

소복측어탕의 마우스 경구 단회투여 독성 평가

대구한의대학교 한의과대학 부인과교실
김동철

ABSTRACT

Single Oral Dose Toxicity Test of *Sobokchuko-tang*, a Polyherbal Formula in ICR Mice

Dong-Chul Kim

Dept. of Oriental Obstetrics & Gynecology, College of Oriental Medicine,
Daegu Haany University

Objectives: This study was to evaluate the single dose toxicity of *Sobokchuko-tang* (SBC) in male and female mice.

Methods: Aqueous extract of SBC (yield = 6.60%) was administered to female and male mice as an oral dose of 2,000, 1,000 and 500 mg/kg (body weight) according to the recommendation of Korea Food and Drug Administration (KFDA) Guidelines. Animals were monitored for the mortality and changes in body weight, clinical signs and gross observation during 14 days after dosing, upon necropsy; organ weight and histopathology of 14 principle organs were also examined.

Results: we could not find any SBC treatment related mortality and clinical signs, changes in the body and organ weights, gross findings and changes in histopathology of principle organs, except for pharmacological immunomodulatory effects related findings including significant increases of submandibular lymph node weights, hypertrophy and hyperplasia of lymphoid cells in the submandibular lymph nodes restrictly detected in 2,000 mg/kg treated female and male mice with some sporadic accidental findings.

Conclusions: The results obtained in this study suggest that the 50% lethal dose and approximate lethal dose of SBC aqueous extracts in both female and male mice were considered as over 2,000 mg/kg, the limited highest dosage recommended by KFDA Guidelines, and can be safety used in clinics.

Key Words: *Sobokchuko-tang*, Single Oral Dose Toxicity, Mice, Histopathology

I. 서 론

최근 중국산 한약재의 수입과 대량 생산에 따른 농약 등의 오염에 의한 독성 문제가 심각한 사회문제로 대두됨에 따라 오랫동안 사용되어 온 한약 역시 독성으로부터 완전히 벗어나지 못하게 되었다. 따라서 최근 한약 자체에 대한 독성에 대한 문제가 폭넓게 제기되어 왔으나^{1,2)}, 한약이 장기복용 약물이며 또한 생약 복합물이기 때문에 실험의 진행이 매우 어렵고 동물의 생체 내에서 약물의 동태를 파악하기 어려워 잔류 가능성이 있는 잠재적인 독성 평가는 거의 이루어지지 않고 있다. 하지만 오랫동안의 시행착오와 경험을 바탕으로 확립된 처방전은 처방 자체로 하나의 의약품과 같은 역할을 하게 되었다. 이에 따라 양방의학에서 말하는 의약품의 독성평가에 준하여 한의학의 처방을 적용하여 안전성 평가가 이루어져야 할 것으로 생각된다³⁾.

少腹逐瘀湯은 清代 醫家인 王清任의 著書 《醫林改錯》⁴⁾에 최초로 기록되어 소복에 허한성 어혈로 인한 동통, 종양, 출혈, 월경통 등을 치료하고⁵⁾, 임상에서는 만성골반염, 불임, 자궁내막증식증, 자궁근종, 자궁암 등의 질환에 응용되고 있다⁶⁻⁸⁾. 현재까지 소복축어탕의 자궁내막증⁹⁾ 및 월경불순¹⁰⁾에 대한 예방 및 치료 가능성이 실험동물 및 적출 자궁의 평활근 이완 효과를 통해 비교적 잘 밝혀져 있으며, 흥부 대동맥 평활근 확장효과, Fibronectin 합성 억제에 의한 사구체 신염에 대한 치료 효과¹¹⁾ 및 항암 효과¹²⁾ 역시 잘 알려져 있으나, 독성학적 측면에 대한 보고는 가장 기본적으로 되는 설치류

단회 투여 독성에 대한 보고조차 찾아볼 수 없다. 따라서 본 연구에서는 부인과 질환 치료에 널리 사용되어 온 소복축어탕의 일반적인 독성 시험 중 현재 한국 식품의약품안전청의 독성 시험 기준에 명시되어 있는 마우스 경구 단회투여 독성 시험을 실시하여, 장기투여 독성 시험과 생식, 발생 독성 시험을 위시한 특수 독성 시험에 대한 기초 자료를 제공하고, 객관적인 안전성을 확보하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물 및 사양관리

본 동물실험은 대구한의대학교 동물실험윤리위원회(IACUC)의 승인(DHU2012-018)을 받아 수행하였다. 암수 각 20마리의 ICR 마우스(6-wk old upon receipt, SLC, Japan)를 11일간의 순화과정을 거쳐 실험에 사용하였으며, 순화과정 및 실험 전 기간 동안 온도(20~25℃)와 습도(30~35%)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. 소복축어탕 추출물

본 실험에 사용된 약재는 약업사(대원 약업사, 대구, 한국)에서 매입한 것을 현미경하에서 관능검사를 통하여 선정하여

사용하였으며, 본 실험에 사용된 소복죽어탕의 1첩 분량의 조성은 아래와 같다 (Table 1). 선정된 약제 1첩 분량(총량 76 g)을 취하여 정제수 1,000 ml 로 60℃에서 3시간 동안 3번 가열 추출한 후, 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator (Rotavapor R144; Buchi Labortechnik AG, Switzerland)로 감압·농축하여, 점조성의 추출물을 얻은 다음 programmable

freeze dryer(Freezone 1; Labconco Corp., MO, USA)를 사용하여 동결 건조시켜, 총 5.02 g(수율 6.60%)의 연갈색의 물 추출물을 얻어 실험에 사용하였다. 준비한 소복죽어탕 물 추출물은 -20℃로 냉동 보관 후 실험에 사용하였으며, 본 실험에서 사용한 용매는 증류수에 100 mg/ml 의 농도까지 비교적 잘 용해되었다.

