

랫트에서 신우황청심원의 급성 및 아급성독성시험

오승민 · 남혜윤 · 김준수 · 연제덕 · 신대희¹ · 이진영¹ · 박대규¹ · 조명행² · 정규혁*
성균관대학교 약학대학, ¹조선무약(자) 생명과학연구소, ²서울대학교 수의과대학

Acute and Subacute Toxicity of New Woohwangchungsimwon in Rats

Seung-Min Oh, Hye-Yun Nam, Joon-Su Kim, Je-Deuk Yeon, Dae-Hee Shin¹,
Jin-Young Lee¹, Dai-Kyu Park¹, Myung-Haing Cho² and Kyu-Hyuck Chung*

Department of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea

¹Institute of Life Science Research, Cho Seon Pharmaceutical & Trading Co.,
Kyunggi-do 425-120, Korea

²College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

(Received March 11, 1998)

(Accepted May 20, 1998)

ABSTRACT : The acute and subacute toxicity of New Woohwangchungsimwon(NWCH) which was used *l*-muscone as substitutive material of musk were investigated in S.D. rats. In intraperitoneal acute toxicity test, rats(Sprague-Dawley, SPF) were injected intraperitoneally with dosages of 0, 540, 750, 1,070, 1,500 and 3,000 mg/kg. Body weights were significantly decreased at 540 mg/kg dose group in both sexes and abnormal autopsy findings were founded in both sexes at all treated groups. Intraperitoneal LD₅₀ of NWCH was 812.3 mg/kg in male and 872.3 mg/kg in female rats. In the subacute toxicity study, NWCH was administrated orally to both sexes of rats for 4 weeks as several doses(0, 320, 800 and 2,000 mg/kg). There were neither dead animals nor significant changes of body weights during the experimental period. In addition, no differences were found between control and treated groups in clinical signs, urinalysis, hematology, serum biochemical analysis, and other findings. Above data strongly suggest that no observed adverse effect level of NWCH might be over 2,000 mg/kg/day in this study.

Key Words : *l*-Muscone, New woohwangchungsimwon, Acute toxicity, Subacute toxicity, Rat

I. 서 론

우황청심원은 1107년경 태평혜민화제국방에 최초로 수재되었던 처방(진, 1987)으로 제풍, 환중불수, 언어진삽, 심중건망, 황홀거래, 두목현모, 흥중번을, 담연옹색, 정신혼계, 심기부족, 신지부족, 경공파포, 비우참위, 허번소수, 회로무시, 흑발광전, 정신혼란 등을 치료한다고 하였으며, 허(1987)는 졸중풍의 구급약으로, 이(1981)는 통관, 투기골지제로 제풍완중, 전광, 소아경간 등에, 황(1977)은 척심열, 몽정, 노학, 은진, 소아조민, 항배강직 등에 응용된다고 하였으며, 염(1975)은 고혈압, 동맥경화증, 자율신경실조증, 정신불안증, 히스테리, 불면 등에 효과가 있다고 하였다.

우황청심원의 주약으로 사용되어 온 사향은 사향사

슴(*Moschus moschiferus* L.) 또는 그 밖의 근연동물[우제목(*Artiodactyla*) 사슴과(*Cervidae*)]의 수컷의 사향 선분비물로서 강심, 흥분, 개규, 통경, 진정, 진경, 배농, 해독, 구어혈 작용이 있어 중풍, 소아경간, 신혼섬, 심복강통, 심장쇠약, 신경쇠약, 월경곤란, 혈전, 질타손상 등의 치료에 사용되어 오고 있다(김, 1984).

그러나, 사향은 전량 외국으로부터 수입에 의존하고 있으며 최근들어 “멸종 위기에 처한 야생 동식물의 국제 거래에 관한 협약(CITES 협약)”이 발효됨에 따라 사향의 수급이 더욱 어려움에 처해 있는 실정에서 사향의 대체약물의 개발이 절실히 요구되어 최근에 사향의 대체약물인 *l*-muscone을 개발하기에 이르렀다.

l-Muscone의 효능효과에 대하여 Cho 등(1997b, 1997c)은 뇌허혈 및 중추신경계에 대하여 사향과 유사한 뇌허혈에 대한 개선작용, 중추신경계에 대해 진정작용, 호흡흥분작용 및 항스트레스작용 등을 관찰하였

*To whom correspondence should be addressed

으며, 심혈관계에 대한 약리연구에서 *l*-muscone이 사향과 유사한 혈관이완작용, 혈압강하 및 심박동수의 감소작용, 심계항진 억제효과 등을 관찰하여 *l*-muscone이 사향의 대체약물이 될 수 있음을 확인하였다. 또한, *l*-muscone을 사향대체물질로하여 제조한 신우황청심원 약리작용을 연구한 결과 우황청심원과 유사한 약리작용이 있음을 확인하였다(Cho 등, 1997a, 1997d).

l-Muscone의 독성에 관한 연구는 Oh 등(1997)에 의해 흰쥐에서의 급성독성 연구에서 경구투여에 의한 LD₅₀은 암수 모두 5.0 g/kg 이상으로, 복강투여에 의한 LD₅₀은 암수 모두 1.92 g/kg로 보고되었으며, 아급성독성연구에서 최대무해용량이 1.0 g/kg/day 이상일 것으로 보고되었다. 또한 You 등(1997)은 비글개에서의 급성독성 연구에서 경구투여에 의한 LD₅₀은 암수 모두 2.0 g/kg 이상으로 보고하였으며, 아급성독성연구에서 최대무해용량이 20 mg/kg 이상일 것으로 보고하여 거의 무독한 물질로 보고하였다.

본 연구에서는 *l*-muscone을 사향대체물질로하여 제조한 신우황청심원의 급성 및 아급성 독성을 평가하기 위하여 식품의약품안전본부 고시(1996. 4. 16 제정)의 '의약품 등의 독성시험기준' 제96-8호에 준하여 랫드에 복강으로 단회 투여하여 급성독성을 관찰하였고, 4주간 경구로 연속 투여하여 아급성독성을 평가하였다.

II. 시험재료 및 방법

1. 시험동물 및 사육조건

시험동물은 Charles River Japan에서 생산된 SPF(특정 병원체 부재) Sprague-Dawley(SD)계 랫드를 분양받아 순화시킨 후 평균 체중에 가까운 동물을 선택하여 온도 23±3°C, 상대습도 50±10%, 조명시간 12시간(오전 7시~오후 7시) 및 조도 150~600 Lux로 전 시험기간 동안 폴리카보네이트 사육상자(240 W×390 L×175 H mm)에 5마리씩 넣어 시험하였다. 시험기간 동안 사용한 깔짚은 고압증기 멸균기로 121°C에서 15분간 멸균하여 사용하였고, 물과 사료는 자유섭취시켰다.

