

ICR 마우스를 이용한 팔물탕 및 발효팔물탕의 급성독성 연구

정기연·황윤환·장두례·하정호·마진열*

한국한의학연구원 한의신약연구그룹

A Study on the Acute Toxicity of Palmultang and Fermented Palmultang Extract in ICR Mice

Kiyoun Jung, Youn-Hwan Hwang, Doorye Jang, Jeong-Ho Ha, Jin Yeul Ma*

KM-Based Herbal Drug Research Group, Korea Institute of Oriental Medicine

Abstract

Objectives : This study was carried out to investigate the acute toxicity and safety of Palmultang and Fermented Palmultang Extract in Mice.

Methods : To evaluate their acute toxicity and safety, 0 (control group), 2000 mg/kg of Palmultang and Fermented Palmultang Extracts were orally administered to 15 male and 15 female ICR mice. After a single administration, we observed survival rates, behavioral pattern, clinical sign, body weight. The results of biochemical analysis and hematological analysis were no any significant change.

Results : Compared with the control group, we could not find any toxic alteration in all treated mice.

Conclusions : Overall, the results suggest that, the oral administration of Palmultang and Fermented Palmultang extracts did not produce significant toxic effect in mice. Hence, the fermented extract can be utilized for herbal therapy.

Key words : Palmultang, Acute toxicity, Fermentation, Safety, LD₅₀

· 접수: 2012년 12월 20일 · 수정접수: 2013년 4월 12일 · 채택: 2013년 4월 22일

* 교신저자: 마진열, 한국한의학연구원 한의신약연구그룹

전화: 042-868-9466, 팩스: 042-828-9573, 전자우편: jyuma@kiom.re.kr

I. 서론

약 700여년 전 원대(元代)에 사도목소(沙圖穆蘇)가 지은 서죽방경험방(瑞竹當經驗方; 1326년 발간)에서 처음으로 수록되어 있는 팔물탕(팔진탕:八珍湯)은 기허증(氣虛症)에 사용하는 사군자탕(四君子湯)의 인삼(人蔘), 백출(白朮), 복령(茯苓), 감초(甘草)에 혈허증(血虛症)에 사용하는 사물탕(四物湯)의 숙지황(熟地黃), 당귀(當歸), 천궁(川芎), 작약(芍藥)을 합한 처방이다¹⁾. 팔물탕의 용량 구성은 명나라와 청나라대에 다소 차이가 있으나 우리나라에 용량의 차이는 거의 없이 그대로 전해 내려져왔다²⁾. 팔물탕은 보혈(補血)과 보기(補氣)의 작용이 있어 식욕부진(食慾不振), 빈혈증(貧血症)을 수반한 전신쇠약증(全身衰弱症)이나 불임증(不妊症), 사지번동(四肢煩疼) 치료에 쓰인다. 오늘날 팔물탕은 일반적인 탕제뿐만 아니라 표준화된 단미혼합엑스제로도 널리 쓰이고 있다³⁾.

팔물탕은 *in vivo* 및 *in vitro* 모델을 이용한 연구로부터 항암작용^{4, 5)} 및 면역기능의 활성화^{6, 7)} 작용이 있음이 밝혀졌다. 그 외에도 피로회복⁸⁾, 항알러지⁹⁾, 생식세포의 증가¹⁰⁾ 등 여러 가지 약리효과가 보고되어 있다.

최근 한약내 활성성분의 증가 혹은 약리적 효능의 증대, 풍미의 개선, 체내흡수 증대를 목적으로 장내세균을 이용한 발효한약의 개발이 활발하다. 유산균으로 발효된 방풍통성산의 경우 항알러지, 항균, 항산화 활성의 증가가 확인되었다¹¹⁾. 팔물탕의 구성처방인 사물탕의 경우 발효 후 생물전환성분이 변화하는데¹²⁾ 이는 발효팔물탕의 안전성 평가가 필요함을 시사한다. 팔물탕의 안전성 검증을 위하여 급성 단회투여 및 4주 반복투여독성에 대한 연구가 보고되어 있으나^{13, 14)} 발효팔물탕의 안전성에 대한 연구는 전무하다. 이에 본 실험은 팔물탕과 발효팔물탕을 실험동물에 단회경구 투여하여, 팔물탕 및 발효팔물탕의 독성을 질적 및 양적으로 평가하였다.

