

## 랫드를 이용한 황기의 지상부 추출물에 대한 90일 반복경구투여 독성시험

박영철\* · 이지선\* · 김동윤\* · 손혜영\* · 이정우\* · 최유순\*\* · 김광기\*\* · 유창연\*\*\* · 정일민\*\*\*\*  
임무혁\*\*\*\*\* · 이경재\*\*\*\*\* · 최리나\*\*\*\*\* · 심훈섭\*\*\*\*\* · 임정대\*\*\*\*\*†

\*대구가톨릭대학교 GLP 센터, \*\*정선군농업기술센터, \*\*\*강원대학교 식물자원응용공학과,  
\*\*\*\*건국대학교 응용생물과학과, \*\*\*\*\*식품의약품안전처 식품정책조정과,  
\*\*\*\*\*국립산림과학원 산림생산기술연구소, \*\*\*\*\*강원대학교 생약자원개발학과

### A 90 Day Repeated Dose-Oral Toxicity Study of Extracts from *Astragalus membranaceus*-Aboveground Parts in Rats

Yeong Chul Park\*, Ji Sun Lee\*, Dong Yoon Kim\*, Hye Young Son\*, Jung Woo Lee\*, Yu Soon Cheoi\*\*,  
Kwang Ki Kim\*\*, Chang Yeon Yu\*\*\*, Ill Min Chung\*\*\*\*, Moo Hyeog Im\*\*\*\*\*, Kyung Jae Lee\*\*\*\*\*,  
Ri Na Choi\*\*\*\*\*, Hoon Seob Shim\*\*\*\*\* and Jung Dae Lim\*\*\*\*\*†

\*GLP Center, Catholic University of Daegu, Keongsan 712-702, Korea.

\*\*Jeongseon Agricultural Extension Center, Jeongseon 233-852, Korea.

\*\*\*Department of Applied Plant Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.

\*\*\*\*Department of Applied BioScience, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea.

\*\*\*\*\*Food Policy Cordination Division, Ministry of Korea Food & Drug Safety, Cheongwon 363-951, Korea.

\*\*\*\*\*Forest Practice Research Center, Korea Forest Reserach Institute, Pocheon 487-821, Korea.

\*\*\*\*\*Department of Herbal Medicine Resource, Kangwon National University, Samcheok 245-905, Korea.

**ABSTRACT** : Pharmacological studies and clinical practices have indicated that Radix Astragali, a dried root of *Astragalus membranaceus* possesses a lot of biological activities, including antioxidant, hepatoprotective, anti-diabetic, tonic, diuretic, antimicrobial, antiviral, and immunological activities. These biological activities approved by the modern pharmacological studies are mainly due to the constituents of *Astragalus membranaceus* including polysaccharides, saponins, flavonoids, amino acids, and trace elements. In resent, the main constituents in the root part showing a lot of biological activities has been isolated also from the aboveground parts such as leaves and sprouts in our laboratory. However, the safety evaluation for the aboveground parts of *Astragalus membranaceus* should be checked before expanding their application as one of food. In the study, a 90-day rat oral gavage study has been conducted with the extracts from *Astragalus membranaceus*-aboveground parts at doses of 1000, 3000, and 5000 mg/kg/day. The following endpoints were evaluated: clinical observations, body weight, gross and microscopic pathology, clinical chemistry, and hematology. Based on the analysis of these endpoints, it was estimated that NOEL (no observed effect level) for male rats and NOAEL (no observed adverse effect level) for female rats are 5000 mg/kg/day of the water-extracts from *Astragalus membranaceus*-aboveground parts.

**Key Words** : *Astragalus membranaceus*, Aboveground Parts, NOAEL, Toxicity

## 서 언

황기 (*Astragali Radix*)는 콩과 (Fabaceae)에 속하는 다년생 초로 주로 *Astragalus membranaceus*의 뿌리를 일컫는다. 황

기의 뿌리는 다당류, 사포닌, 플라보노이드, 아미노산과 미량 원소 등의 약리작용을 하는 다양한 성분이 함유되어 있어 면역증강을 비롯하여 심혈관 기능과 생리적 활성 증진을 위해 임상에서 응용되어 왔다 (He and Findlay, 1991; Kitagawa *et*

†Corresponding author: (Phone) +82-33-540-3323 (E-mail) ijdae@kangwon.ac.kr

Received 2013 September 6 / 1st Revised 2013 October 11/ 2nd Revised 2013 November 14 / 3rd Revised November 20 / 4th Revised 2013 November 25/ Accepted 2013 Revised November 27

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

al., 1983; Toda et al., 1999; Jeon et al., 2010). 특히 황기 뿌리에는 glucan을 비롯한 이형다당류 (heteropolysaccharide) polysaccharide와 astrogaloside I~IV의 사포닌 등이 풍부하게 존재하며 이들 다당류와 사포닌 성분의 면역조절 기능에 기인하여 근래에 약물개발 분야에서 많은 관심을 받고 있다 (Zhong et al., 2012; Kim et al., 2012).

최근 황기 속 식물인 *Astragalus vulneraria*의 지상부에서 2개의 새로운 flavonol glycoside인 isorhamnetin 3-O-β-D-apiofuranosyl-(1 → 2)-[α-L-rhamnopyranosyl-(1 → 6)]-β-D-galactopyranoside와 isorhamnetin 3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1 → 6)-β-D-galactopyranoside를 분리 보고 (Bedir et al., 2000)한 바 있으며 몽고황기 (*Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*)의 지상부로부터 2개의 새로운 cycloartane-type의 사포닌인 mongholicoside A와 mongholicoside B를 분리 보고하였다 (Yu et al., 2007). 뿐만 아니라 황기 지상부에서 formononetin과 calycosin 등의 플라보노이드, astrogaloside, 다당체 등 다양한 유용성분이 확인되었으며 (Hong, 2011), 면역 활성이 감소한 mice에서 황기 잎과 줄기에 포함되어진 플라보노이드 성분이 LAK (lymphokine activated killer) 세포의 활성을 증대시키고 T cell을 활성화 하여 면역능을 증가시킨다고 보고 (Jiao et al., 1999) 하였다. 또한 황기 지상부로부터 장관 내 peyer's patch를 경유하여 생체방어기능 및 면역증강활성을 나타내는 다당체를 분리하여 보고한 바 있다 (Lim et al., 2009). 그러므로 황기는 전통적으로 약용으로 사용되어온 지하부 뿐만 아니라 싹과 잎으로 구성되는 지상부에도 생리적 및 약리적 효능이 있을 것으로 생각된다. 그러나 이제까지 황기의 싹을 포함한 지상부는 약용으로 사용되는 황기의 지하부의 생육을 위해 재배하는 동안 가지치기를 통해 제거되어 왔으며 약재로의 생산을 위한 가공과정 중 잔유물로서 버려지고 있는 실정이다. 황기를 비롯한 근류 혹은 근경류를 사용하는 약용작물의 경우 지하부가 효과의 우수성을 가지고 있음에도 불구하고 파종 후 수확까지 최소 4~6년까지의 장기간이 소요되는 단점을 가지고 있는 반면 지상부의 경우 재배기간 동안 수시로 수확이 가능하다는 장점을 가지고 있으며 현재 대부분 폐기되고 있는 현실을 고려할 때 폐자원 이용이라고 하는 장점을 가지고 있어 이러한 지상부를 활용하고자 하는 연구가 국내외적으로 실행되고 있다 (Ministry of Agriculture and Forestry, 2002; Osman et al., 2004).

