

수풍순기환 분할처방 투여가 고지방, 고탄수화물 식이로 유발된 비만형 제2형 당뇨병 동물모델에 미치는 영향

박은영¹, 안세영¹, 안영민¹, 엄재영², 장형진³, 이병철¹

¹경희대학교 한의과대학 신계내과학교실, ²경희대학교 한의과대학 한약리학교실, ³경희대학교 한의과대학 생화학 교실

The Effects of *Supungsunki-hwan* Partitioned Prescriptions on Obese Type 2 Diabetes Mouse Model Induced by High Fat, High Carbohydrate Diet

Eun-young Park¹, Se-young Ahn¹, Young-min Ahn¹, Jae-young Um², Hyeung-jin Jang³, Byung-cheol Lee¹

¹Dept. of Internal medicine, College of Oriental Medicine, Kyung-Hee University

²Dept. of Pharmacology, College of Oriental Medicine, Kyung-Hee University

³Dept. of Biochemistry, College of Oriental Medicine, Kyung-Hee University

ABSTRACT

Objectives : Recently a lot of research is being done for find antidiabetic medicine which has no side effects. This study aimed to investigate the antidiabetic and antiobesity effects of *Supungsunki-hwan* partitioned prescriptions on obese type 2 diabetes mouse.

Methods : Type 2 diabetes mellitus and obesity were induced by Surwit's high fat, high sucrose diet for 8 weeks. Mice were divided into 3 groups of ND (normal diet, n=10) HFD (high fat and high sucrose diet, n=10) and SPP (high fat and high sucrose diet with *Supungsunki-hwan* partitioned prescriptions, n=10) groups. Body weights were measured every week. After 7 weeks, fasting blood sugar and oral glucose tolerance tests were conducted. After 8 weeks, blood samples of all mice were taken from their heart and analyzed biochemically. At the same time, epididymal fat pad and liver weights were measured. Histological size of white adipocyte were measured as well.

Results : Compared with a HFD group, body weight, fructosamine, epididymal fat pad weight and white adipocyte size decreased. High-density lipoprotein cholesterol levels increased in the SPP group.

Conclusions : These results suggest that SPP has antidiabetic and antiobesity effects in high fat, high sucrose diet induced obese mice.

Key words : *Supungsunki-hwan* (*Sōuēngshùnqiwán*), *Cornus officinalis*, *Dioscorea Batatas Decaisne*, *Aurantii fructus*, type 2 diabetes, obesity

1. 서론

당뇨병은 혈당 조절에 필요한 인슐린의 절대적

혹은 상대적 결핍 및 조직에서의 인슐린 작용성 저하에 기인한 고혈당과 그에 수반되는 대사 장애로 정의된다. 당뇨병으로 인한 만성적 고혈당은 신체 각 기관의 손상과 기능 부전을 초래하는데, 거대혈관 및 미세혈관 합병증을 일으켜 동맥경화·심혈관질환·신장 질환·망막질환 등 신체 중요 부위 질화의 이환율과 이로 인한 사망률을 증가시

· 교신저자: 이병철 서울시 동대문구 회기동 1번지
경희의료원 부속한방병원 한방 6내과
TEL: 02-958-9182 FAX: 02-958-9158
E-mail: hydrolee@korea.com

킨다¹.

특히 제2형 당뇨병은 고혈압, 고지혈증, 복부비만 등과 함께 인슐린 저항성이라는 공통 연결 고리를 가지고 있어 대사증후군의 범주로 인식되며 비만과 매우 밀접한 관련이 있다. 최근 절대적인 영양 섭취량이 늘고 활동량은 적은 서구식 생활 습관이 보편화 되면서 대사증후군이 급속히 증가하고 있다. 대사증후군은 심혈관 질환의 위험인자로 심각한 합병증을 일으킬 수 있어 이에 대한 치료가 반드시 필요하나 단일 치료법은 없어서 혈당 강하와 체중감소를 목표로 각 질환에 따른 치료가 시도되고 있다².

하지만 혈당 강하를 목표로 사용되는 인슐린 분비 촉진제(설펜요소제, 비설펜요소제), 바이구아나이드, 알파글루코시다제억제제, thiazolidinediones 계 약물 등은 저혈당, 간 독성, 복부팽만감, 젖산증, 체중증가 등의 부작용이 동반되어 치료목표와 반대되는 결과를 가져오기도 하며, 체중조절을 목표로 사용되는 대표적 약물인 sibutramine은 고위험군에서 사용하는 경우 오히려 심혈관계 부작용이 높아지는 것으로 나타나 최근에는 더욱 안전하고 우수한 효능을 지닌 새로운 물질 발굴을 위해 많은 연구가 진행되고 있다^{3,4,5}.

이번 연구에서는 동양의학에서 당뇨병과 가장 가까운 개념인 消渴^{1,6}에 사용되며 다수의 논문^{7,8,9,10}을 통해 혈당 강하력이 입증된 수풍순기환의 구성 약재 중 약성이 비교적 완만하며, 선행된 연구^{3,4,11,12,13,14,15,16}를 통해 단일 약재로서도 혈당 강하 효과가 있다고 알려진 산수유(*Cornus officinalis*), 산약(*Dioscorea rhizoma*), 지각(*Aurantii Fructus*)을 선별하여 분할처방을 구성한 뒤, 이를 비만형 제2형 당뇨병이 유발된 쥐에게 투여하였다. 이를 통해 체중변화, 당대사, 지질대사, 지방조직에 미치는 영향을 규명하여 대사증후군에 해당 처방의 적용 가능성을 알아보고자 하였다.

