

## 상록 추출물의 F344 랫드에서 2주 반복 경구투여 독성평가

한형운<sup>1,2</sup> · 강명균<sup>2</sup> · 윤석주<sup>2</sup> · 석지현<sup>3</sup> · 김정아<sup>4</sup> · 김태원<sup>1\*</sup> · 민병선<sup>5\*</sup>

<sup>1</sup>충남대학교 수의과대학, <sup>2</sup>안전성평가연구소, <sup>3</sup>식품의약품안전처 독성연구과,  
<sup>4</sup>경북대학교 약학대학, <sup>5</sup>대구가톨릭대학교 약학대학

### Toxicity Assessment of Phytolaccae Radix Aqueous Extract Orally Administered to F344 Rats for Two Consecutive Weeks

Hyoung-Yun Han<sup>1,2</sup>, Myung-Gyun Kang<sup>2</sup>, Seokjoo Yoon<sup>2</sup>, Ji-Hyeon Seok<sup>3</sup>,  
Jeong Ah Kim<sup>4</sup>, Tae-Won Kim<sup>1\*</sup> and Byung Sun Min<sup>5\*</sup>

<sup>1</sup>College of Veterinary Medicine, Chungnam National University, 99 Daehak-ro, Yuseong-gu, Daejeon, 34134, Korea

<sup>2</sup>Korea Institute of Toxicology, 141 Gajeong-ro, Yuseong-gu, Daejeon, 34114, Korea

<sup>3</sup>Toxicological Research Division, Toxicological Evaluation and Research Department, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Chungcheongbuk-do 28159, Korea

<sup>4</sup>College of Pharmacy, Research Institute of Pharmaceutical Sciences, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea

<sup>5</sup>College of Pharmacy, Drug Research and Development Center, Daegu Catholic University, Gyeongsangbuk-do, 38430, Korea

**Abstract** – Phytolaccae Radix has long been used as a traditional indigenous medicine to cure edema and rheumatism. However, there is insufficient background information on toxicological evaluation of Phytolaccae Radix extract to support the safe use. Therefore, we conducted a series of standardized, OECD and KFDA guidelines compliant in vivo study, to find a dose levels for the 13 weeks toxicity study. The extract of Phytolaccae Radix was administered orally to F344 rats at dose levels of 0, 500, 1000 and 2000 mg/kg/day for 2 weeks. Each group was composed to five male and five female rats. In the result, there were no test article-related adverse changes in clinical signs, body weight, food consumption, ophthalmology, hematology, clinical chemistry, gross finding at necropsy and organ weight examination. Therefore, we recommend that 2000 mg/kg/day is a highest treatment group in 13-week exposure study.

**Keywords** – Phytolaccae Radix, Rats, Toxicity, Dose

생약재는 전통적으로 아시아권의 한국, 중국, 일본 등에서 여러 가지 질병을 치료하거나 예방하는 목적으로 사용되어 왔다. 최근에는 미국, 독일, 프랑스 등을 포함한 전 세계적으로 생약재를 포함하는 천연물을 이용한 고부가 가치 식품 및 의약품 개발이 활발하게 시도되고 있으며 소비도 증가하고 있다.<sup>1-3)</sup> 따라서, 전 세계적으로 천연물의 활성 성분 및 약효를 평가하기 위하여 여러 가지 분석기법을 천연물 연구에 도입하였다. 이러한 연구를 통해서 얻어진 결과를 바탕으로 천연물 신약으로서 개발되고 있으며, 다양한 식품 및 건강기능식품 등으로 유통되어 지고 있다. 현재 우리나라에서는 전통의약의 활용을 촉진하기 위하여 천연물

신약연구촉진법(2001년) 및 한의약육성법(2004년)을 제정하고 천연물과 생약재를 이용한 신약개발에 많은 지원을 기울이고 있다. 하지만, 생약재는 전통적인 사용경험을 바탕으로 사용되어지는 면이 많으며, 여러 성분들이 복합적으로 함유되어 있어서 각 성분과의 상호작용에 대해서 알려져 있지 않은 경우가 많다. 사용 증가와 활발한 활성연구에 비해 현재까지 독성 및 안전성 등의 부작용에 대해서도 체계적으로 연구되지 않고 있다. 현재 대한약전 및 약전외생약(한약)규격집에는 총 515종의 한약재가 수재되어 관리되고 있으나 이들의 인체에 대한 안전성 연구는 매우 미흡한 실정이다.<sup>4)</sup>

상록(Phytolaccae Radix)은 자리공(*Phytolacca esculentum* Van Houtte) 또는 미국자리공(*P. americana* Linne)의 뿌리를 건조시켜 신경통 치료 및 이뇨제로 이용되었고, 한방에

