

홍삼의 법제유황 처리가 당뇨쥐의 혈중지질 및 대사지표물질에 미치는 영향

한현정¹, 김혜자², 정명수¹, 조화은², 최윤희², 이기남^{1*}

1: 원광대학교 한의과대학 예방의학교실

2: 원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과

Effect of Red Ginseng with Processed Sulfur Extracts on Serum Lipids Concentration and Metabolic Variables in Diabetic Rats

Hyunjung Han¹, Haeja Kim², Myongsoo Chong¹, Hwaeun Cho², Yunhee Choi², Kinam Lee^{1*}

1: Dept. of Preventive Oriental Medicine, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

2: Dept. Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine,
Wonkwang University

ABSTRACT

Objectives : The purpose of this study was to evaluate effects of processed sulfur with red ginseng on streptozotocin(STZ) induced diabetic rats for expansion of processed sulfur internal application.

Methods : We prepared red ginseng with non processed sulfur extracts(GS), red ginseng with processed sulfur I extracts(GPS I) and red ginseng with processed sulfur II extracts(GPS II). In the present study, we examined about contents of crude saponin, antioxidant activity, α -glucosidase inhibitory activity, and effects of STZ induced diabetic rats.

Results : Contents of crude saponin increased by processed sulfur, and GPS II was shown highest contents in crude saponin and sulfur compared with another groups. Electron donating ability of GPS II was shown highest activity compared with GS and GPS I, SOD-like activity showed same tendency as electron donating ability at 1 mg/ml concentration. Inhibitory activity of α -glucosidase was approximately same level in acarbose and GPS II. Blood glucose level of GPS II group was decreased 18.34% compared with DC(diabetes control) group and maintained stability range in glucose level. but GS and GPS I showed high level compared to GPS II. Serum triglycerides concentration also showed lowest level in GPS II. The activity of ALT, AST and ALP was shown high level in diabetic induced groups, and lowest level in GPS II. Creatinine was shown non-significantly difference in each groups and GPS II was shown lowest level in BUN.

Conclusions : These results suggested that processed sulfur with red ginseng have improvement effects on diabetes and internal application of processed sulfur with red ginseng have no specific toxicity in liver and kidney.

* 교신저자 : 이기남. 전북 익산시 신용동 344-2 원광대학교 한의과대학 예방의학교실
• Tel : 063-850-6836 • E-mail : kinam1@wku.ac.kr
• 접수 : 2009년 2월 12일 • 수정 : 2009년 3월 17일 • 채택 : 2009년 3월 20일

Key words : red ginseng, processed sulfur, serum lipids concentration, metabolic variables

서론

한약자원은 크게 식물성과 동물성, 광물성 약재로 구분할 수 있으며 그 중 광물성 약재는 《神農本草經》에 41종, 《本草綱目》에 375종, 《東醫寶鑑》에 143종¹⁾, 《대한약전의 한약규격집 주해서》²⁾에 34종이 수록되어 여러 질병의 치료에 활용되어 왔음에도 불구하고 식물성, 동물성 약재에 비해 관련 연구가 매우 미미해 광물성 약재에 대한 인식이 점차 사라져가고 있는 추세이다.

硫黃(sulfur)은 《神農本草經》 中品에 수재되어 있는 약재로 유황광이나 유화광물을 채취하여 가열 용해한 다음 상층의 액상 硫黃을 취하여 냉각한 것이며 황(S)과 텔루륨(Te), 셀레늄(Se) 등을 함유하고 있다. 性味는 酸溫 有毒하고 腎, 大腸經으로 歸經하여 外用으로는 殺蟲止痒의 효능으로, 內服으로는 補火助陽, 祛寒通便의 효능으로 쓰여 왔으며³⁾ 서양의학에서도 유황을 국부 자극제, 변비, 치질 등에 이용해 왔다⁴⁾. 硫黃은 性味에서 나타난 바와 같이 有毒한 약재로 기록되어 《藥性論》이나 《本草綱目》, 《本草新編》 등 여러 의서에서 法製한 후 內服하고 있다^{5,6)}.

硫黃은 法製여부에 따라 生硫黃과 制硫黃으로 나뉘며 法製방법에 따라 豆腐制, 蘿蔔制, 猪大腸制 등으로 구분해 쓰이고 있다⁷⁾. 硫黃에 대한 연구는 法製방법에 대한 연구 및 法製硫黃을 이용한 일부연구가 발표되어 있으나⁸⁻¹⁰⁾ 다른 광물성 약재들과 마찬가지로 硫黃의 內服에 대한 연구는 다각적인 방향에서 이루어지지 않고 있는 실정이다.

