

우황청심원의 간독성시험 : 랫드에서의 급성 및 아급성시험

김효정 · 서경원* · 박기숙
식품의약품안전본부, 독성부

Hepatotoxicity of Uhwangchungsimwon : Acute and Subacute Studies in Rats

Hyo Jung Kim, Kyung Won Seo* and Ki Sook Park

Department of Toxicology, Korea Food and Drug Administration,
5 Nokbundong, Eunpyunggu, Seoul 122-020, Korea
(Received August 5, 1997)
(Accepted August 22, 1997)

ABSTRACT : Uhwangchungsimwon(UC) is widely used as a herbal medicine on various circulatory disorders in Korea. The objective of this investigation was to characterize the acute, subacute hepatotoxic potency of orally administered UC in rats. In the acute and short-term studies, male rats of 150~170 g were gavaged with 0, 7.5 g/kg once daily for up to 1, 5, 10 consecutive days. No differences in body weight, serum enzyme activities, absolute and relative liver weight and histopathological examination on liver between control and UC-fed groups were found. In the subacute study, UC was administered orally to both sexes of rats for 30 days(0, 1.875, 3.75 or 7.5 g/kg/day). There were no-dose-related hepatotoxic signs of general symptoms, body weight gain, water consumption and serum biochemical analysis. Slight decreases of food consumption observed at 3.75 and 7.5 g/kg groups of both sexes were due to be full of UC fed. Gross necropsy and histopathology revealed no evidence of hepatotoxicity related to UC. Our data indicate that hepatotoxicity was not caused by administration of UC up to 7.5 g/kg/day for 30 days in rats.

Key Words : Acute hepatotoxicity, Subacute hepatotoxicity, Uhwangchungsimwon

I. 서 론

우황청심원은 오래전부터 널리 사용되어 온 생약제제로서 우황외에 24가지 생약성분으로 구성되어있으며, 한의서에 기재된 효능 효과는 "뇌졸중, 동맥경화증, 고혈압, 심계항진, 호흡곤란, 정신불안, 협심증, 급·만성 경풍, 자율신경 실조증, 인사불성"으로 되어있다.

본 시험은 우황청심원이 오랫동안 광범위하게 사용되어 왔으며, 25종이나 되는 한약으로 구성되어 있어 의료계 일부에서 간독성에 대한 우려를 제기함에 따라 우황청심원의 약효 재평가 사업의 일환으로 실시되었다. 본 연구에서는 우황청심원의 간독성 평가에 초점을 맞추었으며, 우황청심원을 30일간 연속투여하였을 때 나타날 수 있는 아급성독성과 함께 1회 및 단기간 투여에 의한 급성 간독성을 평가하였다. 이와

함께 사망률, 임상증상 관찰, 체중변화, 물 섭취량 및 식이량, 그리고 육안적 검사등을 실시함으로써 우황청심원에 의하여 유발될 수 있는 일반 전신 독성도 평가하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험동물 및 사육조건

실험동물은 식품의약품안전본부 실험동물실에서 생산된 SPF(특정 병원체 부재) Sprague-Dawley계 랫드를 분양받아 순화시킨후 평균체중에 가까운 동물을 선택하여 온도 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도 $55 \pm 5\%$, 배기 10-18회/hr, 형광등 명암 12 hr cycle, 조도 300~500 Lux의 사육환경에서 폴리카보네이트 사육상자(280W×400L×1700H mm)에 3마리씩 넣어 실험하였다. 시험기간동안 사용한 깔짚은 고압증기 멸균기로 121°C 에서 15분간 멸균

*To whom correspondence should be addressed

하고 물은 멸균수도물을 청결한 병에 넣어 실험동물에 자유로이 공급하였다.

2. 투여군의 구성 및 시험물질의 조제

시험물질인 우황청심원은 산약, 감초, 백삼, 포황, 사향, 신곡, 대두황권, 계피, 아교, 용뇌, 작약, 맥문동, 황금, 당귀, 방풍, 백출, 시호, 백령, 길경, 행인, 복령, 천궁, 건강, 우황 및 영양각으로 구성되어 있는 금박의 환제로서 한국제약협회로부터 수령하여 시험에 사용하였다.

