

Spargue-Dawley 랫드를 이용한 평위산의 안전성 연구

신인식 · 김정훈 · 하혜경 · 황대선 · 허정임¹ · 신현규*

한국한의학연구원 한약 EBM 연구센터, 1: 안전성평가연구소

Study on Safety of Pyungwi-san in Sprague-Dawley Rats

In Sik Shin, Jung Hoon Kim, Hye Kyung Ha, Dae Sun Huang, Jung Im Huh¹, Hyeun Kyoo Shin*

Herbal Medicine EBM Research Center, Korea Institute of Oriental Medicine, 1: Korea Institute of Toxicology

This study was conducted to investigate the acute toxicity and safety of Pyungwi-san (Pingwei-san) in Sprague-Dawley rat though the current regulatory guideline. The preliminary study showed that the single oral administration of Pyungwi-san (Pingwei-san) did not induce any toxic effect at a dose level of 2000 mg/kg. Based on the results, 2000 mg/kg was selected as the limited dose. In this study, 10 rats of each sex were randomly assigned to two groups of 5 rats each and were administrated singly by gavage at dose levels of 0 and 2000 mg/kg. After single administration, Mortalities, clinical signs, body weight changes, gross findings were observed for the 15-day period. Throughout the study period, no treatment-related deaths were observed. There were no adverse effects on clinical signs, body weight, and gross findings at all treatment groups. These results showed that the single oral administration of Pyungwi-san (Pingwei-san) did not cause any toxic effect at the dose levels of 2000 mg/kg in rats. In conclusion, the LD₅₀ of Pyungwi-san (Pingwei-san) was considered to be over 2000 mg/kg body for both sexes.

Key words : Pyungwi-san (Pingwei-san), acute toxicity, safety, LD₅₀, rats

서 론

평위산(平胃散)은 완복창만(脘腹脹滿), 불사음식(不思飲食), 구담무미(口談無味), 오심구토(惡心嘔吐), 애기탄산(暖氣呑酸) 등과 같은 소화기 병증에 사용되어 왔으며¹⁾, 송나라시대에 편찬된 《太平惠民和劑局方》²⁾에 최초로 수록되었다. 평위산은蒼朮(蒼朮), 진피(陳皮), 후박(厚朴), 감초(甘草), 생강(生薑), 대조(大棗)의 약제로 구성되어 있으며, 담즙분비를 촉진하여 소화관 운동능을 강화하고, 세균성 장염에 항균작용을 하며, 소화관점막의 부종을 완화하여 구역과 구토 및 위산과다증을 개선한다고 보고되었다^{3,7)}. 이와 같이 평위산에 대한 실험적 연구는 주로 소화기 질환에 대해 실시되어 왔으나, 최근 연구보고에 의하면, 간질환치료⁸⁾ 및 활성산소종과 활성질소종에 대한 소거능력의 효과가 보고되었다⁹⁾.

이와 같이 한의학계에서 근거중심의학에 대한 현대인의 욕구를 충족시키기 위해 지속적으로 다양한 효능 평가를 실시해왔

지만, 반면 한약처방의 독성과 안전성에 관련된 연구보고는 미흡하여, 한약처방의 안전성에 관한 문제가 대두되어 왔다.

이에 따라, 본 연구소에서는 평위산의 안전성 자료를 확보하기 위하여 한약제 및 처방에 포함된 잔류농약, 이산화황 및 중금속 등의 위해물질 검출을 실시하였다¹⁰⁾. 실험결과, 평위산에서는 잔류농약 및 이산화황이 검출되지 않았으며, 또한 중금속 함량은 식약청 기준 30 mg/kg보다 훨씬 낮게 검출되어, 평위산이 많은 위해물질에 대해 안전하다는 결과를 얻었다. 하지만 평위산의 보다 객관적인 안전성 자료를 확보하기 위해서는 국제적으로 인정된 독성시험기준에 의거한 독성시험이 실시되어야 한다.

