



4-week dose range finding toxicity test of Magnoliae Flos extract in Sprague-Dawley rats

Ju-Hyoung Park¹ · Eun-Kyung Ahn² · Kitae Park² · Min Hee Hwang² · Young-Rak Cho² · Dong-Ryung Lee³ · Bong-Keun Choi³ · Joa Sub Oh¹

Sprague-Dawley 랫드를 이용한 신이 추출물의 4주 반복 용량 결정 독성시험

박주형¹ · 안은경² · 박기태² · 황민희² · 조영락² · 이동령³ · 최봉근³ · 오좌섭¹

Received: 17 December 2021 / Accepted: 25 January 2022 / Published Online: 31 March 2022
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2022

Abstract Medicinal herb demonstrated in many pharmacological effects and recognized to be safe has been used for a long time. However, side effects including safety of medicinal herb have not been identified yet. The aim of the study was to estimate safety evaluation of Magnoliae Flos used for the treatment of pain, rhinitis, and pneumonia in Korea, China and Japan through four-week dose range finding toxicity test in male and female Sprague-Dawley rats. Magnoliae Flos was orally administered to male and female SD rats once a day for 28 days at 1,500 and 3,000 mg/kg. The safety evaluation was determined to examine clinical signs, mortality, body weight, food intake, hematology, serum biochemistry and relative organ weights and there were no significant changes related toxicity. Consequently, these findings indicates that

Magnoliae Flos did not show any side effects including toxicity in dose range finding toxicity test and the no observed adverse effect level for Magnoliae Flos was estimated as more than 3,000 mg/kg.

Keywords Dose range finding toxicity test · Magnoliae Flos · No observed adverse effect level

서 론

천연물은 전통적으로 다양한 질병의 예방과 치료의 목적으로 동양문화권에서는 오래 전부터 사용되어 왔다. 최근에는 천연소재의 관심도가 높아지고 있으며 의약품 및 기능성 식품 등 천연물을 이용하여 여러 분야에서 무분별한 개발에 사용되어지고 있다[1-4]. 합성의약품과 비교하여 이전부터 다양한 임상 경험을 바탕으로 효능이 입증된 천연물이 사용되고 있는 반면 안정성이 확보되지 않은 천연물의 사용으로 독성을 포함한 다양한 부작용은 체계적인 연구가 이루어지지 않고 있다. 천연물을 이용하여 다양한 활성연구를 기반으로 개발된 의약품 및 기능성 식품은 일반 합성의약품 보다 복용기간이 길기 때문에 과학적인 근거를 바탕으로 개발에 사용되는 천연물의 안전성을 입증해야 한다[4-8].

신이(Magnoliae Flos)는 한국, 중국, 일본 등 동아시아 지역에서 자생하는 목련과(Magnoliaceae)에 속하는 망춘화(*Magnolia biondii* Pampanini), 백목련(*Magnolia denudata* Desrousseaux), 목련(*Magnolia kobus* De Candolle), 및 무당목련(*Magnolia sprengeri* Pampanini)의 봉오리이다. 전통의학에서 신이는 진정,

Ju-Hyoung Park and Eun-Kyung Ahn are contributed equally to this work.

Joa Sub Oh (✉)
E-mail: jsoh@dankook.ac.kr

¹College of Pharmacy, Dankook University, Cheonan 31116, Republic of Korea

²Bio-center, Gyeonggido Business and Science Accelerator, Suwon 16229, Republic of Korea

³NUON Co., Ltd., Seongnam 13201, Republic of Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

진통약으로 이용되며, 비염과 축농증과 같은 비 질환의 치료에 사용하는 것으로 알려져 있고, 목련과에 속하는 식물은 두통, 축농증, 알러지를 동반하는 축농증 치료에 사용되어 졌다고 알려져 있다[9-11]. 목련과 식물의 다양한 활성이 보고됨에 따라 신이를 이용한 의약품 및 기능성 식품이 개발될 것으로 예상되지만, 과학적인 시험법을 통하여 신이의 복용으로 인한 독성을 포함한 부작용에 관한 안전성 평가는 찾아보기 어려운 실정이다[12-14].

