

The Hypoglycemic Effect of Complex of Chinese Traditional Herbs (CTH) and Macelignan in Type 2 Diabetic Animal Model

Jiyoung Yeo, Soo-In Cho and Myeong Ho Jung*

School of Korean Medicine, Pusan National University, Yangsan, Gyeongsangnam-do, 626-770, Korea

Received April 29, 2010 / Accepted June 21, 2010

This study investigated the efficacy of macelignan and hot water with Chinese traditional herb (CTH) extract on altering severe diabetic conditions in C57BL/KsJ-*db/db* mice. Previously, the anti-diabetic effects of macelignan were partly reported as a PPAR α/γ -dual agonist. Here, we further studied whether a combination of macelignan and CTH had more beneficial effects or not. The macelignan and CTH compound significantly decreased fasting blood glucose and HbA1c compared to macelignan-treated mice, and also significantly improved postprandial glucose, insulin sensitivity, and plasma lipid profiles (FFA, and TG). On the other hand, insulin levels were not significantly changed compared to the diabetic control group. There were no significant changes in the concentrations of total cholesterol and HDL-cholesterol, but there were changes in HTR and AI. These results suggest that the macelignan and CTH compound ameliorates hyperglycemia and efficiently improves postprandial glucose, insulin sensitivity, and hyperlipidemia compared with macelignan in *db/db* mice. Moreover, the macelignan and CTH compound seems to be more potent in affecting diabetic complications than macelignan.

Key words : Type 2 diabetes, *db/db* mice, macelignan, Chinese traditional herbs (CTH), blood glucose, hyperglycemia, hyperlipidemia

서 론

당뇨병은 인슐린 저항성 및 상대적인 인슐린 분비장애로 인해 고혈당이 유지되는 대사성 만성질환[35]이며, 경제발전이 가속화되고 생활이 서구화 및 간편화되면서 급격히 증가하고 있다. 이미 2003년에는 전세계적으로 2억 명 가까이 당뇨병으로 고통받고 있으며, 2025년에는 3억 명을 넘어 성인인구(20세 이상 기준)의 6% 이상을 차지할 것으로 예측되고 있다[12]. 국내 역학연구를 통해 살펴 보면, 우리나라의 당뇨병 유병률은 1970년대에는 약 2%였던 것이 점차 증가하여 90년대 초부터는 약 7%에 육박하는 결과를 보였다[26]. 뿐만 아니라 아직 당뇨병으로 진단되지 않은 환자들까지 고려한다면 실질적인 당뇨병 환자 수는 그 이상으로 생각되며 2030년대에는 10%를 넘어설 것으로 예상되고 있다[28], 합병증 발병이 높은 당뇨병의 특성상 의료비용, 인력손실 및 사회적 파급효과 또한 클 것으로 생각된다[21,26]. 성인(20-79세) 당뇨병 환자의 건강보험 총 진료비는 전체 성인 총 진료비의 약 20%를 차지하였고, 일인당 총 진료비는 전 국민의 성별과 연령차이를 감안하여 3.0배나 높았다고 보고되었다[13]. 당뇨병 환자의 사망률 또한 비당뇨병 환자인 일반인에 비해 2.2~7.3배나 높음을 알 수 있었다[29]. 이에 당뇨병을 치료하거나 그 병세를 호전시키기 위해 효능이 우수한 경구용 약물(혈당강하제)을 비롯한 치료제

개발이 활발히 진행되고 있다. 그러나 이러한 치료제들은 약물복용에 따른 부작용과 환자의 내성이 계속해서 문제가 되고 있으므로[33] 천연물을 이용한 당뇨병 치료제의 개발은 중요한 의미가 있을 것이다.

육두구(Myristicae Semen, nutmeg)는 육두구과(Myristicae)인 육두구나무(Myristica fragrans Houttuyn)의 성숙과 껍질을 벗기고 석회유에 1일간 담근 후 말린 생약이다[17]. 육두구에는 myristic acid와 trimyristin (myristic acid triglyceride)가 풍부하게 존재하며 지방산 원료로서 마요네즈 등의 가공식품에 이용되고 있을 뿐 아니라 향신료, 소화제로 이용되기도 한다[25]. 우리나라는 육두구를 중국, 인도네시아, 스리랑카, 다마스카르 등에서 연간 12톤 정도 수입하고 있다[20].

Macelignan은 육두구의 약용성분으로 이미 보고된 바[16] 있는 약 30여 종의 lignan 중의 하나이며[43], 여러 연구자들에 의해 항박테리아 및 항염증 효과, 그리고 항균 및 항산화 등의 약리작용이 보고되었다[14,22]. 특히, Han 등[11]은 macelignan이 endoplasmic reticulum (ER) stress를 감소시키고 당뇨병 치료제 개발 target중 하나인 PPAR- α/γ -dual agonist로서의 항당뇨 효능을 세포주 실험과 제2형 당뇨병동물모델(*db/db* 마우스)을 이용하여 증명하였다. 그들은 macelignan을 *db/db* 마우스에 적용했을 때 serum glucose를 비롯한 insulin, triglycerides, free fatty acids 등과 skeletal muscle과 liver에서는 triglyceride가 감소함을 보고하였다.

이 밖에도, 선진국으로부터 시작된 대체의료 개념이 부각되면서 대체의료 소재들에 대한 관심도 높아지고 있다[24]. 현재

*Corresponding author

Tel : +82-51-510-8432, Fax : +82-51-510-8437

E-mail : jung0603@pusan.ac.kr

미국에서 판매되고 있는 항당뇨 의약대체소재로 *Lagerstroemia speciosa* (바나바), *Gymnem sylvestre* (김네마), *Mori folium* (상엽), *Psidium guajava* (구아바잎), *Oenothera odorat a* (달맞이꽃)[18] 등이 있으며, 최근에는 이 추출물 소재들에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다[15,30]. 본 연구는 이를 토대로 실제 당뇨병 개선을 위해 한방치료에서 사용하는 약용식물들 중 *Panax ginseng* C.A.Meyer (인삼), *Pueraria lobata* (쑥), *Dioscorea batatas Decaisne* (마), *Rehmannia glutinosa* (지황)[41], *Amonum cadamomum Linné* (백두구)[36], *Poncirus fructus* (지실)[23], *Evodia officinalis* (오수유)[44]을 열수 추출하여 복합 한약제를 만들었으며, 이 복합 한약제(Chienes traditional herbs, CTH)의 효과를 높이기 위해 macelignan를 함께 사용함으로써 항당뇨 효능 역시 높이고자 하였다. 따라서, Han 등[11]의 선행연구에서 사용한 바 있는 식욕항진으로 인한 비만, 고혈당, 인슐린 저항성, 고렙틴혈증, 고인슐린혈증 등의 제2형 당뇨병 환자와 유사한 임상적 특징을 지닌[3,9,32] C57BL/KsJ-*db/db* 마우스를 이용하여 macelignan과 복합 한약제(CTH) 열수 추출물의 첨가 후 결과를 분석 및 평가함으로써 항당뇨 효과를 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

