

Streptozotocin 유발 당뇨 흰쥐에서 백삼 에탄올엑스와 IH-901의 항당뇨 작용 비교

고성권[#] · 성중환* · 최용의 · 이충렬 · 박경수** · 정성현**
중앙대학교 인삼산업연구센터, *(주) 일화 중앙연구소, **경희대학교 약학대학
(Received December 20, 2002; Revised February 17, 2003)

Comparisons of Antidiabetic Activities between White Ginseng Ethanol Extract and IH-901 in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Sung Kwon Ko[#], Jong Hwan Sung*, Yong Eui Choi, Chung Ryul Lee, Kyeong Soo Park**
and Sung Hyun Chung**

Korea Ginseng Institute, Chung Ang University, Ansong 456-756, Korea
*ILHWA CO., LTD. Central Research Institute, Guri 471-711, Korea
**School of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

Abstract — Antidiabetic activities of white ginseng 50% ethanol extract (WGE) and IH901, an intestinal metabolite of ginsenoside Rb₁, were compared in multiple low dose streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. WGE or IH901 were coadministered with STZ on Day 1 at dose of 100 and 300 mg or 10 and 30 mg, respectively, and continually administered for 16 days. STZ dissolved in citrate buffer was injected intraperitoneally at dose of 20 mg/kg for 5 consecutive days. During the experiment, plasma glucose level and body weight were measured every 4th day. Amount of food and water intake were evaluated once a week and compared between groups. WGE and IH901 both significantly reduced the plasma glucose levels on Day 16 as compared with those of the diabetic control group. In the meantime, amount of food and water intake in WGE- and IH901-treated groups were significantly improved in a dose dependent fashion as compared with those of the diabetic control group. Taken together, WGE and IH901 showed the comparable antidiabetic activities at the corresponding doses used in this experiment.

Keywords □ IH-901, metabolite of ginsenoside Rb₁, multiple low dose streptozotocin, antidiabetic activity

인삼(*Panax ginseng* C.A. May)은 2000여년 전 동양에서 가장 오래된 신농본초경(神農本草經)에 상품(上品)으로 수재된 이래로 우리 나라를 대표하는 자원 생약이라고 할 수 있다. 약성은 맛이 달고 약간 따듯하고 상(上), 중초(中焦) 즉 폐(肺)와 비(脾)에 작용하는 대보원기요약(大補元氣要藥)으로, 죽도로 껍질을 살짝 벗겨서 햇빛에 말린 것을 백삼, 수삼을 찌서 말린 것을 홍삼이라고 한다.¹⁻³⁾ 인삼의 생리활성성분으로 인삼 사포닌(ginsenoside), 폴리아세틸렌(polyacetylene), 항산화활성을 갖는 페놀계 화합물, 면역조절작용이 있는 산성다당체, 방사선 방어작용이 있는 인삼 단백질 및 정유성분으로 향기성분인 sesquiterpene계 화합물 등을 함유하고 있다. 또한 지갈생진(止渴生津)이라는

인삼의 중요한 고전적 효능의 현대의학적인 약효해명으로 ginsenoside Rb₂는 항당뇨 활성을 갖는다고 보고되었다.⁴⁻⁸⁾ 인삼의 주요 활성성분으로 알려진 인삼 사포닌은 4환성의 dammarane 구조를 갖는 물질군으로 protopanaxadiol group과 protopanaxatriol group으로 대별할 수 있다. 지금까지의 연구에 의하면 protopanaxadiol group은 주로 중추신경 억제작용과 더불어 최면작용, 진정작용, 혈압강하작용 등의 약리작용을 나타내며, 혈당강하작용도 보고되었다.⁹⁾ 반면에 protopanaxatriol group은 주로 중추신경 흥분작용과 함께 항피로작용, 두뇌기능 개선작용 등을 나타내었다.¹⁰⁾

