

艾葉 藥鍼液의 急性·亞急性 毒性에 관한 研究

윤성묵·임종국*

ABSTRACT

Acute and Subacute Toxicity Study of *Artemisia asistica Nakai* Aqua-acupuncture Solution in Mice

Seong-Muk, Youn · Jong-Kook, Lim*

* Department of AM-Pointology, College of Oriental Medicine,
Dongguk University

Acute and subacute toxicity of *Artemisia asistica Nakai* Aqua-acupuncture Solution (ANAS) were studied in ICR mice. In acute toxicity test, mice were injected intraperitoneally with single dose of 1×, 5×, 10× ANAS, and toxicological responses were observed for consecutive 14 days. Mortality, body weight changes, organ weight, and serum chemistry were performed. The mortality and body weight changes of mice treated with 1× and 5× ANAS were not affected during the experimental periods. With the 10× ANAS treatment, there were dead animals and changes of body weight, organ weight and serum biochemical values were observed during the experimental period. In subacute toxicity test, mice were injected intraperitoneally with doses of 1×, 10× ANAS for 14 days. No difference was found between control and 1×ANAS treated group in mortality, changes of body weight and organ weight, and serum biochemical values. However, Dead animals, changes of body weight and organ weight, and increased serum biochemical values were observed with 10× ANAS treated groups. These results suggest that 1 × ANAS causes no toxicity in acute and subacute toxicity tests. However 10× ANAS causes toxicity in both tests.

Key word ; *Artemisia asistica Nakai* Aqua-acupuncture Solution (ANAS), acute toxicity, subacute toxicity

* 동국대학교 한의과대학 경혈학교실

I. 서론

애엽 (*Artemisia asistica Nakai*)은 엉거시과에 속하는 다년생초본으로 사재발췌의 엽으로서¹⁾ 본

초강목에 수록된 이후로 주치와 효능에 있어서 귀경은 간·신·비경에 작용하고 성온무독하며 고유의 특성으로 용저, 정창종독, 토혈, 비출혈, 개창, 봉혈, 면창, 종통, 각혈, 피부습진소양, 복냉

통, 요통하혈, 열종, 창질등의 지혈, 해열, 진통, 소염, 조정, 강장에 관여한다고 하였고³⁻⁵⁾, 유등⁶⁻⁸⁾은 애엽의 유방암, 폐암, 위암, 자궁암, 장암, 이선암, 식도암등에 대하여 보고한바 있다.

한편, 약침요법은 본초학적으로 유효한 약물이거나 처방을 선택하여 증류 또는 알코올 추출등의 방법을 이용하여 주사액으로 만들어 경락학적으로 유효한 경혈이나 아시혈 또는 피부 양성반응점에 주입함으로써 생리기능을 강화시키고 병리적인 상태를 개선시키는 신침요법의 일종으로 수침료법, 혈위약물주사요법이라고도 한다⁹⁻¹¹⁾.

따라서 쑥 약침액을 만들어 이것의 임상적인 이용가치를 높이고자 본 연구를 착수하게 되었으며 쑥의 약리학적 작용과 임상적 측면에 대한 다수의 정보가 있으나 그의 안전성과 독성에 대한 지식은 극히 미흡한 실정이다. 이에 본 연구에서는 쑥 약침액의 용량에 따른 독성을 실험적으로 증명 이해하고자 식품의약품안전본부 고시 (1998. 12. 3 제정)의 '의약품 독성시험기준' 제 98-116호¹²⁾에 준하여 마우스에 복강으로 단회투여하여 급성독성을 관찰하였고, 2주간 복강에 연속투여하여 아급성 독성을 평가하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험동물

6주령의 수컷 ICR 마우스를 대한실험동물센터로부터 구입하여 일주일간 안정화시켰다. 안정화 기간 중 임상증상을 관찰하여 건강한 동물을 선정하여 체중범위에 따른 무작위법에 의해 군분리를 실시한 후 본실험에 사용하였으며 일정한 사육 환경 조건을 유지하였다.

