



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2021년 02월  
박사학위 논문

천연물 유래 복합 추출물의  
퇴행성 골관절염에 대한  
항염효과

조선대학교 대학원

식품의약학과

김정영

천연물 유래 복합 추출물의  
퇴행성 골관절염에 대한  
항염효과

Anti-inflammatory Effect of Complex of Natural Products  
Extract on Degenerative Osteoarthritis

2021년 02월 25일

조선대학교 대학원

식품의약학과

김정영

천연물 유래 복합 추출물의  
퇴행성 골관절염에 대한  
항염효과

Anti-inflammatory Effect of Complex of Natural Products  
Extract on Degenerative Osteoarthritis

지도교수 이동성

이 논문을 약학 박사학위신청 논문으로 제출함

2020년 10월

조선대학교 대학원

식품의약학과

김정영

## 김정영의 박사학위논문을 인준함

위원장	조선대학교	교수	우은란	(인)
위원	조선대학교	교수	이원재	(인)
위원	조선대학교	교수	이재준	(인)
위원	원광대학교	교수	김윤철	(인)
위원	조선대학교	조교수	이동성	(인)

2020년 12월

조선대학교 대학원

## 목 차

### Chapter 1. 골 질환 치료 한약에 대한 연구

1. 서론.....	2
2. 조사 및 방법.....	4
3. 결과 및 고찰.....	5
3.1. 대표적 골 질환인 류마티스 관절염과 골다공증.....	5
3.2. 현재 사용 중인 골 질환 치료제 종류와 부작용.....	10
3.3. 골 질환에 사용되는 한약학적 처방.....	13
3.4. 골 질환 빈용처방의 구성약재 비교.....	16
4. 결론.....	34

### Chapter 2. 해동피 복합 추출물의 퇴행성 골관절염에 대한 효과

1. 서론.....	36
2. 재료 및 방법.....	51
2.1. 추출물 제조 및 시험물질의 조제.....	51
2.2. 실험동물 및 사육 환경.....	51
2.3. 관절염 유도 및 시험군 구성.....	52
2.4. 체중 변화량 및 식이 섭취량과 음수 섭취량 측정.....	53
2.5. 관절염 임상 지수 분석.....	53
2.6. 체중 부하 검사.....	53
2.7. 부검 및 혈액 분석.....	54
2.8. Micro CT 분석.....	54
2.9. 병리조직학적 분석.....	54
2.10. 통계 분석.....	55

3. 결과 및 고찰.....	59
3.1. 체중 변화량 및 식이 섭취량과 음수 섭취량의 측정.....	59
3.2. 관절염 임상 지수 및 체중부하.....	62
3.3. 혈중 염증성 cytokine 함량 분석.....	65
3.4. 조직학적 분석.....	68
3.5. Micro-CT 분석.....	71
4. 결 론.....	74
인용문헌.....	76

**Figure & Table**

Figure 1. Effect of Samples on Weekly Weight in MIA-Induced Osteoarthritis Animal Model.....	60
Figure 2. Effects of Samples on Weekly Diet and Drinking Intake in MIA-Induced Osteoarthritis Animal Models.....	61
Figure 3. The Effect of MIA-Induced Osteoarthritis on (A) Clinical Arthritis Index and (B) Animal Arthritis Weight Load Index.....	64
Figure 4. The effect of MIA-induced Osteoarthritis on Blood Cytokines Content.....	67
Figure 5. Effects of MIA-induced Osteoarthritis on Animal Joints.....	69
Figure 6. Effects of MIA-induced Osteoarthritis on Animal Joints.....	70
Figure 7. Effects of MIA-induced Osteoarthritis on Animal Joints (Mirco-CT).....	72
Table I Types of currently used medicines for the treatment of bone diseases .....	9
Table II The most frequently prescribed herbal medicines for bone diseases .....	15
Table III The individual medicinal herbs as ingredients for the most frequently used prescribed herbal medicines for bone diseases.....	33
Table IV The Composition of Natural Functional Complex Formulation.....	56
Table V The composition of Experimental Group and Dosage. ....	57
Table VI The Grade and Arthritis Clinical Index. ....	58
Table VII Effect of treatment with samples on cartilage volume.....	73

## Abstract

### Anti-inflammatory Effect of Complex of Natural Products Extract on Degenerative Osteoarthritis

Kim Jung Young

Advisor : Prof. Lee Dong-Sung,

Dept. of Food and Drug

Graduate School of Chosun University

As the average life expectancy increases year by year, the proportion of the elderly population is increasing. According to this, the number of patients with bone diseases such as rheumatoid arthritis and osteoporosis is rapidly increasing as well. Thus, recently there has been a growing interest in the treatment of bone diseases. When we choose the herbal treatment methods of bone diseases, it is not only important to find an effective treatment without side effects used on the patients with bone diseases, but also it needs to increase the therapeutic effect. Recently it has been investigated that herbal medicines can be used as an alternative to avoid side effects of western medicines for bone diseases. In this paper, we reviewed not only the social background, treatments types and the most frequently prescribed herbal medicines, but also the



most frequently used individual medicinal herbs as ingredients for the prescribed herbal medicine for bone diseases such as rheumatoid arthritis and osteoporosis. The seven most commonly used herbal medicines for bone diseases investigated in this study are Sasinhwan, Gamiwoogwieum, Woogwieum, Palmijihwanghwan, Yukmijihwanghwan, Gobongyeongdan, and Jeopgolsan. In addition, among the individual components of these seven herbal medicines, the eight most regularly used individual medicinal herbs are Rehmanniae Radix Preparata, Dioscoreae Rhizoma, Lycii Fructus, Eucommiae Cortex, Aconiti Lateralis Radix Prepapata, Cinnamomi Cortex, Poria Sclerotium, and Corni Fructus. Also recent studies have shown that these eight medicinal herbs can be individually used to treat bone diseases. Therefore, it is expected that our results in this study can be usefully applied to propose new herbal prescriptions by using these eight medicinal herbs for treatment of bone diseases.

After the previous investigational study for osteoarthritis male sprague-Dawley rats were randomized and classified into three different concentration groups to investigate the anti-inflammatory effect on degenerative osteoarthritis. We measured weekly weight change, dietary intake, drinking water intake, blood analysis like TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ ), IL-6 (interleukin 6), TIMP-1 (tissue inhibitor of metalloprotease-1), MMP-2 (matrix metalloprotease-2), MMP-9 (matrix metalloprotease-9) and micro CT analysis. The results suggest that the treatment with herbal complex

HP-04 improved the monosodium iodoacetate (MIA) induced degenerative osteoarthritis and it could be applicable for the improvement of arthritic symptoms as a new herbal medicine.

**Keywords** : Bone diseases, Herbal medicine prescription, Herbal complex HP-04, Interleukin 6, Monosodium iodoacetate, Medicinal herbs, Matrix Metalloprotease-2, Osteoarthritis, Tumor Necrosis Factor- $\alpha$

## Chapter 1.

### 골 질환 치료 한약에 대한 연구

## 1. 서론

의학의 발달로 인하여 기대수명이 늘어나고 또한, 고령인구의 비중이 늘어남에 따라 삶의 질에 대한 관심이 현저하게 높아지고 있다. 이에, 본지에서는 대표적인 노인성 질환 중 삶의 질에 밀접한 관련이 있고 많은 사회적인 비용을 요하고 있는 골 질환에 대하여 고찰하고자 한다.<sup>1)</sup>

현재까지 골 질환 치료제는 염증을 완화시키는 아스피린 계열의 비스테로이드성 소염제 (Non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs), methotrexate, hydroxychloroquine, sulfasalazine 등의 항류마티스 조절제 (Disease modifying anti-rheumatic drugs, DMARDs), 스테로이드 제제 등이 있다. 약물치료는 장기간 복용에 따른 부작용으로 노년층 환자들에게 많은 불편을 초래하고 있으며, 특히 심각한 위장장애 및 면역교란을 초래하고 있는 실정이다.<sup>2)</sup> 골 질환 치료에 쓰이는 대표적인 약제는 비스테로이드성 소염제 (celecoxib 등)로 국내에서도 100여종의 상품명으로 판매되고 있다.<sup>3)</sup> 그 중 류마티스 관절염 시장은 최근 연평균 3.9%의 성장세를 보이고 있으며, 미국, 영국, 프랑스, 독일, 이탈리아, 스페인, 호주 및 일본 등 주요 8개 국가에서 2015년도 총 195억 달러 규모의 시장을 구축하고 있으며, 오는 2025년도에는 285억달러까지 확대될 것이라 예상하고 있다.<sup>2,3)</sup> 이처럼 늘어나는 골 질환 환자들의 치료효과 증대를 위해서는 부작용이 없고 효과적인 치료제 개발이 필요한 실정이다.

골 질환에 대한 전반적인 내용을 한약학적 관점으로 바라보면, 근맥이 완(筋脈弛緩), 연약무력(軟弱無力)으로 인하여 각 관절에 운동불능을

야기시키는 증상을 위증(痿證)이라 하고 원인은 폐열상진(肺熱傷津), 습열침음(濕熱浸淫), 간신휴허(肝腎虧虛), 기혈부족(氣血不足)으로 인해 발생한다고 할 수 있다.<sup>4-5)</sup> 또한, 발생병리와 부위에 따라 오위(五痿)라고 불리는 혈위(血痿), 육위(肉痿), 근위(筋痿), 맥위(脈痿), 골위(骨痿)가 있으며 이를 습열위(濕熱痿), 습담위(濕痰痿), 조열위(燥熱痿), 혈어위(血瘀痿), 음허위(陰虛痿), 혈허위(血虛痿), 기허위(氣虛痿) 등으로 구분한다.<sup>5)</sup> 나열한 병증 중에 골위(骨痿)의 경우 현대의 병증인 골다공증과 유사함을 보인다고 할 수 있다. 비증(痺症), 역절풍(歷節風), 학슬풍(鶴膝風) 등의 범주에 속하는 류마티스 관절염의 경우 발생 원인을 풍(風)·한(寒)·습(濕)의 사기(邪氣)가 정기허약(正氣虛弱)한 인체의 경락으로 침투하거나 관절에 사기(邪氣)가 응체됨으로써 발생하는 혈기 운행 저해로 기인한다고 볼 수 있다.<sup>5)</sup>

본 논문 Chapter 1에서는 대표적인 골 질환인 류마티스 관절염, 골다공증에 대하여 상세하게 알아보고 한약학적인 접근을 통한 골 질환치료에 대하여 연구하기 위한 첫 번째 단계로 문헌조사를 수행하였다.

## 2. 조사 및 방법

골 질환에 주로 사용되는 한약재를 스크리닝 하기 위하여 주로 사용되는 처방을 조사하였다.<sup>6)</sup>

추가적으로 골 질환에 주로 사용되는 처방에 들어가는 한약재들을 모두 나열하였으며, 각 처방 별 비용 한약재들에 대하여 국내 한방 학술지 및 pubmed에 게재된 논문들 중 각 한약재의 명칭과 골다골증, 골질환, 류마티즘 등의 키워드로 최근 10년간의 논문자료를 검토하여 각 약재들의 효능과 선행연구에 대하여 조사를 진행하였다.<sup>7)</sup>

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 대표적 골 질환인 류마티스 관절염과 골다공증

대표적으로 알려진 골 질환 가운데 크게 류마티스 관절염과 골다공증에 대해 살펴보고자 한다. 골질환에서 류마티스 관절염은 관절 활막에 지속적인 염증반응을 나타나게 하는 만성 염증성 전신 질환으로서 가장 흔한 근골격계 질환이다. 미국에서 시행한 1996~1999 Behavioral Risk Factor Surveillance System(BRFSS)에 따르면 일반인구대상에서 자가보고에 따른 관절염 유병률은 18세 이상 30%이며, 자세하게는 18~44세 17%, 45~64세 39%, 65세 이상 인구에서는 55%에 달할만큼 사회적 비용을 요하는 질환이다.<sup>1)</sup>

류마티스 관절염에서 가장 중요한 임상적 징후는 활막에서의 지속적인 염증반응으로 인한 관절의 연골 손상 및 골 미란이 있다. 결국은 관절의 파괴를 수반하여 기능의 장애를 초래하게 된다. 증상이 경미한 관절염에서부터 다기관 침범의 형태를 나타내어 기능적 장애를 일으키는 중대한 관절염 까지 류마티스 관절염의 경과는 매우 다양하며, 진행과정을 예측하기가 어렵다고 알려져 있다. 일반적으로 류마티스 관절염의 경우 발생 10년 정도 경과 후 50% 이상의 환자군이 일상생활이 어려울 정도의 장애를 갖게 되며<sup>8)</sup>, 이로 인해 발생 되는 여러 증상들에 의하여 환자의 삶의 질이 저하되고 사회적 비용이 수반되게 된다. 대표적인 증상들로써 통증, 우울증, 피로감 등이 있다. 현재의 류마티스 관절염 치료목적은 통증억제 및 신체기능 보존으로 최소한의 삶의 질을 유지, 관

절손상 최소화로 변형을 방지하는 것이다. 현재까지는 류마티스 관절염을 완치 할 수 있다는 것을 기대하기는 힘든 상황이다. 하지만 당뇨병이나 고혈압 등의 흔한 만성 질병들처럼 수술을 비롯하여 약물치료요법, 운동치료요법, 재활치료요법, 직업치료요법 등 포괄적이고 환자 개인의 상태에 따른 접근을 통해 치료법을 선택하는 것이 류마티스 관절염 치료에 더욱 도움이 될 수 있다. 초기에 진행되는 관절연골의 불가역적 손상을 막고 관절의 변형을 방지하기 위해 활막염을 억제하는 새로운 치료방법들이 등장하면서 치료의 패러다임이 변화하고 있다. 초기에 가능한 치료방법을 사용하면 20-40%의 환자들이 증상이 경감되거나 상태가 호전되며, 이를 유지하려면 약물을 지속적으로 사용하여야 한다. 현재 류마티스 관절염에 사용되는 약물은 대부분 통증과 부종 등 병세를 완화시키거나 질병의 심화속도를 늦추는 용도로 사용되고 있다. 류마티스 관절염에 사용되는 약물의 종류로는 크게 통증과 염증감소를 목적으로 하는 비스테로이드 항염제 (NSAIDs), 현존 약물 중 강력한 통증과 염증감소효과를 갖는 스테로이드제, 직접적인 진통효과는 없지만 관절 손상 전의 질병 속도를 늦추는 목적으로 장기간 사용하는 항류마티스제 (DMARDs), 류마티스 관절염을 심화 시키는 원인 중 하나인 TNF(tumor necrosis factor)를 조절하는 TNF-억제제, 주로 TNF-억제제의 효과를 볼 수 없는 중증 활성형 관절염에 사용되는 Rituximab (항단클론항체), 파골세포 분화에 주요한 원인이며 염증을 심화하는 Interleukin-6(IL-6)를 조절하는 Tocilizumab (항 IL-6 수용체 단클론항체), 중증의 활동성 류마티스 관절염 치료에 Abatacept (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4, CTLA-4 면역글로블린 융합단백질) 등이 있다.<sup>9-17)</sup>



