

재배 상황버섯 추출물의 경구투여 급성독성 연구

한용석 · 박순영¹ · 최병기² · 정세영*

경희대학교 약학대학 위생화학실, ¹경희대학교 의과대학 예방의학교실,

²동덕여자대학교 약학대학 위생화학실

Acute Oral Toxicity Studies of Extract of Sanghwang Mushroom (*Phellinus linteus*)

Yong Suk HAN, Soon Young PARK¹, Byung Ki CHOI² and Se Young CHOUNG*

Department of Hygienic Chemistry, College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul, Korea

¹Department of Preventive Medicine, College of Medicine, Kyung Hee University, Seoul, Korea

²Department of Hygienic Chemistry, College of Pharmacy, Dongduk University, Seoul, Korea

(Received January 30, 2001; accepted March 15, 2001)

Abstract – The current study was performed to determine the acute oral toxicity of a crude extract of sanghwang mushroom (*Phellinus linteus*), in SD rats. 5 rats of each sex were orally treated with a single dose of extract of sanghwang mushroom at doses of 0, 500, 1,000, 2,000 mg/kg, respectively. After the treatment, clinical signs and body weight change, the food and water consumption were observed for 14 days. All animals survived during the the study and did not show any clinical signs. Body weight gain showed no significant difference between the control and treated rats. However, body weight gain delayed in high dose group (2,000 mg/kg) on day 1~3 after administration. Another 5 rats of each sex were orally treated with a single dose of extract of sanghwang mushroom at dosages 4,000, 5,000 mg/kg respectively, but all animals survived during the study and did not show any clinical signs. It is suggested that LD₅₀ of extract of sanghwang mushroom by oral administration was estimated to be over 5,000 mg/kg in both sexes of rats.

Key words □ Sanghwang mushroom, Acute oral toxicity, Rat, LD₅₀

최근 재배가 가능케 된 상황버섯은 한방에서 백강잠과 더불어서 당뇨병에 대한 치료효과를 가지고 있다고 알려져 있다. 상황버섯은 인슐린 비의존형 당뇨병에 사용되는 acarbose와 같이 *in vitro*에서 알파글루코시다제를 저해시키고 장내유산균을 증가시켜 장내환경을 개선시킨다는 것이 여러 보고를 통하여 증명된 바 있으며 특히 시중에서 이용되고있는 버섯 중 유산균 증식효과가 우수하다고 증명된 표고버섯과 마찬가지로 상황버섯 또한 비슷한 효과를 나타냄과 동시에 오히려 알파글루코시다제의 저해효과 면에서 오히려 우수한 것으로 알려져 있다(Mueller 등, 1989; 한명주 등, 1996; 김동현 등, 1998).

상황버섯에 대한 상기의 연구결과들을 통하여 대장 및 당뇨병 등에 효과가 기대되는 상황버섯의 기능성 식품으로써 개발 가능성은 충분하며 이를 뒷받침하고자 안전성을 증명하고자 하였다.

따라서 본 연구는 상황버섯 추출물의 SD rat에 대한 급

성경구독성 평가를 위해 치사율, 체중변화, 임상증상, 사료 섭취량 및 음수량을 측정하였다.

실험재료 및 방법

본 연구는 식품의약품안전청 고시 제 1999-61(1999년 12월 22일) “의약품 등의 독성시험기준”에 준하여 실시하였다.

실험재료 및 동물

실험재료

재배 상황버섯은 금사버섯농원(경기도 여주군 금사면 금사 2리 496번지)에서 구입하여 사용하였다.

버섯시료의 추출

건조된 상황 버섯 150 g에 증류수 1L를 가하고 80°C 수욕상에서 8시간 동안 추출한 후 여과하고, 다시 잔사에 증류수 0.5L를 가하여 4시간 동안 추출한 후 여과하여 얻은 수층을 앞에서 얻은 물추출물과 합했다(0.9L). 이 추출물을 동결건조기(EYELA CO.)를 사용하여 동결건조하였다.

