

고지방식이 유도 비만생쥐에 대한 苓桂朮甘湯 加 黃芪의 항비만 효과

정만진 · 우창훈 · 안희덕

대구한의대학교 한의과대학 한방재활의학과교실

The Anti-obesity Effects of *Younggyechulgam-tang-ga Hwanggi* on Obesity in Mice Induced by High Fat Diet

Man-Jin Jeong, K.M.D., Chang-Hoon Woo, K.M.D., Hee-Duk Ahn, K.M.D.

Department of Rehabilitation Medicine of Korean Medicine, College of Korean Medicine, Daegu Hanny University

RECEIVED Mar 17, 2018

ACCEPTED Mar 30, 2018

CORRESPONDING TO

Hee-Duk Ahn, Department of Rehabilitation Medicine of Korean Medicine, College of Korean Medicine, Daegu Hanny University 136 Sincheondong-ro, Suseong-gu, Daegu 42158, Korea.

TEL (053) 770-2116

FAX (053) 770-0566

E-mail okee@dhu.ac.kr

Copyright © 2018 The Society of Korean Medicine Rehabilitation

Objectives This study was conducted to experimentally evaluate the effects of *Younggyechulgam-tang-ga Hwanggi*(YGT) on obesity in mice induced by high fat diet.

Methods The experiment was conducted with 4-week-old male mice divided into 5 groups. They were a normal diet group(Nor), a high fat diet group(Veh), a positive drug control group-orlistat 40 mg/kg(Oris), a 1.08 g/kg group(YGTL), and a 2.16 g/kg group(YGTH), and were tested for five weeks. Changes in antioxidant activity, body weight, organ weight, ROS, AST, ALT, TC, TG, HDL-C, LDL-C and lipid metabolism protein were checked.

Results YGTL and YGTH group significantly reduced body weight compared to Veh group. YGTH group significantly reduced visceral fat weights compared to Veh group. In blood biochemistry analysis, ROS, AST, ALT, TC, TG and LDL-C in YGTL and YGTH group were significantly lower than Veh group. HDL-C increased significance in YGTL and YGTH group. In antioxidation protein analysis, Catalase, GPx and HO-1 have increased significantly in YGTL and YGTH group. YGTH group have increased PPAR- α , p-AMPK compared to Veh group, but decreased FAS, SREBP-1, p-ACC levels in YGTL and YGTH group were decreased compared to Veh group, however CPT-1, UCP-2 levels in YGTL and YGTH group were increased compared to Veh group.

Conclusions YGT has anti-obesity effects by regulating lipolysis and antioxidation in a diet-induced obesity model. Additional clinical studies are needed. (**J Korean Med Rehabil 2018;28(2):1-20**)

Key words Obesity, *Younggyechulgam-tang-ga Hwanggi*, High Fat Diet, Antioxidation

서론»»»»

비만은 체내에 필요한 에너지보다 과다 섭취되거나 섭취된 에너지보다 소비가 부족하여 초래되는 에너지 불균형의 상태로, 호르몬의 변화, 유전, 정신, 사회경제적 요인 등 많은 요인이 복합적으로 관련되어 있으며, 성인병과의 높은 연관성 때문에 중요한 건강문제로 대두되고 있다¹⁾.

독성이 적으면서 체중감소에 효과적인 한약을 이용한 비만 치료 약물 개발에 관심이 높아짐에 따라²⁾, 현재 국내에서 비만의 예방이나 치료를 위한 한의학적 연구가 활발하게 이루어지고 있으며, 많은 실험과 임상에서의 유효성이 보고되고 있다³⁾.

한의학적으로 비만은 주로 脾, 肺, 腎의 장부와 밀접한 관계가 있다. 비만의 주원인인 濕과 痰은 인체의 수액대

사가 실조하여 나타나는 것으로, 이는 肺의 宣發肅降, 脾의 運化輸布, 腎의 蒸騰氣化 같은 기능과 밀접한 관계가 있다. 따라서 脾臟, 肺臟, 腎臟의 기능이상은 습담의 형성을 야기할 수 있다. 이 중에서 脾臟의 기능이 가장 중요하다고 할 수 있는데, 脾臟은 水穀精微와 水濕의 運化를 주관하기 때문이다⁴⁾.

苓桂朮甘湯은 漢代(AD 219) 張景岳의 『金匱要略』에 “病痰飲者 當以溫藥和之, 心下有痰飲 胸脇支滿 目眩 苓桂朮甘湯主之⁵⁾” 라고 처음 수록된 이후 많은 醫家들에 의해 胸有痰飲과 短氣를 치료하는 처방으로 인식되었다⁶⁾. 또한 비만의 脾虛형 변증에 防己黃芪湯과 합방되어 健脾利濕하는 효과로 비만처방에 응용되었다¹⁾.

苓桂朮甘湯은 면역억제효과⁷⁾, 신기능에 미치는 영향⁸⁾, 간독성에 미치는 영향⁹⁾, 현훈 치료¹⁰⁾ 등에 관한 연구가 있으나 비만과 관련된 연구는 없다.

黃芪(*Astragali Radix*)는 대표적인 補氣劑로 발한 억제, 체력증강, 피로회복 등의 목적으로 한의학에서 다용되는 약물이다¹¹⁾. 실험적 연구들을 통해 황기의 주성분인 *Astragalus polysaccharide*의 항당뇨^{12,13)}, 항산화 효과¹⁴⁾ 등이 밝혀져 있으며, 특히 *Astragalus polysaccharide*는 비만형 당뇨병 동물모델에서 인슐린저항성 개선 혈당강화 효과¹²⁾ 및 adenosine mono phosphate (AMP)-activated protein kinase (AMPK)증가 효과¹³⁾가 있음이 밝혀져 있다.

따라서 저자는 본 연구에서 비만의 實證원인인 濕痰을 제거하는 苓桂朮甘湯에 虛證원인인 脾胃氣虛를 補하는 黃芪를 加味하여 비만에 대한 효과를 확인하고자 고지방 식이로 유도된 비만생쥐 모델에 苓桂朮甘湯 加 黃芪를 5주간 투여하고 마우스의 체중, 지질 농도, 항산화 단백질 및 체내 지방대사 등에 미치는 영향을 분석하였으며, 이에 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법»»»»

1. 재료

1) 약재

실험에 사용된 苓桂朮甘湯 加 黃芪(*Younggyechulgam-tang-ga Hwanggi*, YGT)의 처방은 『東醫寶鑑』에 준하였고⁶⁾, 약재는 용기한약국(대구, 한국)에서 공급받아 사용하였으며 1

Table 1. The Composition of YGT

Herbal name	Pharmacognostic name	Amount (g)
赤茯苓	<i>Poria</i>	8.0
桂枝	<i>Cinnamomi Ramulus</i>	6.0
白朮	<i>Atractylodis Macrocephalae Rhizoma</i>	6.0
甘草	<i>Glycyrrhiza Radix</i>	2.0
黃芪	<i>Astragali Radix</i>	8.0
Total		30.0

첩 분량은 다음과 같다 (Table 1).

2) 실험동물 및 약물투여

생후 4주령의 체중 22 g 내외의 수컷 C57BL/6 mice를 오리엔트 (경기도, 한국)에서 구입하였다. 동물은 실험당일까지 고형사료 (칼슘 0.6% 이상, 조단백질 22.1% 이상, 조섬유 5.0% 이하, 인 0.4% 이상, 조지방 8.0% 이하, 조회분 8.0% 이하, 삼양사, 항생제 무첨가)와 물을 충분히 공급하고 온도 22±2°C, 상대습도 50±5%, 명암은 12시간 주기(light-dark cycle)의 환경에서 2주일간 적응시킨 후 60% 실험식이로 5주간 사육하였다. 몸무게는 1일 1회 오전 11시에 측정하였으며, 실험약재는 매일 오후 2시에 각 농도에 맞게 증류수에 희석하여 사용하였다. 대구한의대학교 동물실험윤리위원회의 승인 (DHU2017-073)을 받아 시행하였으며 동물관리 규정을 준수하였다.

실험군은 각 군별로 난피법에 의해 9마리씩 5군으로 나누었다.

- (1) 정상군 (Nor) : 일반식이를 섭취한 군.
- (2) 대조군 (Veh) : 60 kcal% 고지방이 함유된 사료를 섭취한 군.
- (3) 양성대조군 (Oris) : 60 kcal% 고지방이 함유된 사료를 섭취하고 양성대조약물인 Orlistat (40 mg/kg)로 투여한 군.
- (4) 苓桂朮甘湯 加 黃芪 저농도 투여군 (YGTL) : 60 kcal% 고지방이 함유된 사료를 섭취하고 苓桂朮甘湯 加 黃芪 추출물을 (1.08 g/kg)로 투여한 군.
- (5) 苓桂朮甘湯 加 黃芪 고농도 투여군 (YGTH) : 60 kcal% 고지방이 함유된 사료를 섭취하고 苓桂朮甘湯 加 黃芪 추출물을 (2.16 g/kg)로 투여한 군.

3) 시약

본 실험에 사용된 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), gallic acid, naringin, diethylene glycol, 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), potassium persulfate, phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF), dithiothreitol (DTT)는 Sigma Aldrich Co., Ltd. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase (GPx), heme oxygenase (HO-1), Fatty acid synthesis (FAS), Carnitine palmitoyltransferase1 (CPT-1), uncoupling protein 2 (UCP-2), Peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR- α), Sterol regulatory element-binding protein 1 (SREBP-1), Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR- γ), Histone과 β -actin은 Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA, USA)로부터 구입하였고, Phospho-Acetyl-CoA Carboxylase (p-ACC), Acetyl-CoA Carboxylase (ACC), Phospho-AMP-activated protein kinase (p-AMPK), AMP-activated protein kinase (AMPK)는 Cell Signaling Technology Inc. (Beverly, MA, USA)로부터 구입하였고, 2차 항체인 Rabbit IgG antibody, Mouse IgG antibody는 GeneTex, Inc. (GeneTex, San Antonio, TX, USA)에서 구입하였다. 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCF-DA)는 Molecular Probes (Eugene, OR, USA)에서 구입하였다. ECL Western Blotting Detection Reagents와 nitrocellulose membranes는 Amersham GE Healthcare (Little Chalfont, UK)로부터 구입하여 사용하였다. 또한, cholesterol reagent kit, direct HDL-cholesterol kit, AST assay kit, ALT assay kit, Protease inhibitor mixture, Ethylene diaminetetraacetic acid (EDTA)는 Wako Pure Chemical Industries, Ltd. (Osaka, Japan)에서 구입하였다. 단백질 정량을 위한 BCA protein assay kit는 Thermo Scientific (Rockford, IL, USA)에서 구입하였다.

4) 실험기기

본 실험에 사용된 기기는 열탕추출기 (대웅, 괴산, 한국), 전자체중계 (카스, 양주, 한국), AE-6530 mPAGE (ATTO Corporation, Tokyo, Japan), Sensi-Q2000 Chemidoc (루젠에스씨아이, 서울, 한국), DWT-1800T (대웅바이오, 화성, 한국), vortex mixer, 동결건조기 (Labconco, Kansas,

USA), Deep-freezer (Sanyo Co. Japan), Infinite m200 pro 흡광도 측정기 (Tecan, Männedorf, Switzerland), Tissue grinder (Bio Spec Product, Bartlesville, OK, USA), Incapacitance Meter Tester 600 (ITC Life Science Inc. Woodland Hills, USA), BX-51 편광 현미경 (Olympus, Tokyo, Japan), 냉장 초고속 원심분리기 (라보진, 서울, 한국) 등을 사용하였다.

2. 방법

1) 시료 제조

YGT 5첩 분량인 150 g에 10배수의 증류수를 가한 뒤 100°C에서 2시간 동안 열수추출 하였다. 추출하여 얻은 액을 여과 후 감압추출장치로 농축하였다. 농축액을 다시 동결 건조기를 이용하여 완전 건조시켜 27 g의 시료를 취 하였다. YGT 추출물의 수율은 18%였다.