또한, 류마티스 관절염과 함께 빈번하게 발생하는 골 질환으로 골다공증이 있다. 50-60세 사이에 발병률이 높은 골다공증의 경우 병증의 진행이 나이에 비례하며 폐경기 여성에게 특히 유병률이 높으며, 대퇴골 골절을 동반한 70대의 골다공증은 사망위험이 높은 것으로 알려져 있다.<sup>18)</sup> 특히 골다공증과 같은 병증에 치명적인 고령인구들의 경우 천식 또는 류마티즘 증세를 복합적으로 안고 있는 케이스가 많으며, 이 경우 만성질환으로 인한 스테로이드 계열약물을 사용하기에 골다공증 유병률이 높을 가능성이 있다.<sup>19)</sup> 현재 대표적으로 사용되는 골다공증 치료제는 두 종류로 나뉘어진다. 첫 번째, 대표적인 골 형성 촉진제로서 parathyroid hormone (PTH)와 teriparatide가 있다. 골 형성 촉진제는 조골세포의 골 형성능을 증가시킴으로서 골 밀도를 증가시켜 골다공증을 억제하게 된다.<sup>20,21)</sup> 하지만, PTH를 처방받은 골다공증 환자 중 일부 역시 신부전증, 종양, 고칼슘혈증, 그리고 메스꺼움 등의 부작용을 일으킨다고 보고된 바 있다.<sup>22,23)</sup> 한편, 골 흡수 억제제인 calcitonin, selective estrogen-receptor modulators (SERMs), bisphosphonate 제제, calcitonin, 그리고 monoclonal antibodies 들이 있다. 이 중에서 특히 bisphosphonate 계열의 약물은 파골세포의 골 흡수능을 억제함으로써 골다공증으로 인한 골소실의 감소를 기대할 수 있다.<sup>24)</sup> 그러나 치주염이 동반된 환자에게 bisphosphonate 제제의 약물을 투여할 경우 하악골 괴사와 같은 부작용이 발생할 수 있는 위험이 있기에 투여에 신중을 기하여야 한다.<sup>25)</sup> 인체의 골격을 구성하는 중요한 조직인 골은 흡수와 생성이 지속된다. 이처럼 흡수와 생성이 지속되는 지표로서 골 교체율이 중요하며, 골 교체율은 골 밀도를 조절하는 중요한 인자 중 하나이다.<sup>26)</sup> 결국 인체의 골밀도 유지에는 파골세포 (Osteoclast)의 골 분

해능과 조골세포 (Osteoblast)의 골 생성능의 균형이 가장 중요하다.<sup>27)</sup> 골수유래 대식세포에서 파골세포로의 분화를 유도하기 위해서는 Receptor activator of nuclear factor kappa-B(RANK)와 Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL)의 결합이 필수적이다. 먼저, RANK가 RANKL와의 결합으로 활성화된 신호 전달 경로 초기에서는 Mitogen activated protein kinases (MAPKs)를 이루고 있는 NF- $\kappa$ B, p38, extracellular signal-regulated kinase (ERK) 및 c-Jun N-terminal kinase (JNK) 등의 인산화가 진행되고 나아가서 c-Fos와 nuclear factor of activated T cell c1 (NFATc1)과 같은 가장 대표적 전사인자요소가 핵 속으로 이동함으로써 전사가 이루어진다.<sup>28)</sup> 이후에, NFATc1의 발현에 따른 파골세포 분화양상의 특징적인 유전자인 TRAP, Cathepsin K, dendritic cell-specific transmembrane protein (DC-STAMP), osteoclast-associated receptor (OSCAR), osteoclast stimulatory transmembrane protein (OC-STAMP) 등 다양한 마커 유전자들의 발현이 유도된다.<sup>29)</sup>

**Table 1** – Types of currently used medicines for the treatment of bone diseases

1	Traditional non-steroidal anti-inflammatory drugs of Non-selective cyclooxygenase (COX) inhibitor
2	Selective COX-2 inhibitor
3	Steroid drugs
4	Anti-rheumatoid arthritis control drugs – methotrexate, cyclosporine, sulfasalazine, cytokine inhibitor drugs
5	Cartilage recovery assistance drugs – glucosamine, hyaluronic acid
6	Bisphosphonate
7	Parathyroid hormone (PTH)

### 3.2. 현재 사용 중인 골 질환 치료제 종류와 부작용

현재 골 질환 환자에게 사용되고 있는 골 질환 치료제는 약물유형에 따라 Table 1과 같이 분류할 수 있다.<sup>30-32)</sup> 현재 사용하고 있는 골 질환 치료제에 대하여 이들 약물기전과 특징 그리고 관련된 부작용을 아래와 같이 조사하였다. 첫 번째로, 비스테로이드성 소염제의 경우 주로 골관절염 치료에서 일차적으로 급성증상완화에 주로 사용한다. 하지만 위장관 부작용, 신장부작용, 심장 부작용, 간장 부작용, 혈액학적 부작용이 보고되어 있다.<sup>33)</sup> 각 부작용에서 상세 내용을 살펴보면, 위장관 부작용으로는 미란, 궤양, 천공, 출혈 등의 세부적인 부작용이 있으며, 미국의 경우에는 류마티스 관절염과 골관절염 환자에서 연간 16,500례의 사망이 비스테로이드성 소염제의 위장관 작용에 기인한다고 보고되어 있다.<sup>33)</sup> 또한, 비스테로이드성 소염제를 복용하고 있는 관절염 환자 2,106명 대상 위장관계 위험요인 조사결과, 환자의 51%가 위장관계 부작용의 고위험군인 것으로 보고되었다.<sup>33)</sup> 신장 부작용으로는 사구체 기능저하, 부종, 간질성신염, 급성신부전과 고칼륨혈증을 일으킬 수 있다고 보고되어 있다. 심장 부작용으로는 염분 저류, 부종, 고혈압 등이 보고되어 있으며, 간장 부작용으로는 담즙 저류 등이 보고되어 있다. 혈액학적 부작용으로는 빈혈, 혈소판 감소증, 중성구 감소증, 재생 불량성 빈혈 등이 보고되어 있다.

두 번째로, 선택적 COX-2 저해제 (selective COX-2 inhibitor)는 비교적 부작용이 적고 진통효과가 우수하다고 알려져 있다. 시판약물로는 celecoxib, etoricoxib, valdecoxib 등이 있으나, 2000년 7월 Merck가 개발한 rofecoxib는 심혈관 관련 안전성 문제로 인하여 회수조치된 바

있다.<sup>34)</sup>

세 번째로, 스테로이드성 제제는 prednisone과 같은 면역억제제로 류마티스 관절염의 급성 악화 시 사용하며, 신속하고 강력한 효능이 있다. 하지만, 이 또한 장기간 사용 시 면역체계교란 및 Cushing's syndrome유발 등의 심각한 부작용을 유발한다.<sup>35)</sup>

네 번째로 항류마티스 조절제 (DMARDs)의 경우 골과 연골손상을 억제하는 약물로 치료효과가 6주-6개월정도 소요되는 slow acting agent로 알려져 있다.<sup>36)</sup> 대표적인 예로는 methotrexate, cyclosporine, TNF- $\alpha$  억제약물 등이 있으며, methotrexate의 경우 염증세포 유주를 차단하여 관절파괴를 억제하는 약물이며, 소화관 장애/독성을 가지며 특히 간독성이 심하다고 알려져 있고, cyclosporine의 경우 대식세포 및 T-cell의 작용을 억제하여 골의 파괴를 지연시키는 작용을 가지나 신장독성이 심하다고 알려져 있다.<sup>36)</sup> TNF- $\alpha$  억제약물의 경우 항체로 만들어진 바이오의약품으로 methotrexate와 병용투여 시 상승작용을 지나 가격에 비싸고 면역교란으로 인한 기회 감염율이 높아져 노인에 장기간 사용 시 주의가 필요하다.

다섯 번째로 연골재생 보조약물로서 글루코사민, 히알루론산 등이 있으나 여타 의약품에 비교할 수는 없으며, 건강기능식품으로 주로 개발되고 있다.

여섯 번째로 Bisphosphonate 계열의 약물은 파골세포의 골 흡수능을 억제함으로써 골다공증으로 인한 골소실의 감소를 기대할 수 있으나<sup>15-17)</sup> 치주염이 동반된 환자에게 Bisphosphonate 제제의 약물을 투여할 경우 하악골 괴사와 같은 부작용이 발생할 수 있다고 알려져 있다.<sup>18)</sup> 일곱 번째로 parathyroid hormone (PTH)의 경우 조골세포의 골 형성능

을 촉진하여 골 밀도를 증가시키지만<sup>11,12)</sup> PTH를 처방받은 골다공증 환자 중 일부 신장부전증, 중양, 고 칼슘혈증, 그리고 메스꺼움 등의 부작용이 보고되어 있다.<sup>13,14)</sup> 상기의 일곱 가지 치료제 및 보조제군을 확인한 결과 여러 가지 부작용들을 수반하고 있기에, 최근에는 한약학적 관점으로 한약재, 생약 등으로부터 유래한 여러 추출물질을 이용하여 기존에 사용되는 골 질환 치료제의 부작용을 없애고 약효가 뛰어난 골 질환 치료제를 개발하는 연구가 매우 활발히 진행되고 있다. 이에, 본 연구에서 한약학적 관점으로 여러 처방 및 한약재, 생약의 고찰을 통해 골질환을 위한 새로운 처방을 만들고자 자료 조사하였다.

### 3.3. 골 질환에 사용되는 한약학적 처방

먼저, 골 질환에 대한 빈용 처방을 조사한 결과와 이들 각각의 한약 처방에 대한 구성약재들을 Table II에 기술하였다. 각각의 처방 구성 약재의 조사는 동의보감<sup>38)</sup>, 방약합편<sup>39)</sup>을 참고하여 기술하였다.

사신환(Sasinhwan, SW)은 담연(痰涎)이 심하게 성(盛)해져 머리가 무겁고 어지러우며 어깨와 등이 당기고 아프며 손발이 마비되어 뻣뻣한 것을 치료하며, 비신허(脾腎虛)의 설리(泄痢)와 신설(晨泄)이 해를 넘기게 된 증세를 치료하는 처방이다. 풀어 설명하면, 비신(脾腎)이 허(虛)하여 생긴 설사(泄瀉)와 이질(痢疾)을 치료하고, 또한 여러 해 된 신설(晨泄)을 치료하는 처방이다. 평소 체질이 본래 허약한 사람이 소변을 매우 자주 보면서 잘 참지 못하는 것을 치료하는 처방으로 알려져 있다.<sup>38)</sup> 기본적으로 신허(腎虛)증에 사용하는 것으로 보아 골 질환에 연관이 있을 것으로 사료된다.

가미우귀음(Gamiwoogwieum, GW) 또는 우귀음(Woogwieum, WW)은 음한(陰寒)이 체내에서 성하여 양기(陽氣)가 허쇠해지는 병증에 사용되는 처방이다. 설사, 수종, 오한, 설담활(舌淡滑) 등의 증상이 나타나기도 한다고 알려져 있다. 치료법은 온양구역(溫陽救逆)하면서 겸하여 건비이수(健脾利水)하여야 한다.<sup>39)</sup>

팔미지황환(Palmijihwanghan, PT)은 신수(腎水)를 보하여 명문(命門)의 화(火)를 아울러 보한다고 알려져 있으며, 한약학적으로 볼 때 신양의 기능을 돕는 대표적 처방이기에 골 질환에 밀접한 관련이 있지 않을까 사료된다.<sup>38)</sup>

육미지황환(Yukmijihwanghan, YT)에 대한 언급은 『소아약증직결(小兒藥

證直訣)』에서 처음으로 출전되었다고 알려진다.<sup>38)</sup> 육미지황환은 북송 시대에의 소아과 의사였던 전율이 『금궤요략(金匱要略)』에 나오는 팔미지황환에서 2가지 약재를 감하고<sup>39)</sup> 인체의 구조적인 물질을 보충하게 하는 보음처방을 창방한 것이다.<sup>42)</sup> 육미지황환은 신음허(腎陰虛) 증상을 치료한다고 알려져 있기에 골과 관련된 증상으로 신음허(腎陰虛) 증상을 치료하는 육미지황환은 골 질환에 관련이 있을 것으로 사료된다.

고본건양단(Gobongeonyangdan, GD)은 동의보감에 정혈(精血)이 부족하고 냉증(冷症)으로 임신하지 못하는 데, 남자들의 신수(腎水)가 부족하여 성 기능이 약하거나 사정이 잘되지 않는 데 쓴다고 알려져 있다.<sup>38)</sup> 고본건양단 또한 신허(腎虛)증에 사용하는 것을 볼 때 골 질환과 관련이 있다고 사료된다.

접골산(Jeopgolsan, JS)은 동의보감에서 골절(骨折), 근단상(筋斷傷)의 경우 사용하는 처방이고 대표적으로 뼈가 부러진 것을 치료한다고 알려져 있다.<sup>38)</sup>



**Table II** - The most frequently prescribed herbal medicines for bone diseases<sup>38, 39)</sup>

The prescribed herbal medicines	The individual medicinal herbs as ingredients for the prescribed herbal medicine
Sasinhwan(SW)	Psoraleae Semen, Myristicae Semen, Schizandrae Fructus, Evodiae Fructus, Zingiberis Rhizoma Recens, Zizyphi Fructus
Gamiwoogwieum(GW)	Rehmanniae Radix Preparata, Dioscoreae Rhizoma, Lycii Fructus, Eucommiae Cortex, Aconiti Lateralis Radix Prepapata, Cinnamomi Cortex, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, Ginseng Radix, Atractylodis Rhizoma Alba
Woogwieum(WW)	Rehmanniae Radix Preparata, Dioscoreae Rhizoma, Lycii Fructus, Eucommiae Cortex, Aconiti Lateralis Radix Prepapata, Cinnamomi Cortex, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma
Palmijihwanghwan(PT)	Rehmanniae Radix Preparata, Dioscoreae Rhizoma, Aconiti Lateralis Radix Prepapata, Cinnamomi Cortex, Poria Sclerotium, Alismatis Rhizoma, Moutan Radicis Cortex, Corni Fructus
Yukmijihwanghwan(YT)	Rehmanniae Radix Preparata, Dioscoreae Rhizoma,, Poria Sclerotium, Alismatis Rhizoma, Moutan Radicis Cortex, Corni Fructus
Gobongeonyangdan (GD)	Schizandrae Fructus, Rehmanniae Radix Preparata, Dioscoreae Rhizoma, Lycii Fructus, Eucommiae Cortex, Ginseng Radix, Poria Sclerotium, Corni Fructus, Morindae Radix , Cuscutae Semen, Dipsaci Radix, Polygalae Radix, Cnidi Fructus, Achyranthis Radix, Angelicae Gigantis Radix, Cistanchis Herba, Alpiniae Oxyphyllae Fructus, Cervi Parvum Cornu
Jeopgolsan(JS)	Talcum, Pyritum, Olibanum, Myrra, Fossilia Ossis Mastodi, Halloysitum Rubrum, Moschus

### 3.4. 골 질환 비용처방의 구성약재 비교

동의보감과 방약합편을 참고하여 앞에서 기술한 골 질환에 대한 7가지 비용 처방에 포함된 각각의 구성약재들을 Table III에 비교하여 보여주고 있다.<sup>38,39)</sup> 최종적으로 골 질환 비용처방 7종의 구성약재를 비교하여 비용 약재를 분석한 결과, 숙지황, 산약, 구기자, 두충, 부자, 육계, 백복령, 산수유의 8개의 한약재임을 확인할 수 있었다. 그리고 이들 8개 구성약재들이 골 질환에서 응용될 수 있는 근거에 대하여 전통적인 자료와 함께 약물학적인 여러 자료들을 조사하여 정리하였다.

