

신바로 약침의 SD 랫드와 비글견에 대한 단회 근육투여 독성시험

이진호 · 정화진 · 이인희 · 이재웅 · 김은지 · 김민정
자생의료재단 척추관절연구소

Study on Single-dose Intramuscular Toxicity of Shinbaro Pharmacopuncture in Sprague-Dawley (SD) Rats and Beagle Dogs

Jin-Ho Lee, K.M.D., Hwa-Jin Chung, Ph.D., In-Hee Lee, M.S., Jae-Woong Lee, M.S.,
Eun-Jee Kim, M.S., Min-Jeong Kim, B.S.
Jaseng Spine and Joint Research Institute Jaseng Medical Foundation

이 논문은 자생의료재단 연구비 지원에 의한 결과임.

RECEIVED June 18, 2015
REVISED July 7, 2015
ACCEPTED July 8, 2015

CORRESPONDING TO
Min-Jeong Kim, Jaseng Spine and
Joint Research Institute Jaseng
Medical Foundation, 858 Eonju-ro,
Gangnam-gu, Seoul 135-896, Korea

TEL (02) 3218-2251
FAX (02) 3218-2244
E-mail lkomvje@jaseng.co.kr

Copyright © 2015 The Society of
Korean Medicine Rehabilitation

Objectives To evaluate Shinbaro Pharmacopuncture safety through analysis of potential single-dose intramuscular toxicity of Sinbaro Pharmacopuncture in SD rats and Beagle dogs.

Methods Single-dose intramuscular toxicity of Shinbaro Pharmacopuncture was assessed in accordance with Korea Food and Drug Administration Guidelines for toxicity testing of Medicinal Products. The SD rats were treated intramuscularly with Shinbaro Pharmacopuncture at doses of 0, 4.6, 9.2, and 18.5 mg/kg, respectively. The Beagle dogs were treated intramuscularly with Shinbaro Pharmacopuncture at doses of 2.3, and 4.6 mg/kg, respectively, and after 3 days, the procedure was repeated a second time at doses of 0.6, and 1.2 mg/kg, respectively, for toxicity testing. Mortality, change in body weight, and necropsy findings were examined for the study period.

Results There were no mortalities, general symptoms, or body weight changes in the SD rats. While pyelectasis of the left kidney was observed in a male rat in the 4.6 mg/kg administration group, natural occurrence is common, and does not appear to be related with the test substance. No mortalities were observed in the Beagle dogs. In assessment of general symptoms, a female dog in the 9.2 mg/kg group displayed body weight decrease due to leftover food, but the change in body weight was within the normal range seen at 6~7 months, and the necropsy findings were not significant. The toxicity of the test substance appears to be minimal.

Conclusions The results suggest that the lethal dose 50 (LD₅₀) and approximate lethal-dose (ALD) value in single intramuscular administration of Shinbaro Pharmacopuncture in SD rats and Beagle dogs are higher than 18.5 mg/kg. (**J Korean Med Rehab 2015;25(3):1-9**)

Key words Single-dose intramuscular toxicity, Shinbaro Pharmacopuncture, SD rat, Beagle dog

서론»»»»

한약이 대중화됨에 따라 점차적으로 한약의 안전성에 관심이 높아지면서 단미제(金銀花¹⁾, 鬱金²⁾, 夏枯草³⁾, 杏仁⁴⁾, 黃芩⁵⁾ 등)와 복합처방(歸脾湯⁶⁾, 少腹逐瘀湯⁷⁾, 小青龍湯⁸⁾, 茵陳蒿湯⁹⁾, 聰明湯¹⁰⁾ 등)에 독성시험 연구가 꾸준히 진행되고 있다. 특히 한방 제형 중 약침은 인체의 소화기관을 거치지 않고 일정한 혈위, 압통점 및 피부의 양성반응점에 직접 주입하기 때문에 더욱더 안전성에 대한 중요성이 강조되고 있다. 약침요법은 경락학설과 약물요법의 원리를 바탕으로 연구된 신침요법으로 질병과 유관한 부위인 경혈, 아시혈 등의 반응점에 적합한 한약물을 선택하고 정제하여 주입함으로써 침과 한약의 두가지 효과를 같이 내어 질병을 치료하는 방법이다^{11,12)}.

이중 신바로 약침은 골다공증, 관절염, 신경재생 등의 효과가 있는 GCSB-5를^{13,14)}, 근간으로 만들어진 생약복합 처방 약침이다.

