



Original Article / 원저

선복화 에탄올 추출물의 급성 독성 연구

권다혜¹, 김민영¹, 황보현², 지선영², 박철³, 최영현^{1,4}, 홍수현^{1,4*}

¹동의대학교 향노화연구소, ²부산대학교 분자생물학과, ³동의대학교
동의지천교양대학 기초과학교양학부⁴, 동의대학교 한의과대학 생화학교실

Safety Evaluation of Ethanol Extract of *Inulae Flos* : Single-dose Oral Toxicity Study in Mice

Da Hye Kwon¹, Min Young Kim¹, Hyun Hwangbo², Seon Yeong Ji¹, Cheol Park³,
Yung Hyun Choi^{1,4}, Su Hyun Hong^{1,4*}

¹Anti-Aging Research Center, Dong-eui University

²Department of Molecular Biology, Pusan National University

³Division of Basic Sciences, College of Liberal Studies, Dong-eui
University

⁴Department of Biochemistry, Dong-eui University College of Korean
Medicine

ABSTRACT

Objectives : This experiment was designed to assess the single oral toxicity of Ethanol Extract *Inulae Flos* (IF) ethanol extracts. IF is one of the important herbs to remove phlegmy which is the viscous turbid pathological product that can accumulate in the body, causing a variety of diseases. Nevertheless, there has been a lack of research on the pharmacology toxicity of IF.

Methods : In this study, IF was orally administered to 5 weeks ICR mice as an oral dose of 2,000 or 3,000 or 5,000 mg/kg. The condition of the mice was observed for 14 days and their weights were measured every two days.

Results : None of the mice died for 14 days. The abnormal clinical symptoms and anatomical signs of toxicity were not found in any treatment groups. The gain of net body weight was observed. There was also no significant difference in the organ weight. The serum biochemistry and hematological analysis showed a decrease in BUN, red blood cells, white blood cells and platelets although within the normal ranges.

Conclusions : These results suggest that the 50% lethal dose of IF is more than 5,000 mg/kg. This could be thought that IF is a safe drug without acute toxicity and side effects. However, IF showed some weight loss and change in blood test, so it will need to be careful when using it for high doses.

Key words : 50% lethal dose, ICR mouse, *Inulae Flos*, Single dose toxicity test.

I. 서론

최근 한약과 민간약물에서 독성 및 부작용이 나타나는 경우도 보고되어 있어 한약재의 안전성에 대한 실험적 고찰의 중요성이 높아지고 있다. 한약재의 생산이 국내 뿐만 아니라, 중국, 베트남 및 인도네시아 등 다양한 나라에서 수입되어 가공, 유통됨으로 인해 품질 관리 문제와 한약재 오남용으로 인한 독성 및 안전성에 대한 연구는 매우 중요한 실정이다^{1, 2)}. 이러한 한약재의 독성 및 안전성에 대한 기본 연구로 단회투여를 통한 급성독성 연구가 다양한 한약재 및 처방에 대해서 진행되고 있다^{3,4)}. 단회투여독성시험은 「의약품등의 독성시험기준」⁵⁾에 의해 실험물질을 실험동물에 단회투여하였을 때 단기간 내에 나타나는 독성을 질적 및 양적으로 검사하는 시험을 의미한다. 기준에는 안정성 평가를 위해 설치류의 실험에서 반수치사용량(lethal dose, LD₅₀)을 구하는 것이 요구되었으나, LD₅₀은 실험조건에 따라 수치의 변화가 큰 생물학적 지표로 정확한 수치를 구하기 위해서는 다수의 동물의 희생이 필연적이었다. 이러한 방법은 동물복지의 관점에서 문제가 되어, 현재는 LD₅₀을 구하기보다는 실험물질을 투여한 후에 실험물질의 독성으로 기인되는 모든 변화와 용량과의 관계를 파악하는 것에 초점을 둔 시험으로 대체되고 있다.

