

관동화 및 관동화 가미방이 흰쥐의 간독성 및 신독성에 미치는 영향

김은진 · 민상연 · 김장현

동국대학교 한의과대학 소아과교실

Abstract

Studies on Hepatic and Renal Toxicities Possibly Induced by Administration of *Farfarae Flos* in Rats

Kim Eun Jin · Min Sang Yeon · Kim Jang Hyun

Department of Pediatrics, College of Oriental Medicine, Dongguk University

Objectives

This study is to investigate whether oral administration of *Farfarae flos*, JCT (Jeong-cheon-tang), CPT (Cheong-pye-tang) and CPK (Cheong-pye-tang- ga-kwandonghwa) will affect both the levels of serum GOT, GPT, blood urea nitrogen (BUN) and creatinine in SD rats or not, and will change body weight of the rats.

Materials and Methods

18 SD rats were randomly divided into 6 groups - including a control group (vehicle 2 ml/rat), *Farfarae flos* water extract (extract 2 ml/rat), *Farfarae flos* fine powder (emulsion 2 ml/rat), JCT (extract 2 ml/rat), CPT (extract 2 ml/rat) and CPK (extract 2 ml/rat) group. The drugs were administered to rats for 2 weeks or 30 days (for control and *Farfarae flos* fine powder group only) and serum GOT/GPT activities and BUN/creatinine concentrations were measured. Also, the changes of body weights of each rat was measured.

Results

(1) *Farfarae flos* water extract, *Farfarae flos* fine powder emulsion, JCT and CPT and CPK did not cause any changes in serum GOT/GPT activities and BUN/creatinine concentrations compared to the ones in control group.

(2) There are no significant changes in rats' body weight among the experimental groups during the experimental period.

Conclusions

Contrary to the reports on human data, 2 weeks or 30 days of oral administrations of *Farfarae flos* itself and decoctions containing *Farfarae flos* did not provoke hepatotoxicity and nephrotoxicity.

Key words : *Farfarae flos*, Hepatotoxicity, Nephrotoxicity

I. Introduction

菊花科 (Compositae) 식물 '款冬'의 꽃봉오리인 款冬花 (*Farfarae flos*)는 性味が 溫하고 無毒하며 潤肺下氣, 止咳化痰의 效能이 있어 임상적으로 咳嗽, 喘息 등을 목적으로 각종 方劑에 배합되어 효과적으로 사용되고 있는 약물이다¹⁾. 그러나 최근 연구에 따르면 款冬花에 함유되어 있는 항염증 성분²⁾을 포함한 다양한 성분 중 pyrrolizidine alkaloids인 senkirine과 미량의 senecionine 등에 의해 간독성이 나타남이 보고된 바 있다³⁻⁸⁾.

이와 비슷하게 임상 한의학에서 효과적으로 사용되고 있는 本草인 麻黃 (*Ephedrae herba*)은 심혈관 독성 및 신경계 독성 발현의 위험이 있다고 알려져 현재 미국에서는 의약품으로 투여되지 않으며 건강기능식품으로서도 사용이 금지⁹⁻¹⁰⁾되어 있는 상황이다. 그러나 연구에 따르면 麻黃 單味劑가 아닌 麻黃湯, 葛根湯, 麻杏甘石湯 등 麻黃이 적절히 配合된 方劑는 그 適應症만 잘 찾아 투여하면 有害作用 없이 治療약으로서의 효능을 잘 발현¹¹⁾하는 것으로 보고된바 있으며 현재까지도 임상한의학에서 널리 사용되고 있다.

따라서 款冬花 單味劑가 간독성을 유발할 가능성과는 별개로 方劑내의 배합된 다른 약물들과의 상호작용을 통하여 간독성을 유발하지 않을 가능성이 있을 것이라는 가설에 근거하여 본 연구에서는 款冬花 자체의 간독성 및 신독성, 款冬花가 들어있는 定喘湯 방제의 간독성 및 신독성, 定喘湯과 비슷한 효능을 가진 淸肺湯 및 淸肺湯에 款冬花를 넣었을 때의 간독성 및 신독성의 발현 여부를 각각 탐색함으로써 款冬花 및 款冬花가 方劑 중에 배합되었을 때의 생체 독성 발현 여부를 검증하고자 하였다.

II. Materials and Methods

1. 재료

1) 동물

평균 체중 350 g 정도의 6주령 SD rat (흰쥐, 雄性)를 실험동물 전문사육 공급업체인 대한바이오링크 (주) (Kyung-gi, Korea)에서 구입하고, 3-4일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2) 실험 약제

定喘湯은 『古今醫統大典』¹²⁾에 근거하였고 (Table

1), 淸肺湯은 『萬病回春 咳嗽問』¹³⁾에 근거하였으며 한 첩당 처방의 내용과 용량은 다음과 같다 (Table 2). 款冬花 및 定喘湯, 淸肺湯의 구성 藥材는 경동한방술 무선제약 (충남, 한국)에서 공급받아 精選하여 사용하였다.

3) 약제 추출물 분리 및 시약

款冬花는 50 g/첩, 定喘湯 및 淸肺湯은 상기 용량으로 1첩을 구성하고, 淸肺湯 加 款冬花처방은 淸肺湯 1첩 분량에 款冬花 4 g을 첨가하였다. 1첩 분량의 한약에 중량의 10배 용량의 정제수를 가하고, 100 °C로 가온된 상태에서 3시간 동안 전탕하여, 최종 100 ml의 탱액을 수거하였다. 각 탱액을 실온 정도로 식힌 후 여과하고 여액을 멸균용기에 저장하여 4 °C 냉장고에 보관하였다. 별도로 600 g의 款冬花를 한약 분쇄기를 이용하여 전체를 미세분말로 만든 후, 정제수에 40 mg/μl의 농도로 현탁하여 4 °C 냉장고에 보관하였다. 기타 제반 시약들은 Sigma사 (St. Louis, Mo., U.S.A.) 또는 여타의 국내의 시약 제조사에서 일급시약 (reagent grade) 이상의 제품들을 구입하여 사용하였다.

