

凉膈散火湯이 실험적 당뇨에 미치는 영향

김의종 · 김연섭*

경원대학교 한의과대학 해부경혈학교실

Effects of Yanggyuksanhwa-tang on Diabetic Rats Induced by Streptozotocin

Eui Jong Kim, Youn Sub Kim*

Department of Anatomy-Pointlogy, College of Oriental Medicine, Kyungwon University

This study evaluated effects of Yanggyuksanhwa-tang(YST) on diabetic rats. Diabetic condition in rats was induced by streptozotocin injection. Then control effect of YST was observed with changes of serum glucose, insulin, and triglyceride levels and hepatic glucokinase activity. YST treatment was resulted significant decrease of high serum glucose level of diabetic rats induced by streptozotocin at 5th day of YST treatment. YST treatment was resulted increase of low serum insulin level of diabetic rats induced by streptozotocin, but it was not significant statistically. YST treatment was resulted significant decrease of high serum triglyceride level of diabetic rats induced by streptozotocin at 3rd and 5th day of YST treatment. YST treatment was resulted significant increase of low hepatic glucokinase activity of diabetic rats induced by streptozotocin at 5th day of YST treatment. These results suggest that YST has effects on serum glucose control against cerebral ischemic damage under diabetic condition.

Key words : Yanggyuksanhwa-tang, glucose, insulin, triglyceride, hepatic glucokinase

서론

당뇨병은 고혈당 및 이에 수반되는 대사장애를 특징으로 하는 만성 내분비성 질환으로¹⁾, 2000년대에는 전체 인구의 7.79%가 당뇨병에 유병되었다. 또한 2003년 사망원인 중 당뇨병에 의한 사망율은 암, 뇌혈관질환, 심장질환에 이어 4번째이다.²⁾

당뇨병에 장기간 이환되게 되면 만성합병증을 유발하게 되며, 거의 모든 장기에서 혈류 장애를 유발시킨다.^{3,4)} 특히 당뇨병은 뇌졸중에 대한 다른 주요 위험인자들에게 영향을 끼친 후 서서히 나타나는 것으로 밝혀졌다.¹⁾

뇌졸중이란 일반적으로 뇌혈관 질환을 통칭하는 데, 당뇨병 환자의 뇌졸중 위험도는 2-3배 증가한다. 특히, 허혈성 뇌졸중의 유발은 1.8배에서 6배까지도 증가시키나, 출혈성 뇌졸중의 발생은 오히려 빈도가 낮다.^{5,6)} 실험적으로도 고혈당증은 뇌혈 손상과 신경세포 사망을 증가시킨다고 보고되어 있다.^{7,8)}

당뇨병을 한의학에서는 消渴의 범주에서 취급하고,⁹⁾ 凉膈散火湯은 少陽人 胸膈熱症에 사용되는 처방으로¹⁰⁾, 上消에 효능이 있어, 당뇨병 초기 치료에 응용되어 왔다.¹¹⁻¹³⁾ 또한 清熱解鬱, 去風의 효능^{14,15)}이 있어, 中風痰聲, 中風熱症, 暴瘡 등의 뇌혈관 질환에도 상용한다.¹⁴⁾

凉膈散火湯의 실험연구로 뇌혈관 질환과 관련하여 혈압 상승 및 국소뇌혈류 증가 효능, 뇌혈 손상 억제 작용이 보고되었으며^{16,17)}, alloxan 또는 streptozotocin으로 유발된 흰쥐의 당뇨에 유의한 혈당 감소 효능이 보고된 바 있다.^{18,19)}

이에 저자는 당뇨 상태에서의 뇌혈 손상 모델을 통해 凉膈散火湯의 효능을 확인하고자 하였다. 이를 위해 먼저 streptozotocin으로 유발된 당뇨에 미치는 凉膈散火湯의 효능을 관찰한 바 유의한 결과를 얻었으므로 이에 보고하는 바이다.

실험

1. 실험동물

실험동물은 바이오지노믹스(주)에서 구입한 10주령, 약 250g 전후의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 사용하였다. 흰쥐는 온도

* 교신저자 : 김연섭, 경기 성남시 수정구 복정동 산65 경원대학교 한의과대학

· E-mail : ysk@kyungwon.ac.kr, · Tel : 031-750-5420

· 접수 : 2007/03/15 · 채택 : 2007/03/30

(21~23℃), 습도 (40~60%), 조명 (12시간 명/암)이 자동적으로 유지되는 사육실에서 무균수수와 사료가 자유롭게 공급되었으며, 실험실 환경에 1주 이상 적응시킨 후 사용하였다.

