

Original Article

## 한약재 13종의 hERG 채널 관련 심장독성 평가

하혜경<sup>1</sup>, 이시온<sup>2</sup>, 김동현<sup>2</sup>, 서창섭<sup>1</sup>, 신현규<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>한국한의학연구원 한의과학연구부, <sup>2</sup>대구경북첨단의료산업진흥재단 신약개발지원센터

### hERG Channel-Related Cardiotoxicity Assessment of 13 Herbal Medicines

Hyekyung Ha<sup>1</sup>, Sion Lee<sup>2</sup>, Dong-Hyun Kim<sup>2</sup>, Chang-Seob Seo<sup>1</sup>, Hyeun-kyoo Shin<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>KM Science Research Division, Korea Institute of Oriental Medicine

<sup>2</sup>New Drug Development Center, Daegu-Gyeongbuk Medical Innovation Foundation

**Objectives:** As the use of herbal medicinal products (HMPs) increases worldwide, systematic verification of the safety of HMPs is required. The induction of cardiotoxicity is one of the major factors in post-approval withdrawal of medicinal products, and drug-induced cardiotoxicity assessment is emerging as an important step in drug development. In the present study, we evaluated human ether-à-go-go-related gene (hERG) potassium channel-related cardiotoxicity to predict the risk of cardiac arrhythmia in thirteen herbal medicines known to have cardiac toxicity.

**Methods:** We measured the inhibition rate of hERG potassium channel activity of 13 medicinal herbal extracts in hERG-expressing HEK 293 cells using an automated patch-clamping system. Quinidine was used as a positive control for inhibition of hERG activity.

**Results:** Extracts of Evodiae Fructus, Strychni Semen, and Corydalis Tuber potently inhibited the activity of hERG, and IC<sub>50</sub> values were 3.158, 19.87, and 41.26 µg/mL, respectively. Cnidi Fructus, Ephedra Herba, Lithospermi Radix, Polygoni Multiflori Radix, Visci Ramulus et Folium, Asiasari Radix et Rhizoma, and Scolopendra weakly inhibited hERG activity, and the IC<sub>50</sub> value for each herbal medicine was more than 400 µg/mL. Aconiti Kusnezoffii Tuber and two types of Aconiti Lateralis Radix Preparata (Po and Yeom) had weak inhibitory activity against hERG, and the IC<sub>50</sub> values were more than 700 µg/mL. The IC<sub>50</sub> value of quinidine against hERG was 1.021 µM.

**Conclusion:** Evodiae Fructus, Strychni Semen, and Corydalis Tuber acted as potent inhibitors against hERG. These herbal medicines may cause cardiac arrhythmia through QT prolongation, so care should be taken when taking them.

**Key Words** : Herbal medicine, Cardiotoxicity, Cardiac arrhythmia, hERG potassium channel

### 서론

고대 중국 삼황 신화를 살펴보면, 농업과 의약을 창시한 神農氏가 百草의 滋味와 水泉의 甘苦를 맛보고 백성들에게 피해야 것과 취해야 할 것을 가르쳐주면서, 하루에 七十 독을 맛보았다고 한다<sup>1)</sup>. 역사적으로

로 秦漢시기에 발간된 最古 약물 서적인 『神農本草經』에서부터 독성 개념이 있었고, 독성의 강약에 따라 상·중·하로 분류하였다<sup>2)</sup>. 오늘날 한의계는 한의서의 독성 개념과 분류를 과학적 방법으로 연구하여 독성 유무와 복용량 및 복용 기간에 대한 근거를 제시해야 할 상황이다. 본 연구에서는 간장, 심장, 신장

· Received : 3 May 2021

· Revised : 8 July 2021

· Accepted : 28 July 2021

· Correspondence to : Hyeun-Kyoo Shin, KMD, Ph.D.

Herbal Medicine Research Division, Korea Institute of Oriental Medicine

1672 Yuseong-daero, Daejeon 34054, Republic of Korea.

Tel : +82-42-868-9464, Fax : +82-42-864-2120, E-mail : hkshin@kiom.re.kr

등 여러 표적 장기 독성 분야 중에서 심장독성을 평가하였다. 심장독성은 급성 독성으로 일반 증상은 오심, 구토, 부정맥 유발이다<sup>3)</sup>. 그동안 한의계의 심장 관련 연구는 크게 두 가지로 나눌 수 있다. 하나는 한약 자체의 심장독성 발현 유무를 평가하는 연구였고, 다른 하나는 심근 손상을 한약으로 예방 혹은 치료하였다는 연구이다. 즉, 전자는 human ether-à-go-go-related gene (hERG) 칼륨 채널 활성도를 측정한 심장독성 평가 연구이며<sup>4)</sup>, 후자는 심근 독성을 유발하는 xanthine oxide/hypoxanthine (XO/HX), 아연 등으로 산화적 손상이 유도된 심근 세포를 失笑散, 桃紅四物湯이 효과적으로 회복시켰다는 결과<sup>5,6)</sup>와 항암치료제인 doxorubicin으로 유발된 심장독성에 半夏瀉心湯이 독성을 완화시켰다<sup>7)</sup>는 연구들이다. 또 임상 현장에서는 活血, 清熱, 溫裏 계통 한약들이 화학요법에 의해 발생된 심장독성을 예방하고 완화시킨다는 연구 결과들이 있었다<sup>8)</sup>. 심근세포의 세포막에 위치하는 나트륨, 칼슘 및 hERG 칼륨 채널의 탈분극 및 재분극에 의해 심전도의 QT 간격이 나타나는데, hERG 칼륨 채널에 영향을 받는  $T_{peak}-T_{end}$ 의 간격의 연장은 QT 간격의 연장으로 나타나 부정맥을 유발할 수 있다<sup>9)</sup>. 약물에 의한 심근세포상의 hERG 칼륨 채널 저해는 심전도상 QT 간격 연장 현상 (long QT syndrome; LQTS)으로 나타나며, 이는 갑작스러운 심장사를 초래할 수 있는 비정상적인 심장 리듬의 일종인 torsade de points (TdP) 부정맥의 위험을 증가시키므로 약물의 심장독성을 예측하는 방법으로 hERG 활성도 측정법이 일차적으로 사용되고 있다<sup>10)</sup>. 따라서 본 연구에서는 식품의약품안전처 ICH 가이드라인 S7B에 따라 hERG 칼륨 채널을 발현하는 human embryonic kidney (HEK) 293 세포를 이용하여 심장독성이 있다고 알려진 13종 한약재에 대해서 hERG 채널 활성에 대한 저해도를 평가하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 한약 추출물 분말 제조

