

보중익기탕(補中益氣湯)이 streptozotocin 유발 당뇨병성 위부전마비 백서에 미치는 영향

강윤미^{1#}, 김효정^{1#}, 박윤범², 정찬문², 함성호², 양웅모³, 안효진^{1*}

1 : 상지대학교 한의과대학 약리학교실, 2 : 한국한약진흥원 한약재표준화팀, 3 : 경희대학교 한의과대학 융합한의학과의학교실

The Effects of Bojungikgi-tang on Streptozotocin-induced Diabetic Gastroparesis Rat Model

Yun-Mi Kang^{1#}, Hyo-Jung Kim^{1#}, Yun-Beom Park², Chan-Mun Jeong²
Seong-Ho Ham², Woong-Mo Yang³ and Hyo-Jin An^{1*}

1 : Department of Pharmacology, College of Korean Medicine, Sangji University, 83 Sangjidae-gil, Wonju-si, Gangwon-do 26339, Republic of Korea

2 : Korean Medicinal Herbs Standardization Team, National Institute for Korean Medicine Development, 288, Udeuraendeu-gil, Anyang-myeon, Jangheung-gun, Jeollanam-do, Republic of Korea

3 : Department of Convergence Korean Medicine, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University, Seoul, Republic of Korea

ABSTRACT

Objective : Diabetic gastroparesis is a complication that is defined as delayed gastric emptying and upper gastrointestinal symptoms and often occurs in long-standing diabetic patients. Bojungikgi-tang (BJT) is a traditional oriental herbal formula that has long been used for the treatment of digestive disorders. The purpose of this study was to investigate the effects of BJT on streptozotocin (STZ)-induced diabetic gastroparesis rat model.

Methods : Sprague-Dawley (SD) male rats (250-270g) were divided into 13 groups including normal group, STZ-induced diabetic control group, BJT diet (7 various concentrations), and insulin-, glibenclamide-, metformin-treated group were used for the experiments for the comparison. Diabetic gastroparesis was induced by intraperitoneal injection of STZ. The water intake, food intake, body weights and fasting blood glucose levels were measured. After 4 weeks the animals were sacrificed and gastrin, leptin, insulin, hemoglobin A1C (HbA1c), lactate, lactate dehydrogenase (LDH), bilirubin, creatinine, albumin and lipid levels were evaluated.

Results : Intraperitoneal injection of BJT for 4 weeks resulted in increased levels of gastrin in blood and decreased leptin and lactate concentration in STZ-induced diabetic gastroparesis rat model. BJT did not affect insulin, fasting glucose, HbA1c, and lipid levels in STZ-induced diabetic gastroparesis rat model.

Conclusion : These results indicated that BJT would have protect effect on diabetic gastroparesis through the improvement effect of gastric motility and fatigue syndrome in STZ-induced diabetic rats. This study shows that BJT might be effective for treatment of diabetes and its complications such as gastroparesis.

Key words : Bojungikgi-tang, diabetes, diabetic gastroparesis, streptozotocin

*Corresponding author : Hyo-Jin An, Department of Pharmacology, College of Korean Medicine, Sangji University, 83 Sangjidae-gil, Wonju-si, Gangwon-do, 26339, Republic of Korea,

· Tel : +82-33-738-7503 · Fax : +82-33-730-0679 · E-mail : hjan@sj.ac.kr

#First author : Yun-Mi Kang, Department of Pharmacology, College of Korean Medicine, Sangji University, 83 Sangjidae-gil, Wonju-si, Gangwon-do, 26339, Republic of Korea,

· Tel : +82-33-735-3881 · Fax : +82-33-730-0679 · E-mail : yunmi6115@naver.com

Hyo-Jung Kim, Department of Pharmacology, College of Korean Medicine, Sangji University, 83 Sangjidae-gil, Wonju-si, Gangwon-do, 26339, Republic of Korea,

· Tel : +82-33-735-3881 · Fax : +82-33-730-0679 · E-mail : hyojung_95@naver.com

· Received : 27 September 2019 · Revised : 08 November 2019 · Accepted : 30 November 2019

I. 서론

보중익기탕(補中益氣湯)은 황기(黃耆), 인삼(人蔘), 백출(白朮), 감초(甘草), 당귀(當歸), 진피(陳皮), 승마(升麻), 시호(柴胡), 생강(生薑), 대조(大棗)로 구성된 처방으로 동의보감(東醫寶鑑)에서 “노역(勞役)이 크게 심하고 또는 음식 조절을 하지 않아 번열(煩熱)하고 저절로 땀이 나며 권태(倦怠)한 증세를 치료한다”고 하였다¹⁻⁵⁾.

보중익기탕을 가지고 연구한 결과를 보면 항알러지(접촉성 피부염, 비염 등)^{6, 7)}, 다낭성난소증후군^{8, 9)}, 암관련 피로증후군¹⁰⁾, 천식 재발 방지¹¹⁾, 중풍의 개선⁸⁾, 운동선수의 피로예방⁹⁾, 방사선치료에서 면역유지¹⁰⁾, 알코올성 위 손상에 대한 보호효과¹¹⁾, 스트레스성 요실금의 개선¹⁶⁾, 만성폐쇄성호흡기 증후군 환자의 증상 개선^{17, 18)}, 천식과 아토피 및 알러지성 비염환자의 증상 개선¹⁹⁻²³⁾, 노인의 면역력 증강²⁴⁾, 무정자증의 개선²⁵⁾, 급성 호흡부전 증후군^{26, 27)} 및 헬리코박터 파일로리균에 대한 억제효과²⁸⁾ 등 다양한 약리효능²⁹⁻³⁷⁾이 보고되었다.

‘번열’은 ‘가슴이 답답하고 열이 나는 증’인데, 심한 노역에 의한 번열과 자한(自汗) 및 권태는 대체로 acidosis 상태를 의미하는 것으로 여겨진다. Acidosis는 심한 운동으로 포도당의 산소결핍성 산화로 나타나는 lactate 축적 및 지속적 지방 산화에 의해 산성화되는 현상으로 이러한 산성화는 폐결핵과 같은 소모성 질환에서도 나타난다. 음식조절을 하지 않아 나타나는 번열과 자한 및 권태는 에너지 대사 이상으로, 노역과 음식 조절이라는 측면에서 보면 혈당(고혈당 또는 저혈당)이나 지방(고지혈증 등) 또는 영양상태와 관련한 빈혈(과출혈성 질환, 산소결핍을 수반하는 호흡기질환 포함), 체액의 전해질 및 pH 평형 이상(acidosis, alkalosis, 열사병, 설사, 과도한 발한과 탈수, 신장이상 등)의 다양한 질환이 있으며, 증세가 ‘저절로 땀이 나며 권태를 수반한다’는 것은 공통적으로 산소결핍과 전신성 acidosis가 공통적으로 수반된 상태라 여겨진다.

당뇨병은 혈당조절이 되지 않는 대사성 질환으로 그 원인은 다양하게 밝혀지고 있으나 아직은 치료제가 없으며, 치명적인 합병증으로 진행되는 속도를 줄이는데 불과하다. 당뇨병의 합병증으로 소화기에서 나타나는 당뇨병성 위부전마비 증상은 메스꺼움, 역류, 포만감, 식욕부진이 진행되면서 결국 영양과 전해질 평형이 깨지면서 삶의 질을 현저히 떨어트리는 질환이다^{38, 39)}. 당뇨병이 악화되면 당뇨병성 망막증(retinopathy), 신증(nephropathy), 신경병증(neuropathy), 심혈관질환(coronary-artery disease), 뇌졸중(stroke) 및 최종적으로는 ketosis에 의한 coma로 사망하는 것으로 알려져 있는데, 초기의 임상 증상은 메스꺼움, 구갈, 다뇨, 체중감소, 복통 등이고 acidosis가 심해짐에 따라 호흡장애, 탈수, 혈압강하, 의식장애, 아세톤뇨증 등으로 악화된다⁴⁰⁾.

