

신바로3 약침의 표준화를 위한 지표물질 검색

이진호 · 이재웅 · 김민정 · 김은지 · 이인희
자생의료재단

Identification of Novel Standard Compounds for Standardization of Sinbaro3 Pharmacopuncture

Jin-ho Lee, K.M.D., Jae-woong Lee, M.S., Min-Jeong Kim, B.S., Eun-Jee Kim, M.S., In-Hee Lee, M.S.
Jaseng Spine and Joint Research Institute, Jaseng Medical Foundation

RECEIVED March 16, 2015
ACCEPTED March 31, 2015

CORRESPONDING TO
In-Hee Lee, Jaseng Spine and Joint
Research Institute, Jaseng Medical
Foundation, 858, Eonju-ro,
Gangnam-gu, Seoul 135-896, Korea

TEL (02) 3218-2250
FAX (02) 3218-2244
E-mail ini3355@jaseng.co.kr

Copyright © 2015 The Society of
Korean Medicine Rehabilitation

Objectives To investigate and validate potential standard compounds for standardization of Sinbaro3 pharmacopuncture prepared at OO Hospital of Korean Medicine.

Methods Sinbaro3 pharmacopuncture was prepared by extraction, purification and hydrolysis of *Harpagophytum procumbens*, and various potential standard compounds were quantified through HPLC-UV and HPLC-MS analysis. Validation was examined by assessing specificity, linearity, precision, and accuracy.

Results The retention time of harpagide and cinnamic acid were 15.2 min and 28.2 min, respectively, and both showed good linearity in analysis by concentration at 0.9999 and 0.9998, respectively. Intra-day variation of precision was 0.0015~0.0045% and 0.0058~0.1629%, while inter-day variation of precision was 0.0011~0.0243% and 0.0098~0.1629%, and that of accuracy was 99.53~99.89% and 99.50~99.91%, respectively.

Conclusions Harpagide and cinnamic acid, which are hydrolyzates of harpagoside within Sinbaro3 pharmacopuncture, were both validated using HPLC-MS and HPLC-UV analysis, and Sinbaro3 pharmacopuncture contained 78.41 ug/ml harpagide, and 2.05 ug/ml cinnamic acid. (J Korean Med Rehab 2015;25(2):65-72)

Key words Shinbaro3, *Harpagophytum procumbens*, Standardization, Pharmacopuncture, HPLC-MS, Harpagide

서론»»»»

참깨과에 속하는 천수근(*Harpagophytum procumbens*)은 Devil's claw, Grapple plant라고 불리며 Namibia, Botswana 및 남아프리카 북부지방에 널리 분포되어 있다¹⁾. 현지에서는 외상, 월경장애, 출산통, 소화장애, 관절염 등에 사용하였으며²⁾, 1960년대 천수근의 Secondary roots 으로부터 얻어진 추출물이 효능이 있다는 것이 알려짐을 시작으로¹⁾ 최근 임상적 효과로 관절염³⁾, 류머티즘⁴⁾, 혈액순환장애⁵⁾, 등에 효과가 있다고 보고되어 지고 있다. 주된

약리활성 물질은 1962년 처음 분리된 Iridoid 배당체인 Harpagoside, 같은 시기에 분리된 다른 Iridoid 배당체 물질인 Harpagide, 1964년에 분리된 세번재 배당체인 Procumbide가 있다⁶⁾. 이외에도 Stachyose, Raffinose, Monosaccharides 등의 탄수화물, Kaempferol, Luteolin 등의 플라보노이드, Caffeic acid, Chlorogenic acid 등의 Aromatic acid, β -Sitosterol, Stigmasterol 등의 Phytosterols, Ursolic acid, Oleanic acid 등의 Triterpenes, Acetoside, Isoacetoside 등의 2-Phenyl-ethyl derivatives 및 Harpagoquinone 등의 약리활성을 보이는 물질들을 함유하고 있다⁷⁾.

