

## Ob/Ob 마우스에서 桂枝茯苓丸과 桂枝茯苓丸 合 降脂丸이 비만 및 지방대사에 미치는 영향

동의대학교 한의과대학 부인과교실  
김민애, 송정오, 이인선

### ABSTRACT

#### Effect of *Gejibokryung-hwan* and Combination of *Gejibokryung-hwan* and *Gangji-hwan* on Obesity and Lipid Metabolism in Ob/Ob Mice

Min-Ae Kim, Jung-Oh Song, In-Seon Lee  
Dept. of OB & GY, College of Oriental Medicine, Dong-Eui University

**Objectives:** This study was designed to investigate anti-obesity effects the improvement effects of *Gyejibongnyeong-hwan* and *Gyejibongnyeong-hwan-Gangji-hwan* (CIPPDF) in a ob/ob mouse model.

**Methods:** Seven-week old mice (wild-type C57BL/6J and ob/ob) were used for all experiments. Wild-type C57BL/6J mice were used as normal group and obese ob/ob mice were randomly divided into 4 groups. a normal group given a standard diet, an obese control group given a standard diet with CIPP (300 mg/kg), CIPPDF (1) (300+300 mg/kg), CIPPDF (2) (300+600 mg/kg) respectively. After 10 weeks of treatment, body weight gain, feeding efficiency ratio, blood lipid markers, mRNA levels of genes involved in fatty acid  $\beta$ -oxidation and lipogenesis in *in-vivo*, were examined.

#### Results:

1. Body weight gain and Feeding efficiency ratio were significantly decreased in CIPPDF (1) compared with control. Fat mass was significantly decreased in CIPPDF (2) in EAT compared with control.
2. Consistent with their effects on body weight gain and fat mass, circulating concentrations of LDL-cholesterol were decreased in CIPPDF (1), CIPPDF (2) groups compared with control.
3. MCAD mRNA levels of genes was increased in CIPPDF (1), CIPPDF (2) groups in the liver, epididymal adipose tissue compared with control. VLCAD mRNA levels of genes was increased in CIPPDF (1), CIPPDF (2) groups in the skeletal muscle compared with control.
4. PPAR $\gamma$  mRNA was decreased in CIPPDF (1) in the liver compared with control. SCD1 mRNA was decreased in CIPPDF (1), CIPPDF (2) groups in the epididymal adipose tissue compared with control.

**Conclusions:** In conclusion, These results suggest that CIPPDF not only decrease feeding efficiency ratio, and LDL-cholesterol, but also reduce EAT fat mass contributing to the improvement of obesity. CIPPDF also were increased in mRNA levels of genes involved in fatty acid  $\beta$ -oxidation and decreased in mRNA levels of genes involved in lipogenesis.

**Key Words:** *Gangji-hwan*, *Gejibokryung-hwan*, CIPP, CIPPDF, Ob/Ob Mice, MCAD mRNA

## I. 서 론

비만은 심혈관계 질환, 대사질환, 암 등을 유발하는 위험인자로 잘 알려져 있으며, 여성에 있어서는 내분비호르몬의 실조를 유발하여 배란장애, 무월경, 불임 등을 야기할 수도 있다. 한의학에서는 비만이 기허 및 습담과 유관하며 자궁과 연계된 경락기능에 장애를 일으켜 불임을 유발할 수 있음을 오래 전부터 인식하여 왔다<sup>1)</sup>.

최근에는 부인과적 내분비 질환의 80% 이상이 만성적인 무배란증에 기인하며, 만성 무배란증을 일으키는 가장 흔한 질환이 다낭성 난소 증후군(PCOS, Polycystic Ovary Syndrome)<sup>2)</sup>이며 PCOS의 신체적 특징과 대사이상은 대사증후군과 유사하게 나타나며 대사증후군에서 나타나는 제 2형 당뇨병과 심혈관계 질환의 증가는 PCOS 환자에서도 흔하게 발견된다<sup>3)</sup>.

다낭성 난소 증후군의 증상 중 특히 비만을 동반한 경우는 비만치료를 하면서 희발월경이나 무월경을 치료하는 것이 원칙이다. 즉 다낭성 난소 증후군 환자의 일차적이면서도 가장 중요한 치료 목표는 체중조절이다<sup>4)</sup>라고 하여 비만과의 연관성이 높은 질환으로 언급되고 있다. 때문에 부인과 질환을 치료할 때 비만의 개선이 중요하다고 할 수 있다.

한방 비만 관련 연구는 대개 담음을 제거하는 효능을 가진 처방<sup>5)</sup> 연구나 식적을 개선하는 처방을 혼합하여 효능을 분석한 연구<sup>6)</sup> 및 단일약재인 오수유<sup>7)</sup>, 인삼<sup>8)</sup>, 의이인<sup>9)</sup>, 마황<sup>10)</sup>과 관련된 연구 등이 있었으나 어혈과 연관된 계지복령환(CIPP)을 사용한 연구는 찾아볼 수 없었다.

계지복령환(CIPP)은 주로 하복부의 어혈을 제거하는 처방으로서 活血化瘀와 緩

消癥塊의 작용을 가진 방제이다<sup>11)</sup>. 계지복령환(CIPP)의 효능에 대한 국내외의 실험연구 동향분석에서 계지복령환(CIPP)은 항염, 항지질, 항산화, 항종양, 면역증강, 호르몬 및 사이토카인 분비 조절기능을 가진 것으로 확인되고 자궁의 양성 및 악성종양, 당뇨 및 고지혈증 등이 대사질환, 갱년기 안면홍조, 배란장애 등의 질환에 활용할 수 있음이 보고된다<sup>12)</sup>.

본 연구는 부인과 질환에 다용하는 처방인 계지복령환(CIPP)의 비만 및 지방대사에 미치는 영향을 알아보기 위해 계지복령환(CIPP)과 기존의 비만에 효과적이라고 알려진 강지환(DF)<sup>13-5)</sup>을 계지복령환(CIPP)과 합하여 사용했을 때 각각의 비만수치개선과 대사증후군과 연관된 지질, 당 대사수치의 연관성을 살펴보고 비만조절효과를 *in vivo* 분자생물학적 분석을 해보았다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재 료

#### 1) 실험동물

실험쥐에서 정상군은 형질전환을 시키지 않은 C57BL/6마우스를 사용하였다.

실험군은 (주)중앙실험동물(중앙실험동물, Seoul, Republic of Korea)에서 공급한 7주령의 ob/ob 암컷 마우스를 구입하여 1주 간 실험실 환경에 적응하도록 한 후 사용하였다. 8주간의 비만을 유도하였고, 무작위 군분리를 한 뒤에 약물투여를 시작하였다. 실험 기간 동안 온도 21±2°C, 습도 55±5%, 환기 횟수 15~17회/hour, 조도 150~300 lux, 그리고 12시간의 명암(점등: 06:00, 소등: 18:00) 주기가 있는 실험실 환경에서 고품사료(Harlan, USA)

와 물을 자유롭게 공급 받았다. 본 실험은 동의대학교 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호: R2015-013)을 받아 동물윤리 준칙에 의거하여 실험을 진행하였다.

### 2) 실험물질

실험물질인 계지복령환(CIPP)의 조성약물은 화림제약(Busan, Republic of Korea)에서 구입한 후 동의대학교 한의과대학 방제학교실에서 관능검사를 하여 감별한 뒤에 정선하였고, 정선한 CIPP를 동의대학교 한의과대학 방제학교실에서 5배수의 70% 에탄올로 85°C에서 270분간 2회 초음파 추출하였으며, 추출물을 60°C에서 농축한 뒤에 동결건조하여 11.25%의

수율을 얻었고, 이를 냉장보관하고 실험에 사용하였다. CIPP의 조성약물은 다음과 같다(Table 1).

실험물질인 강지환(DF)의 조성약물은 화림제약(Busan, Republic of Korea)에서 구입한 후 동의대학교 한의과대학 방제학교실에서 관능검사를 하여 감별한 뒤에 정선하였고, 정선한 DF를 강원대학교 약학대학에서 5배수의 70% 에탄올로 85°C에서 180분간 2회 추출하였으며, 추출물을 60°C에서 농축한 뒤에 동결건조하여 28.07%의 수율을 얻었고, 이를 냉장보관하고 실험에 사용하였다. DF의 조성약물은 다음과 같다(Table 2).

Table 1. Ingredients of *Gyejibongnyeong-hwan* (CIPP)

Korean/English Name	Pharmaceutical Name	Family Name	Part Used	Content (%)
<i>Gyeji/ Cinnamon Twig</i>	<i>Cinnamomi Ramulus</i>	<i>Lauraceae</i>	<i>Young Branch</i>	20
<i>Bongnyeong/ Poria</i>	<i>Poria</i>	<i>Polyporaceae</i>	<i>Sclerotium</i>	20
<i>Mokdanpi/ Moutan Root Bark</i>	<i>Moutan Cortex</i>	<i>Ranunculaceae</i>	<i>Root Bark</i>	20
<i>Jagyak/ Peony Root</i>	<i>Paeoniae Radix</i>	<i>Ranunculaceae</i>	<i>Root</i>	20
<i>Doin/ Peach Kernel</i>	<i>Persicae Semen</i>	<i>Rosaceae</i>	<i>Ripe Seed</i>	20
Total Amount				100

Table 2. Ingredients of *Gangji-hwan* (DF)

Korean/English Name	Pharmaceutical Name	Family Name	Part Used	Content (%)
<i>Mahwang/ Ephedra Stem</i>	<i>Ephedrae Herba</i>	<i>Ephedraceae</i>	<i>Stem</i>	40
<i>Daehwang/ Rhubarb Root and Rhizome</i>	<i>Rhei Radix et Rhizoma</i>	<i>Polygonaceae</i>	<i>Root and Rhizome</i>	20
<i>Jacho/ Lithospermum</i>	<i>Arnebiae / Lithospermi Radix</i>	<i>Boraginaceae</i>	<i>Root</i>	40
Total Amount				100

### 3) 실험군 및 투여방법

1주간의 적응기간 후 각 군당 7마리를 체중에 따라 무작위하게 군 분리를 실시하였다. 정상군, 대조군 및 약물군은 모두는 일반사료를 자유공급하였다. 정상

군과 대조군은 정수물로 1회 경구투여하였고, 약물은 10주간 CIPP는 300 mg/kg, CIPPDF(1)은 CIPP 300 mg/kg+DF 300 mg/kg, CIPPDF(2)는 CIPP 300 mg/kg +DF 600 mg/kg의 농도로 1시간 절식 후

하루 1회 경구 투여하였다(Table 3).

Table 3. Experimental Groups

Group	Diet	Treatment	Number	Sex
Normal		Water	7	Female
Control		Water	7	Female
CIPP	Chow Diet	300 mg/kg	7	Female
CIPPDF (1)		300+300 mg/kg	7	Female
CIPPDF (2)		300+600 mg/kg	7	Female

## 2. 방 법

### 1) 체중 변화량 측정

약물투여군이 체중 증가량에 미치는 영향을 알아보기 위해 약물을 투여하는 10주 동안 매주 2회씩 체중을 측정하고 체중 변화량을 계산하였다.

