

## 골쇄보 열수추출물의 급여가 갱년기 유도 흰쥐의 대사개선 효능에 미치는 영향

강미영\* · 정수임\* · 이상철\*\*†

\*경북대학교 식품영양학과, \*\*경북대학교 응용생명과학부

### Effects of *Drynariae Rhizoma* Hot Water Extract on Metabolic Improvement in the Ovariectomized Rat Model of Menopause

Mi Young Kang\*, Soo Im Chung\* and Sang Chul Lee\*\*†

\*Department of Food Science and Nutrition, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea.

\*\*School of Applied Biosciences, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea.

#### ABSTRACT

**Background:** Many menopausal women suffer from health problems including metabolic diseases such as dyslipidemia and osteoporosis. Thus they need natural products and functional foods particularly highly nutritional food products, that can help alleviate these diseases. This study was carried out to determine the effect of *Drynariae Rhizoma* water extract on the lipid and bone metabolism of ovariectomized Sprague-Dawley rats.

**Methods and Results:** The animals were randomly divided into six dietary groups comprising SHAM-operated rats, OVX rats (normal diet), and OVX-DR rats (*Drynariae Rhizoma* extract). After 8 weeks, plasma, liver, and fat samples were collected to analyze the lipid metabolism, plasma Ca, alkaline phosphatase (ALP), osteocalcin and C-terminal telopeptide (CTx) concentrations, which are biochemical makers of bone metabolism. The left femurs of rats were also collected for histological analyses.

OVX counteracted menopause induced body weight gain, as well as increases in triglycerides, total cholesterol, and free fatty acids. The *Drynariae Rhizoma* group showed low levels of triglycerides, high HDL-cholesterol, and decreased lipogenesis based on activity of the lipid-regulating enzymes (fatty acid synthase and malic enzyme). Decreased serum levels of ALP and osteocalcin were observed in *Drynariae Rhizoma* group.

**Conclusions:** The results of this study show that *Drynariae Rhizoma* extract may effectively regulate hyperlipidemia and improve bone density.

**Key Words:** *Drynariae Rhizoma*, Bone Metabolism, Lipid Metabolism, Menopause, Ovariectomized Rat

#### 서 언

골쇄보 (骨碎補, *Drynariae Rhizoma*)는 고사리과에 속하는 여러해살이 풀인 넝쿨고사리의 뿌리와 줄기를 말린 것이다. 부서진 뼈를 붙인다는 의미의 이름이며, 예로부터 골절유합, 골다공증, 진통, 진정 및 고지혈증에 효과가 있다고 알려져 있다 (Ahn, 2003). 특히 지상부와 근경의 열수 및 메탄올 추출물들의 항산화 효능이 입증되었고 (Kang *et al.*, 2015; Jeong *et*

*al.*, 2005), 이러한 항산화 효능에 기인하는 각종 대사성 질환 예방효과가 기대되는 약용자원이라 할 수 있겠다. 특히 염증인자인 IL-1 $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 의 조절에 의한 골 재흡수 억제효과 (Hong and Jeong, 2000) 및 부인과질환에 대한 효과 등이 있으며 (Jeong *et al.*, 2003), 한의학에서는 염증, 고중성지방혈증, 동맥경화, 골다공증, 골절, 골재흡수 뿐만 아니라, 항염증 작용이 있는 것으로 알려져 있다 (Jeong *et al.*, 2005).

골쇄보에 대한 최근의 연구로는 추출물을 이용한 생쥐의 파

†Corresponding author: (Phone) +82-53-950-5713 (E-mail) leesc@knu.ac.kr

Received 2016 June 28 / 1st Revised 2016 July 27 / 2nd Revised 2016 September 20 / 3rd Revised 2016 October 3 / 4rd Revised 2016 October 10 / Accepted 2016 October 10

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

골세포에서 cathepsin K 매개에 의한 뼈의 재흡수 억제효과 (Jeong *et al.*, 2003), 파골세포 활성화에 대한 뼈세포의 기능 촉진, 아교질분해와 뼈의 재흡수 억제기능 (Sun *et al.*, 2002) 및 파골세포의 분화에 미치는 영향 (Bijlani *et al.*, 2005) 등에 관한 연구들로서 주로 골대사 관련 연구들이 주를 이루고 있는 실정이다.