천수근의 항염증효과 및 진통효과를 확인하기 위하여 in vitro 및 in vivo에서 수 많은 실험들이 진행되고 있다^{8,9)}. Feibich 등은 천수근 추출물의 효과를 확인하기 위하여 Primary monocyte에서 분비되는 Pro-inflammatory 사이토카인을 측정하는 방법을 사용하였다. 그 결과, 물과 주정 추출물 모두가 LPS에 의하여 유도되는 PGE2 (prostaglandin E₂)의 합성을 억제하는 효과를 보였다. 또한 추출물이 100 ug/ml 이상의 농도부터는 의존적으로 Pro-inflammatory 사이토카인인 IL-6, IL-1 β 및 TNF- α 를 억제하는 것을 확인하였다. 그러나 Harpagoside와 이의 Aglycone인 Harpagide 단일물질로는 항염증효과가 미세한 것으로 확인되었다¹⁰⁾. 천수근의 추출물과 Harpagoside가 칼슘 이온은 반체 자극을 받아 유도되는 Cysteinyl-leukotriene과 Thromboxane B₂의 생합성에 미치는 효과를 확인하기 위한 연구가 수행되었으며 그 결과 에탄올 추출물이 Harpagoside 단일물질 보다 현저히 효과가 좋은 것으로 확인되었다¹¹⁾. 이상의 여러 실험에서 보듯이 천수근의 약리활성물질들은 단일 성분일때보다 복합적인 작용에 의하여 효능을 발현한다는 결과를 보이는데, 이에 대한 명확한 이유는 아직까지 밝혀지지 않았다¹²⁾.

대한약전 10개정 중 생약규격집에서는 하르파고피툼근으로 등재되어 있으며 그에 대한 정량법으로 Harpagoside를 지표물질로 선정하도록 되어 있다¹³⁾. 천수근의 구성물질 중 Harpagoside는 1.2% 이상으로 타 배당체들에 비하여 높은 함량을 보이기 때문에 지표물질로 선정되어 있으며 많은 논문들이 이에 초점이 맞춰져 있다¹⁴⁾. 하지만 Harpagide의 경우 Harpagoside에 비하여 현저히 낮은 함량이지만 항염증 등의 효능은 높다는 보고가 있다^{15,16)}. 또한 Harpagoside가 분해되면 Harpagide와 Cinnamic acid가 생성되어(Fig. 1) Harpagide뿐 아니라 Cinnamic acid의 효능도 기대 할 수 있게 된다. 이에 본 연구에서는 가수분해를 통하여 Harpagoside를 Harpagide와 Cinnamic acid로 분해하여 약침을 조제하였으며 본 약침은 자생한 방병원에서 “신바로3”의 이름으로 관절염 등에 약침으로 사용되어 지고 있다. 따라서 본 약침을 지속적이고 안정적으로 조제하기 위하여 필요한 표준화에 관련된 연구를 진행하였고 성과를 얻었기에 보고하는 바이다.

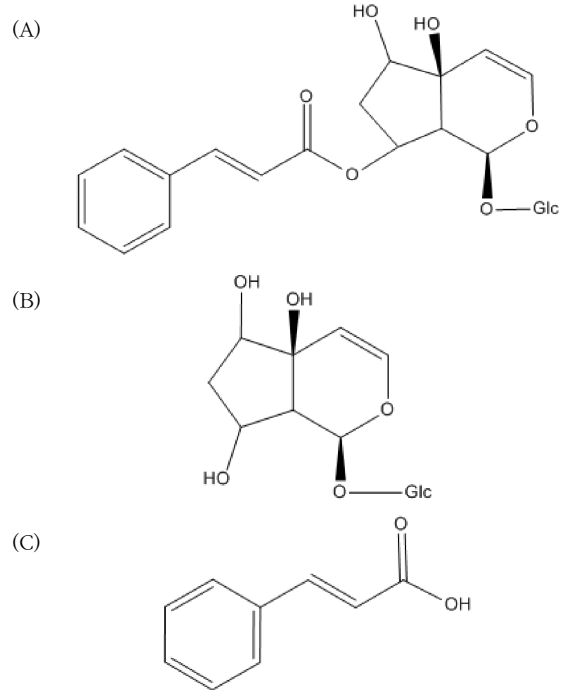


Fig. 1. Molecular Structure of Harpagoside (A), Harpagide (B), Cinnamic acid (C). (A) Molecular Structure of Harpagoside. (B) Molecular Structure of Harpagide. (C) Molecular Structure of Cinnamic acid.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에서 사용한 약제는 그린명품 제약(한국, 남양주) 자체적으로 감별위원회를 거쳐 검증된 천수근을 제공받아 사용하였다.

