

Effect of Bambusae caulis in Liquamen on Streptozocin-Induced Diabetic C57BL/6 Mice

Young-Kun Deung¹, Seung-Kyu Park², Dan Jin³, Eun-Ju Yang⁴, Soo-Jung Lim⁴,
Ki-Rok Kwon⁵, Dong-Heui Kim¹ and Kyu-Jae Lee^{2†}

¹Department of Basic Science and Institute of Basic Medical Science, ²Department of Parasitology,

³Department of Microbiology, Wonju College of Medicine, Yonsei University, Wonju 220-701 Korea.

⁴Department of Biomedical Laboratory Science and Institute of Health Science, College of Health Science,

Yonsei University, Wonju 220-710, Korea. ⁵Department of Acupuncture, College of Oriental Medicine, Sangji University, Wonju, 220-702, Korea

Bambusae caulis in Liquamen is one of the important herbal medicine produced by heating bamboo indirectly and is used for treatment of stroke, hypertension, and diabetes etc. Recently the mechanism of clinical effects on Bambusae caulis in Liquamen has been studied. This experiment was conducted to confirm the clinical effects of Bambusae caulis in Liquamen on type 1 diabetes and its related mechanism. We divided C57BL/6 mice into 3 groups and induced them to be type 1 diabetes by injection of streptozocin into peritoneum. The dosage of each group was 150 mg/kg once only, 140 mg/kg once only and 40 mg/kg for 5 days respectively. The two groups injected streptozocin for once took orally Bambusae caulis in Liquamen after the induction of diabetes, and the other one group was given Bambusae caulis in Liquamen during the diabetes inducing period. As the result, the two diabetes-induced groups showed blood glucose decreasing effect by Bambusae caulis in Liquamen on an average, but they didn't show the significant differences statistically. But Bambusae caulis in Liquamen showed the anti-diabetic effect suppressing blood sugar rising trend during the diabetes inducing period ($P < 0.05$). The anti-oxidative effect of Bambusae caulis in Liquamen was measured with the hypoxanthine/xanthine oxidase (HX/XOD) system. The quantity of ROS was measured using DCFDA reagent indirectly. As the result, 10% solution of Bambusae caulis in Liquamen showed anti-oxidative effect by scavenging 93.4% superoxide as compared with control group. It is suspected that the anti-oxidative effect of Bambusae caulis in Liquamen suppressed the increase of blood glucose in the diabetes-inducing group. These results could be useful data to understand the effect of Bambusae caulis in Liquamen on type 1 diabetes and type 1 diabetes developing because ROS were closely connected with the induction and complications of diabetes.

Key Words: Bambusae caulis in Liquamen, Diabetes, Anti-oxidant, Mice

서 론

한의학에 의하면 대나무는 증풍, 고혈압, 뇌출혈 및 당뇨 등의 약재로 사용된다. 대나무로부터 약효 물질을 추출하는 방법은 동의보감뿐만 아니라 수의중초약대전, 중약심법, 방약합편 등에도 기록되어 있다. 대나무의 부위나 제조법에 따라 죽력(竹瀝, 대나무기름), 죽실(竹實, 대나무 열매), 죽근

(竹根, 대나무 뿌리), 죽여(竹茹, 대나무속껍질), 죽황(竹黃, 참대속진), 죽엽(竹葉, 대나무 잎) 등으로 구분되며 그중에서 죽력은 대나무를 가열하여 얻은 즙액으로 고혈압, 당뇨 및 아토피성피부염 등에 특효가 있는 것으로 알려져 있어 많은 관심이 집중되고 있는 약재이다. 죽력(Bambusae caulis in Liquamen)의 생산은 전통적으로 대나무를 쪄개어 항아리에 넣고 황토와 왕겨를 이용해 간접적으로 열처리하여 제조한다. 민간에서도 지역마다 나름대로의 대나무 추출물을 제조하여 약재 등으로 사용해 오고 있으며, 대나무 추출물에는 다양한 미네랄이 함유되어 있고 잘 정제된 추출물은 생물 독성이 없다고 보고되고 있다. 또한 한의학의 관점에서 뇌졸중과 당뇨에 탁월한 효과가 인정되고 있어 당뇨병의 관리에 있어서도 치료제의 가능성을 보여주고 있다. 동의보감과 같은