II. 실험방법

1. 시험물질

실험에 사용한 팔물탕의 한약재 구성은 Table 1에 요약하였다. 한약재는 영천약업사(영천, 한국)에서 구입한 후 전문가(충남대학교, 배기환)의 감별 후에 사용하였다. 경서추출기(한국, cos-mos-660)를 이용하여 3시간의 전탕추출법에 의하여 시험물질을 추출하였으며, 추출한 시험

Table 1. The composition of Palmultang

Herb	Crude component	Scientific Name	Dose (g)
人蔘	Ginseng Radix Alba	<i>Panax ginseng</i>	4.8
白朮	Atractylodis Rhizoma	<i>Atractylodes japonica</i>	4.8
白茯苓	Hoelen	<i>Poria cocos</i>	4.8
甘草	Glycyrrhizae Radix	<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	4.8
熟地黃	Rehmanniae Radix Preparata	<i>Rehmannia glutinosa</i>	4.8
白芍藥	Paeoniae Radix	<i>Paeonia obovata</i>	4.8
川芎	Cnidii Rhizoma	<i>Cnidium officinale</i>	4.8
當歸	Angelica Gigantis Radix	<i>Angelica gigas</i>	4.8
Total weight			38.4

물질은 동결건조기(한국, 일신 FD5512)를 사용하여 분말 형태로 조제하였다. 시험물질의 발효는 한국식품연구원(Korea Food Research Institute: KFRI) 식품미생물 유전자은행에서 분양받은 *Lactobacillus acidophilus*을 1%(v/v)로 접종한 후, 37°C 항온에서 48시간동안 통기배양으로 액체 발효를 실시한 후 동결건조기(한국, 일신 FD5512)를 사용하여 분말형태로 조제하였다.

2. 실험동물 및 사육환경

4주령의 암, 수 ICR마우스를 (주)샘타코로부터 구입하여 한국한의학연구원 동물실험실에서 1주일간 순화를 거쳐 일반증상에 이상이 없음을 확인한 건강한 동물을 실험에 사용하였다. 암, 수 15마리씩 선정하여 polycarbonate cage에 5마리씩 수용하고, 실험동물용 고품사료(PMI nutrition, USA)와 음수를 자유롭게 공급하였다. 본 실험은 실험동물윤리위원회의 심의를 거쳤으며, 사육실험실 환경은 온도 23±3°C, 상대습도 50±10%, 환기 횟수는 시간당 12-16회, 조명시간 12시간 명암주기(점등 7:00, 소등 19:00), 조도 150-300Lx로 조절하였다. 본 실험은 한국한의학연구원 실험동물윤리위원회의 심의를 거쳐 실시하였다.

3. 실험군 및 약제투여

식품의약품안전청 고시 및 OECD의 시험 지침에 따라 경구투여 상한용량인 2000 mg/kg을 기준으로 대조군과 팔물탕, 발효팔물탕 투여군을 암, 수 각각 3개의 군(n=5)으로 실험하였다^{15, 16)}. 본 연구에서는 대조군 및 팔물탕과 비교하여 발효팔물탕의 투여로 인한 급성독성 여부를 확인하고자 임상증상, 체중 및 체중대비 장기무게, 혈액학 및 혈액생화학적 수치 등을 비교하였다. 투여경로는 팔물탕의 임상적용경로에 따라 경구투여법을 사용하였으며, 한약제는 투여

전 3차 증류수에 용해시켜 시험에 사용하였다. 동물을 6시간 절식시킨 후 일회용 플라스틱제 존데(Fuchigami Kikai Co., Kyoto, Japan)를 이용하여 강제 경구투여 하였다.

4. 임상증상 및 부검

임상증상은 투여 직후부터 6시간동안 매시간 관찰하였으며, 그 후 14일간 1일 1회 일반증상 관찰법에 의하여 관찰하였다. 모든 동물에 대하여 투여 전 후, 1, 3, 7, 14일에 체중을 측정하였다. 동물을 희생시키기 전날 밤 절식시킨 후 다음날 아침에 Avertin(2,2,2-tribromoethanol, Aldrich, Milwaukee, WI, USA)으로 마취하여 복대정맥에서 채혈 후 방혈을 실시하여 안락사시킨 후 부검하였다.

