

太陰人 清心蓮子湯의 동시분석 및 항비만 효과

서창섭 · 정수진 · 김정훈 · 유새롬 · 신현규

한국한의학연구원 한약기초연구그룹

Abstract

Simultaneous Analysis and Anti-obesity Effect of Taeumin Cheongsimyeonja-tang

Chang-Seob Seo, Soo-Jin Jeong, Jung-Hoon Kim, Sae-Rom Yoo, and Hyeun-Kyoo Shin

Korea Institute of Oriental Medicine

Objectives

We performed the simultaneous analysis for three compounds in Cheongsimyeonja-tang (CSYJT) and evaluated its anti-obesity effect.

Methods

The column for separation of three compounds was used Gemini C₁₈ column and maintained at 40°C. The mobile phase for gradient elution consisted of two solvent systems. The analysis was carried out at a flow rate of 1.0 mL/min with PDA detection at 275 nm. The injection volume was 10 µL. 3T3-L1 preadipocytes were differentiated into adipocytes by adding insulin, dexamethasone and 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX) for 8 days in the absence or presence of CSYJT. Anti-obesity effects of CSYJT were evaluated by Oil Red O staining, glycerol-3-phosphate dehydrogenase (GPDH) activity, triglyceride contents, and leptin production.

Results

Calibration curves were acquired with $r^2 > 0.9999$. The contents of baicalin, wogonoside and baicalein in CSYJT were 14.54-14.65 mg/g, 5.24-5.27 mg/g and 0.01-0.02 mg/g, respectively.

CSYJT showed inhibitory effect on lipid accumulation and GPDH activity in the differentiated 3T3-L1 cells. Furthermore, CSYJT significantly decreased contents of triglyceride and leptin production in 3T3-L1 adipocytes.

Conclusions

These results will be helpful to improve quality control and anti-obesity effect of Taeumin CSYJT.

Key Words: Cheongsimyeonja-tang, HPLC-PDA, simultaneous analysis, obesity, 3T3-L1 adipocyte

I. 緒 論

오늘날 경제성장으로 인한 생활의 서구화와 운동 부족으로 인하여 비만이 증가하는 추세이다. 비만은 당뇨, 고지혈증, 고혈압, 동맥경화 등의 대사성 질환의 발생 증가의 위험성이 높은 만성 성인병 중 하나이므로, 비만에 대한 예방과 치료 대책의 수립이 시급하다. 비만의 예방과 치료를 위해서는 운동 요법, 식이 조절 이외에도 건강식품 보조제 등이 이용되고 있다²³. 현재까지 미국 식품의약품안전청 (FDA) 승인을 획득한 비만 치료제로는 리덕틸 (Reductil)과 제니칼 (Xenical)이 알려져 있으나, 이들은 복부팽만감, 기름변, 변비, 혈압상승, 구갈 및 위장장애 등의 심각한 부작용을 유발할 수 있는 단점이 있다^{4,6}.

한약처방 중에서도 防風通聖散이 살사라진이라는 약품명으로 시판되고 있어, 한약의 비만 예방 및 치료에 대한 관심과 이용이 증가되고 있는 추세이다⁷⁸. 본 연구에 사용된 대표적인 태음인 처방 중의 하나인 淸心蓮子湯은 太陰人 肝受熱裏熱病에 사용되는 處方으로 李濟馬의 『東醫壽世保元』에 처음 수록되어 있으며⁹, 蓮子肉, 山藥, 天門冬, 麥門冬, 遠志, 石菖蒲, 酸棗仁, 龍眼肉, 栝子仁, 黃芩, 蘿菴子, 甘菊의 열두 가지 약재로 구성된 처방이다. 본 방은 虛勞, 夢泄無度, 食滯, 胸腹痛, 泄瀉, 中風, 舌卷 등을 치료하며, 開竅醒腦, 安神情志, 補肺調氣, 安神安意 등의 효능이 있다^{10,11}. 현재까지 淸心蓮子湯의 약리 효능에 관한 연구논문으로는 항산화 및 면역조절 효과에 관한 연구¹², 항알러지¹³, 항스트레스¹⁴, 항노화¹⁵ 등에 대한 연구들이 보고되었으나, 항비만을 비롯하여 대사성 질환에 관한 연구는 없었다. 이에 본 연구에서는 淸心蓮子湯의 품질관리를 위하여 주요성분인 baicalin, baicalein 및 wogonoside를 대상으로 HPLC분석을 실시하고, 항비만 효능을 확인하고자 인슐린 등으로 지방세포로의 분화를 유도한 3T3-L1 세포를 이용하여 지방 세포분화 및 지방 대사 관련 인자들에 대한 영향을 연구하였다.