황기 지상부가 지하부 못지않은 생리 및 약리적 효능을 나타내며 활용도를 증가시키기 위한 효능 연구가 진행되고 있다 할지라도 소재에 대한 안전성자료 확보는 무엇보다도 중요하다고 할 수 있다. 특히 황기의 지상부를 식품원료로 사용하거나 식품공전이나 기능성식품공전에 등록을 위해서는 독성시험을 통한 안전성자료가 필수적이다. 따라서 본 연구에서는 황기 지상부 추출물의 안정성 평가의 일환으로 반복투여 시 나

타날 수 있는 독성의 질적, 양적인 평가를 위해 “의약품 등의 독성시험관리기준 (식품의약품안전처 고시 제2013-121호)” 과 OECD test guideline (OECD, 2008)에 준하여 90일 반복경구투여 독성시험을 실시하였으며 황기 지상부에 대한 일반 독성의 특성을 평가하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 황기 지상부 (싹 및 잎) 열수 추출물의 제조

본 실험에 사용한 황기 (*Astragalus membranaceus* Bunge)는 막협황기 (膜莢黃耆)로서 태백수집종을 선발하여 1999년 작물과학원에서 육성한 품종인 “풍성황기”이며 정선군농업기술센터에서 2년 동안 재배된 것으로부터 전초의 지상부 (싹 및 잎)를 채취하였다. 황기 지상부 열수 추출물을 제조하기 위하여 수확된 전초의 지상부 시료를 잘게 잘라 50°C의 dry oven에서 5시간 동안 건조하여 분쇄한 후 40 mesh 이하의 분말시료를 사용하였다. 분말화 된 황기 지상부 시료 1 kg에 대해 20배 부피의 증류수를 첨가하고 교반 후 처음 첨가된 증류수의 절반이 되는 양까지 가열하였다. 황기 지상부 열수 추출물을 4°C에서 30분간 7,000 rpm으로 원심 분리하여 상등액과 잔사로 분리하였으며 다시 흡입 여과한 후 여과액을 합하여 30°C조건의 rotary vacuum evaporator를 이용하여 감압 농축하였다. 농축된 황기 지상부 열수 추출물은 -70°C 조건에서 동결한 후, 동결 건조하여 시료로 사용하였다.

### 2. 실험동물 및 시험방법

실험동물의 이용은 대구가톨릭대학교 동물실험윤리위원회의 승인 하에 이루어졌다. 실험동물은 미국 Taconic사에서 생산 및 제공하고 있는 특정병원체 부재 (specific pathogen-free, SPF) Sprague-Dawley 계통의 랫드를 사용하였고 반복투여독성시험을 위해서 암·수 5주령 44마리를 대한바이오링크로부터 입수하였다. 입수 및 검수 후 7일간의 검역과 순화 과정을 거쳐 건강한 동물 암·수 각각 40마리를 선발하여 암·수 4군에 군 당 5마리를 시험에 사용하였다. 사육환경은 시험의 전체 기간 동안 온도 23 ± 3°C, 상대습도 50 ± 20%, 환기횟수 10~20회/시간, 조명 12시간 (08:00 점등 ~ 20:00 소등), 조도 150~300 Lux, 소음 60 dB 이하, 암모니아농도 20 ppm 이하로 설정되었다. 순화, 투여 및 관찰기간 중 Polysulfone 사육상자 (260W × 420L × 150H mm)에 2~3 마리씩 수용하였으며 사육상자 및 급수병은 주 1회 교환하였으며, 모든 사육 기자재는 고압증기멸균기 (121°C 20 min)로 멸균하여 사용하였다. 실험동물용 고행사료는 방사선 멸균사료 (Zeigler Bros., Inc., USA)를 자유로 섭취시켰으며 여과살균된 정제수를 자유 섭취 시켰다.

### 3. 시험군 구성 및 투여용량

순화 후 각 군의 평균체중이 균등하도록 무작위로 암수 각 2군, 군당 5마리로 군을 구성하였고 총 20마리를 시험에 사용하였다. 90일 반복 투여 독성시험에 있어서 용량설정은 4주 반복경구투여 용량범위설정 (dose-range finding, DRF) 독성시험의 결과인 암수 랫드의 NOEL (최대비영향용량) 5,000 mg/kg/day을 참고하여 결정되었다. 대조군과 더불어 투여군은 5,000 mg/kg/day (고용량군)을 최고용량으로, 3,000 (중용량군) 및 1,000 (저용량군) mg/kg/day으로 설정되었다. 황기 지상부 추출물의 투여는 임상 적용 경로인 경구로 이루어졌다.

### 4. 일반증상 및 사망률

투여 당일은 투여 후 1시간부터 6시간까지 관찰하였고, 투여 다음날부터 투여 및 관찰기간 동안 매일 2회 모든 동물에 대해 일정한 시간에 사망여부, 일반증상의 종류, 발현일 및 증상의 정도를 개별적으로 관찰하여 기록하였다.

### 5. 체중변화

투여개시 전에 체중을 측정하였고 이후에는 주 1 회, 부검 전날 및 부검일에 측정하였다. 부검일의 체중은 부검 전일에 하루 밤 절식시킨 후의 체중을 측정하였다. 사료섭취량 측정 주기는 체중측정과 시기적으로 일치하게 이루어졌다.

### 6. 요검사

투여 마지막 주에 각 군당 5마리에 대하여 요검사를 실시하였다. 동물을 대사 케이지에 수용하여 3~4 시간동안 채뇨한 신선뇨 중 약 1 ml를 취하여 요자동분석기 (CliniTek Advantus™, SIEMENS, USA) 및 요침사검사로 분석하였다. 또한 24 시간 동안 계속 채집한 요로 요총량을 측정하였다. 요분석 항목은 요당 (GLU), 빌리루빈 (BIL), 케톤체 (KET), 요비중 (SG), 잠혈 (OB), pH, 단백질 (PRO), 유로빌리노겐 (URO), 아질산염 (NIT) 및 백혈구 (LEU) 등을 검사하였다. 요침사검사는 적혈구, 백혈구, 상피세포 및 원주를 관찰하였다.

### 7. 혈액학적 검사

부검 시까지 생존한 모든 동물에 대하여 혈액학적 검사를 실시하였다. 혈액학적 검사는 랫드를 하룻밤 절식시킨 후 채혈한 혈액을 항응고제인 EDTA-2K가 들어있는 CBC bottle (Vacutainer 3 ml, BD, USA)에 주입한 후 자동혈액분석기 (ADVIA 2120, SIEMENS, USA)를 통해 이루어졌다. 분석항목은 백혈구 (WBC)의 수, 적혈구 (RBC)의 수, 혈색소량 (HGB), 적혈구백분율 (HCT), 평균적혈구용적 (MCV), 평균적혈구혈색소량 (MCH), 평균적혈구혈색소농도 (MCHC), 혈소판수 (PLT), 적혈구분포폭 (RDW), 혈색소분포폭 (HDW), 망상적혈구 (RET), 백혈구 백분비 (NEU), LYM (Lymphocyte),

MONO (Monocyte), EOS (Eosinophil) BASO (Basophil), LUC (Large unstained cells) 등이었다.

### 8. 혈액생화학적 검사

혈액생화학적 검사를 위해 혈액 일부를 clot activator가 들어있는 vacutainer tube (BD, USA)에 주입하고 15~20 분간 상온에 방치하여 응고시켰다. 이 후 3,000 rpm 으로 10 분간 원심분리 (MF80, Hanil, Korea)하여 얻은 혈청으로 혈액생화학분석기 (KONELAB 20XT, Thermo, USA)를 사용하여 측정하였다. 측정항목은 aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), blood urea nitrogen (BUN), creatinine (CRE), glucose (GLU), total cholesterol (CHO), total protein (PRO), creatine phosphokinase (CPK), albumin (ALB), total bilirubin (BIL), albumin/globulin ratio (A/G), triglyceride (TG), inorganic phosphorus (IP), Ca<sup>2+</sup> 등이었다. 또한 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> 등의 함량은 전해질 분석기 (744 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup> Analyzer, SIEMENS, USA)로 측정하였다.

### 9. 부검

부검 전날 절식한 랫드를 부검 당일에 Isofluran으로 흡입마취하여 복대동맥에서 혈액학적 검사 및 혈액생화학적 검사를 위한 채혈을 실시하였다. 이 후 복대동맥 및 복대정맥을 절단하여 방혈 치사시킨 다음, 모든 장기를 관찰하였다.

### 10. 장기중량 측정

부검 시 장기를 적출한 후 전자저울 (CP-64, Sartorius, Ger)을 이용하여 중량을 측정하였다. 양측성 장기는 양측 장기 모두를 측정하였다. 측정 장기는 난소 (ovary), 부신 (adrenal gland), 뇌하수체 (pituitary), 가슴샘 (thymus), 전립샘 (prostate), 고환 (testis), 부고환 (epididymis), 비장 (spleen), 신장 (kidney), 심장 (heart), 폐 (lung), 뇌 (brain) 및 간 (liver) 등이었다.

