大韓本草學會誌 제39권 제2호(2024년 3월)
Kor. J. Herbol. 2024 ; 39(2) : 19-25

ISSN 1229-1765(Print), ISSN 2288-7199(Online)
http://dx.doi.org/10.6116/kjh.2024.39.2.19

접골탕(接骨湯) 2.0의 Sprague-Dawley 랫드를 이용한 단회경구투여 독성시험

최영진[1#], 김효정[2#], 김세진[2], 김준섭[2], 정지운[2], 임현희[2], 장보경[2]
박유진[2], 임정태[3,5,6], 배기상[3,4,6*], 권빛나[3,4*], 김동욱[3,4*]

1 : 경희 다복 한의원, 2 : 한국한의약진흥원, 3 : 원광대학교 한방심신증후군연구센터
4 : 원광대학교 한의과대학 약리학교실, 5 : 원광대학교 한의과대학 진단학교실
6 : 원광대학교 한국전통의학연구소

Single Oral Dose Toxicity Test of Jeopgoltang Extracts in Sprague-Dawley Rat

YoungJin Choi[1#], HyoJung Kim[2#], Se-Jin Kim[2], JunSub Kim[2], Jiwoon Jeong[2], HyunHee Leem[2], BoGyung Jang[2]
YuJin Park[2], Jungtae Leem[3,5,6], Gi-Sang Bae[3,4,6*], Bitna Kweon[3,4*] and Dong-Uk Kim[3,4*]

1 : KyungHeeDaBok Korean medical clinic, 2 : National Institute for Korean Medicine Development
3 : Hanbang Cardio-Renal Syndrome Research Center, Wonkwang University
4 : Department of Pharmacology, School of Korean Medicine, Wonkwang University
5 : Department of Diagnostics, School of Korean Medicine, Wonkwang University
6 : Research center of Traditional Korean medicine, Wonkwang University

ABSTRACT

Objectives : Jeopgoltang (JGT) is a new Korean herbal medicine formulation that is used to treat bone fractures. Although JGT is frequently used in clinical practice, there is a lack of scientific evidence on its safety. This study aimed to evaluate the preclinical toxicity of JGT using a single oral dose toxicity test in Sprague-Dawley (SD) rats.

Methods : Five male and female rats per group were orally administered 1,250, 2,500, or 5,000 ㎎/㎏ of JGT after fasting for 12 h. Mortality and changes in clinical signs, body weight, and necropsy findings were monitored for 14 days according to the guidelines of the Korean Ministry of Food and Drug Safety and Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD).

Results : No significant clinical signs or mortality were observed after a single administration of up to 5,000 ㎎/㎏. In addition, no significant necropsy findings related to JGT administration were observed.

Conclusions: In conclusion, these results suggest that approximate Lethal Dose (ALD) of JGT on SD rats is over 5,000 ㎎/㎏.

Key words : Jeopgoltang, Single oral dose toxicity study, Approximate Lethal Dose (ALD), Toxicology.

*Corresponding author : Gi-Sang Bae, Department of Pharmacology, School of Korean Medicine, Wonkwang University
· Tel : +82-63-850-6842 · E-mail : baegs888@wku.ac.kr
Bitna Kweon, Department of Pharmacology, School of Korean Medicine, Wonkwang University
· Tel :*** - **** - **** · E-mail : kbn306@naver.com
Dong-Uk Kim, Department of Pharmacology, School of Korean Medicine, Wonkwang University
· Tel :*** - **** - **** · E-mail : ckck202@naver.com
#First author : YoungJin Choi, KyungHeeDaBok Korean medical clinic
· Tel :+82-02-431-1600 · E-mail :doctorplus@naver.com
HyoJung Kim, National Institute for Korean Medicine Development
· Tel :+82-053-810-0385 · E-mail :indersee31@nikom.or.kr
· Received : 22 February 2024 · Revised : 07 March 2024 · Accepted : 25 March 2024