\*교신저자(E-mail): taewonkim@cnu.ac.kr, bsmin@cu.ac.kr  
(Tel): +82-42-821-6759, +82-53-850-3613

서는 중기를 완화시키거나 부중에 사용되었으나 민간에서 구황식물로 뿌리를 사용하는데 다량복용 시 심장독성, 저혈압, 장항진 운동에 의한 설사 및 신부전등의 보고가 있다.<sup>5)</sup>

본 연구는 상록 추출물의 2주간 반복 경구투여에 의한 독성을 확인하고 13주 반복투여 독성시험을 위한 투여용량 설정을 조사하기 위하여 F344 랫드에 군당 암수 각각 3마리씩에 0(부형제 대조군), 500, 1000 및 2000 mg/kg/day으로 2주간, 1일 1회, 주 7회씩 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

**상록 추출물 제조 및 지표성분 분석** - 상록의 표준 생약재를 선별하기 위하여 생약감별은 충남대학교 배기환 명예교수와 대구가톨릭대학교 민병선 교수의 감별을 거쳐 시중에 유통되는 생약재를 대상으로 대한약전 및 생약규격집을 근거로 선별하여 실험에 사용하였다. 선별된 생약재는 대구가톨릭대학교 약학대학 표본실에 보관되어 있다(상록, CUD-3172-1). 식약처 고시 2003-17, 안전성유효성심사규정(2003)에 준한 표준탕액 제조법에 따라 독성시험에 사용할 상록 추출물의 양은 추출효율에 따라서 40 kg의 건조 생약을 구입하고, 생약 10배의 정제수를 가하고 가열하여 물의 양이 반으로 줄어들 때까지 끓인 후 바로 1차 여과를 실시하였다. 그 후 여과액을 식을 때까지 정치한 다음 다시 2차 여과하여 고형성분을 제거한 후, 동결건조기를 사용하여 건조된 생약 추출물 9.74 kg을 제조하였다.<sup>6)</sup> 냉동 건조한 상록에 증류수를 가하여 적당한 농도로 조제할 수 있도록 분말 상태로 만든 후, 본 연구에 사용하였다. 제공받은 상록 추출물은 유해 및 오염물질 분석에서 잔류농약(총 benzene hexachloride 0.2 mg/kg 이하, DDT 0.1 mg/kg 이하, 알드린, 앤드린 및 디엘드린 0.01 mg/kg 이하, 엔도설판 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 검출되지 않았다. 또한 상록 추출물은 실온과 냉장보관(약 5°C)에서 6개월간 안정한 것으로 확인되었다.<sup>7)</sup>

상록의 주요한 성분으로 saponin, phytolaccoside A, B, C, D, E, jaligonic acid, esculenic acid 및 phytolaccagenin 등이 알려져 있으며,<sup>8-10)</sup> 본 연구에서는 phytolaccoside B, phytolaccoside E 및 phytolaccoside I을 지표성분으로 하여 HPLC(high performance liquid chromatography)를 이용하여 측정하였다. 상록 추출물의 지표물질 phytolaccoside B, phytolaccoside E 및 phytolaccoside I의 함량은 각각 0.75, 1.62 및 235.89 mg/g이었다. 본 연구에서는 상록 추출물을

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

**동물실험** - 오리엔트 바이오(경기도 성남시)로부터 특정 병원체부재(SPF) F344 암수 랫드를 각각 15마리씩 공급받아 독성시험에 사용하였다. F344 랫드는 약 6주령에 안전성평가연구소의 동물실에 입수하여 9일간의 순화기간을 거친 후 건강한 동물만 본 시험에 사용하였다. 순화기간 후 암수 각각 12마리의 동물을 Path/Tox system(Version 4.2.2, Xybio Medical Systems Corporation, USA)을 이용하여 순화기간 후에 측정된 체중에 따라 각 군당 암수 3마리씩 4개의 군으로 지정하였다. 투여 개시시 동물의 체중은 각각 수컷 112.2~118.6 g 그리고 암컷 85.6~98.2 g이었다. 실험동물실은 온도 23±3°C, 상대습도 50±10%, 조명시간 12시간(08:00점등-20:00 소등), 환기횟수 10~20 회/시간 및 조도 150~300 Lux로 설정되어 유지되었다. 동물은 시험기간 중에 3마리이하로 스테인레스제 방사육상자(255 W×465 L×200 H mm)에 수용하였다. 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 제2005-60호(2005년 10월 21일) '의약품 등의 독성시험기준'에 준하여 본 시험은 실시되었다.

