

# Sprague-Dawley 랫드를 이용한 소청룡탕의 단회투여독성시험

이철원 · 안원근<sup>1\*</sup>

부산대학교 해양생물기술연구소, 1: 부산대학교 한의학전문대학원 약물의학부

## Single Dose Toxicity Study of *Socheongryong-tang* in Sprague-Dawley Rats

Chul Won Lee, Won Gun An<sup>1\*</sup>

*Institute of Marine BioTechnology, 1: Division of Pharmacology, School of Korean Medicine, Pusan National University*

*Socheongryong-tang* has been used for the treatment of inflammatory allergic diseases such as allergic rhinitis and bronchial asthma in Asian countries. This study was conducted to investigate the safety of *Socheongryong-tang* in rats. The safety of this tang on acute toxicity was evaluated by single dose toxicity study. Rats were orally administrated in a single dose of 0 and 2000 mg/kg (limited dose) *Socheongryong-tang*. There were 7 rats in each groups. All animals were sacrificed after 14 days of treatment. After single administration, mortality, clinical signs, body weight changes and gross pathological findings were observed for 14 days. Three parameters were tested: organ weight measurement, clinical chemistry, and hematology. In this study with rats, *Socheongryong-tang* treatment did not show any acute toxicity. No mortality was noted for 14 days of treatment. There were no adverse effects on clinical signs, body weight, organ weight and gross pathological findings at all treatment groups. The clinical chemistry parameters attesting to liver and kidney functions as well as the hematological parameters were within the normal ranges. From single dose toxicity study with rats, it is considered that LD<sub>50</sub> of *Socheongryong-tang* is over 2000 mg/kg in oral administration. This finding of the safety on single dose toxicity study of *Socheongryong-tang* are expected to strengthen the position of *Socheongryong-tang* as nontoxic medicine.

Key words : *Socheongryong-tang*, safety, single dose toxicity study, rats

### 서 론

소청룡탕 [*Socheongryong-tang* (SCRT)]은 감기에 걸려 열이 나고 기침과 코막힘이 나타난 것을 치료하며, 이러한 증상이 악화되어 비후성 비염, 알러지성 비염, 축농증, 기관지천식<sup>1,2)</sup> 등이 발병했을 때도 사용하는 처방이다<sup>3-5)</sup>. 또한, 소청룡탕은 알러지원으로 감작된 마우스에서 면역조절활성을 나타내는 것으로 보고되었고<sup>6)</sup>, 이 탕은 기관지 평활근에 있는 β<sub>2</sub>-receptors를 자극함으로써 기관지확장 효과를 유발하며 기도 안으로 호산구의 침입을 억제하므로 천식의 예방 및 치료에 사용되어질 수 있다고 보고되었다<sup>7)</sup>.

\* 교신저자 : 안원근, 경남 양산시 물금읍 범어리 부산대학교한의학전문대학원

· E-mail : wgan@pusan.ac.kr, · Tel : 051-510-8455

· 접수 : 2011/1/31 · 수정 : 2011/03/08 · 채택 : 2011/03/15

최근에 약초를 재배할 때에 농약의 사용증가와 중국산 약재의 수입에 의해 약재 내부에 농약의 잔류, 중금속 및 내분비계장애물질의 검출 등이 문제가 되고 있으며 또한, 한약재에 대한 독성문제가 사회적으로 문제를 유발시키고 있다. 그러므로 본 연구에서는 한의학에서 널리 사용되고 있는 알러지성 비염 및 기관지천식 등의 치료제인 소청룡탕의 독성을 규명하기 위해 랫드에 있어서 단회투여독성시험<sup>8-13)</sup>을 식품의약품안전청의 독성시험기준<sup>14,15)</sup>에 의해 랫드에서 소청룡탕의 단회투여에 의한 반수치사량(LD<sub>50</sub>)을 산출하고자 하였다.

또한, 본 연구에 있어서 우리는 소청룡탕을 이용하여 단회투여독성시험에 의한 혈액생화학적 검사를 통한 간 및 신장독성을 측정하고자 하였으며, 혈액학적 검사에 의한 혈액의 비정상 유무를 확인하고자 하였다. 이러한 결과를 통하여 소청룡탕의 안전성을 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 약제의 추출 및 조제

본 실험에서는 전탕추출법(대응약탕기, 한국)을 이용하여 소청룡탕을 조제하였으며, 처방구성(Table 1)에 의해 각 한약재들을 혼합한 후, 그 중량의 6배에 해당하는 물에 3시간 동안 열탕 추출한 후, filter paper로 여과하였고 그 후, 동결건조기로 여과액을 분말 형태로 만들어 시료로 사용하였다(수율: 14.8%).

