



Original Article / 원저

당뇨 합병증과 군령탕 구성성분의 네트워크 약리학 분석 및 효능 예측

윤정주, 김혜음, 태애림, 이호섭*, 강대길*

원광대학교 한의과대학 한방심신증후군 연구센터

Network Pharmacology Analysis and Efficacy Prediction of GunryeongTang Constituents in Diabetic Complications

Jung Joo Yoon, Hye Yoom Kim, Ai Lin Tai, Ho Sub Lee*, Dae Gill Kang*

Hanbang Cardio-Renal Syndrome Research Center, Wonkwang University

ABSTRACT

Objectives : GunRyeong-Tang(GRT) is a traditional herbal prescription that combines Oryeongsan and Sagunja-tang. This study employed network analysis methods on the components of GRT and target genes related to diabetes complications to predict the improvement effects of GRT on diabetes complications.

Methods : The collection of active compounds of GRT and related target genes involved the utilization of public databases and the PubChem database. We selected diabetes complication-related genes using GeneCards and confirmed their correlation through comparative analysis with the target genes of GRT. We constructed a network using Cytoscape 3.9.1 and conducted topological analysis. To predict the mechanism, we performed functional enrichment analysis based on Gene Ontology (GO) biological processes and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathways.

Results : Through network analysis, 234 active compounds and 1361 related genes were collected from GRT. A total of 9,136 genes related to diabetes complications were collected, and 1,039 target genes overlapping with the components of GRT were identified. The core genes of this network were TP53, INS, AKT1, ALB, and EGFR. In addition, GRT significantly reduced the H9c2 cell size and the expression of myocardial hypertrophy biomarkers (ANP, BNP), which were increased by high glucose (HG).

Conclusions : Through this study, we were able to predict the activity and mechanism of action of GRT on diabetes and diabetic complications, and confirmed the potential of GRT as a treatment for diabetes complications through the effect of GRT on improving myocardial hypertrophy for diabetic cardiomyopathy.

Key words : GunRyeong-Tang; Diabetic Complications; Network Pharmacolog

I. 서론

현대의학은 놀랄만한 발전을 거듭함에도 불구하고 일부 만성 질환에 대한 치료의 정체, 고비용, 부작용의 문제점을 가지고 있으며 특히, 인구 고령화에 따른 복잡한 기전에 의해 발생하는 만성 질환의 치료에 한계점을 가진다. 최근 전 세계 의료시장에서도 질병의 예방과 건강증진을 중시하는 Well-Being과 함께 보완의학적 치료들에 대한 요구와 필요성이 대두되고 있다.

한약 및 한약재는 오래전부터 전승되어온 전통의약으로 동아시아 곳곳에서 질병 및 증상을 치료하기 위해서 사용되어 왔다. 전통의약에 의한 치료는 현대에 이르러서도 그 활용가치가 유효하고 현대에 등장한 다양한 질병에 대한 그 활용성이 기대되고 있으나, 현대의학은 의사의 경험이나 지식보다는 과학적인 근거를 중시하는 근거중심의학 (Evidence Based Medicine, EBM)에 의한 치료를 바탕으로 하고 있으며, 한약 및 한의학에 대한 과학적인 근거와 안정성에 대한 규명이 요구되고 있다. 따라서, 최근 전통의학을 이용한 진단 및 치료에 대한 과학적 규명을 위한 연구가 수행되고 있으며, 한약치방에 대한 근거중심의학 데이터 베이스 구축에 대한 수 많은 연구가 이루어지고 있다. 그러나, 한약은 천연물을 바탕으로 하는 약으로, 단일성분이 아닌 다성분이 포함되어 있어, 다양하게 약리 효능을 나타내어 결국은 복합적인 경로를 거쳐 효과를 나타내기 때문에 단순한 방법으로 한약치방의 효능을 검증하기 어렵다¹⁾.

네트워크 약리학(Network Pharmacology)은 시스템 생물학의 접근 방식에 기반하여 약물의 기전을 분석하는 방식으로, 단일성분(Single Compound)-단일 표적(Single Target)이 아닌 다중성분(Multi Compound)-다중 표적(Multi Targets)에 작용하여 약물과 생체 내 상호작용 관계를 분석함으로써 질병의 발생 및 발전 메커니즘을 이해하고, 새로운 치료 대상이나 치료법을 찾기 위한 연구

분야²⁾. 따라서, 약물의 작용 기전을 상호 연결된 생물학적 네트워크상에서 파악하는 네트워크 약리학은 복합 성분으로 구성되어 다중표적에 작용하는 것으로 알려진 한약의 효능을 탐색하기에 매우 적합한 방식이다^{3,4)}. 이러한 네트워크 약리학을 이용한 방제 연구의 장점은 다양한 성분으로 구성된 한약방제의 다양한 효능을 잘 설명할 수 있다는 점이다. 비록 주요성분이 아닐지라도 방제에 함유된 수많은 미량의 성분들이 상호작용을 통해 발휘하는 효능의 경우 이전의 방식으로는 알아내기 어려웠다. 또한, 네트워크 약리학은 지금까지 축적된 수많은 실험 결과를 이용하여 질병 관련 유전자와 한약 구성성분의 약리 타겟을 네트워크로 구성하여 한약의 활성성분과, 상호작용, 작용기전, 현대적 적응증 등에 대한 복합적인 이해가 가능하게 되었으며, 한의학 이론에 대한 현대적 규명을 가능하게 한다^{5,6)}.

군령탕(君鈴湯)은 오령산의 대표적인 가감방 중 하나로, 방약합편에 기록되어 있다. 이 처방은 오령산과 사군자탕의 혼합으로 이루어져 있으며, 오령산의 택사, 저령, 복령, 백출, 육계, 그리고 사군자탕의 인삼, 백출, 복령, 감초가 합방된 것이다^{7,8)}. 따라서, 군령탕은 택사, 저령, 복령, 백출, 육계, 인삼, 감초로 이루어져 있다. 이 처방은 주로 음허에 의한 부종 및 불균형으로 인한 체액 대사 조절에 효과적으로 사용되고 있다. 특히, 군령탕은 임상에서 오령산의 가감방으로 널리 사용되고 있지만, 군령탕의 이러한 작용에 대한 충분한 연구가 이뤄지지 않은 실정이다. 오령산과 사군자탕 각각에 대한 연구는 비교적 많이 알려져 있으며, 일부 연구에서는 이 두 처방이 다양한 표적과 경로를 통해 당뇨병성 신증과 제2형 당뇨병을 치료하는데 효과를 가지는 것으로 보고되어 있다⁹⁻¹¹⁾.

따라서, 이와 같은 배경을 통해, 본 연구에서는 네트워크 약리학을 이용하여 군령탕의 구성성분과 타겟 유전자 간의 관계를 분석함으로써 군령탕이 당뇨병 및 당뇨병 합병증 치료에 미치는 잠재적인 영향 및 작용 기전을 예측하고자 한다.

*Corresponding author: Ho Sub Lee. Hanbang Cardio-Renal Syndrome Research Center, Department of Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University, 460 Iksan-daero, Iksan-si, Jeollabuk-do, 54538, Republic of Korea
E-mail : host@wku.ac.kr

*Corresponding author: Dae Gill Kang. Hanbang Cardio-Renal Syndrome Research Center, Department of Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University, 460 Iksan-daero, Iksan-si, Jeollabuk-do, 54538, Republic of Korea
Tel : +82-63-850-6933, E-mail : dgkang@wku.ac.kr

•Received : December 7, 2023 / Revised : February 2, 2024 / Accepted : February 5, 2024

II. 재료 및 방법

1. 군령탕 구성약재의 성분 검색

군령탕의 구성약재와 각 약재들의 성분은 한국한의학연구원 전통의학포털사이트 OASIS (<https://oasis.kiom.re.kr>)를 이용하였다. 군령탕을 구성하는 약재들의 각 약재명을 검색한 후, 이화학 특성을 확인하여 각 성분들의 PubChem ID를 수집하였다. 검색된 성분 중 PubChem ID가 확인되지 않는 것은 제외하였다.

2. 군령탕 구성 약재의 성분 연관 단백질 수집 및 네트워크 구성

PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 사이트에서 군령탕 구성약재의 성분들의 PubChem ID를 이용하여 성분별 타겟 유전자를 수집하였다. 단, "Chemical-Gene Co-Occurrences in Literature"의 정보가 없는 것은 제외하였다. 수집된 유전자 중 중복된 것을 제외하고 최종적으로 수집된 타겟 유전자를 기반으로 군령탕의 네트워크를 구성하였다. 선별된 최종 타겟 유전자의 상호작용 분석은 Cytoscape 3.8.2.의 STRING (<http://string-db.org/>)를 통하여 진행하였다. Combination score가 0.7 (high confidence) 이상의 값들만 취하여 네트워크 구성하였다.

3. 당뇨병 합병증 연관 유전자 네트워크 구축 및 군령탕과의 교차 타겟 유전자 확인

당뇨병 합병증 연관 유전자 정보는 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)을 활용하여 데이터 베이스를 수집하였다. 검색은 "Diabetic Complications"로 하였으며 9136개의 유전자가 수집되었다. 수집된 타겟 유전자를 대상으로 venny 2.1.0을 사용하여 벤 다이어그램 그래프를 작성하였다. 군령탕의 타겟 유전자와 당뇨병 합병증 연관 유전자 간의 공통 유전자를 시각화하였다.

4. Gene Ontology(GO) 및 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway 분석

군령탕과 당뇨병 합병증 공통 유전자로 확인된 단백질 리스트를 대상으로 기능 확인 및 작용기전 예측을 위한 functional enrichment analysis를 수행하였다. Cytoscape software(version 3.8.2.)를 활용하였으며, Confidence score cutoff는 0.7로 설정하여 높은 수준의 상호작용을 가진 경우에만 엣지로 연결하도록 설정하였다. 이를 통해

각 단백질의 네트워크 내 degree, betweenness, closeness를 확인하여 핵심 단백질을 결정하였다 (Supplement Table2). 군령탕과 당뇨병합병증에 공통 유전자의 잠재적 Pathway/term을 확인하기 위해 KEGG12) pathway와 GO13)을 사용하였으며, 분석은 False Discovery Rate(FDR) 값을 기준으로 유효 pathway를 설정하였다.

5. 군령탕 추출

군령탕의 각 구성 약재들 (Alisma Canaliculatum, Atractylodes Japonica Koidz, Polyporus Umbellatus FR 각각 56.25g, Wolfiporia Extensa, Panax Ginseng 및 Glycyrrhiza Uralensis Fisch 각각 46.875g, Cinnamomi Cortex 18.75g)을 혼합하여 이를 분쇄하여 분말로 만들었다. 군령탕은 증류수 2L를 넣고 100°C에서 2시간 동안 끓였다. 추출물을 Whatman No. 3 여과지로 여과한 후 20분간 원심분리 (990 × g, 4°C) 하였다. 상층액을 회전식 감압 농축기를 사용하여 농축한 후 생성된 추출물을 동결건조기를 통해 군령탕 추출물(80.653 g)을 얻었다. 실험 전까지 냉동에서 보관 후, 필요 시 distilled water을 이용하여 희석하여 사용하였다.