식품의약품안전청을 비롯한 Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD)에서는 시험물질의 안전성 평가를 위해 급성, 아급성, 아만성, 만성 등의 투여기간에 따른 독성시험법을 규정하고 있으며, 또한 염색체이상시험, 복귀돌연변이시험, 선택시험 등의 유전독성시험, 생식독성 시험 등을 실시하여 각 시험물질의 안전성을 철저하게 평가하도록 규정하고 있다.

그러므로 본 연구는 현대인에게 있어 평위산에 대한 신뢰성 있는 독성 및 안전성 자료를 구축하기 위하여 국제적으로 인정

* 교신저자 : 신현규, 대전시 유성구 엑스포로 483 한국한의학연구원

· E-mail : hkshin@kiom.re.kr, · Tel : 042-868-9464

· 접수 : 2010/03/24 · 수정 : 2010/04/21 · 채택 : 2010/04/26

된 KGLP 시설인 한국화학연구원부설안전성평가연구소에서 독성시험기준¹¹⁻¹⁴⁾의 규정에 따라 한약의 일반적 복용형태인 경구투여에 의한 급성독성시험을 수행하여, 평위산의 급성독성 및 안전성을 평가하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 사육환경

본 시험은 KGLP 시설인 한국화학연구원부설안전성평가연구소에서 실시하였다. 5주령의 특정병원체 부재(Specific Pathogen Free) Spargue-Dawley 랫드(오리엔트, 경기도 성남)를 사용하였다. 동물 입수시, 외관을 육안으로 검사한 후, 1주일간의 검역 및 순화를 거친 뒤 건강하다고 판단되는 동물을 선발하여 실험에 사용하였다.

사육환경은 온도 23 ± 3℃, 상대습도 50 ± 10%, 조명시간 12시간(08:00 점등~20:00 소등), 환기횟수 10~20회/시간 및 조도 150~300 Lux로 유지하도록 설정되었으며, 실험동물용 고품사료(PMI Nutrinon International: 505 North 4th Street, Richmond IN 47374, USA)를 방사선 조사로 멸균하여 자유 섭취시켰다. 또한 물은 미세여과기와 자외선유수살균기를 통과시켜 살균, 소독한 상수도수를 자유 섭취시켰다. 본 시험은 실험동물의 관리 및 사용에 적용할 수 있는 모든 규정을 준수하여 실시하였으며(AAALAC International 인증 획득, 1998), 한국화학연구원부설 안전성평가연구소 동물관리사용위원회(IACUC)에 의해 검토되었다.

2. 시험물질의 조제

본 연구에서는 전당 추출법(cosmos-660, 경서추출기, 한국)에 의한 시험물질조제를 실시하였으며, 처방구성(Table 1)에 따른 각 한약재들을 중량의 10배에 해당하는 생수(화이트, 무학)에 넣어 180분간 열탕 추출한 후, 동결건조기(FD5512, 일신, 한국)를 사용하여 분말 형태로 조제하였다(수율:26.25%).

Table 1. The combination of crude drugs in Pyungwi-san (Pingwei-san)

약재명	1첩 분량(g)
창출 <i>Atractylodis Rhizoma</i>	7.5
후박 <i>Magnoliae Cortex</i>	3.75
진피 <i>Citri Pericarpium</i>	5.25
감초 <i>Glycyrrhizae Radix</i>	2.25
생강 <i>Zingiberis Rhizoma Recens</i>	4.5
대조 <i>Zizyphi Fructus</i>	3.75
Total weight	27.0

3. 투여용량의 설정 및 시험군의 구성

시험물질의 급성독성시험에 관한 OECD guideline¹⁴⁾에 따르면, 시험물질의 단회투여시 2000 mg/kg 용량을 한계용량¹⁴⁾으로 추천하고 있다. 그러므로 본 시험에 앞서 용량설정을 위한 예비시험에서 0, 500, 1000 및 2000 mg/kg의 용량으로 각각 2마리의 암·수 랫드에게 단회 경구투여한 결과, 모든 투여군에서 어떠한

