

## Rat에서 ChondroT의 DRF 및 단회독성 시험

임용하 · 정지원 · 김선길 · 김지훈 · 김선종  
동신대학교 한의과대학 한방재활의학과 교실

### DRF and Single Dose Oral Toxicity Study of ChondroT in Rat

Yong-Ha Lim, K.M.D., Ji-Won Jeong, K.M.D., Sun-Gil Kim, K.M.D., Ji-Hoon Kim, K.M.D.,  
Seon-Jong Kim, K.M.D.

Department of Rehabilitation Medicine of Korean medicine, College of Korean Medicine, Dongshin University

본 연구는 보건복지부의 재원으로  
한국보건산업진흥원의  
보건의료기술연구개발사업 지원에  
의하여 이루어진 것임(과제고유번호 :  
HI17C0911).

RECEIVED Mar 19, 2018  
REVISED Apr 1, 2018  
ACCEPTED Apr 3, 2018

CORRESPONDING TO  
Seon-Jong Kim, Professor  
Department of Rehabilitation Medicine  
of Korean medicine, College of  
Korean Medicine, Dongshin University  
Mokpo Oriental Hospital of Dongshin  
University, 313 Baengnyeong-daero,  
Mokpo 58665, Korea

TEL (061) 280-7905  
FAX (061) 280-7788  
E-mail mofoster@hanmail.net

Copyright © 2018 The Society of  
Korean Medicine Rehabilitation

**Objectives** The purpose of this experiment is to evaluate 4 weeks DRF (Dose Rate Finding) and single oral dose toxicity of ChondroT in rats.

**Methods** In 4-week DRF, male and female Sprague-Dawley rats were treated with ChondroT at oral dose of 0, 500, 1000, and 2000 mg/kg. clinical signs, body weight, food consumption, necropsy findings, organ weight, hematological and blood-chemical parameters, and histological findings were monitored for 4 weeks.

Also, after single oral administration of ChondroT, mortality, clinical signs, body weight, and necropsy findings were monitored for 2 weeks.

**Results** In 4-week DRF and single dose oral toxicity study of ChondroT in sprague-Dawley rats, ChondroT did not exhibit any toxicity under the study conditions employed.

**Conclusions** The results suggested a no-observed adverse effects level (NOAEL) was over 2,000 mg/kg/day in SD rats after oral administration, this study could be used as basic study of the repeated dose 13-week oral toxicity study of ChondroT. (**J Korean Med Rehabil 2018;28(2):61-72**)

**Key words** ChondroT, Dose Rate Finding, Single Dose Toxicity.

## 서론»»»»

골관절염은 전 세계인에게서 흔히 발생하는 만성질환으로 국민적, 사회적 부담을 야기하고 있으며<sup>1)</sup>, 국민건강영양조사 자료에 따르면 65세 이상에서 골관절염 유병률은 남성이 9.3%, 여성이 32.5%에 달한다<sup>2)</sup>. 골관절염은 한의학 치료 시장에서 많은 비중을 차지하는 질환 중 하나로 한의학적 진단 및 치료에 대하여 매우 중요한 질환

이다<sup>3)</sup>.

한의학에서 골관절염과 상응하는 병명으로 歷節, 痺證 등이 있다. 황제내경에는 “風寒濕三氣雜至合而爲痺也”라고 하여 風, 寒, 濕의 세 가지 병인으로 辨證하며 이러한 질환을 痺病이라 하였는데<sup>4)</sup>, 痺病은 현대의학에서 말하는 골관절염과 유사한 증상으로 기록되고 있으며, 내경시대부터 현재에 이르기 까지 여러 가지 처방으로 치료를 해 오고 있다<sup>5)</sup>.

ChondroT는 晴崗醫鑑에 수록된 羌活除痛飲<sup>6)</sup> 처방에서 bio-informatics 기법<sup>7)</sup>을 활용하여 선별한 羌活, 金銀花, 當歸, 威靈仙, 黃柏을 6:4:4:4:3 비율로 구성한 물추출물이다.

이전 연구에서 ChondroT는 羌活除痛飲보다 관절염 치료효과가 우수하였고<sup>8)</sup> Adjuvant로 유도된 염증성 관절염 동물모델에서 유효성을 검증하였고<sup>9)</sup> collagenase로 유발된 골관절염 동물모델에서 이질통에 대한 회피반응을 감소시키고 염증성 사이토카인 생성을 억제하였다<sup>10,11)</sup>. 또한, MIA(Monosodium-Iodoacetate)로 유도된 관절염 동물모델 연구에서 염증성 사이토카인(TNF- $\alpha$ , IL- $\beta$ , IL-6)의 생성을 억제하였고, 족부종(paw edema)이 감소하고, 조직병리학적 검사에서 연골 보호 효과가 있었다<sup>12)</sup>.

한약은 자연에 존재하는 수많은 동물, 식물, 광물 등의 천연에서 기원한 원재료로 많이 사용되어져 왔다<sup>13)</sup>. 농식품의 경우 국민건강영양조사 등을 통해 독성을 일으킬 만한 물질이 포함된 식품의 섭취량을 추정할 수 있지만<sup>14)</sup> 의약품의 경우엔 판매에 관한 권한이 조정되기 때문에 각국에서는 유익성-위해성 평가 제도에 관한 연구를 활발히 진행하고 있는 중이다<sup>15)</sup>.

식품의약품안전처 고시 “의약품등의 독성시험기준”에 따라 ChondroT의 입증된 유효성의 독성 반응을 평가하고 투여 용량을 설정하기 위해 GLP 인증을 받은 독성 시험기관에서 4주간 반복경구 투여하여 장기중량, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 병리조직학적 검사 등을 시행하였으며, 단회 경구 투여 독성시험을 진행하여 사망률, 일반증상, 체중변화 및 부검소견을 통해 전신적 독성 반응을 평가하여 반복 경구 투여 독성시험을 위한 유의한

결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법»»»»

### 1. 실험 재료

#### 1) 실험동물

##### (1) 4주 DRF

실험은 SD(Sprague Dawley) Rat를 이용하였으며, 투여 시 성별 및 동물 수는 수컷 20 마리, 암컷 20 마리 6주령 rat로 체중범위는 수컷 210.3 g - 222.9 g / 암컷 150.3 g - 172.5 g 이었다. 부형제인 멸균중류수를 사용하여 ChondroT의 투여 농도 0 mg/kg(G1), 500 mg/kg(G2), 1,000 mg/kg(G3) 및 2,000 mg/kg(G4)로 조제하였다 (Table I).

##### (2) 단회 경구투여 용량별 독성시험

실험은 SD(Sprague Dawley) rat를 이용하였으며, 투여 시 성별 및 동물 수는 수컷 20마리, 암컷 20마리 6주령 rat로 수컷의 체중범위는 수컷 158.8 g - 177.7 g / 암컷 130.8 g - 152.2 g이었다. 부형제인 멸균중류수를 사용하여 ChondroT의 투여 농도 0 mg/kg(G1), 500 mg/kg(G2), 1,000 mg/kg(G3) 및 2,000 mg/kg(G4)로 조제하였다 (Table II).