*논문 접수: 2005년 6월 13일

수정재접수: 2005년 9월 6일

†교신저자: 이규재, (우) 220-701 강원도 원주시 일산동 162,

연세대학교 원주과대학 기생충학교실

Tel: 033-741-0331, Fax: 033-731-6953

e-mail: kjlee@wonju.yonsei.ac.kr



Fig. 1. Bambusae caulis in Liqumamen used in this study

문헌에 기록된 죽력의 효능, 즉 죽력이 증풍과 고혈압 및 당뇨병(소갈)에 특효약이라는 기록은 간접적으로 확인된 바 있다. 졸중풍으로 입이 다물어져 말을 못하고 번민할 때 죽력 1되를 사용하며 (Jung, 1997) 주로 폭중풍과 기슴속의 큰 열과 번민 및 졸중풍의 실음분어, 담열혼미와 소갈을 낮게 하고 파상풍과 산후발열 및 어린이의 경간과 일체의 위급한 질병을 치료하는 (Jung, 1997) 등 과거부터 효능에 있어서는 인정되어 왔으나 고혈압이나 당뇨병과 같은 만성질환 치료용 약물 개발을 위해서는 아직 전문적인 연구가 부족한 실정이다.

이상과 같이 죽력의 문헌상 효능과 최근의 과학적으로 규명된 약리학적 효과가 주목을 받고 있음에도 불구하고 아직 죽력에 대한 연구는 기초적인 수준에 머물고 있다. 따라서 본 연구는 죽력의 항산화 효과와 함께 streptozocin으로 유도된 당뇨쥐에 대하여 그 효과를 관찰하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 죽력

연구에 사용된 죽력은 대나무를 향아리에 넣고 황토와 왕겨를 이용하여 간접적으로 가열하는 방식으로 제조된 (Nanumddl.co.kr) 것을 구입하여 사용하였다 (Fig. 1).

2. 죽력의 항산화 효과 실험

죽력의 활성산소 제거 효과는 hypoxanthine/xanthine oxidase

(HX/XOD) system을 이용하여 측정하였다. 반응과정에서 제거되지 않은 superoxide는 반응액에 포함되어 있는 DCFDA와 반응하여 형광을 나타내게 된다. 50 mM phosphate buffer (pH 7.4)에 2 mM hypoxanthine, 12.5 μ M DCFDA와 지정된 양의 죽력이 포함되고 증류수로 부피가 맞추어진 180 μ l 용액에 20 μ l의 0.5 U/ml xanthine oxidase를 가하고 상온에서 30분 동안 반응시켰다. 측정시 사용된 excitation wave length는 490 nm이고 emission wave length는 526 nm이었다. Plate background는 xanthine oxidase가 포함되지 않은 반응액을 사용하여 측정하였으며 모든 측정값에서 plate background 값을 빼 주었다. 모든 실험 조건은 세 배수로 수행하였으며 결과값은 평균 \pm 표준오차로 나타내었다. 양성대조군으로는 10 mM ascorbic acid를 사용하였다.

3. Streptozocin을 이용한 당뇨병 유도

1) 실험동물

7주령의 C57BL/6 생쥐를 구입하여 동물실에서 동물관리 기준에 준하여 사육하였다. 당뇨를 유발시킨 개체를 실험군으로, 정상인 생쥐는 대조군으로 각각 두 군으로 나누고, 대조군은 상수와 사료를, 실험군은 10%로 조정된 죽력과 사료를 자유롭게 먹게 하였다. 3회에 걸친 실험을 통하여 고혈당과 저혈당 당뇨병에서의 혈당강하 효과와 당뇨병이 유발되는 과정에서의 죽력의 효과를 관찰하였다. 세 군 모두 낮 시간은 12시간 동안 유지시키고 사육실의 실내 온도는 21 $^{\circ}$ C로 유지하였다.

2) 당뇨 유도

췌장의 β -세포를 파괴하여 인슐린 의존성 당뇨 (1형 당뇨)를 유발하는 것으로 알려진 streptozocin을 이용하여 당뇨를 유발시켰다 (Chen, 2001). 구입 후 1주일간의 적응기간을 거친 C57BL/6 생쥐를 세 군으로 나누어 citrate buffer (pH 4.3)에 용해한 streptozocin을 복강으로 주사하였다. Streptozocin을 150 mg/kg 단회 투여하여 고혈당을 유발시킨 군은 주사 후 일주일 경과한 후 하룻밤을 금식시키고 생쥐의 꼬리정맥에서 채혈하여 혈당을 확인하였고, 주사 후의 혈당치가 250 mg/dl 이상인 생쥐를 무작위로 선별하여 1개월 후와 2개월 후에 혈당을 측정하였다. Streptozocin 140 mg/kg을 단회 투여하여 경계형 당뇨병을 유발시킨 군은 주사 후 죽력을 급이하면서 11일과 25일이 경과한 후에 각각 혈당치를 측정하였다. 40 mg/kg을 5일간 투여한 군은 당뇨병이 유발되는 기간을 포함하여 2개월 동안 죽력을 급이하면서 효과를 관찰하였다.

