

혈당저하를 위해 처방된 천연물 복합제의 항산화 활성 및 3T3-L1 세포의 분화에 미치는 영향

김정옥¹ · 김정배² · 김학윤^{2,*}

경북대학교 식품공학과, ¹(재)대구경북한방산업진흥원, ²계명대학교 환경대학

Anti-oxidative activity of the herb mixture prescribed to induce blood glucose level and effect on the differentiation of 3T3-L1 fibroblast

Jung-Ok Kim¹, Jeung-Bea Kim² and Hak-Yoon Kim^{2,*}

Department of Food Science & Technology, Kyungpook National University, Daegu, 702-701, Korea

¹Daegu Gyeongbuk Institute for Oriental Medicine Industry, Gyeongsan, Gyeongbuk 712-210, Korea

²Faculty of Environmental Studies, Keimyung University, Daegu, 704-701, Korea

Abstract

We prepared five different kinds of herb mixtures prescribed for hypoglycemic effect. And the physicochemical properties of their water extracts were assessed to identify functional materials. Yields were in the range 19.52~29.79%. Total phenolics and flavonoid contents were 349.24~1,752.21 mg% and 163.06~1,118.47 mg%, respectively, and herb mixtures No. 2, 3 and 5 showed particularly high levels greater than 1,000 mg%. Electron-donating ability was best in herb mixtures showing high levels of total phenolics and flavonoids. Nitrite-scavenging abilities were more than 70% in herb mixtures No. 2 and 5, and decreased as pH increased. Herb mixture extracts strongly inhibited differentiation of 3T3-L1 fibroblasts, with potencies ranked in the herb mixture order 5, 1, 4, 3, and 2. The five different kinds of herb mixtures prescribed for their hypoglycemic effects may be useful as functional food materials.

Key words : herb mixture, total phenolics, total flavonoid, electron donating ability, nitrite scavenging ability, 3T3-L1

서 론

현대인은 가공식품과 동물성 식품의 섭취 증가에 따른 식물성 식품 섭취의 감소로 인해 동맥경화, 고혈압, 당뇨병 및 비만 등의 성인병 문제에 심각하게 직면하고 있으며, 그 중 당뇨병의 유병률은 세계적으로 급속히 증가하는 추세를 보여 중대한 문제로 대두되고 있다(1,2).

당뇨병(Diabetes mellitus)은 자가면역 기전에 의해서 췌장에 있는 Langerhans 섬의 β -cell이 파괴되어 insulin의 생리적 기능이 충분하지 못할 때 나타나는 증상으로 insulin과 glucagon의 분비 상태가 교란되어 생체내 대사 조절 기능의 장애에 의한 만성 대사성 질환이 발생되며, 이로 인해 혈중

중성지방 및 LDL-콜레스테롤, 지질과산화물의 증가와 HDL-콜레스테롤의 감소 등에 의하여 지질대사 이상과 함께 모세혈관의 상피세포막이 두꺼워져 심장순환기계 질환(coronary heart disease, CHD) 등 많은 합병증 유발이 문제시 되고 있는 고혈당이 특징인 질환이다(3,4).

당뇨병은 일반적으로 insulin 의존형인 제1형 당뇨병과 insulin 비의존형인 제2형 당뇨병으로 분류된다. 제1형 당뇨병은 insulin이 절대적으로 부족한 상태로 당뇨병성 케톤산증이 발생하여 혼수에 빠지게 되는 질환으로 유전적 요인, virus 감염 및 자가 면역기전 등이 상호작용하여 췌장의 β -세포가 파괴되어 발생하는 질환이며, 제2형 당뇨병은 전체 당뇨병의 대부분을 차지하고, insulin 생산량은 혈당 수준의 상대적 부족에 의한 질환으로 유전적 감수성, 비만증, 고혈압 등과 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있다(5,6).

*Corresponding author. E-mail : hykim@kmu.ac.kr,
Phone : 82-53-580-5918, Fax : 82-53-580-5385

당뇨병 치료의 1차적인 목적은 혈당강하에 있다. 현재 혈당상승 예방을 위하여 사용되고 있는 경구 혈당강하제에는 탄수화물의 소화를 제한하여 식후 고혈당을 예방하는 α -glucosidase 저해제(acarbose, miglitol 등), 인슐린 분비를 촉진하는 약제(sulfonylurea계), 인슐린 감수성을 촉진시키며 hepatic glucose output을 감소시키는 약제(metformin 및 thiazolidinedione계) 등이 있다(7-9). 그러나 이들 혈당강하제는 젖산 축적의 위험성, 신부전 증상의 악화, 간독성, haemodilution, 체중 증가 등의 부작용을 나타내는 위험요소를 포함하고 있어 장기복용에 따른 부작용의 위험성을 해소할 수 있는 혈당강하 소재의 개발이 절실한 실정이다(10-12). 이러한 현실에 발맞추어 국내뿐 아니라 일본 및 미국을 중심으로 선진국에서도 천연물로부터 혈당강하 소재를 개발하기 위한 연구가 활발히 진행 중이다(13,14).

