

# 防己茯苓湯이 비만유도생쥐의 혈당 및 체지방개선에 미치는 영향

유형진 · 이종하\* · 이수경\* · 송용선\*

대전자생한방병원, 원광대학교 한의과대학 한방재활의학교실\*

## Effects of *Bangkibokryeong-tang* (*Fangjifuling-tang*) on the Reduction of Blood Glucose and Body Fat in High Fat Diet Induced Obese Mice

Hyung-Jin Yoo, Jong-Ha Lee\*, Soo-Kyung Lee, K.M.D.\*, Yung-Sun Song, K.M.D.\*

Daejeon Jaseng Hospital of Korean Medicine, Department of Rehabilitation Medicine of Korean Medicine, College of Korean Medicine, Won-Kwang University\*

이 연구는 2016학년도 원광대학교 교비지원에 의하여 수행됨.

RECEIVED December 27, 2016

REVISED January 14, 2017

ACCEPTED January 16, 2017

### CORRESPONDING TO

Yung-Sun Song, Department of Rehabilitation Medicine of Korean Medicine, College of Korean Medicine, Won-Kwang University, 99 Garyeonsan-ro, Deokjin-gu, Jeonju 54887, Korea

TEL (063) 270-1070

FAX (063) 270-1594

E-mail yssong@wku.ac.kr

Copyright © 2017 The Society of Korean Medicine Rehabilitation

**Objectives** This study aimed to investigate the effect of *Bangkibokryeong-tang* (BBT, *Fangjifuling-tang*) on blood glucose and body fat in high-fat diet-induced obese mice.

**Methods** The experimental animals were divided into five groups- normal diet-fed control (ND), high-fat diet-fed control (HFD), HFD+BBT 75, HFD+BBT 150, and HFD+olistat as a positive drug control group. Markers of obesity, such as body weight, organ weight, diet efficiency, and serum levels of total cholesterol, triglycerides, lipid content, leptin, adiponectin, glutamic oxaloacetic transaminase (GOT)/glutamic pyruvic transferase (GPT)/lactate dehydrogenase (LDH), blood glucose, and insulin, were measured. Furthermore, results of the oral glucose tolerance test and  $\alpha$ -glucosidase inhibition activity were examined in obese mice.

**Results** Mice treated with BBT demonstrate lower body and organ weight, and reduced weight gain and food efficiency than that in the HFD-only control group. In addition, BBT decreased lipid accumulation in the liver and the levels of enzymes such as GOT, GPT, and LDH in the serum. Furthermore, the levels of triglycerides, total cholesterol, low density lipoprotein (LDL), and leptin were decreased in the serum but the levels of high density lipoprotein (HDL) and adiponectin were increased in the BBT-treated group compared with the control group. The BBT-treated group also demonstrated decreased blood glucose and insulin concentrations induced by feeding on a high-fat diet and improved glucose tolerance.

**Conclusions** Based on the results above, BBT may reduce body fat and hyperglycemia in HFD-induced obesity. This suggests that BBT may be clinically useful in the treatment of obesity. (*J Korean Med Rehabil* 2017;27(1):1-17)

**Key words** *Bangkibokryeong-tang*, Obesity, High fat diet, Hyperglycemia

## 서론»»»»

비만은 체내에 필요한 에너지보다 과다 섭취되거나 섭취된 에너지보다 소비가 부족하여 초래되는 에너지 불균

형의 상태로 호르몬의 변화, 유전, 정신, 사회경제적 요인 등 많은 요인이 복합적으로 관련되어 있으며 성인병과의 높은 연관성 때문에 중요한 건강문제로 대두되고 있다<sup>1)</sup>. 그러나 운동선수와 같이 체중은 많이 나가지만 근육량이

많은 사람도 있으므로 단순체중만 가지고는 비만이라 할 수 없으며, 비만의 의학적인 정의를 내릴 때는 ‘체내에 지방이 과다하게 축적되어있는 상태’ 즉, 정상보다 체지방이 많은 상황을 말한다<sup>2)</sup>.

우리나라의 경우, 국민건강영양조사와 국민건강보험공단에서 발표한 비만 유병률 현황에 따르면 2014년 기준 남성의 경우 37.7%, 여성의 경우 23.3%로 나타났으며<sup>3)</sup>, 초고도비만율(BMI≥35)은 2002년 0.2%에서 2013년 0.5%로 상승하여 지난 12년간 2.9배 증가하였고, 고도비만율도(BMI≥30) 2002년 2.5%에서 2013년 4.2%로 1.7배 증가한 것으로 나타났다<sup>4)</sup>.

비만은 또한 대사증후군, 지질대사 이상, 심혈관 질환, 당뇨병 및 당대사 이상, 퇴행성 관절염, 불임, 암 등의 질환과 관련되어 있고<sup>1)</sup> 체내 과도한 지방의 축적 및 혈중 지질농도의 증가는 당뇨병, 고혈압, 심혈관 질환을 포함한 만성질환을 유발하게 되는 원인으로 알려져 있으며, 특히 피하조직 이외의 부위에 축적된 복부비만은 당 및 지질대사에 장애를 초래하는 인슐린 비의존형 당뇨병, 고혈압, 고지혈증 등의 대사성질환과 심혈관 질환의 발병률과 사망률을 증가시킨다는 보고가 있다<sup>5-8)</sup>.

한의학적으로 비만은 『內經』에 “臃肉堅皮滿者肥”로 최초로 언급된 이래 肥, 肥人, 肥白人, 肌膚盛, 肥貴人, 肥胖으로 표현되어 왔으며<sup>9)</sup>, 원인은 穀氣勝元氣, 脾胃俱旺, 脾胃俱虛, 脾困邪勝, 痰飲, 氣虛, 血實氣虛, 華食, 數食甘味와 膏粱厚味가 있다고 하였다. 비만의 변증은 다양하게 제시될 수 있으나 한국 한의학연구원에서 제시한 肝鬱, 食積, 陽虛, 脾虛, 痰飲, 瘀血 등 6개 유형이 주로 연구되고 있으며<sup>10)</sup> 이러한 비만의 치료법에는 韓藥, 體鍼, 藥鍼, 耳鍼, 附缸, 氣功療法, 節食療法, 埋線, 溫熱療法 등이 이용되고 있다<sup>11,12)</sup>.

防己茯苓湯은 漢代 張의 『金匱要略』에서 ‘皮水爲病 四肢腫 水氣在皮膚中 四肢聶動者 防己茯苓湯 主之’라 하였는데 防己黃芪湯에서 白朮, 生薑, 大棗 를 去하고 茯苓, 桂枝 를 加한 것으로 益氣, 通陽, 利水 등에 응용되어 왔다<sup>13,14)</sup>. 防己茯苓湯과 관련된 최근 연구들에서 기 등<sup>15,16)</sup>은 防己黃芪湯 및 防己茯苓湯의 고지혈증 개선 효과, 임 등<sup>17)</sup>은 防己茯苓湯 및 越婢加朮湯의 puromycin amino-nucleoside로 유발된 低蛋白血症, 高脂血症, 細尿管 損傷에 따른 糖尿에 미치는 영향, 송 등<sup>18)</sup>은 防己茯苓湯이 가토의 요량 증가와 Na<sup>+</sup> 재흡수 억제 효과가 각각 보고된 바 있

으나, 실험 과정이 2~3주 정도로 짧았으며 개선 효과 역시 유의성은 있었지만 그 정도가 미비하였다. 또한 防己茯苓湯 단일 처방으로 진행된 비만증 및 고지혈증, 고혈당증 등에 작용하는 약리 기전에 대한 과학적인 연구는 전무한 상태이다.

이에 저자는 防己茯苓湯을 비만 및 관련 질환에 대한 효능을 알아보기 위하여 본 처방을 이용하여 고지방식이 사료를 제공하여 유발되는 비만증 실험 마우스에서 체중 감소, 혈당 및 체지방개선 등에 미치는 영향을 조사하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법»»»»

### 1. 재료

#### 1) 약재

본 실험에 사용한 약재는 원광대학교 전주한방병원에서 구입하여 정선하여 사용하였다. 防己茯苓湯에 들어가는 약재는 동의보감을 기준으로 하였으며 1첩의 기준은 Table I과 같다(Table I).

#### 2) 시약

마우스의 비만을 유도하기 위해 중앙실험동물에서 45%의 지방을 함유하는 고지방식이 D12451사료를 구입하였고, 혈청 및 간 조직 내의 지질을 분석하기 위한 시약은 (주)아산제약(Seoul, Korea)에서 구입하였다. 혈청 내 leptin 함량을 분석을 위한 ELISA kit는 ENZO사(Farmingdale, NY, USA), adiponectin의 분석을 위한 용도의 ELISA kit는 ALPCO사(Salem, NH, USA)에서 제조한

Table I. Prescription of BBT

Variable	Pharmacognostic names	Weight (g)
Herb names		
防己	<i>Sinomenii Radix</i>	7.2
黃芪	<i>Astragali Radix</i>	7.2
桂枝	<i>Cinnamomi Ramulus</i>	7.2
茯苓	<i>Hoele</i>	14.3
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	4.7
Total amount		40.6

제품을 사용하였으며, 본 실험에 사용된 기타 시약들은 Sigma사(St Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였다.

### 3) 검체 조제

防己茯苓湯 40.6 g을 취하여 약 15배 부피의 증류수 600 ml을 가하여 100°C에서 2시간씩 2회 환류 추출한 후, 그 열수 추출물을 Whatmann paper filter로 여과하였다. 여과물을 rotary evaporator (EYELA사)로 감압 하에 농축하고 동결 건조하여 防己茯苓湯 추출물 4.38 g을 얻었다. 防己茯苓湯 추출물은 실험동물에게 투여하기 위해 성인 표준체중에 준하여 마우스 체중당 적정 1일 투여량을 산출하였다. 추출물의 저농도에서 고농도까지 농도별 투여를 위하여 防己茯苓湯 추출물을 마우스 체중당 75 및 150 mg/kg을 투여하기 위하여 사용 직전 검체를 조제하였다.

### 4) 실험동물

실험동물은 C57BL/6계 수컷 6주령을 (주)샘타코(오산, 경기도)로부터 공급받아 2주간 동물사육실 환경에 충분히 적응 및 순화 한 후 실험에 사용하였다. 실험 당일까지 고형사료와 음수를 자유롭게 섭취하도록 하였고, 온도는 20±2°C와 습도 50±10%를 유지하였다. 점등과 소등의 주기는 12시간을 기준으로 반복하였으며, 동물실험 윤리 규칙(승인번호 CBNU 2015-0010)을 준수하며 수행되었다.

