*J. Fd Hyg. Safety*
Vol. 23, No. 2, pp. 169~176 (2008)

**Journal of Food Hygiene and Safety**
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

# 랫트에서 WK-38에 대한 13주 반복경구투여 독성에 관한 연구

**장보윤[1] · 김윤철[1] · 강대길[2] · 이호섭[2] · 김성연[1]***
[1]원광대학교 약학대학, [2]원광대학교 한의학전문대학원

# Thirteen-week Repeated Oral Dose Toxicity Study of WK-38 in Rats

Bo Yoon Chang[1], Yoon Chul Kim[1], Dae Gill Kang[2], Ho Sub Lee[2], and Sung Yeon Kim[1]*
[1]*College of Pharmcy, Wonkwang University, Shinyoung-dong 344-2, Iksan Chungbuk 570-749, Korea*
[2]*Korea Professional Graduate School of Oriental Medicine, Research Institute (MeRRI), Wonkwang University, Iksan, Jeonbuk 570-749, Korea*
(Received February 6, 2008/Accepted May 6, 2008)

**ABSTRACT** – The subcronic toxicity of WK-38, a herbal preparation for the atherosclerosis, was examined in male and female Sprague-Dawley rats. WK-38 is composed of *Rhei Rhizoma*, *Magonoliae Cortx*, *Moutan Cortex Radicis*. Rats were treated with the test substance at a dose of 5 mg/kg, 50 mg/kg and 500 mg/kg intragastrically for 13 weeks. Control rats were treated with vehicle only. No death and abnormal clinical signs were observed throughout the administration period. Also there was no difference in net body weight gain, food and water consumption, organ weight, gross pathological findings, and urine analysis among the groups of rats treated with different doses of the WK-38. Hematological findings and biochemical examination revealed no evidence of specific toxicity related to WK-38. The results suggested that under the condition employed in this study no observation effect level (NOEL) of WK-38 would be 500 mg/kg/day.

**Key words:** WK-38, repeated oral toxicity, Rats, Atherosclerosis

## 서 론

최근 통계청에서 발표한 자료에 의하면 우리나라 주요 사망원인 중 뇌혈관 질환 및 심장질환과 같은 순환기계 질환에 의한 사망이 전체 만성질환에 의한 사망률 중 40% 이상을 차지하고 있다[1]. 순환기계 질환의 심각성에 대한 인식이 점차 확대되어 가고 있는 가운데, 이러한 순환기계 질환의 주원인 중 하나로 혈관 내벽에 지방이나 콜레스테롤 등의 침착으로 나타나는 혈액순환 장애현상인 죽상경화증(atherosclerosis)이 제시되고 있다. 효능뿐만 아니라 안전성이 확보된 자생 식물을 이용한 죽상경화증에 효과적인 기능성 식품 및 약품의 개발이 절실히 요구되고 있다. 죽상경화증 등 장기간에 걸쳐 약물투여를 해야 하는 만성질환에는 천연의약품이 부작용면에서 매우 유리할 수 있다. 그러나 천연물들의 약효는 고전적인 대중요법과 경험에 근거한 것이므로, 현대 약물학적관점으로는 해석이 어려운 경우가 많다. 특히, 일부 한약재들은 잠재적 독성을 가지고 있어 장기간 복용하는 경우 건강에 치명적인 영향을 초래할 수 있음이 보고되고 있다[2-4].

WK-38는 대황(大黃, *Rhei Rhizoma*), 후박(厚朴, *Magonoliae Cortx*), 목단피(牧丹皮, *Moutan Cortex Radicis*)의 복합물로서 죽상경화증의 예방 및 치료를 목적으로 구성된 처방이다. WK-38의 원료물질인 대황, 후박, 목단피는 한방처방에 많이 사용되는 한약재나 그의 안전성과 독성에 관한 심도있는 연구가 이루어지지 않았다. 안전성 연구의 일환으로 WK-38 단회경구투여 실험을 실시 한 결과[5] 반수 치사량이 2,000 mg/kg을 상회하는 것으로 평가되었다. WK-38본 연구는 최근 발생이 증가하고 있는 순환기질환의 대표적 원인인 죽상경화증 예방과 치료를 목적으로 조성된 새로운 한방처방인 WK-38의 장기복용시 안전성을 평가하고자 웅성과 자성 랫트에 13주간 반복 투여 실험을 수행하였다.

*Correspondence to: Sung Yeon Kim, College of Pharmcy, Wonkwang University, Shinyoung-dong 344-2, Iksan Chungbuk 570-749, Korea
Fax: 063-850-7309
E-mail: sungykim@wonkwang.ac.kr

## 실험 재료 및 방법

### 실험동물의 선정

7주령 Sprague-Dawley 계통의 특정병원균 부재(Specific pathogen free, SPF) 랫트를 (주)샘타코 BIO KOREA에서 구입 후 1주간의 적응기를 둔 후 체중이 유사한 랫트를 한 그룹으로 실험에 투입하였다. 이 동물들은 인수시 및 적응 기간 동안 일반증상의 이상이 관찰되지 않았다.

온도 22±2°C, 상대습도 55±10%, 조명시간 12시간(오전 6시~오후 6시) 및 조도 150~300 Lux로 설정 뒤 수행하고, 방사선조사로 멸균된 실험동물용 고형사료((주)오리엔트)와 정수시스템을 이용한 물(tap water)을 자유섭취 하도록 하였다.

