

## 백부자-대체 가능 한약재의 계종버섯에 대한 급성독성시험과 안전성등급화

안민지<sup>#</sup>, 박영철<sup>\*</sup>

대구가톨릭대학교 GLP 센터 & 화학물질독성평가학과

### Acute toxicity test and safety classification for *Termitomyces albuminosus* containing pharmacologically similar ingredient of *Aconitum koreanum*

Minji An<sup>#</sup> and Yeongchul Park<sup>\*</sup>

Department of Toxicity assessment & GLP Center, Daegu Catholic University

#### ABSTRACT

**Objectives :** *Termitomyces albuminosus* (Berk.) Heim is one of the famous wild edible mushrooms in the southern part of China. It is known that *Termitomyces albuminosus*, like *Aconitum koreanum* used in Korean traditional medicine, contains a kind of cerebroside, termitomycesphin, causing a pharmacologic effect on the neuron system. The pharmacologic effect of *Termitomyces albuminosus* can be used to possibly replace *Aconitum koreanum*. However, It needs to be certified as safe before it can be used. Here, a single-oral toxicity test and safety classification was conducted to obtain acute information of the toxicity of dried-*Termitomyces albuminosus* powder and to secure its safety in clinical applications.

**Methods :** In order to calculate approximate lethal dose(ALD), test substance was orally administered to male and female SD-rat at dose levels of 5,000 and 0 (vehicle control) mg/kg (body weight). Based on the result of this toxicity, also the estimation of safety classification was calculated using the HED-based (human equivalent dose) MOS (margin of safety).

**Results :** There were no mortalities, test substances treatment-related clinical signs, no changes in the body or organ weights, and no gross or histopathological findings at 14 days after treatment with test substance. Thus, the approximate lethal dose of dried-*Termitomyces albuminosus* powder was considered over 5,000 mg/kg in both female and male mice.

**Conclusions :** Based on the limit dose, 5000 mg/kg, it was estimated that dried-*Termitomyces albuminosus* powder is classified as "Specified class B" indicating that clinical dose is not limited to patients as safe as food.

**Key words :** *Termitomyces albuminosus*, approximate lethal dose, Safety classification, Single oral toxicity test, margin of safety

## I. 서 론

중의약에서는 독각련(*Typhonium giganteum* Engl), 한방

에서 백부자(*Aconitum koreanum*)는 뇌졸중, 뇌전증 그리고 편두통 등의 뇌질환 치료를 위해 사용되어 왔다<sup>1)</sup>. 이들 한약

\*Corresponding author : Yeongchul Park, Department of Toxicity assessment & GLP Center, Daegu Catholic University, Gyeongsan-si, Hayang-eup 13-13, Korea.

· Tel : +82-53-850-3635 · E-mail : ycpark@cu.ac.kr

#First author : Minji An, Department of Toxicity assessment & GLP Center, Daegu Catholic University, Gyeongsan-si, Hayang-eup 13-13, Korea.

· Tel : +82-53-850-3635 · E-mail : minji-08@hanmail.net

· Received : 23 June 2017 · Revised : 27 June 2017 · Accepted : 15 July 2017

재료로부터 추출된 cerebroside가 허혈성뇌중후군에 있어서 신경보호작용이 확인되어 신경계의 중추기관인 뇌에서 백부자 및 독각련 등의 효능이 cerebroside에 기인하는 것으로 추정되고 있다<sup>2,3</sup>. 이러한 효능과 더불어 cerebroside가 중추신경계뿐만 아니라 말초 신경의 백색질과 수초의 구조물질로 확인되고 있다<sup>4,5,6</sup>. 그러나 이러한 작용에도 불구하고 백부자의 독성으로 인하여 뇌신경에 손상을 입은 환자에게 처방은 제한적이기 때문에 cerebroside를 함유한 새로운 대체 한약재의 필요성이 있다고 할 수 있다. Cerebroside는 주로 동물의 신경조직에서 존재하기 때문에 cerebroside를 함유한 식물을 찾기는 다소 어려움이 있다<sup>7,8</sup>. 그러나 2000 년대에 들어 중국에서 식용으로 오랫동안 사용된 계종버섯으로 불리는 *Termitomyces albuminosus* (Berk.) Herm.으로부터 termitomycesphin이라는 cerebroside가 확인되었다<sup>8,9</sup>. Termitomycesphin은 Fig. 1에서처럼 기본구조인 ceramide의 OH<sup>-</sup> 말단에 단당류나 다당류가 결합한 당지질이다. Termitomycesphin가 무엇보다도 중요한 것은 cerebroside의 신경세포에 대한 기능이다. 신경세포인 PC12 cell(rat pheochromocytoma cell line)의 활성 및 분화가

