

안존이천탕 추출물이 흰쥐의 모체 및 태자에 미치는 영향

김범희

동의대학교 한의과대학 한의학과, 동의대학교 한의학연구소

The Toxicological Effects of *Ahnjon-Yichun-Tang* in Pregnant Rats and Fetuses

Bum Hoi Kim

Department of Anatomy, College of Oriental Medicine and Research Institute of
Oriental Medicine, Dong-Eui University, Busan 614-851.

Abstract

The objective of this study was to characterize the adverse effects of *Ahnjon-Yichun-Tang* during early pregnancy. Following successful mating, female Sprague-Dawley rats were given *Ahnjon-Yichun-Tang* (AYT) extract by oral administration daily with dose of 150mg (n=10), 300mg (n=10), 450mg (n=10) for 20 days of pregnancy. The rats in Control group(n=10) were orally administrated with Saline. All pregnant rats of *Ahnjon-Yichun-Tang*-treated and Control groups were sacrificed on day 20 of pregnancy. The pregnancy outcome was determined and the internal and reproductive organs of pregnant rat were observed. The fetuses were examined for the presence of various developmental toxic endpoints and stained with alcian blue and alizarin red S, and observed skeletal malformations.

The results obtained in this study represent that there is no significant changes between Control and *Ahnjon-Yichun-Tang*-traeted groups in body weight, organ weight, blood chemistry values, hematological values and pregnancy indexes of pregnant rat. The skeletal malformation of fetus was not observed as well. These results suggest that oral administration of *Ahnjon-Yichun-Tang* does not produce either maternal or developmental toxicity.

Key words : Pregnant toxicity, *Ahnjon-Yichun-Tang*, SD rat, ALT, AST, BUN, Creatinine.

· 접수: 2013년 4월 10일 · 수정접수: 2013년 8월 7일 · 채택: 2013년 8월 13일

* 교신저자: 김범희, 부산광역시 부산진구 양정2동 산45-1 동의대학교 한의과대학

전화: 051-850-7411, 전자우편: bume@deu.ac.kr

I. 서론

생식·발생 독성 시험이란 수태능 및 초기 배자발생 시험, 출생 전·후 발생과 모체 기능 시험 및 배자·태자 발생 시험 등으로 구분되며, 이 중 배자·태자 발생 시험은 초기형성 시험이라고도 하며, 착상부터 경구개 폐쇄되는 시기까지 암컷에 시험 물질을 투여할 때 임신 동물 및 배자·태자의 발생에 대한 독성 시험을 말한다¹⁾.

한약은 양약에 비해 좀 더 자연적이고 안전하다고 믿어지고 있다. 일반적으로 여성이 남성에 비해 대체의학을 비롯한 한약에 대한 호감도가 더욱 높은 편으로 밝혀졌고²⁾, 특히 임신여성의 경우 태아의 건강을 위해 더욱 관심을 갖는 것으로 알려졌다^{3, 4)}.

임신중 한약복용 환자에 관한 논문 23례 분석에서 태기불안(胎氣不安)에는 교애사물탕(膠艾四物湯), 안존이천탕(安尊二天湯), 안태음가미방(安胎飲加味方) 등이 사용되었고, 활태(滑胎)에는 교애사물탕, 안존이천탕, 보생탕(保生湯) 등이 사용되었으며, 임신유지를 위해서는 주로 안존이천탕이 사용되었다⁵⁾. 태기불안이란 복통을 주증으로 하는 태동과 하혈을 주증으로 하는 태루를 포함하여 이르는 말이며⁶⁾, 활태란 타태(墮胎)되거나 소산이 3회 이상 발생되는 경우를 말하며, 현대의학의 습관성 유산에 해당된다고 볼 수 있다⁶⁾. 임신유지란 태기불안의 증상이 없으나 착상보조를 위해 한약복용을 한 경우를 말한다⁵⁾. 또한 습관성유산 환자 14례를 치료한 임상보고에서 태기불안증을 보이는 환자에서 안존이천탕을 지속적으로 투여하여 정상적인 분만이 이르게 하였다는 보고가 있었다⁷⁾. 이에 임신 시의 태기불안, 활태, 임신유지 모두에서 안존이천탕이 다용되는 점에 착안하여⁵⁻⁸⁾, 본 연구에서는 임신시 안존이천탕 투여에 따른 산모와 태아에

미치는 영향에 대해 살펴보고자 하였다.

안존이천탕은 비신허손(脾腎虛損)을 보하여 대맥(帶脈)을 강화하는 처방으로, 비위(脾胃)의 후천지기(後天之氣)와 간신(肝腎)의 선천지기(先天之氣), 즉 이천(二天)의 기를 자양함으로써 안태시킨다는 의미를 가진 처방이다⁸⁾. 안존이천탕의 처방구성에 대해서는 포계는 신과 관련이 있으나 후천의 비기를 함께 보해야 하며 따라서 인삼 백출 숙지황의 보음 보양지품을 대용해서 빨리 태동증을 치료해야 한다고 했다⁷⁾. 이처럼 안존이천탕은 산모의 태기불안증을 치료 혹은 예방하기 위해 자주 사용되는 처방중에 하나라 할 수 있다.

이처럼 안존이천탕은 임상적으로 산모의 태기불안과 임신유지에 유효한 효과가 있는 것으로 밝혀졌으나 산모와 태아에 미치는 영향에 대해서는 아직 밝혀진 바가 없다. 이에 본 연구에서는 안존이천탕의 산모와 태아에 미치는 영향을 살펴보고자, 임신 흰쥐에 안존이천탕 추출물을 15일간 경구투여하여 산모와 태아에 미치는 영향을 관찰하여 이에 보고하는 바이다.

