

## HMC05의 Sprague-Dawley 흰쥐를 이용한 4주 반복 경구투여 DRF 독성시험

신흥묵

동국대학교 한의과대학 생리학교실

### Repeated Dose 4-Week Oral-Treatment for DRF Toxicity Test of HMC05 in Sprague-Dawley Rats

Heung-Mook Shin

Department of Physiology, College of Oriental Medicine, Dongguk University

**Objectives:** HMC05 is an extract obtained from 8 different herbal mixtures. We undertook a safety evaluation of HMC05 for a dose range finding (DRF) toxicity test in specific pathogen free (SPF) Sprague-Dawley (SD) male and female rats.

**Methods:** The male and female rats were divided into 4 groups, respectively; G(0), treated with distilled water; G(1), treated with 222 mg/kg HMC05; G(2), treated with 667 mg/kg HMC05, and G(3), treated with 2,000 mg/kg HMC05; HMC05 was administered orally for 4 weeks. The safety evaluation examined clinical signs, mortality, body weight, food consumption, water consumption, ophthalmic findings, urinalysis, hematological values, absolute & relative organ weights, and necropsy findings during the tests.

**Results:** There were no changes in clinical signs, mortality, body weight, food consumption, water consumption, and ophthalmic findings examined during the test periods. In serum biochemical values, triglyceride was increased in male group G(3) and  $\text{Na}^+$  decreased significantly in male groups G(2), G(3) and G(4). In male group G(4), spleen weight decreased relatively and increases of absolute & relative left ovary weights were found. In addition, an adhesion of liver to diaphragm was found in male group G(2). However, we could not find any dose-interrelationships in these changes.

**Conclusions:** These results indicate that HMC05 extract did not show any toxicity in the DRF toxicity study. Therefore, it suggests that establishment of 1,000, 333 and 111 mg/kg dosages are moderate in a repeated dose 26-week oral toxicity study of HMC05.

**Key Words :** HMC05, DRF toxicity, safety evaluation, dose-interrelationships

### 서론

한약재제의 연구개발에 있어서 실험실내의 유효성 탐색과 효능 검증을 기초로 실용화 연구를 연결하는 임상연구는 근거중심의 한의학을 확립하는

중요한 수단이 된다. HMC05는 한방치료기술연구개발사업(B030007, B050042)의 일환으로 半夏白朮天麻湯의 加減을 통한 실험적 연구를 통하여 고혈압과 동맥경화의 예방 및 치료를 목표로 개발, 특허 등록되었으며, 半夏, 白朮, 天麻, 陳皮, 茯苓, 山楂, 豨薟,

• Received : 10 June 2009

• Revised : 22 July 2009

• Accepted : 24 July 2009

• Correspondence to : 신흥묵(Heung-Mook Shin)

경북 경주시 석장동 707 동국대학교 한의과대학

Tel : +82-54-770-2372, Fax : +82-54-742-5441, E-mail : heungmuk@dongguk.ac.kr

黃連을 구성성분으로 하는 한의약 복합제제이다<sup>1,2)</sup>. 실험적 연구에서 HMC05는 흰쥐 흉부대동맥을 이완시키고<sup>3)</sup>, apoE<sup>-/-</sup> 생쥐에서의 동맥경화반을 감소시키며<sup>4)</sup>, HPLC/UV 및 LC-MS 분석을 통하여 hesperidin, coptisine, palmatine 및 berberine의 지표성분<sup>5)</sup>을 설정하였다. 또한 대구카톨릭대학교 바이오안전성센터에서 수행한 단회경구투여 독성시험에서 안전성과 2,000mg/kg를 상회하는 개략치사량(ALD)이 확인 되었다<sup>6)</sup>.

본 시험은 식품의약품안전청고시 제2005-60호(2005년 10월 21일) ‘의약품 등의 독성시험기준’<sup>7)</sup> 및 식품의약품안전청고시 제2005-79호(2005년 12월 21일) ‘비임상시험관리기준’<sup>8)</sup>에 준하여 HMC05를 Sprague-Dawley 계통의 흰쥐에 4주간 반복 경구 투여하였을 때 나타나는 독성을 확인하였다. 이를 위하여 HMC05의 단회경구투여 독성시험의 결과<sup>6)</sup>를 바탕으로 2,000mg/kg을 투여하는 고용량군을 설정하고 공비를 약 3으로 하여 HMC05를 각 222, 667 및 2,000mg/kg/day 투여한 군으로 나누어 1일 1회 4주간 경구 투여한 후 일반증상, 체중, 사료 및 물 섭취량, 안 검사, 요 검사, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 장기중량 및 부검소견을 부형제 대조군과 비교하여 유의한 결과를 보고하고자 한다.

: 天麻 1 : 陳皮 1 : 茯苓 1.5 : 山楂 1.5 : 獐豨 1.5 : 黃連 1.5 ; Table 1)는 (주) Bioland (충남, 한국)에 의뢰하여 제조하였다. 100 °C에서 1시간 30분 전탕한 후 추출액을 여과지(1µm)로 여과하고 진공 농축기(진공도 60-70 cmHg)로 감압 농축하여 멸균탱크(100°C)에서 1시간 가열하고 1일간 방치한 후 다시 1시간 가열하여 연조엑스를 실험에 사용하였다. 건조함량은 51.5%로 나타났다.

## 2. 시험동물

본 연구에 사용된 시험계는 HsdKoat:Sprague Dawley<sup>®</sup>™ SD<sup>®</sup>™ 계통의 SPF(특정병원균 부재)의 5주령 된 암수 각 24마리의 흰쥐를 사용하였다. 본 시험에 사용하는 흰쥐는 공급체제가 확립되어 있고, 약물에 대한 반응이 일정하여 암수에 따른 성별 반응차이가 거의 없고, 풍부한 시험 기초자료가 축적되어 있어 일반 독성시험에 널리 사용되고 있다.

동물의 검수검역은 코아텍(경기도, 평택)에서 제공한 시험계의 병원체 검사 성적서를 참고로 실시하였으며, 검토 결과 시험에 영향을 줄만한 요인은 없었다. 동물 입수 후 7일간 순화시키고, 순화기간 중 일반증상을 관찰하여 건강한 동물만을 시험에 사용하였다. 본 시험은 (주)켄온의 동물실험윤리규정을 준수하였다.

