

SD (Sprague-Dawley) 랫드와 비글견을 이용한 신바로3 약침의 단회 근육투여 독성실험

이진호 · 이인희 · 이재웅 · 김은지 · 김민정
자생의료재단 척추관절연구소

Single-dose Intramuscular Toxicity Studies of Shinbaro3 Pharmacopuncture in Sprague-Dawley Rats and Beagle Dogs

Jin-Ho Lee, K.M.D., In-Hee Lee, M.S., Jae-Woong Lee, M.S., Eun-Jee Kim, M.S., Min-Jeong Kim, B.S.
Jaseng Spine and Joint Research Institute Jaseng Medical Foundation

Objectives To assess the safety of Shinbaro3 Pharmacopuncture by analyzing the potential single-dose intramuscular toxicity of Shinbaro3 Pharmacopuncture at various dose levels in SD (Sprague-Dawley) rats and Beagle dogs.

Methods For evaluation of single-dose intramuscular toxicity of Shinbaro3 Pharmacopuncture, 40 SD rats (20 male and 20 female) and 4 Beagle dogs (2 male and 2 female) were used. The rats were divided in four groups of 10 each, and treated intramuscularly with Shinbaro3 Pharmacopuncture at doses of 0.3, 0.6 and 1.2 mg/kg in distilled water, and distilled water as a vehicle control group, respectively. The Beagle dogs were divided into two groups of 2 each, and treated intramuscularly with Shinbaro3 Pharmacopuncture at doses of 0.15, and 0.3 mg/kg in distilled water, respectively, and signs of toxicity were observed. After a wash-out period of 3 days, the procedure was repeated with Shinbaro3 Pharmacopuncture at doses of 0.6, and 1.2 mg/kg in distilled water, respectively. Mortality, body weight changes, and necropsy findings were examined during the study period.

Results There were no mortalities in either the SD rats or Beagle dogs. There were also no significant differences in adverse effects, body weight, or necropsy findings between the Shinbaro3 Pharmacopuncture and control groups.

Conclusions There results suggest that the lethal dose 50 (LD₅₀) and approximate lethal dose (ALD) value of the test substance Shinbaro3 Pharmacopuncture are higher than 1.2 mg/kg in SD rats and Beagle dogs. (**J Korean Med Rehab 2015;25(2):73-80**)

RECEIVED March 16, 2015
ACCEPTED March 31, 2015

CORRESPONDING TO
Min-Jeong Kim, Jaseng Spine and
Joint Research Institute Jaseng
Medical Foundation, 858, Eonju-ro,
Gangnam-gu, Seoul 135-896, Korea

TEL (02) 3218-2251
FAX (02) 3218-2244
E-mail lkomvje@jaseng.co.kr

Copyright © 2015 The Society of
Korean Medicine Rehabilitation

Key words Single-dose intramuscular toxicity, *Harpagophytum procumbens*, Shinbaro3 Pharmacopuncture, Sprague-Dawley rat, Beagle dog

서론»»»»

천수근(*Harpagophytum procumbens*)은 악마의 발톱 (Devil's claw)이라고도 하며, 남아프리카 공화국과 나미비아의 칼라하리 사바나에서 성장하는 참깨과의 여러해살이 식물이다¹⁾.

천수근의 주된 약리활성 성분은 Iridoid 배당체(Harpagoside, Procumbide, Harpagide, 8-Para-coumaroyl-harpagide 등)로 전체 중량의 약 3%를 차지하고 있으며^{2,3)}, 그 밖에 Carbohydrates (Stachyose, Raffinose, Monosaccharides), Flavonoids (Kaempferol, Luteolin), Aromatic acids (Caffeic acid, Chlorogenic acid, Cinnamic acid), Phytos-

terols (β -Sitosterol, Stigmasterol), Triterpenes (Ursolic and Oleanic acid), 2-Phenyl-ethyl derivatives (Acteoside, Isoacteoside)와 Harpagoquinone 등을 함유하고 있다⁴⁾.