2. 방법

1) 약물 투여군

6주령의 SD 종 雄性 흰쥐 18마리를 한 군당 3마리씩 총 6군으로 무작위 분류하였다. 분류된 동물을 대조군 (정제수 2 μl/rat), 款冬花 물 추출물 투여군 (최종 추출물 2 μl/rat), 款冬花 분말 투여군 (80 mg/2 μl/rat), 定喘湯 투여군 (최종 추출물 2 μl/rat), 淸肺湯 투여군 (최종 추출물 2 μl/rat), 淸肺湯 加 款冬花 투여군 (최종 추출물 2 μl/rat) 으로 정하고, 총 2주간 (5일/주) 경구 투여하였다. 또한 별도로 각 군당 3마리씩 대조군 (정제수 2 μl/rat) 및 款冬花 분말 투여군 (80 mg/2 μl/rat)을 설정하고 총 30일간 약물을 경구 투여하였다.

2) 투여용량의 설정

각 군별 투여 용량의 설정 근거는 다음과 같다. 일반적인 처방 기준으로 체중 70 kg 성인이 1첩당 4 g의 款冬花를 1일 2첩씩 복용한다면 8 g/일/70 kg이므로, 체중 70 kg 성인에게 款冬花 추출물 200 μl/일 (통상 1일 2회 복용, 1회당 100 μl, 款冬花 원 생약으로서 총 8 g 함유) 투여를 기준으로 체중 350 g 정도의 흰쥐에 투여되어야 할 환산용량은 1 μl (款冬花 원 생약으로서 40 mg 함유)로 계산되었다. 그러나 실제로는 상용

Table 1. Prescription of Jeong-cheon-tang

Herbal Name	Pharmaceutical Name	Amount (g)
麻黃	<i>Ephedra Herba</i>	12.0
杏仁	<i>Armeniaca Amarum Semen</i>	6.0
黃芩	<i>Scutellariae Radix</i>	4.0
半夏	<i>Pinelliae Rhizoma</i>	4.0
桑白皮	<i>Mori Cortex</i>	4.0
蘇子	<i>Perillae Semen</i>	4.0
款冬花	<i>Farfarae Flos</i>	4.0
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	4.0
銀杏	<i>Ginkgo Semen</i>	2.0
生薑	<i>Zingiberis Rhizomacens</i>	2.0
大棗	<i>Jujubae Fructus</i>	2.0
Total		48.0

환산용량의 25배에 해당하는 款冬花가 흰쥐에게 투여 되도록 하기 위해, 50 g의 款冬花를 탕전(추출)하여 100 μ l의 최종 추출물(탕액)을 얻음으로써 0.5 g/ μ l의 최종 농도로 조제하고, 흰쥐 1마리당 1일 2 ml (1 g=40 mg의 25배/일)의 추출물을 투여하였다.

또한 款冬花 물 추출물의 잠재적인 독성과 款冬花 미세분말 현탁액의 잠재적 독성을 비교하기 위해 款冬花를 미세분말로 만들어 정제수에 40 mg/ μ l 농도로 현탁액을 조제한 후 흰쥐 1마리당 1일 2 μ l를 투여함으로써 체중 350 g 정도의 흰쥐에 투여되어야 할 환산용량(1 μ l, 款冬花 원 생약으로서 40 mg 함유)의 2배량을 투여하였다. 기타 定喘湯, 淸肺湯, 淸肺湯 加 款冬花의 경우에도 흰쥐 1마리당 1일 2 μ l를 투여함으로써 체중 350 g 정도의 흰쥐에 투여되어야 할 최종 추출물 환산용량의 2배량을 투여하였다.

3) 체중 측정

2주간 혹은 30일간의 약물 투여가 종료된 후 각 군에 배당된 흰쥐의 체중 변화(실험 시작일과 종료일 간의 차이, 체중 증가도)를 측정하고 기록하였다.

4) 심장에서의 채혈 및 혈청의 분리

2주간 혹은 30일간의 약물 투여가 종료된 후 각 군에 배당된 흰쥐의 체중 변화를 측정한 후, 각 실험동물을 ethyl ether로 전신 마취하였다. 동물을 해부대에 위치시키고 심장 박동이 감지되는 위치에 멸균된 주사기를 삽입하여 혈액을 5 μ l 채취하였다. 채취된 혈액을 멸균된 15 μ l 용량의 시험관에 주사기 침을 제거한 상태에서 조심스럽게 옮겨 넣었다. 혈액이 들어있는 시

Table 2. Prescription of Cheong-pye-tang

Herbal Name	Pharmaceutical Name	Amount (g)
吉梗	<i>Platycodi Radix</i>	5.0
茯苓	<i>Poris</i>	5.0
桑白皮	<i>Mori Cortex</i>	5.0
秦皮	<i>Citri Pericarpium</i>	5.0
貝母	<i>Fritillariae Cirrhosae Bulbus</i>	5.0
當歸	<i>Angelicae Gigantis Radix</i>	4.0
杏仁	<i>Armeniaca Amarum Semen</i>	4.0
梔子	<i>Gardeniae Fructus</i>	4.0
天門冬	<i>Asparagi Radix</i>	4.0
麥門冬	<i>Liriopsis Tuber</i>	4.0
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	2.0
黃芩	<i>Scutellariae Radix</i>	6.0
生薑	<i>Zingiberis Rhizomacens</i>	4.0
大棗	<i>Jujubae Fructus</i>	4.0
五味子	<i>Schizandrae Fructus</i>	2.0
Total		63.0

험관을 뚜껑을 닫은 채 30분간 실온에서 방치한 후 탁상용 원심분리기로 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 분리된 혈청 중 1 μ l를 취하여 1.5 μ l 용량의 멸균 시험관에 옮겨 넣고 각 지표의 측정 단계에 들어가기 전까지 -20 $^{\circ}$ C에 보관하였다.

