J. Toxicol. Pub. Health
Vol. 14, No. 2, pp. 249-260, 1998

비글개에서 신우황청심원의 급성 및 아급성독성시험

권오경 · 성하정 · 곽형일 · 방명주 · 신대희[1] · 이진영[1] · 박대규[1]
정규혁[2] · 윤효인[3] · 조명행*

서울대학교 수의과대학, [1]조선무약(자) 생명과학연구소,
[2]성균관대학교 약학대학, 충남대학교 수의과대학

Acute and Subacute Toxicity of New Woohwangchungsimwon in Beagle Dogs

Oh-Kyeong Kweon, Ha-Jung Sung, Hyung-Il Kwack, Ming-Zu Fang,
Dae-Hee Shin[1], Jin-Young Lee[1], Dae-Kyu Park[1], Kyu-Hyuck Chung[2],
Hyo-In Yoon[3] and Myung-Haing Cho*

College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea,
[1]Institute of Life Science Research, Cho Seon Pharmaceutical & Trading Co., Kyunggi-do 425-120, Korea,
[2]College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea,
[3]College of Veterinary Medicine, Chungnam National University, Taejon 305-760, Korea
(Received March 11, 1998)
(Accepted April 24, 1998)

***ABSTRACT** : Single and 4 weeks oral administration of New Woohwangchungsimwon (NWCH) which was used l-muscone as substitutive material of musk, to beagle dogs of both sexes were performed to investigate both acute and subacute toxicity. Beagle dogs(3 males and 3 females) in acute experiments were administered orally with single dose of 2,000 mg/kg and groups of 9 male and 9 female beagle dogs in subacute experiments were given daily different dosage of NWCH, 160 mg/kg/day (low dosage group), 400 mg/kg/day (middle dosage group), 1,000 mg/kg/day (high dosage group) once a day for 4 weeks by oral route according to the Established Regulation of Korea Food and Drug Administration (1996. 4. 16). LD_{50} value for beagle dogs was more than 2,000 mg/kg per oral for both male and females. In animals administered with NWCH, there were neither dead animals nor significant changes of body weights. In addition, no differences were found between control and treated groups in clinical sign, urinalysis, eye examination, hematology, serum chemistry, organ weight and other fingings. No histological lesions were observed in both control and treatment groups. Above data strongly suggset that NWCH in beagle dogs is considered to be safe.*

***Key Words** : l-Muscone, New woohwangchungsimwon, Acute toxicity, Subacute toxicity, Beagle dogs*

I. 서 론

우황청심원은 1107년경 태평혜민화제국방에 최초로 수재되었던 처방(진, 1987)으로 제풍, 환종불수, 언어건삽, 심종건망, 황홀거래, 두목현모, 흉중번울, 담연옹색, 정신혼궤, 심기부족, 신지부족, 경공파포, 비우참위, 허번소수, 희로무시, 혹발광전, 정신혼란 등을 치료 한다고 하였으며, 허(1987)는 졸중풍의 구급약으로, 이(1981)는 통관, 투기골지제로 제풍완종, 전광, 소아경간 등에, 황(1977)은 척심열, 몽정, 노학, 은진, 소아조민, 항배강직 등에 응용된다고 하였으며, 염(1975)은 고혈압, 동맥경화증, 자율신경실조증, 정신불안증, 히스테리, 불면 등에 효과가 있다고 하였다.

우황청심원의 주약으로 사용되어 온 사향은 사향사슴(*Moschus moschiferus* L.) 또는 그 밖의 근연동물[우제목(Artiodactyla) 사슴과(Cervidae)]의 수컷의 사향선 분비물로서 강심, 흥분, 개규, 통경, 진정, 진경, 배농,

*To whom correspondence should be addressed

해독, 구어혈 작용이 있어 중풍, 소아경간, 신혼섬, 심복강통, 심장쇠약, 신경쇠약, 월경곤란, 혈전, 질타손상 등의 치료에 사용되어 오고 있다(김, 1984).

그러나, 사향은 전량 외국으로부터 수입에 의존하고 있으며 최근들어 "멸종 위기에 처한 야생 동식물의 국제 거래에 관한 협약(CITES 협약)"이 발효됨에 따라 사향의 수급이 더욱 어려움에 처해 있는 실정에서 사향의 대체약물의 개발이 절실히 요구되어 최근에 사향의 대체약물인 *l*-muscone을 개발하기에 이르렀다.

l-Muscone의 효능효과에 대하여 Cho 등(1997b, 1997c)은 뇌허혈 및 중추신경계에 대하여 *l*-muscone은 사향과 유사한 뇌허혈에 대한 개선작용, 중추신경계에 대해 진정작용, 호흡흥분작용 및 항스트레스작용 등을 관찰하였으며, 심혈관계에 대한 약리연구에서 *l*-muscone이 사향과 유사한 혈관이완작용, 혈압강하 및 심박동수의 감소작용, 심계항진 억제효과 등을 관찰하여 *l*-muscone이 사향의 대체약물이 될 수 있음을 확인하였다. 또한, *l*-muscone을 사향대체물질로하여 제조한 신우황청심원 약리작용을 연구한 결과 우황청심원과 유사한 약리작용이 있음을 확인하였다(Cho 등, 1997a, 1997d).

l-Muscone의 독성에 관한 연구는 Oh 등(1997)에 의해 흰쥐에서의 급성독성 연구에서 경구투여에 의한 LD_{50}은 암수 모두 5.0 g/kg 이상으로, 복강투여에 의한 LD_{50}은 암수 모두 1.92 g/kg로 보고되었으며, 아급성 독성연구에서 최대무해용량이 1.0 g/kg/day 이상일 것으로 보고되었다. 또한 You 등(1997)은 비글개에서의 급성독성 연구에서 경구투여에 의한 LD_{50}은 암수 모두 2.0 g/kg 이상으로 보고하였으며, 아급성 독성연구에서 최대무해용량이 20 mg/kg/day 이상일 것으로 보고하여 거의 무독한 물질로 보고하였다.

본 연구에서는 *l*-muscone을 사향대체물질로하여 제조한 신우황청심원의 독성 유무를 규명하기 위하여 식품의약품안전본부 고시(1996. 4. 16 제정)의 의약품 등의 독성시험기준 제96-8호에 준하여 비글개에서 단회 경구투여에 의한 급성독성 및 4주간 경구 연속 투여에 의한 아급성독성을 평가하였다.

II. 시험재료 및 방법

1. 시험동물 및 사육조건

6개월령의 비글개(Covance, 미국)를 군당 암수 각각 3마리씩을 1주간 기초 사육한 후 실험에 사용하였다. 실험기간중 사육실 환경조건은 실내온도 20±3°C, 상대습도 50±10%, 환기회수 10~12회/hr으로 하였으며, timer를 이용하여 12시간씩 명암을 주기적으로 교환하였고, 조도는 150~300 Lux로 하였다. 모든 동물은 철망케이지(60×40×45 cm, 우정화학)에서 사육하면서 개용 고형사료(퓨리나사료 주식회사)와 상수도를 자유급여하였다.

2. 투여군의 구성, 시험물질의 조제 및 투여경로

시험물질은 조선무약(자)에서 제조된 신우황청심원(NWCH)을 이용하였으며, 시험물질은 투여 직전에 증류수에 균등하게 혼화한 다음 시험에 이용하였다.

1) 급성독성시험

급성독성시험에는 시험물질인 신우황청심원을 증류수에 미세하게 분산시켜 임상투여경로인 경구로 하루 동안 절식시킨 후 stomach tube를 이용하여 1회 투여하였다. 시험물질인 신우황청심원은 한방제제로서 그 독성이 미약할 것으로 사료되어 2,000 mg/kg 투여군과 음성대조군으로 증류수만을 투여하는 0 mg/kg 투여군을 설정하였다.

