

# The Effects of an Aqueous Extract from the Dried Roots of a *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. (CP) on the Body-weight Gains of Mice

Hyun-Tai Lee\*

Biopharmaceutical Engineering Major, Division of Applied Bioengineering, College of Engineering, Dong-eui University, Busan 47340, Korea

Received September 25, 2017 / Revised November 9, 2017 / Accepted November 10, 2017

This study examined how the daily administration of dried CP roots affects body-weight gains of mice. An aqueous CP extract (1 g/kg of CP-W) was orally administered to mice on a daily basis for ten weeks, and the mice's body weights and food intakes were measured throughout the period. At the end of the ten-week treatment, murine blood samples were taken and hematological and serum biochemical parameters were examined. The mice's intra-abdominal organs were weighed at necropsy. The treatment of CP-W significantly suppressed the mice's body-weight gain by about 10%. There were no changes to the food intakes of and no observable abnormal clinical signs in any of the animals throughout the experimental period. There were no significant differences between the control and CP-W mice in regards to the hematological and serum biochemical parameters and the organ weights at necropsy. The results demonstrated that the daily administration of CP-W for ten weeks suppresses body-weight gain in mice and does not change mice's food intake or cause any noticeable toxic effects.

**Key words** : Body weight gain, *Codonopsis pilosula*, food intake, obesity, toxicity

## 서 론

세계보건기구의 최신 공지(2016년 6월 집계)에 따르면, 전 세계 비만(obesity) 인구는 1980년 대비 2배 이상 증가하였으며, 2014년 기준 18세 이상 성인 비만 인구는 6억 명(13%) 이상인 것으로 보고되었다[11]. 비만은 고혈압, 관상동맥질환, 뇌졸중, 당뇨병, 심부전, 이상지질혈증 등 수많은 만성질환을 유발하여 사망률을 높인다[3, 6]. 서구를 비롯한 많은 국가에서 비만 관련 질병과 연관된 경제적 부담은 이미 심각한 수준에 이르렀으며[1], 비만 자체를 장기적인 치료를 요하는 만성질환으로 인식하게 되었다[8]. 이러한 비만의 관리 및 치료를 위해 그동안 다수의 비만 억제제들이 개발되었지만, 미국 식품의약국의 허가를 받은 대부분의 약물들은 시판 이후 보고된 혈압 상승(sibutramine), 위장 장애(ormlistat, rimonabant), 우울증(rimonabant) 등의 다양하고 심각한 부작용으로 인해 허가가 취소되었거나, 비만 치료를 위한 장기 요법(long-term therapy)에는 그 사용이 매우 제한적인 상황이다[4, 9, 10]. 따라서, 약효가 뛰어나면서도 부작용은 없거나 적은 새로운 비만 치료제의 개발이 절실히 요구되고 있다.

당삼(黨參)은 초롱꽃과(Campanulaceae)에 속하는 다년생

덩굴 식물인 만삼[蔓蔘; *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.]의 뿌리를 말린 한약재로서, 우리나라와 중국 등지에서는 오래 전부터 면역 증강, 위장관 기능 향진, 위궤양 치료, 혈압 강하 등의 용도로 한의학에서 널리 활용되어 왔다[2, 5]. 한편, 본 연구진의 이전 연구에서는, 당삼 열수 추출물(CP-W)이 *in vivo* 마우스 모델에서 위장관 이송률을 유의적으로 증가시키며 고용량(5 g/kg) 단회 경구 투여 시에도 급성 독성이 없음을 보고한 바 있다[7]. 여기에서, 만약 섭취된 음식물이 CP-W의 영향으로 소장 흡수 부위를 빠르게 지나간다면 영양물질의 흡수율이 떨어질 수 있으며, CP-W를 장기간 투여하여 영양물질의 흡수율을 지속적으로 낮출 경우 결과적으로 체중 조절 효과를 기대할 수 있다는 가설이 성립된다. 이에 본 연구에서는, *in vivo* 마우스 모델에서 장기간 경구 투여 시 CP-W가 체중 변화에 어떠한 영향을 미치는지 확인하는 것과 아울러, 매일 장기간 경구 투여 시 CP-W의 안전성에 대해서도 검증하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 당삼 추출물 제조

