

고지혈증 랫트를 이용한 수종 전통 한약제의 항고지혈 효과

노환성[†] · 고우경¹ · 김운자¹ · 박건구¹ · 조영환² · 박형섭

울산대학교 의과대학, ¹아산생명과학 연구소 민간요법실, ²아산재단 서울중앙병원 약제부
(1995년 6월 5일 접수)

Antihyperlipidemic Activity of Several Traditional Herbal Medicines on Experimental Hyperlipidemia in Rats

Hwan Seong Ro[†], Woo Kyoung Ko¹, Oon Ja Kim¹, Kun Koo Park¹, Young Hwan Cho² and Hyungsup Park

University of Ulsan, College of Medicine, Seoul 138-040 Korea, ¹Asan Institute of Life Science, Seoul 138-040 Korea, ²Department of Pharmacy, Asan Medical Center, Seoul 138-040 Korea

(Received June 5, 1995)

Three herbal medicine recipes were tried on the animal model of diet induced hypercholesterolemia to screen for the lipid-lowering effect. The recipes adopted were based on the prescription for atherosclerosis-related symptoms by folk-medicine practitioners. Hyperlipidemia was induced in rats by giving the high lipid/cholesterol diet for 7 days. Then, the recipes started with the normal diet. Blood was sampled at 1,2,3 and 5 week-points of the treatment, and levels of total cholesterol, triglyceride, high density lipoprotein and lower density lipoprotein were measured. Dae-shiho-tang decreased total cholesterol level significantly. Hwangryun-haedok-tang and Samhwang-sasim-tang slightly decreased total cholesterol level, although it was not statistically significant.

Keywords—Herbal medicine recipes, Hypercholesterolemia, Lipid-lowering effect, Total cholesterol, Dae-shiho-tang.

고지혈증이 원인이 되어 나타나는 것으로 보고된 동맥경화¹⁻⁴⁾와 뇌졸중⁵⁻⁶⁾등의 치료와 예방에 사용되고 있는 전통 한약처방인 황련해독탕, 삼황사심탕, 대시호탕 등이 항고지혈 작용을 나타내는지 과학적으로 검증하고자 식이로 고지혈증을 유발시킨 랫트에서 이들 한약의 항고지혈 효과를 검색하였다.

Umeda⁷⁻⁸⁾ 등은 고지혈 식이로 유발시킨 동맥경화 상태의 토끼와 고지혈증 랫트에서 일본에서 사용되는 한약처방인 소시호탕과 대시호탕의 항고지혈 효과를 보고한 바 있으며 최⁹⁾는 한국산 도인으로부터 얻은 플라보노이드의 항고지혈 효과를 보고한 바 있다. 저자 등¹⁰⁾ 이 고안한 고지혈식이를 1주일간 랫트에게 섭취시켜 고지혈증 병태모델을 만든 후 혈액을 채취하여 혈청중의 총콜레스테롤(TC), 중성지방(TG), 고 밀도 지질단백(HDL), 저 밀도 지질단백(LDL)을 측정하고 그후 식이를 정상식으로 바꾸고 동시에 한약처방 추출

물을 랫트에 경구투여하면서 이 처방이 혈청중의 지질 농도에 미치는 효과를 검토하였다.

실험방법

시약 및 재료

실험에 사용된 황련해독탕, 대시호탕, 삼황사심탕 등의 한약 처방을 조제하는데 사용된 생약은 Table 1과 같으며 반도약업사(경동시장, 서울)에서 구입하였다. 고지혈증을 유발시키는 사료를 조제하는데 사용된 시약은 콜레스테롤(Shinyo Co., Japan), 콜산(Biochemika, Germany), 올리브유(K.P., 국전원료상사) 등이었으며, 사료는 실험동물용 사료(삼양사료)를 분쇄하여 사용하였다.