旋覆花는 菊花科에 속한 金佛草(*Inula Britannica* var. *Chinensis* Regel.) 및 동속 근연식물의 頭狀花序로, 여름과 가을에 막 피기 시작한 花序를 말린 것으로, 盜庚, 戴槿, 金錢花, 夏菊, 飛天蕊, 野油花, 金

佛草 등으로 불리기도 한다^{6,7)}. 우리나라 전국의 산과 들의 풀밭이나 논둑 등 습지에서 30~60 cm로 자라며, 선복화의 性は 微溫하고, 味는 苦·辛·鹹하여, 肺·脾·胃·大腸으로 歸經한다. 消痰行水·降氣止嘔하는 효능이 있어, 風寒咳嗽, 痰飲蓄結, 胸膈痞滿, 喘咳痰多, 嘔吐噎氣, 心下痞硬 등을 치료하는데 효과가 있는 것으로 알려져 있다⁶⁾.

본 연구진의 선행 연구에서 선복화의 에탄올 추출물은 A549 폐암세포, HT-1080 폐육종 세포, B16F10 세포 등 여러 암세포주에서 높은 항암 효과를 보였다. 이에 동물실험에서의 항암 효과를 검증하기에 앞서, 독성강도와의 비교에서 가장 널리 이용되는 단회투여독성시험을 통하여 선복화 에탄올 추출물의 안전성을 평가하여 보았다. 본 연구에서 선복화 에탄올 추출물을 2,000, 3,000 및 5,000 mg/kg 용량으로 투여하여 다음과 같은 결론을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 시료

선복화는 (주)대한생약(Imsil, Korea)에서 구입하였으며, 70% 에탄올 추출물에 선복화를 잠길 정도로 넣은 후 40 KHz에서 2시간 간격으로 초음파 추출하였다. 여과한 용매는 Rotary evaporator (Eyela, A-1000, Tokyo, Rikakikai Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 농축시킨 후, 동결 건조하여 분말로 만들었다. 선복화 에탄올 추출물을 마우스에 경구 투여하기

*Corresponding author : Su Hyun Hong, Department Molecular Biology, College of Korean Medicine, Dong-eui university, 52-57, Yangjeong-ro, Busanjin-gu, Busan, 47227, Republic of Korea
Tel : +82-51-890-3334, Fax : +82-51-890-3333, E-mail : hongsh@deu.ac.kr
•Received : March 20, 2020 / Revised : May 9, 2020 / Accepted : May 28, 2020



위하여 3차 멸균수에 적정 농도로 추출물을 녹여 실험에 사용하였다.

2. 실험동물 및 사육조건

본 실험에 이용한 ICR mouse는 샘타코(Osan, Korea)에서 구입하였으며, 5주령 수컷 마우스를 이용하였다. 온도 21±2℃, 습도 50±5%, 조도 150~300 Lux, 명암주기 12시간 환경에서 1주일간 순화과정을 거친 후 건강한 mouse만을 선별하여 실험에 이용하였다. 실험기간동안 음수와 실험동물용 고형사료는 자유롭게 공급하였다. Mouse를 무작위로 선별하여 체중 측정 후, 생리식염수 및 선복화 추출물을 2000,

3000, 5000 mg/kg 농도로 투여할 군당 6마리씩 분류하였고, 의약품 등의 독성시험기준^{5,8)}에 의해 관찰 기간은 2주로 설정하여 변화를 관찰하였다.

3. 투여 및 관찰

선복화 추출물을 9.26 ml/kg 농도로 희석하여 단회경구투여 한 후 14일간 실험동물의 행동 및 일반 증상에 대해 관찰하였다(Table 1). 관찰 항목으로는 각종 자극에 대한 반응, 운동(행동), 호흡, 경련, 피모 및 피부, 배설물 등의 상태와 정도이며, 투여 전과 후에 2일에 한 번씩 체중 변화 또한 기록하였다.

Table 1. Experiment methods.

Group	The Number of animals (head)	Dose (mg/kg)	Dose volume (ml/kg)	Route of administration
Con ¹⁾	6	0	9.26	p.o. ²⁾
IJ ₁	6	2000	9.26	p.o.
IJ ₂	6	3000	9.26	p.o.
IJ ₃	6	5000	9.26	p.o.

¹⁾ Con: Control group, IJ₁: IJ 2000 mg/kg, IJ₂: IJ 3000 mg/kg, IJ₃: IJ 5000 mg/kg injection Group.

