

SD계 흰쥐에서 마황 추출물의 아급성 경구 독성 시험 연구

최동기¹, 심경준¹, 최봉재¹, 박수연², 장문석¹, 박성규^{1*}

1: 경희대학교 한의과대학 처방제형학교실 2: 경희대학교 체육과학연구소

Subacute Oral Toxicity of Ephedrae Herba Extract in SD Rats

Dong-gi Choi¹, Kyung Jun Shim¹, Bong-Jae Choi¹,
Soo Yeon Park², Mun Seog Chang¹, Seong Kyu Park^{1*}

1: Dept. of Prescriptionology, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University,
2: Research Institute of Physical Education, Kyung Hee University

ABSTRACT

Objectives : Ephedrae herba, also known as Ma-huang, is a traditional Korean medicinal herb. It has been used to treat asthma, nose and lung congestion, and fever with anhidrosis for centuries. Recently, Ma-huang was used as a source of ephedrine in many dietary supplements for weight reduction in the United States. The objective of this study was to investigate the subacute toxicity of ephedrae herba extract in rats.

Methods : SPF Sprague-Dawley male rats were administered orally with ephedrae herba extract for 4 weeks as several doses(0, 125, 250, 500, 1,000, and 2,000 mg/kg). We examined number of deaths, clinical signs, body weights and gross findings for experimental period.

Results : No dead animals were found during the experimental period. In addition, no differences were found between control and treated groups in clinical signs, hematology, serum biochemistry, and other findings.

Conclusions : In conclusion, above data suggest that no observed adverse effect level of ephedrae herba extract in SD rats might be over 2,000 mg/kg/day in this study.

Key words : Ephedrae herba, subacute toxicity, Rat, Oral administration

서 론

麻黃은 마황과(Ephedraceae)에 속한 多年生 草本 狀의 小灌木인 草麻黃 *Ephedra sinica* Stapf, 中麻黃 *E. intermedia* Scherenk et C.A. Mey. 혹은 木賊麻黃 *E. equisetina* Bge의 草質經을 乾燥시킨 것으로,

가을에 綠色의 草質經을 採取하여 사용한다¹⁾. 麻黃의 藥性은 溫 無毒하고 辛微苦하며 肺經과 膀胱經으로 歸經한다. 發汗散寒, 宣肺平喘, 利水消腫의 效능으로²⁾, 《傷寒論》에서 外感風寒 表實證으로 인한 惡寒 發熱, 頭疼身痛, 無汗而喘 등을 치료하는 麻黃湯의 君藥으로 배합되었다³⁾.

* 교신저자 : 박성규, 서울시 동대문구 회기동 1번지 경희대학교 한의과대학 처방제형학교실
· Tel : 02-961-0330 · E-mail : comskp@khu.ac.kr
· 접수 : 2008년 9월 21일 · 수정 : 2008년 12월 11일 · 채택 : 2008년 12월 22일

서양에서는 마황의 ephedrine 성분이 천식 치료에 사용된 이외에, 1990년대 초반부터 마황 또는 ephedrine 성분을 함유하는 제품들이 체중감소의 목적으로 사용되었다⁴⁾. 미국 식품의약국(FDA)에서 ephedrine이 함유된 건강 보조제들에 대하여 떨림증, 두통, 뇌졸중, 심근경색, 가슴통증, 발작, 불면증, 메스꺼움과 구토, 피로 및 현기증 등 800여 건의 부작용 사례를 보고하여 사용제한을 건의하였으나 증거 불충분으로 기각되었다⁵⁾.

마황의 활성 성분은 ephedrine-type의 알칼로이드이며, (-)ephedrine 성분이 전체 알칼로이드 중 30~90%를 차지한다⁶⁾. 미국에서는 1993년 한 해 동안 약 100,000 kg의 마황 분말 또는 추출액이 수입되었다⁷⁾. 그러나 건강 보조제들에 함유된 마황의 가공분말 또는 추출액 형태는 麻黃의 全草를 사용하는 한의학의 전통 추출법과 차이가 있다⁸⁾.