투여군은 시험물질의 투여기간에 따라 1, 5, 10일 및 30일 투여군을 설정하였다. 시험물질의 투여량은 물질의 성상 및 최대 투여 가능용량 등을 고려하여 1, 5, 10일간 투여군은 임상적용량의 30배인 7.5 g/kg 용량군과 대조군을 두었으며, 30일간 투여군은 고용량과 이를 1/2 등비로 한 중용량(3.75 g/kg)과 저용량(1.875 g/kg)을 설정하였다. 시험물질의 조제는 우황청심원 일정량에 증류수를 가하여 최종 농도가 7.5 g/15 ml로 되도록 만든후 유발에서 미세하게 갈아 경구 투여기를 사용하여 강제투여 하였다. 시험물질은 용시 조제하여 사용하였으며, 투여시간은 매일 비슷한 시간에 1시간 이내로 동물번호 순서대로 투여하여 각 개체별 투여시간이 유사하게 하였다. 부검전 모든 투여군에 대하여 24시간동안 절식시켰다.

3. 일반증상

임상증상관찰은 모든 실험동물에 대하여 매일 1회 일정시간에 관찰하여 일반상태의 변화, 중독증상발현 및 사망유무를 관찰하였다. 또한 안구검사는 투여 4주째에 검안경을 이용하여 대조군과 최고용량군에서 각막, 홍채, 수정체 및 망막등을 검사하였다. 체중측정은 모든 실험동물에 대하여 사료 및 물섭취량은 30일간 투여군에 대하여 시험기간 중 주 2회 측정하였으며, 체중은 시험물질 투여전 및 부검전일에도 측정하였다.

4. 혈액생화학적 검사

혈액생화학적 검사는 모든 투여군에서 실시되었으며, 각 동물을 에테르로 마취시켜 심장으로부터 혈액을 채취하여 냉장고에 2시간 정도 방치한 후 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 자동혈청생화학 분석기(Technicon사의 RA-XT)를 이용하여 혈청내 알부민

(ALB), alanine aminotransferase(ALT), aspartate aminotransferase(AST), alkaline phosphatase(ALP), total bilirubin(T. Bil.), 총단백질량(T. Pro.), γ -glutamyl-transpeptidase(GGT) 등을 측정하였으며, sorbitol dehydrogenase(SDH)의 활성도는 SDH kit(Sigma, Co.)로 Response spectrophotometer(Gilford Co.)를 사용하여 측정하였다.

5. 육안소견 및 장기증량

모든 실험동물에 대하여 시험물질 투여 개시일로부터 1일, 5일, 10일, 30일 후에 군별로 각각 부검을 실시하였으며 모든 장기에 대하여 육안적 소견을 관찰하였다. 또한 1일, 5일 및 10일간 투여군에서는 간장의 중량을, 30일간 투여군에서는 간장, 신장 및 비장의 중량을 측정하였다.

6. 조직병리검사

1일, 5일 및 10일간 투여군에서는 간장 및 육안적 병변부위를, 30일간 투여군에서는 대조군과 고용량군의 동물에 대하여 뇌, 갑상선, 폐, 심장, 간장, 신장, 비장, 부신, 정소(또는 난소) 및 육안적 병변부위를 적출하였으며 흉골은 각군당 암 수 각각 5마리에서 적출하여 조직을 2-3 mm 두께로 삭정하고, 10% 중성완충 포르말린으로 고정하였다. 일반적인 조직처리과정을 거쳐 파라핀에 포매하였고, 박절된 조직은 hematoxylin & eosin 염색후 검경하였다.

7. 통계학적 분석

체중변화, 사료섭취량, 물섭취량 측정 결과, 혈액생화학적 분석 결과 및 장기무게 측정 결과에 대한 통계학적인 분석은 통계처리 프로그램인 SPSS를 이용하였다. Bartlett's test로 분산검정을 실시하여 등분산일 경우 one way analysis of variance(ANOVA) 검정을 실시하였으며, ANOVA 검정에서 유의성이 인정된 경우에는 Scheffe법으로 대조군과 각 투여군간에 다중비교를 실시하였다.

III. 결 과

1. 일반증상

30일간 투여군중 고용량 수컷에서 시험물질 투여

Table 1. Survival/adjusted survival in rats treated orally with uhwangchungsimwon for 30 days.^{a,b}

Sex	Dose(g/kg/day)	(days)					
		0	7	14	21	28	30
Male	0	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	1.875	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	3.75	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	7.5	10/10	10/10	10/10	9/10	9/10	8/10
Female	0	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	1.875	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	3.75	10/10	10/10	10/10	10/10	9/10	9/10
	7.5	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10

^a Rats were administered orally once a day for 30 days.

^b Values are expressed as survival number/total number of rats.

