

GST의 Sprague-Dawley Rat를 이용한 단회 경구투여 독성시험 및 4주 반복 경구투여 용량결정시험

한종민¹, 홍지희², 이해영³, 정인철⁴, 진미림^{5,6}, 김승형⁶, 박양춘^{1,6}

¹대전대학교 한의과대학 폐계내과학교실, ²대전대학교 한의과대학 안이비인후피부과학교실

³(주) 바이오톡스텍, ⁴대전대학교 한의과대학 신경정신과학교실

⁵대전대학교 한의과대학 약리학교실, ⁶대전대학교 동서생명과학연구원

Single Oral Dose Toxicity Test and Four Weeks Repeated Oral Dose Determination Test of GST in Sprague-Dawley Rats

Jong-min Han¹, Jee-hee Hong², Hye-yeong Lee³, In-chul Jung⁴

Mi-rim Jin^{5,6}, Seong-hyeong Kim⁶, Yang-chun Park^{1,6}

¹Division of Respiratory System, Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dae-Jeon University

²Dept. of Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology, College of Oriental Medicine, Dae-Jeon University

³Biotoxtech, ⁴Dept. of Neuropsychology, College of Oriental Medicine, Dae-Jeon University

⁵Dept. of Pharmacology, College of Oriental Medicine, Dae-Jeon University

⁶Institute of Traditional Medicine and Bioscience, Dae-Jeon University

ABSTRACT

Objectives : This study aimed to evaluate the single oral dose toxicity and four weeks repeated dose determination of *Gamisasangja-tang* (GST) in male and female Sprague-Dawley rats.

Methods : In the single oral toxicity study, rats were orally administered a single dose of 0 and 5,000 mg/kg GST. There were 5 rats in each group. After single administration, mortality, clinical signs, body weight changes and gross pathological finding were observed for 14 days.

In the 4-weeks repeated oral dose determination study, rats were orally administered a single dose of 0, 1,250, 2,500 or 5,000 mg/kg GST. There were 5 rats in each group. Mortality, clinical signs, body weight changes, food consumption and gross pathological finding were observed for 28 days. Organ weight, clinical chemistry and hematology were tested after 28 days.

Results : There was no mortality in either of the two studies. There were also no significant differences in clinical sign, body weight, organ weights, hematological or serum chemical parameters between the GST and control groups.

Conclusions : The results obtained in this study suggest that the 50% lethal dose of GST is over 5,000 mg/kg, so this finding would be expected to provide scientific evidence for the safety of GST.

Key words : *Sasangja-tang* (*Shechuangzi-tang*), safety, single dose toxicity, 4-weeks repeated dose determining, LD₅₀

1. 서론

· 교신저자: 박양춘 대전시 중구 대흥로 170
대전대학교대전한방병원 한방내과
TEL: 042-229-6919 FAX: 042-254-3403
E-mail: omdpyc@dju.kr

전 세계적으로 증가추세에 있는 아토피 피부염은 우리나라에서도 꾸준히 증가하여 지난 12개월 동안 아토피 피부염으로 치료 받은 적이 있는 유병

률이 초등학생의 경우 1995년 8.2%, 2000년 11.9%, 2010년 15.3%로 증가하는 것으로 나타났다¹. 아토피 피부염은 흔히 사회적 생활유지의 어려움과 수면장애, 정서장애, 자신감 상실을 일으킬 뿐만 아니라 성장기 환자의 경우 이로 인하여 성장의 둔화를 가져올 수도 있어 환자가 겪는 고통이 매우 큰 질환이라고 할 수 있다². 또한 '알레르기 행진'이라고 알려진 아토피 피부염에서 천식 그리고 알레르기성 비염으로 발전되는 현상은 아토피 피부염의 증상을 완화시키고 병변이 악화되는 것을 예방함으로써 이러한 진행을 차단하는 노력이 필요함을 알려주고 있다³. 그렇지만 현재 치료에 주로 사용되는 보습제와 항히스타민제, 국소 또는 전신 스테로이드의 사용은 증상의 완화를 얻을 수 있으나 일부 환자에서 이러한 치료에 잘 반응하지 않는 경우도 많으며 더욱이 스테로이드의 지속적 사용은 피부위축 등 여러 가지 부작용을 초래할 수 있다⁴.

GST는 《外科正宗·卷四》에서 “治腎囊風濕熱爲患，疥瘡作痒，搔之作疹”이라 기술되어 있는 사상자탕(*Sasangja-tang*, *Shechuangzi-tang*)⁵에 殺蟲하는 백부근(百部根, *Stemonae Radix*)⁶과 宣散風熱透疹하는 부평초(浮萍草, *Spirodela Herba*)⁶를 더하여 사상자(蛇床子, *Cnidii Fructus*), 위령선(威靈仙, *Clematidis Radix*), 당귀(當歸, *Angelica Gigas Root*), 고삼(苦參, *Sophora Root*), 백부근(百部根), 부평초(浮萍草)의 여섯 가지 약물로 구성된 처방으로 대전대학교부속한방병원 폐계내과에서 아토피 피부염을 비롯한 가려움증에 다양하게 활용되고 있다.

이에 GST의 아토피 피부염에 대한 효능을 평가하기 위한 임상연구의 예비연구로서 GST의 rat에 대한 식품의약품안전청 독성시험기준⁷에 따른 단회 경구투여 독성시험 및 4주 반복 경구투여 용량결정시험을 통하여 사망유무, 일반증상, 체중변화, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 장기중량, 부검, 조직병리학적 검사에 대한 영향을 평가하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험기관

1) 단회 경구투여 용량증가 독성시험과 4주 반복 경구투여 용량결정시험

GLP기관인 (주)바이오독스텍에서 두 시험의 전 과정을 시행하였다.

두 시험 모두 동물보호법에 근거한 (주)바이오독스텍의 동물실험윤리위원회에 의해 승인되었다(승인번호 : 단회 경구투여 용량증가 독성시험 130182, 4주 반복 경구투여 용량결정시험 130266).

