JOURNAL OF RADIATION INDUSTRY

Original article

17(4) : 327-332 (2023)
https://doi.org/10.23042/radin.2023.17.4.327

관절염 유발 동물 모델에서 이소에고마케톤 함유 패치의 관절염 치료 효과

진창현[1,*], 김예람[2], 한아름[1]

[1]한국원자력연구원 첨단방사선연구소, [2]워싱턴대학교 의과대학 병리면역학과

The Therapeutic Effect of Medical Patches Including Isoegomaketone on the Collagen Antibody-induced Arthritis in Mice

ChangHyun Jin[1,*], Ye-Ram Kim[2] and Ah-Reum Han[1]

[1]Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongeup 56212, Republic of Korea
[2]Department of Pathology and Immunology, Washington University School of Medicine, St. Louis, MO 63110-1093, USA

Abstract This study identified effects of Isoegomaketone for applicable patch on the arthritis in mice. Isoegomaketone (IK) was isolated from *Perilla frutescens*, which is annual herbal traditional medicinal, aromatic, functional food. IK has various physiological effects such as anti-inflammation, anti-oxidant, and anti-cancer. In the previous study, oral administration of IK to a mouse model of collagen antibody-induced arthritis (CAIA), which is similar to human rheumatoid arthritis (RA), alleviated symptoms. In this study, we attached a patch containing IK to mouse skin to demonstrate whether it had the same efficacy as oral administration in CAIA mouse. As a result of measuring the arthritis score, paw volume, and paw thickness, it was confirmed that arthritis symptoms were alleviated in the group to which the patch containing IK was attached. These results show that IK is effective in alleviating arthritis not only through oral administration but also through patches applied to skin, and that it has potential as a material for future patch development.

Key words: Isoegomaketone, Patch, Collagen antibody-induced arthritis, *Perilla frutescens*

1. 서 론

염증 반응은 병원체, 손상된 세포, 독성 화합물 또는 방사선 조사와 같은 유해한 자극에 대한 우리 몸의 반응으로 정의한다. 외부의 공격을 방어하기 위한 우리 몸의 방어 기작인 염증 반응은 매우 정교하게 조절되어야 하는데 제대로 조절되지 못하면 오히려 우리 몸을 손상시키는 원인이 된다[1]. 특히, 생리학적인 염증 반응이 지속적으로 발생하게 되면 만성적인 염증성 질환으로 발전되는데 심혈관 질환, 죽상경화증, 제2형 당뇨병, 류마티스 관절염 및 암과 같은 질환이 대표적인 예이다[2]. 류마티스 관절염은 만성 관절염 다음으로 흔히 발병하는 관절염의 종류로 활막 관절의 내벽에 주로 영향을 미치는 진행성 장애로서 체중 감소, 전신 무력감, 안구 건조, 조기 사망 및 사회경제적 부담을 야기시키는 전신 자가면역 질환이다[3]. 류마티스 관절염의 약물치료는 일반적으로 비스테로이드 항염제, 저용량의 경구 스테로이드, 질병조절 항류마티스제 (disease modifying anti-rheumatic drug, DMARD) 그리고 관절강

http://www.ksri.kr/
Copyright © 2023 by
Korean Society of Radiation Industry
***Corresponding author.** ChangHyun Jin
Tel. +82-63-570-3162 Fax. +82-63-570-3159 E-mail. chjin@kaeri.re.kr
Received 11 October 2023 **Revised** 17 October 2023 **Accepted** 25 October 2023

내 스테로이드 주사 치료 순으로 진행하지만 염증 소견이 심한 경우 진단 후 1~3개월 이내에 바로 DMARD를 처방하기도 한다[4]. 류마티스 관절염 치료제로 사용되는 약물은 위장관, 신장, 심장, 간장 그리고 혈액학적 부작용이 보고되고 있어서[4,5], 장시간의 치료가 요구되는 관절염 같은 만성적 질환의 경우 부작용을 최소화할 수 있는 새로운 치료제 개발에 대한 사회적인 요구가 증가하고 있다.

