

고지방식이 유도 비만 마우스에서 창출, 지모, 육계, 목단피 혼합추출물의 항비만 및 항당뇨 효능 연구

정수민^{1†} · 설영현^{1†} · 전가윤¹ · 박민하¹ · 유이¹ · 강석용² · 박용기^{1,2} · 정효원^{1,2}

¹동국대학교 한의과대학 본초학교실, ²동국대학교 한방신약개발센터

Antiobesity and Antidiabetic Effects of Polyherbal Extract with *Atractylodis Rhizoma*, *Anemarrhenae Rhizoma*, *Cinnamomi Cortex*, and *Moutan Radicles Cortex* in High Fat Diet-induced Obesity Mice

Su Min Jung^{1†}, Young Hyun Seol^{1†}, Ka Yoon Chun¹, Min Ha Park¹, Yi Liu¹, Seok Yong Kang², Yong-Ki Park^{1,2}, Hyo Won Jung^{1,2}

¹Department of Herbology, College of Korean Medicine, Dongguk University, ²Korean Medicine R&D Institute, Dongguk University

Received: October 28, 2020
Revised: November 22, 2020
Accepted: December 4, 2020

[†]These authors contributed equally to this work as co-first authors.

Correspondence to: Yong-Ki Park
Department of Herbology, College of Korean Medicine, Dongguk University, Dongdaero 123, Gyeongju 38066, Korea
Tel: +82-54-770-2647
Fax: +82-54-770-2647
E-mail: yongki@dongguk.ac.kr

Correspondence to: Hyo Won Jung
Department of Herbology, College of Korean Medicine, Dongguk University, Dongdaero 123, Gyeongju 38066, Korea
Tel: +82-54-770-2647
Fax: +82-54-770-2647
E-mail: tenzing2@hanmail.net

Copyright © 2020 by The Society of Korean Medicine for Obesity Research

Objectives: In this study, we investigated the antiobesity and antidiabetic effects of polyherbal extract, DM2 consisting of *Atractylodis Rhizoma*, *Anemarrhenae Rhizoma*, *Cinnamomi Cortex*, and *Moutan Radicles Cortex* in high fat diet-induced obesity mice.

Methods: DM2 extract was prepared with a hot water. Six-week-old male C57BL/6N mice were fed a high-fat diet (HFD) for 8 weeks and then administrated with DM2 extract (500 mg/kg, p.o.) for 4 weeks. The changes of physiological markers, body weight (BW), food and water intakes, and the levels of fasting blood glucose (FBG) were measured once a week for 4 weeks in mice. The the serum levels of glucose, insulin, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), total cholesterol (T-CHO), triglyceride, and low density lipoprotein cholesterol in sera were measured in mice using automatic chemical analyzer and enzyme linked immunosorbant assay. We also observed the histological changes of liver and pancreatic tissues with Hematoxylin & Eosin staining.

Results: In physiological change, the increases of BW, calorie intake, and FBG in HFD-induced obese mice were significantly decreased after administration of DM2 extract for 4 weeks. The decrease of water intake was significantly increased in DM2 extract-administrated mice. In serological change, the administration of DM2 extract in obesity mice was significantly decreased the serum levels of glucose, insulin, T-CHO, AST, and ALT levels. We also found that DM2 extract inhibited the increase of lipid droplets in liver and the structural destruction of pancreatic tissues in obesity mice.

Conclusion: Our study demonstrated that DM2 extract has antiobesity antidiabetic effects with body weight loss, decrease of glucose and insulin levels, and lipid accumulation on liver tissue.

Key Words: Obesity, Diabetes mellitus, High-fat diet, *Atractylodis Rhizoma*, *Anemarrhenae Rhizoma*, *Cinnamomi cortex*, *Moutan radicles cortex*

서론

비만(obesity)은 체내 지방이 비정상적으로 많이 축적된 상태로 정상 체중 이상을 의미한다. 최근 10년간 우리

나라 비만 환자는 크게 증가하여 유병률이 35.7%에 이르고 있어서 비만 문제의 심각성과 이를 예방하고 관리하기 위한 노력이 요구되고 있다¹⁾. 비만은 에너지 소모량보다 섭취량이 많은 상태에서 체지방 증가로 발생하며 비만 환

자의 90%가 과도한 음식 섭취에 따른 칼로리 과잉과 상대적인 활동량 감소로 인한 1차성 비만에 해당한다. 현재 비만 치료 및 예방을 위해 식사조절, 운동, 행동조절 등의 방법과 보조적 치료로 식욕 억제제, 지방흡수 차단제, 당뇨병 치료제 등의 약물이 처방되고 있지만 다양한 부작용 문제 등 아직은 마땅한 치료제가 없는 실정이다.

비만은 비만으로 그치는 것이 아니라 제2형 당뇨병, 이상지질혈증, 고혈압, 뇌졸중 등 각종 만성 질환을 동반하게 하고, 특히 당뇨병 발생 위험률을 5-13배 더 증가시키는 것으로 알려져 있다²⁾. 따라서 비만 개선은 인슐린 저항성 개선과 혈당 조절을 통한 당뇨병 치료에 효과적인 방안이라 할 수 있다.

한의학에서 비만한 사람을 비고육인(肥膏肉人)으로 구분하고 있으며^{3,4)}, 비만을 비만(肥胖), 비만증(肥胖症)⁵⁾, 비만병(肥胖病)⁶⁾으로 보아 보기건비(補氣健脾), 화습이수거담(化濕利水去痰), 통부소도(通腑消導), 활혈통락(活血通絡) 등의 치료법을 활용하고 있다^{7,8)}. 또한 담음(痰飲), 한습(寒濕), 중풍(中風), 백대(白帶), 적백탁(赤白濁), 형감기쇠(形監氣衰), 소단(消癰) 등 비만에서 나타나는 주요 병증에 대하여 언급하고 있다⁹⁾. 현재 한방 임상에서 비만 치료에 마황(麻黃), 산사(山查), 대황(大黃) 등 다양한 한약¹⁰⁾과 비감환(肥感丸), 체감행혈의이인탕(體減行血薏苡仁湯), 체감보혈안신탕(體減補血安神湯), 체감방풍통성산(體減防風通聖散) 등 다양한 처방이 활용되고 있으며 이들에 대한 현대 약리효능 연구도 활발히 이루어지고 있다⁸⁾.