5) 흰쥐에게 약물의 경구투여시 간 기능에 미치는 영향 측정

투여된 각 약물에 의한 간독성 발생 여부를 검증하기 위하여, 간세포 파괴 시 혈청으로 유출되는 효소인 GOT (AST), GPT (ALT)의 혈청 중 활성을 생화학 자동 분석기인 OLYMPUS AU400 (Olympus, Japan)을 이용하여 측정하였다. 먼저 혈청 중의 GOT (Glutamate Oxaloacetate Transaminase)는 L-Asparatate와 α -ketoglutarate를 Oxaloacetate와 L-Glutamate로 전환시키며 이때 생성된 oxaloacetate는 Reduced Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NADH)의 존재 하에 Malate Dehydrogenase (MDH)의 작용으로 L-Malate로 전환된다. GOT의 활성값은 340 nm에서 NADH의 감소 속도를 측정하여 계산되었다. 혈청 중 GPT (Glutamate Pyruvate Transaminase)는 L-alanine과 α -ketoglutarate를 pyruvate와 L-glutamate로 변환시키며, 이때 생성된 pyruvate는 NADH의 존재 하에 Lactate Dehydrogenase (LDH)의 작용으로 lactate로 전환된다. GPT의 활성값은 340 nm에서 NADH의 감소 속도를 측정하여 계산되었다.

6) 흰쥐에게 약물의 경구투여 시 신 기능에 미치는 영향 측정

투여된 약물에 의한 신독성 발생 여부를 검증하기 위하여, 각 약물 투여 후 혈청 중의 BUN (Blood Urea Nitrogen) 값을 생화학 자동분석기인 OLYMPUS AU400 (Olympus, Japan)을 이용하여 측정하였다. 혈청 중의 요소 (urea)는 urease에 의해 특이적으로 분해되어 암모니아와 이산화탄소를 생성하며, 생성된 암모니아는 2-oxoglutarate와 먼저 반응하고 GLDH의 존재 하에 NADH와 반응하여 Glutamate와 NAD를 생성하고, 이 반응에서 감소하는 NADH의 감소 속도를 측정하여 혈청 중의 요소질소 (BUN)의 양 (농도)을 측정하였다. 혈청 중의 크레아티닌 (creatinine)은 pH가 알칼리성인 조건에서 picric acid와 반응하여 적색의 화합물을 생성하며, 이 때 생성되는 적색 화합물의 증가 속도를 측정함으로써 크레아티닌의 양 (농도)을 측정하였다.

3. 통계처리

모든 측정 결과는 Mean ± S.E.M.으로 환산된 후, 약물 처리군의 측정치는 대조군 측정치의 백분율로 나타났다. 통계처리는 unpaired Student's *t*-test로 하였으며, *p*<0.05인 경우에 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

III. Results

1. 흰쥐에게 각 약물의 경구 투여 시 체중 증가 정도에 미치는 영향

2주간의 약물 경구 투여기간 동안 각 실험동물의 체중 변화를 측정한 결과 款冬花 물 추출물 투여군 (KW), 款冬花 분말 투여군 (KP), 定喘湯 투여군 (JCT), 淸肺湯 투여군 (CPT), 淸肺湯 加 款冬花 투여군 (CPK)의 어느 군에서도 대조군과 비교하여 유의한 차이를 보이지 않았으므로 각 약물이 실험동물의 영양 섭취 및 대사 상태에 유의한 독성을 유발하지 않음을 알게 되었다 (Fig. 1).

款冬花 분말 투여군 (KP)의 경우 30일간의 경구 투여 후에도 실험동물의 체중 변화에서 대조군과 비교 시 유의한 차이를 보이지 않았으므로 실험동물의 영양 섭취 및 대사 상태에 유의한 독성을 유발하지 않음을 알게 되었다 (Fig. 6).

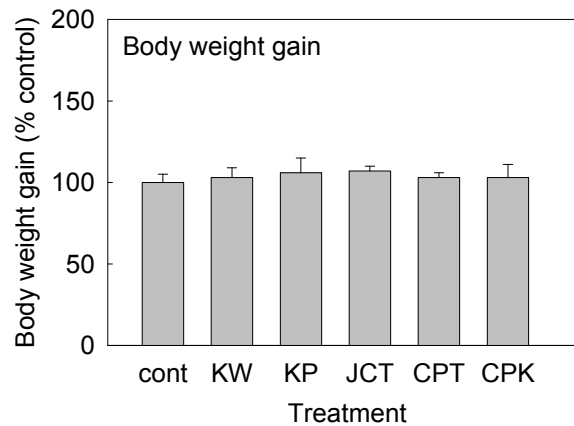


Fig. 1. Effects of *Farfarae flos* (KW, KP), JCT, CPT, CPK on body weight of rat during 2 weeks of administration *Farfarae flos* (KW, KP), JCT, CPT, CPK were administered to rats and body weight of each rat was measured, as described in Materials and Methods. Each bar represents a mean ± S.E.M. from 3 rats.