6. H9c2 심근세포 배양

본 실험에 사용한 H9c2 세포주(CRL-1446, ATCC, Rockville, MD, USA)는 심장에서 분리한 심장근육모세포이다. 배양액은 10%우테아 혈청이 첨가된 DMEM(Dulbecco's minimum essential medium, Gibco)을 사용하였다. H9c2는 CO2 배양기 (37°C, 95% air, 5% CO2 환경)에서 배양하였고, 세포가 70%의 confluency에 도달하였을 때 실험을 시작하였다.

7. 세포 생존율 측정

세포의 생존율은 MTT assay를 이용하여 측정하였다. 세포를 24-well plate에 세포수 1×10⁵cells/well을 각각 배양한 후, 12시간 이상 배양기에서 안정화 한 후 실험을 시행하였다. 실험에 필요한 조건의 시약을 처리한 후, 각 well에 MTT 용액 (5 mg/ml)을 넣고 4시간 동안 37°C 배양기에서 반응시킨 다음 540 nm의 파장을 사용하여 spectrofluorometer (F-2500, Hitachi, Tokyo, Japan)을 이용하여 흡광도를 측정하였다.

8. 간접면역형광 염색 (F-actin stain)

H9c2 세포를 96-well plate에 5×10³ cells/well의

밀도로 분주하고 세포가 70% confluent 해지면 각각의 조건으로 배양하였다. 이후 PBS로 3번 세척한 후 4% paraformaldehyde로 상온에서 10분간 고정하였다. Blocking을 위해 0.1% BSA가 첨가된 PBS를 1시간 동안 상온에서 처리한 후, 세포 투과성을 높이기 위해 permeabilization buffer (0.5% Triton X-100)로 세포를 5분간 반응시키고, DPBS로 세척하였다. 그런 다음 F-actin Phalloidin-FITC (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 1:40으로 희석한 후 각 well 당 100 μ L씩 37°C에서 30분간 반응시켰다. 그리고 핵 염색을 위해 30초간 DAPI로 염색하고, slide glass위에 mount media를 적당량 떨어뜨린 후 커버글라스를 덮어 EVOS-M5000 Cell Imaging System (Thermo fisher scientific, Waltham, MA, USA)으로 관찰하였다.

9. Western blot analysis

H9c2 세포를 dish에 5×10^5 cells의 밀도로 분주하고 세포가 70% confluent 해지면 각각의 조건으로 배양하였다. 이후 상층액을 제거하고 PBS로 3번 세척한 후, radioimmunoprecipitation assay (RIPA) buffer (50 mM Tris-Cl, 150 mM NaCl, 1% NP-40, 0.5% Na-deoxycholate, 0.1% SDS)을 사용하여 세포를 용해시키고 원심분리기 (200 \times g, 5분)를 이용하여 상등액(total protein)을 분리하였다. 이후 단백질에 대해 Bradford assay(Bio-Rad, Hercules, U.S.A)로 단백질량을 정량하였다. 동량의 단백질(30-35 μ g)은 동량의 Sample 용액(0.125 M Tris-Cl, PH 6.8 ; 4% SDS ; 20% glycerol ; 1% β -Mercaptoethanol ; 10 μ g/mL bromophenol blue)에 넣고 5분간 95°C에서 끓인 후 10% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)에서 전기영동 하여 분리하였다. 그런 다음, transfer 완충액(15.6 mM Tris-base, PH 8.3 ; 120 mM glycine ; 20% methanol)을 이용하여 단백질을 nitrocellulose(NC) membrane (Whatman Protran, Dassel, Germany)으로 이동시켰다. 이후 각각의 membrane은 5% skim milk (blocking buffer)을 이용하여 1시간 동안 상온에 두어 비특이적 반응을 제거하였다. Primary antibody (ANP, BNP, GAPDH)는 1% bovine serum albumin (BSA)에 1:1,000으로 희석하여 4°C에서 24시간 동안 반응시켰다. 그 후, secondary antibody (peroxidase-conjugated anti-IgG)는 1:10,000으로 희석하여 상온에서 1시간 동안 반응시켰다.

TBS-T(Tris buffered saline with tween 20) 완충용액으로 10분간 3번 세척 한 뒤, ECL(enhanced chemiluminescence) kit (Santa Cruz, CA, USA)를 이용하여 발현시켰다. 단백질 발현 수준은 iBright™ FL1000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 사용하여 분석하였다.

10. 통계처리

실험 결과에 대한 통계처리는 Student's t-test를 사용하여 통계적 유의성을 검증하였으며, p-value가 최소한 0.05 이하인 경우 유의한 수준으로 판정하였다.

III. 결과

1. 군령탕구성 약재의 구성성분 및 타겟 유전자 검색 결과

OASIS 데이터 베이스 검색 결과 군령탕은 택사, 백출, 저령, 적복령, 인삼, 감초, 계피로 구성된 처방이다. 군령탕의 구성약제들의 성분을 검색한 결과 (PubmedID가 없는 성분은 제외), 택사10개, 백출 14개, 저령 22개, 적복령 21개, 인삼 15개, 감초 137개, 육계 18개였으며, 총 237개 중 중복된 값을 제외하면 총 234개가 수집되었다 (Table 1). 군령탕의 구성성분과 관련이 있는 타겟 유전자를 검색한 결과, 택사 158개, 백출 388개, 저령 429개, 적복령 177개, 인삼 490개, 감초 893개, 육계 404개가 검색되었다. 따라서 검색된 타겟 유전자는 총 2939개이며, 이 중 중복된 값을 제외하면 최종적으로 1361개가 검색되었다.

2. 군령탕과 당뇨 합병증 타겟 유전자의 네트워크 분석

GeneCards-database를 이용하여 당뇨 합병증 (Diabetic Complications)의 관련 타겟 유전자를 검색한 결과, 총 9136개가 수집되었다. 군령탕 성분들과 연관된 타겟 유전자 총 1361개와 당뇨 합병증과 관련된 target gene 9136개에 대한 교집합 되는 타겟 유전자의 수는 총 1039개로 확인되었다 (Table 2). 이는 군령탕에서 당뇨 합병증에 영향을 주는 gene이 1039개이며, 전체 군령탕 연관 타겟 유전자의 76.34%를 나타낸다 (Figure 1B). 이를 통해 군령탕과 당뇨 합병증 관련 타겟 유전자들은 밀접한 연관성일 가짐을 확인할 수 있었다. 이밖에 당뇨병성 심근합병증 (Diabetic cardiomyopathies)의 관련 타겟 유전자와의 일치율은 55.62%였으며, 당뇨병 (Diabetes Mellitus)는 82%의 일치율을 나타냈다. 이를 통해 군령탕이 당뇨 치료에 매우 효과적인 약물이 될 수 있음을

예측할 수 있다.

또한, Cytoscape3.8.2.의 프로그램을 이용하여 군령탕과 당뇨 합병증의 topology를 계산하였으며, 각 타겟 단백질의 네트워크 내 degree, betweenness, closeness를 확인하였다. 위 세 지표가 모두 평균값을 넘는 단백질 (178개) 중 betweenness centrality 수가 상위 5에 해당하는 단백질을 확인하였다. 그 결과, 군령탕의 구성성분과 유전자 간의 핵심 nodes는 TP53, INS, AKT1, ALB, EGFR 순으로 나타났다.

핵심 nodes와 당뇨 합병증과의 관련 작용을 살펴보면, TP53 (종양 억제 단백질 p53)은 중요한 대사 기능을 가지고 있으며 지질과 포도당 대사의 항상성에 필요한 것으로 밝혀졌다. 이러한 이유로 PT53은 많은 대사 질환, 비만 등의 발병 및 진행과 상관관계가 있으며, 특히 표적 조직의 인슐린 저항성과 베타 세포 기능 장애를 조절하는데 관여하기 때문에 당뇨 발달에 중요한 역할을 한다(14). 인슐린 (ISN)은 베타 세포에서 분비되는 췌장 호르몬으로 포도당 대사를 촉진하고 혈당 항상성을 유지하는 것에 관여한다. 인슐린의 생산 부족이나 이상 분비는 1형 당뇨병(인슐린 의존성 당뇨병, IDDM), 2형 당뇨병(인슐린 비의존성 당뇨병, NIDDM) 발병에 핵심으로 알려져 있다(15). Akt (protein kinase B, PKB)로 알려진 세린/트레오닌단백질 키나제이며, 세 가지 이소형 (isotype: Akt1, Akt2 및 Akt3)으로 구성되어 있으며 세포 크기, 세포 주기 진행, 포도당 대사 조절, 단백질 합성 및 혈관신생 등에 관여한다(16). ALB (알부민)은 주요 혈장 단백질로 많은 질병의 이병률과 사망률을 예측하는 데 중요한 염증성 바이오마커로 사용되어 왔다. 여러 연구에서 혈청에서의 알부민 농도가 제2형 당뇨병 및 대사 증후군 (MetS)과 같은 대사 장애와 연관될 수 있음이 확인되었다(17). 상피세포성장인자 (epidermal growth factor, EGF) EGF는 가장 보편적으로 사용되는 성장인자 중 하나이며, 세포막에 있는 EGF 수용체 (epidermal growth factor receptor, EGFR)와 결합함으로써 tyrosine kinase를 활성화시킨다. Tyrosine kinase 활성화는 MAPK/ERK와 같은 signal transduction cascade를 활성화시켜 세포의 분열을 유도하고 증식을 촉진하는 등의 다양한 생화학적 변화가 일어나게 한다(18).

군령탕과 당뇨 합병증 관련 타겟 유전자들의 조절은 여러 기전을 통해 당뇨 합병증의 개선에 영향을 줄 것임을 확인할 수 있다. 본 결과는 군령탕의 구성성분들과 타겟 유전자의 상관성으로 통해 핵심

유전자를 도출하였다. 핵심 유전자와 그 기전에 대해 추가적인 분석이 필요하며, 향후 핵심 유전자 및 그 기전을 활용한 당뇨합병증과 군령탕의 관계를 in vitro 혹은 in vivo 연구를 통해 추가적으로 확인이 필요하다.

3. Gene Ontology (GO) 및 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway 분석

STRING을 이용하여 당뇨 합병증 연관 단백질과 군령탕 타겟 단백질 간 상호작용 분석으로 GO database 분석을 수행하였다. 그 결과, GO database의 biological Process 분석을 통해 군령탕이 당뇨 합병증에 영향을 주는 process는 그림 2와 같이 나타났다. 'Response to oxygen-containing compound', 'Cellular response to oxygen-containing compound', 'Response to endogenous stimulus', 'Response to abiotic stimulus', 'Reg. of cell death', 'Reg. of programmed cell death', 'Reg. of cell population proliferation', Homeostatic proc.' 순으로 나타났다. 각 기전의 일치율은 21.29%, 21.55%, 18.20%, 20.84%, 17.38%, 17.93%, 17.23%, 16.80%로 나타났다.

KEGG pathway를 분석한 결과, 검색된 pathway 중에서 FDR-value가 유효하며 연관된 유전자 개수에 따른 상위 30개의 pathway를 확인하면 그림 3과 같다. Signaling pathway 중 통계적으로 가장 유의한 pathway는 'Pathway in cancer'(붉은색, 일치율 32.26%)였으며, 군령탕 유래 'target gene' 이 가장 많이 포함된 상위 pathway는 'Metabolic pathway'(일치율 12.18%)였다.