II. 材料 및 方法

1. 실험재료

1) 약재

본 실험에 사용된 淸心蓮子湯의 구성 한약재는 (주)옴니허브 (Yeongcheon, Korea)와 (주)HMAX (Jecheon, Korea)에서 구입하여 사용하였으며, 각각의 구성 한약재들의 표본 (2010-KE15-1 ~ 2010-KE15-12)은 한국한의학연구원 한약기초연구그룹에 보관하였다.

2) 시약 및 기기

(1) 시약

표준물질인 baicalin과 baicalein은 Wako Pure Chemical Industries, Ltd. (Osaka, Japan)로부터 구입하였으며, wogonoside는 Tauto Biotech Co., Ltd. (Shanghai, China)에서 구입하였다. 각 표준물질의 순도는 98% 이상이었다. HPLC 분석을 위한 methanol, acetonitrile 및 water는 J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA)에서 구입하였으며, acetic acid는 특급시약으로 Junsei (Tokyo, Japan)에서 구입하여 사용하였다. Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM), fetal bovine serum (FBS), penicillin-streptomycin (P/S), new born calf serum (NCS), phosphate buffered saline (PBS)은 Gibco BRL (Carlsbad, CA, USA)에서 구입하였으며, 3T3-L1 differentiation medium은 Zen-Bio Inc. (Research Triangle Park, NC)에서 구입하였다. 실험에 사용된 kit는 각각 Mouse leptin immunoassay kit는 R&D system (Minneapolis, MN, USA), Glycerol-3-phosphate dehydrogenase (GPDH) activity assay kit는 Takara Biotechnology (Shiga, Japan)에서 구입하였다.

(2) 기기

함량분석을 위한 HPLC는 LC-20A 시스템 (Shimadzu Co., Kyoto, Japan)을 사용하였고, 시스템은 pump

Table 1. Composition of Cheongsimyeonja-tang.

Herbs	Latin name	Amount (g)	Company of purchase	Source
蓮子肉	Nelumbinis Semen	7.50	HMAX	China
山藥	Dioscoreae Rhizoma	7.50	Omnierb	Andong, Korea
天門冬	Asparagi Tuber	3.75	HMAX	China
麥門冬	Liriopsis Tuber	3.75	Omnierb	Yeongcheon, Korea
遠志	Polygalae Radix	3.75	HMAX	China
石菖蒲	Acoi Gramineri Rhizoma	3.75	HMAX	China
酸棗仁	Zizyphi Semen	3.75	HMAX	China
龍眼肉	Longanae Arillus	3.75	HMAX	Vietnam
柏子仁	Thujae Semen	3.75	HMAX	China
黃芩	Scutellariae Radix	3.75	HMAX	Jeongseon, Korea
蘿藦子	Raphani Semen	3.75	HMAX	China
甘菊	Chrysanthemi Flos	1.14	HMAX	China
Total		49.89		

Table 2. Condition of Mobile Phase for Chromatographic Separation

Time (min)	Solvent A (%) [*]	Solvent B (%) [†]
0	95	5
40	30	70
45	0	100
50	0	100
55	95	5

*1.0% (v/v) acetic acid in H₂O

† 1.0% (v/v) acetic acid in acetonitrile

(LC-20AT), on-line degasser (DGU-20A₃), column oven (CTO-20A), autosampler (SIL-20AC) 및 PDA detector (SPD-M20A)로 구성되어 있다. 분석 data는 LCsolution software (Version 1.24)를 이용하여 처리하였다.

3. 방법

1) 표준액의 조제

Baicalin, wogonoside 및 baicalein의 표준용액은 모두 메탄올을 이용하여 1,000 ug/mL의 농도로 제조하였다.

2) 淸心蓮子湯 추출물 및 검액의 조제

淸心蓮子湯의 구성한약재를 Table 1과 같이 무게 비율로 배합한 시료 약 3.0 kg을 추출기 (Cosmos 660, Inchon, Korea)에 넣고, 물을 시료의 10배 (30 L)로 첨가하여 100°C에서 2시간 전탕한 후 동결건조하여 36.7%의 수율로 추출물 1.1 kg을 얻었다. 동결 건조된 추출

물 200 mg을 정확히 측정 후 물을 넣어 20 mL로 맞추고 0.2 um membrane 여과 (Woongki Science, Seoul, Korea)하여 검액으로 하였다.

