

원저

韓藥複合處方 藥鍼 및 經口投與가 Streptozotocin에 의한 흰쥐의 糖尿病과 抗酸化能에 미치는 영향

박사현* · 조수인** · 채우석* · 조명래*

*동신대학교 한의과대학 침구학교실

**동신대학교 한의과대학 본초학교실

Abstract

Beneficial Effect of the Combination of Oral Administration and Herbal-Acupuncture Stimulation with Several Herb-combind Prescription on Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Park Sa-hyun*, Cho Su-in**, Chae Woo-seok* and Cho Myung-rae*

*Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Dong-Shin University

**Department of Herbology, College of Oriental Medicine, Dong-Shin University

Objective : The present study was carried out to investigate the preventive effect of Several Herb-combind Prescription(SHP) on Streptozotocin (STZ) -induced Diabetes mellitus.

Methods : SHP was given to rats with the combination of oral administration and herbal-acupuncture stimulation. The experimental animals were divided into 3 groups : normal group of rats, control group of STZ-induced diabetic rats, sample group with SHP treatment. In vitro test of SHP showed α -glucosidase inhibition, DPPH radical scavenging activity and inhibition of lipid peroxidation.

Experimental diabetes was induced by the injection of STZ(60mg/kg) to the rat via the peritoneum. The effect of SHP on STZ-induced diabetes was observed by measuring the serum level of insulin, glucose, triglyceride, total cholesterol and lipid peroxides. Hepatic activities of catalase and reduced glutathione were examined and insulin granule was observed by immunohistochemical examination.

· 접수 : 2005년 1월 5일 · 수정 : 2005년 1월 18일 · 채택 : 2005년 1월 18일
· 교신저자 : 박사현, 광주광역시 북구 두암동 장수한의원
Tel. 062-260-0660 E-mail : omdpsh@hanmail.net

Results : STZ caused hyperglycemia and hypoinsulinemia by a selectively destroying pancreatic β -cell. SHP treatment protected them from the hyperglycemia and hypoinsulinemia. STZ induced increase of serum triglyceride lowered by SHP treatment. And by SHP treatment, pancrease showed a big area with positive immuno-reactivity for presence of insulin with many insulin granules distributed in the β -cells in the islets of Langerhans.

Conclusions : The SHP treatment showed protective effect on diabetic rat model, and action mechanism of the effect was thought to be concerned with anti-oxidative stress.

Key words : Several Herb-combind Prescription(SHP), Streptozotocin (STZ)-induced Diabetes mellitus.

I. 序 論

당뇨병은 췌장 β 세포에서 분비되는 호르몬인 insulin의 절대량이 부족하거나 혹은 생체 내 인슐린의 효율이 떨어지면 혈중 포도당의 농도가 증가되어 유발되는 대사성 질환으로¹⁾ 경제가 발전하여 생활양식이 서구화됨에 따라 우리나라뿐만 아니라 전 세계적으로 유병률이 증가하고 있다.²⁾

당뇨병의 병증은 동양의학의 여러 문헌에서 찾아볼 수 있으며 消渴·皮膚瘙癢·癰疽·痺痛 등의 범주에 해당되며 이 중 가장 유사한 病證은 消渴로³⁾ 당뇨병과 소갈의 상관성에 대한 비교연구는 다각적으로 보고 되고 있다⁴⁾.

한의학에서 당뇨병 치료는 韓藥, 鍼, 灸, 電鍼, 藥鍼 및 laser鍼 등의 방법을 이용하며, 이러한 다양한 방법이 당뇨병에 미치는 영향에 대한 실험연구가 보고 되고 있다⁵⁾. 최근 개별 한약재⁶⁾나 한약 처방⁷⁾을 재료로 하여 항당뇨 효과에 관한 연구들이 활발하게 발표되고 있으며, 특히 약침을 이용한 항당뇨 효과에 관한 연구⁸⁻¹¹⁾도 꾸준히 증가하고 있다. 하지만 여전히 한약처방, 특히 藥鍼을 재료로 한 연구 결과는 미미한 실정이다.

현재 인슐린 의존성 당뇨병의 연구는 당뇨유발 약물로 알려진 alloxan 및 streptozotocin (STZ)을 실험동물에 투여하여 이루어지고 있으며, 이들 약물은 주로 췌장 β 세포만을 선택적으로 산화시켜 파괴하여 당뇨병을 유발시킨다고

알려져 있다¹²⁻¹³⁾.

본 연구에서는 한약복합처방을 사용하여 in vitro에서 α -glucosidase inhibit 와 항산화 효과 검증, STZ으로 당뇨가 유발된 실험동물에 약침 및 경구투여로 in vivo에서 항당뇨 및 항산화 효과를 확인한 바 유의한 결과를 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 재료

1) 동물

실험동물은 체중 200g 정도의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐(대한실험동물센터, Korea)를 사용하였으며, 2주 이상 실험실 환경에 적응시키는 동안 고형사료(삼양 배합사료 실험동물용, 삼양유지사료, Korea)와 물을 충분히 공급하면서, 2주 이상 실험실 환경(온도, 22±2°C; 밤/낮, 12hrs)에 적응시킨 후 사용하였다.

2) 처방 및 구성 약재

저자가 창방하여 임상에서 사용하고 있는 처방인 한약복합처방을 재료로 하였고 이를 구성하는 약재는 동신목동한방병원에서 구입·정선

하였으며 처방의 내용은 Table 1과 같다.

