

## ICR 마우스를 이용한 발효삼출건비탕의 단회투여 독성에 대한 연구

정영필<sup>#</sup>, 임남희, 김애영, 황윤환, 박화용, 마진열<sup>\*</sup>

한국한의학연구원 한의신약연구그룹

### Single Oral Dose Toxicity Test of Fermented *Samchulgeonbi-tang* Extract in ICR mice

Young Pil Jung<sup>#</sup>, Nam-Hui Yim, Aeyung Kim, Youn-Hwan Hwang, Hwayong Park, Jin Yeul Ma<sup>\*</sup>

KM-Based Herbal Drug Research Group, Korea Institute of Oriental Medicine

#### ABSTRACT

**Objectives :** *Samchulgeonbi-tang* (*shenzhujianpi-tang*) has been prescribed as one of traditional herbal medicine for treatment of stomach diseases since ancient time in Korea. *Samchulgeonbi-tang* extract was fermented by *Lactobacillus* spp. for improving the effect. However, the toxicity and safety of fermented *Samchulgeonbi-tang* (FS) extract were not confirmed. Therefore, this study was performed to evaluate the acute toxicity and safety of FS extract.

**Methods :** To evaluate the acute toxicity and safety of FS extract, several doses of FS extract, 0, 500, 1000 and 2000 mg/kg, were orally administered to 20 male and 20 female ICR mice, respectively. After treatment with FS extract, we observed mortality, general toxicity, behavior and change of body weight for the 14 days. After 14 days of oral administration, all mice were sacrificed and hematological parameters were analyzed from blood serum.

**Results :** In present study, the toxic signs such as mortality or abnormal behaviors by FS extract were not observed. There are no significant differences between FS-treated group and control group in body weight, organ weights, and hematological parameters.

**Conclusions :** The remarkable adverse effects by FS extract were not observed in ICR mice. Also, any death was not occurred at all treated FS doses, 500, 1000 and 2000 mg/kg. Therefore, the approximate lethal dose (ALD) of FS extract may be more than 2000 mg/kg.

**Key words :** *amchulgeonbi-tang* (*shenzhujianpi-tang*), Fermented *Samchulgeonbi-tang* (FS), Acute toxicity, Safety, ALD

#### 서 론

한약은 한의학의 기본이론을 바탕으로 천연물 또는 가공된 약제를 혼합 조제한 약물로서 예로부터 질병의 예방과 치료를 위해 사용되어 왔다. 최근 한의학계에서는 발효한약에 대한 관심이 증가하고 있는데<sup>1)</sup>, 발효(醱酵)는 식품에서 널리 이용되고 있는 친환경 가공기술로 한의학에서는 한약의 효능을 높이거나 변화시키는 포제법의 하나로 발효법을 이용한다. 발효를 통해 장내에서 흡수될 수 없는 고

분자의 배당체 성분에서 저분자의 비배당체로 생물전환이 가능하며<sup>2)</sup>, 이로 인해 약리성분의 체내 흡수율 및 생체 이용율이 증가 될 수 있다<sup>3)</sup>.

삼출건비탕(參朮健脾湯)은 명대 곽감익 저술한 의방책략(醫方策略)에 처음으로 수록된 이후 한의학에서 비위질환(脾胃疾患)에 많이 활용되었다<sup>4)</sup>. 허(許)의 동의보감(東醫寶鑑)에 따르면 비를 든든하게 하고 위를 자양하며 음식을 소화시키는데 좋으며<sup>5)</sup>, 이(李)의 방제학(方劑學)에는 사군자탕(四君子湯)과 평위산(平胃散)의 복합처방(複合處方)으

\* 교신저자 : 마진열, 대전광역시 유성구 유성대로 1672 한국한의학연구원  
· Tel : 042-868-9466 · Fax 042-868-9573 · E-mail : jyama@kiom.re.kr  
# 제1저자 : 정영필, 대전광역시 유성구 유성대로 1672 한국한의학연구원  
· Tel : 042-869-2729 · E-mail : jyp007@kiom.re.kr  
· 접수 : 2013년 2월 12일 · 수정 : 2013년 3월 21일 · 채택 : 2013년 3월 22일