II. 실험방법

1. 실험동물

본 실험에 사용된 동물은 (주)샘타코(경기도, 대한민국)에서 구입한 10주령, 약 250g 전후의 Sprague-Dawley계 임신 암컷 흰쥐 40마리로, 온도 21~23°C, 습도 40~60%, 조명 12시간 명/암이 자동적으로 유지되는 사육실에서 무균 음수와 사료를 자유롭게 공급하여 사육하고, 실험실 환경에 1주 이상 적응시킨 후 사용하였으며, 동물실험 자체윤리규정에 따라 모든 과정이 이루어졌다.

Table 1. Herbal Composition of Ahnjon-Yichun-Tang(AYT)

본초명	학명	weight(g)
인삼	<i>Panax ginseng C.A.</i>	20
숙지황	<i>Rehmannia glutinosa</i>	20
백출	<i>Atractylodes macrocephala</i>	20
산약	<i>Dioscorea japonica</i>	10
산수유	<i>Cornus officinalis</i>	10
두충	<i>Eucommia ulmoides OLIVER</i>	6
백편두	<i>Dolichos lablab L.</i>	4
구기자	<i>Lycium chinense MILL.</i>	4
감초	<i>Glycyrrhiza uralensis FISCH.</i>	2
합계		96

2. 약물의 제조

본 실험에 사용된 안존이천탕의 용량은 Table 1.과 같다. 10첩 분량인 480g을 증류수 2L와 함께 round flask에 담고 냉각기를 부착한 전탕기에서 2시간 동안 전탕한 다음 여과액을 감압 농축하여 동결건조시켜 물추출액기스 87.6g을 얻었으며, 회수율은 23.4%였다. 투여량은 흰쥐 체중 1kg당 150mg, 300mg, 450mg을 각각 음용수에 녹여 경구 투여하였다.

3. 임신동물의 획득

임신 흰쥐를 얻기 위하여 수컷 1마리씩을 사육상자에 넣고 하루 동안 적응시킨 후, 각 사육상자에 암컷 2마리를 합사시키고 다음날 오전 10시에 질 도말 표본을 제작하여 임신을 확인하였다. 질전(vaginal plug)을 확인하거나, 질 내에 정자가 확인된 암컷을 임신 0일로 하고, 모체의 체중을 측정하였다. 1일부터 20일까지 각 군에 안존이천탕 추출물 혹은 생리식염수를 경구투여하고 임신 20일에 부검하여 모체의 각 장기를 관찰하고 자궁을 적출하여 태자를 관찰하였다.

4. 실험군의 배정

실험군의 배정은 임신 0일의 체중을 측정한 후, 무작위추출법에 의하여 Control군과 안존이천탕 150mg/kg 투여군(AYT-1)과 300mg/kg 투여군(AYT-2) 및 450mg/kg 투여군(AYT-3)으로 배정하였다. 각 실험군에 임신동물은 무작위로 10마리를 배정하여 총 40마리를 실험에 사용하였다.

5. 체중 및 장기 중량의 측정

20일의 임신기간 동안 매일 아침 모체의 체중을 측정하였으며, 측정된 체중을 바탕으로 하루에 한번 약물을 경구투여기를 사용하여 투여하였다. 실험동물은 부검 전에 최종 체중을 측정하였고, 치사량의 에테르 흡입으로 안락사시킨 후 부검하였다. 혈액채취와 각각의 모든 장기를 육안으로 관찰한 후, 모체의 간장, 비장, 신장 및 생식기관인 자궁의 무게를 측정하였다. 장기 중량은 절대장기중량과 체중에 대한 상대장기중량(%)을 표시하였다.

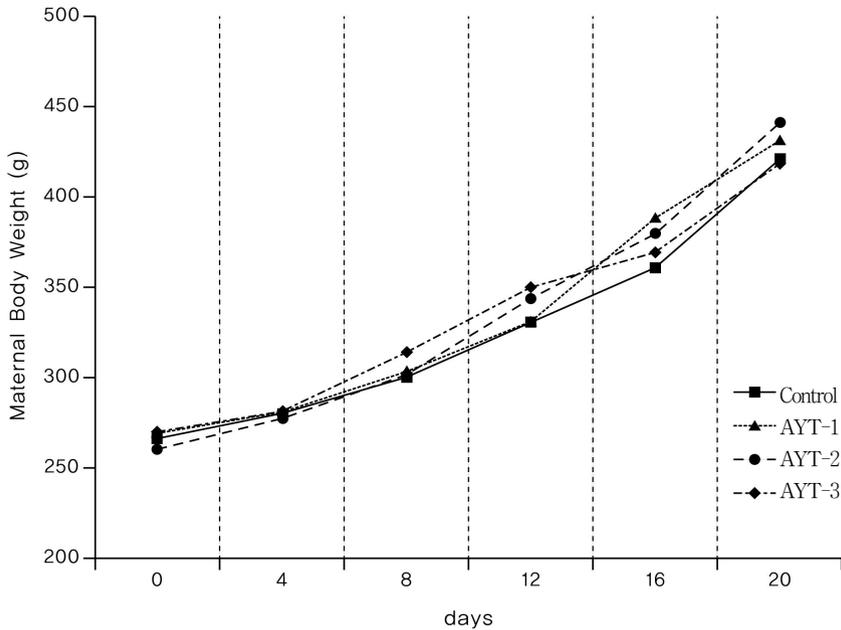


Fig 1. Gain rate of maternal body weight in the Control and AYT groups. The pregnant Sprague-Dawley rats were given AYT extract or Saline by oral administration daily for 20 days of pregnancy. The body weights of all groups were gradually increased during pregnancy.