Ⅰ. 서 론

일반 독성 시험은 기존 물질이나 신규 물질의 독성을 평가하는 가장 기본적인 시험으로 약품, 기능성 식품, 화장품, 산업용 화학물질 등 다양한 분야의 물질을 시험하는데 활용된다. 일반 독성 시험은 실험 물질의 투여 일정에 따라 단회투여 독성시험과 반복투여 독성시험으로 나뉘며, 이를 통해 개략적 치사량 (approximate lethal dose, ALD), 최대무독성 용량(no-observed-adverse-effect level, NOAEL), 최대허용량(maximum tolerated dose, MTD)과 같은 기본적인 독성 정보를 얻을 수 있다. 현재 국내외 규정에 따라 생쥐, 랫드, 토끼, 기니피그, 개, 원숭이 등 다양한 동물을 대상으로 독성 시험이 진행되고 있다 [1]. 특히, 한약과 같은 천연물 기반 의약품은 오랜기간 동안 사람에게 사용되어 왔기 때문에 상대적으로 안전하다는 인식이 있지만, 한의학의 현대화에 따라 한약의 안전성에 대한 과학적 근거를 마련하기 위해 독성 연구가 활발히 이루어지고 있다 [2,3].

골절이란 뼈의 연속성이 상실된 상태를 말하며, 일반적으로 심각한 외상, 반복적인 스트레스, 뼈를 약화시키는 질병(골다공증, 종양 등)으로 인해 발생한다 [4,5]. 골절 치료는 골절의 위치와 종류에 따라 2-20 주가 소요되며, 이는 환자의 신체적, 정신적 삶의 질에 영향을 미치므로 골절로 인한 회복 기간을 단축하는 것이 매우 중요하다 [6]. 골다공증 치료를 위해 현재는 호르몬 치료, 비스포스포네이트 및 칼슘 및 비타민 D 같은 보충제를 다용하지만, 유방암, 혈전, 심부전 및 골사멸과 같은 부작용 경험 가능성은 여전히 극복해야 할 장애로 남아 있으며 이는 골다공증을 개선하기 위한 새로운 치료법 개발이 필요하다 [7].

이에 최근 국내에서 보혈(補血) 작용을 하는 당귀(當歸), 천궁(川芎)을 중심으로 하는 접골탕(接骨湯)을 이용하여 골절 치료에 응용하고 있다. 접골탕은 우수한 임상효과를 기반으로 한국한의약진흥원에서 주관한 한의약치료기술 공공자원화 사업 연구 치료기술로 선정되었다. 또한 접골탕은 골절상의 지연결합 사례를 개선시킨 case report 발표하였다 [8]. 하지만 이 처방에서는 인삼(人蔘)과 같은 고가의 약재가 포함되어 있어서 장기간 환자 치료에 있어서 어려움이 있었다. 이에 기존 처방 [8]에서 고가의 약재를 제거하고, 골절 치료효과가 있는 접골탕 2.0 을 고안하여 골다공증 및 골절개선 효과를 연구하고자 하였다. 골다공증 및 골절 개선 효과를 확인하기 이전에, 새로운 접골탕의 정확한 농도 설정을 위하여 독성시험을 우선적으로 시행하고자 본 연구를 시작하였다. 식품의약안전처에서 고시한 독성시험 기준에 근거하여 Sprague-Dawley (SD) 랫드에서 접골탕의 단회경구투여 독성 시험을 실시하였다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 실험기관

모든 독성 시험은 Good Laboratory Practice (GLP) 기관인 한국한의약진흥원의 한약비임상시험센터 (경산, 대한민국)에서 진행되었고, 한약비임상시험센터 동물실험윤리위원회(IACUC)의 심의 및 승인을 받았다 (승인번호: NIKOM-2022-26)

2. 실험물질

접골탕의 모든 구성 약재는 Good Manufacturing Practice (GMP) 인증을 받은 시설인 휴먼허브 (대구, 대한민국)와 신흥제약 (여수, 대한민국)에서 구입되었다. 접골탕은 한국한의약진흥원에서 표준화된 방법으로 제조되었으며 방법은 다음과 같다. 접골탕의 구성 약재 중 녹각교(鹿角膠)를 제외한 약재양의 10배수의 물을 첨가하여 100 ℃에서 2시간 동안 전탕하고 녹각교를 첨가하여 10분 동안 녹였다 (Table 1). 그 후, 접골탕 전탕액을 동결 건조하여 실험에 사용하기 전 멸균 증류수에 현탁하여 사용하였다.