II. 실험 방법

1. 검체 제조

총량 1,000 g씩의 산수유(*Cornus officinalis*), 산약(*Dioscorea rhizoma*), 지각(*Aurantii Fructus*)을 각기 1,500 ml의 80% 에탄올에 넣고 heating mantle을 이용하여 2시간 동안 가열 추출하고 여과한 여액을 500 ml 플라스크에 applicator를 이용하여 넣은 후 filter로 걸러냈다. 걸러진 여과액을 Rotary evaporator(Model NE-1, 東京理化學株式會社, Japan)로 건조한 뒤, 동결 건조된 산수유, 산약, 지각의 1차 추출물을 1:1:1의 비율로 혼합하여 실온에서 보관하였다. 각각의 최종 수거율은 산수유는 18.9%, 산약은 3.4%, 지각은 16%였다.

2. 고지방 고탄수화물 식이 유발 비만형 제2형 당뇨병 동물 모델의 제작

체중 23-25 g의 6주령 Sprague-Dawley(SD) 系 male ICR mice(중앙실험동물, Korea)를 구매하여 12시간씩 낮과 밤이 교대되며 40-70%의 습도를 유지하고 stainless-steel cage에서 1주일간 사육하며 적응기를 거쳤다. 먹이와 물은 자유롭게 먹도록 하였다.

그 후 정상군을 제외한 모든 실험군에 앞선 논문¹⁷에서 인슐린 저항성을 일으킨다고 알려진 Surwit's high fat, high sucrose diet(HFD, Research Diets #D 08020201, 45 kcal% Fat and 32 kcal% Sucrose)를 8주간 섭취시켜 비만형 제2형 당뇨병을 유발했다(Table 1). 모든 동물 실험 과정은 경희의료원 동물실험윤리위원회의 승인을 받았다(KHMC-IACUC 11-012).

Table 1. Composition of Experimental Diets

	ND	HFD	SPP
Casein	22.00	22.00	15.00
L-Cysteine	0.18	0.18	0.18
Cornstarch	50.00		
Maltodextrin	7.50	7.50	5.50
Soybean oil	4.00	2.50	2.00
Mineral mixture S10001	4.00	4.00	4.00
Sodium bicarbonate	1.00	1.00	1.00
Potassium Citrousee	0.40	0.40	0.40
Vitamin mixture V10001	1.00	1.00	1.00
Cholin bitartrousee	0.20	0.20	0.20
Sucrose	10.00	45.10	45.10
Coconut Oil		25.30	25.30
SPP			5.00
Total	100.28	109.18	104.68

Group abbreviation : ND; normal diet, HFD; high fat, high sucrose diet, SPP; high fat, high sucrose diet with *Supungsunki-hwan* partitioned prescriptions.

3. 실험군 배정 및 연구 계획

실험군은 ICR mouse 10마리씩 정상군(ND), 대조군(HFD) 수풍순기환 분할처방 투여군(SPP)으로 나누어 진행하였다. 정상군을 제외한 나머지 2개 군들은 Surwit's high fat, high sucrose diet를 8주간 섭취시켜 비만형 제2형 당뇨병을 유발했다. 수풍순기환 분할처방 투여군은 Surwit's high fat, high sucrose diet에 분할처방을 5%의 비율로 섞어 8주간 섭취하도록 하였다.

4. 체중 측정

체중은 실험 개시 일에 최초 측정 한 후 매주 1회씩 측정하였고, 실험종료일에 마지막 sampling하기 전에 측정하였다. 체중 측정은 아침 사료 공급 전에 일괄적으로 전자저울(CAS 2.5D, Korea)을 사용하여 측정하였으며, 측정 시 mouse의 움직임에 따른 체중 오차를 최소화하기 위해 플라스틱 bowl에 mouse을 올려놓고, mouse가 안정 상태에 이르러 나타나는 체중을 기록하였다.

5. Fasting blood sugar(FBS)및 oral glucose tolerance test(OGTT) 측정

FBS 및 경구 OGTT 검사는 실험 7주째 8시간 이상 금식시킨 후 공복 시 혈당을 측정한 다음 glucose(1 g/kg body weight)를 D.W.에 녹여 경구 투여시킨 다음 30분 후, 60분 후, 90분 후 mouse의 tail vein에서 혈액을 채취하여 혈당을 측정하였다. 혈당은 strip-operated blood glucose sensor(ONETOUCH Ultra Inverness Medical Ltd. Stockport. UK)기기를 이용하여 측정하였다.

6. 지질 및 당대사 분석

실험 시작 8주째 식이 제한 없이 실험동물을 희생시키기 전 mouse의 심장에서 채혈을 시행하여 3,000 rpm에서 20분간 원심분리 한 다음 上清液을 얻어 -40 °C에 보관한 후 total cholesterol(TC), high density lipoprotein(HDL) cholesterol, low density lipoprotein(LDL) cholesterol, triglyceride(TG) 등의 생화학적 분석을 시행하였으며, 동시에 fructosamine (glycoprotein) 검사를 시행하였다.

7. 지방 및 간 무게 측정

실험 시작 8주째 mouse를 희생시킨 후 개복하여 부고환 지방 조직(epididymal fat pad) 및 간의 무게를 측정하였다.