최근에는 인삼 사포닌이 인체의 장내에서 대사되어 혈중에 존재하는 활성물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 그 중에 인삼사포닌 Ginsenoside Rb₁의 장내미생물 대사체인 IH901(20-O-β-D-glucopyranosyl-20(S)-protopanaxadiol, Compound K)은 Protopanaxadiol group의 prosapogenin으로 항암 및 암전이 억

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 031-670-4683 (팩스) 031-676-6544
(E-mail) sungkwon@cau.ac.kr

제형성이 보고된바 있다.¹¹⁻²¹⁾ 본 연구에서는 인삼이 가지고 있는 항당뇨활성을 백삼 50% 에탄올엑스와 IH-901간에 비교 검토함으로써 효능 동등성을 확인하고자 한다.

실험 방법

실험재료

백삼(*Panax ginseng*, Ginseng radix alba)은 50% 에탄올로 2회 반복 추출 감압농축하고 동결건조 하여 사용하였고(표본번호 WG2), IH901(M.W. 621)은 성 등¹²⁻¹⁸⁾의 방법에 의해 제조 분리 동결하여 사용하였다(표본번호 IH901-1). 각 표본은 중앙대학교 인삼산업연구센터 천연물연구실에 보관하였다.

시약 및 기기

Trinder glucose 측정 kit와 streptozotocin(STZ)은 Sigma(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였다. 그 외 다른 시약은 특급 또는 일급으로 사용하였다. 본 실험에 사용한 기기 및 모델명은 다음과 같다. Microcentrifuge(5417R, Eppendorf, Germany), UV Spectrophotometer(U-3210, Hitachi, Japan), Freezing dryer(FN 5N, EYELA, Japan), Shaking incubator(SI-600R, Jeio Tech., Korea).

실험동물

SD 흰쥐(대한 바이오링크, 충북 음성, 대한민국)를 21±2°C, 60%의 항온 항습의 환경에서 1주 이상 순응시킨 후 사용하였다. 사료로는 삼양유지사료(주)의 고품사료를 이용하였다. 5주령의 수컷 SD rat을 하루를 절식시킨 후 streptozotocin 20 mg/kg 용량(10 mM citrate buffer, pH 4.5)을 복강으로 투여하는 방식으로 총 5일간 투여하였으며, 시료의 투여는 STZ의 투여와 동시에 시작하여 16일간 투여하였다. 각 동물군은 6마리씩 구분하여 정상 대조군(NC), 당뇨 대조군(DC), WGE 투여군, IH901 투여군으로 나누었다. WGE 투여군은 100, 300 mg/kg, IH901 투여군은 10, 30 mg/kg씩 하루 한번 시료를 복강으로 주사하였다. 정상 대조군과 당뇨 대조군은 동일한 볼륨의 생리식염수를 투여하였다.²²⁾

혈액 지표 분석

혈액 지표 분석을 위한 혈액 채취는 6시간 절식 후 실시하였다. 마취 후 안외정맥을 통해 채혈하여 5,000 rpm에서 10분간 원심분리 후 얻어진 혈장을 사용하였다. 혈중 포도당 농도는 glucose oxidase method(Trinder method)를 사용하여 측정하였다.

체중 및 식이 음수량 측정

체중은 3일마다 측정하였으며, 식이 및 음수량은 시료 투여후

첫째 및 둘째주에 24시간 동안의 식이 및 음수량을 주 3일간 측정하였다.

통계 처리

모든 실험결과들은 평균±평균오차로 나타내었고 통계 처리는 Student t-test를 실시하여 p < 0.05를 기준으로 유의성 여부를 판정하였다.