4. 고혈당으로 인한 심근 비대에 대한 군령탕의 영향

고포도당 (high glucose, HG)에 의해 유발된 H9c2 세포 손상의 효과를 확인하기 위해 MTT 분석을 진행하였다. 그 결과, 고포도당 단독 투여 그룹에서는 cont. 그룹에 비해 유의하게 생존율이 감소되었음을 확인할 수 있었다 ($P < 0.01$). 반면, 군령탕 추출물의 전처리된 고포도당 노출에 의해 감소된 세포의 생존율을 크게 향상시켰으며, 군령탕의 농도가 높을수록 세포 생존율이 증가하는 경향을 볼 수 있었다 (GRT-H, $P < 0.01$) (그림 3A). 그림 3B를 보면, 군령탕이 HG 유발 심장 비대에 대한 영향을 확인하기 위해 F-actin 염색법을 진행하였다. 실험은 FITC 표지된 팔로이드를 사용하여 액틴 세포골격을 염색했으며, H9c2 세포가 고포도당 처리한 그룹에서 더 크다는 것을 발견할 수 있었다. 군령탕의 전처리는 고포도당에 의한

H9c2 비대를 약화시킬 수 있음을 발견했다. 게다가, 심근세포 비대 마커인 atrial natriuretic peptide (ANP) 및 brain natriuretic peptide (BNP)의 단백질 발현 변화를 웨스턴 블롯 분석으로 확인한 결과, 고포도당을 단독 처리한 그룹 (HG)에서는 대조군 (Cont.)에 비해 심근 비대 마커의 단백질 발현 수준이 유의하게 증가함을 보였다 ($P < 0.01$). 반면, 균량당 전처리 그룹에서는 저농도 (GRT-L)와 고농도(GRT-H) 그룹 모두에서 ANP 및 BNP의 단백질 발현이 감소함을 확인할 수 있었다 ($P < 0.01$, $P < 0.01$). 따라서, 고포도당 조건 하에서 배양된 H9c2 세포는 세포 생존력이 감소되었으며 세포 비대가 증가한다는 것을 발견했다. 그러나, 균량당 전처리는 농도 의존적으로 세포 생존력을 증가시켰고, 심근 세포 비대를 억제시켰으며, 이는 세포 표면적 증가, ANP 및 BNP 함량 감소를 통해 확인하였다.

IV. 고찰

현대인들은 불균형한 식생활, 비만, 운동부족, 스트레스 등의 다양한 원인으로 인해 당뇨와 같은 대사 질환에 노출될 확률이 높으며 실제로 현재 한국 30세 이상 성인 7명 중 1명이 당뇨병을 가지는 것으로 나타났다 (14.3%)¹⁹. 이는 한국 뿐만 아니라 전 세계 성인 인구 약 4억 6천만 명 이상이 당뇨로 진단 받았으며, 당뇨병은 전 세계 사망 원인의 11.3%를 차지하며 고령화와 더불어 당뇨병의 유병률과 사망률이 점차로 증가하고 있어 그 문제가 점점 심각해지고 있다²⁰).

한방 의학에서 당뇨병은 소갈의 범주에 속하며, 증세에 따라 上消, 中消, 下消로 분류되며, 당뇨병의 대표적인 초기 증상으로는 다뇨, 다음, 다식이 있다²¹). 서양의학에서 당뇨병은 크게 제1형 당뇨병, 제2형 당뇨병으로 분류되며, 제1형 당뇨병은 당뇨 환자의 약 90~95%에 해당하며 췌장 베타세포의 자가 면역성 파괴로 인한 인슐린 결핍이 특징이다²²). 제2형 당뇨병은 환경적 요인들에 의해 발생하며, 간에서 포도당 신생의 증가, 인슐린 저항성과 상대적으로 정상적이지 않은 인슐린 분비가 특징이다²³).

당뇨병 환자는 혈당 관리를 하지 않아 증상이 지속되면, 암, 심근경색, 허혈 뇌졸중과 같은 주요 합병증으로 사망할 위험이 당뇨병이 없는 사람보다 평균 55% 높은 것으로 보고되고 있다²⁴). 당뇨병의 합병증은 급성과 만성으로 구분되는데, 급성 합병증은 인슐린과 경구용 혈당강하제의

개발로 인해 최근 현저히 줄어든 반면, 만성 합병증은 대부분의 당뇨병 환자에서 발생한다고 알려져 있다²⁵). 당뇨병 환자의 가장 많은 사망 원인을 차지하고 있는 만성 합병증은 심혈관계 합병증이다. 심혈관계 질환은 당뇨병성 합병증 중에서 갑작스런 사망과 관련이 있는 중요한 합병증으로 우리나라의 제 2형 당뇨병 환자에서도 총 사망률의 약 50%를 차지한다. 미국의 당뇨병 환자에서는 심혈관계 질환이 총 사망률의 약 80%를 차지한다²⁶). 당뇨병성 만성 합병증은 당뇨병 환자의 삶의 질을 저하시키고 60세 이전의 조기 사망과 관련되며 경제적 부담을 증가시키므로 이에 대한 예방 및 치료가 필요하다^{27,28}). 현재 제2형 당뇨병 치료에는 인슐린 주사뿐만 아니라 메트포민과 같은 약물이 사용되고 있다. 메트포민은 간에서 포도당 합성을 억제하고, Dipeptidyl Peptidase-IV(DPP-IV) 억제제는 인크레틴 활성을 증가시키며, Sulfonylurea는 췌장 베타세포에서 인슐린 분비를 촉진한다²⁹). 그러나 기존 치료제들은 장기간 복용 시 구토, 설사, 소화 불량, 비타민 B12 결핍 등의 부작용을 유발할 수 있어³⁰), 천연물 기반의 치료제 개발이 필요한 상황이다. 최근 국내뿐 아니라 전 세계적으로 한약재에 대한 관심이 증대되면서 한약을 소재로 한 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히 한약의 경우에는 역사적으로 사용해온 문헌상의 기록이 존재하므로, 명확한 목표를 두고 효능 탐색이 용이한 면이 있다. 그러나, 한약재의 상당수는 그 효과가 제대로 밝혀지지 않은 것이 대다수이며 어떤 기전으로 혈당을 낮추는지에 대해 연구된 내용 역시 전무한 실정이므로 한약재의 효과에 대한 과학적인 접근이 요구된다.

이에 본 연구에서는 최신 연구 기법인 네트워크 약리학을 이용하여 균량당의 효능 및 작용 기전에 대한 분석 연구를 수행하고 균량당의 당뇨 합병증 개선 치료제로서의 가능성을 확인해 보았다. 오아시스를 이용한 균량당 구성 약재들의 성분을 검색한 결과, 총 234개가 수집되었으며 관련 타겟 유전자는 1361개로 확인되었다. 당뇨 합병증 관련 타겟 유전자는 9136개가 수집되었으며 균량당과 당뇨병 합병증 관련 유전자의 교차 검증을 통해 약 76.34%의 일치함을 확인하였다. 이는 당뇨병 관련 타겟 유전자와의 교차 검증으로는 약82.00%, 당뇨병 심장합병증과는 약 55.62%의 일치함을 보여줌으로써 균량당이 당뇨병 및 당뇨 합병증과 얼마나 밀접한 관련이 있는지 확인할 수 있었다. 세부적으로 균량당의 구성약재 중 당뇨 합병증 타겟 유전자와 가장 많은 비율로 교차하는



약재는 텍사(87.34%)였으며, 가장 적은 비율로 교차하는 약재는 저령 (78.16%)로 확인되었다(supplement. 1). 그러나 군령탕을 구성하는 약재 모두 높은 비율의 일치율을 보임을 확인할 수 있었다. Cytoscape3.8.2의 프로그램을 이용하여 군령탕과 당뇨 합병증의 타겟 유전자 교차 대상을 분석한 결과, TP53, INS, AKT1, ALB, EGFR가 핵심적인 표적으로 나타났다. TP53 (종양 억제 단백질 p53)은 중요한 대사 기능을 가지고 있으며, 인슐린 저항성과 베타 세포 기능 장애를 조절하는 데 관여하기 때문에 당뇨 발달에 중요한 역할을 한다(14). 인슐린 (ISN)은 거의 모든 형태의 당뇨병 발병에 핵심으로 알려져 있으며 포도당 대사를 촉진하고 혈당 항상성을 유지하는 것에 관여한다(15). Akt1은 세포 성장 인자를 매개하고 인슐린 경로에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며(16) ALB (알부민)은 주요 혈장 단백질로 많은 연구 결과에서 제2형 당뇨병 및 대사 증후군 (MetS)과 같은 대사 장애와 연관이 있다 알려져 있다(17). 상피세포성장인자 (epidermal growth factor, EGF) EGF는 성장인자 중 하나이며, 세포의 성장에 관여하는 것으로 알려져 있다(18).

다음으로 GO term과 KEGG pathway 분석을 통해 군령탕이 당뇨 합병증에 관여하는 생물학적 기능을 알아보고자 하였다. 그 결과, GO database의 biological Process 분석을 통해 Response to oxygen-containing compound', 'Cellular response to oxygen-containing compound', 'Response to endogenous stimulus', 'Response to abiotic stimulus', 'Reg. of cell death', 'Reg. of programmed cell death', 'Reg. of cell population proliferation', Homeostatic proc.' 등이 도출되었다. 각 기전의 일치율은 21.29%, 21.55%, 18.20%, 20.84%, 17.38%, 17.93%, 17.23%, 16.80%로 나타났다. KEGG pathway를 분석에서는 통계적으로 가장 유의한 pathway는 'Pathway in cancer'(붉은색, 일치율 32.26%)였으며, 군령탕 유래 'target gene' 이 가장 많이 포함된 상위 pathway는 'Metabolic pathway'(일치율 12.18%)로 나타났다. GO term 분석을 통해 당뇨 및 당뇨 합병증은 인체의 기능 조절과 항상성(균형) 유지에 밀접한 관련이 있음을 알 수 있다. 인체는 혈당 농도를 일정한 범위 내에서 유지하여 적절한 대사 기능을 유지한다. 인슐린의 부족이나 인슐린의 효과 부전으로 인해 당뇨가 유발되면 혈당 조절의 항상성이 무너지게 되고 당뇨 합병증과 관련된 다양한 문제가 발생할 수 있다. 당뇨

합병증은 심장, 신장, 혈관, 눈 등 다양한 기관 및 조직에 손상을 일으킬 수 있으며, 이는 인체의 항상성을 유지하는 기능을 저해하고 전체적인 기능에 부정적인 영향을 미치게 된다. Oxygen-containing compound (산소 포함 화합물)은 인체 내 에너지 생성 및 다양한 생리학적 과정에서 중요한 역할을 하며 혈당 조절에 관련된 대사 과정과 관련이 있다. 또한, 인체 내 생물학적 프로세스를 통한 Cell death (세포 사멸) 및 Cell population proliferation (세포 집단 증식) 및 분열은 조직이나 기관의 성장 및 유지의 기능을 한다. 이는 조직 및 기관의 기능에 영향을 미치며, 특히 췌장의 베타 세포에서 인슐린을 생산하는 데 영향을 줄 수 있다. 당뇨는 혈당 조절 메커니즘이 불균형하게 되면서 생기는 대사 이상으로, 이는 체내의 다양한 화합물과 프로세스의 균형을 깨트릴 수 있다. 따라서, homeostatic process (체내 평형 조절 과정)에 의한 혈당의 적절한 조절은 매우 중요하다.