패치(patch)는 피부에 부착하여 유용 성분들이 피부 또는 혈관으로 전달되도록 하는 비경구 투여제이다. 경피 약물 전달 방식인 패치는 약이 피부를 통해 혈관으로 직접 흡수되어 온몸에 순환하게 되므로 전신성 질환에 적용하기 용이하다[6]. 약물이 혈관을 통해 직접 흡수되어 이동하기 때문에 경구 투여와 달리 흡수 과정이나 간에서 대사되는 과정에서 약물이 손실되는 초회통과효과(first pass effect)를 피할 수 있는 장점이 있다. 또한 비침습적 방법을 사용하기 때문에 혈관에 직접 약물을 주입하는 주사제와 달리 투여 시 환자의 통증을 제거할 수 있고 환자 스스로 부착 및 제거가 용이하므로 약물 부작용 발생 시 언제든 투여를 중단할 수 있는 장점이 있다[6]. 류마티스 관절염은 전신성 자가면역 질환의 일종이므로 패치를 통한 치료가 효과적이고 관련 연구가 진행되어 왔다. 특히 비스테로이드 염증제인 디클로페나크(diclofenac (2-[2-(2,6 dichlorophenyl amino) phenyl]acetic acid))나 DMARDs 치료제의 일종인 leflunomide의 경우 경구 투여 시 위장막, 간장과 같은 소화기 계통에 부작용이 심해 경피 약물 전달 시스템과 같은 새로운 투여 경로를 찾기 위한 연구가 진행되었다[7].

식물 또는 동물 등의 천연물은 안전성과 유효성이 입증된 기록을 통해 식·의약품 및 화장품 소재로의 개발이 활발히 진행되고 있다. 합성화합물을 이용한 신약 소재 발굴은 낮은 성공률과 막대한 자본 투자가 소요되는 단점이 존재하여 전 세계 제약회사는 식물 유래 화합물을 이용한 신약 개발에 관심을 가졌다[8]. 오늘날 항균제, 심혈관제, 면역억제제 및 항암제의 약 80%가 식물에서 유래한 것이다[9]. 하지만 천연물 자체가 유효성분의 함량이 미량이라는 한계가 존재한다. 이러한 한계를 극복하기 위해 다양한 연구가 진행되었고 방사선 육종 기술을 통해 유효성분의 함량이 증가된 신품종을 개발하는 방법도 그중의 하나이다. 방사선 육종은 자연 돌연변이의 발생 빈도를 방사선 조사를 통해 증가시켜 식물체 자체의 유전자 변이를 유도하여 유용 성분의 변화를 이끌어 낼 수 있다[10].

차조기(*Perilla frutescens* var. *crispa*)는 독특한 향을 지닌 꿀풀과(Laminaceae)에 속하는 한해살이 초본으로 동아시아 국가들(한국, 중국, 일본, 타이완, 베트남, 인도 등) 전역에서 널리 재배되고 있다. 차조기는 다양한 유용 성분을 함유하고 있어 전통적인 의학에서 발한, 진해, 건위, 이뇨, 진정 및 진통제로 사용되어 왔다[11]. 차조기의 주요 성분은 친수성 성분으로 페놀산(phenolic acids), 플라보노이드(flavonoids), 안토시아닌(anthocyanins)이 보고되었고, 소수성 성분으로는 휘발성 화합물(volatile compounds), 트리터펜(triterpenes), 피토스테롤(phytosterols), 지방산(fatty acids), 토코페롤(tocopherols) 및 폴리코사놀(policosanols)이 보고되었다[12].

