

## 총백추출물의 고지방식이 유도 비만 마우스에서의 항비만 효과 및 근육조직에서의 에너지대사 조절기전 연구

최윤용<sup>1</sup> · 이현수<sup>1</sup> · 백수연<sup>1</sup> · 임수민<sup>1</sup> · 정효원<sup>1,2</sup> · 강석용<sup>2</sup> · 박용기<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>동국대학교 한의과대학, <sup>2</sup>동국대학교 한방신약개발센터

### Anti-Obesity Effects and the Regulation of Energy Metabolism in Skeletal Muscle Tissues of *Allii Fistulosi Bulbus* Extract in High Fat Diet-Induced Obesity Mice

Yoon Yong Choi<sup>1</sup>, Hyeon Soo Lee<sup>1</sup>, Su Yeon Baik<sup>1</sup>, Sumin Lim<sup>1</sup>, Hyo Won Jung<sup>1,2</sup>, Seok Yong Kang<sup>2</sup>, Yong-Ki Park<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>College of Korean Medicine, Dongguk University, <sup>2</sup>Korean Medicine R&D Institute, Dongguk University

Received: October 28, 2022  
Revised: November 23, 2022  
Accepted: November 30, 2022

**Correspondence to:** Seok Yong Kang  
Korean Medicine R&D Institute,  
Dongguk University, Dongdaero 123,  
Gyeongju 38066, Korea  
Tel: +82-54-770-2658  
Fax: +82-54-770-2647  
E-mail: seokppo2@hanmail.net

**Correspondence to:** Yong-Ki Park  
College of Korean Medicine, Dongguk  
University, Dongdaero 123, Gyeongju  
38066, Korea  
Tel: +82-54-770-2661  
Fax: +82-54-770-2647  
E-mail: yongki@dongguk.ac.kr

Copyright © 2022 by The Society of Korean  
Medicine for Obesity Research

**Objectives:** We investigated the effects of *Allii Fistulosi Bulbus* (AFB) on high fat diet (HFD)-induced obesity in mice and the regulation of energy metabolism in muscle tissues of mice.

**Methods:** The C57BL/6 mice (6 weeks, male) were fed a HFD for 8 weeks and then administered with AFB extract at 500 mg/kg (p.o.) once daily for 4 weeks. The body weight (BW), muscle weight, calorie intake, fasting blood glucose (FBG) and serum glucose, insulin, and low-density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) levels were measured in mice. It was also observed the histological changes of pancreas, liver, and fat tissues with hematoxylin and eosin staining. It was investigated the phosphorylation of insulin receptor substrate 1 (IRS-1), Ser/Thr kinase (AKT), and adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK), and the expression of phosphoinositide 3-kinase, glucose transporter type 4 (GLUT4), and sirtuin1 (Sirt1) in gastrocnemius tissues by western blot, respectively.

**Results:** The increases of BWs, calorie intakes and FBG levels in obesity mice were decreased significantly by the administration of AFB extract. The AFB extract administration was reduced significantly serum levels of glucose, insulin, and LDL-C in obesity mice. The AFB extract inhibited lipid accumulation in liver tissues, hyperplasia of pancreatic islets, and enlargement of fat tissues in obesity mice. The phosphorylation of IRS-1 and AKT was increased significantly in muscle tissues and AMPK phosphorylation and the GLUT4 and Sirt1 expression were decreased significantly in muscle tissues after the AFB administration.

**Conclusions:** Our study indicates that AFB extract improves symptoms of obesity through regulation of energy regulating proteins in muscle tissues.

**Key Words:** Obesity, High-fat diet, *Allii Fistulosi Bulbus*, Energy metabolism

## 서론

비만(obesity)은 지방이 정상보다 더 많이 축적된 상태로 에너지 섭취량이 에너지 소모량보다 많은 상태에서 체지방이 증가하여 발생한다. 우리나라는 최근 인스턴트 음식

식이나 지방 함유량이 많은 음식의 잦은 섭취, 단순당의 과도한 섭취 및 좌식 생활습관에 따른 적은 활동량, 수면 부족 등으로 비만 유병률이 2018년 35.7%로 현저히 증가하였다<sup>1)</sup>. 비만은 비만으로 그치는 것이 아니라 제2형 당뇨병, 이상지질혈증, 고혈압, 지방간, 관상동맥질환, 뇌졸

중, 대장암, 유방암 등 각종 질병의 원인이 될 수 있으며, 특히 비만인 사람은 제2형 당뇨병의 위험이 5~13배 증가하게 된다. 비만은 식사치료, 운동치료, 행동치료, 고도비만의 경우 수술치료 및 약물치료가 적용되고 있는데 항비만 약제로 orlistat, naltrexone ER-bupropion ER, liraglutide (3 mg), phentermine-topiramate ER 등이 동반 질환에 따라 선택 운용되고 있다<sup>2)</sup>. 그러나 약물치료는 소화장애, 구역, 구토, 복부팽만, 변비, 설사, 두통, 불안 등 각종 부작용으로 새로운 항비만 약제 개발은 여전히 중요한 연구개발 (research and development) 이슈이다.

한의학에서 비만은 비(肥), 비만(肥胖), 비인(肥人), 육인(肉人), 비귀인(肥貴人) 등으로 표현하고 있는데 ‘肥貴人, 膏粱之疾也’라고 하여 비만의 주원인이 기름진 음식을 많이 섭취한 것에서 비롯된다고 하였다. 비만은 외감습사(外感濕邪) 및 내상칠정(內傷七情) 등으로 인한 기체(氣滯), 담탁(痰濁), 수습(水濕), 어혈(瘀血) 등에서 기인하는데<sup>3)</sup>, 비(脾), 폐(肺), 신(腎)과 밀접하게 연관되어 영양 과잉(營養過乘), 활동 감소(活動過少), 스트레스 등으로 인한 폐의 선발(宣發)과 수강(肅降)의 불균형, 비의 운화수포(運化輸布), 신의 증騰기화(蒸騰氣化) 등에 따른 담(痰), 습(濕)의 적체로 인체 수액 대사가 실조되어 발생한다고 본다<sup>4)</sup>. 한방에서 비만 치료는 유형, 시기, 변증별로 다르게 운용하고 있으며 식이요법, 체질에 따른 섭생, 운동요법과 한방기공요법, 행동수정요법 및 이침·체침요법과 전기지방분해침, 약침 등을 활용한 침구요법, 뜸, 부항, 추나 및 마사지, 그리고 체내 습담(濕痰)을 제거하는 한약 요법 등이 사용되고 있다.

총백(葱白, *Allii Fistulosi Bulbus*: AFB)은 백합과(Liliaceae)에 속하는 다년생초본인 파(葱, *Allium fistulosum* L.)의 신선한 비늘줄기(鱗莖)로 발산풍한약(發散風寒藥)에 해당하며 폐(肺)와 위(胃)에 귀경(歸經)하는 온성약(溫性藥)이다. 총백은 신산온통(辛散溫通)하는 성미(性味)로 인체 상하(上下)를 선통(宣通)하고, 표리(表裏)를 통달(通達)하게 하며, 밖으로는 한사(寒邪)를 발산시켜 해표(發汗解表)하고, 안으로 양기(陽氣)를 통하게 하여 지통(止痛)하게 하므로 주로 외감풍한(外感風寒)으로 인한 발열, 한사(寒邪)로 인한 하리맥미(下痢脈微), 한응기조(寒凝氣阻)로 인한 복통과 뇨폐(尿閉) 등의 증상을 치료한다<sup>5)</sup>. 또한 총백은 동의보감에서 자현(子懸), 임신상한(妊娠傷寒), 태동불안(胎動不安) 등 부인과 질환에도 사용한다고도 되어 있다<sup>6)</sup>. 총백에 대한 현대 약리 연구로는 항산화<sup>7)</sup>, 항균<sup>8)</sup>, 면역력 증강<sup>9)</sup>, 항혈

소판 응집<sup>10)</sup>, 죽상경화증 개선<sup>11)</sup>, 혈당 강하<sup>12)</sup>, 키 성장<sup>13)</sup> 등의 효과가 보고되었다.

본 연구에서는 총백의 항비만 효과를 장기간 고지방식이로 비만이 유발된 마우스에서 확인하고, 그 작용기전으로서 간, 췌장, 백색지방, 갈색지방 및 골격근 조직에서의 조직학적 변화와 에너지대사 조절 분자들의 발현 조절을 통해 검증하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 약물 제조

실험에 사용한 총백은 광명당제약(Ulsan, Korea)에서 구입하였으며, 동국대학교 한의과대학 본초학교실에서 정선하여 추출물 제조에 사용하였다. 총백 열수추출물 제조를 위하여 총백을 증류수 1 L와 함께 용기에 넣고, 95°C에서 3시간 동안 1차 추출한 후 동일 비율로 다시 2차 추출하였다. 추출물을 3겹 거어즈 및 와트만 거름종이(Whatman paper filter No.1; Whatman, Maidstone, UK)를 이용하여 여과한 후 회전식 감압농축기(rotary evaporator)를 이용하여 농축하였으며, 동결건조기로 건조시켰다(AFB 수율=36.09%). 건조된 총백추출물을 곱게 분쇄한 후 일정 용기에 넣고 냉장 보관하면서 동물실험 직전 생리식염수에 완전히 녹여 시험 약물로 사용하였다. 또한 세포실험을 위하여 추출물을 1×phosphate-buffered saline에 적정 농도로 녹인 후 주사기 필터(syringe filter, 0.45 μm; Sartorius, Göttingen, Germany)를 이용하여 여과하고 냉동 보관하면서 시험 약물로 사용하였다.

