

원지 추출물의 랫드에서 2주 반복 경구투여 독성평가

한형윤¹ · 김수남¹ · 양영수¹ · 한수철¹ · 석지현² · 노항식² · 이종권² · 정자영² · 정연우³ · 김정아⁴ · 민병선^{3*}
¹안전성평가연구소, ²식품의약품안전처 독성연구과,
³대구가톨릭대학교 약학대학, ⁴경북대학교 약학대학 약학연구소

Toxicity Assessment of Polygalae Radix Aqueous Extract Orally Administered to Rats for 2 Consecutive Weeks

Hyoung-Yun Han¹, Soo Nam Kim¹, Young-Su Yang¹, Su-Cheol Han¹, Ji-Hyeon Seok², Hang Sik Roh², Jong-Kwon Lee², Jayoung Jeong², Yeon Woo Jeong³, Jeong Ah Kim⁴, and Byung Sun Min^{3*}

¹Korea Institute of Toxicology, Daejeon 305-343, Korea

²Toxicological Evaluation and Research Department, Korea Food & Drug Administration, Chungbuk 363-951, Korea

³College of Pharmacy, Drug Research and Development Center Catholic University of Daegu, Gyeongsan, Gyeongbuk 712-702, Korea

⁴College of Pharmacy, Research Institute of Pharmaceutical Sciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Abstract – The objective of this study is to characterize a toxicity of Polygalae Radix (PR) in F344 rats and to find a dose levels for the 13 weeks toxicity study. PR is well known as medicinal herb in many Asian countries for treatment of expectorant, tonic, tranquilizer, antipsychotic agent and functional diet for improving memory. However, there is insufficient background information on toxicological evaluation of PR extract to support its safe use. Therefore, we conducted toxicological evaluation of this drug in compliance with OECD and KFDA guideline in this study. The extract of PR was administered orally to F344 rats at dose levels of 0, 500, 1000, 2000, 3500 and 5000 mg/kg/day for 2 weeks. Each group was composed to five male and five female rats. In the result, there were no treatment PR-related adverse changes in food consumption, hematology, clinical chemistry, urinalysis, gross finding at necropsy, organ weight examination. Four males at 5000 mg/kg/day were found dead during the treatment period. These animals showed salivation. The cause of death is still under investigation. The animals treated at 500, 1000, 2000, 3500 and 5000 mg/kg/day showed salivation and all animals at 5000 mg/kg/day exhibited lower body weight and cumulative weight gain in compared to those of control animals. Therefore, we recommend that a dose group of 3500 mg/kg/day is a highest treatment group in 13-week exposure study.

Key words – Polygalae Radix, Toxicity, Oral, Dose

천연물 및 생약재는 한국을 포함한 중국, 일본, 대만 등과 같은 동북아시아권에서 여러 가지 질병을 치료하거나 예방하는 목적으로 오래전부터 사용되어 왔다. 최근에는 세계적으로 천연물 및 생약재를 이용한 고부가 가치 식품 및 의약품 개발이 활발하게 시도되고 있으며 정부도 천연물신약 연구개발 촉진법을 통하여 이를 지원하고 있다. 미국, 독일, 프랑스, 일본 등에서는 천연물의 활성성분 및 약효를 평가하기 위하여 여러 가지 분석기법을 천연물 연구에 도입하였으며, 이러한 연구를 통해서 얻어진 결과를 바탕으로 천

연물을 이용한 다양한 식품 및 의약품이 이미 건강 보조식품으로 유통되고 있다. 하지만, 천연물 및 생약재는 여러 성분들이 복합적으로 섞여져 있어서 각 성분끼리의 상호작용에 대하여 알려져 있지 않은 경우가 많으며, 사용 증가와 활발한 활성연구에 비해 현재까지 독성 및 안전성 등의 부작용에 대해서는 체계적으로 연구되지 않고 있다. 현재 대한민국의약전 130종과 생약규격집 381종으로 총 511종의 한약재가 수재되어 관리되고 있으나 이들의 인체에 대한 안전성 연구는 매우 미흡한 실정이다.¹⁾ 원지(Polygalae Radix)는 원지(*Polygala tenuifolia*, Polygalaceae)의 뿌리로 자극성 거담약, 진해, 소염, 진정약에 사용되는 생약이며, 이들의 성분의 생리활성은 항우울작용,²⁾ 천식 억제작용,³⁾ 신경조직

*교신저자(E-mail): bsmin@cu.ac.kr
(Tel): +82-53-850-3613

보호작용,⁴⁾ 항염증작용^{5,6)} 등이 보고되어 있으며, 원지에서 분리한 acidic polysaccharide는 항암작용 등이 연구되어 있다.⁷⁾

본 연구는 원지 추출물의 2주간 반복 경구투여에 의한 독성을 확인하고 13주 반복투여 독성시험을 위한 용량설정을 조사하기 위하여 F344 랫드를 사용하였으며, 군당 암수 각각 5마리씩에 0(부형제 대조군), 500, 1000, 2000, 3500 및 5000 mg/kg/day의 투여용량으로 2주간, 1일 1회 반복 경구투여하여 생약재의 독성을 평가하였다. 본 연구는 식품의약품안전처 및 OECD(Organization for Economic Cooperation and Development)의 비임상시험기준(Good Laboratory Practice, GLP)을 준수하여 실시하였다.

