



Original Article / 원저

炮製附子 및 炮製附子 함유 參附湯의 aconitine 함량 분석과 단회투여 독성시험

배정후¹, 김경철², 신순식^{3*}, 황원덕^{1*}

¹동의대학교 한의과대학 내과학교실

²동의대학교 한의과대학 진단학교실

³동의대학교 한의과대학 방제학교실 및 한방당뇨비만연구소

Analysis of Aconitine Contents in Aconiti Radix Lateralis Preparata and Sambutang-P that Contains Aconiti Radix Lateralis Preparata and Single Oral Toxicity Test

Jeong Hu Bae¹, Gyeong Cheol Kim², Soon Shik Shin^{3*}, Won Deuk Hwang^{1*}

¹Department of Korean Internal Medicine, College of Korean Medicine, Dong-Eui University

²Department of Diagnostics, College of Korean Medicine, Dong-Eui University

³Department of Formula Sciences and Research Center of Korean Medicine for Diabetes and Obesity, College of Korean Medicine, Dong-Eui University

ABSTRACT

Objectives : The contents of aconitine in aconiti radix lateralis preparata, purified hot water extract of Aconiti Radix lateralis preparata, and purified hot water extract of Sambutang-P that contains Aconiti Radix lateralis preparata was analyzed to compare toxicity. Toxicity of Sambutang-P that contains Aconiti Radix lateralis preparata was assessed with a single oral toxicity test on 6-week-old male and female Sprague-Dawley rats.

Methods : 1. The contents of aconitine in Aconiti Radix lateralis preparata, purified hot water extract of Aconiti Radix lateralis preparata, and purified hot water extract of Sambutang-P that contains Aconiti Radix lateralis preparata was analyzed using the purity test according to the 『Korean Herbal Pharmacopoeia』 .

2. 2,000mg/kg was injected for the single oral toxicity test of purified hot water extract of Sambutang-P that contains Aconiti Radix lateralis preparata, and the test was done for a test group (injection) and a control group, each with 5 male and 5 female rats. For 14 days after injection, rats were observed for general symptoms and changes in weight. Afterwards, blood biochemical test, autopsy, and histopathological exam of the liver was conducted.

Results : 1. The contents of aconitine was 0.0785% for Aconiti Radix lateralis preparata, 0.1510% for purified hot water extract of Aconiti Radix lateralis preparata, and 0.1248% for purified hot water extract of Sambutang-P that contains Aconiti Radix lateralis preparata.

2. There was no death of either male or female rats in both the control group and the test group (injection of 2,000mg/kg).

3. No unusual symptom was observed in both the control group and the test group (injection of 2,000mg/kg).

4. No significant change in weight was observed for both male and female rats in the test group (2,000mg/kg).

5. The histopathological exam of ALT, AST, ALP, GGT and LDH showed no significant changes for both male and female rats in the test group (2,000mg/kg).

6. According to the autopsy results, no visible abnormality of organs or tissues was found in both the control group and the test group (2,000mg/kg).

7. According to the histopathological exam of the liver, the effect of the injected material was not observed for either male or female rats in the test group (2,000mg/kg).

Conclusions : The contents of aconitine in Aconiti Radix lateralis preparata was lower for decoction of Sambutang-P with ginseng radix alba than for decoction of only Aconiti Radix lateralis preparata. This suggests that ginseng radix alba can dilute toxicity of Aconiti Radix lateralis preparata. As for a single oral toxicity test of Sambutang-P that contains Aconiti Radix lateralis preparata, no abnormal reaction was observed even when the injection amount far exceeded a toxic dose or a lethal dose. Thus, it is deemed that using Sambutang-P at a clinically prescribed dose would not lead to hepatotoxicity.

Key words : Aconitine, Pojebuja, Pojebuja decoction, Sambutang-P, single oral toxicity test

I. 서론

附子は 미나리아재비과 (毛茛科: Ranunculaceae)에 속한 多年生草本인 烏頭 (Aconitum carmichaeli Debx.)의 子根을 가공한 것이다. 6월 하순부터 8월 상순에 母根, 鬚根 및 토사를 제거한 것을 泥附子라고 하며 이것을 가공방법에 따라 鹽附子, 黑順片 및 白附

片으로 나눈다. 附子の 性味는 辛甘, 大熱有毒하고, 그 歸經은 心, 腎, 脾經이다. 回陽救逆, 補火助陽 및 散寒止痛의 효능이 있어 亡陽證, 陽虛陽痿宮冷·不孕不育, 陽虛久瀉久痢, 陽虛水腫, 陰黃證, 陽虛外感風寒, 寒痺證, 虛寒頭痛證, 胸痺證, 虛寒腹痛, 虛寒腹痛便秘 및 虛寒痛經을 치료한다^{1,2)}. 附子에는 脂溶性 및 水溶性 알칼로이드, 다당류, 식물 스테롤, 유기산, 유기염기,

*Corresponding author : Won Deuk Hwang, Department of Korean Internal Medicine, College of Korean Medicine, Dong-Eui University, 52-57, Yangjeong-ro, Busanjin-gu, Busan, 47227, Republic of Korea.

Tel : +82-51-850-8625, Fax : +82-51-853-4036, E-mail : wdhwang@deu.ac.kr

*Corresponding author : Soon Shik Shin, Department of Formula Sciences and Research Center of Korean Medicine for Diabetes and Obesity, College of Korean Medicine, Dong-Eui University, 52-57, Yangjeong-ro, Busanjin-gu, Busan, 47227, Republic of Korea.

Tel : +82-51-850-7414, Fax : +82-51-853-4036, E-mail : ssshin@deu.ac.kr

• Received : January 31, 2017 / Revised : February 12, 2017 / Accepted : February 13, 2017

단백질, 효소, 아미노산 및 미량원소³⁾가 들어 있다. 알칼로이드에는 mono ester type alkaloid와 diester type alkaloid가 있고, 독성의 정도에서 mono ester type alkaloid는 diester type alkaloid의 1/100~1/200이므로 diester type alkaloid의 aconitine, mesaconitine 및 hypaconitine이 독성이 커서 독성지표로 이용된다^{4,5)}. 『中華人民共和國藥典』(2015年版)에서 aconitine, mesaconitine 및 hypaconitine의 총합량이 鹽附子是 0.020%를 넘지 않아야하고, 炮製한 黑順片과 白附片은 0.010%를 넘어서는 안되며, 鹽附子の benzoyl aconine, benzoyl mesaconine 및 benzoyl hypaconine의 총합량은 0.010%보다 적어서는 안된다⁶⁾ 라고 규정하고 있다. 이들 성분 중 aconitine은 사람이 0.2mg을 내복하면 중독을 일으키고, 그 치사량은 3-4mg이다^{7,8)}.

부자의 중독은 복용 후 바로 나타나기도하고, 10분에서 3시간 혹은 3일 간의 잠복기를 거친 뒤에 나타나기도 한다. 중독증상은 신경계통과 순환계통이 추가되고, 그 다음으로는 소화계통 증상이다. 그 기전 중의 하나는 미주신경을 흥분시키고 다른 하나는 직접적으로 심장에 독성작용을 나타낸다. 그 중독증상으로는 입술과 손발의 마비감이 있고, 그 뒤에 입술이 비뚤어지고 침을 흘리며 손발의 경련, 推搖, 胸悶, 心悸, 頭暈, 眼花, 胃部의 灼熱感이 생기고, 이후에는 惡心嘔吐, 설사, 煩躁, 徐脈, 호흡곤란, 혈압하강, 언어장애, 大小便失禁이 나타나고, 이어서 혼수상태, 推搖, 호흡정지, 심하면 순환기계와 호흡기계의 不全으로 사망에 이르게 된다⁹⁾.

