

## 뜸부기 추출물이 물질대사 조절에 미치는 영향

이상현 · 이연실<sup>1</sup> · 정상훈<sup>2</sup> · 신국현<sup>1</sup> · 김박광\*

서울대학교 약학대학, <sup>1</sup>(주) 월드씨그린 석원생명과학연구소, <sup>2</sup>한국과학기술연구원

### Effects of the Extracts from *Pelvetia siliquosa* on Metabolism Regulation in Rats

Sanghyun Lee, Yeon Sil Lee<sup>1</sup>, Sang Hoon Jung<sup>2</sup>, Kuk Hyun Shin<sup>1</sup>, and Bak-Kwang Kim\*

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

<sup>1</sup>Seokwon Life Science Research Institute, World Sea Green Co. Ltd., Paju 413-832, Korea

<sup>2</sup>Natural Products Research Center, KIST, Seoul 136-791, Korea

**Abstract** – Effects of the EtOH extract from *Pelvetia siliquosa* on CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity as well as streptozotocin-induced diabetes in rats were investigated. The EtOH extract was found to cause an inhibition of the rise in the transaminase activities in CCl<sub>4</sub>-intoxicated rats. Also, the EtOH extract exhibited a rat lens aldose reductase inhibition *in vitro* and showed an inhibition of not only glucose concentrations but also sorbitol accumulations in the lenses, red blood cells and sciatic nerves in the STZ-induced diabetic rats *in vivo*. These results suggested that this plant might possess hepatoprotective and anti-diabetic activities.

**Key words** – *Pelvetia siliquosa*, Fucaceae, hepatotoxicity, diabetes

뜸부기는 모자반과(Fucaceae)에 속하는 해조류 중 갈조류의 일종으로서 뜸부기속(Genus *Pelvetis*)은 전 세계적으로 4종이 보고되고 있으며, 한국산 뜸부기는 남해안과 서해안의 조간대 상부의 암반에 뭉쳐서 나며 몸은 5 – 15 cm이고 직립 한다.<sup>1,2)</sup> 식물체의 뿌리는 반상이고 원기둥모양의 줄기와 복차상으로 갈라지는 가지로 이루어져 있다. 가지는 상부로 갈수록 약간 납작하고 가지 끝부분이 불룩해져서 기포를 이룬다. 한국산 뜸부기(*Pelvetia siliquosa* Tseng et Chang)는 *Silvetia siliquosa* 및 *P. wrightii*로 동종이명으로 알려져 있으며, 우리 나라에서는 일반적으로 *P. wrightii*으로 알려져 있다.<sup>3)</sup>

뜸부기는 흔히 식용으로 쓰여 왔고 알긴산(alginic acid) 원료로도 이용되며 서남해에서는 제사상의 나물재료 등의 식용으로 이용되어 왔는데, 최근에는 당뇨, 고혈압 등 성인병의 치료제인 알긴산의 원료와 건강식품으로 약효가 있다는 보도가 있으면서 수요가 증가하고 있다.<sup>4,5)</sup>

