



랫드에서 두릅 추출물의 4주 반복투여 독성시험

진주연 · 양희경 · 김지민 · 고문수 · 홍현주 · 진영건 · 김동건 · 김상철 · 이일 · 현민경 · 강상철 · 김재훈 · 이영재
제주대학교 수의학과

Four-week Repeated Oral Toxicity Study of the Extract of *Aralia elata* in Rats

Ju Youn Jin, Hee Kyoung Yang, Ji Min Kim, Mun Su Ko, Hyun Ju Hong, Young Gun Jin,
Dong Gun Kim, Sang Chul Kim, Il Lee, Min Kyong Hyon, Sang Chul Kang,
Jae Hoon Kim and Young Jae Lee

Department of Veterinary Medicine Cheju National University, Jeju 690-756, Korea

Received September 4, 2006; Accepted September 25, 2006

ABSTRACT. *Aralia elata*, a common medicinal and culinary herb, has been consumed for centuries without any reported adverse effects. However, due to its limited safety information, we decided to investigate the repeated-dose toxicity of ethanolic extract of *Aralia elata*. The test was administered once daily by the gavage to male and female rats at doses of 0, 250, 500 and 1,000 mg/kg/day for four weeks. Throughout the study, no treatment-related deaths or clinical signs were observed. Also, no apparent changes were detected in ophthalmoscopy, urinalysis, serum biochemistry, hematology and gross necropsy. The test result showed a significant decrease in body and heart weight of males treated with 250 mg/kg of extract of *Aralia elata* compared to normal control, a significant increase in relative brain weight and adrenal weight in females treated with 250 mg/kg of extract compared to normal control. However, all these changes were not considered toxicologically important due to irrelevant dose-response relationship to gross and microscopic findings. Histopathologically, abnormal changes were not observed in any target organs. On the basis of these results, the NOAEL of extract of *Aralia elata* was estimated to be more than 1,000 mg/kg/day under the tested conditions.

Keywords: *Aralia elata*, Repeated four-week oral toxicity, Rats.

서 론

두릅나무(*Aralia elata* Seem, AE)는 두릅나무과(*Araliaceae*)에 속하는 식물로 나무 껍질과 뿌리는 약재로, 연한 새순은 고급 나물로 이용되는 등 예로부터 한방, 민간 요법, 식용 등으로 이용되어왔다(배기환, 2001). 알려진 두릅나무의 약리 성분으로는 β -sitosterol, α 및 β -taralin, oleanolic acid, choline, hederagenin, per-toselinic acid, palmitic acid, stigmasterol, α -terline, limolcinic acid, peterpse lidinic acid, 3-saponins,

protocatechuic acid 등이 있으며 비타민 A 등의 영양소가 풍부하게 함유되어 있다(하광원 등, 1998). 현재까지 보고된 두릅나무의 약리 효과로는 혈당 저하효과(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) 등과 최근 본 연구팀에서 확인한 바와 같이 혈관 평활근 이완 효과(주창완, 2002)와 혈압 강하 효과(진주연, 2002) 등이 있다.

이와 같이 두릅나무는 다양한 약리활성과 더불어 식용으로의 선호성 등으로 그 수요가 증가되고 있으며, 기능성식품 개발 등과 같이 그 활용가치 측면에서 관심이 급증하고 있는 실정이다. 그러나 과거로부터 사용했던 경

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

험을 제외하고는 그 안전성 또는 독성에 대한 자료는 매우 빈약한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 두릅나무 안전성 평가의 일환으로, 4주 반복 투여 시에 발현될 수 있는 독성을 질적·양적으로 평가하고자 식품의약품안전청의 의약품 등의 독성시험기준(식품의약품 안전청 고시 1999-61호)에 준하여 두릅 주정추출물의 4주 반복 경구 독성시험을 랫드에서 수행하였다.

재료 및 방법

시험 물질

시험 물질로 사용된 두릅나무 새순은 제주도 농업 기술원에서 제공받아 음식에서 건조 시킨 후 95% ethanol로 추출하였다. 두릅 무게의 10배량의 95% ethanol(주정)을 가하여 추출한 후, 여과지로 여과하였으며, 1차 추출된 잔사에 2회 더 주정을 가하여 반복 추출한 후 총 추출 여과액을 합하고 회전 감압 농축기를 이용하여 농축시킨 후 동결 건조시켰다.

시험 물질의 조제는 동결 건조된 분말을 사용하였고 1회 조제시 5일 사용량을 조제하였으며 조제한 시험 물질을 투여 직전까지 4°C에 냉장 보관하였다. 시험 물질을 칭량한 다음 부형제인 0.2% methyl cellulose(MC)에 현탁시켜 고 용량군(1,000 mg/ml), 중간 용량군(500 mg/ml)과 저 용량군(250 mg/ml)의 시험 물질을 조제하였다.

