



제2형 당뇨 동물모델을 이용한 방풍통성산의 고혈당 개선효과

고문희¹ · 조현우² · 노종현^{3*}

Anti-hyperglycemic Effect of *Bangpungdongseong-san* on Type II Diabetes Animal Models

Moon Hee Ko¹, Hyun Woo Cho² and Jong Hyun Nho^{3*}

ABSTRACT

Received: 2020 January 30
1st Revised: 2020 February 19
2nd Revised: 2020 June 8
3rd Revised: 2020 July 2
4th Revised: 2020 July 16
Accepted: 2020 July 16

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Background: Type II diabetes is considered as one of the common diseases. *Bangpungdongseong-san* (BPS) has been used as a traditional medicine for treating obesity and hypertension in Korea. According to previous reports, it has anti-obesity, anti-chronic asthma, anti-oxidant, and anti-inflammatory properties. However, the effects of BPS on type II diabetes have not yet been elucidated. Thus, in this study, we evaluated the water extracts of BPS using type II diabetes animal models.

Methods and Results: Each group was orally administered with BPS (170, 850 and 1,700 mg/kg) for approximately 13 weeks. A mixture of 150 mg/kg metformin and 10 mg/kg sitagliptin (MS) was used as a positive control. The glycated hemoglobin (HbA1c) and glucose levels, and hematological parameters including blood urine nitrogen, creatinine, low density lipoprotein and total cholesterol, were measured using blood samples. Treatment with 170 mg/kg BPS decreased the HbA1c and glucose levels in blood without affecting the weights of the animals. However, treatment with 1,700 mg/kg BPS reduced the weights and fatty liver, and increased the blood glucose level in type II diabetes animal models

Conclusions: These results indicate that a low dose of BPS for 13 weeks, which reduces HbA1c and blood glucose levels, could be used for the treatment of type II diabetes. However, further studies are required to elucidate how active ingredients of BPS influence HbA1c and glucose levels in blood.

Key Words: *Bangpungdongseong-san*, Type II Diabetes, Traditional Medicine

서 언

당뇨병은 크게 제1형 당뇨병, 제2형 당뇨병, 임신성당뇨 및 여러 질환과 동반되어 나타나는 당뇨 등 크게 4 가지로 분류되고 이 중 제2형 당뇨가 발병률이 가장 높으며 근육, 간, 지방과 같은 다양한 조직에 영향을 미칠 뿐만 아니라 인슐린 과다분비, 인슐린 저항성이 유도되어 포도당 흡수 장애를 일으킨다 (Kim, 2008).

당뇨병으로 인해 혈당이 조절되지 않아 높게 유지되어 만성화될 경우 고지혈증, 고혈압, 동맥경화, 심혈관계 장애 등을 포

함한 여러 합병증이 유발되며 당뇨병성망막병증, 당뇨병성신장병증 및 당뇨병성신경병증과 같은 질병의 발병률이 크게 증가한다 (Jacobson *et al.*, 2005). 한국인을 대상으로 유발된 제 2형 당뇨는 인슐린저항성을 가진 동시에 체내 인슐린 분비가 증가한다는 것이 특징인데, 이는 인슐린에 영향을 받는 여러 세포의 포도당 흡수 및 글리코겐 합성을 억제 시킴에 따라 혈당이 증가하게 되고 이로 인해 여러 세포들이 손상된다 (Muniyappa *et al.*, 2007).

고령화 사회에 따른 환경변화에 의해 다양한 질병이 점차 증가하고 있으며, 이에 따라 장기 복용 및 예방에 따른 안전

*Corresponding author: (Phone) +82-61-860-2873 (E-mail) thej0123@naver.com

¹전남대학교 의과대학 예방의학교실 석사 / Master's degree, Department of Preventive Medicine, Chonnam National University Medical School, Hwasun 58128, Korea.

²한국한약진흥원 연구원 / Researcher, National Development Institute of Korean Medicine, Jangheung 59338, Korea.

³한국한약진흥원 연구원 / Researcher, National Development Institute of Korean Medicine, Jangheung 59338, Korea.

Table 1. Effect of plants included in *Bangpungdongseong-san*.

Scientific name	Substrate	Target	Reference
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer	Licochalcone A	Lipid accumulation	Lee <i>et al.</i> , 2018
	Liquiritin	Insulin sensitivity	Zhang <i>et al.</i> , 2016
<i>Gypsum Fibrosum</i>	CaSO ₄	Fibrosis	Ikarashi <i>et al.</i> , 2012
<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	Baicalin	Inflammation, fibrosis	Wang <i>et al.</i> , 2018
<i>Platycodon grandiflorum</i> A. De Candolle	-	Blood pressure	Yun <i>et al.</i> , 2003
<i>Saposhnikovia divaricata</i> Schischkin	-	-	-
<i>Paeonia lactiflora</i> Pallas	Albiflorin	Glucose uptake, Oxidative stress	Sun <i>et al.</i> , 2013
	Paeoniflorin	Diabetic nephropathy, Oxidative stress	Wankun <i>et al.</i> , 2013
<i>Cnidium officinale</i> Makino, <i>Ligusticum chuanxiong</i> Hort.	-	Oxidative stress	Song <i>et al.</i> , 2000
<i>Angelica gigas</i> Nakai	-	-	-
<i>Rheum palmatum</i> Linne	Sennoside A	Insulin sensitivity	Choi <i>et al.</i> , 2006
<i>Ephedra sinica</i> Stapf	Ephedrine	Lipid accumulation	Diepvens <i>et al.</i> , 2006
<i>Mentha arvensis</i> Linne var. <i>piperascens</i> Malinvaud ex Holmes	-	Oxidative stress	Lee <i>et al.</i> , 2005
<i>Forsythia viridissima</i> Lindley	-	Lipid accumulation	Park <i>et al.</i> , 2014
<i>Erigeron canadensis</i>	-	-	-
<i>Schizonepeta tenuifolia</i> Briquet	-	Lipid accumulation	Park <i>et al.</i> , 2014
<i>Atractylodes japonica</i> Koidzumi	-	-	-
<i>Gardenia jasminoides</i> Ellis	Geniposide	Hyperglycemia, Oxidative stress, Lipid accumulation	Wu <i>et al.</i> , 2009, Liu <i>et al.</i> , 2013, Lee <i>et al.</i> , 2019,
Talcum	-	-	-

성이 중요시 되고 있어 국내외 약용식물을 대안으로 여러 연구가 진행되고 있다 (Kim *et al.*, 2019; Nho *et al.*, 2019a,b; Um *et al.*, 2019; Yang *et al.*, 2019).

방풍통성산은 감초, 석고, 황금, 길경 등 여러 약용식물을 이용한 전통처방전으로 비만, 고혈압 및 심혈관 질환과 같은 대사증후군에 사용되어 왔으며 (Park and Kim, 2012), 주요 성분과 효능은 표에 정리했다 (Table 1).

여러 실험동물 연구에서 방풍통성산은 고지방식이 투여군의 체중증가, 지방축적 및 혈중 콜레스테롤을 개선시키는 것으로 나타났으며 (Kim *et al.*, 2011), ovalbumin에 의해 유도된 천식 동물모델에서 interleukin-4, interleukin-13 및 폐 섬유화를 개선시키는 것으로 알려졌을 뿐만 아니라 (Lee *et al.*, 2014), 세포실험에서 항염증 (Lee *et al.*, 2012) 및 항알러지 (Jeong *et al.*, 2015) 작용을 하는 것으로 보고되어있다.