2. 기기 및 시약

실험에 사용된 HPLC와 UV 검출기, 질량검출기는 Shimadzu사(일본)의 LC-20AD, SIL-20AC, CBM-20A, SPD-20A, CTO-20AC, LCMS-2020을 사용하였으며, HPLC 용매인 Acetonitrile, MeOH 은 HPLC용인 J.T.Baker사의 제품을 사용하였고 그 외의 시료 추출을 위한 용매는 특급시약을 사용하였다. Harpagide와 Cinnamic acid의 순도는 각각 90.00, 99.00% 였으며 EXTRASYNTHÈSE(프랑스), Sigma-Aldrich(미국)에서 구입하여 사용하였다.

3. 검액의 조제

천수근 300 g을 환류냉각기가 부착된 Round flask에 넣고 70% 주정 3 L를 넣어 3시간 동안 가열한 다음 여과 포로 여과한 후 Evaporator로 감압 농축한 후 80%, 90% 주정을 단계별로 처리하여 알코올을 수침하였다. 최종적으로 증류수에 녹여 동결건조하였다. 동결건조된 분말을 주정에 녹인 후 1 N NaOH를 이용하여 24 h 동안 가수분해한 후 1 N HCl로 pH를 7.2로 보정하고 여과 후 남은 여액을 다시 감압농축하고 동결건조 하였다. 실험 사용시까지 -80°C 에서 보관하였고 실험 사용시에는 증류수에 녹여 사용하였다.

4. 지표물질 기기분석 조건

천수근 가수분해물 중 Harpagide와 Cinnamic acid는 Colas C. 등의 방법을 응용하여 분석조건을 검토하였다¹⁷⁾. HPLC 조건은 동일하였으나 Harpagide는 Cinnamic acid와는 달리 일반적인 UV 검출기 방식으로는 정량분석에 한계가 있어 질량 검출기를 이용하였다. Harpagide분석을 위한 질량 검출기와 Cinnamic acid 분석을 위한 UV 검출기의 동시 검출을 위하여 전체적인 유속은 0.4 ml/min으로 조정하였다. 이동상 A는 0.1% TFA (trifluoroacetic acid)의 H₂O이고, 이동상 B는 0.1% TFA의 ACN (acetonitrile)였다. HPLC의 조건은 구배용매조성법(Gradient mode)를 사용하였고, HPLC-MS는 Electrospray ionization (ESI)로 387 m/z SIM(+)¹⁷⁾의 조건이었으며 HPLC의 분석조건은 Table I이고, 질량 검출기의 조건은 Table II와 같다.

Table I. HPLC Condition of Harpagide and Cinnamic Acid

Analytes	Condition
LC pump	Binary pump
Column	ODS C18 (15 cm×4.6 I.D., 5 μm)
Injection volume (ul)	5
Flow rate (ml/min)	0.4
Gradient mode	3% B (0.01 min) - 10% B (0.01~10 min) - 33% B (10~20 min) - 80% B (20~25 min)
UV wavelength (nm)	280

Cf) UV Wavelength is only Cinnamic acid.

5. 분석법의 검증

1) 특이성

분석하고자 하는 물질외에 기타 물질들의 존재하에서 분석하고자 하는 물질을 확실하게 분석하는 능력으로 다른 물질과의 간섭없이 성분이 분리되는 것으로 특이성을 확인하였다.

2) 직선성

각각의 표준품에 대하여 확립된 HPLC 조건에서 5개의 농도별로 피크 면적을 구하여 표준품 농도와 피크 면적비에 대한 검량선을 작성하고 직선성의 상관계수를 구하여 확인하였다.

3) 정밀성

일정농도의 표준액을 일간, 일내 변동을 확인하기 위하여 5가지 농도를 하루에 5개씩 3일간 반복하여 측정된 결과를 피크면적비의 변이계수(%)로 표현하였다.

4) 정확성

표준액 3개 농도를 각 3회씩 분석하여 얻은 결과를 검량선에 대입하고 얻은 값과 참 값의 오차를 비교하여 정확성을 검증하였다.

$$\text{회수율(Recovery, \%)} = \frac{\text{측정농도}}{\text{이론농도}} \times 100$$

6. 신바로3 약침의 정량분석

Harpagide와 Cinnamic acid 각각의 분석법을 검증 한 후 신바로3 약침 중 지표물질의 함량을 정량분석 하였다. 약침은 조제시 이미 정제과정을 거쳐 증류수에 녹아져 있는 상태이므로 다른 전처리 없이 바로 기기에 주입하였다.