실험동물 및 사육환경

6주령의 SPF 암, 수 SD rat를 4주 반복 투여 독성시험을 위해 (주)오리엔트에서 구입하였다. 1주일간 실험실에 순화시켜 그 기간 중 일반증상을 관찰하여 이상이 없는 동물만을 선택하여 실험에 사용하였다.

식품의약품 안전청의 의약품의 독성시험기준(1999)에 의하면 반복투여 독성시험에 사용하는 동물 종은 주 약효가 인정된 동물 종이 바람직하다고 제시되어있다. 본 시험 물질은 흰쥐 대동맥 혈관평활근 이완시험 및 선천성고혈압 쥐 등에서 주된 약리 효과가 확인 되었다. 따라서 주 약리효과를 관찰한 rat에서 반복 투여독성을 실시하였다. 시험동물 중 SD계 rat는 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 암, 수 분리하여 사용하였다. 사료는 랫드용 고품사료(오리엔트)를

Table 1. Experimental groups in SD rats

Treatment groups	Dose (mg/kg/day)	No. of rats	
		Male	Female
Normal control (I)	0	10	10
Sham control (II)	0	10	10
<i>Aralia elata</i> (III)	250	10	10
<i>Aralia elata</i> (IV)	500	10	10
<i>Aralia elata</i> (V)	1,000	10	10

물은 상수도를 자유롭게 섭취시켰다.

투여량 및 시험군의 구성

마우스에서 단회투여 급성 경구 독성시험 결과 수컷과 암컷 모두 5,000 mg/kg 투여에서 어떠한 독성학적인 변화도 관찰되지 않았고, 본 시험물질이 식품으로 우리가 평상시에 섭취하고 있는 것을 고려하여 시험물질의 독성이 극히 약하다고 판단되었다. 식품의약품안전청의 의약품의 독성시험기준(1999)에 의거, 시험물질의 독성이 극히 약하여 중독량을 구하기 곤란한 경우 기술적으로 투여할 수 있는 한계량의 투여를 권장하고 있다(1,000~2,000 mg/kg). 이에 따라 1,000 mg/kg/day를 최고 용량으로 설정하였고 이 용량을 기준으로 일정 공비 2를 적용하여 500 mg/kg/day, 250 mg/kg/day의 중간 용량군과 저 용량군을 설정하였으며, 부형제 대조군과 무처리 대조군을 두었다. 부형제 대조군에는 0.2% MC를, 무처리 대조군에는 아무것도 투여하지 않았다. 모든 실험동물을 군당 각각 암, 수 10마리씩 배치하였다. 투여액은 체중 kg 당 10 ml로, 경구투여용 존데를 이용하여 강제경구투여하였다. 실험 개시시 평균 체중은 수컷은 174.4±7.5 g, 암컷은 161.5±10.1 g이었다(Table 1).

관찰 및 검사항목

일반증상 및 폐사의 관찰. 시험기간 중 모든 동물에 대하여 매일 1회 일정한 시간에 일반 상태의 변화, 중독 증상 및 사망 유무를 전 실험 기간 동안 관찰하였고, 이상이 있었던 경우 증상의 종류, 발견일 및 증상의 정도를 개별적으로 기록하였다.

체중 변화. 모든 동물에 대하여 투여 개시 직전에 1회, 투여 후에는 매주 1회씩 4주간 체중을 측정하였으며, 부검 당일 체중을 측정하였다.

사료 및 물 섭취량 측정. 모든 동물에 대하여 개체 별로 시험기간 중 이틀에 1회씩 사료 및 물 섭취량을 측정하였다. 측정 방법은 사료 및 물의 정량을 급여한 후 잔량을 측정하여 군당 일일 섭취량을 산출하였다.

노검사. 부검전일 각 군마다 일정수의 동물을 선정하여 노 검사를 실시하였다. 노검사는 URISCAN®(영동제약(주))

을 이용하여 요비중(specific gravity), pH, 백혈구(leukocytes), 아질산염(nitrite), 요단백(protein), 요당(glucose), 케톤체(ketones), 유로빌리노겐(urobilinogen), 빌리루빈(bilirubin) 및 hemoglobin 등을 검사하였다.

안과학적 검사. 모든 시험동물에 대하여 투여 개시 전과 최종일에 안과학적 검사를 육안 및 검안경으로 실시하였다.

