

구미강활탕 및 발효 구미강활탕 추출물의 급성독성 연구

박화용, 황윤환, 장두례, 하정호, 정기연, 마진열
한국한의학연구원 한의신약연구그룹

ABSTRACT

Acute Toxicity Study on Gumiganghwal-tang and Fermented Gumiganghwal-tang Extracts

Hwayong Park, Youn-Hwan Hwang, Doorye Jang, Jeong-Ho Ha, Kiyoun Jung, Jin Yeul Ma
KM-Based Herbal Drug Research Group, Korea Institute of Oriental Medicine

Objectives : Traditional medicine Gumiganghwal-tang (GT) has been used in Asia to treat inflammatory diseases including common cold, pain, fever, and algor. In this study we investigated the acute toxicity and safety of GT and fermented GT (FGT).

Methods : Acute toxicity and safety were evaluated in male and female ICR mice orally administered 0 (control) and 2,000 mg/kg of GT and FGT. After the administration of GT and FGT, we observed mortality, body weight, clinical symptoms. After necropsy, organ weights were measured and blood analysis was performed.

Results : There was no mortality and clinical symptoms according to the administration of GT and FGT. Comparing with control group, there were no significant alterations on the organ weight, complete blood cell count and biochemical parameters.

-
- 교신저자 : 마진열
 - 대전시 유성구 유성대로 1672 한국한의학연구원 한의신약연구그룹
 - Tel : 042-868-9466 Fax : 042-868-9573 E-mail : jyma@kiom.re.kr
 - 접수 : 2012/ 11/ 17 수정 : 2012/ 12/ 03 채택 : 2012/ 12/ 04

Conclusions : Median lethal dose of GT and FGT considered to be over 2,000 mg/kg in both male and female mice, and recognized as safe with no toxicity.

Key word : Gumiganghwal-tang, Fermentation, Acute toxicity

1. 서 론

구미강활탕(九味羌活湯)은 한국, 중국, 일본 등의 국가에서 오랜 기간 전통적으로 사용되어 온 처방으로서, 전통의서인 동의보감에 의하면 주로 땀이 없는 감기, 발열, 오한, 골절통 등에 유효한 처방으로 수록되어 있다¹⁾. 또한 해표작용(解表作用)과 제습작용(除濕作用)을 통하여 병인을 다스리는 작용으로 감기(influenza)와 전신통 등의 임상 치료에 널리 활용되는 처방이다²⁾. 실제로 보건복지부에서 실시한 한방의료 이용 실태조사에 의하면 건강보험이 적용되는 56종의 한약처방 중 구미강활탕은 전체 약제 투약일수의 6.1%, 총약제비의 7.0%를 차지하고 있는 중요한 임상처방 중의 하나이다³⁾.

전통의서에 언급된 구미강활탕의 효능을 확인하기 위한 연구로서는 감모(感冒) 및 상하기도 감염으로 인한 염증반응과 발열 및 동통감(疼痛感)에 대한 영향을 관찰하고자 해열효과 및 항염증효과 등의 지표에서 매우 유의한 효과를 확인하였다⁴⁾. 또한 ICR mouse를 이용한 연구에서도 진통, 부종, 해열 등에 대해 유의한 효과를 관찰하였으며⁵⁾ 최근에는 mouse macrophage를 이용한 세포수준의 연구에서 구미강활탕 추출물이 tumor necrosis factor (TNF)- α 와 interleukin(IL)-6의 생성을 억제하는 기작으로 항염증 효능을 나타낸다는 보고가 있다⁶⁾.

임상에서는 콧물, 경추경직(neck tension), 동통 및 후두부에서 시작되는 통증과 시각장애를 동반하는 편두통 치료에 구미강활탕을 천궁차조산과 함께 처방한 임상 증례가 있으며⁷⁾, 감염과 비감염증 모두에서 열병(fever)은 그 원인이 다양한 만큼 치료 방법도 달라하여야 하는데, 열을 다스리는 주요 처방 중 influenza 감염에 의한 열에는 은교산, 면역력 강화에는 십전대보탕, 그리고 풍한(wild-cold)에 의한 열병의 치료에는 구미강활탕을 사용한다고 하였다⁸⁾. 또한 실험동물을 대상으로 한약처방 25종에 대한 항염증 효능의 비교 연구에서도 구미강활탕은 특히 염증성 cytokine인 IL-6를 강하게 억제하는 것으로 보고되어 있다⁹⁾. 한편, 구미강활탕의 독성에 대한 연구로는 SD rat을 이용한 급성독성 연구¹⁰⁾, oral toxicity와 cytotoxicity 관찰¹¹⁾, 13주 동안의 반복투여에 의한 독성관찰 연구¹²⁾, 그리고 미생물복귀독연변이, 염색체 이상 시험, 소핵 시험 등을 통한 유전독성 연구¹³⁾ 등의 연구가 있는데 독성을 나타낸다는 보고는 없다.