방풍통성산의 주요 성분으로는 geniposide, albiflorin, paeoniflorin, liquiritin, sennoside A 등이 포함되어있는 것으로 알려져 있다 (Kim *et al.*, 2014). Geniposide는 high-fat diet와 streptozotocin으로 유도한 제1형 당뇨 모델에서 hepatic glycogen phosphorylase와 glucose-6-phosphatase를 조절하여 혈당을 감소시키는 것으로 알려져 있으며 (Wu *et al.*, 2009),

albiflorin은 제1형 당뇨 동물 모델에서 glucose 흡수를 개선시키는 것으로 나타났을 뿐만 아니라 (Zhou *et al.*, 2019), paeoniflorin은 streptozotocin으로 유도된 당뇨 쥐에서 toll-like receptor 2 신호전달 경로를 조절하여 당뇨병성 신장병증을 개선하는 것으로 보고되고있다 (Shao *et al.*, 2017). 이와 같은 주요성분을 함유하는 방풍통성산은 당뇨병이나 당뇨병성 합병증에 효과가 있을 것으로 사료되지만 실제로 방풍통성산이 제2형 당뇨를 개선시킬 수 있는지에 대한 연구 결과는 보고되지 않았다.

이러한 이유에 따라 본 연구는 방풍통성산 물 추출물을 제2형 당뇨 동물모델에 투여해 조직학적 및 형태학적 분석과 당뇨병에 관련된 혈액 인자를 분석하여 당뇨병의 특징을 개선할 수 있는지 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료와 추출물의 제조

본 연구에 사용한 약용작물은 대한민국약전을 기준으로 하여 식품의약품안전처의 우수 의약품 제조 및 품질관리 기준 (good manufacturing practice, GMP)을 인증받은 것을 사용하

Table 2. Composition of *Bangpungtongseong-san*.

Scientific name	Weight (g)	Ratio (%)
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer	4.80	11.88
Gypsum	2.80	6.93
<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	2.80	6.93
<i>Platycodon grandiflorum</i> A. De Candolle	2.80	6.93
<i>Saposhnikovia divaricata</i> Schischkin	1.80	4.46
<i>Paeonia lactiflora</i> Pallas	1.80	4.46
<i>Cnidium officinale</i> Makino, <i>Ligusticum chuanxiong</i> Hort.	1.80	4.46
<i>Angelica gigas</i> Nakai	1.80	4.46
<i>Rheum palmatum</i> Linne	1.80	4.46
<i>Ephedra sinica</i> Stapf	1.80	4.46
<i>Mentha arvensis</i> Linne var. <i>piperascens</i> Malinvaud ex Holmes	1.80	4.46
<i>Forsythia viridissima</i> Lindley	1.80	4.46
<i>Erigeron canadensis</i>	1.80	4.46
<i>Schizonepeta tenuifolia</i> Briquet	1.40	3.47
<i>Atractylodes japonica</i> Koidzumi	1.40	3.47
<i>Gardenia jasminoides</i> Ellis	1.40	3.47
<i>Talcum</i>	6.80	16.83
Total	40.40	100.00

고 광명당 한약도매 (Onherb, Gwangju, Korea) 구입하였으며 (Table 2), 실험에 사용된 시료의 확증표본은 한국한의약진흥원 토종한약자원개발본부에 보관하고 있다.

모든 약용작물을 개별로 세척한 뒤 시료 무게의 10 배에 해당하는 물을 넣고 환류냉각 추출방법을 이용하여 105°C에서 5 시간, 2 회 반복하여 추출하였다. 추출된 시료는 대형 회전 감압농축기 (NVC-2200, EYELA, Tokyo, Japan)를 이용해 55°C에서 농축한 뒤 filter paper (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)를 사용하여 여과하였고, 여과된 추출물은 동결건조기를 이용해 건조하였다.

실험재료는 151 g을 수득하여 약 31.1%의 수율을 확인하였고, 건조된 파우더는 0.5% carboxymethyl cellulose (CMC, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)에 녹인 뒤 사용하였다.

2. 실험 동물 및 처치

본 실험은 동물보호법 (제정 1991년 5월 31일 법률 제 4379 호, 일부개정 2015년 1월 20일 법률 제 13023 호)에 근거한 한약진흥재단 한약자원본부의 동물실험윤리위원회에 의해 승인되었다 (승인번호: NIKOM-2018-008).

제2형 당뇨 개선효과는 수컷 7 주령 BKS.Cg-m+/Leprdb/+J 및 BKS.Cg-m+/Leprdb/dbJ 마우스를 오리엔트 바이오 (Jeongeup, Korea)에서 구입하였으며, 동물실험에 사용된 방풍통성산의 구성은 여러 연구를 참고하였고 (Lee *et al.*, 2008;

Lee *et al.*, 2009), 이를 기준으로 추출 시 사용된 한약무게와 동결건조물 무게, 추출 수율을 통해 성인 몸무게 70 kg을 기준으로 한약의 단위, 1 첵 농도를 계산한 결과 0.17 g/kg으로 나타나 1 일 허용섭취량을 산출하는 ADI 계산법을 적용하여 170 mg/kg를 저농도, 850 mg/kg를 중농도, 1,700 mg/kg를 고농도로 동물실험에 적용하였다 (Nestmann and Lynch, 2007).

시험 기간은 순화 기간 1 주일을 거친 뒤 13 주간 이루어졌으며, 제2형 당뇨 개선 효과를 평가하기 위해 실험군 당 5 마리씩 배정하였고 실험군은 정상대조군 (NOR), 음성대조군 (CON)을 제외한 양성대조군 (POS) 그룹은 제2형 당뇨에 관련한 다른 연구 결과를 참고한 뒤 10 mg/kg sitagliptin과 150 mg/kg metformin을 합제하여 시험 기간 동안 매일 경구투여 하였다 (Hayes *et al.*, 2016).

저농도 방풍통성산 물 추출물 투여군 (BPL, 170 mg/kg), 중농도 방풍통성산 물 추출물 투여군 (BPM, 850 mg/kg), 고농도 방풍통성산 물 추출물 투여군 (BPH, 1,700 mg/kg)은 각각 표기된 농도로 매일 경구투여 하였다. 실험이 끝난 뒤 모든 실험동물은 institutional animal care and use committee (IACUC)의 실험동물 관리 기준에 따라 CO₂를 과호흡시켜 안락사를 유도하였다.

3. 최종 체중 및 공복혈당 측정

시험종료일에 최종 체중과 공복혈당을 측정하였으며, 최소 8 시간 이상 금식시킨 후, 꼬리 정맥에서 이규-첵 가이드 혈당

측정기 (F. Hoffmann-La Roche Ltd., Rotkreuz, Switzerland)를 이용하여 측정하였다.

4. 당화혈색소 및 인슐린 측정

당화혈색소는 꼬리 정맥에서 얻은 전혈을 mouse hemoglobin A1c (HbA1c) assay kits (80310, Crystal chem Inc., Schaumburg, IL, USA)를 사용하여 측정하였고, 혈중 인슐린은 동물 희생 후 얻은 전혈을 ultra sensitive mouse insulin ELISA kit (90080, Crystal chem Inc., Schaumburg, IL, USA)를 사용해서 측정하였다.

5. 혈액생화학학적 분석

채취한 전혈을 3,000 rpm으로 10 분 간 원심분리 후 혈청을 취하여 사용하였다. FUJI DRI-CHEM 4000i (Fujifilm Holdings Co., Tokyo, Japan) 혈액생화학 분석기를 이용하여 blood urea nitrogen (BUN), creatinine 및 total cholesterol (TC)을 분석하였으며, low-density lipoprotein (LDL)은 mouse LDL-cholesterol assay kit (79980, Crystal chem Inc., Schaumburg, IL, USA)를 사용해 분석하였다.

6. Hematoxylin과 eosin 염색과 조직학적 분석

적출된 간과 신장은 10% neutralized buffered formalin (NBF)에 고정하여, 조직처리 과정을 통해 파라핀으로 포매하였다. 포매가 끝난 조직은 5 μ m 두께로 절편을 제작하였으며, Dako Mayer's hematoxylin (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA)과 eosin Y (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 이용해 염색한 뒤 광학현미경하에 관찰하였다.

