

꾸지뽕잎차 첨가 식이가 Streptozotocin으로 유발한 고혈당 흰쥐의 혈당 및 혈청지질 함량에 미치는 영향

박범호¹ · 신종욱¹ · 이상일² · 김순동^{1*}

¹대구가톨릭대학교 외식식품산업학부 식품공학전공, ²계명문화대학 식품영양조리과

The Effects of *Cudrania tricuspidata* Tea Leaves on the Blood Glucose and Serum Lipids Profiles of Streptozotocin-Induced Hyperglycemic Rats

Bum-Ho Park¹, Jong-Wook Shin¹, Sang-Il Lee² and Soon-Dong Kim^{1*}

¹Dept. of Food Science and Technology, Service Food Industrial Technology, Catholic University of Daegu, Gyungsan 712-702, Korea

²Dept. of Food Nutrition and Culinary, Keimyung College, Daegu 704-703, Korea

Abstract

The effects of pan-fired (PM) and fermented (FM) *Cudrania tricuspidata* tea leaves on α -glucosidase inhibitory activity, oral glucose tolerance, blood glucose levels and serum lipids profiles in streptozotocin (STZ)-induced hyperglycemic rats were investigated. The α -glucosidase inhibitory activity of FM ethanol extracts (20 mg/mL) was higher (92.5%) than that of raw dried leaves (RM) (69.1%) and PM (54.6%). In addition, the results of a glucose tolerance test revealed that the glucose levels of hyperglycemic rats that were fed PM and FM ethanol extracts and then orally administered glucose began to decrease after 60 minutes, but recovered after 120 minutes. However, the blood glucose levels in the hyperglycemic control group did not begin to decrease for 360 minutes. Additionally, the results of animal experiments that were conducted over five weeks to compare the dietary effects of PM and FM following hyperglycemic induction to the effects on the hyperglycemic control group (DM) were as follows: The body weight gain and FER of the treated rats were 12.9~16.9% higher than those of the DM group, whereas the amounts of feed and water intake by the treated rats were 6.8~10.1% lower. Additionally, the levels of blood glucose and serum fructosamine decreased by 27.3~39.8% and 6.7~20.0%, respectively, in the treated rats. Moreover, the serum triglyceride, total cholesterol and LDL-cholesterol concentrations in the treated rats were 24.9~27.1%, 15.9~17.4% and 33.8~38.4% lower, respectively. Finally, the HDL-cholesterol contents were 20.5~24.8% higher in the treated rats than in the control group. The above results suggest that PM and FM exerts an anti-hyperglycemic effect that occurs due to the inhibition of α -glucosidase activity as well as via prevention and/or inhibition of changes in the serum lipid profile. In addition, the results of this study revealed that the synthetic anti-hyperglycemic effect of FM was greater than that of PM. However, further detailed studies are needed to confirm these results.

Key words : *Cudrania tricuspidata* tea leaves, anti-hyperglycemic effect, serum lipid profile.

서 론

뽕나무(*Morus alba* L.)는 뽕나무과(Moraceae)의 교목성 활엽수로서 열대에서 온대에 이르는 세계 각지에 광범위하게 분포하고 있다. 가지는 회갈색 또는 회백색이며, 잔털이 있으나 성장하면서 점차 없어진다. 잎은 난상원형 또는 긴 난상타원형이며 3~5개로 갈라져 있고 가장자리에 둔한 톱니가 있으며, 끝이 뾰족하고 표면은 거칠거나 평활하며, 뒷면은 맥 위에 잔털이 있다(Song UI 2000). 뽕나무의 품종은 산상계(*Morus bombysis* Koidz), 백상계(*Morus alba* L.), 노상계

(*Morus lhos* Koidz), 흑상계(*Morus nigra* L.), 적상계(*Morus rubra* L.) 및 인도상계(*Morus indica* L.)를 포함하여 약 130여종이 알려져 있으나, 우리나라에 분포하는 품종은 산상계, 백상계 및 노상계가 주류를 이룬다(Chae et al 2003). 꾸지뽕(*Cudrania tricuspidata*)은 우리나라에서는 최근에 도입된 품종으로 잎은 능상난형이며 밑은 둥글고 앞 뒷면에는 털이 있다. 꽃은 자웅이주로서 수꽃은 장타원형이며 암꽃은 액출(腋出)하며 6월에 핀다. 과실은 물이 많은 점액질이고 익으면 검은색이 된다(Jeon IJ 2004). 동아시아에 주로 분포하며, 우리나라에는 단 1종이 자생한다(Cha et al 1999). 뽕잎은 예로부터 양잠용으로 사용해 왔으나, 최근에 다양한 기능성이 알려지면서 차로 이용하기 시작하여 기능성 식·의약 소재로 활

* Corresponding author : Soon-Dong Kim, Tel : +82-53-850-3216, Fax : 82-53-850-3216, E-mail : kimsd@cu.ac.kr

용되고 있다. 한방에서는 각기와 수증을 없애며, 소장과 대장을 이롭게 하고 통풍을 제거하며, 노화 억제에 활용한다. 또, 간기능 개선과 혈당 강하에 이용하고 있다(Cho BL 2004). 뽕잎에는 단백질, 아미노산, 비타민, 미네랄 및 식이섬유와 flavone, steroids 및 triterpenes 등의 생리활성물질이 함유되어 있다(Kondo Y 1957). 또, 기능성으로는 항당뇨(Kimura *et al* 1995, Kim *et al* 1998a), 항고지혈증(Kim *et al* 1998b) 및 항산화 효과(Doi *et al* 2000)가 있다. 꾸지뽕잎에 관한 연구는 많지 않으나 항염증 및 항균 작용(Ottersen *et al* 1977), 항산화 작용(Ottersen *et al* 1977), 항고지혈증(Cha *et al* 2000), 항고혈압(Kang *et al* 2002) 및 항세포독성 효과(Lee *et al* 1996)가 알려져 있다. 당뇨병은 인슐린 분비의 절대적 또는 상대적 인 부족이나 인슐린의 작용 저하로 인하여 발생하는 만성적이고 혈당 상태와 이에 따라 수반되는 대사장애 및 그 합병증으로 특징 지워지는 질환(Reaven JW 1987)이다. 뽕잎의 항당뇨 효과는 뽕잎 성분인 deoxyojirimycin의 α -glucosidase 저해활성에 의해 나타나는 것(Kim *et al* 1999)으로 보고되고 있다.

