

麻黃潤肺湯 추출물의 수컷 SD Rats에서 경구 단회투여 독성 평가

전귀옥, 조동희, 박미연, 최해운, 김종대
대구한의대학교 한의과대학 내과학교실

Single Dose Toxicity Test of *Mahwangyounpae-tang* Extract in Male SD Rats

Kwi-ok Jeon, Dong-hee Cho, Mee-yoon Park, Hae-yun Choi, Jong-dae Kim
Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University

Objectives & Methods : To obtain the 50% lethal dose(LD50), approximated lethal dose(ALD) and approximated target organs of "*Mahwangyounpae-tang*" for further study into such things as repeated dose toxicity, genotoxicity and reproductive toxicity, single dose toxicity was tested in male SD rats according to KFDA Guideline 1999-61[KFDA, 1999] at dosage levels of 2,000, 1,000, 500, 250 and 125 mg/kg/10m. In this study, mortalities, clinical signs, body weight changes and body weight gains, gross findings and weight of principal organs were detected during and/or after 14 days of single dosing.

Results & Conclusions : After 2 or 3 days of dosing, 1 or 2 animals in 2,000 mg/kg-dosing groups died. Excitation and leaping response were observed as test article-treatment related clinical signs. These abnormal signs were restricted to 2,000 and 1,000 mg/kg-dosing groups and survivors recovered to normal within 3 or 4 days after dosing. Significant decrease in body weight were observed in some periods of observation in 2,000 and 1,000 mg/kg-dosing group, from 1 days after dosing compared to those of vehicle control group. Significantly diminished body weight gains were observed in observation periods in 2,000 and 1,000 mg/kg-dosing group compared to those of vehicle control group. Hypertrophy and hemorrhage of heart and decoloration of kidney were observed as test article-treatment related gross findings. These abnormal findings were restricted to 2,000 and 1,000 mg/kg-dosing groups. A significant increase of absolute and relative heart and kidney weight were demonstrated in 2,000 mg/kg-dosing groups. The value for LD50 found in this study was 2,218.57 mg/kg. ALD in this study was 2,000 mg/kg, and the target organs are considered to be the heart and the kidney.

Key Words: Single Dose Toxicity, *Mahwangyounpae-tang*, SD Rats

1. 緒 論

최근 건강 기능성 식품 및 천연물 의약품에 관심이 높아지고 있으나 안전성이 확보되지 않은 식품과 의약품의 오·남용으로 인한 독성 및 부작용 사례가 늘어나고 있으며 한약재의 재배와 유통과정에 대한 철저한 관리체계의 부재로 한약을 포함한 생약제제에 대한 안전성 확보와 품질관리 및 규제의 필요성이

대두되고 있다^{1,2}.

한약재는 기존에 한방에서 질병의 치료제나 보약의 처방으로 널리 사용되어져 왔으나, 최근에 들어서는 각종 식품 감미료, 향료, 건강 보조식품이나 기능성 식품, 기능성 화장품, 천연 살충제 등의 원료로 다양하게 개발되고 있다. 그러나 이에 대한 안전성은 충분히 검토되지 않고 있다. 따라서 한약의 대중화는 물론 천연물로부터 새로운 생리활성 물질 탐색 차원에서 한약재에 대한 안전성과 품질관리에 대한 검토는 시급한 실정이다¹.

최근 들어 한약의 독성학적 연구는 약효연구의 일환으로 진행되어 왔으며 급성독성과 같은 일반 독성

· 접수 : 2006. 2. 21. · 채택 : 2006. 2. 25.
· 교신저자 : 전귀옥, 대구광역시 수성구 상동 165번지
대구한의대학방병원
(Tel. 053-770-2081, Fax. 053-770-2169
E-mail : 2079272@hanmail.net)

실험은 매우 드문 실정이다. 현재까지 한약에 대한 독성 연구로는 단미제로 半夏³, 竹瀝⁵, 麻黃⁶⁻⁸, 大茴香⁹, 丁公藤¹⁰, 電公藤¹¹, 韓防己¹², 人蔘^{13,4}, 玉竹¹⁵ 등이 있으며 복합제제로 加味雙和湯類¹⁶, 八味地黃丸¹⁷ 및 補中治濕湯¹⁸과 같은 한약 처방 자체에 대한 독성 평가 등이 있다.

麻黃潤肺湯¹⁹은 대구한의대학교 부속 한방병원 폐계내과학 교실에서 慢性咳嗽, 胸痛, 咯痰不出, 喘息 치료에 빈용하고 있는 처방으로 麻黃이 함유되어 있으나 아직까지 처방 자체의 독성 평가가 이루어지지 않아 본 연구를 시행하게 되었다.

본 연구에서는 이러한 麻黃潤肺湯의 SD rats에서 경구 단회투여 독성 평가를 위해 일반적인 독성시험 중 현재 의약품 등의 독성시험기준(한국의약품안전청고시 제 1999-61호)²⁰에 의거하여 麻黃潤肺湯 추출물 2,000, 1,000, 500, 250, 125mg/kg을 단회투여하고 14일간 사망률, 임상증상, 체중 및 체중증가량의 변화, 부검소견 및 주요장기의 중량을 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하고자 한다.

II. 材料 및 方法

1. 재료

실험동물은 성숙한 수컷 Sprague-Dawley계 Rats (6-weeks old upon receipt, Charles River, Japan)를 사료(삼양사, 서울)와 물을 충분히 공급하면 실험실 환경에 1주일간 적응시킨 후 총 6개 군으로 구분하고, 각 그룹당 5마리씩 배정하여 총 30마리를 사용하였다. 실험동물은 온도(20~25℃)와 습도(30~35%)가 조절된 사육실에서 사육하였으며, 환기횟수는 11~12 회/hr, 조명은 12hr/day를 유지하였다. 고형사료와 물은 자유롭게 공급하였다.

