J Korean Soc Food Sci Nutr
33(6), 951~957(2004)

한국식품영양과학회지

오매 추출물의 혈당 강하 효과

고병섭[1] · 박성규[2] · 최수봉[3] · 전동화[4] · 장진선[4] · 박선민[4†]

[1]한국한의학연구원, [2]경희대학교 한의과대학
[3]건국대학교 의과대학, [4]호서대학교 식품영양학과

Hypoglycemic Effects of Crude Extracts of *Prunus mume*

Byoung-Seob Ko[1], Seong Kyu Park[2], Soo Bong Choi[3], Dong Wha Jun[4], Jin Sun Jang[4] and Sunmin Park[4†]

[1]Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 305-811, Korea
[2]College of Oriental Medicine, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea
[3]School of Medicine, Konkuk University, Chungju 380-701, Korea
[4]Dept. of Food and Nutrition, Hoseo University, Chungnam 336-795, Korea

Abstract

Hypoglycemic effect of *Prunus mume* (PM) extract containing in Sangjinyangheul-tang and Hwangkeum-tang, one of the diabetic herbal medicines, was determined by investigating insulin-like action, insulin sensitizing action and α-glucoamylase suppressing action. Insulin-like activity of 3T3-L1 fibroblast was not shown with the treatment of PM methanol extracts. However, treatment with 20% or 40% PM methanol extracts and differentiation inducers significantly decreased the differentiation of 3T3-L1 fibroblasts to adipocytes. A significant insulin sensitizing activity was observed in 3T3-L1 adipocytes, giving PM extracts (60%, 80% and 100%) with 1 ng/mL insulin to reach glucose uptake level increased by 50 ng/mL of insulin alone. In addition, 20% and 40% methanol extracts of PM suppressed the α-glucoamylase activity by 30% *in vitro*. However, there was no significant differences in the peak of serum glucose levels and area under the curve in Sprague Dawley male rats treated with PM ethanol extract or cellulose and 2 g maltose or dextrin/kg body weight. These data suggested that PM extracts contain effective insulin sensitizing compounds, lipid synthesis suppressing compounds and possibly α-glucoamylase suppressing compounds. Therefore, PM extracts are beneficial for anti-diabetic treatment in obese diabetic patients.

Key words: 3T3-L1 adipocytes, insulin sensitizer, α-glucoamylase, oral glucose tolerance, dextrin

서 론

우리나라를 비롯한 아시아의 여러 나라에서는 민간요법으로 여러 가지 약초들을 당뇨병 및 여러 질병의 치료제로 사용하여 왔지만 이에 대한 과학적인 연구는 많지 않다(1-3). 본 연구팀은 동의보감에서 당뇨병의 처방에 많이 사용하는 50여종의 약초들을 중심으로 먼저 3T3-L1 섬유아세포와 지방세포를 사용하여 *in vitro*에서 인슐린 민감성이나 인슐린 유사성 물질을 탐색하였다. 효과가 있는 한약재의 분획층은 더 분리하여 단일 물질로 분리하고 있으며, 이 물질들의 효과는 백서에 장기간 투여하였을 때 인슐린 민감성이나 인슐린 분비능의 변화를 조사하고 있다. 앞서 연구한 한약재 중에서 이미 발표한 것으로 율무, 상백피, 둥굴레 뿌리의 분획물에는 인슐린 민감성 물질이 함유되어 있다는 것을 발견하였다(4-7).

오매(*Prunus mume*)는 장미과(Rosaceae)의 매화나무(*Prunus mume*(Sieb.) S. et Z.)의 미성숙한 과실이다. 이 과실에 함유된 성분으로는 citric acid, sitosterol, oleanolic acid, kaemf-7-glucoside, naringenine, prunin, leucoanthocyanidin이 알려졌다(8). 알려진 생리활성 효과로는 항산화와 항암 효과가 있다(9,10). 한방에서는 당뇨병을 소갈이라고 하고 그 치료는 폐를 보하고 화를 내리며 혈액을 생기게 하는 것을 위주로 하였고 상소, 중소, 하소로 구분하여 치료하여 왔다. 상소는 갈증이 심하고 음식을 장에서 흡수하지 못하는 것으로 한방에서는 생진양혈탕(生津養血湯)과 황금탕(黃芩湯)이 상소의 치료제로 사용되어 왔고, 이 두 처방의 공통 원료 중 하나가 오매이다. 즉, 오매의 혈당 강하 효과에 대한 연구는 거의 없었지만 전통적으로 한방에서 당뇨병 치료제로 사용되어 왔다. 오매가 갈증을 없애는 것이 신맛에 의한 것일 수도 있지만 당뇨병을 완화하여 혈당을 저하시키고 갈

†Corresponding author. E-mail: smpark@office.hoseo.ac.kr
Phone: 82-41-540-5633, Fax: 82-41-548-0670

증을 없애 주는 것일 수도 있다. 그러므로 본 연구에서는 오매가 인슐린 작용을 향상시키는 인슐린 민감성 효과, 인슐린처럼 작용하는 인슐린성 물질로서의 효과 그리고 α-glucoamylase의 억제제로의 효과가 있는 지 여부를 조사하였다. 이 연구 결과로 오매가 당뇨병에 미치는 영향을 알았기에 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

한약재료

본 실험에 사용한 오매는 서울 경동시장에서 2002년 8월에 구입한 후 한국한의학연구원에서 엄격하게 감별하고 선정한 것을 사용하였고, 일련 번호를 붙이고 한국한의학연구원 표본실에 보관하고 있다.

