

발효기법을 이용한 SD rat의 갱년기 비만 치료효과에 관한 연구

이정운¹ · 이영철² · 김동현³ · 나혜숙⁴ · 마진열^{1*}

¹한국한의학연구원 한약제제부, ²한국식품연구원, ³경희대학교 약학대학, ⁴한중제약

A Study on the Treatment of SD rat Menopausal Obesity Utilizing Fermentation Techniques

Joung Woon Lee¹, Young Chul Lee², Dong-Hyun Kim³,
Hye Sook Na⁴, and Jin Yeul Ma¹

¹Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon, Korea

²Korea Food Research Institute, Kyunggi-do, Korea

³College of Pharmacy, KyungHee University, Seoul, Korea

⁴Han Zung Pharmaceutical Company, Korea

In our study, osteoporosis was induced by ovariectomized in female Sprague-Dawley (SD) rats, and the prevention and treatment efficacy of the climacteric disease the postmenopausal type I pattern was examined by using the experimental substance soybeans and arrowroot. No clinical signs and mortality after continuous oral administration of experimental substances for 14 weeks were not observed, however, the weight of experimental animals underwent ovariectomized was increased significantly in comparison with control group ($p < 0.01$). The atrophy of the uterus due to T3 group was 23.64 % after 7 weeks, 24.44 % after 14 weeks (in comparison with N.C. group), and it was statistically significantly increased. In regard to the change of blood cells, it was observed that platelets were statistically significantly reduced in the ovariectomized group, and administered orally experimental substances continuously for 7 weeks, in all groups administered experimental substances, it was found that platelets had the tendency to be increased more than N. C. group. In regard to the change of blood biochemistry, removed the ovary, the concentration of ALP showed the tendency to be increased than control group, and particularly in T3 group, it was increased significantly. In regard to the concentration of cholesterol, in comparison with negative control group, it was reduced 68% at 7 weeks and 35% at 14 weeks. After ovariectomized, the amount of estrogen was found to be reduced by 21.37% in comparison with control group, it showed the tendency to be increased by 4.49% in T1 group and 7.62 % in T2 group, the concentration of estrogen in each group showed the tendency to be increased than negative control group, and in T3 group, it was increased to 100.46 % and 117.65% in T4 group, and it was increased more than control group. Based on the above experimental results, in the experimental animals female rats, because of the hormonal imbalance induced by ovariectomized, a large amount of fat is accumulated in the body and due to it, osteoporosis, obesity, hypertension, hyperlipidemia, fat of the liver, arteriosclerosis, diabetes, and other metabolic diseases were developed. Hence, when the experimental substance Extraction of ferment arrowroot was orally administered continuously for 14 weeks, it was thought that a certain proportion of the hormonal balance was maintained that functioned as a substance interfering the accumulation of fat, and it was considered to be of help in the treatment of not only osteoporosis Type I, but also for the prevention and treatment of various endocrinal diseases.

□ **Key words** – fermentation, menopausal obesity, arrowroot

쑥(葛根)^{1,2)}은 콩과(Leguminosae) 식물의 다년생 초본인 쑥의 주피를 제거한 뿌리를 건조한 것으로 한국, 중국, 일본 각 지역의 산에 자생하는 생약이다. 한의학에서는 쑥의 여러 부위, 쑥뿌리를 건조한 것은 갈근, 꽃은 갈화, 열매는 갈곡 또는 갈실, 잎은 갈엽, 덩굴은 갈만을 질병의 증상 및 치료

방법에 따라 각각 다르게 사용하여 왔다.

갈근의 성상은 불규칙한 원주형이고 겉은 자갈색 또는 적갈색이며 세로 간에 주름이 있다. 길이 30 cm, 폭 5~10 cm, 두께는 1 cm 정도이며 판상을 이루고 속은 엷은 회황색을 띠며, 색이 희고 가루가 많고 질이 치밀한 것이 상품으로 알려져 있다. 새로로 갈라지기 쉬우며 종단면은 섬유성이며 냄새는 없고 맛은 완화하며 조금 달다. 약리작용으로 혈류량을 증가시키는 순환기 계통에 대한 작용, 혈당강화 작용, 진정 작용, 해열작용 등이 있으며, 갈근의 유효성분 중 daidzein은

Correspondence to : 마진열
대전시 유성구 전민동 461-24번지
한국한의학연구원 한약제제부(305-811)
Tel: +82-42-868-9475, Fax: +82-42-868-9466
E-mail: jyama@kiom.re.kr

미성숙 마우스의 자궁 중량을 증가시키고 에스트로겐 양을 증가시키는 것으로 보고되어 있다. 특히 한의학에서는 비장이나 위에 작용하여 갈증해소 및 해열작용으로 널리 활용되는 약재이다. 최근에는 약용 이외에 기호식품 및 건강식품 등으로 점차 사용량이 증가되고 있는 추세이다. 갈근 (*Puerariae Radix*)의 주성분은 전분(19~20%)이고 이외에 isoflavonoid계 성분인 puerarin, puerarinxyloside, daidzein 및 daidzin과 β -sitosterol, arachidonic acid를 함유하고 있는 것으로 알려져 있다. 갈화의 성분으로는 kakkalide, kakkatin, kaikasaponin III, soyasaponin I, daidzein, daidzin, genistein, genistin, rutin, quercetin, biochanin A, formononetin, ononin 등이 있으며, 갈엽(*Pueraria Folium*)의 성분은 kaikasaponin III, daidzin, genistein, rutin, robinin, nicotiflorin 등³⁻⁵⁾이 보고되어 있다.

