

약침용 홍삼추출액의 급성독성시험에 관한 연구

남 윤 석 · 이 윤 호

ABSTRACT

Studies on the Safety Assessment of Red-ginseng Radix Extract Solution for Herb-acupuncture

Nam, Yun Seok, Lee, Yun Ho

The components of Red-ginseng radix extract solution for herb-acupuncture were analyzed by HPLC. According to the Medical Product Safety Administration Guidelines for safety assessment, mice and rats were used for acute toxicity test.

The results were summarized as follows;

1. In the Saponin contents(%) of Red-ginseng radix extract, Ginsenoside Rb₁ Saponin was 0.27% in raw material, 1.67% in extract powder and Ginsenoside Rc Saponin was 0.16% in raw material, 1.12% in extract powder and Ginsenoside Rd Saponin was 0.08% in raw material,

0.54% in extract powder.

2. There were no abnormal findings in acute toxicity test treated with Red-ginseng radix extract solution for herb-acupuncture and LD₅₀ could not be measured.

I. 緒 論

藥鍼療法은 經絡學說의 原理에 依據하여 有關한 穴位, 壓痛點 혹은 體表의 觸診으로 얻어진 陽性 反應點에 各種 藥物抽出液을 注入하여 刺鍼과 藥物作用을 통하여 生體의 機能을 調整하고 病理狀態를 改善시켜 疾病을 治療하는 新鍼療法⁸⁾이다.

國內에서는 1960년대부터 처음 韓藥材 抽出液을 利用한 藥鍼療法이 臨床家에서 一部 活用되었는데,²⁻⁵⁾ 1970년대 以後부터 實驗動物을 통한 研究가 進行되었다. 특히 動物實驗에 依하면 藥鍼療法이 鎮痛^{26,27,30,37,41-43)}, 解毒^{21,28,34,47)}, 鎮痙^{29,42,48)}, 補血³⁵⁾, 血壓降下^{25,37)}, 血糖調節³⁸⁾, 免疫增強^{18,45,48,53)}, 抗腫瘍效果²³⁾ 및 關節炎¹⁶⁾ 등에 有效한 效果가 있다고 報告되었으나 臨床에서 藥鍼施術時에 心悸, 血壓降下, 呼吸困難, 消化障礙, 頭痛, 昏迷, 蕁麻疹, 末梢神經炎 및 shock 등의 副作用이 各種藥物들을 注入했을 때 나타났다는 臨床的 報告⁵⁵⁾가 있으므로 藥鍼製劑를 臨床에 應用하기 위해서는 藥鍼製劑의 安全性檢討가 必要하다. 그러나 臨床試驗에 適用하기 위하여 必要한 藥鍼製劑의 安定性에 관한 研究는 鹿茸^{44,46)}, 當歸⁵¹⁾, 靈芝⁴⁴⁾, 人蔘¹⁵⁾, 丹蔘²⁴⁾, 蜂毒液³⁶⁾,

黃芪⁴⁹⁾ 및 數種 藥材⁵⁰⁾와 局所組織에 미치는 影響에 대한 研究³¹⁾에 不過하며 一部 藥材를 除外하고는 大部分 品質의 規格化가 先行되어 있지 않다.

人蔘은 오가피과에 속한 蔘의 根으로 大補元氣, 固脫生津, 安精神, 除邪氣 등의 効能이 있으며, 勞傷虛損, 食少倦怠·등에 廣範圍하게 使用되는 滋補強壯興奮劑이다^{6,54)}. 또한 神經을 調節하고 體液과 新陳代謝를 促進하고 強心, 抗利尿 및 性機能增強作用이 있으며 stress에 대한 抵抗力을 높이고 消化 吸收 및 免疫抗體의 生産을 促進하고 癌治療에도 補助적인 作用이 있다고 報告되고 있다^{6,52,56,57,58,61)}.

紅蔘은 6년동안 栽培한 水蔘을 蒸蔘, 乾燥 등의 過程을 거쳐 水分量이 12.5 - 13.5%가 되도록 加工하는중 非酵素的으로 褐色反應이 促進되어 농다갈색의 色相을 가지며, 매우 단단한 形態로 加工하여 原形을 維持시킨 人蔘製品이다⁷⁾.

이에 著者는 紅蔘抽出液이 動物實驗을 통하여 効能이 檢討되어있고 한국담배인삼공사가 管理하는 工產品으로써 紅蔘製品이 藥鍼製劑로서의 臨床的 活用に 適合하다고 判斷되었으나 이에 대한 紅蔘抽出液의 安定性 檢討가 아직 없었으므로 紅蔘抽出液을 HPLC로 成分을 比較分析

하였고, 또한 保健福祉部 規定에 의한 醫藥品 등의 毒性試驗基準 등^{1,9,10-12)}에 의하여 急性毒性試驗을 한 結果 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗

1. HPLC에 의한 紅蔘抽出液의 成分 分析試驗

1) 試驗材料

(1) 試驗機器

紅蔘 中 saponin류의 定量에 사용한 HPLC (High Performance Liquid Chromatograph)는 Waters社(U.S.A.)제 Liquid Chromatograph로 영인과학사의 Young-in model D520A integrator가 부착된 것이고, 분리관은 Merck C18 column을 사용하였다. 또한 指標成分의 λ_{max} 測定에는 Milton Roy 사제 Spectronic 1201 UV-VIS spectrophotometer를 사용하였다.

또한 UV-VIS detector를 사용하였으며 모든 實驗에서 사용된 물의 정제에는 Millipore사의 Milli-Q reagent water purification system을 사용하였다. 또한 시료의 주입은 Hamilton사제 25 μ l microsyringe를 사용하였다.