Macelignan과 한약제(CTH) 복합물의 준비

본 연구에 사용된 인도네시아산 *Myristica fragrans* Houutt (macelignan)은 연세대 생명공학과 황재관교수 연구실에서 얻었으며, 부산대학교 한의학전문대학원의 조수인교수 연구실에서 *Panax ginseng* C.A.Meyer (인삼), *Pueraria lobata* (쑥), *Dioscorea batatas Decaisne* (마), *Rehmannia glutinosa* (지황)[41], *Amonum cadamomum Linné* (백두구)[36], *Poncirus fructus* (지실)[23], *Evodia officinalis* (오수유)[44]을 구입 후 각 한약재를 1:1:1:1:1:1의 비율로 열수 추출하여 동결건조 후 분말화한 것(CTH, 15 mg/kg BW)을 macelignan (150 mg/kg BW)과 함께 DMSO에 녹여 사용하였다. 본 연구에 사용된 약용식물들의 voucher specimens는 부산대학교 한의학전문대학원 본초학 연구실에 보관하였다.

실험동물 및 사육

28마리의 5주령 수컷 C57BL/KsJ-*db/db* (*db/db*) 마우스를 (주)오리엔트바이오를 통해 Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME)로부터 구입하였다. *db/db* 마우스는 2주간 고형식으로 적응시킨 후, 당뇨실험군으로 하여 난괴법에 의해 당뇨대조군(*db/db*-control), rosiglitazone군(*db/db*-rosi), macelignan군(*db/db*-Mace), macelignan+CTH군(*db/db*-Mace+CTH)으로 나누어 3주간 사육하였다. 사육 기간에는 식이와 물을 자유롭게 먹도록 하였으며 KGLP (비임상시험관리기준)에 근거하여 동물사육실의 환경은 항온(20±2°C), 항습(50±4%), 12시간 간격

(08:00-20:00)의 광주기로 일정한 조건을 유지하고 동물들은 polycarbonate cage에 한 마리씩 분리하여 사육하였다. 본 실험에 사용한 기본식은 AIN-76 semi-synthetic diet [1,2]의 식이조성으로 만들어진 고형식을 (주)중앙실험동물에서 구입하여 사육기간에 냉장 보관하여 급여하였으며, 본 연구에 사용된 rosiglitazone, macelignan과 CTH는 각각 10 mg/kg BW, 15 mg/kg BW, 그리고 macelignan (15 mg/kg BW)과 CTH (150 mg/kg BW)를 같이 섞어 3주간 경구 투여한 후에 희생하였다. 본 연구는 부산대 동물실험윤리위원회의 감독하에 진행되었다.

시료 채취

사육이 끝난 실험동물은 희생 전 12시간 동안 절식시킨 후에 테르를 흡입시켜 마취시킨 다음, 복부 하대정맥(inferior vena cava)으로부터 공복혈액을 채취하였다. 실험동물의 장기 조직은 혈액채취 후 즉시 적출하여 PBS (phosphate buffered saline) 용액으로 수차례 헹군 후 표면의 수분을 제거하여 칭량하였으며, 즉시 액체질소로 급냉시켜 -70°C에 보관하였다.

공복혈당, 당화혈색소(HbA1c) 측정 및 혈장 분석

실험기간에 6일마다 1회 12시간 공복시킨 후에 그 혈당을 실험동물의 꼬리를 자른 후 얻은 정맥혈을 이용하여 측정하였다. 이때, Glucometer (GlucoDr, Allmedicus, Anyang, Gyeonggi-do, Korea)를 사용하였다. 당화혈색소(HbA1c)의 경우 희생 후 전혈을 이용하여 MicroMat™ II Hemoglobin A_{1c} Tes (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)로 측정하였다. 희생 후 전혈을 4°C, 1,000×g에서 15분간 원심분리 후 혈장을 얻었으며, 분리된 혈장으로 insulin, glucagon, C-peptide (Mouse ELISA Kit, ALPCO Diagnostics, Salem, NH, USA)를 EILSA kit을 이용하여 측정하였다.

이 밖에도 혈장으로부터 total cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride 함량을 아산제약(주)의 kit로 측정하였으며, free fatty acids 농도는 Wako Chemicals USA Inc. (Richmond, VA, USA)로부터 kit를 구입하여 측정하였다.

내당능(intraperitoneal glucose tolerance test (IPGTT)) 검사 및 인슐린 민감도(intraperitoneal insulin tolerance test (IPITT)) 측정

실험기간 중 희생 전에 실험동물을 대상으로 내당능 및 인슐린 민감도 검사를 실시하였다. 먼저, 내당능 검사는 실험동물을 12시간 공복시킨 후 glucose (0.5 g/kg BW)를 복강주사하고 0, 30, 60, 120분마다 실험동물의 꼬리 정맥혈을 이용하여 혈당을 측정하였다. 2일 후, 인슐린 민감도를 알아 보기 위해, 다시 12시간 공복시킨 후 insulin (2 unit/kg BW)을 복강 주사하여 0, 30, 60, 90분 동안의 혈당 변화를 살펴 보았다.

통계처리

실험결과는 SPSS package 프로그램(SPSS Inc., Chicago, IL, USA , 11.5 version)을 이용하여 실험군당 평균±표준오차로 표시하였고, 각 군간 평균치의 통계적 유의성 검정은 one-way ANOVA를 실시하고 다군간의 차이는 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple test로 사후 검정하였다.