2. 시험 동물 및 사육환경

1) 시험 동물

두 실험에서 모두 SPF(specific pathogen-free) SD(Sprague-Dawley)계 랫드를 사용하였다. SD계 랫드는 의약품 등의 안전성 시험에 널리 사용되고 있으며, 비교할 기초자료가 풍부하여 선택하였다⁸. 단회 경구투여 용량증가 독성시험에서, 입수 시에는 5주령 수컷 12마리, 124.3~135.9 g, 5주령 암컷 12마리, 108.1~116.7 g이었으며 투여개시 시에는 6주령 수컷 10마리, 160.7~174.6 g, 암컷 10마리, 122.8~137.1 g이었다. 4주 반복 경구투여 용량결정시험에서, 입수 시에는 5주령 수컷 24마리, 90.0~150.0 g, 5주령 암컷 24마리, 80.0~140.0 g이었으며 투여개시 시에는 6주령 암수 각 20마리였다. 반입 시 동물의 외관 검사, 체중 측정을 하였고 7일간의 순화기간 중 매일 1회 일반증상을 관찰하였다. 순화기간 종료일에 일반증상 및 체중변화를 확인하여 모든 동물에 이상이 없음을 확인하였다.

2) 사육환경

스테인리스 철망 사육상자(260W×350D×210H mm)에 검역, 순화기간 동안 2~3마리, 관찰기간 동안 1마리를 사육하였다. 단회 경구투여 용량증가 독성시험에서 온도는 21.0~23.1 °C, 상대습도 42.7~61.2%로 유지되었고, 4주 반복 경구투여 용량결정시험에서 온도는 19.0~25.0 °C, 상대습도 30.0~70.0%로

유지되었다. 환기횟수 10~15회/시간, 조명시간 12시간/일(오전 7시~오후 7시), 조도 150~300 lux로 같은 조건으로 설정하였다. 사료는 실험동물용 고품사료(Harlan Laboratories, Inc., USA)를 사용하였고 급이기에 고품사료를 넣어 자유섭취 시켰다. 음수는 청주시 수돗물을 필터유수살균기로 여과한 후 자외선을 조사하였고, 자동급수장치로 자유섭취 시켰다. 음수의 분석은 충청북도 보건환경연구원 '먹는 물 수질기준 및 검사 등에 관한 규칙'⁹⁾의 전항목에 대하여 실시하여 허용범위 내에 속하는지를 확인하였다.

3. 시험물질 및 투여

1) 시험물질

본 실험에 사용한 GST는 (주)한국신약에서 표준화하여 분말형태로 공급받았으며, 전자저울(BP3100S, Sartorius, Germany)로 칭량하여 용기에 넣고, 주사용수(중외제약, 대한민국)를 가한 다음 균질화기(ARE-250, THINKY, APAN)를 사용하여 현탁시켰다. 조제병에 조제물을 옮긴 후 주사용수를 가하여 규정농도(단회투여독성시험 500 mg/ml, 4주 반복 경구투여 용량 결정 시험 125, 250, 500 mg/ml)로 조제하였으며, 매일 투여 당일 실시하였다. GST는 물추출을 하였고 수율은 18.8±0.6%로 나타났으며 성인(60 kg) 기준 1일 용량에 해당하는 약제의 구성은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. The Composition of GST.

| Herbal name (Korean) | Herbal name | Amount (g) |
|-------------------------|----------------------------|---------------|
| 사상자 | <i>Cnidi Fructus</i> | 2.56 |
| 백부근 | <i>Stemonae Radix</i> | 2.56 |
| 부평초 | <i>Spirodelae Herba</i> | 2.56 |
| 고삼 | <i>Sophora Root</i> | 2.56 |
| 당귀 | <i>Angelica Gigas Root</i> | 1.28 |
| 위령선 | <i>Clematidis Radix</i> | 1.28 |
| Total | | 12.80 |

2) 투여절차

(1) 단회 경구투여 용량증가 독성시험

시험물질의 임상 적용 경로가 경구이므로 시험 투여경로를 경구투여로 선택하였다. 투여액량은 10 ml/kg으로 하였고, 개체별 투여액량은 투여 당일 절식 후 체중을 기준으로 산출하였다. 경구투여용 존데를 부착한 일회용 주사기를 이용하여 위내에 단회 강제투여 하였다. 모든 동물은 투여 전에 약 16시간 이상 음수는 자유섭취 시키면서 절식시키고, 투여 후 약 4시간에 사료를 급여하였다.

(2) 4주 반복 경구투여 용량결정시험

시험물질의 임상적용경로가 경구이므로 시험 투여경로를 경구투여로 선택하였다. 투여액량은 10 ml/kg으로 하였고, 개체별 투여액량은 매주 1회 측정된 체중을 기준으로 산출하였다. 경구투여용 존데를 부착한 일회용 주사기를 이용하여 위내에 강제 투여 하였으며, 매일 오전 4주간 1일 1회 시행하였다.

3) 군 분리 및 투여용량 설정

(1) 단회 경구투여 용량증가 독성시험

군 분리는 모든 동물에 대하여 순화기간 종료 후에 실시하였고, 군 분리일의 평균 체중에 가까운 암수 각 10마리를 선발하였다. 선발한 동물을 각 군 평균체중이 균등하도록 무작위로 암수 각 2군, 군당 5마리로 군 분리 하였다.

본 시험의 예비시험으로 5,000 mg/10 ml/kg을 암수 각 1마리에 단회 경구투여한 결과 사망례가 관찰되지 않았다. 따라서, 본 시험의 투여용량은 5,000 mg/10 ml/kg의 단일 시험물질 투여군을 설정하였다. 대조군에는 시험물질 투여군과 동일한 액량의 주사용수를 투여하였다.

(2) 4주 반복 경구투여 용량 결정시험

군 분리는 모든 동물에 대하여 순화기간 종료 후에 실시하였고, 군 분리일의 평균 체중에 가까운 암수 각 20마리를 선발하였다. 선발한 동물을 각 군 평균체중이 균등하도록 무작위로 암수 각 4군, 군당 5마리로 군 분리 하였다.

본 시험에 대한 단회투여 예비시험 결과, 암수

5,000 mg/kg 용량에서 시험물질색 변이 관찰되었고, 체중변화에서 이상이 없었다. 따라서, 고용량은 5,000 mg/10 ml/kg/day로 설정하고, 공비 2를 적용하여 2,500 및 1,250 mg/10 ml/kg/day를 각각 중용량 및 저용량의 투여용량으로 설정하였다. 대조군에는 고용량군과 동일한 액량의 주사용수를 투여하였다.

4. 관찰 및 검사

1) 단회 경구투여 용량증가 독성시험

이하의 관찰 및 검사일은 투여 개시일을 0일로 하여, 투여 개시일부터 7일간을 투여 1주로 계산하였다.

