

# 川芎, 머위, 黃連 추출물 조성이 생쥐의 지질대사에 미치는 영향

김상대 · 안상현<sup>1</sup> · 김진택<sup>1</sup> · 신흥묵\*

동국대학교 한의과대학 생리학교실, 1: 해부학교실

## Anti-hyperlipidemic Effects of the Herbal Extract Mixture of *Cnidium officinale*, *Petasites japonicus* and *Coptis chinensis* on Mice with Tyloxapol

Sang Dae Kim, Sang Hyun Ahn<sup>1</sup>, Jin Taek Kim<sup>1</sup>, Heung Mook Shin\*

Department of Physiology, 1: Department of Anatomy, College of oriental Medicine, Dongguk University

This study was performed to evaluate the effect of the herbal extract mixture of *Cnidium officinale*, *Petasites japonicus* and *Coptis chinensis* (CPC) on the lipids metabolism in mice with tyloxapol. ICR mice weighing between 30-40 g were divided into four groups: normal group, 600mg/kg tyloxapol injected group, 50 µg/g CPC treated group 6h after tyloxapol injection (SAM1), and tyloxapol and CPC treated group (SAM2), respectively. Tyloxapol or CPC was injected intraperitoneally. Tyloxapol caused an elevation of total cholesterol (TC), triglycerides(TG), and LDL-cholesterol and a decrease of HDL-cholesterol. In addition, tyloxapol induced accumulation of lipid including cholesterol in both the liver and kidney. Serum levels of TC, TG and LDL-cholesterol were decreased whereas HDL-cholesterol was increased by CPC. CPC increased in HDL-cholesterol /total cholesterol ratio and lowered atherogenic index. The levels of TC, TG and LDL-cholesterol by CPC were rather lower in SAM2 than SAM1. CPC also inhibited lowering HDL-cholesterol by tyloxapol. CPC reduced lipid blots and cholesterol particles in both the deposition and size in the liver and kidney with tyloxapol. These results suggest that CPC might be expected to be beneficial for protection and treatment of hyperlipidemia by the disturbance of lipid metabolism.

Key words : herbal extract mixture, tyloxapol, lipid metabolism, total cholesterol, triglyceride

### 서 론

우리나라는 경제의 발달, 생활수준의 향상 그리고 식생활의 서구화로 인하여 위생환경이 개선되고 평균 수명이 연장되고 있다. 하지만 이런 식생활의 서구화와 운동부족, 그리고 스트레스 등으로 인하여 질병 패턴 또한 점차 선진국화 되어가고 있어 질병과 사망원인에 많은 변화를 가져오고 있다<sup>1)</sup>. 특히 지방질과 칼로리가 높은 음식물 섭취의 증가로 인하여 비만의 비율이 높아지고, 혈중지질의 농도가 상승하였으며, 자동차 등의 보급으로 신체적 운동량은 급속히 감소하여, 고지혈증의 유병률이 높아지고 있다<sup>2-4)</sup>. 고지혈증은 지질단백 대사 이상으로 인해 생기는 것으로, 질병자체의 위험보다는 동맥경화(atherosclerosis)유발의 위

험안자로 인지되고 있다<sup>5)</sup>. 고지혈증의 치료제는 HMG-CoA reductase inhibitor(statin), bile-acid sequestrant(resin), nicotinic acid, fibrate, probucol 등으로 분류하고 있다<sup>6)</sup>. 그중 스타틴 계열은 혈중 총 콜레스테롤을 20-25% 낮추고, 중성지방도 10-30% 낮추는 것으로 알려져 있으나 소화불량, 간독성, 근육통, 횡문근 변성, 광과민성 등 부작용이 유발될 수 있어 장기간 복용에 어려움이 따른다.<sup>7,8)</sup> 이러한 문제점을 극복하기 위하여 부작용이 적은 천연물 한약을 이용한 치료제 개발에 관심이 증가하고 있다.

한의학에서 고지혈증은 眩暈, 麻木, 心痛, 中風의 범주로 인식되며, 瘀血, 痰濁, 痰飲을 주요 유발 인자로 보고 있다. 따라서 한의학적으로 고지혈증의 치료 및 신소재를 개발하기 위해서는 活血化瘀하고, 痰濁, 濕痰, 痰飲 등의 제거에 효능이 있는 약재의 체계적인 생리활성 및 효능의 검증이 요구된다.

본 연구에서는 行氣活血, 祛風止痛의 효능이 있는 川芎, 羌活, 獨活, 威靈仙의 작용에 사용해진 머위 및 瀉火解毒, 清熱燥濕의 효능을 지닌 黃連의 약재를 선정하고, 한의학의 君臣佐使의

\* 교신저자 : 신흥묵, 경북 경주시 석장동 707 동국대학교 한의과대학

· E-mail : heungmuk@dongguk.ac.kr, · Tel : 054-770-2372

· 접수 : 2006/01/21 · 수정 : 2006/02/12 · 채택 : 2006/03/21

처방구성 원리에 기초하여 川芎, 머위, 黃連의 물 추출물을 2:2:1의 비율로 조합하여 이들 복합처방이 tyloxapol에 의하여 인위적으로 유도된 고지혈증에 미치는 영향을 검증함으로써 고지혈증의 치료나 예방을 위한 방제 개발의 기초 자료로 활용하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 한약재

본 실험에 사용한 천궁(건조), 머위(생), 황련(건조)은 대구 약령시에서 구입 업선하여 사용하였다.