Table II. Mass Detector Condition of Harpagide

Analytes	Condition
Interface	ESI
Nebulizer gas flow	1.5
DL temp (°C)	250
Heat block temp (°C)	200
Dry gas flow (L/min)	15

결과»»»»

1. Harpagide 분석법의 검증

1) 특이성

Table I, Table II의 HPLC-MS 조건으로 분석한 지표물질에 대한 표준품 및 신바로3 약침의 크로마토그램은 Fig. 2와 같다. Harpagide의 peak는 Mass 검출기의 387 m/z SIM(+) 모드로 분석하였고, 피크유지시간은 15.2분 대이고 기타 다른 성분들과 명확히 분리되어 간섭이 없음을 확인하였다.

2) 직선성

지표물질을 5가지 농도별(1000, 500, 250, 125, 62.5 ug/ml)로 조제하고 HPLC-MS 분석을 실시하였다. 농도(x)와 피크면적(y)로 표준곡선을 작성하였고 직선성(r_2)는 0.9999이다(Fig. 3).

3) 정밀도

일내정밀도는 지표물질의 5가지 농도별(1000, 500, 250,

125, 62.5 ug/ml) 표준액을 5회 측정하여 편차를 계산하였다. 일내정밀도는 0.0015~0.0045%로 매우 정밀하였다(Table III). 일간정밀도는 일내정밀도에서 측정한 동일한 농도의 표준액을 1일 1회 3일간 반복하여 측정하였고 그 값은 0.0011~0.0243%로 양호하였다(Table IV).

4) 정확성

1000, 250, 62.5 ug/ml의 농도 표준품을 각각 3회씩 측정하여 Fig. 3에 대입하여 원래의 농도로 환산하였다.

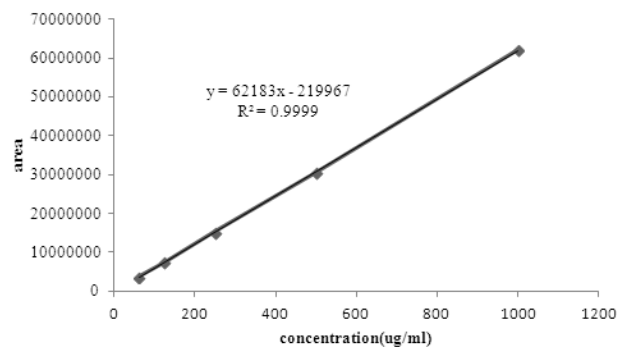


Fig. 3. Calibration Curve of Harpagide.

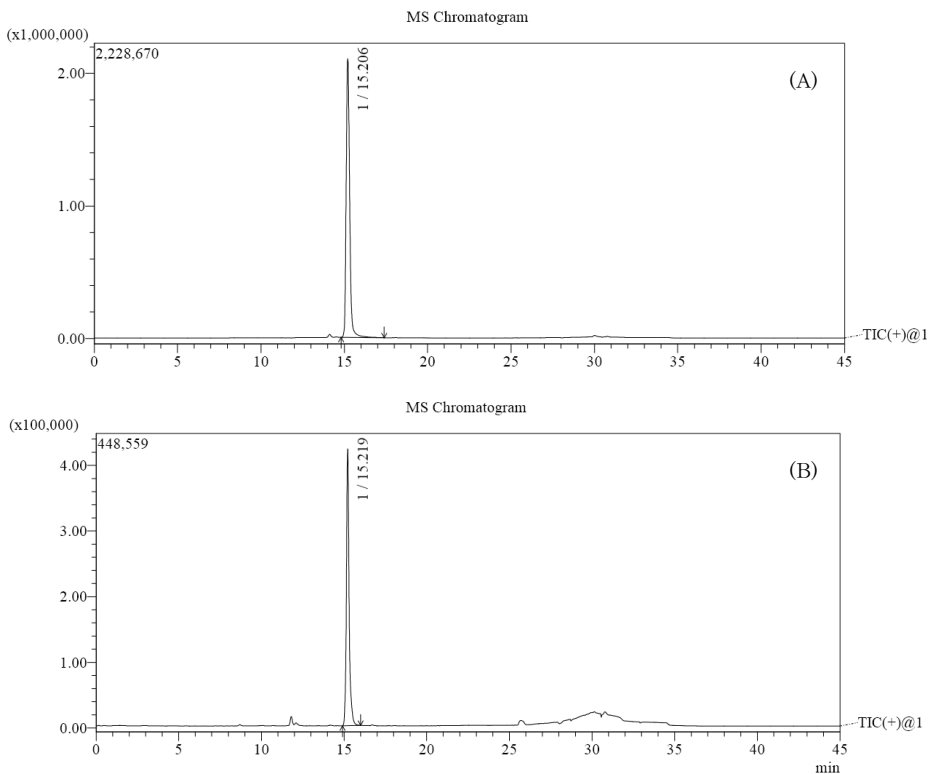


Fig. 2. Chromatogram of Harpagide Standard (A) and Sinbaro3 Phamacopuncture (B).