본 연구에서는 기 보고된 바에 따라 streptozotocin (STZ)으로 유발시킨 제1형 당뇨병 모델에서 보중익기탕을 경구투약하여 당뇨병성 위부전마비(diabetic gastroparesis) 개선효과로서 흡수 및 식이량과 체중의 변화, 공복혈당과 위 운동성 호르몬 및 소화호르몬 gastrin, 식욕호르몬 leptin, 당대사호르몬 insulin과 혈액 중 hemoglobin A1C (HbA1c), lactate, lactate dehydrogenase (LDH), bilirubin, creatinine, albumin 및 혈중 지질의 변화량을 조사하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물 및 사육조건

7주령 수컷 Sprague-Dawley rats(250~270g, 오리엔트바이오)를 3마리씩 케이지에 넣고 1주일 동안 12시간 간격으로 주야간 조명이 조절된 사육실(20~22℃, 상대습도 50~55%)에서 적응시켰다.

2. 약물 투여

약물은 함소아보중익기탕연조엑스(혼합단미엑스제 EBI6011, 함소아제약)를 구입하여 아래 투여 용량에 따라 멸균된 3차 정제수에 녹여 30분간 sonication 후 사용하였다. 사람 기준량(mg/kg, 성인 70 kg기준)에 대하여 1/4배(0.0833 g/kg), 1/2배(0.167 g/kg), 1배(0.333 g/kg), 3배(1 g/kg), 6배(2 g/kg), 12배(4 g/kg), 18배(6 g/kg)량을 물에 현탁하여 1일 3회, 4시간 간격으로 투약하였다.

3. 당뇨병성 위부전마비 유발

백서에 streptozotocin (cold 0.1M-citrate buffer, pH 4.5)을 60 mg/kg이 되게 복강주사(IP)하고 정상식이토록 하였으며, 3일 뒤 일정한 시각에 공복혈당이 약 10 mM(180 mg/dl) 이상이 되었는지를 측정하고 다음 무작위로 6마리씩을 1군으로 분류하였다. 각 약물은 용량에 맞춰 1일 3회 일정한 시각에 4주 동안 경구투약 하였으며, 대조약으로 인슐린(1 U/kg/day, 1일 1회, 피하주사; SC)과 경구용 항당뇨약으로서 glibenclamide (0.1 mg/kg, 1일 1회, 경구투여; PO)를 물에 현탁하여 투여하였고, 매일 약물 투약 직전 흡수량과 식이량을 측정하였다. 따로 당뇨환자에게 metformin을 투약 시 lactic acidosis가 악화된다는 보고가 있기에⁴¹⁾ 따로 1개 군을 metformin (metformin hydrochloride, 20 mg/kg, 1일 2회, 경구투여) 단독과 본 한약제제 성인상용량을 병용투여하여 비교하고자 하였다. 약물 투약 후 1주일 간격으로 매일 아침 투약 직전 꼬리정맥에서 공복 혈당을 측정하였다. 변화율의 경우 아래와 같이 계산하여 나타내었다.

$$\text{변화율(\%)} = \frac{\text{실측치}}{\text{초기치(STZ 처리 직전)}} \times 100$$

4. 관련 마커 측정

혈당 측정은 하루 전 절식시킨 다음 혈액을 채취하여 공복 혈당을 1주일 마다 동일한 시간에 공복 혈당의 변화를 측정하였다. 실험 종료 하루 전 절식시킨 백서에서 혈당을 측정하고 다음 각 약물을 경구투약하고, 1시간 후 CO₂ chamber에서 마취시켜 복대정맥으로 채혈하였다. 채취한 혈액을 사용하여 EDTA가 들어있는 시험관에 넣어 혈액의 HbA1c를 정량하고, 다른 하나는 EDTA처리한 다음 5,000 rpm으로 원심분리하여 혈장을 얻고, 혈장 중 위운동성호르몬(gastrin), 식욕 호르몬(leptin), 당대사호르몬(insulin) 및 혈청 중 lactate, LDH, bilirubin, creatinine, albumin과 혈장 중 지질(total cholesterol, triglyceride, HDL)을 ELISA법으로 정량하였다.

5. 통계분석

측정값은 평균 \pm 표준편차로 표현하였으며, 측정값의 통계 처리는 SPSS (Chicago, IL, USA)를 이용하여 분석하였고, one-way ANOVA 분석과 Dunnett's post hoc test를 사용하여 각 군 간의 통계적 유의성 검증을 실시하였다 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, and *** $P < 0.001$).

III. 결 과

1. 음수 및 식이량, 공복혈당의 변화에 대한 보중익기탕의 영향

STZ 투여는 실험동물에 당뇨병을 유발하는 가장 일반적인 방법으로, STZ를 투여한 동물은 인슐린을 분비하는 췌장의 베타세포가 산화됨으로써 당뇨병이 발생하며, 인간의 제1형 당뇨병과 유사한 증상을 보이는 것으로 알려져 있다. 백서에 STZ로 제1형 당뇨모델을 유도했으며 4주간 보중익기탕을 농도별로 경구투약하고 실험기간 동안 음수, 식이 체중변화 및 공복혈당을 확인하였다. STZ 투여로 당뇨병 이 유발된 백서는 정상군 대비 체중의 감소, 음수량, 식이량 및 혈당의 증가를 보였으나, 보중익기탕 투약군에서 유의미한 변화는 관찰되지 않았다 (Table 1-3).

Table 1. Effect of BJT on body weight in STZ-induced diabetic gastroparesis rat model

Administration group		Food intake/Body weight (g)			
		1 week	2 week	3 week	
Normal		359.3 \pm 27.7	386.0 \pm 50.2	393.6 \pm 37.3	
STZ	Control	336.9 \pm 40.5	362.6 \pm 42.6	364.0 \pm 42.9	
	BJT ^{a)}	\times 1/4, tid	329.5 \pm 9.3	344.6 \pm 13.7	352.8 \pm 17.8
		\times 1/2, tid	326.8 \pm 13.8	339.3 \pm 13.2	345.9 \pm 21.3
		\times 1, tid	323.8 \pm 26.7	341.5 \pm 32.6	347.6 \pm 30.3
		\times 3, tid	330.3 \pm 14.8	345.5 \pm 15.2	355.1 \pm 13.8
		\times 6, tid	328.0 \pm 22.0	346.5 \pm 24.3	355.9 \pm 31.4
		\times 12, tid	335.0 \pm 23.0	343.8 \pm 24.7	352.4 \pm 30.7
		\times 18, tid	334.9 \pm 17.5	344.9 \pm 20.3	348.1 \pm 29.8
	Comparator	glibenclamide ^{b)}	352.5 \pm 23.8	364.3 \pm 21.3	369.4 \pm 22.8
		insulin ^{c)}	338.6 \pm 22.7	351.9 \pm 27.3	360.8 \pm 32.3
		metformin ^{d)}	339.3 \pm 28.4	364.8 \pm 36.9	376.4 \pm 44.5
		metformin+(\times 6) ^{e)}	323.3 \pm 19.7	340.1 \pm 17.9	347.0 \pm 22.4

The result represents the mean \pm SD values (n=8).
 b) glibenclamide (0.1 mg/kg, mid, PO)
 d) metformin : metformin-HCl (20 mg/kg, bid, PO)

a) BJT : concentration based on human dose (330 mg/kg, PO),
 c) insulin : insulin(1 U/kg/day, mid, SC)
 e) metformin+(\times 6) : metformin · HCl(20 mg/kg, bid, PO) + BJT (\times 6).