재료 및 방법

원지 추출물 제조 및 지표성분 분석 - 원지의 표준 생약재를 선별하기 위하여 생약관련 연구자들로 구성된 생약감별 자문위원회(동국대학교, 이제현 교수; 경북대학교, 김정아 교수; 계명대학교, 정길생 교수; 대구가톨릭대학교, 민병선 교수)에서 시중에 유통되는 생약재를 대상으로 대한약전 및 생약규격집을 근거로 감별을 실시하였다. 선별된 생약재는 대구가톨릭대학교 약학대학 표본실에 보관되어 있다(원지, CUD-2025-1). 식약처 고시 2003-17, 안전성유효성심사규정(2003)에 준한 표준탕액 제조법에 따라 열수 추출하여 추출물을 제조하였다.⁸⁾ 추출물은 동결건조하여 분말상태로 만들어졌고, 이렇게 제조된 원지 추출물 시료를 제공받아 본 연구에 사용하였다. 제공받은 원지 추출물은 유해물질 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, 엔도살판 0.2 mg/kg 이하 등), 중금속(납 0.3 mg/kg 이하 등) 및 아플라톡신 B1(0.01 mg/kg 이하)이 모두 기준농도 이하로 검출되었다. 또한 원지 추출물의 성분들은 실온과 냉장보관(약 5°C)에서 6개월간 안정한 것으로 확인되었다.⁹⁾

원지의 정유성분 중 주요한 성분으로 triterpenoid계 saponin으로 onjisaponin A-G, tenuifolin, phenolic glycosides 및 xanthone glycoside 등이 알려져 있으며,¹⁰⁻¹²⁾ 본 연구에서는 tenuifolin을 지표성분으로 하여 HPLC(high performance liquid chromatography)를 이용하여 분석하였다. 원지 추출물의 지표물질 tenuifolin의 함량은 0.29 mg/g이었다.⁹⁾

본 연구에서는 원지 추출물을 멸균증류수에 현탁하여 최고농도의 조제시험물질을 만들고, 다시 그 현탁액을 순차적으로 희석하여 아래농도의 시험물질을 조제하여 사용하였다.

동물실험 - 오리엔트 바이오(경기도 성남시)로부터 공급받은 각각 암수 33마리의 특정병원체부재(SPF) F344 랫드를 독성시험에 사용하였다. 약 6주령의 F344 랫드를 안전

성평가연구소의 동물실에 입수하여 약 일주일간의 순화기간을 거친 후 건강한 동물만 본 시험에 사용하였다. 순화기간 후 암수 각각 30마리의 동물을 Path/Tox system(Version 4.2.2, Xybio Medical Systems Corporation, USA)을 이용하여 순화기간 후에 측정된 체중에 따라 각 군당 암수 5마리씩 6개의 군으로 지정하였다. 투여 개시 시 동물의 체중은 각각 수컷 129.8-175.4 g 그리고 암컷 102.0-116.3 g이었다. 실험동물은 온도 23±3, 상대습도 50±10%, 조명시간 12시간(08:00 점등-20:00 소등), 환기횟수 10-20 회/시간 및 조도 150-300 Lux로 설정되어 유지되었다. 동물은 시험기간 중에 3마리 이하로 깔짚(Laboratory animal Aspen bedding, ABEDD BALTIC LTD., Latvia)을 깐 polycarbonate 케이지에 시험기간 동안 수용되었다. 멸균된 상수도수 및 실험동물용 사료(PMI nutrition International, USA)가 동물에게 자유롭게 공급되었다. 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 식품의약품안전처 고시 제2013-121호(2013년 04월 05일) '의약품 등의 독성시험기준'에 준하여 본 시험은 실시되었다.

투여 및 시험항목 - 원지 추출물의 임상예정 사용경로는 경구이므로, 경구투여로 2주간 반복 독성시험을 실시하였다. 본 연구의 측정과 관찰결과는 Path/Tox system을 이용하여 기록하였다. 본 2주간 반복경구투여 독성시험의 투여용량은 앞서 실시한 유사물질을 이용한 500, 1000, 2000, 3500 및 5000 mg/kg/day 용량으로 실시한 시험결과를 참조하여 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/animal/day)으로 산출하였다. 모든 동물에 대하여 부검 당일 약 17시간 동안의 뇨를 채취하여 뇨량, 뇨색, 비중(SG), pH, 단백질(PRO), 케톤체(KET), 잠혈(ERY), 당(GLU), 빌리루빈(BIL), 아질산염(NIT) 및 유로빌리노겐(URO), 뇨침사(원주, 상피세포, 적혈구, 백혈구)측정 및 검사를 실시하였다. 뇨분석은 뇨 시험지(Combur 10TM urine sticks, Roche, Germany) 및 뇨자동분석장치(COBAS U411, Roche, Germany)를 이용하여 실시하였다.