본 실험에 사용된 약제는 대구한의대학교 부속한방병원에서 구입한 것을 정선하여 사용하였으며, 본 실험에 사용된 麻黃潤肺湯¹⁹ 1첩 분량의 조성은 Table 1과 같다(Table 1).

Table 1. Composition of "Mahwangyounpae-tang" Used in This Study

藥物名	生藥名	用量 (g)
麻黃	Ephedrae Herba	8
桂枝	Cinnamomi Ramulus	8
桔梗	Platycodi Radix	6
貝母	Fritillariae Bulbus	6
杏仁	Armeniaca Semen	6
五味子	Schizandrae Fructus	4
阿膠珠	Gelatinum	4
青皮	Aurantii Immaturi Pericarpium	4
枳實	Ponciri Fructus	4
砂仁	Amomi Semen	4
炙甘草	Glycyrrhiza Radix	4
山楂	Crataegi Fructus	4
麥芽	Hordei Fructus Germinatus	4
神麴	Massa Medicata Fermentata	4
蘇子	Perillae Semen	4
蘿蔔子	Raphani Semen	4
蘇葉	Perillae Herba	4
紫菀	Asteris Radix	4
厚朴	Magnoliae Cortex	4
桑白皮	Mori Cotex Radicis	4
白芥子	Sinapis Semen	4
車前子	Plantaginis Semen	4
Total		102

2. 방법

1) 실험군의 구분

실험물질은 식품의약품안전청고시 제 99-61호 (1999. 12. 22) "의약품의 독성시험 기준" 20에 준하여 최대 투여 용량인 2,000mg/kg을 최고 용량으로 설정하였으며, 이후 희석배율로 1,000, 500, 250 및 125 mg/kg을 설정하였다.

실험동물은 대조군(이하 G0M군), 각각 2,000, 1,000, 500, 250 및 125mg/kg의 麻黃潤肺湯 추출물을 단회 경구 투여한 군(이하 각각 G1M, G2M, G3M, G4M 및 G5M군)의 6개 군으로 구분하였다.

2) 麻黃潤肺湯의 추출

麻黃潤肺湯 10첩 분량(1,020g)을 취하여 정제수 4,000ml를 넣어 가열 추출한 후 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator(N-N type; LAB Camp, Dajeon, Korea)로 감압·농축하여 점조성의 추출물을 얻었다. 그 다음 programmable freeze dryer(PVT FD10A; IlShin Lab., Seoul, Korea)를 사용하여 동결 건조시켜 1첩 당 3.05g, 총 30.5g(수율 약 3.00%)의 추출물을 얻어 실험에 사용하였다.

3) 약물의 투여

2,000, 1,000, 500, 250, 125mg/kg의 麻黃潤肺湯 추출물을 멸균 증류수에 현탁시켜 5ml/kg의 용량으로 단회 경구 투여하였다. 대조군에서는 동일한 용량의 멸균 증류수를 동일한 방법으로 단회 경구 투여하였다.

4) 사망례 및 임상증상의 관찰

모든 실험동물에 대하여 실험 전기간(투여일로부터 14일간) 중 매일 폐사나 빈사 상태를 관찰하였으며, 실험 기간 중의 사망례는 즉시 부검하여 사인을 규명하였다.

시험기간 중 매일 functional observational battery (FOB) test²¹에 기초하여 동물의 행동, 자극에 대한 반응성, 각성도 및 경계성, 자세 및 보행 이상 등에 관한 일반증상을 관찰하였다.

5) 체중의 변화

대조군을 포함한 모든 실험동물은 실험기간 동안 매일 체중을 측정하였으며, 이 중 투여 전 1일, 투여일, 투여 후 1, 2, 7, 13 및 최종 희생일(투여 후 14일)의 체중을 기록하였다. 또한 투여에 기인한 체중의 변화를 보다 명확히 하기 위하여 투여일에서 투여 7일 후, 투여 7일 후에서 투여 13일 후 및 투여일에서 투여 13일간의 체중 변화인 체중증가량을 각각 기록하였다. 모든 실험동물은 사료 섭취에 따른 체중의 변화를 최소화하기 위하여 투여일과 최종 부검일에 18시간 이상 절식시키고 음수는 제한하지 않았다.

6) 부검 및 육안검사

투여 14일 후 최종 부검일에 모든 실험동물의 장

기 및 생식기에 대한 육안 검사를 통하여 병변의 유무를 검사하였다.

7) 장기중량의 측정

모든 실험동물을 최종부검일(Day 14)에 부검 및 육안검사를 실시한 후, 폐, 간, 심장, 신장, 비장, 고환, 뇌 및 가슴샘을 적출하여 절대 중량치를 측정하고, 하기의 공식을 이용하여 각각 장기의 체중에 대한 상대 중량치를 계산하였다. 이때 신장과 생식기는 왼쪽만 적출하여 중량을 측정하였다.

Relative organ weights (%) =

$$\frac{\text{Absolute organ weight/body weight at sacrifice}}{\times 100}$$

8) 반수 치사량 및 개략적 치사량의 측정

모든 실험동물의 일반증상, 사망 및 빈사상태, 체중의 변화, 육안 부검소견 및 장기중량 등을 종합적으로 분석하여 개략적 최소 치사량인 개략적 치사량(approximate lethal dose; ALD)을 측정하였으며, 실험기간 동안의 사망례를 바탕으로 반수 치사량(LD₅₀)을 산출하였다²⁰.

9) 통계처리

모든 수치는 Mann-Whitney Wilcoxon's Rank Sum (M-W) test로 유의성을 검증했으며, 반수 치사량은 Probit 방법으로 계산하였다. Probit test 및 모든 통계처리는 SPSS for Windows(Release 6.1.2, SPSS Inc., USA)를 이용하였다. 또한 육안적 병변은 정도에 따라 1+(slight), 2+(moderate) 및 3+(severe)로 구분하였다.

