



감초가 랫드의 배 · 태자 발생에 미치는 영향

신선희 · 장자영 · 백인정 · 연정민 · 남상윤 · 윤영원 · 조대현¹ · 김순선¹ · 이규식¹ · 곽승준¹ · 김윤배
충북대학교 수의과대학 및 동물의학연구소, ¹국립독성연구원 생식독성과

Effects of Licorice on Embryonic and Fetal Development in Rats

Sunhee Shin, Ja Young Jang, In-Jeoung Baek, Jung-Min Yon, Sang-Yoon Nam, Young Won Yun,
Dae-Hyun Cho¹, Soon-Sun Kim¹, Gyu-Seek Rhee¹, Seung-Jun Kwack¹ and Yun-Bae Kim

College of Veterinary Medicine and Research Institute of Veterinary Medicine,
Chungbuk National University, Cheongju 361-763

¹Department of Toxicology, National Institute of Toxicological Research,
Korea Food and Drug Administration, Seoul 122-704, Korea

Received November 28, 2005; Accepted December 12, 2005

ABSTRACT. The developmental toxicity of water extract of licorice (*Glycyrrhiza glabra*) was evaluated in rats. Licorice extract (500, 1,000 or 2,000 mg/kg) was dissolved in drinking water and orally administered to male rats from 9 weeks before mating to the day of copulation, and to females from 2 weeks before mating to gestational day 19. On gestational day 20, the animals were sacrificed for Cesarian section, and maternal and fetal abnormalities were examined. Licorice extract neither induce clinical signs, nor affect the body weight gain, feed and water intake, estrous cycle, copulation and fertility rates, blood 17 β -estradiol level and organ weights of dams. Also, the implantation and development including body weights, absorption and death of embryos and fetuses were not influenced by *in utero* exposure to licorice. In addition, there were no increases in external, visceral and skeletal abnormalities of fetuses. Taken together, it is suggested that no observed adverse effect level of licorice extract is higher than 2,000 mg/kg, and that long-term *in utero* exposure to licorice might not cause developmental toxicities of embryos and fetuses.

Keywords: *Glycyrrhiza glabra* (licorice), Glycyrrhizin (glycyrrhizic acid), Developmental toxicity, Safety.

서 론

감초(*Glycyrrhiza glabra*, licorice)는 콩과에 속하는 다년생 초본으로, 중국, 몽골, 시베리아, 스페인 등에 분포하고 있으며, 그 뿌리는 단맛이 나므로 약재나 감미료로 사용되고 있다(Davis and Morris, 1991). 감초의 주성분은 사포닌의 일종인 glycyrrhizin(glycyrrhizic acid)과 칼슘, 칼륨, 당질, 섬유질, 회분 등으로 알려져 있다(Spinks and Fenwick, 1990). Glycyrrhizin은 수용성 triterpenoid glycoside로 감초의 감미와 주요 약리작용을 나타내는 활

성성분이다. Glycyrrhizin의 대표적인 작용은 interferon- γ (IFN- γ)의 생산을 유도하는 것으로, 병원체의 침입 특히, influenza, herpes simplex, encephalitis, cytomegalovirus, varicella Zoster, 그리고 human immunodeficiency virus(HIV)와 같은 바이러스성 감염의 치료에 효과가 있다고 보고되어 왔다(Ito, 1987, 1988; Nakashima, 1987; Ikegarri, 1989; Mori, 1989, 1990a, b, 1994; Hirabyashi, 1991; Endo, 1994; Imaizumi, 1994; Miyaji, 1994; Watanabe, 1994). 또 간염이나 간경화에 있어서는 간세포의 재생을 증진시키고 동시에 섬유화를 억제한다고 보고 되었으며(Numazaki, 1994), 해독, 항염증 및 항알лер지 등 여러 약리적 효과를 나타내는 것으로 알려졌다(Davis and Morris, 1991).

그러나 감초를 장기간 복용함에 있어서 객관적인 안전

Correspondence to: Yun-Bae Kim, College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, 12, Gaesin-dong, Cheongju 361-763, Korea
E-mail: solar93@cbu.ac.kr

성 자료가 확보되지 않아 그 사용에 주의가 요구된다. 특히 전 세계적으로 가장 많이 이용되고 있는 한약재 중의 하나인 감초는 국내에서 1997년 한방의료보험의 적용 이후 한약재의 수요가 급증하고 있음에도 불구하고 오랫동안 전통적으로 사용되어 왔다는 이유만으로 안전하다는 막연한 인식이 대중에게 자리잡고 있는 것이 현실이다. 그러나 최근 연구자들은 감초가 mineralocorticoid와 glucocorticoid의 성질을 모두 가지고 있어 장기간의 감초 복용이 steroids 대사에 영향을 미쳐 수분과 sodium 저류에 의한 고혈압은 물론 hypokalemia에 따른 쇠약 및 근육경련의 원인이 될 수 있는 것으로 보고하였다(Haberer *et al.*, 1984; Nielsen and Pedersen, 1984; Barrella *et al.*, 1991; Biglieri, 1991; Schambelan, 1994; Armnini *et al.*, 1996; Dinah *et al.*, 1999).