부검 시까지 생존한 모든 동물을 대상으로 부검 및 채혈 전 약 17시간 동안 절식을 실시하였다. 동물은 isoflurane을 이용하여 마취된 상태에서 회복하여, 후대 정맥(vena cava)에서 혈액학 및 혈액생화학 검사를 위한 혈액을 채취하였

다. 혈액학 검사를 위한 혈액 샘플은 EDTA-2K를 포함한 튜브에 채취 후, 혈구자동계측장치(ADVIA 2120i Hematology analyzer, SIEMENS, USA)를 이용하여 백혈구수(WBC), 적혈구수(RBC), 혈색소(HGB), 헤마토크리트(HCT), 평균적혈구용적(MCV), 평균적혈구혈색소(MCH), 평균적혈구 혈색소농도(MCHC), 혈소판(PLT), 백혈구 감별계수(호중구: NEU%, 림프구: LYM%, 단핵구: MON%, 호산구: EOS%, 호염구: BAS%, Large unstained cells: LUC%) 및 망상적혈구수(RET%)를 측정하였다. 혈액응고계 검사를 위한 혈액 샘플은 3.2% sodium citrate로 처리하여 혈액응고분석기(ACL Elite Pro coagulation analyzer, Instrumentation Laboratory, Italy)를 이용하여 프로트롬빈 시간(PT) 및 활성화 부분트롬보플라스틴 시간(APTT)을 측정하였다. 그리고 혈액생화학 검사를 위한 혈액 샘플은 실온에서 약 90분간 방치한 후 원심분리(3000 rpm, 10분)하였다. 원심분리한 샘플

은 자동분석장치(Toshiba 120FR chemistry analyzer, Toshiba Co., Japan)를 이용하여 요소질소(BUN), ALT, AST, ALP, 크레아티닌(CREA), 당(GLU), 총콜레스테롤(TCHO), albumin/globulin ratio(A/G), 총단백(TP), 알부민(ALB), 크레아티닌 산화효소(CK), 중성지방(TG), 총 빌리루빈(TBIL) 및 인지질(phospholipid, PL)을 측정하였다.

채혈 후 복대동맥을 절단하여 방혈하는 방법으로 도살을 실시하고, 모든 장기에 대하여 부검소견을 관찰하였다. 또한 부검 후 뇌, 뇌하수체, 부신, 간, 비장, 신장, 심장, 흉선, 폐, 타액선(악하선, 설하선), 갑상선(부갑상선), 고환, 부고환, 정낭, 전립선, 자궁(경부) 및 난소(난관)의 절대 중량을 측정하고, 부검 전 절식된 체중에 대한 상대장기중량을 산출하였다. 양측성 장기의 경우, 육안적 이상소견이 관찰되지 않아 함께 측정하였다.

통계학적 분석 - 얻어진 자료에 대한 통계분석은 다중비

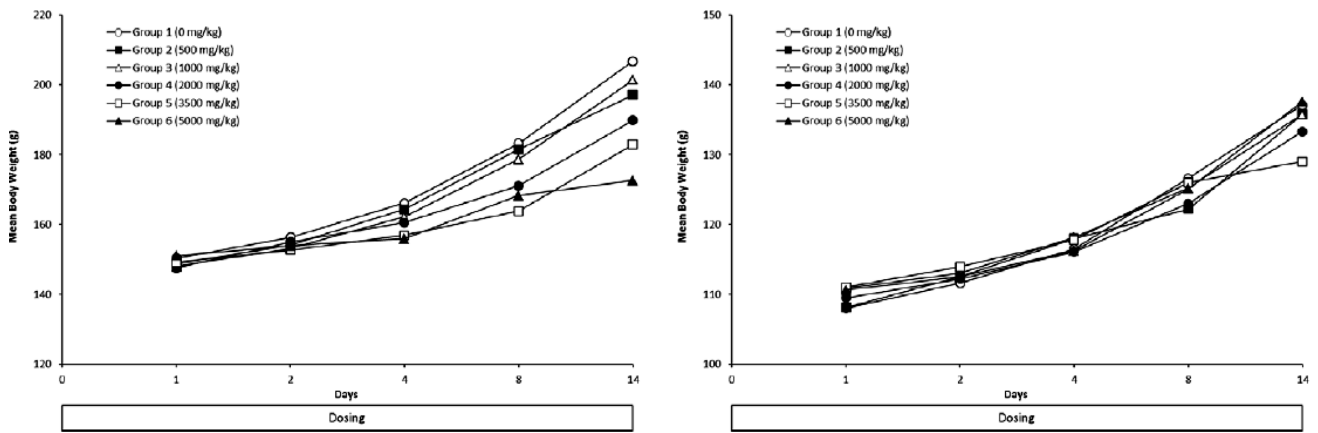


Fig. 1. Changes in body weights after treatment with 500, 1000, 2000, 3500 and 5000 mg/kg/day in male (left) and female (right) of Polygalae Radix.

Table I. Food consumption in grams after treatment with 500, 1000, 2000, 3500 and 5000 mg/kg/day of Polygalae Radix Unit: g

| Group | | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 | G6 |
|------------------|------|------|------|------|-------|-------|-------|
| Dose (mg/kg/day) | | 0 | 500 | 1000 | 2000 | 3500 | 5000 |
| Males | | | | | | | |
| Day 2 | Mean | 16.1 | 16.8 | 15.3 | 16.0 | 14.3 | 13.3* |
| | S.D. | 0.65 | 0.15 | 0.38 | 1.69 | 0.74 | 0.04 |
| Day 9 | Mean | 17.5 | 16.5 | 15.4 | 13.9* | 14.3* | 15.4 |
| | S.D. | 0.16 | 0.02 | 0.64 | 1.51 | 0.49 | 0.99 |
| Females | | | | | | | |
| Day 2 | Mean | 11.3 | 11.1 | 11.5 | 11.2 | 11.2 | 10.1 |
| | S.D. | 0.80 | 0.08 | 0.07 | 0.22 | 0.19 | 0.44 |
| Day 9 | Mean | 11.8 | 11.7 | 12.1 | 11.6 | 12.4 | 11.6 |
| | S.D. | 0.20 | 0.54 | 0.52 | 0.77 | 0.21 | 0.07 |

*Significant differences from control group (p<0.05).