당뇨병은 대표적인 성인병의 하나로서 전세계적으로 급증하고 있고 우리 나라에서도 그 환자는 증가 일로에 있다. 오

늘날 당뇨병 치료에 있어서 최대목표 중의 하나는 당뇨병 합병증의 유발이나 진전을 억제하는데 있으며 최근에 당뇨병 조절과 합병증과의 관계연구(Diabetes Control and Complication Trial)에 의하면 강화된 인슐린 치료를 하여 혈당을 정상화시키면 당뇨병 합병증 발생을 크게 감소시킬 수 있다고 보고되었다.<sup>6)</sup> 당뇨병에 있어서 고혈당이 합병증을 유발시키는 기전으로 polyol pathway의 이상,<sup>7)</sup> oxidative stress,<sup>8)</sup> myoinositol의 감소,<sup>9)</sup> Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase 활성의 감소<sup>9)</sup> 등이 보고되어져 있다. 정상상태에서 glucose는 생명을 유지하기 위한 중요한 에너지원으로 insulin에 의해 세포 내로 유입된 후 대부분이 해당계에서 대사되므로 polyol pathway를 통하여 대사되는 것은 약 3%에 불과하다.<sup>9)</sup> 그러나 신장세포, 신경세포, 수정체, 망막세포, 적혈구 등은 glucose 유입에 있어 insulin에 의존하지 않고 확산에 의해 유입되므로 당뇨병에 의해 고혈당이 유발되면 이러한 세포 내 glucose 농도는 자동으로 상승한다. 세포 내 유입된 고농도의 glucose에 의해 aldose reductase가 활성화되어 정상상태의 약 2 – 4배의 glucose가 polyol pathway를 거쳐 sorbitol 및 fructose가 생성된다.<sup>10-12)</sup> 축적된 sorbitol은 세포 내 삼투압 및 세포 투과성을 초래하여 생체 내 대사장애를

\*교신저자(E-mail) : kimbk2@snu.ac.kr  
(FAX) : 02-878-1652

가져오게 된다.

따라서, sorbitol의 축적을 억제함으로써 당뇨병성 합병증의 발병을 저지할 수 있으며, 이는 polyol pathway의 aldose reductase 활성을 억제함으로써 가능케 된다.<sup>13-16)</sup> 본 연구는 뽕부기 발효주정 추출물을 대상으로 하여 간기능 대사와 혈당 대사를 조절하는 역할에 대한 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

**실험재료** - 본 연구에 사용된 뽕부기(*Pelvetia siliquosa* Tseng et Chang)는 목포 남쪽 바다에서 채집하여 여주대학교 신종암 교수님으로부터 감정을 받아 사용하였다. 완전히 건조된 뽕부기 2 kg에 발효주정(EtOH, 덕산약품) 5 L를 가하여 고압증탕기로 3시간씩 3회 추출 후 농축한 것을 발효주정 추출물(EtOH ext.)로 하여 실험에 사용하였다.

**실험동물** - 실험동물은 계대 사육한 순계 Sprague-Dawley (SD)계 웅성 흰쥐와 ICR계 웅성 생쥐를 사용하였다.

**CCl<sub>4</sub> 급성 간 장애 모델을 이용한 간기능 개선작용** - 체중 250 g 내외의 SD계 흰쥐를 16시간 절식시킨 후 실험에 사용하였다. 뽕부기 추출물(100 mg/kg, 200 mg/kg, 300 mg/kg)을 CCl<sub>4</sub> 혼합액 투여 4시간 전 및 투여 6시간 후 1% CMC-Na용액에 현탁 조제하고, 양성 대조물인 silymarin은 100 mg/kg의 용량으로 하였다. SD계 흰쥐에 CCl<sub>4</sub>:olive oil 혼합액(1:4 v/v %)을 체중 100 g당 0.2 ml씩 복강 내 투여하고 48시간 후에 ether 마취 하에 개복하여 복부 대동맥에서 채혈한 후 원심분리하여 혈청을 취하여 GOT 및 GPT 활성을 Sigma Kit(USA)를 사용해서 측정하였다.

**Aldose Reductase 억제효과 측정** - Aldose reductase 억제효과를 측정하기 위한 효소원의 조제는 Hayman과 Kinoshita<sup>17)</sup>가 사용한 방법을 수정하여 실시하였다. SD계 흰쥐의 수정체를 적출하고, 그 습중량에 따라 일정량의 phosphate buffer를 가하여 균질화하였다. 이를 4°C에서 원심분리한 후 그 상등액을 취하여 ammonium sulfate로 40%까지 포화시키고 원심분리한 상등액을 취하여 다시 70%가 되도록 ammonium sulfate를 가하여 1시간 가량 저어준 다음 원심 분리하여 얻어진 pellet을 최소량의 buffer에 현탁하여 투석을 1일정도 한 다음, 효소원으로 하였다. 위에서 조제한 효소원과 DL-glyceraldehyde를 기질로 하여 반응시키고 340 nm에서 NADPH 흡광도의 감소율을 측정하였다.