(1) 일반증상 및 사망유무 관찰

투여당일(0일)에는 투여 후 30분, 1, 2, 4 및 6시간째에 일반상태(독성징후의 종류) 및 사망유무를 관찰하였다. 투여 후 1일부터 14일까지는 매일 1회 일반증상을 관찰하였다.

(2) 체중 측정

체중은 투여당일(투여 전)과 투여 후 1, 3, 7일 및 14일(부검일)에 측정하였다.

(3) 부검

관찰기간 종료 후, 모든 생존동물에 대해서 CO₂ 가스를 흡입시켜 배대동맥에서 방혈하여 안락사시키고 부검하였다.

(4) 조직 병리학적 검사

부검 시 육안소견이 관찰되지 않아, 조직병리학적 검사를 실시하지 않았다.

(5) 자료의 통계처리

실험에서 얻어진 체중 결과는 SAS(version 9.4, SAS Institute Inc., U.S.A.)를 사용하여 검정하였다. Folded-F 검정법을 사용하여 등분산성을 검정한 결과(유의수준 : 0.05), 등분산이 인정되어 Student t-test를 실시하였다(유의수준 : 양측 0.05 및 0.01).

2) 4주 반복 경구투여 용량 결정시험

이하의 관찰 및 검사일은 투여 개시일을 1일로 하여, 투여 개시일로부터 7일간을 투여 1주로 계산하였다.

(1) 일반증상 및 사망유무 관찰

모든 동물에 대하여 1일 1회 일반증상을 관찰하고, 1일 2회 빈사 및 사망동물의 유무를 확인한다. 관찰은 투여 1일부터 4주간 실시하였다.

(2) 체중 측정

모든 동물에 대하여 투여 개시일(투여 전), 투여 개시 후 주 1회, 부검일에 체중을 측정하였다. 부검일의 체중은 절식을 실시하였으므로 체중평가에서는 제외하였다.

(3) 사료섭취량

모든 동물에 대하여 투여 개시 전의 사료섭취량은 군 분리일부터 투여 개시일까지 1일간의 섭취량을 측정하였고, 투여기간에는 7일간의 섭취량을, 투여 4주째에는 6일간의 섭취량을 측정하여 1일의 평균섭취량을 산출하였다.

(4) 혈액학적 검사

모든 생존 동물에 대하여 부검전 약 18시간 이상 절식시킨 후, 부검일에 isoflurane(중외제약, 대한민국)으로 마취하여 배대동맥으로부터 혈액을 채취하였다. 혈액학적 검사는 채취한 혈액 약 1 mL을 EDTA 함유 tube에 넣은 후, 혈구 분석기(ADVIA 2120i, SIEMENS, Germany)로 측정하였다. 검사항목은 RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT, WBC 등이다.

(5) 혈액생화학적 검사

혈액생화학적 검사는 배대동맥에서 채취한 혈액 중 혈액학적 검사용 혈액을 제외한 나머지 혈액을 3,000 rpm으로 10분간 원심분리 후 혈청을 취하여 이용하였다. 혈액생화학 분석기(7180, HITACHI, Japan)로 ALT, AST, ALP, BUN, creatinine, TP, Albumin, A/G ratio, T-Chol, TG, Glu 등의 항목을 측정하였다.

(6) 부검

모든 생존 동물에 대해서 투여 개시 후 29일 isoflurane 마취 하에 배대동맥에서 방혈하여 안락사시키고 부검하였다. 부검을 실시한 모든 동물에 대해서 전신의 장기, 조직에 대하여 상세한 육안검사를 실시하였다.

(7) 장기중량 측정

모든 동물에 대하여 뇌, 심장, 간, 비장, 신장에 대한 습중량을 측정하고, 절식체중에 대한 상대장기중량비를 산출하였다. 신장은 좌우를 합하여 무게를 측정하였다.

(8) 조직병리학적 검사

부검을 실시한 모든 동물에 대하여 뇌, 갑상선 및 부갑상선, 흉선, 폐 및 기관지, 심장, 간, 비장, 신장, 부신, 위, 십이지장, 공장, 회장, 맹장, 결장, 직장, 췌장, 고환, 부고환, 난소, 자궁 등 육안소견이 관찰된 장기, 조직을 적출하여 10% 중성완충 포르말린 용액(neutral buffered formalin)에 고정하고, 그 중 고환은 Davidson 고정액에 고정하였다. 고정된 장기, 조직 중 뇌, 심장, 간, 비장, 신장, 폐는 탈수 및 파라핀 포매 등의 일반적인 조직처리 과정을 거쳐 조직절편을 제작하였다. 박절과정을 거쳐 검체를 제작하여 Hematoxylin & Eosin(H&E) 염색을 실시하였으며, 검체 제작 후 잔여 장기, 조직 및 고정 장기, 조직은 10% 중성완충포르말린용액에 보존하였다.

(9) 자료의 통계처리

실험에서 얻어진 체중, 사료섭취량, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 장기중량 결과는 SAS(version 9.3, SAS Institute Inc., U.S.A.)를 사용하여 검정하였다. Bartlett test를 실시하여 등분산성을 검정하였다(유의수준 : 0.05). 등분산인 경우, One-way

analysis of variance(ANOVA)를 실시하여 유의성(유의수준 : 0.05)이 관찰되면 Dunnett's t-test의 다중검정을 실시하였다(유의수준 : 양측 0.05 및 0.01). 등분산이 기각되면 Kruskal-Wallis test를 실시하여 유의성(유의수준 : 0.05)이 관찰되면 Steel test의 다중검정을 실시하였다(유의수준 : 양측 0.05 및 0.01).

III. 결 과

1. 단회 경구투여 용량증가 독성시험

1) 사망유무 및 일반증상

관찰기간 동안, 암수 대조군 및 5,000 mg/kg 투여군에서 사망례는 없었다.

관찰기간 동안, 5,000 mg/kg 투여군에서 투여 후 1일에 약물혼입변(compound colored stool)이 암수 각 3례, 변량감소(decrease of fecal volume)가 암컷 1례 관찰되었다. 약물혼입변은 시험물질에 의한 일시적인 영향으로 판단되고, 체중변화에서 유의성 있는 변화가 없었기에 독성학적으로 의미는 없는 것으로 판단되었다. 또한, 변량감소는 1마리에서만 관찰되었기에 우발적인 변화로 판단되었다(Table 2).