한편, 갱년기 이후에는 호르몬 분비 감소에 의한 당질, 지질 대사의 변화로서 만성 대사성 질환에 노출될 가능성이 높을 뿐만 아니라 우울, 위축, 고립 등의 정신적인 문제에 기인하는 갱년기 우울증이 동반된다 (Bijlani *et al.*, 2005). 이렇듯 폐경과 관련된 갱년기 증상을 완화하기 위해서 호르몬 치료, 약물 치료, 운동 및 식이요법을 권장하고 있으며, 최근에는 한약재 및 식품 등 천연 생약물질의 활성 성분을 이용한 대체요법 및 식이요법에 대한 연구들이 진행되는 추세이다.

골쇄보에 관한 갱년기 이후 대사관련 연구로는 난소 적출 흰 쥐에 대한 부갑상선 호르몬 및 에스트로겐 함량 변화, 골쇄보 약침이 골다공증에 미치는 영향 등에 관한 연구들이 있어 골대사에는 긍정적인 효과가 있음이 확인되고 되었다 (Kim and Jeong, 2001; Picard *et al.*, 2000; Oh and Lee, 2008). 이에, 본 연구에서는 골대사의 활성이 저하되는 시점인 갱년기 이후에 골대사 뿐만 아니라 지질 및 당질대사에도 긍정적인 효과를 미치고 있는지의 여부를 확인함으로써 골쇄보를 갱년기 이후의 대사성 질환 예방 및 치료용 소재로의 활용을 위한 기본적인 연구 자료를 확보하고자 한다. 구체적으로는 12주령 흰 쥐 암컷의 난소를 제거하여 갱년기를 유도한 이후, 골쇄보 열수추출물을 보충 급여함에 따른 지질, 지질 및 골대사 관련 바이오 마커를 분석함으로써 갱년기 이후 폐경에 따른 지질대사 개선효능 및 골다공증 예방 효능을 각각 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료 및 추출

본 연구에서 사용된 골쇄보 (*Davallia mariesii* T. Moore ex Baker)의 식물학적 동정은 경북농업기술원 봉화 약초 시험장에서 이루어졌으며 이것의 확증표본 (표본번호: NIBRVP 0000035161)은 경북대학교 식품영양학과에 보관하였다. 시료는 증류수로 세척 한 후, 20배 부피의 증류수를 가한 뒤 약탕기 (OC-8300, OCOO Inc., Boryung, Korea)로 112°C에서 3시간 30분 동안 열수 추출하였으며, 추출물은 가아제를 이용하여 여과한 다음 농축하여 동결건조 분말을 만들었다.

### 2. 동물 및 식이 조성

실험에 사용 된 동물은 평균 체중 245.30 ± 1.86 g인 10주령의 Sprague-Dawley 암컷 rat 30마리를 (주)중앙동물실험 (Central

Laboratory Animal Inc., Seoul, Korea)로부터 구입하였고, 2주간 기본사료로 적응시킨 후 갱년기 유도를 위해 난소제거 수술을 시행하였다. 12시간 절식시킨 실험동물은 zoletile (Virbac, Carros, France, 25 mg/kg)로 복강 마취하여 난소를 제거한 후 봉합하고, SHAM군은 난소제거를 제외한 수술과정을 동일하게 진행하였다. 2주의 회복기간을 거친 후 각각 모의대조군 (SHAM), 난소제거군 (OVX) 그리고 추출물을 첨가한 급여군 (OVX-DR)을 난괴법으로 군당 10마리씩 분류하였다. 식이는 3군 모두 AIN-76 사료를 섭취하였고 실험군으로는 AIN-76 (Dyets Inc., Bethlehem, PA, USA) 사료에 1% 골쇄보 추출물 분말을 첨가하여 급여하였다 (Xu *et al.*, 2004). 본 연구는 경북대학교의 실험동물윤리위원회의 승인을 받은 후 규정에 따라 실행하였다 (KNU 2014-0113).

### 3. 혈액 및 장기조직 분리

갱년기 유도 및 시료공급 8주 후 사육을 종료하고, 실험동물을 12시간 절식시킨 뒤 zoletile을 이용하여 마취하였고, 복부 하대정맥에서 혈액을 채취하였으며, 장기조직 (간, 신장, 지방)을 적출하였다. 이후 혈액은 혈장과 분리하고 간, 신장 그리고 지방조직은 Hulcher와 Oleson (1973)의 방법을 수정하여 효소원을 분리 한 후 -70°C에 보관하면서 분석용 시료로 사용하였다.