### 실험물질의 제조 및 투여

WK-38은 한방 임상에서 가장 널리 사용되는 전탕 추출법을을 이용하여 제조하였다. 대황(大黃), 후박(厚朴), 목단피(牧丹皮) 각 100 g을 증류수 2,500 mL가 들어있는 삼각플라스크에 넣고 150분간 가열하였다. 추출액을 3000 rpm 으로 20분간 원심 분리 하여 얻은 상등액을 감압 농축 후 동결 건조하였다. 수율은 47 g(15.6%)이었다. 랫트의 시험물질 WK-38의 단회 경구투여 독성시험에서 2,000 mg/kg에서 약물에 의한 사망개체 및 14일간의 관찰기간 중 이상증상이 없었다. 이에 근거하여 반복투여 독성시험에서는 500 mg/kg을 최고 용량으로 정하고, 정제 증류수로 희석하여 50 mg/kg, 5 mg/kg의 시험물질을 제조하였다.

투여경로는 한방임상에서 가장 널리 이용되고 있는 경구투여를 선택하였다. 금속제 동물용 위관(Sondae)을 이용하여 위내에 직접 주입하였다. 1일 1회이며 액량은 5 mL/kg 으로 계산하여 13주간 투여하였다.

### 관찰 및 검사항목

#### 일반증상 및 사망동물의 관찰

식품의약품안전청의 의약품 등의 독성시험기준[6]을 참고하여, 전 동물에 대하여 전 시험기간 동안 매일 일회씩의 일반증상관찰과 사망의 유무를 관찰하였다.

#### 체중변화, 섭이량 및 섭수량의 측정

모든 동물에 대하여 시험기간 중 매주 1회 랫트의 체중을 측정하였고, 주 1회 사료 및 물 섭취량을 측정하였다. 측정방법은 체중측정 일에 사료 및 물 정량을 급여한 후 일정 시간 후 잔량을 측정하여 마리 당 평균 섭취량(g/rat/day) 및 섭수량(ml/rat/day)을 산출하였다.

#### 안과학적 검사

적응기간 중 시험동물에 대하여 눈의 외관을 관찰하였다. 최종 시험물질 투여 후 모든 동물의 눈의 외관을 육안으로 관찰하였다.

#### 뇨 검사

뇨검사는 대조군 및 WK-38(5, 50, 500 mg/kg) 군에서 마지막 시험물질 투여 후 24시간동안 채뇨하여 얻은 검체에 대해 수행되었다. 유리스켄 10 에스지엘 시험지(URISCAN, 영동제약) 를 이용하여 잠혈(occult blood), 빌리루빈(bilirubin), 우로빌리노겐(urobilinogen), 케톤체(ketones), 단백질(protein), 아질산염(nitrite), 포도당(glucose), pH, 비중(specific gravity), 백혈구(white blood cell)를 측정하였다.

#### 혈액학적 검사

실험종료 후 ethyl ether로 마취하여 복대 동맥으로부터 채혈하고 Coulter counting을 위하여 혈액 응고 방지제 EDTA-2K가 들어있는 CBC채혈병(BD Vacutainer)에 혈액 4 mL 취한후, 5분 이상 혼합하여 백혈구수(WBC), 적혈구수(RBC), 헤마토크리트치(HCT), 혈색소량(HGB), 평균적혈구용적(MCV), 평균적혈구혈색소량(MCH), 평균적혈구혈색소농도(MCHC) 및 혈소판수(PLT) 그리고 백혈구백분율로 호중구(neutrophil), 호산구(eosinophil), 호염기구(basophil), 림프구(lymphocyte), 단핵구(monocyte) 검사를 수행하였다. 혈액응고시간에 있어서 prothrombin time(PT)와 activated partial thromboplastin time(APTT)을 측정하기 위해 일부의 혈액을 3.8% Sodium citrate가 처리된 채혈병 (BD Vacutainer)에 취한 후 혼합하여 원심분리(3000 rpm, 10 min)하여 얻은 혈장을 이용하였다. 위의 지표들은 (주)켐온에 의뢰하여 측정하였다.

#### 혈액생화학적 검사

실험종료 후 복대 동맥으로부터 채혈하여 얻어진 혈액을 실온에서 30분간 방치하여 응고시킨 후 원심분리(3,000 rpm, 15 min) 해서 얻은 혈청에 대하여 혈액생화학적 검사를 다음의 항목 alanine transaminase(ALT), aspartate transaminase(AST), alkaline phosphatase(ALP), cholesterol, glucose, total protein(T-protein), blood urea nitrogen (BUN), creatinine, total bilirubin(T-BIL)치를 자동분석장치(SPOTCHEM EZ, AP-4430, ARKRAY)를 이용하여 측정

하였다. 전해질자동분석장치(NOVA5, Waltham, MA, USA)를 이용하여 sodium($Na^+$), potassium($K^+$), chloride($Cl^-$)를 측정하였다. 전해질을 제외한 혈액 생화학적 지표들은 (주)켐온에 의뢰하여 측정하였다.