『東醫寶鑑』에서 附子가 主藥으로 配伍된 처방은 70方に 이르렀고¹⁰⁾, 『方藥合編』에서 부자를 사용한 처방은 전체 처방의 7.1%인 33方に 이르렀다¹¹⁾, 특히 李圭駿(號는 石谷, 1855~1923)은 扶陽論을 제창하고 淸上通中溫下의 治法을 제시하였으며, 그의 제자인 李元世가 石谷의 처방들을 병증별로 분류하여 편집한 『新方新編』에는 附子를 사용한 처방이 전체 처방 중에서 542方으로 82%를 차지한다¹²⁾. 附子는 독성이 있어 중독증상이 나타나고 심하면 생명이 지장을 줄 수 있음에도 불구하고 임상에서 頻用되고 있음을 알 수 있다. 임상에서 附子 單味를 사용할 때 보다는 附子의 독성을 줄이고 藥效를 늘리기 위하여 2개 이상의 약물로 조성된 복합처방을 응용하는 경우가 많다. 2味로 조성된 대표적인 처방으로 參附湯을 들 수 있다. 參附湯은

『醫方類聚』 150卷의 「諸虛門」에서 『嚴氏濟生續方』 「補益」을 인용하여 처음 수재된 처방으로 人參 半兩과 附子炮 1兩으로 조성되어 있고, 眞陽不足, 上氣喘急, 自汗盜汗, 氣短頭暈, 但是陽虛氣弱之證을 치료한다¹³⁾고 하였다.

최근 임상연구에 의하면 附子는 肝機能¹⁴⁻¹⁶⁾, 腎機能¹⁷⁾ 및 心臟¹⁸⁾에 별다른 有害 작용을 나타내지 않았으며, 도리어 이들의 생리적인 기능을 개선시킨다고 보고하였다. 이는 부자의 임상용량을 준수한다면 부작용으로 작용하는 것이 아니라 생리활성을 나타낸다는 것을 시사한다. 또한 生附子가 함유된 參附湯의 단회투여독성시험에서도 이상반응이 없었으며, 특히 간기능의 이상소견이 없는 것으로 나타났다¹⁹⁾.

生附子 원약재, 生附子의 열수 추출물 및 生附子가 함유된 參附湯에 대해 aconitine 함량분석과 生附子와 人參으로 조성된 參附湯의 단회투여독성시험에 대하여는 보고되었으나¹⁹⁾ 生附子와 관련된 일련의 연구와 유사하게 炮製附子를 이용한 연구는 아직 보고되지 않았다. 본 논문에서는 炮製附子 원약재, 炮製附子 열수 추출물 및 炮製附子를 함유한 參附湯 열수 추출물의 aconitine 함량을 분석하고, 암수 Sprague-Dawley 랫드를 이용하여 炮製附子를 함유한 參附湯 열수 추출물의 단회투여독성시험에 대한 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 연구방법

1. 실험재료

1) 실험동물

㈜오리엔트바이오 (ORIENTBIO Inc., Republic of Korea)의 SPF 환경에서 사육하고 공급한 5주령의 Sprague-Dawley (CrI: CD(SD)) 랫드의 암수 각 12마리를 구입하여 1주 간 실험실 환경에 적응하도록 한 후 실험에 사용하였다.

실험 기간 동안 스테인레스 철망사육상자 (260W×350D×210H(mm)) 당 수용동물 수는 검역 및 순화기간에는 3마리, 관찰기간에는 1마리로 하였고, 온도 (실측치: 21.1~22.8℃, 허용범위: 19.0~25.0℃), 습도 (실측치: 45.9~53.7%, 허용범위: 30.0~70.0%), 환기 횟수 10~15회/hour, 조도 150~300Lux, 그리고 12시간의 명암 (점등: 07:00, 소등: 19:00) 주기가 있는 실험실 환경에서 고품사료 (Harlan Laboratories,

Inc., U.S.A.)를 급이기에 넣어 자유섭취시켰다. 사료의 분석은 Harlan Laboratories, Inc.에서 제공한 사용 로트의 분석성적서를 확인한 결과, 본사에서 정한 허용범위 내에 속하였다. 급수방법은 청주시 수돗물을 필터유수살균기로 여과 후 자외선을 조사하여 음수를 자유섭취시켰다. 음수의 분석은 충청북도 보건환경연구원 (Cheongju, Republic of Korea)에 의뢰하여 ‘먹는물 수질기준 및 검사 등에 관한 규칙’ (환경부령 제 553호, 2014년 4월 30일, 타법개정)의 전 항목에 대하여 실시하였다. 모든 항목에 대한 검사는 1회/년, 미생물 검사는 1회/월 실시하여 분석결과를 확인한 결과, 본사에서 정한 허용범위 내에 속하였다.

사육상자 및 급이기는 1회/2주 빈도로 교환하였다. 사육기재는 자동세척기를 이용하여 세척하였고, 고압증기멸균기를 이용하여 멸균하였다.

반입시 동물의 외관 검사를 실시하였고, 전자저울

(CP3202S, Sartorius, Germany)로 체중을 측정하였다. 6일간의 순화기간 중에 매일 1회 일반증상을 관찰하였다. 단, 동물입수 시 검역실에서 약 3일간 일반증상을 관찰한 후 동물실로 이동하였다. 순화기간 종료일에 체중을 측정하고, 일반증상 및 체중변화 (Table 1)를 확인하여 모든 동물에 이상이 없음을 확인하였다.

입수시 성별, 동물수, 주령 및 체중범위는 수컷 12마리 5주령 120.6~134.6g, 암컷 12마리 5주령 106.8~123.4g이었고, 투여시 성별, 동물수, 주령 및 체중범위는 수컷 10마리 6주령 152.4~162.7g, 암컷 10마리 6주령 119.9~134.7g이었다.

본 실험은 동물보호법 (제정 1991년 5월 31일 법률 제4379호, 일부개정 2015년 1월20일 법률 제13023호)에 근거한 ㈜바이오톡스텍 (Cheongju, Republic of Korea)의 동물실험윤리위원회에 의해 승인되었다 (승인번호: 150500).

Table 1. Body weights during an acclimation period in male and female SD rats

Male				Female			
Animal ID	Temporary Animal ID	Receipt	Group assignment	Animal ID	Temporary Animal ID	Receipt	Group assignment
1101	1010	130.3	175.0	2101	2001	116.5	144.1
1102	1001	127.7	180.4	2102	2012	123.4	149.8
1103	1006	128.7	174.5	2103	2010	118.7	144.1
1104	1005	130.1	180.3	2104	2005	106.8	141.1
1105	1011	128.4	176.9	2105	2006	121.5	144.1
1201	1002	125.8	177.2	2201	2011	121.8	150.2
1202	1003	125.3	170.5	2202	2004	118.6	145.3
1203	1007	128.8	179.0	2203	2009	123.4	146.6
1204	1004	127.5	180.7	2204	2008	120.8	146.0
1205	1009	124.6	178.8	2205	2003	113.3	135.0
	1008	134.6	186.4		2002	111.8	131.6
	1012	120.6	163.2		2007	117.0	129.6
	Mean	127.7	176.9		Mean	117.8	142.3
	S.D.	3.5	5.8		S.D.	5.1	6.7
	N	12	12		N	12	12

2) 실험물질

실험에 사용된 물질은 炮製附子 (Pojebuja-PH) 원약재, 炮製附子 열수추출물 (Pojebuja-PD), 炮製附子 함유 參附湯 열수추출물 (Sambutang-P)을 사용하였다. 炮製附子 (Aconiti Lateralis Radix Preparata)는 중국 四川省에서 생산된 鹽附子를 炮製한 것으로 Bozhou Sungrim Traditional Chinese Medicine Co. Ltd. (Anhui, China)를 통하여 구입하였고, 參附湯의 조성

약물인 人蔘 (Ginseng Radix Alba)은 한국 충남 금산군에서 생산된 백삼 4년근으로 광명생약 (Busan, Republic of Korea)에서 구입하였으며 (Figure 1), 동의대학교 한의과대학 방제학교실 (Busan, Republic of Korea)에서 정선한 뒤에 이들 한약재를 사용하였다. 炮製附子 (Pojebuja-PH) 원약재는 炮製附子 20g을 그대로 사용하여 aconitine의 함량을 측정하였고, 炮製附子 열수추출물 (Pojebuja-PD)은 炮製附子 80g에

정수물 3000cc를 약탕항아리 (Geum-gwang, Hamyang, Republic of Korea)에 넣고 100℃에서 2시간 전탕하였다. 이 전탕액을 농축기용 워터베이스 (SB-1100, Eyela, Japan)에서 70℃로 맞추고, 원심농축기 (N-1100, Eyela, Japan)로 가열 농축한 후 동결건조시스템 (FDU-2100, Eyela, Japan)에서 동결건조하여 13.2g을 얻었다. 炮製附子 함유 參附湯 열수추출물 (Sambutang-P)은 炮製附子 100g과 인삼 100g에 정

수물 4000cc를 약탕항아리(Geum-gwang, Hamyang, Republic of Korea)에 넣고 100℃로 2시간 전탕하였다. 이 전탕액을 농축기용 워터베이스 (SB-1100, Eyela, Japan)에서 70℃로 맞추고, 원심농축기 (N-1100, Eyela, Japan)로 열수 농축한 후 동결건조시스템 (FDU-2100, Eyela, Japan)에서 동결건조하여 42.3g을 얻을 수 있었다 (Table 2).