## 3. 사육환경

### 1) 환경조건

본 시험은 (주)켄온의 전임상연구센터 제2동물사육

## 실험재료 및 방법

### 1. 시험물질

본 연구의 시험물질인 HMC05 (半夏 1.5 : 白朮 2

Table 1. Composition Ratio of HMC05

Pharmaceutical name	Scientific name	Ratio
半夏	<i>Pinelliae ternate</i> Ten. Ex Breitenb.	1.5
白朮	<i>Atractylodes macrocephala</i> Koidz.	2
天麻	<i>Gastrodia elata</i> Blume	1
陳皮	<i>Citrus unshiu</i> Marcow.	1
茯苓	<i>Poria cocos</i> Wolf	1.5
山楂	<i>Crataegus pinnatifida</i> Bunge var. <i>typica</i> C.K. Schneider	1.5
獐豨	<i>Siegesbeckia pubescens</i> Makio.	1.5
黃連	<i>Coptidis japonica</i> Makino	1.5

구역 6호실에서 수행하였다. 환경조건은 온도 $23\pm 3^{\circ}\text{C}$ , 상대습도  $55\pm 15\%$ , 환기횟수 10~20회/hr, 조명 시간 12시간(오전 8시 점등~오후 8시 소등) 및 조도 150~300Lux로 설정하였다. 시험자들은 모두 고압증기멸균( $121^{\circ}\text{C}$ , 20분)한 작업복과 보호장구를 착용하고 작업을 실시하였다.

### 2) 사료 및 물

사료는 방사선조사로 멸균한 실험동물용 고형사료 (TEKLAD CERTIFIED GLOBAL 18% PROTEIN RODENT DIET, 2918C, Harlan Co. Ltd., USA)를 폴라스인테셔날로부터 공급받아 자유롭게 섭취하도록 하였다. 물은 지하수를 자외선 살균기 및 미세 여과장치로 소독한 후, 물병을 이용하여 자유롭게 섭취하도록 하였다. 물과 사료의 오염물질에 대한 검사는 (주)켄온의 관련 SOP에 따라 실시하였다.

### 3) 사육상자, 사육밀도

동물은 스테인레스제 망 사육상자(W 215 × L 355 × H 200mm)에서 검역 및 순화기간에는 5 마리/사육상자 이하로, 투여 및 관찰기간에는 3마리/사육상자 이하로 사육하였다.

### 4) 식별

개체식별은 포화피크린산을 이용한 피모색소표식법과 ear-punch법을 사용하였다. 사육상자에는 용량별로 다른 색상의 개체식별카드를 부착하였으며, 사육상자대에 고유번호를 부여하였다. 사육실 입구에는 시험번호, 동물실 사용기간, 시험책임자명, 시험담당자명, 비상연락처 등을 기재한 동물실 사용기록지를 부착하였다.

## 4. 시험군 및 투여방법

### 1) 시험군의 구성과 투여량 설정

시험군의 구성은 아래 표와 같이 멸균 주사용수를 투여한 부형제 대조군인 G1군, 단회경구투여 독성시험<sup>6)</sup>에서 2,000mg/kg 투여군에서 사망동물이 없고, 일반증상, 체중변화 및 부검소견에서 특이한 변화가 관찰되지 않았기에 2,000mg/kg을 투여하는 고

용량군을 설정하고 공비를 약 3으로 하여 HMC05를 각 222, 667 및 2,000mg/kg/day 투여한 G2, G3, G4군으로 나누었다. 각 시험군은 군당 암수 각 5마리씩 10마리로 구성하였다.

군	성별	동물수 (마리)	동물 번호	투여액량 (ml/kg/day)	투여량 (mg/kg/day)
G1 <sup>a)</sup>	M/F	5/5	1-5/21-25	10	0
G2	M/F	5/5	6-10/26-30	10	222
G3	M/F	5/5	11-15/31-35	10	667
G4	M/F	5/5	16-20/36-40	10	2,000

### 2) 투여경로 및 투여방법

시험물질의 투여경로는 임상 예정 경로인 경구투여를 선택하였고, 투여방법은 경배부 피부를 고정하고 경구투여용 존데와 주사기를 이용하여 강제 경구투여 하였다. 투여액량은 10mg/kg으로 하고, 투여횟수는 7회/주, 4주간 투여하였다.

## 5. 관찰 및 검사 항목

### 1) 일반증상 및 사망율

투여 및 관찰기간 동안 사망여부, 일반증상의 종류, 발현 일 및 증상의 정도를 1일 1회 관찰하여 개체 별로 일반증상관찰기록지에 기록하였다.

### 2) 체중측정

모든 동물의 체중을 시험 개시 일에 측정하고, 이후에는 주 1회 및 부검 일에 측정하였다. 부검 일의 체중은 부검 전일 하룻밤 절식시킨 후의 체중을 측정하였다.

### 3) 물과 사료섭취량 산출

물과 사료섭취량 산출은 투여개시일과 시험기간 중 주 1회 실시하였으며, 그 방법은 물 혹은 사료를 정량급여한 후, 다음 날 잔량을 사육상자 단위로 측정하여 그 차이를 계산하였고, 마리당 평균섭취량 (g/rat/day)으로 산출하였다.

### 4) 안검사

군 분리시 모든 동물에 대하여 육안으로 눈의 외관을 관찰하였다. 관찰 최종 주에는 각 시험군 별로

5마리의 동물에 대하여 육안으로 눈의 외관을 관찰한 후, 양쪽 안구에 산동제(오쿠호마핀, 삼일제약, Lot 016360)를 점적하여 동공확장을 유도한 다음, 안저사진기(Genesis, Gowa Co. Ltd., Japan)로 전안부, 중간투광체 및 안저를 관찰하였다. 관찰결과, 이상 소견이 관찰되지 않았으므로 모든 동물에 대한 안저검사는 실시하지 않았다.

5) 요검사

요검사는 요당(glucose), 빌리루빈(bilirubin), 케톤체(ketone body), 요비중(specific gravity), 잠혈(occult blood), 산도(pH), 단백질(protein), 유로빌리노겐(urobilinogen), 아질산염(nitrite) 및 백혈구(leukocyte) 항목을 요검사용 시험지(Multistix 10SG, Bayer)와 요자동분석장치(CliniTek 100, Bayer)를 이용하여 측정하였다.

6) 부검

부검 전날 절식한 동물에 대하여 부검 당일 ether로 흡입 마취시켜 개복하고 후대정맥에서 혈액학적 검사 및 혈액생화학적 검사를 위한 채혈을 실시하였다. 그 후 복대동맥 및 후대정맥을 절단하여 방혈/치사시킨 다음, 체표, 피하, 흉강 및 복강의 모든 장기에 대해 부검조건을 관찰하고, 장기중량 측정 및 조직 고정을 실시하였다.

7) 혈액학적 검사

부검 시 채혈한 혈액 중 약 1 mL를 항응고제인 EDTA-2K가 들어있는 CBC bottle에 주입한 후 자동혈액분석기(ADVIA 2120, SIEMENS, USA)로 다음 항목을 측정하였다.