2) 아급성독성시험

아급성독성시험을 위하여 저용량군에는 160 mg/kg/day, 중용량군에는 400 mg/kg/day, 고용량군에는 1000 mg/kg/day의 시험물질(공비 2.5)을 임상에서의 투여경로와 동일한 경구로 1일 1회 4주간 경구 투여하였다.

3. 관찰 및 검사항목

1) 급성독성시험

가. 일반 증상 및 사망동물의 관찰

투여당일은 투여후 1시간에서 6시간까지 매시간, 투여익일부터 14일까지는 매일 1회 이상씩 일반증상의 변화, 중독증상과 사망동물의 유무를 관찰하였다.

나. 체중측정

시험에 사용된 모든 동물에 대하여 투여 개시전 8, 4일과 투여 개시후 0, 4, 8, 12, 15일에 체중을 측정하였다.

다. 부검소견

모든 생존동물을 sodium barbiturate로 안락사시키고 방혈한 후 육안적으로 모든 내부 장기를 관찰하였다.

라. 혈액학적검사

투여전일 및 부검전에 비글개의 요측피정맥으로부

터 채혈하여 EDTA로 항응고처리하고 적혈구수(RBC), 총백혈구수(WBC)와 감별계산, 헤모글로빈양(Hb), 헤마토크리트치(Hematocrit), 평균적혈구용적(MCV), 평균적혈구혈색소량(MCH), 평균적혈구혈색소농도(MCHC), 혈소판(Platelet) 등을 측정하였다.

마. 혈청생화학적 검사

채취한 혈액의 일부를 실온에 30분간 방치하여 응고 후 원심분리(3,000 rpm, 30 min)하여 얻은 혈청에 대해서 alanine transaminase(ALT), aspartate transminase (AST), alkaline phosphatase(ALP), 총콜레스테롤(total cholesterol), 총단백(total protein), albumin, 혈액뇨소질소(BUN), creatinine, creatinine phosphokinase(CPK), Ca^{++} 및 무기인 등을 검사하였다.

바. 장기중량 측정

전 실험동물의 뇌하수체, 악하선, 갑상선, 흉선, 폐, 심장, 간장, 췌장, 비장, 신장, 부신, 정소, 전립선, 난소, 자궁에 대하여 중량을 측정하고 병리해부시의 체중에 대한 상대중량을 산출하였다.

사. 뇨검사

모든 동물에 대하여 투여개시시와 시험종료 전일에 채뇨한 후, 그 뇨에 대하여 외관과 색을 관찰한 다음, 즉시 뇨검사지를 사용하여 pH, leukocyte, nitrite, 단백(protein), ketone, urobilinogen, bilirubin, 비중, 포도당(glucose) 및 잠혈(blood)을 측정하였다.

아. 병리조직검사

각 실질장기의 일부를 10% 완충 포르말린에 충분히 고정시킨 다음 통상적인 절차에 의하여 자동조직처리기로 조직을 처리한 후 파라핀에 포매하였다. 파라핀 포매조직을 5 μm의 두께로 절편한 다음 hematoxylin & eosin 염색을 실시하여 광학 현미경하에서 관찰하였다.

자. 통계학적 방법

본 실험에서 얻은 측정치의 통계학적 분석은 동일 시점에 대한 대조군과 투여군과의 차이를 Student's *t*-test를 사용하여 실시하였다.

2) 아급성독성시험

가. 일반증상

임상증상으로 식욕부진, 유연, 설사, 구토, 다뇨, 무뇨 및 변상태의 이상 유무를 1일 1회관찰하였다.

나. 사료섭취량 및 음수량 측정

사육상자별로 급여 및 급수 총량과 잔량을 시험개시 후 1일 1회 측정하여 그 차를 사료섭취 및 음수량으로 하였다.

다. 체중측정

모든 동물에 대하여 투여개시일로부터 매주 2회 측정하였다.

라. 안과학적 검사

실험시작 전과 실험기간 중 매주 1회씩 transilluminator를 이용한 동공반사의 유무 및 간접검안경을 이용한 안저검사를 실시하였다. 안저검사에서는 망막 혈관의 출혈유무, 과립의 균질화 그리고 시신경 유두의 상태를 관찰하였다.

마. 혈액학적 및 혈청생화학적 검사

일반 혈액학적 검사는 실험시작전과 최종부검시에 적혈구수(RBC), 총백혈구수(WBC) 와 감별계산, 헤모글로빈, 혈구용적비(PCV), 평균적혈구혈색소량(MCH), 평균적혈구혈색소농도(MCHC), 혈소판(platelet) 등을 검사하였다. 혈청생화학적 검사는 채취한 혈액의 일부를 실온에 30분간 방치하여 응고후 원심분리(3,000 rpm, 30 min)하여 얻은 혈청에 대해서 alanine transaminase(ALT), asparate transminase(AST), alkaline phosphatase(ALP), 혈액뇨소질소(BUN), creatinine, 혈당(blood glucose), 총단백(total protein), albumin, 총콜레스테롤(total cholesterol), calcium, inorganic phosphorus, CPK (creatinin phosphokinase), Na^+, K^+ 및 Cl^- 등을 각각 검사하였다.

바. 혈액응고인자 기능검사

실험 시작전과 최종 부검시 sodium citrate로 항응고처리한 혈액으로 프로트롬빈 시간(prothrombin time)과 활성화 부분 트롬보플라스틴 시간(activated partial thromboplastin time) 등을 검사하였다.

사. 장기 중량

전 시험동물에 대하여 뇌하수체, 악하선, 갑상선, 흉선, 폐, 신장, 간, 심장, 췌장, 비장, 부신, 난소, 고환, 자궁, 전립선 등의 중량을 측정하여 체중에 대한 상대중량을 구하였다.

아. 뇨검사

모든 동물에 대하여 투여개시시와 시험종료 전일에 채뇨한 후, 외관과 색을 관찰한 다음, 즉시 뇨검사지(Combur Test, Boehringer Manheim, Germany)를 사용하여 비중, pH, leukocyte, nitrite, 단백(protein), ketone, bilirubin, 포도당(glucose) 및 잠혈(blood) 등을 측정하였다.

자. 병리조직검사

모든 동물의 각 실질장기의 일부를 10% 완충 포르말린에 충분히 고정시킨 다음 통상적인 절차에 의하여 자동조직처리기로 조직을 처리한 후 파라핀에 포매하였다. 파라핀 포매조직을 5 μm의 두께로 절편한 다음 hematoxylin & eosin 염색을 실시하여 광학 현미경하에서 관찰하였다.

차. 통계학적 방법

체중, 혈액학적 검사, 혈청생화학적 검사 및 장기중량 검사치의 통계학적 분석은 통계처리 computer program인 SAS(statistical analysis system)을 이용하여, 모수 자료의 경우는 ANOVA 분산분석을 실시하여 유의한 F값이 관찰되는 항목에 대하여 Duncan test를 실시하였으며 비모수자료의 경우는 non-parametric one way Kruskal-Wallis test를 실시하여 유의한 H값이 관찰되는 항목에 대하여 distribution-free multiple comparison을 실시하였다.

III. 결 과

1. 급성독성시험

1) 사망율

사망동물은 암 수의 음성 대조군 및 2,000 mg/kg 투여군에서 관찰되지 않았다(Table 1, 2). 이로서 시험물질인 신우황청심원(NWCH)의 비글개에 대한 LD_{50}치는 2,000 mg/kg 이상으로 사료된다.

