

랫드에서 향부자 추출물의 13주 반복 경구투여 독성평가

한소리*** · 한형윤** · 박희진** · 민병선*** · 정문구** · 문경식** ·

정자영**** · 노항식**** · 석지현**** · 김상겸*#

*충남대학교 약학대학, **안전성평가연구소, ***대구카톨릭 대학교 약학대학,

****식품의약품안전평가원, 독성연구과

(Received June 10, 2013; Revised July 11, 2013; Accepted July 18, 2013)

Toxicity Assessment of *Cyperi rhizoma* Aqueous Extract Orally Administered to Rats for 13 Consecutive Weeks

So-Ri Han***, Hyoung-Yun Han**, HeeJin Park**, Byung-Sun Min***, Moon-Koo Chung**,
Kyoung-Sik Moon**, Ja Young Jeong****, Hang-sik Roh****, Ji Hyeon Seok**** and Sang Kyum Kim*#

*College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

**Department of Non-Clinical Studies, Korea Institute Toxicology, Daejeon 305-343, Korea

***College of Pharmacy, Catholic University of Daegu, Gyeongsangbuk-do 712-702, Korea

****Toxicological Research Division, Toxicological Evaluation and Research Department, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Osong Health Technology Administration Complex, Chungcheongbuk-do 363-700, Korea

Abstract — Herbal medicine has been traditionally used in Asian countries for a long time. Many pharmacological effects are identified in the herbs and these herbs are believed to be safe for human. However, the safety or adverse effect of some traditional herbal medicines has not been established. We have chosen *Cyperi rhizoma* based on the Korea Herbal Pharmacopoeia and which have been widely used for an anti-inflammatory effect in Korea. The object of the study was to evaluate safety of *Cyperi rhizoma* in rats. The aqueous extract of *Cyperi rhizoma* was prepared according to the standard hot water extraction method of the Korea Pharmacopoeia. In the sub-chronic study, the aqueous extract of *Cyperi rhizoma* was orally administered once daily as 0, 125, 250, 500, 1000 and 2000 mg/kg/day to male and female F344 rats for 13 weeks. There were no treatment related abnormalities in mortality, clinical signs, food consumption, ophthalmologic examination, hematology, serum chemistry, urinalysis, gross observation, organ weight and histopathologic examination. In conclusion, The NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) for *Cyperi rhizoma* aqueous extract was determined as more than 2000 mg/kg/day in the present experimental condition.

Keywords □ toxicity, *Cyperi rhizoma*, NOAEL

전통적으로 생약재는 여러 가지 질병을 치료하거나 예방하는 목적으로 오랫동안 사용되어 왔으며, 전 세계적으로도 생약재 소비는 증가하고 있다.¹⁾ 현재 대한 약전 및 약전외생약(한약) 규격집에 수재된 생약재는 약 500종 이상으로 국내에서 다양한 생약재가 이용되고 있다. 또한 서양에서도 대체의학의 활용이 증가함에 따라 천연물 및 생약재를 이용한 연구의 필요성은 점점 증가되고 있다. 최근에 생약재 및 천연물 추출물에 대한 성분 추출 및 분석 그리고 약효 및 활성성분 연구가 활발하게 이루어지고

있다. 그러나 생약재 사용 증가와 활발한 활성연구에 비하여 현재까지 천연물의 안정성 및 독성 등의 부작용은 체계적으로 연구되지 않고 있다.²⁾ 또한 일반적으로 많은 사람들은 천연에서 유래한 생약 제제들은 합성의약품보다 더 안전하다고 믿고 있으나 과학적인 근거는 부족한 실정이다.³⁾ 그리고 천연물을 이용한 생약제제나 건강기능식품은 일반의약품보다 복용기간이 장기간이며 복용자의 대다수가 노약자인 것을 고려할 때 천연물의 부작용에 대한 평가는 매우 중요하다. 지금까지 생약재의 부작용으로는 은행나무 추출물(*Ginkgo biloba*)로 유발될 수 있는 자연 출혈, St. John's Wort의 위장관 장애 및 알레르기 반응, 마황(*Ephedra*)의 고혈압 및 불면증, 카바(*kava*)의 과도한 진정 작용 등이 보고되고 있으며,⁴⁾ 향후 과도한 용량의 천연물 복용에 의한 잠재적인

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 042-821-5930 (팩스) 042-823-6566
(E-mail) sangkim@cnu.ac.kr

위험성에 대한 연구는 한약, 천연물신약, 건강기능식품 등의 활용에 우선되어야 한다.

항부자(*Cyperi rhizoma*)는 항부자의 뿌리줄기부분을 사용하며,⁵⁾ 세포 보호, 항염작용, 항비만 효과, 해열작용 및 항혈소판작용 등이 있는 것으로 알려져 있다.⁶⁻⁸⁾ 항부자의 뿌리줄기에는 탄수화물과 휘발성 정유성분(*sesquiterpenoids*)이 다량 포함되어 있다.^{9,10)} 이들 성분들은 항부자의 주요한 약효성분으로 항염 등의 작용을 나타내는 것으로 보고되었다.^{7,11)} 국내에서 사용된 역사가 길고, 소비량이 많은 항부자 등의 생약재에 대해서 활성 성분 및 약리적 효과는 많이 연구되어 있다. 그러나 생약재의 장기간 사용에 의한 안전성 및 독성 여부에 대한 연구가 확립되어 있지 않은 실정이다. 따라서 본 연구에서는 한국에서 다량 소비되는 항부자를 대상으로 하여, 동물 모델에서 반복투여시험을 수행하여 생약재의 독성을 평가하였다. 본 연구는 식품의약품안전청 및 Organization for Economic Cooperation and Development (OECD)의 비임상시험기준(Good Laboratory Practice, GLP)을 준수하여 실시하였다.

