

랫드에서 *Pueraria mirifica* 추출물의 주산기 및 수유기시험

양세란 · 조성대 · 조종호 · 김경배 · 이지해 · 안남식 · 정지원 · 박준석 · 이영순 · 강경선
서울대학교 수의과대학 공중보건학교실

Peri- and Post-natal Study of *Pueraria mirifica* Extract in Rats

Se-Ran Yang, Sung-Dae Cho, Jong-Ho Cho, Kyung-Bae Kim, Ji-Hae Lee, Nam-Shik Ahn,
Ji-Won Jung, Joon-Suk Park, Yong-Soon Lee and Kyung-Sun Kang
Department of Veterinary Public Health, College of Veterinary Medicine,
Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

(Received May 15, 2002 / Accepted June 28, 2002)

ABSTRACT : To evaluate the modifying effect of Kwao Kru, *Pueraria mirifica* (PM) well-known as a rejuvenating folk medicine from Thailand, peri- and post-natal studies were carried out in rats. PM extract was administered to pregnant Sprague Dawley (SD) rats by oral gavage from gestation 6 (GD 6) to postnatal day 21 (PND 21). The amount of administered in this study was 0.042, 0.42 and 4.2 mg/kg/day, respectively. There were no treatment related changes of dams in deaths, clinical signs, and parturition. Treatment related changes in body weight, food consumption and lactation of dams were not observed. F1 fetuses in external abnormality, physical development, reflex/sensory functions and behavioral development were not found. No adults and F1 fetuses in organ weight was found with the exception of vagina and uterus of F1 fetuses. The results showed that PM extract, up to 4.2 mg, had no adverse effects on the peri- and post-natal development of rats. Therefore, PM extract has no adverse effects on peri- and post-natal development of rats.

Keywords : Peri- and post-natal study, *Pueraria mirifica* extract, Sprague Dawley (SD) rat, F1

서 론

Pueraria mirifica(PM)는 태국에서 White Kwao Kru라고 알려져 있으며, 콩과(Leguminosae, Papilionoideae) 식물에 속하며 특히 칩 (Pueraria lobata)과 매우 비슷한 식물로서, 태국 북쪽, 서쪽 지역의 해발 300~800미터의 숲에 풍부하게 존재하며 뿌리부분을 생약으로서 이용한다(Zava *et al.*, 1997, Chansakaow *et al.*, 2000). 태국에서는 PM이 회춘제로서 특히 40~50대 혹은 폐경기 여성에게서 부족한 자연 에스트로젠(에스트로젠 호르몬)을 대체하여 주름진 피부, 골다공증, 노화, 갱년기 장애 등에 상당한 효과가 있다고 하여(Blum *et al.*; 2001; Figueras *et al.*, 2001) 현재 젤이나 크림 등의 화장품과 캡슐 형태 등의 건강식품으로 상업적인 판매가 이루어지고 있다.

PM은 유효성분으로서 miroestrol, deoxymiroestrol, daidzin, gestein, puerarin과 같은 여러 가지의 phytoestrogen을 함유

하고 있기 때문에 이러한 유효 성분의 단리를 통한 생리 활성 연구가 이루어지고 있다. 특히, miroestrol 성분이나 deoxymiroestrol 성분의 경우, estradiol과 비슷한 높은 에스트로젠 활성을 나타낸다고 보고되어져 있다. Deoxymiroestrol은 쉽게 산화가 일어나 miroestrol로 변화되기 때문에 실제 PM의 에스트로젠 활성을 나타내는 화합물이 deoxymiroestrol이라고 하는 연구결과가 최근에 발표되어 있다(Cain, 1960; Chansakaow *et al.*, 2000). 따라서 이 식물의 뿌리에는 이 두 가지 성분이 동시에 존재하는 것이 아닌지 추정되고 있다.

본 연구에서는 PM이 생체에 적용되었을 경우 사람의 생식·발생과정에 있어서 어떠한 영향을 미치는 지에 대한 안전성을 검토하며 과학적 근거를 마련하기 위한 방법의 하나로, PM을 랫드의 주산·수유기(임신 6일~분만후 21일)에 투여하여 수태저해, 임신의 유지와 분만, 보육 등 모체에 미치는 영향과 차세대의 유산과 발육 지연 및 기형 발생등의 영향, 나아가 출생 후 성장과 발달에 대한 영향(박 등, 2001)을 '의약품등의 독성시험기준(국립보건안전연구원, 1999)'에 따라 시험, 평가하고자 하였다.

*To whom correspondence should be addressed

재료 및 방법

시험 물질

(주)제일제당 생활화학연구소에서 추출한 PM extract는 whole PM 중 42 g이 추출되며, PM extract는 용매인 propylene glycol에 15%의 농도로 용해되어 있었다.

