大韓獸醫學會誌(2008) 第48卷 第4號
Korean J Vet Res(2008) 48(4) : 401~411

금은화(*Flos lonicerae*) 추출물의 Fischer 344/N 랫드를 이용한 90일간 반복 경구투여 독성시험

한충택 · 장호송 · 강상철 · 길기현 · 공광한 · 김도형 · 안태환 · 배진숙 · 고현규 · 한명규 · 김학수
허현숙 · 박은미 · 송시환 · 김갑호 · 박찬구 · 이현걸*

켐온 전임상 연구센터
(게재승인: 2008년 11월 19일)

A 90-day repeated-dose oral toxicity study on *Flos lonicerae* extract in Fischer 344/N rats

Zhong-Ze Han*, Hu-Song Zhang, Sang-Chul Kang, Ki-Hyun Gil, Kwang-Han Kong, Do-Hyung Kim, Tae-Hwan Ahn, Jin-Sook Bae, Hyeon-Kyu Go, Myoung-Kyu Han, Hak-Soo Kim, Hyun-Suk Heo, Eun-Mi Park, Si-Whan Song, Kap-Ho Kim, Chan-Koo Park, Hyun-Kul Lee*

Preclinical Research Center, ChemOn, Yong-in 449-826, Korea
(Accepted: November 19, 2008)

Abstract : This study was performed to evaluate repeated-dose oral toxicities of *Flos lonicerae* extract in Fischer 344/n rats. *Flos lonicerae* was administered orally to rats at dose levels of 0, 37, 111, 333, 1,000 and 2,000 mg/kg/day. Each group consisted of 10 rats of each gender. The *Flos lonicerae* extract was given once a day, 5 times a week, for 90 day repeatedly. This study was conducted in accordance with the Protocol of Korea National Toxicology Program and The Standards of Toxicity Study for Medicinal Products. In the present study, there were no toxicologically significant changes in mortality, clinical signs, body weight gains, ophthalmoscopy, urine analysis, hematology, serum biochemistry, necropsy findings, organ weights, histopathology, estrus cycle and sperm examination of all animals treated with *Flos lonicerae* extract. These results suggest that the oral no observed adverse-effect level of the test item, *Flos lonicerae* extract, in rats is higher than 2,000 mg/kg/day in both genders. The target organs were not established.

Keywords : F344/N rats, *Flos lonicerae*, repeated dose toxicity test

서 론

최근 생활수준의 향상과 의료기술의 발달과 함께 국내외적으로 천연물을 이용한 식품이나 의약품 개발에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있으며, 많은 한약재들이 양약과 더불어 한약제제의 원료로서뿐만 아니라 건강기능성 식품의 재료나 민간요법용으로 널리 사용되고 있다 [9, 11, 30].

이에 반하여 한약재 자체의 독성에 관한 연구는 상대적으로 주목을 받지 못하는 경향이 있으며, 한약의 안전성에 대한 끊임없는 문제가 제기되고 있는 것이 현실이다 [13, 25, 29]. 한약의 안전성에 대한 논란은 잔류농약과 중금속 등의 오염과 관련된 문제와 함께, 한약 자체의 독성에 의한 간손상이나 신장 및 심장손상과 알러지 등이 주로 제기되고 있다 [18. 19, 22, 28]. 일부 한약재들은 잠재적 독성을 가지고 있어 장기간 복용하는 경우 건강에 치명적인 영향을 초래할 수 있다 [16, 23].

이러한 한약재의 독성을 정확히 알지 못한 체 무분별하게 사용하는 것은 소중한 인명의 피해, 노동력 상실

*Corresponding author: Hyun-Kul Lee
Preclinical Research Center, ChemOn, Yong-in 449-826, Korea
[Tel: +82-31-888-6664, Fax: +82-31-329-9900, E-mail: leehk@chemon.co.kr]

등으로 나타날 수 있으며, 이는 국민 건강의 저해 및 사회적 부담으로 작용하고, 궁극적으로 국가 경쟁력 저하의 원인이 된다. 이의 관리를 위하여는 우선 위해성이 우려되는 재료에 대한 파악과 독성에 대한 정확한 정보를 확보하여야 한다. 따라서 한방제제가 의약품 또는 건강식품으로서 기능을 수행하기 위해서 독성에 관한 체계적인 연구가 필수적이다.

금은화(*Flos lonicerae*)는 인동과(Caprifoliaceae)에 속하는 인동덩굴(*Lonicera japonica* Thunb.)의 꽃으로서 한방에서는 이뇨, 건위, 청열해독, 옹종정창, 외감풍열, 열독사리 등에 사용되고 있는 생약이다 [6, 15, 21, 27]. 금은화의 성분으로는 chlorogenic acid, iridoid glucosides 성분인 loganin, sweroside, secoxyloganin, vogeloside, epi-vogeloside 및 tannin류와 macranthoidin B, macranthoidin A, dipsacoside B, macranthoside B, macranthoside A 등의 saponins, flavonoid 화합물인 lonicerin, luteolin, apigenin, quercetin, ochnaflavone, astragalin 및 이들의 배당체 등이 보고되어 있다 [5, 7, 14, 17, 24, 32]. 금은화에 대한 최근의 연구로는 금은화의 항균, 항염증 작용 [26], 항산화작용 [8], 항암 및 면역증강작용 [12, 31], 간보호 효과 [22] 등이 보고되고 있다. 이와 같이 다양한 효능을 지니고 있는 금은화에 대한 약리학적 작용과 임상적 이용가치 및 개략적인 독성에 대해서는 다수의 정보가 있으나 그의 중, 장기 투여에 대한 안전성과 독성에 관한 정보는 극히 미흡한 형편이다.

따라서 본 연구에서는 국립독성과학원에서 추진하고 있는 오남용 가능성이 높은 천연물에 대한 독성물질 관리체계를 확립하기 위한 사업의 일환으로 시험물질 금은화 추출물을 랫드에 90 일간 반복 경구투여 하였을 때 중장기간 내에 나타나는 독성을 질적, 양적으로 검사하여 본 시험물질의 무해용량, 확실중독량 및 표적장기를 알아보기 위하여 실시하였다.

본 연구는 국립독성연구원 KNTP 독성시험 프로토콜 [1] 및 식품의약품안전청 의약품등의독성시험기준 [2]에 따라 수행하였으며, 식품의약품안전청 비임상시험관리기준 [3]을 준수하였다.

재료 및 방법

시험물질

본 시험에 사용한 금은화 추출물은 암갈색의 고체상태로서 대한약전의 표준탕제법에 따라 열탕 추출 후 동결건조한 것을 국립독성과학원(한국)으로부터 제공받아 냉동보관하면서 사용하였다. 시험물질의 조제는 함량에 대한 보정 없이 중량 그대로를 투여직전에 멸균주사용수에 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

실험동물 및 사육환경

본 시험에서는 일본 SLC에서 생산하고 있는 4.5 주령의 특정병원체 부재(specific pathogen-free, SPF) Fischer 344/N(F344/N) 암·수 랫드 각 75마리를 중앙실험동물(한국)로부터 제공받았고, 12 일간의 검역과 순화과정을 거쳐 건강한 동물 암·수 각각 60마리를 선발하여 시험에 사용하였다.

F344/N 랫드는 inbred 랫드로, KNTP에서 권장하는 시험계이고, 각종 독성시험에 널리 사용되고 있어 풍부한 시험기초자료가 축적되어 있으며, 시험결과의 해석 및 평가에 이러한 자료를 이용할 수 있어 선택하였다.

