

## 한약이 난소제거 흰쥐와 SAM P6 생쥐의 생리활성에 미치는 영향

김정숙<sup>#</sup> · 김진숙 · 김연태 · 이제현  
한국한의학연구원

(Received January 20, 1998)

### Effects of Herbal medicine on Physiological Responses in Ovariectomized Rats and SAM P6 Mice

Chungsook Kim<sup>#</sup>, Jin Sook Kim, Yun Tai Kim and Je-Hyun Lee

Korea Institute of Oriental Medicine, 129-11 Chungdam-dong, Kangnam-ku, Seoul, 135-100, Korea

**Abstract**—The effect of herbal medicine on osteoporosis was studied using ovariectomized rats as an animal model of Type I osteoporosis and SAM P6 mice as that of Type II. Each traditional boiling water extract of *Achyranthis Radix*, *Psoraleae Radix*, *Rehmanniae Radix* Preparat, *Corni Fructus* and *Mycelia of Ganoderma*, and systemic water fraction of *Astragali Radix* was given 5g(dried herbal weight)/kg/day p.o. for 30 days in each group of ovariectomized rats, SAM R1 and SAM P6. The extract of *Cervi parvum Cornu* was given for 14 days only. One ml of blood was taken by tail vein at day 0, 7, 14, 21, and 30 days after administration of the extract. Plasma levels of alkaline phosphatase, calcium, creatinine, inorganic phosphate, blood urea nitrogen, cortisol, total T<sub>3</sub> and total T<sub>4</sub> were measured. In ovariectomized rats, administration of *Achyranthis Radix* or *Corni Fructus* decreased in alkaline phosphatase and that of *Achyranthis Radix* or *Psoraleae Radix* decreased in calcium comparing to the control (p<0.05). The administration of *Psoraleae Radix* decreased in calcium and increased in urea comparing to day 0(p<0.05)(Table I). There were not much changes in plasma calcium, inorganic phosphate, and alkaline phosphatase concentrations after uptake of these herbal medicine used in SAM P6(Table III). However, administration of *Astragali Radix* altered plasma inorganic phosphate and creatinine levels in SAM R1(p<0.01)(Table II). The administration of *Corni Fructus* or *Psoraleae Radix* induced the changes in plasma concentrations of cortisol, total T<sub>3</sub> and total T<sub>4</sub> in Type I(p<0.05) (Table IV). The uptake of *Cervi parvum Cornu* increased in total T<sub>3</sub> concentration and that of *Mycelia of Ganoderma* also elevated cortisol level although there was no change in hormonal concentrations by *Astragali Radix* in SAM P6. However, the uptake of *Mycelia of Ganoderma* induced changes in cortisol and T<sub>4</sub> concentrations in SAM R1(p<0.05). Thus, there were significant differences in responses of herbal medicine in different types of osteoporosis.

**Keywords** □ Osteoporosis, Herbal medicine.

일반적으로 골의 흡수와 침착과정은 균형을 유지하고 있는데 이 균형이 파괴되면서 골다공증이 생성된다. 즉 골다공증은 정상적인 骨相(osteoride)의 밀도가 감소된 상태를 말하며, 그의 일차적인 원인은 골원이 차지하는 공간과 피질 두께의 감소에 기인하며, 조직학상으로는 피질두께의 감소와 해면골(cancellous bone)의

소주(trabeculae)의 수나 크기가 감소한 것으로 추정한다.<sup>1)</sup> 골다공증은 크게 세가지 종류로 나누어 지는데 첫째는 폐경기 이후의 대다수의 여성에게서 나타나는 type I 골다공증 이며, 둘째는 70세 이상의 노인층의 남녀 모두에게서 흔히 발견되는 type II 골다공증 이고, 셋째는 원인이 불분명한 골다공증(idiopathic osteoporosis)이 있다.

Type I 골다공증은 부갑상선호르몬(parathyroid hormone:PTH)의 감소로 골의 흡수가 증가하고, 1,

<sup>#</sup> 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 02-3442-1994(223) (팩스) 02-3442-0220

25(OH)<sub>2</sub>Vit. D<sub>3</sub>가 감소하여 장에서 칼슘의 흡수가 감소되므로 노에 칼슘이 다량 배설된다.<sup>2)</sup> Type II 골다공증은 조골세포의 활성이 감소하여 골생성이 감소하고 소주골이나 피질골에서 골손실이 생기는데 이 경우는 장기간에 걸쳐서 일어나며 골밀도는 정상인 중에서 낮은 편으로 특히 척추 후굴증이 많이 생긴다.<sup>3,4)</sup> 현재까지 밝혀진 골다공증의 발병원인으로, Type I은 estrogen 결핍이 가장 중요한 요인이고, 1,25(OH)<sub>2</sub> Vit. D<sub>3</sub>의 혈중농도의 감소, 칼슘이 부족한 영양식 및 장에서의 칼슘이온 흡수의 감소도 발병요인으로 작용한다.<sup>3)</sup>

한의학적으로 뼈는 신장(腎臟)과 밀접한 관계가 있으므로 골다공증의 예방을 위해서는 신장의 기능을 도와주는 약(補腎之劑)을 사용하며, 통증이나 골절에 대해서는 기본적으로 보신지제를 약간씩 변형하여 사용하며 골절이 주증상일때는 신장의 기능을 도와주는 약(補腎之劑)에 氣를 북돋이주고 精을 보강시키며(益氣補精) 뼈와 근육을 강하게(強筋骨) 하는 약재들을 첨가하여 사용한다.

본 연구에는 녹용(Cervi parvum Cornu), 황기(As-tragali Radix), 숙지황(Rehmanniae Radix Preparat), 산수유(Corni Fructus), 우슬(Achyranthis Radix), 영지(Mycelia of Ganoderma) 및 보골지(Psoraleae Fructus)가 사용되었다. 그 중에서 녹용은 강장작용이 있고 氣와 血을 같이 도와주고 골수를 증강시키며 근육과 뼈를 강화시키는 효능(補腎益精髓)이 있는 것으로 알려져 있다.<sup>5)</sup> 황기는 氣를 돕는 약으로 황기(*Astragalus membranaceus* BUNGE)의 뿌리를 건조한 것으로 神農本草 및 本草綱目<sup>6)</sup>에 혈액의 기능을 활성화(活血生血) 시킨다고 기록되어 있다. 특히 황기의 성분으로는 triterpenoide glycoside계통과 isoflavonoide 계통이 주를 이루고 있다. 부분적으로 정제된 polysaccharide 층이 면역기능회복, 항산화작용에 의한 간 보호작용, 항염효과, 혈압강화 작용이 있다고 보고되었다.<sup>7-9)</sup> 숙지황은 혈액을 보충해 주고 음기를 자양하는 약(補血滋陰藥)으로 지황(*Rehmannia glutinosa* LI-BOSCH)의 뿌리를 채취하여 가공한 것이다. 지황에서 고농도로 존재하는 stachyose의 농도가 숙지황에서는 감소되는 반면 mannitriose의 농도는 증가한다. 또한 iridoid glycoside(6'-O-acetylcatalpol) 및 catalpol의 농도는 수처리정을 거치는 동안 점차 감소된다.<sup>10)</sup> 영지(Mycelia of Ganoderma)는 영지(*Ganoderma lucidum* KARST.)의 子實體를 건조한 것이며, 산수유는

산수유나무(*Cornus officinalis* SIEB. et. ZUCC.)의 성숙된 열매로 신장기능을 도와주고, 우슬은 懷牛膝(*Achyranthes bidentata* BL.)과 쇠무름(*Achyranthes japonica* NAKAI)의 뿌리를 건조한 것으로 뼈와 근육을 강하게 하는 작용이 있다. 보골지는 보골지(*Psoralea corylifolia* L.)의 성숙한 과실을 건조하여 산수유, 우슬과 비슷한 목적으로 쓰이고 있다.<sup>5)</sup>

