

흑삼(구증구포인삼)이 혈당 강하에 미치는 영향 및 증포별 ginsenoside 조성 변화

김성년* · 강신정¹

식품의약품안전청 식품안전국 식품관리과, ¹중부대학교 한약자원학과

Effects of Black Ginseng (9 Times-Steaming Ginseng) on Hypoglycemic Action and Changes in the Composition of Ginsenosides on the Steaming Process

Suong-Nuen Kim* and Shin-Jyung Kang¹

Food Safety Bureau Food Management Division, KFDA

¹Department of Oriental Medicine Resources, Joongbu University

Abstract This study examined the effects of black ginseng (9 times-steamed ginseng) on hypoglycemic action in streptozotocin-induced diabetic rats as well as changes in ginsenoside composition by the steaming process. As the number of steaming cycles increased, the amounts of crude saponin and most ginsenoside contents decreased, while the amount of ginsenoside-Rg3 and the ratio of PD/PT ($= [Rb_1 + Rb_2 + Rc + Rd + Rg_3] / [Re + Rg_1 + Rh_1]$) increased. This ginsenoside composition is a unique characteristic compared to other types of ginseng products. In order to investigate the hypoglycemic effect of the black ginseng extract, *in vivo* studies were performed in rats with streptozotocin-induced diabetes. The studies showed that the administration of the black ginseng extract decreased high blood glucose levels (more than 300 mg/dL) to a normal level (102 mg/dL). These results suggest that this black ginseng extract has a significant hypoglycemic effect and can be used as an anti-diabetic substance for dietary supplements or new drugs.

Key words: black ginseng, hypoglycemic action, ginsenoside, diabetes

서 론

인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 한의학적으로 주로 기허(氣虛)에 사용하는 중요한 보기약(補氣藥)중의 하나이며, 중국을 비롯한 우리나라의 많은 한방의서에서 체력증강, 소화기, 신경, 대사, 순환기 계통 등의 기능조절을 위한 단·복 처방의 구성생약으로 기재되어 있다(1,2).

원형삼류 가공인삼은 발에서 채취한 상태의 생인삼(수삼)을 원료로 하여 제조·가공하는 방법에 따라 백삼, 태극삼, 홍삼 등 3종류로 분류된다. 이러한 가공인삼은 수치법을 달리함으로써 주요 약효 성분인 인삼사포닌(ginsenoside)의 종류와 함량이 달라진다. Kitagawa(3)나 Shoji(4)는 인삼가공의 수치법에 따른 주요 유효성분의 변화를 조사한 연구에서 그 함량과 조성이 다양하게 변화한다는 것을 밝혔다. 지금까지 홍삼과 백삼으로부터 분리한 ginsenosides는 각각 32종 및 24종이 밝혀져 있고, 최근에는 인삼 가공법이 발전함에 따라 백삼이나 홍삼 중 일반 ginsenosides를 특정 기능을 갖는 ginsenoside로 구조를 전환 시킬 수 있는 물리적(5), 화학적(6), 생물학적 처리방법(7) 등이 개발되고 있다. 한방에서는 오래 전부터 당뇨병 치료에 인삼이 이용되어 왔으며, 당뇨병 환자를 위한 복합방제의 구성생약 중에는 인삼이 주성분으

로 주요한 역할을 하는 약재로 인정되고 있다(8-10). 인삼의 당뇨병에 대한 효능연구는 약 70년 전부터 시작되었으며 그간의 여러 비임상적 실험연구를 통해 인삼이 당대사 조절과 고혈당을 억제하는 항당뇨 효과가 있음이 확인되었다(11-14). 또한 당뇨병 환자를 대상으로 한 임상연구를 통하여 고려홍삼 복용이 당대사 조절 효과와 당뇨병에 수반되는 각종 자가증세에 대한 개선효과가 보고되었으며(15,16), 당뇨치료약과 홍삼의 병용 시 치료의 상승 효과 및 합병증 방지 등의 유용성을 확인한 결과 그 효능이 입증되어 당뇨치료 및 합병증 예방의 보조 요법제로서 활용 가능성이 높아지고 있다(10,17). 본 논문에서는 흑삼의 유용성과 기능성 평가 연구의 일환으로 항당뇨 기능성식품이나 의약품 원료로 사용하기 위한 소재 개발 등의 목적으로 혈당조절기능성 시험을 수행하였는데, 먼저 혈당조절기능을 확인하기에 앞서 흑삼의 증포별 ginsenoside 조성 변화를 분석하여 홍삼 등 다른 가공삼과의 비교되는 흑삼만의 특징을 규정하고자 하였고, *in vivo* 실험을 통하여 흑삼추출물의 혈당조절효과, 혈중 insulin농도변화 및 당대사 관련 효소들의 활성에 미치는 영향을 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에서 사용한 흑삼은 금산지역에서 재배된 6년근 수삼으로서 금산 수삼센터에서 구입하여 세척한 후, 특수 제작한 시루에서 증기로 쪄 다음 열풍 건조기를 이용하여 50°C에서 24시간 건조하기를 9회 반복하여 제조한 (주)비엘(Geumsan, Korea)의 흑삼제품을 구입하여 사용하였다. 또한, 증포별 성분의 변화는 1포에서 9포까지 증포별로 구분된 증삼을 시험재료로 사용하였으