시료의 조제

오매 1 kg에 70% 에탄올 10 L을 넣고 2시간 열수로 2회 반복 추출한 후 거즈로 여과하고 450×g로 원심분리(Megafuge 1.0R, Golden Valley, MN, USA)하여 상등액을 회전진공 농축기(Bchi R-114, Essen, Germany)로 35°C에서 감압농축한 후 동결건조(Ilshin Freeze dryer, Seoul, Korea)하여 분말 추출시료를 만들었다. 열수분말추출시료 1 g을 증류수 10 mL에 현탁시켜 현탁액으로 만든 후, amberlite XAD-4 gel을 충진한 유지컬럼(직경: 30 mm, 길이: 300 mm)으로 정제하였다. 이때 용출액은 메탄올의 양을 증량시켜 극성을 변화시키면서 H_2O(Fr. 1), 20% 메탄올(Fr. 2), 40% 메탄올(Fr. 3), 60% 메탄올(Fr. 4), 80% 메탄올(Fr. 5) 및 100% 메탄올(Fr. 6)으로 나누어 분획하여 감압농축 후 동결건조하여 사용하였다. 각각의 분획층은 10% DMSO에 1 mg/mL로 녹인 후 sonicator로 20초 동안 진탕하여 침전물 없이 모두 용해시켰다.

인슐린성 물질 탐색 실험

혈구계산기(haemacytometer)로 계산된 5×10^3 cells/mL의 세포를 24 well plate의 각 well에 넣고 phosphate buffer saline(PBS)로 세척한 후 1% bovine serum albumin(BSA)을 함유하고 있는 고농도 포도당 Dulbecco's modified eagle medium(DMEM) 배지에서 2일 동안 배양하였다. 배양한 후 새로운 DMEM배지로 교환하였다.

오매의 분획물에 인슐린성 물질이 함유되어 있는 지를 조사하기 위하여(11) 유도 분화물질 중 인슐린을 제외한 0.25 μM의 dexamethasone(DEX, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)과 0.5 mM의 1-methyl-3-isobutylxanthine(IBMX, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)와 함께 오매 분획물을 각각 100 μg/mL 첨가하여 5일간 배양하였다. 배양 후 3T3-L1 섬유아세포가 지방세포로 분화되는 정도를 조사하였다. 또한 인슐린을 첨가한 유도 분화물질과 함께 오매 분획물을 처리하여 5일간 배양하였다. 이 두 경우 모두에서 대조군은 오매 분획물이 함유되지 않은 DMSO를 오매 분획물 대신 첨가하여 배양하였다. 지방세포로의 분화정도는 생성된 중성지방의 함량으로 측정하였다. 중성지방의 농도는 중성 지방 측정 kit(영동제약, 서울, 한국)로 측정하였다.

지방세포내로의 포도당 섭취 실험

3T3-L1섬유아세포는 Kamei 등(3)의 방법으로 분화 유도 약물과 함께 배양하여 지방세포로 분화시켰다. 분화된 지방세포는 24 well plate의 각각의 well에 약 5×10^4개의 세포를 분주하여 well에 빈 공간없이 완전히 채웠다. Well plate에 옮긴 지방세포를 PBS로 세척한 후 500 μL의 1% BSA를 함유하고 있는 저농도 포도당의 DMEM에서 12시간 이상 배양하였다. Media를 제거하고 HEPES 용액에서 37°에서 30분 동안 배양한 후 1 μCi/mL의 [^{14}C]2-deoxyglucose와 1 mM 포도당을 첨가하여 22°C에서 30분 동안 배양할 때 포도당이 세포내로의 섭취 정도를 세포내에 함유된 ^{14}C의 양으로 결정하였다. 비특이적인 포도당 섭취를 배제하기 위해서 glucose transporter 4(GLUT4)의 작용을 억제하는 cyto B와 함께 배양하였을 때의 포도당 이동량을 빼고 세포내로 이동한 포도당의 양을 측정하였다. 세포는 10 mM 포도당이 함유한 PBS으로 세척하고 0.5 N NaOH로 세포를 분해하였다. 분해된 세포를 초산으로 중화시키고 함유된 ^{14}C의 함량을 베타 counter(Tri-Carb 2100TR, Packard Bioscience, Boston, MA, USA)로 측정하였다.

오매의 분획층이 인슐린 민감성 물질이 함유되어 있는 지의 여부를 조사하기 위해서 3T3-L1지방세포에 인슐린 1 ng/mL과 함께 각 분획층을 넣고 1시간 동안 배양한 후에 포도당 섭취 정도를 인슐린 50 ng/mL를 처리한 결과와 비교하였다. 대조군으로 인슐린 0, 1 그리고 50 ng/mL를 사용하였다. 모든 실험은 3 반복하였고, 실험결과는 인슐린과 오매 분획물을 모두 처리하지 않은 것의 값에 대한 비로 나타내었다(12).

In vitro α-glucoamylase 실험

α-Glucoamylase는 50 mM sodium acetate 용액으로(pH 5.0) 5 mg/mL로 희석시키고, 기질인 말토스 20 mg/mL로 증류수에 녹인 후 1 : 1의 비율로 섞었다. 약물은 동결건조한 것을 1 mg/mL의 농도로 DMSO로 녹이고 이것을 PBS로 희석하여 사용하였다. 오매 분획물은 50 μg/mL의 농도로 사용하였다. 이 반응 용액은 37°C에서 1시간 동안 배양시켰다. 1시간 후에 150 μL의 0.2 M NaOH로 반응을 종결시키고 중화하기 위해서 150 μL의 0.2 M 초산 용액을 넣어주었다. 반응 후 생성되는 유리 포도당 양을 측정하여 α-glucoamylase의 활성을 측정하였다. 대조군은 오매 분획층의 용매인 DMSO만을 처리한 것에서 생성되는 유리 포도당 양으로 결정하였다. 결과는 DMSO만을 처리하였을 때 생성되는 유리 포도당 양에 비해 오매 분획층을 넣었을 때 유리 포도당의 생성이 감소되는 정도를 백분율(%)로 계산하였다.