### 4. 생화학적 분석

Lipid profile의 분석은 아산제약 kit (Asan Pharmaceutical, Seoul, Korea)를 사용하여 총콜레스테롤 (TC), 중성지방 (TG), 고밀도 지단백 콜레스테롤 (HDL), 유리지방산 (FFA)을 측정하였다. 지질대사 관련 효소인 FAS (fatty acid synthase), ME (malic enzyme), CPT (carnitine palmitoyl-CoA transferase)는 각각 Gibson과 Hubbard (1960), Ochoa (1955), Bieber 등 (1972)에 의한 방법으로 측정하였고, 골대사 관련 지표 측정을 위해 ELISA kit인 Cobas ALP (alkaline phosphatase liquid acc, Indianapolis, IN, USA), Cobas Ca2 (Calcium Gen.2, Roche Diagnostics, Indianapolis, IN, USA), C-terminal telopeptide (Rat Laps™ EIA, Immunodiagnostic Systems, Fountain Hills, AZ, USA), osteocalcin (Rat Osteocalcin IRMA Kit, Immunotopics, San Clemente, CA, USA)을 사용하였다.

### 5. 뼈의 형태학적 결과 분석

희생 후, 대퇴부 부위의 뼈를 적출하여 10% formaldehyde 용액에 하루 동안 고정시킨 다음 48시간 동안 5% 질산 용액으로 탈회시켰다 (Peled *et al.*, 2013). 이후 12시간에 걸쳐 저농도 알코올에서 고농도 알코올, xylene, paraffin 순으로 조직을 처리한 다음 샘플을 3 µm 두께로 잘라 슬라이드에 고정

시켰다. 제조된 슬라이드를 다시 xylene, 고농도 알코올, 저농도 알코올, 증류수 순으로 처리하여 hematoxylin으로 염색 후 다시 역순으로 xylene으로 치환한 다음 이를 광학현미경 Nikon Optiphot-2 light microscope (Nikon Instruments, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다.

### 5. 통계

본 연구의 모든 실험결과는 SPSS package program (statistical package for the social sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하여 각 실험군당 평균과 표준오차로 나타내었고, 각 군 간의 평균차이에 대한 유의성 검정은 One-way analysis of variance (ANOVA)를 이용하였다. 다군 간의 차이는 Tukey's test에 의한  $p < 0.05$  수준에서 검정하였으며, 그 결과는 평균 ± 표준오차로 표시하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 체중변화 및 시료 섭취량

난소를 제거하여 갱년기를 유도시킨 흰쥐에서 골쇄보 (*Davallia mariesii* T. Moore ex Baker) 추출물을 급여했을 때 체중변화 및 식이 효율은 Table 1과 같다. 골쇄보 급여 시작 전의 그룹간의 체중은 유의적으로 차이가 없었으나 종료시점에는 OVX군이 SHAM군보다 상대적으로 체중이 더 많이 증가하였고, 식이섭취량과 식이섭취효율 역시 유의적으로 높은 것을 확인하였다. 폐경이 시작되면 에스트로겐 분비가 감소하고, 이 때 에너지조절 역할을 하는 시상하부에도 공급이 중단되면서 체중이 증가 하게 된다 (Mastorakos *et al.*, 2010). 본 연구 결과에서도 실험기간 동안 체중증가량은 난소제거군이 유의적으로 높았으며, 골쇄보 보충군은 55.86 g으로 난소제거군 (94.72 g)보다 체중이 감소한 것으로 나타나 에스트로겐 분비의 급격한 감소를 지연시킬 수 있을 것으로 보인다.

