

## 황련의 급성독성에 관한 연구

마진열 · 성현제 · 주혜정 · 김인락 · 황금희 · 정규용\*  
한국한의학연구원, \*원광대학교 의과대학 약리학교실

### Acute Toxicity Study on Coptidis Rhizoma in Mice

Jin Yeul Ma, Hyun Jei Seung, Hei Jeung Joo, In Rak Kim,  
Kum Hee Hwang and Kyu Yong Jung\*

Korea Institute of Oriental Medicine, Seoul, 135-100 Korea

\*Department of Pharmacology, Wonkwang University School of Medicine,  
344-2 Shinryong-Dong, Iksan, Chonbuk, 570-749 Korea

(Received November 2, 1998)

(Accepted December 21, 1998)

**ABSTRACT :** In order to evaluate acute toxicity of Coptidis rhizoma, 6 week- and 13 week-old male ICR mice received Coptidis rhizoma extract (600~4,800 mg/kg body weight) orally, and toxicological responses were observed for consecutive 7 days. In the mice received relatively high concentration of Coptidis rhizoma ( $\geq 1,200$  mg/Kg), death occurred within 3 hrs after oral administration, and its ratio in 13 week-old mice was conspicuously higher than that in 6 week-old mice.  $LD_{50}$  of Coptidis rhizoma were estimated to be 2,575 mg/kg and 1,490 mg/kg body weight in 6 week- and 13 week-old mice, respectively. Coptidis rhizoma-treated animals manifested a variety of abnormal clinical findings such as ptosis, crouching, lethargy, convulsion, bizarre behavior and turning sideway. These abnormalities also ranked highly in the 13 week-old mice compared to those in the 6 week-old mice. In addition to abnormal behaviors, Coptidis rhizoma ( $\geq 1,200$  mg/Kg) significantly elevated the urinary contents of bilirubin, urobilirubin, protein and glucose, and values in 13 week-old mice was higher than those in 6 week-old animals. No toxicological response was observed at concentration less than 600 mg/kg. Our results clearly demonstrate that susceptibility of mice to Coptidis rhizoma may be related with age, indicating that younger age mice is more resistant to the Coptidis rhizoma than the older, and toxicological mechanism of Coptidis rhizoma may be closely associated with its pharmacological mechanism.

**Key Words :** Coptidis rhizoma, Oral toxicity,  $LD_{50}$ , Mice

## I. 서 론

황련(*Coptidis rhizoma*)은 경상북도 이북 지역에서 성장하는 다년생 식물로 한국명으로 갯갯이 풀이라고 불려지고, 미나리아재비과에 속하며 가을에 채취하여 수염뿌리, 진흙, 모래를 제거한 후 건조하여 한약재로 쓰여진다(이영노, 1996). 근경은 옆으로 뻗으며, 원뿌리는 단단하고 수염뿌리는 많으나 땅위의 줄기는 없다. 성상은 고르지 않은 원추형으로 3~6 cm, 또는 10 cm에 이르며, 지름 2~7 mm의 분지가 많고 여러 개가 한 묶음으로 되어 있으며 구부러지고 마디 모양을 이

루며 닭의 발톱과 비슷하다(전국 한의과대학 본초학교수, 1995). 바깥 면은 회황갈색을 띠고 꺾인 면은 섬유성이며, 코르크층은 얇은 회갈색, 피부는 황갈색, 목부는 황색, 수는 황갈색을 띠고 있다. 맛은 매우 쓰며 잔류성으로 침을 황색으로 물들이며 특이한 냄새가 있다. 황련은 제4급 염기에 속하는 berberine이 주성분이며, palmatine을 비롯한 미량의 jateorrhizine, coptisine, worenine, magnoflorine 등 alkaloid를 3~7% 함유하고 산성물질로는 ferulic acid를 함유한다. 대한약전에서는 건조 황련을 정량 했을 때 3.5% 이상의 berberine ( $C_{20}H_{19}NO_5$ ; 353.37)이 함유된 것을 규격 약재로 인정하고 있다(지형준 등, 1989).