신바로 약침 원료로 사용되는 약제에 대한 연구로는 狗脊의 메탄올 추출물이 항산화, 항염증¹⁵⁾ 골질환과 신경조직의 상해로 인한 신경세포의 회복 및 보호효과가 있고¹⁶⁾, 杜仲은 골다공증¹⁷⁾, 증추신경계 손상에 따른 근육위축 억제¹⁸⁾, 植防風은 근골격계 질환에 활용하는 본초로¹⁹⁾ 祛風解表, 勝濕解癢 등의 효능이 있는 것으로 확인 되었다²⁰⁾. 또한 五加皮는 위 염증 및 염증성 물질의 생산 억제에 의한 항염증 활성에 효과가 있고²¹⁾, 羌活은 진정, 진토, 항균, 항염증²²⁾, 牛膝은 콜라겐 유도 관절염 생쥐에서 자가 항체와 염증물질의 생성을 억제하여 항관절염²³⁾ 및 신경재생, 통증 억제를 통한 기능 회복에도 긍정적인 영향을 미치는 것으로 보고되어 있다²⁴⁾. 미나리재비과(Ranunculaceae)에 속하는 다년생 초본인 白芍藥은 진통, 고혈압 및 염증 치료제로²⁵⁾ 사용되고, 獨活은 祛風除濕, 解肌止痛하는 효과가 있어 각종 통증, 관절질환 등에 많이 응용되고 있으며²⁶⁾, 蜈蚣은 절족동물 다족류 중 왕지네에 속하는 지네로 陣痛, 消炎, 鎮痙²⁷⁾ 및 신경병증성 통증에도 효과가 있는 것으로 확인 되었다²⁸⁾.

이러한 약제의 복합처방인 GCSB-5의 진통 효능을 알아본 결과, 대표적인 급성 통증 모델에 경구투여 시 강력한 진통작용을 나타내며 주로 항염증과 관련된 말초성 진통작용과 관계가 있는 것을 알 수 있었다²⁹⁾. 또한 박 등³⁰⁾이 보고한 GCSB-5 약리연구에서 6가지 한약제(방풍, 우

슬, 오가피, 구척, 대두, 두충)로 생쥐, 흰쥐, 기니피그 및 토끼의 일반약리적 성질을 조사한 결과 GCSB-5가 시험동물에게 어떠한 부작용도 유발하지 않는다는 결과도 보고되었다. 이와 같이 GCSB-5의 경구투여 시 유효성, 안전성과 관련된 연구는 진행되어 있으나 근육투여에 대한 연구는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 GCSB-5의 근간이 되는 신바로 약침의 안전성 평가를 위해 GLP기관에서 일반 독성시험에 널리 사용되는 SD 랫드, 비글견으로 단회 근육투여 독성실험을 실시하였다.

재료 및 방법»»»»

1. 재료

1) 실험물질

본 시험에 사용한 신바로 약침의 약제는 그린명품제약(경기도 남양주)에서 구입하여 사용하였다. 구척, 두충, 식방풍, 오가피, 우슬, 백작약, 강활, 독활, 오공의 9가지 약제 총 300 g을 70% 주정으로 환류 추출한 다음 여과하여 rotaty vacuum evaporator로 감압농축하였다. 농축된 추출물을 80% 및 90% 주정으로 알코올 수침을 통해 정제하고 여과한 후 freeze dryer를 사용하여 동결건조 시킨 황색의 동결건조 분말을 시험에 사용하였다.

2) 실험동물 및 사육환경

(1) 랫드

7주령의 SD (Sprague-Dawley) 계통의 특정병원균 부재(SPF) 랫드를 암수 각 22마리, 총 44마리를 5일 이상 검역한 후 8주령(수컷 261.27~320.09 g, 암컷 178.76~205.88 g)의 암수 각 20마리, 총 40마리로 시험하였다. 사육환경은 온도 22.4±0.5°C, 상대습도 42.5±3.6% RH, 환기횟수 10~15회/hr, 조명 12 hr (08:00 점등~20:00 소등), 조도 281 Lux로 조절하였다. 동물은 검역, 순화, 투여 및 관찰기간 중 스테인레스제 망사육상자(250 W×350 L×180 Hmm)에 3마리 이하로 수용하였고, 사료(Teklad Certified Irradiated Global 18% Protein Rodent Diet, Harlan Co. Ltd., USA)는 두얼바이오텍(서울시 서초구 양재동 153 성보프라자 107)으로부터 공급받아 급이기에 넣고, 물은 음용 상수도수를 정수시킨 후 폴리카

보네이트제 물병에 넣어 자유섭취시켰다.