### 11. 병리조직학적 검사

부검을 실시한 모든 동물에 대하여 장기를 적출하여 10% 중성완충포름알린용액에 고정하였으며 또한 안구는 Davidson 용액에, 고환과 부고환은 Bouin 용액에 고정하였다. 고정 장기는 고환, 부고환, 정낭, 전립샘, 난소, 자궁, 질, 방광, 비장, 위, 췌장, 십이지장, 공장, 회장, 맹장, 결장, 직장, 장간막림프절, 부신, 신장, 간, 대퇴골, 턱밑림프절, 침샘, 흉골, 가슴샘, 심장, 폐, 대동맥, 흉척수, 혀, 기관, 식도, 갑상샘, 안구, 하더샘, 뇌, 뇌하수체, 피부 (깃샘) 등이었다. 고정된 장기 조직은 삭정, 탈수 및 파라핀 포매 등의 일반적인 조직처리과정을 거쳐 조직절편을 제작하였다. 이후 박절하여 Hematoxylin & Eosin (H & E) 염색을 실시하였다. 대조군 및 고용량군 (5,000 mg/kg/

**Table 1.** Definitions of LOAEL, NOAEL and NOEL by three steps of weight-based classification in toxicity test.

Weight-based classification	Definitions of Criteria	Definitions of Criteria (In Korean)	Criteria of toxicity	Evaluation endpoints (In Korean)
Important compound-related changes	<ul style="list-style-type: none"> <li>The lowest exposure level at which there are statistically or biologically significant increases in the frequency or severity of adverse effects between the exposed population and its appropriate control.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>모든 투여용량에서 용량-의존성을 가진 통계적 및 생물학적 유의성 있는 임상 병리적 및 조직 병리적 변화.</li> <li>용량-의존성이 없지만 대조군에서 발생하지 않고 통계적 유의성을 가진 조직병리학적 변화.</li> </ul>	Adverse effect	LOAEL (최소독성용량)
Minor compound-related changes	<ul style="list-style-type: none"> <li>The highest exposure level at which there are no statistically or biologically significant increases in the frequency or severity of adverse effects between the exposed population and its appropriate control.</li> <li>Some effects may be produced at this level, but they are not considered to be adverse or precursors to adverse effects.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>일부 용량에서 경미한 용량의존성 또는 용량-의존성이 없는 특정 투여용량에서의 임상병리학적 변화.</li> <li>시험물질의 약리작용으로 고려되는 통계적, 생물학적 유의성*을 지닌 용량의존성 또는 용량비의존성변화.</li> <li>대조군에서 발생하거나 가역성이 있는 용량-의존성 조직병리학적 변화</li> </ul>	Non-adverse effect	NOAEL (최대무독성용량)
Noncompound-related changes	<ul style="list-style-type: none"> <li>The highest exposure level at which there are no effects (adverse or non-adverse) observed in the exposed population, when compared with its appropriate control.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Historical data** 벗어나는 대조군의 결과와의 비교를 통해 얻은 통계적 유의성을 가진 변화.</li> <li>실험과정에서 실수로 발생하는 변화와 자연발생적 변화(spurious changes)를 포함</li> </ul>	No effect	NOEL (최대무영향용량)

\*생물학적 유의성: 시험계의 정상범위(Historical data)를 벗어나는 대조군과 시험군 간의 통계적 유의성.

\*\*Historical data: 시험을 통해 얻어진 대조군의 범위 (Mean ± SD).

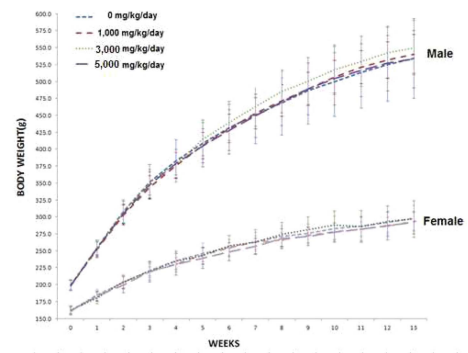
day) 모든 고정 장기 조직에 대하여 검정하였다.

### 12. 통계학적 분석

대조군과 투여군 간의 평균비교에는 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 14.0을 이용하였다. 체중, 사료섭취량, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 장기중량 등과 같은 연속적인 자료는 one-way ANOVA test로 평균치에 대한 유의성을 검정하였다. 유의성이 있으면 Levene test로 등분산성을 검정하여 등분산일 경우에는 Duncan multiple range test, 이분산일 경우에는 Dunnett's T-test를 이용하였다. 요검사 결과와 같이 불연속인 자료의 분석 척도변환을 통해 중증도 (severity)로 나타내어 통계분석이 이루어졌다.

### 13. 독성판정기준

황기 지상부 열수 추출물의 반복투여독성시험을 통해 얻어진 변화 또는 독성은 독성의 정도와 양상에 따라 weight-based classification (독성 강도에 따른 분류)로 이루어졌다. Weight-based Classification은 이전 연구 (Park and Cho, 2011; Lewis et al., 2002)를 참고하여 시험물질 유래 중요한 변화



**Fig. 1.** Body weight changes in SD rats administrated orally with the hot water extracts of *Astragalus membranaceus* aboveground parts for 90 days. The data shown represent mean ± S.D. (n = 3).

(Important compound-related changes), 시험물질 유래 경미한 변화 (Minor compound-related changes) 및 비시험물질 유래 변화(Noncompound-related changes)의 3단계로 이루어졌다.

Weight-based classification의 3단계는 본 시험의 목적인 NOEL (No Observed Effect Level, 최대무영향용량), NOAEL (No Observed Adverse Effect Level, 최대무독성용량) 및 LOAEL (Lowest Observed Adverse Effect Level, 최소독성용량) 등의 독성지표를 얻기 위해 이들 각각의 정의에 따라 시험물질-유래 중요한 변화는 adverse effect로 분류되

있고 시험물질-유래 경미한 변화는 시험물질에 의한 non-adverse effect로 분류되었다. 일반적으로 NOAEL은 시험물질에 의해 심각한 독성 (adverse effect)을 유발하지 않는 최대독성영향이지만 경미한 영향인 non-adverse effect를 나타내는 최대무독성용량이며 LOAEL은 adverse effect를 유발하는 최소독성용량을 의미한다 (Lewis *et al.*, 2002; USFDA, 2005). NOEL은 시험물질에 의한 경미한 변화도 없는 최대무영향용량을 의미한다. 이러한 독성지표의 정의에 따라 Weight-based Classification에 의한 독성지표를 Table 1과 같이 도출하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 일반증상 및 사망동물

황기 지상부 추출물 투여에 의해 실험기간 중 대조군을 포

함한 모든 시험군에서 사망동물은 없었으며 투여 기간 중 일반증상의 관찰에서 어떠한 이상 소견은 없었다.

### 2. 체중 변화

황기 지상부 추출물 투여에 의한 90일간 암수 랫드의 체중 변화를 검정하여 본 결과 암수 시험물질 투여군에서 대조군과 비교하여 유의성 있는 체중변화는 없었다. 또한 결과를 제시하는 하지 않았지만 증체중 (weight gain) 및 사료섭취량에서도 투여군에서 대조군과 비교하여 암수 모두에서 유의한 변화는 없었다 (Fig. 1).

### 3. 장기중량

Table 2와 Table 3은 황기 지상부 추출물을 투여한 암컷과 수컷 랫드의 장기 절대중량 (absolute weight) 및 상대

**Table 2.** Absolute and relative weight of organ in SD female rats administrated orally with the hot water extract of *Astragalus membranaceus* aboveground parts for 90 days.