시험 전 기간 동안 동물은 온도 23 ± 3°C, 상대습도 55 ± 15%, 환기횟수 10~20 회/h, 조명 12 h cycle, 조도 150~300 Lux로 설정되어 있는 켐온 전임상연구소(한국) 실험동물실에 수용하였으며, 동물은 적량의 깔짚을 담은 폴리카보네이트 사육상자(235 W × 380 L × 175 H mm)에 사육하였고, 사육상자는 시험번호 및 동물번호를 기입한 라벨지를 부착하여 식별하였다.

사료는 방사선 조사로 멸균된 실험동물용 고형사료(Labdiet 5002, Rodent diet; PMI Nutrition International, USA)를 오리엔트바이오(한국)로부터 공급받아 사용하였고, 물은 지하수를 자외선 살균기 및 미세여과장치로 소독한 후 물병을 이용하여 자유섭취시켰다. 또한 본 시험은 켐온의 동물실험윤리위원회의 승인하에 실시하였다.

시험군의 구성 및 투여용량의 설정

시험군은 선발된 암수 각 60마리를 각 군당 암수 각 10마리씩 총 6개 군으로 군간 체중이 고르게 분배하였다. 투여개시시의 평균체중은 수컷은 132.38~150.46 g, 암컷은 108.61~122.15 g 범위였다.

투여량 설정은 본 시험물질을 이용한 2주간의 반복경구투여 용량설정시험 결과 및 본 시험물질이 천연물인 점 등을 감안하여 2,000 mg/kg/day를 최고용량으로 설정하고 그 다음 용량으로 반복 경구투여시험에서의 한계용량으로 많이 사용되는 1,000 mg/kg/day을 설정하였으며, 아래로 공비를 약 3으로 하여 3개의 용량군을 두었다. 그리고 대조군으로는 부형제만을 투여하는 부형제 투여군을 설정하였다.

투여방법 및 시험기간

시험물질의 투여경로는 임상 적용 경로인 경구투여를 선택하였고, 투여방법은 경구투여용 존데를 장착한 주사관을 이용하여 위내에 직접 투여하였다. 시험물질 투여횟수 및 투여기간은 KNTP 가이드라인에 근거하여 1회/일, 5회/주(월~금), 총 90일간 반복 경구투여하였다.

투여액량은 가장 최근 체중 측정일에 측정한 체중을 기준으로 5 ml/kg 으로 계산하였다.

일반증상 및 사망률

시험기간 중 모든 동물에 대하여 매일 2회(오전 및 오후, 최소한 6 시간 간격)에 거쳐 사망여부, 증상의 종류, 발현일 및 증상의 정도를 개체 별로 기록하였다.

체중변화

체중은 투여개시일 및 시험기간 중 주 1회, 그리고 부검일에 절식 후의 체중을 측정하였다.

안과학적 검사

군 분리 전 순화기간 중에 모든 동물에 대하여 눈의 외관을 육안적으로 관찰하였고, 부검개시 전 주에 전 시험군에 대하여 눈의 외관을 육안적으로 관찰하였다. 그리고 부형제 투여군 및 최고용량군에 대하여는 안저사진기(Genesis; Gowa, Japan)를 이용하여 눈의 안저부위를 검사하였다.

요검사

투여 최종주에 시험군별 각 5마리의 동물에 대하여 요검사용 시험지(Multisatix 10 SG; Bayer, USA)와 요자동분석장치(CliniTek 100; Bayer, USA)를 이용하여 요당, 빌리루빈, 케톤체, 요비중, 잠혈, pH, 단백질, 유로빌리노겐, 아질산염 및 백혈구에 관하여 검사하였다. 요침사 검사는 적혈구, 백혈구, 상피세포, 원주를 관찰하였다. 채뇨는 대사케이지를 이용하여 실시하였고, 정성분석, 요색조 검사 및 요침사 검사를 위하여 3~4시간 동안 채뇨한 신선뇨를 사용하였고, 요량은 24시간 동안의 축뇨를 이용하여 측정하였다.

혈액학적 검사

계획부검 시까지 생존한 모든 동물에 대하여 혈액학적 검사를 실시하였다. 동물을 하룻밤 절식시킨 후 에테르 마취하에 개복하여 후대정맥으로부터 채혈한 혈액을 항응고제인 EDTA-2K가 들어 있는 CBC 채혈병에 약 0.5 ml 취한 후 혈구자동계측장치(CELL DYN 3700; Abbot, USA)를 이용하여 백혈구수, 적혈구수, 혈색소량, 적혈구백분율, 평균적혈구용적, 평균적혈구혈색소량, 평균적혈구혈색소농도, 혈소판수, 백혈구 백분비 [호중구, 호산구, 호염기구, 림프구, 단핵구의 백분율]을 측정하였으며, 망상적혈구 검사는 methylene blue 염색을 한 후 광학현미경으로 1,000개의 적혈구에 포함되어 있는 망상적혈구수를 검경하였다. 혈액응고시간 검사는 부검일에 prothrombin time 및 active partial thromboplastin time을 혈액응고시간 검사장치(CA-50; Sysmex, Japan)를 이용하여 측정하였다. 혈액응고시간 검사용 항응고제는 3.2% sodium citrate 용액을 사용하였다.

혈액생화학적 검사

혈액학적 검사를 실시한 동물에 대하여 혈액생화학적검사를 실시하였다. 후대정맥으로부터 채혈된 혈액을 실온에 30분간 방치하여 응고시킨 후 원심분리(3,000 rpm, 10분간)하여 얻은 혈청에 대하여 aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, γ-glutamyl transpeptidase, alkaline phosphatase, blood urea nitrogen, creatinine, glucose, total cholesterol, total protein, creatine phosphokinase, albumin, total bilirubin, albumin/globulin ratio, triglyceride, inorganic phosphorus 및 Ca^{++}의 함량은 자동생화학분석기(AU400; Olympus, Japan)를 이용하여 측정하였고 Na^{+}, K^{+}, Cl^{-}은 전해질자동분석장치(644 Na/K/Cl Analyzer; Ciba-Corning, USA)를 이용하여 측정하였다.

부검 및 장기중량 측정

혈액검사를 위한 채혈이 끝난 동물은 후대동맥을 절단하여 방혈치사 시킨 후 복강, 흉강 및 두부의 모든 장기에 대하여 부검소견을 관찰하였다. 또한 부검동물의 뇌, 가슴샘, 폐, 심장, 간장, 비장, 신장, 고환, 난소의 중량을 측정하였다.

기관 및 조직의 보존

모든 계획부검동물에 대해 고환, 부고환, 전립샘, 정낭, 포피선, 난소, 자궁, 질, 음핵샘, 방광, 비장, 췌장, 위, 십이지장, 공장, 회장, 맹장, 결장, 직장, 장간막림프절, 하악림프절, 침샘, 부신, 신장, 간, 흉골, 가슴샘, 심장, 폐(기관지), 대동맥, 기관, 식도, 갑상샘 부갑상샘, 혀, 좌골신경, 골격근, 대퇴골, 흉척수, 안구, 하더씨샘, 비강, 뇌, 뇌하수체, 피부(젖샘)를 적출하여 10% 중성완충포르말린용액에 고정하였다. 다만, 안구는 Davidson's 용액에, 고환과 부고환은 Bouin's 액에 고정하였다.

성주기 검사

부검일 전 12 일간 실시하였다. 매일 오전 8~10 시 사이에 각각의 동물에서 2개씩의 질 도말 표본을 준비하여 염색한 후 검경하여 성주기 검사를 실시하였다.

정자 수 및 정자의 운동성 검사

부검일에 각 군당 5 례의 동물들에 대하여 좌측 고환에서 정자두부수 및 우측의 부고환에서 정자의 운동성을 검사하였다.

