

SD 랫드를 이용한 십전대보탕의 급성 독성 연구

마진열 · 황대선 · 이남현 · 하혜경 · 유영범 · 신현규*

한국한의학연구원

Acute Toxicity Study on Sipjeondaebo-tang in Rats

Jin Yeul Ma, Dae Sun Huang, Nam Hun Lee, Hye Kyung Ha, Young Beob Yu, Hyeun Kyoo Shin*

Korea Institute of Oriental Medicine

Sipjeondaebo-tang has been traditionally prescribed a medicine as a restorative. In this study, we investigated the acute toxicity about water-extracted Sipjeondaebo-tang. Thirty rats completed 14 days of oral Sipjeondaebo-tang at the respective doses of 0(control group), 2000 and 5000 mg/kg. We observed survival rates, general toxicity, change of body weight and autopsy. To be confirmed the data for the toxicity and safety problems of oriental medicine prescription. Compared with the control group, we could not find any toxic alteration in all treated groups (2000 and 5000 mg/kg). LD50 of Sipjeondaebo-tang was over 5000 mg/kg and it is very safe to SD rats.

Key words : Sipjeondaebo-tang, Acute toxicity, LD50, Safety

서 론

十全大補湯은 氣血雙補法에 사용하는 처방으로 氣血이 陽虛하여 面色無華하고 頭暈目眩, 心悸氣短 舌淡 脈虛無力에 사용하는 八珍湯에 黃芪 肉桂를 가하여 虛勞喘嗽와 遺精失血 婦女崩漏 月經不調 등의 증상을 치료하는 대표적인 보약이다.¹⁾

각 종 실험연구에서 십전대보탕은 항암 화학요법과 방사선 치료 및 수술 후의 부작용을 줄이고 전이를 억제시키는 것으로 알려져 왔다²⁻⁴⁾. 그 외 NK cell 및 NKT cell을 활성화시키고 IFN- γ 생성을 늘려서 항암효과를 가진다는 연구보고가 있다⁵⁻⁷⁾. 또한 동물실험에서 이식된 종양세포의 성장을 억제시킴을 관찰하였고⁸⁾, 그 기전으로는 macrophage, T cell⁹⁻¹⁰⁾ 및 NKT cell¹¹⁻¹²⁾ 이 관여하는 것으로 알려져 있다. 면역학 관련 연구도 많이 이루어졌는데 hematopoietic stem cell 성장을 촉진하고¹³⁾ melanocytic tumor cell 성장의 T cell 매개 억제를 촉진한다는¹⁴⁾ 연구 결과도 보고되었다. 또한 IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, G-CSF, GM-CSF, TNF- α , IFN- γ 등의 사이토카인 활성에 영향을 미친다는 보고도 있다¹⁵⁻¹⁷⁾.

최근에 이러한 한약 처방의 효능평가와 별개로 독성과 안전성에 대한 사회적인 문제가 있어, 한국의 대표적인 보약인 십전대보탕에 대한 급성 독성 실험을 식품의약품안전청 고시 제

2005-60호 "비 임상시험 관리기준¹⁸⁾에 따라 수행함으로써 십전대보탕의 안전성을 실험적으로 평가하고자 한다.

재료 및 방법

1. 시험물질

십전대보탕의 한약재 구성은 人蔘(Ginseng Radix Alba), 白朮(Atractylodes Rhizome White), 白茯苓(Poria cocos Wolf), 甘草(Glycyrrhizae Radix), 當歸(Angelica Gigas Root), 川芎(Cnidium Rhizome), 熟地黃(Steamed Rehmannia Root), 芍藥(Peony Root), 黃芪(Astragali Radix), 肉桂(Cinnamomi Cortex)로 생산자 및 재배지역이 명확한 한약재를 구입하였다(Table 1).

