



초오 약침액의 13주 반복 시술 독성에 관한 연구

임성철¹ · 김재수¹ · 이봉호¹ · 이현종¹ · 이 현² · 이윤규¹

¹대구한의대학교 한의과대학 침구경혈학교실, ²대전대학교 한의과대학 침구의학교실

Thirteen Weeks Repeated-dose Toxicity Study on *Aconitum ciliare* Decaisne Pharmacopuncture Solution in Mice

Sung Chul Lim¹, Jae Soo Kim¹, Bong Hyo Lee¹, Hyun Jong Lee¹, Hyun Lee², Yun Kyu Lee¹

¹Department of Acupuncture, Moxibustion and Acupoint, College of Korean Medicine, Daegu Haany University,
²Department of Acupuncture & Moxibustion Medicine, College of Korean Medicine, Daejeon University

Objectives : This study was performed to examine the toxicity on the long term procedure of *Aconitum ciliare* Decaisne pharmacopuncture(ADP) solution. **Methods :** To evaluate the long term toxicity of 3 different repeated doses, 60, 150, and 300 mg/kg/day for 13 weeks were injected into BALB/c mice, respectively. The ADP solution was injected into near ST36 of the right leg and normal saline of the same volume was used for the vehicle control group. To evaluate the toxicity of 60, 150, and 300 mg/kg of repeated doses for 13 weeks, toxic symptoms, weight measurement, hematological test, blood biochemical test, visual examination and weight measurement of major organs, and histopathological test were conducted. **Results :** No significant changes in toxic symptoms, weight measurement, hematological test, blood biochemical test, visual examination and weight measurement of major organs, and histopathological test were observed in different doses of ADP solution treated groups compared to vehicle control group. **Conclusions :** As a result, repeated dose at a concentration of 300 mg/kg or less is considered to be not harmful for clinical treatment.

Key words : *Aconitum ciliare* Decaisne, pharmacopuncture, toxicity, repeated dose

서 론

인류의 건강과 복지 증진이라는 목표는 사회가 발달함에 따라 더욱 강조되고 있고, 이러한 욕구를 만족시키기 위하여 더 좋은 약의 개발은 끊임없이 이루어지고 있으며, 이들 약물에 대한 안전성은 중요한 문제로 자리매김을 하고 있다¹⁾.

최근에는 한약의 안전성에 대하여 한약 자체의 독성에 의한 간 손상이나 신손상 등에 대한 문제가 자주 제기되고 있으며²⁾, 이에 한의학의 치료방법이 더욱 신뢰 받을 수 있도록 한약재의 독성 및

안전성에 대한 다양한 접근방법이 필요하다.

한의학에서는 1950년대 약침요법에 대한 임상보고가 나온 이후로 여러 약물을 이용한 약침치료에 관한 기초연구와 임상치료가 활발히 진행되어 왔으며, 부작용을 줄이고 난치성 질환 등 다양한 질환을 치료하기 위해 독을 이용한 사독³⁻⁵⁾, 오통⁶⁻⁸⁾, 봉독⁹⁻¹¹⁾ 등의 연구가 지속적으로 진행되고 있다.

특히, 초오는 미나리아재비과의 이삭비꽃 및 近緣植物의 塊根으로, 性은 熱, 大毒하고 味는 辛, 甘, 苦하여 止痛, 祛風除濕, 溫經散寒의 효능이 있어 關節疼痛, 風寒濕痺 등의 병증에 주로 활용되어

Received August 27, 2018, Revised September 18, 2018, Accepted September 19, 2018

Corresponding author: **Yun Kyu Lee**

Department of Acupuncture & Moxibustion Medicine, Pohang Korean Medicine Hospital of Daegu Haany University, 411 Saecheonbyeon-daero, Nam-gu, Pohang 37685, Korea

Tel: +82-54-271-8010, Fax: +82-54-281-7464, E-mail: hanyeesarang@hanmail.net

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

왔다¹²⁾. 그러나, aconitine 성분이 포함된 초오는 독성이 매우 강하여 중독 사고^{13,14)}에 대한 보고가 있으며, 부작용을 최소화하기 위해서 안전성, 시술용량의 객관화, 제법의 규격화, 약효의 검증, 약리작용의 해석 등에 대한 많은 연구가 필요할 것으로 보인다¹⁵⁾.

초오의 약리학적 작용과 임상적 측면에 대한 다양한 연구¹⁵⁻¹⁸⁾가 있었으나 초오 약침액으로 제조하여 단회성 시술이 아닌 장기간의 반복 시술로 인한 안전성과 독성에 대한 연구는 아직 미흡한 실정이다. 저자는 초오 약침액의 반수치사량의 측정실험을 토대로 단회 및 4주간의 반복독성 실험을 통한 안전성을 선행연구로 발표¹⁹⁾한 바 있다. 이에 본 연구에서는 초오 약침액의 용량에 따른 독성 실험을 통해 장기적인 시술시 안전성을 후속적으로 연구하고자 BALB/c mouse에 13주 반복 시술 독성 실험을 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 실험동물: 선행연구¹⁹⁾와 동일하게 (주)샘타코 (경기도, 대한민국)에서 구입한 약 30 g 전후의 수컷과 암컷 BALB/c mouse(10주령 약 30 g)를 사용하였다. BALB/c mouse는 온도 23~24°C, 습도 40~60%, 조명 12시간 명/암이 자동적으로 유지되는 사육실에서 무균 음수와 사료를 자유롭게 공급하여 사육하고 실험실 환경에 1주 이상 적응시킨 후 사용하였다.

본 연구의 모든 과정은 동의대학교 동물실험윤리위원회의 규정 및 방침에 따라 진행되었다(승인번호: R2016-031).

2) 초오 약침액의 조제: 선행연구¹⁹⁾와 동일한 방법으로 조제하였다. 잘 건조된 초오(신홍제약, 한국) 100 g을 추출 반응조에 넣고 3차 증류수를 1,000 ml 가한 후 100°C에서 6시간 동안 추출하였다. 추출액을 5 μm 와트만 여과지로 1차 여과한 후 60°C에서 감압농축을 시행하여 건조 추출물 8.21 g을 얻었다. 이를 다시 증류수 200 ml에 녹여 0.2 μm 여과지로 2차 여과를 시행한 후 동결 건조하여 최종 6.00 g의 추출물을 얻었다. 얻어진 추출물을 clean bench에서 대한약침제형연구회의 Osmonics E4 water purification machine(General electric, Minnetonka, MN, USA)를 이용하여 제조한 주사용수(Water for injection)에 적정비율로 희석하고 pH와 염도를 보정한 후 clean room에서 실험에 사용할 초오 약침액을 충전하여 조제하였다.

2. 실험방법

1) 군 설정: 평균체중에 가까운 BALB/c mouse 암·수 각 20마리를 선발하여 진행하였다. 선발한 BALB/c mouse를 각 군의 평균체중이 균등하도록 무작위로 암컷 4군과 수컷 4군(암·수 각 대조군(Group I), 실험군 : 저농도군(Group II), 중농도군(Group III), 고농도군(Group IV)), 군당 5마리로 군을 분리하였다.