Organs	Unit	Groups (mg/kg/day)			
		0	1,000	3,000	5,000
Adrenal (L)	Weight (g) <sup>†</sup>	0.041 ± 0.0054	0.042 ± 0.0060	0.043 ± 0.0067	0.042 ± 0.0084***
	Ratio (%) <sup>‡</sup>	0.014 ± 0.0022	0.015 ± 0.0022	0.015 ± 0.0019	0.015 ± 0.0027
Adrenal (R)	Weight (g)	0.037 ± 0.0043	0.044 ± 0.0066	0.041 ± 0.0081	0.041 ± 0.0053
	Ratio (%)	0.013 ± 0.0020	0.016 ± 0.0024*	0.015 ± 0.0025	0.015 ± 0.0017
Pituitary	Weight (g)	0.021 ± 0.0041	0.022 ± 0.0017	0.022 ± 0.0028	0.019 ± 0.0023
	Ratio (%)	0.007 ± 0.0014	0.008 ± 0.0007	0.008 ± 0.0009	0.007 ± 0.0010
Ovary (L)	Weight (g)	0.079 ± 0.0131	0.066 ± 0.0142	0.083 ± 0.0106	0.074 ± 0.0109
	Ratio (%)	0.028 ± 0.0054	0.024 ± 0.0054	0.030 ± 0.0024	0.027 ± 0.0038
Ovary (R)	Weight (g)	0.078 ± 0.0094	0.071 ± 0.0190	0.082 ± 0.0181	0.079 ± 0.0133
	Ratio (%)	0.028 ± 0.0039	0.026 ± 0.0062	0.029 ± 0.0056	0.029 ± 0.0043
Thymus	Weight (g)	0.381 ± 0.0738	0.364 ± 0.0640	0.361 ± 0.0458	0.337 ± 0.0619
	Ratio (%)	0.137 ± 0.0251	0.133 ± 0.0222	0.131 ± 0.0209	0.124 ± 0.0213
Spleen	Weight (g)	0.690 ± 0.0678	0.638 ± 0.0670	0.710 ± 0.0966	0.693 ± 0.0612
	Ratio (%)	0.248 ± 0.0221	0.233 ± 0.0198	0.257 ± 0.0274	0.256 ± 0.0276
Kidney (L)	Weight (g)	0.912 ± 0.0682	0.904 ± 0.0789	0.948 ± 0.0783	0.877 ± 0.0502
	Ratio (%)	0.328 ± 0.0164	0.330 ± 0.0248	0.344 ± 0.0220	0.323 ± 0.0158
Kidney (R)	Weight (g)	0.950 ± 0.0727	0.926 ± 0.0794	0.936 ± 0.0960	0.902 ± 0.0631
	Ratio (%)	0.342 ± 0.0191	0.338 ± 0.0232	0.338 ± 0.0195	0.332 ± 0.0203
Heart	Weight (g)	1.048 ± 0.0801	0.997 ± 0.0715	1.055 ± 0.0894	1.046 ± 0.0825
	Ratio (%)	0.378 ± 0.0292	0.364 ± 0.0234	0.382 ± 0.0144	0.385 ± 0.0203
Lung	Weight (g)	1.495 ± 0.1187	1.442 ± 0.1011	1.474 ± 0.1391	1.468 ± 0.0799
	Ratio (%)	0.538 ± 0.0365	0.527 ± 0.0299	0.534 ± 0.0379	0.541 ± 0.0374
Brain	Weight (g)	2.087 ± 0.0933	2.039 ± 0.0955	2.069 ± 0.0580	2.074 ± 0.1236
	Ratio (%)	0.754 ± 0.0544	0.746 ± 0.0442	0.753 ± 0.0573	0.764 ± 0.0423
Liver	Weight (g)	7.299 ± 0.7726	7.226 ± 0.5120	7.255 ± 0.7083	7.568 ± 0.4980
	Ratio (%)	2.631 ± 0.2681	2.645 ± 0.2082	2.627 ± 0.1682	2.789 ± 0.1903

\*The data shown represent means ± SD (n = 3).

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

<sup>†</sup>weight (g); unit of absolute weight of organ, <sup>‡</sup>Ratio (%); Relative ratio of organ weight against body weight.

황기 지상부 추출물에 대한 90일 반복투여 독성시험

**Table 3.** Absolute and relative weight of organ in SD male rats administrated orally with the hot water extract of *Astragalus membranaceus* aboveground parts for 90 days.

Organs	Unit	Groups (mg/kg/day)			
		0	1,000	3,000	5,000
Adrenal (L)	Weight (g) <sup>†</sup>	0.028 ± 0.0044	0.029 ± 0.0024	0.028 ± 0.0045	0.030 ± 0.0047*
	Ratio (%) <sup>‡</sup>	0.005 ± 0.0010	0.005 ± 0.0004	0.005 ± 0.0009	0.006 ± 0.0010
Adrenal (R)	Weight (g)	0.030 ± 0.0042	0.030 ± 0.0046	0.031 ± 0.0046	0.028 ± 0.0038
	Ratio (%)	0.006 ± 0.0012	0.005 ± 0.0008	0.006 ± 0.0008	0.005 ± 0.0008
Pituitary	Weight (g)	0.030 ± 0.0042	0.017 ± 0.0021	0.016 ± 0.0021	0.017 ± 0.0032
	Ratio (%)	0.003 ± 0.0003	0.003 ± 0.0003	0.003 ± 0.0004	0.003 ± 0.0007
Testis (L)	Weight (g)	1.745 ± 0.2618	1.761 ± 0.0857	1.843 ± 0.1003	1.874 ± 0.1648
	Ratio (%)	0.347 ± 0.0633	0.343 ± 0.0185	0.355 ± 0.0292	0.372 ± 0.0305
Testis (R)	Weight (g)	1.779 ± 0.2791	1.774 ± 0.1162	1.847 ± 0.1525	1.803 ± 0.2306
	Ratio (%)	0.354 ± 0.0664	0.346 ± 0.0210	0.355 ± 0.0319	0.357 ± 0.0426
Epididymis(L)	Weight (g)	0.678 ± 0.0841	0.714 ± 0.0546	0.712 ± 0.0335	0.729 ± 0.0635
	Ratio (%)	0.135 ± 0.0262	0.139 ± 0.0096	0.137 ± 0.0122	0.145 ± 0.0145
Epididymis(R)	Weight (g)	0.682 ± 0.0832	0.717 ± 0.0702	0.703 ± 0.0343	0.696 ± 0.0718
	Ratio (%)	0.136 ± 0.0249	0.139 ± 0.0126	0.135 ± 0.0126	0.138 ± 0.0177
Thymus	Weight (g)	0.541 ± 0.1194	0.507 ± 0.1011	0.529 ± 0.1099	0.506 ± 0.0772
	Ratio (%)	0.106 ± 0.0225	0.099 ± 0.0211	0.101 ± 0.0193	0.100 ± 0.0124
Prostate	Weight (g)	0.720 ± 0.1630	0.732 ± 0.1064	0.774 ± 0.1994	0.659 ± 0.1264
	Ratio(%)	0.145 ± 0.0402	0.142 ± 0.0207	0.148 ± 0.0355	0.132 ± 0.0335
spleen	Weight (g)	1.058 ± 0.1177	1.023 ± 0.1173	1.042 ± 0.1075	1.005 ± 0.1428
	Ratio (%)	0.209 ± 0.0126	0.199 ± 0.0226	0.200 ± 0.0229	0.198 ± 0.0203
Kidney (L)	Weight (g)	1.551 ± 0.1727	1.570 ± 0.1205	1.594 ± 0.1464	1.534 ± 0.0937
	Ratio (%)	0.306 ± 0.0217	0.306 ± 0.0212	0.306 ± 0.0189	0.305 ± 0.0207
Kidney (R)	Weight (g)	1.575 ± 0.1650	1.574 ± 0.0920	1.597 ± 0.1382	1.541 ± 0.1160
	Ratio (%)	0.311 ± 0.0198	0.307 ± 0.0141	0.306 ± 0.0214	0.306 ± 0.0219
Heart	Weight (g)	1.615 ± 0.1435	1.582 ± 0.1347	1.655 ± 0.1592	1.564 ± 0.1286
	Ratio (%)	0.319 ± 0.0205	0.307 ± 0.0157	0.317 ± 0.0165	0.310 ± 0.0157
Lung	Weight (g)	2.002 ± 0.1969	2.002 ± 0.1598	2.011 ± 0.1089	1.971 ± 0.1966
	Ratio (%)	0.395 ± 0.0239	0.390 ± 0.0313	0.388 ± 0.0417	0.392 ± 0.0430
Brain	Weight (g)	2.241 ± 0.0524	2.265 ± 0.0711	2.261 ± 0.1154	2.258 ± 0.0985
	Ratio (%)	0.446 ± 0.0458	0.442 ± 0.0202	0.434 ± 0.0247	0.449 ± 0.0309
Liver	Weight (g)	14.010 ± 1.8042	13.997 ± 1.2413	14.380 ± 1.6951	13.805 ± 1.2872
	Ratio (%)	2.761 ± 0.1523	2.723 ± 0.1431	2.751 ± 0.1597	2.737 ± 0.1675

<sup>†</sup>weight (g); unit of absolute weight of organ, <sup>‡</sup>Ratio (%); Relative ratio of rgan weight against body weight.

