

## 2형 당뇨 마우스에서 솔잎 추출용액의 경구투여가 혈당조절에 미치는 영향

김미정<sup>1</sup> · 안진홍<sup>1</sup> · 최강호<sup>2</sup> · 이윤학<sup>2</sup> · 우경진<sup>3</sup> · 홍은경<sup>1</sup> · 정영신<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>(주)메드빌 메드빌중앙연구소

<sup>2</sup>파인생명공학

<sup>3</sup>모네이처

### Effects of Pine Needle Extract Oil on Blood Glucose and Serum Insulin Levels in *db/db* Mice

Mi Joung Kim<sup>1</sup>, Jin Hong Ahn<sup>1</sup>, Kang-Ho Choi<sup>2</sup>, Yun-Hak Lee<sup>2</sup>, Gyeong-Jin Woo<sup>3</sup>, Eun Kyung Hong<sup>1</sup> and Young Shin Chung<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Medvill Central Laboratory, Medvill Co., Ltd., Seoul 110-848, Korea

<sup>2</sup>Pine Life Engineering, Seoul 150-816, Korea

<sup>3</sup>Mo-nature, Seoul 152-847, Korea

#### Abstract

This study was performed to investigate the hypoglycemic effect of pine needle extract oil against type 2 diabetes. Six-week-old male C57BL/Ks (*db/db*) mice were divided into four groups; negative control, pine needle extract oil low dose, high dose and positive control groups, which fed daily for 6 weeks with corn oil, pine needle extract oil 112.5 mg/kg, 450 mg/kg or metformin (150 mg/kg), respectively. The oral administration of the pine needle extract oil resulted in the significant and dose-dependent decreases of blood glucose levels in comparison with corn oil treatment. The levels of HbA1c showed a tendency of the decrease by the high dose treatment of the pine needle extract oil and were positively correlated with blood glucose levels ( $r=0.5046$ ,  $p=0.0023$ ). However, the levels of serum insulin and C-peptide were not affected by pine needle extract oil or metformin treatments. The levels of serum leptin, which is related with the insulin sensitivity, showed a tendency of the increases by pine needle extract oil treatment and were negatively correlated to blood glucose levels ( $r=-0.4754$ ,  $p=0.0052$ ). In conclusion, these results suggest that the pine needle extract oil have a potential for the oral anti-hyperglycemic agent and the mode of action may be related with the improvement of the insulin sensitivity through blood leptin.

**Key words:** pine needle extract oil, *db/db* mouse, blood glucose, HbA1c, insulin, leptin, C-peptide

#### 서론

최근 식생활의 서구화 등에 따른 생활의 변화에 의하여 만성질환 유병률이 증가하고 있으며, 2004년 통계청 자료에 의하면 우리나라 사망원인 1위는 암이며, 2위 뇌혈관질환, 3위 심장질환에 이어 당뇨병이 4위를 차지하고 있다(1). 일반적으로 당뇨병은 혈액 내 포도당 농도의 항상성 조절이 손상되어 고혈당을 나타내는 만성질환으로(2), 체장에서 정상적인 인슐린 분비가 이루어지지 않아서 발생하는 1형 당뇨병과 주로 비만 등에 의해 인슐린에 대한 말초조직의 저항이 증가되어 발생하는 2형 당뇨병으로 분류된다(3). 이 중 2형 당뇨병은 최근 비만인구의 증가와 함께 세계적으로 발병률이 급속히 증가하고 있다(4). 우리나라의 당뇨병 유병률 역시 50~59세 7.4%, 60~69세 10.5%, 70세 이상 10.2% 등으로 연령 증가에

따라 증가추세에 있고(5), 그 수준이 서양의 유병률과 비슷하여 식생활의 서구화와 노인인구의 증가에 의해 우리나라 2형 당뇨병 유병률은 더욱 가속화될 가능성이 높다. 당뇨병은 꾸준한 혈당관리가 필수적이나 근본적인 치료방법이 없으므로 최근 우리나라에서는 누에, 인삼, 검은콩, 한방보약 및 솔잎 등을 이용한 대체의학의 시도가 증가하고 있으며(6), 동의보감에 소개되는 약용식물을 이용한 혈당조절 기능성 식품에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있는 실정이다(7).

솔잎은 예로부터 혈액순환을 좋게 하고, 염증을 완화시키는 항균작용이 있는 것으로 알려져 민간에서 널리 사용되어 왔으며, 솔잎을 말려서 가루로 만들어 떡과 같은 음식을 만들거나 차나 한증욕의 재료 등으로 이용하면 고혈압, 동맥경화, 관절염, 신경통 및 천식 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있다(8,9). 또한 중국의 의약서에 따르면 솔잎은 채취한 부위

\*Corresponding author. E-mail: yscahn@yahoo.co.kr  
Phone: 82-2-379-8843. Fax: 82-2-379-6152

에 따라 다양한 약재로 이용되고 있으며, 항산화작용 등 생리활성 작용을 하는 성분을 다양하게 함유하고 있어 암치료 등 만성질환에 효과가 있다고 한다(10,11). 최근 솔잎의 성분 중 하나인 피니톨(3-O-methyl-chiro-inositol)이 천연 혈당강하 성분으로 당뇨모델을 이용한 동물실험에서 인슐린처럼 작용하여 혈당조절 기능이 향상되었다고 보고되고 있어(12,13) 솔잎을 이용한 혈당조절 기능성식품 개발의 가능성을 시사하고 있다.