실험 동물 및 사육 조건

실험동물은 (주)바이오 제노믹스에서 임신 0일령의 암컷을 직접 구입하여 순화기간없이 시험에 사용하였으며, 각군당 암컷 10마리로 배치하여 임신기간동안 폴리카보네이트 사육상자에 1케이지에 1수씩 넣어 사육하였다. 사육실은 온도 $22 \pm 3^\circ\text{C}$, 상대습도 $55 \pm 5\%$, 환기횟수 10~12회/hr, 명암주기 12시간, 조도 150~200lux로 유지하였으며 순화기간 및 시험기간 중에는 실험동물용 고품사료(삼양사 배합사료)를 섭취시켰으며, 음수는 상수도를 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였다.

시험군 설정, 용량 및 투여

임신통물의 군분리는 SAS(Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., NC, USA)를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 분리하였으며 투여는 임신 6일부터 분만 후 21일까지 매일 오전에 경구 투여하였다. 투여량은 본 실험에서 PM extract는 임상예정용량인 0.42 mg/kg/day PM extract를 중간 용량군으로 정하고, 공비 ($\times 10$)로 저용량군과 고용량군을 정하였다.

관찰항목

1) 모체에 미치는 영향

체중과 사료소비량은 임신 0, 7, 14, 17, 19, 21일 및 분만 후 4, 7, 14, 21일에 측정하였으며, 분만시 상태는 임신 20일에 깔짚을 두툼하게 넣어주고 난산, 이상분만 징후, 분만기간의 지연 등에 주의하여 수시로 분만경과를 관찰하였으며, 유즙분비능은 분만당일에 관찰하였으며, 신생자가 유즙을 섭취한 것은 위(stomach)안의 유즙이 피부표면 위로 하얗게 점처럼 보이는 것으로 확인하였다. 또한 유즙분비 능력을 2회 점검하였다. 보육본능은 수유기동안 모체가 태자를 식살하거나 수유하지 않는 경우를 관찰하였다.

분만후 21일째에 부검을 실시하고 장기무게를 측정하였으며 측정치는 SAS를 이용하여 분석하였다. 임신 후 태자를 출산한 모체는 분만일에 부검하여 모체의 자궁을 ammonium persulfate에 담근 후 착상수를 확인하여 비교하였다. 부검시 각 장기의 병변을 확인하고 병변이 관찰되었을 경우 현미경으로 검사하였다.

2) 태자에 미치는 영향

분만 후 출생한 태자의 수를 각각 기록하였으며, 이 때 사산된 개체 모두 출생한 개체로 취급하였으며 사망한 개체에 대해서는 태자생존률에서 제외하였다. 암수 생존태자의 항문-성기간의 길이(anogenital distance)는 caliper를 이용하여 항문과 생식유두간의 거리를 측정하였다. 차산자의 성장 발달 항목의 경우 차산자의 신체발육 평가는 동복자에서 무작위로 암수 각 1마리씩 추출하여 피크린산으로 표시하였으며, 이개개전은 생후 4일에 평가하였고 귀 바퀴의 발달이 없으면 (-)로 기록하였다. 안검개열은 왼쪽 안검개열시 "L" 오른쪽 안검개열시 "R"이라 하였으며, 양쪽 눈이 열렸을 때 양성으로 하였다. 발톱성장 관찰은 뒷발에 딱딱한 발톱이 있으면 (+), 없으면 (-)로 기록하였고, 치아맹출은 생후 10일에 육안으로 아랫니(절치)가 보이는 것을 양성으로 하였다.

차산자의 반사기능 시험에서 이개반사는 일반적으로 생후 7일에 생존자전부를 대상으로 딱딱한 털로 이개를 찔렀으며 반사가 있으면 신생자는 머리를 흔들거나 이개를 쉴룩거릴 때 반사가 있을 경우(+), 없을 경우(-)로 표시하였다. 각막반사는 검사를 생후 21일에 생존자 전부를 대상으로 각막을 딱딱한 털로 접촉하였으며 반사가 있으면 신생자는 재빨리 눈을 깜빡이고 반사를 (+), (-)로 기록하였다. 차산자의 제어기능 시험에서 위치정립반응 검사는 신생자 몸체를 거꾸로 들고 56 cm 높이의 공중에서 스폰지가 놓인 지표에 떨어뜨렸고 위치정립은 신생자가 표면에 닿기전에 자세를 똑바로 하여 착지하면서 스스로 방향을 잡으면 (+)로 기록하였다. 정향반사는 신생자를 뒤집어 수평표면에 두었으며 만약 신생자가 5초 이내에 바로 일어나면 이러한 반사를 (+)로 기록하였다. 부주지성은 정사각 30° 판상에 출생자의 머리 부위를 아래쪽으로 향하도록 놓고, 180° 회전을 완료할 때까지 시간을 측정하였고 15초안에 완료하면 양성으로 하였으며, 측정시간은 60초로 한정하며 60초안에 180° 회전을 못하면 60초 이상으로 산정하여 기록하였다. 또한 분만후 21일째에 부검을 실시하고 장기무게를 측정하였다.