Table 1. The composition of Jeopgoltang (JGT).

Latin Name	Scientific Name	Amount (g)	Origin
Angelicae Gigantis Radix	*Angelica gigas* Nakai	20	Korea
Dendrobii Caulis	*Dendrobium nobile* Lindley	16	Indonesia
Dipsaci Radix	*Dipsacus asperoides* C. Y. Cheng et T. m. Ai	12	China
Cnidii Rhizoma	*Cnidium officinale* Makino	8	Korea
Astragali Radix	*Astragalus membranaceus* Bunge	8	China
Achyranthis Radix	*Achyranthes bidentata* Blume	4	China
Massa Medicata Fermentata	-	4	USA
Cervi Cornus Colla	*Cervus canadensis* Erxleben	10.71	Russia

3. High-performance liquid chromatography (HPLC) 분석

접골탕의 지표성분 성분을 분석하기 위해 HPLC 분석을 진행하였다. 접골탕과 표준물질은 메탄올에 각 10 과 1 ㎎/㎖의 농도로 녹였으며 초음파 분쇄 후 0.45 ㎛ 필터로 여과했다.

HPLC 분석기기는 Waters사의 e2695 HPLC system/2998 PDA Detector (Waters, Milford, MA, USA), Xbridge C18 (4.6 × 250 ㎜, 5 ㎛)을 사용하였다. 시료 분석을 위해 이동상으로는 0.1% formic acid in distilled water (A) and acetonitrile (B)을 사용하여 1.0 ㎖/min 유속으로 시료 10 ㎕를 주입하였다. 자세한 분석 조건은 Table 2와 같다.

Table 2. Solvent gradient for analysis of HPLC system

Time (min)	A (%)[a]	B (%)[b]
0	93	7
5	93	7
8	80	20
10	77	23
20	75.5	24.5
22	20	80
27	20	80
27.1	93	7
30	93	7

[a]0.1% formic acid in distilled water
[b]Acetonitrile

4. 실험군의 구성과 투여량 결정

7일의 순화기간을 거친 실험동물을 암, 수 각각 5마리씩 대조군과 접골탕 투여군으로 나누었다. 시험물질의 단회 독성시험을 진행하기 위하여 투여 방법은 시험물질을 사람에게 적용하고 있는 방법인 경구투여로 설정하였다. 암, 수 각 한 마리씩 2,000 혹은 5,000 ㎎/㎏ 농도로 예비시험을 진행하였으며, 24시간 뒤 모두 생존한 것을 관찰하였기에 동일한 농도로 본 시험을 진행하였다. 접골탕 투여군과 비교하기 위해 대조군은 멸균증류수를 투여하였다. 투여 전날 12시간 금식시킨 후, 체중을 측정하여 투여액량을 20 ㎖/㎏로 산출하였다.

5. 관찰 및 검사항목

1) 일반증상관찰

투여 당일은 경구투여 30분, 1, 2, 4시간째에 관찰하였으며, 투여 다음날부터 부검일 (14일)까지 1일 1회 관찰하였다.

2) 체중측정

모든 실험동물은 투여 당일 (day 0)부터 1, 3, 7, 14일 (부검일)에 체중을 측정하였다.

3) 부검소견

시험물질 투여 14일째 되는 날 모든 동물의 관찰 및 체중 측정 후, CO_2로 안락사 시키고 부검을 진행하였다. 육안으로 내부의 주요 장기 이상 유무를 관찰하여 기록하였다.

6. 통계분석

결과는 평균 ± 표준편차로 표시하였으며, 분산동질성을 Levene's test를 실시하여 검증하였다. 등분산일경우 일원배치분산분석 (ANOVA test)을 실시하고 사후 검증으로 Dunnett's test를 시행하였다. 모든 통계학적 분석은 SPSS Statistics 25.0을 이용하였으며, $p < 0.05$인 경우 통계적 유의성을 인정하였다.

