



원엽모고채 약침의 설치류에 대한 단회 및 반복 독성연구

이용은^{id} · 이정희^{id} · 이윤규^{id} · 이봉효^{id} · 김재수^{id} · 이현종^{id}

대구한의대학교 한의과대학 침구경혈학교실

A Study on Single-dose Toxicity and Repeated-Dose Toxicity of *Drosera Rotundifolia* L. Pharmacopuncture in Rodent Models

Yong Eun Lee, Jung Hee Lee, Yun Kyu Lee, Bong Hyo Lee, Jae Soo Kim, Hyun-Jong Lee

Department of Acupuncture, Moxibustion and Acupoint, College of Korean Medicine, Daegu Haany University

Objectives : This study was carried out in order to toxicity and safety of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in BALB/c mice. **Methods :** In order to investigate toxicity and safety of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture, BALB/c mice were chosen in these studies and injected to ST36. In 50% Lethal Dose (LD 50) study, mice were divided into 8 groups. Doses of pharmacopuncture at 300, 600, 1,200, 2,400, 3,600, 4,800, 6,000, 7,200 mg/kg were given to the each group. we observed mortality and toxic signs for 7 days after injection. In single-dose toxicity, mice were divided into 4 groups. Doses of pharmacopuncture, 300, 600, 1,200 mg/kg, were administered to the experimental group. And a dose of normal saline, 0.2 ml was administered to the control group. We observed mortality and toxic signs for 14 days after injection. In repeated-dose toxicity for 4 weeks, mice were divided in 4 groups. Doses of pharmacopuncture, 150, 300, 600 mg/kg, were administered to the experimental group. And a dose of normal saline, 0.2 ml, was administered to the control group. We observed mortality, toxic signs, body weight, hematological values et al. **Results :** The LD 50 of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture was 4,800 mg/kg. In single-dose toxicity, no deaths, no toxic signs occurred in any of groups. In repeated-dose toxicity for 4 weeks, no deaths, no toxic signs occurred in any of groups. **Conclusions :** No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture injection for 4 weeks was more than 600 mg/kg.

Key words : *Drosera Rotundifolia* L., pharmacopuncture, LD 50, toxicity

서 론

약침요법은 기존의 침법과 한약의 원리가 결합되어 경혈에 주입하여 한약과 침의 작용을 함께 활용하여 치료하는 방법으로 임상효과가 뛰어나 침과 함께 많이 사용되는 치료법이다¹⁾. 약침요법은 기초 연구에서 이루어지는 결과를 바탕으로 임상 응용이 가능한 치료법으로 전환할 수 있다는 점에서 한의학의 질적 보완과 양적 확대

를 기대할 수 있는 치료법으로 다양한 방면에서 연구되고 있다²⁾. 약침요법은 한약의 경구투여에 비해 흡수가 신속하나, 부작용 또는 독성이 나타날 수 있는 자극요법이기때 자극량의 조절 및 독성 연구가 필요하다. 독성 연구의 주요 목적은 신약의 안전성을 평가하여 임상적 용약의 안전성을 확보하기 위해 시행하는 것으로 주로 단회 투여 독성시험, 반복 투여 독성시험으로 나눈다³⁾. 현재까지 약침과 관련된 독성 관련 연구를 살펴보면 Sweet Bee Venom

Received May 17, 2019, Revised June 16, 2019, Accepted June 17, 2019

Corresponding author: **Hyun-Jong Lee**

Department of Acupuncture & Moxibustion Medicine, Daegu Hanny Oriental Medical Hospital, 136 Sincheondong-ro, Suseong-gu, Daegu 42158, Korea
Tel: +82-53-770-2108, Fax: +82-53-770-2189, E-mail: whiteyou@hanmail.net

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

(SBV) 약침⁴⁾과 생맥산 약침⁵⁾, 신바로 약침⁶⁾, 초오약침^{7,8)}에 대한 단회 투여 독성시험과 반복 투여 독성시험이 보고되었으며, 그 외 산삼 약침⁹⁾, CA 약침¹⁰⁾, Mecasin 약침¹¹⁾, 오공 약침¹²⁾, 홍화 약침¹³⁾은 단회 투여 독성시험까지 보고되었다.

원엽모고채(*Drosera Rotundifolia L.*)는 모고채과 식물인 원엽모고채의 초근로 주성분은 hyperoside, quercetin, isoquercetin이다¹⁴⁾. 민간에서는 가래, 천식, 폐결핵, 동맥경화증 등에 사용하였으며 중국에서는 腸炎, 痢疾, 咽喉疼痛, 肺熱咳嗽, 咯血, 衄血, 小兒疳積 등에 사용해 왔다는 기록이 있다¹⁵⁾. 또한 최근 Fukushima 등¹⁶⁾, Melzig 등¹⁷⁾은 원엽모고채 추출물의 항염증 효과에 대해서 보고하였으며, 오 등¹⁸⁾은 원엽모고채 약침의 진통효과에 대해 연구하였으나, 간 독성 시험 외의 구체적인 독성시험은 이루어지지 않았다.

이에 저자는 원엽모고채 약침의 독성시험을 통해 안전성을 연구하고자 50% Lethal Dose (LD 50)을 시행 후, 단회 투여 독성시험과 4주 반복 투여 독성시험을 실시하여 사망률, 독성 증상, 체중 변화, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 주요 장기의 중량 변화, 간과 신장의 조직병리학적 변화를 관찰하였으며 유의한 결과를 얻어 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험동물

본 연구에서는 (주)샘타코(경기도, 대한민국)에서 구입한 체중 30 g 전후의 BALB/c mouse 암·수컷 생쥐를 사용하였다. 생쥐는 온도 23~24℃, 습도 40~60%, 조명은 12시간 명·암이 자동적으로 유지되는 사육실에서 무균 음수와 사료를 자유롭게 공급하여 사육하고, 실험실 환경에 1주 이상 적응시킨 후 사용하였다.

본 연구의 모든 과정은 동의대학교 동물실험윤리위원회의 규정 및 방침에 따라 진행되었다(승인번호: R2016-030).

2. 원엽모고채 약침의 조제

잘 건조된 원엽모고채 10 g을 추출 반응조에 넣고 3차 증류수를 500 ml 가한 후 100℃에서 3시간 동안 추출하였다.

추출액을 5 μm 왓만 여과지로 1차 여과한 다음 60℃에서 감압 농축을 시행하여 건조 추출물 3.86 g을 얻었다. 이를 다시 증류수 100 ml에 녹여 0.2 μm 여과지로 2차 여과한 후 동결 건조하여 최종적으로 2.48 g의 추출물을 얻었다.

얻어진 추출물을 Clean bench에서 주사용수에 적정 비율로 희석한 다음, pH와 염도를 보정한 후 Clean room에서 실험에 사용

할 원엽모고채 약침을 조제하였다.

3. LD 50 측정 실험

LD 50 측정 실험에서는 체중 30 g 전후의 BALB/c mouse를 암·수컷에 상관없이 16마리를 준비하였다. 무작위로 한 군당 2마리씩 각각 300, 600, 1,200, 2,400, 3,600, 4,800, 6,000, 7,200 mg/kg의 농도로 우측 足三里(ST36)에 26 gauge insulin syringe를 사용하여 5 mm 주입하였으며, 실험동물 표준경혈위치에 따라 골도분촌법¹⁹⁾을 이용하여 인체에 상응하는 부위에 주입하였다. 투여량은 0.2 ml로 하여, 주입 후 실험동물의 사망 여부를 관찰하였다.

시술당일(0일)에는 시술 후 30분까지 빈번하게, 1, 2, 4 및 6시간째에 독성 증상(독성 증상의 종류와 발현시기, 회복시기 등) 및 사망 유무를 관찰하였다. 독성 증상으로는 털빠짐(loss of fur), 설사(diarrhea), 다뇨(polyuria), 연변(soft stool), 운동성감소(decreased motor activity), 떨림(tremor), 부종(edema)을 관찰하였다^{20,21)}. 시술 후 1일부터 7일까지는 매일 1회 쥐의 사망유무를 관찰하였다.