군령탕의 구성 약재 중 텍사는 우리 몸의 불필요한 수분을 제거하여 부종을 없애주고 이뇨와 소염작용이 뛰어나다고 알려져 있으며, 고지혈증 개선 효과, 당뇨 쥐의 혈당강하 효과, 지방세포 분화 억제 효과 등이 보고되어져 있다(31-33). 백출은 당 소모 촉진 및 에너지 대사 조절 효과, 항염증, 비만을 동반한 제2형 당뇨병을 억제시킨다고 보고되었다(34-36). 저령은 ergone, ergosterol, biotin 등을 함유하고, 이뇨작용, 항종양작용, 콜레스테롤 저하, 신장질환 개선 등의 효능이 보고되어 있다(37,38). 복령의 효능으로는 이뇨작용, 항염증, 면역증강, 뇌세포의 활성화 등이 알려져 있으며, 또한, 실험적 연구를 통해 당뇨, 비만, 부종(edema)등에 효과를 가지는 것으로 보고 되어있다(39-41). 구성 약재 중 인삼은 동의보감(refer)에 기록되어 있는 소갈(消渴)에 적용하는 총 처방수(48개) 중 인삼이 들어간 처방은 약 46 % (22개)를 차지 할 정도로 당뇨병에 대한 인삼의 효능은 오래전부터 알려져 있다(42). 뿐만 아니라, 그동안 현대 과학적 많은 연구를 통해 인삼의 항당뇨 효과에 대해 확인하였으며, 주요 약효 성분은 인삼배당체 성분인 ginsenoside(G)로 알려지고 있다(43,44). 육계(계피)는 한방에서 건위약으로 식욕부진, 소화불량에 주로 쓰였으며, 육계의 실험연구로 고혈당증 개선을 통한 항당뇨 효과, 당뇨병성 심혈관 질환에 대한 항염증 효과 및 지방 산화 억제와 백색지방의 갈색지방 유도를 통한 항비만 효과가 보고되었다(45,46). 감초는 한방에서 해독제, 진해거담제로 쓰이며, 감초의 주요 성분으로는 licoricidin, glabridin, glycyrrhizic acid 및 glycyrrhizinate 등이 있다(47).

이러한 생리활성 물질을 포함하고 있는 감초는 이노작용, 항염 작용, 항산화 작용, 항노화 효과, 등이 보고되고 있다(48,49). 최근 감초가 혈중 포도당과 지방산을 감소시키는 유전자를 활성화시켜 성인 당뇨병의 주원인인 인슐린 저항성 발달을 억제시킴으로써 제2형 당뇨 치료에 효과를 보인다고 보고되었다. 군령탕의 효능에 대한 연구는 거의 진행되지 않았으나, 군령탕을 구성하는 약재의 연구 결과들을 볼 때 군령탕이 당뇨병 및 당뇨 합병증 개선에 매우 효과적일 것이라 예측된다.

당뇨병성 심근병증 (diabetic cardiomyopathy)은 고혈압이나 관상동맥질환 여부와 무관하게 심근의 구조 및 기능 변화가 발생한다. 특히, 2형 당뇨병 환자들 중 많은 사람들은 당뇨에 따른 변화가 이러한 동반 질환의 존재로 인해 강조되어, 좌심실 비대증의 발생을 증가시키고 심근의 허혈 손상에 민감성을 높이며 결국 심부전을 발병할 가능성을 증가시킨다고 알려져 있다(50,51). 따라서, 심근세포 (H9c2)를 이용한 고혈당 조건에서의 심근 비대에 대한 군령탕의 개선 효과를 확인하였다. 고포도당은 심근세포의 크기를 증가시켰으며 군령탕의 전처리하는 이를 감소시키는 것으로 나타났다. 이런 결과를 뒷받침하기 위해 심근 비대 바이오마커인 ANP, BNP의 발현 변화를 확인하였다. 결과적으로 군령탕은 고포도당에 의해 증가된 심근 비대 마커의 단백질 발현을 감소시키는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 군령탕은 당뇨병성 심근병증에 대한 개선 효과의 가능성을 확인한 것이며, 추가적인 연구를 통해 효능 및 기전에 대한 증명이 필요하다 생각된다.

본 연구는 군령탕의 구성 약재들을 대상으로 주요 성분을 수집하고 성분에 따른 타겟 유전자 데이터 베이스를 이용하여 네트워크 약리학적 분석을 수행하였으며, 이를 바탕으로 군령탕과 당뇨병 합병증의 관련 타겟 유전자 확인 및 분석을 통해 효능 및 작용 기전을 예측하였다. 본 연구는 몇 가지 한계점을 가지고 있다. 첫째, 연구에서 시행한 네트워크 분석은 Genecards 데이터베이스를 활용한 것으로 이는 예측 점수를 통해 단백질의 관련성을 폭넓게 확인할 수 있지만, 이러한 예측은 모든 단백질이나 유전자의 실험적으로 검증된 결과를 반영하는 것이 아니다. 특히, 실험 기반의 데이터베이스에서 검증되지 않은 단백질이나 상호작용에 대한 정보를 false positive로 포착할 수 있다. 따라서, 이러한 한계를 고려하여 연구 결과를 해석함이 필요하며, 다른 실험적인 데이터와의 일치 여부를 확인하는 것이 중요하다. 둘째, 군령탕의 실제 작용 기전을 설명하기엔

부족하다. 이는 네트워크 약리학이 한의학의 이론(군신좌사 등)을 반영하고 있지 않으며, 활성성분이 많은 약재가 주약이 된다. 따라서, 네트워크 약리학의 분석은 기존 정보를 바탕으로 분석을 시행하기 때문에 연구에 대한 정확도를 높이기 위해서는 약재에 대한 기초 연구가 반드시 선행되어야 한다. 셋째, 본 연구에서는 betweenness centrality를 사용하여 핵심 단백질을 도출하였다. 이 방식은 소셜 네트워크 분석에서 개별 노드의 영향력을 측정하는 데에 효과적으로 사용되지만, 단백질 상호작용 네트워크에서의 약물 기전 효과를 평가하는 데에는 아직까지 그 유효성이 충분히 입증되지 않았다. 따라서, 이 방식의 사용은 한계가 있을 수 있으며 향후 연구에서 더 효과적이고 정확한 방법을 이용한 추가적인 연구가 필요하다. 비록 이와 같은 제한점들이 있지만 네트워크 약리학 분석을 통해 군령탕의 활성 성분을 파악할 수 있었으며, 당뇨병 및 당뇨 합병증과의 관계를 개략적으로 분석하는데 유용한 연구 방법임에는 틀림없다. 특히, 복합성분을 가진 한약 처방을 이용한 연구에서는 특정 타겟 유전자 및 단백질, 뿐만 아니라 목표 질환을 예측하는데 있어 매우 유용하며 최근 이런 연구가 보고되어 있다. 한약재 및 한약처방에 대한 네트워크 약리학 분석을 통해 얻어진 결과들을 바탕으로 실험적 연구가 진행된다면 한계점을 낮출 수 있고 신뢰성을 높일 수 있는 연구 결과가 될 것으로 사료된다. 결과적으로 군령탕은 당뇨 및 당뇨병 합병증 개선에 효과적일 것으로 예측되며 이러한 결과는 실험적 연구를 위한 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

V. 결론

이 연구는 군령탕의 당뇨 합병증에 대한 개선 효과를 예측하기 위해 군령탕 구성 약재의 성분과 당뇨 합병증과 관련된 타겟 유전자에 대한 네트워크 분석 방법을 사용하였다. 군령탕의 활성 화합물 및 관련 타겟 유전자는 공공 데이터베이스 및 PubChem 데이터베이스를 활용하여 수집되었으며, GeneCards를 사용하여 당뇨 합병증 관련 유전자를 선택하고, GRT의 타겟 유전자와의 비교 분석을 통해 그들의 상관 관계를 확인했다. 이를 바탕으로 생물학적 기능을 파악하기 위해 GO term 및 KEGG pathway를 분석하였다. 네트워크 분석을 통해 군령탕에서 234개의 활성 화합물과 1361개의 관련 유전자가 수집되었다. 당뇨 합병증과 관련된 총 9,136개의 유전자가



수집되었고, 군령탕 구성 성분과 교차된 1,039개의 타겟 유전자가 확인되었고, 핵심 유전자는 TP53, INS, AKT1, ALB 및 EGFR로 나타났다. 또한, 실험적 연구로 당뇨 합병증 중 하나인 당뇨 심근병증의 효과를 확인하기 위해 군령탕이 고포도당 조건에서 심근비대 개선에 미치는 영향을 H9c2 세포에서 확인하였다. 그 결과, 군령탕은 고포도당에 의해 증가된 H9c2 세포 크기와 심근비대 바이오마커(ANP, BNP)의 발현을 유의하게 감소시켰다. 네트워크 약리학 기반 연구 결과는 군령탕의 작용 메커니즘과 새로운 생물활성 화합물을 탐색을 가능하게 하였으며, 군령탕의 당뇨병성 심근병증을 위한 심근비대 개선 효과를 통해 군령탕이 당뇨 합병증의 치료 가능성을 갖고 있다는 것이 확인하였다.

감사의 글

이 논문은 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임 (2021R1C1C2009542), (2017R1A5A2015805).