실험방법

생약재 추출물 제조 및 지표성분 분석

항부자의 표준 생약재를 선별하기 위하여 생약관련 연구자들로 구성된 생약감별 전문위원회에서 시중에 유통되는 생약재를 대상으로 대한약전 및 생약규격집을 근거로 감별을 실시하였다. 선별된 생약재는 대구기톨릭대학교 약학대학 표본실에 보관되어 있다. 식약청 고시 2003-17, 안전성유효성심사규정(2003)에 준한 표준탕액 제조법에 따라^{5,12)} 열수 추출을 하여 표준탕액으로 제조하였다. 그 후 냉동건조하여 증류수를 가하여 적당한 농도로 조절할 수 있도록 분말상태로 만든 후, 그 상태의 항부자 추출물을 제공받아 본 연구에 사용하였다. 제공받은 항부자 추출물은 유해 및 오염물질 분석에서 잔류농약(총 benzene hexachloride 0.2 mg/kg 이하, DDT 0.1 mg/kg 이하, 알드린, 엔드린 및 디엘드린 0.01 mg/kg 이하 등), 중금속(카드뮴 1.0 mg/kg 이하, 납 5.0 mg/kg 이하, 비소 3.0 mg/kg 이하 및 수은 0.2 mg/kg 이하) 및 아플라톡신 B1(0.01 mg/kg 이하)이 모두 기준농도 이하로 검출되지 않았다. 또한 항부자 추출물은 실온과 냉장보관(약 5°C)에서 6개월간 안정한 것으로 확인되었다.⁵⁾

항부자의 정유성분 중 주요한 성분으로 α -cyperone이 알려져 있으며,⁷⁾ 본 연구에서도 α -cyperone을 지표성분으로 하여 고속액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC)를 이용하여 측정하였다. 항부자 추출물의 지표물질 α -cyperone의 함량은 0.034 ± 0.01 mg/g이었다.⁵⁾

본 연구에서는 항부자 추출물을 멸균증류수에 현탁하여 최고 농도의 조제시험물질을 만들고, 다시 그 현탁액을 순차적으로 희

석하여 중 및 저농도의 시험물질을 조제하여 사용하였다.

동물모델을 이용한 독성시험

각각 암수 70마리의 특정병원체부재(SPF) F344 랫드를 오리엔트 바이오(경기도 성남시)로부터 공급받아 독성시험에 사용하였다. 랫드는 약 6주령에 안전성시험동물동의 동물실에 입수하여 약 일주일간의 순화기간을 거친 후 건강한 동물만 본 시험에 사용하였다. 순화기간 후 암수 각각 60마리의 동물을 Path/Tox system(Version 4.2.2, Xybion Medical Systems Corporation, USA)을 이용하여 무작위로 각 군당 암수 10마리씩 6개의 군으로 지정하였다. 투여 개시시 동물의 체중은 각각 수컷 138.0~178.7 g 그리고 암컷 105.6~133.3 g이었다.

동물은 깔짚(Laboratory animal Aspen bedding, ABEDD BALTIC LTD., Latvia)을 깐 polycarbonate 케이지에 시험기간 동안 수용되었다. 멸균된 수도수 및 실험동물용 사료(PMI nutrition International, USA)가 동물에게 자유롭게 공급되었다. 실험동물실은 온도 $23 \pm 3^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 10\%$, 조명시간 12시간(08:00 점등~20:00 소등), 환기횟수 10~20회/시간 및 조도 150~300 Lux로 설정되어 유지되었다. 본 동물실험은 실험동물의 관리 및 사용에 적용할 수 있는 모든 규정을 준수하여 실시하였으며(AAALAC International 인증 획득, 1998), 한국화학연구원 부설 안전성평가연구소의 Institutional Animal Care and Use Committee(IACUC)에 의해 검토되었다. 또한 식품의약품안전청 고시 제2009-116호(2009년 08월 24일)의약품 등의 독성시험기준에 준하여 본 시험은 실시되었다.

투여 및 시험 항목

인간에게 있어 항부자 추출물의 사용경로는 경구이므로, 경구 투여로 13주간 반복 독성시험을 실시하였다. 본 연구의 측정과 관찰결과는 Path/Tox system을 이용하여 기록하였다.

본 13주간 반복경구투여 독성시험의 투여 용량은 앞서 실시한 2주간 반복경구투여 독성용량설정시험의 결과를 참조하여 설정하였다. 먼저 실시한 2주간 반복경구투여 독성용량설정시험에서, 항부자 추출물을 2000 mg/kg/day 의 용량까지 투여하였을 때, 관련된 독성소견이 관찰되지 않아 그에 따라 본 연구에서의 투여 용량은 0(부형제 대조군), 125, 250, 500, 1000 및 2000 mg/kg/day로 설정하였다.

순화기간 동안에는 1일 1회, 투여기간에는 1일 2회(투여 전 및 후) 및 부검 당일 1회씩 모든 동물의 일반증상 및 사망유무에 관하여 관찰하고 기록하였다. 체중은 동물 입수, 군 분리, 투여 당일의 투여 시작 전, 투여 기간 중에는 주 1회씩 및 부검일에 측정하였다. 사료섭취량은 투여개시 전 1회 측정하고, 투여기간 중에는 주 1회 측정하여 개체당 일일 평균 섭취량(g/rat/day)으로 산출하였다. 또한 투여개시 전 모든 동물에 대하여 외안검사를

실시하고, 투여기간에는 부검 1주일 이내에 부형제 대조군과 최고용량군의 모든 동물에 대해 산동제(Tropicamide 5 mg/ml 및 Phenylephrine HCl 5 mg/ml, Midrin-P, Santen Pharmaceutical, Japan)를 처치한 후 양안간접안저검사기(IO-H, Neitz Instrument Co., Japan 또는 Vantage Plus Digital, Keeler, England)를 이용하여 안저를 관찰하였다.

