

杏仁의 랫트 단회 경구 투여 독성시험

김세란, 이진원, 임소연, 정유선, 최혜윤, 김종대
대구한의대학교 한의과대학 내과학교실

Rat Single Oral Dose Toxicity Test of *Armeniaca Semen* (Including Endocarp)

Se-ran Kim, Jin-won Lee, So-yeon Lim, Yu-sun Jung, Hae-yun Choi, Jong-dae Kim
Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dae-Gu Haany University

ABSTRACT

Objectives : The object of this study was to obtain acute toxicity information (single oral dose toxicity) of *Armeniaca Semen* (AS), a medicinal herb used for treating constipation and various respiratory diseases, in rats.

Methods : In order to observe the LD₅₀ (50% lethal dose), approximate lethal dosage (ALD) and target organs, AS aqueous extracts were orally administered once to female and male Sprague Dawley rats at dose levels of 2,000, 1,000, 500 and 0 (control) mg/kg (body weight). The mortality, changes in the body weight, clinical signs and gross observation were monitored for 14 days after single oral treatment of AS extracts, and the organ weights and histopathological findings of principle organs were observed after sacrifice.

Results : After single oral treatment of AS 2,000 and 1,000 mg/kg, all (5/5; 100%) female and male rats died within 30 minutes after treatment, while no mortalities were observed in the female and male rats treated with 500 mg/kg of AS extract. Therefore, LD₅₀ in female and male rats was calculated as 741.95 mg/kg. Seizure, loss of locomotion, salivation, increases of respiration and heart-beat were observed after AS extract treatment, which were observed in all rats including the lowest dosage group, 500 mg/kg in the present study. In addition, lung congestion was visible in all mortal rats with AS 2,000 and 1,000 mg/kg, respectively.

Conclusions : The results obtained in this study suggest that AS extract ranges in Class III, because the LD₅₀ and ALD in both female and male rats were calculated as 741.95 mg/kg and 500~1,000 mg/kg, respectively. However, AS extract should be carefully treated at clinical applications, because salivation, increase of respiration and heart-beat were also observed in the lowest dosage group, 500 mg/kg in the present study.

Key words : *Armeniaca Semen*, toxicity

1. 서론

杏仁(*Armeniaca Semen*: AS)은 장미과(*Rosaceae*)에 속하는 살구나무(*Prunus armeniaca* L. var. *ansu* Maximowicz) 및 개살구나무(*Prunus mandshurica*

Koehne var. *glabra* Nakai) 또는 동속근연식물의 씨를 이용하는 약재로性は微溫하고,有小毒하며,味는苦하다.降氣止咳平喘,潤腸通便 등의 효능이 있어咳嗽氣喘,胸滿痰多,血虛津枯,腸燥便秘를 치료하는데 사용되어 왔다^{1,2}.

현재까지 행인 추출물의 약리작용은 알려진 바가 많지 않으나,알레르기성 기관지 천식 개선^{3,4},항알레르기⁵,항돌연변이⁶,항암⁷,항염⁸,화장품약리활성 및 미백⁹ 및 좌골신경 치유¹⁰ 등의 효과가 알

· 교신저자: 김종대 대구시 수성구 상동
대구한의대학교 한의과대학
TEL: 053-770-2122 FAX: 053-770-2055
E-mail: omendoim@dhu.ac.kr

려져 있다.

杏仁에는 3% 이상의 amygdalin과 50% 이상의 지방유 및 20~25% 정도의 단백질이 함유되어 있으며¹, 이중 amygdalin의 분해에 의해 발생하는 hydrogen cyanide(시안화수소산)가 호흡중추를 억제하여 다양한 호흡 장애를 일으킨다¹¹. 미국의 경우,杏仁 복용으로 20분 이내에 약한 호흡곤란이 발생되었으며, 결국 혼수상태에 빠진 예도 알려져 있다¹². 행인을 포함한 다양한 복합제 역시 직접적인 독성이 경미한 것으로 알려져 있으며¹³, 서와 박¹¹은 여러 문헌 조사를 통해, 체중 50 kg 성인이 60 g 정도의 행인을 섭취하면 사망할 수 있다고 경고하고 있다.

한편杏仁은 거피를 하지 않고 유통되고 있는데杏仁 자체, 특히 유독성분인 amygdalin이 풍부한 것으로 알려져 있는 속피(endocarp) 부분을 포함한 有皮杏仁 물 추출물 자체에 대한 체계적인 독성 보고는 찾아 볼 수 없었다.

이에 저자는 한의학에서 천식 및 변비치료 약제로 널리 사용되어온杏仁 물 추출물의 일반 독성 시험 중 랫트 경구 단회투여독성 시험을 실시하여, 장기투여 독성 시험과 생식·발생독성 시험을 위시한 특수 독성시험에 대한 기초자료를 얻고자 계획하였고, 이에 지견을 얻었기에 보고하고자 한다.

II. 실험

1. 재 료

1) 약 재

본 실험에 사용된杏仁 (*Armeniaca Semen*, 중국 하북산)은 지역 약업사(움니허브, Korea)에서 매입한 것을 현미경하에서 관능검사를 통하여 선정하여 사용하였다.

2)杏仁 물 추출

선정된杏仁 100 g을 취하여 정제수 2,000 ml로 80 °C에서 3시간동안 3번 가열 추출한 후, 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator(Buchi

Rotavapor R144, Buchi Labortechnik AG, Switzland)로 감압·농축하여 점조성의 추출물을 얻은 다음 programmable freeze dryer(Labconco Freezone1, Labconco Corp., MO, USA)를 사용하여 동결 건조시켜, 총 19.00 g(수율 약 19.00%)의 연갈색 물 추출물을 얻어 실험에 사용하였다. 물 추출한杏仁 동결 건조물은 -20 °C의 냉장고에 보관 후 실험에 사용하였으며, 본 실험에서 사용한 용매인 증류수에 200 mg/ml의 농도까지 진갈색으로 비교적 잘 용해되었다.

