

Streptozotocin으로 당뇨를 유도한 생쥐의 간과 췌장에서 황백피와 두릅나무 추출물이 지질과산화물 생성과 글루타티온 의존성 효소의 활성에 미치는 효과

서소영 · 김해리[†]
서울대학교 식품영양학과

Effects of *Aralia canescens* and *Phellodendron amurense* Extracts on Streptozotocin Induced Diabetic ICR Mice

So-Young Seo and Herriet Kim[†]

Dept. of Food and Nutrition, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

Abstract

The effects of *Aralia canescens* and *Phellodendron amurense*(AP) extracts on the experimental diabetes in ICR mice were investigated. 96 male ICR mice were induced diabetes mellitus by intraperitoneal streptozotocin injection(75mg/kg B.W.) and divided into two injection groups which are 5 day injection and 10 day injection group. Then, each injection group was subdivided into 8 groups of 6 animals respectively. CIC served as control and CI1, CI2 and CI3 were treated with 50, 150, 250mg/kg B.W. of AP extracts powder in 0.9% NaCl solution. Animals of groups DIC, DI1, DI2 and DI3 were streptozotocin-induced diabetes. DIC served as diabetic control and the rest groups received 50, 150, 250 mg/kg B.W. of AP extracts powder in saline solution respectively. The body weight, liver and kidney weight changes and blood levels of glucose, cholesterol and triglyceride were measured. Thiobarbituric acid reactive substance(TBARS), and glutathione reductase(GR) and glutathione peroxidase(GPx) activities were also measured for determining antioxidant effects. AP extracts increased the body weight in diabetic groups. The liver and kidney weight/100g B.W. in DIC group were greater than those of normal ICR group but after AP extracts injection, liver and kidney weight were decreased significantly. These effects were more efficient at 10 days injection group. The total, LDL, VLDL cholesterol and triglyceride levels were significantly higher in DIC group and the extent of decrement responded to AP injection dose. The contents of TBARS and antioxidant enzyme activities were relatively decreased after AP extracts injection. These results suggest that the intraperitoneally administered AP extracts may have not only hypoglycemic effect but act as antioxidants by reducing lipid peroxidation.

Key words: *Aralia canescens*, *Phellodendron amurense*, thiobarbituric acid reactive substance(TBARS), streptozotocin(STZ)-induced diabetic mice

서 론

인류는 당뇨병의 치료를 위해 기원전 부터 식물을 이용해왔으며, 현재 세계적으로 400여종 이상의 전통식물이 당뇨치료에 효과가 있다고 보고되고 있다(1-11). 그동안 혈당강하제로서 insulin 및 화학적 경구혈당강하제의 사용이 일반화되면서 전통식물 치료제의 사용이 급격히 감소되어 당뇨병의 치료는 대부분 약물치료와 식이요법에 의존하고 있으나 약물복용에 따른 독성문

제와 환자의 내성문제가 대두되고 있다. 최근에 이러한 화학적 약제들의 부작용을 극복하기 위한 시도로써 전통치료제 및 자연치유법에 대한 연구에 새로운 인식을 갖게 되었다. 그러나 다양한 식물치료제의 보고에도 불구하고 이들의 약리적 효능에 대한 과학적·의학적인 연구는 미비한 수준에 이르고 있다. 현재 국내에서 천연물을 이용한 항당뇨병약물의 개발이 이루어지고 있으며 이들 야생식물식품의 항산화성 및 혈당강화효능에 대한 약리효과에 많은 관심이 모아지고 있다. 이러

[†]To whom all correspondence should be addressed

한 시점에서 우리의 고유식품이며 전통적으로 당뇨치료에 이용되어 온 야생식용식물의 효능에 대한 적극적인 연구가 요구된다. 임과 김(7)은 한국산 야생식용식물 및 둥글레(*Polygonatum odoratum* var. *Pluriflorum* ohwi) 추출물의 methanol추출물이 streptozotocin을 이용한 당뇨유발 백서에 있어 혈당을 유의적으로 낮추었다고 보고하였으며, 김 등(9)은 허브(*Commelinae* Herb)의 methanol 추출물이 스트렙토조토신을 이용한 당뇨유발 백서에서 유의적으로 혈당을 낮추었다고 보고하였다. 본 연구실에서는 streptozotocin(STZ)으로 당뇨를 유발시킨 ICR mice에게 두릅나무(*Aralia canescens*) 가지와 황백피(*Phellodendron amurense*) 혼합물의 crude extract를 5일간과 10일간으로 나누어 복강투여함으로써 혈당 강하효과와 혈중 지질수준 및 항산화 효과를 탐색하고자 하였다. 특히, 항산화 효능은 과산화지질 함량과 항산화효소 활성을 측정함으로써 살펴보았다.

재료 및 방법

실험재료

두릅나무(*Aralia canescens* Sieb. ZUCC)가지와 황백피(*Phellodendron amurense* RUPR)를 중량을 기준으로 1 : 1로 혼합한 혼합물 600g을 분쇄하고 증류수 5000ml를 가하여 추출, 여과, 원심분리하였다. 원심분리 후 생성된 여액에 클로로포름 2000ml과 n-헥산을 가하여 수지, 섬유질, n-헥산 가용성 물질을 용출시켰으며, 정제된 여액은 동결건조하여 분말화하였다. 이 방법에 의해 두릅나무와 황백피의 혼합추출물 36g을 수득하였다.