4. 통계처리

모든 데이터는 평균 \pm SE로 나타내었다. 대조군과 실험군 사이의 차이는 Prism version 2.0을 사용하여 Student's t-test

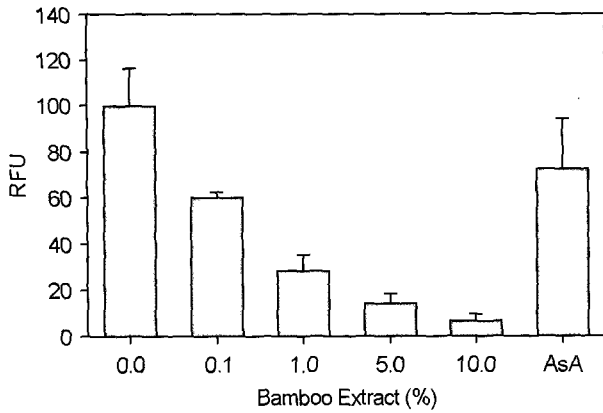


Fig. 2. Anti-oxidative effect of Bambusae caulis in Liqamen AsA: 10 mM ascorbic acid

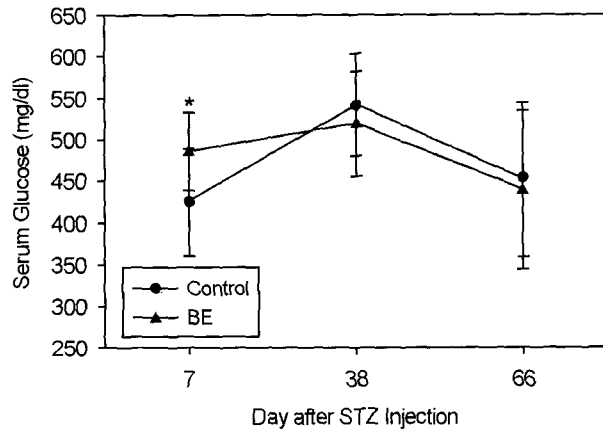


Fig. 3. The effect of Bambusae caulis in Liqamen on the 150 mg/kg streptozocin-induced diabetic mice. BE: Bamboo extract; STZ: Streptozocin

로 분석하였다.

결 과

1. 항산화 효과

죽력에 대한 항산화 효과 확인 실험에서 0.1%의 죽력 용액은 60.25 RFU, 1%의 죽력 용액은 28.26 RFU, 5%의 죽력 용액은 13.98 RFU, 10%의 죽력 용액은 6.56 RFU를 나타내었다. 양성대조군으로 사용된 10 mM ascorbic acid는 72.51 RFU를 나타내었다 (Fig. 2).

2. 고혈당을 유발시킨 쥐에서의 장기간 죽력 급이 효과

Streptozocin을 150 mg/kg 투여한 고혈당 당뇨쥐 실험에서 확인된 죽력의 혈당강하 효과를 살펴보면, 당뇨병 유발 당시의 실험군의 평균 혈당은 485.6 mg/dl, 대조군의 평균 혈당 수치는 423.9 mg/dl로 실험군의 혈당이 높게 나타났으나 죽

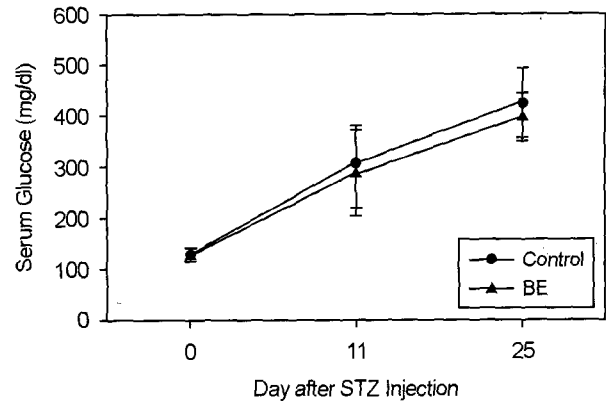


Fig. 4. The effect of Bambusae caulis in Liqamen on the 140 mg/kg streptozocin-induced diabetic mice. BE: Bamboo extract; STZ: streptozocin

력 급이 후 1개월에는 실험군은 519.1 mg/dl, 대조군은 541.8 mg/dl로 실험군의 혈당이 낮게 측정되었다. 죽력 급이 후 2개월 경과 시에는 실험군 439.6 mg/dl, 대조군은 451.7 mg/dl로 측정되었다. 당뇨병 유발 후 1개월 후에는 당뇨병 유발 초기보다 높은 혈당치를 나타내었으나 2개월 후 혈당치는 1개월 때보다 낮은 값을 보여주었다 (Fig. 3).