KW: water extract of *Farfarae flos*, KP: powder of *Farfarae flos*, JCT: Jeong-cheon-tang, CPT: Cheong-pye-tang, CPK: Cheong-pye-tang-ga-kwandonghwa

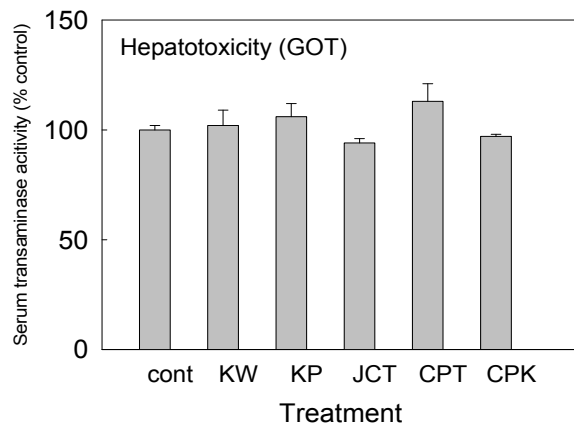


Fig. 2. Effects of *Farfarae flos* (KW, KP), JCT, CPT, CPK on serum GOT activity of rat during 2 weeks of administration *Farfarae flos* (KW, KP), JCT, CPT, CPK were administered to rats and serum GOT activity of each rat was measured, as described in Materials and Methods. Each bar represents a mean ± S.E.M. from 3 rats.

KW: water extract of *Farfarae flos*, KP: powder of *Farfarae flos*, JCT: Jeong-cheon-tang, CPT: Cheong-pye-tang, CPK: Cheong-pye-tang-ga-kwandonghwa

2. 흰쥐에게 각 약물의 경구 투여 시 간 기능에 미치는 영향

간독성의 지표로는 트랜스아미나제인 GOT (AST), GPT (ALT)의 혈청 중 활성을 선정하였으며, 2주간의 각 약물 경구투여 후 GOT, GPT의 혈청 중 활성을 측정한 결과 款冬花 물 추출물 투여군 (KW), 款冬花 분

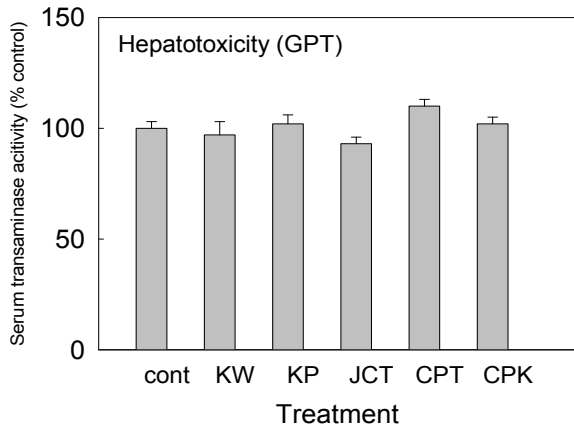


Fig. 3. Effects of *Farfarae flos* (KW, KP), JCT, CPT, CPK on serum GPT activity of rat during 2 weeks of administration *Farfarae flos* (KW, KP), JCT, CPT, CPK were administered to rats and serum GPT activity of each rat was measured, as described in Materials and Methods. Each bar represents a mean \pm S.E.M. from 3 rats.

KW: water extract of *Farfarae flos*, KP: powder of *Farfarae flos*, JCT: Jeong-cheon-tang, CPT: Cheong-pye-tang, CPK: Cheong-pye-tang-ga-kwandonghwa

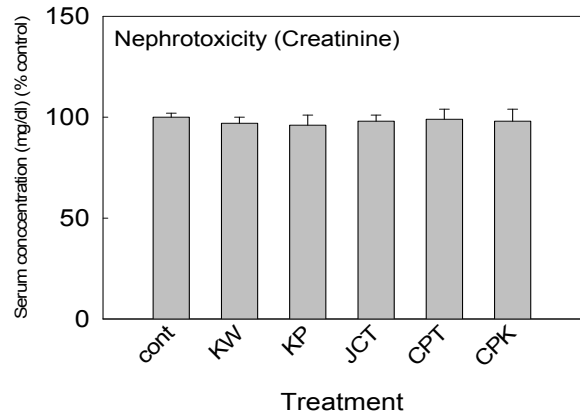


Fig. 5. Effects of *Farfarae flos* (KW, KP), JCT, CPT, CPK on serum creatinine concentration of rat during 2 weeks of administration *Farfarae flos* (KW, KP), JCT, CPT, CPK were administered to rats and serum creatinine concentration of each rat was measured, as described in Materials and Methods. Each bar represents a mean \pm S.E.M. from 3 rats.

KW: water extract of *Farfarae flos*, KP: powder of *Farfarae flos*, JCT: Jeong-cheon-tang, CPT: Cheong-pye-tang, CPK: Cheong-pye-tang-ga-kwandonghwa

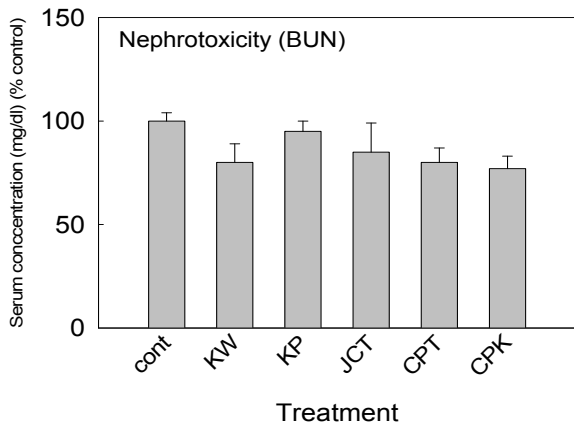


Fig. 4. Effects of *Farfarae flos* (KW, KP), JCT, CPT, CPK on serum BUN concentration of rat during 2 weeks of administration *Farfarae flos* (KW, KP), JCT, CPT, CPK were administered to rats and serum BUN concentration of each rat was measured, as described in Materials and Methods. Each bar represents a mean \pm S.E.M. from 3 rats.