*Corresponding author: Suong-Nuen Kim, Food Safety Bureau Food Management Division, Korea Food and Drug Administration, Seoul 122-704, Korea
Tel: 82-2-380-1633
Fax: 82-2-352-9445
E-mail: sn1111@kfda.go.kr
Received November 25, 2008; revised December 22, 2008; accepted December 26, 2008

며, 항당뇨 효능 연구재료는 9포의 흑삼을 사용하였다. 구입한 흑삼은 분쇄기로 분쇄를 하여 100 mesh sieve를 통과한 부드러운 분말(이하 흑삼분말)을 이화학적 성분분석 시료 및 흑삼추출물 추출재료로 사용하였다. 흑삼의 항당뇨 실험용 동물은 Sprague Dawley(몸무게 150-170 g)계 rat를 (주)오리엔트 바이오(Seongnam, Korea)에서 구입하여 사용하였다. Methanol, isopropanol, acetonitrile 등 HPLC/MS 분석에 사용된 용매는 J. T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA) 제품을, ginsenosides 표준품 8종(Rg₁, Re, Rb₁, Rc, Rb₂, Rd, Rg₂, Rh₁)은 Wako(Osaka, Japan) 제품을 사용하고, α -glucosidase 등 효소활성실험에서 사용된 각종 효소 및 시약은 Sigma (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

흑삼추출물 제조

흑삼추출물 제조를 위하여 흑삼분말 500 g과 80% ethanol 5 L를 10 L 플라스크에 취한 후 환류냉각기를 부착하여 맨덜히터에 설치하고 50°C에서 12시간 교반 추출한 다음 Whatman No. 1 여지로 여과 하여 그 여액을 모았다(1차 추출물). 추출액을 분리한 흑삼잔류물에 50%(v/v) ethanol 4 L를 가하고 80±5°C에서 10시간 동안 재 추출하여 1차 추출과정과 동일하게 여과한 후 추출액을 분리하였다(2차 추출물). 2차 추출과정을 1회 더 반복하고(3차 추출물), 마지막으로 증류수 2.5 L를 가하여 90±5°C에서 8시간 동안 추출하여 여과하였다(4차 추출물). 1차에서 4차 추출과정을 경유하여 분리한 추출액을 합쳐서 60°C 이하에서 감압 농축 한 후 speed vacuum concentrator(Savant SC 100A, Holbrook, NY, USA)를 이용하여 건조 분말화함으로써 실험용 시료로 사용하였다.

흑삼의 증포별 ginsenoside 정량분석

Ginsenoside의 분석은 Li와 Fitzloff 방법(18,19) 및 Povovich와 Kitts 방법(20)에 준하여 수행하였다. 흑삼분말 0.5 g을 250 mL 추출 용기에 넣고, methanol 50 mL 첨가 후 50°C 수욕조에서 20분간 추출하였다. 추출용액은 3,000 rpm에서 원심분리 후 상등액을 회수하여 0.4 μ m membrane filter로 여과한 후, 50°C에서 감압 농축하였다. 감압 농축 잔류물을 methanol 1 mL에 용해시켜 HPLC/MSD(Alliance 2690, Waters, Milford, MA, USA)로 분석하였다.

동물사육 및 당뇨 유도

당대사 조절 실험에 필요한 동물의 사육은 Joo 등의 방법(11-13)에 준하여 수행하였다. 본 실험에 사용한 실험동물은 4주령 Sprague Dawley계 수컷 흰쥐를 (주)오리엔트 바이오에서 구입하고, 1주일간 사육하여 안정화 시킨 후 250-300 g 정도 되는 건강한 쥐들을 선별 5마리씩 그룹화 하여 정상대조군(control group), streptozotocin 당뇨병 유발군(STZ group), STZ 당뇨병 유발 후 흑삼추출물을 투여한 STZ+흑삼추출물투여군(STZ + BG group)으로 구분하여 동물실험을 수행하였다. STZ group과 STZ + BG group에 사용할 쥐는 다음의 방법으로 당뇨병을 유발시켜 실험에 사용하였는데, 5 mM citrate buffer(pH 4.5)에 녹인 streptozotocin(50 mg/kg body weight)을 쥐의 복강에 1회 주사하여 췌장의 β 세포를 파괴시켜 insulin 결핍의 영구당뇨(insulin dependent diabetes mellitus: IDDM)를 유도하였다. 사육 6일째 16시간 절식 후 꼬리 정맥에서 혈액을 채취하여 혈당을 검사하고, 혈당치가 240 mg/dL 이상인 쥐만을 실험동물로 선별하였다. Control group은 5 mM citrate buffer(pH 4.5)만을 동일한 방법으로 쥐에게 주사하고 사육 후, 측정된 혈당치가 70-110 mg/dL 범위의 개체를 선별하였다. STZ+BG group은 STZ 주사 후 사육 7일째 흑삼추출물을 1 g/L

