

生藥의 催畸性에 관한 研究

李 殷 芳

서울大學校 生藥研究所

Teratogenicity of the Extracts of Crude Drugs

Eun-Bang LEE

Natural Products Research Institute, Seoul National University

In order to investigate the side-effects of crude drugs, twenty drugs have been tested for the teratogenic effect in rats. Among seven drugs contained alkaloid as their ingredients, no one showed teratogenic effect, but Veratri rhizoma showed embryotoxic as revealed by severe retardation in growth of the fetuses. The other thirteen drugs which have been used frequently in oriental medicines exhibited no teratogenic effect. Cyclophosphamide used as a reference compound showed severe malformation and retardation in the growth of rat fetuses.

These findings suggest that the drug extracts adopted for the study might have no teratogenic effect in the rats.

현재 漢藥으로 쓰이고 있는 植物性 生藥은 약 400여종을 넘고 있으며 이들 중에는 특히 毒性이 강한것도 있어서 때로는 人體에 副作用을 나타내는 경우가 가끔 발생하고 있다. 그 뿐만 아니라 우리나라에서는 民間藥으로도 많이 쓰이고 있어서 언제나 부작용을 일으킬 위험성이 항상 배제치 못하고 있는 현실에 있다. 그럼에도 불구하고 이러한 生藥에 대하여 실험동물을 통한 毒物學的 研究는 단편적인 약간의 연구가 있을 뿐이고 계통적인 연구는 수행된 바 없다.

더욱이 이러한 生藥의 催畸性에 관한 연구는 우리나라에서 하나도 이루어진 것이 없으며 미국에서는 미국산 여로인 *Veratrum californicum* 이 羊에 있어서 先天的 單眼球形 畸形을 發生시킨다는 보고가 있는 이래¹⁾에 綿羊과 畜牛에서도 역시 單眼球形 頭部畸形의 胎仔를 분만한다고 보고한 바 있다.²⁾ 이에 따라 R.F. Keeler 등³⁾은 그 有毒成分이 cycloamine이라고 하여 확인 보고한 바 한다.

이와같이 催畸性 生藥이 있음에도 불구하고 아직 周知되어 있지 않으며 이들 生藥을 漢藥 혹은 民間藥으로서 국민이 복용하고 있으므로 著者は 현재 쓰이고 있는 生藥이 催畸性이 있는지 없는지 그 기초자료로 삼고자 動物을 이용한 催畸性을 검색하였다.

우선 그 대상 생약은 우리나라 특유의 漢方處方書인 方藥合篇⁴⁾에 기재된 植物性 生藥 235종 중에서 가장 繁用되고 있는 것을 洪⁵⁾의 통계적 자료에서 발취한 13종과 비교적 독성이 강한 alkaloid 함유 생약 7종을 합하여 모두 20종에 대한 검색을 실시하였다.

實驗材料 및 方法

1. 實驗動物

實驗動物은 Sprague-Dawley계 흰쥐로서 생후 8週齡, 체중 160~190g의 것을 사용하였고 飼料는 제일사료(주)의 固型飼料를, 給水는 수도물

을 임의로 섭취토록 하였다. 實驗室은 $21^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 의 溫度에서 動物의 飼育 및 實驗을 실시하였다.

2. 交配 및 妊娠의 判定

임신통물을 얻기 위하여는 經産하지 않은 雌性 흰쥐에 대하여 3~4일간 陰垢像을 smear test에 의하여 관찰하고 有核細胞가 發見되는 proestrus期에 雌性 흰쥐와 雄性 흰쥐 각 一匹씩 一夜间 同居시킨 후 翌朝에 다시 smear test를 실시하여 精子를 확인하면 임신 제 1일로 하고 실험에 사용하였다.