8. 지방 세포 크기 측정

지방 조직 세포의 형태학적 관찰을 위해 부고환 조직의 일부를 적출하여 10% formaldehyde 용액에 고정 및 탈수 후 paraffin 투과과정을 거쳐 포매하였다. 박절편기로 약 2µm 두께로 박절하여 Hematoxylin and Eosin(H&E) 염색하였다. 염색된 지방조직을 카메라가 부착된 광학현미경(BX61, Olympus, Japan)으로 찍어서 100배의 대물렌즈를 사용하여 개체 당 5장의 사진을 얻은 후 컴퓨터 영상분석프로그램(ImageJ or Image analysis program, Metamorph, Japan)과 크기분석 프로그램(Float morphology,

USA)으로 분석하였다.

9. 통계 분석

통계학적 비교분석은 GraphPad PRISM statistical package(ver 2.00, Graphpad software inc., San Diego, USA)를 이용하였고, 각 군 간의 비교는 one-way analysis of variance(ANOVA)에 이어 Tuckey's post-hoc test로 사후 검증하였다. 표(table)와 그림(figure)에서 각각의 수치는 평균 ± 표준편차(mean ± S.D.)로 표시했으며, 양방 검정 유의도(two-tailed p-value)는 p값이 <0.05 수준일 때를 기준으로 하였다.

III. 연구결과

1. 수풍순기환 분할처방 투여가 체중에 미치는 영향

체중은 8주간 모든 실험군에서 지속적으로 증가하는 양상을 보였다. 대조군은 88.2%(23.80±0.91 g에서 44.80±6.05 g으로 증가함)의 체중이 증가하여 정상군이 49.5%(24.00±0.94 g에서 35.90±3.24 g으로 증가함)의 체중증가를 보인 것에 비하여 유의한 비만이 유도되었다. 체중변화를 주 단위로 살펴보면 4주차부터 정상군(33.00±3.09 g)보다 대조군(36.80±3.88 g)에서 유의성 있는 체중증가가 관찰되기 시작하여(p<0.05), 6주차부터는 정상군(33.60±3.80 g)보다 대조군(39.80±4.89 g)에서 더욱 현저한 체중 증가가 관찰되어 실험종료시점까지 비만이 유지되었다(p<0.01). 수풍순기환 분할처방 투여군은 8주간의 고지방 고탄수화물 식이로 66.9%(23.60±0.51 g에서 39.40±3.71 g으로 증가함)의 체중 증가세를 보여 대조군보다 11.3% 억제된 체중 증가세를 보였다. 체중변화를 주 단위로 살펴보면 7주차까지 대조군과 비슷한 증가세를 보이다 8주차에 이르러서 대조군(44.80±6.05 g)과 유의성 있는 체중 증가 억제가 관찰되었다(p<0.05)(Fig. 1).

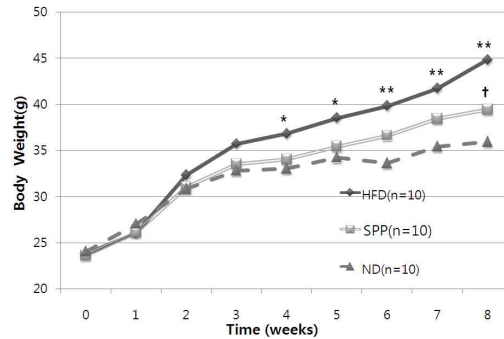


Fig. 1. Body weight of each experimental group.

Group abbreviation :ND; normal diet, HFD; high fat, high sucrose diet, SPP; high fat, high sucrose diet with *Supungsungki-hwan* partitioned prescriptions. Significantly different between the ND and the HFD by t-test (* p<0.05, ** p<0.01). Significantly different between the HFD and the SPP by t-test († p<0.05).

2. 수풍순기환 분할처방 투여가 당대사에 미치는 영향

FBS는 대조군(141.70±39.79 mg/dL)이 정상군(101.00±15.44 mg/dL)보다 유의성 있게 높았고(p<0.01), 수풍순기환 분할처방군이 대조군에 비해 낮았으나 유의성은 없었다. 대조군이 전체적으로 높은 혈당 농도를 보였으며 다음으로 수풍순기환 분할처방투여군, 정상군의 순이었다. 실험 7주차에 시행한 OGTT 결과 모든 실험군은 30분 후에 혈당의 최고치를 보였으며, 그 뒤 지속적으로 감소하는 모습을 보여주었다. 30분 후 혈당은 대조군(362.50±42.36 mg/dL)이 정상군(274.80±50.82 mg/dL)과 비교하면 유의성 있게 높고(p<0.01), 수풍순기환 분할처방 투여군(325.70±34.30 mg/dL)은 대조군보다 혈당이 유의성 있게 낮아 고혈당이 억제되었다(p<0.01). 60분, 90분 후 혈당은 수풍순기환 분할처방군과 대조군 사이에 유의한 차이가 없었다(Fig. 2).

Fructosamine 농도는 정상군(234.90±11.20 μmol/L)보다 대조군(256.40±24.1 μmol/L)에서 증가하는 방향으로 유의성 있는 차이가 관찰되었고(p<0.05), 수풍순기환 분할처방 투여군(232.44±18.92 μmol/L)

은 대조군보다 유의성 있게 감소된 fructosamine이 관찰되었다($p < 0.05$).

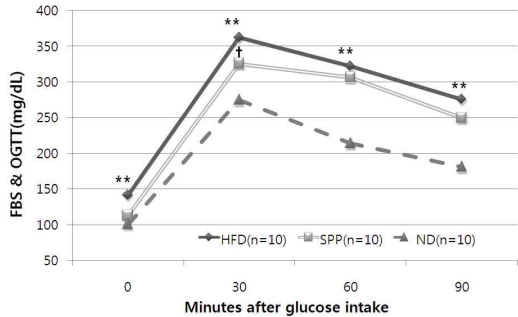


Fig. 2. Fasting blood sugar, oral glucose tolerance test of each experimental group.