Table 1. Composition of *Sobokchuko-tang* Used in This Study

Herbs	Scientific names	Amounts (g)	Producing district	
當 歸	Angelicae Gigantis Radix	<i>Angelica gigas</i> N.	12	Youngyang, Gyeongbuk
蒲 黃	Typhae Pollen	<i>Typha orientalis</i> Presl	12	Youngyang, Gyeongbuk
五靈脂	Trogopterorum Faeces	<i>Trogopterus xanthipes</i> (Milne Edwards)	8	China
赤芍藥	Paeoniae Radix	<i>Paeonia lactiflora</i> Pall.	8	China
川 芎	Cnidii Rhizoma	<i>Cnidium officinale</i> Makino	8	Youngyang, Gyeongbuk
沒 藥	Myrrha	<i>Commiphora myrrha</i> ENGL	8	China
小回香	Foeniculi Fructus	<i>Foeniculum vulgare</i> Miller	8	China
玄胡索	Corydalis Tuber	<i>Corydalis ternata</i> Nakai	4	China
乾 薑	Zingiberis Rhizoma	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	4	Dangjin, Cheonnam
肉 桂	Cinnamomi Cortex	<i>Cinnamomum cassia</i> Presl	4	Vietnam
Total		10 Types	76	

3. 소복죽어탕 추출물의 투여

실험동물은 군당 5마리씩, 암수 매체 대조군, 암수 2,000, 1,000 및 500 mg/kg 투여군의 8군으로 구분하여, 실험을 실시하였다. 현재까지 소복죽어탕의 독성에 대한 보고를 찾아볼 수 없어, 한국식품의약품안전청 고시 제 2009-116호¹³⁾에 의거하여, 설치류 최고 한계투여용량인 2,000 mg/kg을 최고 용량으로 설정하였으며, 공비 2로 1,000 및 500 mg/kg을 중

간 및 저용량 투여군으로 설정하였다. 또한 암수 각각에 대한 매체 대조군을 추가하였다. 모든 투여군에서는 소복죽어탕 추출물을 멸균 증류수에 용해시켜 20 ml/kg의 용량으로 존데(zonde)가 부착된 1 ml 주사기를 이용하여, 강제 경구투여하였다. 식이와 음수에 따른 약물의 흡수 변화를 최소화하기 위해, 투여 후 대략 3시간 동안 사료와 음수 공급을 제한하였다.

4. 임상증상 및 체중의 관찰

모든 실험동물의 임상증상을 투여 전 후에 각각 functional observational battery test¹⁴⁾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. 또한 모든 실험동물의 체중을 투여전 1일, 투여직전, 투여 후 1, 2, 7, 13 및 14일(최종 희생일)에 각각 측정하였다.

5. 부 검

투여 14일 후 모든 실험동물은 이산화탄소 마취 하에 부검을 실시하고, 주요 장기를 위주로 이상 육안소견을 각각 관찰, 기록하였다.

6. 장기중량 측정

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

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

7. 조직병리

상기의 조직을 10% 중성포르말린에 18시간 이상 고정시킨 다음, 탈수를 거쳐 파라핀 포매 후 4 μ m의 절편을 제작

하였다. 이후 Hematoxylin & eosin(H & E) 염색을 실시하고, 광학현미경 하에서 이상 유무를 관찰, 기록하였다.

8. 통계처리

모든 수치는 평균 \pm 표준편차로 표시하였으며, 다중비교검증을 이용하여 통계처리를 실시하였고, 분산동질성을 Levene test를 실시하여 검증하였다¹⁵⁾. 등분산일 경우, one way ANOVA test를 실시한 다음 Scheffe test 로 사후 검증을 실시하여 군간의 유의성을 측정하였다. 비등분산일 경우에는 비모수 검증인 Kruskal-Wallis H test 를 실시하여 유의성이 인정된 경우에는, Mann-Whitney U(MW) test 를 실시하여 군간의 유의성을 검증하였다¹⁶⁾. 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 구분하였다¹⁷⁻²⁰⁾. 통계처리 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. 사망례

소복축어탕 추출물 투여와 관련 있는 사망례는 실험 전 기간동안 관찰되지 않아, 모든 실험동물(5/5; 100%)을 최종부검을 실시하였다(Table 2).