2. 약물의 조제 및 투여

본 실험에 사용한 약물은 凉膈散火湯 (Yanggyuksanhwa-tang, YST)¹⁰으로 처방의 내용은 아래와 같다. 약물의 조제는 일반적인 물추출물 제조방법에 의하여, 10첩 분량 480 g을 3,000 ml의 물과 함께 냉각기가 장착된 전탕기에서 2시간동안 전탕한 다음 여과하고 rotary evaporator로 감압 농축 후 동결건조하여 1첩 분량 당 17.3 g의 물추출물을 얻었다. 실험동물의 1회 투여량은 흰쥐 체중 100g 당 체중비례 계산량의 10배인 57.6 mg으로 하였다. 약물투여는 뇌경색 유발 3시간 전 1회 및 뇌경색 유발 후 1일 1회 5일간 경구투여 하였다.

Table 1. Herbal Components of Yanggyuksanhwatang

한약명	생약명	중량
生地黃	REHMANNIAE RADIX PREPARAT	8.0 g
忍冬藤	LONICERAE CAULIS	8.0 g
連翹	FORSYTHIAE FRUCTUS	8.0 g
山梔子	GARDENIAE FRUCTUS	4.0 g
薄荷	MENTHAE HERBA	4.0 g
知母	ANEMARRHENAE RHIZOMA	4.0 g
石膏	GYPSUM FIBROSUM	4.0 g
防風	LEDEBOURIELLAE RADIX	4.0 g
荊芥	SCHIZONEPETAE HERBA	4.0 g
total		48.0 g

3. 실험군의 구분

당뇨상태의 뇌허혈 손상에 대한 凉膈散火湯의 효능을 관찰하기 위하여 1차적으로 혈당강하 효능을 관찰하고, 2차적으로 당뇨상태의 뇌허혈 손상에 대한 효능을 관찰하였다. 혈당강하 효능을 관찰하기 위하여 streptozotocin을 복강주사한 다음 2주 동안 혈당이 250 mg/dl 이상을 계속 유지하는 실험동물만을 선택한 대조군 (control)과 대조군과 같은 상태에서 凉膈散火湯을 경구투여한 凉膈散火湯군 (sample)으로 나누었다. 凉膈散火湯 투여 1, 3 및 5일 후에 각각 실험동물을 희생시켜 관련지표들을 관찰하였으며, 각 군 당 실험동물은 6마리씩으로 총 42마리를 사용하였다.

4. 당뇨의 유발

공복상태의 흰쥐에 streptozotocin을 10 mM citrate buffer에 녹여 60 mg/Kg이 되도록 복강주사하고, 2주간 혈당을 측정하여 250 mg/dl 이상인 실험동물만을 사용하였다.^{20,21)}

5. 혈청 glucose, insulin 및 triglyceride 함량의 측정

약물투여 개시 후 1, 3 및 5일에 ether로 마취한 상태에서 심장으로부터 혈액을 채취한 다음 실온에 30분간 방치한 후 원심분리기로 혈청을 분리(2,000 rpm, 10분) 하였다. 혈청 glucose 함량은 비색법, insulin은 IRMA 비경쟁반응법, triglyceride는 효소법에 따라 전용키트를 사용하여 측정하였다.

6. 간 glucokinase 활성도의 측정

약물투여 개시 후 1, 3 및 5일에 ether로 마취한 상태에서 심장으로부터 혈액을 채취한 직후 간조직을 채취하여 균질화 완충용액(50 mM Na-HEPES, pH 7.8, 1 mM EDTA, 1 mM dithiothreitol, 110 mM KCL)에 넣어 초음파분쇄기로 균질화 용액을 만들고, 초원심분리(4℃, 12,000 g, 60분)하여 상층액을 분리하였다. 이 상층액을 사용하여 glucokinase 활성도는 glucose-6-phosphate가 glucose-6-phosphate dehydrogenase에 의하여 형성되는 NADH를 fluorometer로 측정하는 방법을 사용하였다.²²⁾

실험성적

1. 혈청 glucose 함량의 변화

공복시 혈청 glucose 함량은 정상군은 115.5±9.3 mg/dl 이었고, streptozotocin 복강주사 2주 후 즉, 실험개시 1일째에 대조군은 388.5±40.5 mg/dl, 3일째에는 392.1±41.1 mg/dl, 5일째에는 390.5±38.8 mg/dl로 매우 높은 고혈당 상태를 나타내었다. 이에 비하여 streptozotocin 복강주사 2주 후 凉膈散火湯을 투여한 1일째에 362.2±37.2 mg/dl, 3일째에는 329.8±42.1 mg/dl, 5일째에는 244.7±41.7 mg/dl를 나타내어 대조군에 비하여 약물투여 5일째에 P<0.05의 유의성 있는 혈청 glucose 함량의 감소를 나타내었다 (Fig. 1).