신이를 장기간 복용하였을 경우 나타날 수 있는 독성에 관한 안전성 평가를 확인을 하기 위하여, 식품의약품안전처에서 고시한 의약품 등의 독성시험기준에 따라 수행하였다. 본 연구는 13주 장기독성시험의 용량설정을 위하여, SD rat에 4주간 반복 경구투여 하여 기간 내에 체중 변화, 사료 섭취량 변화, 혈구분석, 혈액생화학분석 및 장기 중량 변화를 측정하여 신이의 안전한 투여용량의 범위를 설정하고자 하였다.

재료 및 방법

신이추출물 제조

신이는 목련과 및 그 밖의 동속 근연 식물의 꽃봉오리를 말하는 것으로 본 실험에 사용한 신이추출물은 (주)뉴온에서 제공받아 사용하였다. 실험에 사용한 신이는 중국 사천성에서 수확하여 건조한 목련(*Magnolia kobus*) 꽃봉오리를 사용하였으며 추출물은 Shaanxi Jiahe Phytochem Co., Ltd. (Shaanxi, China)에서 제조하였다. 추출물은 목련 꽃봉오리를 약 8배 중량의 95°C 물로 2시간씩 3회 추출한 후, 70°C 조건에서 농축 후, 분무 건조를 거쳐 획득하여 사용하였다.

시험물질의 조제 및 투여

시험물질로 사용되는 신이 추출물(Magnoliae Flos extract, ME)은 중량 그대로를 순도 보정 없이 조제에 사용하였다. 정량의 시험물질을 전자저울을 이용하여 칭량하였고 부형제는 대한약품공업의 대한멜균주류수 주사용수를 사용하였다. 조제용기에 시험물질을 넣고 부형제를 소량씩 가하여 교반기를 이용하여 시험물질을 완전히 용해시킨 후 규정농도에 맞게 남은 부형제를 넣고 조제하였다. 조제물은 투여 당일에 매일 조제하여 투여에 사용하였다. 신이 추출물을 균일하게 용해시켜 일반적인 경구투여 반복독성 한계용량으로 사용되는 1,000 mg/kg 보다 3배 높은 3,000 mg/kg을 최고용량으로 설정하고 또 다른 농도는 2배수 간격을 두어 1,500 mg/kg로 투여 농도를 설정하였다. 투여액량은 10 mL/kg으로 하고 동물의 체중을 기준으로 개체 별 투여량을 산출하였다. 투여는 존데를 부착한 일회용 주사기를 이용하여 위내 강제 투여하였고, 신이 추출물은 투여 기간 동안 냉장보관 하였으며, 투여횟수 및 기간은 1회/일, 6일/주, 4주간 진행하였다.

실험동물

실험동물은 6주령의 암, 수컷 SD rat를 (주)오리엔트바이오에서 구입하였다. 실험동물 입수 시, 외관검사를 실시하고 전자저울로 체중을 측정하였다. 1주일간 실험실에서 순화과정을 거치고 그 기간 중에 일반증상을 관찰하여 이상이 없는 실험동물을 선택하여 실험에 사용하였다. 모든 실험동물은 군당 5마리씩 배치하였다.

사육환경

실험기간 중 사육실 환경조건은 실내온도 22±3°C, 상대습도 50±20%, 환기횟수 15~20회/시간, 명암주기 12시간(오전 7시~오후 7시) 및 조도 150~300 Lux, 소음 60 dB 이하를 유지하였으며 모든 실험동물은 Polysulfone 사육상자(300D×500W×200H mm)에 2~3마리씩 분리하여 사육하였다. 동물실험은 국제실험동물관리평가인증협회(AAALAC-I)에 완전인증을 받은 (재)경기도경제과학진흥원 바이오센터에서 동물실험윤리위원회(Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC)의 승인(승인번호: 2021-05-0001)하에 시험기관의 표준작업순서에 따라 수행하였다.

사료 및 물의 급여방법

실험동물용 고품사료(Teklad Certified Irradiated Global 18% Protin Rodent Diet 2918C, Research Diet INC., New Brunswick, NJ, USA)는 두얼바이오텍에서 공급받아 급여기에 넣고 자유섭취 하였다. 음수는 음용 상수도를 정수시킨 후 폴리카보네이트제 물병에 넣고 멸균하여 자유섭취 하였다. 사료와 음수의 분석은 생산자로부터 공급된 성적서 및 국가공인 검사기관에서 검사한 자료를 참고하여 분석결과가 시험기관에서 정한 허용범위 내에 속하는지를 확인하였다.

