

梅實抽出物이 家兔의 Alloxan 糖尿病에 미치는 影響

徐華中·高銀永·李明烈

朝鮮大學校 産業大學 食品營養學科

(1987年 5月 26日 접수)

Effects of *Prunus mume* extract on experimentally Alloxan Induced Diabetes in Rabbits.

Sheo Hwa Joong, Ko Eun Young and Lee Myung Yul

Department of Food and Nutrition, College of Industry, Chosun University

(Received May, 26. 1987)

Abstract

These studies were conducted to investigate effects of *Prunus mume* extract on experimentally alloxan-induced diabetes in rabbits, antibacterial activity and acute toxicity in mice;

1. LD₅₀ of *Prunus mume* extract(P.M.E.) was 15.25g/kg intraperitoneally in mice.

2. P.M.E. showed more significant recuperative effect compared to the control group in alloxan-induced diabetes of rabbits.

1) P.M.E. 800mg/kg bodyweight exhibited more excellent hypoglycemic effect after 6 days and adjacent to the normal level at 14th day.

2) SGPT activity was significantly decreased after 6 days, and the blood levels of total cholesterol and urea-nitrogen were significant in 800mg/kg at 6 days and 10 days respectively.

3. In antibacterial activity test P.M.E. was active at 0.195mg/ml in *Staphylococcus aureus*, 3.125mg/ml in *E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, and in *Pseudomonas aeruginosa* at 0.391mg/ml.

4. In histological findings, the sample groups were deeply stained, fully granulated and partial degranulation of β -cells, and a few vacuolar and vesicular changes of cytoplasm than alloxan treated group in proportion to the sample amounts.

緒 論

梅花나무 (*Prunus mume* Sie. et Zucc.)^{1~3)}는 Rosaceae에 속하는 多年生植物의 落葉喬木으로 아시아의 동부지역에 널리 자생 및 재배되고 있으며,⁴⁾ 우리나라의 경우 전국 도처에서 食用, 藥用^{5,6)} 및 관상수로 널리 愛用되고 있다. 日本의

民家에서는 梅實을 알칼리성 食品이라 하여 梅實 김치(우메보시), 술, 즙, 죽, 엑기스, 썰, 차, 산 자 등으로 개발해^{7,8)} 각광을 받고 있으며, 漢方⁹⁾에서는 根, 葉, 花, 未熟果實을 健胃, 止瀉, 止痢, 去痰, 解毒, 酒毒, 消毒 및 驅虫 등에 效果를 나타내는 藥劑로 널리 利用되고 있다. 日本에서는 成分研究가 활발하여 根에 Kaempferid-7-

glucoside, naringenin, catechin, leuco-anthocyanidin¹⁰⁾ 花에 精油(benzaldehyde, isoeugenal, benzoic acid, 靑酸,¹¹⁾ benzyl alcohol, benzyl ester),¹²⁾ 未熟果實에 succinic acid, citric acid, malic acid, tartaric acid, sitosterol, ceryl alcohol 樣物質, 種子에 amygdalin 등이 알려져 있으며, 이들의 效果實驗에서 日本의 河村¹³⁾은 梅實의 殺菌效果는 含有된 有機酸 및 그의 酸類作用에 의하며, 그의 消化液分泌亢進, 清涼 등의 작용이 있다고 報告한 바 있으나, 국내외에서 기타 效能에 대한 基礎的인 動物實驗 등은 아직 미진한 상태에 있다. 이에 著者는 梅花나무의 未熟果實에 탄을 抽出物을 試料로 하여 mouse 急性毒性實驗, alloxan으로 實驗의 糖尿病을 誘發시킨 家兔에 投與하여 blood glucose, total cholesterol, SGPT 및 blood urea nitrogen量的 測定과 抗菌作用, 脾臟의 組織檢査 등을 행하여 몇 가지 有意한 結果를 얻었다.