4. 단회 투여 독성시험

단회 투여 독성은 체중 30 g 전후의 BALB/c mouse를 암·수컷 각 20마리를 선발하였다. 이후 무작위로 암·수컷 각 4군, 군당 5마리로 군을 분리하였다.

LD 50 실험 결과를 바탕으로 단회 투여 독성시험의 투여량은 각각 저농도군(G2)에 300 mg/kg, 중농도군(G3)에 600 mg/kg 고농도군(G4)에 1,200 mg/kg로 투여하였다. 대조군(G1)에는 원엽모고채 약침과 동일한 양의 생리식염수를 투여하였다. 우측 足三里(ST36)에 26 gauge insulin syringe를 사용하여 5 mm 주입하였으며, 실험동물 표준경혈위치에 따라 골도분촌법¹⁹⁾을 이용하여 인체에 상응하는 부위에 0.2 ml를 주입하였다.

시술당일(0일)에는 시술 후 30분까지 빈번하게, 1, 2, 4 및 6시간째에 독성 증상(독성 증상의 종류, 발현시기, 회복시기 등) 및 사망 유무를 관찰하였다. 독성 증상으로는 털빠짐(loss of fur), 설사(diarrhea), 다뇨(polyuria), 연변(soft stool), 운동성감소(decreased motor activity), 떨림(tremor), 부종(edema)을 관찰하였다^{20,21)}. 시술 후 1일부터 14일까지는 매일 1회 증상을 관찰하였다.

5. 4주 반복 투여 독성시험

4주 반복 투여 독성은 체중 30 g 전후의 BALB/c mouse를 암·수컷 각 20마리를 선발하였다. 이후 무작위로 암·수컷 각 4군, 군당 5마리로 군을 분리하였다.

LD 50 실험에서의 결과를 바탕으로 실험동물의 1회 투여량은 각각 저농도군(G5)에 150 mg/kg, 중농도군(G6)에 300 mg/kg, 고농도군(G7)에 600 mg/kg를 투여하였다. 대조군(G1)에는 원엽모고채 약침과 동일한 양의 생리식염수를 시술하였다. 오전 10시에 1회/일 우측 足三里(ST36)에 26 gauge insulin syringe를 사용하여 5 mm 주입하였으며, 실험동물 표준경혈위치에 따라 골도분층법¹⁹⁾을 이용하여 인체에 상응하는 부위에 0.2 ml를 주입하였다.

1) 독성증상: 시술당일(0일)에는 시술 후 30분까지 빈번하게, 1, 2, 4 및 6시간째에 독성 증상(독성 증상의 종류, 발현시기, 회복시기 등) 및 사망 유무를 관찰하였다. 독성 증상으로는 털빠짐(loss of fur), 설사(diarrhea), 다뇨(polyuria), 연변(soft stool), 운동성감소(decreased motor activity), 떨림(tremor), 부종(edema)을 관찰하였다^{20,21)}. 시술 후 1일부터 실험 종료일까지 매일 1회 독성 증상을 관찰하였다.

2) 체중 변화: 시술당일(시술 전)에 체중을 측정하고 이후 약침을 투여하기 직전에 매일 체중을 측정하였다. 실험동물의 체중 측정은 실험 마지막 날까지 측정하였다.

3) 주요 장기의 중량 변화: 4주 반복 투여 실험의 관찰기간 후 채혈을 시행한 후 부검하였다. 부검을 실시하는 대조군 및 실험군의 모든 동물에 대해 심장(Heart), 간(Liver), 폐(Lung), 신장(Kidney), 뇌(Brain), 비장(Spleen), 흉선(Thymus), 정소(Testis) 또는 난소(Ovary) 및 비복근(Gastrocnemius m.)을 적출하고 중량을 측정하였다.

4) 간과 신장의 조직병리학적 변화: 고정된 간조직과 신장조직은 삭정, 탈수 및 파라인 포매 등의 일반적인 조직처리과정을 거쳐 조직절편을 제작하여 박절한 후, Hematoxylin & Eosin (H&E) 염색을 실시하였다.

5) 혈액학적 검사: 4주 반복 투여 독성시험에서 부검 전 12시간 절식시킨 동물을 ether 마취하여 경추 탈골시킨 후 회복하여 복부 대동맥으로부터 채혈하여 얻은 혈액의 일부를 Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)로 항응고 처리하여, 혈구자동측정기(Hemavet, Drew Scientific Co, Oxford, CT, USA)로 White blood cell (WBC), Red blood cell (RBC), Hemoglobin, Hematocrit, Platelet, Mean Corpuscular Volume (MCV), Mean Corpuscular

Hemoglobin (MCH), Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC)를 측정하였다.

6) 혈액생화학적 검사: 채혈한 전혈 일부를 15분간 원심분리(3,000 rpm, Eppendorf, Hamburg, Germany)한 후 혈청을 취하여 혈청자동분석기(Hitachi7060, Hitachi, Tokyo, Japan)를 이용하여, Total Protein, Albumin, Total bilirubin, Alkaline Phosphatase (ALP), Aspartate Aminotransferase (AST), Alanine Aminotransferase (ALT), Creatinine, Blood Urea Nitrogen (BUN), Cholesterol, Triglycerides (TG), Glucose를 측정하였다.

7) 통계처리: 실험에서 얻어진 체중 결과는 SAS (version 9.1.3, SAS Institute Inc., U.S.A.)를 사용하여 검정한다. Bartlett test를 실시하여 등분산성을 검정한다($p < 0.05$). 그 결과, 등분산인 경우, One-way analysis of variance (ANOVA)를 실시하여 유의성이 관찰되면 Dunnett's t-test의 다중검정을 실시한다($p < 0.05$, $p < 0.01$).

결 과

1. LD 50 측정 실험

원엽모고채 약침을 각각 300, 600, 1,200, 2,400, 3,600 mg/kg의 농도로 투여한 경우에 100% 생존하였으나, 4,800 mg/kg 투여의 경우 50% 생존, 6,000, 7,200 mg/kg에는 모두 사망하였다. 따라서 원엽모고채 약침의 LD 50은 4,800 mg/kg로 산출되었다 (Table 1).

2. 단회 투여 독성시험

원엽모고채 약침을 1회 시술 후 1, 2, 4 및 6시간째에 일반상태를 관찰한 결과, 모든 실험군에서 어떠한 독성 증상도 발견되지 않았다. 시술 후 14일까지 사망한 실험동물은 없었다 (Table 2).

3. 4주 반복 투여 독성시험

1) 사망률: 원엽모고채 약침을 투여한 후 4주간 사망 유무를 관찰한 결과, 모든 실험군의 암·수컷 동물에서 원엽모고채 약침의 투

Table 1. LD 50 of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture

Dose (mg/kg)	300	600	1,200	2,400	3,600	4,800	6,000	7,200
Mortality (Dead/Total) (%)	0/2 0	0/2 0	0/2 0	0/2 0	0/2 0	1/2 50	2/2 100	2/2 100

LD 50 : 50% Lethal Dose.

여 후 사망은 관찰되지 않았다(Table 3).

2) 독성 증상: 4주의 실험기간 중 독성물질로 발생할 수 있는 털빠짐(loss of fur), 설사(diarrhea), 다뇨(polyuria), 연변(soft stool), 운동성감소(decreased motor activity), 떨림(tremor), 부종(edema) 등의 증상발현 유무를 관찰한 결과, 암·수컷 모든 동물에서 원엽모고채 약침 투여로 인한 독성 증상은 관찰되지 않았다(Table 4).