일반증상관찰, 체중 및 사료섭취량 측정

시험기간 중, 모든 동물에 대하여 투여 전·후 매일 2회 일반증상의 변화 및 독성증상을 관찰하였다. 체중 측정은 군 분리 시, 투여기간 중 주 2회 측정 및 부검 당일에 측정하였다. 사료섭취량은 투여 개시 후 4주 동안 주 2회 측정하였으며, 평균 사료섭취량은 사료를 급여한 후 섭취량 차이를 1마리/일 기준으로 산출하였다.

혈구분석

시험 종료 후 생존한 모든 동물을 대상으로 부검 전일 음수는 자유섭취 시키면서 절식을 진행하였다. 실험동물은 흡입마취제를 이용하여 호흡 마취 후, 개복하여 복대 동맥에서 혈액을 채혈하여 항응고제인 EDTA가 들어있는 채혈튜브(BD Caribe, Ltd., Franklin Lakes, NJ, USA)에 넣어 혈구분석기(MEK-6550, NIHON KOHDEN, Tokyo, Japan)를 이용하여 White blood cell count (WBC), Red blood cell count (RBC), hemoglobin concentration (HGB), Hematocrit (HCT), Mean corpuscular hemoglobin (MCV), Mean corpuscular hemoglobin (MCH), Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), Platelet (PLT), Red cell distribution width (RDW), Platelet distribution width (PDW), Mean platelet volume (MPV)를 측정하였다.

혈액생화학분석

혈구분석을 완료한 실험동물의 혈액을 3,000 rpm, 15분간 원심분리기(Centrifuge 5415R, EPPENDORF, Hamburg, Germany)를 이용하여 원심 분리하여 얻은 혈청을 혈액생화학분석기(7020, HITACHI, Tokyo, Japan)를 이용하여 Glucose (GLU), Creatinine (CREA), Total protein (TP), Albumin (ALB), Glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), Glutamate pyruvate

transaminase (GPT), Total bilirubin (T-BIL), Cholesterol (CHO), Triglyceride (TG), High density lipoprotein (HDL), Blood urea nitrogen (BUN), Low density lipoprotein (LDL), Inorganic phosphorous (IP), Lactate dehydrogenase (LDH), Direct bilirubin (D-BIL), Uric acid (UA)를 측정하였다.

부검소견 관찰 및 장기무게 측정

채혈 후 복대정맥을 절단하여 방혈하는 방법으로 도살을 실시하고, 부검소견을 관찰하였다. 부검 후 심장, 폐, 간, 비장, 신장, 고환 및 난소를 적출하여 무게를 측정 후 부검 전 절식된 체중과 비교하여 상대적 장기중량을 산출하였다.

통계 처리

본 시험에서 얻은 결과는 평균 ± 표준편차로 나타냈으며, 대조군과 시험물질 투여군의 통계학적 유의성을 Student's t-test를 실행하여 $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ 수준에서 검정하였다.

결 과

일반증상 및 사망률

신이추출물을 최고용량 3,000 mg/kg까지 매일 반복 투여 후 4주간 관찰한 결과, 대조군을 포함한 모든 군에서 시험물질의 영

향으로 보이는 독성과 관련된 유의할 만한 이상 증상과 특이적 임상 증상도 관찰되지 않았다. 관찰 기간 중 빈사 및 사망동물은 발생되지 않았다(Table 1).

체중 및 사료섭취량

4주간 신이추출물 투여에 의한 체중 측정 결과는 수컷의 경우 1,500 mg/kg 투여군에서 신이추출물 투여 7일차부터, 암컷의 경우 3,000 mg/kg 투여군에서 신이추출물 투여 3일차부터 정상대조군에 비해 체중증가량 및 사료섭취량이 감소하는 경향이 확인되었다(Figs. 1, 2). 그러나 수컷과 암컷의 경우 종합적으로 봤을 때 체중증가량 감소는 용량 의존적이지 않고 약한 정도의 변화이며 체중 감소와 관련된 활동성 감소 등 기타 이상 소견이 관찰되지 않았기에 독성학적 의미가 없는 변화로 판단하였다.