### 2. 혈장 lipid profile 분석

골쇄보 추출물을 첨가한 식이가 혈장 지질 개선에 미치는 영향을 Table 2에 나타내었다. 에스트로겐 분비가 없어짐에 따라 에너지와 지질대사가 불균형을 이루게 되고 지질단백질과 결합된 중성지질이 가수분해 되면서 체내 지질농도가 증가 하게 된다 (Graffagnino *et al.*, 2006). 혈장 중성지방 농도는 골쇄보 보충군이 OVX군에 비해 약 2배정도 감소하였으며, SHAM군에 비해서도 낮은 수준을 보였다. 또한 본 실험 결과 골쇄보 추출물은 총콜레스테롤 농도 (152.65 ± 2.32 mg/dl)를 OVX군 (162.68 ± 4.68 mg/dl)보다 유의적으로 낮추었으며, HDL-콜레스테롤 역시 난소 제거 대조군에 비해 증가 한 것으로 나타났다.

**Table 1.** Change of body weight gain, feed intake and feed efficiency ratio ovariectomized rats with normal control diet in supplemented with *Drynariae Rhizoma* extract.

	SHAM	OVX	OVX-DR
Initial weight (g)	243.25 ± 2.11 <sup>a</sup>	244.68 ± 3.04 <sup>a</sup>	245.14 ± 1.80 <sup>a</sup>
Final weight (g)	282.58 ± 1.91 <sup>a</sup>	345.21 ± 4.35 <sup>c</sup>	307.68 ± 1.73 <sup>b</sup>
Weight gain (g)	32.75 ± 2.13 <sup>a</sup>	94.72 ± 2.48 <sup>c</sup>	55.86 ± 2.63 <sup>b</sup>
Feed intake (g/day/rat)	11.65 ± 0.47 <sup>a</sup>	13.47 ± 0.14 <sup>b</sup>	11.02 ± 0.25 <sup>a</sup>
FER	3.34 ± 0.02 <sup>a</sup>	6.98 ± 0.05 <sup>c</sup>	4.89 ± 0.09 <sup>b</sup>

<sup>a-c</sup>Values are means ± SE (n = 10). Means in the same row not sharing a common superscript are significantly different at  $p < 0.05$ . SHAM; sham operated rats fed with normal control diet, OVX; ovariectomized rats fed with normal control diet, OVX-DR; OVX + *Drynariae Rhizoma*. FER; food efficiency ratio = body weight gain / feed intake.

**Table 2.** Effect of *Drynariae Rhizoma* extract on the serum lipid profiles in ovariectomized rats.

	SHAM	OVX	OVX-DR
TG (mg/dl)	52.98 ± 1.68 <sup>b</sup>	78.69 ± 3.25 <sup>c</sup>	43.09 ± 1.10 <sup>a</sup>
Total-C (mg/dl)	147.22 ± 5.41 <sup>a</sup>	162.68 ± 4.68 <sup>b</sup>	152.65 ± 2.32 <sup>a</sup>
HDL-C (mg/dl)	78.01 ± 1.02 <sup>c</sup>	60.78 ± 1.95 <sup>a</sup>	69.75 ± 1.22 <sup>b</sup>
FFA (mmol/l)	3.48 ± 0.14 <sup>b</sup>	3.86 ± 0.04 <sup>c</sup>	3.02 ± 0.23 <sup>a</sup>
HTR (%)	53.02 ± 0.65 <sup>c</sup>	38.26 ± 0.85 <sup>a</sup>	45.39 ± 1.03 <sup>b</sup>

<sup>a-c</sup>Values are means ± SE (n = 10). Means in the same row not sharing a common superscript are significantly different at  $p < 0.05$ . SHAM; sham operated rats fed with normal control diet, OVX; ovariectomized rats fed with normal control diet, OVX-DR; OVX + *Drynariae Rhizoma*, TG; Triglyceride, Total-C; Total cholesterol, HDL-C; High-density lipoprotein-cholesterol, FFA; Free fatty acid, HTR; HDL-C/TC ratio (HDL-cholesterol/total cholesterol).

혈장 총 콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율인 HTR은 OVX-DR군이 45.39 ± 1.03%, OVX군이 38.26 ± 0.85%로 보다 증가하는 경향을 보여 골쇄보 추출물의 보충이 간에서 콜레스테롤이 합성 될 때 VLDL과 HDL 생성에 직접적인 역할을 해 혈장 지질 저하뿐만 아니라 동맥경화의 위험도 어느 정도 감소시킬 수 있는 것으로 보인다. 한편, 유리지방산 농도는 OVX-DR군이 OVX군에 비해 약 20% 감소하였다. 이로써 골쇄보 추출물의 급여가 중성지방 및 총 콜레스테롤 수준의 유의적인 감소와 HDL-콜레스테롤 증가시켜 동맥경화, 고지혈증을 예방 할 수 있을 것으로 평가된다.