당뇨유도

당뇨를 유발시키기 위하여 4주된 ICR mice(25~40g)에 streptozotocin(STZ, Sigma Chemical Co.)을 1회 복강투여하였다. STZ는 alloxan과 함께 흔히 사용되는 당뇨 유도물질로 선택적으로 췌장의 베타세포를 파괴하여 insulin결핍을 유도, 영구적인 당뇨를 유발한다. STZ 주사는 실험동물을 16시간 절식시킨 후 75mg/kg B.W. 농도로 pH 4.5의 0.01M citrate buffer에 녹여 최대 주사량이 0.4ml이내 되도록 복강투여하였다. 일주일 후 혈당을 검사하여 혈당치가 200mg/dl 이상을 당뇨군으로 사용하였다.

실험계획

25~40g의 ICR mice 96마리를 5일간 복강투여 8군,

10일간 복강투여 8군으로 구분하고 각군에 6마리씩 모두 16군이 되도록 하였다. CIC는 대조군으로 생리식염수를 투여하였으며, CI1과 CI2 및 CI3는 각각 50, 150, 250mg/kg B.W.의 황백피와 두릅나무(AP)추출물 분말을 생리식염수에 녹여 복강투여하였다. DIC, DI1, DI2 및 DI3는 STZ으로 당뇨를 유도하여 DIC는 당뇨 대조군으로, DI1과 DI2 및 DI3는 STZ투여 5일 후부터 각각 50, 150, 250mg/kg B.W.의 AP추출물을 복강투여하였다. 물과 식이는 ad libitum으로 공급되었으며, 매 3일마다 혈당과 몸무게를 측정하였다. 실험과정 중 6마리의 AP추출물 치료 당뇨쥐와 4마리의 당뇨 대조군의 쥐가 죽었으며 5일 및 10일간의 복강투여 후, decapitation방법으로 희생하였다.

시료의 분석

당뇨로 인하여 야기되는 총 cholesterol 및 HDL, LDL, VLDL-cholesterol과 triglyceride의 함량 변화를 알아보고자 효소법에 의한 cholesterol kit(영동계약)를 이용하여 500nm에서 흡광도를 측정하였다. 간과 췌장은 희생 직후 적출하고 여과지로 혈액을 닦아낸 후 무게를 측정하였다. 간과 췌장의 균질액은 154mM KCl, 50mM Tris-HCl과 1mM EDTA를 포함한 4°C의 homogenizing buffer용액을 사용하여 균질화하였다. 이 균질액을 10분간 10,000g에서 원심분리하고, 여액은 다시 100,000g에서 60분간 원심분리하여 얻어진 microsome과 cytosol은 액체 질소로 급속냉각하여 분석시까지 -80°C에 보관하였다. Cytosol은 glutathione reductase (GR)와 glutathione peroxidase(GPx)의 활성을 측정하기 위하여, microsome은 TBARS의 분석을 위하여 이용되었다. 시료의 단백질 함량은 bovine serum albumin을 표준용액으로 하여 Lowry 등의 방법으로 750nm에서 흡광도를 측정하였다(12).

TBA-reactive substance의 분석

TBARS는 Wills의 thiobarbituric acid(TBA)방법을 이용하였다(13). 1~2mg/ml의 단백질을 함유한 microsome을 37°C에서 60분간 incubation한 후, 10%의 trichloroacetic acid 1ml와 thiobarbituric acid 1ml를 첨가하여 15분간 끓인 후, 3,000g에서 원심분리하였다. TBA-MDA 복합체는 spectrophotometer를 이용하여 535nm에서 흡광도를 측정하였다.

Glutathione reductase와 glutathione peroxidase 활성도의 측정

GR의 활성도는 Carberg 등의 방법을 이용하였다(14).

0.5ml의 EDTA-potassium phosphate (2mM/0.2M) buffer, 2mM의 NADH 및 20mM의 GSSG의 혼합물에 간과 췌장의 cytosol을 첨가함으로써 반응이 시작되었다. GPx의 활성도는 cumene hydroperoxide를 기질로 하여 Tappel의 방법을 이용하였다(15).

통계처리

모든 실험결과는 SAS general linear models procedure를 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 계산하고, $p < 0.05$ 수준에서 ANOVA test를 한 후 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군간에 유의차를 검증하였다(16).

결과 및 고찰

체중 변화 및 장기무게

AP추출물의 체중 변화 및 간과 신장무게에 대한 영향을 Table 1에 나타내었다. 당뇨 대조군에서 체중이 급격히 감소되었으나, AP추출물을 투여한 당뇨군에서는 체중의 지속적인 증가를 보였다. Streptozotocin투여는 β -cell을 파괴하여 insulin생성의 이상을 일으켜 당대사의 불균형을 초래하며 alloxan으로 유도된 당뇨와는 달리 체중이 쉽게 회복되지 않는다는 보고가 있다(17). 따라서, AP추출물의 투여는 STZ으로 당뇨가 유도된 생쥐에 있어서 insulin의 활성을 증가시켜준 것으로 사료된다. 이는 두릅추출물의 투여로 당뇨 유발 흰쥐의 체중 감소가 회복되었다는 Lee 등(18)의 연구와 일치되는 결과이다.