우리나라를 비롯한 동양권에서 오랜 기간 동안 질병 치료와 예방의 목적으로 사용되어온 전통적인 천연물은 식물의 2차 대사산물이 가지는 생리활성 효과를 이용하는 천연재료로, 경험적인 선택 및 이용을 통해 인체에 대한 안전성은 대체로 검증된 것들이라 할 수 있다(15). 하지만 시간이 흘러 산업화에 따른 자원고갈 및 서양문화의 급속한 팽창으로 인하여 전통적인 천연물의 사용은 갈수록 위축되어 왔다. 다만 그러한 와중에서도 최근 국민소득 증가에 의한 웰빙개념 및 성인병과 난치병 해결을 위한 대체의학에 대한 관심이 증가하여 천연물 의약품이 다시금 각광을 받고 있다. 국민경제의 규모가 확대되고 삶의 질이 증진됨에 따라 건강에 대한 관심이 고조되었고, 자양강장 및 무병장수를 추구하고자 하는 인구의 증대로 천연물 의약품은 물론 전통적인 천연물을 이용한 건강기능식품이라는 새로운 분야를 만드는 계기를 가져왔다(16,17).

전통적으로 한국, 중국, 일본과 같은 아시아의 국가에서는 생약을 처방함에 있어서 그들의 기능을 강화하거나 보조하여 효능을 증대시키거나, 억제 또는 길항작용을 통하여 독성 및 부작용을 감소시키기 위하여 복합물의 형태로 많이 사용하여 왔다(14,18,19) 그러나 이처럼 천연물 소재가 널리 사용되고 있음에도 불구하고 이에 대한 연구는 약리 효과를 중심으로 한 연구가 주종을 이루고 있는 실정이다. 이러한 점에서 천연물 자체를 기능성 식품의 소재로 가공하는 방법이나 함유된 생리활성 물질을 추출하여 목적 지향적 소재로 이용하는 방법에 대한 연구가 수행될 필요가 있다.

이에 본 연구에서는 혈당저하 효과가 우수할 것으로 사료되는 천연물 복합제를 한의학적 처방 및 문헌을 토대로 구성하고, 이화학적 품질 특성 연구를 통하여 기능성 식품 소재로 개발 가능성을 검토하기 위한 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에서는 혈당조절을 위하여 한의학 처방 및 문헌을 근거로 하여 5가지의 천연물 복합제를 구성하여 실험재료로 사용하였으며(Table 1), 시료는 (주)옵니허브(영천, 한국)에서 구입하였다. 각각의 천연물 복합제에 증류수 700 mL를 첨가

Table 1. The composition of five herb mixtures prescribed for hypoglycemic effect

| No. | Component | Content (g) |
|-----|---|-------------------|
| 1 | <i>Nelumbo nucifera</i> (연자육) | 6.0 ¹⁾ |
| | <i>Codonopsis pilosula</i> (당삼) | 6.0 |
| | <i>Rehmanniae Radix</i> Preparat (숙지황) | 6.0 |
| | <i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer (홍삼) | 6.0 |
| | <i>Morus alba</i> (장삼자) | 6.0 |
| | <i>Polygonatum falcatum</i> A. (황정) | 6.0 |
| | <i>Paeonia lactiflora</i> Pall. (백작약) | 6.0 |
| | <i>Astragalus membranaceus</i> Bunge (황기) | 9.0 |
| | <i>Polygonatum falcatum</i> A. (황정) | 6.0 |
| | <i>Rhemanniae Radix</i> Crudus (생지황) | 6.0 |
| 2 | <i>Salvia miltriorrhiza</i> Bunge (단삼) | 6.0 |
| | <i>Pueraria thunbergiana</i> (갈근) | 3.0 |
| | <i>Glycyrrhiza glabra</i> L. (감초) | 1.2 |
| | <i>Cnidium officinale</i> Makino (천궁) | 3.0 |
| | <i>Paeonia albiflora</i> (적작약) | 3.0 |
| 3 | <i>Salvia miltriorrhiza</i> Bunge (단삼) | 6.0 |
| | <i>Liriope muscarl</i> Bailey (맥문동) | 2.0 |
| | <i>Schizandra chiensis</i> Baillon (오미자) | 2.0 |
| | <i>Pueraria thunbergiana</i> (갈근) | 2.0 |
| 4 | <i>Rehmanniae Radix</i> Preparat (숙지황) | 9.0 |
| | <i>Liriope muscarl</i> Bailey (맥문동) | 9.0 |
| | <i>Cornus officinalis</i> sieb. (산수유) | 3.6 |
| | <i>Schizandra chiensis</i> Baillon (오미자) | 1.8 |
| 5 | <i>Cinnamomum cassia</i> (계피) | 1.8 |
| | Pollen (화분) | 4.0 |
| | <i>Ganoderma lucidum</i> (영지) | 4.0 |
| | <i>Polygala tenuifolia</i> L. (원지) | 4.0 |
| | <i>Rehmanniae Radix</i> Preparat (숙지황) | 4.0 |
| | <i>Cuscuta japonica</i> Chois. (토사자) | 4.0 |
| | <i>Cnidium officinale</i> Makino (천궁) | 4.0 |
| | <i>Rubus coreanus</i> Miquel (복분자) | 4.0 |
| | <i>Dioscorea batatas</i> Decaisne (산약) | 4.0 |

