

## Treatment Effect of FD Extract on Obesity-Induced High-lipid Diet in Zucker Rats

Dong Kyu Kim<sup>1</sup>, Nam-Jin Lee<sup>1</sup>, Seong-Hee Hong<sup>1</sup>, Jung-Hee Cho<sup>1</sup>, Jung-Hui Park<sup>2</sup>, Yun-Bae Kim<sup>1</sup>, Jong-Koo Kang<sup>1</sup> and Seock-Yeon Hwang<sup>3†</sup>

<sup>1</sup>College of Veterinary Medicine and Research institute of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, Gaeshin-dong, Cheongju 361-763, Korea.

<sup>2</sup>Park, Jung-Hui Oriental Medical Clinic, Doonsan-Dong, Daejeon 302-122, Korea.

<sup>3</sup>Department of Clinical Laboratory Medicine, Chungbuk National University Hospital, Gaeshin-dong, Cheongju 360-240, Korea

To investigate the anti-obesitic effect of FD extract which consisted of *Mori radidis Cortex*, *Hoelen*, *Pueraria radix*, *Schizonepetae spica*, *Carthami Flos*, *Bupleuri radix* and *Saposhnikovia radix* in high-fat diet-fed female lean Zucker rats. Obesity was induced by feeding high-lipid diet contained 3% corn oil and 1% cholesterol for 8 weeks, in which FD extract was added to the diet for treatment group. The rats fed on the high fat diet showed increased gain of body weights, leading to enhanced feed efficiency ratio. Moreover high-fat diet induced hepatic lipid peroxidation and hyperlipemia. The body weight, food efficiency ratio and lipid peroxidation in the liver was decreased as compared with the rats fed on the high fat diet by FD extract. With all such changes, the blood biochemistry about lipid was, if anything, risen. These results suggest that FD extract was supposed to have effective ingredients for improving obesity for controlling adipose tissue.

**Key Words:** Anti-obesity, Antioxidant, *Mori radidis Cortex*

비만은 에너지 섭취와 에너지 소비의 균형이 평형을 이루지 못할 때 발생한다 (Rosenbaum et al., 1997). 하지만 체중과 체조성을 일정하게 유지하기 위해서는 에너지 균형뿐 아니라 영양적인 균형도 중요하다. 이 중 거대영양소 (macronutrient)의 섭취는 영양적 균형에 큰 영향을 미친다. 3대 영양소인 탄수화물, 지방 및 단백질이 이러한 영양적 균형에 중요한 역할을 한다. 사람에서는 음식으로 섭취한 탄수화물이 간에서 유리지방산으로 전환되어 중성지방 형태로 지방조직에 저장될 수 있으나 이러한 섭취한 탄수화물에 의한 지방 생성작용 (de novo lipogenesis)에 의한 지방의 합성은 하루에 12 g 미만이다. 따라서 섭취한 지방에 의한 지방조직에서의 지방합성 및 저장이 체지방 증가에 주로 기여하게 된다. 탄수화물이 지방으로 전환되어 지방조직에 저장될 때 25% 정도는 발열을 통해 소모되고 섭취한 에너지 중 75%만이 저장된다. 이에 비해 지방은 0~2% 정도만이 저장 시 발열에

의해 소모되고 섭취한 에너지 대부분이 저장된다. 음식으로 섭취한 탄수화물은 인슐린 분비를 증가시켜 각 조직으로 포도당유입을 증가시키고 간에서 포도당합성을 억제한다. 또한 인슐린은 지방조직에서 호르몬감수성 리파제 (hormone-sensitive lipase)를 억제하여 저장된 지방의 분해 즉, 유리지방산의 유리를 억제하고 지단백리파제 (lipoprotein lipase)를 활성화시켜 지방조직의 중성지방 저장을 증가시킨다. 이와 같은 기전으로 고탄수화물 식사는 인슐린 분비 증가를 유발하여 체내에서 필요한 에너지를 주로 탄수화물 산화에 의해 얻게 되며 상대적으로 지방의 산화는 감소하게 된다. 탄수화물 섭취량이 증가하면 이에 비례하여 탄수화물의 산화도 증가하게 된다. 그러나 지방은 섭취량이 증가해도 산화는 아주 미미하게 증가하므로 지방 섭취량이 증가하면 할수록 지방조직으로의 저장이 증가하여 비만이 유발된다. 단백질은 최소 일일요구량만 섭취해도 질소 균형을 유지할 수 있다. 따라서 에너지 균형은 주로 지방 섭취량에 의해 결정되며, 지방 섭취의 증가만큼 지방 산화의 증가가 일어나지 않기 때문에 비만은 발생된다고 할 수 있다.