\*The data shown represent means ± SD (n = 3).

**Table 4.** Urinalysis in SD rats administrated orally with the hot water extract of *Astragalus membranaceus* aboveground parts for 90 days.

Items	Values	Severity	Groups (mg/kg/day)								
			Male				Female				
			0	1000	3000	5000	0	1000	3000	5000	
GLU	-	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5
BIL	-	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5
KET	-	0	5	4	3	3	5	5	4	5	5
	+/-	1		1	2				1		
	1+	2									

Table 4. (continued).

Items	Values	Severity	Groups (mg/kg/day)							
			Male				Female			
			0	1000	3000	5000	0	1000	3000	5000
SG	≤ 1.005	0					1	1		
	1.010	1	5	2	1	2	4	3	1	2
	1.015	2		2	3	2		1	4	1
	1.020	3		1		1				1
	1.025	4			1					1
pH	≤ 7.0	1						2		
	7.5	2	4	1		1	4	1		
	8.0	3	1	2	2	1	1	2	1	3
	8.5	4		2	3	3			4	2
PRO	-	0	2		1		4	4	2	1
	+/-	1	3	2	2	2	1	1	2	2
	1 +	2		3	1	2			1	
	2 +	3			1	1				2
URO <sup>†</sup>	0.2	0	5	5	5	5	5	5	5	5
NIT	-	0	5	5	5	5	5	5	5	5
OB	-	0	1	1		4	5	5	5	5
	+/-	1	1	3	4					
	1 +	2	3	1		1				
	2 +	3								
	3 +	4			1					
LEU	-	0	1				3	4	2	
	+/-	1	4	3	4	3	2	1	2	3
	1 +	2		1		1			1	
	2 +	3		1	1	1				2

<sup>†</sup>The unit of Urobilinogen is Ehrlich unit/dl. GLU; Glucose, BIL; Bilirubin, KET; Ketone body, SG; Specific gravity, PRO; Protein, URO; Urobilinogen, NIT; Nitrite, OB; Occult blood, LEU; Leukocyte.

중량 (relative weight)을 각각 나타낸 것이다. 암수 투여군의 절대중량 및 상대중량에서 대조군과 비교하여 유의한 차이가 없었으나 암컷의 우측부신 절대중량이 저용량군에서 통계적으로 유의하게 ( $p < 0.05$ ) 증가하였다. 그러나 이러한 유의한 차이는 용량의존성이 없어 비시험물질 유래 변화로 판단된다.

#### 4. 요검사

Table 4는 황기 지상부 추출물을 투여한 암수 랫드에 대한 요검사 결과를 나타낸 것이다. 수컷 요검사 결과에서 SG 및 pH 증중도가 중용량군에서 통계적으로 유의하게 증가하였지만 ( $p < 0.05$ ) 용량의존성이 없었으며 정상범위 (historical data)내에서 변화하여 비시험물질 유래 변화로 판단된다. PRO 증중도 수치는 저용량군 및 고용량군에서 대조군과 비교하여 통계적으로 유의하게 증가하였지만 ( $p < 0.05$ ) 정상범위 (historical data) 내의 변화로 추정되어 생물학적 유의성 (biological significance)이 없는 비시험물질 유래 변화로 판단된다. 암컷의 결과에서 SG 증중도 수치가 중용량군에서 통계

적으로 유의하게 증가하였지만 ( $p < 0.05$ ), 정상범위 내 변화로 생물학적 유의성이 없는 비시험물질 유래 변화로 판단된다. 마찬가지로 pH 증중도가 중용량군 및 고용량군에서 통계적으로 유의하게 증가하였지만 ( $p < 0.05$ ), 용량의존성이 없으며 정상범위 내의 변화로 추정되어 생물학적 유의성이 없는 비시험물질 유래 변화로 판단된다.

#### 5. 혈액학적 검사

Table 5와 Table 6은 황기 지상부 추출물을 투여한 수컷 및 암컷 랫드에 대한 혈액학적 검사를 나타낸 것이다. 수컷의 모든 용량군의 측정지표에서 대조군과 비교하여 유의한 차이가 없었지만 암컷 저용량군 (G1)에서 HGB ( $14.26 \pm 0.40$  g/dl), HCT ( $43.09 \pm 1.10\%$ )의 수치가 대조군과 비교하여 통계적으로 유의하게 감소하였다 ( $p < 0.05$ ). 그러나 이러한 유의한 차이는 용량의존성이 없고 또한 정상범위 내 변화 (HGB =  $14.59 \pm 0.65$  g/dl, HCT =  $42.60 \pm 3.26\%$ )로 추정되어 생물학적 유의성이 없는 비시험물질 유래 변화로 판단된다.

황기 지상부 추출물에 대한 90일 반복투여 독성시험

**Table 5.** Hematological values in SD rats administrated orally with the hot water extract of *Astragalus membranaceus* aboveground parts for 90 days.

TESTS**	UNITS	Male groups (mg/kg/day)				Female groups (mg/kg/day)			
		0	1000	3000	5000	0	1000	3000	5000
RBC	10 <sup>6</sup> /μl	8.8 ± 0.24	8.8 ± 0.299	8.8 ± 0.19	8.8 ± 0.31	7.9 ± 0.29	7.7 ± 0.22	7.8 ± 0.19	7.9 ± 0.23*
HGB	g/dl	15.4 ± 0.50	15.3 ± 0.450	15.3 ± 0.37	15.1 ± 0.52	14.7 ± 0.50	14.2 ± 0.40*	14.5 ± 0.36	14.5 ± 0.54
HCT	%	47.6 ± 1.22	47.3 ± 1.847	47.4 ± 1.19	46.9 ± 1.75	44.2 ± 1.06	43.0 ± 1.10*	43.6 ± 0.85	44.0 ± 1.11
MCV	fL	54.0 ± 1.34	53.4 ± 0.711	53.7 ± 1.78	53.2 ± 0.99	55.7 ± 1.18	55.4 ± 1.35	55.4 ± 1.31	55.7 ± 1.18
MCH	pg	17.5 ± 0.63	17.3 ± 0.486	17.4 ± 0.49	17.1 ± 0.31	18.6 ± 0.40	18.3 ± 0.43	18.4 ± 0.45	18.4 ± 0.46
MCHC	g/dl	32.4 ± 0.69	32.4 ± 0.970	32.3 ± 0.77	32.2 ± 0.49	33.3 ± 0.55	33.1 ± 0.52	33.3 ± 0.82	33.0 ± 0.76
RDW	%	12.1 ± 0.32	12.2 ± 0.393	12.2 ± 0.43	12.1 ± 0.53	10.8 ± 0.43	10.9 ± 0.46	10.8 ± 0.29	10.8 ± 0.42
HDW	g/dl	2.5 ± 0.08	2.5 ± 0.134	2.6 ± 0.16	2.5 ± 0.16	2.4 ± 0.11	2.4 ± 0.14	2.4 ± 0.14	2.4 ± 0.14
PLT	10 <sup>3</sup> /μl	924 ± 112	978 ± 68.453	1001 ± 113	1018 ± 127	968 ± 130	1064 ± 94	1043 ± 143	1058 ± 287
MPV	fL	8.5 ± 0.53	8.4 ± 0.412	8.6 ± 0.46	8.6 ± 0.46	8.4 ± 0.41	8.5 ± 0.60	8.5 ± 0.39	8.8 ± 0.68
RET	%	1.5 ± 0.24	1.4 ± 0.168	1.4 ± 0.19	1.4 ± 0.25	1.5 ± 0.32	1.8 ± 0.39	1.7 ± 0.37	1.6 ± 0.42

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

\*\*RBC; 적혈구, HGB; 혈색소량, HCT; 적혈구백분율, MCV; 평균적혈구용적, MCH; 평균적혈구혈색소량, MCHC; 평균적혈구혈색소농도, PLT; 혈소판수, RDW; 적혈구분포폭, HDW; 혈색소분포폭, RET; 망상적혈구.