차는 덤음차와 발효차로 구분하며, 그 품미는 산지의 토양, 기후, 품종 및 제조 방법 등 여러 요인에 의해 영향을 받으나, 덤음 방법이나 발효 방법에 따라 품질의 차이가 있다(Choi & Choi 2003). 특히 제조 과정 중 조위 및 유념 과정에서 효소작용과 지방산의 산화, 카보닐화합물의 생성과 함께 차로서의 품미와 색상을 갖게 된다(Choi *et al* 2005). 최근 꾸지뽕잎이 다양한 생물학적 활성을 가지는 것(Ottersen *et al* 1977, Cha *et al* 2000, Kang *et al* 2002, (Lee *et al* 1996)으로 알려지고 있어 이를 이용한 건강 기능성 식품 및 음료 등의 개발과 상품화가 이루어지고 있으나, 차의 제조 방법에 따른 효과를 연구한 보고는 없다.

본 연구에서는 꾸지뽕잎으로 제조한 덤음차와 발효차의 항당뇨 효과를 비교하기 위하여 ethanol 추출물의 α -glucosidase 저해 활성과 streptozotocin으로 유발한 당뇨쥐를 이용한 내당능과 혈당 감소 및 혈청지질 함량에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 재료

실험에 사용한 꾸지뽕(*Cudrania tricuspidata*) 잎은 대전광역시 서구 괴곡동에서 재배한 것으로 2007년 4월에 첫 번째로 채취한 잎을 (주)해인우리에서 공급받아 실험에 사용하였다.

2. 꾸지뽕잎차의 제조

꾸지뽕잎차는 덤음과 발효로 구분하여 제조하였다. 덤음 꾸지뽕잎차의 제조는 덤음녹차 제조공정(Park *et al* 2006)에 준하여 생잎 2 kg을 차온계(TA-0510F, Minolta Co., Japan)로

230℃로 조정된 무쇠솥(ϕ 64×28 cm)에 넣어 230℃ → 150℃ → 110℃ → 100℃ → 80℃로 온도를 변화시키면서 5회 덤음하였다. 덤음 중 비빔시간은 10분으로 조정하였다. 발효 꾸지뽕잎차의 제조는 생잎을 30℃의 incubator에 24시간 동안 조위(wilting)시킨 후 면장갑을 끼고 10분간 유념한 다음 50×40×30 cm의 플라스틱 통에 15 cm 깊이로 담아 35℃에서 36시간 발효시켰다. 다음에 열풍건조기(RG-101, Korea)를 이용하여 60℃에서 건조하였다. 대조군으로 사용한 생꾸지뽕잎은 열풍건조기를 사용하여 60℃에서 건조하였으며, 건조한 시료는 분쇄기(IKA A11 basic, IKA Korea Co., Ltd., Korea)를 이용하여 100 mesh로 분쇄하였다.

3. α -Glucosidase 저해활성 측정

α -Glucosidase 저해 활성 측정은 Xu 등(2007)의 방법에 준하여 67 mM KP buffer(pH 6.8) 0.69 mL에 70% ethanol로 추출한 꾸지뽕잎차 추출액 25 μ L 및 α -glucosidase(0.1 unit/mL, Sigma Chem. Co. Mo, USA) 20 μ L를 가하고 37℃에서 3 분간 preincubation한 다음 10 mM p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside 65 μ L를 가하여 10분간 반응시켰다. 반응 종료 후 0.1 M sodium carbonate 용액 3.2 mL를 가한 후 400 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 추출액 대신에 70% ethanol을 사용하였다.

4. 내당능 측정

경구 내당능 검사는 5주령의 평균 체중이 140±10 g인 Sprague-Dawley계 male rats(Orient Ltd., Sungnamsi, Korea)를 1주일간 환경에 적응시킨 후 당뇨대조군(50% glucose 용액 투여군), DM-P군(50% glucose 용액과 덤음 꾸지뽕잎의 70% ethanol 추출물 투여), DM-F군(50% glucose 용액과 발효 꾸지뽕잎의 70% ethanol 추출물 투여)의 3군으로 나누었으며, DM군은 50% glucose 용액을 체중 100 g당 0.2 g에 해당하는 양을 경구 투여하고, DM-P군 및 DM-F군은 체중 100 g당 0.2 g에 해당하는 각 추출물 투여 30분 후에 50% glucose 용액을 경구투여 투여하였다. 혈당은 포도당 경구투여 전 30분 및 투여 후 30, 60, 120, 180, 240, 360분 후에 꼬리 부위 혈관에서 란셋으로 채혈하여 Gluco-Tester(Life Scan Inc., USA)로 측정하였다.