In vivo glucose uptake assay

*In vivo*에서 오매 추출물이 탄수화물의 소화 흡수에 미치는 영향은 경구 당부하 검사를 변형시켜 측정하였다(13). Sprague Dawley 숫컷 백서(중앙 실험 동물, Seoul, Korea)를 16시간 동안 금식시킨 후 오매 추출물 500 mg/kg 체중을 투여하고 10분 뒤에 포도당 대신 dextrin 또는 말토스를 투여하여 *in vivo*에서 α-glucoamylase효소의 활성을 조사하였다. 물론 경구 당부하 검사는 췌장의 베타세포에서의 인슐린 분비 정도와 체내 인슐린 민감성과 밀접하게 연관되어 있지만, 말토스나 dextrin은 포도당과는 달리 소화하는 과정이 더 필요하므로 말토스나 dextrin을 투여한 후 초기에 혈당 상승은 소화 흡수와 관련이 있는 것으로 간주하였다. 경구 당부하 검사에서 2 g 말토스나 dextrin/kg B.W.을 경구투여한 후 0, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120 min에 꼬리로부터 혈액을 채취하여 혈청 포도당 농도를 측정하였다. 실험 동물 수는 각 군마다 8마리로 하였다. 대조군으로 500 mg의 셀룰로즈를 투여하였다. 경구 당부하 검사에서 혈당 변화는 area under the curve를 계산하여 혈당이 상승하는 정도를 나타내는 지표로 사용하였다.

통계처리

모든 결과는 세 번 반복에 대한 평균과 표준편차로 계산하여 나타내었다. 지방세포 3T3-L1에서 포도당 섭취가 증가하는 정도는 인슐린 1 ng/mL만을 넣고 측정한 값과 인슐린 1 ng/mL와 오매 분획물을 함께 넣고 측정한 값을 two sample t-test로 통계적 유의성을 검증하였다. 오매 추출물의 세포의 분화능 효과와 *in vitro*에서 α-glucoamylase 활성에 미치는 영향은 대조군과의 비를 백분율로 계산하여 one sample t-test 방법으로 통계적 유의성을 검증하였다. *In vivo*에서의 포도당 섭취 실험에서도 오매의 효과를 셀룰로즈를 공급한 정상 대조군과 비교하여 two sample t-test로 통계적 유의성을 검증하였다. 모든 통계 처리의 유의성 검증은 α=0.05로 정하였다.

결과 및 고찰

인슐린성 물질로서의 효과

본 연구에서 사용한 3T3-L1 섬유아세포는 생물학적 특성이 잘 밝혀져 있고, 인슐린과 같은 유도물질의 존재하에서는 지방세포로 분화되는 특성을 갖고 있어 분화를 촉진하는 물질인 인슐린과 유사한 물질(인슐린성 물질)의 존재 여부를 탐색하는 실험에 사용한다. 3T3-L1 섬유아세포는 인슐린, DEX와 IBMX로 조성된 분화유도물질을 첨가하였을 때 지방세포로 전환되는데(14,15), 이 기전은 아직 확실하게 알려지지는 않았다. 본 연구에서는 오매 분획물에 인슐린성 물질로 작용하는 물질이 함유되어 있는 지를 조사하기 위하여 3T3-L1 섬유아세포에 분화 유도물질 중 인슐린을 제외한 DEX와 IBMX와 함께 오매의 메탄올 분획물을 각각 100 μg/mL의 농도로 처리하였을 때 그리고 인슐린을 포함한 분화 유도물질과 함께 오매 분획물을 각각 100 μg/mL로 처리하였을 때 지방세포로의 분화정도를 축적된 중성지방 함량으로 결정하였다. 인슐린성 물질의 존재 여부는 분화를 인슐린을 제외한 유도분화 물질과 함께 오매 분획물을 첨가하였을 때 중성지방 생성량이 대조군인 DMSO를 처리한 것보다 많은 경우에 오매 추출물에 인슐린성 물질이 함유되어 있다고 간주하였다. 오매 분획물 중 인슐린성 물질로 작용하는 물질은 없었다(Table 1).

한편 인슐린을 포함한 분화유도물질과 함께 오매 분획물을 처리하였을 때 중성지방 생성량이 낮은 것은 중성지방의 분화를 방해하는 것으로 비만을 방지할 수 있는 것으로 간주하였다. 오매 분획물 중 Fr. 2와 Fr. 3는 인슐린, DEX 그리고 IBMX의 작용을 방해하여 3T3-L1 섬유아세포가 지방세포로 전환되는 것을 억제하였다. 반면에 Fr. 5는 분화 유도 물질의 활성을 향상시켜 지방세포로의 전환을 촉진시켰다. 이것은 분화 유도 물질 중 특히 인슐린 작용을 향상시키는 것과 관련이 있을 것으로 예측된다. 나머지 분획층을 처리한 경우는 DMSO만을 처리한 대조군에 비해 지방 세포로의 전환을 촉진하거나 억제하지 않았다. 즉, 오매에는 지방의 생성을 억제하는 물질이 모두 함유되어 있는 것을 알 수 있었다. 현재 어떤 기전에 의해서 지방 합성이 억제되는 지에 대한 연구를 진행하는 중이다(Table 1).

