

忍冬藤地骨皮湯이 Streptozotocin으로 유발된 흰쥐에서의 항당뇨 효과에 대한 연구

배효상¹, 박성식¹, 정진기², 윤철호³, 변상혁⁴, 박용기^{2,*}

1: 동국대학교 한방병원 사상체질과 2: 동국대학교 한방신약개발센터·한의학연구소
3: 동국대학교 한방병원 신계내과 4: 세명대학교 한의과대학 내과학교실

Anti-diabetic Effect of *Indongdeungjokolpi-tang* in Streptozotocin-induced Diabetic Rats

Hyo Sang Bae¹, Seong-Sik Park¹, Jin Ki Jung², Cheol-Ho Yoon³,
Sang Hyuk Byun⁴, Yong-Ki Park^{2,*}

1: Department of Sassang Constitunal Medicine, Dongguk University Oriental Hospital
2: Oriental Medicine Drug R&D Center and Oriental Medicine Research Institute, Dongguk University
3: Department of Internal Medicine, Dondduk University Oriental Hospital
4: Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Semyung University

ABSTRACT

Objectives : *Indongdeungjokolpi-tang*(IJT) is used as a traditional treatment of diabetes in oriental clinincs. This study aimed to evaluate the anti-diabetic effect of *Indongdeungjokolpi-tang*(IJT) in streptozotocin(STZ)-induced diabetic rats.

Methods : Diabetes was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin(STZ; 60 mg/kg BW) to Sprague-Dawley male rats. Experimental animals(six per group), were treated by oral administration of IJT (100 and 500 mg/kg BW) and glibenclimide(3 mg/kg), a known antidiabetic drug for comparison, during 4 weeks. We measured the levels of glucose, insuline, triglyceride, creatinine and urea in sera of each group. An oral glucose tolerance test(OGTT) was also performed in all groups.

Results : IJT (100 and 500 mg/kg) significantly reduced blood glucose levels and increased plasma insulin levels in STZ-induced diabetic rats. IJT also significantly reduced the plasma levels of tryglyceride, creatinine and urea in STZ-induced diabetic rats. The OGTT results showed a significant improvement in glucose tolerance in IJT-administrated rats.

Conclusions : These data indicate that IJT may improve glocose homeostasis in STZ-induced diabetes, which could be associated with stimulation of insulin secretion.

Key words : *Indongdeungjokolpi-tang*, streptozotocin, diabetes, anti-diabetic effect

* 교신저자 : 박용기, 경북 경주시 석장동 707번지 동국대학교 한방신약개발센터, 한의학연구소
· Tel : 054-770-2661 · E-mail : yongki@dongguk.ac.kr
· 접수 : 2008년 11월 8일 · 수정 : 2008년 12월 18일 · 채택 : 2008년 12월 22일

서론

당뇨병(糖尿病; diabetes mellitus)은 인슐린 분비 또는 인슐린 작용의 결함에 의해 나타나는 고혈당을 특징으로 하는 대사성질환으로, 인슐린이 부족하거나 표적세포에서 인슐린의 생물학적 효과가 감소됨으로써 발생하게 되어 장기간 지속됨으로써 신부전과 같은 합병증을 동반하는 질환이다¹⁾. 당뇨병은 발병 초기부터 다양한 합병증을 유발하게 되는데 저혈당증, 케톤산증, 당뇨병성 혼수, 국소적 전신적 세균감염 등의 급성합병증과, 당뇨병성 신증, 고혈압, 당뇨병성 망막병증과 백내장, 신경병증, 심혈관 합병증 등의 만성 합병증을 동반하게 된다²⁾. 최근 당뇨병 환자는 급속하게 증가하고 있는 반면, 지속적이고 적절한 치료가 어려운 상황에 있어 당뇨병에 대한 치료제 개발의 중요성이 강조되고 있다³⁾. 당뇨병 치료제로는 현재 다양한 약물이 개발되고 있으나, 여러 합병증에 대해 전반적인 효과를 나타내는 약물은 매우 드물며, 당뇨병 자체가 만성 소모성 질환으로 장기적인 약물 투여가 요구됨에 따라 비교적 안전성이 확보된 천연약물이 주목을 받고 있는 실정이다⁴⁾. 이런 추세에 따라 최근 혈당을 효과적으로 유지시켜 주면서 합병증을 예방할 수 있는 다양한 당뇨 한약 제제 개발에 대한 연구가 이루어지고 활발히 이루어지고 있다⁴⁻⁹⁾.

당뇨병은 여러 한의학 문헌에서 주로 消渴로 설명되고 있는데¹⁰⁻¹³⁾, 消渴은 증세에 따라 上消, 中消, 下消로 분류되며, 《東醫寶鑑》의 消渴門에는 서양의학의 당뇨병에 관한 거의 모든 내용과 동일한 증상으로 기술하고 있다¹⁴⁾. 消渴은 인체 내부의 燥熱에서 기인된 소모성 만성질환으로 파악되었고, 多渴, 多食, 多尿를 主症候로 제시하고 있는 病證으로 당뇨병을 포괄하고 있는 넓은 범위의 병증으로 이해될 수 있다.

인동등지골피탕(忍冬藤地骨皮湯; Indongdeungjilolpi-tang)에 대해서는 李濟馬의 《東醫壽世保元》에서 中消의 처방으로 제시하였으며¹⁵⁾, 中消는 기존의 의가에서 논한 ‘消穀善飢 飲食倍常 不生肌肉’ 또는 ‘善食而瘦 自汗 大便硬 小便數’ 등을 主症으로 하며, 합병증으로 발생할 수 있는 癰疽, 腦疽背瘡, 中滿鼓脹, 失明 등의 증상을 예방하기 위하여 忍冬藤을 다용하여야 한다는 危亦林의 내용을 기재하여 忍冬藤地骨皮湯이 中消의 치료에만 목적이 있는 것이 아니고 病이 발생하면서부터 險證으로 消渴로 인한 합병증까지도 다스리고자 하는 데에도 목적이 있음을 시사하고 있다¹⁶⁾. 따라서 忍冬藤地骨皮湯은 고혈당

및 다양한 당뇨병성 합병증에 일정한 효과가 있을 것으로 사료된다.