3) 체중 변화: 4주간의 실험기간 동안 실험동물의 체중은 시간이 지남에 따라 점진적으로 증가하는 경향을 보였다. 실험 개시 때의 실험동물의 체중은 수컷의 경우 G1 30.9±1.9 g, G5 30.5±1.3 g, G6 28.8±1.8 g, G7 30.5±1.3 g였으며, 4주 후 실험 종료 시에는 G1 37.6±4.2 g, G5 36.6±3.3 g, G6 36.5±3.0 g, G7 36.7±

3.3 g로 각 군별로 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

암컷의 경우 G1 27.2±2.7 g, G5 26.3±1.9 g, G6 26.4±1.2 g, G7 27.7±2.4 g였으며, 4주 후 실험 종료 시에는 G1 34.9±2.7 g, G5 36.2±5.9 g, G6 35.5±5.9 g, G7 36.3±4.7 g로 각 군별로 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

결과적으로, 4주간의 실험동물의 체중을 측정한 결과, 암·수컷 모두 원엽모고채 약침 투여에 의한 체중 변화는 모든 농도에서 대조군(G1)과 비교하여 유의한 차이가 관찰되지 않았다(Fig. 1, Fig. 2, Table 5).

4) 주요 장기의 중량 변화: 4주간 원엽모고채 약침을 투여한 후에 각 실험군의 실험동물의 장기를 적출하여 육안적 소견을 관찰하고 중량을 측정하였다. 그 결과, 원엽모고채 약침 투여군의 모든

Table 2. Mortality of Mice in Single-dose Toxicity of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture

Sex	Group/ Dose (mg/kg)	Number of animals	Mortality (%)	
			(Dead/Total)	(%)
Male	G1/0	5	0/5	0
	G2/300	5	0/5	0
	G3/600	5	0/5	0
	G4/1,200	5	0/5	0
Female	G1/0	5	0/5	0
	G2/300	5	0/5	0
	G3/600	5	0/5	0
	G4/1,200	5	0/5	0

G1 : Control group injected with 2 ml of normal saline, G2 : Experimental group injected with 300 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in single-dose toxicity, G3 : Experimental group injected with 600 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in single-dose toxicity, G4 : Experimental group injected with 1,200 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in single-dose toxicity.

Table 3. Mortality of Mice in Repeated-dose Toxicity of *Drosera Rotundifolia* L. Pharmacopuncture for 4 Weeks

Sex	Group/ Dose (mg/kg)	Number of animals	Mortality (%)	
			(Dead/Total)	(%)
Male	G1/0	5	0/5	0
	G5/150	5	0/5	0
	G6/300	5	0/5	0
	G7/600	5	0/5	0
Female	G1/0	5	0/5	0
	G5/150	5	0/5	0
	G6/300	5	0/5	0
	G7/600	5	0/5	0

G1 : Control group injected with 2 ml of normal saline, G5 : Experimental group injected with 150 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G6 : Experimental group injected with 300 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G7 : Experimental group injected with 600 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks.

Table 4. Toxic Signs of Mice in Repeated-dose Toxicity of *Drosera Rotundifolia* L. Pharmacopuncture for 4 Weeks

Toxic signs	Male				Female			
	G1	G5	G6	G7	G1	G5	G6	G7
Loss of Fur	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
Diarrhea	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
Polyuria	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
Soft Stool	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
Decreased Motor Activity	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
Tremor	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
Edema	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD

NAD : No abnormalities detected, G1 : Control group injected with 2 ml of normal saline, G5 : Experimental group injected with 150 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G6 : Experimental group injected with 300 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G7 : Experimental group injected with 600 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks.

장기에서 육안적 소견상 특이할 만한 병적소견은 발견되지 않았다. 적출된 장기들 중 간의 무게는 수컷에서 대조군(G1)에 비해 중농도군(G6)과 고농도군(G7)에서 다소 감소되는 경향이 있었으나 유의성 있는 차이는 없었으며, 다른 장기에서는 원엽모고채 약침 시술에 따른 특이적인 변화는 관찰되지 않았다(Table 6, Fig. 3, Table 7, Fig. 4).

5) 간과 신장의 조직병리학적 변화: 간을 적출한 후 H&E 염색을 통하여 간 조직을 관찰한 결과, 대조군(G1)의 간 조직에서 간문맥과 실질이 정상적인 구조를 유지하고 있었으며, 조직학적으로 정상

적인 소견을 보여주었다. 원엽모고채 약침을 4주간 투여한 실험군(G5, G6, G7)의 경우 간 조직에서 간세포의 괴사, 염증세포 침윤, 혹은 지방변성 등의 변화를 발견할 수 없었으며, 대조군(G1)과 비교하여 유의성 있는 차이는 나타나지 않았다.

신장 조직의 변화를 관찰한 결과, 대조군(G1)과 원엽모고채 약침을 4주간 투여한 실험군(G5, G6, G7) 모두 조밀한 세포질과 함께 정상적인 사구체(glomerulus), 곡세뇨관(convoluted tubule) 및 상피세포가 관찰되었으며, 각 군간 유의한 차이는 발견되지 않

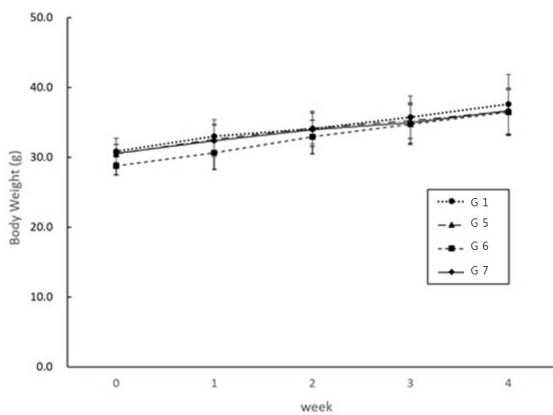


Fig. 1. Body weight of male mice in repeated-dose toxicity of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture for 4 weeks.

All values were showed mean±S.D. G1 : Control group injected with 2 ml of normal saline, G5 : Experimental group injected with 150 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G6 : Experimental group injected with 300 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G7 : Experimental group injected with 600 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks.

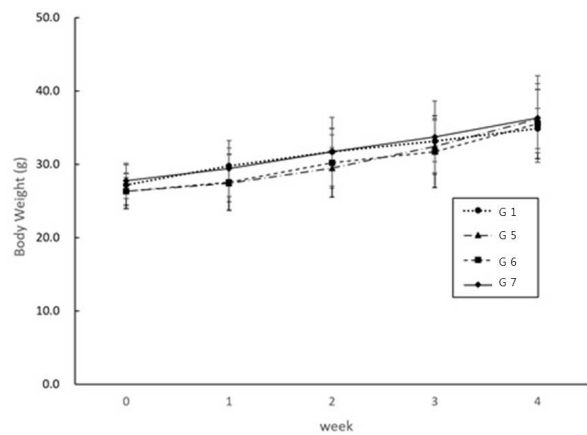


Fig. 2. Body weight of female mice in repeated-dose toxicity of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture for 4 weeks.

All values were showed mean±S.D. G1 : Control group injected with 2 ml of normal saline, G5 : Experimental group injected with 150 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G6 : Experimental group injected with 300 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G7 : Experimental group injected with 600 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks.

Table 5. Body Weight of Male and Female Mice in Repeated-dose Toxicity of *Drosera Rotundifolia* L. Pharmacopuncture for 4 Weeks

Sex	Group	weeks				
		0	1	2	3	4
Male	G1	30.9±1.9	33.0±2.4	34.1±2.5	35.7±3.1	37.6±4.2
	G5	30.5±1.3	32.6±2.0	34.2±2.2	35.3±2.6	36.6±3.3
	G6	28.8±1.8	30.6±2.0	32.9±2.6	34.7±3.2	36.5±3.0
	G7	30.5±1.3	32.4±2.4	33.9±2.4	35.0±2.8	36.7±3.3
Female	G1	27.2±2.7	29.8±2.4	31.7±2.3	33.2±2.8	34.9±2.7
	G5	26.3±1.9	27.4±2.5	29.5±2.8	32.5±3.8	36.2±5.9
	G6	26.4±1.2	27.6±2.4	30.2±2.4	31.7±3.7	35.5±5.9
	G7	27.7±2.4	29.4±3.8	31.7±4.7	33.8±4.9	36.3±4.7

All values were showed mean±S.D.