References

1. Zhao L, Zhang H, Li N, et al. Network pharmacology, a promising approach to reveal the pharmacology mechanism of Chinese medicine formula. *Journal of Ethnopharmacology*. 2023;309.
2. Li S, Fan TP, Jia W, et al. Network pharmacology in traditional Chinese medicine. Evidence-based complementary and alternative medicine. 2014; 2014:2.
3. Lee BH, Cho SI. Comparison of network pharmacology based analysis results according to changes in principal herb in Sagunja-tang. 2019;27(3):189-197.
4. Lee WY, Lee CY, Kim YS, et al. The methodological trends of traditional herbal medicine employing network pharmacology. *Biomolecules*. 2019;9(8):362.
5. Han SY, Kim YK. New Approach for Herbal Formula Research: Network Pharmacology. *J Physiol & Pathol Korean Med*. 2016;30(6):385-396.
6. Moncrieff J. Research on a “drug-centred” approach

- to psychiatric drug treatment: Assessing the impact of mental and behavioural alterations produced by psychiatric drugs. *Epidemiol Psychiatr Sci*. 2018;27(2):133-140.
7. College of Korean Medicine Dept. of Prescription. Prescription of herbal medicine. Yeonglimsa. Seoul. 2003;504-506.
8. Sa MJ. Taepyunghyeminhwajegukbang. Seoul. Kyung Hee University College of Oriental Medicine, pp 115-242, 1974.
9. P Liu. Action mechanism of Sijunzi Decoction in treatment of type 2 diabetes mellitus based on network pharmacology. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*. 2010;24:1548-1558.
10. Liu IM, Tzeng TF, Liou SS, Chang CJ. The amelioration of streptozotocin diabetes-induced renal damage by Wu-Ling-San (Hoelen Five herb Formula), a traditional Chinese prescription. *Journal of Ethnopharmacology*. 2009;124(2):211-218.
11. Yoon JJ, Lee YJ, Kang DG, Lee HS. Protective role of oryeongsan against renal inflammation and glomerulosclerosis in db/db mice. *The American Journal of Chinese Medicine*. 2014;42(6): 1431-1452.
12. Kanehisa M, Goto S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes,” *Nucleic acids research*. 2000;28(1):27-30.
13. Aleksander S, Balhoff J, Carbon S, Cherry JM, Drabkin HJ, Ebert D, Feuermann M, Gaudet P, Harris NL, Hill DP. The Gene Ontology knowledgebase in 2023. *Genetics*. 2023;224(1):2023
14. Toufektchan E, Toledo F. The guardian of the genome revisited: p53 downregulates genes required for telomere maintenance, DNA repair, and centromere structure. *Cancers (Basel)*. 2018;10:135.
15. Gisela W. Insulin and Insulin Resistance. *Clin Biochem Rev*. 2005;26(2):19-39.
16. Eileen LW, Han C, Morris JB. Role of Akt/protein kinase B in metabolism. *Trends Endocrinol Metab*. 2002;13(10):444-451.
17. Stranges S, Rafalson LB, Dmochowski J, Rejman K, Tracy RP, Trevisan M, et al. Additional

- contribution of emerging risk factors to the prediction of the risk of type 2 diabetes: evidence from the Western New York Study. *Obesity* (Silver Spring). 2008;16:1370–1376.
18. Raymond C. Harris. The Role of the Epidermal Growth Factor Receptor in Diabetic Kidney Disease. *Cells*. 2022;11(21):3416.
 19. Korean Diabetes Association. Diabetes Fact Sheet. Seoul. Korean Diabetes Association, 2020.
 20. International Diabetes Federation (IDF). Advocacy guide to the IDF diabetes Atlas ninth edition 2019 [Internet]. Brussels: IDF; 2019 [cited 2020 December 1].
 21. Ju YS, Ko BS. Screening of insulin-like substances from traditional herbs of diabetes prescription in donguibogam. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol*. 2002;45:47–52.
 22. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2009;32:S62–S67.
 23. Park JH. Mitochondria DNA polymorphism and type 2 diabetes mellitus. *Korean Diabetes J*. 2009;33:373–374.
 24. Ahn EY, Shin SJ, Choi SW, Kim EJ. Antidiabetic effects of water extracts of mulberry (*Morus alba* L.) twig by inhibition of disaccharidase activity in streptozotocin-induced diabetic mice. *J Nutr Health*. 2023;56(1):24–34.
 25. Braunwald E, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Longo D, Jameson J. Harrison's Principles of Internal Medicine. 15th. Seoul. MIP. 2003:2178–2179, 2188.
 26. Lee H, Lee M, Park G, Khang AR. Prevalence of Chronic Diabetic Complications in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: A Retrospective Study Based on the National Health Insurance Service–National Health Screening Cohort in Korea, 2002~2015. *Korean Journal of Adult Nursing*. 2022;34(1):39–50.
 27. International Diabetes Federation (IDF). Advocacy guide to the IDF diabetes Atlas ninth edition 2019 [Internet]. Brussels: IDF; 2019 [cited 2020 December 1]. Available from: https://diabetesatlas.org/upload/resources/material/2019_1217_165723_2019_IDF_Advocacy_Guide_KO.pdf
 28. World Health Organization (WHO). Global report on diabetes [Internet]. Geneva: WHO; 2016 [cited 2020 December 1]. Available from: <https://www.who.int/diabetes/global-report/en/>
 29. Choi BC. Type II diabetes mellitus (2). 2018 [cited 2022 April 18]. Available from: http://www.health.kr/Menu.PharmReview/View.asp?PharmReview_IDX=1631
 30. Jones GC, Macklin JP, Alexander WD. Contraindications to the use of metformin: Evidence suggests that it is time to amend the list. *BMJ*. 2003;326:4–5.
 31. Choi JS, Park SD, Byun JS. Experimental Study on the Effects of *Alismatis Rhizoma* on Hyperlipidemia. *The Journal of Korean Oriental Internal Medicine*. 1998;19(2):392–410.
 32. Lim SJ, Kim SH. The effect of each fraction of methanol extract of *Alisma canaliculatum* on blood glucose levels and lipid metabolism in Streptozotocin induced diabetetic rats. *Journal of Nutrition and Health*. 2001;34(6):619–625.
 33. Eun JS, Hong JS, So JN. Effects of the Extracts from *Hoelen alba*, *Alismatis Rhizoma* and *Atractylodes Rhizoma* on Proliferation and Differentiation of 3T3-L1 Cells. *The Korean Society of Pharmacognosy*. 1996;24(2):131–139.
 34. Han YK, Park YK. Effect of *Atractylodis Rhizoma Alba* water extract on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Kor. J. Herbology*. 2011;26(4):23–30.
 35. Liu J, Yu J, Peng X. *Poria cocos* polysaccharides alleviates chronic nonbacterial prostatitis by preventing oxidative stress, regulating hormone production, modifying gut microbiota, and remodeling the DNA methylome. *J Agric Food Chem*. 2020;68:12661–12670.
 36. Song MY, Lim SK, Wang JH, Kim H. The Root of *Atractylodes macrocephala* *Koidzumi* Prevents Obesity and Glucose Intolerance and Increases Energy Metabolism in Mice. *Int. J. Mol. Sci*.



- 2018;19(1):E278.
37. Lee WY, Park Y, Park Y, Ahn JK, Park SY, Lee HJ. Cytotoxic activity of ergosta-4,6,8(14), 22-tetraen-3-one from the sclerotia of *Polyporus umbellatus*. *Bull Korean Chem Soc.* 2005;26(9):1464-1466.
 38. Lee HS, Hwang IH, Kim JA, Choi JY, Jang TS, Osada H, et al. Isolation of protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory constituents from the sclerotia of *Polyporus umbellatus* fries. *Bull Korean Chem Soc.* 2011;32(2):697-700.
 39. Sato M, Tai T, Nunoura Y, Yajima Y, Kawashima S, Tanaka K. Dehydrotra-metenolic acid induces preadipocyte differentiation and sensitizes animal models of noninsulin-dependent diabetes mellitus to insulin. *Biol Pharm Bull.* 2000;25(1):81-86.
 40. Kaminage 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):382-385.
 41. 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 (Tokyo).* 1996;44(4):847-849.
 42. Nam KY. The new Korean ginseng (constituent and its pharmacological efficacy). *Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Daejeon, Korea.* 1996:1-134.
 43. Seo SH, Park GK, Park JD. Korean Ginseng and Diabetes: An Insight into Antidiabetic Effects of Korean Ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer) in Cultured Cells, Animal Models and Human Studies. *Kor. J. Pharmacogn.* 2020;51(1):1-29.
 44. Moon JY. Review on the Current Research of Korean Ginseng for its Antidiabetic Activity. *The Korean Ginseng Research and Industry.* 2009;3(1):19-26.
 45. Han DS. *Pharmacognosy.* Dongmyeongsa. Seoul. 1991;11:110-113.
 46. Uslu GA, Gelen V, Uslu H, Özen H. Effects of *Cinnamomum cassia* extract on oxidative stress, immunoreactivity of iNOS and impaired thoracic aortic reactivity induced by type II diabetes in rats. *Braz J Pharm Sci.* 2018;54(3):e17785.
 47. Um Y, Shim K, Lee J, Park H, Ma J. Quantitative analysis of glycyrrhizic acid in fermented *Glycyrrhizae Radix* by HPLC. *Korean J Oriental Med.* 2009;15:85-89.
 48. Shibata S, Inoue H, Iwata S, Ma R, Yu L, Ueyama H, Takayasu J, Hasegawa T, Tokuda H, Nishino A, Nishino H, Iwashima A. Inhibitory effects of licochalcone A isolated from *Glycyrrhiza inflata* root on inflammatory ear edema and tumour promotion in mice. *Planta Med.* 1991;57:221-224.
 49. Han SB, Gu HA, Kim SJ, Kim HJ, Kwon SS, Kim HS, Jeon SH, Hwang JP, Park SN. Comparative study on antioxidative activity of *Glycyrrhiza uralensis* and *Glycyrriza glabra* extracts by country of origin. *J Soc Cosmet Sci Korea.* 2013;39:1-8.
 50. Boudina S, Abel ED. Diabetic cardiomyopathy revisited. *Circulation.* 2007;115:3213-3223.
 51. Asbun J, Villarreal FJ. The pathogenesis of myocardial fibrosis in the setting of diabetic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47:693-700.

Table 1. List of the compounds in GunRyeongTang (1)

No.	Compound	Pubchem ID	Origin
1	alismoxide	10988340	택사
2	alisol A	15558616	택사
3	alisol B 23 acetate	14036811	택사
4	alisol C 23- acetate	14036813	택사
5	orientalol B	467497	택사
6	alismol	137357	택사
7	alisol F	76310822	택사
8	alisol G	76314443	택사
9	alisolide	101840122	택사
10	orientalol E	637282	택사
1	Atractylenolide I (ATL-I)	5321018	백출
2	Atractylenolide II	14448070	백출
3	Atractylenolide III	155948	백출
4	caffeic acid	689043	백출
5	ferulic acid	445858	백출
6	galactose	6036	백출
7	mannose	18950	백출
8	rhamnose	25310	백출
9	8β-methoxyatractylenolide	101707485	백출
10	Atractylenolactam	101707484	백출
11	diacetyltractylodiol TDEYA	6443553	백출
12	glucose	5793	백출
13	protocatechuic acid	528594	백출
14	xylose	644160	백출
1	D-galactose	6036	저령
2	D-mannitol	6251	저령
3	ergone	6441416	저령
4	ergosta-7,22-dien-3-one	6436804	저령
5	ergosterol	444679	저령
6	ergosterol peroxide	5351516	저령
7	polyporoid A	101850505	저령
8	polyporoid C	101850507	저령
9	polyporusterone A	44449971	저령
10	polyporusterone B	15168041	저령
11	polyporusterone E	101620740	저령
12	polyporusterone G	44449940	저령
13	β-Glucan	46173706	저령
14	24S-polyporusterone A	10814524	저령
15	Acetosyringone (4-hydroxy-3,5-dimethoxyacetophenone)	17198	저령
16	D-glucose	5793	저령
17	D-mannose	18950	저령
18	ergosta-7,22-dien-3-ol	6438662	저령
19	polyporoid B	101850506	저령
20	polyporusterone C	44449966	저령
21	polyporusterone D	44575601	저령
22	polyporusterone F	44575603	저령
1	oxydehydrotumulosic acid	16736459	적복령
2	3-epi-Dehydropachymic acid	15226716	적복령
3	5R,8R-peroxydehydrotumulosic acid	46882629	적복령
4	6α-Hydroxypolyporenic acid C	101280198	적복령
5	Dehydroeburicoic acid	15250826	적복령
6	Dehydropachymic acid	15226717	적복령
7	dehydrotrametenonic acid	44424826	적복령
8	Dehydrotumulosic acid	15225964	적복령
9	eburicoic acid	10004946	적복령
10	Pachymic acid	5484385	적복령
11	Polyporenic acid C	9805290	적복령
12	poricoic acid AM	44424828	적복령
13	poricoic acid C	56668247	적복령



