

Acute Toxicity Study of Modified *Je-Ho-Tang* in ICR Mice

In-Sun Lee¹, Jeong-Hwa Lee², Jae-Il Han³, Woon-Heung Song⁴
Mi-Yeon Kim¹, and Won-Kyung Jeon¹

*Herbal Medicine Research Division, Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 305-811, Korea¹,
Literature & Informatics Research Division, Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 305-811, Korea²
Laboratory Medicine Team, ASAN Medical Center, Seoul 138-736, Korea³
Department of Clinical Laboratory Science, Shinheung College, Uijeongbu 480-701, Korea⁴*

Previous studies have shown that modified *Je-Ho-Tang* (MJHT) has anti-platelet effects. *Je-Ho-Tang* (JHT), a Korean court beverage, is a traditional Korean herbal medicine that has been used for the treatment of a disease attended by great thirst, and for prevention of illness in hot summers. We made MJHT from JHT by excluding honey. The present study was performed to determine the acute oral toxicity of crude extract of MJHT in male and female ICR mice. We investigated the *in vivo* single dose acute toxicity of MJHT hot-water extraction. This test was orally administered once by gavage to 20 mice of each sex received doses of 0 (control group), 1250, 2500 and 5000 mg/kg body weight. Mortalities, clinical findings, autopsy findings and body weight changes were monitored daily for 14 days following the administration. We observed survival rates, general toxicities, changes of body weight, and autopsy. No significant lethality was observed after single oral administration of MJHT at the different dosages. Autopsies on the animals revealed no gross abnormalities. Therefore, the LD₅₀ value of MJHT for ICR mice was estimated more than 5000 mg/kg by the oral route. These results suggest that no toxic dose level of MJHT in mice is considered to be more than 5000 mg/kg. Consequently, it was concluded that MJHT have no effect on acute toxicity and side effect in ICR mice.

Key Words : Modified *Je-Ho-Tang*, Acute toxicity, LD₅₀

서론

제호탕(醞酬湯)은 궁중에서 더위를 풀어주고 갈증을 멈추게 하는 약으로 사용되었으며, 단옷날에 내의원에서 만들어 올린 제호탕을 임금이 기로소(耆老所)에 있는 신하

에게 내려 보내 여름을 건강하게 잘 보내라고 하사하기도 하였다. 제호탕은 더위를 이기고 갈증을 해소하며 몸을 보신하기 위한 우리나라 고유의 전통 청량음료였다(지와 김, 2008). 또한, 제호탕은 「동의보감」과 「방약합편」 등에 더위를 먹어 생긴 열을 풀고 번갈을 멎게 한다고 기록되어 있다. 제호탕은 오매육 1근, 초과 1냥, 사인과 백단향 각 5돈, 꿀 5근으로 구성된 처방으로서, 이들 약재를 곱게 가루내고 꿀을 넣어 끓이면서 고르게 저은 것을 찬물에 타서 마신다고 기록되어 있다(Yoon 등, 2005; 황, 2002). 현재까지 진행된 제호탕에 대한 연구를 살펴보면, 고문헌기록 및 문헌고찰에 대한 연구(지 등, 2008), 조리학적 분석연구(지와 김, 2008), 일반 영양성분 연구(Yun과 Jo, 1996; Yun과 Jo, 1996)와 효능연구 등이 일부 이루어져 있다. 제호탕과 관련한 효능에 대한 실험적 연구는 장내 세균 및 면역활성에 미치는 연구

Corresponding Author : Won Kyung Jeon, Ph.D. Korea Institute of Oriental Medicine (KIOM), 461-24 Jeonmindong, Yusung-gu, Daejeon 305-811, South Korea

Tel : +82-42-868-9505 Fax : +82-42-868-9573

E-mail : wkjeon@kiom.re.kr

*이 연구는 교육과학기술부 지원 한국한의학연구원 기관고유사업 C09050의 지원을 받아 수행되었습니다.