2. 랫트 경구 단회투여독성 시험

1) 실험동물 및 사양관리

이 독성 실험은 대구한의대 자체 동물 윤리 위원회를 통과하여 시행되었다. 암수 각각 20마리의 Sprague-Dawley 랫트(6-wk old upon receipt, SLC, Japan)를 9일간의 순화과정을 거쳐 실험에 사용하였으며, 순화과정 및 실험 전 기간동안 온도(20-24 °C)와 습도(48-52%)가 조절된 사육실에서 랫트용 polycarbonate 사육상자에 5마리씩 수용하여 사육하였다. 명암 주기(light : dark cycle)는 12시간 주기로 조절하였으며, 사료(Samyang, Korea)와 음수는 자유롭게 공급하였다. 모든 실험동물은 투여일 및 최종 부검일 18시간 전 절식을 실시하였으며, picric acid로 개체를 식별하였다.

2) 군분리 및 약물의 투여

실험동물은 군당 5마리씩 Table 1에 기록한 8그룹으로 구분하였다.杏仁 물 추출물에 대한 체계적인 독성실험을 통한 적절한 독성용량을 찾을 수 없어, 한국식품의약품 안전청 기준¹⁴과 OECD 실험 기준¹⁵에 의거하여, 설치류 최고 한계투여용량인 2,000 mg/kg을 최고 용량으로 설정하였으며, 공비 2로 1,000 및 500 mg/kg을 중간 및 저용량 투여군으로 설정하였다. 또한 암수 각각에 대한 매체 대조군을 추가 하였다. 모든 투여군에서는杏仁 물 추출물을 멸균 증류수에 용해시켜 10 ml/kg의 용량으로 overnight 절식 후 존데가 부착된 5 ml 주

사기를 이용하여 경구 투여하였다. 식이와 음수에 따른 약물의 흡수 변화를 최소화하기 위해, 투여 후 대략 3시간 동안 사료와 음수 공급을 제한하였다(Table 1).

Table 1. Experimental Design Used in This Study.

Group	Sex	No. of animals	Dose (mg/kg) of AS extracts	Animal (Rat) No.
Vehicle control*	Male	5	0	M-01 ~ M-05
The highest dosage	Male	5	2,000	M-06 ~ M-10
The middle dosage	Male	5	1,000	M-11 ~ M-15
The lowest dosage	Male	5	500	M-16 ~ M-20
Vehicle control*	Female	5	0	F-01 ~ F-05
The highest dosage	Female	5	2,000	F-06 ~ F-10
The middle dosage	Female	5	1,000	F-11 ~ F-15
The lowest dosage	Female	5	500	F-16 ~ F-20

* Vehicle control: distilled water 10 ml/kg as vehicle in this study.

All test articles in vehicle were once orally administered in a volume of 10 ml/kg, dissolved in distilled water.

3) 임상 증상 관찰

모든 실험동물의 임상증상을 투여 전후에 각각 functional observational battery test^{16,17}를 기초하여 동물의 행동, 자극에 대한 반응성, 각성도 및 경계성, 자세 및 보행 이상 등에 관한 일반증상을 관찰, 기록하였으며, 투여일 이후에도 하루에 최소한 2번씩 모든 실험동물의 임상증상을 관찰 기록하였다.

4) 체중 측정

모든 실험동물의 체중을 투여 전 1일, 투여직전,

투여 후 1, 2, 7, 13 및 14일에 각각 측정하였다. 실험 시작 시 개체 차이에 따른 체중의 변화를 최소화하기 위하여 투여일 부터 투여 후 7일, 투여 후 7일부터 13일 및 투여일 부터 투여 후 13일간의 체중 변화량인 체중증가량을 각각의 체중을 이용하여 산출하였다.

5) 육안 부검

투여 14일 후 모든 실험동물은 overnight 절식을 실시하였으며, ethyl ether(덕산공업주식회사, Korea) 마취하에 부검을 실시하고, 폐, 가슴샘, 부신, 심장, 신장, 비장, 고환, 전립샘, 간, 췌장, 부고환, 악하임파절, 난소, 뇌, 피부, 소화관, 기도, 난관 및 자궁 등 주요 장기를 위주로 이상 육안소견을 각각 관찰 기록하였다.

6) 장기 중량 측정

모든 실험동물은 육안부검 소견을 관찰 기록한 후 폐, 심장, 가슴샘, 좌측 신장, 좌측 부신, 비장, 좌측 고환, 간, 췌장 비장엽, 좌측 부고환, 전립샘, 방광, 좌측 악하임파절, 좌측 난소, 뇌 및 자궁에 대한 절대 중량을 각각 측정하였으며, 체중의 변화에 수반된 이차적 변화를 최소화하기 위해 체중에 대한 각각의 장기 절대 중량의 비율인 상대 중량을 산출하였다.

7) 조직병리학적 관찰

폐, 심장, 가슴샘, 좌측 신장, 좌측 부신, 비장, 좌측 고환, 간, 췌장 비장엽, 좌측 부고환, 좌측 악하임파절, 전립샘, 방광, 좌측 난소, 뇌 및 자궁 등의 일부 조직을 10% 중성포르말린에 18시간 이상 고정시킨 다음, 탈수를 거쳐 파라핀 포매 후 4µm의 절편을 제작하였다. 이후 hematoxylin & eosin 염색을 실시하고, 광학현미경 하에서 이상 유무를 관찰 기록하였다.

3. 통계처리

모든 수치는 평균±표준편차로 표시하였으며, 다중비교검증을 이용하여 통계처리를 실시하였고, 분산동질성을 Levene test를 실시하여 검증하였다.

등분산일 경우, one way ANOVA test를 실시한 다음 Scheffe test로 사후 검증을 실시하여 군간의 유의성을 측정하였다. 비등분산일 경우에는 비모수 검증인 Kruskal-Wallis H test를 실시하여 유의성이 인정된 경우에는, Mann-Whitney U(MW) test를 실시하여 군간의 유의성을 검증하였다. 단회 투여독성시험의 경우, 반수치사량 및 95% 신뢰한계(confidence limits)는 Probit 방법으로 측정하였으며, 임상 증상, 육안부검 및 조직병리학적 소견은 각각 그 정도에 따라 0(normal), 1+(slight), 2+(moderate) 및 3+(severe)로 구분하였다. 통계 처리 및 Probit 방법은 SPSS for Windows(Release

14.0K, SPSS Inc, USA)를 이용하여 평가하였으며, p-value가 0.05 이하인 경우 통계적 유의성을 인정하였다.

