

Sprague-Dawley 랫드를 이용한 땃두릅나무 열수추출물 분말의 13주 반복 경구투여 독성에 관한 연구

유남호¹ · 권용수² · 천현수³ · 안규섭⁴ · 김혜진⁴ · 류현열⁴ · 이소민⁴ · 송경석⁴ · 박병준¹ · 김명조^{1*}
¹강원대학교 농업생명과학대학, ²강원대학교 약학대학, ³주에이치티오라이프, ⁴한국건설생활환경시험연구원

Thirteen Weeks Repeated Oral Dose Toxicity Study of *Oplopanax elatus* (Nakai) Nakai Hydrothermal Extract Powder in Sprague-Dawley Rats

Nam Ho Yoo¹, Yongsoo Kwon², Hyeon Soo Chun³, Kyu Sup An⁴, Hye Jin Kim⁴, Hyeon Yeol Ryu⁴,
So Min Lee⁴, Kyung Seuk Song⁴, Byung Jun Park¹ and Myong Jo Kim^{1*}

¹College of Agriculture and Life Science, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea

²College of Pharmacy, Kangwon National University, Chuncheon, 24341, Korea

³HtO Life Incorporated, Wanju 77243, Korea

⁴Korea Conformity Laboratories, Incheon 21999, Korea

Abstract – This study aimed to evaluate the safety of *Oplopanax elatus* (Nakai) Nakai hydrothermal extract powder. It was conducted using male and female Sprague-Dawley (SD) rats. The test group was established with dose of 500 (low-dosage group), 1,000 (medium- dosage group), and 2,000 (high- dosage group) mg/day. These are investigated that number of dead animals, general symptoms, weight changes, food consumption, ophthalmological examination, urinalysis, urine volume, hematological values, plasma coagulation time values, serum biochemical values, absolute organ weight, relative organ weight and histopathological finding during the experiment. As a result of the above, toxicological changes were not observed. Therefore, the non-toxic content of *Oplopanax elatus* (Nakai) Nakai hydrothermal extract powder is determined to be 2,000 mg/kg/day, and target organ was not observed.

Keywords – Dose, *Oplopanax elatus* (Nakai) Nakai, Oral, Rat, Toxicity

생활수준의 향상 및 의료기술의 발달로 점차 고령화가 이루어지고 있다. 고령화로 인해 증가하고 있는 질환 중 하나인 관절염은 관절 내 염증으로 인해 관절이 붓고 통증이 유발되는 질환이다. 하지만 현재까지 관절염에 관련된 의약품은 염증과 통증을 완화시키고 질병의 진행을 지연시키는 기능을 하게하는 것이 최선이다.¹⁾ 그러나 이러한 의약품들 중 일부는 잠재적 독성을 가지고 있어 장기간 복용하는 경우 건강에 치명적인 영향을 초래할 수 있다.²⁾ 따라서 독성 없이 염증에 의한 증상과 통증을 지속적으로 호전시키거나 완화를 할 수 있는 천연물 소재를 이용하여 장기간 복용을 해도 안전한 의약품을 개발해야 한다.³⁾

땃두릅나무(*Oplopanax elatus* Nakai)는 두릅나무과(*Araliacerae*)에 속하는 낙엽관목으로 원줄기는 긴 가시가

많고, 갈라지지 않으며, 줄기에 긴 가시가 많다. 높이는 2-3 m로 자란다.⁴⁾ 땃두릅나무의 주요 성분으로는 정유, flavonoid, polyacetylenes, saponins, anthraquinones 등 다양한 화합물이 함유되어 있으며,⁵⁾ 사전 연구를 통해 uracil, protocatechuic acid, syringin, adenosine, scoparone의 화합물을 분리해 내었다.⁶⁾ 따라서, 땃두릅 나무를 건강기능식품 및 식품으로써 활용하기 위해 독성 시험을 진행하였다. 본 실험의 목적은 땃두릅나무 열수 추출물 분말을 Sprague-Dawley(SD) 랫드에 13 주간 반복 경구 투여하였을 때 나타나는 독성 조사와 무독 성량(NOEL) 및 표적장기(target organ)를 알아보고자 수행하였다.

13 주 반복 경구투여 독성 시험은 식품의약품안전처 고시 제 2017-32 호(2017년 05월 01일) ‘비임상시험관리기준’,⁷⁾ 식품의약품안전처 고시 제 2017-71 호(2017년 08월 30일) ‘의약품 등의 독성 시험 기준’⁸⁾ 및 OECD Guideline for Testing of Chemicals No. 408 ‘Repeated Dose 90-day

*교신저자(E-mail): kimmjo@kangwon.ac.kr
(Tel): +82-33-250-6413

Oral Toxicity Study in Rodents'(Adopted 21st September, 1998)⁹⁾ 참고하여 실시하였다.

재료 및 방법

실험 재료 - 2012년도에 화악산에서 채집한 땃두릅 나무의 줄기는 강원대학교 약학대학 권용수교수가 감정하여 동정하였고, 강원대학교 약학대학 표본실(KNUPH-S-12-2)에 보관하고 있다.

시험물질 제조 - 채집한 땃두릅나무 줄기를 건조시킨 후 파쇄하여 distilled water에 85°C, 7시간 환류 추출하였다. 추출물을 filter paper(Whatman Co., Buckinghamshire, UK) grade 2로 여과한 후 동결 건조하여 분말화 하였다.

시험기관 - 한국 건설 생활 환경 시험 연구원(Seoul, Korea)은 GLP 기관으로써, 13주 반복 경구투여 독성시험을 진행하였다.

동물실험윤리규정의 준수 - 해당 시험은 본 시험기관 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호: IA18-00233)을 거쳐 수행되었다.

시험 동물 및 사육환경 - 13주 반복 경구투여 독성 시험에 사용된 랫드는 오리엔트바이오(Seongnam, Korea)에서 공급받았으며, SPF(Specific pathogen-free) SD (Sprague-Dawley)계 랫드를 사용했다. 암컷은 과거에 새끼를 낳은 적이 없고 현재 임신 중이지 않은 것을 사용하였다. 투여개시 시 6주령 암컷 40마리, 수컷 40마리를 사용하였다. 수컷의 체중 범위는 197.40~228.65 g, 암컷의 체중 범위는 149.98~185.25 g이었다. 투여 전날에 체중을 측정하였고, excel program을 사용하여 순위화를 한 체중으로 군 분리를 실시하였다. 평균체중의 $\pm 20\%$ 범위 내에 속하는 동물만을 시험에 사용하였다.

사육 환경은 스테인레스제 망사육상자(250W×350L×180H mm)에 검역, 순화, 투여 및 관찰기간 동안 2마리 이하로 수용하였다. 사육 환경 온도는 22.4±0.6°C, 상대습도 52.6±4.7% RH, 조도 281 Lux, 소음 53.6 dB로 유지하였으며, 환기 횟수 10~15회/hr, 형광등 조명 08:00 점등~20:00 소등, 암모니아 농도 5 ppm 이하로 유지되었다. 사료(Teklad Certified Irradiated Global 18% Protein Rodent Diet, Envigo, USA)는 두얼바이오텍(Seoul, Korea)으로부터 공급 받았으며, 급이기에 넣고 자유 섭취시켰다. 사료생산자로부터 공급된 자료를 참고하여 오염물질의 검사를 확인하였다. 국가공인 검사기관에서 검사한 자료를 참고하여 오염물질의 검사가 완료된 정수된 음용 상수도 물은 폴리카보네이트제 물병에 넣고 자유 섭취시켰다.