#### 2) 동물

체중 30-40 g (6주령)의 ICR계 생쥐 수컷을 항온항습 장치가 부착된 사육장에서 고형사료를 충분히 공급하면서 2주일 이상 실험실 환경 (온도, 25± 1℃ ; 습도, 50~60%)에 적응시킨 후 사용하였다.

### 2. 방법

#### 1) 한약재 추출 및 처치

천궁 180 g, 머위 245 g, 황련 100 g을 round flask에 넣고 증류수 1000 ml을 가하여 3시간 가열 추출한 후 추출액을 여과지로 여과하고, rotary evaporator로 감압 농축한 후 동결 건조하여 각각 37.86 g, 6.04 g, 14.7 g의 분말을 얻었다. 천궁, 머위, 황련의 추출물 조성(CPC)은 2:2:1의 비율로 50 µg/g을 1회 복강 주사 하였다.

#### 2) 실험군의 분류

실험동물은 생리식염수만을 처치한 정상군 (NOR), tyloxapol (Triton WR-1339, Sigma, USA) 처치군 (CON), tyloxapol 처치 6시간 후 CPC 처치군 (SAM1), tyloxapol과 CPC를 동시에 처치한 군 (SAM2))으로 나누었으며, 각 군당 10마리씩 배정하였다.

#### 3) 고지혈증 유발

고지혈증의 유발은 10% tyloxapol (Triton WR-1339 Sigma, USA)을 600 mg/kg 복강 주사하였다. 대조군에는 동량의 생리식염수를 주사하였다.

#### 4) 실험동물 처리

Tyloxapol 복강 주사 24시간 후 경추 탈구로 처치한 후 심장 천자 (cardiac puncture)로 혈액을 채취하였다. 채취된 혈액은 실온에서 20분간 방치한 다음 15,000 rpm에서 10분간 원심분리 후 혈청을 따로 분리하였다. 또 조직내 지질 분포를 관찰하기 위해서 생리식염수와 인산완충용액으로 심장 관류 (cardiac perfusion)를 실시한 후 간과 신장을 적출하였다. 적출된 조직은 실온에서 10% 중성포르말린 (neutral buffered formalin : NBF) 용액에 24시간동안 고정 한 후, 동결과피를 방지 (cryoprotection) 하기 위해 30% sucrose 용액에 24시간동안 침적시켰다. 침적된 조직을 냉동절편기 (cryostat)를 이용하여 5 µm 두께의 냉동절편을 제작하였다.

#### 5) 혈청 콜레스테롤 측정

혈청 중 콜레스테롤은 total cholesterol (TC)은 Richmond 법<sup>9)</sup>, triglyceride (TG)은 Trinder 법<sup>10)</sup>, high density lipoprotein (HDL) cholesterol은 Warnick의 방법<sup>11)</sup>으로 측정하였다. 각각 영동제약의 Cholesterol E kit (BC 108-E), Triglyceride kit (BC 118, GPO-PAP법), HDL-cholesterol kit(A 308-HDL)를 사용하여 측정하였다. LDL-콜레스테롤은 총콜레스테롤-HDL 콜레스테롤 값으로 표시하였다. 심혈관계질환의 위험도 판정에 이용되는 동맥경화지수 (atherogenic index:AI)는 (총콜레스테롤 - HDL 콜레스테롤) / HDL 콜레스테롤로 계산하였다.

#### 6) 조직내 지질의 염색

간과 신장 조직 내 지방의 분포는 Sudan black B 염색을 통해 관찰하였다<sup>12)</sup>. 냉동절편을 absolute propylene glycol로 10분간 탈수한 후 Sudan black B 용액에 10분간 염색하고, 85% propylene glycol로 3분간 탈색한 후 증류수에 수세하고 nuclear fast red로 1분간 대조 염색하였다. 대조 염색 후 증류수로 3회 수세한 다음 glycerin jelly로 봉입한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

#### 7) 조직내 콜레스테롤의 염색

간과 신장 조직의 콜레스테롤 분포를 관찰하기 위하여 perchloric acid - naphthoquinone (PAN) 염색법을 시행하였다<sup>13)</sup>. 우선 냉동절편위에 PAN 시약을 도포한 후 60℃ incubator에서 용액의 색깔이 적색에서 청색으로 변화될 때까지 반응시키고, 반응이 완료되면 60% perchloric acid를 적당한 후 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

#### 8) 영상분석과 통계처리

실험결과는 평균치 ± 평균의 표준오차 (Mean ± SEM)로 나타내었으며, 조직내 지방방울과 콜레스테롤 입자 분포를 수치화 하기 위해 Optimas 5.2 (Optimas Co., USA)를 이용한 영상분석을 실시하였고, 대조군과 실험군과의 평균의 차이의 검정은 ANOVA test로 검정하여 P값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