### 3.4.1. 숙지황 (Rehmanniae Radix Preparata)



한약학적 관점의 숙지황은 음(陰)을 자양하는 효과가 좋으며, 혈을 보양하는데 우수한 효능이 있다. 음허혈소(陰虛血小), 요슬위약(腰膝痿弱), 노수골증(勞嗽骨蒸), 유정(遺精), 붕루(崩漏), 월경 불순, 소갈, 수수(洩數), 이롱(耳聾), 목혼(目昏)을 치료한다. 또한, 『본초종신(本草從新)』에서는 “신수(腎水)를 자양하고 골수를 짝 차게 하며 혈액 순환을 촉진시키고 진양(眞陽)을 보익하며 시력과 청력을 아주 좋게 하고 머리나 수영을 경계 한다. 또 비음(脾陰)을 보양하고 오래된 설사를 멎게 한다. 로상풍비(勞傷風痺), 음휴발열(陰虧發熱), 건해담수(乾咳痰嗽), 기단천족(氣短喘足), 위중(胃中)이 공허하여 기각(飢覺)이 오지 않는 증상, 두증심허무농(痘證心虛無膿), 병후 경고산통(脛股酸痛), 산

후 복부 급통, 감증음휴(感證陰虧) 무한편폐(無汗便閉), 각종 동혈(動血) 모든 간신음휴(肝腎陰虧), 허손백병(虛損百病)을 치료하며 수기(水氣)를 보충해주는 주요한 약이다.” 라고 기술되어 있고, 골수를 채우며 신수(腎水)를 자양하는 것으로 미루어 볼 때, 신주골(腎主骨)의 관점으로 골 질환에 밀접한 관련을 보인다고 사료된다.<sup>38,43)</sup>

### 3.4.2. 산약 (Dioscoreae Rhizoma)



한약학적 관점에서 산약은 비(脾)를 튼튼히 하고 폐(肺)를 튼튼히 하고 신(腎)을 수렴하며 정(精)을 보익하는 효능이 있다. 비장이 허약해서 발생하는 설사나 오래된 이질, 또는 노점으로 인한 해수, 소갈(消渴), 소변빈삭, 유정, 대하증 등을 치료하는 생약으로 알려져 있다. 문헌에서의 산약은 첫 번째로, 『신농본초경(神農本草經)』에서 “중초가 상한 증상을 치료하고 허(虛)를 보양하며 한열사기(寒熱邪氣)를 제거하고 중초를 튼튼하게 하며 근육을 자라게 한다. 오래 복용하면 귀와 눈이 밝아진다.”고 기술되어 있다. 두 번째로, 『일화자제가본초(日華子諸家本草)』에서는 “오장(五臟)을 돕고 근골을 강하게 하고 정신을 안

정시킨다. 주로 설정(泄精), 건망증을 치료한다.” 고 기술되어 있다. 문헌의 내용을 미루어 볼 때, 근골 및 근육에 작용하는 산약이 골 질환 치료에도 응용될 수 있다고 사료된다. 이에, 골 질환에 이용된 현대적인 연구결과를 알아본 결과,<sup>38,43)</sup>산약의 추출물과 estrogen 결핍성 골다공증 연관성에 대하여 기 발표된 논문이 있으며, 주요내용은 난소를 적출하여 유발된 에스트로겐 결핍성 골다공증 랫드에 산약 추출물을 투여한 후 골 밀도와 골의 무기질 함량에 미치는 영향을 검색하고 골 흡수 및 골 형성지표로 사용되는 대사물질과 효소에 대한 정량을 시도한 결과 산약 추출물이 골다공증에서 촉진된 골 대사를 억제함으로써 골 밀도를 증가시킨다는 연구가 진행된 바 있다.<sup>44)</sup>

### 3.4.3. 구기자 (Lycii Fructus)



한약학적 관점의 구기자는 자신(滋腎)하고 윤폐(潤肺)하며 보간(補肝)의 효능으로 눈을 밝게 한다고 알려져 있다. 간음(肝陰)과 신음(腎陰)이 모두 부족한 증세나 허리, 무릎이 아프고 연약한 증상, 어지럽거나 눈앞이 아찔한 증상, 소갈증, 유정, 눈이 침침하거나 눈물이 계속해서 흘러나오는 증상, 폐결핵 등으로 인한 자주 반복되는 기침 등을 치료한다. 또한, 『식료본초(食療本草)』에서도 “근골을 튼튼하게 하고 노화를 방지하고 풍(風)을 없애며 근골을 자양하고 허로(虛勞)를 보양한다.”고 기술되어 있을 만큼, 예로부터 근골에 구기자를 상용하였음을 알 수 있다.<sup>38,43)</sup> 이에, 구기자와 골 질환에 관련하여 기 연구된 논문에 따르면, 구기자 약침이 난소적출 생쥐의 골다공증에 미치는 영향에 대

해 연구한 내용이 있으며, 주요 내용은 구기자 약침을 놓은 집단에서 경골 BMD, 경골 Ca량, 해면골 두께가 증가하였고, 경골 내 파골세포 및 성장판 길이가 크게 감소하였으며 경골의 조직학적 변화가 향상되었다는 사실이 보고되어 있다. 따라서 구기자 약침이 난소적출 생쥐의 파골세포를 억제하여 골다공증에 치료 효과가 있다고 볼 수 있다.<sup>45)</sup>



#### 3.4.4. 두충 (Eucommiae Cortex)



두충은 한약학적인 관점으로 볼 때, 간신을 보하며 근골을 튼튼하게 하고 태아를 안정시키는 효과가 있다. 허리와 등이 시큰시큰 쑤시고 아픈 병증, 발과 무릎이 약한 것, 소변여력(小便餘瀝), 음하습양(陰下濕癢), 태루욕타(胎漏欲墮), 고혈압을 치료한다. 이러한 내용은 여러 문헌 속에서도 확인할 수 있다.<sup>38,43)</sup> 첫 번째로, 『신농본초경(神農本草經)』에 따르면 “허리와 등의 통증을 다스리고 보중익정기(補中益精氣)하며 근골을 튼튼하게 하고 강지(強志)하게 한다. 음하습양(陰下濕癢)과 소변여력(小便餘瀝)을 치료한다”고 기술되어 있으며, 두 번째로, 『약성론(藥性論)』에서는 “신랭(腎冷)으로 인한 요통을 다스리고 요병(腰痛)으로 허약하고 몸이 강직되는 것은 풍(風) 때문이다.”고

기술되어 있다. 마지막으로 『옥추약해(玉楸藥解)』에서는 “익간신(益肝腎), 양근골(養筋骨) 하고 관절의 습음(濕淫)을 제거한다. 허리와 무릎이 시큰시큰 쑤시고 아픈 병증, 다리나 발에 경련이 나는 것을 치료한다.” 고 기술되어 있다. 상기의 기술된 내용을 볼 때, 두충은 한약학적으로 골 질환과 무척 연관이 깊다고 볼 수 있다. 이에, 두충과 골 질환의 현대적인 연구내용을 확인한 결과, 주요 내용은 두충물 추출물(WE-EC)을 이용하여 파골세포 분화와 골 흡수의 억제 효과를 조사하였고 실험 결과, WE-EC은 독성을 유발하지 않고 파골세포의 분화를 저해하였다. RANKL 처리한 골수 대식세포에서 WE-EC는 p38, ERK 및 JNK의 인산화를 억제하였고, NFATc1의 mRNA 발현을 저해하였다. 그러나 c-Fos 단백질의 안정성, 파골세포의 생존과 골 흡수를 저해하였다는 내용의 연구가 진행된 바 있다.<sup>46)</sup>

### 3.4.5. 부자 (Aconiti Lateralis Radix Prepapata)



부자는 한약학적으로 양(陽)을 회복시키고 화(火)를 보양하며 한습(寒濕)을 제거한다. 음성각양(陰盛格陽), 대한망양(大汗亡陽), 토리궤역(吐利厥逆), 심복랭통(心腹冷通) 비설(脾泄), 냉리(冷痢), 각기수종(脚氣水腫), 소아만경(小兒慢驚), 풍한습비(風寒濕痺), 위벽구련(踠臂拘攣,) 음감창루(陰疔瘡漏) 및 각종 침한고랭(沉寒痼冷)을 치료한다고 한다고 알려져 있다. 또한, 문헌속의 부자에 대해서 알아보면 첫 번째로, 『신농본초경(神農本草經)』에서의 부자는 “주로 풍한해역사기(風寒咳逆邪氣)를 다스린다. 온중(溫中)하고 칼 따위에 베인 상처를 치료하며 미견적취(癥堅積聚), 혈하(血瘕)를 없애고 한습으로 발을 절뚝거리는 병, 경련과 무릎의 동통으로 걸을 수 없는 증상을 치료한다.” 고 기술

되어 있으며, 두 번째로, 『명의별록(名醫別錄)』에서는 “각통냉약(脚痛冷弱), 요척풍한(腰脊風寒), 심복랭통(心腹冷痛), 곽란전근(霍亂轉筋), 적백리 등을 치료하고 근골을 튼튼하게 하며 음을 강하게 하고 낙태시키는데 백약(百藥) 중의 으뜸이다. “라고 기술되어 있다.<sup>38,43)</sup> 근골을 튼튼히 하며, 관절의 통증증상을 치료하는 것을 볼 때, 골 질환과 부자는 연관이 깊다고 볼 수 있다.

또한, 골 질환 관련한 연구로는 부자와 오가피 물 추출물과 파골세포와의 관계를 본 논문이 있으며, 주요내용으로는 부자와 오가피 추출물이 파골세포와 지방세포 분화를 억제하며, 골다공증과 비만에 유용할 수 있다는 발표가 있다.<sup>47)</sup>

### 3.4.6. 육계 (Cinnamomi Cortex)

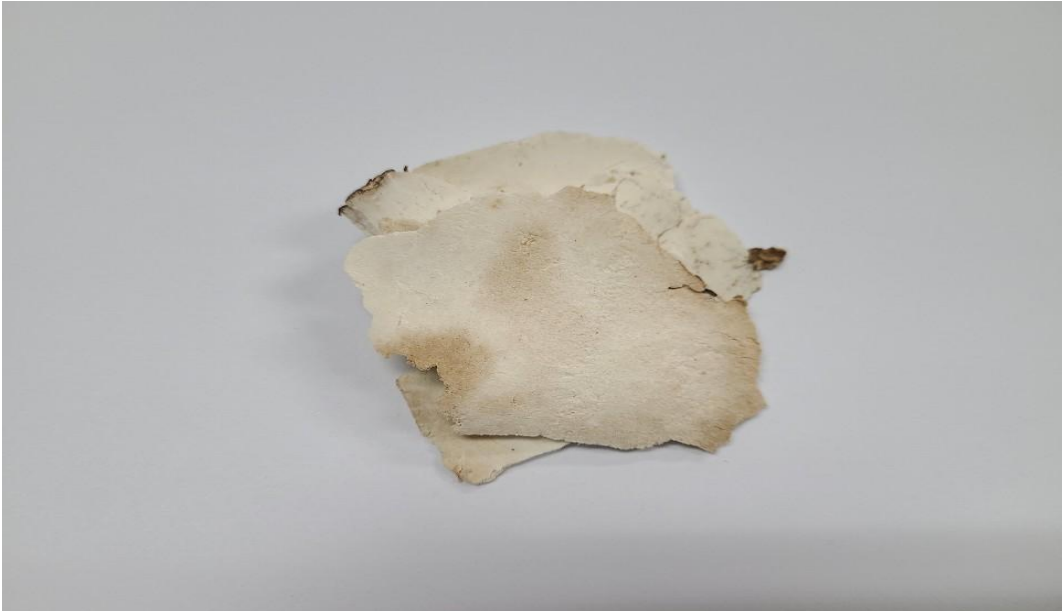


육계는 한약학적으로 원양(元陽)을 보하고 비위(脾胃)를 따뜻하게 하며 적랭(積冷)을 제거하고 혈액 순환을 촉진시킨다. 명문화쇠지(命門火衰肢), 랭맥미(冷脈微), 망양허탈(亡陽虛脫), 복통 설사, 한산분돈(寒痲奔豚), 요슬랭통(腰膝冷通), 월경 중지, 미하(薇痲), 음저류주(陰疽流注), 허양부월(虛陽浮越), 상열불한(上熱不寒)을 치료하는 육계는 여러 문헌에서도 다루고 있다.<sup>38,43)</sup>

그 중 『명반별록(名盤別錄)』에 따르면 “심통(心痛), 협통(脇痛), 협풍(脇風)을 치료하고 근육을 덥히며 맥(脈)을 통하게 하고 번조(煩躁)를 멎게 하며 땀이 나게 한다. 중초를 따뜻하게 하고 간폐(肝肺)의 원기를 북돋우며 심복한랭(心腹寒冷), 랭질(冷疾), 곽란으로 인한 근육

경련, 두통, 요통, 해수, 비옹(鼻鼈)을 치료하며 낙태시키고 골절(骨節)을 튼튼히 하며 혈액 순환을 촉진시키고 부족한 것을 보충하며 모든 약을 이끌고 꺼리는 약이 없다” 라고 기술되어 있다. 또한, 『일화자제가본초(日華子諸家本草)』에 따르면 “일체 풍기(風氣)를 치료하고 오로칠상(五勞七傷)을 보하며 구규(九竅)를 통하게 하고 관절을 원활하게 하며 정(精)을 보익하고 시력을 아주 좋게 하며 요슬(腰膝)을 덥히고 현벽미하(痲痺癢癢)를 파하고 어혈을 제거한다. 풍비로 인한 골절의 경련 수축을 치료하고 근골을 이어주며 기육을 자라게 한다” 고 기술되어 있다.<sup>38,43)</sup> 상기의 두 가지 문헌을 종합하면, 근골 및 요통, 근육경련 등의 증에 사용하는 것으로 볼 때, 한약학적으로 육계가 골 질환에 밀접한 관련이 있는 것으로 사료된다. 이에, 육계와 골 질환과 관련된 현대적인 연구내용을 확인한 결과, 주요내용으로는 부자와 육계 추출물 및 병용투여는 BMMs에서 RANKL이 유발하는 파골세포 분화를 독성없이 용량 의존적으로 유의하게 억제하였으며 부자와 육계의 각 추출물은 p38의 인산화를 억제하였다. 이 결과를 토대로 부자와 육계 병용투여 시 파골세포 분화능을 억제하여 골다공증에 효과가 있기에 골다공증 치료제로 선택할 수 있다는 발표가 있다.<sup>48)</sup>

### 3.4.7. 백복령 (Poria Sclerotium)



복령은 한약학적으로 성미(性味)는 감담(甘淡)하고 평(平)하여, 심·비·폐경(心·脾·肺經)에 작용한다. 또한, 건비양심(建脾養心)하며, 리수삼습(利水參濕)에 작용하여 비허습곤(脾虛濕困)으로 인한 담음수습(痰飲水濕), 식소설사(食少泄瀉) 및 수습내정(水濕內停)의 소변불리(小便不利), 수종창만(水腫脹滿)에 필수적인 약재이며, 특히 비허습승(脾虛濕勝)에 적용한다.<sup>38,49)</sup> 복령과 골 질환과 관련된 연구내용을 확인한 결과, 복령은 NFATc1의 단백질 발현을 주로 억제하고 NFATc1의 이소성 발현은 복령으로 매개된 파골세포 분화 억제를 부분적으로 가역 시켰다. 결론적으로, 복령은 골다공증, 류마티스 관절염과 치근막염 같은 골관련 질환의 유용한 치료제로 선택 될 수 있다는 내용이 발표된 바 있다.<sup>50)</sup>

### 3.4.8. 산수유 (Corni Fructus)



산수유는 한약학적으로 간신(肝腎)을 보양하고 정기(精氣)를 수렴하고 허탈한 기(氣)를 고착시키는 효능이 있다. 요슬산통(腰膝酸痛), 현기증(眩氣症), 이명(耳鳴), 음위(陰痿), 유정(遺精), 소변빈삭(小便頻數), 간허한열(肝虛寒熱), 허한(虛汗)이 몇지 않는 증상, 심요신산(心搖脈散)을 치료한다. 『일화자제가본초(日華子諸家本草)』에 따르면 『난요슬(暖腰膝), 조수장(助水臟), 제일절풍(除一切風), 축일절기(逐一切氣), 파미결(破薇結), 치주사(治酒齏)』 라고 하였으며, 상세하게는 “요슬(腰膝)을 덥히고 수장(水臟)을 도우며, 모든 풍(風)과 사기를 구축하고 미결(薇結)을 파(破)하며 주사(酒齏)를 치료 한다” 는 의미를



가지는 약재이다.<sup>38,43)</sup> 이에, 산수유와 골 질환과 관련된 연구내용을 확인한 결과, 산수유 약침을 이용하여 골다공증에 미치는 영향에 대한 논문을 확인할 수 있었으며, 주요 내용으로는 생쥐의 경골 내 파골 유사세포의 비율을 유의하게 감소시켰으며, 경골 내 칼슘함량과 인 함량을 유의하게 증가시킨 결과가 발표되었다.<sup>51)</sup>

본 연구에서 골 질환에 주로 사용되는 한약처방 7가지를 구성하는 빈용약재 8개에 대하여 조사하였다. 그 결과 8개 약재 모두 골 질환에 연관이 깊고, 기 연구된 바가 있음을 확인하였다. 향후 본 연구 결과를 이용하여 8개 한약재 전체를 사용한 새로운 한약학적인 처방 또는 8개 한약재의 가·감방을 이용한 새로운 처방을 제안할 수 있으리라 기대하며, 그러한 결과를 바탕으로 한약제제 또는 생약제제로 이용하는 신약 연구의 가능성을 높일 수 있으리라 기대한다.

