



봉독 추출물(F1, F3)의 랫드에 대한 단회 및 4주 반복 피하 투여 독성시험

박기수 · 조성대 · 안남식 · 정지원 · 양세란 · 박준석 · 홍인선 · 서민수 · 조은혜
Nguyen Ba Tiep · 이영순 · 강경선
서울대학교 수의과대학 공중보건학교실

Single and Four-Week Subcutaneous Toxicity Studies of a Bee Venom Extracts (F1, F3) In Rats

Ki-Su Park, Sung-Dae Cho, Nam-Shik Ahn, Ji-Won Jung, Se-Ran Yang, Joon-Suk Park,
In-Sun Hong, Min-Su Seo, Eun-Hye Jo, Yong-Soon Lee and Kyung-Sun Kang
Department of Veterinary Public Health, College of Veterinary Medicine, Seoul National University,
Seoul 151-742, Korea

Received February 5, 2003; Accepted March 4, 2003

ABSTRACT. This study was performed to evaluate single and repeated-dose toxicities of Bee Venom Extracts (F1, F3) in Spraque-Dawley. F1 was injected subcutaneously to rat at dose levels of 0, 0.0002, 0.002, 0.02 mg/kg/day for single-dose toxicity study and repeated-dose toxicity study. F3 was injected subcutaneously to rat at dose level of 0, 0.003, 0.03, 0.3 mg/kg/day for single-dose toxicity study and repeated-dose toxicity study. In both studies, there were no dose related changes in mortality, clinical sign, body weight change, food and water consumption, ophthalmoscopy, organ weights, urine analysis, biochemical examination, and hematological findings of all animals treated with Bee Venom (F1, F3). Gross and histopathological findings revealed no evidence of specific toxicity related to Bee Venom (F1, F3). These results suggest that the subcutaneous NOEL (No Observed Effect Level) of Bee Venom (F1, F3) may be over F1 - 0.02 mg/kg, F3 - 0.3 mg/kg.

Keywords: Bee venom, Single dose toxicity study, Repeated dose toxicity study, NOEL (No Observed Effect Level), Rats.

서 론

건강에 대한 관심이 높아지고 있는 추세에 발맞추어, 벌의 독을 이용한 봉독요법이 대체의학적 치료에 있어서 사용빈도가 증가하고 있다. 봉독 요법이란 자연상태의 벌(Honey Bee)이 가지고 있는 독을 추출, 정제하여 치료에 유관한 경혈에 주입함으로써 인체의 면역기능을 활성화시켜 질병을 치료하는 요법이다(Sturm *et al.*, 2002). 기원전 2천년전 고대 이집트의 파피루스나 바빌로니아 의서

(醫書)에 봉독이 치료목적으로 사용되었다는 기록이 있으며, 히포크라테스는 "봉독은 신비한 약(arcantum)"이라고 말했다. 또한 최초의 침구학문헌인 馬王堆醫書(마왕퇴의서, 기원전 168년)에는 "벌집이 있는 나무에 닭고기 덩어리를 매달아 벌에 쏘이게 한 다음 고기덩어리를 썰어서 식초나 대추기름에 담근 후 아픈 부위에 발라 피부를 통해 벌독이 몸속으로 작용하도록 함으로써 치료에 이용했다"는 임상례가 기록되어 있다. 한의학에서는 이독치병(以毒治病)이라 하여, 약물이 가지고 있는 독성을 잘 이용하여 질병을 치료하는데 봉독요법 또한 이에 해당된다. 봉독을 의학적으로 투여하는 것은 서구 의학계에도 탈감작 요법 정도로 공인되고 있지만, 중국, 한국, 루마니아, 불가리아, 러시아 등에서 질병 치료를 위해 광범위하게 응용되고 있다. 전통적으로 관절염이나 기타 염증성, 퇴행성 질환에

Correspondence to: Kyung-Sun Kang, Department of Veterinary Public Health, College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Shilim-9 dong, Kwanak-gu, Seoul 151-742, Korea
E-mail: kangpub@snu.ac.kr

적용되어 왔고, 양봉업자들에서는 류마티스, 종양 같은 질병이 훨씬 적다고 한다(Kang *et al.*, 2002; Kwon *et al.*, 2001). 봉독은 벌의 독에서 인체에 유효한 40여가지의 성분을 추출하여 치료제로 개발한 봉독정제액을 사용한다. 최근에는 봉독성분중 특정질환에 특이적으로 효과를 나타내는 성분을 추출한후 분자구조를 재배열하여 그 물질의 활성도를 높이는 연구도 시도되고 있다(Texier *et al.*, 2002; Moerman *et al.*, 2002; Sumikura *et al.*, 2003). 그러나 봉독도 엄연히 부작용이 존재하는 만큼 심장질환자에게는 치명적인 쇼크도 일으킬 수 있고, 또 용혈작용도 있어 신장병 환자나, 뇌혈관질환, 결핵, 당뇨병 환자에게는 피해야 하는 측면도 있는 만큼 그 효과에 앞서 독성에 대한 다각적인 검증이 요구된다고 할수 있다(Ibero *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2002; Park *et al.*, 2002). 지금까지 봉독의 주요 성분은 약 40가지 정도가 밝혀져 있고, 비중은 1.1313, pH는 5.2~5.5이다. 가장 중요한 성분으로는 멜리틴, 아파민, MCD-펩티드 등이 있으며 전체적으로 진통, 소염, 항균작용과 함께 뇌하수체 호르몬 분비 촉진, 혈액순환 촉진 등의 작용이 있다(Kwon *et al.*, 2003; Sumikura *et al.*, 2003, Lee *et al.*, 2001). 이 실험에 사용한 봉독 추출물(F1, F3)은 서울대학교 천연물과학연구소에서 추출하여 정제한 것으로, F1은 봉독에서 추출한 Aqua fraction 중 20 KD 이상의 물질이고 F3는 마찬가지로 Aqua fraction 중 10 KD 이하의 물질이다. 기존자료와 예비실험을 근거로 임상예정용량의 약 100배인 F1 - 0.02 mg/ml/kg, F3 - 0.3 mg/ml/kg을 최고용량으로 설정하였다. 본 연구에서는 봉독 추출물(F1, F3)의 급성과 아급성의 독성을 평가하기 위하여 랫드를 이용하여 예상임상경로인 피하(S.C.)를 통하여 각각 단회와 28일간 투여하였다(식품의약품안전청, 1999).

재료 및 방법

시험물질

본 실험에 사용한 봉독(F1, F3)은 서울대학교 천연물 과학 연구소에서 추출한 물질로서 F1은 봉독에서 추출한 Aqua fraction 중 20 KD 이상의 물질이고 F3는 마찬가지로 Aqua fraction 중 10 KD 이하의 물질이며 기밀 용기에 넣어 냉장(4°C) 보관하였고, 투여직전 생리식염수에 용해시킨 후, 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

실험동물 및 사육환경

본 실험에 사용한 Sprague Dawley(SD)계 랫드는 [(주) 바이오 제노믹스(서울시 성북구 삼선동 5가 성북빌딩 5F)]로부터 4주령의 암·수 각각 120마리를 입수한 후 1주일

간 검역과 순화·사육을 거쳐 건강한 동물만을 실험에 이용하였다. 본 시험의 사육환경은 온도 22±3°C, 상대습도 50±10%, 환기 회수 10~12회/hr, 조명시간 12시간(07:00~19:00), 조도 150~200 lux로 설정된 서울대학교 수의과대학 실험동물 사육실에서 실시되었다. 사료는 실험동물용 고형사료(삼양사료, 대전)를 음수는 상수도를 자유롭게 섭취시켰다.

투여량 설정과 시험군의 구성

단회투여 독성시험: 봉독의 피하투여시 임상예정용량은 F1 - 0.0002 mg/kg, F3 - 0.003 mg/kg이다. 따라서 피하투여시 투여량의 산출은 투여직전의 랫드의 체중을 기준으로 하여, 임상예정용량의 100배를 고용량군(F1 - 0.02 mg/ml/kg, F3 - 0.3 mg/ml/kg)으로 하고, 이 용량을 기준으로 하여 일정공비(×0.1)로 3개의 용량군을 설정하였다. 용매대조군에는 생리식염수만을 투여하였다. 시험군의 구성은 암·수 각각 40마리의 동물을 군간 체중이 고르게 3개의 용량군과 1개의 대조군으로 하여 군당 암·수 각각 5마리씩 배치하였다. 평균체중은 수컷은 141.5 g~164.8 g, 암컷은 125.5 g~140.7 g 범위였다.