황련은 위액 분비 촉진, 산도 상승, 펩신 작용 저하,

\*To whom correspondence should be addressed

리파아제 작용 항진, 진경 작용, 항염증 작용, 동맥경화 예방효과, 황색 포도상구균 및 효모균에 대한 항균 작용과 같은 약리학적 작용을 가지는 것으로 알려져 있다(한대석, 1997). 한의학에서 황련은 맛이 쓰고 찬 성질을 가지는 약재로 알려져 있기 때문에 청열을 위주로 하여 심하비, 적안, 이질, 설사의 치료 목적으로 많이 쓰이며, 신경계질환의 치료에도 사용되고 있는 상용 한약재 중의 하나이다(주영한, 1993). 임상적 응용에서 황련은 성질이 냉하고 조하기 때문에 이질의 치료 목적으로 실열과 화사가 있을 경우에는 사용 가능하지만, 허증에는 사용할 수 없다고 알려져 있다. 일반적 임상 용량으로 건위 목적으로는 0.3~0.5 g 정도 소량을 사용하며, 위장염 또는 하리 치료 목적으로는 매회 3~5 g 정도씩 복용하는 것이 이상적이다. 이와 같이 황련의 약리학적 작용과 임상적 이용 가치에 대해서는 다수의 정보가 있으나 그의 안전성과 독성에 대한 지식은 극히 미흡한 형편이다. 이에 본 연구에서는 마우스의 주령에 따른 황련의 독성을 실험적으로 증명하고, 그의 독성학적 작용기전을 이해하고자 하였다.

### III. 실험 재료 및 방법

#### 1. 시험물질

실험약재인 황련을 한국생약협회로부터 구입하여 한국한의학연구원의 본초, 생약학 전공자로부터 품질 감정을 받았다. 전탕 추출법은 한방 임상에서 가장 널리 이용되고 있는 한약 조제 방법이기 때문에 본 연구에서는 전탕 추출법에 의한 시험물질 조제를 실시하였다. 황련 100 g을 1000 ml의 증류수에 넣어 90분간 침적한 후, 약탕기를 이용하여 90분간 열탕, 추출한 후, 감압 회전농축기(Buchi RE121, Switzerland)를 이용하여 100ml로 농축시켰다. 농축된 추출액을 -70°C에서 동결시킨 후, 동결건조기(Labconco, Preezone)를 이용하여 건조, 분말 형태로 조제하였다. 이를 투여 직전에 3차 증류수에 용해하여 실험에 공시하였다.

#### 2. 실험동물

5주령의 수컷 ICR 마우스 60수를 대한실험동물센터로부터 구입하여 한국한의학연구원 동물 실험실에서 1주 및 8주간 순화시켰다. 순화 기간중 일반 임상증상을 관찰하여 건강한 동물을 25마리씩 선정하여 체중 범위에 따른 무작위법에 의하여 군 분리를 실시한 후,

본 실험에 사용하였다. 순화 및 실험 기간 동안의 사육 환경은 온도 23±3°C, 상대습도 50±10%, 환기 횟수는 시간당 12~16회, 조명은 12시간 명암주기(점등 7:00, 소등 19:00), 조도는 150~300 Lx로 조정하여 일정한 사육환경 조건을 유지하였다. 그리고 실험동물용 고형 사료(삼양사료주식회사)와 물(tap water)은 자유섭취 조건으로 하였다.

#### 3. 실험군 및 약재 투여

6주령 및 13주령 마우스에 대한 급성 경구독성을 평가하기 위하여 각 주령의 마우스를 각각 5개의 용량군으로 나누었다(Table 1). 투여 경로는 한방 임상에서 가장 널리 이용되고 있는 경구법을 이용하였다. 본 연구에서 설정된 투여 용량은 8주령 마우스를 이용한 예비 시험결과, 2.6 g/kg 농도에서 공시 개체에 대한 신경독성이 관찰되었기 때문에 이를 근거로 하여 5개의 용량군을 설정하였다.

#### 4. 임상증상 및 부검

임상 증상은 투여 직후부터 6시간 동안의 연속관찰과, 그후 7일(1일 1회) 동안의 일반증상 관찰법에 의하여 조사되었다(Hayes, 1984). 모든 동물에 대하여 투여 전 그리고 투여 후 1, 3, 7일에 체중 변화를 관찰하였으며, 실험 종료 후, ethyl ether로 마취하여 후대 정맥을 통한 방혈을 실시한 후, 모든 장기에 대한 육안적 병변을 관찰하였다.