2) 군별 처치: 선행연구¹⁹⁾에서의 LD 50과 단독 및 4주 반복 독성 실험의 결과는 다음과 같았다. LD 50은 6,000 mg/kg/day로 측정되었으며, 이를 바탕으로 300 mg/kg/day, 600 mg/kg/day, 1,200 mg/kg/day의 3군으로 분리하여 단회 시술 후 2주 동안 사망 및 독성 증상이 없었음을 확인하였고, 150 mg/kg/day, 300 mg/kg/day, 600 mg/kg/day의 3군으로 분리하여 4주 반복 시술 후 2주 동안 사망 및 독성 증상과 이상 검사소견이 없었음을 확인하였다¹⁹⁾. 이에, 본 연구에서는 실험군(Group II, III, IV)의 1회 초오 약침 시술량을 각각 저농도군(Group II)에서는 60 mg/kg/day, 중농도군(Group III)에는 150 mg/kg/day, 고농도군(Group X)은 300 mg/kg/day로 결정하였고, 골도분출법에 준한 인체의 ST36(Zusanli)²⁰⁾에 상응하는 부위를 실험 BALB/c mouse의 우측 후지에 0.2 ml씩 시술하였다. 대조군(Group I)에는 초오 약침과 같이 우측 후지 ST36(Zusanli)에 0.2 ml씩의 생리식염수를 시술하였다.

3) 일반증상 관찰: 시술당일(0일)에는 시술 후 30분까지는 빈번하게, 1, 2, 4 및 6시간째에 일반상태(독성징후의 종류, 발현시기, 회복시기 등) 및 사망유무를 관찰하였다. 이후 13주 동안 시술 후 1일부터 각각의 실험 종료일까지 매일 1회 일반증상을 관찰하였다.

4) 체중측정: 시술당일(시술 전), 시술 후 2주 및 4주, 6주, 8주, 10주 그리고 13주(부검일)에 측정하였다.

5) 혈액학적 검사: 부검 전 12시간 절식시킨 BALB/c mouse를 에틸에테르로 마취시킨 후 경추 탈골하여 안락사 시킨 후 채혈하여 얻은 혈액의 일부를 EDTA로 항응고 처리하여 혈구자동측정기(Hemavet, Drew Scientific Co, Oxford, CT, USA)로 White blood cell(WBC), Red blood cell(RBC), Hemoglobin, Hematocrit(HCT), Platelet, Mean cell volume(MCV), Mean cell hemoglobin(MCH), Mean cell hemoglobin concentration(MCHC)를 측정하였다.

6) 혈액생화학적 검사: 채혈한 전혈 일부를 15분간 원심분리(3,000 rpm, Eppendorf, Hamburg, Germany) 한 후 혈청을 취하여 혈청자동분석기(Hitachi7060, Hitachi, Tokyo, Japan)를 이용하여 Total protein, Albumin, Total bilirubin, Alkaline phosphatase(ALP), Aspartate aminotransferase(AST), Alanine aminotransferase(ALT), Creatinine, Blood urea nitrogen

(BUN), Total cholesterol, Triglycerides, Glucose를 측정하였다.

7) 주요 장기의 육안 검사 및 중량 측정: 13주 반복 독성 실험 관찰기간 종료 후 채혈 후 부검하였다. 부검을 실시하는 대조군 및 실험군의 모든 BALB/c mouse에 대하여 심장(Heart), 간(Liver), 신장(Kidney), 뇌(Brain), 폐(Lung), 비장(Spleen), 흉선(Thymus), 정소(Testis) 또는 난소(Ovary), 비복근(Gastrocnemius) 등의 장기를 적출하고, 육안조직검사 지침에 따라 각 장기 조직의 부위별로 병변을 조사하고, 조직의 크기, 중량(g), 색, 모양, 경도 그리고 병변 부위의 크기, 모양, 색, 특징 등을 검사하였다.

8) 조직병리학적 검사: 고정한 간조직과 신장조직은 삭정, 탈수 및 파라핀 포매 등의 일반적인 조직처리과정을 거쳐 조직절편을 제작하여 박절한 후 Hematoxylin & Eosin(H&E) 염색을 실시하였다. H&E staining은 동물조직학에서 일반적으로 사용하는 염색법으로 H&E staining은 검푸른 색을 내는 Hematoxylin과 붉은 색을 내는 Eosin의 두 염료를 이용하여 세포의 핵과 세포질을 관찰할 수 있다. 세포핵은 검푸르게 염색되며 대부분의 세포질 성분은 분홍색 또는 붉은색으로 염색된다.

9) 통계 분석: 실험에서 얻어진 결과들은 SPSS(version 22, Chicago, IL, USA)와 SAS(version 9.1.3, SAS Institute Inc., U.S.A.)를 사용하여 Kolmogorov-Smirnov test와 Shapiro-Wilk test 방법으로 정규성 검정을 시행하였으며, Bartlett test를 실시하여 등분산성을 검정하였다. 등분산의 경우 One-way analysis of variance(ANOVA)를 실시하였으며, 또한 각 항목별로 일대일 Student T-test를 시행하여 유의성을 검정하였다. 모든 측정값은 평균±표준편차(mean±S.D.)로 표기하였다.

Table 1. Mortality of BALB/c Mouse after the Treatment of 13 Weeks Repeated-dose ADP

Sex	Group	Number of Animal	Number of Death	Mortality (%)
Male	I	5	0	0
	II	5	0	0
	III	5	0	0
	IV	5	0	0
Female	I	5	0	0
	II	5	0	0
	III	5	0	0
	IV	5	0	0

Data represent the mean±S.D.
Group I : Vehicle control group, Group II : Low dose group(60 mg/kg/day), Group III : Medium dose group(150 mg/kg/day), Group IV : High dose group(300 mg/kg/day).

결 과

1. 사망률

초오 약침을 시술한 후 13주간 사망유무를 관찰한 결과, 모든 실험군(Group II, III, IV)의 암·수 BALB/c mouse에서 초오 약침의 시술에 의해 기인된 사망은 관찰되지 않았다(Table 1).

2. 일반증상

13주의 실험기간 중 독성물질로 발생할 수 있는 털빠짐(loss of fur), 설사(diarrhea), 다뇨(polyuria), 연변(soft stool), 운동성감소(decreased motor activity), 떨림(tremor), 부종(edema) 등의 증상발현 유무를 관찰한 결과, 모든 실험군(Group II, III, IV)의 암·수 BALB/c mouse에서 초오 약침 시술에 의한 독성 증상은 관찰되지 않았다(Table 2).

