

가미옥천산의 ICR 마우스 경구 투여에 의한 급성 독성시험 연구

고병섭 · 박민정 · 박소민 · 전원경 · 천진미 · 정필문 · 박선민¹ · 최수봉² · 오명숙³ · 장문석³ · 박성규^{3*}

한국한의학연구원, 1: 호서대학교 자연과학대학, 2: 건국대학교 의과대학, 3: 경희대학교 한의과대학

Acute Toxicity of Kami-Okchun-San in ICR-Mice

Byoung-Seob Ko, Min Jung Park, So Min Park, Won Kyung Jeon, Jin Mi Chun, Pil Mun Joung, Sunmin Park¹, Soo Bong Choi², Myung Sook Oh³, Mun Seog Chang³, Seong Kyu Park^{3*}

Korea Institute of Oriental Medicine, 1: Food and Nutrition, Hoseo University, 2: School of Medicine, Kon Kuk University, 3: College of Oriental Medicine, Kyung Hee University

Kami-Okchun-San(OCS) is known as an effective herbal medicine on Type 2 diabetes. We performed to investigate acute toxicity of OCS on ICR mice. ICR mice in acute toxicity experiment were administered orally with dosages of 3,200mg/kg (low dosage group), 4,000mg/kg (middle dosage group), 5,000mg/kg (high dosage group) per single time, respectively. Body weights, clinical signs, mortalities and histopathological finding were observed daily for 14 days according to the Regulation of Korean Food and Drug Administration(1999. 12. 22). Single oral administration of OCS with different dosages, no animals died of the test drug. Autopsy of animal revealed no abnormal gross findings. Therefore, LD50 value of OCS for ICR mice was more than 5,000mg/kg on oral route. Normally increasing changes were observed in body weight, drinking water and food intake in every dosage group. Hematological parameters were also observed normally in all animals. No histopathological lesions were observed in both control and treated animals. Above data suggest that no toxic dose level of OCS in ICR mice is considered to be more than 5,000mg/kg. Therefore, it was concluded that OCS have no effect on acute toxicity and side effect in ICR mice.

Key words : Okchun-San(OCS), acute toxicity, LD50, body weights, clinical signs, mortalities, histopathological finding

서 론

당뇨병은 고혈당과 당뇨를 특징으로 하는 유전적 만성대사 질환으로 그 발생 빈도는 인구의 약 5% 정도를 차지하는 것으로 알려져 있다¹⁾. 최근 경제 및 문화의 급속한 발전에 따른 생활수준의 향상, 당뇨병에 대한 국민의 인식도 증가, 진단 방법의 개선, 평균 수명의 연장 등으로 당뇨병환자의 이환율이 증가하는 추세에 있으며, 일부 계층에서는 심각한 건강 문제로 나타나고 있다²⁾. 우리나라의 당뇨병 유병률은 과거 20년 동안 급격히 증가하여 최근의 연구보고에 따르면 전체 인구의 약 8-10%이며, 향후 20년 동안 더욱 급증할 것으로 알려지고 있는데, 그 이유는 과거에 영양 섭취가 부족하여 "thrifty gene"이 유발되었을 가능성이 높고, 이 유전자는 과다 영양 상태가 되면 당뇨병을 유발시킬 가

능성이 높은 것으로 알려져 있다³⁾.

당뇨병은 췌장의 베타세포로부터 인슐린이 전혀 분비되지 않는 제1형 당뇨병과 인슐린 분비의 상대적 결핍 및 분비된 인슐린의 작용력이 감소하여 발생하는 제2형 당뇨병으로 분류된다⁴⁾. 우리나라를 비롯하여 세계적으로 전체 당뇨병 환자의 90-95%가 제2형 당뇨병으로 밝혀져 있다⁵⁾. 그러나 현재까지 제2형 당뇨병의 치료에 효과적인 약제들은 엄격한 혈당조절이나 당뇨병의 합병증을 예방하는데 부족한 점이 많으며, 더욱 새로운 치료제의 개발이 요구되고 있다⁶⁾.

한의학에서 消渴의 병증은 渴而多飲, 消穀善飢 및 渴而尿數 등의 증상을 특징으로 하며⁷⁾, 당뇨병 치료의 목표인 고혈당으로 인한 갈증, 체중감소, 다뇨 등의 증상과 유사한 점을 발견할 수 있다⁸⁾. 玉泉散은 소갈의 치료 처방으로 上消, 中消, 下消 등의 증상을 포괄하여 사용하는 것으로 기록되어 있다⁷⁾.

가미옥천산은 동의보감의 소갈문에 수록되어 있는 옥천산 처방을 근거로 인슐린성 물질의 탐색을 통하여 보고된 의이인을 가미하여 구성된 새로운 한약 처방이다⁸⁾.