Table II. Hematological values observed after treatment with 500, 1000, 2000, 3500 and 5000 mg/kg/day of Polygalae Radix

| Group | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 | G6 | |
|------------------|---------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Dose (mg/kg/day) | 0 | 500 | 1000 | 2000 | 3500 | 5000 | |
| Males | | | | | | | |
| WBC | $\times 10^3/\mu\text{L}$ | 4.72 | 4.81 | 4.98 | 5.13 | 4.83 | 4.79 |
| RBC | $\times 10^6/\mu\text{L}$ | 9.02 | 8.96 | 8.97 | 8.72 | 8.76 | 8.00 |
| HGB | g/dL | 16 | 16 | 15.9 | 15.5 | 15.5 | 14.1 |
| HCT | % | 52.7 | 52.3 | 52.5 | 50.3 | 51.2 | 45.7 |
| MCV | fL | 58.4 | 58.4 | 58.5 | 57.6 | 58.4 | 57.1 |
| MCH | pg | 17.8 | 17.9 | 17.7 | 17.8 | 17.7 | 17.6 |
| MCHC | g/dL | 30.5 | 30.6 | 30.2 | 30.9 | 30.3 | 30.9 |
| PLT | $\times 10^3/\mu\text{L}$ | 881.4 | 885 | 824.4 | 771.6 | 830.8 | 910 |
| RET% | % | 3.51 | 2.81 | 3.62 | 3.59 | 3.65 | 3.97 |
| RETA | $\times 10^9/\mu\text{L}$ | 314.5 | 252.1 | 322.3 | 312.2 | 317.6 | 317.4 |
| NEU% | % | 18.5 | 26.8 | 22.6 | 29.6* | 20.6 | 30.5 |
| LYM% | % | 76.6 | 67.5* | 72.1 | 64.6* | 73.8 | 65.5 |
| EOS% | % | 0.7 | 1.2 | 1.4+ | 1.1 | 1.3 | 1.0 |
| MON% | % | 2.2 | 2.7 | 2.0 | 3.0 | 2.2 | 2.2 |
| BAS% | % | 1.0 | 0.8 | 0.9 | 0.9 | 0.9 | 0.2 |
| LUC% | % | 0.9 | 0.9 | 0.9 | 0.8 | 1.2 | 0.5 |
| NEUA | $\times 10^3/\mu\text{L}$ | 0.86 | 1.30 | 1.14 | 1.56 | 1.00 | 1.46 |
| LYMA | $\times 10^3/\mu\text{L}$ | 3.63 | 3.24 | 3.57 | 3.28 | 3.56 | 3.14 |
| EOSA | $\times 10^3/\mu\text{L}$ | 0.03 | 0.06 | 0.07+ | 0.06 | 0.07 | 0.05 |
| MONA | $\times 10^3/\mu\text{L}$ | 0.10 | 0.13 | 0.10 | 0.16 | 0.10 | 0.11 |
| BASA | $\times 10^3/\mu\text{L}$ | 0.05 | 0.04 | 0.05 | 0.04 | 0.04 | 0.01 |
| LUCA | $\times 10^3/\mu\text{L}$ | 0.04 | 0.04 | 0.05 | 0.04 | 0.06 | 0.02 |
| Females | | | | | | | |
| WBC | $\times 10^3/\mu\text{L}$ | 6.41 | 6.86 | 7.98 | 6.65 | 6.74 | 6.54 |
| RBC | $\times 10^6/\mu\text{L}$ | 8.96 | 8.98 | 8.96 | 9.14 | 9.15 | 8.97 |
| HGB | g/dL | 16.4 | 16.4 | 16.3 | 16.6 | 16.6 | 16.3 |
| HCT | % | 50.4 | 50.8 | 50.2 | 51.4 | 51.5 | 50.5 |
| MCV | fL | 56.3 | 56.5 | 56 | 56.2 | 56.3 | 56.4 |
| MCH | pg | 18.2 | 18.2 | 18.2 | 18.1 | 18.2 | 18.1 |
| MCHC | g/dL | 32.4 | 32.3 | 32.4 | 32.2 | 32.3 | 32.2 |
| PLT | $\times 10^3/\mu\text{L}$ | 816 | 785 | 783.6 | 780.2 | 831.2 | 754.2 |
| RET% | % | 2.78 | 2.81 | 2.69 | 2.46 | 2.28 | 3.28 |
| RETA | $\times 10^9/\mu\text{L}$ | 249.4 | 251.8 | 238.6 | 225.0 | 205.6 | 294.2 |
| NEU% | % | 13.3 | 14.9 | 16.5 | 16 | 14.5 | 11.3 |
| LYM% | % | 81.3 | 79.9 | 78.5 | 78.3 | 79.4 | 83 |
| EOS% | % | 1.0 | 0.9 | 1.0 | 1.0 | 0.7 | 1.0 |
| MON% | % | 2.5 | 2.4 | 2.4 | 2.8 | 3.3 | 2.6 |
| BAS% | % | 0.6 | 0.7 | 0.5 | 0.7 | 0.6 | 0.6 |
| LUC% | % | 1.3 | 1.2 | 1.1 | 1.3 | 1.5 | 1.6 |
| NEUA | $\times 10^3/\mu\text{L}$ | 0.85 | 1.01 | 1.31 | 1.09 | 0.96 | 0.75 |
| LYMA | $\times 10^3/\mu\text{L}$ | 5.20 | 5.51 | 6.26 | 5.17 | 5.37 | 5.40 |
| EOSA | $\times 10^3/\mu\text{L}$ | 0.06 | 0.06 | 0.08 | 0.07 | 0.05 | 0.07 |
| MONA | $\times 10^3/\mu\text{L}$ | 0.16 | 0.16 | 0.20 | 0.19 | 0.22 | 0.17 |
| BASA | $\times 10^3/\mu\text{L}$ | 0.04 | 0.05 | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.03 |
| LUCA | $\times 10^3/\mu\text{L}$ | 0.09 | 0.08 | 0.09 | 0.08 | 0.10 | 0.11 |

