

# 가미계격탕 주정추출물의 안전성에 대한 연구

이은옥 · 서남준<sup>1</sup> · 정희재<sup>2</sup> · 강종구<sup>3</sup> · 김성훈\*

경희대학교 한의과대학 암예방소재개발연구센터, 1: 경희대학교 동서의학대학원,  
2: 경희대학교 한의과대학, 3: 충북대학교 수의과대학

## Study on the Safety of Kamikaekyuk-tang Ethanol Extract

Eun Ok Lee, Nam Jun Seo<sup>1</sup>, Hee Jae Jung<sup>2</sup>, Jong Gu Kang<sup>3</sup>, Sung Hoon Kim\*

*Cancer Preventive Material Development Research Center, Kyunghee University,  
1: Graduate School of East-West Medical Science, Kyunghee University, 2: College of Oriental Medicine, Kyunghee University,  
3: College of Veterinary Medicine, Chungbuk University*

Kamikaekyuk-tang(KMKKT), a formula of ten Oriental herbs, was originally designed to promote vital energy, to remove blood stasis, and to decrease inflammation for treating cancers. KMKKT and its component had potent antiandrogen and androgen receptor activities in prostate cancer and also inhibited angiogenesis induced by basic fibroblast growth factor (bFGF) in human umbilical vein endothelial cells and suppressed the tumor growth in LLC-bearing mice, and liver metastasis of colon 26-L5 cancer cells, suggesting a potent cancer preventive agent. Nevertheless, there is no safety study of KMKKT before clinical trial so far. Thus, in the current study, we investigated the toxicity about ethanol-extracted KMKKT. Male and female Sprague Dawley (SD) rats were given orally by KMKKT at 250, 500, and 1000 mg/kg for 4 weeks. Mortality, clinical signs and measured change of body weight, food consumption and water consumption were observed. In addition, we performed ophthalmologic, urinary, hematological, blood serum biochemical and histopathological examination. Any general toxicity was not found in KMKKT treated group. Also, there were no significant differences in the parameters such as body weight, food consumption and water consumption, a lot of urine and blood factor levels except WBC, MCHC and Ca level compared with control group. Although WBC and MCHC were elevated in female rats and Ca level was decreased in male rats, these were within normal ranges. Finally, we determined that maximum tolerated dose (MTD) was 1000 mg/kg and no observed adverse effect level (NOAEL) was 500 mg/kg. Taken together, these results demonstrated that KMKKT is very safe to SD rats.

**Key words :** kamikaekyuk-tang, toxicity, MTD, NOAEL, safety

### 서 론

가미계격탕 (KMKKT)은 에너지를 증진시키고, 어혈을 제거하며, 암을 포함한 염증반응을 감소시킬 목적으로 冬瓜子, 白芨, 山慈姑, 人蔘, 赤小豆, 川椒, 敗醬草, 黃芪, 當歸, 阿膠의 10가지 한약재로 구성된 처방이다. 인삼은 오갈피나무과 (Araliaceae)에 속하는 다년생 식물로써 ginsenoside가 유효 항암 작용을 하는 것으로 밝혀져 있다. Ginsenoside는 약 20 여종이 알려져있고, 이중 ginsenoside Rg3, Rh2가 암세포의 전이 및 세포고사에 효과가 있는 것으로 보고 되어있다<sup>1-3)</sup>. 황기는 콩과에 속하는 다년생 초

본으로 보기제로 널리 사용되고 있으며<sup>4)</sup>, 혈압강하작용, 강심작용, 간장보호작용, 혈당강하 작용, 면역증강 작용이 보고되어 있다<sup>5-9)</sup>. 황기의 주요 성분으로는 triterpenoid glycoside, flavonoid 계통이 많고, 특히 polysaccharide, saponin이 생리활성물질로 알려져 있다<sup>10-13)</sup>. 당귀는 미나리과 다년생초목의 뿌리를 꽃이 피기 전에 채취하여 건조한 것으로 당귀의 약리학적 활성을 나타내는 주성분은 coumarin 유도체인 decursin이라는 물질이며 이의 항암효능이 알려져 있고, 이 외에도 decursinol, umbelliferon, β-sitosterol 등이 함유되어 있다<sup>14,15)</sup>. Jiang 등<sup>16)</sup>에 의하면 가미계격탕은 androgen 의존적인 LNCaP human prostate cancer cell에서 전립선 암항원 (tumor antigen)인 prostate specific antigen (PSA)의 유전자 수준과 단백질 수준을 농도에 의존적으로 감소시키며, 또한 androgen receptor의 유전자 수준과 단백질 수준도