사용기기

TC, TG, HDL의 측정은 autoanalyzer(Hitachi

Table I—Composition of Traditional Herb Medicine Regimens which were Used in the Experiment

Name of Plant	Regimens		
	HHT*	DST*	SST*
Coptis japonica Makino	5.0		6.0
Scutellaria baicalensis Geor	5.0	6.0	6.0
Phelloden amurense Rupr.	5.0		
Torreya nucigera S. et Z.	5.0		
Bupleurum falcatum L.	4.0	12.0	
Forsythia koreana Nakai	4.0		
Paeonia albiflora Pall. var.	4.0	6.0	
Pinellia ternata Breiten		12.0	
Citrus aurantium L.		6.0	
Zizuphus jububa Miller var in- erm		6.0	
Zingiber officinale Roscoe		8.0	
Rheum koreanum Nakai		4.0	6.0

*HHT: Hwangryun-haedog-tang, DST: Dae-shiho-tang, SST: Samhwang-sasim-tang

636-40, Japan)를 사용하였으며 채혈된 혈액에서 혈청의 분리는 원심분리기(Sorvall RT 6000B, Dupont, U.S.A.)를, 고지혈증 유발용 사료의 조제는 아산재단 서울중앙병원 약제부의 제제시설과 아산생명과학연구소의 동물사료 성형기 및 건조기를 사용하였다. 추출된 한약처방의 내용물은 동결건조기(Labconco CO., U.S.A.)를 사용하여 건조하였다.

실험동물

아산생명과학연구소 SPF 동물 사육실로부터 분양 받은 Wister계 웅성 랫트(체중 200~220 g) 50마리를 5군으로 나누어 실험에 사용하였으며, 이 실험에 사용된 랫트는 온도, 습도 및 광도가 자동적으로 조절되는 위의 연구소에 부설된 소동물사육실에서 사육되었으며 물은 자유로이 섭취케 하였다.

고지혈증 유발용 사료의 조제

노 등¹⁰⁾의 방법에 따라서 랫트용 고지혈 식이인 HC-1을 조제하여 사용하였다.

한약처방의 조제

Table 1과 같은 생약처방으로 구성된 황련해독탕, 대시호탕, 삼황사심탕을 각각 1200 g, 360 g, 580 g씩 조제한 후 수육상에서 증류수를 사용하여 각각 3회 추출하였으며 각각의 추출물을 감압농축한 후 동결건조하였다. 동결건조후 분말로 만든 황련해독탕은 147.4 g 으로서 수율은 40.9% 였으며 대시호탕, 삼황사심탕은 각각 359.7 g, 132.2 g 으로서 수율은 각각 30.0%,

22.8% 였다.

고지혈증 랫트의 준비 및 한약투여

정상 사료로 사육하여 평균 체중이 200~220 g이 되었을때 실험에 사용하였다. 5군의 랫트중 1군은 정상 식이군으로 정상 식이만을 계속하여 먹였고, 2군은 고지혈증 대조군으로 랫트에 7일간 고지혈 식이를 먹인 후 정상 식이로 바꿔 먹이면서 생리식염수만을 4주간 1일 1회 경구투여하였다. 나머지 3,4,5군은 한약투여군으로 7일간 고지혈 식이를 먹고 정상 식이로 바꾸면서 각군에 황련해독탕 0.11 g/100 g/일, 대시호탕 0.599 g/100 g/일, 삼황사심탕 0.245 g/100 g/일을 생리식염수에 현탁시켜 1일 1회 경구투여하였다.

혈액의 채취

실험에 사용된 모든 랫트는 채혈 당일 오전에 4시간 동안 절식시킨 후 각 실험군별로 랫트의 꼬리정맥으로부터 혈액을 2.5 ml씩 채혈하였다. 정상 식이군의 랫트는 정상 식이만으로 사육하면서 1주일, 2주일, 3주일, 5주일째에 혈액을 채취했으며 고지혈증 대조군의 랫트는 고지혈 식이로 7일간 사육한 후 채혈하고 즉시 정상 식이로 바꿔 사육하면서 생리식염수를 경구투여 시작한 후 1주일, 2주일, 4주일째에 같은 방법으로 채혈하였으며, 한약투여군의 랫트는 고지혈 식이로 7일간 사육하여 채혈한 후 정상 식이로 바꾸고 한약들을 동시에 경구투여하여 1주, 2주, 4주째에 같은 방법으로 채혈하였다. 채취한 혈액을 30분간 방치한 후에 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 얻은 후 TC 및 TG 측정과 HDL 측정용으로 각각 0.5 ml씩 나누어 지질농도 측정용 시료로 사용하였다.