마황의 주성분인 ephedrine의 작용과 부작용에 관해서는 다양한 보고가 있었으나, 한의학 추출법에 의한 麻黃의 독성에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 이에 본 연구팀에서는 마황에 대한 급성독성 시험을 보고한 바 있으며⁹⁾, 후속 연구로서 마황의 치사율 및 독성증상 등의 안전성 자료를 확보하기 위하여 의약품등의 독성시험기준(식품의약품안전청고시 제 1999-61호) 및 비임상시험 관리기준(식품의약품안전청고시 제 2000-63호)에 따라 4주간 흰쥐에 반복 투여하는 아급성 경구 독성시험을 실시하여 보고하는 바이다.

시험재료 및 방법

1. 시험물질

본 연구의 시험물질인 마황(Ephedrae Herba)은 (주)옵니허브(Seoul, Korea)를 통하여 구입하였다. 麻黃 300 g을 round flask에 넣고 증류수 6,000 mL를 가한 다음 냉각기를 부착하여 2시간 동안 가열한 다음 여과지로 감압 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator (Eyela, Japan)를 사용하여 감압농축한 후, 농축액을 동결 건조하여 시험에 사용하였으며¹⁰⁾, 수율은 15.1%로 나타났다.

2. 시험동물 및 사육환경

시험구역은 경희대학교 한의과대학의 청정동물실험실에서 실시하였으며, 본 연구에 사용된 동물은 SPF(Specific Pathogen Free: 특정병원체 부재)

Sprague-Dawley계의 5주령 된 수컷 흰쥐로서 중앙 실험동물(Japan)로부터 분양받아 온도 $23 \pm 3^\circ\text{C}$, 습도 $55 \pm 5\%$, 배기 10-18회/h, light/dark 12 h, 조도 150-300 Lux의 사육환경에서 폴리카보네이트 사육상자(280W × 420L × 170Hmm)에 각각 5마리씩 넣어 사육하였다. 1주일간의 순화사육 기간 동안에 증상 관찰 등을 시행하여 정상적인 동물만 시험에 사용하였다. 사료는 실험동물용 고형사료(Samyang, Korea)를 자유롭게 먹도록 하였으며, 물은 멸균 수도물을 자유롭게 섭취시켰다. 시험자들은 모두 고압증기멸균(121°C, 20 min)된 작업복, 두건, 마스크 및 장갑 등을 착용하고 작업을 실시하였다¹¹⁾.

3. 투여량 및 시험군의 구성

실험실 환경에서 1주간 적응시킨 실험동물을 대조군과 마황추출물 투여군으로 나누었으며, 각 군은 수컷 10마리로 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 10마리씩 균등히 들어가도록 체중을 이용한 무작위법을 이용하여 분배하였다. 동물의 개체식별은 피모색소마킹법 및 개체 식별카드 표시법으로 실시하였다.

본 시험물질은 한약재로서 식품의약품안전청의 “의약품 등의 독성시험기준”에는 한계용량에 대한 기준이 없기 때문에, 시험물질의 투여용량은 OECD Guide Line¹²⁾과 Principles and Methods of Toxicology¹³⁾을 참조하였으며, 예비실험 결과와 시험물질의 용해도 등을 고려하여 최대용량을 2,000 mg/kg으로 정하였고, 마황추출물 투여군을 투여 용량에 따라 2,000 mg/kg, 1,000 mg/kg, 500 mg/kg, 250 mg/kg, 125 mg/kg 등 모두 5개 군으로 나누었다.

4. 시험물질의 조제 및 투여경로

투여 직전에 증류수를 용매로 하여 시험물질을 125, 250, 500, 1,000, 2,000 mg/10 mL/kg으로 조제하였다. 대조군(vehicle control)의 동물에는 증류수만을 투여하였다. 시험물질의 투여 경로는 임상예정 경로로서 경구투여를 선택하였으며 경구투여용 зонде(zonde)를 장착한 주사기를 이용하여 조제시험물질을 강제 경구투여 하였다. 투여용량의 차이를 배제하기 위하여 각 시험물질 용액을 동물 체중 kg당 10 ml에 매일 투여하였다. 4 주간 시험물질을 1 일 1 회 28

일간 연속으로 투여하여 4 주 아급성독성시험을 수행하였다.

5. 관찰 및 검사항목

1) 일반증상 및 사망동물의 관찰

모든 시험동물에 대하여 투여 후 1시간에서 6시간까지는 매시간 그리고 매일 1회 이상씩 일정 시간에 관찰하여 일반상태의 변화, 중독증상 및 사망유무 및 시험물질 투여 후 나타날 가능성이 있는 증상에 대하여 대조군과 비교 관찰하였다. 일반증상은 식욕부진, 타액분비, 설사, 구토, 당뇨 및 무뇨, 분변의 변화를 중심으로 관찰하였다¹⁴⁾.