의 농도로 물에 녹여 5 mg/kg body weight용량을 catheter로 매일 1회씩 경구 투여하면서 3주간 사육하였다. Control group과 STZ group은 흑삼추출물 대신 동일부피의 주사용 멸균 증류수를 매일 경구투여 하면서 3주간 사육하였다. 사육은 screen-bottomed cage 내에서 수행하고 환경조건으로 온도와 습도는 각각 20-25°C, 50-60%를 유지하고 명암은 12시간 간격으로 점등 및 소등을 반복하였다.

혈액 채취 및 간의 효소원 추출

실험군을 16시간 절식 후, 채혈한 혈액을 3,000 rpm, 4°C에서 15분간 원심분리한 혈청을 혈당과 insulin 측정에 사용하였다. 간은 적출 전에 간 문맥에 0.9%(w/v) NaCl 용액을 주사하여 혈액을 제거한 다음 적출하였으며, 면도칼로 다진 후 Teflon-pestle Wheaton Elvehjem(Samsung PMC, Daegu, Korea)으로 조직을 파쇄하고 100 mM Tris/HCl, 5 mM EDTA, 10 mM β -mercaptoethanol을 함유한 150 mM KCl 용액(pH 7.4)을 사용하여 20%(w/v) 조직 파쇄액을 제조하였다. 파쇄액은 10,000×g에서 15분간 원심 분리하여 cell debris, 핵, 미토콘드리아를 제거하고 상등액을 취하여 효소원으로 사용하였다.

혈청의 glucose 측정

Glucose는 glucose oxidase와 peroxidase의 짝지은 효소반응을 이용하여 생성된 산화형 o-dianisidine의 흡광도를 425 nm에서 측정하여 정량하였다(11-13). 표준곡선은 25-150 mg% 농도의 glucose 표준용액을 제조하여 작도하고, 혈청은 같은 부피의 10%(w/v) TCA로 처리하여 원심분리 후 변성된 단백질을 침전물을 제거한 상등액의 glucose를 정량하였다.

혈청의 insulin 농도 측정

혈청의 insulin 농도는 ¹²⁵I-insulin kit(Shibayagi, Shibukawa, Japan)를 이용하여 radioimmuno assay를 수행하였다. 혈청시료 0.2 mL와 anti-insulin 0.2 mL를 시험관에 넣고 0.2 mL insulin-¹²⁵I를 처리하여 37°C에서 1시간 동안 방치하였으며, secondary antibody 0.1 mL를 넣고 섞은 후 상온에서 1시간 반응 직후 2,500 rpm에서 15분간 원심분리하여 얻은 침전물의 방사능을 gamma counter를 사용하여 측정하였다. 2.5-100 μ LTU/mL insulin 표준용액으로 표준곡선을 작도하고 모든 실험은 2회 반복하여 insulin 농도를 산출하였다.

간의 효소활성 측정

Glucokinase의 활성을 측정하기 위해 반응생성물인 glucose-6-phosphate가 glucose-6-phosphate dehydrogenase에 의해 산화될 때 생성되는 NADPH 양을 340 nm에서의 흡광도로 측정하였는데, 50 mM Tris-HCl buffer(pH 7.5), 100 mM glucose, 5 mM MgCl₂, 5 mM ATP, 0.1 mM NADP⁺ 및 glucose-6-phosphate dehydrogenase가 0.2 unit이 되도록 조성하였다. Glucose-6-phosphate에 glucose-6-phosphatase가 반응할 때 생성되는 인산을 정량함으로써 간의 glucose-6-phosphatase 효소활성을 측정하였으며, 6-phosphogluconate dehydrogenase 효소활성은 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.6), 10 mM MgCl₂, 1 mM NADP⁺, 5 mM 6-phosphogluconate 등으로 구성된 반응액을 사용하여 측정하였다. pH 7.6에서 glucose-6-phosphate를 기질로 사용하였을 때 측정되는 효소활성은 glucose-6-phosphate dehydrogenase와 6-phosphogluconate dehydrogenase의 효소활성 총합이다. 따라서, glucose-6-phosphate dehydrogenase 효소활성은 두 효소의 전체 활성과 6-phosphogluconate dehydrogenase의 효소활성의 차이값으로 산출하였다. Acetyl CoA carboxylase