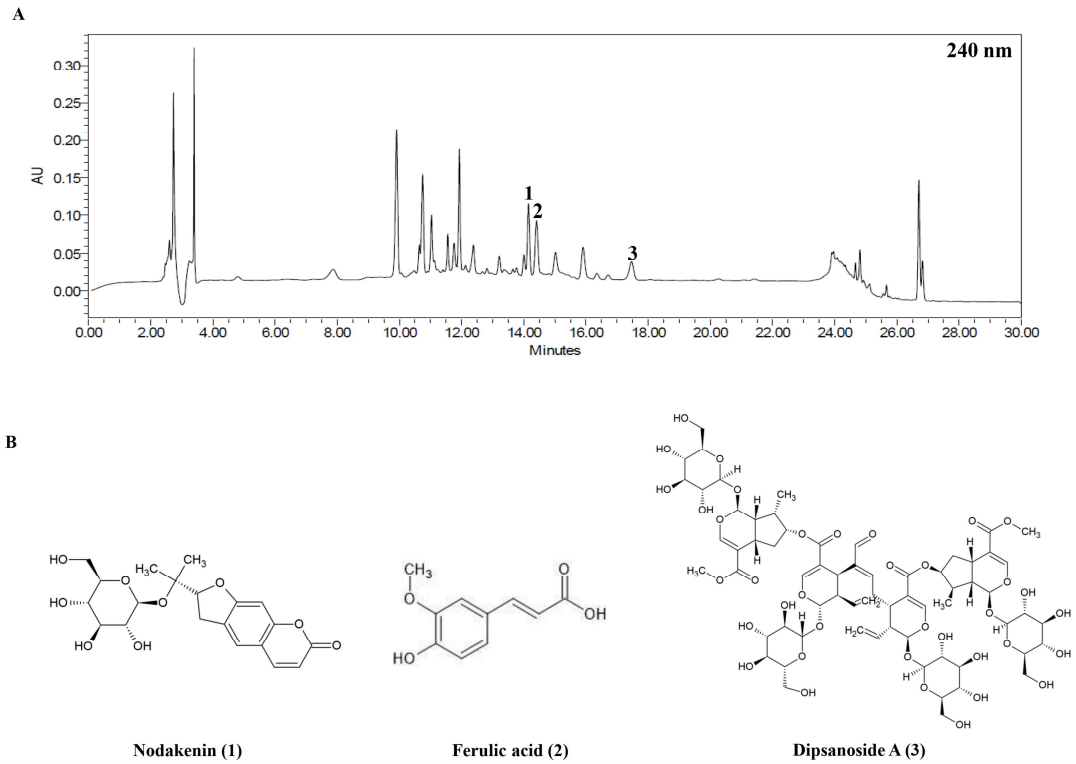

Fig. 1. HPLC analysis of Jeopgoltang (JGT).

Ⅲ. 결 과

1. 접골탕의 HPLC 분석

접골탕의 구성 약재의 주요 성분을 선정하고, 최적화된 HPLC 분석법을 통해 접골탕의 3 가지 지표물질을 분석하였다. 접골탕의 지표성분으로 선정된 nodakenin, ferulic acid, dipsanoside A 는 각각 14.149, 14.408, 17.460 분에서 측정되었다 (Fig.1).

2. 일반증상 및 사망률

실험기간동안 실험동물의 피부, 털, 눈, 신체 움직임, 행동패턴을 관찰하여 기록하였다. 접골탕 투여군에서 암, 수컷 모두 이상 증상은 관찰되지 않았으며 사망 및 빈사 동물은 발생하지 않았다 (Table 3, 4 and 5). 개략적 치사량은 암, 수컷 모두에서 5,000 ㎎/㎏를 상회할 것으로 추정된다.

Table 3. Clinical signs in single oral dose of JGT within 4 h.

Sex	Dose (㎎/㎏)	Clinical signs	Hours (day 0) after dosing			
			0.5	1	2	4
Male	Control	NAD	5	5	5	5
	1,250	NAD	5	5	5	5
	2,500	NAD	5	5	5	5
	5,000	NAD	5	5	5	5
Female	Control	NAD	5	5	5	5
	1,250	NAD	5	5	5	5
	2,500	NAD	5	5	5	5
	5,000	NAD	5	5	5	5

NAD : No abnormalities detected

Table 4. Clinical signs in single oral dose of JGT for 14 days.