인삼은 전통적으로 大補元氣, 生津止渴 등의 효능으로 인해 한의학에서의 당뇨병 범주에 있는 消渴을 치료하는 데 빈용되어 왔으며 Vuksan¹¹⁾, Konno¹²⁾, Yokozawa¹³⁾, Oshima¹⁴⁾ 등 또한 고려인삼, 화기삼 등의 항당뇨활성에 대한 유의적인 결과를 발표한바 있고 수삼을 써서 건조한 홍삼 역시 인슐린 비의존형 당뇨병에서의 혈당강하효능과 인슐린조절작용 및 인슐린비증가효능에 대해 보고되어 있다¹⁵⁻¹⁸⁾.

이에 본 연구에서는 광물성 한약재인 유황의 활용방안을 다각화하기 위한 연구의 일환으로 法製하지 않은 生硫黃과 방법을 달리해 法製한 유황을 항당뇨효과가 뛰어나다고 알려진 식물성 약재인 紅蔘과 함께 추출하였다. 당뇨증상을 개선할 수 있는 가능성을 살펴보기

위해 이들 추출물의 항산화활성과 α-glucosidase 저해 활성을 측정 한 후 streptozotocin을 이용해 당뇨를 유발한 쥐의 혈당, 혈중지질, 혈중 대사지표물질 등의 측정을 통해 체내에 미치는 영향을 살펴보았다.

재료 및 방법

1. 재료

실험에 사용된 유황은 세광화학(주)에서 구입하여 생유황(S)과 생유황을 法製한 法製유황(PS II)으로 사용하였으며, 일반 法製유황(PS I)은 서울소재 K 한의원에서 蘿蔔制¹⁹⁾를 이용해 法製한 것을 구입하여 사용하였다. 홍삼은 2007년 금산에서 재배가공된 것을 구입하여 정선한 후 사용하였다.

2. 유황의 법제 및 추출물의 제조

法製유황 II(PS II)의 法製는 蘿蔔制를 변형하여 생유황에 蘿蔔子, 松葉, 麥芽, 米糠, 甘草, 生薑 등 6종의 한약재와 증류수를 넣고 혼합하여 100℃에서 8시간씩 2회에 걸쳐 가열한 후 12시간 침지시켰다. 침지한 유황을 회수하여 유황의 용융온도(115.2℃) 이상에서 30분간 열처리한 후 70℃에서 열풍 건조하여 시료로 사용하였다. 조분쇄한 홍삼에 10배의 증류수를 가

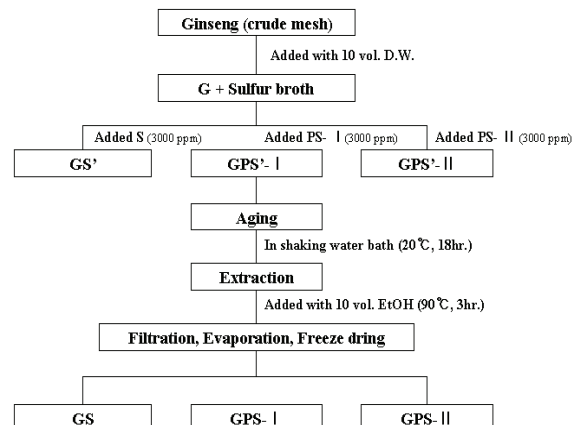


Fig. 1. Extraction method of red ginseng with processed sulfur extracts

GS : red ginseng with non processed sulfur extracts.
 GPS I : red ginseng with processed sulfur I extracts.
 GPS II : red ginseng with processed sulfur II extracts.

한 후 생유황(S)과 法製유황 I(PS I), 法製유황 II(PS II)를 3000 ppm씩 각각 첨가하여 shaking water bath에서 20°C로 18시간 숙성시켰다. 여기에 99% 에탄올을 10배 가하여 90°C에서 3시간 환류냉각추출한 후 여과하여 농축, 동결건조한 것을 각각의 시료(GS, GPS I, GPS II)로 사용하였고 추출방법은 Fig. 1과 같다.

3. 조사포닌 함량의 분석

동결건조하여 얻어진 각각의 시료에 메탄올 50 ml를 가하여 완전히 섞이도록 shaking한 후 sonicator를 이용, 60°C에서 30분간 추출하였다. 이것을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액을 농축수기에 수집하였다. 상층액을 취하고 난 나머지에 다시 메탄올 50 ml를 가하고 위 과정을 2회 반복하여 상층액을 수집하였으며 3회에 걸쳐 수집된 상층액을 감압농축하여 수분을 완전히 제거한 후 항량하여 조사포닌의 함량을 구하였다²⁰⁾.

