

독성대사체를 생성하는 다빈도사용 한약재의 안전성등급화 - 천궁, 당귀, 감초, 숙지황을 중심으로 -

박영철¹⁾ · 이선동²⁾*

¹⁾ 대구가톨릭대학교 GLP센터, ²⁾ 상지대학교 한의과대학 예방의학교실

Safety classification for frequently-used herbal medicines inducing toxic metabolites

Yeong-Chul Park¹⁾ & Sundong Lee²⁾*

¹⁾ GLP Center, Catholic University of Daegu

²⁾ Dept. of Preventive Korean Medicine, School of Korean Medicine, Sangji University

Abstract

The new formular for herbal medicine-safety classification in terms of evidence-based medicine was developed and applied to evaluate various herbal medicines in the previous study. This study is aimed to evaluate the frequently-used herbal medicines inducing toxic metabolites or reactive intermediates(RI), such as *Ligusticum wallichii* Franch, *Angelica sinensis*, Glycyrrhizae Radix, Rehmanniae Radix, based on 6 safety grades calculated from human equivalent dose(HED)-based MOS(margin of safety). HED-based MOS can be explained as the ratio of theoretical ALD(approximate lethal dose) of human as LD₁(lethal dose of 1%)/clinical maximum dose as ED₉₉(Effective dose of 99%). The herbal medicine showing the ratio less than 1 belongs to Class 1, but the herbal medicine showing the ratio more than 500 belongs to Class 6 with the lowest toxicity. As a result, they were evaluated as class 2 for *Angelica sinensis* and Glycyrrhizae Radix, class 3 for *Ligusticum wallichii* Franch and Rehmanniae Radix. These resultant grades for 4 herbal medicines were lower than the grade expected under consideration that these herbal medicines are used very frequently in oriental clinics. These low grades would be due to their ingredients which is biotransformed to toxic metabolites.

Key words : Herbal medicine, Safety classification, HED-based MOS, Toxic metabolites, Reactive intermediates

• 접수 : 2015년 8월 5일 • 수정접수 : 2015년 8월 12일 • 채택 : 2015년 8월 13일

*교신저자 : 이선동(Sundong Lee), 상지대학교 한의과대학 예방의학교실

전화 : +82-33-730-0665, 팩스 : +82-33-738-7825, 전자우편 : sdlee@sangji.ac.kr

I. 서론

한약의 과용량 사용에 의한 부작용을 줄이기 위해 한약의 안전성등급화를 위해 몇몇 시도가 이루어졌지만 실제 임상 현장에서 응용은 극히 제한적이었다.¹⁻³⁾ 대표적으로 중국의 의약품 독성약품관리법에서 제시된 것은 중의약 등급화이며 중독증상, 장기손상, 과용량투여에 의한 사망유무, LD₅₀, 유효량과 중독량 차이, 성인 1회복용중독량, 중독잠복기 등의 다양한 지표들 기초로 독성 정도에 따라 대독, 중독, 소독의 3 등급화로 이루어졌다.¹⁾ 이러한 지표들은 사용하기에는 너무 다양하여 복잡할 뿐만 아니라 동물의 지표를 사람에게 적용하는데 어려워 실제 임상 현장에서 응용이 쉽지 않다.

한약의 안전성등급화를 위한 이러한 복잡성을 극복하고 임상에서의 응용을 위하여 최근에는 HED-based 치료지수(human equivalence dose-based therapeutic index, 인체등가용량-기반 치료지수)가 개발되었다.²⁾ LD₅₀(Lethal dose of 50%, 반수치사량)와 ED₅₀(Effective dose of 50%, 반수유효량)의 비(ratio)로 산출되는 HED-based 치료지수에서는 동물에서 얻은 LD₅₀이 사람의 LD₅₀로 전환되고 ED₅₀는 임상에서 투여되는 한약의 용량으로 대체되어 산출된다. 그러나 동물로부터 얻은 LD₅₀은 시험물질에 의한 치사율의 용량-반응곡선에서 중간에 위치하기 때문에 LD₅₀의 위쪽 반응곡선 또는 아래쪽 반응곡선이 유효성의 용량-반응곡선이 겹칠 수 있다. 이럴 경우에 LD₅₀/ED₅₀의 비는 약물의 안전성을 위해 치료지수를 정확하게 반영하지 못하게 된다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 지난 연구에서 “인체등가용량-기초 안전한계영역(human equivalent dose-based the margin of safety, HED-based MOS)”을 개발하여 한약의 안전성등급화를 위한 evidence-based approach를 발표하였다.⁴⁻⁵⁾ MOS의 산출은 동물의 독성지표인 LD₁과 ED₉₉의 비로 이루어지기 때문에 치료지수에서처럼 유효성 반응곡선과 치사율의 반응곡선이 겹치지 않는다.

본 연구에서는 활성중간대사체인 reactive intermediates(RI)로 전환되는 성분을 가진 다빈도사용 한약재에 대해 HED-based MOS를 통해 안전성등급화에 대한 산출이 이루어졌다. RI는 생체 내에서 실질적으로 독성을 유발하는 원물질의 독성대사체(toxic metabolites)이다. 생체 내에서 독성을 유발하는 유기

물질 중 약 90%은 cytochrome P450에 의한 생체전환을 통해 발생하는 RI이라는 독성대사체에 기인한다.^{6,7)} 대부분의 한약재의 독성도 독성대사체 때문에 발생한다. 예를 들어 신장독성을 유발하는 광방기의 aristolochic acid는 신장에서 cytochrome P450 효소인 CYP1A1 또는 CYP1A2에 의해 RI인 cyclic nitrenium ion으로 생체전환되어 신장에서 독성을 유발한다.^{7,8)} 따라서 한약재의 독성도 결국 RI를 생성하는 성분의 함유 유무에 따라 결정된다고 할 수 있다. 단지 RI의 종류와 결합의 강도에 따라 독성의 정도가 다를 수 있다.