Table 1. Several Herb-combind Prescription (SHP)

韓藥名 (Herbal Name)	生藥名 (Scientific Name)	重量 (Weight, g)
熟地黃	Rehmanniae Radix Preparat	각 등분 (Share equally)
生地黃	Rehmanniae Radix	
玄參	Scrophulariae Radix	
丹參	Salvia Miltiorrhizae Radix	
知母	Anemarrhenae Rhizoma	
石斛	Dendrobii Herba	
麥門冬	Liriois Tuber	
天花粉	Tricosanthis Radix	
石膏	Gypsum	
黃芪	Astragali Radix	
烏梅	Mume Fructus	
Total Amount		500g

3) 시약 및 기기

혈청 중 glucose, triglyceride 및 total cholesterol은 시중에서 국산 측정용 키트(아산제약, 한국)을, 혈청 중 insulin 함량은 흰쥐 전용 insulin 측정용 키트(Diagnostics Products Corp., LA, CA, USA)을 구입하여 사용하였다. 기타 시약은 Sigma(St. Louis, MO, USA)제품을 사용하였다. 藥鍼注入器로는 용량 1.0ml의 1회용 주사기(주사침 26 guage, 보인메디카, 한국)를 사용하였으며, 측정을 위해 사용된 기기는 분광광도계(U-2800, Hitachi, Japan), 분쇄기(DIAX 600, Heidolph, Germany), 원심분리기(VS-15000CFN, Vision, 한국), 동결건조기(E20, EYELA, Japan), 전자저울(AR2140, OHAUS, USA) 등이었다.

4) 시료의 추출

SHP의 원재료 500g에 증류수 2500ml을 가한 후 대용 약탕기(DWP-1800T, 한국)로 2시간 동안 전탕한 후 여과하고 상층액을 감압 농축하고 건조하여 추출물을 얻었으며, 최종의 건조물은 97g으로 19.4%의 추출률을 보였다. SHP을 사용하지 않을 때는 냉동 보관해 두었다가 실험 직전에 필요한 농도에 맞춰 희석하여 신선하게 사용

하였다.

5) 약침액의 제조

藥鍼은 1%농도가 되도록 생리 식염수에 희석하여 0.45 μ m와 0.2 μ m pore size membrane filter를 이용하여 차례로 여과 과정을 거쳐 신선하게 보관하였다가 실험에 사용하였다.

2. 방법

1) 혈위선정 및 약침시술

藥鍼은 당뇨병을 유발시킨 후 인체의 腎俞에 상응하는 실험동물의 제2요추 횡돌기 부위로 척추 정중선에서 0.5cm 떨어진 부위에 藥鍼注入器를 사용하여 실험동물의 피부로부터 2mm 내외의 깊이로 각 부위에 0.05ml 용량을 주입하였다.

2) 당뇨병의 유도 및 시료 투여

전체 실험군은 정상군, 당뇨병을 유도한 대조군, 당뇨병 유도 후 시료인 SHP을 투여한 실험군의 세 종류의 군으로 나누었으며, 각 군에 10마리씩 배정하였다. 대조군과 실험군은 STZ를 10mM citrate buffer에 녹여 pH를 4.5에 맞추었고, 60mg/kg weight 되도록 각 동물에 복강 주사하였다. 동일한 날을 시작으로 SHP의 시술도 적용되었는데, SHP의 경구 투여는 실험동물의 체중에 대해 100mg/kg 농도로 10일간 투여하였고, 이 때 藥鍼의 시술도 함께 적용하였다. 대조군은 동량의 생리식염수를 적용하였다. 당뇨병의 발생은 STZ 투여 3일 후부터 urine strip으로 확인하였으며, 실험동물은 희생 전 16시간 동안은 물만 섭취토록 하고 절식시켰다.

3) SHP의 α -glucosidase 저해 활성 측정

시험관 내 실험을 통한 α -glucosidase 효소 저해 활성 측정을 위해 2mM p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside 250 μ l, 각각 0.3, 1, 3, 10, 30% 농도의 SHP 추출액 100 μ l, 0.1M phosphate buffer(pH 7.0) 200 μ l 및 효소액을 가하여 37 $^{\circ}$ C 항온수조에서 30분간 반응시킨 후, 1M

glycine-NaOH(pH 9.0) 500 μ l를 가해 반응을 정지시켰다. 900 \times g에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 취해 405nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소액은 체중 250g 내외의 흰쥐를 ether로 마취시킨 후 소장을 분리하였다. 분리한 소장을 생리식염수에 세척하여 소장 점막을 긁어낸 후 생리식염수와 0.1M sodium phosphate buffer(pH 7.0)에 현탁하여 15초간 3회 초음파 처리하고, 4 $^{\circ}$ C 450 \times g에서 1시간 동안 원심분리한 후 상층액을 효소액으로 사용하였다.

4) DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH에 의한 항산화능을 Hatano 등의 방법¹⁴⁾에 준하여 측정하였다. 우선 SHP 추출물을 99.5% ethanol 0.3, 1, 3, 10, 30%의 5가지 농도로 조제한 용액 0.1ml(control : 99.5% ethanol)에 0.1mM DPPH 용액(99.5% ethanol) 1.9ml를 가하였다. 진탕기로 1초간 진탕한 후 30 $^{\circ}$ C에서 30분 동안 배양시켰다. 이후 분광광도계를 이용하여 515nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 항산화 작용은 DPPH에 대한 RSA(Radical Scavenging Activity, %)값으로 나타내었다.

5) 지질 과산화 억제 효과 측정

지질의 과산화는 흰쥐에서의 신장 피질 내 MDA 함량을 Uchiyama와 Mihara의 방법¹⁵⁾에 준하여 측정함으로써 평가하였다. 신장 피질 절편을 37 $^{\circ}$ C 60분간 산소가 포화된 조건 하에서 배양하였다. 대조군에서의 산화제는 1, 10, 100mM 농도의 t-BHP를 사용하였으며 실험군에서는 0.1% 농도의 SHP 추출물 속에서 신장 피질 절편을 배양하였다.