본 연구에 사용된 당삼(*Codonopsis pilosula*; CP)은 대한생약 제품(주)(부산, 대한민국)에서 구입하였다. 입자 크기 5 mm미만이 되도록 분쇄한 당삼 100 g에 증류수(distilled water; DW) 1 l를 가한 후 100°C에서 3시간 증탕하는 방법을 3회 반복하였으며, 이렇게 얻은 추출액을 여과, 감압 농축, 동결 건조하여 최종적으로 건조량 33.8 g의 열수 추출물(CP-W) 분말을 얻었다[7].

### \*Corresponding author

Tel : +82-51-890-1534, Fax : +82-505-182-6871

E-mail : htlee@deu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## 실험 동물

(주)샘타코(오산, 대한민국)에서 구입한 수컷 4주령 ICR 마우스를 동의대학교 자연과학대학 내 동물실에서 2주 이상 사육하여 새로운 환경에 충분히 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 동물실은 온도  $25\pm 1^\circ\text{C}$ , 습도  $55\pm 5\%$ , 조명 시간 7 am-7 pm의 환경 조건을 항상 유지하였으며, 멸균 처리된 사료(동아원(주), 서울, 대한민국) 및 DW를 실험 동물이 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였다. 모든 동물 실험은 동의대학교 동물실험윤리위원회의 승인 하에, 동 위원회의 규정을 준수하여 수행되었다(승인 번호: R2017-017).

## 시료 투여 및 체중, 사료 섭취량, 체온 측정

실험 동물을 대조군 및 CP-W 투여군에 각각 10마리씩 무작위로 배정하였다. CP-W 투여군에는 DW에 녹인 CP-W 1 g/10 ml/kg을 존데를 이용하여 매일 1회씩 10주 동안 경구 투여하였으며, 대조군에는 vehicle로써 DW 10 ml/kg을 같은 방법으로 투여하였다. 육안으로 관찰되는 독성 증상 여부를 약물 투여 기간 내내 매일 1회 체크하였다. 실험 동물의 체중(body weight), 사료 섭취량(food intake), 직장 체온은 개체 별로 각각 주 1회 측정하였다.

## 혈액 시료 분석

CP-W 투여 10주 경과 시점에서, 실험 동물의 심장으로부터 채혈하여 혈액 시료 분석을 실시하였다[10]. 마우스는 채혈 가능한 최대 혈액량이 1 ml 이내를 초과하지 때문에, 각 군 별로 5마리의 혈액은 혈액학적 지표(hematological parameter) 분석에, 나머지 5마리는 혈청 생화학적 지표(serum biochemical parameter) 분석에 활용하였다. 항응고제를 첨가한 전혈에 대하여 혈액학적 지표들[red blood cell (RBC), hemoglobin (Hb), hematocrit (Ht), platelets (PLT), white blood cell (WBC), WBC differential count]을 측정하였으며, 채혈 후 30분 경과 시점에서 혈액을 10분 동안 원심분리(3,000 rpm)한 후 상층의 혈청을 취하여 혈청 생화학적 지표들[total protein (TP), albumin, globulin, total bilirubin (T.Bil), glucose, total cholesterol (T.Chol), blood urea nitrogen (BUN), creatinine (CRN), asparagine transaminase (AsT), alanine transaminase (AIT), alkaline phosphatase (ALP), sodium (Na), chloride (Cl)]을 분석하였다.

## 부검 및 장기 무게 측정

심장 채혈을 마친 실험 동물을 경추탈골로 안락사시킨 후, 부검을 실시하여 내부 기관의 이상 유무를 관찰하였다. 또한, 간(liver), 신장(kidney), 비장(spleen), 흉선(thymus), 그리고 복부 지방(intra-abdominal fat)을 적출하여 생리식염수로 세척하고 표면의 수분을 제거한 후, 각각의 무게를 측정하였다.