Group abbreviation : ND; normal diet, HFD; high fat, high sucrose diet, SPP; high fat, high sucrose diet with *Supung sunki-hwan* partitioned prescriptions. FBS; fasting blood sugar, OGTT; oral glucose tolerance test, Significantly different between the ND and the HFD by t-test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$). Significantly different between the HFD and the SPP by t-test († $p < 0.05$).

3. 수풍순기환 분할처방 투여가 지질농도에 미치는 영향

TC 농도는 정상군(136.80 ± 10.37 mg/dL)에서 가장 낮고, 대조군(245.30 ± 39.20 mg/dL)은 정상군보다 매우 유의성 있게 높고($p < 0.001$), 수풍순기환 분할처방군(222.55 ± 29.19 mg/dL)은 대조군(245.30 ± 39.20 mg/dL)보다는 낮으나 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

HDL cholesterol 농도는 정상군(157.92 ± 21.38 mg/dL)에서 가장 높고, 대조군(100.02 ± 8.20 mg/dL)에서 유의성 있게 낮으나($p < 0.001$), 수풍순기환 분할처방군(147.74 ± 16.60 mg/dL)은 대조군보다 유의성 있게 높았다($p < 0.001$).

LDL cholesterol 농도는 정상군(5.40 ± 2.71 mg/dL)보다 수풍순기환 분할처방 투여군(7.20 ± 2.68 mg/dL), 대조군(8.10 ± 3.90 mg/dL) 모두 높았으나 유의성은 없었다.

TG농도는 대조군(259.00 ± 95.38 mg/dL)이 정상군(145.20 ± 78.49 mg/dL)보다 현저하게 높았고($p < 0.01$), 수풍순기환 분할처방 투여군(226.77 ± 101.41 mg/dL)에서도 대조군(259.00 ± 95.38 mg/dL)과 유의한 차이가 관찰되지 않았다.

TC/HDL ratio는 대조군(2.46 ± 0.44)이 정상군(0.87 ± 0.16)에 비해 유의하게 높았고($p < 0.001$), 분할처방 투여군(1.50 ± 0.10)은 대조군에 비해 유의하게 낮았다($p < 0.001$).

TG/HDL ratio는 대조군(2.69 ± 0.91)이 정상군(0.94 ± 0.55)에 비해 유의하게 높았다($p < 0.01$). 또한 분할처방 투여군(1.52 ± 0.64)은 대조군에 비해 유의하게 낮았다($p < 0.01$).

4. 수풍순기환 분할처방 투여가 지방 조직 무게에 미치는 영향

부고환 지방층의 무게는 정상군(0.53 ± 0.21 g)과 비교하면 대조군(1.81 ± 0.56 g)에서 유의성 있는 증가세를 보였고($p < 0.001$) 수풍순기환 분할처방 투여군(1.21 ± 0.60 g)은 대조군에 비해 33.15% 감소해 유의성 있는 소폭의 증가세를 보여 주었다($p < 0.05$).

간의 무게는 한약 처방 투여군(1.82 ± 0.52 g)이 가장 낮았고 대조군(2.09 ± 0.19 g) 정상군(2.18 ± 1.04) 순이었으며, 이들 사이에 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

5. 수풍순기환 분할처방 투여가 지방 세포 크기에 미치는 영향

지방세포 크기는 대조군($10,198.53 \pm 9073.98 \mu\text{m}^2$)에서 정상군($8,086.88 \pm 5,545.178 \mu\text{m}^2$)과 비교하여 유의성 있게 증가 하였는데($p < 0.05$), 수풍순기환 분할처방 투여군($6,804.21 \pm 4,753.65 \mu\text{m}^2$)은 대조군에 비해 매우 유의성 있게 지방세포의 크기 증가가 억제되었다($p < 0.01$). 대조군의 지방세포 크기가 1.0배 일 때 정상군과 수풍순기환 분할처방 투여군의 지방세포 크기는 각각 대조군의 0.79배와 0.66배로 감소하였다(Fig. 3).

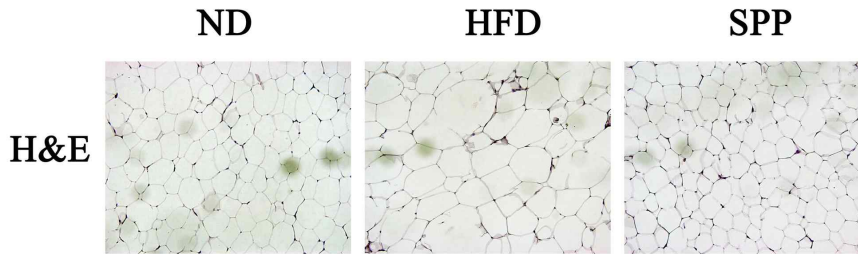


Fig. 3. White adipocyte size of each experimental group.

Group abbreviation : ND; normal diet, HFD; high fat, high sucrose diet, SPP; high fat, high sucrose diet with *Supungsunki-hwan* partitioned prescriptions. Original magnification = 100×. Hematoxylin and Eosin (H&E) staining.