III. 結 果

1. 사망례

수컷의 경우, G1M군에서 투여 2일과 3일 후 각각 1례씩 2례의 사망례가 관찰되었으며 다른 군에서는 麻黃潤肺湯 추출물 투여와 관련된 사망례는 관찰되지 않았다(Table 2).

2. 임상증상

홍분증상은 G1M군과 G2M군에서 각각 5마리 중

Table 2. Mortality Observed in This Study after Single Oral Dose of "Mahwangyounpae-tang" in Male SD Rats

Group ID ¹⁾	Days after dosing								Total (%)
	0	1	2	3	4	5	6	7-14	
G0M	0/5*	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)
G1M	0/5	0/5	1/5	1/4	0/3	0/3	0/3	0/3	2/5 (40%)
G2M	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)
G3M	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)
G4M	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)
G5M	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)

* No. of death animals/total observed animals; 1) Group ID was listed in Table 2

Table 3. Excitation Observed in This Study after Single Oral Dose of "Mahwangyounpae-tang" in Male SD Rats

Group ID ¹⁾	Days after dosing								Total (%)
	0	1	2	3	4	5	6	7-14	
G0M	0/5*	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)
G1M	0/5	3/5	1/4	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	4/5 (80%)
G2M	0/5	2/5	3/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	3/5 (60%)
G3M	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)
G4M	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)
G5M	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)

* No. of animals showing excitation/total observed animals; 1) Group ID was listed in Table 2

Table 4. Leaping Response Observed in This Study after Single Oral Dose of "Mahwangyounpae-tang" in Male SD Rats

Group ID ¹⁾	Days after dosing								Total (%)
	0	1	2	3	4	5	6	7-14	
G0M	0/5*	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)
G1M	0/5	1/5	3/4	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	4/5 (80%)
G2M	0/5	1/5	1/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5 (40%)
G3M	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)
G4M	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)
G5M	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5 (00%)

* No. of animals showing leaping response/total observed animals; 1) Group ID was listed in Table 2

Table 5. Salivation Observed in This Study after Single Oral Dose of "Mahwangyounpae-tang" in Male SD Rats

Group ID ¹⁾	Days after dosing								Total (%)
	0	1	2	3	4	5	6	7-14	
G0M	2/5*	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5 (40%)
G1M	1/5	0/5	0/4	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	1/5 (20%)
G2M	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5 (20%)
G3M	2/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5 (40%)
G4M	2/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5 (40%)
G5M	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5 (20%)

* No. of animals showing salivation/total observed animals; 1) Group ID was listed in Table 2

4 및 3레가 관찰되었으며 투여 3일 후부터 소실되었다. 도약반응은 G1M군과 G2M군에서 각각 5마리 중 4 및 2레가 관찰되었으며, 흥분증상과 유사하게 투여 3일 후까지 일부 동물에서 관찰되었다. 流涎증상은 대조군, G1M, G2M, G3M, G4M, G5M군에서 각각 5마리 중 2, 1, 1, 2, 2 및 1레가 투여 직후에 관찰되었다(Table 3-5).

3. 체중 및 체중증가량의 변화

1) 체중의 변화

대조군은 투여 전 1일, 투여일, 투여 1, 2, 7, 13일 후 및 최종 희생일의 체중이 각각 243.00±9.62, 218.80±11.05, 242.20±12.72, 244.00±13.42, 279.20±19.03, 320.80±20.40 및 297.60±21.94g으로 관찰되었다. G1M군에서는 각각 241.20±7.56, 220.00±7.28, 225.60±7.99, 221.00±12.25, 245.67±8.74, 263.67±7.51 및 235.00±7.81g으로 관찰되어 투여 1일 후부터 최종 희생일까지 대조군에 비해 유의성 (p<0.05) 있는 체중감소가 인정되었다. 또한 G2M군에서는 각각 243.40±10.60, 221.20±6.10, 220.60±13.58, 223.40±10.26, 271.80±9.42, 307.20±14.08 및 285.00±16.63g

으로 관찰되어 투여 1일 후부터 투여 2일 후까지 대조군에 비해 유의성 (p<0.05) 있는 체중감소가 인정되었고, 이후 최종 희생일까지도 대조군에 비해 체중이 다소 감소되었으나 유의성은 인정되지 않았다. 한편 G3M, G4M, G5M군에서는 대조군과 유사한 체중을 나타내었다(Table 6).

2) 체중증가량의 변화

수컷의 경우, 대조군은 투여일에서 투여 7일 후, 투여 7일 후에서 투여 13일 후 및 투여일에서 투여 13일간의 체중증가량이 각각 60.40±14.98, 41.60±21.23 및 102.00±23.14g으로 관찰되었다. G1M군에서는 각각 22.67±8.14, 18.00±10.00 및 40.67±13.65g으로 관찰되어 투여일에서 투여 7일 후 및 투여일에서 투여 후 13일간의 체중증가량이 대조군에 비해 유의성 (p<0.05) 있게 감소되었으며, 투여 7일 후에서 투여 13일 후까지의 체중증가량 역시 감소되었으나 유의성은 인정되지 않았다. 또한 G2M군에서도 각각 50.60±5.64, 35.40±5.59 및 86.00±9.08g으로 관찰되어 전기 간동안 대조군에 비해 감소되었으나 유의성은 인정되지 않았다. 한편 G3M, G4M, G5M군에서는 대조군과 유사한 체중을 나타내었다(Table 7).