체중은 매주 4일 7일 2회씩 공복에 측정하였다. 체중은 이전 측정치에 대한 변화량을 표시하였다. 대조군의 체중증가량은 정상군의 증가량에 대한 비율을, 실험군의 체중증가량은 대조군의 증가량에 대한 비율을 표시하였다.

### 2) 식이효율 측정

약물투여군이 식욕과 관련이 있는지 알아보기 위하여 식이효율을 계산하였다.

식이효율 FER(%)의 계산식은 “체중 변화량(g)/사료섭취량(g)×100”이다.

### 3) 혈액생화학 분석

혈액 채취는 경구 투여 시작 10주 후 12시간 절식한 뒤 diethyl ether로 마취한 다음 심장에서 혈액 1 ml을 채취하였다. Blood clotting을 위해 30분 이상 실온에서 방치한 후 고속원심분리기(Micro12, Hanil, Korea)를 이용하여 3000 rpm에서 10분간 원심 분리하였다. 분리된 혈장은 냉동고(-20℃)에 보관하고 혈액생화학분석기 Stat Fax® 2600(Microplate Washer, Awareness Technology, Inc., USA)과 SpectraMax 190

(Microplate Reader, Molecular Devices, LLC., USA)을 이용하여 insulin의 혈중 농도를 각각 측정하였다. High density lipoprotein cholesterol(HDL-cholesterol), low density lipoprotein cholesterol(LDL-cholesterol), total cholesterol, triglyceride, free fatty acid(FFA) 및 glucose의 혈중 농도는 혈액생화학분석기 Hitachi7600(Automatic Analyzer Series, Hitachi, Japan)을 이용하여 각각 측정하였다.

### 4) 동물부검

체혈한 뒤 부검하여 장간막 지방조직(mesenteric adipose tissue, MAT), 생식기 주변 백색지방조직(epididymal adipose tissue, EAT), 후복벽 주변 백색지방조직(retroperitoneal adipose tissue, RAT), 사타구니 주변 피하지방조직(inguinal adipose tissue, IAT)과 갈색지방조직(brown adipose tissue, BAT)의 무게를 측정하고 조직을 수집하였다.

### 5) *In vivo* 표적 유전자 발현효과

#### (1) Isolation of total RNA

Trizol(Gibco-BRL, Grand Island, NY, USA)을 사용하여 간 조직으로부터 세포질의 Total RNA를 추출하였으며, 간단히 설명하면 다음과 같다. Total RNA를 추출하기 위해서 Trizol 1 ml에 조직 100 mg을 넣고 homogenizer를 이용하여 20초

동안 조직을 분쇄하였으며, 균질화된 용액을 상온에서 5분간 방치하였다. 여기에 chloroform(Sigma, USA) 200  $\mu$ l를 첨가한 후에 chloroform이 전체적으로 잘 섞이도록 15초 동안 혼합하였으며, 상온에서 3분간 방치한 후 원심분리(13,000 rpm, 4°C, 15분)하였다. 원심분리 된 용액에서 맑은 상층액 만을 새로운 튜브에 옮겼으며 여기에 동량의 isopropanol(Sigma, USA)을 첨가하여 상온에서 10분간 방치한 후 원심분리(13,000 rpm, 4°C, 10분)하였다. 튜브 바닥에 형성된 RNA pellet에 70% ethanol 1 ml를 첨가하여 2회 세척(4,500 rpm, 4°C, 5분)하였으며, RNA pellet이 완전히 건조시켰다. 건조된 RNA에 0.01% DEPC로 처리된 증류수를 150  $\mu$ l 첨가하여 RNA pellet을 용해시켰다.

## (2) Quantitative real-time PCR

Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase를 이용하여 세포질 RNA (2  $\mu$ g)로부터 cDNA를 역전사 하였으며, Exicycler™ 96 Real-Time Quantitative Thermal Block(bioneer)와 AccuPower® Greenstar™ qPCR PreMix(Bioneer, Deajeon, Korea)를 이용하여 각 유전자들의 cDNA를 증폭시켰다. 유전자 발현 분석에 이용한 PCR primer는 Table 1에 표시하였으며, PCR에 사용한 조건은 다음과 같다. 95°C에서 5분간 변성 후 95°C에서 10초, 60°C에서 40초, 72°C에서 10초씩 40회 반복하였다. cDNA 농도는 표준곡선을 이용하여 계산하였고, 상대적 발현수준은  $\beta$ -actin cDNA와 표적 유전자 cDNA 간의 비율로 보정하였다.

Table 4. Sequences of Primers Used for Quantitative Real-Time PCR Assays

Genes	GeneBank	Primer Sequences	Size (bp)
ACOX	J02752	Forward : 5'-gcaccattgccattcgataca-3' Reverse : 5'-ccactgctgtgagaatagccgt-3'	328
MCAD	NM_007382	Forward : 5'-gcaatttgaaagctgctagtg-3' Reverse : 5'-tcacgagctatgatcagcctctg-3'	321
VLCAD	NM_017366	Forward : 5'-cgtcagagggtgactttgatgg-3' Reverse : 5'-catggactcactcacatactg-3'	269
PPAR $\gamma$	NM_001127330	Forward : 5'-attctggcccaccaacttcgg-3' Reverse : 5'-tggaagcctgatgctttatcccca-3'	339
C/EBP $\alpha$	NM_001287514	Forward : 5'-atccagagggactggagtt-3' Reverse : 5'-aagtcttagccggaggaagc-3'	373
FAS	NM_007988	Forward : 5'-cttgggtgctgactacaacc-3' Reverse : 5'-gccctcccgtacactcactc-3'	163
SCD1	NM_009127	Forward : 5'-cggaaatgaacgagagaagg-3' Reverse : 5'-ccgaagaggcaggtgtagag-3'	228
$\beta$ -actin	J00691	Forward : 5'-taaaatcctgtggcatccatgaaac-3' Reverse : 5'-taaaacgcagctcagtaacagtccg-3'	349

### 3. 통계분석

모든 값은 mean $\pm$ standard deviation(SD)으로 표시하며, OriginLab Version 9.1(OriginLab

Corporation, MA, USA)의 one way ANOVA를 이용하여 통계적 유의성을 검증하였다.

### Ⅲ. 실험 결과

#### 1. 체중 변화량

체중은 실험 4일째부터 시작하여 10주간 매주 1일과 4일째 주 2회 측정하였다. 정상군에 비하여 대조군은 체중 증가량이 8일째부터 유의하게 증가하기 시작하여(P<0.01), 이후 실험 종료 시까지 지속적으로 유의하게 증가하였다(P<0.01, P<0.001).

CIPP는 대조군에 비하여 투여 후 4일째부터 유의하게 체중 증가량이 감소하여 46일째까지 대조군에 비해 유의하게 감소하였으며 실험 46일째까지 체중이 대조군에 비해 유의하게 감소하였고(P<0.05, P<0.01) 이후로도 감소하였으나 유의성은 없었다.

CIPPDF(1)는 대조군에 비하여 투여 후 4일째부터 유의하게 체중 증가량이 감소

하여 50일째까지 유의하게 감소하였으며 실험 46일째까지 체중이 대조군에 비해 유의하게 감소하였고(P<0.05, P<0.01) 이후로도 감소하였으나 유의성이 없다가 71일째 유의하게 감소하였다(P<0.05).

CIPPDF(2)는 대조군에 비하여 투여 후 4일째부터 유의하게 체중 증가량이 감소하였고(P<0.05) 8일째부터 실험 종료 시까지 감소폭을 유지하였으나 통계적인 유의성은 없었다(Table 5, Fig. 1).

최종일의 체중 감량을 백분율로 환산하면, 정상군에 비하여 대조군은 83.88%의 체중증가량이 증가하였으며, 대조군에 비하여 CIPP는 8.16%, CIPPDF(1)은 15.84%, CIPPDF(2)는 31.38%의 체중 증가량이 감소하였다. 이 가운데 CIPPDF(1)에서 유의성이 있었다(P<0.01).

Table 5. Changes in Body Weight Gain of CIPP and CIPPDF against Female Ob/Ob Mice

	Normal	Control	CIPP	CIPPDF (1)	CIPPDF (2)
4	-0.3±0.455	0.198±0.369	-0.515±0.323*	-1.228±0.572**	-1.188±0.656*
8	-0.657±0.447	0.968±0.468##	-0.025±0.565*	-0.55±1.002*	-0.63±1.359
11	-0.328±0.44	1.09±0.733#	-0.64±0.256**	-0.72±0.918*	-0.517±1.742
15	0±0.248	2.323±0.99##	0.002±0.212**	0.047±0.979*	0.18±2.127
18	-0.202±0.274	2.77±0.938###	0.05±0.624**	-0.145±0.897**	0.13±2.632
22	-0.58±0.188	3.595±1.344###	0.687±0.974*	0.99±1.393*	0.913±3.545
25	-0.315±0.43	3.983±1.513##	1.073±0.959*	1.348±0.835*	1.03±4.04
29	-0.043±0.579	5.16±1.84##	2.228±1.368*	1.883±1.144*	1.41±4.627
32	-0.195±0.274	5.548±1.716###	2.655±1.105*	2.51±0.978*	1.96±5.055
36	-0.237±0.288	6.528±1.773###	3.245±1.108*	3.53±0.887*	2.303±5.555
39	-0.115±0.296	6.95±1.865###	3.755±0.792*	3.658±0.781*	2.548±5.463
43	-0.097±0.307	8.06±1.808###	4.875±0.969*	4.588±0.96*	2.99±6.294
46	0.125±0.235	8.085±1.636###	5.483±1.338*	5.295±1.04*	3.533±7.163
50	0.148±0.351	9.085±1.959###	6.413±1.442	6.288±0.943*	4.328±7.458
53	0.478±0.451	9.463±2.042###	6.865±1.387	6.97±0.887	5.003±7.526
57	0.493±0.149	10.16±2.129###	7.905±1.289	7.618±0.891	5.11±7.933
60	0.475±0.513	11.183±2.039###	9.025±1.21	8.963±1.053	6.283±8.245
64	0.493±0.347	11.905±1.938###	9.265±0.978	9.853±0.784	6.843±9.151
67	0.893±0.102	12.53±1.644###	10.578±1.041	10.428±0.781	7.03±9.49
71	1.213±0.213	13.838±1.608###	11.75±1.459	10.053±0.621**	7.228±10.371

Data are expressed as the mean±SD. # p<0.05, ## p<0.01, ### p<0.001 compared with normal. \* p<0.05, \*\* p<0.01 compared with control.

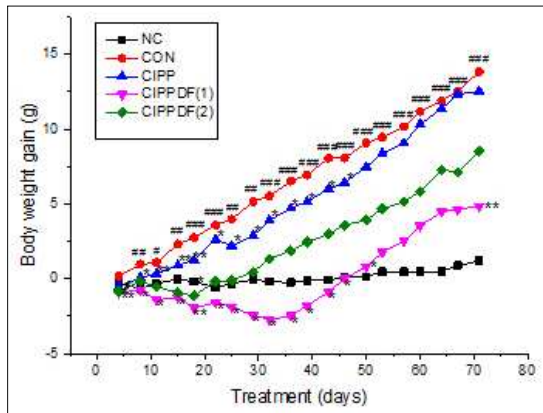


Fig. 1. Changes of body weight gain in female Ob/Ob mice.

