



Original Article / 원저

## 고지방식이 비만마우스 모델에서 파키스탄산 마황으로 조성된 降脂丸의 단독 투여와 降脂丸合加味消滯丸의 병용 투여의 체중감량 효과 비교

석화준<sup>1</sup> · 유재상<sup>2</sup> · 구자룡<sup>3</sup> · 윤기현<sup>4</sup> · 조주흠<sup>5</sup> · 장두현<sup>6</sup> · 정양삼<sup>7</sup> · 김종훈<sup>8</sup> · 김병출<sup>9</sup> ·  
노종성<sup>4</sup> · 이혜림<sup>4</sup> · 이형희<sup>10</sup> · 윤미정<sup>10</sup> · 신순식<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>수정한의원 · <sup>2</sup>봉황한의원 · <sup>3</sup>소리청한의원 · <sup>5</sup>우심한의원 · <sup>6</sup>청남한의원 ·  
<sup>7</sup>정양삼한의원 · <sup>8</sup>능인한의원 · <sup>9</sup>고려한의원 · <sup>10</sup>목원대학교  
의생명 · 보건학부 · <sup>4</sup>동의대학교 한의과대학 방제학교실 및  
한방당뇨비만연구소

## Comparison of *Gangjihwan* and Combination of *Gangjihwan* and *Gamisochehwan* in the Improvement Effects of Weight Loss in a High Fat Diet-Fed Obese Mice

Hoa Jun Seok<sup>1</sup> · Jae Sang Yoo<sup>2</sup> · Ja Ryong Ku<sup>3</sup> · Ki Hyeon Yoon<sup>4</sup> · Ju Heum Jo<sup>5</sup> ·  
Du Hyon Jang<sup>6</sup> · Yang Sam Jung<sup>7</sup> · Jong Hoon Kim<sup>8</sup> · Byeong Chul Kim<sup>9</sup> ·  
Jong Seong Roh<sup>4</sup> · Hye Rim Lee<sup>4</sup> · Hyunghee Lee<sup>10</sup> · Michung Yoon<sup>10</sup> · Soon Shik Shin<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Soojung · <sup>2</sup>Bonghwang · <sup>3</sup>Soricheong Luck · <sup>5</sup>Woosim · <sup>6</sup>Chungnam ·  
<sup>7</sup>Jungyangsam · <sup>8</sup>Neungin and <sup>9</sup>Goryo Korean Medicine Clinic, <sup>10</sup>Division of  
Medical Engineering and Health Management, Mok-Won University · <sup>4</sup>Dept.  
of Formula Sciences and Research Center of Korean Medicine for  
Diabetes and Obesity, College of Korean Medicine, Dong-Eui University,  
Busan, 614-851, South Korea

## ABSTRACT

**Objectives** : This study was investigated the improvement effects of *Gangjihwan* (DF) and combination of *Gangjihwan* and *Gamisochehwan* (GSH) on obesity in a high fat diet-fed obese mouse model.

**Methods** : Eight-week-old C57BL/6N mice were divided into four groups: a normal lean group given a standard diet, an obese control group given a high fat diet, and DF and DF+GSH groups given a high fat diet with DF (40 mg/kg), and DF+GSH (80 mg/kg), respectively. After 8 weeks of treatment, body weight gain, feeding efficiency ratio, blood lipid markers, fat weight and histology were examined.

**Results** : 1. Body weight gain and fat mass were significantly decreased in DF and DF+GSH groups compared with control. The extent of decreases was eminent in DF+GSH group.

2. Feeding efficiency ratio and circulating concentration of leptin were decreased in DF and DF+GSH groups compared with control. These decreases were significant in DF+GSH group.

3. Consistent with their effects on body weight gain and fat mass, circulating concentrations of triglyceride, glucose and insulin were decreased in DF and DF+GSH groups compared with control.

4. The size of adipocytes was decreased by DF and DF+GSH compared with control, whereas the adipocyte number per unit area was increased by them, suggesting that DF and DF+GSH decreased the number of large adipocytes.

5. Consistent with their effects on body weight gain, liver fibrosis was also improved in DF and DF+GSH groups compared with control.

**Conclusions** : In conclusion, these results suggest that DF and DF+GSH groups decrease feeding efficiency ratio, plasma leptin concentration, blood anti-obesity biomarkers and fat mass, improves body weight gain contributing to the inhibition of liver fibrosis. In addition, these effects were more effective in DF+GSH combination group than in DF-only group.

**Keyword** : Gangjihwan, obesity, Gamisochehwan, liver fibrosis, leptin

## I. 緒 論

降脂丸(Di-fatty, DF)는 麻黃, 大黃과 紫草로 조성된 방제로 현재 J 한의원에서 비만과 비알콜성 지방간질환(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 치료에 사용되고 있으며, NAFLD의 치료 효과를 실험적으로 입증하여 학술논문으로 발표한 바 있다<sup>1)</sup>. 麻黃은 氣味が辛, 微苦, 溫하고 歸經은 肺經, 膀胱經이다. 發汗解表, 宣肺平喘, 利水消腫의 효능이 있어 風寒感冒, 기관지 천식, 비염 등에 많이 응용되어 왔다<sup>2)</sup>. 마황의 주요 성분인 ephedrine은 지방분해를 촉진하는 동시에 교감신경을 활성화시켜 대사효율을 높임으로써 음식 섭취량을 제한하지 않고도 비만환자에게서 비만 조절 효능을 보이는 것으로 보고되었다<sup>3-5)</sup>.

大黃은 氣味が苦, 寒하고 歸經은 脾經, 胃經,

大腸經, 肝經, 心包經이다. 瀉熱通腸, 涼血解毒, 逐瘀通經하는 효능이 있어 實熱便秘, 積滯腹痛, 血熱吐衄 등에 주로 활용되고 있다<sup>3)</sup>. 여기에는 sennoside, rhein, emodin, chrysophanol, aloe-emodin, physcin, rheum tannic acid, gallic acid, catechin, tetrarin 등의 성분이 있으며, 고지혈증 및 비만의 개선효과가 있는 것으로 보고되었다<sup>2),6)</sup>.

紫草는 氣味が甘, 鹹, 寒하고, 歸經은 心經, 肝經이다. 여기에는 shikonin, deoxyshikonin,  $\beta$ -dimethylacrylalkannin 등이 있다. 涼血, 活血, 解毒하는 효능이 있어 抗炎, 抗過敏 작용이 필요한 피부 질환에 주로 사용된다<sup>2)</sup>.

또한, J 한의원에서는 消滯丸<sup>7)</sup>을 加減하여 만든 가미소체환(GSH)를 消食劑로 DF와는 별개로 다년간 사용해 오다가 두 방제를 병용하여 비만과 NAFLD의 치료제로 사용한 결과 그 효과가

\* Corresponding author : Soon Shik Shin, PhD, Professor, Department of Formula Sciences and Research Center of Korean Medicine for Diabetes and Obesity, College of Korean Medicine, Dong-Eui University, 52-57 Yangjeong-ro, Busanjin-gu, Busan, 614-851, South Korea.

· Tel : 82-51-850-7414, Fax : 82-51-853-4036

· E-mail : ssshin@deu.ac.kr

• Received : November 20, 2014 / Revised : December 03, 2014 / Accepted : December 12, 2014

우수하여 다년간 사용해 왔다. DF+GSH를 병용 투여하여 NAFLD의 치료 효과를 실험적으로 입증하여 학술논문으로 발표한 바 있다<sup>8)</sup>. 본 연구에서는 실험적으로도 DF를 단독으로 사용할 때와 DF에 GSH를 병용할 때의 비만의 개선효과에 차이가 있는지를 조사하였다.