100g 체중에 대한 간과 신장의 무게는 당뇨 유도 후 증가되었으나, AP추출물을 5일간 및 10일간 복용 투여함으로써 점차 감소되었다. 당뇨병에서의 간장의

비대는 STZ으로 인한 체내 insulin저하로 당대사가 정상적으로 이루어지지 않아 acetyl-CoA에서의 지질대사 체계가 형성되어 간장내에 지질성분이 축적되기 때문이라는 보고가 있다(19).

STZ과 alloxan으로 당뇨를 유발한 쥐에서 고혈당증과 신장의 비대는 양의 상관관계를 나타낸다고 보고되었다(20). 즉, 혈장내 높은 농도의 포도당은 세포막의 비대를 가져오는 UDP-galactose 또는 glycogen으로 대사되어 사구체 내의 mesangial cells에 축적되어 신장의 비대현상을 초래하며(21), 또한 혈장 내의 높은 농도의 포도당이 pentose phosphate경로를 거쳐 phosphoribosyl pyrophosphate(PRPP)를 공급하여 RNA 및 DNA의 합성이 증가되어 신장의 세포 분열을 촉진시켜 신장의 비대현상을 가져온다고 보고되었다(22). 따라서, 신장의 비대는 STZ에 의한 직접적인 결과라기 보다는 단백질의 합성을 촉진하는 RNA의 합성속도, NADPH 및 sugar phosphate의 증가에 기인한다. 이는 STZ으로 유발한 당뇨 흰쥐의 간장 무게가 증가한 손 등(23)의 연구와 alloxan으로 당뇨를 유발한 흰쥐에 닭의장풀추출물 투여로 간조직 내의 glucose-6-phosphatase dehydrogenase의 활성과 간장의 무게가 정상수준으로 회복되었다는 보고(24)와도 일치되는 결과이다. 따라서, AP추출물의 투여는 STZ으로 인한 체내의 insulin의 저하를 회복하여 간장 및 신장의 무게를 감소시킨 것으로 사료된다.

혈당변화량

AP추출물의 10일간의 복용투여시 나타나는 혈당 변화량은 Table 2와 같다. STZ을 복용으로 투여한 후, 혈당에 있어 실험동물간의 개체변이를 제거하기 위하여 AP추출물 투여 직전의 혈당으로부터 실험 마지막

Table 1. Effect of AP extracts on body, liver and kidney weight in normal and diabetic ICR mice

| Group | Body weight (g) | | | Body weight gain (g/10days) | Liver weight (g/100g B.W.) | | Kidney weight (g/100g B.W.) | |
|-------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------------|----------------------------|-------------------------|-----------------------------|-------------------------|
| | 0 day | 5 day | 10 day | | 5 day | 10 day | 5 day | 10 day |
| CIC | 26.2±1.99 ^{NS} | 31.2±7.68 ^{NS} | 34.4±3.92 ^{NS} | 9.30±1.27 ^a | 5.12±0.24 ^c | 5.17±1.03 ^{cd} | 1.89±0.17 ^{NS} | 1.72±0.12 ^{ab} |
| CI1 | 33.2±1.82 | 35.7±9.27 | 37.4±4.28 | 5.45±0.28 ^{ab} | 5.95±0.39 ^{bc} | 5.52±0.73 ^{bc} | 1.84±0.11 | 1.61±0.24 ^{ab} |
| CI2 | 24.1±2.59 | 26.1±3.62 | 29.6±3.32 | 6.12±1.27 ^{ab} | 6.63±0.85 ^b | 5.49±0.41 ^{bc} | 1.79±0.16 | 1.58±0.28 ^{ab} |
| CI3 | 27.7±2.36 | 29.4±3.28 | 32.0±5.40 | 3.67±1.55 ^b | 6.04±0.27 ^{bc} | 4.54±0.11 ^d | 1.96±0.23 | 1.43±0.19 ^b |
| DIC | 27.6±3.04 | 26.2±2.62 | 23.5±5.15 | -5.17±1.14 ^c | 6.49±0.6 ^b | 7.56±0.37 ^a | 2.06±0.11 | 1.96±0.09 ^a |
| DI1 | 18.8±5.60 | 18.1±1.65 | 20.7±6.61 | 2.17±2.23 ^b | 5.88±0.09 ^{bc} | 6.07±0.07 ^{bc} | 1.93±0.16 | 1.72±0.16 ^{ab} |
| DI2 | 28.8±4.13 | 27.9±2.13 | 28.8±4.18 | 5.12±0.42 ^{ab} | 5.99±0.52 ^{bc} | 5.75±0.44 ^{bc} | 1.73±0.24 | 1.59±0.35 ^{ab} |
| DI3 | 23.3±2.80 | 24.0±3.75 | 25.2±3.50 | 2.01±0.84 ^b | 5.88±0.34 ^{bc} | 5.22±0.15 ^b | 1.71±0.23 | 1.64±0.13 ^a |