항 목	단 위	측 정 방 법
Ⓐ WBC (White blood cell count)	103/μL	Flowcytometry
Ⓑ RBC (Red blood cell count)	106/μL	Flowcytometry, Isovolumetry
Ⓒ HGB (Hemoglobin conc.)	g/dL	Modified CN met-Hb method
Ⓓ HCT (Hematocrit)	%	(RBC×MCV)÷10
Ⓔ MCV (Mean corpuscular volume)	fL	Histogram

Ⓕ MCH (Mean corpuscular hemoglobin)	pg	(HGB÷RBC)×10
Ⓖ MCHC (Mean corpuscular Hb conc.)	g/dL	[HGB÷(RBC×MCV)]×1000
Ⓗ RDW (Red cell distribution width)	%	Histogram
Ⓙ HDW (Hb conc. distribution width)	g/dL	Histogram

8) 혈액생화학적 검사

부검 시 채혈한 혈액의 일부를 clot activator가 들어있는 5ml vacutainer tube (IMPROVE, IMPROVE, Germany)에 주입하고 15~20분간 상온에 방치하여 응고시킨 후 10 분간 원심분리(Hanil MF300, Korea, 3,000 rpm, 1,630 RCF)하여 얻은 혈청으로 AU400 자동생화학분석기(Olympus, Japan)를 활용하여 아래 항목에 대하여 측정하였으며, 전해질은 전해질 분석기(644 Na+/K+/Cl-Analyzer, SIEMENS, USA and RAPIDCHEM 744 Na+/K+/Cl-Analyzer, SIEMENS, USA)로 측정하였다.

항 목	단 위	방 법
Ⓐ AST (Aspartate aminotransferase)	U/L	IFCC법
Ⓑ ALT (Alanine aminotransferase)	U/L	IFCC법
Ⓒ ALP (Alkaline phosphatase)	U/L	P-NPP법
Ⓓ BUN (Blood urea nitrogen)	mg/dL	Urease-UV법
Ⓔ CRE (Creatinine)	mg/dL	Jaffe법
Ⓕ GLU (Glucose)	mg/dL	UV법
Ⓖ CHO (Total cholesterol)	mg/dL	Enzyme법
Ⓗ PRO (Total protein)	g/dL	Biuret법
Ⓙ CPK (Creatine phosphokinase)	U/L	IFCC법
Ⓚ ALB (Albumin)	g/dL	BCG법
Ⓛ BIL(Total bilirubin)	mg/dL	Evelyn-Malloy법
① TG (Triglyceride)	mg/dL	Enzyme법
② IP (Inorganic phosphorus)	mg/dL	UV법
③ Ca2+(Calciumion)	mg/dL	O-CPC 법
④ A/G ratio (Albumin/Globulin ratio)	ratio	PRO, ALB로 산출
⑤ Na+(Sodiumion)	mmol/L	전극법
⑥ K+(Potassiumion)	mmol/L	전극법
⑦ Cl-(Chlorideion)	mmol/L	전극법

Ⓐ-Ⓔ: 혈액생화학분석기(AU400, Olympus, Japan)를 이용하여 측정.  
 ①-⑦: 전해질자동분석기(644 Na+,K+,Cl-Analyzer,SIEMENS,USA)로 측정.

9) 장기중량 측정

부검 시 난소, 자궁, 부신, 가슴샘, 전립샘, 고환, 부고환, 비장, 신장, 심장, 폐 및 간장을 적출하고 전자저울(BP221S and CP153, Sartorius AG, Germany)로 중량을 측정하였으며, 양측성 장기는 양측 장기를 각각 측정하였다. 중량측정 장기에 대하여는 부검시 체중에 대한 상대중량을 산출하였다.

6. 통계처리

투여군 간의 비교에는 모수적인 다중비교(parametric multiple comparison procedures) 혹은 비모수적인 다중비교(non parametric multiple comparison procedures)를 사용하였으며, 통계학적 분석은 상용으로 널리 사용되고 있는 통계 패키지인 SPSS 10.1을 이용하였다. 검사항목 중 체중, 사료 및 물 섭취량, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사 및 장기중량은 연속적인 자료의 분석으로 우선 one-way ANOVA test로 유의성을 확인한 다음, 유의성이 있으면 Levene test로 등분산성을 검정한 후, 이분산일 경우는 T-test를 이용하여 부형제대조군과의 유의성을 검정하였다. 요검사는 불연속인 자료의 분석으로 증상의 정도로 표기되는 데이터에 대해 아래 표와 같이 척도변환을 실시한 후 Kruskal-Wallis' H-test를 실시하였다.

척도 변환	GLU, KET, PRO,BIL, OB, WBC	SG	pH	URO	NIT
0	-	≤1.005	6.5	0.1	-
1	+/-	1.010	7.0	1.0	+
2	1+	1.015	7.5		
3	2+	1.020	8.0		
4	3+	1.025	8.5		
5	4+	≥9.0	≥9.0		

Table 2. Clinical Signs and Mortality of Male or Female Rats after Oral Administration of HMC05 for 4 Weeks.

Days	Observed	Groups (mg/kg/day)		Sex: male or female	
		G1 (0)	G2 (222)	G3 (667)	G4 (2,000)
0 ~ 28	Normal	5 / 5*	5 / 5	5 / 5	5 / 5
28	Terminal sacrifice	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

\*. Data are the number of animals with the sign/Number of animals examined.

결 과

1) 일반증상 및 사망률

전 시험기간 동안 모든 시험군에서 사망동물 및 자발적 운동, 호흡율의 증가 및 부검 전 안구검사에서 특이 증상이 관찰되지 않았다 (Table 2).

2) 체중변화

HMC05의 농도별 투여에 의한 암컷과 수컷의 모든 시험군에서의 각 주별 체중변화는 부형제 대조군에 비하여 차이가 없었다 (Table 3).

3) 사료섭취량

모든 시험군에서 HMC05의 투여에 의한 특이한 사료섭취량 변화는 관찰되지 않았다 (Table 4).

4) 물 섭취량

모든 시험군에서 물 섭취량 역시 HMC05의 농도별 투여에 의한 특이한 변화는 관찰되지 않았다 (Table 5).

5) 안검사

모든 시험군의 안검사에서 HMC05 투여에 의한 어떠한 증상도 관찰되지 않았다 (Table 6).

6) 요검사

모든 시험군에서 HMC05의 농도별 투여에 의한 특이한 요검사 항목의 변화는 관찰되지 않았다 (Table 7).

7) 혈액학적 검사

모든 시험군에서 HMC05 투여에 의한 특이한 혈액학적 검사 항목의 변화는 관찰되지 않았다 (Table 8).