3. 당뇨병 쥐에서의 단기간 죽력 급이 효과

140 mg/kg을 단회 투여하여 당뇨병을 유발시킨 군의 죽력 효과 관찰 실험에서 streptozocin 주사 전 측정값은 실험군 126 mg/dl, 대조군 128 mg/dl로 측정되었다. 주사 후 죽력을 급이하여 10일이 경과하였을 때의 혈당치는 실험군이 287 mg/dl, 대조군이 299 mg/dl로 측정되었으며 25일 경과된 후에는 실험군 400 mg/dl, 대조군 420 mg/dl로 측정되어 실험군에서의 값이 낮게 측정되었다 (Fig. 4).

4. 당뇨병 유발과정에서의 죽력의 효과

5일 동안 40 mg/dl의 streptozocin을 매일 투여하며 죽력을 급이한 실험군의 당뇨병 유발 전 혈당은 126.1 mg/dl, 대조군은 129.3 mg/dl로 확인되었다. 5일간의 당뇨유발 후 측정된 혈당은 실험군 136.4 mg/dl, 대조군 163.2 mg/dl로 나타나 실험군의 혈당이 낮게 확인되었다 ($P < 0.05$). 이후 1개월이 경과한 후에는 실험군 153.9 mg/dl, 대조군 168.4 mg/dl, 2개월 경과 후에는 실험군 157.2 mg/dl, 대조군 170.4 mg/dl로 계속적으로 실험군의 혈당이 낮게 관찰되었다 (Fig. 5).

고 찰

현대의학의 발전과 함께 사회적으로 고혈압 당뇨병 등 만성 성인병이 증가하고 있으며 이에 대한 적절한 관리와 치료를 위하여 다양한 치료제의 개발이 시도되고 있다. 최근에는

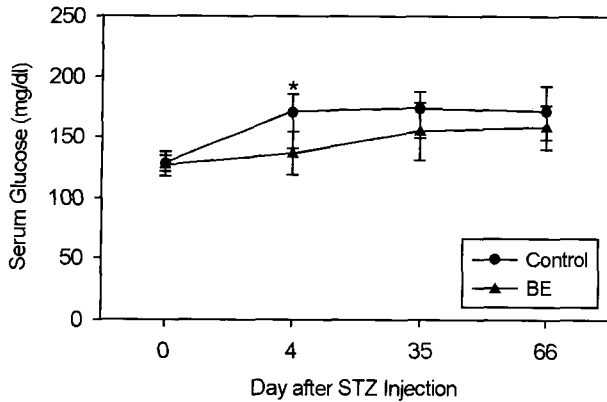


Fig. 5. The effect of *Bambusae caulis* in Liguamen on the 40 mg/kg streptozocin-induced diabetic mice for 5 days. BE: Bamboo extract; STZ: streptozocin

효과적인 치료제를 개발하기 위하여 천연물과 한약재 또는 생약에 대한 효과의 검증과 실용화를 위한 다양한 시도가 이루어지고 있다. 신약 개발의 한 방편으로 이루어지는 한약재의 제재화 및 기능확인 과정에서 여러 가지 약재들이 그 가치를 인정받고 있다. 이 중 죽력은 과거부터 다양한 성인병에 사용되어온 한약재로서 그 효과에 대하여 의학적인 인식이 마련되어 가고 있다. 죽력은 생물 독성이 매우 낮으면서 고혈압 (Hong et al., 1982) 등에 대하여 약리학적 효과가 있는 것으로 주목을 받고 있다.