구미강활탕 처방을 구성하는 약재는 모두 9가지이며 이중에서 강활과 방풍의 두 가지가 주요 구성 약재이다. 강활(*Angelica koreana*)은 그 뿌리를 건조하여 약재로 사용하는데 주요 성분으로는 isoimperatorin, osthol, imperatorin, bergapten, oxypeucedanin, β -sitosterol 이며 이와 함께 새로운 두가지 furanocoumarin으로서 isooxypeucedanin과 oxypeucedanin methanolate를 분리한 보고가 있으

며¹⁴⁾, 또 다른 연구에서는 위와 같은 화합물 외에도 marmesinin, 4'-O-β-D-glucopyranosyl-3'-hydroxymarmesinin, aesculin, caffeic acid, cimifugin, uracil 및 adenosine 등을 구조 동정과 함께 확인한 보고가 있다^{15,16)}. 한편 미나리과에 속하는 방풍 (*Saposhnikovia divaricata*) 역시 그 뿌리와 뿌리줄기를 건조하여 약재로 사용하는데, 9종의 coumarin, 8종의 chromone, 3종의 sterol, 1종의 coumarolignan 등 모두 21종의 화합물을 보고한 바 있다. 이 화합물 중에서 coumarolignan은 미나리과에서는 처음 보고된 것이며, coumarin 계열의 xanthoarnol과 nodakenin은 방풍에서는 처음으로 분리 보고하였다¹⁷⁾.

최근 생약, 한약제제, 기능성 식품, 건강보조식품 등과 같은 식품 및 의약품 산업분야에서는 생물전환(bioconversion), 즉 발효 방법을 이용하여 기존의 화합물을 유익한 형태의 화합물로 변형, 분해, 또는 전환하려는 시도가 많다¹⁸⁾. 발효는 미생물이 가지고 있는 효소와 대사기능을 이용하여 유기물을 산화 또는 환원시키는 분해과정으로서 그 분해산물의 유용성으로 인하여 부패와 구분할 수 있다. 약용식물과 전통 한약제제의 경우에도 발효 과정을 거치면서 생물학적 활성이 증가함을 보여주는 보고들이 있는데 human cancer cell에 대한 apoptotic potential의 증가¹⁹⁾, 매실 발효물의 면역력 강화²⁰⁾, 발효 흑마늘의 항산화, 항당뇨, 항비만 효과²¹⁾ 등의 연구보고가 있다. 이와 같이 발효물의 생리활성 물질과 그 유용성이 알려지면서 전통의학 연구 분야에서도 발효 한약 추출물에 대한 연구와 관심이 증가하고 있다²²⁻²⁴⁾.

구미강활탕에 대한 독성시험과 연구는 보고된 바 있지만 발효 구미강활탕의 독성에 대해서는 아직 연구나 보고가 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 일반적 감기, 통증, 발열 등의 치료제로 활용되고 있는 구미강활탕의 효능을 강화하기 위하여 미생물 균주 *Bifidobacterium thermophilum*를 이용하여 추출물을 액상 발효시켰으며, 발효 구미

강활탕의 효능 연구에 앞서 그 안전성을 검증하고자 급성독성시험을 실시하였다. 본 연구에서는 실험동물에 이용한 단회투여 급성독성 실험을 실시하였으며 식품의약품안전청 고시 제2012-86호 “의약품등의 독성시험방법”의 “비임상시험 관리기준”을 따라 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험물질