6. 생식능에 미치는 영향

모체 장기의 측정이 끝난 후 자궁을 열어 황체수, 착상수, 사망태자수, 생존태자수를 측정하고, 태자의 암수를 구별하여 기록하였다. 착상률, 임신률 및 성비를 구하는 공식은 아래와 같다⁹⁾.

$$\text{착상률 (Implantation ratio. \%)} = \frac{\text{착상수(No. of implantation)}}{\text{황체수(No. of Corpus & Luteum)}}$$

$$\text{임신률 (Delivary ratio. \%)} = \frac{\text{태자수(No. of live fetus)}}{\text{착상수(No. of implantation)}}$$

$$\text{성비 (Sex ratio. \%)} = \frac{\text{수컷 생존태자수(Male fetus)}}{\text{암컷 생존태자수(female fetus)}}$$

7. 혈액분석

1) 혈액학적 검사

모체를 안락사 시킨 후 심장 혹은 하대정맥에서 채혈하였다. 혈액의 백혈구(WBC), 적혈구(RBC), 혈색소량(HGB), 적혈구용적(PCV), 평균적혈구용적(MCV), 평균적혈구색소량(MCH), 평균적혈구혈색소농도(MCHC), 혈소판수(PLT), 임파구(Lymphocyte), 호중구(Neutrophil), 단핵구(Monocyte), 호산구(Eosinophil), 호염기구(Basophil) 등을 측정하였다.

2) 혈액생화학적 검사

혈액을 냉장고에 2시간정도 방치한 후 원심분

리하여 혈청을 분리하였다. 채취한 혈청 내 AST (Aspartate Aminotransferase), ALT(Alanine Aminotransferase), Creatinine, BUN(blood urea nitrogen) 등의 수치를 측정하였다.

8. 태자에 미친 영향 검사

각 군의 임신 20일째의 모체에서 자궁을 열어 살아 있는 태자의 암·수를 구분한 다음 체중을 측정하였다. 생존태자의 외형이상 유·무를 검사하기 위하여 눈, 코, 입 등 두부의 이상을 관찰하고, 사지와 꼬리 등 전신에 대하여 관찰하였다.

9. 태자 골격기형검사

성별과 체중, 외형기형 유무의 관찰이 끝난 각 태자는 장기를 제거하고 증류수로 수세한 후 70°C의 수조에 담귀 피부를 벗겨냈다. 피부를 벗긴 태자의 과잉수분을 제거하고 specimen컵에 넣은 후 에탄올을 부어 태자가 잠기도록 하였다. 2~3일 후 에탄올을 따라 버린 후 알시안 블루(alcian blue)용액을 넣고 잘 흔들어 태자가 충분히 잠길 정도로 방치하여 염색하였다. 약 20시간이 지난 후 알시안 블루 용액을 따라 버리고 에탄올을 부어 약 7.5시간이 지난 후 에탄올을 따라 버리고 1.0%의 수산화칼륨(KOH) 용액을 태자가 잠길 만큼 부었다. 17시간 후 수산화 칼륨 용액을 따라내고 알리자린 레드 에스(alizarine red S) 용액을 부어 잘 흔들어서 염색하였다. 그리고 약 4시간 후 알리자린 레드 에스 용액을 따라 버리고 70% 에탄올과 글리세린을 5:5로 혼합한 용액에 저장하고 4시간 후부터 대조군과 투여군 간의 골격기형의 차이를 비교하였다.

10. 통계학적 분석

측정된 모든 자료는 ANOVA 분석을 통해 유

의성 여부를 확인 후, student's t-test를 사용하여 $P < 0.05$ 및 $P < 0.01$ 의 유의수준으로 검증하였다. 모든 값의 수치는 평균±표준편차(mean±standard deviation)로 표시하였다.

III. 결 과

1. 체중변화

임신 흰쥐에서 임신 1일부터 20일까지 매일 안존이천탕을 경구투여 전, 체중을 측정된 결과, 체중변화는 모든 군에서 전반적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 실험전체 기간 동안 Control군과 AYT군에서 평균체중의 다소간의 증감의 변화는 있었으나 각 군 간에 유의성 있는 차이는 발견되지 않았다.

2. 모체의 장기무게

임신 20일째 모체를 희생하고 장기를 적출하여 육안으로 관찰한 결과에서는 Control군과 AYT군 모두에서 육안적인 장기의 기형은 발견되지 않았다. Sample군과 Control군 간의 모체의 간, 난소, 비장, 신장 등의 장기 무게를 측정하여 비교한 결과는 Table 2.와 같다. Sample군과 AYT군 간의 장기무게의 비교에서 간, 난소, 좌우신장 모두 절대중량과 상대중량에서 다소간의 차이는 있었으나, 유의성 있는 차이는 없는 것으로 측정되었다. 특히, 비장의 장기무게의 비교에서는 안존이천탕의 세가지 농도군에서 모두 Control군에 비해 줄어들었으나 유의성은 없는 변화였다.

3. 모체의 임신 관련지표

임신 20일째에 모체를 희생하고 자궁을 꺼내어 자궁 내의 착상수, 황체수, 생존태자수를 관찰하고 착상률, 출산율, 성비 등 모체의 임신관

Table 2. Maternal Organ Weight gain of rats of Control and Sample Groups on Day 20 of Pregnancy.