천수근과 관련된 대부분의 보고들은 지표물질이자 유효물질로 알려진 Harpagoside에 초점이 맞춰져있다⁵⁻⁷⁾. 하지만 Harpagoside뿐 아니라 Harpagide, Procumbide 등 다른 배당체들도 유효성이 보고되고 있으며 해당 배당체를 단독으로 사용하는 것보다 천수근 전체에 대한 추출물을 사용하였을 때의 효과가 더 우수하다는 것이 보고되고 있다⁸⁾. 자생한방병원에서는 이러한 천수근 추출물을 이용하여 신바로3 약침을 조제하였으며 신바로3 약침은 Harpagoside를 가수분해하여 Harpagide와 Cinnamic acid의 함량을 높혀 사용하고 있다⁹⁾.

*H. procumbens*의 추출물은 퇴행성 류마티스 관절염, 골관절염, 건염, 신장염, 심장질환, 소화불량 및 식욕감퇴 치료^{10,11)}, 혈액순환장애¹²⁾와 신경통¹³⁾ 등에도 효과가 있는 것으로 보고되어 있다. 최근에는 LPS로 염증을 유도한 인간 단핵구와 L929 cell에 천수근을 처리하였을 때, COX-2, iNOS 발현과 NO 생성, PGE2 합성 뿐만 아니라 염증성 Cytokines인 TNF- α , IL-1 β , IL-6의 생성을 유의성 있게 억제함을 확인하였고^{14,15)}, Cysteinyl-leukotrienes (Cys-LT; LTC₄, LTD₄, LTE₄)와 TXB₂의 생합성 억제를 통해 항염증 효과가 있음을 확인하는 보고가 있었다^{16,17)}. 이에 대한 독성연구로는 Whitehouse 등이 보고한 천수근의 관절염 효과에 관한 연구에서 천수근 추출물로 설치류의 급성 및 아급성 독성을 실험한 결과, 급성 경구투여에 대한 치사량이 13.5 g/kg 이상으로 낮은 독성을 나타냈으며, 7일 동안 7.5 g/kg을 경구투여 한 후에도 혈액학적 및 병리학적으로 이상 증상이 나타나지 않는다는 결과를 보였다¹⁸⁾.

이처럼 in vitro와 in vivo 실험에서 다양한 천수근의 기전 및 효능들이 진행되고 있지만, 대부분이 유효성에 대한 보고들 이었으며 안전성을 위한 독성에 대한 연구는 미비한 실정이다. 더욱이 약침으로 조제하였을 때의 독성에 대한 보고는 전무하다.

이에 본 연구에서는 항염증 등 다양한 질환에 효능이 있다고 알려진 신바로3 약침에 대한 안전성 평가의 일환으로 랫드와 비글견에 단회용량증가(Single dose-escalation) 연구를 진행하였고 독성증상, 반수치사량(LD₅₀, Lethal Dose 50), 일반증상, 체중변화, 부검소견을 각각 관찰하여 신바로3 약침의 독성학적 기초자료 및 임상실

험 전 안전성을 확보하고자 하였다.

재료 및 방법»»»»

1. 재료

1) 실험물질

본 실험에 사용한 천수근은 그린명품제약(경기도 남양주)에서 구입하였다. 천수근을 70% 주정에서 가열 추출한 다음 여과하여 Rotaty vacuum evaporator로 감압농축하고 증류액에 녹여 Freezen dryer로 동결건조 하였다. 동결건조를 통해 얻은 분말을 100% 주정에 녹여 1N NaOH로 가수분해 후, 1N HCl로 pH를 보정하고 여과한 액을 다시 감압농축, 동결건조 과정을 거쳐 흑갈색의 분말을 얻었다. 실험 진행시까지 -20°C에서 냉동보관하였고 검액은 동결건조 분말을 증류수에 농도별로 희석하여 사용하였다.

2) 실험동물 및 사육환경

(1) 랫드

7주령된 SD (Sprague-Dawley) 계통의 특정병원균 부재(SPF) 랫드를 암수 각 22마리를 5일 이상 검역한 후 8주령(수컷 276.39~317.15 g, 암컷 178.09~200.77 g)의 암수 각 20마리로 실험하였다. 사육환경은 온도 22.4±0.5°C, 상대습도 42.5±3.6% RH, 환기횟수 10~15회/hr, 조명 12 hr (08:00 점등~20:00 소등), 조도 281 Lux로 조절하였다. 동물은 검역, 순화, 투여 및 관찰기간 중 스테인레스제 망 사육상자(250W×350L×180H mm)에 3마리 이하로 수용하였고, 사료(Teklad Certified Irradiated Global 18% Protein Rodent Diet, Harlan Co. Ltd., USA)는 두열바이오택(서울시 서초구 양재동 153 정보프라자 107)으로부터 공급받아 급이기에 넣고 자유섭취시켰으며, 물은 음용 상수도를 정수시킨 후 폴리카보네이트제 물병에 넣고 자유섭취시켰다.