Table 1. Composition of *Socheongryong-tang* used in this study

본초명	생약명	합량(g)
마황	<i>Ephedrae Herba</i>	6.0
백작약	<i>Paeoniae Radix</i>	6.0
오미자	<i>Schizandrae Fructus</i>	6.0
반하	<i>Pinelliae Rhizoma</i>	6.0
세신	<i>Asiasari Radix</i>	4.0
건강	<i>Zingiberis Rhizoma</i>	4.0
계지	<i>Cinnamomi Ramulus</i>	4.0
감초	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	4.0
Total amounts		40.0

### 2. 실험동물 및 사양관리

본 시험은 경기바이오센터 동물실험실에서 수행하였다. 6주령의 SPF Sprague-Dawley 랫드 (Charles River, Korea)를 사용하였다. 랫드를 검사한 후, 1주일간의 순화기간을 거친 후, 건강한 랫드를 선별하여 실험에 이용하였다. 사육환경은 온도(22±2°C), 습도(60±5%), 조명시간 12시간(6:00~18:00), 조도(150~300 Lux)를 유지하였으며, 랫드용 고형사료를 멸균하여 자유 급식하였다. 또한, 물은 살균 소독한 물을 자유 섭취시켰다. 본 시험은 경기바이오센터의 실험동물의 관리 및 규정을 준수하여 실시하였다.

### 3. 투여용량의 설정 및 투여방법

OECD guideline<sup>16)</sup>에 의한 시험물질의 급성독성시험에 의하면, 시험물질을 단회투여할 때 2,000 mg/kg을 한계용량으로 추천하고 있다. 따라서 용량설정을 위한 예비시험에서 0, 500, 1,000 및 2,000 mg/kg의 용량으로 각각 2마리의 암·수 랫드들에게 단회경구투여한 결과, 모든 투여군에서 독성소견이 나타나지 않아, 본 시험에서는 2,000 mg/kg의 소청룡탕투여군을 한계용량군으로 설정하였고, 멸균수를 투여한 대조군 (positive control group)과 무 투여 대조군 (negative control group)을 두어 시험을 수행하였으며, 각 군당 7마리의 랫드를 이용하여 실험하였다. 투여경로는 경구투여법을 사용하였으며 모든 랫드는 투여 전 24시간동안 절식시킨 후, 경구투여용 금속제 sonde를 이용하여 위내로 강제 경구투여를 시행하였다. 투여당일의 체중을 기준으로 10 ml/kg을 단회투여 하였다.

### 4. 일반 임상증상 및 사망동물 관찰

투여 당일에는 투여 후 매시간 일반상태의 변화, 중독증상, 운동성, 외관 등을 관찰하였다. 투여 후 14일 동안 매일 1회씩 일

반 임상증상 및 사망동물의 유무를 관찰하였다.

### 5. 체중측정

모든 랫드에 대하여 투여개시 직전과 투여 후 5, 10 및 14일째에 체중을 측정하였다. 투여개시 직전의 랫드의 평균무게는 210 g 이었다.

### 6. 실험동물의 부검 및 장기중량 측정

시험기간 종료 후, 모든 랫드를 에테르로 마취한 후 개방하여 복대동맥으로부터 혈액을 채취하였고 내부장기의 이상유무를 육안으로 상세히 관찰한 후, 간과 신장을 적출하여 중량을 측정하였다.

### 7. 혈액 생화학적 검사

부검 하루 전 절식시킨 랫드를 실험 최종일에 에테르로 마취시킨 후, 복대동맥으로부터 채혈하였다. 이 혈액을 2시간 동안 냉장 보관하여 응고한 후, 3,000 rpm 에서 15분간 원심분리하여 얻은 serum을 사용하였다. 혈액 생화학적 검사는 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvic transaminase (GPT), blood urea nitrogen (BUN) 등을 측정하기 위하여 자동혈액생화학분석기(Prestige24i, Tokyo boeki Co.)를 사용하였다.

### 8. 혈액학적 검사

채혈 후, 항응고제인 EDTA가 들어있는 채혈관을 이용하였다. 혈액학적 검사는 white blood cell (WBC), red blood cell (RBC), hemoglobin (HGB), hematocrit (HCT), platelet (PLT) 등을 자동혈구분석기 (ADVIA120, Bayer Co.)를 사용하여 분석하였다.

