

牛黃·熊膽藥鍼液(BU)의 急性毒性에 관한 實驗的 研究

소경순·정찬길·김광호*·이상운·박병모·김재형·강대인·조후리

Abstract

Experimental studies on the Acute Toxicity of *Bos taurus* · *Ursus thibetanus* extract solution(BU) for Herbal-acupuncture

kyung-sun soh · Chan-Gil Jeong · Kwang-Ho Kim* · Sang-Woon Lee · Pyung-MO Park · Jae-Hyung Kim · Dae-In Kang · Hoo-Lee Jo

College of Oriental Medicine, Semyung University, Jaecheon, Korea

This experiment was carried out to study on the safety assessment of *Bos taurus* · *Ursus thibetanus* extract solution(BU) for Herbal-acupuncture. SD rats and ICR mice were used for acute toxicity test.

the results were summerized as follows;

1. In rats and mice, LD50 value could not be measured.
2. There were no abnormal finding in acute toxicity test treated BU for Herbal-acupuncture

Key words : Acute, Toxicity, *Bos taurus*, *Ursus thibetanus*, Herbal-acupuncture

1. 緒 論

藥鍼療法은 鍼灸·經穴 理論과 本草理論에 의하여 각종의 한약재를 일정한 방법으로 제조하여 經穴이나 壓通點에 주입하여 刺針과 藥物作用을 통하여 질병을 치료하는 新鍼療法이다¹⁾. 藥鍼의 종류로는 經絡藥鍼, 八綱藥鍼, 紫河車 藥鍼, 蜂藥鍼 등이 있다²⁾. 이중 經絡藥鍼은 반응점, 경결점에 한약 성분을 주입하여 면역기능을 증진시키는 藥鍼療法으로서, 일반적으로 질병치료에 안전하고 금기증은 없으며, BU(우황+웅담), BUM(우황+웅담+사향), CF(홍화), JsD(호도), CC(녹용) 등이 이용되고 있다³⁾.

BU는 우황(*Bos taurus*)와 웅담(*Ursus thibetanus*) 건조 분말을 1:1 비율로 혼합 조제한 藥鍼液으로 臨床에서 만성비염, 만성중이염, 만성위염 등의 치료에 이용되고 있으며, 患部に 過量 注入하였거나 深刺하였을 때 발열, 부종, 동통 등의 부작용이 있다⁴⁾고 하였다.

BU의 實驗的 研究로는 노⁵⁾의 牛黃加熊膽藥針液이 頭痛에 미치는 임상적 연구, 황⁶⁾의 우황·웅담 약침이 Adjuvant 관절염에 미치는 영향, 나⁷⁾의 웅담·우황 약침의 효능 관찰을 위한 미세구조적 연구, 차⁸⁾의 '웅담(熊膽)·우황(牛黃) 및 향일규유약(向日葵油藥)침자극이 생쥐 피부암의 면역기능에 효능에 대한 연구 등이 있다. 이들의 실험 결과 효능이 있는 것으로 보고되어있고, 임상에서도 이용되고 있는 만큼 BU의 安全性 검토가 필요하게 되었다.

* 교신저자 : Dept. of oriental preventive medicine, College of Oriental Medicine, Kyung hee University, Seoul, Korea

이에 저자는 BU의 安全性을 검토하기 위하여 '의약품등의 독성시험기준' 등에 의거한 단회독성시험을 하였으며, BU에 의한 독성실험으로 LD50값, 일반증상 관찰, 체중 측정, 육안적 해부소견을 관찰하여 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 藥 液 製 造

1) 藥 材

藥鍼에 사용된 응담과 우황은 시중에서 구입하여 사용하였다.