²⁾ p.o.: Per os (mouth) means oral administration.

4. 부검

단회경구투여 후 14일이 지났을 때, 실험동물을 18시간 절식시킨 후, 부검을 실시하였다. 혈액 채취 후 육안적 해부소견 및 병변이 관찰된 조직에 대한 병리학적인 소견을 분석하였다. 또한 간, 콩팥, 지라, 심장, 허파, 가슴샘, 고환을 적출하여 생리식염수로 세척 후 수분을 제거하고 각 장기의 무게를 측정하였다.

5. 혈액분석

혈액화학적 분석을 위해 Spray-dried K2 Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)가 함유된 tube에 심장 채혈을 통해 채취한 혈액을 넣고, 응고되지 않도록 충분히 혼합시켰으며, red blood cell (RBC), white blood cell (WBC), hematocrit (Hct), hemoglobin (Hb), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) 및 platelet (PTL)항목에 대한 분석을 실시하였다. 또한, 생화학적인 검사를 위해 응고제가 들어있지 않은 기본 tube

에 혈액을 채취 후 2,000 rpm에서 10분 원심분리 과정을 통해 혈청을 분리하였다. Alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), blood urea nitrogen (BUN), creatinine (Cr), lactate dehydrogenase (LDH) 항목에 대해 분석을 실시하였다.

6. 통계처리

Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 통계프로그램을 이용하여 측정값은 평균 ± 표준편차(mean ± SD)로 표기하였으며, ANOVA 분석, Student's t-test와 Duncan's multiple range test를 통해 p<0.05, p<0.01, P<0.001 수준에서 normal mouse와 비교하여 유의성을 검증하였다.

III. 결 과

1. 사망동물 및 반수치사용량(lethal dose, LD₅₀)

선복화 추출물을 2,000, 3,000 및 5,000 mg/kg의 용량으로 단회투여한 후 실험동물을 관찰한 결과 모

든 군에서 사망 동물은 발생되지 않았다. 이러한 결과는 ICR 마우스에서 선복화 추출물의 LD₅₀은 5,000

mg/kg 이상임을 의미하는 것이며, 본 실험에서는 정확한 LD₅₀ 값을 산출할 수는 없었다(Table 2).

Table 2. Mortality of ICR mice orally treated with IJ.

Group	Days after treatment								LD50 (mg/kg)	
	0 day	2 day	4 day	6 day	8 day	10 day	12 day	14day		
con ¹⁾	0/6 ²⁾	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	>5,000 mg/kg
IJ ₁	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	
IJ ₂	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	
IJ ₃	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	

¹⁾ Con; Control group, IJ₁; IJ 2000 mg/kg, IJ₂; IJ 3000 mg/kg, IJ₃; IJ 5000 mg/kg injection Group.

²⁾ Values are expressed as No. Dead/No. animal.

2. 임상증상

동물실험 전 기간 동안 실험동물을 대상으로 임상증상을 관찰하였다. 본 실험에서는 독성 실험 시에 관찰되는 운동(행동), 호흡, 경련, 피모 및 배설물 등의 상태와 정도들을 매일 관찰하였다. 모든 농도의 실험군에서 선복화 추출물 투여로 기인한 독성으로 인해 나타나는 것으로 보일만한 상기 임상증상의 변화는 전혀 관찰되지 않았다.

3. 체중의 변화

실험을 시작하고 14일 동안 이틀마다 개체의 체중 변화를 관찰한 결과, 대조군 및 실험군 모두에서 비슷한 체중 증가를 나타내었다. 5,000 mg/kg를 투여한 군에서 12일과 14일째 측정된 체중이 대조군과 비교하여 유의적인 체중 감소가 관찰되었다. 하지만 실험 첫날과 마지막 날의 체중 증가 폭을 산정하였을 때는 유의적인 변화가 없었다. 이는 실험 초기에 대조군의 체중이 유의적인 범위 안에서 가장 높았던 것이 원인일 것으로 생각되었다(Table 3).

Table 3. Body weights change of ICR mice orally treated with IJ.