Table 2. Mortality, Clinical Signs, Gross and Histopathological Findings of Animals Exposed with SBT in the Single Dose Toxicity Study

Groups	Male	SBT treated male			Female	SBT treated female		
	vehicle	rats (mg/kg)			vehicle	rats (mg/kg)		
	control	2,000	1,000	500	control	2,000	1,000	500
Mortality	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Gross findings								
Lung focal congestion	1/5	1/5	0/5	1/5	1/5	1/5	0/5	1/5
Thymus atrophy	1/5	1/5	1/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Spleen atrophy	1/5	0/5	1/5	1/5	2/5	1/5	0/5	0/5
Lymph node hypertrophy*	1/5	3/5	1/5	2/5	1/5	3/5	1/5	1/5
Uterus edema					2/5	2/5	1/5	2/5
Histopathological findings								
Lung focal congestion	1/5	1/5	0/5	1/5	1/5	1/5	0/5	1/5
Kidney fTV [†]	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Spleen wDE [‡]	1/5	0/5	0/5	1/5	1/5	1/5	0/5	0/5
Spleen rHP [§]	1/5	1/5	0/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5
Liver IF-FN	0/5	0/5	0/5	1/5	1/5	0/5	0/5	1/5
Lymph node HP ^{*¶}	1/5	3/5	2/5	2/5	1/5	3/5	1/5	1/5

Values were observed animals/total observed animals.

SBC = *Sobokchuko-tang* aqueous extracts (yield = 6.60%)

*Submandibular lymph node

†Focal tubular vacuolation

‡White pulp lymphoid cell decreases

§Red pulp lymphoid cell hyperplasia

||Focal inflammatory cell infiltration and focal necrosis

¶Diffused hyperplasia of lymphoid cells

2. 임상증상

소복죽어탕 추출물 투여와 관련된 임상증상은 14일간의 실험 전 기간 동안 인정되지 않았다.

3. 체중의 변화

각각의 동일 성별의 매체 대조군에 비해, 소복죽어탕 추출물 투여와 관련된 체중의 변화는 인정되지 않았다(Fig. 1).

4. 장기 중량의 변화

본 실험 결과, 소복죽어탕 2,000 mg/kg 암수 투여군에 국한되어, 각각의 동일한 성별의 매체 대조군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.05$) 약하임과절 중량의 증가가 인정된 이외에, 소복죽어탕 추출물 투여와 관련된 의미있는 장기중량의 변화는 인정되지 않았다(Table 3).

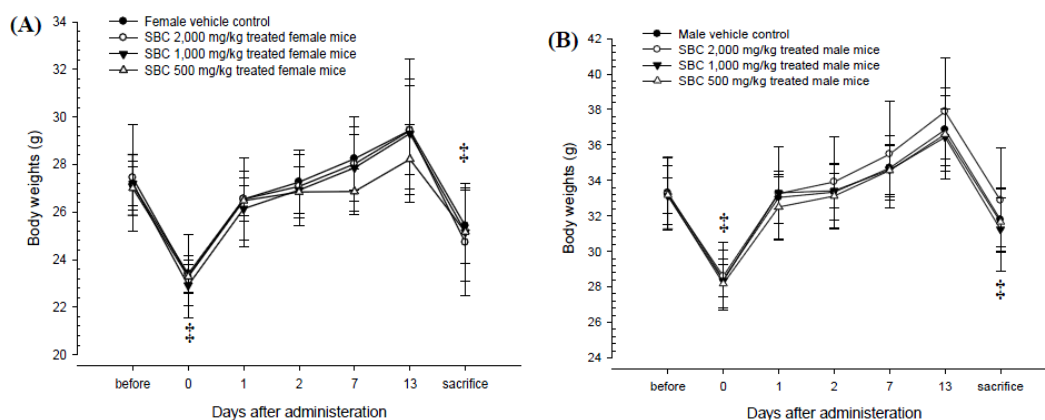


Fig. 1. Changes on the Body Weights during 14 Days of Observation in Female (A) and Male (B) Mice.

No meaningful changes on the body weights were detected in all SBC extracts treated male and female groups as compared with equal genders of vehicle control, throughout whole 14 days experimental periods, respectively.

Values are expressed as mean±SD of five mice.

SBC = *Sobokchuko-tang* aqueous extracts (yield = 6.60%)

‡ : all rats were overnight fasted; before means 1 day before administration. 0 means the day of administration

Table 3. Relative Organ Weights of Animals Exposed with SBT in the Single Dose Toxicity Study

Groups	Male	SBT treated male rats (mg/kg)			Female	SBT treated female rats (mg/kg)		
	vehicle control	2,000	1,000	500	vehicle control	2,000	1,000	500
Organ weights (% of body weight)								
Lung	0.56±0.03	0.55±0.06	0.61±0.05	0.57±0.03	0.67±0.05	0.68±0.06	0.67±0.05	0.65±0.06
Heart	0.50±0.04	0.51±0.03	0.52±0.01	0.51±0.02	0.52±0.04	0.53±0.05	0.50±0.04	0.50±0.06
Thymus	0.17±0.01	0.18±0.04	0.16±0.02	0.16±0.03	0.22±0.02	0.25±0.02	0.21±0.05	0.23±0.05
Kidney (left)	0.91±0.18	0.80±0.15	0.82±0.07	0.81±0.08	0.61±0.06	0.62±0.05	0.64±0.05	0.66±0.03
Adrenal gland (left)	0.01±0.01	0.02±0.01	0.01±0.01	0.01±0.01	0.02±0.01	0.01±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01
Spleen	0.33±0.05	0.32±0.07	0.32±0.03	0.33±0.03	0.38±0.07	0.44±0.06	0.40±0.04	0.38±0.06
Testis/Ovary (left)	0.32±0.03	0.35±0.04	0.35±0.04	0.37±0.06	0.08±0.01	0.09±0.04	0.07±0.02	0.07±0.01
Liver	4.18±0.23	4.37±0.30	4.50±0.32	4.38±0.07	4.39±0.32	4.49±0.32	4.52±0.23	4.31±0.33
Pancreas	0.55±0.07	0.50±0.06	0.51±0.03	0.50±0.04	0.57±0.04	0.57±0.04	0.57±0.06	0.55±0.07
Brain	1.51±0.08	1.47±0.12	1.55±0.12	1.43±0.14	1.96±0.08	1.94±0.15	1.93±0.13	1.91±0.14
Epididymis (left) /Uterus	0.12±0.01	0.12±0.01	0.14±0.02	0.13±0.01	0.65±0.29	0.65±0.25	0.58±0.30	0.54±0.07
Lymph node (left)†	0.01±0.01	0.03±0.01*	0.02±0.01	0.01±0.01	0.01±0.01	0.04±0.02*	0.02±0.02	0.01±0.01