Table 2. Effect of BJT on water intake, food intake, and fasting blood glucose levels in STZ-induced diabetic gastroparesis rat model (continue)

Administration group		Water intake (ml)				
		1 week	2 week	3 week	4 week	
Normal		92.5 \pm 16.9	91.0 \pm 16.8	93.8 \pm 40.7	75.8 \pm 8.0	
STZ	Control	194.6 \pm 21.1	225.0 \pm 16.4	230.9 \pm 19.2	224.4 \pm 23.1	
	BJT ^{a)}	\times 1/4, tid	216.1 \pm 40.6	245.8 \pm 54.5	251.8 \pm 64.2	243.8 \pm 62.1
		\times 1/2, tid	218.7 \pm 42.2	248.3 \pm 34.3	264.3 \pm 24.3	247.5 \pm 49.2
		\times 1, tid	207.4 \pm 39.8	215.5 \pm 39.8	240.5 \pm 45.5	249.4 \pm 36.9
		\times 3, tid	205.4 \pm 43.6	222.8 \pm 50.2	227.3 \pm 62.6	241.3 \pm 73.4
		\times 6, tid	181.3 \pm 27.5	212.5 \pm 38.8	252.8 \pm 56.7	231.3 \pm 80.1
		\times 12, tid	232.2 \pm 51.9	256.8 \pm 66.1	261.9 \pm 68.4	242.5 \pm 67.4
		\times 18, tid	236.1 \pm 28.1	250.8 \pm 39.2	286.9 \pm 34.5	271.9 \pm 35.6
	Comparator	glibenclamide ^{b)}	238.5 \pm 37.7	266.5 \pm 38.3	272.8 \pm 50.8	209.4 \pm 82.3
		insulin ^{c)}	145.7 \pm 29.6	163.3 \pm 28.0	160.8 \pm 27.7	178.1 \pm 45.7
		metformin ^{d)}	210.2 \pm 48.7	249.3 \pm 40.6	257.5 \pm 31.7	212.5 \pm 80.2
		metformin+(\times 6) ^{e)}	208.9 \pm 64.9	236.8 \pm 71.3	235.8 \pm 76.8	233.1 \pm 80.9

Administration group		Food intake (g)				
		1 week	2 week	3 week	4 week	
Normal		30.6 ± 11.1	33.3 ± 6.0	32.4 ± 10.7	34.7 ± 11.1	
STZ	Control	45.2 ± 4.8	50.9 ± 3.0	53.0 ± 3.7	52.1 ± 4.2	
	BJT ^{a)}	× 1/4, tid	49.0 ± 6.0	58.0 ± 6.0	55.0 ± 10.5	57.0 ± 11.0
		× 1/2, tid	47.5 ± 5.4	54.9 ± 4.6	57.4 ± 3.9	54.6 ± 7.6
		× 1, tid	43.7 ± 6.2	51.3 ± 5.9	53.5 ± 9.4	55.6 ± 7.9
		× 3, tid	46.4 ± 6.5	53.9 ± 7.3	51.1 ± 9.8	54.2 ± 15.1
		× 6, tid	41.6 ± 5.0	50.6 ± 4.2	56.1 ± 6.3	55.6 ± 7.7
		× 12, tid	47.2 ± 8.3	54.2 ± 9.6	53.0 ± 11.1	55.3 ± 11.8
		× 18, tid	59.9 ± 6.0	60.7 ± 4.5	55.2 ± 4.1	48.5 ± 4.2
	Comparator	glibenclamide ^{b)}	60.8 ± 4.9	59.9 ± 6.7	60.9 ± 4.8	52.9 ± 5.7
		insulin ^{c)}	47.6 ± 7.4	52.3 ± 9.4	54.5 ± 12.7	52.8 ± 12.3
		metformin ^{d)}	39.6 ± 6.1	55.2 ± 6.9	55.2 ± 6.9	43.2 ± 7.5
		metformin+(×6) ^{e)}	46.7 ± 9.5	55.2 ± 6.9	59.1 ± 6.2	56.4 ± 6.9
	Administration group		Fasting blood glucose level (mg/dL)			
Normal		88.0 ± 27.1	101.8 ± 14.4	101.7 ± 7.1	99.7 ± 17.5	
STZ	Control	281.4 ± 59.9	486.0 ± 84.9	433.3 ± 149.1	465.6 ± 93.9	
	BJT ^{a)}	× 1/4, tid	296.8 ± 40.0	464.0 ± 141.9	403.4 ± 136.4	417.8 ± 135.9
		× 1/2, tid	315.5 ± 95.5	563.1 ± 128.5	511.8 ± 179.7	521.0 ± 134.0
		× 1, tid	340.9 ± 104.3	502.0 ± 101.8	491.3 ± 143.9	488.6 ± 55.2
		× 3, tid	324.9 ± 50.5	392.3 ± 91.6	414.6 ± 144.2	583.1 ± 150.6
		× 6, tid	276.8 ± 40.2	493.9 ± 59.9	426.8 ± 120.8	518.9 ± 87.3
		× 12, tid	295.1 ± 69.2	643.4 ± 108.3	522.8 ± 133.2	566.4 ± 114.4
		× 18, tid	301.4 ± 40.1	508.3 ± 153.4	512.6 ± 141.5	534.0 ± 121.8
	Comparator	glibenclamide ^{b)}	299.4 ± 81.4	484.1 ± 125.1	369.9 ± 106.3	484.8 ± 103.6
		insulin ^{c)}	288.6 ± 75.7	500.3 ± 94.4	421.0 ± 66.1	443.1 ± 95.5
		metformin ^{d)}	340.3 ± 96.2	368.9 ± 91.9	335.1 ± 106.2	388.6 ± 161.9
		metformin+(×6) ^{e)}	330.9 ± 55.2	526.6 ± 82.0	480.4 ± 95.3	453.9 ± 58.6

The result represents the mean ± SD values (n=8).

b) glibenclamide (0.1 mg/kg, mid, PO)

d) metformin : metformin·HCl (20 mg/kg, bid, PO)

a) BJT : concentration based on human dose (330 mg/kg, PO),

c) insulin : insulin(1 U/kg/day, mid, SC)

e) metformin+(×6) : metformin · HCl(20 mg/kg, bid, PO) + BJT (×6).

Table 3. Effect of BJT on food intake per body weight in STZ-induced diabetic gastroparesis rat model (mean ± SEM, n=8)

Administration group		Water intake (mL)				
		1 week	2 week	3 week	4 week	
Normal		11.7 ± 2.5	11.6 ± 5.4	12.1 ± 3.2	11.3 ± 5.4	
STZ	Control	7.5 ± 8.3	7.1 ± 14.3	6.9 ± 11.6	7.0 ± 10.2	
	BJT ^{a)}	× 1/4, tid	6.7 ± 1.5	5.9 ± 2.3	6.4 ± 1.7	6.2 ± 1.6
		× 1/2, tid	6.9 ± 2.6	6.2 ± 2.8	6.0 ± 5.4	6.3 ± 2.8
		× 1, tid	7.4 ± 4.4	6.7 ± 5.6	6.5 ± 3.2	6.3 ± 3.8
		× 3, tid	7.1 ± 2.3	6.4 ± 2.1	6.9 ± 1.4	6.6 ± 0.9
		× 6, tid	7.9 ± 4.4	6.8 ± 5.7	6.3 ± 4.9	6.4 ± 4.0
		× 12, tid	7.1 ± 2.8	6.3 ± 2.6	6.6 ± 2.8	6.4 ± 2.6
		× 18, tid	5.6 ± 3.0	5.7 ± 4.4	6.3 ± 7.3	7.2 ± 7.1
	Comparator	glibenclamide ^{b)}	5.8 ± 4.9	6.1 ± 3.1	6.1 ± 4.8	7.0 ± 4.0
		insulin ^{c)}	7.1 ± 3.1	6.7 ± 2.9	6.6 ± 2.5	6.8 ± 2.6
		metformin ^{d)}	8.6 ± 4.6	6.6 ± 5.4	6.8 ± 6.4	8.7 ± 5.9
		metformin+(×6) ^{e)}	6.9 ± 2.1	6.2 ± 2.6	5.9 ± 3.5	6.2 ± 3.2

The result represents the mean ± SD values (n=8).

b) glibenclamide (0.1 mg/kg, mid, PO)

d) metformin : metformin·HCl (20 mg/kg, bid, PO)

a) BJT : concentration based on human dose (330 mg/kg, PO),

c) insulin : insulin(1 U/kg/day, mid, SC)

e) metformin+(×6) : metformin · HCl(20 mg/kg, bid, PO) + BJT (×6).

2. 혈장 중 위운동성 호르몬 및 식욕호르몬에 대한 보중익기탕의 영향

혈장 중 위운동성 호르몬 및 식욕호르몬에 대한 보중익기탕의 영향을 확인하기 위하여 STZ으로 유발된 당뇨병 백서에 각 약물을 4주간 투약한 다음 측정된 혈장 중 위 운동성호르몬(gastrin), 식욕호르몬(leptin)을 측정하였다. STZ에 의해 gastrin은 약간 증가하였고 정상군과 큰 차이는 없었으나 보중익기탕을 함께 투여한 그룹에서 gastrin 분비가 증가하였고 ×1/4, ×1/2 투약군에서 그 증가폭이 컸다. 양성 대조군으로 사용한 glibenclamide와 insulin 군에서도 높게 관찰되었다. 흥미로운 것은 STZ와 metformin 동시투여군에서는 gastrin 분비가 STZ 군과 차이를 보이지 않았으나 보중익기탕을 metformin과 함께 투여한 군에서 gastrin 분비가 증가하였다 (Figure 1A). Leptin은 STZ에 의해 분비가 증가하였으나 보중익기탕 및 양성대조군 모두에서 고르게 억제되는 것을 확인할 수 있었다 (Figure 1B).