2. 시험물질의 조제 및 투여

시험물질은 조선무약(자)에서 제조된 신우황청심원(NWCH 960712, 1996. 7. 12)을 이용하였으며, 이는 황색의 주생약 분말이다.

1) 급성독성시험

대조군은 무처치대조군으로 설정하였으며, 시험물질 투여군은 시험물질의 성상 및 예비용량결정시험을 통하여 540 mg/kg을 최저용량군으로 선정하고 5단계의 등비용량으로 저용량군 750 mg/kg, 중용량군 1,070 mg/kg, 고용량군 1,500 mg/kg, 최고용량군 3,000 mg/kg을 각각 선정하였다. 시험물질의 조제는 신우황청심원 일정량을 100 mesh 이하의 초미세말 상태로 분쇄하여 멸균한 후 3,000 mg/10 ml이 되도록 주사용 멸균증류수에 용해 또는 현탁시킨 후 교반기로 미세하게 혼합시켜 각 용량별로 1 ml 주사기를 이용하여 1회 복강 주사하였다. 모든 조작은 무균 상태를 유지하였다.

2) 아급성독성시험

대조군은 0.1% CMC-Na용액을, 시험물질은 투여직전에 0.1% carboxymethyl cellulose-Na(CMC-Na)에 균등하게 혼합한 다음 시험에 이용하였다. 시험물질의 투여군은 신우황청심원 임상용량(신우황청심원의 복용량 1일 2환, 1환 3.75 g 중 주성분 생약분말 약 47.1% 함유기준)의 약 10배인 320 mg/kg을 저용량군으로 설정하였고 공비를 2.5로하여 중간용량군 800 mg/kg 및 고용량군 2,000 mg/kg을 각각 선정하여 경구로 투여하였다. 고용량군의 투여용량은 일본 후생성 가이드라인(日本藥事日報社, 1997)에 의하면 반복투여의 독성시험에서 시험물질의 독성이 매우 적고 중독량을 정하기가 어려운 경우의 투여량의 상한선은 기술적으로 투여할 수 있는 최대량으로 하는 것이 기본적이며 이때 기술적으로 반복 투여할 수 있는 최대량으로는 1~2 g/kg으로 되어 있어 이를 참조하여 설정하였다.

3. 관찰 및 검사항목

1) 급성독성시험

(1) 일반증상 및 사망동물의 관찰

신우황청심원을 복강 투여한 후의 임상증상관찰은 투여 후 1시간에서 6시간까지는 매시간 그리고 매일 1회 이상씩 일정시간에 관찰하여 7일 동안 일반상태의 변화, 중독증상발현, 사망동물의 유무 및 시험물질 투여 후 시험물질에 의해 나타날 가능성이 있는 증상에 대하여 주의하여 관찰하였다.

(2) 체중측정

급성독성시험에 사용된 모든 시험동물의 체중은 시험기간 중 1, 3, 5, 7일에 측정하였으며, 시험물질 투여 전 및 부검시 체중도 각각 측정 기록하였다.

(3) 부검

급성독성시험에서 사망례가 있을 경우에는 즉시 부

검을 실시하여 육안검사를 실시하였다. 또한, 모든 시험군의 생존례는 투여 개시일로부터 7일 후에 부검을 실시하였다. 생존례는 부검 전에 체중을 측정하고 ether 마취하에 방혈치사시킨 후 육안적으로 모든 장기를 검사하였다.

(4) 통계학적 분석

시험물질에 대한 LD₅₀치는 Litchfield & Wilcoxon법으로 산출하였으며, 그 외 본 시험에서 얻어진 체중 등의 자료에 대한 통계학적인 분석은 Student's t-test를 이용하여 대조군과의 구간 유의성을 검정하였다.

2) 아급성독성시험

(1) 일반증상 및 사망동물의 관찰

임상증상은 모든 시험동물에 대한 상태를, 투여 후 1시간에서 6시간까지는 매시간 그리고 매일 1회 이상씩 일정시간에 관찰하여 일반상태의 변화, 중독증상발현, 사망동물의 유무 및 시험물질 투여 후 시험물질에 의해 나타날 가능성이 있는 증상에 대하여 주의하여 관찰하였다.

(2) 체중측정

시험에 사용된 모든 시험동물에 대하여 시험기간 중 매주 2회 측정하였으며 또한 시험물질 투여전 및 부검시 체중을 각각 측정 기록하였다.

(3) 사료 섭취량 및 물 섭취량

사료섭취량 및 물 섭취량은 주 2~3회 측정하였다. 사료섭취량은 각 사육상자별로 1일 1회 공급한 사료량에서 남은 잔량을 감하여 측정하였으며, 물섭취량은 물 공급시 마다 최초공급량에서 줄어든 분량을 계속하고, 다시 새로운 물을 물병에 채우는 작업을 매일 실시하며, 각 사육상자별 소모된 물의 양을 측정하였다.

(4) 혈액생화학적 검사

복부대동맥에서 채혈한 혈액중 일부를 혈액학적 검사로 이용하고 나머지 혈액은 4°C 냉장 보관한 후 원심분리(3000 rpm, 10 min)하여 자동생화학검사기(Express 550)를 이용하여 TPROT(total protein), ALB(albumin), TBILI(total bilirubin), AST(aspartate aminotransferase), ALT(alanine aminotransferase), ALP(alkaline phosphatase), GLU (glucose), CHOL(cholesterol), TRIG(triglyceride), CREAT(creatinine), BUN(blood urea nitrogen), K(potassium), Ca(calcium), P(phosphorus), Cl(chloride), GB(globulin), A/G ratio 등을 측정하였다. ALT, ALP 등은 반응온도에 따라 검사결과가 달라질 수 있다. 이 측정은 30°C를 기준으로 하여 측정하였다.

(5) 혈액학적 검사

부검전 1일간 절식시킨 후, ether로 마취시켜 복부

대동맥에서 채혈하였다. 채혈한 혈액은 항응고제로 EDTA-2K가 함유된 채혈병에 넣어 자동혈액검사기기를 이용하여 혈액학적 WBC(white blood cell), RBC(red blood cell), HGB(hemoglobin), Hct(hematocrit), BLP(blood platelet), MCV(mean corpuscular volume), MCH(mean corpuscular hemoglobin), MCHC(mean corpuscular hemoglobin concentration) 등을 측정하였다.