3) HPLC 분석조건

淸心蓮子湯 내 주요 구성 성분의 함량을 분석하기 위하여 사용된 칼럼은 Gemini C₁₈ (5 um, 4.6×250 mm, Torrance, CA, USA) 칼럼을 사용하였고, 칼럼온도는 40°C로 유지하였다. 유속은 1.0 mL/min으로 흘려주었으며 주입량은 10 uL였다. 이동상은 1.0% acetic acid가 함유된 water (A)와 1.0% acetic acid가 함유된 acetonitrile (B)을 사용하여 Table 2와 같이 흘려주었으며 검출파장은 275 nm에서 검출하였다.

4) 세포 배양 및 분화

마우스 유래 3T3-L1 지방 전구 세포주는 American Type Culture Collection (ATCC, CL-173, Rockville, MD,

USA)으로부터 분양 받아 사용하였다. 3T3-L1 지방 전구 세포는 10% NCS 및 1% P/S를 첨가한 DMEM 배지를 이용하여 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다. 지방 전구 세포가 100% confluence 하게 되면 이로부터 2일 후에 분화 유도물질인 5 ug/mL insulin, 1 uM Dexamethasone, 0.5 mM, 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX)가 포함된 3T3-L1 differentiation medium로 교체하고 2 일간 배양하였다. 분화 유도 2 일째부터는 10% FBS와 1 ug/mL insulin을 포함한 DMEM으로, 분화 유도 4 일째부터는 10% FBS가 포함된 DMEM으로 교환하며 총 8일간 분화를 유도하였다.

5) 세포독성 평가

독성을 측정하기 위해 96-well plate에 5×10^4 cells/well의 세포를 분주하고, 淸心蓮子湯을 농도별 (0, 7.8125, 15.625, 31.25, 62.5, 125, 500 or 1000 ug/mL)로 처리하여 24 시간 배양하였다. Cell counting kit (CCK)-8 solution을 10 uL씩 첨가하여 4 시간 동안 반응시킨 다음, microplate reader (Benchmark Plus, Bio-Rad, MN, USA)를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정값은 대조군과 비교를 통해 상대적인 세포 생존율 (% of control)을 계산하였다. 세포 독성이 나타나지 않는 최고 농도를 기준으로 다음 실험을 진행하였다.

6) Oil red O 염색

3T3-L1 세포 (4×10^5 /mL)를 24-well plate에서 2 일간 배양 후, 淸心蓮子湯 (200 ug/mL)을 처리하면서 8일간 비만세포의 분화를 유도하였다. 분화된 세포를 10% 포르말린 용액에 15 분간 고정하고, 70% 에탄올과 PBS의 순서로 세척하였다. Oil red O (Sigma, St. Louis, MO, USA) 염색액 (0.3% Oil red O in isopropyl alcohol)을 첨가하여 5 분간 염색하고 PBS로 2회 세척한 후 상등액을 제거하였다. Isopropyl alcohol을 첨가하여 세포에 축적된 지방을 추출하고, microplate reader (Benchmark Plus, Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하

여 520 nm에서 측정하였다.

7) Glycerol-3-phosphate dehydrogenase (GPDH) 활성도 측정

3T3-L1 세포에 淸心蓮子湯 (0, 25, 50, 100, 200 or 400 ug/mL)을 처리하면서 8일간 지방세포분화를 유도한 후 세포를 수거하였다. PBS로 세척한 다음 enzyme extract buffer을 첨가하여 기질 용액과 30°C에서 20 분간 반응시켰다. 흡광도의 변화를 340 nm에서 측정하였다. 측정된 GPDH 활성도 단위는 1분당 산화된 1 nmol NADH의 값을 계산하였다.

8) Leptin 생성량 측정

3T3-L1 세포에 淸心蓮子湯 (0, 25, 50, 100, 200 or 400 ug/mL)을 처리하면서 8일간 지방세포분화를 유도하였다. 배양 상등액에 포함된 leptin의 양을 Mouse Leptin Immunoassay kit를 사용하여 측정하였다.

9) 중성지방 함량 측정

BioVision사의 Triglyceride Quantification kit를 사용하였다. 분화 및 약물처리가 완료된 세포에 1 mL의 5% NP-40를 이용하여 cell lysis 시킨 후 14000 rpm으로 2분간 원심분리 하였다. 상등액을 수거하여 lipase, triglyceride probe, triglyceride enzyme mix, triglyceride assay buffer와 혼합하여 30분간 반응시킨 다음 570 nm에서 흡광도를 측정한 후 중성지방의 양을 계산하였다.