배양 후 1% phosphoric acid 3ml와 0.6% thiobarbituric acid 용액 1ml를 첨가하여 끓는 물에서 60분간 증탕하였다. 1-butanol 4ml를 첨가하여 완전히 섞은 다음 800 \times g에서 25분간 원심분리한 후, 상층액의 흡광도를 534nm와 510nm에서 측정하였다. MDA 값은 단백질 1mg 당 pmoles로 표시하였으며, 단백질 농도는 Bradford의 방법¹⁶⁾으로 측정하였다.

위의 방법을 시행하기 위한 신장 피질 절편의

제작은 다음과 같은 방법을 사용하였다. 우선 흰쥐의 경추를 탈구시켜 희생시킨 후 신장을 적출하여 130mM NaCl, 5mM KCl, 10mM Tris-HCl(pH 7.4)로 된 냉장 보관 용액을 혈관 내로 주입하여 혈액을 제거하였다. 신장 바깥의 단단한 피막은 제거하였다. 신장 피질 조직을 Stadie-Riggs microtome(Tomas, U.S.A.)을 사용하여 가로 및 세로의 길이는 각각 1cm, 두께는 약 0.3~0.5mm 되도록 절편을 제작하였다.

6) 실험동물의 혈청 조성 변화 측정

혈청 중 insulin, glucose, triglyceride 및 total cholesterol은 측정용 키트를 사용하였으며 분광광도계를 측정용 기기로 사용하였다. 위의 혈청 중 조성을 측정하기 위해 오후 2시에 흰쥐를 경추 탈구로 희생시킨 뒤 심장에서 채혈하였다.

7) 생체 내에서의 항산화 효과 측정

당뇨 유발 동물에서의 조직의 산화 정도를 측정하기 위해 혈청 중 지질 과산화물 함량, 간에서의 catalase 및 reduced glutathione(GSH) 활성을 측정하였다. 혈청 중 지질 과산화물의 함량은 앞에서와 같이 Uchiyama와 Mihara의 방법¹⁵⁾에 준하여 측정하였으며, 간에서의 catalase 활성은 Aebi의 방법¹⁷⁾에 따라 측정하였다. 50mM potassium phosphate buffer(pH 7.0)에 효소원 일정량을 넣고 기질로서 10mM H₂O₂ 용액을 가하여 파장 240nm에서 흡광도의 변화를 2분간 측정하였다. 대조 실험으로는 기질인 10mM H₂O₂ 용액 대신 50mM potassium phosphate buffer(pH 7.0)를 가해 다른 조건은 위와 동일하게 하여 흡광도의 변화를 측정하였으며 효소의 활성도는 1분 동안에 1 μ M의 H₂O₂를 분해시키는 효소의 양을 1unit으로 하였다.

간에서의 GSH 함량 측정은 Ellman 등의 방법¹⁸⁾에 따랐다. 간 조직 균질액을 1,000 \times g에서 원심분리한 후 상층액에 4% sulfosalicylic acid를 가하여 혼합한 후 100 \times g에서 10분간 원심분리하고 상층액을 취하여 1mM DTNB 용액과 혼합하여 실온에서 20분간 방치한 후 412nm에서 흡광도를 측정하였으며 GSH 함량은 protein 1mg

당 nmole로 나타내었다.

3. 통계 처리

실험 자료에 대한 통계적 분석은 통계 패키지인 SAS(The SAS System for Windows, ver. 6.12, SAS Institute, U.S.A.)를 이용하였다. 실험 성적은 평균±표준오차(mean±S.E.)로 나타내었으며, 각 실험군 간 평균의 차이를 검정할 때에는 Student's t-test로 검정하여 p-값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

III. 成 績

1. In vitro에서 SHP의 α-glucosidase 저해 활성

여러 농도에서의 SHP의 α-glucosidase 저해 효과를 관찰하여 측정된 결과, 낮은 농도에서는 농도 의존적으로 저해 활성을 보였다(Fig. 1).

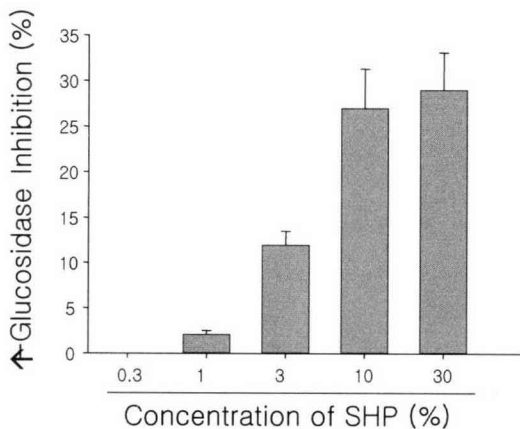


Fig. 1. α-glucosidase inhibitory activities of the SHP (% concentration) extract. Each value denotes the mean±S.E. of five experiments.

2. DPPH에 의한 항산화능

농도에 따른 SHP에 대한 DPPH 라디칼 소거 효과를 관찰한 결과 대부분의 농도에서 농도 의존적인 라디칼 소거 효과가 나타났다(Fig. 2).

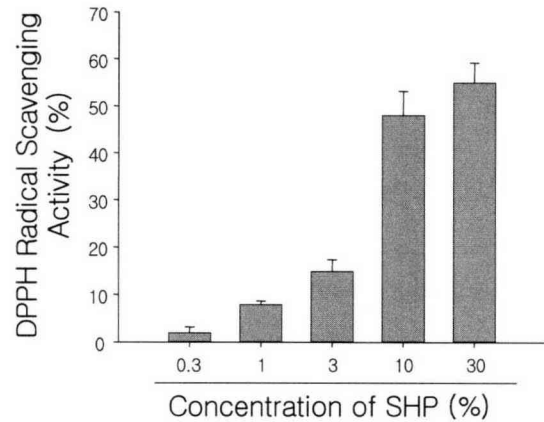


Fig. 2. Effect of SHP extract on DPPH radical scavenging activity. Each value denotes the mean±S.E. of five experiments.

