

용담(*Gentiana scabra* Bunge var.*buergeri* Max.) 추출액이 Streptozotocin 유발 당뇨병 흰쥐의 혈당 및 지질 성분에 미치는 영향

김용균 · 김한수[†]

밀양대학교 생물공학과

Effects of *Gentiana scabra* Bunge var.*buergeri* Max. Extract on Blood Glucose and Lipid Composition in Streptozotocin Induced Hyperglycemic Rats

Yong-Gyun Kim and Han-Soo Kim[†]

Dept. of Biotechnology, Miryang National University, Miryang 627-702, Korea

Abstract

This study was designed to observe the effects of the feeding *Gentiana scabra* Bunge var.*buergeri* Max. extract on the improvement of the blood glucose, lipids in the serum of streptozotocin(55mg/kg of body weight, I.P. injection) induced hyperglycemic rats (S.D. strain, ♂) fed the experimental diets for 4 weeks. Concentrations of blood glucose were significantly higher in the streptozotocin administration(I.P.) groups (group 2(streptozotocin+water), 3(streptozotocin+*Gentiana scabra* Bunge extract), 4(streptozotocin+cholesterol+water), 5(streptozotocin+cholesterol+*Gentiana scabra* Bunge extract)) than those in the control group(group 1(water)). Blood glucose concentrations were rather lower in the group 3(streptozotocin+*Gentiana scabra* Bunge extract) than in the group 2(streptozotocin+water), and then those of the group 5 were rather lower than in the group 4. There was almost little significance among the groups. Concentrations of total cholesterol in serum were lower in the group 5 than those in the group 4, and the group 3 were rather lower than in the group 2.

Concentrations of LDL-cholesterol in serum were significantly lower in the group 3 than those in the group 2. In the ratio of HDL-cholesterol concentrations to total cholesterol concentrations, *Gentiana scabra* Bunge extract administration groups were higher percentage than the other groups. Concentrations of free cholesterol and cholesteryl ester in serum were rather lower in the groups 3,5 than the other groups, and then those of the group 3 were significantly lower than in the group 4. Concentrations of triglyceride and phospholipid in serum were decreased in the group 3 than in the other groups. The activities of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase in serum were increased in the all experimental groups than in the control group. From the above research, the *Gentiana scabra* Bunge var.*buergeri* Max. extracts were effective on the improvement of the lipid compositions in serum of streptozotocin induced hyperglycemic and hypercholesterolemic rats.

Key words : *Gentiana scabra* B., hyperglycemia, streptozotocin, blood glucose, lipid composition

[†] Corresponding author

서 론

최근 우리나라에서는 경제성장에 따른 고단백, 고지방 등 동물성 식품의 섭취가 증가되고 있으며, 따라서 고지혈증, 동맥경화증 및 혈전증 등 심장순환기계 질환(coronary heart disease, CHD)과 더불어 당뇨병(Diabetes mellitus)을 위시한 성인병이 증가되고 있는 실정이다. 당뇨병은 췌장 Langerhan's 섬 β -cell의 insulin 분비이상과 insulin에 대한 말초조직 저항성에 의해 초래되는 고혈당증으로 당뇨가 유발되면 insulin과 glucagon의 분비상태가 교란되어 생체내 탄수화물, 단백질 및 지질 대사 조절기능에 이상이 생기므로 여러가지 대사성 질환이 발생되며 모세혈관의 상피 세포막이 두꺼워져 심장순환기계 질환 등 많은 합병증을 유발할 수 있는 식이요법 병행치료가 절대적으로 필요한 질병이다.^{1~7)}

용담(龍膽, *Gentiana scabra* Bunge var. *buergeri* Max.)은 용담과(*Gentianaceae*)에 속하는 다년생 속근초로, 한국을 비롯한 일본, 만주 및 시베리아 동부에서 흔히 볼 수 있고, 특히 경남 밀양의 천황산 및 화악산 등지에 자생하며 초롱담, 거친 과남풀 등으로 알려진 관상용 및 약용식물로, 그 뿌리의 약리성분은 gentiopicrosid, gentiin, gentisin, gentiopierin, gentiotriose등이며 고미건위제로 식육부진과 함께 심장염, 이담(利膽)소염 및 항암 활성 등의 한방제로 이용되고 있다고^{8~12)} 알려진 용담 추출액에 관한 혈당 및 지질 대사 개선에 관한 연구는 거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구는 용담 추출액이 streptozotocin 유발 당뇨병 흰쥐의 혈당 및 혈청 지질 성분에 미치는 영향을 생체 대사학적 측면에서 비교, 검토하고자 실험을 행하였다.