實驗材料 및 方法

1. 試料의 抽出 및 調製

梅花나무의 未熟果實을 시중에서 購入, 果肉을 選別·乾燥後 ethyl ether로 3회 반복 抽出하여 脂肪 등 不純物을 除去하고, methanol로 3회 溫浸 抽出後 全抽出液을 減壓濃縮하여 약 16%에 해당 하는 抽出物을 얻었다. 試料는 動物體重 kg當 각각 200mg, 800mg씩 함유토록 saline에 溶解하여 調製하였다.

2. 急性毒性實驗

平均體重 25g의 mouse 5匹을 1群으로 試料投與量을 kg當 2.50~30.00g까지 8群으로 나뉘 腹腔內 注射하고 24時間後의 平均致死量(LD₅₀)을 Behrens-Kärber法¹⁴⁾으로 算出하였다.

3. 實驗의 糖尿病 誘發實驗

일정한 條件下에서 飼育한 平均 體重 2.5kg의 家兔 15마리를 5마리씩 3群으로 나뉘 alloxan monohydrate 8mg/kg을 신속히 耳靜脈에 1회 注射하고 30분 經과¹⁵⁾ 후 對照群은 saline 2ml/kg, 試料投與群은 各 試料를 14일간 투여하는 동안 2, 4, 6, 10, 14일째 血液學的 檢査를 實施하였다.

Blood glucose와 total cholesterol은 酵素法¹⁶⁾, SGPT는 Reitman Frankel法¹⁷⁾, blood urea nitrogen은 unease酵素法¹⁸⁾에 準하여 絶食後 家兔의 耳靜脈에서 採血·測定하였다.

4. 抗菌作用實驗

가) 材料 및 檢液의 調製; 試驗菌株로는 食中毒 및 腸內疾患을 誘發하는 Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Enterobacter Cloacae, Klebsiella oxytoca, Pseudomonas aeruginosa 등 5種의 菌을 사용하였으며, 梅實 methanol 抽出物 1.2g을 nutrient broth 24ml에 녹여 사용하였다.

나) 實驗方法; 各 菌株를 文獻記載方法¹⁹⁾에 따라 檢液과 對照試液에 대하여 50개의 시험관을 10개씩 5列로 配列하고 各 시험관에 nutrient broth 3ml씩 넣은 다음 各 列의 1번에 檢液 3ml씩 가한다. 그 후 1번부터 9번까지 培數로 稀釋하고 마지막 9번에서는 3ml를 버린다. 이어서 1:1,000으로 稀釋된 試驗菌液을 3방울씩 各 시험관에 가한 후 30℃에서 24시간 培養하여 菌의 發育에 의한 混濁의 有無로 最小發育阻止濃度를 결정하였고, 各 列의 10번을 空試驗으로 發育의 程度를 比較하였다. 이를 2회 反復·施行하여 最小發育阻止濃度를 求하였다.

5. 脾臟의 組織學的 檢査

摘出脾臟을 40% formalin solution에 10시간 동안 固定後 70%, 95% ethanol에 각각 2시간 통과 시켜서 脫水시킨 후, chloroform으로 3시간 처리하여 paraffin으로 包埋했으며, 이를 microtome으로 60μ 두께로 絶斷 후 haematoxylin-eosin으로 染色하여 檢鏡하였다.

結果 및 考察

1. Mouse 急性毒性

試料의 mouse에 대한 平均致死量은 Table 1과 같다. 豫備實驗을 토대로 試料를 kg當 2.50g에서 30.00g까지 8群으로 나뉘 實施하였던 바 5.00g까지 致死例를 볼 수 없었으나 增量投與하면 10.00g부터 죽기 시작하여 30.00g에서는 全부 죽어 平均致死量은 kg當 15.25g으로 이 量을 梅實果肉의 乾量으로 換算하면 약 95.31g에 該當된다.

Table 1. Acute toxicity of *Prunus mume* extract in mice.

Death Dose Rate(g/kgBw)	2.50	5.00	10.00	12.50	15.00	20.00	25.00	30.00	LD ₅₀ g/kg
P.M.E. (I.P.)	0/5	0/5	1/5	2/5	2/5	4/5	4/5	5/5	15.25

a) Behrens-Kärber method.

b) P.M.E.: *Prunus mume* extract.

c) I.P.: Intraperitoneal administration.