**Table 3.** Lipid-regulating enzyme activities in ovariectomized rats with normal control diet supplemented with *Drynariae Rhizoma* extract.

	SHAM	OVX	OVX-DR
Hepatic enzyme activity (nmol / min / mg protein)			
FAS	2.68 ± 0.59 <sup>a</sup>	6.96 ± 0.89 <sup>c</sup>	5.02 ± 0.58 <sup>b</sup>
ME	17.98 ± 1.57 <sup>a</sup>	36.25 ± 1.24 <sup>b</sup>	18.02 ± 1.23 <sup>a</sup>
CPT	22.48 ± 0.61 <sup>b</sup>	18.41 ± 2.04 <sup>a</sup>	22.36 ± 1.28 <sup>b</sup>
Adipocyte enzyme activity (μmol / min / mg protein)			
FAS	23.55 ± 2.29 <sup>b</sup>	36.75 ± 0.66 <sup>c</sup>	16.85 ± 1.67 <sup>a</sup>
ME	245.02 ± 13.59 <sup>a</sup>	276.78 ± 12.57 <sup>a</sup>	253.56 ± 11.35 <sup>a</sup>
CPT	11.12 ± 0.47 <sup>b</sup>	8.58 ± 0.29 <sup>a</sup>	11.34 ± 0.35 <sup>b</sup>

<sup>a-c</sup>Values are means ± SE (n = 10). Means in the same row not sharing a common superscript are significantly different at *p* < 0.05. SHAM; sham operated rats fed with normal control diet, OVX; ovariectomized rats fed with normal control diet, OVX-DR; OVX + *Drynariae Rhizoma*. FAS; Fatty acid synthase, ME; Malic enzyme, G6PD; Glucose-6-phosphate dehydrogenase, CPT; Carnitine palmitoyl transferase.

**3. 간, 지방조직 지질대사 효소 활성도에 미치는 영향**

간과 지방 조직의 효소활성도 변화를 Table 3에 나타내었다. 일반적으로 체내 지질농도가 높아짐에 따라 지방산 대사 관련 효소에 의해 영향을 받게 되고 장기 조직에 지방도 축적된다. 그 중 지방산 합성 관련 효소인 FAS (fatty acid synthase), ME (malic enzyme), 그리고 지방산 산화 관련 효소인 CPT (carnitine palmitoyl-CoA transferase)가 있다. 본 연구에서 간 조직의 FAS와 ME 활성도는 OVX-DR군이 OVX군보다 유의적으로 낮았고 특히, ME 활성도는 현저한 저하를 보였다. 간 조직의 지방산 산화 활성도는 SHAM군과 OVX-DR군이 유사한 수치를 나타내었다. 한편, 지방조직의 FAS 활성도는 OVX-DR군에서 유의적으로 감소시키는 경향을 보였으며, ME 활성도는 유의적으로 차이가 없었다. 따라서 골쇄보 추출물의 급여는 지질 및 지방산 합성을 억제하고, 지방산 산화 경로를 활성화 시키는 것으로 사료된다.

**Table 4.** Plasma Ca, alkaline phosphatase (ALP), osteocalcin and C-terminal telopeptide (CTx) concentrations in ovariectomized rats with normal control diet supplemented with *Drynariae Rhizoma* extract.

	SHAM	OVX	OVX-DR
Ca (mg/dl)	9.95 ± 0.22 <sup>a</sup>	9.47 ± 0.25 <sup>a</sup>	9.69 ± 0.13 <sup>a</sup>
ALP (U/l)	38.69 ± 0.66 <sup>a</sup>	85.32 ± 1.05 <sup>c</sup>	45.69 ± 1.07 <sup>b</sup>
CTx (ng/ml)	5.87 ± 0.24 <sup>a</sup>	15.98 ± 1.22 <sup>b</sup>	13.65 ± 1.65 <sup>b</sup>
Osteocalcin (ng/ml)	11.65 ± 1.15 <sup>a</sup>	20.21 ± 0.46 <sup>c</sup>	15.15 ± 1.03 <sup>b</sup>

<sup>a-c</sup>Values are means ± SE (n = 10). Means in the same row not sharing a common superscript are significantly different at *p* < 0.05. SHAM; sham operated rats fed with normal control diet, OVX; ovariectomized rats fed with normal control diet, OVX-DR; OVX + *Drynariae Rhizoma*.