4주 반복투여 독성시험: 투여량의 산출은 시험물질을 투여직전에 랫드의 체중을 기준으로 하여 고용량군에는 임상예정용량의 100배인 F1 - 0.02 mg/ml/kg, F3 - 0.3 mg/ml/kg으로 설정한 다음, 이 용량을 기준으로 일정공비(×0.1)로 산정한 3개의 용량군을 설정하였다. 용매대조군에는 생리식염수만을 투여하였다. 시험군의 구성은 선발된 암·수 각각 80마리의 동물을 군간 체중이 고르게 3개의 용량군과 1개의 대조군으로 하여 군당 암·수 각각 10마리씩 배치하였다. 평균 체중은 수컷은 143.7 g~167.3 g, 암컷은 128.9 g~149.7 g 범위였다.

투여방법 및 투여기간

투여경로는 인체 적용경로인 피하(S.C.)로 투여하였다. 투여기간은 단회투여 독성시험에서는 시험물질을 시험개시시 1회 투여하였고, 4주 반복투여 독성시험에서는 시험물질을 1일 1회 주당 7회 4주 연속으로 투여하였다.

관찰 및 검사항목

단회투여 독성시험:

(1) 일반증상 관찰 및 폐사의 관찰: 투여 당일은 12시간 까지 매시간 일반상태를 관찰하고, 투여 다음날부터 14일까지는 1일 1회 일반임상증상의 종류(anorexia, salivation, diarrhea, polyuria, anuria, fecal change 등)와 사망동물의 유무를 주의깊게 관찰하였다.

(2) 체중 측정: 모든 동물에 대하여 투여개시 전, 투여개

시 후, 시험종료시까지 매주 1회 측정하였다.

(3) 부검: 시험 중 폐사동물은 그때마다 부검을 실시하였고, 시험종료시 생존동물은 마취 후 방혈 치사시켜 육안적으로 모든 장기를 검사하였다. 육안적 이상 장기와 조직은 10% 중성 포르말린 액에 고정하였고, 2주 이상의 충분한 고정을 거친 후 장기조직을 파라핀 포매기 (SAKURA, Tissue-Tek VIP, vaccum infiltration Processor)에 포매하고 마이크로톰(Microm, HM340E)으로 4~5 μ m 절편을 만들어 Hematoxylin & Eosin 염색을 실시하여 조직을 관찰하였다.

4주 반복투여 독성시험:

(1) 일반증상 및 폐사의 관찰: 시험 기간 중에 1일 1회 실시하였다. 관찰방법은 일반임상증상의 종류(anorexia, salivation, diarrhea, polyuria, anuria, fecal change 등)와 그 정도 등을 기록하였다.

(2) 체중 측정: 모든 동물에 대하여 투여개시 전, 투여개시 후, 시험종료시까지 매주 1회 측정하였다.

(3) 사료섭취량 및 음수량 측정: 사료 섭취량은 모든 동물에 대하여 사육케이지별로 사료섭취량과 사료잔량을 투여종료일까지 매주 1회씩 4주간 측정하여 군당 사료섭취량(g/group/day)을 산출하였다. 음수섭취량은 모든 동물에 대하여 사육케이지별로 급수총량과 급수잔량을 투여종료일까지 매주 1회씩 4주간 측정하여 군당 음수섭취량(ml/group/day)을 산출하였다.

(4) 뇨검사: 시험기간 중 무작위로 각 군당 5마리씩의 동물에 대하여 1회 채뇨한 후, 그 뇨에 대하여 외관과 뇨량 및 색을 관찰한 다음, 즉시 뇨검사용 시험지(Ames사의 N-multistix)를 사용하여 pH, gravity, nitrite, 단백(protein), ketone body, urobilinogen, bilirubin, 포도당(glucose) 및 잠혈(occult blood)을 측정하였다.

(5) 안과학적 검사: 투여기간 중 무작위로 각 군당 5마리씩의 동물에 대하여 육안 및 검안경을 이용한 안과학적 검사를 1회 실시하였다.

(6) 혈액학적 및 혈청 생화학적 검사: 일반 혈액학적 검사는 혈액자동분석기(Coulter S880과 H1, technicon, USA)를 이용하여 투여전 및 부검전 전 동물에 대하여 적혈구수(RBC), 총백혈구수(WBC), 헤모글로빈(hemoglobin), hematocrit, MCV, MCH, MCHC, platelet, 호산구(eosinophil), 호중구(neutrophil), 임파구(lymphocyte), 단핵구(monocyte), 호염구(basophil), 혈액응고시간[Prothrombin time(PT), Partial thromboplastin time(PTT)]은 APTT, PT reagent(國際試藥, Japan)를 이용하여 직접 검사하였다. 혈청 생화학적 검사도 투여전 및 부검전 전 동물에 대하여 채취한 혈액의 일부를 실온에 30분간 방치하고 응고후 원심분리(3,000 rpm, 30 min)하여 얻은 혈청에

대해서 혈청자동분석기(Express 550과 SPOCHEMTM SP-440, ARKRAY, Japan)를 이용하여 alaninetransaminase(ALT), aspartate transaminase(AST), alkaline phosphatase(ALP), albumin, total bilirubin, BUN, cholesterol, creatinine, glucose, Ca, total protein, triglyceride 등을 측정하였다.

(7) 장기중량 및 크기측정: 전 시험동물에 대하여 간장, 신장(좌우), 비장, 심장, 부신(좌우), 뇌, 뇌하수체, 난소(좌우), 자궁, 고환(좌우), 폐장, 흉선, 타액선(좌우), 갑상선(좌우) 등의 절대장기 중량 및 체중에 대한 상대장기 중량을 측정하였다.

(8) 병리조직검사: 전 시험동물에 대하여 Ether로 마취한 다음 복대동맥을 절단하여 충분히 방혈 시킨다. 장기 중량 측정이 끝난 모든 장기를 10% 중성 포르말린에 고정시켰다. 2주 이상의 충분한 고정을 거친 후 장기조직을 파라핀 포매기(SAKURA, Tissue-Tek VIP, vaccum infiltration Processor)에 포매하고 마이크로톰(Microm, HM340E)으로 4~5 μ m 절편을 만들어 Hematoxylin & Eosin 염색을 실시하여 조직을 관찰하였다.

통계학적 분석

본 실험에서 얻은 측정치의 통계학적 분석은 통계처리 computer program인 SAS(Statistical Analysis System)를 이용하여 등분산 검정후 one-way ANOVA에서 유의한 F값이 관찰되는 항목에 대하여 대조군과 각 용량군 사이에 유의수준 $p < 0.05$ 로 Dunnett's t-test를 이용하여 비교하였고, 비모수인 경우는 분산에 대하여 Kruskal-Wallis nonparametric analysis후 유의한 경우 Wilcoxon-Mann-Whitney rank-sum test, Nemenye-Kruskal-Wallis multiple comparisons을 실시하였다. 또한, 병리조직학적으로 관찰된 병변의 발생빈도는 χ^2 (Chi-square)로 검정을 하였다.

결 과

단회투여 독성실험

사망률: 봉독 추출물(F1, F3)의 저용량 투여군, 중간용량 투여군, 고용량 투여군 및 음성대조군에서 시험기간 중 사망동물은 관찰되지 않았다(Table 1).

일반증상: 봉독 추출물(F1, F3)의 저용량 투여군, 중간용량 투여군, 고용량 투여군 및 음성대조군에서 전 기간동안 시험물질 투여로 인한 임상증상은 관찰하지 못하였다.

체중변화: F3의 저용량 투여군, 중간용량 투여군, 고용량 투여군 및 대조군에서 전 기간동안 시험물질에 의한 유의적인 체중의 변화는 관찰되지 않았다. F1에서는 암컷

Table 2. Autopsy findings of male and female Sprague Dawley rats after single subcutaneous administration of F1 and F3

		High		Middle		Low		Control	
Fate		tk	fd	tk	fd	tk	fd	tk	fd
F1	No. of animals	5	0	5	0	5	0	5	0
	Male	5	0	5	0	5	0	5	0
	Female	5	0	5	0	5	0	5	0
	Male	NAD	5	5	5	5	5	5	5
	Female	NAD	5	5	5	5	5	5	5
F3	No. of animals	5	0	5	0	5	0	5	0
	Male	5	0	5	0	5	0	5	0
	Female	5	0	5	0	5	0	5	0
	Male	NAD	5	5	5	5	5	5	5
	Female	NAD	5	5	5	5	5	5	5

tk: Terminal killed.
 fd: Found dead.
 NAD: No abnormalities detected.

(188.84±5.15)에서 음성대조군(164.32±4.36)에 비하여 유의적인 체중 증가를 나타내었다. 전체적으로는 정상적인 체중 증가율을 보였다(Fig. 1).

부검 소견: 부검소견 결과, 랫드에서 본 시험물질 봉독 추출물(F1, F3)의 투여에 기인된다고 사료되는 어떠한 유의할 만한 병변도 관찰되지 않았다(Table 2).

4주 반복투여 독성시험

일반 증상 및 사망률: 시험기간 동안 대조군을 포함한 시험물질 투여군 모두에서 특이할 만한 임상증상은 관찰되지 않았으며, 폐사 및 빈사동물 또한 시험 전기간을 통하여 관찰되지 않았다.