본 시험은 동물보호법[시행 2015-01-20]법률 제13023호(2015-01-20, 일부개정) 및 실험동물에 관한 법률[시행 2013-07-30]법률 제11987호(2013-07-30, 일부개정)에 근

**Table I.** Group Separation of DRF

Groups	Sex	Number	Number of animals	Injection volume (mg/kg B.W.)	Injection liquid measure (ml/kg B.W.)	Injection route
G1	male	1101 - 1105	5	0	10	oral
	female	2101 - 2105	5			
G2	male	1201 - 1205	5	500	10	
	female	2201 - 2205	5			
G3	male	1301 - 1305	5	1,000	10	
	female	2301 - 2305	5			
G4	male	1401 - 1405	5	2,000	10	
	female	2401 - 2405	5			

G1: control group, G2-G4: injected ChondroT group. Four different dosages of ChondroT were orally administered in this study respectively(G1:0 mg/kg, G2:500 mg/kg, G3:1,000 mg/kg G4:2,000 mg/kg).

**Table II.** Group Separation of Single Dose Oral Toxicity

Groups	Sex	Number	Number of animals	Injection volume (mg/kg B.W.)	Injection liquid measure (ml/kg B.W.)	Injection route
G1	male	1101 - 1105	5	0	10	oral
	female	2101 - 2105	5			
G2	male	1201 - 1205	5	500	10	
	female	2201 - 2205	5			
G3	male	1301 - 1305	5	1,000	10	
	female	2301 - 2305	5			
G4	male	1401 - 1405	5	2,000	10	
	female	2401 - 2405	5			

G1: control group, G2-G4: injected ChondroT group. Four different dosages of ChondroT were orally administered in this study respectively(G1:0 mg/kg, G2:500 mg/kg, G3:1,000 mg/kg G4:2,000 mg/kg).

**Table III.** Composition of ChondroT

Latin name	Scientific name	Family	Rate	Source
<i>Osterici Radix</i>	<i>Ostericum koreanum Maximowicz</i>	<i>Umbelliferae</i>	6	Korea
<i>Lonicerae Folium</i>	<i>Lonicera japonica Thunberg</i>	<i>Caprifoliaceae</i>	4	China
<i>Angelicae Gigantis Radix</i>	<i>Angelica gigas Nakai</i>	<i>Umbelliferae</i>	4	Korea
<i>Clematidis Radix</i>	<i>Clematis manshurica Ruprecht</i>	<i>Ranunculaceae</i>	4	China
<i>Phellodendri Cortex</i>	<i>Phellodendrom amurense Ruprecht</i>	<i>Rutaceae</i>	3	China

거한 (재)한국화학융합 시험연구원 화순의 동물윤리위원회에 의해 승인되었다(4주 DRF IAC-2015-0501, 단회독성 시험 IAC-2015-0797).

## 2) 사육환경

Stainless steel cage (310W×500D×200H)mm에 평균 온도(20.5 - 21.7) °C, 상대습도 (50.4-64.6)%, 환기횟수 (10 -20)회/h, 조명주기, 광조건 12 시간(08:00-20:00) 암조건 12 시간(20:00 -08:00), 조도(150-300)Lux를 유지 하였으며, 사료는 방사선 멸균된 Rodent Diet 20 5053 [Labdiet, USA]를, 음수는 R/O수를 자유 섭취 시켰다.

## 3) 실험약물

본 실험에 사용된 ChondroT는 (주)정우신약에서 공급받았으며, 강황, 금은화, 당귀, 위령선, 황백으로 구성된 건 조엑스제(사용기간: 제조일로부터 36개월)이다. 본 시험 물질을 칭량한 후 부형제인 멸균중류수(주사용수)를 사용하여 순도환산 없이 투여농도 500 mg/kg, 1,000 mg/kg 및 2,000 mg/kg 농도로 조제하였다. ChondroT의 처방구성은 아래와 같다(Table III).

## 2. 용량결정 및 투여방법

### 1) 4주 DRF

본 시험의 시험물질 투여량은 식품의약품안전처 고시 중 “의약품등의 독성시험기준”에 근거하여 강제 경구 투여 시 권고하고 있는 최대 투여 용량인 2,000 mg/kg을 고용량으로 설정하고, 공비를 2 로 적용하여 1,000 mg/kg을 중용량, 500 mg/kg을 저용량으로 각각 설정하였다. 대조군에는 시험물질 투여군과 동일한 액량의 부형제를 투여 하였다.

투여시 조제된 시험물질은 투여하기 전 Shaking 한 후 sonde를 부착한 주사기를 이용하여 임상예정경로인 경구로 위내에 직접 투여하였다. 7 일/주, 1 회/일로 하여 4 주간 투여하였다. 투여 시 가장 최근에 측정된 체중을 기준으로 투여액량(mL/kg B.W.)을 계산하였다.

### 2) 단회 경구투여 용량별 독성시험

본 시험의 시험물질 투여량은 식품의약품안전처 고시 중 “의약품등의 독성시험기준”에 근거하여 고용량 투여군을 2,000 mg/kg B.W.로 설정하고 공비를 2로 하여 1,000

및 500 mg/kg B.W.으로 중용량 투여군과 저용량 투여군으로 각각 설정하였다. 대조군으로는 부형제인 멸균 증류수를 투여하는 대조군으로 두었다. 경구 투여용 sonde를 장착 한 주사기를 이용하여 위내에 1회 강제 투여하였다.

### 3. 관찰 및 검사

#### 1) 4주 DRF

##### (1) 일반증상

시험기간 중, 모든 동물에 대하여 매일 2회 (투여 전 · 후) 일반증상의 변화, 독성증상 및 사망의 유무를 관찰하였다.

##### (2) 체중

체중은 도입 시, 군 분리 시, 투여기간 중 주 1 회 및 부검당일에 측정하였다.

##### (3) 사료 섭취량

사료섭취량은 투여 개시 전, 투여 개시 후 4주 동안 매 7일간 1회씩 측정하였다. 측정방법은 사료를 급여한 후 당일 급여량과 이튿날 잔량을 측정하여 그 차이로 cage 당 섭취량을 산출하였다.

##### (4) 부검

투여 종료 시 생존동물을 Isoflurane을 이용하여 심마취시켜 채혈 및 안락사 시킨 다음, 체표 및 모든 체공 (external surface & all orifices), 두 개강 (cranial cavity), 흉강 및 복강의 모든 장기(thoracic and abdominal & their contents)에 대하여 육안적 검사를 실시하였다.