초오를 비롯한 11종의 건조된 한약 시료는 광명당 제약 (Ulsan, Korea)으로부터 구매하였으며, 분쇄한 후 각각의 시료 (400 g)에 증류수 (4 L)를 넣은 후 디지털 히팅 맨틀 (MS-DM608, MS Chem Co., Eumseong, Korea)을 이용하여 약 100°C에서 3시간 동안 환류추출 하였다. 추출액은 표준체 (53  $\mu$ m)로 여과 후 Genesis 동결건조기 (SP Industries Inc., Warminster, PA, USA)를 사용하여 분말화 하였다. 동결건조기는 최초 시료 선반온도 -30°C (진공도 0 mTorr)에서 6시간, -15°C (진공도 0 mTorr)에서 6시간, 0°C (진공도 0 mTorr)에서 8시간, 15°C (진공도 0 mTorr)에서 6시간 및 30°C (진공도 0 mTorr)에서 46시간으로 프로그램을 설정하여 건조하였다. 부자(염)의 포제 방법은 약 25%의 염도물에 하루 정도 담근 후 건조를 3번 반복하여 제조하였으며, 부자(포)는 염부자를 절단하여 물에 담근 후 소금기를 완전히 뺀 후 감초와 검은콩을 삶아서 만든 감초흑두즙에 소금기를 뺀 부자(염)를 넣어 삶아서 건조시켜 제조하였다. 하수오 물 추출물은 움니허브 (Uiseong, Korea)로부터 구매 후 300 g의 시료에 증류수 3.5 L를 넣은 후 약 100°C에서 3시간 동안 환류추출 후 동결 건조된 파우더 시료를 한국한약진흥원 (Kyeongsan, Korea)으로부터 공급받아 사용하였으며, 각 한약재의 학명과 추출 분말 수득률은 표 1에 나타났다.

### 2. 한약 추출물 시료 조제

한약 추출물 분말 시료는 external buffer 용액, 즉 136.9 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 8.1 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1.5 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.9 mM CaCl<sub>2</sub> 및 0.5 mM MgCl<sub>2</sub>를 함유하는 pH 7.1의 Dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS)에 100 mg/mL의 농도로 제조하여 분액 후 -80°C의 초저온냉동고에 보관하였다.

Table 1. The extraction yield of herbal medicines

Herbal name	Scientific name	Family	Origin	Yield of extract (%)
Aconiti Kusnezoffii Tuber	<i>Aconitum kusnezoffii</i> Reichb.	Ranunculaceae	Gyeongju, Korea	15.0
Aconiti Lateralis Radix Preparata (Po type)	<i>Aconitum carmichaeli</i> Debeaux	Ranunculaceae	China	16.7
Aconiti Lateralis Radix Preparata (Yeom type)	<i>Aconitum carmichaeli</i> Debeaux	Ranunculaceae	China	41.1
Asiasari Radix et Rhizoma	<i>Asiasarum sieboldii</i> Miquel var. <i>seoulense</i> Nakai	Aristolochiaceae	China	20.2
Cnidi Fructus	<i>Torilis japonica</i> Decandolle	Umbelliferae	Mungyeong, Korea	10.9
Corydalis Tuber	<i>Corydalis ternata</i> Nakai	Fumariaceae	Sancheong, Korea	12.9
Ephedrae Herba	<i>Ephedra sinica</i> Stapf	Ephedraceae	China	16.1
Evodiae Fructus	<i>Evodia rutaeacarpa</i> Benth	Rutaceae	China	21.9
Lithospermi Radix	<i>Lithospermum erythrorhizon</i> Siebold et Zuccarini	Borraginaceae	Danyang, Korea	21.8
Polygoni Multiflori Radix	<i>Polygonum multiflorum</i> Thunberg	Polygonaceae	China	4.7
Scolopendra	<i>Scolopendra subspinipes mutilans</i> Linné Koch	Scolopendridae	Indonesia	22.5
Strychni Semen	<i>Strychnos nux-vomica</i> Linné	Loganiaceae	China	5.1
Visci Ramulus et Folium	<i>Viscum album</i> L. var. <i>coloratum</i> Ohwi	Loranthaceae	Samcheok, Korea	19.1

실험에 앞서 각 시료 용액은 목표 농도에 맞도록 단계 희석 과정을 거쳐 384-well plate에 분주하였다. 양성대조군으로는 hERG 칼륨채널 억제제로 잘 알려져 있는 quinidine (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)을 사용하였다<sup>11)</sup>.

### 3. 세포 배양

Human ether-à-go-go related gene (hERG) 칼륨 채널을 안정적으로 발현하는 HEK 293 세포주 (Eurofins Scientifics, USA)는 10% (v/v) fetal bovine serum (Merck Co., USA), 1% (v/v) non-essential amino acids (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 및 400 µg/mL geneticin (Gibco, Grand Island, CA, USA)을 함유하는 D-MEM/F-12 GlutaMAX 배지 (Gibco)를 사용하여 배양하였다. 배양기 (Model 311-TIF, Thermo Fisher Scientific Forma)의 환경은 5% CO<sub>2</sub>, 온도 37°C 및 습도 84%를 유지시켰으며, 세포가 배양플라스크 표면의 약 80% 이상을 차지할 정도로 증가되면 계대배양하였다.