체중변화: 봉독 추출물(F1, F3)의 저용량 투여군, 중간용량 투여군, 고용량 투여군 및 음성대조군에서 시험물질에 의한 유의할 만한 체중의 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 2).

사료 흡수량과 섭취량의 변화: 군당 사료섭취량과 흡수소비량에 있어서 암·수 모든 처치군과 대조군 사이에 시험기간 동안 유의성 있는 변화는 인정되지 않았다.

노검사: 반복투여 독성실험에서 F1 중간용량 투여군 수컷에서 Ketone body의 증가가 관찰되었으나 용량의존적인 변화는 나타나지 않았고, 그외의 항목에서는 유의성 있는 변화는 관찰되지 않았다(Table 3-1). F3을 투여한 수컷 중간용량과 고용량 투여군에서 Nitrite의 증가가 용량

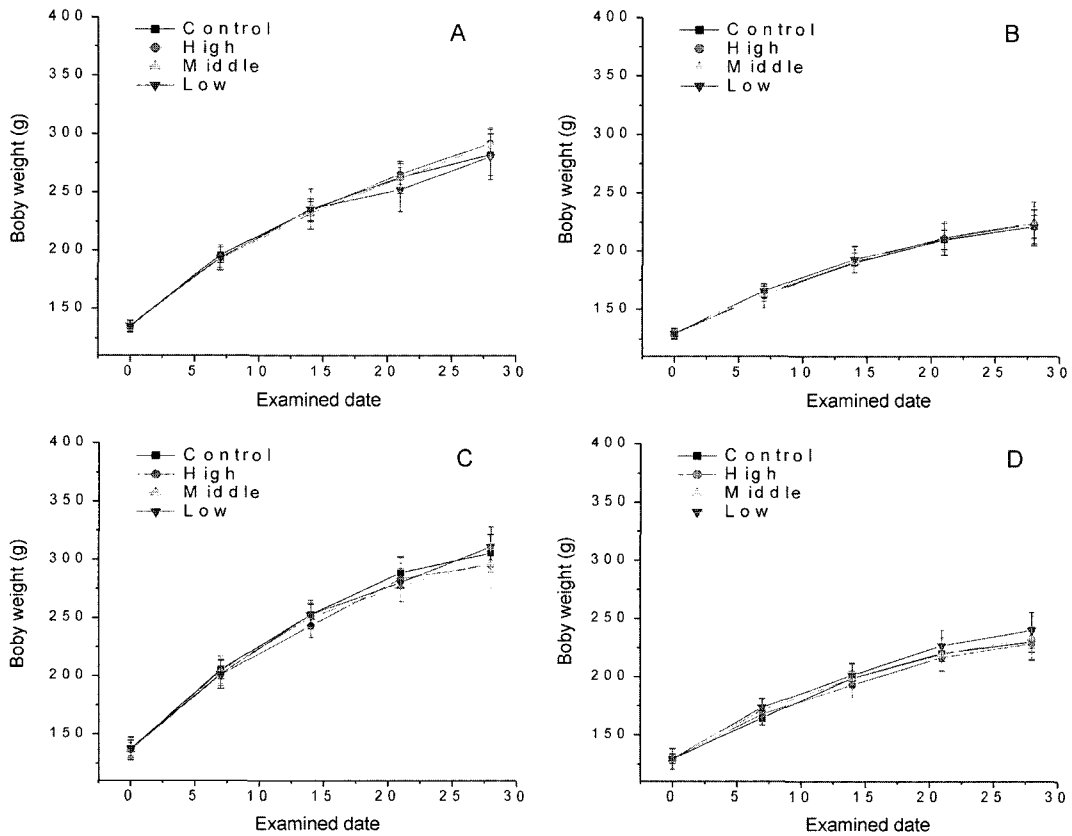


Fig. 2. Body weight of rats (Repeated administration) for 4 weeks. A: Body weight of F1 male rats; B: Body weight of F1 female rats; C: Body weight of F3 male rats; D: Body weight of F3 female rats.

Table 3-1. Urinalysis in SD rats subcutaneously treated with F1

Sex	Male				Female			
	Control	Low	Middle	High	Control	Low	Middle	High
Parameter	0	0.0002	0.002	0.02	0	0.0002	0.002	0.02
	5	5	5	5	5	5	5	5
Nitrite	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	+	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
Urobilinogen (Ehrlich unit/dl)	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
Protein (mg/dl)	30	30	30	-	-	30	-	-
	-	30	30	-	-	-	-	-
	30	30	30	-	-	-	-	-
	30	-	30	30	-	-	-	-
	-	-	-	30	-	-	-	-
pH	7	7	8	8	7	6	7	7
	8	7	8	7	8	8	7	7
	7	8	7	8	8	7	6	7
	7	7	8	8	8	7	6	8
	7	8	8	7	6	8	8	8
Occult blood	-	5-10	5-10	50	50	5-10	-	5-10
	50	50	-	-	5-10	5-10	50	-
	-	-	-	-	-	5-10	-	-
	50	5-10	-	50	5-10	50	-	-
	5-10	5-10	50	50	-	5-10	5-10	5-10
Ketone body (mg/dl)	-	-	+	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	+	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
Bilirubin	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucose (g/dl)	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal

의존적으로 관찰되었다(Table 3-2).

안과학적 검사소견: 시험 전기간을 통하여 모든 시험 물질 투여군에서 대조군에 비해 시험물질의 투여에 기인한 특이할만한 변화는 인정되지 않았다.

혈액학 및 혈청생화학적 검사결과: 혈액학적 검사결과 F1을 투여한 시험군에서는 Hemoglobin에 관하여 수컷 고용량군(14.96±0.36 g/dl)에서 음성대조군(15.88±0.31 g/dl)과 비교하여 유의성있는 감소를 보였고, 암컷 고용량

군(15.68±0.55 g/dl)에서도 음성대조군(14.80±0.5 g/dl)과 비교하여 유의성있는 증가를 보였다. Platelet에 관하여 수컷 저용량군(607.60±227.57×10³/μl)에서 음성대조군(747.60±130.89×10³/μl)에 비하여 유의성있는 감소를 나타내었다(Table 4-1). F3을 투여한 시험군에서는 WBC에 관하여 암컷 중간용량군(10.20±0.87×10³/μl)에서 음성대조군(6.88±1.19×10³/μl)에 비하여 정상범위내에서 유의성있게 증가한 것 이외에는 어떠한 유의적인 변화가

Table 3-2. Urinalysis in SD rats subcutaneously treated with F3

Sex	Male				Female			
	Control 0 5	Low 0.0003 5	Middle 0.003 5	High 0.03 5	Control 0 5	Low 0.0003 5	Middle 0.003 5	High 0.03 5
Nitrite	-	-	-	+	+	-	-	-
	-	-	-	+	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	+	-	-	+	-	-
Urobilinogen (Ehrlich unit/dl)	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
Protein (mg/dl)	30	-	30	-	-	-	-	-
	-	-	30	-	-	-	-	-
	30	-	-	-	30	-	-	-
	-	30	-	30	-	30	-	-
pH	7	6	7	6	6	6	7	7
	7	6	6	6	7	7	7	6
	6	6	6	7	6	7	7	7
	6	6	7	6	7	7	6	7
	6	7	6	7	6	6	6	7
Occult blood	5-10	-	-	5-10	50	5-10	-	-
	-	5-10	5-10	5-10	-	-	-	-
	5-10	-	-	-	-	-	-	-
	5-10	-	5-10	5-10	5-10	-	-	5-10
	-	5-10	-	5-10	-	-	-	5-10
Ketone body (mg/dl)	+	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	+	-	+	-	-	-	-
Bilirubin	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucose (g/dl)	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal

관찰되지 않았다(Table 4-2). F1을 투여한 시험군의 혈청 생화학적 검사 결과는 Total protein에 관하여 수컷 고용량군(6.48 ± 0.64 g/dl)이 음성대조군(5.91 ± 0.15 g/dl)에 비하여 유의한 증가를 보였고, 암컷에서는 고용량군 (5.89 ± 0.45 g/dl)이 음성대조군(6.48 ± 0.27 g/dl)에 비하여 유의한 감소를 보였다. Albumin에 있어서는 수컷 고용량군 (3.1 ± 0.36 g/dl)이 음성대조군(2.73 ± 0.08 g/dl)에 비하여 유의성있는 증가를 보였고, 암컷 고용량군(2.59 ± 0.26 g/

dl)이 음성대조군(3.17 ± 0.06 g/dl)에 비하여 유의성있는 감소를 보였다. AST는 수컷에서는 유의한 변화를 보이지 않았고, 암컷 저용량군(283 ± 53.22 IU/l)이 음성대조군 (215.8 ± 29.2 IU/l)에 비하여 유의한 증가를 보였다. ALT는 수컷 고용량군(24.2 ± 10.66 IU/l)이 음성대조군 (34.6 ± 3.36 IU/l)에 비하여 유의한 감소를 보였고, 암컷 저용량군(39.4 ± 9.42 IU/l)이 음성대조군(23.4 ± 3.51 IU/l)에 비하여 유의한 증가를 보였다. Total bilirubin은 수컷, 암컷 모