忍冬藤地骨皮湯에 대한 실험적 연구로는 streptozotocin (STZ)을 투여한 高血糖 白鼠를 대상으로 한 실험에서 忍冬藤地骨皮湯이 혈당량, 총콜레스테롤, 중성지방의 감소에 효과가 있다고 하였고¹⁷⁾, alloxan을 투여한 高血糖 白鼠를 대상으로 한 실험에서 忍冬藤地骨皮湯이 혈당을 감소시키는 효과가 있으며, 上消 처방인 涼膈散火湯과 下消 처방인 熟地黃苦參湯에 비하여 triglyceride, total cholesterol의 감소효과와 체중 감소를 억제하는 효과가 더 뚜렷하다는 것을 밝혔고¹⁸⁾, STZ와 alloxan을 투여한 高血糖 白鼠를 대상으로 中消의 합병증에 대한 忍冬藤地骨皮湯의 효과에 대하여 염증을 억제하는 데 유효하다고 하였다¹⁹⁾.

따라서 본 연구에서는 STZ에 의해 高血糖이 유발된 흰쥐에서 당뇨병 발생 이후 나타나는 합병증 중 하나인 糖尿病性 腎症에 대한 忍冬藤地骨皮湯의 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

1) 약재

실험에 사용된 忍冬藤地骨皮湯(Indongdeung jilolpi-tang; IJT)은 Table 1에서 기재한 바와 같이, 15가지 한약재로 구성된 처방으로서 구성 한약재는 동국대학교 경주한방병원에서 구입하여 정선한 약재를 사용하였다.

Table 1. Medicinal herbs of Indongdeung jilolpi-tang

藥劑名	生藥名
忍冬藤	Lonicerae Caulis
山茱萸	Corni Fructus
地骨皮	Lycii Radicis Cortex
黃連	Coptidis Rhizoma
黃柏	Phellodendri Cortex
玄參	Scrophulariae Radix
苦參	Sophorae Radix
生地黃	Rehmanniae Radix Crudus
知母	Anemarrhenae Rhizoma
梔子	Gardeniae Fructus
枸杞子	Lycii Fructus
覆盆子	Rubi Fructus
荊芥	Schizonepetae Spica
防風	Saposhnikovia Radix
金銀花	Lonicerae Flos
Total	15 types

2) 실험동물

실험동물로는 평균 200 g, 8주령의 Sprague-Dawley 계 수컷을 선택코(울산, 한국)로부터 구입하여 사용하였다. 전 실험 기간 동안 일반 고형사료(삼양 배합사료 실험동물용, 삼양유지사료, 서울, 한국)와 물을 충분히 공급하였으며 실내온도 22±2℃, 습도는 55±5%, 명암은 12시간(Day light 06:00~18:00)을 주기로 실험종료 시까지 일정한 사육조건을 유지시켰다.

3) 시약

실험에 사용되어진 시약은 streptozotocin (Sigma Chemicals Co., St. Louis, MO), N-trityl-1, 3-propanediamine acetate(Sigma), Sulfanilamide (Sigma), Acrylamide solution (BioRad Laboratories Inc, Hercules, CA), GLU-Lq Reagents(Asan Pharmaceutical Co, Seoul, Korea), rat insulin ELISA kit(Central Lab. Animal Inc, Japan), Creatinine Assay Kit (Cayman Chemical Co, MA), Quanti Chrom™ Urea Assay Kit(Bioassay systems, CA, USA) 등 이다.

2. 실험방법

1) 시료 조제

忍冬藤地骨皮湯(Indongdeungjokolpi-tang; IJT)은 Table 1에서 기재한 바와 같은 한약재 구성으로 원재료 20첩 분량(1,600 g)을 정제수(4L)로 가열 추출한 후 흡인 여과한 여과액을 회전식증발기로 감압·농축하여 점조성의 추출물을 얻은 다음, 동결건조하였다. 최종 忍冬藤地骨皮湯의 수거량은 155.37g이었으며, 수득률은 9.71%였다.

2) 실험동물제작

STZ를 0.01M citrate buffer(pH 4.5)에 녹여서 60 mg/kg(per BW) 용량으로 체중 100 g 당 0.1 ml을 단회 복강투여 하였다. 당뇨가 유발된 것을 확인하기 위해 STZ를 주사하고 72시간 후 12시간 절식시킨 다음, 꼬리로부터 혈액을 채집하여 혈당 농도가 300 mg/dL 이상 되는 동물만 선별하여 실험에 사용하였다.

3) 실험군의 선정

실험군은 각 그룹 간의 혈당수치의 평균값을 맞추어 생리식염수-정상대조군(saline-control; saline-C), STZ-대조군(streptozotocin control, STZ-C), IJT 투여군(IJT-100; IJT 100 mg/kg, IJT-500; IJT 500 mg/kg) 및 당뇨병 대조약물(reference drug)인 glibenclamide

투여군(G-3; glibenclamide 3 mg/kg)으로 나누었다. 투여 기간은 28일로 하였으며, saline-C군과 STZ-C군은 체중 100g당 0.1 ml의 생리식염수를 하루 한 번 경구 투여하였고, 약물투여군(IJT-100, IJT-500, G3)은 정해진 약물의 농도를 하루 한 번 경구 투여하였다(Fig. 1).

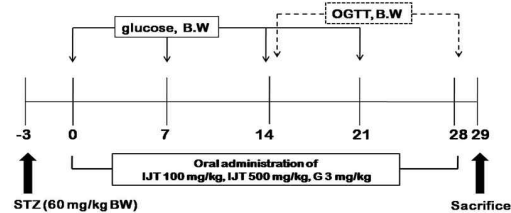


Fig. 1. Experimental design for STZ-induced diabetic rats

4) 체중 측정 및 혈액수집

실험기간 동안 매주 체중변화를 측정하였으며, 투여 0일째 체중을 초기 체중으로, 28일째 체중을 마지막 체중으로 하였다. 투여 0, 7, 14, 21, 27일째에 12시간 절식시킨 후 꼬리 정맥으로부터 혈액을 수집하였으며 5,000 rpm에 10분간 원심 분리하여 혈청을 분리하였다. 분리된 혈청은 -20℃에 보관하였으며, 혈청 분석을 위한 시료로 사용하였다. 또한 최종 부검일에 모든 동물들은 Rompun®(xylazine hydrochloride) 0.2 mg/kg을 복강에 주사하여 진정시키고, Ketalar®(ketamine hydrochloride) 1 mg/kg을 복강에 주사하여 마취시킨 후 개복하여 복대정맥으로부터 5 ml의 혈액을 채혈하였다. 채혈된 혈액을 1시간 이내에 원심 분리하여 혈청을 분리하였다.