(2) 비글견

5~6주령의 암수 각 3마리 20일간 순화시키고 건강하다고 판정된 6~7주령(1차 수컷 10.24~10.92 kg, 암컷 7.90~7.98 kg, 2차 수컷 10.38~10.74 kg, 암컷 7.90~8.16 kg)의 암수 각 2마리를 실험에 사용하였다. 사육환경은 온도 20.5±

0.5°C, 상대습도 44.4±4.2% RH, 환기횟수 10~15회/hr, 조명 12 hr (08:00 점등~20:00 소등), 조도 286 Lux로 조절하였다. 동물은 순화, 투여 및 관찰기간 중에는 스테인레스제 망사육상자(700W×750L×750H mm)에 1마리/사육상자로 사육하였다. 사료는 실험동물용 개사료(LAB CANINE CHOW, Cargill Agri Purina Korea Inc.)를 바이오피아(경기도 군포시 금정동 874-2 신산빌딩 207호)로부터 공급받아 약 300 g (1 회/일)씩 제한급여하였으며, 물은 음용 상수도수를 정수시킨 후 자동급수장치를 이용하여 자유섭취시켰다.

본 실험에 사용한 랫드, 비글견은 독성실험에 널리 사용되고 있으며 풍부한 실험 기초자료가 축적되어 있어, 실험결과의 해석 및 평가에 활용할 수 있기 때문에 사용하였으며, 오리엔트바이오(경기도 성남)에서 구입하였다.

3) 실험군 구성 및 투여용량

(1) 랫드

임상예정용량인 0.067 mg/60 kg (≒1.116 ug/kg)의 약

1,070배인 1.2 mg/kg을 고용량 투여군으로 하고, 공비를 2로 두어 중용량 및 저용량을 설정하였으며, 주사용수를 투여하는 음성대조군을 두었다. 투여 당일 체중을 기준으로 1 ml/kg의 투여액량을 계산하였다(Table I.1).

(2) 비글견

본 실험물질의 랫드를 이용한 단회 근육투여 독성실험의 결과, 0.3, 0.6 및 1.2 mg/kg 투여군에서 어떠한 독성학적 변화도 관찰되지 않았다. 따라서, 이상의 결과를 참조하여 본 실험에서는 1차 투여용량은 실험물질 0.15 및 0.3 mg/kg으로, 2차 투여용량은 0.6 및 1.2 mg/kg으로 설정하였다(Table I.2).

4) 투여기간 및 투여방법

사람에 대한 임상예정경로로서 근육투여시의 독성을 알아보기 위하여 근육투여를 선택하였다.

(1) 랫드

투여 당일 오전 중에 단회 투여로, 투여 동물을 대퇴부 내측이 위로 오도록 배부에서 요부의 피부를 보정하고 알

Table I. Group Composition for Assessment of Single-dose Intramuscular Toxicity in SD Rats and Beagle Dogs

1. Rats

Group	Sex	Number of animals	Animal No.	Administred fluid volume (ml/kg)	Dose (mg/kg)
G1	Male	5	G1-1~G1-5	1	0
	Female	5	G1-21~G1-25		
G2	Male	5	G2-6~G2-10	1	0.3
	Female	5	G2-26~G2-30		
G3	Male	5	G3-11~G3-15	1	0.6
	Female	5	G3-31~G3-35		
G4	Male	5	G4-16~G4-20	1	1.2
	Female	5	G4-36~G4-40		

G1: control, G2~G4: experimental group.

2. Beagle dogs

Administration (i.m*)	Group	Sex	Number of animals	Animal No.	Dose (mg/kg)	Administred fluid volume (ml/kg)
1st	G1	Male	1	1	0.15	0.1
		Female	1	3		
	G2	Male	1	2		
		Female	1	4		
2nd	G1	Male	1	1	0.6	0.1
		Female	1	3		
	G2	Male	1	2		
		Female	1	4		

*intramuscular.