(2) 비글견

5~6주령의 암수 각 3마리, 총 6마리를 20일간 순화시키고 건강하다고 판정된 6~7주령(1차 수컷 9.12~9.68 kg, 암컷 8.74~9.08 kg, 2차 수컷 9.30~9.92 kg, 암컷 9.10~9.18 kg)의 암수 각 2마리, 총 4마리를 시험에 사용하였다. 사육환경은 온도 20.5±0.5°C, 상대습도 44.4±4.2% RH, 환기횟수 10~15회/hr, 조명 12 hr (08:00 점등~20:00 소등), 조도 286 Lux로 조절하였다. 동물은 순화, 투여 및 관찰기간 중에는 스테인레스제 망사육상자(700 W×750 L ×750 Hmm)에 1마리/사육상자로 사육하였다. 사료는 실험동물용 개사료(LAB CANINE CHOW, Cargill Agri Purina Korea Inc.)를 바이오피아(경기도 군포시 금정동 874-2 신산빌딩 207호)으로부터 공급받아 약 300 g (1회/일)씩 제한급여하였으며, 물은 음용 상수도수를 정수시킨 후 자동급수장치를 이용하여 자유섭취시켰다.

본 시험에 사용한 랫드, 비글견은 독성시험에 널리 사용되고 있으며 풍부한 시험 기초자료가 축적되어 있어, 시험결과의 해석 및 평가에 활용할 수 있기 때문에 사용

하였으며, 오리엔트바이오(경기도 성남)에서 구입하였다.

3) 실험군 구성 및 투여용량

(1) 랫드

임상에정용량인 1.11 mg/60 kg (=18.5 ug/kg)의 약 1,000배인 18.5 mg/kg을 고용량 투여군으로 하고 1 cc, 29 gauge, 12.7 mm의 syringe로 주사하였다. 공비를 2로 두어 중용량 및 저용량을 설정하였으며, 주사용수를 투여하는 음성대조군을 두었다. 투여 당일 체중을 기준으로 1 ml/kg의 투여액량을 계산하였다(Table I-1).

(2) 비글견

본 시험물질의 랫드를 이용한 단회 근육투여 독성시험의 결과, 4.6, 9.2 및 18.5 mg/kg 투여군에서 어떠한 독성학적 변화도 관찰되지 않았다. 따라서, 이상의 결과를 참조하여 본 시험에서는 1차 투여용량은 시험물질 2.3, 4.6 mg/kg으로, 2차 투여용량은 9.2, 18.5 mg/kg으로 설정하였고 1 cc, 29 gauge, 12.7 mm의 syringe로 주사하였다(Table I-2).

Table I. Group Composition for Assessment of Single-dose Intramuscular Toxicity in SD Rats and Beagle Dogs

1. Rats

Group	Sex	Number of animals	Animal No.	Administred fluid volume (ml/kg)	Dose (mg/kg)
G1	Male	5	G1-1~G1-5	1	0
	Female	5	G1-21~G1-25		
G2	Male	5	G2-6~G2-10	1	4.6
	Female	5	G2-26~G2-30		
G3	Male	5	G3-11~G3-15	1	9.2
	Female	5	G3-31~G3-35		
G4	Male	5	G4-16~G4-20	1	18.5
	Female	5	G4-36~G4-40		

G1: Control, G2~G4: Experimental group.

2. Beagle dogs

Administration (i.m*)	Group	Sex	Number of animals	Animal No.	Dose (mg/kg)	Administred fluid volume (ml/kg)
1st	G1	Male	1	1	2.3	0.1
		Female	1	3		
	G2	Male	1	2	4.6	0.1
		Female	1	4		
2nd	G1	Male	1	1	9.2	0.1
		Female	1	3		
	G2	Male	1	2	18.5	0.1
		Female	1	4		

*intramuscular.

4) 투여기간 및 투여방법

사람에 대한 임상예정경로로서 근육투여시의 독성을 알아보기 위하여 근육투여를 선택하였다.

(1) 랫드

투여 당일 오전 중에 단회 투여로, 투여 동물을 대퇴부 내측이 위로 오도록 배부에서 요부의 피부를 보정하고 알코올솜을 이용하여 투여부위를 소독하였다. 대퇴부 근육 내에 주사침을 찌르고 피스톤을 살짝 후퇴해서 혈액의 유입이 없으면 실험물질을 천천히 주입하였다.

(2) 비글견

1일 1회로 3일 간격으로 총 2회 오전 중에 투여하였고, 투여 전에 투여부위를 소독용 알코올로 소독한 후 왼쪽 대퇴부 근육내에 주사침을 찌르고 바늘 끝이 움직이지 않도록 주의하면서 피스톤을 살짝 후퇴해서 혈액의 유입이 없으면 시험물질을 천천히 주입하였다. 투여 시 투여부위를 표기하여 동일한 곳에 투여되지 않도록 하였으며, 1차 투여는 좌측 대퇴부에, 2차 투여는 우측 대퇴부에 실시하였다.

2. 방법

본 시험은 식품의약품안전청 고시 제 2012-121호 (2012년 12월 18일) ‘비임상시험관리기준’³¹⁾ 및 식품의약품안전청 고시 제 2012-86호 (2012년 08월 24일) ‘의약품등의 독성시험기준’³²⁾, 천연물의약품 비임상자료 가이드라인 (2011년 10월)³³⁾에 따라 수행되었다. 본 실험의 수행기간은 2012. 12. 27부터 2013. 3. 20까지 이다.