2) 일반증상

암 수의 음성대조군 및 2,000 mg/kg 투여군 모두에서 특별한 이상 증상이 관찰되지 않았다(Table 3, 4).

3) 체중변화

암 수의 음성대조군 및 2,000 mg/kg 투여군 모두에서 정상적인 체중증가가 관찰되었다(Table 5, 6).

4) 부검소견

암 수의 음성대조군 및 2,000 mg/kg 투여군 모두에서 비정상적인 부검소견이 관찰되지 않았다(Table 7, 8).

Table 1. Mortality of male beagle dogs after oral administration of NWCH

Dose (mg/kg)	No. Dead/ No. Dosing	Number of Deaths														
		Days after Dosing														
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
0	0/3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2,000	0/3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 2. Mortality of female beagle dogs after oral administration of NWCH

Dose (mg/kg)	No. Dead/ No. Dosing	Number of Deaths														
		Days after Dosing														
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
0	0/3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2,000	0/3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 3. Clinical findings of male beagle dogs after oral administration of NWCH

Dose (mg/kg)	Observation	Range
0	Appears Normal	Day 0~Day 14
2,000	Appears Normal	Day 0~Day 14

Table 4. Clinical findings of famale beagle dogs after oral administration of NWCH

Dose (mg/kg)	Observation	Range
0	Appears Normal	Day 0~Day 14
2,000	Appears Normal	Day 0~Day 14

Table 5. Changes of body weights of male beagle dogs after oral administration of NWCH

Dose (mg/kg)	Animal Number	Body Weight (kg)						
		day-8	day-4	day0	day4	day8	day12	day15
0	1	6.8	7.0	7.2	7.2	7.2	7.3	7.2
	2	7.8	7.9	7.8	7.7	7.6	7.6	7.8
	3	7.6	7.4	7.5	7.5	7.6	7.5	7.6
	Mean	7.40	7.43	7.50	7.47	7.47	7.47	7.53
	Std	0.53	0.45	0.30	0.25	0.23	0.15	0.31
2,000	1	6.8	7.0	7.2	7.3	7.2	7.1	7.2
	2	8.1	8.0	8.0	7.9	8.0	8.1	7.9
	3	9.3	9.5	9.4	9.2	9.3	9.0	9.2
	Mean	8.07	8.17	8.20	8.13	8.17	8.07	8.10
	Std	1.25	1.26	1.11	0.97	1.06	0.95	1.01

Table 6. Changes of body weights of female beagle dogs after oral administration of NWCH

Dose (mg/kg)	Animal Number	Body Weight (kg)						
		day-8	day-4	day0	day4	day8	day12	day15
0	1	8.3	8.3	8.2	8.4	8.3	8.0	8.2
	2	6.4	6.9	6.9	7.0	6.9	7.0	7.2
	3	8.5	8.7	8.5	8.7	9.0	9.0	9.0
	Mean	7.73	7.97	7.87	8.09	8.07	8.00	8.13
	Std	1.16	0.95	0.85	0.91	1.07	1.00	0.90
2,000	1	8.5	9.0	8.5	9.0	9.0	9.0	9.0
	2	7.4	7.5	7.5	7.5	7.4	7.8	7.9
	3	8.1	8.1	8.4	8.4	8.4	8.5	8.5
	Mean	8.00	8.20	8.13	8.30	8.27	8.43	8.47
	Std	0.56	0.75	0.55	0.75	0.81	0.60	0.55

Table 7. Gross findings of male beagle dogs after oral administration of NWCH

Dose (mg/kg)	Gross Observation		Frequency	
	Location	Observation	Decedents	Survivors
0	none	-	0	3/3
2,000	none	-	0	3/3

Table 8. Gross findings of female beagle dogs after oral administration of NWCH

Dose (mg/kg)	Gross Observation		Frequency	
	Location	Observation	Decedents	Survivors
0	none	-	0	3/3
2,000	none	-	0	3/3

5) 혈액학적 소견

암 수의 음성대조군 및 2,000 mg/kg 투여군 모두에서 유의할만한 이상 소견이 관찰되지 않았다(Table 9, 10).

6) 혈청생화학적 소견

암 수의 음성대조군 및 2,000 mg/kg 투여군 모두에서 유의할만한 이상 소견이 관찰되지 않았다(Table 11, 12).

7) 상대장기무게 변화

암 수의 음성대조군 및 2,000 mg/kg 투여군 모두에서 유의할만한 이상 소견이 관찰되지 않았다(Table 13).

8) 뇨검사

암 수의 음성대조군 및 2,000 mg/kg 투여군 모두에서 유의할만한 이상 소견이 관찰되지 않았다.

9) 병리소견

대조군에 비하여 투여군에서 별다른 이상을 나타내지 않았다.

2. 아급성독성시험

1) 임상증상 및 폐사율

시험기간중 사망예는 관찰되지 않았고 모든 군에서 소수의 예가 간헐적인 식욕부진 및 설사를 보였으나 그 외에 특이한 임상증상은 관찰할 수 없었다(Table

Table 9. Hematological values before and after oral administration of NWCH in male beagle dogs

Parameter	Control		NWCH	
	Before	After	Before	After
WBC ($10^3/\mu l$)	16.73± 2.05	14.87± 1.29	18.73± 4.50	18.2 ± 2.76
Segment (%)	54.33± 7.51	56.33±10.12	61.33±13.58	63.67± 3.79
Band (%)	2.67± 1.15	1.67± 1.53	2.00± 1.00	3.00± 2.00
Lymphocyte (%)	38.00± 7.55	34.67± 7.57	30.67±14.47	25.67± 6.03
Monocyte (%)	3.00± 1.00	5.33± 1.53	3.67± 1.15	6.00± 1.73
Eosinophil (%)	2.00± 1.00	2.00± 2.00	2.33± 0.58	1.67± 0.58
Basophil (%)	0.00± 0.00	0.00± 0.00	0.00± 0.00	0.00± 0.00
RBC ($10^6/\mu l$)	6.27± 0.34	6.36± 0.27	6.06± 0.89	6.00± 0.90
Hb (g/dL)	14.10± 0.56	14.80± 1.06	13.80± 1.61	13.67± 1.67
HCT (%)	40.40± 2.42	41.23± 2.54	37.50± 4.78	39.2 ± 5.24
MCV (fL)	64.37± 1.07	64.83± 1.75	62.07± 2.75	65.33± 1.29
MCH (pg)	22.50± 1.37	23.27± 0.76	22.83± 0.95	22.87± 2.06
MCHC (%)	35.00± 1.91	35.87± 0.47	36.37± 0.49	34.97± 2.55
PLT ($10^3/\mu l$)	326.00±47.09	316.00±31.95	310.00±38.30	335.33±39.80

WBC, white blood cell; RBC, red blood cell; Hb, hemoglobin; HCT, hematocrit; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT, platelet.