##### (5) 장기중량

부검 시 모든 동물에 대하여 전자저울 (SARTORIUS Korea)을 이용하여 아래 장기에 대한 중량을 측정하고, 절식체중에 대한 상대장기중량비 (%)를 산출하였다. 좌우가 있는 장기(\*)는 좌우를 별도로 측정하여 무게를 합산 산출하였다.

##### (6) 혈액학적 검사

모든 동물에 대하여 부검 전에 약 18시간 이상 절식시킨 시험동물을 Isoflurane를 이용하여 심마취 시킨 후, 복대동맥으로부터 채혈하였다. 채취한 혈액 중 약 2 ml의 혈액은 EDTA가 함유된 CBC bottle(EDTA 2k, BD vacutainer)에 취하여 혈액분석기 (ADVIA 120E, Siemens, U.S.A.)를 이용하여 다음의 항목들을 측정하고 혈액응고 시간의 측정 은 채혈한 후 vacutainer(9NC Sodium citrate, BD vacu-

tainer)에 취하여 냉장원심분리 (3000 rpm, 4°C 10분)하여 얻은 혈장을 혈액응고분석기(ACL 7000, Instrumentation Laboratory, U.S.A)를 이용하여 측정하였다.

##### (7) 혈액생화학적 검사

채혈한 혈액 중 혈액검사와 혈액응고검사에 사용된 혈액을 제외한 나머지의 혈액을 실온에서 응고시킨 다음 원심 분리 (3,000 rpm, 10분)하여 혈청을 취한 후 생화학분석기 (TBA-120FR, TOSHIBA, Japan)를 이용하여 측정하였다.

##### (8) 병리조직학적 검사

모든 동물을 개체별로 다음의 장기를 적출한 다음 10 % neutral buffered formalin에 고정하고, 그 중, 고환(부고환)은 Bouin 고정액에, 안구(하더리안선)는 Davidson 액에 고정하였다. 대조군 및 고용량 투여군의 모든 개체를 대상으로 고정된 장기 중 간, 비장, 신장, 심장, 폐에 대해서는 탈수 · 파라핀침투, 조직의 파라핀 포매, 박절 등의 일반적인 조직처리과정을 거쳐 검체슬라이드를 제작하여 Hematoxylin & Eosin (H&E) 염색을 실시하였다(\*). 검체 제작 후, 잔여 장기 · 조직 및 고정 장기 · 조직은 10 % neutral buffered formalin에 보존하였다.

##### (9) 통계처리

체중, 사료섭취량, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사 및 장기중량의 자료에 대해서 SPSS통계 프로그램(Ver. 19.0)을 이용하여 통계분석을 수행하였다. 먼저, 분산의 동질성을 평가하기 위해 Levene's test를 수행한 후, One way ANOVA test를 실시하여 각 시험군간 유의성을 확인하였다.

#### 2) 단회 경구투여 용량별 독성시험

##### (1) 일반증상

모든 동물에 대하여 1일 1회 관찰하였으며 투여 후 14일간 관찰하였다. 단, 투여 당일에는 투여 후 0.5, 1, 2, 3 및 4시간에 관찰하였다.

##### (2) 체중변화

체중은 도입 시, 군 분리 시, 시험물질 투여 개시 직전, 투여 개시 후 7일 및 14일째에 측정하였다.

##### (3) 부검소견

투여 후 14일째 모든 생존동물의 외관 검사를 실시한 후, 방혈치사 하여 육안으로 장기를 검사하였다.

##### (4) 통계처리

본 시험에서는 체중 데이터에 대해 SPSS(ver 19.0)통계

프로그램을 이용하여 통계처리를 하였다. 먼저, Levene's test를 통해 동질성 검정을 수행하였고, 이후, one way ANOVA 검사를 수행하였다.

## 성적»»»»

### 1. 4주 DRF

#### 1) 사망률 및 일반증상

실험기간 동안 암·수 모든 시험군에서 시험물질 투여로 인한 사망동물 및 이상증상은 관찰되지 않았다.

#### 2) 체중변화

체중측정 결과, 암·수 모든 투여군에서 대조군과 비교하여 유의적인 차이는 관찰되지 않았다(Fig. 1, Fig. 2).

### 3) 사료 섭취량

사료섭취량 결과, 암·수 모든 투여군에서 대조군과 비교하여 유의적인 차이는 관찰되지 않았다.

### 4) 부검

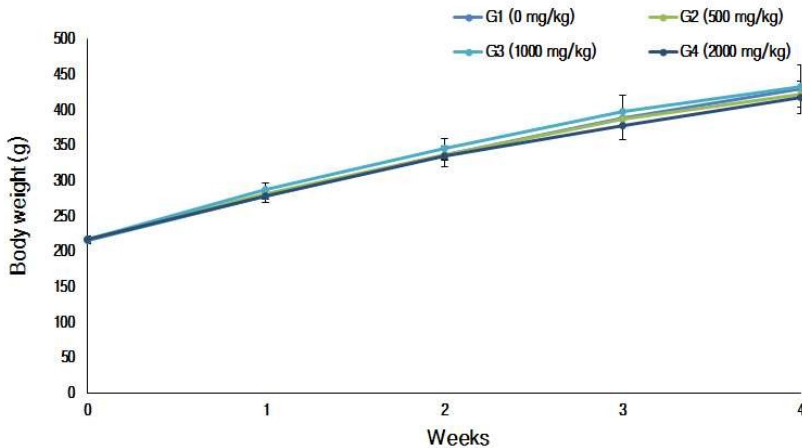
부검 시 육안적 관찰결과, 암·수 모든 투여군에서 시험물질 투여와 관련된 소견은 관찰되지 않았다.

### 5) 장기중량

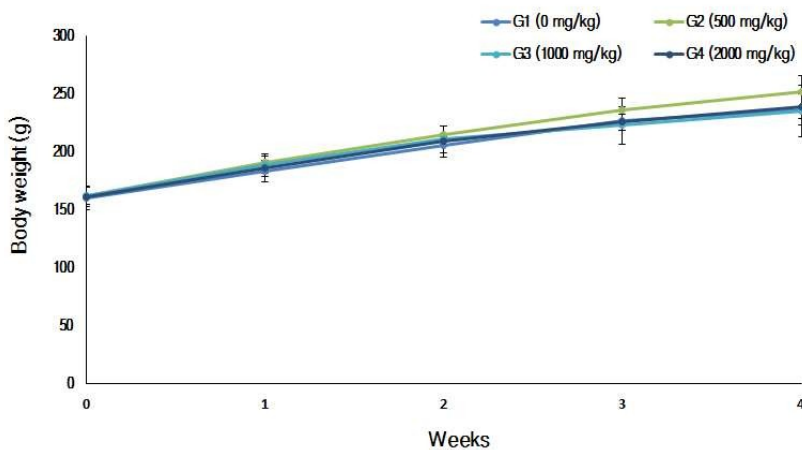
절대 및 상대 장기중량 측정결과, 수컷 및 암컷 투여군 모두, 대조군에 비해 통계학적으로 유의적인 변화는 관찰되지 않았다(Table IV, Table V).