모든 동물에 대하여 부검 당일 약 16시간 동안의 요를 채취하여 요량, 요색, 비중, pH, 단백질, 케톤체, 잠혈, 당, 빌리루빈, 아질산염 및 유로빌리노젠, 요침사[원주, 상피세포, 적혈구, 백혈구] 측정 및 검사를 실시하였다. 요분석은 요 시험지(Multistix, 10 SG, Siemens) 및 요자동분석장치(CliniTek-500, Bayer)를 이용하여 실시하였다.

부검 시까지 생존한 모든 동물을 대상으로 부검 및 채혈 전 약 16시간 동안 절식을 실시하였다. 동물은 isoflurane을 이용하여 마취된 상태에서 개복하여, 후대 정맥(vena cava)에서 혈액학, 응고계 및 혈액생화학 검사를 위한 혈액을 채취하였다. 혈액학 검사를 위한 혈액 샘플은 EDTA-2K를 포함한 튜브에 채취 후, 혈구자동계측장치(ADVIA120 Hematology system, Bayer, USA)를 이용하여 백혈구수, 적혈구수, 혈색소, 헤마토크리트, 평균적혈구용적, 평균적혈구혈색소, 평균적혈구 혈색소농도, 혈소판, 백혈구 감별계수(호중구: NEU%, 림프구: LYM%, 단핵구: MON%, 호산구: EOS%, 호염구: BAS%, Large unstained cells: LUC%) 및 망상적혈구수[RET(%)]를 측정하였다. 혈액응고계 검사를 위한 혈액샘플은 3.2% sodium citrate로 처리하여 혈액응고분석기(ACL 9000, Instrumentation Laboratory, Italy)를 이용하여 프로트롬빈 시간 및 활성화 부분트롬보플라스틴 시간을 측정하였다. 그리고 혈액생화학 검사를 위한 혈액샘플은 실온에서 약 90분간 방치한 후 원심분리(1600 g, 10분)하였다. 원심분리한 샘플은 자동분석장치(TBA 200FR NEO, Toshiba Co., Japan)를 이용하여 요소질소, ALT, AST, ALP, 크레아티닌, 당, 총콜레스테롤, albumin/globulin ratio, 총단백, 알부민, 크레아티닌산화효소, 중성지방, 총 빌리루빈, 인지질(phospholipid, PL), gammaglutamyl transferase(GGT), 칼슘(calcium, Ca), 무기인(inorganic phosphorus, IP), 염소(chloride, Cl), 나트륨(sodium, Na), 칼륨(potassium, K)을 측정하였다.

채혈 후 복대동맥을 절단하여 방혈하는 방법으로 도살을 실시하고, 부검소견을 관찰하였다. 또한 부검 후 뇌, 뇌하수체, 부신, 간, 비장, 신장, 심장, 흉선, 폐, 타액선, 갑상선, 고환, 부고환, 정낭, 전립선, 자궁 및 난소의 절대 중량을 측정하고, 부검 전 절식된 체중에 대한 상대장기중량을 산출하였다. 부검 후 모든 육안적 병변, 피부, 유선(암컷), 정낭, 전립선, 방광, 부고환, 난소, 자궁(경부), 질, 비장, 췌장, 장간막임파절, 위, 십이지장, 공장, 회장, 맹장, 결장, 직장, 신장, 부신, 간, 타액선, 하악임파절, 갑상선(부갑상선), 대동맥, 흉선, 심장, 폐(기관지), 기관, 혀, 식도, 좌

골신경, 골격근, 흉골, 대퇴골(조인트, 골수), 흉척수, 하더리안선, 뇌, 뇌하수체, 안구(시신경) 및 고환을 모든 동물에서 적출하였다. 적출한 장기는 10% 중성완충포르말린액에 고정하고, 안구와 시신경은 Davidson's 고정액, 고환은 Bouin's 고정액에 고정한 후 약 48시간 이후에 70% 알코올에 옮겨 담았다. 부형제 대조군과 최고용량군의 고정된 장기는 파라핀 포매, 박절 및 hematoxylin and eosin(H&E) 염색 후 검경을 실시하였다.

통계학적 분석방법

얻어진 자료에 대한 통계분석은 다중비교검정법을 실시하였다. 검사항목에 대해 Bartlett법으로 등분산 검정을 실시하여 유의성이 인정되지 않을 경우에는 일원배치분산분석(ANOVA)을 유의수준 $\alpha=0.05$ 로 검정하였다. 검정결과 유의성이 인정된 경우에만 유의한 결과가 부형제 대조군과 투여군 사이에 차이가 있는지를 조사하기 위하여 다중비교법인 Dunnett test를 실시하였다. Bartlett법에서 유의성이 인정된 경우에는 부등분산으로서 non-parametric 통계학적 방법에 이용되는 Kruskal-Wallis(H) 검정을 유의수준 $\alpha=0.05$ 로 검정하여 유의성이 인정된 경우에만 부형제 대조군과 투여군 사이에 차이가 있는지를 조사하기 위하여 Dunn's Rank Sum test를 실시하였다. 출현율 및 백분비에 대하여는 Fisher exact test를 이용하여 군간의 유의차를 조사하였다. 검정의 위험율은 5% 및 1%로 정하였다. 이러한 분석은 당 연구소에서 사용하고 있는 GLP 독성시험용 전산프로그램인 Path/Tox System을 이용하여 실시하였다.