1) 랫드

(1) 일반증상 관찰

모든 동물에 대하여 매일 1회 일반증상관찰을 실시하였고, 투여 당일에는 투여 30분 후, 이후 6시간까지 매 시간 마다 관찰하였다. 일반증상관찰은 투여 후 14일까지 실시하였다.

(2) 체중변화

모든 동물에 대하여 입수, 군 분리, 투여 전, 투여 후 1, 7 및 14일째(부검 전)에 측정하였다.

(3) 부검소견

투여 후 14일째에 모든 생존동물을 CO₂가스를 이용하여 마취시킨 후 개복하여 후대정맥과 복대동맥을 절단하

는 방법으로 방혈 치사시켜 장기에 대한 육안적인 부검소견을 관찰하였다.

(4) 자료의 평가 및 통계학적 검정

랫드의 모든 실험동물의 체중은 평균 및 표준편차로 정리한 Table과 Figure를 이용하여 경향을 분석하였으며, 부형제 대조군과 실험물질 투여군 간의 체중변화는 일원 배치 분산분석(one-way ANOVA test)을 이용하여 군간 비교하였다. 상용으로 널리 사용되는 통계 패키지인 SPSS 12.0 K 프로그램을 이용하였다.

2) 비글견

(1) 일반증상

실험기간 동안 사망여부, 일반증상의 종류, 발현일 및 증상의 정도를 1일 1회 관찰하여 개체별로 일반증상 관찰 기록지에 기록하였다. 단, 투여당일에는 투여 후 1시간까지는 지속적으로, 이후에는 투여 후 6시간째까지 매 시간 관찰하였다. 2차 투여 후 14일까지 일반증상 관찰을 실시하였다.

(2) 체중변화

모든 동물에 대해서는 입수, 군 분리, 투여동물에 대해서는 1차 투여당일, 1차 투여 후 1일, 2차 투여당일, 2차 투여 후 1, 3, 7 및 14일에 체중을 측정하였다.

(3) 부검소견

2차 투여 후 14일째에 생존한 투여동물에 대하여 pentobarbital (엔토발, 한림제약)을 이용하여 마취하에 액와 동정맥(Axillary artery & vein)을 절단하는 방법으로 방혈하여 안락사 시킨 다음, 부검하여 외부소견, 피하, 복강장기, 흉강장기 및 뇌 등 전 장기에 대하여 부검소견을 기록하였다.

(4) 자료의 평가 및 통계학적 검정

실험동물의 수가 충분하지 않기 때문에 얻어진 자료에 대한 통계분석은 실시하지 않았다.

결과»»»»

1. 랫드

1) 사망률 및 일반증상

실험기간 동안 사망동물과 특이한 일반증상은 관찰되지 않았다(Table II).

2) 체중변화

모든 실험동물에서 정상적인 체중증가가 관찰되었고 통계학적 검정결과, 암수 모든 실험군에서 유의한 체중변화는 관찰되지 않았다(Table III).

3) 부검소견

실험종료 시, 수컷 4.6 mg/kg 투여군 1례에서 좌측 신장의 신우확장이 관찰되었으며 기타 시험물질 투여군 및 부형제 대조군에서는 특이한 육안소견은 관찰되지 않았다(Table IV).

Table II. Mortality and Other Adverse Events of SD Rats in Single-dose Intramuscular Toxicity Testing with Shinbaro Pharmacopuncture

Group (Dose (mg/kg))	Mortality (deaths/total)		Other adverse events	
	Male	Female	Male	Female
G1 (0)	0/5	0/5	0/5	0/5
G2 (4,6)	0/5	0/5	0/5	0/5
G3 (9,2)	0/5	0/5	0/5	0/5
G4 (18,5)	0/5	0/5	0/5	0/5

Table III. Body Weight of SD Rats in Single-dose Intramuscular Toxicity Testing with Shinbaro Pharmacopuncture

Sex	Group (dose (mg/kg))	Body weight (g)			
		0 day	1 day	7 day	14 day
Male	G1 (0)	304.01±11.65	311.54±13.23	361.10±19.43	416.23±30.60
	G2 (4,6)	300.45±8.41	309.30±10.93	362.87±21.80	415.66±32.74
	G3 (9,2)	302.20±9.74	311.47±12.13	358.00±14.33	417.13±22.79
	G4 (18,5)	286.48±25.91	298.77±20.83	352.01±13.12	399.24±16.86
Female	G1 (0)	192.29±7.49	193.02±6.13	217.44±13.68	241.61±23.43
	G2 (4,6)	192.08±10.96	196.55±9.24	224.34±9.64	250.97±10.89
	G3 (9,2)	188.44±6.69	192.98±11.53	221.94±12.53	246.87±19.29
	G4 (18,5)	188.25±4.95	194.06±8.39	214.01±10.04	235.98±14.87

Table IV. Necropsy Findings of Single-dose Intramuscular Toxicity in SD Rats

Sex	Examined organs	Findings	Group (dose (mg/kg))			
			G1 (0)	G2 (4,6)	G3 (9,2)	G4 (18,5)
Male	All organs	Normal	5/5*	4/5	5/5	5/5
Female			5/5	5/5	5/5	5/5

*Number of animals with abnormal findings/Number of animals examined.