## 2. 방법

### 1) 비만 실험동물모델

8주령의 22 g내외의 C57BL/6 수컷 마우스를 그룹당 5마리로 난괴법으로 총 5개군으로 나누었다. 마우스의 비만을 유도할 위해 45%의 지방을 함유하는 고지방식이를 사용하였다. 그룹은 일반 식이를 섭취시키는 정상식이군(ND)과 고지방식이군(HFD) 및 고지방식이+防己茯苓湯 75 mg/kg 투여군(BBT 75), 고지방식이+防己茯苓湯 150 mg/kg 투여군(BBT 150)과 양성대조군인 고지방식이+Orlistat 20 mg/kg 투여군(Orlistat)으로 구분하였다. 검체는 실험시작일로부터 4주간 0.3% CMC (carboxymethyl cellulose)가 포함된 정수에 녹여 하루 1회 동일한 시각에 경구 투여 하였고, 실험 종료 후 실험동물을 희생시킨 후 비만 및 당뇨 관련 지표들을 분석하였다.

### 2) 체중 및 식이섭취량 측정

마우스의 체중 및 식이섭취량은 1주일에 2회 같은 시각에 저울을 이용하여 측정하였다. 식이이용효율은 체중 증가량(g)을 식이섭취량(g)으로 나누어 100을 곱한 값(%)으로 나타내었다.

### 3) 혈액 및 조직 채취

실험동물을 diethyl ether로 마취하여 경추탈골법으로 희생시킨 뒤 혈액 및 조직 채취를 위하여 개복하였다. 혈액은 마우스를 개복한 상태로 23 G needle의 주사기를 이용하여 복부대정맥에서 혈액을 채취하였다. 간 조직 및 백색지방 조직은 채취한 뒤 생리식염수로 세척하고 페이퍼타올에 잔여물을 제거한 후 저울을 이용하여 무게를 측정하였다. 간 조직은 지질 함량분석을 위한 시료로 액체질소에 급속 동결하여 실험하기 전까지 -80°C에 보관하였다.

### 4) 혈청 분리와 간 조직의 지질 추출

혈청 분리를 위해 채취한 혈액은 상온에서 30분 동안 방치 후 3,000 rpm에서 10분 동안 원심 분리하였다. 간 조직의 지질 추출은 Folch 법<sup>19)</sup>에 준해서 30 mg의 간조직을 PBS용액에 균질화한 후 클로로포름과 메탄올을 2:1의 비율로 첨가하여 상온에 방치하였다. 그 다음 원심분리하여 분리된 용액의 용매를 증발시키고 난 후 1 ml의 2-propanol로 녹여 시료를 준비하였다.

### 5) 혈청과 간 조직의 지질 함량 분석

혈액 내 지질함량 분석을 위해 중성지방(triglyceride, TG), 총 콜레스테롤(total cholesterol), 고밀도 지단백-콜레스테롤(HDL-cholesterol), 저밀도 지단백-콜레스테롤(LDL-cholesterol)를 분석하였으며, 아산제약에서 공급하는 아산셋트를 이용하였다. 300 μl의 효소시액을 5 ml tube에 분주 후 혈청시료 2 μl를 분주하여 37°C, 5분의 조건에서 반응시킨 후 500 nm에서 흡광도를 측정하여 각 농도를 계산하였다. 간 조직으로부터 추출한 지질의 총 지질 함량은 Frings와 Dunn의 방법<sup>20)</sup>을 이용하여 540 nm의 흡광도를 측정하였으며, 간 조직에서의 triglyceride 함량은 혈청에서의 방법과 같이 측정하였다.

### 6) 혈청 내 GOT · GPT 및 LDH 분석

간 손상의 지표인 GOT 및 GPT를 측정하기 위해 아산 제약에서 공급하는 지오티 · 지피티(GOT · GPT)측정용시액을 사용하였다. GOT 측정용 기질액과 GPT 측정용 기질액 100  $\mu$ l를 37°C에서 5분간 방치한 후에 혈청 20  $\mu$ l과 혼합하여 GOT는 37°C에서 60분, GPT는 30분을 반응하였다. 그 후 정색시액 100  $\mu$ l와 혼합하고 실온에 20분 방치한 후 0.4 N NaOH용액 1 ml를 섞어주고 실온에서 10분간 방치하고 505 nm에서 흡광도를 측정하여 GOT 및 GPT의 양을 계산하였다. LDH는 CytoTox96<sup>®</sup>Non-Radioactive cytotoxicity Assay kit를 사용하여 분석하였다.

### 7) 혈청 내 leptin 함량 측정

혈청 내 leptin 함량을 분석하고자 mouse leptin ELISA kit (ENZO)를 사용하였다. 혈청을 1 : 32의 비율로 assay buffer로 희석해 plate의 각 well에 100  $\mu$ l씩 분주하여 1시간 동안 반응시켰다. 그 다음 blank를 제외한 모든 well에 antibody를 100  $\mu$ l씩 분주하고 상온에서 다시 1시간 동안 반응시켰다. blank를 제외하고 blue conjugate를 100  $\mu$ l를 첨가하고 상온에서 다시 30분 동안 반응하였다. 각 단계는 wash buffer를 이용하여 4회 세척하였으며, 발색을 위해 substrate 용액을 각 well에 100  $\mu$ l씩 분주 한 뒤, 30분 동안 방치시킨 후 stop solution을 100  $\mu$ l 넣고 microplate reader를 이용해 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 8) 혈청 내 adiponectin 함량 측정

HMW and total adiponectin ELISA kit (ALPCO)를 사용하여 혈청 중의 adiponectin 함량을 분석하였다. 혈청 10  $\mu$ l를 protease buffer 100  $\mu$ l와 sample pretreatment buffer와 혼합하였다. 혼합액 10  $\mu$ l를 dilution buffer 1ml에 첨가하여 시료를 준비하고, 시료 50  $\mu$ l를 plate의 각 well에 분주 한 후, 1시간 동안 상온에서 반응하였다. biotin이 표지된 monoclonal Ab를 각 well에 50  $\mu$ l씩 분주하였다. 1시간 동안 상온에서 반응 한 후, 50  $\mu$ l의 streptavidin-HRP를 각 well에 분주하고 30분 동안 상온에서 반응시켰다. 각 단계 사이를 wash buffer를 이용하여 4회 세척하였다. 발색을 위하여 substrate solution을 50  $\mu$ l씩 넣어주고, 빛을 차단한 상태로 10분 동안 방치하고

최종적으로 50  $\mu$ l의 stop solution을 분주 후, microplate reader를 사용하여 492 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 9) 혈청 내 glucose 측정

실험동물의 꼬리로부터 혈액을 채취하여 혈당 측정기 (Abbott Diabetes Care Ltd.)를 이용하여 혈중 포도당 농도를 측정하였다.

### 10) 혈청 내 insulin 함량 측정

혈청 내 insulin 함량을 분석하기 위해 mouse insulin ELISA kit (SHIBAYAGI Co. Japan)를 사용하였다. anti-insulin antibody가 코팅된 plate를 wash buffer로 4회 세척 후, biotin conjugated 된 anti-insulin을 모든 well에 100  $\mu$ l씩 분주하고 plate shaker에서 plate를 흔들어 준 후, 10  $\mu$ l의 혈청과 농도별 standard를 각 well에 분주하였다. plate를 sealing한 후, 상온에서 2시간 동안 반응시켰다. 반응물을 모두 제거한 후, wash buffer를 이용하여 4회 세척하고 100  $\mu$ l의 streptavidin-HRP를 모든 well에 분주하고 다시 상온에서 30분 동안 반응 시켰다. 100  $\mu$ l의 substrate chromogen reagent를 모든 well에 분주 하고 30분 동안 반응시켰으며, 100  $\mu$ l의 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 분주하여 반응을 정지시키고 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 11) Oral glucose tolerance test (OGTT) 당부하 검사

당부하 검사를 위해 각 시료는 그룹별로 glucose투여 2시간 전에 경구 투여 하였다. Glucose는 2 mg/kg으로 경구 투여한 후 15, 30, 60, 90, 120분이 경과하고 각 실험동물의 꼬리정맥으로부터 혈액을 얻어 혈당측정기(Abbott Diabetes Care Ltd.)를 이용하여 혈당을 측정하였다.

### 12) $\alpha$ -glucosidase 활성 분석

$\alpha$ -glucosidase 활성 분석을 위해 0.5 U/ml의  $\alpha$ -glucosidase와 phosphate buffer (PH 7.0) 및 BBT를 농도별로 희석한 sample을 1.5 ml tube에 각 50  $\mu$ l씩 분주하고 37°C에서 15분 동안 반응하였다. 그 후 3 mM의 4-Nitrophenyl  $\beta$ -D-glucopyranoside (PNPG)를 100  $\mu$ l 넣고 다시 10분 동안 37°C에서 반응시켰다. 반응을 정지시키기 위해 0.1 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 750  $\mu$ l를 분주하였으며 microplate reader를 사용해 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

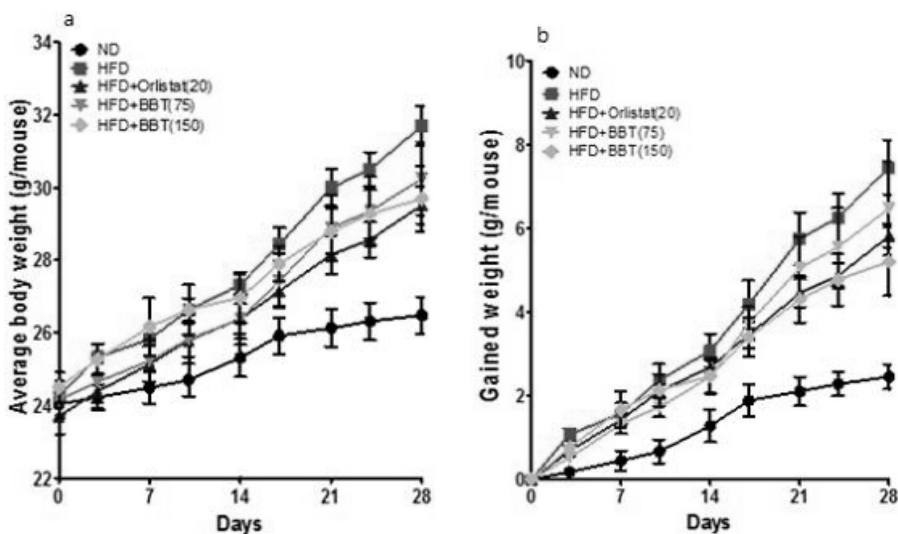
### 13) 통계분석

실험을 통해 얻은 모든 값들은 means±S.E.M 값으로 표시하였다. 대조군과 실험군의 차이를 검증하고자 GraphPad prism software (version 5.0) 프로그램을 사용하였으며, ANOVA-test를 실시하여 p<0.05이하인 값을 기준으로 유의성을 검정하였다.