결과 및 고찰

Macelignan과 CTH 복합물 투여가 db/db 마우스의 공복 혈당 및 당화혈색소에 미치는 영향

Macelignan과 CTH 복합물을 db/db 마우스에 3주간 경구 투여했을 때의 공복혈당 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 실험 전 난괴법에 의해 정해진 각 군별 평균 혈당은 295±25 mg/dl로 확실하게 당뇨가 발병된 상태였으며, 실험물질 투여 첫날의 공복혈당은 각 군간에 차이가 없었으나 시간 경과에 따른 변화가 나타났다. Rosiglitazone을 경구 투여한 군의 공복혈당은 실험시작 시점과 비교해 변화가 거의 없는 것으로 나타났으며, 실험이 종료될 때까지 계속 그 상태로 유지되었다. 당뇨대조군의 경우 실험기간 동안 계속해서 공복혈당이 상승한데 비해, macelignan 투여군과 CTH를 병용 투여한 군들은 3주간의 투여를 통해 공복혈당이 당뇨대조군에 비해 macelignan 단독 투여군의 경우는 약 27%, 그리고 CTH를 병용 투여한 군은 약 35% 유의적으로 낮아져 공복혈당의 상승이 둔화된 것으로 나타났다(Fig. 1).

Macelignan을 단독 투여군과 CTH 병용하여 투여한 군간의 공복혈당 차이를 비교하면, CTH를 macelignan과 병용 투여한 군에서 조금 더 낮은 경향을 보였으나, 두 군간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 따라서, 실험물질인 macelignan과

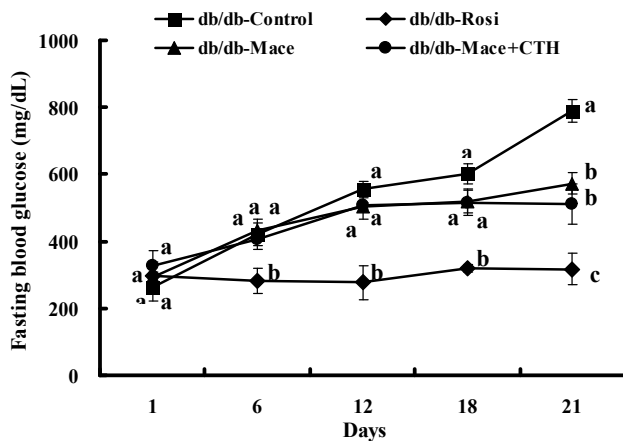


Fig. 1. Changes in the fasting blood glucose concentration of the macelignan and CTH complex in C57BL/KsJ-db/db mice. Values are means±SEM, n=7. abcThe means not sharing a common letter are significantly different between groups (p<0.05).

CTH를 병용하여 실험동물에 적용한 결과, 제2형 당뇨병에서 고혈당을 개선시키는 효과가 유의적으로 있는 것으로 사료된다.

희생 후 전혈을 이용하여 실시한 당화혈색소(HbA1c) 측정 결과에서는 당뇨대조군에 비해 macelignan과 CTH를 병용 투여한 군이 유의적인 차이를 보이며 1% 정도가 감소한 것으로 나타났다(Fig. 2).

HbA1c는 적혈구 생존시기인 약 3개월 동안에 일어나는 당화 반응의 변화에 따른 것이므로 약 3개월간의 혈당조절 상태를 나타내며 정상인 내지 비당뇨인은 7% 이하, 당뇨병 환자의 경우 10% 이상으로 나타나는 경우가 많다. 뿐만 아니라, 당뇨병 진행을 나타내는 의미있는 지표로써 HbA1c가 2% 증가할 때마다 당뇨 합병증의 하나인 망막병증의 발병 위험이 2배 정도 증가한다는 것은 이미 잘 알려진 사실이다[19]. 또한, Tuner 등[39]은 The UK Prospective Diabetes Study (UKPDS)에서 HbA1c의 수치가 증가할수록 β-세포의 기능이 약화된다고도 보고하였다. 본 실험결과, macelignan을 단독 투여한 군에서는 당뇨대조군과 차이가 없는 것으로 나타났으며, macelignan의 단독투여보다는 CTH와의 병용 투여하는 것이 HbA1c를 개선시키는데 더 효과가 있는 것으로 보인다.

Macelignan과 CTH 복합물이 db/db 마우스의 내당능 및 인슐린 민감도에 미치는 영향

Macelignan과 CTH 복합물을 db/db 마우스에 3주간 경구 투여한 결과 내당능 및 인슐린 민감도에 변화가 생겼으며 Fig. 3A와 Fig. 3B에 나타내었다.

식후혈당 조절상태를 나타내는 내당능 검사에서 당뇨대조군의 경우 glucose를 복강 주사한 후 상승된 혈당은 주사 후 60분이 경과되었을 때, 가장 고혈당 상태를 보였다가 감소하기 시작했다. 그러나 2시간이 경과한 시점에서 혈중 당이

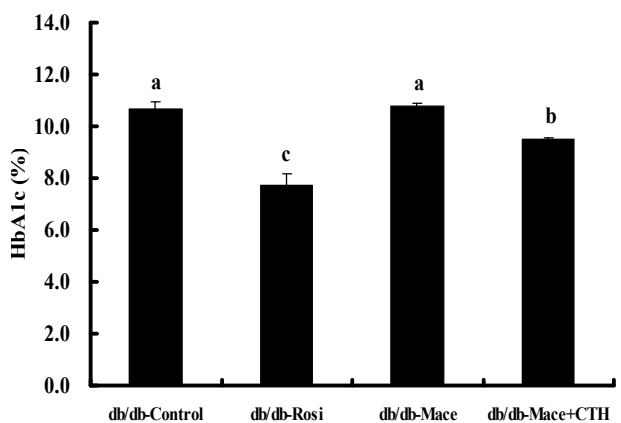


Fig. 2. Effects of the macelignn and CTH complex on glycated hemoglobin (HbA1c) in C57BL/KsJ-db/db mice. HbA1c was measured after sacrifice and presented by percentage (%). Values are means±SEM, n=7. abcThe means not sharing a common letter are significantly different between groups (p<0.05).