Table 2. Effect of *Prunus mume* extract on glucose contents in serum of alloxan-induced diabetic rabbits. (mean±S.E.) (mg/100ml)

Groups	Dose mg/kgBw (P.O.)	Days					
		0	2	4	6	10	14
Control (alloxan)	—	115.23 ±12.89	279.65 ±10.05	315.78 ±8.33	301.42 ±13.87	286.71 ±13.59	247.01 ±20.08
Sample I	200	114.04 ±12.77	281.31 ±13.12	304.81 ±12.29	269.77 ±17.30	219.77* ±14.98	177.76** ±14.09
Sample II	800	119.46 ±10.45	262.38 ±20.78	278.92 ±26.23	250.04* ±15.62	223.10** ±13.51	142.14** ±16.53

*: p<0.05, **: p<0.01.

Each data was obtained from 5 experiments.

Table 3. Effect of *Prunus mume* extract on GPT activity in serum of alloxan-induced diabetic rabbits. (mean±S.E.) (Karmen unit)

Groups	Dose mg/kgBw (P.O.)	Days					
		before	2	4	6	10	14
Control (alloxan)	—	45.37 ±5.75	154.43 ±7.56	150.26 ±6.55	139.46 ±8.14	132.18 ±6.19	120.37 ±5.40
Sample I	200	35.16 ±4.37	150.74 ±6.71	141.18 ±5.32	120.27* ±8.79	109.54* ±6.92	80.15** ±7.43
Sample II	800	41.18 ±3.25	145.17 ±7.79	130.86* ±6.18	106.75* ±8.95	87.67** ±7.92	68.79** ±10.75

*: p<0.05, **: p<0.01.

Each data was obtained from 5 experiments.

2. Alloxan으로 誘發된 家兔의 糖尿 病에 미치는 影響

가) 血清중 glucose量의 變化; 正常家兔의 血清중 glucose量은 Table 2에 나타난 바와 같이 100 ml당 114.04±12.77~119.46±10.45mg이며, alloxan을 투여하여 糖尿病을 誘發시키면 제4일째 315.78±8.33mg로 상승되었으나 試料投與群은 投與量에 비례하여 有意性 있는 血糖低下效果를 나

타냈다. 즉 800mg/kg 투여군은 제6일째부터, 200mg 투여군은 제10일째부터 對照群에 비하여 血糖低下速度가 促進되었으며, 제14일째는 正常値와 近接하게 低下되었다. 本實驗에서 梅實抽出物이 alloxan 投與로 인하여 非正常的으로 上昇된 家兔의 血糖量을^{20,21)} 效果있게 低下시켰음은 alloxan 投與로 破壞된 胰臟의 Langerhans Islet내 β-cell를 직접 刺戟하여 insulin 分泌를 促進하는 胰性作用을 가진 것으로 思料되나, 本實驗에서 使用

한 試料가 抽出物이라는 點, 또한 脾臟抽出의 高 血糖에 미치는 影響, glucose 耐性試驗 및 直接的 인 insulin 測定試驗 등이 施行되지 않는 한 단정 지을 수 없다.

나) 血清中 GPT活性도의 變化; 正常家兔의 血清中 GPT活性도는 Table 3과 같이 $35.16 \pm 4.37 \pm 5.37$ unit이며, alloxan을 투여하면 제2일째 154.43 ± 7.56 unit로 急增하였다. 그러나 試料 800 mg/kg 투여군은 제4일째부터, 200mg/kg 투여군은 제6일째부터 對照群에 비하여 有意性 있게 低下시켰다. Alloxan은 肝臟에 경미한 脂肪變性을 일으키며 또한 酵素機能의 主作用點인 -SH基 부위를 不活性化시켜 SGPT活性도를 상승시키는데,²²⁾ 本 實驗에서 梅實抽出物이 SGPT活性도를 有意性 있게 低下시켰음은 SGPT 上昇의 主된 原因인 gluconeogenesis를 低下시키며 -SH基를 보호함으로써 肝臟機能이 차츰 改善되어가고 있는 것으로 思料된다.