혈액학적 검사

신이추출물의 4주 반복 투여 종료 후 복대 정맥에서 채혈한 혈액의 혈구분석 결과 신이추출물의 투여와 관련된 변화는 관찰되지 않았다. 수컷의 경우 3,000 mg/kg 투여군의 MCH와 MPV의 수치에서 유의성이 관찰되기도 하였으나 변동폭이 크지 않고 수치 변화에 따른 특이적 임상증상도 관찰되지 않았기에 독성학적 측면에서 큰 임상적 의미를 가지지 않는 것으로 판단된다(Table 2). 혈액생화학분석 결과 수컷의 경우 CREA, TP, ALB, TG, BUN, D-BIL 수치에서, 암컷의 경우 GLU, ALB,

Table 1 Necropsy findings of male and female SD rats treated with ME for 4 weeks

Sex: Male						
Test article	Group	No. of animals	Organs	Findings	No. of animals affected	
-	Normal	5	All	No remarkable findings	0	
	1,500 mg/kg	5	All	No remarkable findings	0	
	3,000 mg/kg	5	All	No remarkable findings	0	
Sex: Female						
Test article	Group	No. of animals	Organs	Findings	No. of animals affected	
-	Normal	5	All	No remarkable findings	0	
	1,500 mg/kg	5	All	No remarkable findings	0	
	3,000 mg/kg	5	All	No remarkable findings	0	

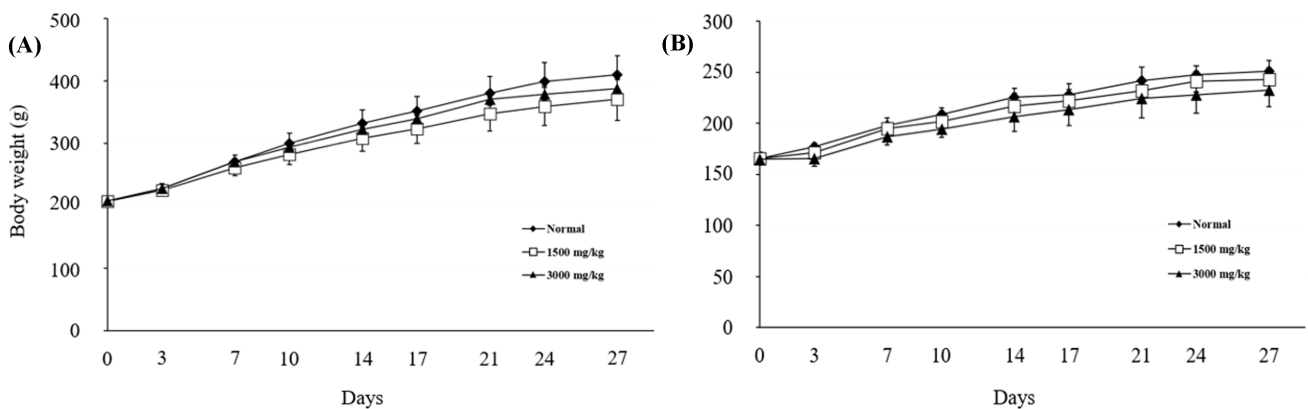


Fig. 1 Change in body weight of male and female SD rats during oral administration treated with ME for 28 days. For the experiment period, (A) male and (B) female SD rat were divided into 3 groups and administrated daily with ME (0, 1,500, and 3,000 mg/kg) for 28 days. ♦, Normal; □, ME 1,500 mg/kg; ▲, ME 3,000 mg/kg