10) 통계처리

실험결과와 통계처리는 Graphpad InStat Ver. 3.10 (Graphpad software, Inc. San Diego, CA, USA)을 이용하여 일원배치분산분석 (one-way ANOVA)을 실시하였으며, 각 군 간의 차이는 Dunnett test에 의해 $p < 0.05$ 수준에서 사후검정을 실시하였다.

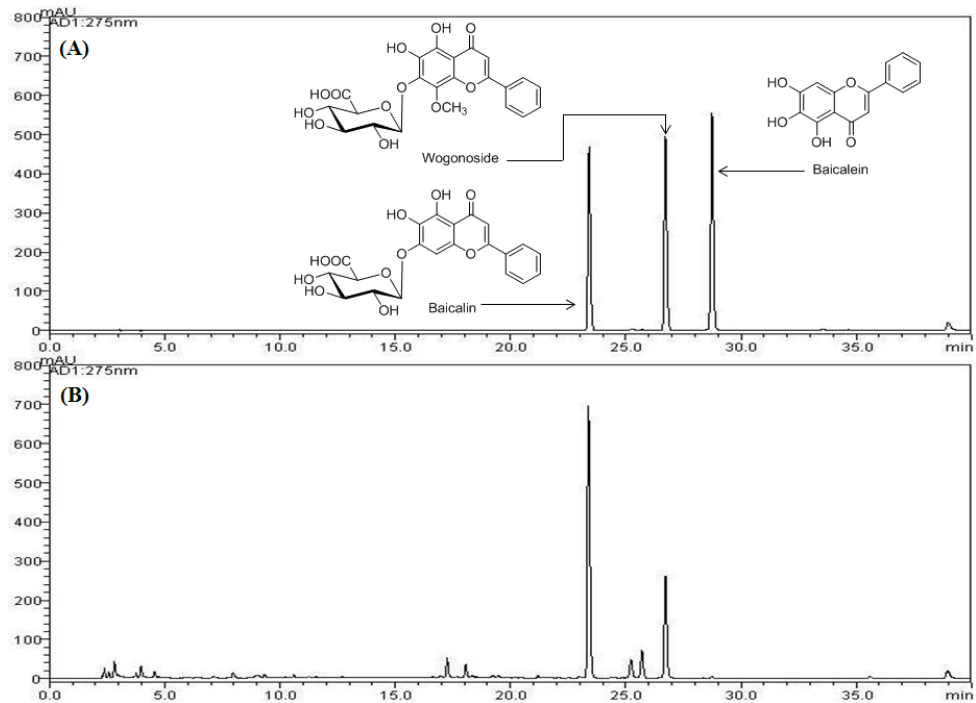


Figure 1. HPLC chromatogram of the standard mixture (A) and Cheongsimyeonja-tang sample (B) at 275 nm.

Table 3. Regression Data, Linear Range and Correlation Coefficient for Three Compounds (n=3).

Compound	Linear range (ug/mL)	Slope	Intercept	Correlation coefficient (r^2)
Baicalin	3.91-500.00	34990.27	65010.15	1.0000
Wogonoside	1.26-200.00	38458.09	43483.69	0.9999
Baicalein	0.08-10.00	66906.28	2780.34	0.9999

III. 結果

1. HPLC 동시분석 결과

1) 분석조건 확립

HPLC-PDA를 이용하여 淸心蓮子湯의 동시분석 조건을 설정한 결과 黃芩의 주요 성분인 baicalin, wogonoside 및 baicalein 등 3종에 대하여 분석조건을 설정하였다. 검액에서의 peak는 주요 성분 peak의 retention time과 UV 흡수 파장을 비교하여 확인하였으며, baicalin, wogonoside 및 baicalein 등 3종의 플라보노이드 성분은 23.40분, 26.71분 및 28.73분에 각각 검출되었다 (Figure 1).

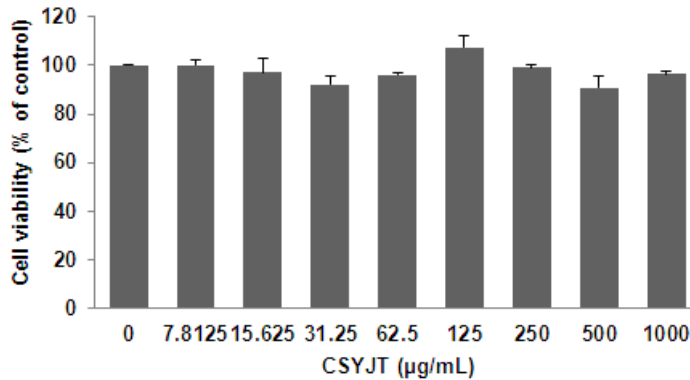
2) 淸心蓮子湯에서의 baicalin, wogonoside 및 baicalein의 함량분석

Baicalin, wogonoside 및 baicalein 등 3종 성분의 peak 면적에 대한 검량선 작성 결과 $y=34,990.27x+65,010.15$, $y=38,458.09x+43,483.69$ 및 $y=66,906.28x+2,780.34$ 로 각각 나타났으며 이들 검량선의 상관계수 (r^2)는 0.9999이상으로 1에 가까운 양호한 직선성을 나타내었다 (Table 3).