3. 체중변화

체중은 실험일과 시작 후 2, 4, 6, 8, 10, 13주에 측정하였다. 실험 개시 때의 BALB/c mouse의 체중은 수컷의 경우 대조군(Group I)은 29.4±1.3 g이었고 저농도군(Group II)은 29.1±1.2 g, 중농도군(Group III)은 29.0±0.9 g, 고농도군(Group IV)은 29.3±1.7 g이었으며, 13주 후 실험 종료 시에는 대조군(Group I)은 43.8±1.8 g이었고 저농도군(Group II)은 43.1±2.1 g, 중농도군(Group III)은 43.9±2.8 g, 고농도군(Group IV)은 43.8±1.3 g이었다. 체중 증가율을 살펴보면, 대조군(Group I)은 29.3±6.6% 이었고 저농도군(Group II)은 28.4±10.1%, 중농도군(Group III)은 27.3±2.4%, 고농도군(Group IV)은 28.5±7.0%로 각 그룹별 유의성 있는 차이는 없었다(Fig. 1).

Table 2. Clinical Findings of BALB/c Mouse after the Treatment of 13 Weeks Repeated-dose ADP

Signs	Male				Female			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Loss of Fur	0	0	0	0	0	0	0	0
Diarrhea	0	0	0	0	0	0	0	0
Polyuria	0	0	0	0	0	0	0	0
Soft Stool	0	0	0	0	0	0	0	0
Decreased Motor Activity	0	0	0	0	0	0	0	0
Tremor	0	0	0	0	0	0	0	0
Edema	0	0	0	0	0	0	0	0

Data represent the mean±S.D.
Group I : Vehicle control group, Group II : Low dose group(60 mg/kg/day), Group III : Medium dose group(150 mg/kg/day), Group IV : High dose group(300 mg/kg/day).

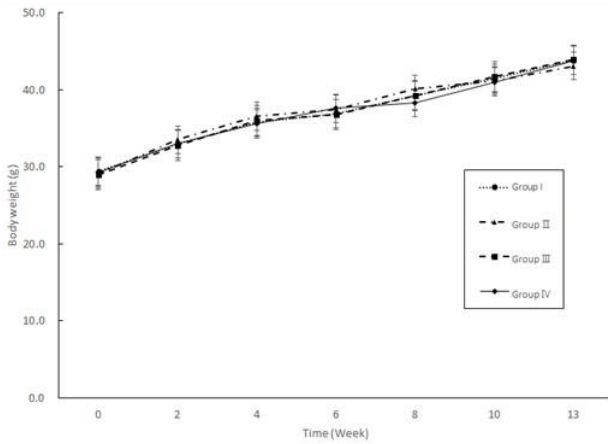


Fig. 1. Body weight changes of male BALB/c mouse after the treatment of 13 weeks repeated-dose ADP.

Data represent the mean±S.D.

Group I : Vehicle control group, Group II : Low dose group(60 mg/kg/day), Group III : Medium dose group(150 mg/kg/day), Group IV : High dose group(300 mg/kg/day).

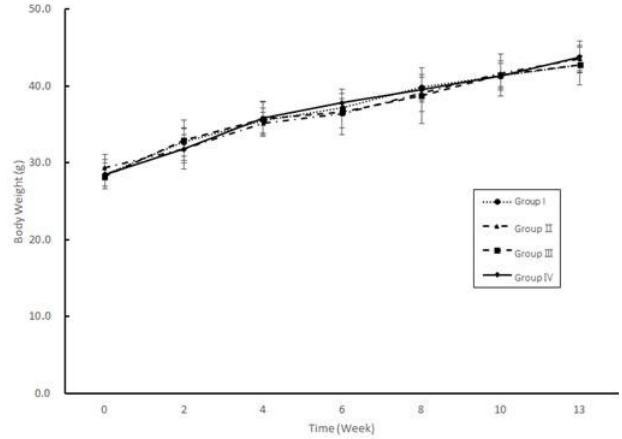


Fig. 2. Body weight changes of female BALB/c mouse after the treatment of 13 weeks repeated-dose ADP.

Data represent the mean±S.D.

Group I : Vehicle control group, Group II : Low dose group(60 mg/kg/day), Group III : Medium dose group(150 mg/kg/day), Group IV : High dose group(300 mg/kg/day).

Table 3. The Hematological Values of Male and Female BALB/c Mouse after the Treatment of 13 Weeks Repeated-dose ADP

Sex	Index	Group I	Group II	Group III	Group IV
Male	WBC ($10^3/\mu\text{l}$)	3.17±0.44	2.99±0.37	3.16±0.23	3.06±0.63
	RBC ($10^6/\mu\text{l}$)	8.10±0.46	8.15±0.25	8.07±0.37	7.97±0.43
	Hemoglobin (g/dL)	10.83±0.38	10.84±0.61	11.40±0.40	10.72±0.41
	HCT (%)	32.48±1.97	32.33±1.68	33.86±2.62	33.10±1.37
	Platelet ($10^3/\mu\text{l}$)	917.12±73.25	943.83±65.13	908.68±42.51	952.62±34.79
	MCV (fl)	45.74±2.29	43.86±2.08	44.77±2.09	46.00±0.87
	MCH (pg)	13.86±0.35	14.00±0.14	13.85±0.34	13.95±0.30
	MCHC (g/dL)	33.11±3.03	33.89±0.81	31.24±1.13	35.62±4.82
Female	WBC ($10^3/\mu\text{l}$)	3.30±0.52	3.17±0.58	3.30±0.64	3.66±0.86
	RBC ($10^6/\mu\text{l}$)	8.24±0.42	7.69±0.36	8.08±0.25	7.93±0.28
	Hemoglobin (g/dL)	11.03±0.24	11.19±0.45	10.87±0.41	11.28±0.59
	HCT (%)	32.08±2.77	33.01±1.94	33.41±1.17	33.98±3.57
	Platelet ($10^3/\mu\text{l}$)	969.94±29.80	928.59±35.83	972.81±13.86	949.91±25.53
	MCV (fl)	46.10±1.95	43.96±1.83	46.64±2.18	44.30±2.56
	MCH (pg)	13.96±0.32	13.90±0.27	14.15±0.48	14.16±0.29

Data represent the mean±S.D.

Group I : Vehicle control group, Group II : Low dose group(60 mg/kg/day), Group III : Medium dose group(150 mg/kg/day), Group IV : High dose group(300 mg/kg/day).

WBC : White blood cell, RBC : Red blood cell, HCT : Hematocrit, MCV : Mean cell volume, MCH : Mean cell hemoglobin, MCHC : Mean cell hemoglobin concentration.

암컷의 경우 대조군(Group I)은 28.5±1.9 g이었고 저농도군(Group II)은 29.4±1.7 g, 중농도군(Group III)은 28.2±1.2 g, 고농도군(Group IV)은 28.5±1.5 g이었으며, 13주 후 실험 종료 시에는 대조군(Group I)은 42.8±1.1 g이었고 저농도군(Group II)은 43.5±1.5 g, 중농도군(Group III)은 42.7±2.6 g, 고농도군(Group IV)은 43.8±2.0 g이었다. 체중 증가율을 살펴보면 대조군(Group I)은 29.8±2.2%이었고 저농도군(Group II)은 31.1±8.0%,

중농도군(Group III)은 27.7±5.6%, 고농도군(Group IV)은 27.9±7.0%로 각 그룹별 유의성 있는 차이는 없었다(Fig. 2).

