

황금의 마우스 단회 경구투여 독성시험

이진원, 정유선, 정태영*, 김종대, 최해운
대구한의대학교 내과학 교실, *대구한의대학교 제한동의학술원

Mouse Single Oral Dose Toxicity Test of *Scutellariae Radix* Aqueous Extracts

Jin-won Lee, Yu-sun Jung, Tae-young Jung*, Jong-dae Kim, Hae-yun Choi
Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dae-Gu Haany University
*Jeahan Oriental Medical Academy, Dae-Gu Haany University

ABSTRACT

Objectives : The object of this study was to obtain acute information (single oral dose toxicity) of *Scutellariae Radix* Aqueous Extracts (SR; yield = 27.20%) which traditionally have been used in Korean medicine for treating various diseases including inflammatory diseases.

Methods : In order to observe the 50% lethal dose (LD₅₀), approximate lethal dosage (ALD) and target organs, SR Aqueous Extracts were once orally administered to female and male ICR mice at dose levels of 2,000, 1,000, 500 and 0 (control) mg/kg (body weight.) according to the recommendation of KFDA Guidelines. The mortality and changes on body weight, clinical signs and gross observation were monitored during 14 days after single oral treatment of SR according to KFDA Guidelines with organ weights and histopathological observations of 14 types of principle organs.

Results : After single oral treatment of SR, we could not find any mortality and toxicological evidences up to 2,000 mg/kg treated group, the limited dosages in rodents, on the body and organ weights, clinical signs, gross and histopathological observations, except for some accidental findings.

Conclusions : The results obtained in this study suggest that the LD₅₀ and ALD of SR in both female and male mice after single oral treatment be considered as over 2,000 mg/kg because no mortalities were detected up to 2,000 mg/kg that was the highest dose recommended by KFDA and OECD, and can be safely used in clinics.

Key words : *Scutellariae Radix*, toxicity, mouse single oral dose toxicity test

1. 서론

한약의 안전성에 대한 문제제기는 끊임없이 이루어지고 있으며, 안전하게 여겨지는 한약이라 할 지라도 실험적 근거를 통해 이를 입증해야 하는

상황이 요구되고 있다¹. 최근 한약 자체의 독성 평가가 활발히 이루어지고 있으며 단미제에 대한 독성 평가로는 행인², 금은화³, 반하⁴, 죽력⁵ 등이 보고 되어왔다. 이에 본 연구에서는 한의학에서 대표적인 청열약으로 널리 사용되어온 황금 추출물의 일반 독성시험 중 마우스 단회 경구투여 독성시험을 실시하여, 장기투여 독성 시험과 생식·발생독성 시험을 위시한 특수 독성시험에 대한 기초자료를 제공하고자 하였다.

黃芩(*Scutellariae Radix*; SR)은 꿀풀과(Labiatae)

· 교신저자: 최해운 경북 포항시 남구 대잠동 907-8번지
대구한의대학교 부속 포항한방병원 1내과
TEL: 054-281-0055 FAX: 054-281-7464
E-mail: canuri@naver.com

· 이 논문은 2013년도 대구한의대학 대학원 한의학 석사학위 논문임

에 속한 황금(*Scutellaria baicalensis* Georgi)의 뿌리를 절편하여 건조한 약재로 性은 寒하고, 味는 苦하다. 淸熱燥濕, 瀉火解毒, 淸熱涼血, 安胎의 등의 效能이 있어, 濕熱諸症 및 目赤腫痛, 高熱煩渴, 胎熱不安 등을 치료하는데 사용되어 온 대표적인 淸熱藥의 하나이다⁶⁻⁸. 황금 추출물 및 황금 유래 성분, 특히 Flavonoids로서 baicalin 및 wogonin의 약리효과에 대한 많은 연구가 진행 되어 왔으며, 항바이러스 효과⁹, 항 당뇨 효과¹⁰, 신경계 보호 효과¹¹, 조혈작용¹², 항산화 효과¹³, 항암효과¹⁴, 면역활성¹⁵, 항염효과¹⁶, ritonavir 독성완화 효과¹⁷, 항돌연변이 원성¹⁸, lipopolysaccharide로 유발된 폐 부종 억제 효과¹⁹ 등의 효과가 알려져 있다.

현재까지 황금과 관련된 독성 실험으로는 비글견에서 황금의 주요 flavonoid 성분인 wogonin의 90일 반복 경구투여 독성 실험 결과, 60 mg/kg까지 별 다른 독성 증상이 인정되지 않아, wogonin은 비교적 안전한 성분인 것으로 알려져 있다²⁰. 또한, Yimam 등²¹은 황금과 아카시아 복합 추출물에 대한 랫트 90일 반복 경구 투여 독성 실험을 수행한 바 있고, 장 등²²은 황금과 단삼 복합 추출물의 급성 단회 투여 독성 실험을 랫트에서 수행하였다. 또한 황금 에탄올 추출물 및 황금의 flavonoid 성분들에 대한 랫트 단회 투여 독성 실험이 보고되어 있다²³. 한편 American skullcap으로 불리는 *Scutellaria lateriflora*와 관련된 간독성이 보고되어 있으나^{24,25} *Scutellaria lateriflora*는 우리나라에서 사용하는 Chinese skullcap 즉, *Scutellaria baicalensis*와는 많은 차이가 있으며 대응이 가능 하지 않은 것으로 알려져 있다²⁶. 따라서 황금 추출물 자체의 독성학적 연구는 극히 드문 실정이라 하겠다.