의 활성 측정을 위해 50 mM Tris/HCl(pH 7.5), 10 mM sodium citrate, 10 mM MgCl₂, 0.5 mg/mL BSA, 3.75 mM glutathione (reduced), 3.75 mM ATP, 0.125 mM acetyl CoA, 12.5 mM NaH¹⁴CO₃ 농도가 되도록 조성하고 효소원을 가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 5 N HCl을 0.2 mL가하여 반응을 중지시켰다. 이를 5,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 상등액을 scintillation vial에 옮긴 후, 85°C로 가온하여 60분간 건조시켜, 1 mL의 증류수에 녹이고 cocktail solution(PPO 10 g, POPOP 0.25 g, naphthalene 100 g, dioxane 1 L) 10 mL를 가한 후 tricarb liquid scintillation counter로 방사능을 측정하여 acetyl CoA 에 전이된 ¹⁴CO₂ 및 생성된 malonyl CoA를 측정함으로써 acetyl CoA carboxylase 효소 활성을 정량하였다.

통계분석

모든 결과는 측정치의 평균과 표준오차로 표시하였고 유의성 검정은 Student's t-test, 분산분석(ANOVA) 및 다중범위검정(Duncan's multiple range test)을 사용하여 5% 수준에서 그 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

흑삼의 증포별 ginsenoside 조성 변화

흑삼의 ginsenoside 조성을 분석하여 증포별 조사포닌(Fig. 1) 및 ginsenoside(Table 1)의 함량을 나타내었는데, 조사포닌의 함량은 1포에서 가장 높은 52 mg/g을 보였고, 증포 횟수가 많아질수록 함량이 점차적으로 줄어들어 최종적으로 9포에서는 1포의 42% 수준인 22 mg/g을 나타냈다. 이 결과로부터 인삼의 증포 횟수가 증가함에 따라 사포닌은 분해 및 소실됨을 알 수 있었다. 특이한 것은 4포와 5포 사이에서는 사포닌의 함량이 급격히 감소했는데, 이는 4포에서 5포 단계는 홍삼단계에서 흑삼단계로 넘어가는 시점이며, 흑색화가 시작될 때 많은 양의 사포닌이 분해 소실되는 것으로 판단되었다.

증포별 흑삼의 ginsenoside 조성을 HPLC/MSD를 이용하여 분석한 결과, ginsenoside-Rg₃, ginsenoside-Re, ginsenoside-Rb₁, ginsenoside-Rc, ginsenoside-Rb₂, 및 ginsenoside-Rd는 전반적으로 함량이 줄어

가는 경향을 보였고, 이러한 경향은 증포별 조사포닌 함량 변화 경향과 일치하고 있다. 이 결과로부터 증포횟수를 높일수록 조사포닌 함량이 감소하는 원인이 ginsenoside-Rg₃, ginsenoside-Re, ginsenoside-Rb₁, ginsenoside-Rc, ginsenoside-Rb₂, 및 ginsenoside-Rd의 감소에 기인하는 것으로 판단되었다. 이와는 반대로, ginsenoside-Rg₃는 증포를 반복할수록 그 함량이 증가하고, 또한 극소량이지만 ginsenoside-Rh₁에서도 동일한 경향이 나타났다. 즉, ginsenoside-Rg₃의 함량 증가는 증포 횟수에 비례적이며 마지막 9포에서 최대의 함량인 9 mg/g의 함량을 보였는데, 이것은 홍삼으로 분류할 수 있는 1-3포의 함량보다 약 5배정도로 높은 함량이며, 이것은 ginsenoside의 Protopanax diol(PD)/Protopanax triol(PT)를 급격히 높여주는 결과로 나타났다. 증포횟수의 증가와 함께 ginsenosides-Rg₃와 ginsenoside-Rh₁의 함량증가 현상을 증포과정의 반복과 함께 그 함량이 줄어들고 있는 ginsenoside-Rg₃, ginsenoside-Re, ginsenoside-Rb₁, ginsenoside-Rc, ginsenoside-Rb₂, 및 ginsenoside-Rd 등의 결과를 고려해 보면, ginsenoside-Rg₃와 ginsenoside-Rh₁는 증숙과정 중에 소실되고 있는 일부 ginsenoside가 전환된 것으로 추측할 수 있다. 20(S)-ginsenoside-Rg₃와 20(R)-ginsenoside-Rh₁은 백삼이나 수삼에는 원래 존재하지 않았지만 인삼을 가열할 경우 생성되는 성분으로 보고되어 있으며, 홍삼의 증숙과정 중 가수분해 반응으로 ginsenoside-Rb₁, ginsenoside-Rb₂, ginsenoside-Rc, ginsenoside-Rd 등과 같은 PD계 ginsenosides는 ginsenoside-Rg₃로, 다른 한편 ginsenoside-Re, ginsenoside-Rh₁과 같은 PT계 ginsenoside는 20(R)-ginsenoside-Rh₂ 혹은 20(R)-ginsenoside-Rh로 전환된다고 Nam(2)은 보고하였다.

