

오미자 열매의 물추출물이 Alloxan-induced diabetic rats에 미치는 효과

이정숙 · 이성우 *

한국인삼연구초연구소

* 한양대학교 식품영양학과

(1989. 11. 27 접수)

Effects of Water Extract in Fruits of Omija (*Schizandra chinensis Baillon*) Alloxan-induced diabetic Rats

Joung Sook Lee and Sung Woo Lee*

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

*Department of Food and Nutrition, Hanyang University

(Received November 27, 1989)

Abstract

The effect of water extract in fruits of Omija (*Schizandra chinensis Baillon*) on alloxan-induced diabetic rats were determining the contents of metabolites and enzyme activities in the liver and serum of rat.

The treatment with water extract in fruits of Omija showed increased in contents of protein, glycogen, and activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase and a decreased in pyruvate content in the hepatic tissue from the alloxan treated group.

These treatments were decreased contents of glucose, urea nitrogen, free fatty acid and activities of GPT, GOT, LDH.

I. 서 론

성인병의 하나인 당뇨병은 혈액중의 포도당을 세포로 보내어 energy로 변환하는 insulin의 작용 감소로 간에서 혈류로 당의 방출을 촉진하고, 근육과 지방조직에서 glucose의 흡수가 감소하여 혈액의 glucose 수준이 증가하는 것이다.

당뇨병의 대사 이상으로는 carbohydrate와 마찬가지로 protein, lipid 대사가 비정상적으로 되는 것이다.^{1,2)}

오미자의 효능에 대하여는 실험적 간장장애에 미치는 영향,^{3,7)} 적출장기평활근에 대한 효과⁸⁾ 등의 보고가 있으나 국내외에서 항당뇨 효과에 대한 실험적 연구로는 서 등⁹⁾의 오미자 methanol 추출물이 alloxan 부하가토의 혈청성분에 미치는 효과와 mouse에 대한 급성독성에 대한 보고 외에는 아직 미진한 상태이다.

이에 연자는 alloxan 유발 당뇨쥐에 오미자 열매의 물추출물이 간과 혈청에서의 대사산물과 효소활성에 미치는 영향을 관찰하였기에 보고한다.

II. 재료 및 실험방법

1. 실험재료

오미자 열매의 물추출물은 전보¹⁰⁾에서와 동일한 시료로 하였으며 실험에 사용된 시약은 Glutamate pyruvate transaminase (GPT), Glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), Glucose, Urea nitrogen (UN), Free fatty acid, Lactate dehydrogenase (LDH)는 日本제약 (일본) 제품의 Kit 시약, Pyruvate는 Sigma (미국) 제품의 Kit 시약을 사용하였다.

NADP, MgCl₂, Glucose 6-phosphate는 Sigma 제품을, Alloxan은 동경화성공업(주) 제품을, 그 외의 시약은 Merck 제품으로 특급시약을 사용하였다.

Homogenizer는 B. Braun Melsungen AG를, Centrifuge는 Sorvall OTD 75B를 이용하였고, Spectrophotometer는 Beckman DU-6를 이용하였다.

실험동물은 Sprague Dawley rats (웅성, 체중 약 200 g)를 한 실험군에 8마리씩 배정하였다.

사육실의 온도는 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도는 60% 전후로 조절하였고, 사육식은 고품사료(삼양유지 사료(주): 조단백질 22.1% 이상, 조지방 8.0% 이하, 조섬유 5.0 이하, 조회분 8.0% 이하, 칼슘 0.6% 이상, 인 0.4% 이상 배합사료)를 물과 함께 자유로이 섭취케 하고, 빛은 오전 6시부터 오후 6시까지 조절되는 방에서 사육시킨 것을 실험에 사용하였다.

III. 실험방법

1. 실험적 당뇨병 유발

체중 200 g인 rat 8마리를 1군으로 한 2군에 alloxan (50 mg/kg B.W.)^{11,12}을 0.9% saline에 용해하여 꼬리정맥에 신속히 주사하였다.

9일 경과 후 시험군은 오미자 열매의 물추출물(원료 오미자의 1g 해당량)^{7,8} 시료조제액을, 대조군은 시험군과 동량의 물을 경구투여하여 식이를 제거하지 않은 상태에서 24시간 경과 후 Ethyl ether로 마취시켜 심장으로부터 혈액을 채취하고 간을 적출하였다.