¹⁾Daily intakes is two times of cited above.

하고 환류냉각추출 장치를 이용하여 95°C에서 150분간 가열하여 추출하였다. 추출액은 Whatman No. 2 여과지를 이용하여 감압 여과한 후 본 실험의 시료로 사용하였다.

수율 측정

수율은 함량을 구한 수기에 추출액 10 mL를 취하여 105°C에서 증발시킨 후 그 무게를 측정하였으며, 추출액 조제에 사용된 원료 양의 백분율로 나타내었다.

총페놀성 화합물 및 총 플라보노이드 함량 측정

총페놀성 화합물 함량은 Folin-Denis 법(20)에 의해 비색 정량하였다. 즉, 시료 1 mL에 Folin-reagent 1 mL를 가하여 3분간 정치한 후 10% Na₂CO₃ 1 mL를 혼합하고 1시간 실온에서 방치하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 tannic acid (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 이용하여 작성하였다.

총플라보노이드 함량은 Davis 변법(21)을 이용하였다. 시료 용액 1 mL에 diethylene glycol 10 mL 및 1 N NaOH 1 mL를 가하고 잘 혼합한 후 30°C에서 1시간 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 검량곡선은 naringin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 이용하여 작성하였다.

전자공여능 측정

전자공여능은 α,α'-diphenyl-β-picrylhydrazyl (DPPH)을 사용한 방법으로 측정하였다(22). 즉, DPPH 시약 12 mg을 absolute ethanol 100 mL에 용해한 후 50% ethanol 용액을 첨가하여 DPPH 용액의 흡광도를 517 nm에서 약 1.0으로 조정한 후 추출액 0.5 mL에 DPPH 용액 5 mL를 혼합하여 흡광도를 측정하고 아래와 같이 계산하였다.

$$\text{전자공여능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

아질산염 소거능 측정

추출물 및 용매 분획물이 발암성 nitrosamine 생성의 전구 물질인 아질산염을 소거하거나 또는 분해하는 작용을 알아보기 위하여 Kato 등(23)과 Kim 등(24)의 방법에 따라 1 mM NaNO₂ 용액 1 mL에 시료 용액 1 mL를 첨가하고, 0.1 N HCl (pH 1.2)과 0.2 M 구연산완충용액(pH 3.0 및 6.0)을 사용하여 반응용액의 pH를 각각 1.2, 3.0 및 6.0으로 조정한 다음 총량을 10 mL로 하였다. 이를 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 다음 1 mL를 취하여 여기에 2% 초산 용액을 5 mL 첨가하고 Griss 시약(30% 초산으로 1% sulfanilic acid 와 1% naphthylamine을 각각 조제하여 1:1의 비율로 사용직 전 혼합한 것) 0.4 mL를 가하여 실온에서 15분간 방치한 후 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염의

양을 산출하였다. 대조구는 시료 대신 증류수를 1 mL 가하여 상기와 같은 방법으로 실시하였고, 아질산염 소거능은 추출액을 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우의 아질산염 백분율(%)로 나타내었다.

$$\text{아질산염 소거능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

인슐린성 물질 탐색

실험에 사용된 3T3-L1 세포(preadipocyte)는 ATCC에서 구입하여 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)에 10% calf serum, 50 U/mL penicillin, 50 µg/mL streptomycin 과 함께 37°C, 5% CO₂ 세포 배양기에 배양하였다. 3T3-L1 세포를 phosphate buffer saline (PBS)용액으로 씻어준 후 5×10⁴ cells/mL을 12 well-flat plate에 배양하였다. 48시간 후 10% fetal bovine serum (FBS)이 첨가된 medium에 0.5 mM dexamethasone (DEXA), 10 mg/mL insulin, 1 µM 1-methyl-3-isobutyl xanthine (IBMX)을 48시간 처리하였다. 그 후 6일 동안 이들에 한번씩 10% FBS가 첨가된 medium에 10 µg/mL의 insulin과 시료를 처리하였다.

