

황금 및 단삼 표준화시료의 급성독성에 관한 연구

장보윤 · 빈두말라 · 손동환 · 김윤철 · 김성연*

원광대학교 약학대학 약품연구소

Acute Toxicity of a Combined Preparation of the Standardized Extracts of *Scutellaria baicalensis* GEORGI and *Salvia miltiorrhiza* BUNGE

Bo Yoon Chang, Bindu Malla, Dong Hwan Sohn, Yoon Chul Kim and Sung Yeon Kim*

Institute of Pharmaceutical Research and Development, College of Pharmacy, Wonkwang University,
Shinyoung-dong 344-2, Iksan Chungbuk 570-749, Korea

Abstract – Acute toxicity of a combined preparation of the standardized extracts *Scutellaria baicalensis* GEORGI and *Salvia miltiorrhiza* BUNGE in a ratio of 3:1 was examined in male and female ICR mice. Mice were treated with the test substance intragastrically at a dose of 0 mg/kg, 5 mg/kg, 50 mg/kg, 500 mg/kg or 2,000 mg/kg and observed for two weeks. No death or abnormal clinical sign was shown during the observation period. Also there were no difference in net body weight gain, organ weight, and gross pathological findings at the terminal sacrifice. The results suggested that acute oral toxicity of a combined preparation of the standardized extracts is very low at the conditions employed in this study.

Key words – standardized extract, *Scutellaria baicalensis* GEORGI, *Salvia miltiorrhiza* BUNGE, acute toxicity

천연물을 이용한 기능성식품이나 의약품의 사용은 아시아뿐만 아니라 전 세계적으로 증가하고 있으며, 미국의 경우 전 인구의 30% 이상이 천연물 의약품을 복용한다고 보고되었다. 국내에서도 2000년에 천연물신약연구개발촉진법을 시행하는 등 천연물 유래 의약품에 관한 관심이 증가하고 있다. 그러나 천연물을 원료로 사용한 의약품이나 기능성 식품의 많은 경우 그 안전성이나 효력이 엄격하게 관리되지 않는 경우가 빈번하며, 천연물을 이용한 치료제 개발 시 천연물로부터 약효를 갖는 단일성분을 분리하는 과정에서 소요되는 시간이 길며, 수득률이 낮고 천연물이 가지는 잠재적 독성들의 요인들로 실제 천연물 유래의 치료제의 개발은 쉽지 않은 어려움이 있다.

황금(黃芩, *Scutellaria baicalensis* GEORGI)은 한방에서 널리 사용된 약재로 꿀풀과(Labiatae)에 속하는 쌍떡잎물로서 식처는 한국, 중국, 몽골 및 시베리아 동부이다. 황금은 예로부터 실화(實火)를 사(瀉)하고 습열(濕熱)을 제거하며 지혈(止血), 안태(安胎)의 효능을 나타내며 장열(壯熱)에 의한 번갈(煩渴), 폐열해수(肺熱咳嗽), 습열(濕熱)에 의한 사리(瀉痢), 열림(熱淋), 황달, 토기(吐氣), 비출혈(鼻出血), 자궁출혈,

골정(滑精), 목적종통(目赤腫痛), 태동불안(胎動不安) 등의 치료에 사용된 것으로 전해지고 있다.¹⁾

단삼(丹蔘, *Salvia miltiorrhiza* BUNGE)은 꿀풀과(Labiatae) 식물이며 원산지는 중국이다. 약효로는 활혈(活血), 거어(祛瘀), 청심제번(清心除煩), 양혈소옹(涼血消癰), 배농지통(排膿止痛)의 효능이 있으며 심교통(心絞痛), 월경불순, 월경통, 월경폐지, 혈붕(血崩), 대하(帶下), 복중(腹中)의 경결(硬結), 적취(積聚), 어혈복통[어혈복통; 울혈복통(鬱血腹痛)], 골절동통(骨節疼痛; 관절통), 경계불면(驚悸不眠), 악창중독(惡瘡腫毒)을 치료하는데 널리 사용되어 왔다.²⁾

황금과 단삼은 현재 각종 식음료에 사용되고 있는 천연물로, 각각의 약리학적 작용 및 임상적 이용가치에 대한 연구에 비하여, 그 안전성과 독성에 관한 연구는 미흡한 상황이다. 단일제제가 아닌 여러 약제의 혼합 사용이 많은 한약제의 특성상 두 물질의 혼합이 나타낼 수 있는 안전성과 독성에 대한 평가는 더욱 큰 의미를 가질 것이다. 이에 본 연구는 고성능 액체크로마토그래피를 이용하여 그 함량과 조성이 확인된 황금과 단삼의 표준화시료를 병용 투여하여 급성독성학적 안전성을 검증하고자 한다.

