

## 한약재의 에스트로겐 유사 활성에 대한 기초 연구

부산대학교 한의학전문대학원  
손보길, 이희윤, 배주은, 윤영진

### ABSTRACT

#### Basic Study on Estrogen-like Activity of Herbal Medicine

Bo-Gil Son, Hee-Yoon Lee, Ju-Eun Bae, Young-Jin Yoon  
Pusan National University School of Korean Medicine

**Objectives:** The aim of this review is to investigate studies on Estrogen-like activity and to contribute to the utilization of herbal medicines including phytoestrogens.

**Methods:** Electric searches were performed with Pubmed from 2013 to June 2018, for the words, 'herb and estrogen', 'traditional Chinese medicine and estrogen', 'Oriental medicine and estrogen', and 'Korean medicine and estrogen'.

49 papers are investigated and classified into 'in vitro', 'in vivo' and 'in vivo and in vitro' experimental studies.

#### Results:

1. *In vitro* experimental studies have shown that estrogen-like effects of the components extracted from *Rhei Radix et Rhizoma*, *Rubi Fructus*, *Sparganii Rhizoma*, *Epimedii Herba*, *Spatholobi Caulis*, *Evodiae fructus*, *Curcumae longae Radix*, *Ginseng Radix*, *Bupleuri Radix*, *Astragali Radix*, *Salviae Miltiorrhizae Radix*, *Puerariae Radix*, *Scutellariae Radix* are present.

2. *In vivo* experimental studies have shown that estrogen-like effects of the components extracted from *Phytolaccae Radix*, *Ligustri Lucidi Fructus*, *Alismatis Rhizoma*, *Notoginseng Radix*, *Puerariae Radix*, *Ginseng Radix*, *Cyperi Rhizoma*, *Cistanchis Herba*, *Cynomorii Herba*, *Granati fructus*, *Astragali Radix*, *Rehmanniae Radix Crudus*, *Epimedii Herba*, *Polygalae Radix*, *Artemisiae Annuae Herba* are present.

3. *In vitro* and *in vivo* experimental studies have shown that estrogen-like effects of the components extracted from *Cirsii Herba*, *Dioscoreae Rhizoma*, *Salviae Miltiorrhizae Radix*, *Cynomorii Herba*, *Cinnamomi cortex*, *Drynariae Rhizoma*, *Psoraleae Semen*, *Schisandrae Fructus*, *Epimedii Herba*, *Astragali Radix* are present.

**Conclusions:** Future studies will require additional research on numerous herbal medicines used in clinical practice.

**Key Words:** Herbal Medicine, Phytoestrogen, Estrogen

## I. 서 론

에스트로겐은 표적 세포내에 있는 에스트로겐 수용체와 결합하여 세포의 기능을 조절하며 자궁의 발달, 자궁 내막 및 질점막의 발달, 지방 합성의 증가, 간기능과 골 대사 등에 영향을 미친다<sup>1)</sup>. 갱년기 여성은 에스트로겐 감소로 인하여 혈관운동증상, 인지기능 장애, 우울, 골다공증 등 다양한 증상이 나타나는데<sup>2)</sup>, 이는 인위적으로 에스트로겐을 투여하여 완화될 수 있다<sup>3)</sup>.

그러나 이러한 호르몬 요법의 장기 사용은 심혈관질환, 자궁내막암 및 유방암 등 심각한 부작용을 유발할 수 있다는 사실이 밝혀졌다<sup>2)</sup>. 이에 에스트로겐 치료를 대신할 대안으로 식물성 에스트로겐이 주목받고 있으며<sup>4)</sup>, 그 효과를 확인하고 이를 갱년기 장애의 예방 및 치료에 이용하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다<sup>3)</sup>.

한약 중 일부는 에스트로겐과 구조적 혹은 기능적으로 유사한 식물성 에스트로겐을 포함하고 있는데, 이는 표적장소에 따라 에스트로겐 유사 효과 또는 항에스트로겐 효과를 나타냄으로써 조절자로서 역할을 한다<sup>3,5)</sup>. 식물성 에스트로겐은 갱년기 증상을 완화시킬 뿐만 아니라 유방암, 전립선암, 골다공증, 허혈성 심질환 등 여러 질환에 도움이 될 수 있다<sup>6)</sup>는 것이 밝혀지고 있다.

식물성 에스트로겐이 주목받고 있는 이러한 상황에서, 본 연구는 단일 한약재 혹은 추출 성분의 에스트로겐 유사 활성에 관한 최신 연구 동향을 조사하여 연구 주제별로 정리 및 고찰함으로써 식물성 에스트로겐을 포함한 한약재 연구 및

활용에 기초가 되고자 하는 바이다.

## II. 대상 및 방법

### 1. 문헌 검색

국외의 연구를 대상으로 검색엔진은 Pubmed를 이용하였으며, 기간은 2013년에서 2018년 6월까지 발표된 논문으로 제한하였다. 검색어는 'herb and estrogen', 'traditional Chinese medicine and estrogen', 'Oriental medicine and estrogen', 'Korean medicine and estrogen'으로 조사하였으며 원문이 지원되는 논문으로 한정하여 수집하였다.

### 2. 문헌 선별

#### 1) 제외기준

- (1) estrogen 유사 활성과 관련이 없는 연구
- (2) 전국 한의과대학 본초교과서<sup>7)</sup>에 기재된 한약재가 아닌 약재를 대상으로 한 연구
- (3) 양약과 한약을 동시에 투여하여 상호작용과 효과를 알아본 연구
- (4) 실험연구가 아닌 연구
- (5) 원문을 열람할 수 없는 연구

#### 2) 선별 과정

Pubmed에서 2013년에서 2018년 6월까지 간행된 논문을 대상으로 검색한 국외의 연구자료 653개 중 제목과 초록을 검토하여 estrogen 유사 활성에 관한 논문과 전국 한의과대학 본초교과서에 기재된 한약재의 추출물 혹은 그 성분의 효과에 대한 연구 총 117개의 논문을 선정하였다. 양약과 한약을 동시에 투여하여 상호작용과 효과를 알아본 연구 12건, 실

험연구가 아닌 연구 20건, 원문을 열람할 수 없는 연구 30건을 제외한 총 55개의 논문에서 중복으로 검색된 논문 6건

을 제외하여 최종적으로 49개의 논문을 연구 대상으로 선정하였다.

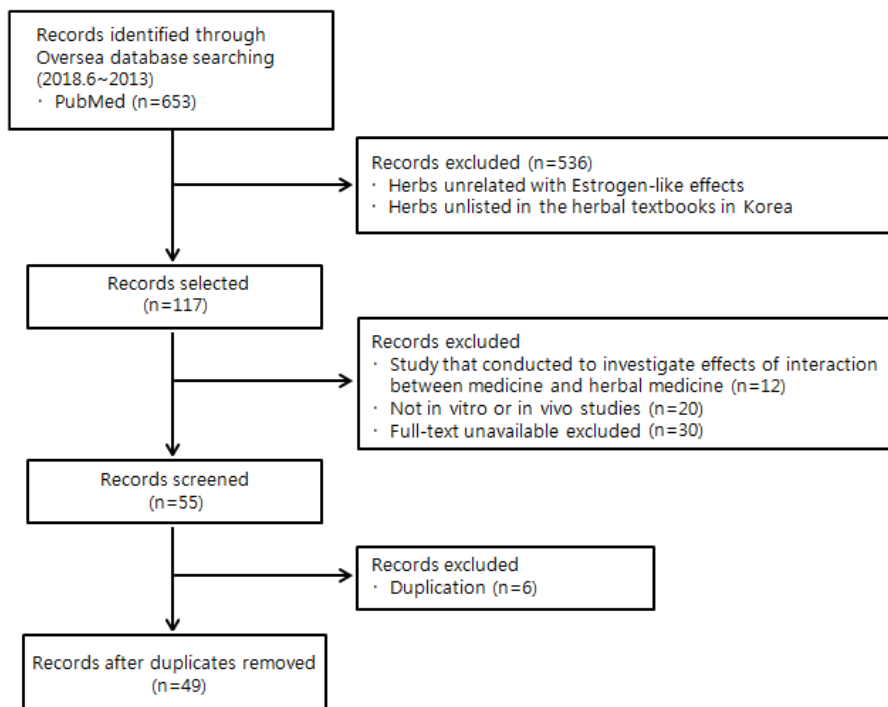


Fig. 1. Flow chart of the paper selection process.

### 3. 분석방법

선별된 49개의 논문을 세포실험 연구, 동물실험 연구, 세포실험과 동물실험을 동시에 진행한 연구로 분류하였고, 각 연구는 연구주제, 실험약재, 실험모델, 에스트로겐 유사 활성화, 서지사항의 항목을 정리하고 연구주제별로 정리하되 발표년도 순으로 정렬하였다. 또한 연구를 통해 확인된 단일한약재의 에스트로겐 유사 활성화에 대한 질환별 주요효과를 분석하고 종합하였다.

## Ⅲ. 결 과

선별된 49개의 논문을 대상으로 세포실험, 동물실험, 세포실험과 동물실험이 함께 이루어진 연구로 나누어 주제별로 분석하였다.

### 1. 세포실험 연구

19편의 세포실험 논문을 주제별로 분류한 결과 유방암을 주제로 7편, 심근세포의 저산소증-재산소화를 주제로 1편, 간 정상세포 활성을 주제로 1편, 산화적 스트레스가 심근세포에 유도하는 세포자

살을 주제로 1편, 골격근을 주제로 1편, 골다공증을 주제로 4편, 동맥경화를 주제로 1편, 염증 반응을 주제로 2편, 자궁내막증을 주제로 1편이 보고되었다(Table 1).