Values are expressed as mean±S.D. of five mice.

SBC = *Sobokchuko-tang* aqueous extracts (yield = 6.60%)

*p<0.05 as compared with equal genders of vehicle control by LSD test

†Submandibular lymph node

5. 부검소견

암수 2,000 mg/kg 투여군에서 각각의 동일 성별 매체 대조군에 비해 경미한 (1+) 악하임파절 종대 소견의 출현빈도 증가가 인정되었으며, 폐 충출혈, 가슴샘 및 비장 위축 및 자궁부종 소견이 암수 매체 대조군을 포함한 모든 실험군에 걸쳐 산발적으로 관찰된 이외에 의미 있는 육안 부검소견은 인정되지 않았다(Table 2).

6. 조직병리학적 관찰

경미하거나 중등도(2+)의 악하임파절 미만성 임파구 증생(Fig. 2) 소견이 암수

소복죽어탕 추출물 2,000 mg/kg 투여군에서 각각 3례(3/5; 60%) 인정되어, 각각 1례(1/5; 20%)의 악하임파절 미만성 임파구 증생 소견이 인정된 암수 매체 대조군에 비해, 현저한 출현 빈도의 증가를 나타내었으며, 경미한 국소 폐 충출혈(Fig. 3), 신장 국소 세뇨관 상피 공포화(Fig. 4) 비장 백색 수질 임파구 감소 또는 적색 수질 임파구 증생(Fig. 5), 간의 국소 괴사-염증세포 침윤(Fig. 6) 소견이 암수 매체 대조군을 포함한 모든 실험군에 걸쳐 산발적으로 관찰된 이외에 의미 있는 조직병리학적 변화는 인정되지 않았다(Table 2).

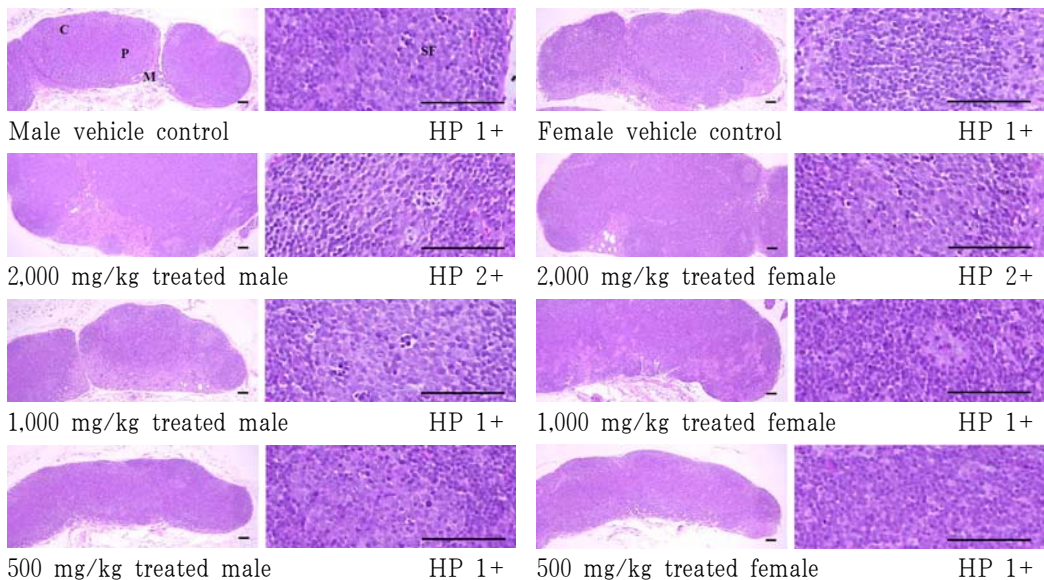


Fig. 2. Representative Histopathological Changes Detected on the Submandibular Lymph Node.

Note that marked increase trends of the frequency of slight (1+) to moderate (2+) hyperplasia of lymphoid cells (HP) at histopathological on the submandibular lymph node were detected in 2,000 mg/kg treated female and male mice as compared with equal genders of slight and lower frequencies of diffused lymphoid cell hyperplasia were demonstrated. These findings are considered as effects of SBC related changes rather than toxicological signs.