콩은 여러 가지 독을 없애주고 신장계통의 대사 촉진에 좋은 효과를 보인다. 또한 당뇨병이나 귀 울림, 백발 등의 증상을 개선시키는 것으로 알려지고 있다. 검은콩은 단백질과 지질, 비타민 B₁, B₂가 많이 들어 있어 각종 질병의 예방 및 치료 효능이 있어서 민간요법에 이용되어 왔다. 주요성분으로는 lecithin, saponin, isoflavone 등이 함유되어 있으며, 혈액을 깨끗이 하는 작용이 있다. Lecithin은 LDL-cholesterol이 혈관에 쌓이는 것을 막아주며, Saponin은 불포화지방산의 산화를 방지하는 작용이 있다. Isoflavone은 여성 호르몬의 에스트로젠과 유사한 작용을 함으로써 혈액 속에 중성지방이 혈관에 침착되는 것을 막는 것으로 알려져 있다.

콩에는 탄수화물이 35% 함유되어 있으며, 이 중 25%가 제6의 영양소라고 불리는 식이 섬유이고, 10%는 라피로스, 스타키오스 등의 올리고당으로 구성 구성되어 있다. 식이 섬유는 콜레스테롤의 제거와 혈당조절 기능을 가지고 있으며, 특히 제니스타인은 체내 여성 호르몬인 에스트로젠과 동일한 작용을 하기 때문에 phyto-estrogen이라고 불리기도 한다. 주요 기능은 항암 작용으로 특히 유방암, 전립선암 등의 예방에 밀접한 관련이 있다. 또한 체내에서 estrogen과 동일한 기능을 수행하기 때문에 골다공증, 비만 등의 성인병을 예방할 수 있는 것으로 사료된다.

황제내경에서는 비만이 腦血管 疾患, 糖尿病, 動脈硬化의 발생원인이 되며 “肥하면 痰理가 緻密하고 多鬱하여 氣血이 難以通利하여 多卒中한다”고 기록되어 있으며, 비만을 치료하기 위해 노아드레날린(noradrenalin)과 아드레날린(adrenalin)의 열대사 촉진작용을 이용한 갑상선호르몬제(예; levothyroxine, liothyronine)가 사용되었으나, 지방조직을 줄이는데 효과를 나타내기 보다는 제지방체중(lean tissue mass)의 소실을 가속화하고 질소음균형(negative nitrogen balance)을 초래하여 심장독성 등의 부작용을 초래하였다.

식물성 호르몬인 phytoestrogen은 estrogen receptor- α (ER- α) 및 estrogen receptor- β (ER- β)에 대한 친화력이 좋고 생체 이용률은 비교적 낮으나 유방암 등의 부작용이 적어 대체

의약품으로 각광을 받고 있다. 특히 콩 및 콩 가공품 등 식품에 함유된 genistein이나 daidzein 등의 phytoestrogen을 응용하여 장기간 복용할 수 있고 상대적으로 부작용이 거의 없어 이를 이용한 개발, 연구가 진행 중이다.

예로부터 한국은 콩 및 칩의 여러 부위를 민간에서 약용으로 사용하여 왔고 갈근은 phytoestrogen이 다량 함유되어 있다. 이에 본 연구에서는 발효 기법을 이용하여 콩, 갈근, 갈화의 효능을 한층 더 강화시켜 갱년기 질환 예방 및 치료에 대한 효능 연구로 실험동물을 이용하여 본 실험을 실시하였다.

실험재료 및 방법

1. 시험물질

- 1) 명 칭 : T1 (extraction of soybeans)
- T2 (extraction of ferment soybeans)
- T3 (extraction of ferment arrowroot)
- T4 (extraction of ferment arrowflower)

시험물질은 멸균 생리식염수 (중외제약 주식회사)로 녹여서 사용하였다.

2. 시험동물

Rat(SD), Female ((주) 오리엔트, 서울시 금천구 가산동 459-24) 8주령(사용동물수 : 90마리)는 약리 효능시험에 적당한 실험동물로 널리 사용되고 있다. 본 계통의 Rat는 풍부한 시험 기초자료가 축적되어 있어서, 시험결과와 해석 및 평가 시 이러한 자료를 이용하는 것이 가능하다.

동물입수 시 외관을 육안으로 검사한 후, 7일간 시험을 실시하는 동물실에서 순화시키면서(온도 23±3°C, 상대습도 50±10%, 조명시간 12시간, 조도 150~300 Lux) 난소 적출술을 시행하였다. 난소적출 7일 후, 군분리하여 건강한 동물만 선별하여 시험에 사용하였다.

3. 투여량 및 시험군의 구성

시험물질 건조함량 5 g/kg을 용매로 추출하여 투여용량 10 mg/kg으로 투여하였다.

시험군의 구성, 투여농도 및 용량

군	동물수 (마리)	동물번호	투여액량 (g/kg)	투여량 (ml/kg)
C	15	1~15	0	10
N.C	15	16~30	0	10
T1	15	31~45	5	10
T2	15	46~60	5	10
T3	15	61~75	5	10
T4	15	76~90	5	10

C; Control group, N.C; Negative control group, T1; Extraction of soybeans group, T2; Extraction of ferment soybeans, T3; Extraction of ferment arrowroot group, T4; Extraction of ferment arrowflower group.

동물의 군분리는 다음과 같이 실시하였다. 먼저, 순화기간 중 건강하다고 판정된 동물의 체중을 측정 후, 5g 간격으로 구분하여 각각의 평균체중에 가까운 동물 90마리를 선택하였다. 여기서 Control 군은 난소적출을 하지않은 군이며, Negative Control (N.C)과 시험군들은 rat에서 난소를 적출한 군이다. 난소 적출 후 1주 정도 순화한 뒤 그 중 건강한 흰 쥐들만을 사용하여 군분리에 이용하였다. 이렇게 선택된 90마리를 각 군에 15마리씩 균등한 체중으로 분배되도록 순위화한 체중과 난수를 이용한 무작위법으로 분배하였다. 동물의 개체식별은 피모의 색소염색법과 개체식별카드 표시법으로 실시하였다.