IV. 고찰 및 결론

대사증후군은 임상적으로 의미 있는 여러 가지 심혈관 질환의 위험인자들이 한 개인에서 무리 지어 발생하는 현상으로 심각한 합병증을 일으킬 수 있어 이에 대한 예방을 통하여 심혈관 질환의 위험도를 낮추는 노력이 계속되고 있다^{1,2,18}. 현재까지 대사증후군에 대한 단일 치료법은 없이 복부 비만의 감소와 혈압, 혈당 및 혈청지질의 개선을 목표로 각 질환에 따른 치료가 시도되고 있다^{1,2,18}. 대사증후군은 초기 진단 당시 심각한 증상을 가지지 않는 데 비해 치료 약물은 비교적 장기간에 걸쳐 복용하게 되므로 부작용이 발생하기 쉬워^{2,18} 이 분야의 연구 성과는 치료제로 개발되기 어렵다. 혈당 강하를 목표로 사용하는 인슐린 분비 촉진제(설폰요소제, 비설폰요소제), 바이구아나이드, 알파글루코시다제억제제, thiazolidinediones 계 약물 등은 저혈당, 간 독성, 복부팽만감, 젖산증, 체중증가 등의 부작용이 동반되어 치료목표와 반대되는 결과를 가져오기도 하며, 체중조절을 목표로 사용되는 대표적 약물인 sibutramine은 고위험군에서 사용하는 경우 오히려 심혈관계 부작용이 높아지는 것으로 나타나는 등 현재까지 시도된 많은 약물은 대부분 효과가 없거나 부작용 때문에 근본적 치료에 사용될 수 없는 실정이다^{3,4,5,19}. 이에 따라 보다 안

진하고 우수한 효능을 지닌 새로운 약물을 개발하려는 노력, 특히 동양의학에서 그 대안을 찾으려는 연구가 현재 활발하게 진행되고 있다^{3,4}.

당뇨병에서 나타나는 여러 가지 증상이나 합병증을 고려하면 동양의학에서는 消渴을 비롯하여 ‘皮膚痒痛’, ‘燥’, ‘風痺’ 등의 病證이 당뇨병에 該當되는데, 이 중 消渴이 渴而多飲·消穀善飢·小便頻數 등의 당뇨병과 유의한 증상이 있어 가장 가깝다고 여겨지고 있다. 消渴은 《黃帝內經》에서부터 언급된 病證으로 陰虛燥熱로 인해 체내의 氣血津液이 실조되어 발생하는 일련의 병리적 변화이다. 體素陰虛·肥滿·飲食不絕(飲酒)·情地失調·勞傷過度(房室不絕)·過服辛燥·外邪入裏化熱 등의 원인에 의해 발생하는데, 肥人은 본래 濕熱이 內盛하여 氣가 上溢하고 轉化되어 消渴이 발생하기 쉽다고 하여 肥滿을 消渴의 病因으로 언급하며 그 치법으로 ‘清火生津’을 주로 응용한다고 기록되어 있다^{1,6}.

본 연구에서는 산수유·산약·지각의 복합 처방을 사용하였는데, 이 약제의 구성은 다수의 논문^{7,8,9,10}을 통해 혈당 강하 효과가 입증된 수풍순기환의 분할처방이다. 수풍순기환은 《醫學入門》²⁰에 腸胃積熱 胸膈痞悶 二便燥澀 腸風痔瘻 腰膝痠疼 肢節頑麻 手足癱瘓 言語蹇澀 一切諸風 諸氣 등을 치료한다고 명시된 처방으로 기름진 음식을 많이 먹어서 생긴 脾實의 病證에 사용한다고 하였다. 車前子 郁李仁 檳榔 火麻仁 免絲子 牛膝 山藥 山茱萸

各80g 枳殼 防風 獨活各40g 酒大黃20g 爲末蜜丸 梧子大 每20丸으로 구성되어 있으며, 《萬病回春》²¹에는 脾肺가 허하고 腎氣가 약한 자에게는 적합하지 않다고 되어 있다. 《東醫寶鑑》²²에도 처방 구성과 용량에 약간의 차이가 있는 疏風順氣元이라는 이름으로 수재되어 있는데 脾胃의 燥熱로 인한 便秘에 사용한다고 하였다.

선행된 수풍순기환에 대한 연구로 오 등⁸은 NMu2Li 간세포와 C2C12 골격근세포에서 PPARs 조절의 분자기전에 미치는 영향을 보고하였다. 박 등⁹은 고지방 고탄수화물 식이로 유발한 비만형 제2형 당뇨병 모델에서 수풍순기환의 혈당 강하와 핵수용체 PPAR- α 유전자 발현 증가 및 중성지방 감소를 보고하였으며, 배 등⁷는 수풍순기환 분할처방의 혈당 강하 활성도를 보고하였다. 또 다른 이 등¹⁰은 내당능장애 환자와 경증 당뇨병환자를 대상으로 한 연구에서 수풍순기환이 연령이 높은 환자보다 낮은 환자에서 그 효과가 뚜렷하게 나타나는 것을 보고하였다.

본 연구는 수풍순기환에 대해 《萬病回春》²¹에서 脾·肺·腎이 약한 자에게는 적합하지 않다고 한 점, 그리고 연령이 높은 환자에게 수풍순기환의 효과가 떨어진다는 이 등¹⁰의 연구를 고려하여 수풍순기환의 구성 약재 중 精氣를 다소 耗損시킬 수 있는 車前子(*Plantaginaceae Semen*), 郁李仁(*Pruni Semen*), 大黃(*Rhei Radix et Rhizoma*) 등을 제외하고, 약성이 비교적 완만하며 선행된 연구^{3,4,11,12,13,14,15,16}를 통해 단일 약재로서도 혈당 강하 효과가 있다고 알려진 산수유, 산약, 지각을 선별하여 수풍순기환 분할처방으로 구성하였다.