재료 및 방법

시료의 추출 및 조제

실험에 사용된 용담은 경남 밀양 천황산에서 채취하여 동결건조한 후 용담 뿌리 20g을 1000ml Δ -flask에 취해 D.W 700ml를 가하여 450ml가 될 때까지 끓인 후 추출액을 다른 용기에 옮기고 다시 Δ -flask에 D.W 500ml를 가하여 350ml가 될 때까지 가열처리 하였다. 상기와 같이 추출한 후의 잔사에 D.W 400ml를 가하여 200ml가 될 때까지 끓인 후 이들을 모두 합하여 1000ml로 만들어 2.0

g%의 농도로 열수 추출한 후 4℃로 냉장 보관하여 본 실험의 시료로 사용하였다.

식이 및 실험군

기초 식이, 고지방 식이의 조성 및 실험군은 Table 1과 같으며, 고지방 식이는 콜레스테롤 식이로서 콜레스테롤 0.75%와 sodium cholate 0.25% diet를 첨가 조제하였으며, 당뇨 유발은 streptozotocin(55mg/kg of body weight)을 0.01M citrate buffer(pH 4.5)에 용해한 후 복강내(I.P.) 주사하였다. 한편 물 및 용담 추출액은 실험 전 기간동안 자유로이 섭취시켰다.

Table 1. Experimental groups and compositions of basal and high fat diet

Ingredient	(%)	
	Basal diet	High fat diet
Casein	20.0	20.0
DL-methionine	0.3	0.3
Corn starch	60.0	59.0
Cellulose powder	5.0	5.0
Mineral mixture*	3.5	3.5
Vitamin mixture*	1.0	1.0
Choline bitartrate	0.2	0.2
Lard	10.0	10.0
Cholesterol	-	0.75
Sodium cholate	-	0.25

Group 1 : Basal diet + buffer sol'n** (I.P.)***

2 : Basal diet + Streptozotocin**** (I.P.) + water

3 : Basal diet + Streptozotocin (I.P.) + *Gentiana scabra* Bunge extract

4 : Basal diet + Streptozotocin (I.P.) + High fat diet + water

5 : Basal diet : Streptozotocin (I.P.) + High fat diet + *Gentiana scabra* Bunge extract

* AIN-76™

** 0.01M citrate buffer (pH 4.5)

*** Intraperitoneal injection

**** Streptozotocin 55mg/kg of body weight

용담(*Gentiana scabra* Bunge var. *buergeri* Max.) 추출액이 Streptozotocin 유발 당뇨병성 흰쥐의 혈당 및 지질 성분에 미치는 영향

실험 동물의 처리

실험동물은 최적조건(온도 $20 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도 $50 \pm 10\%$, 명암주기 07:00~19:00)에서 예비 사육한 외관상 건강한 평균 체중 $200 \pm 10\text{g}$ 의 Sprague Dawley계 수컷쥐를 난괴법(Randomized Complete Block Design)에 의해서 6마리씩 5군으로 나누고 사육상자에 한마리씩 넣어 4주간 실험 사육하였다. 실험 사육 4주간의 최종일에는 7시간 절식시킨 후 에테르 마취하에 심장채혈법으로 채혈하였다. 혈액은 약 1시간 정도 빙수 중에 방치한 후 3,000rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 취하여 실험에 사용하였다.

혈당의 정량

혈당 농도는 혈당 측정용 kit시약(GLZyme, Eiken)으로 측정하였다.