확립된 분석법을 이용하여 淸心蓮子湯의 黃芩 성분인 3종의 플라보노이드 (baicalin, wogonoside 및 baicalein)에 대한 분석결과 baicalin 14.54-14.65 mg/g, wogonoside 5.24-5.27 mg/g 및 baicalein 0.01-0.02 mg/g

Table 4. Contents of Three Compounds in the Cheongsimyeonja-tang by HPLC (n=3).

Batch (#)	Content (mg/g)								
	Baicalin			Wogonoside			Baicalein		
	Mean	SD	RSD (%)	Mean	SD	RSD (%)	Mean	SD	RSD (%)
1	14.65	0.02	0.11	5.27	0.00	0.03	0.02	0.00	2.17
2	14.54	0.02	0.13	5.24	0.01	0.13	0.01	0.00	1.14
3	14.55	0.04	0.28	5.25	0.01	0.13	0.01	0.00	1.39

**Figure 2.** Effect of CSYJT extract on the viability of 3T3-L1 cells.

Cells were treated with indicated concentrations of CSYJT for 24 h. Cell viability was evaluated by CCK-8 assay. Results are represented as mean±S.E.M. CCK; cell counting kit

으로 나타났다 (Table 4).

2. 清心蓮子湯의 비만활성 결과

1) 지방전구세포에 대한 清心蓮子湯의 세포독성

清心蓮子湯 처리에 의한 3T3-L1 지방전구세포의 생존율을 세포독성 검사를 통하여 평가한 결과, 처리 최고농도인 1,000 µg/mL에서 96.31±0.09%로 세포독성이 나타나지 않았다 (Figure 2).

2) 지방 세포 분화에 대한 억제효과

3T3-L1 세포에 清心蓮子湯을 처리하여 분화를 유도한 후 Oil red O 염색을 통하여 지방방울의 생성을 측정하고 인슐린으로 분화를 유도한 지방세포에서는 지방방울의 축적이 관찰되었으며, 清心蓮子湯을 처리한 세포는 시료를 처리하지 않고 지방 세포분화를 유도한 세포보다 유의적인 감소를 보였다 (Figure

3A). 또한 양성대조군으로 사용한 GW9662의 수치인 약 40%의 지방 축적량보다는 다소 많은 약 60%의 축적량을 나타내었다. 그러나 지방 세포 분화만을 유도한 군에 비해서는 약 40%로 p<0.001의 유의적인 감소를 나타내었다 (Figure 3B).

3) 清心蓮子湯이 GPDH 활성에 미치는 영향

지방 세포 분화에 대한 清心蓮子湯의 GPDH 활성을 측정하고 지방 세포 분화를 유도한 3T3-L1 세포에 清心蓮子湯을 처리한 경우 GPDH 활성을 약 70~90%의 유의적인 감소 (p<0.001)를 유도하였다 (Figure 4).

4) 렙틴 및 중성지방 생성에 대한 효과

清心蓮子湯의 처리에 따른 3T3-L1 지방세포의 렙틴 생성량은 분화 유도한 대조군과 비교하여 p<0.05 및 p<0.001의 유의적인 감소를 나타내었다