본 연구에서는 마우스 단회 경구투여 독성시험을 통해 황금 추출물의 암수 마우스에 대한 반수 치사율(50% lethal dose, LD₅₀), 개략적 치사량(approximate lethal dosage; ALD), 최대 내성 용량(maximum tolerance dosage; MTD) 및 표적장기(target organ)를 산출하기 위하여, 한국식품의약

품안전청 고시²⁷에 따라 황금 추출물 2,000, 1,000 및 500 mg/kg을 단회 경구 투여한 다음 14일간 체중 및 임상증상을 관찰하였으며, 14일 후 최종 부검을 통하여 14개의 주요 장기에 대한 장기 중량의 측정, 육안 부검 및 조직병리학적 검사를 각각 실시하였다.

II. 재료 및 방법

본 실험은 한국식품의약품안전청 고시 제 2009-116호²⁷ “의약품의 독성시험 기준”에 준하여 실험을 실시하였으며, 모든 실험동물은 “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals²⁸” 및 대구한의대학교 실험동물윤리위원회의 기준에 준하여 취급하였다.

1. 재 료

본 실험에 사용된 황금(중국산)은 지역 약업사(Omniherb, Korea)에서 매입한 것을 대구한의대학교 한의과대학 본초학교실에서 관능검사를 통하여 선정하여 사용하였다.

선정된 황금 1,000 g을 취하여 정제수 10 L로 80 °C에서 3시간 동안 3번 가열 추출한 후, 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator(Buchi Rotavapor R144, Buchi Labortechnik AG, Switzerland)로 감압·농축하여 점조성의 추출물을 얻은 다음 programmable freeze dryer(Labconco Freezone1, Labconco Corp., MO, USA)를 사용하여 동결 건조시켜, 총 272.00 g(수율 약 27.20%)의 연갈색 물 추출물을 얻어 실험에 사용하였다. 준비한 황금 추출물은 -20 °C의 냉장고에 보관 후 실험에 사용하였으며, 본 실험에서 사용한 용매인 증류수에 100 mg/ml의 농도까지 비교적 잘 용해되었다.

2. 마우스 단회 경구투여독성 시험

1) 실험동물 및 사양관리

암수 각 20마리의 ICR 마우스(6-wk old upon

receipt, SLC, Japan; ANNEX IⅢ)를 10일간의 순화과정을 거쳐 실험에 사용하였으며, 순화과정 및 실험 전 기간 동안 온도(20-24 ℃)와 습도(48-52%)가 조절된 사육실에서 마우스용 polycarbonate 사육상자에 5마리씩 수용하여 사육하였고, 명암 주기(light : dark cycle)는 12시간 주기로 조절하였으며, 사료(Samyang, Korea)와 음수는 자유롭게 공급하였다. 모든 실험동물은 투여일 및 최종 부검일 18시간 전 절식을 실시하였으며(이 기간에도 음수는 자유롭게 공급하였다), picric acid로 개체를 식별하였다.

2) 군분리 및 약물의 투여

실험동물은 군당 5마리씩 8그룹으로 구분하였다. 한국식품의약품안전청 고시 제 2009-116호²⁷와 OECD 실험기준 #423²⁹에 의거하여, 설치류 최고 한계투여용량인 2,000 mg/kg을 최고 용량으로 설정하였으며, 공비 2로 1,000 및 500 mg/kg을 중간 및 저용량 투여군으로 설정하였다. 또한 암수 각각에 대한 매체 대조군(vehicle)을 추가 하였다.

황금 추출물을 멸균 증류수에 용해시켜 20 ml/kg의 용량으로 overnight 절식(대략 18 hr, 음수는 제한하지 않았다) 후 존데가 부착된 1 ml 주사기를 이용하여 경구투여 하였으며, 매체 대조군에서는 동일한 용량의 멸균 증류수만 공급하였다. 식이와 음수에 따른 약물의 흡수 변화를 최소화하기 위해, 투여 후 대략 3시간 동안 사료와 음수 공급을 제한하였다.

3) 임상 증상 관찰

모든 실험동물의 임상증상을 투여 전후에 각각 functional observational battery test^{30,31}를 기초하여 동물의 행동, 자극에 대한 반응성, 각성도 및 경계성, 자세 및 보행 이상 등에 관한 일반증상을 관찰, 기록하였으며, 투여일 이후에도 하루에 최소한 2번씩 모든 실험동물의 임상증상을 관찰, 기록하였다.

4) 체중 측정

모든 실험동물의 체중을 투여 전 1일, 투여직전, 투여 후 1, 2, 7, 13 및 14일(최종 희생일)에 각각

측정하였으며, 실험 시작 시 개체 차이에 따른 체중의 변화를 최소화하기 위하여, 투여일~투여 후 7일, 투여 후 7일~13일 및 투여일~투여 후 14일간의 체중증가량을 각각의 체중을 이용하여 산출하였다.

5) 육안 부검

투여 14일 후 모든 실험동물은 overnight 절식(대략 18 hr, 음수는 제한하지 않았다)을 실시하였으며, ethyl ether(덕산공업주식회사, Korea) 마취하에 부검을 실시하고, 하기의 주요 장기를 위주로 이상 육안소견을 각각 관찰, 기록하였다.

육안부검시 관찰한 주요장기 : 폐, 가슴샘, 부신, 심장, 신장, 비장, 고환, 전립샘, 간, 췌장, 부고환, 악하임파절, 난소, 뇌, 피부, 소화관, 기도, 난관 및 자궁

6) 장기 중량 측정

모든 실험동물은 육안부검 소견을 관찰 기록한 후 하기의 장기에 대한 절대 중량을 각각 측정하였으며, 체중의 변화에 수반된 이차적 변화를 최소화하기 위해 체중에 대한 각각의 장기 절대중량의 비율인 상대 중량을 산출하였다.

측정 장기 : 폐, 심장, 가슴샘, 좌측 신장, 좌측 부신, 비장, 좌측 고환, 간, 췌장 비장엽, 좌측 부고환, 좌측 악하임파절, 좌측 난소, 뇌 및 자궁

7) 조직병리학적 관찰

아래의 14개 주요 장기의 일부 조직을 10 % 중성포르말린에 18시간 이상 고정시킨 다음, 탈수를 거쳐 파라핀 포매 후 3 μm의 절편을 제작하였다. 이후 hematoxylin & eosin(H&E) 염색을 실시하고, 광학현미경 하에서 이상 유무를 관찰, 기록하였다.