본 연구에서는 전탕 추출법(한국, 경서추출기 cosmos-600)에 의한 시험물질 조제를 실시하였으며 각 한약재 100 g을 8000 ml의 증류수에 넣어 120분간 열탕 추출한 후, 건조분무기(Japan, Eyela SD-1000)를 사용하여 분말 형태로 조제하였다. 이를 투여 직전에 3차 증류수에 용해하여 실험에 공시하였다(수율 16.5%).

2. 실험동물 및 사육환경

흰쥐 암·수(오리엔트, 경기도 가평군 북면 목동리 699-13) 5주령을 입수하였다. 동물입수 시, 외관을 육안으로 검사한 후, 7일간 시험을 실시하는 동물실에서 순화시키고 그 중 건강한 동물을 골라 실험에 사용하였다. 순화 기간 중, 일반 임상증상을 관

* 교신저자 : 신현규, 대전시 유성구 전민동 461-24 한의학연구원

· E-mail : hkshin25@kiom.re.kr, · Tel : 042-868-9471

· 접수 : 2008/08/21 · 수정 : 2008/09/28 · 채택 : 2008/10/06

찰하여 건강한 동물을 15마리씩 선정하여 체중범위에 따른 무작위법에 의하여 군분리를 실시한 후, 본 실험에 사용하였다. 순화 및 실험기간 동안의 사육환경은 온도 23±3℃, 상대습도 50±10%, 환기횟수는 시간당 12~16회, 조명은 12시간 명암주기(점등 7:00, 소등 19:00), 조도는 150~300 Lx로 조정하여 일정한 사육환경 조건을 유지하였다. 그리고 방사선(2.0 Mrad) 멸균된 실험동물용 쥐사료(푸리나코리아, 경기도 평택시 장당동 85-1)와 물은 자유 섭취 조건으로 하였다.

Table 1. Buy of raw material herbs

약재명	생산자(수입자)	제조사	소매자
인삼	충청남도 금산군	충남 금산군 금산읍 하옥리 386-22	대전 동구 중동 23-4번지 백제건강대매
백출	강원도 영월군 읍덕포 5리 화림백출	부산광역시 남구 용호 3동 377-3 시범공단내 화림제약(주)	부산광역시 남구 용호 3동 377-3 시범공단내 화림제약(주)
백복령	강원도 고성군 거진읍 거진 7리 2반 구강물산	경북 영주시 하망동 548-3 감초당 약업사	서울 동대문구 제기동 837번지 농림생약
감초 (쑵)	중국	전남여주시 오천동 174-1 신흥제약	전남여주시 오천동 174-1 신흥제약
당귀	강원도 평창군	강원 평창진부 하진부 681-1	강원 평창진부 하진부 681-1
천궁	전북 무주군 설천면 삼거리 226	전북 무주군 무주읍 가옥리 631-2 남영제약	전북 무주군 무주읍 가옥리 631-2 남영제약
숙지황	전북 정읍시	전북 정읍시 옥동면 칠석리 150-2 철보농협 옥동제약사	전북 정읍시 옥동면 칠석리 150-2 철보농협 옥동제약사
작약	전라남도 화순군	전남 화순군 능주면 백암리 871-1	전남 화순군 화순읍 교리 243-5 전남생약농업협동조합
황기	강원도 정선군	강원도 정선군 정선읍 봉양리 354-1 정선농협	강원도 정선군 정선읍 봉양리 354-1 정선농협
육계	베트남	부산광역시 남구 용호3동 377-3 시범공단내 화림제약(주)	부산광역시 남구 용호3동 377-3 시범공단내 화림제약(주)

3. 실험군 및 한약재 투여

6주령 랫드에 대한 급성 경구독성을 평가하기 위하여 5주령의 랫드를 암·수 각각 3개의 용량군으로 나누었다(Table 2).