### 부검 및 장기중량 측정

실험종료 후 모든 랫트에 대하여 에테르 마취하에 치사시킨 후 장기를 적출하고, 육안적 병변 관찰 및 심장, 간, 신장(좌,우), 비장, 고환(좌,우), 난소(좌,우), 부신(좌,우), 폐, 뇌, 갑상선 및 위의 중량을 측정하였다.

### 통계

동물의 사망이 관찰되지 않아 치사량을 구하는 통계는 실시하지 않았다. 대조군과 시험물질 투여군 체중의 변화의 차이는 Student's *t*-test 로 비교하여 유의성을 검정하였다. 뇨검사의 결과들은 Kurskal-Wallis' H test 로 통계처리하였다.

## 결 과

### 일반증상 및 사망률

식품의약품안전청의 독성시험기준을 참고하여 전 동물에 대하여 전 시험기간 동안 매일 일회씩의 일반증상관찰과 사망의 유무를 관찰한 결과 모든 시험군에서 전 시험

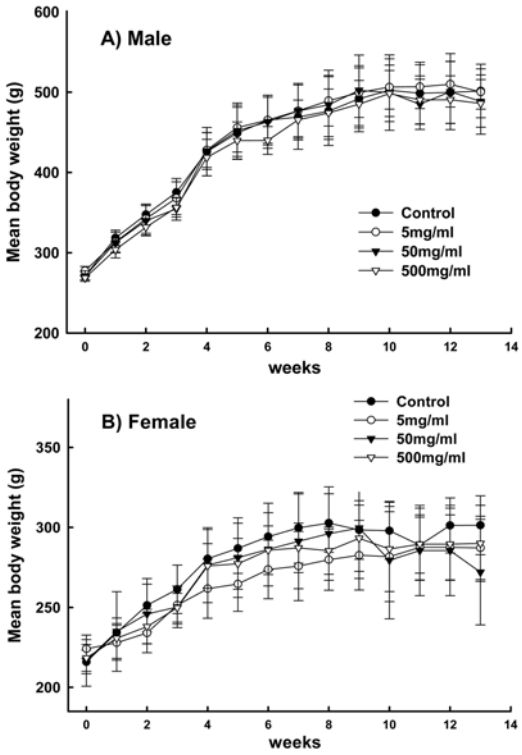


**Fig. 1.** Body weight increases in A) male and B) female rats treated orally with WK-38 for 13 weeks.

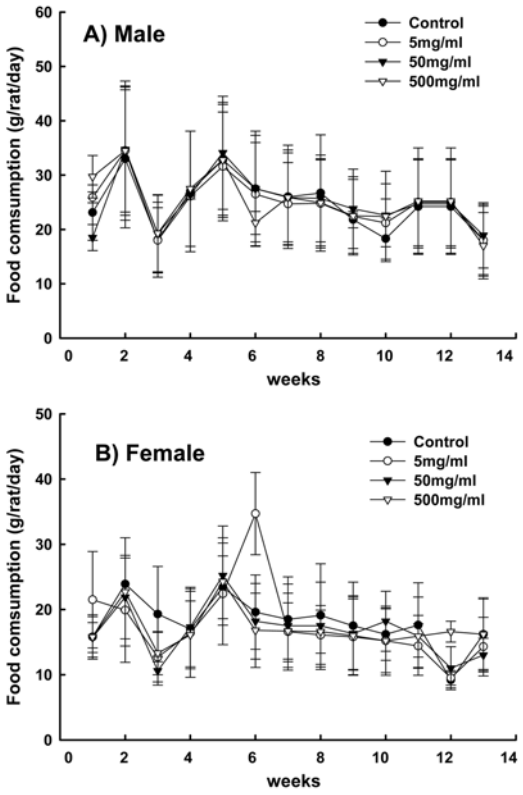


**Fig. 2.** Food consumption changes in A) male and B)°°female rats treated orally with WK-38 for 13 weeks.

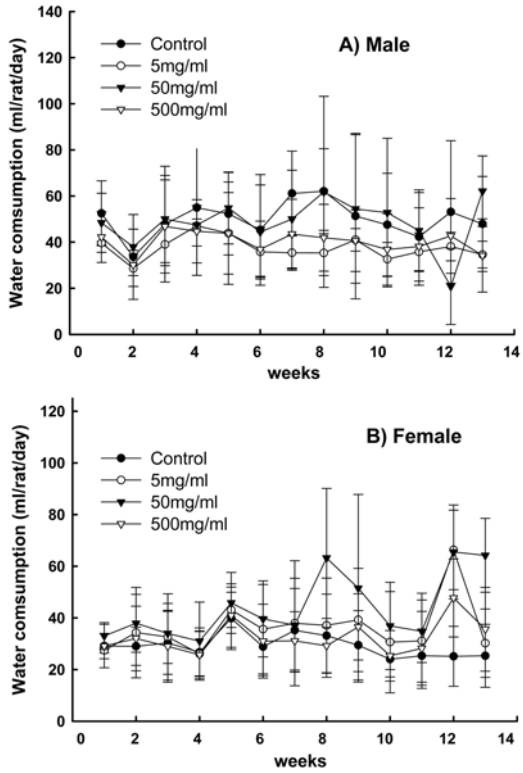


**Fig. 3.** Water consumption changes in A) male and B) female rats treated orally with WK-38 for 13 weeks.

**Table 1.** Urinalysis of male and female rats orally administered with WK-38 for 13 weeks

| Parameter | Sex | Male | | | | Female | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Dose (mg/kg) | Control | 5 | 50 | 500 | Control | 5 | 50 | 500 |
| Occult blood | - | 5 | 0 | 3 | 4 | 0 | 5 | 5 | 5 |
| | ± | 0 | 5 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | + 10 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | ++ 50 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| | +++ 250 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Bilirubin | - | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | ± | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | + 0.5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | ++ 1.0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | +++ 3.0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Urobilinogen (mg/100 mL) | -0.1 | 5 | 5 | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | ±1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 1 | 1 | 0 |
| | + 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 4 | 3 |
| | ++8 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 3 | 0 | 2 |
| | +++12 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Ketone (mg/dL) | - | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 1 | 5 |
| | ±5 | 2 | 4 | 3 | 2 | 4 | 0 | 4 | 0 |
| | + 10 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | ++ 50 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | +++ 100 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Protein (mg/100 mL) | - | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 1 |
| | ±10 | 1 | 0 | 0 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | + 30 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 | 3 | 3 |
| | ++ 100 | 0 | 2 | 4 | 0 | 3 | 0 | 1 | 1 |
| | +++ 300 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| | ++++ 1000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Nitrite | - | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 2 | 5 |
| | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 0 |
| Glucose (mg/100 mL) | - | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | ±100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | + 250 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | ++ 500 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | +++ 1000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | ++++ 2000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| pH | -5.0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| | ±6.0 | 3 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 |