본 실험에 사용한 구미강활탕은 강활, 방풍, 천궁, 백지, 창출, 황금, 생지황, 세신, 감초 등의 9가지 한약재로 구성되어있으며, 재배지역과 생산자가 명확한 한약재를 구입하여 사용하였다(Table 1). 시험물질 탕제의 제조는 전탕추출법을 이용하였는데, 한약재 무게의 10배에 해당하는 생수(화이트, 경남 산청군 삼장면 덕교리 800)에 1시간 동안 상온에서 침적한 후 3시간 동안 가열하여 열탕 추출하였다(경서추출기 Cosmos-600, 한국). 구미강활탕의 발효는 열탕 추출이 완료된 탕제를 먼저 1 M NaOH로 pH를 8.0으로 조정함 다음, 121°C, 1.5기압에서 15분간 가압 멸균하고 상온으로 냉각시킨 후 발효균(*Bifidobacterium thermophilum*)을 1% (v/v)로 접종하여 37°C 항온실에서 48시간 동안 통기배양 방법으로 액체 발효하였다. 발효에 사용된 균종은 한국식품연구원(Korea Food Research Institute, KFRI) 식품미생물 유전자은행에서 분양받아 사용하였으며, 발효가 완료된 시험물질은 동결건조기(일신 FD5512, 한국)로 동결건조하여 분말의 형태로 -20°C에 냉동 보관하면서 실험에 사용하였다. 실험동물에 투여할 경우에는 동결건조물을 멸균생리식염수에 용해하여 경구투여 하였다.

Table 1. Medicinal Herbs of Gumiganghwal-tang Prescription

Herbs	Herbal Name	Dose (g)
강활(羌活)	Ostericii Radix	300
방풍(防風)	Saposhnikoviae Radix	300
천궁(川芎)	Cnidii Rhizoma	240
백지(白芷)	Angelicae Dahuricae Radix	240
창출(蒼朮)	Atractylodis Rhizoma	240
황금(黃芩)	Scutellariae Radix	240
생지황(生地黃)	Rehmanniae Radix	240
세신(細辛)	Asiasari Radix	100
감초(甘草)	Glycyrrhizae Radix	100
Total weight		2,000

2. 실험동물 및 사육환경

동물실험은 한국한의학연구원 동물실험실에서 실시하였으며 ICR 마우스(오리엔트바이오, 경기도 성남시 중원구 상대원동 143-1) 4주령을 사용하였다. 동물 입수 시, 육안으로 외관을 검사한 후 동물실에서 일주일 동안 순화시켰다. 순화기간 중, 일반적인 임상증상을 관찰하여 건강하다고 판단되는 동물을 암·수 각각 15 마리씩 선정하여 체중범위에 따른 무작위법으로 군 분리를 실시하여 실험에 사용하였다. 순화 및 실험기간 동안의 사육환경은 온도 23±3℃, 상대습도 50±10%, 환기횟수 12-16회/hr, 12 시간 명암주기(점등 7:00, 소등 19:00), 조도 150-300 Lx로 조정하여 일정하게 유지하였다. 고형사료(PMI Nutrition, USA)와 물은 자유 섭취 조건으로 하였다. 본 실험은 기관내 실험동물윤리위원회의 심의를 거쳤다.

3. 실험동물군 및 시험물질의 투여

단회 경구투여 급성독성을 평가하기 위하여 5주령 암·수 모두 2,000 mg/kg 투여 용량군과 대조군을 포함하여 2개 군을 설정하였다(Table 2). 투여 방법은 동물 임상시험에서 가장 널리 사용되고 있는 경구투여법을 이용하였다. 시험물질 투여 전 24시간 동안 절식시킨 후 멸균생리식염수에 용해된 시험물질을 위장내 강제 경구투여 하였다. 각 군에 포함된 동물은 각각 5마리씩이며 투여량은

모두 절식 후 투여 당일 측정된 체중을 기준으로 kg 당 10 ml로 계산하였다.

4. 일반증상의 관찰 및 부검

임상 증상은 시험물질 투여 직후부터 6시간 동안 매시간 관찰하였으며, 이후 시험기간 14일 동안 1일 1회 일반증상 관찰법에 의하여 관찰하였다. 체중 변화는 모든 동물에 대하여 시험물질 투여 전, 그리고 투여 후 1, 3, 7, 14일에 각각 측정하였다. 실험동물을 희생하기 전 18시간 동안 절식시킨 후 Avertin을 복강 내 주사하여 마취시킨 다음 개복하여 복대정맥에서 혈액을 채혈하고 방혈한 다음 주요 내부 장기의 이상 병변을 육안 관찰하였다. 이후 심장, 폐, 간, 비장, 신장을 적출하여 생리식염수로 헹군 후 수분을 제거하고 무게를 측정하였다.