병리조직학적 검사

부형제 투여군 및 1,000 및 2,000 mg/kg/day 투여군의 모든 동물의 고정장기를 삭정, 파라핀 포매하고, 4~5 μm 두께로 박절 및 H&E 염색과정을 거쳐 조직병리학적 검사를 위한 검체를 제작하였으며, 기타 투여군에서는 육안적 부검소견이 인정되는 장기에 대하여 검체를 제작하였다.

통계학적 분석

투여군 간의 비교에는 모수적인 다중비교(parametric multiple comparison procedures) 혹은 비모수적인 다중비교(nonparametric multiple comparison procedures)를 사용하였으며, 통계학적 분석은 상용으로 널리 사용되고 있는 통계 패키지인 SPSS 10.1을 이용하였다. 체중, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 장기중량에 대하여 one-way ANOVA test로 유의성을 확인한 다음, 유의성이 있으면 Levene test로 등분산성을 검정하였다. 사후검정으로 등분산일 경우에는 Duncan multiple range test를, 이분산일 경우에는 Dunnett's *t*-test를 이용하여 부형제 투여군과의 유의성을 검정하였다. 요검사 결과에 대해서는 척도변환을 실시하여 Kruskal-Wallis nonparametric analysis 후, 유의성이 인정되면 Wilcoxson-Mann-Whitney rank-sum test를 적용하여 부형제 투여군과의 유의성을 확인하였다. 요색조는 Fischer's exact test를 적용하였다.

결 과

일반증상 및 사망률

모든 시험군에서 전 시험기간 동안 사망동물은 관찰되지 않았다. 일반증상에서는 연변(soft stool), 설사(diarrhea) 및 항문주위오염(soiled perineal region)이 투여 후 6일째부터 시험물질 투여군 암수에서 용량상관성이 없이 산발적으로 관찰되었다.

체중변화

시험기간 동안, 시험물질 투여군 암수에서 용량상관성 있는 체중증가억제경향이 관찰되었다. 즉 수컷은 관찰 최종주의 체중이 시험물질 투여군 모두에서 부형제 투여군에 비하여 약 5~10 g의 체중감소를 보였으나 통계학적인 유의성은 없었으며, 암컷은 2,000 mg/kg/day 투여군에서 투여 8, 11, 12 주째의 체중이 부형제 투여군에 비하여 유의한 감소($p < 0.05$)를 나타내었으나 모두 12 g 이내로 큰 차이는 보이지 않았다(Fig. 1).

안과학적 검사

군분리시의 외안검사와 투여 마지막 주에 안저사진기를 이용한 안저검사 결과, 모든 시험군에서 어떠한 증상도 관찰되지 않았다.

요검사

수컷의 경우, pH가 1,000 및 2,000 mg/kg/day 투여군에서($p < 0.01$), 백혈구($p < 0.05$), 케톤체($p < 0.01$)는 2,000 mg/kg/day 투여군에서 유의한 증가를 나타내었고, 암컷은 단백질이 2,000 mg/kg/day 투여군에서 유의한 증가($p < 0.01$)를 나타내었다(Table 1).

혈액학적 검사

망상적혈구가 111, 333 및 1,000 mg/kg/day 투여군 수컷에서 유의한 증가($p < 0.05$)를 나타내었을 뿐 기타 모

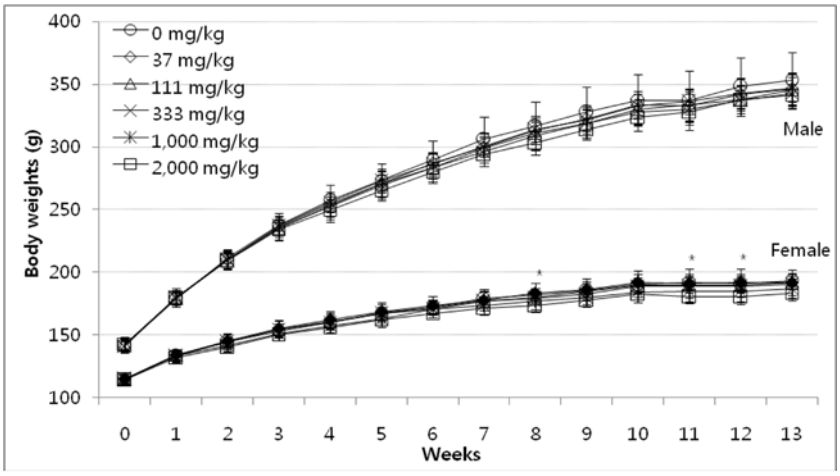

Fig.1. Body weight changes of male and female rats during 90-day oral treatment with *Flos Lonicerae* extract. Data are mean ± SD (n = 10). Asterisk mark (*) represents a significant difference at $p < 0.05$ level compared with the vehicle control.

Table 1. Urinalysis of male and female rats treated orally with *Flos lonicerae* extract for 90 days

Test items	Result	Grade	Dose (mg/kg/day)											
			Male						Female					
			0	37	111	333	1,000	2,000	0	37	111	333	1,000	2,000
Glucose	0	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Bilirubin	–	0	5	5	5	4	5	4	5	5	5	5	5	5
	+/–	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1+	2	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Ketone body	–	0	5	5	5	5	5	0	5	5	5	5	4	2
	+/–	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	3
	1+	2	0	0	0	0	0	4**	0	0	0	0	0	0
Specific gravity	1.005	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	1.0100	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	2	0	1
	1.0150	2	0	0	0	0	1	0	4	3	1	0	1	0
	1.0200	3	3	1	5	3	2	1	0	0	2	2	1	2
	1.0250	4	1	2	0	0	1	2	0	0	1	0	1	1
	1.030	5	1	1	0	2	1	2	0	2	1	1	1	1
pH	5.5	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
	6.0	1	2	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6.5	2	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
	7.0	3	1	2	0	4	0	0	0	1	1	0	0	0
	7.5	4	2	0	2	0	2	1	0	1	0	0	1	0
	8.0	5	0	0	0	1	2**	2	3	2	3	3	1	1
	8.5	6	0	0	0	0	0	2**	0	0	1	2	1	3
	9.0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Protein	–	0	2	3	1	1	0	0	5	4	5	5	2	0
	+/–	1	2	2	3	2	3	0	0	1	0	0	0	0
	1+	2	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	2	1
	2+	3	0	0	0	1	0	3	0	0	0	0	1	3
	3+	4	1	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	1*
Urobilinogen	0.1	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Nitrite	–	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Occult blood	–	0	4	2	2	3	3	5	5	5	4	5	5	5
	+/–	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0
	1+	2	1	1	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0
	2+	3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Leukocyte	–	0	3	2	5	3	2	0	5	5	5	5	5	5
	+/–	1	1	2	0	1	3	1	0	0	0	0	0	0
	1+	2	0	1	0	1	0	4*	0	0	0	0	0	0
No. of animals			5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

*/**A significant difference at $p < 0.05$ and $p < 0.01$ levels, respectively, compared with the vehicle control.

든 검사항목에서 시험물질 투여와 관련된 일관성 있는 변화는 없었으며(Table 2), 혈액응고시간 검사 결과에서도 시험물질의 투여와 관련된 유의한 변화는 관찰되지 않았다.

혈액생화학적 검사

수컷의 경우, creatinine이 1,000 mg/kg/day 투여군에서 유의한 증가($p < 0.01$), ALT는 유의한 감소($p < 0.05$)를 나타내었으며, 암컷의 경우, triglyceride가 2,000 mg/kg/day 투여군에서 유의한 감소($p < 0.05$), BUN이 333 mg/kg/day 투여군에서 유의한 증가($p < 0.05$)를 나타내었다(Table 3).