Glycyrrhizin은 소화관 내에서 18β -glycyrrhetic acid로 전환되는데, glycyrrhizin과 18β -glycyrrhetic acid 모두 11β -hydroxysteroid dehydrogenase를 억제한다(Baker, 1994). 따라서 11β -hydroxysteroid dehydrogenase의 억제로 인해 cortisol과 cortisone의 비율이 달라진다. Cortisol은 aldosterone처럼 mineralocorticoid 수용체에 대해 동일한 결합 친화력을 가지므로, 과도한 cortisol은 mineralocorticoid 수용체와 결합하여 활성화시킨다(Epstein *et al.*, 1977; Walker and Edwards, 1994). 결국 콩팥에서 cortisol에 의한 mineralocorticoid 수용체의 활성화는 저류된 sodium과 배설된 potassium 및 hydrogen 이온의 renal tubular exchange를 바꾼다. 이로 인해 세포 용적이 증가하게 되고, 고혈압이 유발되며, hypokalemia로 인한 부종, 쇠약 및 근육경련 등의 대사성 알칼리증(metabolic alkalosis)이 초래될 수 있다(Chamberlain and Abolnik, 1997). 또한 glycyrrhizin의 섭취는 임상적으로 혈장과 뇌종 aldosterone 수치의 상승을 동반하지 않는 pseudoprimary hyperaldosteronism을 나타내는 hypermineralocorticoid syndrome을 유발한다(Farese *et al.*, 1991). 이런 이유로 일본에서는 glycyrrhizin에 의한 전해질 이상인 pseudoaldosteronism 발생 보고 이후 1일 최대 배합양이 glycyrrhizin으로 100 mg 이상, 감초로 2.5 g 이상인 경우 특별한 주의가 필요한 것으로 규정하고 있으며, 미국에서는 상용되는 감초 감미식품에는 glycyrrhizin을 포함하지 않도록 하고 있다(Satoru *et al.*, 1986).

실제로 반복투여독성시험에서 감초는 간과 콩팥의 종량을 증가시키고, 간 및 콩팥독성 관련 혈액 생화학적 지표에 영향을 미쳤으며, 특히 병리조직학적 검사에서는 간질 섬유화, 단백질 원주 등을 동반한 콩팥 독성을 나타내었다(Koh *et al.*, 2005). 이러한 결과는 감초가 전해질의 불

균형을 유발한다는 보고에서 예견된 것이다.

특히 glycyrrhizin은 17-hydroxyprogesterone의 androstanedione으로의 전환을 촉매하는 17,20-lyase를 억제하는데, 이로 인해 혈청 testosterone의 감소와 17-hydroxyprogesterone의 증가를 초래한다. 그러므로 장기간의 glycyrrhizin 복용은 성기능장애나 성욕 감퇴의 원인이 될 수 있는 것으로 보고된 바 있다(Armanini *et al.*, 1999). 따라서 본 연구에서는 감초에 대한 생식·발생독성평가의 일환으로 임신 중 노출되었을 때 나타날 수 있는 배·태자발생에 대한 영향을 식품의약품안전청의 「의약품 등의 독성시험 기준」(식품의약품안전청, 1999)의 생식·발생독성시험법에 준하여 체계적으로 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물

5주령의 수컷과 7주령의 암컷 Sprague-Dawley 랙트를 (주)오리엔트(서울)로부터 구입하여 1주일간 사육실 및 실험실 환경에 적응시키면서 일반증상을 관찰하여 이상이 없음을 확인한 다음 군당 30수씩 배정하여 시험에 사용하였다. 동물은 동거기간을 제외하고는 케이지당 3수씩 사육하였으며, 사육실 및 실험실 환경은 온도 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 10\%$, 환기횟수 12회/hr, 조명시간 12 hr, 조도 150~300 lux로 조절하였고, 사료는 Purina Rat Chow[®](Agribrands Purina Korea Inc., 평택)를, 음수는 필터와 자외선살균기로 여과살균한 정제수를 자유선택으로 투여하였다.

시험물질

이전의 90일 반복투여독성시험 결과에서 무해용량(no observed adverse effect level, NOAEL)이 571 mg/kg으로 나타나, 최고용량을 투여 한계용량인 2,000 mg/kg으로, 저용량을 무해용량과 유사한 500 mg/kg으로, 그리고 중간용량을 고용과 저용량의 중항으로 설정하였다(Koh *et al.*, 2005). 동결건조 감초 물추출물은 냉장보관하면서 투여 당일 멸균정제수에 저용량군을 위해서는 500 mg/10 ml(5%), 중간용량군을 위해서는 1,000 mg/10 ml(10%), 고용량군을 위해서는 2,000 mg/10 ml(20%)로 녹여 10 ml/kg의 투여액량으로 매일 오전 10시경에 경구투여하였으며, 대조군에는 동일량의 용매를 투여하였다.

투여

투여기간은 식품의약품안전청 「의약품 등의 독성시험 기준」(식품의약품안전청, 1999)의 조합시험법(Two study

design)에 따라 수컷은 동거 9주 전인 6주령부터 교미 확인일까지, 암컷은 동거 2주 전인 8주령부터 임신 19일까지 투여하였다.

