

백강잠 추출물의 C57BL/6 마우스를 이용한 2주경구투여 독성시험

남현화^{1#}, 서윤수^{1#}, 문병철¹, 이지혜¹, 김용범², 김종선^{1*}

1 : 한국한의학연구원 한약자원연구센터, 2 : 안전성평가연구소

Effects of a Two-Week-Oral-Toxicity Study of *Bombyx batryticatus* L. Extracts on C57BL/6 Mice

Hyeon-Hwa Nam^{1#}, Yun-Soo Seo^{1#}, Byeong-Cheol Moon¹, Ji-Hye Lee¹, Yong-Bum Kim²
Joong-Sun Kim^{1*}

1 : Herbal Medicine Resources Research Center, Korea Institute of Oriental Medicine, 111 Geonjae-ro, Naju-si,
Jeollanam-do 58245, Republic of Korea

2 : Korea Institute of Toxicology, Toxicopathology Center, 100 Jangdong, Yuseong,
Daejeon, 305-343, Republic of Korea

ABSTRACT

Objectives : *Bombyx batryticatus* L. is the dried larval form of the silkworm (*Bombyx mori* L.) infected by *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. It is used as a food and medicinal resource to treat asthma, headaches, epilepsy, and convulsions in traditional Korean and Chinese medicines. However, the research of the toxicity about *B. batryticatus* is not enough yet. Here, we investigate the effects of potential subacute toxicity following the repeated oral administration of *B. batryticatus* water extract to C57BL/6 mice, at various doses of 0, 50, 150, and 450 mg/kg/day during a two-week period.

Methods : The following parameters were examined during the study period: body weight, gross findings, clinical signs, organ weight, hematology, serum biochemistry, histopathology, and mortality. At the end of the treatment period, all the mice were euthanized.

Results : No changes were observed in the body weights, gross findings, clinical signs, organ weights, and mortality after two weeks of administration of the *B. batryticatus* extract. In addition, compared with the normal control group, no noticeable treatment-related changes were observed in the hematological, serum biochemical, and histopathological parameters in the treated group following treatment with doses of up to 450 mg/kg/day.

Conclusion : Based on these findings, we conclude that the treatment of mice with the water extract of *B. batryticatus* did not cause considerable C57BL/6 toxicity, and therefore, it could be considered safe for further pharmacological studies.

Key words : *Bombyx batryticatus*, insect, Two-Week-Oral-Toxicity Study

I. 서 론

곤충은 오래전부터 약용 및 식용으로 이용되어 왔으며 동의보감(東醫寶鑑)에는 약 95종, 본초강목습유(本草綱目拾遺)

에는 106종이 기록되어 있다¹⁾. 최근에는 누에나 꿀벌과 같은 곤충유래 생산 물질의 다양한 효능이 증명되고 있고, 영양학적 측면에서 60%이상의 단백질과 저지방, 미네랄 등을 함유하고 있어 미래의 식량자원으로써 곤충의 이용가치가 지속적으로

*Corresponding author : Joong-Sun Kim, Herbal Medicine Resources Research Center, Korea Institute of Oriental Medicine.
· Tel : +82-61-338-7111 · E-mail : centraline@kiom.re.kr

#First author : Hyeon-Hwa Nam, Herbal Medicine Resources Research Center, Korea Institute of Oriental Medicine.
· Tel : +82-61-338-7146 · E-mail : hhnam@kiom.re.kr

Yun-Soo Seo, Herbal Medicine Resources Research Center, Korea Institute of Oriental Medicine.
· Tel : +82-61-338-7147 · E-mail : sys0109@kiom.re.kr

· Received : 30 Jan 2020 · Revised : 16 Mar 2020 · Accepted : 25 Mar 2020

증대되고 있다^{2,3)}. 최근 식품의약품 안전처의 식품공전에 백강잠, 벼메뚜기, 누에번데기, 갈색거저리 유충, 쌍별귀뚜라미, 흰점박이꽃무지 유충, 장수풍뎅이 유충이 인정되어 식품산업에 활용되고 있으며 한방에서 약용으로 동충하초, 백강잠, 굽뽕이, 지렁이, 거머리, 지네, 전갈 등이 이용되고 있다¹⁾.