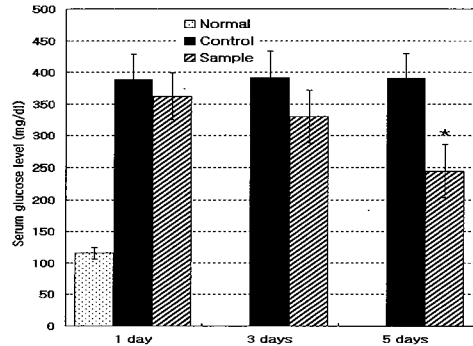


Fig. 1. Effect of YST on serum glucose level of the rats treated with streptozotocin. On 5th day of YST treatment, serum glucose level was decreased significantly as compared to the control(*, P<0.05). Normal: Group without streptozotocin i.p. injection. Control: Group treated with streptozotocin (60 mg/kg) i.p. injection. Sample: Group treated with water-extract (56.7 mg/100 g body weight) of Yanggyuksanhwa-tang after streptozotocin (60 mg/kg) i.p. injection.

2. 혈청 insulin 함량의 변화

공복시 혈청 insulin 함량은 정상군은 16.5±2.7 μIU/ml 이었고, streptozotocin 복강주사 2주 후 즉, 실험개시 1일째에 대조군은 5.8±1.2 μIU/ml, 3일째에는 5.7±0.9 μIU/ml, 5일째에는 6.2±0.8 μIU/ml로 매우 낮은 insulin 함량을 나타내었다. 이에 비하여 streptozotocin 복강주사 2주 후 凉膈散火湯을 투여한 1일째에 6.1±0.8 μIU/ml, 3일째에는 7.3±1.3 mg/dl, 5일째에는 7.9±0.9 μIU/ml를 나타내어 대조군에 비하여 증가하는 경향을 나타내기는 하였으나 통계학적 유의성은 없었다 (Fig. 2).

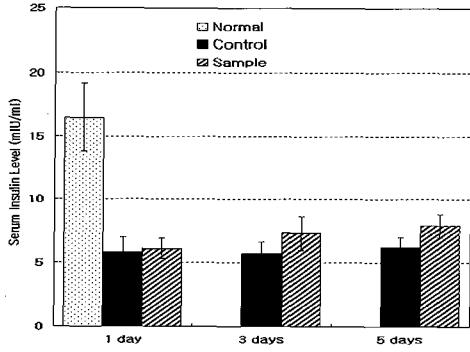


Fig. 2. Effect of YST on serum insulin level of the rats treated with streptozotocin. YST treatment demonstrated increase of insulin level as compared to the control, but it was not significant statistically.

3. 혈청 triglyceride 함량의 변화

공복시 혈청 triglyceride 함량은 정상군은 65.1±3.5 mg/dl 이었고, streptozotocin 복강주사 2주 후 즉, 실험개시 1일째에 대조군은 88.3±4.8 mg/dl, 3일째에는 86.2±5.5 mg/dl, 5일째에는 82.2±4.2 mg/dl로 매우 높은 triglyceride 함량을 나타내었다. 이에 비하여 streptozotocin 복강주사 2주 후 凉膈散火湯을 투여한 1일째에 83.2±4.4 mg/dl, 3일째에는 68.7±5.2 mg/dl, 5일째에는 70.1±4.6 mg/dl를 나타내어 대조군에 비하여 약물투여 3일째와 5일째에 P<0.05의 유의성 있는 혈청 triglyceride 함량의 감소를 나타내었다 (Fig. 3).