Table 2. Experimental Groups

Group	Number of animal	Volume	Dose (mg/kg/day)
MG1	5	10	0
MG2	5	10	2000
MG3	5	10	5000
FG1	5	10	0
FG2	5	10	2000
FG3	5	10	5000

MG1: Control male group, MG2: Extraction of Sipjeondaebo-tang(shiquan dabu decoction) 2000 mg/kg(day) medication male group, MG3: Extraction of Sipjeondaebo-tang(shiquan dabu decoction) 5000 mg/kg(day) medication male group, FG1: Control female group, FG2: Extraction of Sipjeondaebo-tang(shiquan dabu decoction) 2000 mg/kg(day) medication female group, FG3: Extraction of Sipjeondaebo-tang(shiquan dabu decoction) 5000 mg/kg(day) medication female group.

투여 경로는 가장 널리 이용되고 있는 경구투여법을 사용하였으며, 본 연구에서 설정된 투여 용량은 "의약품등의 독성시험기준(식품의약품안전청고시 제 2005-60호, 2005. 10. 21.)"에 의거

하여 급성 독성 한계용량인 2000 mg/kg를 저용량으로 설정하였고, 고농도군으로 5000 mg/kg으로 투여하였다.

4. 임상증상 및 부검

임상 증상은 투여 직후부터 6시간 동안의 연속 관찰과, 그 후 14일(1일 1회) 동안의 일반증상 관찰법¹⁹⁾에 의하여 조사되었다. 모든 동물에 대하여 투여 전 그리고 투여 후 7, 14일에 체중 변화를 관찰하였으며 실험 종료 후, 에테르로 마취하여 후대정맥을 통한 방혈을 실시한 후, 모든 장기에 대한 육안적 병변을 관찰하였다.

5. 통계처리

통계분석법은 일원배치분산분석(one-way analysis of variance, ANOVA)을 실시하였으며 대조군과 투여군 사이의 통계학적 유의차는 Dunnett test에 의하여 평균과 표준편차를 구하고 통계처리(*p<0.05, **p<0.01) 하였다.

결 과

1. 치사율

실험동물 rats(SD)에 십전대보탕(2000, 5000 mg/kg) 농도로 1회 경구투여 시, 14일간 모든 실험군에서 사망동물은 관찰되지 않았다(Table 3).

Table 3. Mortality of animals.

DOSE (mg/kg)	No. Dead/ No. Animal	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
0	0/10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2000	0/10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5000	0/10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2. 임상 증상

암·수 모든 동물에 있어서 십전대보탕 투여에 의한 독성증상은 관찰되지 않았다(Table 4).

Table 4. Clinical signs of SD rats with acute toxicity.

Variable	\ Sex	Male			Female		
		MG1	MG2	MG3	FG1	FG2	FG3
\ Dose(mg/kg)	0	2000	5000	0	2000	5000	
	\ No. of animal	5	5	5	5	5	5
	normal	5	5	5	5	5	5
	abnormal	0	0	0	0	0	0

MG1: Control male group, MG2: Extraction of Sipjeondaebo-tang(shiquan dabu decoction) 2000 mg/kg(day) medication male group, MG3: Extraction of Sipjeondaebo-tang(shiquan dabu decoction) 5000 mg/kg(day) medication male group, FG1: Control female group, FG2: Extraction of Sipjeondaebo-tang(shiquan dabu decoction) 2000 mg/kg(day) medication female group, FG3: Extraction of Sipjeondaebo-tang(shiquan dabu decoction) 5000 mg/kg(day) medication female group.

3. 체중 변화

Fig. 1에 나타난 것과 같이 십전대보탕 투여에 의한 체중변화는 암·수 모두에서 관찰되지 않았다.

4. 부검 소견

실험 종료시 암·수 모든 동물의 장기에 대하여 육안적으로 관찰하였으나, 이상 병변은 관찰되지 않았다(Table 5).