2) 체중측정 및 식이 효율

시험에 사용된 모든 동물에 대하여 투여 당일을 0일로 하여 투여 후 2일 간격으로 4주일간 체중을 측정하였다. 모든 실험동물의 식이는 자유섭취방법으로 공급하였다. 실험기간 동안 섭취량은 매일 측정하였다. 식이 효율(food efficiency ratio: FER)은 실험 시작일부터 희생일까지를 총 실험기간으로 하여 실험기간 동안의 체중 증가량을 실험기간 동안의 식이 섭취량으로 나누어 산출하였다¹⁵⁾.

$$FER(\%) = \frac{\text{weight gain (g/day)}}{\text{food in take (g/day)}} \times 100$$

3) 부검소견

투여 개시일로부터 4주 후에 모든 생존 동물을 ether로 흡입 마취하여 개복 및 복대동맥 절단법으로 방혈 치사시킨 다음 외관 및 내부 장기의 이상 유무를 육안적으로 해부소견을 관찰하였다.

4) 혈액 및 혈액생화학적 검사

혈액은 희생시에 heart puncture방법으로 5 mL을 채취하였고, 1 mL는 ethylene-diamine tetraacetic acid(EDTA) 처리된 blood collection tube(BD vacutainer, USA)에 균등질이 되도록 잘 흔들어 4°C에 보관해 48시간 이내에 complete blood count(CBC) 등을 측정하였다. 나머지 혈액은 생화학적 측정을 위하여 EDTA free tube에 담아 tabletop centrifuge vs-5000n(Vision scientific, Korea) 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 white blood cell count, red blood cell count, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin,

mean corpuscular hemoglobin concentration, platelet, reticulocyte 및 protein, albumin, blood urea nitrogen (BUN), creatinine, glucose, total bilirubin, aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase(ALT), lactate dehydronase(LDH), alkaline Phospatase(ALP), total cholesterol, trigliceryde, Na, K, Cl 수치를 측정하였다.

6. 통계처리

체중의 변화에 대한 통계학적 분석은 one-way analysis of variance test(ANOVA) 검정에 의해 대조군과 시험물질 투여군을 비교하였고, ANOVA 검정에서 유의성이 인정된 경우에 Student's t-test 검정법에 의해 $p < 0.05$ 수준에서 결정하였다.

결 과

1. 사망동물 및 임상증상의 관찰

경구 아급성 독성시험에서 시험 기간 동안 대조군은 포함한 마황추출물 투여군 모두에서 사망한 동물은 없었다(Table 1). 또한 모든 동물에서 시험물질 투여 후 자발적인 운동 및 호흡률의 증가 등과 같은 특이할 만한 임상증상은 관찰되지 않았으며 최종 투여일에 실시한 안구검사에서도 특이한 안구부위의 이상소견은 관찰되지 않았다(Table 2).

2. 체중변화 및 식이효율

시험물질을 투여하며 4주 동안 체중 변화를 관찰하였을 때, 대조군 및 시험물질 투여군에서 시간이 경과함에 따라 모두 체중증가가 관찰되었으나, 마황추출물 2,000 mg/kg 농도 투여군에서 최종 체중은 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다($p < 0.05$). 체중증가율과 식이효율이 각각 마황추출물 투여 농도에 비례하여 감소하는 경향을 보였다(Table 3).

3. 육안적 부검소견 및 장기 중량

시험물질 투여에 의한 육안 소견상 이상이 있는 개체는 관찰되지 않았다. 마황추출물 반복 투여 4주 경과 후 심장, 폐, 비장, 간, 신장 및 고환의 절대무게와 상대무게에 대한 장기 중량 측정결과에서 대체로

Table 1. Mortality in Rats Orally Treated with Ephedrae Herba Extract for 4 Weeks

| Dose (mg/kg) | Days after treatment | | | | | | | | | | | | | | | Final Mortality ^{a)} |
|-----------------|----------------------|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-------------------------------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 | 16 | 18 | 20 | 22 | 24 | 26 | 28 | |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 |
| 125 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 |
| 250 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 |
| 500 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 |
| 1,000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 |
| 2,000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 |

a) Values are expressed as dead number/total number of animals.