All values are mean±SD

Means with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

^{NS}Not significant by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$

Table 2. Effect of AP extracts on blood glucose change

| Group | Blood glucose change(mg glucose/100ml blood/day) | | | | |
|-------|--|---------------|---------------|--------------|------------------------------------|
| | 0 day | 3 day | 6 day | 10 day | The extent of change ¹⁾ |
| CIC | 129.0 ± 22.6 ^{NS} | 128.6 ± 12.1 | 118.9 ± 19.1 | 140.0 ± 21.5 | 19.0 ± 7.6 ^c ↑ |
| CI1 | 163.3 ± 19.1 | 163.5 ± 27.3 | 170.7 ± 32.2 | 161.7 ± 22.2 | 4.5 ± 2.1 ^c ↓ |
| CI2 | 115.7 ± 26.9 | 145.3 ± 34.9 | 184.5 ± 78.6 | 144.3 ± 16.7 | 22.4 ± 12.1 ^c ↑ |
| CI3 | 138.6 ± 6.60 | 128.6 ± 19.6 | 150.0 ± 47.8 | 146.0 ± 20.4 | 9.2 ± 3.8 ^c ↑ |
| DIC | 382.5 ± 123.3 | 367.3 ± 38.6 | 435.7 ± 75.1 | 372.3 ± 86.9 | 12.9 ± 5.7 ^c ↑ |
| DI1 | 367.6 ± 171.8 | 353.3 ± 114.7 | 339.6 ± 106.4 | 291.3 ± 79.5 | 78.2 ± 30.5 ^{ab} ↓ |
| DI2 | 374.7 ± 194.2 | 382.5 ± 127.4 | 316.3 ± 98.76 | 283.3 ± 71.6 | 100.2 ± 40.4 ^{ab} ↓ |
| DI3 | 467.3 ± 163.3 | 351.6 ± 40.1 | 310.0 ± 83.0 | 306.6 ± 56.8 | 172.8 ± 62.3 ^a ↓ |

All values are mean ± SD

Means with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test

^{NS} Not significant

¹⁾ End point blood glucose - start point blood glucose

↑: Increase of blood glucose change

↓: Decrease of blood glucose change

날까지의 혈당량의 증감을 비교하였다.

본 연구에 사용된 STZ은 β-cell에서 절대적인 인슐린 부족을 유발하기 보다 초기단계에서 포도당에 대한 신속한 인슐린 분비 반응을 손상시켜 고혈당증을 유발한다(25). 따라서, AP추출물의 투여에 따른 혈당강하 효과는 포도당에 대한 인슐린의 감수성이 개선되었거나 손상된 β-cell의 기능이 신속하게 회복되어 나타난 것으로 사료되며, 또한 이는 두릅 및 황백피추출물이 혈당강하에 효과가 있음을 보여주는 Lee 등(18)과 김(26)의 논문과 일치되는 결과이다. 정상군에서는 AP추출물의 투여로 혈당이 낮아지지 않았으며 따라서

AP추출물의 투여는 당뇨쥐에서의 고혈당의 개선 뿐만 아니라 급격하게 혈당을 낮추지 않고 정상혈당을 유지시키는 작용을 갖고 있다고 사료된다.

Total, HDL, LDL, VLDL cholesterol 및 TG

AP추출물의 cholesterol(Total, HDL, LDL, VLDL) 및 TG에 대한 효과를 Table 3, Fig. 1, 2에 나타내었다.

DIC군의 혈장 total, LDL, VLDL cholesterol 및 TG는 정상군에 비하여 유의적으로 증가하였다. 10일 복강군에서 AP추출물의 투여는 HDL에 영향을 미치지 않

Table 3. Effect of AP extract on HDL, LDL and VLDL-cholesterol level in normal and STZ-induced diabetic ICR mice

| Group | HDL ¹⁾ | LDL ¹⁾ | VLDL ¹⁾ | |
|---------|-------------------|------------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| 5 days | CIC | 65.83 ± 36.62 ^a | 36.12 ± 9.88 ^{ab} | 35.82 ± 2.52 ^{ab} |
| | CI1 | 70.34 ± 18.04 ^a | 14.11 ± 9.31 ^{cde} | 15.05 ± 4.59 ^c |
| | CI2 | 61.37 ± 7.28 ^{ab} | 20.42 ± 11.74 ^{cd} | 20.60 ± 5.11 ^{bc} |
| | CI3 | 32.62 ± 10.03 ^{bc} | 11.84 ± 7.25 ^{cde} | 17.60 ± 9.79 ^c |
| | DIC | 59.86 ± 2.80 ^{ab} | 52.43 ± 16.82 ^a | 46.30 ± 8.05 ^a |
| | DI1 | 44.21 ± 10.61 ^{abc} | 34.31 ± 2.31 ^{ab} | 11.30 ± 6.98 ^{cd} |
| | DI2 | 52.82 ± 6.05 ^{ab} | 22.79 ± 10.21 ^{bc} | 28.01 ± 11.5 ^{bc} |
| | DI3 | 32.14 ± 3.03 ^c | 11.68 ± 5.62 ^{cde} | 5.38 ± 1.35 ^{bc} |
| 10 days | CIC | 46.0 ± 11.9 ^{NS} | 106.5 ± 34.7 ^b | 11.3 ± 2.8 ^{bc} |
| | CI1 | 64.8 ± 22.5 | 59.1 ± 19.6 ^c | 17.8 ± 4.5 ^{ab} |
| | CI2 | 40.0 ± 15.8 | 43.2 ± 24.5 ^{cd} | 11.5 ± 4.1 ^{bc} |
| | CI3 | 51.3 ± 14.5 | 52.2 ± 2.9 ^{cd} | 18.7 ± 5.7 ^{ab} |
| | DIC | 46.2 ± 7.5 | 189.2 ± 39.1 ^a | 28.2 ± 5.3 ^a |
| | DI1 | 59.8 ± 19.0 | 74.1 ± 24.6 ^{bc} | 22.3 ± 8.8 ^{ab} |
| | DI2 | 53.4 ± 23.2 | 27.9 ± 18.6 ^d | 13.2 ± 4.5 ^{bc} |
| | DI3 | 48.9 ± 11.7 | 55.3 ± 28.1 ^{cd} | 20.1 ± 15.6 ^{ab} |