G1 : Control group injected with 2 ml of normal saline, G5 : Experimental group injected with 150 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G6 : Experimental group injected with 300 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G7 : Experimental group injected with 600 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks.

Table 6. Organ Weight of Male Mice in Repeated-dose Toxicity of *Drosera Rotundifolia* L. Pharmacopuncture for 4 Weeks

Organ (g)	G1	G5	G6	G7
Heart	0.14±0.04	0.13±0.02	0.13±0.04	0.12±0.05
Liver	1.35±0.19	1.36±0.17	1.19±0.24	1.26±0.29
Kidney (R)	0.24±0.03	0.24±0.04	0.21±0.04	0.23±0.02
Kidney (L)	0.21±0.04	0.27±0.03	0.23±0.04	0.19±0.06
Brain	0.41±0.05	0.44±0.05	0.51±0.03	0.47±0.05
Lung	0.23±0.03	0.27±0.04	0.31±0.04	0.25±0.03
Spleen	0.12±0.02	0.11±0.01	0.11±0.02	0.11±0.04
Thymus	0.08±0.02	0.10±0.01	0.09±0.01	0.09±0.02
Testis	0.08±0.02	0.09±0.02	0.07±0.01	0.07±0.01
Gastrocnemius m.	0.11±0.03	0.09±0.03	0.08±0.04	0.10±0.02

All values were showed mean±S.D.

G1 : Control group injected with 2 ml of normal saline, G5 : Experimental group injected with 150 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G6 : Experimental group injected with 300 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G7 : Experimental group injected with 600 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks.

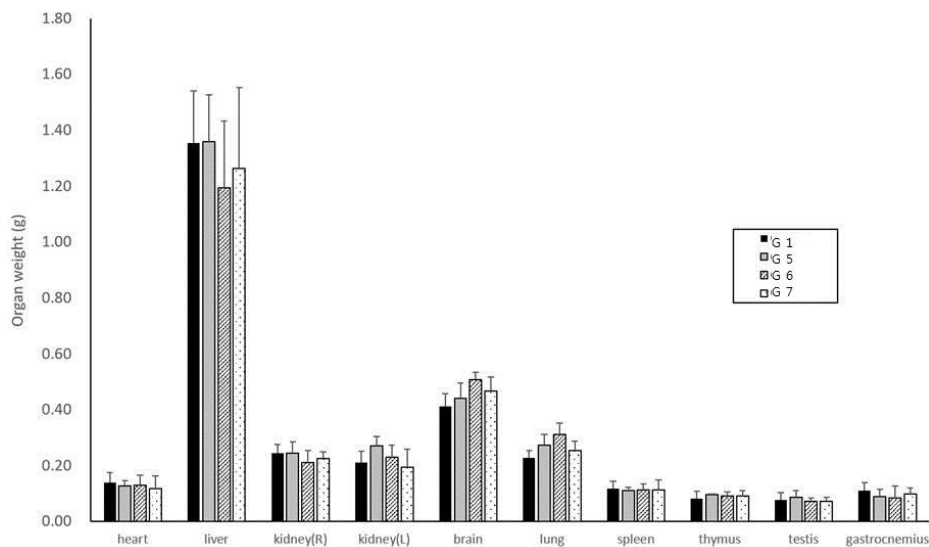


Fig. 3. Organ weight of male mice in repeated-dose toxicity of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture for 4 weeks.

All values were showed mean±S.D. G1 : Control group injected with 2 ml of normal saline, G5 : Experimental group injected with 150 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G6 : Experimental group injected with 300 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G7 : Experimental group injected with 600 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks.

Table 7. Organ Weight of Female Mice in Repeated-dose Toxicity of *Drosera Rotundifolia* L. Pharmacopuncture for 4 Weeks

Organ (g)	G1	G5	G6	G7
Heart	0.12±0.02	0.14±0.01	0.14±0.04	0.14±0.03
Liver	1.58±0.24	1.38±0.23	1.46±0.23	1.51±0.19
Kidney (R)	0.25±0.05	0.20±0.04	0.19±0.02	0.22±0.04
Kidney (L)	0.19±0.04	0.20±0.03	0.25±0.06	0.19±0.05
Brain	0.47±0.06	0.46±0.05	0.41±0.03	0.43±0.03
Lung	0.27±0.05	0.27±0.07	0.26±0.04	0.26±0.04
Spleen	0.11±0.01	0.11±0.02	0.11±0.02	0.12±0.02
Thymus	0.09±0.02	0.09±0.03	0.08±0.02	0.09±0.01
Ovary	0.17±0.03	0.17±0.05	0.14±0.07	0.17±0.04
Gastrocnemius m.	0.10±0.02	0.10±0.02	0.11±0.02	0.13±0.04

All values were showed mean±S.D.

G1 : Control group injected with 2 ml of normal saline, G5 : Experimental group injected with 150 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G6 : Experimental group injected with 300 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G7 : Experimental group injected with 600 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks.

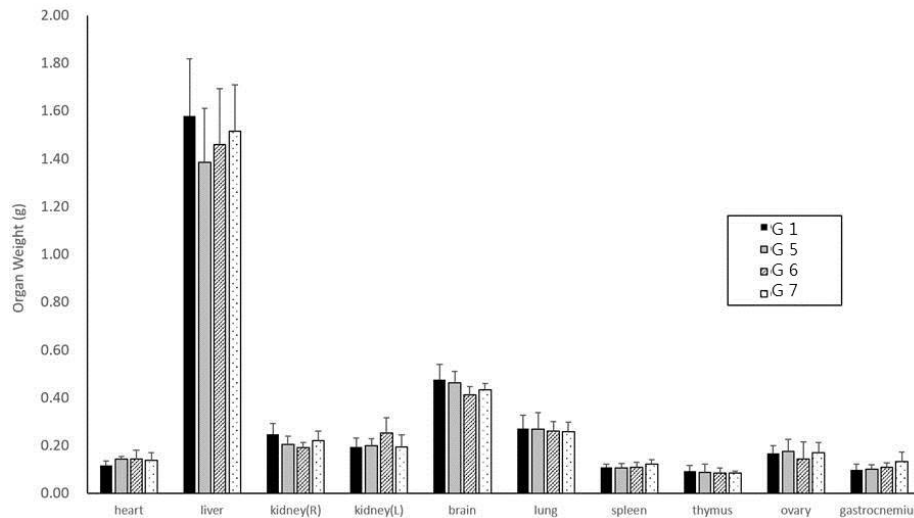


Fig. 4. Organ Weight of Female Mice in Repeated-dose Toxicity of *Drosera Rotundifolia* L. Pharmacopuncture for 4 Weeks.

All values were showed mean \pm S.D. G1 : Control group injected with 2 ml of normal saline, G5 : Experimental group injected with 150 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G6 : Experimental group injected with 300 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G7 : Experimental group injected with 600 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks.