\* 교신저자 : 김성훈, 서울시 동대문구 경희대학교 암예방소재개발연구센터

· E-mail : sungkim7@khu.ac.kr, · Tel : 02-961-9233

· 접수 : 2009/06/16 · 수정 : 2009/07/03 · 채택 : 2009/07/23

감소시킴을 확인하였고, 가미계격탕의 구성분인 당귀에서 분리된 decursin도 같은 효능을 나타냄을 보고하였다. 이 등<sup>17)</sup>에 의하면 가미계격탕은 bFGF로 유도된 혈관 신생물 in vitro, in vivo에서 모두 저해하였고, LLC세포를 이식한 마우스에서 종양의 성장, 마우스 colon 26-15 cell의 침윤과 간의로의 전이도 저해하였다는 연구결과가 발표되어 가미계격탕의 항암 및 항전이 효과가 입증되어 임상시험의 가능성을 제시하였다. 이와 같이 가미계격탕 및 그 구성성분들의 효능 연구가 다수 있음에도 불구하고, 그 안전성에 대한 평가는 아직까지 이뤄져있지 않아 본 연구에서 가미계격탕 에타놀 추출물을 SD rat을 대상으로 4 주간 반복투여한 후 독성여부를 실험적으로 평가하여 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 가미계격탕 에타놀 추출물 제조

가미계격탕의 구성성분은 Table 1과 같이 10종으로 구성하였다. 가미계격탕 2첩에 2 L의 에탄올 (주정) 을 붓고 2-3일 동안 추출을 3회 반복 하였다. 거즈로 추출액을 여과하여 농축기로 농축한 후 동결건조하여 시료로 사용하였다. 수율은 3.7%였다.

Table 1. The composition of KMKKT

한약명	학명	원산지	용량
동과인	<i>Benincasa hispida</i> (seed)	China	30
백급	<i>Bletilla striata</i> (root and tuber)	China	15
산자고	<i>Tulipa edulis</i> (stem tuber)	Korea	15
인삼	<i>Panax ginseng</i> (root)	Korea	15
적소두	<i>Phaseolus angularis</i> (seed)	Korea	30
천초	<i>Zanthoxylum piperitum</i> (seed)	Korea	12
패장초	<i>Patrinia villosa</i> (root)	China	15
황기	<i>Astragalus membranaceus</i> (root)	Korea	15
당귀	<i>Angelica gigas Nakai</i> (root)	Korea	12
아교	<i>Asini gelatinum</i>	Korea	15
Total amount			174

### 2. 실험동물

본 실험은 충북대학교 실험동물연구지원센터의 동물실험윤리의원회의 승인하에 이루어졌다. SD rat 암·수 6주령 ((주)오리엔탈 바이오, 경기도 성남시 상대원 1동 143-1번지)을 구입하여 1주일간의 검역 및 순화기간을 거치고, 체중 증가량에 이상이 없는 건강한 동물을 선별하여 실험기간 체중이 고르게 군당 10 마리씩 배치하였다(Table 2). 순화 및 실험기간 동안의 사육환경은 온도 23±2℃, 습도 50±10%, 환기방식은 전배기방식, 환기횟수는 시간당 10-12 회, 조명은 12 시간 명암주기, 조도는 150-300 Lux로 조정하여 일정한 사육조건을 유지하였다. 실험동물용 고형사료 ((주)퓨리나코리아)와 물은 자유 섭취시켰다.

Table 2. Experimental groups and doses

Dose (mg/kg)	No. of animals	
	Male	Female
0	10	10
250	10	10
500	10	10
1000	10	10

### 3. 가미계격탕 투여

가미계격탕 에타놀 추출물은 0.5% carboxymethyl cellulose (CMC)에 용해시켜 4주간 매일 250, 500, 1000 mg/kg의 농도로 경구 투여하였으며, 대조군은 0.5% CMC 용액을 경구 투여하였다.

### 4. 일반증상 관찰

관찰기간 중 모든 실험군에 대하여 1일 1회 일반상태, 운동성, 자율신경계의 기능 및 배설물 등의 일반증상을 관찰하고, 매일 시작과 끝에 빈사나 사망동물의 유무를 확인하였다.