| | + 7.0 | 2 | 1 | 4 | 2 | 1 | 4 | 3 | 1 |
| | ++8.0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | +++9.0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| Specific Gravity | -1.000 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | ±1.005 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| | + 1.010 | 2 | 2 | 0 | 0 | 5 | 3 | 1 | 2 |
| | ++ 1.020 | 2 | 3 | 2 | 2 | 0 | 2 | 2 | 1 |
| | +++ 1.025 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | ++++ 1.030 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Neucocyte (WBC/μL) | - | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | + 25 | 0 | 2 | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | 0 |
| | ++ 75 | 1 | 1 | 0 | 1 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| | +++ 500 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 |

기간 동안 사망동물은 관찰되지 않았다. 단회투여에서 일시적으로 관찰되었던 혈관확장 효과는[5] 본 실험조건에서는 나타나지 않았다. WK-38의 반복투여는 관찰된 모든 일반증상에서 대조군과 차이를 유발하지 않았다.

### 체중의 변화 섭이량 및 섭수량의 변화

시험물질에 의한 체중변화 관찰결과 WK-38 의 반복투여는 자성 웅성 랫트 모두에서 체중에 유의적인 영향을 주지 않았다(Fig. 1).

전 시험기간을 통해 동물당 일일 사료섭취량은 대조군 및 시험물질 투여군에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Fig. 2). 시험기간 중 웅성 랫트의 대조군, 저용량군, 중용량군, 고용량군의 동물당 평균 일일 섭이량은 23.9±5.3, 24.2±5.1, 24.3±5.4, 24.4±5.8(g)이었다. 자성의 랫트에 있어서도 시험기간 중 대조군과 시험물질의 투여군 모두에서 섭이량의 변화는 인정되지 않았으며 대

**Table 2.** Hematological values of rats treated orally with WK-38 for 13 weeks

| Item | sex | Male | | | | Female | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Dose (mg/kg) | 0 | 5 | 50 | 500 | 0 | 5 | 50 | 500 |
| WBC (K/mL) | | 5.3±1.63 | 6.05±2.14 | 5.40±2.08 | 7.07±2.62 | 2.8±0.39 | 3.20±2.22 | 2.94±1.60 | 3.9±0.66 |
| RBC (M/mL) | | 8.1±1.06 | 7.43±1.42 | 8.62±0.61 | 8.41±0.41 | 7.2±0.21 | 6.64±2.07 | 7.49±0.42 | 7.39±0.20 |
| HGB (g/dL) | | 14.4±1.91 | 12.97±2.67 | 14.76±0.67 | 14.46±0.51 | 13.3±0.4 | 13.18±1.47 | 13.58±0.52 | 13.36±0.53 |
| HCT (%) | | 39.4±5.12 | 35.5±7.2 | 39.92±2.15 | 39.52±47.06 | 36.4±0.8 | 33.22±10.49 | 37.22±1.28 | 36.38±1.51 |
| MCV (fL) | | 48.6±0.52 | 47.86±2.63 | 46.42±3.37 | 47.06±1.13 | 50.6±1.12 | 49.98±1.29 | 49.82±1.64 | 49.24±1.90 |
| MCH (pg) | | 17.8±0.11 | 17.46±0.81 | 17.18±1.2 | 17.20±0.37 | 18.5±0.62 | 21.84±7.98 | 18.18±0.41 | 18.10±0.68 |
| MCHC (g/dL) | | 36.6±0.22 | 36.5±0.50 | 37.02±0.47 | 36.58±0.26 | 36.5±0.69 | 43.86±16.52 | 36.50±0.71 | 36.74±0.26 |
| PLT (K/mL) | | 611.5±432.5 | 665.0±386.7 | 911.2±165.8 | 899.6±87.3 | 938.0±72.6 | 612.5±400.0 | 903.0±86.2 | 983.0±47.5 |
| NEU (K/mL) | | 0.71±0.32 | 0.62±0.25 | 0.87±0.30 | 1.06±0.25 | 0.44±0.12 | 0.38±0.24 | 0.39±0.12 | 0.52±0.10 |
| LYM (K/mL) | | 4.09±1.12 | 4.80±1.83 | 3.92±1.90 | 5.45±2.32 | 2.09±0.46 | 2.46±1.97 | 2.29±1.36 | 3.06±0.54* |
| MONO(K/uL) | | 0.28±0.16 | 0.44±0.22 | 0.44±0.22 | 0.31±0.04 | 0.13±0.05 | 0.17±0.17 | 0.13±0.09 | 0.17±0.05 |
| EOS (K/mL) | | 0.10±0.04 | 0.05±0.02 | 0.08±0.02 | 0.09±0.05 | 0.08±0.03 | 0.13±0.09 | 0.08±0.05 | 0.10±0.04 |
| PT (sec) | | 16.3±1.5 | 15.9±1.05 | 16.8±0.96 | 16.3±0.76 | 17.3±0.7 | 16.5±1.41 | 15.8±0.61 | 16.7±1.16 |
| APTT (sec) | | 18.4±4.61 | 15.0±2.56 | 17.3±1.62 | 16.9±.26 | 16.8±1.79 | 18.3±6.76 | 16.2±2.12 | 18.5±4.93 |