4. 시험물질의 투여

각각의 시험물질은 진조함량(5 g/kg)을 기준으로 멸균 생리식염수(10 ml/kg)에 녹여 투여물질로 사용하였으며, 배부피부 고정법으로 실험동물을 고정하고 경구투여용 금속제 존데와 주사관을 이용하여 위내에 강제 경구투여 하였다. 대조군 및 N.C군은 주사용 멸균 생리식염수(10 ml/kg)를 투여하였다. 투여횟수는 오전에 개체별로 7회/주, 경구 투여하였다. 투여기간은 7주 및 14주로 결정하였으며, 투여액은 매주 1회 측정된 체중을 기준으로 하여, 각각의 군별 투여량에 맞게 투여액을 계산하였다.

5. 실험방법

5-1) 난소 적출술

마취약(염산 ketamine 50 mg/ml, 유탄양행 + xylazine 20 mg/ml, 바이엘코리아주식회사)을 시험동물(Female Rat)에 근육 주사 (ketamine 0.2 ml, xylazine 0.1 ml)하여 전신마취 시킨 다음, 하복부의 털을 제거하고 동물의 체위를 반듯이 눕힌 상태에서 요오드(삼일제약)로 수술부위를 소독한 후, 난소 적출을 시행하였다. 시험동물의 정중선을 중심으로 하복부에서 1 cm정도로 피부, 복근 및 복막을 차례로 절개하고 소독된 핀셋으로 난소를 노출시켜 난관을 건사로 결찰한 후, 좌측 및 우측의 난소를 제거하였다. 감염방지를 위해 항생제(셀파포르테-4, 유니화학주식회사) 0.4 ml를 복강내 주입하였고 건사로 복막, 복근 및 피부를 봉합하였다.

5-2) 동물 증상관찰 및 체중측정

투여기간 동안 매일 1회 Irwin test방법을 이용하여 일반증상¹⁴⁾ 변화 및 사망동물의 유무를 관찰하였으며, 시험에 사용된 모든 동물에 대하여 1회/주(A.M.; 10시) 체중을 측정하였다.

5-3) 부검조건

투여 7주 및 14 주째에 Ether 마취 하에서 하복부를 개방한 후, 복대동맥에서 채혈하였으며 내부 장기를 육안으로 관찰하였다.

5-4) 장기무게 측정

부검시 채혈한 후, 간혈은 방혈하였으며 자궁, 뇌, 뇌하수체, 비장, 부신, 신장, 간, 폐 및 심장의 무게를 저울(Mettler, AT261)을 이용하여 측정하였다.

5-5) 혈구분석

혈액학적 검사는 WBC (white blood cell), RBC (red blood cell), HGB (hemoglobin), HCT (hematocrit), MCHC (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration), MCH (Mean Corpuscular Hemoglobin), MCV (Mean Corpuscular Volume), PLT (platelet)를 혈구분석기 Coulter counter (Coulter Co., Miami, FL, U.S.A)를 이용하여 측정하였다.

5-6) 혈액 생화학

생화학분석기를 사용하여 무기인, 칼슘, ALP (alkaline phosphatase), Total cholesterol, HDL-cholesterol (High density lipoprotein), LDL-cholesterol (Low density lipoprotein), T.G (Triglyceride) 농도를 각각 측정하였다.

5-7) Estrogen 측정

실험은 estrogen에 대한 항체를 이용한 radioimmunoassay 법을 이용하였다¹⁹⁾. Rat의 혈액에서 혈청을 분리하여 방사능을 표지한 anti-antibody를 일정량 처리한다. 그 다음 4°C에서 15분간 방치 후 Gamman Counter (Wallac, Turku Finland)로 측정하였다.

5-8) 복부지방 측정

부검시 동물의 Body Weight를 측정하였으며, 복벽지방 및 복부지방을 분리하고 동물 장기 측정용 저울(Mettler, PM 2000)을 사용하여 무게를 측정하였다.

6. 통계학적 방법

모든 실험군에 대하여 동물측정용 저울로 체중을 측정하고 평균과 표준 편차를 구하였다. 용매 대조군과 처치군 사이의 통계학적 유의차는 Dunnett test에 의하여 검정하였고, $p < 0.05$ 를 실험군간의 유의성 있는 차이로 판정하였다.

실험결과

1. 일반증상 및 사망동물

시험기간 중, 시험물질 투여에 의한 이상증상 및 사망동물은 관찰되지 않았다(Table 1).

2. 체중측정

난소를 적출한 시험동물의 체중이 대조군에 비해 1주부터 유의성($p < 0.01$)있게 증가되었으며, 여기에 시험물질 2주간 연속 경구투여 시 증가됐던 체중이 T3군에서 유의성($p < 0.01$)있

Table 1. Clinical signs of female rats orally treated with substances.

Variable	\ Sex	Female					
	\ Group	C	N.C	T1	T2	T3	T4
	\ Dose(g/kg)	0	0	5	5	5	5
	\ No. of animal	15	15	15	15	15	15
normal		15	15	15	15	15	15
abnormal		0	0	0	0	0	0

C; Control group, N.C; Negative control group, T1; Extraction of soybeans group, T2; Extraction of ferment soybeans, T3; Extraction of ferment arrowroot group, T4; Extraction of ferment arrowflower group.

게 감소됐음을 확인하였다(Table 2).

위축 현상이 관찰되었다(Table 3, Photo 1).