독성소견도 관찰되지 않아 본 시험에서 2000 mg/kg을 시험물질 투여군으로 한계용량군¹³⁾을 설정하였으며, 주사용 멸균 증류수를 투여하는 부형제 대조군을 두어 시험을 실시하였다. 동물의 군 분리는 GLP 독성시험용 전산프로그램인 Path/Tox System (Version 4.2.2, Xybion Medical Systems Corporation, USA)을 이용하여 검역 및 순화기간 후에 측정된 체중에 따라서 각 시험군에 체중이 균등히 분배되도록 체중 순위에 의한 무작위법으로 군 분리하였다.

4. 시험물질의 투여

투여 경로는 임상에서 가장 널리 이용되고 있는 경구투여법을 사용하였다. 모든 동물은 투여 전에 하룻밤 절식시킨 후 경구투여용 소식자(sonde)를 장착한 주사기를 이용하여 위내에 강제 경구투여를 하였고, 투여 후 3~4 시간 후에 다시 사료를 급여하였다. 투여 당일에 절식된 체중을 기준으로 kg당 10 mL로 투여 액량을 계산하였다.

5. 일반증상의 관찰

투여 당일에는 투여 후 1시간부터 6시간까지 매 시간마다, 투여 익일부터 15일까지는 매일 1회씩 일반 증상의 변화, 독성 증상 및 사망 동물의 유무를 관찰하였다.

6. 체중측정

모든 동물에 대하여 투여개시 직전(1일)과 투여 후 2, 4, 8 및 15일째에 측정하였다.

7. 부검

투여 후 15일째에 모든 동물을 CO2 가스 마취 하에서 개복한 후에 복대동맥과 복대정맥을 절단하여 방혈 치사시킨 후, 육안적으로 내부 장기의 이상 유무를 관찰하였다.

8. 통계처리

시험기간 중의 일반 증상 및 체중 변화의 결과는 한국화학연구원부설안전성평가연구소의 표준작업순서에 따라 Path/Tox System (Version 4.2.2, Xybion Medical System Corporation, USA)을 이용하여 검증하였고, P<0.05 및 P<0.01 를 실험군 간의 유의성 있는 차이로 판정하였다.

결 과

1. 치사율

시험물질을 투여한 후 15일간 사망유무를 관찰한 결과, 모든 시험군의 암·수 동물에서 시험물질의 투여에 기인된 사망은 관찰되지 않았다(Table 2). 따라서 랫드에서 본 시험물질의 LD50값은 암수 모두 2000 mg/kg을 훨씬 상회하는 것으로 나타났다.

2. 일반 증상

시험기간 중 일반 증상을 관찰한 결과, 암·수 모든 동물에

서 있어서 시험물질의 투여에 의한 독성 증상은 관찰되지 않았다(Table 3).

Table 2. Mortality in male and female rats after single oral administration of Pyungwi-san (Pingwei-san)

Dose (mg/kg)	No. of rats examined	Days after treatment														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Male																
0	5	0 ^{a)}	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Female																
0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

^{a)}Number of dead animals

Table 3. Clinical signs in male and female rats after single oral administration of Pyungwi-san (Pingwei-san)

Dose (mg/kg)	No. of rats examined	Days after treatment														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Male																
0	5	0 ^{a)}	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Female																
0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

^{a)}Number of rats with the clinical signs

3. 체중 변화

체중 측정 결과, 암·수 모든 시험물질 투여군에서 부형제 대조군에 비교하여 유의성 있는 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 1).

