



랫드에서 죽여(*Balbusae caulis* in Taeniam)의 단회경구투여 독성시험

신동호¹ · 신진영¹ · 김성호¹ · 김재하² · 정희종³ · 김종춘¹

¹전남대학교 수의과대학, ²전남대학교 의과대학, ³전남대학교 농업생명과학대학

Single Oral Dose Toxicity Study of *Balbusae caulis* in Taeniam in Rats

Dong-Ho Shin¹, Jin-Young Shin¹, Sung-Ho Kim¹, Jae-Ha Kim², Hee-Jong Chung³ and Jong-Choon Kim¹

¹College of Veterinary Medicine, ²College of Medicine,

³College of Agriculture and Life Science, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

Received September 9, 2004; Accepted November 26, 2004

ABSTRACT. The present study was carried out to investigate the potential acute toxicity of *Balbusae caulis* in taeniam by a single oral dose in Sprague-Dawley rats. Twenty rats of each sex were randomly assigned to four groups of 5 rats each and were administered singly by gavage at dose levels of 0, 1250, 2500, and 5000 mg/kg body weight. Mortalities, clinical findings, and body weight changes were monitored for the 14-day period following administration. At the end of 14-day observation period, all animals were sacrificed and complete gross postmortem examinations were performed. Throughout the study period, no treatment-related deaths were observed. There were no adverse effects on clinical signs, body weight, and gross finding at any dose tested. The results showed that the single oral administration of *Balbusae caulis* in taeniam did not cause any toxic effect at the dose levels of 5000 mg/kg or lower in rats and the minimal lethal dose was considered to be over 5000 mg/kg body weight for both sexes.

Keywords: *Balbusae caulis* in taeniam, Acute toxicity, Rats.

서 론

생활수준의 향상으로 현대인들은 참살이(well-being)에 대한 관심과 기대 수준이 점차 높아지고 있는 추세이다. 그러나 생활환경의 변화와 고령화 사회로의 급속한 진행에 따라 암이나 비만, 당뇨, 뇌혈관질환, 심장질환 등의 만성질환이 급격히 증가하고 있다. 이러한 만성질환은 현대의학의 눈부신 발전에도 불구하고 근본적인 치료가 매우 어려우며, 또한 합성화학물질을 이용한 화학요법(chemotherapy)은 약리학적 효과뿐만 아니라 다양한 부작용을 유발하는 단점이 있어 사용이 제한되고 있다. 따라서 최근에는 장기적인 사용에도 부작용이 적으면서 건강의 증진과 질병을 예방할 수 있는 식물유래의 약용천

연물(phytochemicals)에 대한 연구개발이 크게 증가하고 있다(Munro *et al.*, 1999; Flood and Kondo, 2003; Wolf and Weisbrode, 2003).

대나무는 화본과 식물로서 우리나라를 비롯한 온대, 아열대 및 열대 지방에 폭 넓게 분포하고 있으며, 예로부터 껍질이나 가지, 잎, 순, 죽여, 죽력 등은 한약재로 널리 이용되어 왔다(Shibata *et al.*, 1975, 1980; Kim *et al.*, 2001). 특히, 열내림과 지혈, 발한, 중풍, 고혈압 등에 대한 민간요법으로 많이 사용되었으며, 과다한 위산분비억제와 항산화, 항바이러스, 항염증 및 항암작용도 나타내는 것으로 보고되어 있다(Okabe *et al.*, 1975; Rajebhosale *et al.*, 1998; Tsunoda *et al.*, 1998; Hu *et al.*, 2000). 그 중 죽여는 대나무의 신선한 줄기에서 외피를 제거하고 녹색을 띤 중간층을 실 모양 또는 얇은 선 모양으로 끊어 내어 음지에서 건조한 것으로서 열을 내려주고 담을 풀어 주며 구토감을 멈추는 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 따라서 한방에서는 중풍이나 소아간질, 산후발열 등에 처

Corresponding author: Jong-Choon Kim, College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea
E-mail: toxkim@chonnam.ac.kr

방되고 있으며, 최근에는 해당노 작용이 보고된 바 있다 (호, 1993; 명 등, 1999). 이와 같이 대나무는 다양하고 우수한 약리활성을 가지고 있기 때문에 의약품이나 기능성식품으로서의 이용가치는 점차 증가하고 있으나 대나무 성분내 대한 안전성평가 자료는 거의 없는 실정이다.

본 연구는 죽여에 대한 안전성평가의 일환으로 단회 투여시 발현될 수 있는 급성독성을 질적·양적으로 평가하고자 식품의약품안전청의 의약품등의독성시험기준(1999)에 준하여 시험을 수행하였다.