**Table 6.** Change of white blood cell number in SD rats administrated orally with the hot water extract of *Astragalus membranaceus* aboveground parts for 90 days.

TESTS* UNITS	Male groups (mg/kg/day)				Female groups (mg/kg/day)				
	0	1000	3000	5000	0	1000	3000	5000	
WBC	10 <sup>3</sup> /μl	3.3 ± 0.76	3.7 ± 1.154	3.2 ± 0.89	3.0 ± 0.69	1.4 ± 0.51	1.0 ± 0.34	1.3 ± 0.40	1.2 ± 0.44
NEU	%	17.0 ± 8.24	18.2 ± 5.825	19.6 ± 7.62	18.4 ± 4.48	16.6 ± 6.05	17.2 ± 6.26	17.9 ± 7.64	25.7 ± 21.88
	10 <sup>3</sup> /μl	0.51 ± 0.35	0.69 ± 0.340	0.61 ± 0.28	0.55 ± 0.170	0.2 ± 0.09	0.1 ± 0.05	0.2 ± 0.07	0.2 ± 0.14
LYM	%	78.0 ± 8.51	76.5 ± 6.074	74.3 ± 8.36	75.8 ± 4.55	76.8 ± 6.10	76.1 ± 7.18	75.7 ± 8.82	67.1 ± 23.50
	10 <sup>3</sup> /μl	2.5 ± 0.56	2.8 ± 0.87	2.3 ± 0.77	2.3 ± 0.55	1.1 ± 0.43	0.8 ± 0.33	1.0 ± 0.39	0.8 ± 0.45
MONO	%	2.5 ± 0.74	2.4 ± 0.704	3.1 ± 1.11	2.8 ± 0.66	2.4 ± 0.83	2.4 ± 0.53	2.7 ± 0.95	3.6 ± 2.79
	10 <sup>3</sup> /μl	0.08 ± 0.038	0.10 ± 0.045	0.10 ± 0.057	0.09 ± 0.033	0.04 ± 0.018	0.03 ± 0.010	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.019
EOS	%	1.9 ± 0.52	2.2 ± 0.914	2.2 ± 0.52	2.3 ± 0.58	3.5 ± 1.36	3.4 ± 0.85	2.9 ± 1.01	2.9 ± 1.48
	10 <sup>3</sup> /μl	0.06 ± 0.015	0.08 ± 0.043	0.07 ± 0.028	0.07 ± 0.015	0.05 ± 0.018	0.04 ± 0.005	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.018
BASO	%	0.10 ± 0.082	0.15 ± 0.053	0.07 ± 0.067	0.13 ± 0.082	0.17 ± 0.183	0.11 ± 0.120	0.17 ± 0.09	0.12 ± 0.092
	10 <sup>3</sup> /μl	0.00 ± 0.004	0.01 ± 0.005	0.00 ± 0.003	0.00 ± 0.004	0.00 ± 0.003	0.00 ± 0.000	0.00 ± 0.000	0.00 ± 0.000
LUC	%	0.40 ± 0.200	0.37 ± 0.258	0.65 ± 0.381	0.46 ± 0.353	0.40 ± 0.380	0.62 ± 0.297	0.46 ± 0.259	0.36 ± 0.272
	10 <sup>3</sup> /μl	0.01 ± 0.008	0.02 ± 0.016	0.02 ± 0.016	0.01 ± 0.014	0.01 ± 0.008	0.01 ± 0.005	0.01 ± 0.005	0.01 ± 0.005

\*WBC; 백혈구, NEU; 백혈구, LYM; 임파구, MONO; 단핵구, EOS; 호산성구, 호염구; BASO, LUC; Large unstained cells (염색되지 않아 자동 혈액분석기로 분류 불가능한 큰 세포).

**6. 혈액생화학적 검사**

Table 7은 황기 지상부 추출물을 투여한 수컷 및 암컷 랫드에 대한 혈액학적 검사를 각각 나타낸 것이다. 암컷의 ALP (Alkaline phosphatase) 및 CPK (Creatine phosphokinase) 수치가 고용량군에서 통계적으로 유의하게 감소하였다 ( $p < 0.05$ ). 특히 유의하지는 않지만 용량의존적 감소경향이 확인되어 ALP 및 CPK의 수치 변화는 황기 지상부 추출물에 의한 것으로 추정되어 시험물질 유래 경미한 변화로 판단된다. 또한 혈액응고 검사결과, 대조군과 비교하여 시

험물질 투여군에서 특이한 변화가 관찰되지 않았다 (자료 미제시).

**7. 부검조건**

Table 8은 황기 지상부 추출물을 투여한 암수 랫드에 대한 부검결과를 나타낸 것이다. 암수 모두에서 가슴샘의 발적 (redness), 암컷에서 자궁내 맑은 액체 저류 (retention of clear fluid)가 관찰되었다. 수컷 가슴샘의 발적은 대조군과 저용량군에서 각각 1례씩 관찰되었고, 암컷의 경우 저용량군에



**Table 7.** Blood chemistry values in SD rats administrated orally with the hot water extract of *Astragalus membranaceus* aboveground parts for 90 days.

TESTS**	UNITS	Male groups (mg/kg/day)				Female groups (mg/kg/day)			
		0	1000	3000	5000	0	1000	3000	5000
ALB	g/dl	3.3 ± 0.08	3.3 ± 0.07	3.2 ± 0.109	3.3 ± 0.07	3.4 ± 0.14	3.5 ± 0.16	3.4 ± 0.12	3.4 ± 0.14*
ALP	U/l	191.7 ± 24.46	202.2 ± 37.57	213.1 ± 26.91	196.8 ± 27.23	139.4 ± 21.75	126.6 ± 24.29	120.4 ± 15.67	115.8 ± 18.02
ALT	U/l	30.6 ± 9.02	28.0 ± 8.26	29.6 ± 6.899	27.0 ± 4.99	19.8 ± 2.263	19.9 ± 3.19	19.2 ± 2.61	19.0 ± 3.64
AST	U/l	87.3 ± 9.23	86.2 ± 14.34	88.8 ± 13.308	85.0 ± 6.79	84.9 ± 12.928	84.2 ± 16.81	83.1 ± 9.83	78.2 ± 12.48
BIL	mg/dl	0.09 ± 0.017	0.09 ± 0.010	0.09 ± 0.014	0.09 ± 0.010	0.15 ± 0.027	0.14 ± 0.018	0.13 ± 0.012	0.13 ± 0.018
BUN	mg/dl	13.5 ± 1.27	15.8 ± 1.84	14.5 ± 2.785	15.0 ± 1.89	16.7 ± 2.151	17.2 ± 3.49	17.2 ± 2.72	16.7 ± 2.14
CHO	mg/dl	62.7 ± 11.93	62.5 ± 10.23	74.2 ± 18.033	70.7 ± 8.65	86.9 ± 19.322	93.8 ± 25.21	79.7 ± 18.66	91.8 ± 18.58
CPK	U/l	262 ± 103	252 ± 112	262 ± 95.680	186 ± 75	255 ± 117	173 ± 70	138 ± 62	122 ± 62*
CRE	mg/dl	0.44 ± 0.055	0.48 ± 0.045	0.47 ± 0.039	0.46 ± 0.033	0.52 ± 0.058	0.52 ± 0.059	0.52 ± 0.090	0.52 ± 0.044
GLU	mg/dl	174 ± 32	168 ± 24	169 ± 24.700	171 ± 19	131 ± 19	131 ± 21	123 ± 11	130 ± 13
IP	mg/dl	4.2 ± 0.64	4.0 ± 0.43	4.0 ± 0.522	4.0 ± 0.46	3.3 ± 0.65	2.4 ± 0.60	3.1 ± 0.54	3.1 ± 0.68
PRO	g/dl	6.0 ± 0.21	6.1 ± 0.21	6.1 ± 0.280	6.0 ± 0.21	6.0 ± 0.36	6.2 ± 0.28	6.0 ± 0.27	6.1 ± 0.35
TG	mg/dl	88.2 ± 47.46	78.1 ± 22.12	71.3 ± 16.479	73.3 ± 15.58	34.3 ± 10.00	34.0 ± 9.08	34.2 ± 8.81	34.9 ± 7.42
A/G	ratio	1.25 ± 0.081	1.18 ± 0.052	1.15 ± 0.072	1.22 ± 0.089	1.32 ± 0.097	1.30 ± 0.085	1.29 ± 0.114	1.26 ± 0.066
Na +	mg/dl	142.4 ± 0.86	142.6 ± 0.99	142.8 ± 0.93	143.1 ± 1.27	139.9 ± 1.30	140.5 ± 1.32	140.8 ± 1.85	140.6 ± 1.72
K +	mmol/l	4.3 ± 0.20	4.2 ± 0.11	4.2 ± 0.24	4.1 ± 0.18	3.9 ± 0.26	3.8 ± 0.19	3.7 ± 0.13	3.9 ± 0.20
Cl <sup>-</sup>	mmol/l	105.7 ± 1.35	105.7 ± 1.11	106.0 ± 1.38	104.8 ± 1.90	106.7 ± 1.49	107.6 ± 1.70	108.0 ± 1.83	107.3 ± 1.48