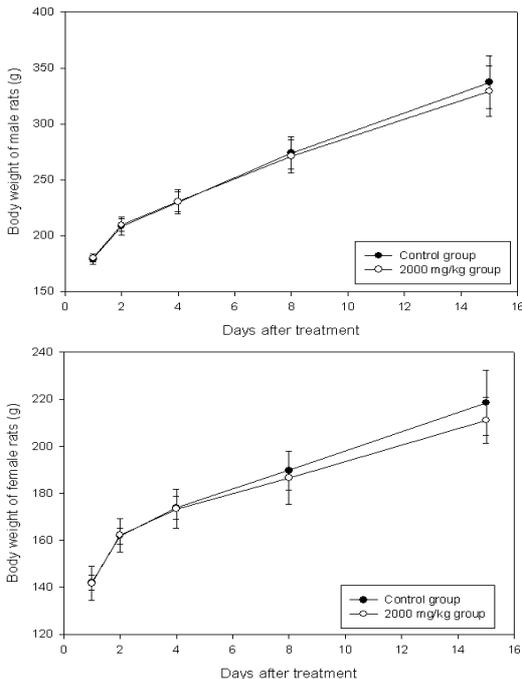


Fig. 1. Body weight changes in male and female rats after single oral administration of Pyungwi-san (Pingwei-san).

4. 부검조건

시험물질 투여 후 15일째의 부검시 폐, 심장, 흉선, 위, 간 등 내부장기의 육안적인 부검조건을 관찰한 결과, 모든 시험군의

암·수 동물에서 어떠한 이상 소견도 관찰되지 않았다(Table 4).

Table 4. Gross findings in male and female rats after single oral administration of Pyungwi-san (Pingwei-san)

	Male		Female	
	0	2000	0	2000
No. of rats examined	5	5	5	5
Appears normal	5	5	5	5
No. of rats examined	5	5	5	5
Appears normal	5	5	5	5

결론 및 고찰

평위산은 창출, 후박, 진피가 주약으로 많은 연구를 통해 위장기능 향진, 간질환 치료 및 항산화능의 효능이 보고되었다³⁻⁹⁾. 이와 같이 평위산의 효능연구는 지속적으로 실시되고 있는 반면, 평위산에 대한 신뢰성 있는 독성 및 안전성 자료는 현재까지 확립되어 있지 않다. 본 연구는 시험물질인 평위산의 신뢰할 수 있는 독성 및 안전성 자료를 확보하기 위하여 독성시험기준¹¹⁻¹⁴⁾에 따라 평위산의 독성 및 안전성을 평가하였다.

식품의약품안전청의 ‘의약품등의 독성시험기준’에 의하면¹¹⁾ 급성독성시험시 2주간의 관찰기간을 설정하며, 시험결과에 있어서는 개략의 치사량, 일반증상의 매일 관찰기록, 시험기간 중 최소 3회 이상의 체중 측정, 부검시 육안적 해부소견을 기술하고 육안적 이상소견이 관찰된 장거나 조직에 대해서는 필요시 병리조직학적 검사를 실시한다고 명시되어 있다. 투여용량은 한계용량이 명확히 명시되어 있지 않기 때문에 본 시험에서는 식품의약품안전청의 ‘비임상시험기준’에¹²⁾ 명시되어 있는 OECD guideline에 의거하여 급성독성시험시 추천하는 2000 mg/kg 용량을 한계용량으로 설정하였다.

식품의약품안전청의 시험기준과 동일하게 OECD guideline에서도¹⁴⁾ 급성독성시험시 체중, 사료섭취량, 시험기간 중 일반증상, 부검시 주요장기의 육안적 소견관찰을 기준으로 정하고 있다. 체중 및 사료섭취량은 최소 일주일 1회 이상 측정하며, 일반증상 관찰시에는 피부, 털, 눈, 점막, 호흡 및 운동상태 등을 관찰하며, 또한 유연(salivation), 설사(diarrhoea), 경련(convulsion) 등의 상태를 면밀하게 관찰하여 기록한다. 부검시 주요 장기의 육안적 소견을 각 동물에 대해 명확히 기록하고, 이상 소견 관찰시 해당 장기에 대해 조직표본을 제작하여 병리조직학적 검사를 실시할 수 있다고 명시되어 있다.