2) 체중 변화

관찰기간 동안, 암수 5,000 mg/kg 투여군에서 대조군과 비교시 유의성 있는 체중변화는 인정되지 않았다(Fig. 1).

Table 2. Clinical Signs of SD Rats in Single Oral Dose Toxicity Test.

| Sex | Group/Dose (mg/kg) | Clinical sign | Days after dosing | | | | | | | | | | | | | |
|--------|--------------------|---------------|-------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
| Male | G1/0 (n=5) | NOA* | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | NOA | 2 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | CCS† | 3 | | | | | | | | | | | | | | |
| Female | G1/0 (n=5) | NOA | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | NOA | 2 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | CCS | 3 | | | | | | | | | | | | | | |
| | DFV‡ | 1 | | | | | | | | | | | | | | |

* : No observable abnormality, † : Compound colored stool, ‡ : Decrease of fecal volume

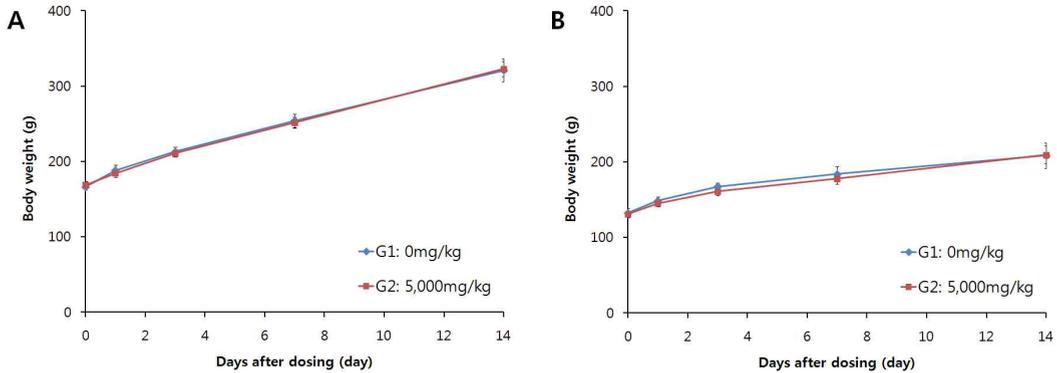


Fig. 1. Body weight (g) changes of male (A), female (B) rats in 14 days single dose toxicity study of GST.

Values are expressed as mean \pm standard deviation (n=5).

G1 : sterile water administration group, G2 : GST extract 5,000 mg/kg administration group

3) 육안적 부검소견

부검시, 암수 대조군 및 5,000 mg/kg 투여군에서 육안적 이상소견은 관찰되지 않았다.

2. 4주 반복 경구투여 용량 결정 시험

1) 사망유무 및 일반증상

관찰기간 동안, 암수 대조군, 1,250, 2,500 및 5,000 mg/kg/day 투여군에서 사망례는 관찰되지 않았다.

약물혼입변(compound colored stool)이 2,500 mg/kg/day 투여군의 수컷 1마리와 암컷 2마리에서 투여 6일부터, 5,000 mg/kg/day 투여군의 암수 모두에서 투여 4~7일부터 관찰되기 시작하여 투여기간 동안 산발적으로 관찰되었으며, 시험물질에 의한 착색변으로 사료되어 시험물질에 의한 독성 변화는 아닌 것으로 판단된다. 유연(salivation)이 2,500 mg/kg/day 투여군의 수컷 2마리에서 투여 26~28일에, 암컷 2마리에서 투여 18~21일에 투여 전후에 관찰되었고, 5,000 mg/kg/day 투여군의 수컷 5마리, 암컷 4마리에서 투여 8~23일부터 관찰되어 투여기간 동안 투여 전후에 산발적으로 관찰

되었다. 유연은 투여 전후에 일시적으로 관찰되어 시험물질의 물리화학적 특성에 기인한 조건반사적 증상으로 사료되어 시험물질에 의한 독성변화는 아닌 것으로 판단되었다(Table 3).

2) 체중변화

수컷 5,000 mg/kg/day 투여군에서 투여 2~4주에 대조군과 비교시 유의성 있는 체중감소가 관찰되었고, 투여 4주의 체중증가율은 대조군과 비교시 -6.8%였다. 체중의 감소는 시험물질 투여에 의한 영향이 인정되었다. 암컷 1,250, 2,500, 5,000 mg/kg/day 투여군에서 대조군과 비교시 유의성 있는 체중변화는 관찰되지 않았다(Fig. 2).

3) 사료섭취량

수컷 5,000 mg/kg/day 투여군에서 투여 1주에 대조군과 비교시 유의성 있는 사료섭취량 감소가 관찰되었고, 체중감소와 연관성이 있어 시험물질 투여에 의한 영향이 인정되었다. 암컷 1,250, 2,500 및 5,000 mg/kg/day 투여군에서 대조군과 비교시 유의성 있는 사료섭취량 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 3).

Table 3. Clinical Signs of SD Rats in 4-Weeks Repeated Oral Dose Determination Test.

| Sex | Group /Dose (mg/kg) | CS* | Day | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------|---------------------|------------------|-----|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|---|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | |
| Male | G1/0 (n=5) | NOA [†] | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | |
| | G2/1,250 (n=5) | NOA | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | |
| | G3/2,500 (n=5) | NOA | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 3 | 3 | 3 | |
| | | CCS [‡] | | | | | | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | | | | | 1 | 1 | | | | | | 1 | 1 | 1 | |
| | | SA [§] | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | 1 | 2 |
| | G4/5,000 (n=5) | SB | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | 1 | |
| | | NOA | 5 | 5 | 5 | 1 | 1 | 1 | | | 1 | | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | | | | | | | | | | | | |
| | | CCS | | | | 4 | 4 | 4 | 5 | 5 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | SA | | | | | | | | | 1 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| | Female | G1/0 (n=5) | NOA | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| NOA | | | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | |
| G3/2,500 (n=5) | | NOA | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 4 | 3 | 2 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 3 | 3 | |
| | | CCS | | | | | | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | | | | | | | | | 1 | 1 | | | | | | | 2 | 2 | |
| | | SA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | 1 | 1 | 2 | | | | | | | |
| G4/5,000 (n=5) | | SB | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | 1 | | | | | | | |
| | | NOA | 5 | 5 | 5 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | | 1 | |
| | | CCS | | | | 3 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | |
| | | SA | | | | | | | | | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 | 2 | 3 | 4 | 3 | |
| G4/5,000 (n=5) | | SB | | | | | | | | | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 3 | 3 | | 2 | 2 | 2 | 2 | |