### 9. 통계처리

체중변화의 검정에는 SPSS 14.0의 Kruskal-Wallis test를 이용하였고, 다른 모든 통계처리는 대조군에 대하여 independent t-test를 이용하였다. 0.05 보다 적은 p-value를 통계적으로 유의성이 있는 것으로 고려하였다.

## 결 과

### 1. 일반 임상증상

시험기간 동안 일반상태의 변화, 중독증상, 운동성, 외관 등을 관찰한 결과, 모든 랫드에 있어서 소청룡탕의 투여에 의한 독성증상은 관찰되지 않았다.

### 2. 사망률

본 시험의 결과, 모든 실험군에서 시험물질에 기인한 사망례가 관찰되지 않아 소청룡탕의 LD<sub>50</sub> 값은 2,000 mg/kg 이상일 것으로 추정되었다.

### 3. 체중의 변화

소청룡탕 투여군은 대조군과 비교할 때 유의성 있는 체중변화가 관찰되지 않았다(Fig. 1).

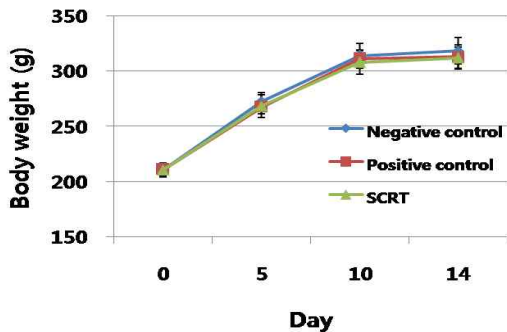


Fig. 1. Body weight changes of rats in 14 days single dose toxicity study of Socheongryong-tang (SCRT) (per os) Values are expressed as mean±S.D. (n=7). Control groups: negative, not injection; positive, injection with sterile water.

4. 부검 시 육안소견

부검 시 폐, 심장, 간장, 위장, 비장, 위, 흉선 등 내부장기의 이상유무를 육안으로 상세히 관찰한 결과, 시험물질 투여에 따른 어떠한 특이한 이상 소견이 발견되지 않았다.

5. 장기의 중량 비교

간 및 신장의 중량에 있어서 소청룡탕 투여군은 대조군과 비교할 때 유의성 있는 중량변화가 관찰되지 않았다(Table 2).

Table 2. Organ weights(g) of rats administered Socheongryong-tang (SCRT) for 14 days single dose toxicity study (per os)

Items	Negative control	Positive control	SCRT
Liver	9.28±0.45	9.37±0.14	8.92±0.26
Kedney	2.54±0.08	2.41±0.06	2.36±0.07

Values are expressed as mean±S.D. (n=7). Control groups: negative, not injection; positive, injection with sterile water.

6. 혈액 생화학적 검사

본 검사에 있어서 손상여부를 반영하는 여러 지표들이 있으나 가장 중요하다고 사료되는 간독성지표인 GOT 및 GPT와 신장독성지표인 BUN을 측정하였다. 이 검사의 결과에 있어서 소청룡탕 투여군은 대조군과 비교할 때 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았다(Table 3).

Table 3. Clinical chemistry values of rats administered Socheongryong-tang (SCRT) for 14 days single dose toxicity study (per os)

Items	Negative control	Positive control	SCRT
GOT (U/L)	116.00±4.31	114.90±5.91	117.00±3.57
GPT (U/L)	68.71±5.77	74.57±5.06	74.43±3.18
BUN (mg/dl)	22.36±0.90	22.61±1.01	25.07±1.60

Values are expressed as mean±S.D. (n=7). Control groups: negative, not injection; positive, injection with sterile water.

7. 혈액학적 검사

본 검사의 결과에 있어서 소청룡탕 투여군은 대조군과 비교할 때 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았다(Table 4).

Table 4. Hematological values of rats administered Socheongryong-tang (SCRT) for 14 days single dose toxicity study (per os)

Items	Negative control	Positive control	SCRT
WBC (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	8.07±0.69	8.40±0.91	8.44±0.69
RBC (10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	6.23±0.22	6.15±0.12	6.45±0.14
HGB (g/dl)	14.26±0.42	13.93±0.15	14.24±0.16
HCT (%)	38.33±1.25	37.13±0.48	37.71±0.54
PLT (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	1206.57±91.35	1227.90±49.22	1175.10±36.60

Values are expressed as mean±S.D. (n=7). Control groups: negative, not injection; positive, injection with sterile water.

