



랫드에서 방풍, *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk의 피하투여 독성에 대한 연구

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

Subcutaneous Toxicity Study of *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk in Rats

Yong-Soon Lee, Sung-Dae Cho, Nam-Shik Ahn, Ji-Won Jung, Se-Ran Yang, Joon-Suk Park,
Ki-Soo Park, In-Sun Hong, Min-Soo Seo, Eun-Hye Jo, Nguyen Ba Tiep
and Kyung-Sun Kang

Department of Veterinary Public Health, College of Veterinary Medicine, Seoul National University

Received February 5, 2003; Accepted March 6, 2003

ABSTRACT. To evaluate influence of *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk extract on rat, *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk extract was diluted with 0.9% saline (100 mg/ml/kg, 10 mg/ml/kg, and 1 mg/ml/kg, respectively), and each of diluted test material extract was daily treated subcutaneously for 4 weeks and single-treated subcutaneously for 2 weeks. There were no significances in body weight analysis, urinary analysis, and ophthalmological test. However, in serum biochemical analysis and hematological analysis, we found some significances in high and middle dose group compared with control group. These significances in serum biochemical analysis and hematological analysis may be not induced by test material, because it was not found to be significant from control group in histopathological examination. Therefore, it was concluded that NOEL (No Observed Effect Level) of test material extract may be higher than all treatment doses used in this study, and *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk extract may be a non-toxic material.

Keywords: *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk, NOEL (No Observed Effect Level).

서 론

현대 약학(藥學)이 등장하기 이전, 의사들은 환자를 치료하는데 다양한 식물, 특히 약초를 사용해 왔다. 약초를 이용해 치료하는 방법에 대한 지식은 기원전 3000년 경으로 거슬러 올라갈 만큼 여러 세대를 거치면서 전수되어 왔으며, 현재 사용되는 상품화된 의약품의 약 40%가 식물성분의 합성 변형물질 정도로 많은 의약품이 그 성분을

식물성분으로부터 얻고 있다. 또한 이러한 천연물질들은 합성약물들과는 달리 부작용이 적기 때문에 적절하게 정확한 처방만 이루어진다면 부작용 없이 몸을 회복시킨다는 잇점도 있다. 이같이 많은 장점을 가지고 있는 약초들 중 본 연구에서는 임상 적용을 목적으로 방풍의 독성을 확인하였다.

방풍은 진방풍, 산방풍, 병풍나물, 산방풍나무, 방풍나무 뿌리 등으로 불리기도 하는 약초로써 농가에서 흔히 재배하는 약용식물이다(Zhong Yao Tong Bao, 1989; 李尙仁 외, 1996). 학명은 *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk이다. 원산지는 중국의 흑룡강성과 길림성 등 동북3성으로써 미나리과(Umbelliferae)의 다년생 초본이며, 줄기는 곧고 20~80 cm 정도로 자란다. 여름에 5판화의

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

꽃이 피며 잎은 호생, 3회우상복엽이다. 열편은 선형이고, 수술은 5개, 꽃밥은 황색, 열매는 분열과이다. 편평한 넓은 타원형 뿌리가 약용으로 사용되며, 수확은 10월부터 11월까지이고, 잎과 줄기를 모두 제거하며 물에 씻어 말린다(Zhongguo et al., 1985). 뿌리에 정유와 쿠마린(0.23~0.88%)이 있고, 잎에는 0.1~0.3%의 쿠마린, 1.5%의 플라보노이드(루틴, 헤스페리딘), 6%의 탄닌질과 에틀린이 있다(Xiao et al., 2001; Ji et al., 1999; Shimizu et al., 1989). 뿌리의 알콜 추출액은 진통작용이 있으며, 잎의 알콜추출액과 뿌리의 정유는 진통작용이 없고 오히려 자극 민감도를 높인다(Okuyama et al., 2001; Wang et al., 1991; Tang et al., 1988). 동의보감에 의하면 성질은 따뜻하며[溫] 맛이 달고[甘] 매우며[辛] 독이 없는 것으로 되어 있다. 현재 방풍은 다방면에서 여러 가지 효과가 있는 것으로 입증되고 있다. 해열, 항염, 항체양 작용과 아울러 이질간균, 고초간균, 일부 피부진균에 억제작용이 있으며(강성길 외, 1986), 방풍에서 추출한 panaxynol은 여러 다양한 암세포에서 G1 phase와 S phase 사이의 cell cycle을 억제함으로써 암세포의 증식을 억제시킨다고 알려졌다(Guo et al., 2001; Wang et al., 2000). 본 연구에서는 단회 및 반복투여 독성 시험을 통해 방풍의 안전성을 평가하였다.

재료 및 방법

시험물질

본 실험에서 사용한 방풍은 서울대학교 천연물과학연구소로부터 제공받았으며, 갈색의 액상제제로써 물질의 균질성과 안정성을 유지할 위해 4°C에서 보관하였다. 투여 직전 생리식염수에 용해시킨 후 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

실험동물

랫드(Sprague Dawley)는 2주간 단회투여 독성시험을 위해 수컷 4주령 20마리와 암컷 4주령 20마리를, 그리고 4주 반복투여 독성시험을 위해 수컷 4주령 40마리와 암컷 4주령 40마리를 1주일 검역 후에 사용하였다. 실험 조건은 온도 22±3°C, 상대습도 50±10%, 환기 회수 10~12회/hr, 조명시간 12시간(07:00~19:00), 조도 150~200 lux이었다.

투여방법

단회투여 독성시험: 본 실험에서는 시험물질을 시험 개시 일에 1회 랫드의 피하로 10:00~11:00 사이에 투여하였다. 방풍의 피하투여시 임상예정용량은 1 mg/kg이다.

