

麻黃潤肺湯 추출물의 수컷 ICR 마우스에서 경구 단회투여 독성 평가

정우식 · 전귀옥* · 조동희 · 서영호 · 박미연 · 최해윤 · 김종대

대구한의대학교 한의학과 폐계내과학교실

Single Dose Toxicity Test of “Mahwangyounpae-tang” Extract in Male ICR Mouse

Woo-Sik Jung, Kwi-Ok Jeon*, Dong-Hee Cho, Mee-Yeon Park, Hae-Yun Choi, Jong-Dae Kim

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University

To obtain the 50% lethal dose (LD50), approximated lethal dose (ALD) and approximated target organs of “Mahwangyounpae-tang” for further study like repeat dose toxicity, genotoxicity and reproductive toxicity, single dose toxicity was tested in male ICR mouse according to KFDA Guideline 1999-61 [KFDA, 1999] at a dosage level of 2,000, 1,000, 500, 250 and 125 mg/kg/10ml. In this study, mortalities, clinical signs, body weight changes and body weight gains, gross findings and weight of principal organs were detected during and/or after 14 days of single dosing. After 2 or 3 days of dosing, 1 or 2 animals in 2,000 and 1,000 mg/kg-dosing groups were died. Excitation and leaping response were observed as test article-treatment related clinical signs. These abnormal signs were restricted to 2,000 and 1,000 mg/kg-dosing groups and they were recovered to normal within 4 days after dosing in case of survivors. A significant decrease of body weight were observed in some periods of observation in 2,000 and 1,000 mg/kg-dosing group from 1 days after dosing compared to those of vehicle control group. A significant decrease of body weight gains were observed in observation periods in 2,000 and 1,000 mg/kg-dosing group compared to those of vehicle control group. Hypertrophy of heart and decoloration of kidney were observed as test article-treatment related gross findings. These abnormal findings were restricted to 2,000 and 1,000 mg/kg-dosing groups. A significant increase of absolute and relative heart and kidney weight were demonstrated in 2,000 mg/kg-dosing groups. LD50 in this study was detected as 2,242.42 mg/kg. ALD in this study was detected as 1,000 mg/kg and the target organ was considered as the heart and kidney.

Key words : Single Dose Toxicity, Mahwangyounpae-tang(麻黃潤肺湯), ICR Mouse

서론

의료기술은 하루가 다르게 발달하고 있지만 인간의 삶의 환경은 갈수록 나빠져 성인은 물론 청소년들까지도 각종 질환과 스트레스에 시달리면서 건강 기능성 식품 및 천연물 의약품에 관심이 높아지고 있다. 또한 각종 비타민류, 필수 아미노산류 및 기타 기능성 식품 등 안전성이 확보되지 않은 식품 및 의약품의 오·남용으로 인한 독성 및 부작용이 늘어나게 됨으로써 사회문제화 되고 있어 이에 대한 철저한 규제 및 관리가 요구되고 있다^{1,3)}.

한약재는 기존에 한방에서 질병의 치료제나 보약의 처방으

로 널리 사용되어져 왔으나, 최근에 들어서는 각종 식품 감미료, 향료, 건강 보조식품이나 기능성 식품, 기능성 화장품, 천연 살충제 등의 원료로 다양하게 개발되고 있다. 그러나 이에 대한 안전성은 충분히 검토되지 않고 있다. 따라서 한약의 대중화는 물론 천연물로부터 새로운 생리활성 물질 탐색 차원에서 한약제제에 대한 안전성과 품질관리에 대한 검토는 시급한 실정이다¹⁾.

최근 들어 한약의 독성학적 연구는 약효연구의 일환으로 진행되어 왔으며, 급성독성과 같은 일반 독성 실험역시 매우 드문 실정이다^{4,5)}. 현재까지 단미제에 대한 독성연구로는 芫花³⁾, 麻黃⁶⁻⁸⁾, 大茴香⁹⁾, 韓防己¹⁰⁾, 人蔘¹¹⁾, 玉竹¹²⁾, 본 연구에서는 이러한 麻黃潤肺湯 추출물의 ICR mouse에서 경구 단회투여 독성 평가를 위하여 일반적인 독성시험 중 현재 의약품 등의 독성시험기준¹⁸⁾(한국의약품안전청고시 제 1999-61호)에 의거하여 麻黃潤肺湯

* 교신저자 : 전귀옥, 대구시 수성구 상동 165 대구한의대학교 부속한방병원

· E-mail : 2079272@hanmail.net, · Tel : 053-770-2082

· 접수 : 2006/02/05 · 수정 : 2006/03/08 · 채택 : 2006/03/29

추출물 2,000, 1,000, 500, 250, 125 mg/kg을 단회투여하고 14일간 사망례, 임상증상, 체중 및 체중증가량의 변화, 부검소견 및 주요장기의 중량을 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 재료

실험동물은 성숙한 수컷 ICR mouse(6-weeks old upon receipt, Charles River, Japan)를 사료(삼양사, 서울)와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경에 1주일간 적응시킨 후 총 6개 군으로 구분하고, 각 그룹 당 5마리씩 배정하여 총 30마리를 사용하였다. 실험동물은 온도(20-25℃)와 습도(30-35%)가 조절된 사육실에서 사육하였으며, 환기횟수는 11-12 회/hr, 조명은 12 hr/day를 유지하였다. 고품사료와 물은 자유롭게 공급하였다. 본 실험에 사용된 약재는 대구한의대학교 부속한방병원에서 구입한 것을 정선하여 사용하였으며, 본 실험에 사용된 麻黃潤肺湯¹⁷⁾ 1첩 분량의 조성은 Table 1과 같다(Table 1).