비만이 발생할 경우 고지혈증, 제2형 당뇨병, 고혈압, 관상동맥질환, 퇴행성관절염, 전립선, 유방, 대장 및 자궁내

\* 논문 접수: 2005년 8월 24일

수정재접수: 2005년 9월 13일

† 교신저자: 황석연, (우) 361-713 충북 청주시 개신동, 충북대학교병원 진단검사의학과

Tel: +82-43-269-6257, Fax: +82-43-271-5243

e-mail: syhwang@cbnuh.or.kr

막암, 수면 무호흡 및 호흡기 장애, 담석증, 우울증 등 여러 가지 질병의 위험도가 증가하며 결과적으로 사망률이 증가한다고 보고되고 있다 (Kluthe and Schubert, 1985; Allison and Saunders, 2000; Hill et al., 2000).

이러한 위험성 때문에 오래 전부터 비만치료를 위해 약물사용이 시도되어 왔지만 여러 가지 심각한 부작용들로 인해 실망스러운 결과를 보여 왔다. 현재 미국 FDA가 장기사용을 승인한 비만치료 약물은 2가지 뿐으로 norepinephrine과 serotonin의 재흡수를 억제하는 작용을 가진 sibutramine (Re-ductil<sup>®</sup>)과 췌장 및 소화기계에서 분비되는 lipase를 억제하여 효과를 나타내는 orlistat (Xenical<sup>®</sup>)이 있다. 하지만, 이 두 가지 약제 모두 몇 가지 제한점으로 인해 널리 사용되지는 못하고 있다. Sibutramine의 경우 혈압상승, 불면증, 구강건조, 어지러움 등의 부작용이 비교적 흔하고 심혈관 질환, 조절되지 않는 고혈압을 가진 환자에게는 사용할 수 없는 단점이 있다. Orlistat의 경우에는 설사, 지방변, 분실금 등의 부작용이 흔하고 한국인과 같이 지방 섭취가 서양인에 비해 적은 경우에는 약물의 효과가 뚜렷하지 않다는 점으로 인해 사용이 제한되고 있어 최근에는 새로운 작용기전을 가진 천연물로부터 비만 치료제 개발에 관심이 높아지고 있다 (Yanovski and Yanovski, 2002; Padwal et al., 2003; Thearle and Aronne, 2003).

본 연구의 시험물질인 생약제복합추출물 (FD extract) 중 큰 비중을 차지하는 상백피 (*Mori radices Cortex*)는 뽕나무 (*Morus Alba* Linne)의 뿌리껍질로 혈압강하작용과 심장억제작용, 혈관확장작용, 항경련작용, 혈당강하작용 (Kim et al., 1999; Yoon et al., 2001) 등이 알려졌다며, 그 외 복령 (Hoelen)은 복령균 (*Poria cocos* Wolf)의 균핵으로 이뇨작용, 면역증강작용, 혈당강하작용 등이 있으며, 갈근 (*Pueraria radix*)은 관상혈관의 혈류량 증가, 심근의 산소소비량 감소, 혈중의 산소공급량 증가, 항산화 효과 (Guerra et al., 2000) 및 체중감소 효과 (Lee, 2004)가 있고 형개 (*Schizonepetae spica*)는 발한효과, 지혈작용, 항산화작용 (Andrew and Richard, 1997) 등이 있으며, 또한 홍화 (*Carthami Flos*)는 자궁수축, 혈관확장, 항응고작용, 항산화작용 (Kim et al., 2003)을 보여주며, 시호 (*Bupleuri radix*)는 해열작용, 진정·진통작용, 진해작용, 혈청지질강하기능, 항산화작용 (Yashikawa et al., 1997) 및 간보호효과 (Kweon et al., 2004)가 있다고 알려졌다며, 방풍 (*Saposhnikovia radix*)은 해열 및 진통작용이 있는 것으로 알려지고 있다 (Huang, 2000; Lim, 2003).