흑삼추출물이 STZ 당뇨유발 쥐의 혈당농도에 미치는 영향

흑삼추출물의 혈당강하작용에 대한 원인규명을 위하여 STZ 당뇨유발 쥐에게 매일 5 mg/kg body weight의 흑삼추출물을 3주간 구강 투여 후, 혈당을 측정된 결과를 Table 2에 나타내었다. STZ group의 절식 16시간 후 혈당량은 391 mg/dL를 보인 반면, STZ+BG group은 102 mg/dL를 보였고, control group은 62 mg/dL의 수준을 나타내었다. STZ+BG group의 혈당치는 control group과 비교하면 높은 수치를 보였지만, 공복 시 정상인의 혈당치가 70-100 mg/dL인 점을 고려하면 정상에 가까운 혈당치로 볼 수 있다. 또한 STZ+BG group의 혈당치는 당뇨유발대조군 혈당치의 70% 이상 감소된 값이며, 이 결과는 Joo 등(12)에 의한 홍삼의 혈당강하효과로 보고한 35%보다는 월등히 높은 것으로서 흑삼추출물이 현저한 혈당강하 기능이 있음을 확인할 수 있었다.

STZ 당뇨유발 쥐에게 흑삼추출물을 투여함으로써 혈당량이 감소한 이유가 insulin의 생성에 의한 것인지를 확인하기 위해 혈청의 insulin농도를 측정하여 Table 2에 나타내었는데, 각각 control group은 insulin 농도가 4.0 ng/mL, STZ group은 1.4 ng/mL이었다. 이에 반해 STZ+BG group은 STZ group보다도 낮은 0.1 ng/mL의 극소량이 측정됨으로써 흑삼추출물이 insulin의 증가에는 전혀 영향을 주지 못하였다. 따라서, 흑삼 추출물 투여에 의한 혈당량 강하결과는 insulin이 아닌 다른 원인에 의한 것으로 추측되었는데, 이러한 결과는 Joo 등(12)에 의한 당뇨병유발 쥐의 혈중 insulin 농도가 인삼사포닌 혼합물의 투여로 증가하였다는 결과와는 상반되었다.

최근 Yuan 등(21)은 제2형 당뇨병(insulin 비의존형 당뇨병) 모델인 db/db mouse를 이용한 실험에서 홍삼을 포함한 생약복합물의 혈당저하 효과를 확인하였으며, 이러한 혈당 저하효과는 insulin의 민감성 증가와 간 조직의 peroxisome proliferator-activated receptor(PPAR)- α mRNA와 지방조직의 PPAR- γ mRNA단백질 발현

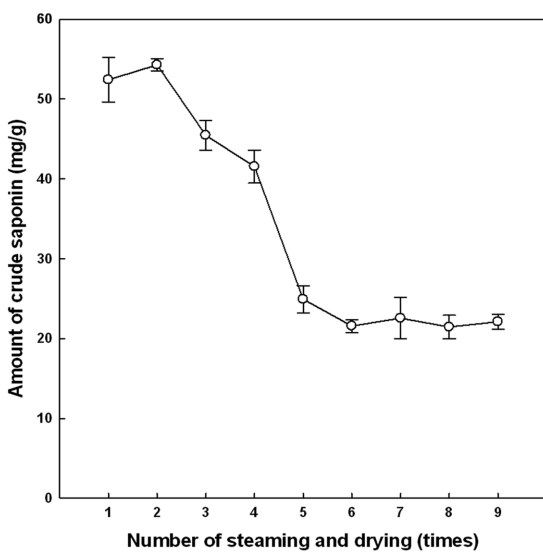


Fig. 1. Changes in the content of crude saponin according as the number of steaming and drying.

Table 1. Variations of ginsenosides content on black ginseng according as steam and dry-processing times

Ginsenosides	1 T ¹⁾	2 T	3 T	4 T	5 T	6 T	7 T	8 T	9 T
Rg ₁	1.15±0.01	0.92±0.03	0.82±0.02	0.73±0.01	0.11±0.01	0.05±0.01	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Re	4.94±0.03	4.76±0.03	2.93±0.02	1.25±0.01	0.15±0.01	0.09±0.00	0.12±0.01	0.05±0.00	0.05±0.00
Rb ₁	9.26±0.15	9.47±0.16	7.53±0.14	5.81±0.13	1.60±0.02	0.96±0.01	1.17±0.02	0.69±0.01	0.82±0.01
Rc	4.68±0.12	4.72±0.11	4.04±0.09	2.48±0.08	0.70±0.01	0.45±0.02	0.52±0.02	0.37±0.01	0.41±0.01
Rb ₂	4.85±0.14	5.09±0.12	4.44±0.11	2.83±0.02	0.84±0.01	0.49±0.02	0.58±0.04	0.38±0.02	0.43±0.02
Rd	2.02±0.08	2.37±0.05	1.95±0.02	1.93±0.03	0.81±0.01	0.57±0.01	0.66±0.02	0.53±0.02	0.57±0.03
Rg ₃	0.42±0.01	1.12±0.03	1.74±0.02	6.41±0.14	8.17±0.14	8.38±0.12	8.50±0.18	9.15±0.20	9.22±0.21
Rh ₁	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.01±0.00	0.03±0.00
Total	27.32	28.45	23.45	21.44	12.38	10.99	11.55	11.18	11.53
PD/PT ²⁾	3.5	4.0	5.3	9.8	46.6	77.5	95.3	185.3	143.1