**투여 및 시험항목** - 상록 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 및 2000 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 및 채혈 전 약 17시간 동안 절식을 실시하였다. 동물은 isoflurane을 이용하여 마취된 상태에서 개복하여, 후대 정맥(vena cava)에서 혈액학 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(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 혈액샘플은 3.2% sodium citrate로 처리하여 혈액응고분석기(ACL 9000, Instrumental Laboratory, Italy)를 이용하여 프로트롬빈 시간(PT) 및 활성화 부분트롬보플라스틴 시간(APTT)을 측정하였다. 그리고 혈액생화학 검사를 위한 혈액샘플은 실온에서 약 90분간 방치한 후 원

심분리(3000 rpm, 10분)하였다. 원심분리하여 획득한 혈청을 자동분석장치(Toshiba 200FR NEO, Toshiba Co., Japan)를 이용하여 ALT, AST, ALP, 크레아티닌산화효소(CK), 당(GLU), 총단백(TP), 알부민(ALB), albumin/globulin ratio(A/G), 요소질소(BUN), 크레아티닌(CREA), 중성지방(TG), 인지질(phospholipid, PL), 총콜레스테롤(TCHO) 및 총 빌리루빈(TBIL)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,

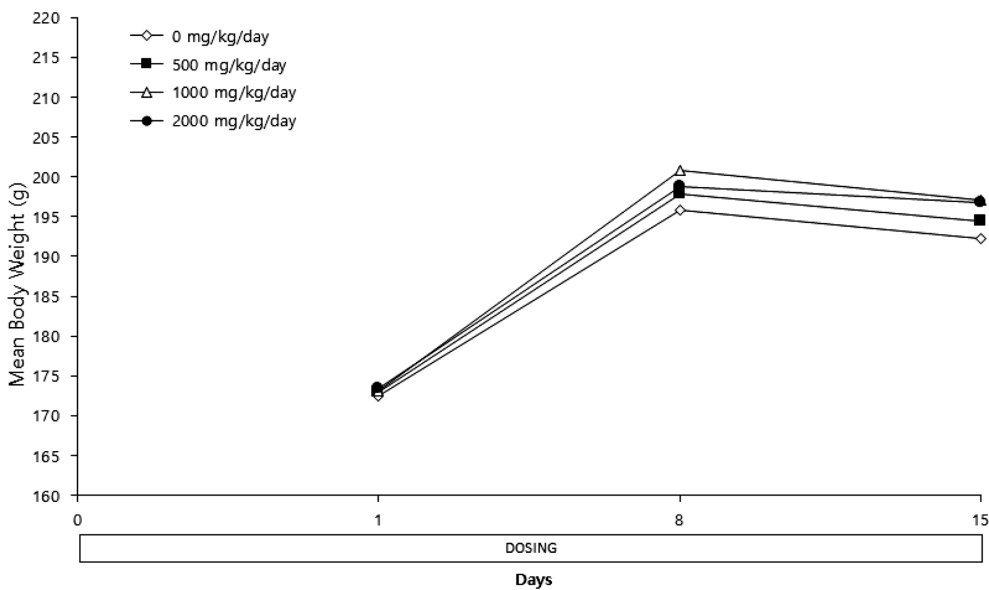


Fig. 1. Changes in body weights of male rats treated orally with Phytolacca Radix.