17일째와 투여 29일째에 각각 1레씩, 중용량 암컷에서는 투여 27일째에 1레가 사망하였다(Table 1). 임상증상 관찰결과 수컷 고용량군에서 설사가 2레, 저용량군에서 설사와 연변이 각각 1레, 대조군에서 설사가 2레 관찰되었으며, 암컷에서는 고용량군에서 투여 17일째 유언이 관찰되었다(Table 2). 체중측정 결과 5일, 10일 및 30일 투여군 모두 대조군과 비교하여 유의성 있는 체중증가율 변화는 관찰되지 않았다(Table 3, 4).

사료섭취량 및 물섭취량을 측정한 결과 중용량군과

고용량군의 암 수 모두에서 투여전기간에 걸쳐 대조군에 비하여 유의성있는 정도의 사료 섭취량 감소가 관찰되었으며, 수컷 저용량군에서는 투여전반기에 사료 섭취량이 감소하였다가 다시 회복되었고, 암컷 저용량군에서는 대조군과 유의성있는 차이를 보이지 않았다(Table 5). 물섭취량은 수컷 저용량군과 중용량군에서 투여 10일째부터 대조군에 비하여 유의성 있는 증가가 있었으며, 암컷 고용량군에서도 투여 10일째부터 증가가 관찰되었다. 수컷 고용량군과 암컷 저용량군, 중용

Table 2. Clinical signs in rats treated orally with uhwangchungsimwon for 30 days.^{a,b}

Dose (g/kg/day)	Clinical Signs	(days)												
		1	2	3	4	5	7	10	14	17	21	24	28	
Male	0	NAD ^c diarrhea	10	10	10	10	10	10	9	10	10	9	10	10
	1.875	NAD soft stool	10	10	10	10	10	8	10	10	10	10	10	10
	3.75	NAD diarrhea	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	7.5	NAD diarrhea	10	10	10	10	10	9	10	9	9	9	9	8
Female	0	NAD	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	1.875	NAD	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	3.75	NAD	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9
	7.5	NAD	10	10	10	10	10	10	10	10	9	10	10	10

^a Rats were administered orally salivation once a day for 30 days.

^b Values are expressed as animal numbers.

^c NAD : no abnormalities detected.

Table 3. Body weight in male rats treated orally with uhwangchungsimwon for 5, 10 days.^{a,b}

Treatment periods	5 days			10 days					
	Dose (g/kg/day)	0	2	4	0	2	4	7	9
		(Days)			(Days)				
0		161.6±10.2	176.2±10.4	190.8±10.3	158.4±10.6	175.2±16.0	195.3±11.2	218.6±10.5	233.8±12.0
7.5		161.7±9.7	176.0±7.4	190.8±8.8	158.8±11.5	175.7±11.3	190.0±11.1	211.6±11.0	228.3±11.5

^a Rats were administered orally once a day for 5 or 10 days.

^b Values(unit : g) are expressed as means±S.D. for 10 rats.

Table 4. Body weight in rats treated orally with uhwangchungsimwon for 30 days.^{a,b}

	Dose (g/kg/day)	(days)								
		0	3	7	10	14	17	21	24	26
Male	0	215±10.7	239±13.3	271±19.0	284±18.9	306±17.6	322±18.6	346±19.6	358±21.3	377±23.5
	1.875	212±12.9	236±16.3	265±19.6	280±19.6	309±18.1	323±21.0	347±23.3	357±23.6	379±25.5
	3.75	214±12.3	235±15.0	266±20.0	283±19.9	309±20.2	322±21.9	346±21.3	359±22.5	380±22.8
	7.5	215±17.8	240±18.1	269±18.9	292±32.4	308±19.8	321±19.1	341±20.5	358±18.2	368±17.8
Female	0	171± 8.3	182± 9.8	198±11.5	203± 9.2	216± 9.7	222±12.3	231± 9.7	238±12.8	247±12.9
	1.875	172± 9.1	182±10.7	202±10.4	206± 9.9	219±10.9	226±12.2	237±10.8	241±11.9	250±11.9
	3.75	169± 9.1	179± 8.3	195±10.0	200± 9.7	212± 8.9	219± 9.8	228±10.8	233±10.2	242±12.3
	7.5	172±10.0	181± 8.9	197±10.3	204±12.1	215±13.9	225±12.6	232± 9.2	238±13.9	248±14.9

^a Rats were administered orally once a day for 30 days.^b Values(unit : g) are expressed as means±S.D. for eight to ten rats.**Table 5.** Food consumption in rats treated orally with uhwangchungsimwon for 30 days.^{a,b}