Data are expressed as the mean±SD. # p<0.05, ## p<0.01, ### p<0.001 compared with normal. \* p<0.05, \*\* p<0.01 compared with control. NC, normal; CIPP, 70% grain alcohol extract. DF, De-fatty, 70% grain alcohol extract

## 2. 식이효율

Table 6. Feeding Efficiency Ratio in Female Ob/Ob Mice

	Normal	Control	CIPP	CIPPDF (1)	CIPPDF (2)
Total Feed Intake	29.088±1.228	45.425±2.223###	45.95±3.523	52.213±11.929	52.35±9.29
Feeding Efficiency Ratio	4.174±0.745	30.418±2.522###	25.771±4.506	20.017±4.741**	16.278±19.33

Data are expressed as the mean±SD. ### p<0.001 compared with normal. \* p<0.05, \*\* p<0.01 compared with control.

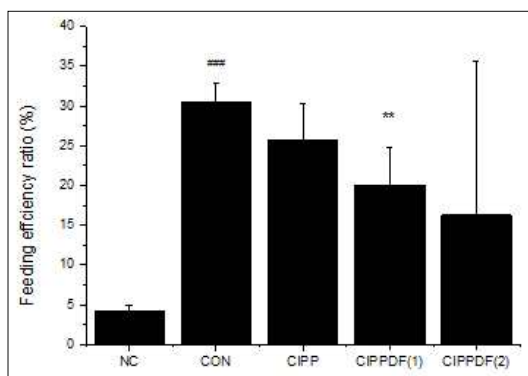


Fig. 2. Feeding efficiency ratio in female Ob/Ob mice.

Data are expressed as the mean±SD. ### p<0.001 compared with normal. \* p<0.05, \*\* p<0.01 compared with control. Abbreviations as in Fig. 1

정상군의 식이효율은 4.174±0.745이고 대조군은 30.418±2.22로 정상군에 비하여 대조군이 유의하게 높은 식이효율을 나타냈다 (P<0.001). 약물투여군의 식이효율은 CIPP, CIPPDF(1), CIPPDF(2)이 각각 25.771±4.506, 20.017±4.741, 16.278±19.33로 모두 대조군에 비해 낮았으며 이 가운데 CIPPDF(1) (P<0.01)에서 통계적인 유의성이 있었다 (Table 6, Fig. 2).

이를 백분율로 환산할 경우, 정상군에 비하여 대조군은 75.86%의 식이효율이 증가하였으며, 대조군에 비하여 CIPP는 8.28%, CIPPDF(1)은 20.62%, CIPPDF(2)는 30.28%의 식이효율이 감소하는 것으로 나타났으며, CIPPDF(1)에서 유의성이 있었다(p<0.01).

## 3. 지방무게

10주간 약물 투여 후 부검하여 장간막 지방조직(mesenteric adipose tissue, MAT), 생식기 주변 백색지방조직(epididymal adipose tissue, EAT), 후복벽 주변 백색지방조직(retroperitoneal adipose tissue, RAT), 사타구니 주변 피하지방조직(inguinal adipose tissue, IAT)과 갈색지방조직(brown adipose tissue, BAT)의 무게를 측정하였다.

정상군에 비하여 대조군은 모든 지방조직의 무게가 통계적으로 유의하게 높은 것으로 나타났다(P<0.001). MAT는 대조군

에 비하여 약물 투여군 모두 지방무게가 감소하였으며 실험군은 모두 지방무게가 감소하였으나 유의성이 없었다. EAT는 대조군에 비하여 약물 투여군 모두는 지방무게가 감소하였으며 CIPPDF(2)에서 통계적인 유의성이 있었다(P<0.05). RAT는 대조군에 비하여 CIPP는 지방무게가 증가하였고, 나머지 약물 투여군 모두는 지방무게가 감소하였으나 유의성이 없었다. IAT는 대조군에 비하여 에서 실험군 모두는 지방무게가 감소하였으나 유의성은 없었다. BAT는 대조군에 비하여 CIPP와 CIPPDF(1)은 지방무게가 증가하였고, CIPPDF(2)는 지방무게가 감소하였으나 모두에서 유의성은 없었다(Table 7, Fig. 3-7).

약재별로 보면 CIPP는 MAT, EAT, IAT는 대조군에 비해 감소, RAT, BAT는 증가하였으나 유의성은 없었다. CIPPDF(1)는 MAT, EAT, RAT, IAT는 대조군에 비해 감소, BAT는 대조군에 비해 증가하였으나 유의성은 없었다. CIPPDF(2)는 MAT, EAT, RAT, IAT, EAT, LAT가 모두 대조군에 비해 감소하였고 EAT에서 유의한 감소를 보였다(P<0.05).

이를 백분율로 환산하면 MAT는 정상군에 비하여 대조군은 88.64%의 지방무

게가 증가하였고, 대조군에 비하여 CIPP는 3.02%, CIPPDF(1)은 4.28%, CIPPDF(2)는 10.90%의 지방무게가 감소하였으며 유의성은 없었다. EAT의 경우 정상군에 비하여 대조군은 87.80%의 지방무게가 증가하였고, 대조군에 비하여 CIPP는 7.32%, CIPPDF(1)은 6.66%, CIPPDF(2)는 17.90%의 지방무게가 감소하였으며, CIPPDF(2)에서 유의성이 있었다(P<0.05). RAT의 경우, 정상군에 비하여 대조군은 92.06%의 지방무게가 증가하였고, 대조군에 비해 CIPPDF(1)은 0.06%, CIPPDF(2)는 9.72%의 지방무게가 감소하였으며, 반면에 CIPP는 0.48%의 지방무게가 증가하였고 유의성은 없었다. IAT의 경우, 정상군에 비하여 대조군은 87.44%의 지방무게가 증가하였고, 대조군에 비하여 CIPP는 2.70%, CIPPDF(1)은 2.04%, CIPPDF(2)는 10.70%의 지방무게가 감소하였으나 모두에서 유의성은 없었다. BAT의 경우, 정상군에 비하여 대조군은 74.82%의 지방무게가 증가하였고, 대조군에 비하여 CIPP는 4.40%, CIPPDF(1)은 4.90%의 지방무게가 증가하였으며 CIPPDF(2)는 13.30%의 지방무게가 감소하였으며 모두에서 유의성은 없었다.

Table 7. Effect of CIPP and CIPPDF on Adipose Tissue Weights in Female Ob/Ob Mice

	Adipose Tissue Weight (g)				
	Normal	Control	CIPP	CIPPDF (1)	CIPPDF (2)
MAT	0.139±0.051	2.31±0.212 <sup>###</sup>	2.175±0.319	2.12±0.271	1.856±0.792
EAT	0.418±0.09	6.433±0.633 <sup>###</sup>	5.555±0.705	5.629±0.533	4.48±1.041*
RAT	0.158±0.049	3.818±0.257 <sup>###</sup>	3.855±0.422	3.814±0.583	3.142±1.415
IAT	0.338±0.072	5.041±0.469 <sup>###</sup>	4.776±0.354	4.839±0.371	4.066±1.313
BAT	0.119±0.027	0.826±0.164 <sup>###</sup>	0.902±0.195	0.911±0.121	0.632±0.208

Data are expressed as the mean±SD. <sup>###</sup> p<0.001 compared with normal. \* p<0.05 compared with control. MAT : mesenteric adipose tissue, EAT : epididymal adipose tissue, RAT : retroperitoneal adipose tissue, IAT : inguinal adipose tissue, BAT : brown adipose tissue



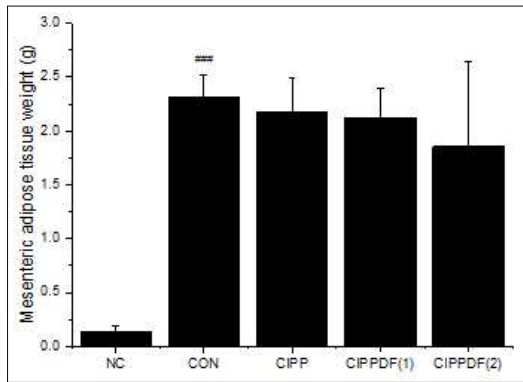


Fig. 3. Mesenteric adipose tissue weights in female Ob/Ob mice.

Data are expressed as the mean±SD. ### p<0.001 compared with normal. \* p<0.05 compared with control. Abbreviations as in Fig. 1

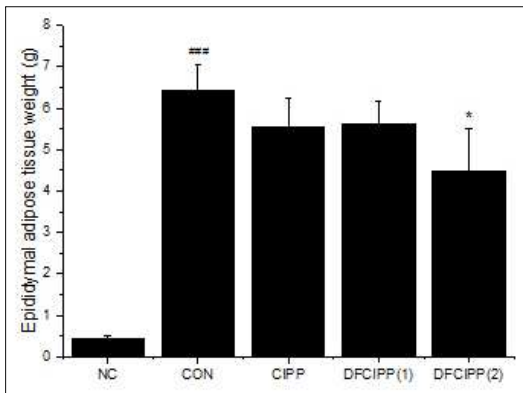


Fig. 4. Epididymal adipose tissue weights in female Ob/Ob mice.

Data are expressed as the mean±SD. ### p<0.001 compared with normal. \* p<0.05 compared with control. Abbreviations as in Fig. 1

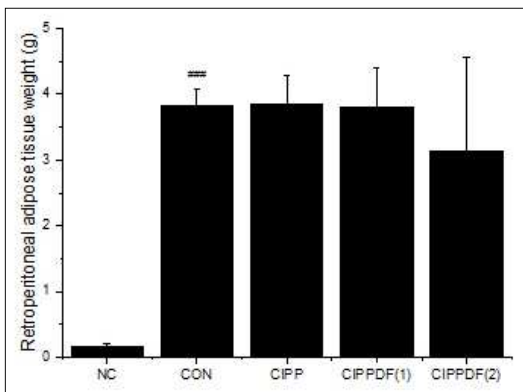


Fig. 5. Retroperitoneal adipose tissue weights in female Ob/Ob mice.

Data are expressed as the mean±SD. ### p<0.001 compared with normal.

compared with normal. \* p<0.05 compared with control. Abbreviations as in Fig. 1

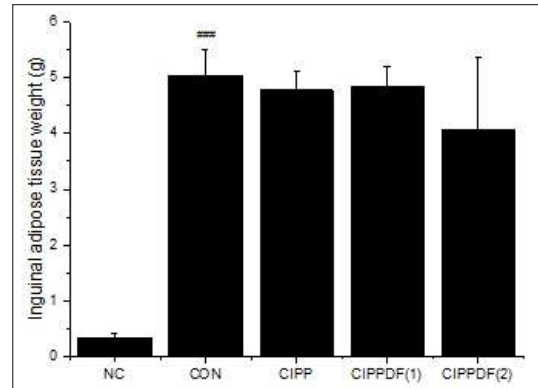


Fig. 6. Inguinal adipose tissue weights in female Ob/Ob mice.