부검소견

수컷의 경우, 폐의 적색 반점 산재(diffuse red spots)가 부형제 투여군, 37, 111, 333 및 1,000 mg/kg/day 투

Table 2. Hematological values of the male and female rats (n = 10) treated orally with *Flos lonicerae* extract for 90 days

Dose (mg/kg/day)	0	37	111	333	1,000	2,000
Male						
WBC (10^3/μl)	6.40 ± 0.86	6.27 ± 1.06	6.01 ± 1.28	6.08 ± 1.10	6.55 ± 1.70	5.91 ± 0.97
Neutrophil (%)	20.46 ± 4.59	18.82 ± 4.58	20.79 ± 4.99	22.46 ± 5.62	18.81 ± 4.04	19.14 ± 4.20
Lymphocyte (%)	73.37 ± 5.61	75.72 ± 4.86	72.25 ± 4.81	71.17 ± 6.44	74.56 ± 4.85	74.64 ± 5.62
Monocyte (%)	3.46 ± 0.90	3.01 ± 1.05	3.97 ± 1.91	3.72 ± 1.41	3.54 ± 0.94	3.64 ± 1.11
Eosinophil (%)	1.09 ± 0.60	1.06 ± 0.39	1.17 ± 0.49	1.02 ± 0.39	1.01 ± 0.27	0.92 ± 0.37
Basophil (%)	1.64 ± 0.63	1.39 ± 0.27	1.80 ± 0.33	1.62 ± 0.41	2.08 ± 1.05	1.65 ± 0.49
Reticulocyte (ea/1,000)	5.3 ± 0.9	6.2 ± 1.5	7.1 ± 1.1*	6.8 ± 1.5*	7.0 ± 1.3*	6.1 ± 1.8
RBC (10^6/μl)	8.90 ± 0.25	8.76 ± 0.30	8.90 ± 0.19	8.89 ± 0.23	8.91 ± 0.33	8.84 ± 0.25
Hemoglobin (g/dl)	15.30 ± 0.36	15.05 ± 0.51	15.16 ± 0.33	15.15 ± 0.35	15.19 ± 0.53	15.03 ± 0.35
Hematocrit (%)	42.76 ± 1.29	42.25 ± 1.48	42.41 ± 0.96	42.48 ± 0.96	42.70 ± 1.33	42.09 ± 1.36
MCV (*fl*)	48.03 ± 0.56	48.26 ± 0.39	47.65 ± 0.57	47.78 ± 0.78	47.96 ± 0.38	47.64 ± 0.49
MCH (pg)	17.20 ± 0.20	17.19 ± 0.23	17.03 ± 0.19	17.04 ± 0.25	17.06 ± 0.14	17.00 ± 0.20
MCHC (g/μl)	35.77 ± 0.39	35.65 ± 0.38	35.72 ± 0.24	35.65 ± 0.23	35.58 ± 0.35	35.69 ± 0.54
Platelet (10^3/μl)	694.2 ± 27.7	709.8 ± 51.6	713.2 ± 25.0	705.3 ± 42.8	697.7 ± 34.1	673.4 ± 24.8
Female						
WBC (10^3/μl)	5.27 ± 1.88	5.34 ± 1.23	4.57 ± 1.30	4.81 ± 1.28	5.20 ± 1.30	5.40 ± 1.22
Neutrophil (%)	17.31 ± 6.60	15.26 ± 4.40	16.01 ± 6.35	17.35 ± 10.36	11.88 ± 4.63	11.54 ± 2.34
Lymphocyte (%)	75.79 ± 8.92	78.47 ± 6.19	76.83 ± 6.95	76.56 ± 11.6	80.97 ± 9.45	82.89 ± 3.03
Monocyte (%)	3.65 ± 1.32	3.57 ± 2.27	4.41 ± 1.81	3.01 ± 1.81	4.59 ± 4.54	3.14 ± 1.10
Eosinophil (%)	1.39 ± 0.58	1.49 ± 0.80	1.44 ± 0.73	1.51 ± 0.63	1.27 ± 0.34	1.15 ± 0.37
Basophil (%)	1.85 ± 1.73	1.21 ± 0.60	1.31 ± 0.42	1.58 ± 1.19	1.28 ± 1.15	1.27 ± 0.50
Reticulocyte (ea/1,000)	4.2 ± 1.2	4.7 ± 1.2	4.5 ± 1.6	5.4 ± 1.6	4.5 ± 1.2	4.8 ± 1.4
RBC (10^6/μl)	8.46 ± 0.52	8.36 ± 0.32	8.60 ± 0.63	8.25 ± 0.46	8.34 ± 0.46	8.11 ± 0.48
Hemoglobin (g/dl)	15.40 ± 0.93	15.07 ± 0.57	15.53 ± 1.20	15.00 ± 0.71	15.12 ± 0.85	14.72 ± 0.83
Hematocrit (%)	42.87 ± 2.71	42.12 ± 1.34	43.26 ± 2.64	41.92 ± 2.06	42.20 ± 2.13	41.04 ± 2.36
MCV (*fl*)	50.67 ± 1.08	50.4 ± 0.81	50.36 ± 0.90	50.80 ± 1.20	50.60 ± 0.89	50.65 ± 0.72
MCH (pg)	18.20 ± 0.22	18.04 ± 0.13	18.06 ± 0.15	18.18 ± 0.22	18.11 ± 0.19	18.13 ± 0.11
MCHC (g/μl)	35.92 ± 0.79	35.81 ± 0.66	35.88 ± 0.77	35.78 ± 0.56	35.86 ± 0.61	35.85 ± 0.51
Platelet (10^3/μl)	692.9 ± 69.8	709 ± 58.8	747.8 ± 88.2	736.2 ± 70.4	736.1 ± 54.0	705.9 ± 53.8

WBC: white blood cell count, RBC: red blood cell count, MCV: mean corpuscular volume, MCH: mean corpuscular hemoglobin, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration.
*A significant difference at $p < 0.05$ level compared with the vehicle control.

여군 순으로 각각 1, 1, 1, 3, 1 례, 적색조 변색(red discoloration)이 111 mg/kg/day 투여군에서 1 례, 가슴샘의 출혈성 반점(diffuse hemorrhage spots)이 1,000 mg/kg/day 투여군에서 1 례, 고환 및 부고환의 위축(atrophy)과 방광의 이물질 저류(foreign material retention)가 부형제 투여군에서 각 1 례 관찰되었다.

암컷의 경우, 폐의 암갈색조 반점 또는 적색 반점 산재 및 갈색조 변색이 111 mg/kg/day 투여군에서 각 3, 1 례, 갈색조 점상낭종(brown colored punctate cyst)이 37 및 333 mg/kg/day 투여군에서 각 1 례, 간의 횡격막과의 유착(adhesion with diaphragm)이 333 및 1,000 mg/kg/day 투여군에서 각 1 례, 돌기형성(process formation)이 2,000 mg/kg/day 투여군에서 1 례 관찰되었고, 음핵선의 결절(nodule)이 부형제 대조군 및 2,000 mg/kg/day 투여군에서 각 1 례, 난소의 맑은 액체 저류(retention of clear fluid)가 37 mg/kg/day 투여군에서 1 례, 자궁내 맑은 액체저류가 333, 1,000 및 2,000 mg/kg/day 투여군에서 각 1 례, 가슴샘의 선홍색 반점(cherry red spots) 및 충혈(congestion)이 333 및 2,000 mg/kg/day 투여군에서 각 1 례 관찰되었다.