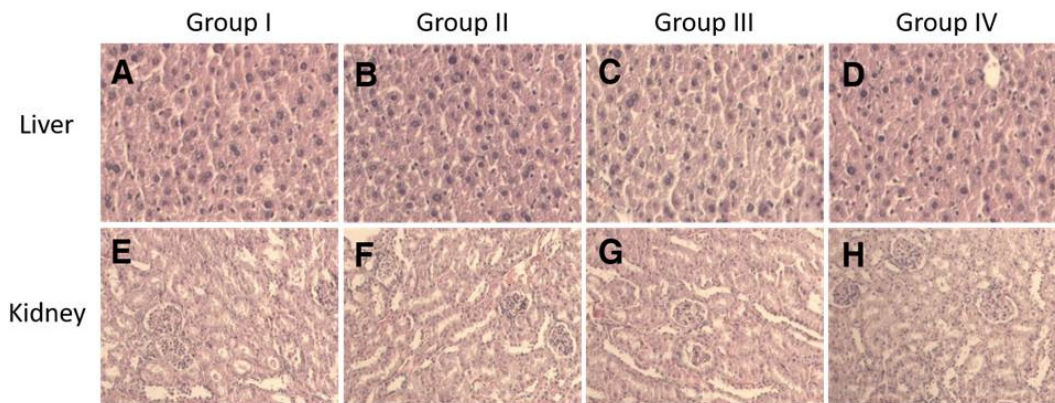


Fig. 5. Histopathological changes of liver and kidney in repeated-dose toxicity of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture for 4 weeks (H&E staining, $\times 100$).

The G1 showed the normal morphology and *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture treated groups(G5, G6, G7) also had normal structures. G1 : Control group injected with 2 ml of normal saline, G5 : Experimental group injected with 150 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G6 : Experimental group injected with 300 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G7 : Experimental group injected with 600 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks.

았다. 원엽모고채 약침을 투여한 실험군(G5, G6, G7)에서 세뇨관의 팽창, 표피박리, 혹은 세포사멸 등의 변화는 발견되지 않았다. 이러한 결과는 암·수컷 모두 동일하게 관찰되었다(Fig. 5).

6) 혈액학적 검사: 4주간 반복 투여 독성시험에서 WBC, RBC, Hemoglobin, Hematocrit, Platelet, MCV, MCH, MCHC의 혈액학적 지표를 혈구자동측정기로 측정한 결과, 혈액학적 지표들은 원엽모고채 약침을 투여한 실험군(G5, G6, G7)에서 대조군(G1)과 유의성 있는 차이가 관찰되지 않았다(Table 8, Table 9).

7) 혈액생화학적 검사: 4주간 반복 투여 독성시험에서 Total Protein, Albumin, Total bilirubin, ALP, AST, ALT, Creatinine, BUN, Cholesterol, TG, Glucose를 혈청자동분석기로 측정한 결

과, 대조군(G1)과 실험군(G5, G6, G7) 사이에 유의성 있는 차이가 나타나지 않았다. 다만, 수컷의 경우 Creatinine와 BUN의 수치가 대조군(G1)에 비해 실험군(G5, G6, G7)에 모두 약간 상승하는 경향이 나타났으나, 유의성 있는 차이는 아니었으며, 암컷의 경우 이러한 상승은 나타나지 않았다(Table 10, Table 11).

고찰

약침요법은 질병의 치료에 관련된 혈위나 압통점에 기미론에 따른 정제된 한약제재를 주입하여 차침과 약물의 효과를 동시에 구현

Table 8. Hematological Values of Male Mice in Repeated-dose Toxicity of *Drosera Rotundifolia* L. Pharmacopuncture for 4 Weeks

Index	G1	G5	G6	G7
WBC ($10^3/\mu\text{l}$)	2.85±0.18	2.75±0.18	3.48±0.53	3.29±0.37
RBC ($10^6/\mu\text{l}$)	7.87±0.43	8.71±0.68	8.39±0.72	7.63±0.83
Hemoglobin (g/dl)	10.74±0.94	10.22±1.97	11.61±0.26	10.98±0.60
Hematocrit (%)	32.06±2.95	30.31±2.54	31.67±2.87	31.62±2.93
Platelet ($10^3/\mu\text{l}$)	951.35±72.38	952.35±52.55	955.32±50.95	865.82±70.62
MCV (fl)	45.42±4.82	42.30±8.74	42.60±7.16	46.81±6.16
MCH (pg)	13.52±1.64	12.68±2.08	12.58±1.47	12.96±2.00
MCHC (g/dl)	32.79±3.89	32.54±3.38	30.17±3.40	34.62±2.47

All values were showed mean±S.D.

G1 : Control group injected with 2 ml of normal saline, G5 : Experimental group injected with 150 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G6 : Experimental group injected with 300 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G7 : Experimental group injected with 600 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, WBC : White Blood Cell, RBC : Red Blood Cell, MCV : Mean Corpuscular Volume, MCH : Mean Corpuscular Hemoglobin, MCHC : Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration.

Table 9. Hematological Values of Female Mice in Repeated-dose Toxicity of *Drosera Rotundifolia* L. Pharmacopuncture for 4 Weeks

Index	G1	G5	G6	G7
WBC ($10^3/\mu\text{l}$)	3.56±0.44	2.94±0.42	3.55±0.46	2.90±0.24
RBC ($10^6/\mu\text{l}$)	8.13±0.98	8.54±0.73	8.28±1.00	7.33±0.54
Hemoglobin (g/dl)	10.56±1.49	10.90±0.79	11.51±1.12	10.77±0.65
Hematocrit (%)	33.12±1.36	32.88±1.46	31.77±1.53	32.04±3.16
Platelet ($10^3/\mu\text{l}$)	953.70±81.12	992.50±58.45	882.86±167.75	981.71±68.82
MCV (fl)	45.50±4.21	40.47±4.28	42.90±8.05	45.76±7.18
MCH (pg)	13.41±1.22	13.12±1.55	13.34±1.19	14.23±0.90
MCHC (g/dl)	32.76±4.07	33.99±3.00	32.01±2.16	32.81±2.14

G1 : Control group injected with 2 ml of normal saline, G5 : Experimental group injected with 150 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G6 : Experimental group injected with 300 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G7 : Experimental group injected with 600 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, WBC : White Blood Cell, RBC : Red Blood Cell, MCV : Mean Corpuscular Volume, MCH : Mean Corpuscular Hemoglobin, MCHC : Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration.

Table 10. Serum Biochemical Values of Male Mice in Repeated-dose Toxicity of *Drosera Rotundifolia* L. Pharmacopuncture for 4 Weeks

Index	G1	G5	G6	G7
Total Protein (g/dl)	4.98±0.62	5.25±0.48	5.07±0.59	4.95±0.60
Albumin (g/dl)	1.59±0.20	1.63±0.24	1.54±0.31	1.56±0.21
Total bilirubin (mg/dl)	0.16±0.03	0.12±0.02	0.12±0.02	0.12±0.04
ALP (IU/L)	40.12±4.34	39.86±2.32	40.54±1.21	41.14±3.09
AST (IU/L)	49.38±6.01	49.98±5.23	47.85±6.30	50.31±4.44
ALT (IU/L)	21.56±1.88	20.08±1.229	18.80±2.07	19.41±1.70
Creatinine (mg/dl)	0.46±0.07	0.51±0.03	0.50±0.10	0.52±0.07
BUN (mg/dl)	16.80±1.84	17.51±2.38	20.34±2.04	17.76±1.64
Cholesterol (mg/dl)	150.95±20.66	153.27±27.47	158.31±25.39	154.62±17.80
TG (mg/dl)	67.08±3.43	71.9±7.03	78.41±10.67	68.40±15.04
Glucose (mg/L)	178.14±33.12	163.27±29.45	162.27±33.12	185.55±10.87

All values were showed mean±S.D.

G1 : Control group injected with 2 ml of normal saline, G5 : Experimental group injected with 150 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G6 : Experimental group injected with 300 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G7 : Experimental group injected with 600 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, ALP : Alkaline Phosphatase, AST : Aspartate Aminotransferase, ALT : Alanine aminotransferase, BUN : Blood Urea Nitrogen, TG : Triglycerides.