2) 製 造 方 法

藥鍼學會 연구실 무균실에서 우황15g, 응담15g을 막자사발로 분쇄한 후 비이커에 넣고 증류수1000cc를 부어 전자 마그네틱 교반기(Tost MS 300, KOREA)를 사용하여 3시간 정도 교반하고, (1차 추출) 냉장고에 넣어 둔 후 상층액을 분리하여 따로 보호하고 남은 찌거기에 다시 증류수를 부어 전자 마그네틱 교반기로 교반하였다. (2차 추출) 이와 같은 방법을 반복하여 3차 추출 후에 1,2,3차에 걸쳐 분리하여 보관하였던 추출용액 모두를 여과지(와트만2번, 8 μ m)로 여과하여 그 여액을 rotary vacuum evaporator (EYELA, JAPAN)로 70°C에서 3시간 감압농축하였다. 농축된 량을 측정하여 90% 알코올로 조정된 뒤 1시간 교반하여 여과지(와트만2번, 8 μ m)로 여과하여 그 여액을 rotary vacuum evaporator로 최대한 농축한 후, 다시 농축된 량을 측정하여 80% 알코올로 조정된 뒤 1시간 교반하여 여과지(와트만2번, 8 μ m)로 여과하여 그 여액을 rotary vacuum evaporator로 최대한 농축한다. 다시 농축된 량을 측정하여 70% 알코올로 조정된 뒤 1시간 교반하여 여과지(와트만2번, 8 μ m)로 여과하여 그 여액을 rotary vacuum evaporator로 최대한 농축한 후 알코올 완전 휘발시키기 위하여 증류수를 약간 더 넣어 rotary vacuum evaporator로 재 감압농축 한 후 전량을 200cc~300cc로 하여 0.45 μ m, 0.1 μ m 여과지로 여과하여 freezing dryer(일신, Korea)로 동결 건조하여 우황.응담 건조분말 19.124g 얻었다.

2. 急 性 實 驗

1) 실험동물

단회독성시험으로 암컷 160 \pm 20g, 수컷180 \pm 20g의 Sprague-Dauley계 흰쥐와 암컷 16 \pm 2g, 수컷18 \pm 2g의 ICR계 생쥐로 특정병원체부재(SPF)동물을 사용하였으며, 실험실 환경에서 1주일 적응시킨 후 일반상태를 관찰하여 건강한 동물만 사용하였다.

2) 사육환경

본 시험은 온도 22 \pm 2°C, 상대습도 50 \pm 10%, 조명시간 12시간(07:00~19:00), 조도 100~150 Lux로 설정된 animal control chamber에서, 26 \times 42 \times 18cm의 케이지에 암수 각각 5마리씩 사육하였으며, 고품사료(삼양, 소실험동물용)와 물(상수도)을 자유 섭취시켰다.

3) 군분리 및 동물식별

실험실 환경에서 1주일 적응시킨 후 일반상태를 관찰하여 건강한 동물만 선택하여 평균 체중 \pm 20%이내의 동물만 무작위법으로 群을 분리하였다. 동물개체식별은 피모색소 마킹법과 Tag표시법으로 하였다.

4) 투여량 설정

최고용량은 시험물질을 8.00mg/kg로 하고 그용량에 일정한 공비(\times 0.5)로 5단계를 설정하였으며, 대조물질은 주사용증류수(중외제약)로 하였고, 각각의 물질을 1회 피하투여 하였다.

5) 시험물질의 투여

26G, 1 $\frac{1}{2}$ " 주사바늘과 1.0ml 주사기를 이용하여 背部의 皮下에 1회 투여하였다.

6) 관찰 및 검사항목

(1) 一般狀態 및 斃死動物의 관찰

투여 후 1,2,3,4,5,6,24,48,72시간에 일반상태의 변화, 증독증상, 斃死동물의 有無를 관찰하였다.

(2) 체중변화

시험물질 투여 직전, 투여후 48시간, 72시간에 각각 체중을 측정하였다.

(3) 육안적 해부소견

관찰기간 종료 후 에테르로 마취하고 防血致死 시킨 후 내부 臟器의 육안적 이상 여부를 상세히 관찰하였다.

7) 통계학적 방법

LD50값의 산출은 Litchfield-Wilcoxon법을 이용하였다. 체중에 대한 유의성 검정은 one-way ANOVA에서 유의한 차이가 인정되는 F값일 때 대조군과 각 용량 군간과 비교하기 위하여 Dunnett's test를 하였으며, 발생 병변의 빈도는 χ^2 검정을 하였다.