(6) 뇨검사

부검 전일 채뇨하여 pH, protein, glucose, ketone, urobilinogen, bilirubin을 검사하기 위해 뇨 검사용 시험지(MULTISTIX, AMES사)에 뇨를 침적시켜 측정하였다.

(7) 육안적 부검소견

모든 시험군의 생존동물에 대하여 시험물질 투여 개시일로부터 4주 후에 부검을 실시하였다. 부검 전에 체중을 측정하고 ether 마취하에 방혈치사시킨 후 육안적으로 모든 장기를 검사하였다.

(8) 장기적출

모든 시험군의 전 동물에 대하여 신장(Kidney), 간장(Liver), 비장(Spleen), 심장(Heart), 흉선(Thymus), 부신(Adrenal gland), 뇌(Brain), 뇌하수체(Pituitary gland), 정소(Testis), 전립선(Prostate), 난소(Ovary) 및 육안적 병변 부위를 적출하였다.

(9) 장기중량

모든 시험군의 전 동물에 대하여 신장, 간장, 비장, 심장, 흉선, 부신, 뇌, 뇌하수체, 정소, 전립선, 난소의 중량을 측정하였다.

(10) 조직병리 검사

전 동물에 대하여 다음의 장기를 10% 중성 포르말린으로 고정시켰다. 고정장기는 다음과 같다. 신장, 간장, 비장, 심장, 흉선, 부신, 뇌, 뇌하수체, 정소, 전립선, 난소 등 병변이 있는 장기의 경우와 대조군 및 최고용량군에서는 상기 장기를 전례에 대해서 실행하고 저용량군 및 중간용량군에서는 육안적 부검소견이 인정되는 장기에 대해 병리조직 검사를 시행하였다.

(11) 통계학적 분석

아급성독성시험에서의 체중변화, 사료섭취량, 물섭취량, 혈액생화학적 분석결과 및 장기무게 측정결과에 대한 통계학적인 분석은 등분산일 경우는 one way analysis of variance(ANOVA) 검정을 실시하였으며, ANOVA 검정에서 유의성이 인정된 경우에는 Scheffe법으로 대조군과 각 투여군간에 다중비교를 실시하였다.

III. 결 과

1. 급성독성시험

Table 1. Mortality of rats treated intraperitoneally with NWCH

Sex	Dosage (mg/kg)	Days after treatment								Final mortality
		Start	1	2	3	4	5	6	7	
Male	0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	540	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	750	0/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5
	1,070	0/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5
	1,500	0/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5
	3,000	0/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
Female	0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	540	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	750	0/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5
	1,070	0/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5
	1,500	0/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	3,000	0/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5

Values are expressed as animal numbers (Cumulative mortality number of rats/total number of rats).

Table 2. Clinical signs in rats treated intraperitoneally with NWCH

Sex	Dosage (mg/kg)	Clinical signs	Days after treatment								
			Start	1	2	3	4	5	6	7	
Male	0	NAD	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		(n)	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	540	NAD	0	5	5	5	5	5	5	5	5
		Decrease of motor activity	5	0	0	0	0	0	0	0	0
	750	(n)	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		NAD	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1,070	Decrease of motor activity	5	3	3	3	3	3	3	3	3
		(n)	5	3	3	3	3	3	3	3	3
	1,500	NAD	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Decrease of motor activity	5	4	4	4	4	4	4	4	4
	3,000	(n)	5	4	4	4	4	4	4	4	4
		NAD	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3,000	Decrease of motor activity	5	4	4	4	4	4	4	4	4	
	(n)	5	4	4	4	4	4	4	4	4	
3,000	NAD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Decrease of motor activity	5	0	0	0	0	0	0	0	0	
3,000	(n)	5	0	0	0	0	0	0	0	0	
	NAD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3,000	Decrease of motor activity	5	0	0	0	0	0	0	0	0	
	(n)	5	0	0	0	0	0	0	0	0	
Female	0	NAD ^a	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		(n)	5	5	5	5	5	5	5	5	5
540	NAD	0	5	5	5	5	5	5	5	5	
	Decrease of motor activity	5	0	0	0	0	0	0	0	0	
750	(n)	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	NAD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
1,070	Decrease of motor activity	5	2	2	2	2	2	2	2	2	
	(n)	5	2	2	2	2	2	2	2	2	
1,500	NAD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Decrease of motor activity	5	3	3	3	3	3	3	3	3	
3,000	(n)	5	3	3	3	3	3	3	3	3	
	NAD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3,000	Decrease of motor activity	5	0	0	0	0	0	0	0	0	
	(n)	5	0	0	0	0	0	0	0	0	
3,000	NAD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Decrease of motor activity	5	0	0	0	0	0	0	0	0	
3,000	(n)	5	0	0	0	0	0	0	0	0	
	NAD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3,000	Decrease of motor activity	5	0	0	0	0	0	0	0	0	
	(n)	5	0	0	0	0	0	0	0	0	

Values are expressed as animal numbers.

^aNAD : Not Abnormalities Detected.

(n): number of survival rats.

Table 3. Body weights in rats treated intraperitoneally with NWCH

Sex	Dosage (mg/kg)		Days after treatment					Gain
			0	1	3	5	7	
Male	0	Mean	142.15	179.42	192.49	208.71	221.26	79.11
		S.D.	7.79	14.17	15.54	15.48	18.84	11.04
		(n)	5	5	5	5	5	5
	540	Mean	143.17	138.68**	142.08**	158.69**	166.48**	32.94**
		S.D.	4.52	2.96	3.93	6.16	7.13	2.61
		(n)	5	5	5	5	5	5
	750	Mean	142.80	124.67	139.00	146.83	162.49	19.69
		S.D.	8.61	10.02	14.57	16.83	21.47	12.86
		(n)	5	3	3	3	3	3
	1,070	Mean	146.28	130.43	139.97	151.11	162.15	37.32
		S.D.	4.93	-	-	-	-	-
		(n)	5	1	1	1	1	1
	1,500	Mean	139.80	164.00	190.00	196.94	209.69	69.89
		S.D.	5.16	-	-	-	-	-
		(n)	5	1	1	1	1	1
	3,000	Mean	137.40	-	-	-	-	-
		S.D.	6.20	-	-	-	-	-
		(n)	5	0	0	0	0	0
Female	0	Mean	117.50	132.70	142.41	151.89	159.82	42.32
		S.D.	6.24	5.63	6.65	7.89	9.77	7.15
		(n)	5	5	5	5	5	5
	540	Mean	120.46	121.55*	130.55*	145.68	150.12	39.66
		S.D.	3.15	3.57	5.56	6.83	7.93	7.76
		(n)	5	5	5	5	5	5
	750	Mean	125.50	119.50	137.00	144.84	159.42	32.42
		S.D.	7.04	13.43	15.10	13.98	10.96	3.17
		(n)	5	3	3	3	3	3
	1,070	Mean	117.06	125.12	138.24	148.37	156.81	38.90
		S.D.	7.04	6.32	2.45	3.88	7.56	2.23
		(n)	5	2	2	2	2	2
	1,500	Mean	118.50	-	-	-	-	-
		S.D.	9.83	-	-	-	-	-
		(n)	5	0	0	0	0	0
	3,000	Mean	116.30	-	-	-	-	-
		S.D.	10.74	-	-	-	-	-
		(n)	5	-	0	0	0	0

