

솔잎추출물의 랫트에 대한 단기 급성경구 독성시험

최명달, 김동호*, 김재홍*, 김승호*
대한약사회, *생명공학 연구소

Short-term Oral Toxicity Test of the Pine Needle Extracts in Rat

Myong-Dal Choi, Dong-Ho Kim*, Jae-Heung Kim* and Seung-Ho Kim*

The Korea Pharmaceutical Association

*Protein Function Research Unit, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology,

Abstract

The short-term toxicity tests of the pine needle extracts, which have been utilized for traditional remedies were examined. The pine extracts were injected into rats according to the method of intrastomachic administration at a dosage of 10 g/kg, and then the rats were brought up for 14 days. Following the period, death practice was not detected and LD₅₀ was calculated by >10 g/kg. And, there were no significant difference in the growth rate and histological observations compared to the control group. So, the pine extract was evaluated for safety reagent on rapid toxicity and side effect to the rat.

Key words : Pine needle, toxicity

서 론

소나무(*Pinus densiflora* Siebold et Zuccarini)는 예로부터 구황작물 뿐 아니라 약용식물로도 널리 이용되어 왔으며 동의보감 등의 전통 의학서에 따르면 솔잎은 중풍, 동맥경화, 고혈압과 같은 심혈관계질환, 그리고 위장질환, 비뇨기질환, 피부질환, 간장질환, 당뇨, 탈모 등에 유용한 효능을 보인다고 알려져 있다. 따라서 우리나라 삼림의 대표적인 수종이면서도 목재로서의 활용성이 떨어지는 소나무를 의약이나 식품에 관련된 생물자원으로 개발하려는 노력이 여러 방향으로 시도되고 있다. 이와 관련하여 추출물의 항산화성⁽¹⁾, 돌연변이 억제효과⁽²⁾, 지질대사 관련효과⁽³⁻⁵⁾, 암세포 성장억제효과⁽⁶⁾ 등의 임상연구^(7,8) 결과가 보고된바 있으며 솔잎으로부터 직접 유용성분을 분리하여 항산화 성분인 furenone 화합물⁽¹⁾, 항미생물 활성을 갖는 benzoic acid⁽⁹⁾나 cinnamic acid⁽¹⁰⁾ 등의 기능성을 살펴 보기도 하였다. 또한, 솔잎추출물을 기능성식품의 소재로 사용하기 위한 연구도 진행되어 쿠키, 캔디, 껌 등에 솔잎추출물을 첨가하였을 때 기호도가 향상되었다는 보고⁽¹¹⁾와 함께 솔잎 추출물을 이용한 제빵 적성에

관한 보고⁽¹²⁾ 등이 발표되었고 이러한 연구결과에 기초하여 최근 음료, 껌, 기능성 식품 등이 상품화되어 시중에 판매되고 있다. 이러한 솔잎 추출물을 식품이나 의약품의 소재로 이용하기 위해서는 추출물의 성분분석, 안전성평가와 같은 상세한 기초자료가 필요하나 아직까지도 이 분야의 연구는 미흡한 형편이다.

따라서 본 논문에서는 솔잎 추출물의 안전성을 평가하기 위한 연구의 한 분야로서 기존의 용매추출이나 열수추출과는 달리 진류방식으로 분획한 솔잎 추출물에 대하여 rat를 이용한 단기 경구독성시험을 '식품의약품 등의 독성시험기준' (1996년 식품의약품 안전본부 고시 제96-8호)에 따라 실시하고 그 결과를 보고한다.

재료 및 방법

시료추출

소나무(*Pinus densiflora*) 잎은 1998년 5월에 경상북도의 팔공산에서 채취하여 물로 세척한 후 20°C에서 30분간 풍건하여 사용하였으며 시료는 진류추출방법으로 150°C에서 12시간 증류하여 추출하였다.

Rat에 대한 단기 독성시험

실험 Rat는 Sprague-Dawley(SD)계의 것으로 5~6주

Corresponding author : Seung-Ho Kim, Protein Function Research Unit, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Yusong, Taejeon 305-600, Korea

Table 1. Classification of test groups of the rat in this study

Reagent	Group	Sex	Population	Rat No.	Dosage (mg/kg B.W.)	Oral Ad. vol. (ml/kg B.W.)
Pine needle extract	AT1	M	5	ATM1-ATM5	10,000	10
		F	5	ATF1-ATF5		
	AT2	M	5	ATM6-ATM10	5,000	10
		F	5	ATF6-ATF10		
	AT3	M	5	ATM11-ATM15	2,500	10
		F	5	ATF11-ATF15		
	AT4	M	5	ATM16-ATM20	1,250	10
		F	5	ATF16-ATF20		
	AT5	M	5	ATM21-ATM25	625	10
		F	5	ATF21-ATF25		
Distilled water	AT6	M	5	ATM26-ATM30	0	10
		F	5	ATF26-ATF30		