3. 對象生藥

本 實驗에서 채택된 生藥은 alkaloid 함유생약으로 附子(鹽), 胡黃蓮, 玄胡索, 黃柏, 麻黃, 防己, 藜蘆根 등 7종이고 flavonoid 함유생약으로 當歸, 黃芩의 2종이고, saponin 함유생약으로 甘草, 桔梗, 기타 配糖體 함유생약으로 芍藥, 黑丑, 大黃, 精油 함유생약으로 陳皮, 桂皮, 細辛, 川芎의 4종, 기타 茯苓, 地黃 등 모두 20종이다.

4. 生藥엑기스의 調製

生藥은 市販品을 구입하였으며 70% 메타놀로서 水浴上에서 가열 추출하여 여과하고 다시 그 잔사에 대하여 똑같이 실시하여 이 추출액을 합하여 60°C 이하에서 농축하였다. 다시 수욕상에서 가열 건조하여 엑기스를 조제하고 데시케타에 보관하였다.

5. 急性毒性, 投與量 및 投與方法

上記 方法에 의거하여 조제된 엑기스를 1% carboxymethylcellulose 용액에 현탁시켜서 投與하였다. 急性毒性을 보기 위하여는 우선 致死量을 결정하려고 마우스에 2,000mg/kg을 경구투여하여 3일간에 걸친 관찰로서 生死의 判定을 하였다. 4匹의 마우스가 전부 사망치 않으면 致死量(LD)은 2,000mg/kg 이상이 되고 이에 사망하는 마우스가 있으면 LD_{50} 을 정확히 구하려고 시도 하였다. 이 急性毒性의 자료는 흰쥐에 투여하는 엑기스량의 기준을 잡고자 실시한 것이다. 즉, 致死量이 2,000mg/kg 이상일 경우에 있어서 本 催畸性 試驗에 투여하는 양은 그의 1/4용량인 500mg/kg을 최대투여량으로 하였고 LD_{50} 량이 결정되어도 그의 1/4용량을 최대투여량으로 한다는 원칙을 두고 실험에 착수한 것이다. 모든 실험에

있어서 엑기스의 投與方法은 傳來 醫學的인 經口服用方法에 의거하여 經口的으로 投與하였으며 投與期間은 임신 제 7일부터 16일까지의 10일간에 걸쳐서 매일 1회 오전중에 투여하였다.

5. 觀察時期 및 方法

임신된 흰쥐의 剖屍은 임신제 20일에 실시하였다. 즉, 에텔을 넣은 마취병에서 마취하여 치사케 하고 開腹하여 子宮을 摘出한 다음, 다시 子宮을 切開하여 正常 胎仔의 數, 總着床數를 기록했다. 반면에 이들 胎仔에 대하여 口腔을 포함한 外部形態의 異常 有無를 관찰했다. 다음 95% ethanol에 固定하고 alizarin red S 染色을 행하여 骨骼透明標本을 作製하고 骨骼形成異常의 有無를 관찰하였다. 또한 外形異常을 나타내지 않은 胎仔의 일부에 대하여 Bouin液에 固定 후, Wilson法⁶⁾에 의하여 內臟異常의 有無를 관찰하였다.

實驗 結果

1. 急性毒性

20종 生藥의 엑기스에 대한 마우스 경구투여시의 致死量은 表 I에 표시한바와 같다. 전부의 엑기스에서 2,000mg/kg의 투여에도 마우스를 치사치 못함을 알 수 있다. 일반적으로 附子는 맹독성을 나타내지만 본 실험에서 사용한 鹽附子는 독성이 거의 없음을 알 수 있다.

2. Cyclophosphamide의 催畸性

Cyclophosphamide를 임신 제 13일에 30mg/kg을 복강내 투여하고 제 20일에 剖檢하여 胎仔를 摘出한 결과, Fig. 1에 나타난 그림과 같다. 사진 B 및 C에서 보는 바와같이 頭蓋形成의 異常 및 上腕形成 不全症 및 指缺損症을 일으킨다.