본 연구는 전통적으로 사용되어온 한약중에서 골다공증의 예방 또는 치료가능한 물질을 찾아낼 목적으로 시작되었으며 특히 Type I과 Type II 골다공증에 대한 치료법은 구별되어 있지 않으므로 이들 두 Type의 효능차이를 비교하고자 하였다. 골다공증을 유발하는 동물모형 중에서 Type I과 Type II 모형을 각각 하나씩 선택하였는데, 흔히 골다공증 동물모형으로 알려진 흰쥐의 난소적출 모형은 폐경기 이후의 Type I 골다공증의 모형으로, 또 다른 하나는 유전자 변이를 통해 노화 촉진 및 골다공증을 유발하는 Type II 동물모형으로 개발된 SAM P6 생쥐가 있다. Takeda 등<sup>11)</sup>이 개발한 SAM생쥐모형은 P와 R종에 따라 노화 또는 병태의 phenotype이 다르다. R종은 노화촉진 또는 병태모형 유발에 저항을 나타내며 P종은 노화촉진 또는 병태유발을 나타낸다. 이 중에서 SAM P6 생쥐는 10주령부터 골밀도의 감소가 진행되는 것으로 알려졌으며,<sup>12)</sup> 이에 대한 대조군은 SAM R1 생쥐인 것으로 알려졌다. 그러나 SAM P6 생쥐는 노화에 기인하는 골다공증을 유발시키지만 여러 가지 요인들에 의해 비록 같은 시기에, 같은 여건에서 사육하였으나 항상성에 문제가 있다는 보고도 있다.<sup>13)</sup>

## 실험방법

### 동물실험

실험재료로 Type I 동물모형은 한국화학연구소(대전)에서 분양받은 3주령의 암컷 흰쥐(Sprague-Dawley rat)를 생후 12주까지 사육하여 체중이 200~300 gram 정도되는 흰쥐를 사용하였다. 먼저 이 암컷 흰쥐를 Ketamine(유한양행, 서울, 한국) 50 mg/kg과 Xylazine(한국바이엘, 서울, 한국) 10 mg/kg을 좌, 우측 후지 대퇴근에 근육주사하여 전신 마취 시킨 다음, 무균 조작하에서 양측 난소적출 수술을 시행하였고, 항생제로 trimethoprim 12 mg, sulfathiazole 12 mg, sulfadiazine 18 mg, sulfamerazine 30 mg, 및 lidoca-

ine hydrochloride 0.3 mg(셀과포르데-4 : 유니화학, 충남)을 복강내 주입하여 감염을 방지하였다. Sham군은 난소적출을 제외한 나머지 수술과정을 동일하게 거쳤으며, 난소적출 후 6주(생후 18주령)부터 한약재(황기, 물총, 숙지황, 산수유, 우슬, 지골피)의 투여실험을 행하였다. Type II 골다공증 동물모형으로 Takeda 등<sup>19)</sup>이 개발한 SAM 생쥐모델 중에서 노화촉진 및 골다공증을 유발하는 SAM P6 생쥐는 한국화학연구소(대전, 한국)에서 육종한 3주령의 수컷을 분양받아 생후 12주까지 사육한 후에 투약(녹용, 황기, 물총, 영지)을 시작하였다. 동시에 SAM P6의 대조군으로 SAM R1 수컷을 선택하여 생후 12주부터 투약을 시작하였다.

### 약물투여

강원도 정선에서 재배된(재배자 : 조광호) 황기(표본번호 : 96-3-0001)는 한국한의약연구원 한의사 이제현에 의해 감정되었고, 견본은 본 연구원에 보관중이다. 황기의 계통분리는 먼저 황기를 믹서로 가루로 만든 후, 80% 에탄올로 추출하고 여과농축한 후에 건조하였다. 이 건조잔사에 n-hexane, ethylacetate, n-butanol(삼진화학, 한국)로 계통분리하여 분획층을 제거한 잔사를 증류수로 상온에서 2일간 추출하여 물층을 얻었다.<sup>31)</sup> 숙지황(표본번호 : 96-3-0002 : 계림제약, 경주, 한국), 산수유(표본번호 : 96-3-0003), 우슬(표본번호 : 96-3-0004), 지골피(표본번호 : 96-3-0005), 녹용(표본번호 : 96-3-0006 : 뉴질랜드산), 및 영지(표본번호 : 96-3-0007)은 경동시장에서 구입하여 한의사 이제현이 감정하였고 표본은 건조하여 한국한의약연구원에 보관중이다. 이들 한약재는 기존 한약 추출방법인 탕제법으로 추출하였는데 먼저 약재 100g을 취하여 전자약탕기(대웅전자, DW-96000S)에 담고 증류수 1L를 넣은 후 2시간 동안 전탕하여 여과한 다음 여과한 약재를 다시 재탕하여 여액을 rotatory evaporator로 감압농축하였다.

난소제거한 Type I 골다공증 유발 동물들을 대조군과 투여군으로 각각 나누었다. Type I 실험에서는 대조군(n=9) 및 sham군(n=7)은 물을, 투여군은 황기(물총)(n=5), 숙지황(n=5), 산수유(n=4), 우슬(n=5), 지골피(n=5)를 각각 30일간 매일 1회 5 g/kg/day 경구투여하여 day 0, 7, 14, 21, 30일에 미정맥에서 1 ml씩 각각 채혈한(heparin: 75 IU) 후에 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈장을 분리하고 아래와 같이 생화학적 임상검사(혈장의 칼슘, 무기성인산염, Alkaline phos-

phatase, creatinine, blood urea nitrogen)를 행하고, 혈장의 총T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> 및 cortisol 농도를 검색하였다.

Type II 골다공증 동물모형인 SAM P6 생쥐와 이의 대조군인 SAM R1를 0일, 7일, 14일 및 30일을 투여기간으로 정하고 각군을 또 대조군(n=5)과 투여군(n=10)으로 각각 나누어 대조군(총 n=20)은 물을, 투여군(총 n=40)은 각각 녹용, 황기(물총), 및 영지를 매일 1회 5 g/kg/day의 용량으로 녹용은 0, 7, 14일동안, 황기 및 영지는 0, 7, 14, 30일동안 각각의 투여기간동안 경구투여 하였고, 그 해당일에 혈액을 전량 채혈하여(heparin : 75 IU) 혈장을 분리하고 Type I과 같이 혈장의 생화학적 임상검사와 호르몬검사들을 행하였다.

### 생화학 검사

생화학 분석기 Airon 200(Crony Instruments, Rome, Italy)과 분석시약들(Trace Amer. Inc., Miami, FL, USA)을 이용하여 200  $\mu$ l의 혈장으로 alkaline phosphatase,<sup>14)</sup> 칼슘,<sup>15)</sup> creatinine,<sup>16)</sup> 무기성인산염<sup>17)</sup> 및 blood urea nitrogen(BUN)<sup>18)</sup>을 반복실험하여 측정하였다.

### 내분비 호르몬의 정량

Sanofi-Pasteur Diagnostics(Chaska, MN, USA)의 Access@Chemiluminescent immuno assay를 이용하여 혈장 300  $\mu$ l로 총T<sub>4</sub>,<sup>19)</sup> T<sub>3</sub>,<sup>20)</sup> 및 cortisol<sup>21)</sup>의 농도를 반복하여 측정하였다.

### 통계처리

Systat<sup>®</sup> program(SYSTAT Inc, Evanston, IL, USA)을 이용하여 각 한약의 투여군과 대조군의 비교는 ANOVA로 행하였고, 각 한약의 투여군들과 투여전(day 0) 군의 비교는 Bonferroni multiple comparison analysis 法을 이용하여 p<0.05 이하일 때<sup>22)</sup> 유의성이 있는 것으로 정의하였다.

### 실험결과

#### 동물실험

Type I 대조군의 투여전군(생후 18주령)의 평균체중은 318.10 $\pm$ 7.58 g 이었으며 30일 투여기간이 끝났을 때(생후 22주령) 대조군의 체중은 323.57 $\pm$ 4.28 g이었고, 실험이 계속되는 동안 각군의 체중 변화는 산수유

Table 1—Results of biochemical analysis of ovariectomized rats during 30 days administration of the extracts (5 g/Kg/day, p.o.)