*Significant differences from control group ($p < 0.05$).+Significant differences from control group ($p < 0.01$).

교검정법을 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. 검정의 위험율은 5% 및 1%로 정하였다. 이러한 분석은 당 연구소에서 사용하고 있는 GLP 독성시험용 전산프로그램인 Path/Tox System

(Version 4.2.2 및 1.7.2, Xybion Medical Systems Corporation, USA)을 이용하여 실시하였다.

결과 및 고찰

원지 추출물을 이용한 2주간의 시험기간 중에 수컷 5000 mg/kg/day 투여군에서 투여 8일, 11일, 14일 및 15일째에 각각 1례씩 사망동물이 관찰되었다. 사망한 동물은 시험기간 동안 일반증상에서 투여직후 유연(salivation) 및 부형제 대조군 대비 체중 감소가 관찰되었다. 부검소견에서는 위(stomach)에서 다수의 검은 반점(foci) 및 중등도의 확장(dilatation)이 2례의 동물에서 관찰되었다. 조직병리학적 검사를 실시하지 않았지만, 수컷 5000 mg/kg/day 투여군에서

Table III. Clinical chemical values observed after treatment with 500, 1000, 2000, 3500 and 5000 mg/kg/day of Polygalae Radix

| Group | | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 | G6 |
|------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Dose (mg/kg/day) | | 0 | 500 | 1000 | 2000 | 3500 | 5000 |
| Male | | | | | | | |
| GLU | mg/dL | 205.6 | 202.9 | 227.1 | 213.7 | 208.5 | 169.5 |
| BUN | mg/dL | 22.01 | 19.49 | 20.48 | 18.98 | 19.24 | 23.46 |
| CREA | mg/dL | 0.54 | 0.57 | 0.55 | 0.57 | 0.61 | 0.72 |
| TP | g/dL | 6.65 | 6.74 | 6.77 | 6.49 | 6.61 | 6.41 |
| ALB | g/dL | 4.63 | 4.63 | 4.66 | 4.57 | 4.64 | 4.46 |
| A/G | ratio | 2.29 | 2.20 | 2.21 | 2.37 | 2.37 | 2.29 |
| AST | IU/L | 114.8 | 98.7 | 113.7 | 106.8 | 103.6 | 123.4 |
| ALT | IU/L | 50.6 | 41.4 | 50.5 | 40.3 | 33.8 | 36.3 |
| TBIL | mg/dL | 0.083 | 0.079 | 0.08 | 0.081 | 0.08 | 0.073 |
| ALP | IU/L | 629.3 | 587.4 | 623.2 | 620.6 | 682.3 | 675.3 |
| TCHO | mg/dL | 57.0 | 61.4 | 62.8 | 68.4 | 77.2+ | 81.0 |
| TG | mg/dL | 57.7 | 58.0 | 66.7 | 56.4 | 53.7 | 32.0 |
| CK | IU/L | 823.8 | 642.6 | 747.0 | 724.8 | 745.6 | 988.0 |
| PL | mg/dL | 105.4 | 107.6 | 110.0 | 113.0 | 119.6 | 115.0 |
| Female | | | | | | | |
| GLU | mg/dL | 159.2 | 163.2 | 113.4 | 121.3 | 135.4 | 112.3 |
| BUN | mg/dL | 18.02 | 19.15 | 18.41 | 16.5 | 19.15 | 17.21 |
| CREA | mg/dL | 0.56 | 0.54 | 0.55 | 0.54 | 0.62 | 0.52 |
| TP | g/dL | 6.41 | 6.16 | 6.28 | 6.37 | 6.41 | 6.46 |
| ALB | g/dL | 4.54 | 4.37 | 4.43 | 4.48 | 4.43 | 4.57 |
| A/G | ratio | 2.43 | 2.45 | 2.4 | 2.37 | 2.25 | 2.43 |
| AST | IU/L | 97.8 | 99.6 | 105.3 | 102.9 | 111.9 | 100.6 |
| ALT | IU/L | 33.7 | 33.9 | 32.0 | 29.7 | 34.0 | 28.6 |
| TBIL | mg/dL | 0.079 | 0.079 | 0.078 | 0.081 | 0.073 | 0.087 |
| ALP | IU/L | 513.3 | 492.3 | 459.2 | 505.9 | 546.9 | 523.8 |
| TCHO | mg/dL | 88.0 | 88.2 | 96.6 | 95.8 | 102.0 | 99.8 |
| TG | mg/dL | 57.4 | 49.0 | 66.9 | 50.4 | 46.1 | 66.6 |
| CK | IU/L | 680.8 | 639.4 | 855.8 | 749.2 | 801.4 | 758.4 |
| PL | mg/dL | 148.8 | 142.6 | 154.4 | 152.8 | 154.2 | 159.2 |

+Significant differences from control group ($p<0.01$).