따라서 피하투여시 투여량의 산출은 투여직전의 랫드의 체중을 기준으로 하여, 임상예정용량의 100배를 고용량군으로 하고 이 용량을 기준으로 하여 0.9% 생리식염수를 이용해 일정공비(×0.1)로 3개의 용량군을 설정하였다. 따라서 투여군은 각기 음성대조군(0.9% saline), 저용량군(1 mg/ml/kg), 중간용량군(10 mg/ml/kg), 그리고 고용량군(100 mg/ml/kg)으로 구성된다.

반복투여 독성시험: 본 실험에서는 시험물질을 주 7회 랫드의 피하로 28일간 10:00~11:00 사이에 투여하였다. 방풍의 피하투여시 임상예정용량은 1 mg/kg이다 따라서 피하투여시 투여량의 산출은 투여직전의 랫드의 체중을 기준으로 하여, 임상예정용량의 100배를 고용량군으로 하고 이 용량을 기준으로 하여 0.9% 생리식염수를 이용해 일정공비(×0.1)로 3개의 용량군을 설정하였다. 따라서 투여군은 각기 음성대조군(0.9% saline), 저용량군(1 mg/ml/kg), 중간용량군(10 mg/ml/kg), 그리고 고용량군(100 mg/ml/kg)으로 구성된다.

관찰 및 검사 항목

단회투여 독성시험:

(1) 일반증상 및 폐사의 관찰

투여 당일은 12시간까지 매시간 마다 일반상태를 관찰하고, 투여 다음날부터 14일까지는 매일 1회씩 일반 상태의 변화, 중독증상, 운동성, 외관, 자율신경 및 사망동물의 유무를 주의 깊게 관찰하였다.

(2) 체중측정

모든 동물에 대하여 투여직전과 투여 7일 후 그리고 부검직전인 14일에 총 3회 체중을 측정하였다.

(3) 부검

시험종료시 생존동물은 에테르 마취로 안락사 시켜 육안적으로 모든 장기를 검사하고 10% 중성포르말린용액에 고정 후 일반적인 파라핀 절편을 만들어 Hematoxylin & Eosin 염색을 한 후 그 소견을 관찰하였다.

반복투여 독성시험:

(1) 일반증상

시험기간 중에 1일 2회 실시하였다. 관찰방법은 일반 임상증상의 종류와 그 정도를 기록하였다.

(2) 체중 변화, 사료섭취량 및 음수량 측정

체중은 주 1회 투여직전에 실시하였으며, 사료 섭취량은 모든 동물에 대하여 사육케이지별로 사료섭취량과 사료잔량을 투여종료일까지 매주 1회 4주간 측정하여 군당 사료섭취량(g/group/day)를 산출하였다. 음수량은 모든 동물에 대하여 사육케이지별로 급수총량과 급수잔량을 투여종료일까지 매주 1회 4주간 측정하여 군당 음수량(ml/group/day)을 산출하였다.

(3) 뇨검사

시험기간 중 무작위로 각 군당 5마리씩의 동물에 대하여 1회 채뇨한 후, 그 뇨에 대하여 외관과 뇨량 및 색을 관찰한 다음, 즉시 뇨검사용 시험지(Combur-test® M, Roche Dignostics, Germany)를 사용하여 pH, gravity, nitrite, protein, ketone body, urobilinogen, bilirubin, glucose 및 occult blood를 측정하였다.

(4) 안과학적검사

투여기간 중 무작위로 각 군당 5마리씩의 동물에 대하여 1회 실시하였으며, 육안 및 검안경을 이용하여 실시하되 관찰 10분 전에 산동제(atropine)를 1~2 방울 점안한 후 전안부, 중간투광체 및 안저의 각각에 대해서 실시하였다.

(5) 혈액학적 및 혈청생화학적검사

무작위로 각 군당 5마리씩의 동물에 대하여 실시하였다. 일반 혈액학적 검사는 혈액자동분석기(Coulter S880과 H1, technicon, USA)를 이용하여 부검전 동물에 대하여 RBC, WBC, hemoglobin, hematocrit, MCV, MCH, MCHC, platelet, eosinophil, neutrophil, lymphocyte, monocyte, basophil을 분석했으며, prothrombin time (PT), partial thromboplastin time(PTT)은 APTT, PT reagent(國際試藥, Japan)를 이용하여 직접 검사하였다. 혈청 생화학적 검사도 투여 전 및 부검전 전 동물에 대하여 채취한 혈액의 일부를 실온에 30분간 방치하고 응고 후 원심분리(3,000 rpm, 30 min)하여 얻은 혈청에 대해서 혈청자동분석기(Express 550과 SPOCHEM™ 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.

(6) 장기중량 및 크기측정

전 시험동물에 대하여 간장, 신장(좌우), 비장, 심장, 부

신(좌우), 뇌, 뇌하수체, 난소(좌우), 자궁, 고환(좌우), 폐장, 흉선, 갑상선(좌우) 등의 절대장기 중량 및 체중에 대한 상대장기 중량을 측정하였다.

(7) 병리조직검사

전 시험동물에 대하여 ether로 마취한 다음 복대동맥을 절단하여 충분히 방혈시켰다. 장기중량 측정이 끝난 모든 장기를 중성 포르말린에 고정시켰다. 2주 이상의 충분한 고정을 거친 후 장기조직을 파라핀 포매기(SAKURA, Tissue-Tek VIP,vacuum infiltration Processor, Japan)에 포매하고 마이크로톰(Microm, HM340E, Germany)으로 4 µm 절편을 만들어 Hematoxylin & Eosin 염색을 실시하여 조직을 관찰하였다.