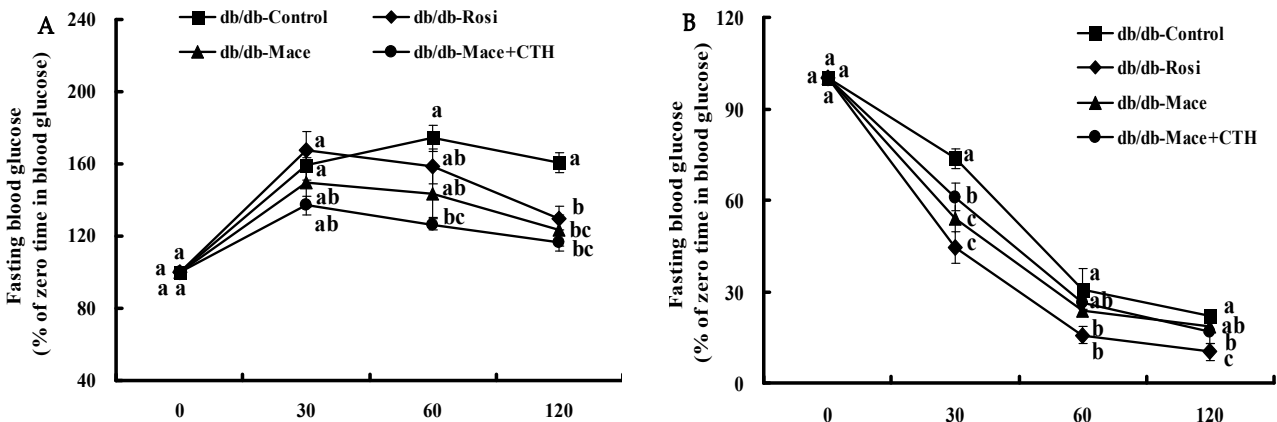


Fig. 3. Effects of the macelignan and CTH complex on the intraperitoneal glucose (A) and insulin tolerance (B) test (IPGTT & IPITT) in C57BL/KsJ-*db/db* mice. The blood glucose concentration was measured at the indicated times and presented as a percentage of glucose injection zero time. Values are means±SEM, n=7. ^{abc}The means not sharing a common letter are significantly different between groups ($p<0.05$).

적절하게 제거되지 못해 고혈당이 계속 유지되는 현상을 보였다. 나머지 군들에서는 glucose 복강주사 후 30분에 가장 높은 혈당치를 보인 후 서서히 감소하기 시작하여 2시간이 경과한 시점에서는 glucose 주사 전 혈당에는 미치지 못하나 당뇨대조군에 비해서는 유의적으로 낮았다(Fig. 3A). 그 중에서도 macelignan과 CTH를 병용 투여한 군의 경우에는 혈당이 상승되는 정도가 macelignan군에 비해 더 완만했으며, 이미 60분이 지난 시점에서 당뇨대조군을 비롯한 나머지 군들에 비해 유의적으로 낮은 혈당을 보여 macelignan을 단독으로 처리했을 때보다 macelignan과 CTH의 병용 투여가 식후혈당 조절에 더 효과적인 것으로 나타났다.

식후혈당은 섭취하는 식품의 양뿐 아니라 식품의 종류와도 관련이 있으며, 포도당으로 소화 흡수가 느릴 경우 혈당의 증가반응이 느리게 나타나고, 빠른 경우에는 혈당이 급격히 증가하여 insulin 분비도 그만큼 더 증가시킨다고 하였다[4]. 따라서, 내당능이 유의적으로 개선되지 않으면 심혈관계 질환 등의 합병증 유발 위험성이 더 큰 것으로 보고 되어 있으므로 [21] macelignan과 CTH의 병용 투여는 당뇨병 합병증의 유발 위험성을 효과적으로 개선시키는데 도움이 될 것으로 판단된다.

이와 함께 분비된 인슐린과 인슐린 수용체의 효과적인 작용

여부를 알 수 있는 인슐린 민감도 역시 macelignan과 CTH를 병용 투여한 경우가 당뇨대조군에 비해 유의적으로 낮은 혈당을 보임(Fig. 3B)으로써, macelignan의 단독 투여보다는 상대적으로 인슐린 수용체를 통한 세포 내 유입이 더 효과적으로 일어나 체내에서 이용되고 있는 것으로 보여진다.

Macelignan과 CTH 복합물 투여가 *db/db* 마우스의 당뇨병 관련지표들에 미치는 영향

고혈당 조절 및 당뇨병의 주요 지표인자로 알려진 insulin 등을 비롯한 호르몬들과 adipokines의 혈중 함량을 측정된 결과를 다음 Table 1에 나타내었다.

혈중 insulin 농도는 rosiglitazone을 투여한 군에서 가장 높았고, 나머지 군들간에는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 혈중 glucagon 농도는 macelignan을 단독으로 처리한 군에서 당뇨대조군에 비해 유의적으로 감소되는 것으로 나타났으나, macelignan과 CTH를 병용한 경우에는 유의적인 차이를 볼 수는 없었다(Table 1).

앞서, Han 등[11]은 macelignan을 단독으로 투여했을 때 혈중 insulin 농도가 낮아졌다고 보고하였으나, 본 연구에서는 혈중 insulin 농도에서는 뚜렷한 변화가 없었고 glucagon 함량

Table 1. The effects of the complex of macelignan and CTH on the plasma hormones and cytokines in *db/db* mice for 3 wk

	<i>db/db</i> -Control	<i>db/db</i> -Rosi	<i>db/db</i> -Mace	<i>db/db</i> -Mace+CTH
Insulin (ng/ml)	1.48±0.40 ^b	3.43±0.43 ^a	1.52±0.06 ^b	1.59±0.30 ^b
Glucagon (ng/ml)	0.37±0.35 ^a	0.32±0.12 ^a	0.23±0.09 ^b	0.34±0.12 ^a
C-peptide (ng/ml)	3.12±0.42 ^b	4.76±0.55 ^a	4.14±0.11 ^{ab}	4.39±0.28 ^a
Leptin (µg/ml)	0.21±0.03 ^c	2.25±0.15 ^a	0.22±0.03 ^c	0.54±0.04 ^b
Adiponectin (µg/ml)	4.97±0.99 ^b	36.7±2.2 ^a	7.67±0.92 ^b	7.48±0.50 ^b
IL-6(pg/ml)	20.7±0.30 ^a	20.2±0.18 ^{ab}	20.1±0.20 ^{ab}	19.8±0.28 ^b