혈액학적 검사. 시험 종료 후 생존한 모든 동물에 대하여 부검 전에 하룻밤 절식시키고, CO₂ 가스로 안락사시킨 후 복대정맥으로부터 전 채혈한 혈액의 일부를 EDTA로 항응고 처리한 tube(BD vacutainer)에 넣었다. 3시간 이내에 백혈구(white blood cell; WBC), 적혈구(red blood cell; RBC), 헤모글로빈(hemoglobin; HGB), 적혈구 용적(hematocrit; HCT), 혈소판(platelet; PLT), 평균 적혈구 용적(mean corpuscular volume; MCV), 평균 적혈구 혈색소량(mean corpuscular hemoglobin; MCH), 평균 적혈구 혈색소 농도(mean corpuscular hemoglobin concentration; MCHC)를 Scil Vet abc hematology analyzer(scil animal care company, U.S.A)를 이용하여 측정하였다.

혈청 생화학적 검사. 혈청생화학적 검사는 부검시에 모든 시험동물에 혈액학적인 검사와 같은 방법으로 복대정맥으로부터 채혈해서 얻은 혈액을 혈청 분리관에 넣고 실온에 1시간 방치하여 응고시킨 다음, 원심분리(3,000 rpm×15 min)해서 얻은 혈청에 대해서 alanine aminotransferase(ALT), aspartate aminotransferase(AST), blood urea nitrogen(BUN) 및 creatinine을 biochemistry analyzer(Express 550/PLUS, Bayer corporate., U.S.A)를 이용하여 측정하였다.

부검 및 장기 중량 측정. 시험 종료 후 모든 생존동물을 CO₂ 가스로 안락사시킨 후 복대정맥에서 혈액을 채취한 후, 복대정맥을 절단하여 방혈시켜 육안적으로 외부 소견, 피하, 복강장기, 흉강장기 및 뇌에 대하여 검사하였다. 또한 심장, 폐장, 간장, 비장, 신장, 뇌, 뇌하수체, 고환, 난소와 자궁, 전립선, 부신의 절대 장기중량을 전자저울을 이용하여 측정하였고 부검 전 절식된 체중에 대한 상대 장기중량을 산출하였다.

병리조직학적 검사. 심장, 폐장, 간장, 비장, 신장, 뇌, 뇌하수체, 고환, 난소, 자궁, 전립선, 부신 등 장기를 채취한 다음 10% 중성 포르말린 용액에 고정시켰다. 충분한 고정을 거친 모든 장기조직은 파라핀 포매기로 포매하여 로타리 마이크로톰(Shandon Finess ME, England)으로 4 μm 절편을 만들고, hematoxylin & eosin 염색을 하여 광학현미경으로 검사하였다.

통계학적 분석. 본 실험에서 얻은 측정치에 대한 통계

학적 분석은 통계처리 computer program인 SPSS 12K를 이용하였다. 얻어진 자료에 대해서는 등분산 검정 후 one-way analysis of variance(ANOVA) 검정을 실시한 후 유의한 F 값이 관찰되는 항목에 대하여 대조군과 각 용량군 사이의 유의수준 $p < 0.05$ 로 다중비교(Dunnet's test)를 실시하였다.

결 과

일반증상 및 사망률

시험 물질의 투여와 관련된 특이적인 임상증상 및 사망 동물은 암, 수의 모든 투여군에서 관찰되지 않았다. 다만 수컷 250 mg/kg 투여군과, 암컷 500, 1,000 mg/kg 투여군에서 각각 1례씩 투여 16일째, 22일째 및 13일째에 사망동물이 관찰되었다. 그러나 사망동물의 경우 투여시 식도가 아닌 기도로 잘못 투여됨에 따라 사망한 것으로 판단되었다(Table 2).

Table 2. Mortality and clinical signs in rats treated orally with *Aralia elata* ethanol extract for 4 weeks

Groups	Dose (mg/kg/day)	Final mortality		Clinical signs	
		Male	Female	Male	Female
I	0	0/10	0/10	-	-
II	0	0/10	0/10	-	-
III	250	1/10	0/10	-	-
IV	500	0/10	1/10	-	-
V	1,000	0/10	1/10	-	-

Values are expressed as the number of dead animal/total animal.

-: no clinical signs.