**2. 동물실험 연구**

17편의 동물실험 실험논문을 주제별로 분류한 결과 유선증식을 주제로 1편, 에스트로겐 수용체를 주제로 1편, 골다공증을 주제로 3편, 자궁내막증을 주제로 1편, 자궁근섬유종을 주제로 1편, 남성불임을 주제로 1편, 우울증을 주제로 1편, 갱년기 증후군을 주제로 2편, 대뇌허혈/재관류를 주제로 1편, 난소부전에 대한 저항

효과를 주제로 1편, 신경보호효과를 주제로 1편, 유방암과 자궁증식을 주제로 1편, 학습과 기억 손상을 주제로 1편, 임신기간 동안 청호(靑蒿)의 안정성 평가를 주제로 1편이 보고되었다(Table 2).

**3. 세포실험 & 동물실험 연구**

13편의 세포실험과 동물실험이 동시에 진행된 실험논문을 주제별로 분류한 결과 갱년기 증후군을 주제로 2편, 에스트로겐 효과를 주제로 1편, 양성 전립선 비대증을 주제로 3편, 골다공증을 주제로 5편, 대장암을 주제로 1편, 유방암을 주제로 1편이 보고되었다(Table 3).

Table 1. In Vitro Studies

Study ID	Subject	Herb	Cell line	Results
Lee DH, et al. (2018) <sup>8)</sup>	Breast cancer	<i>Rhei Radix et Rhizoma</i> (大黃) Ethanol extract and three isolated compounds (aloe emodin, rhapontigenin, chrysophanol 1-O-β-D-glucopyranoside)	MCF-7, MDA-MB-231	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Increased the proliferation of ER<sup>+</sup>-positive MCF-7 cells in a concentration-dependent manner</li> </ul>
Park EJ, et al. (2017) <sup>9)</sup>	Breast cancer	<i>Rubi Fructus</i> (覆盆子) - Sanguin H-6	MCF-7, MDA-MB-231	<ul style="list-style-type: none"> <li>• In MCF-7 cells, sanguin H-6 increased Bax<sup>+</sup> expression but no affect Bcl-2 expression</li> <li>• In MDA-MB-231 cells, decreased Bcl-2<sup>+</sup> expression but not change Bax expression</li> <li>• Increase the ratio of Bax to Bcl-2 independent of ER</li> </ul>
Wu YZ, et al. (2017) <sup>10)</sup>	Breast cancer	<i>Sparganii Rhizoma</i> (三稜) - SpaTA (polysaccharide)	ZR-75-1, MDA-MB-231 cells	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Increased the expression of ERα<sup>s</sup> in a time-dependent manner</li> <li>• Modulated the estrogen signaling pathway</li> <li>• Activated caspases signaling through an ERα-dependent manner</li> </ul>
Telang NT, et al. (2016) <sup>11)</sup>	Breast cancer	<i>Epimedii Herba</i> (淫羊藿) Aqueous extract	MCF-7	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Induced pronounced G<sub>1</sub> cell cycle arrest with a simultaneous decrease in the percentage of cells in the S and G<sub>2</sub>/M phases (20 nM E<sub>2</sub><sup>  </sup>+1.0% EG)</li> <li>• Decreased viable cell number (E<sub>2</sub> 20 nM+EG1.0%/2.0%)</li> <li>• E<sub>2</sub>+EG group increased formation rate of E<sub>1</sub><sup>†</sup>, E<sub>2</sub>-OHE<sub>1</sub>, E<sub>3</sub><sup>**</sup></li> </ul>
Sun JQ, et al. (2016) <sup>12)</sup>	Breast cancer	<i>Spatholobi Caulis</i> (鷄血藤) Ethanol extract	MCF-7	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inhibited expression of the receptors in dose dependent</li> <li>• Not affected the expression of phosphoestrogen receptor β</li> </ul>

Wang KL. et al. (2013) <sup>13</sup>	Breast cancer	<i>Evodiae fructus</i> (吳茱萸) - Evodiamine	MCF-7, MDA-MB-231	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inhibited growth of estrogen-sensitive, -insensitive Breast cancer cells</li> <li>• Inhibited of ER<math>\alpha</math> expression and decreased mRNA of ER<math>\alpha</math></li> <li>• ER<math>\alpha</math> was more sensitive to evodiamine than ER<math>\beta</math><sup>††</sup></li> </ul>
Zhang X, Zhang Y, Li Y (2013) <sup>14</sup>	Breast cancer	<i>Curcuma longae Radix</i> (鬱金) - $\beta$ -elemene	MCF-7	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Increased both the protein and mRNA levels of E-cadherin, accompanied by decreased cell migration and invasion</li> <li>• Upregulated ER<math>\alpha</math> and MTA3<sup>††</sup>, and decreased the nuclear transcription factor Snail</li> </ul>
Zuo YH. et al. (2018) <sup>15</sup>	Hypoxia/ reoxygenation injury in cardiomyocyte	<i>Ginseng Radix</i> (人蔘) Ethanol extract	H9c2	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AP1<sup>§§</sup> induced eNOS<sup>   </sup> activation and NO<sup>¶¶</sup> production via GR<sup>***</sup> and ER dependent RISK signaling pathway in H9c2</li> </ul>
Que R. et al. (2017) <sup>16</sup>	Hepatic stellate cell activation	<i>Bupleuri Radix</i> (柴胡) - Saikosaponin-d	HSC-T6	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Suppressed the proliferation of HSC-T6 and decreased TCF-<math>\beta</math>1<sup>†††</sup>, MDA<sup>†††</sup> content and expression level of p-ERK<sup>§§§</sup>, p-JNK<sup>   </sup>, p-p38<sup>¶¶¶</sup>, which relied on modulation of ER<math>\beta</math></li> </ul>
Liu B. et al. (2015) <sup>17</sup>	Oxidative stress-induced cardiomyocyte apoptosis	<i>Astragali Radix</i> (黃芪) - Calycosin	H9C2 myocardial cells	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Enhanced ER<math>\alpha</math> and ER<math>\beta</math> expression as an ER <math>\alpha/\beta</math> double agonist</li> <li>• Protected myocardial cells from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced apoptosis by activating ER and upregulating the pro-survival Akt<sup>****</sup> signaling pathway</li> </ul>
Zhao P. et al. (2015) <sup>18</sup>	Skeletal muscle	<i>Salviae Miltiorrhizae Radix</i> (丹蔘) - Tanshinone II A	ER $\alpha$ positive T47D breast cancer cells C2C12 myoblastoma cells	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Had comparable sensitivity to ER<math>\alpha</math> or ER<math>\beta</math> receptor</li> <li>• Had ability to antagonize the effects of E<sub>2</sub></li> <li>• Had ability to antagonize DHT<sup>††††</sup> activity</li> <li>• Stimulated hypertrophy of c2c12 myotubes</li> </ul>
Haihong LV, et al. (2015) <sup>19</sup>	Osteoporosis	<i>Puerariae Radix</i> (葛根) - Puerarin	Human bone marrow stromal cells (hBMSC)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Increased cell growth of hBMSCs<sup>††††</sup> at low concentration (10 <math>\mu</math>M:54.6<math>\pm</math>1.6%, 25<math>\mu</math>M:39.1<math>\pm</math>1.3%, 17<math>\beta</math>-estradiol:45.1<math>\pm</math>1.1%)</li> <li>• Only a concentration of 10 <math>\mu</math>M puerarin increased the number of mineral nodules formed (41<math>\pm</math>2.1% increase)</li> </ul>
Wang Y. et al. (2014) <sup>20</sup>	Osteoporosis	<i>Puerariae Radix</i> (葛根) - Puerarin	MG-63	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Increased OPC<sup>§§§§</sup> and Decreased RANKL<sup>     </sup> by ER<math>\alpha</math>, ER<math>\beta</math></li> <li>• Decreased IL-6<sup>¶¶¶¶</sup> mRNA expression by ER<math>\alpha</math></li> <li>• Promoted activation of the classic ERE<sup>*****</sup> pathway through increasing ER<math>\alpha</math>, ER<math>\beta</math> and SRC-1<sup>†††††</sup> expression</li> </ul>
Wang Y. et al. (2013) <sup>21</sup>	Osteoporosis	<i>Puerariae Radix</i> (葛根) - Puerarin	MG-63	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mediated osteoblastic proliferation, differentiation and survival via both ER isotypes</li> </ul>
Liu LJ, et al. (2013) <sup>22</sup>	Osteoporosis	<i>Puerariae Radix</i> (葛根) - Puerarin	Human osteoblasts (hOBs)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Had estrogen-like structure and moderate estrogenic activity</li> </ul>
Shi C, et al. (2014) <sup>23</sup>	Atherosclerosis	<i>Salviae Miltiorrhizae Radix</i> (丹蔘) - Tanshinone II A	Human platelet	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ER-mediated PI3K<sup>†††††</sup>/Akt signaling may be involved in the effect of Tan II A<sup>§§§§§</sup> on APP<sup>     </sup> metabolism</li> </ul>