All values are mean ± SD

Means with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test

¹⁾ mg cholesterol/ 100mg serum

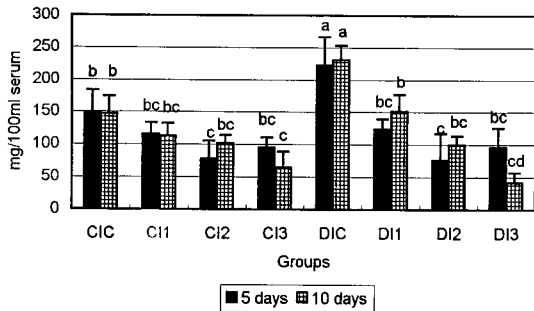


Fig. 1. Effects of AP extracts on blood cholesterol level during 5 days and 10 days injection in ICR mice. All values are mean \pm S.D. Means with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

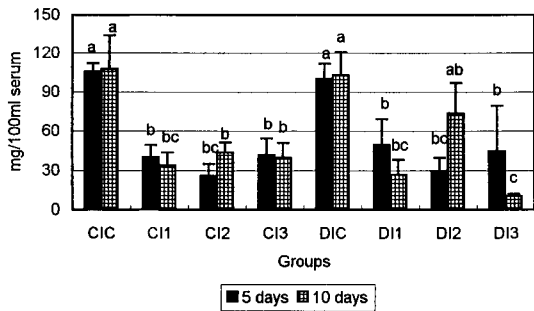


Fig. 2. Effects of AP extracts on triglyceride during 5 days and 10 days injection in ICR mice. All values are mean \pm S.D. Means with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

으면서 LDL 및 VLDL을 감소시켰다. 특히, AP추출물의 투여는 당뇨군 및 정상군에서도 total cholesterol 및 LDL의 수준을 감소시켜 5일 복강투여군의 C13군과 D13군의 total cholesterol은 대조군에 비하여 크게 감소됨을 보였다. 5일과 10일 복강투여군에 있어서 HDL/LDL의 비율증가는 혼합 추출물이 간의 cholesterol 개선에 영향을 미치는 것을 나타내었다. 5일 복강투여군에서 C13 및 D13의 VLDL, LDL 및 HDL-cholesterol이 급격하게 감소되는 것은 total cholesterol이 감소되었기 때문이며 이는 혼합 추출물의 효과 및 고혈당은 diacylglycerol과 protein kinase 활성을 증가시킴으로써 고지혈증을 일으키는 것으로 알려져 있다(27,28). 특히, 고지혈증은 화학약품으로 유도된 당뇨의 특징으로 이번 실험에서 STZ으로 유도된 당뇨쥐가 높은 cholesterol과 TG수준을 보이는 것은 이전의 실험과 일치되는 결과이다(29). AP추출물 투여 후 cholesterol과 TG가 유의적으로 감소되었으나 추출물의 농도에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았다. AP추출물의 투여는 정상군 및 당뇨군에서 혈장 cholesterol 및 TG수준을 낮추었으며, 이

는 AP추출물이 혈당을 조절하여 diacylglycerol의 수준과 protein kinase 활성을 조절함으로써 cholesterol과 TG가 감소되었기 때문으로 사료된다. Ha와 Barter의 보고(30)에서와 같이 생쥐에는 cholesteryl ester transfer protein의 활성이 없기 때문에 HDL cholesterol의 수준은 당뇨 유도 및 추출물 투여에 따른 유의적인 변화를 보이지 않았다.

