaebo-tang* Extract Treatment group.‡ : Fermented *Sipjeondaebo-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 동물의 행동, 자극에 대한 반응성, 각성도 및 경계성, 자세 및 보행이상 등에 대한 일반 증상을 관찰하였다<sup>21</sup>. 모든 실험동물의 체중은 모든 동물에 대하여 투여 전과 투여 후 1, 3, 7, 14 일에 일정한 시간에 측정하였다. 실험동물을 희생하기 전날 밤 18시간 절식시킨 후 부검하였으며, 마취제는 Zoletil 50(Virbac S.A, France)과 Xylazine hydrochloride(바이엘 코리아 주식회사, 경기도)을 사용하였다. 혈액 채취 및 방혈 후, 주요 내부 장기

의 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), PLT(platelet)를 혈구분석기 Coulter counter(Coulter Co., Miami, FL, U.S.A)를 이용하여 측정하였다.

#### 6. 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.

### III. 결 과

#### 1. 치사율 및 LD<sub>50</sub>

단회투여 독성시험 실시 기간 동안 실험동물의 사망을 관찰한 결과는 Table 3과 같다. 十全大補湯 및 발효 十全大補湯 추출물을 각 용량별로 단회 경구 투여 후 14일간 관찰한 결과, 대조군과 실험물질 투여군 모두에서 사망한 개체는 관찰되지 않았다. 본 실험에서 고용량 5000 mg/kg을 투여한 실험동물에서도 사망이 관찰되지 않았으므로, LD<sub>50</sub> 값은 5000 mg/kg 이상으로 산출된다.

Table 3. Mortality of Male and Female ICR Mice Treated with *Sipjeondaebo-tang* and Fermented *Sipjeondaebo-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 *Sipjeondaebo-tang* 1250 mg/kg(day) medication group, SWT<sub>2</sub>; extraction of *Sipjeondaebo-tang* 2500 mg/kg(day) medication group, SWT<sub>3</sub>; extraction of *Sipjeondaebo-tang* 5000 mg/kg(day) medication group, SFT<sub>1</sub>; extraction of ferment *Sipjeondaebo-tang* 1250 mg/kg(day) medication group, SFT<sub>2</sub>; extraction of ferment *Sipjeondaebo-tang* 2500 mg/kg(day) medication group, SFT<sub>3</sub>; extraction of ferment *Sipjeondaebo-tang* 5000 mg/kg(day) medication group.

\* : Values are expressed as no. dead/no. animal.

### 2. 임상 증상

Table 4와 같이 1250, 2500, 5000 mg/kg 용량의 十全大補湯 및 발효 十全大補湯 추출물을 경구로 단회 투여한 시험물질 투여군과 대조군의 암·수 ICR 마우스를 14일 동안 관찰한 결과 보행장애, 행동이상, 웅크림, 설사, 부종, 호흡축박, 몸단장, 뛰 어오름, 유루, 무기력증, 구토, 비루, 마비, 유연 등 시험 물질 투여와 관련된 어떠한 임상증상의 이상 소견도 관찰되지 않았다.

### 3. 체중 변화

1250, 2500, 5000 mg/kg 용량의 十全大補湯 및 발효 十全大補湯 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 전과 투여 후 1, 3, 7, 14일 모두 대조군과 十全大補湯 및 발효 十全大補湯 추출물 투여군 간의 유의적인 체중변화의 차이는 관찰할 수 없었으며, 十全大補湯 추출물 투여군과 발효 十全大補湯 추출물 투여군 간의 유의적인 체중변화 차이 또한 관찰할 수 없었다.

Table 4. Clinical Signs of Male and Female ICR Mice Treated with *Sipjeondaebo-tang* and Fermented *Sipjeondaebo-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
Gaspings		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 *Sipjeondaebo-tang* 1250 mg/kg(day) medication group, SWT<sub>2</sub>; extraction of *Sipjeondaebo-tang* 2500 mg/kg(day) medication group, SWT<sub>3</sub>; extraction of *Sipjeondaebo-tang* 5000 mg/kg(day) medication group, SFT<sub>1</sub>; extraction of ferment *Sipjeondaebo-tang* 1250 mg/kg(day) medication group, SFT<sub>2</sub>; extraction of ferment *Sipjeondaebo-tang* 2500 mg/kg(day) medication group, SFT<sub>3</sub>; extraction of ferment *Sipjeondaebo-tang* 5000 mg/kg(day) medication group.