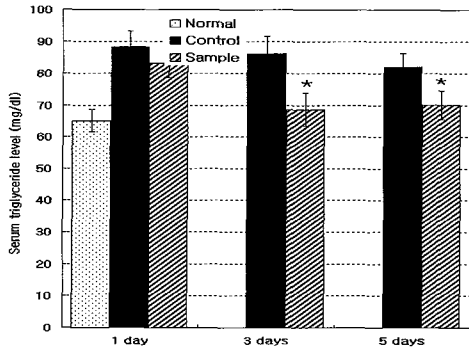


Fig. 3. Effect of YST on serum triglyceride level of the rats treated with streptozotocin. On 3rd and 5th days of YST treatment, serum triglyceride levels were decreased significantly as compared to the control(*, P<0.05).

4. 간 glycolipase 활성도의 변화

공복시 간 glycolipase 활성도는 정상군은 11.3±1.2 mU/μg protein/hr 이었고, streptozotocin 복강주사 2주 후 즉, 실험개시 1일째에 대조군은 5.7±1.5 mU/μg protein/hr, 3일째에는 6.3±1.3 mU/μg protein/hr, 5일째에는 6.1±1.2 mU/μg protein/hr로 매우 낮은 활성도를 나타내었다. 이에 비하여 streptozotocin 복강주사 2주 후 凉膈散火湯을 투여한 1일째에 6.0±1.5 mU/μg protein/hr, 3일째에는 7.3±1.2 mU/μg protein/hr, 5일째에는 9.5±1.4 mU/μg protein/hr를 나타내어 대조군에 비하여 약물투여 5일째에 P<0.05의 유의성 있는 간 glycolipase 활성도의 증가를 나타내었다 (Fig. 4).

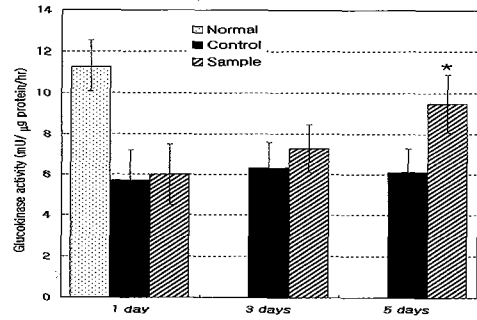


Fig. 4. Effect of YST on hepatic glucokinase activity of the rats treated with streptozotocin. On 5th day of YST treatment, hepatic glucokinase activity was increased significantly as compared to the control(*, P<0.05).

고찰

凉膈散火湯은 李¹⁰⁾의 東醫壽世保元에서 少陽人の 胃受熱裡熱病을 치료하며 胸膈熱證을 제거하는 처방이라고 하였다. 中風痰盛, 中風熱證, 歷節風, 痰滯, 頭痛, 面熱, 風熱, 咽喉諸症 등을 적응증으로 하고 있으며, 心火上盛, 中焦燥實한 多渴頭昏, 目赤, 舌腫, 大小便秘, 譫語, 發狂 등에 사용한다 하였다.^{14,15)} 凉膈散火湯의 구성약재 중 生地黃은 瀉心火, 清肺熱하고, 忍冬藤과 連翹역시 心肺二經의 熱을 내리고 解毒하며, 梔子와 薄荷는 宣滯解鬱하고, 石膏는 肺와 胃 및 三焦의 熱을 제거하고, 知母와 함께 除渴止煩한다. 防風과 荊芥는 散風濕하며, 頭目滯氣한 것과 四肢攣急한 症을 치료하고, 生地黃과 知母는 補腎水 및 滋陰하는 효능이 있다. 그러므로 본 처방은 清熱凉血, 瀉火解毒, 除煩解鬱, 祛風解表, 勝濕解痙하는 효능으로 清熱, 解鬱, 祛風하는 中風의 치료 처방이라 하였다.^{11,13-15)} 한편으로 凉膈散火湯은 上焦熱을 다스리거나, 上·中二焦의 實火를 瀉하는 효능으로 一切火鬱之證을 치료하는 처방이며, 上消와 당뇨병의 초기에 응용되는 처방이라고 하였다.^{11,13)}

凉膈散火湯에 대한 실험연구를 통하여, alloxan 또는 streptozotocin으로 유발된 흰쥐의 당뇨병 모형에서 혈당을 감소시키는 효능이 입증되었으며, 또한 뇌허혈 손상에 대하여 유의한 억제 효능이 있을 것으로 보고되었다.^{16,17)} 이외에도 지주막하 출혈 이후의 혈관경련에 대하여 혈관내피세포의 손상과 혈관내막의 비후를 회복시키고, 평활근의 수축을 감소시키는 동시에 과사를 호전시키는 등 제반 병리적 변화를 회복시키는 효과가 있다고 보고되었으며, 그 기전과 관련하여 혈관확장에 관여하는 신경 전달물질과 신경 peptide의 활성화에 기여하며, 혈관확장에 관여하는 인자들을 유의하게 조절하는 것으로 보고되어 있다.^{23,24)}