Table 6. Body Weight Changes in This Study after Single Oral Dose of "Mahwangyounpae-tang" in Male SD Rats

Group ID ¹⁾	G0M	G1M	G2M	G3M	G4M	G5M
Day-1	243.00 ± 9.62 ^{@)}	241.20 ± 7.56	243.40 ± 10.60	244.20 ± 13.37	245.40 ± 6.95	244.00 ± 8.54
Day 0 ^{2,a)}	218.80 ± 11.05	220.00 ± 7.28	221.20 ± 6.10	223.60 ± 12.64	222.00 ± 8.37	221.40 ± 8.65
Day 1	242.20 ± 12.72	225.60 ± 7.99*	220.60 ± 13.58*	245.80 ± 12.79	243.40 ± 9.61	243.00 ± 4.06
Day 2	244.00 ± 13.42	221.00 ± 12.25*	223.40 ± 10.26*	247.00 ± 12.51	244.20 ± 9.09	244.20 ± 3.03
Day 7	279.20 ± 19.03	245.67 ± 8.74*	271.80 ± 9.42	283.20 ± 16.62	287.20 ± 13.10	288.00 ± 7.00
Day 13	320.80 ± 20.40	263.67 ± 7.51*	307.20 ± 14.08	316.60 ± 17.27	314.80 ± 21.36	325.00 ± 15.95
Day 14 ^{2,b)}	297.60 ± 21.94	235.00 ± 7.81*	285.00 ± 16.63	294.60 ± 19.15	293.80 ± 19.58	302.60 ± 14.08

@) Mean ± S.D., g;

1) Group ID was listed in Table 2;

2) Overnight fasted; a) At dosing; b) At sacrifice; * p<0.05 compared to that of G0M by M-W test

Table 7. Body Weight Gains in This Study after Single Oral Dose of "Mahwangyounpae-tang" in Male SD Rats

Group ID ¹⁾	Periods of body weight gains		
	Day 0 - Day 7	Day 7 - Day 13	Day 0 - Day 13
G0M	60.40 ± 14.98 ^{g)}	41.60 ± 21.23	102.00 ± 23.14
G1M	22.67 ± 8.14 [*]	18.00 ± 10.00	40.67 ± 13.65 [*]
G2M	50.60 ± 5.64	35.40 ± 5.59	86.00 ± 9.08
G3M	59.60 ± 13.96	33.40 ± 9.02	93.00 ± 16.78
G4M	65.20 ± 5.72	27.60 ± 9.13	92.80 ± 14.18
G5M	66.60 ± 10.95	37.00 ± 13.21	103.60 ± 17.21

@) Mean ± S.D., g; 1) Group ID was listed in Table 2; * p<0.05 compared to that of G0M by M-W test

Table 8. Gross Findings Observed in This Study after Single Oral Dose of "Mahwangyounpae-tang" in Male SD Rats

Group ID ¹⁾	G0M	G1M	G2M	G3M	G4M	G5M
Lung						
HS 1+	1/5 [*]	0/3	1/5	1/5	1/5	1/5
CG 1+	1/5	1/3	1/5	0/5	1/5	1/5
Heart						
HT 1+	0/5	0/3	2/5	0/5	0/5	0/5
HT 2+	0/5	1/3	1/5	0/5	0/5	0/5
HT 3+	0/5	1/3	0/5	0/5	0/5	0/5
HS 1+	0/5	1/3	1/5	0/5	0/5	0/5
Kidney						
DC 1+	0/5	1/3	1/5	0/5	0/5	0/5
DC 2+	0/5	1/3	1/5	0/5	0/5	0/5
H 1+	1/5	0/3	1/5	0/5	0/5	1/5
Spleen						
AT 1+	0/5	1/3	1/5	0/5	0/5	0/5
AT 2+	1/5	0/3	0/5	0/5	1/5	0/5
Thymus						
AT 1+	1/5	1/3	1/5	0/5	1/5	1/5
H 1+	0/5	0/3	1/5	0/5	0/5	0/5
Digestive tract						
Stomach						
DS 1+	0/5	0/3	0/5	0/5	0/5	1/5
DS 2+	0/5	1/3	0/5	0/5	0/5	0/5
Colon						
DS 1+	0/5	0/3	1/5	0/5	1/5	0/5
DS 2+	1/5	0/3	0/5	0/5	0/5	0/5
Cecum						
DS 1+	1/5	0/3	0/5	0/5	0/5	0/5
DS 2+	0/5	1/3	1/5	1/5	0/5	1/5
Skin						
Rash 1+	1/5	0/3	1/5	0/5	0/5	0/5
Rash 2+	0/5	0/3	0/5	0/5	0/5	1/5
Hloss 1+	1/5	0/3	0/5	0/5	0/5	0/5
Hloss 2+	0/5	1/3	1/5	1/5	0/5	0/5

* No. of observed animals showing gross findings/total observed animals(percentage); 1) Group ID was listed in Table 2; Abbreviation. H(Hemorrhage), HS(Hemorrhage Spot), CG(Congestion), HT(Hypertrophy), DC(Discoloration), AT(Atrophy), DS(Distention), Hloss(Hairloss); degrees. 1+(Slight), 2+(Moderate), 3+(Severe)

4. 부검소견

폐의 출혈반점은 1+ 정도로 대조군, G2M, G3M, G4M 및 G5M군에서 각각 1레가 관찰되었으며, G1M군에서는 관찰되지 않았다. 또한 폐의 울혈 역시 1+ 정도로 G3M군을 제외하고 대조군을 포함한 모든 실험군에서 1레씩 관찰되었다. 심장의 비대 소견은 G1M군의 경우 2+에서 3+ 정도의 소견을 나타내며, 3마리 중 2레가 관찰되었고, G2M군에서는 1+에서 2+ 정도의 소견을 나타내는 3레가 관찰되었으며, G1M과 G2M군에서는 심장의 출혈 반점소견이 각각 1레씩 관찰되었다.

한편 신장의 변색 소견 역시 1+에서 2+ 정도의 소견으로 G1M과 G2M군에 국한되어 각각 2레가 관찰되었고, 신장의 출혈소견은 1+ 정도로 대조군, G2M 및 G5M군에 국한하여 각각 1레씩 관찰되었다. 비장의 위축소견은 1+ 또는 2+ 정도로 대조군, G1M, G2M 및 G4M군에서 각각 1레씩 관찰되었다. 또한 가슴샘의 위축 역시 1+ 정도의 소견으로 대조군, G1M, G2M, G4M 및 G5M군에서 각각 1레씩

관찰되었고, 가슴샘의 출혈 소견은 1+ 정도로 G2M군에 국한되어 1레가 관찰되었다.