곤충이 식품 및 의약품으로 활용되고 있음에도 불구하고 안전성에 관련된 정보가 부족하여 소비자들에게 곤충소재에 대한 신뢰도와 호감도 형성에 큰 영향을 미치고 있다. 실제로 식용곤충식품에 대한 소비자 인식에 대해 조사한 연구³⁾에서 식용곤충식품 선택속성에 대한 중요도를 분석하였을 때, 남자의 경우 안전성을 가장 중요한 속성으로 선택하였고, 여자의 경우 위생 다음으로 안전성을 선택하여 곤충자원을 이용한 식품개발에 있어 소비자들에게 안전성은 중요한 선택속성에 해당함을 알 수 있다³⁾. 따라서 식품 및 약재 원료로서 곤충자원에 대한 관심이 증가함에 따라 안전성에 대한 과학적인 근거를 확보하기 위한 지속적인 독성과 부작용에 대한 연구가 필요하다.

백강잠(*Bombyx batryticatus* L.)은 백강균(*Beauveria bassiana* Vuill.)의 감염으로 인해 균사체가 형성되어 죽은 누에(*Bombyx mori* L.) 충체(*Batryticatus Bombyx*)를 말하며, 오래전부터 중국, 일본, 한국에서는 두통, 치통, 어지럼증 등의 치료를 위해 진통제, 항경련제 등의 전통약재로 사용되어 왔다^{4,5)}. 한의학에서의 백강잠의 활용을 오아시스(OASIS)⁶⁾를 이용하여 분석한 결과, 백강잠은 청열해독(淸熱解毒), 청열조습(淸熱燥濕), 화담산결(化痰散結), 소산풍열(疏散風熱), 식풍지경(熄風止癢)하는 효능이 있어, 풍창투진(風瘡透疹), 중풍실음(中風失音), 후풍(喉風), 두풍(頭風) 등의 질환을 치료하는데 사용되고, 오약순기산(烏藥順氣散) 등의 처방으로 활용되고 있다(Fig. 1). 또한, 효능연구 결과로 항간질, 항경련 효과 등의 신경계에서의 작용과 항응혈, 항암, 항균, 항산화 효과 등이 보고되어 있다⁷⁻¹⁰⁾. 그러나 현재 생리활성 관련 연구의 확대와 수요의 증가에도 불구하고 백강잠추출물의 독성 연구는 미비하다. 따라서 본 연구에서는 백강잠의 물 추출물을 14일간 마우스에 경구 투여하여 독성유무를 확인하고자 하였다.



Fig. 1. Main target, efficacy and prescription in Traditional Korean Medicine correlation network of *Bombyx mori* L. using Oriental Medicine Advanced Searching Integrated System (OASIS).

II. 재료 및 방법

1. 추출물 제조

본 연구에 사용된 백강잠은 광명당 제약(Ulsan, Korea)에서 구매하였고 한국한의학연구원(Herbal Medicine Resources Research Center, Naju, Korea)의 형태감별을 거쳐 검증 후 실험에 사용하였다. 동정표본(accession number: 3-18-0030)은 한국한의학연구원 한약자원연구센터에 보관하였다. 추출은 증류수 15 L에 백강잠 969.88 g을 3시간 동안 100 ± 2°C에서 환류 추출하였으며, 얻어진 추출물을 여과한 후 감압 농축기를 사용하여 농축한 후 동결 건조하여 얻어진 시료 (211.23 g)를 실험에 사용하였다 (수득률 21.779%, w/w).

2. 실험동물

7주령, 무게 20 ± 2 g의 수컷 C57BL/6 마우스 20마리를 두얼바이오테크(Seocho-gu, Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 1주일동안 동물 사육실에서 격리조치 하여 순화 과정을 거친 후, 각 군당 5마리씩 4개의 군으로 나누어 실험을 진행하였다. 사육환경은 온도 23 ± 3°C, 습도 50 ± 10%, 환기횟수 10-20회/h, 조도 150~300 Lux, 12시간 간격으로 명암 주기를 조절하였다. 모든 동물은 고품사료(Nestlé Purina Pet Care Company; Bundang-gu, Seongnam, Korea)와 물을 자유 섭취시켜 사육하였고 모든 사육기자재는 멸균하여 사용하였다. 모든 실험은 미국국립보건원(NIH)의 규정에 따라 수행하였고, 국제 동물복지법에 근거한 한국한의학연구원 동물 실험윤리위원회의 승인(Approval number: 18-041)을 받아 실험을 진행하였다.

3. 실험군 분리 및 투여량

순화된 실험동물을 정상군(n=5)과 백강잠추출물 투여군(50, 150, 450 mg/kg/day, n=5)으로 나누어 실험을 진행하였다. 마우스 체중에 따라 산출된 투여량을 1회/1일 경구 투여하여 반복독성 시험을 실시하였다.