Table 2. Clinical Signs in Rats Orally Treated with Ephedrae Herba Extract for 4 Weeks

| Dose (mg/kg) | Signs observation | | | | | | |
|-----------------|---------------------|----------------|---------------------------------|----------------------------|-------------|-------|--|
| | Appears normal | Prone position | Decrease of locomotive activity | Decreased respiration rate | Lacrimation | Death | |
| 0 | 10/10 ^{a)} | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | |
| 125 | 10/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | |
| 250 | 10/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | |
| 500 | 10/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | |
| 1,000 | 10/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | |
| 2,000 | 10/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | |

a) Number of animals with the sign/total number of animals examined.

Table 3. Weight Gain, Food Intake and Food Efficiency Ratio(FER) of Ephedrae Herba Extract Treated in Male Rats

| Dose (mg/kg) | Initial weight (g) | Final weight (g) | Weight gain (g/day) | Food intake (g/day) | FER |
|-----------------|-----------------------|---------------------|------------------------|------------------------|--------|
| 0 | 187.0±11.8 | 335.0±22.0 | 4.9±0.8 | 16.9 | 28.94% |
| 125 | 188.6±10.1 | 325.1±14.1 | 4.5±0.5 | 16.4 | 27.36% |
| 250 | 190.6±11.6 | 324.6±26.3 | 4.5±0.9 | 17.6 | 25.59% |
| 500 | 192.3±9.6 | 321.4±28.1 | 4.4±1.0 | 17.3 | 25.47% |
| 1,000 | 189.1±7.6 | 315.8±29.2 | 4.2±1.0 | 17.2 | 24.48% |
| 2,000 | 189.7±8.4 | 304.5±38.3* | 3.8±1.2 | 15.6 | 24.39% |

All values are expressed as mean ± S.D. * Significantly different from the control value (*: p < 0.05).

Table 4. Absolute and Relative Organ Weights in Rats Orally Treated with Ephedrae Herba Extract for 4 Weeks

| Dose (mg/kg) | Organ | | | | | | | |
|-----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|
| | Heart | | Lung | | Spleen | | Liver | |
| | Absolute | Relative | Absolute | Relative | Absolute | Relative | Absolute | Relative |
| 0 | 1.07±0.12 | 0.32±0.03 | 1.63±0.15 | 0.50±0.05 | 0.57±0.09 | 0.17±0.02 | 13.02±0.78 | 3.89±0.23 |
| 125 | 1.06±0.11 | 0.33±0.03 | 1.64±0.12 | 0.51±0.04 | 0.54±0.04 | 0.17±0.02 | 12.47±0.93 | 3.85±0.38 |
| 250 | 1.05±0.14 | 0.32±0.03 | 1.61±0.09 | 0.51±0.02 | 0.55±0.07 | 0.17±0.02 | 11.93±1.37 | 3.67±0.22 |
| 500 | 1.08±0.18 | 0.34±0.03 | 1.65±0.07 | 0.53±0.03 | 0.57±0.06 | 0.18±0.01 | 11.79±1.41 | 3.66±0.20 |
| 1,000 | 1.03±0.13 | 0.33±0.03 | 1.57±0.11 | 0.50±0.03 | 0.56±0.07 | 0.18±0.01 | 12.14±1.87 | 3.83±0.25 |
| 2,000 | 1.03±0.18 | 0.34±0.03 | 1.52±0.13 | 0.52±0.04 | 0.53±0.08 | 0.17±0.01 | 12.91±1.52 | 4.25±0.31* |