3) 통계학적 분석

시험 중 측정된 시험동물의 체중 등에 관한 자료의 통계학적 분석을 위하여 one-way ANOVA를 실시하여 $p < 0.05$ 수준에서 군간 유의성을 검정하였고 유의성이 인정되면, Dunnett's t-test를 실행하여 대조군과 시험군간의 통계학적 유의성을 검정하였다($p < 0.05$). 본 실험에서 얻은 측정치의 통계학적 분석은 통계처리 computer program인 SAS를 이용하여 등분산 검정후 one-way ANOVA에서 유의한 F값이 관찰되는 항목에 대하여 무처치군과 처치군 사이에 유의수준 $p < 0.05$ 및 $p < 0.01$ 로 Dunnett's t-test를 이용하여 비교하고, 비모수인 경우는 분산에 대하여 Kruskal-Wallis multiple analysis후 유의한 경우 Wilcoxon-Mann-Whitney rank-sum

test, Nemenye-Kruscal-Wallis multiple comparisons을 실시한다. 또한, 병리조직학적으로 관찰된 병변의 발생빈도는 χ^2 (Chi-square) 검정을 하였다.

결 과

임신모체에 대한 영향

임신기간 및 분만, 수유기간을 포함한 전 실험기간 동안 용매대조군 및 PM투여군에서 사망동물은 관찰되지 않았으며, 모든 시험군에서 투여와 관련한 어떠한 임상증상도 관찰되지 않았다(data not shown). 또한 시험 전기간동안 PM 처치군은 무처리군과 함께 정상적인 체중증가율(Fig. 1-A)과 정상적인 사료소비율(data not shown)을 나타내었다. 모체의 임신기간은 모든 군에서 21일이었으며 정상적으로 분만하였고, 분만시 난산, 이상분만, 분만지연등의 이상소견은 관찰되

지 않았으며, 모체당 평균출산자 및 생존산자수를 비교시 각 군간 유의성은 인정되지 않았다. 또한 모든 시험군에 신생자는 복부의 피부표면에 유즙이 관찰되어 정상적인 유즙분비능을 나타내었으며 수유기동안 모든 군에서 모체가 태자를 식살하거나 수유하지 않는 경우는 관찰되지 않았다. 모체의 포육상태 또한 대조군 및 투여군에서 특별한 변화가 관찰되지 않았다(Table 1).

이유 후 차산자를 모체와 분리 사육시키고 모체를 부검하여 관찰한 결과, PM 투여와 관련한 병리해부학적 소견이 관찰되지 않았다. 이유후 부검한 모체의 절대 및 상대중량을 관찰한 결과 절대장기 중량에서는 무처리군에 비해 고농도 PM 처치군의 좌측부신이 유의적으로 감소한 반면, 저농도의 PM 처치군의 흉선은 유의적으로 증가한 것으로 나타났다(Table 2). 또한 상대장기 중량에서 무처리군에 비해 중간농도의 PM 처치군의 우측난소가 유의적으로 감소하였고, 저농