^{abc}Means in the same row not sharing a common superscript indicate a significant difference ($p<0.05$) between groups. Means±S.E. (n=7) IL-6: Interleukin-6

이 유의적으로 낮게 나타났다. 체내의 glycogen 합성을 촉진하고 당신생을 억제하는 insulin [10]과는 달리 glucagon은 glucokinase 유전자의 전사를 억제하고 glucose-6-phosphatase (G-6-Pase) 활성 및 mRNA 발현, 그리고 PEPCK의 전사를 촉진시켜 당 신생 증가를 유도하므로[31] macelignan을 적용할 경우 체내 혈당조절을 효과적으로 개선시킬 수 있을 것으로 판단되었다. 그러나 본 연구결과에 따르면 macelignan과 CTH의 병용 투여가 macelignan의 단독 투여에 비해 더 개선된 효과를 볼 수는 없었다.

혈중 C-peptide 농도는 당뇨대조군에 비해 실험물질군에서 모두 유의적으로 높았다(Table 1). C-peptide는 인슐린의 전구물질로서 인슐린의 반감기보다 더 길며, 심한 당뇨병 환자의 경우에는 췌장의 insulin 분비능에 대해 insulin보다도 더 잘 반영하는 것으로 알려져 있다. 또한 당뇨병의 진단뿐 아니라 병형을 판별하는데도 중요한 인자이다[5]. 본 연구결과에서는 macelignan을 단독 투여했을 때 보다 CTH와 함께 투여한 경우 비록 insulin 함량 그 자체는 개선의 변화를 볼 수 없었으나 C-peptide 함량이 유의적으로 증가된 것으로 보아 췌장의 인슐린 분비능이 개선되거나 보호된 효과가 있을 것으로 판단되며, 이를 좀 더 분명하게 이해하기 위해서는 further study가 필요할 것으로 생각된다.

혈중 leptin농도는 당뇨대조군에 비해 macelignan과 CTH를 병용한 군에서 rosiglitazone군과 함께 유의적으로 증가한 것으로 나타났으나, macelignan을 단독 투여했을 때에는 차이가 없는 것으로 나타났다(Table 1). 뿐만 아니라 혈중 leptin농도는 체중증가와 양의 상관관계를 가지는 것도 본 연구결과로 확인되었다(Fig. 4A).

Leptin은 일반적으로 식욕억제에 관여하면서 insulin 작용을 향상시켜 다양한 경로를 통해 혈당조절에 관여하기도 한다[8,37]. Table 2에 의하면, 실험시작 전과 후의 각 군별 실험동물의 체중을 비교하였을 때, 실험이 종료된 시점에서 당뇨대

조군의 경우 시간이 경과함에 따라 당뇨병이 심화되면 나타나는 증상들인 다음(多飲), 다식(多食), 다다(多尿)의 증상을 보이며 오히려 체중이 감소되는 것으로 나타났다. 그러나 rosiglitazone을 투여한 군에서는 유의적으로 체중이 증가하여 비만 상태가 유지되는 것으로 나타났다. 이에 반해, macelignan과 CTH를 함께 병용한 군에서는 체중에서 변화를 찾을 수는 없었다(Table 2).

따라서, 체중의 변화 없이 혈중 leptin 함량이 증가한 것은 당뇨병 개선에 도움이 될 것으로 짐작되며, macelignan 단독으로 투여한 것보다는 CTH와 병용 투여하는 것이 더 효과가 있을 것으로 생각된다.

지방세포의 분화과정에서 그 발현량이 증가되는 adiponectin은 비만과 인슐린 저항성을 관련 지을 수 있는 독립적인 인자로 당뇨병이 발병된 동물이나 사람에게서 현저히 낮게 나타난다[45]. 본 연구에서는 당뇨병 치료제로 널리 사용되고 있는 thiazolidinedione계 약물인 rosiglitazone의 경우 당뇨대조군에 비해 혈중 adiponectin 농도가 월등히 높게 나타났다. Macelignan 및 CTH와 병용하는 군들의 경우에는 증가되는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다(Table 1).

Interleukin (IL)-6는 공복시에 지방증(adiposity)과 양의 상관관계를 보이며 insulin의 작용과는 음의 상관관계가 있는 것으로 알려져 있는데[8], 본 연구에서는 혈중 농도가 macelignan과 CTH를 병용한 군만이 당뇨대조군에 비해 유의적인 낮은 것으로 나타났다(Table 1).

Macelignan과 CTH 복합물 투여가 *db/db* 마우스의 혈중 지질에 미치는 영향

본 연구에서는 심한 당뇨병의 경우에 glucose를 대신해 에너지원으로 사용되어 체내 포도당 이용을 억제하게 하는 혈중 free fatty acids 함량을 측정하였다. 이때, 실험물질군 모두가

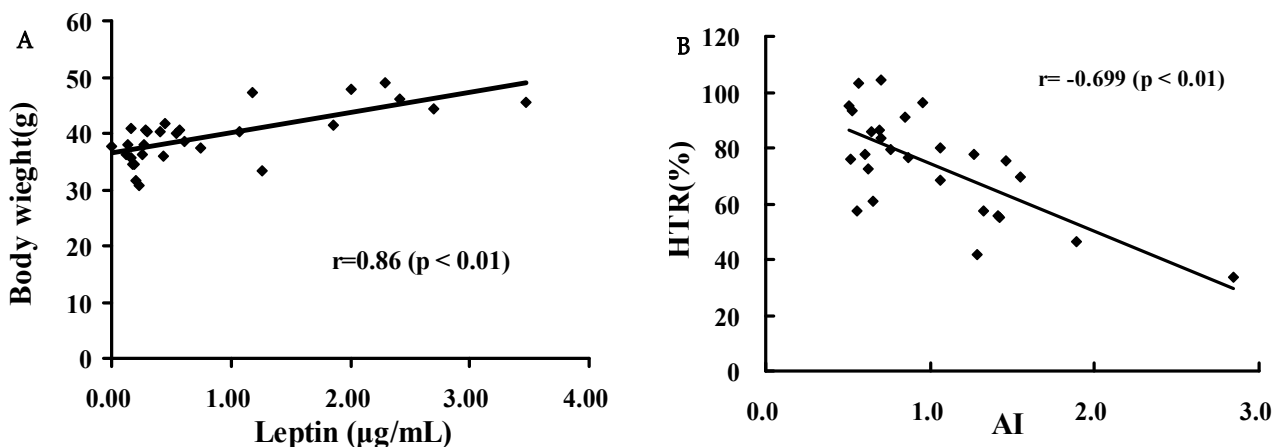


Fig. 4. Effects of the macelignn and CTH complex on correlation coefficients between plasma leptin concentration and body weight (A), AI and HTR (B) in C57BL/KsJ-*db/db* mice.