본 연구는 RI로 전환되는 성분을 함유한 다빈도사용 한약재인 천궁, 당귀, 감초를 비롯하여 숙지황 등에 대해 HED-based MOS를 통해 안전성등급화를 산출하는 것이 목적이다.

II. 연구 방법

1. Cytochrome p450에 의해 RI으로 전환되는 다빈도 한약재의 성분 확인

독성대사체인 RI는 제1상반응(Phase I)에서 cytochrome P450 같은 효소에 의해 친전자성대사체(electrophilic metabolite), redox-reactive species(RAS, 산환-환원순환 대사체)와 carbon-centered radical(탄소-중심 라디칼) 등을 의미한다. 이들 대사체들은 독성학적 측면에서 한약재의 부작용을 유발하는 원인 물질이다. 이와 같이 cytochrome P450 등의 효소에 의해 대사체로 전환되는 과정을 생체전환(biotransformation)이라고 하는데 대사체가 RI 또는 독성대사체로 생체전환되는 과정을 생체활성화(bioactivation) 또는 외인성물질(xenobiotics)의 독성화(toxification) 과정이라고 한다.⁶⁾ 한약을 비롯하여 식물성추출물에서 나타나는 대표적인 RI 화학적 구조는 Fig. 1과 같이 carbocation(탄화수소 양이온), nitrenium ion, epoxide, quinone methide, quinone, 그리고 친핵성 carbonion 부위에 α, β -unsaturated carbonyl compound(불포화 카르보닐 화합물)가 첨가되는 반응을 유도하는 Michael acceptor(또는 reaction, 미카엘 수용체) 등이 있다.⁷⁾ 이들은 생체를 구성하는 당, 단백질, 지질, DNA 등의 4대 거대분자와 결합하여 독성을 유발하는데 활성 강도에 따라 생물학적 영향 또는 독성 유발의 차이가 있

다. 이들 3가지 RI 중 가장 대표적인 독성대사체는 cytochrome P450에 의한 생체전환을 통해 친전자성(electrophilic)의 화학적 특성을 갖는 친전자성 대사체(electrophilic metabolites)이다.

안전성등급화를 위해 선택된 다빈도사용 한약재는 천궁, 당귀, 감초, 숙지황 등으로 RI로 전환되는 성분을 함유하고 있다. 천궁(*Ligusticum wallichii* Franch)에서는 약리작용을 하는 2개의 주요 성분인 tetramethylpyrazine(TMP)와 Z-ligustilide 중 Z-ligustilide는 cytochrome P450의 생체전환을 통해 epoxide 구조를 지닌 RI인 친전자성 대사체로 전환된다.⁹⁾ 당귀(*Angelica sinensis*)의 RI는 3가지 물질인 Z-ligustilide, caffeic acid 그리고 safrole(1-allyl-3,4-methylenedioxybenzene) 등으로부터 생성된다. 특히 당귀에 포함되어 있는 safrole(1-allyl-3,4-methylenedioxybenzene)은 CYP2C9 또는 CYP2E1 등의 cytochrome P450 효소에 의해 safrole의 benzylic group(benzene 환에 CH₂가 붙은 형태)이 수산화되거나 dioxybenzene 부분이 에폭시화 형태의 대사체로 생체전환되어 친전자성 대사체의 RI로 전환된다.¹⁰⁾ 감초(*Glycyrrhizae Radix*)의 성분 중 대표적인 약리작용이 확인되고 있는 성분은 isoflavane의 일종인 glabridin이다. Glabridin의 함량은 0.92 mg/g licorice(건조량)으로 감초에 다량으로 함유되어 있다. 그러나 glabridin이 RI로 전환되는 것이 P450활성 저해를 통해 확인되었다.¹¹⁾ Glabridin은 in vitro에서 시간 및 농도-의존성 CYP3A4와 CYP2B6의 활성을 저해한다. Glabridin에 의한 이러한 저해는 P450 heme 구조를 glabridin의 대사체가 파괴하기 때문이다. 지황(*Rehmanniae Radix*)의 이리도이드 배당체인 aucubin은 β-glycosidase에 의한 생체전환을 통해 당이 분리된 aglycon 부분인 aucubigenin으로 전환된다. 특히 aucubigenin이 단백질의 친핵성 부위와 공유결합이 가능한 친전자성 대사체의 RI로 추정되고 있다.¹²⁾

2. HED-based MOS 산출 방법과 안전성등급화 판정 기준

1) HED-based MOS 산출

이미 발표된 연구에서^{5,6)} 한약재 안전성등급화는 HED-based MOS가 산출되는 전반적인 과정을 소개되었으며 다음과 같이 요약할 수 있다.

(1) 한약재의 LD₅₀ 확인

한약에 대한 LD₅₀을 확인하고 동물종, 투여경로, 추출물의 특성에 대한 정보를 확보한다.