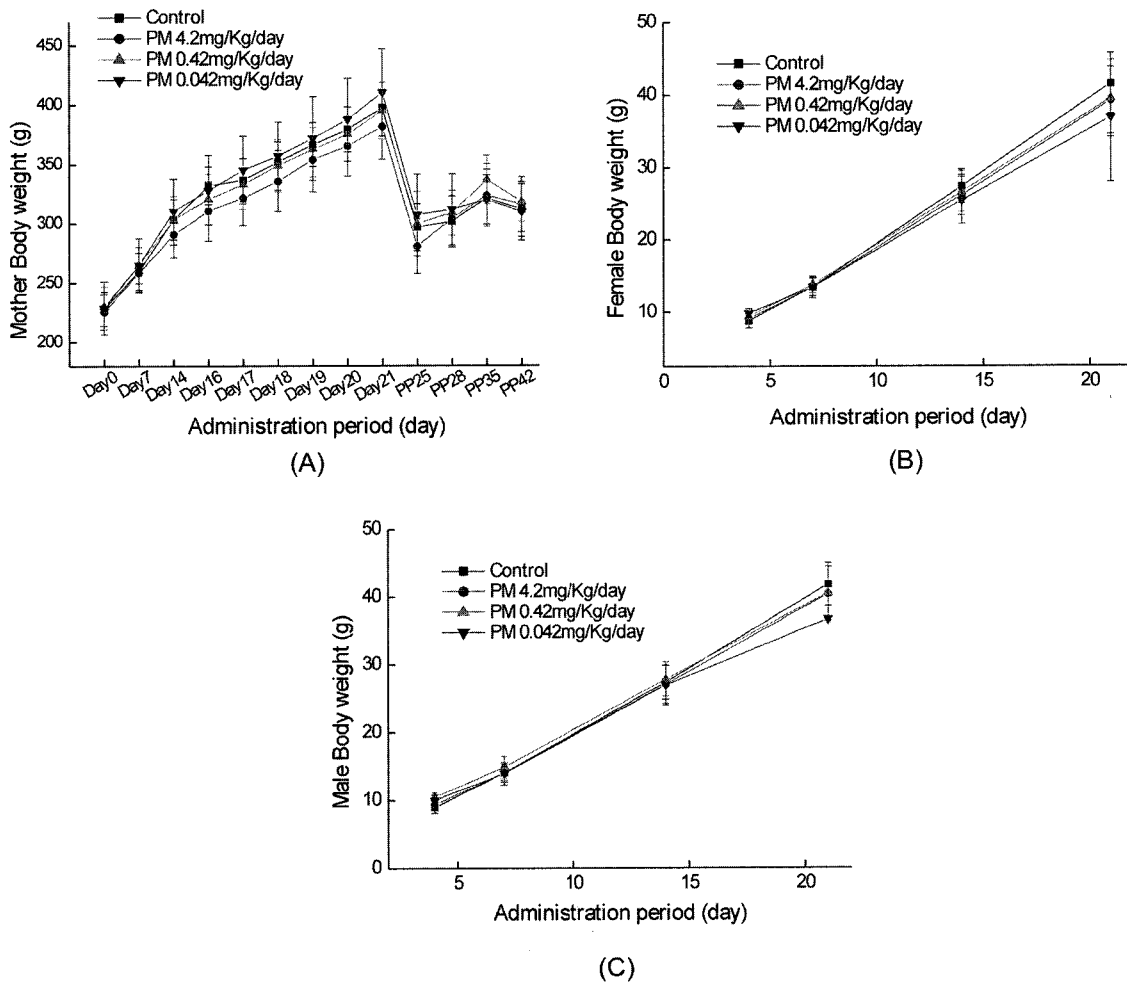


Fig. 1. Body weights in mother (A, Day0 : gestational day, PP : post partum day), female (B) and male (C) rats orally treated with test materials. [n=10 in mother, n=20 in female and male pups], ■: Control ; ●: PM 4.2 mg/kg/day; ▲: PM 0.42 mg/kg/day; ▼: PM 0.042 mg/kg/day.

Table 1. Maternal and productive parameter of SD rats treated with *Pueraria mirifica*

Parameter	Group	Control	<i>Pueraria mirifica</i> 4.2 mg/kg/day	<i>Pueraria mirifica</i> 0.42 mg/kg/day	<i>Pueraria mirifica</i> 0.042 mg/kg/day
	Dose No. of animals	10	10	10	10
Gestation period (days)		21 ^{a)} ±0	21±0	21±0	21±0
Implantation site numbers		14.00±1.00 5 ^{b)}	13.20±2.39 5	13.80±2.17 5	13.80±1.92 5
Littering size		12.90±1.45	12.60±2.07	12.60±1.90	14.20±2.10
Survival number		12.90±1.45	12.40±2.01	12.60±1.90	14.20±2.10
Survival ratio		100.00±0.00	98.52±3.12	100.00±0.00	100.00±0.00
Intrapartum status		NA ^{c)}	NA	NA	NA
Latation		NA	NA	NA	NA
Nurture instinct		NA	NA	NA	NA

^{a)}Values were expressed as mean±S.D.; ^{b)}No. of animals-a half of all uterine tissues used for histopathological examination.

^{c)}No abnormality.

Table 2. Maternal absolute and relative organ weights of SD rats treated with *Pueraria mirifica* in mother (unit : g)