일반증상 관찰 및 체중측정

시험기간 동안 매일 1회 임상증상을 관찰하였는 바, 상태변화, 운동성, 외관, 중추신경계 증상, 자율신경 증상 등의 일반증상 및 빈사동물과 사망동물의 유무를 관찰하였다. 체중은 정상 수컷과의 동거 전에는 4일 간격으로, 임신 중에는 매일 측정하였다.

사료 및 음수섭취량 측정

시험 전 기간 동안 주당 1회 측정하되, 임신 후에는 당일(0일)부터 재설정하였다. 사료 및 음수섭취량은 전날 일정량의 사료와 음수를 공급하고 다음날 같은 시각에 잔량을 측정하여 케이지당 동물수로 나누어 산출하였다.

발정주기, 교미율 및 수태율 검사

암컷 랫드에 대하여 교미 전 2주 동안 매일 질도말 검사(vaginal smear)를 실시하였다. 이 때 탈락되는 질점막상피세포를 Giemsa 액으로 염색하여 편평유핵상피세포(squamous nucleated epithelial cells), 각화유핵상피세포(cornified nucleated epithelial cells), 각화무핵상피세포(cornified nonnucleated epithelial cells) 및 백혈구(leukocytes)의 출현 여부와 정도에 따라 발정전기, 발정기, 발정후기 및 휴지기의 4단계로 분류하였다(Schutte, 1967; 이중달, 1986; Guyant, 1988).

발정주기 검사 후의 암컷과 수컷 랫드를 1 : 1로 1주일간 동거시켰다. 동거 후 매일 질도말 검사를 통해 질전(vaginal plug)이나 정자가 관찰된 날을 임신 0일로 정하였다. 처음 1주간의 동거기간 중 교미가 확인되지 않은 동물을 1주간의 추가 교미기간을 두었다. 임신유무의 최종 판정은 부검시 자궁내 태자의 존재나 착상흔적에 의해 판정하였다.

부검, 장기중량 측정 및 병리조직학적 검사

임신 20일에 동물을 ether로 마취시키고 외관을 검사한 후 방혈, 치사시켰다. 부검과정에서 다음의 체내·외 장기 및 조직을 육안으로 검사하였다; 체외피모, 피부 및 체공(external surface and all orifices), 두개장(craniocavum), 뇌 및 척수표면(external surfaces of the brain and spinal cord), 비강 및 부비강(nasal cavity and paranasal sinuses), 흉강, 복강 및 골반강과 포함장기(thoracic, abdominal and pelvic cavities and their viscera), 경부 장기 및 조직(cervical tissues and organs),

사체(carcass).

부검시 개체별로 난소와 분비샘을 포함하여 주요 장기의 중량을 측정하였다. 육안적 이상이 관찰된 장기에 한하여 고환인 경우는 Bouin's solution에, 다른 장기는 10% 중성 포르말린 용액(neutral formalin solution)에 고정하고 필요시 paraffin 조직을 만들어 hematoxylin과 eosin으로 염색하여 병리조직학적 검사를 실시하였다.

배·태자발생 검사

임신말기 제왕절개한 모체로부터 임신황체수, 착상수, 생존태자수, 흡수배자수 및 사망태자수를 조사하여 착상률과 사망률을 산출하였다; 착상률(%) = (착상수/임신황체수) × 100. 태자사망률(%) = (흡수배자수 + 사망태자수/착상수) × 100.

적출된 자궁으로부터 생존태자와 태반을 적출하여 개별 체중과 평균 태반중량을 측정하였다. 또 적출된 생존태자에 대하여 전체적으로 눈, 코, 귀, 입, 구개, 사지 및 꼬리 등의 위치, 크기 및 형태 등과 몸 전체의 부종 및 혈종 등 외표이상 유무를 검사하고, 항문과 성기 사이의 거리 등으로 성별을 조사하여 암수 성비를 산출하였다.

전체 생존태자의 절반(왼쪽 자궁각의 난소측으로부터 짹수번호)을 Bouin's solution에 2주 이상 고정한 후, 두부 및 복부는 Wilson법(1965), 흉부는 Nishimura(1974)의 현미해부법에 의하여 내장이상 유무를 검사하였다.

생존태자의 나머지 절반(홀수번호)은 95% ethanol에 1주 이상 고정한 후 변형된 Inouye(1976)의 경골 단일염색법에 따라 Alizarin red S로 골격을 염색한 다음 실체현미경(Stemi 2000, Zeiss) 하에 골격이상의 유무 및 골화 상태를 검사하였다.

통계학적 해석

결과는 평균 ± 표준편차로 나타내었으며, ANOVA test에 이어 Dunnett's t-test를 이용하여 대조군과의 유의성을 $p < 0.05$ 의 수준에서 검정하였다. 또 자료가 비모수인 경우에는 Kruskal-Wallis test로 분석하였다.