KW: water extract of *Farfarae flos*, KP: powder of *Farfarae flos*, JCT: Jeong-cheon-tang, CPT: Cheong-pye-tang, CPK: Cheong-pye-tang-ga-kwandonghwa

말 투여군 (KP), 定喘湯 투여군 (JCT), 淸肺湯 투여군 (CPT), 淸肺湯 加 款冬花 투여군 (CPK)의 어느 군에서도 대조군과 비교하여 유의한 차이를 보이지 않으므로써 각 약물이 실험동물에서 간독성을 유발하지 않음을

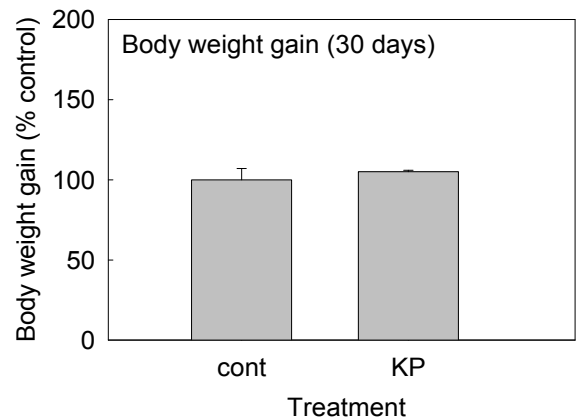


Fig. 6. Effect of *Farfarae flos* (KP) on body weight of rat during 30 days of administration KP was administered to rats and body weight of each rat was measured, as described in Materials and Methods. Each bar represents a mean \pm S.E.M. from 3 rats.

KP: powder of *Farfarae flos*

알게 되었다. 대조군을 포함하여 측정된 모든 효소 활성값은 정상 범위를 벗어나지 않았다 (Fig. 2, 3).

款冬花 분말 투여군 (KP)의 경우 30일간의 경구 투여 후에도 실험동물에서 간독성을 유발하지 않음을 알게 되었다. 측정된 모든 효소 활성값은 정상 범위를 벗어나지 않았다 (Fig. 7, 8).

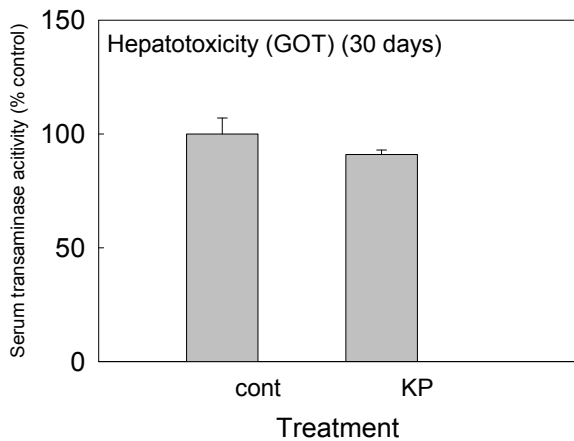


Fig. 7. Effect of *Farfarae flos* (KP) flos on serum GOT activity of rat during 30 days of administration KP was administered to rats and serum GOT activity of each rat was measured, as described in Materials and Methods. Each bar represents a mean \pm S.E.M. from 3 rats.

KP: powder of *Farfarae flos*

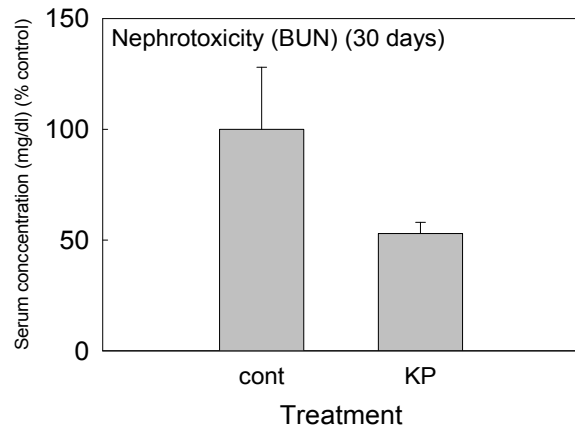


Fig. 9. Effect of *Farfarae flos* (KP) on serum BUN concentration of rat during 30 days of administration KP was administered to rats and serum BUN concentration of each rat was measured, as described in Materials and Methods. Each bar represents a mean \pm S.E.M. from 3 rats.

KP: powder of *Farfarae flos*

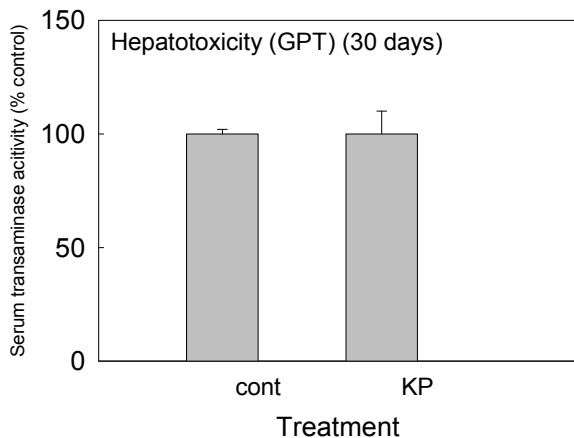


Fig. 8. Effect of *Farfarae flos* (KP) on serum GPT activity of rat during 30 days of administration KP was administered to rats and serum GPT activity of each rat was measured, as described in Materials and Methods. Each bar represents a mean \pm S.E.M. from 3 rats.