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

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

Sex	Group	Body Weights (g)				
		Days after treatment				
		0	1	3	7	14
Male	CON	25.23±0.77	27.60±0.54	29.22±0.43	30.99±0.86	31.18±1.13
	SWT <sub>1</sub>	25.07±1.22	26.99±1.11	28.50±1.53	30.54±1.38	30.54±1.44
	SWT <sub>2</sub>	24.65±0.80	27.23±0.94	29.02±0.63	30.84±0.67	31.34±0.95
	SWT <sub>3</sub>	24.95±1.11	26.80±1.22	28.63±1.06	30.31±0.88	31.25±1.30
	SFT <sub>1</sub>	24.75±1.09	26.79±1.22	28.84±1.10	30.41±0.96	31.32±1.21
	SFT <sub>2</sub>	24.81±0.72	26.98±1.17	28.86±1.15	30.77±1.13	32.26±0.99
	SFT <sub>3</sub>	24.64±0.78	26.80±0.71	28.55±1.03	30.37±1.17	31.16±1.46
Female	CON	21.33±0.84	22.92±0.57	24.46±0.63	25.63±0.45	27.20±1.62
	SWT <sub>1</sub>	21.49±0.33	23.09±0.70	24.72±0.78	26.01±0.98	26.54±1.15
	SWT <sub>2</sub>	20.36±0.38	22.10±0.34	23.93±0.40	25.19±0.50	25.63±1.11
	SWT <sub>3</sub>	20.87±0.96	22.22±0.92	23.66±0.79	24.67±0.72	26.35±1.24
	SFT <sub>1</sub>	20.73±0.77	22.30±0.84	23.90±1.10	25.00±0.94	26.56±1.50
	SFT <sub>2</sub>	20.58±0.82	22.52±1.63	23.75±1.36	25.54±1.59	27.47±1.70
	SFT <sub>3</sub>	21.23±0.77	22.59±0.77	24.66±0.91	25.62±1.47	27.20±1.58

The data are presented as mean±SD.

CON; control group, SWT<sub>1</sub>; extraction of *Sipjeondaebo-tang* 1250 mg/kg(day) medication group, SWT<sub>2</sub>; extraction of *Sipjeondaebo-tang* 2500 mg/kg(day) medication group, SWT<sub>3</sub>; extraction of *Sipjeondaebo-tang* 5000 mg/kg(day) medication group, SFT<sub>1</sub>; extraction of ferment *Sipjeondaebo-tang* 1250 mg/kg(day) medication group, SFT<sub>2</sub>; extraction of ferment *Sipjeondaebo-tang* 2500 mg/kg(day) medication group, SFT<sub>3</sub>; extraction of ferment *Sipjeondaebo-tang* 5000 mg/kg(day) medication group.

4. 부검 소견 및 장기무게 측정

실험 종료 시, 모든 실험동물을 부검하여 주요 내부 장기의 육안적 소견을 관찰한 결과 Table 7과 같이 1250, 2500, 5000 mg/kg 용량의 十全大補湯 및 발효 十全大補湯 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. 실험물질 단회 투여 14일 후 실험동물의 장기의 무게는 Table 6과 같다. 2500 mg/kg 농도의 十全大補湯을 투여한 암컷의 간에서 정상대조군과 비교하여 감소가 관찰되었으나, 이것은 암수 모두에게 공통으로 나타난 것이 아니며, 용량 의존적인 감소가 관찰되지 않아

용량 의존성이 인정되지 않아, 약물에 의한 독성으로 보기 어렵다. 또한 그 외의 다른 장기에서는 암수 모두 정상 대조군과 비교하여 유의한 차이가 나타나지 않았다.

5. 혈구분석

혈액학적 검사를 실시한 결과는 Table 8과 같다. WBC, RBC, HGB, HCT, MCH, MCV 그리고 PLT 항목을 측정한 결과 모든 十全大補湯 및 발효 十全大補湯을 투여한 모든 실험군의 혈액학적 검사 결과 수치가 정상대조군과 비교하여 유의한 증가나 감소는 관찰되지 않았다.