(2) ALD전환인자 결정 및 추정ALD 산출

전환인자는 동물의 LD₅₀을 ALD로 전환할 때 나누어 주는 수치이다. Vit 연구에 따르면¹³⁾ 평균적으로 마우스 및 랫드인 경우에 경구투여일 경우에는 2, 정맥투여일 경우에는 1.5를 적용하여 LD₅₀을 나누어 주면 ALD 수치가 된다. 경구투여와 정맥투여 등 투여부위에 따른 전환인자의 차이는 용량-반응곡선(dose-response curve)차이 때문이다. 한약이 경구로 투여될 경우에 정맥으로 투여될 경우보다 흡수와 반응이 느리고 용량-반응곡선에서 보다 완만한 경사가 나타난다. 이러한 이유로 소화관을 거치는 경구투여에 대한 ALD전환인자는 2, 이외에 다른 모든 투여경로의 LD₅₀에 대해서는 1.5의 ALD-전환인자를 적용하는 것이 바람직하다. 이와 같이 투여경로에 따른 동물을 이용하여 동물의 ALD 즉 1마리의 죽음을 초래할 수 있는 개략치사량을 추정할 수 있다.

(3) ALD의 인체등가용량으로 전환

HED-based MOS는 기본적으로 동물에서 얻은 독성지표를 인체에 적용하여 산출된다. 따라서 동물의 ALD를 사람에게 대한 ALD로 전환이 필요하다. 그러나 이러한 전환에 있어서 체중보다 체표면적(body surface

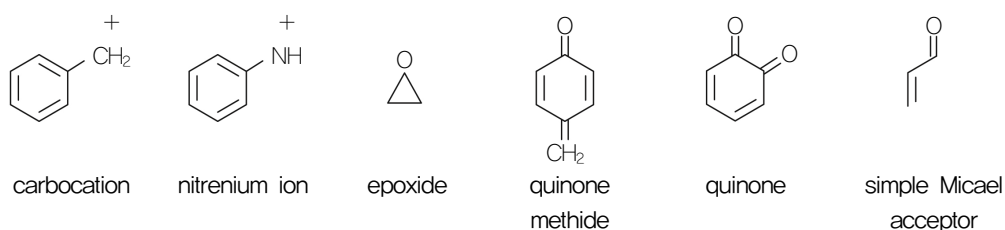


Fig. 1. Various reactive intermediates shown frequently in herbal medicines

area, BSA)을 기초하여 전환되기 때문에 동물의 체중을 기초로 얻은 ALD를 체표면적을 기초로 한 ALD로 전환되어야 한다. 이러한 전환된 용량을 인체등가용량 (human equivalence dose, HED)이라고 하며 이를 얻기 위해 동물과 사람에 대한 적용되는 수치를 Km factor라고 한다.¹⁴⁾ Km factor는 성인 60kg의 Km은 37, 마우스 0.02kg의 km은 3, 그리고 랫드에 대한 Km은 6이다. 이러한 Km을 이용하여 얻은 인체에 대한 ALD를 이론적 또는 추정 ALD(theoretical ALD)이라고 한다.

(4) HED-based MOS 산출

MOS의 산출은 동물의 독성지표인 LD₁과 ED₉₉의 비를 이론적 ALD와 임상최대용량의 비로 대체되어 이루어진다. 즉, LD₁은 이론적 ALD, ED₉₉는 임상최대용량으로 대체된다.^{4,15)} 따라서 HED-based MOS 산출은 앞서 언급된 (1), (2), (3)을 응용하여 다음과 같은 공식을 통해 이루어진다.

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

2) 한약재의 안전성등급화 기준

HED-based MOS에 따른 한약등급화의 분류는 Table

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

등급	HED-based MOS	임상응용 특성
Class 1	< 1	효능용량과 치사용량이 겹치기 때문에 사용금지의 한약재 또는 기존 투여량의 1/10 -1/100 정도의 투여용량 감소가 필요한 한약재
Class 2	1-10	효능용량이 독성용량과 근접하여 소량의 투약으로 극도의 주의가 필요하며 장기 투약을 제한하는 한약재
Class 3	10-50	약물민감성을 가진 환자 및 노약자에게 독성을 유발할 가능성이 있는 한약재
Class 4	50-100	환자에 따라 임상용량의 3배 이하로 증가가 가능한 한약재
class 5	100-500	환자에 따라 임상용량의 5배 이하로 증가가 가능한 한약재
Class 6	> 500	식품과 같이 사용 가능

1과 같이 이루어진다. MOS가 1 이하 한약재의 환자 투여는 한의사들이 특히 주의하여 사용해야 하는 한약재이다. 즉 HED-based MOS의 산출된 값에서 1은 ALD와 임상투여 최고용량이 같다는 것을 의미하며 1이하는 효능보다 부작용이나 독성 또는 사망을 초해할 수 있는 지표로 이해할 수 있다. 반면에 1보다 크면 클수록 투여용량은 안전성을 가지면서 효능을 나타내는 용량의 한약재로 분류할 수 있다.

III. 결과 및 고찰

1. 천궁의 안전성등급화 및 안전한 투약용량

1) 천궁의 LD₅₀

천궁의 경구투여에 대한 LD₅₀는 확인되지 않았지만 Table 2에서처럼 복강투여를 통한 천궁추출물의 LD₅₀은 65.9 ± 31.3 g/kg이다. 천궁의 주요 물질인TMP와 Z-ligustilide의 경구투여에 대한 LD₅₀은 각각 1,910과 0.3 mg/kg이다. TMP의 마우스 정맥투여에 대한 LD₅₀은 239 mg/kg이다.