5) 혈청 성분 측정

혈청 내 glucose 농도는 glucose oxidase 반응을 이용하는 효소시약으로 500 nm에서 비색정량 하였으며, 혈청의 인슐린 농도는 rat insulin ELISA kit를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 한편 혈청 내 tryglyceride의 농도는 Kinetic alkaline picrate 방법으로 측정하였으며, BUN 농도는 Quanti Chrom™ Urea Assay Kit를 사용하여 비색정량방법으로 측정하였고, creatinine 수치는 Creatinine Assay Kit를 사용하여 측정하였다.

6) Oral glucose tolerance test(OGTT)

STZ로 당뇨병을 유발시킨 흰쥐에 28일 동안 생리식염수와 약물들을 투여한 후 최소 12시간 절식시킨 다음, IJT와 glibenclimide를 1 ml씩 투여하였다. 10

분 후 glucose(1 g/kg/ml)를 경구 투여하였으며, 0분, 30분, 60분, 90분, 120분에 꼬리정맥으로부터 혈액을 채집하여, 혈청을 분리한 다음 glucose oxidase 반응법을 이용하여 glucose의 농도를 측정하였다.

7) 통계처리

모든 실험 결과는 GraphPadPrism 통계 프로그램을 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차(mean±SD)를 계산하고, p<0.05 수준에서 Student t-test를 사용하여 각 실험군 간의 유의성을 검증하였다.

결 과

1. 체중 변화

4주 동안 생리식염수(Saline), IJT(100 mg/kg, 500 mg/kg) 및 Glibenclamide(3 mg/kg)을 투여한 후, 0주, 2주 및 4주째의 체중 변화량을 관찰하였다(Fig. 2). 그 결과 0주째의 체중은 정상대조군(Normal-C)이 268.33±27.53g이었고, STZ 대조군(STZ-C)이 267.50±13.22g, IJT-100과 IJT-500 투여군이 각각 265.55±10.60g, 264.88±8.94g이었으며, glibenclamide 투여군(G-3)이 266.66±27.53g으로 측정되어 모든 군이 유사하게 초기 체중값을 나타냈다. 반면 2주째에는 정상대조군과 glibenclamide 투여군에서 각각 320.01±22.66g, 290.62±25.98g으로 체중이 정상적으로 증가된 반면, STZ 대조군과 IJT 투여군(IJT-100, IJT-500)은 각각 247.55±17.07g, 238.21±18.23g, 239.33±9.61g으로 감소되었다. 한편 4주째에는 2주째와 유사

하게 정상대조군과 glibenclamide 투여군에서만 330.00g±19.63g, 281.66±23.62g으로 체중이 증가된 반면, STZ 대조군과 IJT 투여군(IJT-100, IJT-500)은 각각 223.33±15.27g, 210.06±2.38g, 219.94±8.94g으로 초기 체중에 비해 감소한 것으로 나타났다. 따라서 glibenclamide 투여군에서만 STZ 대조군에 비해 유의적인(p<0.05) 체중 증가현상이 관찰되었고, IJT 투여군은 체중 증가 효과가 나타나지 않았다.

2. Glucose 농도 변화

4주간 생리식염수(Saline), IJT(100 mg/kg, 500 mg/kg) 및 glibenclamide(3 mg/kg)을 투여한 후, 혈당변화를 조사하였다(Fig. 3).

정상대조군(Normal-C)의 s-glucose 농도는 116.8±7.855 mg/dl로 낮게 측정되었으며, STZ 대조군(STZ-C)의 s-glucose 농도는 506.7±13.43 mg/dl로 현저히 증가되었다. 반면, IJT를 100 mg/kg과 500 mg/kg 농도로 각각 투여하였을 때, IJT-100에서는 418.10±20.11 mg/dl, IJT-500에서는 416.4±29.91 mg/dl로 측정되어 STZ 대조군에 비해 유의적으로(p<0.001) s-glucose 농도가 감소하는 것으로 나타났다. 한편 glibenclamide 투여군(G-3)에서도 347.01±34.86 mg/dl로 STZ 대조군에 비해 s-glucose 농도가 유의적으로 감소하였다. 따라서 IJT의 투여는 농도에 의존적으로 s-glucose의 농도를 감소시키지는 않았지만, 현재 치료제로 사용하고 있는 glibenclamide를 투여했을 때와 유사하게 s-glucose의 농도가 감소되는 것을 확인하였다.

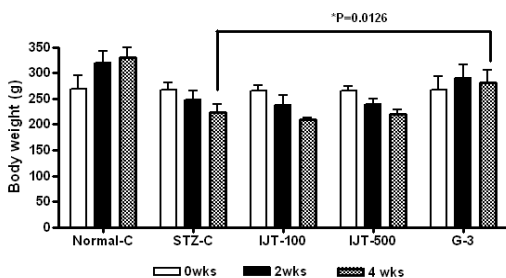


Fig. 2. Change of body weight in streptozotocin-induced diabetic rats administrated IJT or glibenclamide for 4 weeks

Body weights were measured at the same day on which fasting blood glucose was measure. Changes of body weight were represented as average weights on indicated days. Normal-C; normal rats, STZ-C; streptozotocin-induced diabetic rats, IJT-100; IJT 100 mg/kg-administrated rats, IJT-500; IJT 500 mg/kg-administrated rats, and G-3; glibenclamide 3 mg/kg-administrated rats. Values are represented as mean±SD. * p < 0.05 as compared to STZ-C.

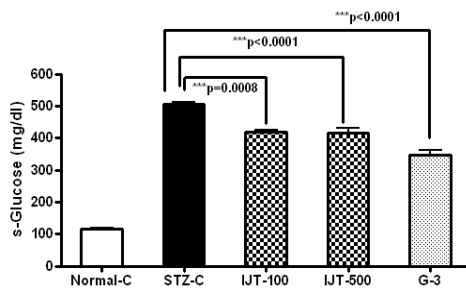


Fig. 3. Effect of fasting serum(s) glucose level in streptozotocin-induced diabetic rats administrated IJT for 4 weeks

On day 28, Fasting serum glucose levels were measured by colorimetric and enzymatic assay. Normal-C; normal rats, STZ-C; streptozotocin-induced diabetic rats, IJT-100; IJT 100 mg/kg-administrated rats, IJT-500; IJT 500 mg/kg-administrated rats, and G-3; glibenclamide 3 mg/kg-administrated rats. Values are represented as mean±SD. *** p < 0.001 as compared to STZ-C.