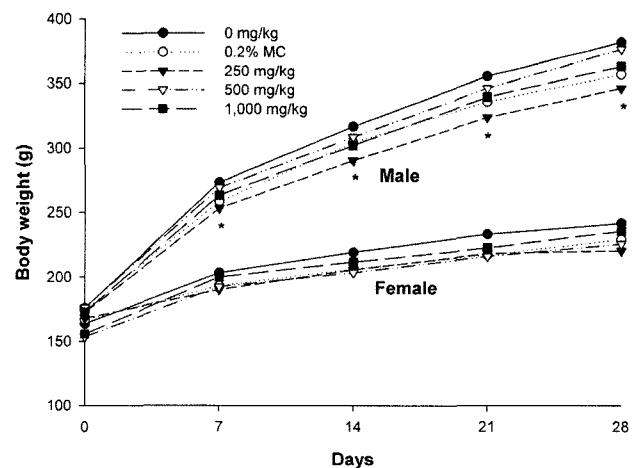


Fig. 1. Body weights in SD rats administered orally with *Aralia elata* for 4 weeks. *: Significant differences as compared with 0 mg/kg at $p < 0.05$.

체중 변화

수컷 250 mg/kg 투여군에서 정상 대조군에 비해 유의적인 체중감소를 보였다. 하지만 암컷 모든 처치군 및 대조군에서 유의할 만한 체중의 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 1).

사료 및 물 섭취량의 변화

시험 전기간을 통하여 군당 사료섭취량과 물섭취량에 있어서 암, 수 모두 처치군과 대조군 사이에 시험기간 동안 유의성 있는 변화는 관찰되지 않았다.

Table 3. Urinary analysis of SD rats administered orally with *Aralia elata* ethanol extract for 4 weeks

Items	Sex	Male					Female				
		Dose (mg/kg)	0 (N ^a)	0 (MC ^b)	250	500	1,000	0 (N ^a)	0 (MC ^b)	250	500
Specific gravity	1.000										
	1.005			1							
	1.010					1					1
	1.015										
	1.020				1						
	1.025	4	4	3	3	3	4	3	4	3	3
	1.030										
pH	5	1	1	2	2						
	6	3	3	2	2	3	4	4	4	1	1
	7					1				1	
	8										1
	9										
Leukocytes (leuko ^c /μl)	neg	4	4	4	4	3	4	4	4	4	4
	10~25					1					
	75										
	500										
Nitrite	neg	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	pos										
Protein (mg/dl)	neg							1			1
	10				1	2		3	1	2	
	30	4	4	4	3	2	4		3	2	3
	100										
Glucose (mg/dl)	normal	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	50										
	100										
	300										
Ketones (mg/dl)	1000										
	neg	1	1	1	2	2	1	1	2	2	2
	trace	3	3	3	2	2	3	3	2	2	2
	+			1							
Urobilinogen (mg/dl)	++										
	normal	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	1										
	4	1									
Bilirubin (mg/dl)	8										
	12										
	neg	4	4	4	4	3	4	4	4	4	4
	+					1					
Hemoglobin (Ery ^d /μl)	++										
	+++										
	neg	4	4	3	3	3	4	4	4	4	3
	10			1		1					
Hemoglobin (Ery ^d /μl)	50				1						1
	250										

Each values are incidence of four animals.

^aNormal control.

^b0.2% Methyl cellulose.

^cLeukocyte.

^dErythrocyte.

Table 4. Ophthalmoscopy of SD rats administered orally with *Aralia elata* ethanol extract for 4 weeks

Sex		Dose (mg/kg)				
		0 (N ^a)	0 (MC ^b)	250	500	1,000
Male	No. of animals	10	10	10	10	10
	Normal	10	10	10	10	10
Female	No. of animals	10	10	10	10	10
	Normal	10	10	10	10	10

^aNormal control.^b0.2% Methyl cellulose.**뇨검사**

시험 전기간을 통하여 모든 시험 물질 투여군에서 대조군에 비해 시험 물질 투여에 기인한 특이할 만한 변화는 없었다(Table 3).

안과학적 검사

시험 전기간을 통하여 암, 수 모든 시험 물질 투여군에서 대조군에 비해 시험 물질의 투여에 기인한 유의성 있는 변화 및 특이 이상 소견이 인정되지 않았다(Table 4).

혈액학적 검사

암, 수 모든 시험 물질 투여군은 대조군에 비해 시험 물질 투여후의 혈액학적 검사에서 시험 물질 투여에 의한 어떠한 변화도 관찰되지 않았다(Table 5).

혈청 생화학적 검사

암, 수의 모든 투여군에서 대조군에 비해 시험 물질의 투여에 기인한 유의성 있는 변화도 관찰되지 않았다(Table 6).