KP: powder of *Farfarae flos*

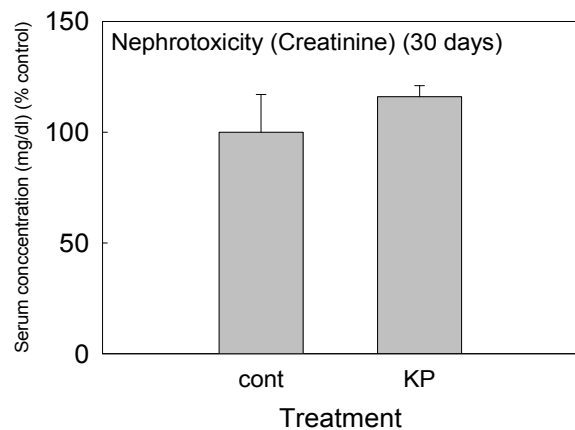


Fig. 10. Effect of *Farfarae flos* (KP) on serum creatinine concentration of rat during 30 days of administration KP was administered to rats and serum creatinine concentration of each rat was measured, as described in Materials and Methods. Each bar represents a mean \pm S.E.M. from 3 rats.

KP: powder of *Farfarae flos*

3. 흰쥐에게 각 약물의 경구투여 시 신 기능에 미치는 영향

신독성의 지표로는 Blood Urea Nitrogen (BUN) 및 creatinine의 혈청 중 농도를 선정하였으며, 2주간의 각 약물 경구투여 후 Blood Urea Nitrogen (BUN) 및 creatinine의 혈청 중 농도를 측정된 결과 款冬花 물 추출물 투여군 (KW), 款冬花 분말 투여군 (KP), 定喘湯 투여군 (JCT), 淸肺湯 투여군 (CPT), 淸肺湯 加 款冬花 투여군 (CPK)의 어느 군에서도 대조군과 비교하여 유의한 차이를 보이지 않음으로써 각 약물이 실험동물에서

신독성을 유발하지 않음을 알게 되었다. 대조군을 포함하여 측정된 모든 농도값은 정상 범위를 벗어나지 않았다 (Fig. 4, 5).

款冬花 분말 투여군 (KP)의 경우 30일간의 경구 투여 후에도 실험동물에서 신독성을 유발하지 않음을 알게 되었다. 측정된 모든 효소 활성값은 정상 범위를 벗어나지 않았다 (Fig. 9, 10).

IV. Discussion

款冬花 (*Farfarae flos*)는 菊花科에 속하는 다년생 초본인 款冬 (*Tussilago farfara* L.)의 꽃봉오리로 溫潤하고 辛微甘하며 肺經에 들어가 潤肺化痰하여 止咳시키는 효능이 있어 임상에서 기관지 천식 및 급만성기관지염이나 폐렴등의 질환에 다양하게 응용되고 있는 본초이다¹⁾. 款冬花의 대한 지금까지 진행된 연구로 한 등¹⁴⁾은 acetylcholine, prostaglandin F2에 의한 기관지 수축을 억제한다고 하였으며, 한 등¹⁵⁾은 款冬花가 교감신경 수용체에 작용하여 histamine에 의한 기관지평활근 수축을 억제한다고 보고 하였다. 곽¹⁶⁾의 연구에 의하면 款冬花가 호산구를 비롯한 면역세포와 알레르기 관련 사이토카인의 분비를 조절하는 작용을 통하여 천식의 치료에 효과적으로 활용될 수 있음을 밝혀냈다. 또한 강¹⁷⁾의 논문에 따르면 관동화 추출물은 GSH 산화에 대한 스트레스를 억제하여 활성산소와 관련된 인체질환을 개선 및 치료 하는데 활용될 수 있다고 하였다. 그러나 款冬花의 성분 중 pyrrolizidine alkaloids인 senkirkine 과 미량의 senecionine 등에 의해 간독성³⁻⁸⁾ 유발할 수 있음이 알려진 이후 款冬花의 독성여부에 대하여 보다 자세하게 진행된 연구를 찾아볼 수는 없었다.

실험에 사용된 定喘湯은 款冬花가 포함된 處方 중 임상한의학에서 빈용되는 方劑중 하나로 『古今醫統大典』¹²⁾에 처음으로 收錄된 처방으로 三拗湯을 기본으로 하여 黃芩, 桑白皮, 蘇子, 款冬花 등의 구성약물로 이루어져 있으며 喘久不愈, 哮喘, 喘急, 哮喘痰盛 등에 有效하다고 알려져 있다. 현재까지 진행된 定喘湯의 효능에 대한 실험적인 연구로 왕¹⁸⁾은 천식 발작시 나타나는 호흡과 기관조직에 미치는 영향에 대하여 연구하였고, 김¹⁹⁾은 천식모델내의 cytokine에 미치는 영향에 대하여 보고 하였으며, 염²⁰⁾은 定喘湯이 CD 4+ T cell 의 선택적인 억제를 통하여 기도의 염증 반응과 과민 반응을 억제하여 천식을 치료 한다고 보고하였다.