2) 항산화능 측정

(1) 총 polyphenol 함량

총 polyphenol 함량은 Folin-Denis법¹⁵⁾을 이용하였다. 각 시료 20 μ l (1 mg/ml)와 증류수 1.58 mL, Folin-Ciocalteu's phenol reagent 100 μ l를 혼합하여 실온에서 1분간 반응 시킨다. 그 후 20% Na_2CO_3 300 μ l를 더하여 20°C에서 120 분 동안 반응시킨 후 765 nm에서 흡광도 (Multiscan spectrum, Thermo Scientific)를 측정하였다. 이때 총 polyphenol 함량은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

(2) 총 flavonoid 함량

총 flavonoid의 함량 측정은 Davis법을 변형한 방법¹⁶⁾에 따라 측정하였다. 추출한 시료 50 μ l에 diethylene glycol 445 μ l를 잘 섞어준 후, 이 혼합물에 1N NaOH 5 μ l를 가 하여 37°C에서 1시간 동안 방치한 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 flavonoid 함량은 naringin을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

(3) DPPH radical 소거능

추출한 시료의 free radical 소거능 측정을 위해 DPPH 법¹⁷⁾을 이용하였다. 각 시료를 농도별로 희석한 용액 100 μ l와 0.2 mM DPPH 용액 100 μ l를 혼합하여 30분간 암소 상태에서 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH free radical 소거능은 시료를 첨가하지 않은

대조군과 시료 첨가군의 흡광도를 1/2로 억제하는 IC₅₀값으로 나타내었으며, L-ascorbic acid를 양성대조군으로 사용하였다.

(4) ABTS radical 소거능

ABTS radical을 이용한 항산화력 측정은 Re의 방법¹⁸⁾을 이용하였다. 7 mM ABTS와 2.4 mM의 potassium persulphate을 혼합하여 실온의 암소 상태에서 약 16시간 이상 방치하여 ABTS를 형성시킨 후 415 nm에서 흡광도 값이 0.70 (±0.02)이 되게 100% ethanol로 희석하였다. 희석된 용액 95 µl에 시료 5 µl를 가하여 15분 동안 방치한 후 흡광도를 측정하였다. 각 시료 추출물의 free radical 소거능은 시료를 첨가하지 않은 대조군과 시료 첨가군의 흡광도를 1/2로 억제하는 IC₅₀값으로 나타내었으며, 양성대조군은 L-ascorbic acid를 사용하였다.

Table II. The Ingredients of High Fat Diet

Ingredients	gm (%)	kcal (%)
Protein	(26.2)	(20)
Carbohydrate	(26.3)	(20)
Fat	(34.9)	(60)
Total		(100)
kcal/gm	(5.24)	
Casein, 30 Mesh	200	800
L-Cystine	3	12
Corn Starch	0	0
Maltodextrin 10	125	500
Sucrose	68.8	275.2
Cellulose, BW200	50	0
Soybean Oil	25	225
Lard	245	2205
Mineral Mix S10026	10	0
Dicalcium Phosphate	13	0
Calcium Carbonate	5.5	0
Potassium Citrate, 1 H2O	16.5	0
Vitamin Mix V100001	10	40
Choline Bitartrate	2	0
FD&C Blue Dye #1	0.05	0
Total	773.85	4057

3) 고지방식이 조성표

실험식은 정상군은 일반사료를 공급하였고, 대조군과 약물처리군은 60 kcal% 의 고지방이 함유된 고지방식이 (D12492, Research Diets, Inc., NJ, USA)를 5주간 공급하였다 (Table II).

4) 체중 및 식이섭취량 측정

실험동물의 체중은 1일 1회 동일 시간 동일 조건에서 측정하였고, 실험종료일 체중에서 실험 개시 전 체중을 빼서 체중증가량 (body weight gain (g))을 산출하였다. 식이섭취량은 1주일간 섭취하고 남은 사료량을 제하고 하루 사료섭취량을 산출하였다.

- 체중 (body weight)

(1) 체중변화 : 매일 1회 동일한 시간에 측정/기록

(2) 총 체중 증가량 : Final body weight (g) - Initial body weight (g) = body weight gain (g)

- 사료섭취량 (food intake)

(1) 1일 평균 식이 섭취량 : Total food intake / days

5) 혈청분석 및 각종 장기 채취

실험동물은 희생시키기 전 12시간 동안 절식시킨 후 심장에서 채혈을 하였다. 채혈된 혈액은 4000 rpm 10분간 원심분리하여 혈청을 얻었고 혈청은 -80℃에 보관한 후 분석에 사용하였다. 실험동물을 희생시킨 후 간, 부고환지방조직을 적출하여 즉시 생리식염수에 헹군 후 여과지를 이용하여 표면의 물기를 제거하여 각각 무게를 측정하였다. 혈청의 total cholesterol (TC)와 triglyceride (TG), HDL-cholesterol (HDL-C) 수치를 이용하여 다음과 같이 LDL-cholesterol (LDL-C)을 계산하였다.

■ $LDL-C = TC - (HDL-C) - (TG)/5$

또한 간기능 손상 지표인 aspartate aminotransferase (AST)와 alanine aminotransferase (ALT)를 측정하여 분석하였다.

6) 혈액의 산화적 스트레스 바이오마커 측정

Reactive Oxygen Species (ROS) 측정은 Kooy의 방법¹⁹⁾을 시행하였다. 혈청과 25 mM DCF-DA를 혼합한 후, 형

광 광도계를 이용하여 0분부터 매 5분씩 35분간 emission 파장 530 nm와 excitation 파장 485 nm를 이용하여 30분간 측정된 산출 값을 계산하였다.

7) Western blot 분석

간 조직의 세포질을 얻기 위해 100 mM 2-amino-2-hydroxymethyl-propane-1,3-diol (Tris)-HCl (pH 7.4), 5 mM Tris-HCl (pH 7.5), 2 mM MgCl₂, 15 mM CaCl₂, 1.5 M sucrose, 0.1 M dithiothreitol (DTT), protease inhibitor cocktail을 첨가한 buffer A를 넣고 tissue grinder로 분쇄한 후 10% NP-40 용액을 첨가하였다. 아이스 위에서 20분간 정치시킨 후 2분간 원심분리 (12,000 rpm, 2 min, 4°C)하여 세포질을 포함하고 있는 상층액을 분리하였다. 핵을 얻기 위해 10% NP-40가 더해진 buffer A에 두 번 행구고 100 mL의 buffer C (50 mM 2-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazyl] ethanesulfonic acid (pH 7.9), 50 mM KCl, 0.3 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 0.1 mM PMSF, 10% glycerol)를 첨가해 재부유시킨 뒤 10분마다 vortex을 3번 하였다. 4°C에서 12,000 rpm으로 10분간 원심분리한 후 핵을 포함하고 있는 상층액을 얻어 -80°C에서 냉동 보관하였다. 간 조직의 세포질의 SOD, catalase, GPx, HO-1, FAS, p-ACC, ACC, p-AMPK, AMPK, CPT-1, UCP-2, β -actin과 간 조직의 핵내 PPAR- α , PPAR- γ , SREBP-1, Histone 단백질의 발현을 측정하기 위하여 10 mg의 단백질을 8~15% SDS-polyacrylamide gel을 이용하여 전기영동 후, acrylamide gel을 nitrocellulose membrane으로 이동시켰다. 준비된 membrane에 각각의 1차 antibody를 처리하여 4°C에서 overnight 시킨 다음 PBS-T로 6분마다 5회 세척하고, 각각 처리된 1차 항체에 사용되는 2차 항체(PBS-T로 1:3000로 희석해서 사용)를 사용하여 상온에서 2시간 반응시킨 후, PBS-T로 6분마다 5회 세척하였다. 그리고 enhanced chemiluminescence(ECL, GE Healthcare)에 노출시킨 후, Sensi-Q2000 Chemidoc에 감광시켜 단백질 발현을 확인한 후, 해당 band를 ATTO Densitograph Software를 사용하여 정량하였다.

8) 통계처리

SPSS program for windows version 22 (SPSS Inc., Chicago, USA)를 이용하여 실험결과를 분석하였으며, 모든 측정 결과는 평균 \pm 표준오차의 평균 (mean \pm SEM)

로 나타내었으며, 실험군 간의 차이는 one-way ANOVA와 LSD 분석법을 사용하여 $p < 0.05$ 값인 경우에 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

결과

1. 항산화능에 미치는 영향

1) Total phenol과 Total flavonoid 함량

Gallic acid를 표준물질로 하여 total phenol 함량을 측정한 결과 2.44 ± 0.06 mg/g이었고, naringin를 표준물질로 하여 total flavonoid 함량을 측정한 결과 2.80 ± 0.08 mg/g이었다 (Table III).

2) DPPH 및 ABTS radical 소거능

YGT의 항산화 활성을 평가하기 위하여 DPPH와 ABTS free radical 소거 활성을 측정하였다. DPPH radical 소거 활성은 양성대조군으로 사용된 L-ascorbic acid의 IC₅₀ 값은 1.36 ± 0.21 mg/ml이었고, YGT의 IC₅₀ 값은 217.56 ± 7.40 mg/ml이었다. ABTS radical 소거 활성은 양성대조군으로 사용된 L-ascorbic acid의 IC₅₀ 값은 3.11 ± 0.06 mg/ml이었고, YGT의 IC₅₀ 값은 355.24 ± 2.16 mg/ml이었다 (Table IV).

2. 체중 및 식이섭취량에 미치는 영향

체중 변화량은 Nor군 4.10 ± 1.13 , Oris군 4.63 ± 0.53 , YGTIL군 4.28 ± 1.13 , YGTH군 4.21 ± 1.82 로 Veh군 7.21 ± 1.00

Table III. Total Phenol and Total Flavonoid Contents of YGT

Sample	Total polyphenol (mg/g)	Total flavonoid (mg/g)
YGT	2.44 ± 0.06	2.80 ± 0.08

Table IV. DPPH and ABTS Radical Scavenging Activity of YGT

Sample	Radical scavenging activity (IC ₅₀)	
	DPPH free radical (mg/ml)	ABTS free radical (mg/ml)
L-ascorbic acid	1.36 ± 0.21	3.11 ± 0.06
YGT	217.56 ± 7.40	355.24 ± 2.16

보다 유의하게 감소하였다 ($p < 0.001$)(Table V). 1일 평균 식이섭취량은 유의한 차이를 보이지 않았다 (Fig. 1).

3. 간, 부고환지방 조직의 무게

실험동물을 희생시킨 후 적출한 간 조직의 절대적 무

Table V. Initial and Final Body Weight, Body Weight Change

Group	Body weight		
	Initial (g)	Final (g)	Gain(g)
Nor	22.57±0.93	26.66±1.61	4.10±1.13 ***
Veh	23.96±1.60	31.17±2.47	7.21±1.00
Oris	23.00±0.91	27.64±1.18	4.63±0.53 ***
YGTL	25.10±0.85	29.38±1.91	4.28±1.13 ***
YGTH	23.92±1.03	28.13±2.02	4.21±1.82 ***

All data are expressed means±SEM, n=9 mice per group
Significance: *** $p < 0.001$ vs. Veh

게를 측정된 결과 Veh군 1.32±0.11 으로 Nor군 1.27±0.10 에 비하여 증가했으나 유의성은 없었다. Oris군 1.08±0.07, YGTL군 1.05±0.17, YGTH군 0.95±0.07 로 나타나 Veh 군보다 유의하게 감소하였다 ($p < 0.001$)(Fig. 2).

부고환지방의 무게를 측정된 결과 Veh군은 0.05±0.01 로 Nor군 0.02±0.01 보다 유의하게 증가하였다 ($p < 0.001$). Oris군의 부고환지방 무게는 0.04±0.00 ($p < 0.001$), YGTH 군의 부고환지방 무게는 0.04±0.01 로 Veh군보다 유의하게 감소하였다 ($p < 0.05$). YGTL군의 부고환지방 무게는 0.05±0.01 로 Veh군보다 감소했으나 유의하지 않았다 (Fig. 3).