## 결과»»»»

### 1. 防己茯苓湯이 고지방식이 마우스의 체중 및 체중 증가량에 미치는 영향

고지방식이를 섭취한 마우스의 체중 변화에 대한 防己茯苓湯의 효과를 알아보려고 하였다. 실험기간 동안 고지방식이군(HFD)은 정상식이군(ND)에 비하여 유의하게 체중 및 체중 증가량이 증가하였다. 防己茯苓湯 추출물 저농도 투여군인 HFD+BBT 75군에서는 체중 및 체중 증가량에서 HFD군과 유의한 차이가 나타나지 않았다. 그러나 고농도 투여군(HFD+BBT 150)에서는 체중 및 체중 증가량이 HFD군과 비교하여 유의하게 감소하였다. 체중 증가량에서 HFD+BBT 150군은 31.5%를 억제하였고, 약물대조군인 HFD+Orlistat군은 체중 증가량을 21.9% 감소한 것으로 나타났다(Fig. 1).



**Fig. 1.** Effect of BBT on (a) body weight and (b) gained weight in high fat diet-fed mice. Data are expressed as means±S.E.M (n=5). \*p<0.05, †p<0.01 compared with HFD group.

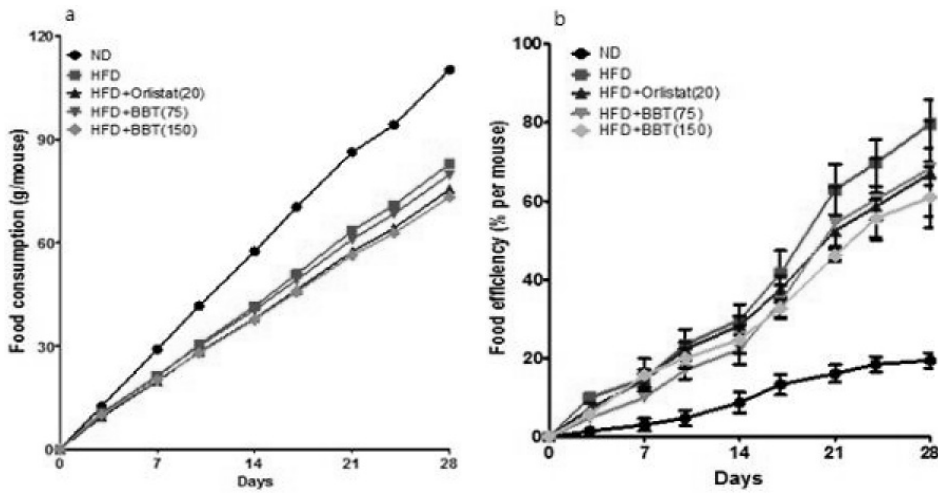
### 2. 防己茯苓湯이 고지방식이 마우스의 식이섭취량 및 식이이용효율에 미치는 영향

고지방식이를 섭취한 실험동물에서 防己茯苓湯이 식이섭취량 및 식이이용효율에 대한 영향을 알아보려고 하였다. 식이섭취량은 HFD군과 비교하여 防己茯苓湯 추출물 고농도 투여군인 HFD+BBT 150군에서 11.5% 감소하였지만, 유의한 차이는 없었다. 식이이용효율은 HFD군이 ND군에 비하여 유의하게 증가하였고, HFD+BBT 75에서 14.3%, HFD+BBT 150군에서 23.5% 감소하여 BBT 고농도 투여군(HFD+BBT 150군)에서만 유의성 있게 감소하였다. 반면 약물대조군인 HFD+Orlistat군에서는 식이이용효율이 15.9% 감소하였다. 防己茯苓湯 추출물 투여군은 식이섭취량에 대해서는 유의한 차이가 없었지만, 고농도 투여군인 HFD+BBT 150군에서는 식이이용효율을 감소시키는 것으로 나타났다(Fig. 2).

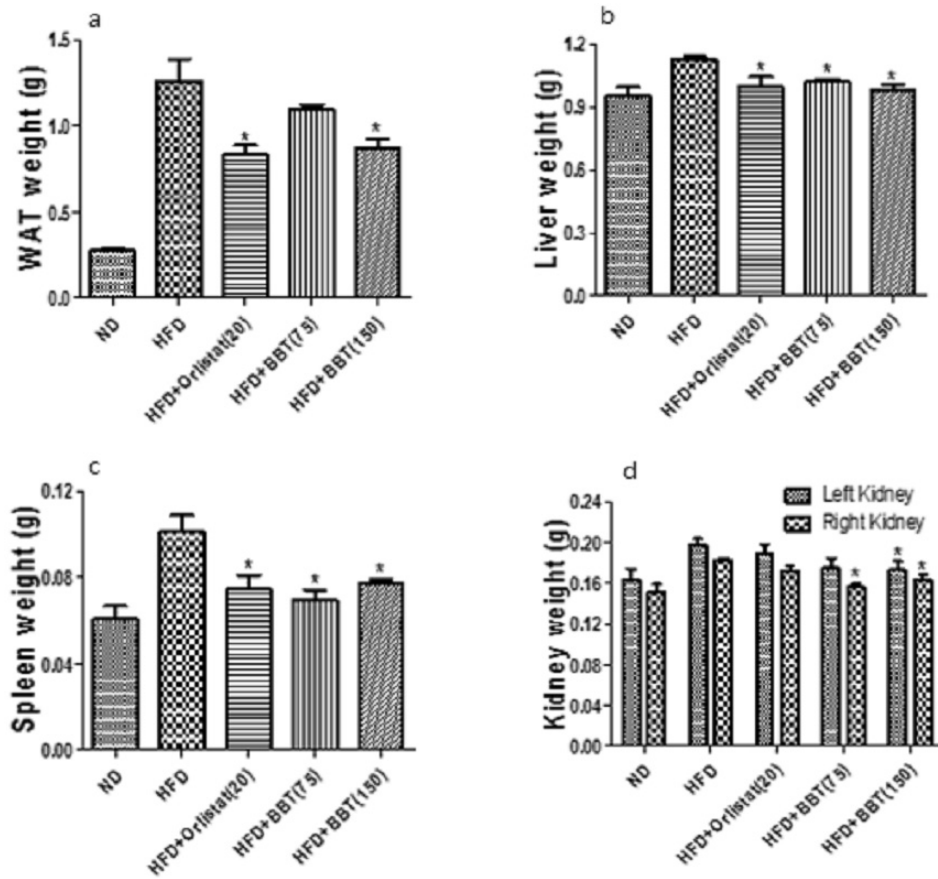
### 3. 防己茯苓湯이 고지방식이 마우스의 장기 무게에 미치는 영향

고지방식으로 인한 장기무게 변화에 대하여 防己茯苓湯이 미치는 영향을 알아보았다. 각 군별로 부고환백색지방, 간, 비장, 신장의 장기 무게를 측정된 결과, HFD군은 ND군과 비교하여 각 조직의 무게가 유의하게 증가하였다.

백색지방의 무게는 HFD군과 비교하여 HFD+BBT 75군에서 12.7%, HFD+BBT 150군에서 30.9% 감소하였으



**Fig. 2.** Effect of BBT on (a) food consumption and (b) food efficiency in high fat diet-fed mice. Data are expressed as means  $\pm$  S.E.M (n=5). \* $p < 0.05$ , † $p < 0.01$  compared with HFD group.



**Fig. 3.** Effect of BBT on organ weight in high fat diet-fed mice. (a) WAT, (b) liver, (c) spleen, (d) left and right kidney weight. Data are expressed as means  $\pm$  S.E.M (n=5). \* $p < 0.05$ , † $p < 0.01$  compared with HFD group.

며 고농도 투여군인 HFD+BBT 150군에서 유의한 차이를 보였으며, 이는 약물대조군인 HFD+Orlistat군과 유사한 감소를 보여주었다. 간, 비장, 왼쪽 및 오른쪽 신장의 무게는 고농도 투여군인 HFD+BBT 150군에서 각각 22.2, 22.0, 15.0, 11.1% 감소하여 HFD군과 비교하여 유의한

감소를 나타내어 고지방식으로 증가된 장기들의 무게 변화를 감소시키는 것으로 확인하였다(Fig. 3).

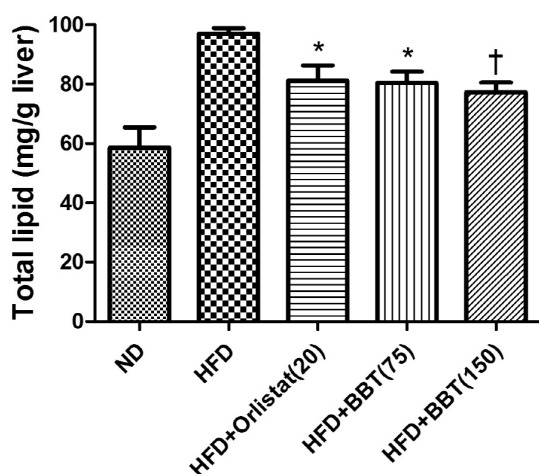
#### 4. 防己茯苓湯이 고지방식이 마우스의 간 조직 내 총 지질(total lipid)에 미치는 영향

防己茯苓湯이 고지방식이 섭취로 인해 축적되는 간 조직 내의 지질의 함량에 미치는 영향을 알아보기 위하여 Folch 법<sup>19)</sup>에 준하여 간 조직의 지질을 추출하여 분석한 결과, HFD군의 총 지질 함량은 97.05±1.80 mg/g로 ND군 58.60±6.85 mg/g과 비교하여 유의하게 그 수치가 증가하였다.

간 조직의 총 지질 함량은 HFD군에 비하여 저농도 투여군인 HFD+BBT 75군에서 17% 감소하여 80.41±3.78 mg/g, HFD+BBT 150군에서는 20% 감소하여 77.29±3.28 mg/g을 나타내어 농도 의존적으로 유의하게 감소하였다. 한편, 약물대조군인 HFD+Orlistat군은 16% 감소한 81.13±5.15 mg/g으로 나타나 BBT 고농도 투여군(HFD+BBT 150군)이 더 현저하게 감소함을 보여주었다(Fig. 4).

#### 5. 防己茯苓湯이 고지방식이 마우스의 간 조직 내 중성지방(triglyceride)에 미치는 영향

防己茯苓湯이 간 조직 내 고지방식으로 증가되는 triglyceride의 축적에 미치는 영향을 알아보기 위하여 효소시약을 이용하여 간 조직에서의 triglyceride 함량을 분석한 결과, HFD군의 triglyceride 함량은 62.36±4.19



**Fig. 4.** Effect of BBT on hepatic total lipid content in high fat diet-fed mice.

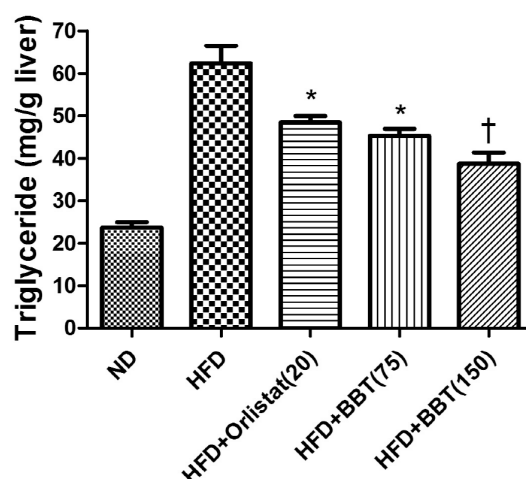
Data are expressed as means±S.E.M (n=5).