시험물질의 급성독성시험에 대한 OECD guideline¹⁴⁾에 따르면, 시험물질의 단회투여 독성시험시 2000 mg/kg 용량을 한계용량¹⁴⁾으로 추천하고 있다. 이에 따라, 본 시험에 앞서 용량설정을 위한 예비시험에서 Spargue-Dawley 계통의 암·수 랫드에 각각 0, 500, 1000 및 2000 mg/kg 용량으로 단회 경구독성시험을 실시하였다. 예비시험결과, 2000 mg/kg 이하의 용량에서 어떠한 독성영향도 관찰되지 않아 본 시험에서 급성독성에서 추천하는 2000 mg/kg을 한계용량으로 설정하여 암·수 랫드에 각각 0 및 2000 mg/kg 용량으로 단회 경구투여 후 15일간의 사망률, 일반증상, 체중변화 및 부검시 내부장기의 이상 소견을 관찰하여

독성증상 발현여부를 관찰하였다. 평위산에 대한 급성독성 시험을 실시한 결과 0, 2000 mg/kg 용량으로 투여한 모든 암·수 랫드에 대하여 사망이 관찰되지 않았으며, 이로 인해 평위산의 LD₅₀은 산출할 수 없었다. 또한 시험기간 중 암·수 평위산 투여군에서 부형제 대조군과 비교하여 유의성 있는 체중변화가 관찰되지 않았고, 평위산 투여와 관련된 특이한 임상 증상 및 부검시 내부 장기의 어떠한 육안적 이상소견도 관찰되지 않았다.

본 시험의 결과 Sprague-Dawley 랫드에 평위산의 2000 mg/kg 용량으로 단회 경구투여는 사망률, 일반 증상, 체중변화 및 육안적 부검소견에서 어떠한 독성소견을 유발하지 않는 것으로 확인되었다. 그러므로 본 시험조건에서 암·수 랫드의 평위산의 LD₅₀은 2000 mg/kg을 상회할 것으로 나타났으며, 이러한 평위산의 시험결과는 인체위해성 평가에 있어 매우 유용한 정보를 제공할 수 있을 것으로 사료된다.

현재 한약처방은 각 처방의 객관적인 독성 및 안전성 자료를 확보하지 않고, 여러 효능 연구 및 임상적용이 실시되어 한약 처방의 안전성 문제가 대두되고 있다. 이에 따라, 본 연구소에서는 각 처방의 효능평가와 더불어 독성 및 안전성 자료를 확보하기 위하여 한약재 및 처방에 포함된 위해물질 검출 시험을 실시하였으며^{10,15-18}, 본 실험을 통해 평위산의 급성독성에 대한 자료를 확보하였다. 그러나 대부분의 한방처방이 1회 복용이 아닌 장기간 복용을 하기 때문에 장기적인 독성 및 안전성 자료의 확보가 필요할 것으로 사료된다. 그리하여, 본 연구소에서는 추후 4주 및 13주 반복투여 독성시험을 수행하여 장기적인 독성 및 안전성 자료를 구축하고, 추가적으로 유전독성시험을 비롯한 여러 독성 및 안전성 관련 시험을 수행하여, 현대인에게 있어서 본 한약처방이 매우 안전하다는 것을 알리고자 한다.