Table 2. Various LD₅₀ of extracts and ingredients from *Ligusticum wallichii* Franch

천궁 및 성분	동물 및 투여	LD ₅₀ (g/kg)	참고문헌
천궁추출물	마우스 복강	65.9 ± 31.3	이선동 등 2012 ⁷⁾
Tetramethylpyrazine	마우스 경구	1,910	
	마우스 정맥	0,239	
Z-ligustilide	마우스 경구	0.3	www.clearsynth.com ¹⁶⁾

2) HED-based MOS와 안전성등급

천궁추출물의 HED-based MOS와 안전성등급을 추정하기 위해서는 2가지 측면을 고려하여야 한다. 먼저 천궁추출물의 마우스 복강에 대한 LD₅₀이 65.9 ± 31.3 g/kg으로 LD₅₀ 범위가 넓은 점이다. 이는 천궁추출물의 LD₅₀이 최소 34.5 g/kg에서 최대 97.2 g/kg을

의미하는데 보다 안전성을 위해서는 최소량의 LD₅₀인 34.5 g/kg를 선택할 필요성이 있다. 두 번째로는 천궁 추출물의 경구투여에 대한 LD₅₀이 확인되지 않았으므로 천궁에 대한 HED-based MOS와 안전성등급은 마우스 복강투여에 대한 LD₅₀을 이용하여 추정하여야 한다. 평균적으로 마우스 및 랫드인 경우에 경구투여일 경우에는 2, 정맥투여일 경우에는 1.5를 적용하여 LD₅₀을 나누어 주면 경구투여 ALD 수치가 된다. 이러한 점을 고려하여 임상용량인 3-10g 건조량을 적용하여 HED-based MOS와 안전성등급을 산출할 수 있다. Table 3에서처럼 천궁추출물의 마우스 복강투여의 LD₅₀은 34.5 g/kg이므로 전환계수 1.5로 나누면 추정 경구투여 ALD는 23 g/kg이 된다. 마우스와 사람의 Km factor의 비가 3/37이므로 성인 60 kg의 천궁추출물에 대한 ALD 인체등가용량은 111.8 g/kg이 된다. 천궁의 임상투여 최대용량이 1일 10 g이므로 HED-based MOS는 약 11.2가 된다. 이는 Table 3에서처럼 천궁추출물은 안전성등급에서 Class 3에 해당되며 약물민감성을 가진 환자 및 노약자에게 독성을 유발할 가능성이 있는 한약재이다. 천궁의 주요성분 중 TMP는 독성이 약하고 독성대사체를 생성하는 Z-ligustilide는 LD50 0.3 g/kg 정도로 독성이 강한 것으로 추정된다. Z-ligustilide 성분에 theoretical HED(이론적 인체등가용량)를 바탕으로 성인의 ALD는 0.72 g/kg이 된다. 천궁의 씨에 1g에 함유된 ligustilide는 97mg으로 약 1% 정도이라

고 확인되었다(참고문헌: Meepagala). 이를 토대로 건조 천궁 10g이 임상최대용량으로 가정했을 때 ligustilide의 임상최대섭취량은 1%인 0.1g이므로 Z-ligustilide의 HED-based MOS는 0.72/0.1 g이므로 7.2가 된다. 따라서 천궁의 독성대사체인 Z-ligustilide를 바탕으로 HED-based MOS를 산출했을 경우에 천궁의 등급은 Class 2가 되어 효능용량이 독성용량과 근접하여 소량의 투약으로 극도의 주의가 필요하며 장기 투약을 제한하는 한약재가 된다.

3) 천궁의 안전성등급에 대한 평가와 안전한 투약 용량

천궁의 열수추출물에 대한 안전성등급은 Class 3으로 약물민감성을 가진 환자 및 노약자에게 독성을 유발할 가능성이 있는 한약재이다. 반면에 생체전환을 통해 친전자성 독성대사체로 전환되는 Z-ligustilide의 LD₅₀을 바탕으로 산출된 천궁의 안전성등급은 Class 2로 효능용량이 독성용량과 근접하여 소량의 투약으로 극도의 주의가 필요하며 장기 투약을 제한하는 한약재이다. 그러나 비록 Z-ligustilide가 RI를 생성하는 천궁의 주요 성분이라도 RI를 제거하는 방어기전도 이루어지는 것으로 확인되고 있다. 당귀의 Z-ligustilide(또는 ligustilide)는 Fig. 2에서처럼 Nrf2(nuclear factor-erythroid 2 p45-related factor 2)와 결합하여 있는

Table 3. HED-based MOS and safety classification of *Ligusticum wallichii* Franch

천궁 및 성분	동물 및 투여	LD ₅₀ (g/kg)	ALD 전환계수	추정 ALD (g/kg)	Km factor (animal/human)	ALD의 theoretical HED (g/60kg)	임상투여 최고 용량 (g)	HED-based MOS	Class
천궁추출물	마우스 복강	34.5	1.5	23	3/37	111.8	10	11.2	3
Z-ligustilide	마우스 경구	0.3	2	0.15	3/37	0.72	0.1	7.2	2

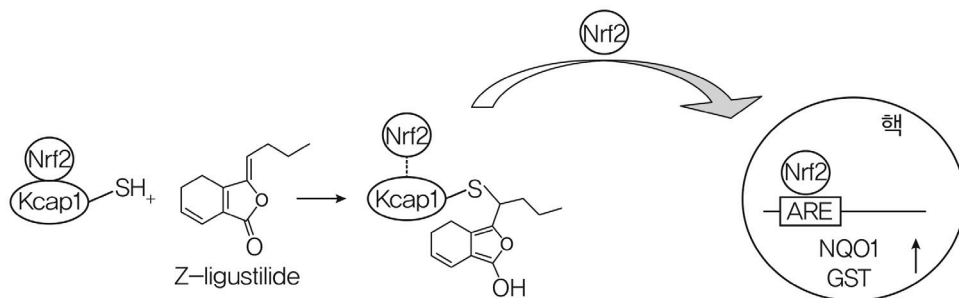


Fig. 2. Z-ligustilide-induced mechanism for detoxification-related gene expression.

keap1(Kelch-like ECH-associated protein 1)을 알킬화를 통해 RI를 제거하는 glutathione(GSH) 및 GSH 포함효소인 GST(glutathione-S-transferase)의 활성을 증가시킨다.¹⁶⁾ 이러한 연유로 Z-ligustilide가 생체전환을 통해 RI로 전환되어도 이에 의한 독성은 미약할 것으로 사료된다.