## 실험결과

### 1. 혈청 중 총콜레스테롤, 중성지질에 미치는 영향

생쥐의 혈청 중 총콜레스테롤, 중성지방에 미치는 CPC의 영향은 Table 1과 같다. Tyloxapol을 처치한 CON의 총콜레스테롤 함량은 644.93±94.51 mg/dl로 생리식염수를 복강 주사한 NOR의 175.54±23.98 mg/dl에 비해 유의한 증가를 보였으며, tyloxapol 처치 6시간 후 CPC (50µg/g)을 처치한 SAM1은 513.59±76.14 mg/dl, tyloxapol과 CPC를 동시에 처치한 SAM2는 317.39±99.25 mg/dl로 CPC는 tyloxapol에 의한 총콜레스테롤 함량의 유의한 증가를 억제하였다.

중성지방의 농도는 NOR의 127.08±26.37 mg/dl에 비하여 CON에서 2764.21±82.47 mg/dl로 유의하게 증가하였다. SAM1은 2396.4±415.31 mg/dl로 대조군에 비하여 큰 변화가 없었으나 SAM2는 1279.42±72.11 mg/dl로 CPC의 동시 투여는 tyloxapol에 의한 중성지방의 유의한 증가를 감소시켰다.

Table 1. Effects of CPC on serum levels of total cholesterol, triglyceride in tyloxapol-induced hyperlipidemic mice

Group	Total cholesterol (mg/dl)	Triglycerides (mg/dl)
NOR <sup>a)</sup>	175.54±23.98	127.08±26.37
CON <sup>b)</sup>	644.93±94.51	2764.21±82.47
SAM1 <sup>c)</sup>	513.59±76.14	2396.4±415.31
SAM2 <sup>d)</sup>	317.39±99.25***	1279.42±72.11***

Values are mean±SD of at least 7 mice. a)NOR: saline treatment, b)CON: tyloxapol (600 mg/kg) treatment, c)SAM1: CPC (50 mg/g) treatment at 6 hours after tyloxapol, d)SAM2: CPC + tyloxapol treatment. \*\*\*: p<0.001 as compared with tyloxapol group.

2. 혈청 중 HDL-콜레스테롤 농도, LDL-콜레스테롤 농도, 심혈관 위험지수 및 동맥경화지수

HDL의 콜레스테롤의 변화는 NOR의 33.43±4.94%에 비하여 CON에서 20.69±7.18%로 감소하였으며, SAM1이 29.72±5.97%, SAM2가 40.39±7.99%로 CPC는 tyloxapol에 의한 HDL의 감소를 억제하였다. LDL의 콜레스테롤의 변화는 NOR의 66.56±4.9%에 비해 CON에서 79.3±6.23%로 증가 하였으나 SAM1에서 70.27±5.92%, SAM2가 55.5±7.74%로 CPC의 투여는 tyloxapol에 의한 LDL 콜레스테롤의 증가를 억제하였다.

심혈관 위험지수는 NOR의 3.04±0.4 비하여 CON에서 5.21±1.87로 증가하였으며, SAM1과 SAM2에서는 각각 3.47±0.69, 3.33±1.45로 CON에 비해 감소하였으나 유의성은 없었다. 동맥경화지수는 NOR의 2.04±0.4 비하여 CON에서는 4.21±1.87로 유의하게 증가하였고, SAM1은 2.48±0.69, SAM2는 2.33±1.45로 CPC의 투여는 tyloxapol에 의한 심혈관질환의 위험도를 나타내는 동맥경화지수를 감소시켰다.

Table 2. Effects of CPC on serum levels of HDL-/ LDL-cholesterol, ratio of HDL cholesterol to total cholesterol and atherogenic index in tyloxapol-induced hyperlipidemic mice

Group	Total cholesterol		Cardiac risk factor <sup>c)</sup>	Atherogenic index <sup>d)</sup>
	HDL (%) <sup>a)</sup>	LDL (%) <sup>b)</sup>		
NOR	33.43±4.94	66.56±4.9	3.04±0.4	2.04±0.4
CON	20.69±7.18	79.3±6.23	5.21±1.87	4.21±1.87
SAM1	29.72±5.97	70.27±5.92	3.47±0.69	2.48±0.69
SAM2	40.39±7.99	55.5±7.74	3.33±1.45	2.33±1.45

Values are mean±SD of at least 7 mice. a)HDL : HDL cholesterol/total cholesterol×100. b)LDL : LDL cholesterol/total cholesterol×100. c)Cardiac risk factor : total cholesterol/HDL cholesterol. d)Atherogenic index : (total cholesterol-HDL cholesterol)/HDL cholesterol

3. 간 조직내 지방 및 콜레스테롤 분포 변화

Tyloxapol을 투여한 CON의 지방 분포는 중심정맥 (central vein) 주변부의 간세포질에서 NOR 보다 큰 크기의 흑 청색의 지방 방울 (lipid bolt)의 증가가 관찰되었다. 영상분석 결과 1384±171/100,000 pixel인 NOR에 비해 8886±789/100,000 pixel로 542% 증가하였다. 그러나 CPC를 처치한 SAM1과 SAM2에서는 지방방울의 크기와 분포가 감소하였는데, SAM1은 5861±229/100,000 pixel, SAM2는 4184±266/100,000 pixel로 CON에 비하여 각각 34%, 53% 감소하였다 (Fig. 1A-2, 1B).