*교신저자(E-mail): sungykim@wonkwang.ac.kr
(Tel): +82-63-850-6806

시험기간 동안 1회씩 측정하였다.

부검 - 투여 후 14일째에 마우스 ethyl ether로 마취하고, 방혈 치사시킨 후 모든 장기를 적출하고, 개체 시험동물의 육안적 병변 관찰하고 장기의 무게를 측정하였다.

통계처리 - 시험에서 얻은 모든 측정치의 통계적인 분석 방법은 two-tailed Student's *t*-test를 이용하였다. 대조군과 시험물질 투여군의 측정치의 차이를 Student's *t*-test로 비교하고 유의성을 P≤ 0.05, 0.01 및 0.001 수준에서 검정하였다. 본 시험에서는 사망동물이 관찰되지 않아 반수치사량 (LD₅₀)의 산출을 위한 통계처리는 실시하지 않았다.

결 과

사망동물 및 치사량 - 자웅성 ICR 마우스에 황금단삼 혼합시료 5, 50, 500, 2,000 mg/kg 투여 후 14일간 사망유무

관찰한 결과 시험물질 투여에 기인한 사망은 관찰되지 않았다 (Table I). 황금단삼 혼합시료에 독성학적 영향을 받지 않는 최소치사량은 자웅성 마우스 모두에서 2,000 mg/kg을 훨씬 상회하는 것으로 나타났다.

임상증상 - 황금단삼 혼합시료를 투여하고 피부, 털, 눈, 점막, 호흡기, 순환기, 자율신경계, 중추신경계, 신체 운동 활동성, 행동형태 및 시험동물의 진전(tremors), 경련(convulsions), 유연(salivation), 설사(diarrhoea), 기면(lethargy), 수면(sleep), 혼수(coma) 등의 유무를 관찰하였다. 전 시험기간을 통하여 대조군 및 모든 시험물질 투여군에서 특이한 임상증상은 관찰되지 않았다.

체중변화 - 자웅성의 마우스 모두에서 전 시험기간을 통하여 체중 증가가 관찰되었다 (Fig. 1). 황금단삼 혼합시료 대조군과 비교하여 유의적인 체중의 변화는 없었다.

해부병리소견 - 시험 종료 후 모든 투여군을 부검하여 장

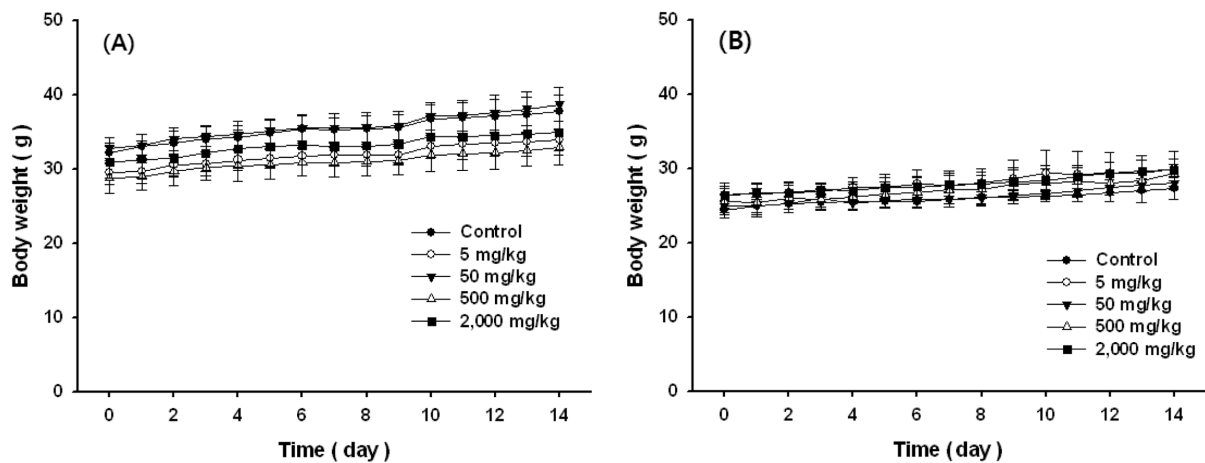


Fig. 1. Body weight increases in (A) male and (B) female mice treated with combined preparation of *Scutellaria baicalensis* and *Salvia miltiorrhiza*.