5. 실험 동물과 실험 식이의 조제

실험 식이는 AIN-76 diet(Teklad, USA)를 기본으로 하여 조제하였다. 실험군에 따른 식이 조성은 Table 1과 같다. 실험군의 총 칼로리를 조절하기 위한 일반 성분 함량은 AOAC법으로 측정하였으며, PT는 단백질 20.46%, 지질 0.05%, 탄수화물 62.52%였으며, FT는 단백질 19.13%, 지질 0.07%, 탄수

Table 1. Experimental plots and compositions of diet
(g/kg diet)

Ingredients	NC ³⁾	DM ⁴⁾	DM-P ⁵⁾	DM-F ⁶⁾
Casein	200	200	194	194
Corn starch	150	150	131	131
Sucrose	500	500	500	500
Cellulose	50	50	50	50
Corn oil	50	50	50	50
AIN mineral mix. ¹⁾	35	35	35	35
AIN vitamin mix ²⁾	10	10	10	10
DL-methionine	3	3	3	3
Choline bitartrate	2	2	2	2
Pan-fired leaves tea	-	-	30	-
Fermented leaves tea	-	-	-	30

¹⁾ AIN mineral mixture(g/kg): calcium lactate 620, sodium chloride 74, potassium phosphate di-basic 220, potassium sulfate 52, magnesium oxide 23, manganous carbonate 3.3, ferric citrate 6, zinc carbonate 1, cupric carbonate 0.2, potassium iodate 0.01, sodium selenite 0.01, chromium potassium sulfate 0.5, finely powdered to make 1,000 g.

²⁾ AIN vitamin mixture(mg/kg): thiamin-HCl 600, riboflavin 600, pyridoxine-HCl 700, nicotinic acid 3,000, D-calcium pantothenate 1,600, folic acid 200, D-biotin 20, vitamin B₁₂ 2.5, vitamin A 400,000 IU, vitamin D₃ 100,000 IU, vitamin E 7,500 IU, vitamin K 75, finely powdered to make 1,000 g.

³⁻⁶⁾ Abbreviations: NC; normal control, DM; diabetic control, DM-P; diet with 3% pan-fired leaves tea after diabetic induction, DM-F; diet with 3% fermented leaves tea after diabetic induction.

화물 61.96%였다. 실험 동물은 5주령의 평균 체중이 140±10 g인 Sprague-Dawley계 SPF/VAF outbred rats(Orient Ltd., Sungnam, Korea)를 1주일간 환경에 적응시킨 후 정상대조군(NC), 당뇨대조군(DM), 당뇨유발 후 덩어리 꾸지뽕잎 분말을 3% 되게 첨가한 식이군(DM-P), 당뇨 유발 후 발효 꾸지뽕잎 분말을 3% 되게 첨가한 식이군(DM-F) 등 4군으로 나누어 각각 7마리씩으로 하여 당뇨를 유발시킨 후 실험식이로 5주간 사육하였다. 사육장은 stainless steel cage를 사용하고, 온도 및 습도는 23±2°C, 60±5%로 조정하고, 명암주기는 12시간 간격으로 설정하고, 물과 사료의 섭취는 자유 섭취시켰다.

6. 당뇨 유발

Streptozotocin(STZ, Sigma Chem. Co. Mo, USA)을 0.1 M citrate buffer(pH 4.3)에 녹여 체중 250 g이상인 실험 동물을 대상으로 55 mg/kg 농도로 대퇴부 근육에 주사하고 STZ 투

여 48시간 후 공복 시에 꼬리정맥으로부터 취한 혈액의 혈당 농도가 300 mg/dL 이상인 동물을 실험에 이용한다.

7. 체중, 식이 섭취량 및 음용수 섭취량

체중, 식이 및 음용수 섭취량은 전 실험 기간을 통하여 매일 일정한 시간에 측정하였다. 식이효율(feed efficiency ratio, FER)은 같은 기간 동안의 증체량을 동일 기간의 식이 섭취량으로 나눈 값으로 하였다.

8. 혈당 분석

혈당은 Gluco-Tester(Life Scan Inc., USA)로 매일 오전 10~12시에 측정하였으며, 공복 시의 꼬리 부위 혈관에서 란셋으로 채혈하였다.

9. 분석 시료의 채취

실험식이로 5주간 사육한 흰쥐를 물만 주고 12시간동안 절식시킨 후 ether 마취 하에서 복부 대동맥으로부터 채혈한 다음, 빙냉의 생리식염수로 간을 관류하고 장기를 적출한 후 습기를 제거하여 무게를 측정하였다. 채취한 혈액은 실온에서 응고시킨 다음 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈청을 분리한 후 -70°C에 두면서 분석용 시료로 사용하였다.

10. 단백질 함량 측정

혈청의 단백질 함량은 bovine serum albumin(BSA)을 표준 용액으로 하여 Lowry법(Lowry *et al* 1951)으로 측정하였다.

11. 통계 처리

분석은 3회 반복으로 행하였으며, 실험 동물 7마리에 대한 평균치와 표준편차로 나타내었다. 유의성 검증은 SPSS (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software package program을 이용하여 Duncan's multiple range test를 행하였다.

결과 및 고찰

1. α -Glucosidase 저해활성과 내당능

α -Glucosidase는 소장 내에서 이당류 또는 올리고당을 단당류로 분해하는데 관여하는 효소로 그 작용을 저해함으로써 식후 혈당의 상승과 insulin의 소모를 억제할 수 있어 제 2형 당뇨병 치료제로 널리 활용되고 있다(Yamato & Otuski 2006). 뽕잎에 함유된 deoxynojirimycin은 α -glucosidase의 활성을 저해시킴으로써 혈당 강하 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Chae *et al* 2003, Kim *et al* 1999). 꾸지뽕잎차에서도 α -glucosidase 저해활성이 나타나는지를 조사하기 위하여 건조

한 생꾸지뽕잎과 볶음 꾸지뽕잎차 및 발효 꾸지뽕잎차의 ethanol 추출물에 대한 저해 활성을 조사하였다(Fig. 1). α -Glucosidase 저해 활성은 모든 시료의 70% ethanol 추출물에서 비교적 높은 저해 활성이 나타났으며, 첨가 농도가 높아질수록 저해 활성도 병행하여 높아지는 경향을 나타내었다. 추출물의 농도가 20 mg/mL일 때의 저해 활성은 RT 69.1%, PT 54.6%, FT 92.5%로 발효차가 생잎이나 볶음차보다 높았으며 볶음차는 생잎보다 낮은 저해활성을 나타내었다.