3T3-L1 세포의 분화는 역상현미경으로 관찰하여 세포내에 밝은 색의 작은 지방과립의 형성이 생기는 것으로 확인하였고 세포의 분화 정도는 Oil red O로 염색하여 측정하였다(25). Oil red O stock solution (500 mg Oil red O를 60% triethyl-phosphate 100 mL에 녹임)을 녹여 여과한 후 용액 12 mL를 취하고 여기에 8 mL의 증류수를 첨가하여 실험에 이용하였다. 세포배양 8일 후 분화된 세포를 관찰하기 위해 10% formaldehyde처리 후 1시간 동안 고정시켰다. PBS로 두 번 세척하여 건조시킨 후 1 mL Oil red O solution을 처리하여 3시간 동안 염색하였다. PBS로 두 번 세척하여 건조시킨 후 isopropanol을 처리하고 세척 후 추출된 염료액을 모아 microplate reader (Beckman Coulter, Inc., Miami, FL, USA) 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

수 율

혈당저하를 위한 천연물 복합제 5가지에 대한 추출물의 수율 측정 결과 19.52~29.79% 범위로 보여주었고, 특히 천연물복합제 4번에서 29.79%로 가장 높은 수율을 나타내었다(Fig. 1). 이러한 결과는 한약재가 품종, 사용부위 등에 따라 추출 수율이 다른 것에 기인하는 것으로 사료된다.

총페놀성 화합물 및 총 플라보노이드 함량

페놀성 물질은 2차 대사산물의 하나로 식물체에 널리 분포되어 있으며 다양한 구조와 분자량을 가진다. 이들은

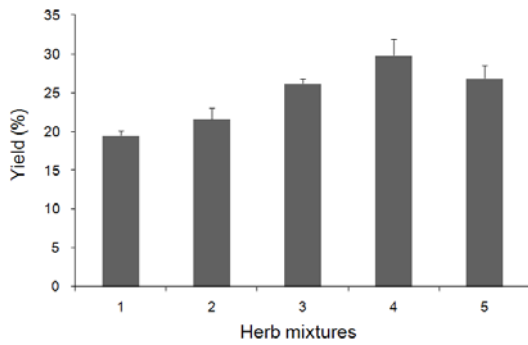


Fig. 1. Total yield of water extracts from five herb mixtures prescribed for hypoglycemic effect.

The abbreviations are the same as in Table 1. All values are mean±SD of triplicate determinations.

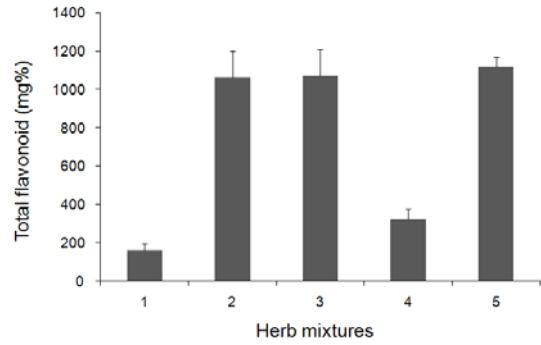


Fig. 3. Total flavonoid content of water extracts from five herb mixtures prescribed for hypoglycemic effect

The abbreviations are the same as in Table 1. All values are mean±SD of triplicate determinations.

phenolic hydroxyl기를 가지므로 단백질 및 거대분자들과 쉽게 결합하여 항암 및 항산화 활성과 같은 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(26,27). 혈당저하를 위한 천연물 복합제 5가지에 대한 총페놀성 화합물 함량을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 추출물에 대한 총페놀성 화합물 함량은 349.24~1752.21 mg% 범위를 나타내었고, 특히 2번 및 3번 복합제에서 1700 mg% 이상의 높은 함량을 나타내었다. 천연물 복합제 5가지에 대한 총플라보노이드 함량 측정 결과는 Fig. 3과 같다. 플라보노이드 함량은 163.06~1,118.47 mg% 범위를 나타내었고, 2, 3 및 5번 복합제에서 1,000 mg% 이상의 높은 함량을 나타내었다. Hyun 등(28)은 제주 자생식물의 총페놀성 화합물 함량을 조사한 결과 이질풀, 아그베나무, 자금우, 쑥신나물, 사람주나무의 70% 메탄올 추출물이 각각 281.8, 268.0, 261.6, 259.6, 245.6 mg/g의 높은 함량을 나타낸다고 보고하였다. 국내에서 시판되는 다류 중 홍차, 인삼차, 녹차, 한차의 폴리페놀 함량은 각각 101.51, 28.30, 94.90, 95.81 µg/mg이고, 플라보노이드 함량은 각각 16.75, 3.29, 6.72, 6.06 µg/mg로 보고되었다(29). 이들 결과와 비교해 볼 때 본 실험에서 사용된 5가지 천연물 복합제의 경우 비교적 많은 페놀성 화합물을 함유하고 있는 것으로 나타나 복합제로의 사용은 우수한 항산화제로서 이용가치가 높을 것으로 사료된다.