¹⁾Steam and dry-processing times.

²⁾PD/PT = [ginsenoside(Rb₁+Rb₂+Rc+Rd+Rg₃)]/[ginsenoside(Re+Rg₁+Rh₁)].
Each value is the mean of three determinations with standard error.

Table 2. Effects of black ginseng extract on blood serum glucose and insulin in STZ-induced diabetic rats

Groups	Glucose (mg/dL)	Insulin(ng/mL)
Control ¹⁾	62.20±6.80	3.94±0.79
STZ ²⁾	391.40±31.30*	1.45±0.30*
STZ+BG ³⁾	101.60±8.00	0.13±0.03*

¹⁾Normal rat group.

²⁾Streptozotocin-induced diabetic rat (50 mg/kg body weight).

³⁾Oral administration of the black ginseng extract during 3 weeks (5 mg/kg body weight/day).

* The mean difference is significant at the 0.05 level ($p < 0.05$).

Each value is the mean of three determinations.

의 증가를 통한 지방대사조절 작용으로 저혈당 효과를 나타내는 것으로 해석하였다. 따라서, 본 실험의 STZ+BG group에서 insulin 농도는 증가하지 않았으나 혈당치는 낮은 수준을 보인 이유에 대해서는 insulin 분비 촉진 보다는 부분적으로 insulin 민감성 증대에 기인할 수 있다는 것을 배제할 수 없으며, 간에서 포도당 이용촉진 또는 당대사 관련 효소활성의 개선이 혈당 저하의 한 요인으로 작용한 것으로 판단된다.

흑삼추출물이 STZ 당뇨유발 쥐의 간 효소활성에 미치는 영향

흑삼추출물 투여가 간의 효소활성에 미치는 영향을 확인하고자 간의 효소활성을 분석하여 Table 3에 나타내었다. Glucokinase 활성은 STZ군에서 18 unit/mg으로 control group의 56 unit/mg의 32%

수준의 활성을 유지하고 있었고, STZ+BG group의 glucokinase 활성이 49 unit/mg정도로 STZ group보다 2.7배 높은 활성이었으며 control group의 활성의 87%를 상회하는 수준이었다. 즉, 본 실험의 결과로부터 흑삼추출물은 저하된 glucokinase 활성 회복에 상당한 효능을 발휘하고 있음을 확인할 수 있었다.

또한, 흑삼추출물의 glucose-6-phosphatase 효소활성에 미치는 영향을 확인하기 위하여 STZ당뇨병유발 쥐에게 흑삼추출물을 투여한 후 glucose-6-phosphatase의 활성을 측정된 결과, STZ+BG group은 control group의 6배 수준을 상회하는 활성증대를 보였고, STZ group보다 1.5배 높은 활성증대를 나타냄으로써 흑삼추출물 투여가 glucose-6-phosphatase활성저하에 기여하지 못하였으며, 오히려 glucose-6-phosphatase활성을 증대시키는 역작용을 하는 것으로 확인하였다.

흑삼추출물의 glucose-6-phosphate dehydrogenase 활성에 미치는 영향을 확인하기 위하여 STZ당뇨병 유발군에게 흑삼추출물을 투여한 후, 적출한 간의 glucose-6-phosphate dehydrogenase 활성을 측정된 결과, control group에서 400 unit/mg, STZ group에서 51 unit/mg, STZ+BG group에서 190 unit/mg을 나타냄으로써 흑삼추출물이 glucose-6-phosphate dehydrogenase 활성을 회복시켰는데, control group의 13%수준이었던 STZ당뇨병 유발군의 glucose-6-phosphate dehydrogenase의 활성을 흑삼을 투여함으로써 48% 수준까지 상승시킨 것으로 나타났다.