### 2. 고지방식이 유도 비만 마우스모델 제작

비만 동물모델 제작에 수컷 6주령 C57BL/6 마우스(18-19 g)를 (주)코아텍(Pyongtack, Korea)에서 구입한 후 1주일 순화시켜 사용하였다. 실험 기간 사육 환경은 일광주기 12시간, 온도 23±2°C, 습도 50±10%로 일정하게 유지하였으며 정수 물을 공급하였다. 비만 유발 기간에는 정상군은 일반 고형사료(3.1 kcal 14% protein; Teklad, Envigo, WI, USA)를 공급하고, 비만이 유발된 대조군은 8주 동안 고지방 사료(5.24 kcal 60% fat, 30% carbohydrate; Teklad)를 급여하였다. 실험동물 관리 및 처치는 식약처 동물보호법 13조 규정을 준수하고 동국대학교 동물실험윤리위원회로부터 승인을 받아 수행하였다(IACUC-2022-05).

정상군(normal)을 제외한 모든 실험군은 고지방식이(high fat diet, HFD)를 급여한 뒤 몸무게가 10% 이상 증가한 개체들을 선별하여 비만 유발 대조군(HFD)으로 설정하였다. 실험군은 대조군에 총백추출물을 500 mg/kg/body weight (b.w.) 투여한 약물군(AGF), 대조군에 항당뇨약인 메트포민(metformin, Met)을 500 mg/kg/b.w. 투여한 양성 대조군(Met)으로 구분하였으며, 각 군에는 5마리씩 배치하였다. 또한 정상군을 제외한 모든 실험군은 실험 종료 시까지 고지방식이를 유지하였으며 약물은 매일 정해진 시간에 존데를 사용하여 1회 경구 투여하였다. 총백추출물의 투여용량은 기보고된 동물모델에서의 투여용량<sup>9,12)</sup>을 참조하여 설정하였다.

모든 실험 종료 후 실험동물은 12시간 금식시킨 뒤 의료용 산소 30%, 아산화질소 70% 혼합 이소플루란(isoflurane)을 흡입시켜 마취를 실시하였으며, 복대 정맥 채혈을 통해 혈액을 얻었다. 또한 간과 췌장 조직 및 부고환 지방과 갈색지방을 분리하여 조직 관찰표본 제작에 사용하였고, 근육과 지방조직은 단백질 발현 분석을 위한 시료로 사용하였다.

### 3. 생리 변화 측정

비만 발생에 의한 생리현상 변화를 조사하기 위하여 총백추출물을 투여하는 동안 매주 1회 체중 변화(body weight, BW)를 측정하였다. 또한 매주 일정한 양의 사료를 급여하고 남은 양을 측정하여 섭취량(food intake) 변화를 계산하였고, 섭취한 총열량(total calorie intake, kcal)으로 환산하였다.

### 4. 경구포도당부하검사

경구포도당부하검사(oral glucose tolerance test, OGTT)는 약물투여 마지막 날 12시간 이상 모든 동물을 금식시키고 실시하였다. 포도당(D8270, Sigma-Aldrich Co., Ltd., St. Louis, MO, USA)을 체중(kg)당 2 g씩 경구 투여한 다음 0, 30, 60, 90, 120분에 각각 실험동물의 꼬리정맥으로부터 혈액을 수집하고, 혈당측정기(Accu-Check, Roche Diabetes Care GmbH, Mannheim, Germany)를 이용하여 혈당을 측정하였다.

### 5. 혈액 조성 변화 측정

비만 발생에 따른 혈액 성분의 변화를 조사하기 위하

여 약물 투여 기간 매주 1회 12시간 이상 금식시킨 뒤 꼬리정맥으로부터 혈액을 채취하고, 혈당측정기(Accu-Check)를 이용하여 공복혈당(fasting blood glucose)을 측정하였다. 또한 실험 종료 후 혈액을 수집하여 혈청을 분리한 후 자동혈액분석기(Automatic clinical biochemistry analyser, FDC7000i; Fujifilm Co., Tokyo, Japan) 또는 효소면역화학 반응법(ELISA)을 이용하여 혈청 내 포도당(glucose, 1050; Fujifilm Co.), 인슐린(insulin, 90080; Crystal Chem Inc., Elk Grove Village, IL, USA), 총콜레스테롤(total cholesterol, 1450; Fujifilm Co.) 등의 농도를 측정하였다. 각 지표의 농도는 측정 키트 내 표준용액을 기준으로 정량하였으며, 저밀도 지단백 콜레스테롤(low-density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)은 총콜레스테롤, 고밀도지단백 콜레스테롤(high-density lipoprotein-cholesterol, HDL-C), 중성지방(triglyceride)의 수치를 이용해서 자동혈액분석기로 자동 산출하였다.

### 6. 조직 병리 변화 관찰

실험 종료 후 간, 췌장, 부고환 지방 그리고 갈색지방 조직을 분리하고 4% paraformaldehyde 용액에서 24시간 이상 고정된 후 10~30% sucrose 용액으로 가라앉히고 자동조직과정 처리기를 통해 탈수, 투명, 칩투화 과정을 거쳐 표본을 제작하였다. 이를 파라핀으로 포매한 뒤 조직 절편기(microtome)를 이용하여 4~6 um 두께의 절편을 제작하였으며 hematoxylin and eosin (H&E) 염색을 하였다. 조직 절편을 xylene으로 탈파라핀화하고 hematoxylin 용액으로 6분간 염색을 하였다. 이를 다시 0.1~1% hydrogen chloride (HCl)이 각각 포함된 75% alcohol로 세척한 후 eosin 용액을 떨어뜨려 3분간 대조 염색하고, 95~100% 알코올로 탈수, 투명과정을 거친 후 permount로 봉입하여 구조변화를 현미경으로 관찰하였다.

### 7. Western blot

실험 종료 후 모든 실험동물을 희생시키고 비복근(gastrocnemius) 조직을 수집하였으며, 근육 분화 및 에너지대사 조절 단백질들의 발현 변화를 분석하기 위한 시료로 사용하였다. 근육조직은 Tissue Protein Extraction Reagent (78510; Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 넣고 마쇄기(T10 basic; IKA®, Staufen im Breisgau, Germany)를 이용하여 마쇄하여 분리하였다. 각 시료를 4°C, 14,000 rpm에서 20분간 원심 분리함으로써 단백질을 수집하고, pro-

tein assay 시약(5000006; Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA)을 이용하여 정량하였다. 정량한 단백질(30  $\mu$ g)을 5×sample buffer (100 mM Tris-HCl, pH 6.8, 200 mM dithiothreitol, 4% SDS, 0.2% bromophenol blue, 20% glycerol)와 섞고, 95°C에서 5분간 denaturation시킨 다음 10% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis를 실시하였다. 분리된 단백질을 nitrocellulose membrane (66485; Pall Co., Port Washington, NY, USA)으로 옮긴 후 5% Skim milk 용액에서 2시간 blocking하였다. 여기에 각 표적 단백질에 대한 1차 항체들을 넣어 4°C에서 하룻밤 반응시켰다. 사용된 1차 항체는 anti- $\beta$ -actin, anti-insulin receptor substrate 1 (IRS-1), anti-phospho-IRS-1, anti-AKT, anti-phospho-AKT, anti-phosphoinositide 3-kinase (PI3K), anti-adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK), anti-phospho-AMPK, anti-glucose transporter type 4 (GLUT4), anti-sirtuin1 (Sirt1) antibodies이다.

이를 0.05% Tween-20이 들어간 TBS buffer (TBS-T)로 15분간 3회 세척한 후 2차 항체인 HRP-conjugated goat-anti-mouse 또는 HRP-conjugated goat-anti-rabbit 항체와 상온에서 2시간 반응시켰다. 이를 TBS-T buffer로 15분간 3회 세척한 다음 enhanced chemiluminescence substrate (170-5061; Bio-Rad)을 이용하여 발색시키고, ChemiDoc™ MP Imaging system (Bio-Rad)을 이용하여 발현 정도를 측정하였다. 각 밴드 이미지를 Image J program (U.S. National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA)을 이용하여 정량적 측정 후  $\beta$ -actin 발현에 대한 상대적인 발현 비율로 계산하여 그래프로 나타내었다.

## 8. 통계분석

모든 실험결과는 GraphPad Prism 5.0 분석프로그램 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA)을 이용하여 군당 마우스의 평균(mean)±표준편차(standard deviation, SD) 또는 세포의 3회 반복실험에 대한 평균(mean)±표준편차 (SD) 값으로 계산하였다. 정상군과 당뇨병 유발 대조군 또는 대조군과 약물 투여군 간 유의성을 one-way analysis of variance 및 Turkey's test를 통해 검정하였으며, 신뢰구간이 95% 이상인 경우에만 유의성(P<0.05)이 있는 것으로 판정하였다.