신장 조직의 손상 정도는 여러 문헌에서 사용된 방법을 참고하였고 (Canet *et al.*, 2015; Yiu *et al.*, 2016), 신장 손상 수치는 손상 비율에 따라 측정했고 수치는 정상 (0), 10% 이하 손상 (1), 20% 이하 손상 (2), 40% 이하 손상 (3), 60% 이하 손상 (4) 그리고 60% 이상 손상 (5)으로 나타났다.

신장 손상의 정도는 세뇨관의 형태, 술가장자리의 소실, 사구체 형태를 포함해서 측정하였고 세뇨관의 형태는 위축, 변성, 괴사, 칼슘 침착 등이 포함되며 사구체 형태는 전경화, 초점경화, 유착 및 반월형성 등의 변화를 포함한다.

7. 가용성 고형분 함량 측정

실험에 사용된 양성대조물질과 방풍통성산은 디지털 당도계 (PAL-3, ATAGO Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 사용해 가용성 고형분 함량을 측정하였으며, 각 시료당 0.5 ml 을 사용했다.

8. 통계처리

통계처리는 Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, International Business Machines Co., Armonk, NY,

USA)을 이용하여 통계처리 하였고, 평균값과 표준편차를 구하였다. 실험군 간의 평균 차이를 검증하기 위해 일원배치 분산분석 (One-way ANOVA)을 한 뒤, Tukey-kramer Multiple Comparison Test를 사용하여 유의수준 $p < 0.05$ 수준에서 통계적인 차이를 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 제2형 당뇨 동물 모델에서 방풍통성산이 체중과 혈당에 미치는 영향

db/db 마우스는 식이와 에너지 항상성에 관여하는 호르몬인 렙틴의 수용체를 만들어내는 유전자의 돌연변이를 가진 계통으로 당뇨병에 관련된 여러 대사질환 연구에 흔히 사용된다 (Bruke *et al.*, 2017).

제2형 당뇨 동물모델에서 방풍통성산 물 추출물 (BPS)이 체중, 혈당 및 당화혈색소에 어떤 영향을 미치는지 알아보기 위해 실험을 진행하였으며, 투여 13 주 후 정상대조군과 체중을 비교하였을 때 정상대조군 (*db/+*)의 체중이 30.9 ± 0.8 g으로 나타낸 데 반하여 음성대조군 (*db/db*)은 61.6 ± 2.9 g을 나타내었다. 양성대조군 (POS, 10 mg/kg sitagliptin + 150 mg/kg metformin) 그룹은 52.2 ± 4.3 g으로 음성대조군 대비 크게 감소하였으며, 170, 850 또는 1,700 mg/kg 방풍통성산 물 추출물 투여군은 각각 55.7 ± 4.4 g, 50.1 ± 4.5 g 및 47.7 ± 7.1 g으로 나타나 고농도로 갈수록 체중감소율이 증가하였다 (Fig. 1A).

방풍통성산은 예로부터 체중감량효과가 있는 것으로 알려진 처방으로 비만 환자를 대상으로 한 연구 결과에서 체중을 감소시키고, 인슐린 저항상을 개선하는 것으로 나타났는데 방풍통성산에 포함된 마황, 감초, 형개 및 연교의 영향에 의해 체중감량 효과가 나타나는 것으로 보고되었다 (Hioki *et al.*, 2004; Lim *et al.*, 2012).

마황에 포함된 ephedrine은 교감신경계 말단에서 norepinephrine의 분비를 촉진해 갈색지방의 adrenaline 수용체에 결합하여 cAMP를 활성화시킴에 따라 열을 발생시키고, 백색지방세포의 cAMP가 활성화되어 지방분해작용이 일어남으로써 체중감소에 영향을 미쳤을 것으로 생각된다 (Diepvens *et al.*, 2007).

같은 조건 아래 공복혈당을 측정한 결과 정상대조군의 공복혈당은 109.8 ± 10.8 mg/dl 였으며 음성대조군은 321.6 ± 36.3 mg/dl로 나타났으며, 양성대조군은 185.4 ± 35.3 mg/dl로 음성대조군 대비 감소했고 170, 850 또는 1,700 mg/kg 방풍통성산 물 추출물 투여군은 각각 214.0 ± 27.1 , 284.6 ± 8.4 및 385.8 ± 24.1 mg/dl 로 나타났다. 흥미롭게도 170 mg/kg 방풍통성산 투여군 (BPL)이 공복혈당 감소효과가 높았고 농도가 높아질수록 혈당감소효과가 나타나지 않았다 (Fig. 1B). 증례 보고에

따르면 마황이 함유된 처방이 혈당을 높이거나 감소한다고 보고되어 있어 혈당 변화에 대해서 논란이 있을 뿐만 아니라 섭취하는 사람의 질병 상태 또는 체질에 영향을 받는 것으로 사료된다 (Song *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2019).

당화혈색소는 당화헤모글로빈 (glycated hemoglobin, HbA1c)의 농도를 측정함에 따라 측정할 수 있으며, 환자의 경우 당뇨상태가 개선되지 않을 경우 10% 이상으로 나타나는 것으로 알려져 있고 제2형 당뇨 대표 모델인 *db/db* 마우스의 경우 사육기간이 20 주 이상 경과되었을 때 당화헤모글로빈의 수치가 10% 이상으로 증가되는 것으로 보고되어 있다 (Boden *et al.*, 1980; Bakris *et al.*, 2009; Yamazaki *et al.*, 2009).

당화혈색소 측정 결과에서, HbA1c의 비율은 정상대조군이 $5.2 \pm 0.3\%$ 였으며 음성대조군은 $12.2 \pm 0.6\%$ 로 증가되었고 양성대조군은 $7.8 \pm 0.6\%$ 로 음성대조군 대비 감소했다. 170, 850 또는 1,700 mg/kg 방풍통성산 물 추출물 투여군은 각각 HbA1c의 비율이 8.5 ± 0.5 , 10.4 ± 0.4 및 $12.5 \pm 0.7\%$ 로 나타났고 공복혈당 결과와 마찬가지로 저농도 방풍통성산 물 추출물 투여 실험군에서 유의미한 효과를 나타냈다 (Fig. 1C).

방풍통성산 물 추출물의 농도가 높아질수록 공복혈당 및 당화혈색소가 증가되었는데, 디지털 당도계를 이용해 가용성 고형분 함량을 측정한 결과 양성대조물질은 3.2 ± 0.3 Brix, 저농도 방풍통성산 물 추출물은 2.5 ± 0.2 Brix, 중농도 방풍통성산 물 추출물은 10.6 ± 0.4 Brix, 고농도 방풍통성산 물 추출물은 19.0 ± 0.8 Brix로 나타났다 (Table 3).

방풍통성산에 함유되어 있는 성분중 하나인 geniposide는 세포수준에서 glucose에 의한 인슐린 분비를 조절하거나, 제1형 당뇨 모델에서 중성지방과 혈당을 감소시키는 것으로 보고되어 있고 (Wu *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2013), albiflorin은 근관 세포의 세포막에서 glucose transporter 4 (GLUT4)의 전위를 촉진해 포도당의 흡수를 증가시킨다 (Zhou *et al.*, 2019). 뿐만 아니라 마황에 포함된 낮은 농도의 ephedrine은 비만상태에서 공복혈당과 식후 혈당을 낮추는 것으로 보고되어 있지만 (Song *et al.*, 2012), 질병이 없는 건강한 노인을 대상으로 한 임상결과에서 오히려 혈당을 높인다고 보고되고 있어 (Haller *et al.*, 2004) 비만상태, 나이 등에 따라 결과가 다르게 작용하는 것으로 보인다.

Table 3. Brix measurement of experimental substance.