(2) 試藥 및 藥材

實驗에 使用한 紅蔘試料는 한국담배인삼공사

제품을 購入하여 使用하였다. 指標成分의 確認에 使用한 標準物質들은 모두 Wako사(Japan)제 特級試藥이며, 試料의 前處理에 使用한 모든 試藥들은 1級으로서 精製하지 않고 使用하였다. 또한 용리액으로 使用한 acetonitrile 등은 HPLC용 Fischer社製를 사용하였다.

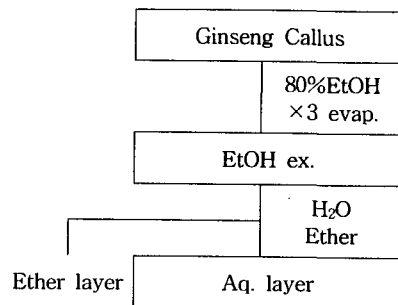
2) 試驗方法

(1) 乾燥抽出物 製造

紅蔘 100g을 Reflux condenser가 달린 加熱器로 80%EtOH에 3번 각각 1시간 30분씩 끓여서 Christ FDC-1, K40(Germany)으로 凍結시키고, Christ LDC-1, Alpha1/4(Germany)로 凍結乾燥하여 9g의 固形抽出物을 얻어 9%의 水率을 보였다.

(2) 試料의 前處理

藥材 5g을 80% EtOH 100ml로 1시간 동안 煎湯한 후 濾過하여 남은 濾液을 減壓濃縮하여 乾燥시켰다. 이를 물에 溶解시킨 다음 Figure 1과 같이 diethyl ether로 씻어 준 후, n-butanol로 抽出하여 이 층을 減壓濃縮하여 乾燥시켰다. 이를 물에 溶解하여 分析試料로 사용하였다.



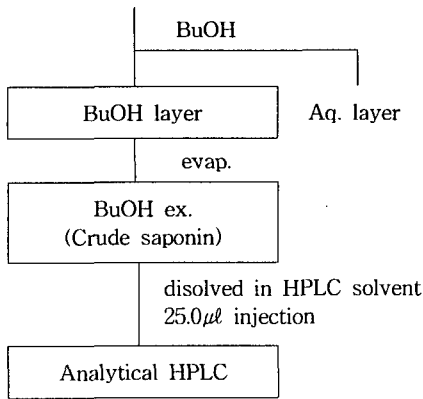


Figure 1 Analytical procedure of saponins in Red-ginseng radix extract.

(3) 分析條件

Ginsenoside Rb1과 Rc의 定量을 위한 HPLC의 分析條件은 Table 1과 같다.

Table 1. Analycal Condition for Measuring of saponins in Red-ginseng radix extract.

Description	Condition
Column	Merck C ₁₈
Mobile phase	CH ₃ CN/H ₂ O(30:70)
Flow rate	1.0 ml/min.
Injection volume	25.0 μl
Detector	UV 219 nm
Chart speed	5 mm/sec.

3) 試驗結果

紅蔘乾燥粉末 中の saponin 含量은 Ginsenoside Rb₁이 0.27%, Rc가 0.16%, Rd가

0.08% 含有된 것으로 나타났으며, 乾燥抽出物 中에서는 Rb₁이 1.67%, Rc가 1.12%, Rd가 0.54%로 含有된 것으로 나타났다.

Table 2. Saponin Content(%) of Red-ginseng radix extract.

Saponin	Raw material	Extract powder
Rb ₁	0.27	1.67
Rc	0.16	1.12
Rd	0.08	0.54

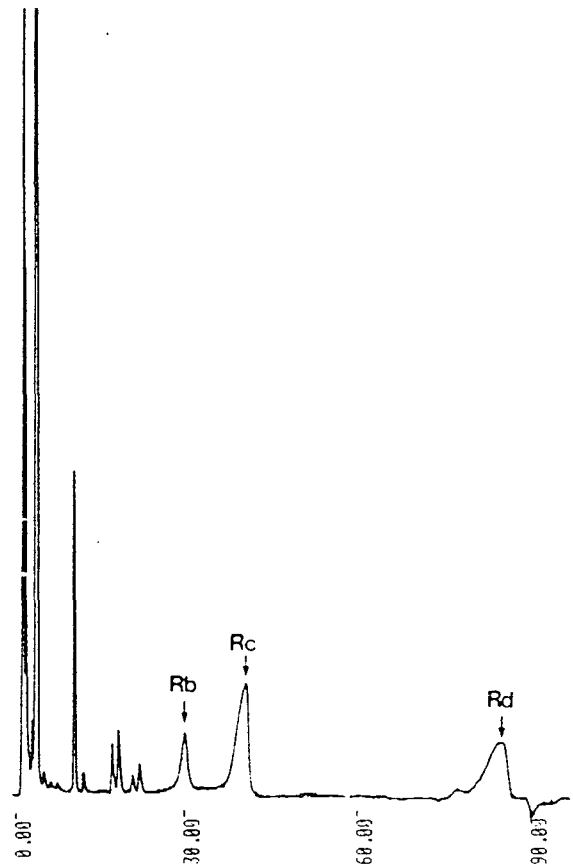


Figure 2. HPLC chromatogram of authentic ginsenoside Rb₁, Rc and Rd.