**Table III** - The individual medicinal herbs as ingredients for the most frequently used prescribed herbal medicines for bone diseases: Sasinhwan(SW), Gamiwoogwieum(GW), Woogwieum(WW), Palmijihwangtang(PT), Yukmijiwhanghan(YT), Gobongyeongdan(GD), Jeopgolsan(JS)<sup>38, 39)</sup>

	SW	GW	WW	PT	YT	GD	JS	Total
Psoraleae Semen (보골지)	○							1
Myristicae Semen (육두구)	○							1
Schizandrae Fructus (오미자)	○					○		2
Evodiae Fructus (오수유)	○							1
Zingiberis Rhizoma Recens (생강)	○							1
Zizyphi Fructus (대추)	○							1
Rehmanniae Radix Preparata (숙지황)		○	○	○	○	○		5
Dioscoreae Rhizoma (산약)		○	○	○	○	○		5
Lycii Fructus (구기자)		○	○			○		3
Eucommiae Cortex (두충)		○	○			○		3
Aconiti Lateralis Radix Prepapata (부자)		○	○	○				3
Cinnamomi Cortex (육계)		○	○	○				3
Glycyrrhizae Radix et Rhizoma (감초)		○	○					2
Ginseng Radix (인삼)		○				○		2
Atractylodis Rhizoma Alba (백출)		○						1
Poria Sclerotium (백복령)				○	○	○		3
Alismatis Rhizoma (택사)				○	○			2
Moutan Radicis Cortex (목단피)				○	○			2
Corni Fructus (산수유)				○	○	○		3
Morindae Radix (파극천)						○		1
Cuscutae Semen (토사자)						○		1
Dipsaci Radix (속단)						○		1
Polygalae Radix (원지)						○		1
Cnidi Fructus (사상자)						○		1
Achyranthis Radix (우슬)						○		1
Angelicae Gigantis Radix (당귀)						○		1
Cistanchis Herba (육종용)						○		1
Alpiniae Oxyphyllae Fructus (익지인)						○		1
Cervi Parvum Cornu (녹용)						○		1
Talcum (활석)							○	1
Pyritum (자연동)							○	1
Olibanum (유향)							○	1
Myrra (몰약)							○	1
Fossilia Osis Mastodi (용골)							○	1
Halloysitum Rubrum (적석지)							○	1
Moschus (사향)							○	1

## 4. 결론

본 논문에서는 골 질환의 대표적인 질환인 류마티스 관절염과 골다공증의 사회적 배경, 치료제현황, 골 질환 비용 한약 처방, 골 질환 비용 한약 처방의 비용 구성약재에 대한 내용을 조사연구하였다. 오랜 시간 전통 한약학으로서 사용된 비용 처방들 중 상용되는 약재를 찾아보고, 재구성하여 현대적으로 해석하고자 하는 근거중심의학(EBM, Evidence-Based medicine)의 관점에서 조사하였으며, 비용 약재들을 이용한 새로운 처방에 주안점을 두고 조사하였다. 결론적으로 비용 처방인 총 7가지 한약처방(사신환(四神丸), 가미우귀음(加味右歸飲), 우귀음(右歸飲), 팔미지황환(八味地黃丸), 육미지황환(六味地黃丸), 고본건양단(固本健陽丹), 접골산(接骨散)) 중에서 중복되는 한약 약재 8종(숙지황(熟地黃), 산약(山藥), 구기자(枸杞子), 두충(杜沖), 부자(附子), 육계(肉桂), 복령(茯苓), 산수유(山茱萸))임을 확인하였고 이들에 대한 자료를 정리하였으며, 이들 약재들에 대하여 최근 연구동향을 조사한 결과, 골 질환에 관련된 연구들이 진행됨을 확인할 수 있었다. 본 연구에서 얻은 결과가 제약회사에서 골 질환 개선을 위한 새로운 한약학적인 처방 또는 한방 및 생약관련 신약개발연구를 진행하는데 기초자료로 사용되고 후속 연구를 위한 기틀이 되기를 기대한다.

## Chapter 2.

# 해동피 복합 추출물의 퇴행성 골관절염에 대한 효과

## 1. 서론

경제 발전에 따른 소득 수준의 향상, 노령화 되는 인구, 소득향상에 따른 건강에 대한 관심향상 등 여러 이유로 인하여 의료비의 지출이 늘어나고 있다.<sup>52)</sup> 그 중 노령화 되는 인구에게 유병율이 높은 골 관절염에 초점을 맞추어 본 연구를 진행하고자 한다.

골 관절염이란 뼈의 끝부분을 덮고 있어 뼈를 보호해주는 연골이 닳아서 없어지는 상태를 가리키는 말로, 관절 질환 중 가장 흔한 질환이며, 나이가 들면서 증가하기 때문에 퇴행성 관절염 이라고도 불린다. 일반적으로 40세에 이르면 대부분에서 관절의 퇴행성 변화가 나타나며 60세 이상이 되면 50% 이상에서 퇴행성 관절염의 증상이 나타나는 것으로 되어 있는데 이때 관절의 병변은 매우 다양하게 나타나며 아직 그 원인에 대해 기전이 명확하게 규명이 되지 않고 있으나 선천적 결함이나 외부 자극으로 인한 연골 세포의 손상 등으로 일부 설명 될 수 있다.<sup>53)</sup> 현재 퇴행성 관절염의 근본적인 치료 방법은 없으나 관절염 환자의 치료는 대증요법으로서 통증 및 연골 손상을 억제하는 acetaminophen, ibuprofen, indomethacin과 같은 비스테로이드성 항염제(NSAIDs ; non-steroidal anti-inflammatory drugs)가 일반적으로 사용되는데 이러한 약물들은 cyclooxygenase-2(COX-2)의 활성을 억제하고 prostaglandin E2의 합성을 감소시켜 항염 작용과 통증 억제 작용을 하지만 이 약물들은 소화기계, 신장, 심혈관계 및 혈액 응고 기전 등의 부작용을 가지고 있으며 장기 복용 시 속쓰림과 위출혈 등을 유발할 수 있다.<sup>54,55,59)</sup> 이러한 기존 약물들의 단점을 보완하기 위해 보다 안전성

이 뛰어난 천연물을 활용한 치료제 및 건강식품을 개발하려는 노력이 최근 활발하게 진행되고 있다.<sup>60-62)</sup>

이렇게 효과는 우수하고 부작용이 적은 천연물 소재의 개발은 이미 다른나라에서는 많이 진행되고 시장을 형성하고 있다. 예를 들면 ‘Taxol’은 주목나무에서 추출한 성분으로서 연간 약 12억달러(약 1조 2000억원) 이상의 규모를 나타내고 있다.<sup>52)</sup>

추가적으로 1980년대 초에는 브라질산 뱀독성분에 기초한 An angiotensin-converting-enzyme inhibitor(ACE 억제제)개발로 인하여 연간 20억달러(약 2조 4천억원) 이상의 규모를 나타낸 제제도 있다.<sup>63)</sup>

이렇게 세계적으로 천연물을 이용한 소재 개발 및 신약 개발에 많은 역량을 기울이고 있고 우리나라도 뒤늦게 천연물신약이라는 용어 등장과 함께 개발을 진행하기 위한 많은 지원을 진행하였다.<sup>52)</sup>

그 결과 많은 천연물신약이 개발되었고 그중에서도 관절염에 대한 신약이 많이 개발되었다. 대표적인 예로 많은 천연물신약들 중 (주)녹십자의 신바로캡슐, 신바로정, SK케미컬의 조인스정, 한국피엠지제약의 레일라정이 천연물신약으로서 시판되고 있다. (주)녹십자의 신바로캡슐과 신바로정은 소염, 진통, 골관절증 효능으로, SK케미컬의 조인스정은 골관절증(퇴행관절질환), 류마티스관절염의 증상완화 효능으로, 한국피엠지제약의 레일라정은 골관절증의 증상완화의 효능으로 개발되어 시장을 선도 하고 있다.<sup>64)</sup>

이렇게 시판 중인 기존제품들은 모두 관절염이 발병한 뒤 치료 및 증상완화를 목적으로 개발된 의약품이기에 예방에 대한 고려는 되어 있지 않은 의약품이다.

이에, 본 연구에서는 관절염 예방 효과를 기대할 수 있는 새로운 생약

조성물을 도출하기 위하여 항염, 진통, 사이토카인 억제, 면역기능 조절, 골관절염 및 류마티스 관절염에 효능이 보고된 생약을 조사하여 신규 조합물을 도출하였다.

본 연구에서는 하기 세부적으로 설명하는 6가지 생약을 일정 비율로 혼합한 해동피 추출물 등 복합물(HP-04)의 퇴행성 골 관절염에 대한 효과를 확인해 보기 위하여 Monosodium Iodoacetate(MIA)로 유도한 골 관절염 동물모델에서 염증 억제 효능과 관절염 개선 효과를 확인하고 유의미한 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.



## 1.1. 해동피(Kalapanacis Cortex)

해동피는 두릅나무과 음나무(*Kalopanax pictus* Nakai)의 나무껍질로써 동의보감에서는 허리나 다리를 쓰지 못하는 것과 마비되고 아픈 것을 치료한다고 하였으며, 거풍습(祛風濕), 통경락(通經絡)의 대표적인 약재로써 무릎, 허리, 관절 등 사지 저림과 통증을 치료하는데 사용되었다. 해동피의 성분으로서 사포닌인 kalopanaxsaponin 들과 liriiodendrin, syringin 등의 성분이 알려져 있으며,<sup>53,54)</sup> 류마티스 관절염 동물모델에서 진통 및 항염 효과를 보고하였다.<sup>55)</sup>

한약학에 따르면 해동피의 성미(性味)는 고(苦)·신(辛)하고 평(平)하며 간경(肝經)에 작용하여 풍습(風濕)을 제거하고 경락(經絡)을 선통(宣通)하는 효능이 있어 하반신의 풍습(風濕)으로 인한 비통(鼻痛)과 사지구련(四肢拘攣), 요슬동통(腰膝疼痛), 통풍(痛風) 등에 적용하며, 또한 화습설열(化濕泄熱)하는 효능도 있어 열비(熱痺), 습열(濕熱)로 인한 각부열통(脚部熱痛)에도 사용하고 습열사리(濕熱瀉痢)에도 적용한다. 외용(外用)으로는 화습(化濕)·살충지양(殺蟲止痒)하는 효능이 있다고 알려져 있다.<sup>56)</sup>

### 1.1.1. 해동피 성상



[대한민국 약전(KP) 발취]

해동피는 줄기껍질로 긴 판모양 또는 반원통모양 이고 길이는 일정하지 않으며, 두께 1 ~ 4 mm이다. 바깥면은 회백색 ~ 회갈색이고 거칠며 회흑색의 세로로 갈라진 틈새 및 가로로 향해 벌어진 무늬가 있다. 또한, 노란색이 둥근 점모양의 껍질눈이 흩어져 있으나 뚜렷하지 않다. 껍질에는 못처럼 생긴 가시가 있고, 길이 1 ~ 3 cm이며 그 아랫쪽은 지름이 1 ~ 1.7 cm이며 세로로 긴 타원형을 나타낸다. 가시가 떨어져 나간 속껍질은 노란색이다. 안쪽은 황갈색 또는 자갈색이고 매끄러우며 가는 세로무늬가 뚜렷하다. 질은 단단하고 질기며 절단하기 어렵다. 자른 면은 외부가 회갈색이고 내부는 회황색이며 섬유성이 강하여 뚜렷한 조각층을 나타낸다.<sup>57)</sup>

## 1.2. 모과(Chaenomeles Fructus)

모과는 감기나 기관지염에 많이 사용되며 폐렴, 류머티즘에 효능이 있는 것으로 알려져 있고, 동의보감에서는 간(肝)에 들어가며 근골(筋骨)을 강하게 하고 모든 근병(筋病)에 좋다고 기록하고 있다.<sup>59)</sup>

한약학에 따르면 모과는 성미(性味)가 산(酸)·온(溫)하며, 산미(酸味)는 간(肝)에 작용하여 평간서락(平肝敘絡)하고, 온향(溫香)은 비(脾)에 작용하여 화중화습(和中化濕)하므로 기주(肌奏)의 습체(濕滯)를 제거하여 성비화위(醒脾和胃)의 작용을 한다. 비(脾)가 건운(建運)하게 되면 설사(泄瀉)가 멈추게 되고, 비(脾)가 화강(和降)하게 되면 구토(嘔吐)가 자연히 멈추게 된다. 이와 같이 모과는 비교적 양호한 서근활락(敘筋活絡)의 효능이 있고, 또한 화습(化濕)하는 효능이 있어 풍습비통(風濕痺痛), 근맥구련(筋脈拘攣), 각기종통(脚氣腫痛)을 치료하는 요약이 되며 토사과다(吐瀉過多)로 인한 족비연급(足痺攣急)을 완해(緩解)하여 전근(轉筋)을 치료한다고 알려져 있다.<sup>56)</sup>

추가적으로 모과의 성분으로는 procyanidin, chlorogenic acid, catechin, epicatechin 등이 보고되어 있다.<sup>59)</sup>

### 1.2.1. 모과 성상



[대한민국 약전 외 한약(생약)규격집(KHP) 발취]

기원식물이 모과나무일 경우 모과는 잘 익은 열매로 긴 원반모양 ~ 달걀모양반구형이며 길이 4 ~ 8 cm, 너비 35 ~ 50 mm, 두께 20 ~ 35 mm이다. 바깥 면은 적갈색 ~ 적자색으로 약간의 광택이 있고 안쪽은 적갈색이며 평탄하거나 또는 함몰되어 있고 씨는 거의 탈락되어 있다. 씨는 세모뿔모양으로 적갈색이며 그 안에는 흰색의 종인이 한개 있거나 또는 떨어져서 없다. 기원식물이 명자나무일 경우 모과는 난원형 또는 네모기둥 모양이고, 길이 4 ~ 9 cm, 너비 2 ~ 5 cm, 두께 10 ~ 25 mm이다. 바깥 면은 적자색 또는 적갈색이고, 불규칙한 깊은 주름이 있다. 자른 면은 가장자리가 안을 향하여 구부러져 있고, 과육은 적갈색이다. 중심부는 적갈색이며 오목하게 파여 있다. 씨는 납작한 삼각형이며, 대부분 떨어져 없으나, 가끔 여러 개의 씨가 뭉쳐있을 때도 있다. 질은 질기고 단단하며, 잘 부서지지 않는다.<sup>58)</sup>

### 1.3. 당귀(Angelicae Gigantis Radix)

당귀는 산형과 참당귀의 뿌리로써 한방에서는 피를 보하고 혈액순환을 돕는 약재이며 함유성분으로는 decursin, decursinol angelate, nodakentin, nodakenin, umbelliferon,  $\beta$ -sitosterol,  $\alpha$ -pinene, limonene 등이 알려져 있다.<sup>60)</sup>

한약학에 따르면 당귀는 미(味)는 감(甘)·신(辛)하며 성(性)은 온(溫)하고 심(心)·폐(肺)·비경(脾經)에 작용한다. 또한 보혈(補血)효능을 가져 심폐혈허(心肺血虛)의 병증에 사용되고, 활혈지통의 효능으로 월경부조(月經不調), 통경경폐(通經經閉), 태전산후(胎前產後)의 모든병증 및 질박손상(跌撲損傷), 비통마목(痺痛麻木), 옹저창양(癰疽瘡瘍)에 사용된다. 더하여 윤장(潤腸) 효능이 있어 血虛腸燥證(혈허장조증) 및 해천(咳喘)을 치료하고 알려져 있다.<sup>56)</sup>

추가적으로 염증성 cytokine 발현 억제를 통한 골관절염 효과가 있다고 보고되어 있다.<sup>61)</sup>

### 1.3.1. 당귀 성상



[대한민국 약전(KP) 발취]

당귀는 뿌리로 원뿔모양 또는 좁은 긴 원뿔모양이고 보통 가지가 갈리며, 길이 15 ~ 25 cm, 지름 2 ~ 5 cm이다. 바깥면은 연한 황갈색 ~ 흑갈색이고 고르지 않은 세로주름이 있으며 점모양의 수염뿌리 자국이 있다. 근두부는 팽대되어있고 보통 줄기 및 잎의 잔기가 남아 있다. 질은 단단하나 무르다. 꺾인 면은 피부가 연한 갈색 또는 황갈색이고 비교적 성글며 벌어진 틈이 많으며, 목부는 흰색 또는 황백색이다.