### 5. 체중측정

체중은 실험군 분리시, 투여개시 전, 투여기간에는 주 1회, 그리고 부검 전의 절식체중을 측정하였다.

### 6. 음수 및 사료섭취량의 측정

음수 및 사료섭취량은 투여기간 동안 주 1회 음수 및 사료 공급량을 측정하고, 그 익일 잔량을 측정하여 섭취량을 산출하였다.

### 7. 안과학적 검사

투여개시 전·후 모든 실험동물에 대하여 육안 및 검안경으로 안과학적 검사를 실시하며, 안저에 이상이 발견될 경우 안저 카메라 (Genesis-D, Kowa, Japan)를 이용하여 안저를 촬영하고, 조직병리학적 검사를 수행하였다.

### 8. 뇨검사

군당 5 마리의 동물에 대하여 부검 전에 부검 전일부터 부검 당일까지 약 16~18시간의 뇨를 수거하여 투명도, 색상 및 노화학적 검사를 실시하였다. 노화학적 검사는 뇨스틱을 뇨에 침적한 후, 노화학분석기를 이용하여 비중 (specificgravity, SG), 단백 (protein, PRO), 케톤 (ketone, KET), 적혈구 (erythrocyte, Blut), 산도 (pH), 당 (glucose, GLU), 빌리루빈(bilirubin, BIL)의 항목에 대하여 검사를 실시하였다.

### 9. 혈액학적 검사

실험종료 시 모든 생존동물은 약 16 시간 이상 절식시킨 후 복대동맥으로부터 약 6~8 mL의 혈액을 채취한 후, 그 중 약 1 mL은 EDTA가 함유된 CBC bottle 에 취하여 자동혈구분석기 (ADVIA 120, Bayer, Germany)로 다음 항목들을 측정하였다.

- Total erythrocyte count (RBC, ×10<sup>6</sup>/L)
- Hemoglobin concentration (HGB, g/dL)
- Hematocrit (HCT, %)
- RBC indices
  - Mean cell volume (MCV, fL)
  - Mean cell hemoglobin (MCH, pg)
  - Mean cell hemoglobin concentration (MCHC, g/dL)
- Total leucocyte count (WBC, ×10<sup>3</sup>/L)
- Platelet (PLT, ×10<sup>3</sup>/L)

- WBC differential count
  - Neutrophils (NEU, %)
  - Eosinophils (EOS, %)
  - Basophils (BASO, %)
  - Lymphocytes (LYM, %)
  - Monocytes (Mono, %)
- Reticulocytes (Reti, %)

프로트롬빈시간(prothrombin time: PT) 및 부분활성트롬보플라스틴시간(activated partial thromboplastin time: APTT)은 혈액과 3.2% sodium citrate 를 9:1의 비율로 섞어 3000 rpm에서 10 분간 원심분리 (MICRO 17TR, HANIL, Korea)하여 얻은 혈장으로 자동응고시간측정기 (ACL 7000, Instrumentation Laboratory, USA)를 이용하여 측정하였다. 그리고 혈액도말검체를 제작하여 백혈구백분율 검사용은 Diff-Quick stain (Hemacolar, Merck, Germany)으로 염색하고, 망상적혈구 검사용은 New methylene blue로 염색하여 보관하며, 혈구자동측정기로 검사한 결과에 이상이 있을 경우 광학현미경 (Olympus BX51, Olympus Optical Co., Japan) 하에 계수하여 그 결과를 사용하였다.

10. 혈액생화학적 검사

혈액학적 검사에서 사용하고 남은 혈액은 3000 rpm, 10 분간 원심분리 (UNION 32R PLUS, HANIL, Korea) 한 후, 혈청을 분리하여 혈액생화학분석기 (7080, HITACHI, Japan)와 전해질분석기 (AVL9181, Roche, Germany)를 이용하여 다음 목록을 측정하였다.