**4. 뼈대사의 생화학적 지표 분석**

골형성 지표로 혈청 calcium (Ca), alkaline phosphatase (ALP), C-terminal telopeptide (CTx), osteocalcin을 분석한 결과를 Table 4에 나타내었다. Ca 농도는 실험군들과 유의적인 차이를 보이지 않았는데 이는 혈중 칼슘 항상성을 유지하기 위함으로 보인다. 또한, 뼈형성 관련 효소인 ALP와 osteocalcin은 조골세포의 활동이 증가 되어, 빨라진 골대사 회전에 의해 높은 혈중농도를 나타내는데, 실험결과 OVX-DR보다 OVX군에서 현저히 증가하여 골쇄보 추출물 보충이 다른 군들 보다 상대적으로 적은양의 뼈교체가 일어나고 있음을 알 수 있다. 뼈교체율은 폐경이 시작된 후 조골세포에 의한 형성 작용보다 파골세포에 의한 흡수작용이 상대적으로 증가하게 되어 뼈손실로 이어질 수 있다 (Bone *et al.*, 2008). 한편, 뼈 흡수 지표인 CTx에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다.



**Fig. 1.** Histological images in staining of femur heads by H&E staining. A; the left femur of rats and serve as control, B; the left femur of ovariectomized rats and serve as control, C; the left femur of ovariectomized rats and serve as 1% *Drynariae Rhizoma* extract, ①; cortical bone ②; trabecular bone, × 10 microscope magnification.

5. 뼈의 형태학적 결과 분석

골쇄보 추출물을 급여한 흰쥐의 대퇴부 헤드 부분의 뼈밀도를 현미경으로 관찰하였다. 골격은 75%의 치밀골과 25%의 해면골로 이루어져 있는데, 해면골의 표면적이 넓으면 골격손실이 빨리 일어난다 (Choi *et al.*, 2001). 본 실험 결과, OVX군은 SHAM군에 비해 해면골의 면적이 넓고, 치밀골과 골조직내 골수세포가 현저히 감소한 것을 확인할 수 있는데, 폐경 이후 체중이 증가함에 따라 뼈의 장력 강도를 주는 해면골의 밀도 감소로 인해 골다공증 및 골절의 위험이 높아진다. 한편, 실험군인 골쇄보 추출물 급여군과 OVX군의 치밀골 두께는 유사한 것으로 나타났는데, 폐경기 이후 소장에서의 칼슘 흡수 부족으로 체내 혈중 칼슘 농도를 증가시키기 위해 부갑상선 호르몬 (parathyroid hormone, PTH) 분비가 촉진되어 결과적으로 뼈의 칼슘을 용해를 증가시켜 골다공증을 유발하는 원인이 될 수 있다 (Rivero and Bethea, 2016). 그러나 본 실험 결과 해면골의 면적은 골쇄보 추출물군이 OVX군보다 약 20% 증가한 것으로 관찰되어 골쇄보 추출물 급여는 골다공증 예방 효능에 긍정적인 영향이 있는 것으로 판단된다 (Fig. 1).

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 차세대바이오그린 21사업(과제번호: PJ011089)의 지원에 의해 이루어진 결과로 이에 감사드립니다.

REFERENCE

Ahn DK. (2003). Illustrated book of Korean medicinal herbs. Kyohaksa. Seoul, Korea. p.954.  
 Bieber LL, Abraham T and Helmrath T. (1972). A rapid spectrophotometric assay for carnitine palmitoyltransferase. Analytical Biochemistry. 50:509-518.  
 Bijlani RL, Vempati RP, Yadav RK, Ray RB, Gupta V, Sharma R, Mehta N and Mahapatra SC. (2005). A brief but comprehensive lifestyle education program based on yoga reduces risk factors for cardiovascular disease and diabetes mellitus. The Journal of Alternative and Complementary Medicine. 11:267-274.  
 Bone HG, Bolognese MA, Yuen CK, Kendler DL, Wang H, Liu Y and San Martin J. (2008). Effects of denosumab on bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 93:2149-2157.  
 Choi JH, Kim YJ and Rhee SJ. (2001). Effects of green tea catechin on bone disorder in long-term cadmium treated rats. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition. 30:1253-1259.  
 Gibson DM and Hubbard DD. (1960). Incorporation of malonyl CoA into fatty acids by liver in starvation and alloxan-diabetes. Biochemical and Biophysical Research Communications. 3:531-535.