지방세포로의 분화는 지방 조직세포에 특징적으로 발현되는 유전자들의 조절부위에 작용하는 transcription factor들이 섬유아세포가 지방세포로 분화되는 과정에 발현되는 것과 관련이 있다고 한다. 이 과정에 관여하는 transcription factor는 peroxisome proliferation activated receptor gamma(PPARγ), CCAAT/enhancing binding protein(C/EBP), adipocyte differentiation, determinator factor 1(ADD1) 그리고 sterol regulatory element binding protein 1c(SREBP1c) 등이 있다. 유도 분화물질은 열거한 transcription factor들의 발현을 촉진시킴으로 섬유아세포를 지방세포로 전환

Table 1. Effects of *Prunus mume* extracts on the differentiation of 3T3-L1 fibroblast

	With differentiation inducers except insulin[1] (μg/mg protein)	With complete differentiation inducers (μg/mg protein)
Fr. 1	12.8±2.4	21.2±2
Fr. 2	11.9±2.9	9.8±2.4***
Fr. 3	11.5±2.7	10.2±1.7***
Fr. 4	12.9±2.5	20.8±3.2
Fr. 5	12.3±3.7	30.3±3.7**
Fr. 6	12.1±3.3	22.3±3.9
Control	12.3±2.4	23.7±3.8

[1]Inducer is a mixture consisting of 0.25 μM dexamethasone, 0.5 mM 1-methyl-3-isobutylxanthine and 10 μg/mL insulin.
[2]The data given are means±SD of triplicate measurements.
**Significantly different from the control group at $p<0.01$.
***Significantly different from the control group at $p<0.001$.

시키는 것으로 알려졌다. 반대로 이 효소들의 발현을 억제함으로 지방세포로의 전환을 억제하고 지방의 축적이 감소한다. 예를 들어, PPARγ는 세포의 성장을 막고 지방세포로 전환을 시작할 뿐 아니라 지방세포의 분화 조절에도 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 또한, C/EBP는 지방 조직에서 많이 발현되고 PPARγ를 도와서 전지방세포를 지방세포로 전환시키는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌다(14-17).

Ko 등(5)의 연구에서 분화유도물질이 첨가되지 않은 경우에는 엄나무 추출물을 1과 10 μg/mL의 농도로 처리하였을 때 대조군에 비해 각각 115.4±5.1%($p<0.05$)와 126.9±2.1%($p<0.001$)로 유의성 있게 분화를 촉진시켰다. 또한 분화유도물질과 함께 분화유도물질을 첨가하였을 때도 1 μg/mL에서는 122.3±5.3%($p<0.05$)로 분화를 촉진시켜 인슐린성 물질로 작용한다는 것을 알 수 있었다. 또한 Kameda 등(18)은 인슐린은 지방세포에서 지방분해를 저해하고 지방합성을 촉진하는 호르몬으로 인슐린처럼 지방합성을 촉진시키든지 지방분해를 억제하는 물질을 인슐린성 물질이라고 정의하였고, 로얄제리로부터 불포화지방산 trans-10-hydroxy-2-decanoic acid와 마황에서 non-pseudoephedrine이 인슐린성 물질임을 확인하였다.

지방세포 3T3-L1에서 인슐린의 농도에 따른 포도당 섭취 증가

최근에 제2형 당뇨병의 새로운 치료제로 등장한 것이 인슐린 작용을 향상시킴으로 소량의 인슐린으로 혈당을 정상화할 수 있도록 도와주는 인슐린 민감성 물질이다. 인슐린 민감성 물질은 제2형 당뇨병의 근본적인 문제인 인슐린 저항성을 완화시켜 소량의 인슐린으로 혈당을 정상화시키고 궁극적으로 혈당에 필요한 인슐린 양을 저하시켜 고인슐린혈증을 없애줄 수 있는 것으로 알려지고 있다(19,20). 즉, 인슐린 민감성 물질은 당뇨병뿐 아니라 인슐린 저항성 증후군의 증세를 완화시킬 수 있을 것으로 사료된다. 결국 인슐린 저항성을 완화시킨다는 것은 인슐린이 인슐린 수용체와 결합한 후 세포내에서 일어나는 신호전달 체계가 원활하게 일어날 수 있도록 도와주어 세포에서 포도당의 이용을 향상시키는 것이다.

본 연구의 Fig. 1에서 보여준 것처럼 3T3-L1 지방세포에 처리한 인슐린 농도가 50 ng/mL까지는 인슐린 농도가 높아짐에 따라 포도당 섭취가 증가하였으나 그 후에는 인슐린 농도가 높아져도 포도당 섭취가 증가하지 않았다. 즉, 50 ng/mL 인슐린 농도가 인슐린 수용체를 통한 인슐린 작용을 나타내는 최대 농도로 이 농도 이하에서는 인슐린 농도에 비례하여 인슐린 작용이 증가하지만 그 이상 증가하지 않는다는 것을 알 수 있었다. 그러므로 인슐린 민감성 물질을 탐색할 때 저농도의 인슐린과 탐색하고자 하는 물질을 처리하였을 때 포도당의 흡수가 현저하게 증가하는 경우는 처리한 물질을 인슐린 민감성 물질로 간주할 수 있다.

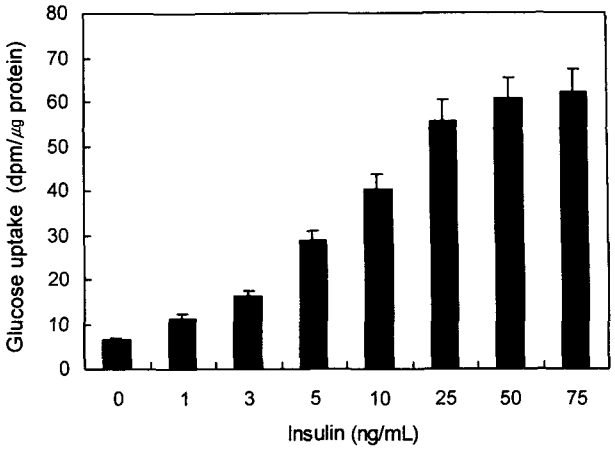

Fig. 1. Insulin-dependent glucose uptake by 3T3-L1 adipocytes.
The data given are means±SD of triplicate measurements.