Table 11. Serum Biochemical Values of Female Mice in Repeated-dose Toxicity of *Drosera Rotundifolia* L. Pharmacopuncture for 4 Weeks

Index	G1	G5	G6	G7
Total Protein (g/dl)	4.64±0.39	4.78±0.17	5.06±0.58	4.75±0.54
Albumin (g/dl)	1.36±0.08	1.46±0.29	1.44±0.19	1.67±0.14
Total bilirubin (mg/dl)	0.15±0.04	0.12±0.05	0.13±0.03	0.15±0.04
ALP (IU/L)	41.1±4.63	43.55±1.36	42.30±3.64	36.61±3.95
AST (IU/L)	47.90±2.19	52.11±4.49	52.46±4.24	49.20±3.02
ALT (U/L)	20.09±1.15	19.81±2.51	20.10±1.69	19.53±1.33
Creatinine (mg/dl)	0.56±0.11	0.48±0.07	0.51±0.04	0.53±0.03
BUN (mg/dl)	18.28±2.20	17.76±2.91	17.19±2.32	19.50±1.63
Cholesterol (mg/dl)	151.04±20.88	151.23±19.94	160.95±26.67	157.10±8.55
TG (mg/dl)	60.61±10.48	67.32±16.71	67.15±13.88	62.65±8.40
Glucose (mg/L)	169.84±30.86	165.31±13.31	168.18±11.46	178.59±5.23

All values were showed mean±S.D.

G1 : Control group injected with 2 ml of normal saline, G5 : Experimental group injected with 150 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G6 : Experimental group injected with 300 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, G7 : Experimental group injected with 600 mg/kg of *Drosera Rotundifolia* L. pharmacopuncture in repeated-dose toxicity for 4 weeks, ALP : Alkaline Phosphatase, AST : Aspartate Aminotransferase, ALT : Alanine aminotransferase, BUN : Blood Urea Nitrogen, TG : Triglycerides.

하는 신침요법으로, 이전의 침구요법이 침이나 뜸 등의 물리적인 자극을 주었다면, 여기에 한약재의 화학적인 자극까지 결합했다고 볼 수 있다^{1,22,23}).

약침의 원료는 천연물을 이용해 생산되기 때문에 성분량이나 제조 과정 중에 성분의 변화나 분해가 일어날 수 있다. 오랫동안 사용해 온 임상적 경험을 기반으로 많이 사용되고 있으나 일부 한약재들의 경우, 잠재적인 독성을 가지고 있어 장기간 사용 시 발열, 아나필락시스 반응, 알레르기 반응 및 사망에 이를 수 있다²⁴. 대사를 거치지 않고 바로 흡수되는 약침의 특성을 고려할 때 효능의 증명뿐 아니라 안전성이 보장된 약침의 연구가 필요하며, 최근 분석 연구, 독성시험 등을 통해 안전성에 대한 연구가 보고되고 있다²⁵⁻²⁷.

약물의 독성시험은 단회 투여 독성시험, 반복 투여 독성시험, 생식발생 독성시험, 유전독성시험, 항원성시험, 면역독성시험, 발암성시험, 국소독성시험, 국소내성시험, 단회 투여 흡입독성시험, 반복 투여 흡입독성시험이 있으며, 주로 rat나 mice를 이용한 단회 투여 독성시험과 반복 투여 독성시험이 사용되고 있다³. 단회 투여 독성시험은 임상연구의 선행 기초 연구로 기본적인 안전성을 평가하고자 실시한다. 적정 투여 용량, 최대 용량 설정에 대한 연구에 근거를 제공하여 추후 이루어지는 반복 투여 독성시험에 대한 기초 자료를 제공한다. 이후 반복 투여 독성시험을 2~4주, 1개월, 3개월, 6개월 이상 실시하는데, 초기 독성검사를 통해 용량을 설정한 후 용량 단계를 적어도 3단계의 실험물질 투여군으로 하여 혈액검사, 장기 무게 측정, 병리조직학적 검사 등을 실시한다^{3,28}). 이를 바탕으로 독성학적, 약리학적 변화를 발생시키지 않는 최대무영향 용량(No Observed Effect Level, NOEL), 부작용을 유발하지 않거

나 명확히 어떠한 질환과 관련되지 않는 무독성을 발생시키는 최대 무독성용량(No Observed Adverse Effect Level, NOAEL), 부작용을 발생시키는 최소독성용량(Lowest Observed Adverse Effect Level, LOAEL)을 예측할 수 있다^{29,30}).

기준에 연구된 약침 연구에 따르면 생맥산 약침⁵은 4주간 정맥내 반복 투여 독성시험을 통해 NOAEL 0.1 ml/animal로 추정되었고 보고되었다. 신바로 약침⁶은 4주간 근육내 반복 투여 독성시험을 실시한 결과 NOAEL 18.5 ml/kg까지 보고되었다. 그 외 산삼 약침⁹, CA 약침¹⁰, Mecasin 약침¹¹, 오공 약침¹², 홍화 약침¹³ 등에서 단회 투여 독성시험만 실시하였다. 반복 투여 독성시험을 거쳐 장기간 사용시 약침의 안전성과 NOAEL의 적정량을 제시한 연구는 드물다. 약침의 종류가 다양하고 사용량이 빈번하며, 근골격계 질환 뿐 아니라 치료에 다양하게 응용되는 것에 비해 독성과 안전성과 관련된 연구는 미흡하다.

이에 저자는 한의학 치료의 영역을 넓히기 위해 기준에 사용하지 않은 재료인 원엽모고채를 선정하여 약침의 독성 연구를 통해 안전성을 평가하고 NOAEL을 설정하여 안전한 치료법으로 사용하기 위해 본 연구를 계획하게 되었다.

원엽모고채는 다년생 초본인 모고채과 식물인 원엽모고채의 수초로 氣味는 甘微苦 涼하다. 淸熱利濕, 涼血解毒, 化痰消積의 효능이 있어 腸炎, 痢疾, 咽喉腫痛, 肺熱咳嗽, 咯血, 衄血, 小兒疳積에 사용된다^{14,15}). Kačániová 등³¹은 원엽모고채가 gram 음성균과 gram 양성균에 항균효과가 있음을 연구하였고, Fukushima 등¹⁶은 원엽모고채가 HMC-1 cell의 작용을 억제하여 항염증 효과가 있음을 보고하였다. 그러나 원엽모고채의 독성에 관한 보고는 되지 않

아, 본 연구에서는 식품의약품안전처 고시 “의약품 등의 독성시험 기준”³⁾을 토대로 원엽모고채 약침의 임상 적용의 적정 투여 용량, 최대 용량 설정을 위한 연구에 근거를 제공하고자 하였다.

LD 50이란, 실험 동물의 50%가 죽는 단일투여 용량을 말한다. 1927년 Trevan³²⁾이 고안한 개념으로, 데이터의 성격에 따라 오차의 가능성은 있을 수 있으나, 지금까지 연구 대상 물질의 1차 독성 지표로 널리 이용 된다³³⁾. 보통 경구 투여 시 14일, 주사 시에는 7일간 관찰한다^{34,35)}. 본 연구에서 원엽모고채 약침의 LD 50은 4800 mg/kg로 산출되었다.

위와 같은 결과를 바탕으로 단회 투여 독성시험의 경우 1,200 mg/kg을 고농도군(G4)으로, 600 mg/kg을 중농도군(G3)으로, 300 mg/kg을 저농도군(G2)으로 설정하였으며, 4주 반복 투여 독성시험에서는 600 mg/kg을 고농도군(G7)으로, 300 mg/kg을 중농도군(G6)으로, 150 mg/kg을 저농도군(G5)으로 설정하였다. 모든 대조군에는 원엽모고채 약침 시술군과 동일한 양의 생리식염수를 시술하였다. 그 결과 단회, 4주의 실험기간 동안 모든 농도의 원엽모고채 약침 실험군에서 암·수컷 모두 독성 증상 및 사망동물은 관찰되지 않았다. 따라서 원엽모고채 약침의 4주간 투여의 NOAEL은 600 mg/kg이상인 것을 확인할 수 있었다.