4. 황함량의 분석

추출물의 황 함량 측정은 Lee 등의 방법²¹⁾을 변형하여 수행하였다. 동결건조 시료를 170°C microwave에서 2-5분간 건조시킨 후 시료 0.2-0.3 g에 KNO₃ 5 ml를 가하여 45°C로 over night 시킨 다음 95°C에서 5시간 분해하였다. 분해액을 최종으로 10 ml로 정용한 후 NO. 6 여과지로 여과하여 ICP-AES (Inductively coupled plasma atomic emission spectrometer, Optima 3300DV, Perkin-Elmer, USA)로 분석하였다.

5. 항산화활성 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법²²⁾을 응용하여 tannic acid를 이용한 표준곡선에 의해 그 함량을 측정하였고, DPPH (α - α -Diphenyl- β -picrylhydrazyl radicals) 라디칼 소거능은 Blois의 방법²³⁾에 따라, SOD 유사활성은 SOD assay kit-WST (Dojindo, Japan)를 사용하여 각각의 농도에서 ELISA를 이용하여 측정하였다.

6. α -glucosidase 저해활성 분석

α -glucosidase 저해활성 측정²⁴⁾은 동결건조한 각 시료를 100 μ g/ml 농도로 희석한 후 1.0 unit/ml의 α -

glucosidase (Sigma, Co, USA) 효소액 50 μ l, 200 mM potassium phosphate buffer (pH 7.4) 50 μ l에 넣고 혼합하여 37°C에서 15분간 반응시킨 후 3 mM pNPG (Sigma, Co, USA)를 가하여 37°C에서 10분간 반응시켰다. 0.1 M Na₂CO₃를 가하여 반응을 정지시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정하여 저해율을 계산하였다. 각 추출물에 대한 양성 대조군으로는 acarbose를 사용하였다.

7. 실험동물 및 당뇨유발

실험동물은 6주령의 Sprague Dawley계(♂)의 흰 쥐를 (주)오리엔트에서 분양받아 실험실 환경(온도 22±2°C, 습도 50±5%)에서 한 마리씩 stainless cage에 넣어 일주일간 적응시킨 후 streptozotocin (STZ, Sigma, Co, USA)을 0.01 M citrate buffer (pH 4.5)에 50 mg/kg/body weight (BW) 농도로 녹여 복강에 투여하여 유도하였고 당뇨병의 유발확인은 24시간 후 꼬리정맥에서 혈액을 채취하여 비공복식 혈당농도가 300 mg/dl 이상인 것을 당뇨가 유발된 것으로 간주하여 실험에 사용하였다. 실험군의 분류는 먼저 정상대조군(normal control group; NC, n=5)과 당뇨유발군으로 분류하였으며 당뇨유발군은 다시 당뇨대조군(diabetic control group; DC, n=5)과 생유황을 처리한 홍삼추출물 투여군(red ginseng with non processed sulfur extracts group; GS, n=5), 法製유황 I을 처리한 홍삼추출물 투여군(red ginseng with processed sulfur I extracts group; GPS I, n=5), 法製유황 II를 처리한 홍삼추출물 투여군(red ginseng with processed sulfur II extracts group; GPS II, n=5), 총 5군으로 나누었다. 정상대조군과 당뇨대조군은 0.9% 식염수를, 각 추출물은 식염수에 300 mg/kg BW 농도로 희석하여 1일 1회 일정시간에 경구 투여하였으며 고형사료와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다.

8. 동물시료채취 및 분석

혈당측정은 3일 간격으로 일정시간에 꼬리정맥에서 채혈하여 혈당측정기(Accucheck Active, Roche Diagnostics Cmb, Germany)를 이용하여 측정하였고 실험동물의 혈액은 실험종료 후 12시간 절식시켜 ether로 마취하여 개복한 후 복대동맥에서 취하였다. 채취한 혈액은 2시간 방치한 후 3000 rpm에서 20분간 원심 분리한 후 분석시료로 사용하였다. 채혈 후 즉시 간, 신장, 고환을 분리 적출하여 생리식염수로 세척한 후 거즈로

수분을 제거하였고 각각의 무게를 측정하였으며 체중 100 g당 장기무게로 환산하였다.