Table 5. Hematological values of SD rats administered orally with *Aralia elata* ethanol extract for 4 weeks

Sex	Items	Dose (mg/kg)				
		0 (N ^a)	0 (MC ^b)	250	500	1,000
Male	WBC (10 ³ /mm ³)	6.68 ± 0.81	6.60 ± 0.94	6.27 ± 0.92	6.25 ± 1.22	7.20 ± 1.10
	RBC (10 ⁶ /mm ³)	7.31 ± 0.53	7.37 ± 0.34	7.85 ± 0.38	7.38 ± 0.33	7.85 ± 0.66
	Hgb (g/dl)	16.94 ± 1.02	17.59 ± 1.35	17.86 ± 0.97	17.80 ± 0.64	18.09 ± 1.05
	Hct (%)	42.22 ± 2.40	42.66 ± 2.74	43.77 ± 2.06	43.29 ± 1.82	45.01 ± 3.02
	PLT (10 ³ /mm ³)	643.33 ± 61.33	605.63 ± 40.77	612.71 ± 58.75	591.25 ± 83.17	616.25 ± 53.65
	MCV (μm ³)	57.89 ± 1.83	57.88 ± 1.64	55.86 ± 0.38	59.00 ± 1.31	57.38 ± 1.60
	MCH (pg)	23.20 ± 1.15	23.85 ± 1.11	22.74 ± 0.83	24.11 ± 0.61	23.10 ± 0.86
	MCHC (g/dl)	40.12 ± 1.02	41.23 ± 1.14	40.76 ± 0.84	41.14 ± 0.89	40.23 ± 0.91
Female	WBC (10 ³ /mm ³)	6.33 ± 1.32	6.05 ± 0.86	5.70 ± 1.48	6.51 ± 0.82	6.54 ± 1.21
	RBC (10 ⁶ /mm ³)	7.23 ± 0.48	6.91 ± 0.40	7.37 ± 0.66	7.39 ± 0.56	7.43 ± 0.58
	Hgb (g/dl)	16.93 ± 0.92	16.88 ± 0.59	17.41 ± 1.41	16.89 ± 0.92	17.20 ± 1.59
	Hct (%)	40.83 ± 2.63	39.68 ± 1.95	41.89 ± 4.13	41.03 ± 2.48	41.96 ± 3.74
	PLT (10 ³ /mm ³)	637.88 ± 92.63	657 ± 65.27	627.13 ± 46.44	668.57 ± 85.60	684.43 ± 79.24
	MCV (μm ³)	56.50 ± 1.85	57.13 ± 1.89	57.00 ± 1.69	55.57 ± 2.23	56.43 ± 1.51
	MCH (pg)	23.44 ± 0.86	24.43 ± 1.20	23.68 ± 0.83	22.94 ± 1.43	23.13 ± 1.04
	MCHC (g/dl)	41.46 ± 1.08	42.55 ± 1.37	41.61 ± 0.86	41.21 ± 1.07	40.99 ± 0.87

Each values are mean ± S.D. (n = 10).

^aNormal control.^b0.2% Methyl cellulose.**Table 6.** Biochemical serum values of SD rats administered orally with *Aralia elata* ethanol extract for 4 weeks

Sex	Items	Dose (mg/kg)				
		0 (N ^a)	0 (MC ^b)	250	500	1,000
Male	ALT (IU/l)	53.88 ± 15.77	57.40 ± 16.25	55.50 ± 11.43	57.63 ± 12.94	62.00 ± 18.77
	AST (IU/l)	167.64 ± 29.20	163.14 ± 27.20	144.85 ± 17.77	139.28 ± 19.87	158.74 ± 19.57
	BUN (mg/dl)	15.24 ± 1.48	15.23 ± 2.45	15.38 ± 0.93	14.66 ± 2.85	16.01 ± 2.10
	Creatinine (mg/dl)	0.95 ± 0.07	0.91 ± 0.07	0.97 ± 0.05	0.95 ± 0.07	0.99 ± 0.08
Female	ALT (IU/l)	53.88 ± 15.77	57.40 ± 16.25	55.50 ± 11.43	57.63 ± 12.94	62.00 ± 18.77
	AST (IU/l)	167.64 ± 29.20	163.14 ± 27.20	144.85 ± 17.77	139.28 ± 19.87	158.74 ± 19.57
	BUN (mg/dl)	15.24 ± 1.48	15.23 ± 2.45	15.38 ± 0.93	14.66 ± 2.85	16.01 ± 2.10
	Creatinine (mg/dl)	0.95 ± 0.07	0.91 ± 0.07	0.97 ± 0.05	0.95 ± 0.07	0.99 ± 0.08

Each values are mean ± S.D. (n = 10).

^aNormal control.^b0.2% Methyl cellulose.