본 연구에서는 거풍제습(祛風除濕), 발한해표(發汗解表), 조습건비(燥濕健脾) 효과로 비만에서의 습(濕)과 담음(痰飲)에 의한 간울(肝鬱), 기허(氣虛), 비허(脾虛), 양허(陽虛), 담음(痰飲) 등의 증상을 개선할 것으로 보이는 창출(蒼朮)(*Atractylodes lancea* DC. *A. chinensis* Koidzumi, *Atractylodis Rhizoma*)¹¹⁾과 청열사화(淸熱瀉火)로 윤조골장(潤燥滑腸), 해열(解熱), 거담(祛痰)하여 장부(臟腑)의 열(熱)을 제거할 수 있는 지모(知母)(*Anemarrhena asphode-*

loides Bunge, Anemarrhenae Rhizoma)¹²⁾, 보원양(補元陽), 난비위(暖脾胃), 통혈맥(通血脈) 효과로 비허(脾虛), 양허(陽虛), 어혈(瘀血) 등의 증상을 개선할 것으로 보이는 육계(肉桂)(*Cinnamomum cassia*, *Cinnamomi Cortex*)¹³⁾ 및 청열량혈(淸熱涼血), 활혈산어(活血散瘀) 효과로 혈열(血熱)과 어혈(瘀血)을 제거하여 비만 증상을 개선시킬 수 있다고 보아지는 목단피(牡丹皮)(*Paeonia suffruticosa* Andrews, *Moutan Radicis Cortex*)^{14,15)}로 구성된 복합추출물(DM2)이 비만 개선과 인슐린 분비 및 혈당 조절을 통해 당뇨병을 개선시킬 수 있는지 알아보기 위하여 고지방 식이로 비만이 유도된 마우스에서의 효능을 확인하였다.

재료 및 방법

1. 복합추출물 제조

실험에 사용한 창출, 지모, 육계, 목단피는 광명당제약(울산, 한국)에서 각 규격약재를 구입한 후 동국대학교 한의과대학 본초학교실에서 정선한 뒤 추출물 제조에 사용하였으며, DM2 복합추출물의 구성은 Table 1과 같다.

DM2 추출물은 각 약재를 일정 구성으로 혼합하여 정수된 물 1.6 L과 함께 용기에 넣고 95°C에서 3시간 동안 1차 추출한 다음 동일한 비율로 2차 추출을 실시하였다. 추출물은 1호 와트만 거름종이(Whatman paper filter No.1; Whatman, Maidstone, UK)로 여과하였으며, 회전식 감압 농축기를 이용하여 농축한 다음 동결건조기를 이용하여 건조시켰다. 이때 수율은 41.56%였다. DM2 열수추출물은 냉장보관하면서 실험 직전에 생리식염수에 적정 농도로 완전 용해시킨 후 동물실험을 위한 시험약물로 사용하였다.

2. 당뇨병 동물모델 제작

당뇨병 동물모델을 제작하기 위해 사용한 마우스는 수컷 5주령 C57BL/6계 마우스(18-19 g)를 (주)코아텍(Pyongtaek,

Table 1. Composition of DM2

Scientific name	Latin name	Weight (g)	Yield (%)
<i>Atractylodes chinensis</i> Koidzumi	<i>Atractylodis Rhizoma</i>	32	
<i>Anemarrhena asphodeloides</i> Bunge	<i>Anemarrhenae Rhizoma</i>	64	41.56
<i>Cinnamomum cassia</i> Presl	<i>Cinnamomi Cortex</i>	32	
<i>Paeonia suffruticosa</i> Andrews	<i>Moutan Radicis Cortex</i>	32	

Korea)에서 구입하여 1주일 동안 순화시킨 후 사용하였다. 전체 실험기간 동안 사육 환경은 일광주기(light/dark cycle)는 12시간, 온도는 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도는 $50\pm 10\%$ 로 유지하며 정수된 물을 섭취하도록 했다. 당뇨병 모델 유발 기간 동안 정상군은 일반 고형사료(3.1 kcal 14% protein; Teklad, Envigo, WI, USA)를 공급하였고, 당뇨병 유발군은 12주간 고지방사료(5.24 kcal 60% fat, 30% carbohydrate; Teklad)를 급여하였다. 모든 실험동물의 관리 및 처치는 식약처 동물보호법 13조 규정 및 동국대학교 동물실험윤리위원회에서 심의를 받아 이에 준하여 실험하였다(IACUC-2020-10).

실험군은 다음과 같이 나누어 실험하였다. 먼저 정상군을 제외한 모든 실험군에 고지방식이(high fat diet, HFD)를 급여한 뒤 몸무게 증가가 10% 이상 일어난 개체들을 선별하여 당뇨병 유발 대조군(HFD군)으로 두었다. 대조군에 DM2 추출물을 500 mg/kg/body weight (b.w.)를 투여한 약물군(DM2군), 대조군에 항당뇨약인 메트포민(metformin, Met)을 500 mg/kg/b.w. 용량으로 투여한 양성 대조군(Met군)으로 나누었으며 각 군에는 5마리씩 배치하였다. 약물 투여군(DM2군, Met군)은 고지방식이를 8주간 급여한 뒤 4주 동안은 고지방식이를 유지하면서 매일 정해진 시간에 1회씩 경구 투여하였다.

모든 실험 종료 후 실험동물을 12시간 금식시킨 뒤 의료용 산소 30%, 아산화질소 70% 혼합 이소플루란(isoflurane)을 흡입시켜 마취하였으며 복대 정맥 채혈을 통해 혈액을 얻었다. 또한 마우스를 희생시켜 간과 췌장 조직을 분리하여 조직관찰표본 제작에 사용하였다.

3. 생리현상 변화 측정

비만과 당뇨병 발생에 따른 생리적 변화를 확인하기 위하여 약물을 투여하는 동안 매 주 1회 체중 변화(body weight, BW)를 측정하였으며, 모든 실험동물에게 매 주 일정한 양의 사료 및 물을 급여하고 남은 양을 측정하여 섭취량(food intake)의 변화를 측정하였다. 또한 섭취량을 이용하여 실험 기간 동안 섭취한 총열량(total calorie intake, kcal)을 계산하였다.