3. 지질 과산화 억제 효과

1mM, 10mM 및 100mM t-BHP 처리한 후 60분 동안 배양한 신장 피질 절편에서의 지질 과산화를 조사하였으며 이에 대한 SHP 추출물의 영향을 관찰하였다. 지질의 과산화는 그 산물인 MDA 함량으로 나타내었는데, 아무런 처리를 하지 않고 배양시킨 정상군에 비해 1mM, 10mM 및 100mM로 t-BHP를 각각 처리한 경우에는 모

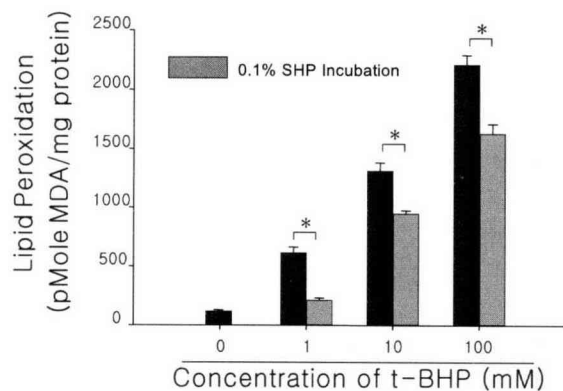


Fig. 3. Effect of SHP extract on t-BHP induced lipid peroxidation in rat kidney slices. Slices were treated with 1, 10 and 100 mM t-BHP in the absence or presence of SHP for 60 mins at 37°C, and lipid peroxidation was measured. Values are mean±S.E. of six experiments.

*, significantly different from the compared group.

두 유의하게 증가되었다. 이 때 0.1% 농도의 SHP 추출물에서 신장 피질 조직을 배양하였을 때는 지질 과산화 정도가 모두 유의성있는 감소를 보였다(Fig. 3).

4. 혈청 중 insulin 함량 변화

STZ에 의한 혈청 중 insulin 함량 저하가 SHP 추출물의 경구 투여와 약침 주입으로 개선될 수 있는지를 관찰하여 보았다. 그 결과 대조군에 비해 실험군에 있어서 insulin 함량이 유의성있는 증가를 보였다(Fig. 4).

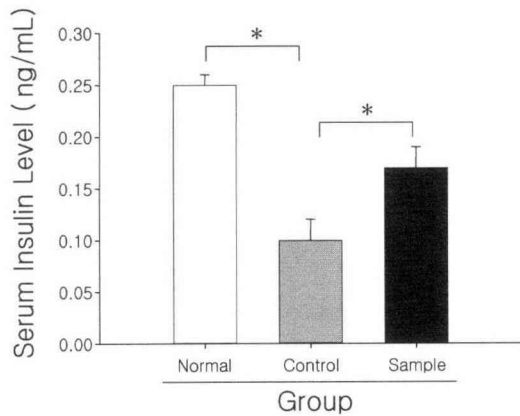


Fig. 4. Effect of SHP extract on serum insulin level in STZ-induced diabetic rats. Diabetic rats were induced by the injection of STZ(60mg/kg). SHP extract(100mg/kg body weight for 10 days) oral administration and herbal-acupuncture on BL23 were treated to diabetic rats and blood glucose level was measured. Values are mean±S.E. of six experiments.

*, significantly different from the compared group.

5. 혈청 중 glucose 함량 변화

STZ에 의한 흰쥐의 혈청 중 insulin 함량의 저하가 SHP의 경구 투여 및 약침 시술로 회복되었으므로 혈청 중 glucose 함량의 변화에도 유사한 영향을 미쳤을 것으로 생각되어 그 변화를 관찰하여 보았다. 그 결과 혈청 중 insulin 함량의 변화와 유사한 정도로 혈청 중 glucose 함량에도 대조군에 비해 실험군에 있어서 유의성있는 감소를 보였다(Fig. 5).

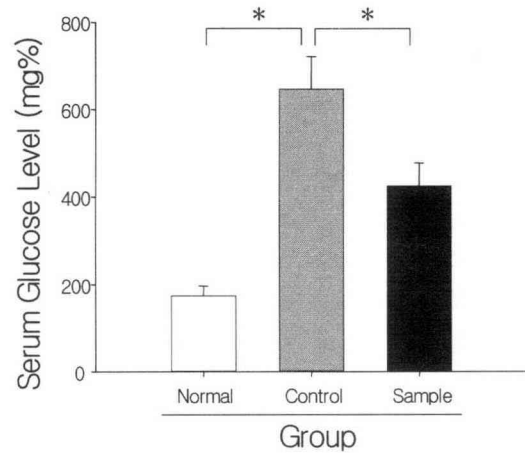


Fig. 5. Effect of SHP extract on serum glucose level in STZ-induced diabetic rats. Diabetic rats were induced by the injection of STZ(60mg/kg). SHP extract(100mg/kg body weight for 10 days) oral administration and herbal-acupuncture on BL23 were treated to diabetic rats and blood glucose level was measured. Values are mean±S.E. of six experiments.

*, significantly different from the compared group.