로써 창출(蒼朮)을 제거하고 산사(山査), 지실(枳實), 백작약(白芍藥), 사인(砂仁), 신곡(神曲) 및 맥아(麥芽) 등을 배합(配合)한 처방(處方)으로 건비양위(健脾養胃), 운화음식(運化飲食)의 효능이 있다고 하였다<sup>6)</sup>. 또한 소화력(消化力)을 촉진(促進) 시키는 처방(處方)으로서 원기허약(元氣虛弱)으로 인하여 식욕부진(食慾不振), 소화불량(消化不良), 심하비색(心下痞塞) 및 복부팽만감(腹部膨滿感) 등의 증상(症狀)이 나타나는 허증(虛證)에 응용한다 하였다<sup>7)</sup>. 삼출건비탕(參朮健脾湯)은 실험적 연구가 많이 이루어져 있는데 운동수행능력을 향상<sup>4)</sup> 시켜주는 효과를 비롯하여, 위액분비 및 pepsin 활성도 감소효과, 장관수송능 증가효과, 위궤양, 만성위염, 위산과다증, 위하수증에 효과가 보고되어 있다<sup>8)</sup>. 그리고 소화불량, 설사, 구토 등에 관련된 효능도 보고되어 있다<sup>9)</sup>. 이밖에 위장 보호와 면역 조절반응<sup>10)</sup>, 항염증<sup>11)</sup>에 효능을 나타내는 등 다양한 약리작용이 보고되어 있다.

최근 연구식품 및 의약품의 안전성이 주요 사회적 이슈로 대두되어<sup>12)</sup> 한약재 및 한방처방의 안전성에 대한 근거 자료의 요구도가 점차 높아지고 있어 많은 연구가 진행되고 있다. 효능이 강화된 발효 한약의 경우 발효방풍통성산<sup>13)</sup>, 발효인삼패독산<sup>14)</sup>, 발효이중탕<sup>15)</sup>, 발효십전대보탕<sup>16)</sup> 등에 대해 급성독성 대한 연구가 진행되어 안전성이 확보되었다. 하지만 발효삼출건비탕의 안전성에 대한 자료가 전무한 실정이므로, 독성 및 안전성 문제에 대한 자료를 확보하기 위해 진행되었다.

한편, 급성독성은 생체에 대한 독성 영향을 실험하는 일반 독성실험의 한 종류로서 단회투여에 의해 발생하는 체중, 임상증상, 사망률, 반수치사량, 소화관의 부검소견 및 혈중변화 등의 독성 증상을 관찰하는 시험방법이다<sup>14)</sup>. 이에 발효삼출건비탕을 식품의약품안전청 고시 제2012-86호에 고시된 한계용량에 따라 실험동물에 단회 경구투여하여 그로 인해 발생하는 증상들을 관찰하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시험물질

실험에 사용한 발효삼출건비탕의 처방 내용은 Table 1과 같으며, 처방구성에 따른 각 한약재들은 중량의 10배에 달하는 생수(화이트, 경남 산청군 삼장면 덕교리 800)에 1시간동안 침적시킨 다음 180분 동안 전탕추출법(한국, 경서추출기 cosmos-660)에 의한 시험물질 추출을 실시하였다. 시험물질의 발효는 pH를 8.0으로 조정하고 121°C, 1.5기압에서 15분간 가압멸균하여 냉각시킨 후, 한국식품연구원(Korea Food Research Institute: KFRI) 식품미생물 유전자은행에서 분양받은 *Lactobacillus curvatus* 을 1%(v/v)로 하여 접종 한 후, 37°C의 항온실에서 48시간동안 통기 배양하여 액체 발효를 실시하였으며, 동결건조기(한국, 일신 FD5512)를 사용하여 분말 형태로 조제하였다.