콜레스테롤의 정량

혈청의 총콜레스테롤 농도는 총콜레스테롤 측정용 kit시약(Cholestezyme-V, Eiken), LDL-콜레스테롤 농도는 LDL 측정용 kit시약(β -lipoprotein C-Test, wako)으로 LDL농도를 측정 후 0.35를 곱한 값으로 표시하였다. HDL-콜레스테롤 농도는 HDL-콜레스테롤 측정용 kit시약(HDL-C 555, Eiken), 유리 콜레스테롤 농도는 유리 콜레스테롤 측정용 kit시약(Free cholestezyme-V555, Eiken)으로 측정하였으며 콜레스테롤 에스테르 농도는 총콜레스테롤 농도에서 유리 콜레스테롤 농도를 뺀 값으로 표시하였다.

중성지질 및 인지질의 정량

혈청의 중성지질 농도는 중성지질 측정용 kit시약(Triglyzime-V, Eiken)으로, 인지질 농도는 인지질 측정용 kit시약(PLzime, Eiken)으로 측정하였다.

Aminotransferase의 활성 측정

Reitman과 Frankel의 방법¹³⁾에 준해 조제된 kit시약(혈청 transaminase 측정시약, Eiken)을 사용하여 혈청 중 aspartate aminotransferase(AST, EC 2.6.1.1) 및 alanine aminotransferase(ALT, EC 2.6.1.2) 활성을 측정하였으며 unit는 혈청 1ml당 Karmen unit¹⁴⁾로 표시하였다.

통계처리

분석 결과의 통계처리는 실험군 당 평균치와 표준오차를 계산하였고 군간의 차이는 $P < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test¹⁵⁾로 하였다.

결과 및 고찰

혈당농도

혈당농도는 Table 2에서와 같이 대조군인 1군(물)에 비하여 여타 실험군에서 전반적으로 높게 나타났으며, streptozotocin(55mg/kg of body weight)을 복강 주사한 2군(streptozotocin + 물), 3군(streptozotocin + 용담추출액), 4군(streptozotocin + 콜레스테롤 + 물) 및 5군(streptozotocin + 콜레스테롤 + 용담추출액)에서 대조군보다 월등히 높게 나타났다. streptozotocin과 물을 급여한 2군에 비해, streptozotocin과 용담 추출액을 급여한 3군에서, 그리고 4군보다 5군이 유의적인 차이는 없었으나 다소 낮게 나타났지만, 용담 추출액 급여로 인해 혈당 저하 효과는 뚜렷이 관찰되지 않았다.

Table 2. Effect of *Gentiana scabra* Bunge var. *buergeri* Max. on glucose in serum of streptozotocin induced hyperglycemic rats fed the experimental diets for 4 weeks

Group*	Blood glucose(mg/dl)
1	164.0 ± 8.1 ^{a**}
2	308.6 ± 17.3 ^b
3	305.9 ± 18.5 ^b
4	313.7 ± 19.7 ^c
5	312.6 ± 19.4 ^c

* See the legend of Table 1

** Mean ± S.E.(n=6). Mean in the same column not sharing common superscript letters are significantly different ($P < 0.05$).

혈청 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 농도

혈청 중의 총콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 농도와 그 비율 및 동맥경화지수는 Table 3과 같다.

Table 3. Effect of *Gentiana scabra* Bunge var. *buergeri* Max. on total cholesterol, LDL and HDL- cholesterol, ratio of HDL-cholesterol to total cholesterol and atherosclerotic index in serum of streptozotocin induced hyperglycemic rats fed the experimental diets for 4 weeks

Group*	(mg/dl)				
	Total cholesterol(A)	LDL-cholesterol	HDL-cholesterol(B)	(B)/(A)×100%	A.I.**
1	89.9±2.8 ^{a****}	42.4±2.9 ^a	28.5±1.8 ^c	31.7	2.2
2	101.5±3.9 ^b	68.8±5.3 ^c	24.7±1.2 ^b	24.3	3.1
3	97.0±3.1 ^{b****}	55.9±5.4 ^b	26.1±2.4 ^b	27.0	2.7
4	147.8±6.4 ^{a****}	91.3±6.3 ^d	22.0±3.3 ^a	14.9	5.7
5	144.2±5.9 ^{c****}	88.5±7.0 ^d	23.3±2.8 ^a	16.2	5.2

* See the legend of Table 1

** Atherosclerotic index = (Total chol. - HDL-chol.) / HDL-chol.

*** Mean ± S.E.(n=6). Mean in the same column not sharing common superscript letters are significantly different (P< 0.05).