6. 혈청 중 triglyceride 함량 변화

정상군에서의 혈청 중 triglyceride 함량이 STZ 투여에 의해 현저히 상승되었으며 SHP의

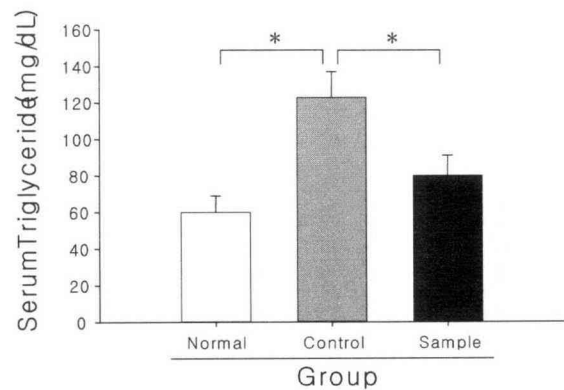


Fig. 6. Effect of SHP on the serum triglyceride level in STZ-induced diabetic rats. Diabetic rats were induced by the injection of STZ(60 mg/kg). SHP extract(100 mg/kg body weight for 10 days) oral administration and herbal-acupuncture on BL23 were treated to diabetic rats and blood glucose level was measured. Values are mean±S.E. of six experiments.

*, significantly different from the compared group.

치치가 상승된 triglyceride 함량에 유의성있는 감소를 보였다(Fig. 6).

7. 혈청 중 total cholesterol 함량 변화

정상군에서의 혈청 중 total cholesterol 함량이 STZ 투여에 의해 증가하는 경향을 보이기는 했지만 대조군과 비교하여 보았을 때 유의성있는 변화가 없었으므로 STZ에 의한 당뇨의 유발이 total cholesterol에는 영향을 주지 않았음을 알 수 있으며, SHP를 처치한 실험군도 대조군에 비해 감소하는 경향은 보였으나 유의성있는 변화는 없었다(Fig. 7).

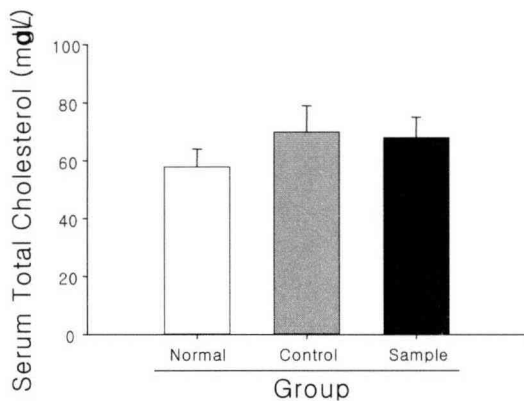


Fig. 7. Effect of SHP on the serum total cholesterol level in STZ-induced diabetic rats. Diabetic rats were induced by the injection of STZ(60 mg/kg). SHP extract(100 mg/kg body weight for 10 days) oral administration and herbal-acupuncture on BL23 were treated to diabetic rats and blood glucose level was measured. Values are mean±S.E. of six experiments.

8. 혈청 중 지질 과산화물 함량 변화

지질 과산화물의 생성과 이의 혈액 중 함량은 성인병의 발생과 노화에 관여하는 것으로 알려져 있다¹⁹⁾. 따라서 혈청 내 지질 과산화물의 생성을 억제할 수 있다면 질병의 예방과 치료에 효과적일 것으로 추정할 수 있다. 혈청 내 지질 과산화물의 함량을 관찰한 결과 정상군에 비해 대조군에서 유의성있게 증가하였으나, 대조군에 비해 실험군에 있어서 감소는 있었으나 유의성은 없었다(Fig. 8).

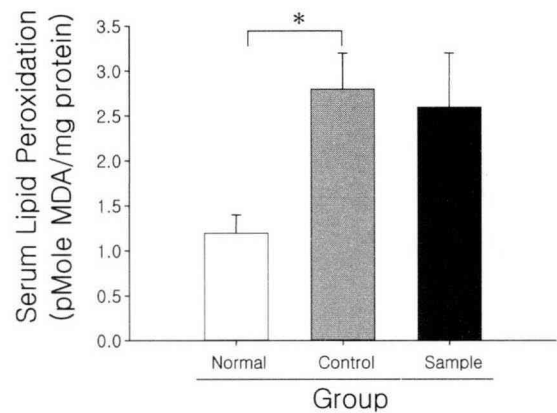


Fig. 8. Effect of SHP on the serum lipid peroxide level in STZ-induced diabetic rats. Diabetic rats were induced by the injection of STZ(60mg/kg). SHP extract(100 mg/kg body weight for 10days) oral administration and herbal-acupuncture on BL23 were treated to diabetic rats and blood glucose level was measured. Values are mean±S.E. of six experiments.

*, significantly different from the compared group.

9. 간 조직 내 catalase 활성 변화

Catalase는 지방의 자동 산화와 유기물의 산

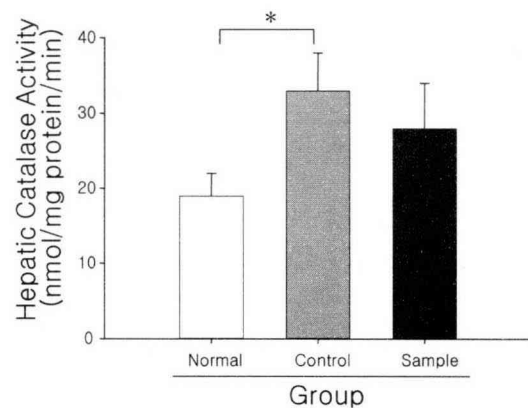


Fig. 9. Effect of SHP on the serum catalase level in STZ-induced diabetic rats. Diabetic rats were induced by the injection of STZ(60 mg/kg). SHP extract(100 mg/kg body weight for 10days) oral administration and herbal-acupuncture on BL23 were treated to diabetic rats and blood glucose level was measured. Values are mean±S.E. of six experiments.

*, significantly different from the compared group.