Table 1. Composition of "Mahwangyounpae-tang" Used in This Study

藥物名	生藥名	用量 (g)
麻黃	<i>Ephedrae Herba</i>	8
桂枝	<i>Cinnamomi Ramulus</i>	8
桔梗	<i>Platycodi Radix</i>	6
貝母	<i>Fritillariae Bulbus</i>	6
杏仁	<i>Armeniaca Semen</i>	6
五味子	<i>Schizandrae Fructus</i>	4
阿膠珠	<i>Gelatinum</i>	4
青皮	<i>Aurantii Immaturi Pericarpium</i>	4
枳實	<i>Ponciri Fructus</i>	4
砂仁	<i>Amomi Semen</i>	4
炙甘草	<i>Glycyrrhiza Radix</i>	4
山楂	<i>Crataegi Fructus</i>	4
麥芽	<i>Hordei Fructus Germinatus</i>	4
神麴	<i>Massa Medicata Fermentata</i>	4
蘇子	<i>Perillae Semen</i>	4
蘿蔔子	<i>Raphani Semen</i>	4
蘇葉	<i>Perillae Herba</i>	4
紫菀	<i>Asteris Radix</i>	4
厚朴	<i>Magnoliae Cortex</i>	4
桑白皮	<i>Mori Cotex Radicis</i>	4
白芥子	<i>Sinapis Semen</i>	4
車前子	<i>Plantaginis Semen</i>	4
Total		102

2. 방법

1) 실험군의 구분

실험물질은 식품의약품안전청고시 제 99-61호(1999. 12. 22) "의약품의 독성시험 기준"¹⁸⁾에 준하여 최대 투여 용량인 2,000 mg/kg을 최고 용량으로 설정하였으며, 이후 희석배율로 1,000, 500, 250 및 125 mg/kg을 설정하였다.

대조군(이하 G0M군), 각각 2,000, 1,000, 500, 250 및 125 mg/kg의 麻黃潤肺湯 추출물을 단회 경구 투여한 군(이하 각각 G1M, G2M, G3M, G4M 및 G5M군)의 총 6개 군으로 구분하였다.

2) 麻黃潤肺湯의 추출

선정된 약제 10첩 분량(1,020g)을 취하여 정제수 4,000 ml를 넣어 가열 추출한 후 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator (N-N type; LAB Camp, Dajeon, Korea)로 감압·농축하여 점조성의 추출물을 얻었다. 그 다음 programmable freeze dryer(PVTFD10A; IIShin Lab., Seoul, Korea)를 사용하여 동결 건조시켜 1첩 당 3.05g, 총 30.5g(수율 약 3.00%)의 추출물을 얻어 실험에 사용하였다.

3) 실험물질의 투여

각각 2,000, 1,000, 500, 250 또는 125 mg/kg의 麻黃潤肺湯 추출물을 멸균 증류수에 현탁시켜 10 ml/kg의 용량으로 단회 경구 투여하였다. 대조군에서는 동일한 용량의 멸균 증류수를 동일한 방법으로 단회 경구 투여하였다.

4) 사망례 및 임상증상의 관찰

모든 실험동물에 대하여 실험 전기간(투여일로부터 14일간) 중 매일 폐사나 빈사상태를 관찰하였으며, 실험 기간 중의 사망례는 즉시 부검하여 사인을 규명하였다.

시험기간 중 매일 functional observational battery(FOB) test¹⁹⁾에 기초하여 동물의 행동, 자극에 대한 반응성, 각성도 및 경계성, 자세 및 보행 이상 등에 관한 일반증상을 관찰하였다.

5) 체중의 변화

대조군을 포함한 모든 실험동물은 실험기간 동안 매일의 체중을 측정하였으며, 이 중 투여 전 1일, 투여일, 투여 후 1, 2, 7, 13 및 최종 희생일(투여 후 14일)의 체중을 기록하였다. 또한 투여에 기인한 체중의 변화를 보다 명확히 하기 위하여 투여일에서 투여 7일 후, 투여 7일 후에서 투여 13일 후 및 투여일에서 투여 13일간의 체중 변화인 체중증가량을 각각 기록하였다. 모든 실험동물은 사료 섭취에 따른 체중의 변화를 최소화하기 위하여 투여 일과 최종 부검일에 18시간 이상 절식시키고 음수는 제한하지 않았다.

6) 부검 및 육안검사

투여 14일 후 최종 부검일에 모든 실험동물의 장기 및 생식기에 대한 육안 검사를 통하여 병변의 유무를 검사하였다.

7) 장기중량의 측정

모든 실험동물을 최종부검일(Day 14)에 부검 및 육안검사를 실시한 후, 폐, 간, 심장, 신장, 비장, 고환, 뇌 및 가슴샘을 적출하여 절대 중량치를 측정하고, 하기의 공식을 이용하여 각각 장기의 체중에 대한 상대 중량치를 계산하였다. 이때 신장과 생식기는 왼쪽만 적출하여 중량을 측정하였다.

Relative organ weights (%) =

$$(\text{Absolute organ weight/body weight at sacrifice}) \times 100$$

8) 반수 치사량 및 개략적 치사량의 측정

모든 실험동물의 일반증상, 사망 및 빈사상태, 체중의 변화, 육안 부검소견 및 장기중량 등을 종합적으로 분석하여 개략적 최소 치사량인 개략적 치사량(approximate lethal dose; ALD)을 추정하였으며, 실험기간 동안의 사망례를 바탕으로 반수 치사량(LD50)을 산출하였다¹⁸⁾.