통계학적 방법

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 Dunnet'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 독성시험

일반증상 및 사망률: 시험 전 기간에 걸쳐 암·수 모두 모든 투여 군에서 사망한 개체는 없었고(Table 1), 시험물질 투여로 인해 유도된 것으로 보이는 임상증상은 관찰되지 않았다.

Table 1. Mortality observation in SD rats after single subcutaneous administration of *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk extract for 2 weeks

Sex	Dose (mg/ml/kg)	Hours after treatment						Days after treatment														Final mortality																
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14																	
Male	Control (0)	0 ^{a)}	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	0	0	0	0/5(0%)
	Low (1)	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	0	0	0	0	0/5(0%)
	Middle (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	0	0	0	0	0/5(0%)
	High (100)	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	0	0	0	0	0/5(0%)
Female	Control (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	0	0	0	0	0	0/5(0%)
	Low (1)	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	0	0	0	0	0/5(0%)
	Middle (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	0	0	0	0	0/5(0%)
	High (100)	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	0	0	0	0	0/5(0%)

^{a)}Number of dead animal.

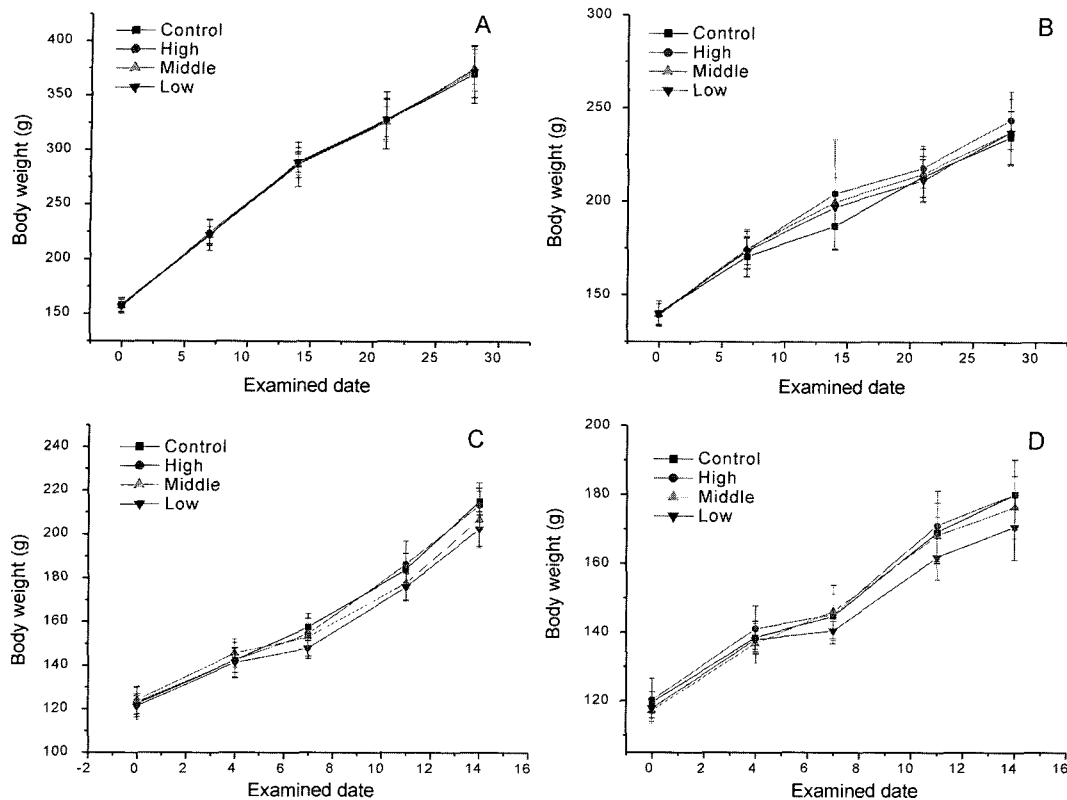


Fig. 1. Body weight of rats. A: Body weight of male rats in repeated dose toxicity study; B: Body weight of female rats in repeated dose toxicity study; C: Body weight of male rats in single dose toxicity study; D: Body weight of female rats in single dose toxicity study.

체중 변화: 2주간 피하 투여한 시험군 모두 저용량 투여군, 중간용량 투여군, 고용량 투여군 및 음성대조군에서 정상적인 체중증가율을 나타내었다(Fig. 1).

부검소견: 부검결과 모든 개체에서 본 시험물질의 투여에 기인한 것으로 사료되는 어떤 유의할 만한 육안 병변은 관찰되지 않았다.

반복투여 독성시험

일반증상 및 사망률: 4주간 주7회 피하투여 한 시험군 모두 저용량 투여군, 중간용량 투여군, 고용량 투여군 및 음성대조군에서 전 시험기간을 통하여 사망동물은 관찰되지 않았고(Table 2), 시험물질 투여로 인한 임상증상은 관찰되지 않았다.

체중변화: 4주간 주7회 피하투여한 시험군과 2주간 단회 피하투여한 시험군 모두 저용량 투여군, 중간용량 투여군, 고용량 투여군 및 음성대조군에서 정상적인 체중증가율을 나타내었다(Fig. 1).

노검사: 시험군 모두 검사결과 전 기간 동안 음성대조군에 비해 저용량군, 중간용량군, 그리고 고용량군에서 시험물질 투여로 인한 특이할 만한 유의성은 관찰할 수 없

Table 2. Mortality observation in SD rats after subcutaneously treated with *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) *Schischk* extract for 4 weeks

Sex	Dose (mg/ml/kg)	Days after treatment					Final mortality
		0	7	14	21	28	
Male	Control (0)	0 ^{a)}	0	0	0	0	0/10(0%)
	Low (1)	0	0	0	0	0	0/10(0%)
	Middle (10)	0	0	0	0	0	0/10(0%)
	High (100)	0	0	0	0	0	0/10(0%)
Female	Control (0)	0	0	0	0	0	0/10(0%)
	Low (1)	0	0	0	0	0	0/10(0%)
	Middle (10)	0	0	0	0	0	0/10(0%)
	High (100)	0	0	0	0	0	0/10(0%)

^{a)}Number of dead animal.