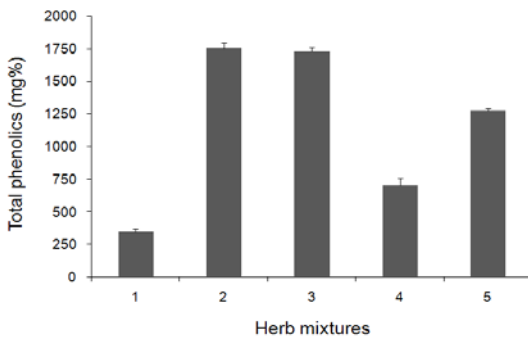


Fig. 2. Total phenolics of water extracts from five herb mixtures prescribed for hypoglycemic effect

The abbreviations are the same as in Table 1. All values are mean±SD of triplicate determinations.

전자공여능

전자공여능을 측정하는 방법에는 여러 가지가 있으나 그 중에서 DPPH가 항산화물질에 의해 탈색되는 원리를 이용하는 방법은 비교적 간단하면서도 대량으로 측정이 가능한 방법이다. 전자공여능은 활성 라디칼에 전자를 공여하여 지방질 산화를 억제시키는 척도로 사용되고 있을 뿐만 아니라 인체 내에서 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 작용의 척도로도 이용되고 있다(30). 천연물복합제 5가지 추출물에 대한 전자공여능의 경우 37.89~88.05% 범위의 활성을 나타내었고, 천연물복합제 2번이 78.23% 및 5번이 88.05%로 높은 활성을 나타내었다(Fig. 4). 한편 이와 같은 항산화 작용은 천연물의 플라보노이드와 페놀화합물이 중요한 역할을 하는 것으로 추정되었다. Kang 등(31)은 전자공여능은 phenolic acid류 가운데 hydroxybenzoic acids 중에서는 gallic acid가 높게 나타났으며, flavonoids에서는 (+)catechin이 전자공여능이 뛰어난 것으로 나타났다. 또한 tannic acid를 포함한 기타 페놀성 화합물에 있어서도 높은 전자공여능을 나타낸다고 하였다. Lee 등(32)은 보고에서 항산화 성분 함량과 free radical 소거능이 폴리페놀 함량에 비례하여 활성이 증가한다고 하였으며, Chung(33)

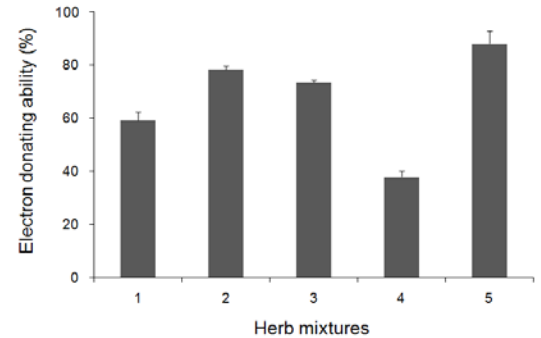


Fig. 4. Electron donating ability of water extracts from five herb mixtures prescribed for hypoglycemic effect

The abbreviations are the same as in Table 1. All values are mean±SD of triplicate determinations.

도 다류 에탄올 추출물의 항산화능은 전자공여능 뿐만 아니라 총페놀성 물질함량과도 밀접한 관계가 있다고 보고하여 이러한 결과를 뒷받침하였다.