본 실험에서 凉膈散火湯의 혈당강하 효능을 관찰하기 위하여 streptozotocin을 복강주사한 다음 2주 동안 혈당이 250 mg/dl 이상을 계속 유지하는 실험동물만을 선택하여 凉膈散火湯을 투여한 후 1, 3 및 5일 에 각각 실험동물을 희생시켜 관련지표들을 관찰한바, 대조군에 비하여 凉膈散火湯 투여 5일째에 혈청 glucose 함량과 triglyceride 함량의 유의한 감소를 나타내었으며, 혈청 insulin 함량은 대조군에 비하여 증가하는 경향을 나타내기는 하였으나 통계학적 유의성은 없었다. 그러나 streptozotocin

에 의하여 낮아진 간 glucokinase 활성도가 凉膈散火湯 투여 5일째에 유의성 있는 활성도의 증가를 나타내었다. Glucokinase는 포도당대사에 중요한 조절효소 중 하나로서 간세포에서 포도당의 이용과 방출을 조절하며 췌장에서는 혈중 포도당을 인지하여 베타세포의 인슐린분비를 조절하는 역할을 수행하며,^{25,26)} glucokinase 활성을 촉진하는 것이 항당뇨에 유의한 약물이 된다고도 하였다.²⁷⁾ 이러한 결과는 凉膈散火湯이 유의한 혈당조절 효능을 가지고 있다는 이전의 연구보고들^{18,19)}과 일치하는 결과이며, 凉膈散火湯의 고혈당 또는 당뇨에 대한 조절효능을 재확인하는 결과이다.

본 연구의 결과, 凉膈散火湯은 혈당조절 효능이 있으며 간 glucokinase 활성도를 증가시키는 것으로 관찰되었다.

결론

당뇨에 대한 凉膈散火湯의 효능을 실험적으로 관찰하기 위해서, streptozotocin으로 유발된 당뇨에 미치는 영향을 관찰한바 아래와 같은 결과를 얻었다.

凉膈散火湯 투여는 streptozotocin에 의한 혈청 glucose 함량의 증가를 투여 5일째에 유의하게 감소시켰다. 凉膈散火湯 투여는 streptozotocin에 의한 혈청 insulin 함량의 감소를 증가시키는 경향을 나타내었으나 통계학적 유의성은 없었다. 凉膈散火湯 투여는 streptozotocin에 의한 혈청 triglyceride 함량의 증가를 투여 3일째와 5일째에 유의하게 감소시켰다. 凉膈散火湯 투여는 streptozotocin에 의한 간 glucokinase 활성도의 감소를 투여 5일째에 유의하게 증가시켰다.

참고문헌

1. 김응진, 민현기, 최영길, 이태희, 허갑범, 신순현, 강성구, 김광원, 이현철. 당뇨병학 제 3판, 서울, 고려의학, pp 169-173, 830-832, 2005.
2. John C. Pickup & Gareth Williams 원저, 가톨릭대학교 의과대학 내분비내과 역 : 당뇨병의 진단과 치료, 서울, KMS, pp 1-6, 437-442, 2006.
3. Bowman, W.C., Rand, M.J. Endocrine function of the pancreas. In textbook of pharmacology, 2nd ed. London : Blackwell Scientific publications, pp 1943-1964, 1980.
4. Kahn, C.R. The molecular mechanism of insulin action. Ann Rev Med. 32: 145-160, 1985.
5. Kurukulasuriya, L.R., Govindarajan, G., Sowers, J. Stroke prevention in diabetes and obesity. Expert Rev Cardiovasc Ther. 4(4):487-502, 2006.
6. Goldstein, L.B., Adams, R., Alberts, M.J., Appel, L.J., Brass, L.M., Bushnell, C.D., Culebras, A., DeGraba, T.J., Gorelick, P.B., Guyton, J.R., Hart, R.G., Howard, G., Kelly-Hayes, M., Nixon, J.V., Sacco, R.L. American Heart Association; American Stroke Association Stroke Council. Primary prevention of ischemic stroke: a guideline from the