5. 혈액생화학 검사

채혈한 혈액 중 혈액학적 검사에 사용할 500 ul를 제외한 나머지 혈액을 실온에 30분 이상 방치하여 응고시킨 다음, 원심분리시켜 얻은 혈청으로부터 알칼라인 포스파타아제(ALP), 아스페테이트 아미노기전이효소(AST), 알라닌 아미노기전이효소(ALT), 크레아티닌(Creatinin), 요소(Urea)를 자동생화학분석기(XL-200, Erba Diagnostics Mannheim, Germany)로 측정하였다.

6. 혈액학적 검사

모든 실험동물에 대하여 복대정맥으로부터 채혈하여 얻은 혈액 중 약 500 ul를 K₂-EDTA Vacuatiner(Becton-Dickison)에 분주하여 헤모글로빈(HGB), 적혈구용적률(HCT), 적혈구 수(RBC), 평균적혈구용적(MCV), 평균적혈구헤모글로빈(MCH), 평균적혈구헤모글로빈농도(MCHC), 백혈구 수(WBC), 혈소판(PLT), 평균혈소판용적(MPV)을 혈구자동측정기 ADVIA 2120i (Simens

Diagnostics, Deerfield, USA)로 측정하였다.

7. 통계학적 방법

통계분석은 SPSS Package program Ver 12.0(SPSS Inc.IL, USA)을 이용하여 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance, ANOVA)을 실시하였으며, 대조군과 투여군사이의 비교 분석을 위해 사후검정으로 Dunnett 시험을 이용하였다. 유의수준은 $p < 0.05$ 으로 설정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 치사율 및 LD₅₀

OECD가이드라인 및 의약품 등의 독성시험 기준 해설서에서 추천하는 단회투여독성시험의 경구투여 상한용량에 따라 투여용량을 2000 mg/kg으로 설정하였다. 팔물탕과 발효팔물탕 2000 mg/kg를 경구로 단회투여 후 14일간 실험 동물을 관찰한 결과, 모든 암, 수 ICR 마우스에서 사망례가 관찰되지 않았다. 본 용량에서 시

험물질 투여에 따른 사망이 일어나지 않았으므로 경구투여에 의한 팔물탕과 발효팔물탕의 반수치사량(LD₅₀)은 2000 mg/kg보다 높은 것으로 판단된다.

2. 임상 증상

시험물질로 인한 독성 여부를 판단하기 위하여 모든 실험동물에 대하여 1일 1회 임상증상을 관찰하였다. 관찰기간 동안, 시험물질 투여에 기인한 보행장애, 행동이상, 웅크림, 설사, 부종, 호흡축박, 몸단장, 뛰어들음, 유루, 무기력증, 구토, 비루, 마비, 유연은 관찰되지 않았다.

3. 체중변화

팔물탕과 발효팔물탕을 단회 경구투여한 동물의 체중을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 일반적으로 시험물질의 투여 후 부형제 대조군과 비교하여 유의성 있는 차이가 나거나 대조군과 비교하여 10% 이상의 체중변화가 나타나는 경우 시험물질에 기인한 독성징후로 판단할 수 있다. 시험물질 투여 후 체중을 측정한 결과, 각

Table 2. Means of Body Weights of Male and Female ICR Mice Treated with Palmultang and Fermented Palmultang Extracts

Gender	Group	No. of animal	Dose (mg/kg)	Body weight (g)				
				Days after treatment				
				0	1	3	7	14
Male	CON	5	0	27.04±0.32	28.12±0.44	28.83±0.37	30.76±0.45	29.05±0.56
	PM	5	2000	26.98±0.55	28.38±0.47	28.92±0.61	30.71±0.71	29.09±0.53
	FPM	5	2000	27.61±0.39	27.76±0.50	28.41±0.49	30.40±0.36	28.21±1.02
Female	CON	5	0	23.49±0.45	22.66±0.34	22.81±0.34	23.40±0.31	21.78±0.33
	PM	5	2000	23.99±0.50	23.55±0.54	24.08±0.74	24.21±0.68	22.07±1.02
	FPM	5	2000	23.76±0.36	23.17±0.34	23.02±0.59	23.74±0.50	21.73±0.45

The data are presented as mean ± S.D. CON; Vehicle control, PM; Palmultang, FPM; Fermented Palmultang. In one-way ANOVA analysis and post-hoc Dunnett's test, there was no significant difference between control group and test groups.