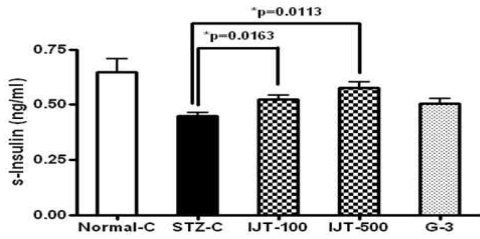


Fig. 4. Effect of fasting serum insulin level in streptozotocin-induced diabetic rats administrated IJT for 4 weeks

On day 28, Fasting serum insulin levels were measured by enzyme immunoassay. Normal-C: normal rats, STZ-C: streptozotocin-induced diabetic rats, IJT-100: IJT 100 mg/kg-administrated rats, IJT-500: IJT 500 mg/kg-administrated rats, and G-3: glibenclimide 3 mg/kg-administrated rats. Values are represented as mean±SD. * p < 0.05 as compared to STZ-C.

3. Insulin 농도 변화

4주간 생리식염수(Saline), IJT(100 mg/kg, 500 mg/kg) 및 glibenclamide(3 mg/kg)을 투여한 후, 혈청 insulin의 농도를 측정하였다(Fig. 4).

정상대조군(Normal-C)의 혈청 insulin 농도는 0.648±0.10 ng/ml로 측정된 반면, STZ 대조군의 insulin 농도는 STZ에 의한 췌장 손상으로 insulin 분비가 감소됨으로써 0.447±0.026 ng/ml로 낮게 측정되었다. 한편 IJT를 100 mg/kg과 500 mg/kg 농도로 투여하였을 때, IJT-100에서는 0.525±0.034 ng/ml, IJT-500에서는 0.576±0.056 ng/ml로 STZ 대조군에 비해 유의적으로(p<0.05) s-insulin 농도가 증가하였다. 한편 양성대조군인 glibenclamide 투여군(G-3)에서는 0.503±0.049 ng/ml로 STZ 대조군에 비해 insulin 농도가 증가하였지만 유의적이지는 않았다. 따라서 IJT의 투여는 STZ에 의해 감소된 insulin의 분비를 증가시킬 수 있는 나타났으며, 현재 치료제로 사용하고 있는 glibenclamide 보다 더 효과적으로 혈청 insulin의 분비를 향상시킬 수 있는 것으로 나타났다.

4. Tryglyceride 농도 변화

Glycerine과 3분자의 지방산이 에스테르 결합을 한 화합물인 tryglyceride(TG)는 탄수화물로부터 합성되는 중성지방으로 가수분해되어 유리지방산(free fatty acid)을 혈액 중에 방출하므로써 유리지방산의 축적과 인슐린저항성을 유발하게 된다. 즉 당뇨병 증의 경우 고지혈증과 고혈압을 동반하게 되는데 고지혈증은 중성지방의 증가와 직접 연관된다. 따라서 본 연구에서는 중성지방 축적에 대한 약물들의 효과

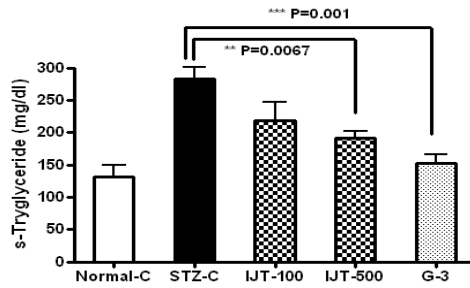


Fig. 5. Effect of fasting serum tryglyceride level in streptozotocin-induced diabetic rats administrated IJT for 4 weeks

On day 28, Fasting serum tryglyceride levels were measured by colorimetric and enzymatic assay. Normal-C: normal rats, STZ-C: streptozotocin-induced diabetic rats, IJT-100: IJT 100 mg/kg-administrated rats, IJT-500: IJT 500 mg/kg-administrated rats, and G-3: glibenclimide 3 mg/kg-administrated rats. Values are represented as mean±SD. ** p < 0.01 and *** p < 0.001 as compared to STZ-C.

를 조사하기 위해, 4주간 생리식염수(Saline), IJT(100 mg/kg, 500 mg/kg) 및 glibenclamide(3 mg/kg)을 투여한 후, 혈청 tryglyceride(s-TG) 농도를 측정하였다(Fig. 5).

정상대조군의 혈청 내 TG의 농도는 131.3±36.56 mg/dl로 낮게 측정되었으며, STZ 대조군의 TG 농도는 282.7±46.08 mg/dl로 높게 측정되었다. 또한 IJT를 100 mg/kg과 500 mg/kg 농도로 투여하였을 때는 IJT-100에서는 219.2±61.36 mg/dl, IJT-500에서는 192.0±21.18 mg/dl로 혈청 TG의 농도가 IJT 500 mg/kg 투여군에서 STZ 대조군에 비해 유의적으로(p<0.01) 감소되었다. 또한 양성대조군인 glibenclamide 투여군(G-3)에서도 152.8±26.56mg/dl로 측정되어 STZ 대조군에 비해 TG 농도가 유의적으로(p<0.001) 감소되었다. 따라서 IJT의 투여는 glibenclamide의 투여와 유사하게 STZ에 의해 증가되는 s-TG의 농도를 낮추어 줄 수 있는 것으로 나타났다.

5. Oral glucose tolerance test(OGTT)에 대한 효과

경구포도당 내성 시험법(OGTT)은 당뇨병의 진단에 사용되는 검사로서 당을 체내 투여하고 시간별로 혈액을 채취하여 혈당농도를 측정함으로써 고혈당 여부를 조사하는 방법이다. 즉 사람의 경우 공복시 포도당을 먹은(glucose loading) 후 2시간에 혈당이 정상으로 떨어지지 않고 200 mg/dl 이상일 경우에 당뇨병으로 진단하게 된다. 따라서 본 연구에서는 4주간 생리식염수(Saline), IJT(100 mg/kg, 500 mg/kg) 및 glibenclamide

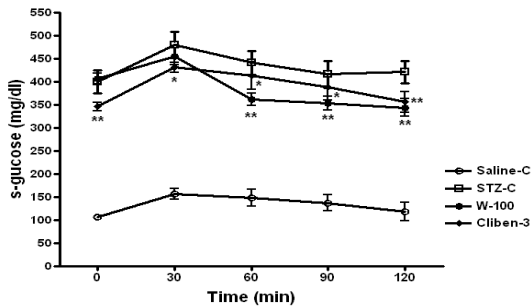


Fig. 6. Effect of IJT on serum glucose level in normal and streptozotocin-induced diabetic rats after glucose administration

Serum glucose level was measured at 0 min, 30 min, 60 min, 90 min and 120 min after glucose loading by colorimetric and enzymatic assay. Normal-C: normal rats, STZ-C: streptozotocin-induced diabetic rats, IJT-100: IJT 100 mg/kg-administrated rats, IJT-500: IJT 500 mg/kg-administrated rats, and G-3: glibenclamide 3 mg/kg-administrated rats. Values are represented as mean±SD. * p < 0.05 and ** p < 0.01 as compared to STZ-C.