당귀의 횡단면을 현미경으로 볼 때 5 ~ 6 층의 코르크층에 이어 세포가 가로로 배열되어 있고 제 1 기 피부에서 목부에 이르는 유세포는 거의 사각의 벽돌모양이며 규칙적으로 배열되어 있다. 피부에는 이생세포간극이 있으며 황갈색의 내용물이 들어 있는 분비도 및 인피섬유 무리가 군데군데 섞여 있다. 도관은 주로 계문도관이나 나선문도관이고, 유세포에는 전분립이 많이 들어 있다.<sup>57)</sup>

## 1.4. 삼백초(Saurur i Herba)

삼백초는 삼백초의 뿌리와 지상부를 건조한 것으로서 전통적으로 부종, 각막, 황달, 백혈병, 요로 감염, 고혈압 치료에 사용되었고, 항염증, 항종양, 항산화, 멜라닌 합성 억제, 간 보호 및 뼈 보호 활성 등이 보고되었다.<sup>62)</sup>

한약학에 따르면 삼백초는 청열해독(淸熱解毒), 이뇨소종(利尿消腫)의 효능이 있다. 소변불리(小便不利), 임력삼통(淋瀝澀痛), 백대하(白帶下), 요로감염(尿路感染), 신염수종(腎炎水腫)에 사용한다.<sup>56)</sup>

또한, 쓴 맛이 나고 차가운 성미로 청열이수(淸熱利水)하는 효능이 있으므로 소변불리(小便不利), 임력삼통(淋瀝澀痛) 등의 병증이 습열(濕熱)에 속한 증후를 다스리는데 적용하고, 또한 해독소종(解毒消腫)하는 작용이 있어 절창옹종(癰瘡擁腫)에 내복하거나 또는 신성한 근경(根莖)을 짓찧어 환부에 바른다고 알려져 있다.<sup>56)</sup>

### 1.4.1. 삼백초 성상



[대한민국 약전 외 한약(생약)규격집(KHP) 발취]

삼백초는 지상부로 줄기는 원기둥모양이고 4줄의 세로 홈 중 1줄이 비교적 넓으며, 단면은 노란색의 섬유성으로 가운데가 비어 있다. 잎은 단엽으로 어긋나고 달걀모양 또는 달걀모양의 피침형이며, 길이 4 ~ 15 cm, 너비 2 ~ 10 cm이다. 잎끝은 점차 뾰족하고 밑부분은 심장모양이며 가장자리는 밋밋하다. 5 ~ 7 가닥의 잎맥이 뻗는데, 잎자루는 비교적 길고 세로주름무늬가 있다. 꽃은 총상 꽃차례로 가지 끝에서 잎과 마주나고 갈색이다. 삭과는 둥글다. 이 약은 약간 특유한 냄새가 있고 맛은 담담하다.<sup>58)</sup>



## 1.5. 내복자(Raphani Semen)

내복자는 십자화과 무의 종자로서 변비, 만성 기관지염 및 고혈압 치료 등이 보고되었다.<sup>65,66)</sup>

한약학에 따르면 내복자는 신(辛)·감(甘)·평(平)한 성미(性味)로 소식도체(消食導滯)하는 작용이 있으며 또한 강기화담(降氣化痰)·소식(消食)하는 동시에 행기제창(行氣除脹)하는 효능이 있는데, 다만 실증(實證)에만 사용한다.<sup>56)</sup>

식적정체(食積停滯)로 인한 완복창민(脘腹脹悶)의 여러 가지 증상에 소도행기(消導行氣)시키는 약물을 배합하면 그 효능이 더욱 증강되고, 만약 정기(正氣)가 허약(虛弱)한 경우에 보비익기(補裨益氣)하는 약물을 배합하면 식적(食積)이 제거되어 중기(中氣)는 손상을 받지 않게 된다. 또한 담음정류(痰飲停留), 담다(痰多) 등의 병증에 화담지해(化痰止咳)하는 효능이 있다고 알려져 있다.<sup>56)</sup>

### 1.5.1. 내복자 성상



[대한민국 약전(KP) 발취]

내복자는 씨로 난원형 또는 타원형에 가까우며, 약간 납작하고 길이 2.5 ~ 4 mm, 너비 2 ~ 3 mm이다. 바깥면은 황갈색 ~ 적갈색 또는 회갈색이며 한 쪽 끝에는 진한 갈색의 둥근 배꼽점이 있고 다른 쪽에는 여러 줄의 세로홈이 있다. 씨껍질은 얇고 잘 부스러진다. 떡잎은 2 개이고 황백색이며 기름기가 있다.

내복자의 횡단면을 현미경으로 볼 때 책상조직층에 밀착하여 퇴폐된 색소층이 있고 그 속에는 적갈색 물질이 들어있으며 속씨젓 세포는 한 줄로 납작하고 속에는 전분립이 들어있다.<sup>57)</sup>

## 1.6. 생강(Zingiberis Rhizoma Recens)

생강은 대표적인 향신료 중 하나로 한의학에서는 건위제, 구토, 복통, 설사 등의 치료에 사용되었다.

한약학에 따르면 생강은 성미(性味)가 신(辛)·온(溫)하고 폐경(肺經)에 작용하여 풍한(風寒)의 사기(邪氣)를 산(散)하고 해표(解表)하는데, 그 효능이 약(弱)하여 감모(感冒)의 경증(輕症)에 사용한다. 다만 외감풍한(外感風寒)이 중증(重症)일 때는 반드시 다른 신온해표약(辛溫解表藥)을 배합하여 보좌약(輔佐藥)으로 사용한다. 또한 위경(胃經)에 작용하여 온중거습(溫中祛濕)·화음관중(化飲寬中)하는 효능으로 강역지구(降逆止嘔)하는데 요약(要藥)이다.

이에, 생강은 구가의 성약(聖藥)이라 하여 위한(胃寒)이나 담습(痰濕)이 비위(脾胃)에 조체(阻滯)되어 나타나는 위기상역(胃氣上逆)의 오심(惡心), 구토(嘔吐)에 효과가 있으며, 위열구토(胃熱嘔吐)에도 상응(相應)하는 약물과 배합하여 사용하여도 효과가 있다고 알려져 있다.<sup>56)</sup>

추가적으로 위보호 및 항궤양 효과와 대장염 억제 효과 등을 나타내는 것으로 보고되었다.<sup>67,68)</sup>

### 1.6.1. 생강 성상



[대한민국 약전 외 한약(생약)규격집(KHP) 발취]

생강은 신선한 뿌리줄기로 납작하게 눌러 있거나 불규칙한 덩어리 모양이며 대개는 갈라졌거나 또는 갈라진 덩어리이다. 각 덩어리는 길이 2 ~ 5 cm, 지름 15 ~ 25 mm의 좀 구부러진 달걀 ~ 긴 달걀모양을 이루고 바깥면은 연한 회색 ~ 회색의 코르크층으로 싸여 있다. 덩어리 사이는 매우 가늘고 짧게 연결되어 있으며 이 부위는 쉽게 꺾어진다. 꺾은 면은 연한 노란색을 띠고 피부와 중심주를 가르는 내상피가 명료하게 보이고 피부와 중심주에는 섬유를 수반하는 유관속이 작은 점으로 보이며 산재한다.<sup>58)</sup>

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 추출물 제조 및 시험물질의 조제

본 실험에 사용한 천연 기능성 복합 처방은 한풍제약에서 제공 받아 사용하였으며, 6가지 생약(해동피-중국산, 모과-중국산, 당귀-중국산, 삼백초-중국산, 내복자-중국산, 생강-국산)은 대한민국약전 및 대한민국약전 외 한약(생약) 규격집의 시험법에 따라 시험하고 검증된 생약(규격품)을 사용하고 각 생약 표본은 한풍제약에서 보관 중이다. 각 생약 원료에 10배수 또는 20배수의 물을 넣고 2회 환류 추출(2~3시간, 90~100℃) 후 추출액을 여과하고 그 여과액을 감압 농축(60℃ 이하), 건조(60℃ 이하)하여 각각의 건조 분말을 얻었으며 각각의 추출 분말은 Table IV와 같은 비율로 혼합하여 해동피 추출물 등 복합물(HP-04)을 제조하였다. HP-04는 시험에 사용하기 전 증류수에 녹인 후 zonde로 시료를 시험 동물에 21일간 투여하였으며 시험 물질은 밀봉하여 냉동 보관하였고, 투여 시 1주일 분량을 제조한 다음 1일 투여량에 맞게 분주한 뒤 각각 냉장 보관하였다.

### 2.2. 실험동물 및 사육 환경

실험동물은 8주령 무게 300-370 g의 male SD rat(Orient bio, Kyenggi, Korea) 50마리를 사용하였다. 동물 입수 시 모든 동물의 일반 건강상태에 대한 수의학적 검역을 실시하였으며, 시험을 실시하는데 적

합하도록 1주일간의 순화 기간을 거쳤다. 실험실의 환경은 온도  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , 습도  $50 \pm 10\%$ , 환기는 10회/시간. 전배기방식을 사용하였으며 조명 시간 및 명암 주기는 12시간 점·소등(조명 : 오전 7시~오후 7시) 하였고 조도는 150-300Lux 이었다. 사육 기간 중에 식이는 일반 고품 사료(Samtako, Gyunggi, Korea)를 공급하였으며 음수는 여과 된 음용수를 매일 교체하였다. 시험 군 별 식이와 음수는 자유롭게 섭취하도록 하였다.

### 2.3. 관절염 유도 및 시험군 구성

순화 기간이 끝난 시험 동물은 0.9% 생리식염수를 이용하여 희석한 MIA(monosodium iodoacetate)를 insulin 주사기를 사용하여 오른쪽 무릎 관절강 내에  $50 \mu\text{l}$ (3 mg/ml)씩 주입하여 관절염을 유발하였다. MIA 투여 3일 후 관절 염 임상 지수를 이용하여 골관절염이 유발된 시험동물만을 선별한 다음 난괴법으로 각 시험군간 임상지수 값이 균일 하도록 분리하고 ear punch를 이용해 개체 식별 표시를 하였다. 동물 시험에 사용한 시험군은 다음과 같다(Table V). 실험군은 관절염을 유발하지 않은 정상군(Normal group), 관절염을 유도한 후 시료를 처리하지 않은 대조군(Control group), 관절염을 유도한 후 저농도 50 mg/kg 투여한 시험군, 관절염을 유도한 후 중농도 100 mg/kg 투여한 시험군, 관절염을 유도한 후 고농도 200 mg/kg 투여한 시험군으로 군당 10 두씩 구성하여 각 시료를 21일 동안 경구투여 하였으며 본 동물실험은 동물 실험윤리규정을 준수하여 수행하였다(IV-RB-02-1904-04).

## 2.4. 체중 변화량 및 식이 섭취량과 음수 섭취량 측정

시료 투여 후 체중은 주 1회 간격으로 측정하여 그 변화량을 측정하였으며 식이 섭취량과 음수 섭취량도 그 변화를 측정하기 위하여 시료급여 후 익일 잔량을 측정하여 주 1회 마다 일정한 시간에 그 변화량을 측정하였다.

## 2.5. 관절염 임상 지수 분석

관절염 임상지수는 Yang 등<sup>69)</sup>의 방법을 응용하여 4명의 실험자가 독립 관찰하여 각 시험군별 시험동물의 슬관절 부종 및 절곡 현상을 관찰하였고, 변화 없음을 0점으로 하고 그 심각도 정도에 따라 1점부터 3점으로 배점하였으며 각 점수는 평균값으로 표시하였다(Table VI).

## 2.6. 체중 부하 검사

뒷다리 체중 부하는 Incapacitance Meter Tester를 이용하여 측정하였는데 그 방법은 플라스틱 방에 60도 기울기로 세운 후, 각 뒷다리에 가해진 세기를 10초에 걸쳐 평균을 산출하였다. 이때 처치된 동측의 뒷다리에 분포된 체중의 백분율은 다음과 같은 방정식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{백분율(\%)} = \{(\text{유발된 하지의 무게}) / (\text{정상 하지의 무게})\} \times 100$$

## 2.7. 부검 및 혈액 분석

치료 종료 후 모든 rat을 부검하였는데 부검은 흡입 마취 후 복대정맥에서 채혈하여 혈액 분석에 사용하였으며, 슬관절을 분리하여 포르말린 고정 후 조직 분석에 사용하였다. 채혈한 혈액은 상온에서 30분 응고시킨 후 1000 rpm에서 3분간 원심 분리하여 혈청을 회수하였으며 회수한 혈청은 ELISA kit를 이용하여 TNF- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ ), IL-6(interleukin 6), TIMP-1(tissue inhibitor of metalloprotease-1), MMP-2(matrix metalloprotease-2), MMP-9(matrix metalloprotease-2) 분석에 사용하였다.

## 2.8. Micro CT 분석

Micro-CT 측정은 Quantum FX Micro-CT(Perkin Elmer, USA)를 이용하여 관전압 90 kVp, 관전류 160  $\mu$ A, FOV 10 mm로 설정하여 3분간 촬영하였고, 영상 분석은 Analyze 12(Mayo Clinic, USA)을 이용하였다. 본 분석은 실험종료 후 각 군별 1두씩을 선별하였고, Volume 렌더링을 수행하여 반월상 연골을 분리한 후, 3D 영상을 획득하였다.

## 2.9. 병리조직학적 분석

Micro-CT arthrography 촬영이 끝난 후 실험 쥐의 무릎 부위를 절단하여 10% EDTA가 포함된 10% 포르말린 용액에 넣어 관절 조직을 탈칼슘화



(decalcification) 하였다. 이 후 파라핀으로 고정된 조직을 7  $\mu\text{m}$ 의 크기로 자른 뒤, Hematoxylin and Eosin(H&E) 및 Safranin-O 염색을 실시한 후 그 결과를 광학 현미경하에서 관찰하였다.

## 2.10. 통계 분석

모든 실험 결과는 평균±표준오차(Mean±S.E.)로 계산하였다. 각 군간의 통계적 유의성 검정에 따른 통계 분석은 ANOVA(one-way analysis of variance test) Duncan 사후 검정 비교를 실시하여  $p<0.05$ 일 때 유의한 것으로 판정 하였다(SPSS V12., SPSS Inc, Chicago, IL, USA).

Table IV. The Composition of Natural Functional Complex Formulation.

Type of Diet	Yield	Ratio
Extract of Chaenomelis Fructus	24.3%	35%
Extract of Angelicae Gigantis Radix	27.1%	35%
Extract of Kalapanacis Cortex	12.8%	10%
Extract of Saururi Herba	16.5%	10%
Extract of Raphani Semen	13.9%	5%
Extract of Zingiberis Rhizoma Recens	1.7%	5%

Table V. The composition of Experimental Group and Dosage.

Group		No. of Animals	Type of Diet	Dosage
Normal		10	Normal diet	-
Control		10		N.D.
Test	Low group	10		50mg/kg
	Mid group	10		100mg/kg
	High group	10		200mg/kg

Table VI. The Grade and Arthritis Clinical Index.

Grade	Clinical symptom
0	No change
1	Mild swelling of the ankle joint
2	Moderate swelling of the ankle joint through the metatarsal bone
3	Severe swelling of the ankle joint through the digit

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 체중 변화량 및 식이 섭취량과 음수 섭취량의 측정

MIA로 골 관절염을 유도한 동물 모델에 HP-04가 미치는 영향을 확인하기 위하여 먼저 각 시험군 별로 주간 체중량을 측정한 결과는 다음과 같다. 시험 종료 시점인 3주차에 각 시험군 별 체중은 정상군(Normal)이  $433.3 \pm 4.2$  g, 대조군(Control)이  $433.8 \pm 6.5$  g, 저농도 투여군(HP-04 50)이  $438.7 \pm 3.3$  g, 중농도 투여군(HP-04 100)이  $449.2 \pm 10.7$  g, 고농도 투여군(HP-04 200)이  $436.9 \pm 7.6$  g으로 군간 유의적인 차이는 없는 것으로 확인되었다(Fig. 1). 또한, 투여 시료가 골 관절염 동물 모델의 주간 식이 섭취량과 음수 섭취량에 미치는 영향을 확인한 결과 정상군에 비해 대조군을 비롯한 시험군의 식이 섭취량이 다소 높은 경향을 보였으며, 음수의 경우 대조군이 타 시험군에 비해 낮게 조사되었으나 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다(Fig. 2).