- American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council: cosponsored by the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease Interdisciplinary Working Group; Cardiovascular Nursing Council; Clinical Cardiology Council; Nutrition, Physical Activity, and Metabolism Council; and the Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group. Circulation. 113(24):e873-923, 2006.
7. Britton, M., Rafols, J., Alousi, S., Dunbar, J.C. The effects of middle cerebral artery occlusion on central nervous system apoptotic events in normal and diabetic rats. Int J Exp Diabetes Res. 4(1):13-20, 2003.
8. Muranyi, M., Fujioka, M., He, Q., Han, A., Yong, G., Csizsar, K., Li, P.A. Diabetes activates cell death pathway after transient focal cerebral ischemia. Diabetes. 52(2):481-486, 2003.
9. 金永萬. 糖尿病의 韓方療法. 大韓韓醫學會誌 4: 139-158, 1994.
10. 李濟馬. 東醫壽世保元. 서울, 신일문화사, p 70, 1964.
11. 홍순용, 이을호. 사상의학원론. 행림출판사, p 274, 276, 278, 301, 1985.
12. 박爽彦. 동의사상대전. 의도한국사, pp 249-250, 281, 1977.
13. 李泰浩. 東醫四象診療醫典, 서울, 杏林出版社, p 253, 1983.
14. 元持常. 東醫四象新編, 서울, 綜合醫苑社, pp 20-54, 66, 1974.
15. 송일병. 사상의학적 증풍관리의 임상적 연구. 사상의학회지 8(2):117-129, 1996.
16. 김진성, 송일병. 양격산화당의 효능에 관한 실험적 연구. 경희한의대논문집. 7: 273-285, 1984.
17. 이기주, 김경요. 십이미관중탕, 양격산화탕, 형방사백산이 백서의 혈압 및 국소 뇌혈류량에 미치는 영향. 한국전통의학지 9(2):259-268, 1999.
18. 홍성범, 홍순용. 소양인에 응용되는 양격산화탕이 백서의 당뇨에 미치는 영향. 사상의학회지 3(1):201-217, 1991.
19. 최병일, 고병희, 송일병. 소양인 양격산화탕과 인동등지골피탕 및 숙지황고삼탕이 Allxan 투여 고혈당 백서에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 15: 113-133, 1992.
20. Kavalali, G., Tuncel, H., Goksel, S., Hatemi, H.H. Hypoglycemic activity of Urtica pilulifera in streptozotocin-diabetic rats. J Ethnopharmacol. 84(2-3):241-245, 2003.
21. Kamata, K., Kobayashi, T., Matsumoto, T., Kanie, N., Oda, S., Kaneda, A., Sugiura, M. Effects of chronic administration of fruit extract (Citrus unshiu Marc) on endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. Biol Pharm Bull. 28(2):267-270, 2005.
22. Efanov, A.M., Barrett, D.G., Brenner, M.B., Briggs, S.L., Delaunois, A., Durbin, J.D., Giese, U., Guo, H., Radloff, M., Gil, G.S., Sewing, S., Wang, Y., Weichert, A., Zaliani, A., Gromada, J. A novel glucokinase activator modulates pancreatic islet and hepatocyte function. Endocrinology.

- 146(9):3696-3701, 2005.
23. 이동원, 이원철. 지주막하출혈에 의한 뇌기저동맥의 형태학적 변화에 미치는 양격산화탄의 효과. 대한한의학회지 20(2):146-156, 1999.
24. 이동원, 이원철. 지주막하출혈 후 뇌기저동맥벽에 존재하는 면역양성 신경섬유의 변화에 미치는 양격산화탄의 효과. 한의학연구소논문집 8(1):117-131, 1999.
25. Sreenan, S.K., Cockburn, B.N., Baldwin, A.C., Ostrega, D.M., Levisetti, M., Grupe, A., Bell, G.I., Stewart, T.A., Roe, M.W., Polonsky, K.S. Adaptation to hyperglycemia enhances insulin secretion in glucokinase mutant mice. *Diabetes*. 47(12):1881-1888, 1998.
26. Brocklehurst, K.J., Payne, V.A., Davies, R.A., Carroll, D., Vertigan, H.L., Wightman, H.J., Aiston, S., Waddell, I.D., Leighton, B., Coghlan, M.P., Agius, L. Stimulation of hepatocyte glucose metabolism by novel small molecule glucokinase activators. *Diabetes*. 53(3):535-541, 2004.
27. Leighton, B., Atkinson, A., Coghlan, M.P. Small molecule glucokinase activators as novel anti-diabetic agents. *Biochem Soc Trans*. 33: 371-374, 2005.