콜레스테롤 분포 변화는 CON에서 중심정맥 주변부의 간세포질에서 눈 결정 모양의 녹색 콜레스테롤 입자 (cholesterol particle)의 증가가 관찰되었고, 간삼초체까지 확대되었다. 영상 분석 결과 840±56/100,000 pixel인 NOR에 비해 730% 증가한 6920±241/100,000 pixel로 측정되었다. 이에 비해 SAM1과

SAM2에서는 콜레스테롤의 분포가 감소하였는데, SAM1은 52% 감소한 3307±165/100,000 pixel, SAM2는 70% 감소한 2080±96/100,000 pixel로 나타났다 (Fig. 1A-3, 1B).

Tyloxapol의 처치에 의한 일반적인 간조직의 형태변화는 CON의 중심정맥 주변부 세포질의 액포화 (vacuolation) 증가, 퇴화 (degeneration) 및 괴사 (necrosis) 상태의 간세포가 증가한 간삼초체 (portal triad) 주변부까지 확대된 양상으로 관찰되었다. SAM1과 SAM2군에서는 이러한 중심정맥 주변부의 간 손상이 감소하였으며, 특히 SAM2가 SAM1에 비해 간조직 손상이 적은 것으로 관찰되었다 (Fig. 1A-1).

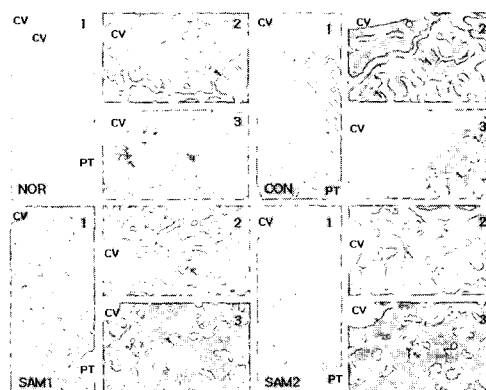


Fig. 1A. Distribution of lipid blots and cholesterol particles in hepatic tissues of mice (1. H&E stain; 2. sudan black B stain; 3. PAN stain; magnification x200). NOR, normal group; CON, tyloxapol treated group; SAM1, CPC administered group at 6 hours after tyloxapol treatment; SAM2, CPC + Tyloxapol treated group; CV, central vein; PT, portal triad. ←, lipid blots & cholesterol particles.

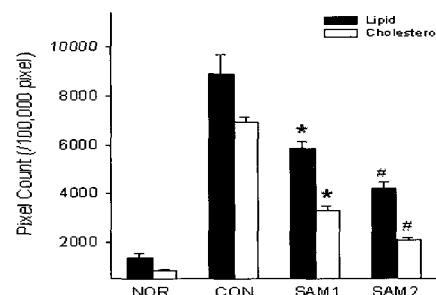


Fig. 1B. Image Analysis for deposition of lipid blot and cholesterol particle in the hepatic tissue (intensity of lipid blots, 50-80; intensity of cholesterol particles 100-130). \*, P<0.05 compared to the CON; # P<0.05 compared to the SAM 1.

4. 신장 조직내 지방 및 콜레스테롤 분포 변화

Tyloxapol 처치에 의한 신장의 지방 분포 변화를 보면, 사구체와 근위곱술세관 (proximal convoluted tubule; PCT) 기저에서 NOR에서 보다 큰 크기의 흑청색 지방방울의 증가가 관찰되었는데 영상분석 결과 NOR에의 760±38/100,000 pixel에 비해 763% 증가한 6560±166/100,000 pixel로 나타났다. SAM1과 SAM2에서는 지방방울의 크기와 분포가 CON에 비해 크게 감소하였는데, SAM1은 52% 감소한 3146±69/100,000 pixel, SAM2는 76% 감소한 1559±74/100,000 pixel로 측정되었다 (Fig. 2A-2, 2B).

콜레스테롤 분포 변화는 CON에서 사구체와 PCT 기저에서 눈결정모양의 녹색 콜레스테롤 입자의 증가가 관찰되었고, 영상

분석 결과 384±9/100,000 pixel인 NOR)에 비해 1095% 증가한 4592±89/100,000 pixel로 측정되었다. 이에 비해 SAM1과 SAM2에서는 콜레스테롤의 분포가 크게 감소하여 SAM1은 2483±89/100,000 pixel, SAM2는 1023±63/100,000 pixel로 CON에 비해 각각 46%, 78% 감소하였다 (Fig. 2A-3, 2B).