Table II. Absolute organ weights of male mice treated with the combined preparation of *Scutellaria baicalensis* and *Salvia miltiorrhiza*

Parameters	\Sex	Male					
		\Dose (mg/kg)	0	5	50	500	2000
Body Weight (g)			37.74 ± 2.30	33.9 ± 1.51	38.7 ± 2.29	32.9 ± 2.31	34.9 ± 3.04
Liver (g)			1.97 ± 0.15	1.57 ± 0.11	1.74 ± 0.06	1.52 ± 0.23	1.60 ± 0.21
Spleen (g)			0.14 ± 0.03	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.11 ± 0.03
Heart (g)			0.17 ± 0.02	0.17 ± 0.02	0.20 ± 0.03	0.15 ± 0.01	0.16 ± 0.02
Lung (g)			0.24 ± 0.02	0.16 ± 0.03	0.22 ± 0.03	0.18 ± 0.03	0.20 ± 0.02
Brain (g)			0.50 ± 0.03	0.46 ± 0.05	0.46 ± 0.05	0.45 ± 0.2	0.44 ± 0.03
Testis (g)	Right		0.09 ± 0.04	0.11 ± 0.03	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.03
	Left		0.10 ± 0.01	0.12 ± 0.03	0.11 ± 0.02	0.12 ± 0.01	0.12 ± 0.01
Kidney (g)	Right		0.31 ± 0.05	0.25 ± 0.03	0.27 ± 0.01	0.25 ± 0.04	0.25 ± 0.02
	Left		0.30 ± 0.02	0.25 ± 0.04	0.28 ± 0.03	0.25 ± 0.03	0.26 ± 0.03

Values are presented as mean ± standard deviation (SD).

Table III. Absolute organ weights of female mice treated with combined preparation of *Scutellaria baicalensis* and *Salvia miltiorrhiza*

Parameters	\Sex \Dose (mg/kg)	Female				
		0	5	50	500	2000
Body Weight (g)		27.3 ± 1.49	24.7 ± 1.24	25.8 ± 3.47	27.4 ± 0.92	26.6 ± 3.32
Liver (g)		1.24 ± 0.14	1.20 ± 0.10	1.05 ± 0.63	1.13 ± 0.10	1.25 ± 0.26
Spleen (g)		0.12 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.12 ± 0.02	0.08 ± 0.02	0.10 ± 0.03
Heart (g)		0.12 ± 0.01	0.14 ± 0.04	0.14 ± 0.01	0.12 ± 0.02	0.12 ± 0.03
Lung (g)		0.17 ± 0.02	0.16 ± 0.02	0.20 ± 0.02	0.16 ± 0.03	0.15 ± 0.01
Brain (g)		0.45 ± 0.03	0.39 ± 0.02	0.44 ± 0.04	0.38 ± 0.13	0.46 ± 0.03
Ovary (g)	Right+Left	0.004 ± 0.002	0.005 ± 0.002	0.006 ± 0.002	0.006 ± 0.003	0.005 ± 0.001
Kidney (g)	Right	0.16 ± 0.01	0.15 ± 0.02	0.16 ± 0.03	0.15 ± 0.02	0.15 ± 0.04
	Left	0.17 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.16 ± 0.02	0.17 ± 0.02	0.15 ± 0.02

Values are presented as mean ± standard deviation (SD).

기에 대한 육안적 병변을 관찰한 결과 간, 비장, 생식기, 폐, 심장, 신장 등 관찰된 모든 장기에서 시험물질에 의하여 발생되었다고 인정되는 병리 소견은 발견되지 않았다. 절대적 장기의 무게 (Table II, III) 및 상대적 장기의 무게 또한 유의적인 변화는 없었다.