WBC: white blood cell count, RBC: red blood cell count, HGB: hemoglobin, HCT: hematocrit, MCV: mean corpuscular volume, MCH; mean corpuscular hemoglobin, MCHC; mean corpuscular hemoglobin concentration, PLT: Platelet, NEU; neutrophil, LYM; lymphocyte, MONO; monocyte, EOS; eosinophile, PT; prothrombin time, APTT; activated partial thromboplastin time.
Values are presented as mean ± standard deviation (SD).
Statistically significant from control (* $p<0.05$)

**Table 3.** Biochemical serum values of rats treated orally with WK-38 for 13 weeks

| Item | sex | Male | | | | Female | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Dose (mg/kg) | 0 | 5 | 50 | 500 | 0 | 5 | 50 | 500 |
| T-protein (g/dL) | | 6.6±1.1 | 6.5±0.8 | 7.2±0.8 | 7.0±0.8 | 6.9±0.8 | 7.2±0.8 | 7.5±±0.6 | 7.3±0.7 |
| T-bilirubin (mg/dL) | | 0.7±0.2 | 0.5±0.1 | 0.7±0.2 | 0.6±0.1 | 0.6±0.4 | 1.1±1.2 | 0.8±0.7 | 0.6±0.5 |
| Glucose (mg/dL) | | 134.1±21.4 | 164.0±11.6** | 139.1±21.7 | 165.6±33.1 | 161.7±16.3 | 177.9±14.3 | 174.4±29.2 | 176.4±19.8 |
| AST (IU/L) | | 217.9±61.9 | 189.0±41.5 | 177.6±32.1 | 183.7±24.0 | 157.4±35.7 | 173.7±58.5 | 171.9±43.8 | 174.3±48.2 |
| ALT (IU/L) | | 48.6±8.4 | 42.0±8.5 | 47.7±14.7 | 37.3±12.2 | 40.1±12.5 | 65.1±68.1 | 53.7±23.8 | 43.4±16.5 |
| ALP (IU/L) | | 459.±130.6 | 437.1±52.2 | 393.4±108.3 | 351.7±78.4 | 502.9±181.4 | 508.1±148.2 | 494.0±186.0 | 494.7±189.9 |
| cholesterol (mg/dL) | | 82.9±9.4 | 87.9±9.7 | 76.9±28.6 | 91.1±13.1 | 84.0±15.9 | 100.7±34.3 | 95.1±20.0 | 103.9±14.9 |
| BUN (mg/dL) | | 19.4±3.3 | 19.0±3.9 | 17.4±1.9 | 19.6±2.1 | 17.4±2.6 | 19.4±3.3 | 17.7±1.5 | 17.6±3.4 |
| Creatinine (mg/dL) | | 0.7±0.2 | 0.6±0.2 | 0.7±0.1 | 0.8±0.2 | 1.0±0.1 | 0.9±0.01 | 0.9±0.1 | 0.7±0.01 |
| Na (mEq/L) | | 158.6±7.6 | 160.0±3.3 | 159.6±7.8 | 157.6±13.5 | 158.7±7.9 | 157.6±4.2 | 163.6±8.6 | 155.9±6.6 |
| K (mEq/L) | | 5.0±2.4 | 3.2±0.3 | 4.0±1.6 | 3.8±0.7 | 3.2±0.4 | 3.2±0.6 | 3.1±0.5 | 3.3±0.6 |
| Cl (mEq/L) | | 95.4±10.8 | 88.4±1.4 | 91.3±9.7 | 92.9±8.3 | 95.1±9.1 | 89.9±3.1 | 88.9±3.0 | 91.0±7.3 |

ALT: alanine transaminase, AST: aspartate transaminase, ALP : alkaline phosphatase, T-protein: total protein, BUN: blood urea nitrogen.
Values are presented as mean ± standard deviation (SD).
Statistically significant from control (**$p<0.01$).