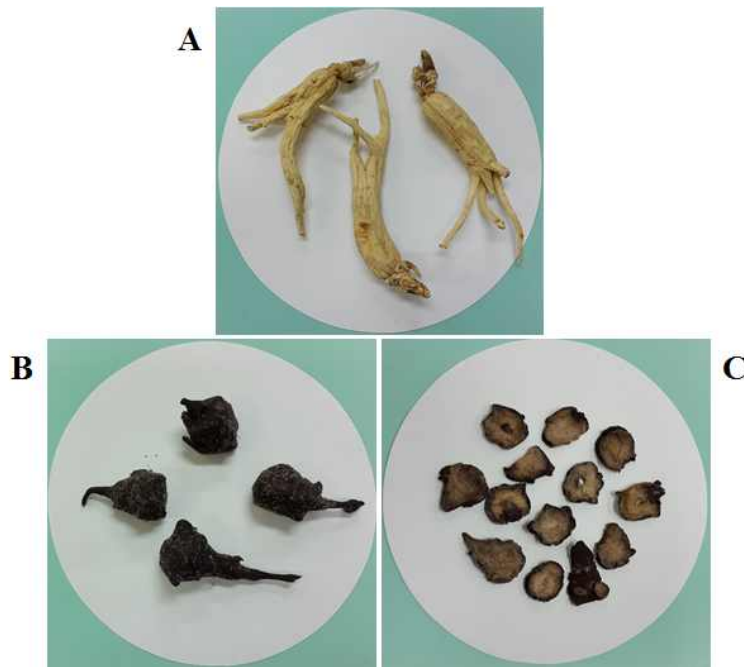


Figure 1. Ingredients of Sambutang-P. A, Ginseng Radix Alba; B, Aconiti Radix lateralis; C, Aconiti Radix lateralis preparata

Table 2. The Composition of extracts

Extracts	Korean/Chinese name	Ingredient (%)			Yield (%)	
Pojebuja-PH*	Pojebuja/炮製附子	<i>Aconiti</i>	<i>Radix</i>	lateralis	100	100
Pojebuja-PD**	Pojebuja/炮製附子	<i>Aconiti</i>	<i>Radix</i>	lateralis	100	16.50
Sambutang-P***	Pojebuja/炮製附子	<i>Aconiti</i>	<i>Radix</i>	lateralis	50	100
	Insam/人蔘	<i>Ginseng Radix</i>	Alba		50	

* Pojebuja-PH : Aconiti Radix lateralis preparata

** Pojebuja-PD : Hot water extract of Aconiti Radix lateralis preparata

*** Sambutang-P : Hot water extract of Sambutang containing Aconiti Radix lateralis preparata

3) 실험군 및 투여방법

군 분리는 모든 동물에 대하여 순화종료일 (군분리일)에 실시하였으며, 군 분리일의 평균체중에 가까운 암수 각 10마리를 선발하였다. 선발한 동물을 각 군 평균체중이 균등하도록 무작위로 암수 각 2군, 군당 5마리로 군 분리하였다.

단회투여 독성시험에 사용한 炮製附子 함유 蔘附湯 열수추출물 (Sambutang-P)은 전자저울 (CP323S, Sartorius, Germany)로 칭량하여 유리 조제병에 넣고, 부형제를 일부 넣어 교반기로 현탁시키고 부형제를 가하여 규정농도 (200 mg/mL)로 조제하였다. 조제물은 투여당일 조제하였다. 炮製附子 함유 蔘附湯 열수추출물 (Sambutang-P)은 그 성상이 결정성 고체이고, 냉장 (실측치: 4.5~5.7℃, 허용범위: 2~8℃)과 제습하고 고온 노출을 피하여 보관하였으며, 부형제는 (주)중외제약 (Choongwae Pharma Corp., Republic of Korea)에서 공급한 주사용수 (DBA5006)를 실온으로 보관하여 사용하였다.

투여액량은 10mL/kg으로 하였고, 개체별 투여액량은 절식 후 투여당일의 체중을 기준으로 산출하였다. 경구투여용 존테를 부착한 일회용 주사기 (3 mL)를 이용하여 위내에 단회 강제 투여하였다. 모든 동물은 투여 전에 약 16시간 이상 음수는 자유섭취 시키면서 절식시키고, 투여 후 약 4시간에 사료를 급여하였다.

시험물질의 임상적용 예정 용량은 0.8 g/human/day (성인 60 kg 기준시 약 13.3 mg/kg)이다. 본 시험의 예비시험 (Biototech Study No.: B15568P1)으로 2,000 mg/10mL/kg을 암수 랫드 각 1마리에 단회 경구 투여한 결과 사망례가 관찰되지 않았다. 따라서, 본 시험의 투여용량은 2,000 mg/kg의 단일 시험물질 투여군을 설정하였다. 대조군에는 시험물질 투여군과 동일한 액량의 부형제를 투여하였다 (Table 3).

Table 3. Experimental groups

Group	Dose (mg/kg)	Liquid (mL/kg)	No. of animals (animal ID)	
			Male	Female
G1 Control Group	0	10	5 (1101~1105)	5 (2101~2105)
G2 Sambutang-P Group	2,000	10	5 (1201~1205)	5 (2201~2205)

2. 연구방법

1) Aconitine 함량분석

(주)동의한약분석센터 (Busan, Republic of Korea)에서 炮製附子, 열수추출 炮製附子 및 炮製附子 함유 열수추출 蔘附湯의 aconitine 함량을 『대한민국약전의 한약(생약)규격집』의 순도시험법²⁰⁾에 의하여 분석하였고, 그 시험법은 다음과 같다.

“준비한 시료 약 5g을 삼각플라스크에 넣고 메탄올 50 mL를 넣은 다음 교반기를 사용하여 30 분간 교반 추출하고 탈지면을 써서 여과하고 소량의 메탄올로 씻고 여액과 씻은 액을 합한다. 잔류물에 대하여 같은 방법으로 메탄올 50 mL씩으로 6~7번 반복 추출한 다음 각 추출액을 합한다 (최종 추출액이 드라젠돌프 시액에 의하여 알칼로이드의 정색반응이 나타나지 않을 때까지). 진 추출액을 수욕에서 증발건조한 다음 10 % 염산 5 mL를 넣고 입자가 고르게 퍼지도록 흔들어 섞은 다음 압착한 탈지면으로 여과하고 탈지면은 물로 여러번 씻는다. 여액과 씻은 액을 합하고 암모니아수를 넣어 알칼리성으로 한 다음 분액갈매기에 넣고 클로로포름 20 mL씩으로 6~7 회 반복하여 흔들어 섞은 다음 클로로포름층을 합하고 무수황산나트륨 5 g을 넣어 흔들어 섞은 다음 여과한다. 무수황산나트륨을 클로로포름 소량으로 씻고 여액과 씻은 액을 합한 다음 수욕에서 증발건조하여 전량이 0.5 mL가 되게 하여 검액으로 한다. 따로 아코니틴표준품 10.0 mg을 클로로포름에 녹여 표준액으로 한다. 이들 액을 가지고 박층크로마토그래프법에 따라 시험한다. 검액 및 표준액 100 μ L (확인용은 별도로 50 μ L)씩을 박층크로마토그래프용실리카겔을 써서 만든 박층판에 점적한다. 다음에 클로로포름-아세톤혼합액(3 : 2)을 전개용매로 하여 약 10 cm 전개한 다음 박층판을 바람에 말린다. 여기에 분무용 드라젠돌프시액을 고르게 뿌릴 때 검액에서 얻은 반점중 표준액에서 얻은 반점과 색상 및 Rf 값이 같은 부위를 각각 박리하여 각각 에탄올 8 mL를 넣고 55~60 $^{\circ}$ C 수욕에서 5 분간 가온한 다음 에탄올을 넣어 정확히 10 mL가 되게 하고 측정용 검액 및 표준액으로 한다. 이들 측정용 검액 및 표준액을 에탄올을 대조로 하여 파장 231 nm에서 흡광도 As 및 Ar를 측정한다. 아코니틴 함량의 수식은 다음과 같다.