흰쥐 6匹에 대한 실험의 결과는 Table II와 같다. 胎仔 63匹중에서 56匹이 外形異常을 나타냈다. 또한 이 化合物을 임신 12, 13, 14일에 투여하였을 경우에 나타난 胎仔의 사진은 Fig. 2와 같이 發育不全상태이며 특히 骨形成이 不良하여 쉽게 파손됨을 알 수 있었다. 그러나 妊娠黃體는 매우 잘 形成되어 있음을 사진 C에서 알 수 있다.

3. 生藥엑기스가 胎仔에 미치는 影響

Table I. Acute toxicity of the extracts of crude drugs in mice.

Drug name	MLD(mg/kg po)
<i>Aconiti Tuber</i> (鹽附子)	>2,000
<i>Angelicae gigantis Radix</i> (當歸)	>2,000
<i>Asiasari Radix</i> (細辛)	>2,000
<i>Aurantii Pericarpium</i> (陳皮)	>2,000
<i>Cinnamomi Cortex</i> (桂皮)	>2,000
<i>Cnidii Rhizoma</i> (川芎)	>2,000
<i>Picrorrhizae Radix</i> (胡黃蓮)	>2,000
<i>Corydalis Tuber</i> (玄胡索)	>2,000
<i>Ephedrae Herba</i> (麻黃)	>2,000
<i>Glycyrrhizae Radix</i> (甘草)	>2,000
<i>Hoelen</i> (茯苓)	>2,000
<i>Paeoniae Radix</i> (芍藥)	>2,000
<i>Pharbitis Semen</i> (黑丑)	>2,000
<i>Phellodendari Cortex</i> (黃柏)	>2,000
<i>Platycodi Radix</i> (桔梗)	>2,000
<i>Rhei Rhizoma</i> (大黃)	>2,000
<i>Rhemanniae Radix</i> (地黃)	>2,000
<i>Scutellariae Radix</i> (黃芩)	>2,000
<i>Sinomenii Radix</i> (防己)	>2,000
<i>Veratri Rhizoma</i> (藜蘆)	>2,000

鹽附子, 胡黃蓮, 玄胡索, 麻黃, 黃柏, 防己, 藜蘆등을 투여한 결과에 대하여 Table III에 표시한 바와 같다. 이들 7종의 alkaloid 함유생약이 胎仔에 催畸性を 나타내지 않았다. 그러나 여로근의 경우에는 500mg/kg의 투여시에 6匹중에서 2匹는 전연 임신하지 않았으며 임신한 4匹도 胎仔가 吸收 혹은 變質된 상태가 10%정도 있을 뿐만 아니라 Fig. 3 및 4에서 보는 바와 같이 胎仔의 크기가 對照群의 것보다 매우 작음을 알 수 있는 바, 이것은 여로근이 璪취에 있어서 胎仔毒성을 나타냄을 의미하는 것이다. 骨形成異常 有無 및 內장관찰의 결과도 아무런 기형을 찾아볼 수 없었다.

當歸, 黃芩, 甘草, 桔梗에 대한 胎仔에 미치는 영향에 대하여 Table IV에 표시하였다. 아무런 催畸性を 찾아볼 수 없다. 精油含有生藥에 대한 催畸性시험의 결과도 Table V에 표시하였는 바, 아무런 胎仔에 대한 영향을 나타내지 않았다. 川芎의 경우에 1匹에서 임신을 하지 않았으나 이것은 璪취에서는 임신을 반드시 100%가 아니기 때문에 이것만으로 임신의 억제나 胎仔毒성을 나타냈다고 말할 이유는 될 수 없다. 특히 胎仔의 크기는 대조군과 유사하기 때문이다.

Table II. Teratogenic effect of cyclophosphamide in the rats.

Drug	dose ^{a)} (mg/kg ip)	No. pregn. / No. treat.	Implant. site (M±S.E)	Live fetus (M±S.E)	No. of gross anomalies
Control	—	10/10	11.3±2.30	11.0±2.13	0
Cyclophosphamide	30	6/6	10.8±2.45	10.5±2.31	56(M=9.3)

a) Dosing was performed on 13th day of pregnancy.