Group	Control	AYT-1	AYT-2	AYT-3
Liver (g)	10.7±2.2	10.8±2.2	11.7±1.2	12.1±1.7
(%)	(24.9±5.1)	(24.6±5.0)	(27.9±2.8)	(28.8±4.0)
Ovary (g)	3.2±1.2	3.8±0.9	2.8±1.2	3.3±1.5
(%)	(7.3±2.7)	(8.7±2.2)	(6.6±2.8)	(7.9±3.5)
Spleen (g)	0.9±0.2	0.7±0.2	0.8±0.2	0.7±0.1
(%)	(2.0±0.5)	(1.7±0.6)	(1.9±0.4)	(1.8±0.3)
Right Kidney (g)	1.1±0.2	1.1±0.4	1.0±0.1	0.8±0.4
(%)	(2.6±0.4)	(2.4±0.8)	(2.3±0.3)	(1.8±0.8)
Left Kidney (g)	1.0±0.2	1.1±0.3	0.9±0.1	1.0±0.1
(%)	(2.3±0.4)	(2.4±0.8)	(2.2±0.2)	(2.3±0.2)

Data shown as mean ± S.D. were analysed by ANOVA followed by the Student's t-test.

Table 3. Pregnant Relating Index

Group	Control	AYT-1	AYT-2	AYT-3
No. of Implantation	12.4±1.6	12.6±1.4	12.9±1.9	12.8±2.3
No. of Corpus luteum	13.6±2.1	13.5±1.6	13.8±1.6	13.8±1.7
No. of live fetus	11.3±1.4	11.8±1.7	12.4±1.8	12.3±2.1
Implantation ratio	91.3±5.7	93.8±6.9	93.6±7.1	92.2±7.6
Delivery ratio	91.2±6.5	93.0±7.0	96.2±5.6	96.2±4.2
Sex ratio (M/F ratio)	0.9±0.3	1.0±0.2	0.9±0.2	1.0±0.3

Data shown as mean ± S.D. were analysed by ANOVA followed by the Student's t-test.

Table 4. Body weight of fetus in Control and AYT Groups on Day 20 of Pregnancy.

Group	Control	AYT-1	AYT-2	AYT-3
Number of Fetus	114	110	119	118
Mean Fetal Body Weight (g)	5.1±2.0	5.1±0.5	5.0±0.5	5.0±0.6

(mean ± S.D.)

런 지표를 측정된 결과는 Table 3.과 같다. 착상수의 비교에서 AYT군의 모든 농도에서 Control군에 비해 증가된 값을 나타냈으며, 황체수의 비교에서도 AYT-1군을 제외하고는 모두 Control군 보다 높은 값을 나타내었다. 생존태자수의 측정에서도 AYT군 모두에서 Control군에 비해 증가되었으며 이에 따라 착상률 및 출산율을 계산하여 비교한 결과 AYT군이 Control군에 비해 착상률과 출산율 모두에서 증가되었으나 유의성 있는 차이는 아니었다. 성비의 비교에서는

AYT군과 Control군 사이에 증감이 있었으나 모두 유의성은 없었다.

4. 태자의 수와 평균체중

임신 20일째 임신 흰쥐의 자궁 안의 태자의 수와 각각의 태자의 평균체중은 Table 4.와 같다. 총태자수의 비교에서 Control군과 AYT군에 변화가 있었으나, 농도에 비례하는 변동은 없었으며, 통계적으로 유의성 있는 차이도 아니었다.

Table 5. Hematological Values in Rats of Control and Sample Groups on Day 20 of Pregnancy.

Group	Control	AYT-1	AYT-2	AYT-3
RBC ($10^6/\mu\ell$)	6.8±0.7	6.4±0.6	6.1±0.6	6.1±1.7
WBC ($10^3/\mu\ell$)	5.8±3.2	7.5±2.8	8.4±3.7	6.7±3.3
Platelet ($10^3/\mu\ell$)	974.3±208.8	953.6±152.9	944.0±101.4	984.7±197.4
Hct (%)	42.6±4.9	40.5±3.5	39.5±4.3	38.4±10.6
Hb (g/dl)	12.6±1.5	11.9±1.2	11.6±1.4	11.4±3.2

RBC, Red blood cell; WBC, White blood cell; Hct, Hematocrit; Hb, Hemoglobin. Data shown as mean ± S.D. were analysed by ANOVA followed by the Student's t-test.

Table 6. Blood Serum Chemistry Values in Rats of Control and Sample Groups on Day 20 of Pregnancy.

Group	Control	AYT-1	AYT-2	AYT-3
Glucose (mg/dl)	80.6±21.1	86.7±23.0	86.0±17.2	83.8±14.2
HDL-Cholesterol (mg/dl)	76.8±13.8	81.4±6.9	72.0±8.2	69.4±12.7
Total Cholesterol (mg/dl)	83.4±16.8	87.6±7.0	85.8±10.2	83.2±8.9
Triglyceride (mg/dl)	106.4±54.6	71.1±26.1	92.7±55.3	98.0±43.2
ALT (IU/L)	39.1±4.7	38.9±10.7	42.3±10.1	42.3±10.0
AST (IU/L)	136.4±31.3	143.1±24.4	140.7±31.5	140.4±52.9
BUN (mg/dl)	22.2±4.5	21.9±5.7	24.5±3.0	21.9±5.0
Creatinine (mg/dl)	0.4±0.1	0.4±0.1	0.4±0.1	0.4±0.1
Uric Acid (mg/dl)	3.3±1.5	3.7±1.6	2.6±0.6	3.3±0.4

HDL-Cholesterol, High density lipoprotein-Cholesterol; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; BUN, blood urea nitrogen. Data shown as mean ± S.D. were analysed by ANOVA followed by the Student's t-test.