III. 실험성적 및 결과

1. 致死率

시험 전 기간을 통하여 흰쥐와 생쥐의 암수 모두 斃死動物은 관찰되지 않았다.(Table 1)

2. 임상증상

시험 전 기간을 통하여 흰쥐와 생쥐의 암수 모두에서 본 시험물질에 의한다고 생각되어지는 임상증상은 관찰되지 않았다.(Table 2~13)

Table 1. Mortality of Rats and mice subcutaneously treated with Bos taurus · Ursus thibetanus extract solution(BU)for Herbal-acupuncture

Species	Sex	Dose (mg/kg,B.W.)	Hours after treatment									Final Mortality	
			1	2	3	4	5	6	24	48	72		
Rats	Male	8.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
		4.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
		2.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
		1.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
		0.50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	Female	8.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
		4.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
		2.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
		1.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
		0.50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
Mice	Male	8.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
		4.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
		2.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
		1.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
		0.50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	Female	8.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
		4.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
		2.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
		1.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
		0.50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5

Table 2. Clinical findings SD rats subcutaneously treated with *Bos taurus* · *Ursus thibetanus* extract solution(BU) for Herbal-acupuncture

Sex	Clinical observation dose(8.00mg/kg,B.W.)	Hours after treatment (5)*								
		1	2	3	4	5	6	24	48	72
Male	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0	0
	Motor activities	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Opisthotonus	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Reflex	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ocular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Cardiovascular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Analgesia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Gastrointestinal signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Skin	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Others	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Female	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0
Motor activities		0	0	0	0	0	0	0	0	0
Opisthotonus		0	0	0	0	0	0	0	0	0
Reflex		0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ocular signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cardiovascular signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0
Piloerection		0	0	0	0	0	0	0	0	0
Analgesia		0	0	0	0	0	0	0	0	0
Muscle tone		0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gastrointestinal signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0
Skin		0	0	0	0	0	0	0	0	0
Others		0	0	0	0	0	0	0	0	0

(5)* : No. of animals observed.

Table 3. Clinical findings SD rats subcutaneously treated with *Bos taurus* · *Ursus thibetanus* extract solution(BU) for Herbal-acupuncture

Sex	Clinical observation dose(4.00mg/kg,B.W.)	Hours after treatment (5)*								
		1	2	3	4	5	6	24	48	72
Male	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0	0
	Motor activities	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Opisthotonus	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Reflex	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ocular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Cardiovascular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Analgesia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Gastrointestinal signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Skin	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Others	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Sex	Clinical observation dose(4.00mg/kg,B.W.)	Hours after treatment (5)*									
		1	2	3	4	5	6	24	48	72	
Female	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Motor activities	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Opisthotonus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Reflex	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ocular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Cardiovascular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Analgesia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Gastrointestinal signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Skin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Others	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(5)* : No. of animals obserbed.

Table 4. Clinical findings SD rats subcutaneously treated with Bos taurus · Ursus thibetanus extract solution(BU) for Herbal-acupuncture

Sex	Clinical observation dose(2.00mg/kg,B.W.)	Hours after treatment (5)*									
		1	2	3	4	5	6	24	48	72	
Male	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Motor activities	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Opisthotonus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Reflex	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ocular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Cardiovascular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Analgesia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Gastrointestinal signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Skin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Others	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Female	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0	0
Motor activities		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Opisthotonus		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Reflex		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ocular signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cardiovascular signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Piloerection		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Analgesia		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Muscle tone		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gastrointestinal signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Skin		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Others		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(5)* : No. of animals obserbed.