장기중량

수컷에서는 장기중량의 유의한 변화는 관찰되지 않았다(Table 4). 암컷에서는 111 mg/kg/day 투여군의 가슴

Table 3. Serum biochemical values of the male and female rats (n = 10) treated orally with *Flos lonicerae* extract for 90 days

Dose (mg/kg /day)	0	37	111	333	1,000	2,000
Male						
AST (IU/l)	106.41 ± 19.19	113.69 ± 21.77	106.96 ± 13.40	109.65 ± 17.84	94.78 ± 13.11	95.22 ± 11.75
ALT (IU/l)	46.48 ± 5.54	47.25 ± 6.51	46.81 ± 4.98	47.45 ± 5.72	41.00 ± 3.38*	42.27 ± 3.63
ALP (IU/l)	106.47 ± 8.25	102.92 ± 7.76	109.17 ± 17.04	101.87 ± 10.2	103.78 ± 4.85	105.20 ± 8.08
γ-GTP (IU/l)	0.18 ± 0.28	0.07 ± 0.07	0.00 ± 0.00	0.05 ± 0.13	0.01 ± 0.04	0.02 ± 0.05
TB (mg/dl)	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.03	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.03	0.10 ± 0.01
TP (g/dl)	6.64 ± 0.24	6.56 ± 0.28	6.59 ± 0.25	6.68 ± 0.27	6.64 ± 0.27	6.51 ± 0.24
Albumin (g/dl)	3.78 ± 0.13	3.75 ± 0.12	3.74 ± 0.12	3.77 ± 0.14	3.78 ± 0.11	3.69 ± 0.12
A/G (ratio)	1.32 ± 0.03	1.32 ± 0.04	1.31 ± 0.04	1.29 ± 0.03	1.32 ± 0.04	1.31 ± 0.05
CPK (IU/)	213.64 ± 136.13	306.81 ± 117.28	215.34 ± 117.26	183.72 ± 91.41	130.72 ± 74.59	158.61 ± 89.39
Glucose (mg/dl)	160.05 ± 31.19	151.84 ± 23.14	159.56 ± 26.69	160.44 ± 36.56	165.62 ± 45.16	149.33 ± 29.81
TC (mg/dl)	60.02 ± 7.12	61.68 ± 7.03	56.73 ± 6.38	56.19 ± 4.42	54.74 ± 6.01	54.99 ± 6.14
Triglyceride (mg/dl)	73.69 ± 20.97	62.82 ± 10.62	64.77 ± 14.23	62.42 ± 9.67	63.57 ± 21.68	62.70 ± 10.35
BUN (mg/dl)	12.64 ± 1.36	12.93 ± 1.10	12.40 ± 0.78	12.74 ± 0.97	12.83 ± 0.82	12.33 ± 1.36
Creatinine (mg/dl)	0.48 ± 0.04	0.46 ± 0.02	0.50 ± 0.03	0.49 ± 0.02	0.51 ± 0.03**	0.49 ± 0.03
IP (mg/dl)	7.37 ± 0.72	7.36 ± 1.33	7.46 ± 0.99	7.52 ± 1.30	7.67 ± 1.11	7.20 ± 1.33
Ca^{++} (mg/dl)	10.38 ± 0.49	10.05 ± 0.62	10.21 ± 0.56	10.18 ± 0.46	10.24 ± 0.51	10.09 ± 0.60
Na^{+} (mmol/l)	143.10 ± 1.20	144.60 ± 1.96	144.33 ± 2.60	145.30 ± 2.67	143.44 ± 1.33	140.43 ± 3.73
K^{+} (mmol/l)	4.28 ± 0.68	4.42 ± 0.74	4.63 ± 0.83	4.79 ± 1.03	4.51 ± 0.74	4.11 ± 0.74
Cl^{-} (mmol/l)	102.70 ± 2.63	102.70 ± 1.70	102.44 ± 1.88	101.90 ± 1.45	102.00 ± 1.41	100.40 ± 2.63
Female						
AST (IU/l)	93.21 ± 9.58	96.88 ± 17.72	100.78 ± 10.84	94.30 ± 13.60	91.79 ± 6.07	101.98 ± 25.37
ALT (IU/l)	31.99 ± 3.74	34.00 ± 5.45	36.26 ± 5.35	34.88 ± 5.44	35.20 ± 2.44	37.34 ± 7.68
ALP (IU/l)	91.61 ± 16.13	92.21 ± 14.77	94.03 ± 11.50	91.90 ± 14.32	86.02 ± 7.58	87.66 ± 8.49
γ-GTP (IU/l)	0.17 ± 0.17	0.04 ± 0.12	0.13 ± 0.17	0.09 ± 0.11	0.07 ± 0.14	0.35 ± 0.24
TB (mg/dl)	0.08 ± 0.03	0.08 ± 0.04	0.08 ± 0.04	0.09 ± 0.03	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.02
TP (g/dl)	6.20 ± 0.35	6.28 ± 0.36	6.48 ± 0.42	6.25 ± 0.36	6.12 ± 0.35	6.15 ± 0.38
Albumin (g/dl)	3.53 ± 0.17	3.58 ± 0.14	3.68 ± 0.19	3.57 ± 0.18	3.50 ± 0.21	3.55 ± 0.19
A/G (ratio)	1.33 ± 0.05	1.33 ± 0.05	1.32 ± 0.07	1.33 ± 0.04	1.34 ± 0.03	1.37 ± 0.05
CPK (IU/l)	279.77 ± 108.09	321.9 ± 264.39	301.03 ± 151.23	326.52 ± 219.15	215.94 ± 193.78	212.50 ± 93.30
Glucose (mg/dl)	121.13 ± 15.98	118.25 ± 15.26	119.68 ± 19.16	117.36 ± 14.68	114.10 ± 12.54	123.97 ± 16.12
TC (mg/dl)	88.12 ± 7.75	84.93 ± 10.85	89.91 ± 9.95	84.46 ± 7.98	86.18 ± 7.6	80.73 ± 7.31
Triglyceride (mg/dl)	53.33 ± 11.28	45.97 ± 6.61	46.43 ± 7.04	50.42 ± 6.65	46.33 ± 8.26	41.72 ± 5.82*
BUN (mg/dl)	12.61 ± 0.67	13.05 ± 1.18	13.46 ± 1.23	14.24 ± 0.94*	12.82 ± 0.84	13.51 ± 1.68
Creatinine (mg/dl)	0.48 ± 0.03	0.51 ± 0.05	0.50 ± 0.02	0.50 ± 0.04	0.50 ± 0.03	0.50 ± 0.03
IP (mg/dl)	7.14 ± 1.16	7.18 ± 1.00	7.99 ± 1.45	7.54 ± 1.22	7.28 ± 1.17	7.23 ± 1.29
Ca^{++} (mg/dl)	9.70 ± 0.46	9.64 ± 0.57	10.13 ± 0.66	9.63 ± 0.44	9.70 ± 0.57	9.53 ± 0.54
Na^{+} (mmol/l)	142.80 ± 3.85	143.00 ± 3.20	142.11 ± 3.22	143.56 ± 1.81	143.40 ± 1.51	140.30 ± 3.68
K^{+} (mmol/l)	4.71 ± 1.04	5.08 ± 1.21	5.49 ± 1.71	4.56 ± 1.20	4.78 ± 1.47	4.54 ± 0.90
Cl^{-} (mmol/l)	105.60 ± 2.76	104.22 ± 1.99	104.22 ± 1.86	105.56 ± 1.88	105.80 ± 1.03	105.20 ± 1.99

AST: aspartate aminotransferase, ALT: alanine aminotransferase, ALP: alkaline phosphatase, γ-GTP: γ-glutamyl transpeptidase, TB: total bilirubin, TP: total protein, A/G: albumin/globulin, CPK: creatine phosphokinase, TC: total cholesterol, BUN: blood urea nitrogen, IP: inorganic phosphorus.