4. 실험동물 관찰

실험동물의 운동성과 일반상태 변화 및 사망개체 발견 등의 이상 증상 관찰, 체중 변화 특징을 14일 동안 관찰하였다. 2주 동안 경구 투여 전과 후의 운동성 및 이상 증상을 기록하였으며, 체중 변화는 백강잠추출물을 투여하는 시점부터 7일 간격으로 측정하여 분석하였다.

5. 부검

실험 종료 시점에서 모든 실험동물들은 CO₂ 마취를 통해 호흡이 정지된 후, 대동맥 채혈을 통해 방혈 치사시켜 안락사를 유도하였다. 희생된 실험동물의 내부 장기의 이상 유무를 육안적으로 확인하였으며, 폐, 간, 비장, 신장, 고환을 적출하여 장기의 절대중량을 측정하였다.

6. 조직병리학적 분석

조직병리학적 분석을 위해 간 조직을 10% neutral-buffered formalin (NBF)으로 고정하였으며, 포매 후 4 µm 두께로 박절하여 hematoxylin and eosin (H&E)로 염색하였다. 염색된 조직 슬라이드는 광학현미경(Olympus Microscope System CKX53; Olympus, Tokyo, Japan)을 이용하여 기존에 보고된 약제에 의한 독성간염의 조직소견을 근거로 지방 변성, 풍선양변성, 호산구의 침윤, 문맥주변 염증세포 침윤, 담즙정체 및 간세포 괴사 여부를 분석하였다¹¹⁾.

7. 혈액학적 및 혈액생화학학적 분석

실험 종료 시점에서 마우스를 희생시키고, 일반 혈액학적 분석을 위해 ADVIA 2120i 혈액분석기(Simens; Tarrytown, UY, USA)를 이용하여 혈소량(hemoglobin, Hb), 적혈구용적(Hematocrit, HCT), 평균적혈구용적(Mean corpuscular volume, MCV), 평균적혈구혈색소량(Mean corpuscular hemoglobin, MCH), 평균적혈구혈색소농도(Mean corpuscular menoglobin concentration, MCHC), 혈소판(Platelet, PLT), 백혈구(White blood cell, WBC), 호중구(Neutrophil, NEU), 림프구(Lymphocyte, LYM), 단핵구(Monocyte, MON), 호산구(Eosinophil, EOS), 호염기성백혈구(Basophil, BAS)를 측정하였다. 동시에 혈액생화학학적 검사를 위해 수집된 혈액을 3,000 rpm으로 10분 동안 원심분리하여 혈장을 분리하였고

간 기능 관련 지표 GLU(glucose), GOT(glutamic oxaloacetic transaminase), GPT(glutamic pyruvic transaminase), TBIL(total bilirubin)와 신장 기능 관련 지표 CRE(creatinine), BUN(blood urea nitrogen) 검사를 위해 TBA 120FR 화학 분석기(Toshiba Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 분석하였다.

8. 통계처리

모든 실험의 결과는 평균±표준편차(mean±SD)로 나타내었으며, 모든 처리군간의 통계적 유의성은 ANOVA one-way로 검정을 실시하여 p<0.05 경우에만 유의차가 있는 것으로 표시하였다.

III. 결 과

1. 반복투여 독성시험

백강잠추출물을 14일 동안 0, 50, 150, 450 mg/kg/day으로 마우스에 반복 투여하였을 때 투여기간 동안 모든 처리군에서 사망 개체는 발생하지 않았으며, 임상증상 관찰결과, 이상 증상이 관찰되지 않았다(Table 1). 또한, 투여시작일로부터 종료 시점까지 모든 개체의 체중측정결과 체중감소가 관찰되지 않았으며, 정상군과 백강잠추출물을 투여군 간의 유의한 차이가 발견되지 않았다(Fig. 2).

Table 1. Mortality in mice after 2 weeks of repeated oral administration of *B. batryticatus*

Group (mg/kg/day)	Days after treatment													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
Mortality	0	*1) 0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	50	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	150	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	450	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Clinical signs	0	**2) 0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	50	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	150	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	450	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

- 1) Number of dead mice/total mice.
- 2) Number of mice with clinical signs/total mice.

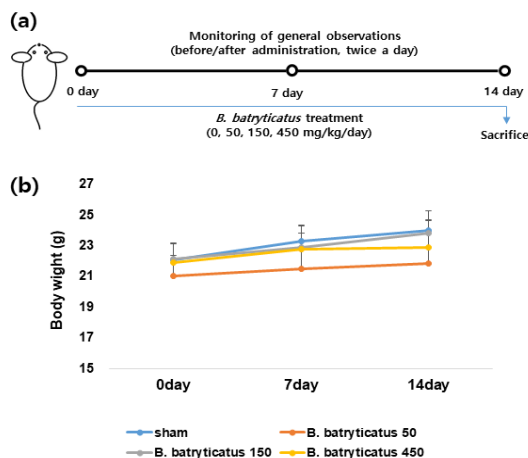


Fig. 2. Body weights of mice repeated administrated with *B. batryticatus* extracts for 2 weeks. Sham; normal control group, *B. batryticatus* 50; 50 mg/kg treated group, *B. batryticatus* 150; 150 mg/kg treated group, *B. batryticatus* 450; 450 mg/kg treated group. Values are expressed as means ± SD of five mice per each group at sacrifice.