한편, 꾸지뽕잎차의 70% ethanol 추출물이 내당능에 미치는 영향을 조사한 결과(Fig. 1), DM군에서는 360분까지 혈당이 400 mg/dL 이상으로 당 부하가 지속되었으나, DM-P 및 DM-F군에서는 60분 이후부터 혈당이 감소하기 시작하여 180분 후에는 투여 전의 수준으로 감소하였다. 내당능은 체장의 내분비 기능을 진단하는 한 방법(Kim *et al* 1999)으로 당을 부하시킨 후 일정시간 동안에 정상혈당을 회복하는 능력을 확인하는 것으로 볶음차와 발효차 모두 내당능이 높음을 나타내며, 발효차가 볶음차에 비하여 다소 높은 내당능을 나타내었다.

2. 체중 증가량, 식이 섭취량, 식이효율 및 음용수 섭취량

꾸지뽕잎차의 식이가 당뇨 유발 흰쥐의 체중 증가량, 식이 섭취량, 식이효율 및 음용수 섭취량에 미치는 영향을 조사

하기 위하여 NC, DM, DM-P 및 DM-F 군으로 구분하여 5주간 사육한 결과는 Table 2와 같다. DM-P 및 DM-F군의 1일 체중 증가량은 NC군에는 미치지 못하나, DM군에 비하여는 유의적으로 높았으며, 식이 섭취량과 음용수 섭취량도 DM군에 비하여 감소하였고, 식이효율도 DM군에 비하여 다소 개선되는 경향을 보였다. STZ는 췌장 내 β -세포를 선택적으로 파괴함으로써 insulin의 합성이 저하되며, 이로 인해 초래되는 당 대사의 불균형, 체지방의 과잉 분해 및 체단백의 지속적인 소실은 체중 감소(Odaka & Matsuo 1992)와 당뇨의 대표적인 현상인 다식, 다음, 당뇨의 3다 현상이 나타난다 (Park *et al* 2002).

3. 장기 중량

STZ에 의한 당뇨쥐에서는 insulin의 분비가 감소되면서 당 대사의 불균형을 초래하며 면역 기능이 저하되고(Grey *et al* 1975), 간장, 신장 및 심장이 비대한다(Mogensen & Anderson 1973, Heaton KW 1973, Seyer-Hansen K 1973). 당뇨 유발 후 실험식으로 5주간 사육한 흰쥐의 체중 100 g당의 장기중량을 비교해 본 결과(Table 3), 당뇨유발군(DM, DM-P, DM-F)은 NC군에 비해 간장, 신장 및 심장의 중량이 유의적으로 증가하였다. 각 당뇨군 간의 유의적인 차이는 나타나지 않았으나, DM군에 비하여 DM-P 및 DM-F군은 모든 장기의 중량이 낮은 값을 나타내어 당뇨로 인한 장기의 비대현상이 다

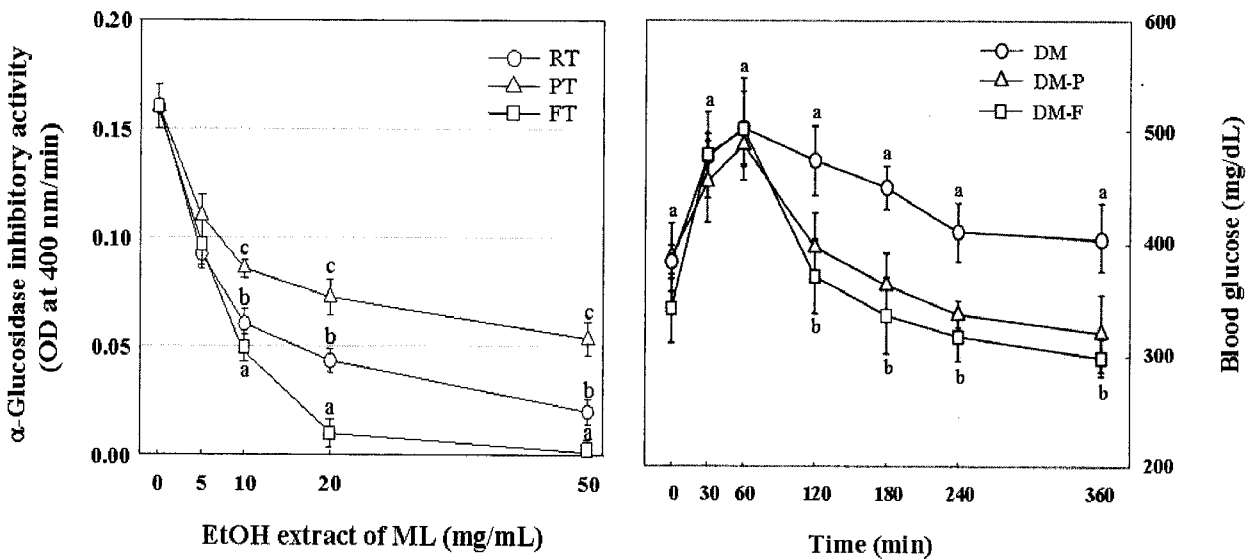


Fig. 1. α -Glucosidase inhibitory activity(left figure) and oral glucose tolerance of ethanol extracts(right figure) of pan-fired and fermented leaves tea.

