

## Sprague-Dawley계 흰쥐를 이용한 HT042의 14일 반복 경구투여 독성연구

송정빈<sup>1#</sup>, 이동현<sup>1#</sup>, 김영식<sup>1</sup>, 이승경<sup>1</sup>, 배진숙<sup>2</sup>, 김호철<sup>1\*</sup>

1 : 경희대학교 한의과대학 본초학교실, 2 : (주)캠온 비임상연구센터

### A 14-day Repeated Dose Oral Toxicity Study of HT042 in Sprague-Dawley Rats

Jungbin Song<sup>1#</sup>, Donghun Lee<sup>1#</sup>, Young-Sik Kim<sup>1</sup>, Seunggyeong Lee<sup>1</sup>,  
Jin-Sook Bae<sup>2</sup>, Hocheol Kim<sup>1\*</sup>

1 : Dept. of Herbal Pharmacology, College of Korean Medicine, Kyung Hee University

2 : Nonclinical Research Institute, Chemon Inc.

#### ABSTRACT

**Objectives** : HT042 is a combination of three herbal extracts from the roots of *Astragalus membranaceus*, the stems of *Eleutherococcus senticosus* and the roots of *Phlomis umbrosa*, which has been demonstrated to increase longitudinal bone growth rate. The aim of this study was to assess the safety of HT042 after repeated oral administration.

**Methods** : A 14-day repeated oral dose toxicity study was conducted using male and female Sprague-Dawley rats. HT042 was administered orally at repeated doses of 500, 1,000 and 2,000 mg/kg/day for 14 days. Clinical signs and mortality were observed daily, whereas body weight and food consumption were recorded weekly throughout the experiment. At the end of the study, blood was taken from the posterior vena cava for hematology and serum biochemistry. All organs of the body surface, subcutis, head, thoracic cavity, and abdominal cavity were observed grossly. Then, the internal organs were removed and weighed.

**Results** : No death occurred and no significant changes in clinical sign, body weight, food consumption and serum biochemistry parameters were observed in male and female rats over the study period. Although there were some alterations in hematologic and necropsy findings, and organ weights, these changes were not considered toxicologically significant.

**Conclusions** : These results suggest that the 14-day repeated administration of HT042 does not produce any significant oral toxicity at doses of up to 2,000 mg/kg/day in male and female rats under the present experimental conditions.

**Key words** : HT042, *Astragalus membranaceus*, *Eleutherococcus senticosus*, *Phlomis umbrosa*, toxicity

## I. 서 론

HT042는 황기, 자오가 및 한속단 추출물 복합물로 골길이 성장을 촉진하는 물질이다<sup>1-3)</sup>. 황기(黃芪)는 콩과(Fabaceae)에

속한 다년생 초본 황기 *Astragalus membranaceus*의 뿌리로 益衛固表, 利水消腫, 托毒, 生肌의 효능으로 사용되며, 자오가(刺五加)는 두릅나무과(Araliaceae)에 속한 낙엽관목 가시오 갈피 *Eleutherococcus senticosus*의 뿌리 및 줄기로 補腎強腰,

\*Corresponding author : Hocheol Kim, Department of Herbal Pharmacology, College of Korean Medicine, Kyung Hee University, 26 Kyungheedaero, Dongdaemun-gu, Seoul 02447, Republic of Korea.

· Tel : +82-2-961-0419 · E-mail : hckim@khu.ac.kr

#First author : Jungbin Song, Department of Herbal Pharmacology, College of Korean Medicine, Kyung Hee University, 26 Kyungheedaero, Dongdaemun-gu, Seoul 02447, Republic of Korea.

· Tel : +82-2-961-0419 · E-mail : jbsong@khu.ac.kr

#First author : Donghun Lee, Department of Herbal Pharmacology, College of Korean Medicine, Kyung Hee University, 26 Kyungheedaero, Dongdaemun-gu, Seoul 02447, Republic of Korea.

· Tel : +82-2-961-0419 · E-mail : allstart2925@naver.com

· Received : 14 November 2016 · Revised : 6 January 2017 · Accepted : 15 January 2017

益氣安神, 活血通絡의 효능으로 사용되고<sup>4)</sup>, 한속단(韓續斷)은 꿀풀과(Labiatae)에 속한 다년생 초본 속단 *Phlomis umbrosa*의 뿌리로 祛風化痰, 利濕除痺, 解毒消腫, 祛風活絡, 強筋壯骨의 효능으로 사용된다<sup>5)</sup>. 한의학에서 구성 약재가 어린이에게 사용된 기록을 살펴보면 황기는 『東醫寶鑑』에 어린이의 온갖 병을 치료하는데 사용되었고(治小兒百病), 오가피는 『東醫寶鑑』에 3살이 되도록 걷지 못하는 것을 치료한다고 언급되어 있다(治小兒三歲不能行)<sup>6)</sup>.