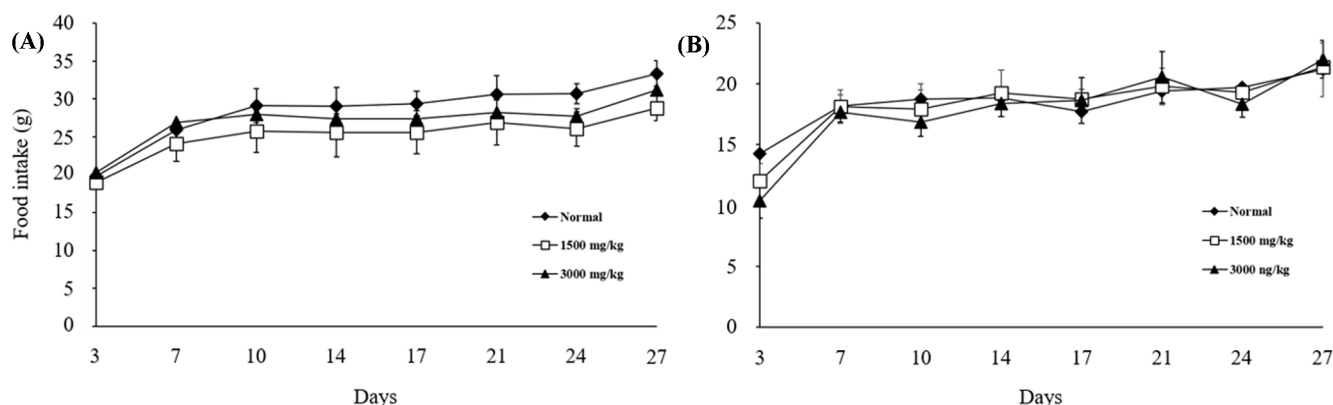


Fig. 2 Food intake of male and female SD rats treated with ME for 28 days. For the experiment period, (A) male and (B) female SD rat were divided into 3 groups and administrated daily with ME (0, 1,500, and 3,000 mg/kg) for 28 days. ♦, Normal; □, ME 1,500 mg/kg; ▲, ME 3,000 mg/kg

Table 2 Hematology routine test of male and female SD rats treated with ME for 4 weeks

Sex: Male							
Test article	Group	WBC ($10^3/\mu\text{L}$)	RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	HGB (g/dL)	HCT (g/dL)	MCV (fL)	MCH (pg)
-	Normal	10.32±3.15	10.97±1.70	19.84±3.16	64.20±10.32	58.48±1.20	18.08±0.31
	ME 1,500 mg/kg	8.88±2.40	9.83±1.29	17.88±2.04	57.60±6.79	58.66±1.74	18.22±0.57
	ME 3,000 mg/kg	10.50±2.34	9.91±1.56	18.82±3.22	60.42±10.44	60.92±2.21	18.98±0.67*
Test article	Group	MCHC (g/dL)	PLT ($10^3/\mu\text{L}$)	RDW	PDW	MPV	
-	Normal	30.92±0.25	822.20±298.18	12.06±0.40	15.62±0.77	5.90±0.21	
	ME 1,500 mg/kg	31.04±0.17	719.40±31.61	11.78±0.41	15.76±0.53	5.80±0.21	
	ME 3,000 mg/kg	31.16±0.46	691.40±163.73	11.96±0.40	16.24±0.54	5.74±0.32*	
Sex: Female							
Test article	Group	WBC ($10^3/\mu\text{L}$)	RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	HGB (g/dL)	HCT (g/dL)	MCV (fL)	MCH (pg)
-	Normal	7.03±4.05	9.84±2.31	18.30±3.93	58.13±12.66	59.23±1.86	18.65±0.66
	ME 1,500 mg/kg	5.08±2.97	6.94±2.95	13.28±5.54	41.78±17.41	60.22±1.60	19.14±0.57
	ME 3,000 mg/kg	4.96±2.43	7.81±3.37	14.82±6.36	46.72±19.92	59.90±0.91	18.96±0.46
Test article	Group	MCHC (g/dL)	PLT ($10^3/\mu\text{L}$)	RDW	PDW	MPV	
-	Normal	31.50±0.29	688.50±167.80	11.90±0.34	15.53±0.13	5.98±0.15	
	ME 1,500 mg/kg	31.78±0.24	560.00±342.13	11.84±0.76	16.24±1.44	6.28±0.59	
	ME 3,000 mg/kg	31.62±0.61	436.40±238.70	11.90±0.51	16.84±1.50	6.16±0.05	

Values are presented as the means ± standard deviations. * $p < 0.05$: Significantly different from the normal group

GPT, CHO, TG, HDL, LDL 수치에서 통계적 유의성이 관찰되었으나, 암, 수간 검사 항목의 수치가 일관성을 보이지 않았고 변동폭이 크지 않았으며 수치 변화와 관련된 특이적 임상증상 및 부검소견, 장기무게 변화도 관찰되지 않았기에 신이추출물과 관련된 독성학적 의미가 없는 변화로 판단된다(Table 3).