본 연구진은 이전 연구를 통해 방사선 육종 기술로 개발된 차조기 신품종 '안티스페릴'의 이소에고마케톤(isoegomaketone, IK) 성분이 원품종 대비 10배가량 증가한 것을 보고하였다[13]. 이소에고마케톤의 경우 마우스 염증세포인 RAW264.7 세포에서 항염증 효능을 보였고[14], 콜라겐 항체를 이용한 관절염 동물 모델에서 경구 투여하였을 때 증상을 완화시키는 것을 확인하였다[15]. 본 논문에서는 콜라겐 항체 복합체를 이용한 관절염 동물 모델을 제작하였고, 국소 피부 부착형 패치 제제에 '안티스페릴'의 항염증 유효성분인 이소에고마케톤을 첨가하여 피부 흡수를 통한 관절염 증상 완화가 가능함을 확인하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 동물

실험 동물은 4주령의 Balb/c계 수컷 생쥐를 (주)오리엔트바이오(Seongnam, Korea)로부터 구입하였다. 모든 실험 동물은 사료와 물을 제한없이 공급하였으며, 12시간 낮과 밤의 주기, 온도(23±2°C), 습도(55±10%)를 유지하여 사육하였다. 실험에 사용한 동물은 실험 동물의 관리 및 사용 지침(한국원자력연구원 동물 심의 위원회, KAERI-IACUC-2020-021)에 따라 관리하였다.

2.2. 시료 준비

본 실험에서 사용한 이소에고마케톤은 방사선 돌연변이 차조기 '안티스페릴'의 초임계 추출물에서 분리하였다. 차조기 잎은 수확한 후에 40°C 조건에서 12시간 건조시킨 후 제분을 통해 분말 형태로 준비하였다. 초임계 추출은

실험실 규모의 초임계 유체 추출 시스템(Ilshin Autoclave Co., Daejeon, Korea)을 사용하였다. 건조된 차조기 잎 분말(180 g)은 50도, 400 bar 압력에서 이산화탄소를 분당 60 mL 유속으로 통과시켜며 추출하였다. 분리된 이소에고마케톤은 패치 제작을 위해 0.05% Tween 20이 포함된 인산염 완충 식염수(PBS buffer)에 초음파 분해 방식으로 8 mg mL^{-1} 농도로 녹여 용액을 제작한 후 패치 제작에 사용하였다.

2.3. 콜라겐 항체로 유도된 관절염 동물 모델 제작

실험군은 생쥐 8마리를 한 군으로 하여, 관절염을 유도하지 않은 정상 대조군, 관절염을 유발시킨 대조군(CAIA control) 및 이소에고마케톤 함유 패치를 부착한 약물군(CAIA + IK)으로 나누었다. 2형 콜라겐에 대한 4개의 단일클론 항체(ArthritoMab, MD Bioscience, Saint Paul, MN, USA)의 복합체를 20 μg μL^{-1} 농도로 0일차에 생쥐의 꼬리 미정맥에 100 μL 주사하였다. 정상 대조군의 경우 동일한 부피의 멸균된 인산염 완충 식염수를 주사하였다. 3일 후 정상 대조군을 제외한 모든 동물에 LPS (lipopolysaccharide, *Escherichia coli* 055:B5, MD Bioscience)를 0.25 μg μL^{-1} 농도로 복강에 200 μL 주사함으로써 관절염을 유발하였다. 관절염 유발 후 이소에고마케톤이 함유된 패치를 실험군에 부착하였다(Fig. 1). 패치는 메디폼A (Ildong Pharmaceutical, Seoul, Korea)를 원형(지름 1 cm)으로 자른 뒤 준비된 이소에고마케톤 용액 100 μL (0.8 mg)를 골고루 도포하여 제작하였다. 패치의 부착을 위해 마우스 등 쪽의 피부를 제모하고 생체 부착 접착제(Dermabond, Ethicon US LLC, Somerville, New Jersey, USA)를 사용하여 부착하였다.