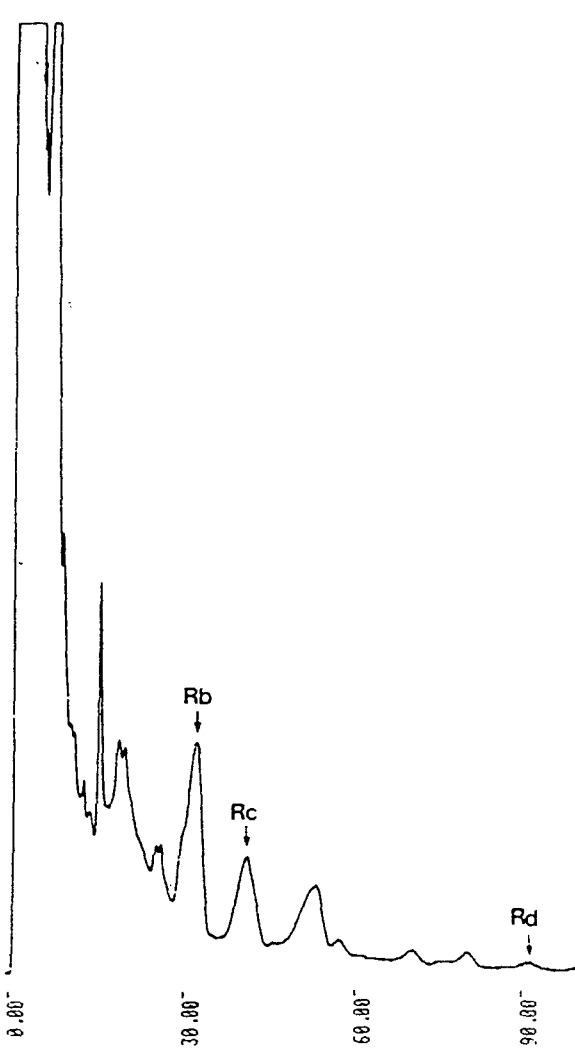


Figure 3. HPLC chromatogram of ginsenoside Rb1, Rc and Rd in the raw material of Red-ginseng radix.

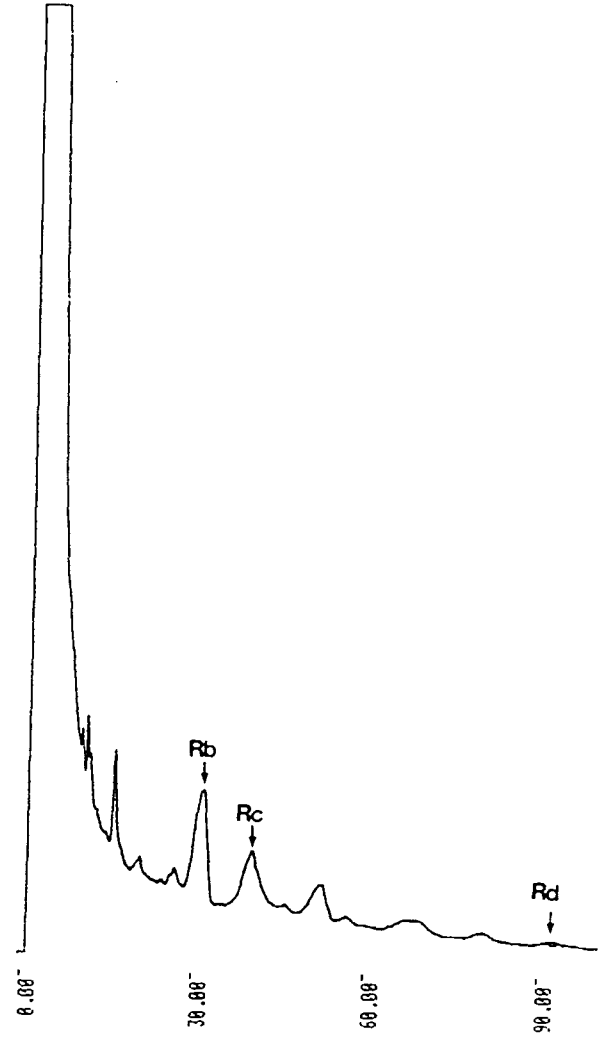


Figure 4. HPLC chromatogram of ginsenoside Rb1, Rc and in the extract powder of Red-ginseng radix.

2. 急性毒性試驗

1) 材料 및 方法

(1) 試驗動物

毒性試驗에서 사용되는 적당한 試驗動物로는 풍부한 基礎 試驗 成績이 蓄積되어 있어서 試驗 結果의 解釋, 比較 및 評價에 유용한 3 週齡의 ICR계 마우스와 Spraque-Dawley系 랫드를 서울대학교 實驗動物飼育室에서 供給받아 약 1週日間 實驗室 環境에 馴化시키면서 그중 健康한 動物만을 試驗에 使用하였다. 投與開始時 週齡은 마우스와 랫드 모두 4週齡이었고, 體重範圍는 마우스의 경우 암컷은 19-28g, 수컷은 20-30g, 랫드의 경우 암컷은 90-120g, 수컷은 100-130g이었다.

(2) 飼育環境

本 試驗은 溫度 $20 \pm 3^{\circ}\text{C}$, 相對濕度 $50 \pm 10\%$, 換氣횟수 10-12회/hr., 螢光燈照明 12時間(07:00-09:00), 照度 150-300Lux로 設定된 서울대학교 수의과대학 소동물실험실에서 實施하였다. 馴化, 檢疫, 投與 및 試驗期間중에 폴리카보네이트 飼育箱子(26×42×18cm, 명진기계제작)에 5마리/사육상자로 飼育하였다. 飼育箱子에는 試驗番號, 動物番號 및 投與량을 기입한 tag표시법을 利用하였으며, 飼料는 試驗動物用 固形飼料(삼양사료 주식회사), 飲水는 上水道水を 自由 攝取시켰다.