9) 통계처리

모든 수치는 정상군 또는 대조군과 비교하여 Mann-Whitney Wilcoxon's Rank Sum (M-W) test로 유의성을 검증하였으며, 반

수 치사량은 Probit 방법으로 계산하였다. Probit test 및 모든 통계처리는 SPSS for Windows(Release 6.1.2, SPSS Inc., USA)를 이용하였다. 또한 육안적 병변은 그 정도에 따라 1+(slight), 2+(moderate) 및 3+(severe)로 구분하였다.

결 과

1. 사망례

G1M군에서 투여 2일 및 3일 후 각각 1례씩 2례의 사망례가 관찰되었으며, G2M군에서는 투여 4일 후 1례의 사망례가 관찰되었다. 다른 군에서는 麻黃潤肺湯 추출물 투여와 관련된 사망례는 관찰되지 않았다(Table 2).

Table 2. Mortality Observed in This Study after Single Oral Dose of "Mahwangyounpae-tang" in Male ICR Mouse

Group ID ¹⁾	Days after dosing								Total (%)
	0	1	2	3	4	5	6	7-14	
G0M	0/5*	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)
G1M	0/5	0/5	1/5	1/4	0/3	0/3	0/3	0/3	2/5 (40%)
G2M	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5	0/4	0/4	0/4	1/5 (20%)
G3M	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)
G4M	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)
G5M	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)

* No. of death animals/total observed animals: 1) Group ID was listed in Table 2

2. 임상증상

흥분증상은 G1M과 G2M군에서 각각 5마리 중 5 및 3례가 관찰되었으며, 주로 투여 3일 후까지 일부동물에서 관찰되었으나 이후 소실되었다(Table 3). 도약반응의 경우에는 G1M과 G2M군에서 각각 5마리 중 4 및 1례에서 관찰되었으며, 흥분증상과 유사하게 투여 3일 후까지 일부 동물에서 관찰되었다(Table 4). 유연증상은 대조군, G1M, G2M, G3M, G4M, G5M군에서 각각 5마리 중 2, 2, 1, 2, 1 및 2례에서 투여 직후에만 관찰되었다(Table 5).

Table 3. Excitation That Was Observed in This Study after Single Oral Dose of "Mahwangyounpae-tang" in Male ICR Mouse

Group ID ¹⁾	Days after dosing								Total (%)
	0	1	2	3	4	5	6	7-14	
G0M	0/5*	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)
G1M	0/5	3/5	2/4	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3	5/5 (100%)
G2M	0/5	3/5	1/5	1/5	0/4	0/4	0/4	0/4	3/5 (60%)
G3M	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)
G4M	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)
G5M	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)

* No. of animals showing excitation/total observed animals: 1) Group ID was listed in Table 2

Table 4. Leaping Response That Was Observed in This Study after Single Oral Dose of "Mahwangyounpae-tang" in Male ICR Mouse

Group ID ¹⁾	Days after dosing								Total (%)
	0	1	2	3	4	5	6	7-14	
G0M	0/5*	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)
G1M	0/5	2/5	2/4	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	4/5 (80%)
G2M	0/5	1/5	1/5	1/5	0/4	0/4	0/4	0/4	1/5 (20%)
G3M	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)
G4M	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)
G5M	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)

* No. of animals showing leaping response/total observed animals: 1) Group ID was listed in Table 2

Table 5. Salivation That Was Observed in This Study after Single Oral Dose of "Mahwangyounpae-tang" in Male ICR Mouse

Group ID ¹⁾	Days after dosing								Total (%)
	0	1	2	3	4	5	6	7-14	
G0M	2/5*	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5 (40%)
G1M	2/5	0/5	0/4	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	2/5 (40%)
G2M	1/5	0/5	0/5	0/5	0/4	0/4	0/4	0/4	1/5 (20%)
G3M	2/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5 (40%)
G4M	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5 (20%)
G5M	2/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5 (40%)

* No. of animals showing excitation/total observed animals: 1) Group ID was listed in Table 2

3. 체중 및 체중증가량의 변화

1) 체중의 변화

대조군은 투여 전 1일, 투여일, 투여 1, 2, 7, 13일 후 및 최종 희생일의 체중이 각각 32.90 ± 1.77 , 30.38 ± 1.82 , 33.36 ± 1.21 , 34.64 ± 0.97 , 37.30 ± 1.75 , 39.90 ± 2.63 및 36.84 ± 2.63 g으로 관찰되었다. G1M군에서는 각각 33.40 ± 1.95 , 30.88 ± 1.70 , 31.22 ± 0.40 , 31.15 ± 1.37 , 33.27 ± 0.78 , 34.50 ± 0.89 및 32.13 ± 1.25 g으로 관찰되어, 투여 1일 후부터 투여 13일 후까지 대조군에 비해 유의성 ($p < 0.05$) 있는 체중감소가 인정되었고, 최종 희생일에도 체중감소가 있었으나 유의성은 인정되지 않았다. 또한 G2M군에서는 각각 32.96 ± 2.10 , 30.70 ± 2.15 , 30.80 ± 1.42 , 31.46 ± 0.94 , 34.40 ± 1.80 , 37.30 ± 1.67 및 34.25 ± 1.97 g으로 관찰되어, 투여 1일 후부터 투여 2일 후까지 대조군에 비해 유의성 ($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$) 있는 체중감소가 인정되었고, 이후 최종 희생일까지도 대조군에 비해 체중이 다소 감소되었으나 유의성은 인정되지 않았다. G3M, G4M, G5M군에서는 대조군과 유사한 체중을 나타내었다(Table 6).