Data are expressed as the mean±SD. ### p<0.001 compared with normal. Abbreviations as in Fig. 1

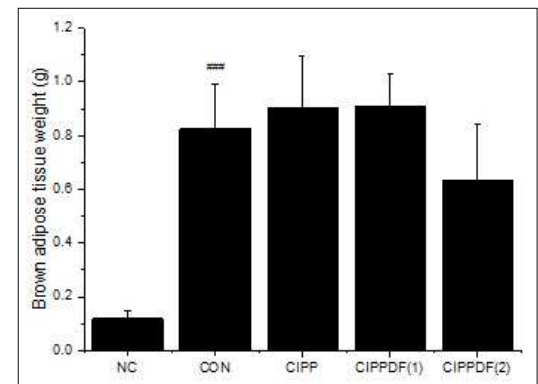


Fig. 7. Brown adipose tissue weights in female Ob/Ob mice.

Data are expressed as the mean±SD. ### p<0.001 compared with normal. Abbreviations as in Fig. 1

#### 4. 혈액생화학분석

##### 1) 혈중 HDL-cholesterol 농도

약물 투여 시작 10주 후 혈장 내 HDL-cholesterol의 농도를 측정된 결과, 정상군 66±7.329에 비하여 대조군은 163.429±47.258로 유의하게 높은 농도를 보였으며(P<0.001), 대조군에 비하여 CIPP, CIPPDF(1)과 CIPPDF(2)는 각각 163±51.685, 132±53.684, 124.429±55.247로 낮은 농도를 나타냈으며 유의성은 없었다(Table 8, Fig. 8).

Table 8. Blood Analysis in Female Ob/Ob Mice

Unit	Blood Analysis Data				
	Normal	Control	CIPP	CIPPDF (1)	CIPPDF (2)
Glucose mg/dL	169.75±36.574	470.857±123.316 <sup>###</sup>	449.714±187.366	560±251.068	711.571±191.555 <sup>*</sup>
TG mg/dL	50.875±7.882	88±43.355 <sup>#</sup>	86.143±35.737	105.143±79.136	117.143±74.23
TC mg/dL	67.25±5.574	206.143±68.987 <sup>###</sup>	217.714±77.854	144.571±53.11	135.571±52.262
HDL mg/dL	66±7.329	163.429±47.258 <sup>###</sup>	163±51.685	132±53.684	124.429±55.247
LDL mg/dL	10±2.828	39.857±21.559 <sup>##</sup>	44.429±23.444	18.571±13.439 <sup>*</sup>	15.143±10.057 <sup>*</sup>
FFA uEq/L	1156.5±155.454	1991.571±459.718 <sup>###</sup>	1750.571±291.538	1854±508.9	1788.714±231.68
Insulin ng/ml	1.053±0.809	12.226±4.978 <sup>##</sup>	10.203±3.02	9.213±4.477	8.88±6.487

Data are expressed as the mean±SD. # p<0.05, ## p<0.01, ### p<0.001 compared with normal. \* p<0.05 compared with control. HDL : high density lipoprotein, LDL : low density lipoprotein, TC : total cholesterol, TG : triglyceride, FFA : free fatty acid, insulin

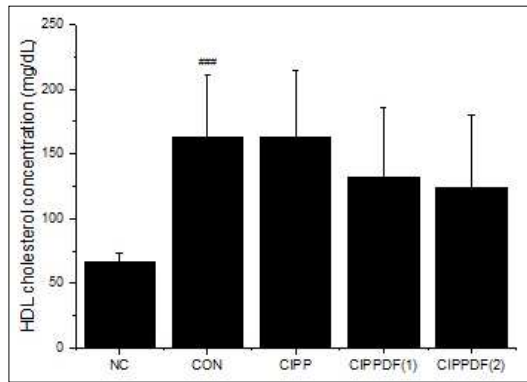


Fig. 8. Fasting plasma HDL-cholesterol levels in female Ob/Ob mice.

Data are expressed as the mean±SD. ### p<0.001 compared with normal. Abbreviations as in Fig. 1

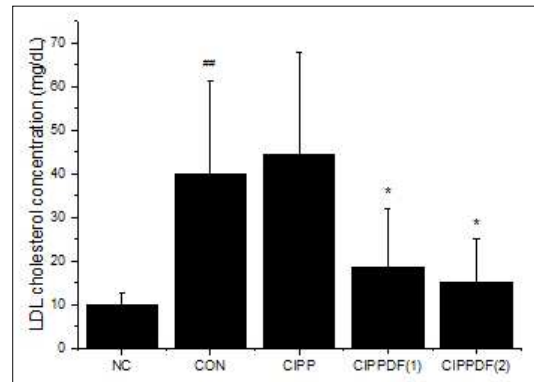


Fig. 9. Fasting plasma LDL-cholesterol levels in female Ob/Ob mice.

Data are expressed as the mean±SD. ## p<0.01 compared with normal. \* p<0.05 compared with control. Abbreviations as in Fig. 1

2) 혈중 LDL-cholesterol 농도

약물 투여 시작 10주 후 혈장 내 LDL-cholesterol의 농도를 측정된 결과, 정상군 10±2.828에 비하여 대조군은 39.857±21.519로 유의하게 높은 농도를 보였으며(P<0.001), 대조군에 비하여 CIPPDF(1)과 CIPPDF(2)는 각각 18.571±13.439, 15.143±10.057로 낮은 농도를 나타냈고, 반면에 CIPP는 각각 44.429±23.444로 높은 농도를 나타냈으며, CIPPDF(1), CIPPDF(2)에서 유의한 감소를 보였다(P<0.05)(Table 8, Fig. 9).

3) 혈중 total cholesterol 농도

약물 투여 시작 10주 후 혈장 내 total-cholesterol의 농도를 측정된 결과, 정상군 67.25±5.574에 비하여 대조군은 206.143±68.987로 유의하게 높은 농도를 보였으며(P<0.001), 대조군에 비하여 CIPPDF(1)과 CIPPDF(2)는 각각 144.571±53.11, 135.571±52.262로 낮은 농도를 나타냈으며, 반면에 CIPP는 각각 217.714±77.854로 높은 농도를 나타냈으나 모두에서 유의성은 없었다(Table 8, Fig. 10).

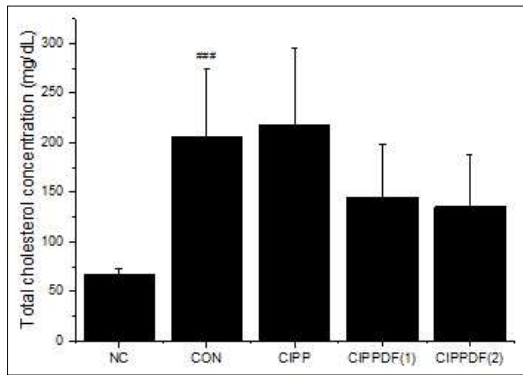


Fig. 10. Fasting plasma total cholesterol levels in female Ob/Ob mice. Data are expressed as the mean±SD. <sup>###</sup> p<0.001 compared with normal. Abbreviations as in Fig. 1

#### 4) 혈중 triglyceride 농도

약물 투여 시작 10주 후 혈장 내 triglyceride의 농도를 측정된 결과, 정상군 50.875±7.882에 비하여 대조군은 88±43.355로 유의하게 높은 농도를 보였으며(P<0.05), CIPPDF(1), CIPPDF(2)는 각각 105.143±79.136, 117.143±74.23로 대조군에 비하여 높은 농도를 나타냈으며, 반면에 CIPP는 86.143±35.737로 낮은 농도를 나타냈으나 유의성은 없었다(Table 8, Fig. 11).

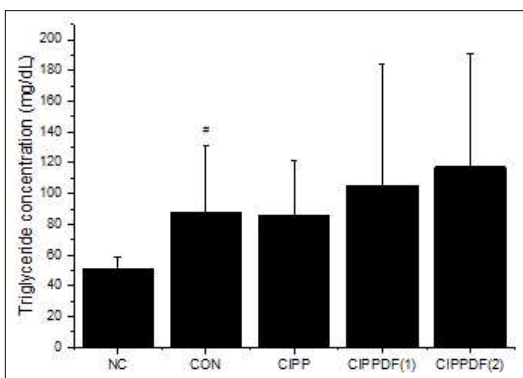


Fig. 11. Fasting plasma triglyceride levels in female Ob/Ob mice. Data are expressed as the mean±SD. <sup>#</sup> p<0.05 compared with normal. Abbreviations as in Fig. 1

#### 5) 혈중 free fatty acid(FFA) 농도

약물 투여 시작 10주 후 혈장 내 free fatty

acid의 농도를 측정된 결과, 정상군 1156.5±155.454에 비하여 대조군은 1991.571±459.718로 유의하게 높은 농도를 보였으며(P<0.001), 대조군에 비하여 CIPP, CIPPDF(1)과 CIPPDF(2)는 각각 1750.571±291.538, 1854±508.9, 1788.714±231.68로 낮은 농도를 나타냈으나 모두에서 유의성은 없었다(Table 8, Fig. 12).

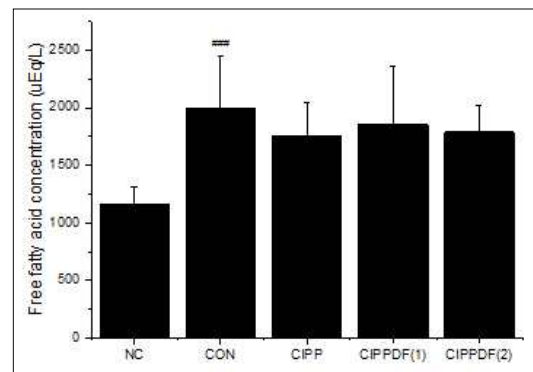


Fig. 12. Fasting plasma free fatty acid levels in female Ob/Ob mice. Data are expressed as the mean±SD. <sup>###</sup> p<0.001 compared with normal. Abbreviations as in Fig. 1

#### 6) 혈중 glucose 농도

약물 투여 시작 10주 후 혈장 내 glucose의 농도를 측정된 결과, 정상군 169.75±36.574에 비하여 대조군은 470.857±123.316로 유의하게 높은 농도를 보였으며(P<0.001), 대조군에 비하여 CIPPDF(1)과 CIPPDF(2)는 각각 560±251.068, 711.571±191.555로 높은 농도를 나타냈으며, 반면에 CIPP는 각각 449.714±187.366로 낮은 농도를 나타냈으나, CIPPDF(2)에서 통계적인 유의성이 있었다(P<0.05)(Table 8, Fig. 13).