| Dose (mg/kg) | Organ | | | | | | | |
|-----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|-----------|------------|
| | Lt-Kidney | | Rt-Kidney | | Lt-Testis | | Rt-Testis | |
| | Absolute | Relative | Absolute | Relative | Absolute | Relative | Absolute | Relative |
| 0 | 1.12±0.09 | 0.33±0.02 | 1.12±0.09 | 0.33±0.03 | 1.62±0.12 | 0.49±0.04 | 1.61±0.12 | 0.48±0.03 |
| 125 | 1.11±0.05 | 0.34±0.02 | 1.13±0.05 | 0.35±0.02 | 1.62±0.07 | 0.50±0.03 | 1.59±0.07 | 0.49±0.02 |
| 250 | 1.10±0.11 | 0.34±0.03 | 1.11±0.10 | 0.34±0.03 | 1.60±0.09 | 0.50±0.04 | 1.57±0.10 | 0.48±0.04 |
| 500 | 1.09±0.11 | 0.34±0.02 | 1.10±0.09 | 0.34±0.02 | 1.66±0.07 | 0.52±0.04 | 1.61±0.06 | 0.50±0.04 |
| 1,000 | 1.09±0.13 | 0.35±0.04 | 1.11±0.12 | 0.35±0.03 | 1.68±0.11 | 0.54±0.05* | 1.63±0.10 | 0.52±0.05* |
| 2,000 | 1.04±0.10 | 0.34±0.03 | 1.05±0.10 | 0.35±0.03 | 1.61±0.11 | 0.53±0.05* | 1.58±0.15 | 0.52±0.05* |

All values are expressed as mean ± S.D. Absolute organ weights are given in grams; Relative organ weights are given as organ weight/body weight x 100(mean ± S.D.); * Significantly different from the control value (*: p < 0.05).

Table 5. Levels of Hematological Analysis in Rats Orally Treated with Ephedrae Herba Extract for 4 Weeks

| Dose (mg/kg) | WBC (10 ³ /mm ³) | RBC (10 ⁶ /mm ³) | Hb (g/dl) | HCT (%) | MCV (fl) | MCH (pg) | MCHC (%) | PLT (10 ⁶ /mm ³) | RETIC (%) |
|--------------|---|---|-----------|---------|----------|----------|----------|---|-----------|
| 0 | 4.6±2.6 | 7.9±0.4 | 15.8±0.8 | 46±2.3 | 57±1.2 | 19.8±0.4 | 34.5±0.4 | 810±131 | 3.1±0.3 |
| 125 | 4.96±2.3 | 8.2±0.6 | 15.9±1 | 46±3.2 | 57±1 | 19.6±0.2 | 34.6±0.4 | 778±124 | 2.8±0.6 |
| 250 | 5.4±1.9 | 8.2±0.5 | 15.7±0.9 | 46±3.1 | 56±1 | 19.4±0.3 | 34.2±1 | 839±209 | 3±0.5 |
| 500 | 4.7±2.5 | 7.9±0.6 | 15.5±1.1 | 45±3.1 | 57±1.3 | 19.9±0.4 | 34.8±0.3 | 772±114 | 3±0.5 |
| 1,000 | 5.3±2.5 | 8±0.4 | 15.6±0.7 | 45±2.1 | 56±1.4 | 19.6±0.4 | 34.8±0.4 | 806±149 | 2.9±0.5 |
| 2,000 | 4.1±2.8 | 7.8±0.4 | 15.6±0.9 | 45±2.8 | 57±0.9 | 19.9±0.3 | 34.7±0.4 | 742±134 | 3.2±0.6 |

All values are expressed as mean ± S.D. WBC, white blood cell count; RBC, red blood cell count; HB, hemoglobin; HCT, hematocrit; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT, platelet; RETIC, reticulocyte.

Table 6. Levels of Biochemical Analysis in Rats Orally Treated with Ephedrae Herba Extract for 4 Weeks

| Dose (mg/kg) | Protein(S) g/dL | ALB(S) g/dL | BUN(S) mg/dL | Creatinine(S) mg/dL | Glu-FBS(S) mg/dL | T.Bili(S) mg/dL | AST(S) IU/L |
|--------------|-----------------|-------------|--------------|---------------------|------------------|-----------------|-------------|
| 0 | 6.4±0.2 | 4.1±0.16 | 17.3±2.1 | 0.61±0.05 | 197±18 | 0.045±0.012 | 98±18 |
| 125 | 6.4±0.1 | 4±0.09 | 18.2±4.4 | 0.64±0.06 | 200±26 | 0.042±0.019 | 116±26 |
| 250 | 6.5±0.2 | 4.1±0.14 | 19±3.1 | 0.64±0.05 | 202±27 | 0.042±0.011 | 108±30 |
| 500 | 6.4±0.3 | 4±0.16 | 17.8±3 | 0.65±0.04 | 206±24 | 0.039±0.012 | 106±19 |
| 1,000 | 6.2±0.2 | 3.9±0.15 | 18.9±2.3 | 0.62±0.04 | 192±17 | 0.039±0.013 | 111±20 |
| 2,000 | 6.2±0.2 | 4±0.14 | 18.6±4.8 | 0.6±0.04 | 192±28 | 0.039±0.013 | 103±13 |