### 4. hERG 채널 전류 측정

배양된 세포는 trypsin 용액 (HyClone, Logan, UT, USA)을 처리하여 단세포로 분리 후 200 x g에서 원심분리하여 수집하였다. 수집한 세포를 external buffer 용액으로 두 번 세척 후 5 mL의 동일한 용액에 재부유시켜 automated patch clamping 장비 (IonWorks Barracuda automated patch clamping system, Molecular Devices Inc., Sunnyvale, CA, USA)에 탑재하였다. 탑재된 세포는 자동화 과정에 의해 patch clamping이 진행되는 384-well plate에 분주되었으며, 미세 관류를 통해 90 mM KCl, 1.7 mM MgCl<sub>2</sub>, 5 mM CaCl<sub>2</sub>, 10 mM 2[4-(2-hydroxyethyl) piperazin-1-yl]ethanesulfonic acid (HEPES) 및 10 mM egtazic acid (EGTA)를 함유하고 sucrose와 KOH로 삼투농도 (osmolality)와 pH 7.0을 맞추는 internal buffer 용액에 amphotericin B (Sigma

Aldrich Co.)를 처리하여 전류 측정이 가능한 상태로 준비되었다.

Patch clamping 상태의 세포에 최초 -80 mV를 시작으로 순차적으로 -70 mV (0.2 초), +40 mV (1.0 초), -50 mV (1.0 초)의 전압 변화를 가하여 hERG 채널에 의한 전류 변화를 유도하였다. 최초 측정된 전류 변화는 정상적인 hERG 채널 작용에 의한 것으로서 한약 추출물에 의한 hERG 채널 작용의 변화를 확인하기 위하여 준비한 시료를 각 세포가 위치한 well에 첨가한 후 같은 전압 조건으로 hERG 채널에 의한 전류 변화를 재측정하였다.

### 5. hERG 채널 활동도 및 저해도 분석

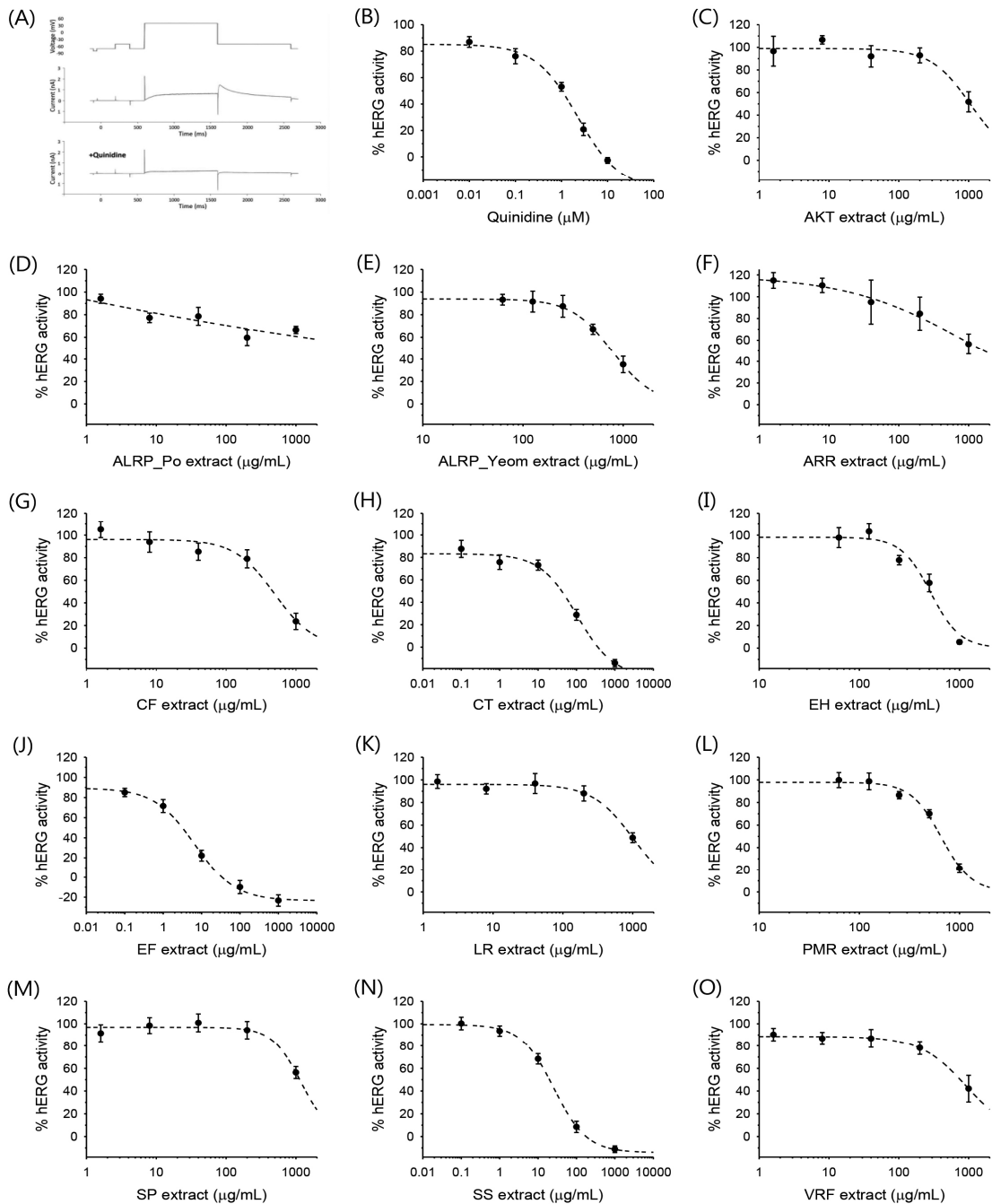
한약 추출물의 농도에 따른 hERG 채널의 활동도 (% hERG activity)는 다음 식과 같이 계산되었다.