Table 7. Absolute organ weights of SD rats administered orally with *Aralia elata* ethanol extract for 4 weeks (unit : g)

Sex	Organs	Dose (mg/kg)				
		0 (N ^a)	0 (MC ^b)	250	500	1,000
Male	Heart	1.37 ± 0.09	1.27 ± 0.11	1.17 ± 0.08*	1.37 ± 0.05 ⁺	1.28 ± 0.09
	Liver	14.60 ± 1.89	13.17 ± 0.76	12.82 ± 1.73	14.84 ± 1.23 ⁺	13.90 ± 1.77
	Lung	1.58 ± 0.21	1.53 ± 0.16	1.43 ± 0.18	1.64 ± 0.23	1.57 ± 0.14
	Spleen	0.72 ± 0.09	0.63 ± 0.08	0.63 ± 0.09	0.76 ± 0.08 ^{***}	0.67 ± 0.12
	Kidney-R	1.57 ± 0.11	1.51 ± 0.11	1.59 ± 0.25	1.69 ± 0.22	1.65 ± 0.23
	Kidney-L	1.56 ± 0.14	1.48 ± 0.08	1.46 ± 0.15	1.62 ± 0.15	1.56 ± 0.17
	Adrenal	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.02	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.02
	Prostate	1.26 ± 0.42	1.37 ± 0.44	1.51 ± 0.53	1.49 ± 0.46	1.31 ± 0.40
	Testis	3.12 ± 0.28	3.01 ± 0.29	2.85 ± 0.31	2.97 ± 0.31	2.86 ± 0.31
	Brain	1.81 ± 0.04	1.78 ± 0.05	1.77 ± 0.06	1.79 ± 0.14	1.84 ± 0.08
Pituitary gland	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	
Female	Heart	1.01 ± 0.08	1.04 ± 0.14	0.96 ± 0.08	0.96 ± 0.04	0.97 ± 0.09
	Liver	10.35 ± 1.33	9.77 ± 1.18	9.23 ± 0.89	9.08 ± 0.90	10.45 ± 0.87
	Lung	1.57 ± 0.11	1.47 ± 0.12	1.41 ± 0.12	1.53 ± 0.26	1.63 ± 0.20
	Spleen	0.55 ± 0.08	0.53 ± 0.07	0.62 ± 0.32	0.53 ± 0.06	0.57 ± 0.10
	Kidney-R	1.22 ± 0.09	1.31 ± 0.12	1.28 ± 0.19	1.18 ± 0.09	1.23 ± 0.19
	Kidney-L	1.14 ± 0.10	1.20 ± 0.11	1.13 ± 0.15	1.04 ± 0.09	1.17 ± 0.16
	Adrenal	0.07 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.08 ± 0.02	0.08 ± 0.01	0.09 ± 0.01
	Prostate	0.76 ± 0.33	0.73 ± 0.25	0.74 ± 0.28	0.75 ± 0.24	0.54 ± 0.08
	Testis	1.72 ± 0.06	1.75 ± 0.07	1.70 ± 0.05	1.73 ± 0.06	1.75 ± 0.12
	Brain	0.01 ± 0.00	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.01
Pituitary gland	1.01 ± 0.08	1.04 ± 0.14	0.96 ± 0.08	0.96 ± 0.04	0.97 ± 0.09	

Each values are mean ± S.D. (n = 10).

^aNormal control.

^b0.2% Methyl cellulose.

* $p < 0.05$ vs. normal control, ** $p < 0.05$ vs. 0.2% MC, + $p < 0.05$ vs. 250 mg/kg.

Table 8. Relative organ weights of SD rats administered orally with *Aralia elata* ethanol extract for 4 weeks (unit : %)