시험물질 및 투여 - 가장 최근에 측정된 체중을 기준으로 10 ml/kg으로 투여량을 계산하여 13주 동안 7일/주, 1회/일 매일 오전 중에 투여하였다. 경구투여, 시험 동물의 두

경 배부 피부를 잡아 보정한 후 경구투여용 존대를 주사기에 장착 후 임상예정 경로로 강제 경구투여 하였다. 본 시험에서는 2,000 mg/kg을 고용량군으로 설정하고 공비를 2로 두어 중용량군 및 저용량군을 설정하였다. 또한 부형제만을 투여하는 부형제 대조군을 두었다.

일반증상관찰 - 1일 1회 투여 직후에 사망여부, 증상의 종류와 이에 따른 발현일 및 증상의 정도를 개체 별로 관찰하였다.

체중측정 - 입수, 군 분리, 투여개시, 투여 후 주 1회 및 부검 일에 측정하였다.

사료섭취량 측정 - 투여개시 및 주 1회에 측정하였다. 체중측정일 전날 사료급여량 및 체중측정일 당일에 잔량을 확인하여 1일간의 사료섭취량을 측정하여 마리 당 평균섭취량(g/rat/day)으로 산출하였다.

안검사 - 안검사는 투여 마지막 주에 시험군당 암·수 각 5 마리의 양안을 검사하였다. 산동제(1% Mydriacyl, Alcon, TX, USA)를 점적하여 동공을 확장시킨 후 안저사진기(GENESIS-D, Kowa Co. Ltd., Chuo-ku, Japan)를 사용하여 눈의 안저부위를 관찰하였다.

임상병리검사 - 채뇨, 채혈, 요 검사, 혈액학적 검사, 혈액 응고시간 검사 및 혈액생화학적 검사¹⁰⁾를 하였다.

첫 번째로 채뇨는 투여 마지막 주에 대사케이지에 시험군당 암·수 각 5 마리의 동물을 수용하여 신선뇨를 채집한 후 요 검사를 실시하였다. 요량은 약 24시간 동안 채집한 양을 측정하였다.

두 번째로, 채혈은 모든 동물에 대하여 실시하였다. 계획 부검 동물을 하룻밤 절식한 후(단, 음수는 제공) 부검당일 동물을 isoflurane으로 흡입마취하고 마취가 확인되면 개복하여 후대동맥으로부터 채혈을 실시하였다. 채혈한 혈액은 EDTA-K2 tube(BD, Microtainer, NJ, USA), 3.2% sodium citrate tube(Vacurette, Greiner bioone, Kremsmünster, Austria), serum separating tube(Insepack, Sekisui Tokyo, Japan)에 넣어 검사에 사용하였다.

세 번째로, 요 검사는 채집한 신선뇨를 요검사용 시험지(Multistix 10SG, SIEMENS, Berlin, Germany)에 묻힌 후, 요자동분석장치(Clinitex Advantus, SIEMENS, Berlin, Germany)를 이용하여 측정하였으며, 측정 항목은 glucose, pH, bilirubin, protein, ketone body, urobilinogen, specific gravity, nitrite, occult blood, leukocyte이다. 요 침사 검사는 현미경을 이용하여 상피세포(epithelial cell), 원주(casts), 적혈구(erythrocyte) 및 백혈구(leukocyte)를 관찰하였으며, 색조는 육안적으로 관찰하였다.

네 번째로 혈액학적 검사는 EDTA-K2 tube의 전혈로 혈액 분석기(ADVIA 2120, SIEMENS, Berlin, Germany)를 이용하여 측정하였다. 검사항목은 WBC(White blood cell count), LUP(Percent of large unstained cell), NE(Neutrophil), RBC

(Red blood cell count), EO(Eosinophil), Hb(Hemoglobin conc.), BA(Basophil), RDW(Red cell distribution width), Ly(Lymphocyte), HCT(Hematocrit), MO(Monocyte), MCV (Mean corpuscular volume), LUC(Large unstained cells), MCH(Mean corpuscular hemoglobin), NEP(Percent of Neutrophil), MCHC(Mean corpuscular hemoglobin conc.), EOP(Percent of Eosinophil), Reti(Reticulocyte), BAP(Percent of Basophil), PLT(Platelet), LYP(Percent of Lymphocyte), MPV(Mean Platelet Volume), MOP(Percent of Monocyte)이다.

다섯 번째로, 혈액응고시간 검사는 3.2% sodium citrate tube의 혈액을 3,000 rpm, 10 분 원심 분리하여 얻어진 혈장으로 혈액응고시간 검사장치(ACL7000, Instrumentation Laboratory, MA, USA)를 이용하여 prothrombin time(PT) 및 active partial thromboplastin time(APTT)을 측정하였다.

마지막으로, 혈액생화학적 검사는 serum separating tube의 혈액을 3,000 rpm, 10분 원심분리하여 얻은 혈청으로 혈액생화학검사기(Hitachi7180, HITACHI, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. 검사항목은 AST(Aspartate aminotransferase), PRO(Total protein), ALT(Alanine aminotransferase), ALB(Albumin), GGT(Gamma(γ)-glutamyl transferase), A/G ratio, ALP(Alkaline phosphatase), LDH(Lactate dehydrogenase), BIL(Total bilirubin), CPK(Creatine phosphokinase), BUN(Blood urea nitrogen), Ca(Calcium), CRE(Creatinine), IP(Inorganic phosphorus), UA(Uric acid), Mg(Magnesium), GLU(Glucose), Na(Sodium), CHO(Total cholesterol), K (Potassium), TG(Triglyceride), Cl(Chloride)이다.

임상병리검사 부검 - 투여 종료 후에 대조 군과 모든 시험 물질 투여 군의 생존 동물에 대하여 최종계획부검을 실시하여 내부장기의 소견을 관찰하였다.

장기중량측정 - 투여 종료 후 부검 시 고환, 전립선, 난소, 자궁, 신장, 비장, 간, 흉선, 부신, 심장, 폐, 뇌, 뇌하수체의 장기를 적출하여 전자저울을 이용하여 측정하였다.

조직병리학적 검사 - 모든 시험 동물(부형제 대조 군과 고량 군)의 고정 장기에 대해 조직 표본을 제작하여 검경하였다. 또한 육안적 이상소견이 관찰된 조직(암컷 1,000 mg/kg/day 투여 군 1/10 레의 피부)에 대해서도 조직병리학적 검사를 실시하였다.

통계 - 부형제 대조 군과 시험 물질 투여 군간의 비교는 모수적인 다중 비교(parametric multiple comparison procedures) 혹은 비 모수적인 다중 비교(non-parametric multiple comparison procedures)를 사용하였고 $p < 0.05$ 인 경우에 통계학적으로 유의하다고 판정하였다. 발생률의 표기는 백분율로 나타내었다. 통계학적인 분석은 SPSS 12.0 K 프로그램(SPSS, Chicago, IL, USA)으로 실시하였다. 체중, 사료섭취량, 요량, 혈액학적 검사, 혈액응고시간 검사, 혈액

생화학적 검사, 장기중량은 일원배치 분산분석(one-way ANOVA test)을 통하여 군간 유의성을 확인하고 등분산을 검정하였다. 일원 배치 분산분석에서 유의성이 인정되고 등분산이 인정되면 Duncan test를, 등분산이 인정되지 않으면 Dunnett's T3-test를 사용하였다. 요 검사, 요 침사 검사 증상의 정도로 표시되어 있는 데이터를 척도 변환을 실시하여 카이제곱검정(chi-square test)을 실시하였다.

결 과

사망동물 및 일반증상 - 실험기간 동안 사망동물은 관찰되지 않았다. 2,000 mg/kg/day 투여 군의 수컷 6 레 및 암컷 1 레에서 투여 기간 후반부부터 종료 시(61~91 일제)까지 산발적/지속적으로 시험물질 투여직후 유연(salivation)이 관찰되었다. 암컷 1,000 mg/kg/day 투여 군에서 1 레(G3-69 번)에서는 투여 후 80~91 일제에 우측 어깨부위 피부에서 결절(nodule)이 관찰되었다. 그 외 기간 및 시험동물에서는 특이한 일반증상이 관찰되지 않았다.