이를 위해 고지방식이 유발 수컷 비만 마우스 모델을 이용하여 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여가 비만의 개선에 미치는 영향을 확인하기 위하여 체중 증가량과 혈중 지질대사 관련 지표, 지방 조직 및 간 조직의 조직학적 분석 등으로 조사하였다.

## II. 실험재료 및 연구방법

### 1. 실험재료

#### 1) 실험동물

(주)샘타코(샘타코바이오키리아 Inc., Korea)에서 공급한 7주령의 C57BL/6N 수컷 마우스를 구입하

여 1주 간 실험실 환경에 적응하도록 한 후 사용하였다. 실험 기간 동안 온도 21±2°C, 습도 55±5%, 환기 횟수 15~17회/hour, 조도 150~300lux, 그리고 12시간의 명암(점등: 06:00, 소등: 18:00) 주기가 있는 실험실 환경에서 고행사료(Harlan, USA)와 물을 자유롭게 공급 받았다. 본 실험은 동의대학교 동물실험윤리위원회의 승인 (승인번호: R2013-009)을 받아 동물윤리 준칙에 의거하여 실험을 진행하였다.

#### 2) 실험물질

실험물질인 DF와 GSH의 조성약물은 화립제약(Busan, South Korea)에서 구입한 후 동의대학교 한의과대학 방제학교실에서 정선하여 ultrafine particle crusher (Korea Patent R&D Institution, Busan, South Korea)에 300mesh로 초미립 분쇄하여 냉장보관하고 실험에 사용하였다. 조성약물은 다음과 같고(Table 1-2), 마황은 파키스탄산 마황을 구입하여 사용하였다.

Table 1. The composition of DF.

韓藥名	Ingredient	%
麻黃*	<i>Ephedra intermedia</i> Schrenk et C. A. Meyer	40
大黃	<i>Rheum palmatum</i> L.	20
紫草	<i>Lithospermum erythrorhizon</i> Siebold et Zuccarini	40
	Total amounts	100

\* Pakistani ephedra herba

Table 2. The composition of GSH.

韓藥名	Ingredient	%
甘草	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer	18.4
香附子	<i>Cyperus rotundus</i> Linne	15.3
山植肉	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	8.6
乾薑	<i>Crataegus pinnatifida</i> Bunge	6.0
茯苓	<i>Poria cocos</i> Wolf	6.0
肉桂	<i>Cinnamomum cassia</i> Blume	6.0
高良薑	<i>Alpinia officinarum</i> Hance	3.7
貢砂仁	<i>Amomum villosum</i> Loureiro	3.7
枳實	<i>Poncirus trifoliata</i> Rafinescul	3.7
木香	<i>Aucklandia lappa</i> Decne.	3.7
白豆蔻	<i>Amomum cadamomum</i> Linne	3.7
山椒	<i>Zanthoxylum bungeanum</i> Maxim.	3.7
訶子皮	<i>Terminalia chebula</i> Retzins	3.7
白朮	<i>Atractylodes macrocephala</i> Koidzumi	3.7
藜蘆	<i>Piper longum</i> Linne	3.7
藿香	<i>Pogostemon cablin</i> Bentham	3.7
丁香	<i>Syzygium aromaticum</i> Merrill et Perry	1.8
薄荷腦	<i>Mentha arvensis</i> Linne var. <i>piperascens</i> Malinvaud	0.9
	Total amounts	100

Table 3. Experimental groups.

Group	Diet	Treatment	Number	Sex
Normal	10 Kcal% fat	water	9	male
Control		water	9	male
DF	45 Kcal% fat	40 mg/kg	9	male
DF+GSH		80 mg/kg	9	male

### 3) 실험군 및 투여방법

각 군당 9마리를 체중에 따라 무작위로 분류하여 실시하였다. 8주 동안 normal 그룹은 10 Kcal% fat의 일반 식이를 공급하고, control과 약물 그룹은 45 Kcal% fat의 고지방식이물을 공급하여 비만을 유발하였다. 그 후 DF의 단독 투여는 40 mg/kg의 농도로, DF+GSH의 병용 투여는 DF 40 mg/kg에 GSH 40 mg/kg를 혼합한 80 mg/kg의 농도로 8주간 경구 투여하였다(Table 3).

## 2. 연구방법

### 1) 체중 증가량 측정

DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여가 체중 증가량에 미치는 영향을 알아보기 위해 약물을 투여하는 8주 동안 매주 2회씩 체중을 측정하고 체중 증가량을 계산하였다.

### 2) 식이효율 측정

DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여가 식욕과 관련이 있는지를 알아보기 위하여 체중은 매주 2회, 사료섭취량은 매주 1회 8주 동안 측정하였고 폐기량을 고려하여 계산하였다. 식이효율은 아래의 공식에 대입시켜 산출하였다<sup>9)</sup>.

$$* \text{식이효율 (Food efficiency ratio: FER\%)} = \frac{\text{body weight gain (g)}}{\text{total food intake (g)}} \times 10^2$$

### 3) 혈액생화학 분석

혈액 채취는 경구 투여 시작 8주 후 12시간 절식한 뒤 diethyl ether로 마취한 다음 심장에서 혈액 1 ml을 채취하였다. Blood clotting을 위해 30분 이상 실온에서 방치한 후 고속원심분리기(Micro12, Hanil, Korea)를 이용하여 3000 rpm에

서 10분간 원심 분리하였다. 분리된 혈장은 냉동고(-20°C)에 보관하고 혈액생화학분석기(Modular analytics, Roche, Germany)를 사용하여 triglyceride와 glucose의 혈중 농도를 각각 측정하였다. 혈중 free fatty acid의 농도는 혈액생화학분석기(Modular analytics, Hitachi, Japan)를, 혈중 insulin 농도는 혈액생화학분석기(Microplate reader, Molecular device, USA)를 사용하여 각각 측정하였다.

### 4) 동물부검

체혈한 뒤에 부검하여 장간막 백색지방조직(mesenteric adipose tissue, MAT), 생식기 주변 백색지방조직(epididymal adipose tissue, EAT), 후복벽 주변 백색지방조직(retroperitoneal adipose tissue, RAT), 사타구니 주변 피하지방조직(inguinal adipose tissue, IAT)과 갈색지방조직(brown adipose tissue, BAT)을 수집하고 이들의 무게를 측정하였다.

### 5) 조직의 형태학적 분석

지방세포의 크기와 수를 조사하기 위하여 검체에서 분리한 지방조직을 10% formaldehyde에서 하루 이상 고정된 후 표준방식으로 4 µm 파라핀 절편을 준비하였다. 파라핀 절편을 hematoxylin과 eosin (HE)으로 염색하였으며 광학현미경으로 관찰하였다. 조직의 사진촬영과 지방세포의 크기 분석은 image analysis system (Infinity analyze, Lumenera, Canada)을 이용하였다.

간 섬유화를 조사하기 위하여 검체에서 분리한 간조직을 10% formaldehyde에서 하루 이상 고정된 후 4 µm 파라핀 절편을 준비하였다. 파라핀 절편을 Masson's trichrome으로 염색하여 collagen 수준을 광학현미경으로 관찰하였다. 조직의 사진

촬영은 image analysis system 을 이용하였다.

### 3. 통계분석

모든 값은 mean ± standard deviation(SD)으로 표시하며, OriginLab Version 9.1(OriginLab Corporation, MA, USA)의 one way ANOVA를 이용하여 통계적 유의성을 검증하였다.