결 과

일반증상, 체중변화, 사료 및 음수섭취량

임신 2주 전부터 임신말기까지 투여한 랫드에서 아무런 증상이 나타나지 않았다. 전 시험기간 동안 모체의 체중변화는 대조군과 감초 투여군에서 유사하였는데, 임신 전 2주간 약 30~35 g의 증기를 보인 데에 비해 3주간의 임신기간 동안에는 약 150~160 g의 증가를 나타냄으로써

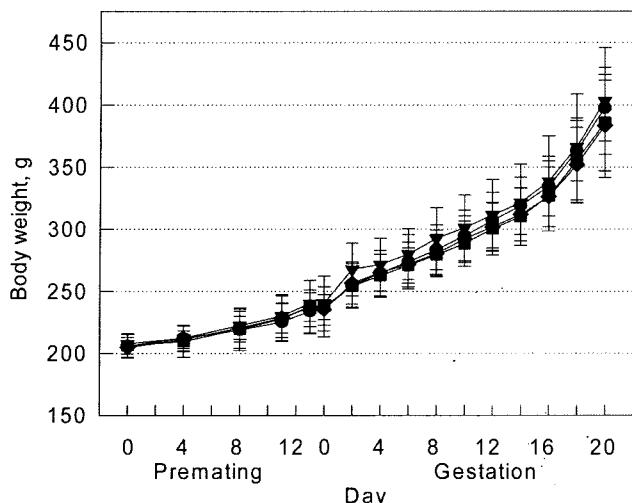


Fig. 1. Change in body weights of dams treated with licorice from 14 days before mating to final day of gestation. ●, Vehicle; ▼, 500 mg/kg; ■, 1,000 mg/kg; ◆, 2,000 mg/kg.

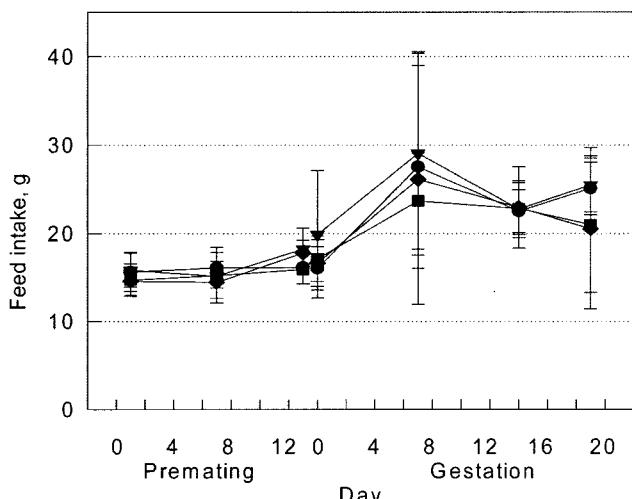


Fig. 2. Daily feed intake (g) by dams treated with licorice from 14 days before mating to final day of gestation. ●, Vehicle; ▼, 500 mg/kg; ■, 1,000 mg/kg; ◆, 2,000 mg/kg.

임신말기의 급격한 상승을 보여주었다(Fig. 1).

일일 사료섭취량에 있어서도 대조군과 감초 투여군 사이에 유의성 있는 차이가 보이지 않았는데, 투여개시기인 8주령에 15~16 g, 임신 직전에는 16~18 g을 소비하였으나 임신 후 상당히 증가하여 21~28 g까지 섭취하였다(Fig. 2). 음수 섭취량에 있어서도 유사한 경향을 나타내었는 바, 임신 전에는 27~32 ml를 섭취한 데 비해 임신 후에는 44~62 ml까지 상승하기도 하였다(Fig. 3). 이러한 사료 및 음수섭취량의 변화는 편차가 큰 경우도 있었지만 대조군과 모든 용량의 감초 투여군에서 전혀 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다.

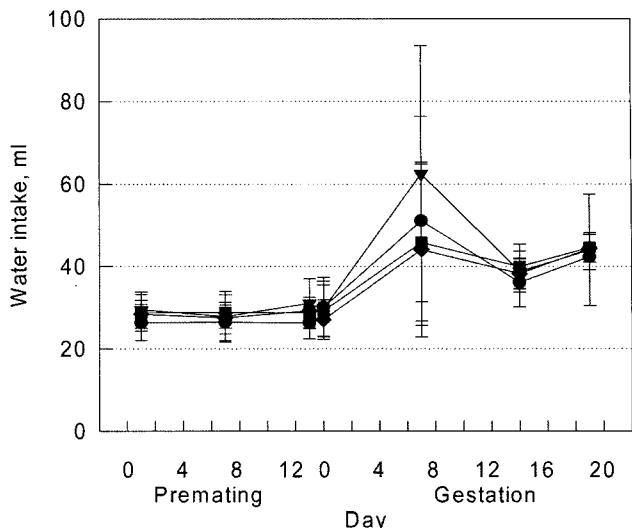


Fig. 3. Daily water intake (ml) by dams treated with licorice from 14 days before mating to final day of gestation. ●, Vehicle; ▼, 500 mg/kg; ■, 1,000 mg/kg; ◆, 2,000 mg/kg.