Group	No. of animals	Body weight (g)							
		0 day	2 day	4 day	6 day	8 day	10 day	12 day	14 day
Con ¹⁾	6	27.23	28.39	29.73	29.46	30.98	31.88	31.93	33.76
		± 1.30 ²⁾	± 1.62	± 2.01	± 2.14	± 1.04	± 0.89	± 1.23	± 0.88
IJ ₁	6	26.83	27.69	28.54	28.69	30.33	31.36	30.94	32.79
		± 0.97	± 1.09	± 1.23	± 1.05	± 1.19	± 1.27	± 0.85	± 1.08
IJ ₂	6	26.98	27.45	27.92	28.34	29.75	31.16	30.58	32.35
		± 1.33	± 1.47	± 1.89	± 1.79	± 2.37	± 2.41	± 2.31	± 2.69
IJ ₃	6	26.93	27.39	27.86	28.35	29.67	31.39	29.95	31.92
		± 1.52	± 1.55	± 1.59	± 1.57	± 1.52	± 1.79	± 1.39 ³⁾	± 1.80*

¹⁾ Con; Control group, IJ₁; IJ 2000 mg/kg, IJ₂; IJ 3000 mg/kg, IJ₃; IJ 5000 mg/kg injection Group.

²⁾ The data are presented as mean ± SD.

³⁾ *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 versus normal mouse.

4. 육안적 부검소견

선복화 추출물 투여 14일 후 실험을 종료하여 모든 실험동물을 도살하여 주요 장기에 대한 육안적인 검사를 시행하였다. 대조군 및 실험물질 투여군의 모든

개체에서 본 실험물질의 투여가 원인으로 생각되는 특별한 육안적인 이상 소견은 발견할 수 없었다(Table 4).



Table 4. Absolute organ weights change of ICR mice orally treated with IJ.

Group	No. of animals	Absolute organ weight (g)						
		Liver	Kidney	Spleen	Heart	Lung	Thymus	Testis
Con ¹⁾	6	1.38 ± 0.16 ²⁾	0.51 ± 0.06	0.10 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.19 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.20 ± 0.01
		1.40 ± 0.09	0.54 ± 0.05	0.10 ± 0.02	0.15 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.21 ± 0.01
IJ ₁	6	1.24 ± 0.14	0.53 ± 0.08	0.10 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.19 ± 0.01	0.05 ± 0.02	0.21 ± 0.02
		1.31 ± 0.16	0.50 ± 0.05	0.11 ± 0.02	0.15 ± 0.01	0.20 ± 0.01 ³⁾	0.05 ± 0.01*	0.20 ± 0.01

¹⁾ Con; Control group, IJ₁; IJ 2000 mg/kg, IJ₂; IJ 3000 mg/kg, IJ₃; IJ 5000 mg/kg injection Group.

²⁾ The data are presented as mean ± SD.

³⁾ *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 versus normal mouse.

5. 주요 장기의 무게 변화

선복화 추출물 단회투여 14일 후 실험 동물을 부검한 후, 모든 개체의 주요 장기 무게를 측정하여 변화를 관찰하였다. 간, 콩팥, 지라, 심장, 고환의 무게에서는 대조군과 선복화 추출물 실험군 사이에 유의적인 변화가 없었다. 하지만 대조군과 비교하여, 선복화 추출물 5,000 mg/kg을 투여한 군에서 폐의 무게는 유의적으로 증가하였고, 가슴샘의 무게는 유의적

으로 감소하였다(Table 4). 각 장기의 무게 변화를 재확인하기 위하여 각 장기의 무게를 실험동물의 체중으로 나누어 상대적인 체중변화를 조사하였다. 심장, 폐, 가슴샘의 상대적인 무게가 대조군과 유의적으로 변화를 나타냈으며, 특히 폐의 경우는 모든 선복화 추출물 투여군에서 유의적인 변화가 확인되었다(Table 5).

Table 5. Relative organ index changes of ICR mice orally treated with IJ.