2. 장기중량 측정 및 조직 조직병리학적 검사

부검결과 모든 개체군에서 백강잠추출물로 인한 육안적인 이상 소견이 관찰되지 않았다. 또한, 간, 고환, 비장, 신장, 폐 조직의 무게를 측정된 결과, 정상군의 장기 무게와 비교하였을 때 백강잠추출물 투여로 인한 무게 변화는 관찰되지 않았다

(Fig. 3). 간 조직 관찰 결과, 백강잠추출물을 최고 투여용량 450 mg/kg/day 까지 투여하였을 때 병변 등의 유의한 이상 소견이 관찰되지 않았고 정상군의 간 조직과 유사한 구조를 나타내고 있어 시험물질과 관련된 변화 또한 보이지 않았다 (Fig. 4).

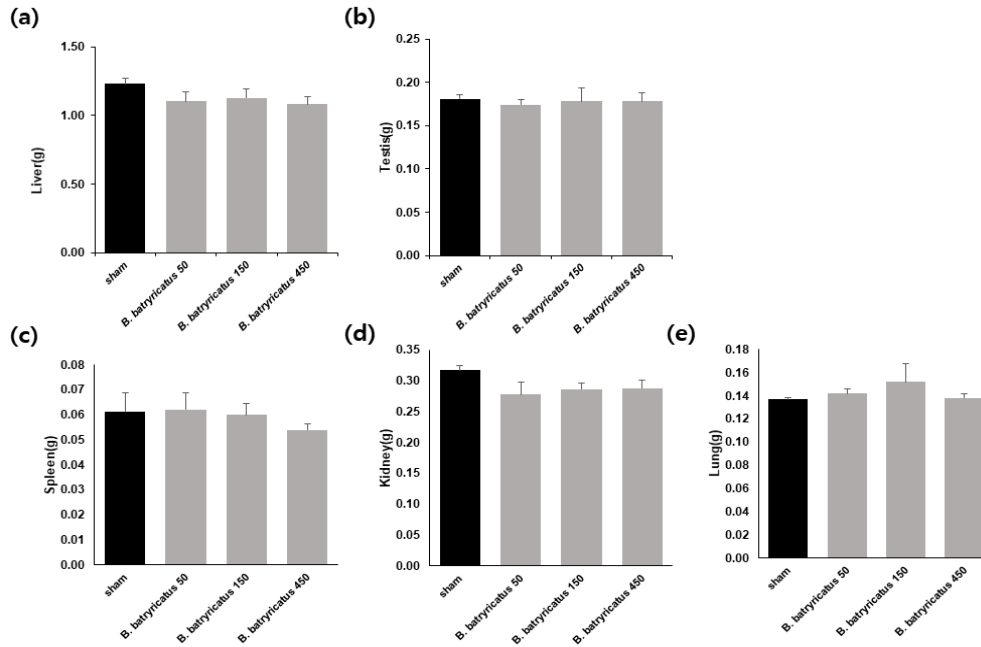


Fig. 3. Organ weights in mice orally administration with *B. batryticatus* extracts for 2 weeks. Sham; normal control group, *B. batryticatus* 50; 50 mg/kg treated group, *B. batryticatus* 150; 150 mg/kg treated group, *B. batryticatus* 450; 450 mg/kg treated group. Values are expressed as means \pm SD of five mice at sacrifice.