Table 6. Body Weight Changes in This Study after Single Oral Dose of "Mahwangyounpae-tang" in Male ICR Mouse

Group ID ¹⁾	G0M	G1M	G2M	G3M	G4M	G5M
Day-1	32.90 $\pm 1.77^*$	33.40 ± 1.95	32.96 ± 2.10	32.82 ± 1.48	32.96 ± 1.81	32.86 ± 1.05
Day 0 ^{2a)}	30.38 ± 1.82	30.88 ± 1.70	30.70 ± 2.15	30.60 ± 1.32	30.28 ± 1.73	30.26 ± 1.20
Day 1	33.36 ± 1.21	31.22 $\pm 0.40^*$	30.80 $\pm 1.42^*$	33.32 ± 0.82	32.86 ± 1.54	33.26 ± 1.49
Day 2	34.64 ± 0.97	31.15 $\pm 1.37^*$	31.46 $\pm 0.94^{**}$	34.22 ± 0.72	33.78 ± 1.05	34.20 ± 1.02
Day 7	37.30 ± 1.75	33.27 $\pm 0.78^*$	34.40 ± 1.80	37.40 ± 1.65	37.26 ± 1.79	37.62 ± 2.03
Day 13	39.90 ± 2.63	34.50 $\pm 0.89^*$	37.30 ± 1.67	39.86 ± 1.71	39.16 ± 2.53	40.24 ± 2.62
Day 14 ^{2b)}	36.84 ± 2.63	32.13 ± 1.25	34.25 ± 1.97	37.48 ± 1.86	36.54 ± 3.42	38.00 ± 3.12

①) Mean \pm S.D., g: 1) Group ID was listed in Table 2; 2) Overnight fasted; a) At dosing; b) At sacrifice; * $p < 0.01$ compared to that of G0M by M-W test; ** $p < 0.05$ compared to that of G0M by M-W test

2) 체중증가량의 변화

대조군은 투여일에서 투여 7일 후, 투여 7일 후에서 투여 13일 후 및 투여일에서 투여 13일간의 체중증가량이 각각 6.92 ± 0.32 , 2.60 ± 0.97 및 9.52 ± 0.97 g으로 관찰되었다. G1M군에서는 각각 2.90 ± 1.65 , 1.23 ± 0.12 및 4.13 ± 1.72 g으로 관찰되어, 실험 전기간의 체중증가량이 대조군에 비해 유의성 ($p < 0.05$) 있게 감소되었다. 또한 G2M군에서도 각각 4.50 ± 1.74 , 2.90 ± 0.78 및 7.40 ± 2.13 g으로 관찰되어, 투여일에서 투여 7일 후까지의 체중증가

량이 대조군에 비해 유의성 ($p < 0.05$) 있게 감소되었다. G3M, G4M, G5M군에서는 대조군과 유사한 체중을 나타내었다(Table 7)

Table 7. Body Weight Gains in This Study after Single Oral Dose of "Mahwangyounpae-tang" in Male ICR Mouse

Group ID ¹⁾	Periods of body weight gains		
	Day 0 - Day 7	Day 7 - Day 13	Day 0 - Day 13
G0M	6.92 ± 0.32 ^{②)}	2.60 ± 0.97	9.52 ± 0.97
G1M	2.90 ± 1.65*	1.23 ± 0.12*	4.13 ± 1.72*
G2M	4.50 ± 1.74*	2.90 ± 0.78	7.40 ± 2.13
G3M	6.80 ± 2.09	2.46 ± 0.58	9.26 ± 2.30
G4M	6.98 ± 1.81	1.90 ± 1.23	8.88 ± 2.88
G5M	7.36 ± 1.62	2.62 ± 1.14	9.98 ± 2.08

②) Mean ± S.D., g; 1) Group ID was listed in Table 2; * $p < 0.05$ compared to that of G0M by M-W test

4. 부검소견

Table 8. Gross Findings Observed in This Study after Single Oral Dose of "Mahwangyounpae-tang" in Male ICR Mouse

Group ID ¹⁾	G0M	G1M	G2M	G3M	G4M	G5M
Lung						
HS 1+	1/5*	1/3	0/4	0/5	0/5	0/5
HS 2+	0/5	0/3	1/4	1/5	1/5	0/5
CG 1+	1/5	0/3	1/4	1/5	2/5	1/5
CG 2+	0/5	1/3	0/4	0/5	0/5	0/5
Heart						
HT 1+	0/5	1/3	1/4	0/5	0/5	0/5
HT 2+	0/5	1/3	0/4	0/5	0/5	0/5
HT 3+	0/5	1/3	0/4	0/5	0/5	0/5
Kidney						
DC 1+	0/5	1/3	1/4	0/5	0/5	0/5
DC 3+	0/5	1/3	0/4	0/5	0/5	0/5
Spleen						
AT 1+	2/5	1/3	1/4	1/5	0/5	0/5
Thymus						
AT 1+	1/5	1/3	0/4	1/5	0/5	1/5
AT 2+	0/5	0/3	0/4	0/5	0/5	0/5
Digestive tract						
Stomach						
DS 1+	0/5	0/3	0/4	0/5	0/5	1/5
Colon						
DS 1+	1/5	0/3	1/4	0/5	1/5	0/5
DS 2+	0/5	0/3	0/4	0/5	0/5	0/5
Cecum						
DS 1+	0/5	1/3	0/4	0/5	0/5	0/5
DS 2+	1/5	0/3	0/4	0/5	0/5	1/5
Skin						
Rash 1+	1/5	1/3	1/4	1/5	0/5	0/5
Rash 2+	0/5	0/3	0/4	0/5	0/5	1/5

* No. of observed animals showing gross findings/total observed animals (percentage); 1) Group ID was listed in Table 2; Abbreviation: HS (Hemorrhage Spot), CG (Congestion), HT (Hypertrophy), DC (Discoloration), AT (Atrophy), DS (Distention); degrees: 1+ (Slight), 2+ (Moderate), 3+ (Severe)