**Table 3.** Body Weight Changes of Male and Female Rats after Oral Administration of HMC05 for 4 Weeks.

BODY WEIGHT CHANGES (g)					
Group (mg/kg) / Sex (male/female)					
Weeks	G1 (0)	G2 (222)	G3 (667)	G4 (2,000)	
0	161.94±5.10 / 124.68±2.80	162.69±3.12 / 125.80±4.12	161.96±7.16 / 125.93±4.78	163.32±4.50 / 126.76±5.03	
1	220.29±8.95 / 150.93±4.52	219.49±5.73 / 153.57±6.65	223.75±7.95 / 153.08±11.81	222.73±6.06 / 149.68±10.39	
2	268.01±14.56 / 171.99±5.77	268.43±4.44 / 153.57±6.65	276.74±12.27 / 171.48±14.02	277.04±9.41 / 172.92±10.16	
3	306.55±16.34 / 191.90±5.30	308.69±4.19 / 175.11±9.15	316.52±17.31 / 187.04±15.63	317.36±14.43 / 187.23±11.76	
4	332.50±18.49 / 202.27±5.05	333.90±4.20 / 201.15±6.56	345.14±21.47 / 201.35±20.53	339.28±16.78 / 201.06±12.12	
Weight Gains	170.55±16.64 / 77.59±5.55	171.21±6.06 / 75.36±2.69	183.17±19.00 / 201.35±20.53	175.96±16.30 / 201.06±12.12	
N	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	

**Table 4.** Food Consumptions of Male Rats after Oral Administration of HMC05 for 4 Weeks.

FOOD CONSUMPTIONS (g)					
Group (mg/kg) / Sex (male/female)					
Weeks	G1 (0)	G2 (222)	G3 (667)	G4 (2,000)	
0	21.80±0.68 / 16.80±0.29	22.18±1.17 / 17.34±0.16	22.78±1.09 / 16.74±1.42	23.70±0.54 / 6.21±0.69	
1	23.27±2.06 / 14.43±1.11	24.92±0.76 / 16.32±2.12	25.44±2.53 / 14.41±3.59	26.05±0.81 / 16.31±0.81	
2	25.46±0.13 / 16.60±1.14	25.60±1.00 / 17.34±0.43	25.51±1.75 / 17.13±1.28	24.62±2.44 / 16.67±1.31	
3	22.94±0.28 / 12.42±1.05	23.75±0.54 / 14.02±1.56	24.05±3.94 / 13.09±2.72	23.74±0.13 / 14.97±0.88	
4	27.66±0.52 / 18.05±1.25	27.83±2.09 / 18.02±2.52	25.57±3.28 / 17.93±4.89	26.00±0.29 / 17.18±0.21	
N	5	5	5	5	

**Table 5.** Water Consumptions of Male and Female Rats after Oral Administration of HMC05 for 4 Weeks.

WATER CONSUMPTIONS (g)					
Group (mg/kg) / Sex (male/female)					
Weeks	G1 (0)	G2 (222)	G3 (667)	G4 (2,000)	
0	21.94±1.55 / 19.41±0.38	21.84±1.64 / 20.22±0.88	23.62±0.72 / 18.14±0.03	25.94±1.01 / 18.12±0.57	
1	25.53±4.78 / 16.91±3.15	26.00±0.91 / 20.10±4.09	28.79±0.83 / 15.65±4.29	30.05±6.21 / 18.64±1.49	
2	30.08±2.81 / 23.48±2.43	28.98±3.24 / 24.85±1.83	32.69±0.23 / 20.97±3.04	29.27±5.67 / 22.69±0.81	
3	26.15±1.83 / 18.12±0.70	24.68±0.87 / 17.96±1.14	28.96±2.18 / 15.72±4.16	28.44±6.39 / 19.22±0.56	
4	30.06±1.12 / 28.30±3.07	28.14±1.25 / 25.49±2.06	29.52±0.75 / 24.36±4.15	29.00±6.46 / 24.37±4.35	
N	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	

**Table 6.** Ophthalmic Findings of Male and Female Rats after Oral Administration of HMC05 for 4 Weeks.

OPHTHALMIC FINDINGS					
Group (mg/kg) / Sex (male or female)					
Sites	Findings	G1 (0)	G2 (222)	G3 (667)	G4 (2,000)
Left eye	No gross findings	5 / 5*	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Right eye	No gross findings	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

\*, Number of animals with the sign / Number of animals examined

**Table 7.** Urinalysis of Male and Female Rats after Oral Administration of HMC05 for 4 Weeks.

URINALYSIS										
Groups (mg/kg/day)										
Test Items	Result	Grade	Male				Female			
			G1	G2	G3	G4	G1	G2	G3	G4
			0	222	667	2,000	0	222	667	2,000
GLU	-	0	5	5	5	5	5	5	5	5
BIL	-	0	5	5	5	5	5	5	5	5
KET	-	0	3	3	2	0	5	5	4	2
	+/-	1	2	2	3	4	0	0	1	3
	1+	2	0	0	0	1	0	0	0	0
SG	≤1.005	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	1.010	1	0	0	0	0	1	0	0	0
	1.015	2	0	0	0	0	2	5	1	0
	1.020	3	1	0	0	0	0	0	2	0
	1.025	4	1	3	0	0	2	0	1	3
	1.030	5	3	2	5	5	0	0	1	1
pH	7.0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
	7.5	1	3	5	5	5	3	1	2	1
	8.0	2	0	0	0	0	2	4	3	3
	8.5	3	0	0	0	0	0	0	0	1
PRO	+/-	0	0	0	0	0	0	1	1	1
	1+	1	0	0	0	0	2	2	1	1
	2+	2	1	0	1	0	2	2	1	1
	3+	3	4	5	4	5	1	0	2	2
URO	0.1	0	5	5	5	5	5	5	5	5
NIT	-	0	5	5	5	5	5	5	5	5
OB	-	0	3	3	4	3	5	5	5	4
	+/-	1	1	0	0	1	0	0	0	0
	1+	2	1	2	0	1	0	0	0	0
	2+	3	0	0	0	0	0	0	0	0
	3+	4	0	0	1	0	0	0	0	1
	-	0	0	1	0	0	1	0	1	3
WBC	+/-	1	2	1	0	2	2	2	2	2
	1+	2	2	3	2	3	2	3	2	0
	2+	3	1	0	3	0	0	0	0	0
	N		5	5	5	5	5	5	5	5

GLU: Glucose, BIL: Bilirubin, KET: Ketone body, SG: Specific gravity, PRO: Protein, NIT: Nitrite, URO: Urobilinogen, OB: Occult blood, WBC: Leukocyte