Table 6. Organ Weights of Male and Female ICR Mice Orally Treated with *Sipjeondaebo-tang* and Fermented *Sipjeondaebo-tang* Extract

Sex	Group	No. of animal	Organ weight(g)					
			Liver	Kidney-L	Kidney-R	Heart	Lung	Spleen
Male	CON	5	1.35±0.09	0.20±0.02	0.20±0.01	0.13±0.01	0.18±0.01	0.11±0.02
	SWT <sub>1</sub>	5	1.32±0.14	0.20±0.02	0.20±0.02	0.12±0.01	0.17±0.01	0.10±0.02
	SWT <sub>2</sub>	5	1.36±0.07	0.20±0.02	0.21±0.01	0.12±0.01	0.19±0.01	0.11±0.01
	SWT <sub>3</sub>	5	1.36±0.16	0.20±0.02	0.20±0.03	0.12±0.01	0.17±0.01	0.09±0.01
	SFT <sub>1</sub>	5	1.34±0.10	0.22±0.01	0.22±0.00	0.13±0.01	0.18±0.01	0.10±0.01
	SFT <sub>2</sub>	5	1.48±0.10	0.22±0.02	0.22±0.02	0.13±0.01	0.20±0.02	0.12±0.01
	SFT <sub>3</sub>	5	1.36±0.21	0.21±0.03	0.21±0.02	0.13±0.01	0.19±0.02	0.10±0.00
Female	CON	5	1.13±0.07	0.16±0.01	0.16±0.01	0.12±0.01	0.17±0.01	0.13±0.01
	SWT <sub>1</sub>	5	0.97±0.04	0.14±0.02	0.14±0.01	0.11±0.01	0.16±0.01	0.12±0.02
	SWT <sub>2</sub>	5	0.94±0.10*	0.14±0.01	0.14±0.00	0.11±0.00	0.15±0.01	0.10±0.01
	SWT <sub>3</sub>	5	0.98±0.15	0.14±0.02	0.15±0.02	0.11±0.02	0.15±0.01	0.10±0.02
	SFT <sub>1</sub>	5	0.96±0.07	0.14±0.01	0.14±0.01	0.11±0.02	0.16±0.00	0.10±0.02
	SFT <sub>2</sub>	5	1.02±0.07	0.14±0.01	0.14±0.01	0.11±0.01	0.16±0.02	0.11±0.01
	SFT <sub>3</sub>	5	1.00±0.08	0.15±0.02	0.14±0.01	0.10±0.00	0.16±0.01	0.11±0.02

CON; control group, SWT<sub>1</sub>; extraction of *Sipjeondaebo-tang* 1250 mg/kg(day) medication group, SWT<sub>2</sub>; extraction of *Sipjeondaebo-tang* 2500 mg/kg(day) medication group, SWT<sub>3</sub>; extraction of *Sipjeondaebo-tang* 5000 mg/kg(day) medication group, SFT<sub>1</sub>; extraction of ferment *Sipjeondaebo-tang* 1250 mg/kg(day) medication group, SFT<sub>2</sub>; extraction of ferment *Sipjeondaebo-tang* 2500 mg/kg(day) medication group, SFT<sub>3</sub>; extraction of ferment *Sipjeondaebo-tang* 5000 mg/kg(day) medication group.

\* p<0.05

Table 7. Autopsy Finding of Male and Female ICR Mice Orally Treated with *Sipjeondaebo-tang* and Fermented *Sipjeondaebo-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 *Sipjeondaebo-tang* 1250 mg/kg(day) medication group, SWT<sub>2</sub>; extraction of *Sipjeondaebo-tang* 2500 mg/kg(day) medication group, SWT<sub>3</sub>; extraction of *Sipjeondaebo-tang* 5000 mg/kg(day) medication group, SFT<sub>1</sub>; extraction of Ferment *Sipjeondaebo-tang* 1250 mg/kg(day) medication group, SFT<sub>2</sub>; extraction of ferment *Sipjeondaebo-tang* 2500 mg/kg(day) medication group, SFT<sub>3</sub>; extraction of ferment *Sipjeondaebo-tang* 5000 mg/kg(day) medication group.

\* : Values are expressed as no. abnormal animal/no. normal animal.