## 결과

### 1. 체중 및 칼로리 섭취량 증가에 대한 효과

고지방식이(HFD) 유도 비만 마우스에서 생리현상 변화에 대한 총백추출물(ABF)의 효과를 확인하기 위해 체중(BW)과 칼로리 섭취량(calorie intake)을 측정하였다.

먼저 체중 변화는 정상군(Nor, 28.73±2.23 g)과 비교하여 비만 대조군(HFD)에서 유의적으로 증가(41.47±4.04 g, P<0.001)하였으며, 이는 총백추출물 투여에 의해 감소(37.79±4.27 g)하였다(Fig. 1A). 몸무게 변화량에서도 정상군(0.99±0.36 g)에 비하여 대조군(2.33±0.60 g, P<0.01)에서 유의적인 증가를 나타내었고, 이는 총백추출물 투여에 의해 유의적으로 감소(-2.48±0.76 g, P<0.001)하였다. 또한 메트포민 투여군에서도 대조군과 비교하여 유의적인 체중 감소(34.12±3.13 g, P<0.001)와 몸무게 변화량 감소(-6.19±0.84 g, P<0.001)를 나타내었다(Fig. 1B).

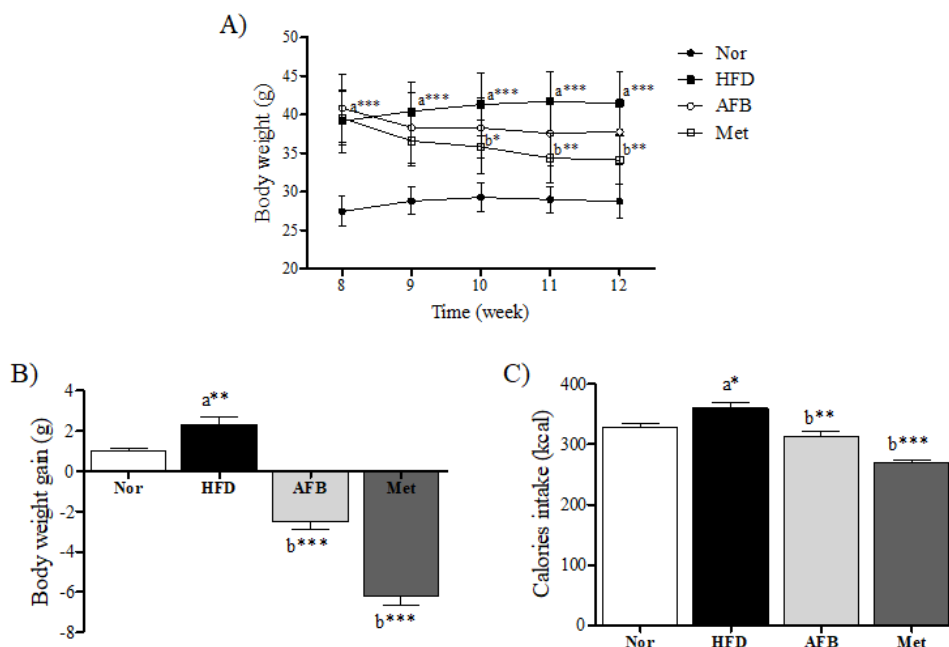
한편, 칼로리 섭취량에서는 정상군(329.19±9.21 kcal)과 비교하여 대조군에서 유의적으로 증가하였으며(359.86±18.69 kcal, P<0.05), 이는 총백추출물 투여 후 유의적으로 감소하였다(313.93±17.09 kcal, P<0.01). 또한, 메트포민 투여군에서도 대조군 대비 유의적인 칼로리 섭취량의 감소(269.47±10.55 kcal, P<0.001)를 나타내었다(Fig. 1C).

### 2. 혈당 변화에 대한 효과

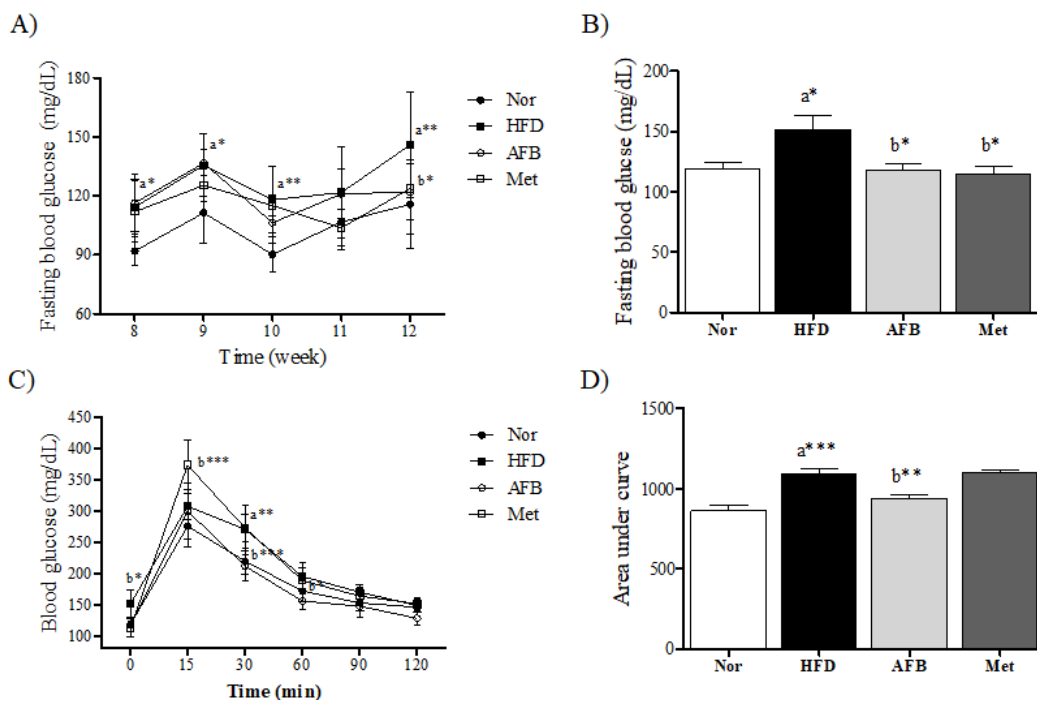
비만 마우스에서 총백추출물의 혈당조절 효과를 확인하기 위해 4주간 약물투여 후 12주째 공복혈당을 측정하고, 경구포도당부하검사(OGTT)를 실시하였다.

공복혈당 수치는 약물투여 기간에 의존적으로 증가하였으며(Fig. 2A), 정상군(118.80±10.53 mg/dL)과 비교하여 비만 대조군에서 유의적으로 증가(151.60±23.12 mg/dL, P<0.05)하였다. 이러한 공복혈당 증가는 총백추출물(118.20±10.94 mg/dL, P<0.05) 및 메트포민(115.00±14.26 mg/dL, P<0.05) 투여에 의해 유의적으로 감소되었다(Fig. 2B).

OGTT에서는 포도당 섭취 15분에 대조군에서 정상군보다 유의적인(P<0.01) 혈당 증가가 관찰되었으며, 총백추출물 투여는 포도당 섭취 15분(P<0.001)과 30분(P<0.05)에 대조군과 비교하여 유의적인 혈당 감소 효과를 나타내었다(Fig. 2C). 이를 혈당 그래프의 곡선하면적(area under curve)으로 변환하였을 때 정상군(863.70±69.42)과 비교하여 대조군에서 유의적인 혈당 증가(1,096.00±50.57, P<0.001)



**Fig. 1.** Effects of AFB extract on the changes of body weight, food intake, and calorie intake in HFD-induced obesity mice. (A) Body weights were measured in mice once a week during drug administration. (B) Body weights gain was calculated using body weights at 9–12 week. (C) Calorie intake was calculated using food intakes at 9–12 week. Data were presented as mean±standard deviation (n=5 per a group). \*P<0.05, \*\*P<0.01, and \*\*\*P<0.001 vs. Nor (a) or HFD group (b). Nor: normal group, HFD: high fat diet-induced obesity control group, AFB: *Allii Fistulosi Bulbus* extract (500 mg/kg)-administrated group, Met: metformin (500 mg/kg)-administrated group.



**Fig. 2.** Effects of AFB extract on the blood glucose levels in HFD-induced obesity mice. The fasting blood glucose levels were measured in whole blood of mice at 8–12 weeks (A) and were presented as a histogram at 12 weeks (B). The oral glucose tolerance test were measured at 12 week (C), and the area under curve was calculated using a GraphPad Prism 5.0 program (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA) (D). Data were presented as mean±standard deviation (n=5 per a group). \*P<0.05, \*\*P<0.01, and \*\*\*P<0.001 vs. Nor (a) or HFD group (b). Nor: normal group, HFD: high fat diet-induced obesity control group, AFB: *Allii Fistulosi Bulbus* extract (500 mg/kg)-administrated group, Met: metformin (500 mg/kg)-administrated group.