Name	Concentration	Brix
POS	0.90 g metformin + 0.06 g sitagliptin/ 10 ml	3.2 ± 0.3
BPL	1.00 g/ 10 ml	2.5 ± 0.2
BPM	5.00 g/ 10 ml	10.6 ± 0.4
BPH	10.00 g/ 10 ml	19.0 ± 0.8

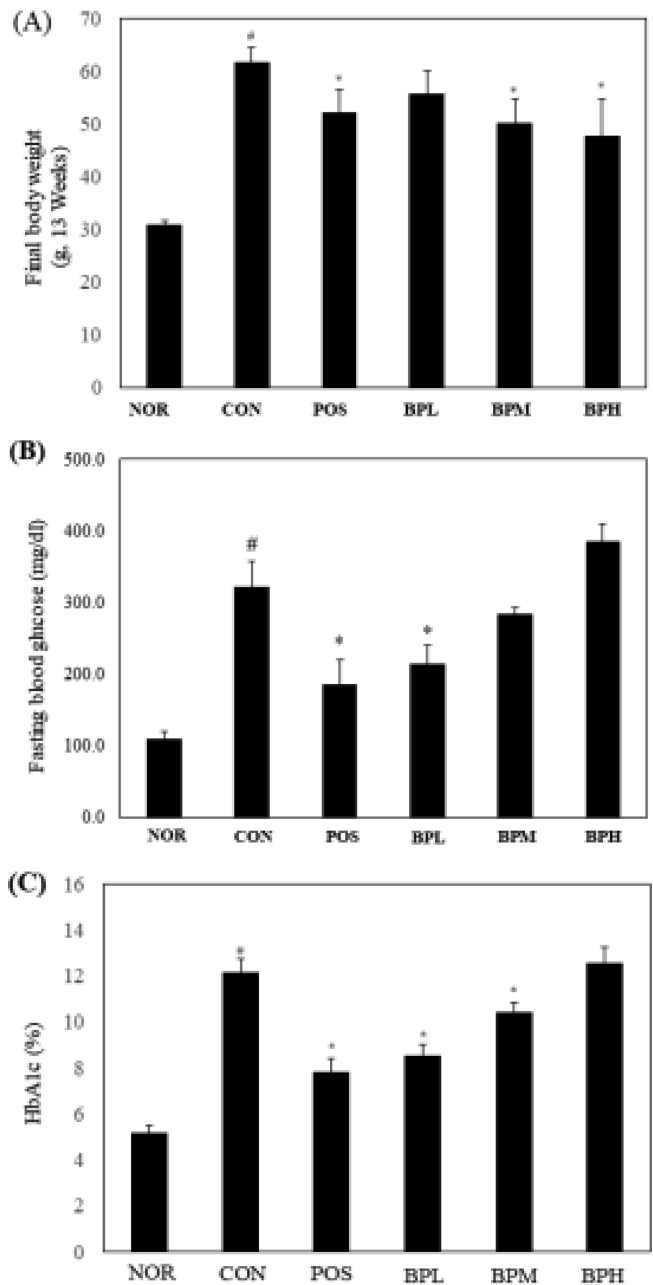


Fig. 1. Effect of *Bangpungdongseong-san* (BPS) on final body weight, fasting blood glucose and hemoglobin A1c (HbA1c) in type II diabetes animal models. Mice were separated into six groups of 5 mice each: NOR (normal control, *db/+*), CON (negative control, *db/db*), POS (positive control, 10 mg/kg sitagliptin + 150 mg/kg metformin, *db/db*), BPL (170 mg/kg BPS, *db/db*), BPM (850 mg/kg BPS, *db/db*), BPH (1,700 mg/kg BPS, *db/db*). All materials were administered daily to *db/db* mice for 13 weeks. (A); final body weights, (B); fasting blood glucose, (C); HbA1c. #*p* < 0.05, versus normal group; **p* < 0.05, versus negative control group. Between groups comparisons were conducted using One-way ANOVA with Tukey-Kramer Multiple Comparison Test.

임상적으로 하루 100 g 이상 당을 섭취할 때 인슐린 저항성, 중성지방, 콜레스테롤, 혈압 및 혈당 상승에 영향을 미치는 것으로 알려져 있으며, 전분 또는 포도당을 과당으로 대체하여 하루 100 g 이하로 섭취할 경우 당화혈색소를 개선할 수 있는 효과를 나타낸다고 알려져 있다 (Lean and Morenga, 2016).

고농도 방풍통성산 물 추출물의 가용성 고형분 함량이 높게 나타났지만 가용성 고형분은 당수치만이 아닌 염, 단백질, 산 등이 포함되는 수치로써 시험물질에 포함된 당의 영향을 직접적으로 영향을 미친다고는 보기 어렵다.

이러한 이유에 따라 방풍통성산에 포함되어있는 단당류, 이당류, 다당류 함량을 분석하는 연구가 추가로 이루어져야 할 것으로 사료되며, 저농도 방풍통성산과 비교하여 유의적인 당도 차이가 있기 때문에 농도별 당도가 혈당 및 당화혈색소 증가에 연관성이 있을 것으로 생각된다.

체내 포도당 대사는 설치류의 경우 사람과 단백질, 세포, 장기 수준에서 작용하는 인자가 조금씩 차이가 나는 것으로 알려져 있으며, 췌장에서 인슐린을 분비하는 베타 세포, 글루카

곤을 분비하는 알파 세포 및 소마토스타틴 분비 델타 세포의 분포량이 크게 다른 것으로 보고되었고 설치류의 경우 사람보다 베타 세포의 구성 비율이 다른 것으로 알려져 있기 때문에 (Chandrasekera and Pippin, 2014), 본 결과가 임상에서의 의미를 가질 수 없음에 따라 비임상 동물 실험을 통해 방풍통성산에 포함된 여러 물질에 대한 약물상호작용을 확인하고 임상적인 의미를 가질 수 있는 추가연구가 필요할 것으로 사료된다.

2. 제2형 당뇨 동물 모델에서 방풍통성산이 인슐린과 저밀도 지단백에 미치는 영향

제2형 당뇨는 고혈당과 인슐린저항성을 공통적으로 나타내는 특징을 가지며, 여러 연구에 따르면 일반적으로 인슐린저항성이 일차적인 원인으로 작용한다고 생각되고 있다 (Yaribeygi *et al.*, 2018).

실험동물의 혈중 인슐린 수치를 확인해본 결과 정상대조군의 인슐린 수치는 0.9 ± 0.1 mg/ml 였으며, 음성대조군은 9.8 ± 1.7 mg/ml로 나타났다. 양성대조군은 1.8 ± 0.2 mg/ml로 음성대