#### 5. 뇨 검사

뇨 검사는 시험물질 투여 후 3시간이내 실시하였다. 뇨 검사용 시험지로 뇨를 처리한 후, 뇨 분석기(Clinitek-100, Bayer Co., USA)를 이용하여 glucose, bilirubin, ketone, Specific gravity(SG), pH, protein, urobilinogen, nitrate, occult blood(OB), white blood cell(WBC)를 측정하였다.

Table 1. Experimental groups

Group	Animal No.	Volume (ml/kg)	Dose (mg/kg)
Control	5	30	0
T1	5	30	600
T2	5	30	1200
T3	5	30	2400
T4	5	30	4800

## 6. 통계 처리

대조군과 처치군 사이의 통계학적 유의차는 ANOVA 및 Student's *t*-test에 의하여 검정하였고,  $p < 0.05$ 를 실험군간의 유의성 있는 차이로 인정하였다. 그리고 LD<sub>50</sub>값은 Probit법을 이용하여 평가하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 치사율

Table 2는 황련 투여 후 7일간 사망한 동물의 수를 나타낸 것이다. 동물의 치사는 투여후 3시간이내에서

만 관찰되었다. 얻어진 결과로부터 6주령의 마우스보다 13주령의 마우스가 황련 투여에 의한 치사율이 높은 것을 명확히 알 수 있고, 이는 가령에 따라 황련에 대한 독성학적 영향과 그 정도가 상이하다는 것을 시사한다.

### 2. 임상 증상

고농도의 황련 투여 직후, 안검하수 및 밝은 곳으로 이동하여 웅크린 자세를 보이는 이상 증상이 관찰되었다. 투여 40분 후, 사육상자의 철망을 물어뜯고 고개를 위로 쳐드는 증상을 보였다. 투여 2시간 후, 방향 감각을 소실하고 편 방향으로 선회하는 증상을 나타낸다

**Table 2.** Mortality of mice treated with *Coptidis rhizoma* (6/13 week-old)

Dose (mg/kg)	Days after administration								Mortality (%)
	0	1	2	3	4	5	6	7	
0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
600	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
1200	0/2	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/40
2400	1/4	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	20/80
4800	5/5	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	100/100

After single oral administration of *Coptidis rhizoma* extract, animals were observed for consecutive 7 days. All dead animals were ranked at within 3hrs after treatment.

**Table 3.** Clinical finding in *Coptidis rhizoma*-administered mice (6/13 week-old)

Group	Dose (mg/kg)	Control	T1	T2	T3	T4
		0	600	1200	2400	4800
Terminal sacrifice		5/5	5/5	5/3	4/1	0/0
Normal		5/5	5/5	5/2	0/0	0/0
Ptosis		0/0	0/0	0/3	4/5	5/5
Crouching		0/0	0/0	0/3	5/5	5/5
Lethargy		0/0	0/0	0/2	1/4	5/5
Convulsions		0/0	0/0	0/2	1/4	5/5
Bizarre behavior		0/0	0/0	0/2	2/4	5/5
Turning sideways		0/0	0/0	0/2	1/4	5/5

Mice aged 6 week- and 13 week-old were treated with or without *Coptidis rhizoma*, and abnormal behaviors were observed for consecutive 7 days. Each number means the animal number ranked positively.

**Table 4.** Changes of body weight in mice treated with or without *Coptidis rhizoma*

Dose (mg/kg)	Group age (week)	Control	T1	T2	T3	T4
		0	600	1200	2400	4800
0 day	6	24.70(0.81)	23.91(1.44)	23.98(1.65)	24.09(1.17)	24.09(1.10)
	13	38.84(4.23)	39.05(3.55)	39.33(3.81)	38.99(3.21)	39.10(1.87)
1 day	6	28.39(1.11)	27.40(1.75)	27.45(2.34)	28.84(1.57)	D
	13	41.81(4.47)	40.51(1.64)	42.04(5.92)	42.71(0.00)	D
3 day	6	29.35(0.90)	28.77(1.45)	30.19(1.25)	30.65(1.60)	D
	13	40.24(5.09)	40.19(2.45)	42.95(5.99)	43.87(0.00)	D
7 day	6	31.24(1.23)	31.47(1.70)	32.15(1.53)	31.72(1.18)	D
	13	42.06(4.88)	41.82(2.03)	42.15(5.72)	44.32(0.00)	D

Animals were administered orally with several different concentrations of *Coptidis rhizoma* extract, and body weight was measured at each day as indicated. Results expressed as mean  $\pm$  S. D. Numbers in parentheses mean S.D. D; dead.