Table 10. Hematological values before and after oral administration of NWCH in female beagle dogs

Parameter	Control		NWCH	
	Before	After	Before	After
WBC ($10^3/\mu l$)	14.27± 1.80	14.07± 0.90	15.57± 1.97	13.27± 1.23
Segment (%)	55.67± 6.43	59.00± 6.24	55.00±13.75	54.33± 3.51
Band (%)	1.33± 1.53	3.00± 2.00	3.33± 1.15	3.33± 1.53
Lymphocyte (%)	36.00± 7.55	34.00± 9.64	35.67±14.22	36.67± 3.51
Monocyte (%)	3.67± 1.15	2.67± 0.58	5.00± 3.00	3.67± 1.53
Eosinophil (%)	3.33± 2.08	1.33± 1.53	1.00± 1.00	2.00± 2.65
Basophil (%)	0.00± 0.00	0.00± 0.00	0.00± 0.00	0.00± 0.00
RBC ($10^6/\mu l$)	6.18± 0.10	6.28± 0.15	6.88± 0.58	6.45± 0.14
Hb (g/dL)	14.77± 0.42	14.37± 0.42	16.03± 0.85	15.20± 0.50
HCT (%)	40.77± 1.43	41.47± 0.99	45.13± 1.78	42.30± 1.37
MCV (fL)	65.93± 1.97	66.10± 2.59	65.70± 3.20	65.63± 3.55
MCH (pg)	23.93± 0.78	22.90± 0.87	23.33± 1.31	23.60± 1.21
MCHC (%)	36.23± 0.64	34.67± 1.80	35.53± 1.20	35.93± 0.21
PLT ($10^3/\mu l$)	321.67±40.65	323.67±25.42	294±90.21	269.67±52.92

WBC, white blood cell; RBC, red blood cell; HCT, hematocrit; Hb, hemoglobin; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT, platelet.

Table 11. Serum biochemical values before and after oral administration of NWCH in male beagle dogs

Parameter	Control		NWCH	
	Before	After	Before	After
TP (g/dL)	5.57± 0.06	5.53± 0.21	5.60± 0.53	5.40± 0.44
Albumin (g/dL)	3.20± 0.20	3.20± 0.17	3.03± 0.21	2.93± 0.12
BUN (mg/dL)	17.33± 2.52	16.67± 1.53	16.67± 2.89	15.00± 3.61
CREAT (mg/dL)	0.67± 0.12	0.67± 0.06	0.63± 0.06	0.67± 0.06
AST (IU/L)	41.00± 6.56	43.33± 7.23	41.00± 5.57	44.33± 8.14
ALT (IU/L)	29.67± 4.93	34.00± 8.19	36.67±15.53	39.33± 16.50
ALP (IU/L)	156.00±27.50	163.00± 5.29	163.67±33.86	174.00± 21.38
CPK (IU/L)	268.33±26.69	293.33±76.64	345.33±173.00	308.67±103.02
CHOL (mg/dL)	157.67±13.01	153.00±22.00	180.00±38.00	158.00± 19.00
P (mg/dL)	6.10± 0.56	5.73± 0.45	6.87± 0.25	6.33± 0.42
Ca (mg/dL)	10.63± 0.38	10.57± 0.57	11.07± 0.49	10.20± 1.22
A/G ratio	1.27± 0.12	1.37± 0.15	1.20± 0.10	1.27± 0.31

TP, total protein; BUN, blood urea nitrogen; CREAT, creatinine; AST, aspartate transaminase; ALT, alanine transaminase; ALP, alkaline phosphatase; CPK, creatinine phosphokinase; CHOL, cholesterol; P, inorganic phosphorus; Ca, calcium; A/G ratio, albumin/globulin ratio.

Table 12. Serum biochemical values before and after oral administration of NWCH in female beagle dogs

Parameter	Control		NWCH	
	Before	After	Before	After
TP (g/dL)	5.70± 0.10	5.63± 0.15	5.77± 0.15	5.77± 0.31
Albumin (g/dL)	3.17± 0.12	3.20± 0.20	3.20± 0.10	3.47± 0.21
BUN (mg/dL)	16.00± 1.00	14.33± 2.08	17.00± 1.73	17.67± 2.52
CREAT (mg/dL)	0.60± 0.10	0.70± 0.10	0.67± 0.06	0.73± 0.06
AST (IU/L)	51.00± 4.00	49.67± 4.93	43.67± 4.16	48.67± 2.52
ALT (IU/L)	33.33± 2.08	34.00± 7.81	29.67± 5.13	37.33± 3.62
ALP (IU/L)	174.00± 7.94	172.33±20.01	195.33±75.26	206.67±69.87
CPK (IU/L)	341.00±49.00	321.33±20.43	381.00±28.79	335.67±45.50
CHOL (mg/dL)	156.67±10.12	158.00±13.89	161.00± 7.94	160.67±16.74
P (mg/dL)	5.93± 0.55	5.90± 0.46	6.17± 0.67	5.77± 0.50
Ca (mg/dL)	10.57± 0.35	10.63± 0.21	10.87± 0.59	10.67± 0.25
A/G ratio	1.27± 0.15	1.33± 0.21	1.23± 0.12	1.50± 0.10

TP, total protein; BUN, blood urea nitrogen; CREAT, creatinine; AST, aspartate transaminase; ALT, alanine transaminase; ALP, alkaline phosphatase; CPK, creatinine phosphokinase; CHOL, cholesterol; P, inorganic phosphorus; Ca, calcium; A/G ratio, albumin/globulin ratio.

14~17).

2) 사료섭취 및 음수량 변화

각 군에서 단발성의 간헐적인 사료섭취량의 저하가 관찰되었으나 전반적인 사료섭취 및 음수량의 변화는 관찰되지 않았다.

3) 체중변화

순조로운 체중증가가 암수 대조군과 투여군 모두에서 관찰되었다. 대조군과 시험물질 투여군 사이에 유

Table 13. Relative organ weights in beagle dogs after oral administration of NWCH (%)

Parameter	Female		Male	
	Control	NWCH	Control	NWCH
Hypophysis (mg/%)	0.54 ±0.13	0.52 ±0.10	0.58 ± 0.07	0.55 ± 0.13
Submandi. gl.	0.09 ±0.00	0.09 ±0.01	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.01
Thyroid gl.	0.009±0.002	0.009±0.002	0.010± 0.001	0.010±0.001
Thymus	0.19 ±0.007	0.12 ±0.04	0.23 ± 0.07	0.20 ± 0.04
Lung	2.00 ±0.05	1.82 ±0.19	2.19 ± 0.18	0.17 ± 0.25
Kidney	0.65 ±0.06	0.61 ±0.04	0.78 ± 0.13	0.73 ± 0.10
Liver	4.57 ±1.05	0.29 ±2.20	4.75 ± 0.16	4.83 ± 0.47
Heart	0.86 ±0.07	0.95 ±0.01	0.99 ± 0.06	0.85 ± 0.05
Pancreas	0.29 ±0.08	0.19 ±0.04	0.24 ± 0.05	0.27 ± 0.07
Spleen	0.26 ±0.04	0.32 ±0.16	0.33 ± 0.11	0.25 ± 0.05
Adrenal gl. (mg/%)	11.58 ±1.91	10.58 ±0.57	12.04 ± 2.13	13.87 ± 2.54
Ovary (testis) (mg/%)	6.63 ±1.12	6.17 ±0.58	92.92 ±20.58	81.23 ±21.88
Uterus (pros.gl) (mg/%)	9.91 ±1.00	9.79 ±0.62	20.87 ±12.13	22.27 ± 3.80

Table 14. Mortality of female beagle dogs after oral administration of NWCH for 4 Weeks

Dose (mg/kg)	No. Dead/ No. Dosing	Number of Deaths				
		Weeks after Dosing				
		0	1	2	3	4
1000	0/3	0	0	0	0	0
400	0/3	0	0	0	0	0
160	0/3	0	0	0	0	0

Table 15. Mortality of male beagle dogs after oral administration of NWCH for 4 Weeks

Dose (mg/kg)	No. Dead/ No. Dosing	Number of Deaths				
		Weeks after Dosing				
		0	1	2	3	4
1000	0/3	0	0	0	0	0
400	0/3	0	0	0	0	0
160	0/3	0	0	0	0	0

Table 16. Clinical findings of female beagle dogs after oral administration of NWCH for 4 Weeks

Dose (mg/kg)	Observation	Range
1000	Appears Normal	Day 0~Day 28
400	Appears Normal	Day 0~Day 28
160	Appears Normal	Day 0~Day 28

Table 17. Clinical findings of male beagle dogs after oral administration of NWCH for 4 Weeks

Dose (mg/kg)	Observation	Range
1000	Appears Normal	Day 0~Day 28
400	Appears Normal	Day 0~Day 28
160	Appears Normal	Day 0~Day 28

의한 변화는 없었다(Table 18, 19).