	Dose (g/kg/day)	(days)							
		3	7	10	14	17	21	24	26
Male	0	23.1±1.5	23.1±1.9	26.2±1.0	24.8±0.6	24.4±0.8	23.2±1.1	23.6±1.7	26.0±2.7
	1.875	21.9±2.6	21.3±0.5*	23.7±0.9*	24.4±1.2	23.5±1.1	22.3±1.5	22.4±1.4	24.1±1.5
	3.75	19.5±1.2*	21.1±1.4*	22.6±0.8*	22.3±0.8*	20.8±1.3*	22.1±0.7*	22.6±0.8	22.8±0.4*
	7.5	20.0±1.2*	22.7±2.6	23.2±0.9*	23.3±1.2*	21.1±0.7*	21.8±1.4*	20.8±0.5*	22.3±2.0*
Female	0	15.9±0.8	15.7±0.5	17.4±0.7	16.7±0.5	17.3±0.7	16.5±0.6	15.7±0.6	17.1±0.6
	1.875	16.3±0.5	16.5±0.6*	17.0±0.6	16.1±1.0	17.6±0.7	16.0±0.7	15.9±0.4	16.5±1.6
	3.75	14.6±0.7*	15.1±0.8	16.3±0.7*	15.9±0.5*	16.8±0.3	15.3±0.4*	14.9±0.1*	16.4±0.1*
	7.5	13.5±1.0*	15.1±0.8	16.3±0.7*	16.3±0.9	15.5±0.8*	15.9±0.5*	14.6±1.5	17.6±0.8

^a Rats were administered orally once a day for 30 days.^b Values(unit : g) are expressed as means±S.D. for eight to ten rats.

* Significantly different from the control at p<0.05.

Table 6. Water consumption in rats treated orally with uhwangchungsimwon for 30 days.^{a,b}

	Dose (g/kg/day)	(days)							
		3	7	10	14	17	21	24	26
Male	0	34.2±2.1	35.4±3.2	36.3±1.4	36.7±1.3	36.2±2.2	36.2±2.4	37.4±2.7	38.8±2.2
	1.875	35.5±2.7	37.8±1.3	39.3±2.0*	41.1±2.5*	44.6±3.4*	43.1±2.4*	43.3±1.6*	44.5±1.2*
	3.75	32.6±1.4	35.1±1.9	38.7±2.2*	40.1±2.7*	40.8±3.3*	42.6±3.2*	43.5±3.5*	42.2±2.1*
	7.5	34.8±2.4	34.4±1.7	36.3±1.0	37.8±3.7	38.0±2.5	38.7±2.5*	38.8±3.8	38.3±4.5
Female	0	29.0±4.2	26.5±2.8	27.9±2.0	29.8±1.6	27.5±3.0	27.6±2.1	27.8±2.9	29.2±3.8
	1.875	27.3±2.0	28.0±1.9	27.0±2.2	29.4±1.8	30.3±2.3*	27.2±1.6	27.9±2.2	29.2±2.0
	3.75	26.0±1.4	27.6±2.2	28.6±2.3	29.2±2.7	30.0±2.2*	27.1±1.8	27.5±1.9	30.8±1.9
	7.5	23.8±1.3*	26.9±2.3	30.2±0.8*	30.1±1.0	31.0±0.8*	30.5±1.2*	32.3±3.4*	32.9±1.9*

^a Rats were administered orally once a day for 30 days.^b Values(unit : ml) are expressed as means±S.D. for eight to ten rats.

* Significantly different from the control at p<0.05.

량군에서는 대조군과 비교하여 유의성 있는 물질취량 변화는 관찰되지 않았다(Table 6).

2. 혈액생화학적 검사

고용량 1일간 투여군에서 대조군과 비교하여 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다. 고용량 5일간 투여군에서 ALP 활성도와 GGT 활성도가 유의성 있게 감소하

였고, 고용량 10일간 투여군에서 GGT 활성도가 유의성 있게 감소하였다. 우황청심원 30일간 투여실험에서 SDH 활성도는 암컷 고용량(7.5 g/kg) 투여군과 중용량(3.75 g/kg) 투여군에서 유의성 있게 감소하였으며, AST 활성도는 수컷 중용량 투여군에서 유의성 있는 증가를 보였다. 총 빌리루빈량은 암컷 고용량 투여군에서 유의성 있게 증가하였으며, 총 단백질량은 암컷 고용량(7.5 g/kg) 투여군과 저용량(1.875 g/kg) 투여군

Table 9. Continued.