Wang H. et al. (2013) <sup>24</sup>	Inflammatory response	<i>Scutellariae Radix</i> (黄芩) - Oroxylin A	HeLa MCF-7 RAW 264.7	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Increased of activity of ER<math>\alpha</math> and ER<math>\beta</math></li> <li>• Induced transcription of estrogen target genes through the action of ER</li> <li>• Suppressed LPS<sup>*****</sup>-induced iNOS<sup>*****</sup> and COX-2<sup>*****</sup> mRNA expression and the production of NO in ER dependent manner</li> <li>• Suppressed LPS-induced secretion of pro-inflammatory Cytokines in an ER-dependent manner</li> </ul>
Fan GW. et al. (2013) <sup>25</sup>	Inflammatory response	<i>Scutellariae Radix</i> (黄芩) - Baicalein	Hela. RAW 264.7 cells	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Activated ER<math>\alpha</math> and ER<math>\beta</math> Transcription</li> </ul>
Ji M. et al. (2013) <sup>26</sup>	Endometriosis	<i>Puerariae Radix</i> (葛根) - Puerarin	Endometriotic stromal cells	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Suppressed proliferation of E<sub>2</sub>-stimulated ESCs<sup>*****</sup> by increasing G1 phase of the cell cycle</li> <li>• Downregulated cyclin D1 and cdc25A<sup>§§§§§</sup> expression in E<sub>2</sub>-stimulated ESCs</li> <li>• Promoted the interaction of ER-<math>\alpha</math> with corepressors (SMRT<sup>       </sup> and NCoR<sup>*****</sup>), whereas E<sub>2</sub> inhibited it.</li> </ul>

\*ER : estrogen receptor, †Bax : Bcl-2-associated X protein, ‡Bcl-2 : B-cell lymphoma 2, §ER $\alpha$  : estrogen receptor  $\alpha$ , ||E<sub>2</sub> : 17 $\beta$ -estradiol, ¶E<sub>1</sub> : estrone, \*\*E<sub>3</sub> : estriol, \*\*ER $\beta$  : estrogen receptor  $\beta$ , \*\*MTA3 : metastasis-associated protein 3, §§AP1 : activator protein 1, |||eNOS : endothelial nitric oxide synthases, ¶¶NO : nitric oxide, \*\*\*GR : glucocorticoid receptor, \*\*\*TCF- $\beta$ 1 : T-cell factor  $\beta$ 1, \*\*\*MDA : Malondialdehyde, §§§p-ERK : phospho-extracellular signal-regulated kinase, |||p-JNK : phospho c-Jun N-terminal kinase, ¶¶p-p38 : phospho-p38, \*\*\*\*Akt : protein kinase B, \*\*\*\*DHT : dihydrotestosterone, \*\*\*\*hBMSCs : human bone marrow stromal cells, §§§OPG : osteoprotegerin, ||||RANKL : receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, ¶¶¶IL-6 : interleukin 6, \*\*\*\*\*ERE : estrogen response element, \*\*\*\*\*SRC-1 : steroid receptor coactivator-1, \*\*\*\*PI3K : phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase, §§§§Tan II A : tanshinone II A, |||||APP : amyloid precursor protein, ¶¶¶LPS : lipopolysaccharide, \*\*\*\*\*iNOS : inducible nitric oxide synthase, \*\*\*\*\*COX-2 : cyclooxygenase-2, \*\*\*\*\*ESCs : endometriotic stromal cells, §§§§§cdc25A : cell division cycle 25A, |||||SMRT : silencing mediator of retinoid and thyroid hormone receptors, ¶¶¶¶NCoR : nuclear receptor co-repressor 1

Table 2. In Vivo Studies

Study ID	Subject	Herb	Animal	Results
Li X. et al. (2018) <sup>27</sup>	Mammary gland hyperplasia	<i>Phytolacca Radix</i> (商陸) - Total saponin	Wistar rats	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inhibited effects on the protein and mRNA expressions of ER<math>\beta</math></li> <li>• Promoted effects on the protein and mRNA expressions of ER<math>\beta</math></li> </ul>
Tang YQ. et al. (2018) <sup>28</sup>	Estrogen receptor expression	<i>Ligustri Lucidi Fructus</i> (女貞子) Water extract	Sprague-Dawley rats	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Decreased serum LH* and FSH<sup>†</sup> levels</li> <li>• Didn't increase serum E<sub>2</sub></li> <li>• Increased ER<math>\alpha</math> and ER<math>\beta</math> expression in the femurs</li> <li>• Increased ER<math>\alpha</math> expression in the tibia</li> <li>• Increased ER<math>\beta</math> expression not ER<math>\alpha</math> in Uteri</li> </ul>
Hwang YH. et al. (2016) <sup>29</sup>	Osteoporosis	<i>Alismatis Rhizoma</i> (澤瀉) - Alisol A 24-acetate (AA)	C3H/HeN mice	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Increased the serum estradiol</li> </ul>
Fan JZ. et al. (2015) <sup>30</sup>	Osteoporosis	<i>Notoginseng Radix</i> (三七) - Panax notoginseng saponins	Sprague-Dawley rats	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mitigated estrogen deficiency-induced deterioration of trabecular microarchitecture and suppresses marrow adipogenesis</li> </ul>
Lim DK, Kim JG, Kim YT. (2013) <sup>31</sup>	Osteoporosis	<i>Puerariae Radix</i> (葛根) - Total Isoflavones	Sprague-Dawley rats	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Increased serum estrogen levels, decreased serum lipoprotein levels and significantly improved femur BMD<sup>†</sup>, without elevating the serum levels of the liver enzymes, AST<sup>§</sup> and ALT<sup>  </sup></li> </ul>

Cao Y. et al. (2017) <sup>32)</sup>	Endometriosis	<i>Ginseng Radix</i> (人蔘) - Ginsenoside Rg3	Sprague- Dawley rats	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Decreased the level of serum E<sub>2</sub> in ginsenoside Rg3 high-dosage</li> <li>• No significant difference in progesterone</li> </ul>
Ju Y. Xiao B. (2016) <sup>33)</sup>	Uterine fibroids	<i>Cyperi Rhizoma</i> (香附子) - Amentoflavone	Wistar rats	<ul style="list-style-type: none"> <li>• High-dose amentoflavone inhibited effect on uterine hyperplasia</li> <li>• Decreased estradiol, progesterone levels and uterine homogenate NOS activity</li> </ul>
Jiang Z. et al. (2016) <sup>34)</sup>	Male infertility	<i>Cistanchis Herba</i> (肉苁蓉) - Echinacoside and ecteoside	Sprague- Dawley rats	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reduced the percentage of abnormal spermatozoa</li> <li>• Increased the serum levels of FSH, LH and testosterone</li> </ul>
Miao M. et al. (2016) <sup>35)</sup>	Depression	<i>Cynomorii Herba</i> (鎖陽) - Total flavone	Sprague- Dawley rats	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Big dosage Increased the E<sub>2</sub> level.</li> <li>• Small/medium dosage can lead to the increasing tendency of E<sub>2</sub> level</li> <li>• Increased the testosterone level (medium dosage)</li> <li>• Increased the expression of ER/AR<sup>†</sup></li> <li>• Increased the ER mRNA expression in hypothalamus</li> </ul>
Kang SJ. et al. (2015) <sup>3)</sup>	Anti-climacterium	<i>Granati fructus</i> (石榴) - Pomegranate concentrated solution (PCS)	ddy mice	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Increased serum estradiol levels (1 ml/kg :47.6 2 ml/kg:94.64 4 ml/kg:95.19%)</li> </ul>
Wang Y. et al. (2014) <sup>36)</sup>	Cerebral ischemia/reperfusion	<i>Astragali Radix</i> (黃芪) - Calycosin	Sprague- Dawley rats	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Decreased RASD1** mRNA expression and increase Bcl-2 mRNA expression and enhance ER<math>\alpha</math> and miR-375<sup>††</sup> expression</li> <li>• Decreased RASD1 protein expression and increase ER<math>\alpha</math> and Bcl-2 protein expression</li> </ul>
Xu Y. et al. (2014) <sup>37)</sup>	Postmenopausal syndrome	<i>Ginseng Radix</i> (人蔘) Water extract	Sprague- Dawley rats	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Increased uterine weight, adrenal gland weight, serum E<sub>2</sub> (ginseng 18.0 or 24.0 g/kg)</li> <li>• Decreased LH and FSH (43% reduction at 24.0 g/kg)</li> <li>• Induced upregulation ER<math>\alpha</math> and ER<math>\beta</math> and ER<math>\alpha</math> and ER<math>\beta</math> on protein and mRNA level (largest increase: 24.0 g/kg)</li> </ul>
Wei M. et al. (2014) <sup>38)</sup>	Ovarian Failure-Resistant Effects	<i>Rehmanniae Radix Crudus</i> (地黃) - Catalpol	Sprague- Dawley rats	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Increased the levels of serum 17<math>\beta</math>-estradiol and progesterone but reduced follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone levels</li> <li>• Retarded apoptosis of the ovarian granulocytes of the rats</li> </ul>
Kim HG. et al. (2013) <sup>39)</sup>	Neuroprotective effects	<i>Cyperi Rhizoma</i> (香附子) Petroleum ether extract	C57bl/6 mice	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Attenuated dopamine level decrease by MPTP<sup>**</sup> in estrogen-deprived mice</li> <li>• Protected behavioral performance from MPTP toxicity in estrogen-deprived mice</li> <li>• Protected nigrostriatal dopaminergic neurons from MPTP toxicity in estrogen-deprived mice</li> <li>• Inhibited apoptosis of dopaminergic neurons induced by MPTP in estrogen-deprived mice</li> </ul>
Indran IR. et al. (2013) <sup>40)</sup>	Breast cancer and uterine growth	<i>Epimedii Herba</i> (淫羊藿) Water-Ethanol extract	Balb/c mice	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Suppressed the growth of breast cancer tumors, dose-dependently</li> <li>• Reduced the levels of ER<math>\alpha</math> protein in cancer cells, dose-dependently</li> </ul>