2. 비글견

1) 사망률 및 일반증상

시험기간 중 사망동물은 관찰되지 않았다. 일반증상에서는 2차 투여 후, 사료 남김이 9.2 mg/kg 투여군 수컷에서 투여 후 14일에, 암컷에서는 투여 후 2일부터 4일 및 9일부터 13일까지 관찰되었다(Table V).

2) 체중변화

1차 투여 시 투여 후 1일째 2.3 mg/kg 투여군 수컷 및 4.6 mg/kg 투여군 암수에서 체중감소가 관찰되었다. 2차 투여 시 체중감소가 투여 후 1일째 모든 투여군에서 관찰되었고, 투여 후 7일째에는 9.2 mg/kg 투여군 암수 및 18.5 mg/kg 투여군 암컷에서 체중감소가 관찰되었다. 또한 9.2 mg/kg 암컷에서는 시험기간 동안 체중증가억제가 관찰되었다(Table VI).

3) 부검소견

시험물질의 투여와 관련된 이상 소견은 관찰되지 않았다(Table VII).

고찰»»»»

천연물을 기원으로 하는 한약(생약)은 기존에 한방에서의 질병치료제나 보약의 처방으로 널리 사용되어 왔으며³⁴⁾ 그에 대한 안전성은 단지 오래 전부터 쓰여 왔다는 사실만으로 충분히 검토되고 있지 않았다³⁵⁾. 최근에는 인체에 대한 안전성 문제가 무엇보다 중요시되고 있어 안전성이 확보되지 않은 천연물은 아무리 효능이 뛰어나도 그 이용가치를 인정받지 못하고 있다²⁾. 한약과 원료 한약재의 독성에 대한 체계적인 검증으로 안전성을 확보하는 것은 우수한 한약제제 및 의약품 개발에 매우 중요하다³⁶⁾.

더욱이 약침의 경우에는 인체에서 소화의 과정없이 직접 투여되는 약물이기에 더욱 안전성의 중요도가 높다. Sweet BV 약침³⁷⁾, 황금약침³⁸⁾, 신바로3 약침³⁹⁾ 등의 경우

렛트를 이용하여 약침의 투여경로인 근육투여로 단회독성시험이 보고된바 있다.

이에 본 연구에서는 신바로 약침의 안전성에 대한 자료를 확보하고자 식품의약품안전청의 의약품 등의 독성시험기준에 의거하여 렫트와 비글견에 대한 단회투여독성시험을 실시하였다.

투여경로는 렫트와 비글견 모두 신바로 약침의 임상경로를 바탕으로 근육투여를 실시하였다. 렫트는 부형제 대조군과 3개의 시험군 4.6, 9.2, 18.5 mg/kg으로 각각 수행하였으며, 실험기간 동안 사망동물, 특이한 일반증상 및 체중변화는 관찰되지 않았다. 실험종료 시 모든 생존동물의 부검 결과, 수컷 4.6 mg/kg 투여군 1레에서 좌측 신장의 신우확장이 관찰되었으나 이는 자연발생적으로 흔히 관찰되는 소견으로 시험물질 투여와 관련 없는 것으로 판단되었다. 기타 시험물질 투여군 및 부형제 대조군에서는 특이한 육안소견은 관찰되지 않았다.

비글견은 2.3, 4.6 mg/kg으로 투여하는 시험물질 투여군을 설정하여 군당 암수 각 1마리에 1차투여 한 후, 3일

Table V. Mortality of Beagle Dogs in Single-dose Intramuscular Toxicity Testing with Shinbaro Pharmacopuncture

Administration (i.m*)	Group (dose (mg/kg))	Sex	Animal No.	Mortality/Other adverse events
1st	G1 (2,3)	Male	1	0/0
		Female	3	0/0
	G2 (4,6)	Male	2	0/0
		Female	4	0/0
2nd	G1 (9,2)	Male	1	0/0
		Female	3	0/0
	G2 (18,5)	Male	2	0/0
		Female	4	0/0

*intramuscular.