5. 혈액 생화학 검사

실험동물 부검시에 채혈한 혈액을 자동생화학 분석기(XL-200, Erba Diagnostics Mannheim, Germany)를 사용하여 혈장 내 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT), glutamate pyruvate transaminase(GPT), alkaline phosphatase(ALP), urea 및 creatinine(CRE)의 농도를 측정하였다.

6. 통계분석

실험결과는 SPSS program을 이용하여 평균과 표준편차를 구하였으며 실험군간 차이의 유의성은 one-way ANOVA(analysis of variance)에 의하여 $p < 0.05$ 수준에서 검증하였다.

III. 결 과

1. 치사율 및 LD₅₀

구미강활탕 및 발효 구미강활탕을 2,000 mg/kg 용량으로 단회 투여하여 14일 동안 실험동물의 사망개체수를 관찰한 결과 암·수 실험동물 모두에서 시험물질 투여에 의해 사망한 개체는 전혀 관찰되

지 않았다. 따라서 ICR 마우스에서 본 시험물질의 LD₅₀ 값은 2,000 mg/kg/day 이상인 것으로 판단된다(Table 2).

2. 임상증상

구미강활탕과 발효 구미강활탕을 단회 투여한

후 14일 동안 임상증상을 관찰한 결과, 모든 실험 동물에서 보행장애, 이상행동, 웅크림, 설사, 부종, 호흡축박, 몸단장, 뛰어오름, 유루, 무기력증, 구토, 비루, 마비, 유연 등 시험물질 투여가 원인으로 의심되는 어떠한 임상증상이나 이상소견은 전혀 관찰되지 않았다(Table 3).

Table 2. Mortality of Mice Treated with Gumiganghwal-tang and Fermented Gumiganghwal-tang Extracts

Sex	Group	Days after treatment														LD ₅₀ (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	>2,000
	GT†	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	
	FGT‡	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	>2,000
	GT	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	
	FGT	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
 †GT : Gumiganghwal-tang extract
 ‡FGT : Fermented Gumiganghwal-tang extract
 §Values are expressed as No. of Death/No. of animals treated.

Table 3. General Clinical Signs and Behavioral Observations in Treated with Gumiganghwal-tang and Fermented Gumiganghwal-tang Extracts

Observations	Sex	Male			Female		
	Group	Con*	GT†	FGT‡	Con	GT	FGT
	No. of animal	5	5	5	5	5	5
Ataxia		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
Crouching		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
Edema		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
Grooming		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
Lacrimation		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
Nausea		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
Paralysis		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 [§]

*Con : control
 †GT : Gumiganghwal-tang extract
 ‡FGT : fermented Gumiganghwal-tang extract
 §Values are expressed as No. of animal / No. of animal

3. 체중변화

구미강활탕과 발효 구미강활탕 투여에 의한 체중변화를 14일의 시험기간 동안 측정하였다. 투여 전(day 0)과 투여 후 1, 3, 7, 14일에 각각 모든 실험동물의 체중을 측정한 결과 구미강활탕과 발효 구미강활탕 투여군, 그리고 대조군 모두 투여 전에 비하여 전체적으로 증가하였다. 또한 대조군과 투여군 사이에서도 유의한 체중변화의 차이는 없었다(Table 4).

4. 부검소견 및 장기 무게

급성독성 실험 종료 시(day 14), 모든 실험물을 부검하여 내부 주요 장기를 육안 관찰한 결과 심장, 폐, 흉선, 간, 신장, 부신, 비장, 위, 대장 등의 주요 장기에서 외관상 어떠한 이상이나 병변도 관찰되지 않았다. 이상 병변이 없음이 확인된 주요 장기를 적출하여 무게를 측정한 결과 심장, 폐, 간, 신장, 비장 등의 5가지 장기 모두 대조군과 비교하여 유의한 차이가 없었다(Table 5).