Table 5. Clinical findings SD rats subcutaneously treated with *Bos taurus* · *Ursus thibetanus* extract solution(BU) for Herbal-acupuncture

Sex	Clinical observation dose(1.00mg/kg,B.W.)	Hours after treatment (5)*									
		1	2	3	4	5	6	24	48	72	
Male	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Motor activities	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Opisthotonus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Reflex	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ocular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Cardiovascular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Analgesia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Gastrointestinal signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Skin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Others	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Female	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0	0
Motor activities		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Opisthotonus		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Reflex		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ocular signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cardiovascular signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Piloerection		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Analgesia		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Muscle tone		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gastrointestinal signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Skin		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Others		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(5)* : No. of animals obserbed.

Table 6. Clinical findings SD rats subcutaneously treated with *Bos taurus* · *Ursus thibetanus* extract solution(BU) for Herbal-acupuncture

Sex	Clinical observation dose(0.50mg/kg,B.W.)	Hours after treatment (5)*									
		1	2	3	4	5	6	24	48	72	
Male	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Motor activities	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Opisthotonus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Reflex	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ocular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Cardiovascular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Analgesia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Gastrointestinal signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Skin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Others	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Sex	Clinical observation dose(0.50mg/kg,B.W.)	Hours after treatment (5)*								
		1	2	3	4	5	6	24	48	72
Female	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0	0
	Motor activities	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Opisthotonus	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Reflex	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ocular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Cardiovascular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Analgesia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Gastrointestinal signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Skin	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Others	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(5)* : No. of animals obserbed.

Table 7. Clinical findings SD rats subcutaneously treated with Bos taurus · Ursus thibetanus extract solution(BU) for Herbal-acupuncture

Sex	Clinical observation dose(0mg/kg,B.W.)	Hours after treatment (5)*									
		1	2	3	4	5	6	24	48	72	
Male	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Motor activities	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Opisthotonus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Reflex	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Ocular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Cardiovascular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Analgesia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Muscle tone	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Gastrointestinal signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Skin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Others	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Female	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0	0
		Motor activities	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Opisthotonus	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Reflex		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Ocular signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Cardiovascular signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Piloerection		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Analgesia		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Muscle tone		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Gastrointestinal signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Skin		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Others		0	0	0	0	0	0	0	0	0	

(5)* : No. of animals obserbed.

Table 8. Clinical findings ICR Mice subcutaneously treated with *Bos taurus* · *Ursus thibetanus* extract solution(BU) for Herbal-acupuncture

Sex	Clinical observation dose(8.00mg/kg,B.W.)	Hours after treatment (5)*									
		1	2	3	4	5	6	24	48	72	
Male	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Motor activities	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Opisthotonus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Reflex	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ocular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Cardiovascular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Analgesia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Gastrointestinal signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Skin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Others	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Female	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Motor activities	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Opisthotonus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Reflex	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ocular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Cardiovascular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Analgesia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Gastrointestinal signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Skin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Others	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(5)* : No. of animals observed.

Table 9. Clinical findings ICR Mice subcutaneously treated with *Bos taurus* · *Ursus thibetanus* extract solution(BU) for Herbal-acupuncture

Sex	Clinical observation dose(4.00mg/kg,B.W.)	Hours after treatment (5)*									
		1	2	3	4	5	6	24	48	72	
Male	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Motor activities	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Opisthotonus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Reflex	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ocular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Cardiovascular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Analgesia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Gastrointestinal signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Skin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Others	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Sex	Clinical observation dose(4.00mg/kg,B.W.)	Hours after treatment (5)*								
		1	2	3	4	5	6	24	48	72
Female	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0	0
	Motor activities	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Opisthotonus	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Reflex	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ocular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Cardiovascular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Analgesia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Gastrointestinal signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Skin	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Others	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(5)* : No. of animals obserbed.

Table 10. Clinical findings ICR Mice subcutaneously treated with Bos taurus · Ursus thibetanus extract solution(BU) for Herbal-acupuncture

Sex	Clinical observation dose(2.00mg/kg,B.W.)	Hours after treatment (5)*									
		1	2	3	4	5	6	24	48	72	
Male	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Motor activities	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Opisthotonus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Reflex	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Ocular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Cardiovascular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Analgesia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Muscle tone	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Gastrointestinal signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Skin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Others	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Female	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0	0
		Motor activities	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Opisthotonus		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Reflex		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Ocular signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Cardiovascular signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Piloerection		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Analgesia		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Muscle tone		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Gastrointestinal signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Skin		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Others		0	0	0	0	0	0	0	0	0	

(5)* : No. of animals obserbed.