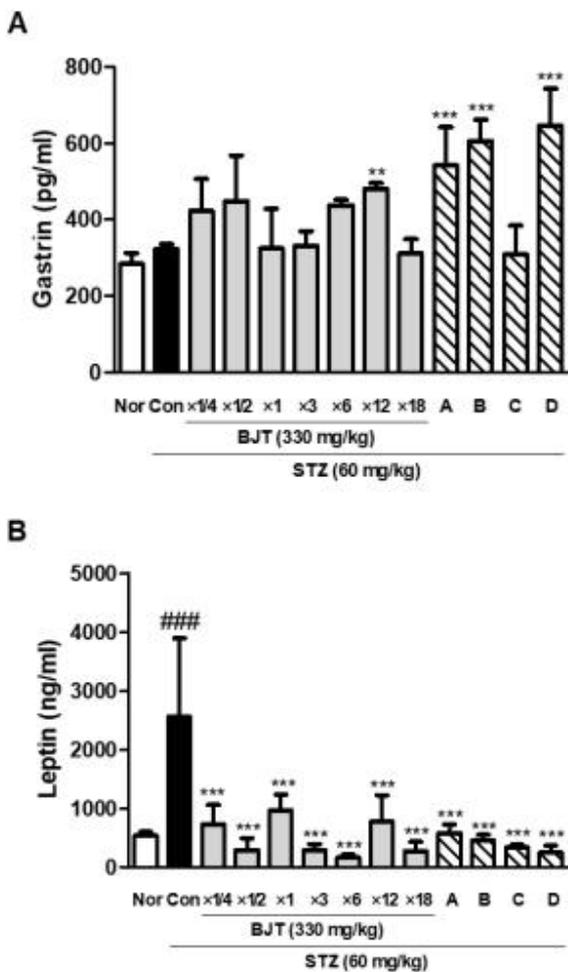


Figure 1. Effect of BJT on the levels of gastrin and leptin in STZ-induced diabetic gastroparesis rat model
BJT : concentration based on human dose (330 mg/kg, PO), A: glibenclamide (0.1 mg/kg, mid, PO) B: insulin (1 U/kg/day, mid, SC), C: metformin+HCl(20 mg/kg, bid, PO), D: metformin+HCl(20 mg/kg, bid, PO) + BJT(×6). ###*P*<0.001 vs. the control group; ***P*<0.01, and ****P*<0.001 vs. streptozotocin (STZ)-treated group.

3. 혈장 중 당대사 관련 호르몬에 대한 보중익기탕의 영향

STZ로 유발된 당뇨병 백서에 각 약물을 4주간 투약한 다음 측정된 혈장 중 insulin을 측정하였다. 4주 반복 투약 후 백서를 치사하고 혈장 중 insulin을 분석한 결과 당뇨로 인하여 insulin은 감소하였다. 보중익기탕 ×1/2, ×3에서 약간 insulin이 높아졌으나 변화는 미비한 것으로 나타났다 (Figure 2).

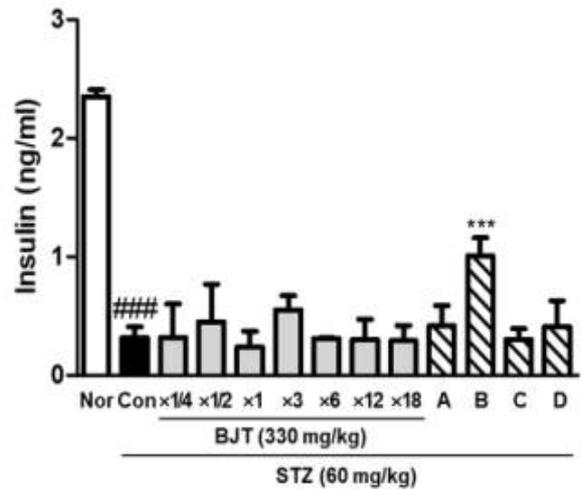


Figure 2. Effect of BJT on the level of insulin in STZ-induced diabetic gastroparesis rat model
BJT : concentration based on human dose (330 mg/kg, PO), A: glibenclamide (0.1 mg/kg, mid, PO) B: insulin (1 U/kg/day, mid, SC), C: metformin+HCl(20 mg/kg, bid, PO), D: metformin+HCl(20 mg/kg, bid, PO) + BJT(×6). ###*P*<0.001 vs. the control group; ****P*<0.001 vs. streptozotocin (STZ)-treated group.

4. 혈장 중 혈액 중 HbA1c 및 lactate, bilirubin, creatinine, albumin 변화에 대한 보중익기탕의 영향

STZ로 유발된 당뇨병 백서에 각 약물을 4주간 투약한 다음 측정된 혈장 중 lactate, bilirubin, creatinine, albumin 및 혈액 중 HbA1c를 측정된 결과는 아래와 같다. 4주 반복 투약 후 백서를 치사하고 혈액 중 HbA1c 및 혈장 중 total-bilirubin, creatinine, albumin을 분석한 결과 당뇨로 인하여 HbA1c가 정상군을 제외한 각 군에서 높게 관찰되었다. Total-bilirubin, creatinine은 보중익기탕 투약량이 늘수록 증가하는 경향을 나타내었다(Table 4). 또한 혈액 중 lactate를 측정했을 때 STZ에 의해 증가되었던 lactate가 보중익기탕에 의해 감소되는 경향을 나타냈다 (Table 4 and Figure 3).

Table 4. Effect of BJT on the serum level of HbA1c and plasma levels of lactate, bilirubin, creatinine, albumin in STZ-induced diabetic gastroparesis rat model

Administration group	Blood			Plasma				
	HbA1c (%)	lactate (mM)	LDH (U/L)	bilirubin (mg/dl)	creatinine (mg/dl)	albumin (g/dl)		
Normal	3.8 ± 0.4	53.8 ± 10.9	133.50 ± 46.58	0.30 ± 0.00	0.30 ± 0.00	4.05 ± 0.43		
STZ	Control	7.4 ± 0.7 ^{###}	62.2 ± 5.7	938.50 ± 558.95 [#]	0.33 ± 0.05	0.25 ± 0.06	4.24 ± 0.29	
	× 1/4, tid	7.6 ± 0.9	37.9 ± 9.6 [*]	882.00 ± 73.77	0.40 ± 0.08	0.28 ± 0.05	3.86 ± 0.33	
	× 1/2, tid	7.7 ± 0.7	36.8 ± 6.3 ^{**}	850.50 ± 620.95	0.38 ± 0.10	0.28 ± 0.05	3.95 ± 0.35	
	× 1, tid	7.8 ± 0.6	42.9 ± 5.6	1208.00 ± 468.89	0.38 ± 0.10	0.30 ± 0.08	4.41 ± 0.73	
	BJT ^{a)} × 3, tid	7.6 ± 0.8	35.0 ± 7.4 ^{**}	1044.50 ± 329.24	0.37 ± 0.06	0.30 ± 0.08	3.93 ± 0.30	
	× 6, tid	7.8 ± 0.4	41.6 ± 3.7 [*]	732.00 ± 185.65	0.40 ± 0.00	0.38 ± 0.05 [*]	4.15 ± 0.53	
	× 12, tid	9.2 ± 1.9	54.5 ± 13.9	683.50 ± 295.67	0.48 ± 0.17	0.38 ± 0.05 [*]	4.20 ± 0.48	
	× 18, tid	7.8 ± 0.3	42.7 ± 12.0 [*]	582.50 ± 202.36	0.53 ± 0.10	0.40 ± 0.08 [*]	4.25 ± 0.48	
	Comparator	glibenclamide ^{b)}	7.8 ± 0.2	39.7 ± 13.4 [*]	541.00 ± 128.32	0.30 ± 0.12	0.20 ± 0.08	4.45 ± 0.41
		insulin ^{c)}	7.5 ± 1.1	45.3 ± 13.5	706.50 ± 674.60	0.35 ± 0.10	0.28 ± 0.05	4.08 ± 0.36
		metformin ^{d)}	6.9 ± 1.7	52.3 ± 7.2	342.50 ± 179.59	0.45 ± 0.17	0.28 ± 0.05	4.48 ± 0.82
		metformin + (×6) ^{e)}	7.7 ± 0.8	43.6 ± 12.9	413.50 ± 284.98	0.50 ± 0.00	0.30 ± 0.08	4.10 ± 0.48