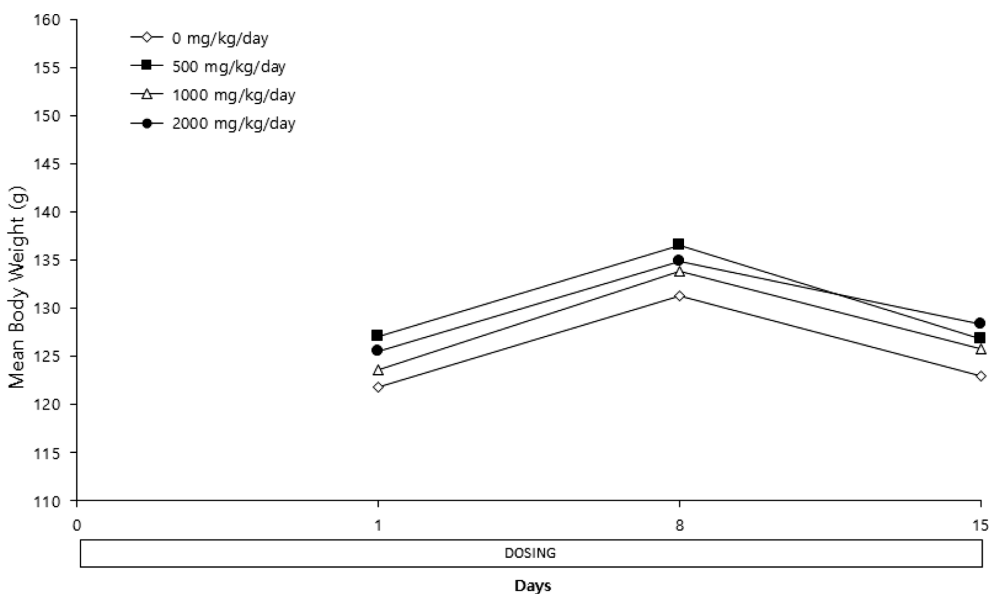


Fig. 2. Changes in body weights of female rats treated orally with Phytolacca Radix.

폐, 타액선, 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

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. Bartlett법에

**Table I.** Hematological values of rats treated orally with *Phytolacca Radix*

Group		G1	G2	G3	G4
Dose (mg/kg/day)		0	500	1000	2000
<b>Males</b>					
WBC	$\times 10^3/\mu\text{L}$	9.85 $\pm$ 0.474	10.01 $\pm$ 2.390	9.81 $\pm$ 0.810	10.32 $\pm$ 0.709
RBC	$\times 10^6/\mu\text{L}$	9.50 $\pm$ 0.354	9.19 $\pm$ 0.263	9.23 $\pm$ 0.411	9.23 $\pm$ 0.154
HGB	g/dL	16.4 $\pm$ 0.78	15.8 $\pm$ 0.52	15.9 $\pm$ 0.66	15.9 $\pm$ 0.26
HCT	%	49.6 $\pm$ 2.10	47.5 $\pm$ 1.45	48.2 $\pm$ 1.78	48.3 $\pm$ 0.67
MCV	fL	52.2 $\pm$ 0.45	51.8 $\pm$ 0.06	52.2 $\pm$ 0.42	52.3 $\pm$ 0.21
MCH	pg	17.2 $\pm$ 0.12	17.2 $\pm$ 0.10	17.2 $\pm$ 0.10	17.2 $\pm$ 0.10
MCHC	g/dL	33.0 $\pm$ 0.31	33.2 $\pm$ 0.21	33.0 $\pm$ 0.15	32.9 $\pm$ 0.15
PLT	$\times 10^3/\mu\text{L}$	1002 $\pm$ 117.6	999 $\pm$ 32.8	992 $\pm$ 41.4	1010 $\pm$ 24.0
RET%	%	2.6 $\pm$ 0.12	2.5 $\pm$ 0.06	2.7 $\pm$ 0.15	2.8 $\pm$ 0.10
NEU%	%	20.50 $\pm$ 0.954	22.80 $\pm$ 6.736	20.33 $\pm$ 3.086	20.37 $\pm$ 2.346
LYM%	%	72.3 $\pm$ 1.40	71.5 $\pm$ 7.42	73.6 $\pm$ 3.00	72.8 $\pm$ 2.86
EOS%	%	0.9 $\pm$ 0.15	0.8 $\pm$ 0.20	0.6 $\pm$ 0.06	0.9 $\pm$ 0.06
MON%	%	3.9 $\pm$ 1.18	3.0 $\pm$ 0.87	3.4 $\pm$ 0.35	3.9 $\pm$ 0.69
BAS%	%	1.5 $\pm$ 0.30	1.2 $\pm$ 0.26	1.4 $\pm$ 0.64	1.3 $\pm$ 0.31