Abbreviations: RT; dried raw leaves, PT; pan-fired leaves tea, FT; fermented leaves tea, DM; diabetic control, DM-P; 70% ethanol extracts of pan-fired leaves tea administrated group after 50 glucose administration in diabetic rats, DM-F; 70% ethanol extracts of fermented leaves tea administrated group after 50 glucose administration in diabetic rats.

Values are mean±SD of triplicate determinations. Different superscripts(a~c) indicate significant differences($p < 0.05$).

Table 2. Effect of pan-fired and fermented leaves teas on the weight gain, feed intake, FER and water intakes in STZ-induced diabetic rats fed for 5 weeks

Groups ¹⁾	Weight gain (g/day)	Feed intakes (g/day/100 g BW)	FER ²⁾	Water intakes (mL/day/100 g BW)
NC	6.07±0.97 ^{a,3)}	7.14±0.37 ^c	0.252±0.05 ^a	8.90±1.75 ^c
DM	0.06±0.13 ^c	19.54±0.96 ^a	0.002±0.00 ^c	126.57±4.89 ^a
DM-P	0.49±0.21 ^b	18.63±0.82 ^a	0.012±0.05 ^b	118.02±3.57 ^b
DM-F	0.57±0.21 ^b	16.23±1.08 ^b	0.016±0.06 ^b	113.77±4.35 ^b

¹⁾ Abbreviations: NC; normal control, DM; diabetic control, DM-P; diet with 3% pan-fired leaves tea after diabetic induction, DM-F; diet with 3% fermented leaves tea after diabetic induction.
²⁾ Feed efficiency ratio: daily weight gain/daily feed intake.
³⁾ Values are mean±SD of 7 rats. Different superscripts within a column(a~c) indicate significant differences(*p*<0.05).

소 완화되었다.

4. 혈당 및 혈청 Fructosamine 함량

당뇨 유발 후 실험식이로 5주간 사육하는 동안의 혈당 변화와 5주째의 혈청 fructosamine 함량을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 혈당은 NC군에서는 109.0~104.4 mg/dL 범위를

Table 3. Effect of pan-fired and fermented leaves teas on the organ weight per body weight in STZ-induced diabetic rats fed for 5 weeks (g/100 g BW)

Groups ¹⁾	Liver	Kidney	Heart
NC	2.65±0.16 ^{b,2)}	0.62±0.06 ^b	0.29±0.02 ^b
DM	4.71±0.34 ^a	1.54±0.22 ^a	0.40±0.03 ^a
DM-P	4.61±0.42 ^a	1.51±0.19 ^a	0.39±0.04 ^a
DM-F	4.59±0.77 ^a	1.48±0.22 ^a	0.36±0.04 ^a

¹⁾ Abbreviations: NC; normal control, DM; diabetic control, DM-P; diet with 3% pan-fired leaves tea after diabetic induction, DM-F; diet with 3% fermented leaves tea after diabetic induction.
²⁾ Values are mean±SD of 7 rats. Different superscripts within a column(a,b) indicate significant differences(*p*<0.05).

유지하였으나, 당뇨유발군(DM, DM-P, DM-F)은 실험식이 직 전에는 499.7~503.2 mg/dL을 나타내었다. 그러나 DM-P 및 DM-F군은 3주째부터 낮아지기 시작하여 5주째는 364.4 및 300.8 mg/dL을 나타내었으며, 각각 DM군에 비하여 22.1 및 35.7%가 감소하였다. 이러한 결과는 Yoo와 Rhee(2002)의 당뇨쥐에 YK-209 빵잎 분말을 첨가한 식이로 3주간 급여하였을 때의 혈당 감소를 22~25%와 비교하여 대등하거나 다소 높은 혈당 감소를 나타내었다. 혈청 fructosamine 함량(ΔOD/mL of serum)도 NC군에서는 0.07이었으나, DM군에서는

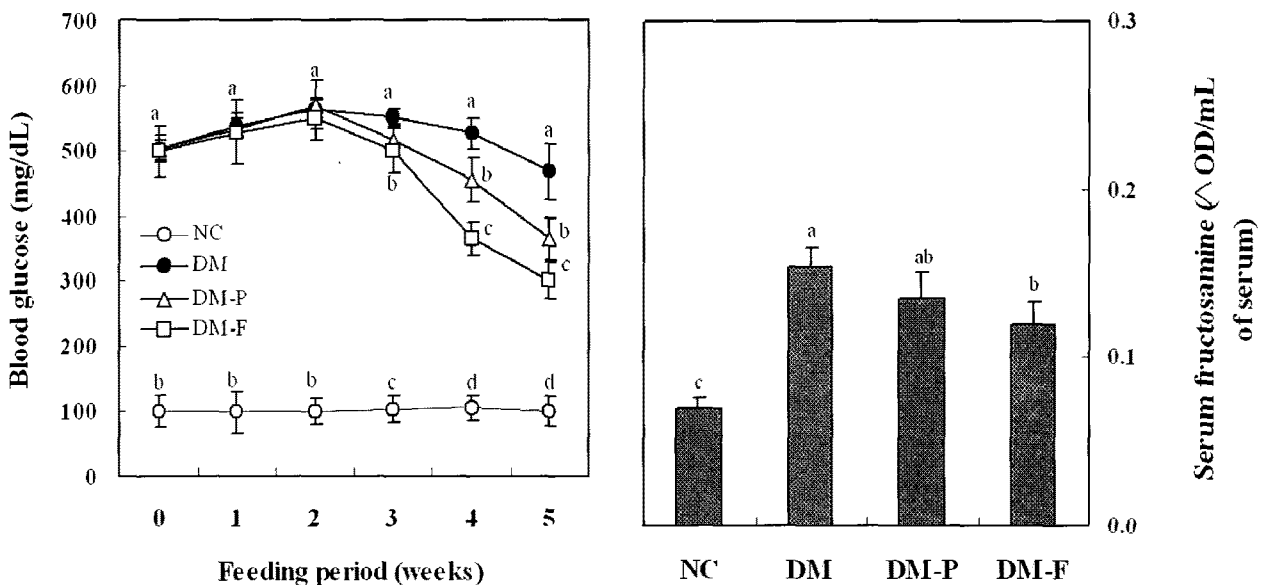


Fig. 2. Effect of pan-fired and fermented leaves tea on the level of blood glucose and serum fructosamine in STZ-induced diabetic rats during feeding or fed for 5 weeks.