**Table 8.** Hematological Values of Male and Female Rats after Oral Administration of HMC05 for 4 Weeks.

HEMATOLOGICAL VALUES					
Groups (mg/kg/day) /Sex (male/female)					
Tests	Units	G1 (0)	G2 (222)	G3 (667)	G4 (2,000)
WBC	103/ $\mu$ L	10.57 $\pm$ 1.43 / 4.81 $\pm$ 1.18	10.82 $\pm$ 1.0 / 6.04 $\pm$ 1.74	8.97 $\pm$ 0.60 / 5.27 $\pm$ 1.86	11.55 $\pm$ 2.31 / 4.63 $\pm$ 0.44
RBC	106/ $\mu$ L	8.14 $\pm$ 0.39 / 7.46 $\pm$ 0.36	8.07 $\pm$ 0.17 / 7.55 $\pm$ 0.25	7.78 $\pm$ 0.33 / 7.72 $\pm$ 0.23	7.80 $\pm$ 0.23 / 7.51 $\pm$ 0.22
HGB	g/dL	15.4 $\pm$ 0.5 / 14.5 $\pm$ 0.5	15.3 $\pm$ 0.5 / 14.6 $\pm$ 0.3	15.0 $\pm$ 0.3 / 14.7 $\pm$ 0.4	15.1 $\pm$ 0.4 / 14.9 $\pm$ 0.3
HCT	%	47.0 $\pm$ 1.6 / 42.6 $\pm$ 1.5	46.6 $\pm$ 1.3 / 42.8 $\pm$ 1.5	46.0 $\pm$ 1.3 / 43.3 $\pm$ 0.9	45.7 $\pm$ 1.3 / 43.6 $\pm$ 1.5
MCV	fL	57.9 $\pm$ 2.2 / 57.2 $\pm$ 1.3	57.8 $\pm$ 0.7 / 56.6 $\pm$ 1.3	59.2 $\pm$ 0.9 / 56.1 $\pm$ 1.9	58.6 $\pm$ 2.0 / 58.0 $\pm$ 0.7
MCH	pg	18.9 $\pm$ 0.6 / 19.5 $\pm$ 0.7	19.0 $\pm$ 0.2 / 19.3 $\pm$ 0.4	19.4 $\pm$ 0.5 / 19.0 $\pm$ 0.9	19.4 $\pm$ 0.6 / 19.9 $\pm$ 0.2
MCHC	g/dL	32.8 $\pm$ 0.4 / 34.1 $\pm$ 0.4	32.9 $\pm$ 0.2 / 34.1 $\pm$ 0.7	32.7 $\pm$ 0.3 / 33.9 $\pm$ 0.4	33.1 $\pm$ 0.2 / 34.3 $\pm$ 0.7
RDW	%	10.8 $\pm$ 0.3 / 10.4 $\pm$ 0.3	10.8 $\pm$ 0.1 / 10.2 $\pm$ 0.2	11.1 $\pm$ 0.3 / 10.3 $\pm$ 0.2	11.1 $\pm$ 0.4 / 10.4 $\pm$ 0.2
HDW	g/dL	2.46 $\pm$ 0.15 / 2.36 $\pm$ 0.12	2.48 $\pm$ 0.18 / 2.33 $\pm$ 0.12	2.43 $\pm$ 0.15 / 2.39 $\pm$ 0.19	2.37 $\pm$ 0.06 / 2.28 $\pm$ 0.10
N		5 / 5	5 / 5	4 / 5	5 / 4

WBC: White blood cell count, RBC: Red blood cell count, HGB: Hemoglobin conc., HCT: Hematocrit, MCV: Mean corpuscular volume, MCH: Mean corpuscular hemoglobin, MCHC: Mean corpuscular Hb conc., RDW: Red cell distribution width, HDW: Hb conc. distribution width.

**Table 9.** Serum Biochemical Values of Male and Female Rats after Oral Administration of HMC05 for 4 Weeks.

SERUM BIOCHEMICAL VALUES					
Groups (mg/kg/day) / Sex (male/female)					
Tests	Units	G1 (0)	G2 (222)	G3 (667)	G4 (2,000)
AST	U/L	101.9 $\pm$ 32.3 / 90.1 $\pm$ 8.7	88.6 $\pm$ 9.5 / 79.6 $\pm$ 6.1	96.0 $\pm$ 11.6 / 83.1 $\pm$ 2.6	84.9 $\pm$ 1.8 / 92.8 $\pm$ 12.0
ALT	U/L	53.0 $\pm$ 19.5 / 35.9 $\pm$ 2.4	50.9 $\pm$ 13.7 / 34.7 $\pm$ 3.8	41.8 $\pm$ 4.9 / 35.1 $\pm$ 4.4	36.3 $\pm$ 2.7 / 34.9 $\pm$ 4.9
ALP	U/L	152.8 $\pm$ 36.5 / 110.9 $\pm$ 7.1	145.6 $\pm$ 18.0 / 106.8 $\pm$ 13.8	148.1 $\pm$ 27.4 / 104.6 $\pm$ 18.7	152.5 $\pm$ 29.3 / 91.8 $\pm$ 9.0
BUN	mg/dL	18.9 $\pm$ 3.0 / 20.1 $\pm$ 3.0	17.9 $\pm$ 1.5 / 18.9 $\pm$ 1.3	17.1 $\pm$ 1.6 / 21.9 $\pm$ 2.7	16.1 $\pm$ 1.2 / 18.9 $\pm$ 2.0
CRE	mg/dL	0.48 $\pm$ 0.09 / 0.53 $\pm$ 0.05	0.52 $\pm$ 0.03 / 0.53 $\pm$ 0.05	0.51 $\pm$ 0.03 / 0.55 $\pm$ 0.04	0.52 $\pm$ 0.03 / 0.52 $\pm$ 0.02
GLU	mg/dL	127.6 $\pm$ 10.2 / 105.7 $\pm$ 11.0	127.7 $\pm$ 11.0 / 109.2 $\pm$ 15.5	120.4 $\pm$ 12.8 / 106.7 $\pm$ 13.6	128.8 $\pm$ 11.5 / 102.6 $\pm$ 3.5
CHO	mg/dL	111.2 $\pm$ 22.9 / 109.2 $\pm$ 15.6	111.2 $\pm$ 9.4 / 96.0 $\pm$ 11.4	101.6 $\pm$ 21.2 / 104.4 $\pm$ 21.7	107.0 $\pm$ 14.1 / 95.8 $\pm$ 25.8
PRO	g/dL	6.13 $\pm$ 0.26 / 6.05 $\pm$ 0.18	6.23 $\pm$ 0.22 / 6.09 $\pm$ 0.24	6.24 $\pm$ 0.20 / 6.17 $\pm$ 0.33	6.26 $\pm$ 0.13 / 6.10 $\pm$ 0.22
CPK	U/L	159.2 $\pm$ 122.3 / 157.0 $\pm$ 78.1	133.0 $\pm$ 46.7 / 92.4 $\pm$ 30.7	384.0 $\pm$ 406.7 / 99.8 $\pm$ 6.3	133.6 $\pm$ 34.0 / 125.0 $\pm$ 59.3
ALB	g/dL	3.04 $\pm$ 0.32 / 3.20 $\pm$ 0.07	3.09 $\pm$ 0.26 / 3.23 $\pm$ 0.13	3.12 $\pm$ 0.11 / 3.23 $\pm$ 0.15	3.21 $\pm$ 0.12 / 3.31 $\pm$ 0.09
BIL	mg/dL	0.15 $\pm$ 0.02 / 0.18 $\pm$ 0.01	0.16 $\pm$ 0.01 / 0.18 $\pm$ 0.02	0.16 $\pm$ 0.01 / 0.18 $\pm$ 0.01	0.16 $\pm$ 0.01 / 0.17 $\pm$ 0.01
TG	mg/dL	52.0 $\pm$ 3.3 / 41.4 $\pm$ 3.5	45.4 $\pm$ 5.6 / 42.2 $\pm$ 5.1	51.0 $\pm$ 7.5 / 47.2 $\pm$ 14.2	64.4 $\pm$ 8.5** / 44.0 $\pm$ 10.1
IP	mg/dL	8.06 $\pm$ 0.59 / 7.36 $\pm$ 0.66	8.06 $\pm$ 0.46 / 7.69 $\pm$ 0.33	8.14 $\pm$ 0.55 / 7.08 $\pm$ 0.32	8.26 $\pm$ 0.45 / 7.52 $\pm$ 0.35
Ca2+	mg/dL	10.35 $\pm$ 0.21 / 10.04 $\pm$ 0.19	10.04 $\pm$ 0.19 / 10.08 $\pm$ 0.18	10.10 $\pm$ 0.15 / 10.04 $\pm$ 0.17	10.32 $\pm$ 0.21 / 10.05 $\pm$ 0.33
A/G	ratio	0.99 $\pm$ 0.13 / 1.13 $\pm$ 0.08	0.99 $\pm$ 0.14 / 1.13 $\pm$ 0.09	1.00 $\pm$ 0.05 / 1.11 $\pm$ 0.08	1.05 $\pm$ 0.06 / 1.19 $\pm$ 0.05
Na+	mmol/L	142.2 $\pm$ 0.4 / 140.4 $\pm$ 0.4	141.4 $\pm$ 0.7* / 140.3 $\pm$ 0.8	141.5 $\pm$ 0.7* / 140.4 $\pm$ 1.4	141.1 $\pm$ 0.2* / 140.2 $\pm$ 0.6
K+	mmol/L	4.25 $\pm$ 0.12 / 4.25 $\pm$ 0.18	4.32 $\pm$ 0.16 / 4.24 $\pm$ 0.46	4.42 $\pm$ 0.19 / 3.91 $\pm$ 0.17	4.51 $\pm$ 0.09 / 4.24 $\pm$ 0.35
Cl-	mmol/L	103.7 $\pm$ 1.2 / 104.9 $\pm$ 0.6	102.8 $\pm$ 0.3 / 104.7 $\pm$ 1.1	102.8 $\pm$ 1.5 / 104.2 $\pm$ 0.7	103.1 $\pm$ 0.5 / 104.3 $\pm$ 0.5
N		5	5	5	5