Organ	Group Dose No. of animals	Control	<i>Pueraria mirifica</i>		
		10	4.2 mg/kg/day 10	0.42 mg/kg/day 10	0.042 mg/kg/day 10
Body Weight		311.43±23.23 ^{a)}	316.26±23.37	318.32±17.02	309.21±23.91
Brain (%)		1.94±0.13 0.62±0.04	1.96±0.09 0.62±0.05	1.92±0.12 0.60±0.04	1.90±0.07 0.62±0.06
Hypophysis (%)		0.02±0.01 4.82±2.29	0.01±0.01 4.11±2.14	0.01±0.01 3.49±1.16	0.01±0.01 3.95±1.61
Thymus (%)		0.25±0.06 0.08±0.02	0.37±0.07* 0.12±0.03*	0.26±0.07 0.08±0.02	0.28±0.04 0.09±0.01
Lung (%)		1.39±0.07 0.45±0.02	1.36±0.13 0.43±0.04	1.47±0.14 0.46±0.03	1.36±0.14 0.44±0.04
Heart (%)		1.14±0.11 0.37±0.02	1.15±0.12 0.36±0.02	1.18±0.09 0.37±0.03	1.17±0.15 0.36±0.03
Liver (%)		15.19±1.90 4.87±0.43	16.22±2.70 5.12±0.66	15.13±1.70 4.75±0.38	13.20±1.88 4.26±0.44*
Spleen (%)		0.59±0.08 0.19±0.03	0.54±0.04 0.17±0.02	0.59±0.07 0.18±0.02	0.52±0.06 0.12±0.02*
Kidney left (%)		1.04±0.06 0.33±0.02	1.06±0.07 0.33±0.02	1.06±0.11 0.33±0.02	1.06±0.15 0.34±0.04
Kidney right (%)		1.05±0.06 0.34±0.02	1.08±0.09 0.34±0.02	1.10±0.12 0.34±0.02	1.09±0.13 0.35±0.04
Adrenal gland left(mg) (m%)		53.44±10.51 17.15±3.21	44.47±8.95 13.99±2.05	41.25±6.21 12.99±2.07*	39.60±10.72* 12.69±2.72*
Adrenal gland right(mg) (m%)		47.05±10.19 15.07±2.94	42.27±6.31 13.36±1.61	37.45±4.23 11.77±1.19*	38.59±11.83 12.35±2.98*
Ovary left(mg) (m%)		61.34±17.30 19.55±4.63	55.87±8.02 17.69±2.40	59.09±7.09 18.52±1.49	49.45±14.85 16.18±5.65
Ovary right(mg) (m%)		69.61±18.08 22.27±5.14	56.64±8.64 17.89±2.15	49.95±13.40 15.67±3.93*	60.18±14.14 19.51±4.72
Uterus(mg) (m%)		412.83±66.19 132.57±18.19	412.19±63.59 130.57±19.27	348.40±103.33 109.42±31.60	372.84±114.91 120.73±36.88
Vagina(mg) (m%)		239.07±48.74 77.51±19.53	153.15±32.56 49.15±12.77	250.75±58.75 78.64±17.26	277.50±124.30 90.18±41.82
Salivary gland left (%)		0.32±0.05 0.10±0.01	0.30±0.04 0.09±0.01	0.31±0.04 0.10±0.01	0.31±0.04 0.09±0.02
Salivary gland right (%)		0.32±0.04 0.10±0.01	0.27±0.06 0.08±0.02*	0.34±0.06 0.11±0.02	0.32±0.04 0.10±0.02

^{a)}Values were expressed as mean±S.D.

*Statistically different from control group (p<0.05).

도 PM 처치군에서는 간의 무게가 감소하였으며, 고농도 PM 처치군에서는 흉선 무게가 증가한 것으로 나타났다. 이외 다른 장기의 유의한 절대 및 상대중량의 변화는 인정되지 않았다. 이유모체의 자궁을 적출하여 착상수를 측정한 결과, 무처치군과 투여군에서 유의한 차를 나타내지 않았다(Table 2).

신생자에 미치는 영향

각 군은 정상적인 체중증가율(Fig. 1-B and 1-C)과 사료 소비율(data not shown)을 나타내었다. 정상 분만후 출산자 중 분만시 외형이상을 보인 개체는 없었으며, 포유에 이상이 있는 개체는 모든 실험군에서 발견되지 않았다. 4일째 anogenital distance를 측정된 결과 암컷은 무처치군에 비해 고농도 PM에서 유의적으로 증가한 것으로 나타났다. 안구개구시기를 관찰한 결과 암컷에서는 유의적인 차가 인정되지

않았으나, 수컷의 경우 무처치군에 비해 고농도 PM 처치군에서 안구개구시기가 유의적으로 증가하였다(Table 3). 또한 고농도 PM 처치군에서 사산된 2마리의 태자를 염색하여 검사한 결과 이상소견이 발견되지 않았다(data not shown). 생존태자에 대해 발육분화 검사를 실시하여 얻은 결과, 용매 대조군과 비교할 때 PM태자의 이개개전, 치아맹출, 발톱성장에 미치는 영향은 관찰되지 않았다. 출산자중 각 농도별로 20마리씩 무작위 추출하여 반사기능을 알아보기 위한 이개반사와 각막반사 시험과 자세제어기능 알아보기 위한 정립반사, 정향반사, 부주지성 시험을 실시한 결과 대조군과 비교했을 때 유의한 차가 인정되지 않았다(Table 4). 이유 후 차산자를 모체와 분리 사육시키고 차산자를 부검하여 관찰한 결과, PM 투여와 관련한 병리해부학적 소견이 관찰되지 않았으며, 이유후 부검한 차산자의 절대 및 상대중량을 관찰한