2. Liver homogenate의 분획조제

대조군과 시험군으로부터 얻은 whole liver를 0.25 M sucrose (ice cold)로 씻어 혈액을 완전히 제거한 후 0.25 M sucrose를 첨가하여 homogenizer를 이용하여 teflon pestle로 1000 rpm에서 5분간 균질화시켜 25% homogenate를 만들었다.

Liver homogenate를 $10,000 \times g$ 에서 20분간 2회 원심분리하여 얻은 상등액을 효소원으로 사용하였다. 이때 모든 조작은 $0 \sim 4^\circ\text{C}$ 에서 진행되었다.

3. Microsomal protein 정량

2.의 방법으로 얻은 $10,000 \times g$ supernatant를 Lowry 방법¹³에 의해 정량하였다.

4. Glycogen 정량

2.의 방법에서 얻은 25% homogenate를 Clark 방법¹⁴에 의하여 5% Trichloroacetic acid를 첨가하여 제단백한 후 95% Ethanol로 glycogen을 침전시키고 무수알콜로 씻은 후 무게를 측정하였다.

5. Pyruvate 정량

2.에서 얻은 25% homogenate를 Marbach, Huckabee^{15,16} 방법에 준하여 Kit 시약을 이용하여 정량하였다.

6. Glucose-6-phosphate dehydrogenase의 활성도 측정¹⁷

효소에 의해 환원되는 NADPH를 0.1 M Triethanolamine buffer (pH 7.6), 0.1 M MgCl_2 , 35 mM Glucose-6-phosphate, 11 mM NADP, cytosolic protein ($10,000 \times g$ supernatant 이용)을 포함하는 1.5 ml의 반응액에서 340 nm에서의 흡광도 변화로 측정하였다.

7. 혈청분리

혈액을 채혈한 즉시 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액(serum)을 분석용 시료로 하였다.

8. 혈청분석

Glucose는 Kabasakalian의 방법,¹⁸ Urea nitrogen은 Searcy 방법,¹⁹ Free fatty acid는 Hosaka 방법,²⁰ GPT, GOT는 Reitman-Frankel 방법²¹ Lactate dehydrogenase (LDH) 활성도는 젓산기질법²²에 준하여 Kit 시약을 이용하였다.

9. 통계처리 방법

모든 실험결과는 통계처리하여 실험군당 평균치와 표준편차를 계산하였고, Student's t-test²³로 통계적 유의성을 검정하였다.

IV. 결과 및 고찰

1. Alloxan 유발 당뇨병 쥐의 간의 대사산물과 효소활성에 미치는 오미자 열매의 물추출물의 효과

간에서의 대사산물과 효소활성의 변화는 Table 1, 2와 같다.

Microsomal protein과 Glycogen 함량 수준을 alloxan 투여군에 비교해 볼 때 오미자 열매의 물추출물의 투여로 105.5, 118.1%로 증가하는 경향이였다.

Glucose-6-phosphate dehydrogenase 활성도는 alloxan 투여군의 0.023 $\mu\text{mole min. mg protein}$ 수준에서 오미자 열매의 물추출물의 투여로써 126.1% 증가수준인 0.029 $\mu\text{mole min. mg protein}$ 이었다.

Pyruvate 수준은 오미자 열매의 물추출물의 투여로 현저하게 감소하는 경향으로 나타났다.

이상의 결과는 Takako²⁴의 연구보고에서 streptozotocin-diabetic rat에서의 ginsenoside Rb_2 의 효과로서 Glycogen 함량 증가수준과 유사한 경향이였다. 또한 Pyruvate 수준에는 변화가 없었는데 비해 오미자 열매의 물추출물의 투여로써는 감소하는 경향이였다.

2. Alloxan 유발 당뇨병 쥐의 혈청의 대사산물과 효소활성에 미치는 오미자 열매의 물추출물의 효과

Table 3에서 보는 바와 같이 Glucose 수준이 alloxan

Table 1. Effect of water extracts in fruits of omija on hepatic microsomal metabolism of alloxan-induced diabetic rats.

Treatment	Protein (mg/g liver)	Glycogen (mg/g liver)
Alloxan	25.59 ± 0.84	8.64 ± 2.88
Alloxan + fruits	26.99 ± 0.77	10.20 ± 1.49
% of Alloxan	105.5	118.1

The administration of alloxan (50 mg/kg B.W.) dissolved in 0.9% NaCl solution was injected intraperitoneally to rat. Nine days later, water extract in fruits of Omija (raw Omija 1 g/200 g B.W.) were oral administration. Control group was treated with an equal volume of water. All values are mean ± SD; student's t-test: $p < 0.05$

Table 2. Effect of water extracts in fruits of omija on hepatic microsomal metabolism of alloxan-induced diabetic rats.