* : Clinical sign, † : No observable abnormality, ‡ : Compound colored stool, § : Salivation after dosing, || : Salivation before dosing

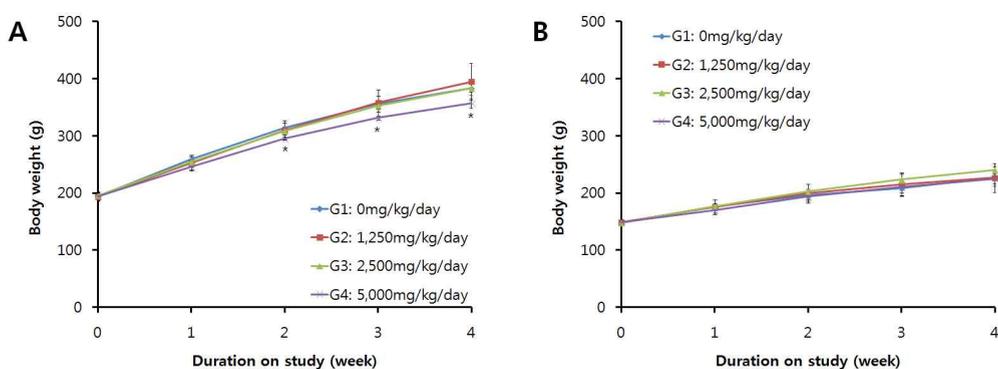


Fig. 2. Body weight (g) changes of male (A), female (B) rats in 4-weeks repeated oral dose determination test of GST.

Values are expressed as mean ± standard deviation (n=5). G1 : sterile water administration group, G2 : GST extract 1,250 mg/kg/day administration group, G3 : GST extract 2,500 mg/kg/day administration group, G4 : GST extract 5,000 mg/kg/day administration group. * : Significantly different from control by Steel test ($p < 0.05$)

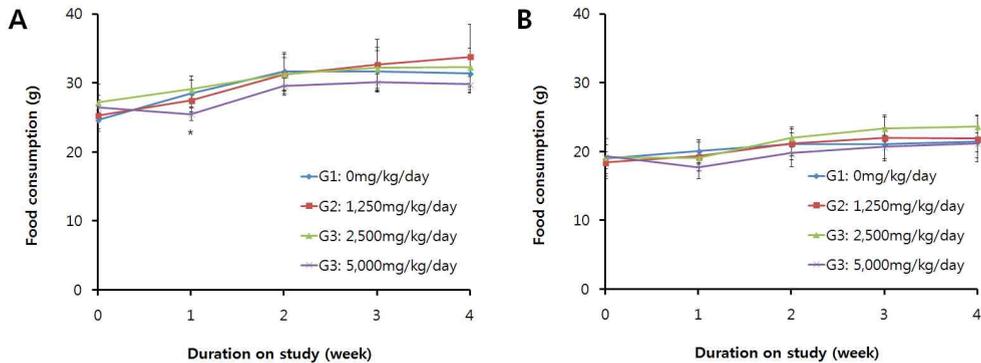


Fig. 3. Food Consumption (g) changes of male (A), female (B) rats in 4-weeks repeated oral dose determination test of GST.

Values are expressed as mean \pm standard deviation (n=5). G1 : sterile water administration group, G2 : GST extract 1.250 mg/kg/day administration group, G3 : GST extract 2.500 mg/kg/day administration group, G4 : GST extract 5.000 mg/kg/day administration group. * : Significantly different from control by Steel test ($p < 0.05$)

4) 혈액학적 검사
 암수 시험물질 투여군에서 시험물질 영향으로
 판단되는 변화는 없었다.

암컷 시험물질 투여군에서 통계학적 유의성이
 관찰된 변화는 경미한 변동이고, 용량의존성이 관
 찰되지 않아 독성학적인 의미는 없었다(Table 4).

Table 4. Hematological Values of SD Rats in 4-Weeks Repeated Oral Dose Determination Test.

| Sex | Group/Dose (mg/kg/day) | | | | |
|--------|-------------------------------------|-----------------|------------------|------------------|-----------------|
| | G1/0 | G2/1,250 | G3/2,500 | G4/5,000 | |
| Male | RBC ($\times 10^6$ cells/ μ l) | 7.66 \pm 0.27 | 7.61 \pm 0.40 | 7.44 \pm 0.88 | 7.62 \pm 0.11 |
| | HGB (g/dL) | 15.0 \pm 0.4 | 15.0 \pm 0.4 | 14.5 \pm 1.6 | 14.9 \pm 0.4 |
| | HCT (%) | 43.5 \pm 1.4 | 42.9 \pm 2.1 | 42.7 \pm 3.6 | 42.8 \pm 0.9 |
| | MCV (fL) | 56.9 \pm 1.1 | 56.5 \pm 2.2 | 57.7 \pm 3.1 | 56.1 \pm 1.5 |
| | RBC Indices MCH (pg) | 19.6 \pm 0.6 | 19.8 \pm 0.8 | 19.6 \pm 0.6 | 19.6 \pm 0.6 |
| | MCHC (g/dL) | 34.6 \pm 0.6 | 35.1 \pm 1.0 | 33.9 \pm 1.2 | 34.8 \pm 0.5 |
| | PLT ($\times 10^3$ cells/ μ l) | 1,027 \pm 67 | 1,037 \pm 98 | 1,207 \pm 300 | 1,027 \pm 78 |
| | WBC ($\times 10^3$ cells/ μ l) | 8.74 \pm 1.20 | 11.28 \pm 3.36 | 10.05 \pm 2.26 | 8.81 \pm 3.10 |
| Female | RBC ($\times 10^6$ cells/ μ l) | 8.00 \pm 0.26 | 7.78 \pm 0.37 | 7.32 \pm 0.26* | 7.65 \pm 0.23 |
| | HGB (g/dL) | 15.5 \pm 0.6 | 15.4 \pm 0.3 | 14.4 \pm 0.9 | 15.2 \pm 0.4 |
| | HCT (%) | 44.0 \pm 1.9 | 43.9 \pm 1.0 | 41.2 \pm 2.7 | 43.0 \pm 0.8 |
| | MCV (fL) | 54.9 \pm 1.3 | 56.5 \pm 2.0 | 56.2 \pm 1.9 | 56.2 \pm 1.2 |
| | RBC Indices MCH (pg) | 19.3 \pm 0.4 | 19.9 \pm 0.7 | 19.7 \pm 0.7 | 19.9 \pm 0.5 |
| | MCHC (g/dL) | 35.2 \pm 0.2 | 35.2 \pm 0.3 | 35.1 \pm 0.2 | 35.4 \pm 0.3 |
| | PLT ($\times 10^3$ cells/ μ l) | 1,152 \pm 153 | 1,111 \pm 80 | 1,118 \pm 56 | 1,153 \pm 112 |
| | WBC ($\times 10^3$ cells/ μ l) | 4.88 \pm 1.74 | 5.05 \pm 1.06 | 4.74 \pm 1.27 | 5.48 \pm 1.13 |