Table III. The effect of alkaloid-containing extracts on the fetuses of rats.

Drug extract	Dose (mg/kg po)	No. pregn. / No. treat.	Implant. site (M±S.E)	Live fetus (M±S.E)	No. of gross anomalies	No. of skeletal anomalies
Control	—	10/10	11.5±2.61	11.2±2.63	0	0
<i>Aconiti Tuber</i> (鹽附子)	250	6/6	10.8±3.21	10.0±2.21	0	0
	500	6/6	12.1±2.36	11.5±2.01	0	0
<i>Picrorrhizae Radix</i> (胡黃蓮)	250	6/6	11.1±1.28	10.8±2.21	0	0
	500	6/6	12.1±3.21	12.0±2.31	0	0
<i>Corydalis Tuber</i> (玄胡索)	500	6/6	10.8±2.21	10.7±2.26	0	0
<i>Ephedrae Herba</i> (麻黃)	500	6/6	11.6±3.23	10.8±3.42	0	0
<i>Phellodendri Cortex</i> (黃柏)	500	6/6	12.0±4.01	11.8±3.08	0	0
<i>Sinomenii Radix</i> (防己)	500	6/6	10.5±2.41	10.3±2.39	0	0
<i>Veratri Rhizoma</i> (藜蘆)	250	5/6	10.8±2.51	9.5±2.46	0	0
	500	4/6	10.0±2.01	9.0±2.02	0	0

Table IV. The effect of flavonoid or saponin-containing extracts on fetuses of rats.

Plant extract	Dose (mg/kg po)	No. pregn. / No. treat.	Implant. site (M±S.E)	Live fetus (M±S.E)	No. of gross anomalies	No. of skeletal anomalies
Control	—	10/10	12.0±3.10	12.0±3.10	0	0
<i>Angelicae gigantis Radix</i> (當歸)	500	6/6	11.7±3.71	11.4±3.61	0	0
<i>Scutellariae Radix</i> (黃芩)	500	6/6	10.8±1.21	10.1±1.26	0	0
<i>Glycyrrhizae Radix</i> (甘草)	250	6/6	10.4±1.36	10.2±1.21	0	0
	500	6/6	10.2±1.51	10.0±1.30	0	0
<i>Platycodi Radix</i> (桔梗)	500	6/6	11.2±3.01	11.0±2.86	0	0

Table V. The effect of essential oil-containing extract on fetuses of rats

Plant extract	Dose (mg/kg po)	No. pregn. / No. treat.	Implant. site (M±S.E)	Live fetus (M±S.E)	No. of gross anomalies	No. of skeletal anomalies
Control	—	9/10	10.5±2.21	10.2±2.32	0	0
<i>Asiasari Radix</i> (細辛)	250	6/6	11.4±3.21	10.8±3.36	0	0
	500	6/6	11.4±2.72	11.4±2.70	0	0
<i>Aurantii Pericarpium</i> (陳皮)	500	6/6	11.4±3.21	11.0±2.74	0	0
<i>Cinnamomi Cortex</i> (桂皮)	500	6/6	10.8±2.12	10.5±2.24	0	0
<i>Cnidii Rhizoma</i> (川芎)	500	5/6	11.8±2.36	11.3±2.32	0	0

Table VI. The effect of extracts contained glycosides or others on the fetuses of rats.