선행 연구에서 HT042는 성장기 흰쥐에 경구 투여 시 성장판 연골세포의 증식(proliferation)과 비대(hypertrophy)를 증가시켜 골길이 성장을 촉진하였으며<sup>1-2)</sup>, 이러한 작용은 성장호르몬 유전자의 돌연변이로 성장호르몬이 제대로 분비되지 않는 spontaneous dwarf rat에서는 나타나지 않았다<sup>3)</sup>. 따라서 HT042는 성장호르몬 분비를 촉진하여 성장판에서 insulin-like growth factor(IGF)-1 및 bone morphogenetic protein(BMP)-2의 발현을 증가시킴으로써 골길이 성장속도를 높이는 것으로 예측된다<sup>1-2)</sup>. 동물실험 결과를 바탕으로 수행한 12주 및 24주 무작위배정, 이중맹검, 위약대조 연구에서 HT042는 신장 25 백분위수 이하 성장기 어린이의 키성장을 촉진시켰다(data not published).

HT042의 구성약재인 황기, 자오가 및 한속단은 수백 년간 약용으로 사용되어 왔으며 현재까지 특별한 독성이 보고된 바 없다<sup>5, 7-9)</sup>. 이러한 사용례를 근거로 3종의 약재는 모두 국내 식품공전에도 등재되어 있으며, 이들 복합물인 HT042 역시 인체에 안전할 것으로 판단된다. 하지만 개별 약재가 독성이 없더라도 복합하였을 경우 상호작용에 의해 독성이 나타날 가능성을 배제할 수 없기 때문에<sup>10)</sup> 안전성 확립이 필요하다. 본 연구에서는 HT042를 반복투여 하였을 때 나타날 수 있는 개략적인 독성을 평가하기 위해 '의약품 등의 독성시험기준(제 2009-116호)'에 따라 Sprague-Dawley계 암수 흰쥐를 이용하여 14일 반복 경구투여 독성시험을 수행하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 추출물 제조

황기(roots of *A. membranaceus*), 자오가(stems of *E. senticosus*), 한속단(roots of *P. umbrosa*)은 경희대학교 한의과대학 본초학교실에서 검증받아 사용하였다. 각각의 약재를 10배수의 70% 알코올(주정)로 80℃에서 6시간 동안 환류 추출한 후 감압농축하여 농축액을 동결건조하였다. 황기, 자오가 및 한속단 동결건조분말을 31.2:42.3:26.5 중량비로 혼합하여 HT042를 제조하였다.

### 2. 실험동물

5주령 Sprague Dawley계 암수 흰쥐를 1주일간 적응시켜 반복 경구투여 독성시험에 사용하였다. 사육 환경은 온도 23±3℃, 상대습도 55±15%, 조명시간 12시간(오전 8시 점등

-오후 8시 소등) 및 조도 150-300 Lux로 유지하였다. 독성 시험은 (주)켄온 비임상연구센터에서 실시되었으며, 실험 계획은 비임상연구센터의 동물윤리위원회에 의해 승인되었다(11-R035).

### 3. 군 구성 및 HT042 투여

실험실 환경에서 적응시킨 동물을 대조군과 HT042 투여군으로 나누었다. HT042 투여군의 경우 2,000 mg/kg/day를 고용량군으로 두고, 공비를 2로 하여 1,000 mg/kg/day를 중용량군으로, 500 mg/kg/day를 저용량군으로 설정하였다. 각 군당 실험동물의 수는 10마리(암수 각각 5마리)로 하였다. 대조군의 경우 0.5% carboxymethylcellulose sodium을 투여하였다. 1일 1회씩 총 14일간 경구투여 하였으며 투여액은 10 ml/kg으로 하였다.

### 4. 일반증상

투여 기간 동안 사망여부, 일반증상의 종류, 발현일 및 증상의 정도를 1일 1회 관찰하여 개체별로 기록하였다.

### 5. 체중

모든 동물에 대하여 투여 전(입수 및 군분리 시), 투여개시일, 그 이후에는 주 1회 및 부검일에 체중을 측정하였다. 부검일은 절식시킨 체중을 측정하였다.

### 6. 사료섭취량

사료섭취량은 투여개시일, 그 이후에는 주 1회 측정하였다. 측정방법은 사료를 정량급여한 다음 날 잔량을 사육상자 단위로 측정하여 그 차이를 계산하고, 마리당 평균섭취량(g/head/day)으로 산출하였다.

### 7. 혈액학적 검사

동물은 채혈 전에 하룻밤 동안 절식하였다. 부검일에 동물을 isoflurane (Ifran liquid Hana Pharm, Co., Ltd)으로 흡입 마취하였고, 하대정맥에서 주사기를 이용하여 채혈하였다. 자동혈액분석기(ADVIA 2120, SIEMENS, USA)를 이용하여 적혈구(red blood cell count, RBC), 헤마토크리치(hematocrit), 혈색소량(hemoglobin), 평균적혈구용적(mean corpuscular volume, MCV), 평균적혈구헤모글로빈량(mean corpuscular hemoglobin, MCH), 평균적혈구헤모글로빈농도(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC), 적혈구분포폭(red cell distribution width, RDW), 헤모글로빈분포폭(hemoglobin distribution width, HDW), 혈소판수(platelets), 평균혈소판용적(mean platelet volume, MPV), 백혈구(white blood cell count, WBC), 호중구(neutrophils), 림프구(lymphocytes), 단핵구(monocytes), 호산구(eosinophils), 호염기구(basophils), 대형비염색성세포(large unstained cells, LUC)를 측정하였다.