SBC = *Sobokchuko-tang* aqueous extracts (yield = 6.60%)

C : cortex, P : paracortex, M : medullary sinus, SF : secondary lymphatic follicle

All Hematoxylin & Eosin stain, Scale bars = 80 μ m.

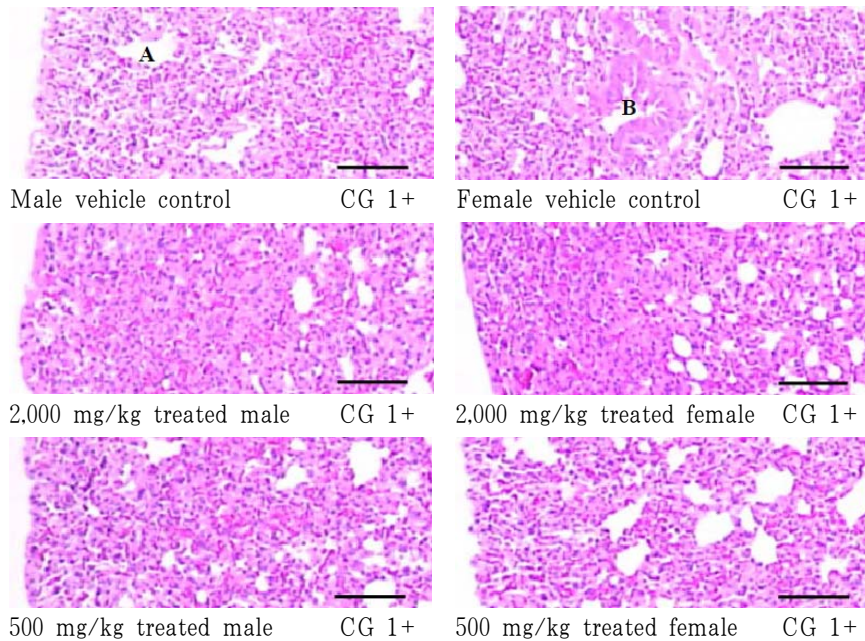


Fig. 3. Representative Histopathological Changes Detected on the Lung.

Note that slight (1+) lung focal congestional spots, thickening of alveolar lung inflammatory cell infiltration with/without focal hemorrhages were randomly detected throughout most of all experimental groups including both genders of vehicle controls as sporadic findings not SBC treatment related toxicological signs.

SBC = *Sobokchuko-tang* aqueous extracts (yield = 6.60%)

A = alveolar sac-respiratory bronchiole, B = bronchus

All Hematoxylin & Eosin stain, Scale bars = 80 μ m.

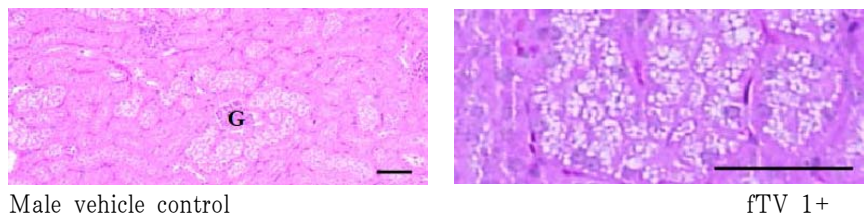


Fig. 4. Representative Histopathological Changes Detected on the Kidney.

Note that slight (1+) focal tubular vacuolation (fTV) was restrictly detected in one (1/5: 20%) male vehicle control as sporadic accidental findings.

SBC = *Sobokchuko-tang* aqueous extracts (yield = 6.60%)

G = glomerulus

All Hematoxylin & Eosin stain, Scale bars = 80 μ m.