혈청중 지질농도의 측정

TC는 CHOD-PAP enzymatic colorimetric method를 이용한 autoanalyzer를 사용하여 측정하였으며 TG는 enzymatic method를 이용한 autoanalyzer를 사용하여 측정하였다. HDL은 dextran sulfate-MgCl₂ 침전법을 사용하여 Apo-B를 함유하는 LDL등을 침전시킨 후 위의 autoanalyzer를 사용하여 측정하였다. LDL의 값은 Friedewald의 계산식이 적합하지 않아서¹¹⁻¹²⁾ Seki등¹³⁾이 사용한 계산식을 적용하여 계산하였다.

통계처리

각 실험동물군간의 데이터 차이에 대한 유의성 검정은 Scheffe ANOVA로 하였다.

Table II—Effect of Feeding Herbal Medicines on the Body Weight (g) Change in High Cholesterol Diet Induced Hyperlipidemic Rats

Treatment	Dose (g/100 g/day)	Time elapsed (week)				Weight gain*
		Initial	1	2	4	
Normal group	-	230.7±8.5	254.4±7.2	270.3±8.6	296.0±6.1	65.3±6.3
Control group	-	244.7±7.1	255.7±7.1	263.7±7.6	289.5±5.3	45.1±5.4
HHT group	0.11	245.2±5.9	258.1±6.5	276.5±4.5	301.2±6.3	56.3±4.1
DST group	0.599	242.5±8.4	253.4±6.7	262.4±6.3	287.9±7.0	43.9±3.9
SST group	0.245	241.3±5.5	253.6±5.5	263.6±6.7	338.4±40.7	37.1±5.1

Values are means±S.E. of 10 rats.

*average weight gain during 4 weeks experiment.

HHT: Hwangryun-haedog-tang, DST: Dae-shiho-tang, SST: Samhwang-sasim-tang

Table III—Effect of Feeding Herbal Medicines on Serum Total Cholesterol Levels (mg/dl) in High Cholesterol Diet Induced Hyperlipidemic Rats

Treatment	Dose (g/100 g/day)	Time elapsed (week)			
		Initial	1	2	4
Normal	-	81.6±6.3	77.4±4.1	74.1±4.1	70.7±3.4
Control group	-	197.3±10.5	106.4±3.4	81.4±2.6	78.2±2.4
HHT group	0.11	197.6±13.0	101.1±2.7	74.2±1.5	73.4±2.3
DST group	0.599	180.7±9.5	91.1±2.0*	72.4±3.5	66.4±2.7*
SST group	0.245	196.5±9.8	102.8±3.2	75.0±1.5	76.0±2.8

Values are means±S.E. of 10 rats.

*significantly different from the control value (P<0.05)

HHT: Hwangryun-haedok-tang, DST: Dae-shiho-tang, SST: Samhwang-sasim-tang

결과 및 고찰

랫트의 체중 증가

정상식이군, 고지혈증대조군, 한약투여군(3군) 등 5개 실험군 랫트들의 체중변화를 조사한 결과는 Table II와 같이 모든 실험군에서 체중 증가를 나타냈으나 대조군을 포함한 한약 투여군에서 정상식이 투여군에 비하여 체중 증가율이 작게 나타나는 것은 1일 1회씩의 경구로의 약물투여가 실험에 사용된 랫트들에게 스트레스를 주었기 때문으로 분석되며 삼황사심탕 투여군에서 보다 낮은 체중 증가율을 나타낸 것은 Umeda⁷⁾ 등의 보고와 같은 결과를 나타냈는데 체중증가 억제제의 원인은 좀더 연구가 필요하다고 사료된다.

TC에 미치는 한약의 효과

Table III에서 볼 수 있는 바와같이 대조군에 비하여 대시호탕 투여군에서 1주, 4주에 유의성있는 TC값의 감소를 나타냈다. 황련해독탕 투여군과 삼황사심탕 투여군에서는 한약투여 2주째에 각각 TC값의 감소를 보였으나 통계적인 유의성은 없었으며 4주간의 장기투여에서도 대조군에 비하여 유의성있는 감소효과를 나타

내지는 않았다.