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

**Significantly different from control at $p<0.01$.

S.D.: Standard Deviation, (n): number of survival rats.

1) 사망동물 및 임상증상의 관찰

급성복강 독성시험에서 사망한 동물은 수컷에서는 750 mg/kg 투여용량군의 2례, 1,070 mg/kg 투여용량군의 4례, 1,500 mg/kg 투여용량군의 4례 및 3,000 mg/kg 투여용량군의 5례가 관찰되었다(Table 1). 임상증상 관찰에서는 시험물질 투여 직후 암수 전례에서 운동성 저하 현상이 관찰되었으나, 암수 540 mg/kg 투여용량군의 경우에는 부검일까지 점차적으로 운동성이 정상으로 회복되었다(Table 2).

2) 체중변화

체중변화에서 수컷 540 mg/kg 투여용량군은 대조군

에 비해 유의성있는 체중감소가 관찰되었다($p<0.01$). 암컷 540 mg/kg 투여용량군은 대조군에 비해 시험물질 투여후 초기 3일까지 유의성있는 체중감소를 보였으나 ($p<0.05$) 그 이후 회복되어 유의성있는 체중감소를 나타내지 않았다(Table 3).

3) 육안적 부검소견

부검소견은 암수 모든 투여용량군에서 장기의 유착, 결절성 조직의 산재 및 맹장중대 등의 소견을 보였고, 750, 1,070, 1,500 및 3,000 mg/kg 투여용량군 중 사망한 개체의 경우 상기 증상 외에 소장 및 대장의 확장, 허혈성 색조변화 및 복수를 관찰할 수 있었다(Table 4, 5).

Table 4. Gross findings in male rats treated intraperitoneally with NWCH

Sex	Incidence of gross finding					
	Male					
Dosage (mg/kg)	0	540	750	1,070	1,500	3,000
No. of rats	5	5	5	5	5	5
Item						
Organ						
Adhesion		5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)
NGF ^b	5(100%)					
Cecum						
Enlargement		5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)
NGF	5(100%)					
Intestine						
Enlargement			5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)
NGF	5(100%)	5(100%)				
Stomach						
Enlargement			5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)
NGF	5(100%)	5(100%)				
Adrenal gland						
NGF	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)
Brain						
NGF	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)
Heart						
NGF	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)
Liver						
NGF	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)
Kidney						
NGF	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)
Spleen						
NGF	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)
Testis						
NGF	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)
Thymus						
NGF	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)

Values are expressed as animal numbers.
^bNGF: No Gross Finding, (): % of finding.

2. 아급성독성시험

1) 사망동물 및 임상증상의 관찰

아급성 독성시험에서 시험기간동안 사망례는 없었다(Table 6). 시험기간동안 관찰된 임상증상으로는는 별다른 이상을 볼 수 없었다(Table 7).

2) 체중측정

아급성 독성시험에서의 체중은 암수 모든 시험물질 투여군에서 각각의 대조군에 비해 유의성있는 변화가 관찰되지 않았다(Table 8).

3) 사료 섭취량 및 물 섭취량

사료섭취량 및 물섭취량에 대한 측정 결과는 투여기간 동안 모든 암수 투여용량군에서 대조군에 비해 유

Table 5. Gross findings in female rats treated intraperitoneally with NWCH

Sex	Incidence of gross finding					
	Female					
Dosage (mg/kg)	0	540	750	1,070	1,500	3,000
No. of rats	5	5	5	5	5	5
Item						
Organ						
Adhesion		5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)
NGF ^b	5(100%)					
Cecum						
Enlargement		5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)
NGF	5(100%)					
Intestine						
Enlargement			5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)
NGF	5(100%)	5(100%)				
Stomach						
Enlargement			5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)
NGF	5(100%)	5(100%)				
Adrenal gland						
NGF	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)
Brain						
NGF	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)
Heart						
NGF	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)
Liver						
NGF	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)
Kidney						
NGF	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)
Spleen						
NGF	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)
Ovary						
NGF	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)
Thymus						
NGF	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)	5(100%)

Values are expressed as animal numbers.
^bNGF: No Gross Finding, (): % of finding.

Table 6. Mortality of rats treated orally with NWCH for 4 weeks

Sex	Dosage (mg/kg)	Weeks after treatment					Final mortality
		Start	1	2	3	4	
Male	0	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	320	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	800	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	2,000	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Female	0	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	320	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	800	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	2,000	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

Values are expressed as animal numbers.

의성있는 변화가 관찰되지 않았다(Table 9, 10).

4) 혈액생화학적 검사

혈액생화학적 검사에 대한 측정 결과는 암수의 전

Table 7. Clinical signs in rats treated orally with NWCH for 4 weeks

Sex	Dosage (mg/kg)	Clinical signs	Days after treatment											
			Start	1	2	3	5	6	7	11	15	19	23	27
Male	0	NAD ^a	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	320	NAD	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	800	NAD	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	2,000	NAD	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Female	0	NAD	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	320	NAD	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	800	NAD	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	2,000	NAD	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Values are expressed as animal numbers, ^aNAD: Not Abnormalities Detected.