Items	Duration (day)	Control	Sham	Achyranthis	Psoraleae	Astragali	Rehmanniae	Corni
Ca <sup>2+</sup> (mg/dl)	0	11.35±0.37	9.99±0.24 <sup>§</sup>	10.03±0.17 <sup>§</sup>	9.98±0.39 <sup>§</sup>	11.35±0.37	11.35±0.37	11.35±0.37
	7	10.96±0.36	10.81±0.21	10.29±0.46	10.06±0.34	—	—	—
	14	11.64±0.59	11.63±0.55	11.03±0.23	10.66±0.30	10.90±0.24	11.20±0.31	10.94±0.34
	21	9.34±1.14	8.55±0.37 <sup>§</sup>	8.26±0.18 <sup>§</sup>	7.73±0.25 <sup>§*</sup>	11.85±0.50	13.72±0.51	12.83±0.27
	30	11.29±0.95	10.19±0.19 <sup>§</sup>	9.95±0.30 <sup>§</sup>	10.38±0.39	12.28±0.83	10.60±0.37	12.76±1.07
Inorganic Phosphate (mg/dl)	0	5.83±0.36	4.70±0.21 <sup>§</sup>	4.90±0.48	6.38±0.91	5.83±0.36	5.83±0.36	5.83±0.36
	7	4.17±0.30	4.84±0.52	4.93±0.51	4.97±0.21	—	—	—
	14	5.44±0.49	5.62±0.38	5.71±0.65	5.01±0.42	5.68±0.28	6.39±0.48	6.58±0.31
	21	5.18±0.37	4.96±0.30 <sup>§</sup>	4.64±0.59 <sup>§</sup>	5.13±0.60	5.51±0.42	5.28±0.55	6.37±0.44
Alkaline Phosphatase (IU/L)	0	6.44±0.59	4.02±0.19	3.68±0.68	5.54±0.61	4.93±0.25	3.91±0.20	3.07±0.29*
	7	98.95±17.34	85.51±10.63	83.96±16.18	146.71±18.90	98.95±17.34	98.95±17.34	98.95±17.34
	14	79.97±10.35	66.23±8.23	70.18±8.70	113.65±20.04	—	—	—
	21	88.38±18.50	67.18±13.34	48.15±9.38 <sup>§</sup>	99.59±19.47	121.91±35.50	90.89±23.05	49.48±13.74 <sup>§</sup>
Creatinine (g/dl)	0	108.15±16.42	101.58±19.96	74.84±13.26 <sup>§</sup>	102.32±21.49	114.36±18.79	129.97±32.11	77.91±20.06
	7	146.03±15.28	122.86±12.97	76.51±6.81 <sup>§</sup>	153.43±23.36	134.56±14.98	143.59±38.88	81.10±18.04 <sup>§</sup>
	14	0.60±0.05	0.64±0.02	0.62±0.03	0.70±0.04	0.60±0.05	0.60±0.05	0.60±0.05
	21	0.75±0.03	0.67±0.03	0.64±0.03	0.59±0.04 <sup>§</sup>	—	—	—
BUN (mg/dl)	0	0.66±0.03	0.60±0.03	0.62±0.03	0.70±0.02	0.68±0.05	0.51±0.04 <sup>§</sup>	0.60±0.04
	7	0.60±0.03	0.71±0.03 <sup>§</sup>	0.67±0.05	0.66±0.05	0.78±0.10	0.81±0.03	0.89±0.05*
	14	0.66±0.04	0.57±0.03	0.65±0.04	0.53±0.01 <sup>§</sup>	0.75±0.05	0.70±0.04	0.73±0.02
	21	19.76±1.34	18.99±1.60	21.89±1.31	24.82±2.42	19.76±1.34	19.76±1.34	19.76±1.34
Comparison to day 0 by Bonferroni multiple comparison method, *p<0.05, **p<0.01. Comparison between control and treatment group by ANOVA, <sup>§</sup> p<0.05, <sup>§§</sup> p<0.01. Achyranthis, Psoraleae, and Astragali means Achyranthis Radix, Psoraleae Radix and Astragali Radix, each. Rehmanniae represents Rehmanniae Radix Preparat and Corni does Corni Fructus.	0	19.73±1.06	18.17±1.49	17.23±0.85	19.73±2.20	—	—	—
	7	17.83±0.38	21.19±1.16	17.23±1.23	23.05±1.91	25.01±2.30	21.63±1.41	20.19±0.79
	14	21.96±0.91	23.80±1.54	20.36±1.27	18.75±2.39	20.97±1.36	20.72±0.78	19.90±1.12
	21	25.31±1.59	28.16±1.55 <sup>§</sup>	20.77±0.70	31.60±1.43 <sup>**§§</sup>	21.49±0.58	19.46±0.60	20.54±1.54

Comparison to day 0 by Bonferroni multiple comparison method, \*p<0.05, \*\*p<0.01. Comparison between control and treatment group by ANOVA, <sup>§</sup>p<0.05, <sup>§§</sup>p<0.01. Achyranthis, Psoraleae, and Astragali means Achyranthis Radix, Psoraleae Radix and Astragali Radix, each. Rehmanniae represents Rehmanniae Radix Preparat and Corni does Corni Fructus.

30일 투여군을 제외하고는 없었다. Type II 골다공증인 SAM P6 생쥐의 대조군의 평균체중( $n=40$ )은 투여전군(생후12주령)이  $30.08 \pm 0.28$  g, 14일(생후14주령)은  $30.21 \pm 0.44$  g, 30일(생후 16주령)은  $31.12 \pm 0.69$  g으로 각 주령사이에 차이는 없었다. 또한 녹용, 황기물총, 및 영지의 투여에 기인한 SAM P6 생쥐의 체중의 변화는 없었다. 그러나 SAM R1 생쥐의 투여전군의 평균체중은  $32.27 \pm 0.25$  g( $n=40$ )에서 30일간 황기물총 투여로  $34.78 \pm 0.44$  g( $n=10$ )으로 증가를 나타냈으나 ( $p<0.05$ ), 녹용 14일 투여군은  $32.43 \pm 0.59$  g( $n=20$ )이었고, 30일간 영지투여군은  $33.67 \pm 0.97$  g( $n=10$ )으로 체중의 변화가 없었다.

### 생화학검사

Type I 골다공증의 생화학 검사결과는 Table I과 같이 sham, 우슬 및 보골지의 투여전군들의 혈장 칼슘이온 농도가 대조군의 투여전군보다 낮았으며, 이들의 21일 및 30일 투여군들도 각각의 대조군에 비해 칼슘이온 농도가 낮았다( $p<0.05$ ) (Table I). 산수유 30일 투여군의 무기인산염 농도는 투여전군보다 감소했고( $p<0.05$ ), 21일 sham 및 우슬 투여군의 무기인산염의 농도

도 대조군보다 감소하였다( $p<0.05$ ). 대조군의 혈장 alkaline phosphatase 활성은 투여기간 동안 변화가 없었으나, 14일 이상 우슬 투여군의 alkaline phosphatase 활성은 각각의 대조군보다 감소하였고, 14일 및 30일 산수유 투여군도 대조군보다 감소되었다( $p<0.05$ ). 산수유 21일 투여군의 Creatinine농도는 투여전군보다 상승하였으며( $p<0.01$ ), 21일 sham군도 대조군에 비해 상승하였다( $p<0.01$ ). 그러나 7일 및 30일 보골지 투여군과 14일 숙지황 투여군의 creatinine 농도는 각각의 대조군에 비해 감소하였다( $p<0.05$ ). 30일 sham군 및 우슬 투여군의 BUN농도는 각각의 투여전군 및 30일 대조군보다 증가하였다( $p<0.05$ ) (Table I).