Cai ZL. et al. (2013) <sup>41)</sup>	Learning and memory impairments	<i>Polygalae Radix</i> (遠志) - Tenuigenin	Chinese Kunming mice	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Enhanced the memory ability of OVX<sup>§§</sup> mice in step-through passive avoidance test (OVX+estradiol benzonate: Day 1: 189.7, Day 7:161.5 OVX+TEN<sup>  </sup>: Day 1: 202.3, Day 7:180.0)</li> </ul>
Abolaji AO. et al. (2012) <sup>42)</sup>	A safety assessment of <i>Artemisia annua</i> during pregnancy	<i>Artemisiae Annuae Herba</i> (青蒿) Ethanol extract	Wistar rats	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Estrogen levels in pregnant rats reflected significant decreases in all the EAA<sup>¶¶</sup>-treated groups</li> <li>• Progesterone did not change in all the treated groups</li> </ul>

\*LH : luteinizing hormone, <sup>†</sup>FSH : follicle stimulating hormone, <sup>‡</sup>BMD : bone mineral density, <sup>§</sup>AST : aspartate transaminase, <sup>||</sup>ALT : alanine transaminase, <sup>¶</sup>AR : androgen receptor, <sup>\*\*</sup>RASD1 : dexamethasone-induced ras-related protein 1, <sup>††</sup>miR-375 : microRNA 375, <sup>‡‡</sup>MPTP : 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, <sup>§§</sup>OVX : ovariectomized rat, <sup>||</sup>TEN : tenuigenin, <sup>¶¶</sup>EAA : ethyl acetoacetate

Table 3. In Vitro and In Vivo Studies

Study ID	Subject	Herb	Cell line /Animal	Results
Park JY. et al. (2018) <sup>43)</sup>	Menopausal symptoms	<i>Cirsii Herba</i> (大薊) Ethanol extract	Sprague- Dawley rats	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Showed ER transcription activity</li> <li>• Decreased body weight, total cholesterol, triglyceride, HDL<sup>*</sup>-cholesterol, and LDL<sup>†</sup>-cholesterol and significantly increased 17<math>\beta</math>-estradiol and BMD</li> <li>• During the light/dark box test, the C. japonicum treatment group (100 mg kg<sup>-1</sup>) spent more time in the light chamber than in the dark area, which was reflective of their diurnal nature</li> </ul>
Wong KL. et al. (2015) <sup>44)</sup>	Menopausal symptoms	<i>Dioscoreae Rhizoma</i> (山藥) - DOI <sup>†</sup> protein	Ovarian granulosa cells /Female SD rats	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Increased estradiol biosynthesis and aromatase expression</li> <li>• The levels of estradiol and progesterone reached their peaks after 6 weeks of DOI (5 mg/kg) treatment only</li> <li>• Increased the mRNA expressions of both CYP-19<sup>§</sup> and FSHR<sup>  </sup></li> <li>• Increased the mRNA expressions of both PKA<sup>¶</sup> and PKB<sup>**</sup></li> <li>• Upregulated the levels of ovarian aromatase</li> </ul>
Xu Y. et al. (2017) <sup>45)</sup>	Estrogenic effect	<i>Salviae Miltiorrhizae Radix</i> (丹參) Water extract	MCF-7 cell/ Kunming mice	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prolonged the estrous stage</li> <li>• Raised levels of serum E<sub>2</sub>, Decreased FSH and LH</li> <li>• Induced the growth and development of the uterus and vagina</li> <li>• Increased the expressions of ER subtype in uterus and vagina</li> <li>• Increased the protein and gene levels of ERs in uterus and vagina</li> <li>• Simulated MCF-7 cell proliferation</li> <li>• Stimulated the binding effect of ER<math>\alpha</math> and ER<math>\beta</math></li> <li>• Induced both ER<math>\alpha</math> and ER<math>\beta</math> transcriptional activity</li> </ul>



Wang X. et al. (2017) <sup>46)</sup>	Benign prostatic hyperplasia	<i>Cynomorii Herba</i> (鎖陽) - Compounds	MCF-7 cell Hela cell LNCaP cell AD293 cell/ Wistar male rats	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Exhibited estrogenic like activity by facilitating ER<math>\alpha</math>, ER<math>\beta</math> translocation to nuclear and activated ER<math>\alpha</math>, ER<math>\beta</math> transcriptional activity.</li> <li>• ECG induced ARE luciferase activity and androgen-dependent LNCaP proliferation in a dose-dependent manner as testosterone did</li> <li>• Inhibited the Estrogen-Androgen Induced BPH** Progress In Vivo</li> <li>• E2 and T levels in serum CS** group were significantly lower than those in BPH model group</li> <li>• ER<math>\alpha</math> expression was suppressed at protein level in CS extract treatment group. ER<math>\beta</math> expressions were increased and AR expressions were decreased in CS extract treatment group.</li> </ul>
Choi HM. et al. (2016) <sup>47)</sup>	Benign prostatic hyperplasia	<i>Cinnamomi cortex</i> (桂皮) Water extract	RWPE-1/ Sprague-Dawley rats	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Induced down-regulation the expression of ER<math>\alpha</math>, androgen AR</li> </ul>
Wang C. et al. (2015) <sup>48)</sup>	Benign prostatic hyperplasia	<i>Salviae Miltiorrhizae Radix</i> (丹蔘) - Tanshinone IIA	The normal human prostatic stromal and epithelial cell lines/ Wistar rats	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prevented BPH induced by oestradiol/testosterone treatment in castrated rats</li> <li>• Downregulated the expression of ER<math>\alpha</math>, AR, CCNB1<sup>§§</sup> and CCND1<sup>  </sup> in rat BPH tissues</li> <li>• Downregulated the expression of ER<math>\alpha</math> and AR in human prostate stromal and epithelial cells.</li> </ul>
Song SH. et al. (2016) <sup>49)</sup>	Osteoporosis	<i>Drynariae Rhizoma</i> (骨碎補) - Total <i>Drynariae Rhizoma</i> flavonoids	MC3T3-E1/ Sprague-Dawley rats	<ul style="list-style-type: none"> <li>• DFTF<sup>¶¶</sup> increased the ER<math>\alpha</math> and ER<math>\beta</math> expression levels in MC3T3-E1 cells (concentration: 12.5 and 62.5 <math>\mu</math>g/ml)</li> </ul>
Weng ZB. et al. (2015) <sup>50)</sup>	Osteoporosis	<i>Psoraleae Semen</i> (補骨脂) - Bavachin and bakuchiol	Osteoblast/ Sprague-Dawley rats	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Increased the number of the ER</li> <li>• Enhanced the maturation of human osteoblasts</li> </ul>
Kim MH. et al. (2014) <sup>51)</sup>	Osteoporosis	<i>Schisandrae Fructus</i> (五味子) Ethanol extract	MCF-7/ ICR mice	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Increased ER<math>\alpha</math> and ER<math>\beta</math> expression in the uterus and MCF-7 cells</li> </ul>
Xiao HH. et al. (2014) <sup>52)</sup>	Osteoporosis	<i>Epimedii Herba</i> (淫羊藿) - Icarin, baohuoside-I, epimedin B and sagittatoside A	Murine pre-osteoblastic MC3T3-E1 cells/ rat osteosarcoma UMR-106 cells	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Stimulated ER-dependent osteoblastic functions in UMR-106 cells, but only two of them appeared to exert their actions by ligand-independent activation of ER<math>\alpha</math></li> </ul>
Wong KC. et al. (2013) <sup>53)</sup>	Osteoporosis	<i>Drynariae Rhizoma</i> (骨碎補) - Total flavonoid	UMR-106 Cell/ C57/BL6J mice	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Stimulatory actions on osteoblastic cell proliferation are mediated via ER</li> <li>• The stimulatory actions of DFTF on osteoblastic differentiation were ER dependent</li> </ul>
Xinge Zhao et al. (2016) <sup>4)</sup>	Colorectal cancer cell	<i>Astragali Radix</i> (黃芪) - Calycosin	SW 480 LoVo HeLa/ Nude mice	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Increased ER<math>\beta</math> mRNA level and suppress miR-95 mRNA expression in SW480 cells</li> <li>• Decreased p-Akt, ER<math>\alpha</math> and IFG-1R<sup>***</sup></li> <li>• Induced up-regulation ER<math>\beta</math> protein expression</li> </ul>
Li L. et al. (2016) <sup>54)</sup>	Breast cancer	<i>Psoraleae Semen</i> (補骨脂) - Bakuchiol	MCF-7 and MDA-MB-231 cells	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Exhibited In Vivo Estrogenic Activity</li> <li>• Induced Cell Growth Inhibition by inducing S Phase Arrest and Expression Level Change of Cell Cycle Regulator</li> <li>• Induced Apoptosis of MCF-7 Cells</li> </ul>

\*HDL : high density lipoprotein, \*LDL : low-density lipoprotein, \*DOI : isolated from the Chinese yam (*Dioscorea opposita* Thunb.), §CYP-19 : cytochromes P450-19, ¶FSHR : FSH receptor, ¶PKA : protein kinase A, \*\*PKB : protein kinase B, \*\*BPH : benign prostatic hyperplasia, \*\*CS : *Cynomorium songaricum*, §§CCNB1 : G2/mitotic-specific cyclin-B1, ||CCND1 : cyclin D1 gene, ¶¶DFTF : *Drynaria fortunei* flavonoid fraction, \*\*\*IFG-1R : insulin-like growth factor 1 receptor

## IV. 고 찰

에스트로젠 유사 활성에 대한 세포실험 연구 논문은 총 19편으로 10가지의 cell line이 연구에 사용되었다. 그 중 MCF-7 cell line이 7건으로 가장 많으며 대부분 유방암연구에 사용되었다. MCF-7 cell line은 인간의 유방암 환자의 흉수에서 유래된 cell line으로 상당한 양의  $17\beta$ -estradiol receptor를 포함한다<sup>55)</sup>. MDA-MB-231 cell line 역시 악성 흉수에서 유도된 것이나 ER에 음성인 세포주이다<sup>56)</sup>.