Table 11. Clinical findings ICR Mice subcutaneously treated with *Bos taurus* · *Ursus thibetanus* extract solution(BU) for Herbal-acupuncture

Sex	Clinical observation dose(1.00mg/kg,B.W.)	Hours after treatment (5)*								
		1	2	3	4	5	6	24	48	72
Male	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0	0
	Motor activities	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Opisthotonus	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Reflex	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ocular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Cardiovascular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Analgesia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Gastrointestinal signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Skin	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Others	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Female	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0
Motor activities		0	0	0	0	0	0	0	0	0
Opisthotonus		0	0	0	0	0	0	0	0	0
Reflex		0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ocular signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cardiovascular signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0
Piloerection		0	0	0	0	0	0	0	0	0
Analgesia		0	0	0	0	0	0	0	0	0
Muscle tone		0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gastrointestinal signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0
Skin		0	0	0	0	0	0	0	0	0
Others		0	0	0	0	0	0	0	0	0

(5)* : No. of animals obserbed.

Table 12. Clinical findings ICR Mice subcutaneously treated with *Bos taurus* · *Ursus thibetanus* extract solution(BU) for Herbal-acupuncture

Sex	Clinical observation dose(0.50mg/kg,B.W.)	Hours after treatment (5)*								
		1	2	3	4	5	6	24	48	72
Male	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0	0
	Motor activities	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Opisthotonus	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Reflex	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ocular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Cardiovascular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Analgesia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Gastrointestinal signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Skin	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Others	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Sex	Clinical observation dose(0.50mg/kg,B.W.)	Hours after treatment (5)*									
		1	2	3	4	5	6	24	48	72	
Female	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Motor activities	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Opisthotonus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Reflex	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ocular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Cardiovascular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Analgesia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Gastrointestinal signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Skin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Others	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(5)* : No. of animals obserbed.

Table 13. Clinical findings ICR Mice subcutaneously treated with Bos taurus · Ursus thibetanus extract solution(BU) for Herbal-acupuncture

Sex	Clinical observation dose(0mg/kg,B.W.)	Hours after treatment (5)*										
		1	2	3	4	5	6	24	48	72		
Male	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Motor activities	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Opisthotonus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Reflex	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Ocular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Cardiovascular signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Analgesia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Muscle tone	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Gastrointestinal signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Skin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Others	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Female	Tachypnea	0**	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Motor activities	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Opisthotonus		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Reflex		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Ocular signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Cardiovascular signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Piloerection		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Analgesia		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Muscle tone		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Gastrointestinal signs		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Skin		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Others		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

(5)* : No. of animals obserbed.

3) 체중변화

흰쥐와 생쥐의 암수 각각 대조군에 비하여 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 투여용량군 간에 용량의존성은 없었다.

4) 육안적 해부소견

흰쥐와 생쥐 암수 각각을 육안적으로 관찰한 결과 BU 투여에 의하여 기인되어지는, 유의할 만한 병변은 없었다.

IV. 考 察

藥鍼療法은 十二經脈, 寄經八脈의 經穴과 經外氣穴, 阿是穴 등의 특정 수혈에 刺針하여 經脈의 기능을 조절하는 鍼灸.經穴이론과, 한약의 氣味에 의하여 인체의 질병을 치료하는 本草理論을 결합시킨 新鍼療法이다¹⁰⁾. 藥鍼은 반응점, 경결점에 약침을 주입하여 면역기능을 증진시키는 經絡藥鍼, 八綱辨證을 위주로 진단하여 배수혈 및 복모혈 등 주요 經穴에 주입하는 八綱藥鍼, 紫河車의 氣味를 추출하여 주로 慢性虛勞 질환을 치료하는 紫河車 藥鍼 및 벌침요법을 객관화, 표준화, 규격화시킨 蜂藥鍼 등이 있다¹¹⁾.