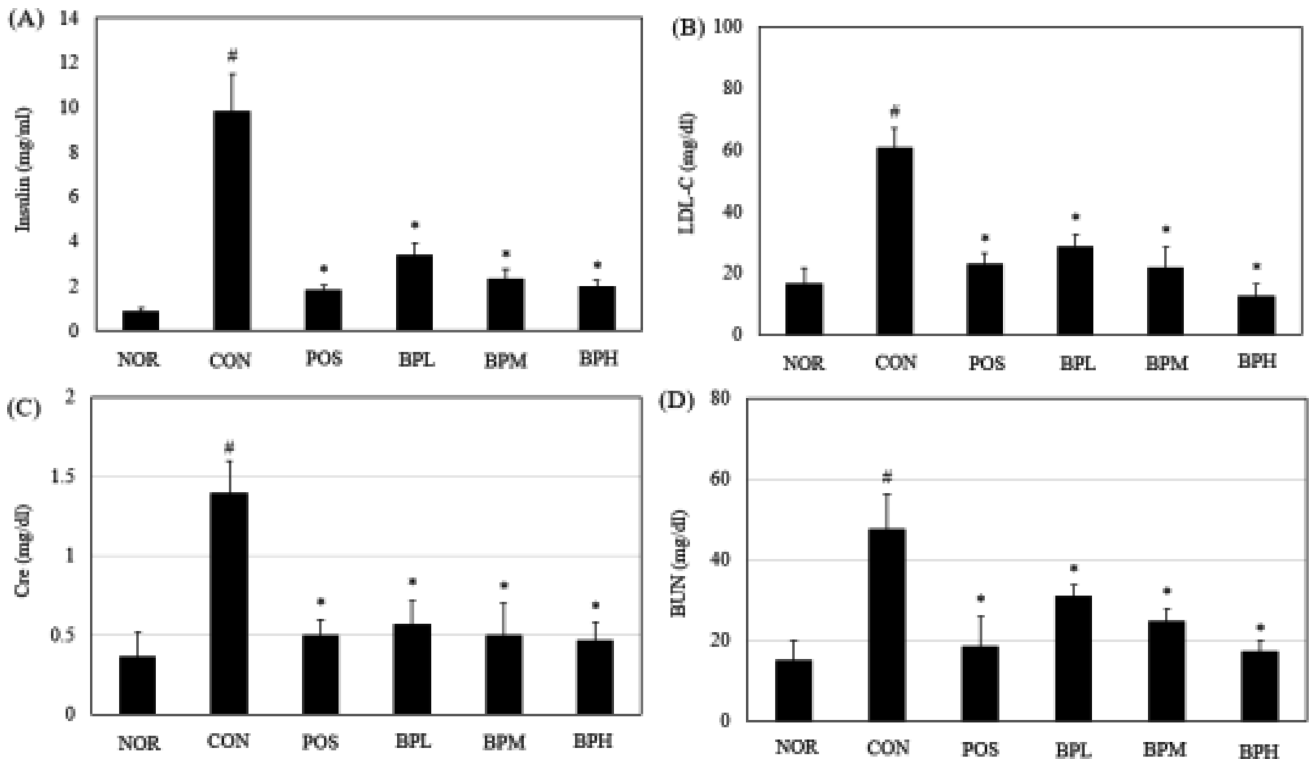


Fig. 2. Effect of *Bangpungtongseong-san* (BPS) on insulin, LDL-C, creatinine and BUN in type II diabetes animal models. Mice were separated into six groups of 5 mice each: NOR (normal control, *db/+*), CON (negative control, *db/db*), POS (positive control, 10 mg/kg sitagliptin + 150 mg/kg metformin, *db/db*), BPL (170 mg/kg BPS, *db/db*), BPM (850 mg/kg BPS, *db/db*), BPH (1,700 mg/kg BPS, *db/db*). All materials were administered daily to *db/db* mice for 13 weeks. (A); insulin, (B); LDL-C (low density lipoprotein), (C); Cre (creatinine), (D); BUN (blood urine nitrogen). # $p < 0.05$, versus normal group; * $p < 0.05$, versus negative control group. Between groups comparisons were conducted using One-way ANOVA with Tukey-Kramer Multiple Comparison Test.

조군 대비 감소하였으며, 170, 850 또는 1,700 mg/kg 방풍통성산 물 추출물 투여군은 각각 3.4 ± 0.5 , 2.3 ± 0.3 및 2.0 ± 0.3 mg/ml 로 모든 농도에서 유의적인 효과가 있는 것으로 확인되었다 (Fig. 2A).

당뇨 합병증 중 고지혈증의 치료는 low density lipoprotein (LDL-C)를 개선하는 것이 가장 중요한 것으로 알려져 있는데, 당뇨의 치료에 있어 제2형 당뇨 상태에서 고지혈증 동반한 심혈관 질환이 발병될 경우 초고위험군으로 분류되기 때문이다 (Razi *et al.*, 2017).

방풍통성산을 투여했을 때 LDL-C에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위해 측정해본 결과 정상대조군의 LDL-C 농도는 16.5 ± 5.1 mg/dl였으며 음성대조군은 61.0 ± 6.2 mg/dl로 나타났고, 양성대조군은 23.2 ± 3.4 mg/dl로 음성대조군 대비 감소하였으며 170, 850 또는 1,700 mg/kg 방풍통성산 물 추출물 투여군은 각각 36.0 ± 3.6 , 26.3 ± 6.9 및 13.7 ± 4.0 mg/dl 로 나타났다 (Fig 2B).

보고에 따르면 감초 추출물과 glycyrrhetic acid는 인슐린 민감도를 개선시켜주는 것으로 알려져 있고 (Ko *et al.*, 2007), senoside A는 alpha-glucoamylase를 억제하여 인슐린 민감도를 증가시킨다 (Choi *et al.*, 2006). 또한 대황의 liquiritin은 포도당 투여에 의한 인슐린 저항성을 개선하는 것으로 보고되었다 (Zhang *et al.*, 2016).

임상에서 공복시 혈중 인슐린 농도가 상승해 있는 것은 인슐린저항성에 지표로 사용되며, 인슐린 저항성에 의한 고인슐린혈증은 혈중 LDL-C농도와 깊이 연관되어있고 very low density lipoprotein (VLDL)을 intermediate-density lipoprotein (IDL)로 전환시키는 lipoprotein lipase의 작용을 억제하지 못해 혈중중성지방을 증가시키는 것으로 알려져 있다 (Wilcox, 2005; Choi, 2009).

방풍통성산 물 추출물은 농도 의존적으로 혈중 인슐린 농도와 저밀도지단백을 효과적으로 감소시키는 것으로 나타났지만 인슐린저항성과 중성지방합성에 관여된 신호전달경로에 어떻게 관여하는지 분자생물학적 실험이 필요할 것으로 사료된다.

3. 제2형 당뇨 동물 모델에서 방풍통성산이 BUN 및 creatinine에 미치는 영향

db/db 마우스는 20 주 이상 사육되었을 때 당뇨병성신장병증과 같은 당뇨병성합병증처럼 신장과 같은 주요 장기가 손상된다고 알려져 있다 (Sharma *et al.*, 2003), 이에 따라 실험 동물모델에서 신장손상정도를 측정하기 위해 임상적으로 사용되는 신장기능지표인 BUN과 creatinine을 확인하였다.

혈청에서 BUN과 creatinine 농도를 측정된 결과 정상대조군의 creatinine 농도는 0.4 ± 0.2 mg/dl였으며 음성대조군은 1.4 ± 0.2 mg/dl 로 나타났고 양성대조군은 0.5 ± 0.1 mg/dl 로 음성

대조군 대비 크게 감소하였으며, 170, 850 또는 1,700 mg/kg 방풍통성산 물 추출물 투여군은 각각 0.6 ± 0.2 , 0.5 ± 0.2 및 0.5 ± 0.1 mg/dl 로 나타났다 (Fig. 2C).

BUN 농도는 정상대조군이 15.0 ± 5.0 mg/dl였으며 음성대조군은 47.7 ± 8.6 mg/dl로 나타났다. 양성대조군은 18.7 ± 7.1 mg/dl로 음성대조군 대비 감소하였으며, 170, 850 또는 1,700 mg/kg 방풍통성산 물 추출물 투여군은 각각 31.0 ± 2.6 , 24.7 ± 3.1 및 17.3 ± 2.5 mg/dl 로 나타났다 (Fig. 2D).

혈장에 존재하는 creatinine은 대부분 골격근에 존재하고 골격근의 부피를 반영하며 골격근 부피가 줄었을 때 인슐린의 표적 부위도 같이 줄어들기 때문에 인슐린저항성을 유도하는데 기인한다고 보고되어있어 인슐린저항성 유발 초기 단계에서 낮은 creatinine 농도가 병인성에 기인할 수 있다고 보고되어있다 (Harita *et al.*, 2009).

혈청 creatinine의 경우 신장손상 정도가 심할 때 증가되는 것으로 알려져 있어 당뇨병성신장병증 연구에서 신장손상 지표로 흔히 이용되며, BUN의 경우 정상적인상태에서 신장에 의해 배설되는 우레아의 부산물로 신장손상이 되었을 때 정상적으로 배설되지 않아 체내에 축적되어 혈중 수치가 증가하는 것으로 보고되었다 (Dabla, 2010).