Treatment	Glucose-6-phosphate dehydrogenase (μ mole/min./mg protein)	Pyruvate (μ g/g liver)
Alloxan	0.023 ± 0.001	85.00 ± 8.20
Alloxan + fruits	0.029 ± 0.004	62.27 ± 10.07
% of Alloxan	126.1	73.3

The administration of alloxan (50 mg B.W.) dissolved 0.9% NaCl solution was injected intraperitoneally to rat. water extracts in fruits of Omija (raw Omija 1 g/200 g B.W.) were oral administration. Control group was treated with an equal volume of water.

All values are mean ± SD; student's t-test: $p < 0.01$

투여군에 비해 오미자 열매의 물추출물의 투여로서 88.3% 수준으로 감소하는 경향이었는데 Takako²⁰⁾의 Ginsenoside-Rb₂의 효과와 유사한 경향이였다.

또한 Glucose의 감소수준은 서 등²¹⁾이 보고한 Alloxan 유발 당뇨병에 10일간 계속 오미자 메탄을 추출물 200 mg, 800 mg/kg B.W.를 투여한 결과와 일치한 것이였다.

Urea nitrogen 수준은 Alloxan 투여로 인한 대사 이상을 오미자 열매의 물추출물 투여로 86.4%까지 감소하는 경향이었는데 이는 서 등²¹⁾의 보고에서 alloxan 유발 후 2일간 계속 투여한 성적과 일치되는 것이였다.

Free fatty acid 수준은 alloxan 투여로 혈중에 다량 유출되는 것을 오미자 열매의 물추출물의 투여로 대조군의 70.1% 수준으로 저하시키는 것으로 보아 지방대사 개선의 효과가 있는 것으로 사료된다.

혈청의 효소활성을 Table 4에서 살펴보면 GPT 수준은

Table 3. Effect of water extracts in fruits of Omija on the serum constituents of alloxan-induced diabetic rats.

Treatment	Glucose (mg/dl)	Urea nitrogen (mg/dl)	Free fatty acid (μ Eq/l)
Alloxan	195.90 ± 0.28	23.39 ± 1.90	158.08 ± 29.84
Alloxan + fruits	172.93 ± 9.19	20.20 ± 1.50	110.79 ± 33.05
% of Alloxan	88.3	86.4	70.1

The administration of alloxan (50 mg/kg B.W.) dissolved in 0.9% NaCl solution was injected intraperitoneally to rat. Nine days later, water extracts in fruits of Omija (raw Omija, 1 g/200 g B.W.) were oral administration. Control group was treated with an equal volume of water. All values are mean ± SD; student's t-test: $P < 0.05$.

Table 4. Effect of water extracts in fruits of Omija on the serum constituents of alloxan-induced diabetic rats.

Treatment	GPT (IU/ml)	GOT (IU/ml)	LDH (wroblewski unit)
Alloxan	49.50 ± 0.28	88.66 ± 5.48	531.60 ± 60.95
Alloxan + fruits	47.15 ± 1.46	77.36 ± 4.93	406.90 ± 13.72
% of Alloxan	95.3	87.3	76.5

The administration of alloxan (50 mg/kg B.W.) dissolved in 0.9% NaCl solution was injected intraperitoneally to rat. Nine days later, water extracts in fruits of Omija (raw Omija, 1 g/200 g B.W.) were oral administration. Control group was treated with an equal volume of water. All values are mean ± SD; student's t-test: $p < 0.01$.

alloxan 투여군에 비해 오미자 열매의 물추출물의 투여로 미약하나마 감소시켜 주는 효과가 있었다.

GPT의 감소경향은 서 등²¹⁾의 보고에서 alloxan 유발 후 2일간 계속 투여한 시험성과 일치되는 것이였다.

GOT의 수준은 alloxan 투여로 증가된 수준을 오미자 열매의 물추출물 투여로 87.3% 수준까지 감소시켜 주는 경향이였다.

LDH 수준은 alloxan 투여로 현저히 증가했는데 이는 세포질 효소인 LDH가 세포막의 손상으로 혈액내로 유출된 것을 오미자 열매의 물추출물 투여로 대조군의 76.5% 수준으로 감소시키는 경향이였다.