실험 결과

혈당에 미치는 영향

Fig. 1에서 보는 바와 같이 정상 대조군(NC)은 3주간의 혈당이 140 mg/dl 이하로 지속적으로 낮은 혈당을 나타낸 반면, STZ를 5일간 20 mg/kg의 용량으로 투여 받은 당뇨 대조군(DC)의 경우에는 STZ 투여 후 지속적으로 혈당이 증가하여 13일째에는 376.7 mg/dl의 고혈당을 나타내었다. 한편, WGE 및 IH901 투여군의 경우는 당뇨 대조군과 비교 시 투여 10일까지 전혀 혈당 상승을 억제시키지 못하다가 그 이후부터는 서서히 혈당이 떨어져 13일째에 IH901 30 mg/kg의 용량에서 유의성 있는 혈당강하 효과를 나타내었고, 16일째에는 IH-901 10, 30 mg/kg 투여군 그리고 WGE 300 mg/kg 투여군에서 유의성 있는 혈당강하 효과를 나타내었다.

체중 변화에 대한 영향

Fig. 2에서 보는 바와 같이 체중 변화를 그룹간 비교해 보았을 때 당뇨 대조군은 STZ 투여후 67.2 g의 체중 감소를 나타내었다. 반면, 13일째에 WGE 100 mg/kg 투여군, 16일째에는 GWE 100 mg/kg, IH901 10 mg/kg 투여군에서 고혈당 유발로 인한 체중 저하를 유의성있게 억제하는 효과를 관찰할 수 있었다. 한편 각 시료 투여군에서 고용량 투여군은 저용량 투여군에 비해 체중 감

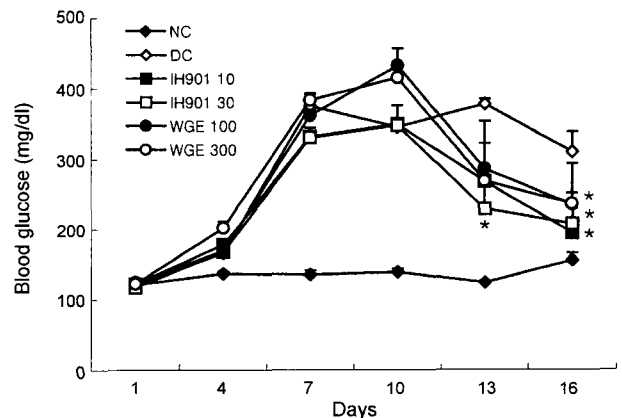


Fig. 1 – Effects of IH901 and White Ginseng Ethanol extract (WGE) on plasma blood glucose in diabetic SD rats. *P < 0.05 vs. diabetic control (DC).

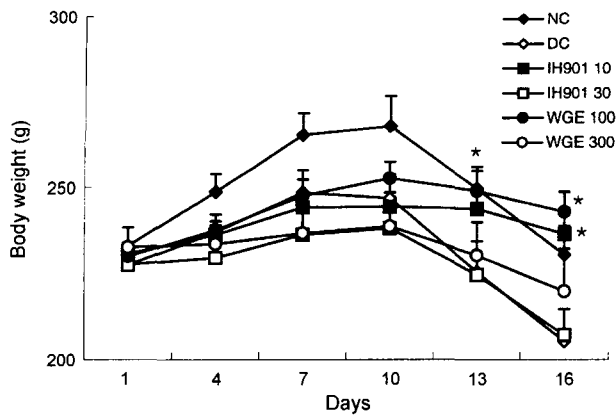


Fig. 2 - Effects of IH901 and White Ginseng Ethanol extract (WGE) on body weight in diabetic SD rats. **P* < 0.05 vs. diabetic control (DC).