2. 당귀의 안전성등급화 및 안전한 투약용량

1) LD₅₀

당귀에 대한 LD₅₀은 Table 4에서처럼 당귀추출물의 마우스 경구에 대해 17에서 27.3 g/kg, 토끼의 피부흡수에 대해 약 10 g/kg 이상으로 추정되었다. 또한 랫드를 이용한 공직 중 흡입에 대한 LC₅₀는 60시간 동안 4 mg/L 이상으로 추정되었다.¹⁸⁾

Table 4. LD₅₀ of extracts from *Angelica sinensis*

당귀	동물 및 투여	LD ₅₀ (g/kg)	참고문헌
당귀추출물	마우스 경구	17 - 27.2	Makingcosmetics -MSDS ¹⁸⁾
	토끼 피부	> 10	
	랫드 흡입	LC ₅₀ : 60시간, > 4mg/L	

MSDS : Material safety data sheet(보건안전자료)

2) HED-based MOS와 안전성등급

당귀추출물의 HED-based MOS와 안전성등급을 추정하기 위한 LD₅₀는 17 - 27.2 g/kg이다. 그러나 보다 안전한 등급을 설정하기 위해서는 가장 낮은 LD₅₀인

17 g/kg을 이용하는 것이 바람직하다. 당귀추출물의 마우스 경구투여의 LD₅₀은 17 g/kg이므로 전환계수 2로 나누면 추정 경구투여 ALD는 8.5 g/kg이 된다. 마우스와 사람의 Km factor의 비가 3/37이므로 성인 60 kg의 천궁추출물에 대한 ALD 인체등가용량은 41.3 g/kg이 된다. 천궁의 임상투여최대용량이 1일 10 g이므로 HED-based MOS는 약 4가 된다. 따라서 당귀추출물의 안전성등급은 Table 5에서처럼 Class 2로 효능용량이 독성용량과 근접하여 소량의 투약으로 극도의 주의가 필요하며 장기 투약을 제한하는 한약재이다.

3) 당귀의 안전성등급에 대한 평가와 안전한 투약용량

당귀추출물에 대한 LD₅₀ 17 g/kg과 최대임상용량 9.5g으로 산정하여 얻은 안전성등급은 Class 2로 효능용량이 독성용량과 근접하여 소량의 투약으로 극도의 주의가 필요하며 장기 투약을 제한하는 한약재이다. 이러한 당귀에 대한 안전성등급은 일반적인 인식보다 훨씬 더 투약에 있어서 주의를 요하는 한약재로 고려된다. 특히 당귀의 성분 중 RI를 생성하는 3가지 물질인 Z-ligustilide, caffeic acid 그리고 safrole이 포함되어 있다. 이러한 RI 생성에도 불구하고 당귀추출물에 대한 in vitro 돌연변이 시험에서 돌연변이성(mutagenicity)이 없는 것으로 확인되었다.¹⁸⁾ 그러나 미국 FDA는 발암성과 간독성의 이유로 safrole의 식품첨가를 금지하는 물질로 지정되었다.¹⁹⁾ Caffeic acid은 승마(Cimicifuga racemosa, black cohosh)의 주요 성분으로 폐경증후군에 대한 약리작용과 동시에 간독성 및 기타 부작용으로 보고되었다.^{20,21)} 따라서 안전성등급이 Class 2로 분류된 당귀는 RI를 생성하는 Z-ligustilide, caffeic acid 그리고 safrole 등의 부작용을 최소화하기 위해서 3g 이하의 투약이 필요할 것으로 사료된다.

Table 5. HED-based MOS and safety classification of *Angelica sinensis*

당귀	동물 및 투여	LD50 (g/kg)	ALD 전환계수	추정 ALD (g/kg)	Km factor (animal/human)	ALD의 theoretical HED (g/60kg)	임상투여 최고 용량 (g)	HED-based MOS	Class
당귀추출물	마우스 경구	17	2	8.5	3/37	41.3	9.5	4.4	2

3. 감초의 안전성등급화 및 안전한 투약용량

2) HED-based MOS와 안전성등급

1) LD₅₀

Table 6은 열수추출물, 53% glycyrrhizin을 함유한 감초추출물(53% glycyrrhizin-추출물)과 glabridin의 LD₅₀을 나타낸 것이다. 감초의 열수추출물에 대한 마우스 복강투여의 LD₅₀은 2.52 g/kg으로 확인되었다. 투여된 개체의 100% 사망을 초래하는 LD₁₀₀은 마우스 피하투여를 통해 3.6 g/kg이었다. 또한 53% glycyrrhizin-추출물의 랫드 경구투여 LD₅₀은 수컷 14.2 g/kg, 암컷 18 g/kg, 그리고 마우스 경구투여 LD₅₀은 수컷 암컷 모두에서 7.5 g/kg으로 추정되었다. 건조 감초에 약 10% 정도의 glycyrrhizin가 포함되어 있다고 가정한다면 53% glycyrrhizin-추출물은 건조 감초를 약 5배 정도 농축되었다고 할 수 있다. 잠재적 RI 생성의 가능성이 있는 glabridin의 LD₅₀은 약 2.55 g/kg으로 추정되었다.