## 통계 처리

모든 군의 실험 결과 수치는 평균±표준오차(mean±SEM)로 나타내었다. 군 간의 유의성 검정은 Student's *t*-test를 통해 이루어졌으며,  $p<0.05$ 일 때 유의적인 차이가 있는 것으로 판단하였다.

## 결과 및 고찰

### 마우스의 체중 변화 및 사료 섭취량에 미치는 CP-W의 영향

본 연구의 주 목적은, *in vivo* 동물 모델에서 당삼 열수 추출물(CP-W)을 장기간 투여하였을 때 실험 동물의 체중 변화에 어떠한 영향을 미치는지 파악하고자 함이었다. 본 연구진의 이전 연구에서 CP-W 1 g/kg 경구 투여 시 위장관 이송률이 유의적으로 증가하였음[7]을 근거로, CP-W 1 g/kg을 매일 1회씩 10주 동안 마우스에 경구 투여하면서 체중 변화 및 사료 섭취량을 측정하였다(Fig. 1). 실험 개시 시점의 체중은 각각  $28.4\pm 0.4$  g (대조군) 및  $28.5\pm 0.5$  g (CP-W 투여군)으로 군 간의 유의적인 차이가 없었으나, CP-W 투여 7주 경과 시점부터 실험 종료까지는 지속적으로 군 간의 유의적인 체중 차이를 보였다(Fig. 1A). 최종적으로 10주 경과 시점에서의 체중은 각각  $43.1\pm 0.9$  g (대조군) 및  $39.1\pm 1.0$  g (CP-W 투여군)으로, CP-W 투여군의 체중이 대조군에 비해 약 10% 가벼운 것으로 나타났다(Fig. 1A). 이상과 같이, CP-W를 7주 이상 장기간 경구 투여할 경우 실험 동물의 체중 증가가 유의적으로 억제됨을 확인하였으며, 이러한 당삼의 *in vivo* 체중 증가 억제 효과를 본 논문에서 최초로 보고하게 되었다.

주간 사료 섭취량의 경우 어느 주에서도 대조군과 CP-W 투여군 사이의 유의적인 차이가 나타나지 않았으며(Fig. 1B), 총 사료 섭취량 역시 대조군( $291.2\pm 9.3$  g)과 CP-W 투여군( $288.4\pm 10.1$  g) 간의 유의적인 차이가 없었다. 이는 CP-W 투여로 인한 체중 증가 억제 효과가 사료 섭취량과는 무관함을 의미한다. 그런데, 사료 섭취율(food intake rate; 사료 섭취량/체중)은 7주부터 실험 종료까지 군 간의 유의적인 차이를 보였으며(Fig. 1C), 사료 효율(feed efficiency ratio; 10주 동안의 총 체중 증가량/총 사료 섭취량) 역시 대조군( $5.0\pm 0.8\%$ )과 CP-W 투여군( $3.7\pm 0.9\%$ ) 간의 유의적인 차이를 나타내었다. 사료 효율이 개체의 대사 효율을 반영하는 지표 중 하나임을 감안할 때, 이러한 결과는 CP-W가 실험 동물의 체내 대사율 또는 잉여 에너지의 체지방 전환 능력에 영향을 미쳤을 가능성을 반영하는 것으로 추측된다.

한편, '경구 투여된 CP-W가 *in vivo* 위 배출 속도에는 영향을 주지 않으면서 소장 이송률을 유의적으로 증가시킨다'는 본 연구진의 이전 연구 결과[7]를 감안할 때, CP-W 투여 시 음식물에 의한 위(胃) 포만감은 유지하면서 위를 통과한 음식물이 소장의 흡수 부위를 빠른 속도로 지나침으로써 결과적으로 체중 증가를 억제한다는 가설을 세울 수 있다. 물론, 일반적