III. 결 과

1. 사망률

행인 추출물 2,000 및 1,000 mg/kg을 투여한 모든 암수 랫트(5/5; 100%)가 투여 종료 30분 이내에 사망하였다. 한편 500 mg/kg 암수 투여군에서는 행인 추출물 투여와 관련 있는 사망례는 실험 전 기간 동안 관찰되지 않았다(Table 2).

Table 2. Mortalities Observed in Female and Male Rats after Single Oral Treatment of AS Aqueous Extracts.

Groups	Day after administration													Total*	
	0 ^a	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		13
Vehicle control															
Male	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5(0%)
Female	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5(0%)
AS extracts treated male groups															
2,000 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5/5(100%)
1,000 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5/5(100%)
500 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5(0%)
AS extracts treated female groups															
2,000 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5/5(100%)
1,000 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5/5(100%)
500 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5(0%)

Values are expressed as number of died animals.

^a : treatment day, * : Total mortalities during 14 days of observation periods - died animals/total observed animals (percentages; 5 rats per group).

2. 임상증상

발작, 운동실조, 流涎, 호흡 및 심박수 증가 등이 행인 추출물 투여와 관련된 임상증상으로 관찰되었다. 모든(5/5; 100%) 2,000mg/kg 암수 투여군에서는 경미한[1+] 발작소견, 유연 및 심 [3+] 정도의 운동실조 소견이 관찰되었으며, 1,000 mg/kg 암수 투여군에서도 경미하거나 중등도 [2+]의 유연 소견과 심한 운동 실조 소견이 모든(5/5; 100%)

실험동물에서 관찰되었고, 모든(5/5; 100%) 행인 추출물 500 mg/kg 암수 투여 랫트에서도 경미하거나 중등도의 운동실조, 호흡 및 심박수 증가가 투여 종료 직후부터 관찰되었다. 또한 수컷 500 mg/kg 투여 랫트에서는 경미한 유연 소견이 3례(3/5; 60%)가 관찰되었다. 생존한 500 mg/kg 암수 투여 랫트에서는 이러한 임상증상은 3시간 이내 소실되어, 정상으로 회복되었다(Table 3).

3. 체중 변화

500 mg/kg 암컷 투여군에서 동일 성별의 매체 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.05$) day 0~13 동안의 체중증가량의 증가가 관찰된 이외에, 500 mg/kg 투여 암수 랫트에서 행인 추출물 투여와 관

련된 체중 및 체중증가량의 변화는 인정되지 않았다. 또한 모든 2,000 및 1,000 mg/kg 투여 암수 랫트가 투여일에 사망하여, 체중 및 체중증가량의 변화를 관찰할 수 없었다(Table 4).

Table 3. Clinical Signs Observed in Female and Male Rats after Single Oral Treatment of AS Aqueous Extracts.

Groups	Signs				
	Normal appearance	Seizure	Loss of locomotion	Salivation	RH*
Vehicle control					
Male	5/5 (100%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)
Female	5/5 (100%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)
AS extracts treated male groups					
2,000 mg/kg	0/5 (0%)	5/5 (100%)	5/5 (100%)	5/5 (100%)	0/0 (--) ^a
1,000 mg/kg	0/5 (0%)	0/5 (0%)	5/5 (100%)	5/5 (100%)	0/0 (--) ^a
500 mg/kg	0/5 (0%)	0/5 (0%)	5/5 (100%)	3/5 (60%)	5/5 (100%)
AS extracts treated female groups					
2,000 mg/kg	0/5 (0%)	5/5 (100%)	5/5 (100%)	5/5 (100%)	0/0 (--) ^a
1,000 mg/kg	0/5 (0%)	0/5 (0%)	5/5 (100%)	5/5 (100%)	0/0 (--) ^a
500 mg/kg	0/5 (0%)	0/5 (0%)	5/5 (100%)	0/5 (0%)	5/5 (100%)

Observed animals/total observed animals (percentages).

RH : increases of respiration and heart beats. ^a : The incidences of clinical signs were difficult to calculate because of high mortalities.

Table 4. Body Weight Gains in Female and Male Rats after Single Oral Treatment of AS Aqueous Extracts.

Groups	Intervals		
	Day 0 ^a ~Day7	Day 7~Day 13	Day 0~Day 13 ^b
Vehicle control			
Male	82.60±7.44	32.40±3.78	115.00±9.46
Female	39.40±5.13	16.00±1.87	55.40±4.39
AS extracts treated male groups			
2,000 mg/kg	NC	NC	NC
1,000 mg/kg	NC	NC	NC
500 mg/kg	79.00±3.81	36.40±2.70	115.40±5.58
AS extracts treated female groups			
2,000 mg/kg	NC	NC	NC
1,000 mg/kg	NC	NC	NC
500 mg/kg	45.80±7.60	20.20±3.77	66.00±6.20*

Values are expressed as mean ± SD of five rats, g.

NC : not calculated because of high mortalities.

^a : Day of treatment after overnight fasted, * : $p < 0.05$ as compared with female vehicle control by MW test.

4. 장기중량 변화

최종 부검일까지 생존한 500 mg/kg 투여 암수 랫트에서 각각의 동일 성별 매체 대조군에 비해

의미 있는 장기중량의 변화는 인정되지 않았다 (Table 5-8).

Table 5. Changes on the Absolute Organ Weights Observed in Male Rats after Single Oral Treatment of AS Aqueous Extracts.

Groups	Organs						
	Lung	Heart	Thymus	Kidney L	Adrenal G L	Spleen	Testis L
Vehicle control	1.312±0.038	0.990±0.038	0.392±0.067	1.108±0.052	0.037±0.006	0.536±0.082	1.612±0.104
AS extracts treated groups							
2,000 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
1,000 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
500 mg/kg	1.326±0.056	0.982±0.019	0.421±0.063	1.095±0.070	0.037±0.005	0.556±0.051	1.693±0.082
Groups	Liver	Pancrea S	Brain	Epididymis L	Lymph N L ^a	Prostate	Urinary B
Vehicle control	9.604±0.759	0.662±0.041	1.976±0.026	0.386±0.030	0.072±0.009	0.370±0.067	0.099±0.007
AS extracts treated groups							
2,000 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
1,000 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
500 mg/kg	9.205±0.481	0.708±0.067	2.004±0.052	0.398±0.030	0.072±0.017	0.375±0.046	0.101±0.010

Values are expressed as mean ± SD of five rats, g.