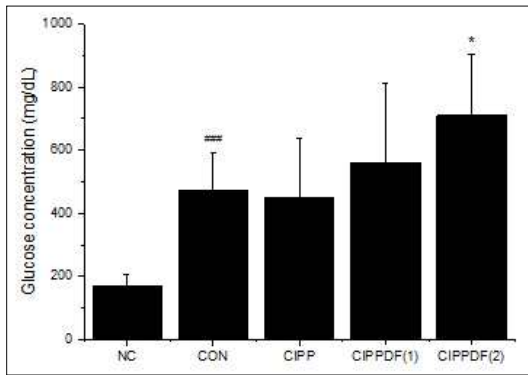


Fig. 13. Fasting plasma glucose levels in female Ob/Ob mice.

Data are expressed as the mean±SD. <sup>###</sup> p<0.001 compared with normal. <sup>\*</sup> p<0.05 compared with control. Abbreviations as in Fig. 1

### 7) 혈중 insulin 농도

약물 투여 시작 10주 후 혈장 내 insulin의 농도를 측정된 결과, 정상군 1.053±0.809에 비하여 대조군은 12.226±4.978로 통계적으로 유의하게 높은 농도를 보였으며(P<0.01), 대조군에 비하여 CIPP, CIPPDF(1), CIPPDF(2)에서 각각 10.203±3.02, 9.213±4.477, 8.88±6.487로 낮은 농도를 나타냈으나 통계적인 유의성은 없었다(Table 4, Fig. 14).

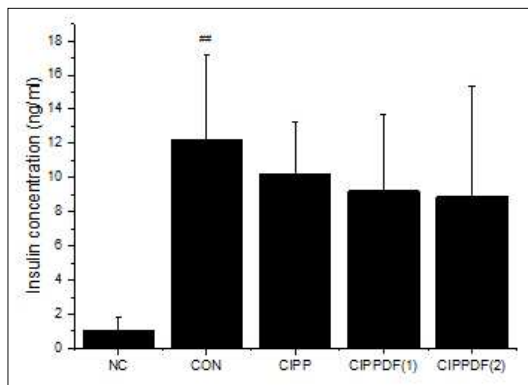


Fig. 14. Fasting plasma insulin levels in female Ob/Ob mice.

Data are expressed as the mean±SD. <sup>##</sup> p<0.01 compared with normal. Abbreviations as in Fig. 1

## 6. In vivo 표적 유전자 발현효과

### 1) 간에서의 효과

#### (1) 간에서의 지방산 β-산화효소 유전자 발현의 변화

지방산산화의 손상은 비만과 대사질환을 유발하는 것으로 알려져 있으며, 약물 식물에 의한 peroxisome proliferator-activated receptor α(PPARα)의 조절은 이들 질환들을 치료, 예방할 수 있는 것으로 보고되어 있다. PPARα는 핵에 존재하는 호르몬 수용체의 한 종류로서 지질과 지단백질대사에 관련된 많은 유전자를 조절하는 transcription factor이다. 특히 지방산 산화효소의 발현을 촉진하여 비만과 지질대사를 조절하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 quantitative real-time PCR을 이용하여 지방산 β-산화와 관련된 PPARα 표적유전자 발현에 미치는 CIPP 및 CIPPDF의 효과를 조사하였다. 표적 유전자로는 미토콘드리아에 존재하는 지방산 β-산화효소인 medium chain acyl-CoA dehydrogenase(MCAD), very long chain acyl-CoA dehydrogenase(VLCAD)와 페록시좀에 존재하는 지방산 β-산화효소인 acyl-CoA oxidase(ACOX)의 mRNA 수준을 조사하였다.

ACOX mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군이 감소하였고, 대조군에 비해 모든 실험군은 증가하였으나 유의하지 않았다. MCAD mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군이 감소하였고, 대조군에 비해 모든 실험군이 증가하였고, CIPPDF(1), CIPPDF(2)에서 유의하게 증가하였다(P<0.05).

반면 VLCAD mRNA 발현은 정상군에 비해 대조군이 감소하였고 대조군에 비해 모든 실험군이 증가하였으나 유의하지 않았다(Fig. 15).

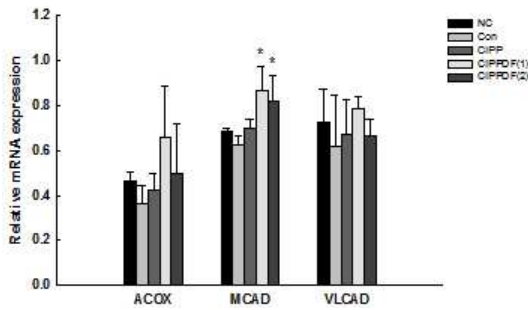


Fig. 15. Effects of experimental groups on mRNA levels of genes involved in fatty acid β-oxidation in the liver.

\* p<0.05 compared with CON

(2) 간에서의 지방생성 유전자 발현의 변화

지방생성을 조절하는 대표적인 효소에는 fatty acid synthase(FAS), stearoyl-CoA desaturase 1(SCD1)가 있으며, 이들 효소들은 여러 전사인자들의 조절을 받는데 이들 전사인자에는 peroxisome proliferator-activated receptor γ(PPARγ), CCAAT/enhancer-binding protein α(C/EBPα)가 있다. 따라서 CIPP 및 CIPPDF가 이들 유전자의 발현을 조절하여 비만을 조절하는지 알아보하고자 이들 유전자들의 mRNA 발현을 측정하였다.

FAS mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군이 유의하게 증가하였고(P<0.05), 대조군과 비교하여 모든 실험군이 증가하였고, CIPP, CIPPDF(1)에서 유의하게 증가하였다(P<0.05). SCD1의 경우 정상군에 비해 대조군이 증가하였고, 대조군에 비해 실험군은 영향을 받지 않았다. C/EBPα mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군이 증가하였고, 대조군에 비해 CIPPDF(1)에서 유의하게 증가하였다(P<0.05).

PPARγ mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군이 증가하였고, CIPPDF(1)에서 유의하게 감소하였다(P<0.05)(Fig. 16).

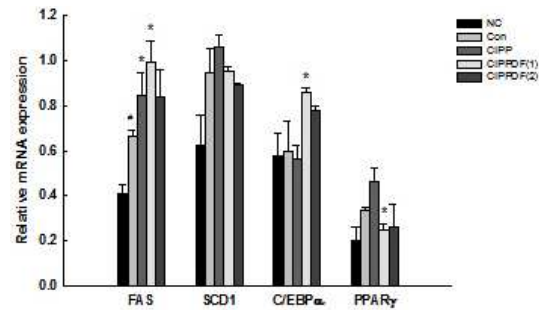


Fig. 16. Effects of experimental groups on mRNA levels of genes involved in lipogenesis in the liver.

# p<0.05 compared with NC. \* p<0.05 compared with CON

2) 지방조직에서의 효과

(1) 내장지방에서의 지방산 β-산화 효소 유전자 발현의 변화

지방조직은 내장지방과 피하지방이 구성 성분 및 생리적 작용 등에서 큰 차이를 보이며, 내장지방이 비알코올성 지방간질환, 인슐린 저항성, 제 2형 당뇨 등의 대사증후군과 관련이 깊으므로 생식기 주변의 백색지방조직(epididymal white adipose tissue)을 사용하여 유전자 발현을 조사하였다.

ACOX mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군이 증가하였고, 대조군에 비해 CIPP는 유의하게 증가하였고(P<0.05), CIPPDF(1)는 유의하게 감소하였다(P<0.05). MCAD mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군이 감소하였고, 대조군에 비해 CIPP, CIPPDF(1), CIPPDF(2)는 유의하게 증가하였다(P<0.05). VLCAD mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군은 유의하게 감소하였고(p<0.05), 대조군에 비해 CIPP, CIPPDF(2)는 유의하게 감소하였다(P<0.05)(Fig. 17).

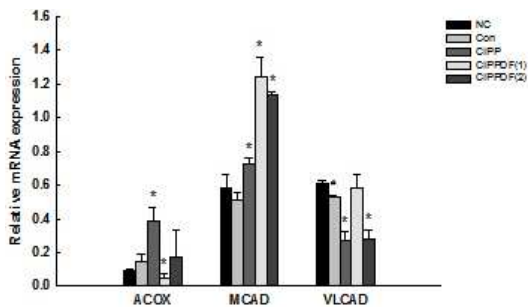


Fig. 17. Effects of experimental groups on mRNA levels of genes involved in fatty acid  $\beta$ -oxidation in the epididymal adipose tissue.  
# p<0.05 compared with NC. \* p<0.05 compared with CON

(2) 내장지방에서의 지방생성 유전자 발현의 변화

C/EBP $\alpha$  mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군이 유의하게 증가하였고(P<0.05), 대조군에 비해 실험군은 영향을 받지 않았다. SCD1 mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군은 증가하였고, 대조군에 비해 CIPPDF(1), CIPPDF(2)는 유의하게 감소하였다(P<0.05)(Fig. 18).

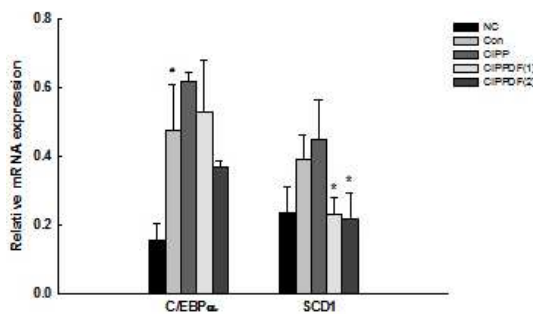


Fig. 18. Effects of DF on mRNA levels of genes involved in lipogenesis in the epididymal adipose tissue.  
# p<0.05 compared with NC. \* p<0.05 compared with CON

3) 골격근에서의 효과

(1) 골격근에서의 지방산  $\beta$ -산화효소 유전자 발현의 변화

골격근은 간과 더불어 대사가 가장 활

발히 일어나는 조직 중의 하나이다. 골격근은 지질대사에 중요한 역할을 하는 조직으로서 비만, 제 2형 당뇨와 같은 지질 대사 이상으로 발병하는 대사질환과 관련이 깊다. 비만인 사람의 골격근에서 지방산산화가 감소하며, 마른 사람에 비하여 비만인 사람에서 골격근의 지방 함량이 더 높은 것으로 알려져 있다. 또한 골격근은 지방산산화를 촉진하는 PPAR $\alpha$ 의 발현이 높은 조직이다. 따라서 본 연구에서는 quantitative real-time PCR을 이용하여 지방산  $\beta$ -산화와 관련된 PPAR $\alpha$  표적유전자 발현에 미치는 CIPP 및 CIPPDF의 효과를 조사하였다.

MCAD mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군이 유의하게 감소하였고(P<0.05), 대조군에 비해 CIPPDF(1), CIPPDF(2)는 유의하게 증가되었으며(p<0.05) CIPP는 유의하게 감소하였다(p<0.05). VLCAD mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군이 증가하였고, 대조군에 비해 CIPPDF(1), CIPPDF(2)는 유의하게 증가하였다(p<0.05)(Fig. 19).