2.4. 관절염의 임상학적 측정

관절염 유발 후 4일 동안 마우스의 관절염 임상 증상을 하루 한 번 측정하였다. 마우스의 뒷발 부피를 digital plethysmometer (LE5700, Panlab, Spain)을 사용하여 측정하였다. 마우스의 뒷발을 1 mL의 표준 싱커로 보정된 0.2 M NaCl 용액에 담근 후 증가된 부피를 측정하였다. 양쪽 뒷발의 평균 부피를 사용하였다. 마우스의 뒷발의 두께는 digital caliper (Mitutoyo, Andover, UK)를 사용하여 측정하였다. 양쪽 뒷발의 평균 두께를 사용하였다. 관절염 지수는 앞발과 뒷발의 염증이 있는 관절 수를 기반으로 하는 시스템을 사용하여 수행하였다. 관절염 지수는 발 하나당 0 (발적 및 부종이 없음)부터 3 (관절 경직 또는 기형을 동반한 심한 부종)까지 4개의 발에 최대 12로 점수화하였으며 실험을 위해 군별 정보는 제공하지 않고 독립적인 두 실험자가 점수화를 하여 평균으로 결과를 도출하였다.

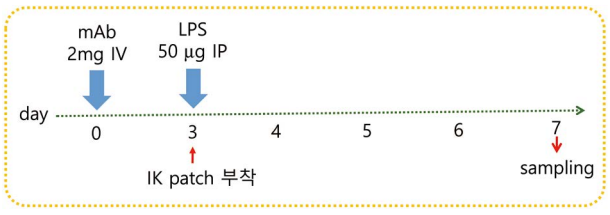

Fig. 1. Timeline representation of induction of collagen antibody-induced arthritis and IK patch treatment.

2.5. 통계학적 검정

결과는 한 그룹당 8마리의 수치에 대한 평균과 표준편차(mean ± SD)로 나타내었으며, 통계학적 유의성 검증은 GraphPad Prism 5.0 분석프로그램의 One-way ANOVA, Tukey's test를 이용하였고, *P* value가 0.05 이하인 경우 유의성이 있는 것으로 표기하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 이소에고마케톤 함유 패치의 적용이 관절염 유도 마우스의 발병 정도에 미치는 영향

류마티스 관절염은 골, 연골, 활막 조직의 근접 부위에서 점진적으로 염증이 발생하여 주위로 전이되는 형태를 보이며 이러한 근접 부위들의 파괴로 인해 통증과 변형이 발생하는 질환이다[16]. 류마티스 관절염에 안전하고 효과적이며 편리한 적용이 가능한 치료 방법이 요구되는 상황에서 본 연구진은 방사선 육종으로 개발된 신품종 차조기 '안티스페릴'의 항염증 유효성분인 이소에고마케톤을 경피 제제로 투여해 효능을 알아보았다. 이소에고마케톤 함유 생체 적용 패치가 피부 흡수를 통해 관절염 생쥐에 치료 효과를 보이는지 확인하기 위해, 이소에고마케톤을 함유한 패치를 제작 후 생쥐 등 쪽 피부에 생체 본드를 이용하여 부착하였다(Fig. 2). 본 연구진은 이전 논문에서 콜라겐 항체를 이용해 관절염을 유도한 마우스에 LPS로 자극을 준 뒤 매일 한 번씩 4일 동안 이소에고마케톤을 5 mg kg^{-1}과 10 mg kg^{-1}의 농도로 경구 투여하였고 10 mg kg^{-1}