NC : not calculated because of high mortalities, L : left sides, S : splenic lobes, G : gland, B : bladder

^a : Submandibular lymph node.

Table 6. Changes on the Absolute Organ Weights Observed in Female Rats after Single Oral Treatment of AS Aqueous Extracts.

Groups	Organs						
	Lung	Heart	Thymus	Kidney L	Adrenal G L	Spleen	Ovary L
Vehicle control	0.968±0.034	0.676±0.043	0.408±0.053	0.657±0.049	0.039±0.003	0.371±0.039	0.069±0.007
AS extracts treated groups							
2,000 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
1,000 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
500 mg/kg	0.969±0.025	0.683±0.021	0.418±0.046	0.697±0.053	0.037±0.005	0.361±0.032	0.072±0.018
Groups	Liver	Pancrea S	Brain	Uterus	Lymph N L ^a	Urinary B	
Vehicle control	5.632±0.265	0.520±0.083	1.797±0.065	0.488±0.086	0.041±0.012	0.071±0.009	
AS extracts treated groups							
2,000 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC	
1,000 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC	
500 mg/kg	5.783±0.318	0.571±0.046	1.850±0.024	0.452±0.114	0.049±0.011	0.071±0.011	

Values are expressed as mean ± SD of five rats, g.

NC : not calculated because of high mortalities, L : left sides, S : splenic lobes, G : gland, B : bladder

^a : Submandibular lymph node.

Table 7. Changes on the Relative Organ Weights Observed in Male Rats after Single Oral Treatment of AS Aqueous Extracts.

Groups	Organs						
	Lung	Heart	Thymus	Kidney L	Adrenal G L	Spleen	Testis L
Vehicle control	0.420±0.027	0.317±0.010	0.125±0.020	0.354±0.004	0.012±0.001	0.171±0.023	0.515±0.029
AS extracts treated groups							
2,000 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
1,000 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
500 mg/kg	0.428±0.017	0.317±0.007	0.136±0.021	0.353±0.025	0.012±0.002	0.179±0.015	0.546±0.027
Groups	Liver	Pancreas S	Brain	Epididymis L	Lymph N L ^a	Prostate	Urinary B
Vehicle control	3.066±0.144	0.211±0.008	0.632±0.024	0.123±0.010	0.023±0.004	0.118±0.019	0.032±0.003
AS extracts treated groups							
2,000 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
1,000 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
500 mg/kg	2.969±0.149	0.228±0.022	0.647±0.018	0.129±0.010	0.023±0.006	0.121±0.015	0.033±0.003

Values are expressed as mean ± SD of five rats, % of body weight.

NC : not calculated because of high mortalities, L : left sides, S : splenic lobes, G : gland, B : bladder

^a : Submandibular lymph node.

Table 8. Changes on the Relative Organ Weights Observed in Female Rats after Single Oral Treatment of AS Aqueous Extracts.

Groups	Organs						
	Lung	Heart	Thymus	Kidney L	Adrenal G L	Spleen	Ovary L
Vehicle control	0.543±0.022	0.379±0.018	0.228±0.027	0.368±0.033	0.022±0.002	0.208±0.023	0.039±0.004
AS extracts treated groups							
2,000 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
1,000 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
500 mg/kg	0.511±0.017	0.360±0.013	0.220±0.020	0.367±0.026	0.020±0.002	0.190±0.014	0.038±0.009
Groups	Liver	Pancreas S	Brain	Uterus	Lymph N L ^a	Urinary B	
Vehicle control	3.154±0.068	0.290±0.039	1.008±0.060	0.275±0.054	0.023±0.007	0.040±0.005	
AS extracts treated groups							
2,000 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC	
1,000 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC	
500 mg/kg	3.055±0.270	0.301±0.024	0.977±0.046	0.238±0.058	0.026±0.006	0.037±0.005	

Values are expressed as mean ± SD of five rats, % of body weight.

NC : not calculated because of high mortalities, L : left sides, S : splenic lobes, G : gland, B : bladder

^a : Submandibular lymph node.

5. 부검조건

투여일에 사망한 암수 2,000 및 1,000 mg/kg 투여군에서는 경미한[1+] 폐 충출혈 소견이 관찰되

어 1,000 mg/kg 이상에서 특히 호흡과 관련된 폐기능에 영향을 미치는 것으로 생각된다. 이외에 별다른 이상 소견은 관찰되지 않았다.

한편 최종부검시, 경미한[1+] 폐 충출혈(congestion), 가슴샘 위축, 악하임파절 종대 및 자궁 부종조건이 암수 매체 대조군을 포함한 모든 실험군에 걸쳐 산발적으로 관찰된 이외에, 행인 추출물 투여와 관련된 의미 있는 육안 부검조건은 관찰되지 않았다(Table 9, 10).

Table 9. Necropsy Findings Observed in Male Rats after Single Oral Treatment of AS Aqueous Extracts.

Organs-Findings	Groups	Vehicle control	AS extracts treated as		
			2,000 mg/kg	1,000 mg/kg	500 mg/kg
Lung	Normal	4/5	0/0	0/0	4/5
	Congestion	1/5	0/0	0/0	1/5
Heart	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Thymus	Normal	4/5	0/0	0/0	5/5
	Atrophy	1/5	0/0	0/0	0/5
Kidney	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Adrenal gland	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Spleen	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Testis	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Liver	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Pancreas	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Brain	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Epididymis	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Urinary Bladder	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Lymph node ^a	Normal	4/5	0/0	0/0	3/5
	Hypertrophy	1/5	0/0	0/0	2/5
Prostate	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Others	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5

Observed animals/total observed animals of five rats. All rats treated with AS extracts 2,000 and 1,000 mg/kg were died at treatment day. AS : *Armeniacae Semen*. ^a : Bilateral submandibular lymph node.

Table 10. Necropsy Findings Observed in Female Rats after Single Oral Treatment of AS Aqueous Extracts.