다른 한편, 6-phosphogluconate에서 D-ribulose-5-phosphate로 전환시키는 6-phosphogluconate dehydrogenase 활성을 측정된 결과

Table 3. Effects of black ginseng extract on liver in STZ-induced diabetic rats

Groups	Glucokinase (Unit/mg protein)	Glucose-6-phosphatase (Pi μM/min/mg protein)
Normal ¹⁾	56.14±0.43	0.10±0.01
STZ ²⁾	17.51±0.21*	0.49±0.03*
STZ+BG extract ³⁾	49.47±0.33*	0.73±0.01*
Glucose-6-phosphate dehydrogenase (Unit/mg protein)	6-phosphogluconate dehydrogenase (Unit/mg protein)	Acetyl CoA carboxylase (malonyl CoA nmole/min/mg protein)
400.01 ± 4.90	40.21±5.10	0.30±0.07
51.24 ± 4.30*	5.34±2.10*	0.17±0.03*
190.14 ± 3.84*	53.04±3.10*	0.32±0.06

¹⁾Normal rat group.

²⁾Streptozotocin-induced diabetic rat (50 mg/kg body weight).

³⁾Oral administration of the black ginseng extract during 3 weeks (5 mg/kg body weight/day).

*The mean difference is significant at the 0.05 level ($p < 0.05$).

Each value is the mean of triplicate determinations.

control group이 40 unit/mg, STZ group이 5 unit/mg을 나타냈다. 반면 STZ+BG group에서는 control group보다도 높은 53 unit/mg을 보였으며, 흑삼추출물이 6-phosphogluconate dehydrogenase 활성에 크게 기여하고 있음을 확인할 수 있었다. 또한, acetyl CoA carboxylase 활성은 control group에서 0.30 nmole/min/mg protein, STZ group에서는 0.17 nmole/min/mg protein으로 급격하게 감소하였지만, STZ 당뇨병유발 쥐에게 흑삼추출물을 투여하면 0.32 nmole/min/mg protein으로서 상승된 효소활성을 나타내었다. 이러한 활성은 control group의 활성치를 훨씬 상회하는 것으로서, 흑삼추출물이 당뇨병 유발 쥐의 저하된 acetyl CoA carboxylase 활성을 회복시키는데 기여하여 지방합성을 용이하도록 작용하는 것으로 판단되었다.

이상의 결과들을 요약하면, 흑삼추출물이 insulin 생성에는 직접 작용치 못하지만 이와 관련된 중요 효소들을 활성화함으로써 혈당을 강하하는 것으로 판단된다. 단, STZ+BG group으로부터 적출된 간 효소의 상대활성도를 산출하면 Table 4의 결과를 얻을 수 있는데, 6-phosphogluconate dehydrogenase 활성도의 회복정도가 118%로서 control group을 상회할 뿐 나머지는 control group 효소활성의 30-60% 범위에서 회복되고 있음을 확인할 수 있다. 즉, insulin 부족으로 촉발되는 효소활성의 소실분을 흑삼추출물이 100% 회복시키지 못하며 효소활성 회복에 60% 이하의 수준으로 기여하며 는 이러한 결과만으로는 Table 3에서 보여주는 정상치에 가까운 혈당치로 강하된 STZ+BG group의 혈당치 102 mg/dL 대하여 완벽한 설명을 하기가 어렵다. 따라서 흑삼추출물의 투여가 STZ group의 혈당치를 정상으로 강하시킨 것은 혈당을 줄이는 간 효소들의 활성 회복 기능과 함께 흑삼추출물 자체의 insulin 유사기능이 함께 작용한 결과에 기인하는 것으로 추정된다.

요 약

Streptozotocin-유도 당뇨병 모델을 이용하여 흑삼의 혈당강하 작용에 대한 효과를 연구하고 증포과정에 따른 ginsenoside의 조성 변화를 분석하였다. 증포별 ginsenoside의 정량분석 결과, 증포 횟수가 증가할수록 조사포논의 총량과 대부분의 ginsenoside는 줄어든 반면 ginsenoside-Rg₃ 함량 및 PD/PT 비율은 증가하는 경향을 보였는데, 이러한 조성은 다른 인삼제품과는 차별성 있는 특징이다. 또한, streptozotocin-당뇨병 유발쥐를 이용한 모델실험에서 흑삼추출물의 투여는 고혈당 준위(300 mg/dL 이상)를 정상 수준(102 mg/dL)으로 감소시켰으며, 혈당 수준의 감소는 glycolysis 나 HMT shunt 및 지방산 합성에 관여하는 glucokinase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase, acetyl CoA carboxylase 등의 효소의 활성증대에 기인하는 것으로 판단되었다. 이러한 결과는 흑삼추출물의 유의적인 혈당강하 효과를 입증하며 이에 따라 신약이나 식이보조제의 항당뇨물질로서의 이용가능성을 시사한다.