Sex	Organs	Dose (mg/kg)				
		0 (N ^a)	0 (MC ^b)	250	500	1,000
Male	Heart	0.36 ± 0.02	0.37 ± 0.04	0.34 ± 0.02	0.37 ± 0.02	0.36 ± 0.03
	Liver	3.87 ± 0.41	3.80 ± 0.31	3.76 ± 0.42	4.01 ± 0.31	3.86 ± 0.33
	Lung	0.42 ± 0.05	0.44 ± 0.06	0.42 ± 0.05	0.44 ± 0.06	0.44 ± 0.05
	Spleen	0.19 ± 0.03	0.18 ± 0.02	0.18 ± 0.02	0.20 ± 0.02	0.19 ± 0.03
	Kidney-R	0.42 ± 0.03	0.44 ± 0.04	0.47 ± 0.07	0.46 ± 0.06	0.46 ± 0.07
	Kidney-L	0.41 ± 0.03	0.43 ± 0.03	0.43 ± 0.04	0.44 ± 0.04	0.43 ± 0.05
	Adrenal	0.01 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00
	Prostate gland	0.33 ± 0.10	0.39 ± 0.12	0.44 ± 0.15	0.40 ± 0.12	0.37 ± 0.13
	Testis	0.83 ± 0.08	0.87 ± 0.08	0.84 ± 0.10	0.80 ± 0.10	0.80 ± 0.07
	Brain	0.48 ± 0.03	0.51 ± 0.03	0.52 ± 0.02*	0.48 ± 0.03 ⁺	0.51 ± 0.05
Pituitary gland	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	
Female	Heart	0.41 ± 0.01	0.45 ± 0.05	0.43 ± 0.03	0.43 ± 0.03	0.42 ± 0.04
	Liver	4.23 ± 0.34	4.26 ± 0.45	4.17 ± 0.21	4.02 ± 0.32	4.48 ± 0.46
	Lung	0.64 ± 0.06	0.64 ± 0.03	0.64 ± 0.04	0.68 ± 0.11	0.70 ± 0.10
	Spleen	0.23 ± 0.03	0.23 ± 0.02	0.29 ± 0.17	0.23 ± 0.03	0.24 ± 0.04
	Kidney-R	0.50 ± 0.04	0.57 ± 0.07	0.58 ± 0.07	0.53 ± 0.05	0.52 ± 0.06
	Kidney-L	0.47 ± 0.04	0.52 ± 0.07	0.51 ± 0.05	0.46 ± 0.06	0.50 ± 0.06
	Adrenal	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.01*	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00
	Prostate	0.31 ± 0.12	0.32 ± 0.13	0.34 ± 0.15	0.33 ± 0.11	0.23 ± 0.03
	Testis	0.71 ± 0.06	0.77 ± 0.09	0.77 ± 0.07	0.77 ± 0.04	0.75 ± 0.03
	Brain	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00
Pituitary gland	0.41 ± 0.01	0.45 ± 0.05	0.43 ± 0.03	0.43 ± 0.03	0.42 ± 0.04	

Each values are mean ± S.D. (n = 10).

^aNormal control.

^b0.2% Methyl cellulose.

* $p < 0.05$ vs. normal control, + $p < 0.05$ vs. 250 mg/kg.

Table 9. Histopathological findings of SD rats administered orally with *Aralia elata* ethanol extract for 4 weeks

Sex	Organ and histopathology	Dose (mg/kg)				
		0 (N ^a)	0 (MC ^b)	250	500	1,000
Male	Lung					
	Focal hemorrhage	1/10	0/10	2/10	0/10	
	Focal BALT ^c	3/10	1/10	0/10	0/10	3/10
	Focal vascular mineralization	0/10	1/10	2/10	1/10	1/10
	Heart					
	Focal fibrous metaplasia	0/10	0/10	0/10	1/10	1/10
Liver	Focal fatty change	0/10	1/10	1/10	0/10	0/10
	Lung					
Female	Focal hemorrhage	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	Focal BALT	0/10	0/10	1/10	0/10	0/10
	Focal vascular mineralization	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10
	Heart					
	Focal fibrous metaplasia	1/10	1/10	0/10	1/10	0/10
	Liver					
Focal fatty change	1/10	1/10	0/10	0/10	0/10	

^aNormal control.

^b0.2% Methyl cellulose.

^cBronchus Associated Lymphoid Tissue.

장기중량 변화

수컷의 절대 장기 중량 측정 결과, 250 mg/kg 투여군에서 정상 대조군에 비해 심장($p < 0.05$)에서 유의성 있는 감소가 나타났으며 500 mg/kg 투여군에서는 대조군 0.2% MC에 비해서는 비장($p < 0.05$)에서 유의성 있는 증가가 나타났다. 수컷의 상대 장기비에서는 250 mg/kg 투여군에서 대조군에 비해 뇌($p < 0.05$)에서 유의성 있는 증가가 나타났다. 암컷의 절대 장기 중량 측정 결과에서는, 유의성 있는 변화가 인정되지 않았지만 상대 장기비에서는 250 mg/kg 투여군에서 대조군에 비해 부신($p < 0.05$)에서 유의성 있는 증가가 나타났다(Table 7, 8). 그러나 이러한 결과들은 암컷 및 수컷 양성 모두에서 관찰되지 않았으며, 추출물 투여 농도에 따른 용량 의존성을 나타내지 않았다. 또한 병리조직학적 소견에서도 이런 장기 중량 변화에 따른 관련된 어떤 변화도 확인할 수 없었다.

부검소견

시험 물질의 투여와 관련된 변화로 생각되는 특이한 변화는 관찰되지 않았다.