아코니틴(C₃₄H₄₇N₀O₁₁ : 645.75)의 양(mg) = 표준품의 양(mg) × Ar/As”



2) 단회투여 독성시험

(1) 일반증상 관찰

투여당일 (0일)에는 투여 후 30분, 1, 2, 4 및 6시간째에 일반상태 (독성징후의 종류, 발현시기, 회복시기 등) 및 사망유무를 관찰하였다. 투여 후 1일부터 14일까지는 매일 1회 일반증상을 관찰하였다.

(2) 체중 측정

체중은 투여당일 (투여 전), 투여 후 1, 3, 7 및 13일에 측정하였다.

(3) 혈액생화학적 검사

모든 동물에 대하여 부검 전 약 18시간 이상 절식시킨 후, 부검일에 isoflurane으로 마취하여 배대동맥으로부터 혈액을 채취하여 3,000 rpm으로 10분간 원심분리 후 혈청을 취하여 이용하였다. 락테이트 탈수소효소 (LDH)의 측정은 헤파린 함유 tube에 혈액을 넣고 3,000 rpm으로 10분간 원심분리 후 혈장을 취하여 이용하였다. 혈액생화학 분석기 (7180, HITACHI, Japan)로 다음 항목들을 측정하였다. 알라닌 아미노기전이효소 (alanine aminotransferase, ALT)와 아스파테이트 아미노기전이효소 (aspartate aminotransferase, AST)는 JSCC법, 알칼라인 포스파타제 (alkaline phosphatase, ALP)는 4-Nitrophenyl-phosphate 2Na법, 락테이트 탈수소효소 (lactate dehydrogenase, LDH)는 UV-Kinetic법, 감마 글루타밀 트랜스펩티다제 (gamma glutamyl transpeptidase, GGT)는 IFCC법으로 측정하였고, 단위는 모두 U/L로 하였다.

(4) 동물 부검

모든 동물에 대해서 투여 후 14일에 isoflurane 마취 하에 배대동맥에서 방혈하여 안락사시키고 부검하였다. 부검을 실시한 모든 동물에 대해서 전신의 장기 및 조직에 대하여 상세한 육안검사를 실시하였다.

(5) 조직병리학적 검사

부검 시 대조군 및 시험물질 투여군의 간 (liver)을 적출하여 10% 중성완충 포르말린용액 (neutral buffered

formalin)에 고정하였다. 고정된 검체는 삭정, 탈수 및 파라핀 포매 등의 일반적인 조직처리과정을 거쳐 조직절편을 제작하여 박절한 후, Hematoxylin & Eosin (H&E) 염색을 실시하였다. 잔여 장기 및 조직은 10% 중성완충 포르말린용액에 보존하였다.

조직병리학적 검사는 대조군 및 시험물질 투여군 (G1 및 G2)의 간의 장기 및 조직에 대하여 검경하였다.

3. 통계분석

실험에서 얻어진 체중 및 혈액생화학적 검사 결과는 SAS (version 9.3, SAS Institute Inc., U.S.A.)를 사용하여 검정하였다. Folded-F 검정법을 사용하여 등분산성을 검정한 결과 (유의수준: 0.05), 등분산인 경우 Student t-test를, 등분산이 기각되면 Aspin-Welch t-test를 실시하여 유의성을 확인하였다 (유의수준: 양측 0.05 및 0.01).

III. 實驗 結果

1. Aconitine 함량분석

炮製附子, 열수추출 炮製附子 및 炮製附子 함유 열수추출 參附湯의 aconitine 함량은 다음과 같다 (Table 4).

Table 4. Aconitine contents of Pojebuja-extracts

Buja-Extracts	Content(%)
Pojebuja-PH*	0.0785
Pojebuja-PD**	0.1510
Sambutang-P***	0.1248

* Pojebuja-PH : Aconiti Radix lateralis preparata

** Pojebuja-PD : Hot-water extract of Aconiti Radix lateralis preparata

*** Sambutang-P : Hot-water extract of mixed Ginseng with Buja Aconiti Radix lateralis preparata

2. 사망유무

관찰기간 동안, 암수 모든 대조군 및 삼부탕 열수추출액 2,000 mg/kg 투여군에서 사망례는 없었다 (Table 5).

Table 5. Mortality of Sambutang-P in male and female SD rats

Sex	Group / Dose (mg/kg)	No. of animals	Days after dosing														Mortality	
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		14
Male	G1 0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	G2 2,000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
Female	G1 0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	G2 2,000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5

3. 일반증상

투여당일 (0일)에는 투여 후 30분, 1, 2, 4 및 6시간째에 일반상태 (독성징후의 종류, 발현시기, 회복시기 등) 및 사망유무를 관찰하였고, 투여후 1일부터 14

일까지는 매일 1회 일반증상을 관찰하였다. 관찰기간 동안, 암수 모든 대조군 및 삼부탕 열수추출액 2,000 mg/kg 투여군에서 일반증상의 이상은 관찰되지 않았다 (Table 6, 7).

Table 6. Clinical signs of Sambutang-P in male SD rats

Sex	Group / Dose (mg/kg)	Animal ID	Clinical sign	Hours (Day 0) after dosing				
				0.5	1	2	4	6
Male	G1 0	1101		-	-	-	-	-
		1102		-	-	-	-	-
		1103		-	-	-	-	-
		1104		-	-	-	-	-
		1105		-	-	-	-	-
	G2 2,000	1201		-	-	-	-	-
		1202		-	-	-	-	-
		1203		-	-	-	-	-
		1204		-	-	-	-	-
		1205		-	-	-	-	-

- : No observable abnormality

Sex	Group / Dose (mg/kg)	Animal ID	Clinical sign	Days after dosing													
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Male	G1 0	1101		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		1102		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		1103		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		1104		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		1105		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	G2 2,000	1201		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		1202		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		1203		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		1204		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		1205		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- : No observable abnormality



Table 7. Clinical signs of Sambutang-P in female SD rats

Sex	Group / Dose (mg/kg)	Animal ID	Clinical sign	Hours (Day 0) after dosing				
				0.5	1	2	4	6
Female	G1 0	2101		-	-	-	-	-
		2102		-	-	-	-	-
		2103		-	-	-	-	-
		2104		-	-	-	-	-
		2105		-	-	-	-	-
	G2 2,000	2201		-	-	-	-	-
		2202		-	-	-	-	-
		2203		-	-	-	-	-
		2204		-	-	-	-	-
		2205		-	-	-	-	-

- : No observable abnormality

Sex	Group / Dose (mg/kg)	Animal ID	Clinical sign	Days after dosing														
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Female	G1 0	2101		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2102		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2103		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2104		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2105		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	G2 2,000	2201		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2202		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2203		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2204		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2205		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- : No observable abnormality

4. 체중변화

관찰기간 동안, 암수 모두 삼부탕 열수추출액 2,000 mg/kg 투여군에서 대조군과 비교시 유의성 있는 체중 변화는 인정되지 않았다 (Figure 2, 3, Table 8).