Table 8. Body weights in rats treated orally with NWCH for 4 weeks

Sex	Dosage (mg/kg)		Days after treatment										Gain
			0	3	7	10	13	16	19	23	27		
Male	0	Mean	143.22	163.23	200.63	222.89	233.80	240.57	250.09	265.20	272.78	129.55	
		S.D.	5.66	8.74	13.20	12.47	14.24	12.55	13.64	16.00	14.90	17.03	
		(n)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	320	Mean	145.43	167.03	202.50	224.45	232.68	241.72	251.42	260.65	269.27	123.84	
		S.D.	3.95	5.15	4.33	14.48	13.06	14.77	18.37	15.28	13.97	13.03	
		(n)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	800	Mean	143.94	164.68	193.76	215.55	226.22	238.30	245.09	254.03	263.88	119.94	
		S.D.	5.79	6.13	6.79	10.74	8.15	10.13	9.22	10.38	10.96	13.28	
		(n)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	2,000	Mean	143.79	166.59	196.30	213.95	229.65	237.92	247.25	256.83	262.74	118.95	
		S.D.	7.29	6.38	12.65	14.87	16.61	17.40	16.82	16.54	15.86	9.99	
		(n)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
Female	0	Mean	124.01	141.38	159.31	69.12	179.80	187.94	193.30	199.48	206.46	82.45	
		S.D.	9.23	9.65	9.89	13.61	12.92	14.57	15.53	15.46	13.48	6.21	
		(n)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	320	Mean	124.41	139.92	156.61	168.20	177.14	185.56	191.87	197.97	203.79	79.38	
		S.D.	7.37	8.98	7.81	7.87	9.37	9.40	10.12	10.62	9.66	5.59	
		(n)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	800	Mean	123.40	141.75	157.69	167.43	179.76	185.38	193.77	201.09	205.55	82.15	
		S.D.	3.45	4.83	5.42	6.96	8.54	5.49	6.86	7.78	7.41	7.68	
		(n)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	2,000	Mean	120.88	138.81	154.86	165.24	173.74	180.50	186.91	193.44	198.55	77.60	
		S.D.	5.53	4.23	4.47	6.16	6.12	6.39	6.53	7.09	5.73	5.41	
		(n)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	

S.D.: Standard deviation, (n): Number of animal.

Table 9. Food consumption in rats treated orally with NWCH for 4 weeks

Sex	Dosage (mg/kg)	Days after treatment							
		3	5	10	13	17	20	23	27
Male	0	30.69±0.81	27.67±3.41	27.85±3.07	29.56±2.05	29.51±3.52	28.06±3.48	30.08±2.87	35.55±2.13
	320	32.44±1.70	24.04±2.04	28.84±1.70	24.49±2.61	27.91±0.92	27.13±2.08	28.70±1.87	34.05±1.45
	800	29.46±1.07	24.09±3.38	26.26±4.70	27.05±0.85	22.93±0.37	25.26±0.30	24.16±0.12	33.12±1.31
	2,000	32.45±3.68	24.23±0.40	28.83±3.68	25.64±0.10	26.21±0.11	26.44±0.02	26.03±0.08	33.42±2.51
Female	0	15.72±3.60	18.53±1.44	26.46±0.60	21.37±3.30	25.85±2.52	23.73±2.15	22.44±3.39	25.83±2.51
	320	17.69±1.52	16.54±2.91	25.71±2.50	17.92±0.76	19.33±2.42	20.58±1.21	19.65±0.57	22.96±1.65
	800	16.55±3.18	17.92±1.36	25.46±3.62	23.60±7.26	23.94±7.16	24.15±7.23	23.82±7.10	27.93±5.44
	2,000	15.91±1.27	17.41±1.18	24.24±1.83	23.92±0.41	24.36±0.34	24.76±0.22	24.77±0.05	26.32±1.83

Data are means ± standard deviation.

Table 10. Water consumption in rats treated orally with NWCH for 4 weeks

Sex	Dosage (mg/kg)	Days after treatment							
		3	5	10	13	17	20	23	27
Male	0	27.5±0.71	29.0±0.00	27.5±0.71	31.0±2.83	34.0±1.41	34.5±0.71	39.0±1.41	40.0±2.83
	320	25.5±4.95	29.5±0.71	26.5±0.71	28.5±4.95	33.5±7.78	35.0±7.07	36.5±6.36	37.0±4.24
	800	26.0±2.83	26.5±0.71	30.0±2.83	29.5±2.12	33.5±2.12	33.5±2.12	36.0±0.00	37.5±0.71
	2,000	27.5±2.12	29.0±1.41	27.5±2.12	31.5±0.71	34.5±2.12	35.5±0.71	37.0±4.24	39.0±1.41
Female	0	30.0±0.00	26.0±1.41	26.0±1.41	27.5±0.71	32.0±0.00	35.5±0.71	33.5±2.12	36.0±0.00
	320	24.0±2.83	23.5±3.54	20.0±2.83	21.5±2.12	29.0±1.41	31.5±0.71	31.0±1.41	30.0±1.41
	800	24.0±2.83	27.0±1.41	22.0±0.00	27.0±4.24	31.0±7.07	32.0±5.66	33.0±7.07	33.5±4.95
	2,000	26.0±2.83	24.0±2.83	23.5±4.95	27.5±9.19	29.5±10.61	31.0±9.90	31.0±9.90	30.0±8.49

Data are means ± standard deviation.

Table 11. Biochemical findings in male rats treated orally with NWCH for 4 weeks

Item	Dosage (mg/kg)	No. of rats			
		0	320	800	2,000
TPROT (g/dl)		10	10	10	10
ALB (g/dl)		10	10	10	10
TBILI (mg/dl)		10	10	10	10
AST (U/L)		10	10	10	10
ALT (U/L)		10	10	10	10
ALP (U/L)		10	10	10	10
GLU (mg/dl)		10	10	10	10
CHOL (mg/dl)		10	10	10	10
TRIG (mg/dl)		10	10	10	10
CREAT (mg/dl)		10	10	10	10
BUN (mg/dl)		10	10	10	10
K (mmol/l)		10	10	10	10
Ca (mg/dl)		10	10	10	10
P (mg/dl)		10	10	10	10
Cl (mmol/l)		10	10	10	10
GB (g/dl)		10	10	10	10
A/G ratio		10	10	10	10

TPROT; total protein, ALB; albumin, TBILI; total bilirubin, AST; aspartate aminotransferase, ALT; alanine aminotransferase, ALP; alkaline phosphatase, GLU; glucose, CHOL; cholesterol, TRIG; triglyceride, CREAT; creatinine, BUN; blood urea nitrogen, K; potassium, Ca; calcium, P; phosphorus, Cl; chloride, GB; globulin.

Data are means ± standard deviation.

투여용량군에서 대조군에 비해 유의성있는 변화가 관찰되지 않았다(Table 11, 12).

