J. Toxicol. Pub. Health
Vol. 22, No. 4, pp. 439-443 (2006)

Official Journal of
Korean Society of Toxicology
Available online at http://www.toxmut.or.kr

# 마우스에서 두릅 추출물의 단회경구투여 독성시험

양희경 · 진주연 · 김지민 · 고문수 · 홍현주 · 김상철 · 이영재
제주대학교 수의학과

# Single Oral Dose Toxicity Study of the Extract of *Aralia elata* in Mice

**Hee Kyoung Yang, Ju Youn Jin, Ji Min Kim, Mun Su Ko, Hyun Ju Hong, Sang Chul Kim and Young Jae Lee**
*Department of Veterinary Medicine Cheju National University, Ara 1-dong, Jeju 690-756, Korea*

*Received September 4, 2006; Accepted September 25, 2006*

**ABSTRACT.** This study was conducted to investigate the potential acute toxicity of *Aralia elata* by a single oral dose in ICR mice. Thirty mice of each sex were randomly assigned to three groups of 10 mice each. The test articles were administered once by the gavage to mice at dose levels of 0, 2,500 and 5,000 mg/kg body weight. The mortality and changes on body weight and clinical signs of gross observation were monitored for 14 days after dosing. At the end of 14-day observation period, all animals were sacrificed and complete gross postmortem examinations were performed. There were no dead animal and adverse effects on clinical signs, the body weight and the gross finding. As the results, we could not find any toxic effect at the dose levels of 2,500 or 5,000 mg/kg in mice and the minimal lethal dose was considered to be over 5,000 mg/kg body weight in mice.

**Keywords:** *Aralia elata*, Acute oral toxicity, Mice.

## 서 론

식생활의 서구화와 의학의 발달 등으로 평균수명이 증가하여 고령화 사회로 진입하면서 암, 비만, 당뇨, 뇌혈관 질환, 고혈압, 동맥 경화증 등 각종 만성 퇴행성 질환이 급속도로 증가하고 있다. 이러한 만성 질환은 잠복기간이 길고 또 일단 발병하면 치료가 어려운 만큼 무엇보다 예방이 중요하다. 만성 질환의 발병 원인이 선천적 요인에 의한 것도 있으나 후천적 요인 중에서는 매일 섭취하는 식품의 선택이 중요한 것으로 역학 조사 결과 나타나고 있다. 현재 이미 개발되어 있는 화학요법(chemotherapy)들은 다양한 부작용을 유발하는 단점이 있어 사용이 제한되고 있다. 따라서 최근에는 장기간의 사용에도 부작용이 적으면서 건강의 증진과 질병을 예방할 수 있는 식물 유래의 약용 천연물(phytochemicals)에 대한 신약 또는 기능성 식품 연구 개발이 크게 증가하고 있다(Misra, 1998; Munro *et al.*, 1999; Rates, 2001; Flood and Kondo, 2003; Wolf and Weisbrode, 2003).

두릅나무(*Aralia elata* Seem, AE)는 두릅나무과(*Araliaceae*)에 속하는 식물로 예로부터 한방, 민간 요법, 식용 등으로 이용되며(배기환, 2001), 한방에서는 뿌리, 과실, 수피 등을 당뇨병, 신장병, 급만성 간염 및 위통 등에 주로 상용하였다. 두릅나무의 약리 주성분으로는 β-sitosterol, α, β-taralin, oleanolic acid, choline, hederagenin, pertoselinic acid, palmitic acid, stigmasterol, α-terline, limolcinic acid, peterpse lidinic acid, 3-saponins, protocate chuic acid 등이 있으며 풍부한 비타민 A 등의 영양소가 함유되어 있는 것으로 보고되어 있다(하광원 등, 1998). 두릅나무의 약리 효과는 혈당저하효과(Yoshikawa *et al.*, 1994, 1995, 1996b; 이은방 등, 1993), 알콜 흡수저해효과(Yoshikawa *et al.*, 1993, 1996a), 세포보호효과(Saito *et al.*, 1993), 위염 및 위궤양에 대한 효과(이은방과 정춘식, 1993; Hernandez *et al.*, 1988), 당뇨병에 대한 효과(김영희와 임정교, 1999) 등이 보고 되어 있

Correspondence to: Young Jae Lee, Department of Veterinary Medicine, Cheju National University, Ara 1-Dong, Jeju 690-756, Jejudo, Korea
E-mail: yjlee3@cheju.ac.kr

다. 그리고 최근 우리는 두릅 추출물에서 흰쥐 대동맥 혈관 평활근 이완 효과(주창완, 2002)와 선천성 고혈압 쥐에서 항고혈압 효과(진주연, 2002)에 대하여 연구하였다.