간장 및 췌장에서의 TBARS측정

AP추출물이 간과 췌장에서의 TBARS값에 대한 효과를 Fig. 3, 4에 나타내었다. 정상군에 비해 당뇨 대조군은 간과 췌장의 TBARS값이 유의적으로 높아 Shah 등(31)이 STZ으로 당뇨를 유도한 쥐에서 간의 TBARS 함량이 증가된 결과와 일치하였다. 그러나, AP추출물 투여 후 간과 췌장에서의 TBARS값이 유의적으로 감소하였으며 이러한 TBARS값의 감소는 10일 복강투여 후 더욱 뚜렷해졌다. TBARS의 감소효과를 간과 췌

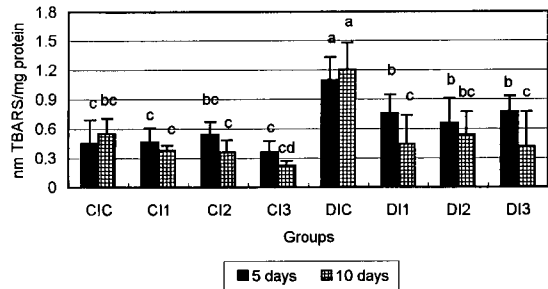


Fig. 3. Effects of AP extracts on liver TBARS during 5 days and 10 days injection in ICR mice. All values are mean \pm S.D. Means with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

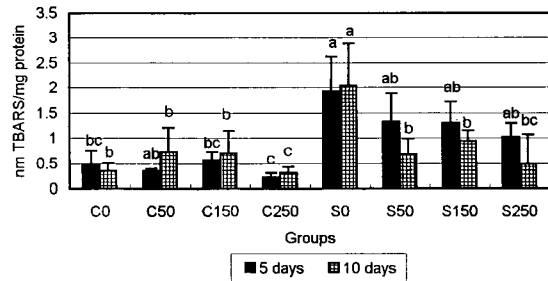


Fig. 4. Effects of AP extracts on islet TBARS during 5 days and 10 days injection in ICR mice. All values are mean \pm S.D. Means with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

장에서 비교해 볼 때, 췌장에서 더욱 효율적인 것으로 나타났으며 이는 췌장조직이 산화적 스트레스에 민감하여 당뇨 유도로 지질과산화가 증가하고, 항산화활성을 지닌 물질에 민감하게 작용하여 AP추출물의 투여로 지질과산화 생성이 감소하였기 때문이다.

산화적 스트레스는 다양한 당뇨합병증에서 중요한 인이며 자유 라디칼을 측정함으로써 알 수 있다. 자유 라디칼은 지질과산화에 의하여 생성되며 이는 toxic hydroperoxide의 형성과 관련이 있다(32). 정상적인 상황에서 생성된 hydroperoxide는 세포내의 항산화 체계와 항산화 효소에 의하여 제거될 수 있으나 당뇨와 같은 비정상적인 상황에서는 지질과산화는 더욱 증가된다(33). TBARS는 지질과산화를 측정하는 가장 일반적인 방법(34)으로 본 논문의 AP추출물은 STZ으로 당뇨가 유도된 생쥐의 간과 췌장에서 지질과산화 반응을 억제시킨 것으로 사료된다.

Glutathione reductase와 glutathione peroxidase 활성의 변화

AP추출물에 의한 간과 췌장에서의 GR 및 GPx활성 변화를 Table 4에 나타내었다. DIC군의 간과 췌장의 GPx활성은 정상군에 비하여 유의적으로 높게 나타났으나 AP추출물의 투여로 감소되었으며 그 감소효과는 10일 복강투여군에서 더 효율적이었다. 간과 췌장의 GR 및 GPx 활성을 보면 간에 비해 췌장의 활성이 낮은 것을 볼 수 있는데 이와 같은 이유 때문에 간조직보다 췌장이 STZ이나 alloxan과 같은 약제들에 대해 민감한 반응을 나타내게 되어 당뇨가 유도된다고 보는 견해가 있다(35). GPx는 지질과산화를 감소시킬 수 있으며 이는 GR의 활성과 관련이 있다(36). 지금까지 보고된 자료들에 따르면 GR 및 GPx의 활성은 조직마다

일관성 없는 결과들을 볼 수 있었다(37). 그러나, 본 실험에 있어서 AP추출물 투여에 따른 GR 및 GPx활성에 있어 같은 양상을 보였으며, 이는 AP추출물의 glutathione 관련 효소 활성과 관련지어 항산화제로서의 가능성을 제시한 결과로 보여진다.

요 약

황백피와 두릅나무(AP)의 혼합 추출물이 당뇨에 미치는 영향을 알아보기 위한 실험으로 streptozotocin으로 당뇨가 유도된 생쥐에게 혼합 추출물을 5일간과 10일간 복강투여하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 50, 150, 250mg/kg B.W. AP추출물 투여군(DI1, DI2, DI3)의 몸무게는 당뇨 대조군(DIC)에 비해 유의적($p < 0.05$)인 증가를 보였으며, 간과 췌장의 무게는 DIC군에서 증가하였으나 AP추출물의 투여로 감소되었다. 특히, 10일 복강투여군에서 장기무게의 감소정도는 5일 복강투여군에 비해 현저하였다. 혈장 포도당수준의 변화는 AP추출물의 투여로 유의적($p < 0.05$)으로 감소하였으며 감소정도는 AP추출물의 양에 비례하는 수준이었다. 혈장 cholesterol(total, LDL, VLDL)과 TG수준은 AP추출물의 투여로 감소되었으나($p < 0.05$), 생쥐에는 cholesteryl ester transfer protein이 없어 HDL cholesterol의 수준은 AP추출물의 투여 후에도 변화를 보이지 않았다. TBARS 함량은 당뇨 대조군이 정상군에 비해 증가하였으나 AP추출물의 투여 후 유의적($p < 0.05$)으로 감소하였다. 이러한 감소정도는 10일 복강투여군에서 현저하게 나타났으며 특히 췌장조직에서 효율적인 감소효과를 보였다. GPx의 활성도는 DIC군에서 유의적($p < 0.05$)으로 증가하였으며 AP추출물의 투여로 감소되었다. GR의 활성도는 유의적이지 않으나 GPx와 같은