Table 12. Biochemical findings in female rats treated orally with NWCH for 4 weeks

Item	Dosage (mg/kg)	No. of rats			
		0	320	800	2,000
TPROT (g/dl)		10	10	10	10
ALB (g/dl)		10	10	10	10
TBILI (mg/dl)		10	10	10	10
AST (U/L)		10	10	10	10
ALT (U/L)		10	10	10	10
ALP (U/L)		10	10	10	10
GLU (mg/dl)		10	10	10	10
CHOL (mg/dl)		10	10	10	10
TRIG (mg/dl)		10	10	10	10
CREAT (mg/dl)		10	10	10	10
BUN (mg/dl)		10	10	10	10
K (mmol/l)		10	10	10	10
Ca (mg/dl)		10	10	10	10
P (mg/dl)		10	10	10	10
Cl (mmol/l)		10	10	10	10
GB (g/dl)		10	10	10	10
A/G ratio		10	10	10	10

TPROT; total protein, ALB; albumin, TBILI; total bilirubin, AST; aspartate aminotransferase, ALT; alanine aminotransferase, ALP; alkaline phosphatase, GLU; glucose, CHOL; cholesterol, TRIG; triglyceride, CREAT; creatinine, BUN; blood urea nitrogen, K; potassium, Ca; calcium, P; phosphorus, Cl; chloride, GB; globulin.

Data are means ± standard deviation.

5) 혈액학적 검사

혈액학적 검사에 대한 측정 결과는 암수의 전 투여

Table 13. Hematological findings in rats treated orally with NWCH for 4 weeks

Sex	Male				Female				
	Dosage (mg/kg)	0	320	800	2,000	0	320	800	2,000
Item	No. of rats	10	10	10	10	10	10	10	10
WBC ($\times 10^6/\mu l$)		8.2 \pm 0.9	7.8 \pm 0.9	8.1 \pm 0.6	8.0 \pm 0.9	7.4 \pm 0.9	7.5 \pm 0.9	7.2 \pm 0.6	7.1 \pm 0.8
RBC ($\times 10^3/\mu l$)		7.3 \pm 0.3	7.4 \pm 0.3	7.5 \pm 0.4	7.5 \pm 0.3	6.8 \pm 0.4	7.0 \pm 0.3	7.1 \pm 0.3	6.9 \pm 0.3
Hb (g/dl)		15.2 \pm 1.6	15.7 \pm 0.9	15.9 \pm 0.4	14.8 \pm 0.4	13.4 \pm 1.0	13.1 \pm 0.5	13.0 \pm 0.3	13.7 \pm 0.3
Hct (%)		48.3 \pm 1.6	47.2 \pm 1.8	47.4 \pm 2.1	47.0 \pm 1.9	42.8 \pm 2.4	42.5 \pm 2.5	43.3 \pm 2.2	42.3 \pm 3.3
BLP ($\times 10^3/\mu l$)		1304 \pm 32.0	1291 \pm 28.5	1289 \pm 13.7	1294 \pm 11.7	1304 \pm 45.7	1278 \pm 16.2	1294 \pm 19.6	1282 \pm 12.3
MCV		66.0 \pm 3.3	64.3 \pm 2.8	63.3 \pm 2.5	62.8 \pm 3.7	63.0 \pm 4.8	61.1 \pm 5.3	61.5 \pm 4.9	61.2 \pm 5.9
MCH		20.7 \pm 2.6	21.4 \pm 1.5	21.3 \pm 1.3	19.8 \pm 0.9	19.7 \pm 1.9	18.8 \pm 0.9	18.5 \pm 1.0	19.8 \pm 0.8
MCHC		31.4 \pm 3.3	33.3 \pm 2.0	33.6 \pm 2.1	31.6 \pm 1.6	31.3 \pm 2.7	30.9 \pm 2.4	30.1 \pm 2.0	32.6 \pm 2.8

WBC; white blood cell, RBC; red blood cell, Hb; hemoglobin, Hct; hematocrit, BLP; blood platelet, MCV; mean corpuscular volume, MCH; mean corpuscular hemoglobin, MCHC; mean corpuscular hemoglobin concentration. Data are means \pm standard deviation.

Table 14. Urinalysis in rats treated orally with NWCH for 4 weeks

Sex	Male				Female				
	Dosage(mg/kg)	0	320	800	2,000	0	320	800	2,000
Item	No. of rats	5	5	5	5	5	5	5	5
pH	6	1	3	2					
	7	3	5	2	3	4	4	2	4
	8	1				1	1	3	1
Protein	0	5	5	5	5	5	5	5	5
	0.3 g/l								
	1.0 g/l								
	5.9 g/l								
Glucose	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5
	50 mg/dl								
	100 mg/dl								
	300 mg/dl								
Ketone	1000 mg/dl								
	-	5	5	5	5	5	5	5	5
	+/-								
	+								
	++								
Urobilinogen	+++								
	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5
	1 mg/dl								
	4 mg/dl								
Bilirubin	12 mg/dl								
	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5
	10 mg/dl								
	40 mg/dl								
	80 mg/dl								

Values are expressed as animal numbers.

용량군에서 대조군에 비해 유의성있는 변화가 관찰되지 않았다(Table 13).

6) 뇨검사

뇨검사에 대한 측정 결과는 암수의 전 투여용량군에서 대조군에 비해 유의성있는 변화가 관찰되지 않았다

Table 15. Gross findings in rats treated orally with NWCH for 4 weeks

Sex	Incidence of gross findings							
	Male				Female			
Dosage (mg/kg)	0	320	800	2,000	0	320	800	2,000
Item	No. of rats	10	10	10	10	10	10	10
Adrenal gland								
NGF ^b	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)
Brain								
NGF	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)
Heart								
NGF	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)
Liver								
NGF	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)
Kidney								
NGF	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)
Spleen								
NGF	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)
Prostate								
NGF	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)				
Testis								
NGF	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)				
Ovary								
NGF	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)
Thymus								
NGF	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)

Values are expressed as animal numbers.

^bNGF: No Gross Finding, (): % of findings.

(Table 14).