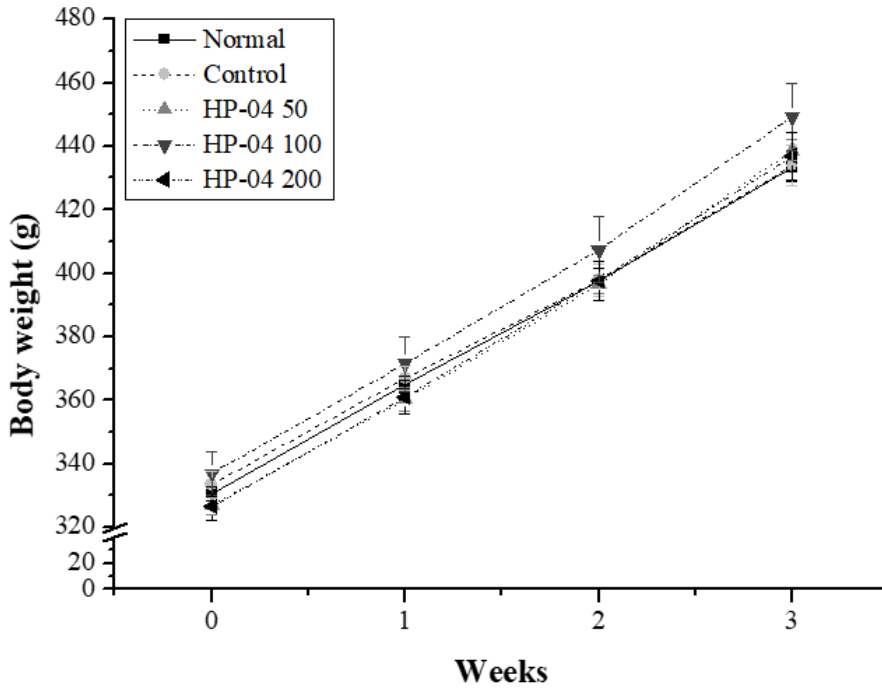


Fig. 1. Effect of Samples on Weekly Weight in MIA-Induced Osteoarthritis Animal Model. Mean  $\pm$  SE (n = 10)  
 Low group(50 mg/kg), Mid. group(100 mg/kg), High group(200 mg/kg).

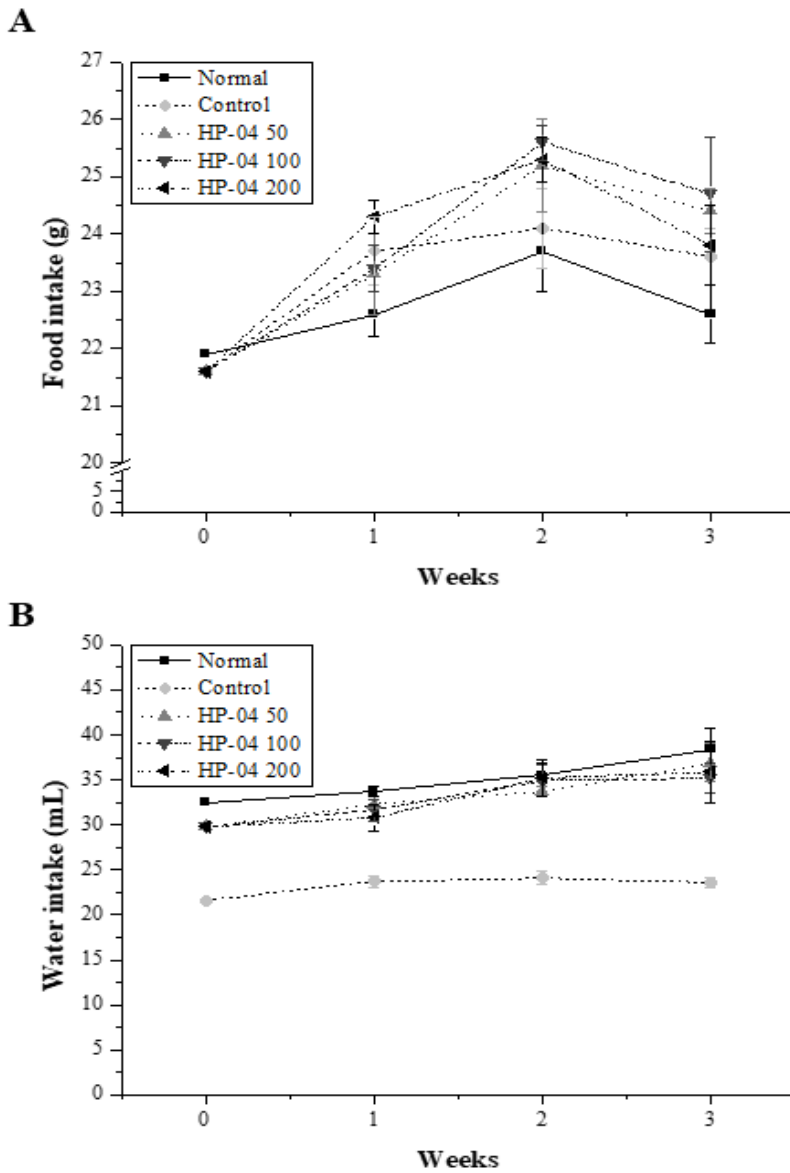


Fig. 2. Effects of Samples on Weekly Diet and Drinking Intake in MIA-Induced Osteoarthritis Animal Models. Mean  $\pm$  SE (n=10)  
 A: Dietary Intake, B :Drinking Water Intake.

### 3.2. 관절염 임상 지수 및 체중부하

골 관절염에 대한 천연 기능성 복합 처방의 효능을 확인하기 위해 관절염 임상 지수를 평가하여 분석하여 보았다. 분석 결과 MIA 유도를 하지 않은 정상군(Normal)은 관절에서 특이한 증상이 관찰되지 않았으나, MIA로 골 관절염을 유도한 대조군(Control)의 경우 발을 딛지 못하고 절뚝거리는 현상이 심하게 관찰되었다. 대조군의 이러한 증상은 시간이 경과함에 따라 감소하였으나 크게 호전되지 못하여 시험 종료차인 21일에는  $1.6 \pm 0.1$ 점으로 비교적 높게 나타났다. 반면 HP-04를 투여한 시험군은 MIA 투여 후 시간이 경과함에 따라 대조군에 비해 증상이 완화되는 것으로 나타났으며, 저농도(HP-04 50)와 중농도 투여군(HP-04 100)은 MIA 투여 직후 대조군과 큰 차이를 보이지 않았으나 18일차부터 증상이 호전되어 21일차에는 각각  $1.4 \pm 0.1$ 점,  $1.4 \pm 0.1$ 점으로 나타나 대조군과 유의적인 차이를 보였다. HP-04 고농도 투여군(HP-04 200)은 대조군과 비교하여 7일차까지는 유의한 차이를 보이지 않았으나 11일차부터 그 지수가 낮아지는 경향을 보이기 시작하였고 18일차부터는 그 지수가 유의하게 낮아져 21일차에는  $1.0 \pm 0.1$ 점으로 시험군 중 가장 낮게 조사되었다(Fig. 3A). 이러한 결과는 HP-04가 MIA로 유발된 관절염을 개선시켜 항염 및 진통 효능을 나타낸 것임을 시사한다.

골 관절염 모델에서 HP-04의 효능을 확인하기 위해 각 시험군별 체중 부하를 측정하였다. 측정 결과 MIA를 투여하기 3일 전에는 모든 시험군이 동일한 수준을 보였으나 투여 후 3일이 경과한 0일차에는 대조군을 비롯한 시험군들이 정상군에 비해 모두 유의하게 체중 부하가 감소



되어 정상군(Normal)이  $47.8 \pm 4.2\%$ , 대조군(Control)이  $24.4 \pm 2.5\%$ , 저농도 투여군(HP-04 50)이  $29.6 \pm 3.7\%$ , 중농도 투여군(HP-04 100)이  $26.9 \pm 2.1\%$ , 고농도 투여군(HP-04 200)이  $27.7 \pm 2.8\%$ 로 나타났다. 이처럼 감소된 체중 부하는 7일차까지는 대조군 대비 시험군에서 유의적인 차이를 보이지 않았으나 14일차부터 대조군에 비해 시험군이 점차 호전되는 양상을 보였다. 14일차 각 시험군별 체중 부하는 정상군(Normal)이  $48.8 \pm 0.4\%$ , 대조군(Control)이  $30.9 \pm 2.0\%$ , 저농도 투여군(HP-04 50)이  $35.6 \pm 2.2\%$ , 중농도 투여군(HP-04 100)이  $38.6 \pm 3.2\%$ , 고농도 투여군(HP-04 200)이  $40.7 \pm 2.5\%$ 로 나타나 대조군과 비교하여 저농도 투여군은 높은 경향을 보였고 중농도 투여군과 고농도 투여군은 모두 유의하게 증가된 것으로 조사되었다. 시험 종료 시점인 21일차의 각 시험군별 체중 부하값은 정상군(Normal)이  $53.9 \pm 2.2\%$ , 대조군(Control)이  $38.2 \pm 0.9\%$ , 저농도 투여군(HP-04 50)이  $38.9 \pm 0.8\%$ , 중농도 투여군(HP-04 100)이  $43.6 \pm 0.7\%$ , 고농도 투여군(HP-04 200)이  $46.1 \pm 0.7\%$ 로 나타나 14일차와 유사하게 중농도 투여군과 고농도 투여군에서 대조군에 비해 유의하게 증가된 것으로 확인되어 HP-04가 MIA로 유도된 관절염의 개선 효과가 있음을 확인 할 수 있었다(Fig. 3B).

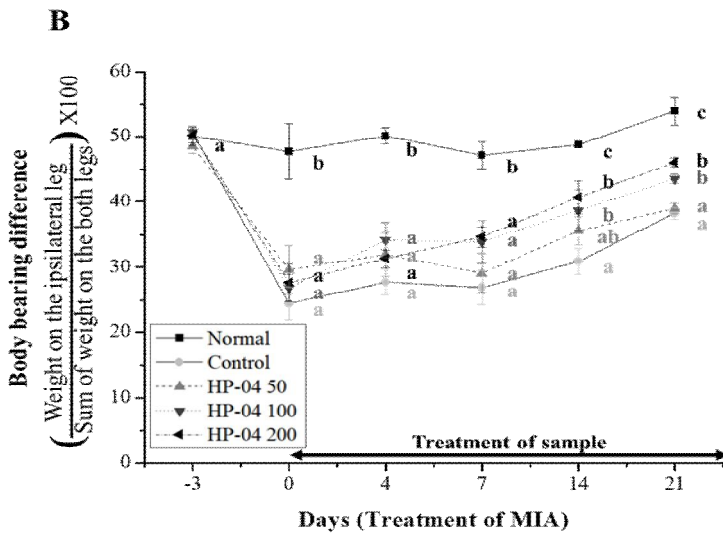
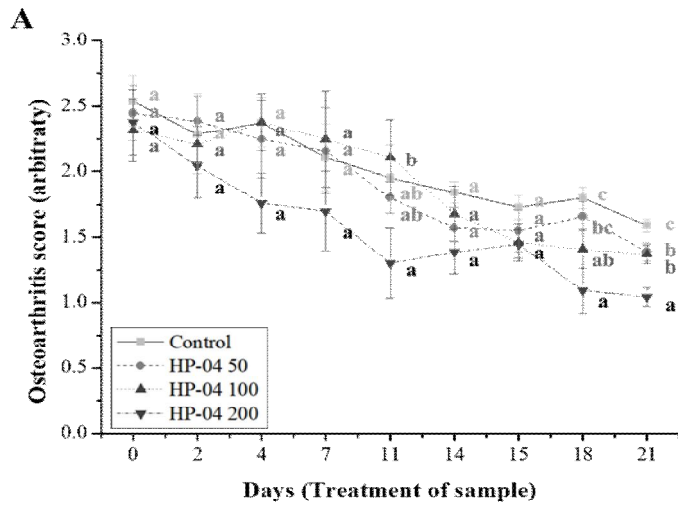


Fig. 3. The Effect of MIA-Induced Osteoarthritis on (A) Clinical Arthritis Index and (B) Animal Arthritis Weight Load Index.

Mean  $\pm$  SE (n=10)

a~c) The statistical significance level of the mean value for each test group is expressed in each subgroup for  $p < 0.05$ .

### 3.3. 혈중 염증성 cytokine 함량 분석

골 관절염 모델에서 본 연구에 사용한 HP-04가 혈중 cytokine의 함량에 미치는 영향을 살펴보고자 먼저 TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ )의 혈중 농도를 분석하였다. 정상군의 경우  $1.63 \pm 0.31$  pg/ml로 대조군의  $3.50 \pm 0.17$  pg/ml과는 유의한 차이를 나타냈고, 저농도 투여군(HP-04 50)은  $3.47 \pm 0.43$  pg/ml로 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았으나, 중농도 투여군(HP-04 100)은  $2.93 \pm 0.52$  pg/ml로 대조군보다는 낮은 경향을, 고농도 시험군(HP-04 200)은  $29 \pm 0.40$  pg/ml로 대조군에 비해 유의하게 낮은 것으로 조사되었다(Fig. 4A). 혈중 IL-6(interleukin 6)은 정상군이  $63.71 \pm 3.30$  pg/ml, 대조군이  $82.57 \pm 3.36$  pg/ml, 저농도 투여군(HP-04 50)이  $67.76 \pm 3.20$  pg/ml, 중농도 투여군(HP-04 100)이  $70.43 \pm 4.19$  pg/ml, 고농도 시험군(HP-04 200)이  $67.90 \pm 1.73$  pg/ml으로 나타나 대조군과 비교하여 시료를 투여한 시험군 모두에서 유의하게 감소된 것으로 나타났다(Fig. 4B). 혈중 TIMP-1(Tissue inhibitor of metalloproteinase-1)은 정상군에서  $558.5 \pm 27.9$  pg/ml으로 대조군의  $538.2 \pm 9.6$  pg/ml에 비해 높게 나타났다. 반면 저농도 투여군(HP-04 50)이  $507.4 \pm 9.0$  pg/ml, 중농도 투여군(HP-04 100)이  $512.6 \pm 11.3$  pg/ml, 고농도 시험군(HP-04 200)이  $515.2 \pm 18.0$  pg/ml로 나타나 시료의 투여 농도가 증가할수록 TIMP-1의 함량이 증가된 것으로 나타났으나 군간 유의한 차이는 보이지 않았다(Fig. 4C). 한편, HP-04가 골 관절염 모델의 혈중 MMP(matrix metalloproteinase)의 농도에 미치는 영향을 확인하고자 혈중 MMP-2의

함량을 분석한 결과는 대조군은  $6401.4 \pm 548.3$  pg/ml로 정상군의  $3494.3 \pm 330.8$  pg/ml에 비해 유의하게 증가된 것으로 나타났다. 반면 저농도 투여군(HP-04 50)은  $6029.3 \pm 277.2$  pg/ml로 대조군에 비해 낮은 경향을 보였고, 중농도 투여군(HP-04 100)과 고농도 시험군(HP-04 200)은 각각  $4911.7 \pm 145.3$  pg/ml,  $4167.9 \pm 605.8$  pg/ml로 나타나 대조군보다 유의하게 낮은 것으로 조사되었다(Fig. 4D). MMP-9의 경우 정상군과 대조군은 각각  $9.13 \pm 0.35$  ng/ml,  $11.17 \pm 0.12$  ng/ml로 유의한 차이를 보였는데, 저농도 투여군(HP-04 50)은  $10.75 \pm 0.16$  ng/ml로 대조군보다 낮은 경향을 보였고 중농도 투여군(HP-04 100)과 고농도 시험군(HP-04 200)은 각각  $10.48 \pm 0.16$  ng/ml,  $10.50 \pm 0.13$  ng/ml로 나타나 대조군에 비해 유의하게 낮은 것으로 조사되었다(Fig. 4E). 시험 결과로 볼 때 HP-04는 MMPs 생성을 억제하여 연골 파괴를 감소시켜 줄 것으로 사료된다. 혈중 PGE2(prostaglandin E2)를 분석한 시험에서 정상군은  $1249.79 \pm 33.55$  pg/ml로 대조군의  $1413.29 \pm 18.53$  pg/ml과는 유의한 차이를 보이는 것으로 나타났다. 저농도 투여군(HP-04 50)은  $1425.34 \pm 15.99$  pg/ml로 대조군과는 유의한 차이를 보이지 않았으나 중농도 투여군(HP-04 100)과 고농도 시험군(HP-04 200)은 각각  $1318.26 \pm 37.20$  pg/ml과  $1274.65 \pm 18.75$  pg/ml로 나타나 대조군에 비해 유의하게 감소되어 정상군과 유사한 수준을 보이는 것으로 조사되었다(Fig. 4F).