화 및 superoxide dismutase(SOD)에 의해 생성된 과산화수소를 산소나 물로 분해하여 배설시킴으로써 산소 유리기로부터 조직의 손상을 방어하는 효소이다²⁰). STZ에 의해 증가된 catalase는 SHP에 의해 실험군은 대조군에 비해 감소는 있었으나 유의성은 없었다(Fig. 9).

10. 간 조직 내 GSH 활성 변화

Glutathione은 외부에서 유입된 유독 물질과 포합 반응을 하여 체외로 배출시키므로 독성 물질에 대한 생체의 방어 능력을 간접적으로 측정할 수 있는 기준이 될 수 있다²¹). 간 조직에서의 GSH 함량은 대조군에서 STZ에 의해 증가하였으나 SHP를 처치한 실험군에서 감소는 있었으나 유의성은 없었다(Fig. 10).

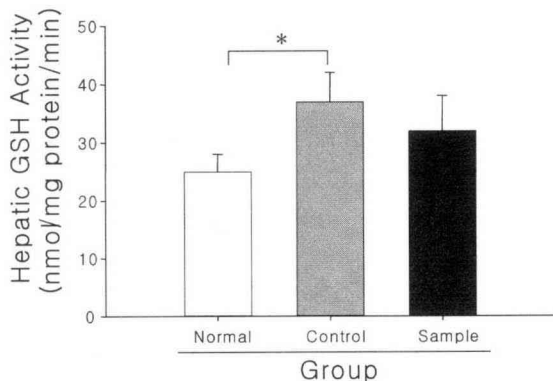


Fig. 10. Effect of SHP on the serum GSH level in STZ-induced diabetic rats. Diabetic rats were induced by the injection of STZ(60 mg/kg). SHP extract(100 mg/kg body weight for 10days) oral administration and herbal-acupuncture on BL23 were treated to diabetic rats and blood glucose level was measured. Values are mean±S.E. of six experiments.

*, significantly different from the compared group.

IV. 考 察

당뇨병은 췌장 β세포에서 분비되는 호르몬인

insulin의 절대량이 부족하거나 혹은 생체 내 인슐린의 효율이 떨어지면 혈중 포도당의 농도가 증가되어 유발되는 대사성 질환이다.

당뇨병의 병증은 동양의학의 여러 문헌에서 찾아볼 수 있으며 消渴·皮膚瘙癢·癰疽·痺痛 등의 범주에 해당되며 이 중 가장 유사한 病證은 消渴이다³⁾.

消渴이란 消穀善肌하면서 渴而多飲하는 병증으로²²⁾ 『黃帝內經·素問·陰陽別論』²³⁾에서 “二陽結, 謂之消”라고 처음으로 기록된 이래 역대의 의가들에 의하여 다양한 명칭으로 그 병인 및 치료에 대하여 많은 기록이 있어 왔다³⁾. 『東醫寶鑑』²⁴⁾에서는 消渴을 三消로 나누어 “大渴引飲 善食而瘦 小便如膏” 등과 같이 그 증상을 기록하고 있다.

消渴의 개념에 관해서는 박⁴⁾이 그 개념과 치료의 대강에 대해 발표한 이후, 김²⁵⁾이 白虎湯을 이용하여 alloxan으로 유도된 당뇨 모델에 적용하였으며, 유 등²⁶⁾은 消渴의 침구 치료법에 관한 문헌적 고찰을, 채 등²⁷⁾은 소갈의 병인병기와 침구치료에 관한 문헌적 고찰을, 박 등²⁸⁾이 침자극이 시험적 소갈에 미치는 영향에 대한 면역조직화학적 연구를 보고한 바 있으며, 백 등²⁹⁾이 소갈의 원인과 분류에 관한 문헌적 고찰을 보고하는 등 소갈이라는 병증에 대한 연구가 비교적 활발히 이루어지고 있다.

개별 한약재를 중심으로 한 당뇨병 연구로는 김⁶⁾이 黃連이 黃栢보다 항당뇨효과가 더 있음을, 한약처방을 중심으로 한 연구는 장 등⁷⁾이 加味四物湯의 Insulin 및 Insulin과 밀접한 스트레스 호르몬 분비조절효과를 발표하였다. 특히 藥鍼에 관한 연구로는 김 등⁸⁾이 水蓼, 白蓼 및 紅蓼藥鍼이 抗糖尿 효과가 있음을 보고한 이후 황 등⁹⁾이 玫瑰花根이 抗糖尿 효과가 있음을, 유 등¹⁰⁾이 紫河車藥鍼이 糖尿에 의한 흰쥐의 腎臟 손상에 효과적으로 사용될 수 있음을, 정 등¹¹⁾이 가시五加皮藥鍼이 糖尿誘發抑制 및 腎臟保護活性이 있음을 보고하고 있다. 하지만 여전히 한약처방, 특히 藥鍼을 재료로 한 연구 결과는 미미한 실정이다.

본 연구에서 쓰인 한약복합처방(SHP)의 각 구성약물의 효능을 고찰하면 熟地黃은 甘微溫

으로 補血, 滋陰하며, 生地黃은 甘苦寒으로 清熱 涼血, 生津止渴하며, 玄蔘은 苦鹹涼으로 養陰生津, 瀉火解毒하며, 丹蔘은 苦寒으로 活血祛瘀, 冷血安神하며, 知母는 苦寒으로 清熱除煩, 滋陰降火하며, 石斛은 甘淡寒으로 滋養胃陰, 清熱生津하며, 麥門冬은 甘微苦寒으로 滋陰清熱, 潤肺生津하며, 天花粉은 苦甘酸涼으로 清熱生津, 消腫祛痰하며, 石膏는 辛甘寒으로 清熱降火, 除煩止渴하며, 黃芪는 甘溫으로 補氣升陽, 固表止汗하며, 烏梅는 酸溫으로 生津止渴한다³⁰⁻³². 구성약물의 氣味로 보아 SHP은 대체적으로 苦寒하며 清熱, 滋陰, 生津하는 處方임을 알 수 있다.