7) 육안적 부검소견

Table 16. Absolute and relative organ weights in male rats treated orally with NWCH for 4 weeks

Dosage (mg/kg)		0	320	800	2,000
Item	No. of rats	10	10	10	10
	Heart	A.W.	0.997±0.092	0.990±0.086	0.977±0.050
R.W.		0.375±0.028	0.374±0.026	0.376±0.014	0.377±0.029
Liver	A.W.	7.526±0.472	7.270±0.520	7.290±0.624	7.084±0.505
	R.W.	2.834±0.136	2.748±0.198	2.801±0.158	2.755±0.109
Spleen	A.W.	0.682±0.061	0.688±0.066	0.689±0.160	0.639±0.089
	R.W.	0.256±0.018	0.260±0.020	0.263±0.052	0.249±0.034
Kidney L.	A.W.	1.050±0.049	1.031±0.078	1.017±0.093	1.031±0.100
	R.W.	0.396±0.014	0.389±0.015	0.391±0.027	0.401±0.035
R.	A.W.	1.050±0.056	1.031±0.073	1.032±0.098	1.023±0.089
	R.W.	0.395±0.012	0.389±0.015	0.396±0.027	0.398±0.033
Adrenal gland L.	A.W.	0.019±0.003	0.019±0.004	0.015±0.004	0.020±0.002
	R.W.	0.007±0.001	0.007±0.001	0.006±0.002	0.008±0.001
R.	A.W.	0.019±0.003	0.018±0.003	0.018±0.004	0.019±0.002
	R.W.	0.007±0.001	0.007±0.001	0.007±0.001	0.007±0.001
Prostate	A.W.	0.687±0.130	0.691±0.088	0.671±0.044	0.667±0.114
	R.W.	0.258±0.043	0.261±0.028	0.258±0.015	0.259±0.035
Testis L.	A.W.	1.631±0.139	1.626±0.131	1.578±0.100	1.567±0.155
	R.W.	0.616±0.065	0.613±0.025	0.608±0.048	0.610±0.050
R.	A.W.	1.630±0.137	1.629±0.127	1.576±0.088	1.579±0.140
	R.W.	0.616±0.067	0.614±0.024	0.607±0.044	0.615±0.050
Brain	A.W.	1.989±0.071	1.983±0.157	1.966±0.214	1.931±0.112
	R.W.	0.751±0.051	0.749±0.050	0.756±0.072	0.754±0.062
Pituitary gland	A.W.	0.010±0.003	0.009±0.002	0.010±0.002	0.009±0.002
	R.W.	0.004±0.001	0.003±0.001	0.004±0.001	0.003±0.001
Thymus	A.W.	0.526±0.064	0.516±0.027	0.498±0.058	0.487±0.059
	R.W.	0.198±0.021	0.195±0.011	0.191±0.017	0.189±0.021

A.W.: Absolute organ weight(g), R.W.: Relative organ weight(g), Data are means ± standard deviation.

Table 17. Absolute and relative organ weights in female rats treated orally with NWCH for 4 weeks

Dosage (mg/kg)		0	320	800	2,000
Item	No. of rats	10	10	10	10
	Heart	A.W.	0.743±0.046	0.730±0.043	0.729±0.029
R.W.		0.372±0.010	0.368±0.019	0.365±0.010	0.374±0.016
Liver	A.W.	6.101±0.842	5.755±0.323	5.909±0.435	5.920±0.412
	R.W.	3.043±0.255	2.903±0.149	2.957±0.181	3.077±0.184
Spleen	A.W.	0.466±0.052	0.473±0.027	0.459±0.036	0.446±0.036
	R.W.	0.234±0.025	0.239±0.017	0.229±0.013	0.232±0.019
Kidney L.	A.W.	0.739±0.062	0.723±0.064	0.735±0.072	0.716±0.056
	R.W.	0.370±0.019	0.364±0.027	0.368±0.033	0.372±0.026
R.	A.W.	0.741±0.058	0.726±0.062	0.728±0.054	0.708±0.054
	R.W.	0.371±0.018	0.366±0.029	0.364±0.023	0.368±0.029
Adrenal gland L.	A.W.	0.021±0.002	0.019±0.002	0.022±0.001	0.021±0.002
	R.W.	0.011±0.001	0.010±0.001	0.011±0.001	0.011±0.001
R.	A.W.	0.020±0.002	0.019±0.002	0.019±0.002	0.019±0.002
	R.W.	0.010±0.001	0.009±0.001	0.010±0.001	0.010±0.001
Ovary L.	A.W.	0.050±0.006	0.049±0.007	0.054±0.007	0.052±0.007
	R.W.	0.025±0.003	0.024±0.003	0.027±0.003	0.027±0.004
R.	A.W.	0.049±0.006	0.048±0.006	0.053±0.007	0.050±0.006
	R.W.	0.024±0.003	0.024±0.003	0.026±0.003	0.026±0.002
Brain	A.W.	1.702±0.119	1.708±0.077	1.704±0.055	1.650±0.095
	R.W.	0.856±0.094	0.861±0.026	0.854±0.053	0.859±0.059
Pituitary gland	A.W.	0.010±0.002	0.009±0.002	0.011±0.002	0.011±0.001
	R.W.	0.005±0.001	0.004±0.001	0.005±0.001	0.006±0.001
Thymus	A.W.	0.360±0.037	0.367±0.024	0.357±0.069	0.343±0.043
	R.W.	0.181±0.038	0.185±0.010	0.178±0.032	0.178±0.021

A.W.: Absolute organ weight(g), R.W.: Relative organ weight(g), Data are means ± standard deviation.

Table 18. Histopathologic incidence in rats treated orally with NWCH for 4 weeks

Item	Histopathologic incidence				
	Sex	Male		Female	
	Dosage (mg/kg)	0	2,000	0	2,000
	No. of rats	10	10	10	10
Adrenal gland					
Subcapsular cell hyperplasia		n.f.*	n.f.	n.f.	n.f.
Accessory adrenal		n.f.	n.f.	n.f.	n.f.
Hyperplasia, Cortical cell		n.f.	n.f.	n.f.	n.f.
Brain		n.f.	n.f.	n.f.	n.f.
Pituitary gland		n.f.	n.f.	n.f.	n.f.
Heart					
Hyperplasia, Mesothelial cell, Peritoneum		n.f.	n.f.	n.f.	n.f.
Liver					
Chronic inflammation		n.f.	n.f.	n.f.	n.f.
Hepatocellular hypertrophy, Centrilobule		n.f.	n.f.	n.f.	n.f.
Hyperplasia, Mesothelial cell, Peritoneum		n.f.	n.f.	n.f.	n.f.
Kidney					
Hyperplasia, Transitional cell, Pelvis		n.f.	n.f.	n.f.	n.f.
Protein cast		n.f.	n.f.	n.f.	n.f.
Infiltration, LC. interstitium		n.f.	n.f.	n.f.	n.f.
Spleen					
Hyperplasia, Mesothelial cell, Peritoneum		n.f.	n.f.	n.f.	n.f.
Extramedullary hematopoiesis		n.f.	n.f.	n.f.	n.f.
Congestion		n.f.	n.f.	n.f.	n.f.
Testis		n.f.	n.f.		
Prostate		n.f.	n.f.		
Ovary				n.f.	n.f.
Thymus		n.f.	n.f.	n.f.	n.f.