Values are expressed by mean \pm standard deviation (n=5). * : Significantly different from control by Dunnett's t-test ($p < 0.01$)

5) 혈액 생화학적 검사

암컷 5,000 mg/kg/day 투여군에서 총콜레스테롤 (total cholesterol : T-Chol)의 증가가 관찰되었다. 관찰된 T-Chol의 증가는 생물학적인 변동 범위를 벗어난 수치¹⁰이고 용량의존성이 관찰되었으므로

시험물질 투여로 인한 것으로 판단되었다.

암수 시험물질 투여군에서 관찰된 다른 변화들은 경미한 변동이거나 용량의존성이 없어 독성학적인 의미는 없었다(Table 5).

Table 5. Clinical Chemistry Values of SD Rats in 4-Weeks Repeated Oral Dose Determination Test.

| Sex | Group/Dose (mg/kg/day) | | | | |
|-----------------|------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | G1/0 | G2/1,250 | G3/2,500 | G4/5,000 | |
| Male | ALT (U/L) | 29.2±3.0 | 27.8±2.7 | 28.1±5.4 | 32.2±13.2 |
| | AST (U/L) | 71.9±9.2 | 65.2±5.1 | 62.3±3.6 | 59.3±4.8* |
| | ALP (U/L) | 722.9±251.6 | 694.1±124.0 | 689.6±96.9 | 722.2±206.6 |
| | BUN (mg/dL) | 12.3±1.7 | 13.7±0.9 | 14.4±2.5 | 14.6±2.2 |
| | Creatinine (mg/dL) | 0.40±0.04 | 0.40±0.03 | 0.39±0.02 | 0.39±0.04 |
| | TP (g/dL) | 5.5±0.2 | 5.6±0.2 | 5.6±0.2 | 5.7±0.1 |
| | Albumin (g/dL) | 2.3±0.1 | 2.3±0.1 | 2.4±0.1 | 2.4±0.1 |
| | A/G ratio | 0.72±0.02 | 0.70±0.06 | 0.74±0.04 | 0.76±0.06 |
| | T-Cholesterol (mg/dL) | 79±10 | 76±11 | 71±6 | 84±19 |
| | TG (mg/dL) | 38±24 | 44±14 | 41±13 | 27±5 |
| Female | Glucose (mg/dL) | 157±20 | 145±9 | 141±11 | 138±16 |
| | ALT (U/L) | 22.6±4.7 | 23.3±3.1 | 26.7±4.1 | 28.9±8.2 |
| | AST (U/L) | 69.4±7.2 | 67.5±5.0 | 64.3±7.3 | 61.5±7.2 |
| | ALP (U/L) | 314.3±64.9 | 350.2±97.5 | 404.3±111.6 | 380.8±88.5 |
| | BUN (mg/dL) | 14.1±1.8 | 15.5±1.8 | 15.0±1.3 | 14.1±3.0 |
| | Creatinine (mg/dL) | 0.45±0.04 | 0.43±0.04 | 0.43±0.02 | 0.39±0.04 |
| | TP (g/dL) | 6.0±0.2 | 5.9±0.2 | 5.7±0.1 | 6.0±0.2 |
| | Albumin (g/dL) | 2.7±0.1 | 2.6±0.1 | 2.4±0.1* | 2.6±0.1 |
| | A/G ratio | 0.81±0.06 | 0.78±0.04 | 0.76±0.06 | 0.78±0.02 |
| | T-Cholesterol (mg/dL) | 91±25 | 95±13 | 115±22 | 128±23* |
| TG (mg/dL) | 12±4 | 14±7 | 17±4 | 21±7 | |
| Glucose (mg/dL) | 124±11 | 136±12 | 116±12 | 114±9 | |

Values are expressed by mean ± standard deviation (n=5). * : Significantly different from control by Dunnett's t-test (p<0.05)

6) 장기의 중량 비교

암컷 5,000 mg/kg/day 투여군에서 간의 절대 및 상대중량의 증가가 관찰되었다.

암컷 5,000 mg/kg/day 투여군에서 관찰된 간의 절대 및 상대중량의 증가는 조직병리학적 변화를 동반하지는 않았으나, T-Chol 증가한 개체와 동일

한 개체에서 간의 절대 및 상대중량의 증가가 보여 시험물질 투여에 의한 영향으로 판단되었으나, 형태학적 변화는 동반되지 않았다.

암수 2,500 mg/kg/day 투여군과 수컷 5,000 mg/kg/day 투여군에서도 간의 절대 및 상대중량의 증가가 관찰이 되었으나, 다른 검사 항목에서

시험물질의 영향이 관찰되지 않았고, 그 변화량이 경미하여 독성학적인 의미는 적었다.

암컷 시험물질 투여군에서 통계학적 유의성이 관찰된 다른 변화는 용량의존성이 없거나 경미한

변동으로 독성학적인 의미는 없었다(Table 6, 7).

7) 육안적 부검 소견

암수 1,250, 2,500 및 5,000 mg/kg/day 투여군에서 육안적 이상 소견은 관찰되지 않았다.