시험군의 체중은 대조군과 비교하여 암·수 모두에서 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다 ($p>0.05$). 대조군, 팔물탕 및 발효팔물탕 투여 후 체중 변화는 암수 모두에서 10%이내의 체중 증가가 관찰되었으며, 각 관찰 시점에서 대조군과 비교하여 유의성 있는 차이는 나타나지 않았다 ($p>0.05$). 다만 모든 동물군에서 투여 후 14일의 체중이 7일에 비하여 감소되었는데 이는 절식에 의한 변화이며, 시험물질에 의한 체중증가에는 영향이 없다고 판단된다. 시험기간 동안 관찰된 모든 군의 체중 측정치는 모두 생물학적 변동범위에 있다.

4. 부검소견

투여 14일째에서 모든 실험동물을 부검하여 내부장기를 관찰하였고 육안상으로 내부장기에서의 이상은 보이지 않았으므로 조직병리학적 검사는 생략하였다. 간, 신장, 비장, 심장, 폐는 독성물질에 의한 1차적인 영향을 받는 주요 장기이므로 적출 후 무게를 측정하였다(Table 3). 시험물질에 의한 장기손상 여부를 진단하기 위하여 체중대비 장기무게(상대적 장기무게)를 산출한 결과 팔물탕 혹은 발효팔물탕과 대조군 사

이의 유의적인 장기무게의 차이가 없었다.

5. 혈액생화학적 변화

모든 실험동물의 혈청으로부터 혈청 내 효소 AST, ALT, ALP와 Urea, Creatinine을 확인하였다(Table 4). AST, ALT, ALP는 간 기능을 진단하는데 활용되는 지표로 혈청내 증가가 곧 간손상을 의미하며, 이중 ALT가 가장 민감한 간특이효소이다. 시험군의 ALT, AST 및 ALP의 수치는 대조군과 비교하여 유의성 있는 차이는 관찰되지 않았다. 따라서, 팔물탕 및 발효팔물탕은 간기능에 영향이 없을 것으로 사료된다. Urea와 creatinine은 신장기능을 검사하는 지표로서 정상범위를 초과하였을 때 신장애가 있는 것으로 판단한다. 팔물탕 및 발효팔물탕을 투여한 암컷 마우스에서 urea가 대조군과 비교하여 유의성 있는 증가($p<0.05$)가 관찰되었으나 creatinine에서는 유의성 있는 차이가 관찰되지 않았다. 시험군의 Urea 및 creatinin의 수치는 생물학적 변동범위에 포함되므로 신장에서 독성효과가 없는 것으로 판단되나, 반복투여독성시험 등에서 확인 필요할 것으로 사료된다.

Table 3. Organ-to-Body Weight index (%) in Mice

Organs	Organ body weight index (n=5)					
	Male			Female		
	CON	PM	FPM	CON	PM	FPM
Liver	3.88±0.18	4.22±0.23	4.12±0.39	3.54±0.22	3.51±0.14	3.88±0.27
Kidney (L)	0.79±0.05	0.79±0.08	0.85±0.09	0.56±0.05	0.61±0.05	0.62±0.05
Kidney (R)	0.76±0.05	0.78±0.18	0.79±0.09	0.56±0.04	0.61±0.12	0.57±0.04
Spleen	0.33±0.03	0.37±0.03	0.35±0.04	0.37±0.07	0.40±0.11	0.40±0.06
Heart	0.48±0.04	0.52±0.12	0.48±0.04	0.46±0.03	0.48±0.04	0.48±0.03
Lung	0.64±0.12	0.67±0.07	0.74±0.09	0.68±0.05	0.70±0.05	0.69±0.04

The data are presented as mean \pm S.D. CON; Vehicle control, PM; Palmultang, FPM; Fermented Palmultang. Organ body weight index = (organ weight \times 100) / body weight. In one-way ANOVA analysis and post-hoc Dunnett's test, there was no significant difference between control group and test groups.