혈당조절 기능성식품의 효능을 판정하기 위해서는 타당한 관련지표에서의 효과판정이 이루어져야 하는데, 혈당관련 기능성시험에서 사용되는 혈당관련 지표로는 혈당과 당화혈색소(HbA1c)가 이용되며, 인슐린관련 지표로는 혈중 인슐린과 C-peptide 농도가 일반적으로 이용된다(14).

그러므로 본 연구에서는 우리나라에서 점차 증가추세에 있는 2형 당뇨의 대표적인 동물모델인 C57BL/Ksj(BL/Ls) homozygous diabetic(*db/db*) mice를 이용하여 솔잎을 수증기 증류 장치로 농축 증류한 솔잎 추출용액의 혈당조절 효과를 조사하고자 하였다. 이를 위하여 혈당관련 지표인 혈당, 당화혈색소(HbA1c)와 인슐린관련 지표인 혈중 인슐린 및 C-peptide 농도 등을 측정함으로써 관련된 작용기전에 대해 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시험물질 및 양성대조물질의 조제

본 연구에 사용된 솔잎 추출용액은 5월에서 10월까지 채집한 북한산 솔잎을 수증기 증류방법에 의해 조정유로 생산한 것으로 파인생명공학에서 제공받아 사용하였다. 솔잎 추출용액은 맑은 무색투명한 기름으로 소나무향을 나타냈으며, (주)랩프런티어의 성분조사결과 지방이 97.15%, 탄수화물 2.51%를 함유하고 있었다(Table 1). 또한 gas chromatography(Agilent 6890 GC/5973N MSD)를 이용하여 유기물을 정성한 결과, pinene, terpinene, cymene 및 limonene 등 다양한 종류의 테르펜 화합물이 포함되어 있는 것으로 조사되었다(Table 2).

솔잎 추출용액의 주요성분이 지방성분으로 물에는 불용성이므로 부형제로 corn oil을 선택하였으며, 솔잎 추출용액 112.5 mg과 450 mg을 10 mL의 corn oil에 각각 조제하여 저농도군은 112.5 mg/kg, 고농도군은 450 mg/kg가 되도록 실험동물 체중 100 g당 1 mL씩 경구 투여하였다.

Table 1. Nutrient contents of pine needle extract oil

	Content
Water	0.21%
Ash	0.03%
Protein	0.10%
Fat	97.15%
Carbohydrate	2.51%
Calorie	884.79 kcal/100 g

솔잎 추출용액의 혈당강하 효과에 대한 실험 타당성을 검증하기 위하여 혈당강하제로 널리 사용하고 있는 metformin(1,1-dimethylbiguanide, 150 mg/kg)을 양성대조물질로 선택하였으며(15), 0.25% carboxymethylcellulose(CMC)를 이용해 투약 당일에 조제하여 사용하였다(16).

### 실험동물 및 실험설계

솔잎 추출용액의 혈당강하 효과를 조사하기 위하여 본 실험에서는 2형 당뇨의 대표적인 동물모델인 C57BL/Ksj(BL/Ls) homozygous diabetic(*db/db*) mice(SPF)를 사용하였다. *db/db* mice는 4번 염색체의 leptin 수용체 유전자인 *Lepr*에 point mutation이 야기되어 당뇨가 유발되는 동물로서 leptin 수용체가 감소됨에 따라 신호전달능력이 감소하여 혈당이 증가하며(14), 인슐린 비의존성 당뇨모델로 확립되어 인정되는 동물로서 기초자료가 풍부하여 시험결과의 평가 및 비교에 적절하므로 선택하였다. 본 연구에 사용한 *db/db* mice는 30~40 g 정도의 6주령 수컷이었으며, Japan SLC Inc.에서 생산하여 중앙실험동물(주)를 통하여 공급받았으며, 약 10일간의 검역순화 및 적응기간 후 체중과 혈당을 측정하여 시험실시에 적합하고 일반증상에 이상이 없는 건강한 동물 40마리를 선별하였다.

실험동물은 randomized block design에 따라 음성대조군,

Table 2. Qualitative analysis of organic compound in pine needle extract oil

No.	RT (min)	Compound name	Quality
1	11.70	Santene	95
2	12.54	alpha-Thujene	94
3	12.67	Tricyclene	96
4	12.81	alpha-Pinene	97
5	13.25	Camphene	98
6	13.60	Sabinene	97
7	13.80	beta-Pinene	97
8	14.29	delta-3-Carene	98
9	14.36	alpha-Terpinene	98
10	14.55	Limonene	98
11	14.68	o-Cymene	97
12	14.76	beta-Phellandrene	94
13	15.03	gamma-Terpinene	97
14	15.57	alpha-Terpinolene	98
15	15.84	p-Isopropenyl toluene	95
16	16.02	Linalool	95
17	16.15	1,3,8-p-Methatriene	94
18	16.42	Fenchone	94
19	16.81	1-Terpeneol	93
20	16.93	beta-Thujone	98
21	17.70	4-Terpeneol	97
22	17.83	Estragol	98
23	17.93	Borneol	91
24	18.02	p-Cymen-8-ol	91
25	18.29	Fenchyl acetate	97
26	18.59	Crypton	94
27	19.37	Sabinyl acetate	90
28	19.55	Bornyl acetate	99
29	20.50	alpha-Terpinenyl acetate	91

Quality is a correspondency rate with standard compound.