Table 4-1. Hematological values of SD rats subcutaneously treated with F1

Sex	Male				Female			
	Control	Low	Middle	High	Control	Low	Middle	High
	0 5	0.0002 5	0.002 5	0.02 5	0 5	0.0002 5	0.002 5	0.02 5
Neutrophil (%) ^{b)}	2.00 ±1.23 ^{a)}	1.80 ±0.84	1.20 ±0.45	1.80 ±0.84	1.40 ±0.54 ^{a)}	1.20 ±0.45	1.20 ±0.45	1.10 ±0.45
Lymphocyte (%)	98.00 ±1.23	98.20 ±0.84	98.80 ±0.45	98.20 ±0.83	98.60 ±0.55	98.80 ±0.45	98.80 ±0.45	99.00 ±0.00
Monocyte (%)	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
Eosinophil (%)	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
Basophil (%)	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
WBC (×10 ³ /μl)	14.90 ±4.94	40.48 ±44.30	28.02 ±19.92	11.44 ±5.52	24.64 ±0.99	22.46 ±5.53	28.68 ±12.62	16.32 ±4.57
RBC (×10 ⁶ μl)	7.82 ±0.16	7.42 ±0.28	7.40 ±0.23	7.27 ±0.32	7.04 ±0.30	7.13 ±0.27	6.90 ±0.30	7.35 ±0.25
HGB (g/dl)	15.88 ±0.31	15.68 ±0.77	15.54 ±0.38	14.96* ±0.36	14.80 ±0.51	14.88 ±0.58	14.58 ±0.55	15.68* ±0.55
HCT (%)	47.20 ±1.09	46.60 ±2.61	46.60 ±2.30	45.20 ±0.84	44.00 ±1.87	44.40 ±2.07	43.40 ±2.07	46.40 ±1.67
MCV (fl)	60.40 ±0.89	62.80 ±1.92	63.00 ±1.87	62.20 ±2.78	62.40 ±2.07	62.40 ±1.52	62.80 ±1.92	63.40 ±2.19
MCH (pg)	20.00 ±0.00	20.60 ±0.55	20.60 ±0.55	20.20 ±0.45	20.60 ±0.55	20.60 ±0.55	20.60 ±0.55	21.00 ±0.00
MCHC (g/dl)	31.00 ±5.05	33.00 ±0.71	32.60 ±0.89	32.60 ±0.55	32.60 ±0.55	33.00 ±0.00	33.00 ±1.00	33.00 ±0.71
PLT (×10 ³ /μl)	747.60 ±130.89	607.60* ±227.57	918.40 ±202.07	771.2 ±94.81	824.20 ±82.59	865.20 ±51.42	782.60 ±126.83	999.80 ±229.51

^{a)}Values were expressed as mean±S.D.; ^{b)}Percentage of Total WBC.

*Significantly different from control at $p < 0.05$.

WBC, white blood cell; RBC, red blood cell; HGB, hemoglobin; HCT, hematocrit; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT, platelet.

Table 4-2. Hematological values of SD rats subcutaneously treated with F3

Sex	Male				Female			
	Control	Low	Middle	High	Control	Low	Middle	High
	0 5	0.003 5	0.03 5	0.3 5	0 5	0.003 5	0.03 5	0.3 5
Neutrophil (%) ^{b)}	2.00 ±1.00 ^{a)}	1.60 ±0.89	1.60 ±0.55	1.20 ±0.45	2.20 ±1.64 ^{a)}	1.80 ±0.84	2.20 ±2.68	2.40 ±2.19
Lymphocyte (%)	98.00 ±1.00	98.40 ±0.89	98.40 ±0.55	98.80 ±0.44	97.80 ±1.64	98.20 ±0.84	97.80 ±2.68	97.60 ±2.19
Monocyte (%)	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
Eosinophil (%)	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
Basophil (%)	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
WBC (×10 ³ /μl)	8.76 ±2.27	8.68 ±2.02	7.40 ±2.12	7.94 ±3.07	6.88 ±1.19	7.58 ±2.06	10.20* ±0.87	8.06 ±0.76
RBC (×10 ⁶ μl)	7.34 ±0.33	6.90 ±0.26	7.13 ±0.51	7.36 ±0.33	6.42 ±0.35	6.38 ±0.21	6.49 ±0.43	6.45 ±0.24
HGB (g/dl)	15.74 ±0.58	15.16 ±0.61	15.00 ±0.71	15.98 ±0.48	13.84 ±0.47	14.06 ±0.51	14.02 ±0.82	13.90 ±0.63

Table 4-2. Continued

Sex	Male				Female			
	Control 0 5	Low 0.003 5	Middle 0.03 5	High 0.3 5	Control 0 5	Low 0.003 5	Middle 0.03 5	High 0.3 5
HCT (%)	43.40 ±1.82	41.40 ±1.82	41.40 ±2.30	43.80 ±2.28	37.80 ±1.30	38.60 ±1.67	38.20 ±2.39	38.00 ±1.73
MCV (fl)	59.40 ±1.14	60.00 ±1.00	58.20 ±1.10	60.00 ±1.41	59.20 ±1.48	61.00 ±1.41	59.40 ±2.30	59.00 ±1.00
MCH (pg)	21.00 ±0.00	21.60 ±0.55	20.60 ±0.89	21.40 ±0.89	21.00 ±0.71	21.40 ±0.54	21.40 ±1.14	21.00 ±0.00
MCHC (g/dl)	35.20 ±0.45	35.80 ±0.45	35.40 ±0.55	35.60 ±0.54	35.60 ±0.55	35.60 ±0.55	35.60 ±0.54	35.80 ±0.45
PLT (×10 ³ /μl)	746.40 ±332.10	854.40 ±53.19	873.00 ±50.60	836.40 ±274.84	1004.80 ±206.09	778.80 ±46.78	845.80 ±69.56	889.40 ±318.27

^aValues were expressed as mean±S.D.; ^bPercentage of Total WBC.

*Significantly different from control at p < 0.05.

WBC, white blood cell; RBC, red blood cell; HGB, hemoglobin; HCT, hematocrit; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT, platelet.

Table 5-1. Serum biochemical values of SD rats subcutaneously treated with F1

Sex	Male				Female			
	Control 0 5	Low 0.0002 5	Middle 0.002 5	High 0.02 5	Control 0 5	Low 0.0002 5	Middle 0.002 5	High 0.02 5
TP (g/dl)	5.91 ±0.15 ^a	5.82 ±0.15	5.84 ±0.26	6.48* ±0.64	6.48 ±0.27 ^a	6.23 ±0.17	6.23 ±0.31	5.89* ±0.45
Albumin (g/dl)	2.73 ±0.08	2.77 ±0.10	2.67 ±0.12	3.10* ±0.36	3.17 ±0.06	2.97 ±0.09	3.04 ±0.07	2.59* ±0.26
AST (IU/l)	212.80 ±28.65	204.20 ±14.27	207.80 ±34.48	221.00 ±40.01	215.80 ±29.20	283.0* ±53.22	215.00 ±14.00	226.60 ±18.95
ALT (IU/l)	34.60 ±3.36	34.60 ±2.97	31.20 ±4.65	24.20* ±10.66	23.40 ±3.51	39.40* ±9.42	25.40 ±4.98	30.20 ±8.64
TB (mg/dl)	0.04 ±0.01	0.03 ±0.01	0.04 ±0.01	0.03 ±0.01	0.02 ±0.01	0.03 ±0.02	0.03 ±0.02	0.04 ±0.02
GLU (mg/dl)	54.00 ±9.84	47.80 ±3.90	44.00 ±13.56	36.80* ±5.85	63.00 ±10.17	56.80 ±10.92	52.80 ±9.96	36.60* ±12.10
ALP (u/l)	688.20 ±137.35	818.00 ±164.37	810.40 ±182.92	418.40* ±167.14	430.80 ±88.85	471.20 ±87.18	431.60 ±107.27	522.40 ±130.67
CHOL (mg/dl)	60.40 ±9.61	85.00* ±19.75	64.60 ±12.86	77.40 ±19.60	74.60 ±9.61	67.20 ±14.74	77.60 ±11.78	69.20 ±7.36
TG (mg/dl)	13.60 ±6.95	20.00 ±8.28	18.20 ±7.73	15.40 ±8.08	16.20 ±3.96	13.20 ±3.90	38.80* ±27.64	18.80 ±6.14
BUN (mg/dl)	20.00 ±2.51	15.14* ±1.43	14.74* ±1.50	20.06 ±4.34	15.06 ±3.41	17.42 ±2.58	15.64 ±3.41	17.34 ±1.35
CREAT (mg/dl)	0.54 ±0.09	0.56 ±0.05	0.60 ±0.10	0.66 ±0.09	0.54 ±0.05	0.62 ±0.04	0.62 ±0.04	0.66* ±0.11
Na (mEq/l)	137.00 ±1.52	138.00 ±0.45	136.00 ±2.74	135.20 ±3.42	138.00 ±1.00	136.00 ±1.41	136.40 ±2.30	137.00 ±2.39
K (mEq/l)	7.82 ±1.25	7.94 ±0.94	8.70 ±1.29	9.12 ±1.21	7.30 ±0.34	9.24* ±0.71	8.02 ±0.64	9.72* ±0.63
Cl (mEq/l)	104.60 ±0.89	104.0 ±0.89	104.80 ±1.29	106.80 ±0.45	101.60 ±1.52	102.00 ±0.71	100.80 ±1.79	102.60 ±1.14

^aValues were expressed as mean±S.D. *Significantly different from control at p < 0.05.