The result represents the mean ± SD values (n=8). a) BJT : concentration based on human dose (330 mg/kg, PO), b) glibenclamide (0.1 mg/kg, mid, PO) c) insulin : insulin (1 U/kg/day, mid, SC), d) metformin : metformin-HCl (20 mg/kg, bid, PO), e) metformin+(×6) : metformin-HCl(20 mg/kg, bid, PO) + BJT (×6). [#]P<0.05 and ^{###}P<0.001 vs. the control group; ^{*}P<0.05, and ^{**}P<0.01 vs. streptozotocin (STZ)-treated group.

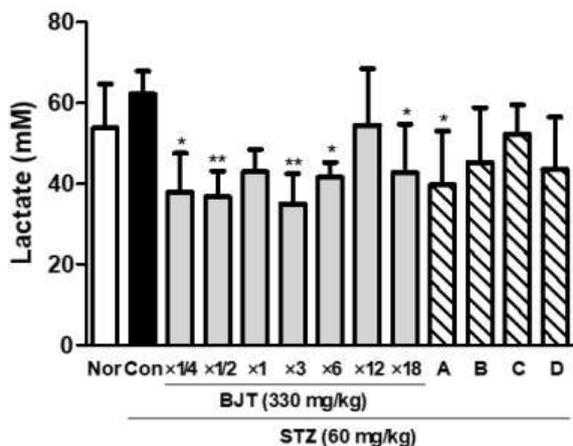


Figure 3. Effect of BJT on the serum level of lactate in STZ-induced diabetic gastroparesis rat model
BJT : concentration based on human dose (330 mg/kg, PO), A: glibenclamide (0.1 mg/kg, mid, PO) B: insulin (1 U/kg/day, mid, SC), C: metformin-HCl(20 mg/kg, bid, PO), D: metformin-HCl(20 mg/kg, bid, PO) + BJT(×6). ^{*}P<0.05, and ^{**}P<0.01 vs. streptozotocin (STZ)-treated group.

5. 혈장 중 지질에 대한 보중익기탕의 영향

STZ로 유발된 당뇨병 백서에 각 약물을 4주간 투약한 다음 혈장 중 total cholesterol, triglycerides, HDL을 정량하였다. 혈청 중 지질 측정을 했을 때 보중익기탕 ×3, ×6에서 total-cholesterole, triglyceride가 감소하는 경향을 보였으나 유의미한 변화는 관찰되지 않았다 (Table 5).

Table 5. Effect of BJT on total cholesterol, triglycerides, and HDL in STZ-induced diabetic gastroparesis rat model

Administration group		혈장			
		Total cholesterol (mg/dL)	Triglyceride (mg/dL)	HDL (mg/dL)	
Normal		77.0 ± 8.0	81.7 ± 36.9	47.0 ± 9.4	
STZ	Control	96.0 ± 10.9	203.3 ± 113.2	58.8 ± 5.0	
	BJT ^{a)}	× 1/4, tid	76.5 ± 7.0	285.0 ± 75.7	48.8 ± 12.5
		× 1/2, tid	87.0 ± 10.8	220.3 ± 79.6	53.5 ± 8.9
		× 1, tid	88.0 ± 41.1	192.7 ± 127.8	44.3 ± 15.3
		× 3, tid	61.7 ± 11.6	122.7 ± 24.5	32.5 ± 8.5
		× 6, tid	71.7 ± 13.0	119.7 ± 76.2	42.5 ± 5.0
		× 12, tid	91.3 ± 50.5	280.7 ± 194.3	53.8 ± 24.0
	Comparator	× 18, tid	80.3 ± 10.2	243.7 ± 160.7	52.3 ± 11.9
		glibenclamide ^{b)}	71.7 ± 13.9	113.3 ± 44.6	48.0 ± 10.4
		insulin ^{c)}	76.7 ± 7.4	318.3 ± 125.0	47.5 ± 5.4
		metformin ^{d)}	90.0 ± 30.2	115.0 ± 37.6	56.0 ± 13.7
		metformin+(×6) ^{e)}	69.0 ± 7.5	253.7 ± 113.0	50.5 ± 16.7

The result represents the mean±SD values (n=8).

b) glibenclamide (0.1 mg/kg, mid, PO)

d) metformin : metformin·HCl (20 mg/kg, bid, PO)

a) BJT : concentration based on human dose (330 mg/kg, PO).

c) insulin : insulin(1 U/kg/day, mid, SC)

e) metformin+(×6) : metformin·HCl(20 mg/kg, bid, PO) + BJT (×6).

IV. 고 찰

당뇨병은 탄수화물, 지방 및 단백질 대사의 장애를 특징으로 하는 내분비계 질환 중 하나로 췌장의 베타세포에서 분비되는 insulin의 절대량이 부족하거나 생체 내 insulin의 효율이 떨어진 결과로 인해 나타나는 질병이다⁴²⁾. 당뇨병의 주된 대사적 특징은 고혈당과 비정상적인 지질대사로서 혈중 지단백과 유리지방산의 증가가 고지혈증을 초래하여 관상동맥질환, 망막증, 고혈압 등 눈과 신장, 심혈관계의 병변이 포함된 만성 당뇨 합병증을 일으킨다⁴³⁾. 당뇨로 인해 glucose가 적절하게 사용되지 못했을 경우 인체는 지방을 연소시켜 에너지를 얻는 보상기전이 발생하는데 이때 비정상적으로 케톤체가 발생하고 인체는 산성화되고 젖산이 축적되는 lactate acidosis가 발생하며, 두통, 기면, 호흡 증가, 혼미, 혼수, 경련 등의 증상을 동반한다.

당뇨병성 위부전마비는 주로 당뇨 이환 기간이 10년 이상으로 길거나, 망막병증, 신증, 신경병증 등의 미세혈관 합병증이 동반된 당뇨 환자에서 흔히 발생하는 위장관 합병증으로, 제1형 당뇨환자의 50% 이상에서 나타나며 오심구토, 조기포만감, 복부팽만감, 상복부 통증, 체중 감소 등의 증상 및 위배출능의 장애를 수반한다⁴⁴⁾.

보중익기탕은 보익제로 분류되며, 위장기능을 도와(補中) 기운을 보태는 것(益氣)이 본방의 핵심이다. 소화액의 분비를 증진시키고 위장관 운동 및 위장 기능을 활성화시키는 등 소화기계 제증상에 효과가 있는 점으로 미루어 보아 다른 적응증에 대한 활용 가능성을 생각해 볼 수 있다. 본 연구에서 보중익기탕에 대한 효력실험은 제1형 당뇨병에서 합병증으로 이어지는 위부전마비(diabetic gastroparesis)에 대해 소화기능 향상과 만성 피로라는 측면에서 lactate acidosis에 대한 개선효과를 보고자 하였다. 또한 본 연구에서는 STZ 투여로 인슐린을 분비하는 췌장의 베타세포가 파괴됨으로써 유도되는

제1형 당뇨병 실험 동물모델에서 보중익기탕 용량의존성 실험을 실시하여 사람에서의 용법, 용량 및 투약주기에 대한 근거를 마련하고자 하였으며, 아래의 건강보험 적용 예(2016년도 기준)를 확대하고자 하였다.