이상의 실험성적을 살펴보면 alloxan으로 실험적 당뇨병을 유발하면 Langerhan's islets에서 선택적으로 β cell necrosis를 야기²²⁾시켜 insulin의 작용이 억제되어 protein, carbohydrate, lipid 대사가 장애를 받는데, 오

미자 열매의 물추출물의 1회 투여로도 대사 개선효과와 간장내의 효소계의 활성을 촉진시키고, 간장기능을 개선시키는 효과가 있는 것으로 보아 장기적으로 복용한다면 건강식품으로써의 효능을 기대할만 하다고 사료된다.

V. 결 론

Alloxan 유발 당뇨쥐의 간과 혈청에서의 대사산물과 효소활성에 미치는 오미자 열매의 물추출물의 효과는 다음과 같다.

오미자 열매의 물추출물의 투여로써 간에서의 Protein, Glycogen, Glucose-6-phosphate dehydrogenase activity 수준은 증가하는 경향이었고, 간에서의 Pyruvate, 혈청에서 Glucose, Urea nitrogen, GPT, GOT, LDH activities 수준을 감소시키는 경향이였다.

참고문헌

1. 김윤수 : 당뇨병, 1(1), 5 (1972).
2. Yokozawa, T., Kiso, M., Oura, H., Yano, S. and Kawashima, Y.: *J. Med. Pharamaceutical Soc. WAKANYAKU*, 2(2), 372 (1985).
3. Nagsai, H., Yakuo, I., Aoki, M., Teshima, K., Ono, Y., Sengoku, T., Shimazawa, T., Aburada, M. and Koda, A.: *Planta Medica*, 55, 13 (1989).
4. Maeda, S., Takeda, S., Miyamoto, Y., Aburada, M. and Harada, M.: *Japan J. Pharmacol.* 38, 347 (1985).
5. Hikino H, Kiso, Y., Taguchi, H. and Ikeya, Y.: *Planta Medica* 50(3), 213 (1984).
6. 竹田茂文, 前村俊一, 須藤和彦, 加瀬義夫, 新井一郎, 大倉靖史, 布野秀二, 藤井祐一, 油田正樹, 細谷英吉 : *Folia pharmacol.*, Japan 87, 169 (1986).
7. 이정숙, 이성우 : 한국식문화학회지, 5(2), 1990.
8. Suekawa, M., Shiga, T., Some, H., Ikeya, Y., Tag-sauchi, H., Aburada, M. and Hosoya, E.: *YAKUGAKU ZASSHI* 107(9), 720 (1987).
9. 서화중, 이명령, 황경숙 : 한국영양식량학회지, 16(4), 262 (1987).
10. 이정숙, 이미경, 이성우 : 한국식문화학회지, 4(2), 173 (1989).
11. Akhtar, M.S., Alhar, M.A. and Yagaub, M.: *Planta Medica*, 42, 205 (1981).
12. Noren, W., Wadood, A., HidaYat, H.K. and Wahid, S.A.: *Planta Medica* 54(3), 196 (1988).
13. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: *J. Biol. Chem.*, 193, 265 (1961).
14. Clark, J.M. and Switzer, R.L.: *Experimental Biochemistry*, W.H. Freeman and Co., San Francisco, (1977).
15. Marbach, E.P., Weil, M.H.: *Clin. Chem.*, 13, 314 (1967).
16. Huckabee W.E.: *J. Clin. Invest.*, 37, 255 (1958).
17. Lohr, G.W. and Waller, H.D.: *Methods of Enzymatic analysis*, Academic Press N.Y. 636 (1983).
18. Kabasakalian, P.: *Clin. Chemistry*, 20, 606 (1974).
19. Searcy, R.L.: *Amer. J. Med.Tech.*, 33, 15 (1967).
20. Hosaka, K.: *J. Biochem.*, 89(6), 1799 (1981).
21. Reitman, S., Frankel, S.: *Amer. J. Clin. Pathol.*, 28, 56 (1967).
22. Wroblewski, F., Ladue, J.S.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 90, 210 (1955).
23. 김우철, 김재주, 박성현, 박홍래, 송문섭, 정한영, 최지훈 : 현대통계학, 영지문화사, p.154 (1980).
24. Yokozawa, T.: *Proceeding of the 5th international Ginseng Sym.* 63 (1988).
25. Rerup, C.C.: *Pharmacol. Rev.*, 22, 485 (1970).