TP, total protein; TB, total bilirubin; AST, aspartate transaminase; ALT, alanine transaminase; A/G ratio, Albumin/Globulin ratio; GLU, glucose; ALP, alkaline phosphatase; CHOL, cholesterol; TG, triglyceride; BUN, blood urea nitrogen; CREAT, creatinine; Na, sodium; K, potassium; CL, chloride.

Table 5-2. Serum biochemical values of SD rats subcutaneously treated with F3

Sex	Male				Female			
	Control	Low	Middle	High	Control	Low	Middle	High
	0 5	0.003 5	0.03 5	0.3 5	0 5	0.003 5	0.03 5	0.3 5
TP (g/dl)	5.80 ±0.13 ^{a)}	5.71 ±0.29	5.81 ±0.37	6.01 ±0.32	6.04 ±0.32 ^{a)}	6.18 ±0.18	6.15 ±0.41	6.18 ±0.54
Albumin (g/dl)	2.43 ±0.07	2.47 ±0.13	2.49 ±0.09	2.62 ±0.16	2.63 ±0.12	2.72 ±0.14	2.72 ±0.16	2.76 ±0.17
AST (IU/l)	185.80 ±53.72	199.60 ±22.23	182.00 ±43.52	192.40 ±31.26	190.00 ±22.99	171.00 ±49.35	209.60 ±108.63	165.20 ±32.71
ALT (IU/l)	36.80 ±1.79	31.60 ±4.28	34.20 ±7.79	34.60 ±8.20	31.80 ±7.01	35.80 ±2.28	39.00 ±22.10	32.00 ±5.83
TB (mg/dl)	0.03 ±0.01	0.02 ±0.01	0.01* ±0.01	0.02 ±0.01	0.02 ±0.01	0.01 ±0.01	0.01 ±0.01	0.02 ±0.01
GLU (mg/dl)	110.40 ±12.28	109.60 ±21.71	109.80 ±19.92	105.50 ±10.33	112.00 ±11.72	123.00 ±20.99	124.20 ±16.27	117.80 ±15.80
ALP (u/l)	794.00 ±165.68	769.60 ±73.80	842.00 ±127.78	737.40 ±118.38	692.20 ±143.28	627.20 ±173.01	667.20 ±266.44	616.60 ±127.26
CHOL (mg/dl)	77.80 ±10.76	81.60 ±6.80	69.00 ±9.08	80.80 ±8.56	72.80 ±9.42	77.40 ±13.94	71.40 ±10.38	73.80 ±10.76
TG (mg/dl)	35.80 ±14.01	52.40 ±29.12	40.20 ±17.85	37.80 ±13.92	32.80 ±26.82	46.80 ±16.40	53.20 ±28.79	57.00 ±27.75
BUN (mg/dl)	20.40 ±2.67	18.40 ±2.44	18.58 ±0.74	22.24 ±1.99	18.74 ±2.88	18.62 ±1.80	20.58 ±3.03	18.92 ±2.32
CREAT (mg/dl)	0.44 ±0.05	0.46 ±0.05	0.44 ±0.05	0.48 ±0.05	0.50 ±0.07	0.54 ±0.05	0.50 ±0.00	0.52 ±0.04
Na (mEq/l)	136.40 ±1.52	137.20 ±2.05	137.40 ±2.07	136.00 ±2.34	134.20 ±0.45	135.80 ±1.30	135.00 ±1.41	134.00 ±1.58
K (mEq/l)	9.42 ±0.66	8.98* ±0.69	9.34 ±0.67	10.00 ±0.00	9.84 ±0.36	8.96* ±0.89	9.46 ±0.70	9.92 ±0.18
Cl (mEq/l)	100.40 ±1.52	101.60 ±0.89	101.60 ±1.14	102.00 ±1.87	103.00 ±2.55	102.40 ±1.34	101.60 ±0.89	103.00 ±1.58

^{a)}Values were expressed as mean±S.D. *Significantly different from control at $p < 0.05$.

TP, total protein; TB, total bilirubin; AST, aspartate transaminase; ALT, alanine transaminase; A/G ratio, Albumin/Globulin ratio; GLU, glucose; ALP, alkaline phosphatase; CHOL, cholesterol; TG, triglyceride; BUN, blood urea nitrogen; CREAT, creatinine; Na, sodium; K, potassium; CL, chloride.

두에서 유의한 변화를 보이지 않았다. Glucose는 수컷 고용량군(36.80±5.85 mg/dl)이 음성대조군(54.00±9.84 mg/dl)에 비하여 유의한 감소를 보였고, 암컷에서도 고용량군(36.60±12.1 mg/dl)이 음성대조군(63.00±10.17 mg/dl)에 비하여 유의한 감소를 보였다. Alkaline phosphatase의 경우 수컷 고용량군(418.40±167.14 u/l)이 음성대조군(688.20±137.35 u/l)에 비하여 유의한 감소를 보였고, 암컷에서는 유의한 변화를 보이지 않았다. Cholesterol에 있어서는 수컷 저용량군(85.00±19.75 mg/dl)이 음성대조군(60.40±9.61 mg/dl)에 비하여 유의한 증가를 보였고, 암컷에서는 유의한 변화를 보이지 않았다. Triglyceride에 있어서는 수컷에서는 유의한 변화를 보이지 않았으나, 암컷 중간용량군(38.80±27.64 mg/dl)이 음성대조군(16.20±3.96 mg/dl)에 비하여 유의한 증가를 보였다. Blood urea nitrogen(BUN)는 수컷 중간용량군

(14.74±1.50 mg/dl)과 저용량군(15.14±1.43 mg/dl)과 음성대조군(20.00±2.51 mg/dl)에 비하여 유의한 감소를 보였고, 암컷에서는 유의한 변화를 보이지 않았다. Creatinine에 있어서는 수컷에서는 유의한 변화를 보이지 않았고, 암컷 고용량군(0.66±0.11 mg/dl)이 음성대조군(0.54±0.05 mg/d)에 비하여 유의한 증가를 보였다. Sodium과 Chloride는 수컷, 암컷 모두에서 유의한 변화를 보이지 않았고, Potassium은 수컷에서는 유의한 변화를 보이지 않았고, 암컷 고용량군(9.72±0.63 mEq/l)과 저용량군(9.24±0.71 mEq/l)이 음성대조군(7.30±0.34 mEq/l)에 비하여 유의한 증가를 보였다(Table 5-1). 반복투여 독성실험에서 F3을 투여한 시험군의 혈청생화학적 검사 결과는 Total bilirubin에 관하여 수컷 중간용량군 (0.01±0.01 mg/dl)이 음성대조군(0.03±0.01 mg/dl)에 비하여 유의한 감소를 나타내었고, 암컷에서는 유의한 변화를 보

이지 않았다. Potassium에 있어서는 수컷 저용량군(8.98 ± 0.69 mEq/l)이 음성대조군(9.42 ± 0.66 mEq/l)에 비하여 유의한 감소를 나타내었고, 암컷에서도 저용량군(8.96 ± 0.89 mEq/l)이 음성대조군(9.84 ± 0.36 mEq/l)에 비하여 유의한 감소를 나타내었다(Table 5-2).