결과적으로, 모든 실험군(Group II, III, IV)의 암·수 BALB/c mouse에서 초요 약침 시술에 의한 체중 변화는 대조군(Group I)과 비교하여 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았다.

4. 혈액학적 검사

13주간 초오 약침을 시술한 후 실험군(Group II, III, IV)으로부터 혈액을 채취하여 WBC, RBC, Hemoglobin, HCT, Platelet, MCV, MCH, MCHC를 혈구자동측정기로 측정한 결과, 혈액학적 지표들은 모든 실험군(Group II, III, IV)의 암·수 BALB/c mouse에서 대조군(Group I)과 비교하여 통계적으로 유의성 있는 차이를 보이지 않았다(Table 3).

5. 혈액생화학적 검사

13주간 초오 약침을 시술한 후 실험군(Group II, III, IV)으로부터 혈액을 채취하여 Total protein, Albumin, Total bilirubin, ALP, AST, ALT, Creatinine, BUN, Total cholesterol, Triglyceride, Glucose 등 혈액생화학적 지표들의 수치를 측정하였다.

간의 독성 여부를 확인할 수 있는 Total bilirubin 및 ALP, AST, ALT 지표 중, ALP의 경우 수컷 대조군(Group I)의 35.21±8.55에 비해 실험군(Group II, III)의 수치가 각 49.50±10.56와 444.53±9.42로 상승하였고, 암컷 대조군(Group I)의 39.50±10.94에 비해 실험군(Group II)의 수치가 43.60±5.01로 상승하였으나, 통계적으로 모두 유의성 있는 차이를 보이지 않았다. AST의 경우

수컷 대조군(Group I)의 51.88±9.32에 비해 실험군(Group III)의 수치가 56.78±7.37로 상승하였고, 암컷 대조군(Group I)의 47.02±9.79에 비해 실험군(Group II, III, IV)의 수치가 각 54.04±6.59, 50.99±7.37, 54.33±12.08로 상승하였으나, 통계적으로 모두 유의성 있는 차이를 보이지 않았다. 또한, ALT의 경우 수컷 대조군(Group I)의 17.93±7.80에 비해 실험군(Group II, III, IV)의 수치가 각 23.45±6.88, 21.53±17.10, 21.06±3.19로 상승하였고, 암컷 대조군(Group I)의 18.60±6.03에 비해 실험군(Group II, III, IV)의 수치가 각 23.89±6.23, 20.28±17.10, 23.04±15.38로 상승하였으나, 통계적으로 모두 유의성 있는 차이를 보이지 않았다(Table 4).

신장의 독성 여부를 확인할 수 있는 Creatinine과 BUN 지표 중, Creatinine의 경우 수컷 대조군(Group I)의 0.50±0.06에 비해 실험군(Group III, IV)의 수치가 각 0.51±0.06, 0.52±0.12로 상승하였고, 암컷 대조군(Group I)의 0.47±0.09에 비해 실험군(Group III)의 수치가 0.59±0.06로 상승하였으나, 통계적으로 모두 유의성 있는 차이를 보이지 않았다. 또한, BUN의 경우 수컷 대조군(Group I)의 17.43±1.48에 비해 실험군(Group III, IV)의 수치가 각 17.55±2.00, 18.37±0.77로 상승하였으나, 통계적으로

Table 4. Serum Biochemical Values of Male and Female BALB/c Mouse after the Treatment of 13 Weeks Repeated-dose ADP

Sex	Index	Group I	Group II	Group III	Group IV
Male	Total protein (g/dL)	4.81±0.21	4.95±0.19	4.90±0.10	4.83±0.21
	Albumin (g/dL)	1.63±0.08	1.58±0.08	1.56±0.08	1.66±0.11
	Total Bilirubin (mg/dL)	0.14±0.03	0.14±0.06	0.09±0.04	0.10±0.05
	ALP (IU/L)	35.21±8.55	49.50±10.56	44.53±9.42	35.66±5.50
	AST (IU/L)	51.88±9.32	47.55±13.31	56.78±7.37	42.49±8.69
	ALT (IU/L)	17.93±7.80	23.45±6.88	21.53±17.10	21.06±3.19
	Creatinine (mg/dL)	0.50±0.06	0.49±0.05	0.51±0.06	0.52±0.12
	BUN (mg/dL)	17.43±1.48	17.33±1.50	17.55±2.00	18.37±0.77
	Cholesterol (mg/dL)	142.27±12.37	138.80±31.01	152.15±25.18	149.45±5.79
	Triglyceride (mg/dL)	70.47±14.57	61.08±11.85	70.49±12.10	76.93±15.56
Female	Glucose (mg/L)	160.69±20.16	185.81±8.53	176.20±12.89	182.67±8.76
	Total protein (g/dL)	4.75±0.09	4.86±0.20	4.72±0.10	4.73±0.25
	Albumin (g/dL)	1.65±0.04	1.59±0.09	1.63±0.08	1.63±0.02
	Total Bilirubin (mg/dL)	0.08±0.05	0.12±0.04	0.07±0.04	0.14±0.03
	ALP (IU/L)	39.50±10.94	43.60±5.01	38.56±9.42	35.88±9.09
	AST (IU/L)	47.02±9.79	54.04±6.59	50.99±7.37	54.33±12.08
	ALT (IU/L)	18.60±6.03	23.89±6.23	20.28±17.10	23.04±15.38
	Creatinine (mg/dL)	0.47±0.09	0.45±0.05	0.59±0.06	0.43±0.07
	BUN (mg/dL)	18.97±2.09	18.44±1.80	18.70±2.00	18.23±0.91
	Cholesterol (mg/dL)	144.41±18.73	164.64±16.99	142.52±25.18	144.31±9.06
Triglyceride (mg/dL)	74.74±22.28	50.35±11.03	82.90±12.10	73.07±22.79	
Glucose (mg/L)	164.71±20.82	181.69±23.04	180.12±12.89	181.67±16.07	

Data represent the mean±S.D.

Group I : Vehicle control group, Group II : Low dose group(60 mg/kg/day), Group III : Medium dose group(150 mg/kg/day)

Group IV : High dose group(300 mg/kg/day).

ALP : Alkaline phosphatase, AST : Aspartate aminotransferase, ALT : Alanine aminotransferase, BUN : Blood urea nitrogen.

모두 유의성 있는 차이를 보이지 않았다(Table 4).

Triglyceride의 경우 수컷 대조군(Group I)의 70.47 ± 14.57 에 비하여 실험군(Group III, IV)의 수치가 각 70.49 ± 12.10 , 76.93 ± 15.56 로 상승하였고, 암컷 대조군(Group I)의 74.74 ± 22.28 에 비하여 실험군(Group III)의 수치가 82.90 ± 12.10 로 상승하였으나, 통계적으로 모두 유의성 있는 차이를 보이지 않았다. Glucose의 경우 수컷 대조군(Group I)의 160.69 ± 20.16 에 비하여 실험군(Group II, III, IV)의 수치가 각 185.81 ± 8.53 , 176.20 ± 12.89 , 182.67 ± 8.76 로 상승하였고, 암컷 대조군(Group I)의 164.71 ± 20.82 에 비하여 실험군(Group II, III, IV)의 수치가 각 181.69 ± 23.04 , 180.12 ± 12.89 , 181.67 ± 16.07 로 상승하였으나, 통계적으로 모두 유의성 있는 차이를 보이지 않았다(Table 4).