LUC%	%	0.9 $\pm$ 0.20	0.8 $\pm$ 0.44	0.7 $\pm$ 0.10	0.9 $\pm$ 0.31
PT	sec	14.7 $\pm$ 0.15	14.1 $\pm$ 0.20	14.6 $\pm$ 0.23	14.6 $\pm$ 0.40
APTT	sec	18.2 $\pm$ 1.10	18.2 $\pm$ 0.89	18.4 $\pm$ 0.64	18.3 $\pm$ 0.64
<b>Females</b>					
WBC	$\times 10^3/\mu\text{L}$	8.61 $\pm$ 0.535	8.97 $\pm$ 0.348	8.81 $\pm$ 0.482	9.42 $\pm$ 0.588
RBC	$\times 10^6/\mu\text{L}$	9.27 $\pm$ 0.129	9.46 $\pm$ 0.372	9.24 $\pm$ 0.127	9.24 $\pm$ 0.201
HGB	g/dL	16.3 $\pm$ 0.17	16.7 $\pm$ 0.75	16.3 $\pm$ 0.20	16.3 $\pm$ 0.30
HCT	%	47.3 $\pm$ 0.38	48.6 $\pm$ 1.75	47.4 $\pm$ 0.50	47.5 $\pm$ 1.00
MCV	fL	51.0 $\pm$ 0.55	51.3 $\pm$ 0.25	51.3 $\pm$ 0.49	51.5 $\pm$ 0.47
MCH	pg	17.6 $\pm$ 0.10	17.6 $\pm$ 0.15	17.7 $\pm$ 0.06	17.6 $\pm$ 0.10
MCHC	g/dL	34.4 $\pm$ 0.23	34.3 $\pm$ 0.21	34.4 $\pm$ 0.36	34.2 $\pm$ 0.31
PLT	$\times 10^3/\mu\text{L}$	952 $\pm$ 13.7	974 $\pm$ 2.1	936 $\pm$ 42.9	938 $\pm$ 69.0
RET%	%	2.0 $\pm$ 0.10	2.1 $\pm$ 0.12	2.2 $\pm$ 0.15	2.2 $\pm$ 0.17
NEU%	%	14.63 $\pm$ 4.734	15.87 $\pm$ 2.774	14.60 $\pm$ 1.400	14.40 $\pm$ 3.799
LYM%	%	79.1 $\pm$ 4.89	76.5 $\pm$ 3.24	77.8 $\pm$ 1.42	78.3 $\pm$ 4.81
EOS%	%	1.1 $\pm$ 0.15	1.1 $\pm$ 0.12	0.8 $\pm$ 0.12	1.2 $\pm$ 0.84
MON%	%	3.2 $\pm$ 0.45	3.7 $\pm$ 0.64	4.5 $\pm$ 0.10	3.7 $\pm$ 0.68
BAS%	%	1.2 $\pm$ 0.17	1.8 $\pm$ 0.15	1.3 $\pm$ 0.20	1.3 $\pm$ 0.32
LUC%	%	0.8 $\pm$ 0.06	1.0 $\pm$ 0.06	1.0 $\pm$ 0.31	1.1 $\pm$ 0.10
PT	sec	14.8 $\pm$ 0.06	15.4 $\pm$ 1.12	14.6 $\pm$ 0.30	16.1 $\pm$ 1.57
APTT	sec	16.3 $\pm$ 0.42	17.2 $\pm$ 4.13	16.3 $\pm$ 0.20	17.0 $\pm$ 0.42