*/**A significant difference at $p < 0.05$ and $p < 0.01$ levels, respectively, compared with the vehicle control.

샘의 절대 및 상대중량과 폐의 절대중량이 부형제 투여군에 비하여 유의한 증가를 나타내었다(Table 5).

조직병리학적 검사

조직병리학적 검사 소견은 Table 6에 나타내었다. 부

Table 4. Absolute (g) and relative (%) organ weights of male rats (n = 10) treated orally with *Flos lonicerae* extract for 90 days

Organs	Dose (mg/kg/day)					
	0	37	111	333	1,000	2,000
Thymus (g)	0.2724 ± 0.0513	0.2721 ± 0.0477	0.2927 ± 0.0420	0.2771 ± 0.0451	0.2777 ± 0.0499	0.2600 ± 0.0359
(%)	0.0822 ± 0.0161	0.0831 ± 0.0151	0.0901 ± 0.0129	0.0844 ± 0.0126	0.0859 ± 0.0168	0.0807 ± 0.0104
Spleen (g)	0.6397 ± 0.0346	0.6515 ± 0.0333	0.6564 ± 0.0418	0.6592 ± 0.0612	0.6502 ± 0.0506	0.6293 ± 0.0395
(%)	0.1928 ± 0.0127	0.1988 ± 0.0088	0.2021 ± 0.0146	0.2010 ± 0.0167	0.2009 ± 0.0178	0.1955 ± 0.0110
Kidney (g)	2.0372 ± 0.1614	2.0305 ± 0.0591	2.0490 ± 0.1717	2.0738 ± 0.1440	2.0660 ± 0.1132	2.0780 ± 0.1673
(%)	0.6155 ± 0.0686	0.6198 ± 0.0243	0.6303 ± 0.0515	0.6333 ± 0.0523	0.6379 ± 0.0314	0.6453 ± 0.0475
Heart (g)	0.9135 ± 0.0536	0.9350 ± 0.0409	0.9322 ± 0.0530	0.9291 ± 0.0527	0.9472 ± 0.0435	0.9525 ± 0.0536
(%)	0.2755 ± 0.0206	0.2870 ± 0.0130	0.2867 ± 0.0140	0.2836 ± 0.0189	0.2928 ± 0.0191	0.2958 ± 0.0138
Lung (g)	1.2877 ± 0.0594	1.2545 ± 0.0809	1.2718 ± 0.1499	1.3284 ± 0.1779	1.2497 ± 0.0753	1.2363 ± 0.0837
(%)	0.3890 ± 0.0350	0.3834 ± 0.0334	0.3906 ± 0.0377	0.4060 ± 0.0603	0.3862 ± 0.0289	0.3841 ± 0.0254
Brain (g)	1.9359 ± 0.0396	1.9003 ± 0.0589	1.8829 ± 0.0401	1.9119 ± 0.0743	1.9137 ± 0.0649	1.9220 ± 0.0679
(%)	0.5844 ± 0.0413	0.5802 ± 0.0269	0.5795 ± 0.0182	0.5836 ± 0.0291	0.5912 ± 0.0255	0.5974 ± 0.0263
Liver (g)	8.6338 ± 0.4348	8.5863 ± 0.4500	8.7160 ± 0.5202	8.7082 ± 0.3720	9.0064 ± 0.8005	8.7533 ± 0.5506
(%)	2.6058 ± 0.2080	2.6194 ± 0.1155	2.6810 ± 0.1438	2.6585 ± 0.1440	2.7805 ± 0.2441	2.7176 ± 0.1263
Testis (g)	2.9082 ± 0.2626	2.9314 ± 0.1005	2.9041 ± 0.1433	2.9757 ± 0.1087	2.9607 ± 0.1359	2.9470 ± 0.1275
(%)	0.8780 ± 0.0996	0.8947 ± 0.0353	0.8936 ± 0.0433	0.9083 ± 0.0407	0.9138 ± 0.0288	0.9157 ± 0.0383

Table 5. Absolute (g) and relative (%) organ weights of female rats (n = 10) treated orally with *Flos lonicerae* extract for 90 days

Organs	Dose (mg/kg/day)					
	0	37	111	333	1,000	2,000
Thymus (g)	0.2017 ± 0.0524	0.2307 ± 0.0282	0.2387 ± 0.0240*	0.2013 ± 0.0224	0.198 ± 0.03690	0.2010 ± 0.0298
(%)	0.1118 ± 0.0290	0.1286 ± 0.0156	0.1324 ± 0.0115*	0.1134 ± 0.0125	0.1113 ± 0.0186	0.1147 ± 0.0176
Spleen (g)	0.3836 ± 0.0252	0.3990 ± 0.0220	0.4048 ± 0.0294	0.3983 ± 0.0252	0.4071 ± 0.0291	0.3911 ± 0.0231
(%)	0.2127 ± 0.0129	0.2222 ± 0.0069	0.2246 ± 0.0153	0.2241 ± 0.0074	0.2293 ± 0.0085	0.2231 ± 0.0145
Kidney (g)	1.1181 ± 0.0625	1.1523 ± 0.0573	1.1843 ± 0.0874	1.1483 ± 0.0752	1.1712 ± 0.0673	1.1798 ± 0.0423
(%)	0.6198 ± 0.0289	0.6422 ± 0.0323	0.6576 ± 0.0528	0.6465 ± 0.0366	0.6603 ± 0.0258	0.6733 ± 0.0371
Heart (g)	0.5701 ± 0.0380	0.5610 ± 0.0228	0.5641 ± 0.0225	0.5614 ± 0.0339	0.5575 ± 0.0342	0.5410 ± 0.0178
(%)	0.3160 ± 0.0193	0.3127 ± 0.0144	0.3130 ± 0.0107	0.3159 ± 0.0122	0.3143 ± 0.0139	0.3087 ± 0.0163
Lung (g)	0.8684 ± 0.0708	0.8873 ± 0.0443	0.9401 ± 0.0814*	0.8926 ± 0.0432	0.8824 ± 0.0451	0.8552 ± 0.0367
(%)	0.4811 ± 0.0323	0.4949 ± 0.0324	0.5219 ± 0.0467	0.5026 ± 0.0178	0.4975 ± 0.0148	0.4882 ± 0.0309
Brain (g)	1.7385 ± 0.0533	1.7201 ± 0.0589	1.7698 ± 0.0296	1.7247 ± 0.0878	1.7537 ± 0.0469	1.7227 ± 0.0680
(%)	0.9644 ± 0.0379	0.9587 ± 0.0356	0.9825 ± 0.0289	0.9715 ± 0.0482	0.9901 ± 0.0443	0.9829 ± 0.0503
Liver (g)	4.3749 ± 0.2507	4.3807 ± 0.1192	4.5043 ± 0.2545	4.2778 ± 0.3073	4.4672 ± 0.3064	4.4390 ± 0.2135
(%)	2.4242 ± 0.0921	2.4428 ± 0.1131	2.4993 ± 0.1324	2.4073 ± 0.1309	2.5185 ± 0.1368	2.5331 ± 0.1549
Ovary (g)	0.0526 ± 0.0112	0.0491 ± 0.0087	0.0478 ± 0.0069	0.0489 ± 0.0083	0.0499 ± 0.0107	0.0531 ± 0.0112
(%)	0.0291 ± 0.0057	0.0274 ± 0.0047	0.0266 ± 0.0041	0.0276 ± 0.0053	0.0282 ± 0.0062	0.0303 ± 0.0062

*A significant difference at $p < 0.05$ level compared with the vehicle control.