Treatment periods	Incidence of gross findings						
	1 day		5 days		10 days		
	Dose(g/kg/day)	0(10 ^c)	7.5(10)	0(10)	7.5(10)	0(10)	7.5(10)
Spleen							
NGF	10(100%)	10(100%)	10(100%)	10(100%)	10(100%)	10(100%)	10(100%)
Liver							
NGF	10(100%)	10(100%)	10(100%)	10(100%)	10(100%)	10(100%)	10(100%)
Cecum							
NGF	10(100%)	10(100%)	10(100%)	10(100%)	10(100%)	10(100%)	10(100%)
Lung							
NGF	10(100%)	10(100%)	10(100%)	10(100%)	10(100%)	10(100%)	10(100%)
Testis							
NGF	10(100%)	10(100%)	10(100%)	10(100%)	10(100%)	10(100%)	10(100%)

^a Rats were administered orally once a day for up to 1, 5, and 10 consecutive days.

^b Values are expressed as means ± S.D. for eight to ten rats.

^c Animal numbers of observation.

^d NGF : no gross findings.

Table 10. Gross findings in rats treated orally with uhwangchungsimwon for 30 days.^{a,b}

Sex	Incidence of gross findings								
	Dose(g/kg/day)	Male				Female			
		0	1.875	3.75	7.5	0	1.875	3.75	7.5
Animal numbers	10	10	10	8	10	10	9	10	
Thyroid gland									
NGF ^c	10(100%)	10(100%)	10(100%)	8(100%)	10(100%)	10(100%)	9(100%)	10(100%)	
Adrenal gland									
NGF	10(100%)	10(100%)	10(100%)	8(100%)	10(100%)	10(100%)	9(100%)	10(100%)	
Brain									
NGF	10(100%)	10(100%)	10(100%)	8(100%)	10(100%)	10(100%)	9(100%)	10(100%)	
Kidney									
NGF	10(100%)	10(100%)	10(100%)	8(100%)	10(100%)	10(100%)	9(100%)	10(100%)	
Heart									
NGF	10(100%)	10(100%)	10(100%)	8(100%)	10(100%)	10(100%)	9(100%)	10(100%)	
Spleen									
NGF	10(100%)	10(100%)	10(100%)	8(100%)	10(100%)	10(100%)	9(100%)	10(100%)	
Liver									
NGF	10(100%)	10(100%)	10(100%)	8(100%)	10(100%)	10(100%)	9(100%)	10(100%)	
Cecum									
NGF	10(100%)	10(100%)	10(100%)	8(100%)	10(100%)	10(100%)	9(100%)	10(100%)	
Lung									
NGF	10(100%)	10(100%)	10(100%)	8(100%)	10(100%)	10(100%)	9(100%)	10(100%)	
Testis(Ovary)									
NGF	10(100%)	10(100%)	10(100%)	8(100%)	10(100%)	10(100%)	9(100%)	10(100%)	

^a Rats were administered orally once a day for 30 days.

^b Values are expressed as means ± S.D. for eight to ten rats.

^c NGF : no gross findings.

Table 11. Absolute and relative liver weight in male rats treated orally with uhwangchungimwon for 1, 5, 10 days.^{a,b}

Treatment periods	Incidence of gross findings					
	1 day		5 days		10 days	
Dose(g/kg/day)	0	7.5	0	7.5	0	7.5
Absolute weight(g)	7.21±0.858	7.49±0.715	6.99±0.594	7.17±0.750	7.66±0.543	7.81±0.723
Relative weight (% of body weight)	3.96±0.477	4.20±0.614	3.93±0.271	4.01±0.344	3.28±0.156	3.33±0.422

^a Rats were administered orally once daily for up to 1, 5, 10 consecutive days.

^b Values are expressed as means ± S.D. for eight to ten rats.