또한 평균체중의 비교에서는 AYT-2군과 AYT-3군에서 Control군에 비해 상대적으로 감소되었으나 이 또한 유의성 있는 변화는 아니었다.

5. 혈액학적 분석

Control군과 Sample군의 임신흰쥐로부터 채취한 혈액을 통해 혈액학적 검사를 실시한 결과는 Table 5.와 같다. 적혈구세포수의 경우 Control군에 비해 세가지 농도의 AYT군 모두에서 약간의 감소가 나타났으나 유의성 있는 변화는 아니었다. 반면, 백혈구(WBC)의 경우에는 AYT군 모두에서 약간의 증가나 나타났으나 마찬가지로 유의성 있는 변화는 아니었다. 혈소판수치의 경

우는 AYT-1군과 AYT-2군에서는 Control군보다 낮았으나 AYT-3군은 Control군보다 상승된 값을 나타내었으나 유의성은 없었다. 그 외 적혈구용적, 헤모글로빈 농도에서는 AYT군 모두에서 Control군에 비해 수치의 감소가 있었으나 AYT의 농도에 비례하는 변화는 없었으며, 모두 유의성은 없는 변화였다.

6. 혈액생화학적 분석

모체의 혈청학적 분석결과는 Table 6.과 같다. 혈청학적 분석결과를 보면 혈중 포도당(glucose) 수치는 Control군에 비해 AYT군에서 상대적으로 높아지는 경향이 있었으며, 고밀도 리포단백

Table 7. Occurrence of Signs of Delayed Ossification in The Offspring of Rats of Control and Sample Groups on Day 20 of Pregnancy.

() : % of fetus examined.

Ossification Delayed Bone	Control	AYT-1	AYT-2	AYT-3
Number of Fetus	114	110	119	118
Skull Bones	5 (4.4)	6 (5.5)	4 (3.4)	5 (4.2)
Vertebral column	7 (6.1)	7 (6.4)	6 (5.0)	8 (6.8)
Ribs	8 (7.0)	10 (9.1)	10 (8.4)	9 (7.6)
Forelimbs	16 (14.0)	18 (16.4)	17 (14.3)	19 (16.1)
Hindlimbs	14 (12.3)	15 (13.6)	11 (9.2)	10 (8.5)

Signs of delayed ossification : poorly ossified, unossified or irregular spongy bones.

Table 8. Number of Fetal Cervical, Thoracic, Lumbar, Sacral, Caudal in Control and Sample Groups.

Vertebral Bone	Control	AYT-1	AYT-2	AYT-3
Cervical	7	7	7	7
Thoracic	14	14	14	14
Lumbar	6	6	6	6
Sacral	4.1±0.3	4.0±0.2	4.1±0.1	3.9±0.3
Caudal	4.3±0.2	4.2±0.1	4.3±0.1	4.2±0.2

Data shown as mean ± S.D. were analysed by ANOVA followed by the Student's t-test.

질 콜레스테롤(HDL-Cholesterol)의 수치비교에서는 AYT-1군에서 약간 상승하였으나 AYT-2, AYT-3군에서 다시 감소되는 값을 나타내었다. 총콜레스테롤(total cholesterol) 수치에서도 각 군간에 약간의 차이는 있었으나 모두 유의성 있는 변화는 아니었다.

ALT와 AST 수치에서는 AYT군에서 모두 Control군에 비해 증가하는 경향이 나타났으나 유의성이 없는 변화였으며, 그 외 BUN, creatinine, uric acid 수치 비교에서도 약간의 증감이 있었으나 유의성은 없었다.

7. 태자기형발생 여부

임신 20일째 모체를 부검하여 얻은 태자의 외형 및 골격기형 검사에서 외형이상 검사에서 Control군의 AYT군의 태자에서 모두 별다른 육안적인 이상은 관찰되지 않았다(Table 7, Table 8).

Alizrain red S로 염색한 골격검사에서도 특이한 기형은 관찰되지 않았으나 골화지연, 척추뼈 형성 등의 항목에서는 Control군의 AYT군의 차이점이 일부 발견되었다.

IV. 고 찰

일반적으로 임신 중 태아 주위의 모든 요소가 직·간접적으로 태아에게 영향을 줄 수 있음을 생각할 때 안전성이 확립된 소수의 약제를 제외하면, 임신 중의 투약은 거의 모든 경우에 기형 유발의 위험성을 갖고 있다고 할 수 있다. 특히 한약물에 대해서는 이전에 여러 연구가 있었지만¹⁰⁻¹²⁾, 아직 더 많은 연구가 필요한 것이 사실이다. 임신과 관련하여 임상에서 실제로 많은 환자에게 한약이 처방되고 있지만, 이를 과학적으로 안정성을 입증하고자 하는 연구는 부족한

편이며, 한약재의 임신 중 사용의 안정성에 대한 검증이 필요한 실정이다. 따라서 본 연구는 임신유지, 태아발생과 성장 및 분만과 관련된 한약재의 효능과 안정성을 임신흰쥐를 이용하여 간접적으로 확인하기 위해 임신 중에 복용할 수 있는 안존이천탕을 임신 흰쥐에 투여하고 투약받은 흰쥐의 임신, 착상, 유산, 임신유지 및 출산에 이르는 변화를 관찰함으로써 임신 중 태아의 발생과 임신유지 및 분만에 미치는 영향에 관해 연구하였다.