Table 1. List of the compounds in GunRyeongTang (2)

No.	Compound	Pubchem ID	Origin
14	poricoic acid D	44424827	적복령
15	tumulosic acid	12314446	적복령
16	3-epidehydrotrametenolic acid	12133286	적복령
17	5 α , 8 α -Peroxidehydrotumulosic acid	16736654	적복령
18	Poricoic acid A	5471851	적복령
19	Poricoic acid B	5471852	적복령
20	poricoic acid CM	16736060	적복령
21	poricoic acid DM	44424830	적복령
1	ginsenoside Rb2	6917976	인삼
2	ginsenoside Rc	12855889	인삼
3	ginsenoside Re	441921	인삼
4	ginsenoside Rg1	441923	인삼
5	ginsenoside Rg5	44416768	인삼
6	ginsenoside Rh2	119307	인삼
7	ginsenoside Rk1	11499198	인삼
8	panaxydol	101663293	인삼
9	panaxynol	5469789	인삼
10	β -ecdysone	101778163	인삼
11	ginsenoside Rb1	9797279	인삼
12	ginsenoside Rb3	12912363	인삼
13	ginsenoside Rf	441922	인삼
14	ginsenoside Rg3	9918693	인삼
15	ginsenoside Rh1	12855920	인삼
1	2-hydroxycinnamaldehyde	5318169	육계
2	2-methoxycinnamaldehyde	641298	육계
3	cinnamaldehyde	637511	육계
4	cinnamtannin D-1	46173958	육계
5	cinnacsiol D4	46173971	육계
6	copaene	92042749	육계
7	eugenol	3314	육계
8	parameritannin A-1	16146159	육계
9	syringaresinol	443023	육계
10	2-hydroxycinnamic acid	637540	육계
11	2-methoxycinnamic acid	734154	육계
12	cassiatannin A	44610605	육계
13	cinnamic acid	444539	육계
14	cinnamtannin B-1	475277	육계
15	cinnamyl alcohol	5315892	육계
16	coumarin	323	육계
17	lyoniresinol 3 α -O- β -D-glucopyranoside	10031185	육계
18	safrole	5144	육계
1	11-Deoxoglycyrrhetic acid	12305517	감초
2	18Alpha-glycyrrhizin	135113325	감초
3	18Beta-glycyrrhizin	319072900	감초
4	18 β -glycyrrhetic acid.	10114	감초
5	2',4',2-Trihydroxychalcone	5811533	감초
6	2'-hydroxyisolupalbigenin	14237659	감초
7	3-Hydroxyglabrol	480854	감초
8	3-methylkaempferol	5280862	감초
9	6,8-Diprenylgenistein	480783	감초
10	7-O-methylutenone	441251	감초
11	Allolicoisoflavone B	10383349	감초
12	araboglycyrrhizin	195342	감초
13	Daidzin	107971	감초
14	dehydroglyasperin D	10109594	감초
15	Formononetin	5280378	감초
16	galbrocoumarin	11427657	감초
17	gancaonin G	480780	감초
18	gancaonin I	480777	감초

Table 1. List of the compounds in GunRyeongTang (3)

No.	Compound	Pubchem ID	Origin
19	genistein	5280961	감초
20	glabranin	124049	감초
21	glabrocoumarone A=glainflarin H	10542808	감초
22	glabroisoflavanone	11405466	감초
23	glabrone	5317652	감초
24	glicoricone	10361658	감초
25	Glyasperin C	480859	감초
26	Glycocoumarin	5317756	감초
27	Glycyroside	44257223	감초
28	Glycyrrhiza-isoflavone C	10546844	감초
29	glycyrrhizic acid	16213698	감초
30	Glyurallin A	15818598	감초
31	hispaglabridin B	15228661	감초
32	isoderrone	14237660	감초
33	isoglycoumarin	14187587	감초
34	Isolicoflavonol	5318585	감초
35	isoliquirigenin	638278	감초
36	Isoliquiritigenin 4,4'-di-O-glucopyranoside	42607522	감초
37	isoliquiritin apioside	6442433	감초
38	isolupalbigenin	26238934	감초
39	Isoviolanthin	44257680	감초
40	Kanzonol H	480863	감초
41	kanzonol V	102444980	감초
42	Kumatakenin	5318869	감초
43	Licoarylcoumarin	10090416	감초
44	Licochalcone A	5318998	감초
45	Licochalcone C	9840805	감초
46	licochalcone E	46209991	감초
47	licocoumarone	503731	감초
48	licoflavone A	5319000	감초
49	licoflavone C	10246505	감초
50	licofuranocoumarin	5319001	감초
51	Licoisoflavone A	5281789	감초
52	licoleafol	11111496	감초
53	Licorice glycoside A	101938903	감초
54	Licorice glycoside E	42607811	감초
55	Licorice saponin C2	452864	감초
56	Licorice saponin G2	14891565	감초
57	Licorice saponin K2/H2	12889143	감초
58	licorice-glycoside B	101938904	감초
59	licorice-glycoside C2	42607810	감초
60	licorice-glycoside D2	42607808	감초
61	licorice-saponin A3	14187172	감초
62	licorice-saponin E2	86278258	감초
63	Licorisoflavan A	5319704	감초
64	Liquiritigenin 7,4'-di-O-glucopyranoside	46869260	감초
65	liquiritin	503737	감초
66	luteone	5281797	감초
67	neoisoliquiritin	22524410	감초
68	Ononin	442813	감초
69	pratensein	5281803	감초
70	semilicoisoflavone B	5481948	감초
71	uralenol	5315126	감초
72	Uralsaponin C	86278344	감초
73	Uralsaponin M	101905172	감초
74	Uralsaponin T	101905173	감초
75	Uralsaponin V	86278364	감초
76	Uralsaponin X	91618087	감초
77	Vicenin-2	442664	감초



Table 1. List of the compounds in GunRyeongTang (4)

No.	Compound	Pubchem ID	Origin
78	1-methoxyphaseollin	10247433	감초
79	11b-Hydroxy-11b,1-dihydromedicarpin	44437741	감초
80	18Beta-Glycyrrhetic acid	318162816	감초
81	2',4',2,4-Tetrahydroxychalcone	10107266	감초
82	4'-O-methylgalbridin	5319664	감초
83	Angustone A	15664151	감초
84	apioglycyrrhizin	101599071	감초
85	Biochanin A	5280373	감초
86	daidzein	5281708	감초
87	dehydroglyasperin C	480775	감초
88	echinatin	6442675	감초
89	galbridin	124052	감초
90	gancaonin F	5317482	감초
91	gancaonin H	5481949	감초
92	gancaonin L	14604077	감초
93	Genkwanin	5281617	감초
94	glabrocoumarone B	15233562	감초
95	Glabrol	11596309	감초
96	Glicophenone	10021298	감초
97	glyasperin D	480860	감초
98	glycyrin	480787	감초
99	glycyrol	5320083	감초
100	Glycyrrhetic acid	3230	감초
101	glycyrrhisoflavone	5317764	감초
102	Glycyrrhizin	14982	감초
103	Glyinflanin A	42607642	감초
104	glyzaglabrin	5317777	감초
105	hispaglabridin A	442774	감초
106	homobutein	6438092	감초
107	isoangustone A	21591148	감초
108	Isoglabrone	102597283	감초
109	isoglycyrol	124050	감초
110	isoliquiritin	5318591	감초
111	Isoschaftoside	3084995	감초
112	kaempferol	5280863	감초
113	Kanzonol F	101666840	감초
114	Kanzonol Y	10001604	감초
115	Licochalcone B	5318999	감초
116	Licochalcone D	10473311	감초
117	licoflavanone	14218028	감초
118	Licoflavone B	11349817	감초
119	Licoflavonol	5481964	감초
120	licoisoflavanone	392443	감초
121	licoisoflavone B	5481234	감초
122	licopyranocoumarin	122851	감초
123	licorice-glycoside C1	42607809	감초
124	licorice-glycoside D1	42607807	감초
125	Licoricone	5319013	감초
126	licuraside	14282455	감초
127	liquiritigenin	114829	감초
128	liquiritin apioside	10076238	감초
129	Lupiwighteone	5317480	감초
130	Neoliquiritin	51666248	감초
131	Schaftoside	442658	감초
132	Sophoraflavone B	44257572	감초
133	Topazolin	5481965	감초
134	uralsaponin B	163744	감초
135	Uralsaponin F	86278342	감초
136	Uralsaponin W	86278365	감초
137	wighteone	5281814	감초

Table 2. List of the common genes of GunRyeongTang and Diabetic Complications gene sets.