었다(Table 3).

혈액학적 검사결과: RBC는 암컷 중간용량군($6.85 \pm 0.30 \times 10^6 \mu$)에서 음성대조군($7.49 \pm 0.33 \times 10^6 \mu$)에 비해 감소하였다. Hemoglobin은 수컷 중간용량군($16.16 \pm 0.86 \text{ g/dl}$)에서 음성대조군($14.94 \pm 0.34 \text{ g/dl}$)과 비교해 증가하였으며, 암컷 중간용량군($13.86 \pm 0.25 \text{ g/dl}$)에서는 음성대조군($15.54 \pm 1.14 \text{ g/dl}$)과 비교해 감소하였다. Plate-

Table 3. Urinalysis in rats subcutaneously treated with *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk extract for 4 weeks

Sex	Male				Female			
	Control	Low	Middle	High	Control	Low	Middle	High
Dose	0	1	10	100	0	1	10	100
No. of animal	5	5	5	5	5	5	5	5
Nitrite	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	+	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
Urobilinogen (Ehrlich unit/dl)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Protein (mg/dl)	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
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	-	-
Ketone body (mg/dl)	5-10	5-10	50	50	-	5-10	5-10	5-10
	-	-	+	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
Bilirubin	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucose (g/dl)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

NA, Normal.

let에 관하여도 암컷 중간용량군($902.0 \pm 93.21 \times 10^3/\mu\text{l}$)에서 음성대조군($720.40 \pm 139.14 \times 10^3/\mu\text{l}$)에 비해 증가하였다(Table 4).

혈청 생화학적 검사: AST는 수컷의 고용량군(142.20 ± 24.10 IU/l), 중간용량군(125.00 ± 14.18 IU/l), 그리고 저용량군(128.80 ± 32.70 IU/l) 모두에서 음성대조군(178.00 ± 24.90 IU/l)에 비해 유의한($p < 0.05$) 감소를 보였고,

암컷의 중간용량군(250.60 ± 64.23 IU/l)에서 음성대조군(180 ± 28.46 IU/l)에 비해 증가하였다. ALT는 수컷 고용량군(32.60 ± 2.88 IU/l)과 중간용량군(33.00 ± 4.36 IU/l)이 음성대조군(43.00 ± 8.80 IU/l)에 비해 유의한($p < 0.05$) 감소를 보였고, 암컷에서는 유의한 변화를 보이지 않았다. Triglyceride는 수컷에서는 유의한 변화를 보이지 않았고, 암컷에서는 저용량군(16.20 ± 9.45 mg/dl)이 음성대조

Table 4. Hematological values of rats subcutaneously treated with *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk extract for 4 weeks

Sex	Male				Female				
	Dose No. of Animal	Control 0 ^{a)} 5 ^{b)}	Low 1 5	Middle 10 5	High 100 5	Control 0 5	Low 1 5	Middle 10 5	High 100 5
Neutrophil (%)		3.40 ±1.52 ^{c)}	1.60 ±0.89	2.20 ±1.64	2.60 ±3.05	3.40 ±2.19	2.60 ±3.58	3.40 ±2.51	2.80 ±2.49
Lymphocyte (%)		96.20 ±1.64	96.40 ±4.78	97.80 ±1.64	97.40 ±3.05	96.60 ±2.19	97.40 ±3.57	96.60 ±2.51	97.20 ±2.49
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)		8.58 ±3.45	8.38 ±2.52	7.16 ±2.69	8.92 ±1.28	8.18 ±2.25	9.70 ±2.65	8.56 ±3.05	8.42 ±3.05
RBC (×10 ⁶ μl)		7.06 ±0.27	7.12 ±0.19	7.56 ±0.66	6.99 ±0.39	7.49 ±0.33	7.57 ±0.48	6.85* ±0.30	7.26 ±0.15
HGB (g/dl)		14.94 ±0.34	15.46 ±0.62	16.16* ±0.86	15.32 ±1.00	15.54 ±1.14	15.54 ±0.68	13.86* ±0.25	14.96 ±0.11
HCT (%)		41.80 ±1.48	42.60 ±1.52	44.60 ±2.88	42.40 ±3.21	44.60 ±3.36	45.60 ±2.51	41.80 ±0.84	44.20 ±0.84
MCV (fl)		59.40 ±0.89	48.20 ±16.75	59.40 ±2.41	60.80 ±1.48	59.20 ±2.28	60.20 ±0.84	61.20 ±1.92	61.00 ±1.58
MCH (pg)		59.40 ±0.89	21.40 ±0.55	20.80 ±1.30	21.60 ±0.55	20.20 ±1.10	20.20 ±0.45	19.80 ±0.45	20.40 ±0.89
MCHC (g/dl)		35.00 ±0.71	35.40 ±0.55	35.20 ±0.84	35.40 ±0.89	34.20 ±0.84	33.60 ±0.55	32.40 ±0.55	33.20 ±0.45
PLT (×10 ³ /μl)		804.40 ±117.30	857.60 ±82.00	788.20 ±168.38	785.40 ±117.23	720.40 ±139.14	798.40 ±73.32	902.00* ±93.21	736.00 ±171.63

^{a)}Dose volume of *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk extract (mg/ml/kg); ^{b)}Number of animals; ^{c)}Values were expressed as mean±S.D.