Table 12. Absolute and relative organ weights in rats treated orally with uhwangchungsimwon for 30 days.^{a,b}

Dose(g/kg/day)		Male				Female			
		0	1.875	3.75	7.5	0	1.875	3.75	7.5
Liver	A.W. ^c	10.59±1.72	10.84±1.25	10.96±0.99	10.90±0.58	7.27±1.00	7.12±0.56	6.67±0.52	8.17±0.746*
	R.W. ^c	2.80±0.359	2.85±0.194	2.88±0.206	2.88±0.104	2.94±0.308	2.86±0.218	2.75±0.186	3.29±0.182*
Right kidney	A.W.	1.45±0.17	1.38±0.13	1.45±0.17	1.47±0.08	0.88±0.08	0.91±0.06	0.86±0.05	0.94±0.09
	R.W.	0.38±0.038	0.36±0.020	0.38±0.042	0.39±0.019	0.36±0.032	0.36±0.022	0.35±0.02	0.38±0.04
Left kidney	A.W.	1.42±0.18	1.36±0.11	1.46±0.188	1.46±0.07	0.86±0.08	0.89±0.05	0.87±0.05	0.94±0.08*
	R.W.	0.38±0.042	0.36±0.021	0.38±0.043	0.39±0.019	0.35±0.031	0.36±0.025	0.36±0.023	0.38±0.031*
Total kidney	A.W.	2.86±0.34	2.73±0.24	2.91±0.36	2.93±0.14	1.73±0.16	1.80±0.10	1.73±0.08	1.89±0.17*
	R.W.	0.76±0.077	0.72±0.038	0.77±0.083	0.77±0.036	0.70±0.074	0.72±0.043	0.71±0.035	0.76±0.065
Spleen	A.W.	0.71±0.13	0.75±0.06	0.71±0.06	0.72±0.11	0.59±0.10	0.56±0.09	0.56±0.05	0.57±0.12
	R.W.	0.19±0.029	0.20±0.023	0.19±0.020	0.19±0.028	0.24±0.036	0.23±0.040	0.23±0.020	0.23±0.044

^a Rats were administered orally once a day for 30 days.

^b Values are expressed as means±S.D. for eight to ten rats.

^c A.W. : Absolute organ weight(g), R.W. : Relative organ weight to body weight(%)

* Significantly different from the control at p<0.05.

으나, 암컷 고용량군(7.5 g/kg) 간장의 절대중량 및 상대중량비는 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다 (Table 12). 암컷 좌신의 절대중량과 상대중량비 및 신장의 총절대중량은 고용량군이 대조군에 비하여 유의

성 있게 증가하였으나 신장의 총상대중량비에 있어서는 유의성이 관찰되지 않았다. 30일 투여군 비장의 절대중량 및 상대중량비는 유의성이 관찰되지 않았다 (Table 12).

Table 13. Histopathologic incidence of liver in male rats treated orally with uhwangchungsimwon for 1, 5, 10 days.^a

Treatment Periods		Histopathologic Incidence of Liver					
		1 day		5 days		10 days	
Dose(g/kg/day)		0	7.5	0	7.5	0	7.5
Animal No. of Observation		10	10	10	10	10	10
Necrosis							
zonal							
periportal		- ^b	-	-	-	-	-
midzonal		-	-	-	-	-	-
centrilobular		-	-	-	-	-	-
diffuse							
massive		-	-	-	-	-	-
Inclusion							
Intracytoplasmic		-	-	-	-	-	-
Intranuclear		-	-	-	-	-	-
Inflammation							
subacute							
acute		-	-	-	-	-	-
focal		-	-	-	-	-	-
Cirrhosis							
Cholestasis							
Subcapsular fibrosis							
Cystic degeneration							
Thrombosis							
Congestive cirrhosis							
Lamellated crystalloid inclusions							
Mitosis							
Clear cell focus							
Eosinophilic focus							
Basophilic focus							
Amphophilic focus							
Hepatomegaly							

Table 14. Continued.

Sex	Histopathologic Incidence of Liver								
	Dose(g/kg/day)	Male				Female			
		0	1.875	3.75	7.5	0	1.875	3.75	7.5
Animal No. of Observation	10	10	10	8	10	10	9	10	
Congestive cirrhosis	-	-	-	-	-	-	-	-	
Lamellated crystalloid inclusions	-	-	-	-	-	-	-	-	
Mitosis	-	-	-	-	-	-	-	-	
Clear cell focus	-	-	-	-	-	-	-	-	
Eosinophilic focus	-	-	-	-	-	-	-	-	
Basophilic focus	-	-	-	-	-	-	-	-	
Amphophilic focus	-	-	-	-	-	-	-	-	
Hepatomegaly	-	-	-	-	-	-	-	-	
Hyperplasia									
bile duct	-	-	-	-	-	-	-	-	
oval cell	-	-	-	-	-	-	-	-	
diffuse	-	-	-	-	-	-	-	-	
focal	-	-	-	-	-	-	-	-	
nodular	-	-	-	-	-	-	-	-	
Fibrosis									
portal	-	-	-	-	-	-	-	-	
bridging	-	-	-	-	-	-	-	-	
centrilobular	-	-	-	-	-	-	-	-	
Clear cell change	-	-	-	-	-	-	-	-	
Cellular swelling	-	-	-	-	-	-	-	-	
Congestion	-	-	-	-	-	-	-	-	
Herniation	-	-	-	-	-	-	-	-	
Granuloma	-	-	-	-	-	-	-	-	

^a Rats were administered orally once a day for 30 days.