*n.f.: no finding.

암수 전 시험물질투여군에서 부검시 이상소견은 발견되지 않았다(Table 15).

8) 장기중량측정

아급성 독성시험의 장기중량 측정결과에서 대조군과 투여군간의 유의성있는 차이가 나타나지 않았다(Table 16, 17).

9) 조직병리 검사

병리조직학적인 시험결과는 대조군과 투여군간에 독성으로 의심되는 변화가 관찰되지 않았다(Table 18).

IV. 고찰 및 결론

시험물질 신우황청심원에 대한 복강급성독성을 시험하기 위해 랫드에 단회 복강 투여한 후 1주 동안 관

찰하였다. 본 시험결과 사망한 동물은 수컷에서는 750 mg/kg 투여용량군의 2례, 1,070 mg/kg 투여용량군의 4례, 1,500 mg/kg 투여용량군의 4례 및 3,000 mg/kg 투여용량군의 5례가 관찰되었다. 임상증상 관찰에서는 시험물질 투여 직후 암수 전례에서 운동성 저하 현상이 관찰되었으나, 암수 540 mg/kg 투여용량군의 경우에는 부검일까지 점차적으로 운동성이 정상으로 회복되었다. 체중변화에서 수컷 540 mg/kg 투여용량군은 대조군에 비해 유의성있는 체중감소가 관찰되었다($p < 0.01$). 암컷 540 mg/kg 투여용량군은 대조군에 비해 시험물질 투여 후 초기 3일까지 유의성있는 체중감소를 보였으나($p < 0.05$) 그 이후 회복되어 유의성있는 체중감소를 나타내지 않았다. 부검소견은 암수 모든 투여용량군에서 장기의 유착, 결절성 조직의 산재 및 맹장종대 등의 소견을 보였고, 750, 1,070, 1,500 및 3,000 mg/kg 투여용량군 중 사망한 개체의 경우 상기 증상 외에 소장 및 대장의 확장, 허혈성 색조변화 및 복수를 관찰할 수 있었다. 이러한 소견은 과량의 생체의 물질을 복강에 투여할 경우에 일반적으로 보이는 소견으로서 본 시험물질만의 특이한 현상으로 볼 수 없었다.

이상의 결과로서 신우황청심원의 복강투여에 의한 암수 랫드에서의 LD_{50} 는 수컷의 경우 812.3 mg/kg, 암컷의 경우 872.3 mg/kg으로 사료된다.

시험물질 신우황청심원의 아급성경구독성을 조사하기 위하여 암수 SD계통의 랫드에 암수 각각 0, 320, 800, 2,000 mg/kg의 용량으로 10마리씩 4주 동안 주 5회 경구투여하였다. 아급성 독성시험에서 시험기간 동안 사망례는 없었으며 임상증상도 별다른 이상이 관찰되지 않았다. 체중변화, 사료섭취량 및 물섭취량에 대한 측정 결과도 투여기간 동안 모든 암수 투여용량군에서 대조군에 비해 유의성있는 변화가 관찰되지 않았다. 혈액생화학적 검사와 혈액학적 검사 및 뇨검사에 대한 측정 결과에서도 암수의 전 투여용량군에서 대조군에 비해 유의성있는 변화가 관찰되지 않았다. 육안적 부검소견 및 조직병리 검사 결과 대조군과 투여군간에 독성으로 의심되는 변화가 관찰되지 않았다. 장기중량 측정결과에서도 대조군과 투여군간의 유의성있는 차이가 나타나지 않았다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 신우황청심원을 랫드에 4주간 경구 투여한 아급성독성시험에서의 최대무해용량은 2,000 mg/kg/day 이상인 것으로 판단된다.

참고문헌

Cho, T.S., Lee, S.M., Kim, N.D., Huh, I.H., Ahn, H.S.,

- Kwon, K.I., Park, S.K., Shim, S.H., Shin, D.H. and Park, D.K. (1997a): Pharmacological actions of new woohwangsimwon pill on cardiovascular system, *Yakhak Hoeji*, **41**, 802-816.
- Cho, T.S., Lee, S.M., Kim, N.D., Huh, I.H., Kwon, K.I., Park, S.K., Shim, S.H., Shin, D.H. and Park, D.K. (1997b): Pharmacological actions of *l*-Muscone on cardiovascular system, *J. Appl. Pharmacol.*, **5**, 299-305.
- Cho, T.S., Lee, S.M., Lee, E.B., Cho, S.I., Kim, Y.K., Shin, D.H. and Park, D.K. (1997c): Pharmacological actions of *l*-Muscone on cerebral ischemia and central nervous system, *J. Appl. Pharmacol.*, **5**, 306-315.
- Cho, T.S., Lee, S.M., Lee, E.B., Cho, S.I., Kim, Y.K., Shin, D.H. and Park, D.K. (1997d): Pharmacological actions of new woohwangsimwon pill on cerebral ischemia and central nervous system, *Yakhak Hoeji*, **41**, 817-828.
- Oh, S.M., Yeon, J.D., Nam, H.Y., Park, D.K., Cho, M.H. and Chung, K.H. (1997): Acute and subacute toxicity studies of *l*-Muscone in rats, *Kor. J. Toxicol.*, **13**, 435-447.
- You, A.S., Kweon, O.K., Sung, H.J., Kwak, H.I., Fang, M.Z., Park, D.K., Chung, K.H., Yoon, H.I. and Cho, M.H. (1997): Acute and subacute toxicity of *l*-Muscone in beagle dogs, *Kor. J. Toxicol.*, **13**, 449-460.
- 김재길 (1984): 원색천연약물대사전, 남산당 2, p. 345.
- 염태환 (1975): 동의처방대전, 행림서원, 196, p. 332.
- 醫藥品 非臨床試驗 ガイドライン, 藥事日報社, 1997.
- 의약품등의 안전성·유효성심사에 관한 규정 (1997. 7. 31.), 보건복지부, 일반독성과, 식품의약품안전본부 고시(1996. 4. 16 제정)의 의약품등의 독성시험기준 제96-8호.
- 이 천 (1981): 의학입문, 대성문화사, p. 215.
- 진사문 (1987): 태평혜민화제국방, 선풍출판사, 대북 p. 81.
- 허 준 (1987): 원본동의보감, 신증판, 남산당, p. 692.
- 황도연 (1997): 방약합편, 행림출판사, p. 102.