*Significantly different from control group ($p < 0.05$).

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.

군(43.80±14.96 mg/dl)에 비해 감소하였으나, 용량의존적인 변화가 관찰되지는 않았다. Blood urea nitrogen (BUN)은 수컷에서는 유의한 변화를 보이지 않았고, 암컷에서는 고용량군(16.42±1.65 mg/dl)이 음성대조군(21.02±3.85 mg/dl)에 비해 감소하였다. Creatinine은 수컷에서 중간용량군(0.50±0.00 mg/dl)이 음성대조군(0.44±0.05 mg/dl)에 비해 증가하였고, 암컷에서는 유의한 변화를 보이지 않았다. Potassium은 수컷에서는 유의한 변화를 보이지 않았고, 암컷에서는 고용량군(5.18±0.18 mEq/l)과 저용량군(5.34±0.65 mEq/l)이 음성대조군(7.34±2.09 mEq/l)에 비해 감소하였다. Chloride의 경우 수컷에서 저용량군(102.80±0.84 mEq/l)이 음성대조군(107.20±2.49 mEq/l)에 비해 감소하였고, 암컷에서는 유의한 변화를 보이지 않았다. PT에서 수컷과 암컷 모두에서 유의한 변화를 나타내지 않았고, PTT에서는 수컷에서는 유의한 변화

를 보이지 않았으나 암컷에서 중간용량군(41.00±6.04)이 음성대조군(31.80±4.66)에 비해 감소하였다(Tables 5 and 6).

절대장기 중량 및 체중에 대한 각 장기의 상대장기중량 비: 간의 절대장기중량은 수컷의 중간용량군(11.39±1.43 g)과 저용량군(11.45±1.52 g)에서 음성대조군(12.83±0.72 g)에 비하여 유의한($p < 0.05$) 감소를 나타내었다. 상대장기중량에 있어서도 수컷의 중간용량군(3.03±0.36 g)과 저용량군(3.08±0.41 g)에서 음성대조군(3.48±0.40 g)에 비해 감소하였다. 그러나 암컷에서는 유의적인 변화가 관찰되지 않았다. 우측난소의 경우 절대장기중량에서 고용량군(0.08±0.01 g)이 음성대조군(0.061±0.02 g)에 비해 증가하였다. 그러나 상대장기중량에서는 유의한 변화가 관찰되지 않았다(Tables 7-1 and 7-2).

병리조직검사: 수컷 음성대조군의 한 마리의 개체에서

Table 5. Serum biochemical values of rats subcutaneously treated with *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk extract for 4 weeks

Sex	Male				Female				
	Dose No. of Animal	Control 0 ^{a)} 5 ^{b)}	Low 1 5	Middle 10 5	High 100 5	Control 0 5	Low 1 5	Middle 10 5	High 100 5
TP (g/dl)		5.45 ±0.34 ^{c)}	5.66 ±0.35	5.68 ±0.39	5.39 ±0.37	6.46 ±0.68	6.57 ±0.19	6.48 ±0.36	6.15 ±0.14
Albumin (g/dl)		2.42 ±0.13	2.41 ±0.13	2.49 ±0.15	2.36 ±0.20	2.86 ±0.21	2.95 ±0.08	2.90 ±0.16	2.69 ±0.11
AST (IU/l)		178.00 ±24.90	128.80* ±32.70	125.00* ±14.18	142.20* ±24.10	180.20 ±28.46	141.60 ±36.20	250.60* ±64.23	156.80 ±42.48
ALT (IU/l)		43.00 ±8.80	37.20 ±5.26	33.00* ±4.36	32.60* ±2.88	33.80 ±8.11	29.20 ±4.02	40.60 ±8.17	32.20 ±2.17
TB (mg/dl)		0.04 ±0.02	0.04 ±0.01	0.04 ±0.01	0.04 ±0.01	0.12 ±0.18	0.07 ±0.05	0.05 ±0.02	0.04 ±0.01
GLU (mg/dl)		151.60 ±18.77	134.00 ±7.71	144.60 ±30.09	133.60 ±10.16	122.40 ±22.52	131.80 ±15.25	122.20 ±5.67	118.60 ±20.14
ALP (u/l)		973.40 ±357.54	873.20 ±190.32	907.80 ±137.55	827.60 ±119.47	692.00 ±59.31	680.80 ±162.11	582.20 ±98.82	697.20 ±18.10
CHOL (mg/dl)		72.60 ±12.93	71.00 ±4.42	67.60 ±13.63	64.00 ±9.82	83.60 ±7.27	80.80 ±10.18	74.20 ±11.99	82.40 ±4.10
TG (mg/dl)		69.20 ±34.38	37.00 ±13.02	42.60 ±20.71	73.60 ±80.02	43.80 ±14.96	16.20* ±9.45	23.60 ±13.03	44.00 ±22.24
BUN (mg/dl)		17.60 ±2.56	15.14 ±2.15	14.44 ±1.41	15.20 ±2.64	21.02 ±3.85	18.02 ±3.57	18.80 ±2.20	16.42* ±1.65
CREAT (mg/dl)		0.44 ±0.05	0.44 ±0.05	0.50* ±0.00	0.40 ±0.00	0.50 ±0.00	0.50 ±0.00	0.48 ±0.08	0.46 ±0.05
Na (mEq/l)		141.40 ±1.52	141.60 ±1.82	143.80 ±3.27	142.20 ±0.84	141.80 ±1.64	143.20 ±1.48	143.40 ±6.43	143.20 ±1.79
K (mEq/l)		6.08 ±0.91	5.58 ±0.78	5.06 ±0.47	5.24 ±0.72	7.34 ±2.09	5.34* ±0.65	6.36 ±0.99	5.18* ±0.18
Cl (mEq/l)		107.20 ±2.49	102.80* ±0.84	105.80 ±2.86	107.60 ±1.52	105.80 ±1.64	105.80 ±0.85	106.80 ±5.45	105.20 ±1.64

^{a)}Dose volume of *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk extract (mg/ml/kg); ^{b)}Number of animals; ^{c)}Values were expressed as mean±S.D.