### 6) 혈액학적 검사

혈액학적 검사결과, 수컷 투여군의 경우, 대조군에 비



**Fig. 1.** Body weights of male rats. G1:control, G2:500, G3:1,000, G4:2,000 mg/kg ChondroT administration.



**Fig. 2.** Body weights of female rats. G1:control, G2:500, G3:1,000, G4:2,000 mg/kg ChondroT administration.

**Table IV.** Absolute Organ Weights of Rats

Group	Dose (mg/kg)	Liver (g)	Kidney (g)		Heart (g)	Brain (g)	Spleen (g)	Testis (g)		Epididymis (g)		Prostate gland (g)	Lung (g)	Thymus (g)		Adrenal gland (g)		Pituitary gland (g)		
			Left	Right				Total	Left	Right	Total			Left	Right	Total	Left		Right	Total
G1	Mean	12.59	1.69	1.68	3.37	1.55	2.03	0.72	1.75	1.70	0.62	0.60	1.22	0.59	1.68	0.59	0.049	0.050	0.099	0.0023
	±S.D.*	±0.89	±0.07	±0.07	±0.12	±0.20	±0.08	±0.08	±0.07	±0.08	±0.14	±0.05	±0.03	±0.19	±0.13	±0.12	±0.009	±0.010	±0.016	±0.006
	N <sup>†</sup>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G2	Mean	12.77	1.70	1.71	3.41	1.56	2.19	0.83	1.61	1.59	0.63	0.66	1.29	0.60	1.73	0.72	0.044	0.043	0.087	0.025
	±S.D.*	±1.06	±0.13	±0.07	±0.19	±0.16	±0.18	±0.02	±0.21	±0.24	±0.44	±0.05	±0.10	±0.13	±0.03	±0.07	±0.006	±0.011	±0.015	±0.008
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G3	Mean	13.13	1.71	1.65	3.36	1.57	2.24	0.81	1.76	1.76	0.66	0.66	1.32	0.68	1.91	0.64	0.044	0.042	0.086	0.018
	±S.D.*	±1.01	±0.12	±0.11	±0.21	±0.15	±0.19	±0.07	±0.14	±0.17	±0.30	±0.05	±0.07	±0.11	±0.10	±0.07	±0.010	±0.007	±0.015	±0.003
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G4	Mean	12.17	1.61	1.64	3.25	1.59	2.17	0.87	1.56	1.56	0.58	0.56	1.14	0.65	1.83	0.67	0.041	0.044	0.085	0.023
	±S.D.*	±0.95	±0.12	±0.15	±0.27	±0.03	±0.13	±0.12	±0.10	±0.14	±0.23	±0.05	±0.08	±0.14	±0.20	±0.07	±0.010	±0.001	±0.011	±0.009
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Values are expressed Mean±SD, \* : standard deviation, <sup>†</sup> : number of animals  
 G1:control, G2:500, G3:1,000, G4:2,000 mg/kg ChondroT administration.

**Table V.** Relative Organ Weights of Rats

Group	Body weight(g) <sup>†</sup>	Liver (%)	Kidney (%)		Heart (%)	Brain (%)	Spleen (%)	Testis (%)		Epididymis (%)		Prostate gland(%)	Lung (%)	Thymus (%)		Adrenal gland (%)		Pituitary gland (%)		
			Left	Right				Total	Left	Right	Total			Left	Right	Total	Left		Right	Total
G1	Mean	390.3	3.22	0.43	0.43	0.87	0.40	0.52	0.19	0.45	0.44	0.88	0.16	0.15	0.31	0.15	0.012	0.013	0.025	0.006
	±S.D.	±15.5	±0.16	±0.03	±0.06	±0.06	±0.03	±0.02	±0.02	±0.02	±0.03	±0.05	±0.01	±0.01	±0.01	±0.03	±0.002	±0.003	±0.004	±0.001
	N <sup>†</sup>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G2	Mean	382.1	3.34	0.44	0.45	0.89	0.41	0.57	0.22	0.42	0.42	0.84	0.17	0.17	0.34	0.16	0.011	0.011	0.023	0.007
	±S.D.*	±21.1	±0.20	±0.02	±0.04	±0.02	±0.07	±0.02	±0.05	±0.06	±0.11	±0.02	±0.03	±0.04	±0.03	±0.01	±0.001	±0.003	±0.004	±0.002
	N <sup>†</sup>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G3	Mean	390.8	3.36	0.44	0.42	0.86	0.40	0.57	0.21	0.45	0.45	0.45	0.17	0.17	0.34	0.16	0.012	0.011	0.022	0.005
	±S.D.*	±25.8	±0.21	±0.05	±0.03	±0.07	±0.06	±0.03	±0.06	±0.06	±0.07	±0.07	±0.07	±0.03	±0.03	±0.02	±0.003	±0.002	±0.005	±0.001
	N <sup>†</sup>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G4	Mean	377.9	3.22	0.43	0.43	0.86	0.42	0.58	0.23	0.41	0.42	0.83	0.15	0.15	0.30	0.18	0.011	0.012	0.023	0.006
	±S.D.*	±23.6	±0.19	±0.04	±0.04	±0.08	±0.02	±0.05	±0.03	±0.03	±0.04	±0.07	±0.01	±0.01	±0.02	±0.02	±0.003	±0.001	±0.004	±0.003
	N <sup>†</sup>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Values are expressed Mean±SD, \* : standard deviation, <sup>†</sup> : number of animals, † : fasting weight, G1:control, G2:500, G3:1,000, G4:2,000 mg/kg ChondroT administration.