*To whom correspondence should be addressed.

실험동물

SD rat으로 4주령, 체중 80~90 g을 70마리를 구입하여 실험 실시하는 동물실에서 7일간 순화기간을 두어 육안적으로 일반증상을 관찰하여 건강한 동물 암·수 모두 60마리(암 30, 수 30)를 시험에 사용하였다. 동물군 분리는 순화기간 중 건강하다고 판정된 동물의 체중을 근거로 체중이 비슷한 동물을 무작위법으로 균등히 암·수, 각군당 5마리씩 분배하였다. 동물의 개체별 식별법은 매직 잉크를 사용하여 피모 채색마킹법으로 실시하였다

사육조건

본 시험은 온도 $23 \pm 3^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 10\%$, 조명시간 12시간, 환기 횟수 10~20/hr 및 조도 150~300 Lux로 설정된 동물실에서 사육되었다. 실험자는 소독된 기구를 사용하여 실험을 실시하였다.

시험기간 중 동물실의 온도, 습도는 자동 온도, 습도 조절장치에 의해 일정하게 유지되며, 환경 모니터링 결과 시험에 영향을 미칠 것으로 사료되는 변동은 없었다.

순화기간 및 시험기간 중에는 플라스틱제 사육상자로 (220W×410L×200H mm)를 5마리사육상자로 수용하였다.

사료 및 물의 급여방법

사료는 실험동물용 고품사료를 사용하였고, 하루 공급량은 300 g씩 제한 급여 하였다. 사료의 오염물질 확인은 공급처에서 제공한 자료를 근거한 바 시험에 영향을 미치는 요인은 발견되지 않았다.

물은 음수가 가능한 상수도수를 급여하였고, 하루 급여량은 480 ml로 제한 급여 하였다.

투여량 설정

본 실험물질에 대한 예비실험결과 2,000 mg/kg 용량에서도 독성이 아주 미약한 것으로 나타나 본 시험에 있어서 최고 용량을 rat의 체중에 대한 2,000 mg/kg을 최고로 1,000 mg/kg, 500 mg/kg으로 설정하였다

시험물질의 투여

시험물질은 동결건조한 상태의 분말상으로 3차 증류수에 용해하여 1,000 mg/ml 농도로 한 뒤 투여하였다. Rat은 투여 전에 하루 밤 절식시킨 후 경구투여용 주사침을 이용하여 위내에 직접 투여하였다(Day 0). 임상적용 예상경로 중의 하나로서 경구투여를 선택하였으며, 투여량은 투여 당일의 체중을 기준으로 하여 계산하였다.

관찰 및 검사항목

일반증상 및 사망동물의 관찰

투여당일은 투여 후 1시간에서 12시간 까지는 매시간, 투여 다음날 부터 14일 까지는 매일 1회 이상씩 일반증상의 변화, 중독증상 및 사망동물의 유무를 관찰하였다.

체중변화 측정

시험에 사용된 모든 개체에 대해 투여개시전과 투여후 매

일 체중을 측정하였다.

사료섭취량 변화 측정

매일 300 g을 각 사육상자에 주어 자유로이 섭취하도록 한 후 전날과의 g수의 변화를 개체수로 나누어서 평균 섭취량을 조사하였다.

음수량 변화 측정

사료섭취량과 같은 방식으로 480 ml를 급수하여 변화량을 개체수로 나누어서 평균 음수량을 조사하였다.

부검소견

생존한 모든 rat에 대하여 ether로 마취 후 개복하여 육안적으로 모든 내부장기를 관찰하였다.

추가실험

2,000 mg/kg의 투여 용량에서 사망한 rat이 한 마리도 없었으므로 LD_{50} 치를 구하기 위해 일본 후생성의 '의약품 비임상 시험 guideline 해설'을 참고로 한계용량을 5,000 mg/kg을 기준으로, 4,000 mg/kg 등의 암·수 각각 5마리씩 한 군으로 하여 위와 실험방법, 조건을 동일하게 추가시험을 실시하였다.