Table 1. Estrous cycle, copulation and fertility rates in dams treated with licorice for 14 days before mating

Treatment (mg/kg)	Vehicle	Licorice (500)	Licorice (1,000)	Licorice (2,000)
No. of rats examined	28	29	29	28
No. of rats with 4-day estrous cycle (%)	(82.1)	(72.4)	(79.3)	(78.6)
No. of rats paired	28	29	29	27
Copulated	26	22	25	22
Copulation rate (%)	(92.9)	(75.9)	(86.2)	(78.6)
Pregnant	26	22	25	22
Fertility rate (%)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)

발정주기, 교미율 및 수태율

2주간 감초를 투여한 암컷의 발정주기 검사 결과 4일 주기를 나타내는 랙트의 비율에 있어 대조군은 82.1%인데 비해 저용량에서는 72.4%, 중간용량에서는 79.3%, 그리고 고용량에서는 78.6%를 보임으로써 대조군에 비해 약간 낮은 경향을 나타냈으나 유의성이 없었으며, 용량의존성 또한 관찰되지 않았다(Table 1). 교미율에 있어서도 대조군의 92.9%에 비해 저용량, 중간용량 및 고용량에서 각각 75.9%, 86.2% 및 78.6%로 약간 낮았으나 유의성 및 용량의존성이 인정되지 않았다. 한편 대조군 및 감초 투여군의 교미성립 동물은 모두 임신한 것으로 확인되었다.

장기중량

임신 2주 전부터 임신기간 동안 투여하고 임신말기에 부검한 모체의 장기중량에서 고용량에서 뇌하수체가 약간

Table 2. Organ weights (g) of dams on gestational day 20 following treatment with licorice from 14 days before mating

Treatment (mg/kg)	Vehicle	Licorice (500)	Licorice (1,000)	Licorice (2,000)
Liver	14.33 ± 1.37	13.93 ± 2.21	13.20 ± 1.83	12.93 ± 1.48
Kidneys	1.87 ± 0.24	1.89 ± 0.23	1.86 ± 0.19	1.85 ± 0.19
Spleen	0.75 ± 0.11	0.72 ± 0.21	0.67 ± 0.10	0.66 ± 0.09
Adrenal glands	0.0670 ± 0.0128	0.0665 ± 0.0129	0.0981 ± 0.1412	0.0637 ± 0.0095
Brain	1.61 ± 0.30	1.56 ± 0.25	1.56 ± 0.29	1.60 ± 0.28
Pituitary glands	0.0136 ± 0.0032	0.0136 ± 0.0057	0.0134 ± 0.0024	0.0168 ± 0.0105
Lung	1.35 ± 0.15	1.24 ± 0.19	1.27 ± 0.16	1.24 ± 0.11
Heart	1.03 ± 0.12	1.05 ± 0.16	1.01 ± 0.10	1.03 ± 0.13
Thymus	0.44 ± 0.12	0.49 ± 0.12	0.44 ± 0.12	0.42 ± 0.11
Thyroid glands	0.0251 ± 0.0227	0.0195 ± 0.0073	0.0170 ± 0.0038	0.0166 ± 0.0060
Ovaries	0.1530 ± 0.0295	0.1488 ± 0.0202	0.1545 ± 0.0215	0.1543 ± 0.0315

증가하였고, 중간용량 및 고용량에서 감상샘이 감소하는 경향을 나타냈으나 유의성이 없었으며, 난소를 비롯한 모든 장기 중량에 있어서 유의할 만한 변화가 관찰되지 않았다(Table 2).

착상율, 태자사망률 및 외표이상

임신 암컷의 태반 중량은 대조군과 감초 투여군에서 평균 0.47~0.58 g으로 유사하였으며, 황체수 역시 17.5~19.4개/litter로 유의한 차이가 없었다(Table 3). 또한 착상수도 모든 군에서 13.2~14.1개/litter를 나타내어 착상율은 69.6~80.6%로 군간에 유사하였다. 태자사망율은 대조군의 3.2%에 비해 저용량군에서 5.1%로 높았지만 1 수의 모체에서 모든 태자의 초기흡수로 인한 것으로 확인되었고, 모든 감초 투여군에서 유의성 있는 차이를 보이지 않았다. 한편 생존태자수는 모든 군에서 13.0~14.3

수/litter로 유사하였고, 수컷체중은 3.94~4.18 g, 암컷체중은 3.83~4.02 g으로 군간에 차이를 보이지 않았으며, 외표이상을 나타내는 개체는 발견되지 않았다.

태자의 내장 및 골격이상

임신 말기에 부검하여 얻은 생존태자의 내장이상에 대한 검사에서 대조군에서는 151수의 검사 태자 중 신우 및 노관의 확장이 3례(2.0%), 경부 흉선잔류가 4례(2.6%) 관찰된 데 비해, 저용량군에서는 163수 중 각각 6례(3.7%) 와 10례(6.1%), 중간용량군에서는 138수 중 각각 4례(2.9%)와 8례(5.8%), 그리고 고용량군에서는 127수 중 경부 흉선잔류만이 2례(1.6%) 관찰되어, 저용량군(9.8%)과 중간용량군(8.7%)에서 변이 태자 비율이 대조군(4.6%)에 비해 약간 증가하였으나 고용량군에서는 1.6%로 오히려 감소하여 용량의존성 반응을 보여주지 않았다.