淸肺湯은 『萬病回春 咳嗽問』¹³⁾에 기재된 처방으로 處方 내 款冬花가 포함되어 있지 않으며 定喘湯과 유사하게 ‘一切咳嗽上焦痰盛’에 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 淸肺湯에 대한 실험적인 연구로 최근에 이²¹⁾에 의하면 淸肺湯이 5 mg/ml 이상이 되는 농도에서 직접적인 apoptosis를 유발하고, 폐암이 성장하는 과정에서는 초기단계에서 억제경향을 보인다는 연구가 진행된바 있다.

본 연구의 최종 목표는 흰쥐를 대상으로 款冬花 물

추출물, 款冬花 분말, 定喘湯, 淸肺湯, 淸肺湯 加 款冬花를 2주간 혹은 30일간 경구 투여 시 흰쥐에서 간독성 및 신독성을 유발할 가능성을 탐색함으로써 款冬花 및 方劑 중에 配合된 款冬花의 생체 독성 발현 여부를 검증하는 것이었다.

현재는 단일 本草 (生藥) 혹은 本草의 개별 성분의 효능 및 안전성 연구가 한의학 연구의 주류를 이루고 있다. 하지만 실제 임상 한의학에서는 단일 本草 혹은 유효 성분 위주로 투약이 이루어지는 것이 아니라 方劑의 湯煎液 혹은 散劑, 丸劑 위주로 투약이 이루어지고 있기 때문에 ‘方劑’ 단위의 생체 안전성 검증이 필요하다. 그런 의미에서 款冬花 자체 추출물 및 분말 뿐만 아니라 方劑단위의 안전성을 검증 했다는 것에 큰 의미가 있다고 본다.

본 연구의 결과 인체 투여량 기준 25배의 고용량 투여 시에도 款冬花 물 추출물 (KW)은 흰쥐의 체중 증가도, GOT 및 GPT 활성, BUN 및 creatinine 농도에 대조군과 비교하여 유의한 변화를 유발하지 않았다 (Fig. 1-5).

이러한 실험결과는 고용량의 款冬花 추출물이라 해도 2주간의 일반적 투여 기간 (20점, 1제 분량, 10일에서 14일간 복용)에는 실험동물의 영양 섭취 및 대사 상태에 유의한 독성을 유발하지 않으며 동시에 간기능 및 신기능에도 유의한 독성을 유발하지 않을 가능성을 시사하는 결과로 판단된다.

한편 款冬花 물 추출물 (KW)에는 독성물질인 pyrrolizidine alkaloids가 추출 및 함유되어 있지 않을 가능성을 배제하기 위하여 款冬花를 미세분말화 (KP)하여 현탁액을 조제한 후 인체 투여량 기준 2배 용량으로 투여하였다. 흰쥐의 체중 증가도, GOT 및 GPT 활성, BUN 및 creatinine 농도에 대조군과 비교하여 유의한 변화를 유발하지 않는다는 결과를 얻음으로 款冬花 미세분말 투여가 실험동물의 영양 섭취 및 대사 상태에 유의한 독성을 유발하지 않으며 간기능 및 신기능에도 유의한 독성을 유발하지 않을 가능성을 보여주었다 (Fig. 6-10).

다음으로 단독 투여 후의 款冬花에 의한 독성 유발 가능성과 별개로 款冬花를 함유하는 方劑를 투여했을 때는 어떤 양상을 보이는지 알아보기 위해 款冬花가 들어있는 處方인 定喘湯 (JCT)을 인체 투여량 기준 2배 용량으로 투여한 결과 흰쥐의 체중 증가, 간독성 및 신독성 지표에 공히 유의한 변화를 유발하지 않았다 (Fig. 1-5).

동시에 款冬花를 함유하고 있지 않은 방제인 淸肺

湯 (CPT) 및 原處方に 款冬花를 가미한 處方 (CPK)을 인체 투여량 기준 2배 용량으로 투여 시에도 흰쥐의 체중 증가, 간독성 및 신독성 지표에 모두 유의한 변화를 유발하지 않았다 (Fig. 1-5).

이와는 별도로 독성물질로 보고된 pyrrolizidine alkaloids를 함유하고 있는 款冬花 미세분말화 (KP) 현탁액을 상기 2주 투여 기간의 2배에 해당하는 30일간 투여한 후에도 흰쥐의 체중 증가, GOT 및 GPT 활성, BUN 및 creatinine 농도에 대조군과 비교하여 유의한 변화를 유발하지 않음으로써 실험동물의 영양 섭취 및 대사 상태에 유의한 독성을 유발하지 않으며 동시에 간기능 및 신기능에도 유의한 독성을 유발하지 않음을 보여주었다 (Fig. 1-5).

이상의 결과는 인체 투여를 기준으로 처방의 상용량 및 상용 투여기간 범위 혹은 그 이상의 투여 기간에도 款冬花 및 款冬花를 포함하는 方劑 모두에서 간독성 및 신독성이 유발되지 않음을 시사한다. 그러나 단일 약제의 독성 여부를 확인하는데 체중 증가, GOT 및 GPT 활성, BUN 및 creatinine의 항목의 변화를 관찰함에 단순히 이번 시험을 통해 款冬花 方劑가 간독성 및 신독성을 유발하지 않았다고 단정 짓기에는 부족한 점들이 있다고 사료된다. 앞으로는 다양한 약제 추출법 및 세포독성시험, 항원성 시험, 생식독성시험 등의 여러 가지 지표들을 통하여 本草 단일 성분 뿐이 아닌 方劑단위의 안전성을 입증하는 심도있는 후속 연구과정이 필요하다고 사료된다.

V. Conclusion

본 연구의 결과로 아래와 같은 결론을 얻었다.