Table 8. Levels of Haematological Analysis in Male and Female ICR Mice Orally Treated with *Sipjeondaebc-tang* and Fermented *Sipjeondaebo-tang*

Sex	Group	No. of animal	WBC ×1000	RBC ×10 <sup>6</sup>	HGB g/dl	HCT %	MCV fl	MCH pg	PLT ×1000
Male	CON	5	5.88±0.85	8.00±0.46	8.56±0.55	40.54±2.63	50.68±0.65	10.70±0.16	1116.67±50.39
	SWT <sub>1</sub>	5	5.14±0.59	8.07±0.44	8.72±0.39	40.48±1.57	50.22±1.08	10.80±0.21	1136.00±56.39
	SWT <sub>2</sub>	5	6.24±1.09	8.12±0.20	8.84±0.13	41.06±0.50	50.60±0.88	10.88±0.19	1244.00±118.87
	SWT <sub>3</sub>	5	5.30±0.71	7.82±0.34	8.54±0.29	40.42±1.10	51.70±0.98	10.94±0.21	1146.00±30.50
	SFT <sub>1</sub>	5	4.78±1.01	8.15±0.25	8.80±0.19	41.40±0.99	50.82±0.59	10.80±0.17	1146.00±97.11
	SFT <sub>2</sub>	5	5.16±0.64	7.68±0.19	8.30±0.33	39.88±0.93	51.92±0.96	10.80±0.27	1178.00±64.58
	SFT <sub>3</sub>	5	4.84±1.01	7.99±0.35	8.74±0.42	41.56±1.84	51.96±0.40	10.94±0.17	1198.00±76.62
Female	CON	5	5.36±1.43	7.98±0.34	8.88±0.25	41.16±1.26	51.64±1.19	11.14±0.23	968.00±138.09
	SWT <sub>1</sub>	5	4.14±1.01	8.24±0.41	8.84±0.31	41.68±1.24	50.60±1.12	10.74±0.26	992.00±104.26
	SWT <sub>2</sub>	5	4.40±1.09	8.22±0.37	8.76±0.30	41.42±1.19	50.44±0.94	10.70±0.21	1030.00±86.63
	SWT <sub>3</sub>	5	4.10±1.14	8.20±0.69	8.82±0.54	41.42±2.25	50.60±1.77	10.76±0.38	1070.00±102.96
	SFT <sub>1</sub>	5	4.66±0.62	8.45±0.42	9.06±0.40	42.44±1.74	50.22±0.86	10.74±0.21	1050.00±98.74
	SFT <sub>2</sub>	5	5.22±1.09	8.22±0.36	8.86±0.38	41.60±1.42	50.62±0.70	10.78±0.13	1028.00±115.41
	SFT <sub>3</sub>	5	4.00±0.70	8.27±0.27	8.92±0.22	42.36±0.96	51.24±0.93	10.78±0.11	1122.00±84.38

CON; control group, SWT<sub>1</sub>; eExtraction of *Sipjeondaebc-tang* 1250 mg/kg(day) medication group, SWT<sub>2</sub>; extraction of *Sipjeondaebc-tang* 2500 mg/kg(day) medication group, SWT<sub>3</sub>; extraction of *Sipjeondaebc-tang* 5000 mg/kg(day) medication group, SFT<sub>1</sub>; extraction of ferment *Sipjeondaebc-tang* 1250 mg/kg(day) medication group, SFT<sub>2</sub>; extraction of ferment *Sipjeondaebc-tang* 2500 mg/kg(day) medication group, SFT<sub>3</sub>; extraction of ferment *Sipjeondaebc-tang* 5000 mg/kg(day) medication group.