건조 감초의 1일 복용량은 1.5-9g으로 최대 9g을 HED-based MOS와 안전성등급을 산출하기 위해 적용할 수 있다. 일반적으로 수컷보다 암컷이 민감도가 높기 때문에 보다 안전을 위해 LD₅₀은 생물체의 암컷으로 이루어지며 특히 모든 물질에 대한 LD₅₀은 설치류 마우스의 암컷을 통해 이루어진다. 여기서도 랫드보다 마우스 그리고 수컷보다 암컷에 LD₅₀을 기초로 하여 HED-based MOS와 안전성등급에 대해 추정되었다. 탕제로 감초가 복용된다는 점을 고려할 때 열수추출물의 경구투여에 대한 안전성등급 산출이 바람직하지만 이에 대한 LD₅₀은 확인되지 않았다. Table 7에서 처럼 감초 열수추출물의 마우스 복강투여의 LD₅₀은 2.52 g/kg이므로 전환계수 1.5로 나누면 추정 경구투여 ALD는 1.68 g/kg이 된다. 마우스와 사람의 Km factor의 비가 3/37이므로 성인 60 kg의 천궁추출물에 대한 ALD 인체등가용량은 8.17 g/kg이 된다. 일반적으로 복용의 임상투여용량은 경구투여의 1/10 용량으로 이루어지는 것으로 추정할 때 감초의 복용 임상최

Table 6. LD₅₀ of water extracts and glabridin from Glycyrrhizae Radix

감초 및 성분	동물투여	성별	LD ₅₀ (g/kg)	참고문헌
열수추출물	마우스 복강	암컷	2.52	Editorial Committee of Chinese Materia Medica ²²⁾
	마우스 피하	암컷	*LD ₁₀₀ : 3.6	
감초추출물 (53% glycyrrhizin)	랫드 경구	수컷	18.0	Isbrucker et al., 2006 ²³⁾
		암컷	14.2	
	마우스 경구	수컷	>7.5	
		암컷	>7.5	
Glabridin	마우스 경구	암컷	2.55	MAFCO ²⁴⁾

* LD₁₀₀ : 개체 전체를 사망시키는 최소용량

Table 7. HED-based MOS and safety classification of Glycyrrhizae Radix

추출 형태	동물 및 투여 방법	LD ₅₀ (g/kg)	ALD 전환계수	추정 ALD (g/kg)	Km factor (animal/human)	ALD의 추정 HED (g/60 kg)	임상투여 최고 용량 (g)	HED-based MOS	등급 판정	
열수추출물	마우스 복강	2.52	1.5	1.68	3/37	8.17	0.9	9.07	2	
53% glycyrrhizin-추출물	랫드 경구	M	18	2	9	6/37	87.5	9	9.7	2
		F	14.2	2	7.1	6/37	69	9	7.6	2
	마우스 경구	M	>7.5	2	3.75	3/37	18.2	9	2	2
		F	>7.5	2	3.75	3/37	18.2	9	2	2

대투여용량은 경구투여 용량 9g의 1/10인 0.9g이 된다. 이를 적용할 경우에 감초 열수추출물의 복강투여에 대한 HED-based MOS와 안전성등급은 9.07과 Class 2가 된다. 이러한 방식으로 53% glycyrrhizin-추출물에 대한 암컷 마우스 경구투여 HED-based MOS와 안전성등급은 9.07과 Class 2가 된다. 그러나 53% glycyrrhizin-추출물의 마우스 경구투여에 대한 LD₅₀이 7.5 g/kg 이상이므로 단순히 7.5 g/kg을 기초로 하여 암컷 마우스 경구투여 HED-based MOS와 안전성등급이 낮을 수밖에 없다. 따라서 53% glycyrrhizin-추출물의 LD₅₀이 정확하게 산출된 암컷 랫드 경구투여에 대한 LD₅₀을 이용할 필요성이 있다. 암컷 랫드 경구투여의 HED-based MOS와 안전성등급은 7.6과 Class 2가 된다.

3) 감초의 안전성등급에 대한 평가와 안전한 투약용량

실제적으로 경구 복용의 형태인 탕제를 대신할 수 있는 감초의 열수추출물이 없기 때문에 감초에 대한 HED-based MOS와 안전성등급은 비교적 안전성등급이 낮은 Class 2 확인되었다. Class 2는 효능용량이 독성용량과 근접하여 소량의 투약으로 극도의 주의가 필요하며 장기 투약을 제한하는 한약재이다. 그러나 이러한 등급은 53% glycyrrhizin-추출물 즉, 건조감초를 약 5배 농축된 추출물에 대한 등급이다. 따라서 여기서 산출된 감초의 안전성등급은 실제 감초에 대한 안전성등급이 현실적이 못한 측면이 있다. 따라서 일반적으로 적용되는 임상최대용량 9g을 대신하여 5배 농축된 점을 감안하여 산출한다면 53% glycyrrhizin-추출물의 임상최대용량은 9/5g인 1.8g이 된다. 이를 적용하여 53% glycyrrhizin-추출물의 HED-based MOS와 안전성등급은 69/1.8의 38.3과 Class 3인 된다. 따라서 53% glycyrrhizin-추출물의 경구투여용량을 9g에서 실제 감초가 함유하고 있는 평균 10% glycyrrhizin-추출물로 전환을 통해 임상최대투여용량 산출을 통해 일반적인 열수 감초추출물의 안전성등급은 Class 3인 약물민감성을 가진 환자 및 노약자에게 독성을 유발할 가능성이 있는 한약재로 분류된다. 감초의 단기간 복용에 의한 부작용으로 cortisol 증가에 의한 renin-angiotensin-aldosterone system의 저하와 더불어 고미네랄코르티코이드(hypermineralcorticoid) 상태의