관찰 장기 : 폐, 심장, 가슴샘, 좌측 신장, 좌측 부신, 비장, 좌측 고환, 간, 췌장 비장엽, 좌측 부고환, 좌측 악하임파절, 좌측 난소, 뇌 및 자궁

3. 통계 처리

모든 수치는 평균 ± 표준편차로 표시하였으며, 다중비교검증을 이용하여 통계처리를 실시하였고,

분산동질성을 Levene test를 실시하여 검증하였다. 등분산일 경우, one way ANOVA test를 실시한 다음 Scheffe test로 사후 검증을 실시하여 군간의 유의성을 측정하였다. 비등분산일 경우에는 비모수 검증인 Kruskal-Wallis H test를 실시하여 유의성이 인정된 경우에는, Mann-Whitney U(MW) test를 실시하여 군간의 유의성을 검증하였다.

단회 투여독성시험의 경우, 반수치사량 및 95% 신뢰한계(confidence limits)를 Probit 방법으로 측정하였으며, 임상 증상, 육안부검 및 조직병리학적 소견은 각각 그 정도에 따라 0(normal), 1+(slight), 2+(moderate) 및 3+(severe)로 구분하였다. 통계 처리 및 Probit 방법은 SPSS for Windows(Release 14.0K, SPSS Inc., USA)를 이용하여 평가하였으며, *p*-value가 0.05 이하인 경우 통계적 유의성을 인정하였다.

III. 결 과

1. 사망률 및 임상증상

황금 추출물 투여와 관련 있는 사망례는 실험 전 기간 동안 관찰되지 않았으며, 투여 14일 후, 최종 부검일에 모든 실험동물을 희생하였다. 또한 황금 추출물 투여와 관련된 임상증상은 실험 전 기간 동안 관찰되지 않았다.

2. 체중의 변화

본 실험의 결과, 황금 추출물 투여와 관련된 체중 및 체중증가량 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 1, Table 1).

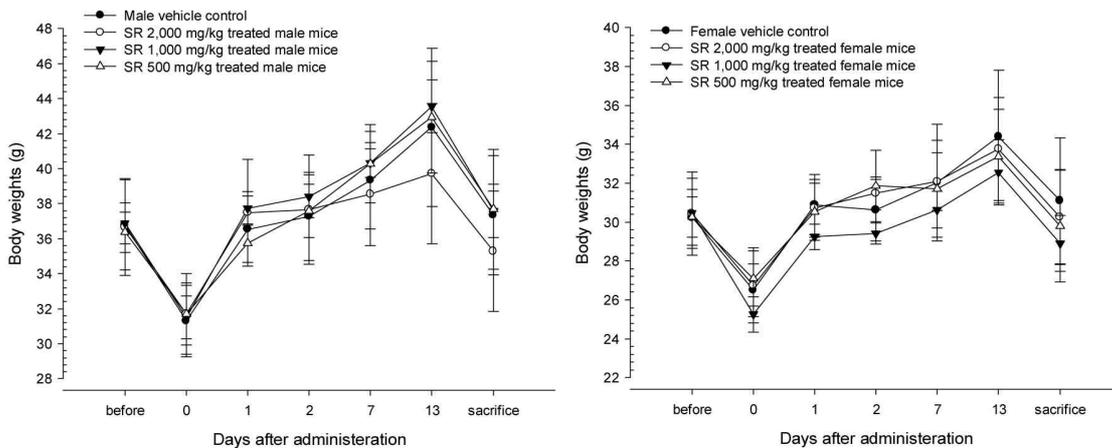


Fig. 1. Body weight changes in male & female mice after single oral treatment of SR.

No significant changes were detected in all SR treated groups as compared with vehicle control.

Values are expressed as mean±SD of five mice.

SR : *Scutellariae Radix* aqueous extracts (yield =27.20%)

Before means 1 day before administration.

Day 0 means at administration.

All animals at sacrifice and Day 0 were overnight fasted.

Table 1. Body Weight Gains in Male & Female Mice after Single Oral Treatment of SR.

Groups		Intervals		
		Day 0*~Day7	Day 7~Day 13	Day 0~Day 14*
Vehicle control	Male	8.04±1.40	3.02±1.78	6.04±1.87
	Female	5.54±1.97	2.35±1.07	4.60±2.03
SR treated male groups	2,000 mg/kg	6.84±1.13	1.18±1.48	3.58±1.64
	1,000 mg/kg	8.82±0.79	3.24±0.93	6.08±1.11
	500 mg/kg	8.58±1.46	2.66±1.58	5.98±2.73
SR treated female groups	2,000 mg/kg	5.34±1.18	1.88±2.24	3.52±1.99
	1,000 mg/kg	5.38±0.99	1.92±1.12	3.64±1.19
	500 mg/kg	4.62±1.96	1.66±1.85	2.70±2.25

Values are expressed as mean±SD g of five mice.

SR : *Scutellariae Radix* aqueous extracts (yield=27.20%)

*Day of treatment after overnight fasted.

*Day of sacrifice after overnight fasted.

4. 장기중량 변화

매체 대조군에 비해 암컷 500 mg/kg 투여군에서
만 간 상대 중량의 유의성 있는($p<0.05$) 증가가 관

찰되었으나, 동일 성별 매체 대조군에 비해 의미
있는 장기중량의 변화는 모든 황금 추출물 투여군
에서 관찰되지 않았다(Table 2-5).

Table 2. Changes on the Absolute Organ Weights Observed in Male Mice after Single Oral Treatment of SR.