솔잎 추출용액 저용량군(112.5 mg/kg), 솔잎 추출용액 고용량군(450 mg/kg) 및 양성대조군(metformin) 등 4군의 혈당 및 체중이 균등하도록 나누어 6주 동안 사육하였다. 모든 시험물질 및 양성대조물질은 매일 동일한 시간에 경구 투여하였으며, 음성대조군은 시험물질의 부형제인 corn oil을 경구투여하였다(Fig. 1).

6주 사육기간 동안 체중의 변화를 매주 1회 측정하였으며, 혈당의 변화를 알아보기 위하여 6시간 공복 시 미정맥 혈당을 glucose oxidase method에 근거한 glucose analyzer(Glucotrend II, Roche, Germany)를 사용하여 매주 1회 측정하였다. 실험동물의 식이는 시판용 실험동물 고형사료((주)샘타코, KOREA)를 공급하였고, 물은 자유 섭취시켰다. 동물사육실의 사육조건은 12시간 명암주기(오전 8시~오후 8시 조명), 온도 23±3°C, 상대습도 50±10%가 되도록 조절하였다.

**실험동물 희생 및 시료수집**

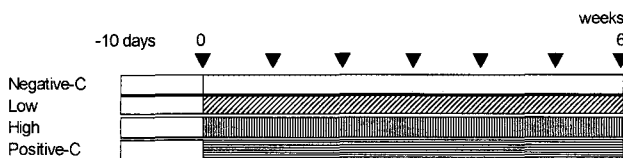
혈당측정은 6시간 공복 시 미정맥에서 측정하여야 하고, 생화학분석을 위한 혈청은 12시간 이상 공복 시 혈액을 채취하여야 하므로 실험동물의 희생은 6주간 사육 종료 후 최종 6주차 혈당을 측정하고, 2일이 경과된 후에 이루어졌다. 실험동물 희생 시 모든 동물은 12시간 절식 후 에테르로 마취하여 복대정맥에서 혈액을 취해 혈청분리용 tube와 EDTA가 처리된 tube에 각각 나누어 담았으며, 혈청분리용 tube의 혈액은 3000 rpm에서 20분간 원심분리 후 혈청을 얻어 생화학적 지표 분석을 위한 시료로 이용하였고, EDTA가 처리된 tube의 전혈은 당화혈색소(HbA1c) 함량을 측정하기 위하여 사용하였다. 희생 즉시 모든 동물은 간을 적출하여 무게를 측정하였으며, -80°C에서 급속 냉동하여 추후 추가실험을 위해 사용할 수 있도록 보관하였다.

**당화혈색소(HbA1c) 함량 측정**

혈당관련 기능성 지표로 이용되는 당화혈색소의 함량은 실험동물 희생 시 채취한 혈액(whole blood)을 사용하여 COBAS INTEGRA® Hemoglobin A1c & HbA1c Hemolysis reagent(ROCHE, SWITZ)를 이용하여 COBAS INTEGRA 800(ROCHE, SWITZ)으로 측정하였다.

**혈청 C-peptide, 인슐린 및 leptin 농도**

인슐린관련 기능성 지표인 혈청 C-peptide와 인슐린 함량



**Fig. 1. Experimental design.**

- ▼ detection of blood glucose level.
- adaptation period (no treatment).
- ▨ Negative-C: corn oil oral feeding group.
- ▩ Low: 112.5 mg/kg pine needle extract oil oral feeding group.
- ▧ High: 450 mg/kg pine needle extract oil oral feeding group.
- ▦ Positive-C: 150 mg/kg metformin oral feeding group.

은 복대정맥에서 채취, 분리한 혈청을 사용하여 각각 Double Antibody C-peptide(DPC, USA)와 insulin RIA kit(DPC, USA)를 이용하여 radio immuno assay방법에 의해 gamma counter(COBRA II, PACKARD, USA)로 측정하였다. 혈청 leptin함량 역시 radio immuno assay방법에 의해 mouse leptin RIA kit(LINCO, USA)를 이용하여 gamma counter(COBRA II, PACKARD, USA)로 측정하였다.

**통계처리**

솔잎 추출용액 및 양성대조물질 투여에 의한 효과를 알아보기 위하여 실험결과를 one-way analysis of variance (ANOVA)로 분석하여 α=0.05 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 유의성을 판정하였으며, 솔잎 추출용액 투여용량에 따른 용량 의존적 경향성 분석을 위하여 Mantel-Haenszel Chi-square test를 실시하였다. 각 생화학 측정 항목간의 상관관계를 알아보기 위해서는 Pearson correlation test를 실시하여 α=0.05 수준에서 유의성을 판정하였다.

**결과 및 고찰**

**일반증상**

6주 동안의 전 시험기간 동안 대부분 개체에서 당뇨증상과 관련된 다뇨증세를 보였으며, 당뇨가 심한 몇몇 개체에서 체중감소가 보였다. 그러나 이는 당뇨와 관련된 증세로 다른 특이적 상황이나 질병에 의한 것은 아닌 것으로 사료된다.

전체 40마리 개체 중에서 음성대조군 1마리, 저용량군 2마리, 고용량군 2마리 총 5마리의 개체가 사망하여 35마리를 결과분석에 이용하였으며, 사망동물의 부검결과 특이적인 사인은 발견되지 않았다.