다) 血清中 total cholesterol量的 變化; 正常

家兔의 血清中 total cholesterol量은 Table 4와 같이 100ml당 $49.53 \pm 6.06 \sim 54.45 \pm 8.39$ mg이며, alloxan 투여로 제4일째 204.48 ± 14.78 mg으로 增加되었다. 試料 200mg/kg 투여군은 제14일째, 試料 800mg/kg 투여군은 제6일째부터 對照群에 비하여 低下效果를 促進시켰다. 本 實驗에서 大量의 梅實抽出物 투여가 非正常的으로 상승된 血清中 total cholesterol量²³⁾을 效果있게 低下시켰음은 alloxan 中毒으로 인한 肝臟의 경미한 脂肪變性을 豫防하고 脂肪代謝를 促進하는 것으로 여겨진다.

라) 血清中 urea-nitrogen量的 變化; 正常家兔의 血清中 urea-nitrogen量은 Table 5와 같이 100ml당 $21.98 \pm 1.74 \sim 25.52 \pm 1.28$ mg이며 alloxan 투여로 제2일째 52.02 ± 3.91 mg를 나타냈으나 시간이 경과함에 따라 서서히 低下되었는데, 試料 200mg/kg 투여군은 투여기간 동안에 뚜렷한 低下效果를 나타내지 못하였으나 試料 800mg/kg 투여군은 제10일째부터 改善效果를 促進시켰다.

Table 4. Effect of *Prunus mume* extract on total cholesterol levels in serum of alloxan-induced diabetic rabbits. (mean±S.E.) (mg/100ml)

Groups	Dose mg/kgBw (P.O.)	Days					
		before	2	4	6	10	14
Control (alloxan)	—	53.73 ±8.68	191.50 ±23.00	204.88 ±14.78	190.41 ±16.21	171.20 ±17.47	139.94 ±20.47
Sample I	200	54.45 ±8.39	180.51 ±21.24	185.93 ±17.09	180.22 ±17.65	154.00 ±8.28	98.41* ±10.34
Sample II	800	49.53 ±6.01	193.98 ±8.92	166.58 ±16.21	140.97* ±16.93	113.84* ±12.54	64.91** ±12.40

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$.

Each date was obtained from 5 experiments.

Table 5. Effect of *Prunus mume* extract on urea nitrogen contents in serum of alloxan-induced diabetic rabbits. (mean±S.E.) (mg/100ml)

Groups	Dose mg/kgBw (P.O.)	Days					
		before	2	4	6	10	14
Control (alloxan)	—	21.98 ±1.74	52.02 ±3.91	49.59 ±3.03	43.73 ±1.34	41.52 ±2.80	37.52 ±3.58
Sample I	200	24.06 ±1.89	53.32 ±3.34	47.18 ±2.28	39.18 ±3.02	36.88 ±1.99	30.31 ±3.70
Sample II	800	25.52 ±1.28	51.59 ±3.57	44.50 ±3.60	39.70 ±2.24	32.01* ±2.12	26.14** ±1.74

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$.

Each data was obtained from 5 experiments.

3. 抗菌作用

食中毒 및 腸內疾患을 誘發하는 5種의 菌株에 대한 最小發育阻止濃度는 Table 6과 같다. 梅實 methanol 抽出物은 全試驗菌株에 대하여 抗菌力을 나타냈는데, 各菌株에 대한 最小發育阻止濃度에서 Staphylococcus aureus는 0.195mg/ml, Pse-

udomonas aeruginosa는 0.391mg/ml 및 Escherichia coli, Enterobacter Cloacae, Klebsiella oxytoca 등은 3.125mg/ml 濃度에서 發育이 阻止되었다. 이 結果는 梅實이 菌株에 따라 差異는 있지만 強力한 殺菌力을 가지고 있다는 河村一의 報告¹³⁾와 일치하며, 食品의 殺菌 및 消毒의 目的으로 使用될 수 있을 것으로 여겨진다.