본 연구에서 인슐린 민감성 물질을 탐색하는데 3T3-L1 지방세포를 사용한 이유는 3T3-L1 지방세포는 *in vivo*에 존재하는 대사성 피이드백 루프에 관련된 복잡한 문제와 연루되어 있지 않으면서 인슐린 수용체와 GLUT4를 세포막에 가지고 있어 인슐린에 민감하게 반응하기 때문이다. 인슐린을 처리하면 3T3-L1 지방세포의 세포막에 인슐린이 결합하고 이것은 일련의 인슐린 신호전달체계인 insulin receptor substrate-1(IRS1)-phosphatidyl inositol-3-phosphate(PI_3 kinase)-Akt의 과정을 증폭시킨다. 이 결과로 GLUT4가 세포막으로 translocation되는 것이 증가하게 되어 포도당의 흡수를 증가시키는 것으로 사료된다. 그러므로 3T3-L1 지방세포는 인슐린의 작용력을 향상시키는 물질을 탐색하거나 인슐린 신호전달체계를 연구하는 모델로 적합하다고 사료된다(12,14).

오매 추출 분획물이 포도당 섭취에 미치는 영향

본 연구에서는 3T3-L1 지방세포에 소량의 인슐린인 1 ng/mL과 오매의 분획물을 처리하였을 때 50 ng/mL 인슐린을 처리하였을 때와 마찬가지로 포도당의 흡수를 증가시키는 지를 조사하였다. 저농도의(0.5 μg/mL) 오매 분획물을 처리하였을 때 Fr. 5만이 포도당 흡수를 효과적으로 증가시켜 인슐린을 10 ng/mL 정도 처리한 것과 유사한 효과를 나타내었다(Fig. 2A). 오매 분획물을 5 μg/mL로 증가시켰을 때는 Fr. 1, 4, 5, 6 분획층이 모두 포도당의 흡수를 증가시켰고, 특히 Fr. 5를 처리하였을 때 인슐린을 50 ng/mL를 처리한 것 이상으로 포도당 흡수를 증가시켰다(Fig. 2B). 즉, 오매 분획층 Fr. 4, 5, 6은 인슐린의 필요량을 30~50배 감소시킨다는 것을 알 수 있었다. 그 중에서도 Fr. 5가 포도당 흡수를 가장 많이 증가시켰다. 그러므로 메탄올 60%, 80% 그리고 100%에서 용출된 분획층에 인슐린 민감성 물질이 함유되어 있다는 것을 알 수 있었고, 인슐린 민감성 물질의 후보자들은 비극성에 가까운 양쪽성 물질일 가능성이 높다고 예측하

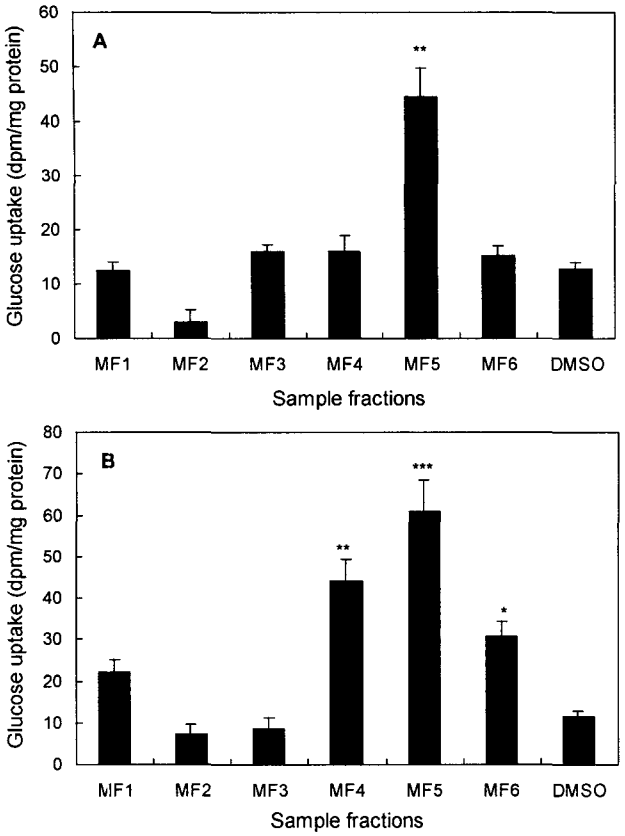

Fig. 2. Effects of *Prunus mume* (PM) extracts on glucose uptake by 3T3-L1 adipocytes.
The extract was treated with *Prunus mume* (PM) extracts at a level of 0.5 (A) and 5 (B) μg/mL in the presence of 1 ng/mL insulin. The data given are means±SD of triplicate measurements.
Fr. 1~Fr. 6: 1 ng of insulin+each of PM Fr. 1~Fr. 6
DMSO: treatment of 1 ng of insulin+DMSO (solvent of PM).
*Significantly different from DMSO treatment group at $p<0.05$.
**Significantly different from DMSO treatment group at $p<0.01$.
***Significantly different from DMSO treatment group at $p<0.001$.

고 있다.

인슐린을 첨가하지 않고 분획층만을 넣은 상태에서 포도당을 흡수하는 정도를 측정하였는데 그 값이 기저값과 유사하거나 오히려 낮아 분획물이 세포막을 투과적으로 만드는 detergent로 작용하여 비특이적으로 포도당의 흡수를 증가시키는 것은 아니라는 것을 확인하였다. 다른 연구에서도 천연물 추출물을 처리하였을 때 인슐린 작용을 증가시켜 포도당 흡수를 증가시키는 것들이 있다고 보고하였다. Krenisky 등(21)은 페루 전통의약식물 *Otholobium pubescens*에서 bakuchiol을 분리하여 인슐린 민감성에 관여하고 있는 물질이라고 보고하였고, Hong 등(22)은 인삼, 천문동, 황금, 지골피, 황백, 맥문동으로 구성된 혼합처방이 3T3-L1 지방세포에서 포도당 흡수를 증가시켰다고 보고하고 있다.