*Significantly different from control group ($p < 0.05$).

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 6. Prothrombin time and thromboplastin time of SD rats subcutaneously treated with *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk extract for 4 weeks (unit: second)

Sex	Group	Dose (mg/m/kg) No. of animal	Control	Low	Middle	High
			0 5	1 5	10 5	100 5
Male	PT	Mean	15.32	14.44	15.06	15.94
		S.D.	±0.67 ^{a)}	±0.85	±0.89	±1.13
	PTT	Mean	35.80	34.20	37.00	36.60
		S.D.	±6.65	±4.87	±2.35	±6.94
Female	PT	Mean	15.30	15.84	14.86	14.80
		S.D.	±0.96	±1.27	±0.27	±0.44
	PTT	Mean	31.80	36.00	41.00*	36.40
		S.D.	±4.66	±8.72	±6.04	±2.97

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

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

미약한 지방변성과 동모혈관 확장과 더불어 Ito 세포의 수가 증가하였다. 하지만 전체적으로 방풍 추출액 투여로 기인된 것으로 사료되는 증상은 발견되지 않았다.

고 찰

방풍 추출물에 대한 독성 유무를 평가하기 위하여 식품의약품안전청고시 제 1999-61호(1999. 12. 22) 의약품등의 독성시험기준에 준하여 랫드에서 반복투여 독성시험과 단회투여 독성시험을 실시하였다. 방풍 추출물을 투여한 모든 동물에서 시험기간 중 사망한 동물은 없었으며, 방풍 추출액 투여로 기인된 것으로 사료되는 어떠한 임상증상도 관찰되지 않았다. 방풍 추출물의 혈액학적 검사결과 RBC, Hemoglobin, 그리고 Platelet에 있어서 일부 중간

Table 7-1. Absolute organ weights of rats subcutaneously treated with *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk extract for 4 weeks (unit: g)

Sex	Male				Female			
	Control 0 ^{a)} 10 ^{b)}	Low 1 10	Middle 10 10	High 100 10	Control 0 10	Low 1 10	Middle 10 10	High 100 10
Body Weight	370.5 ±26.71 ^{c)}	372.43 ±23.37	375.43 ±14.20	374.30 ±19.39	234.94 ±14.22	237.64 ±15.77	237.80 ±17.78	244.25 ±15.37
Liver	12.83 ±12.83	11.45* ±1.52	11.39* ±1.43	12.01 ±0.80	8.09 ±0.80	8.47 ±1.02	8.10 ±0.92	8.09 ±0.48
Spleen	0.72 ±0.19	0.70 ±0.21	0.70 ±0.24	0.73 ±0.08	0.51 ±0.07	0.53 ±0.06	0.52 ±0.08	0.55 ±0.06
Kidney Lt	1.22 ±0.11	1.26 ±0.15	1.19 ±0.09	1.23 ±0.10	0.80 ±0.06	0.83 ±0.07	0.79 ±0.07	0.84 ±0.06
Kidney Rt	1.22 ±0.10	1.25 ±0.12	1.18 ±0.10	1.24 ±0.13	0.80 ±0.06	0.83 ±0.08	0.82 ±0.05	0.82 ±0.07
Adrenal gl. (left)	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.04 ±0.01	0.03 ±0.02	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.04 ±0.01
Adrenal gl. (right)	0.04 ±0.01	0.04 ±0.02	0.03 ±0.01	0.04 ±0.01	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01
Heart	1.24 ±0.11	1.33 ±0.20	1.21 ±0.09	1.20 ±0.07	0.86 ±0.10	0.87 ±0.10	0.85 ±0.08	0.92 ±0.10
Lung	1.52 ±0.19	1.44 ±0.17	1.45 ±0.17	1.41 ±0.15	1.25 ±0.21	1.24 ±0.12	1.17 ±0.16	1.23 ±0.11
Thymus	0.74 ±0.13	0.77 ±0.21	0.64 ±0.12	0.72 ±0.15	0.71 ±0.08	0.78 ±0.17	0.72 ±0.17	0.75 ±0.14
Testis Lt.	1.48 ±0.15	1.55 ±0.15	1.56 ±0.09	1.51 ±0.16	-	-	-	-
Testis Rt.	1.48 ±0.18	1.53 ±0.07	1.55 ±0.10	1.51 ±0.14	-	-	-	-
Epididymis left	0.41 ±0.09	0.39 ±0.04	0.40 ±0.05	0.37 ±0.05	-	-	-	-
Epididymis right	0.38 ±0.05	0.38 ±0.03	0.37 ±0.05	0.40 ±0.06	-	-	-	-
Prostate	1.64 ±0.33	1.46 ±0.12	1.57 ±0.27	1.47 ±0.17	-	-	-	-
Uterus	-	-	-	-	0.55 ±0.26	0.60 ±0.22	0.55 ±0.15	0.53 ±0.22
Ovary left	-	-	-	-	0.06 ±0.02	0.08 ±0.02	0.06 ±0.02	0.07 ±0.02
Ovary right	-	-	-	-	0.06 ±0.02	0.07 ±0.01	0.06 ±0.01	0.08* ±0.01
Salivary gland left	0.37 ±0.09	0.32 ±0.04	0.36 ±0.06	0.35 ±0.03	0.23 ±0.04	0.24 ±0.03	0.23 ±0.04	0.25 ±0.03
Salivary gland right	0.35 ±0.03	0.37 ±0.07	0.36 ±0.06	0.35 ±0.03	0.26 ±0.04	0.23 ±0.06	0.23 ±0.03	0.27 ±0.04
Brain	1.94 ±0.07	1.98 ±0.09	1.92 ±0.10	1.84 ±0.31	1.81 ±0.11	1.81 ±0.10	1.89 ±0.09	1.83 ±0.10
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)}Dose volume of *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk extract (mg/ml/kg); ^{b)}Number of animals; ^{c)}Values were expressed as mean±S.D.