Table III. Peak Area of Harpagide Analyzed in 5 Different Concentrations for Intra-day Precision

Measurement	Concentration (ug/ml)				
	1000	500	250	125	62.5
1	62121451	30521124	15318873	7613961	3802957
2	62120547	30522032	15318541	7613854	3802853
3	62119357	30521539	15317769	7613805	3802809
4	62122879	30522348	15318062	7613899	3802647
5	62125764	30521745	15318645	7613856	3802524
Average	62122000	30521758	15318378	7613848	3802758
S,D	2466.70	467.24	451.00	58.48	171.98
Intra-day precision (%)	0.0040	0.0015	0.0029	0.0042	0.0045

Table IV. Peak Area of Harpagide Analyzed in 5 Different Concentrations for Inter-day Precision

Measurement	Concentration (ug/ml)				
	1000	500	250	125	62.5
1 st day	62121451	30521124	15318873	7613961	3802957
2 nd day	62111453	30515424	15311459	7613554	3802254
3 rd day	62124582	30519563	15314567	7613284	3802649
Average	62119162	30518704	15314966	7613600	3802620
S,D	6857.28	2945.56	3723.10	340.80	352.40
Inter-day precision (%)	0.0011	0.0097	0.0243	0.0045	0.0093

이때 계산된 값의 평균은 각각 99.89, 99.87, 99.53%로 정확성은 양호하였다(Table V).

2. Cinnamic acid 분석법의 검증

1) 특이성

Table I의 HPLC-UV 조건으로 분석한 지표물질에 대한 표준품 및 신바로3 약침의 크로마토그램은 Fig. 3과 같다. Cinnamic acid의 peak는 UV 검출기 280 nm 파장으로 분석하였고, 피크유지시간은 28.2분대이고 기타 다른 성분들과 명확히 분리되어 간섭이 없음을 확인하였다(Fig. 4).

2) 직선성

지표물질을 5가지 농도별(2000, 1000, 500, 250, 125 ug/ml)로 조제하고 HPLC-UV 분석을 실시하였다. 농도(x)와 피크면적(y)로 표준곡선을 작성하였고 직선성(r_2)는 0.9998이다(Fig. 5).

3) 정밀도

일내정밀도는 지표물질의 5가지 농도별(2000, 1000, 500,

Table V. Peak Area of Harpagide Analyzed in 5 Different Concentrations for Inter-day Precision

Measurement	Concentration (ug/ml)		
	1000	250	62.5
1	999.58	249.51	61.98
2	997.96	250.02	62.24
3	999.17	249.47	62.39
Average	998.90	249.67	62.20
Accuracy (%)	99.89	99.87	99.53

250, 125 ug/ml) 표준액을 5회 측정하여 면적을 계산하였다. 일내정밀도는 0.0058~0.1629%로 매우 정밀하였다(Table VI). 일간정밀도는 일내정밀도에서 측정된 동일한 농도의 표준액을 1일 1회 3일간 반복하여 측정하였고 그 값은 0.0098~0.1629%로 양호하였다(Table VII).

4) 정확성

2000, 500, 125 ug/ml의 농도 표준품을 각각 3회씩 측정하여 Fig. 5에 대입하여 원래의 농도로 환산하였다. 이때 계산된 값의 평균은 각각 99.96, 99.91, 99.50%로 정확성은 양호하였다(Table VIII).