유방암을 주제로 한 연구한 논문 7편 중 3편은 MCF-7 cell line과 MDA-MB-231 cell line이 함께 사용되었다. Lee 등의 연구<sup>8)</sup>에서 *Rhei Radix et Rhizoma*(大黃)의 에탄올 추출물과 대황에서 분리된 세 가지 compounds(aloe emodin, rhapontigenin, and chrysophanol 1-O- $\beta$ -D-glucopyranoside)가 MCF-7의 증식을 농도 의존적으로 증가시키는 반면, MDA-MB-231 cell의 증식은 미미했다. Park 등의 연구<sup>9)</sup>에서 *Rubi Fructus*(覆盆子)의 Sanguin H-6 성분이 MCF-7 cells에서 Bax의 발현을 증가시키고 MDA-MB-231 cell에서는 Bcl-2의 발현을 감소시킴으로써 Bax/Bcl-2의 비율은 ER에 비의존적으로 증가할 수 있음을 밝혔다. 또한 Wang 등의 연구<sup>13)</sup>에서 *Evodiae fructus*(吳茱萸)에서 추출한 evodiamine가 ER의 유무와 관계없이 유방암 세포의 성장을 억제한다는 것을 밝혔으며 ER $\alpha$ 의 발현을 억제하고 ER $\alpha$ 의 mRNA가 감소한다는 것을 밝혔다. 또한 ER $\alpha$ 가 ER $\beta$ 보다 evodiamine에 더 민감하다는 것을 밝혔다.

MCF-7 cell line을 사용한 논문으로,

Telang 등의 연구<sup>11)</sup>에서는 *Epimedium Herba*(淫羊藿)을 물 추출한 성분(EG)으로 연구한 결과 20 nM E<sub>2</sub>+1.0% EG group에서 G<sub>1</sub> cell cycle arrest가 유도되었으며 동시에 S 와 G<sub>2</sub>/M기에 있는 세포의 비율이 감소하였다. 또한 20 nM E<sub>2</sub>+1.0%/2.0% EG group에서는 가시적 세포수가 감소하였다. 그리고 E<sub>2</sub>+EG group에서 E<sub>2</sub> 대사산물인 E<sub>1</sub>, 2-OHE<sub>1</sub>, E<sub>3</sub>의 농도가 상승하였다. Sun 등의 연구<sup>12)</sup>에서는 *Spatholobi Caulis*(鷄血藤)을 에탄올 추출한 성분으로 연구하였으며 그 결과 농도 의존적으로 ER의 발현은 억제하였으나 인산화된 ER $\beta$ 의 발현에는 영향을 미치지 않는 것으로 밝혀졌다. Zhang 등의 연구<sup>14)</sup>에서 *Curcumae longae Radix*(鬱金)에서 추출된  $\beta$ -elemene이 ER $\alpha$ /metastasis-associated protein 3(MTA3)/Snail signaling 기전을 조절함으로써 MCF cell의 E-cadherin의 발현을 증가시켰는데, E-cadherin은 정상 조직에서 발현되는, 상피중간엽 전이 현상에서 암 전이를 억제하는 단백질로, 울금에서 추출된  $\beta$ -elemene이 암전이 억제 단백질의 발현을 증가시킴을 알 수 있다.

Wu 등의 연구<sup>10)</sup>에서는 *Sparganii Rhizoma*(三稜)에서 추출한 polysaccharide인 SpaTA이 ZR-75-1와 MDA-MB-231 cell line에서 ER $\alpha$ 의 발현을 증가시키고, 에스트로젠 신호 기전을 조절하며, ER $\alpha$  의존적으로 caspases를 활성화시킴으로써 유방암세포의 세포자살을 유도시킨다는 것을 밝혔다.

Zuo 등의 연구<sup>15)</sup>에서는 H9C2 cell line으로 심근세포에서 저산소증-재산소화를 주제로 하여 *Ginseng Radix*(人蔘)의 에탄올 추출물인 acid polysaccharides fraction of ginseng(AP1)이 glucocorticoid receptor (GR)과 ER 의존성 RISK 신호 전달 체계

를 통해 endothelial nitric oxide synthase (eNOS)의 활성과 NO의 생산을 유도한다는 것을 밝혔다. H9c2 cell line은 배아기 rat의 심장에서 유래한 세포로 신생아와 성인의 심근과 유사한 특징을 가지고 있다. 또한 E2가 H9c2 cell line의 SUR2의 발현을 자극함으로써 sarcolemmal KATP 채널의 수를 증가시키고 저산소증-재산소화의 저항을 증가시킨다는 보고가 있다.<sup>57)</sup>

Que 등의 연구<sup>16)</sup>에서는 Rat의 HSC-T6 cell line으로 간성상세포의 활성화에 대한 주제로 하여 *Bupleuri Radix*(柴胡)의 Saikosaponin-d 성분이 HSC-T6의 증식을 억제하는 것을 확인함으로써 ER $\beta$ 의 조절에 의존한다는 것을 밝혔다.

Liu 등의 연구<sup>17)</sup>에서는 H9C2 myocardial cells을 대상으로 산화적 스트레스가 심근 세포에 유도하는 세포자살을 주제로 *Astragali Radix*(黄芪)의 성분인 Calycosin이 어떠한 효과를 보이는지 살펴보았다. 그 결과 심근세포에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 유도되는 세포자살을 억제함으로써 보호효과가 있음을 밝혔는데, 이는 ER $\alpha$ 와 ER $\beta$ 를 활성화시키고 Akt 인산화를 상향조절 한다.

Zhao 등의 연구<sup>18)</sup>에서는 T47D breast cancer cells과 C2C12 myoblastoma cells을 대상으로 갱년기 여성에게서 나타날 수 있는 골격근 손실을 주제로 *Salviae Miltiorrhizae Radix*(丹蔘)의 성분인 tanshinone II A의 효과를 연구하였다. 그 결과 ER를 매개로 하는 매커니즘을 통해 C2C12 myotubes의 비대를 유도한다는 것을 밝혔다.

골다공증을 주제로 한 연구 4편은 모두 *Puerariae Radix*(葛根)의 Puerain 성분으로 연구를 하였으며 hBMSC cell line 1편, MG-63 cell line 2편, hOBs(human

osteoblasts) cell line 1편으로 연구가 진행되었다. Haihong 등의 연구<sup>19)</sup>에서는 낮은 농도의 puerarin에서 hBMSCs의 성장이 증가하며 또한 오직 10  $\mu$ M의 puerarin의 농도에서 결절 형성의 수가 증가한다는 것을 밝혔다. Wang 등의 연구<sup>20,21)</sup>에서는 puerarin이 MG-63 cell의 ER $\alpha$ , ER $\beta$ 에 작용하여 osteoprotegerin을 증가시키고 RANKL을 감소시킨다는 것을 밝혔으며 ER $\alpha$ 에 작용하여 IL-6 mRNA의 발현을 감소시킨다는 것을 규명하였다. 또한 ER $\alpha$ , ER $\beta$ 과 SRC-1 발현의 증가를 통해 estrogen response element pathway의 활성이 증가한다는 것을 밝혀냈다. 또한 puerarin이 ER isotype을 매개로 하여 골아세포의 증식, 분화, 생존에 영향을 미친다는 것을 밝혔다. Liu 등의 연구<sup>22)</sup>에서 puerarin은 에스트로겐 유사 구조를 지니며 에스트로겐 활성을 조절한다는 것이 밝혀졌다.

Shi 등의 연구<sup>23)</sup>는 동맥경화증을 주제로 하여 *Salviae Miltiorrhizae Radix*(丹蔘)의 Tanshinone II A 성분으로 진행하였다. human platelet이 사용되었으며 Tanshinone II A는 ER를 매개로 하는 PI3K/Akt signaling을 통해 amyloid precursor protein(APP)의 대사를 조절하는 것을 밝혔다.

염증반응을 알아본 2편의 연구에서 모두 *Scutellariae Radix*(黄芩)의 성분을 대상으로 하였다. Wang 등의 연구<sup>24)</sup>결과에서 Oroxylin A는 ER $\alpha$ 와 ER $\beta$ 의 활성을 증가시키며 ER의 활성을 통한 estrogen target gene의 전사를 유도하였으며, ER 의존성으로 LPS-induced iNOS와 COX-2 mRNA 발현과 NO의 생성을 억제하였다. 또한 ER 의존성으로 pro-inflammatory cytokines의 분비를 억제한다는 것을 밝혔다. Fan 등의 연구<sup>25)</sup>에서는 Baicalein이

ER $\alpha$ 와 ER $\beta$ 를 활성화시킴으로써 LPS로 유도된 염증 사이토카인 반응을 억제함을 밝혔다. 이는 ER 의존적으로 TNF- $\alpha$ , COX-2, iNOS의 발현을 억제하며 NO, IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , COX-2, iNOS, PGE2의 생성을 저해함으로써 항염증 효과를 나타내었다.