(3 mg/kg)을 투여한 쥐에서 OGTT를 수행하여 시간 별(0분, 30분, 60분, 90분, 120 분)로 s-glucose의 농도를 측정함으로써 혈당변화에 대한 효과를 조사하였다(Fig. 6).

Glucose loading 후 0분, 30분, 60분, 90분, 120분에 각각 혈청 glucose level을 측정된 결과(Fig. 8), 정상대조군에서는 106±5.2 mg/dl, 156±11.8 mg/dl, 148±18.4 mg/dl, 137±18.2 mg/dl, 118±20.1 mg/dl로 측정되었고, STZ 대조군에서는 440±27.74 mg/dl, 490±14.37 mg/dl, 471±18.43 mg/dl, 456±8.39 mg/dl, 449±12.16 mg/dl로 측정되어 정상대조군에 비해 s-glucose 농도가 현저히 높게 측정되었으며, 120분 후에도 고혈당을 유지하였다. 한편 IJT 100mg/kg 처리군은 427±36.76 mg/dl, 479±46.28 mg/dl, 462±27.14 mg/dl, 453±20.85 mg/dl, 444±38.89 mg/dl로 측정되어 STZ 대조군에 비해 유의적인 감소를 보이지 않은 반면, IJT 500mg/kg 처리군에서는 410±15.99 mg/dl, 425±26.18 mg/dl, 431±24.37 mg/dl, 410±42.87 mg/dl, 401±40.62 mg/dl로 STZ 대조군에 비해 초기 혈당이 다소 감소하였고, 120분 후 STZ 대조군에 비해 유의성 있게(p<0.01) 혈당이 떨어진 것을 확인하였다. 한편, glibenclamide 투여군은 346±9.6 mg/dl, 431±10.57 mg/dl, 413±29.63 mg/dl, 388±27.67 mg/dl, 356±23.15 mg/dl로 STZ 대조군에 비해 초기 혈당이 많이 감소하였고, 120분 후에도 유의성 있게(p<0.01) 혈당이 떨어진 것을 확인하였다. 따라서 IJT의 투여(500 mg/kg)는 STZ에 의해 증가되는 glucose tolerance를 유의적으로 감소시켜줄 수 있는 것으로 나타났다.

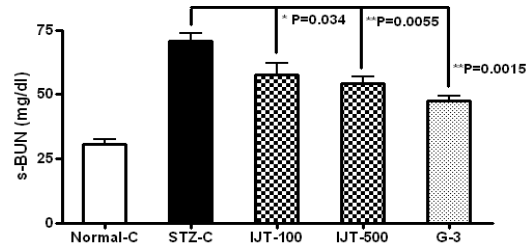


Fig. 7. Effect of fasting serum BUN level in streptozotocin-induced diabetic rats administrated IJT for 4 weeks

On day 28, Fasting serum BUN levels were measured by colorimetric and enzymatic assay. Normal-C: normal rats, STZ-C: streptozotocin-induced diabetic rats, IJT-100: IJT 100 mg/kg-administrated rats, IJT-500: IJT 500 mg/kg-administrated rats, and G-3: glibenclamide 3 mg/kg-administrated rats. Values are represented as mean±SD. ** p < 0.01 as compared to STZ-C.

6. Blood Urea Nitrogen(BUN)에 대한 효과

BUN은 혈액 속에 존재하는 요소로 단백질이나 아미노산의 최종산물이며 간에서 생성되어 신장에서 배출되는데, 신장 기능이 나쁘면 배설되지 못하고 몸속에 축적되기 때문에 혈청 BUN의 농도는 신장 기능을 평가하는 좋은 지표가 된다. 따라서 본 연구에서는 BUN의 축적에 대한 약물들의 효과를 조사하기 위해, 4주간 생리식염수(Saline), IJT(100mg/kg, 500 mg/kg) 및 glibenclamide(3mg/kg)을 투여한 후, 혈청 BUN의 농도를 측정하였다(Fig. 7).

정상대조군)의 혈청 BUN의 농도는 30.48± 5.093 mg/dl로 측정되었으며, STZ 대조군의 BUN 농도는 70.74±6.641 mg/dl로 다소 높게 측정되었다. 또한 IJT를 100mg/kg과 500mg/kg 농도로 투여하였을 때는 IJT-100에서는 58.31± 8.622 mg/dl, IJT-500에서는 58.76±11.51 mg/dl로 BUN의 농도가 IJT 투여 두 농도 모두에서 STZ 대조군에 비해 유의적으로(p<0.01) 감소되었다. 또한 양성대조군인 glibenclamide 투여군(G-3)에서도 59.84±15.82 mg/dl로 측정되어 STZ 대조군에 비해 혈청 BUN의 농도가 유의적으로(p<0.01) 감소되었다. 즉 IJT의 투여는 STZ에 의해 축적되는 s-BUN의 농도를 낮추어줄 수 있는 것으로 나타났다.

7. 혈청 크레아티닌에 대한 효과

크레아티닌(creatinine)은 요소질소나 요산과 마찬가지로 체내에서 에너지로 사용된 단백질의 노폐물이다. 즉 크레아티닌은 근육에서 에너지로 사용된 후 크레아티닌이나 크레아틴인산으로 형성되어 혈중으로

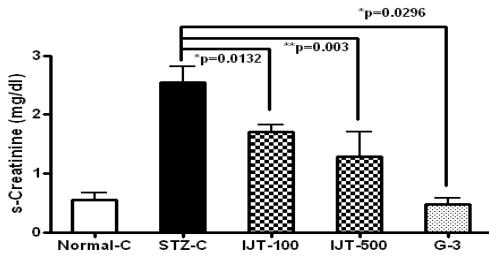


Fig. 8. Effect of fasting serum creatinine level in streptozotocin-induced diabetic rats administrated IJT for 4 weeks

On day 28, Fasting serum creatinine levels were measured by colorimetric and enzymatic assay. Normal-C: normal rats, STZ-C: streptozotocin-induced diabetic rats, IJT-100: IJT 100mg/kg-administrated rats, IJT-500: IJT 500 /kg-administrated rats, and G-3: glibenclamide 3 mg/kg-administrated rats. Values are represented as mean±SD. ** p < 0.01 as compared to STZ-C.