(3) 投與量 및 試驗群의 構成

“醫藥品 등의 毒性試驗基準”^{1,9)}에 準하여 마우스에서 投與할 수 있는 最高用量은 試驗物

質을 1,600mg/kg B.W.으로 하고 그 用量에 일정한 公比($\times 0.5$)로 5단계를 設定하고, 注射用 蒸溜水を 對照物質로하여 投與하는 陰性對照群을 두었고, 試驗物質을 1회로 皮下 投與하였다. 랫드에서 최고용량은 試驗物質을 1,600mg/kg B.W.으로 하고 그 用量에 일정한 公比($\times 0.5$)로 5단계를 設定하고, 注射用 蒸溜水((주)중외제약)를 對照物質로하여 投與하는 陰性對照群을 두었고, 試驗物質을 1회 皮下 投與하였다.

群分離는 마우스, 랫드 모두 馴化期間중에 健康하다고 判斷된 動物의 體重을 측정하여 平均 體重에 가까운 個體들이 골고루 들어가도록 無 作爲法으로 하였으며, 動物個體識別은 포화 피크린산 皮毛着色 마킹법과 Tag 標示法으로 하였다 (Table 3 & 4).

(4) 試驗物質의 投與

試驗物質을 注射用 蒸溜水로 溶解시켜 稀釋하여 調製한 후 26G 1 ml注射器를 利用하여, 試驗物質을 體重用量別로 등쪽皮下內에 1회 投與하였다.

(5) 觀察 및 評價

① LD₅₀ 值

LD₅₀ 算出을 위하여 Computer program인 Pharmacologic Calculation System(Version 4.1) 중 Litchfield & Wilcoxon II法³³⁾에 의해 計算하였다.

② 臨床症狀 및 斃死動物의 觀察

投與當日은 投與後 6時間까지는 每 時間마다 震顫, 痙攣, 流涎, 泄瀉, 昏睡症狀, 瞳孔縮小 및

敬腫, 大便, 小便 등의 一般狀態의 發生有無를 觀察하였고, 최종 투여후부터 72시간동안 每日 1회씩 一般狀態의 變化, 中毒症狀 및 斃死動物의 有無를 觀察하였다.

③ 體重測定

모든 動物에 대하여 投與直前과 投與後 48시간과 72시간에 體重을 測定하였다. 體重에 대한 有意성 檢定법으로 one-way ANOVA에서 유의차가 認定되는 F값이 관찰될때 대조군과 各 用量군과 比較하기 위하여 Dunnett's t-test를 하였으며, 발생병변의 빈도는 χ^2 (chi-square)검정을 하였다.

④ 剖檢 및 病理組織 檢査

觀察期間 終了後 에테르 痲醉를 하고 放血致死시켜서 内部臟器의 肉眼的 異常 有無를 상세히 觀察하였다.

2) 成績 및 結果

(1) 斃死率 및 LD₅₀ 値

試驗 全期間을 통하여 마우스와 랫드 암수 모두에서 斃死動物은 觀察되지 않았다(Table 5, 6).

(2) 臨床症狀

試驗 全期間을 통하여 皮下投與時 마우스와 랫드 암수 모두에서 本 試驗物質에 의한다고 생각되는 어떠한 臨床症狀도 觀察되지 않았다.

(3) 體重測定

마우스와 랫드 암수 각각 5個 用量으로 皮下投與한 군에서 대조군에 비하여 有意성있는 차이를 나타내지 않았다. 또한, 投與用量群 사이의 體重變化는 用量依存性을 나타내지 않았다 (Table 7, 8).

(4) 解剖病理 所見

마우스와 랫드에서 本 試驗物質의 投與에 起因한다고 思慮되는 어떠한 有意할 만한 病變을 觀察하지 못하였다(Table 9, 10).

Table 3. Composition of Groups in ICR Mice

Group	Sexuality	No.	Mice No.
Maximum dose (T1)	Male	5	MM 1 - MM 5
	Female	5	MF 1 - MF 5
× 1/2 dose (T2)	Male	5	MM 6 - MM 10
	Female	5	MF 6 - MF 10
× 1/4 dose (T3)	Male	5	MM 11 - MM 15
	Female	5	MF 11 - MF 15
× 1/8 dose (T4)	Male	5	MM 16 - MM 20
	Female	5	MF 16 - MF 20
× 1/16 dose (T5)	Male	5	MM 21 - MM 25
	Female	5	MF 21 - MF 25
Control (C)	Male	5	MM 26 - MM 30
	Female	5	MF 26 - MF 30

Table 4. Composition of Groups in SD Rats

Group	Sexuality	No.	Rat No.
Maximum dose (T1)	Male	5	BM 1 - BM 5
	Female	5	BF 1 - BF 5
× 1/2 dose (T2)	Male	5	BM 6 - BM 10
	Female	5	BF 6 - BF 10
× 1/4 dose (T3)	Male	5	BM 11 - BM 15
	Female	5	BF 11 - BF 15
× 1/8 dose (T4)	Male	5	BM 16 - BM 20
	Female	5	BF 16 - BF 20
× 1/16 dose (T5)	Male	5	BM 21 - BM 25
	Female	5	BF 21 - BF 25
Control (C)	Male	5	BM 26 - BM 30
	Female	5	BF 26 - BF 30

Table 5. Mortality of Male and Female ICR Mice Subcutaneously Treated with Red-ginseng Radix Extract Solution

Sex(mg/kg B.w.)	Dose	Hours after final treatment						Days after treatment					Final Mortality
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	7	14	
Male	1,600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	800	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
Female	1,600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	800	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5