한편 일반적인 형태 변화로 CON에서는 콩팥소체 요세관극 (urinary pole) 주변 보우만주머니 외벽의 단층편평상피세포가 비후되어 단층입방상피세포형태로 관찰되었으며, PCT의 세포질 기저부에서는 액포화 (vacuolation)의 증가가 관찰되었다. 그러나 SAM1과 SAM2에서는 요세관극 보우만주머니 일부 외벽세포에서만 비후가 확인되었고, PCT에서 세포질 내 액포화가 감소하였다, 특히 SAM2가 SAM1에 비해 액포화 출현이 적어 정상적인 신장조직과 유사한 형태로 관찰되었다 (Fig. 2A-1).

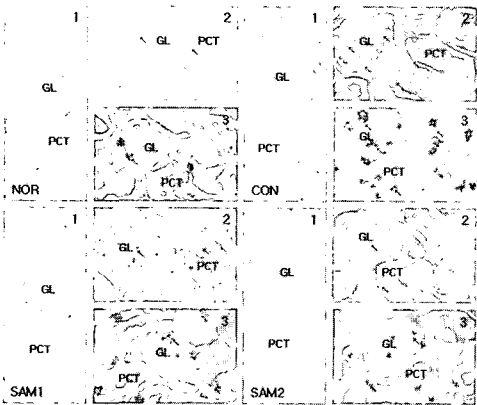


Fig. 2A. Distribution of lipid blots and cholesterol particles in kidney of mice (1, H&E stain; 2, sudan black B stain; 3, PAN stain; magnification x200). NOR, normal group; CON, tyloxapol treated group; SAM1, CPC administered group at 6 hours after tyloxapol treatment; SAM2, CPC + Tyloxapol treated group; GL, glomerulus; PCT, proximal convoluted tubule. ←, lipid blots & cholesterol particles.

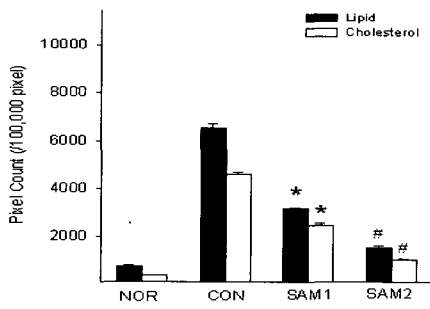


Fig. 2B. Image Analysis for deposition of lipid blot and cholesterol particle in the kidney (intensity of lipid blots, 50-80; intensity of cholesterol particles 100-130). \*, P<0.05 compared to the CON; #, P<0.05 compared to the SAM 1.

### 고 찰

현대 사회는 경제성장과 의료의 발달 및 생활양식의 변화로 감염성 질환이 줄어들고 만성 퇴행성 질환이 증가하고 있으며, 특히 지방 섭취의 증가로 인한 고지혈증은 동맥경화의 중요한 원인이 되고 있다.

본 연구는 川芎, 芩, 黃連의 불 추출물의 2:2:1의 배합으로 조성된 CPC의 고지혈증 예방 및 치료에의 적용 가능성을 검증하

였다. 산형과의 미나리과 회향아족에 속하는 川芎은 行氣活血, 祛風止痛의 효능으로 두통을 치료하며 血中の 氣瘀으로 불리고 중풍 및 각종 부인과 질환 등에 이용되고 있다<sup>14-16</sup>. 실험적으로 천궁은 허혈성 뇌손상<sup>17</sup>, 간암<sup>18</sup>과 유방암<sup>19</sup>에 대한 효과가 보고 되었으며, 수침 및 메탄올과 부탄올분획의 소염진통작용이 보고 된 바 있다.<sup>20</sup> 머위는 민간에서 종창, 보신, 건위, 수종, 보비, 식욕촉진, 진해, 항 중풍의 작용에 사용되어 왔으며<sup>21</sup>, 신경세포 보호 효과<sup>22</sup>, U937 세포주에 대한 apoptosis 물질 분리<sup>23</sup>, 항알레르기 효과<sup>24</sup>가 보고 되었다. 黃連은 瀉火解毒, 清熱燥濕의 효능으로 항균작용과 말초혈관을 확장하여 혈압을 강하시키는 작용<sup>25-28</sup>이 있으며, 식중독 유발균에 대한 억제 효과<sup>29</sup>와 추출물의 human immunodeficiency virus type 1(HIV-1) 복제 저해<sup>30</sup>가 알려져 있다. 본 연구에서는 이러한 각각의 효능을 지닌 약재의 복합처방의 지질대사에 대한 효능을 관찰하고자 tyloxapol로 인위적 고지혈증을 유도한 후, 혈청 중의 총콜레스테롤, 중성지방, HDL-/LDL-cholesterol 수치, 간과 신장에서의 지방과 콜레스테롤 축적에 의한 형태적 변화를 조사하였다.