2. 시료제조 및 투여

약침액은 수제 알콜침법¹³⁾에 의하여 조제하였다. 쑥 30 g을 조말하여 증류수 400 ml을 가한 뒤 rotary evaporator (BUCHI RE121, Switzerland)

에서 3시간 전탕하여 추출하고 여과한 후 4℃, 2,500 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액 200 ml을 감압농축하였다. 이 농축된 용액에 99.9% ethanol로 가하여 75%, 85%, 95%의 ethanol 용액이 되게 하여 침전물을 여별하고, pH 7.4로 적정한 후 저온에서 24시간 방치하여 membrane filter (0.22 μm, Whatman, Germany)로 여과하였고, 3차 증류수를 가하여 200 ml이 되게 하여 1×의 약침액으로 사용하였다. 10×, 5× 약침액은 1×의 약침액을 감압농축하여 사용하였다.

1) 급성독성시험

6주령 마우스에 대한 급성독성을 평가하기 위하여 시험물질을 무처리한 대조군, 1×, 5×, 10×의 농도로 실험군을 선정하여 이를 1회 복강주사하여 14일동안 관찰하였다.

2) 아급성독성시험

쑥 약침액에 대한 아급성독성을 평가하기 위하여 대조군, 1×, 10×의 실험군의 농도로 선정하여 이를 2주간 연속투여하여 관찰하였다.

3. 관찰 및 검사항목

1) 일반증상 및 사망동물의 관찰

쑥 약침액을 복강투여한 후의 임상증상 관찰은 투여후 1시간에서 3시간까지는 매시간 그리고 매일 3회 이상씩 일정시간에 관찰하여 14일 동안 일반 상태의 변화, 중독증상 발현, 사망동물의 유무 및 시험물질 투여 후 시험물질에 의해 나타날 가능성이 있는 증상에 대하여 주의하여 관찰하였다.

2) 체중측정

독성시험에 사용된 모든 시험동물의 체중은 시험기간 중 3일 간격으로 일정시간에 측정하여 기록하였다.

3) 부검

독성시험에서 사망한 경우에는 즉시 부검 실시

하여 육안검사를 실시하였고 장기의 무게도 측정하였다. 또한 모든 시험의 생존한 동물에 대해서는 썩 약침액 투여 개시일로부터 14일후에 부검을 실시하였다. 부검전에 체중을 측정하고 에테르 마취하에 방혈치사시킨 후 육안적으로 모든 장기를 검사하였다.

4) 장기적출 및 장기증량

모든 시험군에 대하여 12시간 이상 절식 시킨 후 혈액을 안와정맥총 부위로 채혈하여 1~2시간 동안 4℃에 방치하고 3000 rpm, 20분간 원심분리하여 혈청을 분리한 후 방혈치사하여 신장 (kidney), 간장 (liver), 비장 (spleen), 심장 (heart), 흉선 (thymus), 폐 (lung), 췌장 (pancreas)을 적출¹⁴⁻¹⁶⁾하였고 전 실험동물에 대하여 적출한 장기의 중량을 측정하여 체중에 대한 상대장기증량으로 산출¹⁷⁾하였다.

5) 혈청생화학적 검사

혈액을 안와정맥총 부위로 채혈하여 얻은 혈청으로 혈청생화학적 검사를 실시하였다.

Glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) 및 glutamic pyruvate transaminase (GPT)의 활성도는 Reitman-Franke법¹⁸⁾에 의하여 측정하였고, lactate dehydrogenase (LDH)의 활성도는 효소법¹⁹⁾ (젯산기질법)에 의하여 측정하였으며, 또한 혈청 중 alkaline phosphatase (ALP-s)의 활성도는 Kind-king법²⁰⁾에 의하여 측정하였다.

III. 결과

1. 급성독성시험

1) 일반증상 및 치사율

썩 약침액 1×, 5×, 10×를 마우스에 단회 복강 투여하여 임상증상과 치사율을 14일간 관찰한 결과 1×, 5×의 경우, 대조군에 비하여 썩 약침액에 의한 특이한 증상을 관찰할수 없었고 전 실험기간 동안 사망한 동물도 없었다. 그러나 10×의 경우, 시험물질을 투여한후 전 동물에서 운동성 저하현상 및 줄음등의 증상을 관찰할 수 있었으며 치사율은 20%로 나타났다 (Table I).