상백피, 백복령, 갈근, 형개, 홍화, 시호 및 방풍의 추출물을 유효성분으로 함유하는 FD extract를 비만치료제로서 유효성을 알아보기 위해서 obese Zucker rat처럼 과식증에 의한 에너지의 불균형으로 발생하는 비만이 아닌 지방 섭취가 많은 현대인들과 비슷한 과도한 지방 식이를 통하여 비만이

유도된 lean Zucker rat에서의 항비만 효과와 항산화 효과를 알아 보고자 하였다.

본 연구에 사용된 재료 및 방법은 아래와 같다. FD extract는 상백피 외 6종의 천연물을 물추출을 통하여 동결 건조시켜 분말화하여 사용하였으며, 그 외 조성으로는 cholesterol (Junsei Chemical Co., Ltd. Japan), corn-oil (Junsei Chemical Co., Ltd. Japan)을 각각 사용하였다. 실험동물은 5주령의 female Zucker FA/FA rat (33마리, 이하 female rat)로 3개의 시험군인 정상대조군, 양성대조군, 시험물질급여군에 대해 각 실험군당 11마리를 공시하였다. 시험물질급여군은 3% FD extract 분말, 1% cholesterol 그리고 3% corn oil을 가루사료에 혼합하여 8주간 급여하였으며, 대조군과 양성대조군도 각각 일반가루사료와 고지방가루식이 (1% cholesterol, 3% corn oil)를 공급하였다. 실험동물은의 사육조건은 온도 23±2℃, 상대습도 50±10%, 환기 횟수 10~12/hr, 명암주기 12시간 (07:00 점등-19:00 소등), 조도 200 Lux로 유지하였고, 실험동물용 가루사료 [(주)샘타코바이오표, 경기도 오산시]와 여과된 정제수를 자유로이 섭취할 수 있도록 공급하였다.

매주 1회 체중과 사료섭취량을 측정하였고 8주 후에 동물을 부검하여 배대정맥에서 채혈을 한 후 4℃에서 3,000 rpm으로 10분간 원심 분리하여 혈청을 얻은 후 혈중 내 지질함량의 지표로 total cholesterol, low-density lipoproteins (LDL), high-density lipoproteins (HDL) 및 triglycerides를 생화학자동분석기 Hitachi-747 (Hitachi Medical, Japan)을 이용하여 측정하였고 간 조직은 차가운 생리식염수로 liver perfusion을 한 후에 간을 적출하여 액체 질소에 동결한 후 지질과산화물 측정하였으며, 지질과산화 (lipid peroxidation)의 측정은 malondialdehyde MDA 유사물질인 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP)을 standard로 하는 thiobarbituric acid (TBA)법으로 측정하였

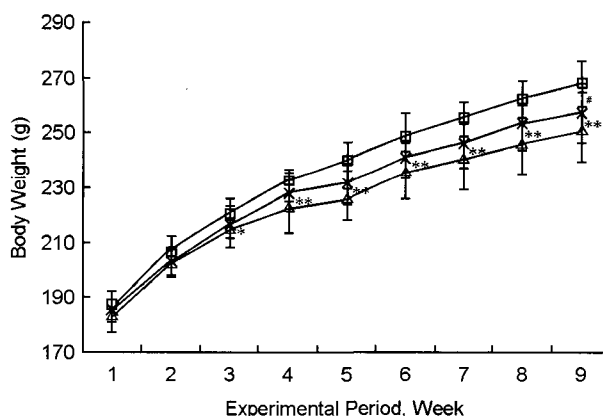
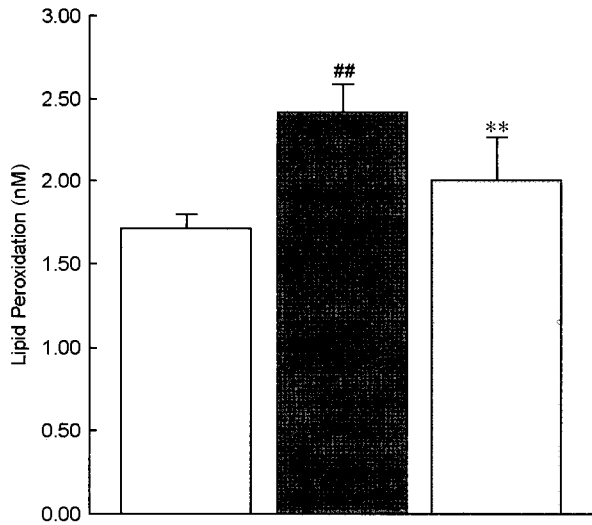