Group	No. of animals	Relative organ weights (g)						
		Liver	Kidney	Spleen	Heart	Lung	Thymus	Testis
Con ¹⁾	6	4.60 ± 0.54 ²⁾	1.69 ± 0.23	0.34 ± 0.03	0.46 ± 0.04	0.64 ± 0.01	0.19 ± 0.02	0.68 ± 0.08
		4.76 ± 0.31	1.84 ± 0.14	0.35 ± 0.07	0.50 ± 0.02	0.68 ± 0.03 ³⁾	0.17 ± 0.04	0.73 ± 0.04
IJ ₁	6	4.35 ± 0.23	1.87 ± 0.20	0.30 ± 0.15	0.54 ± 0.04**	0.68 ± 0.04*	0.18 ± 0.06	0.74 ± 0.05
		4.50 ± 0.35	1.71 ± 0.10	0.38 ± 0.06	0.51 ± 0.03*	0.70 ± 0.04**	0.16 ± 0.03*	0.71 ± 0.04

¹⁾ Con; Control group, IJ₁; IJ 2000 mg/kg, IJ₂; IJ 3000 mg/kg, IJ₃; IJ 5000 mg/kg injection Group.

²⁾ The data are presented as mean ± SD.

³⁾ *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 versus normal mouse.

6. 혈청 생화학적 지표 분석

실험물질 투여로 인한 독성을 파악하기 위하여 실험 기간 종료 후, 혈청학적 분석을 시행하였다. Table 6에서 나타난 바와 같이, 간독성을 의미하는 ALT 및 AST, 콩팥 손상을 시사하는 BUN 및 Cr, 전신적인 세포의 손상을 의미하는 LDH 수치를 분석해

보았다. ALT의 경우 선복화를 2,000 mg/kg를 투여한 군에서 유의적인 증가가 발견되었고, BUN의 경우 2,000 및 5,000 mg/kg를 투여한 군에서 유의적인 감소가 발견되었다. 하지만, 혈청학적 지표들의 변화에 농도 의존성을 찾을 수 없었고, 정상 범위 내에서 변화가 나타난 것으로 보아, 선복화의 독성에 의한

변화라고 생각되지는 않았다.

Table 6. Levels of hematological analysis in ICR mice orally treated with IJ.

Group	No. of animals	RBC (10 ⁶ /L)	WBC (10 ³ /L)	Hct (%)	Hb (g/dL)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	PTL (10 ³ /L)
Con ¹⁾	3	9.19 ± 0.40 ²⁾	1.97 ± 0.19	60.60 ± 4.59	15.57 ± 1.00	65.97 ± 4.80	16.90 ± 0.79	25.63 ± 0.84	1780.00 ± 277.35
IJ ₁	3	9.67 ± 0.25 ^{*3)}	3.02 ± 1.16*	58.47 ± 3.17	15.53 ± 0.42	60.47 ± 1.83*	16.10 ± 0.10*	26.63 ± 0.92	1394.67 ± 68.24**
IJ ₂	3	9.61 ± 0.09*	1.09 ± 0.33***	58.60 ± 2.26	15.15 ± 0.35	61.05 ± 1.77*	15.75 ± 0.21**	25.85 ± 0.35	1227.00 ± 154.15***
IJ ₃	3	9.12 ± 0.28	1.28 ± 0.62*	55.90 ± 0.62*	14.97 ± 0.25	61.30 ± 1.49*	16.40 ± 0.70	26.73 ± 0.40**	1170.33 ± 90.42***

¹⁾ Con; Control group, IJ₁; IJ 2000 mg/kg, IJ₂; IJ 3000 mg/kg, IJ₃; IJ 5000 mg/kg injection Group.

²⁾ The data are presented as mean ± SD.

³⁾ *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 versus normal mouse.

7. 혈액학적 지표 분석

실험물질 단회투여 14일 후, 혈액학적 검사를 수행한 결과는 Table 7 같다. 선복화의 투여에 의해서 적혈구를 변화를 볼 수 있는 RBC, Hct, Hb, MCV, MCH, MCHC에서 대조군과 비교하여 유의적인 증감이 나타나기도 했으나, 농도 의존성이 있지 않고 변화의 범위도 정상 범위 내에 있어 의미를 부여하기는

힘들었다. 백혈구(WBC)의 수치는 대조군과 비교하여 선복화 2,000 mg/kg군에서는 증가하였고, 3,000 및 5,000 mg/kg 군에서는 약간의 감소가 있었으나 정상적인 범위 내에서 관찰되었다. 다만, 혈소판 수치는 정상 범위에 있기는 했으나, 선복화의 투여 농도에 의존적으로 감소하는 경향이 나타나 선복화의 투여가 혈소판 감소와 관련이 있을 것으로 생각되었다.