$$\% \text{ hERG activity} = \frac{\text{peak hERG tail current post - sample treatment}}{\text{peak hERG tail current pre - sample treatment}} \times 100$$

한약 추출물 각각에 대한 결과는 전체적인 비교 분석을 위하여 한약 추출물을 포함하지 않는 external buffer 용액을 처리한 hERG 채널의 전류값으로 표준화하였다. 최종적인 정량 결과는 각 농도에서의 % hERG 활동도의 평균값 ± 표준오차 (n≥4)로 계산하여 SigmaPlot 12.5 소프트웨어 (Systat Software, Inc., USA)를 이용하여 그래프로 나타냈으며, 다중 로지스틱 회귀분석 (multiple logistic regression)을 통해 각 시료에서 hERG 채널의 활동도를 50% 저해하는 농도 (IC<sub>50</sub>)를 산출하였다.

## 결 과

hERG 채널 활성은 양성대조군으로 사용한 quinidine 10 µM에서 완전히 억제되었으며, quinidine의 hERG 채널에 대한 IC<sub>50</sub>는 1.021 µM (0.331 µg/mL)로 산출되었다 (Fig. 1A, B 및 Table 2). hERG 채널에 대해 강한 억제 활성을 나타낸 오수유 (EF, Fig. 1J),



**Fig. 1.** hERG potassium channel activity and concentration–response curves of hERG activity by quinidine (hERG inhibitor) and 13 herbal medicines in hERG–HEK 293 cells. (A) Sample voltage–dependent current traces by hERG channel activities pre/post–treatment of quinidine (10 μM). (B) Concentration dependent inhibition of hERG channel activities by quinidine. (C–O) Concentration dependent inhibition rate of hERG channel activities by 13 herbal medicine extracts. Data are presented as normalized %hERG activities and means ± standard error (n ≥ 4).

마전자 (SS, Fig 1N) 및 현호색 (CT, Fig 1H)의 IC<sub>50</sub> 값이 각각 3.158 µg/mL, 19.87 µg/mL 및 41.26 µg/mL로 산출되었으며, 13종의 한약 추출물 중 오수유의 hERG 채널 활동도에 대한 저해율이 가장 높은 것으로 확인되었다 (Table 2). 사상자 (CF, Fig. 1G), 마황 (EH, Fig. 1I), 자근 (LR, Fig. 1K), 하수오 (PMR, Fig. 1L) 및 곡기생 (VRF, Fig. 1O)은 최고 농도인 1000 µg/mL에서 각각 76.36±7.24%, 94.63±1.84%, 51.19±4.36%, 78.57±4.10% 및 57.91±11.78%의 저해율을 나타냈으며, IC<sub>50</sub> 값은 469.0 ~ 996.5 µg/mL으로 산출되었다 (Table 2). 부자의 수침법에 따라 분류된 염부자 (ALRP\_Yeom, Fig. 1E)와 포부자 (ALRP\_Po, Fig. 1D) 추출물의 hERG 채널 활동도에 대한 저해율을 확인한 결과, 최고 농도인 1000 µg/mL에서 각각 64.80±7.36%와 33.54±3.20%의 저해율로 약한 저해효과를 나타냈으며, 각 IC<sub>50</sub> 산출값은 735.5 µg/mL과 1000 µg/mL 이상이였다 (Table 2). 초오 (AKT, Fig. 1C), 세신 (ARR, Fig. 1F)과 오공 (SP, Fig. 1M)은 hERG 활성을 매우 약하게 저해하였으며, 실험에 사용했던 최고 농도인 1000 µg/mL에서도 50% 이하의 저해율을

나타냈다 (Table 2).

## 고찰

식물에는 수많은 화학성분이 함유되어 있으며, 이러한 화학성분 중 일부는 투여 농도에 따라 피부, 위장, 폐, 심혈관계, 간장, 신장 등에 이상반응을 일으킨다<sup>3)</sup>. 심장독성을 일으키는 성분을 함유한 한약은 심근에 손상을 주어 심근염, 심부전, 심장판막증, 심장허혈 등으로 심장 기능과 기질을 변화시키고, 임상적으로는 胸悶, 心悸, 呼吸困難, 頭暈, 嘔吐, 口舌 麻木 증상이 나타난다<sup>12)</sup>. 심장독성은 외인적 물질에 의한 산화적 스트레스, 세포 소기관의 기능 이상, 항상성을 가진 이온 채널이 심장 리듬에 장애를 일으키는 것 등으로 다양한 기전을 통해 발생된다<sup>3)</sup>. 심장독성 평가는 여러 방법이 있지만, hERG 칼륨 채널 활성 지연이 Long QT syndrome (LQTS)를 일으켜 심부정맥 증상이 나타나는 원리를 이용하여 hERG 활성 평가를 통해 심장독성을 사전 예측할 수 있다<sup>10-13)</sup>.

이러한 방법으로 수행한 연구에 따르면, 한약과 한약 조성물 및 단일 화합물 1036개를 고속대량시스템

**Table 2.** The IC<sub>50</sub> values of quinidine and herbal extracts on hERG potassium channel activity in HEK 293 cells.