Table 4. Glutathione reductase(GR) and glutathione peroxidase(GPx) activities in liver and islet tissue of normal and STZ-induced ICR mice

| Group | | GR | | GPx | |
|---------|-----|------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | | (nmol NADPH/ min/mg protein) | | | |
| | | Liver | Islet | Liver | Islet |
| 5 days | DIC | 160.1 ± 40.7 ^a | 45.0 ± 11.5 ^b | 111.6 ± 34.8 ^a | 96.4 ± 36.9 ^a |
| | DI1 | 156.3 ± 27.5 ^a | 42.7 ± 15.9 ^b | 99.9 ± 37.1 ^{ab} | 46.6 ± 18.0 ^b |
| | DI2 | 133.5 ± 49.1 ^a | 40.9 ± 14.5 ^b | 93.5 ± 4.4 ^b | 34.4 ± 7.0 ^b |
| | DI3 | 128.9 ± 37.9 ^a | 33.4 ± 14.1 ^b | 60.8 ± 25.5 ^{cd} | 46.2 ± 18.0 ^b |
| 10 days | DIC | 164.6 ± 38.0 ^a | 40.9 ± 9.9 ^b | 131.6 ± 34.9 ^a | 38.1 ± 5.9 ^b |
| | DI1 | 152.6 ± 22.7 ^a | 77.0 ± 24.3 ^a | 86.5 ± 7.5 ^{bc} | 31.7 ± 4.2 ^a |
| | DI2 | 118.0 ± 44.0 ^{ab} | 50.6 ± 19.9 ^{ab} | 64.5 ± 9.7 ^c | 23.9 ± 12.2 ^b |
| | DI3 | 112.1 ± 41.2 ^{ab} | 51.7 ± 18.9 ^{ab} | 57.8 ± 9.0 ^d | 15.3 ± 4.2 ^b |

All values are mean ± S.D.

Means with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

양상을 보였다. 이상의 결과에서 황백피와 두릅나무추출물은 streptozotocin으로 당뇨를 유도한 생쥐에서 몸무게의 증가, 혈당 및 혈중 지질수준의 개선, 항산화 효과를 지니고 있음이 추정 되었으며, 차후 이들 AP추출물의 subfraction을 통한 계속적인 연구로 혈당강하 효과의 확인 및 효과 성분의 분리에 까지 연구범위를 넓힐 수 있기를 기대한다.