4. 혈청 내 산화적 스트레스 바이오마커에 미치는 영향

채취한 혈액에서 혈청을 분리 후 ROS를 측정하였다. 그 결과 Veh군은 78121±11115.07 로 Nor군 56370±8697.71

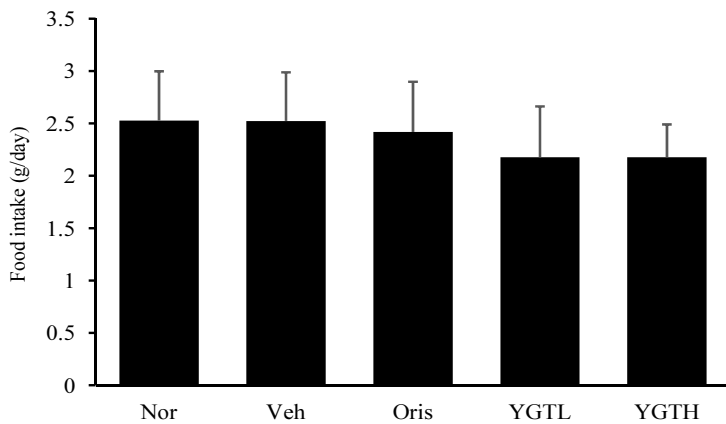


Fig. 1. Food intake in mice fed high fat diet. All data are expressed means±SEM, n=9 mice per group. Nor; normal mice, Veh; high fat diet fed mice, Oris; high fat diet plus Orlistat 40 mg/kg body weight, YGTL; high fat diet plus YGT 1.08 g/kg body weight, YGTH; high fat diet plus YGT 2.16 g/kg body weight.

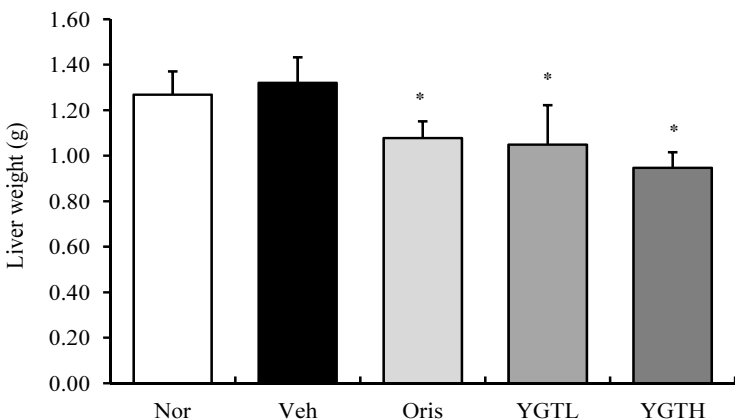


Fig. 2. Absolute liver weights of high fat diet fed mice. All data are expressed means±SEM, n=9 mice per group. Significance: * $p < 0.001$ vs. Veh. Nor; normal mice, Veh; high fat diet fed mice, Oris; high fat diet plus Orlistat 40 mg/kg body weight, YGTL; high fat diet plus YGT 1.08 g/kg body weight, YGTH; high fat diet plus YGT 2.16 g/kg body weight.

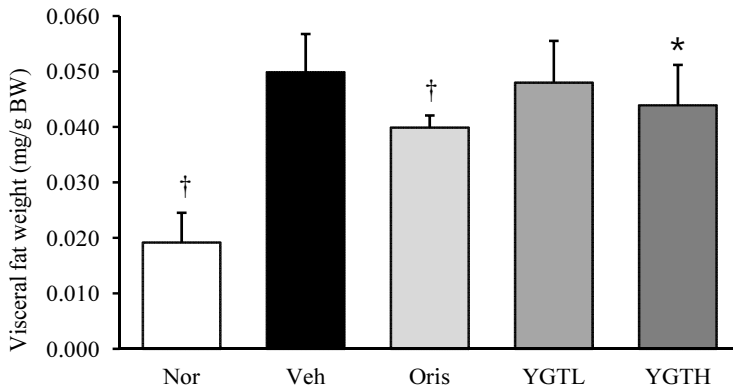


Fig. 3. Visceral fat weights of high fat diet fed mice. All data are expressed means±SEM, n=9 mice per group. Significance: * p <0.05, † p <0.001 vs. Veh. Nor; normal mice, Veh; high fat diet fed mice, Oris; high fat diet plus Orlistat 40 mg/kg body weight, YGTL; high fat diet plus YGT 1.08 g/kg body weight, YGTH; high fat diet plus YGT 2.16 g/kg body weight.

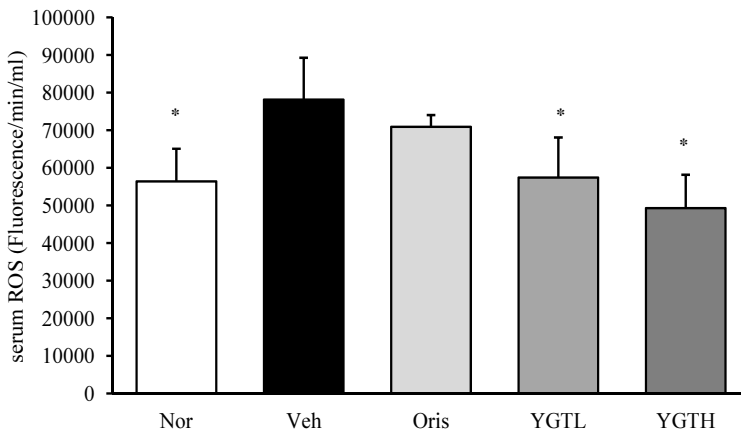


Fig. 4. ROS level of serum in high fat diet fed mice. All data are expressed means±SEM, n=9 mice per group. Significance: * p <0.001 vs. Veh. Nor; normal mice, Veh; high fat diet fed mice, Oris; high fat diet plus Orlistat 40 mg/kg body weight, YGTL; high fat diet plus YGT 1.08 g/kg body weight, YGTH; high fat diet plus YGT 2.16 g/kg body weight.

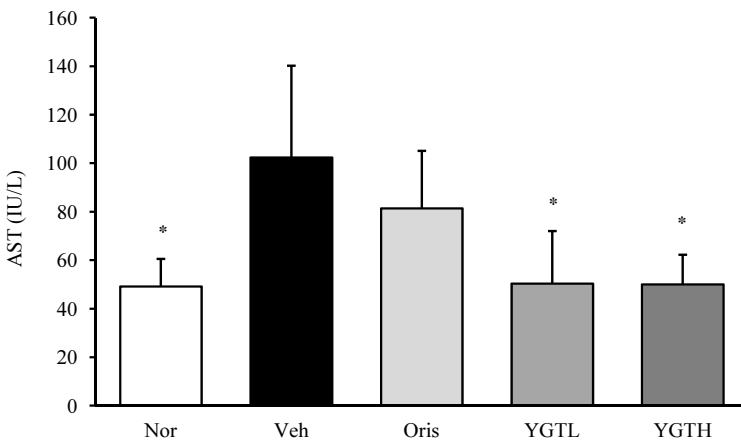


Fig. 5. Evaluation of AST in high fat diet fed mice for 5 weeks. All data are expressed means±SEM, n=9 mice per group. Significance: * p <0.001 vs. Veh. Nor; normal mice, Veh; high fat diet fed mice, Oris; high fat diet plus Orlistat 40 mg/kg body weight, YGTL; high fat diet plus YGT 1.08 g/kg body weight, YGTH; high fat diet plus YGT 2.16 g/kg body weight.

보다 유의하게 증가하였다 (p <0.001). Oris군은 70909±3124.36 으로 Veh군보다 감소했으나 유의하지 않았다. YGTL군은 57398±10666.28, YGTH군은 49260±8898.20 으로 Veh군에 비해 유의하게 감소하였다 (p <0.001)(Fig. 4).

5. 혈청 중 간기능 관련 효소 평가

1) AST

혈청 내 AST는 Veh군은 102.37±37.81 로, Nor군 49.18±

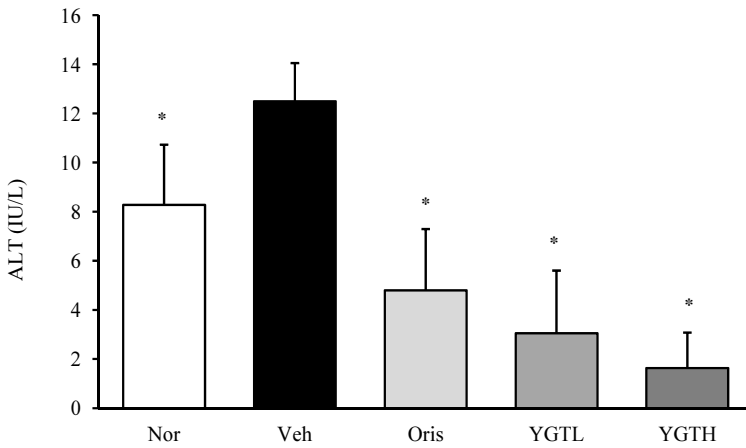


Fig. 6. ALT in high fat diet fed mice for 5 weeks. All data are expressed means±SEM, n=9 mice per group. Significance: * $p < 0.001$ vs. Veh. Nor; normal mice, Veh; high fat diet fed mice, Oris; high fat diet plus Orlistat 40 mg/kg body weight, YGTL; high fat diet plus YGT 1.08 g/kg body weight, YGTH; high fat diet plus YGT 2.16 g/kg body weight.

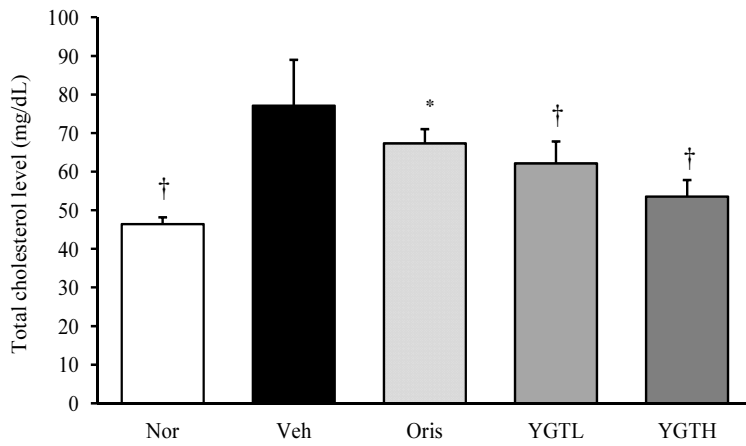


Fig. 7. Total cholesterol level in high fat diet mice. All data are expressed means±SEM, n=9 mice per group. Significance: * $p < 0.01$, † $p < 0.001$ vs. Veh. Nor; normal mice, Veh; high fat diet fed mice, Oris; high fat diet plus Orlistat 40 mg/kg body weight, YGTL; high fat diet plus YGT 1.08 g/kg body weight, YGTH; high fat diet plus YGT 2.16 g/kg body weight.

11.37 에 비해 유의하게 증가하였다 ($p < 0.001$). YGTL군 50.33±21.70 과 YGTH군 50.04±12.24 로 Veh군보다 유의하게 감소하였다 ($p < 0.001$). 그러나 Oris군은 81.36±23.73 으로 Veh군보다 감소했으나 유의하지 않았다 (Fig. 5).

2) ALT

혈청 내 ALT는 Veh군 12.49±1.56 으로 Nor군 8.27±2.45 에 비해 유의하게 증가하였고 ($p < 0.001$), Oris군 4.80±2.49, YGTL군 3.05±2.55 과 YGTH군 1.63±1.44 모두 Veh군에 비하여 유의하게 감소하였다 ($p < 0.001$)(Fig. 6).

6. 혈청 내 지질농도에 미치는 영향

1) TC 함량

TC는 Veh군 77.08±11.90 으로 Nor군 46.42±1.74 에 비해 농도가 유의하게 증가하였으며 ($p < 0.001$), Oris군

67.35±3.69, YGTL군 62.18±5.67 과 YGTH군 53.57±4.29 는 Veh군에 비하여 유의하게 감소하였다 ($p < 0.01$, $p < 0.001$) (Fig. 7).

2) TG 함량

TG는 Veh군 36.13±4.46 으로 Nor군 28.61±1.56 에 비해 농도가 유의하게 증가하였으며 ($p < 0.001$), YGTL군 23.56±4.48 과 YGTH군 18.02±3.70 은 Veh군에 비하여 유의하게 감소하였다 ($p < 0.001$). Oris군 36.13±4.46 은 Veh군보다 감소했으나 유의하지 않았다 (Fig. 8).