Groups	Principal Organs					
	Lung	Heart	Thymus	Kidney L	Adrenal G L	Spleen
Vehicle control	0.195±0.018	0.170±0.019	0.057±0.008	0.286±0.029	0.003±0.001	0.129±0.020
SR treated groups						
2,000 mg/kg	0.202±0.023	0.169±0.018	0.042±0.022	0.279±0.053	0.002±0.001	0.173±0.048
1,000 mg/kg	0.192±0.018	0.170±0.012	0.056±0.012	0.327±0.029	0.003±0.002	0.123±0.016
500 mg/kg	0.204±0.015	0.173±0.015	0.056±0.015	0.327±0.045	0.004±0.002	0.132±0.046
	Testis L	Liver	Pancreas S	Brain	Epididymis L	LymphN L*
Vehicle control	0.125±0.007	1.458±0.179	0.160±0.016	0.480±0.029	0.045±0.004	0.004±0.002
SR treated groups						
2,000 mg/kg	0.126±0.013	1.396±0.160	0.154±0.016	0.470±0.025	0.045±0.002	0.002±0.000
1,000 mg/kg	0.104±0.024	1.490±0.072	0.173±0.015	0.474±0.016	0.042±0.005	0.005±0.001
500 mg/kg	0.114±0.009	1.560±0.150	0.156±0.012	0.481±0.014	0.044±0.005	0.004±0.004

Values are expressed as mean±SD of five mice, g

SR : *Scutellariae Radix* aqueous extracts (yield=27.20%)

L : left sides, S : splenic lobes, G : gland, N : node

* Submandibular lymph node

Table 3. Changes on the Absolute Organ Weights Observed in Female Mice after Single Oral Treatment of SR.

Groups	Principal Organs					
	Lung	Heart	Thymus	Kidney L	Adrenal G L	Spleen
Vehicle control	0.184±0.010	0.149±0.011	0.063±0.011	0.188±0.015	0.006±0.004	0.123±0.019
SR treated groups						
2,000 mg/kg	0.184±0.020	0.146±0.002	0.074±0.025	0.189±0.012	0.007±0.003	0.129±0.025
1,000 mg/kg	0.173±0.006	0.134±0.005	0.065±0.020	0.177±0.021	0.004±0.002	0.122±0.023
500 mg/kg	0.176±0.014	0.141±0.015	0.065±0.018	0.179±0.015	0.007±0.003	0.127±0.022
	Ovary L	Liver	Pancreas S	Brain	Uterus	Lymph N L*
Vehicle control	0.020±0.006	1.220±0.140	0.152±0.011	0.473±0.013	0.245±0.127	0.005±0.004
SR treated groups						
2,000 mg/kg	0.018±0.005	1.240±0.092	0.161±0.021	0.470±0.026	0.131±0.044	0.005±0.002
1,000 mg/kg	0.016±0.003	1.187±0.113	0.139±0.020	0.458±0.012	0.127±0.028	0.004±0.004
500 mg/kg	0.019±0.009	1.254±0.108	0.143±0.016	0.473±0.007	0.161±0.073	0.005±0.002

Values are expressed as mean±SD of five mice, g.

SR : *Scutellariae Radix* aqueous extracts (yield = 27.20%)

L : left sides, S : splenic lobes, G : gland, N : node

* Submandibular lymph node

Table 4. Changes on the Relative Organ Weights Observed in Male Mice after Single Oral Treatment of SR.

Groups	Principal Organs					
	Lung	Heart	Thymus	Kidney L	Adrenal G L	Spleen
Vehicle control	0.552±0.029	0.454±0.033	0.151±0.012	0.772±0.113	0.007±0.003	0.346±0.037
SR treated groups						
2,000 g/kg	0.572±0.041	0.479±0.022	0.114±0.047	0.785±0.074	0.005±0.004	0.492±0.131
1,000 g/kg	0.508±0.041	0.453±0.024	0.148±0.033	0.871±0.070	0.007±0.005	0.325±0.030
500 mg/kg	0.544±0.035	0.460±0.040	0.148±0.028	0.873±0.149	0.010±0.005	0.346±0.094
	Testis L	Liver	Pancreas S	Brain	Epididymis L	Lymph N L ^a
Vehicle control	0.338±0.041	3.897±0.207	0.432±0.059	1.288±0.058	0.123±0.021	0.010±0.005
SR treated groups						
2,000 g/kg	0.356±0.026	3.993±0.613	0.437±0.021	1.338±0.071	0.128±0.013	0.006±0.002
1,000 g/kg	0.277±0.060	3.965±0.104	0.462±0.043	1.264±0.068	0.111±0.011	0.014±0.002
500 mg/kg	0.305±0.031	4.141±0.127	0.416±0.027	1.283±0.117	0.116±0.014	0.011±0.010

Values are expressed as mean±SD of five mice, % of body weight

SR : *Scutellariae Radix* aqueous extracts (yield = 27.20%)

L : left sides, S : splenic lobes, G : gland, N : node

^a Submandibular lymph node

Table 5. Changes on the Relative Organ Weights Observed in Female Mice after Single Oral Treatment of SR.

Groups	Principal Organs					
	Lung	Heart	Thymus	Kidney L	Adrenal G L	Spleen
Vehicle control	0.596±0.058	0.480±0.020	0.203±0.038	0.601±0.030	0.019±0.013	0.396±0.033
SR treated groups						
2,000 mg/kg	0.607±0.041	0.485±0.038	0.240±0.057	0.627±0.053	0.024±0.012	0.423±0.045
1,000 mg/kg	0.599±0.038	0.463±0.033	0.224±0.066	0.612±0.069	0.014±0.006	0.424±0.081
500 mg/kg	0.592±0.050	0.476±0.059	0.216±0.049	0.604±0.044	0.022±0.009	0.428±0.066
	Ovary L	Liver	Pancreas S	Brain	Uterus	Lymph N L*
Vehicle control	0.065±0.015	3.923±0.175	0.493±0.046	1.530±0.136	0.779±0.384	0.017±0.011
SR treated groups						
2,000 mg/kg	0.059±0.017	4.108±0.329	0.534±0.060	1.555±0.074	0.428±0.108	0.018±0.006
1,000 mg/kg	0.062±0.011	4.105±0.274	0.480±0.053	1.586±0.048	0.437±0.088	0.014±0.014
500 mg/kg	0.062±0.022	4.213±0.109*	0.482±0.055	1.601±0.156	0.548±0.280	0.017±0.009

Values are expressed as mean±SD of five mice, % of body weight/

SR : *Scutellariae Radix* aqueous extracts (yield = 27.20%)

L : left sides, S : splenic lobes, G : gland, N : node

* Submandibular lymph node

p<0.05 as compared with vehicle control by MW test.