감사의 글

본 연구는 한의학연구원에서 지원한 '표준한방처방 EBM 구축사업 (K10030)'에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 金相贊, 金先熙, 盧昇鉉 外 8人. 方劑學. 서울, 영림사, pp 486-487, 1999.
2. 陳師文. 太平惠民和制局方. 施風出版社. 卷 3, 第四葉, 中華民國 64 年.
3. 黃度淵 原著, 裴元植 監修. 對譯證脈方藥合編. 서울, 南山堂, pp 142-143, 2000.
4. 허 준. 동의보감. 서울, 법인문화사, pp 661-668, 1999.
5. Park, D.W., Kim, J.S., Ryu, B.H., Ryu, K.W., Park, S.H. Study on the effects of Pyungwee-san on the Movement of Gastrointestinal Smooth Muscles, Anticatharsis and Central Nervous System. J of Oriental Chr Dis. 6: 184-196, 2000.
6. Jeong, H.C. and Son, I.C. Effects of Pyeongwoe-San Aqua-Acupuncture at Chok-Samni(ST 36) points on Gastric in Rabbits. The J of Korean Acupuncture & Moxibustion Society. 13: 321-334, 1996.
7. Riedinger, J.E., Tan, P.W., Lu, W. Ping wei san, a Chinese medicine for gastrointestinal disorders. Ann Pharmacother 35(2):228-235, 2001.
8. 김진원, 정병주, 우성호, 심효주, 나유진, 김용호, 서호석, 이원희, 김병철. 복수 동반 간병변 환자의 평위산(平胃散) 합(合) 위령탕가미방(胃苓湯加味方) 투여 호전 1례. 대한한방내과학회지 27(4):962-968, 2006.
9. 이효승, 문진영. 平胃散 藥鍼液의 활성산소 및 활성질소 소거능. 동의생리병리학회지 21(1):165-170, 2007.
10. 서창섭, 황대선, 이준경, 하혜경, 천진미, 엄영란, 장 설, 신현규. 전탕 전과 후의 중금속, 잔류농약 및 잔류이산화황의 농도변화 -소화기계 약을 중심으로-. 대한본초학회지 24(1):111-119, 2009.
11. 식품의약품안전청. 식품의약품안전청고시 제2005-60호(2005년 10월 21일) '의약품등의독성시험기준'. 2005.
12. 식품의약품안전청. 식품의약품안전청고시 제2009-19호(2009년 5월 10일) '비임상시험관리기준'. 2009.
13. OECD. OECD Principles of Good Laboratory Practice. 1997. Available from: URL:http://www.olis.oecd.org/olis/1998/doc.nsf/LinkTo/NT00000C5A/\$FILE/01E88455.PDF.
14. OECD. OECD Guidelines for Testing of Chemical No. 423. Acute Oral Toxicity-Acute Class Method, Line 23 (Limit test). 2001. Available from: URL:http://www.oecd.org/dataoecd/17/50/1948370.PDF.
15. 서창섭, 황대선, 이준경, 하혜경, 천진미, 엄영란, 장 설, 신현규. 전탕 전과 후의 중금속, 잔류농약 및 잔류이산화황의 농도변화 -감기약을 중심으로-. 대한본초학회지 23(4):51-58, 2008.
16. 서창섭, 황대선, 이준경, 하혜경, 천진미, 엄영란, 장 설, 신현규. 전탕 전과 후의 중금속, 잔류농약 및 잔류이산화황의 농도변화 -십전대보탕 구성처방을 중심으로-. 대한한의학회지 30(4):108-117, 2009.
17. 서창섭, 황대선, 이준경, 하혜경, 천진미, 엄영란, 장 설, 김종열, 이시우, 신현규. 중금속, 잔류농약 및 잔류이산화황의 전탕 전, 후의 농도 변화 -다빈도 태음인 사상처방을 중심으로 -. 사상체질의학회지 21(1):237-246, 2009.
18. 서창섭, 황대선, 이준경, 하혜경, 천진미, 엄영란, 장 설, 신현규. 전탕 전과 후의 중금속, 잔류농약 및 잔류이산화황의 농도변화 -다빈도 한약 처방을 중심으로-. 대한본초학회지 24(2):13-20, 2009.