Abbreviations: NC; normal control, DM; diabetic control, DM-P; diet with 3% pan-fired leaves tea after diabetic induction, DM-F; diet with 3% fermented leaves tea after diabetic induction.
 Values are mean±SD of 7 rats. Different superscripts(a~d) within a column indicate significant differences(*p*<0.05).

0.15로 크게 증가한 반면, DM-P 및 DM-F군에서는 각각 0.14 및 0.12로 DM군에 비해 6.7 및 20.0%가 감소하였다.

당뇨병에서는 glucose나 fructose와 같은 환원성 당류의 일부가 energy 대사 경로로 이행되지 못하고 단백질과 glycation 함으로서 advanced glycation end products(AGEs)로 명명되는 당화 단백질을 형성함으로써 2차적인 장기 조직의 기능 손상을 일으킨다(Berrone *et al* 2006). 따라서 당뇨병에서 나타나는 고혈당의 조절 정도는 혈액 내 glycohemoglobin(HbA1c) 또는 혈청 fructosamine의 함량 변화를 관찰함으로써 판단할 수 있다(Pinnel & Northam 1978, Demetriou JA 1978). 그러나 혈중 glycohemoglobin의 수준을 평가하는 것은 hemoglobin의 life cycle이 약 3개월 정도가 되므로 6주 이전의 혈당 조절을 반영(Demetriou JA 1978)하는 반면 혈청 fructosamine은 2~3주의 혈당 조절 정도를 반영한다(Kaplan *et al* 1988, Jones *et al* 1983). 본 실험의 식이기간이 5주인 점을 고려하여 혈청 fructosamine을 측정하였을 때 꾸지뽕 추출물 투여군 모두에서 혈당 감소와 유사하게 나타나고 있어 항당뇨 효과에 기인된 것으로 생각되나, 꾸지뽕 추출물이 당화 단백질의 생성을 직접적으로 저해하여 나타난 가능성을 배제할 수 없다.

5. 혈청지질 함량

당뇨 유발 후 실험식으로 5주간 사육한 흰쥐의 혈청 triglyceride, total cholesterol, HDL-cholesterol 및 LDL-cholesterol 함량을 조사한 결과는 Table 4와 같다. Triglyceride 함량은 DM군이 169.56 mg/dL로 NC군의 80.59 mg/dL에 비해 약 2.1배 증가하였으나 DM-P 및 DM-F군은 127.40 mg/dL와 123.55 mg/dL로 DM군에 비해 각각 24.86%와 27.14%가 감소하였다. Total cholesterol 함량은 DM군이 176.25 mg/dL로 NC군의 133.04 mg/dL에 비해 유의적으로 증가하였으나, DM-P군

은 148.22 mg/dL, DM-F군은 145.58 mg/dL로 DM군에 비해 각각 15.9 및 17.4%가 감소하였다. HDL-cholesterol 함량은 DM군이 52.54 mg/dL로 NC군의 77.75 mg/dL에 비해 유의적으로 감소하였으며, DM-P 및 DM-F군은 각각 63.33 및 65.59 mg/dL로 NC군에 수준에 미치지 못하는 반면, DM군에 비해 각각 20.54 및 24.84%가 증가하였다. LDL-cholesterol 함량은 HDL-cholesterol 함량과 반대로 DM군이 89.80 mg/dL로 NC군의 39.16 mg/dL에 비해 유의적으로 증가하였으나, DM-P군 59.41 mg/dL, DM-F군 55.28 mg/dL로 DM군에 비해 각각 33.8 및 38.4% 감소하였다. 동맥경화지수는 DM-P와 DM-F군에서 유의적으로 낮았으나, DM-P와 DM-F간의 유의차는 없었다. 이러한 결과는 Hong 등(2002)이 당뇨쥐의 혈청 지질 조성에 미치는 YK-209 뽕잎의 영향을 조사한 결과와 Kim 등(1998b)이 고콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐의 혈청 지질 조성에 미치는 뽕잎 methanol 추출물의 영향을 조사한 결과와 유사하다. 이상의 결과들로 미루어 볼 때, 꾸지뽕잎차의 식이가 STZ로 유발한 당뇨쥐의 혈청 지질 조성을 개선하는 효과가 있는 것으로 생각되며, 이는 뽕잎에 함유된 quercetin, kaempferol, chlorogenic acid, arthocarpesin, caffeic acid 등 polyphenol계 화합물(Kim *et al* 1998a)과 관련이 있는 것으로 생각된다.