부검소견 관찰 및 장기무게 측정

부검소견에서 일부 실험동물의 가슴샘 발적 증상이 관찰되었으나 이는 신이추출물의 영향이 아닌 일반 rat에서도 흔히 나타나는 증상으로 비시험물질 유래 변화로 추정된다. 이외에 부검소견에서는 신이추출물과 관련된 특이적 독성 소견이 관찰되지 않았다. 상대적 장기중량의 결과에서도 신이추출물과 관련된 특이적 변화는 관찰되지 않았다(Table 4). 일부 실험동물에서 통계적 유의성이 관찰되었으나, 이는 농도 의존성이 없으며 장기의

기능 이상으로 발행할 수 있는 임상증상이 발견되지 않았기에 독성학적 측면에서 큰 임상적 의미를 가지지 않는 것으로 판단된다.

고찰

목련과 식물의 다양한 활성은 많이 보고가 되었으나, 목련과 식물의 붕오리로 알려진 신이는 오래전부터 다양한 질환의 치료에 사용이 되었으나 독성 및 안정성에 관한 연구 결과는 비교적 찾아보기 어렵다. 따라서 안전한 투여 용량 범위를 설정하기 위하여 신이추출물의 4주 반복 경구 투여 독성시험을 진행하였다. 독성시험은 대조군을 포함하여 1,500, 및 3,000 mg/kg 투여군으로 설정하였다. 신이추출물의 4주 반복 경구 투여 후,

Table 3 Serum clinical analysis of male and female SD rats treated with ME for 4 weeks

Sex: Male							
Test article	Group	GLU (mg/dL)	CREA (ng/dL)	TP (mg/dL)	ALB (mg/dL)	GOT (U/L)	GPT (U/L)
-	Normal	160.07±41.31	0.14±0.04	4.22±0.26	2.01±0.12	80.78±5.76	45.06±7.06
	ME 1500 mg/kg	124.18±21.67	0.08±0.03*	3.89±0.32	1.91±0.15	72.08±12.30	42.59±7.30
	ME 3000 mg/kg	144.20±21.46	0.04±0.05*	3.76±0.27*	1.84±0.04*	83.46±20.06	41.28±12.92
Test article	Group	T-BIL (mg/dL)	CHO (mg/dL)	TG (mg/dL)	HDL (mg/dL)	BUN (mg/dL)	
-	Normal	0.01±0.02	74.75±9.18	41.73±18.94	34.61±3.76	18.02±1.23	
	ME 1,500 mg/kg	0.02±0.02	76.68±19.86	22.36±17.19	34.32±5.40	16.52±2.67	
	ME 3,000 mg/kg	0.02±0.02	78.82±9.28	27.16±19.97*	36.03±3.55	14.68±1.85*	
Test article	Group	LDL (mg/dL)	IP (mg/dL)	LDH (U/L)	D-BIL (mg/dL)	UA (mg/dL)	
-	Normal	6.16±1.27	12.09±0.68	786.21±191.51	0.03±0.01	1.05±0.35	
	ME 1,500 mg/kg	6.31±1.68	11.55±0.39	692.10±328.90	0.05±0.02	0.76±0.19	
	ME 3,000 mg/kg	5.98±1.32	11.93±0.31	804.35±250.12	0.05±0.01*	0.84±0.69	
Sex: Female							
Test article	Group	GLU (mg/dL)	CREA (ng/dL)	TP (mg/dL)	ALB (mg/dL)	GOT (U/L)	GPT (U/L)
-	Normal	165.61±17.70	0.11±0.03	4.49±0.21	2.40±0.20	62.86±13.90	28.20±8.95
	ME 1,500 mg/kg	127.82±20.16*	0.15±0.05	4.58±0.42	2.47±0.18	152.48±178.00	60.43±38.45
	ME 3,000 mg/kg	147.36±17.40*	0.14±0.04	4.22±0.19	2.23±0.08*	64.58±10.67	45.26±8.84*
Test article	Group	T-BIL (mg/dL)	CHO (mg/dL)	TG (U/L)	HDL (mg/dL)	BUN (mg/dL)	
-	Normal	0.04±0.02	69.98±10.05	36.94±14.22	32.91±4.99	14.14±2.29	
	ME 1,500 mg/kg	0.06±0.03	105.87±6.25***	15.70±4.28	44.54±2.30	19.64±4.72	
	ME 3,000 mg/kg	0.06±0.02	121.13±9.94***	16.90±7.49*	48.17±4.16**	19.33±7.43	
Test article	Group	LDL (mg/dL)	IP (mg/dL)	LDH (U/L)	D-BIL (mg/dL)	UA (mg/dL)	
-	Normal	4.09±1.01	11.76±0.13	440.32±390.41	0.05±0.01	0.50±0.24	
	ME 1,500 mg/kg	5.34±1.00	13.43±4.18	736.20±246.48	0.05±0.02	2.19±3.62	
	ME 3,000 mg/kg	6.29±0.69*	11.50±0.44	296.21±150.83	0.06±0.01	0.63±0.09	