문 헌

- Bailey, C. J. and Day, C. : Traditional plant medicines as treatments for diabetes. *Diabetes Care*, **12**, 553(1989)
- Villar, A., Paya, M., Hortiguera, M. D. and Cortes, D. : Tormentic acid, a new hypoglycemic agent from *Poterium ancistroides*. *Planta Medica*, **52**, 43(1986)
- Bajapai, M. B., Asthana, R. K., Sharama, N. K., Chatterjee, S. K. and Mukherjee, S. K. : Hypoglycemic effect of swerchirin from the hexanefraction of *Swertia chirayita*. *Planta Medica*, **57**, 102(1991)
- 임숙자, 김계진, 이주원 : 한국산 야생 식용식물이 당뇨 유발 흰쥐의 혈당 및 간과 근육내 에너지원 조성에 미치는 효과. *한국영양학회지*, **28**, 585(1995)
- Iyorra, M. D., Paya, M. and Villar, A. : Hypoglycemic and insulin release effects of tormentic acid : a new hypoglycemic natural product. *Planta Medica*, **55**, 282(1988)
- Day, C., Cartwright, T., Provost, J. and Bailey, C. J. : Hypoglycemic effect of *Momordica charatia* extracts. *Planta Medica*, **56**, 426(1990)
- 임숙자, 김계진 : 둥굴레 (*Polygonatum Odoratum* var. *Pluriflorum Ohwi*) 추출물의 당뇨 유발 흰쥐에 대한 혈당강하 효과. *한국영양학회지*, **28**, 727(1995)
- Alain, J., Andre, E., Werner, S. and Albert, E. R. : Diabetogenic action of streptozotocin : relationship of dose to metabolic response. *J. Clin. Invest.*, **48**, 2129(1969)
- Kim, T. H., Yang, K. S. and Whang, S. H. : Studies on the physicochemical and activities of Commelinaceae Herbs extract on the streptozotocin-induced hyperglycemic rats. Thesis collection. *S. M. Pharmacogen. Sci.*, **7**, 39 (1991)
- Hikino, H., Takahashi, M., Oshima, Y. and Konno, C. : Isolation and hypoglycemic activity of Oryzabrans A, B, C and D, glycan of *Oryza sativa* bran. *Planta Medica*, **54**, 1(1988)
- Akhtar, M. S. and Ali, M. R. : Study of hypoglycemic activity of *Cuminum nigrum* seeds in normal and alloxan diabetic rabbits. *Planta Medica*, **51**, 81(1985)
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265(1951)
- Wills, E. D. : Mechanisms of lipid peroxide formation in animal tissues. *Biochem. J.*, **99**, 667(1996)
- Carlber, I., Depierre, J. W. and Mannervik, B. : Effect of inducers of drug-metabolizing enzymes on glutathione reductase and glutathione peroxidase in rat liver. *Biochem. Biophys. Acta*, **677**, 140(1981)
- Tappel, A. L. : Glutathione peroxidase and hydroperoxides. *Meth. Enzymol.*, **52**, 506(1978)
- Statistical Analysis System. SAS Institute Inc. Carry, NC(1985)
- Beppu, H., Maruta, K., Kurner, T. and Kolb, H. : Diabetogenic action of streptozotocin : essential role of membrane permeability. *Acta Endocrinol(Copenh)*, **114**, 90(1987)
- Lee, M. J., Lee, J. S. and Sheo, H. J. : Effects of *Aralia elata* extract on experimentally alloxan induced diabetes in rabbits. *J. Kor. Soc. Food Nutr.*, **17**, 57(1988)
- Stansbie, D., Brownsey, R.W., Crettaz, M. and Denton, R. M. : Acute effects *in vivo* of anti-insulin serum on rates of fatty acid synthesis and activities of acetyl CoA carboxylase and pyruvate dehydrogenase in liver and epididymal adipose tissue of fed rats. *Biochem. J.*, **160**, 413(1976)
- Socher, M., Kunjara, S., Baquer, N. Z. and Mclean, P. : Regulation of glucose metabolism in livers and kidneys of NOD mice. *Diabetes*, **40**, 1467(1985)
- Steer, K. A., Sochor, M. and Mclean, P. : Renal hypertrophy in experimental diabetes : changes in pentose phosphate pathway activity. *Diabetes*, **34**, 485(1985)
- Seyer-Hanen, K. : Renal hypertrophy in experimental diabetes relation to severity of diabetes. *Diabetologia*, **13**, 141(1977)
- 손권호, 김숙희, 최주원 : 니코티아미드로 전처리한 당뇨 쥐의 췌장 효소에 미치는 효과. *한국영양학회지*, **21**, 117(1992)
- 박수영 : 닭의장풀의 혈당강하효과와 흰쥐의 간조직내 glucose-6-phosphate dehydrogenase의 특성연구. 덕성여자대학교 석사학위논문(1992)
- Bruce, D. G., Chishoim, D. J., Storlien, L. H. and Kragen, E. W. : Physiological importance of deficiency in early prandial insulin secretion in non-insulin-dependent diabetes. *Diabetes*, **37**, 736(1988)
- 김옥경 : 두릅나무 근피추출물의 혈당강하 효과. 서울여자대학교 박사학위논문(1990)
- Kunjathoor, V. V., Wilson, D. L. and LeBoeuf, R. C. : Increased atherosclerosis in streptozotocin-induced diabetic mice. *J. Clin. Invest.*, **97**, 1767(1996)
- Tetsu, E., Tsutomu, H., John, C. L., Mamo, R. S., Seiichi, F., Seishi, N. and Terumi, T. : Hyperlipidemia in streptozotocin-diabetic hamsters as model for human insulin-deficient diabetes : Comparison to streptozotocin-diabetic rats. *Metabolism*, **43**, 299(1994)
- Still, W. J. S., Martin, J. M. and Gregor, W. H. : The effect of alloxan diabetes on experimental atherosclerosis in the rat. *Exp. Mol. Pathol.*, **3**, 141(1991)
- Ha, Y. C. and Barter, P. J. : Differences in plasma cholesteryl ester transfer activity in sixteen vertebrate species. *Comp. Biochem. Physiol.*, **71**, B265(1982)
- Shah, G., Pinnas, J. L., Lung, C. C., Mahmoud, S. and Moordian, A. D. : Tissue specific distribution of malondialdehyde modified protein in diabetic mellitus. *Life Science*, **55**, 1343(1994)
- Ching, K. C. : Nutritional influence on cellular antioxidant defense system. *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**, 1066(1979)

33. Wills, E. D. : Mechanisms of lipid peroxide formation in animal tissues. *Biochem. J.*, **99**, 667(1965)
34. Gerald, A. C., Nilanjana, M. and Dipak, K. D. : Detection of oxidative stress in heart by estimation the dinitrophenylhydrazine derivative of malonaldehyde. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **27**, 1654(1995)
35. Grnakvist, K., Marklund, S. L. and Taljedal, I. B. : CuZn superoxide dismutase, Mn superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in pancreatic islets and other tissues in the mouse. *Biochem. J.*, **199**, 393 (1981)
36. Tappel, A. L. : Glutathione peroxidase and hydroperoxides. *Enzymol.*, **52**, 506(1978)
37. Kjell, G., Stefan, M., Janove, S. and Inge-Bert, T. : Superoxide dismutase, catalase and scavengers of hydroxyl radical protect against the toxic action of alloxan on pancreatic islet cells *in vitro*. *Biochem. J.*, **182**, 17(1979)

(1997년 5월 12일 접수)