3) HDL-C 함량

HDL-C는 Veh군 25.89±0.04 로 Nor군 26.28±0.09 에 비해 농도가 유의하게 감소하였으며 ($p < 0.001$), Oris군 26.14±0.03, YGTL군 26.06±0.02 과 YGTH군 26.17±0.06 모두에서 Veh군에 비해 유의하게 증가하였다 ($p < 0.01$,

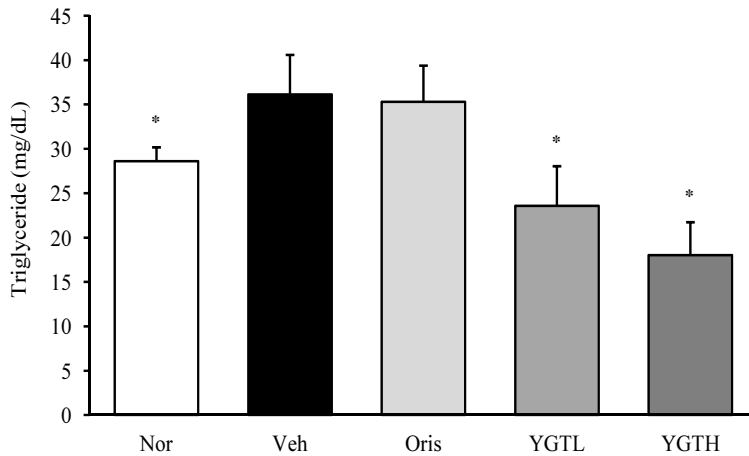


Fig. 8. Triglyceride level in high fat diet mice. All data are expressed means±SEM, n=9 mice per group. Significance: * $p < 0.001$ vs. Veh. Nor; normal mice, Veh; high fat diet fed mice, Oris; high fat diet plus Orlistat 40 mg/kg body weight, YGTL; high fat diet plus YGT 1.08 g/kg body weight, YGTH; high fat diet plus YGT 2.16 g/kg body weight.

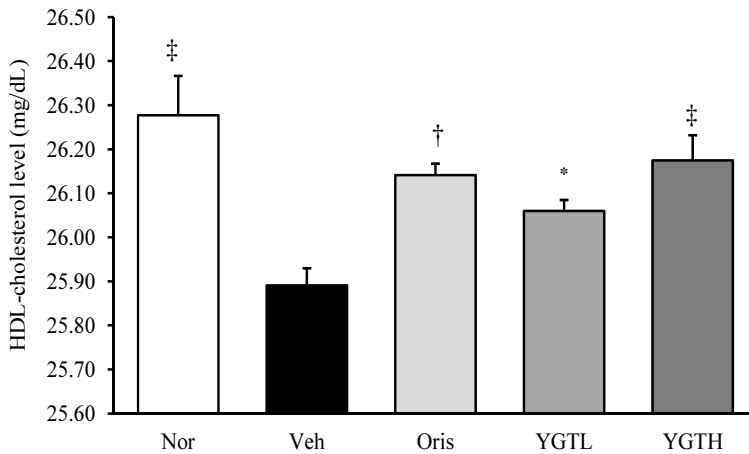


Fig. 9. HDL-cholesterol level in mice fed high fat diet. All data are expressed means±SEM, n=9 mice per group. Significance: * $p < 0.05$, † $p < 0.01$, ‡ $p < 0.001$ vs. Veh. Nor; normal mice, Veh; high fat diet fed mice, Oris; high fat diet plus Orlistat 40 mg/kg body weight, YGTL; high fat diet plus YGT 1.08 g/kg body weight, YGTH; high fat diet plus YGT 2.16 g/kg body weight.

$p < 0.05$, $p < 0.001$)(Fig. 9).

4) LDL-C함량

LDL-C는 Veh군 43.56 ± 3.88 으로 Nor군 15.29 ± 0.59 에 비해 농도가 유의하게 증가하였으며 ($p < 0.001$), Oris군 35.70 ± 1.24 YGTL군 27.49 ± 2.78 YGTH군 25.73 ± 0.49 은 Veh군에 비해 유의하게 감소하였다 ($p < 0.05$, $p < 0.001$)(Fig. 10).

7. 간 조직 내 항산화 단백질 분석

1) Catalase

간 조직에서 Catalase 단백질을 분석한 결과 Veh군은 0.82 ± 0.12 로 Nor군 1.00 ± 0.19 에 비하여 발현량이 유의하게 감소하였다($p < 0.01$). Oris군 0.98 ± 0.17 , YGTH군 1.05 ± 0.12 , YGTL군 1.14 ± 0.12 은 Veh군에 비하여 발현량이

유의하게 증가하였다 ($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$)(Fig. 11).

2) GPx

간 조직에서 GPx 단백질을 분석한 결과 Veh군은 0.92 ± 0.05 로 Nor군 1.00 ± 0.15 에 비하여 발현량이 감소하였으나 유의하지 않았다. 그러나, YGTL군 1.13 ± 0.09 에서는 Veh군에 비하여 발현량이 유의하게 증가하였고 ($p < 0.01$), 특히 Oris군 1.17 ± 0.16 과 YGTH군 1.31 ± 0.16 은 Veh군에 비하여 발현량이 유의하게 증가하였다 ($p < 0.001$)(Fig. 12).

3) HO-1

간 조직에서 HO-1 단백질을 분석한 결과 Veh군은 0.80 ± 0.12 로 Nor군 1.00 ± 0.08 에 비하여 발현량이 유의하게 감소하였다($p < 0.01$). YGTL군 0.93 ± 0.16 , Oris군

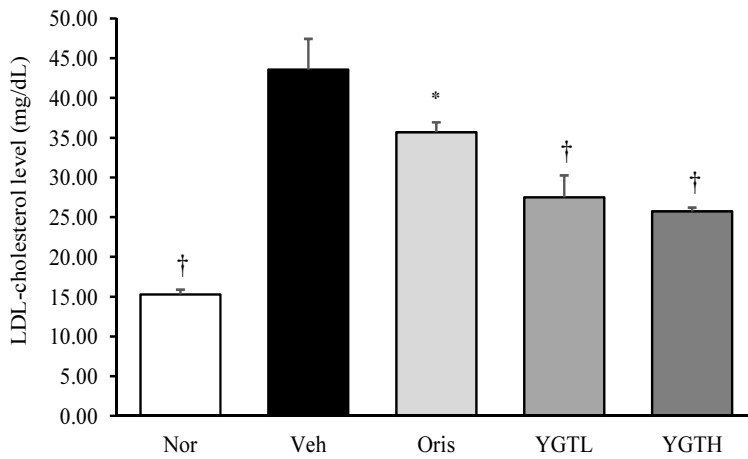


Fig. 10. LDL-cholesterol level in mice fed high fat diet.

All data are expressed means±SEM, n=9 mice per group.

Significance: * $p < 0.05$, † $p < 0.001$ vs. Veh.

Nor; normal mice, Veh; high fat diet fed mice, Oris; high fat diet plus Orlistat 40 mg/kg body weight, YGTL; high fat diet plus YGT 1.08 g/kg body weight, YGTH; high fat diet plus YGT 2.16 g/kg body weight.

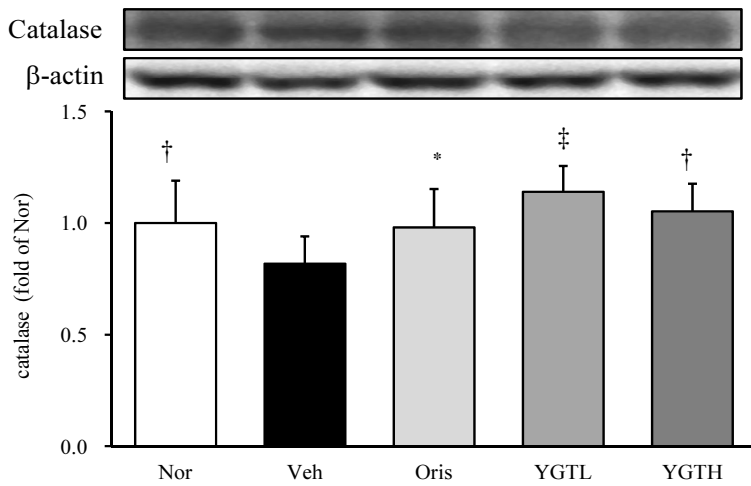


Fig. 11. The effects of YGT on the catalase protein expression in high fat diet fed mice.

All data are expressed means±SEM, n=9 mice per group.

Significance: * $p < 0.05$, † $p < 0.01$, ‡ $p < 0.001$ vs. Veh.

Nor; normal mice, Veh; high fat diet fed mice, Oris; high fat diet plus Orlistat 40 mg/kg body weight, YGTL; high fat diet plus YGT 1.08 g/kg body weight, YGTH; high fat diet plus YGT 2.16 g/kg body weight.

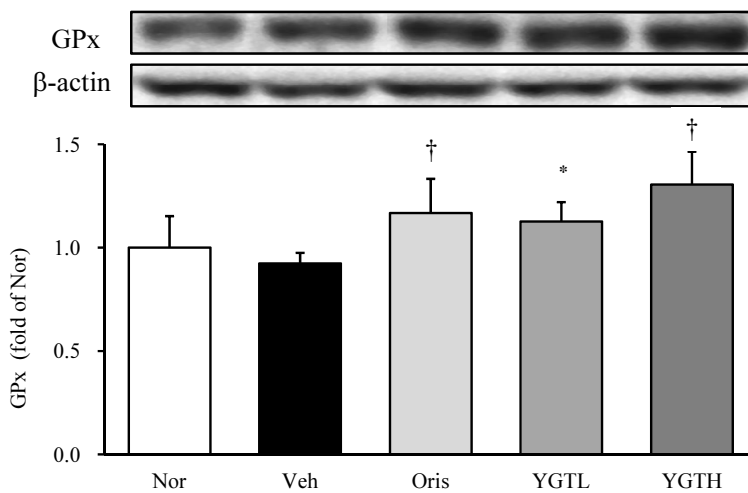


Fig. 12. The effects of YGT on the GPx protein expression in high fat diet fed mice.

All data are expressed means±SEM, n=9 mice per group.

Significance: * $p < 0.01$, † $p < 0.001$ vs. Veh.

Nor; normal mice, Veh; high fat diet fed mice, Oris; high fat diet plus Orlistat 40 mg/kg body weight, YGTL; high fat diet plus YGT 1.08 g/kg body weight, YGTH; high fat diet plus YGT 2.16 g/kg body weight.

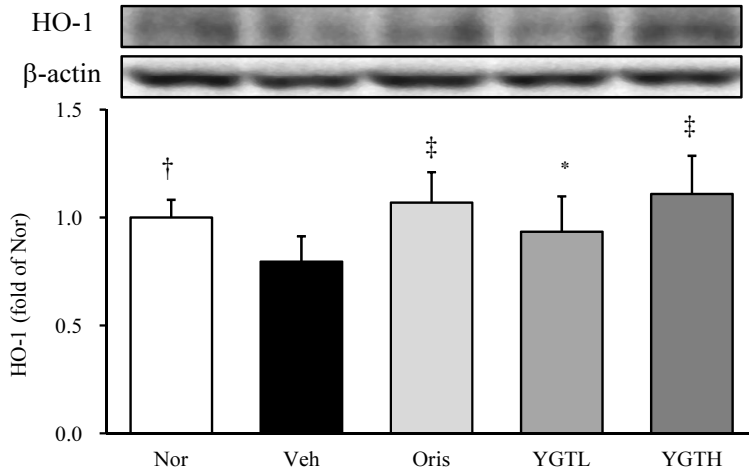


Fig. 13. The effects of YGT on the HO-1 protein expression in high fat diet fed mice. All data are expressed means±SEM, n=9 mice per group. Significance: * p <0.05, † p <0.01, ‡ p <0.001 vs. Veh, Nor; normal mice, Veh; high fat diet fed mice, Oris; high fat diet plus Orlistat 40 mg/kg body weight, YGTL; high fat diet plus YGT 1.08 g/kg body weight, YGTH; high fat diet plus YGT 2.16 g/kg body weight.