실험결과 및 고찰

항부자 추출물을 이용한 13주간의 시험기간 동안 시험물질 투여와 관련된 사망동물은 발생하지 않았다. 또한 시험기간 동안 일 반증상 관찰에서 시험물질 투여와 관련된 변화는 관찰되지 않았다. 탈모(loss of fur), 안지(eye discharge), 안구돌출(exophthalmos) 및 연변(soft feces)이 일부 동물에서 관찰되었으나, 일시적이거나 용량상관성이 관찰되지 않아 시험물질 투여와는 무관한 것으로 판단되었다. 시험기간 동안의 체중 변화는 Fig. 1에 나타내었으며 투여군과 대조군 사이의 유의성은 관찰되지 않았다. 또한 투여기간 동안 사료섭취량의 변화는 없었다(data not shown).

안검사에서 시험물질 투여와 관련된 이상소견은 관찰되지 않았다. 각막상피미란(corneal erosion)이 부형제군을 포함한 암수 대부분의 투여군에서 관찰되었다. 이는 깔짚을 이용한 사육환경에서 발생할 수 있는 소견이며,¹³⁾ 부형제 대조군에서도 관찰되었으므로 시험물질 투여와는 관련이 없는 것으로 사료된다.

부검 당일 약 16시간 동안 요를 채취하여 요검사를 수행하였다. 뇨검사의 지표는 요량, 요색, 비중, pH, 단백질, 케톤체, 잠혈, 당, 빌리루빈, 아질산염, 유로빌리노젠, 뇨침사를 포함하였다. 평

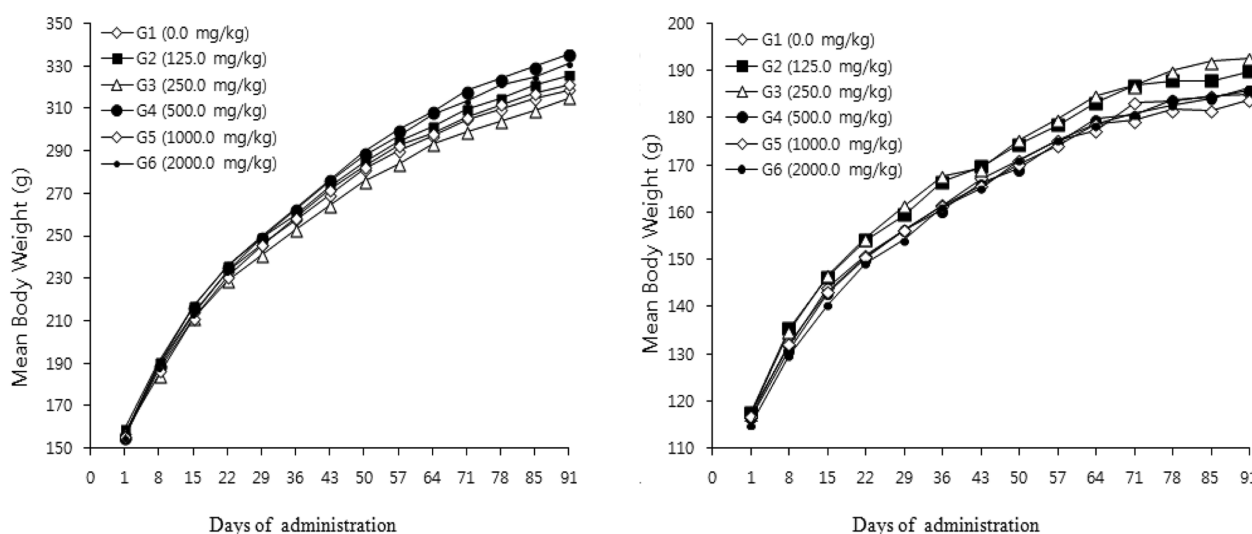


Fig. 1 – Body weight increases in male (left) and female (right) rats treated orally with *Cyperis rhizoma* aqueous extract for 13 weeks.

Table I – Hematological values of rats treated orally with *Cyperis rhizoma* aqueous extract for 13 weeks