*In vitro*와 *in vivo*에서 오매 추출 분획물이 α-glucoamylase 활성에 미치는 영향

Fig. 3에는 오매 추출 분획물이 α-glucoamylase 활성에 작용하여 기질인 말토스를 포도당으로 분해하는데 미치는

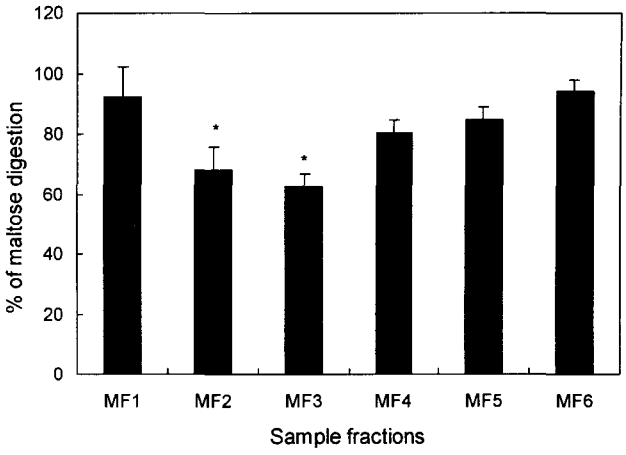

Fig. 3. Effects of *Prunus mume* (PM) extracts on the digestion of maltose by α-glucoamylase.
The values are calculated by the percentage based on the control (DMSO treatment) value.
The data given are means±SD of triplicate measurements.
Fr. 1~Fr. 6: treatment of each of PM Fr. 1~Fr. 6.
*Significantly different from DMSO treatment group at $p<0.05$.

효과에 대한 결과를 나타내었다. 오매 분획물은 Fr. 2와 Fr. 3만이 대조군에 비해 α-glucoamylase의 활성을 30% 정도 저하시켰다. 이 결과는 말토스 대신 dextrin을 기질로 사용하였을 때도 유사한 결과를 나타내었다(data not shown). 그러므로 오매 분획물은 moderate하게 α-glucoamylase의 활성을 저하시켰다.

오매를 70% 에탄올로 추출하여 동결건조시킨 추출물이 *in vivo*에서 α-glucoamylase 활성을 억제하여 식후 혈당을 저하시키는 지를 조사하기 위해서 398±62 g의 숫컷 백서에게 500 mg/kg B.W.의 오매 추출물 또는 셀룰로즈를 공급하고 10분 후에 2 g/kg B.W.의 말토스 또는 dextrin을 공급하여 당부하검사를 하였을 때 혈당 변화를 나타내었다. 말토스를 기질로 공급하였을 때 경구 당 부하검사 결과는 최고 혈당값 그리고 혈당 변화 그래프로부터 계산한 area under the curve는 오매 추출물을 투여한 군과 셀룰로즈를 투여한 대조군 사이에 차이가 거의 없었다(Fig. 4A, Fig. 5). 한편 dextrin을 기질로 사용하여 경구 당부하 검사시에도 셀룰로즈와 오매 추출물의 섭취에 따른 혈당 변화와 area under the curve에 차이가 없었다(Fig. 4B, Fig. 5). 그러나 dextrin을 투여하여 경구 당부하 검사를 한 경우에 혈당이 급격하게 증가하지 않고 15분에서 60분까지 거의 일정한 농도를 유지하는 것으로 보아 α-glucoamylase의 활성을 억제하여 dextrin이 천천히 분해되어 혈당이 급격하게 상승하는 것을 방지한 것으로 추정된다.

Coniff와 Krol에(23) 의해서 보고에 따르면 acarbose는 가역적으로 α-glucoamylase 활성을 억제시키는 약물로 주로 소장 세포의 점막에 존재하는 maltase의 활성을 억제시키는 것으로 알려졌다. 그러나 실제로 *in vivo*에서 acarbose는 말토스 분해를 억제시키는 효과는 약하고 오히려 설탕 분해를

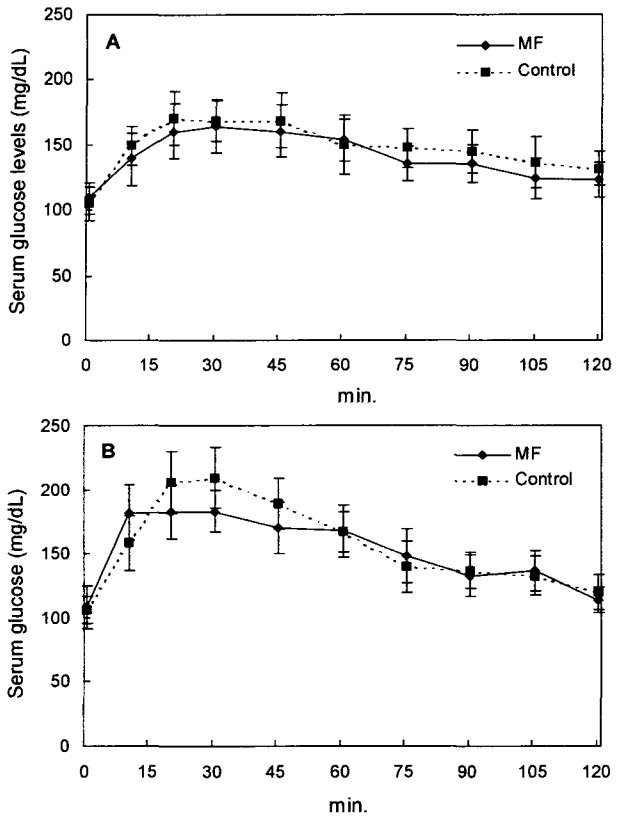

Fig. 4. Changes of serum glucose levels in oral glucose tolerance test with 2 g maltose or dextrin/kg body weight (n=8). 2 g maltose (A) or dextrin (B)/kg body weight was provided after 10 min orally administered 500 mg *Prunus mume* (PM) extract. Serum glucose levels were measured at 0, 10, 20, 30, 45, 90, 105 and 120 min.