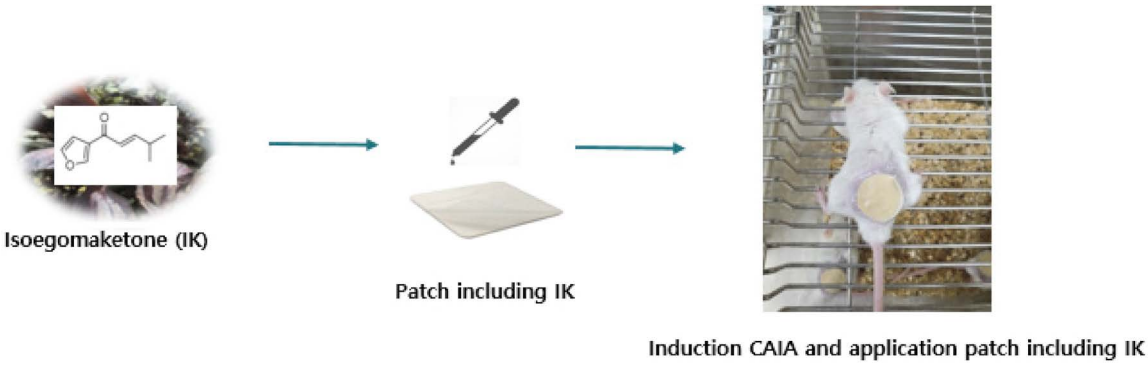

Fig. 2. Application of biocompatible patch including IK on mice skin.

으로 경구 투여하였을 경우 유의적으로 관절염 증상을 감소시킴을 확인하였다[15]. 콜라겐 항체를 이용해 관절염을 유발할 경우 마우스의 체중은 평균적으로 20 g 정도로 유지되는데 이 경우 실험 기간 동안 마우스 한 마리에 경구 투여된 이소에고마케톤의 총량은 0.4 mg에서 0.8 mg이었다. 경구 투여와 달리 패치를 이용할 경우 실험 기간 동안 한 번의 부착이 가능하므로 본 실험에서는 패치당 0.8 mg의 이소에고마케톤을 도포시켰다. 본 실험 이전에 이소에고마케톤을 8 mg mL^{-1} 농도로 녹인 후 마우스 피부를 이용해 경피 제제 용출 시험을 수행한 결과 이소에고마케톤이 마우스 피부를 통과하는 것이 관찰되었고 시간에 대비하여 일정량씩 용출되는 것을 확인하였다. 이러한 결과를 토대로 마우스에 이소에고마케톤 0.8 mg이 도포된 패치를 부착하는 것이 10 mg kg^{-1} 농도로 4번 경구 투여한 것과 유사한 정도의 효과를 보일 것으로 기대되었다. 이소에고마케톤을 경구 투여할 경우 소화기 계통을 거쳐 흡수되고 간에서 대사 과정을 거쳐 혈액에 들어가지만 패치의 경우 피부 흡수를 통해 혈액에 직접적으로 들어간다는 점에서 두 가지 투여 방법의 정확한 용량 비교는 마우스 혈액에서 이소에고마케톤의 양을 비교하는 실험 결과가 추가로 있어야 할 것이다. 콜라겐 항체를 통해 관절염이 유도된 실험군의 경우 실험 7일차에 Fig. 2에서 보듯이 관절염이 심화되어 뒷발에서 부종과 발적이 관찰되었고 발목과 발가락 관절의 변형도 관찰되었다. 그에 반해 이소에고마케톤이 함유된 패치를 부착한 실험군의 경우 관절염 증상이 완화되는 것을 확인하였다(Fig. 3). 따라서 경피를 통한 이소에고마케톤의 투여 역시 경구 투여와 마찬가지로 염증을 완화시키는 효능이 있음을 확인하였다.

Fig. 3. Therapeutic effect of biocompatible patch including IK on CAIA mice. The representative image of mice joint.

3.2. 이소에고마케톤 함유 패치의 적용이 관절염 유도 마우스의 발 두께와 부피에 미치는 영향

콜라겐 항체를 이용해 관절염을 유도할 경우 마우스의 발 두께와 부피의 증가가 가장 두드러지는 질병 심화의 특징이다[17,18]. 복강 내로 LPS를 주사 후 5일차부터 시작하여 7일차까지 관절염 유발군에서 염증에 의한 부종으로 인해 발의 두께가 증가하는 것을 관찰할 수 있었고 이소에고마케톤이 함유된 패치를 부착한 군에서는 두께가 유의적으로 감소하는 것은 확인하였다(Fig. 4A). 뒷발의 부종의 부피를 측정하였을 경우에도 5일차부터 증가하는 것을 확인하였고 이소에고마케톤 패치를 부착한 군에서 두께와 마찬가지로 유의적으로 감소하는 것은 확인하였다(Fig. 4B).