Table 4. Means of Body Weights of Mice Treated with Gumiganghwal-tang and Fermented Gumiganghwal-tang Extracts

Sex	Group	Body weight (g)				
		Days after treatment				
		0	1	3	7	14
Male	Con*	27.04±0.32	28.12±0.44	28.83±0.37	30.76±0.45	29.05±0.56
	GT†	27.82±0.53	28.39±0.61	28.87±0.78	30.18±0.91	28.69±1.20
	FGT‡	28.60±0.90	29.19±1.03	29.71±1.07	31.50±1.17	29.77±1.33
Female	Con	23.49±0.45	22.66±0.34	22.81±0.34	23.40±0.31	21.78±0.33
	GT	23.21±0.32	23.20±0.44	24.11±0.51	25.66±1.60	22.76±0.32
	FGT	23.73±0.14	23.38±0.41	24.10±0.47	24.33±0.45	22.51±0.45 [§]

*Con : Control

†GT : Gumiganghwal-tang extract

‡FGT : Fermented Gumiganghwal-tang extract

§Values are expressed as mean±SD.

Table 5. Organ-Body Weight Index of Mice Treated with Gumiganghwal-tang and Fermented Gumiganghwal-tang Extracts

Organs	Organ-Body Weight Index*					
	Male			Female		
	Con†	GT‡	FGT§	Con	GT	FGT
Heart	0.48±0.04	0.46±0.01	0.49±0.03	0.46±0.03	0.45±0.04	0.45±0.03
Kidney (Left)	0.79±0.05	0.79±0.10	0.80±0.12	0.56±0.05	0.60±0.08	0.58±0.07
Kidney (Right)	0.76±0.05	0.76±0.08	0.80±0.07	0.56±0.04	0.55±0.07	0.61±0.06
Liver	3.88±0.18	4.05±0.17	3.98±0.24	3.54±0.22	3.76±0.23	3.67±0.19
Lung	0.64±0.12	0.71±0.12	0.68±0.06	0.68±0.05	0.72±0.09	0.73±0.05
Spleen	0.33±0.03	0.33±0.05	0.33±0.02	0.37±0.07	0.43±0.07	0.41±0.06
Body Weight (g)	29.05±1.26	28.69±2.67	29.77±2.97	21.78±0.73	22.76±0.71	22.51±1.01**

*Organ-body index = (organ weight × 100) / body weight

†Con : Control

‡GT : Gumiganghwal-tang extract

§FGT : Fermented Gumiganghwal-tang extract

**Values are expressed as mean±SD.

5. 혈액 생화학적 검사

시험기간 14일의 일정 종료 후, 부검시에 채혈된 혈액을 이용하여 혈액 생화학적 지표들을 측정하고 분석하였다. 혈액학적으로는 hemoglobin(HGB), hematocrit(HCT), red blood cell(RBC), mean corpuscular volume(MCV), mean corpuscular hemoglobin(MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration(MCHC), white blood cell(WBC), neutrophil, lymphocyte,

monocyte, eosinophil, basophil, platelet(PLT), mean platelet volume(MPV) 등의 항목을 측정하였으며 모든 수치에서 대조군과 시험물질 투여군 사이에 유의한 차이를 보이는 지표는 관찰되지 않았다(Table 6). 또한 GOT, GPT, ALP, urea, creatinine 등의 혈액 생화학적 분석에서도 시험물질 투여에 의한 것으로 보이는 어떠한 차이도 관찰되지 않았다 (Table 7).

Table 6. Hematological Observations of Blood in Mice Treated with Gumiganghwal-tang and Fermented Gumiganghwal-tang Extracts