가 나타났고, 총백추출물 투여는 대조군 대비 유의적으로 혈당 감소( $940.00 \pm 43.75$ ,  $P < 0.01$ ) 효과를 나타내었다(Fig. 2D). 한편 메트포민 투여군에서는 대조군과 유의적인 차이가 나타나지 않았다( $1,096.60 \pm 33.49$ ).

### 3. 혈액 조성 변화에 대한 효과

비만 마우스에서 총백추출물의 혈액 성분 변화에 대한 개선 효과를 확인하기 위해 혈청에서 glucose, insulin, LDL-C 농도를 측정하였다.

Glucose 수치는 정상군( $172.00 \pm 12.96$  mg/dL)과 비교하여 비만 대조군에서 유의적으로( $262.40 \pm 14.54$  mg/dL,  $P < 0.001$ ) 증가하였으며, 이는 총백추출물( $221.00 \pm 15.89$  mg/dL,  $P < 0.05$ ) 및 메트포민( $184.40 \pm 13.35$  mg/dL,  $P < 0.001$ ) 투여에 의해서 유의적으로 감소하였다(Fig. 3A).

Insulin 수치에서도 정상군( $0.22 \pm 0.08$  ng/mL) 대비 대조군에서 유의적인( $0.83 \pm 0.08$  ng/dL,  $P < 0.001$ ) 증가를 나타내었고, 총백추출물( $0.52 \pm 0.06$  ng/dL,  $P < 0.001$ ) 및 메트포민( $0.28 \pm 0.08$  ng/dL,  $P < 0.001$ ) 투여에 의해 유의적으로 감소되었다(Fig. 3B).

LDL-C 수치에서는 정상군( $18.12 \pm 3.56$  mg/dL)보다 대조군에서 유의적으로( $41.76 \pm 2.98$  mg/dL,  $P < 0.001$ ) 증가하였고, 이는 총백추출물( $24.88 \pm 0.98$  mg/dL,  $P < 0.001$ ) 및 메트포민( $22.68 \pm 2.01$  mg/dL,  $P < 0.001$ ) 투여에 의해 유의적으로 감소하였다(Fig. 3C).

### 4. 간, 췌장, 지방 조직의 구조적 변화에 대한 효과

비만 마우스에서 총백추출물의 조직 손상에 대한 억제 효과를 확인하기 위해 간, 췌장, 부고환지방 및 갈색지방

조직을 H&E 염색하여 구조변화 관찰 및 무게 변화를 측정하였다.

간 조직에서는 정상군과 비교하여 비만 대조군에서 다량의 지방 방울(lipid droplets) 형성이 관찰되었으며, 이는 총백추출물 및 메트포민 투여에 의해 감소되는 것으로 나타났다(Fig. 4A). 또한 간 조직의 무게를 측정한 결과 정상군( $0.95 \pm 0.05$  g)보다 대조군에서 유의적으로( $1.47 \pm 0.18$  g,  $P < 0.001$ ) 증가하였으며, 이는 총백추출물( $1.14 \pm 0.16$  g,  $P < 0.01$ ) 및 메트포민( $0.99 \pm 0.04$  g,  $P < 0.001$ ) 투여 후 유의적으로 감소되었다(Fig. 4B).

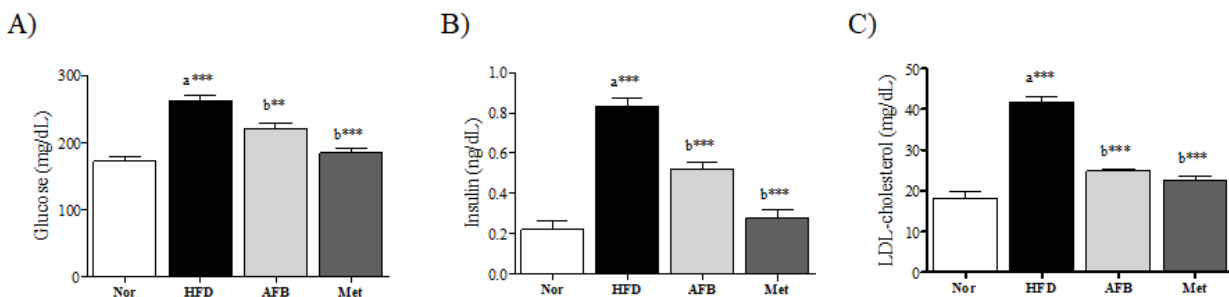
췌장 조직에서는 정상군에 비해 대조군에서 췌장섬(islet of Langerhans)의 크기가 증가하는 것을 관찰하였으며, 이는 총백추출물 및 메트포민 투여에 의해 감소되는 것으로 나타났다(Fig. 4C).

부고환지방(Fig. 4D) 및 갈색지방(Fig. 4E) 조직에서는 정상군과 비교하여 대조군에서 지방세포의 크기가 증가하였으며, 이는 총백추출물 및 메트포민 투여에 의해 감소되는 것을 관찰하였다.

### 5. 근육조직에서의 에너지대사 조절단백질들의 발현 변화에 대한 효과

비만 마우스의 골격근 조직에서 총백추출물의 에너지 대사 조절 효과를 확인하기 위해 비복근조직을 분리하여 IRS-1, PI3K, Ser/Thr kinase (AKT), AMPK, GLUT4, Sirt1의 발현을 Western blot 방법으로 관찰하였다.

그 결과, 체중 대비 근육의 양은 정상군과 비교하여 비만 대조군에서 유의적으로( $P < 0.001$ ) 감소하였으며, 이는 총백추출물( $P < 0.01$ ) 및 메트포민( $P < 0.001$ ) 투여에 의해 유의



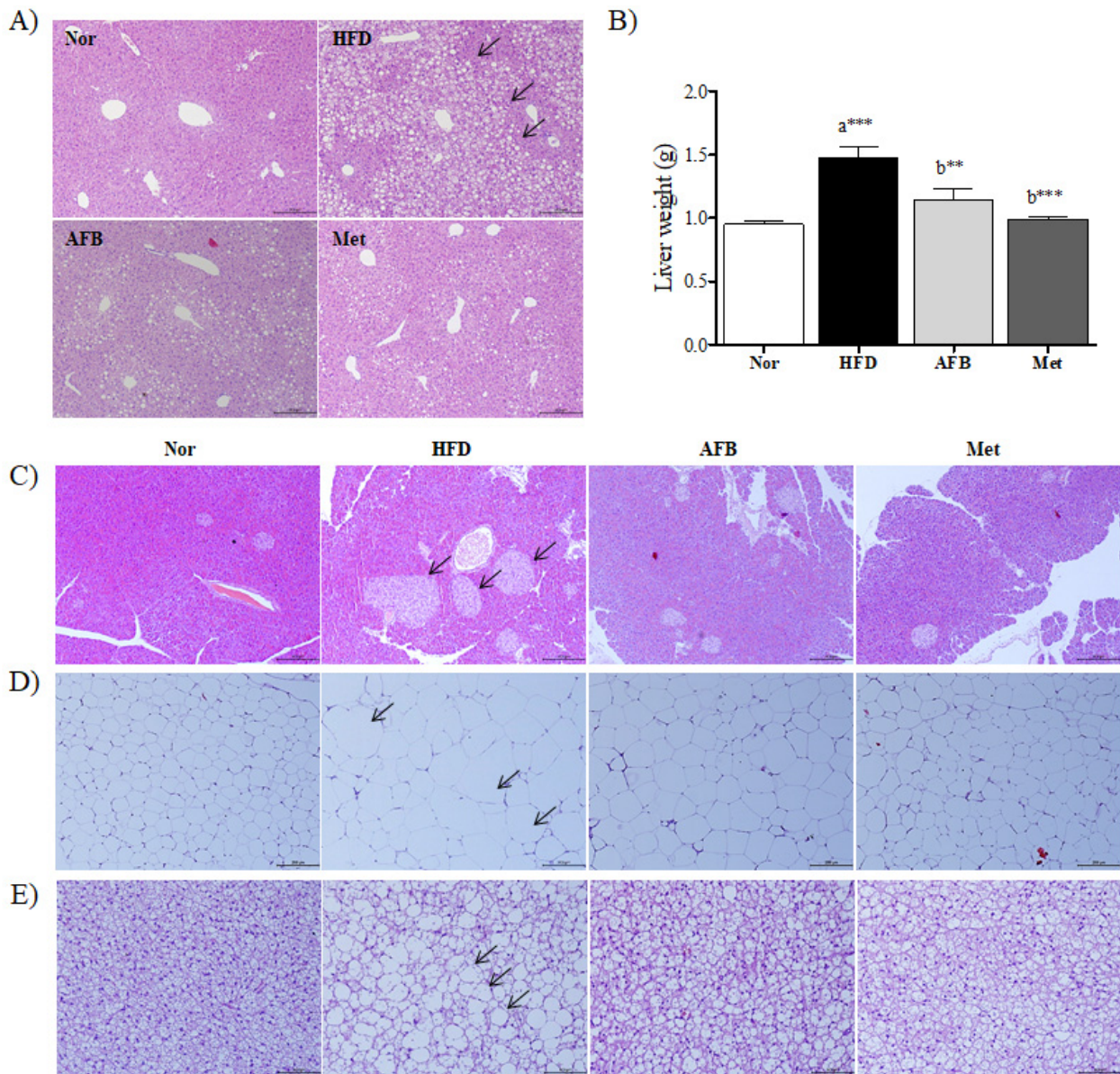
**Fig. 3.** Effects of AFB extract on the levels of glucose, insulin, and LDL-cholesterol in the sera of HFD-induced obesity mice. The levels of (A) glucose, (B) insulin, and (C) LDL-cholesterol were measured in the sera of mice at 12 weeks. Data were presented as mean  $\pm$  standard deviation ( $n=5$  per a group). \*\* $P < 0.01$ , and \*\*\* $P < 0.001$  vs. Nor (a) or HFD group (b). Nor: normal group, HFD: high fat diet-induced obesity control group, AFB: *Allii Fistulosi Bulbus* extract (500 mg/kg)-administrated group, Met: metformin (500 mg/kg)-administrated group, LDL: low-density lipoprotein.