3.3. 이소에고마케톤 함유 패치의 적용이 관절염 유도 마우스의 관절염 지수에 대한 효과

관절염에 대한 이소에고마케톤 함유 패치의 치료적 효과를 전체적으로 판단하기 위해, 관절염 심화 정도에 대해

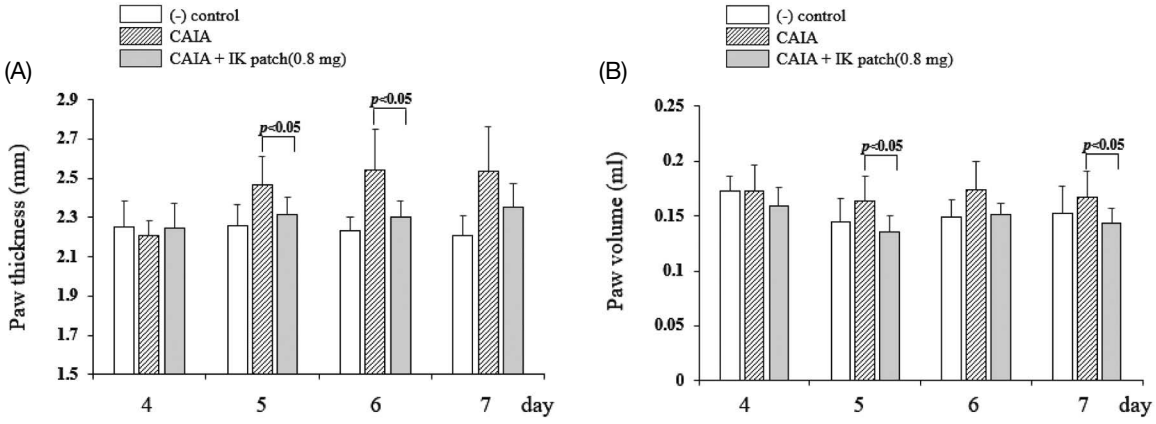

Fig. 4. Effect of biocompatible IK patch on paw thickness (A) and paw volume (B) on CAIA mice. Paw thickness was measured using a digital caliper and paw volume was measured using a digital plethysmometer every day after LPS injection. In both cases, the average value of both hind legs was used. Data are presented as means ± SD ($n = 8$). $P < 0.05$ vs CAIA-group.

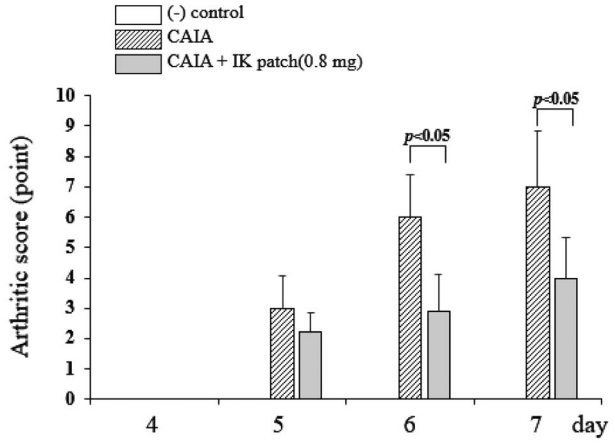

Fig. 5. Effect of biocompatible IK patch on Arthritics score on CAIA mice. Arthritic score was done blindly by using a system based on the number of inflamed joint in front and hind paws, inflammation being defined by swelling and redness at the scale from 0 (no redness and swelling) to 3 (sever swelling with joint rigidity or deformity; maximal score for four paws, 12). Data are presented as means ± SD ($n = 8$). $P < 0.05$ vs CAIA-group.