Table 6. Mortality of Male and Female SD Rats Subcutaneously Treated with Red-ginseng Radix Extract Solution

Sex(mg/kg B.w.)	Dose	Hours after final treatment						Days after treatment					Final Mortality
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	7	14	
Male	1,600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	800	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
Female	1,600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	800	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5

Table 7. Body Weights of Male and Female ICR Mice Subcutaneously Treated with Red-ginseng Radix Extract Solution (Mean \pm SD ;g)

Sex	Days after treatment	Dose(mg/kg B.W.)					
		0	1,600	800	400	200	100
Male	0	25.30	24.56	25.42	26.06	25.96	26.74
		± 3.16	± 2.79	± 3.74	± 2.27	± 2.33	± 3.04
	7	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
		28.58	28.40	27.38	29.34	29.54	30.02
	14	± 5.63	± 3.46	± 2.51	± 2.09	± 4.10	± 2.91
		(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
Female	0	23.44	21.78	23.16	23.24	23.44	23.70
		± 2.04	± 4.68	± 2.62	± 2.42	± 2.19	± 2.87
	7	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
		25.00	22.58	24.44	25.32	24.96	26.44
	14	± 1.21	± 4.21	± 4.27	± 2.22	± 3.52	± 2.66
		(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
14	26.12	24.74	25.02	25.77	25.94	26.40	
	± 1.80	± 3.01	± 5.06	± 3.87	± 4.64	± 3.56	
		(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	

(5) : No. of animals examined

Table 8. Body Weights of Male and Female SD Rats Subcutaneously Treated with Red-ginseng Radix Extract Solution (Mean \pm SD ;g)

Sex	Days after treatment	Dose(mg/kg B.W.)					
		0	1,600	800	400	200	100
Male	0	116.54	114.42	118.04	125.96	132.44	107.22
		± 11.05	± 7.942	± 8.01	± 13.25	± 18.24	± 5.12
	7	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
		179.68	171.96	172.28	181.52	198.00	154.12
	14	± 14.64	± 11.69	± 13.83	± 11.70	± 23.41	± 29.97
		(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
Female	0	112.64	121.30	122.76	116.22	115.80	122.30
		± 16.88	± 12.63	± 10.75	± 10.91	± 4.18	± 8.72
	7	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
		150.90	167.86	162.02	161.48	154.80	160.90
	14	± 33.91	± 17.13	± 10.09	± 11.02	± 4.52	± 8.99
		(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
14	177.54	180.30	182.08	174.54	175.26	180.74	
	± 42.63	± 17.21	± 12.27	± 15.44	± 6.38	± 8.39	
		(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	

(5):No. of animals examined

Table 9. Autopsy Findings of Male and Female ICR Mice Subcutaneously Treated with Red-ginseng Radix Extract Solution

		Dose(mg/kgB.W.)											
		0		1,600		800		400		200		100	
Fate		tk	fd	tk	fd	tk	fd	tk	fd	tk	fd	tk	fd
No. of Animals	Male	5	0	5	0	5	0	5	0	5	0	5	0
	Female	5	0	5	0	5	0	5	0	5	0	5	0
Male	NAD	5		5		5		5		5		5	
Female	NAD	5		5		5		5		5		5	

tk : Terminal kill

fd : Found dead

NAD: No abnormality detected

Table 10. Autopsy Findings of Male and Female SD Rats Subcutaneously Treated with Red-ginseng Radix Extract Solution

		Dose(mg/kgB.W.)											
		0		1,600		800		400		200		100	
Fate		tk	fd	tk	fd	tk	fd	tk	fd	tk	fd	tk	fd
No. of Animals	Male	5	0	5	0	5	0	5	0	5	0	5	0
	Female	5	0	5	0	5	0	5	0	5	0	5	0
Male	NAD	5		5		5		5		5		5	
Female	NAD	5		5		5		5		5		5	

tk : Terminal kill

fd : Found dead

NAD: No abnormality detected

Ⅲ. 考 察

藥鍼療法은 一般的으로 經穴이나 敏感點에 일정한 方法으로 製劑된 韓藥抽出液을 刺入하여 藥物效果와 刺鍼의 效果를 同時에 얻도록 하는 新鍼療法中的 하나이다⁸⁾. 藥鍼療法은 근래에 임상적 관찰을 통해 높은 치료효과가 보고되고 있으며 실제 임상에서 다양한 질환에 이용되고 있다.

人蔘에 대한 과학적인 추구는 1854년 Garriques가 saponin을 분리해 내면서 비롯되었고⁵⁸⁾, 1957년에는 소련의 Brekhman이 人蔘의 adaptogen활성과 관련지어 人蔘 saponin을 유효성분으로 강조⁵⁷⁾한 이래 saponin에 대한 연구가 활발하였으며 Shibata 및 Tanaka등은 TLC상에서 개별 saponin을 분류하여 명명하고 그 화학구조를 규명하였다⁶⁰⁾.

또한 人蔘의 미량 saponin성분들 까지도 규명이 되어 人蔘에서 총 22종의 saponin이 보고되었는데 이들 saponin성분들은 人蔘屬植物에만 함유되어 약리적 연구결과 人蔘 고유의 유효지표성분으로 인정받게 되었다^{17,61)}.

人蔘藥鍼에 관한 연구는 人蔘藥鍼의 製劑別인 種類別 研究와 鎮痛³⁷⁾, 免疫^{23,53)}, 糖尿^{20,38,39)}, 血壓降下³⁷⁾, 甲狀腺障礙¹⁹⁾, 抗 알레르기⁴⁰⁾ 및 肝, 胃機能恢復^{22,32)}, 血栓⁴³⁾ 등에 유의하다고 보고되었으며, 製法別 人蔘藥鍼液을 대상으로 TLC 및 HPLC를 통하여 그 유효성분을 분석하였다³⁹⁾.