절대장기 중량 및 체중에 대한 각 장기의 상대중량비:
F1 투여군의 모든 개체의 절대장기 및 상대장기에서 유의적인 변화가 관찰되지 않았다(Tables 6-1 and 7-1). F3 투여군의 장기무게를 검사한 결과는 간의 절대장기중량에 있어서 수컷의 고용량군(9.88 ± 1.00 g)이 음성대조군 수

Table 6-1. Absolute organ weights of SD rats subcutaneously treated with F1 (unit: g)

Sex	Male				Female			
	Control 0 5	Low 0.0002 5	Middle 0.002 5	High 0.02 5	Control 0 5	Low 0.0002 5	Middle 0.002 5	High 0.02 5
Body Weight	282.00 ±18.02 ^{a)}	280.21 ±19.50	289.91 ±15.62	292.35 ±12.33	221.31 ±9.76 ^{a)}	221.12 ±14.53	224.83 ±13.94	223.48 ±18.68
Liver	7.33 ±0.73	7.16 ±0.62	7.50 ±0.96	7.73 ±0.78	5.69 ±0.47	5.92 ±0.55	5.84 ±0.52	5.87 ±0.59
Spleen	0.55 ±0.06	0.50 ±0.06	0.59 ±0.07	0.55 ±0.07	0.45 ±0.03	0.45 ±0.01	0.47 ±0.06	0.44 ±0.05
Kidney Lt	1.01 ±0.09	1.02 ±0.08	1.06 ±0.10	1.07 ±0.107	0.74 ±0.05	0.77 ±0.09	0.74 ±0.06	0.72 ±0.07
Kidney Rt	1.00 ±0.06	1.01 ±0.08	1.06 ±0.11	0.99 ±0.33	0.76 ±0.08	0.74 ±0.06	0.75 ±0.07	0.72 ±0.06
Adrenal gl. (left)	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01
Adrenal gl. (right)	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.04 ±0.01	0.03 ±0.01
Heart	1.02 ±0.07	0.98 ±0.07	1.04 ±0.11	1.04 ±0.10	0.80 ±0.06	0.81 ±0.04	0.80 ±0.07	0.78 ±0.05
Lung	1.37 ±0.21	1.31 ±0.08	1.34 ±0.11	1.33 ±0.11	1.19 ±0.09	1.12 ±0.07	1.81 ±0.09	1.21 ±0.17
Thymus	0.56 ±0.10	0.53 ±0.10	0.62 ±0.08	0.56 ±0.11	0.61 ±0.13	0.55 ±0.06	0.57 ±0.07	0.58 ±0.12
Testis Lt.	1.44 ±0.12	1.44 ±0.12	1.35 ±0.36	1.54 ±0.16	-	-	-	-
Testis Rt.	1.41 ±0.16	1.46 ±0.11	1.15 ±0.55	1.51 ±0.08	-	-	-	-
Epididymis left	0.36 ±0.05	0.36 ±0.04	0.33 ±0.07	0.38 ±0.08	-	-	-	-
Epididymis right	0.35 ±0.06	0.36 ±0.04	0.34 ±0.08	0.36 ±0.06	-	-	-	-
Prostate	1.40 ±0.10	1.33 ±0.20	1.10 ±0.61	1.23 ±0.41	-	-	-	-
Uterus	-	-	-	-	0.51 ±0.18	0.61 ±0.22	0.54 ±0.19	0.37 ±0.08
Ovary left	-	-	-	-	0.07 ±0.01	0.06 ±0.01	0.07 ±0.01	0.06 ±0.01
Ovary right	-	-	-	-	0.07 ±0.01	0.06 ±0.01	0.07 ±0.02	0.06 ±0.02
Salivary gland left	0.37 ±0.06	0.36 ±0.03	0.37 ±0.06	0.35 ±0.03	0.22 ±0.02	0.21 ±0.02	0.24 ±0.03	0.21 ±0.04
Salivary gland right	0.37 ±0.05	0.35 ±0.05	0.64 ±0.51	0.45 ±0.31	0.23 ±0.05	0.23 ±0.05	0.25 ±0.03	0.22 ±0.03
Brain	1.93 ±0.10	1.90 ±0.08	1.97 ±0.08	1.96 ±0.09	1.88 ±0.09	1.85 ±0.12	1.89 ±0.12	1.91 ±0.09
Hypophysis	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00

^{a)}Values were expressed as mean ± S.D.

*Significantly different from control at $p < 0.05$.

Table 6-2. Absolute organ weights of SD rats subcutaneously treated with F3 (unit: g)

Sex	Male				Female			
	Control	Low	Middle	High	Control	Low	Middle	High
	0 5	0.003 5	0.03 5	0.3 5	0 5	0.003 5	0.03 5	0.3 5
Body Weight	305.59 ±16.43 ^a	312.82 ±19.35	297.89 ±22.97	295.66 ±14.50	230.18 ±8.93 ^{a)}	240.17 ±15.38	233.76 ±18.69	228.51 ±14.25
Liver	11.04 ±1.00	11.08 ±0.66	10.46 ±1.43	9.88* ±1.00	8.12 ±0.92	8.67 ±0.77	8.76 ±0.60	8.76 ±0.97
Spleen	0.62 ±0.12	0.58 ±0.03	0.58 ±0.06	0.53 ±0.18	0.51 ±0.04	0.53 ±0.05	0.51 ±0.05	0.50 ±0.05
Kidney Lt	1.12 ±0.07	1.08 ±0.09	1.06 ±0.11	1.04 ±0.07	0.75 ±0.06	0.80 ±0.06	0.80 ±0.07	0.75 ±0.06
Kidney Rt	1.12 ±0.08	1.09 ±0.07	1.08 ±0.11	1.12 ±0.18	0.82 ±0.08	0.83 ±0.06	0.83 ±0.06	0.81 ±0.05
Adrenal gl. (left)	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.03 ±0.02	0.03 ±0.01	0.04 ±0.01	0.03 ±0.01	0.04 ±0.01	0.04 ±0.01
Adrenal gl. (right)	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.03 ±0.02	0.03 ±0.01	0.04 ±0.01	0.04 ±0.01	0.03 ±0.00	0.03 ±0.01
Heart	1.20 ±0.10	1.11 ±0.10	1.05* ±0.11	1.08* ±0.09	0.86 ±0.06	0.93* ±0.08	0.94* ±0.10	0.91 ±0.06
Lung	1.33 ±0.18	1.35 ±0.12	1.38 ±0.22	1.48 ±0.22	1.11 ±0.06	1.19* ±0.07	1.13 ±0.11	1.17 ±0.06
Thymus	0.68 ±0.06	0.65 ±0.10	0.61 ±0.07	0.61 ±0.08	0.55 ±0.12	0.56 ±0.12	0.59 ±0.13	0.56 ±0.14
Testis Lt.	1.49 ±0.14	1.53 ±0.12	1.56 ±0.13	1.47 ±0.19	-	-	-	-
Testis Rt.	1.49 ±0.11	1.56 ±0.15	1.52 ±0.17	1.48 ±0.16	-	-	-	-
Epididymis left	0.40 ±0.06	0.47 ±0.36	0.35 ±0.06	0.37 ±0.08	-	-	-	-
Epididymis right	0.39 ±0.10	0.38 ±0.09	0.35 ±0.06	0.38 ±0.07	-	-	-	-
Prostate	1.47 ±0.12	1.41 ±0.15	1.45 ±0.27	1.49 ±0.30	-	-	-	-
Uterus	-	-	-	-	0.46 ±0.12	0.49 ±0.05	0.45 ±0.14	0.46 ±0.07
Ovary left	-	-	-	-	0.07 ±0.01	0.08 ±0.01	0.08 ±0.01	0.08 ±0.01
Ovary right	-	-	-	-	0.07 ±0.01	0.07 ±0.01	0.06 ±0.01	0.07 ±0.01
Salivary gland left	0.36 ±0.10	0.36 ±0.04	0.37 ±0.06	0.37 ±0.05	0.23 ±0.01	0.24 ±0.04	0.22 ±0.03	0.24 ±0.03
Salivary gland right	0.35 ±0.08	0.34 ±0.05	0.37 ±0.06	0.34 ±0.05	0.20 ±0.01	0.23 ±0.01	0.22 ±0.03	0.23 ±0.04
Brain	1.99 ±0.07	1.89 ±0.11	1.91 ±0.16	1.93 ±0.10	1.85 ±0.10	1.84 ±0.09	1.87 ±0.16	1.71 ±0.39
Hypophysis	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00

^{a)}Values were expressed as mean±S.D.

*Significantly different from control at $p < 0.05$.