아질산염 소거능

천연물복합제 5가지에 대한 아질산염 소거능은 Table 2와 같다. pH 1.2의 경우 44.43~84.28% 범위의 활성을 보여 주었고, pH 4.2 및 6.0의 경우 16% 이하의 낮은 활성을 나타내었다. 특히 2번 및 5번은 pH 1.2에서 70% 이상의 높은 활성을 보여주었다. 아질산염 소거능은 pH 1.2에서 가장 높았으며, pH에 의존적인 활성을 나타내었는데, 이러한 결과는 Kang 등(31)이 각종 phenol성 화합물을 농도별로 제조한 후 아질산염 소거능을 여러 pH 조건에서 측정 한 결과 pH 1.2에서 가장 높은 활성을 나타내었으며, pH가 증가할수록 감소하였다는 보고와 일치하였다. 아질산염은 식품의 가공 및 저장, 특히 수산물이나 식육제품에 첨가하여 독소생성억제와 발색, 산패방지제로 널리 이용되지만, 그 자체가 독성을 나타내어 과량 섭취 시 혈액중의 헤모글로빈이 산화되어 methemoglobin을 형성하여 methemoglobin 증 등 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있으며, 아민류와 아질산염이 반응하면 발암성 물질인 nitrosamine을 생성하는데 이 과정은 pH가 낮은 조건에서 쉽게 일어나는 것으로 알려져 있다(34,35). 이상의 결과에 의하면 천연물 복합제의 아질산염 소거능은 인체의 위내 pH 조건과 비슷한 pH 1.2에서 우수한 활성을 나타내어 인체에 안전한 천연물로서 기능성 식품 소재로 이용이 가능하리라 생각된다.

Table 2. Nitrite scavenging ability of water extracts from five herb mixtures prescribed for hypoglycemic effect

| Samples ¹⁾ | Nitrite scavenging ability (%) ²⁾ | | |
|-----------------------|--|-------------------------|-------------------------|
| | pH 1.2 | pH 4.2 | pH 6.0 |
| 1 | 57.01±2.83 ^d | 15.57±1.27 ^a | 11.26±1.63 ^a |
| 2 | 72.66±0.85 ^b | 5.34±0.73 ^b | 6.56±0.67 ^b |
| 3 | 60.25±1.55 ^c | 6.87±1.30 ^b | 4.92±1.21 ^c |
| 4 | 44.43±0.96 ^c | 1.21±0.18 ^c | 2.95±0.37 ^d |
| 5 | 84.28±1.69 ^a | 6.29±0.84 ^b | 5.94±0.72 ^{bc} |

¹⁾The abbreviations are the same as in Table 1.

²⁾All values are mean±SD of triplicate determinations and those with different letters (a-e) are significantly different at p<0.05.

인슐린성 물질 탐색

동·식물에서 생산하는 이차대사물이 체내에서 인슐린과 같은 작용을 하는 것이 있음이 확인되어 이에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 전지방세포(pre adipocyte)인 3T3-L1 세포는 생물학적 특성이 잘 밝혀져 있고, 적절한 조건하에서 배양하면 지방세포로 분화하는 성질을 가지고 있어 지방세포의 대사과정에 있어 지방분해 억제 혹은 합성

연구에 사용하고 있다(36,37). 인슐린성 물질은 인슐린의 화학적 구조는 아니지만 체내에서 인슐린처럼 행동하는 물질로서 지방합성을 촉진시키던지 지방분해를 억제하는 역할에 깊게 관여하고 있는 특성을 가지고 있는데, 3T3-L1 전지방세포는 인슐린과 같은 유도물질의 존재 하에서는 효소활성을 급격히 증가시켜 3T3-L1 전지방세포를 분화시킨다. Sekiya와 Zheng(38)은 약용 인삼 추출물이 3T3-L1 전지방세포의 분화를 촉진시켜 항당뇨 활성에 관여하고 있음으로 보고하였고, Broadhust 등(39)은 허브 및 약용식물에서 3T3-L1 섬유아세포를 모델로 인슐린성 물질의 존재를 보고하였다. Ju와 Ko(40)는 3T3-L1 지방세포 모델을 이용하여 동의보감의 소갈처방에서 사용하고 있는 한약재 중에서 인슐린성 물질을 탐색한 결과 마황, 과루인, 현삼, 고삼 추출물이 인슐린성 물질이 함유되어 있을 가능성이 높다고 보고하였다. 본 실험에서는 유도 분화물질에서 인슐린이 중요한 역할을 하므로 섬유아세포 3T3-L1에 천연물 복합제 추출물을 각각 10 µg/mL의 농도로 처리하였을 때 지방세포로의 분화정도를 측정하였다. Fig. 5에서 보는 바와 같이 천연물복합제 5, 1, 4, 3, 2의 순으로 지방세포로의 전환을 증가시키는 경향을 나타내었으며, 모두 120% 이상의 지방세포 분화능을 나타내어 인슐린성 물질로 작용하는 물질이 다량 함유되어 있음을 알 수 있었다.