- 소화불량, 복통, 식욕 부진, 기능적 설사, 위십이지장염, 위궤양, 위하수, 창자의 만성 혈관성 장애,
- 병후의 체력저하, 피로증후군, 권태감, 피로감, 다한증, 식은땀, 과로 혹은 영양장애로 몸에 열이 나고 속이 답답하며 식은땀이 나고 피곤한 경우,
- 기운이 없고 소변이 시원하게 나오지 않는 경우, 방광염, 만성 신염 증후군,
- 오랜 기침, 만성 후두기관염, 급성 후두염, 딸꾹질,
- 상지 마비, 하지 마비, 수족 마비, 중추신경계통의 염증성 질환의 후유증, 어깨 및 팔꿈치 부위에서의 신경 손상, 엉덩 신경의 병터, 달리 분류되지 않은 시상하부의 기능 장애, 대마비, 사지마비,
- 과다 월경, 빈발 월경, 자궁경부의 악성 신생물 후유증 및 회복기 치료, 요실금, 여성 생식기 탈출, 자궁 하수, 대하, 음취, 임신 중 당뇨, 자연유산, 조기 임신 중 출혈, 산과적 외상, 분만 중 회음부 열상, 외음부 및 회음부의 비염증성 장애, 임신, 출산, 산후기의 소화기계통 장애, 기질적 장애 또는 질병에 의하지 않은 성기능 이상, 잦은 흐름증,
- 난청, 이명, 만성 고막염, 몸통의 피부 고름집, 종기, 불안, 긴장, 흥분

당뇨병은 한의학에서 소갈(消渴)의 범주에 속하며, 음식을 잘 소화시켜 쉽게 배고프고 갈증이 나서 물을 많이 마시는 병(消穀善飮 渴而多飮)으로 정의된다⁴⁵⁾. STZ에 의해 유도된 당뇨군은 정상군과 비교하였을 때 체중의 감소, 음수량, 식이량 및 혈당의 증가를 보였으며 (Table 1-3) 이는 소갈의 3다(三多)

중세 중 다음(多飲)과 다식(多食)의 증상 및 당뇨병의 주된 증상인 혈당의 증가를 보이고 있음을 알 수 있다. 그러나 보중익기탕 투여에서는 이러한 당뇨 증상에 대하여 유의미한 변화가 관찰되지 않았다. 다음으로는 혈장 중 위 운동성 및 식욕 관련 호르몬에 대한 보중익기탕의 효과를 확인하였다. Gastrin은 위액 분비 촉진 호르몬으로서 위산 분비, 이자역생산을 유도하고 위장, 소장 및 대장의 움직임을 촉진하는 위 운동성 호르몬으로 알려져 있다. STZ로 유발된 당뇨 랫트에서 gastrin은 정상군과 비교했을 때 약간 증가하였으나, 보중익기탕을 함께 투여한 그룹과 양성대조군으로 사용된 glibenclamide와 insulin 투여군에서 눈에 띄게 증가하였다. 또한 보중익기탕을 metformin과 함께 투여한 군에서 gastrin의 분비가 크게 증가함을 확인할 수 있었다 (Figure 1A). 이 결과는 STZ로 유발된 당뇨 랫트에서 보중익기탕 투여가 gastrin의 분비를 증가시켜 위 운동성을 개선시키는 효과가 있음을 보여준다. Metformin은 주로 간의 당생성 억제와 근육에서 인슐린 저항성을 개선하는 기전을 통해 혈당을 강하시키는 약물로 쓰이고 있으나 위장관계 부작용이 알려져 있다. 보중익기탕을 metformin과 함께 투여 한 군은 metformin 단독 투여군에 비해 gastrin의 분비가 크게 증가하였는데, 보중익기탕과 metformin의 약물상호작용의 여부를 연구해보아야 할 부분으로 생각된다. 식욕억제 호르몬인 leptin의 경우, STZ로 유발된 당뇨 랫트에서 상당히 증가하였으나 보중익기탕 및 양성대조군에서 모두 그 수치가 감소하였다 (Figure 1B). 이를 통해 보중익기탕의 투여가 식욕의 증가와도 관계가 있음을 알 수 있다. Insulin의 경우에는 STZ 투여군에서 정상군 대비 그 수치가 크게 감소하였으나 보중익기탕의 투여는 일부 농도에서 약간의 증가를 보였을 뿐 유의미한 변화를 보이지 않았다 (Figure 2).

STZ로 유발된 당뇨 랫트의 혈액을 채취하여 혈액 중 HbA1c, lactate 및 다양한 마커들의 수치를 측정하였다. Lactate acidosis에 대한 영향을 확인하기 위해 lactate의 거동을 관찰한 결과, STZ로 유발된 당뇨 랫트에서 그 수치가 증가하였고 보중익기탕을 비롯한 양성대조군에서 모두 lactate의 수치가 감소되는 경향을 보였다(Table 3, Figure 3). 당뇨병으로 유도되는 합병증에서 수반되는 lactate acidosis에 대해 보중익기탕이 그 수치를 감소시킴으로써 보호효과를 나타냄을 확인하였다. 당뇨병의 진단기준으로서 사용되는 HbA1c (당화혈색소), 젖산탈수소효소 (LDH)는 STZ 투여군에서 정상군에 비해 증가한 수치를 나타냈으나 보중익기탕의 투여가 유의미한 변화를 나타내지는 않았으며 그밖에 bilirubin, creatinine, albumin의 경우에는 그룹간 유의성이 측정되지 않았다 (Table 4). 당뇨병에서 지질 대사의 이상을 파악하기 위한 혈중 지질의 측정 결과에서도 total cholesterol과 triglyceride는 STZ 투여군에서 정상군 대비 증가하였으나 보중익기탕은 이에 대한 뚜렷한 변화를 보이지 않았으며, HDL의 경우에는 그룹간 유의미한 변화를 보이지 않았다 (Table 5). 보중익기탕은 STZ 투여로 발생하는 당뇨와 그에 수반되어 발생하는 다양한 증상 중에서도 위 운동성과 acidosis를 감소시킴으로써 당뇨병성 위부전마비에 대하여 효과를 내는 것으로 생각된다. 그러나 당뇨병성 위 마비는 당뇨병을 오래 앓은 환자에서 나타나는 위장관 합병증으로, 보다 실제적인 당뇨병성 위 마

비의 증상 및 그에 대한 보중익기탕의 효과를 확인하기 위해서는 추가적인 실험이 필요할 것으로 보인다.

위장관 운동 조절에는 muscarin 수용체와 비콜린성 작용 수용체인 cannabinoid 수용체(CB-1&2)가 있으며, muscarin 수용체는 위장관 운동과 위산분비에 관여하여 위공복을 및 소화기능을 조절하는데 반해, cannabinoid 수용체는 자극(예, 대마, 마리화나)되면 오히려 억제성으로 작용하여 운동성이 줄고, 배변을 억제하는 등 소화관 운동성을 감소시킨다⁴⁶⁻⁵⁰. 이 중 최근 알려진 GPR55 수용체는 신경성 또는 염증성에서 나타나는 통증관련 cytokine 분비와 과도한 운동에 의한 소화관 운동성 장애, 마비 및 통증을 수반하는 운동성 감소에 관여하는 것으로 알려졌다. 한편 당뇨병을 STZ로 유발한 mice에서 GPR55가 유도되면서 위공복율이 감소하고, 위운동성과 관련한 motilin 및 gastrin은 감소하며, 상대적으로 소화관 혈류확장에 필요한 somatostatin과 vasolateral intestinal peptide (VIP)는 증가하는 등 당뇨병뿐만 아니라 당뇨병성 소화기능 장애에 대한 모델이 보고되었다^{51,52}. 또한 당뇨 합병증과 관련하여 당뇨병성 lactate acidosis의 개선 여부^{41,53} 골격근 및 소장 조직에서의 glucose transporter (I, II, IV)와 glucose-6-phosphate, glucokinase 및 합병증으로 진행되는 망막염 및 신장염 지표로서 두 조직에서 유래하는 collagen IV α 1을 포함한 염증지표의 변화가 보고된 바 있다⁵⁴⁻⁵⁷. 이러한 연구 흐름에 맞추어 당뇨병성 위부전마비에 대한 보중익기탕의 구체적인 약리작용과 작용기전에 대해 알기 위해서는 구체적인 마커들에 대한 추가적인 연구가 필요할 것이다.