Table IV. Absolute organ weights after treatment with 500, 1000, 2000, 3500 and 5000 mg/kg/day of Polygalae Radix

Unit: g

| Group | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 | G6 |
|---------------------|-------|--------|-------|-------|--------|--------|
| Dose (mg/kg/day) | 0 | 500 | 1000 | 2000 | 3500 | 5000 |
| Males | | | | | | |
| Brain | 1.717 | 1.757 | 1.795 | 1.726 | 1.730 | 1.689 |
| Pituitary gland | 0.006 | 0.005 | 0.005 | 0.004 | 0.004 | 0.004 |
| Liver | 6.909 | 6.382 | 6.864 | 6.024 | 5.929+ | 6.524 |
| Spleen | 0.447 | 0.418 | 0.439 | 0.407 | 0.386+ | 0.405 |
| Heart | 0.684 | 0.640 | 0.680 | 0.636 | 0.610 | 0.657 |
| Thymus | 0.336 | 0.345 | 0.345 | 0.300 | 0.290 | 0.286 |
| Salivary glands | 0.345 | 0.325 | 0.353 | 0.320 | 0.310 | 0.328 |
| Seminal vesicle | 0.476 | 0.419 | 0.375 | 0.319 | 0.299 | 0.444 |
| Prostate | 0.095 | 0.097 | 0.077 | 0.083 | 0.073 | 0.091 |
| Kidneys | 1.615 | 1.530 | 1.564 | 1.487 | 1.442* | 1.669 |
| Adrenal glands | 0.034 | 0.037 | 0.037 | 0.038 | 0.040 | 0.040 |
| Testes | 2.540 | 2.665 | 2.543 | 2.728 | 2.425 | 2.759 |
| Epididymides | 0.388 | 0.364 | 0.385 | 0.384 | 0.313 | 0.378 |
| Lung | 0.865 | 0.870 | 0.912 | 0.851 | 0.802 | 0.815 |
| Thyroid/Parathy. | 0.008 | 0.010 | 0.008 | 0.008 | 0.008 | 0.009 |
| Females | | | | | | |
| Brain | 1.652 | 1.651 | 1.655 | 1.621 | 1.656 | 1.623 |
| Pituitary gland | 0.006 | 0.005 | 0.006 | 0.006 | 0.004 | 0.004 |
| Liver | 4.436 | 4.191 | 4.236 | 4.393 | 4.434 | 4.537 |
| Spleen | 0.346 | 0.354 | 0.342 | 0.329 | 0.311 | 0.306 |
| Heart | 0.526 | 0.483 | 0.493 | 0.505 | 0.482 | 0.529 |
| Thymus | 0.309 | 0.295 | 0.281 | 0.303 | 0.267 | 0.322 |
| Salivary glands | 0.267 | 0.253 | 0.252 | 0.265 | 0.264 | 0.267 |
| Kidneys | 1.094 | 1.090 | 1.073 | 1.126 | 1.189 | 1.115 |
| Adrenal glands | 0.044 | 0.041 | 0.040 | 0.043 | 0.046 | 0.041 |
| Ovaries | 0.743 | 0.684 | 0.738 | 0.713 | 0.731 | 0.688 |
| Lung | 0.008 | 0.007 | 0.006 | 0.007 | 0.006 | 0.006 |
| Thyroid/Parathyroid | 0.213 | 0.244 | 0.251 | 0.282 | 0.176 | 0.330 |
| Uterus/Cervix | 0.069 | 0.056+ | 0.061 | 0.069 | 0.062 | 0.054+ |

*Significant differences from control group ($p < 0.05$).+Significant differences from control group ($p < 0.01$).

높은 사망률이 관찰되었기에 시험물질 투여와 관련된 사망으로 판단된다.

일반증상에서는 암수 모든 투여군에서 투여직후 유연(salivation)이 관찰되었으며, 발생빈도 및 정도가 용량 상관성 있게 증가하였기에 시험물질 투여와 관련된 변화로 판단된다. 또한, 시험기간 중의 수컷 모든 투여군에서 나타난 체중 및 증체량 감소경향(Fig. 1)은 사료섭취량의 감소(Table I)와 연관된 변화로 시험물질 투여와 관련된 변화로 판단된다.

