

# SD 랫트를 이용하여 四君子湯의 아급성 독성에 관한 연구

마진열, 유영범, 하혜경, 황대선, 신현규

한국한의학연구원

## Subacute Toxicity Study on *Sagunja-tang*(*Sijunzi-tang*) in SD Rats

Ma Jin-Yeul, Yu Young-Beob, Ha Hye-Kyung, Huang Dae-Sun, Shin Hyun-Kyoo

Korea Institute of Oriental Medicine

*Sagunja-tang*(*Sijunzi-tang*) has been traditionally prescribed as a restorative. The present study was undertaken to determine the possible toxic effects of *Sagunja-tang* on SD rats. In this study, we investigated the subacute toxicity of water-extracted *Sagunja-tang*(*Sijunzi-tang*) on SD rats. Twenty rats were orally administered *Sagunja-tang* for 28 days at a dose of 0 mg/kg(control group) or 1500mg/kg(treated group), respectively. All of subjects was survived. No significant difference in abnormal clinical signs, related to hematological values, serum biochemical values, water and feed intake, coagulation time, autopsy analysis, organ weight, tissue microscopically, funduscopy, urine intake and urinalysis, was detected. Compared with the control group, we could not find any subacute toxic alteration in treated group (1500mg/kg) for 28 days. This result suggests that *Sagunja-tang*(*Sijunzi-tang*), a herbal medicine prescription, is a safe prescription to body.

**Keyword** : *Sagunja-tang*(*Sijunzi-tang*), Subacute toxicity, Safety

### I. 서론

四君子湯은宋代 태평해민화제국방에 처음 기재된 것으로 알려진 處方이며, 營衛氣가 허하고 장부가 怯弱하여 心腹이 창만하거나 음식 생각이 없고, 腸鳴泄瀉하는 嘔噦吐逆하는 등의 병증에 사용되는 대표적인 보기건비제이다. 또한 四君子湯은 補氣濟의 基本處方이 되어 대부분의 補氣濟는 四君子湯에 몇몇 藥物을 加減하여 구성된다. 四君子湯은 기재된 醫書마다 藥物 用量에 차이가 있기는 하지만, 處方을 구성하는 약물은 人蔘, 白朮, 白樸, 甘草로 구성된다. 韓醫學에서 보기제로 사용되는 四君子湯에 대해 보다 客觀的인 效能을 확인하기 위해 현대의학적인 다양한 效能 평가

가 이루어지고 있다. 四君子湯의 효능 연구에는 면역기능과 항암효과<sup>1-3)</sup>, 혈전<sup>4-9)</sup>, 성장<sup>10)11)</sup>, 혈압<sup>12)</sup> 및 고지혈증<sup>13)</sup> 등이 발표되었다. 효능평가와 별개로 근래 논쟁이 되고 있는 韓藥處方의 독성과 안전성 문제에 대한 자료를 확보하기 위해 본 연구에서는 한의학계에서 널리 사용되는 대표적 방제인 사군자탕을 대상으로 실험동물(SD, 랫트)을 이용하여 1일 임상용량의 20배(1500mg/kg) 용량으로 4주간 반복 경구 투여하여 亞急性毒性<sup>14)</sup>을 실험적으로 평가하였다.

### II. 재료 및 방법

#### 1. 시험물질

四君子湯의 韓藥材 구성은 人蔘(*Ginseng Radix Alba*), 白朮(*Atractylodes Rhizome White*), 白茯苓(*Poria cocos Wolf*), 甘草(*Glycyrrhizae Radix*)로 생산자 및 재배지역이 명확한

접수 ▶ 2007년 10월 30일 수정 ▶ 2007년 11월 23일 채택 ▶ 2007년 12월 20일  
교신저자 ▶ 신현규, 대전광역시 유성구 엑스포로 483 한국한의학연구원  
Tel 042-868-9464 Fax 042-868-9471 E-mail hkshin@kiom.re.kr

韓藥材를 구입하였다(Table 1). 본 연구에서는 전탕 추출법(한국, 경서추출기 cosmos-600)에 의한 시험물질 조제를 실시하였다. 각 韓藥材 100g을 8000 ml의 증류수에 넣어 120분간 열탕 추출한 후, 건조분무기(Japan, Eylea SD-1000)를 사용하여 분말 형태로 조제하였다. 이를 투여 직전에 3차 증류수에 용해하여 실험에 공시하였다(수율 17.8%).