혈청 중 총콜레스테롤은 정상 생쥐의 175.54±23.98 mg/dl에 비해 tyloxapol 처치에 의하여 현저하게 증가(644.93±94.51 mg/dl)하였으나 CPC 처리는 tyloxapol에 의한 총콜레스테롤의 증가를 억제하여 CPC를 동시에 처치하였을 경우 317.39±99.25 mg/dl로 유의하게 총콜레스테롤의 증가를 억제하였다. Triglyceride 함량은 tyloxapol 처치에 의하여 2764.21±82.47 mg/dl로 정상군(127.08±26.37 mg/dl)에 비하여 현저하게 증가되었다. 그러나 tyloxapol 처리 후 CPC를 투여한 실험군이 2396.4±415.31 mg/dl로 정상군에 비하여 유의한 변화는 없었으나 tyloxapol과 CPC를 병용 투여하였을 경우는 1279.42±72.11 mg/dl로 tyloxapol에 의한 중성지방의 증가를 유의하게 감소시켰다.

HDL 콜레스테롤은 동맥경화에 의한 방어효과가 있으며, 혈청 총콜레스테롤 농도에 대한 HDL-콜레스테롤의 농도비 또는 HDL-콜레스테롤 농도에 대한 LDL-콜레스테롤의 농도비가 심혈관질환의 발생을 예견하는 좋은 지표가 된다. 본 실험에서 CPC는 정상군(33.43±4.94%)에 비하여 tyloxapol 처치에 의한 HDL-콜레스테롤의 감소(20.69±7.18%)를 억제하였는데, tyloxapol 투여 6시간후 CPC의 투여는 29.72±5.97%, tyloxapol과 CPC를 병용투여에 의하여 40.39±7.99%로 정상군 보다도 증가하였다. 또 CPC 투여에 의하여 LDL 콜레스테롤 농도의 감소와 HDL-콜레스테롤 농도 및 총콜레스테롤 농도에 대한 HDL-콜레스테롤의 농도비가 증가 한 것은 CHM이 고지혈증은 물론 동맥경화의 예방과 치료에 도움이 있을 것으로 생각된다.

LDL 콜레스테롤은 일반적으로 혈중 콜레스테롤의 주된 운반형으로 혈관벽에 축적되어 혈관내피세포의 손상, 혈액의 점도 상승, 혈전 형성을 촉진하는 것으로 밝혀져 혈청 중 LDL-콜레스테롤의 농도는 관상동맥 질환의 발생과 밀접한 관계가 있다. LDL-콜레스테롤은 tyloxapol의 처치한 대조군이 79.3±6.23%로 정상군의 66.56±4.9%에 비하여 다소 증가 하였으나 tyloxapol과 CPC의 병용 처치에 의하여 55.5±7.74%로 유의한 감소를 나타내었다.

간 조직내 지방분포의 변화는 tyloxapol 처치에 의하여 간소

엽 전체의 간세포에서 지방입자의 축적과 지방 방울의 크기도 정상군에 비해 증가된 것으로 나타났다. 또 콜레스테롤 입자의 축적과 크기 증가도 확인되었는데, 간세포에서의 지방입자의 증가는 주로 콜레스테롤의 증가로 사료된다. Tyloxapol 처치에 의한 지방축적은 고지혈증에서 나타나는 병변으로 간세포에서 일시적인 지방대사 장애 즉, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG CoA) reductase에 의한 간세포내에서 cholesterol 합성 증가로 인한 plasma lipoprotein의 증가와 같은 기전에 의한 지방 축적이 나타난다는 보고<sup>31)</sup>와 tyloxapol이 세포내 lipase의 활성을 저해하여 triglyceride의 축적이 증가한다고 한 보고<sup>32)</sup>와 일치한다. 그러나 CPC를 처치한 SAM1과 SAM2에서는 지방 방울의 크기와 분포 및 콜레스테롤의 분포가 감소하였는데, 이는 CPC가 간세포내의 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA(HMG CoA) reductase의 inhibitor로 작용할 가능성 또는, 발현억제를 일으키는 antagonist로 작용할 것으로 예상되며 이에 대한 연구가 필요하리라 생각된다. 한편 형태적 변화로 tyloxapol 처치에 의한 간 조직 중심정맥 (central vein) 주변부 세포질의 액포화 (vacuolation) 증가, 간세포의 퇴화 (degeneration) 및 괴사 (necrosis)는 CPC를 처치한 SAM1 과 SAM2에서 현저히 감소하였으며 특히 SAM2군에서 SAM1에 비해 간조직의 손상이 적은 것으로 관찰되었는데, 이는 CPC의 tyloxapol에 의한 간손상의 예방효과를 시사하는 것으로 볼 수 있다.