## III. 實驗 結果

### 1. 체중 증가량과 지방무게

정상군에 비해 대조군은 체중 증가량이 40일째부터 유의하게 증가하였고(P<0.05), 48일째부터 증가폭이 더욱 커져(P<0.01) 56일째를 제외하고 실험 종료 시까지 증가폭이 유지되었다. 대조군에 비하여 DF의 단독 투여는 투여 후 4일째부터 유의하게 체중 증가량이 감소하였고(P<0.05), 8일째 감소폭이 증가하다가(P<0.001) 12일째부터 감소폭이 감소하였고 16일까지 유지되었다(P<0.01). 20일째부터는 체중 증가량의 변화에 통계적인 유의

성이 없었으며 24일까지 유지되었다. 28일째부터 다시 체중 증가량이 통계적으로 유의하게 감소하였고(P<0.05), 32일째부터 그 정도가 증가하였으며(P<0.01), 60일까지 그 상태를 유지하다가 64일째에 그 감소폭이 가장 현저한 것으로 나타났다(P<0.001). DF+GSH의 병용 투여 역시 투여 후 4일째부터 유의하게 체중 증가량이 감소하였고(P<0.01), 8일째 그 감소폭이 증가하다가(P<0.001) 12일째부터 잠시 감소폭이 줄어들었으며(P<0.01) 16일까지 유지되었다. 20일째는 그 감소폭이 더 줄어들었고(P<0.05) 24일째는 통계적인 유의성이 없다가 28일째부터는 다시 통계적인 유의성을 나타냈으며(P<0.05), 32일째부터 다시 체중 증가량 감소폭이 증가하였고(P<0.01), 36일째부터는 그 감소폭이 더 증가하였고(P<0.001), 56일까지 그 양상이 유지되다가 60일째 잠시 주춤하였고, 64일째에 그 감소폭이 가장 현저하였다(P<0.001) (Table 4, Fig. 1).

이를 백분율로 환산할 경우, 대조군에 비해 DF의 단독 투여는 59.37%, DF+GSH의 병용 투여는 68.00%의 체중 감량효과가 있는 것으로 나타났다.

Table 4. Changes in body weight gain by DF and DF+GSH in high fat diet-fed obese mice.

	Normal	Control	DF	DF+GSH
4	-0.9±0.515	-0.607±0.785	-1.547±0.725*	-1.947±0.834**
8	-0.553±0.648	0.477±1.403	-2.503±1.336***	-2.947±0.878***
11	-0.409±0.852	-0.608±1.12	-2.652±1.162**	-2.429±1.155**
15	0.054±0.792	0.138±1.824	-1.841±0.721**	-2.069±0.805**
18	0.203±1.077	-0.884±1.767	-2.161±0.674	-2.339±0.982*
22	0.149±1.462	-0.692±1.525	-1.536±0.777	-2.093±1.276
25	-0.173±1.213	-0.826±1.411	-2.096±1.009*	-2.163±1.214*
29	-0.071±1.246	0.766±1.512	-1.410±1.393**	-1.516±1.202**
32	0.109±1.609	1.273±1.551	-1.000±1.280**	-1.472±1.274***
36	0.326±1.828	2.223±1.659†	-0.271±1.335**	-0.790±1.127***
39	0.757±1.676	2.922±1.877†	0.116±1.666**	-0.383±1.052***
43	0.921±1.773	3.634±2.08†	0.743±1.401**	-0.071±0.894***
46	1.008±1.467	3.782±2.009†	1.228±1.609**	0.534±0.818***
50	1.531±1.637	4.124±2.123†	1.421±1.492**	0.891±0.977***
53	1.798±1.563	4.832±2.23†	1.967±1.418**	1.777±1.093**
57	2.196±1.879	5.554±2.406†	1.416±1.384***	1.058±1.764***

Data are expressed as the mean±SD. † Value significantly different from normal, † p<0.05, †† p<0.01. \* Value significantly different from control, \* p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001.

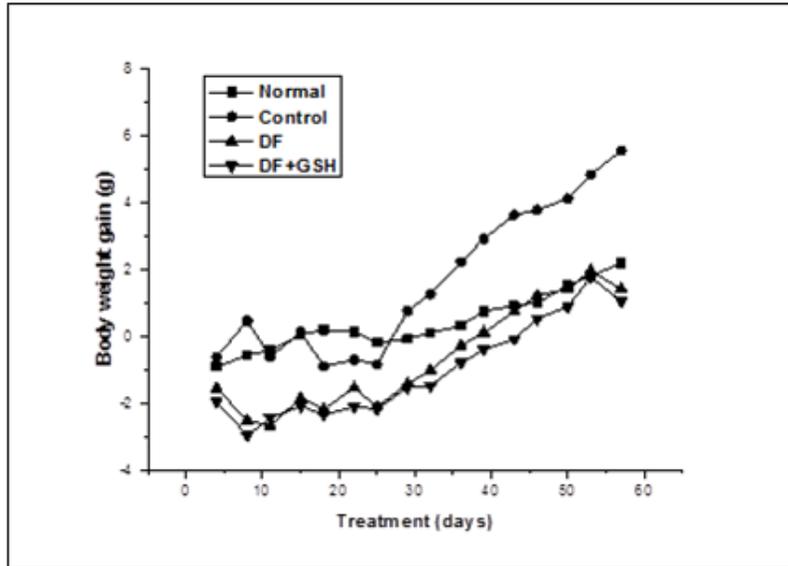


Fig. 1. Body weight gain in high fat diet-fed obese mice.

Table 5. Adipose tissue weights in high fat diet-fed obese mice.

	Normal	Control	DF	DF+GSH
Mesenteric adipose tissue	0.638±0.137	1.692±0.219 <sup>†††</sup>	1.258±0.494 <sup>*</sup>	1.132±0.327 <sup>***</sup>
Epididymal adipose tissue	1.431±0.278	1.875±0.527 <sup>†</sup>	1.704±0.485	1.96±0.356
Retroperitoneal adipose tissue	0.477±0.081	0.753±0.12 <sup>†††</sup>	0.839±0.171	0.772±0.111
Inguinal adipose tissue	1.05±0.305	1.992±0.243 <sup>†††</sup>	1.814±0.38	1.843±0.254
Brown adipose tissue	0.345±0.064	0.458±0.078 <sup>†</sup>	0.359±0.142	0.343±0.098 <sup>*</sup>

Data are expressed as the mean±SD. † Value significantly different from normal, † p<0.05, †† p<0.01, ††† p<0.001. \* Value significantly different from control, \* p<0.05, \*\*\* p<0.001.

모두에서 통계적으로 매우 현저한 체중 감량효과가 있었고(P<0.001), 그 감소폭의 정도는 DF+GSH의 병용 투여에서 더 큰 것으로 나타났다.

8주 동안 약물을 투여한 뒤에 부검하여 장간막 백색지방조직 (mesenteric adipose tissue, MAT), 생식기 주변 백색지방조직(epididymal adipose tissue, EAT), 후복벽 주변 백색지방조직(retroperitoneal adipose tissue, RAT), 사타구니 주변 피하지방조직(inguinal adipose tissue, IAT)과 갈색지방조직(brown adipose tissue, BAT)의 무게를 측정하였다.

MAT, EAT, RAT, IAT와 BAT의 무게는 정상군에 비하여 대조군에서 통계적으로 유의하게 증

가하는 것으로 나타났으며, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여에서 감소하였으나 DF의 단독 투여 및 DF+GSH의 병용 투여한 MAT와 DF+GSH의 병용 투여한 BAT에서만 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다(Table 5, Fig. 2).