3. 부검소견

부검소견에서는 모든 투여 군에서 시험물질 투여와 관련된 이상소견은 나타나지 않았다. 그러나 난소 적출에 의한 자궁

4. 장기무게 측정

시험물질 투여에 의한 장기의 육안적 이상 변화는 관찰되지 않았으나, 난소 적출에 의한 자궁 위축 현상이 N.C 군에

Table 2. Body weight change in female rats orally administered with test substances for 14 weeks

Variable	\ Sex	Female					
	\ Group	C	N.C	T1	T2	T3	T4
	\ Dose(g/kg)	0	0	5	5	5	5
	\ No. of animal	15	15	15	15	15	15
Administration (AD before)		253.76 ^a (18.62) ^b	266.8 (17.22)	265.45 (20.31)	267.67 (15.77)	268.9 (18.07)	265.38 (16.15)
Administration (1 week)		261.62** (18.91)	284.54 (16.6)	283.82 (21.09)	278.82 (14.3)	281.36 (19.63)	282.33 (15.07)
Administration (2 weeks)		272.73** (20.51)	309.07 (18.92)	296.16 (20.40)	298.74 (17.61)	283.46** (19.23)	306.37 (18.34)
Administration (3 weeks)		277.97** (22.81)	327.18 (22.7)	318.98 (22.59)	314.46 (17.6)	288.25** (19.45)	320.4 (22.2)
Administration (4 weeks)		283.61** (24.85)	337.82 (23.77)	328.44 (23.77)	325.15 (17.3)	294.3** (16.67)	325.04 (21.02)
Administration (5 weeks)		286.78** (22.49)	350.23 (25.15)	340.16 (24.97)	334.67 (19.82)	307.56** (18.79)	341.43 (24.3)
Administration (6 weeks)		293.93** (24.36)	354.71 (23.24)	344.39 (25.04)	342.11 (18.97)	302.67** (17.56)	344.94 (24.64)
Administration (7 weeks)		302.87** (27.47)	360.98 (23.66)	351.35 (26.08)	347.26 (20.41)	307.04** (18.14)	356.88 (26.01)
Administration (8 weeks)		303.83** (30.6)	366.96 (25.52)	354.38 (28.76)	350.98 (21.31)	310.76** (17.38)	359.33 (27.1)
Administration (9 weeks)		306.33** (29.18)	372.22 (24.34)	360.03 (25.26)	357.08 (23.21)	313.63** (18.54)	368.11 (30.32)
Administration (10 weeks)		310.62** (29.65)	365.85 (21.87)	351.68 (24.52)	347.9 (21.42)	309.78** (16.1)	361.63 (30.64)
Administration (11 weeks)		313.63** (32.08)	374.02 (24.44)	361.8 (24.59)	356.84 (22.5)	319.81** (15.87)	372.41 (32.26)
Administration (12 weeks)		316.27** (33.13)	383.13 (24.81)	371.33 (25.53)	365.01 (24.44)	324.01** (20.34)	382.7 (34.56)
Administration (13 weeks)		324.03** (35.53)	385.35 (25.74)	372.56 (26.18)	369.17 (24.68)	332.45** (19.5)	385.59 (36.48)
Administration (14 weeks)		324.54** (33.33)	390.38 (28.73)	373.3 (27.38)	374.12 (25.04)	327.56** (19.73)	391.79 (37.52)

a; Values were expressed as mean, b; ±S.D., Statistically Significant different from Negative Control group(*p<0.05, **p<0.01). C; Control group, N.C; Negative control group, T1; Extraction of soybeans group, T2; Extraction of ferment soybeans, T3; Extraction of ferment arrowroot group, T4; Extraction of ferment arrowflower group.

Table 3. Autopsy finding of female rats orally treated with test substances for 7(A) & 14(B) weeks

A)

Sex	Female					
	C ¹⁾	N.C ²⁾	T1 ³⁾	T2 ⁴⁾	T3 ⁵⁾	T4 ⁶⁾
Group						
Dose(g/kg)	0	0	5	5	5	5
No. of animal	5	5	5	5	5	5
Normal	5	0	0	0	1	0
Uterus Atrophy						
Minimal		5	5	5	4	5
Moderate		0	0	0	3	0
Severe		1	1	3	1	4
		4	4	2	0	1

B)

Sex	Female					
	C ¹⁾	N.C ²⁾	T1 ³⁾	T2 ⁴⁾	T3 ⁵⁾	T4 ⁶⁾
Group						
Dose(g/kg)	0	0	5	5	5	5
No. of animal	10	10	10	10	10	10
Normal	10	0	0	0	0	0
Uterus Atrophy						
Minimal		10	10	10	10	10
Moderate					4	0
Severe		2	5	6	6	7
		8	5	4	0	3

Autopsy finding at 7 & 14 weeks treatment of Test Substances, ¹⁾Control group, ²⁾Negative control group, ³⁾Extraction of soybeans group, ⁴⁾Extraction of ferment soybeans group, ⁵⁾Extraction of ferment arrowroot group, ⁶⁾Extraction of ferment arrowflower group.

서 뚜렷이 나타났다. 그러나 시험물질 투여 T3군에서는 음성 대조군 보다 위축된 정도가 7주 23.64 %, 14주에는 24.44 %에 그쳐 통계적으로 유의성(p<0.05) 있게 자궁위축 정도가 감소되었다. 비장 장기는 대조군에 비해 난소 적출군에서 종대 되었으며 시험물질(갈근발효 추출액 및 갈화발효 추출액) 14주 연속 경구투여 시, 비대된 비장 장기를 유의성(p<0.05) 있게 감소시켰다(Table 4).

5. 혈구분석

난소 적출군에서 혈소판이 대조군에 비해 유의성(p<0.05)

있게 감소된 것이 관찰되었다. 그러나 시험물질 7주간 연속 경구투여 시, 모든 군에서는 혈소판이 음성대조군에 비해 증가되는 경향을 보였다. 특히 14주간 시험물질 투여 T3군에서는 음성 대조(N.C)군에 비해 유의성(p<0.05) 있게 증가되었다(Fig. 1).

6. 혈액 생화학

시험물질을 투여한 T3군에서 Total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol 및 T.G가 음성 대조군에 비해 유의성(p<0.01) 있게 감소되는 경향을 보였으며 ALP 농도는 난소 적출시 증가되는 경향으로 나타났다. 특히 T3군에서 대조군에 비해 254 % 증가되었다. 혈청내 인산염 및 칼슘의 농도는 실험군에서 이상이 관찰되지 않았다(Table 5).