## 8. 혈액생화학적 검사

혈액생화학분석기(AU400, Olympus, Japan)를 이용하여, 아스파테이트 아미노기전이효소(aspartate aminotransferase, AST), 알라닌 아미노기전이효소(alanine aminotransferase, ALT), 알칼라인 포스파타제(alkaline phosphatase, ALP), 크레아틴인산활성효소(creatine phosphokinase, CPK), 총 빌리루빈(total bilirubin, TBil), 당(glucose), 총콜레스테롤(total cholesterol, TChol), 중성지방(triglyceride), 총단백(total protein, TP), 알부민(albumin), 알부민/글로불린 비(albumin/globulin, A/G), 혈액요소질소(blood urea nitrogen, BUN), 크레아티닌(creatinine), 무기인(inorganic phosphorus, IP), 칼슘 이온( $Ca^{2+}$ )을 측정하였다. 전해질분석기(RAPIDCHEM 744  $Na^+/K^+/Cl^-$  Analyzer, SIEMENS, USA)를 이용하여 칼륨 이온( $K^+$ ), 나트륨 이온( $Na^+$ ), 염소 이온( $Cl^-$ )을 측정하였다.

## 9. 부검

채혈 후 복대동맥 및 하대정맥을 절단하여 방혈/치사시킨 후 체표, 피하, 두부, 흉강 및 복강의 모든 장기를 관찰하였고, 부검소견을 기록하였다.

## 10. 장기중량

모든 동물에 대하여 부신(adrenals), 가슴샘(thymus), 전립샘(prostate gland), 고환(testes), 부고환(epididymides), 난소(ovaries), 자궁(uterus), 비장(spleen), 신장(kidneys),

심장(heart), 폐(lungs), 뇌(brain), 간장(liver)의 중량을 측정하였다. 양측성 장기는 각각 측정하였다. 각 장기의 중량으로 체중에 대한 상대중량을 산출하였다.

## 11. 통계 분석

체중, 사료섭취량, 혈액학적 및 혈액생화학적 검사, 장기중량에 대하여 One-way ANOVA test로 유의성을 평가하였다. 정규성을 가정하고, Levene test로 등분산성을 검정한 후 등분산인 경우에는 Duncan을 사용하였고, 등분산이 아닌 경우에는 Dunnett T3를 사용하여 대조군과의 유의성을 확인하였다. 통계 분석은 SPSS 10.1K를 이용하였으며,  $P < 0.05$ 인 경우 통계적으로 유의하다고 판정하였다. 모든 수치는  $mean \pm S.D.$ 로 표시하였다.

## III. 결 과

### 1. 일반 증상

시험기간 동안 대조군 및 HT042 투여군 암수에서 사망례는 없었으며, 일반증상의 이상은 관찰되지 않았다(data not shown).

### 2. 체중

투여기간 동안 체중 변화를 관찰한 결과 HT042 투여군 암수 모두 대조군과 유사한 체중증가를 보였다(Table 1).

Table 1. Body weights of male and female rats given daily doses of HT042 for 14 days

Weeks	Dose (mg/kg/day)							
	Male				Female			
	0	500	1,000	2,000	0	500	1,000	2,000
0	148.84±9.02 <sup>a</sup>	148.60±8.47	148.78±4.18	148.01±6.92	129.21±2.52	129.50±4.35	130.91±3.67	131.87±3.58
1	212.61±18.56	213.87±10.10	213.51±6.28	213.34±6.17	162.03±6.09	161.12±5.31	160.08±5.00	166.40±2.60
2	258.32±25.86	261.06±11.52	259.29±8.94	256.07±8.24	172.64±7.34	177.59±4.44	176.42±4.32	178.52±2.73
Gains <sup>b</sup>	109.48±17.50	112.46±4.69	110.51±6.37	108.06±6.00	43.44±5.30	48.09±1.90	45.50±4.94	46.64±3.48
N	5	5	5	5	5	5	5	5

<sup>a</sup>Values are expressed as grams (mean±S.D.)

<sup>b</sup>Weight gains are body weight differences between week 2 and week 0

## 3. 사료 섭취량

투여기간 동안 사료섭취량을 관찰한 결과 HT042 투여군 암수 모두 대조군에 비해 유의성 있는 차이가 없었다(Table 2).

Table 2. Food consumption of male and female rats given daily doses of HT042 for 14 days

Weeks	Dose (mg/kg/day)							
	Male				Female			
	0	500	1,000	2,000	0	500	1,000	2,000
0	23.51±1.34 <sup>a</sup>	21.22±0.26	21.31±0.89	20.61±0.15	18.10±0.50	18.27±0.57	17.15±0.82	19.88±0.72
1	23.40±1.05	24.57±0.49	20.34±1.16	22.43±3.12	14.71±0.29	15.89±0.32	14.29±0.81	15.16±1.32
2	26.87±0.63	26.70±3.19	25.11±0.62	25.83±1.85	17.01±2.04	17.85±1.05	18.46±0.62	16.59±2.08
N	5	5	5	5	5	5	5	5
N	5	5	5	5	5	5	5	5

<sup>a</sup>Values are expressed as gram/rat/day (mean±S.D.)