Organs-Findings	Groups	Vehicle control	AS extracts treated as		
			2,000 mg/kg	1,000 mg/kg	500 mg/kg
Lung	Normal	3/5	0/0	0/0	3/5
	Congestion	2/5	0/0	0/0	2/5
Heart	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Thymus	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Kidney	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Adrenal gland	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Spleen	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Ovary	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Liver	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Pancreas	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Brain	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Uterus	Normal	3/5	0/0	0/0	2/5
	Edematous	2/5	0/0	0/0	3/5
Urinary Bladder	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Lymph node ^a	Normal	4/5	0/0	0/0	3/5
	Hypertrophy	1/5	0/0	0/0	2/5
Others	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5

Observed animals/total observed animals of five rats. All rats treated with AS extracts 2,000 and 1,000 mg/kg were died at treatment day

^a : Bilateral submandibular lymph node.

6. 조직병리학적 소견

최종 부검시, 경미한 [1+] 폐 충출혈 - 폐포 벽의 비후와 염증세포 및 적혈구 축적(Fig. 1), 가슴샘 피질 임파구 감소 또는 충혈(Fig. 2), 비장 백색수질 임파구 감소(Fig. 3) 및 간 국소 염증세포 침윤 소견(Fig. 4) 이 암수 매체 대조군을 포함한 모든 실험군에 걸쳐 산발적으로 관찰된 이외에 행인물 추출물 투여와 관련된 조직병리학적 소견은 관찰되지 않았다(Table 11, 12).

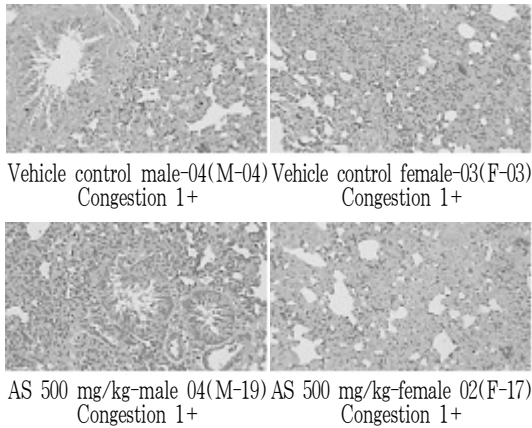


Fig. 1. Histopathological changes detected on the lung.

Note that slight (1+) lung focal congestional spots - thickening of alveolar lung inflammatory cell infiltration with/without focal hemorrhages were randomly detected in both genders of vehicle control and 500 mg/kg treated rats as sporadic findings not AS treatment related toxicological signs.

A : alveolar sac-respiratory bronchiole, B : bronchiole
All hematoxylin & eosin stain; Scale bars = 200 μ m.

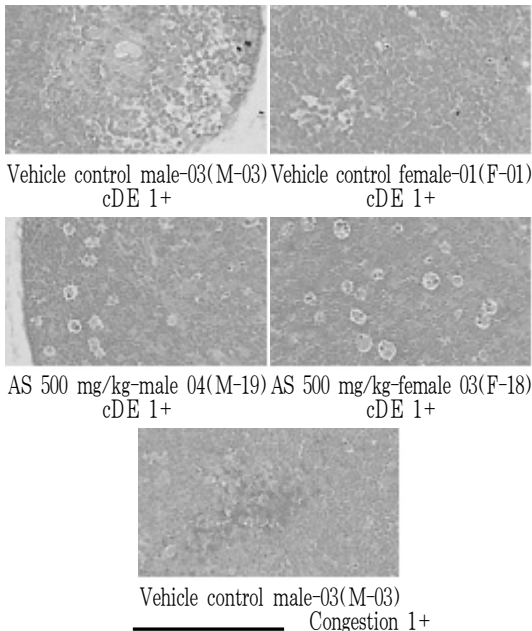


Fig. 2. Histopathological changes detected in the thymus.

Note that slight [1+] decreases of lymphoid cells in the thymic cortex(cDE; as seen vacuoles or loosening) were detected in the both genders of vehicle control and 500 mg/kg treated rats as sporadic findings not AS treatment related toxicological signs. In addition, one rat (1/5; 20%) in male vehicle control showed slight congestion as sporadic findings.

C : cortex, M : medulla

All hematoxylin & eosin stain; Scale bars = 200 μ m.

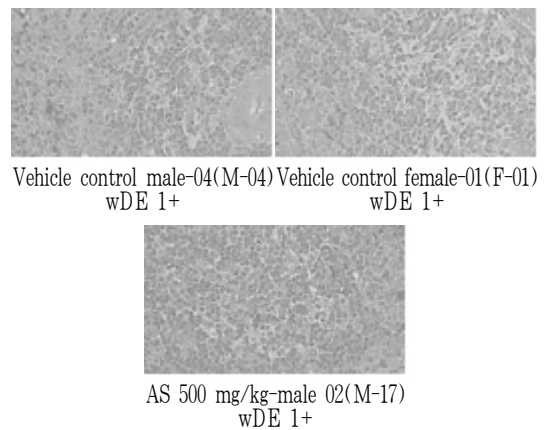


Fig. 3. Histopathological changes detected on the spleen.

Note that slight [1+] decreases of white pulp lymphoid cells (wDE; as seen vacuoles) were randomly detected in one rat (1/5; 20%) of the both genders of vehicle control and 500 mg/kg treated male rats, respectively as sporadic findings not AS treatment related toxicological signs.

R : red pulps, W : white pulps, C : central arteriole

All hematoxylin & eosin stain; Scale bars = 200 μ m.

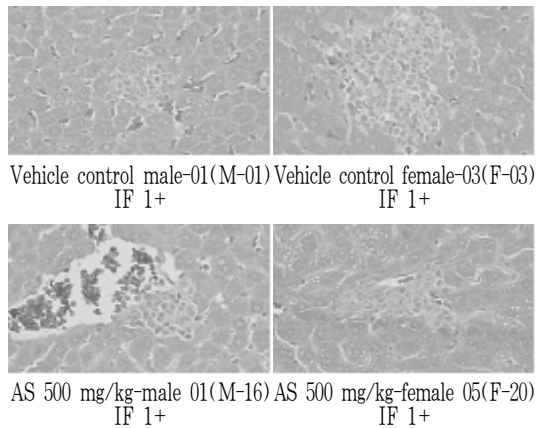


Fig. 4. Histopathological changes detected in the liver.

Note that slight [1+] focal inflammatory cell infiltrations (IF) were detected in the both genders of vehicle control and 500 mg/kg treated rats as sporadic findings not AS treatment related toxicological signs.

C : central vein

All hematoxylin & eosin stain: Scale bars = 200 μ m.

Table 11. Histopathological Findings Observed in Male Rats after Single Oral Treatment of AS Aqueous Extracts.