Plant extract	Dose (mg/kg po)	No. pregn. / No. treat.	Implant. site (M±S.E)	Live fetus (M±S.E)	No. of gross anomalies	No. of skeletal anomalies
Control	—	10/10	12.1±1.52	11.8±1.02	0	0
<i>Paeoniae Radix</i> (芍藥)	500	6/6	11.1±2.51	10.9±2.01	0	0
<i>Pharbitis Semen</i> (黑丑)	500	6/6	10.8±1.02	10.2±1.22	0	0
<i>Rhei Rhizoma</i> (大黃)	500	6/6	11.2±1.03	11.0±1.12	0	0
<i>Holen</i> (茯苓)	500	6/6	10.4±2.21	10.3±2.01	0	0
<i>Rhemanniae Radix</i> (地黃)	500	6/6	10.7±2.04	10.5±2.01	0	0

芍藥·黑丑·大黃·地黃이 흰쥐의 태仔에 미치는 영향도 관찰되지 않았으며 정상적인 대조군과 유사한 태仔를剖檢하였다(Table VI).

考察 및 結論

본 연구에 있어서 cyclophosphamide는 흰쥐의 임신 13일에 단 한번의 투여로서 태仔에 催畸性을 나타냈다. Cyclophosphamide는 투약 12~24 시간만에 세포의 芽體에 공격을 가하여 조직을 파괴시키고, 이어서 핵붕괴, 핵농축, 핵막의 과

염색성등으로 조직 붕괴 과정이 진행되는 것으로 알려져 있다.⁷⁾

7種의 alkaloid 함유생약에 있어서 藜蘆란이 태仔毒性을 나타냈다. 본 식물인 *Veratrum album* 중에는 eratramine, jervine, cevadine, veratrosine, protoveratrine 등의 alkaloid가 함유되어 있으나 *Veratrum californium*에서 催畸性成分으로 알려진 cyclopamine이 함유되어 있다는 문헌적 보고는 찾아 볼 수 없다. 그러나 이 성분이 *Veratrum album*에 存在하지 않은지, 함유되었어도 소량밖에 없는지 혹은 이 성분이 흰쥐에서는 催畸性이

없는지에 관하여는 보다 더 충분한 연구가 必要하다고 본다. *Veratrum californicum*이 羊이나 畜牛에서 催畸性이 있는데 *Veratrum album*이 흰쥐에서는 催畸性이 없다는 본 연구의 결과는 다른 異種 動物에 대한 실험의 必要性을 느끼게 된다. 실제로 催畸性의 연구는 種差나 약물의 투여방법등의 여러가지 조건에 따라서 다른 결과를 얻기 때문에 본 연구의 흰쥐에 대한 결과가 人體에 催畸性을 발생치 않는다고 단정할 수는 없는 일이다. 다만 藜蘆根이 胎仔에 毒性을 나타냄으로 임신중에는 절대 복용을 피해야 할 일이다. 그밖의 6종의 alkaloid 함유생약에서도 仔胎에 미치는 아무런 영향을 찾아볼 수는 없으나 이것은 그 生藥중에 알칼로이드의 함량이 적은 이유에서 나타날 수 있는 副作用이 陰性으로 나타날 가능성을 배제하지 못한다고 생각된다.

다른 13종의 繁用 生藥에서도 아무런 胎仔에 대한 毒作用이 나타나지 않았다. 실제로 이들은 모두 毒性이 적으나 매우 자주 쓰이는 生藥이므로 임신중에 복용할 確率이 높기 때문에 실험대상으로 선택된 것이다.

결론적으로 볼때, 선택된 20종의 생약에 있어서 흰쥐의 胎仔에 催畸性을 나타낸 생약은 하나

도 없었다. 다만 藜蘆에서는 胎仔에 發育을 심하게 抑制한다는 것을 알 수 있었다. 그러나 이 *Veratrum album*이 人體에 催畸性이 없다고는 말할 수 없다. 대조물질로 사용한 cyclophosphamide는 임신 13일만에 단 1회의 투여로서 심한 催畸性을 나타냈다.

謝辭—本 研究는 文教部 研究費의 補助에 의거하여 수행된 것이다. 이에 깊은 감사를 표하는 바이다.