Table 2. The effects of the complex of macelignan and CTH on the plasma lipid profiles in *db/db* mice for 3 wk

	<i>db/db</i> -Control	<i>db/db</i> -Rosi	<i>db/db</i> -Mace	<i>db/db</i> -Mace+CTH
Body weight (g)				
Initial	38.49±0.87 ^{NS}	38.63±0.74 ^{NS}	38.98±0.79 ^{NS}	38.47±0.93 ^{NS}
Final	37.59±0.90 ^b	46.67±0.67 ^a	39.04±0.88 ^b	38.58±0.83 ^b
FFA (mmol/l)	2.28±0.09 ^a	0.94±0.02 ^c	1.70±0.10 ^b	1.72±0.07 ^b
Triglyceride (mg/dl)				
Initial	117.0±3.7 ^{NS}	113.5±3.8 ^{NS}	110.0±7.9 ^{NS}	111.5±2.2 ^{NS}
Final	296.2±29.7 ^a	109.4±11.0 ^d	259.0±27.5 ^{ab}	165.9±26.2 ^c
Total cholesterol (mg/dl)				
Initial	105.6±4.7 ^{ab}	115.6±1.2 ^a	106.5±4.8 ^{ab}	102.8±2.3 ^b
Final	146.1±5.7 ^b	181.9±2.9 ^a	110.0±11.2 ^c	115.2±5.0 ^c
HDL- cholesterol (mg/dl)				
Final	72.1±6.92 ^{NS}	76.1±5.16 ^{NS}	77.0±5.97 ^{NS}	80.2±3.73 ^{NS}
HTR (%)	48.8±3.46 ^b	44.8±2.25 ^b	62.5±1.90 ^a	62.5±0.77 ^a
AI	1.09±0.15 ^b	1.40±0.06 ^a	0.65±0.06 ^c	0.60±0.02 ^c

^{abc}Means in the same row not sharing a common superscript indicate a significant difference ($p < 0.05$) between groups. Means±S.E. (n=7)
 FFA: free fatty acid, HTR: HDL-cholesterol/totalcholesterol×100
 AI=(total-cholesterol-[HDL-cholesterol])/[HDL-cholesterol]

당뇨대조군보다 유의적으로 낮게 나타났으며, 그 중에서도 rosiglitazone을 투여한 경우가 가장 낮았다(Table 2).

혈중 free fatty acids 함량의 증가는 인슐린 저항성을 야기하므로 비만과 인슐린 저항성 그리고 제2형 당뇨병의 주요 연결인자이며, 본 연구결과를 통해 macelignan을 단독 투여한 경우와 CTH를 병용 투여한 경우 모두 당뇨병에서의 혈중 지질상태를 개선시키는 것으로 나타났다.

앞서 언급한 free fatty acids와 마찬가지로 당뇨병이 심화될 수록 혈중 함량이 높아지는 것으로 알려진 혈중 triglyceride 함량은 본 연구에서 실험 전·후를 비교한 결과, 당뇨대조군의 경우 높게 나타난 것에 비해 macelignan 단독 투여군과 함께 CTH를 병용 투여한 군에서 모두 유의적으로 낮게 나타났다(Table 2).

혈중 total cholesterol 함량은 실험 전에는 모든 군에서 차이가 없었다. 그러나 실험종료 시점인 희생 후 측정된 결과에서는 다른 변화를 보였는데, 당뇨대조군에 비해 rosiglitazone을 투여한 군에서 유의적으로 높게 나타났으며, macelignan 단독 투여 및 CTH를 함께 병용 투여한 군들에서는 유의적으로 낮게 나타났다(Table 2).

당뇨병에서 가장 빈번하게 관찰되는 지질대사이상은 혈중 triglyceride와 cholesterol의 증가, 그리고 HDL-cholesterol의 감소 등을 들 수 있다[40, 42]. 따라서 실험물질을 투여한 경우 당대사 및 지질대사를 개선시켜 실험동물의 혈중 지질농도 저하경향을 보여준 것으로 짐작되며, 특히, macelignan을 단독으로 투여한 경우보다는 CTH를 병용 투여하는 것이 보다 효과적으로 혈중 지질상태를 개선시킬 수 있을 것으로 생각된다.

혈중 HDL-cholesterol 함량은 실험종료 후 측정된 결과 군간 차이는 없었다. 그러나 항동맥경화 지수인 total chole-

sterol에 대한 HDL-cholesterol의 비율인 HTR은 당뇨대조군과 약물 투여군(rosiglitazone)에서는 차이가 나타나지 않은 반면, macelignan 단독 투여군과 CTH를 함께 병용 투여한 군에서 20% 이상 유의적으로 높게 나타났다(Table 2). 동맥경화지수(AI)는 rosiglitazone을 투여한 군에서 가장 높았으나, macelignan 단독 투여군과 CTH를 함께 병용 투여한 군들에서는 당뇨대조군 및 rosiglitazone을 투여한 군보다 유의적으로 낮게 나타났다(Table 2).

본 연구에서는 macelignan 단독투여 및 CTH 병용 투여군 모두가 동맥경화 예방에 도움이 되는 것으로 나타났다. 이는 HTR과 AI의 상관관계를 통해서도 확인할 수 있었다(Fig. 4B). 다만, 두 군 간의 차이는 없었다.