Table 14. Body weight of Rats and mice subcutaneously treated with Bos taurus · Ursus thibetanus extract solution(BU) for Herbal-acupuncture

Species	Sex	Dose (mg/kg, B.W.)	No. of animals examined	Body weight(g)			
				0	48	72 hours	
SD Rats	Male	8.00	5	180±5 ^{a)}	182±3	188±8	
		4.00	5	180±7	183±3	187±8	
		2.00	5	179±5	183±3	186±5	
		1.00	5	180±5	183±4	191±9	
		0.50	5	179±7	182±5	188±6	
		0	5	179±5	183±7	188±5	
		Female	8.00	5	169±7	166±5	174±4
	4.00		5	165±4	169±4	176±4	
	2.00		5	169±7	168±3	175±6	
	1.00		5	167±4	167±8	176±7	
	0.50		5	170±5	168±7	177±4	
	0		5	169±4	170±5	175±4	
	ICR Mice		Male	8.00	5	16.8±0.5	17.7±0.5
		4.00		5	16.6±0.6	17.5±0.7	18.5±0.5
2.00		5		16.8±0.5	17.3±0.6	18.1±0.9	
1.00		5		16.7±0.7	17.4±1.0	18.5±0.8	
0.50		5		16.7±0.3	17.3±0.5	18.3±0.7	
0		5		17.0±0.3	17.3±0.7	18.3±1.1	
Female		8.00		5	16.3±0.7	16.4±0.9	17.0±1.5
		4.00	5	16.4±0.5	16.2±0.5	17.3±1.5	
		2.00	5	16.0±0.5	16.4±0.6	17.4±0.7	
		1.00	5	16.0±0.7	16.5±0.5	17.5±1.4	
		0.50	5	16.4±0.7	16.9±1.0	17.8±0.9	
		0	5	15.8±0.6	16.2±0.4	17.9±1.1	

a) : Mean ± SD

Table 15. Autopsy findings of Rats, Mice subcutaneously treated with Bos taurus · Ursus thibetanus extract solution(BU) for Herbal-acupuncture

Species	Sex	Dose (mg/kg,B.W.)	tk	fd	NAD
SD Rats	Male	8.00	5	0	5
		4.00	5	0	5
		2.00	5	0	5
		1.00	5	0	5
		0.50	5	0	5
		0	5	0	5
	Female	8.00	5	0	5
		4.00	5	0	5
		2.00	5	0	5
		1.00	5	0	5
		0.50	5	0	5
		0	5	0	5
ICR Mice	Male	8.00	5	0	5
		4.00	5	0	5
		2.00	5	0	5
		1.00	5	0	5
		0.50	5	0	5
		0	5	0	5
	Female	8.00	5	0	5
		4.00	5	0	5
		2.00	5	0	5
		1.00	5	0	5
		0.50	5	0	5
		0	5	0	5

tk : Terminal kill.

fd : Found dead.

NAD : No abnormality detected.

經絡藥鍼은 질병을 치료하는데 일반적으로 안전하고 금기증은 없으며, BU(웅담+우황), BUM(웅담+우황+사향), CF(홍화), JSD(호도), CC(녹용) 등이 이용되고 있다¹²⁾.

臨床에서는 BU는 만성비염, 만성중이염, 만성위염 등이 치료에 이용되고 있으며, 부작용으로는 患部에 過量 注入하였거나 深刺하였을 때 發熱, 浮腫, 疼痛 등이 있다¹³⁾.