Type II 골다공증인 SAM P6 생쥐와 대조군인 SAM R1 생쥐의 혈장내 alkaline phosphatase, 칼슘, 무기인산염 농도는 Table II, III에 나타내었다. 대조군인 SAM R1 생쥐의 녹용 투여전군의 칼슘이온 농도는 나머지 투여군들에 비해 낮았으나 ( $p<0.01$ ), 무기인산염 농도 및 BUN농도는 다른 군들에 비해 높았다( $p<0.01$ ). 황기 14일 투여군은 투여전군보다 칼슘이온 농도가 감소하였으나, 대조군과는 차이가 없었고, 영지의 투여로 유의성 있는 변화를 나타내지 않았다. 반면에 무기인산

**Table II**— Results of biochemical analysis of SAM R1 mice after administration of the extracts (5 g/kg/day, p.o.)

Items	Durations (days)	Control	Cervi	Control	Astragali	Control	Ganoderma
Ca <sup>+2</sup> (mg/dl)	0	7.06±0.48**	7.06±0.48**	10.61±0.31	10.61±0.31	10.71±0.23	10.71±0.23
	7	9.49±0.17	9.48±0.16	9.58±0.29	9.44±0.18	10.42±0.72	9.45±0.25
	14	10.95±0.29	9.80±0.32	12.44±0.67*	9.25±0.27*	11.56±0.36	10.13±0.50
	30	-	-	10.72±0.43	10.06±0.29	10.83±0.43	10.13±0.24
Inorganic Phosphate (mg/dl)	0	13.66±1.20**	13.66±1.20**	9.57±0.38	9.57±0.38	8.31±0.30	8.31±0.30
	7	7.92±0.17	9.45±0.38	8.00±0.58	8.10±0.45	6.95±0.15	7.36±0.42
	14	9.00±0.33	9.51±0.39	9.38±0.50	9.65±0.58	9.36±0.42	8.87±0.52
	30	-	-	11.10±0.99	14.72±0.66** <sup>§§</sup>	9.24±0.28	9.54±0.42
Alkaline Phosphatase (IU/L)	0	53.80±3.55	53.80±3.55	56.38±2.90	56.38±2.90	57.85±1.73	57.85±1.73
	7	58.76±2.76	50.61±4.85	71.31±6.04	50.85±4.59	52.70±1.25	49.44±1.42**
	14	63.84±7.23	55.81±5.95	66.00±6.13	59.22±2.99	42.81±1.12**	44.53±2.22**
	30	-	-	42.64±6.49	40.50±4.06	42.81±3.28**	40.14±1.19**
Creatinine (g/dl)	0	0.29±0.03	0.29±0.03	0.34±0.02	0.34±0.02	0.45±0.02	0.45±0.02
	7	0.34±0.00	0.30±0.01	0.34±0.01	0.34±0.02	0.39±0.04	0.36±0.01
	14	0.41±0.02**	0.33±0.01	0.42±0.02	0.26±0.02* <sup>§§</sup>	0.44±0.04	0.41±0.03
	30	-	-	0.32±0.02	0.27±0.01*	0.43±0.07	0.41±0.04
BUN (mg/dl)	0	37.56±2.79**	37.56±2.79**	23.81±0.73	23.81±0.73	30.64±1.33	30.64±1.33
	7	24.78±0.57	21.21±0.73	23.07±2.44	20.57±1.01	21.91±1.59**	21.13±1.16**
	14	27.49±0.85	23.82±1.98	26.73±3.45	30.73±2.18	25.82±0.41	24.89±2.41
	30	-	-	24.91±1.00	24.32±3.87	28.04±1.19	25.14±0.81

Comparison to day 0 by Bonferroni multiple comparison method, \* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$ .

Comparison between control and treatment group by ANOVA, \* $p<0.05$ , <sup>§§</sup> $p<0.01$ .

Cervi means Cervi parvum Cornu, Astragali represents Astragali Radix, Ganoderma does Mycelia of Ganoderma lucidum KARST.

**Table III**— Results of biochemical analysis of SAM P6 mice after administration of the extracts (5 g/kg/day, p.o.)

Items	Durations (days)	Control	Cervi	Control	Astragali	Control	Ganoderma
Ca <sup>2+</sup> (mg/dl)	0	9.22±0.16	9.22±0.16	10.11±0.16	10.11±0.16	8.70±1.12	8.70±1.12
	7	8.14±0.76	8.35±0.23	9.56±0.13	9.27±0.19	4.56±0.48	6.68±0.78
	14	9.27±0.59	8.60±0.18	11.20±0.42	10.44±0.33	5.44±0.32	5.00±0.35*
	30	-	-	9.44±0.45	9.96±0.40	7.26±0.23	8.40±0.37
Inorganic Phosphate (mg/dl)	0	8.42±0.32	8.42±0.32	8.86±0.35	8.86±0.35	14.39±1.32	14.39±1.32
	7	10.33±1.08	10.86±0.60*	6.93±0.38	8.67±0.30	12.98±1.68	16.96±1.91
	14	8.77±1.27	9.41±0.39	10.02±0.48	9.28±0.73	15.71±1.17	13.98±1.06
	30	-	-	9.19±0.66	10.35±0.66	17.68±1.01	17.46±0.65
Alkaline Phosphatase (IU/L)	0	79.26±5.14	79.26±5.14	69.42±4.46	69.42±4.46	82.74±8.07	82.74±8.07
	7	48.84±13.55	63.04±8.41	43.40±4.08*	47.23±5.98	92.32±4.79	77.94±10.40
	14	75.08±5.62	75.64±4.91	87.96±7.84	89.82±7.40	75.23±16.49	44.03±7.45
	30	-	-	61.66±7.91	58.14±7.55	82.43±20.80	51.51±10.24
Creatinine (g/dl)	0	0.31±0.01	0.31±0.01	0.35±0.01	0.35±0.01	0.30±0.03	0.30±0.03
	7	0.33±0.02	0.28±0.01	0.34±0.01	0.31±0.03	0.31±0.04	0.30±0.03
	14	0.35±0.00	0.28±0.02	0.41±0.03	0.37±0.03	0.40±0.03	0.23±0.02 <sup>†</sup>
	30	-	-	0.35±0.04	0.34±0.02	0.41±0.06	0.35±0.04
BUN (mg/dl)	0	31.57±1.90	31.57±1.90	40.46±2.50	40.46±2.50	31.77±5.38	31.77±5.38
	7	25.23±1.87*	34.60±1.11	34.51±0.50	29.30±2.71	49.97±5.55	36.24±7.78
	14	35.29±1.29	31.50±1.09	32.84±2.48	29.30±1.25	34.28±4.84	29.91±2.22
	30	-	-	30.74±2.15	32.85±2.98	35.59±6.10	31.31±3.06

Comparison to day 0 by Bonferroni multiple comparison method, \*p<0.05.

Comparison between control and treatment group by ANOVA, †p<0.05.

Cervi means Cervi parvum Cornu, Astragali represents Astragali Radix, Ganoderma does Mycelia of Ganoderma lucidum KARST.

염 농도는 투여전군 및 대조군에 비해 황기 30일 투여군에서 상승하였다(p<0.01). 또한 영지투여로 인해 투여전군에 비해 모든 영지투여군의 alkaline phosphatase 활성은 감소하였으나(p<0.01), 각 투여군의 대조군과는 유의성 있는 차이가 없었다. 14일 및 30일 황기투여군의 creatinine 농도가 투여전군에 비해 감소되었고(p<0.05), 특히 14일 황기 투여군은 대조군에 비해 creatinine 농도가 감소하였다(p<0.01) (Table II).

SAM P6 생쥐에서 혈장내 alkaline phosphatase, 칼슘, creatinine, BUN 농도는 녹용투여에 의해 유의성 있는 변화를 나타내지 않았다. 그러나 녹용 7일 투여군의 무기인산염의 농도는 투여전군에 비해 상승하였다 (Table III, p<0.05). 또한 황기 투여군에서도 대조군에 비해 생화학 검사결과가 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다. 14일 영지 투여군의 칼슘농도는 투여전군에 비해 감소하였으나 대조군과는 차이가 없었으며, 14일 영지 투여군의 creatinine 농도가 대조군보다 감소하였으나 투여전군에 비해 유의성 있는 차이가 없었다 (Table III).