| Dose (mg/kg) | ALT(S) IU/L | LDH(S) IU/L | ALP(S) U/L | T.Chol(S) mg/dL | Tg(S) mg/dL | Na(S) mmol/L | K(S) mmol/L | Cl(S) mmol/L |
|--------------|-------------|-------------|------------|-----------------|-------------|--------------|-------------|--------------|
| 0 | 51±9 | 1332±678 | 280±43 | 61±8 | 73±34 | 145±2.2 | 4.7±0.9 | 104±0.9 |
| 125 | 46±6 | 1773±910 | 260±56 | 61±6 | 104±58 | 146±2.9 | 4.7±0.6 | 105±2.3 |
| 250 | 44±5 | 1357±575 | 278±50 | 63±11 | 90±18 | 146±2.2 | 4.4±0.3 | 105±1.5 |
| 500 | 45±6 | 1635±969 | 251±26 | 65±6 | 73±33 | 146±2.9 | 4.6±0.6 | 105±1.6 |
| 1,000 | 47±9 | 1430±768 | 295±64 | 59±6 | 78±27 | 145±2.2 | 4.8±0.7 | 105±1.3 |
| 2,000 | 43±4 | 1757±655 | 299±54 | 68±7 | 76±30 | 145±2.6 | 5±0.7 | 105±2 |

All values are expressed as mean ± S.D.

대조군과 시험물질 투여군 간의 유의성 있는 차이가 나타나지 않았다. 다만 마황추출물 2,000 mg/kg 투여군에서 간의 상대무게가 대조군에 비해 유의하게 증가하였으며($p < 0.05$), 마황추출물 1,000 및 2,000 mg/kg 투여군에서 좌측 고환과 우측 고환의 상대무게가 대조군에 비해 유의하게 증가하였다($p < 0.05$, Table 4).

4. 혈액학적 검사 및 혈액생화학적 검사

혈액학적 검사 및 혈액생화학적 검사에 대한 측정 결과 전 투여용량군에서 대조군에 비해 시험물질 투여에 의한 유의성 있는 변화는 인정되지 않았다 (Table 5, 6).

고찰 및 결론

麻黃은 《神農本草經》에 최초로 기록된 이래, 頭痛, 鼻塞, 骨節疼痛, 咳嗽氣喘, 風水浮腫, 小便不利,

皮膚不仁, 風疹瘙癢 등의 증상 치료에 사용되었다²⁾. 서양의학에서는 마황에서 ephedrine 성분을 분리하여 기관지 확장제, 소염제, 혈관수축제로 사용하여 왔으며, 최근에는 마황추출물 함유 제품들이 체중감소 및 운동력 상승의 목적으로 사용되었다¹⁶⁾.

보고에 의하면 중국으로부터 수출되는 마황은 마황분말 또는 농축 추출물의 형태로 가공되어¹⁷⁾, 미국에서는 1993년 한 해 동안 약 100,000 kg의 마황 분말 또는 추출액이 수입되었다⁷⁾. 한의학적인 마황의 추출법은 麻黃-全草를 분말하지 않고 장시간 전탕하여 복용하였으며, 여러 차례 반복하여 추출하지 않았다¹⁸⁾. 그러나 현재 마황을 비롯한 약용식물의 추출방법은 2회 반복 추출방법에 의해 생산되고 있다. 이러한 추출 방법의 차이에 따른 독성을 비교하기 위해 세포를 대상으로 시행한 연구에 의하면 麻黃-全草 2시간 전탕액은 순수 ephedrine과 분말-마황추출물에 비하여 세포독성이 현저하게 낮게 나타났으며, 麻黃-全草 2시간 전탕액이 독성물질의 비율을 저하시키는 데 비하여 분말-마황추출물은 유의하게 독성물질을

증가시키는 것으로 나타났다¹⁷⁾.