V. 결 론

STZ로 유도된 제1형 당뇨병 동물모델에서 보중익기탕의 투여는 insulin, fasting glucose, HbA1c에는 영향을 주지 않았으나 혈중 gastrin의 함량 증가 및 lactate 농도의 감소를 통한 위 운동성 및 피로증후군에 대한 개선효과가 확인되었고, 당뇨병 모델에서 증가된 leptin을 감소시킴에 따라 식욕 증가와 관련이 있을 것으로 여겨진다. 결과를 종합하였을 때, 당뇨병성 위부전마비에 대한 보중익기탕의 구체적인 기전에 대해서는 추가적인 연구가 필요할 것으로 보인다. 본 연구는 제1형 당뇨병 모델에서 당뇨병 그리고 당뇨로 인한 합병증의 예방 및 치료에 있어 보중익기탕의 활용 가능성을 제시하였으며, 이 결과는 추후의 당뇨병에 대한 보중익기탕의 연구 방향 설정에 도움이 될 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부와 전라남도의 지원을 받아 수행한 한약제제 약효표준화사업의 결과입니다.

References

1. Supervision by Gu Bon-Hong, *Complete Translation*

- of *Donggeuibogam*, Deajungseogwan, 788p, 1994.
2. Gang Hye-Yeong, Study on the Applications of Bojoongikgitang in Donggeuibogam, *Herbal formula science*, 1992; 3(1): 7-11.
 3. You Seung-Yeol, Lim Young-Hwan, Kook Yoon-Bum, Literature Study on Bojoongikgitang and Clinical Application, *Herbal formula science*, 2009; 17(1): 45-59, 2009.
 4. Lee Kwang-Gyu, Elucidation of Bojungikgi-tang from the Pathological Point of View, *Journal of physiology & pathology in Korean Medicine*, 2010; 24(5): 784-789.
 5. Maeng Hwa-Seop, Application of Bojungikgi-tang, *Herbal formula science*, 1992; 3(1): 3-5.
 6. Kang Dae-Sung, Kam Cheol-Woo, Park Dong-Il, The Experimental Study on the Anti-allergic Effects of Bojungikgi-tang, *Journal of life science*, 2003; 13(1): 73-82.
 7. Park Yang-Koo, Jung Myung, Bok Young-Ok, Lee Jin-Ho, Kang Suk-Hoon, Lim Kyu-Sang, Yoon Yong-Gab, Effects of Bojungikgi-tang on Trimellitic Anhydride-induced Contact Hypersensitivity in BALB/c Mice, *The journal of Korean Medicine Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology*, 2016; 29(1): 16-32.
 8. Kim Chun-Hwan, Effects of Bojungikgi-tang on the role of cold-stress in the pathogenesis of polycystic ovarian syndrome, 2009, 40p, Graduate School of Kyung Hee University, Dissertation of doctoral degree.
 9. Park E, Choi CW, Kim SJ, Kim YI, Sin S, Chu JP, Heo JY. Hochu-ekki-to Treatment Improves Reproductive and Immune Modulation in the Stress-Induced Rat Model of Polycystic Ovarian Syndrome, *Molecules*, 2017; 22(6):978.
 10. Jeong JS, Ryu BH, Kim JS, Park JW, Choi WC, Yoon SW., Bojungikki-tang for cancer-related fatigue: a pilot randomized clinical trial, *Integr Cancer Ther*. 2010; 9(4): 331-338.
 11. Sul Mu-Chang, Kim Do-Sun, Kim Do-Hyun, Jang Ha-Ryeon, Kim Jin-ju, Jung Hee-Jae, Jung Sung-Ki, Usage of Bojungiki-tang to Maintain and Treat Asthmatic Patients, *Journal of korean oriental internal medicine*, 2011; 32(4): 497-503.
 12. Choi In-Seon, A Clinical Study of the Patients in Stroke Treated with Bojungikki-tang and Bojungikki-tang-gamibang, 2003, 29p, Graduate School of Dongyang University, Dissertation of master's degree.
 13. Sun Gi Song, Dong Ho Keum, Jae Geun Oh, Myeong Jong Lee, The effects of Bo-joong-ik-gi-tang administration an Metabolic Responses ; changes in the energy and electrolyte metabolism among long distance runners, *The journal of oriental medicine drug R&D Center*, 1998; 7(1): 99-117.
 14. Lee AJ, Lee HJ, Kim JD, Jung HJ, Bae SH, Ryoo HM, Kim SG., Changes of peripheral blood lymphocyte subtypes in patients with end stage cancer administered localized radiotherapy and bojungikki-tang, *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014; 207613.
 15. Lee MY, Shin IS, Jeon WY, Seo CS, Ha H, Huh JI, Shin HK., Protective effect of Bojungikki-tang, a traditional herbal formula, against alcohol-induced gastric injury in rats, *J Ethnopharmacol*, 2012; 142(2): 346-353.
 16. Murakami Y., Clinical effect of hotyuekkito (buzhongyiqitang) on symptoms due to renal ptosis and stress incontinence, *Hinyokika Kijo*, 1988; 34(10): 1841-1843.
 17. Tatsumi K, Shinozuka N, Nakayama K, Sekiya N, Kuriyama T, Fukuchi Y., Hochuekkito improves systemic inflammation and nutritional status in elderly patients with chronic obstructive pulmonary disease, *J Am Geriatr Soc*, 2009; 57(1): 169-170.
 18. Shinozuka N, Tatsumi K, Nakamura A, Terada J, Kuriyama T., The traditional herbal medicine Hochuekkito improves systemic inflammation in patients with chronic obstructive pulmonary disease, *J Am Geriatr Soc*. 2007; 55(2): 313-314.
 19. Yang SH, Kao TI, Chiang BL, Chen HY, Chen KH, Chen JL., Immune-modulatory effects of bu-zhong-yi-qi-tang in ovalbumin-induced murine model of allergic asthma, *PLoS One*, 2015; 10(6): e0127636.
 20. Kobayashi H., Clinical evaluation of Hochuekkito in the treatment of atopic dermatitis: a multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study, *Nihon Yakurigaku Zasshi*, 2008; 132(5): 285-287.
 21. Kobayashi H, Ishii M, Takeuchi S, Tanaka Y, Shintani T, Yamatodani A, Kusunoki T, Furue M., Efficacy and Safety of a Traditional Herbal Medicine, Hochu-ekki-to in the Long-term Management of Kikyo (Delicate Constitution) Patients with Atopic Dermatitis: A 6-month, Multicenter, Double-blind, Randomized, Placebo-controlled Study., *Evid Based Complement Alternat Med*, 2010; 7(3): 367-373.
 22. Kobayashi H, Mizuno N, Teramae H, Kutsuna H, Ueoku S, Onoyama J, Yamanaka K, Fujita N, Ishii M., The effects of Hochu-ekki-to in patients with atopic dermatitis resistant to conventional treatment., *Int J Tissue React*, 2004; 26(3-4): 113-117.
 23. Yang SH, Yu CL., Antiinflammatory effects of Bu-zhong-yi-qi-tang in patients with perennial allergic rhinitis., *J Ethnopharmacol*, 2008; 115(1): 104-109.
 24. Kuroiwa A, Liou S, Yan H, Eshita A, Naitoh S,