5. 부검소견

다양한(1~3+) 정도의 폐 충혈반(congestion spot), 가슴샘 위축(atrophy), 비장 위축 또는 종대, 악하 입과절 종대 및 자궁 부종(edema) 소견이 암수 매체 대조군을 포함한 모든 실험군에 걸쳐 산발적으로 관찰된 이외에, 황금 추출물 투여와 관련된 의미 있는 육안 부검소견은 보이지 않았다(Table 6).

6. 조직병리학적 소견

경미한(1+) 폐 충혈반 - 폐포 벽의 비후와 염증 세포 및 적혈구 축적, 신장 국소 염증세포 침윤, 비장의 적색수질 입과구 증식 또는 백색 수질 입과구 감소, 간 국소 염증세포 침윤, 악하입과절 미만성 입과구 증식 및 자궁 점막 탈락 소견이 암수 매체 대조군을 포함한 모든 실험군에 걸쳐 산발적으로 관찰된 이외에 황금 추출물 투여와 관련된 조직병리학적 소견은 관찰되지 않았다(Table 7).

Table 6. Necropsy Findings Observed Male & Female Mice after Single Oral Treatment of SR.

Organs-Findings	Groups	Vehicle control	SR treated as		
			2,000 mg/kg	1,000 mg/kg	500 mg/kg
Lung					
Normal		3/5(M) 4/5(F)	4/5(M) 5/5(F)	4/5(M) 4/5(F)	4/5(M) 4/5(F)
Congestion		2/5(M) 1/5(F)	1/5(M) 0/5(F)	1/5(M) 1/5(F)	1/5(M) 1/5(F)
Heart					
Normal		5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)
Thymus					
Normal		4/5(M) 5/5(F)	4/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 4/5(F)	4/5(M) 5/5(F)
Atrophy		1/5(M) 0/5(F)	1/5(M) 0/5(F)	0/5(M) 1/5(F)	1/5(M) 0/5(F)
Kidney					
Normal		5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)
Adrenal gland					
Normal		5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)
Spleen					
Normal		2/5(M) 4/5(F)	2/5(M) 3/5(F)	4/5(M) 4/5(F)	3/5(M) 4/5(F)
Atrophy		1/5(M) 0/5(F)	1/5(M) 1/5(F)	1/5(M) 0/5(F)	1/5(M) 0/5(F)
Hypertrophy		2/5(M) 1/5(F)	2/5(M) 1/5(F)	0/5(M) 1/5(F)	1/5(M) 1/5(F)
Testis					
Normal		5/5(M)	5/5(M)	5/5(M)	5/5(M)
Ovary					
Normal		5/5(F)	5/5(F)	5/5(F)	5/5(F)
Liver					
Normal		5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)
Pancreas					
Normal		5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)
Brain					
Normal		5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)
Epididymis					
Normal		5/5(M)	5/5(M)	5/5(M)	5/5(M)
Uterus					
Normal		2/5(F)	3/5(F)	2/5(F)	3/5(F)
Edematous		3/5(F)	2/5(F)	3/5(F)	2/5(F)
Lymph node*					
Normal		4/5(M) 3/5(F)	5/5(M) 4/5(F)	3/5(M) 3/5(F)	4/5(M) 4/5(F)
Hypertrophy		1/5(M) 2/5(F)	0/5(M) 1/5(F)	2/5(M) 2/5(F)	1/5(M) 1/5(F)
Others					
Normal		5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)

Observed animals/total observed animals of five mice.

SR : *Scutellariae Radix* aqueous extracts (yield=27.20%)

M : male, F : female

*Bilateral submandibular lymph node

Table 7. Histopathological Findings Observed Male & Female Mice after Single Oral Treatment of SR.

		Microscopical Findings at Sacrifice (Day 14)			
Organs-Findings	Groups	Vehicle control	SR treated as		
			2,000 mg/kg	1,000 mg/kg	500 mg/kg
Lung					
Normal		4/5(M) 4/5(F)	4/5(M) 5/5(F)	4/5(M) 4/5(F)	4/5(M) 4/5(F)
Congestion		1/5(M) 1/5(F)	1/5(M) 0/5(F)	1/5(M) 1/5(F)	1/5(M) 1/5(F)
Heart					
Normal		5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)
Thymus					
Normal		5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)
Kidney					
Normal		4/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)
IF [†]		1/5(M)	0/5(M)	0/5(M)	0/5(M)
Adrenal gland					
Normal		5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)
Spleen					
Normal		2/5(M) 4/5(F)	2/5(M) 4/5(F)	4/5(M) 4/5(F)	3/5(M) 2/5(F)
rHP [†]		2/5(M) 1/5(F)	2/5(M) 0/5(F)	0/5(M) 0/5(F)	1/5(M) 2/5(F)
wDE [†]		1/5(M) 0/5(F)	1/5(M) 1/5(F)	1/5(M) 0/5(F)	1/5(M) 1/5(F)
Testis					
Normal		5/5(M)	5/5(M)	5/5(M)	5/5(M)
Ovary					
Normal		5/5(F)	5/5(F)	5/5(F)	5/5(F)
Liver					
Normal		3/5(M) 3/5(F)	3/5(M)	5/5(M) 4/5(F)	4/5(M) 4/5(F)
IF [†]		2/5(M) 2/5(F)	2/5(M)	0/5(M) 1/5(F)	1/5(M) 1/5(F)
Pancreas					
Normal		5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)
Brain					
Normal		5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 5/5(F)
Epididymis					
Normal		5/5(M)	5/5(M)	5/5(M)	5/5(M)
Uterus					
Normal		4/5(F)	4/5(F)	4/5(F)	5/5(F)
DM [†]		1/5(F)	1/5(F)	1/5(F)	0/5(F)
Lymph node*					
Normal		5/5(M) 3/5(F)	5/5(M) 4/5(F)	5/5(M) 5/5(F)	5/5(M) 4/5(F)
HP [†]		2/5(F)	1/5(F)	0/5(F)	1/5(F)