Table 5. Absolute and relative organ weights of female pups treated with *Pueraria mirifica* (unit : g)

Organ	Group Dose No. of animals	<i>Pueraria mirifica</i>			
		Control	4.2 mg/kg/day		
		10	10	0.42 mg/kg/day 10	0.042 mg/kg/day 10
Body Weight		41.05±4.14 ^{a)}	37.96±4.24	39.49±5.19	39.35±3.75
Brain (%)		1.38±0.08	1.44±0.08	1.42±0.08	1.40±0.04
		3.39±0.29	3.83±0.47	3.65±0.48	3.58±0.30
Thymus (%)		0.19±0.04	0.20±0.07	0.21±0.06	0.19±0.04
		0.47±0.09	0.52±0.17	0.52±0.13	0.49±0.10
Lung (%)		0.40±0.07	0.42±0.06	0.39±0.05	0.40±0.05
		0.98±0.17	1.10±0.21	0.98±0.08	1.03±0.11
Heart (%)		0.21±0.02	0.23±0.04	0.22±0.04	0.32±0.03
		0.51±0.06	0.61±0.10	0.56±0.08	0.79±0.07
Liver (%)		1.33±0.22	1.38±0.56	1.42±0.28	1.30±0.19
		3.26±0.58	3.66±0.75	3.61±0.60	3.32±0.59
Spleen (%)		0.13±0.04	0.15±0.05	0.16±0.06	0.16±0.03
		0.32±0.11	0.41±0.13	0.40±0.14	0.40±0.09
Kidney left (%)		0.23±0.03	0.27±0.04	0.26±0.04	0.24±0.03
		0.56±0.10	0.71±0.14*	0.67±0.08*	0.62±0.07
Kidney right (%)		0.22±0.03	0.26±0.04	0.26±0.04	0.24±0.03
		0.55±0.09	0.70±0.15*	0.60±0.14	0.61±0.06
Ovary left (mg) (m%)		10.70±3.71	10.29±2.03	10.72±3.14	11.12±2.88
		25.93±8.55	27.74±7.73	27.60±7.55	28.30±7.25
Ovary right(mg) (m%)		11.52±5.58	8.53±2.09	11.23±2.67	11.75±2.59
		27.89±13.12	22.69±6.31	28.37±6.05	30.03±7.33
Uterus (mg) (m%)		25.78±13.82	39.42±9.03	31.89±13.51	50.63±19.50*
		63.93±35.53	105.50±27.32	80.69±32.21	127.90±43.14*
Vagina(mg) (m%)		19.43±8.69	36.63±9.68*	34.71±16.43*	31.05±12.76
		48.11±22.27	96.91±24.94*	89.404±2.22*	78.25±27.70*
Salivary gland left (%)		0.06±0.02	0.1±0.06*	0.08±0.03	0.07±0.01
		0.15±0.05	0.27±0.16*	0.19±0.06	0.17±0.03
Salivary gland right (%)		0.06±0.02	0.10±0.06*	0.08±0.03	0.09±0.02
		0.15±0.04	0.27±0.16*	0.20±0.06	0.22±0.06

^{a)}Values were expressed as mean±S.D.

*Statistically different from control group (p<0.05).

Table 6. Absolute and relative organ weights of male pups treated with *Pueraria mirifica* (unit : g)