- Nagayama A., Effect of a traditional Japanese herbal medicine, hochu-ekki-to (Bu-Zhong-Yi-Qi Tang), on immunity in elderly persons, *Int Immunopharmacol*, 2004; 4(2): 317-324.
25. Furuya Y, Akashi T, Fuse H., Effect of Bu-zhong-yi-qi-tang on seminal plasma cytokine levels in patients with idiopathic male infertility, *Arch Androl*, 2004; 50(1):11-14.
 26. Tajima S, Bando M, Yamasawa H, Ohno S, Moriyama H, Terada M, Takada T, Suzuki E, Gejyo F, Sugiyama Y., Preventive effect of hochu-ekki-to, a Japanese herbal medicine, on bleomycin-induced lung injury in mice, *Respirology*, 2007; 12(6): 814-822.
 27. Tajima S, Bando M, Yamasawa H, Ohno S, Moriyama H, Takada T, Suzuki E, Gejyo F, Sugiyama Y., Preventive effect of Hochu-ekki-to on lipopolysaccharide-induced acute lung injury in BALB/c mice, *Lung*, 2006; 184(6): 318-323.
 28. Yan X, Kita M, Minami M, Yamamoto T, Kuriyama H, Ohno T, Iwakura Y, Imanishi J., Antibacterial effect of Kampo herbal formulation Hochu-ekki-to (Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang) on Helicobacter pylori infection in mice., *Microbiol Immunol*, 2002; 46(7): 475-482.
 29. Yeong-U Lee, Effects of Sakunjatang, Samultang, Sibjeondaebotang and Bojungyikgitang on the Body Weight Loss and Hematologica Changes Caused by Cisplatin in Rats, *Herbal formula science*, 1992; 3(1): 81-125.
 30. Nam-Doo Hong, In-Kyu Chang, Sang-Il Lee, Nam-Jae Kim, Studies on the Efficacy of Combined Preparation of Crude Drugs(XVII) -Effects of 'Bojungikgi-Tang' on the Digestive System, Blood Pressure and Diuretic Actions, *Korean Journal of Pharmacognosy*, 1984; 15(3): 121-127.
 31. Nam-Doo Hong, In-Kyu Chang, Sang-Il Lee, Nam-Jae Kim, Studies on the Efficacy of Combined Preparation of Crude Drugs (XVI) -Effects of 'Bojungikgi-Tang' on the Central Nervous System, *Korean Journal of Pharmacognosy*, 1984; 15(3): 115-120.
 32. Yong-Jae Jung, Sang-Hyub Yoon, Effect of Youngkaechulgam-tang and Bojoongikki-tang on Gastric Contractility, Body Weight, and Gastric Morphology in Rats with Non-obstructive Antral Dilation, *Journal of korean oriental internal medicine*, 2010; 31(4): 857-869.
 33. Jong-Dea Kim, Single Oral Dose Toxicity Test of Bojungikkitang (Buzhongyiqi-tang) Aqueous Extract in ICR, *Journal of Society of Preventive Korean Medicine*, 2011; 15(2): 21-38.
 34. Ji-hye Lee, Yoon-hwan Hwang, Dong-hoon Kwak, Tae-soo Kim, Jin-yeul Ma, Single Oral Dose Toxicity Test of Bojungikgi-tang (Buzhongyiqi-tang) and Fermented Bojungikgi-tang (Buzhongyiqi-tang) Extracts in Mice, *Journal of korean oriental internal medicine*, 2011; 32(4): 599-609.
 35. Jung-Hoon Kim, Tae-Hee Lee, Effect of Bojungikgitang on Starvation Stress in Mice, *Herbal formula science*, 2006; 14(1): 133-140.
 36. Wang XQ, Takahashi T, Zhu SJ, Moriya J, Saegusa S, Yamakawa J, Kusaka K, Itoh T, Kanda T., Effect of Hochu-ekki-to(TJ-41), a Japanese Herbal Medicine, on Daily Activity in a Murine Model of Chronic Fatigue Syndrome, *Evid Based Complement Alternat Med*, 2004; 1(2): 203-206.
 37. Sassa S, Sakamoto S, Zhou YF, Mori T, Kikuchi T, Shinoda H., Preventive effects of a Chinese herbal medicine, hochu-ekki-to, on bone loss in ovariectomized rats., *In Vivo*, 2001; 15(1): 25-28.
 38. Prakman HP, Hasler WL, Fisher RS. American Gastroenterological Association technical review on the diagnosis and treatment of gastroparesis. *Gastroenterology*, 2004; 127(5): 1592-1622.
 39. Camilleri M. Advances in diabetic gastroparesis. *Rev Gastroenterol Disord*, 2002; 2(2): 47-56.
 40. 14 Staton PC, Hatcher JP, Walker DJ, Morrison AD, Shapland EM, Hughes JP, Chong E, Mander PK, Green PJ, Billinton A, Fulleylove M, Lancaster HC, Smith JC, Bailey LT, Wise A, Brown AJ, Richardson JC, Chessell IP. The putative cannabinoid receptor GPR55 plays a role in mechanical hyperalgesia associated with inflammatory and neuropathic pain., *Pain*, 2008; 139: 225-236.
 41. Almani SA, Memon IA, Shaikh TZ, Khoharo HK, Ujjan I., Berberine protects against metformin-associated lactic acidosis in induced diabetes mellitus., *Iran J Basic Med Sci*, 2017; 20(5): 511-515.
 42. Hyung Woo Kim, Jae Seung Kang, Su In Kim, Wang Jae Lee, Effect of Sea Tangle Powder on the Regulation of Blood Glucose Level and Body Weight in Streptozotocin (STZ)-induced Diabetic Rats, *The Journal of Korean Diabetes*, 2006; 30(6).
 43. Hye Jong Kim, Young chul Kim, Antidiabetic and Antioxidant Effects of Chunggugjang Powder in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats, *J. ENVIRON. TOXICOL*, 2006; 21(2): 139-146.
 44. Joong Goo Kwon, Diabetic Gastroparesis, *Korean Journal of Medicine*, 2011; 81(2): 2011.
 45. Jeong-sik Choi, Sun-kyu Chang, Chung-sik Cho, Cheol-jung Kim, Dong-un Han, Effects of Sopyung-tang Extract on Blood Glucose & Antioxidant Enzyme Activities of Streptozotocin-induced Diabetic

- Rats, *Korean J. Orient. Int. Med.*, 2008; 29(1): 90-103.
46. Hinds NM, Ullrich K, Smid SD. Cannabinoid 1(CB1) receptors coupled to cholinergic motorneurons inhibit neurogenic circular muscle contractility in the human colon., *Br J Pharmacol*, 2006; 148(2): 191-199.
 47. Guagnini F, Valenti M, Mukenge S, Matias I, Bianchetti A, Di Palo S, Ferla G, Di Marzo V, Croci T. Neural contractions in colonic strips from patients with diverticular disease: role of endocannabinoids and substance P, *Gut*, 2006; 55(7): 946-953.
 48. Mathison R, Ho W, Pittman QJ, Davison JS, Sharkey KA., Effects of cannabinoid receptor-2 activation on accelerated gastrointestinal transit in lipopolysaccharide- treated rats, *Br J Pharmacol*, 2004; 142(8): 1247-1254.
 49. Pinto L, Capasso R, Di Carlo G, Izzo AA, Endocannabinoids and the gut., *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2002; 66(2-3): 333-341.
 50. Coutts AA, Izzo AA. The gastrointestinal pharmacology of cannabinoids: an update. *Curr Opin Pharmacol*, 2004; 4(6): 572-579.
 51. Ross GR, Lichtman A, Dewey WL, Akbarali HI. Evidence for the putative cannabinoid receptor (GPR55)-mediated inhibitory effects on intestinal contractility in mice., *Pharmacology*, 2012; 90(1-2): 55-65.
 52. Lin XH, Wei DD, Wang HC, Wang B, Bai CY, Wang YQ, Li GE, Li HP, Ren XQ., Role of orphan G protein-coupled receptor 55 in diabetic gastroparesis in mice, *Sheng Li Xue Bao*, 2014; 66(3): 332-340.
 53. Kang-Sueck Kim, Complication of Diabetes Mellitus, *Journal of Korean life insurance medical association*, 1984; 1(1): 31-33.
 54. Al-Shaqha WM, Khan M, Salam N, Azzi A, Chaudhary AA., Anti-diabetic potential of *Catharanthus roseus* Linn. and its effect on the glucose transport gene (GLUT-2 and GLUT-4) in streptozotocin induced diabetic wistar rats., *BMC Complement Altern Med*, 2015; 15: 379.
 55. Sato K, Nishijima T, Yokokawa T, Fujita S., Acute bout of exercise induced prolonged muscle glucose transporter-4 translocation and delayed counter-regulatory hormone response in type 1 diabetes, *PLoS One*, 2017; 12(6): e0178505.
 56. Alkaladi A, Abdelazim AM, Afifi M., Antidiabetic activity of zinc oxide and silver nanoparticles on streptozotocin-induced diabetic rats., *Int J Mol Sci*, 2014; 15(2): 2015-2023.
 57. Morato PN, Lollo PC, Moura CS, Batista TM, Camargo RL, Carneiro EM, Amaya-Farfan J., Whey protein hydrolysate increases translocation of GLUT-4 to the plasma membrane independent of insulin in wistar rats., *PLoS One*, 2013; 8(8): e71134.