유출되어 신장으로 배출되게 되는데 신장 기능이 나빠지면 정상치(0.1-1.2 mg/dl)에서 벗어나게 되므로, 혈중 creatinine의 농도는 신장 기능의 지표가 된다. 따라서 본 연구에서는 creatinine의 측정에 대한 약물들의 효과를 조사하기 위해, 4주간 생리식염수(Saline), IJT(100mg/kg, 500mg/kg) 및 glibenclamide (3mg/kg)을 투여한 후, 혈청 creatinine의 농도를 측정하였다(Fig. 8).

정상대조군의 혈청 크레아티닌 농도는 0.55± 0.308 mg/dl로 측정되었으며, STZ 대조군의 크레아티닌 농도는 2.55±0.577 mg/dl로 다소 높게 측정되었다. 또한 IJT를 100 mg/kg과 500mg/kg 농도로 투여하였을 때는 IJT-100에서는 1.701±0.244 mg/dl, IJT-500에서는 1.288±0.849 mg/dl로 크레아티닌의 농도가 IJT 투여군에서 STZ 대조군에 비해 유의적으로(p<0.05~0.01) 감소되었다. 또한 양성대조군인 glibenclamide 투여군(G-3)에서도 0.47±0.216 mg/dl로 측정되어 STZ 대조군에 비해 크레아티닌 농도가 유의적으로(p<0.05) 감소되었다. 즉 IJT의 투여는 STZ에 의해 측정되는 크레아티닌의 농도를 낮추어줄 수 있는 것으로 나타났다.

고찰

현재 당뇨병의 약물치료제로는 설폰요소제(sulfonylurea), 비구아니드계 약물(metformin, glibenclamide), 알파-글루코시테이즈 억제제(alpha-glucosidase inhibitors), 티아졸리딘다이온(thiazolidinedion) 등의 경구용 혈당강하제와 인슐린 요법, 채식이식 등을 사용하고 있는데, 약물치료제의 경우 지속적으로 사용하게 되면 저혈당과 간독성 등의 부작용이 발생할 수 있어 근본적

인 치료방법이 되지 못하고 있다²⁰⁾. 따라서 부작용이 덜하고 당뇨병 개선에 효과가 있는 한약물에 대한 연구가 최근 많이 이루어지고 있다²⁰⁻²⁷⁾.

당뇨병의 병증은 한의학에서 消渴, 皮膚瘙癢, 燥, 風痺, 痿, 二陽病, 癰疽, 眼昏, 痺痛등의 범주에 속하며 이 중 가장 근접한 병증은 消渴로, 여러 문헌에 나타난 消渴의 轉變症은 당뇨병의 만성 합병증에서 나타날 수 있는 증상들과 유사하다^{11,12)}. 四象醫學에서는 消渴을 체질적으로 구분하여 少陰人에서는 食消의 증상이 消渴과 유사한 증상을 가지고 있는 것으로 파악하였고, 太陰人에서는 燥熱로 인지하였으며, 少陽人에서는 上消, 中消, 下消로 나누어 설명하고 있다.

忍冬藤의 경우 《東醫壽世保元》¹⁵⁾에서 危亦林이 “消渴은 모름지기 癰疽가 발생하는 것을 막아야 할 것이니, 忍冬藤을 量에 상관없이 根莖花葉을 다 먹을 것이다”고 한 것과 같이 李濟馬가 中消의 合併症인 癰疽 등과 같은 질병을 치료 및 예방하는데 사용할 목적으로 선택하였다고 사료된다. 地骨皮는 東武遺稿藥性歌¹⁴⁾에서 “開腎之胃氣 而消食進食”으로 언급되었다. 이 두 약물과 더불어 山茱萸, 黃連, 黃柏, 玄參, 苦參, 生地黃, 知母, 梔子, 枸杞子, 覆盆子, 荊芥, 防風, 金銀花으로 구성된 忍冬藤地骨皮湯은 李濟馬의 독창적인 處方으로 少陽人의 中消에 사용하는 處方이다. 中消는 그 병이 발생할 때부터 險病이며 癰疽, 眼病과 같은 辨證이 발생하기 쉽고, 반드시 급하게 다스려야 하는 病證이다. 따라서 忍冬藤地骨皮湯의 處方 이름으로 기재된 忍冬藤과 地骨皮는 본 處方의 성질을 대변하는 약물로 생각할 수 있다.

忍冬藤地骨皮湯에 대한 실험 연구로는 STZ 또는 alloxan으로 당뇨병을 유발시킨 高血糖 白鼠에서 忍冬藤地骨皮湯이 혈당량, 총콜레스테롤 및 중성지방을 감소시키며, 上消 처방인 涼膈散火湯과 下消 처방인 熟地黃苦參湯에 비해 중성지방과 총콜레스테롤의 감소 및 체중감소 억제효과가 더 뚜렷하다는 것이 보고되어 있다^{17,18)}. 본 연구에서는 당뇨병 이후에 발생하는 다양한 합병증 중 당뇨병성 신증에 대한 忍冬藤地骨皮湯의 효과에 대한 연구가 없음을 착안하여 본 STZ에 의해 고혈당이 유발된 白鼠의 당뇨병성 신증에 대한 忍冬藤地骨皮湯의 효과를 조사하였다.