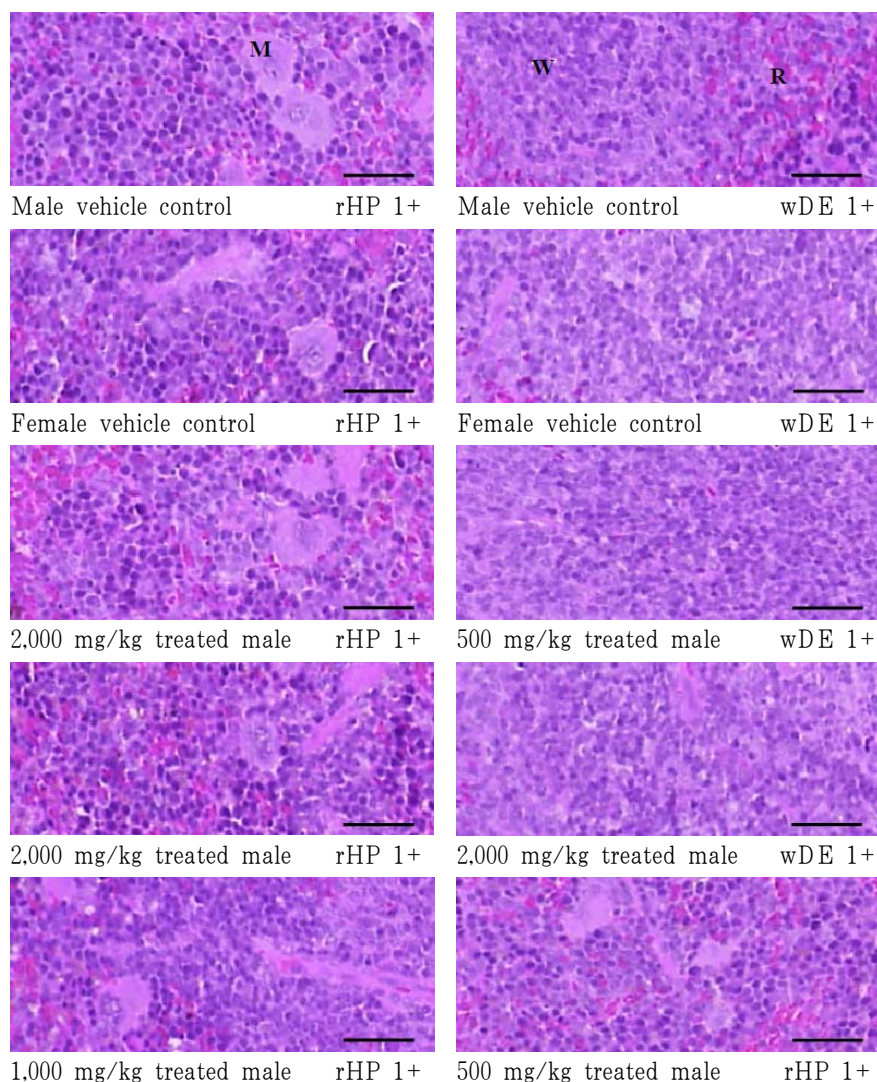


Fig. 5. Representative Histopathological Changes Detected on the Spleen.

Note that slight (1+) hyperplasia of lymphoid cells and megakaryocyte in the red pulp (rHP) or decreases of white pulp lymphoid cells (wDE) were sporadically observed throughout most of all experimental groups including both female and male vehicle control mice as accidental findings not PS treatment related toxicological signs, respectively.

Male vehicle control rHP 1+ Male vehicle control wDE 1+

Female vehicle control rHP 1+ Female vehicle control wDE 1+

2,000 mg/kg treated male rHP 1+ 500 mg/kg treated male wDE 1+

2,000 mg/kg treated female rHP 1+ 2,000 mg/kg treated female wDE 1+

1,000 mg/kg treated female rHP 1+ 500 mg/kg treated female rHP 1+

SBC = *Sobokchuko-tang* aqueous extracts (yield = 6.60%)

M = megakaryocyte, W = white pulp, R = red pulp

All Hematoxylin & Eosin stain, Scale bars = 80 μ m.

IV. 고찰

少腹逐瘀湯은 清代 醫家인 王清任의 著書 《醫林改錯》⁴⁾에 최초로 기록되어 “治少腹積塊疼痛，或有積塊不疼痛，或疼痛而無積塊，或小腹脹滿，或經血見時，先腰痠或腹脹，或經血一月見三五次，接連不斷，斷而又來，其色或暗，或黑，或塊，或崩漏，兼小腹疼痛，或粉紅兼白帶”를 치료할 목적으로 창방되었다. 少腹逐瘀湯은 逐瘀湯, 즉 血府逐瘀湯, 膈下逐瘀湯, 通經逐瘀湯, 會厭逐瘀湯, 身痛逐瘀湯의 일종²¹⁾으로, 少腹에 寒滯瘀積하거나 衝任虛寒으로 瘀血이 內阻하여 血이 歸經하지 못해서 발생하는 병증에 사용되어 왔다. 소복축어탕을 이용한 연구로는 항혈전, 소염, 진통효과²²⁾, 항암효과¹²⁾, 흉부대동맥의 혈관 이완 효과²³⁾, 메산지움 세포증식과 Fibronectin 합성 효과¹¹⁾가 있음을 보고하였다. 또한 실험적 연구로 자궁근중세포주의 성장억제 효과에 대한 보고가 있었다²⁴⁻²⁷⁾.

본 연구에서는 소복축어탕의 일반적인 독성시험 중 현재 한국식품의약품안전청 고시 의약품 등의 독성시험기준¹³⁾에 명시되어 있는 마우스 경구 단회투여독성시험을 실시하여, 장기투여 독성 시험과 생식, 발생독성 시험을 위시한 특수 독성시험에 대한 기초자료를 제공하고, 안전성을 확보하고자 하였다.

소복축어탕 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 중량, 육안 부검 및 조직병리학적 관찰을 실시한 결과, 단회투여 독성 시험에서 설치류 최대 한계투여 용

량인 2,000 mg/kg까지 소복축어탕 추출물 투여와 관련된 사망례가 인정되지 않았으며, 약리작용의 일환으로 판단되는 면역 활성 소견, 즉, 악하임파절 중량의 증가, 종대 및 임파구 증생소견의 증가가 소복축어탕 추출물 2,000 mg/kg 암수 투여군에 국한되어 관찰된 이외에 소복축어탕 추출물 투여와 관련된, 체중, 임상증상 장기중량, 육안 및 조직병리학적 변화 역시 인정되지 않았다.