termitomycesphin에 의해 유도되었으며 이는 알츠하이머 질환 등의 신경세포 손상으로 인한 질환의 예방 및 치료제로서의 응용 가능성으로 추정된다<sup>9,10</sup>. 이러한 추정은 termitomycesphin가 백부자의 cerebroside의 기능을 대체할 수 있는 계종버섯의 한약재로서의 응용성을 의미한다. 그러나 국내에서 계종버섯의 한약재로서의 응용성을 위해서는 안전성 확보가 필요하다.

본 연구에서는 계종버섯의 급성독성시험으로 독성강도와와의 비교에서 가장 널리 이용되는 단회투여독성시험을 통해 정성적 및 정량적 지표를 확인하여 계종버섯의 안전성을 확인하고자 한다. 또한 한의원 임상에서 계종버섯의 인체 투여 안정용량을 제시하기 위해 한약의 안전성등급화를 위해 최근에 개발된 “인체등가용량-기초 안전역(human equivalent dose-based the margin of safety)”를 응용하여 계종버섯의 안전성등급화가 시도되었다<sup>12-15</sup>. 이와 같이 독성시험 및 한약의 안전성등급화 접근은 한방에서 사용하지 않은 새로운 천연물에 대한 근거중심의학의 결과를 임상 현장에서 응용이 가능하도록 과학적 도구를 응용하는 것을 근거중심실용의학(evidence-based practical medicine)의 실질적인 예로서 의미가 있다고 할 수 있다.

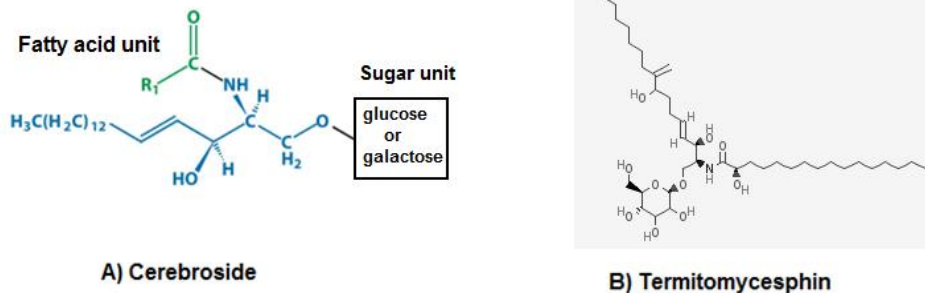


Fig. 1. The structural formula of cerebroside (A), Termitomycesphin (B).

## II. 재료 및 방법

### 1. 시료제조 및 표준물질

시험물질 Dried-*Termitomyces albuminosus* powder(천수고<sup>®</sup>)는 (주)티엠파트너스에서 제공하였다. 계종버섯 분말의 입수량은 8284g로 실온에서 밀폐, 차광, 제습 하여 보관되었고 투여를 위한 멸균증류수는 (주)중외제약에서 구입하였다. Dried-*Termitomyces albuminosus* powder의 시료는 순도에 대한 보정이 없이 칭량한 후 부형제인 멸균증류수에 현탁하여 사용되었다.