혈액생화학적 검사(Table III)에서는 부형제 대조군을 제외한 모든 투여군에서 총콜레스테롤이 증가한 경향이 나타

났으며, 수컷 3500 mg/kg/day 투여군에서 통계적으로 유의하게 총콜레스테롤이 증가(1.35 배)하였다. 그러나, 총콜레스테롤의 증가 정도 및 범위가 크지 않았고 다른 임상병리학적 검사 결과 및 육안 부검조건에서 이러한 변화와 연관 지을 수 있는 소견이 관찰되지 않았다. 또한 F344 랫드를 이용한 다른 13주 독성시험 및 F344 랫드의 참고값(Charles River Laboratories Japan, Inc)의 총콜레스테롤 범위에 비추었을 때, 총콜레스테롤의 범위는 수컷과 암컷 각각 57.0-81.0 mg/dL 및 88.0-102.0 mg/dL로 본 결과와 비교해봤을 때, 크게 차이가 나지 않았다.^{13,14)} 따라서 혈액생화학 수치의 변

Table V. Relative organ weights after treatment with 500, 1000, 2000, 3500 and 5000 mg/kg/day of Polygalae Radix

Unit: %

| Group Dose (mg/kg/day) | G1 0 | G2 500 | G3 1000 | G4 2000 | G5 3500 | G6 5000 |
|---------------------------|---------|-----------|------------|------------|------------|------------|
| Males | | | | | | |
| Brain | 0.924 | 0.991 | 0.991 | 1.017 | 1.061+ | 0.958 |
| Pituitary gland | 0.003 | 0.003 | 0.003 | 0.002 | 0.003 | 0.002 |
| Liver | 3.719 | 3.594 | 3.788 | 3.520 | 3.636 | 3.701 |
| Spleen | 0.241 | 0.235 | 0.242 | 0.239 | 0.237 | 0.230 |
| Heart | 0.368 | 0.360 | 0.375 | 0.373 | 0.374 | 0.373 |
| Thymus | 0.181 | 0.195 | 0.191 | 0.176 | 0.178 | 0.162 |
| Salivary glands | 0.186 | 0.183 | 0.195 | 0.188 | 0.191 | 0.186 |
| Seminal vesicle | 0.256 | 0.235 | 0.206 | 0.185 | 0.183 | 0.252 |
| Prostate | 0.051 | 0.054 | 0.043 | 0.048 | 0.045 | 0.052 |
| Kidneys | 0.869 | 0.862 | 0.862 | 0.872 | 0.885 | 0.947 |
| Adrenal glands | 0.019 | 0.021 | 0.020 | 0.022 | 0.024* | 0.023 |
| Testes | 1.366 | 1.504 | 1.402 | 1.605 | 1.488 | 1.565 |
| Epididymides | 0.209 | 0.206 | 0.212 | 0.225 | 0.192 | 0.214 |
| Lung | 0.465 | 0.489 | 0.503 | 0.501 | 0.491 | 0.462 |
| Thyroid/Parathy. | 0.005 | 0.006 | 0.004 | 0.005 | 0.005 | 0.005 |
| Females | | | | | | |
| Brain | 1.332 | 1.365 | 1.375 | 1.351 | 1.425 | 1.319 |
| Pituitary gland | 0.004 | 0.004 | 0.005 | 0.005 | 0.004 | 0.004 |
| Liver | 3.571 | 3.46 | 3.502 | 3.655 | 3.808 | 3.689 |
| Spleen | 0.278 | 0.294 | 0.283 | 0.274 | 0.266 | 0.248 |
| Heart | 0.424 | 0.399 | 0.408 | 0.421 | 0.413 | 0.43 |
| Thymus | 0.249 | 0.243 | 0.232 | 0.253 | 0.227 | 0.261 |
| Salivary glands | 0.215 | 0.209 | 0.209 | 0.221 | 0.227 | 0.217 |
| Kidneys | 0.880 | 0.900 | 0.890 | 0.938 | 1.026* | 0.906 |
| Adrenal glands | 0.036 | 0.034 | 0.033 | 0.036 | 0.040 | 0.033 |
| Ovaries | 0.056 | 0.046* | 0.05 | 0.057 | 0.054 | 0.044+ |
| Lung | 0.598 | 0.566 | 0.612 | 0.594 | 0.627 | 0.559 |
| Thyroid/Parathyroid | 0.006 | 0.006 | 0.005 | 0.006 | 0.005 | 0.005 |
| Uterus/Cervix | 0.171 | 0.202 | 0.204 | 0.231 | 0.152 | 0.266 |

*Significant differences from control group ($p < 0.05$).+Significant differences from control group ($p < 0.01$).

화를 독성소견으로 판단하지 않았다. 혈액학적검사(Table II), 뇨검사 및 장기중량측정(Tables IV and V)에서는 시험 물질과 관련된 변화는 관찰되지 않았다.

결 론

원지 추출물에 대한 약리작용, 활성 성분 및 효과는 많이 알려져 있으나, 독성 및 안전성에 대한 연구 결과 및 정보는 찾아보기 어렵다. 따라서 본 연구는 원지 추출물의 2주간 반복 경구투여에 의한 독성 및 13주 반복투여 독성시험

을 위한 용량설정을 조사하기 위하여 F344 랫트에게 2주간 원지 추출물을 반복투여하고 독성시험을 진행하였다. 시험군은 총 6개의 군으로 0(부형제 대조군), 500, 1000, 2000, 3500 및 5000 mg/kg/day 투여군으로 구성하였다. 2주간 원지 추출물을 반복 투여 후 치사율, 일반증상, 체중, 사료섭취량, 혈액학, 혈액생화학, 뇨검사, 육안소견 및 장기 중량 측정을 실시하였다. 결론적으로 원지 추출물을 F344 랫트에 0, 500, 1000, 2000, 3500 및 5000 mg/kg/day의 용량으로 2주간 반복 경구 투여한 결과, 수컷 5000 mg/kg/day 투여군에서 사망동물 4례가 관찰되었으며, 암수 모든 투여군

에서 유연증상 및 수컷 3500 mg/kg/day 이상의 투여군에서 체중 및 증체량의 감소가 관찰되었다. 따라서 본 시험물질 원지 추출물의 추후 진행되는 13주 반복독성시험에서 최고 용량은 암수 3500 mg/kg/day으로 사료된다.