### 호르몬의 정량

Type I 골다공증의 30일 대조군 및 황기 투여군의

cortisol 농도는 투여전군에 비해 유의성 있게 감소하였으나(p<0.05), 30일 우슬 투여군, 21일 숙지황 및 산수유 투여군들은 각각의 대조군에 비해 cortisol 농도가 상승하였다(p<0.05). 30일 sham군을 포함하여 Type I 골다공증의 모든 30일 투여군의 T<sub>4</sub> 농도가 각각의 투여전군에 비해 각각 감소하였다 (Table IV, p<0.01). 또한 21일 보골지, 숙지황, 산수유 투여군들은 대조군에 비해 T<sub>4</sub> 농도가 감소하였고(p<0.05), 21일 숙지황 및 산수유 투여군은 투여전군에 비해 감소하였다(p<0.05). 산수유 14일 투여군의 T<sub>4</sub> 농도는 투여전군에 비해 유의성 있는 변화가 없었으나 대조군보다는 증가하였으며 (p<0.01), 반면에 14일 대조군은 투여전군에 비해 훨씬 감소되었다(p<0.05). 특히 보골지와 우슬 14일 투여군의 T<sub>4</sub> 농도는 대조군과는 차이가 없으나, 각각의 투여전군 값보다 감소되었다(p<0.05). 30일 대조군의 T<sub>3</sub> 농도는 투여전군보다 감소하였고(p<0.05), 숙지황 및 황기의 30일 투여군의 T<sub>3</sub> 농도도 투여전군보다 감소하였다 (p<0.01). 특히 보골지 투여군은 투여전군, 14일 및 21일 투여군의 T<sub>3</sub> 농도가 각각의 대조군에 비해 감소하였다(p<0.01). 또한 21일 sham군은 대조군보다 T<sub>3</sub> 농도가 낮았으나, 산수유 14일 투여군은 대조군보다 T<sub>3</sub> 농

**Table IV**— Hormonal concentrations of Ovariectomized Rats during 30 days administration of the extracts (5 g/kg/day, p.o.)

Items	Duration (day)	Control	Sham	Achyranthis	Psoraleae	Astragali	Rheman-niae	Corni
Cortisol (μg/dl)	0	2.66±0.20	2.01±0.16	2.52±0.20	1.40±0.20	2.66±0.20	2.66±0.20	2.66±0.20
	7	2.10±0.20	1.90±0.19	1.78±0.20	1.80±0.20	—	—	—
	14	2.20±0.15	1.77±0.19	2.00±0.20	1.70±0.20	1.86±0.13	2.42±0.24	2.10±0.17
	21	1.83±0.16	1.79±0.17	1.59±0.20	1.54±0.20	2.46±0.30	2.54±0.17 <sup>§</sup>	2.92±0.19 <sup>§§</sup>
	30	1.75±0.15*	1.56±0.17	2.16±0.20 <sup>§§</sup>	0.98±0.20	1.59±0.13*	1.76±0.14	2.14±0.28
T <sub>4</sub> (μg/dl)	0	7.22±0.65	7.25±0.48	7.59±0.75	7.32±0.65	7.22±0.65	7.22±0.65	7.22±0.65
	7	7.86±0.67	6.91±0.65	9.02±1.00	10.53±0.98*	—	—	—
	14	4.34±0.67*	4.65±0.83	4.66±0.24*	3.06±0.24**	—	—	7.99±0.70 <sup>§§</sup>
	21	6.45±0.42	5.76±0.61	6.91±0.83	4.60±0.77 <sup>§</sup>	5.85±0.23	5.13±0.16* <sup>§</sup>	4.65±0.43* <sup>§</sup>
	30	3.56±0.28**	2.80±0.20**	3.71±0.33**	3.38±0.58**	3.50±0.17**	2.77±0.11**	3.72±0.52**
T <sub>3</sub> (ng/ml)	0	1.05±0.04	0.90±0.04 <sup>§</sup>	1.50±0.59	0.90±0.05 <sup>§</sup>	1.05±0.04	1.05±0.04	1.05±0.04
	7	0.98±0.02	1.06±0.05	0.94±0.07	1.04±0.04	—	—	—
	14	0.87±0.07	0.78±0.09	0.83±0.08	0.59±0.05** <sup>§</sup>	—	—	1.22±0.03 <sup>§§</sup>
	21	1.15±0.08	0.86±0.04 <sup>§§</sup>	0.93±0.14	0.73±0.05 <sup>§§</sup>	1.02±0.03	1.10±0.03	1.12±0.04
	30	0.77±0.04*	0.90±0.05	0.83±0.07	0.84±0.04	0.77±0.04**	0.73±0.03**	0.87±0.09

Comparison to day 0 by Bonferroni multiple comparison method, \*p<0.05, \*\*p<0.01.

Comparison between control and treatment group by ANOVA, <sup>§</sup>p<0.05, <sup>§§</sup>p<0.01.

Achyranthis, Psoraleae, and Astragali means Achyranthis Radix, Psoraleae Radix and Astragali Radix, each. Rehmanniae represents Rehmanniae Radix Preparat and Corni does Corni Fructus.

**Table V**— Hormonal concentrations of SAM R1 mice after administration of the extracts (5 g/Kg)

Items	Durations (days)	Control	Cervi	Control	Astragali	Control	Ganoderma
Cortisol (μg/dl)	0	0.61±0.11	0.61±0.11	0.49±0.09	0.49±0.09	0.42±0.04	0.42±0.04
	7	0.93±0.14	1.21±0.16**	0.66±0.14	0.68±0.06	0.33±0.09	0.73±0.06* <sup>§</sup>
	14	0.46±0.08	0.62±0.12	0.39±0.12	0.76±0.09	0.55±0.08	0.62±0.10
	30	—	—	0.37±0.03	0.85±0.03	0.24±0.05	0.51±0.08
T <sub>4</sub> (μg/dl)	0	59.16±12.75	59.16±12.75	68.31±5.28	68.31±5.28	58.37±11.80	58.37±11.80
	7	76.67±15.47	56.39±8.86	69.04±4.58	112.39±24.46	21.32±5.15	60.20±27.30
	14	94.04±11.77	184.92±78.47	166.16±44.06	118.37±34.84	350.74±96.56**	179.06±29.07
	30	—	—	207.50±34.77**	164.70±20.61*	362.19±51.48**	220.64±50.96*
T <sub>3</sub> (ng/dl)	0	3.43±1.01	3.43±1.01	2.02±0.98	2.02±0.98	0.86±0.10	0.86±0.10
	7	0.85±0.17	1.32±0.40	0.85±0.39	13.72±3.60*	1.77±0.62	11.82±5.28*
	14	3.07±0.82	8.05±3.05	6.91±4.99	4.23±2.08	12.43±3.33	6.11±1.41
	30	—	—	10.41±4.42	11.82±2.95	6.28±1.39	5.10±1.78

Comparison to day 0 by Bonferroni multiple comparison method, \*p<0.05, \*\*p<0.01.

Comparison between control and treatment group by ANOVA, <sup>§</sup>p<0.05.

Cervi means Cervi parvum Cornu, Astragali represents Astragali Radix, Ganoderma does Mycelia of Ganoderma lucidum KARST.

도가 증가하였다(p<0.01)(Table IV).

Type II 골다공증의 대조군인 SAM R1 생쥐의 호르몬 변화는 Table V에 나타내었다. 7일 녹용투여군의 cortisol농도가 대조군과는 차이가 없으나 투여전군에 비해 증가하였다(p<0.01). 또한 7일 영지투여군도 투여전군 및 대조군에 비해 cortisol 농도가 상승하였다(p<0.05). 황기투여군의 실험에서 30일 대조군의 T<sub>4</sub>와 30일 황기투여군의 T<sub>4</sub>농도는 투여전군에 비해 증가하였으나(p<0.05), 대조군에 비해 유의성 있는 변화를 나

타내지 않았다. 영지투여 실험에서도 14일 및 30일 대조군의 T<sub>4</sub>농도가 투여전에 비해 월등히 증가하였고(p<0.01), 30일 황기 투여군의 T<sub>4</sub>농도도 투여전에 비해 증가하였으나(p<0.05), 대조군과는 차이가 없었다. 또한 7일 황기 및 영지 투여군은 각각의 투여전군에 비해 T<sub>3</sub>농도가 증가하였다(Table V).