혈청 중의 AST와 ALT, ALP, 총 콜레스테롤, 중성지방, creatinine, BUN, uric acid의 농도는 각각의 측정용 kit (Bayer, USA)를 이용하여 자동분석기(Advia 1650, Tokyo, Japan)로 측정하였다.

9. 통계처리

모든 자료의 통계분석은 SPSS program을 이용하여 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)으로 검정하여 평균 ± 표준오차로 나타내었으며, 유의성은 Duncan's multiple range test에 따라 $p < 0.05$ 수준에서 검정하였다.

결 과

1. 조사포닌 함량

유황을 처리한 홍삼추출물의 조사포닌 함량을 측정 한 결과는 Fig. 2와 같다. GPS II의 조사포닌 함량이 271.57 mg/g으로 유의적으로 가장 높게 나타났고 GPS I이 224.81 mg/g으로 그 다음으로 나타났으며, GS의 경우 유황을 처리하지 않은 일반 홍삼추출물보다 조사포닌 함량이 떨어지는 것으로 나타났다.

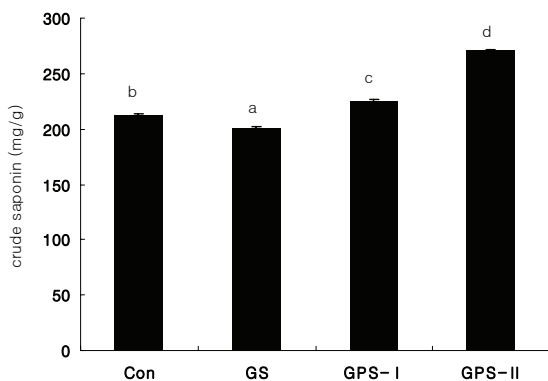


Fig. 2. Contents of crude saponin in red ginseng with processed sulfur extracts

Values are mean ± SE of triplicate determinations. Means with different superscripts within a columns are significant different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

Con. : red ginseng extracts.
 GS : red ginseng with non processed sulfur extracts.
 GPS I : red ginseng with processed sulfur I extracts.
 GPS II : red ginseng with processed sulfur II extracts.

2. 황함량

유황을 처리한 홍삼추출물의 황함량을 측정 한 결과는 Table 1과 같다. GPS II의 함량이 8782.4 ppm으로 유의적으로 가장 높게 나타났고, GS와 GPS I은 각각 6456.6 ppm, 6088.5 ppm으로 통계적으로 유의적 차이는 나타나지 않았다.

Table 1. Contents of Sulfur in Red Ginseng with Processed Sulfur Extracts (ppm)

Sulfur	GS	GPS I	GPS II
	6456.6 ± 54.4 ^a	6088.5 ± 229.1 ^a	8782.4 ± 654.2 ^b

Values are mean ± SE of triplicate determinations. Means with different superscripts within a table are significant different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. Abbreviated words of experiment groups are same as Fig. 1.

3. 항산화활성

유황을 처리한 홍삼추출물의 총 폴리페놀 화합물 함량은 10 mg/ml농도에서 GS가 66.17 µg/mg, GPS I

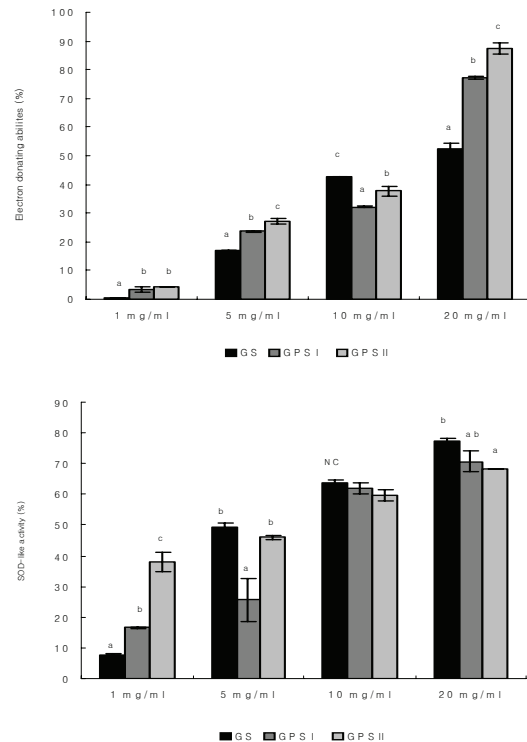


Fig. 3. Electron donating abilities and SOD-like activity of red ginseng with processed sulfur extracts

Values are mean ± SE of triplicate determinations. Means with different superscripts within a columns are significant different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. Abbreviated words of experiment groups are same as Fig. 1.