사 사

본 연구는 2013년도 식품의약품안전평가원 용역연구개발 과제의 연구개발비 지원(13182독성물602)에 의해 수행 되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Kim, S. H., Choi, E. J., Kim, D. H., Lee, K. Y., Lee, M., Baek, S. W., Kwak, S. J., Kang, T. S., Kim, Y. C. and Sung, S. H. (2008) Stability test of the extracts of Cimicifugae Rhizoma, Achyranthis Radix, Artemisia Capillaris Herba, Moutan Cortex Radicis and Arecae Semen for toxicity study. *Kor. J. Pharmacogn.* **39**: 241-245.
- Jin, Z. L., Gao, N., Zhang, J. R., Li, X. R., Chen, H. X., Xiong, J., Li, Y. F. and Tang, Y. (2014) The discovery of Yuanzhi-1, a triterpenoid saponin derived from the traditional Chinese medicine, has antidepressant-like activity. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* **12(53C)**: 9-14.
- Park, H. K., Jeon, S. G., Kim, T. B., Kang, H. R., Chang, Y. S., Kim, Y. K., Cho, S. H., Min, K. U. and Kim, Y. Y. (2005) Occupational asthma and rhinitis induced by a herbal medicine, Wonji (*Polygala tenuifolia*). *J. Korean Med. Sci.* **20**: 46-49.
- Li, C., Yang, J., Yu, S., Chen, N., Xue, W., Hu, J. and Zhang, D. (2008) Triterpenoid saponins with neuroprotective effects from the roots of *Polygala tenuifolia*. *Planta Med.* **74**: 133-141.
- Kim, K. S., Lee, D. S., Bae, G. S., Park, S. J., Kang, D. G., Lee, H. S., Oh, H. and Kim, Y. C. (2013) The inhibition of JNK MAPK and NF- κ B signaling by tenuifoliside A isolated from *Polygala tenuifolia* in lipopolysaccharide-induced macrophages is associated with its anti-inflammatory effect. *Eur. J. Pharmacol.* **721**: 267-276.
- Cheong, M. H., Lee, S. R., Yoo, H. S., Jeong, J. W., Kim, G. Y., Kim, W. J., Jung, I. C. and Choi, Y. H. (2011) Anti-inflammatory effects of *Polygala tenuifolia* root through inhibition of NF- κ B activation in lipopolysaccharide-induced BV2 microglial cells. *J. Ethnopharmacol.* **137**: 1402-1408.
- Xin, T., Zhang, F., Jiang, Q., Chen, C., Huang, D., Lv, Y., Shen, W. and Jin, Y. (2012) Purification and antitumor activity of two acidic polysaccharides from the roots of *Polygala tenuifolia*. *Carbohydr. Polym.* **90**: 1671-1676.
- 식품의약품안전처고시 2003-17, 안전성유효성심사규정.
- Keum, J. H., Han, H. Y., Roh, H. S., Seok, J. H., Lee, J. K., Jeong, J., Kim, J. A., Woo, M. H., Choi, J. S. and Min, B. S. (2014) Analysis and stability test of the extracts from *Epimedium Herba*, *Atractylodis Rhizoma Alba* and *Polygalae Radix* for toxicity study. *Kor. J. Pharmacogn.* **45**: 135-140.
- Kuroda, M., Shizume, T. and Mimaki, Y. (2014) New acylated triterpene glycosides from the roots of *Polygala tenuifolia*. *Nat. Prod. Commun.* **9**: 379-382.
- Jiang, Y. and Tu, P. (2005) Four new phenones from the cortexes of *Polygala tenuifolia*. *Chem. Pharm. Bull.* **53**: 1164-1166.
- Jiang, Y., Zhang, W., Tu, P. and Xu, X. (2005) Xanthone glycosides from *Polygala tenuifolia* and their conformational analyses. *J. Nat. Prod.* **68**: 875-879.
- Tasaki, M., Umemura, T., Maeda, M., Ishii, Y., Okamura, T., Inoue, T., Kuroiwa, Y., Hirose, M. and Nishikawa, A. (2008) Safety assessment of ellagic acid, a food additive, in a subchronic toxicity study using F344 rats. *Food Chem. Toxicol.* **46**: 1119-1124.
- Niho, N., Shibutani, M., Tamura, T., Toyoda, K., Uneyama, C., Takahashi, N. and Hirose, M. (2001) Subchronic toxicity study of gallic acid by oral administration in F344 rats. *Food Chem. Toxicol.* **39**: 1063-1070.

(2015. 1. 30 접수; 2015. 3. 16 심사; 2015. 3. 20 게재확정)