**Table VI.** Hematological Parameters of Rats

Group	Dose (mg/kg)	WBC (10 <sup>3</sup> cells/ $\mu$ L)	RBC (10 <sup>6</sup> cells/ $\mu$ L)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	Retic (10 <sup>9</sup> cells/L)	Retic (%)	PLT (10 <sup>3</sup> cells/ $\mu$ L)	PT (sec)	APTT (sec)
G1	Mean	3.89	7.17	14.0	39.3	54.9	19.5	35.6	158.3	2.22	670.4	12.2	15.6
	$\pm$ S.D.*	$\pm$ 1.11	$\pm$ 0.40	$\pm$ 0.4	$\pm$ 1.3	$\pm$ 2.2	$\pm$ 0.8	$\pm$ 0.3	$\pm$ 19.4	$\pm$ 0.37	$\pm$ 503.3	$\pm$ 0.3	$\pm$ 1.9
	N <sup>†</sup>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G2	Mean	4.96	7.37	14.5	41.6	56.5	19.8	35.0 <sup>†</sup>	195.2	2.65	1052.2	12.6	16.5
	$\pm$ S.D.	$\pm$ 1.57	$\pm$ 0.44	$\pm$ 0.5	$\pm$ 1.4	$\pm$ 2.8	$\pm$ 0.9	$\pm$ 0.2	$\pm$ 46.5	$\pm$ 0.63	$\pm$ 166.1	$\pm$ 0.4	$\pm$ 1.6
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G3	Mean	3.30	7.14	13.9	39.4	55.2	19.5	35.3	175.7	2.49	641.6	12.9	16.6
	$\pm$ S.D.	$\pm$ 1.85	$\pm$ 0.64	$\pm$ 1.0	$\pm$ 3.0	$\pm$ 1.3	$\pm$ 0.4	$\pm$ 0.2	$\pm$ 52.8	$\pm$ 0.90	$\pm$ 557.1	$\pm$ 1.5	$\pm$ 0.8
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G4	Mean	4.73	7.44	14.6	41.6	55.9	19.6	35.1	192.5	2.6	1117.6	12.4	15.5
	$\pm$ S.D.	$\pm$ 1.06	$\pm$ 0.47	$\pm$ 0.5	$\pm$ 0.9	$\pm$ 2.6	$\pm$ 0.8	$\pm$ 0.4	$\pm$ 23.8	$\pm$ 0.5	$\pm$ 45.6	$\pm$ 0.5	$\pm$ 2.5
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Values are expressed Mean $\pm$ SD, \* : standard deviation, <sup>†</sup> : number of animals,  $\ddagger$  : significant difference as compared with control - *p* (0.05).  
G1: control, G2:500, G3:1,000, G4:2,000 mg/kg.

**Table VII.** Blood Chemical Parameters of Rats (male)

Group	Dose (mg/kg)	TP (g/dL)	ALB (g/dL)	A/G	T-BIL (mg/dL)	ALP (U/L)	AST (U/L)	ALT (U/L)	CREA (mg/dL)	BUN (mg/dL)	T-CHO (mg/dL)	TG (mg/dL)	GLU (mg/dL)	CA (mg/dL)	IP (mg/dL)	GGT (IU/L)	CK (IU/L)	Na (mmol/L)	K (mmol/L)	Cl (mmol/L)
G1	Mean	5.7	3.7	1.9	0.01	508.2	103.4	29.4	0.5	16.4	49.2	22.6	179.8	8.9	7.6	4.8	487.6	147.1	4.46	105.3
	$\pm$ S.D.*	$\pm$ 0.2	$\pm$ 0.1	$\pm$ 0.2	$\pm$ 0.01	$\pm$ 58.2	$\pm$ 15.8	$\pm$ 2.3	$\pm$ 0.1	$\pm$ 6.2	$\pm$ 11.6	$\pm$ 9.0	$\pm$ 13.9	$\pm$ 1.4	$\pm$ 0.2	$\pm$ 4.2	$\pm$ 163.1	$\pm$ 0.9	$\pm$ 0.35	$\pm$ 1.2
	N <sup>†</sup>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G2	Mean	5.8	.8	1.9	0.01	562.2	87.2	28.2	0.4	15.8	59.8	31.8	178.2	9.9	8.0	3.5	316.6	146.5	4.45	104.9
	$\pm$ S.D.	$\pm$ 0.2	$\pm$ 0.1	$\pm$ 0.0	$\pm$ 0.02	$\pm$ 103.0	$\pm$ 6.7	$\pm$ 3.8	$\pm$ 0.1	$\pm$ 3.6	$\pm$ 8.0	$\pm$ 10.7	$\pm$ 28.7	$\pm$ 1.0	$\pm$ 0.3	$\pm$ 3.4	$\pm$ 57.1	$\pm$ 0.8	$\pm$ 0.45	$\pm$ 1.5
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G3	Mean	5.7	3.8	2.0	0.02	484.8	111.0	27.0	0.5	16.6	58.2	28.4	186.2	9.4	8.0	3.7	566.0	147.0	4.45	105.6
	$\pm$ S.D.	$\pm$ 0.2	$\pm$ 0.1	$\pm$ 0.1	$\pm$ 0.02	$\pm$ 91.8	$\pm$ 26.9	$\pm$ 5.1	$\pm$ 0.2	$\pm$ 3.6	$\pm$ 8.0	$\pm$ 6.2	$\pm$ 53.3	$\pm$ 1.3	$\pm$ 0.9	$\pm$ 3.2	$\pm$ 263.2	$\pm$ 0.4	$\pm$ 0.41	$\pm$ 0.9
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G4	Mean	5.7	3.8	2.0	0.01	594.0	102.4	30.2	0.4	14.7	57.8	32.4	170.6	9.4	7.6	5.7	146.4	146.2	4.75	105.8
	$\pm$ S.D.	$\pm$ 0.3	$\pm$ 0.2	$\pm$ 0.2	$\pm$ 0.01	$\pm$ 137.7	$\pm$ 15.0	$\pm$ 2.9	$\pm$ 0.1	$\pm$ 3.1	$\pm$ 14.8	$\pm$ 12.4	$\pm$ 29.9	$\pm$ 1.1	$\pm$ 0.5	$\pm$ 7.0	$\pm$ 250.8	$\pm$ 1.2	$\pm$ 0.34	$\pm$ 1.4
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Values are expressed Mean $\pm$ SD, \* : standard deviation, <sup>†</sup> : number of animals  
G1:control, G2:500, G3:1,000, G4:2,000 mg/kg

**Table VIII.** Blood Chemical Parameters of Rats (female)

Group	Dose (mg/kg)	TP (g/dL)	ALB (g/dL)	A/G	T-BIL (mg/dL)	ALP (U/L)	AST (U/L)	ALT (U/L)	CREA (mg/dL)	BUN (mg/dL)	T-CHO (mg/dL)	TG (mg/dL)	GLU (mg/dL)	CA (mg/dL)	IP (mg/dL)	GGT (IU/L)	CK (IU/L)	Na (mmol/L)	K (mmol/L)	Cl (mmol/L)
G1	0	Mean	4.2	2.0	0.03	25.6	95.4	26.6	0.5	21.7	49.0	9.8	122.2	10.0	7.7	3.1	285.2	146.9	4.07	105.0
		±S.D.	±0.3	±0.1	±0.01	±19.5	±31.8	±8.2	±0.0	±2.3	±8.1	±2.0	±12.6	±0.2	±0.5	±0.3	±118.0	±0.9	±0.34	±1.5
		N <sup>†</sup>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G2	500	Mean	4.1	2.0	0.03	303.2	81.0	21.0	0.5	24.9	58.8	11.8	145.4	10.1	8.1	2.8	230.4	147.0	4.29	106.2
		±S.D.	±0.3	±0.1	±0.01	±69.6	±10.8	±3.9	±0.1	±6.6	±9.1	±2.9	±11.1	±0.3	±0.7	±0.3	±94.8	±0.5	±0.20	±1.3
		N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G3	1000	Mean	4.0	2.0	0.04	318.8	88.0	20.2	0.6	27.8	50.0	11.2	126.6	9.8	7.9	2.6	351.4	146.4	4.36	106.5
		±S.D.	±0.2	±0.1	±0.03	±41.4	±6.8	±4.1	±0.1	±7.2	±6.7	±2.9	±19.6	±0.3	±0.6	±0.6	±120.0	±1.1	±0.20	±1.3
		N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
5G4	2000	Mean	4.1	2.0	0.03	294.0	91.2	20.8	0.5	24.9	48.8	11.4	137.6	9.8	7.5	2.2	368.4	145.4	4.35	105.6
		±S.D.	±0.2	±0.1	±0.01	±50.5	±17.2	±3.8	±0.1	±7.1	±5.7	±2.7	±36.0	±0.4	±0.6	±0.6	±155.9	±2.2	±0.24	±1.7
		N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Values are expressed Mean±SD, \* : standard deviation, <sup>†</sup> : number of animals  
 G1:control, G2:500, G3:1,000, G4:2,000 mg/kg ChondroT administration.



