

랫드에 대한 *G. bimaculatus*의 급성경구독성시험

김인선¹ · 안미영² · 류강선² · 이병무^{1*}

¹성균관대학교 약학대학 독성학교실, ²농업과학기술원 임사곤충부

Acute Oral Toxicity of *G. bimaculatus* in Rats

In Sun Kim¹, Mi Young Ahn², Ryu Kang Sun² and Byung Mu Lee^{1*}

¹Division of Toxicology, School of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University, Kyunggi-Do, Suwon 440-746, Korea

²Department of Sericulture and Entomology, National Institute of Agricultural Science and Technology, Suwon 441-100

(Received November 5, 2002)

(Accepted November 26, 2002)

ABSTRACT : This study was carried out to investigate the acute toxicity of *G. bimaculatus* in Sprague-Dawley rats. *G. bimaculatus* was administered orally at doses of 8, 40, 200, 1000 and 5000 mg/kg. In this study, number of deaths, clinical signs, body weights, and pathological examinations were investigated for 14 days after administration of *G. bimaculatus*. The results indicate that *G. bimaculatus* did not show any toxic effect in rats and oral LD₅₀ value was over 5000 mg/kg in Sprague-Dawley rats.

Key Words : Acute toxicity, *G. bimaculatus*, LD₅₀ values, Pathological examinations

I. 서 론

*G. bimaculatus*는 아열대산 귀뚜라미로써 이미 가축의 사료로 사용되어 오고 있다. 최근에는 이 아열대산 귀뚜라미가 건강식품후보물질로서 관심이 커지고 있으므로 이에 대한 기본적인 안전성 평가가 요구되고 있는 실정이다. 본 시험에서는 시험물질 *G. bimaculatus*를 랫드에 1회 경구투여 하였을 때 나타나는 임상증상 및 체중변화 등을 관찰하였으며, 사망률 산출과 부검을 시행하여 육안적 해부소견 등에 의한 급성경구독성시험 결과에 따라 시험하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 시험물질

시험물질인 *G. bimaculatus*은 농촌진흥청으로부터 제공 받아 시험에 사용하였다.

2. 시험계 및 사육환경

시험구역은 성균관대학교 약학대학내 청정실험동물실에

서 실시하였으며, 청정구역에서 생산된 SPF(특정병원체 부재) SD계 랫드를 제일상사로부터 분양 받아 온도 23±1°C, 습도 55±5%, 배기 10~18회/hr, 형광등 명암 12hr cycle, 조도 300~500 Lux의 사육환경에서 랫드용 폴리카보네이트 사육상자(220 W×270 L×125 H mm) 케이지에 5마리씩 넣어 사육하였다. 1주일의 순화사육기간 동안에 일반증상관찰을 시행하여 정상적인 동물만 시험에 사용하였다. 사료는 제일상사의 실험동물사료를 구입하여 실험동물에 자유로이 공급하였으며, 음수는 멸균수도물을 자유롭게 섭취시켰다.

3. 군분리 및 투여용량의 설정

순화기간 중 건강하다고 판정된 동물에 대하여 체중을 측정하고 평균체중에 가까운 개체를 선택하여 무작위법을 이용, 군분리를 실시하였다. 동물의 개체식별은 사육상자별 tag 표시법을 이용하였다(Kim et al., 1998). 투여용량의 설정은 예비시험 결과를 토대로 하여 정하였다. 그 결과 본 제제의 투여가능 최대용량은 5000 mg/kg이며 이를 최고용량군으로 설정하고, 8 mg/kg을 최저용량군으로 하여 일정 공비로 5개 용량군과 대조군을 설정 하였다. 시험물질 투여 직전 시험동물의 체중범위는 수컷은 180~190 g, 암컷은 160~170 g이었고, 주령은 약 6주령이었다.

*To whom correspondence should be addressed

4. 시험물질 조제 및 투여

시험물질인 *G. bimaculatus*은 균일하게 혼탁되도록 시험당일 용시조제 하였다. 시험물질 혼탁액은 경구용 존데를 이용하여 1회 경구투여하였다. 투여량은 투여직전 체중의 변화에 따라 산출하였다(Lorke, 1983; Bruce, 1985).

5. 관찰항목

1) 임상증상관찰 및 사망동물수

모든 시험동물에 대한 임상증상관찰 및 사망동물수는 약물투여직후부터 6시간 동안은 매 시간마다 관찰하였으며, 투여 익일부터 14일까지는 1일 1회로 동물의 일반상태의 변화, 중독증상 및 사망 유·무를 관찰하였다(Zbinden and Roversi, 1981).