Received : 25 May 2012

Return for modification : 11 June 2012

Accepted : 21 June 2012

(Ji 등, 2006), 가감제호탕(加減醜鬪湯)의 전혈응집억제 및 혈소판부착 억제 작용에 대한 연구(Jeon 등, 2008)를 제외하고 거의 보고된 바 없다. 본 연구팀은 한방처방을 대상으로 항혈전 활성 검색을 하여 활성 후보 소재를 도출하고자 연구를 수행하던 중, 제호탕과 가감제호탕의 항혈소판 활성 연구를 통해 가감제호탕의 효능이 우수하다는 것을 실험적으로 검증한 바 있으나, 가감제호탕에 대해 실험동물을 이용한 독성시험에 대한 안전성 평가는 진행하지 않았다. 이에 본 연구에서는 가감제호탕의 마우스에 대한 경구급성독성시험을 우선적으로 수행하였으며, 본 실험 결과를 근거로 하여 반복투여독성시험을 위한 적절한 경구투여용량 단계를 선택할 계획이다. 한약제제라 함은 한약을 한방원리에 따라 배합하여 제조한 의약품을 의미하는데(KFDA, 2005) 이러한 한약제제는 기존의 「동의보감」 등 11개 기성한의서에 수록된 한약처방에 대하여 현재 약 530여종이 품목 허가된 상태이다(KIOM, 2001). 여기에 포함된 처방은 고전 한의서에 기록된 효능 및 안전성에 대한 정보만을 제공하고 있어서 현대 과학적 근거로서는 한계성을 가지고 있다. 또한, 한방처방의 효능과 안전성에 대한 과학적 기초자료 부족으로 환자의 한약복용에 대한 불안이 가중되고 있는 실정이다(KIOM, 2009). 이와 같이 최근에 국민들은 한약제제를 포함하여 의약품의 유효성과 함께 안전성에 대해서도 깊은 관심을 갖게 되었으며, 유효하고 안전한 의약품의 개발을 기대하고 있다(KFDA, 1999). 따라서 기존의 연구에서 동의보감에 수록된 제호탕을 가감방한 가감제호탕에 대해 항혈전 효능을 실험적으로 검증하였기에, 본 연구에서는 이에 대한 급성독성을 평가하기 위해 식품의약품안전청의 「의약품등의 독성시험 기준」(KFDA, 2009)에 의하여 마우스를 이용한 경구 단회투여 급성독성시험을 수행함으로써 가감제호탕의 급성독성에 관한 기초자료를 얻었기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 실험동물 및 사육환경

시험구역은 한국한의학연구원 동물실험실에서 실시하였

으며, 실험동물은 암수 ICR계 마우스 4주령을 오리엔트 바이오(경기도 성남시 중원구 상대원동 143-1)에서 분양받아 한국한의학연구원의 실험동물윤리위원회의 승인을 받은 후 규정에 따라 실행하였다(승인번호 암컷09-054, 수컷 09-055). 시험에 사용한 ICR 마우스를 입수 후, 외관을 육안으로 검사한 다음 7일간의 순화기간동안 일반증상을 관찰하여 건강한 암·수 모두 40마리(암 20, 수 20)를 선발하여 체중범위에 따른 무작위법에 의하여 군 분리를 실시한 후, 본 실험을 수행하였다. 순화 및 실험기간 동안의 사육환경은 온도 $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 10\%$, 환기횟수는 시간당 12~16회, 조명은 12시간 명암주기(점등 7:00, 소등 19:00), 조도는 150~300 Lx로 조정하여 시험 전 기간 동안 일정한 사육환경 조건을 유지하였다. 실험자는 소독된 기구를 사용하여 실험을 실시하였다. 시험기간 중에 사용된 사료는 실험동물용 고형사료(PMI nutrition, USA)를 사용하였으며 사료의 오염물질 확인은 공급처에서 제공한 자료를 근거한바 시험에 영향을 미치는 요인은 발견되지 않았다. 물은 음수가 가능한 상수도수를 급여하였다.

2) 시료의 조제

가감제호탕의 한약재 구성은 Table 1과 같다. 한약재는 2006년 백제당(대전 약재시장소재)에서 품질이 우수한 약재를 대상으로 구입하였다. 본 연구원에서 한약재의 외부 형태를 비교 검사한 후 한약재 보관소에 보관하였으며 실험에 필요할 때 마다 정량하여 사용하였다. 가감제호탕은 오매(Mume Fructus) 32 g, 초과(Amomi Tsaoko Fructus) 2 g, 사인(Amomi Fructus) 1 g 및 백단향(Santali Albi Lignum) 1 g으로 각각 정량하고, 이를 믹서(mixer)를 이용하여 가루로 혼합 제조하였다. 상기 혼합시료 36 g을 증류수 360 mL