\*p<0.05, †p<0.01 compared with HFD group.

mg/g으로 ND군의 23.72±1.26 mg/g에 비해 유의하게 증가함을 보였다. HFD+BBT 75군에서는 HFD군에 비해 45.27±1.71 mg/g으로 27% 감소하였으며, HFD+BBT 150군에서 38.73±2.68 mg/g으로 38% 감소하여 농도 의존적으로 유의하게 감소함을 보였다. 한편, 약물대조군인 HFD+Orlistat군에서는 22% 감소한 48.46±1.51 mg/g을 나타내 BBT 고농도 투여군(HFD+BBT 150)이 더 현저하게 감소하였다(Fig. 5).

#### 6. 防己茯苓湯이 고지방식이 마우스의 혈청 내 GPT에 미치는 영향

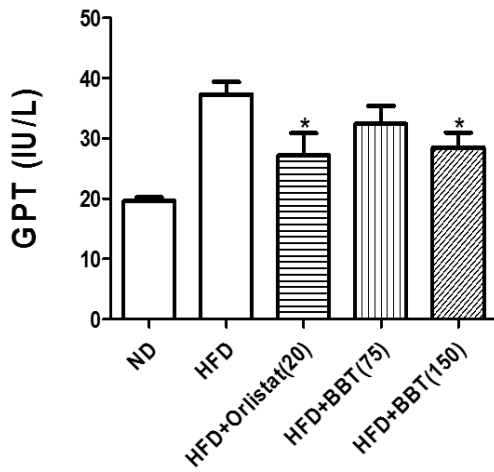
防己茯苓湯이 혈청 내 GPT 수준에 미치는 영향을 분석하였다. HFD군의 GPT는 37.33±3.59 IU/L로 ND군의 19.60±1.06 IU/L에 비해 증가하여 고지방식으로 인해 혈청 내 GPT 수준이 유의하게 증가함을 보였다. HFD+BBT 75군은 32.40±5.20 IU/L이었으며, HFD+BBT 150군은 28.20±4.24 IU/L로 나타나 BBT 고농도 투여군(HFD+BBT 150군)에서만 HFD군에 비해 유의하게 감소됨을 보였다. 약물대조군인 HFD+Orlistat군은 27.20±6.44 IU/L로 유의하게 감소되었다(Fig. 6).



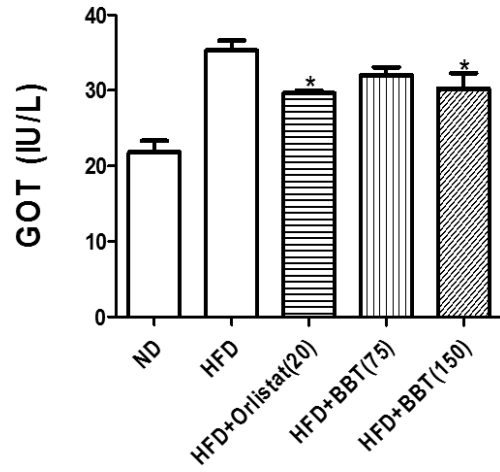
**Fig. 5.** Effect of BBT on hepatic triglyceride content in liver of high fat diet-fed mice.

Data are expressed as means±S.E.M (n=5).

\*p<0.05, †p<0.01 compared with HFD group.



**Fig. 6.** Effect of BBT on serum GPT in high fat diet-fed mice. Data are expressed as means±S.E.M (n=5). \*p<0.05, †p<0.01 compared with HFD group.



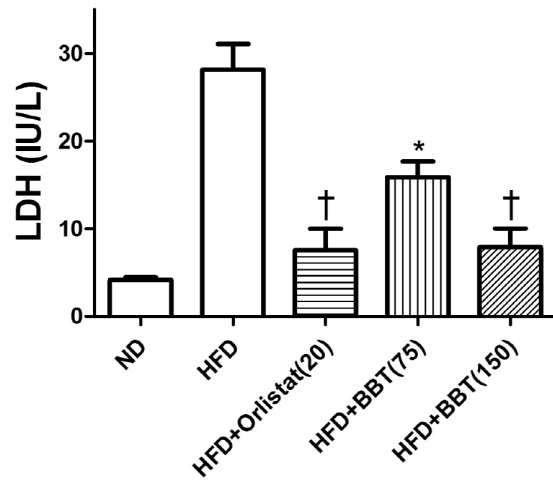
**Fig. 7.** Effect of BBT on serum GOT in high fat diet-fed mice. Data are expressed as means±S.E.M (n=5). \*p<0.05, †p<0.01 compared with HFD group.

### 7. 防己茯苓湯이 고지방식이 마우스의 혈청 내 GOT에 미치는 영향

防己茯苓湯이 혈청 내 GOT 수준에 미치는 영향을 분석하였다. HFD군의 GOT는 35.28±2.27 IU/L로 ND군의 21.78±2.67 IU/L에 비해 증가하였다. HFD+BBT 75군은 32.01±1.82 IU/L이었으며, HFD+BBT 150군은 30.41±3.49 IU/L로 나타나, BBT 고농도 투여군(HFD+BBT 150군)에서만 유의하게 GOT 수준이 감소함을 보였다. 약물대조군인 HFD+Orlistat군도 29.63±0.54 IU/L로 나타나 HFD군에 비하여 유의한 수준으로 감소함을 보였다(Fig. 7).

### 8. 防己茯苓湯이 고지방식이 마우스의 혈청 내 lactate dehydrogenase (LDH)에 미치는 영향

防己茯苓湯이 혈청 내 lactate dehydrogenase (LDH)의 농도에 미치는 영향을 확인하였다. HFD군의 LDH는 28.13±5.12 IU/L로 나타났으며, ND군 4.16±0.48 IU/L와 비교하여 유의하게 증가하였다. HFD+BBT 75군은 15.87±3.13 IU/L으로 나타났고, HFD+BBT 150군은 7.89±3.67 IU/L로 나타나 농도의존적으로 유의하게 감소하였다. 약물대조군인 HFD+Orlistat군도 7.54±4.3 IU/L로 현저하게 감소함을 나타내었다(Fig. 8).



**Fig. 8.** Effect of BBT on serum LDH in high fat diet-fed mice. Data are expressed as means±S.E.M (n=5). \*p<0.05, †p<0.01 compared with HFD group.

### 9. 防己茯苓湯이 혈청 내 총 콜레스테롤(total cholesterol)에 미치는 영향

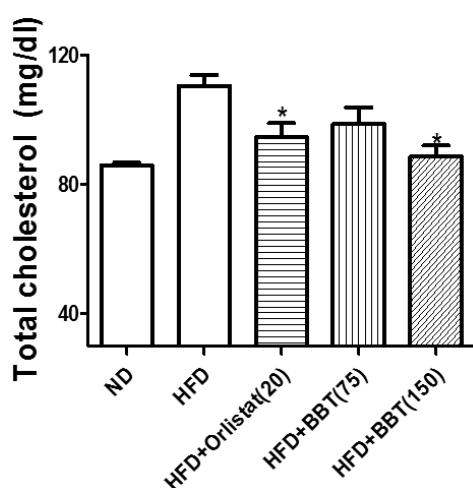
防己茯苓湯이 고지방식으로 증가되는 혈청 내 total cholesterol에 미치는 영향을 확인하고자 혈액을 채취하고 혈청을 분리하여 total cholesterol을 분석하였다. 혈청 중의 total cholesterol은 HFD군에서 110.53±5.70 mg/dl로 ND군의 85.82 mg/dl보다 유의하게 증가함을 보였다. HFD+BBT 75군에서는 98.68±8.76 mg/dl로 HFD군과 유의미한 차이가 없었으며, HFD+BBT 150군에서는



88.60±6.03 mg/dl로 19.84%만큼 현저하게 감소함을 확인하였다. 마찬가지로 약물대조군인 HFD+Orlistat군도 94.59±7.55 mg/dl로 HFD군에 비해 유의한 감소를 보였다(Fig. 9).

### 10. 防己茯苓湯이 혈청 내 중성지방(triglyceride)의 함량에 미치는 영향

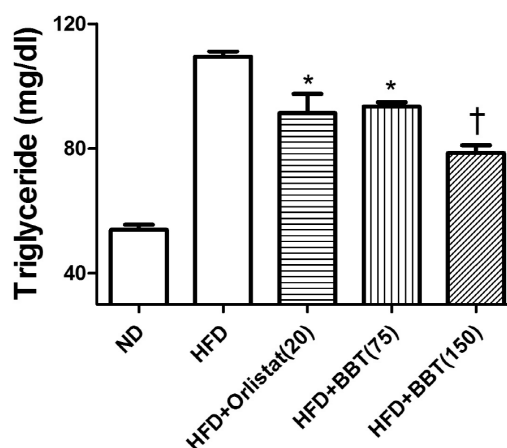
防己茯苓湯이 고지방식이로 증가되는 혈청 내 triglyceride에 미치는 영향을 확인하고자 혈청을 분리하여 triglyceride 함량을 분석하였다. 혈청 중의 triglyceride은 HFD군에서 109.57±2.83 mg/dl로 ND군 53.86±2.94 mg/dl에 비해 유의하게 증가하였다. HFD+BBT 75군에서는 93.52±2.45 mg/dl이었고, 고농도로 투여한 HFD+BBT 150군에서는 HFD군과 비교하여 28.3% 감소한 78.55±4.30 mg/dl로 BBT 농도 의존적으로 현저하게 감소함을 확인하였다. 한편 약물대조군인 HFD+Orlistat군에서는 91.36±10.65 mg/dl로 BBT 고농도 투여군(HFD+BBT 150)에서 더 현저한 감소를 나타내었다(Fig. 10).



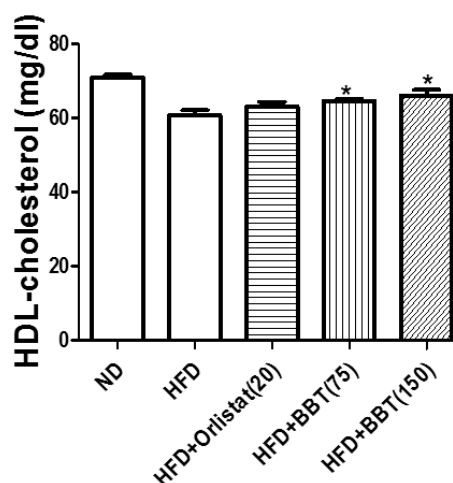
**Fig. 9.** Effect of BBT in serum total cholesterol levels in high fat diet-fed mice. Data are expressed as means±S.E.M (n=5). \*p<0.05, †p<0.01 compared with HFD group.