4) 안과학적 검사소견

대조군과 투여군 모두에서 안저의 이상소견을 발견

Table 18. Changes of body weights of female beagle dogs after oral administration of NWCH for 4 Weeks

Dose (mg/kg)	Animal Number	Body Weights (kg)-weeks										
		-1	-0.5	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4
Control	1	7.0	7.5	7.7	7.8	7.9	8.0	7.9	8.1	8.2	8.3	8.4
	2	7.0	6.9	7.0	7.1	7.3	7.4	7.7	7.8	8.0	8.2	8.2
	3	6.9	7.2	7.0	7.1	7.4	7.3	7.7	8.1	8.1	8.2	8.2
	mean	6.97	7.20	7.23	7.33	7.53	7.57	7.77	8.00	8.10	8.23	8.27
	std	0.06	0.30	0.40	0.40	0.32	0.38	0.12	0.17	0.10	0.06	0.12
1000	1	6.6	6.6	6.9	7.2	7.6	7.6	7.6	7.6	7.8	8.1	8.1
	2	6.4	6.9	7.5	7.6	7.9	8.1	8.2	9.0	9.1	8.9	9.0
	3	6.5	6.7	7.3	7.5	7.7	7.9	7.9	7.4	8.2	8.0	8.0
	mean	6.67	6.77	7.24	7.43	7.73	7.87	7.91	8.00	8.35	8.33	8.37
	std	0.21	0.21	0.32	0.21	0.15	0.25	0.31	0.88	0.65	0.49	0.56
400	1	6.8	7.0	7.8	7.9	7.9	7.9	7.9	7.5	7.8	7.8	7.8
	2	7.0	7.1	7.7	7.9	7.9	7.9	7.9	8.2	8.3	8.3	8.2
	3	6.8	7.7	7.8	7.8	7.8	7.6	7.6	7.9	7.9	8.0	8.0
	mean	6.87	7.28	7.78	7.87	7.87	7.80	7.83	7.89	8.02	8.03	7.98
	std	0.12	0.36	0.04	0.07	0.06	0.17	0.20	0.37	0.28	0.25	0.21
160	1	7.0	7.0	7.8	7.9	7.9	7.9	7.9	8.0	8.4	8.5	8.5
	2	6.9	6.9	7.0	7.1	7.1	7.1	7.2	7.9	8.1	8.3	8.3
	3	7.0	7.2	7.4	7.3	7.4	7.4	7.8	8.1	8.3	8.6	8.6
	mean	6.97	7.05	7.42	7.43	7.43	7.47	7.65	7.99	8.27	8.47	8.46
	std	0.06	0.14	0.38	0.43	0.42	0.40	0.40	0.12	0.18	0.15	0.15

Table 19. Changes of body weights of male beagle dogs after oral administration of NWCH for 4 Weeks

Dose (mg/kg)	Animal Number	Body Weights (kg)-weeks										
		-1	-0.5	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4
Control	1	7.2	6.9	7.3	7.3	7.3	7.3	7.9	7.9	8.5	8.6	9.3
	2	7.3	7.2	8.0	8.0	8.1	8.0	8.6	8.7	9.1	9.3	9.9
	3	7.7	7.4	7.9	7.9	7.7	8.4	8.4	8.6	9.1	9.4	9.9
	mean	7.25	7.05	7.65	7.65	7.70	7.65	8.25	8.30	8.80	8.95	9.60
	std	0.07	0.21	0.49	0.49	0.57	0.49	0.49	0.57	0.42	0.50	0.42
1000	1	8.0	8.7	9.3	9.4	9.5	9.5	10.0	10.7	10.9	10.9	10.9
	2	7.4	8.1	9.0	9.0	9.1	9.1	9.2	10.5	11.7	10.9	11.0
	3	7.7	7.9	8.3	8.3	8.7	8.9	8.9	9.6	9.4	10.2	10.2
	mean	7.72	8.25	8.88	8.92	9.10	9.17	9.38	10.28	10.69	10.67	10.70
	std	0.29	0.42	0.53	0.58	0.40	0.31	0.57	0.60	1.18	0.40	0.44
400	1	7.6	8.1	8.7	8.9	8.9	9.1	9.2	9.3	9.7	9.8	9.8
	2	7.6	8.3	8.5	8.63	8.60	9.0	9.0	9.3	9.3	9.6	9.6
	3	7.4	7.8	8.5	8.6	8.5	9.4	9.1	9.5	9.6	9.6	9.7
	mean	7.54	8.06	8.58	8.70	8.67	9.17	9.08	9.35	9.55	9.67	9.72
	std	0.12	0.25	0.14	0.17	0.21	0.21	0.08	0.13	0.23	0.12	0.12
160	1	7.3	7.3	8.0	8.2	8.6	8.6	8.7	10.4	10.8	10.8	10.8
	2	7.4	7.8	8.0	8.2	8.3	8.8	8.8	10.0	10.3	10.4	10.4
	3	7.5	7.5	7.9	7.9	7.8	8.8	8.8	8.9	9.5	9.5	9.9
	mean	7.40	7.53	7.97	8.09	8.23	8.73	8.77	9.78	10.20	10.23	10.35
	std	0.10	0.25	0.06	0.17	0.04	0.12	0.05	0.79	0.66	0.67	0.43

Table 20. Hematological values before and after oral administeration of NWCH in female beagle dogs for 4 Weeks

Parameter	Control		1000 mg/kg		400 mg/kg		160 mg/kg	
	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
PCV (%)	37.17±1.70	42.27±5.98	37.97±3.06	40.40±3.21	41.73±2.05	45.63±3.54	36.63±1.60	40.50±4.62
Hb (g/dl)	11.80±0.62	13.70±1.47	12.10±0.78	13.10±0.60	13.2±0.72	14.80±1.59	12.33±0.80	12.77±1.46
MCHC (%)	31.77±1.03	32.53±1.15	31.90±1.06	32.35±1.05	31.63±0.15	32.40±0.95	33.90±1.05	31.53±0.06
MCH (pg)	19.05±0.61	20.01±1.96	19.14±0.65	17.85±0.97	18.97±0.10	18.89±2.24	20.19±0.46	18.21±0.33
WBC ($10^3/\mu l$)	9.97±0.85	15.00±2.03	14.03±2.93	14.10±1.20	11.23±2.08	11.40±2.42	8.53±0.58	12.50±3.08
RBC ($10^6/\mu l$)	6.19±0.28	6.84±0.41	6.33±0.51	7.33±0.06	6.96±0.34	7.84±0.16	6.11±0.27	7.02±0.92
PLT ($10^3/\mu l$)	529.00±133.46	482.67±78.26	476.00±145.56	451.67±236.14	510.33±81.52	513.67±114.69	419.33±162.53	497.00±37.40
BASO (%)	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.33±0.58	0.33±0.58	1.00±0.00	0.00±0.00
EOSIN (%)	0.33±0.58	1.33±0.58	0.33±0.58	0.33±0.58	1.33±2.31	2.00±2.00	0.33±0.58	0.67±0.58
SEG (%)	52.33±9.71	71.00±2.00	56.67±2.08	51.33±3.06	58.67±4.16	61.00±7.55	52.00±9.54	66.00±3.00
LYMPHO (%)	32.33±3.79	15.67*±4.16	28.00±4.00	34.67±4.93	23.33±0.58	22.67±1.53	23.33±4.16	24.00±7.02
MONO (%)	15.00±6.00	12.00±2.65	15.00±5.29	13.67±7.23	16.33±5.77	14.00±7.21	23.33±5.69	15.67±11.24

PCV, packed cell volume; Hb, hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; MCH, mean corpuscular hemoglobin; WBC, white blood cell; RBC, red blood cell; PLT, platelet; BASO, basophil; EOSIN, eosinophil; SEG, segmented neutrophil; LYMPHO, lymphocytes; MONO, monocytes.