치(11.04 ± 1.00 g)에 비하여 유의한 감소를 나타내었으나, 상대장기중량에서는 유의성이 없었고, 암컷에서는 유의적인 변화가 관찰되지 않았다. 심장은 절대장기중량이 수컷의 고용량군(1.08 ± 0.09 g)과 중간용량군(1.05 ± 0.11 g)에서 음성대조군 수치(1.20 ± 0.10 g)에 비하여 유의한 감

소를 나타내었고, 상대장기중량에서도 수컷의 중간용량군(0.36 ± 0.05 g)과 저용량군(0.36 ± 0.02 g)의 수치에서 음성대조군 수치(0.39 ± 0.03 g)에 비하여 유의한 감소를 나타내었다. 암컷에서는 절대장기중량에서 중간용량군(0.94 ± 0.10 g)과 저용량군(0.93 ± 0.08 g)에서 음성대조군 수

Table 7-1. Relative organ weights of SD rats subcutaneously treated with F1 (unit: g)

Sex	Male				Female			
	Control 0 5	Low 0.0002 5	Middle 0.002 5	High 0.02 5	Control 0 5	Low 0.0002 5	Middle 0.002 5	High 0.02 5
Liver	2.60 ±0.23 ^{a)}	2.56 ±0.10	2.58 ±0.26	2.65 ±0.30	2.57 ±0.23 ^{a)}	2.67 ±0.16	2.60 ±0.17	2.63 ±0.27
Spleen	0.19 ±0.02	0.18 ±0.02	0.20 ±0.02	0.19 ±0.03	0.20 ±0.02	0.20 ±0.03	0.21 ±0.02	0.20 ±0.02
Kidney Lt	0.36 ±0.04	0.36 ±0.03	0.36 ±0.03	0.37 ±0.04	0.34 ±0.03	0.35 ±0.03	0.33 ±0.01	0.32 ±0.03
Kidney Rt	0.35 ±0.02	0.36 ±0.03	0.37 ±0.03	0.34 ±0.12	0.34 ±0.04	0.33 ±0.02	0.33 ±0.02	0.32 ±0.02
Adrenal gl. (left)	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.01
Adrenal gl. (right)	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.02 ±0.00	0.01 ±0.00
Heart	0.36 ±0.03	0.35 ±0.02	0.36 ±0.03	0.36 ±0.04	0.36 ±0.03	0.37 ±0.03	0.35 ±0.03	0.35 ±0.03
Lung	0.49 ±0.07	0.47 ±0.04	0.46 ±0.02	0.46 ±0.04	0.54 ±0.03	0.51 ±0.03	0.53 ±0.04	0.54 ±0.06
Thymus	0.20 ±0.04	0.19 ±0.03	0.22 ±0.03	0.19 ±0.03	0.28 ±0.06	0.25 ±0.02	0.25 ±0.03	0.26 ±0.05
Testis Lt.	0.51 ±0.04	0.52 ±0.04	0.46 ±0.12	0.53 ±0.05	-	-	-	-
Testis Rt.	0.50 ±0.05	0.52 ±0.04	0.39* ±0.18	0.52 ±0.03	-	-	-	-
Epididymis left	0.13 ±0.02	0.13 ±0.02	0.11 ±0.02	0.13 ±0.03	-	-	-	-
Epididymis right	0.12 ±0.02	0.13 ±0.01	0.12 ±0.03	0.12 ±0.02	-	-	-	-
Prostate	0.50 ±0.06	0.48 ±0.09	0.38 ±0.21	0.41 ±0.14	-	-	-	-
Uterus	-	-	-	-	0.23 ±0.09	0.28 ±0.11	0.24 ±0.08	0.17 ±0.04
Ovary left	-	-	-	-	0.03 ±0.00	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.03 ±0.00
Ovary right	-	-	-	-	0.03 ±0.00	0.03 ±0.00	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01
Salivary gland left	0.13 ±0.03	0.13 ±0.01	0.13 ±0.02	0.12 ±0.01	0.10 ±0.01	0.10 ±0.01	0.10 ±0.01	0.09 ±0.02
Salivary gland right	0.13 ±0.02	0.12 ±0.02	0.22 ±0.17	0.16 ±0.11	0.10 ±0.02	0.10 ±0.02	0.11 ±0.02	0.10 ±0.02
Brain	0.69 ±0.06	0.68 ±0.05	0.68 ±0.05	0.67 ±0.04	0.85 ±0.05	0.84 ±0.05	0.84 ±0.07	0.86 ±0.07
Hypophysis	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.00 ±0.00	0.01 ±0.00

^{a)}Values were expressed as mean±S.D.

*Significantly different from control at p < 0.05.

치(0.86±0.06 g)에 비하여 유의한 감소를 나타내었으나 상대장기중량에서는 유의적인 변화가 관찰되지 않았다. 폐의 경우 절대장기중량에서 암컷 저용량군(1.19±0.07 g)이 음성대조군(1.11±0.06 g)에 비하여 유의한 증가를 보였으나 상대장기중량에서는 유의적인 변화가 관찰되지 않았다. 수컷의 경우는 절대장기중량에서는 유의성 있는

변화가 관찰되지 않았으나, 상대장기중량에서 고용량군(0.50±0.08 g)의 수치에서 음성대조군 수치(0.43±0.06 g)에 비하여 유의한 증가를 나타내었다(Tables 6-2 and 7-2).

조직병리학적검사: F1 투여군의 모든 개체의 조직병리학적 소견은 수컷 음성대조군의 두 마리의 개체에서 세포

Table 7-2. Relative organ weights of SD rats subcutaneously treated with F3 (unit: g)

Sex	Male				Female			
	Control 0 5	Low 0.003 5	Middle 0.03 5	High 0.3 5	Control 0 5	Low 0.003 5	Middle 0.03 5	High 0.3 5
Liver	3.61 ±0.28 ^{a)}	3.54 ±0.16	3.52 ±0.49	3.34 ±0.20	3.53 ±0.44 ^{a)}	3.62 ±0.39	3.77 ±0.35	3.83 ±0.31
Spleen	0.20 ±0.04	0.19 ±0.02	0.20 ±0.02	0.18 ±0.06	0.22 ±0.02	0.22 ±0.02	0.22 ±0.02	0.22 ±0.03
Kidney Lt	0.37 ±0.03	0.34 ±0.02	0.36 ±0.04	0.35 ±0.03	0.33 ±0.03	0.33 ±0.01	0.34 ±0.01	0.33 ±0.02
Kidney Rt	0.37 ±0.03	0.35 ±0.03	0.36 ±0.05	0.38 ±0.06	0.36 ±0.05	0.35 ±0.01	0.35 ±0.02	0.36 ±0.02
Adrenal gl. (left)	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.01	0.01 ±0.00	0.02 ±0.00	0.01 ±0.00	0.02 ±0.00	0.02 ±0.00
Adrenal gl. (right)	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.02 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00	0.01 ±0.00
Heart	0.39 ±0.03	0.36* ±0.02	0.36* ±0.05	0.37 ±0.03	0.37 ±0.03	0.39 ±0.02	0.40 ±0.03	0.40 ±0.02
Lung	0.43 ±0.06	0.43 ±0.05	0.47 ±0.08	0.50* ±0.08	0.48 ±0.04	0.50 ±0.04	0.49 ±0.05	0.51 ±0.03
Thymus	0.22 ±0.02	0.21 ±0.03	0.21 ±0.03	0.21 ±0.03	0.24 ±0.05	0.23 ±0.05	0.25 ±0.05	0.25 ±0.05
Testis Lt.	0.49 ±0.05	0.49 ±0.04	0.52 ±0.04	0.50 ±0.08	-	-	-	-
Testis Rt.	0.49 ±0.05	0.50 ±0.05	0.51 ±0.04	0.50 ±0.06	-	-	-	-
Epididymis left	0.13 ±0.02	0.15 ±0.11	0.12 ±0.02	0.13 ±0.02	-	-	-	-
Epididymis right	0.13 ±0.03	0.12 ±0.03	0.12 ±0.02	0.13 ±0.02	-	-	-	-
Prostate	0.48 ±0.05	0.45 ±0.03	0.49 ±0.11	0.51 ±0.11	-	-	-	-
Uterus	-	-	-	-	0.20 ±0.05	0.21 ±0.02	0.19 ±0.05	0.20 ±0.03
Ovary left	-	-	-	-	0.03 ±0.00	0.03 ±0.00	0.03 ±0.00	0.03 ±0.00
Ovary right	-	-	-	-	0.03 ±0.00	0.03 ±0.00	0.03 ±0.00	0.03 ±0.00
Salivary gland left	0.12 ±0.03	0.12 ±0.01	0.12 ±0.02	0.12 ±0.01	0.10 ±0.01	0.10 ±0.02	0.09 ±0.01	0.10 ±0.02
Salivary gland right	0.11 ±0.03	0.11 ±0.02	0.12 ±0.02	0.12 ±0.02	0.09 ±0.02	0.09 ±0.01	0.09 ±0.01	0.10 ±0.02
Brain	0.65 ±0.05	0.61 ±0.05	0.65 ±0.07	0.65 ±0.05	0.81 ±0.06	0.77 ±0.05	0.80 ±0.09	0.75 ±0.17
Hypophysis	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.01 ±0.00	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00

^{a)}Values were expressed as mean±S.D.

*Significantly different from control at $p < 0.05$.

질내 지방구가 관찰되었고, 저농도군의 한 마리의 개체에서 basophilic foci가 관찰되었다. 중간용량군에서는 한 마리의 개체에서 국소적인 지방변성이 관찰되고, 두 마리의 개체에서 미약한 지방변성과 동양혈관(sinusoid)과 더불어 Ito 세포 핵의 비박화와 세포질의 지방성 투명화가 관찰되었다. 그리고 미약한 지방변성이 한 마리의

개체에서 관찰되었다. 고용량군의 경우 세 마리의 개체에서 중등도인 Ito 세포 핵의 비박화와 세포질의 지방성 투명화가 관찰되었다. F3 투여군의 모든 개체의 조직병리학적 소견은 수컷 음성대조군의 한 마리의 개체에서 지방변성과 동모혈관 확장과 더불어 Ito 세포의 수가 증가하였다.