SAM P6 생쥐의 14일 녹용투여군은 투여전에 비해 T<sub>3</sub>농도가 증가되었고(p<0.05), 14일 대조군의 T<sub>4</sub> 및 T<sub>3</sub> 농도는 투여전군에 비해 유의성 있게 증가하였다(p<

**Table VI**— Hormonal concentrations of SAM P6 mice after administration of the extracts (5 g/Kg)

Items	Durations (days)	Control	Cervi	Control	Astragali	Control	Ganoderma
Cortisol (µg/dl)	0	1.33±0.17	1.33±0.17	1.79±0.14	1.79±0.14	1.05±0.10	1.05±0.10
	7	1.20±0.27	0.93±0.15	2.09±0.12	2.08±0.10	1.62±0.27	1.74±0.21
	14	1.19±0.15	1.73±0.16	2.04±0.18	1.29±0.13	1.54±0.10	1.24±0.30
	30	-	-	2.10±0.25	2.13±0.17	2.36±0.10**	2.16±0.15**
T <sub>4</sub> (µg/dl)	0	150.58±35.45	150.58±35.45	335.75±77.42	335.75±77.42	590.57±114.05	590.57±114.05
	7	329.92±108.89	250.22±56.40	651.40±77.50	486.06±69.44	168.12±100.95	598.68±119.77
	14	475.78±73.93**	301.76±50.20	320.39±108.92	417.74±129.64	471.69±224.73	599.89±140.10
	30	-	-	548.13±95.40	644.37±129.73	1041.47±113.19	831.57±138.91
T <sub>3</sub> (ng/dl)	0	7.74±1.49	7.74±1.49	20.44±4.86	20.44±4.86	27.08±4.16	27.08±4.16
	7	15.20±3.37	12.83±2.19	38.13±4.29	31.05±4.85	10.43±5.23	31.13±3.13
	14	21.03±4.30**	16.86±2.16*	16.37±6.07	18.80±7.06	19.16±7.95	29.52±5.03
	30	-	-	20.89±4.31	27.72±7.68	39.06±0.02	31.04±5.23

Comparison to day 0 by Bonferroni multiple comparison method. \*p<0.05, \*\*p<0.01.

Cervi means Cervi parvum Cornu, Astragali represents Astragali Radix, Ganoderma does Mycelia of Ganoderma lucidum KARST.

0.01). 또한 황기투여군에서는 cortisol, T<sub>4</sub> 및 T<sub>3</sub> 농도의 유의성 있는 변화가 없었다(Table VI). 영지 30일 투여군의 cortisol 농도는 30일 대조군과 함께 투여전에 비해 증가하였으나(p<0.01), 대조군에 비해 유의성 있는 변화가 없었다(Table VI).

**고 찰**

골다공증은 여러가지 원인으로 분류할 수가 있는데, 초, 중년기의 골감소증에 기인하는 경우와 폐경기 이후의 골다공증(Type I) 또는 노화로 인한 골다공증(Type II)가 있다. 그 중에서도 폐경기 이후의 Type I과 노화에 기인하는 Type II 골다공증의 경우에 내분비 장애가 그 원인인 경우가 많다. 또한 질병이나 칼슘이온 흡수의 감소로 인한 칼슘농도와 인산염 및 비타민 D 등의 결핍이 주된 발병원인으로 알려져 있다.<sup>2, 23, 24)</sup> 그러나 이런 내분비 장애나 무기질 농도의 흡수장애가 생기는 원인에 대한 연구는 거의 되어 있지 않다. 더욱이 골연구는 골조직이 석화된 단단한 조직이므로 분석적인 연구가 쉽지 않고, 만성질환이므로 연구기간의 장기화로 경제적인 문제성이 항상 제기되어 왔다. 골다공증은 골의 흡수와 침착과정의 균형이 파괴되면서 생성되는데, 그 중에서 골흡수의 지표물질인 hydroxyproline은 일반적으로 노증에 배설되며 골다공증 환자의 노증의 hydroxyproline 농도는 정상이거나 약간 높은 것으로 알려져 있다. 그러나 노화에 따른 골량의 감소는 항상 일어나며 골량의 정량적인 측정이 미래의 골절에 대한 예상을 말한

다.<sup>6)</sup> Type II 골다공증은 부갑상선호르몬(PTH)의 농도가 높고 신장기능도 떨어지며 장에서 칼슘이온의 흡수가 떨어진다. 특히 현재까지 골다공증의 연구는 Type I과 Type II의 특성을 비교검토 연구하지 않았고 전반적으로 혼한 Type I 연구에 많이 기울어져 있기 때문에 본 논문에서는 이들 Type I과 Type II에서 한약재의 일차적인 효능검색법으로 치료약의 효능 차이를 간접적인 실험실의 여러 가지 생화학적 검사와 호르몬 검사들을 통해 비교하였다. 또한 녹용, 황기 및 숙지황은 대표적인 보약이고 산수유, 우슬, 및 보골지는 근골질환에 사용되는 한약재이므로 선택하였다. 이들의 투여량으로 선택한 건조 한약재 5 g/kg의 용량은 OECD의 독성시험법에서 단일 성분의 독성검사에 사용하는 용량이나 본 연구에서 사용한 양은 건조한약재로 통상적으로 일일처방으로 2~5 g/kg을 사용하고 있고, 특히 황기의 경우는 75~100 g/kg을 경구투여하여도 독성이 없었으며, 숙지황은 매일 60 g/kg을 경구 투여하여도 독성을 나타내지 않았기에 선택하였다.<sup>30)</sup>

골은 약 2/3의 무기물질과 약 1/3의 유기물질로 구성되어 있으며 그중 무기물질은 주로 calcium phosphate이고 유기물질은 대부분 collagen으로써 hydroxyproline과 mucopolysaccharide로 구성되어 있다고 알려져 있다. 그러므로 본 연구에서는 골다공증의 생화학 검사로 Ca<sup>+2</sup>과 무기인산염 농도를 측정하였다. Alkaline phosphatase 활성은 조골세포에서 주로 나타나며 이는 골의 석회화에 관련하여 골의 생성에 부분적으로 관여하나 혈장 alkaline phosphatase의 증가



는 골다공증의 하나의 지표로 여겨 왔으므로 측정하였다. 또한 국소적으로 일어나는 칼슘과 인산염의 증가가 불용성인 calcium phosphate를 만들고 이는 collagen등과 결합하여 골을 형성하는데, 이 이온들의 체내 농도나 평형은 부갑상선호르몬의 영향에 의해 흡수 및 배설되므로 신장기능의 변화를 관찰하기위해 creatinine과 BUN의 농도를 측정하였다.<sup>2,3)</sup>

Type I 골다공증 흰쥐의 혈장 칼슘농도는 대조군의 투여전군 값이 다른 군에 비해 훨씬 높았으나 투여기간 동안에 변화가 없었고, 보골지 21일 투여군을 제외하고는 투여전군에 비해 유의성 있는 변화는 없었다. 그러나 sham, 우슬, 및 보골지의 21일이상 투여한 군들은 대조군의 칼슘농도에 비해서 감소하였다. 또한 이들 투여전군들의 BUN 및 creatinine 농도의 변화는 없었으므로(Table I), 이들이 난소제거로 인해 부갑상선 호르몬 농도의 상승으로 장에서 칼슘흡수의 장애로 인한 hypocalcemia를 유발하였다고 보기는 어렵다. 특히 황기, 숙지황, 및 산수유는 투여는 혈장 칼슘농도에 전혀 영향을 미치지 않았다.