형제 투여군 및 시험물질 투여군에서 폐의 혈관주위염증세포침윤(perivascular inflammatory cell infiltration) 및 간질성폐렴(interstitial pneumonia), 심장의 심근염(myocarditis), 가슴샘의 충혈(congestion), 음경꺼풀샘의 만성염증(chronic inflammation), 신장의 호염기성세뇨관(basophilic tubules), 대동맥의 동맥주위염(periarteritis), 고환의 위축(atrophy), 신장의 무기질침착(mineralization), 난소의 편측성 황체낭포(luteal cyst), 자궁의 자궁유수증(hydrometra), 림프절의 동 및 피질안 적혈구(erythrocytes in the sinuses and within the cortex), 황체의 공포변성

Table 6. Histopathological changes of male and female rats (n = 10) treated orally with *Flos lonicerae* extract for 90 days

Organs	Signs	Dose (mg/kg/day)					
		Male			Female		
		0	1,000	2,000	0	1,000	2,000
Kidney	Basophilic tubules	2	1	3	0	0	0
	Mineralization	0	0	0	3	5	2
Thymus	Congestion	3	3	0	0	0	0
Lung	Interstitial pneumonia	2	1	2	0	0	1
	Perivascular inflammatory cell infiltration	3	5	2	1	1	2
	Alveolitis	1	1	0	1	0	0
Heart	Myocarditis	3	1	1	0	0	0
Aorta	Periarteritis	1	0	1	0	0	0
Lymph nodes	Erythrocytes in the sinuses and within the cortex	0	1	0	0	0	0
Preputial gland	Chronic inflammation	3	5	2	0	0	0
Testis	Atrophy	1	0	0	–	–	–
Clitoris gland	Chronic inflammation	–	–	–	0	0	1
Pituitary gland	Cyst formation	0	0	0	0	0	1
	Atrophy	–	–	–	3	1	2
Ovary	Luteal cyst	–	–	–	1	0	0
	Vacuolar degeneration	–	–	–	0	3	1
Uterus	Hydrometra	–	–	–	0	1	2

–: Not applicable.

(vacuolar degeneration), 뇌하수체의 낭포형성(cyst formation) 등이 용량상관성이 없이 낮은 빈도로 산발적으로 관찰되었다.

이 밖에 피부, 부신, 질, 부고환, 전립샘, 정낭, 방광, 혀, 간, 비장, 췌장, 갑상샘, 비강, 기관, 식도, 침샘, 위, 십이지장, 공장, 회장, 맹장, 결장, 직장, 뇌, 흉척수, 좌골신경, 골격근, 안구, 하더씨샘, 흉골 및 대퇴골에서는 이상소견이 발견되지 않았다.

성주기 검사

암컷 동물의 부검 전 12일간의 성주기 검사 결과, 시험물질 투여에 의한 유의한 변화는 관찰되지 않았다.

정자 검사

수컷의 좌측 고환에서 정자두부수 검사 및 우측의 부고환에서 정자의 운동성 검사 결과, 시험물질 투여에 의한 유의한 변화는 관찰되지 않았다.

고 찰

본 시험은 국립독성과학원으로부터 제공받은 시험물질 금은화 추출물의 독성을 조사하기 위해 F344/N 랫드를 이용한 90일간 반복 경구투여 독성시험을 수행하였다.

시험결과 모든 시험군에서 사망동물은 관찰되지 않았고, 안검사, 혈액응고시간 검사, 정자검사 및 성주기검사에서의 이상소견은 관찰되지 않았다. 일반증상에서 실험기간 동안 일부 동물에서 관찰된 연변, 설사 및 하복부 오염은 발생빈도가 낮고 증상의 정도가 경미하였으며, 용량상관성이 없이 산발적으로 관찰된 변화로서 시험물질의 투여와 무관한 우발적인 변화로 판단하였다.

체중변화에서 시험기간 동안 시험물질 투여군 암수 모두 용량상관성 있는 체중증가억제경향을 나타내어 시험물질의 투여가 시험계의 체중변화에 영향을 미치는 것으로 사료되었다. 그러나 체중감소의 폭이 부형제 투여군에 비하여 암수 모두 약 6% 이내로 큰 차이를 보이지 않았고, 일반증상이나 기타 측정항목에서 시험물질의 독성과 관련될만한 특이한 변화가 관찰되지 않아 독성학적으로 의미 있는 변화로 보기 어려웠다.

요검사 결과, 1,000 및 2,000 mg/kg/day 투여군 수컷에서의 요 pH 및 백혈구수의 유의한 증가와 2,000 mg/kg/day 투여군 수컷에서의 케톤체의 유의한 증가 및 2,000 mg/kg/day 투여군 암컷에서의 PRO의 유의한 증가는 고용량군에서만 관찰되어 시험물질의 투여와 관련된 변화로 생각되었지만 신장의 조직병리학적 변화, 혈액학 및 혈액생화학적 검사 등 관련 검사항목에서 특기할만한 이상소견이 관찰되지 않았던 바 독성학적으로 의미 있는 변화로 판단할 수 없었다.

혈액학적 검사에서 111, 333 및 1,000 mg/kg/day 투여

군 수컷에서의 망상적혈구의 유의한 증가 및 혈액생화학적 검사에서 1,000 mg/kg/day 투여군 수컷에서의 creatinine의 유의한 증가와ALT의 유의한 감소, 2,000 mg/kg/day 투여군 암컷에서의 TG의 유의한 감소, 333 mg/kg/day 투여군 암컷에서의 BUN의 유의한 증가 등은 모두 그 변화의 폭이 크지 않고, 용량상관성이 없어 우발적인 변화로 판단하였다.

장기중량 측정에서 111 mg/kg/day 투여군 암컷의 가슴샘의 절대 및 상대중량과 폐의 절대중량의 유의한 증가는 용량상관성이 없는 변화로서 시험물질에 의한 변화는 아닌 것으로 판단하였다.

육안적 부검소견에서 일부 동물에서 관찰된 폐의 변화는 2~5개월령의 랫드에서 원인불명의 간질성 폐렴의 빈도가 높다는 보고 [20]와 유사하며, 용량상관성이 결여되어 본 시험물질에 의한 독성학적인 변화는 아닌 것으로 판단되었다. 그 밖에 흉선, 자궁, 고환, 부고환, 방광, 음핵선, 난소, 간 등에서 관찰되었던 변화들은 모두 그 발생빈도가 낮았고 용량의존성이 없는 자연발생적인 변화로서 시험물질의 투여와 무관한 것으로 판단하였다.

조직병리학적 검사결과 시험물질과 관련된 주목할 만한 병변은 관찰되지 않았다. 암수 거의 모든 군에서 관찰된 폐의 혈관주위염증세포침윤, 폐포염 및 간질성폐렴은 SPF 사육구역의 2-5 개월령 랫드에서 자연발생적으로 관찰되는 소견 [10, 20]으로서 대조군과의 비교에 근거하여 시험물질과 무관한 것으로 판단하였다. 또한 수컷에서 관찰된 신장의 호염기성세뇨관, 심장에서의 심근염, 음경꺼풀샘의 만성 염증세포침윤, 암컷 동물의 신장에서 세뇨관내 무기질침착, 음핵샘의 만성염증, 소견은 나이든 랫드에서 자연발생하는 병변 [4, 10, 20]으로서 발생빈도가 낮고, 병변의 정도가 경미하며, 대조군과의 비교에 근거하여 유의한 차이를 느낄 수 없어 시험물질과는 무관한 것으로 판단하였다. 암컷 시험물질 투여군에서 나타난 자궁수유증은 성주기단계에 의한 변화(발정전기 또는 발정기)로 추측되어 시험물질과 무관한 것으로 판단하였다. 기타 갑상선, 가슴샘, 림프절, 뇌하수체, 하더씨샘, 간장 및 황체 등에서의 변화는 병변의 정도가 경미하고, 발생빈도도 낮아 우발적인 변화로 판단하였다.