TG에 미치는 한약의 효과

Table IV에서 볼 수 있는 바와 같이 정상 식이군이 나 대조군에 비하여 글리세린과 3 분자의 유리 지방산 이 에스터 결합을 하여 이루어지는 TG의 값의 변화는 황련해독탕 투여군에서 2,4주째 그리고 삼황사심탕 투여군에서 3주째에 감소를 보였으나 통계적으로 유의성은 없었다.

HDL에 미치는 한약의 효과

세포막, 조직등에 침착된 유리형의 콜레스테롤을 흡착, 제거하는 HDL에 미치는 한약의 효과는 Table V에서 볼 수 있는 바와 같이 대시호탕 투여군에서 1주째, 삼황사심탕 투여군에서 4주째 채혈한 혈청에서 감소효과를 보였으나 통계적으로 유의성이 없는 것으로 분석되었다.

LDL에 미치는 한약의 효과

간에서 합성된 콜레스테롤을 말초로 운반하는 역할을 담당하는 LDL에 미치는 한약의 효과는 Table VI에서 볼 수 있는 바와 같이 1주동안 약물을 투여한 후 채혈한 대시호탕 투여군에서, 2주일 투여 후 황련해독탕과 삼

Table IV—Effect of Feeding Herbal Medicines on Serum Triglyceride Levels (mg/dl) in High Cholesterol Diet Induced Hyperlipidemic Rats.

Treatment	Dose (g/100 g/day)	Time elapsed (week)			
		Initial	1	2	4
Normal group	-	147.2±11.8	152.1±12.8	162.8±14.6	156.4±12.6
Control group	-	139.1±16.4	164.4±39.4	105.0±8.7	152.4±23.2
HHT group	0.11	134.4±20.5	133.7±15.4	75.5±5.3	93.7±10.4
DST group	0.599	174.5±28.7	160.0±17.2	105.8±8.3	120.6±11.5
SST group	0.245	136.4±24.4	161.6±22.1	78.2±7.6	110.4±12.9

Values are the means±S.E. of 10 rats.

HHT: Hwangryun-haedok-tang, DST: Dae-shiho-tang, SST: Samhwang-sasim-tag

Table V—Effect of Feeding Herbal Medicines on High Density Lipoprotein Cholesterol Levels (mg/dl) in High Cholesterol Diet Induced Hyperlipidemic Rats.

Treatment	Dose (g/100 g/day)	Time elapsed (week)			
		Initial	1	2	4
Normal group	-	27.8±1.1	25.6±1.4	28.8±1.5	31.8±1.0
Control group	-	13.9±0.5	41.1±1.1	37.8±1.6	42.9±3.5
HHT group	0.11	13.0±0.4	39.6±0.8	39.4±1.2	42.7±1.3
DST group	0.599	12.6±0.8	37.3±1.7	38.6±1.6	38.0±2.5
SST group	0.245	13.2±0.5	39.9±1.1	39.9±1.1	33.8±1.6

Values are the means±S.E. of 10 rats.

HHT: Hwangryun-haedok-tang, DST: Dae-shiho-tang, SST: Samhwang-sasim-tag

Table VI—Effect of Feeding Herbal Medicines on Lower Density Lipoprotein Cholesterol Levels (mg/dl) in High Cholesterol Diet Induced Hyperlipidemic Rats

Treatment	Dose (g/100 g/day)	Time elapsed (week)			
		Initial	1	2	4
Normal group	-	41.0±3.4	46.4±3.5	39.7±3.8	34.9±3.3
Control group	-	183.4±10.7	65.3±3.4	43.6±3.3	35.3±1.9
HHT group	0.11	184.6±13.3	61.5±2.9	34.8±2.2	36.8±1.4
DST group	0.599	177.5±7.8	55.9±1.7	37.0±2.6	28.9±1.2*
SST group	0.245	183.3±9.8	63.7±4.2	35.1±2.3	33.8±1.6

Values are the means±S.E. of 10 rats

Lower density lipoprotein was calculated with the formular LDL = TC - HDL

*Significantly different from the control value (P<0.05)

HHT: Hwangryun-haedog-tang, DST: Dae-shiho-tang, SST: Samhwang-sasim-tag

황사심탕 투여군에서 LDL값의 감소를 보였으나 통계적으로 유의성은 없었으며 마지막 채혈인 4주 투여후에 채혈한 대시호탕 투여군에서만 정상 식이군이나 대조군과 비교하여 유의성있는 감소효과를 나타냈다.