Table 1. The Prescription of Samchulgeonbi-tang

Herb	Drug Name	Scientific Name	Dose(g)
人蔘	Ginseng Radix	<i>Panax ginseng</i>	3.75
白朮	Atractylodis Rhizoma Alba	<i>Atractylodes japonica</i>	3.75
白茯苓	Poria Sclerotium	<i>Poria cocos Wolf</i>	3.75
厚朴	Magnoliae Cortex	<i>Magnolia officinalis</i>	3.75
陳皮	Citri Unshius Pericarpium	<i>Citrus unshiu</i>	3.75
山楂肉	Crataegi Fructus	<i>Crataegus pinnatifida Bge</i>	3.75
枳實	Ponciri Fructus Immaturus	<i>Poncirus trifoliata</i>	3.0
白芍藥	Paeoniae Radix	<i>Paeonia albiflora</i>	3.0
縮砂	Amomi Fructus	<i>Amomum villosum</i>	1.88
神麩	Massa Medicata Fermentata	<i>Triticum aestivum L.</i>	1.88
麥芽	Hordei Fructus Germinatus	<i>Hordeum vulgare L.</i>	1.88
甘草	Glycyrrhizae Radix et Rhizoma	<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	1.88
生薑	Zingiberis Rhizoma Crudus	<i>Zingiber officinale</i>	3.75
大棗	Zizyphi Fructus	<i>Zizyphus jujuba</i>	3.75
Total weight			43.52

### 2. 실험동물 및 사육환경

실험은 한국한의학연구원 동물실험실에서 실시하였으며, 암수 ICR 마우스(오리엔트 바이오)를 사용하였다. 동물 입수 시, 외관을 육안으로 검사한 후, 일주일간 시험을 실시하는 동물실에서 순화시키고 그 중 건강한 동물을 골라 실험에 사용하였다. 순화 기간 중, 일반 임상증상을 관찰하여 건강한 동물을 암·수 20마리씩 선정하여 체중범위에 따른 무작위법에 의하여 균 분리를 실시한 후, 본 실험에 사용하였다. 본 실험은 실험동물윤리위원회의 심의를 거쳤으며, 순화 및 실험기간 동안의 사육환경은 온도 23±3°C, 상대습도 50±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 고형사료(PMI nutrition, USA)와 물은 자유 섭취 조건으로 하였다.

### 3. 실험군 및 한약재투여

4주령 마우스에 대한 급성 경구독성을 평가하기 위하여 발효삼출건비탕의 투여 용량은 식품의약품안전청의 고시(제2012-86호) 및 OECD Guideline<sup>17)</sup>에 따라 경구투여 한계용량 2000 mg/kg를 기준으로 하여 공비 0.5로 3개 군을 설정하였으며, 대조군을 포함하여 암수 ICR 마우스를 각각 4개의 용량군으로 나누었다. 본 연구에서는 대조군과 비교하여 시험물질 투여로 인한 급성독성 여부를 관찰하였고, 발효삼출건비탕을 투여한 시험물질 투여군 간의 체중 및 임상증상 등을 비교하였다. 투여 경로는 한방 임상에서 가장 널리 이용되고 있는 경구투여법을 이용하였으며, 각 용량군의 한약재는 투여 직전에 3차 증류수에 희석하여 실험에 공시하였으며 동물을 하룻밤 절식시킨 후 배부 피부 고정법으로 고정하고 경구투여용 금속제 존데와 주사관을 이용하여 강제 경구 투여 하였다.

### 4. 임상증상 및 부검

임상 증상은 투여 직후부터 6시간 동안 피부, 털, 눈, 점막 등을 매시간 관찰하였으며, 그 후 14일(1일 1회) 동안

일반증상 관찰법에 의하여 관찰하였으며<sup>14,19)</sup>, 모든 동물에 대하여 투여전과 투여 후 1, 3, 7, 14일에 체중변화를 측정하였다. 실험동물을 희생하기 전날 밤 18시간 절식시킨 후 다음날 아침 Avertin을 복강 내 주사하여 마취시킨 후 개복하여 혈액을 채취하였다. 방혈 후 주요 내부장기의 병변을 육안적으로 관찰하였으며 간, 심장, 신장, 폐, 비장을 적출하여 생리식염수로 3회 이상 세척 후 수분을 제거하고 무게를 측정하였다. 채취한 혈액은 원심분리 (5000rpm, 15분)하여 자동생화학검사기(XL-200, Erba Diagnostics Mannheim, Germany)를 이용하여 혈중 파라미터를 측정하였다.