산수유는 산수유과(층층나무과; *Cornaceae*)에 속한 落葉小喬木인 산수유나무 *Cornus officinalis* SIEB. et Zucc. 의 成熟한 果實을 乾燥한 것으로 性은 微溫하고 味는 酸澁하다. 補陽시키고 滋陰시켜 肝腎을 平補하는 藥物로 甘寒滋潤한 藥物과 配伍하여 陰血을 보하고 甘溫辛熱한 藥物을 配伍하여 陽氣를 補益하는 작용으로 임상에서 補益肝腎

澁精固脫을 위해 사용된다²³. 산수유는 streptozotocin으로 유발한 흰쥐의 당뇨병 모델에 효과가 있으며 췌장도세포의 증식을 촉진하여 GLUT4 mRNA를 증가시키는 등 선행된 연구를 통해 혈당 강하 효과가 있음이 검증된바 있다^{3,4,11,12,13}.

산약은 薯蕷科(마과; *Dioscoreaceae*)에 속한 多年生 纏繞草木인 참마 *Dioscorea japonica* THUNB. 또는 마 *D. batatas* DECNE. 와 中國의 산약 *D. opposita* THUNB. 의 根莖을 건조한 것으로, 性은 溫 無毒하고, 味는 甘하다. 建脾 補肺 固腎 益精하는 效能이 있어 脾虛泄瀉 久痢 虛勞咳嗽 消渴 小便頻數를 主治한다²³. 한의학에서는 현대의 당뇨병을 消渴의 범주로 보는데⁶, 산약은 消渴과 당뇨에 수반되는 증상 중 하나인 小便頻數를 主治²³하여 항당뇨 효과가 있을 것으로 생각할 수 있으며, 이는 streptozotocin으로 유발한 당뇨쥐에서 산약 물분획물이 지방대사물과 지질과산화에 작용하여 항산화 효과 상승을 가져왔다는 김 등¹⁴의 연구를 통해 입증된바 있다.

지각은 芸香科(운향과; *Rutaceae*)에 속한 常綠小喬木인 酸橙 *Citrus aurantium* L. 의 未成熟한 果實을 乾燥한 것으로 性은 涼 無毒하고 味는 苦辛하다. 破氣, 行痰, 消積의 효능으로 胸膈痰滯, 胸痞, 脇脹, 食積, 噎氣, 嘔逆, 下痢後重, 脫肛, 子宮脫水 등에 사용된다²³. 지각은 평활근 이완, 문맥압 감소, 심근수축력 강화, 심박출량을 증가 및 혈압 상승의 작용이 있으며¹¹, 과량생산 시 고콜레스테롤 혈증, 동맥경화, 당뇨병, 비만 등을 일으킨다고 알려진 peroxynitrite(ONOO)를 소거시키는 작용으로 당뇨병의 예방 및 제어에 이용할 수 있을 것으로 보인다^{15,16}.

비만형 제2형 당뇨병을 유발시키기 위해 이번 연구에서는 Surwit's high fat, high sucrose 식이를 이용하였다. 제2형 당뇨병 모델은 ob/ob mouse나 db/db mouse와 같은 유전학적 모델도 있으나²⁴ 제2형 당뇨병은 유전적 결함보다는 식이에서 비롯되는 경우가 많으므로 식이를 통해 비만을 유발 하

였으며, 한국인의 식생활이 쌀을 중심으로 한 곡물 편중의 식사패턴인 점²⁵을 고려하여 고지방과 고탄수화물 식이를 동시에 병행한 Surwit's high fat, high sucrose 식이를 시행하였다.

8주간의 고지방, 고탄수화물 식이를 통해 대조군은 체중과 혈당이 유의성 있게 증가하고 fructosamine, total cholesterol, triglyceride 농도가 높아지면서 HDL cholesterol 농도는 낮아지고 부고환 지방층의 무게와 백색지방세포 크기는 증가하는 등 비만형 제2형 당뇨병이 효과적으로 유발되었다.

이에 반해 수풍순기환 분할처방 투여군은 대조군과 동일한 고지방 고탄수화물 식이를 시행 하였음에도 불구하고 지속적으로 대조군 보다 낮은 체중을 보였으며, 실험 8주차에 이르러서는 오히려 대조군과 유의성 있는 체중 증가 억제가 관찰 되었다. 체중 감량이 인슐린 저항성을 개선하는 adiponectin과 IL-10의 상승을 초래하고 triglyceride, total cholesterol 및 혈압을 개선시켜 당뇨병과 비만치료의 핵심²⁶이라는 점을 고려하면 시일이 지날수록 체중이 현저히 증가하는 대조군과 반대되는 이번 실험 결과는 수풍순기환 분할처방의 체중 조절 가능성을 보여준다.