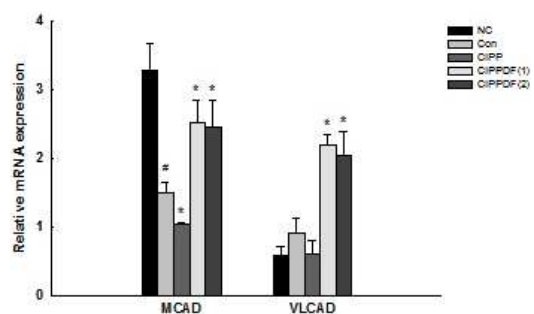


Fig. 19. Effects of experimental groups on mRNA levels of genes involved in fatty acid  $\beta$ -oxidation in the skeletal muscle.  
# p<0.05 compared with NC. \* p<0.05 compared with CON

(2) 골격근에서의 지방생성 유전자 발현의 변화

FAS는 정상군에 비해 대조군은 감소하였고, 대조군에 비해 모든 실험군은 감소하였으나 유의하지 않았다. SCD1 mRNA는 정상군에 비해 대조군이 증가하였고, 대조군에 비해 모든 실험군에서 영향을 받지 않았다. C/EBP $\alpha$  mRNA는 정상군에 비해 대조군이 증가하였고, 대조군에 비해 CIPP는 유의하게 증가되었다( $p < 0.05$ ). PPAR $\gamma$  mRNA는 정상군에 비해 대조군이 증가하였고, 대조군에 비해 CIPP는 유의하게 증가하였다( $p < 0.05$ ) (Fig. 20).

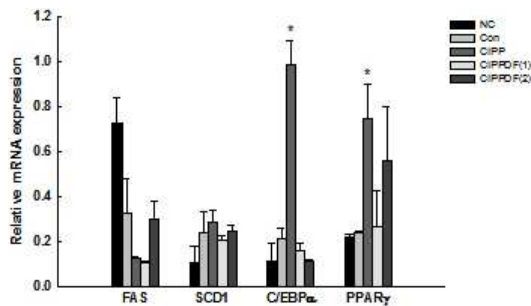


Fig. 20. Effects of experimental groups on mRNA levels of genes involved in lipogenesis in the skeletal muscle.

\*  $p < 0.05$  compared with CON

#### IV. 고찰

비만은 섭취에너지가 소비에너지를 초과하여 여분의 에너지가 인체 지방조직에 중성지방으로 과잉 축적된 상태를 정의한다<sup>16)</sup>. 비만은 심혈관계 질환, 대사질환, 암 등을 유발하는 위험인자로 잘 알려져 있으며, 여성에 있어서는 내분비호르몬의 실조를 유발하여 배란장애, 무월경, 불임 등을 야기할 수도 있다<sup>1)</sup>. 비만과 질환의 관련성을 볼 때 단순 비만의 정도보다는 지방조직의 체내분포 차이가 대사질환과 혈관질환 발생에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있다<sup>17)</sup>. 비만

의 원인을 한방에서는 근본적인 병리적 상태를 기허로 보고 담, 습, 어혈을 그 병리적 산물로 보는 견해가 있다<sup>18)</sup>. 부인과 질환에서 많이 사용되는 계지복령환(CIPP)과 함께 기존의 비만치료 효과가 있는 것으로 보고된 강지환(DF)을 계지복령환과 혼합하여 비만과 연관된 체중감량지표에 미치는 영향을 실험해보고 대사질환과의 연관성을 알아보기 위해 지질대사 및 당대사와 관련된 혈액분석을 해보았다. 중성지방과 관련된 장기인 간의 무게와 지방축적의 변화, 지방조직의 histology와 morphology변화를 관찰하고 지질대사 개선작용에 대한 분자적 메커니즘을 알아보기 위해 *in vivo* 실험을 하였다.

체중증가량은 실험 과정에서의 체중증가량의 감소정도와 최종일의 체중감량을 나누어 분석하였다. 체중을 10주간 측정 한 결과 체중증가량은 정상군에 비하여 대조군은 체중증가량이 8일째부터 유의하게 증가하기 시작했고( $P < 0.01$ ), 이후 실험 종료 시까지 지속적으로 유의하게 증가하였다. 체중 증가량의 감소는 모든 실험군에서 감소하는 것을 볼 수 있었다. CIPPDF(2)의 경우 체중증가량이 감소하였으나 유의성이 없었다. CIPP는 투여 후 4일째부터 46일째까지에 유의한 감소가 있었지만 결과적으로 유의성이 없었다. CIPPDF(1)는 투여 후 4일째부터 유의하게 체중 증가량이 감소하였고( $P < 0.05$ ) 8일째부터 실험 종료 시까지 감소폭을 유지하다가 마지막 날 유의한 감소를 보였다( $p < 0.01$ ). 최종 체중증가량은 대조군이 정상군에 비해 83.88% 증가했으며 실험군은 대조군에 비해 CIPP, CIPPDF(1), CIPPDF(2)군이 각각 8.16%, 15.84%, 31.38%

체중이 감소하였으며, CIPPDF(1)에서 유의성이 있었다(Table 5, Fig. 1).

식이효율은 정상군에 비하여 대조군이 유의하게 높았다( $P < 0.001$ ). 대조군에 비하여 약물투여군 모두 식이효율이 낮았으며, CIPPDF(1)군에서 20.62%( $P < 0.01$ ) 유의한 감소를 보였다(Table 6, Fig. 2).

복부비만은 대사 증후군의 한 양상이다. 더구나 부인과 질환인 다낭성 난소 증후군인 여성의 비만은 인슐린 저항성과 비정상 지혈증(dyslipidemia), 특히 HDL-콜레스테롤의 저하와 연관이 있어서 이들은 대사 증후군의 발현 가능성이 높은 편이다<sup>2)</sup>. 일반적으로 비만상태가 되면, 지방조직의 증가 현상이 일어나는데 이는 지방세포 분화로 인한 지방세포크기의 확대와 이를 통한 지방세포내 중성지방의 저장량을 증가시킴으로써 지방세포 비대(adipocyte hypertrophy)의 원인이 되는 것으로 알려져 있다. 비만에 의한 지방세포 비대는 비만과 관련된 질환과 인슐린 저항성, 제 2형 당뇨병과 정적 상관관계를 이루고 있다<sup>19)</sup>. CIPP, CIPPDF가 지방조직이 미치는 영향을 알아보기 위해 부위별 지방조직의 무게를 분석해보았다.

지방무게는 장간막 지방조직(mesenteric adipose tissue, MAT), 생식기 주변 백색 지방조직(epididymal adipose tissue, EAT), 후복벽 주변 백색지방조직(retroperitoneal adipose tissue, RAT), 사타구니 주변 피하 지방조직(inguinal adipose tissue, IAT)과 갈색지방조직(brown adipose tissue, BAT)의 무게를 측정하였다. 정상군에 비하여 대조군은 모든 지방조직의 무게가 유의하게 높은 것으로 나타났다( $P < 0.001$ ).

EAT는 대조군에 비하여 모든 실험군에서 지방무게가 감소하였고, CIPPDF(2)

에서 유의성이 있었다( $p < 0.05$ ). RAT는 대조군에 비하여 CIPP는 지방무게가 증가하였고, CIPP를 제외한 모든 실험군에서 무게가 감소하였으나 유의성은 없었다. IAT는 대조군에 비하여 모든 실험군에서 무게가 감소하였으나 유의성이 없었다. BAT의 경우, 대조군에 비하여 CIPP, CIPPDF(1)는 지방의 무게가 증가하였으며, CIPPDF(2)는 지방무게가 감소하였으며 모두에서 유의성은 없었다.

지방의 무게 변화를 요약하면 대조군은 정상군에 비해 모두 유의하게 증가하였다( $p < 0.001$ ). 대조군에 비해 MAT와 EAT는 모든 약재들이 감소하는 경향을 보였고, RAT와 LAT는 대부분 감소하거나 부분적으로 증가하는 경향을 보였으며, BAT의 경우 유의성은 없었으나 증가하는 경향을 보이는 약제가 많았다. BAT의 경우 인간의 갈색 지방은 대사증후군의 부정적인 요소를 줄이는 역할을 한다고 보고되어 있다<sup>20)</sup>. 때문에 BAT의 증가가 대사증후군의 위험을 높인다고 볼 수 없다.

체중의 감량 식이효율, 지방의 감량 결과를 요약하면 BWG(체중)과 식이효율과 부위별 지방 무게가 CIPPDF(1)에서 유의하게 감소하였고 지방은 CIPPDF(2)에서 유의하게 감소하였다.

비만이 지질대사에 미치는 영향은 주로 중성지방 대사 이상에 의한 very low densitylipoprotein(VLDL)의 증가이며, 혈중 cholesterol 농도 및 LDL-cholesterol을 상승시키고 HDL-cholesterol을 감소시킨다. 정상상태에서 식이성 중성지방과 콜레스테롤은 조직세포에서 합성된 지질과 균형을 이루며 혈관 내 순환 lipoprotein들의 농도는 항상성에 의해 적절하게 조절되나, 유전적 요인과 환경적 요인에 의



해 체내 지질의 균형이 깨지게 되면 혈장 lipoprotein인 LDL-콜레스테롤 농도가 증가하고, HDL-콜레스테롤 농도가 감소하여 동맥경화증, 고혈압 및 심혈관계 질환을 유발하게 된다고 알려져 있다<sup>21)</sup>. 때문에 비만과 대사질환과의 연관성을 알아보기 위해 지질대사와 관련된 지표인 혈중 HDL, LDL, TC, TG, FFA와 함께 당대사 관련지표인 혈중 glucose, 혈중 insulin 농도<sup>22)</sup>를 측정 분석해 보았다.

약물 투여 시작 10주 후 혈중 HDL cholesterol 농도는 정상군에 비하여 대조군에서 유의하게 높은 농도를 보였으며 ( $P<0.001$ ), 대조군에 비하여 CIPP, CIPPDF(1)과 CIPPDF(2)는 낮은 농도를 나타냈으며 유의성은 없었다(Table 8, Fig. 8). LDL-cholesterol의 농도는 정상군에 비하여 대조군은 유의하게 높은 농도를 보였으며 ( $P<0.01$ ), 대조군에 비하여 CIPPDF(1)과 CIPPDF(2)는 낮은 농도를 나타냈으며, 반면 CIPP는 높은 농도를 나타냈으나 CIPPDF(1)과 CIPPDF(2)에서 유의성이 있었다(Table 4, Fig. 9). Total cholesterol의 농도는 정상군에 비하여 대조군은 유의하게 높은 농도를 보였으며 ( $P<0.001$ ), 대조군에 비하여 CIPPDF(1)과 CIPPDF(2)는 낮은 농도를 나타냈으며, 반면에 CIPP는 높은 농도를 나타냈으나 모두에서 유의성은 없었다(Table 8, Fig. 10).