Name	Abbreviation	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
Quinidine (positive control)		1.021 µM
Aconiti Kusnezoffii Tuber	AKT	초오 > 1000
Aconiti Lateralis Radix Preparata (Po type)	ALRP_Po	부자 (포) > 1000
Aconiti Lateralis Radix Preparata (Yeom type)	ALRP_Yeom	부자 (염) 735.5
Asiasari Radix et Rhizoma	ARR	세신 > 1000
Cnidi Fructus	CF	사상자 469.0
Corydalis Tuber	CT	현호색 41.26
Ephedrae Herba	EH	마황 509.5
Evodiae Fructus	EF	오수유 3.158
Lithospermi Radix	LR	자근 996.5
Polygoni Multiflori Radix	PMR	하수오 650.8
Scolopendra	SP	오공 > 1000
Strychni Semen	SS	마전자 19.87
Visci Ramulus et Folium	VRF	곡기생 760.7

(high throughput system)을 이용하여 hERG칼륨 채널 활성을 평가한 결과, 2.79%인 28개의 단일 화합물 또는 분획물이 hERG 활성을 50% 이상 억제한 것으로 보고되었고, 이 28개 중 마전자 성분인 strychnine을 포함한 단일 화합물 6종 외 구체적인 시료명은 제시되지 않았다<sup>14)</sup>. 이미 심장독성이 있다고 알려진 한약으로는 川烏, 草烏, 附子, 龍膽, 藜蘆, 雷公藤, 人蔘, 麻黃, 細辛, 馬錢子, 蛇床子, 槲寄生, 紫根(紫草), 葛根, 甘草, 何首烏, 黃連, 苦參, 丹參, 全蝎, 蜈蚣, 蟾酥, 吳茱萸, 白屈菜, 玄胡索 등 50종 이상이며, 또 이들 한약 성분 중 ginsenoside, resveratrol 등 20여 종 성분이 hERG 칼륨 채널에 영향을 주는 것으로 알려져 있다<sup>15,16)</sup>.

본 연구에서 심장독성이 있다고 알려진 13종 한약재 추출물이 hERG 칼륨 채널 활성에 미치는 영향을 평가하였다. 각 IC<sub>50</sub> 값을 기준으로 칼륨 채널 활성에 대한 저해율이 높은 순위로는 오수유 (3.158  $\mu$ g/mL), 마전자 (19.87  $\mu$ g/mL), 현호색 (41.26  $\mu$ g/mL), 사상자 (469.0  $\mu$ g/mL), 마황 (509.5  $\mu$ g/mL), 하수오 (650.8  $\mu$ g/mL), 염부자 (735.5  $\mu$ g/mL), 곡기생 (760.7  $\mu$ g/mL), 자근 (996.5  $\mu$ g/mL)의 순이었고, 초오, 포부자, 세신 및 오공의 IC<sub>50</sub> 값은 1000  $\mu$ g/mL 이상이었다.

hERG 채널 활성을 가장 강하게 억제시킨 오수유는 LQTS를 일으킨다고 이미 알려져 있으며, 오수유 성분인 dehydroevodiamine과 hortiamine이 HEK 293 세포에서 rapid delayed rectifier potassium current ( $I_{Kr}$ )를 억제하였고, 토끼 및 개의 심실 심근 세포 미세 전극 실험과 human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes (hiPSC-CMs)에서도 용량 의존적으로 활동 전위 기간 (action potential duration; APD)을 연장시키며, hERG 활성을 억제시키는 등 여러 실험 결과들이 오수유의 심부정맥 유발 위험성을 알리고 있다<sup>15,17)</sup>. 마전자의 strychnine 성분은 강력한 hERG 칼륨 채널 억제 작용으로 심장 QT 간격을 증가시키고 심장 박동 수 (심박수)를 감

소시키는 것으로 확인되었고<sup>14)</sup>, guinea pig 심실 유두근에 용량 의존적으로 APD를 연장시키고, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> 및 Ca<sup>2+</sup> 채널을 차단하는 것으로 나타났다<sup>18)</sup>. 현호색의 alkaloids 성분에 대해 guinea pig 심실근 세포와 HEK 293세포의 hERG 칼륨 채널 억제 작용을 관찰한 결과, tertiary alkaloids는 APD<sub>90</sub>를 연장시키면서 농도 의존적으로 hERG 활성을 억제시키는 반면, quaternary alkaloids는 APD<sub>90</sub>를 감소시키고 hERG를 흥분시키는 이중적인 면을 보여주고 있으나<sup>19)</sup>, 본 연구에서 현호색은 강한 hERG 활성 억제 효과를 나타내므로 투여에 주의가 필요하다.

본 연구에 사용된 사상자 (*Torilis japonica* Decandolle)의 torilin 성분은 인간 심방 근세포에서 K<sup>+</sup> 채널 (hKv1.5)을 억제하는 것으로 보고되었다<sup>23)</sup>. 반면에 다른 기원품인 별사상자 (*Cnidium monieri* (L. Cussion)의 osthole 성분은 adriamycin으로 심장독성을 유발한 rat에서 sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase (SERCA) 활성을 증가시켜 Ca<sup>2+</sup> 저장 촉진으로 세포 Ca<sup>2+</sup> 농도 감소 및 Ca<sup>2+</sup> 과부하를 억제시켜 심장보호 작용이 있는 것으로 확인되었으며<sup>20)</sup>, 또 guinea pig 유두근 전기 자극 실험에서 칼슘 차단 효과가 있어 오히려 항부정맥 작용이 있음이 보고되었다<sup>21,22)</sup>. 따라서 임상 시에 사상자 기원 감별에 따른 투약 주의가 필요하다. 마황은 토끼에서 심근 효소 활성의 현저한 증가로 인한 장애와 심근 조직 손상을 유발하였으며, 심전도 상에서 P파와 R복합체의 진폭, PR 간격을 증가시키는 이상 현상을 나타냈으며, 또 QT 간격을 연장 혹은 감소시켜, 용량 의존적으로 심장을 손상시켰다<sup>24)</sup>. 마황 다당체 성분은 토끼 유두 심근 전위의 APD, APD<sub>50</sub>, APD<sub>90</sub>을 연장시킨 후에 점차 단축시켰으며, 심실 유두근 M-receptor에 작용하여 칼륨 채널을 억제한 후 점차 촉진하는 것으로 나타났다<sup>25)</sup>. 자근의 shikonin 성분은 쥐의 심실근 세포에서 Bcl-2 단백질을 감소시켜 농도 의존적으로 독성을 발현하고 세포 사멸을 증가시키는<sup>26)</sup> 반면, hypoxia/reoxygenation에 의해 손상된

H9c2 심근세포의 세포사멸을 억제하고 Bcl-2 단백질 증가시키는 등 세포 손상을 완화시켜주는 상반된 작용도 있다<sup>27)</sup>.