다음으로 수풍순기환 분할처방 투여군은 FBS에서는 유의성은 없으나 대조군보다 낮고, OGTT에서는 30분 후 혈당이 유의성 있게 낮은 경향을 보여서 인슐린 저항성이 감소하였음을 알 수 있었다. 비록 60분 후부터는 유의한 차이를 보이지 않으나 혈당의 최고치를 보이는 30분 후 혈당 증가를 억제하여 혈당 조절 기능을 수행하는 것으로 보인다. 이러한 수풍순기환 분할처방의 장기적인 혈당 조절력을 보기위하여 fructosamine 측정도 병행하였다. Fructosamine은 단백질의 아미노기가 비효소 반응으로 포도당과 결합한 것으로 반감기가 길어서 최근 2주간의 혈당 평균치를 알 수 있는 검사 방법이다²⁷. 본 연구에서는 수풍순기환 분할처방 투여군에서 대조군과 유의성 있게 fructosamine 농도가 감소된 모습이 관찰되어 수풍순기환 분할처방

투여가 장기간에 걸쳐 우수한 혈당 조절력이 있다는 것을 보여주었다.

당뇨병에서 혈당 조절 기능의 이상은 혈장 지방 단백질 대사의 이상으로 이어져 허혈성 심장 질환을 비롯한 당뇨병의 심혈관계 합병증의 발생에 영향을 미친다고 알려져 있다²⁸. 따라서 지질대사의 조절여부는 당뇨병 합병증 예방의 핵심이므로 본 연구에서도 total cholesterol(TC), HDL cholesterol, LDL cholesterol와 triglyceride(TG) 검사를 시행하였다. 수풍순기환 분할처방군은 높은 HDL cholesterol 농도를 보여 다수 연구자와 일치되는 결과^{5,7,14}를 보이는 동시에 높은 TC과 TG를 보여 기존 연구와는 반대되는 결과도 보여 상호 모순되는 모습을 보였다. 이러한 오류를 보정하기 위해 최근에는 단일 지질측정 보다는 TC/HDL ratio, LDL/HDL 또는 TG(triglyceride)/HDL ratio와 같은 지질간의 관계를 이용하여 심혈관 관계를 예측하는 것이 선호되고 있으며 TG/HDL ratio가 가장 강력하고 독립적인 심혈관 예측인자라고 연구된 바 있다²⁹. 이번 실험에서도 수풍순기환 분할처방 투여군은 TC과 TG 농도가 높음에도 불구하고 HDL cholesterol 농도가 현저히 높아서 TG/HDL ratio와 TC/HDL ratio를 대조군에 비하여 매우 유의성 있게 감소시켰다. 이는 수풍순기환 분할처방이 지질대사의 개선을 가져왔음을 보여주는 것이라 하겠다.

한편, 비만은 지방세포의 비대(hypertrophy)와 과형성(hyperplasia)을 통한 체지방량의 과도한 축적으로 정의되므로 비만의 예방과 치료의 핵심은 지방 축적을 감소시키고 지방세포의 수를 줄이는 것이다³⁰. 따라서 이번 연구에서도 수풍순기환 분할처방이 지방조직에 미치는 영향을 알아보기 위하여 쥐의 부고환 지방조직을 사용하여 지방 무게의 증가여부와 지방 크기를 측정하였다. 부고환 지방조직을 선택한 이유는 부고환 지방조직이 포도당과 글리코젠을 합성하고, 인슐린에 민감하게 반응하며, 여러 가지 adipocytokine을 분비하는 조직으로 백색지방조직(white adipose tissue)의 변화를

평가하기 위한 지표로 여겨지기 때문이다³¹. 실험 결과 수풍순기환 분할처방은 지방조직의 무게증가와 부피증가를 모두 억제하는 것으로 나타나 수풍순기환 분할처방이 비만 예방 및 치료의 핵심인 지방축적을 감소시켰음을 알 수 있었다.

현재까지 개발된 대부분의 약물이 혈당 강화 효과가 있으면 체중을 증가 시키고, 체중 감량 효과가 있으면 심혈관 질환을 유발시키는 등 서로 상반되는 효과를 가지고 있어서^{34,5} 비만과 당뇨병 모두를 포괄하는 대사증후군에 사용하기 어려웠다. 이에 비해 수풍순기환 분할처방은 지질대사와 내당능을 개선시키는 동시에 지방 세포의 비대와 축적 및 체중 증가를 억제하여 비만과 당뇨병의 예방과 치료에 동시에 적용 가능해 현재 별다른 치료법이 없는 대사증후군에도 이용이 가능할 것으로 보인다. 앞으로 본 연구에서는 진행되지 못한 장기간의 영향 평가와 투여 용량에 따른 실험이 이루어져야 할 것으로 보이며, 더 나아가 지질 강하 기전과 관련된 물질들에 대한 연구와 임상연구가 필요할 것으로 판단된다.

이상의 결과를 통해 산수유, 산약, 지각의 수풍순기환 분할처방은 고지방 고탄수화물 식이로 유발된 비만형 제 2형 당뇨병 동물모델을 대상으로 한 당대사 및 지질대사 실험에서 유의한 개선 효과가 있었으며, 지방조직의 무게증가와 부피증가를 모두 억제하였다. 본 실험 결과는 2형 당뇨병 환자, 특히 비만형 당뇨병 환자와 당뇨병 전단계에 있는 환자들에게 유효하면서도 안전성 있는 치료에 방향을 제시할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 보건복지가족부 한의약선도기술개발 사업의 지원에 의하여 이루어진 것임(과제고유번호 : B100034).