*Significantly different from control group ($p < 0.05$).

용량군에서 음성대조군에 비해 유의성 있는 변화를 나타 내기는 했지만 그 수치가 정상범위 내에 있기 때문에 방 풍 추출물에 의한 결과로 사료되지 않는다. 혈청생화학적 검사결과 AST에 관하여 수컷 고용량군, 중간용량군, 그리

고 저용량군 모두가 음성대조군에 비하여 유의한($p < 0.05$) 감소를 보였고, 암컷에서는 중간용량군이 음성대조 군에 비하여 유의한($p < 0.05$) 증가를 나타내었다. 이상의 수치들로 보아 간 질환이 의심되지만 조직병리학적 검사

Table 7-2. Relative organ weights of rats subcutaneously treated with *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk extract for 4 weeks (unit: g)

Sex	Male				Female				
	Dose No. of Animal	Control 0 ^{a)} 10 ^{b)}	Low 1 10	Middle 10 10	High 100 10	Control 0 10	Low 1 10	Middle 10 10	High 100 10
Liver		370.5 ±26.71 ^{c)}	372.43 ±23.37	375.43 ±14.20	374.30 ±19.39	234.94 ±14.22	237.64 ±15.77	237.80 ±17.78	244.25 ±15.37
Spleen		12.83 ±12.83	11.45* ±1.52	11.39* ±1.43	12.01 ±0.80	8.09 ±0.80	8.47 ±1.02	8.10 ±0.92	8.09 ±0.48
Kidney Lt		0.72 ±0.19	0.70 ±0.21	0.70 ±0.24	0.73 ±0.08	0.51 ±0.07	0.53 ±0.06	0.52 ±0.08	0.55 ±0.06
Kidney Rt		1.22 ±0.11	1.26 ±0.15	1.19 ±0.09	1.23 ±0.10	0.80 ±0.06	0.83 ±0.07	0.79 ±0.07	0.84 ±0.06
Adrenal gl. (left)		1.22 ±0.10	1.25 ±0.12	1.18 ±0.10	1.24 ±0.13	0.80 ±0.06	0.83 ±0.08	0.82 ±0.05	0.82 ±0.07
Adrenal gl. (right)		0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.04 ±0.01	0.03 ±0.02	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.04 ±0.01
Heart		0.04 ±0.01	0.04 ±0.02	0.03 ±0.01	0.04 ±0.01	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01	0.03 ±0.01
Lung		1.24 ±0.11	1.33 ±0.20	1.21 ±0.09	1.20 ±0.07	0.86 ±0.10	0.87 ±0.10	0.85 ±0.08	0.92 ±0.10
Thymus		1.52 ±0.19	1.44 ±0.17	1.45 ±0.17	1.41 ±0.15	1.25 ±0.21	1.24 ±0.12	1.17 ±0.16	1.23 ±0.11
Testis Lt.		0.74 ±0.13	0.77 ±0.21	0.64 ±0.12	0.72 ±0.15	0.71 ±0.08	0.78 ±0.17	0.72 ±0.17	0.75 ±0.14
Testis Rt.		1.48 ±0.15	1.55 ±0.15	1.56 ±0.09	1.51 ±0.16	-	-	-	-
Epididymis left		1.48 ±0.18	1.53 ±0.07	1.55 ±0.10	1.51 ±0.14	-	-	-	-
Epididymis right		0.41 ±0.09	0.39 ±0.04	0.40 ±0.05	0.37 ±0.05	-	-	-	-
Prostate		0.38 ±0.05	0.38 ±0.03	0.37 ±0.05	0.40 ±0.06	-	-	-	-
Uterus		1.64 ±0.33	1.46 ±0.12	1.57 ±0.27	1.47 ±0.17	-	-	-	-
Ovary left		-	-	-	-	0.55 ±0.26	0.60 ±0.22	0.55 ±0.15	0.53 ±0.22
Ovary right		-	-	-	-	0.06 ±0.02	0.08 ±0.02	0.06 ±0.02	0.07 ±0.02
Salivary gland left		-	-	-	-	0.06 ±0.02	0.07 ±0.01	0.06 ±0.01	0.08* ±0.01
Salivary gland right		0.37 ±0.09	0.32 ±0.04	0.36 ±0.06	0.35 ±0.03	0.23 ±0.04	0.24 ±0.03	0.23 ±0.04	0.25 ±0.03
Brain		0.35 ±0.03	0.37 ±0.07	0.36 ±0.06	0.35 ±0.03	0.26 ±0.04	0.23 ±0.06	0.23 ±0.03	0.27 ±0.04
Hypophysis		1.94 ±0.07	1.98 ±0.09	1.92 ±0.10	1.84 ±0.31	1.81 ±0.11	1.81 ±0.10	1.89 ±0.09	1.83 ±0.10

^{a)}Dose volume of *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk extract (mg/ml/kg); ^{b)}Number of animals; ^{c)}Values were expressed as mean±S.D.

*Significantly different from control group ($p < 0.05$).