이를 백분율로 환산하면, MAT의 경우, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여는 14.72%, DF+GSH의 병용 투여는 19.84%로 그 무게가 감소되는 것으로 나타났고, EAT의 경우, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여는 4.78%로 그 무게가 감소되었고, 반대로 DF+GSH의 병용 투여는 2.22%로 그 무게가

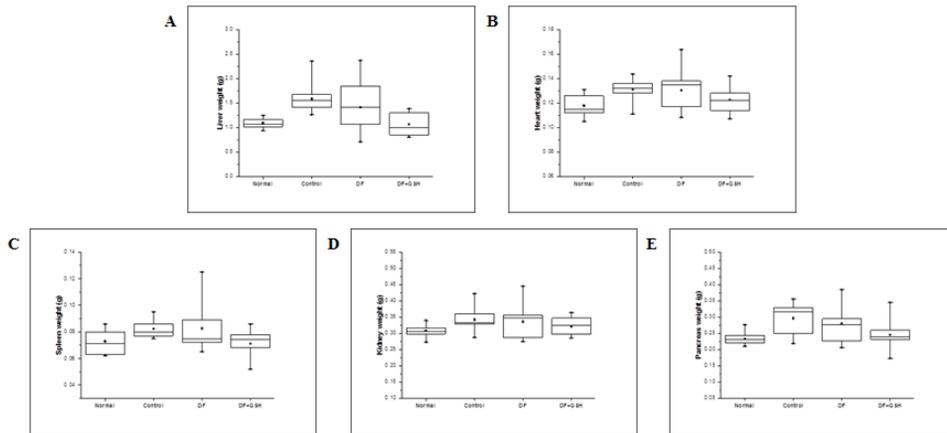


Fig. 2. Adipose tissue weights in high fat diet-fed obese mice.

증가되는 것으로 나타났으나 통계적인 유의성은 없었다. RAT의 경우, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여는 5.40%, DF+GSH의 병용 투여는 1.24%로 그 무게가 증가되는 것으로 나타났으나 통계적인 유의성은 없었다. IAT의 경우, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여는 4.68%, DF+GSH의 병용 투여는 3.88%로 그 무게가 감소되는 것으로 나타났으며, BAT의 경우, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여는 12.12%, DF+GSH의 병용 투여는 14.36%로 그 무게가 감소되는 것으로 나타났다. MAT, EAT, RAT, IAT와 BAT에서 그 무게의 감소는 DF의 단독 투여보다는 DF+GSH의 병용투여에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다.

## 2. 식이효율과 혈중 leptin 및 adiponectin 농도

식이효율은 정상군에 비하여 대조군에서 통계적으로 유의하게 높은 것으로 나타났으며, DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났다( $P < 0.001$ , Table 6, Fig. 3A).

이를 백분율로 환산할 경우, 정상군에 비하여 대조군은 47.80%의 식이효율이 높은 것으로 나타났으며, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여는 60.32%, DF+GSH의 병용 투여는 68.22%로 식이효율이 낮은 것으로 나타났으며, DF+GSH의 병용 투여에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다.

실험시작 8주 후 혈장 내 leptin의 양을 측정된 결과, 대조군은 정상군에 비하여 통계적으로 유의하게 그 농도값이 높은 것으로 나타났고, DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여 모두에서 대조군에 비하여 그 농도값이 낮은 것으로 나타났으나 DF+GSH의 병용 투여에서만 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다(Table 6, Fig. 3B). 이를 백분율로 환산할 경우, 정상군에 비하여 대조군은 61.62%의 혈중 leptin 농도값이 높은 것으로 나타났으며, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여는 17.98%, DF+GSH의 병용 투여는 29.30%로 혈중 leptin 농도값이 낮은 것으로 나타났으며, DF+GSH의 병용 투여에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다.

실험시작 8주 후 혈장 내 adiponectin의 양을 측정된 결과, 대조군은 정상군에 비하여 그 농도값이 높은 것으로 나타났고, 대조군에 비하여 그 농도값이 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여는 모두 낮은 것으로 나타났으나 DF+GSH의 병용 투여에서만 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다(Table 6, Fig. 3C). 이를 백분율로 환산할 경우, 정상군에 비하여 대조군은 0.04%의 혈중 adiponectin 농도값이 높은 것으로 나타났으며, 대조군에 비하여 그 농도값이 DF의 단독 투여는 0.54%, DF+GSH의 병용 투여는 34.78%로 낮은 것으로 나타났으며, DF+GSH의 병용 투여에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다.

Table 6. Feeding efficiency ratio, fasting plasma leptin and adiponectin levels in high fat diet-fed obese mice.

	Normal	Control	DF	DF+GSH
Feeding efficiency ratio	8.792±7.413	24.89±10.004 <sup>††</sup>	6.161±6.195 <sup>***</sup>	4.703±7.685 <sup>***</sup>
leptin	12.839±3.851	54.07±17.329 <sup>†††</sup>	37.59±17.102	29.559±8.801 <sup>**</sup>
adiponectin	12368.822±3270.36	12378.3±2970.616	12244.689±4065.594	5991.211±4080.29 <sup>**</sup>

Data are expressed as the mean±SD. † Value significantly different from normal, †† p<0.01, ††† p<0.001. \* Value significantly different from control, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001.

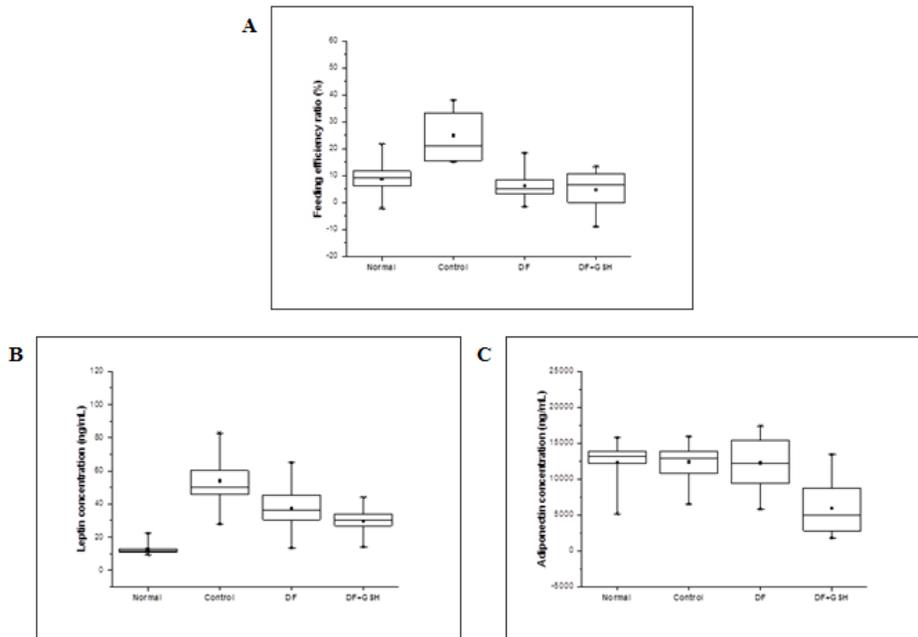


Fig. 3. Feeding efficiency ratio(A), fasting plasma leptin(B) and adiponectin levels(C) in high fat diet-fed obese mice.