7. 호르몬 측정

난소적출시 에스트로겐 함량은 대조군에 비해 21.37 % 감소하는 것으로 나타났으며 시험물질 투여 T1군 4.49 %, T2 군 7.62 %로 각각의 에스트로겐 농도는 음성대조군 보다 증가하는 경향을 보였으며 시험물질 투여 T3군 100.46 %, T4 군 117.65 %로 대조군 보다 각각 증가되었다. 특히 T4군은 통계적으로 유의성(p<0.01) 있게 관찰되었다(Table 6)

8. 복부지방 측정

시험동물 부검 시, 난소 적출 음성대조군에서 복부지방이 유의성(p<0.01) 있게 증가되었다. 그러나 시험물질 14주간 연속경구 투여군에서는 복부지방이 음성대조군에 비해 유의성(p<0.01) 있게 감소되었다(Table 7). 따라서 난소적출 14주 복부지방은 대조군에 비해 N.C군 264 % 증가하였으나 T3 군은 81 %로 대조군에 비해 오히려 복부지방이 감소되었다(Photo 2).

고찰 및 결론

식물성 에스트로젠은 isoflavone류, coumestan류, 그리고 lignan류로 분류할 수 있는데, 이들은 hormone 작용, protein

C N.C T3

Photo 1. Effect of test substances treated orally for 14 weeks on uterus photomicrograph of female rats(H-E stain, x40). C; control group, normal arrangement of uterus cells. N.C; Negative control group, atrophy arrangement of severe uterus cells. T3; Extraction of ferment arrowroot group, atrophy arrangement of minimal uterus cells.

Table 4. Relative organ weight of female rats orally treated with test substances for 7(A) & 14(B) weeks.

A)

Sex	Female					
Group	C	N.C	T1	T2	T3	T4
Dose(g/kg/day)	0	0	5	5	5	5
No. of animal	5	5	5	5	5	5
Uterus (g)	0.65(0.18)**	0.10 ^a (0.02) ^b	0.10(0.01)	0.10(0.01)	0.23(0.04)	0.11(0.02)
Lung (g)	1.24(0.12)	1.31(0.24)	1.45(0.15)	1.52(0.14)	1.32(0.08)	1.40(0.08)
Heart (g)	0.85*(0.06)	1.05(0.09)	1.10(0.09)	1.09(0.09)	0.87*(0.08)	1.11(0.16)
Liver (g)	6.47(0.63)	7.55(0.9)	8.4(0.61)	8.39(1.42)	7.76(0.48)	8.17(0.66)
Spleen (g)	0.40**(0.05)	0.58(0.07)	0.62(0.10)	0.58(0.1)	0.58(0.09)	0.64(0.06)
Kidney left (g)	0.77(0.07)	0.79(0.07)	0.89(0.09)	0.87(0.07)	0.80(0.07)	0.92(0.13)
Kidney right (g)	0.77(0.05)	0.79(0.08)	0.87(0.06)	0.88(0.04)	0.81(0.08)	0.92(0.13)
adrenal gland L	0.03(0.01)	0.03(0.02)	0.03(0.0)	0.03(0.01)	0.02(0.0)	0.03(0.0)
adrenal gland R	0.03(0.0)	0.03(0.01)	0.03(0.01)	0.03(0.01)	0.02(0.01)	0.02(0.01)

B)

Sex	Female					
Group	C ¹⁾	N.C ²⁾	T1 ³⁾	T2 ⁴⁾	T3 ⁴⁾	T4 ⁶⁾
Dose(g/kg/day)	0	0	5	5	5	5
No. of animale	10	10	10	10	10	10
Uterus (g)	0.54**(0.09)	0.09(0.2)	0.1(0.01)	0.11(0.3)	0.2(0.05)	0.11(0.01)
Brain (g)	1.94(0.13)	1.94(0.07)	1.95(0.15)	1.94(0.1)	1.91(0.11)	1.95(0.12)
hypophysis (g)	0.0187(0.004)	0.0157(0.002)	0.0136(0.001)	0.0119(0.10)	0.0151(0.001)	0.0137(0.001)
Lung (g)	1.32(0.13)	1.42(0.17)	1.44(0.18)	1.4(0.17)	1.33(0.11)	1.35(0.15)
Heart (g)	0.92(0.11)	0.93(0.06)	0.93(0.05)	0.93(0.07)	0.88(0.07)	0.99(0.11)
Liver (g)	6.64(0.73)	6.91(1.07)	6.51(1.01)	6.23(0.65)	6.65(0.75)	6.48**(0.55)
Spleen (g)	0.44**(0.05)	0.61(0.15)	0.51*(0.08)	0.53(0.07)	0.50*(0.06)	0.50*(0.03)
Kidney left (g)	0.78(0.07)	0.79(0.08)	0.76(0.07)	0.76(0.09)	0.75(0.07)	0.76(0.07)
Kidney right (g)	0.81(0.07)	0.8(0.06)	0.75(0.07)	0.76(0.11)	0.76(0.06)	0.76(0.09)
adrenal gland L(g)	0.03(0.00)	0.03(0.00)	0.03(0.00)	0.02(0.01)	0.02(0.00)	0.02(0.00)
adrenal gland R(g)	0.03(0.01)	0.03(0.00)	0.02(0.00)	0.02(0.01)	0.03(0.01)	0.02(0.00)

a; Values were expressed as mean, b; \pm S.D., Statistically Significantly different from Negative Control group(* p <0.05, ** p <0.01). Relative organ weight at 14 weeks after treatment of test substances. ¹⁾Control group, ²⁾Negative control group, ³⁾Extraction of soybeans group, ⁴⁾Extraction of ferment soybeans group, ⁵⁾Extraction of ferment arrowroot group, ⁶⁾Extraction of ferment arrowflower group.