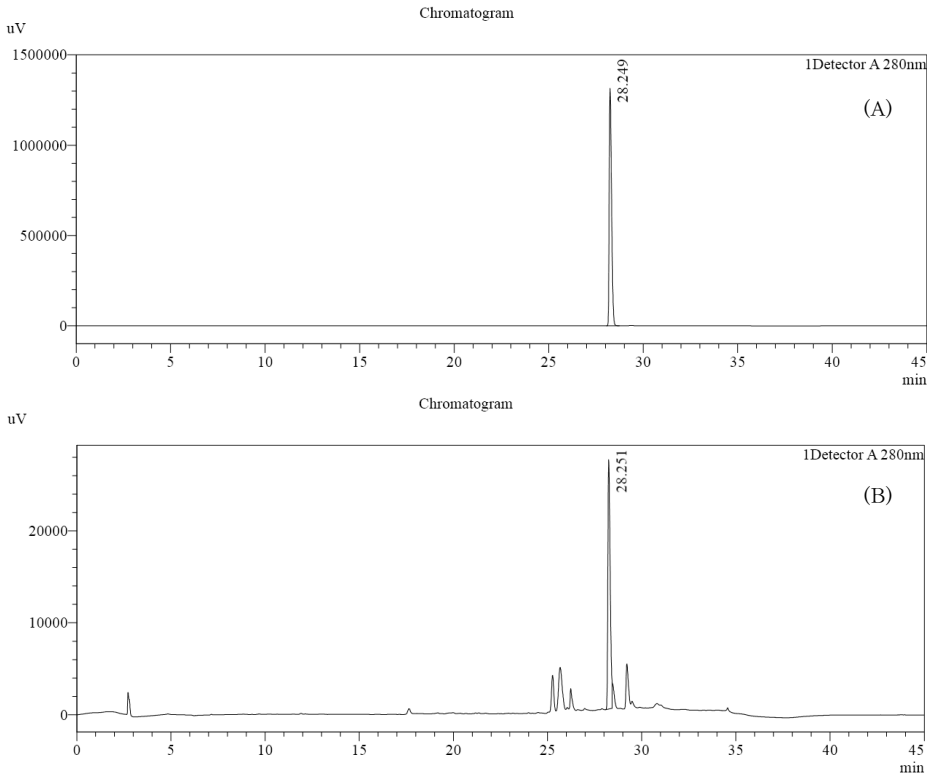


Fig. 4. Chromatogram of Cinnamic acid (A) and Sinbaro3 Phamacopuncture (B).

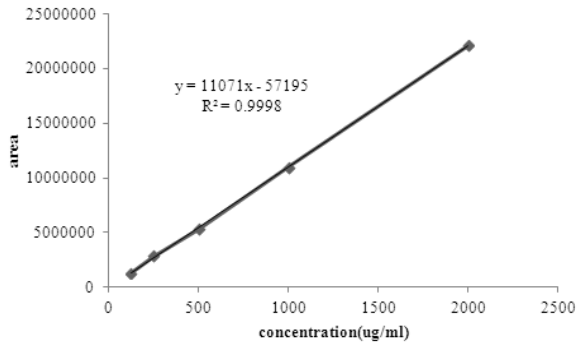


Fig. 5. Calibration curve of Cinnamic acid.

3. 신바로3 약침의 정량분석

Harpagide와 Cinnamic acid 각각의 검증된 분석법으로 신바로 3 약침을 분석하였다. 그 결과 신바로3 약침에는 78.41 ug/ml의 Harpagide와 2.05 ug/ml의 cinnamic acid가 함유되어 있음을 확인하였다.

고찰»»»»

본 연구는 생약제제의 품질표준화를 위한 연구로 관절염, 디스크 등의 치료제로 사용 중이며 천수근을 주원료로 개발된 신바로3 약침에 대한 지표물질의 선정, HPLC 정량 분석법의 개발 및 그 분석에 대한 검증 연구를 진행하였다. 더욱이 신바로3 약침에서는 효과적으로 약침의 유효성을 높이고 흡수율을 증가시키기 위하여 천수근을 알칼리 가수분해하였고 그로 인하여 기존 천수근의 지표물질인 Harpagoside가 거의 존재하지 않았다. 대신 Harpagoside가 가수분해되면서 생산된 산물인 Harpagide와 Cinnamic acid를 지표물질로 선정하여 표준화 작업을 진행하였다. Harpagide의 경우 일반적인 HPLC의 UV 검출기로는 검출에 한계가 있어 고가의 장비인 질량 검출기까지 사용을 하였고 Cinnamic acid는 이미 많은 연구에서 검증된 지표물질이기에 분석이 용이하였다. 또한 품질 관리에 있어 함량분석법은 최대한 간편할수록 유리하기에 검출기는 다르지만 한번의 분석으로 두가지 지표물질을 모두 검출할 수 있게 동시분석법을 개발하였다.