Values are presented as the means ± standard deviations. **p* < 0.05, ***p* < 0.01, ****p* < 0.001: Significantly different from the normal group

Table 4 Relative organ weights (%) of male and female SD rats treated with ME for 4 weeks

Sex: Male							
Test article	Group	Heart (%)	Lung (%)	Liver (%)	Spleen (%)	Kidney (%)	Testis (%)
-	Normal	0.31±0.01	0.33±0.03	3.28±0.13	0.21±0.04	0.74±0.05	0.80±0.11
	ME 1,500 mg/kg	0.33±0.01	0.36±0.04	3.22±0.19	0.23±0.02*	0.78±0.03*	0.88±0.07
	ME 3,000 mg/kg	0.32±0.02	0.34±0.02	3.17±0.22	0.22±0.04	0.81±0.03*	0.89±0.11
Sex: Female							
Test article	Group	Heart (%)	Lung (%)	Liver (%)	Spleen (%)	Kidney (%)	Ovary (%)
-	Normal	0.35±0.02	0.45±0.04	3.29±0.28	0.27±0.04	0.79±0.08	0.07±0.01
	ME 1,500 mg/kg	0.36±0.02	0.49±0.04	3.70±0.77	0.27±0.06	0.81±0.18	0.06±0.01
	ME 3,000 mg/kg	0.37±0.02	0.49±0.02	3.60±0.18*	0.27±0.06	0.81±0.12	0.07±0.01

Values are presented as the means ± standard deviations. **p* < 0.05: Significantly different from the normal group

일반증상, 무게변화, 혈구분석, 혈액생화학분석 및 장기 무게 측정을 하였다. 대조군을 포함한 모든 투여 군에서 최고농도인 3,000 mg/kg까지의 경구투여 시 실험기간 동안 사망동물이나 물질과 관련된 이상증상은 관찰되지 않았다. 체중, 사료섭취량, 부검 및 장기중량 및 혈액학적 검사에서 역시 시험물질과 관련된 독성학적 소견이 관찰되지 않았다. 결과적으로 신이가 독성학적

측면에서 안전한 물질인 것을 확인할 수 있었다. 일부 투여군에서 혈구분석 및 혈액생화학분석에서 일부 투여군에서 지표의 변화가 관찰되었지만, 이는 정상범위 내에서의 변화로 간주되어 지고 다른 임상학적 변화에 영향을 주지 않았으므로 독성학적 의미가 없는 것으로 판단하였다. 종합적으로, 신이추출물 1,500 및 3,000 mg/kg의 용량으로 4 주간 반복 경구 투여 시, 시험물

질과 관련된 치사율 및 독성학적인 변화가 관찰되지 않았으므로 무독성량은 3,000 mg/kg 이상이며, 독성과 관련된 표적 장기는 없으므로 판단된다. 이러한 결과는 이후에 13주 이상의 장기 반복 경구투여 독성시험의 최고용량을 설정할 때 용량 설정 기준에 참고자료 및 신이의 과학적인 안전성 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

초 록

많은 약리학적 효과가 입증되고 안전하다고 인정되는 생약제를 포함한 천연물은 오랫동안 사용되어 왔다. 다만 생약제로 사용되는 천연물의 안전성 등 부작용은 명확하게 확인되지 않았다. 이번 연구의 목적은 통증, 비염, 폐렴 치료에 사용되는 신이의 안정성 평가를 확인하기 위하여 SD 랫드 동물모델을 이용하여 4주 반복 용량 결정 독성시험으로 신이의 독성평가를 수행하였다. 수컷과 암컷 SD 랫드에 신이추출물을 28일 동안 1,500, 3,000 mg/kg의 농도로 하루 1회 경구 투여하였다. 신이추출물의 안정성 평가는 일반증상관찰, 체중 및 사료섭취량 측정, 혈구 및 혈액생화학 분석, 부검소견 관찰 및 상대적 장기무게 측정으로 판단하였으며 실험기간동안 신이추출물의 투여로 독성 관련 유의미한 변화는 나타나지 않았다. 따라서 이러한 연구결과는 4주 반복 용량 결정 독성시험에서 신이추출물이 독성 등 부작용은 나타나지 않았으며, 신이추출물의 독성이 나타나지 않는 최대무독성량은 3,000 mg/kg 이상으로 추정되었다.