*Significantly different from before and after oral administration of NWCH ($P<0.05$).

Table 21. Hematological values before and after oral administeration of NWCH in male beagle dogs for 4 Weeks

Parameter	Control		1000 mg/kg		400 mg/kg		160 mg/kg	
	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
PCV (%)	37.50±2.60	43.30±1.27	37.05±0.63	42.80±2.12	38.26±3.15	45.20±1.84	38.90±0.28	42.15±0.07
Hb (g/dl)	12.25±0.64	14.50*±0.42	12.10±0.42	13.6±0.71	12.47±1.12	14.70±0.42	12.75±0.07	13.60±0.28
MCHC (%)	32.70±0.28	33.50±0.00	32.70±0.28	31.75±0.07	32.85±0.15	32.55±0.35	32.80±0.42	32.25±0.64
MCH (pg)	19.62±0.12	20.25±0.43	19.60±0.17	20.82±0.41	19.72±0.11	21.74±1.84	19.65±0.18	20.68±0.55
WBC ($10^3/\mu l$)	10.30±0.50	8.95±0.49	10.05±1.06	10.30±2.12	11.95±2.65	16.45±1.34	10.16±0.40	10.85±2.33
RBC ($10^6/\mu l$)	5.24±1.77	7.16±0.06	6.18±0.27	6.53±0.21	6.39±0.74	6.80±0.77	6.48±0.03	6.58±0.31
PLT ($10^3/\mu l$)	406.00±32.19	345.00±43.84	449.00±12.73	556.00±18.38	411.60±48.74	413.50±116.67	354.33±20.21	502.50±119.50
BASO (%)	0.00±0.00	0.00±0.00	1.00±1.41	0.00±0.00	0.67±1.15	0.50±0.71	0.00±0.00	0.00±0.00
EOSIN (%)	0.30±0.71	1.50±0.71	1.00±0.00	0.00±0.00	0.67±0.57	2.00±0.00	0.33±0.57	3.00±1.41
SEG (%)	47.50±0.71	66.50*±4.95	48.00±0.00	61.00±4.24	54.00±14.10	76.00±8.49	56.00±11.53	70.00±1.41
LYMPHO (%)	31.00±7.07	24.50±10.61	26.00±0.00	27.50±4.95	24.67±11.71	14.00±1.41	26.00±10.00	16.00±4.24
MONO (%)	20.30±4.09	7.00±4.24	23.00±1.41	11.50±0.71	20.00±6.00	7.50±7.78	15.33±1.52	11.00±4.24

PCV, packed cell volume; Hb, hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; MCH, mean corpuscular hemoglobin; WBC, white blood cell; RBC, red blood cell; PLT, platelet; BASO, basophil; EOSIN, eosinophil; SEG, segmented neutrophil; LYMPHO, lymphocytes; MONO, monocytes.

*Significantly different from before and after oral administration of NWCH ($P<0.05$).

Table 22. Prothrombin time in female beagle dogs after oral administration of NWCH for 4 Weeks

	Control		1000 mg/kg		400 mg/kg		160 mg/kg	
	before	after	before	after	before	after	before	after
PT	5.77±0.15	4.80±1.30	5.00±1.32	8.23±6.69	6.70±4.42	4.47±1.79	5.56±0.72	6.37±0.95
APTT	8.00±3.32	9.87±0.42	6.17±4.14	4.03±1.55	6.27±3.37	7.20±2.87	7.27±2.37	9.63±1.99

PT, Prothrombine time; APTT, Activated partial thromboplastin time.

Table 23. Prothrombin time in male beagle dogs after oral administration of NWCH for 4 Weeks

	Control		1000 mg/kg		400 mg/kg		160 mg/kg	
	before	after	before	after	before	after	before	after
PT	5.80±0.85	5.10±0.42	6.10±0.90	7.90±3.39	3.35±0.15	5.25±0.35	9.25±2.83	5.60±0.42
APTT	13.20±3.25	10.55±0.35	9.80±5.70	6.90±4.81	5.85±2.90	14.90±7.50	9.40±1.50	8.80±2.26

PT, Prothrombine time; APTT, Activated partial thromboplastin time.

Table 24. Serum biochemical values before and after oral administeration of NWCH in female beagle dogs for 4 Weeks

Parameter	Control		1000 mg/kg		400 mg/kg		160 mg/kg	
	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
ALT (U/L)	32.73±6.15	23.73±5.59	34.77±5.95	30.97±7.25	36.50±9.50	27.03±3.95	38.17±10.75	35.60±2.75
AST (U/L)	25.50±3.17	29.17±2.37	34.00±5.09	31.73±5.23	32.13±5.74	31.67±1.51	32.43±1.69	44.43±8.08
ALP (U/L)	370.67±28.29	316.67±43.66	425.00±42.57	313.67±41.88	441.67±115.25	363.67±140.63	400.67±115.34	307.00±95.02
BUN (mg/dl)	11.83±3.09	26.50±5.80	13.77±2.28	22.87±5.35	14.30±3.44	19.97±1.53	13.27±2.77	22.70±3.08
Creat. (mg/dl)	0.49±0.05	0.66±0.07	0.53±0.09	0.65±0.06	0.59±0.06	0.73±0.16	0.57±0.06	0.67±0.03
Glucose (mg/dl)	90.67±12.50	88.67±2.08	73.67±1.53	88.67±9.02	76.33±6.43	89.00±3.61	83.33±5.03	98.00±5.29
Albumin (g/dl)	2.52±0.02	2.84±0.08	2.72±0.16	2.90±0.11	2.84±0.20	3.05±0.10	2.75±0.11	2.89±0.18
TP (g/dl)	4.71±0.23	5.45±0.25	5.22±0.05	5.70±0.05	5.48±0.30	5.94±0.24	5.23±0.25	6.00±0.10
A/G ratio	1.16±0.10	1.09±0.04	1.09±0.11	1.04±0.10	1.07±0.05	1.05±0.03	1.11±0.04	0.93±0.09
Chol. (mg/dl)	143.67±23.03	166.67±12.42	141.67±9.09	151.33±11.50	152.67±30.73	208.67±68.53	172.00±39.28	194.00±22.87
Cal. (mg/dl)	11.40±0.51	10.51±0.40	10.73±0.08	10.60±0.13	10.92±0.56	10.46±0.33	10.81±0.24	10.97±0.19
Phosp. (mg/dl)	7.34±0.99	7.41±0.44	6.93±0.51	6.50±0.45	6.54±0.54	7.38±0.59	7.29±0.12	7.66±0.28
CPK (U/L)	183.33±51.50	224.00±2.65	294.67±48.06	258.67±25.74	252.00±52.43	224.00±36.10	274.33±60.18	296.33±38.96
Na^+ (mmol/L)	148.33±1.15	151.00±3.00	148.33±0.58	150.33±4.16	147.33±2.08	163.00±20.88	147.67±0.58	153.67±4.73
K^+ (mmol/L)	5.37±0.21	5.17±0.06	5.23±0.15	5.20±0.17	4.96±0.61	4.70±0.62	5.47±0.06	5.10±0.50
Cl^- (mmol/L)	114.33±2.52	116.00±1.73	113.33±2.08	117.33±3.21	111.33±0.58	115.00±2.65	113.33±1.15	117.33±3.51

ALT, alanine transaminase; AST, aspartate transaminase; ALP, alkaline phosphatase; BUN, blood urea nitrogen; Creat, creatinine; TP, total protein; A/G ratio, albumin/globulin ratio; Chol, cholesterol; Ca, calcium; P, inorganic phosphorus; CPK, creatinine phosphokinase.