### 11. 防己茯苓湯이 고지방식이 마우스의 혈청 내 고밀도지단백-콜레스테롤(HDL-cholesterol)의 함량에 미치는 영향

防己茯苓湯이 고지방식이로 유도된 혈청 중의 HDL-cholesterol 변화에 미치는 영향을 확인하고자 분리한 혈청에서 HDL-cholesterol의 함량을 분석하였다. HFD군에서는 60.86±2.42 mg/dl로 ND군의 71.18±1.13 mg/dl에 비교하여 감소하였다. HFD+BBT 75군에서는 64.80±



**Fig. 10.** Effect of BBT on serum triglyceride levels in high fat diet-fed mice. Data are expressed as means±S.E.M (n=5). \*p<0.05, †p<0.01 compared with HFD group.

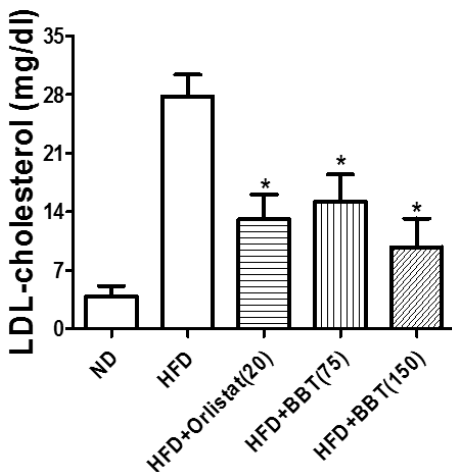


**Fig. 11.** Effect of BBT on serum HDL-cholesterol levels in high fat diet-fed mice. Data are expressed as means±S.E.M (n=5). \*p<0.05, †p<0.01 compared with HFD group.

1.78 mg/dl이었으며, HFD+BBT 150군에서는 66.13±2.76 mg/dl로 분석되어 BBT 고농도 투여군(HFD+BBT 150)에서 HDL-cholesterol의 함량이 BBT 저농도 및 고농도 투여군에서 유의하게 증가되는 것으로 확인하였다. 반면 약물대조군인 HFD+Orlistat군에서는 63.23±2.23 mg/dl로 그 함량이 증가하였으나, 통계적으로 유의하지 않았다(Fig. 11).

### 12. 防己茯苓湯이 고지방식이 마우스의 혈청 내 저밀도지단백-콜레스테롤(LDL-cholesterol)에 미치는 영향

防己茯苓湯이 고지방식으로 유도된 혈청 중의 LDL-cholesterol 변화에 미치는 영향을 확인하기 위해 분리한 혈청에서 LDL-cholesterol의 함량을 분석하였다. HFD군에서 LDL-cholesterol은 27.75±4.50 mg/dl로 ND군의 3.86±2.17 mg/dl에 비해 현저하게 증가함을 보여주었다. HFD+BBT 75군은 15.18±8.01 mg/dl이었으며, 고농도로 투여한 HFD+BBT 150군은 HFD군과 비교해 64.9% 감소한 9.75±8.34 mg/dl로 저농도 및 고농도에서 모두 유의하게 감소됨을 확인하였다. 마찬가지로 약물대조군인 HFD+Orlistat군의 수치는 13.09±5.11 mg/dl로 LDL-cholesterol이 유의하게 감소되었다(Fig. 12).



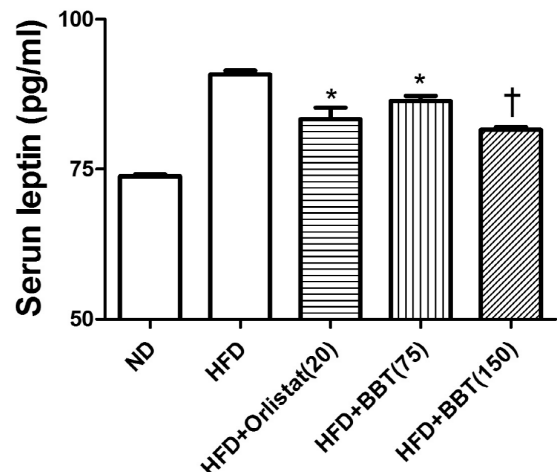
**Fig. 12.** Effect of BBT on serum LDL-cholesterol levels in high fat diet-fed mice. Data are expressed as means±S.E.M (n=5). \*p<0.05, †p<0.01 compared with HFD group.

### 13. 防己茯苓湯이 고지방식이 마우스의 혈청 내 leptin에 미치는 영향

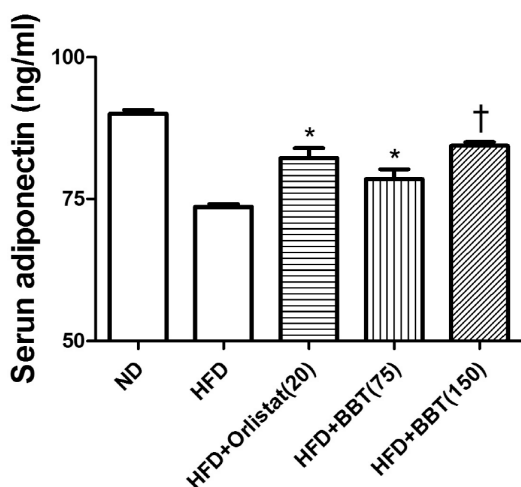
防己茯苓湯이 혈청 중의 leptin양에 미치는 영향을 알아보았다. HFD군의 leptin은 90.82±1.11 pg/ml으로 ND군의 73.84±1.63 pg/ml보다 증가하였으며, HFD+BBT 75군은 86.39±1.44 pg/ml, HFD+BBT 150군은 81.58±1.85 pg/ml으로 나타나 농도 의존적으로 HFD군과 비교해 유의하게 감소되었다. 약물대조군인 HFD+Orlistat군은 83.34±3.33 pg/ml으로 HFD+BBT 150군이 더 유의하게 감소하는 것으로 확인하였다(Fig. 13).

### 14. 防己茯苓湯이 고지방식이 마우스의 혈청 내 adiponectin에 미치는 영향

防己茯苓湯이 혈청 중의 adiponectin양에 미치는 영향을 알아보았다. HFD군의 혈청 내 adiponectin 함량은 73.63±0.90 μg/ml으로 ND군의 90.06±1.16 μg/ml보다 감소하였다. HFD+BBT 75군은 78.53±3.04 μg/ml으로 나타났고, HFD+BBT 150군은 84.39±1.19 μg/ml으로 농도 의존적으로 현저하게 증가하였다. 약물대조군인 HFD+Orlistat군은 82.25±3.01 μg/ml으로 HFD군과 비교해 유의하게 감소하였으나, BBT 고농도 투여군(HFD+BBT 150)이 더 현저하게 혈청 내의 adiponectin 함량



**Fig. 13.** Effect of BBT on serum leptin levels in high fat diet-fed mice. Data are expressed as means±S.E.M (n=5). \*p<0.05, †p<0.01 compared with HFD group.



**Fig. 14.** Effect of BBT on serum adiponectin levels in high fat diet-fed mice. Data are expressed as means±S.E.M (n=5). \*p<0.05, †p<0.01 compared with HFD group.

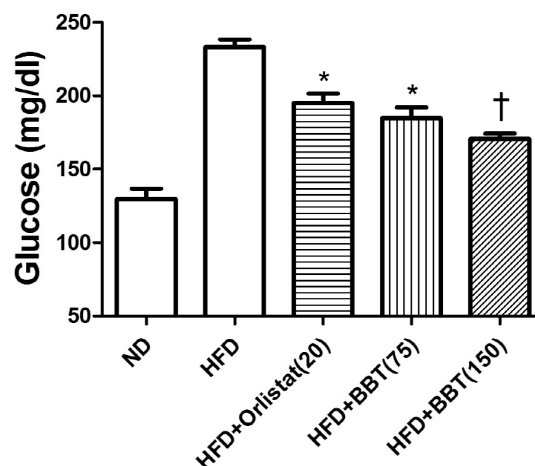
을 증가시키는 것으로 확인하였다(Fig. 14).

### 15. 防己茯苓湯이 고지방식이 마우스의 혈청 내 glucose에 미치는 영향

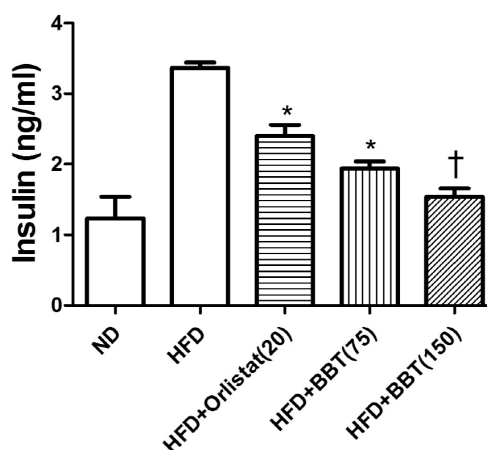
防己茯苓湯이 혈액 내 glucose 함량에 미치는 영향을 알아보았다. HFD군의 혈청 내 glucose는 233.33±8.74 mg/dl로 ND군의 129.67±12.34 mg/dl에 비하여 증가하였다. HFD+BBT 75군은 184.67±13.05 mg/dl로 나타났고, HFD+BBT 150군은 170.67±6.43 mg/dl로 나타나 HFD군과 비교하여 농도 의존적으로 유의하게 감소하였다. 약물대조군인 HFD+Orlistat군은 195.00±11.53 mg/dl로 유의하게 감소하였으나 BBT 고농도 투여군(HFD+BBT 150)이 더 현저하게 감소하여 혈청 내의 glucose 함량을 BBT가 효과적으로 감소시키는 것으로 확인하였다(Fig. 15).

### 16. 防己茯苓湯이 고지방식이 마우스의 혈청 내 insulin에 미치는 영향

防己茯苓湯이 혈액 내 insulin 농도에 미치는 영향을 알아보았다. HFD군에서 insulin의 양은 3.36±0.11 ng/ml로 ND군의 1.23±0.43 ng/ml에 비해 증가하였다. HFD+BBT 75군은 1.94±0.14 ng/ml이었으며, HFD+



**Fig. 15.** Effect of BBT on serum glucose levels in high fat diet-fed mice. Data are expressed as means±S.E.M (n=5). \*p<0.05, †p<0.01 compared with HFD group.

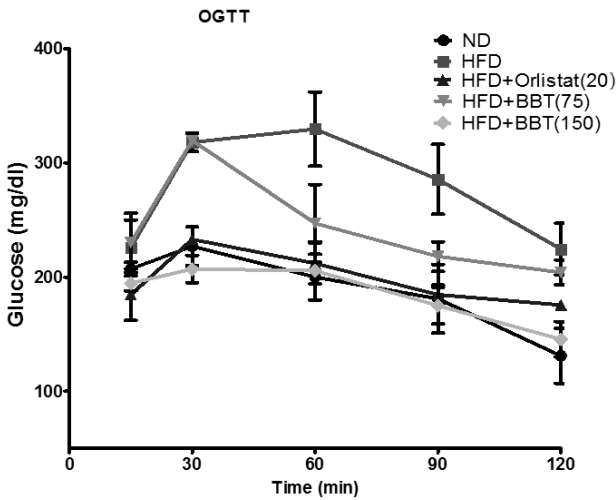


**Fig. 16.** Effect of BBT on serum insulin levels in high fat diet-fed mice. Data are expressed as means±S.E.M (n=5). \*p<0.05, †p<0.01 compared with HFD group.