이상의 모든 실험 결과들을 종합해 볼 때, 발효 꾸지뽕잎차와 덩음 꾸지뽕잎차의 첨가 식이에 의해 STZ로 유발시킨 당뇨흰쥐에서의 혈당 감소의 정확한 기전은 알 수가 없으나, 발효 꾸지뽕잎차와 덩음 꾸지뽕잎차에 함유된 항 당뇨 성분 및 항산화 성분에 의해 혈당 저하와 더불어 당화 단백질의 생성 감소 혹은 억제를 통하여 고혈당에 의해 나타날 수 있는 합병증 관련 조직 손상의 경감 혹은 예방을 위한 새로운 항 당뇨 건강 기능성 식품 및 의약품 개발을 위한 기초 자료를 제시할 수 있을 것으로 생각되며, 항당뇨 및 항산화 성분과 기

Table 4. Effect of pan-fired and fermented leaves on the level of serum lipids in STZ-induced diabetic rats for 5 weeks

Measurements	Experimental groups ¹⁾			
	NC	DM	DM-P	DM-F
Triglyceride(mg/dL)	80.59±21.97 ^{c,4)}	169.56±30.87 ^a	127.40±15.05 ^b	123.55±25.96 ^b
Total cholesterol(mg/dL)	133.04±12.84 ^b	176.25±14.72 ^a	148.22±9.09 ^b	145.58±16.61 ^b
HDL cholesterol(mg/dL)	77.75±11.22 ^a	52.54±17.34 ^b	63.33±19.78 ^{ab}	65.59±17.23 ^{ab}
LDL cholesterol(mg/dL) ²⁾	39.16±19.98 ^b	89.80±17.29 ^a	59.41±16.24 ^b	55.28±27.53 ^b
Atherosclerotic index ³⁾	1.75± 0.35 ^b	3.67± 1.29 ^a	2.53± 0.75 ^b	2.37± 0.76 ^b

¹⁾ Abbreviations: NC; normal control, DM; diabetic control, DM-P; diet with 3% pan-fired leaves tea after diabetic induction, DM-F; diet with 3% fermented leaves tea after diabetic induction.

²⁾ LDL cholesterol = Total cholesterol - HDL-cholesterol - (triglyceride/5).

³⁾ Total cholesterol / HDL-cholesterol.

⁴⁾ Values are means±SD of 7 rats. Different superscripts within a row(a~c) indicate significant differences($p<0.05$).

전 구멍을 위한 계속적인 연구를 계획하고 있다.

요 약

꾸지뽕잎으로 제조한 뒤음차(PM)와 발효차(FM)의 α -glucosidase 저해활성과 경구 내당성 및 streptozotocin(STZ)으로 유발한 고혈당 쥐의 혈당, fructosamine 및 혈청 지질 함량에 미치는 영향을 조사하였다. 70% ethanol 추출물(20 mg/mL)의 α -glucosidase 저해 활성은 FM 92.5%, RM 54.6%, 건조꾸지뽕잎(RM) 69.1%였다. 경구 내당성을 조사한 결과, 고혈당 대조군은 360분까지 혈당의 감소가 없었으나 PM 및 FM을 투여한 군에서는 투여 후 60분부터 감소하여 120분 후에는 정상군 수준으로 회복되었다. 당노 유발 후 동결 건조한 차분말을 3% 혼합한 식이로 5주간 사육한 결과, PM 및 FM 투여군은 고혈당 대조군에 비하여 다음과 같은 효과가 있었다. 체중 증가량, 식이효율은 유의적으로 높았으며, 식이 및 음용수 섭취량은 각각 12.9~16.9% 및 6.8~10.1%가 감소하였다. 혈당과 fructosamine 함량은 각각 27.3~39.8% 및 6.7~20.0%가 감소하였다. 혈청중성지질, total cholesterol 및 LDL-cholesterol 함량은 각각 24.9~27.1%, 15.9~17.4% 및 33.8~38.4% 감소하였다. HDL-cholesterol 함량은 20.5~24.8%가 증가하였다. 이러한 효과는 PM보다 FM이 다소 양호하였다. 이상의 결과, 꾸지뽕잎차의 항당뇨 효과는 α -glucosidase 저해 활성과 더불어 고혈당에 기인된 혈청 지질의 변화를 저해함으로써 나타난 것으로 생각되나 보다 구체적인 mechanism에 대하여 앞으로의 연구가 요망된다.

감사의 글

본 연구는 한국학술진흥재단의 “2006년 문제해결형인력 양성지원사업”에 의한 연구 결과이며, 이에 감사드립니다.