Table I - Effects of WGE and IH-901 on Food and water intakes in multiple low dose STZ-induced diabetic rats

Dose (mg/kg)	Food intake (g/rat/day)		Water intake (ml/rat/day)	
	1 week	2 week	1 week	2 week
NC	17.4±1.8	12.0±0.1	40.3±2.8	24.2±1.2
DC	28.9±0.2 [†]	30.1±0.7 ^{††}	95.8±4.0 ^{††}	80.0±3.7 ^{††}
IH901 10	26.7±1.3	26.7±0.2 ^{**}	111.5±5.1	73.0±8.4
IH901 30	22.6±0.7 ^{**}	18.5±1.2 ^{**}	101.4±5.3	55.7±8.6 ^{**}
WGE 100	23.0±0.9	21.1±0.5 ^{**}	90.4±3.1 [*]	64.0±6.7 ^{**}
WGE 300	21.4±0.5 ^{**}	19.5±0.4 ^{***}	92.4±4.3	55.1±6.2 ^{**}

Data are the mean±SE of 7 animals examined. [†]*P* < 0.05, ^{††}*P* < 0.01 vs. normal; ^{*}*P* < 0.05, ^{**}*P* < 0.01, ^{***}*P* < 0.001 vs. diabetic control. WGE, White Ginseng Ethanol extract.

소를 억제하는 활성이 오히려 낮았다.

식이 및 음수량에 미치는 영향

Table I에서 보는 바와 같이 음식물 섭취에 있어서 당뇨 대조군은 정상 투여군의 1주 및 2주 째 섭취량 17.4, 12.0 g/rat/day에 비해서 28.9, 30.1 g/rat/day으로 유의하게 증가한 반면, WGE 100 mg/kg 투여군은 2주 후에 21.1 g/rat/day, 300 mg/kg 투여군은 1주 및 2주 후에 21.4, 19.5 g/rat/day, 그리고 IH901 10 mg/kg 투여군은 2주 후에 26.7 g/rat/day, 30 mg/kg 투여군은 1주 및 2주 후에 22.6, 18.5 g/rat/day으로 용량의존적으로 음식물 섭취량 증가를 억제하는 효과를 나타내었다.

또한, 물 섭취량에 있어서도 당뇨 대조군은 정상 투여군의 1주 및 2주 후 섭취량 40.3, 24.2 ml/rat/day에 비해서 95.8, 80.0 ml/rat/day으로 유의하게 증가한 반면, WGE 100 mg/kg 투여군은 1주 및 2주 후에 90.4, 64.0 ml/rat/day, 300 mg/kg 투여군은 2주 후에 55.1 ml/rat/day, 그리고 IH901 30 mg/kg 투여군은 2주 후에 55.7 ml/rat/day로 역시 용량의존적으로 유의성있는 물 섭취량 증가 억제효과를 나타냈다. 이 결과로부터 IH-901과 백삼

에탄올엑스는 고혈당 유발로 인해 증가되는 식이 및 음수량을 투여 시기가 지날수록 그리고 용량의존적으로 개선시키는 활성이 있음을 알 수 있었다.