A : acute, T : toxicity, M : male, F : female

B.W. : body weight

Ad : administration

Table 2. Changes of body weight in SD rats administered orally with pine needle extract

Sex	Days	Groups							
		AT1	AT2	AT3	AT4	AT5	AT6		
M	0	Mean	200.02	199.04	198.78	200.13	199.65	199.82	
		S.D.	±5.05	±6.40	±4.69	±5.81	±5.91	±5.93	
		N	5	5	5	5	5	5	
	7	Mean	216.70	216.10	219.48	218.45	219.35	221.28	
		S.D. ±5.91	±5.42	±4.83	±6.24	±6.03	±6.32		
		N	5	5	5	5	5	5	
	14	Mean	226.86	227.90	227.56	228.47	229.55	231.92	
		S.D.	±7.04	±5.13	±5.37	±6.18	±5.96	±6.24	
		N	5	5	5	5	5	5	
	F	0	Mean	154.82	155.88	154.58	155.76	155.67	154.65
			S.D.	±4.69	±4.50	±4.94	±4.68	±4.72	±5.90
			N	5	5	5	5	5	5
7		Mean	171.80	172.80	172.23	171.21	173.57	175.85	
		S.D.	±5.79	±5.41	±4.91	±5.43	±6.15	±5.17	
		N	5	5	5	5	5	5	
14		Mean	197.88	198.14	198.32	201.46	199.57	202.50	
		S.D.	±6.31	±5.54	±5.17	±6.11	±6.61	±6.78	
		N	5	5	5	5	5	5	

A : acute, T : toxicity, M : male, F : female

N : Number of rats examined

Values represent : mean (grams) ± S.D.

령의 암컷(155±7 g)과 수컷(195±7 g) 각각 30마리를 한국화학연구소 안전성연구센터에서 분양 받아 사용하였다. Rat는 온도 23±2°C, 상대습도 55±5%, 조도 150~300 Lux의 사육실에서 사육하였으며 사육밀도는 각각의 polycarbonate 상자(220×320×170 mm)에 5마리씩으로 하였고 실험동물용 고형사료(삼양사료)와 음수는 자유섭취 시켰다. 시료는 체중 kg당 10 g을 최고 용량으로 설정하고 이 용량을 기준으로 하여 연속적

으로 주사용 증류수에 1/2씩 희석한 다음 이를 5개의 실험군에 투여하였으며 대조군에는 주사용 증류수만을 투여하였다. 투여방식은 주입기를 이용한 위장내 투입 방식으로 하였으며 투여량에 따른 실험군의 구성은 Table 1과 같다. 시료 투여후 증독증상, 운동성, 외관을 14일까지 관찰하였으며 투여 직전, 투여 7일후, 그리고 부검 직전인 14일의 3회에 걸쳐 모든 rat의 체중을 측정하였다. 시험 종료시 rat를 에테르 마취로 방혈

Table 3. Gross findings of necropsy in SD rats administered orally with pine needle extract

Organ		Groups					
		AT1	AT2	AT3	AT4	AT5	AT6
Brain	No. of observation	10	10	10	10	10	10
	Gross findings	0	0	0	0	0	0
Kidney	No. of observation	10	10	10	10	10	10
	Gross findings	0	0	0	0	0	0
Heart	No. of observation	10	10	10	10	0	0
	Gross findings	0	0	0	0	0	0
Lung	No. of observation	10	10	10	10	10	10
	Gross findings	0	0	0	0	0	0
Liver	No. of observation	10	10	10	10	10	10
	Gross findings	0	0	0	0	0	0
Stomach	No. of observation	10	10	10	10	10	10
	Gross findings	0	0	0	0	0	0
Intestine	No. of observation	10	10	10	10	10	10
	Gross findings	0	0	0	0	0	0
Testis	No. of observation	5	5	5	5	5	5
	Gross findings	0	0	0	0	0	0
Ovary	No. of observation	5	5	5	5	5	5
	Gross findings	0	0	0	0	0	0

치사시켜 부검을 통한 육안관찰로 신장, 심장, 폐, 위, 소장, 난소 등의 장기를 검사하였다. LD₅₀ 값의 산출은 Litchfield-Wilcoxon법으로, 체중에 대한 유의성 검증은 ANOVA 분석과 Dunnett's t-test로, 발생병변의 빈도는 chi-square test를 적용하여 계산하였다.