### 2. 실험동물 및 사육환경

연구의 시험내용은 대구가톨릭대학교 동물실험윤리위원회의 심의를 통한 승인(승인번호 제IACUC-2015-012호)이 이루어졌으며 시험은 의약품등의 독성시험기준(고시 제2014-136호, KFDA, 2014. 7. 30)에 따라 수행되었다. 실험동물은 체중이 수컷 205.0-214.6g, 암컷 164.6-179.9g인 7주령의 Sprague-Dawley(SD) 랫드로 (주)코아텍에서 구입하였다. 입수

후 8일간의 순화기간을 거쳐 건강한 암수 각 10 마리가 선택되어 시험에 이용되었다. 투여 개시 전 체중을 측정하고, 무작위법으로 군분리가 이루어졌다. 시험기간 중의 사육환경은 온도  $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , 상대습도  $50 \pm 20\%$ , 환기 횟수 10~20 회/시간, 암모니아농도 20 ppm 이하, 조명 12 hr(8:00~20:00), 조도 150~300 Lux, 소음 60 dB 이하의 조건에서 시험이 수행되었다. 사료는 Altromin Spezialfutter GmbH & Co KG (GER)에서 제조한 실험동물용 고형사료이었고 방사선으로 멸균되어 시험기간 동안에 공급되었다. 음수는 음용수도수로 사육실의 수도물 급수병을 통해 자유섭취가 이루어졌다.

### 3. 단회투여독성시험 방법

단회투여급성독성시험을 위해 시험계로 8주령의 랫드가 이용되었다. 평균체중에 가장 가까운 암수 10마리가 각각 선택되었으며 체중에 따라 암수 각 5마리씩 2군으로 군 구성이 이루어졌다. 투여 경로는 사람에게 대한 임상 예정 경로인 경구이었으며 존데를 장착한 주사기를 이용하여 위내에 직접 투여되었다. 투여액은 20 ml/kg으로 투여 당일 체중을 기준으로

측정하여 산출되었고 투여 전날 약 15-18시간 동안 절식이 이루어졌다. 투여일에 암 수 1군에 0 mg/kg, 2군에 5000 mg/kg 이 하루 2회의 분할 투여가 이루어졌다.

#### 4. 일반증상 관찰 및 부검

일반증상은 투여한 당일 Dried-*Termitomyces albuminosus* powder 투여 후 30분, 1시간, 2시간, 4시간, 그리고 6시간 등 시간별 증상 관찰이 이루어졌다. 이후 시험기간 동안 대조군과 시험군의 상호 비교를 통해 1일 1회 증상 관찰이 이루어졌다. 또한 실험동물의 체중변화를 확인하기 위하여 입수일, 군 분리일, 투여 1일, 3일, 7일, 14일에 중량이 측정되었다. 투여 후 14일이 경과한 날에는 isoflurane 마취 후 개복 그리고 복대 정맥을 통한 방혈치사가 이루어졌다. 또한 육안으로 외관 관찰 및 심장, 신장, 폐, 간, 비장, 소장과 대장 등의 내부장기의 이상 유무가 확인되었다.

#### 5. 통계처리

모든 산술적 결과는 시험군과 대조군을 비교하여 SPSS 19.0K를 이용한 일원배치분산분석(ANOVA test)을 통해 유의성이 검정되었고 모든 측정값은 평균, 표준편차로 계산되었다. 통계처리 후 P-value 0.05에서 통계적인 유의성이 결정되었다. 실험기간 동안의 치사율을 바탕으로 50% 사망을 초래하는 용량인 LD<sub>50</sub>(Lethal dose of 50%, 반수치사량) 및 ALD (approximate lethal dose, 하나의 개체를 죽음으로 유도할 수 있는 개략치사량)이 산출되었다.

#### 6. 안전성등급화 산출

안전성등급화는 LD<sub>50</sub>(50% of lethal dose, 반수치사량)과 임상용량을 이용하는 박영철 등<sup>12-15</sup>에 의해 제안된 HED-based MOS(human equivalency-based margin of safety: 인체 등가용량-근거 안전역)에 의한 산출되었다. HED-based

MOS에서 MOS의 산출은 독성시험에서 개체 한 마리의 죽음을 유도하는 독성지표인 LD<sub>1</sub>과 임상에서 투약 후 99% 효능을 나타내는 ED<sub>99</sub>의 비를 이론적 ALD와 임상최대용량의 비(ratio)로 대체되어 이루어진다. 한약 및 한약재에 대한 독성 시험자료가 부족한 경우가 많은데 Vit 연구에 따르면<sup>16</sup> ALD와 LD<sub>50</sub>은 전환인자를 통해 상호 대체가 가능하다. 결과적으로 LD<sub>1</sub>은 이론적 ALD, ED<sub>99</sub>는 임상최대용량으로 대체된다<sup>17,19</sup>. 따라서 HED-based MOS 산출은 앞서 언급된 ①, ②를 응용하여 다음과 같은 공식을 통해 이루어지는데 박영철 등<sup>12-15</sup>의 연구에서 제시된 공식을 다음과 같이 인용하였다.