방풍통성산을 투여한 모든 그룹은 BUN 및 creatinine 농도가 정상적으로 개선되었으며 이는 방풍통성산이 제2형 당뇨에 의한 신장병증유발 단계에서 심각한 신장손상으로 이어지지 않도록 차단하는 역할을 할 것으로 사료된다.

4. 제2형 당뇨 동물 모델에서 방풍통성산이 신장손상과 지방간에 미치는 영향

db/db 마우스는 모델 특성상 20 주 이상 사육되었을 때 신장 무게 증가, 사구체 비대 및 신장 세포 손상이 나타난다고 알려져 있을 뿐만 아니라, 지방간이 유도되는 것으로 보고되어있다 (Sharma *et al.*, 2003; Smayra *et al.*, 2011).

조직학적으로 신장을 살펴본 결과 음성대조군은 솔가장자리의 소실과 세뇨관손상이 나타났으며, 양성대조군 및 방풍통성산 농도별 처리군은 신장손상이 차단되었다 (Fig. 3A - 3F).

손상 정도는 음성대조군이 3.6 ± 0.5 로 측정된 반면 양성대조군은 2.0 ± 0.7 로 감소되었다. 70, 850 또는 1,700 mg/kg 방풍통성산 물 추출물 투여군은 각각 1.2 ± 0.4 , 1.0 ± 0.7 및 0.6 ± 0.5 로 나타났다 (Fig. 3G). 간에 축적된 지방방울을 조직학적으로 조사한 결과 방풍통성산을 투여했을 때 농도 의존적으로 크기와 범위가 개선되었다 (Fig. 4).

당뇨병성신장병증에서 신장손상은 과도한 과당의 유입에 의해 diacylglycerol (DAG)-protein kinase C (PKC) pathway, advanced glycation end-products (AGE), polyol pathway, hexosamine pathway와 산화스트레스가 활성화 된다고 알려져 있으며, 이는 당뇨병성신장병증의 병인성에 기인한다고 보고

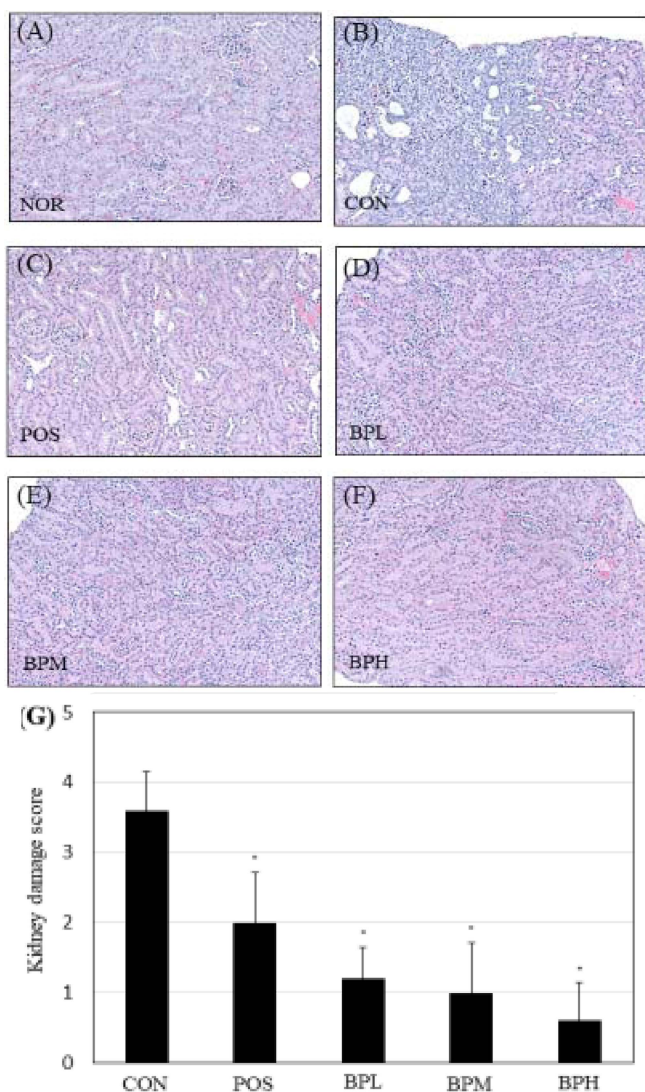


Fig. 3. Effect of *Bangpungdongseong-san* (BPS) on kidney injury in type II diabetes animal models. (A - F) Representative hematoxylin and eosin staining of kidney section from experimental animals. Mouse were separated in six groups of 5 mice each: NOR (A, normal control, *db/+*), CON (B, negative control, *db/db*), POS (C, positive control, 10 mg/kg sitagliptin + 150 mg/kg metformin, *db/db*), BPL (D, 170 mg/kg BPS, *db/db*), BPM (E, 850 mg/kg BPS, *db/db*), BPH (F, 1,700 mg/kg BPS, *db/db*). All materials were administered daily to *db/db* mice for 13 weeks. (G) Kidney damage score was used: Normal (0), <10% tubules were injured (1), <20% tubules were injured (2), <40% tubules were injured (3), <60% tubules were injured (4), >25% tubules were injured (5). Scoring of kidney damage was 10 randomly selected fields of view.

되었다 (Kawanami *et al.*, 2016).

방풍통성산의 주요성분인 albiflorin과 paeoniflorin은 항산화 작용을 가지며 (Wankun *et al.*, 2011; Suh *et al.*, 2013),

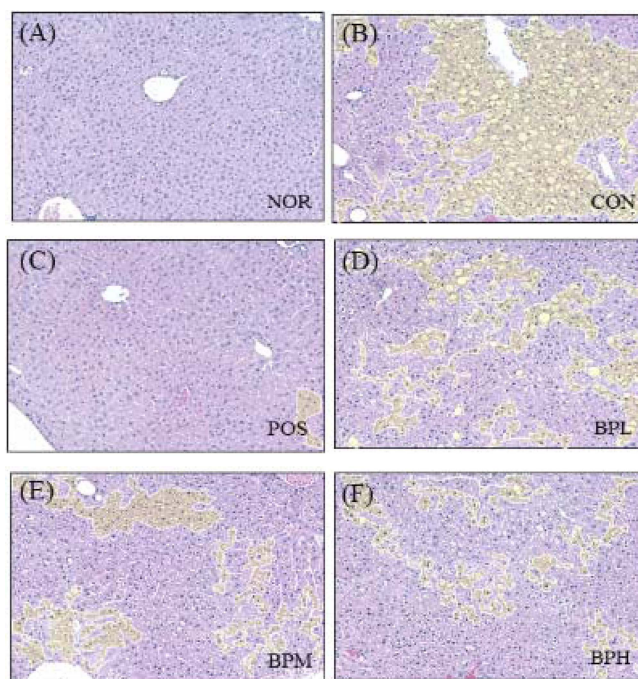


Fig. 4. Effect of *Bangpungdongseong-san* (BPS) on fatty liver in type II diabetes animal models. (A - F) Lipid accumulation on liver tissue was indicated with opaque yellow. All materials were administered daily to *db/db* mice for 13 weeks. Mouse were separated in six groups of 5 mice each: NOR (A, normal control, *db/+*), CON (B, negative control, *db/db*), POS (C, positive control, 10 mg/kg sitagliptin + 150 mg/kg metformin, *db/db*), BPL (D, 170 mg/kg BPS, *db/db*), BPM (E, 850 mg/kg BPS, *db/db*), BPH (F, 1,700 mg/kg BPS, *db/db*). All materials were administered daily to *db/db* mice for 13 weeks.

geniposide는 당뇨합병증과 심혈관질환에서 glucagon-like peptide-1 receptor (GLP-1R)을 통해 PI3K/Nrf2, cAMP/PKA 및 PPAR alpha 신호전달경로에 관여하여 HO-1, SOD같은 항산화 인자 발현을 촉진해 산화스트레스를 억제한다 (Li *et al.*, 2019). 뿐만아니라 감초의 licochalcone A는 지방세포의 브라우닝을 촉진시켜 항비만 효과를 나타낸다고 보고되었으며 (Lee *et al.*, 2018), 형개와 연교는 cAMP를 저해하는 phosphodiesterase의 억제 작용이 있어 지방축적에 이로운 작용을 한다 (Park *et al.*, 2014).