순수 ephedrine 성분과 분말-마황추출물 또는 농축 마황추출물을 포함하여 생산되는 건강보조식품으로부터 비롯된 안전성 문제는 한약의 부작용 및 독성 문제로 과급되고 있다. 그러나 건강 보조식품에 함유된 마황의 가공분말 또는 농축 추출물 형태는 마황의 초를 사용하는 한의학의 전통 추출법과 차이가 있다⁸⁾. 전통적인 물 전탕 추출법에 의해 복용되어 온 한약의 안전성을 평가하기 위하여, 본 연구팀은 麻黃 추출물의 경구투여 최대 용량인 5,000 mg/kg에서 급성 독성을 나타내지 않았음을 보고한 바 있으며⁹⁾, 장기간 복용하는 한약의 특성을 고려하여 아급성 경구 독성 시험을 수행하였다.

경구 아급성 독성 시험을 평가하기 위한 투여 용량의 선정 기준으로서, 본 시험물질인 마황은 한약재로서 식품의약품안전청의 “의약품 등의 독성시험기준”에는 한계용량에 대한 기준이 없기 때문에, 시험물질의 투여용량은 OECD Guide Line¹²⁾과 Principles and Methods of Toxicology¹³⁾를 참조하였다. 마황에 대한 급성 경구 독성 실험 결과와 시험물질의 용해도 등을 고려하여 마황추출물 투여군은 2,000 mg/kg을 최고용량으로 설정한 후, 투여 용량을 1,000 mg/kg, 500 mg/kg, 250 mg/kg, 125 mg/kg으로 반감시켜 설정하였다.

마황추출물 반복 투여 경과 동안 시험물질 투여에 의한 사망동물은 없었으며, 자발운동 저하, 호흡수 감소, 유루 및 복외위 등의 일반증상은 관찰되지 않았다. 관찰 기간 동안 모든 생존동물에 대한 해부병리 소견에서 시험물질의 투여에 기인한다고 사료되는 변화는 관찰되지 않았다.

마황추출물 반복 투여 4주 경과 후 최종 체중을 비교한 결과, 농도에 따른 체중 감량 효과가 나타났으며, 2,000 mg/kg 투여군에서 최종 체중이 대조군에 비해 유의하게 감소하였다. 이와 같은 체중 감량 결과는 정상적인 마황의 약리작용에 의한 효과를 반영한다¹⁹⁻²¹⁾.

마황추출물 반복 투여 4주 경과 후 대조군과 실험군의 심장, 폐, 비장, 간, 신장 및 고환의 절대무게와 상대무게를 측정된 결과, 간과 고환을 제외한 모든 장기에서 시험물질 투여에 의한 변화는 인정되지 않았다. 2,000 mg/kg 투여군에서 체중에 비례한 간의 상대 무게가 대조군에 비해 유의하게 증가하였으며, 1,000 mg/kg 투여군과 2,000 mg/kg 투여군에서 체중에 비례한 고환의 상대무게가 좌측 고환과 우측 고환에서 유의한 증가를 보였으나, 이것은 마황의 약리

작용으로 인한 체중감량 결과로 해석된다.

마황추출물 반복 투여 4주 경과 후 WBC, RBC, HB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT, reticulocyte 수치를 측정된 결과, 모든 혈액학적 지표 수치에서 시험물질 투여에 의한 변화는 인정되지 않았다. 마황추출물 반복 투여 4주 경과 후 대조군과 실험군의 혈액생화학적 지표로서 protein, albumin, BUN, creatinine, glucose, total bilirubin, AST, ALT, LDH, ALP, total cholesterol, triglyceride, Na, K, Cl 수치를 측정된 결과, 모든 혈액생화학적 지표 수치에서 시험물질 투여에 의한 변화는 인정되지 않았다.

이상과 같이 마황추출물에 대한 반복 투여 독성 시험에서 체중, 일반증상, 사료섭취량, 음수량, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 육안적 소견, 병리조직학적 검사 등에서 특이한 독성병변은 관찰되지 않았다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 시험물질인 마황추출물을 흰쥐에 4주간 경구 투여한 아급성 독성시험에서 최대 무해 용량은 2,000 mg/kg 이상인 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 경희대학교 대학원의 2007학년도 우수 연구논문 장학금을 지원받아 연구되었음