4. 혈액조성 변화 측정

비만과 당뇨병 발생에 따른 혈액조성 변화를 확인하기 위하여 약물 투여기간에 매 주 1회 12시간 금식시킨 뒤 혈당

측정기(Accu-Check; Roche Diabetes Care GmbH, Mannheim, Germany)를 이용하여 꼬리정맥에서 채취한 혈액으로부터 혈당을 측정하였다. 또한 실험 종료 후 혈액을 수집한 뒤 혈청을 분리하여 자동혈액분석기(automatic clinical biochemistry analyser, FDC7000i; Fujifilm Co., Tokyo, Japan) 및 효소면역반응법(ELISA)으로 포도당(glucose), 인슐린(insulin), 총콜레스테롤(total cholesterol, T-CHO) 및 간 손상지표인 aspartate aminotransferase (AST)와 alanine aminotransferase (ALT)의 농도를 측정하였다. 각 지표의 농도는 측정 키트 내 표준용액을 기준으로 계산하였다.

5. 조직병리 변화 관찰

실험 종료 후 마우스로부터 간과 췌장 조직을 분리 후 4% paraformaldehyde 용액에서 24시간 이상 고정시켰다. 그 후 10~30% sucrose 용액으로 가라앉힌 뒤 자동조직과정 처리기를 통해 탈수, 투명, 침투화 과정을 거쳤다. 이를 파라핀으로 포매한 뒤 조직절편기(microtome)로 4~6 um 두께의 절편을 제작하였다. 각 조직의 Hematoxylin & Eosin (H&E) 염색을 위해 조직절편을 슬라이드에 부착한 후 포매된 파라핀을 xylene으로 제거하였다. 그 후 hematoxylin 용액으로 6분간 염색을 실시하였고, 이를 0.1~1% HCl이 각각 포함된 75% alcohol로 수세 후 eosin 용액으로 3분간 대조 염색을 하였다. 95~100% 알코올로 염색된 슬라이드를 탈수하고 투명과정을 거쳤다. 이후 permount로 봉입하고 광학현미경으로 구조적 변화를 관찰하였다.

6. 통계분석

실험결과는 GraphPad Prism 5.0 분석프로그램(GraphPad Software, La Jolla, CA, USA)을 이용하여 분석하였으며, 약물을 처리하지 않은 정상군과 대조군 또는 대조군과 약물군 간 유의성을 one-way analysis of variance와 Turkey's test를 통해 검정하였다. 유의성은 confidence interval 95% 이상인 경우에만 유의성이 있는 것으로 판정하였으며 이를 표기하였다.

결과

1. 생리적 변화에 대한 효과

고지방 식이 유도 비만 마우스에서 체중(BW), 칼로리 섭취(calorie intake), 수분 섭취(water intake) 증가에 대한

DM2 추출물의 개선 효과를 확인한 결과, 체중 변화에서는 실험 종료 시 정상군(31.75±2.36 g)에 비해 고지방식이 12주 실시한 당뇨 유발 대조군(HFD군, 46.00±2.53 g)에서 유의한(P<0.001) 체중 증가가 관찰되었으며, DM2 추출물 투여군(DM2군, 44.20±1.10 g)에서 HFD군에 비해 감소하였으나, 통계적 유의성은 나타나지 않았으며, 메트포민 투여군(Met군, 40.60±3.36 g, P<0.05)에서는 HFD군에 비해 유의적으로 감소하였다(Fig. 1A).

칼로리 섭취량 변화에서는 정상군(275.90±6.93 kcal)에 비해 HFD군(344.09±11.59 kcal)에서 유의적인(P<0.01) 증가가 나타났고, 이는 DM2군(331.17±11.67 kcal, P<0.05)에서 HFD군에 비해 유의적으로 감소하였으며, Met군

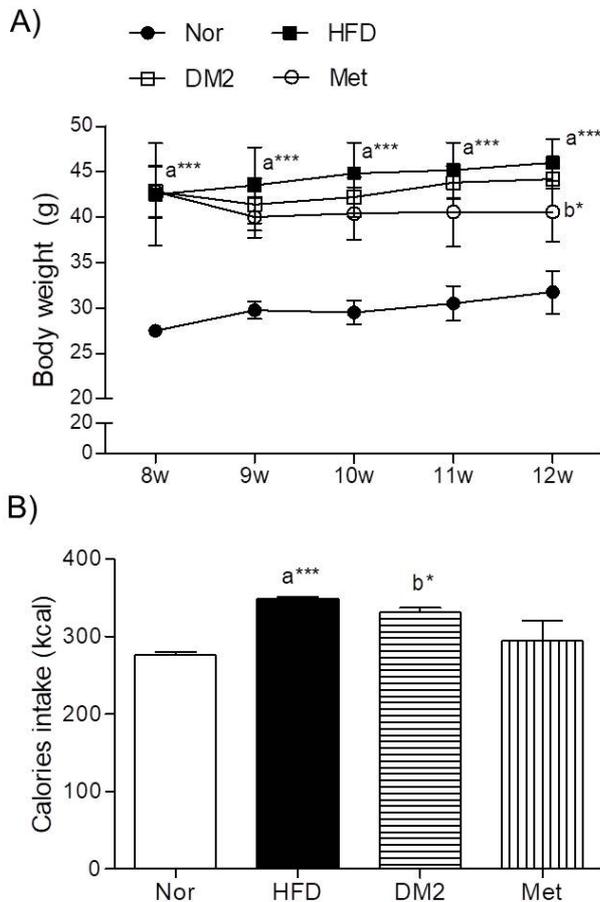


Fig. 1. Effects of DM2 extract on the physiological changes in high fat diet-induced obesity mice. (A) Body weight was measured in mice once a week. (B) Calorie intake was measured in mice at 12 week. Nor: normal group, HFD: high fat diet-induced obesity group, DM2: high fat diet+DM2 500 mg/kg administration group, Met: high fat diet+metformin 500 mg/kg administration group. Data were presented as mean±standard error (n=5 per a group). *P<0.05, and ***P<0.001 vs. normal (a) or control group (b).

(294.49±52.34 kcal)에서는 HFD군에 비해 감소하였으나 통계적 유의성은 나타나지 않았다(Fig. 1B).

따라서 DM2 추출물은 비만에 의한 체중 증가와 칼로리 증가를 개선시킬 수 있는 것으로 나타났다.