^b Hyphens(-) indicate "Not detected".

IV. 고 찰

우황청심원은 급성독성 시험이 실시되어 있지 않아 정확한 LD₅₀ 치등을 알 수 없어, 고용량은 경구로 투여 가능한 최대 용량이며 임상적용량의 30배에 해당하는 7.5 g/kg b.w.로 설정하였다. 본 시험에서는 투여기간 말기에 3마리의 동물이 사망하였는데 모두 투여직후 사망하였고, 부검결과 폐장에 약물이 충전되어 있었으므로 투여실수에 의한 사망으로 판단되었으며, 따라서 최고용량인 7.5 g/kg까지는 투여약물에 의한 사망례는 없었다. 임상증상 관찰결과, 설사, 연변, 유연이 총 8례 관찰되었으나, 용량상관성이 없고 일시적 증상이었으며, 대조군에서도 관찰되었으므로 특기할 만한 독성 증상으로 생각되지 않는다. 체중측정 결과, 우황청심원을 5, 10 및 30일간 투여한 모든 군에서 대조군과 유의성있는 차이를 나타내지 않았다. 사료섭취량은 고용량과 중용량을 투여한 암 수 모두에서 유의성있게 감소하였는데 이는 시험물질의 투여용량이 많아 포만감으로 인한 것일 수 있다고 생각되며, 체중 변화에 대한 영향은 없었으므로 의미있는 증상으로는 생각되지 않

는다. 물 섭취량은 주로 수컷 저용량과 중용량 투여군, 암컷 고용량 투여군에서 대조군보다 증가되는 경향을 나타내었는데, 투여용량과 상관성을 나타내지는 않았으므로 독성학적으로 큰 의미를 갖는 것으로 생각되지 않는다.

Plaa 등은 실험동물에서 간독성을 측정하는 방법을 혈액의 생화학적 분석, 간의 분비능 측정, 간조직의 구성성분의 변화 및 조직병리 검사등 크게 4 가지로 분류하였다(Plaa와 Hewitt, 1989). 이 중에서 가장 일반적인 것이 혈액의 생화학적 분석과 조직병리 검사이며, 본 시험에서도 간독성 평가의 주 항목으로 이를 실시하였다.

혈중 효소활성 측정법은 지난 25년간 표준 간독성 평가법으로 이용되어 왔다. Zimmerman과 Seeff는 간독성 지표로서의 혈중 효소를 4 부류로 분류하였는데, 첫째는 cholestasis의 지표로 ALP, GGT, 5'-nucleotidase가 있다. 두번째는 간세포 손상의 지표로서 간손상에만 특이적이지 않고 다른 조직이 손상된 경우에도 혈중농도가 증가되는 AST, lactate dehydrogenase가 있고, 간세포에 주로 많이 존재하는 ALT와 간세포에만 거의 특이적

으로 존재하는 ornithine carbamyl transferase, SDH가 있다. SDH는 특히 화학 물질에 의한 간세포 손상시 민감한 지표로 알려져 있다. 그외 간독성과는 무관하며 다른 조직의 손상 지표인 creatine phosphokinase와 간손상시 혈중 농도가 감소한다고 알려져 있는 cholinesterase 등이 있다(Zimmerman과 Seeff, 1970).

본 시험에서는 biliary dysfunction이나 cholestasis가 유발되었는지를 보기 위하여 ALP와 GGT를 측정하였으며, 간세포의 손상여부를 보기 위하여 AST, ALT와 SDH를 측정하였다. ALP와 GGT를 측정한 결과 7.5 g/kg를 1회 투여한 24시간 후에는 대조군과 차이가 없었으나 5일간 투여한 경우에는 두 효소가 모두 대조군보다 유의성있게 감소하였다. 또한 10일간 투여한 경우에도 GGT가 유의성 있게 감소하였으며, 30일간 투여한 경우는 차이가 없었다(Table 7, 8). AST, ALT 및 SDH는 측정결과, 우황청심원 1, 5, 10일간 투여한 경우에는 대조군과 차이가 없었으며, 30일간 투여시 암컷 중용량과 고용량 투여군에서는 SDH의 활성이 유의성있게 감소하였다. 그러나 GGT, AST, ALT 및 SDH 모두 정상치의 범주를 벗어나는 것은 아니며, 활성이 감소하였으므로 간독성과는 무관한 것으로 생각되었다. 30일간 투여시, 수컷 중용량 투여군에서만 AST가 유의성 있게 증가하였으나, 이 차이는 용량 의존성이 없고 다른 지표들과 상관성도 없었으므로, 우황청심원을 단기간 투여한 경우나 30일간 투여한 경우에도 간세포 독성을 일으키지 않는 것으로 사료된다.