문 헌

- Berrone E, Beltramo E, Solimine C, Ape AU, Porta M (2006) Regulation of intracellular glucose and polyol pathway by thiamine and benfotiamine in vascular cells cultured in high glucose. *J Biol Chem* 281(14): 9307-9313.
- Cha JY, Kim HJ, Chung CH, Cho YS (1999) Antioxidative activities and contents of polyphenolic compounds of *Cudrania tricuspidata*. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 28: 1310-1315.
- Cha JY, Kim HJ, Cho YS (2000) Effect of water extract of leaves from *Morus alba* and *Cudraia tricuspidata* on the lipid concentration of serum and liver in rat. *J Kor Soc Agric Chem Biotechnol* 43: 303-308.
- Chae JY, Lee JY, Hoang IS, Whangbo D, Choi PW, Lee WC, Kim JW, Kim SY, Choi SW, Rhee SJ (2003) Analysis of functional components of leaves of different mulberry cultivars. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 32: 15-21.
- Cho BL (2004) Chemical components of mulberry tea and application for food processing. *MS thesis* Jinju National University, Jinju.
- Choi OJ, Choi KH (2003) The physicochemical properties of Korean wild teas (green tea, semi fermented tea, and black tea) according to degree of fermentation. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 32: 356-362.
- Choi OJ, Rhee HJ, Choi KH (2005) Antimicrobial activity of korean wild tea extract according to the degree of fermentation. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 34(2): 148-157.
- Demetriou JA (1987) Glycosylated proteins. "Methods in clinical chemistry" (Pesce AJ, Kaplan LA eds). Mosby Co, Washington DC, USA. pp 113-123.
- Doi K, Kojima T, Fujimoto Y (2000) Mulberry leaf extract inhibits the oxidative modification of rabbit and human low density lipoprotein. *Biol Pharm Bull* 23: 1066-1071.
- Grey NJ, Karls I, Kipnis DM (1975) Physiological mechanism in the development of starvation ketosis in man. *Diabetes* 24: 10-14.
- Heaton KW (1973) Food fiber as an obstacle to energy intake. *Lancet* 2: 1418-1421.
- Hong JH, Park MR, Rhee SJ (2002) Effects of YK-209 mulberry leaves on HMG-CoA reductase and lipid composition of liver in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 31(5): 826-833.
- Jeon IJ (2004) Antioxidative components of mulberry(*Cudrania tricuspidata*) leaves. *MS Thesis* Jungang University, Seoul.
- Jones IR, Owens DR, Williams S, Ryder RE, Birtwell AJ, Jones MK, Gicheru K, Hayes TM (1983) Glycosylated serum albumin: an intermediate index of diabetic control. *Diabetes Care* 6(5): 501-503.
- Kang DG, Hur TY, Lee GM, Oh HC, Kwon TO, Sohn EJ, Lee HS (2002) Effects of *Cudrania tricuspidata* water extract on blood pressure and renal functions in No-dependent hypertension. *Life Sci* 70: 2599-2609.
- Kaplan A, Szabo LL, Opheim KE (1988) Clinical chemistry: Interpretation and techniques 3th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, USA. pp 295.
- Kawasumi M, Tanaka Y, Uchino H, Shimizu T, Tamura Y, Sato F, Mita T, Watada H, Sakai K, Hirose T, Kawamori

- R (2006) Strict glyceemic control ameliorates the increase of carotid IMT in patients with type 2 diabetes. *Endocr J* 53(1): 45-50.
- Kim MS, Choue RW, Chung SH, Koo SJ (1998a) Blood glucose lowering effects of mulberry leaves and silkworm extracts on mice fed with high carbohydrate diet. *Kor J Nutr* 31: 117-121.
- Kim SY, Lee WC, Kim HB, Kim AJ, Kim SK (1998b) Anti-hyperlipidemic effects of methanol extracts from mulberry leaves in cholesterol induced hyperlipidemia in rats. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 27: 1217-1222.
- Kim SY, Ryu KS, Lee WC, Ku HO, Lee HS, Lee KR (1999) Hypoglycemic effect of mulberry leaves with anaerobic treatment in alloxan-induced diabetic mice. *Kor J Pharmacogn* 30(2): 123-129.
- Kimura M, Chen F, Nakashima N, Kimura I, Asano N, Koya S (1995) Antihyperglycemic effect of N-containing sugars derived from mulberry leaves in streptozotocin induced diabetic mice. *J Trad Med* 12: 214-219.
- Kondo Y (1957) Trace constituents of mulberry leaves. *Nippon Sanshigaku Zasshi* 26: 349-352.
- Lee IK, Kim CJ, Song KS, Kim HM, Koshino H, Uramoto M, Yoo ID (1996) Cytotoxic benzyldihydroflavonols from *Cudrania tricuspidata*. *Phytochem* 41: 213-216.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RL (1951) Protein measurement folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
- Mogensen CE, Anderson MJF (1973) Increased kidney size and glomerular filtration rate early juvenile diabetes. *Diabetes* 22: 706-712.
- Odaka H, Matsuo T (1992) Ameliorating effects of an intestinal disaccharidase inhibitor, AO-128, in streptozotocin-diabetic rats. *Jpn Food Sci Nutr* 45: 33-38.
- Ottersen T, Vance B, Doorenbos NJ, Chang BL, El-Feraly FS (1977) The crystal structure of cudranone, 2,6,3'-trihydroxy-4-methoxy-2'-(3-methyl-2-butenyl)-I, a new antimicrobial agent from *Cudrania chochinensis*. *Acta Chem Scand B* 31: 434-436.
- Park JH, Kim YO, Jung JM, Seo JB (2006) Effect on quality of pan-fired green tea at different pan-firing conditions. *J Bio-Env Con* 15(1): 90-95.
- Park KS, Lee DE, Sung JH, Chung SH (2002) Comparisons of antidiabetic effect of *Panax ginseng* on MLD STZ-induced diabetic rats in terms of time of administration. *J Ginseng Res* 26: 191-195.
- Pinnell AE, Northam BE (1978) New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromocresol purple. *Clin Chem* 24(1): 80-86.
- Reaven JW (1987) Impact of diabetes on mortality after the first myocardial infraction. the Finmonica myocardial infraction register study group. *Am J Med* 83: 31-40.
- Song UI (2000) Illustrated book of medical plants. Medical Plant Experiment Station of Agricultural Research Center in Gyeongbuk, Dongamunhwasa, Seoul, Korea. p 120.
- Seyer-Hansen K (1973) Renal hypertrophy in streptozotocin-diabetic rats. *Clin Sci Mol Med* 51: 551-555.
- Xu HW, Dai GF, Liu GZ, Wang JF, Liu HM (2007) Synthesis of andrographolide derivatives: A new family of α -glucosidase inhibitors. *Bioorgan Med Chem* 15: 4247-4255.
- Yamamoto M, Otsuki M (2006) Effect of inhibition of α -glucosidase on age-related glucose intolerance and pancreatic atrophy in rats. *Metabolism* 55: 533-540.
- Yoo SK, Rhee SJ (2002) Effects of YK-209 mulberry leaves on antioxidative defense system of liver in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 31(6): 1065-1070.

(2008년 6월 3일 접수, 2008년 7월 7일 채택)