Table 4. Effect of *Gentiana scabra* Bunge var. *buergeri* Max. on free cholesterol, cholesteryl ester and cholesteryl ester ratio in serum of streptozotocin induced hyperglycemic rats fed the experimental diets for 4 weeks

Group*	(mg/dl)		
	Free cholesterol	Cholesteryl ester	Cholesteryl ester ratio(%)**
1	23.1±3.2 ^{a****}	68.8±3.5 ^a	76.5
2	25.2±2.5 ^b	76.3±3.8 ^b	75.2
3	24.1±3.7 ^{ab}	72.9±5.0 ^b	75.2
4	33.1±3.5 ^c	114.7±3.9 ^a	77.6
5	32.3±3.4 ^c	111.9±4.3 ^c	77.6

* See the legend of Table 1

** Cholesteryl ester / Total cholesterol × 100

*** Mean ± S.E.(n=6). Mean in the same column not sharing common superscript letters are significantly different (P< 0.05).

혈청 중 총콜레스테롤 농도는 대조군에 비해 여타 실험군에서 높게 나타났으나, 콜레스테롤을 첨가한 급여군(4,5군)에서 더욱 높게 나타났다. streptozotocin으로 유발된 당뇨병 흰쥐에 콜레스테롤을 급여한 4군보다 당뇨 유발 흰쥐에 콜레스테롤과 용담 추출액을 급여한 5군이 낮게 나타났으나 유의성은 없었으며, streptozotocin을 급여한 2군에 비하여 streptozotocin에 용담 추출액 급여군(3군)이 약간 낮게 나타났다. LDL-콜레스테롤 농도는 1군에 비해 4군, 5군이 높게 나타났지만 streptozotocin 급여군(2군)보다 용담추출액 급여군인 3군에서 유의적인 감소를 관찰할 수가

있었다. HDL-콜레스테롤 농도는 4군, 5군에 비하여 여타 실험군에서 증가되는 것으로 나타났다. 총콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤 농도비는 1군(31.7%)이 현저히 높았으며, 2군(24.3%)에 비해 용담추출액 급여군인 3군(27.0%)이, 4군(14.9%)보다 용담 추출액 급여군인 5군(16.2%)이 높게 나타났다. 동맥경화지수는 대조군인 1군(2.2)에 비해 여타 실험군에서 증가되었지만, 용담 추출액 급여에 따른 2군(3.1)에 반해 3군(2.7)이, 4군(5.7)에 비하여 5군(5.2)이 각각 감소되는 경향을 나타내었다. 따라서 본 실험 결과, 용담 추출액이 streptozotocin으로 유발된 당뇨

성 흰쥐에 대한 혈청 지질개선 효과가 있는 것으로 사료된다.

혈청 유리콜레스테롤 및 콜레스테롤 에스테르 농도

혈청 중의 유리 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르 농도 및 총콜레스테롤에 대한 콜레스테롤 에스테르의 비는 Table 4와 같다. 유리콜레스테롤과 콜레스테롤 에스테르 농도는 대조군인 1군에 비하여 전 실험군에서 높은 농도를 나타내었으나, 2군과 3군, 4군과 5군간의 유의적인 차이는 없었지만, 용담추출액 급여군인 3군과 5군에서 약간 감소하는 경향을 나타내었다. streptozotocin으로 유발된 당뇨병흰쥐에 콜레스테롤을 급여한 4군보다는, 당뇨 유발 흰쥐에 용담추출액 급여군인 3군에서 유의성있게 낮은 농도의 값을 나타내었다. 콜레스테롤 에스테르 비는 대조군이 낮게 나타났으며, 콜레스테롤 급여군에서 높게 나타났다. 콜레스테롤은 소장에서 흡수되는 동안 콜레스테롤 에스테르의 형태로 접막세포로 들어가며, 그 중 약 80%가 에스테르화 된다.¹⁶⁾