고찰

소청룡탕은 알려지성 비염 및 기관지천식 등과 같은 질환의 치료에 사용되는 처방이며, 이 약물에 대한 효능이 보고되었다<sup>1,2,5,7</sup>. 이러한 소청룡탕의 효능에 대한 연구가 계속 진행되는 데 반하여, 이 약물에 대한 안전성 평가는 확립되어 있지 않은 실정이다. 이에 소청룡탕의 안전성평가를 독성시험기준<sup>14-16</sup>에 의거하여 수행하므로 소청룡탕의 안전성 및 독성을 평가하였다.

단회경구투여에 의한 급성독성시험을 식품의약품안전청의 독성시험기준<sup>14,15</sup> 및 OECD guideline<sup>16</sup>에 의거하여 실험하였다. 즉, 급성독성시험시 14일간의 관찰기간을 설정했으며, 이 기간 동안에 있어서 사망률, 일반 임상증상, 체중변화, 부검소견, 장기 중량변화, 혈액 생화학적 및 혈액학적 검사 등을 관찰하였다<sup>17-20</sup>. 시험물질의 급성독성시험에 대한 OECD의 guideline에 의하면, 시험물질의 투여에 있어서 2000 mg/kg 용량에서 사망개체가 없는 경우에 본 시험물질을 무독성 물질로 간주하고 있다. 소청룡탕에 대한 급성독성 시험을 실시한 결과, 대조군 및 2000 mg/kg 용량으로 투여한 모든 랫드가 사망하지 않아 소청룡탕의 LD<sub>50</sub>은 계산할 수 없었으며 또한, 시험기간 중 소청룡탕 투여군에서 대조군과 비교하여 유의성 있는 체중 및 장기(간 및 신장) 무게의 변화가 관찰되지 않았으며, 혈액 생화학적 검사 및 혈액학적 검사에 있어서도 유의성이 나타나지 않았다. 특히, 혈액 생화학적 검사에 있어서 손상여부를 반영하는 여러 지표들이 있으나 가장 중요하다고 사료되는 간독성지표인 GOT 및 GPT와 신장독성지표인 BUN을 측정하였다. BUN은 주로 신장질환이 있을 경우에 Creatinine과 함께 증가하므로 BUN 만을 측정하였다. 또한, 특이한 일반 임상증상 및 부검시 장기의 육안적 이상소견을 관찰 할 수 없었다.

본 연구는 약리학적인 효과를 나타내는 소청룡탕을 랫드에 2000 mg/kg 용량으로 단회 경구투여한 결과, 14일 동안에 사망률, 일반 임상증상, 체중변화, 부검소견, 장기 중량변화, 혈액 생화학적 및 혈액학적 검사 등에서 독성소견이 나타나지 않은 것으로 확인되었다. 따라서 랫드의 소청룡탕에 대한 LD<sub>50</sub>은 2000 mg/kg 을 초과하는 것으로 확인되었다. OECD guideline에 의하면, 2000 mg/kg 의 용량에서 사망개체가 없는 경우에 무독성으로 간주하기 때문에 소청룡탕의 안전성을 확인할 수 있었다. 일반적인 한약처방이 1회 복용이 아닌 장기적인 복용을 요구하므로 인체적용을 위한 안전성 확보를 위하여 장기 반복투여 독성시험을 수행할 예정이다.

## 결 론

랫드에 2000 mg/kg 용량의 소청룡탕으로 단회투여독성시험을 수행한 결과, 14일 동안에 사망률, 일반 임상증상, 체중변화, 부검소견, 장기 중량변화, 혈액 생화학적 및 혈액학적 검사 등에서 독성소견이 나타나지 않았다. 따라서 소청룡탕의 안전성을 확인할 수 있었으며, 랫드의 소청룡탕에 대한 LD<sub>50</sub>은 2000 mg/kg을 초과하는 것으로 확인되었다.

## 감사의 글

이 논문은 부산대학교 자유과제 학술연구비(2년)에 의하여 연구되었습니다.