腎俞(BL23)는 足太陽膀胱經의 背俞穴로서 제2 요추 아래 양쪽으로 각 1寸 5분에 위치하며 滋補腎陰, 祛水濕, 強腰脊, 益聰明目 등의 효능이 있어 腎臟炎, 腎虛腰痛, 小便濁, 水腫 등의 병증에 많이 응용되고 있으며, 腎氣의 轉輸之處로서 신장의 기능과 밀접한 연관성을 가지고 있다³³⁻³⁵.

유 등²⁶은 消渴의 침구 치료법에 관해 문헌적으로 고찰하면서 소갈에 관한 主治症을 갖고 있는 正經의 穴位를 조사하였으며 그 결과 경락별로는 족태양방광경이 소갈의 치료에 가장 많이 사용되었음을 보고하였고, 채 등²⁷도 소갈과 장부와의 관계에서 脾肺腎의 세 장부가 가장 밀접한 관계가 있음을 보고하였으며 腎俞가 가장 많이 사용되었음도 함께 보고하고 있다.

따라서 본 연구에서는 SHP을 재료로 선정할 후 사용 穴位를 위와 같은 맥락에서 腎俞로 정하였으며 치료 효율을 극대화하고자 경구 투여도 함께 실시하였다.

재료로 사용된 SHP의 효과를 검증하기 위해 시험관 내 실험에서 SHP의 α -glucosidase 저해 활성을 관찰한 결과 낮은 농도에서는 농도의존적으로 저해 활성을 보였으며(Fig. 1), 또한 농도의존적인 DPPH 라디칼 소거 효과도 나타내었다(Fig. 2). 신장 피질 조직을 사용한 지질 과산화 생성 실험에서도 t-BHP에 의한 지질 과산화물의 생성을 억제하였다(Fig. 3). 그러므로 시험관 내 실험에서는 STZ에 의한 당뇨 발생을 억제할 수 있음을 나타내었다.

질환 모델에서도 유사한 효능을 나타낼 수 있는지 확인하기 위해 흰쥐에 60mg/kg weight 되

도록 복강 주사함으로써 당뇨를 유발시켰으며, 이후 10일 동안 SHP의 腎俞穴 藥鍼 및 경구투여를 병용하여 당뇨에 미치는 영향을 살펴보았다. 그 결과 STZ에 의한 혈청 중 insulin 함량 저하가 SHP시술로 대조군에 비해 유의성있게 증가 되었으며(Fig. 4), 혈청 중 glucose 함량의 변화에도 영향을 미쳐 insulin 함량의 변화와 유사한 정도로 혈청 중 glucose 함량의 유의성있는 감소도 나타내었다(Fig. 5).

혈청 중 triglyceride 함량이 STZ 투여에 의해 현저히 상승되었으며 SHP의 처치가 상승된 triglyceride 함량을 유의성있게 감소시켰다(Fig. 6). 혈청 중 total cholesterol 함량에는 STZ 투여나 SHP의 처치가 별다른 영향을 나타내지 못했다(Fig. 7).

STZ 투여로 인해 혈청 내 지질과산화물의 함량이 증가되었으며 그 수치가 SHP의 처치로 유의성있게 감소되었다(Fig. 8). Catalase 활성에 있어서는 STZ에 의해 증가된 catalase는 SHP에 의해 감소되는 경향을 보였지만 유의성은 없었다(Fig. 9). Glutathione의 활성 역시 SHP을 처치한 실험군에서 유의성있는 변화가 나타나지 않았다(Fig. 10).

이상의 결과를 종합하면 SHP은 α -glucosidase 저해 활성 및 항산화 활성을 가지고 있음을 보여주었고, STZ에 의한 흰쥐의 당뇨 모델에서도 인슐린 과립의 소실을 억제하는 등의 작용으로 인해 혈당 및 혈중 insulin 함량을 유의성있게 개선시켰으며 혈중 triglyceride 수치를 낮춰 주었다. 이러한 SHP의 효과는 항산화효소의 활성도를 증가시켜서 생체내 항산화능을 향상시킬 것으로 생각되며, 당뇨병뿐만 아니라 당뇨병의 병발 질환에도 효과적으로 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

V. 結 論

한약복합처방(SHP)의 약침 및 경구투여가 STZ으로 유발된 흰쥐의 당뇨병과 항산화능에 미치는 영향을 연구한 결과 다음과 같은 결론을

얻었다.