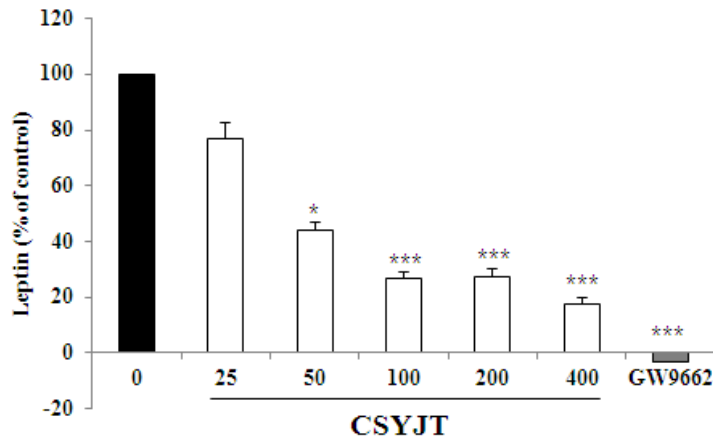


Figure 5. Inhibitory effect of CSYJT extract on the leptin production in 3T3-L1 adipocytes. Preadipocytes were induced cellular differentiation into the adipocytes with MDI. Cells were treated with CSYJT extract (0-400 ug/mL). Leptin production was determined by ELISA at 540 nm subtracted from 450 nm. Results are presented as mean±S.E.M. * $p<0.05$ and *** $p<0.001$ compare with control cells. MDI; methylisobutylxanthine, dexamethasone and insulin, ELISA; Enzyme-linked immunosorbent assay

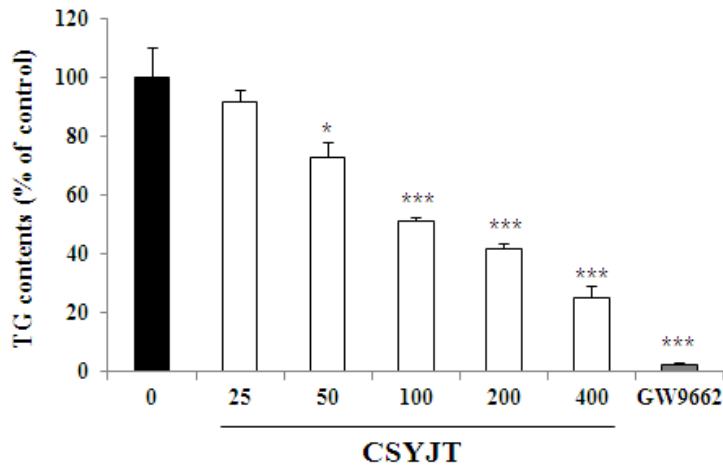


Figure 6. Inhibitory effect of CSYJT extract on triglyceride (TG) contents in 3T3-L1 adipocytes. Preadipocytes were induced cellular differentiation into the adipocytes with MDI. Cells were treated with CSYJT extract (0-400 ug/mL). Amounts of TG were measured using triglyceride quantification assay kit (BioVision). Results are presented as mean±S.E.M. * $p<0.05$ and *** $p<0.001$ compare with control cells. MDI; methylisobutylxanthine, dexamethasone and insulin

(Figure 5). 또한, 지방 세포에서 淸心蓮子湯에 의한 중성지방의 함량도 농도 의존적으로 유의적인 감소 ($p<0.05$ 및 $p<0.001$)를 나타내었다 (Figure 6).

IV. 考 察

한의학에서 비만은 肥, 肥胖, 肥人, 肉人, 肥貴人 등으로 표현되고 있으며, 그 형상에 대해서는 『黃

帝內徑 靈樞·逆順肥瘦篇』에 “年質壯大 血氣充孕 膚革堅固 肥人也”라고 기록되어 있다⁸. 또한 비만의 원인을 한의학에서는 氣虛, 濕痰, 水濕 및 內傷七情 등으로 보고 있으며, 이러한 비만의 치료는 침구치로나 약물치료 등이 있다¹⁶. 사상체질의학적으로 볼 때 비만은 식사를 불규칙하게 하거나 때를 거르며, 폭식을 하는 등 무절제한 식습관과 운동을 싫어하는 마음을 가진 太陰人 체질에게 많이 나타난다¹⁷. 이에 저자들은 太陰人 淸心蓮子湯의 품질관리를 위한 동시분석과 지방 세포 분화를 유도한 3T3-L1 세포로부터의 항비만 효능에 대한 연구를 수행하였다.

淸心蓮子湯의 품질관리를 위한 HPLC 분석은 본 처방의 구성 생약인 遠志의 3,4,5-trimethoxycinnamic acid, 黃芩의 baicalin, baicalein, wogonin 및 wogonoside, 薊菡子的 sinapic acid, syringic acid, vanillic acid 및 α -coumaric acid 및 甘菊의 acacetin, myricetin, apigenin 및 luteolin 등 13종을 대상으로 1.0% acetic acid가 함유된 water와 1.0% acetic acid가 함유된 acetonitrile을 이용하여 동시분석을 실시하고자 하였다. 淸心蓮子湯에서는 275 nm에서 黃芩의 주요 성분인 baicalin, wogonoside 및 baicalein 등 3종만이 검출되었다 (Figure 1).