재료 및 방법

시험동물 및 사육환경

본 시험에서는 화인 실험동물센터(나주)로부터 입수한 4주령의 특정병원체 부재(specific pathogen free) Sprague-Dawley 랫드를 사용하였다. 1주일간의 검역 및 순화를 거친 뒤 건강하다고 판정된 것을 선발하여 시험에 공시하였다. 실험동물은 온도 $23 \pm 3^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 10\%$, 조명시간 12시간(08:00~20:00) 및 조도 150~300 Lux로 설정된 사육환경에서 스테인레스제 망사육상자(220 W × 410 L × 200 H mm)에 사육상자당 5마리 이하로 수용하였으며, 실험동물용 고품사료(삼양, 원주)와 상수도수를 자유급식 시켰다.

시험물질의 추출 및 조제

신선한 상태의 대나무에서 껍질을 제거한 후 죽여를 채취하여 100 g 당 증류수 1000 ml의 비율로 혼합하고, 60°C 의 수조에서 4시간씩 3차례 중탕·추출하였다. 이 추출액에서 고형성분을 제거한 현탁액을 1000 g에서 30분간 원심분리 시키고 상층액을 여과하여 감압농축한 다음 동결건조 시켰다. 시험물질의 조제는 건조시킨 분말을 이용하여 투여 직전에 실시하였다. 먼저 시험물질을 칭량한 다음 부형제인

멸균증류수에 희석하여 고용량군의 시험물질을 조제하고, 이를 다시 부형제로 희석하여 저용량군의 시험물질을 조제하였다. 부형제대조군은 멸균증류수만을 사용하였다.

투여용량의 설정 및 시험군의 구성

용량설정을 위한 예비시험결과, 20 ml의 증류수에 용해하여 투여가능한 최대용량인 5000 mg/kg 용량에서도 시험물질의 투여에 기인된 어떠한 독성소견도 인정되지 않았다. 상기결과에 기준하여 5000 mg/kg을 최고용량으로 설정하였고, 공비 2를 적용하여 2500 및 1250 mg/kg의 중간 및 저용량군과 부형제대조군을 추가하였다.

시험물질의 투여

투여는 임상에서의 주요 적용경로인 경구로 하였다. 모든 동물을 투여 전에 하룻밤 절식시켜 위내를 비게한 후 금속제 경구투여용 존대와 주사기를 이용하여 강제 경구투여를 하였고, 투여 후 3~4시간 후에 다시 사료를 급여하였다. 투여당일 체중을 기준으로 체중 kg당 20 ml로 투여액량을 계산하였다.

일반증상 관찰

투여당일에는 투여 후 6시간까지 매시간마다 일반상태의 변화를 면밀히 관찰하였으며, 익일부터는 매일 1회 이상 투여 후 14일째까지 일반증상을 관찰하였다.

체중측정

모든 동물에 대하여 투여 직전과 투여 후 1, 3, 7 및 14일째에 체중을 측정하였다.

부검

투여 후 14일째에 전 생존동물을 ether로 마취시킨 후 방혈치사시켜 육안적으로 모든 장기를 검사하였다.

Table 1. Mortality in male and female rats after single oral administration of *Balbusae caulis* in taeniam (n=5)

Dose (mg/kg)	Days after treatment															Mortality (%)
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Male																
0	0 ^{a)}	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Female																
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

^{a)}No. of dead animals.

Table 2. Clinical findings in male and female rats after single oral administration of *Balbusae caulis* in taeniam (n=5)

Dose (mg/kg)	Findings	Days after treatment														
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Male																
0	Appears normal	5 ^{a)}	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1250	Appears normal	5	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Reddish tear	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2500	Appears normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
5000	Appears normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Female																
0	Appears normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1250	Appears normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2500	Appears normal	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Loss of fur	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5000	Appears normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

^{a)}Number of rats with the clinical signs.

Table 3. Body weight changes in male and female rats after single oral administration of *Balbusae caulis* in taeniam (n=5)