Variables	Sex	Male			Female		
	Group	Con*	GT [†]	FGT [‡]	Con	GT	FGT
	No. of animal	5	5	5	5	5	5
HGB (g/dl)		14.08±0.38	14.46±0.68	13.42±0.82	11.86±2.78	13.48±0.56	13.42±1.19
HCT (%)		49.56±3.08	51.64±0.97	49.12±4.01	45.48±10.90	52.36±1.96	50.90±3.37
RBC (×10 ⁶)		8.52±0.48	8.91±0.26	8.39±0.68	7.72±1.91	8.77±0.31	8.46±0.75
MCV (fl)		58.12±1.55	57.96±1.05	58.52±1.60	59.08±2.70	59.72±1.52	60.30±2.14
MCH (pg)		16.58±1.14	16.22±0.59	16.04±0.64	15.38±0.44	15.36±0.26	15.88±0.66
MCHC (g/dl)		28.56±2.24	27.98±1.20	27.38±0.91	26.10±0.82	25.76±0.48	26.34±1.52
WBC (×10 ³)		1.13±0.17	1.17±0.23	1.24±0.23	1.15±0.29	1.19±0.31	1.98±0.48
Neutrophil (×10 ³)		0.26±0.11	0.25±0.04	0.26±0.08	0.24±0.06	0.27±0.07	0.56±0.15
Lymphocyte (×10 ³)		0.79±0.10	0.85±0.20	0.89±0.22	0.81±0.27	0.84±0.31	1.32±0.41
Monocyte (×10 ³)		0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.02±0.01	0.02±0.01	0.03±0.01
Eosinophil (×10 ³)		0.05±0.06	0.05±0.02	0.05±0.02	0.07±0.07	0.05±0.02	0.05±0.03
Basophil (×10 ³)		0.01±0.01	0.02±0.02	0.01±0.01	0.01±0.01	0.00±0.01	0.00±0.01
PLT (×10 ³)		1132.40±212.55	1099.80±247.77	1173.80±84.77	653.00±598.80	950.40±551.43	1254.40±53.17
MPV (fl)		10.26±0.98	9.90±1.57	10.04±0.96	10.50±1.11	11.72±2.66	10.68±0.48 [§]

*Con : Control

[†]GT : Gumiganghwal-tang extract

[‡]FGT : Fermented Gumiganghwal-tang extract

[§]Values are expressed as mean±SD.

Table 7. Biochemical Parameters in the Blood Plasma of Mice Treated with Gumiganghwal-tang and Fermented Gumiganghwal-tang Extracts

Sex	Group	Dose(mg/kg)	GOT	GPT	ALP	Urea	Creatinine
Male	Con*	0	54.80±9.52	30.80±7.76	71.20±6.27	9.04±1.05	0.20±0.00
	GT†	2,000	57.20±10.09	23.60±9.16	80.40±15.30	9.08±2.02	0.24±0.08
	FGT‡	2,000	52.80±9.60	28.40±6.37	82.00±6.32	9.40±0.67	0.20±0.00
Female	Con	0	62.80±9.77	27.20±8.82	82.80±13.60	7.76±1.41	0.20±0.13
	GT	2,000	65.20±14.62	27.60±8.24	91.20±4.49	7.60±0.89	0.12±0.10
	FGT	2,000	57.60±6.37	22.40±2.33	90.40±12.80	11.88±1.07	0.08±0.10 [§]

*Con : Control

†GT : Gumiganghwal-tang extract

‡FGT : Fermented Gumiganghwal-tang extract

§Values are expressed as mean±SD.

IV. 고 찰

생약재 및 이를 포함한 한약제제는 아시아 국가들 뿐만 아니라 전 세계적으로 이미 오래전부터 사용되어 왔기 때문에 일반적으로 안전하다고 고려되고 있다. 하지만 그 사용빈도가 증가함에 따라 이들 제제들의 효능에 대한 과학적 근거 및 그를 위한 연구, 부작용과 잠재적 독성 등에 대한 연구는 비교적 최근에 이루어지고 있는 추세이며 약물로서의 안전성에 대한 관심과 논의가 더욱 활발하다²⁵⁾.

구미강활탕은 감기, 발열, 오한, 통증 등의 증상에 사용되어온 전통의약으로서 처방 빈도가 높은 여러 처방중의 하나이다. 최근 기능성 식품과 생물 대사산물, 전통 및 천연물 의약 분야에서 관심이 증가되고 있는 분야중 하나는 바로 생물전환, 즉 발효에 의한 유효성분과 물질의 전환과 효능강화이다. 본 연구에서는 주요 전통 한약제제 중 하나인 구미강활탕의 유효 약효성분 강화를 목적으로 미생물 *Bifidobacterium thermophilum*을 이용하여 발효 구미강활탕을 제조하였으며 한약제제로서의 안전성을 우선 확보하고자 하였다. 발효에 따른 성분 변화에 의한 잠재적 독성여부를 확인하고자 실험동물 ICR mouse를 대상으로 단회 경구