한편 총콜레스테롤에 대한 콜레스테롤 에스테르의 농도 비는 사람에 있어서 대체로 70% 전후가 정상인 것으로 알려져 있는데, 에스테르 비의 저하는 간질환 진단에 있어서 주요한 지표가 되며, 반면 고콜레스테롤혈증 일때 상승되는 것으로 알려져 있다.¹⁷⁾

중성지질 및 인지질 농도

혈청 중의 중성지질과 인지질 농도는 Table 5에서와 같이 streptozotocin으로 유발된 당뇨병 흰쥐 및 고지방 식이에 따른 고콜레스테롤 혈증 흰쥐에 있어서, 대조군인 1군에 비해 전 실험군에서 현저히 높게 나타났고, 실험군 간에 있어서는 콜레스테롤 급여군인 4군 및 5군에서 유의적으로 높게 나타났으며 용담 추출액 급여군인 3군의 농도가 낮은 경향을 보였다.

혈청 중 aminotransferase(AST, ALT)의 활성

혈청 AST 및 ALT활성을 측정된 결과는 Table 6과 같다. AST활성은 대조군인 1군(144.0 Karmen unit/ml)에 비해, 2군(158.0 Karmen unit/ml), 3군(156.6 Karmen unit/ml), 4군(160.5 Karmen unit/ml), 5군(161.2 Karmen unit/ml)등 여타 실험군에서 유의적으로 증가하는 경향을 보였다. ALT활성 또한 대조군에 비하여 전 실험군

Table 5. Effect of *Gentiana scabra* Bunge var.*buergeri* Max. on triglyceride and phospholipid in serum of streptozotocin induced hyperglycemic rats fed the experimental diets for 4 weeks

Group*	Triglyceride	Phospholipid
1	74.8±2.8 ^{a**}	104.4±3.5 ^a
2	86.7±2.5 ^b	121.4±2.9 ^c
3	84.9±2.9 ^b	115.5±3.7 ^b
4	119.6±4.0 ^d	142.2±4.8 ^d
5	108.9±3.8 ^c	138.8±3.9 ^d

* See the legend of Table 1

** Mean ± S.E.(n=6). Mean in the same column not sharing common superscript letters are significantly different (P< 0.05).

Table 6. Effect of *Gentiana scabra* Bunge var.*buergeri* Max. on aspartate and alanine aminotransferase(AST, EC 2.6.1.1 ; ALT, EC 2.6.1.2) activities in serum of streptozotocin induced hyperglycemic rats fed the experimental diets for 4 weeks

Group*	AST	ALT
	Karmen unit/ml of serum	
1	144.0±10.2 ^{a**}	46.8±3.2 ^a
2	158.0± 7.9 ^b	54.4±4.1 ^b
3	156.6± 9.1 ^b	53.5±3.0 ^b
4	160.5±12.1 ^b	55.3±4.1 ^b
5	161.2±14.3 ^b	54.9±2.9 ^b

* See the legend of Table 1

** Mean ± S.E.(n=6). Mean in the same column not sharing common superscript letters are significantly different (P< 0.05).

에서 증가하는 경향을 나타내었다. 간장 장애의 지표가 되는 AST, ALT활성의 증가는 고지방 식이나 알콜 등으로 인해 지방간 등 간실질세포 장애가 발생하여 혈중으로의 방출이 항진되어 나타나며, Takahashi 등¹⁸⁾에 의하면 AST활성은 필수 지방산 결핍 식이군에 있어서 가장 높은 반면, n-3계 polyunsaturated fatty acid의 함량이 많은 식이군이

가장 낮았다고 보고한 바 있다.