지방전구세포로부터 지방 세포로의 분화과정에는 여러 가지 외부 요인 및 관련 유전자의 발현의 조절을 통하여 일어난다. 인슐린은 대표적인 지방세포분화 유도제로 알려져 있으며, 지방세포 분화 조절에 중심적인 역할을 한다¹⁸. 지방 세포분화 과정에서 세포 내부에 지방이 축적되어 지방방울 (lipid droplet)이 세포질에 나타난다¹⁹. 淸心蓮子湯이 세포 내 지방축적에 미치는 영향을 확인하기 위하여 淸心蓮子湯을 처리하여 분화를 유도한 후 Oil red O 염색을 통하여 지방방울의 생성을 측정하였다. Figure 3A와 같이 위상차 현미경을 이용하여 세포의 형태변화를 관찰한 결과 인슐린으로 분화를 유도한 지방세포에서는 지방방울의 축적이 관찰되었으며, 또한 지방 세포 분화만을 유도한 군에 비해서 유의성 ($p < 0.001$) 있는 감소를 나타내었다 (Figure 3B).

지방 세포 분화에 대한 淸心蓮子湯의 GPDH 활

성에서도 GPDH 활성을 유의적인 감소 ($p < 0.001$)를 유도하였으며, 특히 분화만을 유도한 세포와 비교하였을 때 50 ug/mL의 농도로 淸心蓮子湯을 처리한 세포에서는 약 90%이상의 GPDH 활성 억제효과를 나타내었다 (Figure 4).

렙틴은 에너지 흡수와 소비 조절에 중요한 역할을 하는 지방유래 호르몬 (adipose derived hormone) 중 하나로 비만 치료에서 중요한 약물학적 표적이다²⁰. 렙틴의 양은 체질량지수 및 체지방 정도와 관련이 있음이 보고되었다²¹. 비만에서의 에너지 대사 불균형으로 인한 여분의 에너지는 중성지방 (triglyceride)의 형태로 저장 된다²². Banks 등은 과도한 중성지방의 증가는 항비만 약물의 작용을 방해하는 렙틴 저항성 (leptin resistance) 유도와 밀접한 관련이 있음을 보고하였다²³. 비만 예방과 치료에서 중성지방과 렙틴 생성의 저해 효능은 중요하게 고려되어야 하는 요소들이다. 따라서 본 연구에서 淸心蓮子湯의 비만 효능 검증에서 비만의 예방과 치료에 중요한 인자인 중성지방과 렙틴 생성량을 유의적으로 감소 ($p < 0.05$ 및 $p < 0.001$)시킴으로서 항비만 효능을 나타내는 것으로 판단된다.

V. 結 論

본 연구는 太陰人의 肝受熱裏熱病에 사용되는 태음인 처방 중의 하나인 淸心蓮子湯을 대상으로 품질관리를 위한 HPLC 동시분석 및 항비만 효과를 다음과 같이 확인하였다.

1. 淸心蓮子湯 구성 생약 중 黃芩의 주요 성분인 baicalin, wogonoside 및 baicalein에 대하여 HPLC 분석 결과 14.54 ~ 14.65 mg/g, 5.24 ~ 5.27 mg/g 및 0.01 ~ 0.02 mg/g으로 나타났다.
2. 淸心蓮子湯은 지방 세포 분화 억제 효과를 나타내었다.
3. 淸心蓮子湯은 지방 세포 분화를 유도한 3T3-L1 세포에서 GPDH 활성을 억제하였다.

4. 淸心蓮子湯은 3T3-L1 지방 세포의 렙틴 생성량을 유의적으로 감소시켰다.
5. 淸心蓮子湯은 지방 세포에서 증성지방의 함량을 농도 의존적으로 감소시켰다.
이상의 결과들을 종합하여 볼 때 淸心蓮子湯의 품질관리를 위한 성분은 黃芩의 baicalin과 wogonoside로 설정하는 것이 타당할 것으로 사료된다. 또한 淸心蓮子湯의 항비만 활성은 GPDH 활성 저해와 렙틴 및 증성지방 생성 억제를 통하여 효능을 나타내는 것으로 사료된다.

VI. 感謝의 글

본 연구는 한국한의학연구원에서 지원하는 '표준한방처방 EBM 구축사업 (K12031)'에 의해 수행되었으며, 이에 감사드린다.