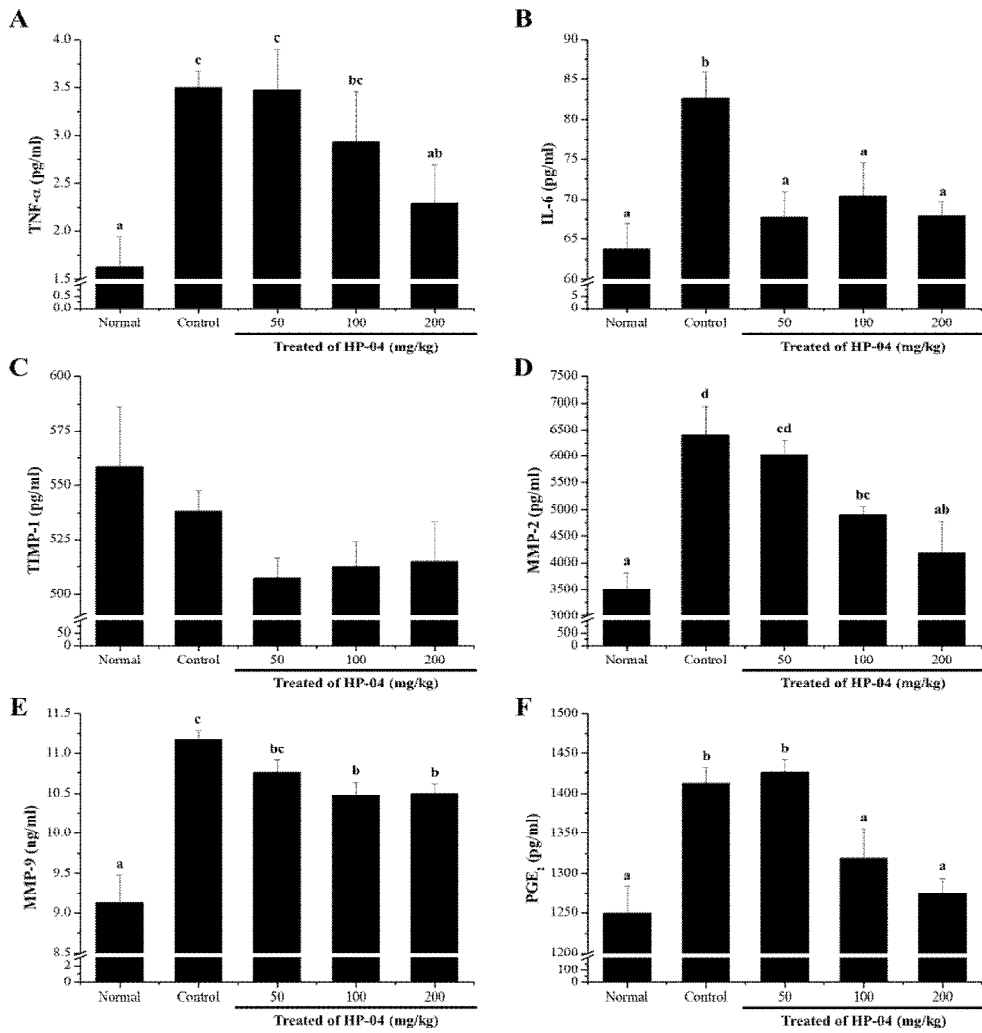


Fig. 4. The effect of MIA-induced Osteoarthritis on Blood Cytokines Content. Mean  $\pm$  SE (n=10)

A: TNF- $\alpha$ , B: IL-6, C: TIMP-1, D: MMP-2, E: MMP-9, F : PGE<sub>2</sub>.

a~d) The statistical significance level of the mean value for each test group is expressed in each subgroup for p < 0.05.

### 3.4. 조직학적 분석

HP-04의 골 관절염 동물모델의 관절 조직에 미치는 영향을 알아보기 위하여 H&E 염색을 통해 염증 반응 발생 유무와 활막세포의 증식 여부를 관찰하고, Safranin-O 염색에서 연골의 proteoglycan 층의 변화를 확인하였다. 먼저 H&E 분석에서 정상군의 관절은 활막조직이 규칙적으로 배열되어 있고 염증 세포가 발견되지 않은 양호한 상태로 확인되었다. 반면 대조군은 관절 주변에 심각한 연골 조직의 손실(bone erosion)과 조직 내 염증 세포의 침윤이 현저하게 관찰되었으며, 활막의 염증(synovial inflammation) 비후도 관찰되었다. 반면 HP-04를 투여한 시험군은 투여 농도가 증가할수록 염증 세포의 침윤과 조직 손실이 점차 감소되는 것으로 나타났는데, 특히 고농도 투여군인 200 mg/kg 시험군은 조직 내에 염증 세포의 침윤이 관찰되지 않았으며 조직 배열이 비교적 균일하게 관찰되어 관절염이 양호한 수준으로 회복된 것으로 조사되었다(Fig. 5). Safranin-O 분석에서 정상군은 관절연골의 접촉부위와 이행부위 및 방사부위의 연골세포들이 평행으로 배열되어 있고 연골 기질도 잘 보관되어 있었으나 대조군은 염증성 소견 및 연골의 침습으로 proteoglycan의 소실이 있었으며, 연골밀뼈 조직이 광범위하게 파괴되어 있는 것으로 관찰되었다. 반면 HP-04 투여군의 경우 저농도 투여군에서 연하게 확인되는 연골층이 중농도 투여군에서 선명하게 확인되고, 고농도 투여군에서는 정상군과 유사한 수준으로 회복되어 대조군에 비해 연골층이 많이 호전된 것으로 확인되었다(Fig. 6).

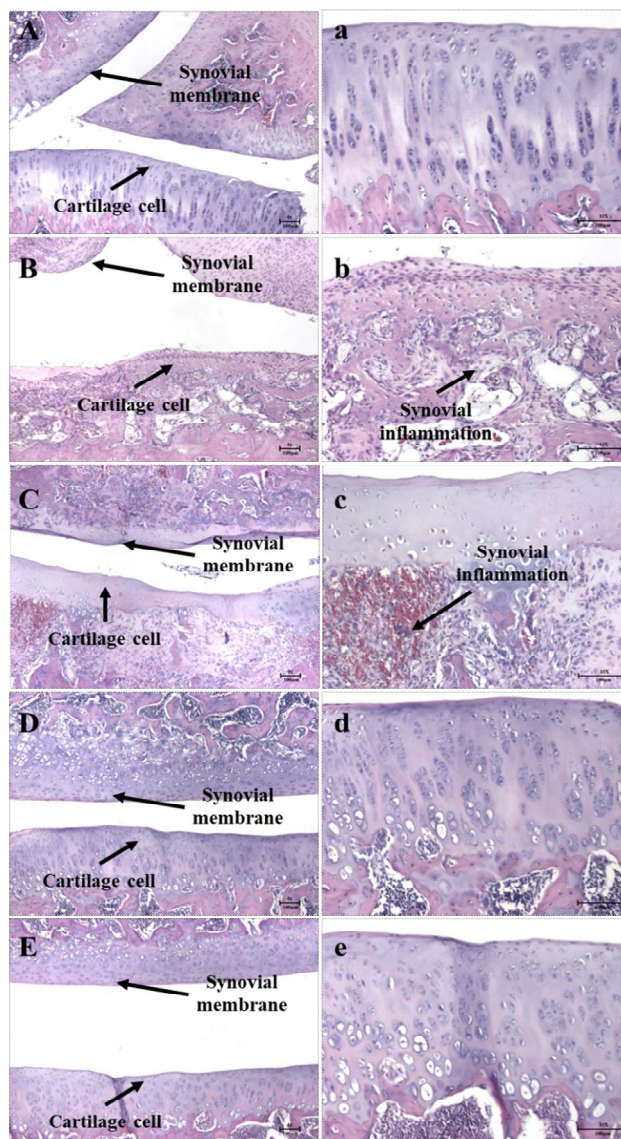


Fig. 5. Effects of MIA-induced Osteoarthritis on Animal Joints.

A, a: Normal, B, b: Control, C,c: Low group(50 mg/kg), D,d: Mid. group(100 mg/kg), E,e: High group(200 mg/kg). Hematoxylin & Eosin staining (X40 & X100). Scale bar = 100  $\mu$ m

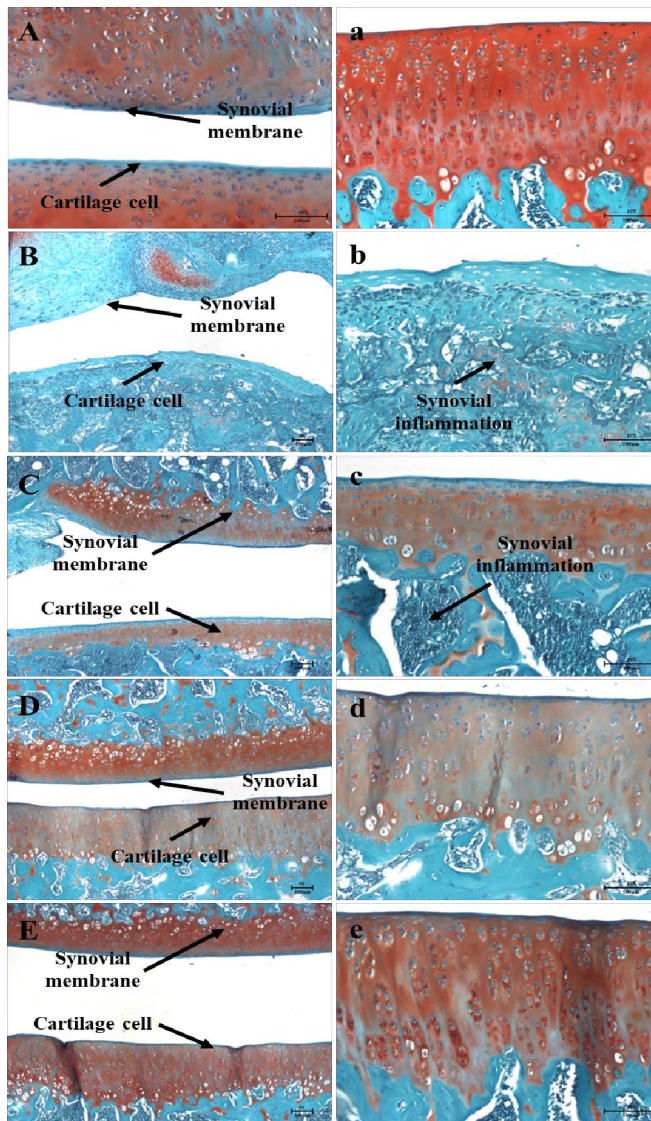


Fig. 6. Effects of MIA-induced Osteoarthritis on Animal Joints.

A, a: Normal, B, b: Control, C,c: Low group(50 mg/kg), D,d: Mid. group(100 mg/kg), E,e: High group(200 mg/kg). Safranin-O staining (X40 & X100). Scale bar = 100  $\mu$ m



### 3.5. Micro-CT 분석

MIA 단독 투여군과 시료 투여군의 무릎 관절의 연골 양을 micro-CT를 이용하여 분석한 결과 정상군에 비해 대조군의 연골이 감소되었으나 HP-04를 투여한 시험군에서 증가하는 양상을 보여 중농도 투여군인 100mg/kg 시험군과 고농도 투여군인(200 mg/kg) 시험군은 정상군과 유사한 수준의 연골 양을 나타내었다(Fig. 7, Table VII). 결과적으로 본 천연 기능성 복합 처방의 투여는 MIA에 의해 유발된 경골 골단의 여러 지표의 변화를 억제해 주는 것으로 사료된다.

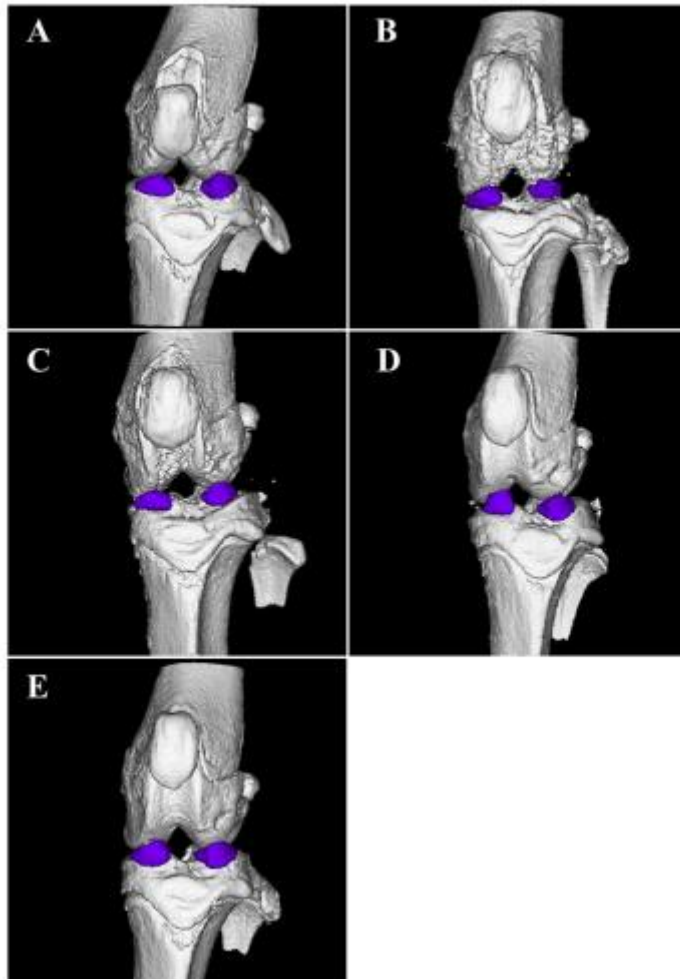


Fig. 7. Effects of MIA-induced Osteoarthritis on Animal Joints (Mirco-CT).

A: Normal, B: Control, C: Low group(50 mg/kg) D: Mid. group(100 mg/kg) E: High group(200 mg/kg)

Table VII. Effect of treatment with samples on cartilage volume.

Group	Cartilage volume
Normal	5.3875
Cotrol	4.3633
Low Conc.(50 mg/kg)	4.4603
Middle Conc.(100 mg/kg)	5.0938
High Conc.(200 mg/kg)	5.8752

## 4. 결 론

본 연구는 Chapter 1의 문헌조사를 바탕으로 골관절염에 대한 한약재 스크리닝을 진행하였으며, 최종적으로 선정된 해동피추출물 등 복합물(HP-04)이 골 관절염 동물모델에서 골 관절염 유발 인자에 미치는 영향을 조사하고자 실시하였다. MIA를 주사하여 골 관절염을 유발시킨 후 HP-04를 경구 투여 하고 혈액 및 관절, 조직 등을 이용하여 골 관절염 유발 인자들을 확인하였다.