#### 4. 혈액학적 검사

HT042를 2주 동안 투여한 결과 1,000 mg/kg/day 투여군 수컷에서 혈색소량(hemoglobin)과 헤마토크리치(hematocrit)

가 대조군에 비하여 통계학적으로 유의성 있게 낮았다( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )(Table 3). 암컷에서는 대조군과 HT042 투여군 간의 유의한 차이가 관찰되지 않았다.

Table 3. Hematological findings in the 14-day repeated oral toxicity study of HT042

Parameter (units)	Dose (mg/kg/day)							
	Male				Female			
	0	500	1,000	2,000	0	500	1,000	2,000
RBC ( $10^6/\mu\text{l}$ )	7.41±0.10	7.28±0.15	7.02±0.27	7.20±0.23	7.57±0.29	7.48±0.37	7.48±0.21	7.30±0.20
Hematocrit (%)	44.4±0.6	44.2±0.1	42.9±0.3**	43.7±1.0	43.5±1.2	43.4±1.8	42.8±0.5	42.4±1.3
Hemoglobin (g/dl)	14.3±0.3	14.3±0.1	13.8±0.2*	14.1±0.3	14.6±0.4	14.6±0.5	14.3±0.1	14.3±0.5
MCV (fL)	59.9±1.3	60.8±1.3	61.2±2.1	60.6±0.9	57.5±1.7	58.0±1.1	57.2±1.5	58.1±0.9
MCH (pg)	19.2±0.4	19.6±0.3	19.7±0.6	19.6±0.3	19.3±0.8	19.6±0.5	19.2±0.6	19.6±0.4
MCHC (g/dl)	32.0±0.2	32.3±0.3	32.2±0.5	32.3±0.2	33.6±0.6	33.8±0.9	33.6±0.4	33.8±0.4
RDW (%)	12.8±0.3	12.7±0.3	12.8±0.4	12.6±0.4	11.1±0.4	11.5±0.7	11.1±0.2	11.3±0.3
HDW (g/dl)	2.26±0.15	2.23±0.12	2.20±0.08	2.25±0.07	2.16±0.14	2.37±0.32	2.17±0.07	2.15±0.09
Platelets ( $10^3/\mu\text{l}$ )	1372.6±199.8	1,348.8±75.0	1,309.4±72.2	1,452.8±128.9	1,220.8±125.5	1,294.2±107.5	1,288.2±150.9	1,213.0±82.3
MPV (fL)	6.02±0.28	5.90±0.16	5.92±0.11	5.92±0.19	5.62±0.19	5.64±0.29	5.50±0.07	5.80±0.19
WBC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	8.61±2.26	8.79±1.47	8.03±1.01	8.67±0.61	5.03±1.46	5.87±1.93	5.16±1.44	6.56±0.97
Neutrophils (%)	8.00±1.68	9.58±3.06	10.22±4.85	9.44±2.71	9.58±3.53	14.52±4.94	8.46±2.03	10.96±1.86
Lymphocytes (%)	88.2±1.6	86.2±3.1	86.0±5.2	86.6±3.6	86.7±3.9	81.2±5.0	86.8±2.4	85.1±1.7
Monocytes (%)	2.32±0.51	2.76±0.69	2.30±0.77	2.50±0.99	1.76±0.56	1.98±0.36	2.68±0.86	2.08±0.79
Eosinophils (%)	0.48±0.16	0.48±0.08	0.40±0.14	0.52±0.13	1.14±0.23	1.36±0.21	1.06±0.09	1.06±0.29
Basophils (%)	0.12±0.08	0.14±0.05	0.14±0.09	0.22±0.04	0.08±0.04	0.12±0.08	0.08±0.04	0.08±0.04
LUC (%)	0.86±0.15	0.84±0.18	0.84±0.19	0.76±0.11	0.72±0.13	0.74±0.32	0.88±0.24	0.78±0.37
No. of rats examined	5	5	5	5	5	5	5	5

Values are expressed as the mean ± S.D. \* $P < 0.05$  and \*\* $P < 0.01$  vs. control group. Abbreviations are RBC, red blood cell count; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; RDW, red cell distribution width; HDW, hemoglobin distribution width; MPV, mean platelet volume; WBC, white blood cell count; LUC, large unstained cells.

#### 5. 혈액생화학학적 검사

HT042 투여군 암수 모두 대조군에 비해 통계학적으로 유의성 있는 차이가 관찰되지 않았다(Table 4).