체중변화 - 암·수 모든 시험 군에서 부형제 대조 군과 시험 물질 투여 군간 통계학적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았다(Fig. 1).

사료섭취량 - 실험기간 동안 암·수 부형제 대조 군과 시험 물질 투여 군간 통계학적으로 유의한 차이가 관찰되지 않았다(Fig. 2).

안검사 - 안검사를 실시한 암·수 모든 시험동물에서 이상소견은 관찰되지 않았다(Table I).

요 검사 - 요 검사 결과, Table II에서 확인할 수 있듯이 수컷 시험 군의 단백질(protein) 항목에서 군간 통계학적으로 유의한 차이가 관찰되었다($p < 0.05$). 그 외 요 검사(Table II), 요 침사(Table III) 및 요량 검사(Table IV) 결과, 암·수 모든 시험 군에서 시험 군 간 통계학적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

혈액학적 검사 - 암·수 모든 시험 군의 시험항목에서 부형제 대조 군과 시험 물질 투여 군간 통계학적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았다(Table V).

혈액응고시간 검사 - 암·수 모든 시험 군의 시험항목에서 부형제 대조 군과 시험 물질 투여 군간 통계학적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았다(Table VI).

혈액생화학적 검사 - 수컷 1,000 mg/kg/day 투여 군의 GGT(gamma(γ)-glutamyl transferase) 및 BIL(total bilirubin) 수치가 부형제 대조 군에 비하여 통계학적으로 유의하게 증가하였다($p < 0.05$). 그 외 암·수 모든 시험 군의 시험항목에서 부형제 대조 군과 시험 물질 투여 군간 통계학적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았다(Table VII).

부검 소견 - 계획 부검 결과, 암컷 1,000 mg/kg/day 투여 군 1 레(G3-69 번)의 우측 어깨부위 피부에서 종괴(mass,

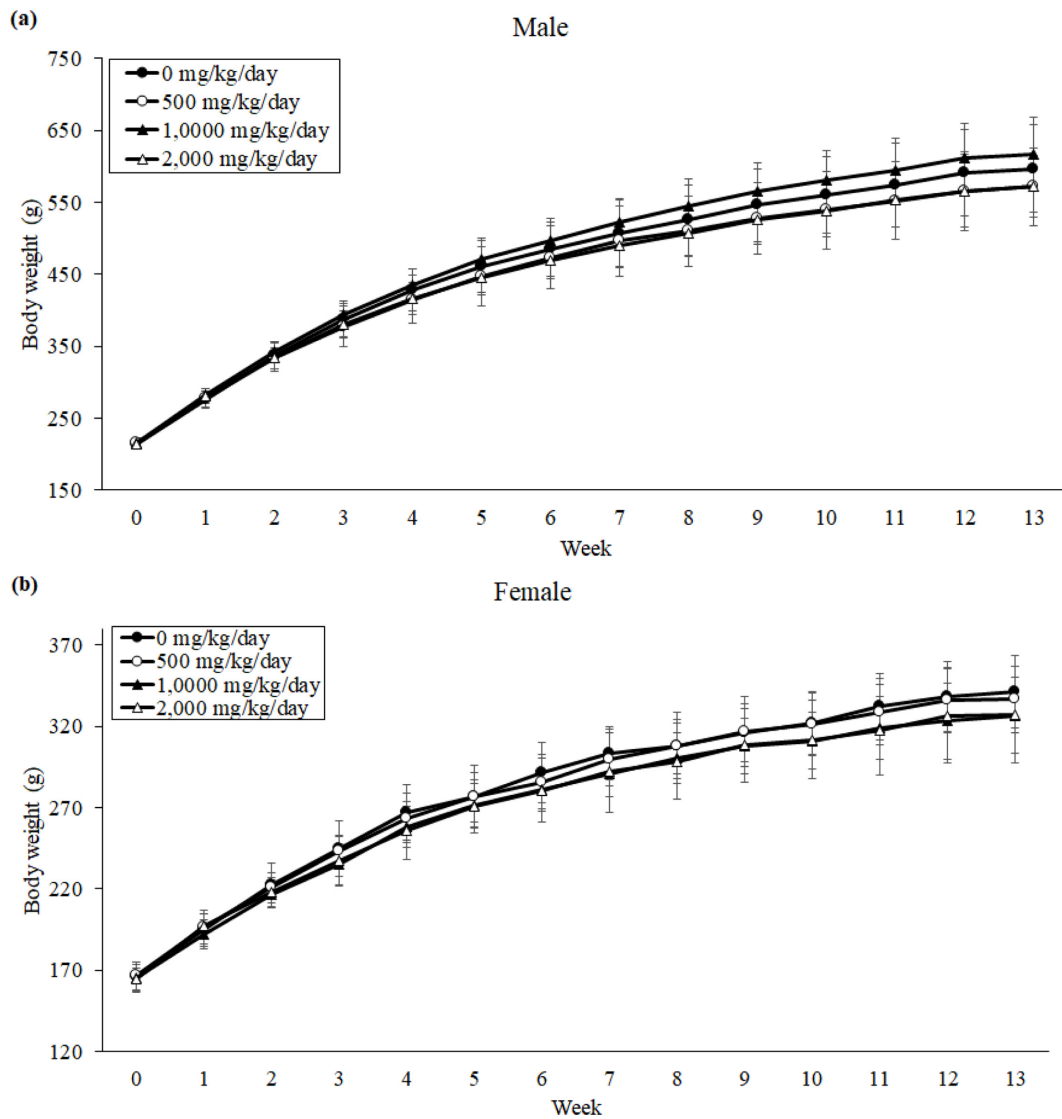


Fig. 1. Body weights of rats. (A) male, (B) female. Each Data is means \pm standard deviation of five replicate tests.

Table I. Ophthalmological examination of rat

		Sex: Male							
ORGANS	SIGNS	Group (mg/kg/day)							
		G1 (0)		G2 (500)		G3 (1,000)		G4 (2,000)	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Right eye	No abnormalities observed	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100
Left eye	No abnormalities observed	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100
		Sex: Female							
ORGANS	SIGNS	Group (mg/kg/day)							
		G1 (0)		G2 (500)		G3 (1,000)		G4 (2,000)	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Right eye	No abnormalities observed	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100
Left eye	No abnormalities observed	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100