고 찰

Streptozotocin 유발 고혈당 모델에서 시료인 IH-901은 Ginsenoside Rb₁의 장내 미생물 대사체인데, Ginsenoside Rb₁은 백삼에 0.47%, 홍삼에 0.38% 함유¹⁰⁾되어 있으므로 임상에서 1일 복용량을 기준으로 인삼류 엑스 중에 존재하는 Ginsenoside Rb₁의 함량을 계산하여 체내 혈중에 흡수되는 IH-901의 예상량으로 10, 30 mg/kg을 설정하여 실험을 실시하였다. 그 결과 시료 투여 후 10일까지는 백삼 엑스와 IH-901 모두에서 유의성 있는 혈당 강하효과를 나타내지 못하였으나, 그 이후부터 혈당이 감소하기 시작하여 13일째에 IH-901 30 mg/kg의 용량에서 유의성 있는 혈당 저하효과를 나타내었고, 16일째에는 IH-901 10과 30 mg/kg, 백삼 엑스 300 mg/kg의 용량에서 유의성 있는 혈당 저하효과를 나타내었다. 또한, 체중에 미치는 영향으로 13일째에는 백삼 엑스 100 mg/kg, 16일째에는 백삼 엑스 100 mg/kg, IH901 10 mg/kg 용량에서 체중 저하를 유의성있게 억제하는 효과를 관찰할 수 있었다. 음식 및 물 섭취량에 있어서도 투여 2주 후에는 백삼 엑스와 IH-901은 용량의존적으로 유의성있는 억제효과를 나타내었다. 백삼, 홍삼 등의 인삼류생약의 항당뇨활성은 100~400 mg/kg의 흰쥐 경구투여 용량에서 입증²³⁾이 되었지만, 본 연구 결과를 종합하여 보면 백삼 50% 에탄올 엑스가 항당뇨활성을 나타냈으며, IH-901도 10~30 mg/kg(0.016~0.048 mM)의 농도에서 혈당 강하활성을 보여 ginsenoside Rb₁ 및 그 대사체인 IH-901이 인삼의 혈당강하 활성성분 중 하나일 수 있음을 시사하였다. 또한 Yokozawa 등은 인삼의 항당뇨 활성물질은 ginsenoside Rb₂이고 ginsenoside Rb₁은 활성이 없다고 발표한 바 있는데,⁷⁾ 본 연구 결과 ginsenoside Rb₁의 장내 미생물 대사체인 IH-901이 항당뇨활성을 나타내므로서 앞으로 좀 더 체계적인 인삼 사포닌 구조와 항당뇨활성에 대한 상관 연구가 필요하다고 생각한다.

결 론

백삼 50% 에탄올엑스와 IH-901을 대상으로 streptozotocin 유발 당뇨 흰쥐에 미치는 영향을 검토해본 결과 두군 모두 당뇨 대조군에 비해 유의적인 혈당 강하활성을 나타내었으며 추가로 당뇨로 인한 체중감소를 억제하였고, 또한 음식물 및 물 섭취량의 증가를 억제하였다. 앞으로 IH-901의 혈당 강하활성을 2형 당뇨 동물모델을 이용하여 기존의 당뇨치료제와 비교함으로써 이 물질이 당뇨치료제로 개발할 가치가 있는 것인지를 검토할 계획이다.

감사의 말씀

이 논문은 1999년도 한국학술진흥재단의 연구비에 의하여 지원(〈RF-99-F-00013〉)되었음에 감사드립니다.