**식이섭취량**

식이섭취량을 1주일에 1회 관찰한 결과, 유의적이지는 않지만 솔잎 추출용액을 투여한 저용량군과 고용량군 모두 식이섭취량이 감소하는 경향을 보였으며, 양성대조군은 섭취량의 변화가 관찰되지 않았다(Fig. 2). 각 주의 섭취량을 1일 1마리당 평균섭취량으로 계산한 결과 솔잎 추출용액 고용량군이 음성대조군 및 양성대조군에 비하여 유의적으로 낮은 섭취량을 보였다(Table 3). 이러한 결과는 솔잎 추출용액이 당뇨의 일반증상인 다식을 개선함으로써 식이섭취량의 감소를 가져온 것으로 사료된다. 가장 높은 섭취량을 보인군은 양성대조군으로 음성대조군보다 유의적으로 높은 섭취를 보였다.

**실험동물의 체중 및 간 무게**

실험동물의 체중을 매주 1회 측정한 결과, Fig. 3에 제시한 것과 같이 솔잎 추출용액 투여나 metformin투여에 따른 군간의 차이는 나타나지 않았으며, 시험기간 동안 평균적으로 모든 군에서 체중이 점차 증가하는 것으로 나타났다.

실험종료 후 동물희생 시 측정된 체중 역시 솔잎 추출용액

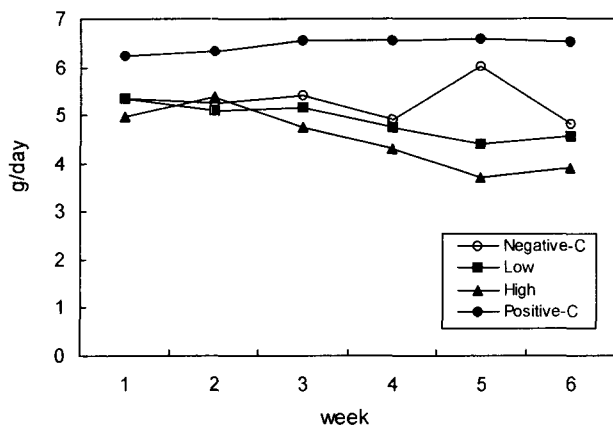


Fig. 2. Change of diet consumption in db/db mice. Values are mean. Groups are the same as in Fig. 1.

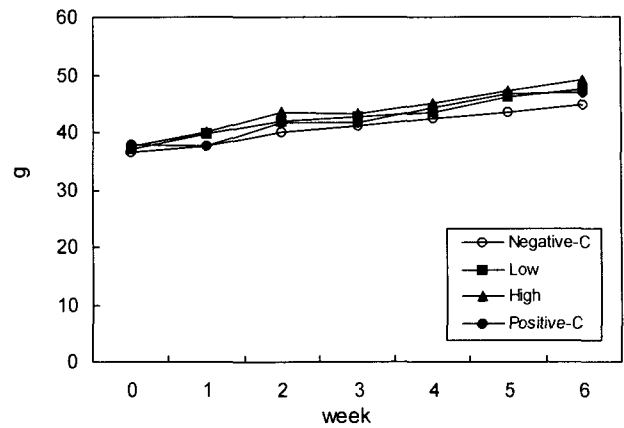


Fig. 3. Change of body weights in db/db mice. Values are mean. Groups are the same as in Fig. 1.

Table 3. Effect of pine needle extract oil on diet consumption

Group <sup>1)</sup>	Diet consumption (g/day)						Mean ± SD
	1 week	2 week	3 week	4 week	5 week	6 week	
Negative-C	5.36 <sup>2)</sup>	5.26	5.41	4.91	6.03	4.82	5.30 ± 0.43 <sup>3)</sup>
Low	5.35	5.11	5.15	4.76	4.39	4.55	4.89 ± 0.38 <sup>c</sup>
High	4.97	5.37	4.74	4.32	3.70	3.89	4.50 ± 0.64 <sup>d</sup>
Positive-C	6.24	6.34	6.57	6.57	6.60	6.53	6.48 ± 0.15 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Groups are the same as in Fig. 1.

<sup>2)</sup>Values are mean.

<sup>3)</sup>Means with the different superscripts are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

투여나 metformin투여에 따른 차이는 없었으며, 간 무게는 Table 4에 제시된 것처럼 음성대조군에 비하여 솔잎 추출용액 고용량군에서 유의적으로 높았고, 솔잎 추출용액의 용량이 증가할수록 높아지는 경향을 나타내었다. 체중 100 g당 간 무게로 환산한 상대적 간 무게 비율 역시 간 무게의 결과와 같은 경향을 나타냈다(Table 4). 그러나 간은 인체의 대표적인 해독기관으로 알코올 및 일반적인 약물복용에 의해서도 간 무게가 증가될 수 있다. 그러므로 본 연구결과에서의 간 무게 증가는 6주간의 장기투여라는 점으로 미루어볼 때 솔잎 추출용액에 의한 간 독성보다는 장기간 약물복용에 따른 단순 약물대사에 의한 것으로 사료된다.