해 통계학적으로 유의적인 변화는 관찰되지 않았고, 암컷 투여군의 경우, MCHC 항목이 저용량 투여군에서 대조군에 비해 유의적인 증가가 관찰되었다( $p < 0.05$ )(Table VI).

### 7) 혈액생화학적 검사

혈액생화학적 검사결과, 수컷 및 암컷 투여군 모두에서, 대조군에 비해 통계학적으로 유의적인 변화는 관찰되지 않았다(Table VII, Table VIII).

### 8) 병리조직학적 검사

수컷 및 암컷에서 관찰된 검사 소견은 대조군의 경우, 신장의 수질부 낭포 (medullary cyst)가 암컷에서 1 례가 관찰되었고, 고용량 투여군의 경우, 폐의 흉막하 염증세포 침윤 (subpleural inflammatory cell infiltration)이 수컷에서 1 례가 관찰되었다(Table IX).

## 2. 단회 경구투여 용량별 독성시험

### 1) 사망률 및 일반증상

실험기간 중, 시험물질 투여에 의한 사망동물 및 일반증상은 관찰되지 않았다.

### 2) 체중변화

생존동물의 체중측정 결과, 시험물질 투여군과 부형제 대조군에서 정상적인 체중 증가가 관찰되었다.

### 3) 부검소견

생존동물의 부검 소견결과, 투여와 관련된 이상소견은 관찰되지 않았다(Table X).

**Table IX.** Histopathological Findings of Rats

Organs	Number of animals	Histopathological findings	Male		Female	
			G1	G4	G1	G4
Liver	5	NAD	5	5	5	5
Kidney	5	NAD	5	5	4	5
		Medullary cyst -Present	0	0	1	0
Heart	5	NAD	5	5	5	5
Lung (bronchus)	5	NAD	5	4	5	5
		Subpleural inflammatory cell infiltration -Minimal, multifocal	0	1	0	0
Spleen	5	NAD	5	5	5	5

NAD : no appreciable disease.

G1:control, G4:2,000 mg/kg ChondroT administration.

**Table X.** Necropsy Findings

Findings	Group (mg/kg B.W.)							
	G1 (0)		G2 (500)		G3 (1,000)		G4 (2,000)	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Number of animals	5	5	5	5	5	5	5	5
External findings	No gross findings							
Internal findings	No gross findings							

G1:control, G2:500, G3:1,000, G4:2,000 mg/kg ChondroT administration.

B.W : Body Weight

## 고찰»»»

골관절염의 대부분을 차지하는 원발성 골관절염의 경우 발생 및 심각도에 따라 18~24세의 저연령층에서는 4%, 75~79세의 고연령층에서는 85%가 병을 앓고 있다<sup>16)</sup>. 근래에는 골관절염에 대한 연구가 활발히 진행되어 관절염을 유발 하는 요인들이 많이 밝혀지고 있는데<sup>3)</sup>, 대사성, 발달적, 유전적, 물리적 손상 등으로 인해 주로 관절 및 주변 조직의 퇴행성 변화로 이어지며 이로 인해 기능장애가 발생한다고 보고되고 있다<sup>17)</sup>.

관절연골의 퇴행성 분해는 관절강 내의 공간을 좁아지게 만들고<sup>18)</sup> 삼출액과 골극 형성에 의한 부종, 관절 변형과 운동 시 염발음 발생 및 관절 운동 장애에 의한 근육 위축 등이<sup>19)</sup> 관절의 기능을 제대로 못하고 통증이 발생하는 관절로 만든다<sup>2)</sup>.

현대 서양의학에서는 acetaminophen(APAP) 및 NSAIDs 계열의 진통 및 항염작용을 가진 약품들이 개발되어 골관절염의 치료제로 사용되고 있다<sup>20)</sup>.

그 중 APAP은 많이 사용되는 진통 및 소염 치료제로 고농도의 APAP에 노출 될 경우 ATP합성 억제와 미토콘드리아의 손상으로 인해 세포가 손상된다<sup>21)</sup>. 고<sup>22)</sup>의 연구에 따르면 현재 미국과 유럽국가 대부분에서 APAP를 과량복용하게 되면 APAP가 체외로 안전하게 배설되지 못하고 독성대사물질들이 남아 급성 간부전을 일으키는 손꼽히는 원인으로 알려져 있다.

비스테로이드성 항염제(NSAID)는 APAP에 비해서 통증제어 효과가 좋아 무릎, 손과 같은 골관절염에 흔히 사용되는데, Cox-1과 Cox-2효소를 동시에 억제함으로써 기능하지만, 상부 위장관 독성, 오심, 신장 기능 저하, 심혈관계 독성 등의 부작용들이 초래되고 있다<sup>23)</sup>. Cox-1과 Cox-2를 동시에 억제하는 NSAID의 대안책으로 나온 선택적 Cox-2 억제제의 경우 부작용 사례가 많지는 않지만 장기적인 사용 시 위장관 출혈과 심혈관 부작용에 대한 논란이 꾸준히 제기되고 있다<sup>24)</sup>.

Tramadol은 중추신경계에 작용하는 소염기전이 없는 진통제로 중등도 및 중증통증에 주로 사용된다. Tramadol 투여 시 특정한 경우엔 남용의 위험성이 있으며, 상당수의 위장관계 장애, 중추 및 말초신경계 장애, 피부장애 등도 유발한다고 보고되고 있다<sup>25)</sup>.

만성골관절염에서 신경차단을 위해 사용되기도 하는

triamcinolone acetonide와 같은 스테로이드 제제는<sup>26)</sup> 면역세포로부터 염증매개 물질의 유리를 억제하여 활액막염 및 콜라겐 분해를 완화 시킨다<sup>27)</sup>. 하지만 스테로이드 계열의 약물을 장기간 투여 하게 되면 수 주 내로 골 소실이 시작되며 용량에 따라 골질의 위험도 및 골밀도의 저하와 같은 심각한 부작용을 동반한다<sup>28)</sup>.