Table 6. Mean Absolute Organ Weight of SD Rats in 4-Weeks Repeated Oral Dose Determination Test.

| Sex | Organ | Group/Dose (mg/kg/day) | | | |
|--------|------------|------------------------|------------|------------|------------|
| | | G1/0 | G2/1,250 | G3/2,500 | G4/5,000 |
| Male | BW* (g) | 356.4±13.7 | 363.0±30.2 | 352.6±8.5 | 328.3±9.9 |
| | Brain (g) | 1.95±0.06 | 1.98±0.09 | 1.93±0.05 | 1.92±0.08 |
| | Heart (g) | 1.13±0.06 | 1.11±0.07 | 1.19±0.10 | 1.05±0.07 |
| | Liver (g) | 10.99±0.87 | 11.47±1.23 | 11.54±0.47 | 11.41±0.57 |
| | Spleen (g) | 0.71±0.12 | 0.82±0.22 | 0.71±0.18 | 0.59±0.06 |
| | Kidney (g) | 2.73±0.16 | 2.65±0.27 | 2.71±0.13 | 2.78±0.22 |
| Female | BW (g) | 209.0±10.7 | 211.8±21.7 | 222.5±5.5 | 205.7±11.8 |
| | Brain (g) | 1.85±0.09 | 1.80±0.09 | 1.84±0.09 | 1.81±0.06 |
| | Heart (g) | 0.73±0.04 | 0.74±0.05 | 0.82±0.06 | 0.75±0.10 |
| | Liver (g) | 6.19±0.37 | 6.75±1.09 | 7.22±0.31 | 7.42±0.66 |
| | Spleen (g) | 0.50±0.08 | 0.42±0.06 | 0.46±0.03 | 0.45±0.04 |
| | Kidney (g) | 1.54±0.12 | 1.67±0.27 | 1.67±0.08 | 1.71±0.20 |

Values are expressed by mean ± standard deviation (n=5). * : Body weight

Table 7. Mean Relative Organ Weight of SD Rats in 4-Weeks Repeated Oral Dose Determination Test.

| Sex | Organ | Group/Dose (mg/kg/day) | | | |
|--------|------------|------------------------|------------|------------|------------|
| | | G1/0 | G2/1,250 | G3/2,500 | G4/5,000 |
| Male | BW* (g) | 356.4±13.7 | 363.0±30.2 | 352.6±8.5 | 328.3±9.9 |
| | Brain (g) | 0.55±0.03 | 0.05±0.03 | 0.54±0.01 | 0.59±0.02 |
| | Heart (g) | 0.32±0.01 | 0.30±0.02 | 0.34±0.03 | 0.32±0.02 |
| | Liver (g) | 3.08±0.13 | 3.16±0.09 | 3.27±0.10† | 3.48±0.10‡ |
| | Spleen (g) | 0.20±0.04 | 0.23±0.06 | 0.20±0.05 | 0.18±0.02 |
| | Kidney (g) | 0.77±0.07 | 0.73±0.04 | 0.77±0.04 | 0.85±0.07 |
| Female | BW (g) | 209.0±10.7 | 211.8±21.7 | 222.5±5.5 | 205.7±11.8 |
| | Brain (g) | 0.89±0.05 | 0.86±0.10 | 0.83±0.04 | 0.88±0.04 |
| | Heart (g) | 0.35±0.02 | 0.35±0.02 | 0.37±0.02 | 0.36±0.02 |
| | Liver (g) | 2.96±0.12 | 3.17±0.19 | 3.24±0.07† | 3.60±0.20‡ |
| | Spleen (g) | 0.24±0.03 | 0.20±0.01† | 0.21±0.02 | 0.22±0.01 |
| | Kidney (g) | 0.74±0.05 | 0.78±0.06 | 0.75±0.03 | 0.83±0.05† |

Values are expressed by mean ± standard deviation (n=5). * : Body weight
Significantly different from control by Dunnett's t-test († : p<0.05, ‡ : p<0.01)

IV. 고 찰

아토피 피부염은 심한 소양증을 주소로 하는 만성 피부염으로 가축력이 있거나 타 알레르기질환과 동반되며 만성적으로 재발하는 질환으로서^{2,11}, 환경의 변화와 정신적 스트레스가 증가함에 따라 전 세계적으로 유병율이 증가하고 있다¹². 현재 치료에 주로 사용되는 약제는 증상의 완화를 얻을 수 있으나 일부에서는 심한 부작용을 초래하기도 한다.

이에 새로운 시각으로서 한방치료로서의 접근이 주목받고 있는 가운데, 한의학에 대한 기대도 높아지고 있으나 한편으로는 한약의 안전성에 대한 문제제기도 끊임없이 이어지고 있다¹³. 기존의 아토피 피부염에 대한 한약의 안전성에 대한 연구들^{14,15}이 있으나 그 절대적인 수가 적고 단순히 복용 전후의 간수치, 신수치 변화를 고려하였으며 또한 용량에 따른 평가가 이루어지지 않았다. 이에 본 연구에서는 대전대학교부속한방병원 폐계내과에서 아토피피부염에 다용하고 있는 GST의 효능을 평가하는 임상연구의 선행 기초 연구로서 기본적인 안전성을 평가하고자 실험동물에 대한 단회투여 독성시험 및 4주 반복 경구투여 용량결정시험을 실시하였다.

GST의 구성은 소양감을 동반하는 피부질환에 사용하는 대표적 처방의 하나인 蛇床子湯⁵에서 百部根과 浮萍草를 더하여 구성되었다. 蛇床子湯에 대한 독성시험은 아직까지 없었으며 GST 개별약물에 대한 기존의 연구를 살펴보면 백부근은 간과 신장에 있어서 육안적인 변화를 일으키지 않았고 단지 조직병리학적 관찰에 있어 간에서 단기투여 시 중심정맥 확장 소견을 보였으며 장기투여에서 소엽중심성 지방침윤을 보였고, 신장에서는 이상소견을 보이지 않았다¹⁶. 부평초는 MDCK 세포에서 부평의 처리농도에서는 대조군과 비교하여 뚜렷한 독성을 나타내지 않았으며 48시간동안 부평을 처리한 군은 아무것도 처리하지 않은 대조군에 비해

서 laminin의 발현량이 증가하였다¹⁷. 고삼에 대한 90일 경구 반복투여 시험 결과 특징적으로 랫드의 체중이 4,290 mg/kg 투여군에서 유의성있게 감소하였으며, 1,220 mg/kg에서 독성을 나타내어 F344 랫드에서의 무해용량은 35 mg/kg 이하인 것으로 추정하였다¹⁸. 당귀에 대한 90일 경구 반복투여 시험 결과 2,000 mg/kg 투여군에서 독성을 나타내지 않았다¹⁹.