병리조직학적 검사

개체에 따라서 일부 장기에 다소간의 병변(예: 폐장의 부종 및 출혈, 폐장 혈관벽의 미세탈 침착, 심장의 인근 혈관벽에 연골의 형성, 간장의 공포변성 등)은 있었으나, 개체에 따른 차이이며 시험 물질 투여에 기인한 변화라고

볼 수는 없다(Table 9).

고찰 및 결론

본 연구는 두릅 추출물에 대한 안전성 평가의 일환으로 28일 반복투여시에 나타날수 있는 독성을 질적, 양적으로 평가하고자 두릅 주정 추출물의 랫드에 대한 4주 반복경구 독성시험을 의약품등의 독성시험기준(식품의약품 안전청 고시 1999-61호)에 준하여 수행하였다.

SD 계통 암, 수 랫드에 시험물질을 각각 1,000, 500 및 250 mg/kg의 용량으로 주 7회, 4주간 총 28회 반복 경구투여하여 임상증상, 체중변화, 사료섭취량, 음수량, 안검사, 뇨검사, 혈액학적 검사, 혈청 생화학적 검사, 부검 및 장기중량 측정, 병리조직학적 검사 등을 수행한 결과 시험 종료시까지 암수 모든 동물에서 시험 물질에 기인한 사망은 없었으며, 사료 섭취량, 음수량에서도 유의한 변화가 관찰되지 않았다. 또한 안검사, 뇨검사, 혈액학적 검사, 혈청 생화학적 검사, 육안적인 부검소견에서 통계적으로 유의한 변화를 관찰 할 수 없었다.

체중에서 수컷 저용량군에서 정상대조군에 비하여 유의한 체중감소를 보였으나, 중간용량 및 고용량 투여군과, 암컷의 경우에는 모든 군에서 체중 변화에 대한 어떤 영향도 관찰되지 않았다. 장기중량에서 관찰된 일부 통계학적으로 유의한 변화도 산발적으로 나타났다. 병리조직학적인 검사에서 일부 개체에서 폐장과 심장에서 이상이 관찰되었으나 실험군과 대조군 전체에서 나타나서 투여 물

질에 기인한 독성이라고 보여지지 않는다.

포도 추출물(Bentivegna and Whitney, 2002)과 *Artemisia dracunculus* L.(Ribnicky et al., 2004) 추출물 등의 반복 투여독성 시험에서 보듯이 식물추출물에 의한 장기 무게 등의 변화가 일부 관찰되었으나, 이 들 또한 한쪽 성에서만 관찰되거나 용량의존성의 부재로 추출물 투여에 의한 독성과는 연관시키지 않았다. 본 연구의 결과에서 나타난 장기 중량의 변화 등도 수컷 또는 암컷 한쪽 성에서만 산발적으로 관찰되었으며, 추출물 투여 농도에 따른 용량 의존성을 나타내지 않았다. 또한 혈청 생화학치, 혈액학적 소견 및 요 검사 성적 등에서 각 변화에 따른 일치된 결과를 확인 할 수 없었다. 또한 이상이 발견된 개체에 대한 병리조직학적 소견에서도 투여에 따른 어떤 변화도 확인할 수 없었다. 따라서 이러한 변화는 독성학적으로 의미있는 결과로 판단하기는 어렵다. 그러나 이러한 일부 변화에 대한 정확한 독성 규명을 위하여 보완적인 장기 반복투여시험이 요구되어 진다.

이상의 결과로 보아 본 시험에서 두릅 추출물의 랫드에서의 4주간 반복 경구투여에 의한 의미있는 독성학적인 변화는 관찰되지 않았으며, 시험 물질의 무해용량(NOEL)은 본 연구 시험 조건하에서 1,000 mg/kg/day 이상으로 판단되었다.

감사의 글

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

참고문헌

Bentivegna, S.S. and Whitney, K.M. (2002): Subchronic 3-month oral toxicity study of grape seed and grape skin extracts. *Food and Chemical Toxicology*, **40**, 1731-1743.
 Hernandez, D.E., Hancke, J.L., Wikman, G. (1988): Evaluation of the anti-ulcer and antisecretory activity of extracts of *Aralia elata* root and *Schizandra chinensis* fruit in the rat. *J. Ethnopharmacol.*, **23**, 109-114.
 Ribnicky, D.M., Poulev, A., O'Neal, J., Wnorowski, G., Malek, D.E., Jager, R. and Raskin, I. (2004): Toxicological evaluation

of the ethanolic extract of *Artemisia dracunculus* L. for use as a dietary supplement and in functional foods. *Food and Chemical Toxicology*, **42**, 585-598.
 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.
 허광원 (1998): 약용식물도감. 식품의약품안전청, 서울.