Observed animals/total observed animals of five mice

SR : *Scutellariae Radix* aqueous extracts (yield=27.20%)

M : male, F : female

*Left submandibular lymph node

[†]rHP : hyperplasia of red pulp lymphoid cells, wDE : decreases of white pulp lymphoid cells, IF : focal inflammatory cell infiltration, DM : desquamation of mucosa layers, HP : diffused hyperplasia of lymphoid cells

IV. 고 찰

본 연구에서는 한의학의 대표적인 청열약인 황금 추출물의 일반 독성시험 중 한국식품의약품안전청 고시 “의약품 등의 독성시험기준²⁷⁾”에 명시되어 있는 마우스 단회 경구투여독성 시험을 실시하여, 장기투여 독성 시험과 생식 발생독성 시험을 위시한 특수 독성시험에 대한 기초자료를 제공하고자 하였다.

현재까지 황금의 주요 flavonoid 성분인 wogonin의 비글견에서 90일 반복 경구투여 독성 실험 결과, 60 mg/kg까지 별 다른 독성 증상이 인정되지 않아, wogonin은 비교적 안전한 것으로 알려져 있다²⁰⁾. Yimam 등²¹⁾은 황금과 아카시아 복합 추출물에 대한 랫트 90일 반복 경구 투여 독성 실험을 수행한 바 있고, 장 등²²⁾은 황금단삼 혼합시료의 급성 단회 투여 독성 실험을 랫트에서 수행하였다. 정 등이 실시한 황금 에탄올 추출물 및 황금의 flavonoid 성분들에 대한 랫트 단회 투여 독성 실험 결과에 따르면 항염효과 및 세포 증식 효과를 나타내는 정도의 농도에서의 투여로는 독성이 나타나지 않는 것이 보고되어 있다²³⁾. 또한 American skullcap으로 불리는 *Scutellaria lateriflora*와 관련된 간독성이 보고되어 있으나^{24,25)} *Scutellaria lateriflora*는 우리나라에서 사용하는 Chinese skullcap인 *Scutellaria baicalensis*와는 많은 차이가 있으며 대응이 가능하지 않은 것으로 알려져 있어²⁶⁾, 황금 추출물 자체에 대한 독성 실험은 찾아 볼 수 없었다.

본 실험에서는 한국식품의약품안전청 고시 제 2009-116호²⁷⁾와 OECD 실험기준 #423²⁹⁾에 의거하여, 설치류 최고 한계투여용량인 2,000 mg/kg을 최고 용량으로 설정하였으며, 공비 2로 1000 및 500 mg/kg을 중간 및 저용량으로 설정하여, 단회 경구 투여하고, 14일간 체중 및 임상증상을 관찰하였으며, 14일 후 최종 부검을 통하여 14개의 주요 장기 에 대한 장기 중량, 육안 부검 및 조직병리학적 관찰을 실시하였다.

본 실험의 결과, 설치류 단회투여 독성 시험에서 설치류 최대 한계투여 용량인 2,000 mg/kg까지 황금 추출물 투여와 관련된 사망례가 관찰되지 않았으며, 황금 추출물의 투여와 관련된 임상증상, 체중, 증체량 및 장기 중량의 변화 역시 관찰되지 않았다. 또한 육안부검시 다양한 정도의 폐 충혈반, 가슴샘 위축, 비장 위축 또는 종대, 악하임과절 종대 및 자궁 부종 소견이 매체 대조군을 포함한 모든 실험군에서 산발적으로 관찰되었고, 조직병리학적 검사 상 경미한 폐 충혈반, 신장 국소 염증세포 침윤, 비장의 적색수질 임파구 증식 또는 백색 수질 임파구 감소, 간 국소 염증세포 침윤, 악하임과절 미만성 임파구 증식 및 자궁 점막 탈락 소견이 암수 매체 대조군을 포함한 모든 실험군에 걸쳐 산발적으로 관찰된 이외에 황금 추출물 투여와 관련된 육안 부검 및 조직병리학적 소견은 관찰되지 않았다.

한국식품의약품안전청 고시 제 2009-116호²⁷⁾ 및 OECD 기준 #423²⁹⁾에 의하면, 설치류에서 투여한계 농도를 2,000 mg/kg 또는 최대 용해농도로 규정하고 있고, 투여 용량은 20 ml/kg을 넘지 못하게 규정하고 있다. 본 실험에서 사용한 황금 추출물은 멸균 증류수에 100 mg/ml까지 비교적 잘 용해되어, 20 ml/kg의 용량 즉, 2,000 mg/kg을 최고 농도로 투여하였다. 또한 본 실험에 사용한 실험동물의 체중 및 장기중량은 동일한 주령의 마우스들의 정상 범주^{32,33)}에 포함되어 관찰되었으며, 각각 동일 성별의 매체 대조군과 비교하여, 황금 추출물 투여와 관련된 체중 및 체중증가량의 변화는 인정되지 않았다. 따라서 황금 추출물의 단회 경구투여는 암수 마우스에 별 다른 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

한편 매체 대조군에 비해 암컷 500 mg/kg 투여군에 국한되어 관찰된 간 상대 중량의 유의성 있는 증가를 제외하고, 동일 성별 매체 대조군에 비해 의미 있는 장기중량의 변화는 모든 황금 추출물 투여군에서 관찰되지 않았다. 암컷 500 mg/kg

투여군에서 관찰된 간 상대 중량의 증가 역시 투여 용량 의존성이 인정되지 않아, 황금 추출물 투여와 관련된 독성 증상으로 간주하기 어렵고, 본 실험에서 간의 육안부검 및 조직병리학적 검사에서도 황금 추출물 투여와 관련된 특이 증상 역시 관찰되지 않았다.