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

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

서 유의성이 인정된 경우에는 부등분산으로서 non-parametric 통계학적 방법에 이용되는 Kruskal-Wallis(H) 검정을 유의 수준  $\alpha=0.05$ 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, Xybion Medical Systems Corporation, USA)을 이용하여 실시하였다.

## 결과 및 고찰

상록 추출물을 이용한 2주간의 시험기간 동안에 시험물질 투여와 관련된 사망동물은 관찰되지 않았다. 또한 시험기간 동안에 일반증상 관찰에서도 시험물질 투여와 관련된 변화는 관찰되지 않았다. 시험기간 동안의 수컷 및 암컷 모든 용량에서 Day 15의 체중 및 증체량 감소(Fig. 1 및 2)가 관찰되었으나, 부검 전 절식에 따른 변화로 부형제 대조군에서도 같은 변화가 관찰되었으며 용량상관성도 관찰되지

**Table II.** Clinical chemical values of rats treated orally with Phytolaccae Radix

Group		G1	G2	G3	G4
Dose (mg/kg/day)		0	500	1000	2000
<b>Male</b>					
GLU	mg/dL	151.9±19.27	137.7±20.34	173.7±9.44	157.4±9.04
BUN	mg/dL	20.0±1.39	18.8±1.40	19.7±1.31	20.9±0.96
CREA	mg/dL	0.56±0.025	0.54±0.044	0.55±0.035	0.55±0.006
TP	g/dL	6.65±0.217	6.62±0.213	6.58±0.243	6.67±0.067
ALB	g/dL	4.51±0.131	4.47±0.085	4.46±0.101	4.47±0.035
A/G	ratio	2.11±0.026	2.09±0.087	2.10±0.098	2.03±0.025
TCHO	mg/dL	50.7±0.58	54.7±1.53	49.3±3.06	50.7±2.52
TG	mg/dL	64.5±3.57	67.7±9.05	70.1±14.21	74.9±15.73
PL	mg/dL	97±7.0	100±4.2	96±5.9	97±7.0
AST	IU/L	88.2±5.69	94.9±1.96	89.6±5.33	89.5±4.48
ALT	IU/L	36.2±1.87	36.7±0.21	38.8±3.20	38.0±2.07
TBIL	mg/dL	0.088±0.0023	0.085±0.0049	0.084±0.0074	0.087±0.0036
ALP	IU/L	665.1±13.52	650.5±31.97	661.0±14.28	703.5±48.24
CK	IU/L	653±80.5	782±88.4	621±37.8	626±29.0
<b>Female</b>					
GLU	mg/dL	116.7±6.55	119.1±12.14	118.7±6.93	122.2±17.22
BUN	mg/dL	20.5±1.99	22.4±0.80	21.2±0.60	21.3±3.61
CREA	mg/dL	0.52±0.021	0.46±0.031*	0.52±0.015	0.52±0.015
TP	g/dL	6.37±0.071	6.60±0.261	6.42±0.102	6.50±0.137
ALB	g/dL	4.43±0.038	4.54±0.059	4.44±0.056	4.44±0.061
A/G	ratio	2.30±0.121	2.22±0.208	2.25±0.025	2.16±0.110
TCHO	mg/dL	64.3±6.66	63.3±2.08	66.7±5.69	70.0±5.20
TG	mg/dL	49.6±9.10	56.4±4.22	53.3±13.01	57.7±14.65
PL	mg/dL	121±9.6	113±1.0	123±14.5	129±6.5
AST	IU/L	98.8±0.74	103.1±8.26	90.2±5.82	95.0±8.49
ALT	IU/L	33.9±1.50	39.0±3.21	32.4±4.62	37.0±5.24
TBIL	mg/dL	0.086±0.0042	0.088±0.0031	0.084±0.0020	0.088±0.0025
ALP	IU/L	504.4±31.13	598.4±44.54*	525.0±14.78	528.5±36.65
CK	IU/L	633±83.7	617±77.7	556±65.1	550±71.5

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

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

않았다. 따라서 Day 15에 관찰된 체중 및 증체량 감소는 시험물질 투여와는 관련되지 않은 변화로 판단된다.

혈액학 검사(Table I) 및 혈액생화학 검사(Table II)에서는 시험물질 투여와 관련된 변화는 관찰되지 않았다. 수컷 및 암컷 2000 mg/kg/day 용량에서 중성지방의 증가(수컷 1.16배, 암컷 1.16배)가 관찰되었다. 또한 암컷 500 mg/kg/day 용량에서 크레아티닌이 통계적으로 유의한 감소(0.88배) 및 ALP에서도 통계적으로 유의한 증가(1.19배)가 관찰되었다. 이러한 혈액생화학적 변화는 변화의 정도가 크지 않았으며, 용량상관성도 관찰되지 않았으므로 독성학적 의의는 없는 것

으로 판단되었다. 또한 F344 랫드를 이용한 다른 반복 독성 시험<sup>11-12)</sup> 및 F344 랫드의 참고 값(Charles River Laboratories Japan, Inc)의 범위에 비취했을 때 본 결과와 크게 차이가 나지 않았다. 따라서 혈액생화학 수치의 변화를 독성소견으로 판단하지 않았다.

부검소견 및 장기중량 측정(Table III 및 IV)에서 시험물질과 관련된 변화는 관찰되지 않았다. 암컷 2000 mg/kg/day 용량에서 부형제 대조군에 비해 통계적으로 유의한 흉선의 절대(1.24배) 및 상대(1.19배) 중량의 증가가 관찰되었다. 그러나 해당 장기의 육안적 부검소견에서 이와 연관된 소견