결과적으로, 혈액생화학적 지표들은 모든 실험군(Group II, III, IV)의 암·수 BALB/c mouse에서 대조군(Group I)과 비교하여 통계적으로 유의성 있는 차이를 보이지 않았다.

6. 주요장기의 중량변화

13주간 초오 약침을 시술한 후 실험군(Group II, III, IV)의 장기를 적출하여 육안적 소견을 관찰하고 중량을 측정하였다.

결과적으로, 모든 실험군(Group II, III, IV)의 암·수 BALB/c mouse의 모든 장기에서 초오 약침 시술에 의한 육안적 소견상의 특이할 만한 병적소견은 발견되지 않았다. 또한, 모든 실험군(Group II, III, IV)의 암·수 BALB/c mouse에서 대조군(Group I)과 비교하여 통계적으로 유의성 있는 중량의 변화는 관찰되지 않았

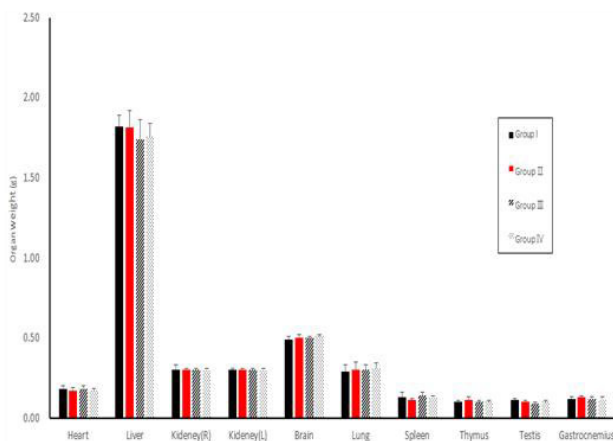


Fig. 3. Male BALB/c mouse organ weights after the treatment of 13 Weeks repeated-dose ADP.

Data represent the mean \pm S.D.

Group I : Vehicle control group, Group II : Low dose group(60 mg/kg/day), Group III : Medium dose group(150 mg/kg/day), Group IV : High dose group(300 mg/kg/day).

다(Fig. 3, 4).

7. 간과 신장의 조직병리학적 변화

13주간 초오 약침을 시술한 후 H&E 염색을 통하여 간과 신장의 조직을 관찰하였다.

간조직의 변화를 관찰한 결과에서는 생리식염수를 시술한 대조군(Group I)의 간조직에서 간문맥과 실질이 정상적인 구조를 유지하고 있었으며 조직병리학적으로 정상적인 소견을 보여주었다. 초오 약침을 시술한 저농도(Group II), 중농도(Group III), 고농도(Group IV)군의 경우에는 간조직에서 간세포의 괴사, 염증세포 침윤, 혹은 지방변성 등의 변화를 발견할 수 없었으며 대조군(Group I)과 비교하여 유의성 있는 변화는 나타나지 않았다(Fig. 5).

신장조직의 변화를 관찰한 결과에서는 생리식염수를 시술한 대조군(Group I)과 초오 약침을 시술한 저농도(Group II), 중농도(Group III), 고농도(Group IV)군 모두에서 조밀한 세포질과 함께 정상적인 사구체(glomerulus), 곡세뇨관(convoluted tubule) 및 상피세포가 관찰되었으며 각 군간에 유의성 있는 차이점은 발견되지 않았다. 또한, 초오 약침을 시술한 실험군(Group II, III, IV)에서 세뇨관의 팽창, 표피의 박리 및 세포사멸 등의 변화는 발견되지 않았다(Fig. 5).

결과적으로 모든 실험군(Group II, III, IV)의 암·수 BALB/c mouse에서 초오 약침 시술에 의한 간과 신장 조직의 병리학적 변화는 발견되지 않았다.

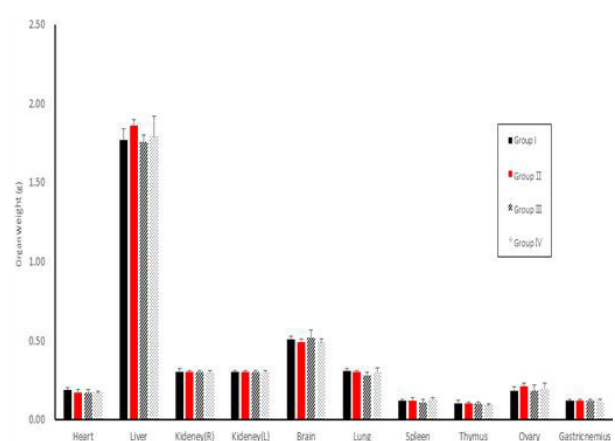
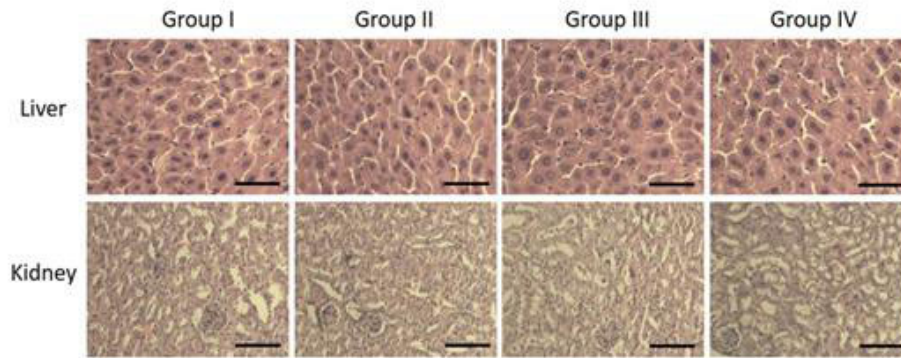


Fig. 4. Female BALB/c mouse organ weights after the treatment of 13 weeks repeated-dose ADP.

Data represent the mean \pm S.D.

Group I : Vehicle control group, Group II : Low dose group(60 mg/kg/day), Group III : Medium dose group(150 mg/kg/day), Group IV : High dose group(300 mg/kg/day).

(A) Male



(B) Female

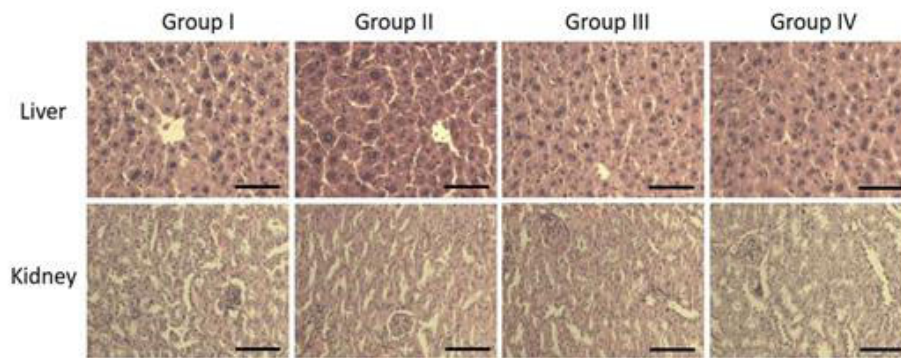


Fig. 5. Hematoxylin & Eosin stained liver and kidney tissues from male and female BALB/c mouse after the treatment of 13 weeks repeated-dose ADP.