Table 4. Serum biochemical findings in the 14-day repeated oral toxicity study of HT042

Parameter (units)	Dose (mg/kg/day)							
	Male				Female			
	0	500	1,000	2,000	0	500	1,000	2,000
AST (U/l)	88.5±3.5	90.6±8.6	95.7±8.2	87.4±12.4	95.7±8.9	93.2±11.8	95.2±16.2	96.5±11.3
ALT (U/l)	36.5±3.5	33.2±2.6	37.3±4.6	33.8±3.2	33.5±3.6	33.4±2.2	32.3±3.1	32.2±2.9
ALP (U/l)	179.7±23.6	159.2±11.9	172.7±24.5	195.4±19.8	125.7±7.6	124.7±13.0	125.8±16.0	119.6±15.0
CPK (U/l)	217.6±54.9	220.2±46.1	198.0±64.7	203.0±78.3	157.4±51.0	126.4±37.1	153.2±62.2	155.4±60.0
TBil (mg/dl)	0.15±0.02	0.15±0.01	0.16±0.01	0.16±0.01	0.16±0.01	0.17±0.03	0.17±0.00	0.17±0.01
Glucose (mg/dl)	130.3±19.9	126.4±17.1	113.3±19.1	130.6±8.5	100.6±4.1	103.7±4.5	100.2±7.9	97.8±5.2
TCho (mg/dl)	106.2±8.8	115.4±13.1	103.4±13.0	99.6±13.7	94.8±10.2	107.0±12.4	108.0±19.6	97.4±12.6
Triglyceride (mg/dl)	57.6±20.4	51.2±10.4	51.6±11.6	58.2±17.7	37.6±10.3	37.0±12.3	37.6±7.2	38.8±16.2
TP (g/dl)	5.81±0.15	5.92±0.14	5.78±0.14	5.89±0.13	5.85±0.11	6.02±0.21	5.89±0.09	5.87±0.09
Albumin (g/dl)	3.13±0.09	3.21±0.09	3.18±0.08	3.22±0.04	3.32±0.07	3.36±0.13	3.32±0.05	3.26±0.08
A/G (ratio)	1.17±0.03	1.18±0.05	1.22±0.02	1.21±0.03	1.31±0.05	1.26±0.06	1.29±0.02	1.25±0.05
BUN (mg/dl)	17.3±2.4	13.9±2.3	17.9±3.5	16.2±1.7	21.0±5.3	21.2±1.9	20.5±1.6	20.3±2.3
Creatinine (mg/dl)	0.46±0.04	0.45±0.02	0.46±0.03	0.43±0.03	0.49±0.08	0.48±0.03	0.48±0.02	0.48±0.03
IP (mg/dl)	8.87±0.68	8.58±0.40	8.57±0.44	8.26±0.26	7.74±0.33	7.71±0.45	7.73±0.50	8.10±0.41
Ca <sup>2+</sup> (mg/dl)	9.86±0.20	9.58±0.22	9.46±0.20	9.56±0.27	9.16±0.23	9.51±0.24	9.36±0.34	9.27±0.12
Ca <sup>2+</sup> (mmol/l)	9.86±0.20	9.58±0.22	9.46±0.20	9.56±0.27	9.16±0.23	9.51±0.24	9.36±0.34	9.27±0.12
Na <sup>+</sup> (mmol/l)	136.2±1.2	137.3±1.1	137.6±1.1	138.1±0.9	138.1±1.4	137.6±0.9	137.2±1.0	138.1±1.3
K <sup>+</sup> (mmol/l)	5.06±0.30	4.92±0.08	4.89±0.05	4.79±0.33	4.42±0.24	4.37±0.39	4.54±0.36	4.59±0.23
Cl <sup>-</sup> (mmol/l)	101.8±0.4	102.6±1.2	103.0±1.2	103.0±0.9	104.1±1.8	104.2±1.3	103.3±0.8	104.6±0.8

Parameter (units)	Dose (mg/kg/day)							
	Male				Female			
	0	500	1,000	2,000	0	500	1,000	2,000
No. of rats examined	5	5	5	5	5	5	5	5

Values are expressed as the mean  $\pm$  S.D. Abbreviations are AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; ALP, alkaline phosphatase; CPK, creatine phosphokinase; TBil, total bilirubin; TCho, total cholesterol; TP, total protein; A/G, albumin/globulin; BUN, blood urea nitrogen; IP, inorganic phosphorus.

## 6. 장기중량

2,000 mg/kg/day 투여군 수컷에서 전립샘의 절대 및 상대 중량이 대조군에 비하여 통계학적으로 유의성 있게 높았고

( $P < 0.01$ ), 폐의 절대중량이 유의성 있게 낮았다( $P < 0.05$ ) (Table 5). 2,000 mg/kg/day 투여군 암컷에서 우측 신장의 절대중량이 대조군에 비하여 통계학적으로 유의성 있게 높았다( $P < 0.01$ ).