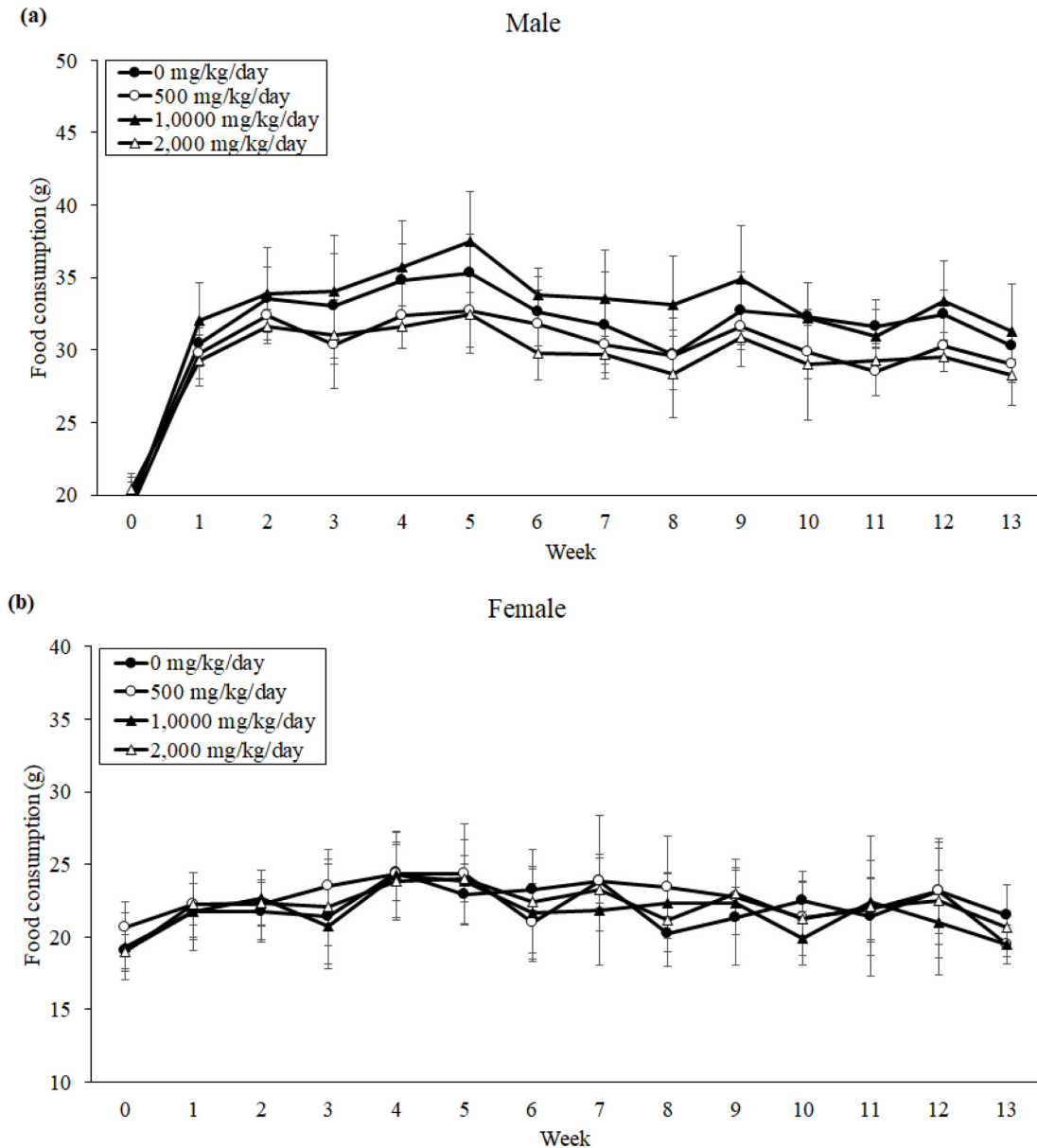


Fig. 2. Food consumption of rats. (A) male, (B) female. Each Data is means ± standard deviation of five replicate tests.

right shoulder)가 관찰되었다. 그 외 모든 생존동물에서 육안적 이상소견은 관찰되지 않았다(Table VIII).

장기 중량 - 절대장기중량 측정결과, 암컷 500, 1,000 및 2,000 mg/kg/day 투여 군의 뇌 중량과 암컷 1,000 mg/kg/day 투여 군의 좌·우측 신장 중량이 부형제 대조 군에 비하여 통계학적으로 유의하게 감소하였다($p < 0.05$). 상대장기중량 측정결과, 암컷 500 및 1,000 mg/kg/day 투여 군의 좌측 신장 및 암컷 1,000 mg/kg/day 투여 군의 우측 신장 중량이 유의하게 감소하였다($p < 0.01$). 그 외 암·수 모든 시험 군의 장기중량에서 부형제 대조 군과 시험 물질 투여 군간 통계학적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았다(Table IX).

조직병리학적 검사 시 부검 시 관찰된 육안 소견 - 암컷 1,000 mg/kg/day 투여 군 1 레에서 관찰된 우측 어깨부위 피부의 종괴는 유선 유래의 샘암종(adenocarcinoma, mammary gland origin)으로 확인되었다.

조직병리학적 검사 시 폐 - 암·수 부형제 대조군 및 2,000 mg/kg/day 투여 군의 폐에 대한 조직병리검사결과, 폐의 세기관지폐포에 국소성/다병소성의 염증세포침윤(cell infiltration, inflammatory, bronchioloalveolar, focal/multifocal) 소견이 수컷 부형제 대조군 및 2,000 mg/kg/day 투여 군에서 각각 4 레 및 5 레, 암컷 부형제 대조군 및 2,000 mg/kg/day 투여 군에서 각각 5 레 및 1 레 관찰되었다.

Table II. Urinalysis of rats

TEST ITEM		Male				Female			
		Group (mg/kg/day)							
		G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)	G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)
Glucose	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Bilirubin	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Ketone body	Negative	1 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	4 / 5	3 / 5	2 / 5	1 / 5
	Trace	3 / 5	0 / 5	2 / 5	2 / 5	1 / 5	2 / 5	3 / 5	3 / 5
	1+	1 / 5	5 / 5	3 / 5	3 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	1 / 5
Specific gravity	≤1.005	2 / 5	1 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5
	1.010	3 / 5	3 / 5	5 / 5	5 / 5	3 / 5	2 / 5	2 / 5	4 / 5
	1.015	1 / 5	1 / 5	0 / 5	0 / 5	1 / 5	1 / 5	3 / 5	1 / 5
	1.020	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	1 / 5	1 / 5	0 / 5	0 / 5
	1.025	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	1 / 5	0 / 5	0 / 5
Occult blood	Negative	3 / 5	4 / 5	4 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
	Trace	2 / 5	1 / 5	1 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5
pH	7.5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	2 / 5	0 / 5
	8.0	0 / 5	0 / 5	0 / 5	1 / 5	1 / 5	2 / 5	0 / 5	0 / 5
	8.5	4 / 5	4 / 5	5 / 5	4 / 5	4 / 5	2 / 5	3 / 5	4 / 5
	9.0	1 / 5	1 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	1 / 5	0 / 5	1 / 5
Protein*	Negative	3 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	4 / 5	2 / 5	4 / 5	1 / 5
	Trace	1 / 5	2 / 5	5 / 5	4 / 5	0 / 5	2 / 5	1 / 5	2 / 5
	1+	1 / 5	2 / 5	0 / 5	1 / 5	1 / 5	1 / 5	0 / 5	1 / 5
	2+	0 / 5	1 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5
	3+	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	1 / 5
Urobilinogen	0.2	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	4 / 5
	1.0	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	1 / 5
Nitrite	Negative	4 / 5	4 / 5	5 / 5	4 / 5	3 / 5	3 / 5	3 / 5	4 / 5
	Positive	1 / 5	1 / 5	0 / 5	1 / 5	2 / 5	2 / 5	2 / 5	1 / 5
Leukocyte	Negative	2 / 5	3 / 5	2 / 5	2 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	2 / 5
	Trace	3 / 5	2 / 5	2 / 5	3 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	2 / 5
	1+	0 / 5	0 / 5	1 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5
	2+	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	1 / 5
Color	Straw	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

Number of animals with the sign / Number of animals examined

*: Significant difference among groups, $p < 0.05$ **Table III.** Urine sediment of rats

TEST ITEM		Male				Female			
		Group (mg/kg/day)							
		G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)	G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)
RBC	0	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
WBC	0	5 / 5	5 / 5	4 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	4 / 5	5 / 5
	0 ~ 1	0 / 5	0 / 5	1 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	1 / 5	0 / 5
Epithelial cell	0	3 / 5	4 / 5	4 / 5	3 / 5	3 / 5	3 / 5	4 / 5	3 / 5
	0 ~ 1	2 / 5	1 / 5	1 / 5	2 / 5	2 / 5	2 / 5	1 / 5	1 / 5
	1 ~ 4	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	1 / 5
Casts	0	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

Number of animals with the sign / Number of animals examined

Table IV. Urine volume of rats

TEST ITEM	Male				Female			
	Group (mg/kg/day)							
	G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)	G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)
RBC	24 ± 10	15 ± 6	21 ± 7	24 ± 8	10 ± 6	14 ± 4	11 ± 3	15 ± 7

Each Data is means ± standard deviation of five replicate tests.