Table 6. The antibacterial activity of *Prunus mume* extract. (mg/ml)

Strain*Sub.	50	25	12.5	6.25	3.125	1.563	0.781	0.391	0.195	0.098	cont
Staphylococcus aureus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Escherichia coli	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Enterobacter cloacae	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Klebsiella oxytoca	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

*: *Prunus mume* concentration
(+): inhibition, (-): growth.

4. 腺臟의 組織檢査

각군에 대한 腺臟의 組織檢査는 Fig.1~4와 같다. Fig.1은 正常家兔腺臟의 β-cell로 正常的인 形態를 갖춘 β-cell이 完全染色되어 있으며 cytoplasm내의 內容物도 매우 安定되어 있다. Fig.2는 alloxan을 單獨投與한 家兔腺臟의 β-cell로 部分的으로 散在되어 있는 β-cell만이 染色되어 있으며, 곳곳에서 β-cell의 完全한 變性 및 壞死를 볼 수 있다. 또한 正常群에 비하여 cytoplasm내에 巨大한 vacuole과 많은 vesicle이 散在되어 있

다. Cell membrane도 거의 karyolysis되어 있다. Fig.3 및 4는 alloxan과 試料을 kg當 각각 200mg, 800mg을 투여한 群으로 試料投與量에 比例하여 alloxan 單獨投與群보다 cell의 形態가 安定되어 있으며 cytoplasm내의 vacuole 및 vesicle change도 훨씬 줄었고, β-cell의 變性도 매우 줄어들었다.

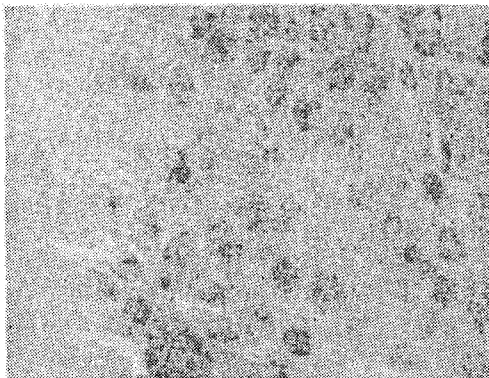


Fig. 1. Pancreas from normal rabbit. The β-cells of the islet are deeply stained. The clear shape of cell membrane, nucleus, cytoplasm and others is seen.



Fig. 2. Pancreas from rabbits treated with alloxan only.

A few scattered cells are stained in the islet. The complete degranulation and necrobiosis of β-cells and moth eaten appearance in cell membrane(almost karyolysis) can be seen. Large vacuole and a lot of vesicles are seen.

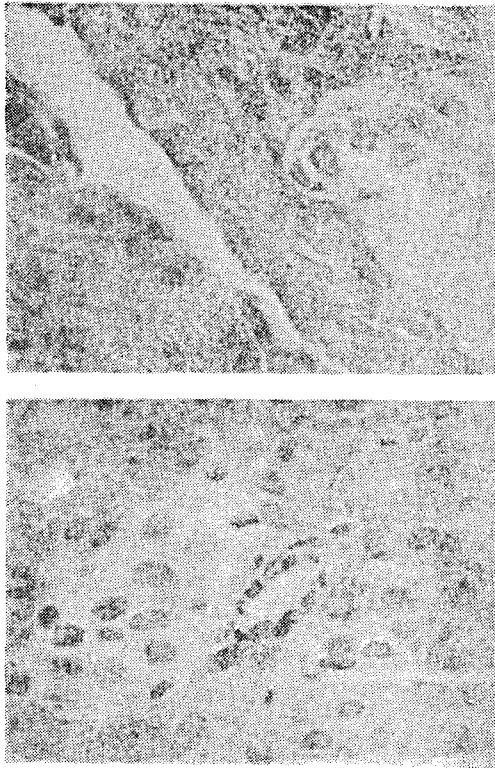


Fig. 3.4. Pancreas from rabbits treated with alloxan plus *Prunus mume* extract 200mg/kg and 800mg/kg body weight respectively.