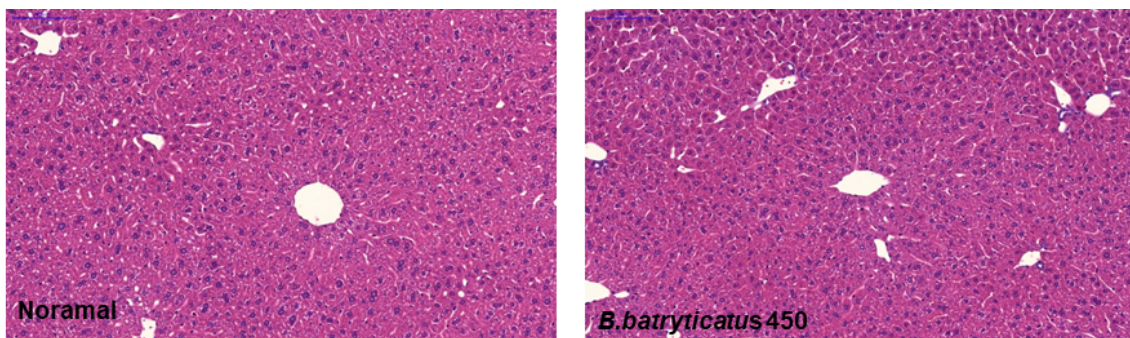


Fig. 4. Histopathological analysis of the liver in mice exposed to repeated *B. batryticatus* extract doses of 0 and 450 mg/kg/day. Representative images (H&E stained) showing histological changes in the liver of vehicle and 450 mg/kg/day-treated mice samples.

3. 혈액학적 검사

백강잠추출물 투여에 따른 혈액학적 변화에 대한 분석을 진행하였다(Table 2). 적혈구 (RBC) 수 분석결과, 백강잠추출물 50, 150, 450 mg/kg/day 투여군에서는 각각 9.900 ± 0.264 , 11.066 ± 0.665 , 10.733 ± 0.416 으로 정상군 0 mg/kg/day의 8.480 ± 2.182 과 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 혈소량 (Hb) 분석에서도 정상군 14.600 ± 1.140 에 비해 백강잠추

출물 450 mg/kg/day에서 14.666 ± 0.577 로 유의적 차이는 관찰되지 않았다. 또한, 적혈구용적(HCT), 평균적혈구용적(MCV), 평균적혈구혈색소량(MCH), 평균적혈구혈색소농도(MCHC), 혈소판(PLT), 백혈구(WBC), 호중구(NEU), 림프구(LYM), 단핵구(MON), 호산구(EOS), 호염기성백혈구(BAS)를 분석한 결과, 정상군과 비교하였을 때 백강잠추출물을 농도별로 투여한 모든 군에서 유의성 있는 차이를 관찰 할 수 없었다.

Table 2. Hematological analysis in mice after 2 weeks of repeated oral administration of *B. batryticatus*

Parameters	Treatments (mg/kg/day)			
	0	50	150	450
RBC ($\times 10^6/\mu\text{g}$)	8,480 \pm 2,182 ¹⁾	9,900 \pm 0,264	11,066 \pm 0,665	10,733 \pm 0,416
Hb (g/dl)	14,600 \pm 1,140	14,000 \pm 0,000	15,00 \pm 0,000	14,666 \pm 0,577
HCT (%)	42,100 \pm 11,520	48,266 \pm 0,763	53,300 \pm 2,456	52,433 \pm 2,013
MCV (fl)	49,42 \pm 1,098	48,766 \pm 0,665	48,300 \pm 0,556	48,866 \pm 0,737
MCH (pg)	14,800 \pm 0,447	13,666 \pm 0,577	13,666 \pm 0,577	13,666 \pm 0,577
MCHC (g/dl)	29,880 \pm 0,878	28,266 \pm 0,493	27,900 \pm 0,529	27,933 \pm 1,026
PLT ($\times 10^3/\mu\text{g}$)	792,400 \pm 122,100	894,333 \pm 60,583	860,667 \pm 275,654	789,333 \pm 285,519
WBC ($\times 10^3/\mu\text{g}$)	2,420 \pm 1,314	5,866 \pm 2,112	4,100 \pm 1,322	4,466 \pm 2,548
NEU (%)	15,320 \pm 9,065	15,167 \pm 5,553	18,233 \pm 3,000	16,300 \pm 2,424
LYM (%)	79,140 \pm 5,055	83,500 \pm 3,204	78,666 \pm 1,774	80,166 \pm 1,718
MON (%)	3,300 \pm 0,845	1,266 \pm 0,230	3,000 \pm 0,200	3,466 \pm 1,686
EOS (%)	1,640 \pm 2,263	0,666 \pm 0,115	0,100 \pm 0,100	0,066 \pm 0,057
BAS (%)	0,620 \pm 0,567	0,000 \pm 0,000	0,066 \pm 0,057	0,033 \pm 0,033

RBC, red blood cells; Hb, hemoglobin; HCT, hematocrit; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT, platelet; WBC, white blood cell; NEU, neutrophil; LYM, lymphocyte; MON, monocyte; EOS, eosinophil; BAS, basophil.

¹⁾ Values are expressed as means \pm SD of five mice per each group at sacrifice.