2. 혈당 변화에 대한 효과

비만 마우스에서 DM2 추출물의 당뇨 발생에 대한 개선 효과를 확인하기 위하여 공복 혈당(fasting blood glucose)을 측정하였다. 12주간의 고지방식이 결과 공복 혈당 수치는 정상군(104.50±6.45 mg/dL)에 비해 HFD군(180.50±13.74 mg/dL)에서 유의적으로(P<0.001) 증가하였으며, 이러한 증가는 DM2 추출물(159.60±8.08 mg/dL) 및 메트포민(136.80±12.56 mg/dL, P<0.001) 투여에 의해 감소하였다(Fig. 2).

3. 혈액조성 변화에 대한 효과

비만 마우스에서 DM2 추출물의 혈액조성 변화에 대한 개선 효과를 확인하기 위해 혈청에서의 포도당(glucose), 인슐린(insulin), 총콜레스테롤(T-CHO), AST, ALT의 농도를 측정하였다. 그 결과, 포도당 수치는 정상군(137.8±53.11 mg/dL)에 비해 HFD군(295.4±53.36 mg/dL)에서 유의적으로(P<0.01) 증가하였으며, 이러한 증가는 DM2 추출물(194.6±66.83 mg/dL, P<0.05) 및 메트포민(177.4±42.81 mg/dL, P<0.05) 투여에 의

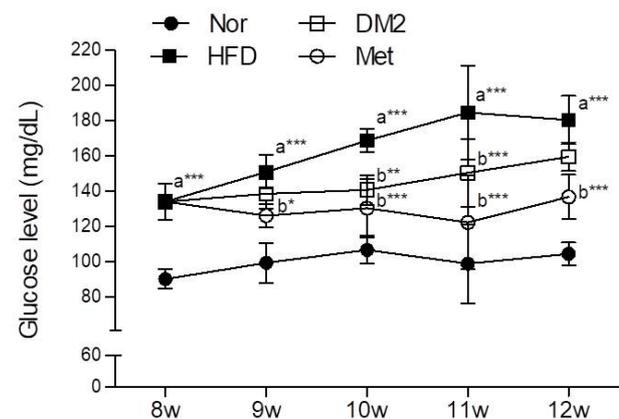


Fig. 2. Effects of DM2 extract on the level of fasting blood glucose in high fat diet-induced obesity mice. The levels of fasting blood glucose were measured in whole blood of mice once a week for 4 weeks. Nor: normal group, HFD: high fat diet-induced obesity group, DM2: high fat diet+DM2 500 mg/kg administration group, Met: high fat diet+metformin 500 mg/kg administration group. Data were presented as mean±standard error (n=5 per a group). *P<0.05, **P<0.01, and ***P<0.001 vs. normal (a) or control group (b).

해 유의적으로 감소하였다(Fig. 3A).

인슐린 수치는 정상군(0.13 ± 0.01 ng/dL)에 비해 HFD군(1.21 ± 0.27 ng/dL)에서 유의적으로($P < 0.001$) 증가하였고, 이는 DM2 추출물(0.17 ± 0.03 ng/dL, $P < 0.001$) 및 메트포민(0.07 ± 0.01 ng/dL, $P < 0.001$) 투여에 의해 유의적으로 감소하였다(Fig. 3B).

총콜레스테롤(T-CHO)은 정상군(103.8 ± 6.75 mg/dL)에 비해 HFD군(260.0 ± 23.89 mg/dL)에서 유의적인($P < 0.001$) 증가를 나타내었고, DM2 추출물(205.0 ± 28.51 mg/dL, $P < 0.05$) 및 메트포민(150.6 ± 19.91 mg/dL, $P < 0.001$) 투여에 의해 감소하였다(Fig. 3C).

간 손상지표인 AST는 정상군(49.25 ± 3.30 U/L)에 비해 HFD군(131.5 ± 45.03 U/L)에서 유의적으로($P < 0.01$) 증가하였고, DM2 추출물(81.2 ± 24.57 U/L) 및 메트포민(103.4 ± 23.52 U/L) 투여에 의해 감소하였으나 통계적 유의성은 나타나지 않았다(Fig. 3D). ALT 또한 정상군(29.75 ± 3.30 U/L)에 비해 HFD군(189.0 ± 62.75 U/L)에서 유의적인($P < 0.001$) 증가를 나타내었고, 이는 DM2 추출물(120.4 ± 58.92 U/L) 투여에 의해 감소하였으나 통계적인 유의성은 나타나지 않았으며, 메트포민(71.4 ± 24.86 U/L, $P < 0.01$) 투여에 의해 유의적으로 감소하였다(Fig. 3E). 따라서 비만 마우스에서 DM2 추출물의 투여는 혈당, 인슐린, 콜레스테롤 수치 증가를 감소시키며, 고지방식이에 따른 간 손상을 막아줄 수 있는 것

으로 나타났다.

4. 조직학적 변화에 대한 효과

고지방 식이에 따른 간과 췌장 조직 손상에 대한 DM2 추출물의 개선효과를 확인하기 위하여 각 조직을 분리하여 H&E 염색을 실시하였다. 그 결과, 간 조직에서는 정상군에 비해 비만 유발 대조군에서 많은 지방 방울의 축적(lipid droplets)이 관찰되었으며(Fig. 4A), 이는 DM2 추출물($P < 0.001$)과 메트포민($P < 0.001$) 투여에 의해 유의적으로 감소되는 것을 관찰하였다(Fig. 4C).

췌장조직에서는 정상군에 비해 대조군에서 랑게르한스섬의 크기가 증가하였으며, DM2 추출물 투여는 정상군과 유사한 형태로 크기가 감소되는 것을 관찰하였다(Fig. 4B). 따라서 고지방식이로 비만이 유발된 마우스에서 DM2 추출물의 투여가 지방간 조직으로의 변화를 막아주고, 췌장 랑게르한스섬에서의 인슐린 분비 자극에 따른 과형성(hyperplasia)을 막아줄 수 있는 것으로 나타났다.