원엽모고채 약침 투여로 인한 체중 변화를 살펴보면, 4주 반복 투여에서 암·수컷 모두 체중의 증가는 모든 농도에서 대조군과 비교하여 유의성 있는 차이가 관찰되지 않아, 원엽모고채 약침의 반복적인 투여는 체중변화에 유의성 있는 차이가 없는 것으로 확인되었다.

혈액학적 검사 결과 수치 변화는 암수컷 상관성과 용량의존성을 보이지 않으므로 시험물질에 의해 영향을 받지 않음을 볼 수 있었다.

본 연구에서는 반복적인 원엽모고채 약침 투여로 간에서 발생할 수 있는 변화를 알아보기 위해, 4주 반복 투여 후 실험동물의 혈액으로부터 AST, ALT, ALP, Total bilirubin을 측정하여 대조군과 비교하였다. 이러한 지표들의 변화를 측정된 결과, 실험군은 대조군과 비교하여 암·수컷 모두 유의성 있는 차이는 발생되지 않았다. 또한 간의 무게도 원엽모고채 약침으로 인한 유의성 있는 차이가 발생되지 않았다. 나아가, 실제 실험동물의 간 조직을 H&E 염색을 하여 관찰해본 결과, 실험군은 대조군과 비교하여 유의성 있는 차이가 나타나지 않았으며, 간세포의 괴사, 염증세포 침윤, 지방변성 등의 변화는 나타나지 않았다. 이러한 결과는 반복적인 원엽모고채 약침 투여가 간에 독성을 일으키지 않다고 할 수 있다.

신장은 외인성 독성 물질의 주요 표적기관이 되며³⁶⁾, 신장 독성을 평가하는 주요한 수치는 Creatinine와 BUN이다. 신기능부전의

경우 혈청과 뇨 중의 Creatinine의 농도가 증가하며, BUN은 경미한 신손상의 경우 민감하지 않으나, 의미있는 신기능 손상의 경우 좋은 임상적 지표가 된다³⁷⁾. 본 연구에서 4주간 원엽모고채 약침 투여 후 BUN과 Creatinine 수치를 측정된 결과, 암수컷 모두에서 대조군과 비교하여 유의성 있는 차이가 발생되지 않았다. 신장의 무게를 측정하여 비교한 결과에서도 원엽모고채 약침의 투여는 유의성 있는 차이가 발생되지 않았다. 신장 조직을 H&E 염색하여 관찰한 결과 또한 정상적인 신장 조직들이 발견되었으며 세뇨관의 손상이나, 세포사멸 등의 변화는 나타나지 않았다. 이러한 결과는 반복적인 원엽모고채 약침 투여가 신장에 유해한 영향을 미치지 않다고 할 수 있다.

종합하면, 이러한 지표들의 수치에 변화가 없는 것은 원엽모고채 약침이 간, 신장 등에 손상을 유발하지 않음을 알 수 있다.

그 외에도 심장, 뇌, 폐, 비장, 흉선, 암컷의 난소 혹은 수컷의 정소, 그리고 약침을 주입한 지점에 가까운 gastrocnemius 근육의 변화를 육안으로 관찰한 결과, 대조군과 비교하여 원엽모고채 약침을 농도별로 투여한 실험군에서 뚜렷한 이상병변은 관찰되지 않았으며, 무게를 측정하여 비교한 결과에서도 각 군간 유의성 있는 차이가 관찰되지 않았다.

위와 같은 결과로 원엽모고채 약침은 임상에서 활용에 있어 600 mg/kg이하의 농도에서 4주간 반복 투여로 인해 신체에 미치는 유해한 효과는 없는 것으로 사료된다. 다만, 본 연구의 결과는 BALB/c mouse라는 특정 실험동물에서의 독성여부를 관찰한 실험으로써 실제 인체를 대상으로 한 안전한 원엽모고채 약침의 임상적용을 위해서는 단회, 4주간의 투여 뿐만 아니라 3개월, 6개월 이상의 반복 투여 독성시험 등의 추가적인 연구가 필요하다고 사료된다.

결론

본 연구는 원엽모고채 약침의 독성시험을 통해 안전성을 연구하고자 BALB/c mice에서 LD 50, 단회 투여 독성시험과 4주 반복 투여 독성시험을 실시하여 사망률, 독성 증상, 체중 변화, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 주요 장기의 중량 변화, 간과 신장의 조직 병리학적 변화를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 원엽모고채 약침의 LD 50은 4,800 mg/kg로 측정되었다.
2. 원엽모고채 약침을 300, 600 및 1,200 mg/kg의 농도로 단회 투여 후 사망 여부를 관찰한 결과, 모든 농도에서 사망한 경우가 발생하지 않았다.
3. 원엽모고채 약침을 150, 300 및 6,00 mg/kg의 농도로 4주간

매일 반복 투여 후, 사망률은 없었으며, 독성 증상, 체중 변화, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 주요 장기의 중량 변화상 유의성 있는 차이는 발생되지 않았다. 간과 신장 조직을 조직병리학적으로 관찰한 결과 정상적인 세포 구조를 보였다.

위와 같은 결과로 원엽모고채 약침의 LD 50은 4,800 mg/kg이고, 4주간 투여의 NOAEL은 600 mg/kg 이상인 것을 확인할 수 있었다.