## 5. 통계학적 방법

실험결과는 SPSS package program(version 12.0)을 이용하여 평균과 표준편차를 구하였으며 실험군간의 차이의 유의성은 one-way ANOVA(analysis of variance)에 의하여  $p < 0.05$  수준에서 검증하였다.

# 결 과

## 1. 치사율 및 ALD

평균생리식염수와 500, 1000 및 2000 mg/kg 용량의 발효삼출건비탕 추출물을 단회 경구 투여 후 14일 간 실험동물의 사망개체 수를 관찰한 결과, 모든 실험동물에서 사망이 관찰되지 않았다. US Environmental Protection Agency OPPTS 870.10017)에 따라 본 연구에서는 발효삼출건비탕을 2000 mg의 용량으로 경구투여 시, 사망 예가 관찰되지 않아 ALD 값은 2000 mg 이상으로 사료된다.

Table 2. Mortality of Male and Female ICR Mice Treated with Fermented *Samchulgeonbi-tang* Extract

Gender	Group	Dose (mg/kg)	Mortality					ALD (mg/kg)	
			Days after treatment						
			0	1	3	7	14		
Male	CON	0	0/5*	0/5	0/5	0/5	0/5	≥ 2000 mg/kg	
		500	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5		
	FS	1000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5		
		2000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5		
Female	CON	0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	≥ 2000 mg/kg	
		500	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5		
	FS	1000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5		
		2000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5		

CON; Normal control, FS; Fermented *Samchulgeonbi-tang* extract group.

\* : Values are expressed as No. Dead/No. animal.

## 2. 임상 증상

Table 3와 같이 500, 1000 및 2000 mg/kg 용량의 발효삼출건비탕 추출물을 경구로 단회 투여한 시험물질 투여군과 대조군의 암·수 ICR 마우스를 14일 동안 관찰한 결과, 보행장애, 행동이상, 웅크림, 설사, 부종, 호흡축박, 몸단장, 뿔어오름, 유루, 무기력증, 구토, 비루, 마비, 유연 등 시험물질투여와 관련된 어떠한 임상증상의 이상소견도 관찰되

지 않았다.

Table 3. Clinical Signs of Male and Female ICR Mice Treated with Fermented *Samchulgeonbi-tang* extract

Variable	Gender		Male				Female					
	Group	CON	FS		CON		FS					
	Dose (mg/kg)	0	500	1000	2000	0	500	1000	2000			
		NO. of animal		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*
Bizarre Behavior		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
Diarrhea		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
Gaspings		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
Jumping		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
Lethargy		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
Nasal Discharge		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
Salivation		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

CON; Normal control, FS; Fermented *Samchulgeonbi-tang* extract group.

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

## 3. 체중 변화

500, 1000 및 2000 mg/kg 용량의 발효삼출건비탕 추출물을 경구로 단회 투여한 시험물질 투여군 및 대조군의 체중 변화를 관찰한 결과는 Table 4와 같다. 경구 투여 후 시험물질 투여군과 대조군 모두 개시체중에 비하여 체중이 증가하였으며, 투여 전과 투여 후 1, 3, 7, 14일 모두 대조군과 발효삼출건비탕 추출물 투여군 간의 유의적인 체중변화의 차이는 관찰할 수 없었다.

Table 4. Means of Body Weights of Male and Female ICR Mice Treated with Fermented *Samchulgeonbi-tang* Extract

Gender	Group	Dose (mg/kg)	Body weight (g)				
			Days after treatment				
			0	1	3	7	14
Male	CON	0	20,01±0.82	24,79±0.81	27,66±1.59	31,31±2.46	33,04±3.13
		500	19,67±0.40	24,19±0.51	26,41±0.92	28,78±1.68	30,44±1.77
	FS	1000	20,60±0.43	25,45±0.74	27,62±1.08	30,67±2.00	32,40±1.72
		2000	20,28±0.48	24,53±1.38	26,21±2.22	28,11±2.42	30,06±2.79
Female	CON	0	18,56±1.02	21,57±0.66	22,60±1.03	23,14±1.19	23,99±1.74
		500	19,26±1.31	21,85±1.44	23,17±1.95	24,10±2.25	24,88±2.60
	FS	1000	18,44±0.86	21,44±1.00	22,54±0.92	22,98±1.63	23,86±1.38
		2000	18,98±0.94	21,55±1.19	23,26±1.15	23,86±0.75	24,35±0.17

The data are presented as mean±SD

CON; Normal control, FS; Fermented *Samchulgeonbi-tang* extract group.