투여 독성시험의 저독성 기준 2,000 mg/kg를 투여한 후 14일 동안 치사율, 임상증상, 체중, 부검 소견을 관찰하였다. 14일 동안의 실험기간 종료 후 실험동물을 부검하여 주요 장기의 이상 병변 유무를 관찰하고 무게를 측정하였으며, 혈구 및 혈액 생화학적 분석을 실시하였다. 결과적으로는 구미강활탕과 발효 구미강활탕 두가지 모두 다양한 분석 지표를 통해 볼 때 독성에 의한 이상이나 영향은 전혀 관찰되지 않았다. 실험동물을 이용한 구미강활탕의 독성에 대한 이전의 연구로는 단회 경구투여 급성독성 시험과¹⁰⁾ 4주 및 13주 동안의 반복투여 독성에 대한 보고가 있는데^{11,12)}, 이들의 연구결과 모두 어떠한 독성도 관찰되지 않았으며 이는 본 연구결과와도 일치함으로써 구미강활탕의 안전성을 재확인 할 수 있었다. 또한 본 연구에서는 구미강활탕 뿐 아니라 구미강활탕의 발효물에 대한 독성도 관찰함으로써 발효 구미강활탕 역시 독성이 없는 안전한 한약제제라 할 수 있다. 단회 투여 독성시험에 있어 “의약품 등의 독성시험기준(식품의약품안전청 고시 제2012-86호)”에 의하면 육안적 이상소견이 관찰된 장기와 조직에 대하여 필요시 병리조직학적 검사를 실시하도록 되어있으나 본 연구에서는 부검시 이상소견이 관찰되지 않음에 따라 조직 검사는 시행하지 않았다.

이상의 연구결과를 종합하여 볼 때 구미강활탕은 서론에서 언급한 기존의 여러 연구보고에서와 마찬가지로 독성이 없음을 재확인 할 수 있었으며, 본 연구에서 처음 시도한 발효 구미강활탕의 경우에도 역시 독성이 전혀 없는 것으로 나타났다. 따라서 구미강활탕 뿐 아니라 생물전환에 의한 발효 구미강활탕 역시 독성이 없는 안전한 물질로 판단된다.

V. 결 론

본 연구에서는 구미강활탕 및 발효 구미강활탕 추출물의 단회 투여 급성독성을 평가하고자 ICR 마우스에 시험물질을 경구 투여하여 14일 동안 치사율, 체중변화, 임상증상, 부검소견, 혈구 및 혈액 생화학 지표 등을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 시험기간 중 구미강활탕과 발효 구미강활탕 추출물 투여군 및 대조군 모두에서 사망동물이 관찰되지 않음에 따라 LD₅₀는 2,000 mg/kg 이상인 것으로 판단된다.
2. 시험물질 투여에 의한 체중의 이상 변화, 또는 어떠한 독성 증상도 관찰되지 않았다.
3. 부검에 의한 육안 관찰 결과, 주요 장기의 이상 병변 소견은 전혀 없었다.
4. 혈구 및 혈액 생화학적 지표 검사 결과, 시험물질 투여군과 대조군 사이에 유의한 차이는 없었다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 구미강활탕과 발효 구미강활탕은 ICR 마우스에서 어떠한 임상적 영향이나 독성을 나타내지 않음에 따라 안전한 물질로 판단된다.

감사의 말씀

본 연구는 교육과학기술부 지원 한국한의학연구원 기관고유사업 K12050의 지원을 받아 수행되었음.

참고문헌

1. 허준. 동의보감. 서울:민중서원. 1993:669.
2. 한의과대학 방제학교수 공편저. 방제학. 서울:영림사. 1999:74-5.
3. 조재국. 한방이용 및 한약소비 실태 조사. 서울:한국보건사회연구원. 2011:260.
4. 허승철, 정희재, 정승기, 이형구. 구미강활탕의 효능에 관한 실험적 연구. 경희의학. 1998;14(2):174-83.
5. 문영희, 고재중, 박조영. 구미강활탕의 소염 진통작용. 생약학회지. 1999;30(1):18-24.
6. Kim SJ, Jeong HJ, Moon PD, Lee KM, Lee HB, Jung HJ, Jung SK, Rhee HK, Yang DC, Hong SH, Kim HM. Anti-inflammatory activity of Gumiganghwaltang through the inhibition of nuclear factor- κ B activation in peritoneal macrophages. Biol Pharm Bull. 2005;28(2):233-7.
7. Jiang D. Management of migraine using traditional Chinese medicine. J Chin Med. 2004;76:40-4.
8. Baibado JT, Chui KWJ, Cheung HY. Non-prescription antipyretics. Hong Kong Pharmaceut J. 2011;18(3):110-6.
9. 이진아, 하혜경, 정다영, 이호영, 이준경, 황대선, 신현규. 한약 처방 25종에 대한 항염증 효능 비교 연구. 대한한방부인과학회지. 2010;23(3):101-11.
10. 신인식, 김정훈, 하혜경, 서창섭, 이미영, 이호영, 이준경, 이남현, 이진아, 이설림, 허정임, 신현규. Spargue-Dawley 랫드를 이용한 구미강활탕의 급성독성 연구. 대한한의학방제학회지. 2010;18(1)