Sex	Dose (㎎/㎏)	Clinical signs	Day after dosing													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Male	Control	NAD	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	1,250	NAD	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	2,500	NAD	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	5,000	NAD	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Female	Control	NAD	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	1,250	NAD	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	2,500	NAD	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	5,000	NAD	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

NAD : No abnormalities detected

Table 5. Mortality in single oral dose toxicity of JGT.

Sex	Dose (㎎/㎏)	Number of Death															Mortality (%) (Dead/Total)
		Days after dosing															
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Male	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (0/5)
	1,250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (0/5)
	2,500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (0/5)
	5,000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (0/5)
Female	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (0/5)
	1,250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (0/5)
	2,500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (0/5)
	5,000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (0/5)

3. 체중변화

체중 측정 결과, 암, 수컷 모두에서 관찰기간 중 체중 감소는 나타나지 않았다. 또한 대조군 대비 접골탕 투여군에서 체중 변화는 통계적으로 유의한 차이가 없었다 ($p > 0.05$) (Fig. 2 and Table 6).

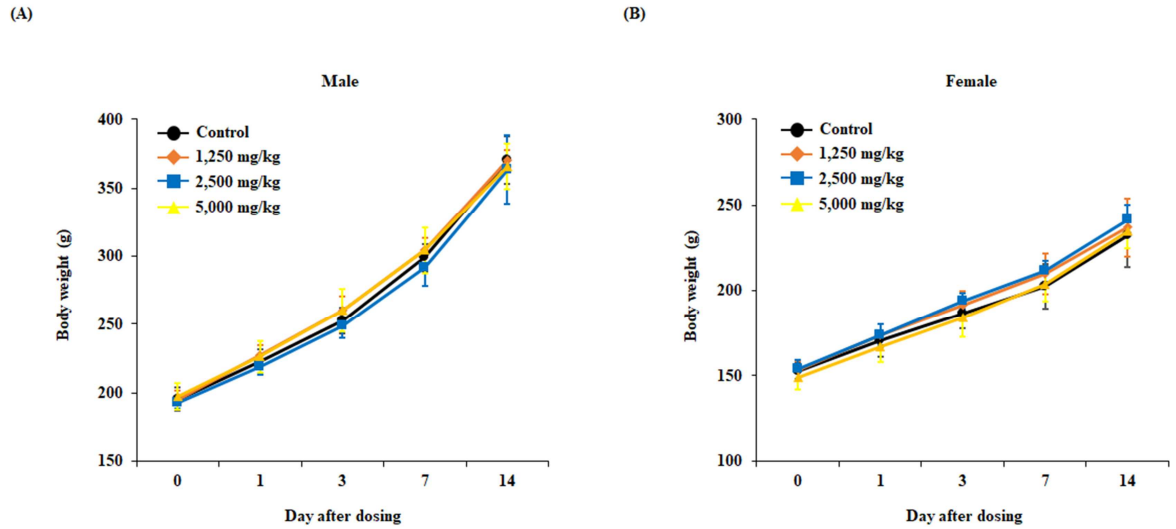

Fig. 2. Body weight of single oral dose toxicity study in SD rats. Changes on body weights during observation period in (A) male and (B) female rats after single oral treatment of JGT. The results are presented as the mean ± standard deviation (n=5).

Table 6. Body weight in single oral dose toxicity of JGT

Sex	Dose (mg/kg)	Days after dosing				
		0	1	3	7	14
Male	Control	195.3±8.3	222.9±8.3	252.6±9.7	298.9±10.0	370.5±17.1
	1,250	195.3±6.6	227.1±7.4	259.9±10.5	304.3±9.3	370.3±7.4
	2,500	192.8±4.0	218.5±5.5	248.8±9.0	291.6±13.2	363.4±24.9
	5,000	197.4±9.6	226.2±11.5	260.2±15.4	304.2±16.6	365.8±16.5
Female	Control	152.5±5.6	170.6±9.4	186.3±8.5	202.3±13.3	232.1±18.2
	1,250	153.3±5.3	173.1±6.9	191.2±8.2	209.6±11.7	236.9±17.3
	2,500	153.7±5.4	173.7±6.2	193.7±4.6	211.1±6.4	241.7±8.8
	5,000	148.8±7.0	166.5±8.7	184.1±11.5	203.6±1.5	234.6±9.8

4. 부검소견

부검을 진행한 모든 실험동물에서 육안적 이상 소견은 관찰되지 않았다 (Table 7).