Table VII. Necropsy Findings of Single-dose Intramuscular Toxicity in Beagle Dogs

Group (dose (mg/kg))	Sex	Animal No.	Examined parts	Necropsy findings
G1 (9.2*→18.5 [†])	Male	1	No gross findings	
	Female	3	No gross findings	
G2 (9.2*→18.5 [†])	Male	2	No gross findings	
	Female	4	No gross findings	

*Dose at 1st administration, [†]Dose at 2nd administration,

Table VI. Body Weight Difference of Beagle Dogs in Single-dose Intramuscular Toxicity Testing with Shinbaro Pharmacopuncture

Administration (i.m*)	Group (dose (mg/kg))	Sex	Animal No.	Body weight (g)					
				Baseline (Day 0)	Day 1	Day 4	Day 7	Day 15	Difference
1st ^{†,‡}	G1 (2,3)	Male	1	9,68	9,72	-	-	-	0,04
		Female	3	8,74	8,70	-	-	-	-0,04
	G2 (4,6)	Male	2	9,12	9,10	-	-	-	-0,02
		Female	4	9,08	9,02	-	-	-	-0,06
2nd ^{§,}	G1 (9,2)	Male	1	9,92	9,86	10,14	9,64	10,26	0,28
		Female	3	9,18	8,82	9,00	8,54	8,86	-0,32
	G2 (18,5)	Male	2	9,30	9,20	9,38	9,40	9,98	-0,32
		Female	4	9,10	8,88	9,26	9,14	9,64	0,54

*intramuscular, [†]Day count from 1st administration, [‡]Day count from 2nd administration, [§]Difference indicates body weight difference between Baseline (Day 0) and Day 1, ^{||}Difference indicates body weight difference between Baseline (Day 0) and Day 14.

간의 회복기간 후, 9.2, 18.5 mg/kg으로 재투여(2차) 하였다. 그 결과 시험기간 중 사망동물은 관찰되지 않았고, 일반증상에서 2차 투여 후 관찰 된 사료남김은 발생빈도 및 용량상관성을 고려해 볼 때, 시험물질과 관련이 없는 우발적인 증상으로 추정되며, 9.2 mg/kg 투여군 암컷에서는 빈번한 사료남김으로 인해 시험기간동안 체중감소가 나타났지만 이러한 변화는 실험동물 공급업체에서 제공한 비글견의 6~7개월령 부근에서 나타나는 변화의 범위 내에서의 변화이고, 부검소견에서도 아무런 이상소견이 관찰되지 않아 시험물질에 의한 독성학적인 의미는 미약한 것으로 판단된다.

이상의 결과로 보아, 본 시험 조건에서 시험물질인 신바로 약침의 반수치사량(LD₅₀, Lethal Dose 50)과 개략의 치사량(ALD, Approximate lethal dose)은 18.5 mg/kg를 상회하는 것으로 판단된다.

따라서 신바로 약침에 대한 독성학적 문제는 안전한 물질로 사료되며, 이를 바탕으로 4주 반복독성을 실시하는 등 지속적인 연구를 진행할 예정이다.

결론»»»»

본 연구는 척추 및 근골격계질환 등에 효과가 있는 신바로 약침의 랫드와 비설치류인 비글견에 대한 단회 근육투여 독성시험을 실시하였다. 랫드는 시험물질인 신바로 약침을 부형제 대조군과 4.6, 9.2 및 18.5 mg/kg 3개의 시험군으로, 비설치류 비글견은 2.3, 4.6 mg/kg으로 투여하는 시험물질 투여군을 설정하여 군단 암수 각 1마리에 단회 근육투여(1차)한 후, 3일간의 회복기간을 두고, 9.2, 18.5 mg/kg으로 재투여(2차)하였다. 2차 투여 후 2주간의 사망률, 일반증상, 체중변화 및 부검소견을 얻었다.

1. 랫드에서 시험기간 중 사망동물 및 특이한 일반증상이 관찰되지 않았다. 비글견에서 시험 기간 중 사망동물은 관찰되지 않았고, 일반증상 관찰 결과, 2차 투여 후 관찰된 사료남김은 발생빈도 및 용량상관성을 고려해 볼 때, 시험물질과 관련이 없는 우발적인 증상으로 추정되며, 9.2 mg/kg 투여군 암컷에서는 빈번한 사료남김으로 인해 시험기간 동안 체중감소가 나타난 것으로 추정된다.

2. 랫드에서 모든 동물이 정상적인 체중증가가 관찰되었으며, 시험군간 통계학적으로 유의한 변화는 관찰되지

않았다. 비글견에서 체중측정 결과, 1차 투여 후 1일과 2차 투여 후 1 및 7일에 체중감소가 관찰되었다. 이러한 변화는 실험동물 공급업체에서 제공한 비글견의 6~7개월령 부근에서 나타나는 범위 내에서의 변화인 것으로 판단된다.