**Table III.** Absolute organ weights of rats treated orally with *Phytolacca Radix* (Unit: g)

Group Dose (mg/kg/day)	G1 0	G2 500	G3 1000	G4 2000
<b>Males</b>				
Brain	1.724±0.0538	1.785±0.0238	1.773±0.0300	1.816±0.0332
Pituitary gland	0.008±0.0017	0.009±0.0026	0.009±0.0012	0.007±0.0006
Liver	5.901±0.3401	5.794±0.4874	5.916±0.0992	5.933±0.1582
Spleen	0.472±0.0460	0.465±0.0319	0.462±0.0305	0.468±0.0225
Heart	0.742±0.0270	0.755±0.0710	0.778±0.0123	0.757±0.0221
Thymus	0.265±0.0316	0.261±0.0061	0.269±0.0082	0.286±0.0237
Salivary glands	0.318±0.0275	0.313±0.0275	0.323±0.0164	0.328±0.0300
Seminal vesicle	0.536±0.0858	0.509±0.1420	0.376±0.0542	0.575±0.0583
Prostate	0.152±0.0188	0.120±0.0078	0.151±0.0246	0.145±0.0196
Kidneys	1.431±0.0819	1.394±0.0985	1.468±0.0284	1.498±0.0462
Adrenal glands	0.040±0.0078	0.038±0.0058	0.041±0.0015	0.039±0.0038
Testes	2.745±0.1391	2.766±0.1263	2.880±0.0130	2.807±0.0455
Epididymides	0.498±0.0555	0.505±0.0695	0.506±0.0324	0.494±0.0220
Lung	0.814±0.0695	0.777±0.0290	0.848±0.0786	0.842±0.0739
Thyroid/Parathy.	0.012±0.0006	0.013±0.0029	0.012±0.0031	0.013±0.0035
<b>Females</b>				
Brain	1.659±0.0287	1.666±0.0155	1.633±0.0797	1.655±0.0258
Pituitary gland	0.008±0.0025	0.009±0.0035	0.009±0.0015	0.009±0.0015
Liver	3.444±0.1194	3.654±0.1372	3.609±0.0466	3.617±0.0746
Spleen	0.334±0.0315	0.324±0.0184	0.339±0.0118	0.340±0.0135
Heart	0.531±0.0353	0.552±0.0021	0.544±0.0355	0.571±0.0329
Thymus	0.212±0.0196	0.227±0.0171	0.206±0.0025	0.262±0.0130+
Salivary glands	0.235±0.0105	0.258±0.0140	0.241±0.0042	0.241±0.0026
Kidneys	0.963±0.0564	1.043±0.0065	1.039±0.0376	1.006±0.0225
Adrenal glands	0.038±0.0029	0.043±0.0023	0.041±0.0021	0.038±0.0060
Ovaries	0.042±0.0060	0.045±0.0067	0.044±0.0064	0.053±0.0040
Lung	0.649±0.0452	0.716±0.0807	0.684±0.0569	0.665±0.0193
Thyroid/Parathyroid	0.009±0.0015	0.014±0.0032	0.010±0.0032	0.011±0.0015
Uterus/Cervix	0.299±0.0676	0.326±0.1247	0.412±0.2570	0.376±0.0824

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

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

**Table IV.** Relative organ weights of rats treated orally with *Phytolaccae Radix* (% body weight)

Unit: %

Group Dose (mg/kg/day)	G1 0	G2 500	G3 1000	G4 2000
<b>Males</b>				
Brain	0.896±0.0056	0.918±0.0159	0.900±0.0319	0.923±0.0120
Pituitary gland	0.004±0.0008	0.005±0.0012	0.004±0.0005	0.004±0.0003
Liver	3.067±0.0908	2.977±0.1902	3.001±0.0449	3.015±0.0237
Spleen	0.245±0.0191	0.239±0.0120	0.234±0.0198	0.238±0.0095
Heart	0.386±0.0038	0.388±0.0325	0.395±0.0135	0.385±0.0192
Thymus	0.138±0.0176	0.134±0.0016	0.137±0.0067	0.145±0.0085
Salivary glands	0.165±0.0089	0.161±0.0146	0.164±0.0113	0.167±0.0123
Seminal vesicle	0.278±0.0360	0.262±0.0748	0.190±0.0244	0.292±0.0328
Prostate	0.079±0.0071	0.062±0.0056	0.077±0.0130	0.074±0.0101
Kidneys	0.744±0.0211	0.716±0.0401	0.745±0.0145	0.761±0.0079
Adrenal glands	0.021±0.0039	0.020±0.0025	0.021±0.0009	0.020±0.0022
Testes	1.427±0.0248	1.423±0.0919	1.461±0.0269	1.427±0.0129
Epididymides	0.258±0.0212	0.260±0.0374	0.257±0.0205	0.251±0.0063
Lung	0.423±0.0218	0.399±0.0135	0.431±0.0457	0.428±0.0370
Thyroid/Parathy.	0.006±0.0004	0.007±0.0017	0.006±0.0017	0.007±0.0018
<b>Females</b>				
Brain	1.351±0.0485	1.314±0.0247	1.298±0.0509	1.291±0.0413
Pituitary gland	0.006±0.0018	0.007±0.0029	0.007±0.0012	0.007±0.0011
Liver	2.804±0.0439	2.881±0.0440	2.869±0.0101	2.820±0.0036
Spleen	0.272±0.0190	0.255±0.0080	0.269±0.0080	0.265±0.0156
Heart	0.432±0.0127	0.435±0.0097	0.432±0.0243	0.445±0.0346
Thymus	0.172±0.0089	0.179±0.0165	0.164±0.0035	0.204±0.0063*
Salivary glands	0.191±0.0057	0.204±0.0070	0.192±0.0027	0.188±0.0052
Kidneys	0.784±0.0132	0.823±0.0160	0.826±0.0276	0.785±0.0329
Adrenal glands	0.031±0.0018	0.034±0.0018	0.032±0.0020	0.030±0.0047
Ovaries	0.034±0.0048	0.036±0.0043	0.035±0.0047	0.041±0.0031
Lung	0.528±0.0283	0.564±0.0487	0.544±0.0426	0.519±0.0225
Thyroid/Parathyroid	0.007±0.0015	0.011±0.0028	0.008±0.0025	0.008±0.0013
Uterus/Cervix	0.242±0.0440	0.258±0.1039	0.329±0.2086	0.294±0.0700