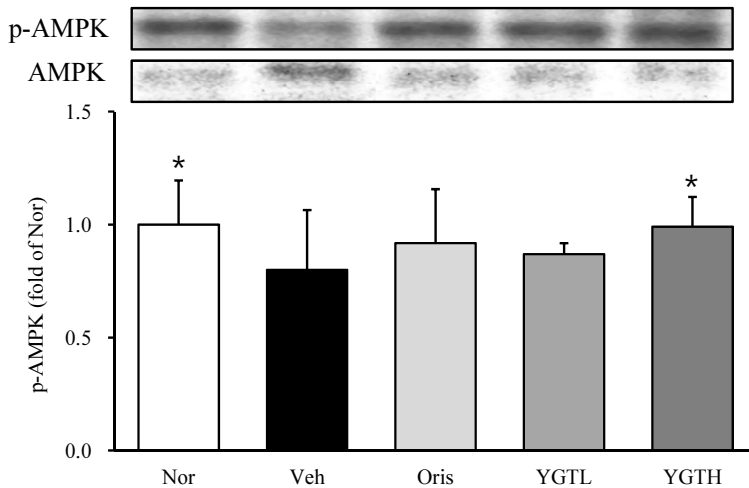


Fig. 14. The effects of YGT on the p-AMPK protein expression in high fat diet fed mice. All data are expressed means±SEM, n=9 mice per group. Significance: * p <0.05 vs. Veh, Nor; normal mice, Veh; high fat diet fed mice, Oris; high fat diet plus Orlistat 40 mg/kg body weight, YGTL; high fat diet plus YGT 1.08 g/kg body weight, YGTH; high fat diet plus YGT 2.16 g/kg body weight.

1.07±0.14, YGTH군 1.11±0.18 은 Veh군에 비하여 발현량이 유의하게 증가하였다 (p <0.05, p <0.001)(Fig. 13).

8. 간 조직 내 지방생성 관련 단백질

1) p-AMPK

간 조직에서 p-AMPK 단백질 활성을 분석한 결과 Veh군은 0.80±0.26 으로 Nor군 1.00±0.19 에 비하여 발현량이 유의하게 감소하였다 (p <0.05). YGTH군 0.99±0.13 은 Veh군에 비하여 발현량이 유의하게 증가하였다 (p <0.05). Oris군 0.92±0.24 과 YGTL군 0.87±0.05 은 Veh군에 비하여 발현량이 증가하였으나 유의하지 않았다 (Fig. 14).

2) SREBP-1

간 조직에서 SREBP-1 단백질 활성을 분석한 결과 Veh군은 1.69±0.26 으로 Nor군 1.00±0.29 에 비하여 발현량이 유의하게 증가하였다 (p <0.001). Oris군 1.06±0.27, YGTL군 1.05±0.24과 YGTH군 1.03±0.27 모두 Veh군에 비하여 발현량이 유의하게 감소하였다 (p <0.001)(Fig. 15).

3) p-ACC

간 조직에서 p-ACC 단백질 활성을 분석한 결과 Veh군은 2.39±0.53 으로 Nor군 1.00±0.54 에 비하여 발현량이 유의하게 증가하였다 (p <0.001). YGTL군 0.51±0.11 과 YGTH군 0.85±0.31 은 Veh군에 비하여 발현량이 유의하게 감소하였다 (p <0.001). Oris군 1.97±0.76 은 Veh군에

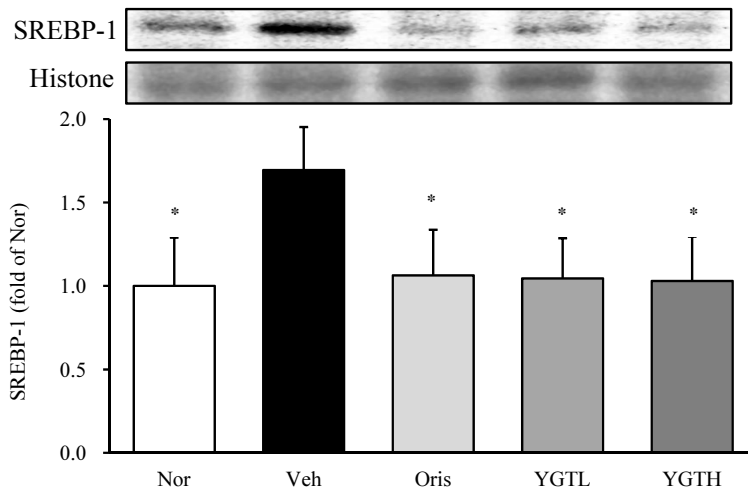


Fig. 15. The effects of YGT on the SREBP-1 protein expression in high fat diet fed mice.

All data are expressed means±SEM, n=9 mice per group.

Significance: * $p < 0.001$ vs. Veh.

Nor; normal mice, Veh; high fat diet fed mice, Oris; high fat diet plus Orlistat 40 mg/kg body weight, YGTL; high fat diet plus YGT 1.08 g/kg body weight, YGTH; high fat diet plus YGT 2.16 g/kg body weight.

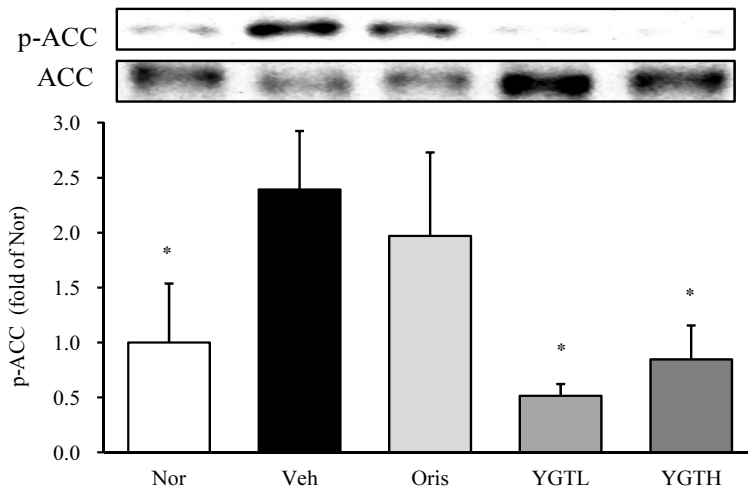


Fig. 16. The effects of YGT on the p-ACC protein expression in high fat diet fed mice.

All data are expressed means±SEM, n=9 mice per group.

Significance: * $p < 0.001$ vs. Veh.

Nor; normal mice, Veh; high fat diet fed mice, Oris; high fat diet plus Orlistat 40 mg/kg body weight, YGTL; high fat diet plus YGT 1.08 g/kg body weight, YGTH; high fat diet plus YGT 2.16 g/kg body weight.

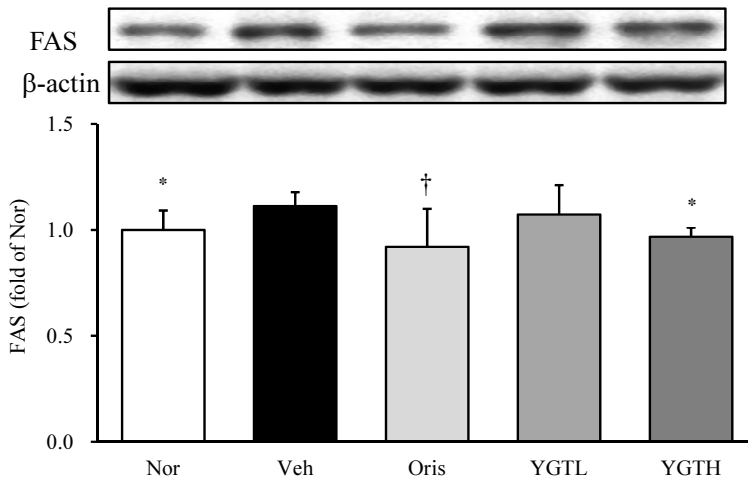


Fig. 17. The effects of YGT on the FAS protein expression in high fat diet fed mice.

All data are expressed means±SEM, n=9 mice per group.

Significance: * $p < 0.05$, † $p < 0.001$ vs. Veh.

Nor; normal mice, Veh; high fat diet fed mice, Oris; high fat diet plus Orlistat 40 mg/kg body weight, YGTL; high fat diet plus YGT 1.08 g/kg body weight, YGTH; high fat diet plus YGT 2.16 g/kg body weight.

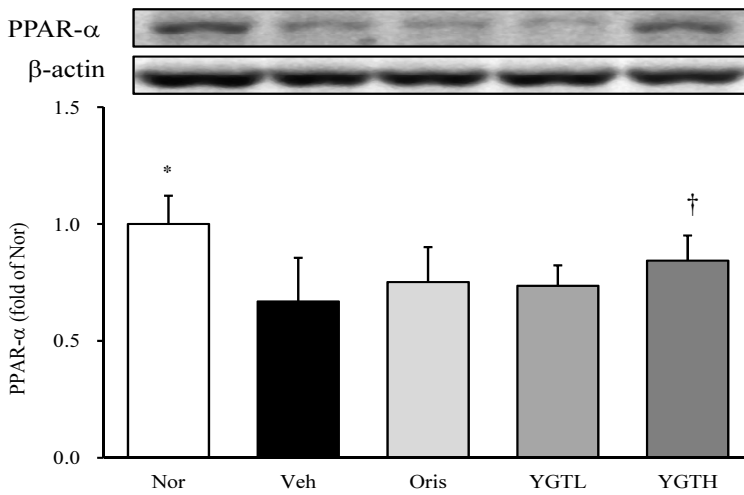


Fig. 18. The effects of YGT on the PPAR- α protein expression in high fat diet fed mice. All data are expressed means \pm SEM, n=9 mice per group. Significance: * p <0.05, † p <0.01 vs. Veh. Nor; normal mice, Veh; high fat diet fed mice, Oris; high fat diet plus Orlistat 40 mg/kg body weight, YGTL; high fat diet plus YGT 1.08 g/kg body weight, YGTH; high fat diet plus YGT 2.16 g/kg body weight.

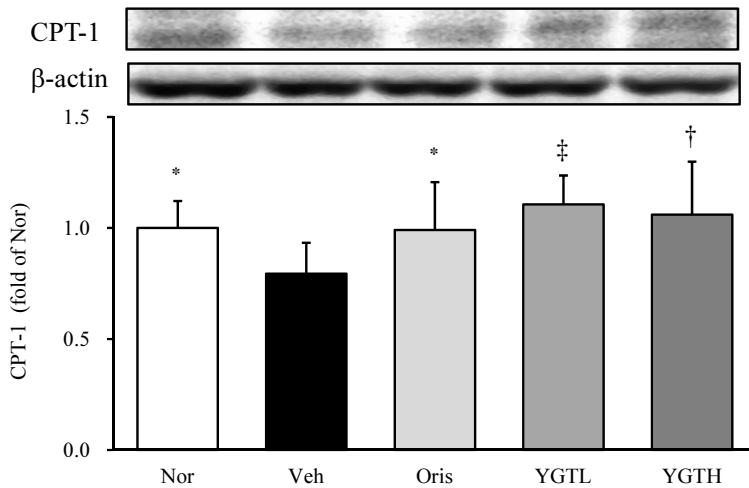


Fig. 19. The effects of YGT on the CPT-1 protein expression in high fat diet fed mice. All data are expressed means \pm SEM, n=9 mice per group. Significance: * p <0.05, † p <0.01, ‡ p <0.001 vs. Veh. Nor; normal mice, Veh; high fat diet fed mice, Oris; high fat diet plus Orlistat 40 mg/kg body weight, YGTL; high fat diet plus YGT 1.08 g/kg body weight, YGTH; high fat diet plus YGT 2.16 g/kg body weight.

비하여 발현량이 감소하였으나 유의하지 않았다 (Fig. 16).

4) FAS

간 조직에서 FAS 단백질 활성을 분석한 결과 Veh군은 1.11 \pm 0.07 로 Nor군 1.00 \pm 0.09 에 비하여 발현량이 유의하게 증가하였다 (p <0.05). Oris군 0.92 \pm 0.18 은 Veh군에 비하여 발현량이 유의하게 감소하였고 (p <0.001), YGTH군 0.97 \pm 0.04 Veh군에 비하여 발현량이 유의하게 감소하였다 (p <0.05). 그러나, YGTL군 1.07 \pm 0.14 은 Veh군에 비하여 발현량이 감소하였으나 유의하지 않았다 (Fig. 17).