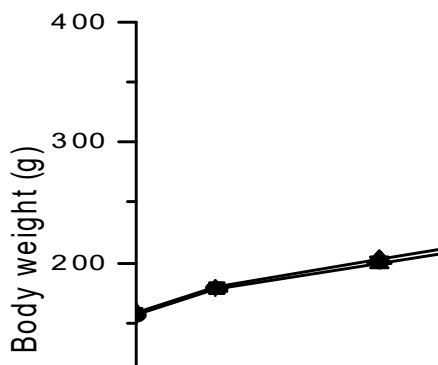


Figure 2. Body weights of Sambutang-P in male SD rats

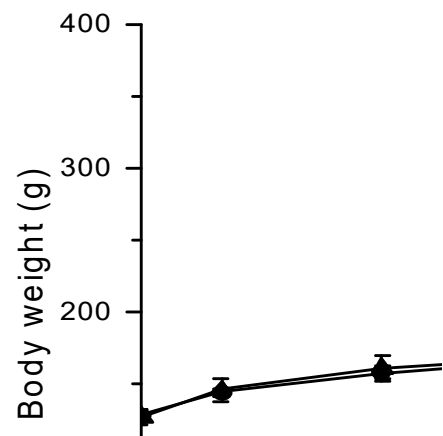


Figure 3. Body weights of Sambutang-P in female SD rats

Table 8. Body weights of Sambutang-P in male and female SD rats

Sex	Group / Dose (mg/kg)	Animal ID	Days after dosing					Gain
			0	1	3	7	13	0~13
Male	G1 0	1101	154.8	177.3	195.3	235.2	297.1	142.3
		1102	159.4	182.4	204.9	250.4	305.5	146.1
		1103	155.3	172.1	194.9	236.5	286.4	131.1
		1104	159.6	178.9	203.6	242.5	297.2	137.6
		1105	155.7	181.7	202.4	248.6	308.2	152.5
		Mean	157.0	178.5	200.2	242.6	298.9	141.9
		S.D.	2.3	4.1	4.8	6.9	8.6	8.1
	N	5	5	5	5	5	5	
	G2 2,000	1201	159.0	183.0	204.9	246.1	312.0	153.0
		1202	152.4	174.7	199.6	246.3	300.6	148.2
		1203	160.1	180.8	203.2	245.7	304.1	144.0
		1204	162.7	182.5	202.8	250.3	309.8	147.1
		1205	159.7	175.7	202.8	247.0	294.3	134.6
		Mean	158.8	179.3	202.7	247.1	304.2	145.4
		S.D.	3.8	3.9	1.9	1.9	7.1	6.8
N	5	5	5	5	5	5		
Female	G1 0	2101	125.0	142.9	154.6	170.4	192.9	67.9
		2102	133.9	148.8	165.1	183.3	206.6	72.7
		2103	127.0	142.4	161.2	179.8	193.0	66.0
		2104	122.1	142.3	153.1	171.5	194.2	72.1
		2105	132.8	145.0	158.0	176.6	198.7	65.9
		Mean	128.2	144.3	158.4	176.3	197.1	68.9
		S.D.	5.1	2.8	4.9	5.5	5.8	3.3
	N	5	5	5	5	5	5	
	G2 2,000	2201	134.7	150.2	163.0	174.8	196.7	62.0
		2202	124.7	141.9	155.8	171.4	194.1	69.4
		2203	132.1	156.6	170.7	184.4	211.0	78.9
		2204	125.4	145.7	167.7	182.5	208.7	83.3
		2205	119.9	137.3	149.7	165.9	186.9	67.0
		Mean	127.4	146.3	161.4	175.8	199.5	72.1
		S.D.	6.0	7.5	8.6	7.7	10.2	8.8
N	5	5	5	5	5	5		



5. 혈액생화학적 검사

혈액생화학적 검사결과, 암수 모두 삼부탕 열수추출액 2,000 mg/kg 투여군에서 대조군과 비교시 유의성

있는 ALT, AST, ALP, GGT 및 LDH의 변화는 인정되지 않았다 (Table 9).

Table 9. Blood chemical test of Sambutang-P in male and female SD rats

Sex	Group / Dose (mg/kg)	Animal ID	ALT (U/L)	AST (U/L)	ALP (U/L)	GGT (U/L)	LDH (U/L)
Male	G1 0	1101	30.06	92.8	682.8	0.60	415
		1102	31.3	100.6	906.6	0.46	486
		1103	27.0	101.8	882.1	0.54	215
		1104	23.0	77.6	809.3	0.30	370
		1105	35.0	83.5	767.6	0.51	413
		Mean	29.4	91.3	809.7	0.48	380
		S.D.	4.6	10.6	90.1	0.11	101
	N	5	5	5	5	5	
	G2 2,000	1201	29.0	106.4	958.3	0.59	1154
		1202	24.7	90.8	1055.5	0.36	391
		1203	28.4	88.2	833.5	0.47	265
		1204	25.7	76.9	509.1	0.45	189
		1205	29.2	74.3	708.5	0.28	158
		Mean	27.4	87.3	813.0	0.43	431
		S.D.	2.1	12.8	214.3	0.12	414
N	5	5	5	5	5		
Female	G1 0	2101	31.5	89.7	637.4	0.85	531
		2102	25.9	78.8	359.5	0.74	1125
		2103	26.0	78.5	478.6	0.33	176
		2104	19.5	66.8	534.2	1.45	293
		2105	27.4	71.2	348.6	1.01	311
		Mean	26.1	77.0	471.7	0.88	487
		S.D.	4.3	8.7	121.6	0.41	379
	N	5	5	5	5	5	
	G2 2,000	2201	22.5	88.0	492.6	0.28	295
		2202	23.9	64.4	373.0	0.62	266
		2203	23.3	72.9	443.8	0.83	201
		2204	26.6	70.1	550.6	0.44	357
		2205	24.0	58.2	523.7	0.46	382
		Mean	24.1	70.7	476.7	0.53	300
		S.D.	1.5	11.2	70.3	0.21	72
N	5	5	5	5	5		

ALT : alanine aminotransferase, AST : aspartate aminotransferase, ALP : alkaline phosphatase, GGT : gamma glutamyl transpeptidase, LDH : lactate dehydrogenase

6. 육안적 부검소견

부검시, 암수 대조군 및 삼부탕 열수추출물 2,000

mg/kg 투여군에서 육안적 이상 소견은 관찰되지 않았다 (Table 10).

Table 10. Gross findings of Sambutang-P in male and female SD rats

Sex	Group / Dose (mg/kg)	Animal ID	External surface and organs
			necropsy findings
Male	G1 0	1101	Not remarkable
		1102	Not remarkable
		1103	Not remarkable
		1104	Not remarkable
		1105	Not remarkable
	G2 2,000	1201	Not remarkable
		1202	Not remarkable
		1203	Not remarkable
		1204	Not remarkable
		1205	Not remarkable
Female	G1 0	2101	Not remarkable
		2102	Not remarkable
		2103	Not remarkable
		2104	Not remarkable
		2105	Not remarkable
	G2 2,000	2201	Not remarkable
		2202	Not remarkable
		2203	Not remarkable
		2204	Not remarkable
		2205	Not remarkable

* Group 1(0mg/kg), Group 2(2,000mg/kg)



7. 조직병리학적 검사

삼부탕 열수추출물 2,000 mg/kg 투여군의 암수 모두의 간에서 시험물질의 영향은 관찰되지 않았다. 삼부탕 열수추출물 2,000 mg/kg 투여군의 암수 모두의

간에서 관찰된 모든 소견은 자연발생적으로 나타날 수 있는 소견이며, 대조군과 비교하여 빈도 또는 정도에서 변화가 없다고 판단되므로, 독성학적 의미는 없었다 (Table 11, Figure 4, 5).