한국식품의약품안전청 고시 제 2009-116호¹³⁾에 따르면, 설치류에서 투여한계 농도를 2,000 mg/kg 또는 최대 용해농도로 규정하고 있으며, 투여 용량은 용액의 경우 20 ml/kg, 현탁액인 경우 10 ml/kg을 넘지 못하게 규정하고 있다. 본 실험에서 사용한 소복축어탕 추출물은 멸균 증류수에 100 mg/ml까지 비교적 잘 용해되어, 멸균 증류수에 100 mg/ml의 농도까지 용해시켜 20 ml/kg의 용량 즉, 2,000 mg/kg을 최고 농도로 투여하였다. 본 실험에서 모든 실험동물의 체중은 동일한 주령의 마우스들의 정상 범주^{28,29)}에 포함되어 관찰되었으며, 소복축어탕 추출물 투여와 관련된 임상 증상은 인정되지 않았으며, 악하임파절을 제외한 주요 장기의 중량 역시 동일한 주령 및 성별의 마우스 정상 범주^{28,29)}에 포함되어 관찰되었다. 한편 암수 2,000 mg/kg 투여군에 국한되어 인정된, 악하임파절 중량의 유의성 있는($p < 0.05$) 증가는 육안 부검 및 조직병리학적 검사 결과, 임파구의 미만성 증생에 의한 종대 소견에 의한 것으로 관찰되었다. 일반적으로 면역조절 물질, 특히 면역활성 물질 투여 시, 임파절내에서 미만성 임파구 증생에 의한 종대 및 장기 중량의 증가가 일어

나는 것으로 알려져 있어^{17,18)}, 본 실험의 결과에서 인정된 악하임파절의 중량 증가 및 임파구의 미만성 증생에 의한 종대 소견은 소복축어탕 추출물 투여에 따른 독성 증상이라기 보다는 면역활성 등의 약리효과에 의한 변화로 판단된다. 현재까지 소복축어탕 추출물 자체의 면역활성 효과는 찾아 볼 수 없으나, 소복축어탕 추출물의 구성 약재 중, 當歸³⁰⁾, 蒲黃³¹⁾, 白芍藥³²⁾, 乾薑³³⁾ 및 桂枝³⁴⁾의 면역조절 효과가 이미 잘 알려져 있다.

육안 부검소견 상 인정된 폐 충출혈, 가슴샘 및 비장 위축 및 자궁부종 소견과 조직병리학적 검사에서 관찰된 국소 폐 충출혈, 신장 국소 세뇨관 상피 공포화, 비장 백색 수질 임파구 감소 또는 적색 수질 임파구 증생, 간의 국소 피사-염 증세포 침윤 소견들은 암수 매체 대조군을 포함한 모든 실험군에 걸쳐 산발적으로 관찰되었으며, 용량 의존성이 전혀 인정되지 않아, 소복축어탕 추출물 투여와 관련 없는 우발적 병소로 판단된다. 한편 이들 병소들은 정상 마우스에서 드물게 인정되는 소견으로 알려져 있고^{13,14,19,20)}, 자궁은 estrus cycle 에 따라 쉽게 변화할 수 있어^{35,36)}, 자궁 부종 소견은 estrus cycle 에 따른 이차적 변화로 판단된다.

US Environmental Protection Agency OPPTS 870.100³⁷⁾에 따르면 일반적으로 반수 치사량이 5,000~15,000 mg/kg 인 물질을 무독성 물질로, 500~5,000 mg/kg 을 비교적 저독성(Class III) 물질로 규정하고 있으나, 한국식품의약품 안전청 고시 제 2009-116호¹³⁾, 설치류에서 투여 한계 농도를 2,000 mg/kg으로 제한하고 있다. 따라서 본 실험의 마우스 단회 경구투여 독성실험에서 소복축어탕 추출물

의 반수치사량 및 개략적 치사량은 각각 2,000 mg/kg 이상으로 관찰되어, 비교적 안전한 약물로 판단된다.

V. 결 론

본 연구에서는 한국식품의약품안전청 고시¹³⁾에 따라 한의학에서 부인과 질환에 전통적으로 사용되어온 대표적인 처방인 소복축어탕의 마우스 경구 단회 투여독성 시험을 실시한 결과, 설치류 최대 한계투여 용량인 2,000 mg/kg까지 소복축어탕 추출물 투여와 관련된 사망례가 인정되지 않았으며, 약리작용의 일환으로 판단되는 면역 활성 소견, 즉 악하임파절 중량의 증가, 종대 및 임파구 증생소견의 증가가 소복축어탕 추출물 2,000 mg/kg 암수 투여군에 국한되어 관찰된 이외에 소복축어탕 추출물 투여와 관련된, 체중, 임상증상 장기중량, 육안 및 조직병리학적 변화는 인정되지 않았다. 따라서 소복축어탕 추출물의 마우스에 있어서 반수치사량 및 개략적 치사량은 각각 2,000 mg/kg 이상으로 관찰되어, 비교적 안전한 약물로 판단된다.

- 투 고 일 : 2014년 1월 21일
- 심 사 일 : 2014년 2월 4일
- 게재확정일 : 2014년 2월 10일

감사의 말씀

이 연구는 2012년도 대구한의대학교 기린연구비 지원으로 수행된 것임.