죽력은 추출 물질에 대한 과학적 검증이 이루어지고 있으나 대나무를 가열하는 과정에서 각종 성분이 발생하며 그 중 tar, methanol, carbonyl 성분, 폐놀성분 등 유해성분들이 포함되어 있고 (Oh et al., 2002) 각 성분이 정량화되어 있지 않은 상태이므로 정상적인 유통 경로를 통해 의약품으로 판매되지 못하고 있다. 과거의 연구에서 죽력의 물리화학적 성상에 대한 보고들이 있었으며 효과의 기전이나 임상적용에 대한 연구는 부족한 실정이다. 그러함에도 여러 질환에 대한 효능을 인정받아 순환계질환, 고혈압, 당뇨 등에 죽력이 사용되고 있다. 그 중 성인병의 대표적 질환인 당뇨병에 대하여 과거부터 이용되어 왔으며 최근에는 연구를 통하여 그 효과가 알려지게 되었다 (Jung et al., 2001).

당뇨병은 지속적인 체내 고혈당으로 인해 발생하는 다양한 합병증 및 대사장애를 동반하는 질환으로, 주요 병인은 인슐린분비결핍이나 인슐린저항성이다. 당뇨병의 유발인자 중 췌장의 베타세포에서 분비되는 인슐린의 부족으로 인한 1형 당뇨병의 경우 그 과정에서 활성산소에 의한 췌장세포의 파괴가 일어나며 주요한 원인요소로 활성산소가 확인되었다 (Gille et al., 2002; Friesen et al., 2004). 이러한 경우 항산화작용을 하는 천연물이나 한약재가 작용하여 당뇨의 유발을 억제할 수 있을 것으로 추측할 수 있고 실제 본 연구에서 확인된 결과는 죽력의 항산화 효과와 관련하여 streptozocin으로

유발되는 당뇨병의 유발을 늦추거나 억제하는 작용을 나타내었을 것으로 판단된다. 과거의 보고에서도 대나무 잎의 추출물에서 항산화 효과를 나타내는 물질이 존재한다는 보고가 있었고 (Chun et al., 2000; Kweon et al., 2001) 이번 연구에서 사용한 죽력 또한 강한 항산화 효과를 나타냄을 확인하였다. 죽력의 항산화 효과는 제1형 당뇨병 유발에도 영향을 미칠 뿐 아니라 지질대사와 관계된 장기적인 당뇨병의 합병증 발생에도 관여할 것으로 판단되어진다. 비정상적인 지질대사는 당뇨병의 발생예측인자로, 당뇨병의 이병률 (morbidity)과 사망에 중요한 원인이 되고 있는 미세혈관 및 대혈관 합병증의 원인으로 알려져 있으며 (Kim, 1996; Reaven, 1987), 고지혈증은 죽상동맥경화증의 주요위험인자로 작용하여 결과적으로 당뇨병의 심혈관계합병증의 발생에 영향을 미친다 (Pyorala et al., 1987; Ganda, 1980). 고지혈증과 관련된 심혈관질환 (coronary heart disease, CHD)은 당뇨의 주요한 사망 원인이 되고 있어 당뇨병의 관리에 있어 고지혈증에 대한 적극적인 관리가 중요시되고 있다 (Packard and Olsson, 2002). 심혈관계에 영향을 미치는 고혈당과 고지혈증은 혈액, 혈관, 조직 및 세포내의 활성산소 (reactive oxygen species, ROS)가 관여되어 있음이 확인되고 있다 (Strawn, 2002; Ascan et al., 1999; Gardner et al., 2003). 당뇨병과 관계되어 유해한 활성산소 제거와 지방대사 조절이 당뇨병의 관리에 중요함이 알려지고 있으며 항산화제와 지방대사 조절에 관계된 연구가 이루어지고 있다 (Podriguex et al., 2000; Frei, 1999).

이 연구에서 죽력은 췌장세포의 파괴로 유발된 당뇨병에 대하여 일정부분 혈당을 낮추는 효과가 있음을 확인하였으나 그 효과는 크지 않았으며 유의성을 갖지 못하였다. 그러나 저농도의 streptozocin을 투여하여 당뇨병을 유발하는 과정에서 죽력을 급이한 결과 혈당의 수치가 죽력을 급이한 실험군에서 낮은 것으로 관찰되었으며 높은 항산화 효과가 확인되었으므로, 죽력의 급이가 당뇨병의 유발과 장기적인 합병증의 유발을 억제하는 효과가 있을 것으로 판단되어진다.

본 연구는 잘 알려져 있지 않은 죽력의 작용과 활용을 이용하여 현재와 같은 일반적인 수준을 넘어 질환에 구체적으로 적용할 수 있는 가능성을 타진하였으며, 당뇨병 유발과 관련된 죽력의 기전연구에 유용한 자료가 될 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 2004년도 연세대학교 원주의과대학 학술연구비로 이루어졌음.