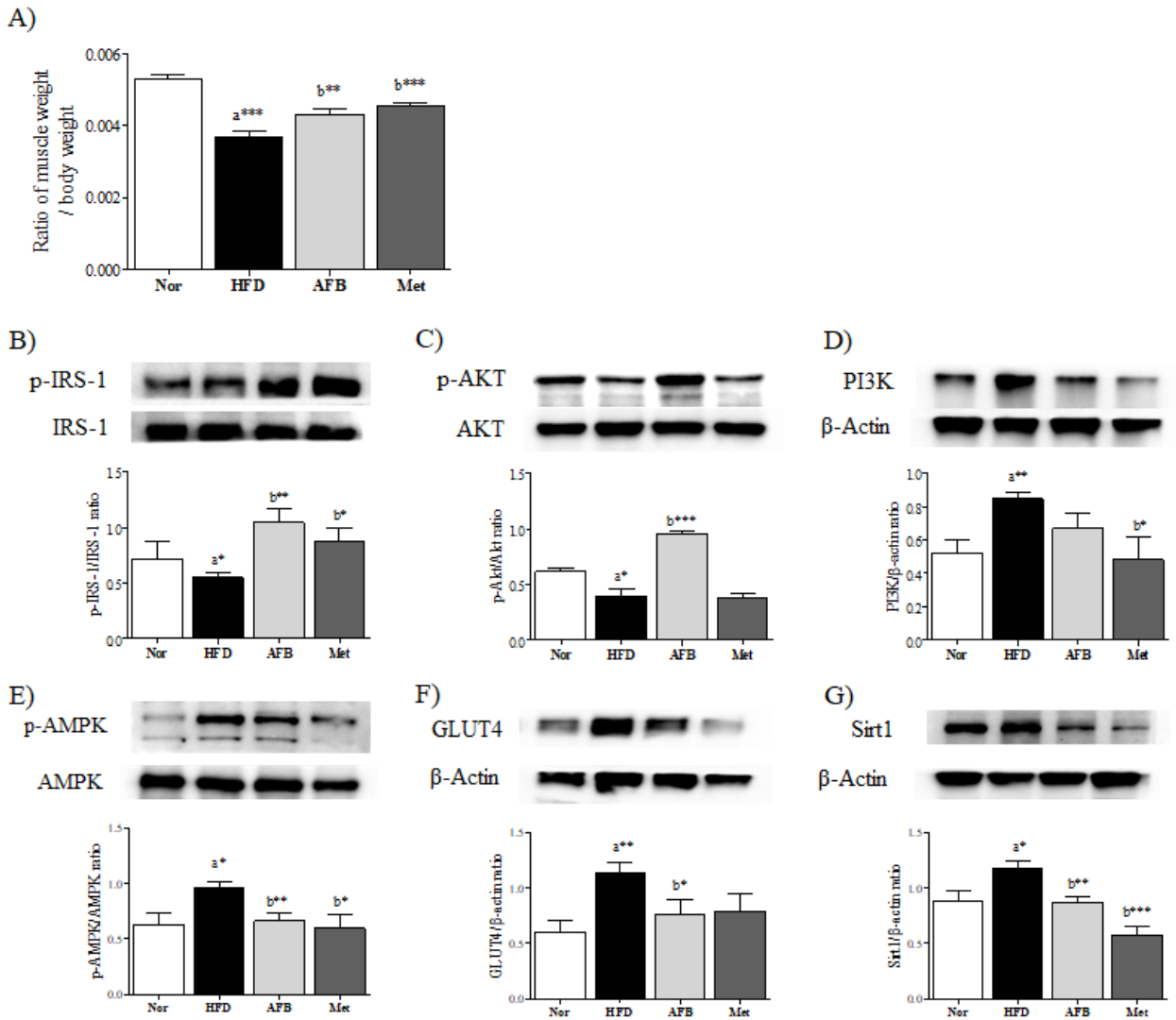
적으로 증가하였다(Fig. 5A).

에너지대사 조절 단백질들의 발현에서는 정상군에 비하여 대조군에서 IRS-1 ( $P<0.05$ , Fig. 5B)과 AKT ( $P<0.05$ , Fig. 5C)의 인산화 발현이 유의적으로 감소하였고, PI3K ( $P<0.01$ , Fig. 5D)의 발현과 AMPK ( $P<0.05$ , Fig. 5E)의 인산화 발현이 증가하였으며, GLUT4 ( $P<0.01$ , Fig. 5F)와 Sirt1

( $P<0.05$ , Fig. 5G)의 발현이 증가하였다. 또한 총백추출물의 투여는 대조군이 비해 IRS-1 ( $P<0.01$ )과 AKT ( $P<0.001$ )의 인산화 발현을 유의적으로 증가시키고, AMPK의 인산화 발현( $P<0.01$ )과 GLUT4 ( $P<0.05$ ) 및 Sirt1 ( $P<0.01$ )의 발현을 유의적으로 감소시켰다. 메트포민 투여군에서도 총백추출물 투여군과 유사한 효과가 관찰되었다.



**Fig. 4.** Effects of AFB extract on the histological changes of liver and adipose tissues in HFD-induced obesity mice. The liver (A), pancreas (C), epididymis fat (D), and brown fat (E) tissues were stained with hematoxylin and eosin and then were observed under microscope (x100). (B) The weights of liver were measured in mice at 12 week. Data were presented as mean±standard deviation (n=5 per a group). \*\* $P<0.01$ , and \*\*\* $P<0.001$  vs. Nor (a) or HFD group (b). Nor: normal group, HFD: high fat diet-induced obesity control group, AFB: *Allii Fistulosi Bulbus* extract (500 mg/kg)-administrated group, Met: metformin (500 mg/kg)-administrated group. Arrows were shown pathological changes of each tissue.



**Fig. 5.** Effects of AFB extract on muscle weights and the expression of energy metabolism-regulating proteins in gastrocnemius tissues of HFD-induced obesity mice. (A) The weights of gastrocnemius tissues of mice were measured at 12 weeks. The expression of p-IRS-1, IRS-1 (B), p-AKT, AKT (C), PI3K (D), p-AMPK, AMPK (E), GLUT4 (F), Sirt1 (G), and  $\beta$ -actin was determined by Western blot, respectively.  $\beta$ -actin was used an internal control. Histograms (A-G) were analyzed the expression of target protein per each total form or  $\beta$ -actin. Data were presented as mean $\pm$ standard deviation (n=5 per a group). \*P<0.05, \*\*P<0.01, and \*\*\*P<0.001 vs. Nor: normal group, HFD: high fat diet-induced obesity control group, AFB: *Allii Fistulosi Bulbus* extract (500 mg/kg)-administrated group, Met: metformin (500 mg/kg)-administrated group, IRS-1: insulin receptor substrate 1, AKT: Ser/Thr kinase, PI3K: phosphoinositide 3-kinase, AMPK: adenosine monophosphate-activated protein kinase, GLUT4: Glucose transporter type 4, Sirt1: sirtuin1.

## 고찰

최근 비만 환자가 전 세계적으로 빠르게 증가하면서 당뇨병과 더불어 21세기 신종 전염병(pandemic)으로 불리고 있으며<sup>14)</sup>, 우리나라도 2009년부터 지속해서 증가하며 2019년 성인 비만 유병률이 36.3%에 이르고 복부비만 유병률도 23.9%로 성인 인구 3명당 1명이 비만 환자로 나타나고 있다<sup>15)</sup>. 따라서 비만을 교정해서 당뇨병 완화까지

노리는 연구 및 시도가 미국, 영국 등에서 이루어지고 있으며<sup>16,17)</sup> 우리나라도 높은 사회 경제적 비용과 20대 미만 청소년과 아동의 비만 인구 증가 등의 위험성을 생각하면 비만 개선과 치료 노력이 시급한 상황이다<sup>14,18)</sup>.