The BALB/c mice were treated for 13 weeks and sacrificed. The Group I showed the normal morphology and ADP treated groups(Group II, III, IV) also had normal structures (Magnification, $\times 100$, scale bar=50 μm). Group I : Vehicle control group, Group II : Low dose group(60 mg/kg/day), Group III : Medium dose group(150 mg/kg/day), Group IV : High dose group(300 mg/kg/day).

고찰

한의학에서는 난치성 질환 등 다양한 질환을 치료하기 위하여 사독과 오공, 봉독과 같은 독성 물질을 정제하여 이용하는 치료 방법이 활발히 연구되고 있다. 사독을 사용한 연구로 양³⁾은 유방암 MCF-7 세포와 MDA-mb-231 세포 성장을 유의하게 억제하였음을 보고 하였고, 오⁴⁾는 HCT116 대장암 세포에 대한 억제 효과가 있었음을 보고 하였으며, 이⁵⁾는 난소암 PA-1 세포에서 세포자멸사가 유도되어 암세포 성장이 억제되었다는 연구 결과를 보고 하였다, 오공을 사용한 연구는 김⁶⁾의 동결건, 곽⁷⁾의 안면신경마비에 대한 치료 연구 보고가 있었으며, 봉독을 사용한 연구는 이⁸⁾의 극상근 석회화 건염, 한⁹⁾의 요추관 협착증, 안¹⁰⁾의 퇴행성 슬관절염에 대한 치료 연구 보고가 있었다.

우리나라에 널리 자생하는 미나리아재비과의 이삭바꽃 및 近緣植物의塊根인 초오도 大毒, 熱의 性味와 祛風除濕, 溫經散寒止痛의 효능이 있어, 관절질환과 같은 癩症 등의 병증에 활용되고 있으며, 오남용으로 인하여 함유된 aconitine에 대한 중독사고가 많이 발생하는 것으로 알려져 있다¹¹⁻¹⁴⁾. 따라서, 초오의 안전성과 독성

에 대한 연구의 필요성이 커지면서 약리학적 작용과 임상에서의 활용에 대한 다양한 연구¹⁴⁻¹⁸⁾가 있었으나, 초오 약침액으로 제조하여 단회성 시술이 아닌 장기간의 반복 시술로 인한 안전성과 독성에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

저자는 선행연구로 초오 약침액의 LD 50을 측정한 후 이를 토대로 단회 및 4주간 반복독성 실험을 통한 안전성에 대하여 발표¹⁹⁾한 바 있다. 이에 본 연구에서는 초오 약침액의 장기적인 반복독성의 안전성을 확인하고자 BALB/c mouse에 용량에 따른 13주 반복 독성 실험을 실시하였다.

선행연구¹⁹⁾에서 4주간의 반복 독성 실험시 150 mg/kg/day를 저농도군으로, 300 mg/kg/day를 중농도군으로, 600 mg/kg/day를 고농도군으로 설정하여 실험을 하였고, 반복독성에 대한 안전성을 확인한 바 있다. 이를 참고하여 본 연구에서는 60 mg/kg/day를 저농도군(Group II)으로, 150 mg/kg/day를 중농도군(Group III)으로, 300 mg/kg/day를 고농도군(Group IV)으로 설정하여 실험을 진행하였다. 반복독성에 대한 안전성 확인은 선행연구와 동일하게 윤²¹⁾의 실험 연구방법을 참조하여 사망률과 독성으로 유발할 수 있는 일반증상, 체중변화를 살펴본 후, 혈액학적 및 혈액생화학

적 변화와 주요 장기의 육안상 변화 및 중량변화, 간과 신장의 조직 병리학적 변화를 살펴보았다.

사망률을 관찰한 결과, 초오 약침을 시술한 후 13주동안 모든 실험군(Group II, III, IV)의 암·수 BALB/c mouse에서 초오 약침의 시술에 의하여 기인된 사망은 관찰되지 않았다. 독성으로 인하여 발생할 수 있는 일반적인 증상을 관찰한 결과, 13주동안 모든 실험군(Group II, III, IV)의 암·수 BALB/c mouse에서 털빠짐(loss of fur), 설사(diarrhea), 다뇨(polyuria), 연변(softstool), 운동성감소(decreased motor activity), 떨림(tremor), 부종(edema) 등의 증상은 관찰되지 않았다. 체중의 경우, 13주동안 모든 실험군(Group II, III, IV)과 대조군(Group I)의 암·수 BALB/c mouse는 자연스러운 체중증가를 보였으며, 모든 실험군(Group II, III, IV)은 대조군(Group I)과 비교하여 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았다. 결과적으로, 본 연구에서는 사망한 사례가 없었고 독성으로 인하여 발생할 수 있는 일반적인 증상이 나타나지 않았으며 체중의 변화에 유의적인 변화가 관찰되지 않았으므로, 초오 약침의 13주간 반복 시술은 생체의 외형 변화와 기능 부전을 유발하지 않는 안전성이 있었다고 판단할 수 있다.

13주간의 실험후 채혈을 하여 혈액학적 및 혈액생화학적 검사를 하였고, 이후 부검하여 주요 장기의 육안상 변화 및 중량변화와 간과 신장의 조직병리학적 변화에 대하여 확인을 하였다.

혈액학적 지표인 WBC 및 RBC, Hemoglobin, HCT, Platelet, MCV, MCH, MCHC와 혈액생화학적 지표인 Total protein 및 Albumin, Total bilirubin, ALP, AST, ALT, Creatinine, BUN, Cholesterol, Triglyceride, Glucose 등을 측정된 결과, 모든 측정값에 대하여 실험군(Group II, III, IV)이 대조군(Group I)과 비교하여 통계적으로 유의성 있는 차이를 보이지 않았다. 특히, 장기간의 반복적인 독성은 간과 신장의 독성을 유발할 수 있다. 간은 간문맥을 경유하여 들어온 독성물질을 대사하는 장기이고, 신장은 혈중 약물의 부작용을 받기 쉽고 화학물질 대사와 관련된 효소의 다양한 효소반응으로 독성 물질에 대한 감수성이 높은 장기이다^{22,23}. 간의 독성 여부를 확인할 수 있는 Total bilirubin 및 ALP, AST, ALT 지표 중, ALP의 경우 수컷 실험군(Group II, III)과 암컷 실험군(Group IV)의 수치가 수컷과 암컷의 각 실험군(Group I)에 비하여 상승하였고, AST의 경우 수컷 실험군(Group III)과 암컷 실험군(Group II, III, IV)의 수치가 수컷과 암컷의 각 실험군(Group I)에 비하여 상승하였으며, ALT의 경우 수컷 실험군(Group II, III, IV)과 암컷 실험군(Group II, III, IV)의 수치가 수컷과 암컷의 각 실험군(Group I)에 비하여 상승하였으나, 통계적으로 모두 유의성 있는 차이를 보이지 않았다. 신장의 독성 여부를 확인할 수 있는