4. 혈액생화학적 검사

백강잠추출물을 0, 150, 450 mg/kg/day 농도로 2주간 반복 경구 투여한 후 수집된 혈액의 혈청을 이용한 GLU, GOT, GPT, TBIL의 간 기능 지표분석 결과, TBIL의 경우 정상군 0.725 \pm 0.221 mg/dl과 비교하였을 때 유의한 차이를 나타내지 않았으나 GLU는 추출물 투여농도가 높아짐에 따라 정상군 172,000 \pm 6,218 mg/dl에 비해 각각 165,250 \pm

23,977, 200,500 \pm 26,814, 215,000 \pm 28,879 mg/dl로 증가하는 경향을 보였고 450 mg/kg/day 투여군에서 유의적 증가가 확인되었다(Table 3). 또한, GOT, GPT에서도 150, 450 mg/kg/day 농도를 투여하였을 때 정상군에 비해 감소하는 경향을 보였다. CRE, BUN의 신장 기능관련 지표분석에서는 정상군과 유사한 수준의 수치를 나타냈다.

Table 3. Serum biochemical values in mice after 2 weeks of repeated oral administration of *B. batryticatus*

Parameters	Treatments (mg/kg/day)			
	0	50	150	450
CRE (mg/dl)	1,620 \pm 0,228 ¹⁾	1,200 \pm 0,1632	1,340 \pm 0,230	1,500 \pm 0,316
GLU (mg/dl)	172,000 \pm 6,218	165,250 \pm 23,977	200,500 \pm 26,814	215,000 \pm 28,879*
GOT (U/L)	85,000 \pm 5,354	68,750 \pm 12,711	63,250 \pm 12,175*	64,500 \pm 11,503*
BUN (U/L)	25,675 \pm 2,712	24,200 \pm 2,775	22,860 \pm 3,105	22,460 \pm 3,347
TBIL (mg/dl)	0,725 \pm 0,221	0,975 \pm 0,170	1,050 \pm 0,173	0,975 \pm 0,150
GPT (mg/dl)	55,000 \pm 9,565	46,800 \pm 8,318	38,000 \pm 5,099**	41,000 \pm 5,049*

CRE, Creatinine; GLU, glucose; GOT, glutamate oxaloacetate transaminase; GPT, glutamate pyruvate transaminase; BUN, blood urea nitrogen; TBIL, total bilirubin.

¹⁾ Values are expressed as means \pm SD of five mice per each group at sacrifice.

* p < 0,05 and **p < 0,01 compared with normal control.

IV. 고찰 및 결론

곤충은 이미 오래전부터 한국, 중국뿐만 아니라 동남아시아, 유럽 등 세계 여러 나라에서 식용으로 이용되어 왔으며, 다양한 유용물질을 함유하고 있어 영양학적 가치가 우수하고 60% 이상의 단백질과 불포화지방을 함유하고 있어 새로운 식량자원으로써 관심이 증대되고 있다¹²⁾. 한방에서 백강잠(白僵蠶)은

성미(性味)가 신(辛), 함(鹹), 평(平), 무독(無毒)하며, 간(肝), 폐(肺), 위(胃)경(經)에 귀경(歸經)하면서 거풍승습(祛風勝濕), 사열산결(瀉熱散結), 통리경락(通利經絡)하여 풍한(風寒)과 습열저체(濕熱貯滯)를 소통(疏通)시키며, 동의보감에는 소갈증, 고혈압, 당뇨 및 불면증 등을 치료하는데 사용된다고 기록되어

있다^{13,14}). 또한, 식용 및 약용으로 다양하게 이용되어 왔고 예로부터 간질, 경련, 두통 등의 치료를 위한 전통치료약재로 사용되어 왔으며, 생리활성 및 기전연구가 활발하게 진행되고 있다. 그러나 다양한 효능 연구와 관심이 높아지고 있는 반면에 백강잠에 대한 안전성 및 독성평가에 대한 연구가 이루어지지 않은 실정이다.

본 연구에서는 백강잠추출물에 의한 독성유무를 확인 및 GLP 독성평가(13주 독성)를 위한 적합한 농도를 설정을 위해, 이전 유사한 연구에서 5마리 수컷 마우스를 사용하여 예비실험을 수행했던 연구 결과^{15,16})들을 바탕으로 투여 종료시점까지의 2주 동안 이상소견 및 체중변화, 장기 무게, 조직병리학적 분석, 혈액 및 혈액생화학적 분석을 실시하였다. 백강잠추출물을 0, 50, 150, 450 mg/kg/day으로 2주 동안 경구 투여 후, 이상증상 및 사망동물 발생률을 확인한 결과, 실험 종료시점까지 사망개체 및 이상소견이 관찰되지 않았다. 모든 동물의 체중을 측정하였을 때 모든 처리군에서 투여일이 경과됨에 따라 정상적으로 무게가 증가되었고 백강잠추출물에 의한 이상적인 체중 변화는 나타나지 않았다. 또한, 백강잠추출물은 사망개체 및 이상증상 발생률에 영향을 미치지 않았으며, 체중의 변화에도 작용하지 않음을 확인하였다.