Table 1. Composition of MJHT extracts

Herbal medicines	Weight (g)
Mume Fructus	32
Amomi Tsaoko Fructus	2
Santali Albi Lignum	1
Amomi Fructus	1
Total weight	36

에 넣어 70~90℃에서 2시간 동안 가열하며 환류 추출한 다음 여과지로 여과하였다. 상기 여과액을 10,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상층액을 취하고, 35~40℃의 수용액 상에서 회전 진공농축기를 이용하여 감압 농축한 후 동결 건조시켜 가감제호탕 동결건조물(9.91 g, 수율 27.5%)을 제조하였다. 실험에 사용하기 전까지 냉암소(冷暗所)에 보관하였다.

2. 실험방법

1) 실험군 설계 및 투여용량의 설정

5주령 마우스에 대한 가감제호탕의 단회투여 급성독성을 평가하기 위하여 체중을 측정하고 무작위법을 이용하여 군 분리를 실시하여 투여군별로 암·수 각 5마리씩 사용하였다. 투여 경로는 한방임상적용경로에 따라 경구를 선택하였으며, 투여량은 투여 당일의 체중을 기준으로 하여 계산하였다. 시험물질은 한약추출물로 단회투여에 의한 사망은 없을 것으로 예측되어 투여 용량은 최대량 5000 mg/kg을 기준으로 5000, 2500, 1250, 0 mg/kg 등으로 정하였다(Table 2). 각 용량군의 가감제호탕은 투여 직전에 3차 증류수로 용해하여 실험에 사용하였다. 경구투여하기 전에 하룻밤 절식시킨 후 배부 피부 고정법으로 고정하고 경구투여용 금속제 존데와 주사관을 이용하여 1회 투여/투여 당일로 위내에 강제 경구 투여하였다.

2) 임상증상 및 사망 동물의 관찰

임상 증상은 투여당일에는 가감제호탕 투여 직후부터 6시간 동안 매시간 관찰하였으며, 그 후 14일 동안 1일 1회

일반상태 관찰법에 의하여 일반증상의 변화, 독성증상 및 사망동물의 유무에 대해서 대조군과 비교 관찰하였고 모든 경과를 상세히 기록하였다(KFDA, 2009).

3) 부검

실험 종료 후, 에테르로 마취하여 후대정맥을 통한 방혈 치사 시킨 다음 부검하여 외관 및 내부 장기(심장, 신장, 폐, 간, 비장, 소장, 대장)의 이상 유무를 육안적 소견으로 관찰하였다.

4) 체중변화

체중 변동을 알아보기 위해 실험에 사용된 모든 동물에 대하여 경구투여 직전과 투여 후 1일, 3일, 7일과 부검하기 직전인 14일째에 체중을 자동전자저울을 이용하여 각각 측정하였다.

3. 통계처리

체중에 대한 통계분석은 SPSS 11.0 패키지(SPSS, USA)를 이용하였으며, 모든 측정값은 평균과 표준편차로 계산하였다. 대조군과 투여군의 분석 수치에 대한 유의적 검증은 반복측정분산분석(repeated measured ANOVA)을 유의성($p < 0.05$)으로 검정하여 유의성이 인정된 경우 대조군과 투여군 간에 차이가 있는지 조사하기위하여 다중비교법인 Dunnet test를 실시하였다. 분석결과에 대한 $p < 0.05$ 수준에서 평균치에 대한 유의성을 분석하였다.

Table 2. The groups of administration

Group	No. of animals (head)	Dose volume (ml/kg)	Dose (mg/kg)
Vehicle control	5 males 5 females	10	0
T ₁	5 males 5 females	10	1250
T ₂	5 males 5 females	10	2500
T ₃	5 males 5 females	10	5000

결 과

1. 치사율 및 LD₅₀ 값

가감제호탕을 1250, 2500, 5000 mg/kg 농도별로 단회경 구투여한 후 암수 ICR 마우스를 14일 동안 독성징후와 동물의 사망발현에 대해 관찰한 결과는 Table 3과 같다. 경구 투여시 본 실험의 경우 가감제호탕 추출물의 최대량 5000 mg/kg까지 투여하여도 사망동물을 관찰할 수 없어 개략의 반수치사용량(LD₅₀)을 5000 mg/kg이상으로 산출하였다. 따

라서 마우스에 대한 가감제호탕의 개략의 치사량은 암·수 모두에서 5000 mg/kg을 상회하는 것으로 판단되었다.