결과 및 고찰

본 실험에서 제조한 솔잎 추출물을 rat에 경구 투여한 결과, 최고 투여용량인 체중 kg당 10g(투여액량 10g/kg B.W.)의 시험기간에서도 rat의 사망예가 관찰되지 않아 LD₅₀ 값의 산정은 불가능하였으며 시료 투여 후 rat의 운동상태, 외관변화 등도 솔잎추출물에 의한 것으로 여겨지는 특별한 소견이 관찰되지 않았다. 실험 rat의 체중은 시험기간인 14일 동안 수컷은 약 30g, 암컷은 약 45g 씩 증가하였고 대조군에 비하여 솔잎추출물을 투여한 실험군에서 약간의 체중감소 소견이 관찰되었으나 각 실험군간에 유의성 있는 차이는 나타나지 않았다(Table 2). 실험완료 후 rat를 부검하여 뇌, 신장, 심장, 폐, 간, 위, 장, 정소, 난소 등의 장기를 관찰한 결과 유의할만한 병변이나 솔잎 추출물의 투여에 기인한다고 사료되는 소견이 관찰되지 않았다(Table 3). 이러한 결과로 보아 본 실험에 사용된 건류 증류방식의 솔잎 추출물은 LD₅₀값이 rat 체중 kg당 10g 이상이며 rat에서 독성을 유발하지 않는 안전한 제제로 평가되었다. 그러나 솔잎 추출물을 보다 유

용한 생물학적 소재로 개발하기 위해서는 추출방법에 따른 성분의 차이나 각 성분들의 생리학적 유용성의 검증, 독성 등에 관한 세부적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

요 약

솔잎추출물의 rat에 대한 단기 급성경구독성을 평가하기 위하여 체중 kg당 최고 10g의 솔잎 추출물을 rat의 위에 직접 투입하여 14일간 관찰하였다. 실험 결과 모든 실험군에서 사망예가 관찰되지 않아 LD₅₀은 10g/kg B.W. 이상으로 계산되었으며 임상중상이나 체중, 부검에서도 유의할만한 소견이 관찰되지 않았다. 따라서 본 실험의 솔잎 추출물은 rat에 있어서 단기 급성 경구독성이나 부작용을 유발하지 않는 소재로 평가되었다.

참고문헌

1. Boo, Y.C., Jeon, C.O. and Oh, J.Y. Isolation of 4-hydroxy-5-3[2H]-furanone from pine needles as an antioxidative principle. Agric. Chem. Biotech. 37: 310-314 (1994)
2. Kim, E.J., Jung, S.W., Choi, K.P., Ham, S.S. and Kang, H.Y. Inhibitory effect of main pine needle extracts on the chemically induced mutagenicity. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 450-455 (1998)
3. Kim, J.D., Yoon, T.H., Choi, N., Im, K.J., Ju, J.S. and

- Lee, S.Y. Effect of dietary supplementation with pine leaf on lipid parameters in rats. *Kor. J. Gerontol.* 1: 47-50 (1991)
4. Kang, Y.H., Park, Y.K., Ha, T.Y. and Moon, K.D. Effects of pine needle extracts on serum and liver lipid contents in rats fed high fat diet. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 25: 367-373 (1996)
5. Kang, Y.H., Park, Y.K., Ha, T.Y. and Moon, K.D. Effects of pine needle extracts on enzyme activities of serum and liver, and liver morphology in rats fed high fat diet. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 25: 374-378 (1996)
6. Lee, Y.H., Choi, Y.S. and Lee, S.Y. The cholesterol lowering effects of the extracts from *pinus strobus* chickens. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 25: 188-192 (1996)
7. Kang, Y.H., Park, Y.K., Oh, S.R. and Moon, K.D. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27: 978-984 (1995)
8. Kim, E.J., Jung, S.W., Choi, K.P., Ham, S.S. and Kang, H.Y. Cytotoxic effect of the pine needle extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 213-217 (1998)
9. Kuk, J.H., Ma, S.J. and Park, K.H. Isolation and characterization of benzoic acid with antimicrobial activity from needle of *Pinus densiflora*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 204-210 (1997)
10. Kuk, J.H., Ma, S.J. and Park, K.H. Isolation and characterization of cinnamic acid with antimicrobial activity from needle of *Pinus densiflora*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 823-826 (1997)
11. Lee, Y.H., Choi, Y.S. and Lee, S.Y. Development of the health foods containing the extract from *pinus strobus* leave. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 25: 379-383 (1996)
12. Kim, E.J. and Kim, S.M. Bread properties utilizing extracts of pine needle according to preparation method. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 542-547 (1998)

(1999년 4월 20일 접수)