Table V. Hematological values of rats

TEST ITEM	Male				Female			
	Group (mg/kg/day)							
	G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)	G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)
WBC ¹ (K/μL)	8.40 ± 2.04	7.80 ± 2.50	7.89 ± 2.64	6.88 ± 1.54	4.67 ± 1.44	4.93 ± 1.08	4.40 ± 1.04	4.90 ± 0.99
NE ² (K/μL)	1.08 ± 0.42	1.11 ± 0.55	1.25 ± 0.62	0.80 ± 0.27	0.76 ± 0.31	0.62 ± 0.19	0.64 ± 0.24	0.56 ± 0.19
EO ³ (K/μL)	0.13 ± 0.07	0.11 ± 0.04	0.12 ± 0.05	0.08 ± 0.02	0.09 ± 0.02	0.08 ± 0.03	0.07 ± 0.03	0.07 ± 0.02
BA ⁴ (K/μL)	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
LY ⁵ (K/μL)	6.98 ± 1.78	6.39 ± 2.46	6.30 ± 1.93	5.87 ± 1.40	3.70 ± 1.27	4.06 ± 0.98	3.54 ± 0.94	4.11 ± 0.90
MO ⁶ (K/μL)	0.17 ± 0.05	0.16 ± 0.07	0.18 ± 0.10	0.11 ± 0.05	0.11 ± 0.04	0.14 ± 0.05	0.13 ± 0.05	0.14 ± 0.05
LUC ⁷ (K/μL)	0.04 ± 0.02	0.03 ± 0.03	0.05 ± 0.04	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.02	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01
NEP ⁸ (%)	12.8 ± 3.5	14.7 ± 6.6	15.3 ± 3.4	11.9 ± 3.8	16.6 ± 5.4	12.9 ± 4.3	15.0 ± 6.3	11.5 ± 3.4
EOP ⁹ (%)	1.5 ± 0.7	1.4 ± 0.5	1.5 ± 0.5	1.2 ± 0.5	2.0 ± 0.8	1.6 ± 0.6	1.7 ± 0.6	1.5 ± 0.6
BAP ¹⁰ (%)	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
LYP ¹¹ (%)	83.0 ± 3.9	81.3 ± 6.7	80.4 ± 3.2	85.0 ± 4.5	78.6 ± 6.0	82.2 ± 4.3	80.1 ± 6.3	83.7 ± 4.6
MOP ¹² (%)	2.1 ± 0.7	2.1 ± 1.0	2.2 ± 0.7	1.5 ± 0.5	2.3 ± 0.7	2.7 ± 0.8	2.8 ± 0.9	2.8 ± 1.0
LUP ¹³ (%)	0.5 ± 0.3	0.4 ± 0.3	0.6 ± 0.4	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.3	0.6 ± 0.3	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.2
RBC ¹⁴ (M/μL)	8.70 ± 0.32	8.47 ± 0.61	8.60 ± 0.32	8.70 ± 0.39	7.69 ± 0.37	7.66 ± 0.29	7.78 ± 0.48	7.78 ± 0.35
Hb ¹⁵ (g/dl)	15.5 ± 0.7	15.7 ± 0.6	15.7 ± 0.6	15.7 ± 0.6	15.0 ± 0.6	15.0 ± 0.4	15.0 ± 0.6	15.0 ± 0.7
RDW ¹⁶ (%)	13.2 ± 0.7	13.0 ± 0.7	13.0 ± 0.8	12.7 ± 0.8	11.1 ± 0.2	11.3 ± 0.3	11.4 ± 0.5	11.1 ± 0.5
HCT ¹⁷ (%)	46.7 ± 2.1	45.8 ± 3.3	46.4 ± 1.9	46.9 ± 1.6	42.9 ± 2.4	42.2 ± 0.9	43.3 ± 1.7	43.1 ± 2.3
MCV ¹⁸ (fL)	53.7 ± 1.7	54.1 ± 1.4	54.0 ± 1.2	53.9 ± 2.0	55.9 ± 1.2	55.2 ± 1.9	55.8 ± 2.0	55.3 ± 1.9
MCH ¹⁹ (pg)	17.8 ± 0.8	18.6 ± 1.0	18.2 ± 0.4	18.1 ± 0.8	19.5 ± 0.5	19.6 ± 0.7	19.3 ± 0.8	19.3 ± 0.8
MCHC ²⁰ (g/dl)	33.1 ± 0.6	34.5 ± 1.8	33.7 ± 0.5	33.5 ± 0.6	34.9 ± 0.8	35.4 ± 1.2	34.7 ± 0.5	34.9 ± 1.1
Reti ²¹ (%)	2.45 ± 0.43	2.12 ± 0.25	2.29 ± 0.34	2.17 ± 0.37	1.96 ± 0.43	2.20 ± 0.72	2.37 ± 0.96	2.01 ± 0.49
PLT ²² (K/μL)	1033 ± 123	1030 ± 159	1014 ± 62	973 ± 207	1042 ± 101	1044 ± 119	1080 ± 77	1066 ± 108
MPV ²³ (fL)	7.3 ± 0.6	7.1 ± 0.2	7.1 ± 0.4	7.0 ± 0.4	7.0 ± 0.5	6.9 ± 0.4	7.0 ± 0.3	6.7 ± 0.6

¹: White blood cell, ²: Neutrophil, ³: Eosinophil, ⁴: Basophil, ⁵: Lymphocyte, ⁶: Monocyte, ⁷: Large unstained cell, ⁸: Percent of neutrophil, ⁹: Percent of eosinophil, ¹⁰: Percent of basophil, ¹¹: Percent of lymphocyte, ¹²: Percent of monocyte, ¹³: Percent of large unstained cell, ¹⁴: Red blood cell, ¹⁵: Hemoglobin, ¹⁶: Red cell distribution width, ¹⁷: Hematocrit, ¹⁸: Mean corpuscular volume, ¹⁹: Mean corpuscular hemoglobin, ²⁰: Mean corpuscular hemoglobin concentration, ²¹: Reticulocyte, ²²: Platelet, ²³: Mean platelet volume. Each Data is means ± standard deviation of ten replicate tests.

Table VI. Plasma coagulation time values of rats

TEST ITEM	Male				Female			
	Group (mg/kg/day)							
	G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)	G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)
PT ¹	9.70 ± 0.27	10.11 ± 0.43	9.79 ± 0.39	9.92 ± 0.37	9.21 ± 0.69	9.15 ± 0.52	9.40 ± 0.46	9.05 ± 0.47
APTT ²	14.6 ± 1.6	14.7 ± 0.9	15.0 ± 1.1	15.0 ± 1.1	15.8 ± 1.6	16.2 ± 0.7	15.4 ± 1.3	16.6 ± 1.0

¹PT: Prothrombin time, ²APTT: Active partial thromboplastin time. Each Data is means ± standard deviation of ten replicate tests.