본 연구에서 임신 흰쥐에 임신 1일부터 20일까지 매일 안존이천탕 경구투여에 의한 체중변화는 모든 농도에서 Control군과 비교하여 별다른 영향이 없는 것으로 밝혀졌다. 임신 20일째 모체를 희생하고 장기를 적출하여 육안으로 관찰한 결과에서는 Control군과 AYT군 모든 농도에서 육안적인 장기의 기형은 발견되지 않았다. Control군과 AYT군 간의 모체의 간, 난소, 비장, 신장 등의 장기 무게를 측정하여 비교한 결과, 장기무게의 비교에서 간, 난소, 좌우신장 모두 절대중량과 상대중량에서 다소간의 차이는 있었으나, Sample군과 AYT군 간에 유의성 있는 차이는 없는 것으로 측정되었다. 이러한 체중과 주요 장기중량의 차이는 모두 오차범위 안에 포함되는 수치이므로, 따라서 안존이천탕 투여는 모체 장기의 외형이나 중량 변화에 영향을 미치지 않았다고 말할 수 있다.

본 연구에서 임신 20일째에 자궁 내의 착상수의 비교에서 AYT군의 모든 농도에서 Control군에 비해 증가된 값을 나타냈으며, 황체수의 비교에서도 AYT-1군을 제외하고는 모두 Control군 보다 높은 값을 나타내었다. 생존태자수의 측정에서도 AYT군 모두에서 Control군에 비해 증가되었다. 측정된 착상수와 생존태자수를 이용하여 착상률 및 출산율을 계산한 결과, AYT군이 Control군에 비해 착상률과 출산율 모두에서 증가되었다. 이와 같은 결과로, 비록 유의성은 없었으나 이러한 결과는 안존이천탕이 임신 모

체에서 수정란의 착상과 태자의 출산에 유해한 영향을 끼치지 않으며, 오히려 모체의 안정적인 출산에 도움이 될 수 있다는 가능성이 있음을 나타내는 것이라 할 수 있다.

한편, 출생한 태자의 수와 암수차이, 그리고 성비(sex ratio)의 비교에서 control군과 AYT군 간에 모두 유의성 있는 변화는 없었으며, 태자의 평균체중의 비교에서는 근소한 차이로 AYT군에서 control군 보다 감소되는 경향이 나타났으나 마찬가지로 통계적으로 유의성은 없었다. 이러한 결과를 통해 안존이천탕 투여는 태자 수, 암수차이, 성비에 영향을 미치지 않는다고 말할 수 있다.

임신 20일째의 혈액학적 검사결과에서는 적혈구세포수와 적혈구용적, 헤모글로빈 농도의 경우 Control군에 비해 세가지 농도의 AYT군 모두에서 약간의 감소가 나타났으나 유의성 있는 변화는 아니었다. 반면, 백혈구(WBC)의 경우에는 AYT군 모두에서 약간의 증가나 나타났으나 마찬가지로 유의성 있는 변화는 아니었다. 혈소판수치의 경우는 AYT-1군과 AYT-2군에서는 Control군보다 낮았으나 AYT-3군은 Control군보다 상승된 값을 나타내었으나 유의성은 없었다. 이러한 결과는 안존이천탕 투여가 모체 혈액세포들에 별다른 영향을 미치지 않는다는 것을 말해주는 것이라 할 수 있다.

모체 혈액 내의 포도당과 중성지방 농도의 비교에서는 혈중 포도당(glucose)수치가 Control군에 비해 AYT군에서 상대적으로 높아지는 경향이 있었으며, 고밀도 리포단백질 콜레스테롤(HDL-Cholesterol)의 수치비교에서는 AYT-1군에서 약간 상승하였으나 AYT-2, AYT-3군에서 다시 감소되는 값을 나타내었다. 총콜레스테롤(total cholesterol) 수치에서도 각 군 간에 약간의 차이는 있었으나 모두 유의성 있는 변화는 아니었다. 이러한 결과는 안존이천탕의 투여가 임신기간 중 모체의 혈청 지질 농도에 크게 영향을 미치지 않음을 나타내는 결과라 할 수

있다.

한편, 앞서 언급한바와 같이 한의학에서 사용되는 한약재는 안전하면서 부작용이 없다고 인식되어 왔으나 한약물에 의한 다양한 부작용이 보고되고 있는 실정이다. 안전성이 확보되지 않은 약물의 투여로 인해 가장 많은 손상을 받게 되는 장기는 간과 신장이다. 약물의 분해와 분비를 담당하고 있기 때문인데, 근래 점차 한약의 사용이 빈번해 지면서 약물에 의해 발생하는 급성 간염 및 간독성에 관한 연구 보고가 증가되고 있으며¹³⁻¹⁵⁾, 최근 한의학의 중요한 연구 주제로 다루어지고 있다^{6, 17)}. 일반적으로 간기능을 측정하는 혈액생화학적 검사에서 AST(GOT)와 ALT(GPT)가 주로 사용되는데, 이들은 간을 비롯해 여러 장기에 존재하는 아미노산 합성 효소들로 주로 간세포가 손상을 받는 경우에 혈중으로 방출되어 혈중 수치가 증가하게 된다¹⁸⁾. 급성 간세포 손상 초기에는 간세포 내 농도가 높은 AST가 ALT보다 더 많이 증가하지만 24~48시간 뒤에는 반감기가 더 긴 ALT가 더 높아지는 것으로 알려졌다¹⁹⁾. 알코올성 간염에서는 AST가 더 증가하며, 만성 간세포 손상에서는 ALT가 더 높은 경우가 흔하고, 그 외에 약물 복용, 비알코올성 지방간, 비만 등에서도 만성적으로 높아져 있을 수 있는 것으로 알려져 있다²⁰⁾. 다시 말해, AST는 주로 간, 심근, 골격근, 적혈구 등에 많이 존재하기 때문에 심근경색, 용혈 등을 진단하는데 이용되고 ALT는 주로 간에 분포하기 때문에 간질환의 진단에 중요한 지표로 이용된다²¹⁾. 본 연구에서, 안존이천탕이 임신원위의 간기능에 미치는 영향을 관찰하기 위해 임신 20일째 ALT와 AST 수치의 수치를 측정할 결과, AYT-1군, AYT-2군, AYT-3군에서 모두 Control군에 비해 다소 증가하는 경향이 나타났다. 그러나, 유의성이 없는 변화였다. 이러한 결과는 안존이천탕 투여가 임신 모체의 간기능 손상에 아무런 영향이 없음을 나타내는 것이라 할 수 있다.