미나리아재비과 (Ranunculaceae)에 속하는 초오, 부자의 aconitine 성분은 심부정맥을 일으키는 것으로 잘 알려져 있다<sup>28)</sup>. 그래서 전통적으로 독성이 있는 한약은 법제라는 물리·화학적 변화를 일으키는 과정을 통하여 독성을 저감시켜 투여하고 있다. 생초오는 H9c2 심근세포에서 세포 생존율 감소, lactate dehydrogenase (LDH) 함량 증가 및  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase 활성 감소 등 심장세포에 대해 독성을 유발하는 것으로 보고되었다<sup>29)</sup>. 하지만 법제 전·후 초오를 비교한 마우스 실험에서 생초오는 심전도 상 QRS파가 비정상적으로 나타나고 심박수가 감소하였으나, 법제 초오는 상대적으로 정상에 근접하여 심장독성이 감소된 것으로 보고되었다<sup>30)</sup>. 초오의 성분 중 aconitine은 yunaconitine 보다 H9c2 심근 세포에서 세포 생존율 감소, apoptosis 증가, LDH 및 MDA 증가, superoxide dismutase (SOD) 활성 감소 등 독성 유발률 더 강한 것으로 나타났다<sup>31)</sup>. 부자 역시 심장독성이 알려진 한약으로, 마우스에서 심전도상 P-R 간격 및 QRS가 확장되고 QT 간격이 감소되어 심박수에 비해 QT 간격이 반비례하는 변화가 관찰되었고, 혈청 내 creatine kinase MB (CK-MB) 및 LDH 수치가 상승하여 심장 손상이 유발되며, 투여 용량과 기간에 따라 심장독성이 증가하였다<sup>32)</sup>. Rat에서도 심전도상 이상 변화와 CK-MB, LDH 수치가 상승하여 심근 손상을 초래하였고, 용량 의존적으로 각종 관찰 지표가 변화하여 심장독성이 발현되었으나, 포제한 黑順片, 白附片는 생부자보다 약한 심전도 이상을 보였다<sup>33)</sup>. 포제 부자를 beagle dog에 투여 시 심전도상 심박수나 CK-MB, LDH의 변화가 없어 심장독성은 나타나지 않았다<sup>34)</sup>. 본 연구에서 생부자와 비교 실험은 하지 않았지만 포제된 염부자 및 포부자의 hERG 억제 활성은 낮았다.

세신은 rat에 저용량 투여에서는 심전도나 myocardial

enzyme spectrum에서 변화가 없었으나, 고용량에서는 심박수가 저하되고 K, CK-MB, LDH와 hydroxybutyrate dehydrogenase (HBDH)가 증가하였고<sup>35)</sup>, 토끼 심전도에서 ST-T 변화와 심근 aspartate aminotransferase (AST), creatine phosphokinase (CPK), cardiac troponin (CTn) 변화가 발생하는<sup>36)</sup> 등 심장 기능에 영향을 미친다는 보고가 있어 투여 용량에 주의가 필요하다. 오공 물추출액은 rat에 투여 시 용량 의존적으로 심전도의 S-T와 T파의 저하를 유발하여 심박수를 낮추었으나, 혈청 심근 효소 수치는 대조군과 차이 없었다<sup>37)</sup>. 곡기생은 guinea pig에서 관상동맥 흐름과 심장 수축력을 향상시켜 심장 기능 개선에 도움이 되며<sup>38)</sup>, 하수오는 심장독성 연구보다는 간독성 연구를 주로 하였다. 본 연구에서는 곡기생과 하수오가 hERG 채널에 대해 약한 억제제로 확인되어 투여 시 주의가 필요하다.

한약은 화학적으로 수많은 성분을 함유하고 있어 다양한 약리와 독성을 함께 나타낸다. 심장독성의 대표 증상인 부정맥은 심박수 또는 리듬의 비정상적인 전기적 활동으로 인해 발생하는 질병 유형으로, 한약에 포함된 alkaloids, flavonoid, saponin, 휘발성 오일 및 기타 활성 성분들이 심장 이온인  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  및  $\text{K}^+$  채널에 영향을 주어 심장독성을 유발할 수도 있지만, 반대로 부정맥을 치료할 수도 있다<sup>39)</sup>. 부자의 경우 함유된 여러 성분들이 다양한 기전을 통해 세포 및 동물실험 수준에서 심부전 예방 효과와 심장독성을 유발하는 양면성을 가지고 있다<sup>40)</sup>. 이렇게 부자와 같이 심장독성 및 항부정맥 효과가 동시에 있는 한약으로 苦蔘, 黃連, 葛根, 人蔘, 玄胡索 등이 보고되었다<sup>39)</sup>.

임상 현장에서는 본 실험을 통한 한약재 심장독성 평가 이외에 기 연구된 각종 동물실험 결과 등을 참고하여, 전체적인 한약 안전성 검토를 권고한다.



## 결론

13종 한약재에 대해 HEK 293 세포에서 hERG 칼륨 채널 활성 저해 평가를 하였다. 이중 吳茱萸, 馬錢子, 玄胡索은 저해도가 높은 것으로 나타나 처방 투여 시에 주의가 필요하다. 그 외 심장독성을 유발하는 한약재는 법제 과정과 용량 조절 및 복용 기간을 통해 독성을 저감시키는 방법을 고려해야한다.