9. 간 조직 내 지방산화 열 생성 관련 단백질

1) PPAR- α

간 조직에서 PPAR- α 단백질 활성을 분석한 결과 Veh군은 0.67 \pm 0.19 로 Nor군 1.00 \pm 0.12 에 비하여 발현량이 유의하게 감소하였다 (p <0.05). YGTH군 0.84 \pm 0.11은 Veh군에 비하여 발현량이 유의하게 증가하였다 (p <0.01). 그러나, Oris군 0.75 \pm 0.15 과 YGTL군 0.74 \pm 0.09 은 Veh군에 비하여 발현량이 증가하였으나 유의하지 않았다 (Fig. 18).

2) CPT-1

간 조직에서 CPT-1 단백질 활성을 분석한 결과 Veh군은 0.79 \pm 0.14 로 Nor군 1.00 \pm 0.12 에 비하여 발현량이 유의

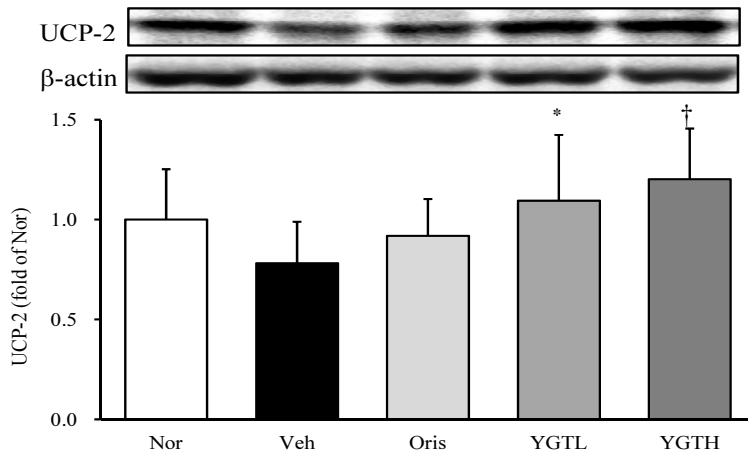


Fig. 20. The effects of YGT on the UCP-2 protein expression in high fat diet fed mice.

All data are expressed means±SEM, n=9 mice per group.

Significance: * $p < 0.01$, † $p < 0.001$ vs. Veh.

Nor; normal mice, Veh; high fat diet fed mice, Oris; high fat diet plus Orlistat 40 mg/kg body weight, YGTL; high fat diet plus YGT 1.08 g/kg body weight, YGTH; high fat diet plus YGT 2.16 g/kg body weight.

하게 감소하였다 ($p < 0.05$). Oris군 0.99 ± 0.22 , YGTH군 1.06 ± 0.24 , YHL군 1.11 ± 0.13 으로 Veh군에 비하여 발현량이 유의하게 증가하였다 ($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$) (Fig. 19).

3) UCP-2

간 조직에서 UCP-2 단백질 활성을 분석한 결과 Veh군은 0.78 ± 0.21 로 Nor군 1.00 ± 0.25 에 비하여 발현량이 감소하였으나 유의하지 않았다. YGTL군 1.09 ± 0.33 , YGTH군 1.20 ± 0.25 로 Veh군에 비하여 발현량이 유의하게 증가하였다 ($p < 0.01$, $p < 0.001$). 그러나, Oris군 0.92 ± 0.18 은 Veh군에 비하여 발현량이 증가하였으나 유의하지 않았다 (Fig. 20).

고찰»»»»

국민건강통계에 따르면 비만 유병률은 1998년 26.0%에서 2007년 31.7%로 증가한 후 8년간 약 31~33% 수준을 유지하고 있다. 남자는 2005년부터 2011년까지는 약 35% 수준이었으나 2012년부터 점차 증가하여 2015년에는 39.7%이었다. 여자는 1998년부터 2015년까지 약 23~27% 수준을 유지하고 있다. 주관적 비만 인자율은 2001년 72.5%에서 2007년에서 2009년까지 83.3%로 10.8% 증가한 후 약 85% 수준을 유지하고 있다²⁰⁾.

대중 매체 및 정보화 기기들로 인하여 현대인들의 미적 기준이 정상체중 이하로 인식됨에 따라 비만을 치료하기 위해 의료기관을 찾는 사람들의 수가 늘어나고 있으며

정상체중인 사람들도 다이어트와 체형관리를 하고 싶어 하는 사회 현상도 늘어나고 있다²¹⁾.

비만의 기본적인 치료방법은 식사, 운동 및 행동수정 요법이다. 약물 요법은 보조적인 치료법이나 실제로는 생활 습관 교정만으로 체중 감량이 효과적이지 않은 경우가 많기 때문에 상당수의 환자는 약물치료를 병행하게 된다²²⁾.

우리나라에서 현재 6개월 이상 장기적으로 사용이 허가된 약물로는 Orlistat과 로카세린 뿐이나 Orlistat의 경우 지방변, 대변급박, 설사 등 위장관계의 부작용으로 인해 사용에서의 어려움을 겪는 환자들이 많으며²³⁾, 이러한 이유로 천연물로부터 비만 치료제재를 얻어내려는 추세가 증가하고 있으며 특히 한약재를 비만에 이용하려는 시도가 증가하였다²⁴⁾.

한약 치료는 식욕 감소 및 포만감 유지를 통해 음식 섭취량을 줄여주면서 자율신경을 자극시켜 대사를 촉진하고 노폐물의 배설을 돕는다. 뿐만 아니라 지구력 감소를 방지하고, 다이어트에 따른 각종 부작용을 해결해주는 데 주안점을 두기도 한다²⁵⁾.

한의학에서 비만의 형태에 대한 언급은 『靈樞·衛氣失常篇』에서 肥人, 膏人, 肉人의 구분을 한 것이 처음인데, 肥膏肉의 형태적 구분으로 사람의 肥瘦大小와 血氣多少를 구분한다고 하였다¹⁾. 『素問·奇病論』에는 “數食甘味而多肥也”, 『素問·通評虛實論』에 “肥貴人即膏粱之疾也²⁶⁾”라 하여 비만의 원인을 밝혔고 『靈樞·逆順肥』에 “年質壯大血氣充盈膚革堅固因可以邪刺此者深而留之此肥人也²⁷⁾”이라 하여 비만의 병리적 특징을 설명하고 있다.

비만의 한의학적 원인으로 實證에는 濕, 痰, 瘀, 脾胃

積熱, 瘀血, 積聚 등이, 虛證에는 氣虛, 脾虛, 陽虛 등이 있으며, 그 외 飲食過多, 營養過乘, 活動過少, 先天稟賦와 體質, 外感濕邪, 內傷七情 등이 비만의 원인이라고 하였다²⁸⁾. 또한 변증별 치료법으로 脾虛에는 健脾利濕, 肝鬱에는 疎肝利氣, 胃熱에는 清熱利濕, 瘀血에는 利氣活血, 痰飲에는 健脾化痰, 陽虛에는 溫腎健脾하는 치료법이 이용되며, 비만의 치료에 많이 이용되는 한약처방에서는 부기를 빼주는 이뇨효과를 가지거나 식욕을 억제 또는 에너지 소비를 증가시키는 약재들이 사용되고 있다²⁹⁾.

본 연구에서 이용된 苓桂朮甘湯은 痰飲을 제거하는 처방으로 茯苓, 桂枝, 白朮, 甘草로 구성되어 있으며⁶⁾, 脾虛형 변증에 防己黃芪湯과 합방되어 健脾利濕하는 효과로 비만처방에 응용되었다¹⁾.

茯苓은 性は 平하고 味는 甘하며 心, 脾, 肺로 귀경하며 健脾, 利水滲濕, 寧心安神의 효능이 있으며¹¹⁾, 부종(edema)에 효과가 있다고 보고된 바 있다^{30,31)}. 또한 비만 고혈당증 db/db 마우스와 제2형 당뇨 마우스에茯苓에서 추출한 dehydrotrametenolic acid 경구투여시 고혈당증 감소를 보고하였다³²⁾.

桂枝는 性は 溫하고 味는 辛甘하며 心, 肺, 膀胱으로 귀경하며 發汗解肌, 溫經通脈, 助陽化氣의 효능을 갖고 있으며¹¹⁾, 지방합성을 줄이며 지방산 산화를 증가시켜 비만에방과 치료효과를 나타낸다는 보고가 있다³³⁾.

白朮은 性は 溫하고 味는 苦甘하며, 脾, 胃로 귀경하며 健脾益氣, 燥濕利水, 止汗安胎의 효능을 갖고 있으며¹¹⁾, 고지방 섭취로 유발된 비만형 동물모델에서 체중감량, 지질개선 효과 및 3T3-L1 지방세포에서 인슐린 조절 경로를 활성화시키는 효능에 대한 보고가 있다^{34,35)}.

甘草는 性は 平하고 味는 甘하며 心, 肺, 脾, 胃로 귀경하며 和中緩急, 潤肺, 解毒, 調和諸藥의 효능을 갖고 있으며¹¹⁾, 혈당과 복부지방을 감소시키는 성분을 함유하고 있어, 비만과 당뇨병 예방에 효과가 있다고 보고하고 있으며³⁶⁾, 4주간의 甘草 추출물 (Glabridin)섭취가 쥐의 혈중 지질 성분을 감소시킨다는 보고가 있다³⁷⁾.

黃芪는 性は 溫하고 味는 甘하며 肺, 脾로 귀경하며 益氣固表, 利水消腫, 托毒, 生肌, 補中益氣의 효능을 갖고 있으며¹¹⁾, 비만형 당뇨병 동물모델에서 인슐린저항성 개선, 혈당강화 효과 및 adenosine mono phosphate (AMP)-activated protein kinase (AMPK)증가 효과가 있음이 밝혀져 있다^{12,13)}.

단일약재로써 이와 같은 항비만 효과를 가진 苓桂朮甘湯은 복합제재로써 항비만 관련 연구는 없으며, 비만의 實證원인인 濕痰을 제거하는 苓桂朮甘湯에 虛證원인인 脾胃氣虛를 補하는 黃芪를 加味한 苓桂朮甘湯 加 黃芪 (YGT)를 본 실험에 이용하였다.

따라서 본 연구에서는 YGT가 비만증의 체지방 감소 및 비만과 동반되는 고지혈증, 활성산소에 미치는 영향을 조사하고자 고지방식이로 유도된 비만 마우스 동물 모델에서 정상군(Nor), 대조군(Veh), 양성대조군 orlistat 40 mg/kg(Oris), YGT 저농도 투여군 1.08 g/kg(YGTL), YGT 고농도 투여군 2.16 g/kg(YGTH)으로 나누어 5주간 매일 일정량을 투여하고 체중, 체내 지질함량, 활성산소종, 항산화단백질, 지방산 합성 및 산화관련 유전자의 발현에 대하여 분석하였다.

Veh군은 Nor군에 비교하여 체중 증가를 보였으며, Veh군과 비교해서 Oris군, YGTL군, YGTH군에서 체중이 유의하게 감소하였다 (Table V). 비만에 있어서 체중이 증가하는 것보다 체지방의 증가, 특히 복강 내에 위치한 지방조직의 증가가 건강상에서 더 위험요인으로 작용한다는 보고가 있다³⁸⁾. 실험에서 부고환지방의 무게는 Veh군에 비해 YGTH군에서 유의하게 감소하였고, YGTL군에서 감소하는 경향을 확인 할 수 있으나 유의하지 않았다 (Fig. 2, 3).

산화적 스트레스는 다양한 인자에 의한 유리기 또는 활성산소 (free radical, reactive oxygen species, ROS)의 생성과 항산화 물질에 의한 제거의 불균형으로 정의할 수 있다³⁹⁾. 비만으로 인한 지방세포의 크기와 양적 증가는 조직에 산화스트레스를 증가시킨다. 이러한 산화스트레스는 많은 지방세포에 아디포카인(adipokines)을 발현시키고, 활성산소를 증가시킨다⁴⁰⁾.