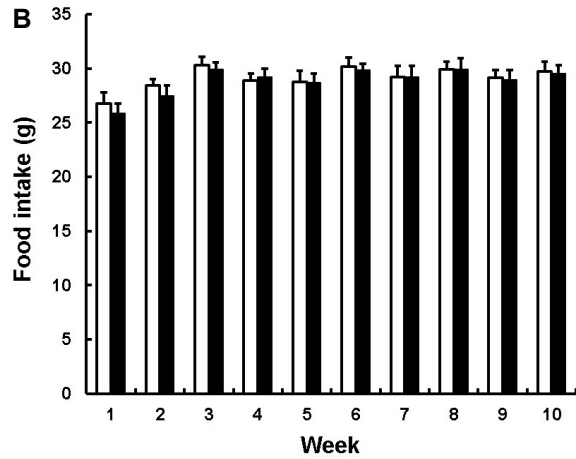
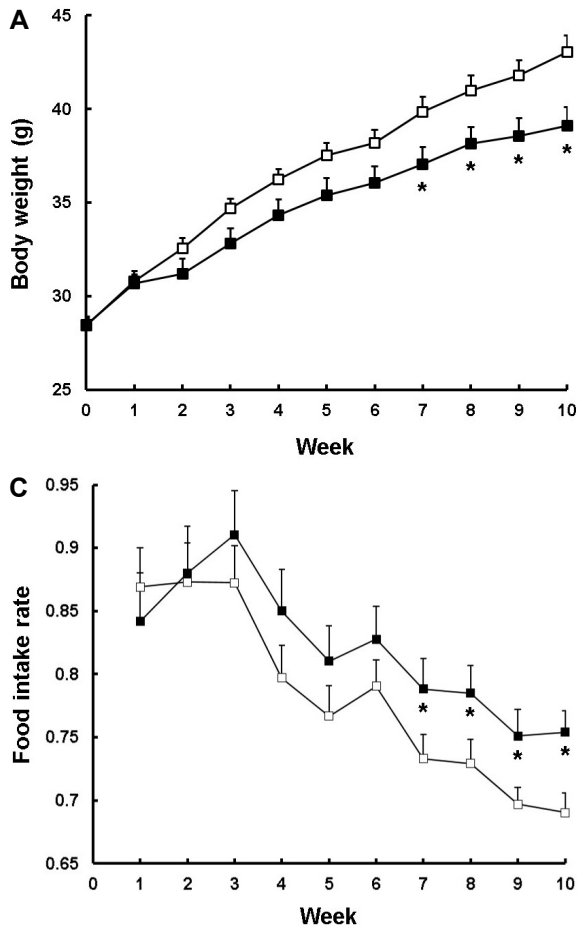


Fig. 1. Mean ( $\pm$ SEM) body weight (A), food intake (B), and food intake rate (C) over 10 weeks in control ( $\square$ ) and CP-W (1 g/kg/day) treated mice ( $\blacksquare$ ). Animals were 7 weeks old at the onset of the study. Each vertical error bar shows the SEM for 10 mice. Significant difference (\*  $p < 0.05$ ) compared with each control value.

으로 체중 감소 효과의 대표적 원인이라 할 수 있는 ‘지질 대사에 미치는 영향’을 위시한 여러 다른 가능성들에 대해 향후 추가적인 연구가 수행되어야 할 것이다.

**장기간 투여 시 CP-W의 안전성 평가**

CP-W 1 g/kg을 매일 1회씩 경구 투여한 10주 내내 어느 실험 동물에서도 외관 상의 이상 징후가 관찰되지 않았으며, 매주 1회씩 측정된 체온(전체 평균  $37.2 \pm 0.2^\circ\text{C}$ ) 역시 군 간의

Table 1. Hematological and serum biochemical parameters at the end of 10-week treatment (n=5 for each group)