2) 체중변화

1×, 5× 실험군에 있어서 대조군에 비해 유의성있는 체중변화는 나타나지 않았으며, 10×의 실험군에서는 28.8±1.0으로 시험물질 투여전의 체중에 비해 17.9%의 증가를 보였다 (Table II).

3) 부검소견

부검소견은 1×의 경우 대조군에 비해 유의성있는 차이를 관찰할 수 없었으며, 5×의 썩 약침액을 투여한 마우스에서는 비장의 확장, 심장의 축소 및 간경화의 증상을 볼수 있었으며, 10×의 경우, 상기 증상외에 모든 장기의 유착, 혈관파열, 장기의 부종의 증상을 볼 수 있었다.

Table I. Mortality of mice treated intraperitoneally with ANAS in acute toxicity test

Dose	Days after treatment															Final mortality
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
1×	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
5×	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
10×	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20%

Table II. Body weight of mice treated with ANAS in acute toxicity test

Dose	weight (g)		
	0 day	14 days	Increase of body weight (%)
0	27.0±1.0	29.6±0.9	8.8
1×	27.6±1.1	31.2±1.6	11.5
5×	27.6±1.1	30.2±1.5	8.6
10×	23.6±2.2	28.8±1.0	17.9

Values represent mean±standard deviation (SD) of nine mice.

Table III. Absolute and relative organ weights in mice treated intraperitoneally with ANAS in acute toxicity test

Organ Item	Dose				
		0	1×	5×	10×
Heart	A.W*	0.15±0.01	0.17±0.02	0.13±0.15	0.11±0.02
	R.W**	0.52±0.03	0.54±0.05	0.44±0.05	0.38±0.06
Liver	A.W	2.33±0.14	2.45±0.21	1.86±0.25	1.55±0.52
	R.W	7.85±0.48	7.86±0.66	6.15±0.83	5.40±1.80
Spleen	A.W	0.12±0.02	0.13±0.02	0.39±0.44	0.22±0.15
	R.W	0.41±0.08	0.41±0.08	1.31±1.46	0.75±0.51
Kidney (right)	A.W	0.39±0.04	0.41±0.05	0.32±0.05	0.27±0.08
	R.W	1.32±0.12	1.31±0.18	1.07±0.17	0.95±0.27
(left)	A.W	0.36±0.04	0.34±0.04	0.34±0.16	0.28±0.08
	R.W	1.23±0.14	1.08±0.14	0.90±0.52	0.97±0.29
Thymus	A.W	0.07±0.01	0.08±0.01	0.10±0.02	0.07±0.02
	R.W	0.26±0.03	0.26±0.04	0.32±0.06	0.24±0.08
Pancreas	A.W	0.29±0.04	0.30±0.04	0.21±0.03	0.17±0.02
	R.W	1.00±0.13	0.95±0.12	0.70±0.11	0.59±0.07
Lung	A.W	0.21±0.04	0.23±0.02	0.19±0.05	0.17±0.01
	R.W	0.72±0.12	0.73±0.07	0.62±0.05	0.60±0.03

* A.W : absolute organ weight (g).

** R.W : relative organ weight (%); (organ weight/body weight)×100.

Values are mean ± standard deviation (SD).

4) 장기중량

절대장기중량의 변화에서 1×의 쑥 약침액을 투여한 실험군으로부터는 대조군에 비해 유의한 변화가 관찰되지 않았다. 5×의 경우에서는 비장의 중량이 0.39±0.44로 대조군의 비장중량인 0.12±0.02 보다 31%정도 증가하였다. 간의 경우, 5×, 10×의 약침액의 투여시 1.86±0.25, 1.55±0.52로 대조군의 2.33±0.14 보다 각각 21%, 33% 감소하였고, 심장은 대조군보다 5×의 농도에서는 0.13±0.02, 10×농도에서는 0.11±0.02의 중량을 나타냄으로써 24%, 30% 감소하였다.

특히, 10× 실험군에서 비장의 증가와 신장, 간의 무게감소는 체중 증가율을 감안했을 때 현저한 것으로 시험물질인 쑥 약침액에 의한 것으로 추정된다 (Table III).