$$\text{HED-based MOS} = \frac{(\text{LD}_{50}) \div (\text{ALD-전환인자}) \times (\text{animal Km/human Km})}{\text{임상최대투여용량}}$$

HED-based MOS에 따른 한약의 안전성등급화의 분류는 박영철 등<sup>12-15</sup>이 제시한 Table 1과 같이 MOS의 값에 따라 결정된다. 이와 같이 HED-based MOS의 값에 따라 안전성 등급을 설정할 수 있지만 이는 단회투여독성시험을 통한 LD<sub>50</sub> 또는 ALD 산출이 가능할 때 설정이 이루어진다. 그러나 오늘날 실험동물의 희생을 최소화하는 독성시험의 경향으로 단회 투여독성시험도 한계용량(limit dose)을 이용한 시험을 추천되고 있어 독성이 약한 시험물질에 대해서는 LD<sub>50</sub> 또는 ALD에 대한 산출이 어렵다. 즉 한계용량 2000 mg/kg를 투여한 후 어떠한 개체의 죽음도 없으면 ALD가 2000 mg/kg를 상회한다는 표현으로 최종 결론을 내리게 된다. 단회투여독성시험의 한계용량 2000 mg/kg는 단일성분의 시험물질인 경우에 적용되는 용량으로 추출물인 경우에는 독성이 미약한 특징으로 5,000 mg/kg 정도까지 한계용량의 범위가 더 높아진다. 이러한 한계용량의 특성을 고려하여 한약재의 안전성등급화를 Class 1-6뿐만 아니라 한계용량 종류와 인체 섭취 유무에 따라 "Specified class"를 A와 B와 같이 설정하여 안전성등급화를 수행하였다.

Table 1. Safety classification based on HED-based MOS for herbal medicines\*

Grade	HED-based MOS	Clinical application and limitation of herbal medicine
Class 1	< 1	Herbal medicines required to treatment prohibition or reduced treatment at the amount of 1/100 - 1/10 used currently in clinics because of overlapped dose inducing both efficacy and lethality
Class 2	1-10	Herbal medicines required to extreme caution in treatment and prohibited long term treatment because of dose for efficacy and toxicity being within close range
Class 3	10-50	Herbal medicines required to limited treatment to the patients showing drug-sensitivity
Class 4	50-100	Herbal medicines being possible to be treated by three times higher dose than dose used currently in clinics.
Class 5	100-500	Herbal medicines with no problem when times higher dose than dose used in clinics is treated.
Class 6	> 500	Herbal medicines being possible to be treated like diet
In cases of limit dose used in single oral toxicity test		
Specified class	A	limit dose 2000 mg/kg
	B	limit dose 5000 mg/kg

(\* Modified from Ref. 12-14)

### Ⅲ. 결 과

#### 1. 체중

체중 변화 및 증체량을 측정한 결과, 수컷 대조군과 시험물질 투여군의 증체량은 각각 112.8±8.79g과 109.7±11.39g

이었으며 군간 평균 증체량에 있어서 통계적 유의성은 없었다 (p>0.05). 그리고 암컷 대조군과 시험물질 투여군의 증체량은 각각 49.7±15.06g 및 49.9±10.96g이었으며 평균 증체량의 비교에서 통계적으로 유의한(p>0.05) 차이가 없었다(Table 2).

Table 2. Body weight in Male and Female rate with Dried-*Termitomyces albuminosus* powder

sex	GROUPS (mg/kg)	Days after treatment					GAINS*
		0	1	3	7	14	
Male	C	238.5±5.48	263.5±5.76	281.2±8.81	310.1±8.18	351.4±9.79	112.8±8.79
	H	238.9±2.81	265.3±3.45	281.1±2.29	309.0±6.80	348.6±11.13	109.7±11.39
Female	C	172.7±4.32	188.0±4.94	201.1±3.92	207.6±8.16	222.4±18.02	49.7±15.06
	H	172.1±3.70	190.1±5.06	201.1±4.36	212.7±6.86	222.0±10.46	49.9±10.96

\* : Weight gains are body weight difference between day 14 and day 0. C : D.W.- orally treated group, H : 5000mg/kg/day of TAP-orally treated group. Mean±S.D. (n=5).