이를 근거하여 방풍통성산 물 추출물은 제2형 당뇨에서 항산화 작용 및 지방축적 개선 효과를 통해 신장손상과 지방간을 개선할 수 있는 잠재력이 있을 것으로 생각된다. 또한 본 시험조건에서 *db/db* 마우스에 농도별로 작용하는 특징이 틀린 것으로 나타났으며, 농도가 높을수록 체중감소 효과, 지방간 개선 및 신장손상 개선 효능이 크지만 저농도로 갈수록 혈당 개선효과가 나타난 것으로 보아 특정 성분의 함량 및 당류의 작용이 연관되어 있는 것으로 추측된다.

따라서, 농도별 유효성분의 함량과 당류의 비율을 분석하고 제2형 당뇨에 관여하는 특정 인자를 분석하여 제2형 당뇨 동물 모델에 대한 방풍통성산의 물 추출물의 농도별 특성을 밝히는 추가연구가 필요할 것으로 사료된다.

REFERENCES

- Bakris GL, Fonseca VA, Sharma K and Wright EM. (2009). Renal sodium-glucose transport: Role in diabetes mellitus and potential clinical implications. *Kidney international*. 75:1272-1277.
- Bruke SJ, Batdorf HM, Burk DH, Noland RC, Eder AE, Boulos MS, Karlstad MD and Collier JJ. (2017). *db/db* mice exhibit features of human type 2 diabetes that are not present in weight-matched C57BL/6J mice fed a western diet. *Journal of Diabetes Research*. 1017:8503754. <https://www.hindawi.com/journals/jdr/2017/8503754> (cited by 2020 Jan 21).
- Canet MJ, Hardwick RN, Lake AD, Dzierlenga AL, Clarke JD, Goedken MJ and Cherrington NJ. (2015). Renal xenobiotic transporter expression is altered in multiple experimental models of nonalcoholic steatohepatitis. *Drug Metabolism and Disposition*. 43:266-272.
- Chandrasekera PC and Pippin JJ. (2014). Of rodents and men: Species-specific glucose regulation and type 2 diabetes research. *ALTEX*. 31:157-176.
- Choi CS. (2009). Pathogenesis of insulin resistance. *Korean Journal of Medicine*. 77:171-177.
- Choi SB, Ko BS, Park SK, Jang JS and Park SM. (2006). Insulin sensitizing and α -glucoamylase inhibitory action of sennosides, rheins and rhaponticin in Rhei rhizoma. *Life Sciences*. 78:934-942.
- Dabla PK. (2010). Renal function in diabetic nephropathy. *World Journal of Diabetes*. 1:48-56.
- Diepvens K, Westerterp KR and Westerterp-Plantenga MS. (2007). Obesity and thermogenesis related to the consumption of caffeine, ephedrine, capsaicin, and green tea. *Physiology and Pharmacology of Temperature Regulation*. 292:R77-R85. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00832.2005> (cited by 2020 Jan 23).
- Haller CA, Jacob P and Benowitz NL. (2004). Enhanced stimulant and metabolic effects of combined ephedrine and caffeine. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 75:259-273.
- Harita N, Hayashi T, Sato KK, Nakamura Y, Yoneda T, Endo G and Kambe H. (2009). Lower serum creatinine is a new risk factor of type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 32:424-426.
- Hayes J, Anderson R and Stephens JW. (2016). Sitagliptin/metformin fixed-dose combination in type 2 diabetes mellitus: An evidence-based review of its place in therapy. *Drug Design, Development and Therapy*. 10:2263-2270.
- Hioki C, Yoshimoto K and Yoshida T. (2004). Efficacy of *Bofutsusho-san*, an oriental herbal medicine, in obese Japanese women with impaired glucose tolerance. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 31:614-619.
- Ikarashi N, Ogiue N, Toyoda E, Kon R, Ishii M, Toda T, Aburada T, Ochiai W and Sugiyama K. (2012). Gypsum fibrosum and its major component CaSO₄ increase cutaneous aquaporin-3 expression levels. *Journal of Ethnopharmacology*. 139:409-413.
- Jacobson PB, Von Geldern TW, Öhman L, Österland M, Wang J, Zinker B, Wilcox D, Nguyen PT, Mika A, Fung S, Fey T, Goos-Nilsson A, Grynfarb M, Barkhem T, Marsh K, Beno DWA, Nga-Nguyen B, Kym PR, Link JT, Tu N, Edgerton DS, Cherrington A, Efendic S, Lane BC and Oppenorth TJ. (2005). Hepatic glucocorticoid receptor antagonism is sufficient to reduce elevated hepatic glucose output and improve glucose control in animal models of type 2 diabetes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 314:191-200.
- Jeong SJ, Lee MY, Seo CS and Shin HK. (2015). *In vitro* anti-allergic effects of *Bangpungdongseong-san* in human keratinocytes and primary mouse splenocytes. *Journal of Physiology and Pathology in Korean Medicine*. 29:168-173.
- Kawanami D, Matoba K and Utsunomiya K. (2016). Signaling pathways in diabetic nephropathy. *Histology and Histopathology*. 31:1059-1067.
- Kim DJ, Assefa AD, Jeong YJ, Jeon YA, Lee JE, Lee MC, Lee HS, Rhee JH and Sung JS. (2019). Variation in fatty acid composition, caffeic and rosmarinic acid content, and antioxidant activity of *Perilla* accessions. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 27:96-107.
- Kim JH, Lee JK and Shin HK. (2011). Analysis of studies on *Bangpungdongseong-san*(*Fangfengtongsheng-san*) to establish the fundament for evidence based medicine(EBM). *Journal of Korean Medical Ophthalmology and Otolaryngology and Dermatology*. 24:1-15.
- Kim JO, Choi HM, Lee HH, Moon SO, Kim JB and Lee HD. (2014). Comparative study of characterizing components and biological activities of *Bangpungdongseong-san* formulation. *Korean Journal of Oriental Physiology and Pathology*. 28:322-329.
- Kim YJ, Song JY, Hong SC, Park SW, Kim HK, Ahn L and Choi DJ. (2019). A case report of increased blood sugar in a diabetic patient treated with *Socheongryong-tang*. *Journal of Internal Korean Medicine*. 40:929-937.
- Kim YS. (2008). Characteristics of diabetes in Korean population. *Journal of the Korean Medical Association*. 51:799-805.
- KO BS, Jang JS, Hong SM, Sung SR, Lee JE, Lee MY, Jeon WK and Park S. (2007). Changes in components, glycyrrhizin and glycyrrhetic acid in raw *Glycyrrhiza uralensis* Fisch, modify insulin sensitizing and insulinotropic actions. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 71:1452-1461.
- Lean MEJ and Morenga LT. (2016). Sugar and type 2 diabetes. *British Medical Bulletin*. 120:43-53.
- Lee CW, Kim SC, Kwak TW, Lee JR Jo MJ, Ahn YT, Kim JM and An WG. (2012). Anti-inflammatory effects of *Bangpungdongseong-san*, a traditional herbal prescription. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Journal*. 2012: 892943. <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2012/892943> (cited by 2020 June 23).
- Lee HY, Yang GS, Han SH, Lee JH, An TJ, Jang JK and Lee JY. (2018). Anti-obesity potential of *Glycyrrhiza uralensis* and licochalcone A through induction of adipocyte browning. *Biochemical and Biophysical Research Communications*.