Parameters	Vehicle control	125 mg/kg	250 mg/kg	500 mg/kg	1000 mg/kg	2000 mg/kg
Males						
WBC ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	6.58 \pm 1.51	6.58 \pm 1.56	6.73 \pm 0.83	7.12 \pm 1.58	6.78 \pm 1.11	7.16 \pm 1.28
RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	10.08 \pm 0.46	10.00 \pm 0.40	9.87 \pm 0.43	10.12 \pm 0.31	9.99 \pm 0.31	10.02 \pm 0.34
HGB (g/dl)	16.5 \pm 1.4	16.7 \pm 0.7	16.4 \pm 0.7	16.8 \pm 0.5	16.5 \pm 0.5	16.6 \pm 0.6
HCT (%)	50.7 \pm 2.5	50.3 \pm 1.8	49.6 \pm 1.8	50.8 \pm 1.3	50.0 \pm 1.3	50.2 \pm 1.8
MCV (fL)	50.3 \pm 1.2	50.3 \pm 0.9	50.3 \pm 0.8	50.2 \pm 0.8	50.1 \pm 0.6	50.1 \pm 0.8
MCH (pg)	16.4 \pm 1.0	16.6 \pm 0.2	16.6 \pm 0.2	16.6 \pm 0.1	16.5 \pm 0.2	16.6 \pm 0.2
MCHC (g/dl)	32.6 \pm 2.3	33.1 \pm 0.6	33.1 \pm 0.5	33.1 \pm 0.4	33.0 \pm 0.4	33.2 \pm 0.6
PLT ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	770 \pm 64	745 \pm 65	778 \pm 51	754 \pm 60	765 \pm 52	757 \pm 45
RET% (%)	2.2 \pm 0.2	2.2 \pm 0.2	2.2 \pm 0.2	2.2 \pm 0.3	2.1 \pm 0.1	2.2 \pm 0.2
NEU% (%)	21.4 \pm 5.9	20.1 \pm 5.4	19.0 \pm 3.1	19.5 \pm 3.8	20.7 \pm 2.8	20.4 \pm 3.5
LYM% (%)	73.2 \pm 7.2	74.2 \pm 5.6	76.0 \pm 3.6	75.4 \pm 4.1	73.9 \pm 3.3	74.1 \pm 3.9
EOS% (%)	1.3 \pm 0.5	1.2 \pm 0.3	1.1 \pm 0.4	1.1 \pm 0.3	1.1 \pm 0.4	1.3 \pm 0.4
MON% (%)	2.5 \pm 0.7	2.4 \pm 0.4	2.2 \pm 0.5	2.5 \pm 0.4	2.4 \pm 0.5	2.4 \pm 0.5
BAS% (%)	0.4 \pm 0.2	0.6 \pm 0.2	0.5 \pm 0.1	0.5 \pm 0.1	0.5 \pm 0.1	0.5 \pm 0.2
LUC% (%)	1.1 \pm 0.3	1.5 \pm 0.6	1.3 \pm 0.6	1.1 \pm 0.3	1.3 \pm 0.3	1.4 \pm 0.4
PT (sec)	15.6 \pm 0.4	15.4 \pm 0.5	15.6 \pm 0.3	16.0 \pm 0.6	16.5 \pm 0.4+	17.1 \pm 0.8+
APTT (sec)	16.4 \pm 1.8	15.8 \pm 2.0	15.8 \pm 2.0	16.5 \pm 2.0	16.5 \pm 2.0	17.7 \pm 0.9
Females						
WBC ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	5.27 \pm 1.08	5.43 \pm 1.16	5.52 \pm 1.20	5.17 \pm 1.41	5.31 \pm 0.96	5.09 \pm 0.88
RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	9.66 \pm 0.29	9.89 \pm 0.69	9.50 \pm 0.25	9.59 \pm 0.21	9.38 \pm 0.22	9.44 \pm 0.34
HGB (g/dl)	17.2 \pm 0.5	17.6 \pm 1.2	16.6 \pm 1.0	17.0 \pm 0.3	16.6 \pm 0.4*	16.8 \pm 16.8
HCT (%)	51.0 \pm 1.8	52.7 \pm 4.0	50.2 \pm 1.4	50.5 \pm 1.3	49.5 \pm 1.4	49.9 \pm 1.8
MCV (fL)	52.8 \pm 0.6	53.2 \pm 0.8	52.8 \pm 0.6	52.6 \pm 0.4	52.8 \pm 0.5	52.8 \pm 0.5
MCH (pg)	17.8 \pm 0.2	17.8 \pm 0.1	17.5 \pm 1.1	17.8 \pm 0.1	17.7 \pm 0.1	17.7 \pm 0.1
MCHC (g/dl)	33.7 \pm 0.4	33.4 \pm 0.4	33.1 \pm 2.1	33.7 \pm 0.4	33.5 \pm 0.3	33.6 \pm 0.4
PLT ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	726 \pm 71	734 \pm 69	743 \pm 39	699 \pm 122	761 \pm 28	721 \pm 64
RET% (%)	2.1 \pm 0.2	2.1 \pm 0.2	2.1 \pm 0.3	2.0 \pm 0.2	2.3 \pm 0.2	2.1 \pm 0.2
NEU% (%)	18.2 \pm 5.0	18.8 \pm 3.8	17.8 \pm 2.9	17.9 \pm 4.0	20.4 \pm 4.4	17.1 \pm 2.7
LYM% (%)	76.0 \pm 4.9	76.0 \pm 4.5	76.7 \pm 2.9	76.5 \pm 4.3	73.6 \pm 4.6	77.7 \pm 2.9
EOS% (%)	1.2 \pm 0.2	1.2 \pm 0.4	1.2 \pm 0.3	1.2 \pm 0.4	1.3 \pm 0.4	1.2 \pm 0.5
MON% (%)	2.5 \pm 0.6	2.4 \pm 0.4	2.3 \pm 0.4	2.3 \pm 0.5	2.6 \pm 0.4	2.2 \pm 0.3
BAS% (%)	0.5 \pm 0.2	0.6 \pm 0.2	0.6 \pm 0.2	0.5 \pm 0.2	0.6 \pm 0.3	0.5 \pm 0.1
LUC% (%)	1.5 \pm 0.3	1.4 \pm 0.3	1.5 \pm 0.1	1.6 \pm 0.3	1.6 \pm 0.3	1.4 \pm 0.3
PT (sec)	18.0 \pm 1.7	17.9 \pm 2.0	17.6 \pm 1.7	17.7 \pm 1.3	17.4 \pm 1.6	17.4 \pm 1.8
APTT (sec)	14.4 \pm 0.7	14.9 \pm 1.1	14.3 \pm 0.8	13.7 \pm 1.2	14.9 \pm 0.8	14.4 \pm 0.7

Each value represents the mean \pm SD for ten rats.

*Significantly different from the vehicle control at $p < 0.05$.

+Significantly different from the vehicle control at $p < 0.01$.

가결과 모든 시험항목에서 항부자 추출물에 기인한 것으로 판단되는 변화는 관찰되지 않았다(data not shown).

혈액학 검사(Table I)에서도 시험물질 투여와 관련된 변화는 관찰되지 않았다. 수컷 1000 및 2000 mg/kg/day 투여군에서 프로트롬빈 시간이 부형제 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 증가(최대 1.1배)하였다. 이러한 프로트롬빈값 변화는 관련된 조직학적 변화가 관찰되지 않고 변화의 정도가 크지 않으며, 수컷에서만 나타났으므로 독성학적 의의는 없는 것으로 판단되었다.