BBT 150군은 1.54±0.18 ng/ml로 나타나 HFD군과 비교해 농도 의존적으로 유의하게 감소되었다. 약물대조군인 HFD+Orlistat군은 2.40±0.22 ng/ml로 나타나 HFD군과 비교하여 유의하게 감소하였으나 BBT 고농도 투여군(HFD+BBT 150)에서 더 현저하게 감소되는 것을 확인하였다(Fig. 16).

### 17. 防己茯苓湯이 포도당 내성에 미치는 영향

防己茯苓湯이 포도당 내성에 미치는 영향을 알아보고

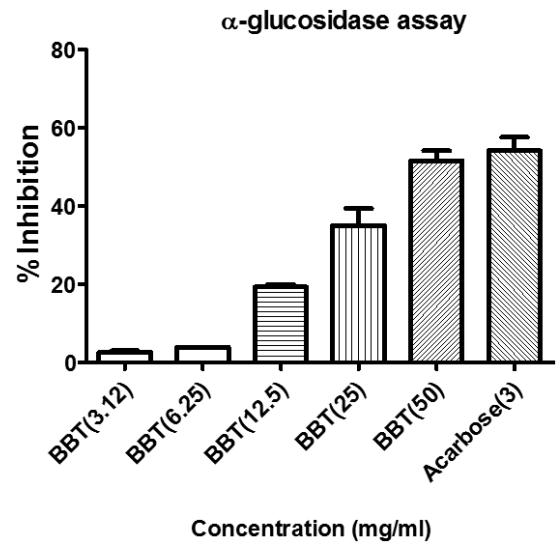


**Fig. 17.** Effect of BBT on glucose tolerance in high fat diet-fed mice. Data are expressed as means±S.E.M (n=5). \*p<0.05, †p<0.01 compared with HFD group.

자 BBT를 당부하검사 실시 2시간 전에 경구투여하고 15, 30, 60, 90, 120분 후에 혈중 glucose 농도를 측정하였다. 고지방식이를 한 HFD군에서는 ND군과 비교하여 혈중 glucose 농도가 시간이 지남에 따라 감소하지 않고 증가되어 있는 고혈당 상태를 나타내는 것으로 확인하였다. BBT 저농도 투여군인 HFD+BBT 75군은 유의한 개선효과가 나타나지 않은 반면 고농도 투여군인 HFD+BBT 150군은 30, 60, 90, 120분 후에 HFD군과 비교해 유의하게 혈중 glucose 농도가 감소되어 혈당 개선 효과가 있음을 보였다. 마찬가지로 약물대조군인 HFD+Orlistat군도 HFD군과 비교하여 유의한 감소효과를 나타내어 혈당 개선효과를 나타내었다(Fig. 17).

### 18. 防己茯苓湯의 α-glucosidase 활성에 미치는 영향

防己茯苓湯이 α-D-glucoside 결합을 분해하여 α-glucose를 생성시키는 α-glucosidase 활성에 미치는 영향을 분석하였다. BBT를 농도별로 희석하여 각각의 α-glucosidase의 활성을 분석하여 50% 활성을 억제하는 농도인 IC<sub>50</sub>을 분석한 결과, BBT는 48.67 mg/ml이었으며, 대조군인 Acarbose는 3 mg/ml으로 나타났다. 따라서 BBT는 α-glucosidase 억제 활성에 있어서는 α-glucosidase



**Fig. 18.** Effect of BBT on α-glucosidase activity. Data are expressed as means±S.E.M (n=5). \*p<0.05, †p<0.01 compared with HFD group.

억제제로써 혈당강하제로 사용되는 Acarbose에 비해 효과가 탁월하지는 않은 것으로 확인하였다(Fig. 18).

### 고찰»»»»

경제적 발전으로 인해 식품에 대한 구매력 및 이용성이 증가하면서 대부분의 나라에서 설탕이나 포화지방이 많이 포함되어있는 가공식품들이 다량 소비되고 있다. 이러한 식품 공급의 변화는 비만인구의 증가와 더불어 제 2형 당뇨병, 심혈관 질환 및 암 등의 발병률이 동반되어 증가하는데 기여하였다<sup>21)</sup>. 이에 전 세계적으로 비만인구는 높은 속도로 증가하고 있으며 우리나라 역시 비슷한 추세에 있다. 국민건강통계에 따르면 우리나라의 비만 유병률은 매년 증가하는 추세에 있으며, 2009년 전체 31.9%의 유병률이 2013년에는 32.5%로 증가한 것을 알 수 있다<sup>3)</sup>. 비만으로 인한 사회경제적 총 비용 또한 증가해 2013년 기준으로 고혈압(2,731억원), 당뇨(1,645억원), 뇌졸중(1,159억원), 허혈성심질환(555억원), 관절염(403억원) 순으로 드러났으며<sup>22)</sup>, 이들 순환기 질환은 중풍의 원인이 되는 선행성 질환군으로 가족에게도 같은 질환이 발병할 확률이 높아지는 유전적 소인을 보이고 있다<sup>23)</sup>. 이렇듯 비만의 사회적 영향이 커지자, WHO (세계보건기

구)는 비만을 21세기 신종 전염병으로 진단하였다<sup>24)</sup>.

이와 같은 상황에서 현재 우리나라에서 체중 감량을 위해 장기간 사용이 허가된 약제는 지방질 분해 효소인 lipase 억제제인 올리스타트(orlistat)뿐이며 단기간 사용이 허가된 약제로는 중추신경계에 작용하여 식욕을 억제 하는 펜터민(phentermine), 디에틸프로피온(diethylpropion), 펜디메트라진(phendimetrazine), 마진돌(mazindol)이 있지만<sup>25)</sup> 이들은 서양인에 비해 탄수화물을 주로 섭취하는 한국인의 체질에 적합하지 않고 치료효과 대비 부작용이 커서 최근 사용이 금지되었다<sup>26)</sup>. 이러한 이유로 천연물로부터 비만 치료제제를 얻어내려는 추세가 증가하고 있으며 특히 한약재를 비만에 이용하려는 시도가 많이 증가하였다. 최근 한의학계 연구를 통해 비만에 효과적인 약제로 人蔘, 桔梗, 冬瓜子, 熟地黄, 大黃, 枸杞子, 蒼朮 등<sup>27)</sup>과 한약혼합제제의 연구<sup>28)</sup>가 보고되어 있으며 비만에 대한 한방처방으로 體減薏苡仁湯, 防己黃芪湯, 防風通聖散, 實脾飲, 小青龍湯, 越麴丸, 分心氣飲, 薏苡仁湯 및 二陳湯 등이 있으며, 사상처방으로는 太陰調胃湯, 調胃升清湯, 清心蓮子湯, 麻黃發表湯, 清肺瀉肝湯, 寒多熱少湯 및 藿香正氣散 등에 대한 실험적 효과가 보고되었다<sup>9,29-31)</sup>.

본 연구에서 이용된 防己茯苓湯의 경우 防己黃芪湯에서 白朮, 生薑, 大棗를 去하고 茯苓, 桂枝를 加한 것으로<sup>14)</sup> 浮腫, 關節水腫 등 水濕停滯에 응용될 목적으로 사용되어 왔다. 구성 약재인 防己는 利水退腫, 祛風止痛 등의 효능을 갖고 있으며, 黃芪는 補氣昇陽, 固表止汗, 利水消腫 등의 효능을 갖고 있으며, 桂枝는 發汗解肌, 溫通經脈, 通陽化氣 등의 효능을 갖고 있으며, 茯苓은 利水滲濕, 健脾補中, 寧心安神 등의 효능을 갖고 있으며, 甘草는 補中益氣, 祛痰止咳, 清熱解毒 등의 효능을 갖는다<sup>32)</sup>. 기존 연구에서 주요 약재로 들어가는 粉防己는 혈소관 응집<sup>33)</sup>, 혈압 강하<sup>34)</sup>, 백혈구의 활성조절<sup>35)</sup> 등의 효과가 있고 淸風藤은 항과민성 반응효과<sup>36-38)</sup>, fibroblast 증식 억제<sup>39)</sup> 등의 효능이 있다고 보고된 바 있다. 또한 桂枝는 혈전증 및 고혈당증<sup>40)</sup> 등에 유효하며 茯苓은 당뇨<sup>41)</sup>와 수종<sup>42,43)</sup> 등에 효과가 있다고 보고된 바 있다. 이를 고려해 볼 때 저자는 防己茯苓湯이 비만증 뿐 아니라 고지혈증, 고혈당증 및 혈전증에도 효능이 있을 가능성이 클 것이다 추론하였다. 그러나 최근 연구에서 기 등<sup>16)</sup>의 防己黃芪湯 및 防己茯苓湯에서 防己의 활용법에 대한 연구, 임 등<sup>17)</sup>의 防己茯苓湯 및 越婢加朮湯이 puromycin aminonucleoside로 유발

된 백서의 腎症에 미치는 영향과 같이 고지혈증, 고혈당, 혈전증, 신증에 대한 보고가 각각 있었지만 防己茯苓湯 단일 처방으로 비만 및 관련 질환을 연계하여 그 효능을 연구한 보고는 존재하지 않았다. 이에 저자는 防己茯苓湯을 이용하여 본 처방이 비만증과 함께 체중감소, 혈당 및 체지방개선 등에 미치는 영향을 조사하고자 하였다.

인간에서 비만으로 인한 당뇨병과 심혈관 질환의 발병은 비교적 긴 기간이 소요되므로, 이를 연구할 실험동물 모델은 비만의 분자적인 측면과 병태생리학적 효과를 연구하는데 있어서 중요한 역할을 한다. 본 연구에서 사용된 고지방식이로 유도한 비만 마우스는 고지방식인 서구식 식단의 섭취와 비만의 발달과의 상호관계를 이해하는데 있어 중요한 모델로써 알려져 있다<sup>44)</sup>. 따라서 防己茯苓湯이 비만 및 관련 질환의 지표에 미치는 영향을 알아보고자 고지방식이 유도 비만 마우스에 防己茯苓湯을 농도별로 경구 투여하여 체지방, 지질 대사 및 혈당에 미치는 영향을 분석하였다.

고지방식이를 4주 동안 C57BL/6계의 마우스에 공급한 결과, 마우스의 체중이 증가하였으며, 防己茯苓湯 투여군에서는 고농도인 150 mg/kg 투여군에서 유의하게 체중 및 체중 증가량을 감소시켰다. 또 식이섭취량을 측정된 결과에서는 HFD군과 防己茯苓湯 투여군 사이에 유의한 차이를 발견할 수 없었으나, 식이섭취량 대비 체중 증가량을 나타내는 식이이용효율에 있어서는 고농도인 防己茯苓湯 150 mg/kg 투여군에서 유의성 있게 감소시켰다.