- Alanine aminotransferase (ALT, IU/L)
- Aspartate aminotransferase (AST, IU/L)
- Alkaline phosphatase (ALP, IU/L)
- Blood urea nitrogen (BUN, mg/dL)
- Creatinine (Crea, mg/dL)
- Lactate dehydrogenase (LDH, IU/L)
- Total bilirubin (T-Bil, mg/dL)
- Creatine kinase (CK, U/L)
- Total protein (TP, g/dL)
- Albumin (Alb, g/dL)
- A/G (Albumin/Globulin) ratio, B/C (BUN/Creatinine) ratio
- Total cholesterol (T-Chol, mg/dL)
- Triglycerides (TG, mg/dL)
- Glucose (Glu, mg/dL)
- Phosphorus (P, mg/dL)
- Calcium (Ca, mmol/L)

11. 조직병리학적 검사

부검시 개체별로 장기조직 및 그 외 육안소견이 관찰된 장기조직을 적출하여 10% 중성완충포르말린용액 (neutral

buffered formalin)에 고정하였다. 고정된 장기조직은 약 3 mm의 두께로 삭정한 다음, 일반적인 조직처리과정을 거쳐 파라핀을 포매하여 약 3~6 μm의 조직절편을 제작한 후, Hematoxylin & Eosin (H&E) 염색하여 광학현미경 (Olympus BX51, Olympus Optical Co., Japan)으로 관찰하였다.

12. 통계처리

모든 실험 결과는 평균치±표준편차로 표시하였고, Levene's test를 실시하고 분산이 동질성을 갖는 경우, one-way analysis of variance (ANOVA)을 실시하여 유의성이 관찰되면 대조군과의 유의차가 있는 실험군을 알아내기 위하여 Dunnett's t-test를 실시하여 통계학적 유의성을 판정하였다

결 과

1. 일반증상 및 사망률

실험 전 기간 동안 가미계격탕의 독성으로 인한 폐사개체는 발견되지 않았고, 암, 수 동물 모두에서 특이할 만한 임상증상은 관찰되지 않았다(Table 3).

Table 3. Mortality of SD orally treated with KMKKT for 4 weeks

Dose (mg/kg)	Sex	No. of animals	No. of death	Mortality (%)
0	Male	10	0	0
	Female	10	0	0
250	Male	10	0	0
	Female	10	0	0
500	Male	10	0	0
	Female	10	0	0
1000	Male	10	0	0
	Female	10	0	0

2. 체중변화

실험 전 기간 동안 가미계격탕을 투여한 모든 실험군에서 정상대조군과 비교하여 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Fig. 1).

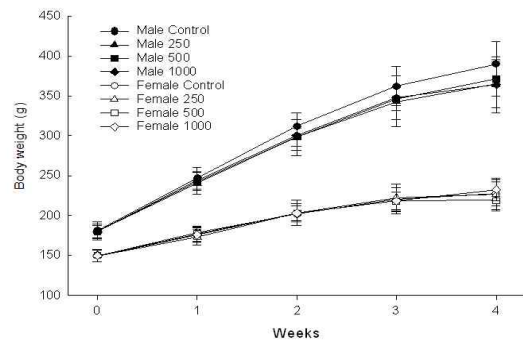


Fig. 1. Body weight of mice administered by KMKKT ethanol extract. Body weight was measured every week. Data are presented as means ± SD, n=10.

3. 음수 및 사료섭취량

실험 전 기간 동안 가미계격탕을 투여한 모든 실험군에서 정상대조군과 비교하여 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

4. 안과학적 검사

가미계격탕의 투여개시 전과 4 주간의 투여기간 후에 실시한 안과학적 검사에 있어서 암, 수 동물 모두에서 비정상적인 변화는 관찰되지 않았다(Table 4).

Table 4. Ophthalmologic examination of SD orally treated with KMKKT for 4 weeks

Dose (mg/kg)	Sex	Normal (No.)	Abnormal (No.)
0	Male	10	0
	Female	10	0
250	Male	10	0
	Female	10	0
500	Male	10	0
	Female	10	0
1000	Male	10	0
	Female	10	0

5. 뇨검사

4 주간 가미계격탕을 투여한 암, 수 동물 모두에서 정상대조군과 비교하여 뇨분석 항목의 변화는 관찰되지 않았다.

6. 혈액학적 검사

수컷 동물에 있어서 RBC, WBC, MCH, MCV, HCT, HGB, PLT, NEUT, LYMPH, MONO, EOS, BASO, Retic, PT, APTT 등의 측정항목에서 정상대조군과 비교하여 통계적인 유의성은 인

정되지 않았다(Table 5). 암컷 동물에 있어서 RBC, MCH, MCV, HGB, PLT, NEUT, LYMPH, MONO, EOS, BASO, Retic, PT, APTT 등의 측정항목에서는 정상대조군과 비교하여 통계적인 유의성은 인정되지 않았으나, WBC항목에서 정상대조군에 비교하여 가미계격탕 500 mg/kg 투여군에서 유의적으로 증가하였고, MCHC항목에서 정상대조군에 비교하여 가미계격탕 500, 1000 mg/kg 투여군에서 유의적으로 증가하였다(p<0.05)(Table 6).