實驗的 研究로는 '牛黃加熊膽藥針液이 頭痛에 미치는 임상적 연구'¹⁴⁾에서 藥液注入 치료는 단기간내 높은 치료효과와 안이비인후증상을 동반한 두통에 유효하다고 하였고, '우황·웅담 약침이 Adjuvant 관절염에 미치는

영향'¹⁵⁾에서는 우황·웅담 약침은 염증상태를 개선시킴으로써 백서의 Adjuvant 관절염에 유효하게 작용하며 임상 활용을 위해서는 안전성 검사 등의 연구가 계속되어야 한다고 하였다. '웅담·우황 약침의 효능 관찰을 위한 미세구조적 연구'에서는 부자독성에 의하여 손상된 간세포의 회복에 우황·웅담 약침이 주요하게 작용한다고 하였으며, 차¹⁶⁾는 '웅담(熊膽)·우황(牛黃) 및 향일규유약(向日葵油藥) 침자극이 생쥐 피부암의 면역기능에 효능이 있다고 하였다.

이와 같이 BU는 실험적 연구에서 효능이 보고되었으나, 安全性 실험은 없었으며, 또한 임상에서도 이용되고

있는 만큼 BU의 安全性 검토가 필요하게 되었다.

의약품 등의 시험물질 안전성 평가를 하기 위하여 毒性實驗은 중요한 기초자료이며, 필수적이다¹⁰⁾. 시험방법에 의한 의약품 등 화학물질의 안전성 평가를 위하여 실시하는 비임상 독성시험의 표준적인 실시방법에 대한 기준이 우리나라에서는 1982년 10월 1일 '일반독성 실험방법에 관한 규정'이 국립보건원 예규 제 222호로 처음 규정되었고, 1999년 12월 22일 현재 식품의약품안전청에서 식품의약품안전청고시 제1999-61호로 '의약품등의 독성시험기준'이 규정되었다. '의약품등의 독성 시험기준'에는 복합제의 제제별 독성실험에 대한 규정이 있다. 복합제는 유효성분 2가지 이상을 함유하고 있는 의약품으로서 한약은 대부분 복합제에 속하며, 복합제제의 주사제 독성실험에서는 단회투여독성시험, 1개월 반복투여독성시험, 3개월이상 반복투여독성시험을 실시하도록 규정되어 있다. '단회투여독성시험'이라 함은 시험물질을 시험동물에 단회 투여하였을 때 단기간 내에 나타나는 독성을 질적·양적으로 검사하는 시험을 말하며, 개략의 치사량, 일반증상의 매일 관찰기록, 시험기간 중 3회 이상의 체중 측정기록, 관찰기간 종료 후 육안적 해부소견을 기록하도록 되어 있고, 동물의 종류는 1종 이상, 관찰기간은 72시간 이상, 투여방법은 원칙적으로 임상적용 경로이며, 사람에게 적용하는 방법이 정맥주사인 복합제에서 정맥주사시 정확한 LD50값을 구하기 어려운 경우 그 유효성분 및 복합제의 시험을 생략할 수 있다고 규정되어 있다.

LD50값은 시험물질을 시험동물에 투여하였을 때 실험동물의 절반이 죽는 시험물질의 투여량을 말하며, LD50값을 결정하는 것은 어떤 화합물의 독성에 대한 가치 있는 정보를 제공할 수 있지만 급성독성을 평가하는 데 있어서는 용량반응의 기울기, 사망소요시간, 약물독성병세, 병리학적 결합 등이 필수적이다¹¹⁾.

본 실험에서는 식품의약품안전청고시 '의약품등의 독성시험기준' 등에 準하여 Sprague Dawley계 흰쥐와 ICR계 생쥐의 암수 SPF를 사용하여 BU 皮下投與시 단회투여독성을 검사하기 위하여 BU 8.00mg/kg, B.W. 기준으로 흰쥐와 생쥐에 각각 피하투여하고 그 용량에 일정한 公費(×0.5)로 모두 5개 수준으로 설정하여 8.00, 4.00, 2.00, 1.00, 0.50mg/kg, B.W.로 하고, 대조물질은 주사용증류수(중의제약)로 하여 각각의 물질을 1회 피하투여 하였다. BU 투여 후 6시간은 每時間 관찰하고, 그 후 72시간은 1일 1회 호흡, 운동성, 경련, 반사, 안구증세, 심