**Table 5.** Urinalysis in mice treated with or without *Coptidis rhizoma*

Group Dose (mg/kg) No. of animals (6/13 week-old)	Control 0 3/4	T1 600 4/4	T2 1200 4/5	T3 2400 3/4	T4 4800 3/3
Glucose (g/dl)	-/-	-/-	-/-	-/-	-/±
	-/-	-/-	-/-	-/-	-/±
	-/-	-/-	-/-	-/+	-/-
	/-	-/-	-/-	/-	
Bilirubin	-/-	-/-	-/-	-/-	-/+
	-/-	-/-	-/-	-/-	-/++
	-/-	-/-	-/-	-/+++	-/+
	/-	-/-	-/-	/-	
Ketone body (mg/dl)	-/-	±/±	±/±	+/±	+/±
	±/-	±/-	-/±	+/±	±/+
	±/±	±/-	±/±	±/+	±/±
	/±	±/±	±/±	/±	
			/±		
Gravity	≤1.005/1.020	1.020/1.025	1.020/1.025	1.020/≥1.030	≥1.030/≥1.030
	1.020/1.020	1.025/1.015	1.005/1.020	1.025/1.015	≥1.030/≥1.030
	1.020/1.025	≤1.005/1.015	1.020/1.020	≥1.030/1.025	1.025/≥1.030
	/1.020	1.010/1.020	≥1.020/≥1.020	/≥1.030	
pH	6.5/7.0	6.0/6.0	5.5/6.0	6.0/6.0	6.0/7.0
	6.0/6.5	6.0/6.0	5.5/6.5	6.0/7.0	6.0/6.5
	6.0/6.5	6.0/6.0	6.0/7.0	5.5/6.0	6.0/7.0
	/7.5	6.0/6.5	6.0/6.0	/6.0	
			/6.5		
Protein (mg/dl)	-/±	±/±	±/+	±/++	++/+++
	-/+	±/+	-/+	+/+	+/+++
	±/+	-/+	-/+++	+/+++	+/+++
	/+	-/+	+/+++	/++	
Urobilinogen (Ehrlich unit/dl)	0.1/0.1	0.1/0.1	0.1/0.1	0.1/0.1	1.0/1.0
	0.1/0.1	0.1/0.1	0.1/0.1	0.1/0.1	1.0/1.0
	0.1/0.1	0.1/0.1	0.1/1.0	0.1/1.0	0.1/1.0
	/0.1	0.1/0.1	0.1/1.0	/1.0	
			/0.1		
Nitrite	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	/-	-/-	-/-	/-	
Occult blood	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	-/-	-/-	-/-	-/±	-/-
	/-	-/-	-/-	/-	
			/-		
WBC	±/±	±/±	-/+	-/±	-/+
	±/±	-/+	-/±	±/±	±/++
	-/±	±/-	-/±	±/+++	-/+
	/+	±/±	-/±	/+	
		/±			

Urine was collected within 3 hrs after starting oral administration of *Coptidis rhizoma* extract and analyzed by using automatic urine analyzer (Clinitek-100, Bayer).

음, 복부 및 흉부를 바다에 늘어뜨려 무기력한 상태로 진전된 후, 후지를 힘껏 차고 점핑을 시도한 후 즉시 사망하였다(Table 3). 이와 같은 결과로부터 황련의 독성은 급성으로 나타난다는 것을 알 수 있고, 관찰된 이상 임상 증상은 황련에 의한 신경 독성에 기인한 것으로 생각할 수 있다. 또한, 고농도의 황련에 의한 독성학적 작용기전은 임상용량의 황련에 의한 약리학적 작용기전과 밀접한 연관성이 있는 것으로 사료된다.