ChondroT는 晴崗醫鑑에 수록된 羌活除痛飲<sup>6)</sup> 처방에서 bio-informatics 기법<sup>7)</sup>, 세포배양모델실험<sup>8)</sup>, 동물모델 실험<sup>9-12)</sup>을 통해 5가지 한약재(羌活, 金銀花, 當歸, 威靈仙, 黃柏)로 최적화한 처방으로 임상시험 및 품목허가 승인을 위해 ChondroT의 안전성을 평가하고 반복 투여 용량의 근거자료로 이용하기 위해 GLP 인증기관에 위탁하여 이 실험을 진행하였다.

ChondroT의 구성약물을 살펴보면 當歸는 破血養血行血 하는 작용이 있어 몸이冷해서 운행력이 떨어져 오는 瘀血의 경우 관절의 통증을 일으키게 되는데 이때 當歸의 작용으로 瘀血을 제거하여 통증을 막고, 부족해지는 血을 보충 해줌으로써 관절의 퇴행을 막아준다<sup>29)</sup>. 羌活은 手·足の 太陽과 足厥陰 少陰의 表裏에 引經하는 要藥이니 撥亂反正의 主治로서 全身의 百節痛에 으뜸으로 효과가 난다<sup>30)</sup>. 黃柏은 清熱燥濕, 瀉火解毒, 清退虛熱의 효능이 있어 足膝腫痛 및 關節腫痛에 炎症을 제어하는데 효과적이며<sup>31)</sup> 설사, 황달, 무릎과 발의 통증, 요도관 및 피부 감염증에 폭넓게 사용되고 있다<sup>32)</sup>. 威靈仙은 祛風除濕, 通絡止痛의 효능이 있어 筋脈拘攣, 關節屈伸不利 등의 증후를 치료하는 要藥이 되며, 金銀花는 清熱解毒, 涼散風熱의 효능으로 血分의 毒을 解하고 經絡의 濕을 清하여 散熱解毒의 要藥이 된다<sup>33)</sup>. 羌活과 威靈仙의 경우 단독제제로 투여 하였을 때보다 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , PGE<sub>2</sub> 생성을 유의적으로 감소시키는 강한 항염증 작용을 하는 연구 또한 보고된바 있다<sup>34)</sup>. 또한 채의 연구에서 當歸가 혈관세포의 수축을 억제하는 효과가 있어 活血化瘀 調經止痛 등의 방면에 탁월한 효과가 있음이 입증되었다<sup>35)</sup>. 金銀花 또한 비록 쥐 실험이지만 생체 내 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , PGE<sub>2</sub>를 억제하는 효과가 입증된 바 있다<sup>36)</sup>.

식품의약품안전처 고시 “의약품등의 독성시험기준<sup>37)</sup>”에 따라 ChondroT의 입증된 유효성의 독성 반응을 평가하고 투여 용량을 설정하기 위해 암·수 rat에 단회 및 4주간 반복 경구 투여 시 나타나는 전신적 독성 반응을 평가하였다. 본 시험에 사용된 Rat는 반복투여독성시험 등의

안전성 시험에 널리 사용되고 있어 선택하였다. 0(대조군), 500(저용량군), 1,000(중용량군), 2,000(고용량군) mg/kg의 용량을 4주간 반복경구 투여시험에서는 장기증량, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 병리조직학적 검사를 진행하였으며, 단회 경구 투여 독성시험에서 사망률, 일반증상, 체중변화 및 부검소견을 관찰을 통하여 시험물질의 독성 유무를 확인하였다.

4주간 반복 경구 투여 실험에서 체중측정, 부검 시 육안적 소견 및 장기증량 (상대 및 절대증량) 등에서 시험물질 투여로 인한 독성변화는 인정되지 않았다. 혈액 및 혈액생화학적 검사 결과, 암컷 투여군의 저용량 투여군의 MCHC 수치에서 관찰된 통계적 변화는 저, 중, 고용량 투여군과의 상관관계가 관찰되지 않고, 저, 중, 고용량 군간 경미한 수준의 차이로 관찰되어 시험물질 투여에 의한 변화는 아닌 것으로 사료되었다. 또한, 조직병리학적 검사 결과, 수컷 고용량 투여군에서 관찰된 폐의 흉막하 염증세포 침윤 (subpleural inflammatory cell infiltration) 소견은 대조군과 저, 중용량 실험군과 비교하여 병변의 정도 및 발생빈도가 미약하여 시험 물질 투여에 의한 변화는 아닌 것으로 사료되었다. 이외, 암컷 대조군에서 관찰된 신장의 수질부 낭포(medullary cyst)의 소견은 자연발생적인 수준으로 사료되었다.

단회 경구 투여 용량별 독성시험에서의 암·수 모두 대조군 및 저, 중, 고용량 군에서 시험물질 투여로 인한 빈사 및 폐사동물은 관찰되지 않았고, 대조군에서 정상체중증가 소견을 제외한 나머지 일반증상에서도 시험물질 영향에 따른 증상은 관찰되지 않았다.

이상의 결과를 보았을 때 ChondroT 0, 500, 1,000 및 2,000 mg/kg의 용량으로 단회 및 4 주간 반복 경구 투여 시, 시험물질 투여와 관련된 독성학적인 변화가 관찰되지 않았으므로 무독성량 (NOAEL : No Observed Adverse Effect Level)은 2,000 mg/kg/day 이상이며, 표적 장기는 없는 것으로 사료되었다. 이와 같은 결과는 추후 13주간 반복경구투여 독성시험의 용량 설정 기준이 될 것으로 예상된다.

## 결론»»»»

ChondroT에 대한 DRF 및 단회경구투여 독성시험을

실시하기 위해 SD계 rat를 사용하여 식품의약품 안전처 고시 “의약품등의 독성시험기준”에 따라 2000 mg/kg B.W 용량을 최고용량으로 설정하고 공비를 2 로 두어 1000 및 500 mg/kg B.W 용량으로 설정하여 암·수 각각에 경구 투여 후 관찰한 결과 DRF 및 단회경구투여 시 시험물질 투여와 관련된 독성학적 소견이 인정되지 않았으므로 개략의 치사량은 암·수 모두 2000 mg/kg B.W 이상으로 사료되었다. 이에 따라, 13주 반복경구투여 독성시험의 용량은 0, 500, 1000, 및 2000 mg/kg의 군으로 사료된다.