3. 랫드에서 부검결과, 수컷 4.6 mg/kg 투여군 1례에서 좌측 신장의 신우확장이 관찰되었으며 이는 자연발생적으로 흔히 관찰되는 소견으로 시험물질 투여와 관련이 없는 것으로 판단된다. 랫드, 비글견에서 부검결과 아무런 이상소견이 관찰되지 않았다. 시험물질에 의한 독성학적인 의미는 미약한 것으로 판단된다.

이상의 결과를 바탕으로 본 시험조건에서 시험물질 신바로 약침은 랫드의 경우 반수치사량(LD₅₀, Lethal Dose 50)과 비글견의 경우 개략의 치사량(ALD, Approximate lethal dose)은 모두 18.5 mg/kg를 상회하는 것으로 판단된다.

References»»»»

1. Yoo HJ, Park MY, Choi HY, Kim JD. Mouse Single Oral Dose Toxicity Test of *Lonicerae Flos* Aqueous Extracts. *Korean J Orient Int Med*. 2010;31(3):539-553.
2. Kim SH, Lee HS. Acute Oral Toxicity Study of Ethanol Extract of *Curcuma longa* L. in Mice. *Journal of Life Science*. 2014;24(10):1132-1136
3. Kim YH, Seo BI. A A philological study on poisoning and side effects of *Prunellae Spica*. *The Journal of East-West Medicine*. 2012;37(4):7-12.
4. Kim SR, Lee JW, Lim SY, Jung YS, Choi HY, Kim JD. Rat Single Oral Dose Toxicity Test of *Armeniacae Semen*(Including Endocarp). *Korean J Orient Int Med*. 2012;33(2):145-159.
5. Lee JW, Jung YS, Jung TY, Kim JD, Choi HY. Mouse Single Oral Dose Toxicity Test of *Scutellariae Radix* Aqueous Extracts. *Korean J Orient Int Med*. 2013;34(1):46-58.
6. Lee JH, Eum HA, Chung TH, Lee YH, Um YR, Yim NH, Kim DS, Lee JH, Ma JY. Single Dose Oral Toxicity Study of the *Gwibi-tang* Extract in ICR Mice. *The Journal of Oriental Obstetrics & Gynecology*. 2010;23(4):47-56.
7. Kim DC. Oral Dose Toxicity Test of *Sobokchuko-tang*, a Polyherbal Formula in ICR Mice. *J Korean Obstet Gynecol*. 2014;27(1):28-40.
8. Lee JS, Hwang YH, Lee JH, Oh SY, Kim TS, Ma JY. Acute Toxicity Study on *Socheongryong-Tang* and