코올솜을 이용하여 투여부위를 소독하였다. 대퇴부 근육 내에 주사침을 찌르고 피스톤을 살짝 후퇴해서 혈액의 유입이 없으면 실험물질을 천천히 주입하였다.

(2) 비글견

1일 1회로 4일 간격으로 총 2회 오전 중에 투여하였고, 투여 전에 투여부위를 소독용 알코올로 소독한 후 1인은 동물을 잘 보정하고 다른 1인의 실험자가 왼쪽 대퇴부 근육 내에 주사침을 찌르고 바늘 끝이 움직이지 않도록 주의 하면서 피스톤을 살짝 후퇴해서 혈액의 유입이 없으면 실험물질을 천천히 주입하였다. 투여 시 투여부위를 표기하여 동일한 곳에 투여되지 않도록 하였으며, 1차 투여는 좌측 대퇴부에, 2차 투여는 우측 대퇴부에 실시하였다

2. 방법

본 실험은 식품의약품안전청 고시 제 2012-121호 ‘비임상시험관리기준’¹⁹⁾ 및 식품의약품안전청 고시 제 2012-86호 ‘의약품등의 독성시험기준’²⁰⁾에 따라 수행되었다.

1) 랫드 단회투여 독성실험

(1) 일반증상 관찰

모든 동물에 대하여 매일 1회 일반증상관찰을 실시하였으며, 투여 당일에는 투여 30분 후 및 이후 6시간까지 매 시간 마다 관찰하였다. 일반증상관찰은 투여 후 14일 까지 실시하였다.

(2) 체중변화

모든 동물에 대하여 입수, 군 분리, 투여 전, 투여 후 1, 7 및 14일째(부검 전)에 측정하였다.

(3) 부검소견

투여 후 14일째에 모든 생존동물을 CO₂가스를 이용하여 마취시킨 후 개복하여 후대정맥과 복대동맥을 절단하는 방법으로 방혈 치사시켜 장기에 대한 육안적인 부검소견을 관찰하였다.

(4) 자료의 평가 및 통계학적 검정

랫드의 모든 실험동물의 체중은 평균 및 표준편차로 정리한 Table과 Figure를 이용하여 경향을 분석하였으며, 부형제 대조군과 실험물질 투여군 간의 체중변화는 일원 배치 분산분석(one-way ANOVA test)을 이용하여 군간 비교하였다. 상용으로 널리 사용되는 통계 패키지인 SPSS 12.0 K 프로그램을 이용하였다.

2) 비글견 단회투여 독성실험

(1) 일반증상

실험기간 동안 사망여부, 일반증상의 종류, 발현일 및 증상의 정도를 1일 1회 관찰하여 개체별로 일반증상 관찰 기록지에 기록하였다. 단, 투여당일에는 투여 후 1시간까지는 지속적으로, 이후에는 투여 후 6시간째까지 매 시간 관찰하였다. 2차 투여 후 14일까지 일반증상 관찰을 실시하였다.

(2) 체중변화

모든 동물에 대해서는 입수, 군 분리, 투여동물에 대해서는 1차 투여당일, 1차 투여 후 1 일, 2차 투여당일, 2차 투여 후 1, 3, 7 및 14일에 체중을 측정하였다.

(3) 부검소견

2차 투여 후 14일째에 생존한 투여동물에 대하여 pentobarbital (엔토발, 한림제약)을 이용하여 마취하에 액와 동정맥(Axillary atery & vein)을 절단하는 방법으로 방혈하여 안락사 시킨 다음, 부검하여 외부소견, 피하, 복강장기, 흉강장기 및 뇌 등 전 장기에 대하여 부검소견을 기록하였다.

(4) 자료의 평가 및 통계학적 검정

실험동물의 수가 충분하지 않기 때문에 얻어진 자료에 대한 통계분석은 실시하지 않았다.

결과»»»»

1. 랫드 단회투여 독성실험

1) 사망률 및 일반증상

실험기간 동안 사망동물과 특이한 일반증상은 관찰되지 않았다(Table II).

2) 체중변화

모든 실험동물에서 정상적인 체중증가가 관찰되었고 통계학적 검정결과, 암수 모든 실험군에서 유의한 체중변화는 관찰되지 않았다(Table III).