### 3. 혈액의 free fatty acid, triglyceride, insulin 및 glucose 농도

실험시작 8주 후 혈장 내 triglyceride와 free fatty acid의 양을 측정된 결과, 혈중 triglyceride의 농도값은 정상군에 비하여 대조군에서 높게 나타났으며, DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여 모두에서 대조군에 비하여 낮은 것으로 나타났으나 통계적인 유의성은 없었다(Table 7, Fig. 4A). 혈중 free fatty acid의 농도값은 정상군에 비하여 대조군에서 높게 나타났으며, DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여 모두에서 대조군에 비하여 높은 것으로 나타났으며, DF의 단독 투여에서 통계적인 유의성이 있었다 (Table 7, Fig. 4B).

이를 백분율로 환산하면, 혈중 triglyceride의 경우, 정상군에 비하여 대조군은 6.90%로 높게 나타났으며, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여는 3.90%, DF+GSH의 병용 투여는 7.62%로 낮게 나타났다. 혈중 free fatty acid의 경우, 정상군에 비하여 대조군은 5.32%로 낮게 나타났으며, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여는 5.98%, DF+GSH의 병용 투여는 5.34%로 높게 나타났다.

실험시작 8주 후 혈장 내 glucose와 insulin의 양을 측정된 결과, 혈중 glucose의 농도값은 정상군에 비하여 대조군에서 높게 나타났고, DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여 모두에서 대조군에 비하여 낮게 나타났으며 DF+GSH의 병용

Table 7. Fasting plasma triglyceride, free fatty acid, glucose and insulin levels in high fat diet-fed obese mice.

	unit	Normal	Control	DF	DF+GSH
Triglyceride	mg/dl	78.667±13.153	90.333±17.944	83.556±7.452	77.556±12.34
Free fatty acid	mg/dl	977.889±163.584	879±109.021	990.889±81.05*	978.111±111.011
Glucose	μEq/L	177.222±20.266	213.667±44.396†	191.333±36.736	166.222±18.185**
Insulin	mg/dl	0.813±0.468	2.233±0.87†††	1.743±1.259	1.019±0.53**

Data are expressed as the mean±SD. † Value significantly different from normal, † p<0.05, †† p<0.01, ††† p<0.001. \* Value significantly different from control, \* p<0.05.

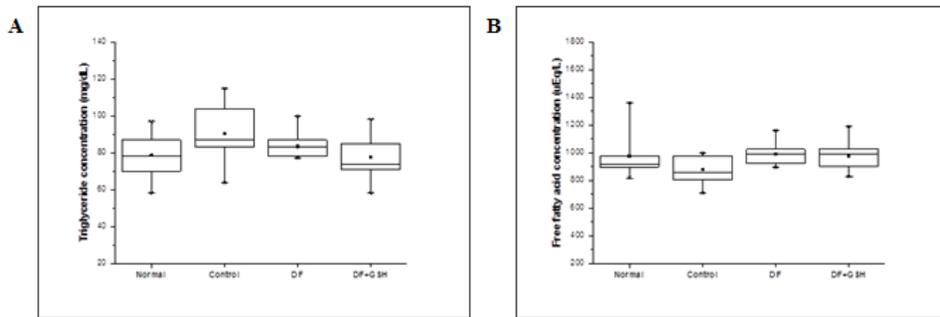


Fig. 4. Fasting plasma triglyceride(A) and free fatty acid(B) levels in high fat diet-fed obese mice.

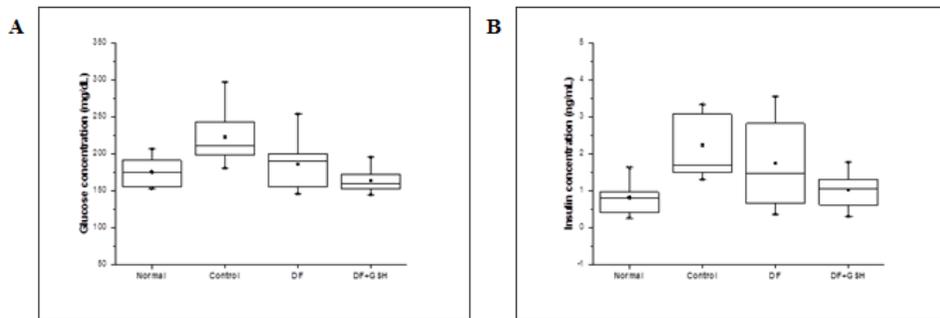


Fig. 5. Fasting plasma glucose(A) and insulin(B) levels in high fat diet-fed obese mice.

투여에서 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다( $P<0.01$ , Table 7, Fig. 5A). 혈중 insulin의 농도값은 정상군에 비하여 대조군에서 높게 나타났으며, DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여 모두에서 대조군에 비하여 낮게 나타났고 DF+GSH의 병용 투여에서 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다 ( $P<0.01$ , Table 7, Fig. 5B). 이를 백분율로 환산하면, 혈중 glucose의 경우, 정상군에 비하여 대조군은 9.32%로 높게 나타났으며, 대조

군에 비하여 DF의 단독 투여는 5.52%, DF+GSH의 병용 투여는 12.48%로 낮게 나타났다. 혈중 insulin의 경우, 정상군에 비하여 대조군은 46.62%로 높게 나타났으며, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여는 12.32%, DF+GSH의 병용 투여는 37.34%로 낮게 나타났다.

#### 4. 지방세포의 크기와 수

DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여가 고

지방식이 마우스 비만모델 피하지방세포의 조직학적, 형태학적 변화에 미치는 영향을 조사하기 위하여 IAT 지방조직을 HE 염색법으로 염색한 후 현미경 및 image analysis system으로 관찰하였다. 단위면적당 지방세포의 수는 정상군과 비교하여 대조군에서 통계적으로 유의하게 감소하였으며, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여에서 증가하였으나 DF+GSH의 병용 투여에서 통계적인 유의성을 나타냈다. 단위면적당 지방세포 수의 증감율은 정상군에 비하여 대조군에서 22.44%로 감소하는 것으로 나타났으며, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여에서 10.26%와 13.62%로 증가하는 것으로 나타났다(P<0.05, Table 8, Figs. 6-7). 반면, 지방세포의 크기는 정상군과 비교하여 대조군에서 통계적으로 유의하게 증가되었으며, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여에서 감소하였으나 DF+GSH의 병용 투여에서 통

계적인 유의성을 나타냈다. 지방세포 크기의 증감율은 정상군에 비하여 대조군에서 21.74%로 증가하는 것으로 나타났으며, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여에서 10.70%와 14.22%로 감소하는 것으로 나타났다(P<0.05, Table 8, Figs. 6-7).

DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여가 고지방식이 마우스 비만모델 복부지방세포의 조직학적, 형태학적 변화에 미치는 영향을 조사하기 위하여 EAT 지방조직을 HE 염색법으로 염색한 후 현미경 및 image analysis system으로 관찰하였다. 단위면적당 지방세포의 수는 정상군과 비교하여 대조군에서 통계적으로 유의하게 감소하였으며, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여 모두에서 증가하는 것으로 나타났다. 단위면적당 지방세포 수의 증감율은 정상군에 비하여 대조군에서 20.04%로 감소하는 것으로 나타났으며, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여와 DF+GSH

Table 8. Cell number and size of inguinal adipose tissue in high fat diet-fed obese mice.

IAT	Normal	Control	DF	DF+GSH
Cell number	101.222±23.264	64.111±9.021 <sup>†</sup>	78.778±6.113	84.333±2.082 <sup>*</sup>
Cell size(μm <sup>2</sup> )	2742.454±543.232	4265.462±577.337 <sup>†</sup>	3440.713±258.168	3202.896±79.921 <sup>*</sup>

Data are expressed as the mean±SD. <sup>†</sup> Value significantly different from normal, <sup>\*</sup> p<0.05. <sup>\*</sup>Value significantly different from control, \* p<0.05.