참고문헌

1. 장인수 등. 최근 독성 문제가 제기된 한약재에 대한 고찰. 대한한의학회지. 2007;28(1):1-10.
2. 이은 등. 한약과 민간약물의 독성 및 부작용에 대한 고찰. 대한한방내과학회지. 2002;23(2):222-7.
3. Lee JE, et al. Four-week repeated-dose toxicity study on Pinilia Extract. Korean Journal of Laboratory Animal Science. 2003;19:127-41.
4. 王清任. 醫林改錯. 北京:中國中醫藥出版社. 1995:53.
5. 신재용. 방약합편해설, 서울:성보사. 1989:445.
6. 載新民. 中醫方劑學. 臺北:啓業書局有限公司. 1985:165-6.
7. 鄭津牟. 中醫處方解說臨床應用. 서울:癸丑出版社. 1986:158-9.
8. 白剛 등. 中藥方劑研究與應用大全. 北京:新華出版社. 1998:167-8.
9. 윤영희 등. 소복축어탕이 실험적으로 유발된 흰쥐의 자궁내막증에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2006;19(2):141-61.
10. 진천식, 양승정. 소복축어탕이 흰쥐의 적출 자궁에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2005;18(4):72-84.
11. 권영구 등. 계지복령환, 소복축어탕, 도홍사물탕이 메산지움 세포증식과 Fibronectin 합성에 미치는 영향. 한방내과학회지. 2003;24(1):94-103.
12. 신원웅, 최주선, 길재호. 소복축어탕과 가미소복축어탕이 항암활성에 미치는 영향. 대한한의학회지. 2001;22(2):22-30.
13. 한국식품의약품안전청. 의약품 등의 독성시험기준. 한국식품의약품안전청 고시 제 2009-116호. 2009.
14. Irwin S. Comprehensive observational assessment: Ia. A systemic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physiological state of the mouse. Psychopharmacology. 1968;13(3):222-57.
15. Levene A. Pathological factors influencing excision of tumours in the head and neck. Part I. Clin Otolaryngol Allied Sci. 1981;6(2):145-51.
16. Ludbrook, J. Update: microcomputer statistics packages. A personal view. Clin Exp Pharmacol Physiol. 1997;24(3-4):294-6.
17. Lee HS, et al. Single oral dose toxicity studies of polycan, a β -glucan originated from aureobasidium in mice. Toxicol Res. 2005;21:361-5.
18. Lee JH, et al. Single subcutaneous dose toxicity of Polycan®, a β -gucan originated from aureobasidium in mice. Lab Anim Res. 2005;21:299-305.
19. Lee WH, et al. Single oral dose toxicity test of platycodin D, a saponin from platycodin radix in mice. Toxicol Res. 2011;27(4):217-24.
20. Roh SS, Ku SK. Mouse single oral dose toxicity study of DHU001, a polyherbal formula. Toxicol Res. 2010;26(1):53-9.
21. 王清任. 醫林改錯. 서울:宿昌德書店. 1961:44, 61, 62, 77.
22. 박병열, 이상주. 소복축어탕이 항혈전 및 소염, 진통에 미치는 영향. 대한한

- 방부인과학회지. 1996;9(1):81-96.
23. 정용식 등. 소복죽어탕이 흰쥐 흉부 대동맥의 혈관운동성에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2006;27(3):631-40.
 24. 백승희, 이경섭, 송병기. 칠제향부환이 자궁세포주의 성장과 배란 및 착상전 배발생에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2000;13(1):186-218.
 25. 김진희, 백승희. 계지복령환이 자궁근중세포의 성장억제와 MAP Kinase 활성화에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2001;14(2):85-101.
 26. 김민아, 백승희, 최규동. 소복죽어탕이 자궁세포주의 성장억제에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2000;13(2):186-97.
 27. 이인호 등. 계지복령환이 자궁근중세포의 증식 억제에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2002;15(2):12-24.
 28. Plata EJ, Murphy WH. Growth and haematologic properties of the BALB/wm strain of inbred mice. Lab Anim Sci. 1972;22(5):712-20.
 29. Yamaguchi C, et al. Effects of room temperature on reproduction, body weight and organ weights, food and water intakes, and hematology in mice. Exp Anim. 1983;32(1):1-11.
 30. Han SB, et al. Characteristic immunostimulation by angelan isolated from angelica gigas nakai. Immunopharmacology. 1998;40(1):39-48.
 31. 이병찬 등. 蒲黃의 성분분석과 생리활성. 농업과학연구. 2009;36(2):185-97.
 32. 이금홍 등. 보혈 약재(補血藥材)인 당귀, 지황, 백작약, 하수오의 면역 촉진 효과 비교 분석. 동의생리병리학회지. 2006;20(6):1507-15.
 33. Carrasco FR, et al. Immunomodulatory activity of Zingiber officinale Roscoe, Salvia officinalis L. and Syzygium aromaticum L. essential oils: evidence for humor- and cell-mediated responses. J Pharm Pharmacol. 2009;61(7):961-7.
 34. Nagai H, et al. Immunopharmacological studies of the aqueous extract of Cinnamomum cassia(CCAq). II. Effect of CCAq on experimental glomerulonephritis. Jpn J Pharmacol. 1982;32(5):823-31.
 35. Banks WJ. Female reproductive system in Applied veterinary histology(Banks, W.J., Ed.). Baltimore:Williams & Wilkins. 1986:506-26.
 36. Pineda MH. Female reproductive system in Veterinary endocrinology and reproduction (McDonald, LE, Pineda MH, Eds). Philadelphia:Lea & Febiger. 1989:303-54.
 37. US Environmental Protection Agency. Health Effects Test Guidelines OPPTS 870.100, Acute Toxicity Testing Background. USA. 1998.