문헌

- 1 육창수 : 한국약품식물자원도감, 진명출판사, 서울 p. 276 (1981).
- 2 육창수 : 현대 본초학, 고문사, 서울 p. 117 (1972).
- 3 江蘇新醫學院 : 中藥大辭典, 成輔社, 상해 p. 28 (1982).
- 4 Sanata, S., Kondo, N., Shoji, J., Tanaka, O. and Shibata, S. : Studies on the saponins of ginseng. I. Structure of ginsenoside-R₀, R_{b1}, R_{b2}, R_c and R_d. *Chem. Pharm. Bull.* **22**, 421 (1974).
- 5 Kitagawa, I., Taniyama, T., Shibuya, H., Nota, T. and Yoshikawa, M. : Chemical studies on crude drug processing. V. On the constituents of ginseng radix rubra (2): Comparison of the constituents of white ginseng and red ginseng prepared from the same Panax ginseng root. *Yakugaku Zasshi.* **107**, 495 (1987).
- 6 Kimura, M., Waki L., Chujo, T., Kikuchi, T., Hiyama, C., Yamazaki, K. and Tanaka, O. : Effects of hypoglycemic components in Ginseng radix on blood insulin level in alloxan diabetic mice and on insulin release from perfused rat pancreas. *J. Pharm. Dyn.* **4**, 410 (1981).
- 7 Yokozawa, Kobayashi, T., Oura, H. and Kawashima, Y. : Studies on the mechanism of the hypoglycemic activity of ginsenoside-R_{b2} in streptozotocin-diabetic rats. *Chem. Pharm. Bull.* **33**, 869 (1985).
- 8 김춘미, 한규선 : 인삼 단백질의 방사선 방어작용. *약학회지* **29**, 46 (1985).
- 9 산과향응 : 화학약백과도감, 보육사, 오사카 p. 1 (1980).
- 10 박중대 : 고려인삼의 화학성분에 관한 고찰. *고려인삼학회지* **20**, 389 (1996).
- 11 Hasegawa, H., Sung, J. H., Matsumiya, S., Uchiyama, M., nouye, Y., Kasai, R. and Yamasaki, K. : Reversal of daunomycin and vinblastine resistance in multidrug-resistant P388 leukemia *in vitro* through enhanced cytotoxicity by diterpenoids. *Planta Medica* **61**, 409 (1995).
- 12 성종환, 장곡천수부, 송광지지, 내산아수, 하주영, 이문순, 허재두 : 사람의 장내세균에 의한 인삼 사포닌의 대사, *생약학회지* **26**, 360 (1995).
- 13 Hasegawa, H., Sung, J. H., Matsumiya, S. and Uchiyama, M. : Main Ginseng saponin metabolites formed by intenal bacteria. *Planta Medica* **62**, 453 (1996).
- 14 성종환, 장곡천수부, 하주영, 박세호, 송광지지, 내산아수, 허재두 : 사람의 장내세균에 의한 사포닌의 대사 (제2보), *생약학회지* **28**, 35 (1997).
- 15 Hasegawa, H., Sung, J. H., Matsumiya, S. and Uchiyama, M. : Metabolism of Ginseng saponins by human intestinal bacteria, and isolation and identification of the bacteria associated with the metabolism. *Journal of Traditional Medicines* **14**, 396 (1997).
- 16 Hasegawa, H., Sung, J. H., Matsumiya, S. and Uchiyama, M. : Pharmacodynamic analysis of Ginseng saponin metabolites formed by human intestinal bacteria. *Journal of Traditional Medicines.* **14**, 394 (1997).
- 17 Hasegawa, H., Sung, J. H., Huh, J. D. : Ginseng intestinal bacterial metabolite IH901 as a new anti-metastatic agent. *Archives of Pharmacal Research* **20**, 539 (1997).
- 18 Lee, B. H., Lee, S. J., Hui, J. H., Lee, S. Y., Sung, J. H., Huh, J. D. and Moon, C. K. : *In vitro* antigenotoxic of novel Ginseng saponin metabolites formed by intestinal bacteria. *Planta Medica* **64**, 500 (1998).
- 19 Lee, S. J., Sung, J. H., Lee, S. J., Moon, C. K. and Lee, B. H. : Antitumor activity of a novel ginseng saponin metabolite in human pulmonary adenocarcinoma cells resistant to cisplatin. *Cancer Letters* **144**, 39 (1999).
- 20 Suda, K., Murakami, K., Murata, J., Haswgawa, H. and Saiki, I. : An intestinal bacterial metabolite (M1) of ginseng proto-panaxadiol saponins inhibits tumor-induced neovascularization. *Journal of Traditional Medicines* **17**, 144 (2000).
- 21 Lee, S. J., Ko, W. G., Kim, J. H., Sung, J. H., Lee, S. J., Moon, C. K. and Lee, B. H. : Induction of apoptosis by a novel intestinal metabolite of Ginseng saponin via cytochrome c-mediated activation of caspase-3 protease. *Biochemical Pharmacology* **60**, 677 (2000).
- 22 Takamura, T., Ando, H. and Nagai, Y. : Pioglitazone prevents mice from multiple low-dose streptozotocin-induced insulinitis and diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract* **99**, 107 (1999).
- 23 고성권, 황완균, 김일혁 : 인삼류생약의 항당뇨에 관한 비교연구 (인삼류 엑스가 Streptozotocin 유발 고혈당 흰쥐에 미치는 영향), *약학논총* **7**, 5 (1993).