**고용량 Streptozotocin의 단회 투여에 의한 고혈당 유발 모델** - Streptozotocin 85 mg/kg을 SD계 흰쥐의 꼬리정맥주사를 하여 당뇨병을 유발시킨 후 4, 7, 24 hr에 시료를 100, 200, 300 mg/kg을 각각 위장삽관(intragastric intubation)을 통해 주입하고 마지막 투여 후 3시간이 지난 후 수정체, 좌

골신경, 적혈구를 적출 하였다. 적출한 기관의 sorbitol 함량 측정은 Clements 등<sup>18)</sup>의 방법을 수정하여 사용하였다. 적혈구의 경우, 흰쥐로부터 적혈구 5 ml을 취한 후 4°C에서 원심분리에 의해 cold saline으로 3회 세척 후 1 ml을 취하여 6% perchloric acid 3 ml을 가하고 원심분리하여 단백질을 침전시키고 상등액에 2.5 M K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 1 ml 가하여 중화시킨 뒤 원심분리하여 얻은 상등액을 사용하였다. 좌골신경과 수정체의 경우, 동결건조한 후 1.5 ml 증류수에 균질화하고 상기와 동일한 방법으로 상등액을 얻었다. Sorbitol 함량의 측정은 상등액 0.5 ml와 반응혼합물(glycine buffer pH9.4, 0.2 mM nicotinamide adenine dinucleotide, 0.64U sorbitol dehydrogenase) 1 ml을 섞은 다음 25분 후 sorbitol standard (1.0-50.0 nm/ml)와의 상대적인 함량을 fluorescence spectrophotometer로 측정하였다.

**당부하실험** - SD계 흰쥐(200-220 g)를 실험 전 16시간 절식시킨 다음 대조군에는 식염수를, 약물대조군은 metformin 200 mg/kg, 실험군에는 EtOH 추출물(200 mg/kg)을 경구 투여하였다. 30분 후 당(2 g/kg)을 경구 투여한 후 0, 1, 2, 3 시간마다 각각 혈당을 측정하였다.

**독성실험** - 실험동물로는 ICR계 웅성 생쥐(25-30g, SPF)와 SD계 흰쥐(200-220 g, SPF)를 1군에 10마리 사용하였다. 뽕부기 EtOH 추출물은 정제수에 용해하여 feeding needle을 사용하여 위에 직접 경구 투여하였으며, 최대 투여 용량은 체중 100 g당 1 ml을 초과하지 않도록 하였다. 투여 16일전 물 이외의 사료는 공급하지 않았으며 투여 후 3시간 절식시켰다. 뽕부기 추출물의 용량은 500, 1000, 1500, 2000 mg/kg으로 하였다. 투여 후 14일간의 관찰에 의하여 사망율, 일반소견, 체중변화, 부검소견을 확인하였다.

**통계처리** - 모든 실험의 측정치는 Student's *t*-test로 통계처리를 하여 대조군과의 유의성 차를 검정하였다.

## 결과 및 고찰

뽕부기 발효주정 추출물(EtOH ext.)의 급성 간장애 모델을 이용한 간기능 개선작용과 고혈당 유발모델을 이용한 당뇨병증작용을 검토하였다. 사염화탄소로 유발된 급성 간장애 모델에서 간조직 손상의 회복여부를 간기능 지표로 알려진 GOT와 GPT를 측정하여 비교하였다. Table I에 나타난 바와 같이 뽕부기 추출물의 용량별 투여시 GOT에 비해서 GPT 활성이 더 높은 억제활성을 나타냈다. GOT에서는 100 mg/kg, 200 mg/kg, 300 mg/kg의 용량에서 13.6%, 26.1%, 28.6%의 억제효과를 보였고, GPT에서는 각 용량에서 20.1%, 33.2%, 37.9%의 억제효과를 나타내었다. 특히 200 mg/kg, 300 mg/kg의 용량에서 유의성 있는 GOT 및

**Table I.** Effect of the EtOH extract from *P. siliquosa* on the GOT and GPT activities in CCl<sub>4</sub>-induced hepatic damage