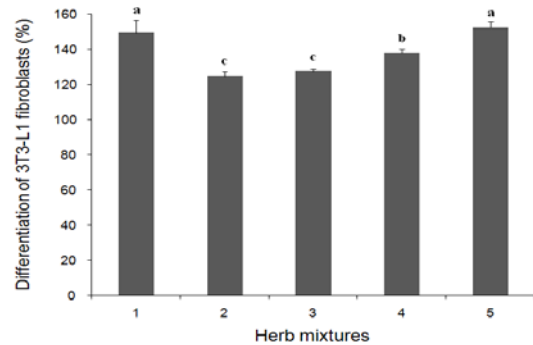


Fig. 5. Effects on the differentiation of 3T3-L1 fibroblasts of water extracts from five herb mixtures prescribed for hypoglycemic effect

The abbreviations are the same as in Table 1.

All values are mean±SD of triplicate determinations and those with different letters (a-c) are significantly different at p<0.05.

요 약

혈당저하를 위한 천연물복합제를 한의학 처방 및 문헌 등을 기초로 하여 구성하고, 기능성 식품 소재로서의 이용 가능성을 조사하기 위하여 추출물의 이화학적 특성을 조사하였다. 천연물복합제 5가지 추출물의 수율은 19.52~29.79%의 범위로 나타났으며, 총페놀성 화합물 함량은 349.24~1752.21 mg%, 총 플라보노이드 함량은 163.06~1,118.47 mg%의 범위로 조사되었다. 특히 2번, 3번 및 5번

복합제에서 1,000 mg% 이상의 높은 함량을 나타내었으며, 전자공여능 또한 이들 복합제에서 높은 활성을 보여주었다. 아질산염 소거능은 2번 및 5번 천연물복합제가 pH 1.2에서 70% 이상의 높은 활성을 보여주었으며, pH가 증가할수록 감소하였다. 인슐린성 물질의 함유정도를 조사하기 위하여 섬유아세포 3T3-L1의 지방세포로의 분화정도를 측정된 결과, 천연물복합제 5가지 추출물 중 5, 1, 4, 3, 2번의 순으로 높은 값을 나타내었다. 한편 이들 천연물복합제의 기능성 식품으로 이용 가능성을 검증하기 위한 추가적인 생리활성 및 효능 연구를 진행할 필요성이 있다고 판단된다.

참고문헌

- King, H., Aubert, R.E. and Herman, W.H. (1998) Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care*, 21, 1414-1431
- Stratton, I.M., Adler, A.I., Neil, H.A., Matthews, D.R., Manley, S.E., Cull, C.A., Hadden, D., Turner, R.C. and Holman, R.R. (2000) Association of glycaemia with macrovascular and macrovascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *Br. Med. J.*, 321, 405-412
- Leahy, J.L. (2005) Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Arch. Med. Res.*, 36, 197-209
- Georg, P. and Ludvik, B. (2000) Lipids and diabetes. *J. Clin. Basic Cardiol.*, 3, 159-162
- Bottini, N., Vang, T., Cucca, F. and Mustelin, T. (2006) Role of PTPN22 in type 1 diabetes and other autoimmune diseases. *Semin. Immunol.*, 18, 207-213
- Warren, R.E. (2004) The stepwise approach to the management of type 2 diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 65, 53-58
- Schmidit, D.D., Frommer, W., Junge, B., Muller, L., Wingender, W., Truscheit, E. and Schäfer, D. (1977) alpha-Glucosidase inhibitors. New complex oligosaccharides of microbial origin. *Naturwissenschaften*, 64, 535-536
- Standl, E., Baumgartl, H.J., Fuchtenbusch, M. and Stempler, J. (1999) Effect of acarbose on additional insulin therapy in type 2 diabetic patients with late failure of sulphonylurea therapy. *Diabetes Obes. Metab.*, 1, 215-220
- Park, K.J., Oh, Y.J., Lee, S.Y., Kim, H.S. and Ha, H.C. (2007) Anti-diabetic effect of crude polysaccharides from *Grifola frondosa* in KK-Ay diabetic mouse and 3T3-L1 adipocyte. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 39, 330-335
- Marles, R. and Farnsworth, N. (1995) Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine*, 2, 137-165
- Yeh, G.Y., Eisenberg, D.M., Kaptchuk, T.J. and Phillips, R.S. (2003) Systematic review of herbs and dietary supplements for glycemic control in diabetes. *Diabetes Care*, 26, 1277-1294
- Cheng, A.Y. and Fantus, I.G. (2005) Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Can. Med. Assoc. J.*, 172, 213-226
- Matsui, T., Yoshimoto, C., Osajima, K., Oki, T., Osajima, Y., Oki, T. and Osajima, Y. (1996) In vitro survey of α -glucosidase inhibitory food components. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 60, 2019-2022
- Bansky, D. and Barolet, R. (1990) Chinese Herbal Medicine Formulas and Strategies. Eastland Press, Seattle, p. 7-8
- Kim, J.G., Kang, Y.M., Eum, G.S., Ko, Y.M. and Kim, T.Y. (2003) Antioxidative activity and antimicrobial activity of extracts from medicinal plants. *J. Agri. Life Sci.*, 37, 69-75
- Goleberg, I. (1994) Functional foods. Chapman & Hall Press. New York. USA. p. 350-550
- Sadaki, O. (1996) The development of functional foods and material. *Bio-industry*, 13, 44-50
- Seog, H.M., Jung, C.H., Kim, Y.S. and Park, H.S. (2005) Phenolic acids and antioxidant activities of wild ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) leaves. *Food Sci. Biotechnol.*, 14, 371-374
- Chan, K. (1995) Progress in traditional Chinese medicine. *Trends Pharmacol. Sci.*, 16, 182-187
- Amerin, M.A. and Ough, C.S. (1958) Method for Analysis of Musts and Win. Wiley & Sons, New York. p. 176-180
- Lee, J.M., Son, E.S., Oh, S.S. and Han, D.S. (2001) Contents of total flavonoid and biological activities of edible plants. *Korean J. Dietary Culture*, 16, 504-514
- Blois, M.S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200
- Kato, H., Lee, I.E., Chyuen, N.V., Kim, S.B. and Hayase, F. (1987) Inhibitory of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric. Biol. Chem.*, 51, 1333-1338
- Kim, D.S., Ahn, B.W., Yeum, D.M., Lee, D.H., Kim, S.B. and Park, Y.H. (1987) Degradation of carcinogenic nitrosamine formation factor by natural food components-1. Nitrite-scavenging effects of vegetable