VII. 參考文獻

1. Park YS, Lee DH, Choi JM, Kang YJ, Kim CH. Trend of obesity in school age children in Seoul over the past 23 years. *Korean J Pediatr.* 2004;47:247-257. (Korean)
2. Hur HJ, Hwang JT. Effect of Silybin on body weight and glucose tolerance in high-fat-diet induced obese mice. *KSBB Journal.* 2011;26:78-82. (Korean)
3. Shin IS, Choi HM, Ku SK, Kim MR. The effect of natural mixture supplementation on histopathological and histomorphometrical aspects in high fat diet-induced obese mice. *Kor J Herbology.* 2012 ; 27(4) : 53-58. (Korean)
4. Reddy P, Chow MSS. Focus on orlistat: A nonsystemic inhibitor of gastrointestinal lipase for weight reduction in the management of obesity. *Formulary.* 1998;33: 943-959.
5. Peter C, Williams G. Drug treatment of obesity: from past failures to future successes. *Br J Clin Pharmacol.* 2001;51:13-25.
6. Choussein S, Makri AA, Frangos CC, Petridou ET, Daskalopoulou SS. Effect of antiobesity medications in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab.* 2009;11:641-664.
7. Cha MK, Lee JY, Kim DG, Lee KT. Effects of Bangpoongtongsungsan on adipose tissue and hyperlipidemia of 3T3-L1 induced rats. *J Korean Oriental Pediatrics.* 2006;20:177-196. (Korea)
8. Hwang SJ, Song TW, Oh MS. The inhibitory effects of Bangpungtungseung-san on the obese gene and obese inhibitory about obese-mouse induced by high fat diet. *J Korean Oriental Med.* 2006;27:11-22. (Korean)
9. Lee JM. Dongeuisusebowon. Seoul:Yeogang Publishing Co. 1992:271-272. (Korean)
10. Hwang SY, Lee JH, Kim HS, Bae YC, Kim KY, Won KS. Effects of cheongsimyeonja-tang water extract on the cultured primary hippocampal cell damagee by XO/HX. *J Sasang Constitut Med.* 2002;14(3):132-145. (Korean)
11. Kim HS, Bae YC, Lee SM, Kim KY. A study of the effects of Cheongsimyeonja-tang (CYT) on ECG in comparing before and after CYT medication: Case study of hospitalized Taeumin patients. *J Sasang Constitut Med.* 2003;15(3):147-157. (Korean)
12. Lim JP, Ahn TK. The anti-oxidative and immune-regulatory effect of Chungsimyeonja-tang in aged rat. *J Sasang Constitut Med.* 2007;19(3):227-241. (Korean)
13. Park SC. Effects CheongsimyeonJa-tang(CSYJT) on control of immune-function in highly purified mouse B cells and mast cell. *J Sasang Constitut Med.* 2003;15(2):166-179. (Korean)
14. Hong SC, Ko BH, Song IB. An experimental study on the anti-stress effect by Taeumin Chongsimyonja-tang. *J Sasang Constitut Med.* 1995;7(2):227-240. (Korean)
15. Ju LS, Ahn TW. Study of Cheongsimyeonja-tang that

- get weight, hematology, biochemistry change by Wistar rat's aging. *J Daejeon Orient Med.* 2004;13(2):337-345. (Korean)
16. Yang GE, Lee MJ, Lee JS, Yoon DR, Noh HI, Ryu JH. Literature review of studies of obesity using Tae-eu-min prescriptions and herbs. - Based on Korean literature - 2011;32:12-24. (Korean)
 17. Choi EJ, Yoo JS, Cha YY. The suggestion on the herbal bathing and the Pinda manual therapy with herbs for obesity patients according to Sasang Constitutions. *J Soc Korean Med Obes Res.* 2010;10:41-49. (Korean)
 18. Reed BC, Kaufmann SH, Mackall JC, Student AK, Lane MD. Alterations in insulin binding accompanying differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1977;74(11):4876-4880.
 19. Frayn KN, Karpe F, Fielding BA, Macdonald IA, Coppack SW. Integrative physiology of human adipose tissue. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2003;27(8):875-888.
 20. Klok MD, Jakobsdottir S, Drent ML. The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: a review. *Obes Rev.* 2007;8(1):21-34.
 21. Shar NR, Braverman ER. Measuring adiposity in patients: the utility of body mass index (BMI), percent body fat, and leptin. *PLoS One.* 2012;7(4):e33308. doi:10.1371/journal.pone.0033308.
 22. Blum WF, Englaro P, Hanitsch S, Juul A, Hertel NT, Müller J et al. Plasma leptin levels in healthy children and adolescents: dependence on body mass index, body fat mass, gender, pubertal stage, and testosterone. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(9):2904-2910.
 23. Banks WA, Coon AB, Robinson SM, Moinuddin A, Shultz JM, Nakaoka R et al. Triglycerides induce leptin resistance at the blood-brain barrier. *Diabetes.* 2004;53(5):1253-1260.