고지방식이는 간 조직의 지질대사 이상을 초래해 간에 지질을 축적시키고 비알코올성 지방간질환의 유발에도 기여한다고 알려져 있다<sup>45)</sup>. 본 실험결과에서도 고지방식이를 급여한 HFD군에서 유의하게 간의 중량과 간 조직 내 총 지질 및 triglyceride의 함량이 현저하게 증가하였다. 반면 防己茯苓湯 투여군에서는 농도 의존적으로 HFD군과 비교해 간 중량과 total lipid 및 triglyceride의 함량이 감소하여 고지방식으로 인한 간 지질 축적을 효과적으로 개선하였다. 또한 단순한 체질량지수에 의한 비만보다 복부비만이 심혈관 질환, 조기사망, 뇌졸중 질환과 관련이 있어 비만에서는 복부지방을 줄이는 것이 관련 질환의 발병의 위험을 낮추는데 중요하다고 보고되었는데<sup>46)</sup>, 본 실험에서도 실험동물의 복강 내에 축적되는 부고환 백색지방조직의 중량이 HFD군에서 현저하게 증가함을 보여주었다. 또 이러한 체지방 축적이 防己茯苓湯 150

mg/kg 투여군에서는 유의하게 감소되었다. 마찬가지로 고지방식이에 의해 증가된 비장 및 신장의 무게도 防己茯苓湯 투여군에서는 감소된 것으로 판단되었다.

고지방식으로 유도되는 간 손상에 대한 영향을 알아보기 위해 간 조직의 손상의 지표로서 활용되는 GOT (Aspartate Aminotransferase, AST)와 GPT (Alanine Aminotransferase, ALT) 및 젖산탈수소효소(Lactate Dehydrogenase, LDH)의 혈청 내 함량을 분석하였다. 그 결과, 고지방식으로 인하여 HFD군에서는 GOT, GPT 및 LDH의 수준이 유의하게 증가하였고, 防己茯苓湯 투여군에서는 GPT 및 GOT는 고농도인 150 mg/kg 투여군에서 유의하게 감소하였으며, LDH 수준은 75 mg/kg 및 150 mg/kg 투여군에서 농도 의존적으로 감소시켰다. 간 효소 수치 상승은 간 손상 뿐 아니라 비만으로 인한 복부 내장 지방 축적과도 높은 상관관계를 나타낸다는 보고가 있다<sup>5)</sup>. 이에 따라 HFD군에 나타난 간 효소 수치의 상승은 고지방식으로 인한 간 조직 내의 지질 축적 뿐만 아니라 백색 지방 축적 증가와도 관련이 있을 것으로 생각되며, 防己茯苓湯의 고농도 투여군에서의 GOT, GPT 및 LDH의 간 효소 수치 감소는 체지방 감소 효과에서 비롯된 영향도 있을 것으로 사료된다.

비만에서는 다양한 혈관 질환의 위험성이 있으며, 흔히 혈액 내 cholesterol, triglyceride, 인지질 등의 농도가 증가하여 고지혈증 및 고콜레스테롤혈증의 위험인자로 작용한다<sup>47)</sup>. 또한 비만 및 당뇨에서 혈액 내 cholesterol의 주요 운반자이자 혈관벽에 지질이 쌓이는 죽상경화증의 원인이 되는 LDL-cholesterol이 증가하는 것으로 알려져 있고, HDL-cholesterol은 반대로 cholesterol을 제거하는 죽상경화증의 억제인자로서 역할을 하는 것이 밝혀져 있다<sup>48)</sup>. 防己茯苓湯이 이러한 혈액 내 지질에 미치는 영향을 분석하기 위해 혈청 내 지질 및 cholesterol 농도를 측정하였다. HFD군에서 ND군과 비교하여 total cholesterol 및 triglyceride이 유의하게 증가되었고, total cholesterol은 防己茯苓湯 고농도인 150 mg/kg 투여군에서 유의하게 감소됨을 확인하였으며, triglyceride은 防己茯苓湯 농도 의존적으로 감소됨을 확인하였다. 또한 HDL-cholesterol은 고농도인 150 mg/kg 투여군에서 유의하게 수준이 증가하였고, LDL-cholesterol도 防己茯苓湯 투여에 의해 감소되어 防己茯苓湯이 고지방식으로 인해 증가된 혈액 내 지질을 조절하여 그 정도를 개선하였음을 확인하였다.

Adiponectin은 지방세포가 분비하는 혈장 단백질로 제2형 당뇨병, 또는 인슐린 저항성이 증가할수록 감소된다고 보고되었다<sup>49)</sup>. 반면 leptin은 식욕을 억제시키고 포만감을 느끼게 하며 에너지 대사를 조절하는 호르몬으로, 인슐린 저항성 및 체지방량과 관련이 있고 비만에서는 leptin이 증가되는 것으로 알려져 있다<sup>50)</sup>. 본 실험 결과에서도 마찬가지로 HFD군의 혈청 내에서 adiponectin이 감소하고 leptin이 증가하는 것으로 나타났고, 防己茯苓湯 투여군에서 adiponectin이 농도 의존적으로 유의적으로 증가하였으며, leptin은 고농도인 150 mg/kg 투여군에서 유의하게 감소되었다.

비만은 제2형 당뇨병의 주요 원인이며, 고혈당이 임상적으로 뒷받침된다. insulin 신호전달의 결함으로 인한 glucose 항상성의 변화는 근육으로부터의 glucose uptake나 지질 합성의 이상, 간에서 glucose 유리를 증가시킨다<sup>51)</sup>. Fig. 14에서와 같이 HFD군에서 ND군과 비교하여 공복 혈중 glucose가 증가하였고, 防己茯苓湯 투여에 의해 다시 농도 의존적으로 유의하게 감소됨을 확인하여 防己茯苓湯이 고지방식으로 유도된 공복 혈당 증가를 억제하는 것으로 확인하였다. 또 혈당 수치의 증가와 더불어 비만에서는 순환 혈액에서 insulin의 수준이 과도하게 증가되는 고인슐린혈증이 동반된다. 이는 체지방 축적과도 연관이 있는데, 지방 조직은 많은 대사체들, 호르몬, 사이토카인들을 분비하여 고인슐린혈증을 유발하는데 중요한 역할을 하는 것으로 보고되었다<sup>52)</sup>. 본 실험에서도 고지방식이에 의해 HFD군에서 혈청 내 insulin 수준이 증가하였고, 防己茯苓湯 투여군에서는 insulin 수준이 다시 농도 의존적으로 감소되었다.

고지방식으로 유발된 당 대사의 이상에 대해 防己茯苓湯의 혈당 조절 효과를 더 자세히 분석하고자 경구당부하 검사를 수행하였다. 경구당부하검사는 당뇨 진단에 및 당뇨의 진단에 사용되는 검사로, 보통 성인기준으로 포도당 75 g을 경구로 섭취시킨 다음, 2시간 뒤에 채혈하고 혈장의 glucose 농도가 140 mg/dL이하의 정상, 140~200 mg/dL은 내당능 장애, 200 mg/dL이상은 당뇨로 진단한다. 실험동물을 절식시킨 후 glucose를 투여하고 2시간까지 시간별로 채혈하여 혈당을 확인한 결과, HFD군은 정상식을 한 ND군에 비해 시간이 지나도 혈액내의 glucose 수준이 증가되어 있는 상태가 유지되었다. 한편 防己茯苓湯 150 mg/kg 투여군에서는 glucose 수준이 ND

군과 유사한 수치를 나타내 현저하게 혈당 수준을 개선시키는 것으로 확인하였다. 혈당강하제의 일종인  $\alpha$ -glucosidase 억제제는 탄수화물에서 포도당으로 분해하는 효소인  $\alpha$ -glucosidase의 활성을 억제하는 약물로서 제2형 당뇨병 치료제로 사용된다. 대표적인 것으로 Acarbose가 있다. 防己茯苓湯의 혈당 개선 효과와  $\alpha$ -glucosidase의 활성 억제의 관련 여부를 분석한 결과, Acarbose와 비교해 억제활성이 탁월하지는 않은 것으로 확인하였다. 이를 통해 防己茯苓湯의 혈당 강하 효과는  $\alpha$ -glucosidase의 활성 억제와 다른 기전에 의한 작용이라 사료되며 이에 대한 구체적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

본 실험의 결과, 防己茯苓湯은 고지방식으로 비만을 유도한 마우스에서 체지방 축적을 감소시키고, 혈액 내 지질 대사 및 혈당수준을 개선하는 효과를 나타내었다. 그러나 본 연구는 여러 한약재를 포함한 열수추출물을 이용한 실험 설계로 인하여 각각의 실험적 개선 효과들이 단일 성분 작용인지 혹은 여러 한약재의 복합작용으로 나타난 것인지에 대하여 그 메커니즘을 정확히 밝힐 수 없는 한계가 있었으며 추후 防己茯苓湯의 구성 약제에 대하여 혈액 내 지질 대사 및 혈당 개선에 관한 약리적인 연구가 필요할 것으로 보인다. 그럼에도 불구하고 防己茯苓湯은 비만에서의 체지방 감소 및 혈당을 관리하는 데 효과적일 것으로 사료되며 또한 비만으로 인한 심혈관 질환을 예방하는데도 활용성이 높은 처방일 것으로 보인다.

## 결론»»»»

고지방식으로 야기되는 비만 생쥐에서 防己茯苓湯의 투여가 체지방축적, 고지혈증, 대사조절 호르몬 등에 미치는 영향을 평가하기 위하여 고지방식을 4주 동안 급여한 마우스에서 防己茯苓湯을 매일 75 및 150 mg/kg으로 투여하고 비만 관련 지표에 해당하는 체중 및 각 조직들의 무게, 식이 섭취량 및 식이이용효율, 간 조직 내 지질함량, 혈중 지질 함량, leptin 및 adiponectin 호르몬 수치, GOT/GPT/LDH 농도를 측정하였고 혈중 glucose 및 insulin 농도 측정과 OGTT,  $\alpha$ -glucosidase 억제 활성 분석을 통해 다음과 같은 결론에 도달하였다.

1. 防己茯苓湯은 고지방식으로 야기되는 체중증가를 유의하게 억제하였다.

2. 防己茯苓湯은 식이섭취량과 식이이용효율을 유의하게 감소시켰다.

3. 防己茯苓湯은 고지방식으로 증가된 실험동물의 장기들의 무게를 유의하게 감소시켰다.

4. 防己茯苓湯은 고지방식으로 증가된 혈청 내 GOT, GPT, LDH의 수치 및 triglyceride, total cholesterol, LDL-cholesterol, leptin의 함량을 유의하게 감소시켰으며 감소된 혈청 내 HDL-cholesterol 및 adiponectin의 함량을 유의하게 증가시켰다.