Table 5. Absolute and relative organ weights in the 14-day repeated oral toxicity study of HT042

Organ (units)	Dose (mg/kg/day)							
	Male				Female			
	0	500	1,000	2,000	0	500	1,000	2,000
Body weights <sup>a</sup> (g)	235.47 $\pm$ 22.93	234.69 $\pm$ 10.71	235.33 $\pm$ 8.99	230.79 $\pm$ 5.82	161.94 $\pm$ 7.63	165.12 $\pm$ 4.00	164.80 $\pm$ 4.60	164.08 $\pm$ 3.01
Adrenal gland-left (g)	0.0238 $\pm$ 0.0043	0.0221 $\pm$ 0.0021	0.0226 $\pm$ 0.0026	0.0205 $\pm$ 0.0032	0.0247 $\pm$ 0.0010	0.0256 $\pm$ 0.0019	0.0264 $\pm$ 0.0035	0.0270 $\pm$ 0.0019
Per body weight (%)	0.0102 $\pm$ 0.0022	0.0094 $\pm$ 0.0008	0.0096 $\pm$ 0.0009	0.0089 $\pm$ 0.0016	0.0153 $\pm$ 0.0013	0.0155 $\pm$ 0.0010	0.0160 $\pm$ 0.0017	0.0165 $\pm$ 0.0011
Adrenal gland-right (g)	0.0229 $\pm$ 0.0037	0.0222 $\pm$ 0.0020	0.0220 $\pm$ 0.0020	0.0225 $\pm$ 0.0033	0.0254 $\pm$ 0.0016	0.0247 $\pm$ 0.0015	0.0251 $\pm$ 0.0031	0.0278 $\pm$ 0.0016
Per body weight (%)	0.0098 $\pm$ 0.0020	0.0095 $\pm$ 0.0007	0.0094 $\pm$ 0.0008	0.0098 $\pm$ 0.0017	0.0157 $\pm$ 0.0013	0.0150 $\pm$ 0.0007	0.0152 $\pm$ 0.0015	0.0169 $\pm$ 0.0007
Thymus (g)	0.5699 $\pm$ 0.0866	0.5426 $\pm$ 0.0562	0.6614 $\pm$ 0.1208	0.5487 $\pm$ 0.0413	0.4860 $\pm$ 0.2027	0.4127 $\pm$ 0.0457	0.4081 $\pm$ 0.0399	0.4233 $\pm$ 0.0619
Per body weight (%)	0.2410 $\pm$ 0.0174	0.2313 $\pm$ 0.0228	0.2814 $\pm$ 0.0537	0.2376 $\pm$ 0.0146	0.2985 $\pm$ 0.1162	0.2497 $\pm$ 0.0241	0.2476 $\pm$ 0.0226	0.2579 $\pm$ 0.0371
Prostate gland (g)	0.2051 $\pm$ 0.0178	0.1966 $\pm$ 0.0502	0.1862 $\pm$ 0.0337	0.2721 $\pm$ 0.0250**	-	-	-	-
Per body weight (%)	0.0880 $\pm$ 0.0135	0.0834 $\pm$ 0.0202	0.0790 $\pm$ 0.0124	0.1180 $\pm$ 0.0120**	-	-	-	-
Testis-left (g)	1.5153 $\pm$ 0.0995	1.3330 $\pm$ 0.2501	1.5550 $\pm$ 0.0877	1.4750 $\pm$ 0.0567	-	-	-	-
Per body weight (%)	0.6458 $\pm$ 0.0356	0.5674 $\pm$ 0.0996	0.6608 $\pm$ 0.0273	0.6396 $\pm$ 0.0339	-	-	-	-
Testis-right (g)	1.5170 $\pm$ 0.1197	1.5104 $\pm$ 0.1632	1.5547 $\pm$ 0.0993	1.4773 $\pm$ 0.0622	-	-	-	-
Per body weight (%)	0.6458 $\pm$ 0.0305	0.6431 $\pm$ 0.0589	0.6606 $\pm$ 0.0320	0.6407 $\pm$ 0.0376	-	-	-	-
Epididymis-left (g)	0.2276 $\pm$ 0.0213	0.2307 $\pm$ 0.0309	0.2367 $\pm$ 0.0208	0.2316 $\pm$ 0.0167	-	-	-	-
Per body weight (%)	0.0969 $\pm$ 0.0075	0.0982 $\pm$ 0.0115	0.1005 $\pm$ 0.0053	0.1005 $\pm$ 0.0090	-	-	-	-
Epididymis-right (g)	0.2310 $\pm$ 0.0210	0.2418 $\pm$ 0.0176	0.2395 $\pm$ 0.0185	0.2411 $\pm$ 0.0238	-	-	-	-
Per body weight (%)	0.0984 $\pm$ 0.0079	0.1029 $\pm$ 0.0029	0.1018 $\pm$ 0.0074	0.1047 $\pm$ 0.0122	-	-	-	-
Ovary-left (g)	-	-	-	-	0.0328 $\pm$ 0.0050	0.0336 $\pm$ 0.0055	0.0332 $\pm$ 0.0040	0.0344 $\pm$ 0.0053
Per body weight (%)	-	-	-	-	0.0203 $\pm$ 0.0035	0.0204 $\pm$ 0.0035	0.0202 $\pm$ 0.0026	0.0210 $\pm$ 0.0035
Ovary-right (g)	-	-	-	-	0.0324 $\pm$ 0.0049	0.0331 $\pm$ 0.0045	0.0318 $\pm$ 0.0023	0.0342 $\pm$ 0.0039