단회경구투여에 의한 급성독성시험은 식품의약품안전청 독성시험기준⁷을 준용하여 실시하였다. 시험 관찰기간을 14일로 설정하였으며, 관찰기간 동안의 사망률, 일반증상, 체중변화, 부검소견을 관찰하였다. 시험물질의 급성독성에 대한 OECD guideline²⁰에 따르면, 2,000 mg/kg의 투여용량에서 사망개체가 없는 투여물질은 무독성으로 간주하고 있다. 본 시험에서는 5,000 mg/kg의 GST 투여군과 대조군의 모든 랫드가 사망하지 않아 GST의 LD50은 이를 상회하는 것으로 확인되었으며 유의성 있는 일반증상 및 체중변화 등이 관찰되지 않았다.

4주 반복 경구투여 용량결정시험은 식품의약품안전청 독성시험기준⁷을 준용하여 실시하였다. 시험 관찰기간은 1일부터 4주간으로, 관찰기간 동안의 사망률, 일반증상, 체중변화, 사료섭취량, 부검소견을 관찰하고 장기중량을 측정하였으며 혈액학적 검사, 생화학적 검사를 시행하였다. 시험결과 5,000 mg/kg/day 용량에서 수컷의 유의성 있는 체중 감소, 암컷의 T-Chol 및 간중량 증가가 관찰되어 시험물질에 기인한 영향이 인정되었다. 그러나 암컷의 변화는 간의 형태학적 변화가 관찰되지 않아 독성학적으로 주목할 만한 변화는 아니었다. 따라서 GST의 최고용량은 5,000 mg/kg으로 설정해될 것으로 판단되었다.

이와 같은 결과는 GST의 안전성에 대한 기초적인 자료를 제시하는 것으로 판단되며, 반복투여를 통한 용량결정을 통해 추후 이뤄질 임상 연구에 대한 기준을 제시할 수 있을 것이다.

V. 결 론

본 연구에서는 GST 5,000 mg/kg을 랫드에 단회 투여하여 독성시험을 실시한 결과, 14일 동안 임상 증상, 치사율, 부검소견, 체중변화 등에서 독성소견이 나타나지 않았다. 따라서 GST의 안전성을 확인할 수 있었으며, 랫드의 GST에 대한 LD₅₀은 5,000 mg/kg을 초과하는 것으로 확인되었다.

4주 반복투여를 통한 용량결정시험을 통해 1,250, 2,500, 5,000 mg/kg/day 투여군 및 대조군에서 독성학적 의미가 있는 임상증상, 부검소견, 체중변화, 장기중량의 변화, 혈액생화학적 검사, 혈액학적 검사 소견이 발견되지는 않았다. 그러나 암컷 5,000 mg/kg/day 투여군 한 개체에서 유의성 있는 T-Chol의 증가와 함께 간 중량 변화가 일어나, GST의 최고 용량을 5,000 mg/kg으로 결정할 수 있었다.

감사의 말씀

본 연구는 보건복지부 한의약신도기술개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임(과제번호 : B120091).

참고문헌

1. 박용민. 아토피피부염 역학조사와 위험인자. 소아알레르기 및 호흡기학회지 2011;21(2):74-7.
2. 김진혜, 김혜원, 박천옥, 이철현. 성인 아토피피부염 환자의 삶의 질. 대한피부과학회지 2011; 49(11):983-92.
3. 유진호. 알레르기 행진: 아토피피부염에서 천식으로의 이행. 대한 천식 및 알레르기학회지 2012; 32(2):137-43.
4. 김태운. 아토피피부염 치료의 최신 경향. 소아알레르기 및 호흡기학회지 2009;19(3):209-19.
5. 진실공. 외과정종. 북경: 인민위생출판사; 1964. p. 244.

6. 감병수, 김인락, 김호철, 국윤범, 박용기, 서부일, 등. 본초학. 서울: 영림사; p. 197, 517.
7. 식품의약품안전청. 의약품등의 독성시험기준, 식품의약품안전청고시 제2009-116호. 서울: 식품의약품안전청; 2009.
8. 황화신, 송창우, 한상섭. Ktc:SD 랫트의 주령에 따른 기초 연구. 한국실험동물학회지 1990;6(1):33-43.
9. 충청북도 보건환경연구원. 먹는 물 수질기준 및 검사 등에 관한 규칙. [serial online] 2012 Nov-2013 Mar:[cited 2013 Feb 1] Availed from: URL: http://here.cb21.net/home/sub.do?menu_key=44.
10. Lee JM, Lee MA, Do HN, Bae RJN, Lee MJ, Kim MJ, et al. Historical Control Data from 4-week Repeated Toxicity Studies in Crj:CD (SD) Rats. *J Exp Biomed Sci* 2012;18(3):268-75.
11. Kim BE, Leung DY. Epidermal Barrier in Atopic Dermatitis. *Allergy Asthma Immunol Res* 2014;4:12-6
12. Lee KY, Lee KR, Roh JY. Epidermiological Features of Preschool Childhood Atopic Dermatitis in Incheon. *Korean J Dermatol* 2009;47(2):201-8.
13. 유태우, 김병익, 김진봉, 김동준, 김재우, 백순구, 등. 독성 간손상 관련 한국인의 약물복용 실태와 건강비용 조사: 독성 간손상의 진단 및 보고체계 구축을 위한 다기관 공동연구. 대한간학회지 2007;13(1):34-43.
14. 최인화, 김세원, 김영철, 윤명희. 혈열형 아토피피부염에 대한 시호청간산의 유효성과 안전성 연구. 한방안이비인후피부과학회지 2011;24(1):96-110.
15. 고덕재, 유한정, 이진용, 김덕곤. 아토피 피부염에 대한 한약치료의 효과, 안정성 및 유용성에 대한 임상 평가. 대한한방소아과학회지 2006;20(2):129-37.
16. 김종대, 최해윤. 백부근이 흰쥐의 간 및 신장에 미치는 조직학적 연구. 대한한의학회지 1999;20(3):45-53.

17. 서울대학교병원, 식품의약품안전청. 천연물(독초 등)의 90일 반복투여독성시험 및 유전독성시험. 서울: 2006, p. 234-5.
18. 고성훈. 부평이 신장 상피세포의 laminin 합성에 미치는 영향. 학위논문(석사). 우석대학교 대학원: 2008, p. 1-25.
19. 국립독성연구원. 독성물질 국가관리체계 구축사업 연구보고서 = (The) annual report of Korea national toxicology program : 2005. 서울: 2006, p. 281-369.
20. OECD. OECD guideline for testing of chemicals No. 423 Acute oral toxicity-Acute classic method. 2001.