약물에 의한 신장손상은 당뇨 등의 질환과 관련되어 다양한 부작용이 보고되어 왔다²²⁾. 신장의 기능 상태를 반영하는 지표로서 creatinine, BUN 등이 이용되는데, creatinine은 근육 내의 creatinine phosphate 대사 결과 생성된 물질로써 정상의 경우 비교적 일정한 속도로 근육으로부터 유리되므로 혈액내 creatinine의 농도는 일정하게 유지되며 사구체에서 자유롭게 여과되며 재흡수되거나 대사되지 않는 것으로 알려졌다. 증가시에는 근이영양증, 다발성 근염, 갑상선 기능항진증을 의심하며, 감소시에는 간장애, 갑상선 기능저하증 등을 의심할 수 있다²³⁾. BUN은 혈중 요소에 포함된 질소의 양으로 신장기능과 수분대사 등을 반영하는 지표이다. BUN의 증가는 신기능장애, 절식, 단백질 과대섭취 등을 의심하며, 감소시에는 간부전 또는 저단백을 의심하게 된다. 그러나 BUN은 신장 이외에 다른 인자의 영향을 받기 쉬우므로 신장 기능의 지표로는 creatinine이 훨씬 특이성이 높다^{24, 25)}. 한편 요산(uric acid)은 purine 대사의 최종산물로 사람의 경우 대부분 조직 속에 있는 purine에서 유래하는 것으로 purine 대사의 유전적 결함, 요소의 과잉 생산이나 신장에서의 배출 저하로 인한 고요산혈증을 들 수 있는데, 예를 들면 백혈병 또는 항암제 투여에 의한 세포 파괴나 어떤 약제로 인한 요산이 소변으로 분비되는 것이 저해될 때 혈중 요산이 증가하게 된다²⁶⁾. 본 연구에서 임신 20일째 모체에서의 creatinine과 BUN, 그리고 uric acid 수치의 비교에서 Control군과 AYT군 사이의 유의성 있는 차이가 발견되지 않았다. 이러한 결과는 안존이천탕 투여가 모체의 신장 기능에 영향을 미치지 않음을 나타내는 것이라 할 수 있다.

본 연구에서 마지막으로 안존이천탕이 태아의 외형 및 골격기형에 어떤 영향을 미치는지를 알아보기 위한 검사를 시행하였다. 임신 중의 약물 복용은 태아의 성장발육과 임신유지에 여러 가지 형태의 영향을 미쳐서 기형아 발생, 특히

골격기형의 원인이 될 수 있는 것으로 알려져 있다²⁷⁾. 특히 약물은 선천성 기형을 유발하는 환경적 인자 중 대표적인 것으로 알려져 있다²⁸⁾. 골격검사 결과, control군과 AYT군에서 모두 특이한 기형은 관찰되지 않았으나 골화 지연, 척추뼈 형성 등의 항목에서는 control군과 AYT군의 차이점이 일부 발견되었다. 골화 지연(delayed ossification)은 control군과 AYT군 사이에 근소한 차이가 있었으나, 통계적 유의성은 없었다. 척추뼈의 생성 차이를 구체적으로 살펴본 결과에서는, control군과 AYT군 사이에 경추뼈(cervical vertebrae)와 흉추뼈(thoracic vertebrae), 그리고 요추뼈(lumbar vertebrae)의 개수는 두 군 간에 차이가 없었으나, 천골뼈(sacral vertebrae)와 미골뼈(caudal vertebrae)의 생성에서는 control군보다 AYT군에서 뼈형성이 늦는 경향이 나타났으나 두 군 간에 유의성은 없었다. 이러한 결과를 통해 안존이천탕 투여가 태자의 외형 및 골격기형 그리고 척추뼈 형성시기에 유해한 영향을 미치지 않음을 알 수 있다.

V. 결론

안존이천탕이 임신에 미치는 영향을 검증하기 위하여 임신 흰쥐에게 20일 간 안존이천탕 물추출물을 경구투여하고 20일째 모체를 희생하여 모체의 평균체중, 주요 장기의 무게, 혈액세포들의 변화, 혈청지질농도, 간기능, 신장기능, 착상수, 황체수, 착상률, 출산율, 태자의 수와 암수차이, 성비 그리고 태자의 골격 기형 등을 관찰한 결과, 안존이천탕은 임신 중의 체중증가에 영향을 미치지 않았으며, 모체의 간, 비장, 신장, 난소 장기의 외형에 영향을 미치지 않았을 뿐 아니라, 장기중량에도 유의성 있는 변화를 일으키지 않았다. 또한 착상수, 황체수, 착상률, 출산율, 태자의 수와 암수차이, 태자의 성비에 영향을 미치지 않았으며, 모체의 혈액세포들과 혈청

지질 농도에 영향을 미치지 않은 것으로 확인되었다. 마지막으로, 모체의 간기능 및 신장기능에 아무런 영향을 미치지 않았으며, 태자의 외형 및 골격기형 그리고 척추뼈 형성시기에 영향을 미치지 않았다.