Creatinine과 BUN 지표 중, Creatinine의 경우 수컷 실험군(Group III, IV)과 암컷 실험군(Group III)의 수치가 수컷과 암컷의 각 실험군(Group I)에 비하여 상승하였고, BUN의 경우 수컷 실험군(Group III, IV)의 수치가 수컷 대조군(Group I)에 비하여 상승하였으나, 통계적으로 모두 유의성 있는 차이를 보이지 않았다. 결과적으로, 초오 약침의 13주간 반복 시술은 혈액학적 지표의 유의성 있는 변화가 없었고 특히 장기적인 반복 독성과 연관성이 높은 간과 신장의 혈액생화학적 지표에 유의성 있는 변화가 없었으므로, 반복 독성에 대하여 안전성이 있었다고 판단할 수 있다.

부검하여 심장 및 간, 신장, 뇌, 폐, 비장, 흉선, 정소 또는 난소, 비복근을 적출하여 육안으로 관찰한 결과, 모든 실험군(Group II, III, IV)과 대조군(Group I)의 암·수 BALB/c mouse에서 특이할 만한 병적소견은 발견되지 않았다. 또한, 적출한 장기의 중량을 측정된 결과, 암컷 대조군(Group I)에 비해 실험군(Group II, IV)의 간 중량이 상승하였으나, 그 외의 장기들은 중량의 특별한 차이가 없었고, 모든 장기의 중량 변화는 통계적으로 유의성 있는 차이를 보이지 않았다.

마지막으로 H&E 염색을 통하여 간과 신장의 조직병리학적 변화를 확인하였다. 간 조직의 경우, 모든 실험군(Group II, III, IV)의 암·수 BALB/c mouse에서 간세포의 괴사 및 염증세포 침윤 또는 지방변성 등의 변화를 발견할 수 없었고, 대조군(Group I)과 비교하여 특이적인 변화는 발견되지 않았다. 신장 조직의 경우, 모든 실험군(Group II, III, IV)의 암·수 BALB/c mouse에서 조밀한 세포질과 함께 정상적인 사구체 및 곡세뇨관, 상피세포가 관찰되었고, 세뇨관의 팽창 및 표피의 박리, 세포사멸 등의 병리적인 변화를 발견할 수 없었으며, 대조군(Group I)과 비교하여 특이적인 변화는 발견되지 않았다. 결과적으로, 간과 신장의 조직병리학적 소견의 결과를 혈액생화학적인 지표의 결과와 종합하여 판단할 때 초오 약침은 장기적인 반복 독성과 연관성이 높은 간과 신장에 대하여 유해한 영향을 미치지 않았다고 판단할 수 있으며, 관찰한 모든 장기의 중량에 유의성 있는 변화가 없었으므로, 종합적으로 초오 약침의 13주간 반복 시술은 간과 신장을 포함한 모든 장기에 대하여 반복 독성에 관한 안전성이 있었다고 판단할 수 있다.

본 연구는 초오 약침의 장기적인 시술시 독성에 대한 안전성을 확인하고자 초오 약침액을 60 및 150, 300 mg/kg/day의 농도로 BALB/c mouse에 13주간 매일 반복 시술을 하여 사망률 및 독성으로 인하여 발생할 수 있는 일반적인 증상과 체중변화를 관찰하였고, 혈액학적 및 혈액생화학적 검사와 부검 후 주요 장기의 육안 검사 및 중량 측정, 간과 신장의 조직병리학적 검사를 확인하였다. 결과적으로 모든 농도에서 사망하지 않았고, 일반적인 증상과 체중

변화에서 유의한 변화를 일으키지 않았으며, 혈액학적 검사 및 혈액생화학적 검사상 유해한 효과가 없었고, 주요 장기에 병변 발생 및 증량변화에도 영향을 미치지 않았으며, 간과 신장 조직의 병리학적인 소견도 정상적인 세포 구조를 보여 초오 약침액의 독성에 대한 안전성을 확인할 수 있었던 바, 초오 약침액은 300 mg/kg/day 이하 농도에서의 장기간 반복 시술로 인한 유해성은 없을 것으로 사료된다.

다만, 본 연구는 BALB/c mouse라는 특정 실험동물에서의 결과이므로 실제 임상에 적용하기 위해서는 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다. 본 연구에서 안전성을 확인한 300 mg/kg/day에 해당하는 농도는 임상에서 인체에 경구 투여하는 초오의 일반적인 용량보다 수백배 이상의 고농도에 해당한다²⁴⁾. 이는 초오를 약침액으로 조제하는 과정에서 aconitine을 포함한 주요 성분의 화학적인 전환과정 또는 함유율의 차이가 발생하거나 초오 약침액의 약리기전이 초오의 경구 투여 기전과 상이하게 작용하여, 300 mg/kg/day 농도의 반복 독성에 대한 안전성이 확인되었을 것으로 추정된다. 향후, 초오 약침액의 지표성분에 대한 연구를 보완한 후 이에 대한 LC 또는 LC-MS 연구를 진행하여 초오 약침액의 균질성과 안정성을 높이는 연구가 필요할 것으로 사료되며, 이를 통하여 초오 약침액의 약리기전에 대한 연구를 후속적으로 진행하여 임상에서 실질적으로 적용 가능한 초오 약침액의 안전 용량에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결 론

본 연구는 초오 약침액의 독성 실험을 통해 장기적인 시술시 안전성을 연구하고자 선행연구¹⁹⁾의 결과를 참고하여 BALB/c mouse에서 초오 약침액을 60, 150, 300 mg/kg/day의 농도로 13주에 걸쳐 반복 시술 실험을 실시하여 사망률 및 독성으로 인하여 발생할 수 있는 일반적인 증상, 체중측정, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 주요 장기의 육안 검사 및 증량 측정, 조직병리학적 검사를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 사망률을 관찰한 결과, 60, 150, 300 mg/kg/day 농도의 모든 실험군에서 초오 약침의 시술에 의해 기인된 사망은 관찰되지 않았다.
2. 독성으로 인하여 발생할 수 있는 일반적인 증상을 관찰한 결과, 60, 150, 300 mg/kg/day 농도의 모든 실험군에서 초오 약침의 시술로 인한 독성 증상은 관찰되지 않았다.
3. 체중을 측정한 결과, 60, 150, 300 mg/kg/day 농도의 모든 실험군은 대조군과 비교하여 초오 약침의 시술로 인한 유의성 있는

체중 변화가 관찰되지 않았다.