고혈압을 들 수 있다.²³⁾ 또한 감초에 의한 testosterone 감소에 대한 영향이 있는 것으로 확인되었다. 따라서 감초 복용에 의한 이러한 부작용을 고려할 때 감초를 약물민감성을 가진 환자 및 노약자에게 독성을 유발할 가능성이 있는 한약재인 Class 3으로 안전성등급으로 분류되는 것은 어느 정도 타당하다고 할 수 있다. 이러한 점을 고려할 때 열수추출물 복용으로 통한 건조 감초 1일 최대 복용량은 9g이 가능하지만 가장 민감한 군에게는 약 1/10인 용량인 약 1g까지 감소하는 것이 바람직하다.

4. 지황의 안전성등급화 및 안전한 투약용량

1) LD₅₀

Table 8에서처럼 지황의 에탄올-수치 탕제(wine-processed herb decoction)에 대한 마우스 경구투여 LD₅₀은 19.66 g/kg, 복강투여에 대한 LD₅₀은 2.8 g/kg으로 추정되었다.

Table 8. LD₅₀ of Rehmanniae Radix

지황	동물 및 투여	LD ₅₀ (g/kg)	참고문헌
수치된 지황 탕제	마우스 경구	19.66	Materia Medica Group ²⁵⁾
수치된 지황 탕제	마우스 복강	2.8	

2) HED-based MOS와 안전성등급

임상적으로 투여되는 숙지황의 용량은 12~30g 정도이므로 임상최대투여용량은 20g이 된다. 그러나 수치된 지황 탕제는 에탄올 추출물에 가깝기 때문에 열수추출물의 임상용량을 이에 적용하기에는 문제가 있다. 특히 숙지황은 지황을 수치하는 과정에서 독성 유발 가능성이 있는 aucubin 등의 이리도이드 배당체가 현저히 감소된다. 따라서 여기서 제시된 수치된 지황 탕제에 대한 LD₅₀을 이용하여 HED-based MOS와 안전성등급을 산출하기 위해서는 일반적인 임상용량의 1/10 정도인 3g를 임상투여최고용량으로 설정하는 것이 바람직하다. 이를 고려하여 Table 9에서처럼 수치된 지황

탕제에 대한 랫드 LD₅₀은 19.66 g/kg이므로 경구투여에 대한 전환계수 2로 나누면 추정 ALD는 9.83 g/kg이 된다. 마우스와 사람의 Km factor의 비가 3/37이므로 수치된 지황 탕제의 ALD 인체등가용량인 theoretical ALD는 47.82 g/kg이 된다. 임상투여최대용량 3g에 대한 수치된 지황 탕제의 HED-based MOS와 안전성등급은 각각 15.9와 Class 3이 된다. 수치된 지황 탕제의 복강투여에 대한 임상투여최대용량을 경구의 1/10으로 가정했을 때 HED-based MOS와 안전성등급은 각각 30.2와 Class 3이 된다.

3) 숙지황의 안전성등급에 대한 평가와 안전한 투약 용량

지황을 아홉 번 찌고 아홉 번 건조하여 투여되는 숙지황은 이러한 수치 과정에서 독성대사체를 생산하는 aucubin을 포함한 이리도이드 배당체가 현저히 감소하게 된다.⁷⁾ 이러한 연유로 숙지황은 다른 한약재보다 임상투여용량이 30g 정도가 될 정도로 독성이 약한 것으로 추정된다.

IV. 요약 및 결론

한약의 안전성등급화를 위해 HED-based MOS(인체등가용량-기반 안전한계영역, human equivalent dose-based the margin of safety, HED-based MOS)를 개발하여 몇 가지 다용하는 한약재에 대한 안전성 등급화의 평가를 진행하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 천궁의 열수추출물 및 RI를 생성하는 Z-ligustilide에 대한 안전성등급은 Class 3과 Class 2로 평가되었다. 그러나 비록 Z-ligustilide가 RI를 생성

하는 천궁의 주요 성분이라도 RI를 제거하는 방어기전도 이루어지는 것으로 확인되어 천궁에 대한 안전성등급은 Class 2보다 Class 3이 투약의 안전 용량으로 평가된다.

- 당귀는 RI를 생성하는 3가지 물질인 Z-ligustilide, caffeic acid 그리고 safrole를 함유하고 있어 안전성등급이 Class 2로 이들 물질에 의한 부작용을 최소화하기 위해서는 3g 이하의 투약이 필요할 것으로 사료된다.
- 감초는 RI로 전환되는 glabridin을 함유하고 있어 안전성등급이 Class 2로 평가되었는데 이는 경구투여가 아니고 복강투여에 의한 LD₅₀에 기초하여 산출된 것이다. 일반적으로 독성학 측면에서 복강투여는 위 및 간을 통해 대사되는 경구투여와 다르게 바로 혈액에 흡수되기 때문에 독성이 더 강하게 나타날 수 있다. 따라서 경구투여에 의한 감초의 안전성등급은 최소한 Class 3 정도로 추정된다. 그러나 감초의 단기간 복용에 의한 부작용으로 cortisol 증가에 의한 renin-angiotensin-aldosterone system의 저하와 더불어 고미네랄코르티코이드(hypermineralcorticoid) 상태의 고혈압 등의 부작용이 확인되고 있다. 따라서 열수추출물 복용으로 통한 건조 감초 1일 최대 복용량은 9g이 가능하지만 가장 민감한 군에게는 약 1/10인 용량인 약 1g까지 감소하는 것이 바람직하다.
- 숙지황은 RI를 생산하는 aucubin이 수치 후에 상당히 감소되어 숙지황의 안전성등급은 Class 3로 분류된다. 그러나 안전성등급을 위해 사용된 임상 최대용량은 3g이었지만 경우에 따라서는 임상투여용량이 30g 정도가 될 정도로 독성이 약한 것으로