- :79-85.
11. Lee MY, Shin IS, Seo CS, Kim JH, Ha H, Huh JI, Shin HK. A 4-week repeated dose oral toxicity and cytotoxicity study of Gumiganghwaltang in Crl:CD(SD) rats. *Toxicol Int.* 2011;18(2):146-54.
 12. Lee MY, Seo CS, Shin IS, Ha H, Kim JH, Cho JW, Huh JI, Shin HK. Toxicological evaluation of Gumiganghwaltang aqueous extract in Crl:CD(SD) rats: 13 weeks oral gavage studies. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2012;62:553-60.
 13. Shin IS, Seo CS, Lee MY, H HK, Huh JI, Shin KH. In vitro and in vivo evaluation of the genotoxicity of Gumiganghwaltang, a traditional herbal prescription. *J Ethnopharmacol.* 2012;141:350-6.
 14. 이정규, 우원식. 강활의 쿠마린 성분. *생약학회지.* 1982;13(1):10-3.
 15. 권용수, 우은란, 김창민. 강활의 생물활성분획에 대한 성분연구. *생약학회지.* 1991;22(3):156-61.
 16. 권용수, 인고길, 김창민. 강활의 성분. *생약학회지.* 2000;31(3):284-7.
 17. 김소준, 진영원, 윤기동, 류민열, 양민혜, 이제현, 김진웅. 방풍의 화학 성분. *생약학회지.* 2008;39(4):357-64.
 18. Santos MM, Piccirillo C, Castro PM, Kalogerakis N, Pintado ME. Bioconversion of oleuropein to hydroxytyrosol by lactic acid bacteria. *World J Microbiol Biotechnol.* 2012;28(6):2435-40.
 19. Chui CH, Hau DK, Lau FY, Cheng GY, Wong RS, Gambari R, Kok SH, Lai KB, Teo IT, Leung TW, Higa T, Ke B, Tang JC, Fong DW, Chan AS. Apoptotic potential of the concentrated effective microorganism fermentation extract on human cancer cells. *Int J Mol Med.* 2006;17(2):279-84.
 20. Jung BG, Ko JH, Cho SJ, Koh HB, Yoon SR, Han DU, Lee BJ. Immune-enhancing effect of fermented Maesil (*Prunus mume* Siebold & Zucc.) with probiotics against *Bordetella bronchiseptica* in mice. *J Vet Med Sci.* 2010;72(9):1195-202.
 21. Jung YM, Lee SH, Lee DS, You MJ, Chung IK, Cheon WH, Kwon YS, Lee YJ, Ku SK. Fermented garlic protects diabetic, obese mice when fed a high-fat diet by antioxidant effects. *Nutr Res.* 2011;31(5):387-96.
 22. 차재영, 전방실, 이치형, 유기수, 문재철, 조영수. Streptozotocin 유발 당뇨쥐에서 발효 차가버섯의 항당뇨 및 항산화 효과. *생명과학회지.* 2005;15(5):809-18.
 23. 함성호, 임병락, 유가화, 가선오, 박병현. 발효에 의한 오가피의 항당뇨 활성 촉진. *동의생리병리학회지.* 2008;22(2):340-5.
 24. 김형석, 한효상, 이영중. 고삼 발효 추출물의 면역활성에 관한 연구. *대한분초학회지.* 2011;26(2):17-23.
 25. Tang JL, Liu BY, Ma KW. Traditional Chinese Medicine. *Lancet.* 2008;372(9654):1938-40.