Table 7. Levels of serum biochemistry analysis in ICR mice orally treated with IJ.

Group	No. of animals	ALT (U/L)	AST (U/L)	BUN (mg/dL)	Cr (mg/dL)	LDH (U/L)
Con ¹⁾	3	26.7 ± 20.7 ²⁾	134.7 ± 8.1	28.1 ± 3.8	0.3 ± 0.0	772.3 ± 80.2
IJ ₁	3	29.0 ± 2.6 ^{*3)}	174.3 ± 107.2	18.4 ± 2.1***	0.2 ± 0.0	685.0 ± 264.3
IJ ₂	3	31.7 ± 6.7	217.7 ± 102.3	23.4 ± 3.3*	0.2 ± 0.0	823.0 ± 167.0
IJ ₃	3	30.3 ± 9.2	122.0 ± 4.0	14.4 ± 1.0***	0.2 ± 0.0	765.0 ± 32.5

¹⁾ Con; Control group, IJ₁; IJ 2000 mg/kg, IJ₂; IJ 3000 mg/kg, IJ₃; IJ 5000 mg/kg injection Group.

²⁾ The data are presented as mean ± SD.

³⁾ *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 versus normal mouse.

IV. 고찰

선복화는 祛痰, 健胃, 鎮咳, 止吐, 利水, 下氣 등의 효능이 있으며, 임상에서 단독으로 다빈도로 사용되

는 약물은 아니지만, 旋覆花湯, 旋覆半夏湯, 金佛草散, 旋覆代赭湯 등의 처방에 사용되고 있다⁹⁾. 선복화에는 다양한 생리활성 성분이 들어있는 것으로 알려져 있는데, 추출 용매별로 성분 분석을 수행한 김 등



¹⁰⁾의 연구에 의하며, 본 실험에서 사용된 70% 에탄올 추출물에서는 1,5-Dicaffeoylquinic acid, chlorogenic acid, quercetin, 6-Methoxy-luteolin, caffeic acid, luteolin 등의 순으로 많은 양이 함유되어 있는 것으로 나타났다. 선복화 및 선복화의 생리활성 성분들에 대한 최근의 약리학적 연구에 의하면 항산화, 항염증, 항암, 항당뇨, 항알러지 효과 뿐만이 아니라 면역조절, 간보호, 신경보호, 돌연변이 방지 효과 등의 다양한 효과가 있는 것으로 밝혀지고 있다¹¹⁻¹⁵⁾.

선복화의 항암 효과에 대한 논문으로는, 차 등⁷⁾의 연구에서 HT-29 및 SW620 대장암세포주, MCF-7 유방암세포주, HeLa 자궁경부암세포주에서 세포증식 억제 효과가 확인되었다. 특히, 여러 선복화 용해 분획물 중에서 에탄올 추출물이 상대적으로 암세포 성장 억제 효과가 크고, 용매 자체에 의한 독성이 없는 것으로 나타났다. 또한, 본 연구실에서 시행한 선행 연구에서도 선복화 에탄올 추출물은 여러 암세포주에서 높은 세포성장 억제 효과를 보였다. 이러한 결과들은 암 연구에 있어서 선복화 에탄올 추출물을 활용하는 것이 효율적인 것임을 알려주지만, 선복화에 대한 안정성에 대한 검토는 아직 미비한 실정이다. 이에 본 연구에서는 추가적인 동물 실험 및 제품으로의 개발 가능성 등을 검토하기 위한 선행단계로 ICR 수컷 마우스에서 단회투여독성시험을 시행하였다.