폐의 출혈반점은 1+에서 2+ 정도로, 대조군, G1M, G2M, G3M 및 G4M군에서 각각 1 또는 2레가 관찰되었으며, G5M군에서는 관찰되지 않았다. 또한 폐의 울혈 역시 1+에서 2+ 정도로, 대조군을 포함한 모든 실험군에서 1 또는 2레씩 관찰되었다. 심장의 비대 소견은 麻黃潤肺湯 추출물 G1M군의 경우, 1+에서 3+ 정도의 소견을 나타내며, 3마리 중 3레가 관찰되었고, G2M군에서는 1+ 정도의 소견을 나타내는 1레만 관찰되었다. 신장의 변색

역시 1+에서 3+ 정도의 소견으로 G1M과 G2M군에 국한되어 각각 2 및 1레가 관찰되었다. 비장의 위축소견은 1+ 정도로 대조군, G1M, G2M 및 G3M군에서 각각 1 또는 2레씩 관찰되었다. 또한 가슴샘의 위축 역시 1+ 정도의 소견으로 대조군, G1M, G3M 및 G5M군에서 각각 1레씩 관찰되었다. 소화관의 팽창 소견은 주로 맹장과 결장 및 위에 국한되어 관찰되었으며, 대조군, G1M, G2M, G4M 및 G5M군에서 각각 1+에서 2+ 정도의 소견으로 1 또는 2레씩 관찰되었다. 또한 피부반점은 1+에서 2+ 정도의 소견으로 대조군, G1M, G2M, G3M 및 G5M군에서 각각 1레씩 관찰되었다(Table 8).

5. 장기중량

1) 절대 장기중량의 변화

대조군은 폐, 간, 심장, 신장, 비장, 고환, 뇌 및 가슴샘의 절대 중량치가 각각 0.19 ± 0.02, 1.62 ± 0.07, 0.17 ± 0.01, 0.27 ± 0.04, 0.09 ± 0.02, 0.11 ± 0.02, 0.50 ± 0.02 및 0.067 ± 0.010 g으로 관찰되었다. G1M군에서는 각각 0.18 ± 0.01, 1.57 ± 0.11, 0.24 ± 0.03, 0.37 ± 0.04, 0.09 ± 0.03, 0.10 ± 0.01, 0.45 ± 0.06 및 0.066 ± 0.014 g으로 관찰되어 대조군에 비해 유의성 ($p < 0.05$) 있는 심장 및 신장 절대 중량치의 증가가 인정되었으나, G2M, G3M, G4M, G5M군에서는 대조군과 유사한 장기 절대 중량치를 나타내었다(Table 9).

Table 9. Absolute Organ Weights in This Study after Single Oral Dose of "Mahwangyounpae-tang" in Male ICR Mouse

Group ID ¹⁾	G0M	G1M	G2M	G3M	G4M	G5M
Lung	0.19 ± 0.02 ^{②)}	0.18 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.20 ± 0.02	0.20 ± 0.02	0.20 ± 0.02
	1.62 ± 0.07	1.57 ± 0.11	1.61 ± 0.05	1.59 ± 0.04	1.56 ± 0.08	1.56 ± 0.09
Liver	0.17 ± 0.01	0.24 ± 0.03*	0.18 ± 0.03	0.17 ± 0.01	0.18 ± 0.01	0.18 ± 0.02
	0.27 ± 0.04	0.37 ± 0.04*	0.33 ± 0.06	0.26 ± 0.04	0.28 ± 0.03	0.27 ± 0.02
Kidney ^{a)}	0.09 ± 0.02	0.09 ± 0.03	0.11 ± 0.03	0.09 ± 0.02	0.10 ± 0.02	0.10 ± 0.02
	0.11 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01
Spleen	0.50 ± 0.02	0.45 ± 0.06	0.49 ± 0.03	0.49 ± 0.03	0.49 ± 0.05	0.50 ± 0.03
	0.067 ± 0.010	0.066 ± 0.014	0.069 ± 0.006	0.061 ± 0.010	0.068 ± 0.005	0.066 ± 0.016
Testis ^{a)}	0.17 ± 0.01	0.24 ± 0.03*	0.18 ± 0.03	0.17 ± 0.01	0.18 ± 0.01	0.18 ± 0.02
	0.27 ± 0.04	0.37 ± 0.04*	0.33 ± 0.06	0.26 ± 0.04	0.28 ± 0.03	0.27 ± 0.02
Brain	0.09 ± 0.02	0.09 ± 0.03	0.11 ± 0.03	0.09 ± 0.02	0.10 ± 0.02	0.10 ± 0.02
	0.11 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01
Thymus	0.50 ± 0.02	0.45 ± 0.06	0.49 ± 0.03	0.49 ± 0.03	0.49 ± 0.05	0.50 ± 0.03
	0.067 ± 0.010	0.066 ± 0.014	0.069 ± 0.006	0.061 ± 0.010	0.068 ± 0.005	0.066 ± 0.016

②) Mean ± S.D.%; 1) Group ID was listed in Table 2; a) Only left side of organs were measured; * $p < 0.05$ compared to that of G0M by M-W test

2) 상대 장기중량의 변화

대조군은 폐, 간, 심장, 신장, 비장, 고환, 뇌 및 가슴샘의 상대 중량치가 각각 0.53 ± 0.05, 4.43 ± 0.44, 0.47 ± 0.07, 0.74 ± 0.09, 0.24 ± 0.08, 0.31 ± 0.07, 1.36 ± 0.10 및 0.183 ± 0.033%로 관찰되었다. G1M군에서는 각각 0.57 ± 0.02, 4.88 ± 0.35, 0.74 ± 0.08, 1.15 ± 0.17, 0.28 ± 0.08, 0.32 ± 0.05, 1.42 ± 0.23 및 0.206 ± 0.041%로 관찰되어 대조군에 비해 유의성 ($p < 0.05$) 있는 심장 및 신장 상대 중량치의 증가가 인정되었으나 G2M, G3M, G4M, G5M군에서는 대조군과 유사한 장기 상대 중량치를 나타내었다(Table 10).