- Fermented *Socheongryong-Tang* extracts in Mice. Kor J Herbology. 2011;26(4):101-107.
9. Kim SC, Byun JS, Jee SY, Park JH, Byun SH, Lee HS. Single dose toxicity study of *Injinhotang* in rat. The Journal of Oriental Medical Surgery, Ophthalmology & Otolaryngology. 2001;14(2):118-124.
 10. Hwang HY, Jang WS, Baek KM. Mouse Single Oral Dose Toxicity Test of *Chongmyung-tang* Aqueous Extracts. Korean J Orient Int Med. 2014;35(1):37-49.
 11. Choi YT etc. The Acupuncture and Moxibustion. Jipmoondang. 1993;1264-1265,1457-1467.
 12. Kim SB. Pharmacopuncture Therapy of Ischemic stroke. Korean J Pharmacopuncture institute. 1997;1(1):126-137
 13. Kim SH, Lee CH, Lee JS, Cho KH, Kim SO, Cho SH, Cho HK, Lee SM. Anti-Inflammatory Activities of a Herbal Preparation GCSB-5 on Acute and Chronic Inflammation. Kor J Pharmacogn. 2005;36(4):311-317.
 14. Chung HJ, Lee HS, Shin JS, LeeSH, Park BM, Youn YS, Lee SK. Modulation of acute and chronic inflammatory processes by a traditional medicine preparation GCSB-5 both in vitro and in vivo animal models. Journal of Ethnopharmacology. 2010;130(3):450-459.
 15. Lee JY, Ko SH, Lee YJ, Lee SY, Park HJ, Shin TY, Jeon H. Anti-inflammatory Effect of MeOH Extract of *Cibotium barometz* in IFN- γ and LPS-stimulated Mouse Peritoneal Macrophage. Kor J Pharmacogn. 2010;41(2):105-114.
 16. Kim ST, Kim JD, Kim YK. Effect of MeOH Extract of *Cibotium barometz* for Repair and Regeneration of Nogo A-injured Neuroblastoma Cells. Kor J Pharmacogn. 2004;35(2):105-109
 17. Lee DS, Byun SY. Effects of the Dietary Mixture of *Eucommia ulmoides* Oliver on Osteoporosis. Korean J Biotechnol Bioeng. 2011;16(6):614-619.
 18. Yun DY, Park SH, Lee JS. Effects of *Eucommiae Cortex* on Myofiber Type Transition and MyoD Expression in Hind Limb Muscle Atrophy of Rats. J Oriental Rehab Med. 2008;18(1):47-63.
 19. Kim GM, Lee JC, Oh H, Kim CM, Yun YG. A Study on Application of Radix *Saposhnikoviae* Main Blended Prescription From *Donguebogam*. The Kor J Orient Med Prescription. 2006;14(1):11-29.
 20. Shin MK. Jung-Hwa clinical Herbalogy. Seoul : Younglimsa. 2010.
 21. Yoon TJ, Jo SY. Effect of *Acanthopanax senticosus* Extracts on Alcohol Degradation and Anti-Inflammatory Activity in Mice. Korean J Food & Nutr. 2010;23(4): 542-548.
 22. Oriental medical university herbal medicine the National History Compilation Committee. Clinical Traditional Herbalogy. Seoul : Younglimsa. 2006.
 23. Kim CS, Park YK. The therapeutic effect of *Achyranthis Radix* on the collagen-induced arthritis in mice. Kor J Herbology. 2010;25(4):129-135.
 24. Lee MS, Song YK, Lim HH. Effects of Aqueous Extract of *Achyranthes Japonica* on Functional Recovery in Sciatic Nerve after Crushed Sciatic Nerve Injury in Rats. J Oriental ReHab. 2011;21(2):143-158.
 25. Herbal materials Compilation Committee. pharmacognosia. Seoul:Dongmyungsa. 2000:372-373.
 26. Lim TY. Comparative study on the Pharmacological Effects id Kinds of "Dokhwai". J Korean Med. 1987; 8(2):97-98.
 27. Kim JH, Kim SH, Song HJ. Experomental study on Analgesic, Antinflammatory, Anticonvulsive and Toxic Action Scolopendra. J Korean Oriental Med. 1993;14(2): 381-393.
 28. Lee SR, Kim SC, Koo ST, Kim SN, Hwang WJ, Lee GM, Cho NG, Lim KS. Effects of Scolopendrid Water-Alcohol Extract Injection Applied to the Acupuncture Point on the Neuropathic Pain in Rats. The Korean Journal of Meridian & Acupoint. 2004;21(2):47-67.
 29. Lee CH, Kim SH, Lee JS, Cho KH, Kim JS, Cho SH, Lee SM. Evaluation of the Antinociceptive Properties of GCSB-5, a Herbal Formulation. Kor J Pharmacogn. 2005; 36(4):299-304.
 30. Park SW, LeeCH, Kim SH, Cho YJ, Heo JH, Park JG, Cheon HJ, Lee SY, Kim JW, Lee SM. General Pharmacological Study of GCSB-5, a Herbal Formulation. The Journal of Applied Pharmacology. 2006;14(4):194-201.
 31. Ministry of Food and Drug Safety. Based on non-clinical management. Notice of Ministry of Food and Drug Safety No. 2012-121.
 32. Ministry of Food and Drug Safety. Toxicity testing standards, such as drugs. Notice of Ministry of Food and Drug Safety No. 2012-86.
 33. Ministry of Food and Drug Safety. Guidelines of Natural Medicines Non-clinical data. 2011.
 34. Ministry of Food and Drug Safety. Study for the rational management system of functional foods, Ministry of Food and Drug Safety. 2002.
 35. Lee JE, Kim HJ, Choi EK, Chai HY, Yun YW, Kim DJ, Nam SY, Lee BJ, Ahn BW, Kang HG, Kim YB. Four-Week Repeated-Dose Toxicity Study on *Pinellia* Extract. The Korean Journa lof Laboratory Animal Science. 2003;19(3):127-141.
 36. Jung JK, Park YK. Dose range finding study of KOB03, a new polyherbal medicine for the treatment of allergic rhinitis, by oral administration for four weeks in Sprague-Dawley rats. Kor J Herbology. 2012;27(3):101-106.
 37. Kim YJ, Lim CS, Kwon GR. Study of single dose test of Sweet Bee Venom in rats. Journal of Pharmacopuncture. 2009;12(4):5-31.
 38. Byun BI, Seo BI. Safety study on Acute Toxicity of *Scutellariae Baicalensis Radix* Herbal acupuncture

Solution(SBRHA). Journal of The Korea Association of Herbology. 2003;18(4):47-51.

39. Lee JH, Lee IH, Lee JW, Kim EJ, Kim MJ. Single-dose

Intramuscular Toxicity Studies of Shinbaro3 Pharmacopuncture in Sprague-Dawley Rats and Beagle Dogs. Journal of Korean Medicine Rehabilitation. 2015;25(2):73-81.