비만은 지방전구세포의 분화 및 비대 이후의 지방세포 내 TG의 축적으로 발생하며 지방생성기전 조절과 분화 과정에서 발생하는 활성 산소를 제거하는 것이 비만 억제의 효과적인 방법으로 알려져 있다⁴¹⁾.

SOD는 항산화 효소로서 세포에 유해한 활성산소를 과산화수소로 전환시키고 다시 Catalase에 의하여 무해한 물 분자와 산소분자로 전환시켜 활성산소로부터 생체를 보호하여 산화방지와 노화 억제에 밀접한 관계가 있다⁴²⁾. 다른 항산화 효소 중 하나인 GPx는 세포와 혈중에 존재하여 과산화수소와 그 밖의 유리과산화물을 제거하는 작

용을 하며⁴³), Catalase는 SOD에 의해 전환되어진 과산화수소가 더 강력한 유리기를 형성하지 못하도록 하는데 필요한 효소이다⁴⁴). HO-1은 항산화, 항세포사멸, 항염증 효과를 갖는 효소로 알려져 있으며⁴⁵), 산화스트레스 등의 여러 가지 자극들이 HO-1의 유도인자가 될 수 있다고 알려져 있다⁴⁶).

실험결과 DPPH와 ABTS 자유 라디칼 소거능이 나타났으며 (Table IV), ROS는 Veh 군에 비해 YGTL, YGTH군에서 유의하게 감소하여 항산화 활성 효과를 확인할 수 있었다 (Fig. 5). 또한 GPx, Catalase, HO-1 활성치는 YGTL, YGTH 모두가 Veh 군보다 높은 경향을 나타내었다 (Fig. 11, 12, 13). 생체 내에서 항산화계 효소들로 분류되는, 이러한 효소들의 활성이 증가한 경우 생체 내에 증가된 산화물질들의 제거가 활발하게 진행되었음을 의미한다⁴⁷). 따라서 YGT가 생체 내 지질과산화물질의 축적을 억제하여 산화장애로 인한 각종 질환의 예방과 비만 치료에 긍정적으로 작용할 것으로 생각한다.

AST, ALT 효소는 간세포 내에 존재하는 효소이며, 세포가 파괴되거나 사멸하는 경우에 혈액 속으로 분비되어 혈액 내에서도 일정량이 검출될 수 있다. 약물의 독성, 지방간, 알코올과 고지방의 섭취로 인한 지방대사이상 등의 이유로 간에 염증이나 세포의 파괴가 일어나면 정상적인 양보다 더 많은 AST, ALT가 혈액 속으로 분비된다⁴⁸).

본 실험 결과에서 Veh 군의 AST, ALT의 혈청 내 수준이 Nor군에 비하여 증가되었고 YGTL, YGTH 군에서 유의성 있게 감소된 결과를 보여주어 (Fig. 5, 6), YGT가 간 조직 내에서 지질 축적을 억제해 간기능 손상을 방지하는 것으로 사료된다.

TG는 전신 조직의 주성분으로 체내 에너지저장에 관여하며, TC는 인지질과 함께 세포막의 성분으로 그리고 각종 호르몬 생산의 원료나 담즙산의 전구체로 중요한 지질이며, 대부분은 간에서 합성되지만 동맥경화증, 당뇨병, 신장질환, 췌장염, 갑상선 기능 저하증 등에서 높은 수치를 나타낸다⁴⁹).

HDL-C는 동맥으로부터 콜레스테롤을 간으로 운반해주는 지질단백질인데, 혈액 중에 HDL-C가 증가하면 혈액 및 조직으로부터 간에 이르는 콜레스테롤 운반능력을 높여 줌으로써, 콜레스테롤의 역수송에 의하여 혈액 콜레스테롤을 제거하여 동맥경화와 혈관 장애 개선에 효과를 갖는다. 이외에도 HDL-C는 혈관 내피의 adhesive mole-

cule의 발현을 낮추고 혈소판 응집을 억제하여, 항염증, 항혈전 효과를 낸다⁵⁰). 반면에 LDL-C는 동맥 내에서 콜레스테롤의 축적에 관계하는 가장 주요한 지질 운반체가 되며, 콜레스테롤을 간에서 혈액 및 신체 내 여러 부위의 말초 조직의 세포 속으로 수송한다. 체내의 항상성에 의해 균형을 이루고 있는 몸속의 지질의 균형이 무너지면 LDL-C는 증가하고, HDL-C는 감소하여 동맥경화증, 고혈압 및 심혈관계 질환을 유발한다⁵¹).

비만과 같은 대사성질환의 경우 혈중 TG, TC 및 LDL-C 농도가 증가하는 반면 HDL-C 혈중농도는 감소하는 경향을 보이게 된다⁵²). Veh군은 Nor군에 비하여 혈청 중 TG, TC, LDL-C 함량이 증가하고 HDL-C 함량이 감소하였으며, Veh군과 비교해서 YGTL 군과 YGTH 군에서 TG, TC, LDL-C 함량이 유의하게 감소하였고, HDL-C 함량이 유의하게 증가하였다 (Fig. 7, 8, 9, 10). 따라서 YGT는 혈중 지질 함량을 감소시켜 비만으로 야기되는 고지혈증 및 관상동맥질환을 낮추는 효과가 있을 것으로 사료된다.

AMPK는 serine/threonine kinase의 일원으로 세포 내 에너지 상태를 감지하는 효소로서⁵³), 세포 내 에너지가 부족한 상황에서 활성화되어 정상 에너지 균형을 회복시키기 위해 ATP를 소비하는 과정 즉 지방산, 콜레스테롤 등의 합성을 억제하고, ATP를 생산하는 과정 즉 지방산 산화, 해당과정을 활성화 시킨다⁵⁴).

간에서 지질을 생합성하는 데 관여하는 주요 전사인자로 알려진 SREBP-1은 지방산과 콜레스테롤의 생합성 효소들(FAS, ACC, SCD-1, ATP citrate lyase)의 mRNA 발현을 증가시키며, 이 과정에서 발현된 FAS는 acetyl-CoA와 malonyl-CoA로부터 palmitate의 합성을 촉진시키고, NADPH 존재 하에 장쇄 포화지방산으로 전환시키는 역할을 하며, 세포내 지질합성 및 축적에 중요한 역할을 한다고 보고되었다⁵⁵). ACC는 지방대사가 증가할 경우에 생성되는 효소 물질로서⁵⁶), 지방산 합성에서 AMPK가 ACC 등 핵심 효소를 억제함으로써 ATP의 추가적 사용을 제한하게 된다⁵⁷). 지질합성에 있어 주요 전사인자로 SREBP-1c 및 FAS, Acetyl-CoA carboxylase1 (ACC1)의 과발현은 비만증 및 만성적인 지방간의 발달과 연관되어있다⁵⁸).

본 연구 결과에서 p-AMPK 단백질이 YGTH군에서 유의하게 증가하여, AMPK 경로를 통한 지방축적 억제 기전 활성화를 추정할 수 있으며 (Fig. 14), SREBP-1, FAS, p-ACC 단백질 활성 분석결과 Nor군과 비교하여 Veh군에

서 현저하게 증가하였고, YGTL 군과 YGTH 군에서 유의하게 발현량이 감소하였다 (Fig. 15, 16, 17). 이 결과로부터 YGT는 지방세포 형성 및 세포내 지질축적을 감소시키는 효과가 있는 것으로 생각한다.

PPAR- α 는 주로 간에 많이 분포되어 있으며, 핵 수용체로써 활성화되면 미토콘드리아 내로 지방산의 흡수를 도우며, 지방산 산화에 필요한 핵 내 유전자 발현을 증가시킨다⁵⁹⁾. PPAR- α 는 신장, 심장, 골격근과 갈색지방조직 등 대사적 활성을 보이는 여러 조직에서 발현되며, 특히 간과 근육에서 지방산 산화를 통해 에너지 저장을 줄이는 기능을 맡고 있으며⁶⁰⁾, CPT-1은 지방산 산화의 율속 효소로 지방산을 미토콘드리아 내로 유입시키는데 관여한다⁶¹⁾. 지방산이 세포내로 유입되어 산화되기 위해서는 막 내부의 전이효소를 필요로 하는데 CPT-1은 이러한 전이효소의 하나로 지질 이용의 주요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다⁶²⁾.

UCP-2는 지질 대사 및 에너지 소비에 영향을 미치며, 미토콘드리아에서 UCP-2에 의해 유도된 언커플링은 ATP 합성을 감소시키고, 글루코오스와 반응하여 인슐린 분비를 감소시키고 지방산 산화조절에 관여하여⁶³⁾, ATP 생산의 동반없이 지방산의 산화를 진행시키고 동시에 발생하는 자유에너지는 열로 방출시키는 역할을 한다⁶⁴⁾.

본 연구에서 지방산 산화에 관여하는 인자를 분석한 결과 Nor군과 비교하여 Veh군에서는 PPAR- α , CPT-1, UCP-2의 발현이 감소하였으며, YGTL군과 YGTH군에서는 Veh군과 비교하여 발현이 증가하는 경향을 보였다 (Fig. 18, 19, 20). 이결과는 YGT가 간 조직 내 지방산 산화를 촉진시키는 효과를 통하여 체지방증가를 억제하는 것으로 보인다.

실험결과를 종합하면, 苓桂朮甘湯 加 黃芪가 체중과 부고환지방의 무게를 감소시키고, 혈중 지질농도를 개선하였다. 항산화 단백질의 활성을 증가시켰으며, 지방산 합성 관련 인자의 발현을 감소시키고, 지방산 산화 및 소비에 관여하는 인자의 발현을 증가시켰다. 그러나 본 연구는 실험적 개선 효과들이 한약재의 단일 성분 작용인지 복합작용으로 나타난 것인지 정확히 밝힐 수 없는 한계가 있으며 추후 약리적인 연구가 필요할 것으로 보인다. 그럼에도 불구하고 苓桂朮甘湯 加 黃芪는 항산화기능과 함께 체지방 축적을 억제 및 체지방 대사를 촉진하는 효과가 확인되어 비만 예방 및 개선하는데 활용할 수 있다

고 생각한다.

결론»»»»

고지방식이 유도 비만생쥐에 苓桂朮甘湯 加 黃芪를 투여하여 체중 증가량, 간 조직의 무게, 간 조직의 형태학적 변화, 부고환지방 무게, ROS, 항산화 관련 단백질, 혈청 내의 지질함량, 간 조직에서 지방산 합성 및 산화와 관련된 인자 발현을 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 苓桂朮甘湯 加 黃芪는 고지방식으로 인한 체중의 증가를 유의하게 억제하였으며, 부고환지방의 무게를 유의하게 감소시켰다.
2. 苓桂朮甘湯 加 黃芪는 고지방식으로 증가된 실험동물의 혈청 내 ROS, TG, TC, LDL-C의 함량을 유의하게 감소시켰으며, 고지방식으로 감소된 혈청 내 HDL-C의 함량을 유의하게 증가시켰다.
3. 苓桂朮甘湯 加 黃芪는 항산화단백질인 GPx, Catalase, HO-1의 발현량을 유의하게 증가시켰다.
4. 苓桂朮甘湯 加 黃芪는 간 조직에서 지방산 소비 관련 단백질인 p-AMPK의 발현량을 유의하게 증가시켰으며, 지방산 합성관련 유전자 SREBP-1, FAS, p-ACC의 발현량을 유의하게 감소시켰고, 지방산 산화관련 유전자 PPAR- α , CPT-1, UCP-2의 발현량을 유의하게 증가시켰다.

이상의 결과를 종합할 때 苓桂朮甘湯 加 黃芪는 지질 대사와 항산화능에 영향을 주고 체지방 축적을 억제 및 체지방 대사를 촉진함으로써 비만 관련 질환의 예방과 치료에 사용될 수 있으며 향후 임상적용을 위해 연구가 필요할 것으로 생각한다.