이러한 결과들로 보아 안존이천탕은 임신의 유지와, 출산 그리고 태자의 발생에 유해한 영향을 미치지 않는 것으로 밝혀졌으며, 임상에서 산모의 태기불안을 안정시키고 임신을 유지시키기 위한 목적으로 예방의학적 차원에서 폭넓게 사용할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2010학년도 동의대학교 교내연구비에 의해 연구되었음(2012AA128).

참고문헌

1. 식품의약품안전청. 의약품 등의 독성시험 기준 해설서. 1999:1-254.
2. Eisenberg DM, Davis RB, Ettner SL, Appel S, Wilkey S, Van Rompay M, Kessler RC. Trends in alternative medicine use in the United States, 1990-1997: results of a follow-up national survey. *JAMA*. 1998 Nov 11; 280(18):1569-1575.
3. Westfall RE. Herbal healing in pregnancy: women's experiences. *J Herb Pharmacother*. 2003;3(4):17-39
4. Fakeye TO, Adisa R, Musa IE. Attitude and use of herbal medicines among pregnant women in Nigeria. *BMC Complement Altern Med*. 2009 Dec 31;9:53.
5. 이현희, 김윤상, 임은미. 妊娠중 한약복용 환자에 관한 논문 23례 분석. *대한한방부인과 학회지*. 2007;20(3):185-199.

6. 한의부인과학고재편찬위원회. 한의부인과학 하. 서울: 도서출판 정담. 2001: 97-100.126.151.
7. 조현주, 임은미. 습관성 유산 치료 14례 임상보고. 2005;18(2):159-168.
8. 김성란. 安尊二天湯을 中心으로 한 胎漏 및 胎動不安의 文獻的 考察. 대전대학교 한의학연구소 논문집. 1998;13:609-624.
9. 박귀례, 신재호, 김관기, 이유미, 장성재. 방사선 조사 인삼이 랫드의 기형유발에 미치는 영향에 관한 연구. 한국독성학회지. 2001; 17(1):27-32.
10. 한용주, 신헌태, 이선동. 보중익기탕과 귀비탕 투여가 임신랫드의 모체 및 태자에 미치는 영향. 대한예방한의학회지. 2010;14(2):91-104.
11. 한상백. 십전대보탕과 육미지황탕이 실험동물의 모체와 태자에 미치는 생식독성학적 연구. 상지대학교대학원. 2008.
12. 전성진. 사물탕 용량별 투여가 랫드의 모체와 태자에 미치는 영향. 상지대학교대학원, 2009.
13. Chen FP, Kung YY, Chen YC, Jong MS, Chen TJ, Chen FJ, Hwang SJ. Frequency and pattern of Chinese herbal medicine prescriptions for chronic hepatitis in Taiwan. *J Ethnopharmacol.* 2008;117(1):84-91.
14. McRae CA, Agarwal K, Mutimer D, Bassendine MF. Hepatitis associated with Chinese herbs. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2002; 14(5):559-562.
15. Stedman C. Herbal hepatotoxicity. *Semin Liver Dis.* 2002;22(2):195-206.
16. 박병욱, 허금정, 고흥, 이은. 한약과 민간약물의 독성 및 부작용에 대한 고찰. 대한한방내과학회지. 2002;23(2):222-227.
17. 윤영주. 한약이 간손상을 유발할 가능성이 있는가 : 한약 관련 간손상에 관한 국내 연구의 체계적 고찰. 경희대학교 박사학위논문. 2009.
18. Ozer J, Ratner M, Shaw M, Bailey W, Schomaker S. The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology.* 2008 Mar 20;245(3):194-205.
19. Niemela O, Alatalo P. Biomarkers of alcohol consumption and related liver disease. *Scand J Clin Lab Invest.* 2010 Sep;70(5):305-12.
20. Herlong HF. Approach to the patient with abnormal liver enzymes. *Hosp Pract (Off Ed).* 1994 Nov 15;29(11):32-8.
21. Banfi G, Colombini A, Lombardi G, Lubkowska A. Metabolic markers in sports medicine. *Adv Clin Chem.* 2012;56:1-54
22. Mapanga RF, Musabayane CT. The renal effects of blood glucose-lowering plant-derived extracts in diabetes mellitus-an overview. *Ren Fail.* 2010 Jan;32(1):132-8
23. Lyman JL. Blood urea nitrogen and creatinine. *Emerg Med Clin North Am.* 1986 May;4(2):223-33.
24. Edelstein CL. Biomarkers of acute kidney injury. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2008 Jul; 15(3):222-34.
25. Poole JH, Thorsen MS. Acute renal failure in pregnancy. *MCN Am J Matern Child Nurs.* 1999 Mar-Apr;24(2):66-72.
26. Alexopoulos E, Tampakoudis P, Bili H, Mantalenakis S. Acute uric acid nephropathy in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 1992 Sep;80(3 Pt 2):488-9.
27. McCredie J, Loewenthal J. Pathogenesis of congenital malformations. An hypothesis. *Am J Surg.* 1978;135(3):293-297.
28. O'Halloran K, Spickett JT. The interaction of lead exposure and pregnancy. *Asia Pac J Public Health.* 1992;6(2):35-39.