Table 10. Relative Organ Weights in This Study after Single Oral Dose of "Mahwangyounpae-tang" in Male ICR Mouse

Group ID ¹⁾	G0M	G1M	G2M	G3M	G4M	G5M
Lung	0.53 ± 0.05 ^{e)}	0.57 ± 0.02	0.57 ± 0.03	0.53 ± 0.07	0.56 ± 0.04	0.54 ± 0.05
Liver	4.43 ± 0.44	4.88 ± 0.35	4.71 ± 0.36	4.26 ± 0.23	4.32 ± 0.57	4.14 ± 0.54
Heart	0.47 ± 0.07	0.74 ± 0.08*	0.53 ± 0.13	0.45 ± 0.02	0.49 ± 0.07	0.48 ± 0.04
Kidney ^{a)}	0.74 ± 0.09	1.15 ± 0.17*	0.96 ± 0.22	0.69 ± 0.09	0.76 ± 0.14	0.73 ± 0.09
Spleen	0.24 ± 0.08	0.28 ± 0.08	0.31 ± 0.07	0.24 ± 0.05	0.27 ± 0.04	0.27 ± 0.05
Testis ^{a)}	0.31 ± 0.07	0.32 ± 0.05	0.33 ± 0.05	0.29 ± 0.06	0.29 ± 0.03	0.30 ± 0.05
Brain	1.36 ± 0.10	1.42 ± 0.23	1.44 ± 0.12	1.32 ± 0.13	1.34 ± 0.14	1.31 ± 0.14
Thymus	0.183 ± 0.033	0.206 ± 0.041	0.203 ± 0.028	0.164 ± 0.023	0.188 ± 0.025	0.174 ± 0.045

@) Mean ± S.D.%; 1) Group ID was listed in Table 2; a) Only left side of organs were measured. * p<0.05 compared to that of G0M by M-W test

6. 반수 치사량 및 개략적 치사량

2,000 및 1,000 mg/kg 투여군에서 각각 사망례가 인정된 것과 麻黃潤肺湯 추출물 투여와 관련된 임상증상, 부검조건 및 장기 중량의 변화를 기초로 했을 때 수컷 ICR mouse에서 麻黃潤肺湯 추출물의 개략적 치사량은 각각 1,000 mg/kg 전후로 생각된다. 또한 사망례를 기본으로 계산한 결과 반수 치사량은 2,242.42 mg/kg으로 계산되었다.

고찰

현재까지 한약재의 독성은 비교적 경미한 것으로 판단되어 왔으며, 오래 전부터 한방에서 사용되어져 왔다는 이유만으로 그 안전성이 충분히 검토되지 않았다³⁾.

현재까지 한약재의 독성학적 평가로는 Lee 등³⁾이 半夏 추출물에서 소량의 독성이 검출된다고 하였으며 Theoharides⁶⁾는 麻黃의 ephedrine 성분과 관련된 사망례를 보고하였고 Schier 등⁷⁾은 ephedrine으로 유발된 심장허혈을, Lyon 등⁸⁾은 신부전에서 pseudoephedrine의 독성을 보고하였다. Ali 등⁹⁾은 大茴香 추출물에 의해 접촉성 피부염이 유발될 가능성을 제시하였으며, Hsu 등¹³⁾은 丁公藤 추출물의 신장 및 간독성을, Chan과 Ng¹⁴⁾은 龍公藤 추출물의 생식독성을 각각 보고하였다. 그러나 Chen 등¹⁰⁾은 韓防己 추출물의 반수 치사량이 약 22.9 g/kg으로 비교적 안전하다고 보고하였으며, Kitts와 Hu¹¹⁾는 人蔘 추출물의 안전성을, Chen 등¹²⁾은 玉竹 추출물의 안전성을 평가한 결과 별 다른 독성 증상이 관찰되지 않아 비교적 안전한 것으로 보고하였다.

또한 근래에 들어 Ninomiya 등¹⁵⁾은 八味地黃丸의 독성시험을, Ryu 등¹⁶⁾은 補中治濕湯의 독성시험을 각각 수행하여 한약 처방 자체에 대한 독성을 평가하기도 하였다.

麻黃潤肺湯¹⁷⁾은 麻黃, 桂枝, 桔梗, 貝母, 杏仁, 五味子, 阿膠珠, 靑皮, 枳實, 砂仁, 炙甘草, 山楂, 麥芽, 神麩, 蘇子, 蘿蔔子, 蘇葉, 紫菀, 厚朴, 桑白皮, 白芥子 및 車前子의 22종의 한약재로 구성된 한약 복합처방으로 천식을 위시한 호흡기 질환의 치료에 빈용하는 처방이나 이에 대한 독성 연구는 아직 없는 상태이다.

麻黃潤肺湯은 麻黃과 桔梗이 동시에 함유되어 있어 처방 자체의 독성 평가가 반드시 수행되어야 할 것으로 생각된다²⁰⁾.