2. 체중 변화

모든 시험군에서 경구투여 후 시간 경과에 따라 정상적인 체중증가가 관찰되었는데 이는 체중증가 억제를 나타내지 않는 것으로 보아 가감제호탕은 독성이 없는 것으로 판단되었다. Table 4에서와 같이 암컷 ICR 마우스의 대조군과 시료투여군 사이의 유의한 차이는($p=0.940$) 나타나지 않았

Table 3. Mortality of male and female ICR mice treated orally with MJHT

Sex	Group	Days after treatment														Final Mortality	LD ₅₀ (mg/kg)
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		
Male	C	0/5*	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	T ₁	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	T ₂	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	T ₃	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Female	C	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	T ₁	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	T ₂	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	T ₃	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

* Values are expressed as number of dead animals/total animals. C: vehicle orally treated group, T₁: 5000 mg/kg(day) of MJHT orally treated group, T₂: 2500 mg/kg(day) of MJHT orally treated group, T₃: 1250 mg/kg(day) of MJHT orally treated group.

Table 4. Body weights in male and female ICR mice treated orally with MJHT

Sex	Group	Days after treatment					P-value
		0	1	3	7	14	
Male	C	30.58±2.02	32.03±2.00	33.16±1.77	34.45±1.89	37.28±1.16	
	T ₁	31.02±2.01	33.17±2.68	34.34±2.93	35.09±2.94	37.36±2.10	0.034
	T ₂	30.16±2.21	32.56±2.18	33.36±2.52	33.60±1.95	34.86±2.66	0.683
	T ₃	30.64±2.27	34.09±2.74	35.10±3.02	36.85±2.52	39.74±2.35	0.578
Female	C	24.57±1.33	27.19±2.01	27.27±1.03	27.70±1.89	28.95±2.42	
	T ₁	24.37±1.62	26.00±1.89	27.56±1.73	28.32±2.08	30.37±1.90	0.944
	T ₂	23.97±1.56	26.41±1.66	27.48±1.37	27.91±1.37	29.96±2.54	1.000
	T ₃	24.59±1.04	26.96±1.43	26.97±1.35	28.20±1.05	30.21±2.29	0.932

Results are mean ± S.D. (n=5). Group abbreviation: C; vehicle orally treated group, T₁: 5000 mg/kg(day) of MJHT orally treated group, T₂: 2500 mg/kg(day) of MJHT orally treated group, T₃: 1250 mg/kg(day) of MJHT orally treated group. p values represent significant differences between the control and experimental group values, respectively (Repeated measured ANOVA, Dunnett t-test).

다. 수컷 ICR 마우스의 대조군과 시료투여군 사이의 유의한 차이가($p=0.012$) 나타나 사후검정을 한 결과 가감제호탕 5000 mg/kg 투여군(T_1)만이 대조군보다 체중이 유의하게($p=0.034$) 높아지는 것으로 나타났으나 독성에 의한 체중변화는 없는 것으로 관찰되었다. 대조군과 2500 mg/kg 투여군(T_2) 및 1250 mg/kg 투여군(T_3) 간의 유의한 차이는 나타나지 않았다. 또한 투여용량군 사이의 체중변화는 용량 의존성을 나타나지 않았다.

3. 임상 증상

시험물질 가감제호탕 투여한 후 관찰한 결과 Table 5에서와 같이 경구투여 후 14일 동안 암수 ICR 마우스 모두 본 실험물질의 투여에 관한 어떠한 독성증상의 이상 소견이 관찰되지 않았다.

4. 부검 소견

가감제호탕 경구투여 후 14일째 생존동물 모든 암수 ICR

마우스를 부검하여 주요 장기에 대한 육안적 소견을 관찰한 결과 Table 6과 같다. 부검 결과, 대조군과 시료투여군 등의 모든 시험군에서 시험물질의 투여에 기인된 외관상이나 내부 장기에 어떠한 육안적 이상소견이나 병변이 발견되지 않았다.