혈당 및 당화혈색소(HbA1c)

혈당측정은 0주, 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주 등 실험개시 및 매주 1회씩 총 7번을 측정하였으며, 혈당의 측정은 실험

동물을 6시간 동안 절식시킨 후 꼬리의 미세정맥에서 채혈을 하여 측정하였다. 그 결과 0주, 1주 및 2주의 혈당은 군간의 차이를 보이지 않았으나 3주차부터 음성대조군에 비하여 솔잎 추출용액 고용량군에서 혈당이 유의적으로 낮아졌으며, 5주차와 6주차에서는 저용량, 고용량군 모두 음성대조군에 비하여 혈당이 유의적으로 감소하였다. 음성대조군의 혈당을 기준으로 inhibition%를 계산한 결과, 고용량군에서 3주에 23.4%, 4주 24.6%, 5주 29.5% 그리고 6주 29.0%로 나타나 시험기간이 증가할수록 솔잎 추출용액의 혈당감소 효과가 커지는 경향을 나타냈다. 이러한 솔잎 추출용액 고용량군의 혈당감소 효과는 양성대조군의 혈당감소 효과와 비슷한 정도인 것으로 나타났다(Table 5).

또한, 혈당을 400 mg/dL 미만, 400 mg/dL 이상에서 500 mg/dL 미만 및 500 mg/dL 이상의 3단계로 나누어 솔잎 추

Table 4. Effects of pine needle extract oil on final body weight, liver weight and relative liver weight

Group <sup>1)</sup>	N <sup>2)</sup>	Final body weight (g)	Liver weight (g)	Relative liver weight (g/100 g body weight)
Negative-C	9	43.1 ± 5.0 <sup>3)NS4)</sup>	2.0 ± 0.3 <sup>5)</sup>	4.63 ± 0.43 <sup>b</sup>
Low	8	45.8 ± 3.5	2.3 ± 0.4 <sup>ab</sup>	4.56 ± 0.59 <sup>ab</sup>
High	8	46.9 ± 7.5	2.5 ± 0.5 <sup>a</sup>	5.38 ± 0.70 <sup>a</sup>
Positive-C	10	44.9 ± 2.0	2.1 ± 0.2 <sup>b</sup>	4.67 ± 0.36 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Groups are the same as in Fig. 1.

<sup>2)</sup>Number of animals.

<sup>3)</sup>Values are mean ± SD. <sup>4)</sup>Not significant.

<sup>5)</sup>Means with the different superscripts are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

Table 5. Effect of pine needle extract oil on changes in blood glucose levels

Group <sup>1)</sup>	Blood glucose level (mg/dL)						
	0 week	1 week	2 week	3 week	4 week	5 week	6 week
Negative-C	351.5±59.1 <sup>2)NS3)</sup>	390.2±112.0 <sup>NS</sup>	440.0±95.7 <sup>NS</sup>	497.4±74.7 <sup>4)</sup> (0.0) <sup>5)</sup>	471.3±96.5 <sup>a</sup> (0.0)	538.2±41.0 <sup>a</sup> (0.0)	535.3±50.0 <sup>**</sup> (0.0)
Low	350.9±53.8	359.8±86.7	405.0±75.8	481.4±96.4 <sup>a</sup> (3.2)	452.3±84.1 <sup>ab</sup> (4.0)	433.6±77.7 <sup>b</sup> (19.4)	443.1±70.0 <sup>b</sup> (17.2)
High	350.9±66.9	315.1±113.2	371.0±102.1	380.9±95.3 <sup>b</sup> (23.4)	355.3±100.3 <sup>b</sup> (24.6)	379.3±88.1 <sup>b</sup> (29.5)	380.3±62.4 <sup>b</sup> (29.0)
Positive-C	352.0±69.0	392.1±81.5	436.7±101.6	390.4±96.5 <sup>b</sup> (21.5)	368.8±110.8 <sup>ab</sup> (21.8)	402.5±101.1 <sup>b</sup> (25.2)	392.5±113.0 <sup>b</sup> (26.7)

<sup>1)</sup>Groups are the same as in Fig. 1.

<sup>2)</sup>Values are mean±SD. <sup>3)</sup>Not significant.

<sup>4)</sup>Means with the different superscripts are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

<sup>5)</sup>Inhibition percents by negative-C.

\*Mean value excluding one of the data over 2SD.

출용액 투여용량에 따른 용량의존성에 대한 경향성 분석을 실시한 결과, 솔잎 추출용액의 용량이 증가함에 따라 혈당강하 효과가 더 커지는 것으로 나타났다(p=0.0013)(Fig. 4).

당화혈색소 함량은 음성대조군 7.72%, 솔잎 추출용액 고용량군 5.92%로 혈당과 마찬가지로 솔잎 추출용액 고용군에서 음성대조군에 비해 낮은 경향을 보였으나 유의적이지는 않았다(Table 6).

혈청 인슐린, C-peptide 및 leptin 농도  
혈당조절 기능성 평가를 위한 인슐린 관련 지표로 측정한다

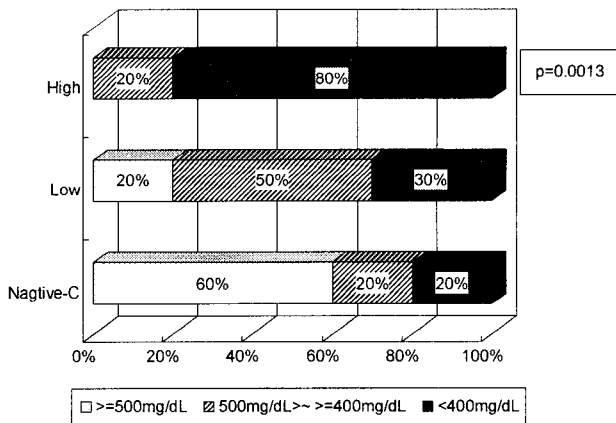


Fig. 4. Tendency of decreases in blood glucose levels (6th week) affected by treatment doses of pine needle extract oil. Statistical significance was calculated by Mantel-Haenszel Chi-square test at p<0.05.