5. 防己茯苓湯은 고지방식으로 증가된 혈청 내 glucose 농도 및 insulin 함량을 유의하게 감소시켰다.

6. 防己茯苓湯은 당부하검사(OGTT)에서 glucose 농도를 정상수준으로 회복시켰다.

7. 防己茯苓湯은 48.67 mg/ml 투여시  $\alpha$ -glucosidase의 활성을 50% 억제하였다.

종합적으로 防己茯苓湯은 고지방식이 비만마우스에서 비만치료제 중 하나의 후보 가능성이 있는 것으로 사료되며 체중 및 체지방의 증가를 억제시키는 효과가 고농도 투여군에서 유의성을 보였다. 또한 혈중 glucose 농도를 개선하는 효과는 매우 우수하고 독성이 거의 없는 처방이라 사료된다.

따라서 防己茯苓湯은 비만으로 야기되는 제2형 당뇨병(인슐린 저항성 당뇨병)을 위한 처방에 효과적일 것으로 보이며, 이를 임상적으로 적용하기 위해 향후 혈당감소를 야기하는 작용기전에 대한 연구가 요구된다.

## References»»»»

1. The Society of Korean Medicine Rehabilitation, Korean medicine rehabilitation, 3rd ed, Seoul : Koonja Publishing Inc, 2011:350.
2. Korean society for the study of obesity, Clinical bariatrics, Seoul : Korean medicine, 2011 : 1-26.
3. Korea National Health and Nutrition Examination Survey, 2014. <https://knhanes.cdc.go.kr/knhanes/Index.do>.
4. Press release of National health insurance 2014, Retrieved Dec, 14, 2015. <http://www.nhis.or.kr/menu/retrieveMenuSet.xx?menuId=D4000>.
5. Björntorp P. The associations between obesity, adipose tissue distribution and disease, Acta Med Scand Suppl, 1988;723:121-34.
6. Visscher TL. The public health impact of obesity, Annu

- Rev Pub Health. 2001;22:355-75.
7. Lee HK. Diseases associated with obesity. *J Nut Health*. 1990;23(5):341-6.
  8. Yang KM. Relationship between the assessment of obesity and cardiovascular diseases. *JKFN*. 2002;7(2):1-8.
  9. Yoon YS, Keum SO, Lee SW, Kim IH, Lee HI, Song YS. Effects of Cheongshimyeonja-tang on body weight and serum lipid levels in high fat diet induced obese mice. *Herb Formula Sci*. 2014;22(1):123-39.
  10. Korea Institute of Oriental Medicine. *Korean Medicine Clinical Practice Guideline - Obesity*. Seoul : Elsevier Korea LLC. 2016 : 35-6.
  11. The Society of Korean Medicine Rehabilitation. *Korean medicine rehabilitation*. 4th ed. Seoul : Koonja Publishing Inc. 2015:298-317.
  12. Jeong JW. Trend research of the human body-oriented obesity studies on oriental medicine. [Master's thesis]. Busan : Dong-Eui University. 2016. Korean Language.
  13. 李尙仁. 方劑學. Seoul : Younglim Publishing Inc. 1990: 287-9,291-2.
  14. 張仲景. 金匱要略方論. 臺北 : 臺聯國風出版社. 1995:70.
  15. Ghee SS, Lee YJ. The therapeutic effects of Bangkeehwangkee-tang and Bangkeebokryeong-tang on the hyperlipidemia in rats. *Kor. J. Herbol*. 2005;20(2):149-57.
  16. Ghee SS. The study on uses of Bangkee in Bangkeehwangkee-tang and Bangkeebokryeong-tang. [Doctorate thesis]. Seongnam : Gachon University. 2003. Korean Language.
  17. Im LH. The Effects of Bangiboklyengtang and Worlbikachultang on rats with nephrosis induced by puromycin amininucleoside. [Doctorate thesis]. Seoul : Kyunghee University. 2001. Korean Language.
  18. Song JB, Ryu DG, Lee UJ. The Effect of Banggibokryeongtang Water Extract on Kidney function in Rat. *HFS*. 1990;1(1):147-62.
  19. Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem*. 1957;226(1):497-509.
  20. Frings CS, Dunn RT. A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfo-phospho-vanillin reaction. *Am J Clin Pathol*. 1970;53(1):89-91.
  21. Zobel EH, Hansen TW, Rossing P, von Scholten BJ. Global Changes in Food Supply and the Obesity Epidemic. *Curr Obes Rep*. 2016. 30. [Epub ahead of print]
  22. Press release of National health insurance 2014. Retrieved Dec. 14, 2015. <http://www.nhis.or.kr/menu/retrieveMenuSet.xx?menuId=D4000>.
  23. Kim YS. *Clinical stroke*. Seoul : Seowondang. 1997 : 347-438.
  24. Press release of World Health Organization. Retrieved Dec. 14, 2015. from : <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.
  25. Kim KS, Park SW. Drug therapy for obesity. *Korean J Obes*. 2012;21(4):197-202.
  26. Kim SG, An GH, Yoon SW, Lee YC, Ha SD. A study on dietary supplement to reduce obesity by the mechanism of decreasing lipid and carbohydrate absorption. *Korean J Food Sci Technol*. 2003;35(3):519-26.
  27. Jin KS. Analysis of the tendency to research for obesity. MS Thesis. Daejeon: Graduate School of Daejeon University. 2004.
  28. Gang SA, Jang GH, Park SG, Lim JP, Jeon H, Choi H, et al. Effects of herbal composition obese a high fat diet. *Kor J Herbol*. 2003;18(4):59-64.
  29. Song YS, Lee MJ, Jeong SH, Lee JS, Kim SS, Shin HD. Effects of Bangkihwangkitang, Bangkihwangkitang with Lycii fructus and Lycii fructus on the weight of obese rats. *J Orient Rehab Med*. 1991;1(1):25-43.
  30. Lee ES, Kim SS, Jeong SH, Lee JS, Shin HD. Effects of Bangkihwangkitang on adipose tissue of liver and epididymis and serum lipid. *J Orient Rehab Med*. 1995; 5(1):1-10.
  31. Hwang MJ, Shin HS, Song MY. Review of literature on herbal medicines for the treatment of obesity in Korea: mainly papers since 2000. *Orient Rehab Med*. 2006;16(3):65-81.
  32. 黃度淵. 新增 方藥合編. Seoul : Younglim Publishing Inc. 2011:377-80,485-6,497-8,532-3.
  33. KIM HS, Zhang YH, Fang LH, Yun YP, Lee HK. Effects of tetrandrine and fangchinoline on human platelet aggregation and thromboxane B<sub>2</sub> formation. *Journal of Ethnopharmacology*. 1999;66(2):241-6.
  34. Huang YT, Chang FC, Chen KJ, Hong CY. Acute hemodynamic effects of tetramethylpyrazine and tetrandrine on cirrhotic rats. *Planta Medica*. 1999;65(2):130-4.
  35. WK Seow, A Ferrante, DB Goh, AH Chalmers, SY Li, YH Thong. In vitro immunosuppressive properties of the plant alkaloid tetrandrine. *International archives of allergy and applied immunology*. 1988;85(4):410-5.
  36. Kim H M, Moon PD, Chae HJ, Kim HR, Chung JG, Kim JJ, Lee EJ. The stem of *Sinomenium acutum* inhibits mast cell-mediated anaphylactic reactions and tumor necrosis factor- $\alpha$  production from rat peritoneal mast cells. *Journal of Ethnopharmacology*. 2000;70(2):135-41.
  37. JH Sampson, JD Phillipson, NG Bowery, MJ O' Neill, JG Houston, JA Lewis. Ethnomedicinally selected plants as sources of potential analgesic compounds: indication of in vitro biological activity in receptor binding assays. *Phytotherapy Research*. 2000;14(1):24-9.
  38. D Candinas, W Mark, V Kaever, T Miyatake, N Koyamada, P Hechenleitner, WW Hancock. Immunomodulatory effects of the alkaloid sinomenine in the high responder ACI-to-Lewis cardiac allograft model. *TRANSPLANTATION*. 1996;62(12):1855-915.



39. L Liu, J Riese, K Resch, V Kaever. Impairment of macrophage eicosanoid and nitric oxide production by an alkaloid from *Sinomenium acutum*. *Arzneimittelforschung*. 1994;44(11):1223-9.
40. Jeong CG. Study on the Effects of *Astragali Radix*, *Cinnamomi Ramulus* and *Carthami Flos* on Thrombosis and Elevated Blood Viscosity. [Doctorate thesis]. Seoul : Kyunghee University. 2001. Korean Language.
41. M Sato, T Tai, Y Nunoura, Y Yajima, S Kawashima, K Tanaka. Dehydrotrametenolic Acid Induces Preadipocyte Differentiation and Sensitizes Animal Models of Noninsulin-Dependent Diabetes Mellitus to Insulin. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2002;25(1):81-6.
42. T Kaminaga, K Yasukawa, H Kanno, T Tai, Y Nunoura, M Takido. Inhibitory effects of lanostane-type triterpene acids, the components of *Poria cocos*, on tumor promotion by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in two-stage carcinogenesis in mouse skin. *ONCOLOGY*. 1996;53(5):382-7.
43. H Nukaya, H Yamashiro, H Fukazawa, H Ishida, K Tsuji. Isolation of Inhibitors of TPA-Induced Mouse Ear Edema from *Hoelen*, *Poria cocos*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 1996;44(4):847-9.
44. Wang CY, James KL. A Mouse Model of Diet-Induced Obesity and Insulin Resistance. *Methods Mol Biol*. 2012;821:421-33.
45. Kareem Hassan, Varun Bhalla, Mohammed Ezz El Regal, H Hesham A-Kader. Nonalcoholic fatty liver disease: A comprehensive review of a growing epidemic. *World J Gastroenterol*. 2014;220:12082-101.
46. Stranges S, Dorn JM, Muti P, Freudenheim JL, Farinero E, Russell M, Nochajski TH, Trevisan M. Body fat distribution, relative weight, and liver enzyme levels: a population-based study. *Hepatology*. 2004;39:754-63.
47. Kannel WB, Wilson PWF. An update on coronary risk factors. *Med Clin North Am*. 1995;79:951-6.
48. Tomkin GH. Atherosclerosis, diabetes and lipoproteins. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2010;8:1015-29.
49. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tataranni PA. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:1930-5.
50. Fasshauer M, Paschke R. Regulation of adipokines and insulin resistance. *Diabetologia*. 2003;46:1594-603.
51. Martyn JA, Kaneki M, Yasuhara S. Obesity-induced insulin resistance and hyperglycemia: etiologic factors and molecular mechanisms. *Anesthesiology*. 2008;109:137-48.
52. Matsuzawa Y, Fanahashi T, Nakamura T. Molecular mechanism of metabolic syndrome X: contribution of adipocyte-derived bioactive substances. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1999;892:146-54.