Keywords 반복 용량 결정 독성시험 · 신이 · 최대무독성량

감사의 글 본 연구는 산림청(한국임업진흥원) 산림과학기술 연구개발사업 '2021373B10-2123-BD02'의 지원에 의하여 이루어진 것입니다.

References

- Zhang J, Wider B, Shang H, Li X, Ernst E (2012) Quality of herbal medicines: Challenges and solutions. *Complement Ther Med* 20: 100–106. doi: 10.1016/j.ctim.2011.09.004
- Lee JE, Kim HJ, Lee CH, Lee KC, Choi EK, Chai HY, Yun YW, Kim DJ, Nam SY, Lee BJ, Ahn BW (2003) Four-week repeated-dose toxicity study on Pinellia Extract. *Korean J Lab Anim Sci* 19: 127–141
- Oh TW, Bae HS, Yoon CH, Park YK (2010) Thirteen week repeated-dose oral toxicity study of the modified Wenpitang-Hab-Wulingsan (WHW(R)) in sprague-dawley rats. *Kor. J. Herbology* 25: 43–51. doi: 10.6116/kjh.2010.25.3.043
- Choi HK, Roh HS, Jeong JY, Ha HY (2014) Acute oral toxicity of *Atractylodes macrocephala* KOIDZ. *Korean J Plant Res* 27: 11–21. doi: 10.7732/kjpr.2014.27.1.011
- Shaw D, Ladds G, Duez P, Williamson E, Chan K (2012) Pharmacovigilance of herbal medicine. *J Ethnopharmacol* 140: 513–518. doi: 10.1016/j.jep.2012.01.051
- Hwang SY, Kwon W, Chai HY, Cho YM, Lee NJ, Ryu JM, Sin JS, Kim TM, Cho JH, Kim EJ, Park JH, Kang JK, Kim YB (2004) Four-week repeated-dose toxicity study on Mori Radicis cortex. *Korean J Lab Anim Sci* 20: 283–290
- Yoo HJ, Park MY, Choi HY, Kim JD (2010) Mouse single oral dose toxicity test of Lonicerae Flos aqueous extracts. *Korean J Oriental Med* 31: 539–553
- Cupp MJ (1999) Herbal remedies: Adverse effects and drug interactions. *Am Fam Physician* 59: 1239–1244
- Shen Y, Pang ECK, Xue CCL, Zhao ZZ, Lin JG, Li CG (2008) Inhibition of mast cell-derived histamine release by different Flos Magnoliae species in rat peritoneal mast cells. *Phytomedicine* 15: 808–814. doi: 10.1016/j.phymed.2008.04.012
- Shen Y, Li CG, Zhou SF, Pang EC, Story DF, Xue CC (2008) Chemistry and bioactivity of Flos Magnoliae, a Chinese herb for rhinitis and sinusitis. *Curr Med Chem* 15: 1616–1627. doi: 10.2174/092986708784911515
- Kim HJ, Nam YR, Nam JH (2018) Flos Magnoliae Inhibits Chloride Secretion via ANO1 Inhibition in Calu-3 Cells. *Am J Chin Med* 46: 1079–1092. doi: 10.1142/S0192415X18500568
- Kim YH, Sung JY, Seo KY, Shin JC, Kim BS, Yeum JH, Lee JT (2012) Study on Cosmeceutical Activities and Anti-inflammatory Activities of Magnolia biondii Extract. *J Life Sci* 22: 730–735. doi: 10.5352/JLS.2012.22.6.730
- Kim DY, Jeong WS, Moon HC, Park SJ (2007) Water Extract of Flowers of Magnolia Denudata Inhibits LPS-induced Nitric Oxide and Pro-inflammatory Cytokines Production in Murine Peritoneal Macrophage by Inhibiting NF-κB Activation. *J Physiol & Pathol Korean Med* 21: 916–920
- Lee SS, Lee HJ (2010) Studies on Antimicrobial and Antioxidative Activities of Extracts from Magnoliaceae. *J Korean Wood Sci and Technol* 38: 579–586. doi: 10.5658/WOOD.2010.38.6.579