Type II 골다공증인 SAM P6 생쥐의 경우도 녹용, 황기 및 영지 투여로 인해 혈장의 칼슘농도의 유의성 있는 변화는 없었으며(Table III), 이는 SAM P6 생쥐의 대조군인 SAM R1 생쥐의 경우도 유사하다(Table II). 본 연구의 Type I과 Type II 골다공증은 대조군에서 30일 투여기간 동안 혈장 칼슘농도의 변화를 나타내지 않았으며 우슬과 보골지 투여군 및 sham군은 혈장 칼슘농도가 대조군에 비해 오히려 감소하였다. 이는 골다공증 환자의 경우에 혈중칼슘 농도나 인산염의 농도가 정상으로 나타났다는 보고와 유사하며,<sup>23)</sup> 대개의 Type I 골다공증은 혈장 칼슘농도나 인산염의 농도가 낮고 뇨중에 배설량이 증가하나, Type I 동물모형에서는 대조군이 sham군에 비해 이들 이온들의 농도가 오히려 높았고, 우슬 및 보골지는 이들 이온들의 농도를 오히려 감소시켰다. 그러나 Type II 골다공증의 대조군인 SAM R1 생쥐의 경우에 30일간 황기(물층) 투여는 30일 대조군이나 투여전 군에 비해 무기인산염의 농도가 상승되었다. 즉 골다공증의 하나의 원인이 되는 무기인산염의 감소를 막았을 뿐만 아니라 이 인산염의 농도를 투여전군에 비해 약 50%정도 증가시켰다(Table II). 그러나 Type II 골다공증 동물인 SAM P6 생쥐에서는 아무런 변화가 없었다. 따라서 Type I과 Type II 골다공증은 혈장의 칼슘이나 인산염의 농도변화가 다르

며 같은 한약을 투여하여도 이 이온들에 대한 효능의 차이가 있었다.

혈장 alkaline phosphatase의 활성은 활발한 골발육이 있거나, 혹은 다른 간질환이나 골질환이 있을 때 증가하는데, Type I의 30일 대조군은 투여전에 비해 약 50%의 상승경향을 나타내었으나 유의성은 없었다. 또한 우슬은 근육이나 골이 위축되었거나 무릎관절이 원활히 움직여지지 않을 때 사용하고 있으며, 골수를 채우는 작용이 있다고 동의보감에 기록되어 있으나, 우슬투여군에서 alkaline phosphatase의 활성이 각각의 대조군보다 감소된 것으로 나타났다(Table I,  $p < 0.05$ ). 그러나 Type II인 SAM P6 생쥐나 대조군인 SAM R1 생쥐의 alkaline phosphatase의 활성은 SAM R1 생쥐의 영지투여군에서 투여전군에 비해 감소된 것을 제외하고는 유의성 있는 변화가 없었다.

Type II 골다공증의 경우는 이들 생화학검사가 30일간 황기(물층) 투여로 SAM R1생쥐에서 무기인산염의 농도가 증가된 곳을 제외하고는 한약투여로 인한 유의성 있는 변화가 거의 없었다(Table II). 이 결과는 김<sup>25)</sup> 등이 30일 녹용투여실험에서 14일후부터 시작된 대조군의 alkaline phosphatase 활성의 감소를 방지하였고,  $Ca^{+2}$  농도가 감소된 것과는 다른데, 이는 녹용의 투여기간에 따른 차이로 보여진다. 이를 종합하여 보면 Type I 골다공증은 Type II 골다공증에 비해 혈장내 여러가지 이온들의 변화가 많음을 나타내었다.

골다공증 환자의 혈장내의 여러 가지 호르몬들의 변화를 보면 골다공증 환자의 혈장 insulin-like growth factor-1(IGF-1)의 농도는 상당히 감소되었고 이 농도변화는 척추 무기질 밀도(Bone Mineral Density : BMD)와 상관관계가 있으며,<sup>26)</sup> IGF-1의 생성은 역시 다른 근골대사에 중요한 호르몬들인 thyroids ( $T_3$ ,  $T_4$ ), PTH, Vit.  $D_3$ , cortisol과 estrogen과 밀접한 관계가 있다고 알려졌다.<sup>27)</sup> 특히  $T_3$ 는 *in vitro* 실험에서 연골생성을 촉진시켰으며 이것은 간접적으로 IGF-1의 효과에 영향을 준 것으로 여겨지며,<sup>28)</sup>  $T_3$ 는 성장점에 있는 연골모세포(chondrocytes)에서와 유사하게 세포비대(cellular hypertrophy)와 세포질내 공포(cytoplasmic vacuoles)를 특징적으로 촉진시킨다. 그러므로 thyroids( $T_3$ ,  $T_4$ ) 호르몬은 골생성에 상당한 영향을 미친다고 알려졌다.<sup>29)</sup>

본 연구의 Type I 골다공증 동물모형의 cortisol,  $T_3$ ,  $T_4$ 농도의 변화는 Table IV에서와 같이 30일 대조

군의 cortisol,  $T_3$ ,  $T_4$ 의 농도가 각각의 투여전군보다 유의성 있게 감소되었다( $p < 0.01$ ). 또한 숙지황 및 산수유의 21일 투여군은 대조군에 비해 cortisol 농도가 증가되었고, 30일 우슬투여군도 대조군보다 증가되었다. 그러나 대조군이 투여기간동안 cortisol 농도가 감소하였고, 투여전군에 비해 증가되지는 않았으므로 상대적인 증가로 보인다. 모든 30일 투여군의  $T_4$  농도는 투여전보다 감소되었다. 또한 산수유 14일 투여군 및 투여전 군의  $T_4$  농도가 대조군보다 약 80% 정도 증가한 것을 제외하고는 모든 투여군에서  $T_4$  농도가 각각의 대조군 및 투여전군에 비해 감소하였다. 산수유 14일 투여군의  $T_3$  농도는 대조군에 비해 약 40% 이상 증가되었으며, 특히  $T_3$  는  $T_4$  보다 훨씬 활성도가 높으므로 산수유의  $T_3$  농도 증가는  $T_4$  농도의 상승보다 훨씬 더 큰 영향을 미친다.

그러나 Type II 골다공증인 SAM P6 생쥐의 경우는 14일 녹용투여군의  $T_3$  농도는 대조군과 함께 투여전군의 농도보다 증가하였고(Table VI,  $p < 0.05$ ), 황기투여군은 cortisol,  $T_4$  및  $T_3$  의 값은 유의성 있는 변화가 없었다. 영지투여군도 유의성 있는 변화가 없었으나 30일 대조군 및 투여군의 cortisol 농도가 투여전에 비해 증가하였다. 반면에 Type II의 대조군인 SAM R1 생쥐는 7일간 녹용투여로 cortisol의 농도를 증가시켰고, 영지투여는 cortisol의 농도를 증가시켰다. 그러나 Type I의 황기투여와 달리 Type II의 황기투여는 대조군에 비해 cortisol,  $T_3$ ,  $T_4$  의 농도변화를 유발시키지 않았다. 그러나 대조군의 주령의 증가에 따른 혈장  $T_4$  농도의 증가는 김 등<sup>13)</sup>의 결과와 같이 SAM P6 생쥐의 특성이므로 사료된다.

Type I 골다공증과는 달리 SAM P6 생쥐는 Hyperthyroidism에 기인하는 2차적인 골다공증을 유발하는 것으로 추정되며(Table V, VI), 특히 녹용투여는  $T_4$  농도를 감소시켰다(Table VI). 현재까지의 연구로 미루어볼 때 황기는 補氣작용이 강한 약재로 분류되었는데 황기(물총)을 투여한 Type I 골다공증 동물의 생화학검사 결과는 칼슘이나 무기인산염 혹은 alkaline phosphatase 등에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났으며(Table I), Type II 골다공증 동물인 SAM P6 생쥐에서도 아무런 영향을 미치지 않았다(Table III). SAM P6 생쥐는 유전적인 변화를 일으켜서 나이가 진행됨에 따라서 cortisol 이나 thyroid 호르몬들을 증가시키는 것으로 알려져 있다.<sup>13)</sup> 그러나 30일간 황기(물

총) 투여는 SAM P6 생쥐 및 SAM R1 생쥐의 이런  $T_3$  및  $T_4$ 의 상승을 대조군에 비해 상대적으로 억제시키는 것으로 나타났으며 Type I의 경우에는 이들 농도가 투여전군에 비해 감소하였다.