Table 6. Effect of pine needle extract oil on HbA1c level

Group <sup>1)</sup>	N <sup>2)</sup>	HbA1c (%)
Negative-C	9	7.72±2.32 <sup>3)ab4)</sup>
Low	8	6.72±1.87 <sup>ab</sup>
High	8	5.92±0.65 <sup>b</sup>
Positive-C	10	8.11±1.69 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Groups are the same as in Fig. 1.

<sup>2)</sup>Number of animals.

<sup>3)</sup>Values are mean±SD.

<sup>4)</sup>Means with the different superscripts are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

혈청 인슐린과 C-peptide 농도의 결과는 Table 7에 제시한 것과 같이 솔잎 추출용액의 투여나 metformin 투여에 따른 군 간의 차이가 나타나지 않았다(Table 7). 그러므로 솔잎 추출용액은 혈당감소 효과는 나타냈지만 혈중 인슐린의 농도에는 영향을 미치지 않아 인슐린의 합성이나 분해에 영향을 미치지보다는 인슐린의 감수성을 개선하여 혈당조절이 이루어졌을 가능성이 있는 것으로 나타났다. 따라서 인슐린 감수성과 관련이 있는 혈청 leptin 농도를 측정된 결과, 유의적이지는 않지만 솔잎 추출용액을 투여한 군에서 음성대조군에 비해 높은 경향을 보였다(Table 7).

Leptin은 주로 지방세포에서 생성되는 cytokine으로 섭취, 대사 신경계 및 에너지 균형을 조절함으로써 식욕과 체중조절에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(17). 또한 leptin은 인슐린의 감수성을 조절하여, leptin의 발현이 감소하게 되면 인슐린의 저항성(resistance)을 일으키는 것으로 알려져 있다(18). 그러므로 leptin 농도가 낮으면 인슐린에 대한 저항성이 증가되어 인슐린 비의존형 당뇨의 발생이 증가하게 될 가능성이 있다. 최근 leptin 효능제(agonist)를 이용한 연구에서 leptin 효능제가 체중을 감소시킬 뿐만 아니라 비만 동물모델에서 혈당수치도 감소시키며 더 나아가 인슐린 감수성(sensitivity)도 증가시키는 것으로 보고된 바 있다(19). 그러므로 본 실험에서 유의적이지는 않지만 솔잎 추출용액 투여에 의한 혈청 leptin 농도의 증가는 솔잎 추출용

Table 7. Effects of pine needle extract oil on serum insulin, C-peptide and leptin levels

Group <sup>1)</sup>	N <sup>2)</sup>	Insulin (μIU/mL)	C-peptide (ng/mL)	Leptin (ng/mL)
Negative-C	8~9	9.94±7.50 <sup>3)NS4)</sup>	1.82±0.21 <sup>NS</sup>	22.35±4.84 <sup>NS</sup>
Low	8	8.80±5.49	1.78±0.35	24.09±2.31
High	8	10.23±3.50	1.68±0.18	24.09±2.31
Positive-C	9	10.51±4.03	1.60±0.33	24.72±6.78

<sup>1)</sup>Groups are the same as in Fig. 1.

<sup>2)</sup>Number of animals.

<sup>3)</sup>Values are mean±SD.

<sup>4)</sup>Not significant.

Table 8. Correlation among the indices

Index	Diet consumption	Body weight	Final blood glucose	HbA1c	C-peptide	Insulin	Leptin
Diet consumption	1.0000 <sup>1)</sup>						
Body weight	-0.1104	1.0000					
Final blood glucose	-0.1304	-0.2781	1.0000				
HbA1c	0.4044*	-0.0596	0.5046**	1.0000			
C-peptide	-0.1528	0.1412	0.1983	-0.1423	1.0000		
Insulin	0.0861	0.2499	-0.2083	-0.1767	-0.0567	1.0000	
Leptin	0.0630	0.3834*	-0.4754**	-0.2057	0.0815	0.2437	1.0000

<sup>1)</sup>Values are coefficients of correlation among the indices by Pearson correlation test. Significantly difference by Pearson correlation test at \* $p < 0.05$  and \*\* $p < 0.01$ .

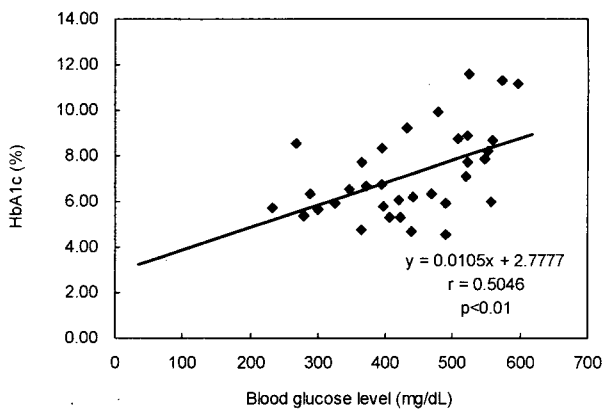


Fig. 5. Correlation between HbA1c and blood glucose levels. r: a correlation coefficient between blood glucose (6th week) and HbA1c levels by Pearson correlation test.

액이 인슐린 감수성에 영향을 미쳐 혈당감소 효과를 나타냈을 가능성이 있는 것으로 사료된다.