본 연구에서는 이러한 麻黃潤肺湯 추출물의 수컷 ICR mouse에서 경구 단회투여 독성 평가를 위하여 일반적인 독성시험 중 현재 의약품 등의 독성시험기준¹⁸⁾ (한국의약품안전청고시 제 1999-61호)에 의거하여 麻黃潤肺湯 추출물 2,000, 1,000, 500, 250, 125 mg/kg을 단회투여하고 14일간 사망례, 임상증상, 체중 및 체중증가량의 변화, 부검조건 및 주요장기의 중량을 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하고자 한다.

본 연구의 결과 麻黃潤肺湯 추출물을 단회 투여한 결과 2,000 및 1,000 mg/kg 투여군에서 각각 사망례가 1 또는 2례씩 관찰되었다. 이러한 사망례는 麻黃潤肺湯 추출물의 투여에 기인한 독성증상으로 생각되며, 麻黃潤肺湯 추출물 자체가 수컷 ICR mouse에 어느 정도 독성을 나타낼 것으로 생각된다.

임상증상으로는 흥분 증상과 도약반응 및 유연 증상 등이 관찰되었다. 이중 흥분 증상과 도약반응은 1,000 mg/kg 이상의 麻黃潤肺湯 추출물을 투여한 군에 국한되어 관찰되어 麻黃潤肺湯 추출물 투여에 기인한 임상증상으로 생각된다. 이들 흥분 증상과 도약반응은 麻黃潤肺湯 중 麻黃의 구성 성분 중 ephedrine과 pseudoephedrine이 강력한 심장 자극성 물질로 이들의 남용에 의해 심장혈관 중독 증상을 특징으로 하는 흥분작용이 유발된다는 보고^{21,22)}와 ephedrine의 투여에 의해 불면증 등의 흥분 증상이 초래된다는 보고²³⁾ 등으로 미루어 보아 麻黃 추출물에 의한 독성 증상으로 추정된다. 한편 유연증상은 대조군을 포함한 암수 모든 실험군에서 투여일에 국한되어 관찰되었으며, 용량 상관성 역시 인정되지 않아 麻黃潤肺湯 추출물 투여에 기인한 독성증상이 아니라 과량의 vehicle의 투여에 기인한 일시적인 증상으로 판단된다.

체중 및 체중증가량의 경우 2,000 및 1,000 mg/kg 투여군에 국한하여 일부 기간에서 각각의 대조군에 비해 유의성 있는 감소가 인정되었다. 이러한 체중 및 체중증가량의 감소는 이들 군에 국한하여 흥분 증상과 도약 반응 등 麻黃 추출물과 관련된 임상증상이 인정된 점으로 미루어 보아 麻黃潤肺湯 추출물 투여에 기인한 독성증상으로 생각되며, 임상 증상이 거의 소실된 이후의 체중 및 체중증가량은 어느 정도 회복 경향을 나타내었다.

또한 부검 시 폐의 출혈반점, 폐울혈, 심장의 비대, 신장의 변색, 비장 및 가슴샘의 위축, 위장관의 팽창 및 피부반점 소견이 관찰되었다. 이 중 폐울혈과 폐의 출혈반점 소견은 대조군에서도 관찰되었으며, 출현빈도에 있어서 용량 상관성 역시 인정되지 않아 과량의 매체를 경구투여한 결과에 따른 우발성 소견으로 생각된다. 또한 비장 및 가슴샘의 위축, 소화관 팽창 및 피부반점 역시 각각 대조군에서도 관찰되었으며, 출현 빈도의 용량 상관성 역시 인정되지 않아 우발성 소견으로 생각된다. 이들 장기 즉, 폐, 비장 및 가슴샘의 장기 중량 역시 각각의 대조군과 비교하여 별다른 차이를 나타내지 않았다.

한편 심장의 비대 소견은 2,000 및 1,000 mg/kg의 麻黃潤肺湯 추출물 투여군에 국한하여 관찰되어 어느 정도의 용량 상관성이 인정되었으며, 심장의 절대 및 상대 중량치 역시 2,000 mg/

kg 투여군에 국한하여 대조군에 비해 유의성 있게 증가된 점으로 보아 麻黃潤肺湯 추출물의 독성 증상으로 인정된다. 또한 신장의 변색 역시 신장의 종창을 나타내는 가장 기본적인 부검소견으로 2,000 및 1,000 mg/kg의 麻黃潤肺湯 추출물 투여군에 국한하여 관찰되어 어느 정도의 용량 상관성이 인정되었으며, 신장의 절대 및 상대 중량치 역시 2,000 mg/kg 투여군에 국한하여 대조군에 비해 유의성 있게 증가된 점으로 보아 麻黃潤肺湯 추출물의 독성 증상으로 인정된다.

이상에서 麻黃潤肺湯 추출물의 수컷 mouse에 있어서 반수 치사량은 2,242.42 mg/kg, 개략적 치사량은 1000mg/kg 전후로 평가되었다. 또한 麻黃潤肺湯 추출물에 주요 표적장기는 심장과 신장으로 관찰되었다.