## 2. 실험동물 및 사육환경

흰쥐 수컷(오리엔트, 서울시 금천구 가산동 459-24) 4주령을 사용하였다. 동물입수 시, 외관을 육안으로 검사한 후, 7일간 시험을 실시하는 동물실에서 순화시키고 그 중 건강한 동물을 골라 실험에 사용하였다. 순화 기간 중, 일반 임상증상을 관찰하여 건강한 동물을 20마리씩 선정하여 체중범위에 따른 무작위법에 의하여 군분리를 실시한 후, 본 실험에 사용하였다. 순화 및 실험기간 동안의 사육환경은 온도  $23 \pm 3^\circ\text{C}$ , 상대습도  $50 \pm 10\%$ , 환기횟수는 시간당 12~16회, 조명은 12시간 명암주기(점등 7:00, 소등 19:00), 조도는 150~300 Lx로 조정하여 일정한 사육환경 조건을 유지하였다. 그리고 실험동물용 고형사료(삼양사료주식회사)와 물은 자유섭취 조건으로 하였다.

## 3. 실험군 및 韓藥材투여

급성독성 실험시 고농도(5000 mg/kg/day)군에서 아무런 임상증상이 관찰되지 않았으므로, 본 실험에서는 아급성 경구독성을 평가하기 위하여 임상 1일 복용용량의 20배인 1500 mg/kg/day으로 투여량을 설정하였다. 투여 경로는 韓方 임상에서 가장 널리 이용되고 있는 경구 투여법을 사용하였으며, 군당 동물 마리수는 SD(rat) 수컷 10례를 사용하였다. 투여 volume은 10 ml/kg로 설정하였다.

## 4. 임상증상 및 부검

임상 증상은 투여기간(1일 1회) 동안의 일반증상 관찰법에 의하여 조사되었다.<sup>15)</sup> 모든 동물에 대하여 매주 체중변화 및 사료음수 섭취량을 관찰하였으며, 실험 4주차에 뇨검사, 안저검사 등을 실시하였다. 실험 종료 후, 에테르로 마취하여 후대정맥에서 채혈후 혈구검사, 혈액 생화학검사 등을 분석하였다.

## 5. 통계처리

대조군과 투여군 사이의 통계학적 유의차는 Dunnett test에 의하여 평균과 표준편차를 구하고 통계처리(\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ) 하였다.

# III. 결 과

## 1. 치사율

시험기간 중 사망동물은 관찰되지 않았다.

## 2. 임상 증상

임상용량의 20배인 사군자탕 4주간 연속경구투여에 의한, 어떠한 독성증상도 관찰되지 않았다.

## 3. 체중 변화

<Figure. 1>에 나타난 것과 같이 사군자탕 투여에 의한 체중변화는 관찰되지 않았다.

## 4. 부검 소견

실험 종료시 모든 동물의 장기에 대하여 육안적으로 관찰하였으나, 이상 병변은 관찰되지 않았다.

## 5. 혈구검사

혈구검사는 사군자 투여군에서 백혈구, 적혈구가 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 감소되었으나 정상범위내의 수치로 분석되었다(Table 2).

## 6. 혈액 생화학검사

사군자탕의 열수추출액 28일 연속경구 투여 시, 혈액생화학적 변화는 관찰되지 않았다(Table 3).

## 7. 음수 및 사료 섭취량

음수 및 사료 섭취량의 변화는 관찰되지 않았다(Table 4).

## 8. 혈액응고 시간

시험물질 사군자탕은 혈액응고 기전에 관련된 PT 및 aPTT 인자에 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

## 9. 장기무게의 변화

사군자탕 28일 연속 경구투여 후, 상대적 장기 무게의 변화는 간장에서 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 증가되었다(Table 5).

## 10. 장기조직 변화

한약 복합처방 사군자탕 4주간 독성시험에서 용매대조군의 경우, 부신에서는 피질공포형성(Cortical vacuolation)이 1/10 례에서 관찰되었고 뇌하수체는 낭포형성(Cyst for-

mation)이 1/10 레에서 관찰되었으며 신장에서는 만성경색(Chronic renal infarct)이 1/10 레에서 관찰되었다. 그 외에 폐장에서는 간질성 폐렴(Interstitial pneumonia)이 4/10 레와 출혈성 폐포염(Hemorrhagic alveolitis)이 1/10 레에서 관찰되었다. 사군자탕 처리군의 경우, 부신에서는 피질공포형성(Cortical vacuolation)이 4/10 레와 덧부신조직이 1/10 레에서 관찰되었고 갑상선에서는 아가미끝 소체가 1/10 레에서 관찰되었으며 폐장에서는 간질성 폐렴(Interstitial pneumonia)이 2/10 레, 출혈성 폐포염(Hemorrhagic alveolitis)이 1/10 레와 만성염증(Chronic inflammation)이 1/10 레에서 관찰되었다(Figure. 2-3, Table 6).