Table 9. HED-based MOS and safety classification of Rehmanniae Radix

지황	동물 및 투여	LD ₅₀ (g/kg)	ALD 전환계수	추정 ALD (g/kg)	Km factor (animal/human)	ALD의 theoretical HED (g/60kg)	임상투여 최고 용량 (g)	HED-based MOS	Class
수치된 숙지황 탕제	마우스 경구	19.66	2	9.83	3/37	47.82	3	15.9	3
수치된 숙지황 탕제	마우스 복강	2.8	1.5	1.86	3/37	9.07	0.3	30.2	3

추정되고 있다.

이러한 결과는 한방에서 이들 약재들이 다빈도로 사용되고 있다는 측면을 고려할 때 기대한 것보다 등급이 낮아 독성의 우려가 된다. 낮은 등급의 원인으로는 독성대사체인 RI를 생성하는 이들의 성분 때문으로 추정된다. 특히 이들 한약재들의 복합처방은 독성의 상승작용의 우려가 있어 안전용량 및 주의가 요구된다.

참고문헌

1. 중화인민공화국. 의료용 독성약품관리법. 1988.
2. Kim, Ellie JY, Chen Y, Huang JQ, Li KM, Razmovski-Naumovski V, Poon J, Chan K, Roufogalis BD, McLachlan AJ, Moe SL, Yang D, Yao M, Liu Z, Li GQ. Evidence-based toxicity evaluation and scheduling of Chinese herbal medicines. *Journal of Ethnopharmacology*. 2013;146:40-61.
3. 식약처. 용역연구개발과제 식의약품 등 통합안전관리 기반연구 중 한약재 안전사용을 위한 등급별 차등관리 방안 연구. 2012.
4. 박영철, 이선동. 한약의 안전성 등급화를 위한 evidence-based approach: Human equivalent dose-based the margin of safety. *대한예방의학회지*. 2013;17(3):1-12.
5. 박영철, 이선동. 한약의 안전성 등급화를 통한 근거중심실용의학적 연구(1). *J Korean Med*. 2014; 35(1):114-123.
6. 박영철, 독성학의 분자-생화학적 원리, 한국학술정보(주), 2010. ISBN: 978-89-268-1259-4.
7. 이선동, 박영철. 한약독성학 I. 한국학술정보(주). 2012. ISBN:978-89-268-3190-8.
8. 이선동, 박영철. 한약독성학 II. 한국학술정보(주). 2013. ISBN. 978-89-268-4190-7
9. Yan CC and Ryan J. Effects of Monocrotaline, a Pyrrolizidine Alkaloid, on glutathione Metabolism in the Rat. *Huxtable Biochemical Pharmacology*. 1996;51: 375-379.
10. Jeffrey, AM, Williams GM. Risk assessment of DNA-reactive carcinogens in food. *Toxi-*

11. Zhou S, Gao Y, Jiang W, Huang M, Xu A and Paxton JW. Interactions of Herbs with Cytochrome P450. *Drug metabolism review*. 2003;35(1):35-98.
12. Kim, Dong-Hyun Kim, Bok-Ryang Kim, Ji-Yeon Kim, Yo-Chan Jeong. Mechanism of covalent adduct formation of aucubin to proteins. *Toxicology Letters*. 2000;114:181-188.
13. Peter J. Vit. Approximate lethal dose versus median lethal dose in acute toxicity testing of pharmaceuticals. A retrospective study. *Arch Toxicol*. 1989;63(4):343-4.
14. Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N. Dose translation from animal to human studies revisited. *Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2008; 22:659-661.
15. Beasley V. Introduction to Toxicology. International Veterinary Information Service, Ithaca, New York, USA. 1999.
16. www.clearsynth.com/docs/MSD-CS-PH-0626
17. Dietz BM, Bolton JL. Biological reactive intermediates(BRIs) formed from botanical/dietary supplements. *Chemico-Biological Interactions*. 2011;192:72-80.
18. Makingcosmetics-MSDS. www.makingcosmetics.com
19. US FDA. Safrole. 1989. PART 189-SUBSTANCES PROHIBITED FROM USE IN HUMAN FOOD, § 189.180.
20. Johnson BM, van Breemen RB. In vitro formation of quinoid metabolites of the dietary supplement *Cimicifuga racemosa* (black cohosh). *Chem. Res. Toxicol*. 2003;16(7):838-884.
21. US FDA. FDA Poisonous Plant Database-Toxicity of medicinal herbal preparations. 2008.
22. Editorial Committee of Chinese Materia Medica. State Drug Administration of China. Chinese Materia Medica. Shanghai: Science and Te-

- chnology Press; 1998.
23. Isbrucker RA, Burdock GA. Risk and safety assessment on the consumption of Licorice root (*Glycyrrhiza* sp.), its extract and powder as a food ingredient, with emphasis on the pharmacology and toxicology of glycyrrhizin. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2006;46:167-192.
24. MAFCO WORLDWIDE CORPORATION, Product Data Sheet, www.in-cosmeticsasia.com
25. Materia Medica Group. Medical Vocational College of Northern Henan, *Pharmacy Bulletin*. 1982;17(2):114.