실험종료 시, 부검을 통해 백강잠추출물이 장기에 미치는 영향을 분석하기 위해, 간, 고환, 비장, 신장, 폐 조직의 무게를 측정하고 결과, 정상군과 비교하였을 때 수집된 장기 무게와 백강잠추출물 처리군의 장기 무게간의 유의미한 변화가 나타나지 않았다. 또한, 간 조직의 조직병리학적 분석에서도 독성으로 인한 병변 등이 관찰되지 않았고 구조적으로 유사하여 백강잠 투여로 인한 독성학적 이상소견은 발견되지 않았다.

혈액학적 분석에서는 적혈구(RBC), 혈소량(Hb), 적혈구용적(HCT), 평균적혈구용적(MCV), 평균적혈구혈색소량(MCH), 평균적혈구혈색소농도(MCHC), 혈소판(PLT), 백혈구(WBC), 호중구(NEU), 림프구(LYM), 단핵구(MON), 호산구(EOS), 호염기성백혈구(BAS)를 분석한 결과, 정상군과 비교하였을 때 백강잠추출물 투여에 의한 유의적인 차이를 보이지 않았다. 혈액 생화학적 분석에서는 GLU, GOT, GPT, TBIL 측정결과, TBIL의 경우 정상군과 유의한 차이를 나타내지 않았으나 GLU는 백강잠추출물 투여농도가 증가함에 따라 증가하는 경향을 보였고 450 mg/kg/day에서 유의성 있는 차이를 보였다. 이번 연구의 경우 절식하지 않고 부검을 진행하여 기존에 보고된 연구¹⁷)의 절식 후 마우스의 공복혈당 보다 더 높은 수준의 혈당이 측정되었고 고용량군에서 대조군에 비해 유의성 있는 혈당이 증가한 것으로 사료되며, 기존의 절식하지 않은 정상 마우스의 혈당과 비교하였을 때 유의성 있는 변화는 아니었다. 일반적으로 급성 간독성의 경우 GOT 및 GPT 수치가 현저한 증가를 나타냈는데, 이번 연구 결과 GOT, GPT에서도 150, 450 mg/kg/day 농도를 투여하였을 때 정상군에 비해 감소하는 경향을 보였다. 그러나, 이러한 GOT와 GPT의 감소는 간 조직이 80% 이상 파괴된 경우에 나타나지만, 조직학적인 병변을 관찰했을 때 병리학적인 변화가 관찰되지 않아 독성학적인 의미는 없는 것으로 사료된다. 또한, 기존 연구¹⁸)에서 마우스의 정상 GOT 범위는 36~102, GPT는 16~58로 본 연구에서 수행된 마우스의 혈중 수치는 모두 범주 안에 해당하는 것으로 나타났다. CRE, BUN의 신장 기능관련 지표분석에서는

CRE, BUN 모두 유의한 차이를 보이지 않았다.

따라서, 본 실험 조건 하에서 백강잠추출물을 2주 반복경구 투여하였을 때 450 mg/kg/day 용량까지 다양한 일반증상, 체중변화, 조직학적 분석, 혈액 수치 변화에 독성영향을 미치지 않은 것으로 확인되었으며, 혈청생화학적 수치 변화가 발견되었지만 모두 정상 범위 내 해당되어 독성의 영향이 아닌 것으로 판단된다. 본 연구결과는 백강잠추출물 경구투여에 의한 급성 독성 정보를 제공함으로써 유해위험성 평가자료 및 GLP 독성 시험에서의 정확한 농도설정에도 유용하게 활용될 것으로 사료된다.