Table 11. Histopathological findings of Sambutang-P in male and female SD rats

Sex	Group / Dose (mg/kg)	Animal ID	Liver	
			Cell infiltration, mononuclear, focal/multifocal	Periportal vacuolation
Male	G1 0	1101	Grade 1	
		1102	Grade 1	
		1103	There were no remarkable findings in the liver	
		1104	Grade 1	
		1105	There were no remarkable findings in the liver	
	G2 2,000	1201	There were no remarkable findings in the liver	
		1202	There were no remarkable findings in the liver	
		1203	There were no remarkable findings in the liver	
		1204	There were no remarkable findings in the liver	
		1205	Grade 1	
Female	G1 0	2101	There were no remarkable findings in the liver	
		2102	Grade 1	Grade 1
		2103	There were no remarkable findings in the liver	
		2104	Grade 1	
		2105	There were no remarkable findings in the liver	
	G2 2,000	2201	There were no remarkable findings in the liver	
		2202		Grade 1
		2203	There were no remarkable findings in the liver	
		2204	Grade 1	
		2205	There were no remarkable findings in the liver	

* Group 1(0mg/kg), Group 2(2,000mg/kg)

** Grade 1: minimal, Grade 2: slight, Grade 3: moderate, Grade 4: severe

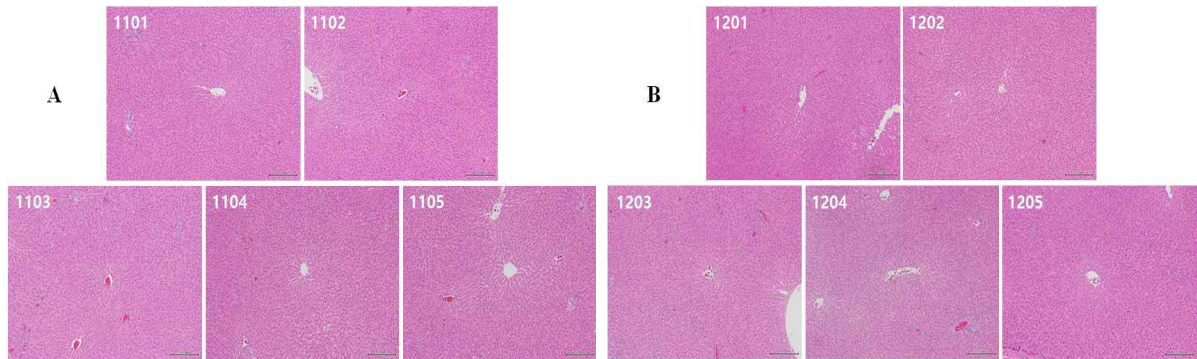


Figure 4. Histological analysis of liver in male SD rats.

- A. Group1 (0mg/kg) 1103, 1105 – There were no remarkable findings in the liver, 1101, 1102, 1104 – Cell infiltration, mononuclear, focal/multifocal. Grade1(minimal)
B. Group2 (2,000mg/kg) 1201, 1202, 1203, 1204 – There were no remarkable findings in the liver, 1205 – Cell infiltration, mononuclear, focal/multifocal. Grade1(minimal)

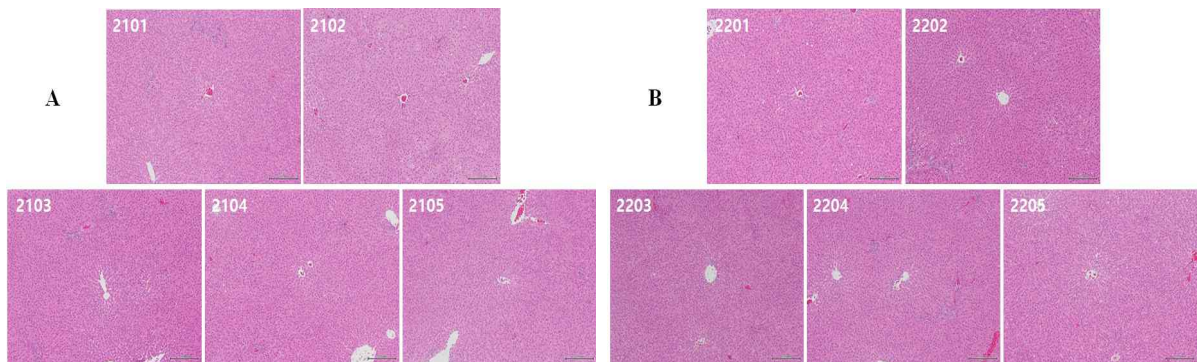


Figure 5. Histological analysis of liver in female SD rats.

- A. Group1 (0mg/kg) 2101, 2103, 2105 – There were no remarkable findings in the liver, 2102 – Cell infiltration, mononuclear, focal/multifocal and periportal vacuolation. Grade1(minimal), 2104 – Cell infiltration, mononuclear, focal/multifocal. Grade1(minimal)
B. Group2 (2,000mg/kg) 2201, 2203, 2205 – There were no remarkable findings in the liver, 2202 – Periportal vacuolation. Grade1(minimal), 2204 – Cell infiltration, mononuclear, focal/multifocal. Grade1(minimal)

IV. 考察

炮製附子 원약재, 炮製附子 열수 추출물 및 炮製附子を 함유한 參附湯 열수 추출물의 aconitine 함량을 분석한 결과, 각각 0.0785%, 0.1510% 및 0.1248%로 나타났다.

Aconitine은 사람이 0.2mg을 내복하면 중독을 일으키고, 그 치사량은 3-4mg이라는 연구결과를 근거로

각 추출물의 수율에 따라 사람에 대한 aconitine의 중독량과 치사량을 계산해보면, 炮製附子 원약재의 중독량은 254.78mg, 치사량은 3.822g~5.096g이고, 炮製附子 열수 추출물의 중독량은 803.21mg, 치사량은 12.048g~16.064g이고, 炮製附子を 함유한 參附湯 열수 추출물의 중독량은 757.58mg, 치사량은 11.364g~15.152g이다.

生附子, 生附子 열수 추출물, 生附子 함유 參附湯 열수 추출물의 aconitine 함량이 각각 0.1738%, 0.1746%



및 0.0961%로 나타난 것과는 달리 炮製附子, 炮製附子 열수 추출물, 炮製附子 함유 參附湯 열수 추출물의

aconitine 함량이 각각 0.0785%, 0.1510% 및 0.1248%로 나타났다 (Table 12).

Table 12. The aconitine content of Buja and Pojebuja extracts

Extracts	Korean/Chinese name	Yield (%)	Aconitine			
			Amount mg/g	%	Human poisoning amount(mg)	Human lethal dose (g)
Buja-RH*	Saengbuja/生附子	100	1.738	0.1738	115.07	1.726~2.301
Pojebuja-PH#	Pojebuja/炮製附子	100	0.785	0.0785	254.78	3.822~5.096
Buja-RD*	Saengbuja/生附子	13.42	0.234	0.1746	854.70	12.821~17.094
Pojebuja-PD##	Pojebuja/炮製附子	16.50	0.249	0.1510	803.21	12.048~16.064
Sambutang-R***	Saengbuja/生附子 Insam/人蔘	16.68	0.160	0.0961	1250	18.750~25.000
Sambutang-P###	Pojebuja/炮製附子 Insam/人蔘	21.15	0.264	0.1248	757.58	11.364~15.152

* Buja-RH: Aconiti Radix lateralis, # Pojebuja-PH: Aconiti Radix lateralis preparata

** Buja-RD: Hot water extract of Aconiti Radix lateralis, ## Pojebuja-PD: Hot water extract of Aconiti Radix lateralis preparata

*** Sambutang-R: Hot water extract of Sambutang containing Aconiti Radix lateralis, ### Sambutang-P: Hot water extract of Sambutang containing Aconiti Radix lateralis preparata

Human poisoning amount 0.2mg, human lethal dose 3~4mg.

Aconitine의 함량은 生附子是 0.1738%이고 生附子 열수 추출물은 0.1746%이므로 煎湯했을 때가 도리어 0.22% 더 늘었으며, 生附子和 人蔘으로 조성된 參附湯 열수 추출물은 0.0961%이므로 生附子 보다는 28.78% 더 줄었고 生附子 열수 추출물 보다는 29.00% 더 줄었음을 알 수 있다. Aconitine의 함량은 炮製附子是 0.0785%이고 炮製附子 열수 추출물은 0.1510%이므로 煎湯했을 때가 도리어 31.6% 더 늘었으며, 炮製附子和 人蔘으로 조성된 參附湯 열수 추출물은 0.1248%이므로 炮製附子 보다는 22.78% 더 늘었고 炮製附子 열수 추출물 보다는 9.50% 도리어 더 줄었음을 알 수 있다. 生附子是 煎湯 전보다 煎湯했을 때 0.22% 소폭 증가하였고 人蔘과 배합하여 煎湯했을 때 生附子和 生附子 煎湯液 보다 28.78%와 29.00%로 줄었으며, 炮製附子是 煎湯 전보다 煎湯했을 때 31.6% 증가하였고 人蔘과 배합하여 煎湯했을 때 炮製附子 보다는 22.78% 증가하였으며 炮製附子 煎湯液보다 9.50% 줄었음을 알 수 있다.