1. In vitro에서 SHP은 α -glucosidase 저해 및 DPPH 라디칼 소거 활성을 나타냈으며, t-BHP에 의한 신장 피질 조직에서의 지질 과산화 생성을 억제하였다.

2. SHP은 대조군에 비해 STZ에 의한 혈청 중 insulin 함량 저하를 유의성있게 증가시켰으며, 혈청 중 glucose 함량변화에 있어서도 유의성있게 감소시켰다.

3. SHP은 대조군에 비해 STZ에 의해 상승된 혈청 중 triglyceride 함량을 유의성있게 감소시켰고, 혈청 중 total cholesterol 함량을 감소시키는 경향을 보였으나 유의성은 없었다.

4. STZ 투여로 인해 혈청 내 지질과산화물의 함량이 증가되었으며 SHP의 약침 및 경구투여로 감소되는 경향을 보였으나 유의성은 없었다.

5. STZ에 의해 증가된 catalase 활성은 SHP에 의해 감소되는 경향을 보였으나 유의성은 없었으며, glutathione 활성 역시 SHP에 의해 감소되는 경향을 보였으나 유의성은 없었다.

VI. 參考文獻

1. Harrison TR. Principles of Internal Medicine, Diabetes Mellitus. 11th ed. New York: McGraw-Hill Book Company. 1987 : 1778-1797.
2. 대한당뇨병학회. 당뇨병학. 서울 : 고려의학. 1998 : 1-55.
3. 姜錫峯, 金權鐵. 消渴病의 症狀에 대한 病機論的 接近. 東西醫學. 1998 ; 23(4) : 21-40.
4. 박헌재. 소갈(당뇨병)의 개념과 그 치료에 관한 관견(管見). 동서의학. 1977 ; 2(1) : 26-31.
5. 曹少鳴. 鍼刺, 艾灸, 鍼加灸治療糖尿病的比較研究. 中國鍼灸. 1997 ; 17(10) : 586.
6. 김진택. 황백(黃柏), 황련(黃連)이 실험적 당뇨 흰쥐에 미치는 영향. 방제학회지. 1990 ; 1(1) : 163-172.
7. 장세환, 최종백. 가미사물탕이 당뇨에 미치는 영향에 관한 실험적 연구. 대한한의학회지. 1991 ; 12(2) : 97-112.
8. 김용시, 고흥균, 강성길. 수삼(水蔘), 백삼(白蔘) 및 홍삼(紅蔘)수침(水鍼)이 Alloxan 당뇨병 흰쥐에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1989 ; 6(1) : 1-13.
9. 황우준, 양귀비. 매괴화근(玫瑰花根)약침이 streptozotocin으로 유발시킨 당뇨에 미치는 영향. 대한한의학회지. 1998 ; 19(1) : 109-126.
10. 유진호, 최도영, 강성길. 紫河車藥鍼이 糖尿誘發 흰쥐의 腎臟保護機能에 미치는 影響. 대한침구학회지. 2002 ; 19(4) : 152-166.
11. 정종운, 이운호, 강성길. 가시五加皮藥鍼이 糖尿誘發抑制 및 腎臟保護活性에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2003 ; 20(3) : 1-14.
12. Dunn JS, Sheehan HL, McLetchie NG. Necrosis of Langerhans produced experimentally. 1943 ; Lancet I : 484-7.
13. Rakieta N, Rakieta ML, Nadkarni MV : Studes on the diabetogenic actions of streptozotocin. Cancer Chemother Rep 1963 ; 29 : 91-8.
14. Hatano T, Edamatsu R, Hiramatus M, Mori A, Fujita Y, Yasuhara T, Yoshida T, and Okuda T. Effects of the interaction of tannins with co-existing substances. IV. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. Chem. Pharm. Bull. 1989 ; 37 : 2016.
15. Uchiyama M and Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissue by thiobarbituric acid test. Anal. Biochem. 1987 ; 86 : 271-278.
16. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dry binding. Anal. Biochem. 1976 ; 72 : 248-524.

17. Aebi H. In *Methods of Enzymatic Analysis* (Bergmeyer, H. U. eds.), New York : Academic press. 1974 : 674-678.
18. Ellman GL. Tissue sulfhydryl group, *arch. Biochem. Biophys.* 1959 ; 82 : 70-77.
19. Yagi K : Lipid peroxides and human disease, *Chemistry and Physics of Lipids.* 1987 ; 45 : 337-351.
20. Deisseroth A and Dounce AL. Catalase physical and chemical properties, mechanism of catalysis and physiological role. *Physiol Rev.* 1970 ; 50 : 3-24.
21. Boyland E and Chasseud LF. The role of glutathione and glutathione-s-transferase in mercapturic acid biosynthesis. *ADV Enzmol.* 1969 ; 32 : 173-219.
22. 杜鎬京. 東醫腎系學(下). 서울 : 동양의학연구원. 1993 : 1131.
23. 王冰 註. 黃帝內經素問. 臺北 : 臺灣中華書局. 1972 : 84.
24. 許浚. 東醫寶鑑. 서울 : 南山堂. 1998 : 777-787.
25. 김완희. 소갈(消渴)에 응용되는 백호탕이 Alloxan 당뇨에 미치는 영향. *동서의학.* 1979 ; 4(2) : 2-31.
26. 유성현, 이임근. 소갈(消渴)의 침구치료혈에 관한 문헌적 고찰. *동서의학.* 1989 ; 14(3) : 15-31.
27. 채우석, 김영희. 소갈의 병인병기와 침구치료에 관한 문헌적 고찰. *대전대학교 한의학논문집.* 1995 ; 4(1) : 269-285.
28. 박찬우, 이학인. 침자극이 시험적 소갈에 미치는 영향에 대한 면역조직화학적 연구. *제한동의학술원논문집.* 1997 ; 2(1) : 156-176.
29. 백정환, 김종대, 강석봉. 소갈의 원인과 분류에 관한 문헌적 고찰. *동서의학.* 1995 ; 20(3) : 41-59.
30. 신민교. *임상본초학.* 서울 : 영림사. 1992 : 169, 219, 232, 233, 276, 298, 372, 581.
31. 강병수, 김영판. *임상배합본초학.* 서울 : 영림사. 1994 : 112, 173, 180, 218, 223, 263, 279, 380, 596, 673.
32. 양동희. *본초비요해석.* 서울 : 일중사. 1991 : 15, 29, 42, 53, 78, 130, 134, 188, 516.
33. 崔容泰 외. *鍼灸學.* 서울 : 집문당. 1988 : 489, 1457.
34. 高武. *鍼灸聚英.* 上海 : 上海科學技術出版社. 1961 : 63, 64.
35. 楊繼洲. *鍼灸大成 影印本.* 서울 : 대성문화사. 1985 : 299, 300.