* 교신저자 : 박성규, 서울시 동대문구 회기동 1 경희대학교 한의과대학

· E-mail : cervus@khu.ac.kr, · Tel : 02-961-0330

· 접수 : 2005/07/19 · 수정 : 2005/08/22 · 채택 : 2005/09/15

최근의 연구 보고에 따르면 가미옥천산은 제2형 당뇨병의 동물 모델인 db/db 마우스에 대하여 항 당뇨 효과가 있음이 보고된 바 있으며⁹⁾, 3T3-L1 adipocytes에서 인슐린작용을 향상시키는 인슐린 민감성 물질이 함유되어 있음이 보고되었다¹⁰⁾.

본 연구에서는 임상 시험용으로 제조된 가미옥천산에 대한 마우스에서의 급성경구독성을 평가하였다. 시험물질을 마우스에 1회 투여한 후 14일간 대조군 및 시험물질 투여군의 동물에 대하여 임상증상을 관찰하고 체중변화를 측정하였다¹¹⁾. 시험 종료 후에는 생존한 동물을 부검하여 육안적 병소를 관찰하고 LD50치를 구하여 시험물질에 대한 급성독성을 평가하여 유의성있는 결과를 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

실험방법

1. 동물 및 재료

1) 시험계 및 사육환경

시험구역은 한국한의학연구원 동물실험실이며, 본 연구에 사용된 동물은 (주)오리엔트 실험동물에서 공급받은 SPF(특정병원체 부재) ICR계의 4주령 된 숫컷 마우스이며 몸무게는 19-22 g 이었다. 물과 사료(Samyang Co., Korea)는 자유롭게 먹도록 하였으며, 1주일 이상 실험실 환경(온도 23±3℃, 습도 55±5%, 배기 10-18회/시간, light/dark 12h, 조도150-300 Lux)에 적응시킨 후 사용하였다. 시험 기간 동안 스테인레스제 망사육상자(220W × 410L × 200H mm)를 이용하여 5마리씩을 수용하였다. 1주일간의 순화사육 기간 동안에 증상관찰 등을 시행하여 정상적인 동물만 시험에 사용하였다. 시험자들은 모두 고압증기멸균(121℃, 20min)된 작업복, 두건, 마스크 및 장갑 등을 착용하고 작업을 실시하였다.

2) 약제 및 시험물질의 조제

본 실험에서 사용된 약제는 서울 원광약품사에서 구입한 후 한국한의학연구원에서 엄격하게 감별하고 선정한 것을 사용하였고, 일련번호를 붙이고 한국한의학연구원 표본실에 보관하고 있다.

가미옥천산의 약제 130kg을 물 800L를 넣어 1,500L 용량의 heating tank(Ebenco, USA)에서 85-95℃의 온도로 5시간동안 열수 추출하였다. 열수 추출된 원액 600L를 centrifugal engineers (Fukushinma, Japan)를 이용하여 14,000rpm으로 2시간 동안 연속 원심 분리하여 이물질을 제거하였다. 원심 분리된 원액을 1,000L 용량의 vacuum evaporator(Ebenco, USA)를 사용하여 4시간 동안 진공 농축하여 200L로 농축하였다. 농축된 원액 약 200L를 동결건조기(Ilsin, Korea)를 사용하여 20kg의 동결 건조된 약제를 얻었다(회수율 15.4%). 동결 건조 후 얻어진 약제와 찹쌀가루를 10:1의 비율로 혼합하여 가미옥천산 시험 물질로 사용하였다.

3) 사료 및 물

(1) 사료의 급여방법

사료는 실험동물용 교형사료(Samyang Co., Korea)를 방사선(2.0 Mrad) 멸균하였으며, 당 연구소 실험동물실과 삼양사료 주식회사에서 미생물 및 오염물질 확인시험을 실시한 바, 본 시험에 영향을 미칠만한 요인은 발견되지 않았다.

(2) 물의 급여방법 및 오염물질의 확인

물은 상수도수를 자외선살균기로 소독시킨 후 자유 섭취시켰다. 물에 대하여는 급여 전에

대전광역시 보건환경연구원(대전광역시 유성구 구성동 21-7)에 의뢰하여 일반수질검사를 실시하였다. 물중의 오염물질 분석에 있어서 시험에 영향을 미치는 요인은 발견되지 않았다.

2. 방법

1) 군 분리 및 동물식별

1주간 실험실 환경에 적응시킨 실험동물을 대조군과 가미옥천산 투여군으로 나누었으며, 각 군은 5마리로 하였다. 동물의 군 분리는 다음과 같이 실시하였다. 우선, 순화 기간 중 건강하다고 판정된 동물의 체중을 측정 후 구분시켜 두었다. 그리고 평균체중에 가까운 개체를 각 군에 5마리씩 균등히 들어가도록 체중을 이용한 무작위법을 이용하여 배분하였다. 동물의 개체식별은 피모색소마킹법 및 개체식별카드 표시법으로 실시하였다.