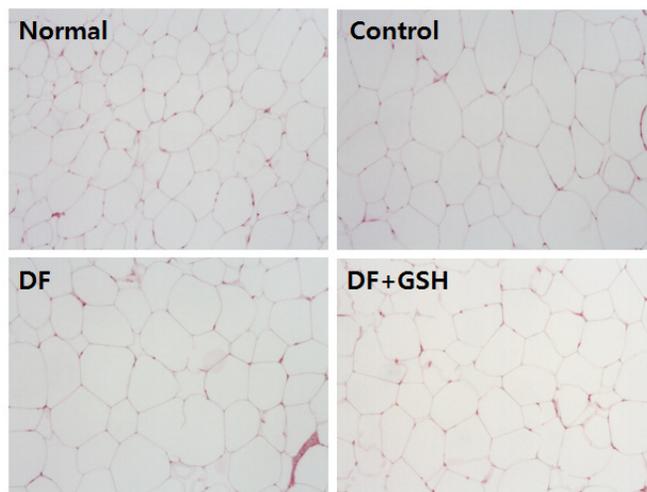


Fig. 6. Histology of inguinal white adipose tissues in high fat diet-fed obese mice. Representative hematoxylin and eosin sections of inguinal adipose tissue(original magnification X 100).

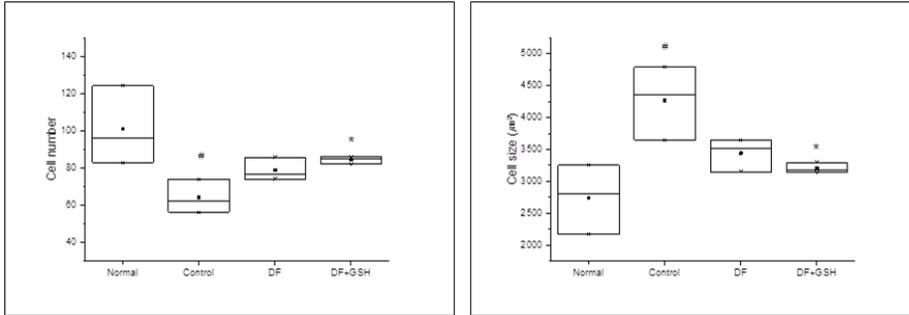


Fig. 7. Number and size of inguinal adipocytes in high fat diet-fed obese mice. The size and number of adipocytes in a fixed area (1,000,000  $\mu\text{m}^2$ ) were quantified by an image analysis system.

의 병용 투여에서 7.24%와 11.62%로 증가하는 것으로 나타났다(Table 9, Figs. 8-9). 반면, 지방세포의 크기는 정상군과 비교하여 대조군에서 통계적으로 유의하게 증가되었으며, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여 모두에서 감소하는 것으로 나타났으며 DF+GSH의 병용 투

여에서 통계적인 유의성이 있었다. 지방세포 크기의 증감율은 정상군에 비하여 대조군에서 20.10%로 증가하는 것으로 나타났으며, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여에서 6.84%와 11.30%로 감소하는 것으로 나타났다( $P < 0.05$ , Table 9, Figs. 8-9).

Table 9. Cell number and size of epididymal adipose tissue in high fat diet-fed obese mice.

EAT	Normal	Control	DF	DF+GSH
Cell number	87,556±4,857	58,333±4,256 <sup>†</sup>	67,444±8,834	73,667±9,207
Cell size( $\mu\text{m}^2$ )	3089.951±167.53	4644.68±331.414 <sup>††</sup>	4049.764±533.695	3701.797±440.256 <sup>*</sup>

Data are expressed as the mean±SD. <sup>†</sup> Value significantly different from normal, <sup>††</sup>  $p < 0.01$ . <sup>\*</sup> Value significantly different from control,  $p < 0.05$ .

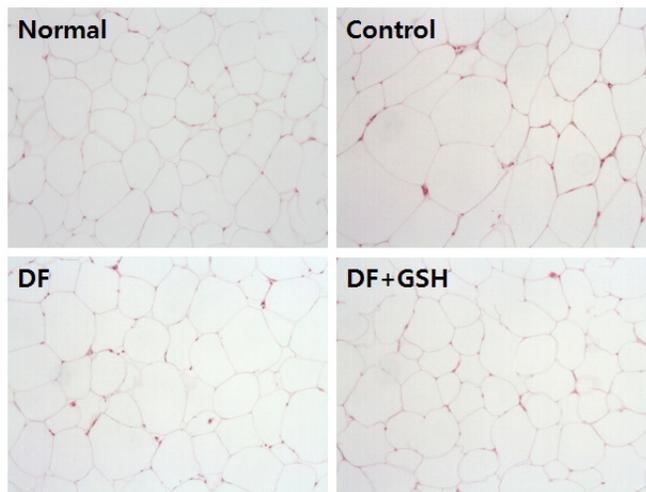


Fig. 8. Histology of epididymal white adipose tissues in high fat diet-fed obese mice. Representative hematoxylin and eosin sections of epididymal adipose tissue(original magnification X 100).

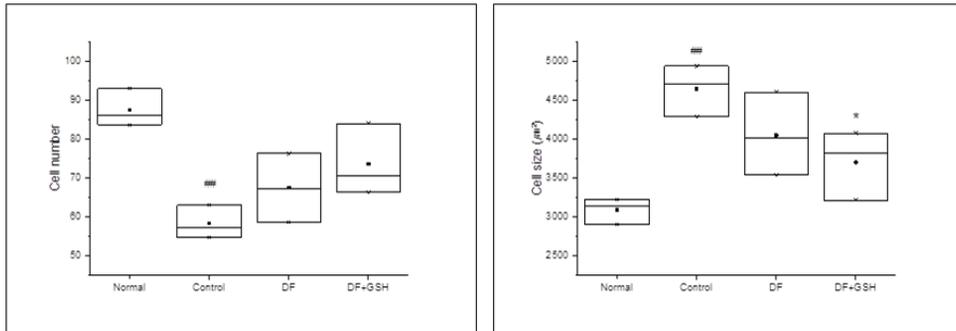


Fig. 9. Number and size of epididymal adipocytes in high fat diet-fed obese mice. The size and number of adipocytes in a fixed area ( $1,000,000 \mu\text{m}^2$ ) were quantified by an image analysis system.

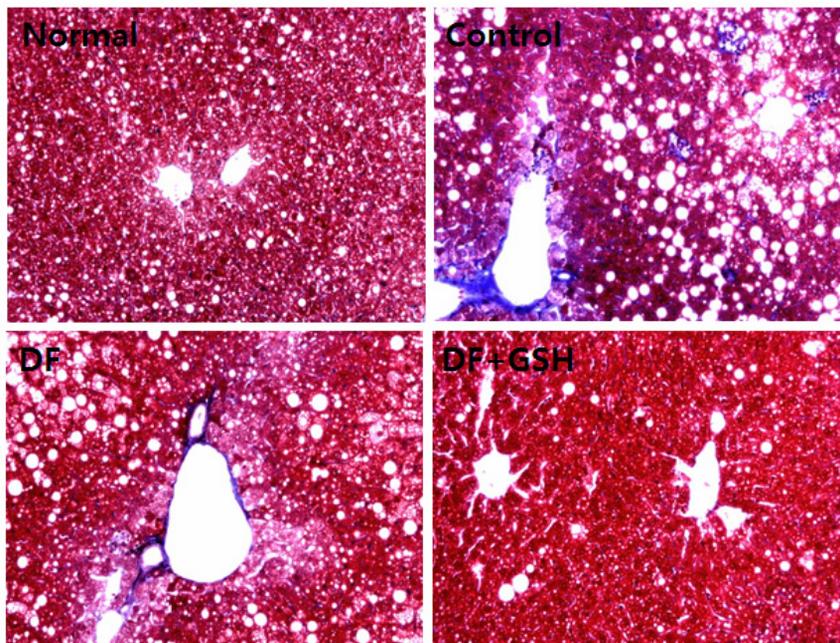


Fig. 10. Histological analysis of liver fibrosis. Male C57BL/6N mice were fed a low fat diet, a high fat diet, or the same high fat diet supplemented with DF and DF+GSH for 8 weeks. Representative Masson's trichrome stained sections of livers are shown in blue color. Original magnification X 400.