Table 4. Levels of Biochemical parameters in the serum of mice

Gender	Group	No. of animal	Dose (mg/kg)	AST	ALT	ALP	Urea	Creatinine
Male	CON	5	0	54.80±9.52	30.80±7.76	71.20±6.27	9.04±1.05	0.20±0.00
	PM	5	2000	57.20±9.07	27.20±5.00	97.20±14.78	9.20±0.90	0.20±0.00
	FPM	5	2000	54.50±14.92	28.40±5.74	74.40±8.89	8.60±1.31	0.20±0.00
Female	CON	5	0	62.80±9.77	27.20±8.82	82.80±13.60	7.76±1.41	0.20±0.13
	PM	5	2000	66.00±10.95	20.50±2.18	69.20±6.01	12.76±1.20*	0.16±0.08
	FPM	5	2000	62.80±17.05	22.00±7.38	78.00±15.70	11.84±3.20*	0.12±0.10

The data are presented as mean ± S.D. CON; Vehicle control, PM; Palmultang, FPM; Fermented Palmultang, AST; aspartate aminotransferase, ALT; alanine aminotransferase, ALP; alkaline phosphatase. *p<0.05, significant different between control and test groups in one-way ANOVA analysis and post-hoc Dunnett's test.

6. 혈액학적 변화

이는 생물학적 변동범위 이내에 있다.

대조군과 비교하여 모든 실험군의 헤모글로빈과 적혈구 용적률, 적혈구 수, 평균적혈구 용적, 평균적혈구헤모글로빈, 평균적혈구헤모글로빈농도에서 유의성 있는 변화가 보이지 않았다 (Table 5). 발효팔물탕을 투여한 암컷마우스의 백혈구 수가 유의성 있게 증가(p<0.05)하였으나

IV. 결론

팔물탕은 우리나라 및 중국(Bawu-tang)에서 널리 쓰이고 있는 처방으로 혼합단미엑스산제의 경우 국내 의료보험급여대상에 포함되어 있

Table 5. Levels of Hematological Analysis in Male and Female ICR Mice Orally Treated with Palmultang and Fermented Palmultang Extracts

Gender	Group	No. of animal	Dose (mg/kg)	HGB (g/dL)	HCT (%)	RBC (x10 ⁶)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	WBC (x10 ³)	PLT (x10 ³)	MPV (fL)
Male	CON	5	0	14.08±0.38	49.56±3.08	8.52±0.48	58.12±1.55	16.58±1.14	28.56±2.24	1.13±0.17	1132.40±212.55	10.26±0.98
	PM	5	2000	14.26±0.82	52.24±1.98	9.01±0.28	58.04±0.56	15.80±0.64	27.26±0.92	1.23±0.54	1345.40±121.35	10.60±0.31
	FPM	5	2000	14.58±0.77	50.18±2.91	8.55±0.46	58.70±0.70	17.10±1.40	29.15±2.36	1.02±0.21	1123.50±160.94	10.93±0.79
Female	CON	5	0	11.86±2.78	49.48±7.21	7.72±1.91	59.08±2.70	15.38±0.44	26.10±0.82	1.15±0.29	1005.00±493.46	10.50±1.11
	PM	5	2000	13.34±0.66	49.44±3.91	8.23±0.70	60.16±2.61	16.30±1.55	27.14±2.82	1.59±0.78	1353.00±237.44	10.36±0.64
	FPM	5	2000	14.68±5.40	48.24±18.45	7.68±3.14	62.18±3.47	19.86±2.36	30.70±1.21	3.33±0.65*	852.00±	67.22

The data are presented as mean ± S.D. CON; Vehicle, PM; Palmultang, FPM; Fermented Palmultang, HGB; hemoglobin, HCT; hematocrit, RBC; red blood cell, MCV; mean corpuscular volume, MCH; mean corpuscular hemoglobin, MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration, WBC; white blood cell, PLT; Platelet count, MPV; mean platelet volume. *p<0.05, significant different between control and test groups in one-way ANOVA analysis and post-hoc Dunnett's test.

다³⁾. 중국의 경우 EX제제로서 팔진환이 만들어져 사용된다¹⁷⁾. 팔물탕은 안색이 나쁘고, 현기증과 안화(頭暈眼花), 사지가 권태롭고(四肢倦怠), 기가 소진되어 말이 어눌해지고(氣短懶言), 가슴이 두근거리고 불안한 증상(心悸怔忡), 식욕부진에 적용한다고 알려져 있다¹⁸⁾. 본 연구에서는 약리성분의 강화 및 흡수를 돕고자 유산균을 이용하여 발효팔물탕을 제조하였으며, 그 안전성을 비교 확인하기 위하여 팔물탕과 발효팔물탕의 급성경구독성 실험을 실시하였다.