참고문헌

1. 전국한외과대학 신계내과학교실. 신계내과학. 서울: 군자출판사; 2011, p. 89-96, 300-1. 320-6.
2. Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsen B, Lahti K, Nissen M, et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2001;24(4):683-9.
3. Li WL, Zheng HC, Bukuru J, N De Kimpe. Natural medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. *J Ethnopharmacol* 2004;92:1-21.
4. Wang E, Wylie-Rosett J. Review of selected Chinese herbal medicines in the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Educ* 2008;34(4):645-54.
5. James WP, Caterson ID, Coutinho W, Finer N, Van Gaal LF, Maggioni AP, et al. Effect of sibutramine on cardiovascular outcomes in overweight and obese subjects. *N Engl J Med* 2010;363(10):905-17.
6. 강신의 안세영 두호경. 동의보감 소갈문에 수재된 처방들의 혈당 강화효과에 대한 초보적 검색. *대한한의학회지* 1998;19(1):27-37.
7. 배미라, 정성현. 고지방식이 섭취 마우스에서 수풍순기환과 분할처방들의 혈당 강화활성 및 기전. *경희대약대논문집* 2000;28:101-8.
8. 오영진, 신순식, 윤미정, 김보경. 수풍순기환이 mouse의 NMu2Li 간세포와 C2C12 골격근세포에서 PPARs 조절의 분자기전에 미치는 영향. *동의신경정신과학회지* 2009;20(1):147-64.
9. 박종실, 이병철, 두호경, 안영민, 안세영. 수풍순기환 투여가 고지방, 고탄수화물 식이로 유발된 비만형 제2형 당뇨병 동물모델에 미치는 영향. *대한한방내과학회지* 2009;30(2):257-69.
10. 이병철, 권영구, 최기림, 이진신, 안영민, 안세영, 등. 수풍순기환이 내당능장애 환자와 경증 당뇨병 환자의 혈당조절에 미치는 영향. *대한한*

- 방내과학회지 2001;22(3):285-90.
11. 김호철. 한약약리학. 서울: 집문당; 2001, p. 271-3, 432-3, 495-6.
 12. 김옥경. 산수유추출물이 STREPTOZOTOCIN으로 유발된 흰쥐의 항당뇨 및 항산화 작용에 미치는 효과. 한국유화학회지 2005;22(2):157-67.
 13. Hsu JH, Wu YC, Liu IM, Cheng JT. Release of acetylcholine to raise insulin secretion in Wistar rats by oleanolic acid, one of the active principles contained in *Cornus officinalis*. *Neurosci Lett* 2006;404(1):112-6.
 14. 김명화. 당뇨 흰쥐에서의 참마 H₂O 분획물과 Selenium 보충 시 혈당 및 지질대사에 미치는 영향. 한국영양학회지 1998;31(9):1377-84.
 15. Korda M, Kubant R, Patton S, Malinski T. Leptin-induced endothelial dysfunction in obesity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;295(4):1514-21.
 16. 누그로호 아궁, 박명곤, 진성은, 최재수, 박희준. 5종 생약(진피 청피 곽핵 지실 지각)의 Flavanone Glycoside 함량분석과 Peroxynitrite 소거효과. 생약학회지 2009;40(4):370-5.
 17. Ryu MH, Cha YS. The effects of high-fat or high-sucrose diet on serum lipid profiles, hepatic acyl-CoA synthetase, carnitine palmitoyltransferase-I, and the acetyl-CoA carboxylase mRNA levels in rats. *J Biochem Mol Biol* 2003;36(3):312-8.
 18. 임동미, 박근용, 김병준, 이강우, 이명준, 염윤식, 등. 제2형 당뇨병 환자에서 대사증후군의 정도에 따른 심혈관질환 위험도. 임상당뇨병 2009; 10(3):196-203.
 19. European Medicines Agency: European medicines agency recommends suspension of marketing authorizations for sibutramine [internet]. London: European Medicines Agency; 2010 Jan 21. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Press_release/2010/01/WC500069995.pdf.
 20. 李梈. 懸吐醫學入門. 翰成社; 1983, p. 473, 526.
 21. 龔廷賢. 萬病回春. 서울: 일증사; 1994, p. 64-5.
 22. 許浚. 東醫寶鑑. 南山堂; 1994, p. 195.
 23. 전국한의과대학 본초학교수 공저자. 本草學. 도서출판 영림사; 2000, p. 351-2, 537-8, 626-7.
 24. 이민동, 정지천. 상심자 추출물이 ob/ob mouse의 혈당, 혈청지질, Polyol Pathway, AGE 및 RAGE에 미치는 영향. 동의생리병리학회지 2009;23(2):351-9.
 25. 백화영. 전통 한국 식이의 비교 영양학. 한국건강관리협회지 2005;3(1):84-96.
 26. Jung SH, Park HS, Kim KS, Choi WH, Ahn CW, Kim BT, et al. Effect of weight loss on some serum cytokines in human obesity: increase in IL-10 after weight loss. *J Nutr Biochem* 2008;19(6):371-5.
 27. Itoh N, Sakaue S, Nakagawa H, Kuroguchi M, Ohira H, Deguchi K, et al. Analysis of N-glycan in serum glycoproteins from db/db mice and humans with type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007;293(4):1069-77.
 28. Ditzel J. Oxygen transport impairment in diabetes. *Diabetes* 1976;25(2):832.
 29. 김희진. What Is the Most Useful Lipid Measure in Identifying Metabolic Syndrome and Insulin Resistance?. 학위논문(박사). 이화여자대학교 의학과 대학원; 2009.
 30. Otto TC, Lane MD. Adipose development: from stem cell to adipocyte. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2005;40(4):229-42.
 31. Maeda N, Shimomura I, Kishida K, Nishizawa H, Matsuda M, Nagaretani H, et al. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin /ACRP30. *Nat Med* 2002;8(7):731-7.