7. 혈청생화학적 검사

수컷동물의 혈청생화학적 검사 결과, ALB, ALP, CK, Crea, GGT, GLU, AST, ALT, LDH, P, T-Bil T-Cho, T-PRO, TG, BUN, A/G, B/C의 측정항목에 있어서는 가미계격탕 투여군과 정상대조군간의 유의적인 차이는 없었으며, Ca항목에 있어서 가미계격탕 1000 mg/kg 투여군에서 유의적으로 감소하였다(p<0.05)(Table 7). 암컷 동물에 대한 혈청생화학적 검사결과, 모든 측정항목에서 정상대조군에 비교하여 통계적인 유의성은 인정되지 않았다(Table 8).

8. 조직학적 검사

실험이 끝난 후 장기를 적출하여 조직절편을 제작한 후, Hematoxylin & Eosin (H&E) 염색을 하여 살펴 본 결과 모든 실험군에서 특이적인 형태학적 변화가 관찰되지 않았다(Table 9).

Table 5. Hematological examination of male SD orally treated with KMKKT for 4 weeks

Group / Dose (mg/kg)	RBC (10 <sup>9</sup> /ul)	WBC (10 <sup>3</sup> /ul)	RBC Index			HCT (%)	HGB (d/dl)	PLT (10 <sup>3</sup> /ul)	WBC Differential Counting (%)					Retic (%)	Coagulation		
			MCH (pg)	MCV (fl)	MCHC (g/dl)				NEUT (%)	LYMPH (%)	MONO (%)	EOS (%)	BASO (%)		PT (time)	APTT (time)	
G1 0	mean	7.87	8.78	19.09	59.06	32.34	46.49	15.04	1193.11	17.08	76.04	2.09	0.73	0.17	3.17	14.14	17.49
	S.D.	0.11	2.27	0.45	1.72	0.69	1.74	0.51	149.70	5.91	6.10	0.63	0.38	0.07	0.29	0.71	1.85
	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
G2 250	mean	7.91	8.14	19.18	59.48	32.28	47.07	15.18	1251.78	15.57	79.71	1.59	0.34	0.36	2.84	17.46	17.94
	S.D.	0.36	2.20	0.43	1.90	0.43	3.07	0.82	146.33	4.05	3.75	0.42	0.13	0.62	0.23	8.77	1.35
	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
G3 500	mean	7.65	8.73	19.48	59.77	32.59	46.55	14.90	1245.10	19.31	76.04	1.70	0.53	0.13	3.09	14.85	18.54
	S.D.	0.44	2.02	0.44	1.82	0.59	3.24	0.57	140.98	2.24	2.46	0.41	0.26	0.07	0.41	0.72	1.95
	n	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
G4 1000	mean	7.62	8.79	19.22	58.84	32.66	44.81	14.62	1323.90	18.09	74.32	1.82	0.74	0.15	2.94	14.30	17.19
	S.D.	0.36	1.15	0.49	1.39	0.40	1.52	0.46	122.36	6.42	6.64	0.73	0.40	0.05	0.64	0.57	0.97
	n	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Table 6. Hematological examination of female SD orally treated with KMKKT for 4 weeks