육안 부검에서 보인 다양한 정도의 폐 충혈반, 가슴샘 위축, 비장 위축 또는 종대, 악하임파절 종대 및 자궁 부종 소견들과 조직병리학적 검사 상의 경미한 폐 충혈반, 신장 국소 염증세포 침윤, 비장의 적색수질 임파구 증식 또는 백색 수질 임파구 감소, 간 국소 염증세포 침윤, 악하임파절 미만성 임파구 증식 및 자궁 점막 탈락 소견은 암수 매체 대조군을 포함한 모든 실험군에 걸쳐 산발적으로 관찰되었으며, 용량 의존성이 전혀 인정되지 않아, 황금 추출물 투여와 관련 없는 우발적 병소로 사료되며, 이들 병소들은 정상 마우스에서 드물게 인정되는 소견으로 알려져 있고³⁴⁻³⁷, 특히 자궁은 성주기에 따라 쉽게 변화할 수 있어^{38,39}, 자궁 부종은 성주기에 따른 이차적 변화로 사료된다.

US Environmental Protection Agency OPPTS 870.100⁴⁰에 따르면 일반적으로 반수 치사량이 5,000~15,000 mg/kg인 물질을 무독성 물질로, 500~5,000 mg/kg을 비교적 저독성(Class III) 물질로 규정하고 있으나, 한국식품의약품 안전청 고시 제 2009-116호²⁷ 및 OECD 기준 #423²⁹에 따르면, 설치류에서 투여한계 농도를 2,000 mg/kg으로 제한하고 있다. 따라서 본 실험의 마우스 단회 경구투여 독성실험에서 황금 추출물의 반수치사량 및 개략적 치사량은 각각 2,000 mg/kg 이상으로 관찰되어, 매우 안전한 물질로 사료된다.

V. 결론

황금 추출물 단회 경구투여 독성을 시험한 결과 14일 동안의 사망례, 임상증상, 체중 및 체중증가량, 장기중량의 변화, 육안부검소견, 조직병리학적

소견 등에서 독성 소견이 나타나지 않았다. 따라서 황금 추출물의 반수치사량 및 개략적 치사량은 각각 2,000 mg/kg 이상으로 관찰된다.

참고문헌

1. 유태우, 김병익, 김진봉, 김동준, 김재우, 백순구, 등. 독성 간손상 관련 한국인의 약물복용 실태와 건강비용 조사: 독성 간손상의 진단 및 보고체계 구축을 위한 다기관 공동연구. *대한간학회지* 2007;13(1):34-43.
2. 김세란, 이진원, 임소연, 정유선, 최해윤, 김종대.杏仁의 랫트 단회 경구 투여 독성시험. *대한한방내과학회지* 2012;33(2):145-59.
3. 유효정, 박미연, 최해윤, 김종대. 금은화 추출물의 마우스 단회 경구투여 독성실험. *대한한방내과학회지* 2010;31(3):539-53.
4. Lee LE, Kim HJ, Choi EK, Chai HY, Yun YW, Kim DJ, et al. Four-week repeated-dose toxicity study on Pinellia Extract. *Korean J Lab Anim Sci* 2003;19:127-41.
5. 장인규, 홍남두. 죽력의 독성시험 및 약효학적 연구. *대한한방내과학회지* 1985;2(1):83-101.
6. 김동현, 김형민, 류종훈, 엄재영, 김상찬, 양재하, 등. *한방약리학*. 서울: 신일상사; 2010, p. 242-6.
7. 김인락, 김호철, 국윤범, 박성주, 박용기, 박지하, 등. *본초학*. 서울: 圖書出版 永林社; 2007, p. 216-8.
8. 윤석빈, 한효상, 이영종. 黃芩이 LPS로 유발된 Raw 264.7 Cells의 염증인자에 미치는 영향. *대한분초학회지* 2011;26(2):75-81.
9. Chu M, Chu ZY, Wang DD. The extract of compound *Radix Scutellariae* on mRNA replication and IFN expression of influenza virus in mice. *Zhong Yao Cai* 2007;30:63-5.
10. Song KH, Lee SH, Kim BY, Park AY, Kim JY. Extracts of *Scutellaria baicalensis* Reduced