통계학적 분석

모든 실험에 관한 유의성 검정은 one way analysis of variance(ANOVA)에 의한 다중 분산비교법인 Dunnett's test에 의해 실시하였다.

실험결과 및 고찰

사망률

Rat의 암·수 모두 실험기간을 통하여 사망하지 않았다(Table I).

일반증상

Rat에 약물을 투여 후 14일간 임상 증상을 관찰한 결과 암·수 모두 아무런 변화가 일어나지 않았다(Table II).

체중변화

시험 기간동안 rat의 체중변화는 고농도 일수록 투여 후 첫 3일간은 통계적 유의성은 없으나 증가가 매우 미약하였고, 또한 14일간 실험기간에 대해서도 대조군에 비해 체중의 증가율이 떨어지는 것을 나타냈다($P < 0.05$).

이런 현상은 숫컷에서, 고용량일수록 현저하였다.

또한 14일 시험기간을 비교해 볼 때 대조군에 비해 체중 증가율이 낮은 것으로 나타났다(Table III).

사료섭취량 변화

사료 섭취량은 평균 사료 섭취량으로 볼 때 투여후 첫 3일간은 대조군과 비교시 0.8배에 해당하였으며 고용량 투여군에 있어 감소가 현저하였다. 이런 현상은 시험기간중 계속되었다(Table IV).

음수량 변화

음수량을 평균음수량으로 비교해 볼 때 첫 3일간은 대조군

Table I. Mortality of SD rats after a single oral administration

Sex	Dose (mg/kg)	Day0/5	Day1	Day2	Day3	Day13	Day14
Male	0	*0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	500	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1,000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	2,000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	4,000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	5,000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Female	0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	500	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1,000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	2,000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	4,000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	5,000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

*The number of dead animals/the number of animals per group

Table II. Clinical signs of SD rats after a single oral administration

Sex	Dose (mg/kg)	Observations	Range
Male	0	Appears normal	Day0~Day14
	500	Appears normal	Day0~Day14
	1,000	Appears normal	Day0~Day14
	2,000	Appears normal	Day0~Day14
Female	0	Appears normal	Day0~Day14
	500	Appears normal	Day0~Day14
	1,000	Appears normal	Day0~Day14
	2,000	Appears normal	Day0~Day14

과 비교할 때 2,000 mg/kg군은 약 2배 정도, 1000 mg/kg군은 약 1.8배, 500 mg/kg은 1.5배 정도 많은 것으로 나타났다. 그리고 그 다음 4일 부터는 암·수 모두에게 있어 약간 감소하였으며 시일의 경과에 따라 감소는 더 크게 나타났다(Table V).

부검소견

Rat의 암·수 모두를 투여 14일 후 부검하였다. 육안적으로 관찰한 결과 이상소견은 나타나지 않았다(Table VI).

추가시험결과

모두 14일의 시험 기간동안 생존하였으며 부검결과 육안적으로 아무 이상소견이 없었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 상황버섯의 추출물은 급성