현대 의학에서 비만은 지방이 정상보다 더 많이 축적된 상태를 의미하며 체질량지수(body mass index)와 허리둘레(복부비만)를 측정하여 체내 지방량을 평가함으로써 진단하게 된다. 비만의 기본 치료는 적절한 체중 감량을



위한 식사치료, 운동치료, 행동치료를 운용하며 올리스타트, 날트렉손/부프로피온, 펜터민/토피라메이트, 리라글루타이드 등 약물을 활용하여 식욕을 억제하거나 지방흡수를 저해하여 체중감량을 유도하는 약물치료를 사용하고 있다<sup>19)</sup>. 그러나 아직도 비만의 효과적인 치료법을 찾고 있지 않으며 약물치료의 경우 동반질환과 복용 약물, 안전성 등을 고려하여 부가적 운용을 권고하고 있다<sup>2)</sup>. 하지만 이런 치료들은 비만치료 효과에 여전히 한계가 있으며 최근 2세대 비만 약물치료제로 세마글루타이드를 포함하여 glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP)/glucagon-like peptide-1 (GLP-1) dual agonists, GIP/GLP-1/glucagon triagonists 등 복합 약제들의 활용<sup>20)</sup>이 이루어질 전망이다. 또한 지방세포의 분화와 신호전달물질들(leptin, adiponectin, resistin, tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin-6)의 조절<sup>21)</sup>, 백색지방을 갈색지방으로 바꾸어 체내 열량 소비를 촉진하거나<sup>22)</sup>, 중추신경계의 melanocortin MC-4, melanin concentrating hormone, neuropeptide Y, ghrelin, activin, glucose-dependent Insulinotropic polypeptide 등 다양한 섭식조절분자들의 활성화 유도를 통한 비만 제어 등 주로 분자 수준에서의 치료제 개발 연구가 활발히 이루어지고 있다<sup>23)</sup>.

비만은 음식 과다, 영양 과잉과 활동 감소로 섭취된 에너지에 비해 소비되는 에너지가 적어서 생기는 에너지 불균형 상태로 한의학에서는 살이 찐 사람(肥人)을 비만(肥人 膏梁之疾也)이라 하며, 주로 외감습사(外感濕邪), 내상 칠정(內傷七情) 등에 따른 기체(氣滯), 담탁(痰濁), 수습(水濕), 어혈(瘀血) 등에 의해 유발된다고 본다<sup>3)</sup>. 또한 비만을 습(濕), 담(痰), 어혈(瘀血), 적취(積聚) 등으로 인한 실증(實證)과 기허(氣虛), 비허(脾虛), 양허(陽虛)로 인한 허증(虛證)으로 구분하고 있다. 이는 체 내에 필요한 에너지보다 음식을 많이 섭취함으로써 섭취된 에너지에 비해 소비되는 에너지가 적어서 생기는 에너지 불균형 상태로 볼 수 있다. 한의 임상에서의 비만 치료는 한약, 일반침, 전침, 약침, 뜸, 부항, 추나 및 마사지, 절식, 기공 등 다양한 방법을 적절한 변증에 따라 운용하고 있으며, 한약의 경우는 주로 마황을 포함한 방풍통성산(防風通聖散), 태음조위탕(太陰調胃湯), 의이인탕(薏苡仁湯), 방기황기탕(防己黃芪湯)<sup>3,24)</sup>, 황련해독탕(黃連解毒湯), 감비탕(減肥湯)<sup>25)</sup> 등의 처방이 응용되고 있다. 또한 의이인(薏苡仁), 당귀(當歸), 감초(甘草), 나복자(蘿蔔子), 천궁(川芎), 산사(山查), 대황(大黃), 백출(白朮), 갈근(葛根), 계지(桂枝) 등 다양한 약재와 체감의이인탕

(體減薏苡仁湯), 조위승청탕(調胃升清湯), 방풍통성산(防風通聖散), 비감환(肥感丸), 체감보혈안신탕(體減補血安神湯), 체감방풍통성산(體減防風通聖散) 등 다양한 처방을 활용한 약물요법이 활용하고 있다<sup>26-28)</sup>. 그러나 한의약은 개별 맞춤형 한약 처방에 따른 표준화 문제 등 효능과 안전성에 대한 지속적인 연구가 요구되고 있다.

본 연구의 총백은 발산풍한약으로 신온(辛溫)하여 신산온통(辛散溫通), 발한해표(發汗解表)하고, 폐와 위를 발표통양(發表通陽)하게 함으로써 풍한감모(風寒感冒)를 치료하는 한약이다. 총백은 우리나라에서 연간 생산량이 400,000톤에 달하는 중요한 식물자원이며<sup>29)</sup>, 최근 향산화<sup>7)</sup>, 항균<sup>8)</sup>, 면역력 증강<sup>9)</sup>, 항혈소판 응집<sup>10)</sup>, 죽상경화증 개선<sup>11)</sup>, 혈당 강하<sup>12)</sup>, 키 성장<sup>13)</sup> 등 다양한 생리활성이 알려지면서 관심이 더욱 증가하고 있다<sup>30)</sup>. 총백은 주요 활성성분으로 알려져 있는 alliin과 allicin 정유성분과 chlorogenic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, gentisic acid, 4-hydroxybenzoic acid, kaempferol, isoquercitrin, quercitrin, quercetin, rutin 등의 다양한 페놀화합물이 함유되어 있으며<sup>31)</sup>, 특히 alliin과 allicin의 생리활성 연구가 많이 이루어지고 있다. Allicin은 본 연구와 유사한 고지방식이 유도 비만 마우스에서 장내 미생물 환경 개선을 통한 대사조절 효과가 보고된 바 있다<sup>32)</sup>. 본 연구에서는 총백 열수추출물의 항비만 효과와 관련 기전으로서 근육조직에서의 에너지대사 조절 작용을 확인하였다.

본 연구에서 12주의 장기간 고지방식으로 제작한 비만 마우스 모델은 섭식 기간에 의존적인 체중과 칼로리 섭취의 증가, 공복혈당의 증가, 혈액에서의 인슐린 및 LDL-콜레스테롤 수치의 증가를 나타내었으며, 지방간 형성과 췌장섬 비대, 근육량 감소 등 전형적인 비만 증상을 나타내었다. 비만 마우스에 4주 동안의 총백추출물의 투여는 이러한 생리적, 혈액학적, 조직병리학적 변화를 감소시켰다.

과체중과 비만은 제2형 당뇨병으로의 이행과 가장 밀접한 관계를 보이는데<sup>33)</sup>, 체내 지방축적과 지질, 당질의 대사 이상은 인슐린의 활동을 방해하여 각 조직에서의 인슐린 작용에 대한 저항성을 일으키고, 인슐린을 분비하는 췌장섬 베타세포의 기능을 떨어뜨리게 된다<sup>34)</sup>. 따라서 비만에서의 지방축적 감소는 인슐린 저항성 개선과 제2형 당뇨병 발생을 막는 효율적인 치료방법이 된다. 본 연구에서 총백추출물 투여는 비만 마우스의 과도한 체중 증가를 감소시켰는데, 이는 칼로리 섭취량 감소와 LDL-콜레스테

를 등의 이상 지질대사산물 수치의 감소 결과들과 일치하였다. 또한 총백추출물에 의한 체중 감소로 혈당과 인슐린 수치의 증가가 감소함으로써 당뇨병의 주요 증상인 공복혈당 장애와 내당능 장애 및 인슐린 저항성 발생을 막아줄 수 있는 것으로 나타났다<sup>35</sup>).

비만과 당뇨병은 췌장염의 나쁜 예후 인자이며, 췌장암 발생의 위험인자로 인슐린 저항성에 의한 고인슐린혈증이 공통기전으로 알려져 있다<sup>36</sup>. 본 연구에서 장기간 고지방식은 지방간 형성과 췌장섬 비대를 통한 인슐린 분비 증가 현상을 나타내었는데, 비만이 형성되는 동안 지방조직의 지방세포는 비만이지만 대사적으로 유리한 보상 기전을 발휘하면서 체내 인슐린 감수성을 유지하려고 하며 이 과정에서 인슐린 분비 요구로 췌장섬 베타세포의 증식( $\beta$ -cell mass)이 일어나게 된다<sup>37</sup>. 한편 간은 지방조직과 함께 지질 대사를 담당하는 중요한 장기로 체내 에너지대사의 가장 기본 형태인 중성지방으로 저장되고 다른 장기로 이동하는데, 지질대사 과정에 문제가 생기면 간세포 내 중성지방 축적으로 비알코올성 지방간(non-alcoholic fatty liver disease)이 형성된다<sup>38</sup>. 또한 비만으로 인한 내장지방 증가는 간에서 지방산 합성의 증가, 과도한 유리지방산 유입, 만성 염증 발생 등으로 지방간 형성을 더욱 촉진하며 인슐린 저항성 발생으로 이어진다<sup>39</sup>. 본 연구에서 총백추출물은 비만 마우스의 췌장섬 과증식 억제로 혈액 내 인슐린 수치의 증가를 감소시켰으며, 간 조직 내 지방 방출 축적 억제로 지질대사 산물 수치의 증가를 감소시켰다. 이는 총백추출물이 비만에 따른 내장지방 발생과 지방간 형성을 억제하며, 췌장 과부하로 인한 인슐린 요구도 증가를 감소시킴으로써 인슐린 저항성 발생에 따른 당뇨병으로의 이행을 막는데 도움을 줄 수 있음을 의미한다. 한편 총백추출물은 총콜레스테롤과 중성지방 수치의 증가에 대하여 유의한 감소 효과가 나타나지 않았다(data not shown).