5) 혈청생화학적 검사

Table IV의 결과에서와 같이 1×의 쑥 약침액을 투여한 실험군의 GOT, GPT, ALP-s, LDH의 활성은 대조군과 비교했을 때 유의한 차이가 없었으며, 5×, 10×의 실험군에서는 대조군의 활성치와 상당히 많은 차이를 나타내었다. GOT 활성은 대조군에서 66.0±11.55 나타낸 것에 비해 5

×, 10×에서는 117.0±7.07, 141.3±18.03의 활성치가 나타나 44%, 53% 증가하였으며, GPT 활성에서 또한 69.0±8.94, 96.3±3.53로 대조군의 활성치인 53.0±19.24에 비해 각각 23%, 45% 증가하였다. LDH 활성치는 대조군의 1639.6±0.03에 비해 5×, 10×에서 2587.5±0.03, 3343.8±0.04로 36.6%, 50.1%증가하였으며, ALP-s의 경우, 5×, 10×의 농도의 약침액에서 17.3±0.02, 30.6±0.02의 활성이 나타나서 대조군의 활성치인 13.4±0.01보다 23%, 56% 증가하였다. 따라서 쑥 약침액의 단회투여 했을 때 간세포, 골세포, 심폐기관 등의 장기에 5×, 10×의 쑥 약침액의 유해작용을 알 수 있었다.

2. 아급성독성시험

1) 일반증상 및 치사율

1×의 경우 대조군에 비해 별다른 증상이 관찰되지 않았으나, 10×의 경우, 매일 1회씩 시험물질 투여직후에는 운동성 저하, 웅크림 및 졸음, 호흡수의 감소의 임상증상이 관찰되었으며, 실험기간이 지남에 따라서 이러한 증상의 회복시간이 길어짐이 나타났다. 또한 10×의 실험군에서는 50%의 치사율의 결과가 나타났다 (Table V).

Table IV. Serum biochemical values of mice treated intraperitoneally with ANAS in acute toxicity test

Dose	GOT (Karman unit)	GPT (Karman unit)	LDH (Wroblewski unit)	ALP-s (K-A unit)
0	66.0±11.55	53.0±7.07	1639.6±0.03	13.37±0.01
1×	66.0±2.00	54.0±3.54	1941.7±0.03	14.71±0.01
5×	117.0±7.07	69.0±8.94	2587.5±0.03	17.27±0.02
10×	141.0±18.03	96.3±3.53	3343.8±0.04	30.58±0.02

Each value represents the mean ± standard deviation (SD).

Table V. Mortality of mice treated intraperitoneally with ANAS for 2 weeks in subacute toxicity test

Dose	Days after treatment														Final mortality	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		14
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
1×	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
10×	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	50%

Table VI. Body weight in mice treated with ANAS in subacute toxicity test

Dose	weight (g)		
	0 day	14 days	Increase of body weight (%)
0	33.3±2.7	38.7±2.0	14.1
1×	29.4±0.7	34.0±1.2	13.3
10×	27.4±1.7	27.8±0.8	1.6

Values represent mean ± standard deviation (SD).

Table VII. Absolute and relative organ weights in mice treated intraperitoneally with ANAS in subacute toxicity test

Organ Item	Dose	Dose		
		0	1×	10×
Heart	A.W*	0.17±0.02	0.15±0.01	0.11±0.01
	R.W**	0.44±0.05	0.49±0.04	0.53±0.04
Liver	A.W	1.69±0.16	1.61±0.06	1.34±0.09
	R.W	4.36±0.42	5.46±0.60	6.44±0.11
Spleen	A.W	0.08±0.01	0.09±0.02	0.20±0.07
	R.W	0.19±0.02	0.38±0.05	0.94±0.33
Kidney (right)	A.W	0.37±0.04	0.38±0.05	0.21±0.01
	R.W	0.96±0.10	0.92±0.09	0.99±0.05
(left)	A.W	0.35±0.04	0.34±0.06	0.21±0.01
	R.W	0.91±0.11	0.90±0.07	0.99±0.05
Thymus	A.W	0.05±0.01	0.07±0.02	0.06±0.01
	R.W	0.13±0.01	0.16±0.01	0.27±0.03
Pancreas	A.W	0.20±0.01	0.19±0.03	0.19±0.02
	R.W	0.51±0.03	0.61±0.08	0.90±0.11
Lung	A.W	0.17±0.01	0.19±0.02	0.15±0.01
	R.W	0.45±0.02	0.61±0.05	0.69±0.05

* A.W : absolute organ weight (g).