Aconitine의 함량은 生附子是 0.1738%이고 炮製附子是 0.0785%이므로 炮製附子가 生附子 보다 37.78% 적게 함유되어 있으며, 生附子 열수 추출물은 0.1746%이고 炮製附子 열수 추출물은 0.1510%이므로 炮製附子

열수 추출물이 生附子 열수 추출물 보다 7.24% 적게 함유되어 있으며, 生附子 함유 參附湯 열수 추출물은 0.0961%이고 炮製附子 함유 參附湯 열수 추출물은 0.1248%이므로 앞의 두 경우와는 달리 炮製附子 함유 參附湯 열수 추출물이 生附子 함유 參附湯 열수 추출물 보다 13.00% 많이 함유되어 있다. 이상의 결과에서 aconitine의 함량은 炮製附子가 生附子 보다 31.11%의 큰 폭으로 줄어들고, 煎湯했을 때는 7.24%의 소폭으로 줄어들고, 다시 人蔘과 같이 煎湯했을 때는 도리어 13.00%로 늘어나는 것을 알 수 있다. 따라서 生附子和 炮製附子の aconitine 함량의 양상이 다름을 보여준다. 그 이유에 대해서는 조건을 달리한 좀 더 상세한 연구가 요구된다. 그러나 분명한 것은 生附子和 炮製附子の 단독의 煎湯液 보다는 人蔘과 배합했을 때의 煎湯液에서 aconitine 함량이 낮아진 것을 확인할 수 있다.

임상에서 많이 응용되고 있는 炮製附子和 人蔘으로 조성된 參附湯의 열수 추출물은 안전성을 확보하고 있는지 확인하기 위하여, 암수 Sprague-Dawley 랫드를 이용하여 단회 경구투여 독성시험을 실시하였다.

일반증상 관찰의 경우, 투여당일 (0일)에는 투여 후 30분, 1, 2, 4 및 6시간째에 일반상태 (독성징후의 중

류, 발현시기, 회복시기 등) 및 사망유무를 관찰하였고, 투여후 1일부터 14일까지는 매일 1회 일반증상을 관찰하였다. 관찰기간 동안, 암수 모두 대조군 및 삼부탕 열수추출액 2,000 mg/kg 투여군에서 일반증상의 이상은 관찰되지 않았다 (Table 6, 7).

체중변화의 경우, 관찰기간 동안, 암수 모두 삼부탕 열수추출액 2,000 mg/kg 투여군에서 대조군과 비교시 유의성 있는 체중변화는 인정되지 않았다 (Figure 1, 2, Table 8).

부검을 하여 전신의 장기 및 조직에 대하여 상세한 육안검사를 실시하였고, 특히 간독성 여부를 알아보기 위하여 혈액생화학적 검사와 조직병리학적 검사를 진행하였다. 부검시, 암수 대조군 및 삼부탕 열수추출물 2,000 mg/kg 투여군에서 육안적 이상 소견은 관찰되지 않았다 (Table 10). 암수 모두 삼부탕 열수추출액 2,000 mg/kg 투여군에서 대조군과 비교시 유의성 있는 간기능의 혈액생화학적 지표가 되는 ALT, AST, ALP, GGT 및 LDH의 변화는 인정되지 않았다 (Table 9). 또한 간에 대한 조직병리학적 검사를 한 결과, 삼부탕 열수추출물 2,000 mg/kg 투여군의 암수 모두의 간에서 시험물질의 영향은 관찰되지 않았다. 삼부탕 열수추출물 2,000 mg/kg 투여군의 암수 모두의 간에서 관찰된 모든 소견은 자연발생적으로 나타날 수 있는 소견이며, 대조군과 비교하여 빈도 또는 정도에서 변화가 없다고 판단되므로, 독성학적 의미는 없었다 (Table 11, Figure 3, 4).

랫드에 투여한 炮製附子 함유 蓼附湯 열수 추출물 2,000 mg/kg의 용량을 미국 FDA의 인체용량결정 가이드라인²¹⁾에 의하여 mg/kg (체중당 용량)을 mg/m² (체표면적당 용량)으로 전환하는 동물별 상수 Km은 다음과 같다.

Human 37 (60kg 기준)

Rat 6

Rat에서 1000 mg/kg은 6000 mg/m²와 같고, human에서 100 mg/kg은 3700 mg/m²와 같다.

mg/m² (체표면적당 용량)을 동일하게 하려면

$$Km (rat) \times rat \text{ 용량} (mg/kg) = Km (human) \times human \text{ 용량} (mg/kg)$$

$$Km (rat) = 6, Km (human) = 37이므로,$$

$$6 \times rat \text{ 용량} = 37 \times human \text{ 용량}$$

$$\text{즉, human 용량} (mg/kg) = 6/37 \times rat \text{ 용량} (mg/kg)$$

$$rat \text{ 용량} (mg/kg) = 37/6 \times human \text{ 용량} (mg/kg) \text{이다.}$$

炮製附子 함유 蓼附湯 열수 추출물의 랫드 용량은 2,000 mg/kg이고, 炮製附子 함유 蓼附湯 열수 추출물의 수율은 21.15%이므로 전탕 전 原 炮製附子량은 9456.26 mg/kg이다. 蓼附湯은 炮製附子和 人蔘이 배합된 처방이므로 개별적인 炮製附子の 수율이 21.15%라는 보장이 없다. 炮製附子 單味の 열수 추출물의 수율은 16.50% 이므로 이를 적용한 전탕 전 原 炮製附子량은 12121.21 mg/kg이다.

이를 인체용량으로 환산할 경우, 炮製附子の 21.15% 수율을 적용하면 $6/37 \times 9456.26 \text{ mg/kg} = 1533.45 \text{ mg/kg}$ 이고, 炮製附子の 16.50% 수율을 적용하면 $6/37 \times 12121.21 \text{ mg/kg} = 1965.60 \text{ mg/kg}$ 이다. 인체 60kg을 기준으로 하면 인체용량은 $1533.45 \text{ mg/kg} \times 60\text{kg}$ 와 $1965.60 \text{ mg/kg} \times 60\text{kg}$ 이다. 즉, 92.01g과 117.94g이 된다.

附子の 煎湯 用量은 『中華人民共和國藥典』(2015年版)⁶⁾과 『中藥學』(제2판)¹⁾에서는 3~15g이고, 『中華本草』²²⁾에서는 炮製品은 3~9g이고 回陽救逆의 용도에는 18~30g을 사용할 수 있다.

炮製附子 함유 蓼附湯의 단회경구투여독성시험의 인체환산용량인 92.01g과 117.94g은 위의 임상용량인 3~15g, 3~9g 및 18~30g 보다 훨씬 많은 용량임에도 불구하고 이상반응이 없는 것으로 나타났으므로 한의사의 정확한 진단과 규정 용량을 바르게 사용하면 간중독과 치명상에서 벗어날 수 있을 것으로 생각된다.

결론적으로 炮製附子를 단독으로 煎湯했을 때 보다는 人蔘을 配伍한 蓼附湯을 煎湯했을 때에 aconitine 함량이 더 낮아지는 것으로 보아 人蔘이 附子の 독성을 줄일 수 있음을 보여준다고 생각된다. 炮製附子를 함유한 蓼附湯을 암수 6주령 랫드를 이용하여 단회경구투여독성시험을 한 결과, 炮製附子를 함유한 蓼附湯 투여군은 대조군과 비교하여 사망례가 없었으며, 일반 증상 및 체중에 대하여도 유의한 변화가 없었고, 혈액생화학적 검사, 육안적 부검소견 및 조직병리학적 검사에 대해서도 유의성 있는 이상 결과가 없는 것으로 나타났다. 이는 炮製附子 單味 보다는 炮製附子에 人蔘을 配伍한 蓼附湯의 안전성이 더 우수하다는 실험적



근거를 제시하는 것이고 이 근거를 바탕으로 임상에서 參附湯을 응용하는데 기초적인 연구근거를 제공하게 된다고 생각한다.