Ji 등의 연구<sup>26)</sup>에서는 자궁내막증을 주제로 HeLa cell과 RAW264.7 cell을 대상으로 *Puerariae Radix*(葛根)의 성분 Puerarin의 효능을 밝혔다. Puerarin은 E2로 자극된 endometriotic stromal cell의 분화를 억제하며, cyclin D1와 cdc25A의 발현 또한 억제하고, ER $\alpha$ 와 corepressors (SMRT 와 NCoR)의 상호작용을 촉진시킴으로써 E2와 반대의 작용을 한다는 것을 밝혔다.

동물실험 연구 17편 중 Sprague Dawley (SD) rats를 model로 한 연구가 9편으로 가장 많았으며 Wistar rats 3편, C3H/HeN mice 1편, ddy mice 1편, C57b1/6 mice 1편, Balb/c mice 1편, chinese kunming (KM) mice 1편이다.

Li 등의 연구<sup>27)</sup>에서는 *Phytolaccae Radix*(商陸)의 Total saponin 성분이 wistar rats에서 유선과다 증식에 어떠한 영향을 미치는지 연구하였으며 total saponin의 에스트로겐 유사 효과는 ER $\alpha$ 의 mRNA와 단백질 발현의 효과를 억제하는 반면 ER $\beta$ 의 mRNA와 단백질 발현은 증가시킨다는 것을 확인하였다. Tang 등의 연구<sup>28)</sup>에서 *Ligustri Lucidi Fructus*(女貞子)의 물 추출물이 SD rats에서 ER 발현에 어떠한 영향을 미치는지 연구하였다. Serum LH와 FSH 양이 감소하였고 대퇴골에서 ER $\alpha$ 와 ER $\beta$ 의 발현이 증가하였고 경골에서 ER $\alpha$ 의 발현이 증가하였으며 자궁

에서는 ER $\beta$ 의 발현이 증가한다는 것을 밝혔다.

골다공증을 주제로 한 연구는 3편이었는데 Hwang 등의 연구<sup>29)</sup>에서는 *Alismatis Rhizoma*(澤瀉)의 Alisol A 24-acetate 성분이 C3H/HeN mice에 어떠한 영향을 미치는지 연구한 결과 serum estradiol이 증가하였다. 또한 Fan 등의 연구<sup>30)</sup>에서는 SD rats model로 하여 *Notoginseng Radix*(三七)의 *Panax notoginseng* saponins 성분에 대해 연구하였다. 그 결과 에스트로겐 결핍에 의한 섬유주 미세 구조의 악화를 완화시키고 골수 지방 형성을 억제한다는 것을 밝혔다. Lim 등의 연구<sup>31)</sup>에서 *Puerariae Radix*(葛根)에 함유된 모든 Isoflavone이 난소가 적출된 SD rats의 지방과 골 대사에 이득이 된다고 밝혔다. 이는 혈중 에스트로겐 수치는 높이고 lipoprotein 수치는 낮춤으로써 골밀도를 향상시켰다.

Cao 등의 연구<sup>32)</sup>에서 *Ginseng Radix*(人蔘)의 Ginsenoside Rg3 성분이 SD rats에서 자궁내막증에 어떠한 영향을 미치는지 연구한 결과, 고농도의 ginsenoside Rg3에서 serum E2의 수치는 감소하였으나 프로게스테론의 변화는 없는 것으로 드러났다. Ju 등의 연구<sup>33)</sup>에서 *Cyperi Rhizoma*(香附子)의 Amentoflavone 성분이 wistar rats에서 자궁근섬유증에 대해 어떠한 영향을 미치는지 연구하였다. 고농도에서 자궁의 비대를 억제하는 효과가 있으며 estradiol과 progesterone의 수치가 감소하였다. Jiang 등의 연구<sup>34)</sup>에서 *Cistanchis Herba*(肉蓯蓉)의 Echinacoside 와 ecteoside 성분이 SD rats에서 남성불임에 어떠한 영향을 미치는지 연구하였다. 비정상적인 정자의 수가 감소하였으며 serum FSH, LH, testosterone의 수치가 증가하는 것

을 확인하였다. Miao 등의 연구<sup>35)</sup>에서 *Cynomorii Herba*(鎖陽)의 Total flavone 성분이 SD rats에서 우울증에 어떠한 영향을 미치는지 확인하였다. 고농도에서 E2의 수치가 증가하였으며 중간농도와 저농도에서는 E2의 수치가 증가하는 경향성을 확인하였다. 또한 중간농도에서 testosterone의 수치가 증가하는 것을 확인하였다. ER과 AR의 발현이 증가하였으며 시상하부에서 ER mRNA의 발현이 증가하는 것을 확인하였다. Kang 등의 연구<sup>3)</sup>에서 *Granati fructus*(石榴)의 Pomegranate concentrated solution(PCS)이 mice에서 항 갱년기에 어떠한 영향을 미치는지 알아보고, serum estradiol의 수치가 증가하는 것을 확인하였다.

Wang 등의 연구<sup>36)</sup>에서 *Astragali Radix*(黃芪)의 Calycosin 성분이 SD rats에서 대뇌허혈/재관류에 미치는 영향에 대해 알아보았는데, Calycosin이 ER $\alpha$ 의 발현을 증가시켰다.

Xu 등의 연구<sup>37)</sup>에서 *Ginseng Radix*(人蔘)의 물 추출한 성분이 SD rats에서 폐경후증후군에 어떠한 영향을 미치는지 분석한 결과 serum E2는 증가하였으며 LH와 FSH는 감소하였다. 또한 ER $\alpha$ 와 ER $\beta$ 의 mRNA 발현과 단백질 발현을 상향조절 한다는 것을 밝혔다.

Wei 등의 연구<sup>38)</sup>에서 *Rehmanniae Radix Crudus*(地黃)의 성분인 Catalpol이 난소 부전에 효과가 있음을 밝혔다. Catalpol은 혈중 E2와 프로게스테론의 수치를 높이는 반면 FSH와 LH의 수치는 감소시켰고, 난소조직을 자양함으로써 난포의 양과 질을 모두 향상시켰다.

Kim 등의 연구<sup>39)</sup>에서 *Cyperi Rhizoma*(香附子)의 petroleum ether 추출물이 에

스트로겐이 부족한 상황에서 도파민 작동성 뉴런의 장애를 예방하고 치료할 수 있다는 것을 밝혔다. 이는 mitochondrial Bcl-2 감소 저해, Bax 증가, cytosolic cytochrome c 증가, caspase-3 활성을 통한 기전임을 밝혔다.

Indran 등의 연구<sup>40)</sup>에서 *Epimedium Herba*(淫羊藿)의 물-에탄올 추출물이 유방암과 자궁 성장에 있어서 ER 조절자로서 역할을 한다는 것을 밝혔다. 용량 의존적으로 유방암 종양세포의 성장을 억제하였으며, 암세포에서 ER $\alpha$  수치를 감소시켰다.

Cai 등의 연구<sup>41)</sup>에서 *Polygalae Radix*(遠志)의 Tenuigenin 성분이 KM mice에서 학습과 기억력 손상에서 어떠한 효과를 지니는지 알아보았다. OVX mice에 estradiol과 Tenuigenin을 처리한 결과 모두 step-through passive avoidance test에서 latency time이 줄어드는 것을 확인하였으며 ovariectomized mice에서 기억력이 강화되는 것을 밝혔다.

Abolaji 등의 연구<sup>42)</sup>에서 wistar rats을 대상으로 *Artemisiae Annuae Herba*(青蒿)의 에탄올 추출물 성분의 임신안정성에 대한 연구가 진행되었다. 그 결과 임신한 쥐에서 에스트로겐 수치는 상당한 감소가 있었고 프로게스테론은 변화가 없다는 것을 밝혔다.

세포실험과 동물실험이 함께 이루어진 연구는 총 13편이 확인되었다.

갱년기 증후군을 주제로 한 논문은 2편이었다. 갱년기 증후군은 17 $\beta$ -estradiol의 감소로 나타나는 얼굴 화끈거림, 우울, 골다공증, 성기능장애, 질 위축증 등 여러 가지 신체적 및 정신적 증상을 포괄한다. Park 등의 연구<sup>43)</sup>에서는 *Cirsii Herba*

(大薊) 에탄올 추출물이 Sprague-Dawley rats의 몸무게, total cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol을 감소시켰으며 17-estradiol과 골밀도를 증가시켰음을 보고했다. 또한 Wong 등의 연구<sup>44)</sup>에서는 *Dioscoreae Rhizoma*(山藥)에서 추출된 DOI protein이 갱년기 female SD rats의 estradiol과 progesterone 분비를 촉진함을 밝혔다.

Xu 등의 연구<sup>45)</sup>에서는 *Salviae Miltiorrhizae Radix*(丹參) 물 추출물이 에스트로겐 유사 효능이 있음을 밝혔는데, 이는 혈중 E2를 증가시키고 FSH와 LH는 감소시켰다. 또한 자궁과 질에서 ER subtype의 발현을 증가시켰다.