** R.W : relative organ weight (%); (organ weight/body weight)×100.

Value are mean ± standard deviation (SD).

2) 체중변화

1×의 경우, 대조군에 비해 유의성있는 변화가 나타나지 않았으며 10×의 경우 27.8±0.8로써 14 일동안 일정하게 체중이 증가한 대조군에 비해 체중증가율이 억제되는 현상을 보였다 (Table VI).

3) 부검소견

부검소견은 1×의 경우 대조군에 비해 특이한 육안적 차이를 관찰할 수 없었으며 10×의 속 약침액을 투여한 마우스에서는 비장과 췌장의 부종, 심장의 축소 및 간경화의 증상을 볼 수 있었으며 모든 장기의 유착, 혈관과열등의 증상을 관찰할 수 있었다.

4) 장기증량

절대장기증량의 변화에서 1×의 속 약침액을 투여한 실험군에서는 대조군에 비해 유의한 변화가 관찰되지 않았다. 10×의 경우, 비장의 증량이 0.19±0.07로 대조군의 비장 증량인 0.08±0.01 보다 41% 정도 증가하였다. 간의 경우, 1.34±0.09로 대조군의 1.69±0.16보다 21% 감소하였고, 심장은 대조군보다 10×농도에서는 0.11±0.01의 증량을 나타냄으로써 35% 감소하였다.

특히, 10× 실험군에서 비장의 증가와 심장, 간의 무게감소는 체중 증가율의 억제를 감안했을 때 현저한 것으로 시험물질인 속 약침액에 의한 것으로 추정된다 (Table VII).

Table VIII. Serum biochemical values of mice treated intraperitoneally with ANAS in subacute toxicity test

Dose	GOT (Karman unit)	GPT (Karman unit)	LDH (Wroblewski unit)	ALP-s (K-A unit)
0	224.0±2.5	96.7±3.1	1741.6±71.2	15.4±8.4
1×	216.7±7.1	96.0±3.2	1633.9±68.3	15.3±8.7
10×	252.0±4.4	115.0±2.1	2288.7±44.7	21.3±2.0

Value are mean ± standard deviation (SD).

5) 혈청생화학적 검사

Table VIII의 결과에서와 같이 속 약침액을 처리하지 않은 대조군에 비해 1×의 속 약침액을 사용하였을 경우, GOT · GPT · ALP-s 활성에 있어서 유의한 차이는 나타나지 않았다. 10×의 속 약침액을 처리한 실험군에서는 GOT 활성이 224.0±2.51인 대조군보다 252.0±4.33의 10×의 약침액의 경우 11% 증가했으며 GPT 활성은 실험군이 대조군에 비해 각각 16% 증가하였다. ALP-s는 15.4±8.37인 대조군에 비해서 10×의 21.3±2.03의 활성치로 28%의 증가를 보였다. LDH의 경우 10×의 속 약침액에서 2288.7±44.68로 1741.6±71.18의 대조군보다 24%의 증가를 보임으로써 반복된 감초 약침액의 투여가 간세포, 골세포, 심폐기관등의 장기에 과용량인 10×의 속 약침액의 유해작용을 알수 있었다.

IV. 고찰

속 약침액의 투여와 관련된 변화를 관찰한 결과, 전 시험기간을 통해 단회투여 및 2주 반복복강투여 한후 14일 동안 일반증상, 치사율, 체중변화, 부검소견, 장기증량변화, 혈청생화학적 분석등의 각종 지표에 의한 안전성을 평가했을 때 1× 실험군에서는 대조군에 비해 유의한 변화를 관찰할 수 없었으며 10×속 약침액 투여 후 관찰된 체중의 감소, 혈청생화학적 수치의 유의한 변화는 과용량의 시험물질에 의한 영향으로 생각된다.

한편, 10×의 속 약침액을 투여한 실험군에서 활동력 저하, 호흡수 감소 및 줄음등의 임상증상이 관찰되었는데 이는 중추신경계 억압에 의한 증상으로 보고²¹⁾ 되어 있다.