### 11. 안저검사

시험물질 투여 4주후 안저 촬영시, 시험물질 투여와 관련된 이상 변화는 관찰되지 않았다.

### 12. 뇨검사

사군자탕 4주 연속경구 투여 후, 신선뇨 및 24시간 뇨량을 채뇨하여 뇨 분석기를 통하여 분석하였다. 그 결과 시험물질에 의한 뇨량 및 요의 화학적 변화는 나타나지 않았다(Table 7).

## Ⅶ. 고찰 및 결론

四君子湯 추출분말 28일간 연속 경구투여에 의한 아급성 독성 및 안전성을 조사하기 위하여, SD 계통의 랫트 수컷에 四君子湯을 임상복용 1일 용량의 20배(1500 mg/kg/day)의 용량으로 각 10마리씩 4주간 경구투여하고 사망동물, 일반증상, 체중변화, 혈액검사, 생화학검사, 음수 및 사료섭취량, 혈액응고시간, 부검소견, 병리조직검사, 장기무게 변화, 안구촬영 및 뇨검사 등을 분석하여 四君子湯의 독성정도를 판단하였다. 이와 같이 실험한 결과 시험기간 중 사망동물, 부검소견 및 시험물질 투여와 관련된 일반 독성증상은 관찰되지 않았다. 분석항목인 체중변화, 혈구분석, 음수 및 사료섭취량, 혈액생화학적 변화, 혈액응고와 관련된 지표, 24시간 뇨량 및 뇨의 성분변화 등에도 이상 변화가 관찰되지 않았다. 용매대조군과 四君子湯에서 나타난 병리조직소견은(Table 6), 자연에서 발생할 수 있는 병변<sup>16-18)</sup>으로 시험물질과는 무관하게 나타난 것으로 사료된다. 또한 상대적 장기 무게의 변화는 간장에서 유의성(p<0.05) 있게 증가되었으나 정상 범위내의 변화로 사료된다.

이상의 실험 결과에서, 수컷 랫드에 한방처방 四君子湯 추출분말 4주간 연속 경구투여 시, 용매대조군에 비해 시험물질 투여군에서 다른 특별한 毒性症狀이 나타나지 않았으므로 본 시험물질 四君子湯은 랫트에서 無毒하게 작용하는 것으로 사료된다.

## V. 참고문헌

1. 김성훈, 「사군자탕, 사물탕 및 팔물탕이 Prednisolone으로 유발된 생쥐의 면역반응저하에 미치는 영향」, 『동의병리학회지』, 1987;2(1):42-59.
2. 이남구, 이창현, 주영승, 「사군자탕(四君子湯)이 생쥐의 면역반응 및 NK세포의 세포독성에 미치는 영향」, 『대한한의학회지』, 1989;10(2):115-122.
3. 이영찬, 전병훈, 「과두를 가미한 사군자탕 및 사물탕의 항암효과에 대한 연구」, 『동의병리학회지』, 1994;9(1):79-100.
4. 정우영, 류봉하, 김진성, 윤상협, 류기원, 「사군자탕 및 사군자탕가반묘가 위암세포에 미치는 영향」, 『대한한방내과학회지』, 2001;22(4):579-587.
5. 김영석, 「혈전증 및 고점도혈증에 대한 당귀음(當歸飲)과 사군자탕(四君子湯)의 실험적 연구」, 『대한한의학회지』, 1993;14(1):114-128.
6. 남용재, 황우준, 임규양, 「사군자탕(四君子湯)의 효능에 관한 연구」, 『방제학회지』, 1991;2(1):85-95.
7. 이영우, 「사군자탕(四君子湯), 사물탕(四物湯), 십전대보탕(十全大補湯) 및 보중익기탕(補中益氣湯)이 Cisplatin 투여로 유발된 체중감소와 혈액변화에 미치는 영향」, 『방제학회지』, 1992;3(1):81-125.
8. 이영우, 유도곤, 한중현, 강순수, 「사군자탕, 사물탕, 십전대보탕 및 보중익기탕이 cisplatin투여로 유발된 체중감소와 혈액 변화에 미치는 영향」, 『한국전통의학지』, 1992;2(1):155-175.
9. 하지용, 최승훈, 안규석, 「사물탕 및 사군자탕이 Endotoxin으로 유발된 혈전증에 미치는 영향」, 『경희한 의대논문집』, 1988;11(1):113-121.
10. 강성수, 성락기, 신민규, 「기아회복시(飢餓恢復時) 대사기질·호르몬·혈액성분 변화에 미치는 사군자탕(四君子湯), 사물탕(四物湯) 및 팔물탕(八物湯)의 효과」, 『동의생리학회지』, 1994;9(2):35-60.
11. 배종국, 신민규, 김완희, 「사군자탕과 사물탕 Extract 투