3) 부검소견

실험종료 시 모든 생존동물의 부검 결과, 특이한 육안

소견은 관찰되지 않았다(Table IV).

Table II. Mortality and Other Adverse Events of SD Rats in Single-dose Intramuscular Toxicity Testing with Shinbaro3 Pharmacopuncture

Group (Dose (mg/kg))	Mortality (deaths/total)		Other adverse events	
	Male	Female	Male	Female
G1 (0)	0/5	0/5	0/5	0/5
G2 (0.3)	0/5	0/5	0/5	0/5
G3 (0.6)	0/5	0/5	0/5	0/5
G4 (1.2)	0/5	0/5	0/5	0/5

2. 비글견 단회투여 독성실험

1) 사망률 및 일반증상

실험기간 중 사망동물은 관찰되지 않았다. 일반증상에서는 2차 투여 후, 사료 남김이 0.6 mg/kg 투여군 암컷에서 투여 후 3일부터 9일 및 11일부터 14일까지 관찰되었다(Table V).

2) 체중변화

1차 투여 시 투여 후 1일째 0.15 mg/kg투여군 암컷 및 0.3 mg/kg 투여군 암수에서 체중감소가 관찰되었다. 2차

Table III. Body Weight of SD Rats in Single-dose Intramuscular Toxicity Testing with Shinbaro3 Pharmacopuncture

Sex	Group (dose (mg/kg))	Body weight (g)			
		0 day	1 day	7 day	14 day
Male	G1 (0)	295.78±13.57	299.22±14.55	337.56±22.74	382.74±33.39
	G2 (0.3)	293.66±9.92	298.78±10.74	340.87±13.73	388.14±23.35
	G3 (0.6)	292.72±10.11	298.38±9.61	337.29±15.73	381.62±24.03
	G4 (1.2)	292.64±13.99	296.75±13.21	336.12±16.83	379.65±24.33
Female	G1 (0)	188.18±4.29	190.42±5.48	215.35±4.80	231.94±11.20
	G2 (0.3)	185.64±3.31	191.28±6.06	214.47±3.50	235.05±6.12
	G3 (0.6)	191.79±5.81	195.09±7.50	216.98±5.91	239.96±5.92
	G4 (1.2)	187.86±8.35	190.57±11.87	210.18±17.51	230.94±19.45

Table IV. Necropsy Findings of Single-dose Intramuscular Toxicity in SD Rats

Sex	Examined organs	Findings	Group (dose (mg/kg))			
			G1 (0)	G2 (0.3)	G3 (0.6)	G4 (1.2)
Male	All organs	Normal	5/5*	5/5	5/5	5/5
Female			5/5	5/5	5/5	5/5

*Number of animals with abnormal findings/Number of animals examined.

Table V. Mortality of Beagle Dogs in Single-dose Intramuscular Toxicity Testing with Shinbaro3 Pharmacopuncture

Administration (i.m*)	Group (dose (mg/kg))	Sex	Animal No.	Mortality/Other adverse events
1st	G1 (0.15)	Male	1	0/0
		Female	3	0/0
	G2 (0.3)	Male	2	0/0
		Female	4	0/0
2nd	G1 (0.6)	Male	1	0/0
		Female	3	0/0
	G2 (1.2)	Male	2	0/0
		Female	4	0/0

*intramuscular.

투여 시 체중감소가 투여 후 1 및 7일째 0.6 mg/kg 투여군 암수 및 1.2 mg/kg 투여군 암컷에서 관찰되었다. 또한 0.6 mg/kg 암컷에서는 실험기간 동안 체중증가역제가 관찰되었다(Table VI).

3) 부검조건

실험물질의 투여와 관련된 이상 소견은 관찰되지 않았다(Table VII).

고찰»»»»»

생약은 수 세기에 걸쳐 다양한 형태로 폭 넓게 사용되어 왔으며, 사용경험을 바탕으로 다양한 비임상자료가 축적되어왔다. 그러나 그런 자료들은 불완전하거나 과학적 기술수준에 부합하지 않는 경우가 많고, 한약(생약)제제는 기지 또는 미지의 다양한 화합물을 함유하고 있어 각 화합물의 생리적 기능과 각 성분간의 상관관계는 규명되지 않는 것이 많다. 그래서 함유성분에 대한 정보 및 드

러나지 않는 잠재적인 위험성을 파악하고 사용에 앞서 안전성이 평가되어야 한다²¹⁾.