\*\*\* Represents a significant difference at p<0.05/p<0.01 level compared with the vehicle control.

AST: Aspartate aminotransferase, ALT: Alanine aminotransferase, ALP: Alkaline phosphatase, BUN: Blood urea nitrogen, CRE: Creatinine, GLU: Glucose, CHO: Total cholesterol, PRO: Total protein, CPK: Creatine phosphokinase, ALB: Albumin, BIL: Total bilirubin, TG: Triglyceride, IP: Inorganic phosphorus, Ca2+: Calciumion, A/G ratio: Albumin/Globulin ratio, Na+: Sodiumion, K+: Potassiumion, Cl-: Chlorideion.



8) 혈액생화학적 검사  
 수컷 2,000mg/kg 투여군에서 TG가 부형제대조군에 비하여 통계학적으로 유의하게( $p<0.01$ ) 증가하였고, 222, 667 및 2,000mg/kg 투여군의 Na+가 부형제대조군에 비하여 통계적으로 유의하게( $p<0.05$ ) 감소

하였다. 암컷에서는 특이한 혈액생화학적 검사 항목의 변화는 관찰되지 않았다 (Table 9).

9) 장기중량  
 4 주간의 HMC05 투여에 의한 체중과 장기중량

**Table 10-1.** Organ Weights Changes of Male Rats after Oral administration of HMC05 for 4 Weeks.

Groups (mg/kg/day)	ABSOLUTE & RELATIVE ORGAN WEIGHTS (g)			
	G1 (0)	G2 (222)	G3 (667)	G4 (2,000)
Body weight*	304.01±19.55	304.15±4.82	317.83±16.73	312.96±13.78
Adrenall Gland-Left	0.0244±0.0007	0.0226±0.0027	0.0246±0.0013	0.0248±0.0031
% to Body weight	0.0080±0.0004	0.0074±0.0009	0.0078±0.0004	0.0079±0.0010
Adrenall Gland-right	0.0241±0.0031	0.0213±0.0020	0.0210±0.0052	0.0239±0.0035
% to Body weight	0.0079±0.0010	0.0070±0.0006	0.0067±0.0019	0.0076±0.0011
Thymus	0.4824±0.0449	0.4712±0.0397	0.5346±0.0609	0.5090±0.1003
% to Body weight	0.1592±0.0180	0.1549±0.0122	0.1680±0.0141	0.1621±0.0277
Prostate	0.3138±0.0881	0.3176±0.0659	0.3872±0.0414	0.3736±0.0677
% to Body weight	0.1035±0.0288	0.1043±0.0208	0.1218±0.0107	0.1192±0.0193
Testis-Left	1.7802±0.0936	1.8664±0.0835	1.8764±0.0494	1.8646±0.0827
% to Body weight	0.5860±0.0130	0.6140±0.0344	0.5916±0.0320	0.5968±0.0378
Testis-Right	1.8086±0.1084	1.8436±0.1246	1.8934±0.0688	1.8620±0.0811
% to Body weight	0.5957±0.0315	0.6064±0.0440	0.5965±0.0237	0.5957±0.0322
Epididymis-Left	0.4064±0.0200	0.4044±0.0387	0.4128±0.0289	0.4522±0.0263
% to Body weight	0.1338±0.0047	0.1329±0.0123	0.1299±0.0074	0.1449±0.0130
Epididymis-Right	0.4142±0.0309	0.4200±0.0447	0.4218±0.0218	0.4342±0.0135
% to Body weight	0.1363±0.0083	0.1381±0.0145	0.1328±0.0044	0.1389±0.0064
Spleen	0.7720±0.1122	0.7034±0.0503	0.7364±0.0731	0.6744±0.0420
% to Body weight	0.2533±0.0258	0.2312±0.0144	0.2316±0.0179	0.2154±0.0079 <sup>†</sup>
Kidney-Left	1.0446±0.0440	0.9868±0.0425	1.1200±0.0970	1.0740±0.0729
% to Body weight	0.3449±0.0287	0.3245±0.0146	0.3520±0.0146	0.3433±0.0208
Kidney-Right	1.0818±0.0714	1.0282±0.0364	1.1180±0.0620	1.1084±0.0924
% to Body weight	0.3567±0.0289	0.3382±0.0149	0.3520±0.0145	0.3541±0.0235
Heart	1.1042±0.0638	1.0762±0.0592	1.1900±0.0770	1.1658±0.1099
% to Body weight	0.3637±0.0195	0.3539±0.0198	0.3742±0.0066	0.3722±0.0262
Lung	1.4572±0.1014	1.3414±0.0823	1.4166±0.0979	1.5568±0.1566
% to Body weight	0.4804±0.0391	0.4411±0.0267	0.4456±0.0167	0.4971±0.0398
Liver	9.7054±0.8296	9.3272±0.5910	9.9068±0.9460	9.2778±0.5194
% to Body weight	3.1918±0.1736	3.0649±0.1503	3.1155±0.2307	2.9653±0.1256
N	5	5	5	5

\* Represents body weights right before necropsy after fasting.