1039 Common Genes of GRT and Diabetic Complications	
INS, GSK, ACE, IL6, PPARG, PDX1, VEGFA, INSR, IRS1, PON1, RETN, SLC2A2, ALB, SLC2A4, LIPC, ADIPOQ, FOXO3, TNF, AKR1B1, EPO, SOD2, AKT2, AVP, PTPN1, AGER, NOS3, CRP, PPP1R3A, LEP, LMNA, APOE, IGF2, IGF1, IL2RA, GCG, CCL2, ICAM1, GPD2, APOB, CAT, IL10, JTPR3, TGFB1, AGT, LPL, IAPP, F2, AKT1, GAD2, IL1B, DPP4, CXCL8, APOA1, SLC2A1, GHRL, SOD1, STAT3, EDN1, GAD1, CCR5, CDKN2A, VCAM1, IFNG, RBP4, UCP2, PIK3R1, MMP9, REN, SST, EIF2AK3, TP53, VWF, ATM, POMC, IL18, TLR4, NPPB, PPARGC1A, NOS2, SELE, PGF, SORD, PPARA, GPT, HBA1, ADRB2, BDNF, IL4, GLP1R, FGF2, SHBG, LIPE, MMP2, SERPINC1, RRAD, PLAT, CFTR, GH1, BGLAP, CAV1, STAT1, CXCL10, TNFRSF11B, MPO, LDLR, PIK3CA, IGF1R, PLIN1, SLC5A2, CTNNB1, SIRT1, HIF1A, IL2, PON2, TERT, CD36, FAS, ANXA5, UCPI1, TF, MBL2, PTGS2, HMOX1, ACE2, HMGR, MTOR, IL17A, PTEN, PRL, NR3C1, PIK3CG, TNFRSF1A, TTR, ADIPOR1, ESR1, JAK2, MAPK1, ST3GAL4, FAPB2, NFKB1, NOTCH2, SPP1, FOS, KDR, CD40LG, CCL5, NFE2L2, GAPDH, FAPB4, SREBF1, NLRP3, KL, HGF, CYP3A4, LRP5, TG, KCNJ5, MAPK8, CYP19A1, SGK1, MAPK14, G6PD, FGF21, ADIPOR2, CXCL12, KNG1, FGFFR1, NGF, CTRC, PRKAA2, IL6R, AMBP, PARP1, GIP, GPX1, COMT, HSD11B2, PLG, NR1H2, AR, KRAS, PPARG, CNR1, GPR35, MGAM, ALDH2, CYP2C9, NOS1, FOXA2, TXNIP, GLO1, CCK, PDCC1, FOXO1, FASLG, GSR, PMM2, MFN2, TGFB2, MAP2K1, FADS1, TLR2, PF4, CYP11B2, HSD11B1, ITLN1, HMGB1, MT-CO1, IL1A, FN1, SERPINA1, TNFSF11, PTPN11, KCNH2, GSK3B, CDKN3, TEK, F9, NROB2, HSP90AA1, TH, CPT2, CYP2D6, CD40, RHO, CYP2E1, SLC5A1, ENG, CN, DP1, F7, ACACB, PCK1, BCHE, SCT, FOXM1, MMP3, TAC1, CASP3, GJA1, ABCB4, CSF3, PCSK9, PCK2, STK11, GAL, ITGAM, MYD88, GFAP, MEV, MB, CCL11, NOX4, MLN, CPT1A, IL1R1, TGFBRI1, SI, NR3C2, ACHE, HK2, PNLIP, CD274, SOX2, MT-CO2, NFKBIA, MLNR, TIMP2, RPS6KB1, ONECUT1, TGIF1, ITGA2, SIRT3, SP1, PRKCD, ESR2, SCARB1, GDF15, IL13, BCL2, CTSB, ABCA4, APC, TCF4, GU, SB, JUN, SMAD3, CD79A, MAPK10, PRKCA, IKBKB, HDAC9, NR1H4, SCD, GLA, HTR2A, LGALS3, FADS2, NRF1, HBA2, FOXO3, CYP2C19, MMP1, FASN, SULT1A3, SRC, COL2A1, ATF6, FA2H, MSTN, F, GFR3, BRCA1, HSPA5, CHI3L1, CASP1, AFP, XDH, NR1H3, CEBPA, PTPRC, CYP1A2, EGFR, EGF, KIR3DL1, PDE3B, TXN, SMAD4, TFAM, GATA3, MT-ND3, IL23A, AQP5, PDK4, ATL1, IFNA1, CD163, TG, G51, LGR5, IL5, ELANE, CCND1, CNR2, NTF3, COL4A1, CD4, AQP1, MET, ADORA1, PRPH2, SMAD2, MYLK, ESRRA, CALR, ITGB1, PECAM1, CDK4, EPHX1, CACNA1H, CCL20, PPY, CASP8, NOTCH1, T, LR9, CSF2, LG4, ACSL1, GYS2, ABCB1, PDPK1, CCR2, LDHA, AQP3, MSR1, SLC6A4, BMP7, PDGFRB, ALPL, RFC2, FGF2, CXCR4, VEGFC, CDH1, CACNA1D, AEBP1, DHFR, CSNK2A1, PTPRF, CD14, TR, PV4, DNASE1, SNAP23, HSPB1, KEAP1, ITGB2, NQO1, GJB2, IRF3, SLC01B1, ERBB3, AHR, DLG4, RHOA, TMPRSS6, FURIN, BAX, IL4R, PGR, NR2E3, XIAP, XRCC1, PLAUR, CA2, PIK3CD, FFAR4, MKI6, 7, GCLC, SFTPD, ERBB2, VKORC1, KLR3, CHAT, ABCG2, GAA, HK1, P2RY12, CHEK2, RB1, CD8A, MAOA, PROS1, ABCB1, CXCL9, TBK1, CTSK, TRPM8, HPS6, TNFRSF10A, LGALS1, ALOX5, ANXA2, G, REM1, MAOB, EPHX2, CDKN1A, LBP, HRC, TJP1, DDI3, VCP, ERCC2, SNCA, PLAU, GLI3, CD44, MAPK3, HTR1A, CANX, ATF4, BDKRB2, STAT5A, ALOX12, UGT1A1, VIM, NR1I2, PROKR2, CTS2, LIP, A, RAF1, JAK1, CYP2C8, TP53INP2, RUNX2, SQSTM1, CYP1A1, IL3, ENTPD1, KIF11, CASP9, PDE6B, CYP3A5, NLRP1, CTH, OGG1, NPTX2, RELB, GRIN2B, SPTLC1, BIRC5, SREBF2, CD80, ANG, ANK1, TNFRSF11A, CXCL1, OCLN, RYR2, CDK2, CD86, SOAT1, CD34, COL11A1, MMP7, TRAF6, AOC1, SOX9, LRP1, KLF4, PARK7, TPH1, SLC9A1, ABCG5, CD68, NRG1, NTRK2, PLA2G2A, GJA5, SYP, NR5A2, PCNA, RP1, DKK1, SMO, EIF2S1, ACP5, RS1, GLS, ABCG8, MYC, TBX21, MVK, AOC1, CAPN3, PAH, ARNT, CD1A, SIRT6, APEX1, MSH3, MCL1, BECN1, BCL2L1, RAD50, GLB1, DDC, KIT, NOTCH4, IC, OS, CYP1B1, BTK, IL16, AKR1A1, LCT, POU5F1, CDK6, ABCC2, GRN, ITGAX, ARG1, ABCC1, CDKN1B, NR1I3, SLC26A3, ELAVL1, F2R, CYP11B1, GAS6, RARA, DGAT2, CD1E, CYBB, MDM2, HNRNP1A, MAN2B1, CYP11A1, LCN1, NPM1, TCIRG1, GALNS, ANXA1, GLUT1, DCD, APRT, GRB2, PLA2G1B, NUCB2, CYP7A1, PINK1, MUC1, AIF1, HTR3A, CXCR1, TRPA1, DHCR7, GALK1, CCND2, DCTN4, BA, K1, SYK, FGF7, PROK2, PKM, CXCR2, TRPC1, SCN4A, AXL, LYVE1, CLCN5, TRPV3, TLR6, OSM, MMP13, A2M, IL9, NOX1, JAK3, HTT, PRKQC, HSP90B1, SNAI1, UGT1A9, CHUK, PRDX5, KCNMA1, CD, 19, RASGRP1, SETD2, ACAT1, CADM1, SSBP1, CAPN1, DNMT3L, TSP0, SLC1A5, E2F1, HAGH, CXCL2, CIR, HTR1B, GJA4, CYP4F2, TNFRSF10B, XRCC6, HAL, CASP7, PRKAG3, UGT1A8, TGFB, R3, VDAC1, CDH2, SLC22A4, CLCN7, TFE3, ROCK1, ULK1, ZEB1, ARG2, CDK1, AMY2A, EDN2, CYP2A6, IGFBP6, BACE1, NFATC1, LY96, CD209, GJB1, GPI, ATF3, TBXA2R, MUC5AC, FEN1, CCND3, M, YRF, MBP, GPX4, ATG7, CYP27A1, BAG3, PLCG1, PER2, TYR, GJC1, CDR1, EHHADH, RNASE3, ALOX15, TMPRSS2, SORT1, MYB, BMP1, ABCC3, FABP6, HDAC2, DIABLO, TPM2, ENO1, MAP2K4, UGT, IA3, GLI1, NME1, HDAC6, FDDT1, EPX, A4GALT, ANXA6, HDAC3, MRC1, VIPR1, PF4V1, CNP, SERPINB1, PTK2B, CYP2B6, EIF2AK2, CDC25C, MAP2K2, SLC33A1, CALB1, GRIN2A, LACC1, CCL18, ODC, 1, DLL3, UGT2B7, GH2, IFT122, EPCAM, NANOG, MAP2, HDAC1, CA1, CYGB, GCLM, YARS2, FCGR2B, WNT1, CACNA1E, SGPL1, CEACAM1, PDK1, RARG, RORA, CCNB1, SLC01B3, AIM2, ATP2B1, PR, EP, SLC7A1, RAG2, ERVW-1, SND1, CTSB, RHCE, SPHK1, ATG5, LAMB1, MGAT1, CA9, AIFM1, DYRK1A, FGF4, RPS8KA1, PER1, DGKQ, PFKFB3, LGALS4, LMAN1, FTMT, KHK, HAS2, ZMYND8, SLC1, OA2, ACAN, MYOG, SOAT2, VNN1, UGT1A10, DSG1, AMPH, RADS1, STAT6, KCNJ3, SQLE, NLRCA, MX1, CLDN1, SP3, NTS2, ATF2, DHPS, NFATC2, TOP1, TYRP1, MAPK9, IL20, CXCR5, SLC2A6, KIA, A0753, ART1, PIK3C3, CLDN2, CES1, PGD, IL24, APAF1, TK1, SLC01A2, FLG, PDGFC, PRKCE, USP9X, SGC6, TFF1, DAG1, GGA3, LSS, TFF3, RADS2, PYCARD, HCAR2, MLANA, GGCX, PIN1, TLL1, NEU, ROD2, CD2, FGFRL1, ROR1, COL6A3, SNAI2, XRCC5, HSD17B12, KCNHI1, DLL4, HAX1, BCL2L2, CALU, KCNC3, GRIA1, STMN4, EIF4E, MAG, LPO, MAP1LC3A, PROK1, C1QA, PTGER2, DLX4, PRSS8, K, CNA3, PTK2, TSHB, RPS6KA2, CLDN3, SYN1, SMARCA1, TSLP, FLII, SLC22A6, SCN2A, CYBSA, TOP2A, PXN, ALDH1A1, AGPAT4, GAB2, HPGD, TIRAP, ADH7, MITF, BCKDHA, GFER, CYSLTR2, TP11, T, XNRD1, COL4A2, COL6A2, NEK7, FHL2, OSCP1, CARD9, HRH1, GSDMD, WNT3A, ADH1A, LGALS7, SLC22A16, CA3, SARM1, MUC5B, CDC25A, CES2, FAM20C, CAPI, PSMA7, TUBB4B, PMAIP1, FIS1, LDHB, HSF1, CYP51A1, TNR, HEY2, HBD, CYP8B1, GPER1, STS, CCS, FPR1, FCER1G, SLN, KRT5, QDPR, POLB, KRT14, ALDH7A1, CD7, GJD2, GJA8, TOP2B, PRKX, CCNE1, SLC22A8, TPM3, AURKB, H, SPB8, IFNLR1, RAC2, CLEC7A, OSBP, RBBP7, BMP3, PLA2G12A, LEMD2, TRPM1, OPRD1, SLC45A2, PAG1, PGA5, ALDOA, SLC39A4, CLDN5, UBA52, ISG20, GALE, KLK5, PYGB, GRM6, CD207, STX2, MAP2K7, CLEC4M, MAP3K11, PKFL, NDUFB4, AGPS, HNRNP, KAT5, GGP51, CRYZ, MRC2, CAMKK2, SGGH, DTYMK, ICMT, IVL, UBB, GPRC5A, HEY1, PPIF, PSMC5, PSDM4, CCL7, TM2D3, GBP1, A, NTRX1, NBEAL2, RBFOX3, PTP4A2, GZMA, ENO3, SULT1A1, ESAM, TFCP2, CDA, LIN28B, MDH1, FGF16, MARVELD1, CD83, IFI44, P5MD14, RPSA, SP7, ALDH3A1, LY2, JUNB, SERPINB10, ALDH3A2, AOC2, CERK, DNMT, ALLC, NFE2, ARAF, MAP1B, GRIN1, MARCKSL1, LSG1, CTRL, PGRMC1, LGALS7B, SMUG1, DEGS1, VDAC2, SIK1, MOGS, BAZ1A, CBX4, DDX17, SPDEF, G8GT1, PIKFYVE, DECR1, ATE1, SACM1L, MROH7, TASI1R3, CACNA1I, XYLB, SYN, FN1A, CTRC3, GRIN2D, ABAT, PLD5, CASP4, KLK11, MACC1.	