Table 4. Effects of black ginseng extract on recovery of liver enzyme activities in STZ-induced diabetic rats

Enzymes	Relative activity ¹⁾ (%)
Glucokinase	56.9
Glucose-6-phosphate dehydrogenase	34.7
6-phosphogluconate dehydrogenase	118.6
Acetyl CoA carboxylase	50.0

¹⁾Relative activity = $\frac{(STZ+BG\ group)-(STZ\ group)}{Normal\ group} \times 100$

감사의 글

본 연구는 중소기업청에서 시행한 향토산업 신기술융합화 개발사업 연구의 일부로서 연구비를 지원해 주신 '중소기업청 향토산업 신기술융합화 개발사업단'에 감사드립니다.

문 헌

- Kim HJ, Hwangbo MH, Lee JW, Im HG, Lee IS. Antioxidant effects of ginseng powder on liver of benzo(α)pyrene-treated mice. Korean J. Food Sci. Technol. 39: 217-221 (2007)
- Nam KY. The comparative understanding between red ginseng and white ginsengs, processed ginsengs (Panax ginseng C.A. Meyer). J. Ginseng Res. 29: 1-18 (2005)
- Kitagawa I. Chemical investigation of naturally occurring drug materials: Elucidation of scientific basis for traditional medicines and exploitation of new naturally occurring drugs. Yakugaku Zasshi 112: 1-41 (1992)
- Shoji J. Studies on the constituents of ginseng. Nat. Med. 53: 55-59 (1999)
- Kwon SW, Han SB, Park IH, Kim JM, Park MK. Liquid chromatographic determination of less polar ginsenosides in processed ginseng. J. Chromatogr. A 921: 335-339 (2001)
- Ko SK, Lee KH, Hong JK, Kang SA, Sohn UD, Im BO, Han ST, Yang BW, Chung SH, Lee BY. Change of ginsenoside composition in ginseng extract by vinegar process. Food Sci. Biotechnol. 14: 509-513 (2005)
- Bae EA, Hyun YJ, Choo NK, Oh JK, Ryu JH, Kim DH. Protective effect of fermented red ginseng on a transient focal ischemic rats. Arch. Pharm. Res. 7: 1136-1140 (2004)
- Kimura M, Suzuki J. The Pharmacological Role of Ginseng in the Blend Effect of Traditional Chinese Medicine in Hyperglycemia (Advances in Chinese Medicinal Materials Research). World Scientific Publ. Co., Singapore. pp. 181-192 (1985)
- Joo CN. Hongsam eui Shinbi, Moonjung Press, Seoul, Korea. p.11 (1995)
- Nam KY. Choishin Corea Insam, Chonil Press, Seoul, Korea. pp. 4-79 (1996)
- Joo CN, Kim JH. Study on the hypoglycemic action of ginseng saponin on streptozotocin induced diabetic rats (I). Korean J. Ginseng Sci. 16: 190-197 (1992a)
- Joo CN, Yoon SH, Lee HS, Kim YD, Lee HB, Koo JH. Study on the hypoglycemic action of ginseng saponin on streptozotocin induced diabetic rats (II). Korean J. Ginseng Sci. 16: 198-209 (1992b)
- Joo CN, Koo JH, Lee HB. Study on the hypoglycemic action of the fat soluble fraction of *Panax ginseng* C.A. Meyer in streptozotocin induced diabetic rats. Korean J. Ginseng Sci. 17: 13-21 (1993)
- Kim ND, Kang SY, Park JH, Schini-Kerth VB. Ginsenoside-Rg₃ mediates endothelium-dependent relaxation in response to ginsenosides in rat aorta: role of K⁺ channels. Eur. J. Pharmacol. 367: 41-49 (1999)
- Kuwashima K. Clinical application of red ginseng in patients with diabetes. Ginseng Rev. 15: 44-48 (1992)
- Sotaniemi EA, Haapakoki E, Rautio A. Ginseng therapy in non-insulin-dependent diabetic patients. Diabetes Care 18: 1375-1377 (1995)
- Tesutani T, Takeko Y, Kadono K, Makino J. Clinical application of red ginseng powder(seikansho) on cerebrovascular disease: long term follow-up study. Ginseng Rev. 18: 91-94 (1994)
- Li W, Fitzloff JF. HPLC with evaporative light scattering detection as a tool to distinguish Asian ginseng(*Panax ginseng*) and North American ginseng(*Panax quinquefolius*), J. Liq. Chromatogr. R. T. 25: 17-27 (2002)
- Li W, Fitzloff JF. HPLC determination of ginsenosides content in ginseng dietary supplements using ultraviolet detection. J. Liq. Chromatogr. R. T. 21: 2485-2500 (2002)
- Popovich DG, Kitts, DD. Generation of ginsenosides Rg₃ and Rh₂ from North American ginseng. Phytochemistry 65: 337-344 (2004)
- Yuan HD, Shin EJ, Chung SH. Anti-diabetic effect and mechanism of Korean red ginseng in C57BL/KsJ db/db mice. Korean J. Ginseng Sci. 32: 187-193 (2008)