Table 25. Serum biochemical values before and after oral administeration of NWCH in male beagle dogs for 4 Weeks

Parameter	Control		1000 mg/kg		400 mg/kg		160 mg/kg	
	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
ALT (U/L)	44.83±2.35	34.70±0.99	36.45±15.20	27.70±6.36	35.85±2.05	27.10±0.28	45.30±3.96	38.25±10.54
AST (U/L)	32.00±0.90	32.60±1.41	30.20±1.27	31.80±0.14	31.50±3.39	28.80±5.94	31.35±2.19	29.05±0.35
ALP (U/L)	436.50±38.50	288.00±35.35	387.00±15.56	316.50±6.36	421.50±26.16	333.00*±24.04	399.00±107.48	296.00±70.71
BUN (mg/dl)	11.93±0.45	22.10**±0.85	10.34±2.05	19.20±4.81	8.33±0.21	17.10**±0.71	9.30±3.11	21.70**±1.70
Creat. (mg/dl)	0.51±0.01	0.58±0.04	0.53±0.02	0.57±0.01	0.53±0.05	0.56±0.05	0.51±0.03	0.56±0.05
Glucose (mg/dl)	93.33±7.50	101.50±2.12	93.50±10.61	97.00±12.73	88.00±4.24	83.50±2.12	85.00±1.41	89.50±16.26
Albumin (g/dl)	2.73±0.12	3.03±0.19	2.76±0.13	3.02±0.01	2.63±0.03	2.88±0.23	2.55±0.08	2.94±0.17
TP (g/dl)	5.45±0.42	6.51±0.32	5.49±0.54	6.36±0.18	5.09±0.12	5.76±0.12	5.01±0.01	5.72±0.23
A/G ratio	1.01±0.06	0.87±0.03	1.01±0.10	0.90±0.04	1.08±0.10	1.00±0.12	1.03±0.06	1.06±0.04
Chol. (mg/dl)	168.33±21.50	220.50±103.94	197.00±9.90	236.00±7.07	188.50±10.61	210.50±3.54	162.00±21.21	182.50±41.72
Cal. (mg/dl)	10.93±0.33	11.30±0.16	11.26±0.96	11.05±0.14	10.50±0.06	10.66±0.33	10.13±0.65	10.63±0.28
Phosp. (mg/dl)	7.53±0.24	7.82±0.10	7.66±0.99	7.23±0.60	6.70±0.28	6.50±0.28	6.87±0.38	7.81**±0.03
CPK (U/L)	247.50±21.50	287.50±122.33	214.50±16.26	267.00±26.87	268.00±62.23	204.00±16.97	242.00±38.18	244.00±28.28
Na^+ (mmol/L)	147.00±2.00	151.50±0.71	150.00±1.41	151.50±3.54	150.00±1.41	152.50±4.95	146.00±1.41	143.00±9.90
K^+ (mmol/L)	5.57±0.15	4.80±0.14	5.60±0.14	5.45±0.21	4.90±0.14	5.25±0.21	5.27±0.15	4.60±0.00
Cl^- (mmol/L)	113.33±1.53	117.00±1.41	112.50±0.71	115.50±0.71	114.00±1.41	117.50±2.12	113.33±1.53	112.00±2.83

ALT, alanine transaminase; AST, aspartate transaminase; ALP, alkaline phosphatase; BUN, blood urea nitrogen; Creat, creatinine; TP, total protein; A/G ratio, albumin/globulin ratio; Chol, cholesterol; Ca, calcium; P, inorganic phosphorus; CPK, creatinine phosphokinase.
**Significantly different from before and after oral administration of NWCH ($P<0.01$).

할 수 없었다.

5) 혈액학적 검사소견

적혈구수, 헤마토크리트치, 헤모글로빈치는 성별에 관계없이 투여전에 비해 증가하는 경향을 보였으나 수컷의 대조군의 헤모글로빈치를 제외하고는 유의적 차이를 보이지 않았다. 그리고 총백혈구수와 감별계산에서 암컷 대조군의 lymphocyte와 수컷대조군의 분절호중구에서 투여전후에 유의성있는 차이를 보였다. 하지만 모두 정상 생리학적인 범위내에 존재함을 알 수 있

Table 26. Urinalysis in female beagle dogs after oral administration of NWCH for 4 Weeks

Parameter	Control		1000 mg/kg		400 mg/kg		160 mg/kg	
	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
gravity	1.025	1.020	1.025	1.021	1.023	1.020	1.035	1.055
	1.030	1.035	1.025	1.022	1.025	1.020	1.030	1.030
	1.035	1.035	1.022	1.032	1.021	1.030	1.030	1.020
pH	6.7	6.5	6.3	6.7	6.7	6.5	6.4	6.8
	6.7	6.5	6.2	6.7	6.8	6.3	6.4	6.8
	6.8	6.8	6.7	6.5	6.5	6.7	6.5	6.4
WBC	-	-	-	-	-	-	-	-
	±	-	-	-	+	-	±	+
	-	-	-	+	-	-	-	-
nitrite	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
protein	-	-	-	-	±	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	+	+	-	+	-	-	-	-
glucose	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
ketone	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
uro-bilinogen	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
bilirubin	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-

Table 27. Urinalysis in male beagle dogs after oral administration of NWCH for 4 Weeks

Parameter	Control		1000 mg/kg		400 mg/kg		160 mg/kg	
	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
gravity	1.025	1.020	1.020	1.025	1.025	1.020	1.040	1.033
	1.021	1.020	1.021	1.025	1.026	1.021	1.050	1.023
	1.030	1.031	1.035	1.034	1.021	1.030	1.023	1.030
pH	6.5	6.8	6.7	6.4	6.8	6.5	6.4	6.5
	6.5	6.8	6.6	6.9	6.1	6.7	6.7	6.8
	6.4	6.7	6.7	6.5	6.5	6.4	6.7	6.6
WBC	-	-	-	-	-	-	-	±
	-	-	-	±	-	-	-	-
	-	-	-	-	+	-	-	-
nitrite	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
protein	-	-	+	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
glucose	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
ketone	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
uro-bilinogen	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
bilirubin	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-

Table 28. Relative organ weights in beagle dogs after oral administration of NWCH for 4 Weeks (%)