Group / Dose (mg/kg)	RBC (10 <sup>9</sup> /ul)	WBC (10 <sup>3</sup> /ul)	RBC Index			HCT (%)	HGB (d/dl)	PLT (10 <sup>3</sup> /ul)	WBC Differential Counting (%)					Retic (%)	Coagulation		
			MCH (pg)	MCV (fl)	MCHC (g/dl)				NEUT (%)	LYMPH (%)	MONO (%)	EOS (%)	BASO (%)		PT (time)	APTT (time)	
G1 0	mean	7.73	4.91	18.40	58.49	31.47	45.24	14.22	1046.70	14.87	79.87	2.29	0.73	0.16	2.57	18.62	17.32
	S.D.	0.50	1.17	0.27	1.46	0.64	3.52	0.94	512.46	4.85	5.11	0.96	0.38	0.05	0.20	10.90	1.15
	n	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
G2 250	mean	7.84	5.16	18.20	57.96	31.37	45.44	14.26	1276.90	21.35	73.90	1.99	1.00	0.20	2.35	14.85	16.53
	S.D.	0.27	1.18	0.65	1.08	0.87	1.40	0.60	72.95	8.50	8.12	0.68	0.44	0.09	0.63	0.87	1.21
	n	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
G3 500	mean	7.71	7.18*	18.75	56.88	32.94*	43.85	14.44	1251.20	15.98	77.58	2.12	0.80	0.18	2.57	14.56	16.31
	S.D.	0.39	1.68	0.74	1.32	0.82	2.22	0.57	136.91	3.36	3.90	0.91	0.24	0.04	0.41	0.74	0.82
	n	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
G4 1000	mean	7.68	6.76	18.94	56.87	33.20*	43.67	14.49	1180.44	14.27	79.06	2.23	0.74	0.16	2.25	14.80	15.92
	S.D.	0.23	1.67	0.47	1.89	0.61	1.36	0.36	134.42	4.93	5.13	1.07	0.41	0.07	0.40	0.68	1.28
	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9

Table 7. Blood serum biochemical examination of male SD orally treated with KMKKT for 4 weeks

Group / Dose (mg/kg)	ALB	ALP	Ca	CK	Crea	GGT	GLU	AST	ALT	LDH	P	T-Bil	T-Chol	T-PRO	TG	BUN	A/G	B/C	
	g/dl	IU/L	mg/dl	IU/L	mg/dl	IU/L	mg/dl	IU/L	IU/L	IU/L	mg/dl	mg/dl	mg/dl	g/dl	mg/dl	mg/dl	ratio	ratio	
G1 0	mean	4.12	393.78	10.27	1199.63	0.53	2.68	168.09	159.01	37.50	1936.69	9.09	0.04	74.53	5.99	53.20	14.21	2.23	27.93
	S.D.	0.38	70.86	0.30	1727.82	0.14	1.95	26.02	153.39	8.24	762.27	0.92	0.02	12.73	0.48	14.82	2.56	0.28	7.77
	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
G2 250	mean	4.21	424.41	10.59	804.08	0.52	1.73	185.22	99.08	28.21	2121.12	9.26	0.12	72.96	6.14	52.03	17.29	2.18	33.41
	S.D.	0.24	70.15	0.61	413.87	0.08	1.60	40.74	21.18	10.60	772.79	0.66	0.17	13.14	0.30	21.44	2.01	0.13	3.51
	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
G3 500	mean	4.22	392.99	10.09	459.09	0.57	4.10	188.30	81.87	27.39	1335.80	9.55	0.04	75.06	6.09	61.77	16.65	2.27	31.31
	S.D.	0.08	79.62	0.26	238.48	0.18	3.79	23.84	17.80	7.89	788.17	1.09	0.03	8.09	0.19	24.80	2.56	0.20	9.31
	n	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
G4 1000	mean	4.19	400.52	9.64*	956.53	0.50	2.20	153.71	139.50	29.32	3081.10	9.07	0.03	66.40	6.16	35.42	13.65	2.16	27.69
	S.D.	0.22	80.03	0.17	305.04	0.07	1.08	27.40	26.80	2.65	927.25	0.71	0.02	10.23	0.18	12.01	1.33	0.33	4.23
	n	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Table 8. Blood serum biochemical examination of female SD orally treated with KMKKT for 4 weeks