Table VII. Serum biochemical values of rats

TEST ITEM	Male				Female			
	Group (mg/kg/day)							
	G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)	G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)
AST ¹ (IU/L)	116 ± 36	125 ± 36	112 ± 32	108 ± 36	127 ± 50	111 ± 28	116 ± 29	163 ± 87
ALT ² (IU/L)	36 ± 7	35 ± 5	35 ± 5	31 ± 6	40 ± 18	32 ± 13	32 ± 5	39 ± 19
GGT ³ (IU/L)	0.4 ± 0.5	1.0 ± 0.5	1.0* ± 0.0	0.6 ± 0.5	0.7 ± 0.5	0.9 ± 0.3	0.9 ± 0.3	0.9 ± 0.6
ALP ⁴ (IU/L)	205 ± 46	194 ± 50	199 ± 38	200 ± 46	97 ± 16	127 ± 34	117 ± 42	93 ± 37
BIL ⁵ (mg/dl)	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.02	0.02* ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.05 ± 0.03	0.06 ± 0.04	0.07 ± 0.03	0.07 ± 0.03
BUN ⁶ (mg/dl)	15.9 ± 1.5	17.6 ± 1.9	15.8 ± 3.5	17.7 ± 1.5	18.4 ± 2.9	20.0 ± 2.3	19.8 ± 3.4	18.9 ± 2.0
CRE ⁷ (mg/dl)	0.54 ± 0.04	0.55 ± 0.03	0.52 ± 0.04	0.52 ± 0.04	0.58 ± 0.05	0.61 ± 0.06	0.62 ± 0.07	0.59 ± 0.09
UA ⁸ (mg/dl)	1.1 ± 0.3	1.3 ± 0.4	1.0 ± 0.2	1.2 ± 0.2	1.0 ± 0.3	1.0 ± 0.1	1.2 ± 0.2	1.0 ± 0.2
GLU ⁹ (mg/dl)	173 ± 30	145 ± 20	158 ± 26	164 ± 38	140 ± 16	131 ± 20	129 ± 19	134 ± 27
CHO ¹⁰ (mg/dl)	87 ± 17	72 ± 21	82 ± 20	80 ± 20	99 ± 21	89 ± 20	86 ± 14	109 ± 26
TG ¹¹ (mg/dl)	84 ± 56	51 ± 29	62 ± 28	51 ± 24	47 ± 20	41 ± 13	45 ± 26	41 ± 24
PRO ¹² (g/dl)	6.6 ± 0.2	6.4 ± 0.2	6.6 ± 0.3	6.5 ± 0.3	7.3 ± 0.6	7.0 ± 0.3	7.1 ± 0.4	7.4 ± 0.5
ALB ¹³ (g/dl)	2.6 ± 0.1	2.5 ± 0.1	2.6 ± 0.1	2.6 ± 0.2	3.1 ± 0.3	3.0 ± 0.2	3.0 ± 0.3	3.2 ± 0.3
A/Gratio ¹⁴	0.64 ± 0.05	0.64 ± 0.04	0.65 ± 0.04	0.67 ± 0.05	0.73 ± 0.06	0.76 ± 0.05	0.72 ± 0.06	0.76 ± 0.04
LDH ¹⁵ (IU/L)	1252 ± 796	1684 ± 815	1178 ± 590	1271 ± 920	1032 ± 521	1133 ± 469	1282 ± 701	1112 ± 677
CPK ¹⁶ (U/L)	612 ± 390	795 ± 369	550 ± 305	545 ± 328	454 ± 223	541 ± 263	605 ± 300	566 ± 362
Ca ¹⁷ (mg/dl)	9.5 ± 0.3	9.3 ± 0.2	9.1 ± 0.6	9.3 ± 0.4	9.8 ± 0.3	9.5 ± 0.4	9.7 ± 0.1	9.9 ± 0.5
IP ¹⁸ (mg/dl)	7.8 ± 0.5	7.2 ± 0.6	7.4 ± 0.5	7.5 ± 0.6	6.3 ± 1.1	6.3 ± 0.7	6.4 ± 1.3	6.5 ± 1.3
Mg ¹⁹ (mg/dl)	2.0 ± 0.1	2.0 ± 0.1	2.0 ± 0.2	2.0 ± 0.1	2.2 ± 0.1	2.2 ± 0.1	2.2 ± 0.2	2.2 ± 0.1
Na ²⁰ (mmol/L)	142 ± 1	143 ± 1	142 ± 1	143 ± 1	144 ± 4	142 ± 3	144 ± 2	144 ± 3
K ²¹ (mmol/L)	5.1 ± 0.2	5.0 ± 0.2	4.9 ± 0.4	5.0 ± 0.2	4.3 ± 0.2	4.1 ± 0.3	4.3 ± 0.2	4.3 ± 0.4
Cl ²² (mmol/L)	106 ± 2	106 ± 1	106 ± 1	106 ± 1	104 ± 3	106 ± 1	106 ± 2	105 ± 2

¹: Aspartate aminotransferase, ²: Alanine aminotransferase, ³: Gamma(γ)-glutamyl transferase, ⁴: Alkaline phosphatase, ⁵: Total bilirubin, ⁶: Blood urea nitrogen, ⁷: Creatinine, ⁸: Uric acid, ⁹: Glucose, ¹⁰: Total cholesterol, ¹¹: Triglyceride, ¹²: Total protein, ¹³: Albumin, ¹⁴: Albumin/Globulin ratio, ¹⁵: Lactate dehydrogenase, ¹⁶: Creatine phosphokinase, ¹⁷: Calcium, ¹⁸: Inorganic phosphorus, ¹⁹: Magnesium, ²⁰: Sodium, ²¹: Potassium, ²²: Chloride. Each Data is means ± standard deviation of ten replicate tests.

*: Significant difference compared with control group value, $p < 0.05$

Table VIII. Gross findings of rats

		Sex: Male			
ORGANS	SIGNS	Group (mg/kg)			
		G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)
All organs	No gross finding detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10
		Sex: Female			
ORGANS	SIGNS	Group (mg/kg)			
		G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)
Skin	Mass, right shoulder	10 / 10	10 / 10	1 / 10	10 / 10
Other organs	No gross finding detected	10 / 10	10 / 10	9 / 10	10 / 10

Number of animals with the signs / Number of animals examined

Table IX. Absolute organ weight of rats

ORGANS	Male				Female			
	Group (mg/kg/day)							
	G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)	G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)
Body weight ^a	566.41±	544.31±	586.16±	543.56±	319.69±	316.71±	305.82±	304.29±
	62.12	53.67	51.32	40.97	20.94	19.50	22.98	30.74
Testis (Lt.)	1.7917±	1.8583±	1.7545±	1.8135±	0.0476±	0.0438±	0.0512±	0.0426±
Testis (Rt.)	0.1327	0.1520	0.1568	0.2009	0.0123	0.0073	0.0098	0.0081
Prostate	1.7982±	1.8459±	1.7601±	1.8044±	0.0489±	0.0511±	0.0494±	0.0406±
	0.1415	0.1645	0.1748	0.1979	0.0142	0.0129	0.0091	0.0079
Spleen	0.8527±	0.8780±	0.7242±	0.8754±	0.6568±	0.5605±	0.6554±	0.7103±
	0.1725	0.1267	0.2263	0.2017	0.1619	0.0847	0.1972	0.2625
Liver	0.8896±	0.8537±	0.8539±	0.8208±	0.5712±	0.6186±	0.5726±	0.5294±
	0.1286	0.1248	0.1021	0.1003	0.0855	0.0959	0.0847	0.1019
Adrenal gland (Lt.)	14.5113±	12.9690±	14.8369±	13.4376±	8.0568±	7.7619±	7.3338±	7.8522±
Adrenal gland (Rt.)	3.2414	2.0135	1.5926	1.3790	1.0621	0.6176	0.6394	1.4874
Kidney (Lt.)	0.0292±	0.0306±	0.0265±	0.0316±	0.0406±	0.0430±	0.0392±	0.0351±
Kidney (Rt.)	0.0046	0.0042	0.0044	0.0055	0.0083	0.0039	0.0051	0.0049
Heart	0.0257±	0.0305±	0.0289±	0.0300±	0.0383±	0.0396±	0.0362±	0.0335±
	0.0052	0.0057	0.0043	0.0047	0.0084	0.0047	0.0047	0.0054
Lung	1.7248±	1.6408±	1.7149±	1.7157±	1.0722±	0.9965±	0.9421*±	1.0799±
	0.2522	0.1469	0.1454	0.1551	0.0973	0.0713	0.0872	0.1509
Brain	1.7639±	1.7207±	1.7815±	1.7813±	1.1203±	1.0508±	0.9833*±	1.1158±
	0.2315	0.1893	0.1566	0.1845	0.0903	0.0800	0.0839	0.1635
Pituitary gland	1.6229±	1.5482±	1.6968±	1.5835±	1.0782±	1.0613±	1.0508±	1.0339±
	0.1358	0.1597	0.1883	0.1372	0.1256	0.0580	0.0891	0.1493
Thymus	1.8276±	1.8609±	1.8306±	1.7359±	1.3982±	1.3823±	1.3142±	1.3567±
	0.1981	0.1183	0.1732	0.1397	0.1392	0.1201	0.1242	0.1402
	2.1580±	2.1884±	2.1521±	2.1457±	2.0709±	1.9770*±	1.9691*±	1.9978*±
	0.1030	0.1240	0.0581	0.0951	0.0634	0.0592	0.1143	0.0411
	0.0120±	0.0133±	0.0122±	0.0130±	0.0205±	0.0187±	0.0154±	0.0189±
	0.0035	0.0033	0.0041	0.0023	0.0057	0.0040	0.0029	0.0070
	0.2983±	0.2590±	0.2643±	0.3100±	0.2821±	0.2591±	0.2440±	0.2491±
	0.0964	0.0838	0.0441	0.0755	0.0822	0.0663	0.0442	0.0481