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

ALB; Albumin, ALP; Alkaline phosphatase, ALT; Alanine aminotransferase, AST; Aspartate aminotransferase, BIL; Total bilirubin, BUN; Blood urea nitrogen, CHO; Total cholesterol, CPK; Creatine phosphokinase, CRE; Creatinine, GLU; Glucose, IP; Inorganic phosphorus, PRO; Total protein, TG; Triglyceride, A/G ratio; Albumin/Globulin ratio, Na<sup>+</sup>; Sodium ion, K<sup>+</sup>; Potassium ion, Cl<sup>-</sup>; Chloride ion.

**Table 8.** Autopsy findings in SD rats administrated orally with the hot water extract of *Astragalus membranaceus* aboveground parts for 90 days.

Organs	Observed signs	Male groups (mg/kg/day)				Female groups (mg/kg/day)			
		0	1000	3000	5000	0	1000	3000	5000
Thymus	Redness	1	1	0	0	0	1	0	0
Uterus	Retention of clear fluid					1	5	5	2

서 1레씩 관찰되었다. 이는 마취 시 흔히 나타날 수 있는 소견이며 낮은 발생 빈도로 관찰되어 비시험물질-유래 변화로 판단되었다. 암컷의 자궁내 맑은 액체 저류 (retention of clear fluid)는 대조군, 저용량, 중용량 및 고용량군에서 각각 1레, 5레, 5레 및 1레가 관찰되었다. 이는 용량의존성이 없고 암컷의

성주기에 따라 나타날 수 있는 소견으로 비시험물질 유래 변화로 판단되었다.

**Table 9.** Histological examination of organ in SD rats administrated orally with the hot water extract of *Astragalus membranaceus* aboveground parts for 90 days.

Organs	Observed signs	Male groups (mg/kg/day)		Female groups (mg/kg/day)	
		0	5000	0	5000
Kidney	Regeneration <sup>†</sup>	2/10 <sup>z</sup>	2/10		
	Mineralization <sup>‡</sup>			9/10	3/10
	Protein cast			4/10	1/10
Liver	Focal necrosis <sup>§</sup>	1/10	1/10		
	Vacuolization <sup>¶</sup>	1/10	1/10		1/10
Testis	Degeneration <sup>£</sup>	1/10	1/10		
Epididymis	Absence of spermatozoa <sup>*</sup>	1/10			
Lung	Osseous metaplasia	2/10	1/10		
Heart	Focal myocarditis	2/10	3/10		
Skin	Focal hyperplasia <sup>††</sup>				1/10

<sup>†</sup>Regeneration; Regeneration of the tubules, <sup>‡</sup>Mineralization; mineralization with the renal tubules of corticomedullary junction, <sup>§</sup>Focal necrosis; microgranuloma in the liver, <sup>¶</sup>Vacuolization; vacuolization of hepatocytes, <sup>£</sup>Degeneration; Degeneration and atrophy of the germinal epithelium with seminiferous tubules lined by Sertoli cells, <sup>\*</sup>Absence of spermatozoa; Absence of spermatozoa of spermatozoa in epididymal duct, <sup>††</sup>Focal hyperplasia; Focal hyperplasia of epidermis. <sup>z</sup>N/N; number of histopathological finding rats/total number of tested rats

**8. 조직병리학적 검사**

Table 9는 황기 지상부 추출물을 투여한 암수 랫드에 대한 조직병리학적 검사 결과를 나타낸 것이다. 신장 (kidney)의 경우 수컷에서는 미약한 (minimal) 재생 (regeneration)이 고용량군에서 2레 나타났으나, 대조군에서도 2레가 같은 정도로 나타나 비시험물질 유래 변화로 판단되었다. 암컷에서는 mineralization이 고용량군 3레가 나타났으나, 대조군에서도 9레가 나타나 비시험물질 유래 변화로 판단되었다. 또한 암컷에서 중등도 (moderate)의 protein cast가 고용량군에서 1레가 나타났으나, 대조군에서도 4레가 미약하게 나타나 비시험물질 유래 변화로 판단되었다. 수컷 간 (liver)에서는 미약한 (minimal) 국소 괴사 (focal necrosis)가 고용량군에서 1레가 나타났으나 대조군에서도 1레가 같은 정도로 나타나 비시험물질 유래 변화로 판단되었다. 그리고 공포 (vacuolization) 변성이 고용량군의 수컷 1레와 암컷 1레에서 미약하게 (minimal) 나타났으나 수컷 대조군에서도 같은 정도로 나타나 비시험물질 유래 변화로 판단되었다.

고환 (testis) 및 부고환 (epididymis)의 고용량군에서 1레의 고환 내 정세관이 약하게 (slight) 위축 (atrophy)되고 정자 세포의 변성 (germ cell degeneration)이 일어나 부고환에서 spermatozoa 수가 줄었으나, 대조군 1레에서도 고환의 정세관이 중등도 (moderate)로 위축되고 부고환에서도 정자세포 및 정자수가 현저히 줄어들어 비시험물질 유래 변화로 판단되었다. 수컷 폐 (lung)의 고용량군에서 1레의 미약한 (minimal) 골화 (osseous metaplasia)가 나타났으나 대조군에서도 2레가 같은 정도로 나타나 비시험물질-유래 변화로 판단되었다. 수컷

**Table 10.** Result of Toxicity test by weight-based classification in SD rats administrated orally with the hot water extract of *Astragalus membranaceus* aboveground parts for 90 days.

Weight-based classification	Male		Female	
	Finding	Dose (mg/kg/day)	Finding	Dose (mg/kg/day)
Important compound-related changes	ND	ND	ND	ND*
Minor compound-related changes	ND	ND	Blood chemistry (ALP, CPK)	5,000
Noncompound-related changes	Urinalysis (SG, PRO, pH)	1,000, 3,000, 5,000	Urinalysis (SG, pH)	3,000, 5,000
	Autopsy findings (Redness of Tymus)	1,000	Hematological (HGB, HCT)	1,000
	Histological examination (Kidney, Liver, Testis, Epididymis, Lung, Herart)	0, 5,000	Weight of organ (Right of Adrenal)	1,000

\*ND: Not detected.

심장 (heart)의 고용량군에서 3례의 미약한 (minimal) 심근염 (myocarditis)이 나타났으나, 대조군에서도 2례가 같은 정도로 나타나 비시험물질 유래 변화로 판단되었다. 암컷 피부 (skin)의 고용량군에서 1례의 국소 피부 증식 (focal hyperplasia of epidermis)이 나타났으나 비시험물질 유래 변화로 판단되었다.