REFERENCES

- Ascan W, Georg N, Eberhard S, Roland M, Jan hinrich B, Mikhail S, Thomas H, Johannes PS, Kathy KG, David GH, Michael B, Thomas M, Thomas M. Increased NADH-oxidase-mediated superoxide production in the early stages of atherosclerosis. Evidence for involvement of the renin-angiotensin system. *Circulation* 1999. 99: 2027-2033.
- Chun H, Ying Z, David DK. Evaluation of antioxidant and pro-oxidant activities of Bamboo *Phyllostachys nigra* var. Henonis leaf extract in vitro. *J Agric Food Chem*. 2000. 48: 3170-3176.
- Frei B. On the role of vitamin C and other anti-oxidants in atherogenesis and vascular dysfunction. *Roc Soc Exp Biol Med*. 1999. 222: 196-204.
- Friesen NT, Buchau AS, Schott-Ohly P, Lgssiar A, Gleichmann H. Generation of hydrogen peroxide and failure of anti-oxidative responses in pancreatic islets of male C57BL/6 mice are associated with diabetes induced by multiple low doses of streptozotocin. 2004. 47: 676-685.
- Ganda OP. Pathogenesis of macrovascular disease in the human diabetic. *Diabetic*. 1980. 10: 931-942.
- Gardner CD, Eguchi S, Reynolds CM, Eguchi K, Frank GD, Motley ED. Hydrogen peroxide inhibits insulin signaling in vascular smooth muscle cells. *Exp Biol Med*. 2003. 228: 836-842.
- Gille L, Schott-Ohly P, Friesen N, Schulte im Walde S, Udilova N, Nowl H, Gleichmann H. Generation of hydroxyl radicals mediated by streptozotocin in pancreatic islets of mice in vitro. *Pharmacol Toxicol*. 2002. 90: 317-326.
- Hong ND, Kim JW, Choi SG, Kim NJ, Shon JG. Studies on the Pharmacological action of *Phyllostachys bambuoides* (I). *Bull K H Pharma Sci*. 1982. 10: 69-75.
- Jung CW, Jang KS, Choi CH, Oh YJ. Effects of *Bambusae caulis* in Liqamen extracted from bamboo charcoal manufacturing process on the blood sugar of the mice induced with streptozotocin (I). *Korean J Oriental Med Physiol Pathol*. 2001. 15: 28-35.
- Jung WG. *Sajeonsic Dongeubogam*. 1st ed. Korea Dictionary Research Publishing (KDR). 1997. p1446
- Jung WG. *Sajeonsic Dongeubogam*. 1st ed. Korea Dictionary Research Publishing (KDR). 1997. p661
- Kim BW. Relationship of diabetes mellitus to cardiovascular disease risk. *Diabetic*. 1996. 20: 83-93.
- Kweon MH, Hwang HJ, Sung HC. Identification and anti-oxidant activity of novel chlorogenic acid derivatives from bamboo (*Phyllostachys edulis*). *J Agric Food Chem*. 2001. 49: 4646-4655.
- Oh YJ, Kim HJ, Hwang BG, Kim SM, Jang KS, Kim JC. Property comparison of purified *Bambusae Caulis* in Liqamen extracted at low temperature. *Korean J Oriental Physiol Pathol*. 2002. 16: 532-536.
- Packard C, Olsson AG. Management of hypercholesterolemia in the patient with diabetes. *Int J Clin Pract Suppl*. 2002. 130: 27-32.
- Podriguex Villar C, Manzanares JM, Casals E, Perez HA, Zambon D, Gomis R, Ros E. High-monosaturated fat, olive oil-rich diet has effects similar to a high-carbohydrate diet on fasting and postprandial state and metabolic profiles of patients with type 2 diabetes. *Metabolism* 2000. 49: 1511-7.
- Pyorala K, Laakso M, Uusitupa M. Diabetes and atherosclerosis: an epidemiologic view. *Diabetes Metabol Rev*. 1987. 3: 463-524.
- Reaven GM. Non insulin dependent diabetes mellitus, abnormal lipoprotein metabolism, and atherosclerosis. *Metabolism* 1987. 36(2 suppl 1): 1-8.
- Strawn WB. Pathophysiological and clinical implications of AT(1) and AT(2) angiotensin II receptors in metabolic disorders: hypercholesterolemia and diabetes. *Drugs* 2002. 62: 31-41.