Treatments	GOT (Karmen unit)	GPT (Karmen unit)
Normal	32.9 ± 4.8	15.3 ± 2.0
Control	202.1 ± 16.5	101.7 ± 9.8
Silymarin	128.8 ± 5.8**	58.5 ± 6.0**
100	174.6 ± 12.3	81.3 ± 7.0
200	149.3 ± 8.1*	67.9 ± 3.4**
300	144.3 ± 13.4*	63.2 ± 4.1**

Control group was given orally with CCl<sub>4</sub>:olive oil mixture (1:4 v/v%). The EtOH extract (100, 200, and 300 mg/kg) or silymarin were given p.o. 4 hr before and 6 hr after administration of the mixture. Significantly different from the control: \*\**P* < 0.01, \**P* < 0.05

**Table II.** Inhibitory effect of the EtOH extract from *P. siliquosa* on the AR

Treatments	Concentration (μg/ml)	Inhibition <sup>a)</sup> (%)	IC <sub>50</sub> <sup>b)</sup> (μg/ml)
TMG*	10	92.7	0.52
	1	68.7	
	0.1	19.8	
EtOH ext.	10	53.4	14.75
	5	22.9	
	1	17.2	

\*Tetramethylene glutaric acid, a reference compound as one of typical AR inhibitors. <sup>a)</sup>Inhibition rate was calculated as percentage with respect to the control value. <sup>b)</sup>IC<sub>50</sub> value were calculated from the least-squares regression equation in the plot of the logarithm of at three graded concentrations vs % inhibitions.

GPT의 값을 나타내었다.

뜸부기 EtOH 추출물의 항당뇨 활성을 검색하기 위해 흰 쥐 수정체 aldose reductase 활성을 측정하였는데, 이는 glucose의 aldehyde를 NADPH의 존재 하에 당 alcohol로 환원시키는데 관여하는 효소이다. 이 효소를 억제시킴으로써

다음 효소반응단계인 sorbitol을 fructose로의 전환을 저해함으로써 조직 내 sorbitol 축적억제를 통해 당뇨합병증을 저해시킬 수 있다. 뜸부기 EtOH 추출물은 aldose reductase 활성에 농도 의존적 경향을 보였으며, Table II에 나타난 바와 같이 14.75 μg/ml의 IC<sub>50</sub> 값을 나타내어 이는 당뇨합병증 발병을 저해할 수 있는 것으로 사료된다.

*In vivo* 활성은 streptozotocin으로 당뇨병을 급성으로 유발시킨 후 뜸부기 추출물을 투여한 후 혈당변화 및 조직 내 sorbitol 함량을 비교하였다. Table III에서 보는 바와 같이 100 mg/kg에서는 혈당의 변화가 거의 나타나지 않았지만 200 mg/kg과 300 mg/kg의 용량에서는 각각 24.6%와 29.8%의 혈당저하효과를 보였다. 수정체 속의 sorbitol 함량은 대조군(0.75 ± 0.04 nmol/mg)과 비교했을 때 용량 의존적으로 sorbitol 축적이 낮은 것을 확인할 수 있었다. 100 mg/kg에서는 10.7%에 불과했지만 200 mg/kg과 300 mg/kg에서는 각각 40.0%(0.45 ± 0.10 nmol/mg)와 46.7%(0.40 ± 0.08 nmol/mg)의 sorbitol 감소효과를 보였다. 적혈구내에서도 대조군(398.6 ± 61.3 nmol/g Hb)과 비교시 용량 의존적으로 sorbitol 축적 억제효과가 현저하게 나타났다. 100, 200, 300 mg/kg에서 각각 47.3%(210.0 ± 16.6 nmol/g Hb), 52.5%(189.3 ± 12.8 nmol/g Hb), 60.6%(157.1 ± 19.1 nmol/g Hb)의 억제효과를 보였다. 좌골신경 내에서 sorbitol 함량은 대조군(11.8 ± 1.4 nmol/mg)과 비교했을 때 100 mg/kg, 200 mg/kg, 300 mg/kg에서 각각 26.3%(8.7 ± 0.8 nmol/mg), 33.9%(7.8 ± 0.6 nmol/mg), 41.5%(6.9 ± 0.7 nmol/mg)의 억제효과를 나타내었다. 대조약물인 epalrestat은 수정체, 적혈구, 좌골신경 내에서 sorbitol 함량은 각각 49.3%, 70.2%, 50%의 억제효과를 보였다. 특히 200 mg/kg, 300 mg/kg의 용량에서 전체적으로 유의성 있는 blood glucose 및 sorbitol accumulation의 억제효과를 나타내었다. 뜸부기 EtOH 추출물이 생체조직 내 sorbitol 함량을 감소시킨 것으로 나타나 수정체, 신경세포, 신장세포 등에서 sorbitol 축적과 관련되어 나타나는