Parameter	Female				Male			
	Control	1000 mg/kg	400 mg/kg	160 mg/kg	Control	1000 mg/kg	400 mg/kg	160 mg/kg
BW (kg)	8.27±0.12	8.37±0.56	7.98±0.21	8.46±0.15	9.60±0.42	10.70±0.44	9.72±0.12	10.35±0.43
Pituitary gl. (mg%)	0.52±0.00	0.52±0.00	0.59±0.00	0.59±0.13	0.44±0.06	0.50±0.09	0.48±0.10	0.48±0.43
Submandi. gl.	0.09±0.01	0.09±0.00	0.09±0.00	0.09±0.00	0.07±0.06	0.07±0.008	0.08±0.005	0.07±0.07
Thyroid gl.	0.008±0.001	0.010±0.001	0.010±0.001	0.009±0.002	0.008±0.010	0.009±0.001	0.010±0.003	0.008±0.010
Thymus	0.18±0.04	0.15±0.01	0.19±0.02	0.15±0.01	0.16±0.04	0.14±0.01	0.13±0.01	0.14±0.01
Lung	1.96±0.21	1.93±0.16	1.84±0.21	1.53±0.18	1.68±0.16	1.33±0.05	1.70±0.36	1.67±0.04
Kidney	0.62±0.02	0.62±0.16	0.70±0.04	0.59±0.03	0.61±0.08	0.68±0.10	0.71±0.07	0.67±0.08
Liver	4.42±0.53	3.86±0.26	3.37±1.15	3.55±0.40	3.76±0.23	3.20±0.34	4.07±0.40	3.37±0.89
Heart	0.84±0.03	0.75±0.03	0.79±0.05	0.68±0.05	0.77±0.04	0.80±0.03	0.80±0.02	0.73±0.02
Pancreas	0.29±0.03	0.22±0.01	0.20±0.01	0.23±0.02	0.19±0.03	0.22±0.02	0.21±0.04	0.19±0.04
Spleen	0.29±0.10	0.21±0.04	0.27±0.03	0.24±0.04	0.27±0.06	0.31±0.01	0.32±0.04	0.28±0.03
Adrenal gl. (mg%)	14.56±1.22	13.64±2.56	12.12±0.22	11.94±1.95	11.92±1.93	8.54±0.38	11.14±1.59	8.64±0.40
Ovary (testis) (mg%)	11.63±2.77	11.00±1.23	12.17±0.53	11.42±0.21	37.12±5.03	35.23±2.34	44.91±1.99	36.30±3.64
Uterus (pr.gl) (mg%)	32.84±3.05	27.23±2.19	32.81±6.75	26.34±2.20	14.26±2.63	14.19±1.22	13.63±3.60	15.22±2.83

BW, body weight.

Table 29. Gross findings of female beagle dogs after oral administration of NWCH for 4 Weeks

Dose (mg/kg)	Gross Observation		Frequency	
	Location	Observation	Decedents	Survivors
1000	none	-	0	3/3
400	none	-	0	3/3
160	none	-	0	3/3

Table 30. Gross findings of male beagle dogs after oral administration of NWCH for 4 Weeks

Dose (mg/kg)	Gross Observation		Frequency	
	Location	Observation	Decedents	Survivors
1000	none	-	0	3/3
400	none	-	0	3/3
160	none	-	0	3/3

었다(Table 20, 21).

6) 혈액응고인자 기능검사소견

혈액응고인자의 기능검사인 PT와 APTT치는 대조군에 비하여 투여군 모두에서 유의할만한 변화를 나타내지 않았다(Table 22, 23).

7) 혈청생화학 검사소견

수컷 중용량군에서 ALP치가 투여전보다 유의적으로 저하되었다. BUN치는 수컷 대조군과 중 소용량군에있어 유의성있는 변화를 나타내었다. 무기인치는 수컷의 저용량투여군에서 유의적으로 증가하였다. 그러나 ALP, BUN 및 무기인치의 유의적인 변화는 모두 정상생리범위내였다(Table 24, 25).

8) 뇨검사 소견

대조군과 투여군 모두에서 이상을 발견할 수 없었다(Table 26, 27).

9) 각 장기의 중량 및 체중에 대한 상대중량

대조군에 비해 투여군 모두에서 절대장기중량 및 체중에 대한 각 장기의 상대중량비에서 어떠한 변화도 관찰하지 못하였다(Table 28).

10) 병리조직검사 소견

대조군과 비교하여 약물투여로 인한 어떠한 변화도 관찰할 수 없었다(Table 29, 30).

IV. 고찰 및 결론

시험물질인 신우황청심원을 비글개에 암 · 수 각각 0 및 2,000 mg/kg의 용량으로 경구투여하고 14일간의 사망율, 일반증상, 혈액학적변화, 혈청생화학적변화, 체중의 변화, 장기무게 및 부검소견을 관찰한 결과 시험물질의 투여로 기인되는 변화는 전혀 관찰되지 않았다.

신우황청심원의 비글개에서의 경구 투여에 대한 아급성독성시험을 실시한 결과, 최고 1000 mg/kg/day까지 4주간 연속투여하였을 때 시험기간중 체중변화, 식욕 등을 비롯한 특이한 임상증상을 나타내지 않았으며 혈액학 및 혈청생화학 검사결과 신우황청심원 투여군에서 일부 유의성있는 수치의 증가가 나타났으나 모두 정상적인 범위내에 존재하는 것으로 미루어보아 간 및 신장기능의 이상 변화를 초래하지 않는 것을 알 수 있었다. 혈액응고인자 기능검사, 뇨검사 등에서도 대조군에 비하여 유의적인 변화를 관찰할 수 없었다. 부검을 실시한 모든 개체에서 육안 및 병리조직학적인 검사에서 특이한 병리적인 변화를 관찰할 수 없었다.

이상의 결과로 보아 비글개에서 시험물질인 신우황청심원의 LD_{50}값은 모두 2,000 mg/kg 이상으로 사료되며, 4주간 경구투여시 1,000 mg/kg/day까지는 뚜렷한 독성을 나타내지 않는 것으로 사료된다.

참고문헌

Cho, T.S., Lee, S.M., Kim, N.D., Huh, I.H., Ahn, H,S., Kwon, K.I., Park, S.K., Shim, S.H., Shin, D.H. and Park, D.K.: Pharmacological Actions of New Woohwangsimwon Pill on Cardiovascular System, *Yakhak Hoeji*, **41**, 802-816, 1997a.

Cho, T.S., Lee, S.M., Kim, N.D., Huh, I.H., Kwon, K.I., Park, S.K., Shim, S.H., Shin, D.H. and Park, D.K.: Pharmacological Actions of *l*-Muscone on Cardiovascular System, *J. Appl. Pharmacol.* **5**, 299-305, 1997b.

Cho, T.S., Lee, S.M., Lee, E.B., Cho, S.I., Kim, Y.K., Shin, D.H. and Park, D.K.: Pharmacological Actions of l-Muscone on Cerebral Ischemia and Central Nervous System, *J. Appl. Pharmacol.*, **5**, 306-315, 1997c.

Cho, T.S., Lee, S.M., Lee, E.B., Cho, S.I., Kim, Y.K., Shin, D.H. and Park, D.K.: Pharmacological Actions of New Woohwangsimwon Pill on Cerebral Ischemia and Central Nervous System, *Yakhak Hoeji*, **41**, 817-828, 1997d.

Oh, S.M., Yeon, J.D., Nam, H.Y., Park, D.K., Cho, M. H. and Chung, K.H.: Acute and Subacute Toxicity Studies of *l*-Muscone in Rats, *Kor. J. Toxicol.*, **13**, 435-447, 1997.

You, A.S., Kweon, O.K., Sung, H.J., Kwak, H.I., Fang, M.Z., Park, D.K., Chung, K.H, Yoon, H.I. and

Cho, M.H.: Acute and Subacute Toxicity of *l*-Muscone in Beagle Dogs, *Kor. J. Toxicol.*, **13**, 449-460, 1997.
김재길: 원색천연약물대사전, 남산당 2, p. 345, 1984.
염태환: 동의처방대전, 행림서원, 196, p. 332, 1975.
의약품등의 안전성 · 유효성심사에 관한 규정(1997. 7. 31.), 보건복지부, 일반독성과, 식품의약품안전본부 고시(1996. 4. 16 제정)의 의약품등의 독성시험기준 제96-8호.
이 천: 의학입문, 대성문화사, p. 215, 1981.
진사문: 태평혜민화제국방, 선풍출판사, 대북 p. 81, 1987.
허 준: 원본동의보감, 신증판, 남산당, p. 692, 1987.
황도연: 방약합편, 행림출판사, p. 102, 1977.