Organs-Findings	Groups	Vehicle control	AS extracts treated as		
			2,000 mg/kg	1,000 mg/kg	500 mg/kg
Lung	Normal	4/5	0/0	0/0	4/5
	Congestion	1/5	0/0	0/0	1/5
Heart	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Thymus	Normal	4/5	0/0	0/0	4/5
	Congestion	1/5	0/0	0/0	0/5
	cDE [†]	1/5	0/0	0/0	1/5
Kidney	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Adrenal gland	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Spleen	Normal	4/5	0/0	0/0	4/5
	wDE [†]	1/5	0/0	0/0	1/5
Testis	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Liver	Normal	4/5	0/0	0/0	3/5
	IF [†]	1/5	0/0	0/0	2/5
Pancreas	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Brain	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Epididymis	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Urinary Bladder	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Lymph node ^a	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Prostate	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5

Observed animals/total observed animals of five rats.

All rats treated with AS extracts 2,000 and 1,000 mg/kg were died at treatment day

^a : Left submandibular lymph node, [†] : Abbreviations, cDE : decreases of cortex lymphoid cells, wDE : decreases of white pulp lymphoid cells, IF: focal inflammatory cell infiltration.

Table 12. Histopathological Findings Observed in Female Rats after Single Oral Treatment of AS Aqueous Extracts.

Organs-Findings	Groups	Vehicle control	AS extracts treated as		
			2,000 mg/kg	1,000 mg/kg	500 mg/kg
Lung	Normal	3/5	0/0	0/0	3/5
	Congestion	2/5	0/0	0/0	2/5
Heart	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Thymus	Normal	4/5	0/0	0/0	4/5
	cDE [†]	1/5	0/0	0/0	1/5
Kidney	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Adrenal gland	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Spleen	Normal	4/5	0/0	0/0	5/5
	wDE [†]	1/5	0/0	0/0	0/5
Ovary	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Liver	Normal	3/5	0/0	0/0	3/5
	IF [†]	2/5	0/0	0/0	2/5
Pancreas	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Brain	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Uterus	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Urinary Bladder	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5
Lymph node ^a	Normal	5/5	0/0	0/0	5/5

Observed animals/total observed animals of five rats.

All rats treated with AS extracts 2,000 and 1,000 mg/kg were died at treatment day

^a : Left submandibular lymph node, [†] : Abbreviations, cDE : decreases of cortex lymphoid cells, wDE : decreases of white pulp lymphoid cells, IF : focal inflammatory cell infiltration.

IV. 고 찰

杏仁은 장미과에 속한 낙엽교목인 살구, 시베리아 살구나무 및 동속 근연식물의 성숙한 종자로 과실이 성숙할 때果肉과核의殼을 제거하고種仁만 취해서 건조한 약재로止咳平喘藥으로 분류된다.杏仁의性味는微苦,溫,少毒하고肺,大腸經으로歸經한다.효능은降氣止咳平喘,潤腸通便,消食하고咳嗽氣喘,胸滿痰多,血虛津枯,腸燥便秘에 사용된다².

杏仁(Apricot Kernel, *Armeniaca Semen*)의 주요 성분은 50% 이상의 지방유 및 20~25% 정도의 단백질 및 3% 이상의 amygdalin이 함유되어 있으며 특히 amygdalin의 함유량이 높아 cyanide pellets

이라 여겨진다^{1,2,18}.

Amygdalin은 두개의 glucose, benzaldehyde 및 cyanide로 구성되어 있으며 β-glucosidase에 의해 mandelonitrile-β-glucuronide(prunasin)와 glucose로 분해되고, 다시 prunasin은 mandelonitrile과 glucose로 가수분해되며 그 대사물질인 mandelonitrile은 nitrile lyase에 의해 benzaldehyde와 hydrogen cyanide로 가수분해된다¹⁹.

Hydrogen cyanide는 조직세포로 하여금 적혈구가 가지고 있는 산소를 이용할 방법을 없게 해서 세포내 질식을 일으켜 세포중독성 산소결핍증을 일어나게 하고 중추신경계통에서는 처음에는 흥분하고 나중에는 마비시켜 호흡마비를 발생하게 한다¹³.

한편 이러한 hydrogen cyanide는 주로 경구 투여시 문제가 되며, 복강 및 정맥 투여시에는 큰 문제를 일으키지 않는 것으로 알려져 있어, amygdalin의 랫트에서 정맥투여시 반수치사량(LD₅₀)은 25 g/kg인데 반하여, 경구투여시 0.6 g/kg으로 현저히 낮아지고 피하투여에 해당하는 행인 약침의 경우, 그 독성이 미약한 것으로 밝혀졌다^{12,13,20}.

본 연구에서는 有皮杏仁 물 추출물의 일반 독성 시험 중 현재 한국식품의약품안전청의 의약품 등의 독성시험기준¹⁴에 명시되어 있는 랫트 경구 단회투여독성 시험을 실시하여, 장기투여 독성 시험과 생식·발생독성 시험을 위시한 특수 독성시험에 대한 기초자료를 제공하고자 하였다.

한국식품의약품 안전청 고시¹⁴ 및 OECD 기준¹⁵에 따르면, 랫트에서 투여한계 농도를 2,000 mg/kg 또는 최대 용해농도로 규정하고 있고, 투여 용량은 10 ml/kg을 넘지 않을 것을 권장하고 있다. 본 실험에서 사용한杏仁 물 추출물은 멸균 증류수에 200 mg/ml까지 비교적 잘 용해되어, 10 ml/kg의 용량 즉, 2,000 mg/kg을 최고 농도로 투여하였다.

본 실험에서는 행인 물 추출물에 대한 체계적인 독성실험을 통한 적절한 독성용량을 찾을 수 없어, 한국식품의약품안전청¹⁴와 OECD 실험기준¹⁵에 의거하여, 설치류 최고 한계투여용량인 2,000 mg/kg을 최고 용량으로 설정하였으며, 공비 2로 1,000 및 500 mg/kg을 중간 및 저용량으로 설정하여, 단회 경구투여하고, 14일간 체중 및 임상증상을 관찰하였다. 14일 후 최종 부검을 통하여 주요 장기에 대한 장기 중량, 육안 부검 및 조직병리학적 관찰을 실시하였다.