조군, 저용량군, 중용량군, 고용량군의 동물당 평균 일일 섭이량은 각각 16.9±4.4, 17.0±5.5, 16.9±3.5, 16.7±2.9(g)이었다.

섭수량에 있어서도 13주 투여기간동안 본 시험물질 투여와 관련된 유의적 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 3).

### 뇨 검사

Table 1에 나타 낸 것과 같이, 측정된 잠혈(occult blood), 빌리루빈(bilirubin), 우로빌리노겐(urobilinogen), 케톤체(ketones), 단백질(protein), 아질산염(nitrite), 포도당(glucose), pH, 비중(specific gravity), 백혈구(white blood cell)의 지표에서 대조군과 비교하여 WK-38 반복투여에 의한 유의적인 변화가 관찰되지 않았다.

### 안과학적 검사소견

WK-38 의 반복투여와 관련된 특기할 만한 변화는 관찰되지 않았다.

### 육안적 부검

자웅성 랫트의 전 용량에서 시험물질의 투여에 의하여 발생되었다고 인정되는 조직 및 장기의 변화는 육안적으로 관찰되지 않았다.

**Table 4.** Absolute organ weights (g) of male and female rats orally administered with WK-38 for 13 weeks

| Organs (g) | sex | Male | | | | Female | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Dose (mg/kg) | 0 | 5 | 50 | 500 | 0 | 5 | 50 | 500 |
| Body Weight | | 501.5±33.3 | 500.2±21.3 | 488.4±40.6 | 486.0±33.9 | 301.0±18.4 | 287.0±19.8 | 272.0±33.0 | 290.0±23.8 |
| Liver | | 14.1±0.9 | 14.9±0.9 | 14.5±1.3 | 15.2±1.3 | 8.5±1.1 | 9.0±1.6 | 8.2±0.6 | 8.4±0.6 |
| Spleen | | 0.87±0.07 | 0.81±0.05 | 0.90±0.13 | 0.80±0.16 | 0.57±0.07 | 0.53±0.08 | 0.55±0.13 | 0.54±0.08 |
| Heart | | 1.6±0.2 | 1.5±0.1 | 1.4±0.1 | 1.4±0.1 | 0.99±0.13 | 0.85±0.17 | 0.97±0.13 | 0.93±0.06 |
| Stomach | | 1.9±0.4 | 2.0±0.4 | 2.0±0.3 | 1.9±0.3 | 1.2±0.2 | 1.2±0.3 | 1.2±0.2 | 1.2±0.3 |
| Brain | | 2.2±0.1 | 2.2±0.1 | 2.2±0.3 | 1.8±0.6 | 1.9±0.2 | 1.9±0.1 | 1.9±0.1 | 1.9±0.1 |
| Thyroid gland | | 0.40±0.16 | 0.50±0.18 | 0.50±0.18 | 0.60±0.20 | 0.20±0.04 | 0.20±0.08 | 0.30±0.10 | 0.30±0.07 |
| Lung | | 2.1±0.4 | 2.1±0.4 | 2.1±0.2 | 1.9±0.2 | 1.4±0.2 | 1.5±0.3 | 1.4±0.2 | 1.6±0.2 |
| Testis | R | 1.8±0.2 | 1.9±0.2 | 1.9±0.2 | 1.8±0.2 | 0.07±0.01 | 0.07±0.02 | 0.07±0.02 | 0.07±0.02 |
| | L | 1.7±0.2 | 1.9±0.3 | 1.9±0.2 | 1.8±0.2 | 0.09±0.02 | 0.07±0.02 | 0.07±0.02 | 0.07±0.01 |
| Adrenal gland | R | 0.04±0.01 | 0.04±0.02 | 0.03±0.02 | 0.03±0.01 | 0.04±0.01 | 0.06±0.03 | 0.05±0.02 | 0.03±0.01 |
| | L | 0.03±0.01 | 0.03±0.01 | 0.04±0.01 | 0.03±0.02 | 0.05±0.01 | 0.06±0.02 | 0.05±0.03 | 0.04±0.01 |
| Kidney | R | 1.6±0.1 | 1.6±0.1 | 1.5±0.1 | 1.6±0.2 | 0.9±0.1 | 0.9±0.1 | 0.8±0.2 | 0.9±0.1 |
| | L | 1.6±0.2 | 1.6±0.1 | 1.5±0.1 | 1.6±0.1 | 1.1±0.3 | 0.8±0.2 | 0.9±0.1 | 0.9±0.1 |

Values are presented as mean ± standard deviation (SD).