혈중 HDL-cholesterol의 증가는 cholesterol의 역수송을 통해 체내 cholestrol의 조절에 중요한 역할을 하고 있으며, 최근 LDL의 산화적 변형으로부터의 보호역할 역시 그 중요성이 알려져 있다[6,20,24]. AI를 통해 동맥경화를 비롯한 심혈관계 질환 유발의 위험을 미리 짐작할 수 있다는 점에서 macelignan의 단독 투여 또는 CTH와의 병용 투여는 당뇨병 합병증을 보다 효과적으로 개선시킬 수 있을 것으로 판단되었다.

감사의 글

본 연구는 2007년도 부산대학교 교내학술연구비(신임교수 연구정착금)에 의한 연구임.

References

1. American Institute of Nutrition: Report of Ad Hoc Committee on Standards for Nutritional Studies. 1980. *J.*

- Nutr.* **110**, 1717-1726.
2. American Institute of Nutrition: Report of the American Institute of Nutrition ad hoc Committee on Standards for Nutritional Studies. 1977. *J. Nutr.* **107**, 1340-1348.
 3. Coleman¹, D. L. 1978. Obese and diabetes: Two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice. *Diabetologia* **14**, 141-147
 4. Crapo, P. A., G. Reaven, and J. Olefsky. 1977. Postprandial plasma-glucose and -insulin responses to different complex carbohydrates. *Diabetes* **26**, 1178-1183.
 5. Doda, R. F. 1996. Diabetes mellitus in clinical chemistry, pp. 613-641, In Kaplan, L. A., J. P. Amadeo (eds.), Mosby-Year Book. St Louis, Mo.
 6. Duarte, N. L., S. Colagiuri, T. Palu, X. L. Wang, D. E. Wilcken. 2003. Obesity, Type II diabetes and the Ala54Thr polymorphism of fatty acid binding protein 2 in the Tongan population. *Mol. Genet. Metab* **79**, 183-188.
 7. Faraj, M., G. Beaugerard, A. Tardif, E. Loizon, A. Godbout, K. Cianflone, H. Vidal, and R. Rabasa-Lhoret. 2008. Regulation of leptin, adiponectin and acylation-stimulating protein by hyperinsulinaemia and hyperglycaemia *in vivo* in healthy lean young men. *Diabetes Metab* **34**, 334-342.
 8. Fasshauer, M. and R. Paschke. 2003. Regulation of adipocytokines and insulin resistance. *Diabetologia* **46**, 1594-1603.
 9. Flyvbjerg, A., L. Denner, B. F. Schrijvers, R. G. Tilton, T. H. Mogensen, S. R. Paludan, and R. Rasch. 2004. Long-term renal effects of a neutralizing RAGE antibody in obese type 2 diabetic mice. *Diabetes* **53**, 166-172.
 10. Friedman, J. E., Y. Sun, T. Ishizuka, C. J. Farrell, S. E. McCormack, L. M., Herron, P. Hakimi, P. Lechner, and J. S. Yun. 1997. Phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP) gene transcription and hyperglycemia are regulated by glucocorticoids in genetically obese db/db transgenic mice. *J. Biol. Chem* **272**, 31475-31481.
 11. Han, K. L., J. S. Choi, J. Y. Lee., J. Song, M. K. Joe., M. H. Jung, and J. K. Hwang. 2008. Therapeutic potential of peroxisome proliferators-activated receptor-alpha/gamma dual agonist with alleviation of endoplasmic reticulum stress for the treatment of diabetes. *Diabetes* **57**, 737-745.
 12. International Diabetes Federation. 2003. International Diabetes Federation: *Diabetes Atla* pp. 17-71, 2nd eds., Belgium.
 13. Jeong, H. J., H. Y. Kwon, J. T. Han, Y. J. Kim, and A. K. Lee. 2008. Cost-effectiveness analysis of type 2 DM screening program of national health insurance corporation. *Kor. J. Health Economics and Policy* **14**, 29-50.
 14. Jin, D. Q., C. S. Lim, J. K. Hwang, I. Ha, and J. S. Han. 2005. Anti-oxidant and anti-inflammatory activities of macleignan in murine hippocampal cell line and primary culture of rat microglial cells. *Biochem Biophys. Res. Commun.* **331**, 1264-1269.
 15. Khan, B., M. S. Arayne, S. Naz, and N. Mukhtar. 2005. Hypoglycemic activity of aqueous extract of some indigenous plants. *Pak J. Pharm. Sci.* **18**, 62-64.
 16. Kim, K. J. and Y. N. Han. 2002. Lignans from *Myristica fragrans*. *Yakhak Haeji* **46**, 98-101.
 17. Kim, S. H., E. J. Shin, and C. K. Hyun. 2005. Enhancing effect of extracts of phellodendri cortex on glucose uptake in normal and insulin-resistant 3T3-L1 adipocytes. *Kor. J. Pharmacogn.* **36**, 291-298.
 18. Kim, S. H., D. H. Lee, S. H. Kwon, B. H. Lim, S. H. Lee, and B. C. Min. 2007. Isolation and quantitative determination method validation of myristicin from *Myristica fragrans* Houuttuyn. *Kor. J. Pharmacogn.* **38**, 19-21.
 19. Klein, R., B. E. Klein, S. E. Moss, M. D. Davis, and D. L. DeMets. 1988. Glycosylated hemoglobin predicts the incidence and progression of diabetic retinopathy. *JAMA* **260**, 2864-2871.
 20. Korea Pharmaceutical Traders Association. 2000. Korea Drug Test Laboratory Chinese medicine (herb) REGULATION. 370.
 21. Korean Diabetes Association, Health Insurance Review & Assessment Service. 2008. Report of Task Force Team for Basic Statistical Study of Korean Diabetes Mellitus: Diabetes in Korea 2007. 1st ed., Goldfishery, Seoul. Korea.
 22. Lee, J. Y., Y. B. Han, W. S. Woo, and K. H. Shin. 1990. Antioxidant activity of diarylbutanes. *Kor. J. Pharmacogn.* **21**, 270-273.
 23. Lee, Y. M., D. K. Kim, S. H. Kim, T. Y. Shin, and H. M. Kim. 1996. Antianaphylactic activity of Poncirus trifoliata fruit extract. *J. Ethnopharmacol.* **54**, 77-84.
 24. Lim, J. I. 2003. Recent research trends of diabetes drug. *Health Industry and Technology Trends* Spring. 28-38.
 25. Medical Economics Company. 2000. PDR for herbal medicine. 984.
 26. Ministry of Health, 2009. Welfare and Family Affairs; Korea Centers for Disease Control and Prevention: The 4th national health and nutrition examination survey. Seoul, Korea Centers for Disease Control and Prevention.
 27. Moon, E. J., Y. E. Jo, T. C. Park, Y. K. Kim, S. H. Jung, H. J. Kim, D. J. Kim, Y. S. Chung, and K. W. Lee. 2008. Clinical characteristics and direct medical costs of type 2 diabetic patients. *Korean Diabetes J.* **32**. 358-365.
 28. Park, I. B. and S. H. Baik. 2009. Epidemiologic characteristics of diabetes mellitus in Korea: current status of diabetic patients using Korean health insurance database. *Korean Diabetes J.* **33**. 357-362.
 29. Park, S. K., M. K. Park, J. H. Suk, M. K. Kim, Y. K. Kim, I. J. Kim, Y. H. Kang, K. J. Lee, H. S. Lee, C. W. Lee, B. H. Kim, K. I. Lee, M. K. Kim, and D. K. Kim. 2009. Cause-of-Death trends for diabetes mellitus over 10 years. *Korean Diabetes J.* **33**. 65-72.
 30. Rai, P. K., D. Jaiswal, S. Mehta, and G. Watal. 2009. Anti-hyperglycaemic potential of *Psidium guajava* raw fruit peel. *Indian J. Med. Res.* 2009. **129**, 561-565.
 31. Scott, D. K., R. M. O'Doherty., J. M. Stafford., C. B. Newgard, and D. K. Granner. 1998. The repression of hormone-activated PEPCK gene expression by glucose is insulin-independent but requires glucose metabolism. *J. Biol. Chem* **273**, 24145-24151.
 32. Shafirir, E. 1992. Animal models of non-insulin-dependent diabetes. *Diabetes Metab. Rev.* **8**, 179-208.