시험 결과는 저농도, 중농도, 고농도의 세 가지 다른 군으로 분류하여 주간 체중변화량, 식이섭취량 및 음수 섭취량등을 측정하였으며, TNF- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ ), IL-6(interleukin 6), TIMP-1(tissue inhibitor of metalloprotease-1), MMP-2(matrix metalloprotease-2), MMP-9(matrix metalloprotease-2) 등의 혈액 분석과 조직학적 검사, micro-CT 등의 분석을 통하여 다음과 같은 결론을 얻었다. HP-04는 MIA에 의해 유도된 퇴행성 골 관절염 동물모델에서 관절염 임상 지수와 체중 부하를 유의적으로 개선시켰으며, 염증을 촉진시키는 염증성 cytokine인 TNF- $\alpha$ 와 IL-6 생성량은 유의성 있게 감소하였다. 또한 교원질 및 단백질과 같은 세포외기질 성분을 분해하는 MMPs 생성량 및 염증반응과 MMPs의 생성 유도를 통한 조직 파괴를 유도하는 PGE2의 생성량을 유의성 있게 감소시켰다. 이러한 결과는 micro-CT 및 조직 염색 결과 염증세포의 침윤, 관절 조직의 변형, 조직의 손상, 연골 파괴 등이 대조군 대비 감소시킨 결과와 일치하였다. 이러한 결과로 볼 때, HP-04는 골관절염 유발 인자를 억제하여 염증을 억제하고 관절 및 연골

파괴를 억제함을 제시하고 있다. 이와 같은 결과는 HP-04가 골 관절염에 대한 예방과 개선 효과를 나타내는 건강기능식품 또는 의약품으로 활용될 수 있을 것이라 사료된다.

## 인용문헌

1. Hur, N.W.; The Prevalence and Trend of Arthritis in Korea: Results from Korea National Health and Nutrition Examination Surveys. *J Rheum Dis.* 15, 1 (2008).
2. Rodan, G.A., and Martin, T.J.; Therapeutic approaches to bone diseases. *Science.* 289, 1508 (2000).
3. Ham, S.G.; Drug therapy for rheumatoid arthritis. *J Korean Acad Fam Med.* 29, 4 (2008).
4. Kim, D.H., Kim, H.M., Ryu, J.H., Um, J.Y., Kim, S.C., Yang, J.H., Chi, M.K., Lim, J.P., and Hong, S.H.; Dictionary of Oriental pharmacology, Seoul; Sinil Books, 2007.
5. Choi, H.Y., Seo, B.I., Lee, J.H., Boo, Y.M., and Kwon, D.Y.; Oriental Medicine Unabridged Terminology Dictionary, Seoul; Younglimsa, p.777 (2007).
6. Lee, J.D.; Bin-Yong 101, 102, Seoul; Jeongdam, (2004).
7. National Library of Medicine. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>
8. Lipsky, P.E.; *Rheumatoid arthritis.* In; Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, editor. *Harrison's principles of internal medicine*, 16th ed. New York, McGraw-Hill, p.1968 (2005).
9. Hochberg, M.C.; What have we learned from the large out-comes trials of COX-2 selective inhibitors? The rheumatologist' s

- perspective. *Clin Exp Rheumatol.* 19, 15 (2001).
10. Conaghan, P.G. and Brooks, P.; Disease - modifying antirheumatic drugs, including methotrexate, gold, sulfasalazine, antimalarials, and D - penicillamine. *Curr Opin Rheumatol.* 8, 176 (1996).
  11. Marra, C.A., Esdaile, J.M., Guh, D., Fisher, J.H., Chalmers, A., and Anis, A.H.; The effectiveness and toxicity of cyclosporin A in rheumatoid arthritis: longitudinal analysis of a population - based registry. *Arthritis Rheum.* 45, 240 (2001).
  12. Criscione, L.G. and St Clair, E.W.; Tumor necrosis factor - alpha antagonists for the treatment of rheumatic diseases. *Curr Opin Rheumatol.* 14, 204 (2002).
  13. Patel, D.D.; B cell-ablative therapy for the treatment of autoimmune diseases. *Arthritis Rheum.* 46, 1984 (2002).
  14. Furst, D.E.; Stem cell transplantation for autoimmune disease: progress and problems. *Curr Opin Rheumatol.* 14, 220 (2002).
  15. Breedveld, F.C., and Dijkmans, B.A.C.; Differential therapy in early and late stages of rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol.* 8, 226 (1996).
  16. Lee, D.M., and Weinblatt, M.E.; Rheumatoid arthritis. *Lancet.* 358, 903 (2001).
  17. Weinblatt, M.E., Kaplan, H., Germain, B.F., Block, S., Solomon, S.D., Gall, E., Torretti, D. and Weissman, B.; Methotrexate in rheumatoid arthritis; a five year prospective

- multicenter study. *Arthritis Rheum.* 37, 1492 (1994).
18. Johnell, O. and Kanis, J.A.; An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteoporos Int.* 17, 1726, (2006).
  19. Silverman, S.L., and Lane, N.E. Glucocorticoid-induced osteoporosis. *Curr Osteoporos Rep.* 7, 23 (2009).
  20. Hodsmann, A.B., Bauer D.C., Dempster D.W., Dian L., Hanle Harris S.T., Kendler D.L., McClung M.R., Miller P.D., Olszynski W.P., Orwoll E. and Yuen C.K.; Parathyroid hormone and teriparatide for the treatment of osteoporosis: a review of the evidence and suggested guidelines for its use. *Endocr Rev.* 26, 688 (2005).
  21. Girotra, M., Rubin M.R. and Bilezikian J.P.; The use of parathyr hormone in the treatment of osteoporosis. *Rev Endocr Metab Disord.* 7, 113 (2006).
  22. Neer, R.M., Arnaud C.D., Zanchetta J.R., Prince R., Gaich G.A., Reginster J.Y., Hodsmann A.B., Eriksen E.F., Ish-Shalom S., Genant H.K., Wang O. and Mitlak B.H.; Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med.* 344, 1434 (2001).
  23. Ponnappakkam, T., Katikaneni R., Sakon J., Stratford R. and Gensure R.C.; Treating osteoporosis by targeting parathyroid hormone to bone. *Drug Discov Today.* 19, 204 (2014).



24. Chen, J.S. and Sambrook P.N.; Antiresorptive therapies for osteoporosis: a clinical overview. *Nat Rev Endocrinol.* 8, 81 (2012).
25. Abrahamsen, B.; Bisphosphonate adverse effects, lessons from large databases. *Curr Opin Rheumatol.* 22, 404 (2010).
26. Garnero, P., Sornay-Rendu, E., Chapuy, M.C., and Delmas, P.D.; Increased bone turnover in late postmenopausal women is a major determinant of osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 11, 337 (1996).
27. Goltzman, D.; Discoveries, drugs and skeletal disorders. *Nat Rev Drug Discov.* 10, 784 (2002).
28. Mizukami, J., Takaesu, G., Akatsuka, H., Sakurai, H., Ninomiya-Tsuji, J., Matsumoto, K., and Sakurai, N.; Receptor activator of NF-kappaB ligand (RANKL) activates TAK1 mitogen-activated protein kinase kinase kinase through a signaling complex containing RANK, TAB2, and TRAF6. *Mol Cell Biol.* 22, 992 (2002).
29. Lee, S. H., Rho, J., Jeong, D., Sul, J. Y., Kim, T., Kim, N., Kang, J. S., Miyamoto, T., Suda, T., Lee, S.K., Pignolo, R.J., Koczon-Jaremko, B., Lorenzo, J., Choi, Y.; v-ATPase V0 subunit d2-deficient mice exhibit impaired osteoclast fusion and increased bone formation. *Nat Med.* 12, 1403 (2006).
30. Cosman, F., de Beur, S.J., LeBoff, M.S., Lewiecki, E.M., Tanner, B., Randall, S., Lindsay, R.; Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis. *National Osteoporosis*

- Foundation*. 25, (2014).
31. Watts, N.B., Bilezikian, J.P., Camacho, P.M., Greenspan, S.L., Harris, S.T., Hodgson, S.F., Kleerekoper, M., Luckey, M.M., McClung, M.R., Pollack, R.P., Petak, S.M.; AACE Osteoporosis Task Force.; American Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines for Clinical Practice for the Diagnosis and Treatment of Postmenopausal Osteoporosis. *Endocr Pract.* 16, 1 (2010).
  32. American College of Rheumatology ad hoc committee on glucocorticoid-induced osteoporosis.; Recommendations for the prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis: 2001 update. *Arthritis Rheum.* 44, 1496 (2001).
  33. Kim, K.S.; Clinical Use of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Korean J Otolaryngol.* 47, 91 (2004).
  34. Fowles, R.E.; Potential cardiovascular effects of COX-2 selective nonsteroidal antiinflammatory drugs. *J Pain Palliat Care Pharmacother.* 17, 27 (2003).
  35. Resmini, E., Farkas, C., Murillo, B., Barahona, M.J., Santos, A., Martínez-Momblán, M.A., Roig, O., Ybarra, J., Geli, C., Webb, and S.M.; Body composition after endogenous (Cushing's syndrome) and exogenous (rheumatoid arthritis) exposure to glucocorticoids. *Horm Metab Res.* 42, 613 (2010).
  36. D.G. Beevers.; BMA Severance Familydoctorseries, Seoul; Academia, 045 (2005)

37. Osiri, M., Akkasilpa, S., and Deesomchok, U.; Initial disease modifying antirheumatic drugs and prednisolone prescriptions for patients with rheumatoid arthritis: a 15-year study. *J Med Assoc Thai.* 83, 217 (2000).
38. Heo, J.; Dongui Bogam,. Seoul; Minjungsoelim, p.162, 244, 1111, 1156 (1992).
39. Hwang, P.S.; Bangyakhabyun. Seoul; Nansan dang. (2014).
40. Jeon, U.; Soayakjeungjikgyeol. An Heung Sik. Seoul; The Editorial Office Yeogang. p.11 (2002).
41. Jang, J.K.; Geum-gwe-yo-ryak. Shanghai. Shanghai Chinese Medical University Publisher. p.103 (2002).
42. Bang, W.S., Beok, Y.P., and Dong, G.H.; Chinese Medicine Prescription Dictionary. Seoul; The Editorial Office Youngsin. (1995).
43. Kim, C.M., Sin, M.K., Ahn, D.G., and Lee, K.S.; Chinese Pharmacy Dictionary. Seoul; The Editorial Office JeongDam. p.539, 1452, 2397, 2678 (1997).
44. Hwang, S.G., and Lee, D.Y.; Effects of Dioscorea batatas on Estrogen-deficient Osteoporosis. *Journal of Society of Preventive Korean Medicine.* 7, 55 (2003).
45. Hwang, G.T., Lee, H.; Effects of the Herbal-Acupuncture with Lycii Fructus Extract at KI10 (Eumgok) on Osteoporosis in Ovariectomized ddy mice. *Korean J Acupunct.* 26, 139 (2009).
46. Jung, Y.T., Choi, Y.H., Song, J.H., Lee, C.H., Lee, M.S.,

- Jang, S.J., Cho, H.J., Kwak, H.B., and Oh, J.; Effect of Water Extract of Eucommiae cortex in RANKL-induced Osteoclast Differentiation. *Korean Journal of Oriental Physiology & Pathology*. 23, 613 (2009).
47. Lee, K.S., Choi, E.S., Han, S.Y., and Kim, Y.K.; Effect of Aconiti Lateralis Radix Preparata and Acanthopanax Cortex on differentiation of bone marrow derived osteoclasts and adipocytes. *Herb Formula Sci*. 22, 151 (2014).
48. Jung, G.E., Kim, J.Y., Kim, J.H., Han, S.Y., and Kim, Y.K.; Effect of Co-administration of Aconiti Lateralis Preparata Radix and Cinnamomi Cortex on Osteoclast Differentiation. *Kor J Herbol*. 29, 61 (2014).
49. The Younglimsa Editorial Office. *Oriental Medicine Unabridged Terminology Dictionary*, Seoul; Younglimsa, p. 396 (2007).
50. Cheon, Y.H., Kwack, S.C., Oh, J., Choi, M.K., Kim, J.J., Kwak, H.B., Lee, M.S., Jeon, B.H., and Moon, S.Y.; Effect of Hoelen in RANKL-induced Osteoclast Differentiation. *Korean Journal of Oriental Physiology & Pathology*. 96, 320 (2012).
51. Kim, K.S., Lee, B.R., Yang, G.Y., An, T.W., and Yim, Y.K.; Effects of the Herbal-Acupuncture with Corni Fructus Extract Eumgok(KI10) on Osteoporosis in Ovariectomized Mice. *Korean J Acupunct*. 27, 63 (2010).
52. Son Y.H. ; Kyung Hee University, The Comparative Study Between China and Korea for Fostering a New Medicine Industry based on

- Korea Herb Medicines and Natural Substances. (2006).
53. Kazuko, S., Shuichi S., Yoshiteru, I. and Junzo, S.; Studies on the constituents of the bark of *Kalopanax pictus* Nakai. *Chem. Pharm. Bull.* 39: 865–870 (1991).
54. Shao, C. J., Kasai, R., Ohtani, K., Xu, J. D. and Tanaka, O.; Saponins from Leaves of *Kalopanax septemlobus* (THUNB.) KOIDZ. : Structures of Kalopanax-saponins La, Lb and Lc. *Chem. Pharm. Bull.* 37: 3251–3254 (1989).
55. Choi, J., Huh, K., Kim, S. H., Lee, K. T., Park, H. J. and Han, Y. N.; Antinociceptive and anti-rheumatoidal effects of *Kalopanax pictus* extract and its saponin components in experimental animals. *J. Ethnopharmacol.* 79: 199–204 (2002).
56. Co-authored by a professor of herbal medicine at the National Oriental Medical University. Herbalism. Seoul : Yeonglimsa : P147–148, 344–345, 353, 433–434, 505, 851–852.
57. Ministry of Food and Drug Safety. Korean Pharmacopoeia. 10 (2020)
58. Ministry of Food and Drug Safety. The Korean Herbal Pharmacopoeia (2020).
59. Du, H., Wu, J., Li, H., Zhong, P. X., Xu, Y. J., Li, C. H., Ji, K. X. and Wang, L. S.; Polyphenols and triterpenes from *Chaenomeles* fruits: Chemical analysis and antioxidant activities assessment. *Food. Chem.* 141: 4260–4268 (2013).
60. Jeong, S. Y., Kim, H. M., Lee, K. H., Kim, K. Y., Huang, D. S., Kim, J. H. and Seong, R. S.; Quantitative analysis of marker

- compounds in *Angelica gigas*, *Angelica sinensis* and *Angelica acutiloba* by HPLC/DAD. *Chem. Pharm. Bull.* 63: 504–511 (2015).
61. Kwon, J. H., Han, M. S., Lee, B. M. and Lee, Y. M.; Inhibitory effect of *Angelica gigas* extract powder on induced inflammatory cytokines in rats osteoarthritis. *Anal. Sci. Technol.* 28: 260–269 (2015).
62. Liu, G., Zhao Z., Shen, M., Zhao, X., Xie, J., He, X. and Li, C.; A review of traditional uses, phytochemistry, and pharmacological properties of the genus *Saururus*. *Am. J. Chin. Med.* 48: 47–76 (2020).
63. Schulz V, Tyler VE; Rational Phytotherapy, A Physician's guide to Herbal Medicine (1997).
64. Ministry of Food and Drug Safety. <https://nedrug.mfds.go.kr/>
65. Sham, T. T., Yuen, A. C., Ng, Y. F., Chan, C. O., Mok, D. K. and Chan, S. W.; A review of the phytochemistry and pharmacological activities of raphani semen. *Evid. Based Complement Alternat. Med.* 1–16 (2013)
66. Li, Y., Yang, W., Zhu, Q., Yang, J. and Wang, Z.; Protective effects on vascular endothelial cell in N<sup>1</sup>-nitro-L-arginine (L-NNA)-induced hypertensive rats from the combination of effective components of *Uncaria rhynchophylla* and Semen Raphani. *Biosci. Trends.* 9: 237–244 (2015).
67. al-Yahya, M. A., Rafatullah, S., Mossa, J. S., Ageel, A. M., Parmar, N. S. and Tariq, M.; Gastroprotective activity of ginger

- zingiber officinale rosc., in albino rats. *Am. J. Chin. Med.* 17: 51-56 (1989).
68. Kim, S. J., Kim, S. H., Lim, Y. L., Kim, Y. G. and Park, K. Y.; Inhibitory effects of ginger and beopje ginger on DSS-induced colitis in mice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 43: 477-484 (2014).
69. Yang, H. J., Kim, M. J., Qiu, J. Y., Zhang, T., Wu, X., Jang, D. J. and Park, S.; Rice porridge containing welsh onion root water extract alleviates osteoarthritis-related pain behaviors, glucose levels, and bone metabolism in osteoarthritis-induced ovariectomized rats. *Nutrients.* 11: 1503 (2019).