그 결과杏仁 추출물 2,000 및 1,000 mg/kg을 투여한 모든 암수 랫트(5/5; 100%)가 투여 종료 30분 이내에 사망한 반면, 500 mg/kg 암수 투여군에서는杏仁 추출물 투여와 관련 있는 사망례가 인정되지 않아,杏仁 물 추출물의 암수 랫트에서 반수치사량은 각각 741.95 mg/kg으로 산출되었다.

또한 발작, 운동실조, 유연, 호흡 및 심박수 증가

등이杏仁 추출물 투여와 관련된 임상증상으로 관찰되었으며, 이중 발작 소견은 2,000 mg/kg 암수 투여군에 국한되어 관찰되었으나, 운동실조, 유연, 호흡 및 심박수 증가는 최저 투여 용량인 500 mg/kg 투여군에서 관찰되었다. 투여일에 사망한 암수 2,000 및 1,000 mg/kg 투여군에서 폐의 총출혈 소견이 모든 실험동물에서 각각 관찰되어 1,000 mg/kg 이상의 투여는 폐 기능 특히 호흡에 영향을 미치는 것으로 생각된다.

본 실험에서 발작, 운동실조, 유연, 호흡 및 심박수 증가 등은 hydrogen cyanide 중독시의 전형적인 임상소견으로^{13,21,22},杏仁에 함유된 amygdalin에 의한 직접적인 독성 증상으로 판단된다.

한편 암컷 500 mg/kg 투여군에 국한된 Day 0~13 동안의 체중증가량의 증가를 제외하고, 최종 부검일까지 생존한 500 mg/kg 암수 투여군에서杏仁 추출물 투여와 관련된 장기중량 변화, 육안부검 및 조직병리학적 소견은 관찰되지 않았다.

본 실험에 사용한 실험동물의 체중 및 장기중량은 동일한 주령의 랫트의 정상 범주^{23,24}에 포함되어 관찰되었으며, 암수 2,000 및 1,000 mg/kg 투여군은 모든 실험동물이 투여 30분 이내에 사망하여, 정확한 체중변화 유무는 알 수 없으나, 암컷 500 mg/kg 투여군에서만 Day 0~13 동안 매체 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.05$) 체중증가량의 증가를 제외하고는 500 mg/kg 투여군에서는杏仁 추출물 투여와 관련된 체중 및 체중증가량의 변화는 관찰되지 않았다. 한편 500 mg/kg 투여군에 국한된 Day 0~13 동안의 체중증가량의 증가 역시 비교적 경미한 증가로, 큰 의미는 없을 것으로 판단된다.

육안 부검시 관찰된 경미한 폐 총출혈, 가슴샘 위축, 악하임파절 종대 및 자궁 부종 소견들과 조직병리학적 검사시 인정된 경미한 폐 총출혈, 가슴샘 피질 임파구 감소 또는 총혈, 비장 백색수질 임파구 감소 및 간 국소 염증세포 침윤 소견은 암수 매체 대조군을 포함한 모든 실험군에 걸쳐 산발적으로 관찰되었으며, 용량 의존성이 전혀 인정되지

않아,杏仁 추출물 투여와 관련 없는 우발적 병소로 생각되고, 이들 병소들은 정상 랫트에서 드물게 인정되는 소견으로 알려져 있고^{25,26} 특히 자궁은 estrus cycle에 따라 쉽게 변화할 수 있어^{27,28}, 자궁 부종은 estrus cycle에 따른 이차적 변화로 판단된다.

US Environmental Protection Agency²⁹에 따르면 일반적으로 반수 치사량이 5,000~15,000 mg/kg 인 물질을 무독성 물질로, 500~5,000 mg/kg을 비교적 저독성(Class III) 물질로 규정하고 있으나, 한국식품의약품 안전청¹⁴ 및 OECD 기준¹⁵에 따르면, 설치류에서 투여한계 농도를 2,000 mg/kg으로 제한하고 있다. 따라서 본 실험의 랫트 단회 경구 투여 독성실험에서杏仁 추출물의 반수치사량은 암수 각각 741.95 mg/kg으로 산출되었고, 개략적 치사량은 암수 모두 500~1,000 mg/kg으로 관찰되어, 비교적 저독성물질(Class III)의 범주에 포함되었다. 그러나 500 mg/kg 투여군에서도 현저한 호흡수 및 심박수 증가와 함께 유연 증상이 관찰되어, 임상 사용에 특별한 주의가 요구되고, 랫트의 사람의 체표면적 차이(계수) 1/6을 대입하면, 체중 60 kg의 성인에서의 반수 치사량이 대략 7.5 g으로 산출되므로, 有皮杏仁 추출물의 임상 사용시 매우 각별한 주의가 요구된다.

또한杏仁의 amygdalin 함량 및 이와 관련된 독성증상이 여러 가지 포제에 의해 감소되는 것으로 알려져 있으며^{13,30,31}, 탈피 전,후 화학적 조성이 달라진 것으로 밝혀져³² 포제 후의 독성 검사도 향후 필요할 것으로 생각된다.

V. 결 론

有皮杏仁의 랫트 단회 경구투여 독성을 시험한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 행인 추출물 2,000 및 1,000 mg/kg을 투여한 모든 암수 투여군에서 랫트가 투여 종료 30분 이

내에 사망하였고 500 mg/kg 암수 투여군에서는 실험 전 기간동안 사망례가 관찰되지 않아서 행인 물 추출물의 암수 랫트에서 반수치사량은 각각 741.95 mg/kg으로 산출되었다

- 모든 행인 추출물 투여군에서 발작, 운동실조, 유연, 호흡 및 심박수 증가 등의 임상증상이 관찰되었다.
- 행인 추출물 500 mg/kg 암컷 투여군에서 체중증가량의 증가가 동일 성별의 매체 대조군에 비해 유의성 있게($p < 0.05$) 증가한 이외에는 500 mg/kg 투여군에서는 체중 및 체중증가량의 변화는 관찰되지 않았다.
- 모든 행인 추출물 투여군에서 의미있는 장기중량 변화와 조직병리학적 소견은 관찰되지 않았다.
- 행인 추출물 2,000 및 1,000 mg/kg 암수 투여군에서만 경미한 폐 충출혈 소견이 관찰되었다.