Dose (mg/kg)	Days after treatment				
	0	1	3	7	14
Male					
0	78.0 ± 9.03 ^{a)}	94.8 ± 11.54	112.2 ± 12.56	136.2 ± 14.65	182.4 ± 19.11
1250	86.4 ± 15.76	100.0 ± 17.28	114.0 ± 19.07	123.0 ± 20.95	167.0 ± 22.77
2500	88.0 ± 7.97	101.4 ± 9.96	116.6 ± 12.92	137.4 ± 13.70	187.6 ± 16.89
5000	83.8 ± 7.98	99.0 ± 8.86	98.8 ± 8.07	136.0 ± 8.60	180.2 ± 5.22
Female					
0	76.6 ± 7.77	88.4 ± 9.34	101.4 ± 10.16	119.0 ± 9.35	137.4 ± 8.96
1250	75.8 ± 9.18	85.8 ± 10.11	96.8 ± 11.39	113.8 ± 11.86	138.2 ± 8.38
2500	76.0 ± 9.92	88.8 ± 9.88	99.0 ± 12.00	119.2 ± 14.31	140.4 ± 10.21
5000	73.4 ± 12.12	85.6 ± 15.01	96.0 ± 20.65	108.6 ± 25.59	129.8 ± 23.25

^{a)}Values are presented as means ± SD (g).

통계처리

본 시험에서는 사망동물이 관찰되지 않아 반수치사량 (LD₅₀)의 산출을 위한 통계처리는 실시하지 않았다.

결 과

사망동물 및 치사량

시험물질을 투여한 후 14일간 사망유무를 관찰한 결과 (Table 1), 모든 시험군의 암수동물에서 시험물질의 투여에 기인된 사망은 관찰되지 않았다. 따라서 랫드에서 본 시험물질의 최소치사량(minimal lethal dose)은 암수 모두 5000 mg/kg을 훨씬 상회하는 것으로 나타났다.

일반증상

시험기간 중 일반증상을 관찰한 결과(Table 2), 수컷 1250 mg/kg 투여군에서 투여 후 1일째부터 3일째까지 적색유루(reddish tear)가 1례 관찰되었고, 암컷 2500 mg/kg 투여군에서 투여 당일에서부터 투여 후 4일째까지 탈

모(loss of fur)가 1례 인정되었다. 그 외의 투여군에서는 어떠한 이상소견도 관찰되지 않았다.

체중

체중측정 결과(Table 3), 모든 투여군의 암수동물이 정상적인 체중증가를 나타내었다.

부검소견

시험물질 투여 후 14일째의 부검시 육안적인 부검소견을 관찰한 결과(Table 4), 모든 시험군의 암수동물에서 어

Table 4. Gross findings in male and female rats after single oral administration of *Balbusae caulis* in taeniam (n=5)

Dose (mg/kg)	0	1250	2500	5000
Male				
Appears normal	5 ^{a)}	5	5	5
Female				
Appears normal	5	5	5	5

^{a)}No. of animals with the gross findings.

떠한 이상소견도 관찰되지 않았다.

고 찰

시험물질 죽여의 단회 경구투여에 의한 급성독성을 조사하기 위하여 식품의약품안전청의 독성시험기준(1999)에 따라 Sprague-Dawley 계통의 수컷 랫드에 0, 1250, 2500 및 5000 mg/kg의 용량으로 1회 경구투여한 후 14 일간의 사망률, 일반증상, 체중변화 및 부검소견을 관찰하였다.

시험기간 중 수컷 1250 mg/kg 투여에서 관찰된 적색 유루와 암컷 2500 mg/kg 투여군에서 관찰된 탈모 소견은 발생빈도가 매우 낮고, 또한 용량상관성이 인정되지 않아 시험물질의 투여와는 상관성이 없는 우발적 소견(incidental findings)으로 사료된다. 랫드의 경우, 적색유루와 탈모는 스트레스성 원인에 의해서도 흔히 관찰되는 소견으로서(Kim et al., 2002, 2003; Son et al., 2003), 본 시험에서도 동일 사육상자 내의 동물끼리 서열싸움이나 강제경구투여에 의한 물리적 스트레스에 기인되어 발생한 것으로 사료된다. 상기 이외에 체중이나 부검소견에서도 시험물질의 투여에 기인된 어떠한 이상소견도 인정되지 않았다. 따라서 본 시험결과는 랫드에 죽여를 5000 mg/kg 용량까지 1회 경구투여하면 어떠한 독성소견도 유발하지 않으며, 최소치사량은 5000 mg/kg을 훨씬 상회한다는 것을 의미한다. Hodge와 Sterner(1949)의 급성독성 분류에 의하면 반수치사량이 체중 kg당 5000 mg 이상이면 실질적인 무독성 물질로 구분하고 있으며, 미국 환경보호청(US environmental Protection Agency)에서도 경구투여 반수치사량이 체중 kg당 5000 mg 이상이면 무해한 물질로 분류하고 있다(1998). 상기한 기준에 의거하여 볼 때, 죽여의 반수치사량이 체중 kg당 5000 mg이 훨씬 상회한다는 것은 사람에게 있어서 전혀 독성이 없는 매우 안전한 물질이라는 것을 나타낸다.