Table 3. Fetal implantation, mortality and external appearance examined on gestational day 20 following treatment with licorice from 14 days before mating

Treatment (mg/kg)	Vehicle	Licorice (500)	Licorice (1,000)	Licorice (2,000)
No. of dams	24	25	21	20
Placenta weights	0.48 ± 0.08	0.49 ± 0.05	0.47 ± 0.07	0.58 ± 0.53
No. of corpora lutea No./litter	442 18.4 ± 3.0	421 17.5 ± 3.2	398 19.0 ± 4.0	387 19.4 ± 4.4
No. of implantations No./litter	332 13.8 ± 1.4	332 13.8 ± 2.2	296 14.1 ± 3.6	264 13.2 ± 3.4
Implantation rate (%)	76.6 ± 12.8	80.6 ± 15.8	78.0 ± 23.2	69.6 ± 22.1
No. of fetal death Early resorption Late resorption Death	10 9 1 0	17 16 1 0	10 9 1 0	12 11 1 0
Fetal mortality (%)	3.2 ± 4.6	5.1 ± 6.9	3.3 ± 4.1	4.3 ± 5.7
No. of live fetuses No./litter	320 13.3 ± 1.6	313 13.0 ± 2.4	286 14.3 ± 1.6	252 13.3 ± 1.4
Fetal body weights (g)	Male Female	3.94 ± 0.98 3.83 ± 0.48	4.14 ± 0.40 3.98 ± 0.47	4.18 ± 0.27 4.02 ± 0.62
External anomalies (%)		0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

Table 4. Visceral abnormalities of fetuses from dams treated with licorice from 14 days before mating

Treatment (mg/kg)	Vehicle	Licorice (500)	Licorice (1,000)	Licorice (2,000)
No. of dams	24	25	20	19
No. of fetuses examined	151	163	138	127
No. of variations	7 (4.6%)	16 (9.8%)	12 (8.7%)	2 (1.6%)
Dilatations of renal pelvis & ureter	3 (2.0%)	6 (3.7%)	4 (2.9%)	0 (0.0%)
Thymic remnant in the neck	4 (2.6%)	10 (6.1%)	8 (5.8%)	2 (1.6%)

Table 5. Skeletal abnormalities of fetuses from dams treated with licorice from 14 days before mating

Treatment (mg/kg)	Vehicle	Licorice (500)	Licorice (1,000)	Licorice (2,000)
No. of dams	24	25	20	19
No. of fetuses examined	157	162	139	114
No. of abnormalities	24 (15.3%)	23 (14.2%)	13 (9.4%)	23 (20.2%)
Malformations	2 (1.3%)	3 (1.9%)	1 (0.7%)	0 (0.0%)
Asymmetric ribs alignment	1 (0.6%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Cleavage of sternum	1 (0.6%)	3 (1.9%)	1 (0.7%)	0 (0.0%)
Variations	22 (14.0%)	20 (12.3%)	12 (8.6%)	23 (20.2%)
Delayed ossification of sternum	17 (10.8%)	17 (10.5%)	5 (3.6%)	15 (13.2%)
Bipartite ossification of vertebral centrum	4 (2.5%)	2 (1.2%)	3 (2.2%)	4 (3.5%)
Dumbbell ossification of vertebral centrum	1 (0.6%)	1 (0.6%)	4 (2.9%)	4 (3.5%)

(Table 4).

골격이상에 대한 검사에서 대조군에서는 157수의 검사태자 중 늑골비대칭과 흉골분절이 각각 1례씩 관찰되어 1.3%의 기형율을 나타냈으며, 흉골의 골화지연이 17례(10.8%), 척추의 분절골화가 4례(2.5%), 그리고 아령형골화가 1례(0.6%) 관찰되어 14.0%의 변이율을 나타내었다. 이에 비해 저용량군에서는 각각 1.9%와 12.3%, 중간용량군에서는 0.7%와 8.6%, 그리고 고용량군에서는 0.0%와 20.2%의 기형율과 변이율을 나타냄으로써 유의성과 용량의존성을 나타내지 않았다(Table 5).

고 찰

감초는 전 세계적으로 가장 널리 사용되고 있는 천연물 중의 하나로, 약재나 감미료, 또는 다른 약재의 약효를 촉진시키기 위한 복방제로 과거 수천년 동안 한방에서 널리 사용되어 왔다. Glycyrrhizin은 감초의 주요 활성성분으로 면역반응을 유도하여 병원체의 침입을 막아 주는 한편, 간염이나 간경화로부터 간세포의 재생을 증진시키고 섬유화를 억제하며, 해독, 항염증 및 항알러지 등의 다양한 약리작용을 나타내는 것으로 알려져 있다(Ito, 1987, 1988; Nakashima, 1987; Ikegarri, 1989; Mori, 1989, 1990a, b, 1994; Davis and Morris, 1991; Hirabyashi, 1991; Endo, 1994; Imaizumi, 1994; Miyaji, 1994; Numazaki, 1994; Watanabe, 1994). 그러나 감초를 장기간 복용할 경우 steroids 대사에 영향을 미치고, 콩팥의 전해질 균형

을 깨뜨림으로써 고혈압, 쇠약 및 근육경련 등을 유발하는 것으로 알려졌으며(Haberer et al., 1984; Nielsen and Pedersen, 1984; Barrella et al., 1991; Biglieri, 1991; Schambelan, 1994; Armanini et al., 1996; Dinah et al., 1999), 특히 혈청 testosterone의 감소와 17-hydroxyprogesterone의 증가를 초래하여 성기능장애나 성욕의 감퇴를 초래할 수 있는 것으로 보고되었다(Armanini et al., 1999).