결 론

麻黃潤肺湯 추출물의 수컷 ICR mouse에서 경구 단회투여 독성을 평가하기 위해 일반적인 독성시험 중 현재 의약품 등의 독성시험기준¹⁸⁾에 의거하여 mouse에서의 단회투여독성 시험을 수행하였다. 麻黃潤肺湯 추출물 2,000, 1,000, 500, 250 및 125 mg/kg을 단회투여하고, 14일 간 사망례, 임상증상, 체중 및 체중증가량의 변화, 부검소견 및 주요 장기의 중량을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

사망례의 경우 2,000 및 1,000 mg/kg 투여군에 국한하여 1 또는 2례가 투여 2 - 3일 후 관찰되었다. 麻黃潤肺湯 추출물 투여와 관련된 임상증상은 흥분 증상과 도약 반응으로 2,000 및 1,000 mg/kg 투여군에 국한되어 관찰되었으며 생존한 실험동물은 투여 4일 후부터 정상으로 회복되었다. 체중 및 체중증가량의 변화는 2,000 및 1,000 mg/kg 투여군에 국한하여 투여 1일 후부터 일부 기간에 걸쳐 대조군에 비해 유의성 있는 체중의 감소가 인정되었다. 또한 2,000 및 1,000 mg/kg 투여군에 국한하여 일부 기간에서 대조군에 비해 유의성 있는 체중증가량의 감소가 인정되었다. 부검소견은 2,000 및 1,000 mg/kg 투여군에 국한하여 심장의 비대 및 신장의 변색 소견이 인정되었으며 장기 중량은 2,000 mg/kg 투여군에 국한하여 대조군에 비해 유의성 있는 심장 및 신장 절대 및 상대 중량치의 증가가 인정되었다. 반수 치사량은 2,242.42 mg/kg, 개략적 치사량은 1,000 mg/kg 전후로 평가되었다.

참고 문헌

1. 식품의약품안전. 기능성 식품의 합리적 관리체계 구축을 위한 연구. 2002.
2. 경희대학교 약학대학. 건강기능식품의 기능성평가 체계 구축에 대한 연구. 식품의약품안전청, 서울, 2002.
3. Lee, J.E., Kim, H.J., Choi, E.K., Chai, H.Y., Yun, Y.W., Kim, D.J., Nam, S.Y., Lee, B.J., Ahn, B.W., Kang, H.G., Kim, Y.B. Four-week repeated-dose toxicity study on Pinellia Extract. Korean J Lab Anim Sci, 19, 127-141, 2003.
4. 장인규, 홍남두. 죽력(竹瀝)의 독성시험 및 약효학적 연구. 대

- 한한방내과학회, 2, 83-101, 1985.
5. 이해정. 종류별 인삼수침 액기스의 독성 연구. 대한침구학회지, 10, 167-173, 1993.
6. Theoharides, T.C. Sudden death of a healthy college student related to ephedrine toxicity from a mahuang-containing drink. J Clin Psychopharmacol, 17, 437-439, 1997.
7. Schier, J.G., Traub, S.J., Hoffman, R.S., Nelson, L.S. Ephedrine-induced cardiac ischemia: exposure confirmed with a serum level. J Toxicol Clin Toxicol, 41(6):849-853, 2003.
8. Lyon, C.C., Turney, J.H. Pseudoephedrine toxicity in renal failure. Br J Clin Pract, 50(7):396-397, 1996.
9. Ali, B.H., Blunden, G. Pharmacological and toxicological properties of Nigella sativa. Phytother Res, 17(4):299-305, 2003.
10. Chen, J., Tong, Y., Zhang, X., Tian, H., Chang, Z. Acute toxicity of Stephania cepharantha. Zhong Yao Cai, 22(9):468-469, 1999.
11. Kitts, D., Hu, C. Efficacy and safety of ginseng. Public Health Nutr, 3(4A):473-485, 2000.
12. Chen, H., Feng, R., Guo, Y., Sun, L., Zhou, Y., Jiang, J. Toxicity studies of Rhizoma Polygonati Odorati. J Ethnopharmacol, 74(3):221-224, 2001.
13. Hsu, H.Y., Lin, C.C., Chen, J.Y., Yang, J.J., Zhang, R. Toxic effects of Erycibe obtusifolia, a Chinese medicinal herb, in mice. J Ethnopharmacol, 62(2):101-105, 1998.
14. Chan, W.Y., Ng, T.B. Adverse effect of Tripterygium wilfordii extract on mouse embryonic development. Contraception, 51(1):65-71, 1995.
15. Ninomiya, H., Kato, S., Okuda, H. Effects of Hachimi-jio-gan in aged rats. J. Altern Complement Med, 7(4):355-359, 2001.
16. Ryu, J.C., Kim, K.R., Kim, H.J., Youn, J.Y., Myung, S.W., Kim, G.H. et al. Genotoxicity study of bojungchisup-tang, an oriental herbal decoction in vitro chromosome aberration assay in Chinese hamster lung cells and in vivo supravital-staining micronucleus assay with mouse peripheral reticulocytes. Arch Pharm Res, 21(4):391-397, 1998.
17. 대구한의대부속한방병원. 원내처방집. 대구, 88문화사, p 53, 1998.
18. 식품의약품안전청. 의약품등의 독성시험 기준 해설서. 1999.
19. Irwin, S. Comprehensive observational assessment: Ia. A systematic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse. Psychopharmacologia, 13(3):222-257, 1968.
20. Akiba, K., Onodera, K., Kisara, K., Fujikura, H. Interaction of d-pseudoephedrine with water soluble extracts of Platycodi Radix on acute toxicity. Nippon Yakurigaku Zasshi, 75(2):201-206, 1979.
21. Okamura, N., Miki, H., Harada, T., Yamashita, S., Masaoka, Y., Nakamoto, Y. et al. Simultaneous determination of ephedrine, pseudoephedrine, norephedrine and methylephedrine in

- Kampo medicines by high-performance liquid chromatography. *J Pharm Biomed Anal*, 20(1-2):363-372, 1999.
22. Zahn, K.A., Li, R.L., Pursell, R.A. Cardiovascular toxicity after ingestion of "herbal ecstasy". *J Emerg Med*, 17(2): 289-291, 1999.
23. Weinberger, M., Bronsky, E., Bensch, G.W., Bock, G.N., Yecies, J.J. Interaction of ephedrine and theophylline. *Clin Pharmacol Ther*, 17(5):585-592, 1975.