고 찰

본 연구에서는 서울대학교 천연물과학연구소에서 추출하여 정제한 것으로 F1은 봉독에서 추출한 Aqua fraction 중 20 KD 이상의 물질이고 F3는 마찬가지로 Aqua fraction 중 10 KD 이하의 물질이며 중요한 성분으로는 멜리틴, 아파민, MCD-펩티드 등을 함유하고 있는 비중 1.1313, pH 5.2~5.5인 봉독 추출물(F1, F3)에 대해 독성 유무를 판단하기 위해 랫드에서 단회투여독성시험과 28일 동안의 반복투여독성시험을 진행했다. 단회투여 독성시험에서 전 시험기간 동안에 음성대조군을 포함한 모든 실험군에서 사망동물은 관찰되지 않았고, 본 시험물질 봉독 추출물(F1, F3)의 투여에 기인된다고 사료되는 어떠한 임상증상도 보이지 않았다. 또한 체중변화에 있어서 F1에서 전 시험 기간중 실험군간에 약간의 유의성을 보였으나 일시적인 유의성이었고 최종적으로 음성대조군을 포함한 전 실험군에서 유의적인 체중변화를 나타내지 않았으므로 전체적으로는 F1, F3에서 정상적인 체중증가율을 보였다. 부검소견 결과에서도 봉독추출물(F1, F3)의 투여에 기인된다고 사료되는 어떠한 유의할 만한 병변도 관찰되지 않았다. 4주 반복투여 독성시험에서 랫드를 이용한 시험에서 안검사, 부검시 육안적인 검사결과 봉독추출물(F1, F3) 투여군에서 음성대조군에 비교하여 특이할 만한 변화와 용량 의존적인 변화는 관찰할 수 없었고, 뇨검사 소견에서 F1의 중간용량 투여군 수컷에서 Ketone body의 증가가 관찰되었으나 용량의존적인 변화는 나타내지 않았고, 그외의 항목에서는 유의성있는 변화는 관찰되지 않았다. F3을 투여한 수컷 중간용량과 고용량 투여군에서 Nitrite의 증가가 용량의존적으로 관찰되었으나, 조직병리학적 검사결과 신장에서의 염증소견이 없는 것으로 보아 유의적인 결과가 아닌 것으로 사료된다. 혈액학 및 혈청생화학적 검사결과 일부 군에서 음성대조군에 비해 통계적으로 유의한 결과가 나타났으나 정상수치의 범위에 해당하였고, 절대·상대 장기중량을 측정된 결과는 일부 군에서 음성대조군에 비해 통계적으로 유의한 결과를 나타냈으나 조직 병리학적 검사 결과 이상이 없는 것으로 보아 개체차에 의한 것으로 사료된다. 조직병리학적 결과, F1에서는 수컷 음성대조군의 두 마리의 개체에서 세포질내 지방구가 관찰되고, 저농도군의 한 마리의 개체에서 basophilic foci가 관찰된다. 중간용량군에서는 한 마리의 개체에서 국소적인 지방변성이 관찰되고, 두 마리의 개체에서 미약한 지방변성과 동맥혈관(sinusoid)과 더불어 Ito 세포가 지방성의 투명한 세포질과 납작해진 핵이 관찰된다. 그리고 미약한 지방변성이 한 마리의 개체에서 관찰되었다. 고용량군의 경우 세 마리의 개체에서 중등도

의 Ito cell의 지방성 투명한 세포질과 납작한 핵이 관찰되었다. 이는 독성에 의한 변화라기 보다는 식이성에 의한 것으로 사료되고, 독성물질에 의하여서는 매우 드문 현상이며, 또한 용량의존적인 경향을 나타내지 않았으므로, F1의 투여에 기인된 것으로 보이는 독성변화는 아닌 것으로 사료된다(Kang *et al.*, 2001). F3에서는 수컷 음성대조군의 한 마리의 개체(F1CMA1)에서 지방변성과 동맥혈관 확장과 더불어 Ito 세포의 수가 증가하였다. 마찬가지로 F3의 물질 투여에 기인된 것으로 보이는 독성변화는 아닌 것으로 사료된다(Kang *et al.*, 2001). 따라서 본 실험 결과들을 종합해 보면 봉독 추출물(F1, F3)의 NOEL(No Observed Effect Level)은 임상예정용량인 F1- 0.02 mg/ml/kg, F3 - 0.3 mg/ml/kg 이상인 것으로 추정된다. 따라서 이상의 결과를 종합해 보면 임상예정용량에서 봉독 추출물(F1, F3)은 독성이 없는 무독성 물질로 사료되며, 그 효능은 이미 여러 연구에서 검증된 만큼 앞으로 그 활용가치 또한 높다고 보여진다.

감사의 글

This study was supported by grants from the 1999 Oriental Medicine 2010 R&D project (HMP-99-0-01-0001) from the ministry of Health and welfare.

참고문헌

- Texier, C., Pouvelle-Moratille, S., Buhot, C., Castelli, F.A., Pecquet, C., Menez, A., Leynadier, F. and Maillere, B. (2002): Emerging principles for the design of promiscuous HLA-DR-restricted peptides: an example from the major bee venom allergen. *Eur. J. Immunol.*, **32**(12), 3699-3707.
- Sturm, G., Kranke, B., Rudolph, C. and Aberer, W. (2002): Rush Hymenoptera venom immunotherapy: a safe and practical protocol for high-risk patients. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **110**(6), 928-933.
- Moerman, L., Bosteels, S., Noppe, W., Willems, J., Clynen, E., Schoofs, L., Thevissen, K., Tytgat, J., Van Eldere, J., Van Der Walt, J. and Verdonck, F. (2002): Antibacterial and antifungal properties of alpha-helical, cationic peptides in the venom of scorpions from southern Africa. *Eur. J. Biochem.*, **269**(19), 4799-4810.
- Ibero, M., Castillo, M.J., Pineda, F., Palacios, R. and Martinez, J. (2002): Whole bee for diagnosis of honey allergy. *Allergy*, **57**(6), 557-558.
- Kwon, Y.B., Kim, H.W., Ham, T.W., Yoon, S.Y., Roh, D.H., Han, H.J., Beitz, A.J., Yang, I.S. and Lee, J.H. (2003): The Anti-Inflammatory Effect of Bee Venom Stimulation in a Mouse Air Pouch Model Is Mediated by Adrenal Medullary Activity. *J. Neuroendocrinol.*, **15**(1), 93-96.
- Sumikura, H., Andersen, O.K., Drewes, A.M. and Arendt-Nielsen, L. (2003): A comparison of hyperalgesia and

- neurogenic inflammation induced by melittin and capsaicin in humans. *Neurosci. Lett.*, 13; **337**(3), 147-150.
- Kang, S.S., Pak, S.C. and Choi, S.H. (2002): The effect of whole bee venom on arthritis. *Am. J. Chin. Med.*, **30**(1), 73-80.
- Lee, J.H., Kwon, Y.B., Han, H.J., Mar, W.C., Lee, H.J., Yang, I.S., Beitz, A.J. and Kang, S.K. (2001): Related Articles, Links Bee venom pretreatment has both an antinociceptive and anti-inflammatory effect on carrageenan-induced inflammation. *J. Vet. Med. Sci.*, **63**(3), 251-259.
- Kwon, Y.B., Lee, J.D., Lee, H.J., Han, H.J., Mar, W.C., Kang, S.K., Beitz, A.J. and Lee, J.H. (2001): Bee venom injection into an acupuncture point reduces arthritis associated edema and nociceptive responses. *Pain.*, 15;**90**(3), 271-280.
- Lee, T.W., Lee, J.A. and Kim, M.K. (2000): A case of anaphylaxis by bee venom acupuncture. *J. Asthma. Allergy Clin. Immunol.*, **20**(3), 551-552.
- Park, J.H., Jung, M.K., Lee, T.K., Ahn, M.Y. and Bang, C.O. (2000): A case of ischemic stroke following bee venom acupuncture. *J. Korean Neurol. Assoc.*, **18**(3), 356-358.
- Jong-Koo Kang, Eun-Yong Jung, Sun-Hee Park, Sun-Hee Kim, *et al.* (2001): Four-week Repeated Oral Dose Toxicity Study of A New Hepatotherapeutic Agent GODEX in Rats. *J. Toxicol. Pub. Health*, **17**(2), 107-114.
- 식품의약품안전청 국립독성연구소 의약품의 독성시험 기준해설, pp. 28-34, 1999.12.