1. 2주간의 실험기간동안 사망동물이 없으므로 LD₅₀값이 산출되지 않았다.
2. 팔물탕 및 발효팔물탕 투여로 인한 임상증상이 관찰되지 않았다.
3. 시험물질 투여로 인한 체중변화, 장기병변이 관찰되지 않았다.
4. 모든 동물군에 대하여 혈액학 및 혈액생화학적 검사 결과 이상이 관찰되지 않았다.

이상의 결과로 보아 팔물탕 및 발효팔물탕은 암, 수 마우스에 대하여 2000 mg/kg 용량에서 급성독성이 없는 안전한 한의약물로 판단된다. 특히 발효팔물탕의 경우 추후 연구를 통해 발효로 배가된 약효나 새로운 효능을 규명하면 다양한 적용을 할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 말씀

본 연구는 교육과학기술부 지원 한국한의학연구원 기관고유사업 K12050의 지원을 받아 수행되었음.

참고문헌

1. 마충제, 이남현, 마진열, 하혜경, 유영법, 신현규. EBM 기반 구축을 위한 팔물탕 문헌

연구 분석. 대한한의학방제학회지. 2007;15(2):35-45.

2. 이경구, 황대선, 유영법, 마진열, 하혜경, 신현규. 四君子湯, 四物湯, 八物湯 및 十全大補湯의 처방 구성 및 용량 용법에 관한 연구. 대한한의학원전학회지. 2006;19(4):219-225.
3. 식품의약품안전청. 고시 제2007-89호. 대한약전. 2007.
4. 하지용, 남우열. 팔물탕이 항암 및 면역조절 작용에 미치는 영향. 동의병리학회지. 1995;10:295-315.
5. 박혜준, 고우신. 八物湯이 抗癌 및 免疫機能에 미치는 實驗的 效果. 대한한의학회지. 1998;19(1):327-338.
6. 손재혁, 정진호, 유동렬. 팔물탕이 생쥐임신 말기에 면역세포의 cytokines 생성에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 1999;12(2):341-374.
7. 은재순, 전훈, 김대근. 팔물탕이 복강 마크로파지의 탐식능에 미치는 영향. 생약학회지. 1999;30(4):363-367.
8. 권오봉, 임형호. 팔물탕 및 가미팔물탕이 백서의 항피로에 미치는 영향. 한방재활의학과학회지. 2002;12(1):89-100.
9. 허만규, 홍현우, 감철우, 박동일. 팔물탕이 알레르기 반응에 미치는 효과. 동의생리병리학회지. 2003;17(4):1075-1081.
10. 주진만, 김동철, 백승희, 김은하. 팔물탕이 자성생쥐의 생식능력과 Caspase-3, MAPK 및 MPG 유전자 발현에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2007;20(3):91-110.
11. 강동희, 김현수. 유산발효에 의한 발효한약의 기능분석. 한국미생물, 생명공학회지. 2011;39(3):259-265.
12. 김동선, 노주환, 조장원, 마진열. 유산균 발효에 의한 사물탕들부터 노다케네틴의 분리 및 함량분석. 大韓本草學會誌. 2012;27(1):35-39.

13. 마진열, 황대선, 유영범, 하혜경, 신현규. ICR 마우스를 이용하여 八物湯의 급성독성에 관한 연구. 대한본초학회지. 2007;22(2):13-16.
14. 마진열, 유영범, 하혜경, 황대선, 신현규. SD 랫드를 이용하여 八物湯의 4주 반복투여 독성에 관한 연구. 대한본초학회지. 2007;22(4):59-64.
15. 식품의약품안전청. 의약품등의 독성시험기준 식품의약품안전청고시 제2009-116호. 2009.
16. OECD. Guidelines for the testing of chemicals revised draft guideline 423. acute oral toxicity. 2000.
17. 國家藥典委員會 編. 中華人民共和國藥典. 化學工業出版社. 2005.
18. 한의과대학 방제학 교수 공편저. 방제학. 영림사. 1999.