고찰

현재 우리나라는 국민 3명 중 1명이 비만이며¹⁶⁾, 비만으로 인한 사회 경제적 손실 규모가 의료비를 포함하여 10년 새 2배 가까이 늘어 2015년 9조 2000억 원에 달하였

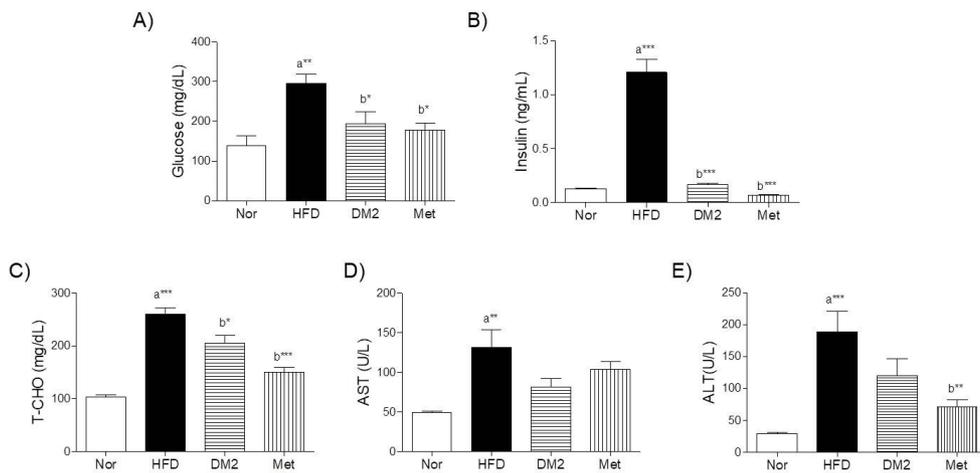


Fig. 3. Effects of DM2 extract on the serum levels of serological markers in high fat diet-induced obesity mice. The levels of glucose (A), insulin (B), T-CHO (C), AST (D), and ALT (E) were measured in the sera of mice after administration of drugs. Nor: normal group, HFD: high fat diet-induced obesity group, DM2: high fat diet+DM2 500 mg/kg administration group, Met: high fat diet+metformin 500 mg/kg administration group, T-CHO: total cholesterol, AST: aspartate aminotransferase, ALT: alanine aminotransferase. Data were presented as mean±standard error (n=5 per a group). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, and *** $P < 0.001$ vs. normal (a) or control group (b).

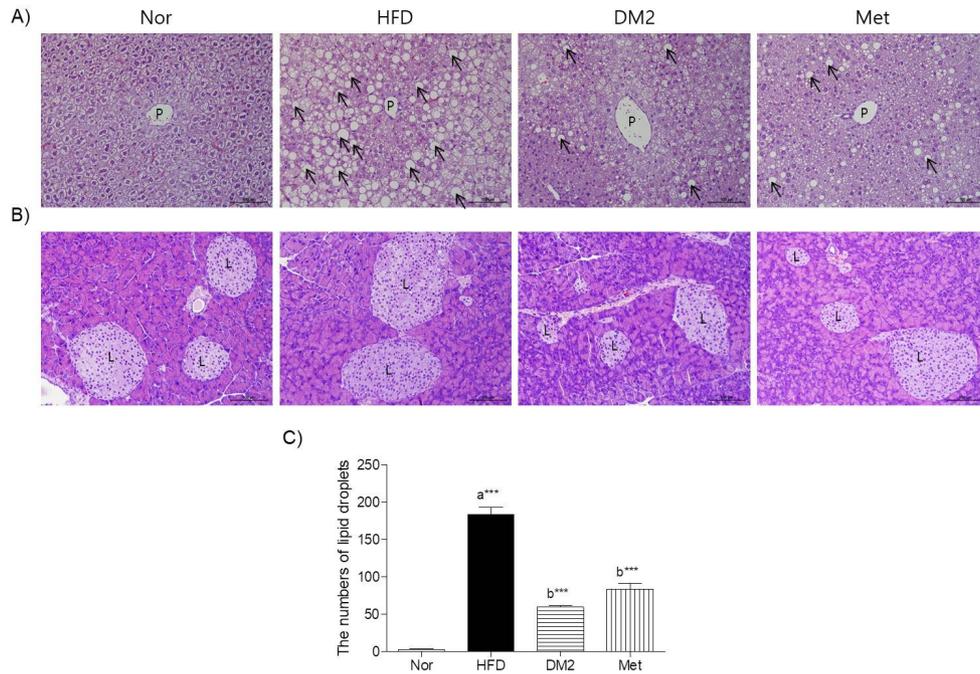


Fig. 4. Effects of DM2 extract on the histological change of liver and pancreas tissues in high fat diet-induced obesity mice. The liver (A) and pancreas (B) tissues were stained with Hematoxylin & Eosin and observed under microscope (x200). (C) The numbers of lipid droplets were counted in liver tissues. Nor: normal group, HFD: high fat diet-induced obesity group, DM2: high fat diet+DM2 500 mg/kg administration group, Met: high fat diet+metformin 500 mg/kg administration group, P: present portal vein. L: Langerhans' islets. The arrows present lipid droplets in liver tissues. Data were presented as mean±standard error (n=5 per a group). ***P(0.001 vs. normal (a) or control group (b)).

고, 2030년이면 지금보다 두 배 늘어날 것으로 전망하고 있다¹⁷⁾. 특히 비만은 제2형 당뇨병 동반과 매우 밀접하게 연관되어 있어 당뇨병 환자들에서의 비만 개선은 인슐린 저항성과 고혈당 조절을 통한 당뇨병 개선에 효과적인 방안으로 제시되고 있다.

한의학에서는 비만은 비(肥), 비인(肥人)³⁾, 비귀인(肥貴人)⁴⁾에서 비만(肥胖), 비만증(肥胖症)⁵⁾, 비만병(肥胖病)⁶⁾이 발생한 것으로 보고 보기건비(補氣健脾), 화습이수거담(化濕利水去痰), 통부소도(通腑消導), 활혈통락(活血通絡) 등의 치료법을 활용하는 것으로 알려져 있다^{7,8)}. 또한 비만이 간(肝), 비(脾), 폐(肺), 신(腎) 등 각 장부(臟腑)의 기허(氣虛) 및 습(濕), 담(痰), 풍(風), 열(熱) 등에 의한 기능 손상과 대사 이상으로 발생한다고 보며, 이것은 서양 의학에서의 소화기계, 내분비계 이상과 당 대사 장애로 연결해 볼 수 있다⁸⁾. 현재 한의임상에서 마황(麻黃), 산사(山査), 대황(大黃), 백출(白朮), 갈근(葛根), 계지(桂枝) 등의 한약을 비만 치료에 활용하고 있으며¹⁰⁾, 비감환(肥感丸), 체감혈혈의이인탕(體減血蕙苡仁湯), 체감보혈안신탕(體減補血安

神湯), 체감방풍통성산(體減防風通聖散) 등의 처방도 다양하게 활용되고 있다⁸⁾.