고 찰

현대의 과학적인 실험결과에 근거하여 경험에 의하여 사용되어오던 많은 생약들의 효능이 검증되면서, 생약추출물로서 건강보조식품, 식품첨가제, 기능성화장품, 및 치료보조제 등 다양한 형태로 그 사용이 증대되고 있다. 그러나 시판되고 있는 생약의 추출물은 일정한 성분이나 규격이 별도로 설정되어 있지 않은 경우가 대다수이며 독성이나 안전성에 대한 평가는 극히 미흡하다.

이에 본 연구는 항염, 항암, 세균성 감염 등 다양한 효과를 나타내는 황금 (黃芩, *Scutellaria baicalensis* GEORGI) 과 항암, 간섬유화 억제, 간보호효과 등의 효과를 갖는 단삼 (丹蔘, *Salvia miltiorrhiza* BUNGE) 추출물의 병용투여에 대한 급성독성학적 안전성을 검증하고자 한다. 황금과 단삼의 각각의 약리학적 작용 및 임상적 이용가치에 대해서는 많은 연구가 진행되었으나 그 안전성과 독성에 관한 정보는 제한적이며, 단미가 아닌 복방으로 많이 사용되는 생약제의 특성상 두 물질의 혼합이 나타낼 수 있는 안전성과 독성에 대한 평가는 더욱 큰 의미를 가질 것이다.

황금은 근래에 발표된 논문에 의하면 항염작용, 항암작용, 상기도 및 소화기계 세균성, 바이러스성 감염에 효과가 있으며, 혈중 콜레스테롤 저하작용, 이노작용, 항섬유화작용 등이 보고되고 있다. 황금에 함유된 성분으로는 baicalein, baicalin, wogonin, wogonin 7-0-glucuronide, oroxylin A, oroxylin A-0-glucuronide 등의 flavone 30여종, phenylethanoid,

amino acid, sterol 및 essential oil 등이 있으며 이중 baicalin, baicalein, wogonin, oroxylin A가 주요 성분이다.¹⁾

황금 중에 가장 많이 존재하는 성분인 baicalein 및 baicalin은 항염⁷⁾, 항암,⁸⁾ 항산화⁹⁾ 및 항사스¹⁰⁾ 등에 효능이 보고된 바 있다. wogonin의 경우 D-galactosamine과 endotoxin에 의해 유도된 TNF- α (tumor necrosis factor- α)의 발현을 낮추어 치사 충격(lethal shock)을 억제하는 효능이 보고되었다. oroxylin A의 경우 대식세포주 RAW264.7에서 liposaccharide에 의해 상승된 iNOS와 COX-2 유전자의 발현을 억제함¹¹⁾이 보고되었다.

황금은 언급한 많은 효과들을 기초로 꾸준히 건강보조식품이나 식품첨가제 등으로 사용되고 있으나, 여러 연구를 통하여 그 독성이 보고되고 있다. 황금 열수 추출물은 용량의존적으로 골격 기형을 유발하였으며, 사용된 용량 중 가장 저용량 (0.25/g/kg)에서도 15.03%의 기형을 유발하였다.¹²⁻¹⁵⁾ 또한 요관확장 기형, 심실 증격 결실, exencephaly, shorting uterus, renal pelvis 확장, 신장 기형 등을 나타내었으며, 90일간 황금을 반복 투여하여 독성을 평가한 결과, 황금 투여 자체에 의한 사망이나 체중 변화는 없었으나, 웅성 동물에서 먹이섭취 감소가 관찰되었다.²⁾ 이는 본 연구진이 수행한 황금의 단회독성평가실험에서 단회투여시 웅성동물에서 체중감소의 감소와 밀접한 연관이 있는 것으로 사료 된다(Data not shown). 황금의 색소 성분인 안트라퀴논, 망상적혈구 분획의 감소가 관찰되었다.¹⁾ 또한 주요 성분인 baicalin, baicalein, wogonin, oroxylin A에 따라서는 각각 다른 면역학적 반응을 나타내기도 확인되었다.¹⁾ 따라서 황금의 임상처방에 주의를 요하며, 복합제 복용을 통한 독성 저감의 연구 등의 황금 사용에 대한 종합적인 연구가 계속되어야 할 것으로 사료된다.