양성전립선비대증을 주제로 한 논문은 3편 있었다. Wang 등의 연구<sup>46)</sup>에서는 AR의 상향조절과 ER $\beta$ 의 하향조절이 양성전립선비대증과 관련이 있다는 점에 착안하여 연구를 진행하였다. *Cynomorii Herba*(鎖陽)의 에탄올 추출물이 ER $\alpha$ 와 AR을 저해하며 ER $\beta$ 를 유도함을 밝혔다. 이는鎖陽의 antiestrogen과 antiandrogen 효과로 양성전립선비대증을 억제하는 것이다. Choi 등의 연구<sup>47)</sup>에서는 RWPE-1와 SD rats를 모델로 하여 *Cinnamomi cortex*(肉桂)의 물 추출물이 어떠한 영향을 미치는지 실험한 결과 ER $\alpha$ 와 AR의 발현을 하향 조절한다는 것이 확인 되었다. Wang 등의 연구<sup>48)</sup>에서는 *Salviae Miltiorrhizae Radix*(丹參)의 성분인 Tanshinone IIA가 rat BPH 조직과 human prostate stromal and epithelial cells에서 ER $\alpha$ 와 AR의 발현을 하향 조절한다는 것을 밝혔다.

골다공증을 주제로 한 5편의 연구들을 살펴보면 Song 등의 연구<sup>49)</sup>에서 MC3T3-E1 cell line과 SD rats를 모델로 *Drynariae*

*Rhizoma*(骨碎補)의 Total Drynariae Rhizoma flavonoids(DRTF) 성분이 어떠한 영향을 미치는지 실험하였으며 그 결과 MC3T3-E1 cells에서 DRTF의 농도가 12.5 and 62.5  $\mu\text{g/ml}$ 에서 ER $\alpha$ 와 ER $\beta$ 의 발현을 증가시켰다. Weng 등의 연구<sup>50)</sup>에서 *Psoraleae Semen*(補骨脂)의 Bavachin과 bakuchiol 성분으로 골아세포와 SD rats를 모델로 하여 연구하였다. 그 결과 ER의 수가 증가하였으며 사람 골아세포의 성숙이 촉진되는 것을 밝혔다. Kim 등의 연구<sup>51)</sup>에서는 *Schisandrae Fructus*(五味子)를 30% ethanol 추출한 성분으로 MCF-7 cell line과 ICR mice를 모델로 하여 연구를 하였으며 MCF-7 cell과 ICR mice의 자궁에서 ER $\alpha$ 와 ER $\beta$ 의 발현이 증가하는 것을 확인하였다. Xiao 등의 연구<sup>52)</sup>에서 *Epimedium Herba*(淫羊藿)의 성분 중 4개(icariin, baohuoside-I, epimedin B 와 sagittatoside A)가 UMR-106 cell에서 ER 의존적으로 조골세포의 기능을 자극시킨다는 것을 밝혔다. Wong 등의 연구<sup>53)</sup>에서 *Drynariae Rhizoma*(骨碎補)의 Total flavonoid 성분으로 UMR-106 cell과 C57/BL6J mice를 모델로 하여 연구한 결과 ER 의존적이며 ER을 매개로 하여 골아세포가 증식하도록 한다는 것을 밝혔다.

대장암에 대하여 연구한 Zhao 등의 연구<sup>4)</sup>에서는 *Astragali Radix*(黃芪)의 Calycosin 성분으로 SW480, LoVo, HeLa cell line과 Nude mice를 모델로 하여 연구하였다. 그 결과 SW480 cell에서 ER mRNA 수치는 증가한다는 것을 확인하였고 ER $\alpha$ 는 감소하며 ER $\beta$ 의 발현은 상향조절한다는 것을 밝혔다.

유방암에 대한 Li 등의 연구<sup>54)</sup>에서는

*Psoraleae Semen*(補骨脂)의 성분인 Bakuchiol이 MCF-7 cells에서 ER $\beta$ 의 발현은 유도하는 반면 ER $\alpha$ 의 발현은 억제함을 밝혔다.

여러 주제별로 다양한 한약재의 에스트로겐 유사 활성을 확인하였다. 약재들이 가지고 있는 에스트로겐 유사 활성화에 대한 연구는 부인과 질환을 비롯한 여러 질환에서 임상 활용 시 처방의 치료효과는 증대시키고 부작용은 최소화하는데 기여할 것으로 기대된다.

사람 대상은 아니지만 동물실험 연구 결과 상澤瀉, 葛根, 石榴, 地黃, 山藥, 丹參 한약재에서 에스트로겐 수치가 증가되는 경향을 보이며, 人蔘, 香附子, 靑蒿 한약재는 에스트로겐 수치가 감소하는 경향을 보인다. 다만 鎖陽은 우울증 모델에서는 에스트로겐 수치가 증가하였으며 BPH모델에서는 증가된 에스트로겐 수치를 감소시켰다. 나머지 약재들의 경우는 에스트로겐의 수치의 변화를 직접적으로 확인할 수는 없었지만, ER에 작용하여 여러 메커니즘을 조절하거나 ER의 발현에 영향을 미치는 것을 확인하였다. 하지만 동물실험에서의 에스트로겐 상승이나 감소 경향이 사람의 혈중 에스트로겐 농도에도 동일한 경향성을 가진다고 볼 수 없으므로 추가적인 연구가 필요하다.

열수 추출(water extract)방법으로 연구한 약재로는 淫羊藿, 女貞子, 人蔘, 丹參, 桂皮가 있으며 에탄올 추출 방법으로 연구한 약재는 鷄血藤, 人蔘, 靑蒿, 大薊, 五味자가 있다. 또한 에테르 추출 방법으로 연구한 약재는 香附子가 있다.

많은 연구들이 한약재를 에탄올로 추출한 경우가 많았는데, 실제 환자에게 투여하는 탕약은 물로 추출한 것이다.

그러므로 앞서 조사한 연구에서의 에스트로겐 유사 활성화 효과가 복합추출물(탕약)에서도 같은 효과를 나타내는지 추가적인 연구가 진행되어야 할 것이다.

## V. 결 론

1. 세포실험 연구에서 人蔘, 大黃, 覆盆子, 三稜, 淫羊藿, 鷄血藤, 吳茱萸, 鬱金, 柴胡, 黃芪, 丹蔘, 葛根, 黃芩에서 추출한 성분의 에스트로겐 작용 기전을 확인함으로써 에스트로겐 유사 활성이 있다는 것을 확인하였다.
2. 동물실험 연구에서 商陸, 女貞子, 澤瀉, 三七, 葛根, 人蔘, 香附子, 肉蓯蓉, 鎖陽, 石榴, 黃芪, 地黃, 淫羊藿, 遠志, 靑蒿에서 추출한 성분이 에스트로겐 유사 활성이 있음을 확인하였다.
3. 세포실험과 동물실험이 동시에 진행된 연구에서 大薊, 山藥, 丹蔘, 鎖陽, 桂皮, 骨碎補, 補骨脂, 五味子, 淫羊藿, 黃芪에서 추출한 성분의 에스트로겐 유사 활성이 있음을 확인하였다.

한약재의 에스트로겐 유사 활성화에 대한 고찰을 통해 향후 연구에서는 임상에서 사용되는 수많은 한약재에 대해 추가적인 연구가 진행되어야 할 것이다.

□ Received : Sep 12, 2018

□ Revised : Sep 24, 2018

□ Accepted : Nov 26, 2018

## References

1. Yang SH, et al. Sex-hormone replacement

- effect of silkworm pupa and mixture with herbs. *Korean J Food Cookery SCI*. 2005;21(6):769-75.
2. Kang SJ, et al. Anti-climacterium effects of pomegranate concentrated solutions in ovariectomized ddY mice. *Experimental And Therapeutic Medicine*. 2017;13(4):1249-66.
  3. Park SH, et al. Verification of estrogen like activities of herbal medicines using an in vitro detection system. *Korean J Oriental Physiology & Pathology*. 2013;27(6):752-8.
  4. Zhao X, et al. Calycosin induces apoptosis in colorectal cancer cells, through modulating the ER $\beta$ /MiR-95 and IGF-1R, PI3K/Akt signaling pathways. *Gene*. 2016;591(1):123-8.
  5. Park HM. The efficacy of phytoestrogen in postmenopausal women. *Korean Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2007;50(3):389-415.
  6. Sathyapalan T, et al. The Effect of Phytoestrogen on Thyroid in Subclinical Hypothyroidism: Randomized, Double Blind, Crossover Study. *Frontiers in Endocrinology*. 2018;9:531.
  7. Textbook compilation committee. *Herbal medicine*. 3rd rev. ed. Seoul:Younghlimsa. 2016.
  8. Lee DH, et al. In Vitro Estrogenic and Breast Cancer Inhibitory Activities of Chemical Constituents Isolated from *Rheum undulatum* L. *Molecules*. 2018;23(5):1215.
  9. Park EJ, et al. Cytotoxic effect of sanguin H-6 on MCF-7 and MDA-MB-231 human breast carcinoma cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2017;27(18):4389-92.
  10. Wu YZ, Sun J, Wang YB. Selective estrogen receptor modulator: A novel polysaccharide from *Sparganii Rhizoma* induces apoptosis in breast cancer cells. *Carbohydr Polym*. 2017;163:199-207.
  11. Telang NT, et al. The nutritional herb *Epimedium grandiflorum* inhibits the growth in a model for the luminal a molecular subtype of breast cancer. *Oncology Letters*. 2017;13(4):2477-82.
  12. Sun JQ et al. *Spatholobus suberectus* Column Extract Inhibits Estrogen Receptor Positive Breast Cancer via Suppressing ER MAPK PI3K/AKT Pathway. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2016;2016:13.
  13. Wang KL, et al. Anti-proliferative effects of evodiamine on human breast cancer cells. *Plos One*. 2013;8(6):e67297.
  14. Zhang X, Zhang Y, Li Y.  $\beta$ -elemene decreases cell invasion by upregulating E-cadherin expression in MCF-7 human breast cancer cells. *Oncol Rep*. 2013;30(2):745-50.
  15. Zuo YH, et al. Panax ginseng polysaccharide protected H9c2 cardiomyocyte from hypoxia/reoxygenation injury through regulating mitochondrial metabolism and RISK pathway. *Front. Physiol*. 2018;9:699.
  16. Que R, et al. Estrogen receptor- $\beta$ -dependent effects of saikosaponin-d on the suppression of oxidative stress-induced rat hepatic stellate cell