Parameter	Hematological data		Parameter	Serum biochemical data	
	Control	CP-W treated		Control	CP-W treated
CBC <sup>a</sup>			TP (g/dl)	6.1 $\pm$ 0.3	6.2 $\pm$ 0.2
RBC ( $10^6$ /ml)	8.66 $\pm$ 0.25	8.48 $\pm$ 0.27	Albumin (g/dl)	3.0 $\pm$ 0.2	3.0 $\pm$ 0.2
Hb (g/dl)	14.9 $\pm$ 0.5	15.0 $\pm$ 0.3	Globulin (g/dl)	3.2 $\pm$ 0.1	3.1 $\pm$ 0.2
Ht (%)	45.1 $\pm$ 1.3	45.0 $\pm$ 1.5	BUN (mg/dl)	29.2 $\pm$ 0.9	28.7 $\pm$ 0.8
PLT ( $10^3$ /ml)	859 $\pm$ 95	840 $\pm$ 89	CRN (mg/dl)	0.23 $\pm$ 0.02	0.24 $\pm$ 0.02
WBC ( $10^3$ /ml)	2.98 $\pm$ 0.27	2.75 $\pm$ 0.29	Glucose (mg/dl)	219 $\pm$ 12	231 $\pm$ 10
Differential <sup>b</sup> (%)			T.Bil (mg/dl)	0.14 $\pm$ 0.02	0.14 $\pm$ 0.03
Segment	19.0 $\pm$ 1.5	17.3 $\pm$ 1.4	T.Chol (mg/dl)	183 $\pm$ 15	165 $\pm$ 18
Band	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	AsT (IU/l)	110 $\pm$ 10	103 $\pm$ 12
Lymphocyte	77.0 $\pm$ 1.5	78.8 $\pm$ 2.0	AIT (IU/l)	35.2 $\pm$ 3.8	37.8 $\pm$ 4.0
Monocyte	3.9 $\pm$ 0.5	3.9 $\pm$ 0.6	ALP (IU/l)	51.6 $\pm$ 2.7	51.2 $\pm$ 2.9
Eosinophil	0.3 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1	Na (mM)	148.5 $\pm$ 1.1	143.5 $\pm$ 1.0
Basophil	0.1 $\pm$ 0.1	0.1 $\pm$ 0.1	Cl (mM)	105.8 $\pm$ 0.8	106.2 $\pm$ 0.6

Values represent the mean  $\pm$  SEM.

<sup>a</sup>Complete blood cell count. <sup>b</sup>WBC differential count.

Table 2. Organ weights in mice at necropsy (n=10 for each group)

Organ	Control	CP-W treated
Liver (g)	2.27±0.13	2.13±0.16
Kidney (mg)	742±24	728±23
Spleen (mg)	135±12	124±13
Thymus (mg)	51.7±2.1	50.9±2.1
Intra-abdominal fat (g)	1.67±0.28	1.35±0.30

Values represent the mean ± SEM.

유의적인 차이가 나타나지 않았다. 실험 종료일에 채혈한 혈액 시료 분석 결과, 각종 혈액학적/혈청 생화학적 지표들 중 군 간의 유의적인 차이를 보이는 지표는 없었다(Table 1). 부검 결과 어느 개체에서도 검안 상 이상 증상이 발견되지 않았으며, 각종 내부 장기(간, 신장, 비장, 흉선) 및 복부 지방 무게 역시 군 간의 유의적인 차이가 없었다(Table 2). 이러한 결과들을 통하여, CP-W는 고용량(1 g/kg/day)으로 장기간(10주) 경구 투여하더라도 뚜렷한 독성 증상이 관찰되지 않는 시료임을 확인할 수 있었다.

이상과 같이 본 연구에서는, 당삼 열수 추출물(CP-W)을 장기간 경구 투여한 결과 실험 동물의 체중 증가가 유의적으로 억제되었으며 뚜렷한 독성 증상은 발견되지 않았음을 보고하였다. 물론, 이러한 효과가 인체에도 그대로 적용될지는 아직 선불리 판단할 수 없으며, 비만 동물 모델에서도 체중 조절 효과가 있는지 우선적으로 확인해야 한다. 향후 지질 대사 관련 연구가 수행될 예정이며, CP-W의 체중 증가 억제 효과에 대한 다방면의 심도 깊은 약리학적 고찰이 필수적이다. 그럼에도 불구하고, 장기간-고용량 반복 투여 시 안전성이 확보된 CP-W는, 장기 요법을 요하는 비만 치료제 시장에서 잠재적으로 신약 후보 물질로서의 기본적인 경쟁력을 갖춘 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 국립 농업 과학원 농업 과학 기술 연구 개발 사업 (과제 번호: PJ010828022017)의 지원에 의해 수행되었음.