Each Data is means ± standard deviation of ten replicate tests.

Lt.: Left, Rt.: Right

^a: At necropsy

Table X. Histopathological finding of rats

		Sex : male						
ORGANS	SIGNS		Group (mg/kg/day)					
			G1 (0)		G4 (2,000)			
			N	%	N	%		
Liver	No remarkable lesions		9 / 10	90	10 / 10	100		
	- Vacuolization, cytoplasmic, perivascular, multifocal	+	1 / 10	10	0 / 10	0		
Pancreas	No remarkable lesions		9 / 10	100	10 / 10	100		
	- Atrophy, focal	±	1 / 10	10	0 / 10	0		
Lung	No remarkable lesions		6 / 10	60	5 / 10	50		
	- Cell infiltration, inflammatory,	±	3 / 10	30	4 / 10	40		
	- Bronchioloalveolar, focal/multifocal	+	1 / 10	10	1 / 10	10		
Pituitary	No remarkable lesions		9 / 10	90	10 / 10	100		
	- Developmental anomaly, parsnervosa	√	1 / 10	10	0 / 10	0		
Prostate	No remarkable lesions		9 / 10	90	10 / 10	100		
	- Cell infiltration, inflammatory, interstitial	+	1 / 10	10	0 / 10	0		
Other organs	No remarkable lesions		10 / 10	100	10 / 10	100		
		Sex: female						
ORGANS	SIGNS		Group (mg/kg/day)					
			G1 (0)		G3 (1,000)		G4 (2,000)	
			N	%	N	%	N	%
Kidney	No remarkable lesions		10 / 10	100			9 / 10	100
	- Hyaline cast, outer medulla, bilateral	+	0 / 10	100			1 / 10	100
Adrenal gl.	No remarkable lesions		9 / 10	90			10 / 10	100
	- Cystic degeneration, zona fasciculata focal, unilateral	±	1 / 10	10			0 / 10	0
Lung	No remarkable lesions		5 / 10	50			9 / 10	90
	- Cell infiltration, inflammatory, bronchioloalveolar, focal/multifocal	±	5 / 10	50			1 / 10	90
Skin	No remarkable lesions		10 / 10	100	0 / 1	0	10 / 10	100
	- Adenocarcinoma, mammary gland origin	√	0 / 10	0	1 / 1	100	0 / 10	0
	- Cyst, pars nervosa and pars intermedia	±	1 / 10	10			0 / 10	0
Pituitary	No remarkable lesions		9 / 10	90			10 / 10	100
	- Developmental anomaly, parsnervosa	+	1 / 10	10			0 / 10	0
Other organs	No remarkable lesions		10 / 10	100			10 / 10	100

N: Number of animals with the signs / Number of examined animals
 √: present, ±: minimal, +: mild, gl.= gland, LN= lymph node

조직병리학적 검사 시 그 외 장기·조직 - 암·수 부형제 대조군 및 2,000 mg/kg/day 투여 군의 장기·조직에 대한 조직병리학적 검사결과, 간 혈관 주위 세포질의 다병소성 공포화(vacuolization, cytoplasmic, perivascular, multifocal), 췌장에 국소성 위축(atrophy, focal), 부신 속상대에 편측 성의 국소성 낭 변성(cystic degeneration, zona fasciculata,

focal, unilateral), 신장 바깥쪽 수질에 양측 성의 유리질양 원주(hyaline cast, outer medulla, bilateral), 하더리안선에 국소성 염증세포 침윤(cell infiltration, inflammatory, focal), 뇌하수체 신경 부와 중위부의 낭(cyst, pars nervosa and pars intermedia), 뇌하수체 신경부의 발육이상(developmental anomaly, pars nervosa), 전립선 간질에 염증세포 침윤(cell

infiltration, inflammatory, interstitial) 등의 소견이 단발성으로 관찰되었다(Table X).

고 찰

본 시험은 시험 물질 땃두릅나무 열수 추출물 분말의 13주 반복 경구투여에 의한 독성증상과 무독성량(No Observed Adverse Effect Level, NOAEL) 및 표적장기(target organ)를 조사하기 위하여 실시되었다. Sprague-Dawley(SD) 계통 암·수 랫드를 이용하여 500(저용량군), 1,000(중용량군) 및 2,000(고용량군) mg/kg/day의 용량으로 시험 군을 설정하고 부형제 대조 군과 비교하였으며, 실험기간 동안 사망률, 일반증상, 체중변화, 사료섭취량, 안검사, 요 검사, 혈액학적 검사, 혈액응고시간 검사, 혈액생화학적 검사, 장기중량, 부검 시 육안소견 및 병리조직학적 소견을 관찰하였다.

실험 기간 동안 사망 동물은 관찰되지 않았고 암·수 2,000 mg/kg/day 투여 군의 일부 시험동물에서 시험 물질 투여 후 반부부터 간헐적/산발적으로 시험 물질 투여 직후 유연이 발생하였으나, 시험 물질 투여에 따른 일시적인 타액 분비 촉진으로 판단되어 독성학적 의미는 없었다.¹¹⁾ 암컷 1,000 mg/kg/day 투여 군 1/10 레에서 관찰된 우측 어깨부위 피부의 결절은 단발성의 자연발생적 병변으로써 시험 물질에 의한 영향은 아닌 것으로 판단된다.¹²⁾ 체중 측정 결과, 암·수 모든 시험 군에서 통계학적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 사료 섭취량 측정결과, 수컷 2,000 mg/kg/day 투여 군의 11 및 12 주차 사료섭취량이 감소하였으나, 그 정도의 차이가 경미하고 뚜렷한 용량-반응 상관성을 나타내지 않기 때문에 시험 물질에 의한 영향은 아닌 것으로 판단된다. 안 검사 결과, 안검사를 실시한 모든 시험동물에서 이상소견은 관찰되지 않았다. 요 검사 결과, 수컷 시험 군의 단백질 항목에서 군간 유의한 차이가 관찰되었으나, 용량-반응 상관성이 관찰되지 않아 시험 물질에 의한 영향은 아닌 것으로 판단된다.¹³⁾ 혈액학적 검사결과, 암·수 모든 시험 군의 시험 항목에서 부형제 대조 군과 시험 물질 투여 군간 통계학적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 혈액응고시간 검사결과, 암·수 모든 시험 군의 시험항목에서 부형제 대조 군과 시험 물질 투여 군간 통계학적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 혈액생화학적 검사결과, 수컷 1,000 mg/kg/day 투여 군의 GGT 및 BIL 수치 증가가 관찰되었다. 그러나 그 정도가 경미하여 생물학적 변동 범위에 속하고, 용량-반응 상관성도 뚜렷하지 않아 시험 물질에 의한 영향은 아닌 것으로 판단된다.¹⁴⁾ 장기 중량 측정결과, 암컷 1,000 mg/kg/day 투여 군 좌·우측 신장의 절대 및 상대 중량과 암컷 500 mg/kg/day 투여 군 왼쪽 신장의 상대 중량이 감소하였다. 하지만 용량-반응 상관성 및 암·수 상관성이 관찰되지 않아 시험물질에 의한 영향은 아닌 것으로 판단된다. 또한 암컷