4. 혈액학적 검사를 측정한 결과, 60, 150, 300 mg/kg/day 농도의 모든 실험군은 대조군과 비교하여 초오 약침의 시술로 인한 유의성 있는 차이를 보이지 않았다.

5. 혈액생화학적 검사를 측정한 결과, 60, 150, 300 mg/kg/day 농도의 모든 실험군은 대조군과 비교하여 초오 약침의 시술로 인한 유의성 있는 차이를 보이지 않았다.

6. 주요 장기의 육안적 소견과 증량변화를 측정한 결과, 60, 150, 300 mg/kg/day 농도의 모든 실험군은 대조군과 비교하여 초오 약침의 시술로 인한 주요장기에서의 특이한 병적 소견이 없었으며 유의성 있는 증량 변화도 관찰되지 않았다.

7. 간과 신장조직의 병리학적 변화를 관찰한 결과, 60, 150, 300 mg/kg/day 농도의 모든 실험군은 대조군과 비교하여 초오 약침의 시술로 인한 유의성 있는 변화가 나타나지 않았다.

본 연구 결과를 종합할 때, 초오 약침액은 300 mg/kg/day 이하 농도에서의 장기간 반복 시술로 인한 유해함은 없을 것으로 사료되며, 임상에 적용하기 위하여 향후 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

References

1. Lee DH. The study on Experimental Protocols for Safety Evaluation of Pediatric Drugs. Kyung Hee University Graduate School. 2009.
2. Jang IS, Yang CH, Lee SD. A Review of Herbal Medicinal Products Associated with Toxic Events in Korea. J. of Korean Med. 2007 ; 28(1) : 1-10.
3. Yang KR, Song SH. Effect of Snake Venom Toxin from Vipera Lebetina turanica on Breast Cancer Cells. J. of Acupuncture Res. 2009 ; 26(3) : 27-38.
4. Oh MJ, Song HS. Inhibitory Effect of Snake Venom on Colon Cancer Cell Growth Through Induction of Death Receptor Dependent Apoptosis. J. of Acupuncture Res. 2012 ; 29(1) : 25-35.
5. Lee BC, Song HS. Effect of Snake Venom on Cancer Growth through Induction of Apoptosis via Down Regulation of NF- κ B and STAT3 in the PA-1, Ovarian Cancer Cells. J. of Acupuncture Res. 2012 ; 29(1) : 37-45.
6. Kim DH, Kim HW, Lee GH, Lee GM. Effect of Scolopendrid

- Pharmacupuncture Therapy on Frozen Shoulder Patients. *J. of Acupuncture Res.* 2009 ; 26(1) : 1-14.
7. Kwak KI, Kang JH, Yoon KS, Cho E, Lee H. The Effect of Scolopendrid Pharmacupuncture on Postauricular Pain as an Early Symptom of Bells's Palsy. *J. of Acupuncture Res.* 2012 ; 29(5) : 51-9.
 8. Ku JY, Lee KH, Cho SW, Lee SC, Youn HM, Jang KJ, et al. Comparison of the Effects between Sweet Bee Venom Pharmacupuncture and Scolopendrid Pharmacupuncture on Carpal Tunnel Syndrome (Randomized, Controlled Clinical Trial). *J. of Pharmacupuncture.* 2010 ; 13(4) : 75-89.
 9. Lee YH, Kim CW, Lee KH. A Case Report of Patients with Calcific Tendinitis Located at Supraspinatus Treated by Oriental Therapy Including Sweet Bee Venom. *J. of Acupuncture Res.* 2012 ; 29(2) : 89-97.
 10. Han KW, Kim ES, Woo JH, Lee SJ, Lee JS, Nam JH, et al. Clinical Observation on 119 Patients with Lumbar Spinal Stenosis Treated with Bee Venom Pharmacupuncture Therapy. *J. of Acupuncture Res.* 2011 ; 28(3) : 21-31.
 11. An BJ, Kim KT, Kang MS, Song HS. Effect of Bee Venom-acupuncture on Patients with Osteoarthritis of Knee Joint. *J. of Acupuncture Res.* 2009 ; 23(4) : 15-20.
 12. Shin MK. Clinical traditional herbalogy. Seoul. youngrimsa. 1997 : 302-4.
 13. Kim SC, Kim YS, Ha YR, Kim HJ. An Outbreak of Caowu-intoxication after Drinking Home-brewed Alcohol . *J. of the Kor Soc. of Emergency Med.* 2008 ; 19(3) : 339-45.
 14. Hyun SC, Kim SR, Park SM, Lee H, Kim KD, Song WS. Case of Ventricular Tachycardia after Caowu-Ingestion. *J. of the Kor Soc. of Emergency Med.* 1997 ; 8(3) : 434-40.
 15. Kim SC, Ahn SH, Kim SH, Lee SK, Song BK. The Study on toxicity and biological activities of Aconiti ciliare tuber Pharmacupuncture in Rats. *J. of Pharmacupuncture.* 2011 ; 14(1) : 25-34.
 16. Jeong HR, Son BW, Kim GC, Shin SS, Hwang WD. Single Oral Dose Toxicity Study and Aconitine Content Analysis of Raw Aconiti Tuber and Sambu-tang. *Kor J. Orient. Int. Med.* 2016 ; 37(3) : 427-44.
 17. Kim YK, Lee JH, Song KY, Park SK, Kim CS. Studies on the Liver Toxicities with different Dosage of Wild Aconiti Tuber Decoction . *Herbal Formula Science.* 2005 ; 13(1) : 123-43.
 18. Bang SP, Ryu MS, Kim JH, Wei TS, Yun DH, Yun YC et al. Effects of Rad III Aconiti Herbal Acupuncture Injected at Hwando(GB30) on Neuropathic Pain in Rats. *J. of Acupuncture Res.* 2009 ; 26(6) : 67-76.
 19. Lee HS, Lee YK, Lee BH, Kim JS, Lim SC, Lee HJ. An Experimental Study on Single-dose and 4 Weeks Repeated-dose Toxicity of Aconitum ciliare Decaisne Pharmacupuncture. *Kor J. of Acupuncture.* 2017 ; 34(4) : 241-50.
 20. Korean Acupuncture and Moxibustion Medicine Society Textbook Compilation Committee. *Acupuncture(sang).* Paju : Jibmoondang. 2008 : 63-5.
 21. Youn SM, Lim JK. Acute and Subacute Toxicity Study of Artemisia asistica Nakai Aqua-acupuncture Solution in Mice. *J. of Acupuncture Res.* 2000 ; 17(1) : 143-51.
 22. Jung SY, Kim GY, Kim BH, Jo YB. Toxicology. Seoul. Donghwa Technology. 2000 : 15-21. 118-94.
 23. KO YS, Yun SH, Kim MK, Sonh YS, Shin BC. Literatural Study on Toxicity of Herbs used in <Bangyakhappyeon> . *Kor J. of Oriental Physiology & Pathology.* 2005 ; 19(5) : 1120-8.
 24. Lee JM, Jang WS, Seo BI. A philological study on poisoning of Aconiti radix. *The J. of Applied Oriental Medicine.* 2009 ; 9(1) : 23-41.