- 503:2117-2123.
- Lee MY, Shin IS, Jeon WY, Shin N and Shin HK.** (2014). *Bangpungdongseong-san*, a traditional herbal medicine, attenuates chronic asthmatic effects induced by repeated ovalbumin challenge. *International Journal of Molecular Medicine*. 33:978-986.
- Lee SE, Han HS, Jang IB, Kim GS and Seong NS.** (2005). *In vivo* physiological activity of *Mentha viridis* L. and *Mentha piperita* L.. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 8:94-101.
- Lee SM, Kim BW, Kwon KR, Rhim TJ and Kim DH.** (2008). The effect of *Bangpungdongseong-san* extracts on adipocyte metabolism. *Journal of Pharmacopuncture*. 11:163-176.
- Li N, Li L, Wu H and Zhou H.** (2019). Antioxidative property and molecular mechanisms underlying geniposide-mediated therapeutic effects in diabetes mellitus and cardiovascular disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019: 7480512. <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2019/7480512/> (cited by 2020 Jan 23).
- Lim DW, Song M, Park JY, Park SW, Kim NH, Gaire BP, Choi HY and Kim HC.** (2012). Anti-obesity effect of HT048, a herbal combination, in high fat diet-induced obese rats. *Molecules*. 17:14765-14777.
- Liu J, Guo L, Yin F, Zhang Y, Liu Z and Wang Y.** (2013). Geniposide regulates glucose-stimulated insulin secretion possibly through controlling glucose metabolism in INS-1 cells. *PLoS One*. 8:e78315. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0078315> (cited by 2020 Jan 23).
- Muniyappa R, Montagnani M, Koh KK and Quon MJ.** (2007). Cardiovascular actions of insulin. *Endocrine Reviews*. 28:463-491.
- Nestmann ER and Lynch BS.** (2007). Method for calculating ADI-derived guidance values for drug carryover levels in medicated feeds. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 47:232-239.
- Nho JH, Jang JH, Lee HJ, Yang BD, Woo KW, Kim AH, Seo JW, Hwang TY, Cho HW and Jung HK.** (2019a). Preventive effect of the water extract of *Agrimonia pilosa* Ledeb and micronucleus assay-based evaluation of genotoxicity in gastritis animal models. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 27:136-142.
- Nho JH, Lee HJ, Jang JH, Yang BD, Kim AH, Woo KW, Hwang TY, Seo JW, Cho HW and Jung HK.** (2019b). Water extract of taraxaci radix improves rheumatoid arthritis induced by type-II collagen in animal models. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 27:38-44.
- Noden G, Master RW, Gordon SS, Shuman CR and Owen OE.** (1980). Monitoring metabolic control in diabetic outpatients with glycosylated hemoglobin. *Annals of Internal Medicine*. 92:357-360.
- Park JH and Kim HJ.** (2012). Clinical practice recommendations for Bangpungdongseong-san(Bofutsusho-san) and Bangkihwangkitan(Boiogito) in obesity. *Journal of Society of Korean Medicine for Obesity Research*. 12:48-58.
- Park SA, Bang KS, Chang YN, Lee JH and Jin JS.** (2014). A review on pharmacological properties of *Bangpungdongseong-san* in obesity. *Herbal Formula Science*. 22:25-34.
- Razi F, Forouzanfar K, Bandarian F and Nasli-Esfahani E.** (2017). LDL-cholesterol measurement in diabetic type 2 patients: A comparison between direct assay and popular equations. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*. 16:43. <https://link.springer.com/article/10.1186/s40200-017-0326-2> (cited by 2020 Jan 23).
- Shao Y, Xu X, Wang K, Qi X and Wu Y.** (2017). Paeoniflorin attenuates incipient diabetic nephropathy in streptozotocin-induced mice by the suppression of the Toll-like receptor-2 signaling pathway. *Drug Design, Development and Therapy*. 11:3221-3233.
- Sharma K, McCue P and Dunn SR.** (2003). Diabetic kidney disease in the *db/db* mouse. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 283:1138-1144.
- Song JC, Park NK, Hur HS, Bang MH and Baek NI.** (2000). Examination and isolation of natural antioxidants from Korean medicinal plants. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 8:94-101.
- Song MK, Um JY, Jang HJ and Lee BC.** (2012). Beneficial effect of dietary *Ephedra sinica* on obesity and glucose intolerance in high-fat diet-fed mice. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 3:707-712.
- Song MY, Kim HJ and Lee MJ.** (2006). The safety guidelines for use of Ma-huang in obesity treatment. *Journal of Korean Oriental Association for Study of Obesity*. 6:17-27.
- Suh KS, Choi EM, Lee YS and Kim YS.** (2013). Protective effect of albiglorin against oxidative stress-mediated toxicity in osteoblast-like MC3T3-E1 cells. *Fitoterapia*. 89:33-41.
- Trak-Smayra V, Paradis V, Massart J, Nasser S, Jebara V and Fromenty B.** (2011). Pathology of the liver in obese and diabetic *ob/ob* and *db/db* mice fed a standard or high-calorie diet. *International Journal of Experimental Pathology*. 92:413-421.
- Um IS, Lee MJ, Nam JH and Rho IR.** (2019). Effects of additional fertilization after cultivating green manure crops on the growth and saponin content of *Codonopsis lanceolata* Trautv. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 27:1-8.
- Wang G, Liang J, Gao LR, Si ZP, Zhang XT, Liang G, Yan Y, Li K, Xheng X, Bao Y, Chuai M, Chen LG, Lu DX and Yang X.** (2018). Baicalin administration attenuates hyperglycemia-induced malformation of cardiovascular system. *Cell Death and Disease*. 9:234. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0318-2> (cited by 2020 Jan 20).
- Wankun X, Wenzhen Y, Min Z, Weiyan Z, Huan C, Wei D, Lvzhen H, Xu Y and Xiaoxin L.** (2011). Protective effect of paeoniflorin against oxidative stress in human retinal pigment epithelium *in vitro*. *Molecular Vision*. 17:3512-3522.
- Wu SY, Wang GF, Liu ZQ, Rao JJ, Lü L, Xu W, Wu S and Zhang J.** (2009). Effect of geniposide, a hypoglycemic glucoside, on hepatic regulating enzymes in diabetic mice induced by a high-fat diet and streptozotocin. *Acta Pharmacologica Sinica*. 30:202-208.
- Yamazaki M, Kato A, Kato C, Fujii E, Adachi K, Miyoshi A and Suzuki M.** (2009). Segmentation of the pathophysiological stages of diabetic changes in the *db/db* mouse. *Journal of Toxicologic Pathology*. 22:133-137.
- Yang WK, Park YC, Kim BK, Choi JJ, Ryu GS and Kim SH.**

- (2019). Effects of catechin-rich green tea extract on the MMP-1 activity of HaCaT keratinocyte cells and on UVB-induced skin damage in hairless mice. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 27:143-150.
- Yaribeygi H, Farrokhi FR, Butler AE and Sahebkar A.** (2018). Insulin resistance: Review of the underlying molecular mechanisms. *Journal of Cellular Physiology*. 234:8152-8161.
- Yiu WH, Wong DWL, Wu H, Li R, Yam I, Chan LYY, Leung JCK, Lan HY, Lai K and Tang SCW.** (2016). Kallistatin protects against diabetic nephropathy in *db/db* mice by suppressing AGE-RAGE-induced oxidative stress. *Kidney International*. 89:386-398.
- Yun JS, Chung BH, Kim NY, Seong NS, Lee HY, Lee JH and Kim JD.** (2003). Screening of 94 plant species showing ACE inhibitory activity. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 11:246-251.
- Zhang Y, Zhang L, Zhang Y, Xu JJ, sun LL, Li SZ.** (2016). The protective role of liquiritin in high fructose-induced myocardial fibrosis via inhibiting NF- κ B and MAPK signaling pathway. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 84:1337-1349.
- Zhou X, Fouda S, Zeng X, Li D, Zhang K, Xu J and Ye J.** (2019). Characterization of the therapeutic profile of albiflorin for the metabolic syndrome. *Frontiers in Pharmacology*. 10: 1151. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2019.01151/full> (cited by 2020 Jan 23).