결 론

금은화 추출물의 F344/N 랫드에서의 90일간 반복 경구투여는 암수 모두에서 경미한 체중증가억제경향이 있었으나 독성학적으로 유해한 변화는 아닌 것으로 판단되었고, 기타 사망률, 일반증상, 안검사, 요검사, 혈액학 및 혈액생화학적 검사, 부검소견, 조직병리학적 검사, 성주기 및 정자 검사 등 모든 검사항목에서 독성학적으로 유해한 변화는 관찰되지 않았다.

따라서 금은화 추출물의 90일간 반복 경구투여 독성시험에서의 무관찰부작용량은 암수 모두 2,000 mg/kg/day 이상으로 판단하였으며, 표적장기는 확인되지 않았다.

감사의 글

본 연구는 2005년도 식품의약품안전청 용역연구개발과제의 연구개발비 지원(05122독관리474)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. **국립독성연구원**. KNTP 독성시험 프로토콜. 국립독성연구원, 서울, 2005.
2. **식품의약품안전청**. 의약품등의독성시험기준 (고시 제 2005-60 호). 식품의약품안전청, 서울, 2005.
3. **식품의약품안전청**. 비임상시험관리기준 (고시 제 2005-79 호). 식품의약품안전청, 서울, 2005.
4. **Boorman GA, Eustis SL, Elwell MR, Montgomery CA, Mackenzie WF.** Pathology of the Fischer Rat. pp. 127-154. Academic Press, San Diego, 1990.
5. **Chai XY, Li SL, Li P.** Quality evaluation of *Flos lonicerae* through a simultaneous determination of seven saponins by HPLC with ELSD. J Chromatogr A 2005, **1070**, 43-48.
6. **Chang HM, But PPH.** Pharmacology and Applications of Chinese Material Medica. Vol. 2. pp. 787-792, World Scientific Publishing, Singapore, 1986.
7. **Chen J, Song Y, Li P.** Capillary high-performance liquid chromatography with mass spectrometry for simultaneous determination of major flavonoids, iridoid glucosides and saponins in Flos Lonicerae. J Chromatography A 2007, **1157**, 217-226.
8. **Choi CW, Jung HA, Kang SS, Choi JS.** Antioxidant constituents and a new triterpenoid glycoside from *Flos Lonicerae*. Arch Pharm Res 2007, **30**, 1-7.
9. **Flood MT, Kondo M.** Toxicity evaluation of a beta-galactosidase preparation produced by *Penicillium multicolor*. Regul Toxicol Pharmacol 2004, **40**, 281-292.
10. **Greaves P.** Histopathology of Preclinical Toxicity Studies. 2nd ed. pp. 254-676. Elsevier, Amsterdam, 2000.
11. **Han JS, Park HS.** The effects of anti-cancer and immune response of *Lonicerae Flos* herbal-acupuncture. J Kor Acu Mox Soc 2006, **23**, 205-218.

12. **Han YJ, Lee SD, Choi JH, Jang IS, Park HM.** Effects of High Frequency Herbal Medication Administrations on the Liver Functions in Rats. J Kor Oriental Med Soc 2006, **27**, 78-90.
13. **Jang IS, Yang CS, Han CH.** A Review of Herbal Medicinal Products Associated with Toxic Events in Korea. J Kor Oriental Med Soc 2007, **28**, 01-10.
14. **Kawai H, Kuroyanagi M, Ueno A.** Iridoid glucosides from *Lonicera japonica* Thunb. Chem Pharm Bull (Tokyo) 1988, **36**, 3664-66.
15. **Kawai H, Kuroyanagi M, Umehara K, Ueno A, Satake M.** Studies on the saponins of *Lonicera japonica* Thunb. Chem Pharm Bull (Tokyo) 1988, **36**, 4769-4775.
16. **Kim YS, Roh JH, Moon SK, Cho KH, Bae HS, Lee KS.** The relations between constant use of herbal medicine and liver injury. J Kyung Hee Univ Med Cent 1999, **15**, 71-77.
17. **Li HJ, Li P, Ye WC.** Determination of five major iridoid glucosides in *Flos Lonicerae* by high-performance liquid chromatography coupled with evaporative light scattering detection. J Chromatogr A 2003, **1008**, 167-172.
18. **Mei N, Arlt VM, Phillips DH, Heflich RH, Chen T.** DNA adduct formation and mutation induction by aristolochic acid in rat kidney and liver. Mutat Res 2006, **602**, 83-91.
19. **Ministry of Public Health of the People's Republic of China**. Pharmacopoeia of the People's Republic of China. p. 177, Chemical Industry Press, Beijing, 2000.
20. **Mohr U, Dungworth DL, Capen CC.** Pathobiology of the Aging Rat. pp. 161-172, International Life Sciences Institute, Washington DC, 1992.
21. **Park HM, Choi KH, Jung JY, Lee SD.** Metal Exposure Through Consumption of Herbal Medicine, and Estimation of Health Risk Among Korean Population. Korean J Environ Health Soc 2006, **32**, 186-191.
22. **Park SK, Choi BK, Lee EB.** Effect of *Lonicera Japonica* Flower on CCl_4-induced Hepatotoxicity. J Appl Pharmacol 2002, **10**, 32-36.
23. **Pittler MH, Ernst E.** Systematic review: hepatotoxic events associated with herbal medicinal products. Aliment Pharmacol Ther 2003, **18**, 451-471.
24. **Son KH, Kim JS, Kang SS, Kim HP, Chang HW.** Isolation of flavonoids from *Lonicera japonica*. Kor J Pharmacog 1994, **25**, 24-27.
25. **Stein U, Greyer H, Hentschel H.** Nutmeg (myristicin) poisoning-report on a fatal case and a series of cases recorded by a poison information centre. Forensic Sci Int 2001, **118**, 87-90.
26. **Tae J, Han SW, Yoo JY, Kim JA, Kang OH, Baek OS, Lim JP, Kim DK, Kim YH, Bae KH, Lee YM.** Anti-inflammatory effect of *Lonicera japonica* in proteinase-activated receptor 2-mediated paw edema. Clin Chim Acta 2003, **330**, 165-171.
27. **Tang W, Eisenbrand G.** Chinese Drugs of Plant Origin: Chemistry, Pharmacology, and Use in Traditional and Modern Medicine. pp. 621-625, Springer-Verlag, Berlin, 1992.
28. **Vanherweghem JL, Depierreux M, Tielemans C, Abramowicz D, Dratwa M, Jadoul M, Richard C, Vandervelde D, Verbeelen D, Vanhaelen-Fastre R, Vanhaelen M.** Rapidly progressive interstitial renal fibrosis in young women: association with slimming regimen including Chinese. Lancet 1993, **341**, 387-391.
29. **Wirth JH, Hudgins JC, Paice JA.** Use of herbal therapies to relieve pain: a review of efficacy and adverse effects. Pain Manag Nurs 2005, **6**, 145-167.
30. **Wolf BW, Weisbrode SE.** Safety evaluation of an extract from *Salacia oblonga*. Food Chem Toxicol 2003, **41**, 867-874.
31. **Wu HZ, Luo J, Yin YX, Wei Q.** Effects of chlorogenic acid, an active compound activating calcineurin, purified from *Flos Lonicerae* on macrophage. Acta Pharmacol Sin 2004, **25**, 1685-1689.
32. **Wu L.** Effect of chlorogenic acid on antioxidant activity of *Flos Lonicerae* extracts. J Zhejiang Univ Sci B 2007, **8**, 673-679.