\* p<0.05



#### IV. 고찰

十全大補湯은宋代 陳師文이 저술한《太平惠民和劑局方》에서 처음 나타난 처방으로 四君子湯과 四物湯을 합한 八物湯에 다시 黃芪, 肉桂를 더한 처방이다<sup>22</sup>. 十全大補湯은 임상에서 주로 氣血陰陽俱虛를 치료하는 목적으로 사용되나, 최근 항암, 항산화, 면역증강에 대한 효과가 실험적 연구를 통하여 보고되었다. 본 연구에서는 대표적인 장내 유산균의 일종으로, 식품 발효원으로 사용되는 *Lactobacillus fermentum*을 이용한 발효를 통하여 배당체 성분을 비배당체로 전환시켜 약리성분을 강화하고자 하였다. 본 실험에 사용된 十全大補湯 및 발효 十全大補湯은 이전에 성분변화, 항산화 활성 및 뇌신경세포 보호 활성에 대하여 연구가 수행되었다. 선행연구에서 발효전과 비교하여 5-HMF, paeoniflorin, ferulic acid, cinnamaldehyde, decursin, glycyrrhizin과 같은 지표성분 함량은 7.5~93.8% 감소하였으며, 발효물에서 unknown compounds가 증가된 것이 관찰되었고, 뇌신경세포 보호 활성과 항산화 활성이 발효 후 증가하였음을 보고하였다<sup>23</sup>. 하지만 十全大補湯 발효물은 발효를 통하여 유효성분이 증가 혹은 생성되어 사용례가 전무한 물질로 안전성에 대한 연구가 필수적이다.

이에 본 연구에서는 한국식품의약품 안전청의 의약품 등의 독성시험기준에 명시되어 있는 일반 독성시험 중 마우스를 대상으로 한 단회투여 경구 독성 시험을 실시하여, 만성독성 시험과 생식 발생 독성 및 유전독성 등 특수 독성 시험에 대한 기초 자료를 제공하고, 활용을 위한 안전성 데이터를 마련하고자 하였다. 본 시험물질인 十全大補湯의 임상적용 경로가 경구이므로, 경구 투여용 주사기를 이용하여 경구 투여를 수행하였으며, 투여용량은 단회 경구투여 최고용량인 5000 mg/kg<sup>24</sup>을 고농도로 설정하였다. 즉, 十全大補湯 및 발효 十全大補湯 추출물은 암·수 ICR 마우스에 0(control), 1250, 2500, 5000 mg/kg 용량으로 단회 경구투여 하였고,

이후 14일 동안 사망율, 체중, 임상증상 및 부검 후 내부 장기의 이상 병변 유무에 대한 육안적 소견을 관찰하였다. 십전대보탕 및 발효십전대보탕 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 5000 mg/kg 이상으로 산출된다. 또한 시험기간 동안 각 농도의 십전대보탕 및 발효십전대보탕 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”에 따라 모든 실험동물에서 이상소견이 관찰되지 않았기에 조직검사는 시행하지 않았으나, 한국식품의약품 안전청 기준<sup>19</sup> 및 OECD 기준<sup>20</sup>의 단회경구투여 독성시험의 저독성 기준인 2000 mg/kg을 훨씬 상회하는 5000 mg/kg 용량에서 실험동물에 독성이 나타나지 않았기에 십전대보탕 및 발효 십전대보탕은 급성독성이 없는 안전한 물질로 생각된다. 이와 같은 결과는 십전대보탕이 무독하다는 이전의 독성 실험 결과들과 같으며<sup>8-13</sup>, 암·수 ICR 마우스에 있어 십전대보탕 및 발효십전대보탕의 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. 결론

본 연구에서는 발효십전대보탕의 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, ICR 마우스에 대한 LD<sub>50</sub> 값은 5000 mg/kg 이상으로 산출된다.
2. 시험기간 중 모든 동물에서 임상증상의 이상례는 관찰되지 않았다
3. 십전대보탕 및 발효십전대보탕 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 단회투여 독성시험 결과로 보아 발효십전대보탕은 실험동물에 대하여 급성 독성이 없는 한의약물로서 그 효능규명을 통한 활용이 기대된다.

### 감사의 글

이 연구는 교육과학기술부 지원 한국한의학연구원 기관고유사업 K10050의 지원을 받아 수행되었음.