천수근은 진통, 항염증 작용이 있고 통증에 대한 민감

Table VI. Peak Area of Cinnamic Acid Analyzed in 5 Different Concentrations for Intra-day Precision

Measurement	Concentration (ug/ml)				
	2000	1000	500	250	125
1	22110251	11002315	5326481	2852421	1321447
2	22108524	11023567	5317694	2851147	1324547
3	22109563	11013369	5334126	2851654	1326577
4	22109957	11015478	5321845	2851445	1326475
5	22112054	11009533	5326478	2853154	1323457
Average	22110070	11012852	5325325	2851964	1324501
S,D	1287.34	7810.55	6133.23	815.15	2157.86
Intra-day precision (%)	0,0058	0,0709	0,1152	0,0286	0,1629

Table VII. Peak Area of Cinnamic Acid Analyzed in 5 Different Concentrations for Inter-day Precision

Measurement	Concentration (ug/ml)				
	2000	1000	500	250	125
1 st day	22110251	11002315	5326481	2852421	1321447
2 nd day	22114579	11013465	5326457	2846582	1328745
3 rd day	22112345	11014786	5325469	2850123	1325483
Average	22112392	11010189	5326136	2849709	1325225
S,D	2164.38	6850.71	577.48	2941.49	3655.83
Inter-day precision (%)	0,0098	0,0622	0,0108	0,1032	0,2759

Table VIII. Peak Area of Cinnamic Acid Analyzed in 5 Different Concentrations for Inter-day Precision

Measurement	Concentration (ug/ml)		
	2000	500	125
1	1998.65	499.61	124.18
2	1999.54	499.51	123.94
3	1999.14	499.50	125.02
Average	1999.11	499.54	124.38
Accuracy (%)	99.96	99.91	99.50

도를 저하시키는 효능이 입증되어 염증성 질환이나 근골격계의 퇴행성 질환에 사용되고 있다. 천수근의 진통, 항염증 작용은 iridoid 배당체인 Harpagoside, 그에 대한 aglycone인 Harpagide, 또 다른 배당체인 Procumbide 등의 성분에서 비롯되는 것으로 추측되며, 천수근 수용성 추출물은 염증부위에 분포한 histamine, polypeptide kinins, prostaglandins를 비롯한 염증매개체의 방출, 합성 및 생산을 억제하여 진통, 항염증 작용을 나타내는 것으로 보인다¹⁸⁾. 이러한 연구결과를 입증하는 것으로 천수근을 약침으로 사용하였을 때 임상적으로 효과를 입증한 많은 보고가 있다¹⁹⁻²¹⁾.

천수근 및 천수근 약침에 대한 골관절염 치료에 대한 치료적 가치에도 불구하고 이러한 방법론적인 제한사항이 장기간 사용 시 안전성에 대한 모니터링(monitoring)과 최적용량의 확인, 조제약품의 품질 균등성을 확보를 위한 표준화 연구 등 더 많은 연구보고를 필요로 하게 된다. 그에 대한 일환으로 천수근을 주원료로 한 신바로3 약침의 표준화를 위한 연구를 진행하였고 성과를 얻을 수 있었다. 아울러 본 연구가 신바로3 약침의 표준화를 넘어서 한방 약침의 개발전략을 수립하는데 기여할 수 있기를 기대한다.

결론»»»»

신바로3 약침은 천수근을 가수분해하여 조제한 약침이기에 Harpagoside 대신 Harpagoside가 분해되어 생성되어진 Harpagide와 Cinnamic acid를 지표물질로 선정하였다. 선정된 지표물질인 Harpagide와 Cinnamic acid는 특이성, 직선성, 정밀성, 정확성에서 양호한 결과를 나타냈으며 지표물질로 손색이 없었다.

신바로3 약침에는 Harpagide가 78.41 ug/ml, Cinnamic

acid가 2.05 ug/ml 함유되어 있었다.