Tyloxapol 처치에 의한 일반적인 신장의 형태변화는 CON의 콩팥소체 요세관극 (urinary pole) 주변 보우만주머니 외벽의 단층편평상피세포가 비후되어 단층 입방상피세포형태로 관찰되었으며, 근위곱슬세관 (proximal convoluted tubule; PCT)의 세포질 기저부에서는 액포화 (vacuolation)의 증가가 관찰되었다. 이러한 입방상피 형태로의 단층편평상피세포의 비후는 보우만주머니에서의 여과 상태의 이상으로 인한 여과 지방의 증가에 의한 것으로 사료된다. 그러나 CPC를 처치한 SAM1과 SAM2에서는 요세관극 보우만주머니 일부 외벽세포에서만 비후가 확인되었고, PCT에서는 세포질 내 액포화가 감소하였으며 SAM2군에서는 정상 신장조직과 유사한 형태를 보였다. 한편 신장의 지방 침착은 tyloxapol 처리 6시간 후 CPC를 처리한 군에서 보우만주머니의 비후된 외벽상피의 일부, 콩팥소체 그리고 근위곱슬세관 기저에서만 관찰할 수 있었으며, tyloxapol과 CPC를 동시에 처리한 SAM2에서는 지방 침착이 현저히 감소되어 거의 정상세포와 동일한 조직학적 소견을 보였다. 또 콜레스테롤 분포변화의 경우도 tyloxapol 처치에 의하여 현저히 증가하였으나 CPC의 처리는 tyloxapol에 의한 콜레스테롤의 축적을 감소시켜 tyloxapol과 CPC의 동시 처리군에서는 콜레스테롤의 축적이 정상조직에 가깝게 억제되었다. 이러한 결과는 CPC가 tyloxapol에 의한 지방대사의 이상을 억제한 것으로 사료된다.

이상의 川芎, 머위 및 黃連의 복합처방인 CPC 처리에 의한 혈청 중 총콜레스테롤 및 중성지방의 감소, LDL 콜레스테롤 농도의 감소, HDL-콜레스테롤 농도 및 동맥경화지수의 감소, 및 간과 신장 조직내의 지질 축적의 억제 효과는 향후 CPC의 지질대사에 관련된 건강기능성 식품 또는, 한약제제 개발의 기초 자

료로 이용 될 수 있는 가능성을 제시한 것으로 사료된다.

## 결 론

CPC 조성물의 혈청 중 지질대사 및 간과 신장 내 과도한 지방과 콜레스테롤 축적 감소에 미치는 영향을 조사하기 위해 ICR 생쥐에 tyloxapol (600 mg/kg)을 복강주사 하여 인위적인 고지혈증을 유발시킨 후 CPC (50 µg/g)를 복강 주사하여 혈청 중 총콜레스테롤, 중성지방, HDL-/LDL cholesterol 및 간과 신장 조직에서의 콜레스테롤을 비롯한 지방 축적에 따른 형태 변화를 관찰하여 다음의 결과를 얻었다.

Tyloxapol은 혈청 중 총콜레스테롤, 중성지방을 증가시켰으며 CPC 처리에 의하여 감소되었다. 특히 tyloxapol과 CPC의 병용처리 군에서 유의한 감소를 관찰할 수 있었다. HDL 및 LDL의 경우, tyloxapol 처리는 HDL을 감소시키고, LDL은 증가시키는 반면에 CPC 처리는 HDL의 감소와 LDL의 증가를 억제하였으며 tyloxapol과 CPC의 병용처리에서 그 효과가 우수하였다.

간과 신장 조직에서의 지방과 콜레스테롤의 분포변화는 tyloxapol 처리에 의하여 지방 및 콜레스테롤의 침착이 증가하였으나, CPC 처리는 이들의 침착을 억제하였다. 특히 동시 처리군에서 유의성 있는 감소를 관찰할 수 있었다.

이상의 결과로부터 CPC은 콜레스테롤과 중성지방의 저하를 유도하고, 간 및 신장 조직 내의 지질 축적을 억제함으로써 고지혈증의 개선에 도움을 줄 것으로 생각된다

## 참고문헌

1. Grundy, S.M., Denke, M.A. Dietary influence on serum lipids and lipoprotein. *J lipid Res* 31, 1149-1172, 1990.
2. Barnard, R.J., Faria, D.J., Menges, J.E., Martin, D.A. Effects of a high-fat, sucrose diet on serum insulin and related atherosclerotic risk factors in rats. *Atherosclerosis* 100, 229-236, 1993.
3. Parks, E.J. Dietary carbohydrate's effects on lipogenesis and the relationship of lipogenesis to blood insulin and glucose concentrations. *Br J Nutr* 87, 247-253, 2002.
4. Garg, A, Grundy, S.M. Koffler M. Effect of high carbohydrate intake on hyperglycemia, islet function and plasma lipoproteins in NIDDM. *Diabetes Care* 15, 1572-1580, 1992.
5. Keith, E.S. Atherosclerosis. *Encyclo. Human Bio.* 1, 447-55, 1991.
6. Shin, S.H. The choice of medicine. In *Diagnosis and treatment in hyperlipidemia*. Association of hyperlipidemic therapy, Haneuyhak, Seoul. pp 315-331, 2000.
7. Insull, W., Kafonek, S., Golder, D., Zieve, F. Comparison of efficacy and safety of atorvastatin (10 mg) with simvastatin (10 mg) at six weeks. *Am J Med* 87, 554-559, 2001.
8. Hirakawa, Y., Shimokawa, H. Lipid-lowering drugs. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 118, 389-395, 2001.