- activation. *International J of Molecular Medicine*. 2016;41(3):1357-64.
17. Liu B, et al. Calycosin inhibits oxidative stress-induced cardiomyocyte apoptosis via activating estrogen receptor- $\alpha/\beta$ . *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2016;26(1):181-5.
  18. Zhao P, et al. Anabolic effect of traditional chinese medicine compound tanshinone IIA on myotube hypertrophy is mediated by estrogen receptor. *Planta Medica*. 2015;81(7):578-85.
  19. Haihong LV, et al. Puerarin enhances proliferation and osteoblastic differentiation of human bone marrow stromal cells via a nitric oxide/cyclic guanosine monophosphate signaling pathway. *Molecular Medicine Reports*. 2015;12(2):2283-90.
  20. Wang Y, et al. Puerarin concurrently stimulates osteoprotegerin and inhibits receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL) and interleukin-6 production in human osteoblastic MG-63 cells. *Phytomedicine*. 2014;21(8-9):1032-6.
  21. Wang Y, et al. Puerarin stimulates proliferation and differentiation and protects against cell death in human osteoblastic MG-63 cells via ER-dependent MEK/ERK and PI3K/Akt activation. *Phytomedicine*. 2013;20(10):787-96.
  22. Liu LJ, et al. Puerarin suppress apoptosis of human osteoblasts via ERK signaling pathway. *International J of Endocrinology*. 2013;2013:6.
  23. Shi C, et al. Tanshinone IIA promotes non-amyloidogenic processing of amyloid precursor protein in platelets via estrogen receptor signaling to phosphatidylinositol 3-kinase/Akt. *Biomedical Reports*. 2014;2(4):500-4.
  24. Wang H, et al. An estrogen receptor dependent mechanism of Oroxylin A in the repression of inflammatory response. *Plos One*. 2013;8(7):e69555.
  25. Fan GW, et al. Anti-inflammatory Activity of Baicalein in LPS-Stimulated RAW264.7 Macrophages via Estrogen Receptor and NF- $\kappa$ B-Dependent Pathways. *Inflammation*. 2013;36(6):1584-91.
  26. Ji M, et al. Puerarin suppresses proliferation of endometriotic stromal cells in part via differential recruitment of nuclear receptor coregulators to estrogen receptor- $\alpha$ . *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*. 2013;138:421-6.
  27. Li X, et al. Anti-hyperplasia effects of total saponins from *Phytolacca radix* in rats with mammary gland hyperplasia via inhibition of proliferation and induction of apoptosis. *Front. Pharmacol*. 2018;9:467.
  28. Tang YQ, et al. *Fructus ligustri lucidi* modulates estrogen receptor expression with no uterotrophic effect in ovariectomized rats. *BMC Complementary And Alternative Medicine*. 2018;18(1):118.
  29. Hwang YH, et al. The protective effects of alisol A 24-acetate from

- Alisma canaliculatum* on ovariectomy induced bone loss in vivo. *Molecules*. 2016;21(1):74.
30. Fan JZ, et al. *Panax notoginseng* saponins mitigate ovariectomy-induced bone loss and inhibit marrow adiposity in rats. *The J of The North American Menopause Society*. 2016;22(12):1343-50.
  31. Lim DK, Kim JG, Kim YT. Effects of Dietary Isoflavones from *Puerariae Radix* on Lipid and Bone Metabolism in Ovariectomized Rats. *Nutrients*. 2013;5(7):2734-46.
  32. Cao Y, et al. Ginsenoside Rg3 inhibits angiogenesis in a rat model of endometriosis through the VEGFR-2-mediated PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Plos One*. 2017;12(11):e0186520.
  33. Ju Y, Xiao B. Chemical constituents of *Cyperus rotundus* L. and their inhibitory effects on uterine fibroids. *African Health Sciences*. 2016;16(4):16.
  34. Jiang Z, et al. Echinacoside and *Cistanche tubulosa*(Schenk) R, wight ameliorate bisphenol A-induced testicular and sperm damage in rats through gonad axis regulated steroidogenic enzymes. *J of Ethnopharmacology*. 2016;193:321-8.
  35. Miao M, et al. Effect of Cynomorium total flavone on depression model of perimenopausal rat. *Saudi J of Biological Sciences*. 2017;24(1):139-48.
  36. Wang Y, et al. Downregulated RASD1 and upregulated miR-375 are involved in protective effects of calycosin on cerebral ischemia/reperfusion rats. *J of The Neurological Sciences*. 2014;339(1-2):144-8.
  37. Xu Y, et al. Treatment with *Panax ginseng* antagonizes the estrogen decline in ovariectomized mice. *Int J Mol Sci*. 2015;15(5):7827-40.
  38. Wei M, et al. Ovarian Failure-Resistant Effects of Catalpol in Aged Female Rats. *Biol. Pharm. Bull*. 2014;37(9):1444-9.
  39. Kim HG, et al. *Cyperus Rhizoma* inhibits the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced reduction in nigrostriatal dopaminergic neurons in estrogen-deprived mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 2013;148(1):322-8.
  40. Indran IR, et al. Selective Estrogen Receptor Modulator Effects of *Epimedium* Extracts on Breast Cancer and Uterine Growth in Nude Mice. *Planta Med*. 2014;80(1):22-8.
  41. Cai ZL, et al. Tenuigenin ameliorates learning and memory impairments induced by ovariectomy. *Physiology & Behavior*. 2013;118:112-7.
  42. Abolaji AO, et al. A safety assessment of the antimalarial herb *Artemisia annua* during pregnancy in wistar rats. *Phytother Res*. 2013;27(5):647-54.
  43. Park JY, et al. Beneficial effects of *Cirsium japonicum* var. *maackii* on menopausal symptoms in ovariectomized rats. *Food Funct*. 2018;9(4):2480-9.
  44. Wong KL, et al. A Novel, Stable, Estradiol-Stimulating, Osteogenic Yam Protein with Potential for the Treatment of Menopausal Syndrome.

- Scientific Reports. 2015;5:10179.
45. Xu Y, et al. Salvia miltiorrhiza bunge increases estrogen level without side effects on reproductive tissues in immature/ovariectomized mice. AGING. 2017;9(1):156-72.
  46. Wang X, et al. Compounds from cynomorium songaricum with estrogenic and androgenic activities suppress the oestrogen/androgen-induced BPH process. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2017:6438013.
  47. Choi HM, et al. Cinnamomi cortex (*Cinnamomum verum*) suppresses testosterone-induced benign prostatic hyperplasia by regulating 5 $\alpha$ -reductase. Scientific Reports. 2016;6:31906.
  48. Wang C, et al. The prevention and treatment effects of tanshinone II A on oestrogen/androgen-induced benign prostatic hyperplasia in rats. Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology. 2015;145:28-37.
  49. Song SH, et al. Effects of total flavonoids from Drynariae rhizoma prevent bone loss in vivo and in vitro. Bone Reports. 2016;5:262-73.
  50. Weng ZB, et al. Positive skeletal effect of two ingredients of *Psoralea corylifolia* L. on estrogen deficiency-induced osteoporosis and the possible mechanisms of action. Molecular And Cellular Endocrinology. 2015;417:103-13.
  51. Kim MH, et al. Ameliorative effects of *Schiandra chinensis* on osteoporosis via activation of estrogen receptor (ER)- $\alpha$ / $\beta$ . Food Funct. 2015;5(7):1594-601.
  52. Xiao HH, et al. Flavonoids from Herba epimedii selectively activate estrogen receptor alpha (ER $\alpha$ ) and stimulate ER-dependent osteoblastic functions in UMR-106 cells. Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology. 2014;143:141-51.
  53. Wong KC, et al. Drynaria fortunei-derived total flavonoid fraction and isolated compounds exert oestrogen-like protective effects in bone. British J of Nutrition. 2014;110(3):475-85.
  54. Li L, et al. Phytoestrogen Bakuchiol Exhibits In Vitro and In Vivo Anti-breast Cancer Effects by Inducing S Phase Arrest and Apoptosis. Frontiers in Pharmacology. 2016;7:128.
  55. Brooks SC, Elizabeth RL, Herbert DS. Estrogen receptor in a human cell line(MCF-7) from breast carcinoma. J Biol Chem. 1973;248(17):6251-3.
  56. Jerng UM, et al. Recent Studies of Breast Cancer in Traditional Chinese Medicine Journals. The J of Oriental Obstetrics & Gynecology. 2009;22(1):263-78.
  57. Ranki HJ, et al. 17 $\beta$ -Estradiol regulates expression of K<sub>ATP</sub> channels in heart-derived H9c2 cells. JACC. 2002;40(2):367-74.