- extracts. *Bull. Korean Fish. Soc.*, 20, 463-468
25. Dennis, J.E. and Caplan, A.I. (1996). Differentiation potential of conditionally immortalized mesenchymal progenitor cells from adult marrow of H-2Kb-tsA58 transgenic mouse. *J. Cell Physiol.*, 167, 523-538
 26. Kim, H.J., Jun, B.S., Kim, S.K., Cha, J.Y. and Cho, Y.S. (2000) Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 29, 1127-1132
 27. Whang, H.J., Han, W.S., Yoon, K.R. (2001) Quantitative analysis of total phenolic content in apple. *Anal. Sci. Technol.*, 14, 377-383
 28. Hyun, S.H., Jung, S.K., Jwa, M.K., Song, C.K., Kim, J.H. and Lim, S.B. (2007) Screening of antioxidants and cosmeceuticals from natural plant resources in Jeju Island. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 39, 200-208
 29. Choi, Y.M., Kim, M.H., Shin, J.J., Park, J.M. and Lee, J.S. (2003) The antioxidant activities of the some commercial teas. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 32, 723-727
 30. Choi, J.H. and Oh, S.K. (1985) Studies on the anti-ging of Korean Ginseng. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 17, 506-515
 31. Kang, Y.H., Park, Y.K. and Lee, G.D. (1996) The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 28, 232-239
 32. Lee, S.O., Lee, H.J., Yu, M.H., Im, H.G. and Lee, I.S. (2005) Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung Island. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 37, 233-240
 33. Chung, H.J. (1999) Antioxidative effect of ethanolic extracts of some tea materials on red pepper seed oil. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 28, 1316-1320
 34. Hotchkiss, J.H. (1998) A review of current literature on N-nitroso compounds in foods. *Adv. Food Res.*, 31, 54-115
 35. Macrae, R., Robinson, R.K. and Sadler, M.J. (1993) *Encyclopedia of food science food technology and nutrition.* Academic press, New York, USA. p. 3240-3249
 36. Haugen, F., Zahid, N., Dalen, K.T., Hollung, K., Nebb, H.I. and Drevon, C.A. (2005) Resistin expression in 3T3-L1 adipocytes is reduced by arachidonic acid. *J. Lipid Res.*, 46, 143-153
 37. Tenney, R., Stansfield, K. and Pekala, P.H. (2005) Interleukin 11 signaling in 3T3-L1 adipocytes. *J. Cell Physiol.*, 202, 160-166
 38. Seika, K. and Zheng, Y. (1997) Effect of medical plant on peradipocyte differentiation. *J. Traditional Med.*, 14, 356-357
 39. Broadhurst, C.L., Polansky, M.M. and Anderson, R.A. (2000) Insulin-like biological activity of culinary and medicinal plant aqueous extracts in vitro. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 849-852
 40. Ju, Y.S. and Ko, B.S. (2002) Screening of insulin-like substances from traditional herbs if diabetes prescription in Donguibogam. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.*, 45, 47-52

(접수 2008년 9월 16일, 채택 2009년 1월 9일)