종합적으로 점수화하였다. 관절염을 유도한 그룹에서 LPS 주입 다음날(5일차)부터 관절염이 심화되는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 5). 이에 비해서 이소에고마케톤 함유 패치를 부착한 군은 유의적인 수준으로 관절염 지수가 개선된 것이 관찰되었다(Fig. 4). 이러한 결과를 종합적으로 정리하면, 이소에고마케톤을 패치에 흡수시켜 제작한 후 경피 투여하는 방식으로 관절염 모델에서 치료적 효과를 확인하였고, 이소에고마케톤이 경피 투여 방식의 치료제 개발에서 유효성분으로 활용될 수 있는 가능성을 확인하였다.

관절염 치료에 효과적이지만 경구 투여 시 발생하는 부작용으로 인해 경피 제제로 개발하려는 연구는 꾸준히 진행 중이다[19]. 방사선 육종 기술을 통해 얻어진 차조기 신품종 '안티스페릴'의 항염증 유효 성분인 이소에고마케톤의 경우도 관절염 마우스 모델에서 경구 투여뿐 아니라 경피 투여에서도 효과를 입증하였기 때문에 다양한 투여 방식으로 관절염 치료제 후보 소재로 개발될 수 있는 가능성을 확인하였다. 이소에고마케톤은 지용성 저분자이기 때문에 경피 제제로 개발할 경우 피부 흡수가 용이하다는 장점을 지니고 있지만, 차조기 특유의 향을 포함하고 있는 휘발성 물질이라는 단점도 존재한다. 이소에고마케톤을 함유한 경피 제제를 개발하기 위해서는 위와 같은 단점을 극복할 수 있는 추가 연구가 필요하다.

4. 결 론

본 연구에서는 방사선 돌연변이 차조기에서 분리한 유용 성분 이소에고마케톤이 관절염 질환에 적용이 가능한 생체 패치의 성분으로 안전성과 가능성을 검증하였다. 패치에 0.8 mg의 이소에고마케톤을 흡수시켜 활용하였으며, 실험 기간 동안 지속적인 염증 완화 효과를 보이는 것으로 보아 실험에 사용한 방식으로 패치에 흡수시켰을 때 유용성분의 변화 혹은 기화 등으로 인한 손실이 크지 않은 것으로 생각된다. 따라서 이소에고마케톤은 경피 투여를 통해 관절염에 대한 치료 효과를 거둘 수 있는 생체 적용 가능한 성분으로의 가치를 확인하였다.