- 여가 Rat의 성장에 미치는 영향, 『경희한의대논문집』, 1978;1(1):105-109.
12. 안수현, 임규상, 이기남, 「사군자탕(四君子湯) 사군자탕 가황기(四君子湯)가 황기 전탕액이 생기(生肌)작용에 미치는 영향」, 『대한외관과학회지』, 1989;2(1):17-31.
13. 정완우, 「사군자탕이 혈압 및 체온에 미치는 영향」, 원광대학교, 1990.
14. 이승재, 문병순, 김세길, 「사군자탕, 이진탕 및 육군자탕 이 고지혈증에 미치는 영향」, 『대한한방내과학회지』, 1994;15(1):45-59.
15. Hayes AW, 『Principles and Methods of Toxicology』, New York:Raven press, 1984:17-19.
16. 강진석, 남기택, 박인승, 안병우, 양기화, 윤창용, 이국경, 장동덕, 제정환, 홍충만, 『독성병리학 도감』, 서울:신일상사, 2001:80-81.
17. Ewell MR, Mahler JF, 「Have you seen this. Inflammatory lesions in the lungs of rats」, 『Toxicol. Pathol』, 1997;125(5): 529-531.
18. Slaoui M, Dreef HC, 「Inflammatory lesions in the lungs of wistar rats」, 『Toxicol. Phthol』, 1998;26(5):712-713.

<Table 1> Buy of Raw Material Herbs

약재명	생산자(수입자)	제조사	소매자
인삼	충청남도 금산군	충남 금산군 금산읍 하옥리 386-22	대전 동구 중동 23-4번지 백제건재도매
백출	강원도 영월군 읍덕포 5리 화림백출		부산광역시 남구 용호 3동 377-3 시범공단내 화림제약(주)
백복령	강원도 고성군 거진읍 거진 7리 2반 구강물산	경북 영주시 하망동 548-3 감초당 약업사	서울 동대문구 제기동 837번지 농림생약
감초(灸)	중국 서울동대문구 제기동 86호 지이엠유통	전남여수시 오천동 174-1 신흥제약	

<Table 2> Hematological Values of Male Rats Orally Treated with *Sagunja-tang*

Tested Unit	WBC x1000	#LYM %	#MO %	#NE %	#EO %	#BA %	RBC x10 <sup>6</sup>	HGB g/dl	HCT %	MCV fl	MCH pg	MCHC g/dl	PLT x1000
Group : V.C(0mg/kg/day)													
Mean	17.96	82.71	3.34	10.18	0.98	2.78	7.52	15.34	40.57	53.97	20.43	37.83	1061.3
SD	4.82	5.68	1.64	4.51	0.49	0.78	0.25	0.52	1.30	1.48	0.51	0.57	135.6
Group : S.G(1500mg/kg/day)													
Mean	13.17 <sup>a</sup>	79.95	2.89	13.26	1.20	2.67	7.27 <sup>a</sup>	15.07	39.76	54.68	20.71	37.87	1006.2
SD	4.48	4.48	1.36	3.66	0.42	1.01	0.23	0.59	1.54	1.15	0.45	0.45	100.9

All hematological values were measured at 4 weeks treatment of herbal prescriptions, V.C; Vehicle control group, S.G; Extraction of *sagunjatang* group. a; Values were expressed as mean, b; ±S.D., Statistically significantly different from vehicle control group(p<0.05).