Per body weight (%)	-	-	-	-	0.0200 $\pm$ 0.0028	0.0200 $\pm$ 0.0027	0.0193 $\pm$ 0.0014	0.0209 $\pm$ 0.0025
Uterus (g)	-	-	-	-	0.3233 $\pm$ 0.0882	0.3342 $\pm$ 0.1493	0.2608 $\pm$ 0.0136	0.3201 $\pm$ 0.0482
Per body weight (%)	-	-	-	-	0.1992 $\pm$ 0.0518	0.2019 $\pm$ 0.0880	0.1584 $\pm$ 0.0100	0.1953 $\pm$ 0.0306
Spleen (g)	0.6738 $\pm$ 0.1053	0.7577 $\pm$ 0.1266	0.6591 $\pm$ 0.0826	0.5966 $\pm$ 0.0517	0.4582 $\pm$ 0.0309	0.4756 $\pm$ 0.0675	0.4674 $\pm$ 0.0511	0.4827 $\pm$ 0.0432
Per body weight (%)	0.2855 $\pm$ 0.0275	0.3227 $\pm$ 0.0505	0.2797 $\pm$ 0.0288	0.2589 $\pm$ 0.0275	0.2828 $\pm$ 0.0101	0.2876 $\pm$ 0.0353	0.2832 $\pm$ 0.0232	0.2943 $\pm$ 0.0280
Kidney-left (g)	0.8559 $\pm$ 0.0925	0.9267 $\pm$ 0.0576	0.8836 $\pm$ 0.0344	0.8669 $\pm$ 0.0449	0.5975 $\pm$ 0.0093	0.5997 $\pm$ 0.0104	0.6160 $\pm$ 0.0502	0.6474 $\pm$ 0.0245
Per body weight (%)	0.3636 $\pm$ 0.0191	0.3951 $\pm$ 0.0232	0.3755 $\pm$ 0.0042	0.3759 $\pm$ 0.0238	0.3695 $\pm$ 0.0155	0.3634 $\pm$ 0.0130	0.3737 $\pm$ 0.0274	0.3947 $\pm$ 0.0187
Kidney-right (g)	0.8837 $\pm$ 0.0717	0.9614 $\pm$ 0.0880	0.8805 $\pm$ 0.0519	0.8835 $\pm$ 0.0549	0.6117 $\pm$ 0.0396	0.6355 $\pm$ 0.0353	0.6385 $\pm$ 0.0358	0.6775 $\pm$ 0.0113**
Per body weight (%)	0.3766 $\pm$ 0.0268	0.4092 $\pm$ 0.0268	0.3743 $\pm$ 0.0194	0.3830 $\pm$ 0.0253	0.3785 $\pm$ 0.0303	0.3851 $\pm$ 0.0252	0.3873 $\pm$ 0.0141	0.4130 $\pm$ 0.0076
Heart (g)	0.9312 $\pm$ 0.1290	1.1374 $\pm$ 0.3397	0.9219 $\pm$ 0.0714	0.9099 $\pm$ 0.0721	0.7369 $\pm$ 0.0366	0.7494 $\pm$ 0.0960	0.7545 $\pm$ 0.1121	0.8703 $\pm$ 0.3242
Per body weight (%)	0.3961 $\pm$ 0.0455	0.4897 $\pm$ 0.1708	0.3920 $\pm$ 0.0302	0.3940 $\pm$ 0.0253	0.4559 $\pm$ 0.0313	0.4533 $\pm$ 0.0515	0.4589 $\pm$ 0.0752	0.5292 $\pm$ 0.1911
Lung (g)	1.2445 $\pm$ 0.1700	1.2548 $\pm$ 0.0504	1.2226 $\pm$ 0.0665	1.1219 $\pm$ 0.0360*	0.9534 $\pm$ 0.0599	0.9982 $\pm$ 0.0738	0.9793 $\pm$ 0.0684	0.9793 $\pm$ 0.0327
Per body weight (%)	0.5271 $\pm$ 0.0283	0.5350 $\pm$ 0.0192	0.5197 $\pm$ 0.0258	0.4863 $\pm$ 0.0187	0.5887 $\pm$ 0.0220	0.6043 $\pm$ 0.0389	0.5937 $\pm$ 0.0255	0.5969 $\pm$ 0.0198
Brain (g)	1.6996 $\pm$ 0.0633	1.6628 $\pm$ 0.0572	1.7655 $\pm$ 0.0419	1.6512 $\pm$ 0.0310	1.5793 $\pm$ 0.0741	1.6054 $\pm$ 0.0178	1.6171 $\pm$ 0.0464	1.5885 $\pm$ 0.0774
Per body weight (%)	0.7256 $\pm$ 0.0504	0.7089 $\pm$ 0.0129	0.7506 $\pm$ 0.0160	0.7157 $\pm$ 0.0179	0.9774 $\pm$ 0.0722	0.9727 $\pm$ 0.0284	0.9824 $\pm$ 0.0524	0.9688 $\pm$ 0.0592
Liver (g)	8.1264 $\pm$ 1.0369	8.5430 $\pm$ 0.9624	7.9063 $\pm$ 0.5933	7.7411 $\pm$ 0.3469	4.9094 $\pm$ 0.2809	4.9890 $\pm$ 0.2737	5.1167 $\pm$ 0.4207	5.2922 $\pm$ 0.2795
Per body weight (%)	3.4598 $\pm$ 0.3911	3.6341 $\pm$ 0.2757	3.3567 $\pm$ 0.1485	3.3553 $\pm$ 0.1579	3.0309 $\pm$ 0.0597	3.0200 $\pm$ 0.1057	3.1019 $\pm$ 0.1857	3.2257 $\pm$ 0.1643
No. of rats examined	5	5	5	5	5	5	5	5