2) 체중측정

시험에 사용된 모든 시험동물에 대하여 시험물질 투여직전, 투여후 1일, 4일, 7일, 10일 및 14일에 체중을 측정하였다.

3) 부검

시험종료 후 동물의 체중을 측정한 후 ether로 마취하고 설하동맥 및 복부대동맥을 절단하여 치사시킨 다음 외관 및 내부장기의 이상유무를 육안적으로 상세히 관찰하였다. 또한 의심스러운 이상소견이 관찰된 모든 조직은 현미경적 소견을 관찰하기 위하여 10% 포르말린 용액에 고정시켰다(Kwack et al., 1996).

6. 자료의 통계학적 해석

통계학적 처리는 Students-t 검정을 행하고 $P < 0.05$, $P < 0.01$ 의 수준으로 대조군과 시험물질 투여군을 비교하였다.

III. 결 과

1. 사망동물예 및 임상증상

약 6주령의 랙드에 시험물질 귀뚜라미 마쇄분을 0, 8, 40, 200, 1,000 및 5,000 mg/kg을 경구투여한 결과 수컷 200 mg/kg을 투여한 군에서 1마리 사망예가 있었으나, 부검한 결과 병리학적인 이상을 발견하지 못했다. 투여 기간 동안 시험물질 투여군에서는 대조군에 비해 특이적인 사망 예 또는 임상적 이상증상은 발견되지 않았다(Tables 1, 2).

Table 1. Survivals of Sprague-Dawley rats orally treated with *G. bimaculatus*

Sex	Dosage (mg/kg)	Days after treatment						Final mortality
		0	1	4	7	10	14	
Male	CON ^a	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5
	8	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5
	40	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5
	200	5/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	1/5
	1,000	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5
	5,000	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5
Female	CON ^a	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5
	8	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5
	40	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5
	200	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5
	1,000	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5
	5,000	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5

^aCON : Treated with distilled water.

Table 2. Clinical signs of Sprague-Dawley rats orally treated with *G. bimaculatus*

Sex	Dosage (mg/kg)	Clinical signs	Hours after treatment						Days after treatment				
			1	2	3	4	5	6	1	4	7	10	14
Male	CON ^a	ND ^b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	40	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	200	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,000	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5,000	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Female	CON ^a	ND ^b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	40	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	200	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,000	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5,000	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

^aCON : Treated with distilled water.

^bND : Not detected.

2. 체중측정결과

대조군의 모든 동물은 정상적인 체중증가를 나타냈다. 그러나 수컷 1000 mg/kg 투여군에서 1마리의 비정상적인 체중상태를 나타내는 예가 있었다. 그러나 대조군에 비해 유의적인 차이를 나타내지는 않았다(Table 3).

3. 혈액학적소견

시험물질을 1회 경구로 0, 8, 40, 200, 1000 mg/kg 투여 후 관찰한 혈액학적 소견에서는 암컷의 적혈구수에서 대조군보다 약간 증가하였으나 유의성은 없었다. 또한 혜모글로빈 및 혜마토크리트치에 있어서도 대조군과 유의한 차이를 나타내지 않았다(Table 4). 혈청학적 검사소견에서

Table 3. Body weights in Sprague-Dawley rats orally treated with *G. bimaculatus*

Sex	Dosage (mg/kg)	Days after treatment					
		1	4	7	10	14	
Male	CON ^a	Mean	255.6	282.4	292.4	297.6	330.8
		SD	20.0	24.4	24.5	25.1	25.2
		(n)	5	5	5	5	5
	8	Mean	263.4	285.4	299.8	305.0	337.0
		SD	20.8	25.5	21.4	23.3	27.1
		(n)	5	5	5	5	5
	40	Mean	243.8	253.8	278.8	292.4	321.0
		SD	21.8	20.0	19.3	23.5	31.3
		(n)	4	4	4	4	4
	200	Mean	235.4	265.5	283.3	300.0	327.3
		SD	15.8	23.8	20.3	25.0	30.2
		(n)	5	5	5	5	5
Female	1,000	Mean	231.0	240.6	254.2	267.4	294.0
		SD	22.0	37.8	46.1	50.6	52.1
		(n)	5	5	5	5	5
	CON ^a	Mean	223.0	229.8	234.2	233.6	245.2
		SD	9.2	7.4	11.1	12.8	12.6
		(n)	5	5	5	5	5
	8	Mean	219.0	216.8	222.8	222.8	235.2
		SD	13.0	10.0	8.5	10.2	9.3
		(n)	5	5	5	5	5
	40	Mean	222.8	226.0	229.6	228.6	240.2
		SD	10.8	5.3	5.6	10.7	11.5
		(n)	5	5	5	5	5
	200	Mean	220.6	225.0	227.2	226.2	237.0
		SD	9.2	8.7	10.8	11.0	14.4
		(n)	5	5	5	5	5
	1,000	Mean	221.6	240.6	254.2	267.4	294.0
		SD	5.7	37.8	46.1	50.6	52.1
		(n)	5	5	5	5	5