단삼은 tanshinone I, tanshinon IIA, tanshinon IIB, dihydrotanshinone, methyltanshinonate, methylene tanshinquinone, beta-sitosterol, hydroxytanshinone, neotanshinone

A · B · C, isotanshinone I, isocryptotanshinone, miltirone, tanshinol I, tanshinol II 및 vitamin E 등을 성분으로 함유하고 있음이 보고되었다.²⁾

단삼의 여러 성분 중 tanshinone I은 활성화된 간성상세포의 자가사멸을 유도하여 항섬유화 효과를 나타내는 효능이 발표되었으며,¹⁶⁾ tanshinone IIA는 사염화탄소에 의한 간손상 및 간섬유화에 대한 효능¹⁷⁾ 및 간암세포에 대한 항암효과^{18,19)}가 보고되었으며, cryptotanshinone은 cytochrome p450 1A2(CYP1A2)의 억제효능²⁰⁾이 보고되었다.

단삼의 독성에 대한 연구는 제한적이나, 표준화된 단삼 자체의 급성 독성 평가 실험에서 안전한 것으로 알려졌으나,²¹⁾ 체내에서 wafarin과의 상호작용을 통해 출혈을 증가시킬 위험이 있음이 보고되어,²²⁾ 단삼을 함유하고 있는 건강보조식품의 경우 수술을 받아야 하는 환자의 경우 주의가 요구된다.

여러 가지 약리학적 효과를 나타내는 표준화된 황금과 단삼의 병용투여의 급성독성을 평가하기 위하여 식품의약품안전청의 독성시험기준에 근거하여 수행하였다. 시험물질을 단회 경구투여하고 14일간 사망률, 일반증상, 체중변화, 부검소견 및 장기무게를 관찰하였다. 투여된 최고용량인 2,000 mg/kg에서 사망하는 개체가 관찰되지 않았으며, 시험물질의 반수치사량(mean lethal dosage, LD₅₀)은 자웅 랫트 모두에서 2,000 mg/kg을 상회하는 것으로 확인되었다. OECD test guideline 420은 2,000 mg/kg의 용량에서 사망개체가 없는 경우 무독성으로 간주하므로, 표준화된 황금과 단삼의 혼합시료의 안전성을 확인할 수 있었다. 사용한 어떠한 용량에 서도 관찰된 모든 지표에서 표준화된 황금과 단삼의 혼합시료의 투여에 의한 독성은 유발되지 않았다. 결론적으로 자웅성 마우스에 단회 경구투여된 표준화된 황금과 단삼의 혼합시료는 체내에서 안전한 것으로 사료된다.

사 사

이 논문은 2009년도 원광대학교의 교비지원에 의해서 수행됨.