Group / Dose (mg/kg)	ALB	ALP	Ca	CK	Crea	GGT	GLU	AST	ALT	LDH	P	T-Bil	T-Chol	T-PRO	TG	BUN	A/G	B/C	
	g/dl	IU/L	mg/dl	IU/L	mg/dl	IU/L	mg/dl	IU/L	IU/L	IU/L	mg/dl	mg/dl	mg/dl	g/dl	mg/dl	mg/dl	ratio	ratio	
G1 0	mean	4.67	217.04	10.20	829.87	0.58	2.61	129.00	133.09	28.48	2896.01	7.22	0.06	86.71	6.28	30.22	18.99	2.94	33.34
	S.D.	0.32	40.64	0.27	225.23	0.06	3.36	17.25	19.60	6.09	919.68	0.93	0.04	11.59	0.33	14.33	3.89	0.39	9.12
	n	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
G2 250	mean	4.85	252.15	10.00	786.93	0.60	2.10	154.31	134.39	33.68	2650.00	6.55	0.03	83.39	6.33	17.71	20.88	3.31	35.30
	S.D.	0.35	55.94	0.28	360.85	0.08	0.83	22.77	27.75	16.36	1208.68	0.75	0.01	16.55	0.29	4.20	2.66	0.46	5.97
	n	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
G3 500	mean	4.74	203.06	10.30	746.86	0.55	1.67	146.85	120.38	27.52	2410.09	7.51	0.03	88.44	6.28	19.88	17.54	3.14	31.98
	S.D.	0.25	25.21	0.38	222.88	0.05	0.62	15.07	22.46	7.34	794.34	0.86	0.01	16.23	0.28	9.27	4.26	0.50	7.66
	n	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
G4 1000	mean	4.81	267.73	10.31	709.43	0.53	1.66	145.03	113.80	34.04	2253.19	7.87	0.03	91.84	6.29	24.53	17.04	3.30	32.14
	S.D.	0.28	35.44	0.30	296.38	0.05	0.35	20.22	24.21	5.76	1102.38	0.79	0.01	13.47	0.24	13.71	2.45	0.54	4.95
	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9

Table 9. Histopathological examination of SD orally treated with KMKKT for 4 weeks

Dose (mg/kg)	Sex	Normal (No.)	Abnormal (No.)
0	Male	10	0
	Female	10	0
250	Male	10	0
	Female	10	0
500	Male	10	0
	Female	10	0
1000	Male	10	0
	Female	10	0

### 고찰 및 결론

SD rat 암수를 각각 40 수씩 입수하여 일주일간 적응시킨 뒤 체중을 측정하여 10 마리씩 4 군으로 나눴다. 대조군은 0.5% CMC를, 저농도는 250 mg/kg, 중농도는 500 mg/kg, 고농도는 1000 mg/kg 농도로 가미계격탕을 매일 경구로 4 주간 투여하였으며, 일주일에 한번씩 체중과 음수량을 측정하였다. 부검 전 안구검사와 요검사를 실시하고 부검 시 혈액을 채취하여 혈액학적 검사와 혈청생화학적 검사를 수행하였다. 장기는 적출하여 10% 중성포르말린에 1 주일간 고정시킨 뒤 조직 슬라이드를 제작하였다.

시험 전 기간 동안 가미계격탕의 독성으로 인한 폐사개체는 발견되지 않았고, 암, 수 동물 모두에서 특이할만한 임상증상은 관찰되지 않았다. 시험 전 기간 동안 체중에서 정상대조군과 가

미계격탕 투여군 간에 유의적인 차이가 없었다. 혈액학적 검사에서는, 암컷 동물에서 WBC항목이 정상대조군에 비교하여 가미계격탕 500 mg/kg 투여군에서 유의적으로 증가하였으나 정상범위에 속하는 수치이고, MCHC항목의 경우 정상대조군에 비교하여 가미계격탕 500, 1000 mg/kg 투여군에서 유의적으로 증가하였으나 역시 정상 수치 안에서의 변화였다. 혈청 생화학적 검사 결과, 수컷 동물의 경우 Ca항목에 있어서 가미계격탕 1000 mg/kg 투여군에서 유의적으로 감소하였으나 정상수치에서의 변화였다. 시험이 끝난 후 장기를 적출하여 조직절편을 제작한 후, Hematoxylin & Eosin (H&E) 염색을 하여 살펴 본 결과 모든 시험군에서 특이적인 형태학적 변화가 관찰되지 않았다.

이상과 같이 가미계격탕 에타놀 추출물이 SD rat에 4 주간의 반복투여한 독성 시험결과 아무런 독성현상을 관찰할 수 없었고, 최대내성용량 (maximum tolerated dose, MTD)은 1000 mg/kg, 무영향량 (no observed adverse effect level, NOAEL)은 500 mg/kg 으로 결정되어 그 안정성이 입증됨으로써, 향후 사람을 대상으로 한 임상시험의 안정성을 실험적으로 입증함에 그 의의가 있다고 사려된다.

### 감사의 글

이 논문은 2009년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국 과학재단의 지원(No. 2009-0063466)과 보건복지부 한방치료기술

연구비(B050007) 지원을 받은 연구임.