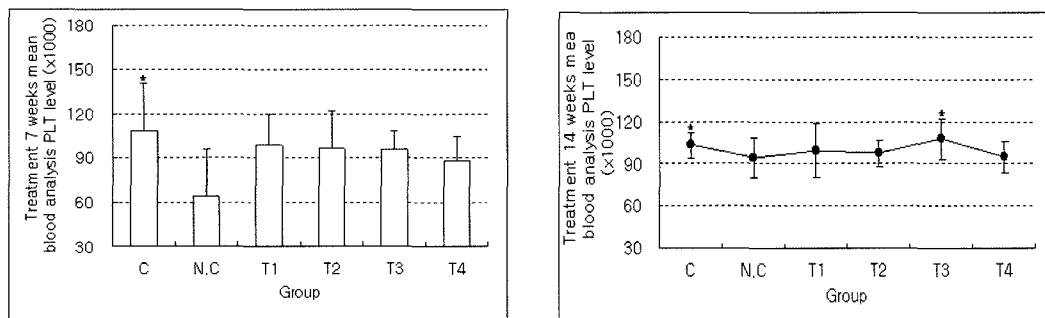


Fig. 1. Effect of test substances treated orally for 7 (left) & 14 (right) weeks on platelet values of female rats. C; Control group, N.C; Negative control group, T1; Extraction of soybeans group, T2; Extraction of ferment soybeans, T3; Extraction of ferment arrowroot group, T4; Extraction of ferment arrowflower group. Statistically Significantly different from negative control group (* p <0.05).

tyrosine kinase 및 DNA topoisomerase와 관련한 종양세포 분화 및 mitogenesis, 신 혈관 생성작용, 항산화 작용, 골다

공증 등의 생리적 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다⁶⁾. 또한, 폐경기 이후 여성호르몬 부족에 의해 혈중 콜레스테롤

Table 5. Biochemical serum values of female rats orally treated with test substances for 7(A) & 14(B) weeks.

A)

Variable	\ Sex		Female					
	\ Group		C	N.C	T1	T2	T3	T4
	\ Dose(g/kg/day)		0	0	5	5	5	5
	\ No. of animal		5	5	5	5	5	5
Total cholesterol(mg/dl)			88.8 ^a	109.8	123.0	105.2	35.4**	112.8
SD			(18.65) ^b	(20.29)	(18.56)	(13.26)	(5.32)	(16.84)
HDL-cholesterol(mg/dl)			74.28	89.14	95.96	83.98	22.8**	92.42
SD			(12.65)	(12.24)	(11.64)	(10.16)	(9.64)	(14.09)
LDL-cholesterol(mg/dl)			10.2	9.2	10.6	7.8	4.6*	12.4
SD			(5.54)	(1.3)	(2.97)	(1.3)	(1.52)	(3.91)
Triglyceride(mg/dl)			24.6	43.2	46.0	49.8	30.8	34.4
SD			(22.3)	(27.7)	(34.43)	(45.77)	(7.4)	(38.8)
Alkaline phosphatase(IU/L)			110.4*	237.4	246.8	188.4	280.8	261.2
SD			(31.67)	(81.05)	(62.21)	(10.19)	(74.12)	(93.96)
Phosphate(mg/dl)			5.94	6.62	6.24	6.08	6.4	6.98
SD			(1.17)	(1.16)	(0.33)	(0.93)	(0.51)	(1.36)
Calcium(mg/dl)			10.4	10.02	10.02	10.14	10.0	10.48
SD			(0.35)	(0.44)	(0.4)	(0.38)	(0.26)	(0.61)

B)

Variable	\ Sex		Female					
	\ Group		C ¹⁾	N.C ²⁾	T1 ³⁾	T2 ⁴⁾	T3 ⁵⁾	T4 ⁶⁾
	\ Dose(g/kg/day)		0	0	5	5	5	5
	\ No. of animal		10	10	10	10	10	10
Total cholesterol(mg/dl)			112.92 ^a	96.83	101.45	104.36	63.0**	107.5
SD			(31.22) ^b	(15.83)	(14.58)	(16.67)	(28.38)	(20.77)
HDL-cholesterol(mg/dl)			90.82	83.63	86.82	90.26	55.34**	92.73
SD			(20.99)	(12.82)	(9.51)	(12.35)	(24.84)	(16.71)
LDL-cholesterol(mg/dl)			10.33	7.42	9.18	8.09	5.2**	7.58
SD			(6.01)	(1.93)	(2.79)	(2.51)	(1.87)	(2.15)
Triglyceride(mg/dl)			36.6	36.67	33.5	39.91	25.1	57.83
SD			(21.2)	(17.66)	(26.8)	(25.03)	(11.62)	(41.25)
Alkaline phosphatase(IU/L)			124.42	150.08	174.18	188.09	243.3**	168.0
SD			(52.88)	(42.97)	(31.7)	(48.38)	(45.45)	(38.51)
Glucose(mg/dl)			106.27	89.10	88.89	98.55	102.4	97.64
SD			(25.25)	(23.7)	(15.48)	(34.6)	(29.62)	(18.88)
Phosphate(Pi)(mg/dl)			5.18	4.88	5.18	4.73	5.48	5.23
SD			(1.24)	(0.75)	(0.81)	(0.75)	(0.95)	(0.67)
Calcium(mg/dl)			10.69**	9.97	10.15	9.95	9.94	10.23
SD			(0.8)	(0.29)	(0.51)	(0.32)	(0.3)	(0.37)

a; Values were expressed as mean, b; \pm S.D., Serum biochemical values at 14 weeks after treatment of test substances. ¹⁾Control group, ²⁾Negative control group, ³⁾Extraction of soybeans group, ⁴⁾Extraction of ferment soybeans group, ⁵⁾Extraction of ferment arrowroot group, ⁶⁾Extraction of ferment arrowflower group. Statistically Significant from Negative control(** $p < 0.01$, * $p < 0.05$)

양을 증가시키며 이로 인해 LDL-cholesterol이 증가된다⁷⁾. 폐경기 환자에게 estrogen을 투여할 경우 LDL-cholesterol은 감소하고 HDL-cholesterol은 증가한다고 알려져 있다^{8,9)}. Estrogen의 사용에 의한 부작용으로는 생식능력 이상, 고환이나 유방암과 같은 에스트로젠 의존적인 암의 발병률 증가 등을 유발시킨다¹⁰⁻¹²⁾.