이와 같이 두릅나무는 다양하고 우수한 약리 활성을 가지고 있기 때문에 의약품이나 기능성 식품 개발로서의 이용가치가 점차 증가하고 있으나 반면에 두릅나무 추출물에 대한 안전성평가에 관한 자료는 거의 없는 실정이다. 본 연구에서는 두릅나무 추출물에 대한 안전성평가의 일환으로, 단회 투여시 발현될 수 있는 급성독성을 질적·양적으로 평가하고자 식품의약품안전청의 의약품 등의 독성시험기준(식품의약품 안전청 고시 1999-61호)에 준하여 두릅 주정추출물의 단회 경구 독성시험을 마우스에서 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 시험 물질의 추출 및 조제

본 실험에 사용된 시험 물질은 두릅나무 새순의 주정추출물로 제주도 농업기술원에서 원료를 제공받아 사용하였다. 두릅 새순을 음지에서 건조시킨 후 분쇄하여 10배 부피의 95% ethanol (주정)을 가하여 추출한 후, 여과지에 여과하였다. 1차 추출된 잔사에 상기와 같은 방법으로 2회 더 반복 추출한 후 총 추출 여과액을 합한 다음 회전감압 농축기를 이용하여 농축시킨 후 동결 건조시켰다.

시험 물질 조제는 동결건조 분말을 사용하였으며, 실험동물에 투여하기 직전에 실시하였다. 시험 물질을 칭량한 다음 0.2% methyl cellulose(MC)에 현탁시켜 고용량군(5,000 mg/ml) 과 저용량군(2,500 mg/ml)의 시험 물질을 조제하였다.

### 실험동물 및 사육환경

7주령의 SPF 암, 수 ICR계 마우스를 (주)오리엔트에서 구입하여 사용하였다. 1주일간 실험실에 순화시켜 그 기간 중 일반증상을 관찰하고 이상이 없는 동물만을 선택하여 실험에 사용하였다.

시험 동물 중 ICR계 마우스는 전 세계적으로 독성시험에 널리 사용되어 왔기 때문에 생리, 해부 및 독성학적 기초자료가 풍부하여 그 결과를 비교하기가 유리하여 본 시험에 사용하였다.

실험기간 중 사육실 환경조건은 실내온도 23±2°C, 상대습도는 50±10%, 환기 횟수 10~20회/hr, 조명시간 12시간(오전 8시~오후 8시) 및 조도 200~300 Lux를 유지하였다. 모든 실험동물은 랫드용 polycarbonate 케이지(400 L×250 W×189 H mm)에 5마리씩 각각 암수 분리하여 사용하였다. 사료는 마우스용 고형사료(오리엔트)를, 물은 상수도를 자유롭게 섭취시켰다.

### 투여용량 및 시험군의 구성

식용으로 사용되는 시험물질의 저독성을 고려하여 단회 경구독성 투여 한계용량인 2,000 mg/kg(Yamanaka *et al.*, 1990; OECD 2000)의 용량을 사용한 예비 실험에서 어떠한 독성소견도 발견 되지 않았다. 식품의약품안전청의 의약품의 독성시험기준(1999)에 의하면 시험물질의 독성이 극히 약하여 치사량을 구하기 곤란한 경우 기술적으로 투여할 수 있는 한계량의 투여를 상한선으로 하는 것을 권장하고 있다. 따라서 본 연구에서는 기술적으로 투여할 수 있는 한계용량인 5,000 mg/kg을 최고용량으로 설정하였으며, 2,500 mg/kg 투여군과 부형제 투여군을 추가하였다.