장, 맥관계 증세, 침흘림, 起毛, 통각결여, 근육긴장, 소화관 증세, 피부 및 기타를 관찰하였다. 체중은 BU투여 직전, 투여 후 48시간, 72시간에 측정하였고, 관찰기간 종료 후 에테르로 마취하고 防血致死시켜 内部臟器를 육안적으로 異常狀態 與否를 상세히 관찰하였다. 시험 全期間동안 흰쥐와 생쥐의 암수 모두 사망 동물은 없었으며, BU에 의한 어떠한 臨床 症狀도 관찰되지 않았고, 체중은 대조군에 比하여 유의한 차이가 나타나지 않았으며, 用量依存性을 나타내지 않았고, 内部臟器에서는 BU에 기인한 病變은 관찰되지 않았다. 이 실험결과에 의하여 BU의 피하투여는 安全한 것으로 思料되며, 지속적으로 아급성독성실험(1개월 반복투여독성시험)과 만성독성실험(3개월 이상 반복투여독성시험) 및 과민반응 등의 실험연구가 필요하다고 思料된다.

V. 결 론

藥鍼用 BU(웅담·우황)의 安全性 평가를 위하여 의약품 등의 독성시험기준에 의거 단회독성실험 한 결과 LD50값은 8.00mg/kg, B.W. 이상이라고 思慮되며, 藥鍼用 BU(웅담50%+우황50%)는 急性毒性을 나타나지 않는 것으로 사료된다.

** 이 연구는 藥鍼學會 연구지원에 의한 연구 결과임

참고문헌

1. 최용태 외. 침구학. 서울. 집문당. 1991; 1457-1458
2. 대한약침학회. 약침요법시술지침서. 서울. 한성인쇄. 1999; 1, 38~200
3. 대한약침학회. 약침요법시술지침서. 서울. 한성인쇄. 1999; 1, 146
4. 대한약침학회. 약침요법시술지침서. 서울. 한성인쇄. 1999; 143
5. 노태석, 노석선. 우황가웅담약침액(牛黃加熊膽藥針液)이 두통에 미치는 임상적 연구. 대한한의학회지 1994; 15(1): 441-450
6. 황병태, 김희철. 우황·웅담 약침이 Adjuvant 관절염에 미치는 영향. 대한약침학회지 1997; 1(1): 35-52
7. 나창수, 김정상. 웅담·우황 약침의 효능 관찰을 위

- 한 미세구조적 연구.대한한의학회지1997;18(1):430-445
8. 차웅석,김재규.웅담(熊膽)·우황(牛黃) 및 향일규유약(向日葵油藥)침자극이 생쥐 피부 암의 면역기능에 미치는 영향.대한침구학회지1993;10(1):9-19
 9. 식품의약품안전청.의약품등의 독성시험기준.식품의약품안전청고시 제1999-61,1999.12.22
 10. 대한약침학회.약침요법시술지침서.서울.한성인쇄.1999:13
 11. 대한약침학회.약침요법시술지침서.서울.한성인쇄.1999:1,138~200
 12. 약침요법의 연혁.대한약침학회.약침요법시술지침서.서울.한성인쇄.1999:1,146
 13. 대한약침학회.약침요법시술지침서.서울.한성인쇄.1999:143
 14. 노태석,노석선.우황가웅담약침액(牛黃加熊膽藥針液)이 두통에 미치는 임상적 연구.대한한의학회지1994;15(1):441-450
 15. 황병태,김희철.우황·웅담 약침이 Adjuvant 관절염에 미치는 영향.대한약침학회지1997;1(1):35-52
 16. 차웅석,김재규.웅담(熊膽)·우황(牛黃) 및 향일규유약(向日葵油藥)침자극이 생쥐 피부 암의 면역기능에 미치는 영향.대한침구학회지1993;10(1):9-19
 17. 김양강.원리와 시험방법.독성학.서울.동화기술.1994(3):15-18
 18. 김양강,원리와 시험방법, 독성학, 서울, 동화기술, 1994(3):25-38