### 5. 간섬유화

고지방식이로 비만이 유발된 대조군은 정상군에 비하여 상당량의 간섬유화 소견을 보였으나, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여 모두에서 간섬유화가 줄어든 양상을 보였으며 그 감소 정도는 DF+GSH의 병용투여에서 더 현저하였다 (Fig. 10).

### IV. 考 察

DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여에 대한 체중감량 효과의 차이를 알아보기 위해, 고지방식이 마우스 비만모델을 이용하여 체중변화, 식이효율, 혈중 leptin과 지질대사의 농도, 지방조직의 형태학적 조직학적 변화, 간세포의 섬유화를

조사하였다.

먼저 고지방식이 마우스 비만모델을 이용하여 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여가 체중 증가량의 변화와 지방무게에 어떤 영향을 미치는 지에 대해서 알아보았다.

체중 증가량의 경우, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여는 59.37%, DF+GSH의 병용 투여는 68.00%의 체중 감량효과가 있는 것으로 나타났고, 모두에서 통계적으로 매우 현저한 체중 감량효과가 있는 것으로 나타났으며( $P < 0.001$ ) DF+GSH에서 더 큰 것으로 나타났(Fig. 1).

MAT의 경우, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여는 14.72%, DF+GSH의 병용 투여는 19.84%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났고, EAT의 경우, 대조군에 비하여 DF 단독 투여는 4.78%로 그 무게가 감소되었으나, DF+GSH의 병용 투여는 반대로 2.22%로 그 무게가 증가되는 것으로 나타났으나 통계적인 유의성은 없었다. RAT의 경우, 대조군에 비하여 DF 단독 투여는 5.40%, DF+GSH의 병용 투여는 1.24%로 그 무게가 증가되는 것으로 나타났으나 통계적인 유의성은 없었다. IAT의 경우, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여는 4.68%, DF+GSH의 병용 투여는 3.88%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났으며, BAT의 경우, 대조군에 비하여 DF의 단독 투여는 12.12%, DF+GSH의 병용 투여는 14.36%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났(Fig. 2). 따라서 DF 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여는 체중감량효과와 일치하게 지방량을 전반적으로 개선시키고 그 감량의 정도는 DF+GSH의 병용 투여에서 더 크다는 것을 시사한다.

DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여가 식이효율에는 어떤 변화를 주고 혈중 leptin과 adiponectin 농도에는 어떻게 반영되는 지에 대해서도 조사하였다.

대조군에 비하여 DF의 단독 투여는 60.32%, DF+GSH의 병용 투여는 68.22%로 식이효율이 낮은 것으로 나타났으며, DF+GSH의 병용 투여에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났(Fig. 3A). 대조군에 비하여 DF의 단독 투여는 17.98%, DF+GSH

의 병용 투여는 29.30%로 혈중 leptin의 농도값이 낮게 나타났으며, DF+GSH의 병용 투여에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났(Fig. 3B). 대조군에 비하여 DF의 단독 투여는 0.54%, DF+GSH의 병용 투여는 34.78%로 혈중 adiponectin의 농도값이 낮게 나타났으며, DF+GSH의 병용 투여에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났(Fig. 3C). 식이효율의 공식에서 의미하는 바와 같이 사료를 섭취하는 양이 많음에도 불구하고 체중의 증가가 적다는 것은 비만조절효과가 있는 것으로 볼 수 있다. 식이효율은 비만을 나타내는 하나의 척도로 사용할 수 있고, 식이효율의 값이 적을수록 비만조절효과가 있다고 할 수 있다. Leptin은 백색지방 세포에서 분비되는 adipokine으로서 시상하부에서 작용하여 체중, 음식물섭취와 지방축적을 줄이는 작용을 한다<sup>10</sup>. Adiponectin도 백색지방세포에서 분비되는 adipokine으로서 항염작용, 항당뇨작용, 동맥경화 개선작용과 간보호작용이 있으며<sup>11</sup>, 비만한 환자, 돼지와 설치류에서 adiponectin의 혈중 농도가 낮아지는 것으로<sup>12,13</sup> 알려져 있고, Leptin과 adiponectin의 혈중 농도는 반대의 양상을 나타낸다. 따라서 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여는 식이효율의 값에 따라 혈중 leptin의 농도에도 반영되어 식이효율을 낮추고 혈중 leptin 농도는 낮추어 체중 증가량을 줄이며 이에 따라 지방무게를 줄이는 것으로 생각된다.

DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여가 체중 조절 및 지질대사와 관련된 지표인 혈중 triglyceride, free fatty acid, glucose와 insulin의 농도에 미치는 영향을 조사하였다. 혈중 triglyceride의 값은 대조군에 비하여 DF의 단독 투여는 3.90%, DF+GSH의 병용 투여는 7.62%로 낮게 나타났(Fig. 4A). 혈중 free fatty acid의 값은 대조군에 비하여 DF의 단독 투여는 5.98%, DF+GSH의 병용 투여는 5.34%로 높게 나타났(Fig. 4-B). 혈중 glucose의 값은 대조군에 비하여 DF의 단독 투여는 5.52%, DF+GSH의 병용 투여는 12.48%로 낮게 나타났(Fig. 5-A). 혈중 insulin의 값은 대조군에 비하여 DF의 단독 투여는 12.32%, DF+GSH의 병용 투여는 37.34%로 낮게 나타났(Fig. 5B). Insulin은 단기적으로는

혈중 glucose 농도와 장기적으로는 지방축적 정도에 따라 췌장의  $\beta$  세포에서 분비된다<sup>14)</sup>. Insulin은 leptin과 함께 몸의 에너지가 남아돌면 음식물 섭취량을 줄이고 체중을 감소시킨다<sup>15)</sup>. 따라서 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여는 체중감량과 지방량의 감소효과와 일치하게 혈중 triglyceride, glucose와 insulin의 농도값이 감소하는 것을 보여주고 있어 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여에 의한 실질적인 체중 증가량 감소효과와 지방량 감소효과가 혈중 체중감량지표와 지질대사에 전반적으로 영향을 미친다는 것을 시사한다.

DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여에 의한 체중감량효과가 고지방식이 마우스 비만모델의 피하 및 복부지방세포(IAT, EAT)와 간세포의 조직학적, 형태학적 변화에 어떠한 영향을 미치는지 조사하였다.

IAT의 경우, 단위면적당 지방세포의 수는 대조군에 비하여 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여에서 증가하였으나 DF+GSH의 병용 투여에서 통계적인 유의성을 나타냈다. 단위면적당 지방세포 수의 증감율은 대조군에 비하여 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여에서 10.26%와 13.62%로 증가하는 것으로 나타났다( $P<0.05$ , Table 8, Fig. 6-7). 반면, 지방세포의 크기는 대조군에 비하여 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여에서 감소하였으나 DF+GSH의 병용 투여에서 통계적인 유의성을 나타냈다. 지방세포 크기의 증감율은 대조군에 비하여 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여에서 10.70%와 14.22%로 감소하는 것으로 나타났다( $P<0.05$ , Table 8, Fig. 6-7).