References>>>>

1. Stewart K. M., Cole D. The commercial harvest of devil's claw (*Harpagophytum* spp.) in southern Africa : The devil's in the details. *J. Ethnopharm.* 2005;100:225-36.
2. Bradley P. *British Herbal Compendium* vol. I. Bournemouth : British Herbal Medicine Association, 1992.
3. Vlachoianis JI, Roufogalis BD, Chrubasik S. Systematic review on the safety of *Harpagophytum* preparations for osteoarthritic and low back pain. *Phytother Res.* 2008; 22(2):149-52.
4. Lanhers MC. Anti-inflammatory and analgesic effect of an aqueous extract of *Harpagophytum procumbens*. *Planta Med.* 1992;58(2):117-23
5. Costa De Pasquale R, Busa G, Circosta C, Iauk L, Rarusa S, Ficarra P, Occhiuto F. A drug used in traditional medicine: *Harpagophytum procumbens* DC Effects on hyperkinetic ventricular arrhythmias by reperfusion. *J Ethnopharmacol.* 1985;13(2):193-9
6. Wegener T. Degenerative diseases of the musculoskeletal system - overview of current clinical studies of Devil's Claw (*Harpagophyti radix*). *Wien. Med. Wochenschr* 2002; 152:389-92
7. Brien S., Lewith G. T., Mcgregor G. Devil's Claw (*Harpagophytum procumbens*) as a Treatment for Osteoarthritis: A Review of Efficacy and Safety. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine.* 2006;12(10): 989-93
8. Eich J., Schmidt M., Betti G. HPLC Analysis of Iridoid Compounds of *Harpagophytum* taxa: quality control of pharmaceutical drug material. *Pharm Pharmacol Lett.* 1998; 8:75-8.
9. Bermejo Benito P1, Díaz Lanza AM, Silván Sen AM, De Santos Galindez J, Fernandez Matellano L, Sanz Gómez A, Abad Martínez MJ. Effects of some Iridoids from Plant Origin on Arachidonic Acid Metabolism in Cellular Systems. *Planta Med.* 2000;6:324-8.
10. Eichler O., Koch C. Antiphlogistic, analgesic and spasmolytic effect of harpagoside, a glycoside from the root of *Harpagophytum procumbens* DC. *Arzneimittelforschung.* 1970;20:107-9.
11. Whitehouse L. W., Znamirowska M., Paul C. J. Devil's Claw (*Harpagophytum procumbens*): no evidence for anti-inflammatory activity in the treatment of arthritic disease. *Can. Med. Assoc. J.* 1983;129:249-51.
12. McLeod D. W., Revell P., Robinson B. V. Investigations of *Harpagophytum procumbens* (Devil's Claw) in the treatment of experimental inflammation and arthritis in the rat [proceedings]. *Br. J. Pharmacol.* 1979;66:140-1.
13. 식약처. 대한약전외한약(생약)규격집. 의약품각조, 하르파고피툼근. 2012:381
14. Kathe W., Barsch F., Honnef S. Trade in Devil's Claw (*Harpagophytum procumbens*) in Germany - Status, Trends and Certification. Devil's Claw Report of FAO,WWF Germany / TRAFFIC Europe(04/25/03)
15. Zhang L, Zhu T, Qian F, Xu J, Dorje G, Zhao Z, Guo F, Li Y. Iridoid glycosides isolated from *Scrophularia dentata* Royle ex Benth. and their anti-inflammatory activity. *Fitoterapia.* 2014;98:84-90.
16. Wen BY, Li JR. Pharmacokinetics of 8-O-acetylharpagide and harpagide after oral administration of *Ajuga decumbens* extract in beagle dog. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* 2013;38(12):2015-8.
17. Colas C, Garcia P, Porot MA, Bonnaire Y, Bouchonnet S. Liquid chromatography / electrospray ionization mass spectrometric characterization of *Harpagophytum* in equine urine and plasma. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2006; 20(22):3257-66
18. Mahomed IM, Ojewole JA. Analgesic, anti-inflammatory and anti-diabetic properties of *Harpagophytum procumbens* DC (Pedaliaceae) secondary root aqueous extract. *Phytother Res.* 2004;18(12):982-9
19. 정재현, 윤영웅, 정승현, 김신웅, 최희승, 신동재, 왕선준. 한방치료 및 천수근약침을 병행하여 치료한 제 1형 복합부위통증 증후군 환자 치험 1례. *척추신경추추나의학회지.* 2013;8(1):63-73.
20. 이승열, 김희정, 배상은, 김홍수, 이진호, 하인혁, 김철수. 천수근약침을 이용한 퇴행성 슬관절질환 치험 1례. *척추신경추추나의학회지.* 2013;8(2):123-30.
21. 김영태, 김기현, 황현서, 김연섭. 天授根 藥鍼이 Adjuvant 誘發 關節炎에 미치는 影響. *대한침구의학회지.* 2001; 18(2):27-36.