Fig. 1. Effect of FD extract on body weight changes of high-fat diet fed lean Zucker rats. X, Normal diet; □, high-fat diet; △, high-fat diet containing FD extract. #Significantly different from normal control (p<0.05).\*,\*\* Significantly different from positive control (P<0.05, 0.01).

**Table 1.** Effects of FD extract on feed intake, body weight gains and feed efficiency ratio (FER) of high-fat diet-fed lean Zucker rats

	Food intake (g/day)	Body weight gains (g)		FER
		8 weeks (g)	g/day	
Normal diet	35.87±11.34	71.78±12.72	1.28±0.22	0.038±0.016
High-fat diet	32.00±9.62	80.18±6.85	1.43±0.12	0.046±0.009
High-fat diet + FD	33.09±9.37	65.35±9.43	1.16±0.17	0.036±0.006



**Fig. 2.** Effect of FD extract on hepatic malondialdehyde level of high-fat lean Zucker rats. white, normal diet; black, high-fat diet; grey, high-fat diet containing FD extract after 8 weeks. ## Significantly different from normal control ( $P<0.01$ ). \*\* Significantly different from positive control ( $P<0.01$ )

다. 동결된 간 조직을 세절한 후 얼음으로 냉각시킨 PBS를 가하여 homogenizer로 균질화 하였다. Homogenate 1 ml에 1 ml의 8.1% sodium dodecyl sulfate solution, 2 ml의 20% acetic acid solution을 넣고 vortexing한 다음 1 ml의 0.8% TBA solution을 넣고 95°C에서 60분간 반응시킨 후 냉각시켜 상층액을 취하여 spectrophotometer를 이용하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 실험결과는 평균치 ± 표준편차로 표시하였으며 각각의 실험결과에 대한 분산은 sigmastate 3.0®를 이용하여 one-way analysis of variance (ANOVA)를 실시하여 유의성이 관찰되면 대조군과의 유의차가 있는 실험군을 알아내기 위하여 Tukey's *t*-test를 실시하여 유의차가 5% 미만 ( $P<0.05$ )일 때 통계적 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

체중은 각각 정상대조군과 양성대조군에서 139%, 143%의 체중증가율을 보였고, FD 급여군에서는 135%의 체중 증가를 보여 양성대조군에 비해 유의적인 체중증가억제가 보였으며 (Fig. 1), 사료섭취효율도 FD 급여군에서 양성대조군보다 감소한 것을 볼 수 있었다 (Table 1). 이러한 양성대조군과 FD 급여군 간의 체중증가의 차이는 과도한 지방 섭취에

도 혈청 내 지질함량 지표인 total cholesterol, low-density lipoproteins (LDL), high-density lipoproteins (HDL) 및 triglycerides 모두 FD 급여군에서 양성대조군보다 증가한 것 (Data not shown)을 보아 지방조직의 생성이 억제되어 혈중 내 지질성분이 증가된 것으로 생각되며, 이는 FD extract 내에 지방조직의 생성을 억제하는 유효성분에 기인한 것으로 사료된다. 또한 간 내 지질과산화 측정에서는 정상대조군의 간 내 지질과산화물은 1.72±0.160 mmol인데 양성대조군은 2.41±0.131 mmol로 유의적인 차이가 보였으며 ( $P<0.01$ ), 또한 FD 급여군 역시 2.01±0.265 mmol로써 양성대조군에 비해 유의적으로 감소하였다 (Fig. 2). 이는 FD extract 중에 들어 있는 상백피를 포함한 갈근, 형개, 홍화, 시호 등의 유효성분의 항산화작용에 의한 간 내 지질과산화물이 감소한 것으로 보인다. 이상의 결과로 볼 때, FD extract가 체중 증가 억제와 사료효율의 감소를 통하여 항비만 효과와 간 내 지질과산화물의 생성을 억제하는 항산화효과도 볼 수 있었으며 FD extract의 항비만 효과와 관련된 유효성분 분석과 체중억제에 대한 기전 연구가 추가로 필요하리라 사료된다.