간기능 지표로서 혈중 albumin과 총 단백질량, 그리고 혈중 빌리루빈량을 측정하였다. 혈중 빌리루빈과 총 단백질은 여러 인자-간장해의 정도, 특성과 기간, 영양상태, 순환장애 및 아미노산 흡수등에 의하여 달라질 수 있다. 혈중 albumin 치는 간장해의 특이 지표는 아니지만 보통 간장해시 그 수치가 낮게 나타나며 혈중 albumin 치가 유의성있게 크게 감소하게 되면 광범위하고 만성적인 간장해를 의심할 수 있다(Cornelius, 1991). 혈중 bilirubin의 양도 간기능 검색에서 중요한 지표로 사용되며, 혈중 빌리루빈의 농도가 증가하면, 용혈, 간세포의 흡수기능 및 포합반응 장애와 hepatobiliary cholestasis를 의심할 수 있다. 실험결과, 혈중 총 단백질량과 총 빌리루빈량이 30일간 암컷 투여군중 저용량 투여군과 고용량 투여군에서 약간의 증가를 나타내었으나 이 지표들도 정상치의 범주를 벗어나지 않았

고 용량과 상관성을 나타내지 않았으므로 우황청심원이 간기능에 특기할 만한 장애를 유발하지 않는 것으로 생각되었다.

장기 중량은 그 장기의 독성여부를 볼 수 있는 기초 지표로서 중요하다. 수컷에서는 간장과 신장 모두 절대중량이나 체중에 대한 상대중량에 큰 변화는 없었으나 암컷 고용량 투여군에서 간장의 절대 및 상대중량이 유의성있게 증가하였다. 그러나 혈액생화학적 검사와 조직병리검사에서 특기할 만한 이상이 관찰되지 않았으므로 뚜렷한 독성소견으로는 생각되지 않았다. 조직 병리 검사는 간세포 변화에 대한 명확한 독성지표로서 간장해의 특성과 병변부위를 뚜렷하게 볼 수 있다. 급성 간장해시에는 주로 간세포의 swelling, fatty change와 necrosis가 나타나며, 이의 대표적인 예가 carbon tetrachloride라 할 수 있다(Jennings, 1955). 지속적으로 반복 노출된 경우 나타나는 간장해에는 간섬유화(fibrosis)가 많으며, 만성화되면 간경변(cirrhosis)이 초래될 수 있다. 본 시험에서도 이러한 병변을 중심으로 관찰하였으며, 그 외 inflammation, cholestasis 및 inclusion 등도 살펴본 결과, 모든 동물의 간조직에서 대조군과 비교하여 간장해를 의심할 만한 이상소견이 발견되지 않았다.

이상과 같이 조직병리 및 혈액의 생화학적 검사 결과 모두 특기할 만한 독성이 나타나지 않았으므로, 우황청심원은 본 시험에서 사용한 7.5 g/kg의 용량까지는 랫드에 간독성을 유발하지 않는 것으로 판단된다.

참고문헌

- Plaa, G.L. and Hewitt, W.R. (1989): Detection and Evaluation of Chemically Induced Liver Injury in *Principles and Methods of Toxicology* (W. Hayes ed.), (Raven Press), p599-628.
- Zimmerman, H.J. and Seeff, L.B. (1970): Enzymes in hepatic disease in *Diagnostic enzymology* (Coodley, E.L. Ed), (Lea and Febrieger, Philadelphia), p1-38.
- Cornelius, C.E. (1991): Liver function tests in the differential diagnosis of hepatotoxicity in *Hepatotoxicology* (Meeks, R.G., Harrison, S.D. and Bull, R.J. Eds), (CRC Press), p181-213
- Jennings, R.B. (1955): Fetal fulminant carbon tetrachloride poisoning. *Arch. Pathol.* **55**, 269-284.