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

이 관찰되지 않았고, 이와 관련 있는 혈액생화학 수치의 변화도 관찰되지 않아 시험물질 투여와는 무관한 변화인 것으로 판단하였다.

## 결 론

상록 추출물에 대한 효능을 포함한 약리작용 및 활성 성분은 많이 알려져 있다. 하지만, 독성정보 및 안전성에 대한 연구 결과는 찾아보기 어렵다. 따라서 본 연구는 상록 추

출물의 2주간 반복 경구투여에 의한 독성 및 추후에 진행되는 반복투여 독성시험을 위한 용량설정을 조사하기 위하여 F344 랫드에게 2주간 상록 추출물을 반복투여하고 독성시험을 진행하였다. 시험군은 총 4개의 군으로 0(부형제 대조군), 500, 1000 및 2000 mg/kg/day 용량으로 구성하였다. 2주간 상록 추출물을 반복 투여한 후 치사율, 일반증상, 체중, 사료섭취량, 안검사, 혈액학, 혈액생화학, 육안소견 및 장기 중량 측정을 실시하였다.

결론적으로 상록 추출물을 F344 랫드에 0, 500, 1000 및

2000 mg/kg/day의 용량으로 2주간 반복 경구 투여한 결과, 사망률, 일반증상, 체중변화, 사료섭취량, 안검사, 혈액학적 검사, 혈액생화학적검사, 부검소견 및 장기중량에 있어서 어떠한 독성소견도 유발하지 않는 것으로 판단되었다. 따라서 추후 진행되는 시험물질 상륙 추출물의 4주 또는 13주 반복독성시험에서 최고용량은 암수 2000 mg/kg/day 이상에서의 확인이 필요한 것으로 사료된다.

## 사 사

본 연구는 2009년도 식품의약품안전평가원 용역연구개발 과제의 연구개발비 지원(09162독관리540)에 의해 수행 되었으며 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

- Jiang, W. Y. (2005) Therapeutic wisdom in traditional Chinese medicine: a perspective from modern science. *Trends Pharmacol. Sci.* **26**: 558-563.
- Liu, S., Yi, L., Z. and Liang, Y. Z. (2008) Chinese medicine and separation science. *J. Sep. Sci.* **31**: 2113-2137.
- Zhang, J., Wider, B., Shang, H., Li, X. and Ernst, E. (2012) Quality of herbal medicines: Challenges and solutions. *Complementary Therapies in Medicine* **20**: 100-106.
- 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.
- Won, K. H., Im, C. N., Choi, W. R., Lee, S. H., Cho, Y. S., Choi, S. E. and Kang, S. S. (1998) A case of acute renal failure and other symptoms associated with Phytolacca Radix poisoning. *The Korean J. Nephrology* **17**: 644-648.
- Keum, J. H., Han, H. Y., Roh, H. S., Seok, J. H., Lee, J. K., Jeong, J. Y., 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 Phytolacca Radix for toxicity study. *Kor. J. Pharmacogn.* **44**: 135-140.
- 식품의약품안전처고시 2003-17, 안전성유효성심사규정.
- Ahmed, Z. F., Jenkins, G. L. and Zufall, C. J. (1949) A contribution to the chemistry and toxicology of the root of Phytolacca americana. *J. Am. Pharm. Assoc.* **38**: 443-448.
- Tang, W. and Eisenbrand, G. (1992) Chinese drugs of plant origin. Berlin: Springer-Verlag pp. 765-775.
- Stout, G. H., Malofsky, B. M. and Stout, V. F. (1964) Phytolaccagenin: a light atom X-ray structure proof using chemical information. *J. Am. Chem. Soc.* **86**: 957-958.
- Han, H. Y., Huh, J. I., Han, S. R., Kang, M. G., Yoon, S., Han, J. S., Lee, B. S., Kim, J. A., and Min, B. S. (2018) Assessing the safety of an Ephedrae Herba aqueous extract in rats: A repeat dose toxicity study. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **94**: 144-151.
- 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.

(2018. 3. 22 접수; 2018. 4. 23 심사; 2018. 5. 10 게재확정)