고 찰

가감제호탕은 오매, 초과, 사인, 백단향 등의 4종으로 구성되어 있으며 제호탕의 구성약물에서 꿀을 제외하고 구성된 처방이다(Jeon 등, 2008). 제호탕을 구성하는 한약재별로 동의보감에서의 기록 내용을 살펴보면 주재료로 사용되는 오매(烏梅)는 매화나무의 미성숙한 과실을 채취하여 짙 불연기에 훈증하여 건조한 것으로 성질이 따듯하고 독이 없고 맛이 시다. 담을 삭히고, 토하는 것과 갈증, 이질을 멎게 하며 술독에 사용될 수 있으며, 상한과 조갈에 주로 쓰인다.

Table 5. Clinical signs in male and female ICR mice treated orally with MJHT

Sex	Variable	/ Group	C	T ₁	T ₂	T ₃
		/ Dose(mg/kg)	0	1,250	2,500	5,000
		/ No. of animal	5	5	5	5
Male	normal		5	5	5	5
	abnormal		0	0	0	0
Female	normal		5	5	5	5
	abnormal		0	0	0	0

C: vehicle orally treated group, T₁: 5000 mg/kg(day) of MJHT orally treated group, T₂: 2500 mg/kg(day) of MJHT orally treated group, T₃: 1250 mg/kg(day) of MJHT orally treated group.

Table 6. Autopsy findings in male and female ICR mice treated orally with MJHT

Sex	Variable	/ Group	C	T ₁	T ₂	T ₃
		/ Dose(mg/kg)	0	1,250	2,500	5,000
		/ No. of animal	5	5	5	5
Male	normal		5	5	5	5
	abnormal		0	0	0	0
Female	normal		5	5	5	5
	abnormal		0	0	0	0

Autopsy finding at 1 day treatment of test substances. C: vehicle orally treated group, T₁: 5000 mg/kg(day) of MJHT orally treated group, T₂: 2500 mg/kg(day) of MJHT orally treated group, T₃: 1250 mg/kg(day) of MJHT orally treated group.

검은 사마귀를 없애고 입이 마르면서 침을 자주 뱉는 것을 치료한다고 기록되어져 있다. 초과(草果)는 성질이 따듯하고 맛은 매우며 독이 없다. 온갖 냉기에 주로 쓴다. 비위를 따듯하게 하고 구토를 멎게 한다. 배가 불러 오른 것을 치료하고 학모를 없애며 속식을 없애고 술독과 과일의 상한 것을 풀며, 습독에 의한 병을 물리치고 온역을 풀어준다. 사인(砂仁)은 성질이 따듯하고 맛은 매우며 독이 없다. 속을 고르게 하고, 기를 내리며 설사와 이질을 멎게 한다. 식욕을 돋게 하고 소화가 잘되게 한다. 백단향(白檀香)은 성질이 따듯하고 맛은 매우며 독이 없다. 열로 부은 것을 가라앉히고 신기로 배가 아픈 것을 치료 한다(Yoon 등, 2005). 본 연구에 사용된 시험물질인 가감제호탕은 위의 구성 약물을 열수 추출한 다음 농축하여 동결건조의 제조과정을 거쳤으며 냉동 보관하여 실험에 사용하였다. 마우스는 독성시험에 적합한 실험동물로서 급성독성시험에 널리 사용되고 있고, ICR 계통의 마우스는 풍부한 시험 기초 자료가 축적되어 있어서 시험결과의 해석 및 평가 시에 활용하는데 적당한 것으로 알려져 있다. 시험물질인 가감제호탕은 한약처방으로 “의약품등의 독성시험기준”에는 한계용량에 대한 기준이 없기 때문에 단회 경구투여에 의한 독성을 조사하기 위하여 ICR 마우스에 각각 고용량군, 중간용량군, 저용량군 등으로 시험물질의 투여군을 나누었으며, 대조군은 3차 증류수를 투여하였다(고 등, 2005). 본 연구는 가감제호탕의 ICR 마우스를 이용한 단회 경구투여에 의한 독성시험의 정보를 얻기 위하여 식품의약품안전청 고시 제2009-116호(2009년 8월 24일)의 “의약품 등의 독성시험기준을 근거로 하여 실시하였다(KFDA, 2009). 시험물질 가감제호탕에 대한 단회 경구투여 독성시험을 ICR 마우스에서 경구로 최고용량 5000 mg/kg까지 투여한 결과, 폐사 및 일반증상과 모든 생존동물에 대한 해부병리소견에서 시험물질의 투여에 기인한다고 사료되는 변화는 관찰되지 않았다. 다만 대조군과 비교하여 체중이 유의하게 증가하였으나 독성에 의한 체중변화는 없는 것으로 판단되었다. 본 연구는 가감제호탕에 대한 급성독성평가를 목적으로 ICR 암·수 마우스에게 각각 0, 1250, 2500, 5000 mg/kg 용량으로 단회 경구투여한 후 14일 간의 사망률, 일반증상, 체중변화 및 부검소견을 관찰한 결과를 얻었다. 본 시험결과에 따르면 마우스에서 가감제호탕