**Table 5.** Relative organ weights (%) of male and female rats orally administered with WK-38 for 13 weeks

| Organs (%) | sex | Male | | | | Female | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Dose (mg/kg) | 0 | 5 | 50 | 500 | 0 | 5 | 50 | 500 |
| Body Weight (g) | | 501.5±33.3 | 500.2±21.3 | 488.4±40.6 | 486.0±29.7 | 301.0±18.4 | 287.0±19.8 | 272.0±33.0 | 290.0±23.8 |
| Liver | | 2.83±0.23 | 2.98±0.22 | 2.98±0.36 | 3.12±0.23 | 2.82±0.36 | 3.15±0.50 | 3.07±0.55 | 2.93±0.29 |
| Spleen | | 0.17±0.04 | 0.16±0.01 | 0.18±0.04 | 0.18±0.06 | 0.19±0.03 | 0.19±0.03 | 0.21±0.07 | 0.19±0.03 |
| Heart | | 0.32±0.05 | 0.30±0.03 | 0.30±0.03 | 0.28±0.02 | 0.33±0.03 | 0.29±0.06 | 0.36±0.08 | 0.32±0.03 |
| Stomach | | 0.38±0.10 | 0.41±0.08 | 0.40±0.05 | 0.40±0.08 | 0.41±0.06 | 0.44±0.12 | 0.46±0.15 | 0.43±0.11 |
| Brain | | 0.45±0.02 | 0.44±0.03 | 0.44±0.07 | 0.37±0.13 | 0.64±0.09 | 0.66±0.05 | 0.71±0.08 | 0.66±0.04 |
| Thyroid gland | | 0.09±0.04 | 0.11±0.04 | 0.11±0.04 | 0.12±0.04 | 0.06±0.01 | 0.08±0.03 | 0.11±0.06 | 0.10±0.02 |
| Lung | | 0.43±0.09 | 0.42±0.09 | 0.43±0.06 | 0.39±0.05 | 0.46±0.06 | 0.53±0.11 | 0.54±0.08 | 0.55±0.08 |
| Testis | R | 0.36±0.04 | 0.38±0.06 | 0.39±0.06 | 0.38±0.05 | 0.02±0.004 | 0.02±0.005 | 0.02±0.013 | 0.02±0.006 |
| | L | 0.35±0.05 | 0.37±0.05 | 0.39±0.06 | 0.37±0.04 | 0.03±0.009 | 0.03±0.007 | 0.03±0.011 | 0.03±0.005 |
| Adrenal gland | R | 0.009±0.001 | 0.008±0.002 | 0.008±0.002 | 0.007±0.004 | 0.008±0.002 | 0.017±0.011 | 0.018±0.010 | 0.017±0.004 |
| | L | 0.009±0.004 | 0.008±0.004 | 0.008±0.004 | 0.007±0.001 | 0.008±0.004 | 0.017±0.008 | 0.018±0.010 | 0.017±0.005 |
| Kidney | R | 0.32±0.04 | 0.32±0.03 | 0.32±0.02 | 0.33±0.03 | 0.32±0.02 | 0.32±0.03 | 0.32±0.10 | 0.32±0.02 |
| | L | 0.32±0.06 | 0.32±0.03 | 0.32±0.03 | 0.34±0.04 | 0.36±0.12 | 0.30±0.06 | 0.35±0.07 | 0.32±0.03 |

Values are presented as mean ± standard deviation (SD).

### 혈액학적 검사

WK-38 투여에 따른 혈액학적 검사 결과 자성 랫트 고용량 투여군에서 림프구의 유의적 증가가 나타났으나, 용량의존적이지 않았으며 웅성 랫트에서는 전체 용량투여군과 대조군사이에 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 이 외의 지표에서는 물질 투여와 관련된 유의적인 변화가 관찰되지 않았다(Table 2).

### 혈액생화학적 검사

혈액생화학적 소견에서 총단백질량 및 총 bilirubin의 함량은 대조군과 비교할 때 유의성 있는 차이를 나타내지는 않았다. 혈액 생화학적 지표 중 웅성 랫트 저용량 투여군에서 혈당(glucose)의 증가가 관찰되었다. 이외에 측정된 모든 혈액생화학적인 지표에서는 WK-38 투여에 의한 유의한 변화는 관찰되지 않았다(Table 3).

### 절대장기 중량 및 상대장기 중량

투여 물질에 의한 절대장기 중량의 변화는 웅성과 자성 모든 랫트에서 나타나지 않았다(Table 4). 상대적 장기무게도 시험물질의 13주간 반복투여에 의한 변화는 관찰되지 않았다(Table 5).

## 고 찰

WK-38은 죽상경화증의 예방 및 치료를 목적으로 조성된 시험물질로, 13주 반복 경구투여에 의한 독성을 식품의약품안전청의 독성 시험기준[6] 에 근거하여 연구하였다. 시험물질을 13주간 반복 경구투여하고 사망률, 일반증상, 체중변화, 뇨검사, 부검소견 및 장기 무게 및 혈액학적, 혈액생화학적 지표 등을 관찰하였다.

시험에 사용된 WK-38는 대황(大黃), 후박(厚朴), 목단피(牧丹皮)의 복합물로서 순환기계 질환 발생의 주원인 중 하나인 죽상경화증의 예방 및 치료를 목적으로 본 연구자들에 의해 자체 구성된 처방이다. 황량(黃良), 화삼(火蔘)이라고 불리는 대황(大黃)은 성미는 차고 쓰다. 독성은 없는 것으로 알려져 있으며, 그 성분 중 *d*-catechin에 항응혈작용이 있음이 알려져있다[7]. 후박(厚朴)은 복부의 팽만감을 주증으로 하는 소화기 질환과 불안, 신경증 등을 포함한 광의의 정신신경질환에 사용되며[8], 최근 후박의 주성분인 magnolol은 혈관내의 산화형의 LDL(low density lipoprotein)에 의한 활성산소종(ROS; reactive oxygen species)의 생성을 억제하여 죽상경화성 혈관 질환(atherosclerotic vascular disease)에 보호효과가 있음이 보고되었다[9]. 진경(鎭痙), 진통(鎭痛), 소염(消炎), 지혈(止血), 항어혈(抗瘀血) 작용을 하는 것으로 알려진 목단피(牧丹皮)는[10] 혈관내피로부터 nitric oxide 분비를 증가시켜 혈관확장작용을 나타냄이 밝혀졌다[11].