소화관의 팽창 소견은 주로 맹장과 결장 및 위에 국한되어 관찰되었으며, 대조군, G1M, G2M, G4M 및 G5M군에서 각각 1+에서 2+ 정도의 소견으로 1 또는 2레씩 관찰되었다. 또한 피부반점은 1+에서 2+ 정도의 소견으로 대조군, G2M 및 G5M군에 국한하여 각각 1레씩 관찰되었고, 탈모 소견 역시 1+에서 2+ 정도로 대조군, G1M, G2M 및 G3M군에서 각각 1레씩 관찰되었다(Table 8).

5. 장기중량

1) 절대 장기중량의 변화

대조군은 폐, 간, 심장, 신장, 비장, 고환, 뇌 및 가슴샘의 절대 중량치가 각각 1.54±0.14, 10.12±0.63, 1.24±0.05, 1.29±0.09, 0.80±0.13, 1.53±0.08, 1.98±0.05 및 0.455±0.087g으로 관찰되었다.

G1M군에서는 각각 1.48±0.29, 8.95±0.47, 1.64±0.10, 1.58±0.17, 0.76±0.16, 1.38±0.22, 1.79±0.19 및

Table 9. Absolute Organ Weights in This Study after Single Oral Dose of "Mahwangyounpae-tang" in Male SD Rats

Group ID ¹⁾	G0M	G1M	G2M	G3M	G4M	G5M
Lung	1.54 ± 0.14 ^{@)}	1.48 ± 0.29	1.54 = 0.25	1.53 ± 0.18	1.62 ± 0.22	1.60 ± 0.19
Liver	10.12 ± 0.63	8.95 ± 0.47*	9.65 = 0.30	10.08 ± 0.66	9.86 ± 0.85	9.88 ± 0.35
Heart	1.24 ± 0.05	1.64 ± 0.10*	1.42 = 0.25	1.23 ± 0.05	1.27 ± 0.07	1.27 ± 0.11
Kidney ^{a)}	1.29 ± 0.09	1.58 ± 0.17*	1.43 = 0.20	1.27 ± 0.07	1.26 ± 0.08	1.27 ± 0.07
Spleen	0.80 ± 0.13	0.76 ± 0.16	0.76 = 0.13	0.85 ± 0.07	0.75 ± 0.14	0.81 ± 0.07
Testis ^{a)}	1.53 ± 0.08	1.38 ± 0.22	1.46 = 0.06	1.45 ± 0.13	1.52 ± 0.11	1.52 ± 0.14
Brain	1.98 ± 0.05	1.79 ± 0.19	1.98 = 0.10	1.97 ± 0.10	2.00 ± 0.07	1.99 ± 0.08
Thymus	0.455 ± 0.087	0.430 ± 0.088	0.425 = 0.061	0.449 ± 0.035	0.438 ± 0.084	0.417 ± 0.068

@) Mean ± S.D., %; 1) Group ID was listed in Table 2; a) Only left side of organs were measured; * p<0.05 compared to that of G0M by M-W test

0.430±0.088g으로 대조군에 비해 유의성 (p<0.05) 있는 간, 심장 및 신장 절대 중량치의 증가가 관찰되었으나, G2M, G3M, G4M, G5M군에서는 대조군과 유사한 장기 절대 중량치를 나타내었다(Table 9).

2) 상대 장기중량의 변화

대조군은 폐, 간, 심장, 신장, 비장, 고환, 뇌 및 가슴샘의 상대 중량치가 각각 0.52±0.06, 3.42±0.32, 0.42±0.05, 0.43±0.03, 0.27±0.06, 0.51±0.03, 0.67±0.06 및 0.154±0.034%로 관찰되었다.

G1M군에서는 각각 0.63±0.13, 3.81±0.30, 0.70±0.04, 0.67±0.09, 0.33±0.08, 0.59±0.10, 0.76±0.09 및 0.184±0.043%로 관찰되어 대조군에 비해 유의성 (p<0.05) 있는 심장 및 신장 상대 중량치의 증가가 인정되었으나, G2M, G3M, G4M, G5M군에서는 대조군과 유사한 장기 상대 중량치를 나타내었다(Table 10).

6. 반수 치사량 및 개략적 치사량

G1M군에 국한되어 사망례가 관찰된 것과 麻黃潤

肺湯 추출물 투여와 관련된 임상증상, 부검소견 및 장기 중량의 변화를 기초로 하였을 때, 수컷 SD Rats에서 麻黃潤肺湯 추출물의 개략적 치사량은 각각 2,000mg/kg 전후로 생각된다. 또한 사망례를 기본으로 계산한 결과 수컷 SD Rats에서의 반수 치사량은 2,218.57mg/kg으로 계산되었다.

IV. 考 察

의료기술은 하루가 다르게 발달하고 있지만 인간의 삶의 환경은 갈수록 나빠져 성인은 물론 청소년들까지도 각종 질환과 스트레스에 시달리면서 건강 기능성 식품과 한약을 포함한 천연물 의약품과 이들의 독성과 안정성에 대한 관심이 높아지고 있다¹.