<sup>a</sup>The body weights were measured immediately before necropsy after overnight fasting. Values are expressed as the mean  $\pm$  S.D. \* $p < 0.05$  and \*\* $p < 0.01$  vs. control group.

## IV. 고찰 및 결론

본 연구에서는 HT042를 반복 투여 하였을 때 나타나는 개략적인 독성을 확인하기 위하여 Sprague-Dawley계 암수 흰쥐에 500, 1,000 및 2,000 mg/kg/day 용량으로 14일간 경구 투여한 후 사망률, 일반증상, 체중 및 사료섭취량 변화, 혈액 및 혈액생화학적 변화, 부검소견, 장기중량 변화를 관찰하였다.

시험기간 중 암수 모든 군에서 사망례는 없었으며 HT042 투여에 의한 일반증상의 변화 역시 관찰되지 않았다. 체중 및 사료섭취량 변화, 혈액생화학적 검사에서의 이상 또한 나타나지 않았다.

혈액학적 소견에서 1,000 mg/kg/day 투여군 수컷의 hemoglobin 및 hematocrit 수치가 대조군에 비하여 통계학적으로 유의성 있게 낮았으나 용량상관성이 없고 정상범위 이내의 변화이기에 독성학적으로 의미 있는 변화가 아닌 것으로 판단된다.

장기중량 측정결과 2,000 mg/kg/day 투여군 수컷에서 전립샘(prostate gland)의 절대 및 상대중량이 대조군에 비하여 높게 관찰되었으나, 고환 및 부고환의 중량 등 관련 항목에서 유의한 변화를 동반하지 않아 독성학적인 변화는 아닌 것으로 추정된다. 2,000 mg/kg/day 투여군 수컷에서 폐의 절대중량 감소가 나타났으나 대조군 대비 현저하지 않았고 호흡과 관련된 일반증상이 관찰되지 않았다. 2,000 mg/kg/day 투여군 암컷에서 우측 신장의 절대중량 증가가 나타났으나 BUN, creatinine, IP 등 관련 지표에서 유의한 변화가 동반 관찰되지 않았다. 또한 폐와 신장의 변화는 절대중량에서만 확인되었고 성별상관성이 없었다. 따라서 폐와 신장의 변화는 독성학적으로 의미 있는 변화가 아닌 것으로 판단된다.

부검에서 관찰된 소견들은 모두 용량상관성 없이 낮은 빈도로 관찰되어 HT042 투여에 의한 변화는 아닌 것으로 판단된다.

이상의 결과로 보아, 본 시험의 조건 하에서 HT042는 암수 흰쥐에 14일간 반복 경구투여 하였을 때 2,000 mg/kg/day 까지의 용량에서 독성을 유발하지 않는 것으로 판단된다.

## 참고문헌

1. Kim MY, Park Y, Pandit NR, Kim J, Song M, Park J, Choi HY, Kim H. The herbal formula HT042 induces longitudinal bone growth in adolescent female rats. *Journal of Medicinal Food*. 2010 ; 13 : 1376-84.
2. Kim MY, Kim JY, Lim D, Lee D, Kim Y, Chang GT, Choi HY, Kim H. Skeletal growth and IGF levels in rats after HT042 treatment. *Phytotherapy Research*. 2012 ; 26 : 1771-8.
3. Kim JY, Song M, Lee D, Song J, Park SW, Park J, Park S, Choi HY, Kim H. Effect of HT042, herbal formula, on longitudinal bone growth in spontaneous dwarf rats. *Molecules*. 2013 ; 18 : 13271-82.
4. The textbook compilation committee of Korean herbology. *Korean herbology*. Seoul : Younglimsa,

2011 : 578, 733.

5. Editorial Board of Zhong Hua Ben Cao. *Zhong Hua Ben Cao*. Shanghai : Shanghai Science and Technology Press. 1999 ; vol. 7 : 128
6. Heo J. *Donguibogam*. Seoul : Bubin Books. 2007 : 1961-3, 2009.
7. World Health Organization. *WHO monographs on selected medicinal plants*. Geneva : World Health Organization. 1999 ; vol. 1 : 55
8. *Astragalus membranaceus monograph*. *Alternative Medicine Review*. 2003 ; 8 : 72-7.
9. Committee on Herbal Medicinal Products. *Assessment report on Eleutherococcus senticosus (Rupr. et Maxim.) Maxim., radix*. European Medicines Agency. 2014 : 33
10. Che CT, Wang ZJ, Chow MS, Lam CW. Herb-herb combination for therapeutic enhancement and advancement: theory, practice and future perspectives. *Molecules*. 2013 ; 18 : 5125-41.