†, Represents a significant difference at  $p<0.01$  level compared with the vehicle control.

의 변화를 관찰하였다. 암수 모두에서 HMC05의 용량 (222, 667, 2,000mg/kg/day)에 따른 체중의 차이는 없었다. 수컷 2,000 mg/kg 투여군에서 비장의 상대중량이 부형제대조군에 비하여 통계적으로 유의하게(p<0.01) 감소하였고, 암컷 2,000mg/kg 투여군에서 좌측 난소의 절대 및 상대중량이 부형제대조군에 비하여 통계적으로 유의하게(p<0.05) 증가하였다 (Table 10-1, 10-2).

10) 부검 소견

수컷은 부형제 대조군에서 가슴샘 발적(rubefaction)이 1례, 667mg/kg 투여군에서 간의 횡격막 유착(adhesion of diaphragm)이 1례 관찰되었다. 암컷은 부형제대조군에서 자궁의 맑은 액체 저류(clear liquid content)가 1례 관찰되었으나, 시험군에서는 아무런 증상이 관찰되지 않았다 (Table 11-1, 11-2).

**Table 10-2.** Organ Weight Changes of Female Rats after Oral Administration of HMC05 for 4 Weeks.

ABSOLUTE & RELATIVE ORGAN WEIGHTS (g)				
Groups (mg/kg/day)	G1 (0)	G2 (222)	G3 (667)	G4 (2,000)
Body Weight*	189.39±4.12	186.82±6.57	186.53±19.03	185.41±10.97
Ovary-Left	0.0393±0.0029	0.0351±0.0058	0.0385±0.0049	0.0461±0.0052 <sup>†</sup>
% to Body weight	0.0208±0.0016	0.0189±0.0034	0.0208±0.0033	0.0248±0.0015 <sup>†</sup>
Ovary-Right	0.0413±0.0094	0.0387±0.0033	0.0394±0.0042	0.0445±0.0058
% to Body weight	0.0218±0.0049	0.0207±0.0021	0.0212±0.0023	0.0240±0.0018
Adrenel Gland-Left	0.0305±0.0037	0.0295±0.0029	0.0313±0.0029	0.0307±0.0019
% to Body weight	0.0161±0.0017	0.0158±0.0017	0.0169±0.0019	0.0166±0.0013
Adrenel Gland-Right	0.0291±0.0042	0.0290±0.0021	0.0300±0.0024	0.0299±0.0035
% to Body weight	0.0153±0.0020	0.0156±0.0014	0.0162±0.0014	0.0162±0.0021
Thymus	0.3312±0.0481	0.3406±0.0443	0.3540±0.0722	0.3562±0.0228
% to Body weight	0.1746±0.0229	0.1825±0.0248	0.1885±0.0221	0.1924±0.0118
Uterus	0.4184±0.0537	0.6294±0.5246	0.4868±0.2591	0.3982±0.1195
% to Body weight	0.2207±0.0260	0.3375±0.2812	0.2610±0.1319	0.2129±0.0523
Spleen	0.5164±0.0181	0.5174±0.0682	0.5536±0.0816	0.4948±0.0684
% to Body weight	0.2727±0.0096	0.2767±0.0338	0.2970±0.0344	0.2664±0.0266
Kidney-Left	0.6512±0.0249	0.6236±0.0189	0.6390±0.0488	0.6598±0.0342
% to Body weight	0.3439±0.0144	0.3341±0.0156	0.3435±0.0171	0.3560±0.0071
Kidney-Right	0.6640±0.0324	0.6450±0.0292	0.6666±0.0516	0.6748±0.0572
% to Body weight	0.3508±0.0210	0.3456±0.0192	0.3582±0.0140	0.3641±0.0251
Heart	0.8148±0.0133	0.7978±0.0488	0.8004±0.0953	0.7978±0.0890
% to Body weight	0.4303±0.0058	0.4270±0.0193	0.4301±0.0418	0.4293±0.0234
Lung	1.0822±0.0345	1.0606±0.0588	1.0722±0.0811	1.1032±0.0635
% to Body weight	0.5717±0.0229	0.5681±0.0338	0.5780±0.0530	0.5957±0.0315
Liver	5.5218±0.2731	5.3120±0.1942	5.3486±0.8205	5.3742±0.4621
% to Body weight	2.9155±0.1273	2.8440±0.0757	2.8618±0.2707	2.8950±0.0850
N	5	5	5	5

\* Represents body weights right before necropsy, after fasting

†, Represents a significant difference at p<0.05 level compared with the vehicle control

Table 11-1. Necropsy Findings of Male Rats after Oral Administration of HMC05 for 4 Weeks.

Organs	Signs	Groups (mg/kg/day)			
		G1 (0)	G2 (222)	G3 (667)	G4 (2,000)
Thymus	Rubefaction	1 (20)*	-	-	-
Liver	Adhesion of diaphragm	-	-	1 (20)	-
	N	5	5	5	5

\*, Number of animals with the sign (%). -, No necropsy finding was found.

Table 11-2. Necropsy Findings of Female Rats after Oral Administration of HMC05 for 4 Weeks.

Organs	Signs	Groups (mg/kg/day)			
		G1 (0)	G2 (222)	G3 (667)	G4 (2,000)
Uterus	Clear liquid content	1 (20)*	-	-	-
	N	5	5	5	5

\*, Number of animals with the sign (%). -, No necropsy finding was found.

### 고 찰

HMC05는 한방치료기술연구개발사업의 지원에 의하여 고혈압과 동맥경화의 예방 및 치료 등 심혈관질환의 치료를 목표로 개발된 천연물 복합제제(특허제 10-0577674호/ 10-0787174호)로 특허 등록을 통해 HMC05로 명명하였다. HMC05는 실험을 통하여 혈관확장을 통한 항 고혈압 효능과 기전<sup>3)</sup>, apoE<sup>-/-</sup> 생쥐에서의 항 동맥경화 효능<sup>4)</sup> 및 그 기준 및 시험 방법 확립을 통하여 hesperidin, coptisine, palmatine 및 berberine의 지표성분<sup>5)</sup>이 밝혀졌다.

최근 한의약의 안전성에 대한 논란이 제기되고 있는 상황에서 한의약의 유효성을 바탕으로 한 단회 및 반복 투여에 의한 독성시험은 한의약의 안전성 확보는 물론 한약제제개발의 필수 조건이 되고 있다. 본 연구는 식품의약품안전청 고시 제2003-17호 의약품등의 안전성 유효성 심사에 관한 규정에 근거하고 HMC05의 흰쥐에서의 단회 경구투여 독성연구<sup>6)</sup>에 기초하여 4주간 반복경구투여에 의한 독성발현 유무를 확인함과 동시에 26주간 반복 경구투여 독성시험에서의 투여량을 설정하기 위하여 실시하였다. 이를 위하여 HMC05의 시험물질을 222, 667 및 2,000mg/kg을 용량군으로 군당 SD 계통의 흰쥐

10마리(암수 각 5마리)에 1일 1회, 4주간 경구투여한 후 일반증상, 체중, 사료 및 물 섭취량, 안검사, 요검사, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 장기증량 및 부검소견을 부형제 대조군과 비교하였다.