Organ	Group Dose No. of animals	Pueraria mirifica			
		Control	Pueraria mirifica		
		10	4.2 mg/kg/day	0.42 mg/kg/day	0.042 mg/kg/day
Body Weight		42.39±2.78 ^{a)}	40.55±4.44	40.59±4.13	39.09±4.00
Brain (%)		3.37±.20 3.39±0.29	3.70±0.47 3.83±0.47	3.67±0.40 3.65±0.48	3.62±0.37 3.58±0.30
Thymus (%)		0.20±0.03 0.47±0.07	0.19±0.05 0.49±0.14	0.20±0.04 0.49±0.09	0.1±60.05 0.39±0.11
Lung (%)		0.40±0.07 0.94±0.14	0.45±0.06 1.11±0.22	0.42±0.04 1.03±0.06	0.39±0.04 1.01±0.09
Heart (%)		0.25±0.09 0.59±0.22	0.22±0.04 0.55±0.13	0.24±0.02 0.60±0.05	0.22±0.04 0.57±0.09
Liver (%)		1.37±0.26 3.22±0.52	1.39±0.23 3.480.79	1.51±0.25 3.72±0.51	1.23±0.13 3.15±0.30
Spleen (%)		0.13±0.03 0.31±0.07	0.170±.04 0.42±0.13	0.17±0.05 0.42±0.10	0.14±0.05 0.36±0.12
Kidney left (%)		0.23±0.03 0.55±0.06	0.27±0.04 0.69±0.16	0.27±0.04 0.68±0.08	0.23±0.05 0.59±0.10
Kidney right (%)		0.24±0.03 0.56±0.07	0.28±0.04* 0.71±0.15*	0.29±0.04* 0.72±0.08*	0.25±0.05 0.63±0.08
Testis, Epididymis L (mg) (m%)		131.76±23.30 310.48±47.29	129.57±21.51 322.67±58.54	145.77±24.90 358.19±44.99	133.69±15.87 344.24±48.07
Testis, Epididymis R (mg) (m%)		137.70±22.19 325.62±52.42	133.02±19.27 332.65±62.22	142.39±25.81 350.0250.98	133.24±20.12 342.32±51.44
Prostate(mg) (m%)		52.30±10.88 123.38±25.20	51.40±10.73 128.10±28.86	54.22±10.68 134.07±25.41	59.32±15.99 152.05±38.81
Salivary gland left (%)		0.07±0.01 0.16±0.03	0.10±0.03* 0.25±0.10	0.08±0.02 0.20±0.05	0.07±0.03 0.17±0.06
Salivary gland right (%)		0.08±0.02 0.18±0.05	0.10±0.03 0.23±0.09*	0.08±0.01 0.21±0.03	0.08±0.03 0.19±0.07

^{a)}Values were expressed as mean±S.D.

*Statistically different from control group (p<0.05).

결과, 절대중량에서 암컷은 질의 무게가 농도의존적으로 증가하였으며, 무처치군에 비해 고농도 PM 처치군에서 유의적으로 증가하였다. 그리고 양측 타액선이 유의적으로 증가하였으며, 저농도의 PM 처치군의 자궁의 무게 또한 유의적으로 증가한 것으로 나타났다. 그러나 그 외의 장기에서 유의성은 나타나지 않았다(Table 5). 수컷의 경우 무처치군에 비해 고농도 PM 처치군에서는 우측 신장 과 좌측 타액선의 무게가 유의적으로 증가하였지만 그 외의 장기에서 유의성은 나타나지 않았다. 또한 상대중량을 측정된 결과 암컷은 무처치군에 비해 고농도 PM 처치군의 양측 타액선의 무게가 유의적으로 증가하였고 자궁의 무게는 무처치군에 비해 모든 PM 처치군에서 유의적으로 증가하였고 농도의존적이었다. 또한 무처치군에 비해 저농도 PM 처치군의 질의 무게가 유의적으로 증가한 것으로 나타났다. 그러나 그 외 장기에서 유의성은 나타나지 않았다. 수컷은 무처치군에 비해 고농도

와 중간농도의 PM 처치군에서 우측 신장의 무게가 유의적으로 증가한 것으로 나타났으나 그 외의 장기에서 유의성은 나타나지 않았다(Table 6).

고 찰

본 시험은 태국산 칩뿌리인 *Pueraria mirifica*(PM)을 Sprague-Dawley(SD) rat 임신모체에 임신 6일부터 분만 후 21일까지 PM 농도별로(0.042, 0.42 and 4.2 mg/kg/day) 경구투여하여 PM이 모체의 임신기간, 분만, 포유행동 및 차산자의 성장, 발육, 기능발달들에 미치는 영향을 평가하였다.

모체에서 PM 투여군은 정상적인 체중증가율을 보였고, 사료소비량에 어떠한 영향도 미치지 않았다. 임신기간은 21일로 동일하였으며 분만시 상태는 모두 양호하였다. 또한 정상적인 유즙분비능과 보육 본능을 나타내었다. 태자의 생존률

은 유의성이 나타나지 않았으며 암컷과 수컷의 비율은 1:1 정도로 비슷하였다. 착상수에서 유의성은 나타나지 않았다. 또한 육안과 현미경 소견상에서 이상소견은 발견되지 않았다. 부검 후 대부분의 장기에서 유의성이 나타나지 않았다. 그러나 모체의 생식기인 질 무게의 증가가 관찰되었다.