본 시험물질은 한약재로서 식품의약품 안전청의 "의약품 등의 독성시험기준"에는 한계용량에 대한 기준이 없기 때문에, 시험물질의 투여용량은 예비실험 결과와 시험물질의 용해도 등을 고려하여 고용량군(5,000mg/kg), 중간용량군(4,000mg/kg), 저용량군(3,200mg/kg)을 투여 농도로 설정하고 대조군을 포함하여 모두 4개 군으로 정하였다.

2) 시험물질의 투여

(1) 투여액의 조제법

투여 직전에 주사용 생리식염수를 매체로 하여 시험물질을 3,200, 4,000, 5,000mg/10ml/kg으로 조제하였다. 대조군(vehicle control)의 동물에는 매체인 생리식염수만을 투여하였다.

(2) 투여경로 및 투여방법

투여 전날 하룻밤을 절식시킨 후 경구투여용 зонде(zonde)를 장착한 주사기를 이용하여 조제시험물질을 강제 경구투여 하였다.

(3) 투여경로 선택이유

임상예정 경로로서 경구투여를 선택하였다.

(4) 투여횟수 및 투여기간

투여 당일 오전에 개체별로 단회 투여하였다.

(5) 투여액량 계산

투여당일의 측정된 체중을 기준으로 투여액량(10ml/kg)을 계산하였다.

3) 관찰 및 검사항목

(1) 일반증상 및 사망동물의 관찰

시험물질을 투여한 후 매 시간마다 6시간 동안, 투여 다음 날부터 14일까지는 1일 1회씩 일정 시간에 투여 동물의 일반상태, 중독증상 및 사망유무를 대조군과 비교 관찰하였다.

(2) 체중측정

시험에 사용된 모든 동물에 대하여 투여 당일을 0일로 하여 투여 후 매일 2주일간 체중을 측정하였다.

(3) 부검소견

투여 후 14일째 모든 생존 동물을 ether로 흡입 마취하여 개복 및 복대동맥 절단법으로 방혈 치사시킨 다음 외관 및 내부 장

저용량군(3,200mg/kg)으로 시험물질 투여군을 나누었으며, 대조군은 멸균 생리식염수를 투여하였다.

본 연구는 가미옥천산의 ICR 마우스를 이용한 단회 경구투여에 의한 독성시험의 정보를 얻기 위하여, 식품의약품안전청 고시 제 1999-61호(1999년 12월 22일)의 "의약품등의 독성시험기준"에 준하여 실시하였다. 시험물질 가미옥천산에 대한 단회 경구투여 독성시험을 ICR 마우스에서 경구로 최고용량 5,000mg/kg까지 투여한 결과, 폐사 및 일반증상과 모든 생존동물에 대한 해부병리 소견에서 시험물질의 투여에 기인한다고 사료되는 변화는 관찰되지 않았다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 시험물질인 가미옥천산은 경구투여 시 마우스에서 아무런 급성독성을 나타내지 않았고, LD50값은 마우스에서 경구 투여 최고용량인 5,000mg/kg 이상일 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 한방치료기술연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임. (02-PJ9-PG1-CO02-0002)

참고문헌

1. Taylor, S. I, Deconstructing Type 2 Diabetes. Cell 97(2):9-12, 1999.
2. 보건사회부. 국민영양조사보고서. 1969-1989.

3. Yajnik, C. S. Nutrition, growth, and body size in relation to insulin resistance and type 2 diabetes. Curr. Diab. Rep. 3(2):108-114, 2003.
4. Gerich, J. E, Contributions of insulin-resistance and insulin-secretory defects to the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. Mayo Clin. Proc. 78(4):447-456, 2003.
5. Boden, G. Perspectives in diabetes. Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. Diabetes 45, 3-10, 1996.
6. 이광우. 새로운 당뇨병 치료제. 당뇨병 제21권 부록 2호 pp 39-45, 1997.
7. 許浚. 東醫寶鑑. 南山堂, 서울. p 98, pp 140-142, 1990.
8. 김종욱, 최용휴, 주영승, 박선민, 이미영, 김호경, 김흥준, 고병섭. 의이인이 3T3-L1 Adipocytes에서 인슐린성 작용과 인슐린 민감성에 미치는 영향. 대한한의학회지 23(1):83-91, 2002.
9. 장문석, 진현선, 정계진, 박선민, 최수봉, 고병섭, 박성규. 4종 한약 처방이 db/db 마우스의 혈당 개선에 미치는 영향. 동의생리병리학회지 18(1):58-62, 2004.
10. 박선민, 최미경, 전동화, 최수봉, 박성규, 이미영, 김호경, 황영희, 고병섭. 消渴 治療 處方 加減이 3T3-L1 Adipocytes에서 인슐린 유사성과 인슐린 민감성에 미치는 영향. 동의생리병리학회지 18(2):451-456, 2004.
11. 이영순, 조재진, 김영석, 남정석, 박재학, 이순복. 랫드와 마우스에서 DA-3030(G-CSF)의 급성독성에 관한 연구. 응용약물학회지 2, 256-259, 1994.