#### 2. 일반증상

단회투여 후 14일 동안 시험물질을 투여 후 1일 1회 일반 증상을 관찰하였으며 모든 군에서 이상증상 관찰이 되지 않았다(Table 3).

#### 3. 부검 및 치사율

관찰 기간 동안 생존한 랫드의 부검을 통해 심장, 신장, 폐, 간, 비장, 소장과 대장 등에 대한 관찰한 결과, 어떤 장기에서도 이상이 없는 것으로 확인되었다. 시험물질 5,000mg/kg의 투여에 의한 랫드의 사망률에 대해 14일 동안 관찰한 결과는 Table 4와 같으며 사망한 동물은 없었다.

Table 3. Clinical sign in Male and Female rate with Dried-*Termitomyces albuminosus* powder

Sex	SIGNS OBSERVED	GROUP	
		Control (0)	High (5,000)
Male	Normal	5/5*	5/5
	Abnormal	0/5	0/5
Female	Normal	5/5	5/5
	Abnormal	0/5	0/5

\* Number of animals with the sign/Number of animals examined.

Table 4. Mortality of Male and Female rate with Dried-*Termitomyces albuminosus* powder

sex	GROUPS (mg/kg)	Days after dosing														No. dead/ No. dosed		
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		14	
Male	C	0*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
Female	C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5

\* Values are expressed as number of dead animals. C: D.W.-orally treated group, H: 5000mg/kg/day of TAP-orally treated group. ALD value: > 5000 mg/kg

#### 4. 안전성등급화

단회투여독성시험은 시험의 일반적인 한계용량인 2,000 mg/kg를 상회하는 5,000 mg/kg에서 어떤 개체의 죽음도 없었다. 따라서 Table 1의 한약재의 안전성등급 기준 중 Specified class의 B에 해당되어 한방 임상에서 환자에게 용량 제한이 없이 식품과 같이 사용이 가능하다.

### Ⅳ. 고 찰

백부자의 주요 약리 성분인 cerebroside를 함유하고 있는 계몽버섯의 섭취에 대한 안전성을 확보하기 위한 방안의 하나로 *Termitomyces albuminosus* 건조분말에 대한 단회투여 독성시험이 수행되었다. 대조군과 비교하여 최대투여용량인 5,000 mg/kg의 투여군에서 일반증상, 체중변화, 부검조건 등을

비롯하여 사망률에 유의한 차이가 없는 것을 확인되었다. 이와 같이 랫드를 이용한 건조 *Termitomyces albuminosus* 분말의 단회투여독성시험의 수행을 통해 ALD가 5,000 mg/kg 이상으로 추정된다.

일반적으로 단회투여독성시험에서 최대투여 한계용량(limit dose)은 2,000 mg/kg인데 5,000 mg/kg에서 어떠한 독성적 징후 또는 사망이 없었다는 것은 독성이 거의 없거나 다량의 복용에도 문제가 없는 식품처럼 섭취가 가능하다는 것을 의미한다. 그러나 뇌질화과 관련하여 한방에서 이용되는 백부자를 대체하기 위해서는 임상용량을 제시할 필요성이 있다. 이러한 임상용량의 제시는 2 가지 방법인 MRSD(Maximum Safe Starting Dose, 최대안전초기용량)과 본 연구에서 활용된 HED-based MOS에 따른 한약의 안전성등급화로 가능하다.