인위적인 당뇨병의 유발은 주로 alloxan이나 STZ 등의 약물을 처리하여 유발하게 되는데, 일반적으로 STZ가 alloxan에 비해 독성이 낮은 것으로 알려져 있어 당뇨병 동물모델로 흔히 사용되고 있다²⁸⁾. 본 실험에 사용한 STZ는 nitrosourea계 alkylating agent의

한 종류로서, 췌장 베타세포를 선택적으로 파괴됨으로써 인슐린 분비가 감소되어 정상적인 당대사가 이루어지지 않게 되면서 결과적으로 고혈당증의 특징적인 증상을 유발하게 된다. 췌장의 베타세포의 기능을 판정하기 위해서는 포도당의 자극 정도와 인슐린 분비량과의 관련성이 중요하며, 공복 혈당치, 경구 및 정맥 내 당부하 시험, 공복 인슐린 농도의 측정 등으로 베타세포의 인슐린 분비 변화를 확인할 수 있다²⁰⁾. 본 연구에서는 SD 계열의 흰쥐에 STZ를 복강 투여하여 당뇨병을 유발하였으며, 忍冬藤地骨皮湯의 항당뇨병 효과를 확인하기 위해 4주간 忍冬藤地骨皮湯을 경구 투여한 후 체중 변화량과 혈청 내 생화학 지표인자들의 변화를 측정하였다. 또한 현재 당뇨병 치료제로 사용하고 있는 경구혈당강하제인 glibenclimide와 忍冬藤地骨皮湯의 효과를 비교하였다. STZ 투여에 의한 췌장 베타세포의 파괴와 인슐린 저항성의 증가로 당뇨병 상태가 유발되면서 쥐의 체중은 정상군에 비해 급격히 감소하였으며, 忍冬藤地骨皮湯의 투여에 의한 체중감소 억제효과는 나타나지 않았다. 또한 忍冬藤地骨皮湯은 STZ 대조군에 비해 혈당을 유의적으로 감소시켜 혈당강하효과를 나타내었으며, 혈청 insulin의 분비를 유의적으로 증가시켰다. 경구포도당 내성 시험(OGTT)에서도 忍冬藤地骨皮湯의 투여는 STZ에 의해 증가되는 포도당 내성을 유의적으로 감소시키는 것으로 나타났다. 이는 忍冬藤地骨皮湯이 베타세포로부터 인슐린 분비의 증가가 혈당수치에 영향을 미쳤음을 상대적으로 보여주는 결과이다.

당뇨병의 합병증은 일시적으로 혈당이 지나치게 높아지거나 낮아짐으로써 나타나는 급성합병증과 장기간에 걸쳐 오랫동안 고혈당이 지속될 경우 나타나는 만성합병증이 있는데 만성합병증의 경우 시력 장애, 신경성 장애, 신장 기능 장애, 심장 기능 장애 등으로 나타나게 된다^{1,12)}. 당뇨병성 신증(diabetic nephropathy)은 혈당조절의 실패로 인해 나타나는 당뇨병의 3대 합병증의 하나로 신사구체의 미세혈관병변을 기본병변으로 하는 질환으로서 일반적으로 당뇨병 발생 수년에 걸쳐 서서히 발생하며 당뇨병 환자의 사망원인으로서 매우 중요하게 생각되고 있다^{25,29)}. 본 연구에서는 당뇨병의 만성합병증 중 신장의 기능장애와 대사이상에 대한 忍冬藤地骨皮湯의 효능을 평가하기 위해 혈청 요소질소(BUN)의 농도와 크레아티닌(creatinine)의 농도를 측정하였다. 그 결과 忍冬藤地骨皮湯을 4주간 투여 한 쥐에서 혈청 BUN과 크레아티닌의 농도가 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다. BUN은 혈액

속의 요소이며 단백질이나 아미노산의 최종산물로 간에서 생산되어 콩팥으로 배출되는 물질인데, 실제 사람에게 없어서는 안 될 단백질과 아미노산의 산물이므로 사람에게겐 언제나 일정량이 생산되게 된다³⁰⁾. 그러나 신장의 기능이 나빠지게 되면 이것이 배설되지 못하여 혈액 내에 축적되므로 신장 기능을 평가하는 지표가 되기도 한다. 한편 크레아티닌은 근육, 뇌, 심장 등에 존재하여 에너지를 보관하는 역할을 하는 크레아틴 효소가 대사된 물질로써 대개 혈액 속이나 근육에 존재하고 신장을 통해서 몸 밖으로 배설이 된다^{29,30)}. 즉 혈액 내 BUN과 크레아티닌은 체내에서 에너지로 사용되는 단백질들의 노폐물이며 특히 크레아티닌은 BUN과 달리 식이성 단백질의 과잉섭취나 위장관 내 출혈 등의 신장 이외의 인자에 대하여 영향을 받지 않는 특이성 때문에 사구체 여과율의 측정 물질로 BUN보다 더 특징적인 지표로 임상적 의미를 가지고 있다. 본 연구에서 사용한 忍冬藤地骨皮湯은 STZ 흰쥐에서 혈청 내 BUN과 크레아티닌의 수치를 유의적으로 떨어뜨리는 것으로 확인되었다. 이는 忍冬藤地骨皮湯이 당뇨 만성합병증시 나타나는 신장 기능이상이나 대사이상의 진행을 개선시키는 효과가 있음을 상대적으로 보여주는 결과이다.

결론적으로 忍冬藤地骨皮湯의 투여는 STZ에 의해 유발된 고혈당 白鼠에서 혈당과 중성지방의 농도는 감소시키고, insulin 농도는 증가시킴으로써 항당뇨 효과를 나타내었으며, 혈청 BUN과 크레아티닌 농도를 감소시킴으로써 당뇨합병증인 당뇨병성 신증에 대한 보호효과가 인정되었다.

결 론

본 연구에서는 糖尿病性 腎症에 효과가 기대되는 처방약물인 忍冬藤地骨皮湯의 항당뇨효과와 당뇨병성 신증에 대한 보호효과를 확인하기 위해 STZ로 당뇨를 유발시킨 흰쥐에서 4주간 忍冬藤地骨皮湯을 경구 투여한 다음 혈청 내 glucose, insulin, tryglyceride, creatinine, BUN의 농도 및 OGTT 변화를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. STZ 당뇨쥐에서 忍冬藤地骨皮湯은 혈당수치를 유의적으로 감소시킴으로써 혈당강하효과를 나타내었다.
2. STZ 당뇨쥐에서 忍冬藤地骨皮湯은 혈청 내 insulin의 농도를 유의적으로 증가시킴으로써 인슐린 분비 증가효과를 나타내었다.