Table 6. Body weight in single oral dose toxicity of JGT

Sex	Dose (mg/kg)	Observal signs	Number of Sacrificed animals
Male	Control	No remarkable findings	5
	1,250 mg/kg	No remarkable findings	5
	2,500 mg/kg	No remarkable findings	5
	5,000 mg/kg	No remarkable findings	5
Female	Control	No remarkable findings	5
	1,250 mg/kg	No remarkable findings	5
	2,500 mg/kg	No remarkable findings	5
	5,000 mg/kg	No remarkable findings	5

Ⅳ. 고 찰

현대 의학의 발달에도 불구하고 약용식물의 사용은 전세계적으로 증가하는 추세이다[9,10]. 한약은 대한민국에서 매우 일반적으로 사용되는 한의학적 치료법으로, 2020년에 발행된 한약 처방 건수는 약 75만 건으로 비교적 높은 편이다[11]. 또한, 최근에는 한약이 Covid-19의 치료 및 후유증 개선에 효과가 있다는 연구 결과가 많이 발표되어 전세계적으로 한약에 대한 관심이 높아지고 있다[12,13]. 하지만, 아직까지도 오랜 기간 동안 사용되었던 한약의 안전성 (간독성, 다른 약물과의 상호작용, 임산부에 대한 영향 등)에 대하여 문제가 제기되고 있다[14-16]. 그러므로 현재 한약의 안전성을 확보하기 위해 단일 약재 혹은 한약 처방에 대한 독성시험이 많이 진행되고 있는 추세이다[17-21].

8가지 약재로 구성된 접골탕 (Table 1)은 골절상을 치료하기 위해 새로 개발된 처방이다. 접골탕 또는 구성 약재의 개별적인 골 치유에 관한 약리효과는 밝혀진 바는 없지만, 접골탕의 지표물질로 선정한 nodakenin, ferulic acid, dipsanoside A의 골절 개선효과는 다수 보고되어 있다[22-24]. Nodakenin의 경우, 조골세포 분화 및 뼈 형성을 촉진하고, 골다공증을 개선한다고 보고되어 있으며[22], ferulic acid는 골절 모델에서 골밀도 및 골 미세구조 개선에 유효함이 보고되어 있다[23]. 또한, dipsanoside A는 조골세포의 분화와 무기질화를 촉진한다고 보고되어 있다[24]. 또한, 접골탕의 구성 약재 중 일부는 개별적인 독성 시험이 진행되어 있기 때문에[25-28], 접골탕이 안전하고 효과있는 골절 치료 후보제가 될 것으로 예측하였다. 하지만 한약 처방은 대체로 여러 약재를 한번에 전탕하기 때문에 개별적인 약재 추출물과는 구성성분에서 차이가 있을 수 있다. 이러한 특성 때문에 접골탕의 안전성을 확보하기 위한 독성 시험이 필요한 실정이다. 따라서, 이번 연구를 통해 대한민국 식품의약안전처와 OECD의 가이드 라인에 따라 접골탕의 안전성을 평가하기 위해 단회경구 독성 시험을 진행하였다.

접골탕은 임상에서 사람에게 이미 빈번히 사용되고 있으므로 독성은 낮을 것으로 예상되었다. 예비시험에서 접골탕 2,000과 5,000 ㎎/㎏ 농도로 경구투여한 실험동물이 모두 생존하였기 때문에, 본 시험의 최고 농도로 설정하였다 (data not shown). 접골탕을 각 농도 그룹별 10마리 (암, 수컷 각 5마리)에게 경구투여하였고, 투여 당일부터 14일간 실험동물을 관찰하여 일반증상, 체중, 사망률을 기록하였다. 접골탕 투여 후 14일째 되는 날, 모든 동물에서 부검을 진행하여 주요 장기를 육안으로 관찰하였다. 관찰 기간 동안 사망 혹은 빈사 상태에 빠진 실험 동물은 없었으며, 피부, 털, 눈, 신체 움직임이나 행동패턴의 변화도 나타나지 않았다. 또한 간, 폐, 비장과 같은 주요 장기들을 육안으로 관찰하였을 때도 접골탕 투여로 인한 특이사항은 발견되지 않았다. 모든 실험 동물의 체중은 관찰 기간 동안 증가되었으며, 대조군과 접골탕 투여군 간의 유의미한 차이는 없었다. 따라서, 본 시험 조건에서 접골탕의 SD 랫드 암, 수컷에 대한 개략적 치사량(ALD)은 한계용량인 5,000 ㎎/㎏를 상회하는 것으로 추정되며, 단회 투여시 독성은 없는 것으로 생각된다.