인용문헌

- 정보섭, 신민교 (1990) 도해향약(생약)대사전(식물편), 5001-5009, 도서출판 영림사, 서울.
- 정보섭, 신민교 (1990) 도해향약(생약)대사전(식물편), 860-862, 도서출판 영림사, 서울.
- Sohn, D.H., Kim, Y.C., Park, E. J., and Zhao, Y.-Z. (2006) A purified extract isolated from *Scutellaria baicalensis* GEORGI, a method for preparing them and the composition comprising the same having hepato-protecting activity and protecting or treating activity from liver fibrosis and liver cirrhosis. Korea Patent, 10-2006-0048798.
- Sohn, D.H., Kim, Y.C. and Park E.J. (2007) A purified extract isolated from *Salvia miltiorrhiza*, a method for preparing them and the composition comprising the same having hepato-protecting activity and protecting or treating activity from liver fibrosis and liver cirrhosis. Korea Patent, 10-2007-0113561.
- 식품의약품안전청 (1999) 의약품등의 독성시험기준, 식품의약품안전청고시, 1999-61, 식품의약품안전청.
- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) (2001) OECD Guideline for the Testing of Chemicals revised draft guideline 420.
- Wakabayashi, I. (1999) Inhibitory effects of baicalein and wogonin on lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in macrophages. *Pharmacol. Toxicol.* **84**: 288-291.
- Ikemoto, S., Sugimura, K., Yoshida, N., Yasumoto, R., Wada, S., Yamamoto, K. and Kishimoto, T. (2000) Antitumor effects of *Scutellariae radix* and its components baicalein, baicalin, and wogonin on bladder cancer cell lines. *Urology* **55**: 951-955.
- Hara, H., Sukamoto, T., Ohtaka, H., Abe, K., Tatumi, Y., Saito, Y., Suzuki, A. and Tsukamoto, G. (1992) Effects of baicalein and alpha-tocopherol on lipid peroxidation, free radical scavenging activity and 12-O-tetradecanoylphorbol acetate-induced ear edema. *Eur. J. Pharmacol.* **221**: 193-198.
- Chen, F., Chan, K. H., Jiang, Y., Kao, R. Y., Lu, H. T., Fan, K. W., Cheng, V. C., Tsui, W. H., Hung, I. F., Lee, T. S., Guan, Y., Peiris, J. S. and Yuen, K. Y. (2004) In vitro susceptibility of 10 clinical isolates of SARS coronavirus to selected antiviral compounds. *J. Clin. Virol.* **31**: 69-75.
- Chen, Y., Yang, L. and Lee, T. J. (2000) Oroxylin A inhibition of lipopolysaccharide-induced iNOS and COX-2 gene expression via suppression of nuclear factor-kappaB activation. *Biochem. Pharmacol.* **59**: 1445-1457.
- 노정구, 한상섭, 김용화, 김영구, 김성훈 (1986) 화학물질의 독성 평가 및 방법 개발 보고서 86-10-0227-00-00, 한국화학연구원.
- 노정구, 한상섭, 김용화, 김성훈, 이현걸 (1987) 화학물질의 독성 평가 및 방법 개발 보고서 87-10-0319-00-00, 한국화학연구원.
- 김수현, 이혜영, 김선희, 박석희, 정미숙, 문설희, 이미영, 심용희, 서민수, 문제민, 강대혁, 서형석, 나재범 (2005) 생약(한약) 등의 90일 반복투여독성실험(황금). 독성물질국가관리사업연구보고서 4: 256-280, 식품의약품안전평가원.
- 이종권, 신지순, 이근영, 김형수, 김진호, 엄주호, 조수미, 조연옥, 길정현, 김정래, 전영진, 박귀례 (2004) 생약체제의 in vitro 면역독성연구보고서, 04-N-10, 식품의약품안전평가원.
- Kim, J. Y., Kim, K. M., Nan, J. X., Zhao, Y. Z., Park, P. H., Lee, S. J. and Sohn, D. H. (2003) Introduction of apoptosis by tanshinone I via cytochrome c release in activated hepatic stellate cells. *Pharmacol. Toxicol.* **92**: 195-200.
- Liu, Y., Wang, X. and Liu, Y. (2003) Protective effect of tan-

- shinone IIA on injured primary cultured rat hepatocytes induced by CCL4. *Zhong Yao Cai* **26**: 415-417.
18. Liu, Y., Chen, H. and Jiang, Y. (2002) Effect of tanshinone IIA on CCL4-induced liver fibrosis in rats. *Zhong Yao Cai* **25**: 31-33.
19. Yuan, S. L., Wei, Y. Q., Wang, X. J., Xiao, F., Li, S. F. and Zhang, J. (2004) Growth inhibition and apoptosis induction of tanshinone IIA on human hepatocellular carcinoma cells. *World J. Gastroenterol.* **10**: 2024-2028.
20. Ueng, Y. F., Kuo, Y. H., Peng, H. C., Chen, T. L., Jan, W. C., Peter, G. F. and Lin, Y. L. (2001) Diterpene quinone tanshinone IIA selectivity inhibits mouse and human cytochrome P4501A2. *Xenobiotica* **33**: 603-613.
21. Chang, B. Y., Oh, B. R., Sohn, D. H. and Kim, S.Y. (2008) Single oral toxicity study in the standardized extract of salvia miltiorrhiza. *Kor. J. Pharmacogn.* **39**: 352-356.
22. Chan, T. Y. (2001) Interaction between warfarin and danshen (*Salvia miltiorrhiza*). *Ann Pharmacother.* **35**: 501-504.
- (2011. 7. 29 접수; 2011. 9. 23 심사; 2011. 9. 23 게재확정)