안전성 평가 중 하나인 단회투여독성실험은 실험물질을 실험동물에 단회투여(24시간이내의 분할 투여하는 경우도 포함)하였을 때 단기간 내에 나타나는 독성을 질적, 양적으로 검사하는 실험을 말하며, 일반적으로 단회투여 독성실험에 사용되는 동물 종으로 설치류는 랫드가, 비설치류는 개가 현재 가장 많이 사용되고 있다²²⁾.

천수근(*Harpagophytum procumbens*)은 일반적으로 악마의 발톱으로 불리며, 남아프리카 공화국과 나미비아의 칼라하리사바에서 성장하는 참깨과의 초본식물로 임신 중 통증완화를 위한 진통제 및 해열제, 혈액질환치료용, 소화불량 치료를 위해 남아프리카 민간요법으로 사용되어 왔으며^{23,24)} 최근에는 류마티스 관절염, 건염, 및 관절염 등 치료에도 효과적인 것으로 확인되었다²⁵⁾.

랫드는 대조군과 3개의 실험군(0.3, 0.6 및 1.2 mg/kg)으로 실험을 수행하였으며, 실험기간 동안 일반증상, 체중변화, 통계학적 검정, 동물의 사망 유무 및 실험종료 시 생존동물의 부검조건을 관찰하였다. 실험기간 동안 사망

Table VI. Body Weight Difference of Beagle Dogs in Single-dose Intramuscular Toxicity Testing with Shinbaro3 Pharmacopuncture

Administration (i.m)	Group (dose (mg/kg))	Sex	Animal No.	Body weight (g)					
				Baseline (Day 0)	Day 1	Day 4	Day 7	Day 15	Difference
1st* [†]	G1 (0.15)	Male	1	10.24	10.24	-	-	-	-
		Female	3	7.98	7.96	-	-	-	-0.02
	G2 (0.3)	Male	2	10.92	10.76	-	-	-	-0.16
		Female	4	7.90	7.66	-	-	-	-0.24
2nd ^{‡,§}	G1 (0.6)	Male	1	10.38	9.82	10.14	10.15	11.10	0.72
		Female	3	8.16	7.92	7.88	7.62	7.66	-0.50
	G2 (1.2)	Male	2	10.74	10.84	10.92	10.96	11.30	0.56
		Female	4	7.90	7.74	7.92	7.86	8.18	0.28

*Day count from 1st administration, [†]Day count from 2nd administration, [‡]Difference indicates body weight difference between Baseline (Day 0) and Day 1, [§]Difference indicates body weight difference between Baseline (Day 0) and Day 14, ^{||}intramuscular.

Table VII. Necropsy Findings of Single-dose Intramuscular Toxicity in Beagle Dogs

Group (dose (mg/kg))	Sex	Animal No.	Examined parts	Necropsy findings
G1 (0.15*→0.6 [†])	Male	1		No gross findings
	Female	3		No gross findings
G2 (0.3*→1.2 [†])	Male	2		No gross findings
	Female	4		No gross findings

*Dose at 1st administration, [†]Dose at 2nd administration.

동물 및 특이한 일반증상은 관찰되지 않았다. 체중측정결과, 모든 동물에서 정상적인 체중증가가 관찰되었으며, 실험기간 통계학적으로 유의한 변화는 관찰되지 않았다. 실험종료 시 모든 생존동물의 부검결과, 특이한 육안소견은 관찰되지 않았다.