시험군의 구성은 선발된 암수 각각 30마리의 동물 군간 체중이 고르게 2개의 용량군과 1개의 부형제 대조군으로 하여 군당 각각 암수 10마리씩 배치하였다.

시험물질은 0.2% methyl cellulose(MC)에 현탁시켜 사용하였으며, 투여액량은 투여당일 체중을 기준으로 체중 Kg 당 5 ml로 설정하였다. 모든 동물을 투여전 하룻밤 절식시켜 경구투여용 존데를 이용하여 강제경구 투여를 하였다. 실험 개시시 평균 체중은 수컷은 35.4±2.5 g, 암컷은 32.3±2.2 g 이었다.

### 관찰 및 검사항목

**일반 증상 및 폐사의 관찰.** 투여 당일은 투여 후 1시간에서 6시간까지는 매시간 마다, 투여 익일부터 14일까지 매일 1회 일반 증상의 변화, 독성 증상 및 사망 동물의 유무를 관찰하였다.

**체중 변화.** 시험에 사용된 모든 동물에 대하여 투여 개시 전과 투여 후 1, 3, 7, 10 및 14일에 체중을 측정하였다.

**부검.** 투여 후 14일째에 모든 생존 동물을 $CO_2$ 가스를 이용하여 안락사 시키고 개복하여 복대 동, 정맥을 절단하여 방혈시킨 후 육안적으로 모든 내부 장기를 검사하였다.

**통계학적 분석.** 본 실험에서 얻은 측정치의 통계학적 분석은 통계처리 computer program인 SPSS 12K를 이용하여 측정항목 중 체중 결과에 대하여 대조군과 시험군간의 유의성을 검증하기 위하여 t-test검정법을 사용하였고 사망 동물이 관찰되지 않아 반수 치사량($LD_{50}$)의 산출을 위한 통계 처리는 실시하지 않았다.

## 결 과

### 임상증상 및 사망률

시험기간 동안 모든 시험군의 암수 동물에서 시험 물질

**Table 1.** Mortality in male and female mice after single oral administration of *Aralia elata* ethanol extract

| Dose (mg/kg) | Days after treatment | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | Mortality (%) |
| Male | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2,500 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5,000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Female | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2,500 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5,000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Values are expressed as the number of dead animals.

**Table 2.** Clinical signs in male and female mice after single oral administration of *Aralia elata* ethanol extract

| Dose (mg/kg) | Days after treatment | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
| Male | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2,500 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5,000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Female | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2,500 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5,000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Values are expressed as the number of animals observed clinical signs.

의 투여에 기인한 특이할 만한 임상 증상은 관찰되지 않았으며, 폐사 및 빈사 동물 또한 관찰되지 않았다. 따라서 마우스에서 본 추출물의 최소 치사량(minimal lethal dose)은 암수 모두 5,000 mg/kg을 훨씬 상회하는 것으로 나타났다(Table 1, 2).

### 체중 변화

시험 전기간을 통한 암수 동물의 체중 측정 결과 시험물질의 투여에 기인한 현저한 체중의 감소 또는 증가가 나타나지 않았다(Table 3).

### 부검 소견

부검 결과, 모든 생존 동물에서 본 시험 물질 투여에 기인한 것으로 사료되는 어떠한 유의할 만한 육안 병변은 관찰되지 않았다(Table 4).

## 고찰 및 결론

시험 물질 두릅 추출물의 단회 경구투여에 의한 급성독성을 질적 · 양적으로 평가하기 의하여 의약품등의 독성시험기준(식품의약품 안전청 고시 1999-61호)에 따라 ICR 계통의 마우스에 0, 2,500 및 5,000 mg/kg의 용량으로 1회 경구투여한 후 14일간의 사망률, 일반증상, 체중변화 및 부검소견을 관찰하였다.