Triglyceride의 농도는 정상군에 비하여 대조군은 유의하게 높은 농도를 보였으며 ( $P<0.05$ ), 대조군에 비하여 CIPPDF(1)과 CIPPDF(2)는 높은 농도를 나타냈으며, 반면에 CIPP는 낮은 농도를 나타냈으나 유의성은 없었다(Table 4, Fig. 11). Free fatty acid의 농도는 정상군에 비하여 대조군은 유의하게 높은 농도를 보였

으며 ( $P<0.001$ ), 대조군에 비하여 CIPP, CIPPDF(1)과 CIPPDF(2)는 낮은 농도를 나타냈으나 모두에서 유의성은 없었다(Table 8, Fig. 12). Glucose의 농도는 정상군에 비하여 대조군은 유의하게 높은 농도를 보였으며 ( $P<0.001$ ), 대조군에 비하여 CIPPDF(1)과 CIPPDF(2)는 높은 농도를 나타냈으며, CIPPDF(2)에서 유의성이 있었다 ( $P<0.05$ ) (Table 8, Fig. 13). Insulin의 농도는 정상군에 비하여 대조군은 유의하게 높은 농도를 보였으며 ( $P<0.01$ ), 대조군에 비하여 모든 약물 투여군은 낮은 농도를 나타냈으나 유의성은 없었다(Table 8, Fig. 14).

혈액 분석 결과를 볼 때 혈중 LDL 대한 영향은 CIPPDF(1)과 CIPPDF(2)에서 유의한 감소를 보였다. 다른 지표들에서는 유의한 변화가 나타나지 않았다. 담 또는 어혈은 고지혈증과 유사하며 식습관에 밀접한 관계가 있다고 한다<sup>23)</sup>. 따라서 비만의 치료에 있어 체지방의 감소를 목적으로 습담을 제거하는 방식과 혈의 순환을 촉진하는 것이 필요할 것으로 생각된다. 계지복령환의 합방을 통해 혈중 LDL 콜레스테롤에 영향을 줄 수 있을 것으로 기대된다.

대사성 증후군의 진단기준은 미국 콜레스테롤 교육 프로그램(NCEP)에서 제시한 증가된 허리둘레, 상승된 혈압, 높은 중성지방, 저하된 고밀도 지단백콜레스테롤, 상승된 공복 시 혈당으로 정의된다<sup>24)</sup>. 그러나 본 실험에서 혈중 glucose의 농도는 CIPPDF(2)에서 오히려 높은 농도를 보인 것은 대사증후군의 혈당수치 양상과 상반된 결과를 보여 추후 혈중 glucose 부분에서는 추가 실험이 필요할 것으로 보인다.

CIPP, CIPPDF의 비만 조절작용이 어떠한 작용기전을 통해서 발휘되는 지를 밝히기 위해 에너지대사가 활발한 간세포와 골격근세포 및 대사질환과 연관이 높은 내장지방조직에서 지방산화 효소(MCAD, ACOX, VLCAD)와 지방생성 유전자(FAS mRNA, C/EBP $\alpha$  mRNA, PPAR $\gamma$  mRNA) 수준을 측정하여<sup>25)</sup>, 비만 조절의 *in vivo* 분자생물학적 분석을 하였다.

지방산산화의 손상은 비만과 대사질환을 유발하는 것으로 알려져 있으며, 약용식물에 의한 peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ (PPAR $\alpha$ )의 조절은 이들 질환들을 치료, 예방할 수 있는 것으로 보고되어 있다. PPAR $\alpha$ 는 핵에 존재하는 호르몬 수용체의 한 종류로서 지질과 지단백질대사에 관련된 많은 유전자를 조절하는 transcription factor이다. 특히 지방산 산화효소의 발현을 촉진하여 비만과 지질대사를 조절하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 quantitative real-time PCR을 이용하여 지방산  $\beta$ -산화와 관련된 PPAR $\alpha$  표적유전자 발현에 미치는 CIPP, CIPPDF의 효과를 조사하였다. 표적 유전자로는 미토콘드리아에 존재하는 지방산  $\beta$ -산화효소인 medium chain acyl-CoA dehydrogenase(MCAD), very long chain acyl-CoA dehydrogenase(VLCAD)와 페록시좀에 존재하는 지방산  $\beta$ -산화효소인 acyl-CoA oxidase(ACOX)의 mRNA 수준을 조사하였다.

먼저 CIPP 및 CIPPDF에 의한 비만 억제 효과가 간의 PPAR $\alpha$  표적유전자의 발현 때문인지를 알아보기 위하여 PPAR $\alpha$ 의 표적으로서 peroxisome에서 지방산의  $\beta$ -산화에 관여하는 효소인 acyl-CoA oxidase

(ACOX)와 3-ketoacyl-CoA thiolase(thiolase)와 간의 mitochondria에서 작용하는 very longchain(VLCAD), long chain(LCAD), medium chain(MCAD)과 short chain acyl-CoA dehydrogenase(SCAD) mRNA 수준을 측정하였다<sup>26)</sup>.

간에서의 지방산  $\beta$ -산화효소 유전자 발현의 변화는 ACOX mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군이 감소하였고, 대조군에 비해 모든 실험군은 증가하였으나 유의하지 않았다. MCAD mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군이 감소하였고, 대조군에 비해 모든 실험군이 증가하였고, CIPPDF(1), CIPPDF(2)에서 유의하게 증가하였다( $P < 0.05$ ). 반면 VLCAD mRNA 발현은 정상군에 비해 대조군이 감소하였고 대조군에 비해 모든 실험군이 증가하였으나 유의하지 않았다(Fig. 15).

지방생성을 조절하는 대표적인 효소에는 fatty acid synthase(FAS), stearoyl-CoA desaturase 1(SCD1)가 있으며, 이들 효소들은 여러 전사인자들의 조절을 받는데 이들 전사인자에는 peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ (PPAR $\gamma$ ), CCAAT/enhancer-binding protein  $\alpha$ (C/EBP $\alpha$ )가 있다. 따라서 CIPP, CIPPDF가 이들 유전자의 발현을 조절하여 비만을 조절하는지 알아보려고 이들 유전자들의 mRNA 발현을 측정하였다.

간에서의 지방생성 유전자 발현의 변화는 FAS mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군에서 유의하게 증가하였고( $P < 0.05$ ), 대조군과 비교하여 모든 실험군이 증가하였고, CIPP, CIPPDF(1)에서 유의하게 증가하였다( $P < 0.05$ ). SCD1의 경우 정상군에 비해 대조군이 증가하였고, 대조군에 비해 실험군은 영향을 받지 않았다.

C/EBP $\alpha$  mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군이 증가하였고, 대조군에 비해 CIPPDF(1)에서 유의하게 증가하였다 ( $P<0.05$ ). PPAR $\gamma$  mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군이 증가하였고, CIPPDF(1)에서 유의하게 감소하였다( $P<0.05$ )(Fig. 16).

지방조직은 내장지방과 피하지방이 구성성분 및 생리적 작용 등에서 큰 차이를 보이며, 내장지방이 비알코올성 지방간질환, 인슐린 저항성, 제 2형 당뇨 등의 대사증후군과 관련이 깊으므로 생식기 주변의 백색지방조직(epididymal white adipose tissue)을 사용하여 유전자 발현을 조사하였다.

내장지방에서의 지방산  $\beta$ -산화효소 유전자 발현의 변화는 ACOX mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군이 증가하였고, 대조군에 비해 CIPP는 유의하게 증가하였고( $P<0.05$ ), CIPPDF(1)는 유의하게 감소하였다( $P<0.05$ ). MCAD mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군이 감소하였고, 대조군에 비해 CIPP, CIPPDF(1), CIPPDF(2)는 유의하게 증가하였다( $P<0.05$ ). VLCAD mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군은 유의하게 감소하였고( $p<0.05$ ), 대조군에 비해 CIPP, CIPPDF(2)는 유의하게 감소하였다( $P<0.05$ )(Fig. 17).

내장지방에서의 지방생성 유전자 발현의 변화는 C/EBP $\alpha$  mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군이 유의하게 증가하였고( $P<0.05$ ), 대조군에 비해 실험군은 영향을 받지 않았다. SCD1 mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군은 증가하였고, 대조군에 비해 CIPPDF(1), CIPPDF(2)는 유의하게 감소하였다( $P<0.05$ )(Fig. 18).

골격근은 간과 더불어 대사가 가장 활발히 일어나는 조직 중의 하나이다. 골

격근은 지질대사에 중요한 역할을 하는 조직으로서 비만, 제 2형 당뇨와 같은 지질대사 이상으로 발병하는 대사질환과 관련이 깊다. 비만인 사람의 골격근에서 지방산산화가 감소하며, 마른 사람에 비하여 비만인 사람에서 골격근의 지방 함량이 더 높은 것으로 알려져 있다. 또한 골격근은 지방산산화를 촉진하는 PPAR $\alpha$ 의 발현이 높은 조직이다. 따라서 본 연구에서는 quantitative real-time PCR을 이용하여 지방산  $\beta$ -산화와 관련된 PPAR $\alpha$  표적유전자 발현에 미치는 CIPP와 CIPPDF의 효과를 조사하였다.

골격근에서의 지방산  $\beta$ -산화효소 유전자 발현의 변화는 MCAD mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군이 유의하게 감소하였고( $P<0.05$ ), 대조군에 비해 CIPPDF(1), CIPPDF(2)는 유의하게 증가되었으며 ( $p<0.05$ ) CIPP는 유의하게 감소하였다 ( $p<0.05$ ). VLCAD mRNA의 경우 정상군에 비해 대조군이 증가하였고, 대조군에 비해 CIPPDF(1), CIPPDF(2)는 유의하게 증가하였다( $p<0.05$ )(Fig. 19).

골격근에서의 방생성 유전자 발현의 변화는 FAS는 정상군에 비해 대조군은 감소하였고, 대조군에 비해 모든 실험군은 감소하였으나 유의하지 않았다. SCD1 mRNA는 정상군에 비해 대조군이 증가하였고, 대조군에 비해 모든 실험군에서 영향을 받지 않았다. C/EBP $\alpha$  mRNA는 정상군에 비해 대조군이 증가하였고, 대조군에 비해 CIPP는 유의하게 증가되었다( $p<0.05$ ). PPAR $\gamma$  mRNA는 정상군에 비해 대조군이 증가하였고, 대조군에 비해 CIPP는 유의하게 증가하였다 ( $p<0.05$ )(Fig. 20).