## References»»»»

1. An YH. Using intervention mapping to develop a community-based disease self-management support program for patients with osteoarthritis. *J Muscle Jt Health*. 2015;22(3):245-57.
2. Lee HS. Prevalence of osteoarthritis and related risk factors in the elderly: data from the fifth Korea national health and nutrition examination survey (KNHANES V), 2010~2012. *J Korean Diet Assoc*. 2014;20(2):99-109.
3. Seo CY. Analysis of medical status of knee osteoarthritis and knee soft tissue injuries based on national patients sample registered at the health insurance review and assessment service [master's thesis]. [Seoul]:Kyung Hee University; 2017.
4. Bae BC. Korean translations Huang Di Nei Jing: SomunYungchu. Seoul:Sungbosa. 2000:59-75.
5. National institute of Korean medicine pathology. *Korean medicine pathology*. Seoul. Hanimunhwasa. 2000:41.
6. Kim YH, Lee JH, CheongKangEuiGam. Seoul:Seongbosa. 2001:315.
7. Choi W, Choi CH, Kim YR, Kim SJ, Na CS, Lee H. HerDing: herb recommendation system to treat diseases using genes and chemicals. *Database*. 2016 March;2016:baw011. DOI:10.1093/database/baw011.
8. Park JU, Kim SJ, Na CS, Choi CH, Seo CS, Son JK, Kang BY, Kim YR. Chondroprotective and anti-inflammatory effects of ChondroT, a new complex herbal medication. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2016;16:213. DOI:10.1186/s12906-016-1211-0.
9. Kim W, Park S, Choi C, Kim YR, Park I, Seo C, Youn D, Shin W, Lee Y, Choi D, Kim M, Lee H, Kim S, Na C. Evaluation of anti-inflammatory potential of the new Ganghwajetongyeum on adjuvant-induced inflammatory arthritis in rats. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2016;2016:1230294. DOI:10.1155/2016/1230294.

10. Won JY, Jung JW, Na CS, Kim SJ. Analgesic effects of ChondroT in collagenase-induced osteoarthritis rat model. *Journal of Korean Medicine Rehabilitation*. 2016;26(3):17-30.
11. Jung JW. Effects of ChondroT on osteoarthritis rats [master's thesis]. [Naju]:Dongshin University; 2016.
12. Bae KJ, Jeong JW, Choi CH, Won JY, Kim TG, Kim YR, Na CS, Kim SJ. Antiosteoarthritic effects of ChondroT in a rat model of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2018 Feb;2018:8565132. DOI:10.1155/2018/8565132. eCollection 2018.
13. Lee SD, Jung JY, Choi KH, Lee JT, Park HM, Shin HT. Risk analysis and estimating consumption of heavy metal from intake of oriental medicines. *J Env Hlth Sci*. 2010;36(1):14-9.
14. Lee CY. Monitoring of residual pesticides in herbal medicines marketed in seoul and risk assessment on taking decoction of frequent prescriptions [dissertation]. [Yongin]:Dankook University; 2014.
15. Lee JE. Comparative analysis of benefit-risk of selective Cox-2 inhibitors in the treatment of osteoarthritis and rheumatoid arthritis [master's thesis]. [Seoul]:Sungkyungkan University; 2015.
16. Rubin E, Reisner HM. *Essentials of Rubin's pathology*. 5th ed. Seoul:Koonja Publishing Co. 2011:728-30.
17. Son JT. Factors influencing quality of life of patients with osteoarthritis in rural area. *Journal of the Korean Gerontological Society*. 2014;34(1):23-35.
18. Rubin E. *Essential Pathology*. 3rd ed. Seoul:Koonja Publishing Co. 2005:801-26.
19. Yang YA, Kim YH, Lee HS, Lee HS, Cho MS, Jeong WM, Hong JR, Chae KJ, Jeong HA, Oh HW, Park SH, Park SJ. Old man occupational therapy. *Gyechookmunhwasa*. 2008:261-2.
20. Han MH. Clinical and economic outcomes of non-steroidal anti-inflammatory drugs and gastro protective agent in osteoarthritis elderly patients [dissertation]. [Seoul]:Sungkyungkan University. 2017.
21. Pumford NR, Halmes NC, Hinson JA. Covalent binding of xenobiotics to specific proteins in the liver. *Drug Metabolism Reviews*. 1997;29(1-2):39-57.
22. Go EB. Antioxidant poly(vanillyl alcohol-oxalate) nanoparticles as novel therapeutics for acetaminophen-induced acute liver failure [master's thesis]. [Jeonju]:Chonbuk National University; 2014.
23. Yoon CH. Osteoarthritis update. *Korean J Med*. 2012;82(2):170-4.
24. Lee CK. NSAID (Nonsteroidal anti-inflammatory drug). *J Orthop Pain Society*. 2013;4(1):9-15.
25. Cha YH. Factors regarding adverse drug reaction of Tramadol: focusing on voluntary report by local drug safety center [master's thesis]. [Seoul]:Yonsei University; 2016.
26. Sung SH. The effects of steroids at ultrasono-guided genicular nerve block for chronic knee osteoarthritis pain [master's thesis]. [Ulsan]:Ulsan University; 2011.
27. Sieker JT, Ayturk UM, Proffen BL, Weissenberger MH, Kiapour AM, Murry MM. Immediate administration of intraarticular triamcinolone acetonide after joint injury modulates molecular outcomes associated with early synovitis. *Arthritis & Rheumatology (Hoboken, N.J.)*. 2016;68(7):1637-47.
28. Jung JY, Suh CH. Glucocorticoid-induced osteoporosis. *Korean J Med*. 2017;92(2):142-9.
29. *Tae Han Medicine Society*. Bonchogannon, Seoul:Uisungdang. 2010:112-20.
30. Heo J. *Donguibogam*. Seoul:Namsandang. 1966:1181.
31. Shin MG. *Clinical traditional herbalogy*. Seoul:Yunglimsa. 1986:405-6.
32. Kim JB, Shin US, Kwon YI, Bang BH. Isolation and purification of antibacterial components in cortex phellodendri. *Korean J. Food & Nutr*. 2013;26(3):547-52.
33. *Whole college of Oriental Medicine Compiling Committee*. *Herbology*. Seoul:Yunglimsa. 2004:240-1.
34. Kim SJ, Chun JM, Yang WK, Cheon MS, Sung YY, Park JY, Kim HK. Synergistic effect of *Notopterygium incisum* with *Clematis manshurica* in the anti-inflammatory activity. *Kor J Herbology*. 2010;25(4):11-6.
35. Chae MS. A Study on the inhibitory effect of *Angelicae gigas* on the contraction of vascular cells for treatment of cold hypersensitivity in hands and feet [master's thesis]. [Seoul]:Kyung Hee University. 2016. 黃芪
36. Yoon YG, Kim GM, Lee SJ, Ryu SH, Jang SI. Inhibitory effect of aqueous extract from *Lonicera japonica* flower on LPS-induced inflammatory mediators in RAW 264.7 macrophages. *Kor J Herbology*. 2007;22(3):117-25.
37. 식품의약품안전처고시 제 2014-136호(2014-07-30) "의약품 등의 독성시험기준", [별표 2] 반복투여독성시험.