33. Shokuhin, K. H. 2000. Market trend of health foods and health ingredients. *Shokhin to Kaihatsu* **35**, 18-34.
34. Steinmetz, A. 2003. Treatment of diabetic dyslipoproteinemia. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. **111**, 239-245.
35. Stumvoll, M., B. J. Goldstein, and T. W. van Haefen. 2005. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet* **365**, 1333-1346.
36. Suneetha, W. J. and T. P. Krishnakantha. 2005. Cardamom extract as inhibitor of human platelet aggregation. *Phytotherapy Research* **19**, 437-440.
37. Thorens, B. Glucose sensing and the pathogenesis of obesity and type 2 diabetes. 2008. *Int. J. Obes. (Lond)* **32**, S62-S71.
38. Tominaga, M., H. Eguchi, H. Manaka, K. Igarashi, T. Kato, and A. Sekikawa. 1999. Impaired glucose tolerance is a risk factor for cardiovascular disease, but not impaired fasting glucose. The Funagata Diabetes Study. *Diabetic Care* **22**, 920-946.
39. Turner, R. C., C. A. Cull, V. Frighi, and R. R. Holman. Glycemic control with diet, sulfonylurea, metformin, or insulin in patients with type 2 diabetes mellitus: progressive requirement for multiple therapies (UKPDS 49). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. 1999. *JAMA* **281**, 2005-2012.
40. Wagner, A. M., A. Pérez, J. L. Sánchez-Quesada, J. Ordonez-Llanos. 2005. Triglyceride-to-HDL cholesterol ratio in the dyslipidemic classification of type 2 diabetes. *Diabetes Care* **28**, 1798-1800.
41. Waisundara, V. Y., M. Huang, A. Hsu, D. Huang, and B. K. Tan. 2008. Characterization of the anti-diabetic and antioxidant effects of rehmannia glutinosa in streptozotocin-induced diabetic wistar rats. *Am J. Chin. Med* **36**, 1083-1104.
42. Wild, S. and C. D. Byrne. 2004. The role of treatment to increase HDL-cholesterol and decrease triglyceride concentrations in prevention of coronary heart disease in Type 2 diabetes. *Diabet Med* **21**, 8-11.
43. Woo, W. S., K. H. Shin, H. Wangner, and H. Lotter. 1987. The structure of macelignan from *Myristica fragrans*. *Phytochemistry* **26**, 1542.
44. Yamahara, J., T. Yamada, T. Kitani, Y. Naitoh, and H. Fujimura. 1989. Antianoxic action and active constituents of *evodiae fructus*. *Chem Pharm Bull. (Tokyo)* **37**, 1820-1822.
45. Yamauchi, T., J. Kamon, H. Waki, Y. Terauchi, N. Kubota, K. Hara, Y. Mori, T. Ide, K. Murakami, N. Tsuboyama-Kasaoka, O. Ezaki, Y. Akanuma, O. Gavrilova, C. Vinson, M. L. Reitman, H. Kagechika, K. Shudo, M. Yoda, Y. Nakano, K. Tobe, R. Nagai, S. Kimura, M. Tomita, P. Froguel, and T. Kadowaki. 2001. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipotrophy and obesity. *Nat. Med* **7**, 941-916.

초록 : 레이저 제2형 당뇨병동물모델에서 macelignan과 한약제 열수 추출물의 병용효과

여지영 · 조수인 · 정명호*

(부산대학교 한의학전문대학원)

본 연구는 macelignan과 CTH를 제2형 당뇨병동물모델에 3주간 병용 투여하여 macelignan을 단독으로 투여했을 때보다 더 나은 효과가 있는지를 살펴 보았다. Macelignan과 CTH의 병용 투여는 공복혈당과 내당능을 비롯하여 혈중 free fatty acids, HTR, 그리고 AI에서는 macelignan 단독 투여군과 비교하여 유의적으로 나타나는 큰 차이를 발견할 수는 없었다. 그러나, HbA1c, insulin 민감도, 그리고 혈중 triglyceride 함량에서는 유의적인 변화를 보이며 효과가 있는 것으로 나타났다. 따라서, macelignan의 단독 투여보다 CTH를 병용 투여하는 것이 당뇨병 합병증을 예방하거나 개선시킬 수 있는 잠재력이 있을 것으로 판단된다. 이에 보다 명확하게 검증하기 위해 혈당 및 대사조절 기전연구를 위한 further study가 진행되어야 할 것으로 사료된다.