의 경구투여는 모든 시험군에서 LD₅₀는 5000 mg/kg 이상이었으며, 임상증상 관찰 시 실험물질의 투여에 관한 어떠한 독성증상의 이상 소견이 관찰되지 않았다. 또한 경구투여한 마우스의 체중변화는 대조군과 시험물질 투여군 간의 독성으로 인한 유의한 차이를 발견할 수 없었다. 모든 장기에 육안적 이상병변은 관찰되지 않아 조직학적 검사 및 간 조직 세포에서의 세포독성실험은 수행하지 않았다. 이상의 모든 결과를 종합하여 볼 때 시험물질인 가감제호탕은 암·수 ICR 마우스에서의 LD₅₀값은 경구투여가 5000 mg/kg 이상인 생체내 저독성의 안전한 물질로 작용되는 것으로 사료된다. 따라서 본 연구결과를 바탕으로 다음 실험에서는 반복투여 독성시험을 위한 가감제호탕의 고용량은 5000 mg/kg으로 설정해야 할 것으로 판단된다. 향후 가감제호탕을 실험동물에 반복투여 하여 중·장기간 내에 나타나는 독성을 질적·양적으로 검사하는 독성평가를 수행함으로써 반복투여에 의한 안전성 기초자료를 확보할 계획이다.

참고문헌

1. Jeon WK, Kim YE, Park SO, Kwon DY, Ahn SW, Lee JH, *et al.* The modified *Je-Ho-Tang*, Korean herbal medicine, inhibits whole-blood aggregation and platelet adhesion to collagen under flow. *Thrombo Res.*, 2008, 122:804-809.
2. Ji MS, Park MJ, Lee MY, Kim JG, Ko BS. Effect of Jehotang extract on the growth of intestinal bacteria and immunostimulation. *Korean, J. Food. Sci. Technol.*, 2006, 38:104-108.
3. Yun SJ, Jo HJ. Studies on nutritional compositions of the Jehotang: 1. proximate Composition, free sugars, amino acids, fatty acids and mineral contents. *J. Korean. Soc. Food. Sci. Nutr.*, 1996, 25:649-653.
4. Yun SJ, Jo HJ. Studies on nutritional compositions of the Jehotang: 2. organic acid content and volatile aroma components. *J. Korean. Soc Food. Sci. Nutr.*, 1996, 25:654-658.
5. 고병섭, 박민정, 박소민, 전원경, 천진미, 정필문, 등. 가미옥천산의 ICR 마우스 경구 투여에 의한 급성 독성시험 연구. 동의생리병리학회지. 2005, 19:1200-1203.
6. 김형준, 윤석희, 등. 동의보감. 2005, p1147, 동의보감출판사.
7. 신현규. 표준한방처방 EBM 구축사업. 2009, p5, KIOM.
8. 의약품등의 독성시험 기준 해설서. 1999, p1, KFDA.
9. 의약품등의 독성시험기준 식품의약품안전청 고시2009-116호 2009, KFDA.

10. 조정희, 김도훈, 등. 생약·한약재제의 의약품등의안전성·유효성심사에 관한규정해설서. 2005, p2·p10, KFDA.
11. 지명순, 고병섭, 안상우, 김종군. 제호당의 문헌고찰. 동아시아식생활학회지. 2008, 18:158-164.
12. 지명순, 김종군. 문헌 속 제호당의 조리학적 분석 연구. 동아시아식생활학회지. 2008, 18:446-454.
13. 한약제제 신약개발과 허가심사 워크샵. 2001, p3, KIOM.
14. 황도연. 방약합편. 2002, p33, 영림사 서울.