결론적으로 본 연구에서 간접적인 실험실의 생화학 검사와 호르몬의 검사로 Type I 골다공증과 Type II 골다공증의 차이를 알 수 있었으며 특히 투여한 한약의 종류에 따라 나타나는 효능이 크게 달랐다. 특히 산수유는 간과 신장의 기능을 보장시키는(補益肝腎) 수렴제(收澀藥)로써 alkaline phosphatase의 활성은 감소시켰고 cortisol,  $T_3$ ,  $T_4$  농도는 증가시켰으므로 BMD를 측정하여 골에 미치는 영향을 연구하는 것이 바람직하다고 사료된다.

### 감사의 말씀

본 연구는 보건복지부의 보건의료기술연구개발사업의 일환으로 1995년도 용역사업과 96-M-5-0047 연구과제의 지원에 의해 수행되었기에 이에 감사를 드립니다.

### 문 헌

- 1) Dempster, D. W. and Lindsay, R. : Pathogenesis of osteoporosis. *Lancet* **341**, 797 (1993).
- 2) Marie, P. J., Sabbagh, A., Vernejoul, M.-C. and Lomri, A. : Osteocalcin and deoxy-ribonucleic acid synthesis *in vitro* and histomorphometric indices of bone formation in postmenopausal osteoporosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **69**, 272 (1989).
- 3) Cheema, C., Grant, B. F. and Marcus, R. : Effects of estrogen on circulating "free" and total 1, 25-dihydroxyvitamin D and on the parathyroid-vitamin D axis in postmenopausal women. *J. Clin. Invest.* **83**, 537 (1989).
- 4) Ryan, P. J., Evans, P., Gibson, T. and Fogelman, I. : Osteoporosis and chronic back pain: A study with single-photon emission computed tomography bone scintigraphy. *J. Bone Miner. Res.* **7**, 1455 (1992).
- 5) 강병수, 고운채, 김선희, 노승현, 서영배, 송호준, 신민교, 안덕균, 이상인, 이영종, 이강희, 주영승 : 본초학, 영림사, 서울, p. 427 (1995).

- 6) 李時珍 : 本草綱目, 上下, 人民衛生出版社, 北京 (1982).
- 7) Shimizu, N., Tomoda, M., Kanari, M. and Gong, R. : An acidic polysaccharide having activity on the reticuloendothelial system from the root of *Astragalus mongholius*, *Chem. Pharm. Bull.* **39**(11), 2969 (1991).
- 8) Zhang, Y. D., Sheu, J. P., Zhu, S. H., Huang, D. K., Ding, Y. and Zhang, X. L. : Effects of astragalus (ASI, SK) on experimental liver injury, *Acta Pharmaceutica Sinica* **27**(6), 401 (1992).
- 9) Harborne, J. B. and Baxter, H. : *Phytochemistry Dictionary*, Taylor & Francis, Washington D.C. (1993).
- 10) Kitagawa, I., Fukuda, Y., Taniyama, T. and Yoshikawa, M. : Chemical Studies on crude drug processing. X. On the constituents of *Rehmanniae Radix* (4): Comparison of the constituents of various *Rehmanniae Radixes* Originating in China, Korea, and Japan. *Yakugaku Zasshi* **115**(12), 992 (1995).
- 11) Takeda, T., Hosokawa, M. and Higuichi, K. : Senescence-Accelerated Mouse (SAM), A novel murine model of aging in *The SAM model of senescence*, Elsevier Science B. V., Amsterdam, p. 15 (1994).
- 12) Suda, T., Miyama, K., Uchiyama, Y., Katagiri, T., Yamaguchi, A. and Sato, T. : Osteoporotic bone changes in SAM P6 are due to a decrease in osteoblast progenitor cells. in *The SAM model of senescence*, Takeda, T.(ed.), Elsevier Science B. V., Amsterdam, p. 47 (1994).
- 13) 김정숙, 김연태, 이제현, 하혜경, 전원경, 한상섭 : 한약에 의한 SAM P6와 SAM R1의 생리적인 변화. *응용약물학회지* **5**, 23 (1997).
- 14) Raab, W. P. : Diagnostic value of urinary enzyme determinations. *Clin. Chem.* **18**, 5 (1972).
- 15) Moorehead, W. R. and Biggs, H. G. : 2-amino-2-methyl-1-propanol as the alkalizing agent in an improved continuous-flow Cresolphthalein Complexone procedure for calcium in serum. *Clin. Chem.* **20**, 1458 (1974).
- 16) Kroll, M. H. and Elin, R. J. : Mechanism of Cefoxitin and Cephalothin interference with the Jaffe Method for creatinine. *Clin. Chem.* **29**, 2044 (1983).
- 17) Wang, J., Chen, C. C. and Osaki, S. : Optimization of the phosphorus-UV reagent. *Clin. Chem.* **29**(6), 1255 (1983).
- 18) Tiffany, T. O., Jansen, J. M., Burtis, C. A., Overton, J. B. and Scott, C. D. : Enzymatic kinetic rate and endpoint analyses of substrate by use of a GeMSAEC fast analyzer. *Clin. Chem.* **18**, 829 (1972).
- 19) White, G. H. : Recent advances in routine thyroid function testing. *CRC-Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* **24**, 315 (1987).
- 20) Gornall, A. G., Luxton, A. W. and Bhavnani, B. R. : Endocrine disorders. in *Applied Biochemistry of Clinical Disorders*, Gornall, A. G.(ed.), J. B. Lippincott Co., Philadelphia, p. 305 (1987).
- 21) Gough, R. M. and Ellis, G. : The radioimmunoassay of cortisol in urine. Difficulties experienced in the development of an assay and problems of specificity observed with commercial reagents supplied as kits. *Clin. Biochem.* **14**(2), 74 (1981).
- 22) Rosner, B. : *Fundamentals of Biostatistics*, PWS-Kent Co., Boston (1990).
- 23) Sambrook, P., Birmingham, J., Kelly, P., Kempler, S., Nguyen, T., Pocock, N. and Eisman, J. : Prevention of corticosteroid osteoporosis: A comparison of calcium, calcitriol, and calcitonin. *N. Engl. J. Med.* **328**, 1747 (1993).
- 24) Krane, S. M. and Holick, M. F. : Metabolic Bone Disease: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, Vol 2, McGraw-Hill Inc., N. Y., p. 2172 (1994).
- 25) 김연태, 김정숙 : 노화촉진생쥐에서 녹용의 조혈작용에 관한 연구. *생약학회지* **27**(4), 371 (1996).
- 26) Johansson, A. G., Burman, P., Westermark, K. and Ljunghall, S. : The bone mineral density in acquired growth hormone deficiency correlates with circulating levels of insulin-like growth factor I. *J. Int. Med.* **232**, 447 (1992).
- 27) Whitehead, M. I. and Fraser, D. : Controversies concerning the safety of estrogen replacement therapy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **156**, 1313 (1987).
- 28) Breese, C. R., Ingram, R. L. and Sonntag, W. E. : Influences of age and long-term dietary restriction on plasma insulin-like growth factor-

- 1(IGF-1), IGF-1 gene expression, and IGF-1 binding proteins. *J. Geront.* **46**(5), B180 (1991).
- 29) Nanto-Salonen, K., Muller, H. L., Hoffman, A. R., Vu, T. H. and Rosenfeld, R. G. : Mechanisms of thyroid hormone action on the insulin-like growth factor system: all thyroid hormone effects are not growth hormone mediated. *Endocrinology* **132**, 781 (1993).
- 30) 왕유생 : 中藥藥理여應用, 인민위생출판사, 북경, p. 983 (1983).
- 31) 김진숙, 김연태, 김정숙 : 황기뿌리의성분연구(I). 생약학회지 **27**(4), 336 (1996).