^aCON : Treated with distilled water.

SD = Standard Deviation.

(n) = number of animals.

Table 4. Hematological findings of rats orally treated with *G. bimaculatus*

Sex	Item	Male		Female	
		Dosage (mg/kg)	CON ^a	1,000	CON
	WBC ($10^3/\text{mm}^3$)	15.6±3.4	12.8±1.3	20.8±6.6	15.9±2.5
	RBC ($10^6/\text{mm}^3$)	8.1±1.2	6.8±0.1	7.1±1.3	7.7±0.5
	HGB (g/dl)	16.4±2.5	14.9±0.3	14.4±1.8	15.4±0.6
	HCT (%)	48.3±6.8	44.7±3.2	39.0±7.3	43.1±2.2
	MCV (fl)	60.2±4.4	65.8±5.0	54.7±0.1	55.7±1.1
	MCH (pg)	20.3±1.0	21.9±0.9	20.4±1.4	19.9±1.1
	MCHC (g/dl)	33.9±1.5	33.5±2.1	37.3±2.7	35.8±1.2
	PLT ($10^3/\text{mm}^3$)	772±43.7	830±95	664±145	1016±78
	Lymphocyte % (%)	82.6±2.3	78.0±4.3	85.0±3.7	81.4±2.7

^aCON : Treated with distilled water.

Data are the mean±SD.

도 대조군과 시험물질 투여군간의 유의성 있는 차이를 보이는 소견은 없었다(Table 5).

Table 5. Biochemical serum values of rats orally treated with *G. bimaculatus*

Sex	Item	Male		Female	
		Dosage (mg/kg)	CON ^a	1,000	CON
	T. P. (g/dl)		6.8±0.4	7.4±0.3	8.1±0.3
	ALB (g/dl)		2.7±0.2	2.8±0.2	2.7±0.19
	GOT (U/l)		115±16.4	132±15.1	267.2±156.8
	GPT (U/l)		57±11.1	60±17.4	74.2±30.4
	LDH (U/l)		913±394	1455.6±553.8	4513.6±997
	ALP (U/l)		544±12.9	697±326.1	287±111.4
	GLU (mg/dl)		54.6±43.4	15.2±14.5	89.8±14.1
	CHOL (mg/dl)		69.4±13.4	84.0±9.1	69.8±5.5
	Ca (mmol/l)		12.0±0.9	12.6±0.7	11.1±0.2
	Na (mmol/l)		152.9±3.9	152.4±3.8	144.4±0.9
	K (mmol/l)		4.2±0.5	5.2±0.9	5.6±0.56
	TG (mg/dl)		91±28.9	71.8±44.3	98±30.0
	BUN (mg/dl)		16.4±0.6	21.7±1.4	26.5±1.9
	CREAT (mg/dl)		0.7±0.1	0.6±0.08	0.7±0.04
	T. BIL (mg/dl)		0.2±0.1	0.28±0.1	0.3±0.17
					0.18±0.04

^aCON; Treated with distilled water.

Data are the mean±SD (n = 5).

Table 6. Incidence of necropsy findings in SD rats orally treated with *G. bimaculatus*

Sex	Dosage (mg/kg)	Male		Female	
		Organ	CON ^a	5,000	CON
No. of rats			5	5	5
Adrenal Gland L/R.			0/0	0/0	0/0
Brain			0	0	0
Heart			0	0	0
Liver			0	0	0
Kidney			0	0	0
Interstitial Pneumonia			0	0	00
Calcification			0	0	0
Spleen			0	0	0
Testis L/R.			0/0	0/0	0/0
Stomach			0	0	0

^aCON : Treated with distilled water.