EAT의 경우, 단위면적당 지방세포의 수는 대조군에 비하여 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여에서 증가하는 것으로 나타났다. 단위면적당 지방세포 수의 증감율은 대조군에 비하여 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여에서 7.24%와 11.62%로 증가하는 것으로 나타났다(Table 9, Fig. 8-9). 반면, 지방세포의 크기는 대조군에 비하여 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여에서 감소하였으나 DF+GSH의 병용 투여에서 통계적인 유의성을 나타냈다. 지방세포 크기의 증감율

은 대조군에 비하여 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여에서 6.84%와 11.30%로 감소하는 것으로 나타났다( $P<0.05$ , Table 9, Fig. 8-9).

간세포의 섬유화는 대조군에 비하여 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여 모두에서 감소하는 양상을 보였으며, 그 감소 정도는 DF+GSH의 병용 투여에서 더 현저하였다 (Fig. 10).

따라서 체중감량효과와 일치하게 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여에 의하여 지방세포의 수는 증가하였고 그 크기는 감소하였으며, 간세포의 간섬유화는 억제하는 것을 알 수 있다.

그러므로 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여는 식이효율과 leptin 농도를 낮추고 혈중 비만지표들을 개선시키며 지방량을 줄여 체중감량효과를 나타내며, 간세포의 섬유화를 억제하는데도 기여할 수 있음을 보여준다. 그 기여 정도는 DF+GSH의 병용 투여에서 더 현저하였다.

## V. 結 論

고지방 식이로 유발된 비만 마우스 모델을 이용하여 降脂丸(DF)의 단독 투여와 降脂丸合加味消滯丸(DF+GSH)의 병용 투여에 따른 체중증가량, 혈중 지질대사 관련 지표와 간조직의 변화를 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여는 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 체중증가량을 감소시켰으며, 체중증가량의 변화와 일치하게 지방량도 감소하였고, 그 감소폭은 DF+GSH의 병용 투여에서 더욱 현저하였다.

2. DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여는 대조군에 비하여 식이효율과 혈중 leptin의 농도는 감소시키는 것으로 나타났다.

3. DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여는 대조군에 비하여 체중감량 및 지방량의 감소와 일치하게 혈중 triglyceride, glucose와 insulin의 농도값을 감소시켰다.

4. DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여는 대조군에 비하여 체중감량효과와 일치하게 지방세포의 수를 증가시키고 지방세포의 크기는 감소시키는 것으로 나타났다.

5. DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여는 대조군에 비하여 체중감량효과와 일치하게 간세포의 섬유화도 억제하는 것으로 나타났다.

결론적으로 DF의 단독 투여와 DF+GSH의 병용 투여는 식이효율과 혈중 leptin의 농도를 낮추고 혈중 비만지표들을 개선시키며 지방량을 줄여 체중감량효과를 나타내고, 간세포의 섬유화를 억제하는데도 기여할 수 있을 것으로 생각되며, DF의 단독 투여보다는 DF+GSH의 병용 투여 시에 그 효과가 증대되는 것으로 보인다.

### Acknowledgement

This work was supported by the National Research Foundation of Korea(NRF) grant funded by the Korea government(MEST) (No. 2012R1A2A2A01004508).

### 參 考 文 獻

1. Ye Ji Ahn, Ki Hyeon Yoon, Ju Heum Jo, Du Hyon Jang, Yang Sam Jung, Jong Hoon Kim, Byeong Chul Kim, Hoa Jun Seok, Jae Sang Yoo, Ja Ryong Ku, Michung Yoon, Soon Shik Shin. Gangjihwan Improves Nonalcoholic Fatty Liver Disease in High Fat Diet-Fed C57BL/6N Mice. *Kor. J. Herbology*. 2014; 29(2): 47-54.
2. Compiled by Shen Ying Jun. *Pharmacology of traditional Chinese Medicine*. First edition. Beijing:People's Medical Publishing House. 2000: 111-5.
3. Compiled by Wang Yu Sheng, Deng Wen

- Long, Xue Chun Sheng. *The application and pharmacology of traditional Chinese Medicine*. Second edition. Beijing:People's Medical Publishing House. 2000: 1105-19.
4. Shekelle PG, Hardy ML, Morton SC, Maglione M, Mojica WA, Suttorp MJ, Rhodes SL, Jungvig L, Gagné J. Efficacy and safety of ephedra and ephedrine for weight loss and athletic performance: a meta-analysis. *JAMA*. 2003; 289(12): 1537-45.
5. Vukovich MD, Schoorman R, Heilman C, Jacob P 3rd, Benowitz NL. Caffeine-herbal ephedra combination increases resting energy expenditure, heart rate and blood pressure. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2005; 32(1-2): 47-53.
6. Tian JY, Chen L, Zhang XL, Li J, Han J, Fu JY, Yang XM, Zhang PC, Ye F. Investigation of a compound, compatibility of *Rhodiola crenulata*, *Cordyceps militaris*, and *Rheum palmatum*, on metabolic syndrome treatment II - improving obesity. *Chin j of Chin materia medica*. 2013; 38(9): 1415-19.
7. Yun Gil Yeong. 『Clinical Formula Science of Korean Medicine』. Seoul: Myeongbo Press, 1985: 387.
8. Du Hyon Jang, Yang Sam Jung, Jong Hoon Kim, Byeong Chul Kim, Hoa Jun Seok, Jae Sang Yoo, Ja Ryong Ku, Ki Hyeon Yoon, Ju Heum Jo, Hye Rim Lee, Jong Seong Roh, Ho Young Yun, Michung Yoon, Soon Shik Shin. Comparison of Gangjihwan and Combination of Gangjihwan and Gamisochehwan in the Improvement Effects of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in a High Fat Diet-Fed NAFLD Mouse Model. *Herbal Formula Science(HFS)*. 2014; 22(1): 167-76.
9. Jin sun Oh, Seung Ri Lee, Keum Taek Hwang, Geun Eog Ji. The Anti-Obesity Effects of the Dietary Combination of Fermented Red Ginseng with Levan in High Fat Diet Mouse Model. *PHYTOTHERAPY RESEARCH*. 2014; 28(4):

- 617-22.
10. Fried SK, Ricci MR, Russell CD, Laferrere B. Regulation of leptin production in humans. *J Nutr* 2000; 130: 3127S-3131S.
  11. Brochu-Gaudreau K, Rehfeldt C, Blouin R, Bordignon V, Murphy BD, Palin MF. Adiponectin action from head to toe. *Endocrine* 2010; 37: 11-32.
  12. A. Daniele, R. Cammarata, M. Masullo et al., Analysis of adiponectin gene and comparison of its expression in two different pig breeds. *Obesity* 2008; 16(8): 1869-1874.
  13. A. de Rosa, M. Ludovica Monaco, M. Capasso et al., Adiponectin oligomers as potential indicators of adipose tissue improvement in obese subjects. *European Journal of Endocrinology* 2013; 169(1): 37-43.
  14. Woods SC, Seeley RJ. Adiposity signals and the control of energy homeostasis. *Nutrition* 2000; 16: 894-902.
  15. Brown LM et al. Intraventricular insulin and leptin reduce food intake and body weight in C57BL/6J mice. *Physiol Behav* 2006; 89: 687-691.