본 실험에서 사용한 단회투여독성검사는 의약품 등의 독성시험기준에 명시되어 있는 방법으로 前胡¹⁶⁾, 五味子¹⁷⁾, 金銀花¹⁸⁾와 같은 單味劑나 九味羌活湯¹⁹⁾, 人蔘敗毒散²⁰⁾ 등의 복합 처방에 대한 안정성 검사로 기본적인 방법으로 사용되고 있다¹⁶⁻²⁰⁾. 대조군과 비교하여, 선복화 추출물을 2,000 mg/kg ~ 5,000 mg/kg의 농도로 투여한 모든 군에서 임상증상, 체중 증가 정도(시작 체중-마지막 체중), 해부학적 이상 및 장기 무게에 유의적인 변화가 나타나지 않았다. 혈액검사 상에서 대조군과 비교하여 차이를 나타내는 지표도 있었으나 모두 정상범위 내에 있어 선복화로 유인된 급성독성으로 간주할 수는 없었다. 식품의약품안전처 고시⁵⁾에 명시되어 있는 Organization for Economic Cooperation and Development (OECD)의 급성독성시험⁸⁾ 허용 한계용량인 2,000 mg/kg을 상회하는 5,000 mg/kg의 선복화 투여군에서도 어떤 개체의 죽음도 나타나지 않았다. 이는 LD₅₀이 5,000 mg/kg 이상임을 의미할 뿐 아니라, ALD(approximate

lethal dose, 하나의 개체를 죽음으로 유도할 수 있는 개략치사량)이 5,000 mg/kg 이상으로 추정할 수 있다. US Environmental Protection Agency OPPTS 870.100²¹⁾에 따르면 일반적으로 LD₅₀이 500-5,000 mg/kg는 비교적 저독성 물질로, 5,000-15,000 mg/kg인 물질은 무독성 물질로 규정하고 있다. 이러한 기준으로 보면 선복화 에탄올 추출물은 무독성 물질로 판단할 수 있다.

본 실험에서 가장 유의적인 변화를 보인 것은 혈소판 수치의 감소이다. 혈소판 수치의 감소가 정상범위 내에서 이루어졌다 하여도 농도의존적으로 감소하는 것으로 보아, 선복화 투여로 인한 변화로 생각되었다. 손 등²²⁾의 연구에서 선복화 에탄올 추출물이 혈소판활성인자 수용체에 길항작용을 하는 것으로 나타나 것으로 보아, 선복화가 혈소판 작용을 조절할 수 있을 것으로 생각된다. 본 실험은 고농도의 선복화 추출물의 단회투여 후 독성을 관찰한 것이고, 수컷 마우스에서만 관찰한 한계점을 가지고 있지만, 선복화의 안정성에 대한 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

V. 결론

한약 안전성 및 품질 관리에 대한 관심이 높아지고 있는 상황에서 임상에서 단독 혹은 처방으로 사용되고 있는 선복화에 대한 안전성을 확보하기 위한 하나의 방안으로 선복화 에탄올 추출물에 대한 단회투여 독성시험을 수행하였다. 선복화의 LD₅₀은 5,000 mg/kg 이상이며, 모든 개체에서 임상증상, 체중의 변화, 육안적인 장기의 형태 및 무게 변화, 혈액 검사 소견에서 유의적인 변화를 관찰할 수 없어 무독성 물질로 판단할 수 있다. 다만 혈소판 수치가 정상적인 범위 내이기는 했으나 농도의존적으로 감소하는 것으로 나타나 혈소판감소제를 복용하는 환자에서 선복화 사용 시 신중한 관찰이 필요할 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단에서 시행한 기초연구사업 (No. 2019R1F1A1058094) 지원에 의해 수행되었습니다.