※ 實驗에서 HPLC에 의한 紅蔘抽出液의 成

分分析 試驗結果는 紅蔘乾燥粉末을 80% EtOH로 抽出하였을 때 9%의 固形 抽出物을 얻었으며, 이 乾燥粉末中の 人蔘 사포닌은 Rb1 1.67%, Rc 1.12% 및 Rd 0.54%가 含有되어 있었다. 따라서 1.0g의 紅蔘 固形 抽出物을 1.0ml의 생리 식염수에 용해한 紅蔘藥鍼製劑의 경우 人蔘 사포닌이 各各 Rb1 1.67%, Rc 1.12% 및 Rd 0.54%가 含有된 것을 規格으로 하여야 할 것으로 생각된다.

毒性試驗은 試驗物質의 安全性 評價를 위한 基礎資料이며, 우리나라의 毒性學研究는 서양의 발달된 毒性學의 方法論 및 技術이 導入되는데 時間적으로 짧았기 때문에 현재 미흡한 실정이다¹⁾. 그러나 1982년 10월 1일 '一般毒性 試驗方法에 관한 規定'¹²⁾이 國立保健院 예규 제 222호로 제정되었고, 1985년 4월 1일 '特殊毒性試驗方法에 관한 規定'¹³⁾이 國立保健院 예규 제 267호로 제정되었으며, 1988년 10월 29일 一般毒性試驗法 規定과 特殊毒性試驗法 規定을 統合하여 '醫藥品 등의 毒性試驗基準'¹⁰⁾을 보건사회부 산하 국립보건안전연구원 예규 제 10호로 제정 공포하였다. 또한 新藥의 安全性에 대하여는 1990년 9월 19일 보건사회부 고시 제 90-70호에 '醫藥品 등의 製造業 및 製造品目 許可指針'¹⁴⁾ 제 18호 新藥製造 品目許可 要件이 規定되었고, 複合劑의 製劑別 毒性試驗은 1990년 3월 31일 국립보건안전연구원 예규 제 23호 '의약품 등의 안정성 유효성 검토의뢰서 심사에 관한 규정'¹¹⁾에 포함되어 있다.

複合劑라 함은 有效成分 2가지 이상을 함유하는 醫藥品으로서, 韓藥은 대부분 複合劑에 속하고, 紅蔘 또한 複合劑의 범주에 속하는 것으로, 注射劑의 경우 急性, 亞急性 및 慢性毒性試驗을 實施하도록 규정하고 있고, '복합제의 유효성분 모두가 문헌 등에 의한 LD₅₀치 등으로 보아 아 급성 독성시험이 필요없다고 판단되는 것은 유효성분 및 복합제의 아급성 독성시험을 생략할 수 있다'¹¹⁾ 고 규정하고 있다.

毒性이라는 것은 『표적생물에 대한 藥이나 化學物質의 모든 해로운 效果』로 定義되며 경제 협력 개발기구(Organization for Economic Cooperation and Development ; OECD)전문위원회는 急性毒성을 『어떤 物質의 단일 用量을 단시간에 (經口)투여하거나 24時間 이내에 여러 用量을 1회 이상 투여할 때에 나타나는 해로운 效果』⁵⁹⁾ 또는 1회 投與하였을 때에 단기간에 나타나는 毒性症狀¹⁰⁾ 으로서, 試驗結果에는 LD₅₀, 觀察期間중 3회 이상의 體重觀察記錄, 觀察期間終了 후 肉眼的 解剖所見 및 斃死動物의 病理組織 檢査所見이 포함되어야 한다¹⁰⁾ 고 規定되어 있다. 露出期間에 대해서는 의견이 구구하나 보통 1-3個月의 範圍이다¹⁾.

LD₅₀은 『어떤 集團중, 50%의 死亡을 일으킬 수 있는 어떤 化合物의 用量이다.』라고 規定^{1,9)} 하고 있고, OECD전문가위원회는 『動物들의 50%를 죽일 수 있다고 기대되는 統計적으로 導出된 어떤 物質의 單一用量』⁵⁹⁾ 이라고 좀 더 명확하게 定義하고 있다. 一連의 試驗條件下에

서 LD₅₀을 決定하는 것은 어떤 化合物의 毒性에 대한 가치있는 情報를 提供할 수 있지만, 急性毒성을 評價하는 데 있어서는 用量反應의 기울기(反應/用量), 死亡所要時間, 藥物毒性病勢, 病理學的 缺陷 등이 모두 필수적이며, 오히려 LD₅₀값보다 重要하다. 이는 기울기가 작을 때 用量을 많이 增加시켜도 反應의 增加가 적어 安全性의 範圍가 크기 때문이다. 또한 低毒性이나 非毒性物質의 경우 LD₅₀을 구하려고 아주 높은 用量을 투여하여 試驗物質의 固有毒性과는 관계 없이 物理的 遮斷效果로 不作用을 초래할 수 있으므로 試驗限界를 定하는 것이 必要하며, 이는 經口투여시 一般的으로 體重 kg당 5g이다^{1,10)}.

本 試驗에서는 “醫藥品 등의 毒性試驗基準”¹⁰⁾ 등에 準하여 紅蔘抽出液에 대한 急性毒性試驗을 ICR계 마우스와 SD계 랫드에서 靜脈內로 最高用量(1,600mg/kg B.W.)까지 投與한 結果, 랫드와 마우스에서는 斃死 및 一般症狀과 모든 生存動物에 대한 解剖病理 所見에서 試驗物質의 投與에 起因한다고 思慮되는 變化는 觀察되지 않았다. 그래서 이 試驗物質의 LD₅₀은 皮下投與 最高用量인 1,600mg/kg B.W 以上일 것으로 思慮된다.