3. STZ 당뇨쥐에서 忍冬藤地骨皮湯은 혈청 내 중성지방의 농도를 유의적으로 감소시킴으로써 고지혈증 억제효과를 나타내었다.

4. STZ 당뇨쥐에서 忍冬藤地骨皮湯은 신장 손상의 지표물질인 BUN과 크레아티닌의 농도를 유의적으로 감소시킴으로써 신장손상에 대한 보호효과가 있는 것으로 나타났다.

이상의 결과로 볼 때 忍冬藤地骨皮湯은 STZ로 유발된 당뇨성 흰쥐에서 혈당강하, 인슐린증강, 중성지방 감소효과를 통해 항당뇨 효과를 나타내며, BUN과 크레아티닌의 억제효과를 통해 신장기능의 개선효과를 나타냄으로써 당뇨병성 신증을 치료하는 데 효과가 있는 것으로 인정되었다. 따라서 忍冬藤地骨皮湯은 사람의 당뇨병 치료를 위한 한약제제로 개발될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 동국대학교 교내 연구비지원에 의한 것으로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 카톨릭대학교 의과대학 내분비내과 편. 당뇨병의 진단과 치료 1. 제3판. Koomonsa Medical Science. 2006.
2. 서울대학교 의과대학 내과학교실 편. 최신지견 내과학. 군자출판사. 1997 : 788.
3. 오경원. 역학소위원회 심포지움. 2005년도 국민건강영양조사 -당뇨병 중심으로-. 제32차 대한당뇨병학회 추계학술대회자료, 2006.
4. Lee JE, Kim HJ, Choi EK, Chai HY, Yun YW, Kim DJ, Nam SY, Lee BJ, Ahn BW, Kang HG, Kim YB. Four-week repeated -dose toxicity study on Pinellia Extract. Korean J Lab Anim Sci. 2003 ; 19 : 127-41.
5. 김옥경. Streptozotocin 유발 당뇨 흰쥐에 대한 금전초 추출물의 혈당 강하 효과. 생약학회지. 2004 ; 35 : 300-8.
6. 박형래, 조정순. 천연 생약 복합 추출물이 streptozotocin 유발 당뇨병 흰쥐의 혈당 및 인슐린, 혈중 과산화지질 농도에 미치는 효과. 한국조

- 리과학회지. 2007 ; 17 : 205-12.
7. 박성혜, 곽준수, 박성진, 한중현. 인진쑥 추출물을 함유한 음료가 대학 운동선수의 피로회복 물질과 심박수 및 혈청지질에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지. 2004 ; 33 : 839-46.
8. 고성권, 김재수, 최용의, 이승정, 박경수, 정성현, 홍삼, 가시오가피, 동충하초 혼합수엑스의 항당뇨 작용. 대한약리학회지. 2002 ; 33 : 337-42.
9. 주영승, 고병섭. 동의보감 당뇨 처방에 사용되는 한약재에서 인슐린성 물질의 탐색. 한국응용생명화학회지. 2002 ; 45 : 47-52.
10. 신재용. 糖尿病과 消渴. 정보사. 1985.
11. 김응모. 韓醫學의으로 본 糖尿病의 概說. 大韓韓醫學會誌. 1981 ; 2 : 74-8.
12. 장태수, 정해철, 류봉하. 증상을 중심으로 본 消渴과 糖尿病의 관계. 대한한방내과학회지. 1985 ; 2 : 61-9.
13. 강석봉. 消渴의 전변증과 糖尿病의 만성 합병증에 대한 비교 고찰. 대한한의학회지. 1998 ; 19 : 137-52.
14. 허준. 東醫寶鑑. 해성사. 1994.
15. 李濟馬. 東醫壽世保元. 杏林出版. 1986.
16. 서용배, 송정모. 少陽人 忍冬藤地骨皮湯이 中消合併症에 미치는 影響. 사상체질의학회지. 2000 ; 12 : 186-200.
17. 고기덕, 홍순용. 少陽人에 應用되는 忍冬藤地骨皮湯이 streptozotocin 投與 高血糖 白鼠에 미치는 影響. 사상체질의학회지. 1990 ; 2 : 149-66.
18. 최병일, 송일병. 少陽人 涼膈散火湯과 忍冬藤地骨皮湯 및 熟地黃苦蔘湯이 Alloxan 투여 高血糖 白鼠에 미치는 影響. 사상체질의학회지. 1998 ; 10 : 513-32.
19. Sathishwekar D, Subramanian S. Beneficial effects of Momordica charantia seeds in the treatment of STZ-induced diabetes in experimental rats. Biol Pharm Bull. 2005 ; 28 : 978-83.
20. Hsu WH, Crump MH. The endocrine pancreas. In: Veterinary endocrinology and reproduction (McDonald LE and Pineda MH, eds). 4th edition. Philadelphia : Lea & Febiger. 1989 ; 186-201.
21. Subash Babu P, Prabuseenivasan S, Ignacimuthu S. A potential antidiabetic agent. Phytomedicine. 2007 ; 14 : 15-22.
22. Chan JY, Leung PC, Che CT, Fung KP.

- Protective effects of an herbal formulation of Radix Astragali, Radix Codonopsis and Cortex Lycii on streptozotocin-induced apoptosis in pancreatic beta-cells: an implication for its treatment of diabetes mellitus. *Phytother Res.* 2008 ; 22 : 190-6.
23. Kim JD, Kang SM, Park MY, Jung TY, Choi HY, Ku SK. Ameliorative anti-diabetic activity of dangnyosoko, a Chinese herbal medicine, in diabetic rats. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2007 ; 71 : 1527-34.
 24. Li XM. Protective effect of Lycium barbarum polysaccharides on streptozotocin-induced oxidative stress in rats. *Int J Biol Macromol.* 2007 ; 40 : 461-5.
 25. Zhang YW, Xie D, Xia B, Zhen RT, Liu IM, Cheng JT. Suppression of transforming growth factor-beta1 gene expression by Danggui buxue tang, a traditional Chinese herbal preparation, in retarding the progress of renal damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Horm Metab Res.* 2006 ; 38 : 82-8.
 26. Kim JD, Kang SM, Seo BI, Choi HY, Choi HS, Ku SK. Anti-diabetic activity of SMK001, a poly herbal formula in streptozotocin induced diabetic rats: therapeutic study. *Biol Pharm Bull.* 2006 ; 29 : 477-82.
 27. Brøndum E, Nilsson H, Aalkjaer C. Functional abnormalities in isolated arteries from Goto-Kakizaki and streptozotocin-treated diabetic rat models. *Horm Metab Res.* 2005 ; 37 : 56-60.
 28. Sricharoenvej S, Tongpob Y, Lanlua P, Piyawinijwong S, Roongruangchai J, Phoungpetchara I. Renal microvascular changes in streptozotocin-induced, long-termed diabetic rat. *J Med Assoc Thai.* 2007 ; 90 : 2677-82.
 29. Polenaković MH. Options in uraemia therapy for diabetics with end-stage renal disease. *Prilozi.* 2004 ; 25 : 27-51.
 30. Toprak O. Risk markers for contrast-induced nephropathy. *Am J Med Sci.* 2007 ; 334 : 283-90.