비글견은 실험물질인 신바로3 약침을 0.15 및 0.3 mg/kg으로 투여하는 실험물질 투여군을 설정하여 군당 암수 각 1마리에 단회 근육투여(1차)한 후, 3일간의 회복기간을 둔 후, 0.6 및 1.2 mg/kg으로 재투여(2차)하였다. 2차 투여 후 2주간의 사망률, 일반증상, 체중변화 및 부검소견을 관찰한 결과, 실험기간 중 사망동물은 관찰되지 않았다. 일반증상 관찰 결과, 2차 투여 후 관찰된 사료남김은 발생빈도 및 용량상관성을 고려해 볼 때, 실험물질과 관련이 없는 우발적인 증상으로 추정되며, 0.6 mg/kg 투여군 암컷에서는 빈번한 사료남김으로 인해 실험기간 동안 체중감소가 나타난 것으로 추정된다. 체중측정 결과, 1차 투여 후 1일과 2차 투여 후 1 및 7일에 관찰된 체중감소가 관찰되었다. 이러한 변화는 실험동물 공급업체에서 제공한 비글견의 6~7개월령 부근에서 나타나는 변화의 범위 내에서의 변화이고, 부검소견에서도 아무런 이상소견이 관찰되지 않아, 실험물질에 의한 독성학적인 의미는 미약한 것으로 판단된다.

이상의 결과로 보아, 본 실험 조건하에서 실험물질 신바로3 약침의 반수치사량(LD₅₀, Lethal Dose 50)은 >1.2 mg/kg b.w.으로 사료되며, 개략의 치사량(ALD, Approximate lethal dose)은 1.2 mg/kg를 상회하는 것으로 판단된다.

따라서 신바로3 약침에 대한 독성학적 문제는 없는 것으로 판단되며, 이를 바탕으로 4주 반복독성을 실시하는 등 지속적인 연구를 통해 고부가가치 소재로 사용할 수 있을 것으로 기대된다.

결론»»»»

본 연구는 항염증 등에 효과가 있는 천수근 추출물의 랫드와 비글견에 대한 단회 근육투여 독성실험을 의약품 등의 독성실험기준(식품의약품안전청 고시 2012-86호)에 준하여 실시하였다. 랫드는 실험물질 천수근 추출물을 0 및 0.3, 0.6, 1.2 mg/kg용량으로, 비설치류 비글견은 0.15

및 0.3 mg/kg으로 투여하는 실험물질 투여군을 설정하여 1차 단회 근육투여 후, 3일간의 회복기간을 둔 후, 0.6 및 1.2 mg/kg으로 2차 단회 근육투여 하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 사망동물 및 특이한 일반증상은 랫드, 비글견 모두 실험기간 중 관찰되지 않았다.
2. 체중변화는 랫드, 비글견 모두 특이한 변화가 관찰되지 않았다.
3. 부검결과는 랫드, 비글견 모두 특이한 육안소견이 관찰되지 않았다.

이상의 결과로 보아 랫드의 경우 본 실험조건에서 실험물질 천수근 추출물의 반수치사량(LD₅₀, Lethal Dose 50)은 >1.2 mg/kg b.w.으로 사료되며, 비글견의 경우 개략의 치사량(ALD, Approximate lethal dose)은 암수 모두 1.2 mg/kg를 상회하는 것으로 판단된다.

References»»»»

1. Grant L, Mcbean DE, Fyfe L, Warnock AM. A review of the biological and potential therapeutic actions of *Harpagophytum procumbens*. *Phytotherapy Research*. 2007; 21(3):199-209.
2. Baghdikian B, Lanhers MC, Fleurentin J, Ollivier E, Maillard C, Balansard G, Mortier F. An analytical study, anti-inflammatory and analgesic effects of *Harpagophytum procumbens* and *Harpagophytum mzeyheri*. *Planta Medica*. 1997;63:171-6.
3. Haag-Berrurier M, Kuballa B, Anton R. Dosage des glucosides totaux dans la racine d' *Harpagophytum procumbens* DC und *Harpagophytum zeheri* DECNE. *Planta Medica*. 1978;12:197-206.
4. Burger JFW, Brandt EV, Ferreira D. Iridoid and phenolic glycosides from *Harpagophytum procumbens*. *Phytochemistry*. 1987;26(5):1453-7.
5. Kaszkin M, Beck KF, Koch E, Erdelmeier C, Kusch S, Pfeilschifter J, Loew D. Downregulation of iNOS expression in rat mesangial cells by special extracts of *Harpagophytum procumbens* derives from harpagoside-dependent and independent effects. *Phytomedicine*. 2004; 11(7):585-595.
6. Günther M, Laufer S, Schmidt PC. High anti-inflammatory activity of harpagoside-enriched extracts obtained from solvent-modified super- and subcritical carbon dioxide extractions of the roots of *harpagophytum procumbens*. *Phytochemical analysis*. 2006;17(1):1-7.