Table III. Body weights of SD rats after a single oral administration

Dose	Day0	Day1	Day2	Day3	Day4	Day5	Day6	Day7	Day8	Day9	Day10	Day11	Day12	Day13	Day14
Control (M)	86.0 ± 7.3	98.0 ± 6.9	109.5 ± 9.1	123.5 ± 7.9	133.5 ± 8.4	144.0 ± 10.5	149.0 ± 10.1	154.0 ± 10.9	159.5 ± 10.5	163.5 ± 11.0	167.0 ± 10.4	170.0 ± 12.7	178.0 ± 12.9	183.0 ± 12.2	191.5 ± 15.7
Control (F)	82.0 ± 7.6	94.0 ± 7.4	106.0 ± 8.5	120.0 ± 9.4	126.0 ± 8.7	132.0 ± 10.5	136.0 ± 9.6	140.0 ± 10.3	145.5 ± 10.6	151.0 ± 10.4	158.0 ± 11.0	165.0 ± 10.4	168.9 ± 11.9	174.0 ± 12.3	181.0 ± 12.7
2,000 (M)	82.2 ± 6.7	92.6 ± 6.9	104.0 ± 7.9	116.0 ± 10.0	118.8 ± 8.9	*121.6 ± 7.8	*129.6 ± 8.7	134.4 ± 8.9	*139.6 ± 10.1	146.4 ± 9.4	*150.2 ± 10.7	*154.8 ± 9.8	*159.8 ± 10.5	*162.4 ± 11.4	*166.8 ± 10.9
2,000 (F)	81.6 ± 7.5	91.2 ± 7.1	101.4 ± 7.6	107.2 ± 7.8	114.8 ± 8.2	118.8 ± 7.9	124.6 ± 8.4	129.6 ± 8.1	134.4 ± 7.7	138.6 ± 9.2	142.2 ± 9.5	*149.6 ± 9.4	154.6 ± 11.7	160.0 ± 10.6	164.4 ± 11.4
1,000 (M)	88.8 ± 7.2	100.4 ± 6.9	108.0 ± 7.5	119.8 ± 8.3	128.2 ± 7.7	131.6 ± 7.6	136.0 ± 8.7	142.4 ± 7.7	149.2 ± 9.4	152.2 ± 9.7	158.4 ± 10.2	162.8 ± 10.4	169.6 ± 10.5	174.2 ± 11.2	180.4 ± 10.6
1,000 (F)	84.0 ± 7.1	94.2 ± 7.2	106.2 ± 8.1	119.2 ± 7.7	127.8 ± 8.4	130.6 ± 8.5	135.0 ± 7.9	142.6 ± 7.6	146.6 ± 9.8	150.0 ± 10.1	156.2 ± 10.5	160.4 ± 9.8	166.8 ± 9.7	171.6 ± 10.6	178.8 ± 11.2
500 (M)	87.2 ± 6.5	99.6 ± 7.1	107.6 ± 7.9	116.8 ± 8.5	123.6 ± 7.6	129.4 ± 7.4	134.8 ± 7.6	140.4 ± 8.5	148.0 ± 8.7	153.0 ± 9.6	159.2 ± 11.4	165.4 ± 10.5	170.2 ± 10.2	178.6 ± 10.7	184.8 ± 11.9
500 (F)	82.4 ± 7.3	98.6 ± 7.4	105.8 ± 6.8	115.8 ± 7.6	121.6 ± 7.2	128.2 ± 8.5	132.8 ± 10.1	139.6 ± 7.6	145.8 ± 9.4	151.2 ± 9.5	158.2 ± 10.6	164.4 ± 10.7	170.4 ± 11.5	179.2 ± 12.4	158.6 ± 9.8

M : Male *P<0.05

F : Female

Table IV. Food consumption of SD rats after a single oral administration

Group	Day1	Day2	Day3	Day4	Day5	Day6	Day7	Day8	Day9	Day10	Day11	Day12	Day13	Day14
Control (M)	13.0 (g)	14.0	16.0	18.5	20.3	24.5	28.1	31.0	32.3	33.0	33.0	34.7	35.0	36.0
Control (F)	12.0	13.0	13.0	14.7	16.3	17.0	18.6	19.0	19.0	20.2	20.0	22.0	23.4	24.0
2,000 (M)	9.0	10.0	10.5	13.0	13.6	15.0	15.0	14.7	17.0	17.2	18.4	19.6	20.0	22.0
2,000 (F)	8.9	9.2	10.0	10.0	11.2	11.0	11.0	13.3	13.0	15.2	16.0	17.5	19.0	20.0
1,000 (M)	12.0	13.0	13.4	12.3	14.0	14.8	15.0	16.0	18.0	17.8	18.0	19.0	19.7	21.3
1000 (F)	11.2	12.0	12.0	13.8	14.0	14.5	15.0	15.0	14.0	15.4	16.7	18.0	19.0	20.0
500 (M)	13.0	12.0	13.4	14.0	15.4	16.1	15.9	16.4	17.4	17.0	18.3	18.9	20.0	21.3
500 (F)	9.8	10.2	11.0	12.4	13.8	15.2	16.0	16.0	15.8	17.0	18.2	19.0	19.8	22.0