References

1. Korean Acupuncture & Moxibustion Society Textbook Compilation Committee. The Acupuncture and Moxibustion Medicine. 2nd ed. Gyeonggi:Jipmoondang. 2012: 230-1.
2. Sin DC, Song HS. Current Situation of Translational Research on Acupuncture, Moxibustion and Pharmacopuncture. Journal of Acupuncture Research. 2016; 33(2): 109-16. <https://doi.org/10.13045/acupunct.2016021>
3. Ministry of Food & Drug Safety. A Flow Chart on Toxicity Test of Medicine(2015)[Internet]. Cheongwon:Ministry of Food & Drug Safety. [cited 2015 November 11]. available from: URL:https://www.mfds.go.kr/brd/m_210/view.do?seq=12245
4. Kam HM, Lim CS, Kwon KR, Lee KH. Study of A 13-weeks, Repeated, Intramuscular Dose, Toxicity Test of Sweet Bee Venom in Sprague-Dawley Rats. Journal of Pharmacopuncture. 2014; 17(2): 73-9. <https://doi.org/10.3831/kpi.2014.17.019>
5. Lee HY, Kim SC, Cho SH. Assessment of The Toxicity and The Stability of Saeng Mak San by Using Repeated Intravenous Injections in Sprague-Dawley Rats. Journal of Pharmacopuncture. 2016; 19(3): 231-8. DOI : 10.3831/KPI.2016.19.024.
6. Lee JH, Ha IH, Kim MR, Kim MJ, Lee JW, Lee IH, et al. Multiple-dose intramuscular Toxicity Study of Shinbaro Pharmacopuncture in Sprague-Dawley Rats Over A 4-week Period. Journal of Acupuncture Research. 2015; 32(4): 77-89. <https://doi.org/10.13045/acupunct.2015063>
7. Lim SC, Kim JS, Lee BH, Lee HJ, Lee H, Lee YK. Thirteen Weeks Repeated-dose Toxicity Study on Aconitum ciliare Decaisne Pharmacopuncture Solution in Mice. Korean Journal of Acupuncture. 2018; 35(3): 139-48. <https://doi.org/10.14406/acu.2018.022>
8. Lee HS, Lee YK, Lee BH, Kim JS, Lim SC, Lee HJ. An Experimental Study on Single-dose and 4 Weeks Repeated-dose Toxicity of Aconitum ciliare Decaisne Pharmacopuncture. Korean Journal of Acupuncture. 2017; 34(4): 241-50. <https://doi.org/10.14406/acu.2017.027>
9. Yu JS, Sun SS, Lee KW, Kwon KR. Intravenous Toxicity Study of Water-soluble Ginseng Pharmacopuncture in SD rats. Journal of Pharmacopuncture. 2015; 18(4): 38-44. <https://doi.org/10.3831/kpi.2015.18.036>
10. Lee MS, Jung C. Single Intramuscular Dose Toxicity Study of CA-YAKCHIM in Sprague-Dawley Rats. Journal of Korea Immuno-yakchim Society. 2014; 3(1): 19-26.
11. Lee SJ, Jeong HH, Lee JC, Cha EH, Park MY, Song BG, et al. A Study on Single Dose Toxicity of Intravenous Injection of Mecasin Herbal Acupuncture. Journal of Acupuncture Research. 2016; 33(1): 1- 7. <https://doi.org/10.13045/acupunct.2016001>
12. Son IH, Lee SM, Kim DH, Jeong HH, Cho SH, Lee EY, et al. A Pilot Study on Single-dose Toxicity Testing of Scolopendrid Pharmacopuncture in Sprague-Dawley Rats. Journal of Pharmacopuncture. 2014; 17(2): 57-66. <https://doi.org/10.3831/kpi.2014.17.017>
13. Lee HG, Kim SC, Jung DJ, Choi YM, Sin MS, Choi SW et al. Single Intramuscular-dose Toxicity of Water Soluble Carthmi-Flos Herbal Acupuncture(WCF) in Sprague-Dawley Rats. Journal of Pharmacopuncture. 2014; 17(1): 27-34. <https://doi.org/10.3831/kpi.2014.17.004>
14. Moon GS. Ingredient and Use of Medicinal Herb. Seoul:Ilweoseogak. 1996: 321-2.
15. The Compilation Committee. Chinese Medicinal Herb Pictorial Book. Seoul : Yeogang. 1994:1154.
16. Fukushima K, Nagai K, Hoshi Y, Masumoto S, Mikami I, Takahashi Y, et al. Drosera Rotundifolia And Drosera Tokaiensis Suppress The Activation of HMC-1 Human Mast Cells. Journal of Ethnopharmacology. 2009; 125(1): 90-6. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.06.009>
17. Melzig M.F, Pertz H.H, Krenn L. Anti-inflammatory And Spasmolytic Activity of Extracts From Droserae Herba. Phytomedicine. 2001; 8(3): 225-9. <https://doi.org/10.1078/0944-7113-00031>
18. Oh SJ, Kim JS, Lee YK, Lee HJ. Analgesic Effects of Drosera

- Rotundifolia L. Pharmacopuncture at Taegye(KI3) Acupoint on Formalin-induced Pain. *Journal of Acupuncture Research*. 2016; 33(1): 37-46. <https://doi.org/10.13045/acupunct.2016004>
19. Koo ST, Kim SK, Kim EH, Kim JH, Youn DH, Lee BH, et al. Acupuncture Point Locations for Experimental Animal Studies in Rats and Mice. *Journal of Acupuncture Reserach*. 2010; 27(3): 67-78.
 20. Lee H, Cha SS, Lee MY, Chang HC, Lee JJ. Acute Toxicity of *Leuconostoc Citreum* GR1 Isolated from Kimchi in Mice. *Korean Journal of Food Preservation*. 2013; 20(1): 121-6. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2013.20.1.121>
 21. Vaghasiya Y.K., Shukla V.J., Chanda S.V. Acute Oral Toxicity Study of *Pluchea arguta* Boiss Extract in Mice. *Journal of Pharmacology & Toxicology*. 2011; 6(2): 113-3. <https://doi.org/10.3923/jpt.2011.113.123>
 22. Kang JH, Heo DS, Yoon IJ, Oh MS. An Analysis of Tendencies of Studies on Herbal Acupuncture-Focusing on Domestic Theses Since 2001 About Anti-inflammation, Pain Relief And Anti-obesity Effects, Including Safety. *The Journal of Korean Medicine*. 2007; 28(2): 93-113.
 23. Sin DC, Song HS. Curret Situation of Translational Research on Acupunctue, Moxibustion and Pharmacopuncture. *Journal of Acupuncture Research*. 2016; 33(2): 109-16. <https://doi.org/10.13045/acupunct.2016021>
 24. Ren YS, Zhang P, Yan D, Wang JB, Du XX, Xiao XH. A Strategy for The Dectinction of Quality Fluctuation of A Chinese Herbal Injection Based on Chemical Fingerprinting Combined with Biological Fingerprinting. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2011; 56(2): 436-42. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2011.05.006>
 25. Joo HJ. Researches on Pharmacopuncture. *Korea Institute of Oriental medicine*. 1995; 5: 193-210.
 26. Lee SJ, Jeong HH, Lee JC, Cha EH, Park MY, Song BG, et al. A Study on Single Dose Toxicity of Intravenous Injection of Mecasin Herbal Acupuncture. *Journal of Acupuncture Research*. 2016; 33(1): 1- 7. <https://doi.org/10.13045/acupunct.2016001>
 27. Lee JH, Chung HJ, Lee IH, Lee JW, Kim EJ, Kim MJ. Study on Single-dose Intramuscular Toxicity of Shinbaro Pharmacopuncture in Sprague-Dawley Rats and Beagle Dogs. *Journal of Korean Medicine Rehabilitation*. 2015; 25(3): 1-9. <https://doi.org/10.18325/jkmr.2015.25.3.1>
 28. Baek SH, Lee IH, Kim MJ, Kim EJ, Ha IH, Lee JH, et al. Component Analysis and Toxicity Study of Combined Cultuvated Wild Genseng Pharmacopuncture. *The Journal of Internal Korean Medicine*. 2015; 36(2): 189-99.
 29. Park YC, Cho MH. A New Way in Deciding NOAEL Based on The Findings From GLP-Toxicity Test. *Toxicol Res*. 2011; 27(3): 133-5. <https://doi.org/10.5487/tr.2011.27.3.133>
 30. Kang SY, Park YC, Park YK. Thirteen-weel Repeated-dose Oral Toxicity Study of KOB03, A Polyherbal Medicine For Allergic Rhinitis, In Rats. *Korean Jorunal Herbology*. 2013; 28(1): 15-21. <https://doi.org/10.6116/kjh.2013.28.1.15>
 31. Kačániová M, Ďurechová D, Vuković N, Kántor A, Petrová J, Hleba L et at. Antimicrobial Activity of *Drosera Rotundifolia* L. *Animal Science and Biotechnologies*. 2017; 47(2): 366-9.
 32. Trevan JW. *The Error of Determination of Toxicity*. London: Production Royal Society. 1927; 101B: 483-514. <https://doi.org/10.1098/rspb.1927.0030>
 33. Huh IH. *Toxicology*. Seoul:Shin-il. 1993: 37.
 34. Kwon KR, Chu CS, Park HS, Kim MK, Cha BC, Lee E. Experimental Studies of Quantitative Evaluation Using HPLC and Safety of Sweet Bee Venom. *Journal of Pharmacopuncture*. 2007; 10(2): 81-6. <https://doi.org/10.3831/kpi.2006.9.1.155>
 35. Kim SK, Kim KC, Lee BM. Mathematical and Statistical Characterization of LD₍₅₀₎ Estimation. *Toxicological Research*. 2014; 20(4): 321-4.
 36. *Seoul National University Physiology. Physiology 7th*. Seoul: Medical Moonhwasa. 2006: 269.
 37. Kim EJ, Kan DG, Lee AS, Choi DH, Cho KH, Kim SY, et al. Study on Kidney Tocicity of BDR-29 for Treatment Vascular Diseases in Rat. *The Korean Journal of Oriental medical prescription*. 2006; 16(2): 163-9.