혈액생화학 검사(Table II)에서 부형제 대조군을 제외한 모든

투여군에서 총콜레스테롤이 증가한 경향이 나타났으며, 수컷 500 및 1000 mg/kg/day 투여군과 암컷 250, 1000 및 2000 mg/kg/day 투여군에서 통계적으로 유의하게 총콜레스테롤이 증가(각각 최대 1.14배 및 1.24배)하였다. 그러나 조직병리검사에서 이러한 변화와 연관 지을 수 있는 소견이 관찰되지 않고, 용량상관성이 뚜렷하게 관찰되지 않았다. 또한 F344 랫드를 이용한 다른 13주 독성시험^{14,15} 및 F344 랫드의 참고값(Charles River Laboratories Japan, Inc.)의 총 콜레스테롤 범위에 비춰봤을 때, 총콜레스테롤의 범위는 수컷과 암컷 각각 62.1~70.0 mg/dl 및 80.5~93.9 mg/

Table II – Serum chemistry value of rats treated orally with *Cyperi rhizoma* aqueous extract for 13 weeks

Parameters	Vehicle control	125 mg/kg	250 mg/kg	500 mg/kg	1000 mg/kg	2000 mg/kg
Males						
GLU (mg/dl)	119.8±21.5	137.7±24.0	134.2±20.9	130.7±20.2	141.9±17.6	144.3±16.5
BUN (mg/dl)	17.4±1.6	17.2±1.1	17.7±1.3	17.0±1.0	16.9±1.2	16.3±1.1
CREA (mg/dl)	0.65±0.04	0.67±0.03	0.66±0.05	0.68±0.05	0.67±0.05	0.69±0.03
TP (g/dl)	7.50±0.32	7.52±0.34	7.37±0.31	7.64±0.30	7.66±0.33	7.59±0.18
ALB (g/dl)	4.68±0.10	4.66±0.12	4.63±0.12	4.70±0.11	4.72±0.14	4.70±0.07
A/G (ratio)	1.67±0.12	1.64±0.11	1.70±0.08	1.60±0.10	1.61±0.08	1.62±0.09
TCHO (mg/dl)	58.3±2.9	61.7±7.4	63.5±5.4	65.4±6.7*	66.5±3.8+	63.1±5.3
TG (mg/dl)	54.7±18.1	65.9±29.5	57.0±13.8	65.7±18.2	73.3±27.2	72.0±26.2
PL (mg/dl)	103±6	109±14	108±8	113±10	115±8	113±9
AST (IU/l)	112.1±9.4	119.5±15.8	109.5±14.2	121.4±26.3	103.4±11.8	115.0±18.7
ALT (IU/l)	52.0±6.1	58.1±11.1	53.3±8.3	57.3±14.5	48.9±4.7	54.0±8.2
TBIL (mg/dl)	0.101±0.008	0.101±0.007	0.104±0.010	0.102±0.008	0.100±0.008	0.097±0.009
ALP (IU/l)	295.1±37.4	292.6±33.10	310.1±22.7	284.1±25.1	272.3±36.7	264.6±34.8
CK (IU/l)	633±94	625±96	544±75	651±216	596±137	602±152
Ca (mg/dl)	12.07±0.51	12.17±0.47	12.04±0.69	12.41±0.21	12.39±0.49	12.36±0.30
IP (mg/dl)	9.04±1.55	9.06±0.96	8.44±0.84	9.36±1.27	9.04±0.97	9.37±0.76
Na (mmol/l)	149±1	149±2	150±2	149±1	150±2	149±2
K (mmol/l)	6.74±1.11	6.90±0.52	6.74±0.51	7.06±0.59	6.55±0.53	6.57±0.44
Cl (mmol/l)	101±2	101±2	102±2	101±1	102±1	100±2
GGT (IU/l)	0.58±0.35	0.58±0.29	0.40±0.28	0.68±0.27	0.49±0.41	0.46±0.35
Females						
GLU (mg/dl)	78.5±15.7	93.1±20.0	100.1±89.7	89.7±9.5	90.2±15.4	92.2±20.0
BUN (mg/dl)	17.7±1.7	17.5±1.4	17.2±1.8	18.1±1.4	16.7±1.4	17.8±1.7
CREA (mg/dl)	0.62±0.04	0.65±0.04	0.65±0.04	0.64±0.03	0.63±0.04	0.62±0.04
TP (g/dl)	7.22±0.29	7.52±0.34	7.40±0.19	7.37±0.22	7.22±0.23	7.35±0.44
ALB (g/dl)	4.55±0.13	4.65±0.10	4.56±0.08	4.60±0.10	4.52±0.07	4.62±0.17
A/G (ratio)	1.71±0.08	1.63±0.13	1.61±0.07	1.66±0.10	1.69±0.09	1.70±0.11
TCHO (mg/dl)	83.7±7.4	98.9±19.0	103.4±13.2*	86.2±9.8	99.9±9.8*	100.4±19.7*
TG (mg/dl)	51.3±9.1	57.4±20.0	56.5±15.6	46.0±8.4	56.8±17.9	47.9±8.5
PL (mg/dl)	155±13	185±34*	189±17+	163±16	183±14+	185±32*
AST (IU/l)	102.3±11.1	101.3±10.4	105.1±20.2	107.0±15.1	100.0±11.5	102.1±22.8
ALT (IU/l)	40.3±7.7	38.0±2.8	41.0±9.6	41.3±8.0	39.9±7.5	40.2±10.8
TBIL (mg/dl)	0.106±0.006	0.112±0.008	0.107±0.006	0.111±0.010	0.104±0.009	0.107±0.009
ALP (IU/l)	198.9±25.6	215.3±35.9	188.3±24.7	217.2±34.4	180.6±21.4	194.5±30.2
CK (IU/l)	533±137	533±131	495±90	506±108	507±85	417±52
Ca (mg/dl)	11.98±0.53	12.45±0.80	12.34±0.47	12.11±0.48	12.43±0.34	12.48±0.57
IP (mg/dl)	9.27±1.92	9.58±2.08	9.44±1.48	8.48±1.25	9.56±0.89	9.09±1.15
Na (mmol/l)	147±3	148±1	149±1	149±1	149±1*	150±1+
K (mmol/l)	7.51±0.51	7.36±0.58	7.11±0.60	7.17±0.65	7.60±0.89	7.27±0.32
Cl (mmol/l)	102±3	103±2	102±2	105±2*	104±2	105±2*
GGT (IU/l)	1.40±0.36	1.24±0.32	1.44±0.54	1.41±0.71	1.25±0.40	1.16±0.35