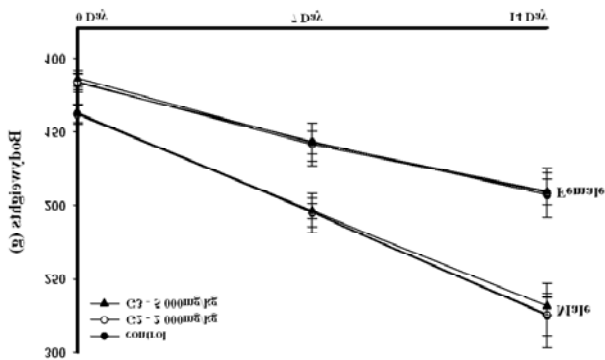


Fig. 1. Mean body weight changes of SD rats orally treated with Acute Toxicity.

Table 5. Autopsy finding of rats(SD) orally treated with acute toxicity.

Variable	\ Sex	Male			Female		
		MG1	MG2	MG3	FG1	FG2	FG3
	\ Dose(mg/kg)	0	2000	5000	0	2000	5000
\ No. of animal	5	5	5	5	5	5	
normal	5	5	5	5	5	5	
abnormal	0	0	0	0	0	0	

Autopsy finding at 1 day treatment of test Substances. MG1: Control male group, MG2: Extraction of Sipeondaabo-tang(shiquan dabu decoction) 2000 mg/kg(day) medication male group, MG3: Extraction of Sipeondaabo-tang(shiquan dabu decoction) 5000 mg/kg(day) medication male group, FG1: Control female group, FG2: Extraction of Sipeondaabo-tang(shiquan dabu decoction) 2000 mg/kg(day) medication female group, FG3: Extraction of Sipeondaabo-tang(shiquan dabu decoction) 5000 mg/kg(day) medication female group.

5. LD50 값

십전대보탕 1회 경구투여 시, 사망동물은 관찰되지 않아서 LD50 값은 산출되지 않았다.

결론 및 고찰

한약처방의 독성과 안전성 문제에 대한 과학적 근거를 마련하기 위하여 십전대보탕 전탕액을 동결 건조하여 급성독성 시험을 암·수(SD/rat) 동물에 0, 2000, 5000 mg/kg 용량으로 경구투여한 결과 사망 동물 및 이상 소견은 관찰되지 않았으며, 체중증감 및 부검 소견 결과에서도 십전대보탕 분말에 대한 특이한 소견이 나타나지 않았다. 따라서 대표적인 보약 처방 십전대보탕은 실험동물(SD/rat) 암·수컷에 안전한 물질로 작용되는 것으로 생각된다. 본 시험물질에 대한 LD50은 암·수 동물에 있어 5000 mg/kg을 훨씬 상회할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 이상인. 방제학. 도서출판 영림사, pp 175-176, 1994.
2. Saiki, I. A Kampo medicine "Juzen-taiho-to"-prevention of malignant progression and metastasis of tumor cells and the mechanism of action. Biol Pharm Bull 23: 677-688, 2000.