<Table 3> Serum Biochemical Values of Rats Orally Treated with *Sagunja-tang*

Tested Unit	AST(IU/dl) SD	ALT(IU/dl) SD	ALP(IU/dl) SD	BUN(mg/dl) SD	CRE(mg/dl) SD	CPK(IU/dl) SD	GLU(mg/dl) SD	CHO(mg/dl) SD
Group : V.C(0 mg/kg/day)								
Mean	139.8a	36.38	185.38	16.47	0.42	375.07	144.33	70.05
SD	(44.3)b	(9.06)	(49.38)	(1.82)	(0.02)	(237.66)	(17.67)	(19.47)
Group : S.G(1500 mg/kg/day)								
Mean	127.25	35.26	190.69	16.04	0.49	275.68	138.30	75.00
SD	(23.66)	(5.21)	(45.69)	(2.84)	(0.17)	(98.95)	(17.53)	(16.65)
Tested Unit	TG(mg/dl) SD	PRO(g/dl) SD	ALB(g/dl) SD	A/G(mg/dl) SD	T-BIL(mg/dl) SD	Ca(mg/dl) SD	IP(mg/dl) SD	Na(mmol/l) SD
Group : V.C(0 mg/kg/day)								
Mean	56.60	6.01	3.15	1.11	0.13	9.40	8.82	143.1
SD	(20.71)	(0.22)	(0.12)	(0.05)	(0.01)	(0.27)	(0.56)	(0.99)
Group : S.G(1500 mg/kg/day)								
Mean	57.2	6.1	3.14	1.06	0.12	9.25	8.75	142.5
SD	(19.94)	(0.27)	(0.15)	(0.07)	(0.02)	(0.31)	(1.25)	(0.97)

Serum biochemical values at 28 days after treatment of herbal prescriptions, V.C; Vehicle control group, S.G; Extraction of *SagunjaTang* group. a; Values were expressed as mean, b; ±S.D., Statistically significantly different from vehicle control group.

<Table 4> Water and Feed Intake of Male Rats Orally Treated with *Sagunja-tang* for 4 Weeks

Tested Unit	1week	2weeks	3weeks	4weeks
Feed(g/day)				
Group : V.C(0 mg/kg/day)				
Mean(SD)	25.6 <sup>a</sup> (1.0) <sup>b</sup>	27.2(2.3)	30.6(2.9)	28.4(2.1)
Group : S.G(1500 mg/kg/day)				
Mean(SD)	24.2(1.6)	28.1(1.5)	30.2(2.0)	29.2(1.2)
Water(ml/day)				
Group : V.C(0 mg/kg/day)				
Mean(SD)	40.3(2.4)	43.1(2.1)	43.2(4.9)	41.6(1.5)
Group : S.G(1500 mg/kg/day)				
Mean(SD)	37.7(4.8)	40.8(2.9)	44.7(5.0)	43.7(6.1)

a; Values were expressed as mean, b;  $\pm$ S.D., Statistically significantly different from vehicle control group.  
V.C: Vehicle control group, S.G; Extraction of *Sagunjatang* group.

<Table 5> Relative Organ Weight of Rats Orally Treated with Herbal Prescriptions

Sex	Male	
	V.C	S.G
Group	0	1500
Dose(mg/kg)	0	1500
No. of animal	10	10
Body weight(g)	350.6 <sup>a</sup> (32.0) <sup>b</sup>	358.7 (28.3)
Pituitary gland	0.0030 (0.0005)	0.0029 (0.001)
Brain	0.59 (0.14)	0.54 (0.04)
Lung	0.42 (0.03)	0.42 (0.04)
Heart	0.37 (0.03)	0.37 (0.03)
Liver	3.05 (0.13)	3.21 <sup>*</sup> (0.18)
Spleen	0.20 (0.02)	0.20 (0.03)
Thymus	0.16 (0.04)	0.18 (0.05)
adrenal gland left	0.0091 (0.0009)	0.0084 (0.0013)
adrenal gland right	0.0082 (0.0008)	0.0083 (0.0011)
Kidney left	0.39 (0.03)	0.40 (0.03)
Kidney right	0.39 (0.02)	0.40 (0.02)
Testis left	0.44 (0.04)	0.43 (0.03)
Testis right	0.47 (0.13)	0.42 (0.04)

Relative organ weight at 28 days after treatment of herbal prescriptions,  
a; Values were expressed as mean,  
b;  $\pm$ S.D., Statistically significantly different from vehicle control group(\*p<0.05)