한편 이전의 90일 반복투여독성시험에서 감초는 간과 콩팥의 중량을 약간 증가시키고, mean corpuscular volume, albumin, albumin/globulin ratio, total protein, alkaline phosphatase, creatinine, blood urea nitrogen, creatine phosphokinase 등의 혈액 생화학적 지표에 영향을 미쳤으며, 병리조직학적 검사결과 미약하지만 간질 섬유화, 단백질 원주 등을 동반한 콩팥병변을 유발하였다(Koh et al., 2005). 그러나 생식기를 비롯한 내분비계에는 이렇다 할 병변을 유발하지 않았다. 따라서 본 연구에서는 생식·발생독성시험의 일환으로 배·태자발생독성시험을 통해 감초가 암컷의 임신, 착상, 배·태자의 발생 및 기형유발 등에 미치는 전반적인 영향을 평가하고자 하였으며, 더 나아가 혈중 성호르몬 농도 변화와 생식독성 지표와의 상관성을 규명하고자 하였다.

본 연구결과 동거 전 2주간 및 임신기간 중 감초 물출물을 2,000 mg/kg까지 경구투여한 모체에서 일반증상, 체중변화, 사료 및 음수섭취량에 있어서 아무런 영향이 나타나지 않았다. 또 발정주기, 교미 성립율, 수태율, 부검

시의 생식기를 포함한 주요 장기의 중량에도 영향을 미치지 않았다. 배·태자의 착상율, 사망률, 생존태자 체중 및 외표이상 역시 영향을 받지 않으며, 태자의 내장 및 골격 이상 검사결과에서도 기형율과 변이율에 있어서 대조군과 유의성 있는 차이가 발견되지 않았다. 더욱이 생식기능에 영향을 미칠 수 있는 혈중 17β -estradiol 농도 역시 변화가 없어 이전의 testosterone에 대한 연구결과(Armanini *et al.*, 1999)와는 달랐다(data not shown). 특히 본 연구와 함께 진행된 수태능 및 초기배 발생 – 출생전후 및 모체기능 조합시험에서 9주간 투여한 수컷에서도 혈중 testosterone 농도에 영향을 미치지 않음으로써 Armanini *et al.*(1999)의 연구와 다른 결과를 보여 주었다(unpublished data).

이상의 결과를 바탕으로 판단할 때 감초 물추출물은 2,000 mg/kg의 고용량까지 랙트의 성호르몬 생성, 교미 행동, 발정주기, 착상, 초기배 발생, 기형유발 등 본세대의 생식기능 및 배·태자의 발생에 이렇다 할 영향을 미치지 않는 것으로 보인다. 다만 앞의 연구자들이 보고한 glycyrrhizin의 steroid hormone에 대한 영향과 성기능 장애 및 성욕저하 가능성은 정제된 glycyrrhizin을 고용량으로 장기간 또는 비경구 경로로 투여했을 때 나타날 수 있을 것으로 여겨지며, 본 연구에서 사용한 한방처방에 따른 물추출물 시료 내의 glycyrrhizin의 함량으로는 암컷에서 가시적인 독성을 유발하지 않는 것으로 여겨진다. 따라서 90일간의 이전의 반복투여독성시험에서 나타난 경미한 콩팥독성에도 불구하고 임신 중 감초의 복용은 유의할 만한 생식독성 및 부작용을 유발하지 않을 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2004년도 독성물질의 국가관리체계구축사업(Korea National Toxicology Program, 04122독관리 248, 식약청 국립독성연구원, 서울)의 연구비 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Armanini, D., Bonanni, G. and Palermo, M. (1999): Reduction of serum testosterone in men by licorice. *N. Engl. J. Med.*, **341**, 1158.
- Armanini, D., Lewicka, S. and Pratesi, C. (1996): Further studies on the mechanism of the mineralocorticoid action of licorice in humans. *J. Endocrinol. Invest.*, **19**, 624-629.
- Baker, M.E. (1994): Licorice and enzymes other than 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase: an evolutionary perspective. *Steroids*, **59**, 136-141.
- Barrella, M., Lauria, G., Quatrali, R. and Paolino, E. (1991): Hypokalemic rhabdomyolysis associated with liquorice ingestion: report of an atypical case. *Ital. J. Neurol. Sci.*, **18**, 217-220.
- Biglieri, E.G. (1991): Spectrum of mineralo- corticoid hypertension. *Hypertension*, **17**, 251-261.
- Chamberlain, J.J. and Abolnik, I.Z. (1997): Pulmonary edema following a licorice binge. *West. J. Med.*, **167**, 184-185.
- Davis, E.A. and Morris, D.J. (1991): Medicinal uses of licorice through the millennia: the good and plenty of it. *Mol. Cell. Endocrinol.*, **78**, 1-6.
- Dinah, V., Parums, F.G., Corsi, F.M. and Giacanelli, M. (1999): Lethal worsening of hypokalemia and neuromuscular paralysis associated with the use of glucose solutions for potassium replacement in a young woman with licorice intoxication and furosemide abuse. *Acad. Emerg. Med.*, **6**, 960-964.
- Endo, Y. (1994): The immunoactive therapy for patients with positive HIV using glycyrrhizin. *Int. Conf. AIDS*, **10**, 218.
- Epstein, M.T., Espiner, E.A., Donald, R.A. and Hughes, H. (1977): Liquorice toxicity and the renin-angiotensin-aldosterone axis in man. *Br. Med. J.*, **1**, 209-210.
- Farese, R.V., Jr., Biglieri, E.G. and Shackleton, C.H. (1991): Licorice-induced hypermineralocorticoidism. *N. Engl. J. Med.*, **325**, 1223-1227.
- Guyant, L. (1988): Canine vaginal cytology. *Vet. Technician*, **9**, 513-520.
- Haberer, J.P., Jouve, P., Bedoc, B. and Bazin, P.E. (1984): Severe hypokalaemia secondary to overindulgence in alcohol-free "pastis". *Lancet*, **1**, 575-576.
- Hirabyashi, K. (1991): Antiviral activities of glycyrrhizin and its modified compounds against human immunodeficiency virus type 1 and herpes simplex virus type 1 *in vitro*. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **39**, 112-115.
- Ikegarri, N. (1989): Clinical evaluation of glycyrrhizin on the HIV-infected asymptomatic hemophiliac patients in Japan. *Int. Conf. AIDS*, **5**, 401.
- Imazumi, M. (1994): Effect of long term therapy with glycyrrhizin for HIV infection in a hemophilia patient. *Int. Conf. AIDS*, **10**, 224.
- Inouye, M. (1976): Differential staining of cartilage and bone in fetal mouse skeleton by alcian red and alizarin red S. *Congenit. Anom.*, **16**, 171-173.
- Ito, M. (1987): The inhibitory effect of glycyrrhizin on the *in vitro* infectivity and cytopathic activity of HIV. *Antiviral Res.*, **7**, 127-137.
- Ito, M. (1988): Mechanism of inhibitory effect of glycyrrhizin on replication of human immunodeficiency virus. *Antiviral Res.*, **10**, 289-298.
- Koh, S.-B., Seo, M.-Y., Jeong, J.-H., Lee, J.-Y., Kang, M.-H., Kim, D.-Y. and Sung, H.-J. (2005): 13-Week oral toxicity study of licorice root in F344 rats. *Lab. Anim. Res.*, in press.
- Miyaji, C. (1994): The effect of glycyrrhizin in mice infected with murine retrovirus. I. Prevention of the progression of the disease. *Int. Conf. AIDS*, **10**, 130.
- Mori, K. (1989): Effects of glycyrrhizin in hemophilia patients with HIV infection. *Tohoku J. Exp. Med.*, **158**, 25-35.
- Mori, K. (1990): Effects of glycyrrhizin in hemophilia patients