3. Ohnishi, Y., Fujii, H., Hayakawa, Y., Yamamura, T., Sakamoto, T., Tsukada, K., Fujimaki, M., Nunome, S., Komatsu, Y., Saiki, I. Oral administration of a Kampo (Japanese herbal) medicine Juzen-taiho-to inhibits liver metastasis of colon 26-L5 carcinoma cells. Jpn. J. Cancer Res 89: 206-213, 1998.
4. Saiki, I., Yamamura, T., Ohnishi, Y., Hayakawa, Y., Komatsu, Y., Nunome, S. HPLC analysis of juzen-taiho-to and its variant formulations and their antimetastatic efficacies. Chem. Pharm. Bull 47: 1170-1174, 1999.
5. Matsumoto, T., Sakurai, M.H., Kiyohara, H., Yamada, H., Immunopharmacol. Orally administered decoction of Kampo (Japanese herbal) medicine, "Juzen-Taiho-To" modulates cytokine secretion and induces NKT cells in mouse liver. Immunopharmacol 46: 149-161, 2000.
6. Miyagami, M., Katayama, Y. Improvement of host-immunity by adjuvant therapy with juzen-taiho-to for patients with brain tumors. No Shinkei Geka 31: 401-409, 2003.
7. Utsuyama, M., Seidler, H., Kitagawa, M., Hirokawa, K. Immunological restoration and anti-tumor effect by Japanese herbal medicine in aged mice. Mech. Ageing Dev 122: 341-352, 2001.
8. Ohnishi, Y., Fujii, H., Kimura, F. et al. Inhibitory effect of traditional Chinese medicine Juzentailio-to on progressive growth of weakly malignant clone cells derived from murine fibrosarcoma. Jpn J Cancer Res 87: 1039-1044, 1996.
9. Maruyama, H., Takemoto, N., Maruyama, N., Kornatsu, Y., Kawamura, H. Antitumor effect of Juzen-taiho-to, a kampo medicine, combined with surgical excision of transplanted Meth-A fibrosarcoma. Int J Immunother 9: 117-125, 1993.
10. Zhang, Y.H., Kato, M., Isobe, K., Hamaguchi, M., Yokochi, T., Nakashima, I. Dissociated control by glycyrrhizin of proliferation and IL-2 production of murine thymocytes. Cell Immunol. 162: 97-104, 1995.
11. Ohnishi, Y., Fujii, H., Kimura, F., et al. Inhibitory effect of traditional Chinese medicine Juzentailio-to on progressive growth of weakly malignant clone cells derived from murine fibrosarcoma. Jpn J Cancer Res. 87: 1039-1044, 1996.
12. Hisha, H., Yamada, H., Sakurai, M.H., Kiyohara, H., Li, Y., Yu, C., Takemoto, N., Kawamura, H., Yamaura, K., Shinohara, S., Komatsu, Y., Aburada, M., Ikehara, S. Isolation and identification of hematopoietic stem cell-stimulating substances from Kampo (Japanese herbal) medicine, Juzen-taiho-to. Blood 90: 1022-1030, 1997.
13. Dai, Y., Kato, M., Takeda, K., Kawamoto, Y., Akhand, A.A., Hossain, K., Suzuki, H., Nakashima, I. T-cell-immunity-based inhibitory effects of orally administered herbal medicine juzen-taiho-to on the growth of primarily developed

- melanocytic tumors in RET-transgenic mice. *J Invest Dermatol* 117: 694-701, 2001.
14. Kiyohara, H., Yamada, H., Takemoto, N., Kawamura, H., Komatsu, Y., Oyama, T. Characterization of in vitro IL-2-production-enhancing and anticomplementary pectic polysaccharides from Kampo (Japanese herbal) medicine Juzen-taiho-to. *Phytotherapy Res* 7: 367-375, 1993.
 15. Iijima, K., Sun, S., Cyong, J.C., Jyonouchi, H. Juzen-taiho-to, a Japanese herbal medicine, modulates type-1 and type-2 T cell responses in old BALB/c mice. *Am J Chin Med* 27: 191-203, 1999.
 16. Matsumoto, T., Yamada, H. Orally administered kampo (Japanese herbal) medicine Juzen-taiho-to modulates cytokine secretion in gut associated lymphoreticular tissues in mice. *Phytomedicin* 6: 425-430, 2000.
 17. Matsumoto, T., Matsumi, H., Sakurai, H., Kiyohara, H., Yamada, H. Orally administered decoction of kampo (Japanese herbal) medicine Juzen-taiho-to modulates cytokine secretion and induces NKT cells in mouse liver. *Immunopharmacology* 46: 149-161, 2000.
 18. 식품의약품안전청고시. 의약품등의 독성시험방법. 제 2006 (60), 2006.
 19. Hayes, A., Wallace. *Principles and Methods of Toxicology*. New York Raven press. pp 17-19, 1984.