IV. 結 論

紅蔘抽出液의 安全性 評價를 위하여 HPLC로 成分을 比較分析하였고, 醫약품안전성 관리기준

에 따라 마우스 및 랫드를 實驗動物로 急性毒性試驗을 한 結果 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 紅蔘抽出物을 HPLC에 의하여 成分을 比較分析한 結果, 紅蔘乾燥粉末 中の saponin 含量은 Ginsenoside Rb₁이 0.27%, Rc가 0.16%, Rd가 0.08% 含有된 것으로 나타났으며, 乾燥抽出物 中에서는 Rb₁이 1.67%, Rc가 1.12%, Rd가 0.54%로 含有된 것으로 나타났다.
2. 紅蔘抽出液은 마우스 및 랫드에서 急性毒性을 나타내지 않았으며, LD₅₀치는 산출되지 않았다.

參 考 文 獻

1. 金良垣: 독성학 - 원리와 시험방법, 서울, 綴宛出版社, PP.15-57,271-310, 699-715,1986.
2. 金廷彦: 奇蹟의 藥鍼療法 (1), 서울, 金剛出版社, p.25, pp.99~104,1987.
3. 金廷彦: 奇蹟의 藥鍼療法 (2, 3), 서울, 金剛出版社, pp.105~160, 1990.
4. 南相千: 經絡 (2, 3), 서울, 杏林書院, p.7, pp.45~49, 1976.
5. 南相千: 經絡 (4), 서울, 杏林書院, pp.101~109, 1976.
6. 李尙仁, 安德均: 한약임상응용, 서울, 정보사

pp.345-350, 1982.

7. 정기택외 12인: 고려인삼, 한국인삼연초연구원, p.44, 1993.
8. 崔容泰 外: 鍼灸學, 서울, 集文堂, PP 382-384, PP.1457-1458, 1991.
9. 허인회: 독성학, 서울, 신일상사, pp.35-42, 153-172, 219-269, 1993.
10. 국립보건안전연구원: 의약품등의 독성시험기준, 국립안전연구원예규 10호, 1988.
11. 국립보건안전연구원: 의약품등의 안전성 유효성 검토의뢰서 심사에 관한 규정, 국립보건안전원 예규 제23호, 1990.
12. 국립보건원: 일반독성에 관한 규정, 국립보건원예규 제 222호, 1982.
13. 국립보건원: 특수독성에 관한 규정, 국립보건원예규 제 267호, 1985.
14. 보건사회부: 의약품등 제조업 및 제조품목허가지침, 보건사회부고시 제90-70호, 1990.
15. 姜成吉, 李惠貞: 인삼수침액이 제제방법에 따른 안전도 검사 및 규격화 연구, 대한한의학회지 15(1):282-305, 1994.
16. 康秀一, 崔容泰: 穴位別 草烏水鍼刺戟이 흰쥐의 Adjuvant關節炎에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集 13:203-271, 1990.
17. 고성룡, 최강주: 白蔘類의 crude saponin 및 ginsenosides 함량, 생약학회지 20(3):170-174, 1989.
18. 金大洙, 姜成吉: 三種의 製法에 따른 人蔘水鍼이 MTX를 투여한 생쥐의 免疫反應에 미

- 치는 影響, 慶熙醫學 5(1):97-105, 1989.
19. 金容奭, 姜成吉: 人蔘水鍼이 흰쥐의 甲状腺機能低下에 미치는 影響, 慶熙醫學 6(2):202-210, 1990.
20. 金雄時, 高炯均, 姜成吉: 水蔘, 白蔘 및 紅蔘水鍼이 Alloxa. 糖尿病 흰쥐에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌 6(1):1-13, 1988.
21. 金在圭, 崔容泰: Ethanol 中毒에 대한 鍼, 灸 및 人蔘水鍼이 解毒效果에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集 9:1-27, 1986.
22. 金昌一, 李惠貞: 濃度別 人蔘水鍼이 hydro-cortisone acetate를 투여한 흰쥐의 體內代謝에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集13:103-111, 1990.
23. 金泰潤, 姜成吉: 人蔘水鍼前處置가 發癌預防에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌9(2):33-44, 1988.
24. 金炫秀, 李潤浩: 丹蔘抽出液의 급성독성시험, 안검막자극시험 및 발열성시험에 관한 연구, 경희한의대논문집 16(1):199-228, 1993.
25. 盧昇奎, 姜成吉: 防風水鍼이 高血壓 및 高脂血症에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集 8:157-170, 1985.
26. 盧植, 金在圭, 朴東錫: 鍼 및 水鍼이 鎮痛效果에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌 (1):41-52, 1992.
27. 朴正鎬, 李榮帝, 金基鉉: 藥水水鍼이 疼痛에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌 9(1):293-303, 1992.
28. 朴鐘賢, 高炯均, 金昌煥: CCl₄中毒 水鍼이 肝臟에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集 10:627-634, 1987.
29. 徐美玉, 孫禹錫: 葛根(生)의 抗癲癇作用에 미치는 影響 大韓鍼灸學會誌 10:315-330, 1992.
30. 孫鐵薰, 金在圭, 安秉宇: 濃度別 紅花水鍼刺戟이 흰쥐 뇌부위별 catecholamine 함량에 미치는 영향. 대한침구학회지 9(1):53-69, 1992.
31. 李東寧, 李潤浩: 荏油 및 草龍膽水鍼이 흰쥐의 局所組織에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌 8(2):64-65, 1987.
32. 李山明, 李潤浩: 人蔘, 鹿茸 및 木香水鍼이 흰쥐의 體重 및 消化管호르몬 分泌에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌 5(1):1-13, 1988.
33. 이영순, 강경선, 신동진, 김형욱, 조재진, 김배환: 기니피그 및 마우스에서 cis-Malonato [(4R,5R)-4,5-bis(aminomethyl)-2-isopropyl-1-1,3-dioxolane]platinum(II)(SKI-2053R)의 급성독성 시험, Korean J. Toxicol. 8(2):191-203, 1992.
34. 李裁東, 金在圭: 茵陳水鍼이 DMNA으로 誘發된 흰쥐의 損傷肝에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 11:315-332, 1992.
35. 李宗錫, 高炯均, 金昌煥: 丹蔘 및 當歸水鍼이 急性失血性貧血을 誘發시킨 흰쥐의 恢復效果에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集 14:381-396, 1991.