### 참고문헌

1. 임광식, 정해영, 박설희, 제남경. 인삼잎으로부터 분리된 총사포닌의 분해산물 Monogluco-Ginsenoside의 항암작용. *Korean J Ginseng Sci.* 19(3):291-294, 1995.
2. 황우익. 인삼의 항암작용. *Korean J Gins.* 16(2):170-171, 1992.
3. 박채규, 전병선, 양재원. 고려인삼의 화학성분. *식품산업과 영양.* 8(2):10-23, 2003.
4. Sun, T., Chang, Y.H., Uy, J.Q. Effect of Fu-Zheng therapy in the management of diseases. *Chin Med J.* 61: 97-101, 1981.
5. Kim, Y.S., Park, K.H. Screening method for antihepatotoxic activity using CCl<sub>4</sub>-induced cytotoxicity in primary cultured rat hepatocytes. *Kor J Pharmacogn* 26: 51-56, 1995.
6. Park, K.H., Kim, Y.S., Kyung, J.S. Screening for inhibitory effect of solvent fractions prepared from herbal drugs on CCl<sub>4</sub>-induced cytotoxicity in primary cultured rat hepatocytes and evaluation of antihepatotoxicity in vivo. *Yakhak Hoeji* 40: 52-58, 1996.
7. Zhang, Y.D., Wang, Y.L., Shen, J.P., Li, D.X. Hypotensive and antiinflammatory effects of Astragalus saponin I. *Acta Pharm Sin* 19: 333-340, 1984.
8. Zhou, Q.J. Chinese medicinal herbs in the treatment of viral hepatitis. In *Advances in Chinese Medicinal Materials Research.* Chang, H.M., Yeung, H.W., Tso, W.W., Koo, .A, eds. World Scientific, Singapore, pp 215-224, 1985.
9. Zhao, K.S., Mancini, C., Doria, G. Enhancement of the immune response in mice by Astragalus membranaceus extracts. *Immunopharmacology* 20: 225-233, 1990.
10. Kitagawa, I., Wang, H.K., Saito, M., Yoshikawa, H. Saponin and sapogenol. X X X VI. Chemical constituents of Astragali Radix, the root of Astragalus membranaceus Bunge. 3. Astragalosidees III, V and VI. *Chem Pharm Bull* 31: 716-722, 1983.
11. Cui, B., Inoue, J., Takeshita, T., Kinjo, J., Nohara, T. Triterpene glycosides from the seeds of Astragalus sinicus L. *Chem Pharm Bull* 40: 3330-3339, 1982.
12. Chen, M.H., Liu, F.S. Studies on chemical constituents of Astragalus complanatus R. Brown II. *Acta Pharm Sin* 23: 20-218, 1988.
13. Fang, S.D., Chen, Y., Xu, X.Y., Ye, C.Q., Zhai, S.K., Shen, M.L. Studies of active principles of Astragalus mongholicus Bunge. I. Isolation, characterization and biological effect of its polysaccharides. *Org Chem* 30: 26-32, 1982.
14. Ahn, K.S., Sim, W.S., Kim, I.H. Detection of anticancer activity from the root of angelica gigas in vitro. *J. Microbiol. Biotechnol.* 5(2):105-109, 1995.
15. Ahn, K.S., Sim, W.S., Kim, I.H. Decursin: A cytotoxic agent and protein kinase C activator from the root of angelica gigas. *Planta Med.* 62(1):7-9, 1996.
16. Jiang, C., Lee, H.J., Li, G.X., Guo, J., Malewicz, B., Zhao, Y., Lee, E.O., Lee, H.J., Lee, J.H., Kim, M.S., Kim, S.H., Lu, J. Potent antiandrogen and androgen receptor activities of an Angelica gigas-containing herbal formulation: identification of decursin as a novel and active compound with implications for prevention and treatment of prostate cancer. *Cancer Res.* 66(1):453-463, 2006.
17. Lee, H.J., Lee, E.O., Rhee, Y.H., Ahn, K.S., Li, G.X., Jiang, C., Lü, J., Kim, S.H. An oriental herbal cocktail, ka-mi-kae-kyuk-tang, exerts anti-cancer activities by targeting angiogenesis, apoptosis and metastasis. *Carcinogenesis.* 27(12):2455-2463, 2006.