현재까지 한약재의 독성학적 평가로는 Lee 등³이 半夏 추출물에서 소량의 독성이 검출된다고 하였으며 Theoharides⁶는 麻黃의 ephedrine 성분과 관련된 사망례를 보고하였고 Schier 등⁷은 ephedrine으로 유발된

Table 10. Relative Organ Weights in This Study after Single Oral Dose of "Mahwangyounpae-tang" in Male SD Rats

Group ID ¹⁾	G0M	G1M	G2M	G3M	G4M	G5M
Lung	0.52 ± 0.06 [@]	0.63 ± 0.13	0.54 ± 0.09	0.52 ± 0.09	0.56 ± 0.10	0.53 ± 0.08
Liver	3.42 ± 0.32	3.81 ± 0.30	3.40 ± 0.21	3.42 ± 0.16	3.36 ± 0.34	3.27 ± 0.13
Heart	0.42 ± 0.05	0.70 ± 0.04 [*]	0.50 ± 0.10	0.42 ± 0.03	0.43 ± 0.05	0.42 ± 0.05
Kidney ^{a)}	0.43 ± 0.03	0.67 ± 0.09 [*]	0.50 ± 0.08	0.43 ± 0.04	0.43 ± 0.04	0.42 ± 0.03
Spleen	0.27 ± 0.06	0.33 ± 0.08	0.27 ± 0.06	0.29 ± 0.01	0.26 ± 0.05	0.27 ± 0.03
Testis ^{a)}	0.51 ± 0.03	0.59 ± 0.10	0.51 ± 0.03	0.50 ± 0.07	0.52 ± 0.07	0.50 ± 0.04
Brain	0.67 ± 0.06	0.76 ± 0.09	0.70 ± 0.07	0.67 ± 0.04	0.68 ± 0.06	0.66 ± 0.06
Thymus	0.154 ± 0.034	0.184 ± 0.043	0.150 ± 0.024	0.153 ± 0.020	0.150 ± 0.034	0.138 ± 0.023

@) Mean ± S.D., %; 1) Group ID was listed in Table 2; a) Only left side of organs were measured; * p<0.05 compared to that of G0M by M-W test

심장허혈을, Lyon 등⁸은 pseudoephedrine의 신부전에서의 독성을 보고하였다. Ali 등⁹은 大茴香 추출물에 의해 접촉성 피부염이 유발될 가능성을 제시하였으며, Hsu 등¹⁰은 丁公藤 추출물의 신장 및 간독성을, Chan과 Ng¹¹는 電公藤 추출물의 생식독성을 각각 보고하였다. 그러나 Chen 등¹²은 韓防己 추출물의 반수 치사량이 약 22.9g/kg으로 비교적 안전하다고 보고하였으며, Kitts와 Hu¹³와 이¹⁴는 人蔘 추출물의 안전성을 보고하였고, Chen 등¹⁵은 玉竹 추출물의 안전성을 평가한 결과 별 다른 독성 증상이 관찰되지 않아 비교적 안전하다고 보고하였다.

한편 麻黃에 의한 독성 증상이 桔梗의 조합에 의해 현저히 감소되는 것²²으로 알려져 있는데 단미제 각각의 독성도 매우 중요하지만 각각의 독성학적 소견으로 처방 자체의 독성을 짐작하기에는 어려운 점이 많음을 알 수 있다.

근래에 들어서는 복합제제에 대한 독성검사가 진행되고 있는데 신 등¹⁶은 加味雙和湯類의 독성을, Ninomiya 등¹⁷은 八味地黃丸의 독성을, Ryu 등¹⁸은 補中治濕湯의 독성시험을 각각 수행하였다.

麻黃潤肺湯¹⁹은 麻黃, 桂枝, 桔梗, 貝母, 杏仁, 五味子, 阿膠珠, 靑皮, 枳實, 砂仁, 炙甘草, 山楂, 麥芽, 神麩, 蘇子, 蘿蔔子, 蘇葉, 紫菀, 厚朴, 桑白皮, 白芥子 및 車前子の 22종의 한약재로 구성된 한약 복합처방으로 대구한의대학교 부속 한방병원 폐계내과학 교실에서 慢性咳嗽, 胸痛, 咯痰不出, 喘息 치료에 활용하고 있으며 鎮咳去痰, 潤肺消痰, 化痰定喘의 효능을 나타낸다. 현재까지 麻黃潤肺湯의 효능에 관한 연구 발표²³⁻⁷는 있었으나 임상활용에 있어서 안전성을 뒷받침할 만한 독성연구는 아직까지 없다. 麻黃潤肺湯은 麻黃과 桔梗이 동시에 함유되어 있어 처방 자체의 독성 평가가 반드시 수행되어야 할 것으로 생각된다.

본 연구에서는 이러한 麻黃潤肺湯의 SD rats에서 경구 단회투여 독성 평가를 위해 일반적인 독성시험 중 현재 의약품 등의 독성시험기준(한국의약품안전청고시 제 1999-61호)²⁰에 의거하여 麻黃潤肺湯 추출물 2,000, 1,000, 500, 250, 125mg/kg을 단회투여하고 14일간 사망례, 임상증상, 체중 및 체중증가량

의 변화, 부검소견 및 주요장기의 중량을 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하고자 한다.

본 연구의 결과 麻黃潤肺湯 추출물을 단회 투여한 결과 수컷 Rats 모두에서 최고 용량인 2,000mg/kg 투여군에서 각각 사망례가 1 또는 2례씩 관찰되었다. 이러한 사망례는 麻黃潤肺湯 추출물의 투여에 기인한 독성증상으로 생각되며, 麻黃潤肺湯 추출물 자체가 수컷 Rats에 어느 정도 독성을 나타낼 것으로 생각된다.

임상증상으로 흥분 증상과 도약반응 및 流涎 증상이 관찰되었다. 이 중 흥분 증상과 도약반응은 1,000 mg/kg 이상의 麻黃潤肺湯 추출물을 투여한 군에서만 관찰되어 麻黃潤肺湯 추출물 투여에 기인한 임상증상으로 생각된다. 이들 흥분 증상과 도약반응은 麻黃潤肺湯 중 麻黃의 구성 성분 중 하나인 ephedrine과 pseudoephedrine의 작용으로 추정되는데 이는 ephedrine과 pseudoephedrine이 강력한 심장 자극성 물질로 이들의 남용에 의해 심장혈관 중독 증상을 특징으로 하는 흥분작용이 유발된다는 보고^{28,9}와 ephedrine의 투여에 의해 불면증 등의 흥분증상이 초래된다는 보고³⁰ 등으로 미루어 보아 麻黃 추출물에 의한 독성증상으로 판단된다. 한편 流涎 증상은 대조군을 포함한 모든 실험군에서 투여일에 국한되어 관찰되었으며, 용량 상관성 역시 인정되지 않아 麻黃潤肺湯 추출물 투여에 기인한 독성증상이 아니라 과량의 vehicle의 투여에 기인한 일시적인 증상으로 생각된다.