또한 혈액내 혈청을 분리하여 간세포 이상의 지표로 사용하고 있는 GOT, GPT를 측정하였고 혈청 중의 total enzyme을 측정하여 LDH의 활성치를 계산, 이것을 심폐질환, 혈액질환, 간질환의 유무를 알아내는 지표로 사용하였으며 간염, 간경변, 골질환의 유무를 알아내는 지표로 사용하는 ALP-s를 측정하였다. 농도에 따른 쑥 약침액의 영향을 알아본 결과 쑥 약침액을 대조군에 비하여 단회투여, 2주간 반복투여시 1×의 농도에서는 대조군에 비해 유의한 차이를 나타내지 않았으나 단회투여한 5×, 10×의 농도와 2주간 복강에 반복투여한 10×의 실험군에서는 상당히 유의한 차이를 나타냄으로써 쑥 약침액의 과용량의 투여는 마우스의 간세포, 골세포, 심폐기관등에 유해작용을 일으킬수 있음을 알 수 있었다.

본 실험을 통해 1×의 쑥 약침액의 용량은 급성·아급성 독성시험 결과 무해한 용량으로 판단되며, 5×이하의 용량군을 세밀히 나누어 검토할 필요가 있다고 판단된다.

V. 참고 문헌

1. 申佶求. 申氏本草學, 서울 : 壽文社, 1973 : 603-607.
2. 李時珍. 本草綱目. 人民衛生出版社, 1982 : 935-941.
3. 康秉秀. 臨床配合本草學. 永林社, 1988 : 433.
4. 許 浚. 東醫寶鑑. 大星文化社, 1981 : 252, 729.
5. 徐靈胎. 徐靈胎醫書. 參拾蔘種, 法人文化社, 1985 : 1710.
6. 劉春安. 抗癌中草藥大辭典. 湖北科學技術出版社, 1994 : 254-259.
7. 張民床. 抗腫瘤中藥的臨床應用. 人民衛生出版社, 1998 : 429-430.
8. 潘敏求. 中華腫瘤治療大成. 河北科學技術出版社, 1996 : 195-196.
9. 金廷彦. 奇蹟의 藥鍼療法, 서울 : 金剛出版社, 1987 : 53-106.
10. 南相千. 經絡, 서울 : 世明文化社, 1993 : 445-456.
11. 南相千. 經絡原論, 서울 : 實踐醫學社, 1994 : 19-39.
12. 식품의약품안전본부 고시 (1998. 12. 3 제정) 의 '의약품 독성시험기준' 제 98-116호
13. 박신화, 권기록, 이준무, 소시호탕가청피 약침이 CCl₄로 중독된 Rat에 미치는 영향. 대한 침구학회지 1995 ; 12 : 149-161.
14. 오승만, 남혜윤, 김준수, 연제덕, 랫드에서 신우황 청심원의 급성 및 아급성독성실험. J. Toxicol. Pub. Health. 1998 ; 14(2) : 237-248.
15. Ma JY, Seung HJ and Joo HJ, Acute toxicity study on *Coptidis Rhizoma* in mice. J. Toxicol. Pub. Health. 1999 ; 15(1) : 103-107.
16. 박창원, 김준규, 이윤숙, 김정구, 김길수, 조대현, 홍삼 사포닌의 주사제 개발을 위한 아급성독성시험 연구. J. Toxicol. Pub. Health. 1998 ; 14(1) : 77-82.
17. 이현숙, 강부현, 손화영, 김희연, 조영채, 노정구, 2-bromopropane의 수컷 랫트를 이용한 4주간 반복경구투여 아급성독성시험. J. Toxicol. Pub. Health. 1998 ; 14(2) : 129-141.
18. Reitman, S. and Frankel, S., A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Am. J. Clin. Pathol. 1956 ; 28 : 56-63.
19. Imayasa, M. and Moriyama, T., A quantitative method for LDH, MDH, albumin levels Draiza criteria in rabbit eyes. J. CLAO. 1992 ; 18(4) : 260-266.
20. Kind PR and King EJ, Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino-antipyrine. J. Clin. Path. 1954 ; 7 : 322-326.
21. Ichihira G., Asaeda N., Kumazawa T.,

Reproductive and hematopoietic toxicity of
2-bromopropane. *Soc. Toxicol.* 1997 ;
36(1) : 357.