본 연구에서는 방향화습약(芳香化濕藥)인 창출, 청열사화약(淸熱瀉火藥)인 지모, 온리약(溫裏藥)인 육계 및 청열량혈약(淸熱涼血藥)인 목단괴¹¹⁻¹⁵⁾를 1:2:1:1의 비율로 혼합하여 열수추출물(DM2)을 제조한 다음 고지방식이로 비만이 유발된 마우스에 4주간 경구 투여하여 항비만 및 항당뇨 효과를 확인하였다.

DM2 복합추출물의 구성약물인 창출(蒼朮)(*Atractylodes lancea* DC. *A. chinesis* Koidzumi, *Atractylodis Rhizoma*)은 성미(性味)가 온(溫), 신고(辛苦)하고, 비(脾), 위(胃), 간경(肝經)으로 들어가 밖으로는 풍습(風濕)의 사기(邪氣)를 제거하여 습한 것을 마르게 하고, 안으로는 비위(脾胃)의 기능을 강화해주며(燥濕健脾), 풍(風)을 제거하고 한을 흩어지게 하는(祛風散寒) 효능이 있다. 이에 따라 완복창만(腕腹脹滿), 설사(泄瀉), 수종(水腫), 각기위벽(脚氣痿躄), 풍습비통(風濕痺痛), 풍한감모(風寒感冒), 야맹(夜盲) 등의 증상을 개선하는 것으로 알려져 있다¹¹⁾. 지모(知母)(*Anmarrhena*

asphodeloides Bunge, Anemarrhenae Rhizoma)는 성미(性味)가 한(寒), 고감(苦甘)하고 폐(肺), 신(腎), 위(胃)로 들어가 열기를 식히고 화기를 제거하며(淸熱瀉火), 진액을 생기게 하여 건조한 증상을 윤택하게 하므로(生津潤燥) 리열(裏熱)이 중(重)하고 진액(津液)이 이미 손상된 것을 치료하는 데 주로 사용하는데, 고열이 나면서 가슴이 답답하여 입안이 마르고 갈증이 나는 병증(高熱煩渴), 폐의 열로 인한 마른 기침(肺熱燥咳), 뼈에서 열이 나는 듯한 느낌(骨蒸潮熱), 몸 안의 열기로 소갈하게 되는 증상(內熱消渴), 대장의 진액 부족으로 변이 굳어 변을 보기 힘든 증상(腸燥便秘) 등을 개선하는 것으로 알려져 있다¹²⁾. 육계(肉桂)(*Cinnamomum cassia*, Cinnamomi Cortex)는 성미가 온(溫), 신감(辛甘)하고 신(腎), 비(脾), 방광(膀胱)으로 들어가는데 익화소음(益火消陰), 온보신양(溫補腎陽), 보원양(補元陽), 난비위(暖脾胃) 효능이 있고, 또한 혈중(血中)의 체기(滯氣)를 선행(善行)시켜 온경(溫經), 산한(散寒), 지통(止痛)하여 제적랭(除積冷)하며 통혈맥(通血脈) 효능이 있다. 따라서 명문화쇠(命門火衰), 하초허한증(下焦虛寒證)과 신양부족(腎陽不足)으로 인한 비양부진(脾陽不振)을 치료하거나 비허(脾虛), 양허(陽虛), 어혈(瘀血) 등의 증상 개선에 효과가 있다고 알려져 있다¹³⁾. 목단피(牡丹皮)(*Paeonia suffruticosa Andrews*, Moutan Radicles Cortex)는 성미가 미한(微寒), 고신(苦辛)하며, 심(心)·간(肝)·신(腎)으로 들어간다. 고한(苦寒)하므로 혈분(血分)에 들어가 청열량혈(淸熱涼血)하며, 신한(辛寒)하여 활혈산어(活血散瘀) 효능이 있고 열사(熱邪)가 영혈(營血)로 들어가 온독발반(溫毒發斑), 토혈낙혈(吐血衄血), 음분(陰分)의 복열(伏熱)로 인한 야열조량(夜熱早涼), 무한골증(無汗骨蒸), 혈열(血熱)로 인한 경폐통경(經閉通經), 기타 웅중창독(擁腫瘡毒), 질박(跌撲)으로 인한 통증 등을 주로 치료한다¹⁴⁾.

본 연구에서 DM2 추출물은 비만 마우스에서 고지방 섭취에 따른 칼로리 섭취량의 증가를 감소시켰다. 본 연구에서 칼로리(kcal)의 양은 실험기간 동안 섭취한 사료의 양을 이용하여 계산하였으며 DM2 추출물에 의한 체중 감소는 칼로리 섭취량 감소와 연관됨을 알 수 있었다.

비만의 기본적인 치료는 체중 조절에 있으며, 비만으로 인한 지방축적은 인슐린의 활동을 방해하고 인슐린 저항성 발생을 통해 혈당조절 실패로 이어져서 당뇨병 발생에 기여하게 된다. 따라서 DM2 추출물에 의한 체중과 칼로리 증가의 감소는 비만과 동반질환인 제2형 당뇨병 발

생 예방에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다. DM2 추출물 관련 구성약물들의 항비만, 항당뇨 효과가 현대 약리실험으로 보고되고 있는데 창출의 고지방식이 비만 마우스에서 췌장 베타세포의 손상을 억제하고 당 소모 촉진을 통한 인슐린 저항성 개선 및 지방조직에서의 염증억제 효과가 보고된 바 있다^{19,20)}. 지모는 제2형 당뇨병모델인 KK-Ay 마우스에서 adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) 활성화를 통해 인슐린 민감도 증진 및 고혈당 혈증(hyperglycemia)과 고인슐린혈증(hyperinsulemia)를 개선시킨다는 보고가 있으며²¹⁾, 육계의 3T3-L1 지방세포에서 AMPK 신호전달경로를 통한 당 소모 촉진 및 인슐린 저항성 개선 효과가 보고되었다²²⁾. 목단피는 3T3-L1 지방세포에서 인슐린 작용 증가를 통한 혈당강하 효과²³⁾ 및 임상에서 침치료와 함께 八味地黃湯²⁴⁾, 牛車腎氣丸加味方²⁵⁾ 사용에 따른 당뇨병성 신경병증 치료 및 혈당개선 효과가 보고된 바 있다. 또한 육계, 백출, 갈근, 부자로 구성된 복합추출물(CAPA)의 비만 동물모델에서의 에너지 대사 촉진을 통한 비만 개선 및 항당뇨 효과가 보고된 바 있다²⁶⁾. 따라서 DM2 복합추출물의 항당뇨 효과는 각 구성약물의 항당뇨 효과와 연관되어 있다는 것을 알 수 있다.