### 3. 체중변화

Table 4에 나타낸 것과 같이 황련의 투여에 의한 유 의한 체중 변화는 실험 기간 동안 관찰되지 않았다.

### 4. 뇨 검사

Table 5는 황련 투여 마우스에 대한 뇨 검사 결과를 나타낸 것이다. 고농도의 황련을 투여한 마우스의 뇨는 무처치 대조군 동물의 것에 비하여 현저히 높은 urobilinogen을 함유하였다. 특히, 황련 처치 13주령 마우스의 뇨중 bilirubin, protein, glucose, WBC 함량은 동일 주령의 무처치 정상 동물의 것들에 비하여 현저히 높게 나타났다. 이와 같은 결과로부터 황련은 신경 독성을 나타낼 뿐만 아니라(Table 2) 간장 및 신장 기능에도 유해한 영향을 미칠 수 있다는 것을 알 수 있고, 동물의 주령에 따라 황련의 독성 반응이 상이하게 나타나는 것이 명확하게 증명되었다.

### 5. 부검소견

실험 종료시 모든 장기에 대하여 육안적 병변(색깔 및 형태)을 관찰하였으나, 이상 병변을 관찰 할 수 없었다.

### 6. LD<sub>50</sub> 값

Probit법에 의해 황련의 LD<sub>50</sub>값을 평가한 결과, 동물의 주령과 관련하여 현저한 차이가 있는 것으로 나타났다. 6주령 ICR 마우스에서 황련 추출물의 LD<sub>50</sub>값은 2,575 mg/kg으로 측정되었으나, 13주령의 것에서는

1,490 mg/kg로 6주령에서 보다 유의하게 낮은 수치로 관찰되어 마우스의 가령에 따라 황련의 독성학적 영향이 민감하게 작용한다는 것을 알 수 있었다.

이상의 결과로부터 고농도의 황련은 마우스에 대하여 주광성, 웅크림, 안검하수, 무기력, 경련 및 행동 이상과 같은 신경독성을 유발할 뿐만 아니라, 뇨중 bilirubin, urobilinogen, protein 그리고 glucose의 현저한 증가로 보아 간장, 담관, 신장의 기능 장애도 일으킨다는 것을 알 수 있었다(김정천, 1984). 황련 추출물의 LD<sub>50</sub>값은 6주령 ICR 마우스에서 2,575 mg/kg, 13주령 마우스에서 1,490 mg/kg으로 나타나 황련의 독성은 동물의 주령에 따라 명확한 차이가 있는 것으로 나타났다. 황련은 위액분비, 진경작용, 항염증작용과 같은 약리학적 작용을 가지는 것으로 알려져 있고(생약학연구회, 1994), 한방에서는 지사약 및 위장약의 원료로 널리 쓰이는 동시에 신경계 질환에도 응용되는 생약이다(강소신의학원, 1977). 이와 같은 황련의 약리학적 작용과 한방 임상적 응용 목적을 본 연구에서 관찰된 황련에 의한 독성 반응과 비교하여 볼 때, 생체 기능에 대한 황련의 약리학적 작용기전과 독성학적 반응이 상호 밀접한 연관성이 있음을 알 수 있다. 더우기, 본 연구의 결과는 황련의 임상적 이용에 있어서 연령에 따른 복용량의 수준에 깊은 주의가 필요하다는 것을 제시하고 있다.

### 참고문헌

- Hayes, A.W. (1984): Hayes Toxicology, Raven press, New York, pp. 17-19.
- 강소신의학원 (1977): 중약대사전, 상해과학기술출판사, 상해, pp. 2022-2030.
- 김정천 (1984): 임상검사법제요, 고문사, 서울, pp. 93-95.
- 생약연구회 (1994): 현대생약학, 학창사, 서울, pp. 420-424.
- 이영노 (1996): 한국식물도감, 교학사, 서울, p. 209.
- 전국한의과대학 본초학교수 (1995): 본초학, 영림사, 서울, pp. 180-181.
- 주영한 (1993): 중약자원학, 중국의약과학기술출판사, 북경, pp. 225-232.
- 지형준, 이상인 (1989): 대한약전 한약(생약)규격집, 한국메디칼 인텍스사, 서울, pp. 642-644.
- 한대석 (1997): 생약학, 동명사, 서울, pp. 181-184.