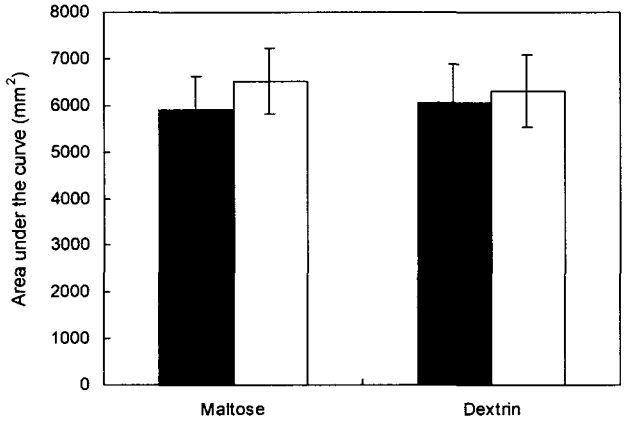

Fig. 5. Area under the curve in oral glucose tolerance tests with maltose or dextrin in addition of *Prunus mume* (PM) or cellulose.

강력하게 억제하는 것으로 알려졌다(24,25). 또 다른 연구에서 사람에게 고용량인 300 mg의 acarbose를 경구 투여하였을 때 말토스의 흡수에 큰 영향을 주지 않았지만 식사 후 혈당은 일시적으로 감소시켰다. 그러나 혈당이 감소한 시간이 짧아 하루 동안의 혈당에는 큰 차이가 없었다(26,27). 또한 비만 당뇨 백서에 3.5와 7.5개월 동안 acarbose를 공급하였을 때 혈당 농도의 변화는 미미하였지만 공복과 경구 당부하 검사 동안의 인슐린 농도가 현저하게 감소하였고 혈청 지질 농도가 감소하였다고 보고하였다. 그러므로 acarbose는 식사 혈당 감소가 현저하지 않지만 장기간 동안 공급하면 조금씩 혈당이 감소하고 인슐린 작용력도 향상되어 당뇨병에 효과적인 것으로 여겨진다(13). 본 연구에서 조사한 오매 추출물이 α-glucoamylase의 활성에 미치는 영향이 여러 연구에서 보여준 acarbose의 혈당 강하 효과와 유사하였다. 오매 추출물은 말토스나 dextrin 투여 후 혈당 상승을 억제하지는 않았지만 인슐린 민감성 물질도 함유되어 있으므로 장기적인 투여시 혈당 강하에 효과가 좋을 것으로 추정된다. 또한 오매 추출물에는 지방 분화를 억제하는 성분도 함유되어 있어 비만 당뇨병 환자에게 효과적일 것으로 추정된다.

요 약

한의학에서 당뇨병(소갈) 처방으로 사용되는 생진양혈탕(生津養血湯)과 황금탕(黃芩湯) 처방 성분 중의 하나인 오매의 포도당 이용에 대한 효과를 조사하기 위해서 오매를 70% 에탄올로 추출한 후 메탄올과 물을 섞은 용액으로 단계별로 XAD-4 column으로 분획하였다. 본 연구에서는 3T3-L1 섬유아세포와 지방세포에서 오매의 추출 분획물이 인슐린처럼 작용하는 인슐린성 물질이거나, 인슐린 작용을 향상시키는 인슐린 민감성 물질이거나, 또는 α-glucoamylase 활성을 억제하는 물질로 작용하는 지 여부를 조사하였다. 오매 분획물은 인슐린성 물질로 작용하지 않았다. 반면에 20%나 40% 메탄올 분획층은 분화 유도 물질의 작용을 억제하여 3T3-L1 섬유아세포에서 지방세포로의 분화를 억제하였다. 한편 오매 분획층 중 60%, 80% 그리고 100% 메탄올 분획층은 3T3-L1 지방세포에서 인슐린 작용을 향상시키는 인슐린 민감성 제로 작용하였다. *In vitro* 실험에서 20 그리고 40% 메탄올 분획층은 α-glucoamylase의 활성을 저하시켜 말토스와 dextrin의 분해를 방해하였다. 그러나 *in vivo*에서는 오매 에탄올 추출물을 말토스나 dextrin을 투여하기 10분전에 투여하였을 때 최고 혈당 값과 area under the curve 값은 대조군과 차이가 없었다. 결론적으로 오매에는 지방 세포의 분화를 억제하는 물질과 인슐린 민감성을 향상시키는 물질이 함유하고 있으므로 비만을 동반한 당뇨병 및 인슐린 저항성의 치료와 예방에 중요한 역할을 할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 한방치료기술연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것입니다(02-PJ9-PG1-CO02-0002).