References»»»»

1. The Society of Korean Medicine Rehabilitation, Korea rehabilitation medicine, 4th ed. Seoul:Koonja, 2015:295-319.
2. Yin J, Zhang H, Ye J. Traditional chinese medicine in treatment of metabolic syndrome. Endocr Metab Immune Disorder Drug Target. 2008;8(2):99-111.
3. Kim JM, Choi SM, Yang DH, AN HD. The effect of oral administration at herbal medicines in animal models on

- obesity: a review of animal study reports published in Korea after 2010. *Journal of Korean Medicine Rehabilitation*. 2017;27(3):13-32.
4. Kim BT, Cho HG. The Bibliographical Study on Causes, Mechanisms and the Chief Virtues on Obesity. *Daejeon University Institute of Oriental Medicine journal*. 1992;1(2):61-71.
 5. Jang JG. *Junggyeongjeonseo*. Seoul:Daeseongmunhwasa. 1984:153-4, 391-2.
 6. Heo J. *Donguibogam*. Seoul:Bupin Publishes. 2005:291-2, 501.
 7. Hong CH, Kim NK, Lee SH, Du IS, Hwang CY. The immunosuppressive effect of Younggachulgam-tang through inhibition of nuclear translocation of transcription factor. *The Journal of Oriental Medical Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology*. 2003;16(2):119-37.
 8. Park SA, Kim TH, Yang KS. Effects of Youngkaechulgamtang on the kidney function. *Kor J Pharmacogn*. 2000;31(3):364-72.
 9. Kim TH, Yang KS, Park SA. Effects of Youngkaechulgamtang on hepatotoxicity. *Kor J Pharmacogn*. 1999;30(1):12-7.
 10. Song JS, Lee YJ, Choi JH, Kim JH, Park SY, Seo MS. Three cases of benign paroxymal positional vertigo patient treated with Yeonggyechulgam-tang. *The Journal of Oriental Medical Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology*. 2010;23(2):210-7.
 11. Association of Professors of Herbology, Korean Medicine, Herbology. Seoul:Yonglimsa;2006: 156-7, 348-9, 579-87.
 12. Liu M, Wu K, Mao X, Wu Y, Ouyang J. Astragalus polysaccharide improves insulin sensitivity in KKAY mice: regulation of PKB/GLUT4 signaling in skeletal muscle. *J Ethnopharmacol*. 2010;127(1):32-7.
 13. Zou F, Mao XQ, Wang N, Liu J, Ou-Yang JP. Astragalus polysaccharides alleviates glucose toxicity and restores glucose homeostasis in diabetic states via activation of AMPK. *Acta Pharmacol Sin*. 2009;30(12):1607-15.
 14. Chen R, Shao H, Lin S, Zhang JJ, Xu KQ. Treatment with Astragalus membranaceus produces antioxidative effects and attenuates intestinal mucosa injury induced by intestinal ischemia-reperfusion in rats. *Am J Chin Med*. 2011;39(5):879-87.
 15. Folin O, Denis W. A colorimetric method for the determination of phenols (and phenol derivatives) in urine. *J Biol Chem*. 1915;22:305-8.
 16. Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2002;10(3):178-82.
 17. Blois MS. Antioxidants determination by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958;181:1199-200.
 18. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*. 1999;26(9-10):1231-7.
 19. Kooy NW, Royall JA, Ischiropoulos H. Oxidation of 2',7'-dichlorofluorescein by peroxyxynitrite. *Free Radic Res*. 1997;27(3):245-54.
 20. Korea National Health and Nutrition Examination Survey. 2014. Available from: <https://knhanes.cdc.go.kr/knhanes/Index.do>
 21. Lee JS, Lee SH. The reductive effects of oriental medicine on the body fat and abdominal obesity. *Journal of Korean Medicine for Obesity Research*. 2001;1:33-42.
 22. Kim KS, Park SW. Drug therapy for obesity. *Korean J Obes*. 2012;21(4):197-202.
 23. Filippatos TD, Derdemezis CS, Gazi IF, Nakou ES, Mikhailidis DP, Elisaf MS. Orlistat-associated adverse effects and drug interactions. *Drug saf*. 2008;31(1):53-65.
 24. Keum SO, Lee HI, Lee JH, Yoon YI, Kwon YM, Song YS. Effects of Gami-Cheongpyesagan-Tang on body fat in high fat diet-fed obese mice. *J Korean Med Obes Res*. 2015;15(2):75-92.
 25. Song MY, Kim HJ. Analysis of main single medicinal herbs for anti-obesity. *J Korean Med Obes Res*. 2013;13(2):51-7.
 26. Yang YG. *Naegyeongsomunyeokhae*. Seoul:Daeseongmunhwasa. 1990:235-43, 356-61.
 27. Yang YG. *Naegyeongyeongchuyeokhae*. Seoul:Seongbosa. 1990:303-9.
 28. Kim SH, Lee BJ. The study of record relate with the notion, the diagnosis and treatment for obesity. *Daejeon University Institute of Oriental Medicine journal*. 1998;7(1):533-41.
 29. Kang SA, Jang KH, Park SK, Lim JP, Jeon H, and Cui X, Leem KH. Effects of herbal composition on obese rats fed high diet. *Kor J Herbology*. 2003;18(4):59-64.
 30. Kaminaga T, Yasukawa K, Kanno H, Tai T, Nunoura Y, Takido M. 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):382-5.
 31. Nukaya H, Yamashiro H, Fukazawa H, Ishida H, Tsuji K. Isolation of inhibitors of TPA-induced mouse ear edema from *Hoelen*, *Poria cocos*. *Chem Pharm Bull*. 1996;44(4):847-9.
 32. Sato M, Tai T, Nunoura Y, Yajima Y, Kawashima S, Tanaka K. Dehydro-trametenolic acid induces pre-adipocyte differentiation and sensitizes animal models of noninsulin-dependent diabetes mellitus to insulin. *Biol Pharm Bull*. 2002;25(1):81-6.
 33. Huang B. Anti-obesity effect and action mechanism of cinnamaldehyde in 3T3-L1 adipocyte cells and high fat diet-induced obese mice [dissertation]. [Seoul]:Kyung Hee University;2011.

34. Kim CK, Kim M, Oh SD, Lee SM, Sun B, Choi GS, Kim SK, Bae H, Kang C, Min BI. Effects of *Atractylodes macrocephala* Koidzumi rhizome on 3T3-L1 adipogenesis and an animal model of obesity. *J ethnopharmacol*. 2011;137(1):396-402.
35. Han Y, Jung HW, Park YK. The roots of *Atractylodes japonica* Koidzumi promote adipogenic differentiation via activation of the insulin signaling pathway in 3T3-L1 cells. *BMC Complement Altern Med*. 2012;12(1):154.
36. Mae T, Kishida H, Nishiyama T, Tsukagawa M, Konishi E, Kuroda M, Mimaki Y, Sashida Y, Takahashi K, Kawada T, Nakagawa K, Kitahara M. A licorice ethanolic extract with peroxisome proliferator-activated receptor-gamma ligand-binding activity affects diabetes in KK-Ay mice, abdominal obesity in diet-induced obese C57BL mice and hypertension in spontaneously hypertensive rats. *J Nutr*. 2003;133(11):3369-77.
37. Ryu SP, Kwon TD, Yoe YG, Kim BS, Lee SCH. Effects of licorice-root-extracted food components ingestion on blood lipids concentration during exercise in rats. *The Korean Journal of Physical Education*. 2006;45(1):707-13.
38. Björntorp P. The associations between obesity, adipose tissue distribution and disease. *Acta Med Scand*. 1988;723:121-34.
39. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radical Bio Med*. 2010;49(11):1603-16.
40. Carrière A, Carmona MC, Fernandez Y, Rigoulet M, Wenger RH, Pénicaud L, Casteilla L. Mitochondrial reactive oxygen species control the transcription factor CHOP-10/GADD153 and adipocyte differentiation: a mechanism for hypoxia-dependent effect. *J Biol Chem*. 2004;279(39):40462-9.
41. Lee YJ, Yoon BR, Choi HS, Lee BY, Lee OH. Effect of *Sargassum micracanthum* extract on lipid accumulation and reactive oxygen species (ROS) production during differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *Korean J Food Preserv*. 2012;19(3):455-61.
42. Kim JS, Na CS, Kim YG. The involvement of oxygen free radicals in the onset of aging. *Korean J Ori Med*. 1997;3:229-39.
43. Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE, Swanson AB, Hafeman DG, Hoekstra WG. Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*. 1973;179(4073):588-90.
44. Kono Y, Fridovich I. Superoxide radical inhibits catalase. *J Biol Chem*. 1982;257(10):5751-4.
45. Surh YJ, Kundu JK, Li MH, Na HK, Cha YN. Role of Nrf2-mediated heme oxygenase-1 upregulation in adaptive survival response to nitrosative stress. *Arch Pharm Res*. 2009;32(8):1163-76.
46. Idriss NK, Blann AD, Lip GY. Hemeoxygenase-1 in cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52(12):971-8.
47. Kesavulu MM, Giri R, Kameswara Rao B, Apparao C. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in type 2 diabetics with microvascular complications. *Diabetes Metab*. 2000;26(5):387-92.
48. Plaa GL, Charbonneau M. Detection and evaluation of chemically induced liver injury. In: Hayes AW, Kruger CL, eds. *Principles and Methods of Toxicology*. 3rd ed. New York: Raven Press. 1994:839-70.
49. Lee GN, Kwon OH. *The clinical pathology file*. 3rd ed. Seoul: Uihakmunhwasa. 2000:155-99.
50. Schulze MB, Rimm EB, Shai I, Rifai N, Hu FB. Relationship between adiponectin and glycemic control, blood lipids, and inflammatory markers in men with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2004;27(7):1680-7.
51. Park BS. Effect of the feeding belly fat on plasma lipids levels in rats. *Korean J Food Sci Ani Resour*. 2004;24(2):189-97.
52. Tomkin GH. Atherosclerosis, diabetes and lipoproteins. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2010;8(7):1015-29.
53. Nammi S, Sreemantula S, Roufogalis BD. Protective effects of ethanolic extract of *Zingiber officinale* rhizome on the development of metabolic syndrome in high-fat diet-fed rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2009;104(5):366-73.
54. Kola B, Grossman AB, Korbonits M. The role of AMP-activated protein kinase in obesity. *Front Horm Res*. 2008;36:198-211.
55. Nepokroeff CM, Lakshmanan MR, Porter JW. Fatty acid synthase from rat liver. *Methods Enzymol*. 1975;35:37-44.
56. Pang J, Choi Y, Park T. *Ilex paraguariensis* extract ameliorates obesity induced by high-fat diet: potential role of AMPK in the visceral adipose tissue. *Arch Biochem Biophys*. 2008;476(2):178-85.
57. Landree LE, Hanlon AL, Strong DW, Rumbaugh G, Miller IM, Thupari JN, Connolly EC, Haganir RL, Richardson C, Witters LA, Kuhajda FP, Ronnett GV. C75, a fatty acid synthase inhibitor, modulates AMP-activated protein kinase to alter neuronal energy metabolism. *J Biol Chem*. 2004;279(5):3817-27.
58. Postic C, Girard J. Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice. *J Clin Invest*. 2008;118(3):829-38.
59. Lapsys NM, Kriketos AD, Lim-Fraser M, Poynten AM, Lowy A, Furler SM, Chisholm DJ, Cooney GJ. Expression of genes involved in lipid metabolism correlate with peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression in human skeletal muscle. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(11):4293-7.
60. Evans RM, Barish GD, Wang YX. PPARs and the complex journey to obesity. *Nat Med*. 2004;10(4):355-61.

61. Bruce CR, Hoy AJ, Turner N, Watt MJ, Allen TL, Carpenter K, Cooney GJ, Febbraio MA, Kraegen EW. Overexpression of carnitine palmitoyltransferase-1 in skeletal muscle is sufficient to enhance fatty acid oxidation and improve high-fat diet-induced insulin resistance. *Diabetes*. 2009;58(3):550-8.
62. McGarry JD, Brown NF. The mitochondrial carnitine palmitoyltransferase system: from concept to molecular analysis. *Eur J Biochem*. 1997;244:1-14.
63. Erlanson-Albertsson C. The role of uncoupling proteins in the regulation of metabolism. *Acta Physiol Scand*. 2003;178(4):405-12.
64. Adams SH. Uncoupling protein homologs: emerging views of physiological function. *J Nutr*. 2000;130(4):711-4.