최고용량은 단회 경구 독성 투여 한계 용량인 2,000 mg/kg(Yamanaka *et al.*, 1990; OECD 2000) 보다 높은

**Table 3.** Body weight changes in male and female mice after single oral administration of *Aralia elata* ethanol extract

| Sex | Dose (mg/kg) | Days after treatment | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0 | 1 | 3 | 7 | 10 | 14 |
| Male | 0 | 35.5 ± 2.4 | 35.6 ± 2.3 | 35.8 ± 2.4 | 36.5 ± 2.3 | 36.8 ± 2.3 | 37.3 ± 2.2 |
| | 2,500 | 35.4 ± 2.9 | 35.0 ± 2.6 | 35.8 ± 2.7 | 36.2 ± 2.8 | 36.5 ± 2.7 | 37.3 ± 2.1 |
| | 5,000 | 35.4 ± 2.8 | 35.3 ± 2.8 | 36.0 ± 2.9 | 36.4 ± 2.9 | 36.5 ± 3.0 | 36.9 ± 2.7 |
| Female | 0 | 32.5 ± 2.1 | 32.6 ± 2.2 | 33.2 ± 2.1 | 33.6 ± 2.1 | 34.0 ± 2.1 | 34.2 ± 2.0 |
| | 2,500 | 32.8 ± 2.6 | 32.8 ± 2.0 | 33.1 ± 2.0 | 33.4 ± 2.1 | 34.0 ± 2.1 | 33.9 ± 2.3 |
| | 5,000 | 32.0 ± 2.4 | 32.2 ± 2.1 | 33.0 ± 2.0 | 33.4 ± 2.0 | 33.8 ± 1.9 | 34.1 ± 2.2 |

Values are expressed as means ± SD (g).

**Table 4.** Gross findings of necropsy in male and female mice after single oral administration of *Aralia elata* ethanol extract

| Dose (mg/kg) | No. of animals with abnormal gross finding | |
|---|---|---|
| | Male | Female |
| 0 | 0/10 | 0/10 |
| 2,500 | 0/10 | 0/10 |
| 5,000 | 0/10 | 0/10 |

Values are expressed as number of abnormal animals/total number of animals.

용량인 5,000 mg/kg으로 설정하고 공비 2를 두어 그 아래로 1개의 용량군을 추가하였다. 두릅 주정 추출물을 1회 경구투여하여 14일간 관찰한 결과, 모든 투여 용량군에서 사망예는 관찰되지 않았고 일반적인 임상 증상에서도 아무런 이상이 발견되지 않았으며, 대조군과 비교하여 체중 변화나 모든 생존 동물의 부검 소견에서도 이상이 관찰되지 않았다. 따라서 본 시험 결과는 마우스에 두릅 추출물을 5,000 mg/kg 용량까지 1회 경구 투여시 어떠한 독성 소견도 유발하지 않으므로, 최소 치사량이 5,000 mg/kg 이상이라는 것을 의미한다. Hodge and Sterner (1949)의 급성독성 분류에 의하면 반수 치사량이 체중 kg당 5,000 mg 이상이면 실질적으로 무독성 물질로 구분하고 있으며, 미국 환경 보호청(US EPA)에서도 경구투여 반수 치사량이 체중 kg당 5,000 mg 이상이면 무해한 물질로 분류하고 있다(1998). 상기한 기준에 의거하여 볼 때, 두릅 추출물의 반수 치사량이 체중 kg당 5,000 mg을 훨씬 상회한다는 것은 사람에 있어서 전혀 독성이 없는 매우 안전한 물질이라는 것을 나타낸다.

결론적으로 ICR 계통의 마우스에서 두릅 추출물의 단회 경구투여는 5,000 mg/kg 이하의 용량에서 어떠한 독성 영향도 유발하지 않았으며, 본 시험조건 하에서의 최소 치사량은 5,000 mg/kg 이상이라는 것으로 나타났다. 따라서 본시험을 통하여 두릅 추출물은 투여 가능 최대 용량에서도 독성이 없는 안전한 천연물이라는 것을 확인하였고, 의약품이나 기능성 식품으로서의 개발 가능성을 확인하였다.

## 감사의 글

본 연구는 2005년 산업자원부 지역산업기술개발중점사업의 지원으로 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

## 참고문헌

Flood, M.T. and Kondo, M. (2003): Safety evaluation of lipase produced from Rhizopus oryzae: summary of toxicological data. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **37**, 293-304.

Hodge, H.C. and Sterner, J.H. (1949): Tabulation of toxicity classes. *Am. Ind. Hyg. Q.*, **10**, 93.