WK-38을 Sprague-Dawley 계통의 랫트에 13주간 반복경구 투여결과, 모든 시험군에서 시험기간 시험물질로 인한 일반증상 및 사망동물은 관찰되지 않았다. 시험기간 동안 체중의 지속적인 증가가 관찰되었으며 통계학적으로 유의적인 차이는 나타나지 않았다 안검사 및 뇨검사에서 모든 투여군에서 대조군과 비교하여 시험물질 투여에 기인한 유의성 있는 변화는 관찰되지 않았다. WK-38 투여는 혈액학적 검사 및 혈액 생화학적 검사 중 자성 랫트 고용량 투여군에서 림프구의 증가와 중 웅성 랫트 저용량 투여군에서서 혈당(glucose)의 증가가 관찰되었지만 이는 용량상관성이 결여되었으며 정상범위 이내의 변화로 본 시험물질에 의한 독성학적 변화로는 판단되지 않았다. 이상의 결과로 보아 본 시험 조건하에서 WK-38의 랫트에 대한 13주 반복 경구투여 시험에서 독성학적 이상변화는 관찰되지 않았다. 따라서 무독성량은 500 mg/kg을 상회하는 것으로 판단되었다.

## 요 약

죽상경화증(arteriosclerosis)의 예방과 치료를 목적으로 조성된 새로운 한방처방인 WK-38을 웅성과 자성 랫트에 13주간 반복 투여하여 독성을 평가하였다. WK-38은 대황(大黃, *Rhei Rhizoma*), 후박(厚朴, *Magonoliae Cortx*), 목단피(牧丹皮, *Moutan Cortex Radicis*)의 복합물로 구성되었다. 실험동물에게 5 mg/kg, 50 mg/kg 또는 500 mg/kg 을 경구로 투여하였다. 투여기간 동안 사망, 일반증상, 섭이량, 섭수량, 및 체중증가 등을 관찰하였다. 투여된 WK-38 모든 용량에서 사망하는 개체는 없었다. 시험기간 동안 체중의 지속적인 증가가 관찰되었으며 통계학적으로 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 안검사 및 뇨검사에서 모든 투여군에서 대조군과 비교하여 시험물질 투여에 기인한 유의성 있는 변화는 관찰되지 않았다. WK-38 투여는 혈액학적 검사 및 혈액 생화학적 검사 결과 시험물질에 의한 독성학적 변화로는 판단되는 지표는 없었다. 이상의 결과에 근거하여 본 시험 조건하의 WK-38의 랫트에 대한 13주 반복 경구투여 시험에서는 독성학적 변화가 관찰되지 않았다. 따라서 무독성량은 500 mg/kg을 상회하는 것으로 판단된다.

## 감사의 말씀

이 연구는 자생식물 이용기술사업단의 과제 지원(PF03201-01-00)을 받아 수행하였음

## 참고문헌

1. 통계청: 2005년 사망원인 통계결과 (2006).

2. Mei, N., Arlt, V.M., Phillips, D.H., Heflich, R.H. and Chen T.: DNA adduct formation and mutation induction by aristolochic acid in rat kidney and liver. *Mutat. Res*. **602**, 83-91 (2006).
3. Meyer, M.M., Chen, T.P. and Bennett W.M.: Chinese herb nephropathy. *Proc (Bayl Univ Med Cent*). **13**, 334-337 (2000).
4. 안병민, 이동수, 백종태, 장성희, 장이선: 식물제제에 의한 간손상 빈도, *식품의약품안전청연구보고서*, **6**, 1045-1046 (2002).
5. 장보윤, 김윤철, 이안숙, 강대길, 이호섭, 김성연: 랫트에서 WK-38의 단회경구투여 독성에 관한 연구, **22**, 93-98 (2007).
6. 식품의약품안전청: 의약품등의 독성시험기준, 식품의약품안전청고시 제 1999-61호 (1999).
7. 생약교재편찬위원회: 생약학. 동명사, 서울, pp. 369-373 (2003).
8. 한약연구소위원회: 한약학. 삼광사, 서울, pp. 100-101 (1986).
9. Ou, H.C., Chou, F.P., Sheu, W.H., Hsu, S.L., and Lee, W.J.: Protective effects of magnolol against oxidized LDL-induced apoptosis in endothelial cells. *Arch Toxicol*. **81**, 21-32 (2007).
10. 육창수 외 8인: 한국본초학. 계축문화사, 서울, pp 184-185 (1981).
11. Yoo, M.Y., Lee, B.H., Choi, Y.H., Lee, J.W., Seo, J.H., Oh, K.S., Koo, H.N., Seo, H.W., Yon, G.H., Kwon, D.Y., Kim, Y.S., and Ryu, S.Y.: Vasorelaxant effect of the rootbark extract of Paeonia moutan on isolated rat thoracic aorta. Planta Med. **72**, 1338-1341 (2006).