결론적으로 Sprague-Dawley 계통의 랫드에서 죽여의 단회 경구투여는 5000 mg/kg 이하의 용량에서 어떠한 독성영향도 유발하지 않았으며, 본 시험조건 하에서의 최소치사량은 5000 mg/kg을 훨씬 상회하는 것으로 나타났다. 따라서 본 시험을 통하여 죽여는 투여가능 최대용량에서도 독성이 없는 안전한 천연물이라는 것을 확인하였고, 의약품이나 기능성식품으로서의 개발가능성을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 2003년 농림기술개발사업의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 명성하, 이학인, 김연섭 (1999): 죽여와 나국자가 실험적 당뇨에 미치는 영향. 대한본초학회지, **14**, 79-86.
- 식품의약품안전청 (1999): 의약품등의 독성시험기준. 식품의약품안전청고시 제1999-61호, 서울.
- 호희명 (1993): 중국한의비방대전. 서원당, 서울, pp. 347.
- Flood, M.T. and Kondo, M. (2003): Safety evaluation of lipase produced from *Rhizopus oryzae*: summary of toxicological data. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **37**, 293-304.
- Hodge, H.C. and Sterner, J.H. (1949): Tabulation of toxicity classes. *Am. Ind. Hyg. Q.*, **10**, 93.
- Hu, C., Zhang, Y. and Kitts, D.D.J. (2000). Evaluation of antioxidant and prooxidant activities of bamboo *Phyllostachys nigra* var. *henonis* leaf extract in vitro. *Agric. Food Chem.*, **48**, 3170-3176.
- Munro, I.C., Kennepohl, E. and Kroes, R. (1999): A procedure for the safety evaluation of flavoring substances. *Food Chem. Toxicol.*, **37**, 207-232.
- Kim, N.K., Cho, S.H. and Lee, S.D. (2001): Functional properties and antimicrobial activity of bamboo (*Phyllostachys* spp.) extracts. *Kor. J. Postharvest Sci. Technol.*, **8**, 475-480.
- Kim, J.C., Kang, B.H., Shin, C.C., Kim, Y.B., Lee, H.S., Kim, C.Y., Han, J., Kim, G.S., Chung, D.W. and Chung, M.K. (2002): Subchronic toxicity of plant sterol esters administered by gavage to Sprague-Dawley rats. *Food Chem. Toxicol.*, **40**, 1569-1580.
- Kim, J.C., Shin, D.H., Ahn, T.H., Kang, S.S., Song, S.W., Han, J., Kim, C.Y., Ha, C.S. and Chung, M.K. (2003): 26-Week oral repeated dose toxicity study of the new quinolone antibacterial DW-116 in Sprague-Dawley rats. *Food Chem. Toxicol.*, **41**, 637-645.
- Okabe, S., Takeuchi, K., Takagi, K. and Shibata, M. (1975): Stimulatory effect of the water extract of bamboo grass (Folin solution) on gastric acid secretion in pylorus-ligated rats. *Jpn. J. Pharmacol.*, **25**, 608-609.
- Rajebhosale, V.A., Burte, R.G. and Toro, V.A. (1998): Nutritive value of bamboo (*Dendrocalamus calostachyus*) leaves for crossbred calves. *Ind. J. Anim. Nutr.*, **15**, 58-60.
- Shibata, M., Yamatake, M., Sakamoto, M., Kanamori, K., Takagi, K. and Okabe, S. (1975): Pharmacological studies on bamboo grass. *Nippon Yakurigaku Zasshi*, **71**, 481-485.
- Shibata, M., Sato, F., Takeshita, K. and Otani, K. (1980): Pharmacological studies on bamboo grass *Sasa-albomarginata* 5. Combined effects of the extract F-D with vitamin C. *Shoyakugaku Zasshi*, **34**, 274-279.
- Son, W.C. (2003): Analysis of fighting-associated wounds causing death of young male CD-1 mice in carcinogenicity studies. *Scand. J. Lab. Anim. Sci.*, **30**, 101-111.
- Tsunoda, S., Yamamoto, K., Sakamoto, S., Inoue, H. and Nagasawa, H. (1998): Effects of Sasa Health, extract of bamboo grass leaves, on spontaneous mammary tumorigenesis in SHN mice. *Anticancer Res.*, **18**, 153-158.
- US Environmental Protection Agency. (1998): Health Effects Test Guidelines OPPTS 870.1100, Acute Oral Toxicity. U.S. Government Printing Office, Washington, DC.
- Wolf, B.W. and Weisbrode, S.E. (2003): Safety evaluation of an extract from *Salacia oblonga*. *Food Chem. Toxicol.*, **41**, 867-874.