참고문헌

1. 彭懷仁. 中醫方劑大辭典. 北京 : 人民衛生出版社. 1995 ; 4 : 389-92.
2. 진국한외과대학 본초학편집위원회. 본초학. 서울 : 영림사. 2004 : 154-6.
3. 박성규, 김윤경, 오명숙. 처방제형학. 서울 : 영림사. 2006 : 40-3.
4. Shekelle P, Morton S, Maglione M. Ephedra and Ephedrine for Weight Loss and Athletic Performance Enhancement: Clinical Efficacy and Side Effects. Evidence Report/Technology assessment. No. 76. AHRQ Publication No. 03-E022. Rockvill, MD. Agency for Healthcare Research and Quality. 2003 : 3-4.
5. 임경아, 조여원. High Performance Liquid Chromatography에 의한 마황 분획물의 ephedrine 분석. 생활과학논집. 2000 ; 4(1) : 39-46.
6. Tayler VE. The Honest Herbal: A Sensible

- Guide to the Use of Herbs and Related Remedies. New York : Pharmaceutical Products Press. 1993 : 119-21.
7. Hurlbut JA, Carr JR, Singleton ER, Faul KC, Madson MR, Storey JM, Thomas TL. Solid-phase extraction cleanup and liquid chromatography with ultraviolet detection of ephedrine alkaloid in herbal products. *J AOAC Inst.* 1998 ; 81 : 1121-7.
 8. Chung-hua Jen Min Kung Ho Kuo Wei Sheng Pu Yao Tien Wei Yuan Hui. Chung-hua Jen Min Kunh Ho Kuo Yao Tien [PRC Medicinal Dictionary], Kuang-chou:Kuang-chou Ko Chi Chu Pan She. 1995 : 285-6.
 9. 장문석, 심경준, 오지훈, 윤지원, 최문정, 김도립, 양웅모, 임형호, 이명종, 박성규. SD계 흰쥐에 대한 마황의 급성 경구 독성 시험 연구. *동의생리병리학회지.* 2008 ; 22(4) : 762-5.
 10. 고병섭, 박민정, 박소민, 전원경, 천진미, 정필문, 박선민, 최수봉, 오명숙, 장문석, 박성규. 가미옥천산의 ICR 마우스 경구 투여에 의한 급성 독성시험 연구. *동의생리병리학회지.* 2005 ; 19(5) : 1200-3.
 11. 강순아, 장문석, 오명숙, 박완수, 강지웅, 김원남, 양웅모, 이병희, 배오성, 박성규. ICR계 마우스에 대한 當歸補血湯의 급성 경구 독성시험. *동의생리병리학회지.* 2006 ; 20(3) : 572-4.
 12. CDER/FDA. Guidance for Industry Single Dose Acute Toxicity Testing. (<http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>). 1996.
 13. Hayes AW. Principles and Methods of Toxicology 2nd Edition. New york : Raven Press. 2001 : 177.
 14. Lorke DA. New approach to practical toxicity testing. *Arch. Toxicol.* 1983 ; 54 : 275-87.
 15. 강순아, 장문석, 오명숙, 박완수, 김원남, 양웅모, 이병희, 박성규. 當歸補血湯의 SD계 흰쥐에 대한 아급성경구독성시험. *대한본초학회지.* 2006 ; 21(2) : 159-63.
 16. Bent S, Tiedt TN, Odden MC, Shlipak MG. The Relative Safety of Ephedra Compared with Other Herbal Products. *Annals of Internal Medicine.* 2003 ; 138(6) : 468-72.
 17. Lee MK, Cheng BWH, Che CT, Hsich DPH. Cytotoxicity Assessment of Ma-huang(Ephedra) under Different conditions of Preparation. *Toxicological Sciences.* 2000 ; 56 : 424-30.
 18. Yang TL. Tu Yao Pen Tsao. Pei-ching Shih: Chung-kuo Chung I Yao Chu Pan She. 1993 : 178-86.
 19. Soni MG, Carabin JG, Griffiths JC, Burdock GA. Safety of ephedra: lessons learned. *Toxicol Lett.* 2004 ; 150 : 97-110.
 20. Greenway FL. The safety and efficacy of pharmaceutical and herbal caffeine and ephedrine use as a weight loss agent. *Obesity reviews.* 2001 ; (2) : 199-211.
 21. Malecka-Tendera E. Effect of ephedrine and theophylline on weight loss, resting energy expenditure and lipoprotein lipase activity in obese over-fed rats. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1993 ; 17(6) : 343-7.