## REFERENCES

- Allison DB, Saunders SE. Obesity in North America. *Med Clin North Am.* 2000. 84: 305-332.
- Andrew JK, Richard JS. The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and of placebo herbs - I. *J Ethnopharmacol.* 1997. 56: 103-108.
- Guerra MC, Speroni E, Broccoli M, Cangini M, Pasini P, Minghetti A, Crespi-Perellino N, Mirasoli M, Cantelli-Forti G, Paolini M. Comparison between chinese medical herb *Pueraria lobata* crude extract and its main isoflavone puerarin antioxidant properties and effects on rat liver CYP-catalysed drug metabolism. *Life Sciences.* 2000. 67: 2997-3006.
- Hill JO, Wyatt HR, Melanson EL. Genetic and environmental contributions to obesity. *Med Clin North Am.* 2000. 103: 1037-1042.
- Huang KC. The pharmacology of chinese herbs. 2nd Ed. 2000. pp 84-85, 99-101, 156-157, 187-189, 190-191, 318-320. CRC

- press. Florida. USA.
- Kim MJ, Cho SY, Jang JY, Park JY, Park EM, Lee MK, Kim DJ. Effect of water extract of green tea, persimmon leaf and safflower seed on heme synthesis and erythrocyte antioxidant enzyme activities in lead-administered rats. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 2003. 32: 191-196.
- Kim YY, Choue RW, Chung SH, Koo SJ. Anti-hyperglycemic effect of *Mori radialis* Cortex in db/db mice. *Kor J Food Sci Technol*. 1999. 31: 1057-1064.
- Kluthe R, Schubert A. Obesity in Europe. *Ann Intern Med*. 1985. 103: 1037-1042.
- Korean society for the study of obesity. 2001. pp. 33-34. Korea medical book publisher. Seoul, Korea.
- Kweon YM, Lee JE, Park SD. The effect of *Bupleuri radix* on liver damage induced by acetaminophen in the rats. *Kor J Herbol*. 2004. 19: 91-104.
- Lee OH. Effects of supplementation of *Puerariae radix* ethanol extract on the antioxidative defense system in rats. *Kor Nutr Soc*. 2004. 37: 872-880.
- Lim JP. Herb medicinal pharmacognosy. 2003. pp 52-53, 66-70, 82-84, 185-187, 275-277, 305-306. Shinil publishing company. Seoul, Korea.
- Padwal R, Li SK, Lau DC. Long-term pharmacotherapy or overweight and obesity. *Int J Obes Relat Disord*. 2003. 27: 1437-1446.
- Rosenbaum M, Leibel R, Hirsch J. Obesity. *N Engl J Med*. 1997. 337: 396-407.
- Thearle M, Aronne LJ. Obesity and pharmacologic therapy. *Endocrin Metab Clin North Am*. 2003. 32: 1005-1024.
- Yanovski SZ, Yanovski JA. Obesity. *N Engl J Med*. 2002. 346: 591-602.
- Yoon SH, Jung SY, HA H. Hypoglycemic and enzyme effects of the water extract of *Mori radialis* Cortex in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Kor Soc Hygienic Sci*. 2001. 7: 119-123.
- Yoshikawa M, Murakami T, Hirano K, Inadzuki M, Ninomiya K, Matsuda H. Scorzonerosides A, B, AND C, novel triterpene oligoglycosides with hepatoprotective effect from chinese *Bupleuri radix*, the roots of *Bupleurum scorzonerifolium* Willd. *Tetrahedron Lett*. 1997. 38: 7395-7398.