1. 인체 투여량 기준 25배의 고용량을 2주간 투여 시, 款冬花 물 추출물 (KW)은 흰쥐의 체중 증가도, GOT 및 GPT 활성, BUN 및 creatinine 농도에 대조군과 비교하여 유의한 변화를 유발하지 않았다.

2. 款冬花의 미세분말 (KP) 현탁액을 인체 투여량 기준 2배 용량으로 2주 혹은 30일간 투여 후에도 흰쥐의 체중 증가도, GOT 및 GPT 활성, BUN 및 creatinine 농도에 대조군과 비교하여 유의한 변화를 유발하지 않았다.

3. 款冬花를 함유하는 처방인 定喘湯 (JCT) 및 호흡기 질환에 사용되는 처방인 淸肺湯 (CPT)과 淸肺湯 加 款冬花 (CPK)를 인체 투여량 기준 2배 용량으로 2주간

투여 시에도 흰쥐의 체중 증가도, GOT 및 GPT 활성, BUN 및 creatinine 농도에 대조군과 비교하여 유의한 변화를 유발하지 않았다.

이상의 결과는 款冬花 혹은 款冬花를 포함하는 方劑 모두에서 간독성 및 신독성이 유발되지 않음으로 인체내 영양 섭취 및 대사 상태에 유의한 독성을 유발하지 않는다는 것을 시사하는 바이다.

References

1. Oriental Herbalogy. National Association of Oriental Herbalogy Professors. Younglimsa. 1999:482-3.
2. Hwangbo C, Lee HS, Park J, Choe J, Lee JH. The anti-inflammatory effect of Tussilagone, from *Tussilago farfara*, is mediated by the induction of heme oxygenase-1 in murine macrophages. *Int Immunopharmacol.* 2009; 9(13-14):1578-84.
3. Sperl W, Stuppner H, Gassner I, Judmaier W, Dietze O, Vogel W. Reversible hepatic veno-occlusive disease in an infant after consumption of pyrrolizidine-containing herbal tea. *Eur J Pediatr.* 1995;154(2):112-6.
4. Stegelmeier BL, Edgar JA, Colegate SM, Gardner DR, Schoch TK, Coulombe RA, Molyneux RJ. Pyrrolizidine alkaloid plants, metabolism and toxicity. *J Nat Toxins.* 1999;8(1):95-116.
5. Roeder E. Medicinal plants in China containing pyrrolizidine alkaloids. *Pharmazie.* 2000;55(10):711-26.
6. Willett KL, Roth RA, Walker L. Workshop overview: hepatotoxicity assessment for botanical dietary supplements. *Toxicol Sci.* 2004;79(1):4-9.
7. Li SL, Lin G, Fu PP, Chan CL, Li M, Jiang ZH, Zhao ZZ. Identification of five hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids in a commonly used traditional Chinese medicinal herb, *Herba Senecionis scandentis* (Qianliguang). *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2008;22(4):591-602.
8. Jiang Z, Liu F, Goh JJ, Yu L, Li SF, Ong ES, Ong CN. Determination of senkirkine and senecionine in *Tussilago farfara* using microwave-assisted extraction and pressurized hot water extraction with liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Talanta.* 2009;79(2): 539-46.
9. Soni MG, Carabin IG, Griffiths JC, Burdock GA. Safety

- of ephedra: lessons learned. *Toxicol Lett.* 2004;150(1): 97-110.
10. Dunnick JK, Kissling G, Gerken DK, Vallant MA, Nyska A. Cardiotoxicity of Ma Huang / caffeine or ephedrine / caffeine in a rodent model system. *Toxicol Pathol.* 2007;35(5):657-64.
 11. Soon SY. *Oriental Internal Medicine.* Sungbosa. 1991:373-5.
 12. Seo CF. *Gogumeitongdaejun.* Beijing: Yinminwesangchulpansa. 1991:1312-13.
 13. Gong JH. *Manbanghwachun.* Elchukmunwhasa. 1997: 242-3.
 14. Han DG, Han SH. Effects of Kwandongwhasan extract and its constituent herbs on the contraction of isolated guinea pig trachea smooth muscle. *J Int Korean Med.* 1992;12(1):1-20.
 15. Han JH, Kang SY, Yoo KS. Farfarae flos inhibits histamine-induced contractile responses of airway smooth muscle. 1996;17(1):210-7.
 16. Kwak SK, Choi SM, PC. Effect of Farfarae flos extract drug on immune cells and cytokines in BALF of OVA-induced asthmatic mice. *Korean J Orient Physiol Pathol.* 2005;19(3):716-21.
 17. Kang HJ, Kim HJ, Jeong SL. Antioxidant and anti-hemolytic activities of ethanol extracts of *Carpesii fructus* and *Farfarae flos*. *Korean J Herbology.* 2013;28(3): 25-31.
 18. Wang GK, Jung HJ, Jung SK. The effects of JCT on respiratory patterns and tracheal tissue in allergic asthma. *The 10th ICOM J.* 1999:102.
 19. Kim EY, Jung HJ, Jung SK. The effects of Jeongcheon-tang and Cheongsangboha-tang on IL-4, IL-5, IL-6 and IL-10 in asthma model. *J Korean Orient Med.* 2001;22(3): 367-77.
 20. Yom JH, Jung HJ, Jung SK, Rhee HK. The effects of Jungchun-tang and Jungchuntanggagambang on immune cell & serum IgE in BALF in a rat asthma model. *J Korean Orient Med.* 2003;24(1):169-80.
 21. Lee DJ, Kim MD, Kim YS, Yoo YM. Anticancer and immune effects of Chungpae-tang on the metastasis of lung cancer cell. *Korean J Orient Physiol Pathol.* 2005;19(5):1281-91.