## 4. 부검 소견 및 장기무게 측정

시험물질 단회투여 14일 후 모든 실험동물을 부검하여 주요 내부 장기의 육안적 소견을 관찰한 결과, 모든 실험동물에서 심장, 폐, 흉선, 간, 신장, 부신, 비장, 위, 대장 맹장 등의 주요 내부 장기에 대한 외관상의 어떠한 이상병변도 발견되지 않았다. 또한 장기의 무게 측정 결과 Table 5와 같이 간, 신장, 심장, 폐 모두에서 정상 대조군과 비교하여 유의한 차이가 없었다.

Table 5. Organ Weights of Male and Female ICR Mice Orally Treated with Fermented *Samchulgeonbi-tang* Extract

Gender	Group	Dose (mg/kg)	Organ weight index					
			Liver	Kidney (L)	Kidney (R)	Spleen	Heart	Lung
Male	CON	0	5.56±0.54	0.78±0.02	0.77±0.05	0.35±0.02	0.48±0.06	0.65±0.07
		500	4.95±0.29	0.76±0.08	0.76±0.09	0.37±0.02	0.49±0.03	0.71±0.04
		1000	5.23±0.28	0.79±0.06	0.77±0.06	0.36±0.05	0.48±0.03	0.73±0.04
		2000	5.07±0.28	0.73±0.11	0.71±0.09	0.43±0.12	0.46±0.03	0.65±0.08
Female	CON	0	3.75±0.07	0.57±0.07	0.55±0.05	0.44±0.06	0.43±0.02	0.67±0.04
		500	3.94±0.22	0.57±0.04	0.55±0.02	0.44±0.05	0.47±0.05	0.73±0.07
		1000	3.69±0.27	0.55±0.05	0.53±0.05	0.36±0.06	0.47±0.07	0.68±0.11
		2000	4.07±0.42	0.61±0.05	0.58±0.02	0.43±0.07	0.49±0.04	0.73±0.03

The data are presented as mean±SD

Organ body index = (organ weight \* 100) / body weight

CON; Normal control, FS; Fermented *Samchulgeonbi-tang* extract group.

## 5. 혈액 생화학적 검사

시험물질 단회 투여 14일 후, 혈액학적 검사를 실시한 결과는 Table 6과 같다. 수치를 측정한 결과, 모든 지표 수치에서 시험물질 투여에 의한 변화는 관찰되지 않았다.

Table 6. Analysis of Hematological Levels in Male and Female ICR Mice Orally Treated with Fermented *Samchulgeonbi-tang* Extract

Gender	Group	Dose (mg/kg)	AST	ALT	ALP	UREA	CREATININE
Male	FS	500	56.80±24.40	30.80±32.24	102.00±33.82	16.96±6.03	0.72±0.18
		1000	62.40±28.23	24.80±13.97	153.60±80.28	21.52±6.76	0.96±0.46
		2000	54.40±32.32	22.40±14.86	165.60±74.70	20.56±9.67	1.04±0.54
		CON	0	64.80±24.23	19.20±9.96	140.00±18.55	12.08±3.85
Female	FS	500	70.40±20.51	22.40±9.21	117.60±22.91	10.16±3.45	0.80±0.00
		1000	84.00±8.00	19.20±4.38	136.00±23.32	11.84±2.78	0.80±0.00
		2000	74.40±6.69	16.00±4.00	116.00±29.26	11.76±3.61	0.80±0.00

The data are presented as mean±SD

CON; Normal control, FS; Fermented *Samchulgeonbi-tang* extract group.