Graffagnino CL, Falko JM, Londe ML, Schaumburg J, Hyek MF, Shaffer LET, Snow R and Caulin-Glaser T. (2006). Effect of a community-based weight management program on weight loss and cardiovascular disease risk factors. Obesity. 14:280-288.  
 Hong SN and Jeong JC. (2000). Effects of complex extracts having *Drynariae Rhizoma* on suppression of collagenolysis and bone resorption in mouse calvarial osteoblasts. Dongguk Journal of The Institute of Oriental Medicine. 9:179-191.  
 Hulcher FH and Oleson WH. (1973). Simplified spectrophotometric assay for microsomal 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase by measurement of coenzyme A. Journal of Lipid Research. 14:625-631.  
 Jeong JC, Kang SK, Youn CH, Jeong CW, Kim HM, Lee YC, Chang YC and Kim CH. (2003). Inhibition of *Drynariae Rhizoma* extracts on bone resorption mediated by processing of cathepsin K in cultured mouse osteoclasts. International Immunopharmacology. 3:1685-1697.  
 Jeong JC, Lee BT, Yoon CH, Kim HM and Kim CH. (2005). Effects of *Drynariae Rhizoma* on the proliferation of human bone cells and the immunomodulatory activity. Pharmacological Research. 51:125-136.  
 Kang MY, Lee SH, Lee SW, Cha SW, Song JL and Lee SC. (2015). Effect of *Achyranthis Radix* and *Drynariae Rhizoma* extracts on antioxidant activity and antioxidant enzymes. Korean Journal of Plant Resources. 28:600-607.  
 Kim KJ and Jeong JC. (2001). Effects of *Rhizoma Davalliae* on bone metabolism in ovariectomized rats. Korean Journal of Oriental Internal Medicine. 22:175-181.  
 Mastorakos G, Valsamakis G, Paltoglou G and Creatsas G. (2010). Management of obesity in menopause: Diet, exercise, pharmacotherapy and bariatric surgery. Maturitas. 65:219-224.  
 Ochoa S. (1955). Methods in enzymology: Malic dehydrogenase from pig heart. In Colowick SP and Kaplan NO(ed.). Academic Press. New York, NY, USA. p.735-739.  
 Oh CS and Lee H. (2008). A Study on the effect of herbal-acupuncture with *Drynariae Rhizoma* infusion solution at Umgok(KI<sub>10</sub>) on osteoporotic rats induced by ovariectomy. The Journal of Korean Acupuncture and Moxibustion Society. 25:71-86.  
 Peled E, Davis M, Axelman E, Norman D and Nadir Y. (2013). Heparanase role in the treatment of avascular necrosis of femur head. Thrombosis Research. 131:94-98.  
 Picard F, Deshaies Y, Lalonde J, Samson P, Labrie C, Bélanger A, Labrie F and Richard D. (2000). Effects of the estrogen antagonist EM-652.HCl on energy balance and lipid metabolism in ovariectomized rats. International Journal of Obesity. 24:830-840.  
 Rivero TD and Bethea JR. (2016). The effects of spinal cord injury on bone loss and dysregulation of the calcium/parathyroid hormone loop in mice. Osteoporosis and Sarcopenia. 2:164-169.  
 Sun JS, Lin CY, Dong GC, Sheu SY, Lin FH, Chen LT and Wang YJ. (2002). The effect of Gu-Sui-Bu(*Drynaria fortunei* J. Sm) on bone cell activities. Biomaterials. 23:3377-3385.  
 Xu MS, Shen YG, Wu HL, Shu HG, Wang WJ and Shang Guan XC. (2004). The hypoglycemic effects of *Cyclocarya paliurus*(Batal.) iljinsk water extracts on diabetes mice. Acta Nutrimenta Sinica. 26:230-231.