문 헌

1. Hur J. 1990. *DongEuBoGam*. NamSanDang, Seoul. p 140-

142.
2. Takahashi N, Kawada T, Goto T, Yamamoto T, Taimatsu A, Matsui N, Kimura K, Saito M, Hosokawa M, Miyashita K, Fushiki T. 2002. Dual action of isoprenols from herbal medicines on both PPAR-gamma and PPAR-alpha in 3T3-L1 adipocytes and HepG2 hepatocytes. *FEBS Lett* 514: 315-322.
3. Kamei R, Kadokura M, Kitagawa Y, Hazeki O, Oikawa S. 2003. 2'-Benzyloxychalcone derivatives stimulate glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes. *Life Sci* 73: 2091-2099.
4. Ju YS, Park S, Ko BS. 2002. Effect of insulin-like action and insulin signal transduction on 3T3-L1 adipocytes from coisis semen. *Kr J Chinese Med* 23: 103-114.
5. Ko BS, Kim HK, Park S. 2002. Insulin sensitizing and insulin-like effects of water extracts from *Kalopanax pictus* NAKA fractions in 3T3-L1 adipocytes. *Kr J Agri Chem Biotech* 45: 42-46.
6. Choi SB, Park S. 2002. The effects of water extract of *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce on insulin resistance in 90% pancreatectomized rats. *J Food Sci* 67: 2375-2379.
7. Choi BS, Park SA. 2002. Steroidal glycoside from *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce improves insulin resistance but does not alter insulin secretion in 90% pancreatectomized rats. *Biosci Biotech Biochem* 66: 2036-2043.
8. Zhanguo C, Jiuru L. 2002. Simultaneous and direct determination of oxalic acid, tartaric acid, malic acid, vitamin C, citric acid, and succinic acid in *Fructus mume* by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr Sci* 40: 35-39.
9. Chun OK, Kim DO, Moon HY, Kang HG, Lee CY. 2003. Contribution of individual polyphenolics to total antioxidant capacity of plums. *J Agric Food Chem* 51: 7240-7245.
10. Shen F, Cheng T, Qiao C, Su Z, Li C. 1995. Antitumor effect in vitro and immuno-response in vivo of *Fructus mume*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 20: 365-368.
11. Gray AM, Flatt PR. 1999. Insulin-releasing and insulin-like activity of the traditional antidiabetic plant *Coriandurm sativum* (coriander). *Br J Nutr* 81: 203-209.
12. Lakshmanan J, Elmendorf JS, Ozcan S. 2003. Analysis of insulin-stimulated glucose uptake in differentiated 3T3-L1 adipocytes. *Methods Mol Med* 83: 97-103.
13. Carrascosa JM, Molero JC, Fermin Y, Martinez C, Andres A, Satrustegui J. 2001. Effects of chronic treatment with acarbose on glucose and lipid metabolism in obese diabetic Wistar rats. *Diabetes Obes Metab* 3: 240-248.
14. Huo H, Guo X, Hong S, Jiang M, Liu X, Liao K. 2003. Lipid rafts/caveolae are essential for insulin-like growth factor-1 receptor signaling during 3T3-L1 preadipocyte differentiation induction. *J Biol Chem* 278: 11561-11569.
15. Gerhold DL, Liu F, Jiang G, Li Z, Xu J, Lu M, Sachs JR, Bagchi A, Fridman A, Holder DJ, Doebber TW, Berger J, Elbrecht A, Moller DE, Zhang BB. 2002. Gene expression profile of adipocyte differentiation and its regulation by peroxisome proliferation-activated receptor-gamma agonists. *Endocrinology* 143: 2106-2118.
16. Miki H, Yamauchi T, Suzuki R, Komeda K, Tsuchida A, Kubota N, Terauchi Y, Kamon J, Kaburagi Y, Matsui J, Akanuma Y, Nagai R, Kimura S, Tobe K, Kadowaki T. 2001. Essential role of insulin receptor substrate 1 (IRS-1) and IRS-2 in adipocyte differentiation. *Mol Cell Biol* 21: 2521-2532.
17. Yamamoto H, Kurebayashi S, Hirose T, Kouhara H, Kasayama S. 2002. Reduced IRS-2 and GLUT4 expression in PPAR-gamma 2-induced adipocytes derived from C/EBP-beta and C/EBP-delta-deficient mouse embryonic fibroblasts. *J Cell Sci* 115: 3601-3607.
18. Kameda K, Chikaki M, Morimoto C, Jiang M, Okuda H. 1996. Insulin like action of trans-10-hydroxy-2-decanoic acid and its related substance. *J Traditional Med* 13: 456-457.
19. Ciaraldi TP, Kong AP, Chu NV, Kim DD, Baxi S, Loviscach M, Plodkowski R, Reitz R, Caulfield M, Mudaliar S, Henry RR. 2002. Regulation of glucose transport and insulin signaling by troglitazone or metformin in adipose tissue of type 2 diabetic subjects. *Diabetes* 51: 30-36.
20. DeFronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E. 1992. Pathogenesis of NIDDM: A balanced overview. *Diabetes Care* 15: 318-353.
21. Krenisky JM, Luo J, Carney JR. 1999. Isolation and antihyperglycemic activity of bakuchiol from *Otholobium pubsecens* (Fabaceae), a peruvian medicinal plant used for the treatment of diabetes. *Biol Pharm Bull* 22: 1137-1140.
22. Hong SJ, Fong JC, Hwang JH. 2000. Effect of crude drugs on glucose uptake in 3T3-L1 adipocyte. *Gaxiong Yi Xue Ke Xue Za Zhi* 16: 445-451.
23. Coniff R, Krol A. 1997. Acarbose: a review of US clinical experience. *Clin Ther* 19: 16-26.
24. Scheen AJ. 1998. Clinical efficacy of acarbose in diabetes mellitus: a critical review of controlled trials. *Diabetes Metab* 24: 311-320.
25. Clissold SP, Edwards C. 1988. Acarbose. A preliminary review of its pharmacodynamicand pharmacokinetic properties, and therapeutic potential. *Drugs* 35: 214-243.
26. Hayakawa T, Kondo T, Okumura N, Nagai K, Shibata T, Kitagawa M. 1989. Enteroglucagon release in disaccharide malabsorption induced by intestinal alpha-glucosidase inhibition. *Am J Gastroenterol* 84: 523-526.
27. Herrmann BL, Schatz H, Pfeiffer A. 1998. Continuous blood glucose monitoring: the acute effect of acarbose on blood glucose variations. *Med Klin* 93: 651-655.

(2004년 3월 17일 접수; 2004년 6월 28일 채택)