Each value represents the mean±SD for ten rats.

*Significantly different from the vehicle control at $p < 0.05$.

+Significantly different from the vehicle control at $p < 0.01$.

Table III – Absolute organ weight of rats treated orally with *Cyperi rhizoma* aqueous extract for 13 weeks

Organ	Vehicle control	125 mg/kg	250 mg/kg	500 mg/kg	1000 mg/kg	2000 mg/kg
Males						
Brain (g)	1.933±0.067	1.951±0.035	1.933±0.032	1.926±0.074	1.919±0.051	1.936±0.053
Pituitary gland (g)	0.008±0.001	0.008±0.001	0.007±0.001	0.008±0.001	0.008±0.001	0.008±0.001
Liver (g)	7.477±0.716	7.953±0.692	7.476±0.546	8.176±0.678	8.219±0.518*	8.401±0.609+
Spleen (g)	0.601±0.040	0.628±0.058	0.630±0.031	0.640±0.031	0.612±0.035	0.630±0.038
Heart (g)	0.910±0.092	0.907±0.066	0.886±0.053	0.943±0.048	0.906±0.042	0.944±0.068
Thymus (g)	0.209±0.030	0.233±0.021	0.228±0.022	0.229±0.043	0.230±0.019	0.227±0.008
Salivary glands (g)	0.447±0.049	0.457±0.045	0.427±0.036	0.475±0.052	0.472±0.050	0.479±0.038
Seminal vesicle (g)	1.023±0.119	1.002±0.137	0.990±0.079	1.109±0.1288	1.122±0.134	1.156±0.115
Prostate (g)	0.278±0.054	0.237±0.038	0.233±0.050	0.223±0.040	0.238±0.047	0.246±0.036
Kidneys (g)	1.864±0.173	1.943±0.141	1.839±0.130	1.977±0.130	1.965±0.097	1.975±0.101
Adrenal glands (g)	0.044±0.007	0.044±0.005	0.041±0.004	0.044±0.005	0.045±0.006	0.047±0.004
Testes (g)	3.098±0.200	3.191±0.173	3.050±2.69	3.172±0.110	3.174±0.122	3.199±0.124
Epididymides (g)	1.020±0.062	1.062±0.073	0.964±0.078	1.051±0.047	1.044±0.053	1.044±0.030
Lung (g)	1.297±0.314	1.126±0.096	1.081±0.087	1.192±0.183	1.138±0.040	1.136±0.093
Thyroid/parathyroid (g)	0.015±0.003	0.015±0.003	0.013±0.001	0.015±0.002	0.015±0.003	0.016±0.002
Females						
Brain (g)	1.809±0.043	1.779±0.087	1.799±0.108	1.798±0.033	1.790±0.049	1.797±0.045
Pituitary gland (g)	0.011±0.002	0.010±0.001	0.011±0.002	0.010±0.002	0.010±0.001	0.011±0.002
Liver (g)	4.355±0.130	4.644±0.382	4.703±0.261	4.520±0.382	4.516±0.297	4.614±0.331
Spleen (g)	0.413±0.024	0.410±0.033	0.419±0.025	0.411±0.024	0.431±0.024	0.438±0.040
Heart (g)	0.610±0.054	0.623±0.059	0.628±0.049	0.634±0.042	0.614±0.057	0.609±0.036
Thymus (g)	0.208±0.016	0.202±0.029	0.200±0.023	0.202±0.043	0.207±0.024	0.186±0.021
Salivary glands (g)	0.321±0.023	0.325±0.031	0.328±0.014	0.321±0.035	0.318±0.021	0.318±0.031
Kidneys (g)	1.161±0.037	1.218±0.103	1.226±0.073	1.212±0.086	1.207±0.079	1.238±0.080
Adrenal glands (g)	0.048±0.004	0.049±0.006	0.050±0.004	0.051±0.007	0.050±0.005	0.050±0.004
Ovaries (g)	0.060±0.007	0.058±0.013	0.057±0.009	0.058±0.004	0.057±0.009	0.056±0.007
Lung (g)	0.925±0.098	0.991±0.311	0.911±0.072	0.854±0.070	0.864±0.091	0.840±0.049
Thyroid/parathyroid (g)	0.012±0.002	0.012±0.003	0.011±0.001	0.013±0.003	0.011±0.002	0.013±0.004
Uterus/cervix (g)	0.422±0.043	0.611±0.283	0.513±0.194	0.511±0.133	0.512±0.176	0.487±0.140

Each value represents the mean±SD for ten rats.

*Significantly different from the vehicle control at $p < 0.05$.

+Significantly different from the vehicle control at $p < 0.01$.

d로 본 결과와 비교해봤을 때, 크게 차이가 나지 않았다. 따라서 혈액생화학 수치의 변화를 독성소견으로 판단하지 않았다.