- with HIV-1 infection. *Tohoku J. Exp. Med.*, **162**, 183-193.
- Mori, K. (1990): Effects of high dose glycyrrhizin on hemophilia patient with HIV infection. *Int. Conf. AIDS*, **6**, 394.
- Mori, K. (1994): Two cases of AIDS associated with hemophilia A, treated effectively by the concomitant use of SNMC (strong Dose GL) and ddl. *Int. Conf. AIDS*, **10**, 205.
- Nakashima, H. (1987): A new anti-human immunodeficiency virus substance, glycyrrhizin with reverse transcriptase inhibitory activity by chemical modification. *Japan J. Cancer Res.*, **78**, 767-771.
- Nielsen, I. and Pedersen, R.S. (1984): Life-threatening hypokalaemia caused by liquorice ingestion. *Lancet*, **1**, 1305.
- Nishimura, K.A. (1974): Microdissection method for detecting thoracic visceral malformations in mouse and rat fetuses. *Congenit. Anom.*, **14**, 23-40.
- Numazaki, K. (1994): Effect of glycyrrhizin in children with liver dysfunction associated with cytomegalovirus infection. *Tohoku J. Exp. Med.*, **b**, 147-153.
- Satoru, T., Astushi, T. and Kunio, K. (1986): Toxicological studies on biological effects of the herbals drug extracts in rats and mice. *Yakugaku Zasshi*, **106**, 671-686.
- Schambelan, M. (1994): Licorice ingestion and blood pressure regulating hormones. *Steroids*, **59**, 127-130.
- Schutte, A.P. (1967): Canine vaginal cytology. I. Technique and cytological morphology. *J. Small Anim. Pract.*, **8**, 301-306.
- Spinks, E.A. and Fenwick, G.R. (1990): The determination of glycyrrhizin in selected UK liquorice products. *Food Addit. Contam.*, **7**, 769-778.
- Walker, B.R. and Edwards, C.R. (1994): Licorice-induced hypertension and syndromes of apparent mineralocorticoid excess. *Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.*, **23**, 359-377.
- Watanabe, H. (1994) The effect of glycyrrhizin in mice infected with murine retrovirus. II. Inhibitory effects on proliferation and function of lymphoid cells. *Int. Conf. AIDS*, **10**, 130.
- Wilson, J.G. (1965): Methods for administering agents and detecting malformations in experimental animals in Teratology. Principles and Techniques. University of Chicago Press, Chicago, pp. 262-277.
- 식품의약품안전청 (1999): 의약품등의 독성시험기준 (고시 제 1999-61호). 식품의약품안전청, 서울.
- 이중달 (1986): 진단세포학, 대학서림, 서울, pp. 613-651.