The β -cells are more deeply stained than the alloxan treated group.

Fully granulated β -cells, total and partial degranulation of the β -cells can be seen. Vacuolar and vesicular changes in cytoplasm are more decreased than alloxan-treated group in proportion to the sample amounts.

結 論

梅實抽出물을 試料로 mouse의 急性毒性實驗, 實驗的으로 誘發시킨 家兔의 alloxan 糖尿病에 미치는 影響, 抗菌作用 및 組織檢査를 施行하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. Mouse의 急性毒性에서 腹腔投與의 경우 平均致死量은 15.25g/kg이었다.

2. 梅實抽出物 投與는 alloxan으로 誘發된 家兔의 糖尿病에 대하여 對照群에 비해 有意性 있

는 改善效果를 나타냈다.

1) 血清 중 glucose量은 試料 800mg/kg 투여군이 제6일째부터, 200mg/kg 투여군은 제10일째부터 血糖低下速度가 有意性있게 促進되어 제14일째는 正常値와 近接하게 되었다.

2) 血清중 GPT活性도는 試料 800mg/kg 투여군에서 더욱 빨라 제6일째부터 對照群에 비하여 有意性 있게 低下되었다.

3) 血清중 total cholesterol 및 urea nitrogen量은 大量投與群에서 제6일째부터 改善效果가 優秀하였다.

4) 膵臟의 組織檢査에서 試料投與群은 投與量에 비례하여 對照群보다 β -cell이 더욱 安定되고 진하게 染色되었으며, 과립으로 桴 차 있었다. 또한 細胞質의 變性 및 vacuole, vesicle 變化도 桴 차 들어 들었다.

3. 抗菌作用에서 試料는 全試驗菌株에 대하여 抗菌力을 나타냈다. 즉 staphylococcus aureus는 試料 0.195mg/ml, E.coli와 Enterobacter cloacae, Klebsiella oxytoca 등은 3.125mg/ml 및 P. aeruginosa는 0.391mg/ml에서 發育이 저지되었다.

參 考 文 獻

1. 安鶴洙: 韓國農植物資源名鑑, 一潮閣, 94 (1982).
2. 李昌福: 六韓植物圖鑑, 鄉文社, 450(1982).
3. 沈相龍: 漢方食療解典, 創造社, 436(1976).
4. 農業大百科事典編輯委員會: 果樹園藝大事典, 玉星出版社, 가권, 776(1973).
5. 이진주: 생약학회지, 6(2), 81(1975).
6. 柳庚秀: 生藥學會誌, 2(3), 140(1971).
7. 櫻井芳人: 總合食品事典, 東京同文書院, 59 (1940).
8. 趙漢衡: 梅實의 健康法, 민음出版社, 98(1981)
9. 赤松金芳: 新訂和漢藥, 醫齒藥出版(株), 東京, 369(1974).
10. 長谷川正夫: J. Org. Chem., 24, 408(1959).
11. 古川清治: 花香, 農學會報, 169, 573(1916).
12. 小竹無二雄, 大平: 花香, 日化, 74, 871(1953).
13. 河村一: 殺菌, 東醫事誌, 2931, 1378(1935).
14. Behrens, B.: Arch. Exp. path. pharmacol. 140, 237(1928).

15. Arnald Lazaraw: *Proc. Soc. Exptl. Med.*, **61**, 441(1946).
16. 李三悅: 臨床病理檢査法, 延世六出版部, 182, 208(1981).
17. A.Karmen: *J.Clin. Invest*, **34**, 126(1955).
18. S.Kurokawa: *Shikoku Igaku Zasshi*, **18**, 136(1962).
19. Frobisher, M.: Fundamentals of microbiology, 8th ed., 295(1968).
20. Bailey, O.T., Bailey, C.C.: *Am. J. Med. Sci.*, **208**, 450(1944).
21. Kirclaum, A., Wells, L.T.: *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, **58**, 294(1945).
22. A. Lazarow and Patterson: *Sci.*, **108**, 208 (1948).
23. Barbara Rudas: *Nature*, **211**, 320(1966).