요 약

streptozotocin(55mg/kg of body weight, I.P. injection)으로 인한 당뇨병 유발 Sprague Dawley계 수컷쥐에 있어서 용담 열수 추출액의 급여가 혈당 및 혈청의 지질 개선 효과를 규명하기 위해 4주간 실험 사육한 결과, 혈당 농도는 대조군인 1군(물)에 비해 2군(streptozotocin + 물), 3군(streptozotocin + 용담추출액), 4군(streptozotocin + 콜레스테롤 + 물) 및 5군(streptozotocin + 콜레스테롤 + 용담추출액)이 높게 나타났으며, streptozotocin 과 용담추출액을 급여한 3군이 2군(streptozotocin + 물) 보다, 5군이 4군에 비해 다소 낮은 경향을 보였지만 혈당 저하효과는 유의성있게 관찰되지 않았다. 혈청 중 총콜레스테롤 농도는 4군에 비해 5군이 유의성은 없었으나 낮게 나타났고, 2군보다 3군이 약간 낮았다. LDL-콜레스테롤 농도는 2군에 비해 3군에서 유의성있게 감소하였으며, 총콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤 농도비는 용담 추출액 급여군이 높게 나타났다. 혈청 유리 콜레스테롤 및 콜레스테롤 에스테르 농도는 용담 추출액 급여군(3군, 5군)에서 약간 감소하였으며, 4군에 비해 3군이 유의성 있게 감소하였다. 중성지질 및 인지질 농도는 용담 추출액 급여군인 3군의 농도가 낮았다. 혈청 AST 및 ALT활성은 대조군에 비하여 여타 실험군에서 증가하는 경향을 보였다. 이상의 결과에서 용담 추출액이 당뇨병 흰쥐 및 고콜레스테롤 혈증 흰쥐에 대한 혈청 지질 개선효과가 있는 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 1997년도 밀양대학교 기성회 학술연구 지원 과제 연구비 지원에 의한 연구결과로서, 학교 당국에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Nepom, G. T. : A unified hypothesis for the complex genetics of HLA association. *Diabetes*, 39, 1153 (1990).
- Yoon, J. W., Kim, C. J., Pak, C. Y. and McArthur, R. G. : Effect of environmental factors on development of insulin-dependent diabetes mellitus. *Clini. Invest. Med.*, 10, 459(1987).
- Rayfield, E. J., Ishimura, K. : Environmental factors and insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes. Metab. Rev.*, 3, 925(1987).
- Eisenbarth, G. S. : Type I diabetes mellitus a chronic autoimmune disease. *N.Engl. J. Med.*, 314, 1360(1986).
- Campbell, R. K. and Steil, C. F. : diabetes, In clinical pharmacy and therapeutics. Williams & Wilkins 4 ed., 176(1988).
- Like, A. A., Rossin, A. A. : Streptozotocin-induced pancreatic insulinitis new model of diabetes mellitus, *Science*, 198, 415(1976)
- Rossini, A. A., Like, A. A., Dulin, W. E., Cahill, G. F. : Pancreatic beta cell toxicity by streptozotocin anomers. *Diabetes*, 26, 1120(1977)
- 孫炳求 : 自生龍膽(*Gentiana scabra* Bunge var. *buergeri* Max.)의 分布, 繁殖 및 開花調節 에 관한 研究. 東亞大學校大學院 博士學位論文, (1997).
- 李貞植, 尹平燮 : 自生植物學. 281~282, 圖書出版社, 서울(1996).
- 朴仁鉉, 李相來, 安相德, 宋沅燮 : 藥用植物栽培. 182~183, 先進文化社, 서울(1997).
- 김홍은, 김태중, 박광우, 성진근, 이영주, 이택주 : 우리꽃, 살리고 키워서 돈벌기. 215~219, 농민신문사, 서울(1996).
- 동아원색세계대백과사전 : 21권, 625~626, 동아출판사, 서울(1985).
- Reitman, S. and Frankel, S. : A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathol.*, 28, 56 (1957)
- La Due, J. S., Wroblewski, F. and Karmen, A. : Transaminase activity in human blood. *Science*, 120, 474 (1954).
- Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. : Principles and procedures of statistics. *McGrow-Hill Book Co.*, New York(1980).
- Goodman, D.S. : The turnover of plasma cholesterol in man. *Physiol. Rev.*, 45, 747 (1964).
- 金箕洪 譯編 : 檢査成績의 臨床的活用. 高文社, 서울 (1980).
- Takahashi, R., Manku, M.S. and Horrobin, D.F. : Impaired platelet aggregation and thromboxane generation in EFA deficient rats. *J.Nutr.*, 117, 1520~1526(1987).