차산자에서 PM은 정상적인 체중증가를 보였고, 사료소 비량에 어떠한 영향도 미치지 않았다. 출생시 태자의 외관인 눈, 귀, 입, 구개, 사지, 꼬리의 형태, 위치 등에 어떠한 영향도 미치지 않으며, 신체 발달과정인 이개개전, 안구개구, 치아맹출과 이개반사, 각막반사, 자세제어기능 검사 항목인 위치 정립반응 검사, 정향반사, 부부지성도 무척추동물과 마찬가지로 정상으로 나타났다. 사산자의 경우 두부와 골격검사를 실시한 결과 PM은 두부와 골격에 아무 이상도 주지 않는 것으로 나타났다. 부검 후 대부분의 장기에서 유의성이 나타나지 않았으나, 모체에서의 결과와 마찬가지로 타액선과 신장 그리고 암컷의 생식기인 자궁과 질에서 유의적인 증가가 관찰되었다.

이를 종합해 볼 때, PM은 모체의 체중증가 및 행동양식, 태자의 체중증가 및 신체발달, 행동에 아무런 영향을 끼치지 않는 것으로 생각된다. 또한 PM extract는 모체와 태자의 일부 장기 중량에 영향을 미쳤으나, 조직학적 검사를 통하여 이상소견을 관찰할 수 없었던 것으로 보아 주산기 및 수유기에서의 PM extract는 독성이 없는 것으로 판단된다.

참고문헌

- 김종춘, 임광현, 서정은, 위재준, 남기열, 정문구(2001): 랫드에서 비스페놀 A의 발생독성에 대한 고려홍삼 물추출물의 효과, *J. Toxicol. Pub. Health*, **17**, 225-234.
- 박귀례, 한순영, 김판기, 신재호, 장성재(2001): 방사선조사 인삼이 랫드의 태자와 신생자의 발달 및 모체기능에 미치는 영향에 관한 연구, *J. Toxicol. Pub. Health*, **17**, 17-25.
- 이영순, 장자준 (1998): 독성병리학, 도서출판 샤론, 서울, pp 236-246.
- Al-Hijji, J., Larsson, I. and Batra, S. (2001): Effect of ovarian ste-

- roids on nitric oxide synthase in the rat uterus, cervix and vagina, *Life Sci.*, **69**(10), 1133-1142.
- Awoniyi, C.A., Roberts, D., Veeramachaneni, D.N., Hurst, B.S., Tucker, K.E. and Schlaff, W.D. (1998): Reproductive sequelae in female rats after in utero and neonatal exposure to the phytoestrogen genistein. *Fertil Steril*, **70**(3), 440-447.
- Cain, J. C. (1960): *Nature*, **188**, 774-777.
- Casanova, M., You, L., Gaido, K.W., Archibeque-Engle, S., Janzsen, D.B. and Heck, H.A. (1999): Developmental effects of dietary phytoestrogens in Sprague-Dawley rats and interactions of genistein and daidzein with rat estrogen receptors alpha and beta in vitro, *Toxicol Sci.* **51**(2), 236-244.
- Chansakaow, S., Ishikawa, T., Seki, H., Sekine(nee Yoshizawa), K., Okada, M and Chaichantipyuth, C. (2000): Identification of deoxymiroestrol as the actual rejuvenating principle of "Kwao Keur", *Pueraria mirifica*. The known miroestrol may be an artifact. *J Nat Prod*, **63**(2), 173-175.
- Chansakaow, S., Ishikawa, T., Sekine, K., Okada, M., Higuchi, Y., Kudo, M. and Chaichantipyuth, C. (2000): Isoflavonoids from *Pueraria mirifica* and their estrogenic activity. *Planta Med.*, **66**(6), 572-575.
- Figueras, F., Castelo-Branco, C., Pons, F., Sanjuan, A. and Varel, J.A. (2001): Effect of continuous and sequential oral estrogen-progestogen replacement regimens on postmenopausal bone loss: a 2-year prospective study, *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.*, **99**(2), 261-265.
- Kim, H.S., Han, S.Y., Yoo, S.D., Lee, B.M. and Park, K.L. (2001): Potential estrogenic effects of bisphenol-A estimated by *in vitro* and *in vivo* combination assays, *J Toxicol Sci.*, **26**(3), 111-118.
- Marino, M., Distefano, E., Caporali, S., Ceracchi, G., Pallottini, V. and Trentalance, A. (2001): Beta-estradiol stimulation of DNA synthesis requires different PKC isoforms in HepG2 and MCF7 cells, *J Cell Physiol.* **188**(2), 170-177.
- Park, Y.J., Kim, J. R., Ryu, J.C., Shim, B.S., Choi, S.H., and Kwon, O.S. (2001): Prenatal Treatment Effects of Oriental Herbal Medicine Kamijadowhan on Developmental and Reproductive Toxicity in Rats, *Environmental Mutagens & Carcinogens*, **21**(2), 77-81.
- Zava, D.T. and Duwe, G. (1997): Estrogenic and antiproliferative properties of genistein and other flavonoids in human breast cancer cells *in vitro*, *Nutr Cancer*, **27**(1), 31-40.