7. Chrubasik S, Sporer F, Dillmann-Marschner R, Friedmann A, Wink M. Physicochemical properties of harpagoside and its in vitro release from *Harpagophytum procumbens* extract tablets. *Phytomedicine*. 2000;6(6):469-473.
8. Wen BY, Li JR. Pharmacokinetics of 8-O-acetylharpagide and harpagide after oral administration of *Ajuga decumbens* extract in beagle dog. *Zhongguo zhong yao za zhi*. 2013;38(12):2015-8.
9. Zhang L, Feng L, Jia Q, Xu J, Wang R, Wang Z, Wu Y, Li Y. Effects of b-glucosidase hydrolyzed products of harpagide and harpagoside on cyclooxygenase-2(COX-2) in vitro. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2011;19(16):4882-6.
10. Stewart KM, Cole D. The commercial harvest of Devil's Claw (*Harpagophytum*spp.) in southern Africa: The devil's in the details. *Journ of Ethnopharmacology*. 2005; 100(3):225-236.
11. Mncwangi N, Chen W, Vermaak I, Viljoen AM, Gericke N. Devil's Claw-A review of the ethnobotany, phytochemistry and biological activity of *Harpagophytum procumbens*. *Journal of Ethnopharmacol*. 2012;143(3):755-771.
12. Costa de pasquale R, busa g, circoata c, lauk l, rarusa s, ficarra p, occhiuto f. A drug used in traditional medicine; *harpagophytum procumbens* dc. iii. Effects on hyperkinetic ventricular arrhythmias by reperfusion. *Journal of Ethnopharmacol*. 1985;13(2):193-9.
13. ESCOP. *Harpagophyti racix*, Meppel: European scientific cooperative on phytotherapy. 1996.
14. Jang MH, Lim S, Han SM, Park HJ, Shin JW, Kim NJ, Lee JS, Kim KA, Kim CJ. *Harpagophytum Procumbens* suppresses lipopolysaccharide-stimulated expressions of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase in fibroblast cell line L929. *Journal of Pharmacol Sciences*. 2003;93(3):367-371.
15. Fiebich BL, Heinrich M, Hiller KO, Kammerer N. Inhibition of TNF-alpha synthesis in LPS-stimulated primary human monocytes by *Harpagophytum* extract Stei-Hap69. *Phytomedicine*. 2001;8(1):28-30.
16. Tippler B, Syrovets T, Plaza N, Loew D, Simmet T. *Harpagophytum procumbens* DC used in traditional medicine inhibits eicosanoid biosynthesis in human whole blood. *International Journal of Tissue Reactions*. 1997;19: 101-2.
17. Loew D, Mollerfeld J, Schroder A, Puttkammer S, Kaszkin M. Investigations on the pharmacokinetic properties of *Harpagophytum* extracts and their effects on eicosanoid biosynthesis in vitro and ex vivo. *Clinical Pharmacology Therapeutics*. 2001;69(5):356-364.
18. Whitehouse LW, Znamirowska M, Paul CJ. Devil's Claw (*Harpagophytum procumbens*): No evidence for anti-inflammatory activity in the treatment of arthritic disease. *Canadian Medical Association Journal*. 1983;129(3):249-251.
19. 식품의약품안전청. 비임상시험관리기준. 식품의약품안전청 고시 제2012-121호.
20. 식품의약품안전청. 의약품등의 독성시험기준. 식품의약품 안전청고시 제 2012-86호.
21. 식품의약품안전청. 한약(생약)제제 비임상시험 가이드라인. 2014.
22. 식품의약품안전청. 의약품등의 독성시험기준 해설서. 2012.
23. Hachfeld B, Schippmann U. Conservation data sheet 2: Exploitation, trade and population status of *Harpagophytum procumbens* in southern Africa. *Medicinal plant conservation*. 2000;6:4-9
24. Wichtl M. Herbal drugs and phytopharmaceuticals. *Medpharm Scientific Publishers*. Stuttgart. 2004;271-3
25. Wyk BEV, Gericke N. People's Plants. A guide to Useful Plants of Southern Africa. *Briza Publications*, Pretoria. 2000.