<1982년 9월 3일 접수>

參 考 文 獻

1. W. Binns, L.F. James, J.L. Shupe and G. Everett: *Am. J. Vet. Res.*, 24, 1164 (1963)
2. W. Binns: Unpublished data (1969)
3. R.F. Keeler and W. Binns: *Teratol.*, 1, 5 (1968)
4. 黃度淵: 方藥合篇 (1885).
5. 洪文和: 生藥學會誌, 3, 57 (1972)
6. M.J. Cook and D.F. More: *Br.J. Exp. Pathol.*, 2, 150 (1967)
7. K. Zeiges and W. Schmidt: *Z. Zellforsch.*, 40, 578 (1957)

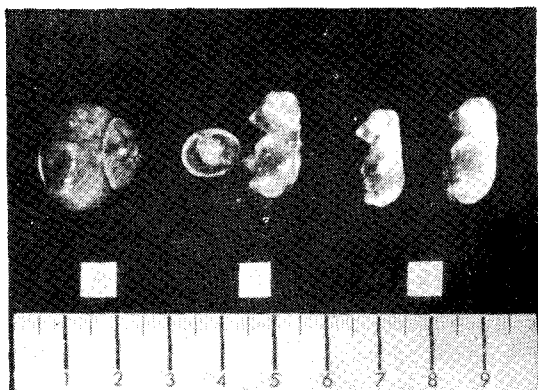


Fig. 1. Teratogenic effect of cyclophosphamide in the rat as administered on 13th day of pregnancy.

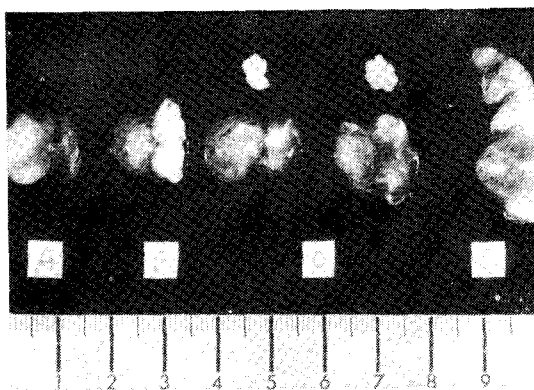


Fig. 2. Malformation of fetuses of rats after administration of cyclophosphamide on 12, 13 and 14th day of pregnancy.

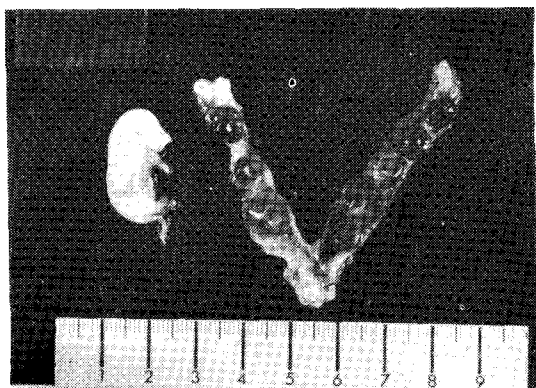


Fig. 3. Degeneration of fetuses of rats given with the extract of *Veratri Rhizoma*.

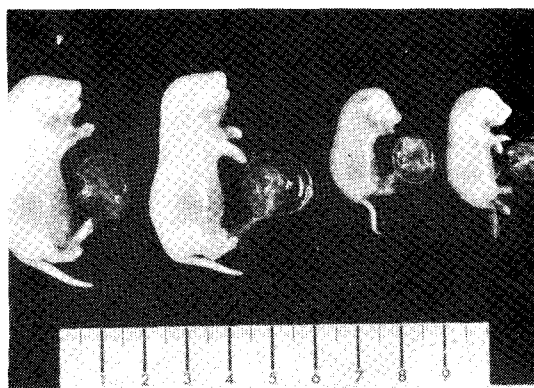


Fig. 4. Retardation of growth in fetuses of rats given with the extract of *Veratri Rhizoma*.