## 감사의 말씀

본 연구는 한국한의학연구원의 ‘한방의료기관 한약처방의 안전성, 유효성 구축 사업 (KSN2013310)’에 대한 연구비 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. College of oriental medicine. Korean medicine dictionary. Seoul: Oriental medical research institute publisher. 1985:139.
2. Shin, H. D. & Jeong, J. U. (2011). Study of toxicity presence classification about herbal diet in Tang-aec-pyeon of Dong-ui-bo-gam. *Journal of Korean Medicine*, 32(1), 12-35.
3. Cho, J. H. & Yoon, H. I. Essentials of toxicology. Seoul: MIP Publishing Group. 2006:349-66.
4. Choi, S. N., Kwon, O. B., Lee, S. O., Seo, C. S., & Shin, H. K. (2019). Cardiac safety assessment of medicinal herbal formulas using hERG-HEK 293 cell. *Journal of Korean Medicine*, 40(2), 94-105. <https://doi.org/10.13048/jkm.19020>
5. Han, D. H., Kwon, K. B., Hwang, I. J., Kim, W. K., Kim, H. C., Oh, K. S., et al. (2001).

Effects of Sylso-san water extract on beating rate in cultured myocardial cells damaged by XO/HX. *Korean Journal of Oriental Medical Physiology & Pathology*, 15(4), 566-570.

6. You, B. S., Jung, J. E., Park, J. Y., Yun, J. M., Lee, I., & Moon, B. S. (2004). Protective effects of Dohongsamul-tang on Zinc-mediated cytotoxicity in H9c2 cardiomyoblast cells. *Korean Journal of Oriental Medical Physiology & Pathology*, 18(5), 1374-1381.
7. Shin, M. K., Hwang, H. J., Kim, S. C., & Byun, J. S. (2002). Effect of Banhasasim-tang on the cardiac toxicity and clinical symptom induced by doxorubicin. *Korean Journal of Oriental Medical Prescription*, 10(1), 131-142.
8. Su, C. P., Wang, Q., Zhang, H. M., Ren, Y. L., Wang, W., & Guo, S. Z. (2020). Literatures analysis on protective role of Chinese herbs on cardiotoxicity induced by chemotherapy drugs. *Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine*, 40(7), 796-800. <https://doi.org/10.7661/j.cjim.20200422.229>
9. Vicente, J., Strauss, D. G., Upreti, V.V., Fossler, M.J., Sager, P. T., & Noveck, R. (2019). The potential role of the J-T<sub>peak</sub> interval in proarrhythmic cardiac safety: Current state of the science from the American College of Clinical Pharmacology and the Cardiac Safety Research Consortium. *Journal of Clinical Pharmacology*, 59(7), 909-914. <https://doi.org/10.1002/jcph.1411>
10. National Institute of Food and Drug Safety Evaluation. Guidelines for cardiovascular pharmacology testing. Osong. 2020:1-26.
11. Paul, A. A., Witchel, H. J., & Hancox, J. C. (2002). Inhibition of the current of

- heterologously expressed HERG potassium channels by flecainide and comparison with quinidine, propafenone and lignocaine. *British Journal of Pharmacology*, 136(5), 717-729. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704784>
12. Yu, R., Li, B., Wang, Y. X., & Zhu, M. J. (2019). Consideration on cardiotoxicity and clinical safety evaluation method of Chinese materia medica. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 50(18), 4485-4489. <https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2019.18.031>
  13. Sanguinetti, M. C. & Tristani-Firouzi, M. (2006). hERG potassium channels and cardiac arrhythmia. *Nature*, 440(7083), 463-469. <https://doi.org/10.1038/nature04710>.
  14. Wang, T., Chen, X. N., Yu, J. H., Du, Q. Q., Zhu, J., Yang, M. Z., et al. (2018). High-throughput electrophysiology screen revealed cardiotoxicity of strychnine by selectively targeting hERG channel. *American Journal of Chinese Medicine*, 46(8), 1825-1840. <https://doi.org/10.1142/S0192415X1850091X>
  15. Zhang, Y. H., Yan, C. C., Wang, F., Li, B. X., & Yang, B. F. (2019). Advances in research on the mechanism of long-QT syndrome caused by traditional Chinese medicine affecting hERG potassium channel. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 54(11), 1881-1887. <https://doi.org/10.16438/j.0513-4870.2019-0369>
  16. Pan, X. G., Yan, B. H., Zhou, J., Cao, X. Y., & Peng, C. (2020). Research progress of Chinese Materia Medica-induced cardiotoxicity. *Progress in Pharmaceutical Sciences*, 44(10), 730-742.
  17. Igor, B., Rosanne, V., Anja, S., Priyanka, S., Stanislav, B., Phillip, S., et al. (2018). Dehydroevodiamine and hortiamine, alkaloids from the traditional Chinese herbal drug *Evodia rutaecarpa*, are I<sub>Kr</sub> blockers with proarrhythmic effects *in vitro* and *in vivo*. *Pharmacological Research*, 131, 150-163. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.02.024>
  18. Li, M. H., Zhang, G. G., & Zhao, D. H. (1997). Effects of brucine on slow action potentials in guinea pig papillary muscle. *Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica*, 13(4), 19-21. <https://doi.org/10.13412/j.cnki.zyyl.1997.04.009>
  19. Meng, H. X., Yao, M. J., Ren, J. U., & Liu, J. X. (2018). Effects of tertiary alkaloids and quaternary alkaloids of *Rhizoma Corydalis* on action potential in guinea pig ventricular myocytes and hERG channel currents. *World Chinese Medicine*, 13(1), 1-4. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-7202.2018.01.001>
  20. Zhang, X. D., Yu, Y. M., Fan, C. L., & Zhang, Y. Z. (2009). The protective effects of osthole against adriamycin-induced cardiotoxicity in rats. *Modern Pharmacy and Clinic*, 24(6), 358-359.
  21. Li, L., Zhuang, F. E., Yang, L., Zhang, C. L., Zhao, G. S., & Zhao, D. K. (1995). Effects of osthole on isolated guinea pig heart atria. *Acta Pharmacologica Sinica*, 16(3), 251-254.
  22. Li, L., Zhuang, F. E., Zhang, C. L., Zhao, G. S., & Zhao, D. K. (1995). Effects of osthole on slow action potentials and right atria frequency. *Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology*, 9(2), 108-122.
  23. Kwak, Y. G., Kim, D. K., Ma, T. Z., Park, S. A., Park, H., Jung, Y. H., et al. (2006). Torilin from *Torilis japonica* (Houtt.) DC. blocks