결론

고지혈증 유발용 식이처방을 1주일간 복용시켜 고

지혈증 병태모델로 만든 Wister계 웅성 랫트를 정상 식이로 바꿔 사육하면서 황련해독탕, 대시호탕, 삼황사심탕을 4주일간 경구투여하여 이들 한약처방의 항고지혈효과를 정시적으로 측정해 본 결과 대시호탕 투여군에서 대조군과 비교하여 유의성있는 TC 및 LDL값의 감소효과를 나타내어서 대시호탕의 경구투여에 의한 항고지혈 효과를 *in vivo*에서 확인할 수 있었다.

감사의 말씀

이 논문은 1994년도 아산생명과학연구소의 연구비에 의하여 수행되었으며 이에 감사를 드립니다.

문헌

- 1) J.L. Goldstein, H.G. Schrott, W.R. Hazzard, E.L. Bierman and A.G. Motuisky, Hyperlipidemia in coronary heart disease, *J. Clin. Invest.*, **52**, 1544-1568 (1973).
- 2) Z. Marek, K. Jaegerman and T. Ciba, Atherosclerosis and level of serum cholesterol in postmortem investigation, *Am. Heart J.*, **63**, 768-774 (1962).
- 3) D.R. Illingworth, Drug therapy of hypercholesterolemia, *Clinical Chemistry*, **34**(8B), B123-32 (1988).
- 4) C.A. Dujovne and W.S. Harris, The pharmacological treatment of dyslipidemia, *Annual review of Pharmacology and Toxicology*, **26**, 265-288 (1989).
- 5) L. Candolise, F. Bianchi, V. Albanaese, G. Bonelli, L. Bossao, D. Inzitari, F. Mariani, M. Rasura, F. Rognoni, G. Sangiovanni, and C. Fieschi, Italian multicenter study on reversible cerebral cerebrovascular atherosclerosis, *Stroke*, **15**, 379-382 (1984).
- 6) G. Tell, J.R. Crouse and C.D. Furberg, Relation between blood lipids, lipoproteins and cerebrovascular atherosclerosis, *Stroke*, **19**, 423-430 (1989).
- 7) M. Umeda, S. Amagaya and Y. Ogihara, Effect of shosaikoto, daishaikoto and sannoshashinto(traditional Japanese and Chinese medicine) on experimental hyperlipidemia in rats, *J. Ethnopharmacol.*, **26**, 255-269 (1989).
- 8) M. Umeda, S. Amagaya and Y. Ogihara, Effect of Shosaikoto and Daishaikoto on experimental atherosclerosis in rabbits, *Journal of Medical and Pharmaceutical Society for Wakan-yaku*, **5**, 154-162 (1986).
- 9) J.S. Choi, Antihyperlipidemic effect of flavonoids from *Prunus davidiana*, *J. Nat. Prod.*, **54**(1), 218-224 (1991).
- 10) H.W. Ro, O.J. Kim, K.K. Park, Y.H. Cho and H.S. Park, Studies on diet regimens for the development of hyperlipidemic animal model, *J. Kor.Pharm. Sci.*, **24**(4), 297-300 (1994).
- 11) W.T. Friedewald, R.I. Levy and D.S. Fredrickson, Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge, *Clin. Chem.*, **18**, 499-505 (1972).
- 12) W.K. Kim, J.L. Jeong, K.O. Lee, D.K. Seo and K.B. Lee, A study for actually determined value and calculated value of low density lipoprotein, *Kor. J. Med. Technol.*, **25**(1), 144-151 (1993).
- 13) K. Seki, M. Fukuda and M. Ohki, Studies on hypolipidemic agent. IV. Influence of a new hypolipidemic agent, 5-tridecylpyrazole-3-carboxylic acid, on cholesterol metabolism in rats, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**(11), 5036-5041 (1985).