부검소견 및 장기중량 측정(Table III)에서 시험물질과 관련된 변화가 관찰되지 않았다. 수컷 1000 및 2000 mg/kg/day 투여군에서 부형제 대조군에 비해 간의 절대(최대 1.12배) 및 상대중량(최대 1.08배)의 증가가 관찰되었다. 그러나 해당장기의 조직학적 검사에서 이와 연관된 소견이 관찰되지 않았고, 이와 관련 있는 혈액생화학 수치의 변화도 없어, 시험물질 투여와는 무관한 변화인 것으로 판단하였다. 그리고 조직병리학적 검정에서도 시험물질 투여와 관련된 변화가 관찰되지 않았다.

결 론

항부자 추출물에 대한 활성 성분, 약리작용 및 효과는 많이 알려져 있으나, 아급성 독성 및 안전성에 대한 연구 결과 및 정보는 찾아보기 어렵다. 따라서 본 연구는 항부자 추출물의 안전성을 평가하기 위하여 F344 랫드에게 13주간 항부자 추출물을 반

복투여하고 일반독성 시험을 진행하였다. 독성시험군은 총 6개의 군으로 부형제 대조군, 125, 250, 500, 1000 및 2000 mg/kg/day 투여군으로 구성하였다. 13주간 항부자 추출물을 반복 투여 후 치사율, 임상증상, 체중, 사료섭취량, 안검사, 혈액학, 혈액생화학, 뇨검사, 육안소견, 장기 중량 및 조직병리 검정을 실시하였다.

결론적으로 항부자 추출물을 F344 랫드에 0, 125, 250, 500, 1000 및 2000 mg/kg/day의 용량으로 13주간 반복 경구 투여한 결과 사망률, 일반증상, 체중측정, 사료섭취량, 안검사, 뇨검사, 혈액학검사, 혈액생화학 검사, 부검소견, 장기중량 및 조직병리학적 검사에 있어서 시험물질과 관련된 소견은 관찰되지 않았다. 따라서 본 시험에서 항부자 추출물의 무해용량(NOAEL)은 암수 각각 2000 mg/kg/day 이상으로 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 2011년도 식품의약품안전청의 연구개발비(11182KFDA557)로 수행되었으며, 이에 감사 드립니다.

참고문헌

- 1) Zhang, J., Wider, B., Shang, H., Li, X. and Ernst, E. : Quality of herbal medicines: Challenges and solutions. *Complementary Therapies in Medicine* **20**, 100 (2012).
- 2) Shaw Debbie, Ladds Graeme, Duez Pierre, Williamson Elizabeth and Chan Kelvin : Pharmacovigilance of herbal medicine. *J. Ethnopharmacol.* **140**, 513 (2012).
- 3) Christine Aschwanden : Herbs for health, but how safe are they? *Bulletin of the World Health Organization.* **79** (2001).
- 4) Melani Johns Cupp. : Herbal remedies: Adverse effects and drug interactions. *Am. Fam. Physician.* **59**, 1239 (1999).
- 5) 배윤호, 허정임,곽승준, 석지현, 이종권, 강태석, 우미희, 최재수, 민병선 : 숙단, 익모초 및 향부자의 독성평가를 위한 성분분석 및 안정성 시험. *생약학회지* **43**, 79 (2012).
- 6) Jagtap, A. G., Shirke, S.S. and Phadke, A. S. : Effect of polyherbal formulation on experimental models of inflammatory bowel disease. *J. Ethnopharmacol.* **90**, 195 (2004).
- 7) Singh, N., Pandey, B. R., Verma, P., Bhalla, M. and Gilca, M. : Phyto-pharmacotherapeutics of *Cyperus rotundus* Linn. (Motha): An overview. *Indian J. Nat. Prod. Resour* **3**, 467 (2012).
- 8) Seo, E. J., Lee, D. U., Kwak, J. H., Lee, S. M., Kim, Y. S. and Jung, Y. S. : Antiplatelet effects of *Cyperus rotundus* and its component (+)-nootkatone. *J. Ethnopharmacol.* **135**, 48 (2011).
- 9) Ohira, S., Hasegawa, T., Hayashi, K. I., Hoshino, T., Takaoka, D. and Nozaki, H. : Sesquiterpenoids from *Cyperus rotundus*. *Phytochemistry* **47**, 1577 (1998).
- 10) Raut, N. A. and Gaikwad, N. J. : Antidiabetic activity of hydro-ethanolic extract of *Cyperus rotundus* in alloxan induced diabetes in rats. *Fitoterapia* **77**, 585 (2006).
- 11) Jung, S. H., Kim, S. J., Jun, B. G., Lee, K. T., Hong, S. P., Oh, M. S., Jang, D. S. and Choi, J. H. : α -Cyperone, isolated from the rhizomes of *Cyperus rotundus*, inhibits LPS-induced COX-2expression and PGE2 production through the negative regulation of NF κ B signaling in RAW264.7 cells. *J. Ethnopharmacol.* **147**, 208 (2013).
- 12) 식품의약품안전청고시 2003-17, 안전성유효성심사규정.
- 13) Kern, T. J. : Rabbit and rodent ophthalmology. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine.* **6**, 138 (1997).
- 14) Tasaki, M., Umemura, T., Maeda, M., Ishii, Y., Okamura, T., Inoue, T., Kuroiwa, Y., Hirose, M. and Nishikawa, A. : Safety assessment of ellagic acid, a food additive, in a subchronic toxicity study using F344 rats. *Food Chem. Toxicol.* **46**, 1119 (2008).
- 15) Niho, N., Shibutani, M., Tamura, T., Toyoda, K., Uneyama, C., Takahashi, N. and Hirose, M. : Subchronic toxicity study of gallic acid by oral administration in F344 rats. *Food Chem. Toxicol.* **39**, 1063 (2001).