### 9. 독성판정 (Result summary and Toxicity evaluation)

Table 10은 시험에 따른 각종 지표를 독성판정기준에 따라 대조군과 차이가 있는 변화를 시험물질 유래 중요한 변화, 시험물질 유래 경미한 변화 및 비시험물질 유래 변화로 구분하였다. 시험을 통해 수컷의 경우에는 1,000, 3,000 및 5,000 mg/kg/day의 모든 투여농도에서 시험물질에 의한 변화가 관찰되지 않아 비시험물질 유래 변화가 확인되었다. 암컷의 경우에는 3,000 및 5,000 mg/kg/day의 용량에서 시험물질-유래 경미한 변화가 나타났다. 따라서 시험의 독성 판정기준에 따라 수컷의 경우 NOEL (최대무영향용량)은 5,000 mg/kg/day으로 추정되며 암컷의 경우 NOAEL (최대무독성용량)은 5,000 mg/kg/day로 추정된다.

본 시험은 황기 싹 및 잎의 지상부 추출물을 Sprague-Dawley 계통의 랫드에 90일간 반복경구투여를 하여 나타나는 독성의 특성을 파악하기 위해 실시되었다. 시험결과, 시험물질 투여 및 관찰기간 (90일)동안 사망동물은 발생하지 않았다. 또한 일반증상소견, 체중변화, 사료섭취량, 안과학적 검사, 요침사 및 혈액응고 시간검사 등 에서도 특이한 변화가 관찰되지 않았다. 요검사의 경우 수컷에서는 SG 중증도가 중용량군에서 유의하게 증가하였으며 PRO 중증도가 저용량 및 고용량군에서 유의하게 증가하였다. 또한 나머지 용량군에서도 통계적으로 유의성은 없었지만 대조군과 비교하여 다소 증가하였다. 그러나 용량의존성이 없고 정상범위 (historical data) 내 변화로 판단되며 자료로 제시는 하지 않았지만 요침사결과 이상이 없어 시험물질에 의한 독성적인 변화로 판단되지 않았다. 따라서 요검사에서 통계적 유의성은 있지만 생물학적 유의성 (biological significance)은 없는 것으로 판단된다. 혈액학적 검사 결과, 암컷의 HGB 및 HCT 수치가 저용량군에서 감소하였지만 감소된 수치가 미약하며 용량의존성이 없었고 정상범위 내 변화로 비시험물질 유래 변화로 판단하였다. 이외에 수컷의 PLT 수치가 통계적 유의성이 없는 용량의존적 증가가 관찰되었지만 정상범위 내 변화로 비시험물질 유래 변화로 판단하였다. 따라서 혈액학적 검사에서 경미한 통계적 유의성은 있지만 생물학적 유의성은 없는 것으로 판단된다. 혈액생화학적 검사결과, 암컷의 ALP 및 CPK 수치가 고용량군에서 통계적으로 유의한 감소수치를 보였다. 이는 대조군과 비교하여 용량의존적 감소이나 다른 장기들의 임상병리적 소견이나 조직병리학적 소견이 관찰되지 않아 시험물질 유래 경미한 변화로 판단되었다. 또한 ALP 및 CPK 수치는 본 시험에

서 유일하게 통계적 유의성과 생물학적 유의성으로 확인되어 암컷의 NOAEL를 결정하는데 응용되었다. 수컷의 CPK 수치에서 통계적인 유의성은 없지만 고용량군에서 감소가 나타났다. 이는 고용량군 4례에서 상대적으로 낮은 수치의 결과가 확인되었기 때문에 평균수치가 낮게 나타나는 것으로 이해되었다. 따라서 시험물질에 의한 영향으로 판단하기에는 다소 무리가 있으며 이상 수치를 보인 4례에 대한 다른 유관 검사 항목에서 이상이 나타나지 않아 비시험물질-유래 변화로 판단하였다. 암컷에서 ALP 및 CPK 수치는 단지 고용량군에서 통계적으로 유의한 감소와 용량의존성이 확인되어 본 시험의 판단기준에 따라 시험물질 유래 경미한 변화로 판단된다. 본 시험의 판정기준에서 NOEL의 설정은 비시험물질 유래 변화를 포함한 전혀 영향이 없는 최고투여농도이며 NOAEL은 시험물질에 의한 경미한 변화를 나타내는 최고투여용량이다. 따라서 수컷의 경우 NOEL은 5,000 mg/kg/day으로 추정되며, 암컷의 경우 NOAEL은 5,000 mg/kg/day로 추정된다. 따라서 본 시험을 통하여 황기 지상부 (싹 및 잎) 열수 추출물은 투여 가능 최대 용량에서도 독성이 없는 안전한 천연물이라는 것을 확인하였고 의약품이나 기능성 식품으로서의 개발 가능성을 확인하였다.

### REFERENCES

- Bedir E, Calis I, Piacente S, Pizza C and Khan IA.** (2000). A new flavonol glycoside from the aerial parts of *Astragalus vulneraria*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 48:1994-1995.
- He ZQ and Findlay JA.** (1991). Constituents of *Astragalus membranaceus*. Journal of Natural Products. 54:810-815.
- Hong SY.** (2011). Analysis of gut mucosal immune active polysaccharides and biological active compounds in aboveground parts of *Astragalus membranaceus*. Master Thesis. Kangwon National University. p.31-53.
- Jeon YH, Moon JW, Kweon HJ, Jeoung YJ, An CS, Jin HL, Hur SJ and Lim BO.** (2010). Effects of *Lycii fructus* and *Astragalus membranaceus* mixed extracts on immunomodulators and prevention of diabetic cataract and retinopathy in streptozotocin-induced diabetes rat model. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 18:15-21.
- Jiao Y, Wen J and Yu X.** (1999). Influence of flavonoid of *Astragalus membranaceus*'s stem and leaves on the function of cell mediated immunity in mice. Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi. 19:356-358.
- Kim SH, Jun YM, Lim JJ, Kim SH, Chung IM and Kim EH.** (2012). Variation of astragalosides contents in cultivated *Astragalus membranaceus*. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 20:372-380.
- Kitagawa I, Wang H, Saito M and Yoshikawa M.** (1983). Saponin and sapogenol. XXXVII: Chemical constituents of *Astragali Radix*, the root of *Astragalus membranaceus* Bunge. (4): Astragalosides VII and VIII. Chemical & Pharmaceutical Bulletin. 31:716-722.

- Lewis RW, Billington R, Debryune E, Gamer A, Lang B and Carpanini F.** (2002). Recognition of adverse and nonadverse effects in toxicity studies. *Toxicologic Pathology*. 30:66-74.
- Lim JD, Yu CY, Cheoi DS, Cheoi YS, Chung IM and Hong SY.** (2009). Polysaccharide extracted from above ground part *Astragalus membranaceus* and pharmaceutical composition comprising the same. Korea. Patent. 10-0994444.
- Ministry of Agriculture and Forestry(MAF).** (2002) Development of immuno-stimulators using extracts from the leaves of *Panax ginseng* C. A. Meyer. Ministry of Agriculture and Forestry. Sejong, Korea. p.182-197.
- Organization for Economic Co-operation and Development (OECD).** (2008). OECD Guidelines 408 for the testing of chemicals: Repeated Dose 90 day oral toxicity study in rodents. Organization for Economic Co-operation and Development. Paris, France. p.1-10.
- Osman H, Nasarudin R and Lee SL.** (2004). Extracts of cocoa (*Theobroma cacao* L.) leaves and their antioxidation potential. *Food Chemistry*. 86:41-46.
- Park YC and Cho MH.** (2011). A new way in deciding NOAEL based on the findings from GLP-toxicity test. *Toxicology Research*. 27:133-135.
- Toda S and Shirataki Y.** (1999). Inhibitory effects of Astragali radix, a crude drug in oriental medicines, on lipid peroxidation and protein oxidative modification by copper. *Journal of Ethnopharmacology*. 68:331-333.
- United States of Food and Drug Administration(USFDA).** (2005). Guidance for industry estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. *Pharmacology and Toxicology*. United States of Food and Drug Administration. Rockville, MD, USA. p.5-6.
- Yu QT, Li P, Bi ZM, Luo J and Gao XD.** (2007). Two new saponins from the aerial part of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*. *Chinese Chemical Letters*. 18:554-556.
- Zhong RZ, Yu M, Liu HW, Sun HX, Cao Y and Zhoua DW.** (2012). Effects of dietary Astragalus polysaccharide and *Astragalus membranaceus* root supplementation on growth performance, rumen fermentation, immune responses, and antioxidant status of lambs. *Animal Feed Science and Technology*. 174:60-67.