먼저 연구에 의하면 식이에 건조 *Termitomyces albuminosus* 분말을 90일간 투여하는 반복투여독성시험을 통해 암수의 NOAEL이 각각 2,800 mg/kg/day와 3,177 mg/kg/day로 확인되었다<sup>18)</sup>. 한의원의 임상에서 환자에게 투여할 수 있는 최고용량을 건조 *Termitomyces albuminosus* 분말의 NOAEL를 이용하여 산출이 가능하다. 일반적으로 비임상독성시험에서 얻은 자료를 이용하여 임상시험에서 인체에 투여할 수 있는 용량은 MRSD 공식을 통해 산출된다. MRSD의 공식은  $NOAEL / (10 \times 6.2) \text{ mg/kg/day}$ 이므로 *Termitomyces albuminosus* 분말의 MRSD는  $2,800 / 62 \text{ mg/kg/day}$ , 즉  $45.16 \text{ mg/kg/day}$ 이 된다. 이는 한의원 임상에서 60 kg 성인에게 2.7g 정도를 처방하면 안전성을 확보할 수 있다는 것을 의미한다.

그러나 *Termitomyces albuminosus* 분말에 대한 이러한 MRSD 용량은 실제적으로 중국에서 오랫동안 계종버섯의 식용 섭취된 용량과 상당한 차이가 있다. 특히 한방 임상에서 일반적인 한약재의 용량인 5-10 g과 비교했을 때 60 kg 성인에게 2.7 g 정도 투여는 기대하는 임상적 약리효능을 얻기에는 부족한 용량이라고 사료된다. 특히 MRSD의 산출 방법은 한약과 같은 천연물이 아닌 단일물질 적용을 위해 독성시험 가이드라인(참고문헌: OECD 반복투여독성시험 TG)을 기초로 하여 개발된 것으로 전통적으로 복용량이 많은 한약재의 임상용량을 결정하기에는 부적합하다. 그러나 HED-based MOS에 의한 안전성등급은 천연물의 특성을 고려한 임상용량을 결정하는 기법이라고 할 수 있다. Table 1에서 안전성등급 Class 1-6은 단일물질에 의한 독성시험 가이드라인(참고문헌: OECD 단회투여독성시험 TG)을 기초한 분류이지만 안전성등급 기준 중 Specified class은 독성이 미약한 천연물의 임상용량을 안전성 등급이다. 이러한 측면을 고려할 때 본 연구에 응용된 HED-based MOS는 임상용량의 실질적 응용에 유용한 기법이라고 할 수 있다.

## V. 결 론

*Termitomyces albuminosus* 분말은 안전성등급 기준 중 Specified class의 B에 해당되어 한방 임상에서 환자에게 용량 제한이 없이 식품과 같이 사용이 가능하다. 따라서 본 연구에서 수행된 단회투여독성시험과 HED-based MOS 응용을 통한

안전성등급화는 한방에서 임상용량을 결정하는데 있어서 약리 효능을 고려한 투여 안전용량이 설정을 가능하게 할 뿐 아니라 백부자를 대신하여 장기적 처방이 가능하도록 안전성을 확보하는데 도움이 될 것으로 사료되며 다음과 같이 결론적으로 요약할 수 있다.

1. *Termitomyces albuminosus* 분말에 대한 단회투여경구독성시험을 통해 한계용량인 2,000 mg/kg를 상회하는 5,000 mg/kg에서 개체사망을 비롯하여 어떠한 독성학적 변화도 관찰되지 않았다.
2. *Termitomyces albuminosus* 분말의 ALD는 5,000 mg/kg을 상회하는 것으로 추정된다.
3. *Termitomyces albuminosus* 분말의 ALD를 한약재의 안전성등급 기준에 적용한 결과, Specified class의 B에 해당되어 한방 임상에서 *Termitomyces albuminosus* 분말 환자에게 용량 제한이 없이 식품과 같이 사용이 가능할 것으로 추정된다.

## 감사의 글

본 연구는 농업회사법인 (주)티엠파트너스 및 환경부에서 지원하는 2017년 화학물질 유위해성 정보관리 전문인력 양성사업의 지원으로 이루어졌으며 이에 대해 감사의 말씀을 드립니다.