## 참고문헌

- Ko, E.J., Rho, S.W., Cho, C.W., Choi, H., Ko, S.G., Lee, Y.W., Hong, M.C., Shin, M.K., Jung, S.G., Bae, H.S. So-Cheong-Ryong-Tang, traditional Korean medicine, suppresses Th2 lineage development. *Biol Pharm Bull* 27(5):739-743, 2004a.
- Ko, E.J., Rho, S.W., Lee, E.J., Seo, Y.H., Cho, C.W., Lee, Y.W., Min, B.I., Shin, M.K., Hong, M.C., Bae, H.S. Traditional Korean medicine (SCRT) modulate Th1/Th2 specific cytokine production in mice CD4+ T cell. *J Ethnopharmacol* 92: 121-128, 2004b.
- 동의학연구소. 새로보는 방약합편. 안양, 도서출판 단샘, pp 236-252, 2006.
- 허 준. 신대역 동의보감. 서울, 법인문화사, p 1091, 2009.
- Nakao, M., Muramoto, Y., Hisadome, M., Yamano, N., Shoji, M., Fukushima, Y., Saruwatari, J., Nakagawa, K. The effect of Shoseiryuto, a traditional Japanese medicine, on cytochrome P450s, N-acetyltransferase 2 and xanthine oxidase, in extensive or intermediate metabolizers of CYP2D6. *Eur J Clin Pharmacol* 63: 345-353, 2007.
- Kao, S.T., Wang, S.D., Wang, J.Y., Yu, C.K., Lei, H.Y. The Effect of herbal medicine, xiao-qing-long-tang (XQLT), on allergen-induced bronchial inflammation in mite-sensitized mice. *Allergy* 55: 1127-1130, 2000.
- Kao, S.T., Lin, C.S., Hsieh, C.C., Hsieh, W.T., Lin, J.G. Effects of xiao-qing-long-tang (XQLT) on bronchoconstriction and airway eosinophil infiltration in ovalbumin-sensitized guinea pigs: in vivo and in vitro studies. *Allergy* 56: 1164-1171, 2001.
- Bruchajzer, E., Szymanska, J.A., Piotrowski, J.K. Acute and subacute nephrotoxicity of 2-bromophenol in rats. *Toxicol Lett* 134: 245-252, 2002.
- Fujii, H., Sun, B., Nishioka, H., Hirose, A., Aruoma, O.I. Evaluation of the safety and toxicity of the oligomerized polyphenol oligonol. *Food Chem Toxicol* 45: 378-387, 2007.
- Harizal, S.N., Mansor, S.M., Hasnan, J., Tharakan, J.K.J., Abdullah, J. Acute toxicity study of the standardized methanolic extract of *Mitragyna speciosa* Korth in Rodent. *J Ethnopharmacol* 131: 404-409, 2010.
- Mukinda, J.T., Syce, J.A. Acute and cronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in Rodent. *J Ethnopharmacol* 111: 138-144, 2007.
- Sheng, Y., Bryngelsson, C., Pero, R.W. Enhanced DNA repair, immune function and reduced toxicity of C-MED-100TM, a novel aqueous extract from *Uncaria tomentosa*. *J Ethnopharmacol* 69: 115-126, 2000.
- Topping, D.C., Bernard, L.G., O'Donoghue, J.L., English, J.C. Hydroquinone: Acute and subchronic toxicity studies with emphasis on neurobehavioral and nephrotoxic effects. *Food Chem Toxicol* 45: 70-78, 2007.
- 식품의약품안전청. 식품의약품안전청고시 제 2009-116호 (2009년 08월 24일) '의약품등의 독성시험기준'. 2009.
- 식품의약품안전청. 식품의약품안전청고시 제 2009-102호 (2009년 08월 24일) '비임상시험관리기준'. 2009.
- OECD. OECD guidelines for testing of chemical no. 423. Acute oral toxicity-Acute class method, line 23. 2001.
- 김은순, 장보윤, 이안숙, 강대길, 이호섭, 김병두, 김성연. 랫트에서 한약재 복합물 BDR-29의 단회 경구투여 독성에 관한 연구. *생약학회지* 38(1):71-75, 2007.
- 신인식, 김정훈, 하혜경, 황대선, 허정임, 신현규. Sprague-Dawley 랫드를 이용한 평위산의 안전성 연구. *동의생리병리학회지* 24(3):426-429, 2010.
- 한혜경, 최성숙, 신진철, 정하숙. 생리활성이 우수한 고품질 유색미의 단회 경구투여 안전성 연구. *한국식품영양과학회지* 36(5):527-533, 2007.
- 김성민, 석귀덕. 섬백리향 정유의 진통, 항염증, 정신적인 작용. *약학회지* 51(6):508-516, 2007.