결과 이상이 없는 것으로 보아 이러한 수치 역시 방풍 추출물의 투여로 인한 결과로 사료되지 않는다. ALT에 있어서는 수컷 고용량군과 중간용량군이 음성대조군에 비하여 유의한($p < 0.05$) 감소를 보였으나, 정상범위 내에 있었다. Triglyceride는 암컷에서는 저용량군이 음성대조군에 비하

여 유의한($p < 0.05$) 감소를 나타내었으나 용량의존적인 변화가 관찰되지는 않았다. Creatinine은 수컷에서 중간용량군이 음성대조군에 비하여 유의한($p < 0.05$) 증가를 나타내었으나 정상수치 내에 있었다. Potassium은 암컷에서 고용량군과 저용량군이 음성대조군에 비하여 유의한

($p < 0.05$) 감소를 나타내었으나 정상수치에 해당하였다. 방풍 추출물의 혈액응고인자 검사결과 PTT는 암컷에서 중간용량군이 음성대조군에 비해 유의한($p < 0.05$) 증가를 보이긴 했지만, 그 수치가 정상범위내에 있었다. 절대장기 및 상대장기를 검사한 결과는 간의 절대장기중량에 있어서 수컷의 중간용량군과 저용량군에서 음성대조군에 비하여 유의한($p < 0.05$) 감소를 나타내었고, 상대장기중량에 있어서도 수컷의 중간용량군과 저용량군에서 음성대조군에 비하여 유의한($p < 0.05$) 감소를 나타내긴 했지만, 암컷에서는 유의적인 변화가 관찰되지 않았고, 조직병리학적인 검사 및 혈액·혈청학적 검사결과 이상이 없는 것으로 보아 이 역시 방풍 추출물로 인해 나타난 결과로 사료되지 않는다. 우측난소의 경우 절대장기중량에서 고용량군이 음성대조군에 비해 유의한($p < 0.05$) 증가를 나타냈기는 하지만, 상대장기중량에서는 유의한 변화가 관찰되지 않았고, 조직병리학적인 검사 결과 이상이 없는 것으로 보아 시험물질 투여로 인해 나타난 결과로 사료되지는 않는다. 조직병리학적인 결과 수컷 음성대조군의 한 개체에서 미약한 지방변성과 동모혈관 확장과 더불어 Ito 세포의 수가 증가하였다. 하지만 이는 용량 의존적이지 못하며, 한 개체에 지나지 않아 시험물질의 독성에 의한 변화라기보다는 식이성으로 사료된다.

따라서 이상의 결과를 종합해 볼 때 서울대학교 천연물과학 연구소에서 공여 받은 방풍의 반복투여 독성 시험과 단회투여 독성 시험 결과 랫드 수컷과 암컷 모두에서 무해용량(NOEL)은 100 mg/ml/kg 이상인 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 1999년 보건복지부 Oriental Medicine 2010 R&D Project 연구비로 수행된 과제로 지원에 감사드립니다.

참고문헌

Zhong Yao Tong Bao. (1989): Herbalogic studies on the Chi-

- nese drug fang feng. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, **14**(10), 579-581.
- 이상인, 서영배, 최호영 (1996): 방풍의 규격화에 관한 연구(A Study on The Standardization of Bang-Poong(방풍)), 경희한의대논문집, Vol.19, No.2.
- Zhongguo, Zhong Yao, Za Zhi (1985): Technics for cultivating *Saposhnikovia divaricata*. *Zhong Yao Tong Bao*, **10**(12), 7-9.
- Xiao, Y.Q., Li, L., Yang, B. and Huang, L.Q. (2001): Studies on chemical constituents from root of *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.), *Schischk. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, **26**(2), 117-119.
- Ji, L., Pan, J., Yang, J. and Xiao, Y. (1999): GC-MS analysis of essential oils from the roots of *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) *Schischk. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, **24**(11), 678-680.
- Shimizu, N., Tomoda, M., Gonda, R., Kanari, M., Takanashi, N. and Takahashi, N. (1989): The major pectic arabinogalactan having activity on the reticuloendothelial system from the roots and rhizomes of *Saposhnikovia divaricata*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, **37**(5), 1329-1332.
- Okuyama, E., Hasegawa, T., Matsushita, T., Fujimoto, H., Ishibashi, M. and Yamazaki, M. (2001): Analgesic components of *saposhnikovia* root (*Saposhnikovia divaricata*). *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, **49**(2), 154-160.
- Wang, F.R., Xu, Q.P. and Li, P. (1991): Comparative studies on the febrifugal analgesic and anticonvulsive activities of water extracts from cultivated and wild *Saposhnikovia divaricata*, *Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*, **11**(12), 730-732
- Tang, R.J., Min, Z.H. and Xu, C.Y. (1988): Pharmacologic studies on the root of *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) *Schischk. Zhong Yao Tong Bao*, **13**(6), 44-46.
- 강성길, 이종국 (1986): 방풍수침(防風水鍼)이 진통 소염 해열 및 진경(鎮痙)에 미치는 영향. 대한침적학회지, Vol. 3 No. 1.
- Guo, L.Q., Taniguchi, M., Chen, Q.Y., Baba, K. and Yamazoe, Y. (2001): Inhibitory potential of herbal medicines on human cytochrome P450-mediated oxidation: properties of umbelliferous or citrus crude drugs and their relative prescriptions. *Jpn. J. Pharmacol*, **85**(4), 399-408.
- Wang, C.N., Shiao, Y.J., Kuo, Y.H., Chen, C.C. and Lin, Y.L. (2000): Inducible nitric oxide synthase inhibitors from *Saposhnikovia divaricata* and *Panax quinquefolium*. *Planta Med*, **66**(7), 644-647.