이상의 결과를 요약하면, CIPP의 경

우 단일 처방으로는 체중과 식이효율 지방의 무게 감소에서 유의한 효과가 없었다. CIPPDF(1)는 체중증가량과 식이효율이 유의하게 감소하였다. CIPPDF(2)는 지방의 무게를 감소시켰고 CIPPDF(1)과 CIPPDF(2)는 혈중 지질대사 수치에서 혈중 LDL농도를 유의하게 감소시켰다. 이상의 결과를 강지환의 선행연구를 비교해볼 때<sup>27)</sup> DF(2)(DF 600 mg/kg)보다 CIPPDF(1)(DF와 CIPP을 각각 300 mg/kg 복합 투여)이 DF의 용량이 300 mg/kg 적었음에도 체중증가량과 식이효율의 감소에 효과가 있는 것으로 보아 어혈을 제거하는 CIPP의 혼합 투여가 비만 개선에도 영향을 미칠 수 있는 것으로 생각되었다. 또한 혈중 LDL수치 개선효과는 비만과 대사질환에서 CIPP와 DF의 혼합사용이 선행연구에서 DF 단독 사용에 비해 혈중 지질대사를 개선하는 효과가 있는 것으로 보인다. 지방산 산화효소와 지방생성인자에서 CIPPDF(1), CIPPDF(2)가 지방산 산화효소 유전자의 mRNA 발현을 크게 증가시켰다. CIPPDF(1)과 CIPPDF(2)는 간조직과 내장지방의 MCAD mRNA, 골격근의 VLCAD mRNA를 증가시켰다. 지방생성 유전자의 mRNA 발현의 경우 CIPPDF(1)은 간조직의 PPAR $\gamma$  mRNA와 내장지방의 SCD1 mRNA 발현을 감소시켰고, CIPPDF(2)는 내장지방의 SCD1 mRNA 발현을 감소시켰다. 따라서 CIPPDF(1), CIPPDF(2)는 지방산 산화효소와 지방생성 유전자의 발현을 조절하여 지방조직의 지방축적 및 비만을 효과적으로 억제할 수 있을 것으로 보인다.

이 실험에서 비만과 지질대사와의 연관성에서 볼 때 비만의 치료에서 어혈을

제거하는 계지복령환과 비만에 효과가 있는 강지환의 혼합사용은 비만의 직접적인 체중감량이나 식이효율 등에도 개선효과를 보이며 비만에 동반되는 대사장애를 유발하는 지질대사 등 지질대사와 지방산 분해, 생성인자의 조절에도 영향을 줄 수 있는 것으로 보인다. 그러나 실험 결과에서 대사장애와 관련된 LDL 수치를 제외한 나머지 수치들이 유효하지 않고 *in vivo* 분석이 일관되지 않은 부분 등은 실험의 한계로 보인다. 추후 실험 개체수를 늘리고 암컷 마우스의 호르몬 변화에 따른 지질수치 영향 등을 고려하여 난소를 제거하거나 암컷 마우스의 배란주기에 맞추어 혈액 검사를 시도하는 등의 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## V. 결 론

고지방 식이 Ob/Ob 마우스 모델을 이용하여 강지환(DF)과 계지복령환(CIPP)의 개별 및 복합투여가 체중감소와 체내 지방량을 개선하는지 알아 보기위해 고지방식이 유도 비만 마우스를 사용하여 실험한 결과는 아래와 같다.

1. 체중증가량은 정상군에 비해 대조군이 유의하게 증가하였으며( $P < 0.001$ ), 비만 유도 최종일에 대조군에 비하여 CIPPDF(1)에서 유의하게 감소하였다( $P < 0.01$ ).
2. 식이효율은 정상군에 비하여 대조군이 유의하게 증가하였으며( $P < 0.001$ ), 대조군에 비하여 CIPPDF(1)에서 유의하게 감소하였다( $P < 0.01$ ).

3. 지방무게는 정상군에 비하여 대조군이 유의하게 증가하였고( $P<0.001$ ), 대조군에 비하여 CIPPDF(2)에서 EAT가 유의하게 감소하였다( $P<0.05$ ).
4. 혈액 검사 상 지질대사 및 당대사와 관련하여, 혈중 LDL 농도는 정상군에 비하여 대조군이 유의하게 증가하였고( $P<0.01$ ), 대조군에 비하여 CIPPDF(1), CIPPDF(2)에서 유의하게 감소하였다( $P<0.05$ ).
5. *In vivo* 표적 유전자 발현효과 결과는 아래와 같다.

- 1) 지방산 산화효소 유전자의 mRNA 발현에서 MCAD mRNA는 정상군에 비하여 대조군이 간, 내장지방에서 감소, 골격근에서는 유의하게 감소하였고( $P<0.05$ ), CIPPDF(1)과 CIPPDF(2)는 간, 내장지방에서 유의하게 증가하였다( $P<0.05$ ). VLCAD mRNA의 경우 골격근에서 정상군에 비해 대조군이 증가하였고, 대조군에 비해 CIPPDF(1)과 CIPPDF(2)가 유의하게 증가하였다( $P<0.05$ ).
- 2) 지방생성 유전자의 mRNA 발현의 경우 PPAR $\gamma$  mRNA는 간에서 정상군에 비해 대조군이 증가하였고, 대조군에 비해 CIPPDF(1)에서 유의하게 감소하였다( $P<0.05$ ). SCD1 mRNA의 경우 내장지방에서 정상군에 비해 대조군이 증가하였고, 대조군에 비해 CIPPDF(1)과 CIPPDF(2)가 유의하게 감소하였다( $P<0.05$ ).

결론적으로 CIPP는 부인과 질환에 다용되는 한약처방으로 DF와 혼합처방 시 체중증가량과 식이효율을 감소시키고 혈중 지질대사수치를 개선하며 지방산 산

화효소를 증가시키고 지방산생성인자를 감소시켜 비만과 지방대사수치의 개선에도 효과가 있음을 확인하였다. 비만을 동반한 여성 질환의 치료에서 혼합투여 시에 효과를 기대해 볼만 하다.

Received : Jan 24, 2018

Revised : Jan 26, 2018

Accepted : Feb 14, 2018

## References

1. Lee JS. A Case Study on Infertility with Obesity and Polycystic Ovary. Journal of Korean Oriental Association for Study of Obesity. 2005;5(1):157-63.
2. Min EG. The Polycystic Ovary Syndrome. Korean Journal of Obstetrics and Gynecology. 2008;8(51):805-19.
3. Lee HJ, et al. Prevalence of Metabolic Syndrome in Young Korean Women with Polycystic Ovary Syndrome. Diabetes and Metabolism Journal. 2006;30(4):285-91.
4. Kim DH. A Case Study on Obese Patient with Oligomenorrhea and Polycystic Ovary. Journal of Society of Korean Medicine for Obesity Research. 2008;8(1):101-8.
5. Park JH, et al. Efficacy and Adverse Events of Bangpungtongseong-san (Bofutsusho-san) and Bangkihwangkitang(Boiogiot-tang) by Oriental Obesity Pattern Identification on Obese Subjects: Randomized, Double Blind, Placebo-controlled Trial. J Oriental Rehab Med.

- 2011;21(2):265-78.
6. Jang DH, et al. Comparison of Gangjihwan and Combination of Gangjihwan and Gamisochehwan in the Improvement Effects of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in a High Fat Diet-Fed NAFLD Mouse Model. *Herbal Formula Science*. 2014;22(1):167-76.
  7. Kim SJ, et al. Effect of Ephedra Sinica and Evodia Rutaecarpa on Resting Metabolic Rate in Obese Pre-menopausal Women during Low-calorie Diet: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Journal of Korean Oriental Association for Study of Obesity*. 2004;4(1):45-54.
  8. Cho JH, et al. Obesity Effect of Panax Ginseng in Animal Models: Study Protocol for a Systematic Review and Meta-Analysis. *J Korean Med Obes Res*. 2017;17(1):37-45.
  9. Song MY, Jung HW, Park YK. Antiobesity Effect of Water Extract of Coix lacrymajobi var. mayuen in High Fat Fed C5BL/6 Mice. *J Korean Med Obes Res*. 2016;16(1):27-35.
  10. Song YK, Lim HH. Clinical Application of Ma Huang in the Obesity Treatment. *Journal of Society of Korean Medicine for Obesity Research*. 2007;7(1):1-7.
  11. Cho JH. A Pilot Study of the Difference between Gyejibongnyeong-hwan and Gyejibongnyeong-hwan combined Acupuncture Therapy on the Primary Dysmenorrhea. *J Korean Obstet Gynecol*. 2007;20(1):161-8.
  12. Jang SB, et al. The Analysis of the Experimental Research Trend of Efficacy of Gyejibokryeong-hwan. *J Korean Obstet gynecol*. 2016;29(2):99-112.
  13. Kim BC, et al. Comparison of Pakistani Ephedra Herba and Chinese Ephedra Herba Containing Gangjihwan in the Improvement Effects of Weight Loss in a High Fat Diet-Fed Obese Mice. *Herbal Formula Science*. 2014;22(2):63-76.
  14. Yoo JS, et al. Comparison of Gangjihwan-1, 2, 3, 4 and Combination of Gangji-hwan-1 and Gamisoche-hwan in the Reducing Effects of Body Weight in a High Fat Diet-Fed Obese Mice. *J Korean Med Obes Res*. 2015;15(1):9-23.
  15. Yang YI, et al. Anti-hyperlipidemia Effect of Gyeongshingangjeehwan(GGEx) in High Fat induced Obese Male Micro-pigs. *Herbal fomula science*. 2006;14(2):45-56.
  16. Lee MS, Nho HS. Characteristics of Lipid Metabolism during and after a Bout of Prolonged Exercise in Two Types of Obese Women. *Korean Journal of Sport Science*. 2005;16(2):64-73.
  17. Yun JW, et al. Relationship between body fat distribution and atherosclerotic risk factors in Korean populations. *Korean Journal of Medicine*. 2002;63(2):177-85.
  18. Kim SJ, Shin SW, Kim HJ. Obesity from the view point of metabolic rate. *Journal of Korean Oriental Association for Study of Obesity*. 2003;3(1):95-105.
  19. Jeong JH, et al. Moderate exercise

- training inhibits lipid metabolism and macrophage infiltration in high fat diet-induced obese mice. *Exercise Science*. 2015;24(2):162-7.
20. Nedergaard J. Brown adipose tissue: a panacea for the metabolic syndrome?. *International Conference on Diabetes and Metabolism*. 2015;2015(1):3.
21. Lee YJ, et al. Beneficial effect of Combination with Korean Red Ginseng, *Gastrodia Rhizoma* and *Polygoni Multiflori* on Cholesterol and Erectile Dysfunction in Hyperlipidemia rats. *Kor. J. Herbol*. 2015;30(6):69-75.
22. Roh JS, et al. *ShiMassa Medicata Fermentata* improves fatty liver in high fat diet-fed nonalcoholic fatty liver disease's mouse model. *Kor. J. Herbology*. 2014;29(2):23-31.
23. Lee SH, Park SD, Park WH. Antioxidant effects of *Geagibokrounghwan*(桂枝茯苓丸) in experimental mouse fed cholesterol. 1999;8(1):35-49.
24. Kim HJ, et al. Effects of Long-term exercise training on metabolic syndrome factors in elderly women. *Korean Journal of Sport Science*. 2004;15(2):19-31.
25. Oh YJ, et al. A Molecular Study of *Sopungsungi-won*(*Shufengshunqiuyan*) about Regulation of PPARs in Mouse NMu2Li Liver Cells and C2C12 Skeletal Muscle Myogenic Progenital Cells. *J. of Oriental Neuropsychiatry*. 2009;20(1):147-64.
26. Lee HY, et al. Molecular biologic mechanism of obesity by GGEx18. *Kor. J. Herbology*. 2011;26(1):65-74.
27. Baek SY, et al. *Gangjihwan* Reduces Body Weight Gain in a ob/ob Female Mice. *Herbal Formula Science*. 2017;25(2):193-207.