Misra, R. (1998): Modern drug development from traditional medicinal plants using radioligand receptor-binding assays. *Med. Res. Rev.*, **18**, 383-402.

Munro, I.C., Kennepohl, E. and Kroes, R. (1999): A procedure for the safety evaluation of flavoring substances. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *Food Chem. Toxicol.*, **37**, 207-232.

OECD (2000): Guidlines for the testing of Chemicals Revised Draft Guideline 423: Acute oral toxicity.

Rates, S.M. (2001): Plants as source of drugs. *Toxicon.*, **39**, 603-613.

US environmental Protection Agency. (1998): Health Effects Test Guidelines OPPTS 870.1100, Acute Oral Toxicity. U.S. Government Printing Office, Washington, DC.

Wolf, B.W. and Weisbrode, S.E. (2003): Safety evaluation of an extract from Salacia oblonga. *Food Chem. Toxcol.*, **41**, 867-874

Yamanaka, S., Hashimoto, M., Tobe, M., Kobayashi, K., Sekizawa, J. and Nishimura, M. (1990): A simple method for screening assessment of acute toxicity of chemicals. *Arch. Toxicol.*, **64**, 262-268.

Yoshikawa, M., Harada, E., Matsuda, H., Murakami, T., Yamahara, J. and Murakami, N. (1993): Elatosides A and B, potent inhibitors of ethanol absorption in rats from the bark of Aralia elata Seem: the structure-activity relationships of oleanolic acid oligoglycosides. *Chem. Pharm. Bull.*, **41**, 2069-2071.

Yoshikawa, M., Matsuda, H., Harada, E., Murakami, T., Wariishi, N., Yamahara, J. and Murakami, N. (1994): Elatoside E, a new hypoglycemic principle from the root cortex of Aralia elata Seem.: structure-related hypoglycemic activity of oleanolic acid glycosides. *Chem. Pharm. Bull.*, **42**, 1354-1356.

Yoshikawa, M., Murakami, T., Harada, E., Murakami, N., Yamahara, J. and Matsuda, H. (1996a): Bioactive saponins and glycosides. VI. Elatosides A and B, potent inhibitors of ethanol absorption, from the bark of Aralia elata SEEM. (Araliaceae): the structure-requirement in oleanolic acid glucuronide-saponins for the inhibitory activity. *Chem. Pharm. Bull.*, **44**, 1915-1922.

Yoshikawa, M., Murakami, T., Harada, E., Murakami, N., Yamahara, J. and Matsuda, H. (1996b): Bioactive saponins and glycosides. VII. On the hypoglycemic principles from the root cortex of Aralia elata Seem.: structure related hypoglycemic activity of oleanolic acid oligoglycoside. *Chem. Pharm. Bull.*, **44**, 1923-1927.

Yoshikawa, M., Yoshizumi, S., Ueno, T., Matsuda, H., Murakami, T., Yamahara, J. and Murakami, N. (1995): Medicinal foodstuffs. I. Hypoglycemic constituents from a garnish foodstuff "taranome," the young shoot of Aralia elata SEEM.: elatosides G, H, I, J, and K. *Chem. Pharm. Bull.*, **43**, 1878-1882.

김영희, 임정교 (1999): 두릅추출물이 정상쥐 및 당뇨쥐에 미치는 영향. 한국 식품영양과학회지, **28**, 912-916.

배기환 (2001): 한국의 약용식물. 교학사, 서울, pp. 360-367.
식품의약품안전청 (1999): 의약품등의 독성시험기준. 식품의약품안전청고시 제1999-61호, 서울.
이은방, 정춘식 (1993): 두릅나무 근피 추출물의 약물학적 연구 흰쥐의 위염 및 위궤양에 대한 효과. 약학회지, **37**, 581-590.
이은방, 김옥경 (1993): 두릅나무 근피의 혈당강하성분에 관한 연구(I). 생약학회지, **24**, 213-218.
주창완 (2002): 두릅 추출물의 혈관 평활근 이완효과, 제주대학교 석사학위논문.
진주연 (2002): 두릅 추출물의 항고혈압 효과, 제주대학교 석사학위논문.
하광원 (1998): 약용식물도감. 식품의약품안전청, 서울.