4. 육안적 해부소견

대조군과 시험물질 투여군간의 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다(Table 6).

IV. 고 칠

시험물질 *G. bimaculatus*를 Sprague-Dawley계 랫드에 5,000 mg/kg, 1,000 mg/kg, 200 mg/kg, 40 mg/kg 및 8 mg/kg을 투여용량군으로 하여 1회 경구투여 한 후 급성독성을 조사하여 그 안전성을 평가하였다(National Institute of Safety Research, 1994; Obara, 1992). 약 6주령의 랫드에 시험물질 귀뚜라미를 0, 8, 40, 200, 1000 및 5000 mg/kg

을 경구투여한 결과 수컷 200 mg/kg군에서 1마리 사망예가 있었으나 부검결과 병리학적 이상을 발견하지 못했다. 또한 시험물질 투여 후 대조군에 비해 특이적으로 관찰된 일반증상의 변화는 없었다. 수컷 1000 mg/kg 투여군에서 비정상적인 체중증가 상태를 보이는 예가 있었으나 대조군과 유의한 차이를 나타내지는 않았다. 시험물질을 1회 경구로 투여 후 관찰한 혈액학적 소견에서는 유의성 있는 차이를 발견하지 못했다. 혈청학적 검사소견에서도 대조군과 시험물질 투여군간의 유의성 있는 차이를 보이는 소견들은 없었다. 육안적 해부소견에 있어서도 대조군과 시험물질 투여군간의 유의성 있는 차이를 나타내지는 않았다. 이들은 모두 시험물질에 기인한 원인이 아니라 동물실험에서 일반적으로 관찰될 수 있는 환경에 기인한 원인으로 무시할 수 있는 소견으로 사료된다(Yamashita *et al.*, 1992; Cho *et al.*, 1993a, b).

따라서 본 실험조건에서 귀뚜라미의 랙드에 대한 경구 투여 LD₅₀치는 암,수 모두 5000 mg/kg이상이었으며, 상기의 일반 증상, 체중변화 및 부검소견등에 별다른 독성이 관찰되지 않았으므로 귀뚜라미의 랙드에 대한 급성독성은 없는 것으로 평가 되었다.

참고문헌

- Bruce, R.D. (1985): An up-and-down procedure for acute toxicity testing. *Fund. Appl. Toxicol.*, **5**, 151-157.
- Cho, D.H., Hwang, S.J., Lee, W.Y., Lee, J.Y., Yoon, H.J. and Moon, B.W. (1993a): Acute subcutaneous toxicity study of banaron cream in rats. *J. Appl. Pharmacol.*, **2**, 280-283.
- Cho, D.H., Hwang, S.J., Lee, W.Y., Lee, J.Y., Yoon, H.J. and Moon, B.W. (1993b): Acute oral toxicity studies of WHS-1 and WHS-2 in rats. *J. Appl. Pharmacol.*, **2**, 275-279.
- Lorke, D. (1983): A new approach to practical toxicity testing. *Arch. Toxicol.*, **54**, 275.
- National Institute of Safety Research (1994): Toxicity test guideline for safety evaluation of drugs for human use, No. 94-3 Korea.
- Obara, S. (1992): Studies on single-dose toxicity of hydrophobically modified hydropropyl methylcellulose in rats. *J. Toxicol. Sci. Jpn.*, **17**, 13.
- Kim, H.S., Kwack S.J., Chun, S.A., Han, H.S., Park, H.S., Ahn, M.Y., Bae K.H. and Lee, B.M. (1998): Subacute oral Toxicity of DWP-311 in Sparague-Dawley Rats. *J. Applied Pharmacol.*, **6**, 328-336.
- Kwack, S.J., Kim, H.S., Chun, S.A., Lim, S.Y., Park, H.S., Hong, C.H., Choi, B.C. and Lee, B.M. (1996): Acute oral toxicity of KDRD-010 in Rats. *Korean J. Toxicol.*, **12**, 319-322.
- Yamashita, K., Nakano, S., Kuwata, M., Yada, H., Irimura, K., Morinaga, H. and Morita, K. (1992): Single dose toxicity studies of suplatast tosilate (IPD-1151T). *J. Toxicol. Sci. Jpn.*, **17**, 1-9.
- Zbinden, G. and Flury-Roversi, M. (1981): Significance of the LD₅₀ test for toxicological evaluation of chemical substance. *Arch. Toxicol.*, **47**, 77-99.