Acknowledgments

본 연구는 한국한의학연구원 '동의보감 증부약재 활용기반 구축' (KSN18912410) 및 '지속가능한 한약표준자원 활용 기술' (KSN2012320) 사업 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

1. Heo JC, Park JY, Hwang JS, Park HC, Kang SW, Hwang SJ, Yun CY, Kwon TK, Lee SG. Comparison of in vitro Antioxidant activity and Cyclooxygenase-2 Promoter Inhibitory Activity in *Harmonia axyridis* Pallas and *Coccinella septempunctata* Linne. Korean J. Food. Preserv. 2006 ; 13(4) : 513-8.
2. van Huis A. Potential of insects as food and feed in assuring food security. Annu Rev Entomol. 2013 ; 58 : 563-83.
3. Jung JH, Lim BG, Bae, SJ. Study on Consumers' Perception of Edible Insect Foods. J. Korean Soc. Food Cult. 2018 ; 33(6) : 558-66.
4. Kong Y, Xu C, He ZL, Zhou QM, Wang JB, Li ZY, Ming X. A novel peptide inhibitor of platelet aggregation from stiff silkworm, *Bombyx batryticatus*. Peptides. 2014 ; 53 : 70-8.
5. Kikuchi H, Takahashi N, Oshima Y. Novel aromatics bearing 4-O-methylglucose unit isolated from the oriental crude drug *Bombyx Batryticatus*. Tetrahedron Letters. 2004 ; 45(2) : 367-70.
6. K-herb network in Oriental Medicine Advanced Serching Integrated System (OASIS). Available from : <https://oasis.kiom.re.kr/kmedi/main.jsp>.
7. Hu M, Yu Z, Wang J, Fan W, Liu Y, Li J, Xiao H, Li Y, Peng W, Wu C. Traditional Uses, Origins, Chemistry and Pharmacology of *Bombyx batryticatus*: A Review. Molecules. 2017 ; 22(10) : 1779.
8. Wu WP, Cao J, Wu JY, Chen H, Wang D. Anticancer activity of *Bombyx batryticatus* ethanol extract against the human tumor cell line HeLa. Genet Mol

- Res. 2015 ; 14(1) : 79–88.
9. Wu JY, Sheikho A, Ma H, Li TC, Zhao YQ, Zhang YL, Wang D. Molecular mechanisms of *Bombyx batryticatus* ethanol extract inducing gastric cancer SGC-7901 cells apoptosis. *Cytotechnology*. 2017 ; 69(6) : 875–83.
 10. Lim HS, Kim JS, Moon BC, Ryu SM, Lee J, Park G. *Batryticatus Bombyx* Protects Dopaminergic Neurons Against MPTP-Induced Neurotoxicity by Inhibiting Oxidative Damage. *Antioxidants (Basel)*. 2019 ; 8(12) : E574.
 11. Kleiner DE, Chalasani NP, Lee WM, Fontana RJ, Bonkovsky HL, Watkins PB, Hayashi PH, Davern TJ, Navarro V, Reddy R, Talwalkar JA, Stolz A, Gu J, Barnhart H, Hoofnagle JH; Drug-Induced Liver Injury Network (DILIN). Hepatic histological findings in suspected drug-induced liver injury: systematic evaluation and clinical associations. *Hepatology*. 2014 ; 59(2) : 667–70.
 12. Park GC, Chung CH, Cho JH, Hwang JS. Relationships among consumer's dietary lifestyle, image, intention to use, and willingness to pay in the context of seasoning foods of edible insects. *Korean Journal of Hotel Administration*. 2019 ; 119 : 281–92.
 13. Kim WJ, Yang SG, Noh PR, Park IK, Choi GY, Song JH, Moon BC. Development SCAR marker for the rapid authentication of *Batryticatus Bombyx* based on COI Sequences. *Kor. J. Herbol*. 2019 ; 34(5) : 13–20.
 14. Kim HH, Ahn SH, Park SY. Effects of *Bombycis corpus* on Male Osteoporosis. *J physiol & Pathol Korean Med*. 2019 ; 33(1) : 56–62.
 15. Lim HS, Seo YS, Ryu SM, Moon BC, Choi G, Kim JS. Two-Week Repeated Oral Dose Toxicity Study of *Mantidis Ootheca* Water Extract in C57BL/6 Mice. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2019 ; 6 : 6180236.
 16. Kim JK, Lee IC, Kim SH, Baek HS, Bae JS, Song SW, Kim JC, Chung YH. 2-Week repeated oral dose toxicity study of 1,4-dichlorobutane in rats. *J Korean Soc Occup Environ Hyg*. 2013 ; 23(1) : 1–10.
 17. Schreyer SA, Wilson DL, LeBoeuf RC. C57BL/6 mice fed high fat diets as models for diabetes-accelerated atherosclerosis. 1998 ; 136(1) : 17–24.
 18. Huang X, Lee RJ, Qi Y, Li Y, Lu J, Meng Q, Teng L, Xie J. Microfluidic hydrodynamic focusing synthesis of polymer-lipid nanoparticles for siRNA delivery. *Oncotarget*. 2017 ; 8(57) : 96826–96836.