**Table 3.** Effect of the EtOH extract from *P. siliquosa* on the serum glucose concentration and the sorbitol accumulation of STZ-induced diabetic rats

Treatments	Blood glucose (g/l)	Sorbitol accumulation		
		Lens (nmol/mg dry wt.)	Red blood cell (nmol/g Hg)	Sciatic nerve (nmol/mg dry wt.)
Normal	1.2 ± 0.08	0.05 ± 0.02	63.2 ± 3.9	2.0 ± 0.3
Control	5.7 ± 0.33	0.75 ± 0.04	398.6 ± 61.3	11.8 ± 1.4
Epalrestat	3.9 ± 0.24**	0.38 ± 0.05*	118.7 ± 11.6**	5.9 ± 0.5**
100	5.6 ± 0.30	0.67 ± 0.07	210.0 ± 16.6**	8.7 ± 0.8
200	4.3 ± 0.20*	0.45 ± 0.10*	189.3 ± 12.8*	7.8 ± 0.6*
300	4.0 ± 0.30*	0.40 ± 0.08	157.1 ± 19.1**	6.9 ± 0.7*

The EtOH extract (100, 200, and 300 mg/kg) or epalrestat (50 mg/kg) were administered orally. Significantly different from the control: \*\**P* < 0.01, \**P* < 0.05.

**Table IV.** Effect of the EtOH extract from *P. siliquosa* on glucose tolerance in rats

Treatments	0 hr	1 hr	2 hr	3 hr
Control	61.1 ± 9.7	179.7 ± 12.2	201.6 ± 5.8	132.0 ± 9.7
Metformin	59.3 ± 2.3	138.4 ± 8.2**	121.7 ± 7.8**	119.9 ± 7.2
EtOH ext.	50.6 ± 4.6	168.6 ± 10.4	159.2 ± 12.0*	129.4 ± 11.0

Rats were fasted for 16 hr. Saline (control), a reference drug metformin (200 mg/kg), or the EtOH extract (200 mg/kg) were then orally administered to group of 6 rats. Thirty minutes later, glucose was orally administered to each rat with a feeding syringe. The change in blood glucose at 0, 1, 2 and 3 hr was measured in each group. Significantly different from the control; \*\* $P < 0.01$ , \* $P < 0.05$ .

당뇨병성 합병증의 저해에 관여하는 것으로 보인다.

상기 실험에서 전반적으로 활성이 나타나는 뜸부기의 EtOH 추출물 200 mg/kg에서 당부하 내성 실험을 최종 실시하였다. Table IV에서 보는 바와 같이 EtOH 추출물은 당부하 2시간째 약 23% 정도의 감소효과를 보임을 확인하였다.

최종 뜸부기 추출물의 독성여부를 확인하기 위한 급성독성을 실시한 결과 2 g/kg의 용량까지 개체의 사망이나 이상 증상을 보이지 않았으며, 14일 후 부검관찰에서도 이상소견을 관찰할 수 없었다.

뜸부기 EtOH 추출물은 독성과 부작용을 나타내지 않으면서 *in vitro* aldose reductase 억제활성과 *in vivo* 혈당저하 및 조직 내 sorbitol 축적억제를 통해 당뇨합병증에 효과가 있는 것으로 사료된다.