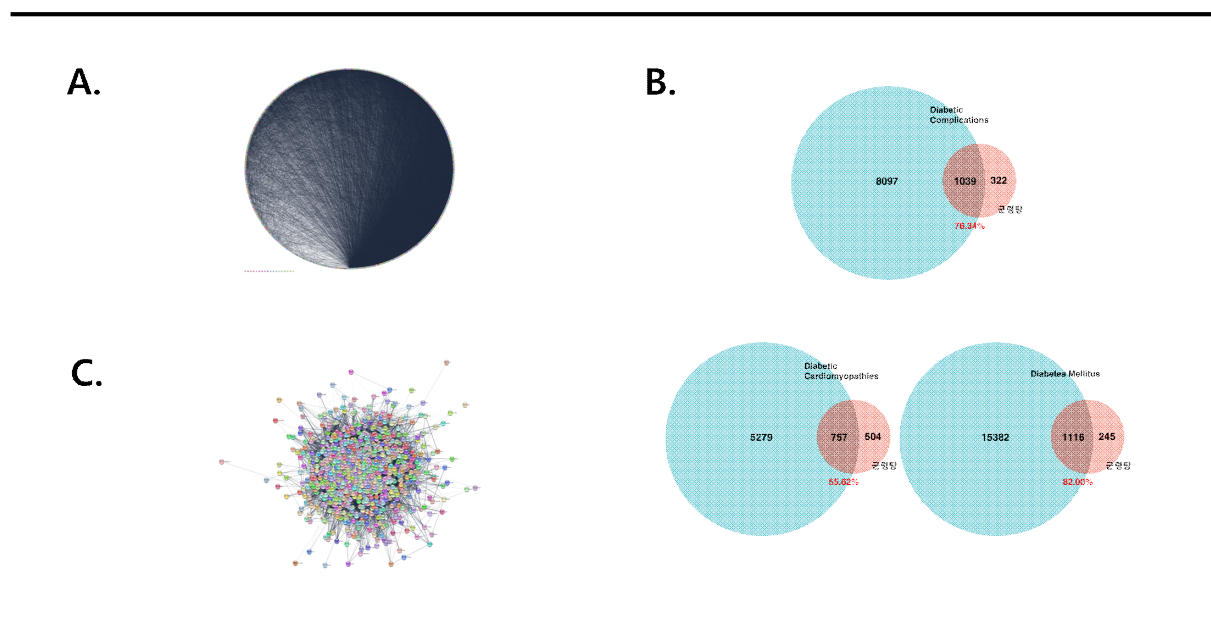


Fig. 1. (A) Network of GRT by Cytoscape. (B) Venn diagram showing intersection targets between GRT and Diabetic Complication target genes. (C) Network of common genes of GRT and Diabetic Complication.

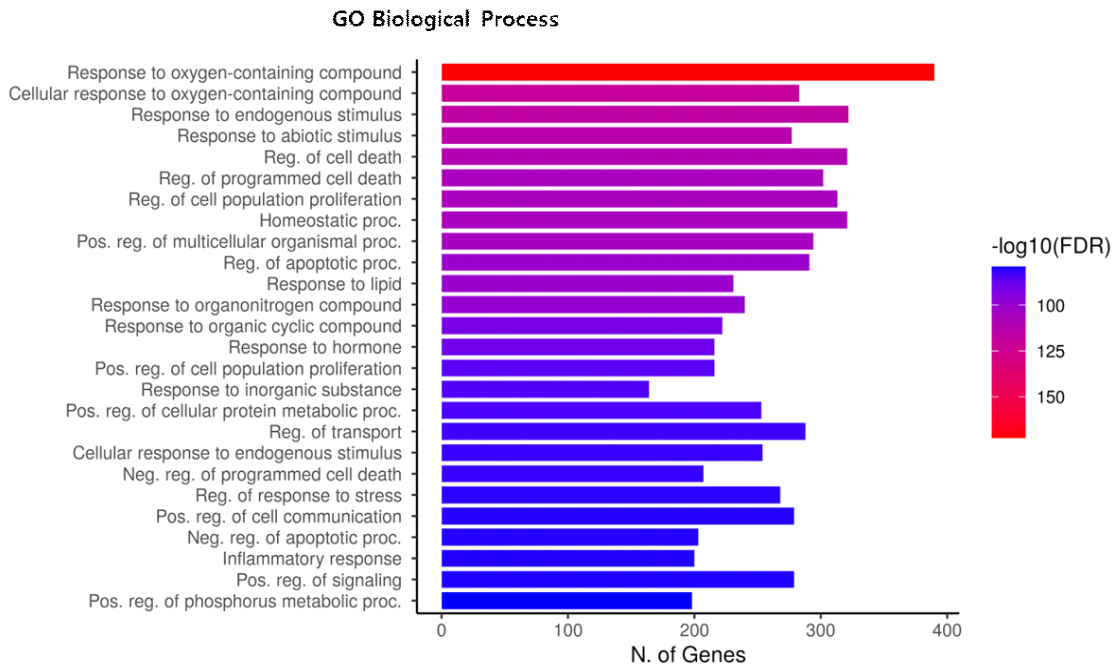


Fig. 2. Biological processes related to targets of GRT using GO Biological process database.

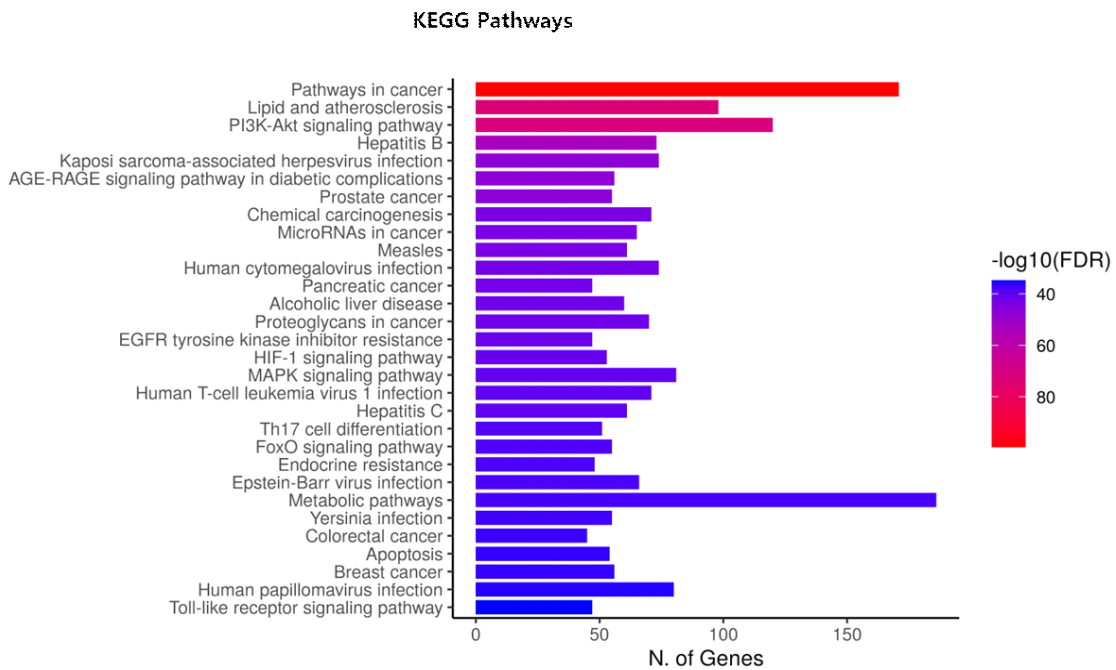


Fig. 3. Biological processes related to targets of GRT using KEGG Pathways database.

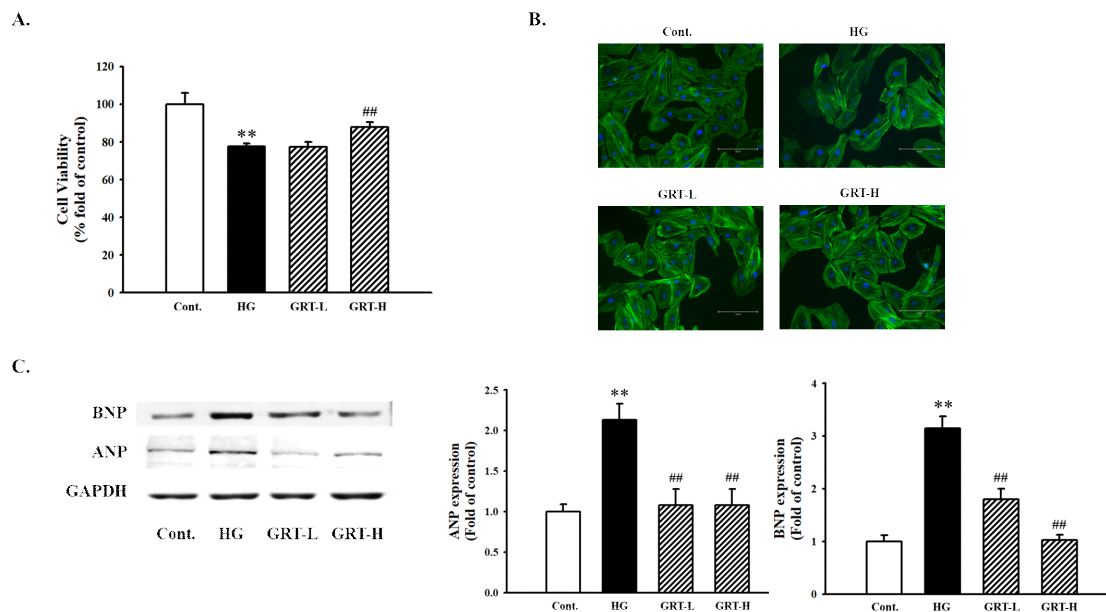


Fig. 4. Effect of GRT on cardiomyocyte hypertrophy in HG-treated H9c2 cells. (A) Effects of GRT on HG-induced changes of cell viability. (B) The effects of GRT on cell surface area size. The cell surface area was measured using anti-F-actin staining (green) under fluorescence microscopy. The nucleus was stained with DAPI (blue). (C) Effect of GRT on cardiomyocyte hypertrophy markers. Cardiac ANP and BNP protein expression levels were performed independently three times. Data are presented as the mean \pm standard deviation. ** $P < 0.01$ vs Cont; ## $P < 0.01$ vs HG-treated cells. GRT, GunRyeongTang; ANP, atrial natriuretic peptide; BNP, brain/B-type natriuretic peptide.