## 고찰

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

발효한약은 전통적으로 임상에서 사용되어 왔으며 최근에는 발효한약에 대한 관심이 증가하고 있다. 한방처방은 다양한 배당체 형태의 생약성분이 함유되어 있으며 가수분해, 효소적 변화 그리고 미생물에 의한 비배당화에 의해 생리 활성이 증진된다. 특히 미생물에 의한 생물전환은 에피머화(epimerization), 수화(hydrate), 수산화(hydration)와 같은 부가반응이 적은 장점이 있다<sup>20)</sup>. 십전대보탕<sup>21)</sup> 및

오약순기산<sup>22)</sup>를 발효한 결과, 발효전에 비하여 성분의 변화 및 효능의 증가가 관찰 되었음이 보고되었다. 이와 같은 근거를 토대로 본 연구에서는 약리성분을 강화하기 위하여 유산균을 이용하여 발효삼출건비탕을 제조하였으며, 그 안전성에 대한 자료를 마련하기 위하여 실험동물에 대한 급성 독성실험을 실시하였다.

시험물질인 발효삼출건비탕의 임상적용 경로가 경구이므로, 경구 투여용 주사기를 이용하여 단회 경구 투여를 수행하였다. 투여용량은 단회 경구투여 2000 mg/kg 을 고농도로 설정하여<sup>23)</sup> 암수 ICR 마우스에 0(control), 500, 1000, 2000 mg/kg 용량으로 단회 경구투여 하였고, 이후 14일 간 사망율, 체중, 임상증상 등을 관찰하였다. 투여 14일 후 부검하여 내부 장기의 이상 병변 유무에 대한 육안적 소견을 관찰하였다. 그 결과, 0, 500, 1000, 2000 mg/kg 용량으로 투여한 모든 암수 ICR 마우스에 대하여 사망이 관찰되지 않았고, 이로 인하여 ALD는 2000 mg/kg 이상으로 사료된다. 또한 시험기간 동안 각 농도의 발효삼출건비탕 추출물 투여군과 비투여군을 비교시 경구투여 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. 단회투여 독성시험의 경우, 육안적 이상소견이 관찰된 장기 및 조직에 대하여 병리조직학적 검사가 포함되어야 한다는 “의약품등의 독성시험기준(식품의약품안전청고시 제 2012-86호)”를 참고시 모든 실험동물에서 이상소견이 관찰되지 않았기에 조직검사는 시행하지 않았으며, 단회경구투여 독성시험의 저독성 기준인 2000 mg/kg 용량에서 실험동물에 독성이 나타나지 않았기에 발효삼출건비탕은 급성독성이 없는 안전한 물질로 사료된다. 암수 ICR 마우스에 있어 발효삼출건비탕의 ALD는 2000 mg/kg을 상회할 것으로 생각되어 발효로 인한 급성독성이 발생하지 않는 것으로 사료되나, 추후 실험적 연구를 통하여 포괄적인 연구가 필요할 것이다.

## 결론

본 연구에서는 발효삼출건비탕의 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, ALD 값은 2000 mg/kg 이상으로 나타났다.
2. 시험물질 발효삼출건비탕 추출물 투여에 의한 어떠한 독성증상도 관찰되지 않았다.
3. 발효삼출건비탕 추출물 투여로 인한 체중변화 역시 관찰되지 않았다.
4. 실험 종료 시, 모든 동물의 장기에 대하여 육안적 병변을 관찰하였으나 이상 병변은 관찰되지 않았다

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

## 감사의 글

이 연구는 교육과학기술부 지원 한국한의학연구원 기관 고유사업 K13050의 지원을 받아 수행되었음.