본 연구에서는 대조약물로 메트포민을 사용하였는데, 메트포민은 다년생 허브(goat's rue, *Galega officinalis*)의 구아니딘(guanidine) 유기화합물로부터 합성된 약물<sup>40</sup>로 1950년대 이후부터 현재까지 양방 임상에서 당뇨병 일차 치료제로 널리 사용하고 있는 비이구아니드계(biguanides) 경구용 제제이다. 메트포민은 에너지 센서인 AMPK를 활성화하여 당 합성을 조절하는 약물로 특히 생체 내 당 흡수를 담당하는 근육에서 당 수송체(GLUT4)의 이동을 촉진함으로써 당 유입을 증가시키게 된다<sup>41</sup>. 본 연구에서 비

만 마우스에서 메트포민 투여는 총백추출물과 유사하게 체중과 칼로리 섭취량의 증가와 혈청 내 포도당, 인슐린, 총콜레스테롤, alanine aminotransferase 수치의 증가를 감소시키는 것으로 나타났다. 이는 총백추출물이 메트포민 유사 효과를 통해 비만 개선에 도움을 줄 수 있음을 의미한다. 최근 메트포민의 항비만 효과에 대해서 다양하게 연구되고 있는데, 체중 감소와 인슐린 저항성 개선에 대한 긍정적인 효과<sup>42</sup>와 장내 미생물 군집(gut microbiome)의 구성 변경 효과<sup>43</sup> 및 특히 소아비만 치료의 적용 가능성에 대하여 보고되고 있다<sup>44</sup>. 그러나 메트포민도 작용 부위의 가변성이나 작용기전 이해, 젖산증, 불내성 등의 부작용에 대한 연구가 요구되고 있으며<sup>45,46</sup>, 총백추출물도 식·의약 소재로의 활용을 위해서 본 연구에서의 항비만 효과 외에도 간, 근육, 지방조직, 나아가 장내 미생물(gut microbiome) 등에서의 약리기전 연구가 더 필요할 것으로 생각한다.

본 연구에서는 총백추출물의 항비만 효과에 대한 작용기전을 파악해보고자 총백추출물이 체중 대비 근육량 증가에 효과가 있음에 착안하여 근육조직에서의 에너지대사 조절작용을 확인해보았다. 체내 에너지대사의 항상성 조절은 IRS-1과 PI3K/AKT 및 AMPK 경로를 통해 이루어지는데, 먼저 인슐린과 인슐린 수용체(IR)의 결합은 인슐린 수용체 기질(IRS-1)의 인산화(phosphorylation)를 유도하고, 이는 두 가지 주요 신호 경로인 Ras/mitogen activated kinases (MAPK) 또는 PI3K-AKT/protein kinase B (PKB) kinase 인산화 경로로 이어지게 된다. 이 중 PI3K에서 AKT와 PKB로 이어지는 경로는 인슐린의 대사작용에 핵심적인 역할을 하게 된다<sup>47</sup>. 즉 인슐린에 의존하는 PI3K/AKT 경로의 활성화는 세포질 내 포도당 수송단백질(GLUT4)의 세포막으로의 이동을 증가시킴으로써 당 흡수를 촉진하게 된다. 한편 AMPK는 골격근에서 인슐린 반응성 GLUT4의 포도당 수송 조절을 향상시키고, 지방산이나 콜레스테롤 합성과 같은 에너지 소비 경로의 비활성화에 기여한다<sup>48</sup>. 따라서 어떤 약물의 항당뇨 활성은 인슐린 반응성 GLUT4-매개 포도당 수송을 증폭시키는 것이 원형질막의 콜레스테롤 저하와 관련이 있다고 보고되고 있다<sup>49</sup>. 본 연구에서 비만 마우스의 근육조직은 IRS-1과 AKT의 인산화가 감소하고, PI3K와 GLUT4의 발현은 증가하는 불균형 현상이 관찰되었으며, 이는 총백추출물 투여에 의해 바뀌는 것으로 나타났다. 또한 본 비만 근육에서는 AMPK의 인

산화 발현과 미토콘드리아의 에너지 생합성(mitochondrial biogenesis) 전사인자(peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 $\alpha$ , hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ )을 활성화하는 Sirt1<sup>50)</sup>의 발현이 증가하였으며, 이는 총백추출물 투여에 의해 정상 근육과 유사한 상태로 조절되었다. 고지방식은 근육에서 인슐린 신호전달 장애로 인한 GLUT4의 기능 손상<sup>51)</sup>, IR/IRS-1-PI3K 경로의 활성화 불균형 등을 유발하는 것으로 보고되고 있다<sup>52)</sup>. 또한 본 연구와 유사한 고지방식이 유도 비만 마우스의 근육조직에서 IRS-1의 발현 증가와 AKT의 발현 감소<sup>53)</sup> 또는 IRS-1, PI3K, p-AKT, p-AMPK의 발현 감소 등 본 연구결과와 다른 보고들도 이루어지고 있어서 에너지대사 불균형에 따른 조절분자들의 발현 차이와 약물의 조절 기전에 대해서는 다양한 실험조건 간의 비교와 추가 연구가 좀 더 필요할 것으로 생각한다.

본 연구결과로부터 고지방식으로 비만이 유발된 마우스에서 총백추출물 투여는 체중과 섭식량의 증가 및 백색 지방의 무게 증가를 감소시키고, 공복혈당과 인슐린 수치의 증가를 감소시킴으로써 내당능 장애와 인슐린 저항성을 개선시키는 것으로 나타났다. 또한 혈청 내 LDL-콜레스테롤의 증가를 감소시키고, 간 조직의 지방 축적과 췌장섬의 비대를 억제하였으며, 근육량 증가를 통해 항비만 효과를 나타내었다. 이러한 항비만 효과는 근육조직에서의 에너지대사 조절분자들의 발현 조절과 연관되는 것으로 나타났다. 따라서 총백추출물은 비만과 비만으로 인한 당뇨병 발생 예방에 효과적인 식·의약품 소재로 활용될 수 있을 것으로 기대한다.

## 결론

본 연구에서는 8주간 고지방식으로 비만이 유발된 마우스에 4주간 총백추출물을 투여하여 항비만 효과 및 근육에서의 연관 기전을 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 총백추출물은 비만으로 인한 체중, 칼로리 섭취 증가를 유의적으로 감소시켰다.
2. 총백추출물은 비만으로 인한 내당능 장애를 개선시키고 공복혈당, 혈청 포도당, 인슐린, LDL-콜레스테롤의 증가를 유의적으로 감소시켰다.
3. 총백추출물은 간 조직에서의 지방 방울 축적과 췌장섬 비대 현상을 억제하였다.

4. 총백추출물은 체중 대비 근육량 감소를 유의하게 개선시켰고, 근육조직에서 IRS1-PI3K /AKT, AMPK 신호전달분자들의 발현 조절을 통해 GLUT4 발현을 유의적으로 감소시켰다.

본 결과로부터 총백추출물은 항비만 효과를 나타내며, 인슐린 저항성 발생과 에너지 대사 불균형 개선을 통해 당뇨병 예방에도 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다.

## 감사의 글

이 논문은 2020년도 한국연구재단 ‘박사후연수지원사업’의 연구비 지원으로 수행되었음(NRF-2020R1A6A3A01099936).

## References

1. Korean Society for the Study of Obesity. Obesity diagnosis [Internet]. Seoul [cited 2022 Oct 17]. Available from: <http://general.kosso.or.kr/html/?pmode=obesityDiagnosis>.
2. Korean Society for the Study of Obesity. Quick reference guideline. Seoul : Korean Society for the Study of Obesity. 2020 : x, 58.
3. Korea Istitute of Oriental Medicine and the Society of Korean Medicine for Obesity Research. Obesity Korean medicine clinical practice guideline. Daejeon : Korea Istitute of Oriental Medicine and the Society of Korean Medicine for Obesity Research. 2016.
4. The Association of Korean Medicine. A variety of treatments [Internet]. 2009 [cited 2022 Oct 17]. Available from: <https://www.akom.org/Home/AkomArticleHealth/105320?HealthType=3>.
5. Textbook Compilation Committee of National University of Korean Medicine, Korea. Herbology. Seoul : Younglimsa. 2018 : 174.
6. Seo YJ. A study on the gynecologic use of Allii Fistulosi Bulbus in Donguibogam. J Orient Obstet Gynecol. 2011 ; 24(1) : 63-73.
7. Terao J, Hiwada M, Taguchi K, Takahara K, Mohri S. Glutathione peroxidase mimics as novel antioxidants from vegetables. Biofactors. 2005 ; 23(1) : 1-6.
8. Phaya N, Higashiyama T, Tsujib M, Matsuura H,