본 연구에서 Sprague-Dawley계 Female의 난소적출 모형을¹³⁾ 이용하여 여성의 폐경기를 유발하였으며, 폐경기 이후

갱년기 질환의 예방 및 치료효능 연구에 사용하였다.

시험물질 14주간 연속경구 투여에 의한 임상증상 및 사망 동물은 관찰되지 않았으나 난소를 제거한 시험동물의 체중이 대조군에 비해 1주부터 유의성($p < 0.01$)있게 증가되었다. 단, T3군에 있어서 증가된 체중이 유의성($p < 0.01$)있게 감소됨을 확인하였다.

부검소견으로는 모든 투여 군에서 시험물질 투여와 관련된 이상소견은 나타나지 않았으며, 난소 적출에 의한 자궁 위축

Table 6. Hormone values of rats orally treated with test substances for 14 weeks.

Variable	Sex Group Dose(g/kg/day)	Female					
		C	N.C	T1	T2	T3	T4
		0	0	5	5	5	5
AD 14 weeks	estrogen(pg/dl)	183.38 ^a (44.37) ^b	144.2 (48.64)	175.14 (38.86)	169.4 (38.06)	184.22 (32.36)	215.75** (42.88)

a; Values were expressed as mean, b; \pm S.D., Statistically significantly different from Negative Control group($p < 0.01$). Sternum & Femur bone density values at 14 weeks after treatment of test substance. C; Control group, N.C; Negative control group, T1; Extraction of soybeans group, T2; Extraction of ferment soybeans, T3; Extraction of ferment arrowroot group, T4; Extraction of ferment arrowflower group.

Table 7. Body fatty values of female rats orally treated with test substances for 14 weeks.

Variable	Sex Group Dose(g/kg/day) No. of animal	Female					
		C ¹⁾	N.C ²⁾	T1 ³⁾	T2 ⁴⁾	T3 ⁵⁾	T4 ⁶⁾
		0	0	5	5	5	5
		10	10	10	10	10	10
Abdominal wall Fatty(g)		3.83** (1.85)	9.72 ^a (2.74) ^b	7.31 (1.67)	7.04 (1.87)	3.48** (1.23)	8.68 (3.97)
Abdominal Fatty(g)		6.7** (1.76)	18.03 (7.36)	14.34 (4.6)	12.98* (3.94)	5.05** (2.55)	17.22 (3.31)
Total Fatty tissue(g)		10.53	27.75	21.65	20.02	8.53	25.9

a; Values were expressed as mean, b; \pm S.D., Body lipid values at 14 weeks after treatment of test substances. ¹⁾Control group, ²⁾Negative control group, ³⁾Extraction of soybeans group, ⁴⁾Extraction of ferment soybeans group, ⁵⁾Extraction of ferment arrowroot group, ⁶⁾Extraction of ferment arrowflower group. Statistically Significant from Negative control(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)

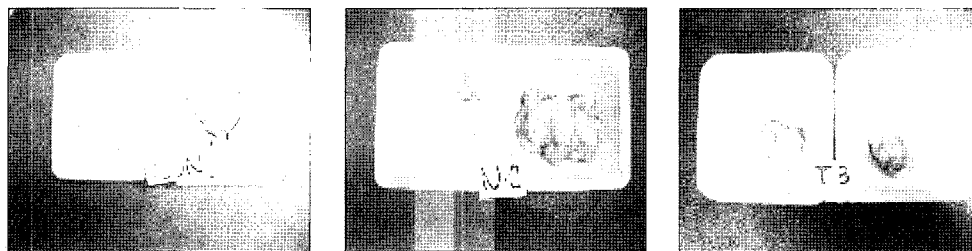


Photo 2. Effect of test substances treated orally for 14 weeks on abdominal total fatty changes value photo of Female rats. C; Control group, N.C; Negative control group, T3; Extraction of ferment arrowroot group.

현상이 N.C(음성대조) 군에서 뚜렷이 관찰되었다. 그러나 시험물질을 투여한 T3군에서는 음성대조군 보다 위축된 정도가 7주 23.64 %, 14주에는 24.44 %로 통계적으로 유의성($p < 0.05$) 있게 자궁위축 정도가 감소되었다. 또한 비장 장기는 대조군에 비해 난소 적출군에서 종대 되었으며, 이에 시험물질 T3 및 T4를 14주간 연속 경구투여 시, 비대된 장기를 유의성($p < 0.05$) 있게 감소시켰다.

혈구변화는 난소 적출군에서 혈소판이 대조군에 비해 유의성($p < 0.05$) 있게 감소된 것이 관찰되었으며, 시험물질 7주간 연속 경구투여 시, 모든 시험물질 투여 군에서 혈소판이 음성대조군에 비해 증가되는 경향을 보였다. 특히 14주간 시험물질 투여 T3군에서는 음성 대조군에 비해 유의성($p < 0.05$) 있게 증가되었다. 이는 시험물질이 생체내 면역세포에 영향을 미친 것으로 사료된다.

더불어, SD(Rat) 암컷의 난소제거 시, ALP의 농도는 대조

군보다 증가되었으며 시험물질 투여 T3군에서 혈청내(7주 및 14주차) ALP 농도의 증가폭이 더 유의성($p < 0.01$) 있게 나타났으며, phosphate 및 calcium의 농도는 대조군과 비교하여 모든 군에서 변화는 관찰되지 않았다. 콜레스테롤 농도는 T3군에서 음성대조군에 비해 7주 68%, 14주 35% 각각 감소되었다. 위의 측정 결과로 보아 시험물질 T3는 steroid hormone, sex hormone의 선구물질인 cholesterol이 estrogen으로 대사되는 것을 촉진시킨 것으로 추측할 수 있다. 또한 동맥경화증의 중요 발병요인인 LDL-cholesterol 양은 7주 50 %, 14주 30%, 혈중 중성지방은 7주 29%, 14주 32% 감소가 확인되었다. 따라서 시험물질 T3군에서 모든 cholesterol이 유의성 있게($p < 0.01$) 감소됨을 확인하였다.