References

1. Jang IS, Yang CS, Lee SD, Han CH. A Review of Herbal Medicinal Products Associated with Toxic Events in Korea. *J Korean Oriental Med.* 2007;28(1):1-10.
2. Lee E, Wook PB, Hea GJ, Heung K. A Study on The Side Effects and Toxicity of Herbal Medicine. *J Int Korean Med.* 2002;23(2):222-7.
3. Im GY, Hwang YH, Lee JH, Oh YC, Cho WH, Ma JY. Acute Toxicity Study on Insampaedok-san and Fermented Insampaedok-san. *Kor J Oriental Preventive Medical Society* 2010; 15(3):141-52.
4. Yoo HJ, Park MY, Choi HY, Kim JD. Mouse single Oral Dose Toxicity Test of *Lonicerae Flos* Aqueous Extracts. *Korean J Orient Med.* 2010;31(3):539-53.
5. National Institute of Food and Drug Safety for Single Dose Toxicity Study (No. 2012-86), MFDS, 2012.
6. Korean Medicinal Herb. Seo BI, Lee JH, Choi HY, Kwon DR, Bu YM. Yeong-Rim Publishing Co., Ltd. 2004, 495-496.
7. Cha MR, Kim JY, Hwang JH, Park HR. Cytotoxic Activity of the *Inula japonica* Extracts Against Several Human Cancer Cell Lines *In Vitro*. *Kor J Pharmacogn.* 2006;37(3): 130-5.
8. OECD/OCDE. OECD guidelines for the testing of chemicals No. 425 Acute oral toxicity. 2008.
9. Sun WS, Kim HS, Byun KS. Studies on the volatile components of *Inulae flos* (*Inula britannica* var. *chinensis* REGEL). *J Korean Agric Chem Soc.* 34(4), 312-317, 1991.
10. Kim JH, Lim HS, Ha HK, Seo CS, Shin HK. *Inulae Flos* and its Compounds Inhibit TNF- α and IFN- γ -Induced Chemokine Production in HaCaT Human Keratinocytes. *Evid-Based Complementary Altern Med.* 2012;2012:280351.
11. Yu ZP, Zhang JS, Zhang Q, Yu SJ, Zhang Y, Yu JH et al. Bioactive sesquiterpenoids and sesquiterpenoid glucosides from the flowers of *Inula japonica*. *Fitoterapia.* 2019; 138:104292.
12. Park SH, Lee DH, Kim MJ, Ahn J, Jang YJ, Ha TY et al. *Inula Japonica* Thunb. Flower Ethanol Extract Improves Obesity and Exercise Endurance in Mice Fed A High-Fat Diet. *Nutrients.* 2018;11(1): E17.
13. Park HH, Kim SG, Park YN, Lee JA, Lee YJ, Park NY et al. Suppressive effects of britanin, a sesquiterpene compound isolated from *Inulae flos*, on mast cell-mediated inflammatory responses. *Am J Chin Med.* 2014;42(4):935-47.
14. Lu Y, Li Y, Jin M, Yang JH, Li X, Chao GH et al. *Inula japonica* extract inhibits mast cell-mediated allergic reaction and mast cell activation. *J Ethnopharmacol.* 2012;143(1):151-7.
15. Choi JH, Park YN, Li Y, Jin MH, Lee JA, Lee YJ et al. Flowers of *Inula japonica* Attenuate Inflammatory Responses. *Immune Netw.* 2010;10(5):145-52.
16. Kwon DH, Kim MY, Hwanbo Hyun, Ji SY, Park C, Choi YH et al. Single Dose Oral Toxicity Test of *Peucedani Radix* in ICR Mice. *J Int Korean Med.* 2018;39(4):676-685.
17. Han MH, Kim JW, Kim KY, Kim SG, Yu GJ, Cho YB et al. Single Dose Oral Toxicity of *Schisandrae Semen* Essential Oil in ICR Mice. *J Life Sci.* 2014;24(2):191-5.
18. Yoo HJ, Park MY, Choi HY, Kim JD. Mouse single Oral Dose Toxicity Test of *Lonicerae Flos* Aqueous Extracts. *Korean J Orient Med.* 2010;31(3):539-553.
19. Park HY, Hwang YH, Jang DR, Ha JH, Kung KY, Ma JY. Acute Toxicity Study on Gumiganghwal-tang and Fermented Gumiganghwal-tang Extracts. *Formula Science.* 2012;20(2):93-102.
20. Im GY, Hwang YH, Lee JH, Oh YC, Cho WK, Ma JY. Acute Toxicity Study on Insampaedok-san and Fermented Insampaedok-san. *Kor J Oriental Preventive Medical Society.* 2010;

15(3):141-52.

21. U.S. Environmental Protection Agency. Health Effects Test Guidelines OPPTS 870.100, Acute Toxicity Testing Background. US EPA August, Washington, USA, 1998.
22. Son KH, Kim SH, Jung KY, Chang HW. Screening of Platelet Activating Factor (PAF) Antagonist from Medicinal Plants. Kor J Pharmacogn. 1994;25(2):167-170.