- Body Weight and Blood Triglyceride in db/db Mice. *Phytother Res* 2013 Feb;27(2):244-50.
11. Zhang YY, Wang XY, Wang XR, Xu ZH, Liu Z, Ni Q, et al. Protective effect of flavonoids from *Scutellaria baicalensis* Georgi on cerebral ischemia injury. *J Ethnopharmacol* 2006;108(3):355-60.
 12. Provalova NV, Suslov NI, Skurikhin EG, Dygář AM. Local mechanisms of the regulatory action of *Scutellaria baicalensis* and ginseng extracts on the erythropoiesis after paradoxical sleep deprivation. *Eksp Klin Farmakol* 2006;69(5):31-5.
 13. Lee IK, Kang KA, Zhang R, Kim BJ, Kang SS, Hyun JW. Mitochondria protection of baicalein against oxidative damage via induction of manganese superoxide dismutase. *Environ Toxicol Pharmacol* 2011;31(1):233-41.
 14. Ye F, Xui L, Yi J, Zhang W, Zhang DY. Anticancer activity of *Scutellaria baicalensis* and its potential mechanism. *J Altern Complement Med* 2002;8(5):567-72.
 15. Tseng-Crank J, Sung S, Jia Q, Zhao Y, Burnett B, Park DR, et al. A medicinal plant extract of *Scutellaria baicalensis* and *Acacia catechu* reduced LPS-stimulated gene expression in immune cells: a comprehensive genomic study using QPCR, ELISA, and microarray. *J Diet Suppl* 2010;7(3):253-72.
 16. Chen LG, Hung LY, Tsai KW, Pan YS, Tsai YD, Li YZ, et al. Wogonin, a bioactive flavonoid in herbal tea, inhibits inflammatory cyclooxygenase-2 gene expression in human lung epithelial cancer cells. *Mol Nutr Food Res* 2008;52(11):1349-57.
 17. Aung H, Mehendale S, Chang WT, Wang CZ, Xie JT, Yuan CS. *Scutellaria baicalensis* decreases ritonavir-induced nausea. *AIDS Res Ther* 2005;20(2):12.
 18. Woźniak D, Lamer-Zarawska E, Matkowski A. Antimutagenic and antiradical properties of flavones from the roots of *Scutellaria baicalensis* georgi. *Nahrung* 2004;48(1):9-12.
 19. Huang KL, Chen CS, Hsu CW, Li MH, Chang H, Tsai SH, et al. Therapeutic effects of baicalin on lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats. *Am J Chin Med* 2008a;36:301-11.
 20. Peng J, Qi Q, You Q, Hu R, Liu W, Feng F, et al. Subchronic toxicity and plasma pharmacokinetic studies on wogonin, a natural flavonoid, in Beagle dogs. *J Ethnopharmacol* 2009;124:257-62.
 21. Yimam M, Zhao Y, Ma W, Jia Q, Do SG, Shin JH. 90-day oral toxicity study of UP446, a combination of defined extracts of *Scutellaria baicalensis* and *Acacia catechu*, in rats. *Food Chem Toxicol* 2010;48:1202-9.
 22. 장보윤, 빈두말라, 손동환, 김윤철, 김성연. 황금 및 단삼 표준화시료의 급성독성에 관한 연구. *생약학회지* 2011;42:265-70.
 23. 정종평, 구영, 배기환. 황금(*Scutellariae Radix*)의 에타놀추출물과 플라보노이드 성분들의 독성평가. *대한치주과학회지* 1995;25:470-7.
 24. Haouzi D, Lekehal M, Moreau A, Moulis C, Feldmann G, Robin MA, et al. Cytochrome P450-generated reactive metabolites cause mitochondrial permeability transition, caspase activation, and apoptosis in rat hepatocyte. *Hepatology* 2000;32:303-11.
 25. MacGregor FB, Abernethy VE, Dahabra S, Cobden I, Hayes PC. Hepatotoxicity of herbal remedies. *BMJ* 1989;299:1156-7.
 26. Hosokawa K, Minami M, Kawahara K, Nakamura I, Shibata T. Discrimination among three species of medicinal *Scutellaria* plants using RAPD markers. *Planta Med* 2000;66:270-2.

27. 한국식품의약품안전청. 의약품 등의 독성시험 기준. 한국식품의약품 안전청 고시 제 2009-116 호. 2009.
28. Department of Health, Education, and Welfare Publication(National Institute of Health). Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (85-23). 1985.
29. Organization for Economic Co-Operation and Development(Ed.). OECD guideline(423) for testing of chemicals—acute oral toxicity—acute toxic class method. OECD/OCDE. 2001, p. 1-14.
30. Irwin S. Comprehensive observational assessment: Ia. A systemic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physiological state of the mouse. *Psychopharmacology* 1968;13:222-57.
31. Dourish CT. Effects of drugs on spontaneous motor activity. In: Greenshaw AJ and Dourish CT(Ed). *Experimental Psychopharmacology*. Clifton: Humana Press; 1987, p. 325-34.
32. Plata EJ, Murphy WH. Growth and haematologic properties of the BALB/wm strain of inbred mice. *Lab Anim Sci* 1972;22:712-20.
33. Yamaguchi C, Fujita S, Obara T, Ueda T. Effects of room temperature on reproduction, body weight and organ weights, food and water intakes, and hematology in mice. *Exp Anim* 1983;32:1-11.
34. Lee JH, Yang KJ, Shin HD, Park BR, Son CW, Jang HJ, et al. Single subcutaneous dose toxicity of Polycan[®], a β -glucan originated from *Aureobasidium* in mice. *Lab Anim Res* 2005; 21:299-305.
35. Lee HS, Lee IG, Ku SK. Single oral dose toxicity study of water extracts of *Picrorrhiza Rhizoma* in mice. *J Toxicol Pub Health* 2006;22:117-26.
36. Roh SS, Ku SK. Mouse single oral dose toxicity study of DHU001, a polyherbal formula. *Toxicol Res* 2010;26:53-9.
37. Lee WH, Gam CO, Ku SK, Choi SH. Single oral dose toxicity test of platycodin D, a saponin from platycodin radix in mice. *Toxicol Res* 2011;27:217-24.
38. Banks WJ. Female reproductive system. In: Banks WJ (Ed). *Applied veterinary histology*, 2nd edition. Baltimore: Williams & Wilkins; 1986, p. 506-26.
39. Pineda MH. Female reproductive system. In: McDonald LE and Pineda MH(Eds). *Veterinary endocrinology and reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger; 1989, p. 303-54.
40. US Environmental Protection Agency. Health Effects Test Guidelines OPPTS 870.100, Acute Toxicity Testing Background. Washington USA: US EPA August; 1998.