난소 적출시 에스트로겐 함량은 대조군에 비해 21.37% 감소하는 것으로 나타났으며 시험물질 투여 T1군 4.49%, T2군 7.62%로 각각 에스트로겐 농도는 음성대조군 보다 증가

하는 경향을 보였으며 시험물질 투여 T3군 100.46%, T4군 117.65%로 대조군 보다 각각 증가되었다. 특히 T4군은 통계적으로 유의성($p < 0.01$) 있게 나타났다.

일반적으로 비만은 과량의 에너지 섭취 또는 에너지 소비 저하로 인한 열량대사의 불균형으로 체내에 과량의 지방이 축적되고 이로 인하여 성인병 등의 각종 대사성 질환을 유발할 수 있다¹⁴⁻¹⁸). 그러나 갱년기 비만은 노화에 의한 호르몬 불균형에 의해 체지방이 증가되는 현상이다. 복부지방은 난소 적출 음성대조군에서 대조군 보다 유의성($p < 0.01$) 있게 증가되었다. 그러나 시험물질 갈근발효 추출액을 14주간 연속 경구투여 시 통계적으로 유의성($p < 0.01$) 있게 감소됨을 확인하였다. 복부지방의 양은 대조군에 비해 N.C군 264% 증가하였으며 T3군은 81%로 대조군에 비해 오히려 복부지방을 19% 감소시켰다.

결론적으로 갈근발효 추출액을 SD rat에 투여시, 혈액생화학적인 변화는 대조군(control)에 비해 변화가 없었으나 estrogen의 양을 증가시키고 복부지방 및 등배부 지방량을 감소시켰다. 그러므로 이 시험물질은 갱년기 비만에 있어 갱년기 증상의 완화와 비만 치료에 효과가 있을 것으로 사료된다.

위의 모든 실험결과로 보아 실험동물 암컷 SD(rat)에서, 난소제거에 의한 호르몬 불균형으로 과량의 지방이 체내 축적되고 이로 인하여 골다공증, 비만, 고혈압, 고지혈증, 지방간, 동맥경화, 당뇨병 등의 각종 대사성 질환이 유발된다. 따라서 시험물질 갈근 발효 추출액을 14주간 연속 경구 투여시, 호르몬 균형을 일정부분 유지시켜 지방축적을 저해하는 물질로 작용하는 것으로 생각되며 골다공증 Type I뿐만 아니라 각종 내분비 질환 예방, 치료에 도움이 될 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Editorial Committee. Korean Pharmacopoeia. 7th ed. pp. 721-988. Korean Medical Index Press, Seoul, Korea, 1998
2. Faculties in Department of Herbology. Oriental Herbology. pp. 242-244, 167-168. Young -Lim Publishing Co., Seoul, 1991.
3. Kurihara, T. and Kikuchi, M. Studies on the constituents of flowers. IV. On the components of the flower of *Pueraria thunbergiana* Benth. (3). Yakugaku Zasshi. 1976; 96: 1486-1488.
4. Lee k. t., Sohn I. C., Kong E. A., Kim D. H., Choi S. K., Choi J. W., and Park H. J., Antioxidative and cytoprotective effects of isoflavones isolated from *Pueraria thunbergiana* flowers. Yakhak Hoeji 1999; 43: 736-742.
5. Kinjo J., Takeshita T., Abe Y., Terada N., Yamashita H., Yamasaki M., Takeuchi k., Murasaki K., Tomimatsu T., and Nohara T. Studies on the constituents of *pueraria lobata*. IV. Chemical constituents in the flowers and the leaves. Chem. Pharm. Bull. 1988; 36: 1174-1179.
6. Fotsis t., Pepper M., Adlercreutz H., Flerischmann G., Hase T., Montesano R. and Schweigerer L.: Genistein a dietary derived inhibition of in vitro angiogenesis. *proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993; 90: 2690-2694.
7. Dempster DW and Lindsay R: Pathogenesis of osteoporosis. *Lancet* 34: 797-801, 1993.
8. Kalu, D. N. Evolution of the pathogenesis of postmenopausal bone loss. *Bone*. 1995; 17: 135S-144S.
9. Bryant, H. U. and Dere, W. H. Selective estrogen receptor modulators: an alternative to hormone replacement therapy. *Proc. Soc. Exp. Bio. Med.* 1998; 217: 45-52.
10. Forman D. and Moller H.: *Testicular cancer. Cancer survey*, 19-20: 323-341, 1994.
11. Sharpe R. M. and Skakkebaek N. E.: Are oestrogen involved falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract, *Lancet*, 1993; 341: 1392-1395.
12. Wolff M. S. and Weston A.: Breast cancer risk and environmental exposure, *Environmental health perspectives*, 1997; 105: 891-896.
13. Nordin B. E., Heyburn P. J., Peacock M. et al: Osteoporosis and osteomalacia. *Clin Endocrinol. Metab.* 1980; 9(1): 177-205.
14. 이흥규. 비만과 관련된 질환. *대한비만학회지* 1;34, 1992
15. 대한비만학회, 임상비만학. 고려의학. 1995.
16. 이득주, 한인권, 정호연, 이규래. 비만증 환자에서 소량의 세로토닌 길항제의 체중감량 효과. *대한비만학회지* 1993; 2(1):1-4.
17. Rose G Population distribution of risk and disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1991; 1:37-40.
18. Grundy S. M. and Barnett J. P. Metabolic and health complications of obesity. In bone RC, ed. Disease-a-month. *Mosby Year Book*. 1990; 36(12): 643-731.
19. Lapcik, O., Hampl, R., Hill, M., Wahala, K., Maharik, N.A., and Adlercreutz, H. Radioimmunoassay of free genistein in human serum. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* 64: 261-268 (1998).