## References

1. Chinese Pharmacopoeia Commission, Pharmacopoeia of People's Republic of China, China : 2010 ; 98-99.
2. Chi S, Cai W, Liu P, Zhang Z, Chen X, Gao L, Qi J, Bi L, Z Chen, Qi Z. Baifuzi reduces transient ischemic brain damage through an interaction with the STREX domain of BKCa channels. *Cell Death Dis.* 2010 ; 1 : e13.
3. Zhou L, Zhang YJ, Gao LJ, Ye Y, Qi JH, Qi Z. Structure-activity relationship of Baifuzi-cerebrosides on BKCa channel activation. *European Journal of Medicinal Chemistry.* 2014 ; 75 : 301-307.
4. Coetzee T, Fujita N, Dupree J, Shi R, Andrew B, Kinuko S, Kunihiro S, Brian P. Myelination in the Absence of Galactocerebroside and Sulfatide: Normal Structure with Abnormal Function and Regional Instability. *Cell.* 1996 ; 86 : 209-219.
5. Ezoe T, Vanier MT, Oya Y, Popko B, Tohyama J, Matsuda J, Suzuki K, Suzuki K. Biochemistry and neuropathology of mice doubly deficient in synthesis and degradation of galactosylceramide. *Journal of Neurosci Research.* 2000 ; 59 : 170-178.
6. Rao RP, Acharya JK. Sphingolipids and membrane

- biology as determined from genetic models. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2008 ; 85(1-2) : 1-16.
7. Jurevics H, Hostettler J, Muse ED, Sammond DW, Matsushima GK, Toews AD, Morell P. Cerebroside synthesis as a measure of the rate of remyelination following cuprizone-induced demyelination in brain. *J Neurochem.* 2001 ; 77 : 1067-1076.
  8. Yanagihara T, Cumings JN. Fatty acid composition of cerebroside and cerebroside sulphatides in cerebral oedema. *Acta Neuropathologica.* 1969 ; 12(1) : 62-67.
  9. Qi JH, Ojika M, Sakagami YJ. Termitomyces sphins A-D, Novel Neuritogenic Cerebroside from the Edible Chinese Mushroom *Termitomyces albuminosus*. *Tetrahedron.* 2000 ; 56(32) : 5835-5841.
  10. Qu Y, Sun K, Gao L, Sakagami Y, Kawagishi H, Ojika M, Qi J. Termitomyces sphins G and H, Additional Cerebroside from the Edible Chinese Mushroom *Termitomyces albuminosus*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry.* 2012 ; 76 : 791-793.
  11. Qi JH, Ojika M, Sakagami Y. Neuritogenic cerebroside from an edible chinese mushroom. Part 2: structures of two additional termitomyces sphins and activity enhancement of an inactive cerebroside by hydroxylation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* 2001 ; 9(8) : 2171-2177.
  12. Park YS, Lee SD. Evidence-based approach for herbal medicine-safety classification: Human equivalent dose-based the margin of safety. 2013 ; 17(3) : 1-12.
  13. Park YC, Lee SD. Introduction of evidence-based practical medicine through safety classification for herbal medicine(1). *Journal of Korean Oriental Medicine.* 2014 ; 35(1) : 114-123.
  14. Park YC, Lee SD. Safety classification for frequently-used herbal medicines inducing toxic metabolites. *Journal of Korean Oriental Medicine.* 2015 ; 19(2) : 123-133.
  15. Park YC, Lee SD. Toxicity and safety classification of 4 animal medicines - Focusing on venoms from bee, snake, blister beetle and scolopendrid -. *Journal of Korean Oriental Medicine.* 2016 ; 20(1) : 125-144.
  16. Vit PJ. Approximate lethal dose versus median lethal dose in acute toxicity testing of pharmaceuticals. A retrospective study. *Arch Toxicol.* 1989 ; 63(4) : 343-4.
  17. legislation of Ministry of food and Drug safety. Food and Drug Regulations in korea. Available from : URL : [http://www.mfds.go.kr/index.do?x=0&searchkey=notice\\_number&mid=1013&searchword=2015-82%C8%A3&y=0&division=&pageNo=1&seq=10128&cmd=v](http://www.mfds.go.kr/index.do?x=0&searchkey=notice_number&mid=1013&searchword=2015-82%C8%A3&y=0&division=&pageNo=1&seq=10128&cmd=v).
  18. An MJ, Heo HS, Lee JS, Son HY, Lim HO, Park GB, Lee JH, Jee JG, Park YC. Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study of Dried *Termitomyces albuminosus* Powder in Rats. *Journal of Life Science* 2016 ; 26(10) : 1153~1162.
  19. FDA, Guidance for Industry: Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers. Rockville MD : FDA, 2005.