체중 및 체중증가량의 경우 2,000 및 1,000mg/kg 투여군에 국한하여 일부 기간에서 각각의 대조군에 비해 유의성 있는 체중 및 체중증가량의 감소가 관찰되었다. 이러한 체중 및 체중증가량의 감소는 이들 군에 국한하여 흥분 증상과 도약 반응 등 麻黃 추출물과 관련된 임상증상이 관찰된 점으로 미루어 보아 麻黃潤肺湯 추출물 투여에 기인한 것으로 생각되며, 임상 증상이 거의 소실된 이후의 체중 및 체중증가량은 어느 정도 회복 경향을 나타내었다.

부검시 폐의 출혈반점, 폐울혈, 심장의 비대 및 출혈, 신장의 변색 및 출혈, 비장 및 가슴샘의 위축과 출혈, 위장관의 팽창, 피부반점 및 탈모 소견이 관찰

되었다. 이 중 폐울혈과 폐의 출혈반점 소견은 대조군에서도 관찰되었으며, 출혈빈도에 있어서 용량 상관성 역시 관찰되지 않아 과량의 매체를 경구 투여한 결과에 따른 우발성 소견으로 생각된다. 또한 비장 및 가슴샘의 위축과 출혈, 소화관 팽창, 피부반점 및 탈모 역시 각각 대조군에서도 관찰되었으며, 출혈 빈도의 용량 상관성 역시 관찰되지 않아 우발성 소견으로 생각된다. 이들 장기 즉, 폐, 비장 및 가슴샘의 장기 중량 역시 각각의 대조군과 비교하여 별 다른 차이를 나타내지 않았다.

한편 심장의 비대 소견은 2,000 및 1,000mg/kg의 麻黃潤肺湯 추출물 투여군에 국한하여 관찰되어 어느 정도의 용량 상관성이 관찰되었으며, 심장의 절대 및 상대 중량치 역시 2,000mg/kg 투여군에 국한하여 각각의 대조군에 비해 유의성 있게 증가된 점으로 보아 麻黃潤肺湯 추출물의 독성 증상으로 추정된다. 또한 신장의 변색은 신장의 중량을 나타내는 가장 기본적인 부검소견으로 2,000 및 1,000mg/kg의 麻黃潤肺湯 추출물 투여군에 국한하여 관찰되어 어느 정도의 용량 상관성이 관찰되었으며, 신장의 절대 및 상대 중량치 역시 2,000mg/kg 투여군에 국한하여 각각의 대조군에 비해 유의성 있게 증가된 점으로 보아 麻黃潤肺湯 추출물의 독성 증상으로 생각된다. 그러나 신장의 출혈 소견은 수컷 Rats 모두에서 대조군을 포함하여 관찰되었으며, 그 관찰빈도 역시 용량 상관성이 결여되어 있어 麻黃潤肺湯 추출물의 투여에 기인한 독성 증상이 아니라 우발성 소견으로 생각된다. 또한 2,000mg/kg 투여군의 경우 간의 절대 중량치의 감소가 관찰되었으나 상대 중량치가 대조군에 비해 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았으며, 부검소견 역시 관찰되지 않아 체중의 급격한 감소에 따른 단순 수치상의 증가로 생각되며 麻黃潤肺湯 추출물의 투여에 기인한 독성 증상은 아닌 것으로 생각된다.

본 실험의 결과 수컷 Rats에서 麻黃潤肺湯 추출물의 반수 치사량은 2,218.57mg/kg으로 관찰되었다. 개략적 치사량은 2,000mg/kg 전후로 추정되며 麻黃潤肺湯 추출물의 주요 표적 장기는 심장과 신장으로 판

찰되었다. 향후 麻黃潤肺湯 추출물의 반복투여 독성 평가가 필요할 것으로 생각된다.

V. 結 論

麻黃潤肺湯 추출물의 경구 단회투여 독성을 알아보기 위해 일반적인 독성시험 중 현재 의약품 등의 독성시험기준에 의거하여 Rats에서의 독성 시험을 수행하였다. 麻黃潤肺湯 추출물 2,000, 1,000, 500, 250 및 125mg/kg을 단회투여하고, 14일 간 사망례, 임상증상, 체중 및 체중증가량의 변화, 부검소견 및 주요 장기의 중량을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

사망례의 경우 2,000 mg/kg 투여군에 국한하여 1 또는 2레가 투여 2~3일 후 관찰되었다. 麻黃潤肺湯 추출물 투여와 관련된 임상증상은 흥분 증상과 도약 반응으로 2,000 및 1,000mg/kg 투여군에 국한되어 관찰되었으며 생존한 실험동물은 투여 3 또는 4일 후부터 정상으로 회복되었다. 체중의 변화는 2,000 및 1,000mg/kg 투여군에 국한하여 투여 1일 후부터 일부 기간에 걸쳐 각각 대조군에 비해 유의성 있는 체중감소가 인정되었으며 체중증가량의 변화는 2,000 및 1,000mg/kg 투여군에 국한하여 일부 기간에서 대조군에 비해 유의성 있는 체중증가량의 감소가 인정되었다. 부검소견의 경우 2,000 및 1,000mg/kg 투여군에 국한하여 심장의 비대와 출혈 및 신장의 변색 소견이 관찰되었다. 장기 중량은 2,000mg/kg 투여군에 국한하여 대조군에 비해 유의성 있는 심장 및 신장 절대 및 상대 중량치의 증가가 인정되었다. 반수치사량은 2,218.57mg/kg, 개략적 치사량은 2,000mg/kg 전후로 평가되었다.