## 참고문헌

- Bae EA, Han MJ, Kim EJ, Kim DH. Transformation of ginseng saponins to ginsenoside rh2 by acids and human intestinal bacteria and biological activities of their transformants. *Arch Pharm Res.* 2004 ; 27 : 61-7
- Kim DH. Metabolism of ginseng constituents by intestinal microflora and its relation to biological effects. *J Ginseng Res.* 2007 ; 1 : 77-88
- Park HY, Lee JH, Cho CW, Ma JY. Acute toxicity study on fermented yukmijihwangtang extract in mice. *Korea J of Oriental Medicine.* 2009 ; 15(3) : 93-8
- Han YG, Lee MJ. The effect of Sam-chool-gun-bi-tang administration on urine metabolic responses during carbohydrate loading diet to long distance runners. *D J I O M.* 2000 ; 8(2) : 83-96
- Lee SI, Kang SS. *Bangjaehak* Seoul : Gyechukmunhwasa, 1984 : 35, 228
- Huh J, Donguibogam. Seoul : Bubinmunhwasa, 2002 : 1134
- Kang MK, *Jejungsinyen*, Seoul : Heanglimseowon, 1982 : 41
- Kim SW, Lee JH. Effect of samchulkunbitang on the gastric secretion and intestinal transport in the rat. *J Korean Oriental Medical Pathology.* 1988 ; 3(1) : 84-90
- Kim TG, Ko SG, Baik TH. An experimental study on the effect of Samchulgunbitang affecting gastro-intestine and central nervous system. *K I M S.* 1997 ; 18(1) : 1-14
- Lee SY, Kim JH. Effect of Samchulkunbitang on the immunosuppression induced by methotrexate in rats. *J Korean Orient Pediatr.* 1998 ; 12(1) : 257-76
- Lee JA, Ha HK, Jung DY, Lee HY, Lee NH, Lee JK, Huang DS, Shin HK. Anti-inflammatory effects of sam-chul-kun-bi-tang. *J Korean Oriental Med.* 2010 ; 31(3) : 47-54
- Jang IS, Yang CS, Lee SD, Han CH. A review of herbal medicinal products associated with toxic events in Korea. *J Korean Oriental Med.* 2007 ; 28(1) : 1-10
- Lee JH, Lee JH, Um YR, Ma JY. A Study on the Acute Toxicity of Fermented Bangpungtongsung-san(Fangfengtongsheng-san) Extract in ICR Mice. *J of Society of Korean Med Obesity Res.* 2009 ; 9(2) : 11-9
- Im GY, Hwang YH, Lee JH, Oh YC, Cho WK, Ma JY. Acute Toxicity Study on Insampaedok-san and Fermented Insampaedok-san. *Kor J Oriental Preventive Medical Society.* 2011 ; 15(3) : 141-52
- Jung YP, Hwang YH, Lee JH, Yim NH, Cho WK, Ma JY. A Study on the Acute Toxicity of Leejung-tang(Lizhong-tang) and Fermented Leejung-tang(Lizhong-tang) Extract in ICR Mice. *Kor J Herbology.* 2012 ; 27(3) : 91-6
- Lee JH, Kim TS, Kwak DH, Ma JY. Single oral dose toxicity test of fermented Sipjeondaabo-tang extract in mice. *Korean J Orient Int Med.* 2011 ; 32(3) : 334-44
- U.S. Environmental Protection Agency. Health Effects Test Guidelines OPPTS 870.100, Acute Toxicity Testing Background. Washington : US EPA, 1998.
- Hayes AW. Principles and methods of toxicology. New York : Raven press, 1984 : 17-9.
- MA JY, Huang DS, Yu YB, Ha HK, Shin HK. Acute toxicity study on Sagunja-tang(Sijunzi-tang) in ICR mice. *J Korean Oriental Med.* 2007 ; 28(2) : 200-4
- Lee JH, Hwang YH, Kwak DH, Kim TS, Ma JY. Single oral dose toxicity test of Bojungikgi-tang (Buzhongyiqi-tang) and fermented Bojungikgi-tang (Buzhongyiqi-tang) extracts in mice. *Korean J Orient Int Med.* 2011 ; 32(4) : 599-609.
- Weon JB, Ma JY, Yang HJ, Ma CJ. Neuroprotective Activity of Fermented Oyaksungisan. *Kor J Pharmacogn.* 2011 ; 42(1) : 22-6.
- Yang HJ, Weon JB, Ma JY, Ma CJ. The Study on Compounds of the Fermented Sipjundaabo-tang and its Neuroprotective Activity. *Yakhak Hoeji.* 2011 ; 55(2) : 121-6.
- Cho SI, Kim HW, Lee GJ. Biological activities of extracts of fermented camellia japonica leaf and flower. *Kor J Herbology.* 2006 ; 21(2) : 55-62.