### 참고문헌

1. 임동주, 김동희. 십전대보탕가미방의 면역조절효과에 관한 실험적 연구. 대전대학교 한의학연구소 논문집 2001;10(1):55-65.
2. Dai Y, Kato M, Takeda K, Kawamoto Y, Akhand AA, Hossain K, et al. T-cell-immunity-based inhibitory effects of orally administered herbal medicine jumentaiho-to on the growth of primarily developed melanocytic tumors in

- RET-transgenic mice. *J Invest Dermatol* 2001; 117:694-701.
3. 이호영, 하혜경, 정다영, 이남현, 신현규. 사물탕, 사군자탕, 팔물탕, 십전대보탕의 약리활성 비교 연구. 동의신경정신과 학회지 2010;21(4):41-51.
4. 최승훈, 오민석, 홍태원, 남기열. 십전대보탕의 면역증강 및 항암효과. 대전대학교 한의학연구소 논문집 2002;11(1):257-83.
5. 김대근, 은재순, 전훈, 송정모. 십전대보탕이 항암제를 투여한 생쥐의 흉선세포에 미치는 영향. 대한본초학회지 1998;13(2):129-35.
6. 허준영, 김병수, 강정수.十全大補湯의 항산화작용에 관한 연구. 동의생리병리학회지 2003;17(2):356-62.
7. 류지용, 윤종민, 조광호, 문병순.十全大補湯이 신경교세포의 산화적 손상에 미치는 영향. 동의생리병리학회지 2004;18(4):1120-8.
8. 한상백, 전성진, 신헌태, 박해모, 이선동, 박철수. 십전대보탕과 육미지황탕이 실험동물의 태자에 미치는 독성학적 연구. 대한예방한의학회지 2008; 12(3):35-45.
9. 한상백, 신헌태, 박해모, 이선동. 십전대보탕과 육미지황탕이 실험동물의 모체에 미치는 생식 독성학적 연구. 대한예방한의학회지 2007;11(2):159-74.
10. 마진열, 황대선, 이남현, 하혜경, 유영범, 신현규. SD 랫드를 이용한 십전대보탕의 급성 독성 연구. 동의생리병리학회지 2008;22(5):1192-5.
11. 마진열, 황대선, 이남현, 하혜경, 유영범, 신현규. 세균을 이용한 십전대보탕 복귀돌연변이 시험. 대한한의학회지 2008;29(3):1-10.
12. 마진열, 이남현, 황대선, 하혜경, 유영범, 신현규. ICR 마우스 골수세포를 이용한 십전대보탕 소핵시험. 대한한의학 방제학회지 2008;16(1):109-15.
13. 마진열, 황대선, 이남현, 하혜경, 유영범, 신현규. Chinese hamster lung cell(CHL)에서 십전

- 대보탕 염색체 이상 시험. 대한한의학 방제학회지 2008;16(2):145-63.
14. T. Akao. Metabolic activation of crude drug components by intestinal bacterial enzymes. *Med Pharm Soc* 1992;9:1.
  15. 김동현. 한방미생물학 개정판. 서울:도서출판 효일; 2002, p. 130-2, 142-5.
  16. 심기석, 이지혜, 이재훈, 마진열. *Lactobacillus fermentum*으로 발효한 쌍화탕의 파골 세포 분화와 난소 적출한 랫트의 골다공증에 미치는 영향. 한국한의학연구원논문집 2010;16(1):149-55.
  17. 원진배, 마진열, 양혜진, 마충제. 오약순기산 발효물의 성분 분석 및 뇌세포 보호 활성. 생약학회지 2011;42(1):22-6.
  18. 박수진, 김동현, 백남수, 김성수. 유산균을 이용한 발효인삼 제조 및 품질 특성. 고려인삼학회지 2006;30(2):88-92.
  19. 식품의약품안전청. 의약품등의 독성시험기준, 식품의약품안전청 고시2009-116호. 서울: 식품의약품안전청; 2009.
  20. U.S. Environmental Protection Agency. Health Effects Test Guidelines OPPTS 870.00, Acute Toxicity Testing Background. Washington: US EPA; August. 1998.
  21. Hayes AW. Hayes Toxicology. New York: Raven press; 1984, p. 17-9.
  22. 이경구, 황대선, 유영법, 마진열, 하혜경, 신현규. 사군자탕, 사물탕, 팔물탕 및 십전대보탕의 처방 구성 및 용량 용법에 관한 연구. 대한한의학원전학회지 2006;19(4):219-25.
  23. 양혜진, 원진배, 마진열, 마충제. 십전대보탕 발효물의 성분 분석 및 뇌신경 세포 보호 활성. 약학회지 2011;55(2):121-6.
  24. 조수인, 김형우, 이근진. 동백 발효 추출물 단기 투여의 활성에 대한 연구. 대한본초학회지 2006; 21(2):55-62.