- Fukushic Y, Yokotaa A, et al. An antifungal compound from roots of Welsh onion. *Phytochemistry*. 1999 ; 52(2) : 271-4.
9. Ueda H, Takeuchi A, Wako T. Activation of immune responses in mice by an oral administration of bunching onion (*Allium fistulosum*) mucus. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2013 ; 77(9) : 1809-13.
  10. Chen JH, Chen HI, Wang JS, Tsai SJ, Jen CJ. Effects of Welsh onion extracts on human platelet function in vitro. *Life Sci*. 2000 ; 66(17) : 1571-9.
  11. He B, Hao J, Sheng W, Xiang Y, Zhang J, Zhu H, et al. Fistular onion stalk extract exhibits anti-atherosclerotic effects in rats. *Exp Ther Med*. 2014 ; 8(3) : 785-92.
  12. Kang MJ, Kim JH, Choi HN, Kim MJ, Han JH, Lee JH, et al. Hypoglycemic effects of Welsh onion in an animal model of diabetes mellitus. *Nutr Res Pract*. 2010 ; 4(6) : 486-91.
  13. Shim SB, Ko BS, Ryuk JA, Lee JH, Lee HB, Chan HK, et al. Randomized, double-blind, and placebo-controlled human trial to evaluate the efficacy and safety of *Allium Fistulosum* L. root extract on improvement of child height growth: study protocol. *J Pediatr Korean Med*. 2021 ; 35(2) : 11-20.
  14. Lee CJ, Kim MJ, An SJ. Current treatments on obesity. *Korean J Health Promot*. 2019 ; 19(4) : 171.
  15. Korean Society for the Study of Obesity. 2021 obesity fact sheet. Seoul : Korean Society for the Study of Obesity. 2021 : 10-3.
  16. Apovian CM, Okemah J, O'Neil PM. Body weight considerations in the management of type 2 diabetes. *Adv Ther*. 2019 ; 36(1) : 44-58.
  17. Dambha-Miller H, Day AJ, Strelitz J, Irving G, Griffin SJ. Behaviour change, weight loss and remission of type 2 diabetes: a community-based prospective cohort study. *Diabet Med*. 2020 ; 37(4) : 681-8.
  18. National Health Insurance Service. Health insurance obesity (E66) medical expenses [serial online]. 2020 [cited 2021 Aug 4]. Available from: <https://www.docdoc.doc.co.kr/news/articleView.html?idxno=2003363>.
  19. Son JW. Recent advances in anti-obesity drugs. *J Korean Diabetes*. 2022 ; 23(2) : 113-27.
  20. Garvey WT. New horizons. A new paradigm for treating to target with second-generation obesity medications. *J Clin Endocrinol Metab*. 2022 ; 107(4) : e1339-47.
  21. Kuryszko J, Sławuta P, Sapikowski G. Secretory function of adipose tissue. *Pol J Vet Sci*. 2016 ; 19(2) : 441-6.
  22. Byun S, Lee CH, Jeong H, Kim H, Kwon HM, Park S, et al. Loss of adipose TET proteins enhances  $\beta$ -adrenergic responses and protects against obesity by epigenetic regulation of  $\beta$ 3-AR expression. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2022 ; 119(26) : e2205626119.
  23. Ferrulli A, Terruzzi I, Senesi P, Succi M, Cannavaro D, Luzi L. Turning the clock forward: new pharmacological and non pharmacological targets for the treatment of obesity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2022 ; 32(6) : 1320-34.
  24. Han KS, Lee MJ, Kim HJ. Systematic review on herbal treatment for obesity in adults. *J Korean Med Rehabil*. 2016 ; 26(4) : 23-35.
  25. Lim SY. Clinical study of Gambitang for 22 obese patients. *J East-West Med*. 2011 ; 36(4) : 51-7.
  26. The Society of Korean Medicine Rehabilitation. Korean rehabilitation medicine. Seoul : Koonja Publisher. 2005 : 349-59.
  27. Farrington R, Musgrave IF, Byard RW. Evidence for the efficacy and safety of herbal weight loss preparations. *J Integr Med*. 2019 ; 17(2) : 87-92.
  28. Hwang MJ, Shin HD, Song MY. Literature review of herbal medicines on treatment of obesity since 2000 - mainly about Ephedra Herba. *J Korean Med Obes Res*. 2007 ; 7(1) : 39-54.
  29. Sohn HY, Kum EJ, Ftyu HY, Jeon SJ, Kim NS, Son KH. Antifungal activity of fistulosides, steroidal saponins, from *allium fistulosum* L. *J Life Sci*. 2006 ; 16(2) : 310-4.
  30. Kim HW, Kim BS, Kim YE, Ko SH. Development of extraction method for Welsh onion root by Alliinase activation. *Food Eng Prog*. 2015 ; 19(2) : 117-21.
  31. Țigu AB, Moldovan CS, Toma VA, Farcaș AD, Moț AC, Jurj A, et al. Phytochemical analysis and in vitro effects of *Allium fistulosum* L. and *Allium sativum* L. extracts on human normal and tumor cell lines: a comparative study. *Molecules*. 2021 ; 26(3) : 574.
  32. Shi X, Zhou X, Chu X, Wang J, Xie B, Ge J, et al. Allicin improves metabolism in high-fat diet-induced obese mice by modulating the gut microbiota. *Nutrients*. 2019 ; 11(12) : 2909.
  33. Caballero B. Humans against obesity: who will win?

- Adv Nutr. 2019 ; 10(suppl\_1) : S4-S9.
34. Choi CS. Review: pathogenesis of insulin resistance. Korean J Med. 2009 ; 77(2) : 171-7.
  35. Korean Diabetsa Association. Clinical practice guidelines for diabetes. Seoul : Korean Diabetsa Association. 2022 : 11-2, 27-9.
  36. Kim HG, Han JM. Obesity and pancreatic diseases. Korean J Gastroenterol. 2012 ; 59(1) : 35-9.
  37. Kusminski CM, Ghaben AL, Morley TS, Samms RJ, Adams AC, An Y, et al. A novel model of diabetic complications: adipocyte mitochondrial dysfunction triggers massive  $\beta$ -cell hyperplasia. Diabetes. 2020 ; 69(3) : 313-30.
  38. Shim JJ. Secondary causes of fatty liver. Single Topic Symposium. 2018 ; 2 : 16-22.
  39. Milić S, Lulić D, Štimac D. Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: biochemical, metabolic and clinical presentations. World J Gastroenterol. 2014 ; 20(28) : 9330-7.
  40. Bailey CJ. Metformin: historical overview. Diabetologia. 2017 ; 60(9) : 1566-76.
  41. Ha JH, Lee SS. Role of AMPK in the regulation of cellular energy metabolism. Endocrinol Metab. 2010 ; 25(1) : 9-17.
  42. Masarwa R, Brunetti VC, Aloe S, Henderson M, Platt RW, Fillion KB. Efficacy and safety of metformin for obesity: a systematic review. Pediatrics. 2021 ; 147(3) : e20201610.
  43. Maniar K, Moideen A, Bhattacharyya R, Banerjee D. Metformin exerts anti-obesity effect via gut microbiome modulation in prediabetics: a hypothesis. Med Hypotheses. 2017 ; 104 : 117-20.
  44. Grandone A, Di Sessa A, Umamo GR, Toraldo R, Miraglia Del Giudice E. New treatment modalities for obesity. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2018 ; 32(4) : 535-49.
  45. McCreight LJ, Bailey CJ, Pearson ER. Metformin and the gastrointestinal tract. Diabetologia. 2016 ; 59(3) : 426-35.
  46. Flory J, Lipska K. Metformin in 2019. JAMA. 2019 ; 321(19) : 1926-7.
  47. Świdarska E, Strycharz J, Wróblewski A, Szemraj J, Drzewoski J, Śliwińska A. Role of PI3K/AKT pathway in insulin-mediated glucose uptake. In: Szablewski L, editor. Blood glucose levels. London : IntechOpen. 2018 : 37-54.
  48. Habegger KM, Hoffman NJ, Ridenour CM, Brozinick JT, Elmendorf JS. AMPK enhances insulin-stimulated GLUT4 regulation via lowering membrane cholesterol. Endocrinology. 2012 ; 153(5) : 2130-41.
  49. Yu BL, Zhao SP, Hu JR. Cholesterol imbalance in adipocytes: a possible mechanism of adipocytes dysfunction in obesity. Obes Rev. 2010 ; 11(8) : 560-7.
  50. Yuan Y, Cruzat VF, Newsholme P, Cheng J, Chen Y, Lu Y. Regulation of SIRT1 in aging: roles in mitochondrial function and biogenesis. Mech Ageing Dev. 2016 ; 155 : 10-21.
  51. Wang G, Yu Y, Cai W, Batista TM, Suk S, Noh HL, et al. Muscle-specific insulin receptor overexpression protects mice from diet-induced glucose intolerance but leads to postreceptor insulin resistance. Diabetes. 2020 ; 69(11) : 2294-309.
  52. Yaspelkis BB 3rd, Kvasha IA, Figueroa TY. High-fat feeding increases insulin receptor and IRS-1 coimmunoprecipitation with SOCS-3, IKK  $\alpha/\beta$  phosphorylation and decreases PI-3 kinase activity in muscle. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2009 ; 296(6) : R1709-15.
  53. Collino M, Mastrocola R, Nigro D, Chiazza F, Aragno M, D'Antona G, et al. Variability in myosteatosis and insulin resistance induced by high-fat diet in mouse skeletal muscles. Biomed Res Int. 2014 ; 2014 : 569623.