- 36.李宗錫, 高炯均, 金昌煥: 蜂毒液의 安全性에 관한 研究, 大韓鍼灸學會誌 11(1):177- 196, 1994.
- 37.李弼雄, 姜成吉: 人蔘水鍼이 鎮痛 및 血壓에 미치는 影響, 東洋醫學 11(2):66-75, 1985.
- 38.李惠貞, 崔容泰: Alloxan 糖尿病家兔에 對한 人蔘水鍼의 效果 및 Horseradish Peroxidase 의 軸突逆輸性에 關한 研究, 慶熙韓醫大論文集 10:169-187, 1987.
- 39.李惠貞: 降血糖作用에 依據한 種類別 人蔘水鍼역거스 製法研究, 大韓韓醫學會誌 13(1):23-40, 1992.
- 40.林夏燮, 姜成吉: 人蔘水鍼이 抗 알레르기에 미치는 影響, 慶熙醫學7(1):63-72, 1991.
- 41.張逸鎭, 高炯均, 金昌煥: 天麻와 白蠶蠶水鍼이 鎮痛效果에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集 11:175-182, 1988.
- 42.張峻赫, 金慶鎬, 尹鍾和, 金甲成: 芍藥甘草湯水鍼刺戟이 흰쥐의 鎮痛 및 抗痙攣에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 10(1):247-264, 1993.
- 43.全在煜, 姜成吉: 人蔘水鍼이 Endotoxin으로 誘發된 血栓動物模型에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集 13:219-233, 1990.
- 44.曹均鄉, 朴英培, 李潤浩: 鹿茸 및 靈芝水鍼의 急性 毒性에 關한 實驗的 研究, 大韓鍼灸學會誌 9(1):71-83, 1992.
- 45.申容碩, 金在圭, 崔容泰: 熊膽, 生黃 및 向日葵油藥鍼刺戟이 생쥐 皮膚癌의 免疫機能에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌 10(1):9-19, 1993.
- 46.崔文圭, 李潤浩: 水鍼用 鹿茸抽出液의 安定性 評價에 關한 研究, 慶熙韓醫大論文集 15:203-229, 1993.
- 47.崔旼燮, 金昌煥: 五味子水鍼이 DMNA으로 誘發된 흰쥐의 損傷肝에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集 15:47-481, 1992.
- 48.崔旼燮, 高炯均, 金昌煥: 鍼灸療法이 免疫機能에 미치는 影響에 關한 考察, 大韓鍼灸學會誌 10(1):61-74, 1993.
- 49.崔旼燮, 高炯均, 金昌煥: 藥鍼用 黃耆抽出液의 急性毒性에 關한 研究, 大韓鍼灸學會誌 12(1):179-187, 1995.
- 50.崔容泰, 李潤浩, 姜成吉, 金昌煥, 朴東錫, 安秉哲, 高炯均, 金在圭, 朴英培, 李惠貞, 崔道永: 數種 藥鍼刺戟이 急性 毒性 및 效能에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌 14(2):106-132, 1993.
- 51.崔俊培, 崔道永, 李潤浩: 藥鍼用 芎歸抽出液의 皮下 및 筋肉刺戟試驗에 關한 研究, 大韓鍼灸學會誌 10(1):33-49, 1992.
- 52.하대유: 인삼에 대한 세포학 및 면역학적 연구(제III보), 대한면역학회지 1(1):45-52, 1979.
- 53.黃敬愛, 高炯均, 金昌煥: 人蔘 및 鹿茸水鍼의 時間經過에 따른 免疫效果研究, 慶熙醫學 4(2):150-157, 1988.
- 54.上海中醫學院: 中草藥學, 香港, 商務印書館,

pp.511-515, 1975.

55. 朱天忠: 中草藥鍼劑不良反應的防治, 中西醫結合雜誌, 7(3):136-137, 1987.
56. 山田昌之: 朝鮮人蔘の研究, 日本藥理學雜誌 51:390, 1955.
57. Brekhman, I.I.: *Panax ginseng*, Gosudarst Isdat et Med. Lit.Leningard, p. 1, 1957.
58. Garriques, S.: *Panax Quinquifolia*, Am Chem Pharm 90:331, 1954.
59. Organization for Economic Cooperation and Development: OECD guidelines for testing of chemicals, 1981.
60. Shibata, S., tanaka, O., Ando, T.: Chem Pharm Bull 14:595, 1966.
61. Takagi, K.: Proceedings of International Ginseng Symposium. The Central Research Institute, Office of Monopoly, Seoul, Korea, 119, 1974.