4주간의 시험기간 동안 단회경구투여 독성시험<sup>4)</sup>에서 확인된 바와 같이 사망동물이 없었고, 일반증상 및 체중변화에서 특이한 변화가 보이지 않았다. 또한 사료 및 물 섭취량, 안검사, 요검사 및 혈액학적 검사 항목에서도 특이한 변화가 관찰되지 않았다. 그러나 혈액생화학적 검사에서 수컷 2,000mg/kg 투여군의 TG 증가와 222, 667, 2,000mg/kg 군에서의 Na<sup>+</sup>의 감소가 관찰되었다. 이는 정상적 흰쥐에서도 개체간의 변이로서 나타날 수 있으며 정상 범위 내의 변화임을 감안할 때 독성학적으로 의미가 없는 것으로 판단된다<sup>11,12)</sup>. 장기증량 측정에서 수컷 2,000 mg/kg 투여군의 비장의 상대 중량이 감소하였다. 그러나 용량 상관성이 낮고, 혈액학적, 혈액생화학적 검사의 면역관련 항목에서는 특이사항이 없었기에 우발적인 변화로 판단된다. 또한, 암컷의 2,000mg/kg 투여군에서 좌측 난소의 절대 및 상대 중량의 증가가 관찰되었으나 역시 용량 상관성이 없고, 일부 개체에서만 나타난 변화를 고려하면 HMC05의 투여에 의한 변화로 보기에는 어려움이 있었다.

한편 부검소견에서 부형제를 투여한 대조군의 수컷 1례에서 가슴샘 발적이 관찰되었으나, 이는 용량의존성이 없고 마취 및 방혈 과정에서 폐나 흉선에서 나타날 수 있는 현상으로 확인되었다<sup>13,14)</sup>. 또 수컷 667mg/kg 투여군 1례에서 관찰된 간의 황격막의 유착은 용량 상관성이 없는 등 선천적 기형으로 판단되었다. 그리고 암컷의 자궁 내 맑은 액체 저류는 비슷한 주령의 암컷에서 흔히 나타나는 변화이고, HMC05가 아닌 부형제 대조군에서 관찰된 것으로 보아 성주기에 따른 변화로 판단된다.

종합적으로 HMC05의 일부 투여군에서 나타난 수컷의 비장과 암컷의 난소 중량 변화, 간의 황격막 유착 및 TG 증가와 Na<sup>+</sup>의 감소는 용량 상관성이 없이 일부 개체에서 관찰된 것으로 HMC05의 4주간 경구투여에 의한 SD 흰쥐에서의 특이적 변화는 없는 것으로 판단된다.

## 결 론

HMC05의 4주 반복경구투여에 의한 SD흰쥐의 DRF 독성시험에서 다음의 결과를 얻었다. 시험기간 동안 일반증상, 체중, 사료 및 물 섭취량, 안검사, 요검사, 혈액학적 검사에서는 특이한 증상이나 변화가 관찰되지 않았다. HMC05의 2,000mg/kg 투여군 수컷에서 TG 증가와 Na<sup>+</sup>의 감소는 정상 범위 내 혈액 생화학적 변화로 생각되며, 암컷에서는 특이한 검사 항목의 변화가 관찰되지 않았다. 한편 부검소견 상 2,000mg/kg 투여군에서 수컷의 비장, 암컷의 좌측 난소의 절대 및 상대중량 증가 및 667mg/kg 투여군에서 관찰된 수컷 1례의 간의 황격막 유착은 모두 용량상관성과 관계없이 일부 개체에서 관찰되어 독성학적으로 의미가 없는 것으로 판단되었다.

이상의 결과를 기초로 HMC05의 26주 반복경구투여 독성시험에서는 OECD guideline상 1,000mg/kg을 투여하는 고용량군을 설정하고, 공비를 3으로 하여 333mg/kg의 중간용량군, 111mg/kg의 저용량군과 멸균주사용수를 투여하는 부형제 대조군을 설정하고자 한다.

## 감사의 글

본 연구는 보건복지부 한의약연구개발사업(B080031) 및 동국대학교 학술지원사업비의 지원으로 수행되었음.

## 참고문헌

1. Lee HJ, Seong YJ, Kim SD, Moon KJ, Kim JB, Kim GW, et al. Enhanced vasorelaxation of BanhabackchulChunma-Tang and involved mechanism. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology*. 2005;19(5):1311-1316.
2. Korean intellectual property office: A curing and preventing pharmaceutical composition having an effect of anti-hypertension inducing by containing an extracts of chinese herb, Registration No. 10-0577674 (May 1, 2006)
3. Moon KJ, Jang HO, Kim GW, Shin HM. Signaling mechanism on the vascular relaxation of HMC05. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology*. 2008;22(2):315-320.
4. Kim KM, Choi JY, Yoo SE, Park MY, Lee BS, Ko YH, et al. HMC05, Herbal Extract, Inhibits NF- $\kappa$ B Expression in Lipopolysaccharide Treated Macrophages and Reduces Atherosclerotic Lesions in Cholesterol Fed Mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007;114:316-324.
5. Kim SH, Choi EJ, Lee KY, Sung SH, Shin HM. Simultaneous determination of alkaloids and flavonoids in HMC05 preparation by HPLC-DAD. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, Ethnopharmacology*. 2008 ;31:2917-2926.
6. Shin HM. Acute Oral Toxicity of HMC05 in SD Rats. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology*. 2008;22(6):1562-1565.
7. Korea Food and Drug Administration: Toxicity Test Guidelines for Safety Evaluation of Drugs,

- Notification No. 2005-60 (Oct. 21, 2005).
8. Korea Food and Drug Administration: Good Laboratory Practice Regulation For Nonclinical Laboratory Studies, Notification No. 2005-79 (Dec. 21, 2005).
  9. OECD. OECD Guidelines for the Testing of chemicals. TG 401 & 420. 2002.
  10. Hayes AW. Principles and Methods of Toxicology. 2<sup>nd</sup> Edition. New york:Raven Press. 2001:177.
  11. Song CW, Hwang HS, Han SS. Studies on the Basic data of Ktc:SD Rats with Age -Body Weight, Hematology, Serum Chemistry and Urine Analysis-. The Korean Journal of Laboratory Animal Science. 1990;6(1):33-43
  12. Kang BH, Son HY, Ha CS, Lee HS, Song SW. Reference Values of Hematology and Serum Chemistry in Ktc:Sprague-Dawely Rats. The Korean Journal of Laboratory Animal Science. 1995;11(2):141-145
  13. Greaves P. Histopathology of preclinical toxicity studies; Interpretation and relevance in drug evaluation. Elsevier. 2000
  14. Boorman GA, Eustis SL, Elwell MR, Montgomery CA, Jr WF, Mackenzie. Pathology of the Fischer Rat. Academic Press. 1990.