- hKv1.5 channel current. Archives of Pharmacal Research, 29(10), 834-839. <https://doi.org/10.1007/BF02973902>
24. He, Y. M., Zhong, Q. Q., Wang, K., Wang, M. R., Yang, H., & Lin, J. C. (2010). Cardiotoxicity of Ephedra to rabbit model system. Journal of Huazhong Agricultural University, 29(4), 484-488.
25. Hong, L. Z., Li, J. L., Chen, Y. J., & Jin, G. Y. (2007). Effect of Ephedra vulgans Fruit polysaccharide (EVFP) on electric potential of ventricular papillary muscle in rabbits. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 18(6), 1367-1368.
26. Gui, C., Chen, M. H., Lin, S., & Wei, Y. X. (2010). Cytotoxicity effects of shikonin on rat cardiomyocytes in vitro. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 26(6), 33-36.
27. Liu, M., Yang, C. I., Meng, & Q. X. (2020). Shikonin attenuates hypoxia-reoxygenation-induced injury of cardiomyocyte cell line H9c2. Basic & Clinical Medicine, 40(3), 380-387. [http://journal11.magtechjournal.com/Jwk\\_jcyxylc/EN/Y2020/V40/I3/380](http://journal11.magtechjournal.com/Jwk_jcyxylc/EN/Y2020/V40/I3/380)
28. Kim, W. S., Lim, S. S., Kang, H. S., Choue, C. W., Kim, K. S., Song, J. S., et al. (2000). Cardiovascular aspects of aconitine poisoning. Korean Circulation Journal. 30(7), 855-860.
29. Zhang, L., Liu, C. A., Li, W. H., Liu, F. L., Zhai, X. Y., Jin, C., et al. (2014). Toxic effect and mechanism on rat's myocardial cell of Radix Aconiti Kusnezoffii and the compatibility of Radix Aconiti Kusnezoffii with Fructus Trichosanthis and Bletillae Rhizoma. Journal of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, 26(2), 60-63.
30. Wen, Y. Y., Wang, L. P., Shen, Z. B., Zhuang, S. Q., Jiang, T., & Tang, C. P. (2019). Effects and mechanism of Aconitum vilmorinianum and its processed product on cardiotoxicity. Journal of Chinese Medicinal Materials, 42(06), 1277-1282. <https://doi.org/10.13863/j.issn1001-4454.2019.06.013>
31. Ye, K., Han, Y., Mao, P., Wang, Z., Huang, J., Luan, H., et al. (2019). Comparative study on toxicity of Aconiti Kusnezoffii Radix Cocta formula granule and decoctum on H9c2 myocardial cell. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 36(13), 1622-1626. <https://doi.org/10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.13.005>
32. Feng, Q., Luan, Y. F., Sun, R., & Yan, M. (2014). Experimental study on "dose- time-toxicity" relationship of cardiotoxicity induced by multiple doses Aconite water extract on mice. Chinese Journal of Pharmacovigilance, 11(10), 592-595.
33. 唐恬, 赵婷. (2016). 附子及其炮制品对大鼠心脏毒性的影响. 中国中医急症, 25(12), 2286-2290. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1004-745X.2016.12.023>
34. Zhang, X., Song, Y., Yang, Y., He S., & Xie, X. (2015). Studies on the acute toxicity of Aconitum Carmichaeli Debx processed products decoction in heart of beagle dogs. Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy, 24(16), 21-23.
35. You, J., Zhou, Z. X., Huang, F., Han, L. T., Li, J. J., Wang, Q., & Dong, X. Y. (2015). Effects of long term toxicity of Asarum on SD rat's ECG and myocardial enzyme spectrum.

- Journal of Hubei University of Chinese Medicine, 17(4), 1-3. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1008-987x.2015.04.01>
36. 明海霞, 陈彦文, 王强, 黄世佐. (2015). 单叶细辛对家兔心机的急性毒性作用. *Chinese Journal of Gerontology*, 5(5), 1337-1339. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1005-9202.2015.05.087>
37. 郭志达, 吉小莉. (2000). 中药蜈蚣对大鼠心脏毒性作用的初步研究. *Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 5(3), 278.
38. Wu, J. X., Yu, G. R., Wang, B. Y., Zhong, D. S., & Huang, D. J. (1994). Effects of *Viscum coloration* flavonoids on fast response action potentials of hearts. *Acta Pharmacologica Sinica*, 15(2), 169-72.
39. Peng, W., Wang, L., Fu, C. M., Wu, M. Q., Tu, H., & Fu, S. (2021). Study on toxicity-efficacy dualism of Fuzi (附子) regarding its anti-heart failure effect and cardiotoxicity: Based on network pharmacology. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 62(6), 523-529. <https://doi.org/10.13288/j.11-2166/r.2021.06.013>
40. Li, L., Sun, M. L., Zhang, S. Y., Xue, F., Zhang, J., Xu, T. H., et al. (2014). Active ingredient research of antiarrhythmic medicines. *World Chinese Medicine*, 9(9), 1241-1243. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-7202.2014.09.039>

### ORCID

- 하혜경 <https://orcid.org/0000-0002-7326-6366>  
 이시온 <https://orcid.org/0000-0003-3849-2613>  
 김동현 <https://orcid.org/0000-0001-7026-5985>  
 서창섭 <https://orcid.org/0000-0002-8156-446X>  
 신현규 <https://orcid.org/0000-0003-2319-6678>