9. Richmond, W. Preparation and properties of a cholesterol oxidase from *Nocardia* sp. and its application to the enzymatic assay of total cholesterol in serum. *Clin. Chem.* 19, 1350-1356, 1973.
10. Trinder, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann. Clin. Biochem.* 6, 24, 1969.
11. Warnick, G.R., Benderson, J., Albers, J.J. Dextran sulfate-Mg<sup>2+</sup> precipitation procedure for quantitation of high-density-lipoprotein cholesterol. *Clin. Chem.* 28, 1379-1388, 1982.
12. Chiffelle, T.L., Putt, F.A. Propylene and ethylene glycol as solvents for Sudan IV and Sudan black B, *Stain Technol.* 26, 51-56, 1951.
13. Adams, C.W. A perchloric acid naphthoquinone method for the histochemical location of cholesterol, *Nature* 192, 331, 1961.
14. 전국한의과대학 本草學教授 共編者. 本草學. 서울, 永林社. pp 409-410, 2000.
15. Cho, J. Joo, N.E., Kong, J.Y., Jeong, D.Y., Lee, K.D., Kang, B.S., Inhibition of excitotoxic neuronal death by methanol extract of *Acori graminei* rhizoma in cultured rat cortical neurons. *J Ethnopharmacol.* 73, 71-77, 2000.
16. Cho, J., Kong, J.Y., Jeong, D.Y., Lee, K.D., Lee, D.U., Kang, B.S. NMDA receptor-mediated neuroprotection by essential oils from rhizomes of *Acorus gramineus*. *Life Sci.* 68, 1567-1573, 2001.
17. Baek, I.S., Park, C.S., Park, C.G. The effects of *Cnidium Officinale* extract on the ischemic stroke and oxidative neural damage in rats' brain. *Kor. J. Herbology* 18(4):37-46, 2003.
18. Shon, Y.H., Kim, J.G., Nam, K.S. Effects of *Cnidii Rhizoma* Water extract on Chemopreventive enzymes for hepatocarcinoma. *Kor. J. Phramcogn.* 34(4):297-302, 2003.
19. Nam, K.S., Son, O.L., Lee, K.H., Cho, H.J., Shon, Y.H. Effects of *Cnidii Rhizoma* on proliferation of Breast cancer cell, nitric oxide production and ornithine decarboxylase activity. *Kor. J. Pharmacogn.* 35(4):283-287, 2004.
20. Cho, S.K., Kwon, O.I., Kim, C.J. Anti-inflammatory and analgesic activities of the Extracts and Fractions of *Cnidii Rhizoma*. *Kor. J. Pharmacogn.* 27(3):282-287, 1996.
21. 김태정. 韓國의 資源植物. 서울, 서울대학교출판부. p 238, 1996.
22. Cui, H.S., Kim, M.R., Sok, D.E. Protection by petasignolide A, a major neuroprotective compound in the butanol extract of *Petasites japonicus* leaves, against oxidative damage in the brains of mice challenged with kainic acid. *J. Agric. Food Chem.* 53, 8526-8532, 2005.
23. Lee, C.H., Chul, M.C., Lee, H.J., Kho, Y.H. An apoptosis regulator isolated from *Petasites japonicum*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32(2):448-453, 2000.
24. Choi, O.B. Anti-allergic effects of *Petasites japonicum*. 15(4):382-385, 2002.
25. Sin, K.H., An, D.K., Woo, E.R., Park, H.K., Lee, J.S., Yun, W.S. A study on the extraction efficiency of berberine in *Coptidis rhizoma*. *J. Kor. Analytical Sci.* 10(2):83-91, 1997.
26. Jang, G.H., An, B.Y., Oh, S.H., Choi, D.S., Kown, Y.J. Anticariogenic effects of *Coptis chinensis* Franch Extract. *Kor. J Food Sci. Technol* 32(6):1396-1402, 2000
27. 생약학연구회. 현대생약학. 서울, 학창사. pp 420-422, 1993.
28. Tang, W., Eisenbrand, G. *Chinese Drugs of Plant Origin*. Springer-Verlag. Berlin. pp 361-371, 1992.
29. Bae, J.H. Antimicrobial effect of *Plagiorhegama dubium* extracts on food-borne pathogen. 1, 81-87, 2005.
30. Song, M.K., Lee, A.H., Kim, Y.H., Lee, J.J., Sung, Y.C. Inhibition of HIV-1 replication by extract of *Coptis chinensis*. *J. Applied Phamacol.* 3, 111-115, 1995.
31. Dominique, H., Paul, H., David, N.B. Effect of lipase inhibitor, triton WR-1339 and tetrahydrolipstatin, on the synthesis and secretion of lipids by rat hepatocytes. *FEBS.* 286(1,2):186-188, 1991.
32. Robbins, S.L., Cotran, R., Kumar, V. *Robbins pathologic basis of disease*. W. B. Saunders. 4th edition. pp 556-561. 1989.