본 연구는 단회투여독성시험에 국한한 점과 간에 대해서만 조직병리학적 검사를 한 것에 대한 제한점이 있다.

향후 aconitine 이외의 附子의 다른 독성성분인 mesaconitine과 hypaconitine의 함량, 煎湯時間도 함께 고려하여 연구가 진행되어야 하고, 13주 반복투여 독성시험도 추가로 진행되어야 할 것으로 생각된다.

V. 結論

순도시험을 통한 aconitine의 함량 분석과 炮製附子 함유 參附湯의 Sprague-Dawley계 암수 6주령 랫드에 단회 경구투여 시 사망유무, 일반증상, 체중변화, 혈액생화학적 검사, 육안적 부검소견 및 조직병리학적 검사를 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Aconitine 함량은 炮製附子是 0.0785%, 炮製附子 열수 추출물은 0.1510%, 炮製附子 함유 參附湯 열수 추출물은 0.1248%로 측정되었다.
2. 암수 대조군 및 2,000 mg/kg 炮製附子 함유 參附湯 투여군에서 사망례는 없었으며, 일반증상의 이상도 없는 것으로 나타났다.
3. 암수 2,000 mg/kg 炮製附子 함유 參附湯 투여군에서 대조군과 비교시 유의성 있는 체중변화는 없는 것으로 나타났다.
4. 혈중 ALT, AST, ALP, GGT 및 LDH의 농도는 암수 2,000 mg/kg 炮製附子 함유 參附湯 투여군에서 대조군과 비교하여 유의성 있는 변화는 없는 것으로 나타났다.
5. 부검 시, 암수 대조군 및 2,000 mg/kg 炮製附子 함유 參附湯 투여군에서 장기 및 조직의 육안적 이상 소견은 없는 것으로 나타났다.
6. 간조직 검사에서 암수 2,000 mg/kg 炮製附子 함유 參附湯 투여군은 대조군과 비교하여 이상이 없는 것으로 나타났다.
7. 炮製附子 함유 參附湯의 단회 경구투여를 한 결과, 치사량은 암수 모두 2,000 mg/kg을 상회하는 것으로 판단된다.

결론적으로 炮製附子를 단독으로 煎湯했을 때 보다

는 人參을 配伍한 參附湯을 煎湯했을 때에 aconitine 함량이 더 낮아지는 것으로 보아 人參이 附子의 독성을 줄일 수 있었으며, 炮製附子 함유 參附湯의 단회 경구투여시험에서 증독량과 치사량을 훨씬 많은 양을 투여해도 이상반응이 없는 것으로 나타나 규정용량을 사용하면 간독성문제는 발생하지 않을 것으로 생각된다.

Acknowledgement

This study was supported by the Convergence of Conventional Medicine and Traditional Korean Medicine R&D program funded by the Ministry of Health & Welfare through the Korea Health Industry Development Institute (KHIDI) (HI15C0075).

References

1. Xue Min Gao, Gong Sheng Zhong. 『Science of Chinese Materia Medica 』 (Volume 1). 2nd edition. Beijing: People's Medical Publishing House, 2015: 795-796.
2. 『The Korean Pharmacopoeia』 Monographs part II. 11th Edition. Cheongju: MINISTRY OF FOOD AND DRUG SAFETY, 2016: 47-48.
3. Zu Guang Ye. 『Toxic Chinese medicine aconite』 . first edition. first printing. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2015: 54-65.
4. Dong Mei Wang, Yan Hong Wang, Yong Ji Li, Rui Wang, Qing Xia Guan. Progress of aconite toxicity, pharmacodynamic material basis and analysis method research. Heilongjiang Medicine Journal. 2011;24(1): 45-47.
5. Mo Ran Wang. The toxicity of aconite. Shanxi Journal of Traditional Chinese Medicine. 2012;33(7): 908-910.
6. National Pharmacopoeia Commission. 『Pharmacopoeia of The People's Republic of China』 (volume 1). 2015 edition. Beijing: China Medical Science and Technology Publishing House, 2015: 191-193.
7. Chang Xun Chen, Shan Jun Xu. Progress in the material basis and the role research poisonous licorice, dried ginger and aconite reduced

- compatibility. *Traditional Chinese Drug Research & Clinical Pharmacology* 2006;11(17): 472-476.
8. Bo Hong, Yong Qing Qiu. Theoretical study on the decreased toxicity mechanism of aconitine analogs in *Aconitum Carmichaeli* by density functional theory. *Journal of Molecular Science* 2008;24(3): 216-219.
 9. Kai Xin Liu. Study on the toxicity and safety of aconite. *Medicine & people*. 2014;27(7): 296.
 10. Sang-Wook Pak, Ja-Won Jang, Jong-Hwan Kim, Wo-Jin Shin, Hyun-Wo Hong, Ji-Yun Kim, In-sun Choi, Won-Duck Hwang. Clinical study about ginseng(人蔘)· *Aconiti Lateralis Preparata Radix*(附子)'s practical use in the early Stroke of old man patient. *The Journal of Korean Oriental Internal Medicine* 2003; 24: 42-55.
 11. In-sun Song, Min-seok Oh, Tae-won Song. The study of *Aconiti Tuber* in Bang-Yak-Hap-Pyun. *THESIS COLLECTION RESEARCH INSTITUTE OF KOREAN MEDICINE*. 2001; 10(1): 323-336.
 12. Hyungho Lee, Sangjong Ryu. The investigation about the Seokgok's use of *Rehmanniae Radix* and *Aconiti Lateralis Preparata Radix*. *Journal of Somun Oriental Medical Society* 2007; 10(1): 75-82.
 13. Zhejiang Institute of traditional Chinese Medicine, Huzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine proofread. 『Classified Assemblage of Medical Prescriptions』 (collated and punctuated text, volume 7). first edition. first printing. Beijing: People Health Publishing House, 1982: 392.
 14. Ja-won Jang, Su-jin Song, Ji-yun Kim, Sung-soon Min, Ki-tak Kim, Won-duk Hwang. The Consequences of Long-period Dosages of Herbal Medicine Including Boo-ja and Cheon-o on Liver Injury. *The Journal of Korean Oriental Internal Medicine* 2005; 26(4): 828-835.
 15. Sujin Song, Jawon Jang, Wonduk Hwang. The Consequences of Long-period Dosages of Herbal Medicine Including Boo-ja and Cheon-o on Liver Injury(II). *The Journal of Korean Oriental Internal Medicine* 2006; 27(2): 407-415.
 16. Hyunyoung Han, Wonduk Hwang. The Study of Dosages of Herbal Medicine Including *Aconiti Lateralis Preparata Radix* and *Aconiti Tuber* on Aspartate Aminotransferase, Alanine Aminotransferase. *The Korea Journal of Herbology* 2009; 24(4): 87-93.
 17. Youngjun Lee, Wonduk Hwang, Jaewook Lee, Huijin Jeong, Suhyun Bae, Kyugon Kim. The Study of Safety of Herbal Medicine Including Fuzi(附子) on High Range of LFT, RFT Patients. *The Korean Journal of Oriental Medical Prescription* 2011; 19(2): 179-189.
 18. Ahn SY. The Consequences of Dosage of Herbal Medicine Including Buja and Cheono on Electrocardiography. Master's thesis of Donggeui University Graduate School 2015: 1-28.
 19. Hae-ryong Jeong, Byun-woo Son, Gyeong-cheul Kim, Soon-shik Shin, Won-deuk Hwang. Single Oral Dose Toxicity Study and Aconitine Content Analysis of Raw *Aconiti Tuber* and *Sambu-tang*. *Journal of Internal Korean Medicine* 2016;37(3):427-441.
 20. 『The Korean Herbal Pharmacopoeia』. Cheongju: MINISTRY OF FOOD AND DRUG SAFETY, 2016: 362-363.
 21. FDA. Guidance for Industry: Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers, 2005.
 22. The State Administration of traditional Chinese medicine 『Chinese Materia Medica』 editorial board. 『Chinese Materia Medica』 (volume 3). first edition. first printing. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1999: 110-111.