사 사

본 연구는 과학기술정보통신부의 재원으로 한국원자력연구원의 주요사업(523310-23)에 의해 수행되었으며, 그 지원에 감사드립니다

참고문헌

1. Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, Li Y, Wang X and Zhao L. 2018. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget* **9**(6):7204-7218. https://doi.org/10.18632/oncotarget.23208.
2. Furman D, Campisi J, Verdin E, Carrera-Bastos P, Targ S, Franceschi C, Ferrucci L, Gilroy DW, Fasano A, Miller GW, Miller AH, Mantovani A, Weyand CM, Barzilai N, Goronzy JJ, Rando TA, Effros RB, Lucia A, Kleinstreuer N and Slavich GM. 2019. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nat. Med.* **25**(12):1822-1832. https://doi.org/10.1038/s41591-019-0675-0.
3. Guo Q, Wang Y, Xu D, Nossent J, Pavlos NJ and Xu J. 2018. Rheumatoid arthritis: pathological mechanisms and modern pharmacologic therapies. *Bone Res.* **6**:15. https://doi.org/10.1038/s41413-018-0016-9.
4. Kim HA. 2007. The Management of arthritis. *J. Korean Med. Assoc.* **50**(8):743-750. https://doi.org/10.5124/jkma.2007.50.8.743.
5. Meier FMP, Frerix M, Hermann W and Muller-Ladner Ulf. 2013. Current immunotherapy in rheumatoid arthritis. *Immunotherapy* **3**(9):955-974. https://doi.org/10.2217/imt.13.94.
6. Park SJ, Woo SH and Park JY. 2018. Herbal patch analysis in Korean patent. *J. Soc. Prev. Korean Med.* **22**(1):45-59. https://doi.org/10.25153/spkom.2018.22.1.004.
7. Zhang Y, Cun D, Kong X and Fang L. 2014. Design and evaluation of a novel transdermal patch containing diclofenac and teriflunomide for rheumatoid arthritis therapy. *Asian J. Pharm. Sci.* **9**(5):251-259. https://doi.org/10.1016/j.ajps.2014.07.007.
8. Pan SY, Zhou SF, Gao SH, Yu ZL, Zhang SF, Tang MK, Sun JN, Ma DL, Han YF, FongWF and Ko KM. 2013. New perspectives on how to discover drugs from herbal medicines: CAM's Outstanding Contribution to Modern Therapeutics. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* **2013**:627375. https://doi.org/10.1155/2013/627375.
9. Gordaliza M. 2009. Terpenyl-purines from the sea. *Mar. Drugs.* **7**(4):833-849. https://doi.org/10.3390/md7040833.
10. Kang SY, Kim SH, Ryu JH and Kim JB. 2020. Brief history, main achievements and prospect of mutation breeding in Korea. *Korean J. Breed. Sci.* **52**(S):49-57. https://doi.org/10.9787/KJBS.2020.52.S.49.
11. Dhyani A, Chopra R and Garg M. 2019. A review on nutritional value, functional properties and pharmacological application of Perilla (*Perilla frutescens* L.). *Biomed. Pharmacol. J.* **12**(2):649-660. https://doi.org/10.13005/bpj/1685.
12. Ahmed HM. 2019. Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological investigations of *Perilla frutescens* (L.) Britt. *Molecules* **24**(1):102. https://doi.org/10.3390/molecules24010102.
13. Nam BM, So YK, Kim HY, Kim JB, Jin CH and Han AR. 2017. A new monoterpene from the leaves of a radiation mutant cultivar of *Perilla frutescens* var. *crispa* with inhibitory activity on LPS-induced NO production. *Molecules* **22**(9):1471. https://doi.org/10.3390/molcules22091471.
14. Jin CH, Lee HJ, Park YD, Choi DS, Kim DS, Kang SY, Seo KI and Jeong IY. 2010. Isoegomaketone inhibits lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in RAW264.7 macrophages through the heme oxygenase-1 induction and inhibition of the interferon-beta-STAT-1 pathway. *J. Agri. Food Chem.* **58**(2):860-867. https://doi.org/10.1021/jf9033333.
15. Jin CH, So YK, Nam BM, Han SN and Kim JB. 2017. Isoegomaketone alleviates the development of collagen antibody-induced arthritis in male BALB/c mice. *Molecules* **22**(7):1209. https://doi.org/10.3390/molecules22071209.
16. Kim SH and Park YK. 2012. Effects of Atractylodis Rhizoma Alba extract on collagen-induced arthritis in mice. *Kor. J. Herbology* **27**(3):1-6. https://doi.org/10.6116/kjh.2012.27.3.1.
17. Kristine LS, Lily DL, Pawel D, Cynthia S, Diane EG, Ben JD, Thelma SA, Mark SA, Mark AA, Bruce DD, Bruce AR and Matthew MS. 2011. A highly selective, orally active inhibitor of Janus kinase 2, CEP-33779, ablates disease in two mouse models of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.* **13**(2):R68. https://doi.org/10.1186/ar3329.
18. Perilli E, Cantley M, Marino V, Crotti TN, Smith MD, Haynes DR and Dharmapatni AAASSK. 2014. Quantifying not only bone loss, but also soft tissue swelling in a murine inflammatory arthritis model using micro-computed tomography. *Scand. J. Immunol.* **81**(2):142-150. https://doi.org/10.1111/sji.12259.
19. Quan P, Jiao B, Shang R, Liu C and Fang L. 2021. Alternative therapy of rheumatoid arthritis with a novel transdermal patch containing Siegesbeckiae Herba extract. *J. Ethnopharmacol.* **265**:113294. https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113294.