참고문헌

- 김동현, 김형민, 류종훈, 엄재영, 김상찬, 양재하, 등. 한방약리학. 서울: 신일상사; 2010, p. 328-30.
- 김인락, 김호철, 국윤범, 박성주, 박용기, 박지하, 등. 本草學. 서울: 永林社; 2007, p. 512-3.
- Do JS, Hwang JK, Seo HJ, Woo WH, Nam SY. Antiasthmatic activity and selective inhibition of type 2 helper T cell response by aqueous extract of semen armeniacae amarum. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2006;28(2):213-25.
- 황대룡, 강영성, 김성수, 김대한, 신민교, 송호준. 행인의 알레르기 천식 효과에 대한 연구. 대한본초학회지 2003;18(2):201-8.
- 김유승, 송춘호. 행인약침이 항알레르기에 미치는 영향. *경락경혈학회지* 2007;24(4):151-62.
- Yamamoto K, Osaki Y, Kato T, Miyazaki T. Antimutagenic substances in the Armeniacae

- semen and Persicae semen. *Yakugaku Zasshi* 1992;112(12):934-9.
7. Toriyama-Baba H, Iigo M, Asamoto M, Iwahori Y, Park CB, Han BS, et al. Organotropic chemopreventive effects of n-3 unsaturated fatty acids in a rat multi-organ carcinogenesis model. *Jpn J Cancer Res* 2001;92(11):1175-83.
 8. Yang HY, Chang HK, Lee JW, Kim YS, Kim H, Lee MH, et al. Amygdalin suppresses lipopolysaccharide-induced expressions of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase in mouse BV2 microglial cells. *Neurol Res* 2007;29(1):S59-64.
 9. 김영훈, 조우아, 천순주, 장민정, 성지연, 정연숙, 등. 행인의 약용화장품 활성 및 미백 효과에 관한 연구. *한약응용학회지* 2007;7(1):35-9.
 10. 김영욱, 송윤경, 임형호. 행인에서 추출한 Amygdalin 이 좌골신경 단열로 신경이 손상된 쥐의 기능 회복 및 중심회백질의 c-Fos 발현에 미치는 영향. *한방재활의과학회지* 2006;16(4):37-47.
 11. 서부일, 박지하. 행인의 독성에 관한 문헌적 고찰. *제한동의학술원논문집* 2008;6(1):135-62.
 12. Suchard JR, Wallace KL, Gerkin RD. Acute cyanide toxicity caused by apricot kernel ingestion. *Ann Emerg Med* 1998;32(6):742-44.
 13. 심범상, 최승훈, 박재경. 행인 제제의 독성 및 항암효과와 자연살해세포 활성화에 미치는 효과. *대한한방중양학회지* 2000;6(1):19-28.
 14. 한국식품의약품안전청. 의약품 등의 독성시험 기준. 서울: 한국식품의약품 안전청 고시 제 2009-116호; 2009, p. 1-59.
 15. Organization for Economic Co-Operation and Development (Ed.). OECD guideline (423) for testing of chemicals - acute oral toxicity-acute toxic class method. OECD/OCDE; 2001, p. 1-14.
 16. Irwin S. Comprehensive observational assessment: Ia. A systemic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physiological state of the mouse. *Psychopharmacology* 1968;13(3):222-57.
 17. Dourish CT. Effects of drugs on spontaneous motor activity. In: *Experimental Psychopharmacology*. Greenshaw AJ and Dourish CT (Ed). Clifton: Humana Press; 1987, p. 325-34.
 18. 도병경, 권훈정, 이동하, 나안희, 최윤주, 이숙연. 가열조리방법을 통한 행인 내 시안화합물의 저감화. *한국식품위생안전성학회지* 2007;22(4):395-400.
 19. 김정훈, 강태욱, 박찬봉, 차광재, 안영근. 아미그달린의 투여경로에 따른 면역생물학적 연구. *약학회지* 1996;40(2):202-11.
 20. 김욱, 권기록. 행인약침의 급성 아급성 독성실험 및 Sarcoma-180 항암효과에 관한 실험적 연구. *대한약침학회지* 2002;5(1):61-79.
 21. Strugala GJ, Stahl R, Elsenhans B, Rauws AG, Forth W. Small-intestinal transfer mechanism of prunasin, the primary metabolite of the cyanogenic glycoside amygdalin. *Hum Exp Toxicol* 1995;14(11):895-901.
 22. O'Brien B, Quigg C, Leong T. Severe cyanide toxicity from 'vitamin supplements'. *Eur J Emerg Med* 2005;12(5):257-8.
 23. Fox JG, Cohen BJ, Loew FM. *Laboratory animal medicine*. Orlando: Academic Press. Inc.; 1984, p. 613-8.
 24. Tajima Y (Ed). *Biological reference data book on experimental animals*. Tokyo: Soft Science Inc.; 1989, p. 1-10.
 25. Yoon HS, Shin YK, Jung YM, Lee HS, Ku SK. Single oral dose toxicity test of low molecular weight fucoidan in rats. *Biomol Ther* 2009;17(3):325-31.
 26. Yoon HS, Shin YK, Lee SH, Lee DS, Jung YM, Lee HS, et al. 14 days repeat oral dose toxicity of low molecular weight fucoidan in

- rats. *Biomol Ther* 2010;18(1):111-21.
27. Banks WJ. Female reproductive system. In: Banks WJ (Ed). *Applied veterinary histology*. 2nd ed. Baltimore: Williams & Wilkins: 1986, p. 506-26.
 28. Pineda MH. Female reproductive system. In: McDonald LE and Pineda MH (Eds). *Veterinary endocrinology and reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger: 1989, p. 303-54.
 29. US Environmental Protection Agency. Health Effects Test Guidelines OPPTS 870.1000 Acute Toxicity Testing Background. US EPA August. Washington, DC: 1998, p. 1-6.
 30. Liang AH, Nie SQ, Xue BY, Li GQ, Li ZL. Effects of processing on special toxicity and pharmacodynamics in semen *Armeniacae amarum*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 1993;18(8):474-8, 509.
 31. 서부일, 신순식. 알기 쉬운 한약 포제학. 대구: 대원당기획출판사; 2007, p. 293-5.
 32. 이성호, 이성민, 임효진, 김두진, 김갑순. 살구씨의 화학적 조성에 관한 연구. *한국식품영양학회지* 1992;5(1):1-6.