모든 시험 물질 투여 군에서 뇌 절대 중량이 감소하였으나, 생물학적 변동 범위에 수준의 변화로 용량-반응 상관성도 뚜렷하지 않고 상대중량에서 동일한 경향의 변화가 나타나지 않아 시험 물질에 의한 영향은 아닌 것으로 사료된다.¹⁵⁾ 부검 및 조직병리학적 검사결과, 암컷 1,000 mg/kg/day 투여 군 1/10 레에서 관찰된 오른쪽 어깨부위 피부 종괴는 유선 유래의 샘암종으로 확인되었다. 단발성의 개체 특이적 소견으로 유선 유래의 샘암종은 SD 계통의 랫드에서 자연 발생하는 것¹⁶⁾으로 보고되고 있어 시험 물질에 의한 영향은 아닌 것으로 사료된다. 폐에 대한 조직병리검사 결과, 폐의 세기관지폐포에 국소성/다병소성의 염증세포침윤 소견이 수컷 부형제 대조군 및 2,000 mg/kg/day 투여 군에서 각각 4/10 레 및 5/10 레, 암컷 부형제 대조군 및 2,000 mg/kg/day 투여 군에서 각각 5/10 레 및 1/10 레 관찰되었다. 상기 소견은 모두 미미~경미(minimal~mild)한 수준의 소견으로 이와 관련된 이상증상이나 다른 검사항목과의 연관성이 관찰되지 않았으며, 부형제 대조 군과 시험 물질 투여 군 간 발생 빈도의 차이가 없는 배경병변(background lesions)으로 보여 시험물질에 의한 영향은 아닌 것으로 판단된다. 그 외 암·수 부형제 대조군 및 2,000 mg/kg/day 투여 군에 대한 조직병리학적 검사 결과, 간 혈관 주위 세포질의 다병소성 공포화, 췌장에 국소성 위축, 부신 속상대에 편측 성의 국소성 낭 변성, 신장 바깥쪽 수질에 양측 성의 유리질양 원주, 하더리안선에 국소성 염증세포 침윤, 뇌하수체 신경부와 중위부의 낭, 뇌하수체 신경부의 발육 이상, 전립선 간질에 염증세포 침윤 등의 소견이 관찰되었다. 하지만 부형제 대조 군에서 관찰되었거나, 단발성 또는 자연발생적 병변으로써 시험 물질에 의한 영향은 아닌 것으로 사료된다. 이상의 결과로 보아, 본 시험 조건에서 시험 물질 땃두릅나무 열수 추출물 분말을 설치류인 SD 랫드에 13주간 반복 경구 투여한 결과, 시험 물질에 의한 독성학적 변화는 관찰되지 않았다. 따라서 본 시험물질의 무독성량은 2,000 mg/kg/day로 판단되며 표적장기는 관찰되지 않았다.

결 론

SD 랫드를 이용한 땃두릅나무 열수 추출물 분말의 13주 반복 경구 투여는 실험 기간 동안 사망률, 일반 증상, 체중 변화, 사료 섭취량, 안 검사, 요 검사, 혈액학적 검사, 혈액응고시간 검사, 혈액생화학적 검사, 장기중량, 부검 시 육안 소견 및 병리조직학적 소견을 관찰하였다. 시험 결과 사망 동물이 없었으며, 독성에 의한 어떠한 영향도 발생되지 않았다. 따라서, 땃두릅나무 열수 추출물 분말의 최소 치사량은 2,000 mg/kg/day라는 것을 확인하였다. 이에따라 땃두릅나무 열수 추출물 분말은 장기간 복용해도 안전한 천연물 판단되며, 기능성 식품 및 의약품으로써 개발 할 수 있는 기

초 자료를 제시하였다.

사 사

본 논문의 연구는 산림청(한국임업진흥원) 산림과학기술 연구개발사업(과제번호: 2017038B10-1819-BA01)의 연구비 지원으로 수행되었습니다.

인용문헌

- Kim, H. Y. and Sung, Y. K. (2018) Pharmacological treatment of osteoarthritis. *J Korean Med Assoc.* **61**: 623-629.
- Wolf, B. W. and Weisbrode, S. E. (2003) Safety evaluation of an extract from *Salacia oblonga*. *Food Chem. Toxicol.* **41**: 867-874.
- Mei, N., Arlt, V. M., Phillips, D. H., Heflich, R. H. and Chen, T. (2006) DNA adduct formation and mutation induction by aristolochic acid in rat kidney and liver. *Mutat. Res.* **602**: 83-91.
- 이우철 (1996) 원색한국기준식물도감, 251, 아카데미서적, 서울.
- Shikov, A. N., Pozharitskaya, O. N., Makarov, V. G., Yang, W. Z. and Guo, A. D. (2014) *Oplopanax elatus* (Nakai) Nakai: chemistry, traditional use and pharmacology, *Chin. J. Nat. Med.* **12**: 721-729.
- Kwon, Y. S., Yoo, J. H., Yoo, N. H., Kim, M. J., Kim H. P., Yang, H. J. and Chun. W. J. (2018) Chemical constituents of *Oplopanax elatus* stem, *Kor. J. Pharmacogn.* **49**: 23-27.
- 식품의약품 안전청 (2017) 비임상시험관리기준, 식품의약품안전처 고시 제 2017-32 호.
- 식품의약품 안전청 (2017) 의약품등의 독성시험기준, 식품의약품안전처 고시 제 2017-71 호.
- Organization for Economic Cooperation and Development (1998) Repeated Dose 90-day Oral Toxicity Study in Rodents, OECD Guideline for Testing of Chemicals No. 408.
- Gary, A. Boorman., Scot, L. Eustis., Michael, R. Elwell. and William, F. M. (1990) Pathology of the Fischer rat; Reference and Atlas, 4th edit. Academic Press, UK.
- Lewis, R.W., Billington, R. Debryne, E. Gamer, A. Lang, B. and Carpanini, F. (2002) Recognition of adverse and non-adverse effects in toxicity studies, *Toxicol. Pathol.* **30**: 66-4.
- Kuzutani, K. (2012) Spontaneous mammary adenocarcinoma in a twelve-week-old female Sprague-Dawley rat, *J. Toxicol Pathol.* **25**: 221-224.
- 추상규 (2001) 요 검사학, 1st ed. 고려의학, 서울.
- Greaves, P. (2007) Histopathology of preclinical toxicity studies; Interpretation and relevance in drug safety evaluation, 3rd edit., Elsevier science, USA.
- Sahota, P. (2013) Toxicologic pathology: nonclinical safety assessment, CRC press, USA.
- Prejean, J. D. (1973) Spontaneous tumors in Sprague-Dawley rats and Swiss mice, *Cancer Research* **33**: 2768-2773.

(2019. 8. 16 접수; 2019. 10. 29 심사;
2019. 11. 22 게재확정)