## 사 사

본 연구는 BK21 및 보건복지부 산하 한국보건산업진흥원(KHIDI)의 지원(No. 03-PJ1-PG11-VN01-SV04-0016)에 의하여 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

1. Yoon, J. T. (1995) Developmental morphology on the regeneration of *Pelvetia siliquosa* Tseng et Chang, Phaeophyta in Korea. Chungbuk National University. Ph. D. Thesis.
2. Oh, Y. S., Lee, I. K., and Boo, S. M. (1990) An annotated account of Korean economic seaweeds for food, medicinal and industrial uses. *Kor. J. Phycol.* **5**: 57-71.
3. Lee, Y. and Kang, S. A. (2001) Catalogue of the Seaweeds in Korea. Jeju Natural University Press. pp. 179-180.
4. 공용근, 김길주, 윤장택(1998) 남해안 지역특성 해조류 양 식품종 및 기술배달 II. 뜸부기 양식기술 개발 시험, 남해수산연구소 사업보고서: pp. 242-254.
5. 한국식물도감 제8권 식물편(해조류) (1968) 문교부. p. 29.
6. Seaquist, E. R., Goeta, F. C., Rich, S., and Barbosa. (1989) Familial clustering of diabetic kidney disease: Evidence for genetic susceptibility to diabetic nephropathy. *N. Eng. J. Med.* **320**: 1161-65.
7. Sato, Y. and Rifkin, D. B. (1989) Inhibition of endothelial cell movement by pericytes and smooth muscle cells: Activation of a latent transformation growth factor B1-like molecule by plasmin during coculture. *J. Cell. Biol.* **109**: 309-315.
8. Williamson, J. R., Chang, K., Frangos, M., Hasan, K. S., Ido, Y., Kawamura, T., Nyengard, J. R., Van Den Enden M., Kilo C., and Tilton R. G. (1993) Hyperglycemic pseudohypoxia and diabetic complications. *Diabetes* **42**: 801-813.
9. Greene, D. A., Lattimer, S. A., and Sima, A. F. (1987) Sorbitol, phosphoinositides, and sodium-potassium-ATPase in the pathogenesis of diabetic complications. *N. Eng. J. Med.* **316**: 599-606.
10. Malone, J. I., Knox, G., Benford, S., and Tedesco, T. A. (1980) Red cell sorbitol. An Indicator of diabetic control. *Diabetes* **29**: 861.
11. Gabby, K. H. (1972) Purification and immunological identification of bovine retinal aldose reductase. *Isr. J. Med. Sci.* **8**: 1626.
12. Travis, S. F., Morrison, A. D., Clements, R. S. Jr., Winegrad, A. I., and Oski, F. A. (1974) The role of the polyol pathway in methemoglobin reduction in human red cells. *Br. J. Haematol.* **27**: 597.
13. Beyer, M. A. and Farnsworth, P. N. (1979) Diminished sugar cataractogenesis by quercetin. *Exp. Eye Res.* **28**: 709.
14. Parmar, N. S., and Ghosh, M. N. (1979) Effect of gossypin, a flavonoid, on the formation of galactose induced cataracts in rats. *Exp. Eye Res.* **29**: 229.
15. Datiles, M., and Fukui, M. N. (1982) Galactose cataract prevention with sorbinil, an aldose reductase inhibitor. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **22**: 174.
16. Sestani, K., and Bellini, F. (1984) *N*-[(5-(trifluoromethyl)-6-methoxy-1-naphthalenyl)thioxomethyl]-*N*-methyl-glycine, a potent, orally active aldose reductase inhibitor. *J. Med. Chem.* **27**: 255.
17. Hayman, S. and Kinoshita, J. H. (1965) Isolation and properties of lens aldose reductase. *J. Biol. Chem.* **240**: 877-882.
18. Clements, R. S., Jr. Morrison, A. D., and Winegard, A. I. (1969) Polyol pathway in aorta: Regulation by hormones. *Science* **166**: 1007-1008.

(2004년 6월 15일 접수)