M : Male

F : Female

Table V. Food consumption SD rats after a single oral administration

Group	Day1	Day2	Day3	Day4	Day5	Day6	Day7	Day8	Day9	Day 10	Day 11	Day 12	Day 13	Day 14
Control (M)	8.3 (ml)	10.0	11.3	16.5	18.4	20.6	24.6	27.8	29.2	31.5	34.9	38.5	42.5	47.9
Control (F)	8.0	10.2	12.0	15.4	19.2	21.3	24.5	27.9	29.8	30.8	33.8	37.9	42.0	48.0
2,000 (M)	22.0	24.3	23.5	14.0	15.9	18.6	21.5	24.0	26.4	29.0	32.1	36.9	40.8	47.0
2,000 (F)	19.6	20.4	25.0	18.2	18.3	20.0	21.3	24.0	24.9	28.0	30.7	34.8	39.5	45.3
1,000 (M)	20.1	21.4	22.0	17.9	19.5	21.1	22.4	24.6	24.8	25.9	27.8	28.2	31.5	37.5
1,000 (F)	19.4	18.4	19.5	17.2	18.4	20.5	21.8	23.5	25.3	25.8	28.0	30.0	31.2	34.8
500 (M)	15.4	15.0	15.6	14.8	16.8	18.9	20.5	21.8	23.5	24.7	27.0	29.5	31.0	34.0
500 (F)	15.0	14.0	15.4	15.0	16.4	17.8	19.4	20.8	21.4	23.0	24.7	25.8	27.0	29.8

M : Male

F : Female

경구 독성시험에 있어 SD rat에게 0, 500, 1,000, 2,000, 4,000, 5,000 mg/kg의 용량으로 암·수에 대해 각각 5마리씩 이용하여 실시한 결과, 고용량 투여군(>2,000 mg/kg)에게 있어 투여후 3일간의 음수량으로부터 구갈을 유발한다고 판단되며 약간의 체중증가 억제와 사료섭취량의 감소가

보이는 하나 사망률 및 일반증상 그리고 부검소견에 있어서 시험물질의 투여에 기인한 변화가 관찰되지 않았으므로 LD₅₀의 값은 암수 모두 5,000 mg/kg 이상으로 사료된다.

결론적으로 본 시험물질은 급성독성이 낮아 임상사용의 가능성을 제시하여 준다고 하겠다.

Table VI. Necropsy findings of SD rats after a single oral administration

Sex	Dose (mg/kg)	Necropsy findings	Frequency
Male	0	No gross finding	0/5*
	500	No gross finding	0/5
	1,000	No gross finding	0/5
	2,000	No gross finding	0/5
Female	0	No gross finding	0/5
	500	No gross finding	0/5
	1,000	No gross finding	0/5
	2,000	No gross finding	0/5

*Necropsy finding incidences/the number of animals per group

참고문헌

Mueller, L. (1989) Chemistry, biochemistry and therapeutic

potential of microbial glucosidase inhibitors. Novel microbial products for medicine and agriculture (edited by Demain *et al.*). Elsevier press Amsterdam, 109-116.
 한명주, 배은아, 이영경, 김동현 (1996) 버섯의 장내유산균 증식효과. 한국식품과학회지. **28**, 947-952.
 김동현, 최혁재, 배은아, 한명주, 박순영 (1998) 재배상황버섯의 장내세균 유해효소 및 알파글루코시다제 저해효과. 한국식품위생안전성학회. **13**(1), 20-23.
 식품의약품안전청 (1999) 의약품 등의 독성시험기준. 식품의약품안전청 고시 제1999-61호.
 日本厚生省 (1997) 醫藥品 非臨床試験 ガイドライン. 薬事日報社.