#### 측정항목간의 상관관계

본 연구에서 조사한 각 측정지표간의 상관관계를 조사한 결과, 당화혈색소는 6주차 최종 혈당( $r = 0.5046$ ,  $p = 0.0023$ ) 및 평균 식이섭취량( $r = 0.4044$ ,  $p = 0.0177$ )과 각각 양의 상관관계를 나타내었다(Table 8, Fig. 5). 혈당은 식사여부에 따라 빠르게 변화하는데 반해 당화혈색소는 단기간 식사변화의 영향을 적게 받아 1~2달 정도의 장기간 당관리를 측정할 수 있는 지표로 당뇨병자들의 혈당관리 실태를 알아보는데 이용된다(20). Cundiff와 Nigg(21)도 당뇨병의 합병증 예방을 위한 식이조절에 관한 연구에서 섭취한 열량과 당화혈색소간에 강한 양의 상관관계가 있었다고 보고하고 있다. 그러나 당화혈색소는 적혈구내에 존재하는 것으로 적혈구의 수명과 관련이 있으므로 적혈구의 반감기가 약 12주인 것을 고려할 때 특정 식이섭취에 의한 당화혈색소의 변화를 알아보기 위해서는 12주 이상의 충분한 실험기간을 가지는 것이 바람직하다(22,23). 그러므로 본 실험결과에서 혈당과 달리 솔잎 추출용액 고용량군에서 당화혈색소의 함량이 유의적으로 감소하지 않은 것은 본 실험이 6주 동안 이루어졌기 때문으로 사료된다. 또한 당화혈색소 함량이 혈당과 강한 양의 상관관계를 나타내므로 12주 이상의 실험기간을 가진다면 솔

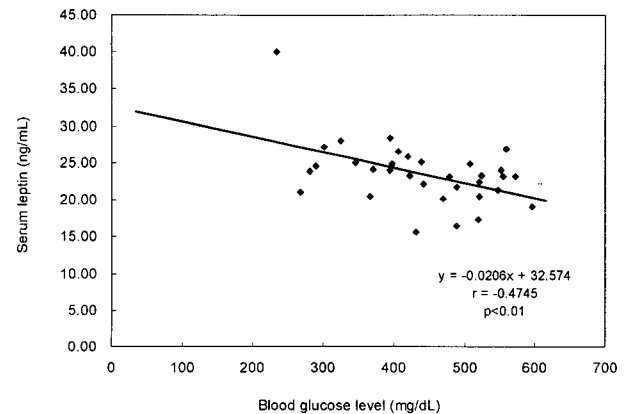


Fig. 6. Correlation between serum leptin and blood glucose levels.

r: a correlation coefficient between blood glucose (6th week) and serum leptin levels by Pearson correlation test.

잎 추출용액에 따른 유의적인 차이를 나타낼 가능성이 있는 것으로 사료된다.

혈청 leptin 농도와 측정지표간의 상관관계를 조사한 결과 체중과 양의 상관관계를( $r = 0.3834$ ,  $p = 0.0252$ ), 6주차 최종 혈당과는 음의 상관관계( $r = -0.4754$ ,  $p = 0.0052$ )를 나타내었다(Table 8, Fig. 6).

그러므로 본 실험결과 솔잎 추출용액의 혈당강하 효과는 혈중 leptin과 관련된 인슐린 저항성이나 감수성의 개선에 의한 것일 가능성이 있으며, 이와 관련된 정확한 관련 작용기전에 관한 연구들이 수행되기를 기대한다.

#### 요 약

본 연구는 솔잎을 수증기 증류법으로 생산한 솔잎 추출용액을 2형 당뇨 마우스인 *db/db* mice에게 투여하여 솔잎 추출용액의 혈당강하 효과를 조사하고자 하였다. 이를 위해서 30~40 g 정도의 6주령 수컷 C57BL/Ksj(BL/Ls) homozygous diabetic(*db/db*) mice(SPF)를 음성대조군(corn oil), 솔잎 추출용액 저용량군(112.5 mg/kg), 고용량군(450 mg/kg) 및 양성대조군(metformin 150 mg/kg)의 4군으로 나누어 6주간 시험물질을 경구 투여하였다. 6주 사육기간 동안 혈당의 변화를 측정하기 위해 매주 1회씩 6시간 공복 시 미정맥