## References

- Halford, J. C. 2004. Clinical pharmacotherapy for obesity: current drugs and those in advanced development. *Curr. Drug Targets* **5**, 637-646.
- He, J. Y., Ma, N., Zhu, S., Komatsu, K., Li, Z. Y. and Fu, W. M. 2015. The genus *Codonopsis* (Campanulaceae): a review of phytochemistry, bioactivity and quality control. *J. Nat. Med.* **69**, 1-21.
- Joyal, S. V. 2004. A perspective on the current strategies for the treatment of obesity. *Curr. Drug Targets CNS Neurol. Disord.* **3**, 341-356.
- Kakkar, A. K. and Dahiya, N. 2015. Drug treatment of obesity: current status and future prospects. *Eur. J. Intern. Med.* **26**, 89-94.
- Kang, S. Y., Jung, J. K., Lee, S. K., Lee, S. H. and Park, Y. K. 2013. Effects of the ethanol extract of *Codonopsis Pilosulae Radix* on ovalbumin-induced allergic responses in mice. *Kor. J. Herbology* **28**, 9-15.
- Kaya, A., Aydin, N., Topsever, P., Filiz, M., Ozturk, A., Dagar, A., Kilinc, E. and Ekmekcioglu, C. 2004. Efficacy of sibutramine, orlistat and combination therapy on short-term weight management in obese patients. *Biomed. Pharmacother.* **58**, 582-587.
- Kim, M. W., Kim, H. J., Kim, M. M., Lee, E. W., Kwon, H. J., Kim, B. W. and Lee, H. T. 2016. Effects of the dried root of *Codonopsis pilosula* on gastrointestinal motor function in mice. *J. Life Sci.* **26**, 1253-1258.
- Linne, Y. and Rossner, S. 2004. Pharmacotherapy of obesity. *Clin. Dermatol.* **22**, 319-324.
- Mordes, J. P., Liu, C. and Xu, S. 2015. Medications for weight loss. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* **22**, 91-97.
- Shim, W. S., Back, H., Seo, E. K., Lee, H. T. and Shim, C. K. 2009. Long-term administration of an aqueous extract of dried, immature fruit of *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. suppresses body weight gain in rats. *J. Ethnopharmacol.* **126**, 294-299.
- WHO. 2016. Obesity and overweight. WHO <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.

## 초록 : 당삼 열수 추출물이 마우스의 체중 변화에 미치는 영향

이현태\*

(동의대학교 공과대학 바이오응용공학부 바이오의약공학전공)

본 연구에서는, 만삼(*Codonopsis pilosula*)의 뿌리를 말린 한약재인 당삼을 마우스에 매일 장기간 투여할 경우 실험 동물의 체중 변화에 어떠한 영향을 미치는지 알아보고자 하였다. 당삼 열수 추출물(CP-W) 1 g/kg을 매일 1회씩 10주 동안 마우스에 경구 투여하였으며, 전체 실험 기간 동안 체중 및 사료 섭취량을 측정하였다. 실험 종료 시점에서 마우스로부터 채혈하여 각종 혈액학적/혈청 생화학적 지표들을 분석하였으며, 안락사 후 부검을 실시하고 복부 내 장기들의 무게를 측정하였다. 그 결과, CP-W 투여군의 체중이 대조군에 비해 약 10% 가벼웠던 반면, 사료 섭취량은 군 간의 유의적인 차이가 없었다. 실험 기간 내내 어느 개체에서도 임상적으로 이상 징후가 관찰되지 않았으며, 부검 시 어떠한 이상 증상도 발견되지 않았다. 혈액 시료 분석 및 장기 무게 측정 결과 역시 어느 지표에서도 군 간의 차이를 보이지 않았다. 이상의 연구 결과들을 요약하면, CP-W 1 g/kg을 마우스에 매일 1회씩 10주 동안 경구 투여한 결과, 사료 섭취량의 변화 없이 체중 증가가 유의적으로 억제되었으며, 장기간 투여에 따른 뚜렷한 독성 증상은 발견되지 않았다.