한편 본 연구에서 12주간의 고지방 식이로 비만을 유도한 마우스는 공복혈당 증가 함께 혈청 내 포도당, 인슐린 및 총콜레스테롤 수치를 증가시켰으므로 제2형 당뇨병에서의 혈액성분 이상을 나타내었으며, 이러한 변화는 4주간의 DM2 복합추출물 투여에 의해 감소되었다. 또한 DM2 복합추출물은 고지방식이에 따른 총콜레스테롤의 증가와 간 조직 내 지방방울(lipid droplets) 축적, 그리고 인슐린 저항성 발생에 따른 췌장 베타세포에서의 인슐린 분비 증가와 이에 따른 랑게르한스섬 과증식(hyperplasia)을 억제하여 비만으로 인한 지방간 형성과 제2형 당뇨병 발생에 따른 인슐린 분비의 불균형을 예방할 수 있는 것으로 나타났다. 본 연구진은 선행연구에서 창출, 지모, 육계 복합추출물(DM1)의 고지방식이 유도 비만 마우스에서의 항비만, 항당뇨 효과를 평가하였으며, DM1 복합추출물이 체중조절 효과는 나타내지 않았지만 혈당과 중성지방 증가를 감소시키고, 인슐린 분비는 DM2 추출물과 다르게 더욱 증가시키는 것으로 나타났다¹⁵⁾. 인슐린 분비 증가는 고지방 식이 유도 비만 마우스에서 나타나는 전형적인 특징 중 하나이며²⁷⁾, 비만 마우스에서 DM2 추출물에 의한 인슐린 감소 및 DM1 추출물에 의한 인슐린 증가

간의 차이점이 목단피의 효과와 연관될 수 있는지에 대해서는 좀 더 추가 연구가 필요할 것으로 보인다.

AST와 ALT는 간, 심장, 뇌, 폐, 췌장 등 여러 조직에 존재하지만 주로 간에 많이 존재하기 때문에 간 손상에 더 특이적인 지표로 사용되고 있다²⁸⁾. 간 세포막이 손상되면 두 효소 모두 혈류로 흘러나오게 되어 증가하게 되는데 ALT가 특히 간세포에 많이 존재하기 때문에 간 손상에 더 특이적인 지표로 사용하고 있다. 본 연구에서 12주간의 고지방 식이는 마우스의 혈청 내 AST와 ALT의 수치를 모두 증가시켰으며, AST보다 ALT 수치를 더욱 증가시켰고, 이는 DM2 복합추출물 투여 후 감소되었다. H&E 염색을 통한 비만 마우스의 간 조직 관찰에서 지방 방울의 수적 증가와 지방간 형성이 나타났으며 이는 DM2 복합추출물 투여에 의해 감소되는 것을 관찰하였다. 이러한 결과는 혈청 AST, ALT 수치 변화와 일치하였고 이를 통해 DM2 복합추출물이 비만 마우스에서 고지방식에 따른 지방간 형성을 막아줌으로써 간세포로부터 혈청 내 AST와 ALT의 분비를 감소시킴을 알 수 있었다.

비만 마우스는 인슐린 저항성 유발로 혈당 증가에 대한 보상적 반응으로서 췌장섬(pancreatic islet, Langerhans islet) 베타세포에서의 인슐린 분비 증가를 자극하게 되며^{27,29)}, 이는 췌장섬 비대(hyperplastic pancreatic islet)로 나타나게 된다. 본 연구에서도 12주간의 고지방 식이는 비만 마우스 췌장조직에서의 랑게르한스섬 비대를 유발하였으며 이는 혈청 인슐린 수치의 증가와 일치하는 것을 알 수 있었다. 또한 DM2 복합추출물의 투여는 이러한 췌장섬 비대 현상을 감소시키는 것으로 나타났으며 이는 혈청 인슐린 수치의 감소와 일치하였다. 따라서 DM2 추출물은 비만에 따른 인슐린 저항성 발생을 막아줌으로써 췌장섬 비대 현상을 감소시켜 줄 수 있음을 알 수 있었다.

본 연구결과로부터 창출, 지모, 육계, 목단피로 구성된 DM2 복합추출물은 12주간의 고지방 식이로 비만이 유발된 마우스에서 체중과 칼로리 증가 및 혈당, 인슐린, 콜레스테롤의 증가를 유의적으로 감소시키고, 지방간 형성과 췌장섬 비대 현상을 막아 항비만 및 항당뇨 효과가 있음을 확인하였다. 이러한 결과는 DM2 복합추출물이 비만과 비만으로 인한 제2형 당뇨병의 예방과 치료를 위한 한약제제로 활용될 수 있음을 의미한다. 그러나 DM2 복합추출물의 구체적 병리기전 규명 및 구성약물의 치료역할에 대한 분석 연구가 추가되어야 할 것이다.

결론

본 연구에서는 12주간 고지방식으로 비만이 유도된 마우스에 4주간 창출, 지모, 육계, 목단피로 구성된 DM2 복합추출물의 투여한 후 항비만, 항당뇨 효과를 확인하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. DM2 추출물은 비만으로 인한 체중 증가와 칼로리 섭취량 증가를 유의적으로 감소시켰다.
2. DM2 추출물은 당뇨 발생에 따른 공복혈당 증가와 혈청 포도당, 인슐린, 총콜레스테롤 수치의 증가를 유의적으로 감소시켰다.
3. DM2 추출물은 비만과 당뇨 발생에 따른 지방간 형성과 췌장 랑게르한스섬 비대를 억제하였으며, AST와 ALT 수치 증가를 감소시켰다.