參考文獻

1. 식품의약품안전청. 기능성 식품의 합리적 관리체계 구축을 위한 연구. 2002.
2. 경희대학교 약학대학. 건강기능식품의 기능성평가 체계 구축에 대한 연구. 서울: 식품의약품안

- 전청; 2002.
3. Lee JE, Kim HJ, Choi EK, Chai HY, Yun YW, Kim DJ et al. Four-week repeated-dose toxicity study on Pinellia Extract. Korean J Lab Anim Sci. 2003;19:127-41.
 4. 박해모, 장인수, 이선동. 국내에서 보고된 한약 및 민간요법, 건강식품 관련 약인성 간손상에 대한 체계적 고찰. 대한한의학회지. 2005;26(2): 152-65.
 5. 장인규, 홍남두. 죽력(竹瀝)의 독성시험 및 약효학적 연구. 대한한방내과학회지. 1985;2:83-101.
 6. Theoharides TC. Sudden death of a healthy college student related to ephedrine toxicity from a mahuang-containing drink. J Clin Psycho-pharmacol. 1997;17(5):437-9.
 7. Schier JG, Traub SJ, Hoffman RS, Nelson LS. Ephedrine-induced cardiac ischemia: exposure confirmed with a serum level. J Toxicol Clin Toxicol. 2003;41(6):849-53.
 8. Lyon CC, Turney JH. Pseudoephedrine toxicity in renal failure. Br J Clin Pract. 1996;50(7):396-7.
 9. Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. Phytother Res. 2003;17(4):299-305.
 10. Hsu HY, Lin CC, Chen JY, Yang JJ, Zhang R. Toxic effects of *Erycibe obtusifolia*, a Chinese medicinal herb, in mice. J Ethnopharmacol. 1998; 62(2):101-5.
 11. Chan WY, Ng TB. Adverse effect of *Tripterygium wilfordii* extract on mouse embryonic development. Contraception. 1995;51(1):65-71.
 12. Chen J, Tong Y, Zhang X, Tian H, Chang Z. Acute toxicity of *Stephania cepharantha*. Zhong Yao Cai. 1999;22(9):468-9.
 13. Kitts D, Hu C. Efficacy and safety of ginseng. Public Health Nutr. 2000;3(4A):473-85.
 14. 이혜정. 종류별 인삼수침 엑기스의 독성 연구. 대한침구과학회지. 1993;10:167-73.
 15. Chen H, Feng R, Guo Y, Sun L, Zhou Y, Jiang J. Toxicity studies of *Rhizoma Polygonati Odo-Ratsi*. J Ethnopharmacol. 2001;74(3):221-4.
 16. 신국현, 이은방, 정명숙, 김여진, 윤기영. 加味雙和湯類의 독성 및 약효 연구. 생약학회지. 1990; 21(2):179-85.
 17. Ninomiya H, Kato S, Okuda H. Effects of *Hachimi-jio-gan* in aged Rats. J. Altern Complement Med. 2001;7(4):355-9.
 18. Ryu JC, Kim KR, Kim HJ, Youn JY, Myung SW, Kim GH et al. Genotoxicity study of *bojung-chisup-tang*, an oriental herbal decoction *in vitro* chromosome aberRatsion assay in Chinese hamster lung cells and *in vivo* supravital-staining micronucleus assay with mouse peripheral reticulocytes. Arch Pharm Res. 1998;21(4):391-7.
 19. 대구한의대부속한방병원. 원내처방집. 대구: 88 문화사; 1998, p.53.
 20. 식품의약품안전청. 의약품등의 독성시험 기준 해설서. 1999.
 21. Irwin S. Comprehensive observational assessment: Ia. A systematic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse. Psychopharmacologia. 1968;13(3):222-57.
 22. Akiba K, Onodera K, Kisara K, Fujikura H. Interaction of d-pseudoephedrine with water soluble extracts of *Platycodi Radix* on acute toxicity. Nippon Yakurigaku Zasshi. 1979;75(2):201-6.
 23. 김지윤, 박동일, 김종대, 감철우. 麻黃潤肺湯이 ovalbumin으로誘發된 mouse의 喘息에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2003;18(3):1453-62.
 24. 서정임, 전귀옥, 송광규, 박미연, 최해운, 김종대. 麻黃潤肺湯과 Rofloxacin의 병용투여가 *Klebsiella pneumoniae* 호흡기 감염에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2004;19(4):81-9.
 25. 박미연, 김대준, 김종대. 麻黃潤肺湯과 Rofloxacin의 병용이 Gram(+) 세균주에 대한 시험관 내 항균력에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2003;18

(4):65-72.

26. 유한상, 송광규, 박미연, 구덕모, 최혜윤, 김종대. 麻黃潤肺湯과 Ciprofloxacin의 병용이 Gram(-) 세균주에 대한 시험관 내 항균력에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2005;19(3):684-9.
27. 김대준, 김종대. 麻黃潤肺湯과 Ciprofloxacin의 병용이 Gram(+) 중 혐기성 균주 7종에 대한 시험관 내 항균력에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2003;18(3):161-8.
28. Okamura N, Miki H, Harada T, Yamashita S, Masaoka Y, Nakamoto Y et al. Simultaneous determination of ephedrine, pseudoephedrine, norephedrine and methylephedrine in Kampo medicines by high-performance liquid chromatography. J Pharm Biomed Anal. 1999;20(1-2): 363-72.
29. Zahn KA, Li RL, Purssell RA. Cardiovascular toxicity after ingestion of "herbal ecstasy". J Emerg Med. 1999;17(2):289-91.
30. Weinberger M, Bronsky E, Bensch GW, Bock GN, Yecies JJ. Interaction of ephedrine and theophylline. Clin Pharmacol Ther. 1975;17(5):585-92.