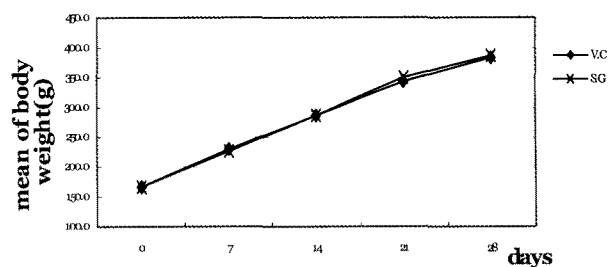
<Table 6> Incidence of Non-neoplastic Microscopic in Rats Orally Treated with Hherbal Prescriptions

Variable	\Sex	\Group	Male	
			V.C	S.G
	\Dose(mg/kg)		0	1500
	\No. of animal		10	10
Hypophysis				
	cyst formation		1 <sup>F.2)</sup>	0
Thyroid gland				
	Ultimobranchial cyst		0	1
Adrenal gland				
	Cortical vacuolation		1	5 <sup>F.3)</sup>
	Accessory adrenocortical tissue		0	1
Kidney				
	Chronic renal infarct		1	0
Lung				
	Interstitial pneumonia		4	2
	Hemorrhagic alveolitis		1	1
	Chronic inflammation		0	1

V.C: Vehicle control group, S.G; Extraction of *Sagunjatang* group.

<Table 7> Urinalysis in Rats Orally Treated Herbal Prescriptions Subacute Toxicity

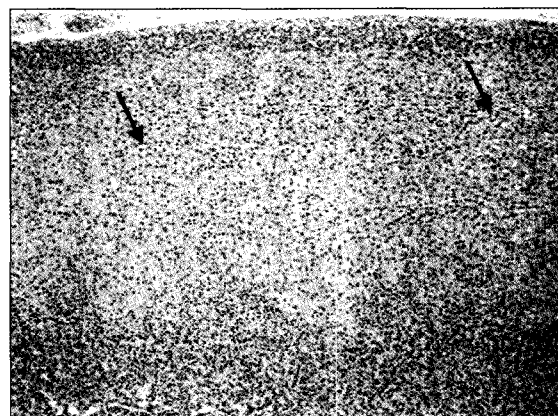
Parameter	\Sex	Male			
		Fresh		24 hour Urine	
	\Urine	V.C	S.G	V.C	S.G
	\Group	V.C	S.G	V.C	S.G
	\Dose(mg/kg)	0	1500	0	1500
	\No. of animal	5	5	5	5
Glucose (g/dl)		Trace	-	-	-
Bilirubin		-	-	-	-
Ketone body (mg/dl)		-	+(1)	-	Trace
Gravity		Trace	Trace	Trace	Trace
		Trace	+	Trace	Trace
		+(1)	Trace	Trace	Trace
		1.025	1.025	1.020	1.025
		1.015	1.020	1.020	1.025
		1.025	1.025	1.025	1.025
		1.025	1.020	≥ 1.030	1.025
		≥ 1.030	1.020	1.025	≥ 1.030
pH		8.0	8.0	8.5	8.5
		8.0	8.0	8.5	8.5
		8.0	8.0	8.0	8.0
		8.0	8.5	8.0	8.0
		8.0	8.5	8.0	7.5
Protein (mg/dl)		-	+(3)	+(2)	+(2)
		-	+(1)	+(2)	+(1)
		+(2)	+(2)	+(2)	+(1)
		+(1)	+(1)	+(1)	Trace
		+(2)	+(2)	+(1)	+(2)
Urobilinogen (Ehrlich unit/dl)		0.2	1.0	0.2	0.2
		0.2	0.2	0.2	0.2
		0.2	0.2	0.2	0.2
		0.2	0.2	0.2	0.2
		0.2	0.2	0.2	0.2
Nitrite		-	-	-	-
		-	-	-	-
		-	-	-	+
		-	-	-	-
Occult Blood		-	-	+(1)	-
		-	-	-	-
		-	-	-	-
WBC		-	+(1)	-	Trace
		+(1)	Trace	Trace	Trace
		Trace	Trace	Trace	-
		+(1)	Trace	-	-
		-	Trace	-	-



<Figure. 1> Mean body weight changes of rat orally treated with herbal prescriptions for 4 weeks. V.C: Vehicle control group, S.G: Sagunjatang group.



<Figure. 2> A Cyst Formed in the Pars Distalis of Pituitary Gland. The Cyst Containing Mucin (A) is Lined by Cuboidal or Attenuating Epithelial Cells (Arrows). H&E. X400.



<Figure. 3> Diffuse Cytoplasmic Vacuolation In The Adrenal Cortex (Arrows). H&E. X100.