Ⅴ. 결 론

접골탕의 SD 랫드를 이용한 단회경구투여 독성 시험 결과, 접골탕 투여로 인한 사망 동물은 발생하지 않았으며 일반증상, 체중 변화, 부검 소견에서 접골탕 투여로 인한 영향으로 생각되는 특이 사항은 관찰되지 않았다. 이를 통해 접골탕은 개략적 치사량(ALD)이 5,000 ㎎/㎏를 상회하며, 급성 독성이 없는 비교적 안전한 처방으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 한국한의약진흥원 '한의약 산업 선진화 지원 사업 (과제번호: 3234-302)' 지원으로 수행되었다.

References

1. Gosselin RD. Guidelines on statistics for researchers using laboratory animals: the essentials. Lab Anim. 2019;53(1):28-42. [https://doi.org/10.1177/0023677218783223]
2. Park HM, Jang IS, Lee SD. Hepatotoxic events associated with herbal medicinal products, folk remedies and food supplements in Korea. J Korean Med. 2005;26(2):152-65.
3. Teschke R, Eickhoff A. Herbal hepatotoxicity in traditional and modern medicine: actual key issues and new encouraging steps. Front Pharmacol. 2015;6:72. [https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00072]
4. Fazzalari NL. Bone fracture and bone fracture repair. Osteoporos Int. 2011;22(6):2003-6. [https://doi.org/10.1007/s00198-011-1611-4]
5. Association TKO. Orthopaedics Seoul: Choisin Medical Publishing; 2013.
6. Gold T, Williams SA, Weiss RJ, Wang Y, Watkins C, Carroll J, et al. Impact of fractures on quality of life in patients with osteoporosis: a US cross-sectional survey. J Drug Assess. 2019;8(1):175-83. [https://doi.org/10.1080/21556660.2019.1677674]
7. Bowring CE, Francis RM. National Osteoporosis Society's Position statement on hormone replacement therapy in the prevention and treatment of osteoporosis. Menopause Int. 2011;17(2):63-65. doi:10.1258/mi.2011.011012
8. Won J, Choi Y, Yoon LS, Lee JH, Choi K, Lee H. Individualized herbal prescriptions for delayed union:

A case series. Explore (NY). 2023;19(2):260-6. [https://doi.org/10.1016/j.explore.2022.03.001]
9. Mosihuzzaman M. Herbal medicine in healthcare--an overview. Nat Prod Commun. 2012;7(6):807-12. [https://doi.org/10.1177/1934578X1200700628]
10. Karimi A, Majlesi M, Rafieian-Kopaei M. Herbal versus synthetic drugs: beliefs and facts. J Nephropharmacology. 2015;4(1):27.
11. Welfare MoHa. Herbal medicine CONSUMPTION SURVEY, 2020. In: Welfare MoHa, editor. Sejong: Ministry of Health and Welfare 2022.
12. Rofiyati W, Hadi H, Rosyada RW, Putri TIYL, Putra MG, Ayuningtyas I, et al. Herbal Medicine on Response Immune Patient with COVID-19 Infection a Scoping Review. Open Access Maced J Med Sci. 2022;10(T8):155-9. [https://doi.org/10.3889/oamjms.2022.9489]
13. Zhang HT, Huang MX, Liu X, Zheng XC, Li XH, Chen GQ, et al. Evaluation of the Adjuvant Efficacy of Natural Herbal Medicine on COVID-19: A Retrospective Matched Case-Control Study. Am J Chin Med. 2020;48(4):779-92. [https://doi.org/10.3889/oamjms.2022.9489]
14. Jang S, Kim KH, Sun SH, Go HY, Lee EK, Jang BH, et al. Characteristics of Herbal Medicine Users and Adverse Events Experienced in South Korea: A Survey Study. Evid Based Complement Alternat Med. 2017;2017:4089019. [https://doi.org/10.1155/2017/4089019]
15. Cho JH, Oh DS, Hong SH, Ko H, Lee NH, Park SE, et al. A nationwide study of the incidence rate of herb-induced liver injury in Korea. Arch Toxicol. 2017;91(12):4009-15. [https://doi.org/10.1007/s00204-017-2007-9]
16. Jo J, Lee SH, Lee JM, Lee H, Kwack SJ, Kim DI. Use and safety of Korean herbal medicine during pregnancy: A Korean medicine literature review. Eur J Integr Med. 2016;8(1):4-11. [https://doi.org/10.1016/j.eujim.2015.10.008]
17. Kim DG, Lee J, Kim W, An HJ, Lee JH, Chang J, et al. Assessment of General Toxicity of the Glycyrrhiza New Variety Extract in Rats. Plants (Basel). 2021;10(6):1126. [https://doi.org/10.3390/plants10061126]
18. Lee JW, Jung YS, Jung TY, Kim JD, Choi HY. Mouse single oral dose toxicity test of Scutellariae radix aqueous extracts. Korean J Intern Med. 2013;34(1):46-58. [https://doi.org/10.5487/TR.2012.28.1.011]
19. Yoo SR, Jeong SJ, Shin HK, Yoo SR, Jeong SJ, Shin HK. Single oral dose toxicity evaluation of Samul-tang, a traditional herbal formula, in Crl: CD (SD) rats. J Korean Med. 2014;35(2):28-33. [https://doi.org/10.13048/jkm.14019]
20. Lee JW, Baek KM, Chang WS. Single-Dose Oral Toxicity Test of Woohwangchungshim-won in Mice. J Physiol & Pathol Korean Med. 2014;28(2):186-94. [https://doi.org/10.15188/kjopp.2014.04.28.2.186]
21. Kim MJ, Lee MJ, Kim H. Repeated dose 90-day oral toxicity study of modified Samjung-Hwan in sprague-dawley rats. J Korean Med Obes Res. 2018;18(1):36-49. [https://doi.org/10.15429/jkomor.2018.18.1.36]
22. Yi N, Mi Y, Xu X, et al. Nodakenin attenuates cartilage degradation and inflammatory responses in a mice model of knee osteoarthritis by regulating mitochondrial Drp1/ROS/NLRP3 axis. Int Immunopharmacol. 2022;113(Pt A):109349. doi:10.1016/j.intimp.2022.109349
23. Hou T, Zhang L, Yang X. Ferulic acid, a natural polyphenol, protects against osteoporosis by activating SIRT1 and NF-κB in neonatal rats with glucocorticoid-induced osteoporosis. Biomed Pharmacother. 2019;120:109205. doi:10.1016/j.biopha.2019.109205
24. Wu H, Lv Y, Wei F, Li C, Ge W, Du W. Comparative analysis of anti-osteoporosis efficacy in Radix Dipsaci before and after processing with salt based on spectrum-effect relationship. J Pharm Biomed Anal. 2022;221:115078. doi:10.1016/j.jpba.2022.115078
25. Kim KM, Lee YJ, Hong YG, Kang JS. Oral Acute and Subacute Toxicity Studies of Decursin and Decursinol Angelate of Angelica gigas Nakai. Mol Cell Toxicol. 2009;5(2):153-9.
26. Yun JW, Che JH, Kwon E, Kim YS, Kim SH, You JR, et al. Safety evaluation of Angelica gigas: Genotoxicity and 13-weeks oral subchronic toxicity in rats. Regul Toxicol Pharmacol. 2015;72(3):473-80. [https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.05.025]
27. Heo HY, Shin D-H, Lee JH, Seo Y-S, Kim Y-B, Shin I, et al. Two-weeks Oral Dose Toxicity Study of Dipsacus asperoides Extracts in C57BL/6 Mice. Kor J Herbology. 2021;36(5):101-8. [https://doi.org/10.6116/kjh.2021.36.5.101.]
28. Hyun SW, Lee TG, Song SJ, Kim CS. Evaluation of oral toxicity and genotoxicity of Achyranthis Radix extract. J Ethnopharmacol. 2021;274:113944.