본 결과로부터 DM2 추출물은 비만과 비만으로 인한 제2형 당뇨병 발생을 예방하거나 치료할 수 있는 제제 개발에 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

이 논문은 2020년도 한국보건산업진흥원 ‘한의약혁신기술개발사업’의 연구비 지원으로 수행되었음(HF20C0121).

References

1. Korean Society for the Study of Obesity. 2019 Obesity fact sheet. Seoul : Korean Society for the Study of Obesity. 2019.
2. Seo MH, Lee WY, Kim SS, Kang JH, Kang JH, Kim KK, et al. Committee of Clinical Practice Guidelines, Korean Society for the Study of Obesity. 2018 Korean Society for the Study of Obesity guideline for the management of obesity in Korea. JOMES 2019 ; 28 : 40-5.
3. Girl YY. Interpretation of yellow emperor's classic of inner medicine. Seoul : Seongbosa. 1980 : 304, 416.
4. Girl YY. Interpretation of yellow emperor's classic of inner medicine Yeokhae. Seoul : Seongbosa. 1980 : 243.
5. Chinese Studies: Wonju Edition. Chinese medicine differential diagnosis on symptoms in Chinese medicine. Beijing : People's Sanitation Publisher. 1987 : 43.
6. GG Jin, SS Sang. Practical diagnosis therapy with

- Chinese medicine and Western medicine. Brijing: China Medical Publisher. 1991 : 682-9.
7. Kim JY, Song YS. Eastern and western medical consideration of obesity. J Oriental Rehabil Med. 1993 ; 3(1) : 299-305.
 8. Byun SH, Seo BI. Oriental medicines effects on cure and prevention of an obesity (I). J Korean Med. 2000 ; 21(1) : 3-10.
 9. Lim JE, Park MJ, Ko YK. Analysis of recent chinese obesity treatment method and curative rate. J Korean Orient Assoc Study Obes. 2006 ; 6(1) : 27-43.
 10. Jung YS, Yoon KH, Rho YH, Jang HK, Yang YI, Kim KC, et al. A basic study on Chinese medicine herb of antiobesity, their effective component and herbal formula. Dong Eui Univ J Orient Med Res. 2004 ; 8 : 5-9.
 11. The Co-textbook Publishing Committee of Korean Oriental Medicine School. The herbal medicine. Seoul : Younglimsa. 2016 : 201-3.
 12. The The Co-textbook Publishing Committee of Korean Oriental Medicine School. The herbal medicine. Seoul : Younglimsa. 2016 : 331-2.
 13. The Co-textbook Publishing Committee of Korean Oriental Medicine School. The herbal medicine. Seoul : Younglimsa. 2016 : 377-8.
 14. The Co-textbook Publishing Committee of Korean Oriental Medicine School. The herbal medicine. Seoul : Younglimsa. 2016 : 235-6.
 15. Park KH, Kang SY, Kang AN, Jung HW, Park YK. Anti-diabetic effects of the extract from *Atractylodes lancea*, *Anemarrhenaasphodeloides* and *Cinnamomum Cassia* mixture in high fat diet-induced diabetic mice and regulation of the function in C2C12 mouse skeletal muscle cells. Kor J Herbol. 2019 ; 34(6) : 79-89.
 16. Korea Health Promotion Institute. Obesity Fact Sheets. Seoul : Korea Health Promotion Institute. 2018.
 17. Ministry of Health & Welfare. Obesity is no longer a personal problem... be managed by the state [Internet]. Seoul: Ministry of Health & Welfare; 2018 [cited 2020 Oct 14]. Available from: <https://www.gov.kr/portal/ntnadmNews/1560947>.
 18. Shin HD. Basic concepts and treatment methods of obesity in oriental medicine. J Kyung Hee Univ Med J. 1995 ; 11(3) : 257-67.
 19. Han J, Yang N, Zhang F, Zhang C, Liang F, Xie W, et al. Rhizoma *Anemarrhena* extract ameliorates hyperglycemia and insulin resistance via activation of AMP-activated protein kinase in diabetic rodents. J Ethnopharmacol. 2015 ; 172 : 368-76.
 20. Song SY. The effects of *Atractylodes lancea* de candlle on insulin resistance and adipose cell inflammation of obese mouse model induced by high fat diet. Master's thesis. Seoul: Kyung Hee University. 2016.
 21. Lee DH. The effects of *Atractylodes japonica* Koidz. on type 2 diabetic rats. Master's thesis. Seoul: Kyung Hee University. 2015.
 22. Yuan L, Tang P, Li HJ, Hu N, Zhong XY, Lin M, et al. Serum from *Jiao-Tai-Wan* treated rats increases glucose consumption by 3T3-L1 adipocytes through AMPK pathway signaling. Biosci Rep. 2019 ; 39(4) : BSR20181286.
 23. Park SM, Jun DW, Park CH, Jang JS, Park SK, Ko BS, et al. Hypoglycemic effects of crude extracts of *Moutan Radicis Cortex*. Korean J Food Sci Technol. 2004 ; 36(3) : 472-7.
 24. Woo JM, Kang AR, Lee MR, Kim SB, Jung WS, Moon SK, et al. Case report of diabetic neuropathy treated with *Palmijihwang-tang*, acupuncture, and moxibustion. J Int Korean Med. 2016 ; 37(2) : 232-6.
 25. Yoo JH, Lee DE, Kim DH, Ahn SY, Lee BC, Ahn YM. A case report of diabetic neuropathy treated with Korean medicine. J Int Korean Med. 2017 ; 38(5) : 675-80.
 26. Song MY. The mixed herbal extract, CAPA, prevents obesity and glucose intolerance in obese mice. J Soc Korean Med Obes Res. 2017 ; 17(2) : 119-26.
 27. Nagy C, Einwallner E. Study of in vivo glucose metabolism in high-fat diet-fed mice using oral glucose tolerance test (OGTT) and insulin tolerance test (ITT). J Vis Exp. 2018 ; (131) : 56672.
 28. Kim KA. Understanding and application of liver function tests. Korean J Med. 2009 ; 76(2) : 163-8.
 29. Mahler RJ. The relationship between the hyperplastic pancreatic islet and insulin insensitivity in obesity. Acta Diabetol Lat. 1981 ; 18(1) : 1-17.