으로부터 혈당을 측정하였으며, 6주 실험종료 후 모든 동물은 희생시킨 후 복대정맥에서 혈액을 채취하여 당화혈색소(HbA1c), 혈청 인슐린, C-peptide 및 leptin 농도 등을 측정하였다. 그 결과 다음과 같은 결론을 얻었다. 식이섭취량은 솔잎 추출용액 투여군에서 감소하는 경향을 보였으며, 양성대조군은 섭취량의 변화가 없었고, 1일 1마리당 평균섭취량은 고용량군이 음성대조군 및 양성대조군에 비하여 유의적으로 낮은 섭취량을 보였다. 체중은 군 간의 차이가 나타나지 않았으며, 간 무게와 상대적 간 무게는 음성대조군에 비하여 솔잎 추출용액 고용량군에서 유의적으로 높게 나타났다. 혈당은 솔잎 추출용액 고용량군에서 실험개시 3주부터 음성대조군에 비하여 유의적으로 감소하였으며, 최종 혈당은 저용량과 고용량군 모두 음성대조군에 비해 유의적으로 낮아졌고, 용량 의존적인 경향성을 나타내었다. 당화혈색소의 함량 역시 솔잎 추출용액 고용량군에서 음성대조군에 비해 유의적이지는 않지만 낮은 경향을 보였다. 혈청 인슐린과 C-peptide 농도는 솔잎 추출용액의 투여에 따른 차이가 나타나지 않아 솔잎 추출용액이 인슐린의 생성에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다. 혈청 leptin 농도는 유의적이지는 않지만 음성대조군에 비해 솔잎 추출용액 투여군에서 높은 경향을 나타냈으며, 혈당과 음의 상관관계를 나타내고 있어 솔잎 추출용액의 혈당강하 효과의 작용기전으로 leptin과 관련된 인슐린 감수성에 영향을 미쳤을 가능성이 있는 것으로 기대된다. 그러므로 본 연구에 사용한 112.5 mg/kg 및 450 mg/kg의 솔잎 추출용액은 6주 경구투여 시 혈당강하 효과를 나타냈으며, 인슐린의 농도에는 영향을 미치지 않았다. 이러한 결과는 솔잎 추출용액의 혈당강하 효과의 작용기전이 인슐린의 감수성이나 저항성에 영향을 미쳤을 가능성이 있는 것으로 기대되며, 본 연구가 앞으로 솔잎 추출용액에 대한 다양한 연구를 활성화하는데 기여할 것으로 사료된다.

## 문 헌

1. Korea National Statistical Office. 2004. The Cause of Death Statistics (Deaths and Death rates).
2. Coulston AM, Hollenbeck CB. 1988. Source and amount of dietary carbohydrate in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Top Clin Nutr* 3: 17-24.
3. Zeman FJ. 1991. *Clinical Nutrition and Dietetics*. 2nd ed. Macmillan Publishing Company, a division of Macmillan, Inc., New York. p 398-403.
4. King H, Rewers M. 1993. WHO Ad Hoc Diabetes Reporting Group: Global estimates for prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in adults. *Diabetes Care* 16: 157-177.
5. Ministry of Health & Welfare. 2002. 2001 National Health And Nutrition Survey: Chronic Diseases.
6. Kim YS, Chun JH, Park JH, Kang CI. 2000. Status and associating factors of complementary and alternative medicine among Korean diabetic patients. *J Kor Diabetes Asso* 24: 78-89.
7. Koh JB, Kim JY. 2002. Effect of Okcheonsan on blood glucose, lipid and protein levels in streptozotocin-induced diabetic female rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 284-289.
8. MBC. 1988. *Hankook minganyobodaeyeun*. Kumbk pub. Co., Seoul. p 21-25.
9. Lee E. 2003. Effects of powdered pine needle (*Pinus densiflora seib et Zucc.*) on serum and liver lipid composition and antioxidative capacity in rats fed high oxidized fat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 926-930.
10. Kada T, Namidi M. 1981. Environmental mutagenesis and plant biology. In *Environmental Desmutagens and Anti-mutagens*. Klekowski EJ, ed. Praeger, New York. p 134-151.
11. Hsu TY, Sheu SC, Liaw ET, Wang TC, Lin CC. 2005. Antioxidant activity and effect of *Pinus morrissonicola* Hay. on the survival of leukemia cell line U937. *Phytomedicine* 12: 663-669.
12. Shin YC, Jeon YJ. 2003. Hypoglycemic effect of pinitol isolated from soybean. *Food Science and Industry* 36(1): 56-60.
13. Bates SH, Jones RB, Bailey CJ. 2000. Insulin-like effect of pinitol. *Br J Pharmacol* 130: 1944-1948.
14. Park IS. 2004. Blood glucose related efficacy test: The efficacy test guideline for health functional food (I). Korea Food & Drug Administration. p 179-215.
15. Davidson M, Peters A. 1997. An overview of metformin in the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Am J Med* 102: 99-110.
16. Tang T, Reed MJ. 2001. Exercise adds to metformin and acarbose efficacy in *db/db* mice. *Metabolism* 50: 1049-1053.
17. Koerner A, Lratsch J, Kiess W. 2005. Adipocytokines: leptin—the classical, resistin—the controversial, adiponectin—the promising, and more to come. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 19: 525-546.
18. Morton GJ, Gelling RW, Niswender KD, Morrison CD, Rhodes CJ, Schwartz MW. 2005. Leptin regulates insulin sensitivity via phosphatidylinositol-3-OH kinase signaling in mediobasal hypothalamic neurons. *Cell Metabolism* 2: 411-420.
19. White CL, Ishihara Y, Dotson TL, Hughes DA, Bray GA, York DA. 2004. Effect of a  $\beta$ -3 agonist on food intake in two strains of rats that differ in susceptibility to obesity. *Physiol Behav* 82: 489-496.
20. Krishnamurti U, Steffes MW. 2001. Glycohemoglobin: a primary predictor of the development or reversal of complications of diabetes mellitus. *Clin Chem* 47: 1157-1165.
21. Cundiff DK, Nigg CR. 2005. Diet and diabetic retinopathy: insights from the Diabetes Control and Complication Trial (DCCT). *MedGenMed* 7(1): 3.
22. Glodstein DE, Little RR, Wiedmeyer HM, England JD, McKenzie EM. 1986. Glycated hemoglobin: methodologies and clinical applications. *Clin Chem* 32: B64-B70.
23. Bunn HF. 1981. Nonenzymatic glycosylation of protein: relevance to diabetes. *Am J Med* 70: 325-330.

(2005년 12월 29일 접수; 2006년 3월 3일 채택)