이 65.83 $\mu\text{g}/\text{mg}$, GPS II가 66.61 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 으로 각각 나타났으나 유의적 차이는 나타나지 않았다. DPPH 라디칼 소거능은 10 mg/ml 농도를 제외하고는 모든 농도에서 法製한 GPS I, GPS II의 전자공여능이 유의적으로 우수한 것으로 나타났고 GPS I, GPS II 중에서는 GPS II가 GPS I보다 다소 높은 것으로 나타났다. SOD유사활성은 1 mg/ml 농도에서 GS보다 法製한 GPS I, GPS II의 활성이 높은 것으로 나타났다.

4. α -glucosidase 저해활성

유황을 처리한 홍삼추출물의 α -glucosidase 저해활성을 경구용 혈당강하제인 acarbose와 비교, 측정된 결과는 Table 2와 같다. 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 양성대조군인 acarbose는 18.77%, GS는 8.56%, GPS I은 9.70%, GPS II는 16.03%로 GPS II는 acarbose와 유의적으로 같은 수준의 활성을 나타내었으나 GS, GPS I은 이들에 비해 활성이 떨어지는 것으로 나타났다.

Table 2. α -glucosidase Inhibitory Activity of Red Ginseng with Processed Sulfur Extracts (%)

Conc. (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	Acarbose	GS	GPS I	GPS II
	18.77 \pm 2.62 ^c	8.56 \pm 0.28 ^a	9.70 \pm 1.31 ^b	16.03 \pm 1.60 ^c

Values are mean \pm SE of triplicate determinations. Means with different superscripts within a table are significant different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. Abbreviated words of experiment groups are same as Fig. 1.

Table 3. Effects of Red Ginseng with Processed Sulfur Extracts on Organs Weight in STZ Induced Diabetic Rats (g/100g BW)

	Liver	Kidney	Testis
NC	3.40 \pm 0.36 ^a	0.73 \pm 0.03 ^a	1.08 \pm 0.06 ^a
DC	4.10 \pm 0.09 ^b	1.06 \pm 0.02 ^c	1.27 \pm 0.04 ^{abc}
GS	3.91 \pm 0.05 ^{ab}	1.00 \pm 0.02 ^{bc}	1.11 \pm 0.11 ^{ab}
GPS I	3.63 \pm 0.21 ^{ab}	0.96 \pm 0.02 ^b	1.33 \pm 0.08 ^c
GPS II	3.65 \pm 0.10 ^{ab}	0.97 \pm 0.03 ^b	1.31 \pm 0.04 ^{bc}

Values are mean \pm SE. Means with different superscripts within a table are significant different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. NC : normal control group; DC : diabetic control group. GS : red ginseng with non processed sulfur extracts group. GPS I : red ginseng with processed sulfur I extracts group. GPS II : red ginseng with processed sulfur II extracts group.

5. 장기무게의 변화

각 군의 장기무게 변화는 체중 100 g당 무게로 환산하여 나타내었으며 Table 3과 같다. 간, 신장 및 고환의 무게 모두 당뇨유발군들이 정상대조군인 NC군보다 높게 나타났으며 간과 신장의 무게에 있어서는 DC군이 각각 4.10 g/100g BW, 1.06 g/100g BW로 당뇨유발군 중 가장 높게 나타났다. 간 무게에 있어서 유황처리한 추출물간의 차이는 나타나지 않았으나 신장무게에 있어서는 GS가 GPS I, GPS II보다 높은 것으로 나타났다. 그러나 고환무게에 있어서는 당뇨유발군 중 GS가 가장 낮은 것으로 나타났다.

6. 혈당에 미치는 영향

각각의 추출물 투여에 따른 혈당 농도를 3일 간격으로 측정된 결과는 Fig. 4와 같다. 실험종료시 혈당은 GPS II군이 315.50 mg/dl 로 가장 낮게 나타났으며 당뇨유발 후 3일째부터 실험종료일까지의 평균혈당이 367.92 mg/dl 로 DC군의 평균혈당인 450.56 mg/dl 보다 18.34% 낮은 것으로 나타났고 혈당변화경향에 있어서도 다른 실험군들에 비해 안정적인 혈당변화를 나타내었다. GS군과 GPS I은 DC군에 비해선 평균혈당이 낮으나 GPS II에 비해서는 떨어지는 것으로 나타났고 최종혈당에서는 DC군과 큰 차이가 나지 않았다.

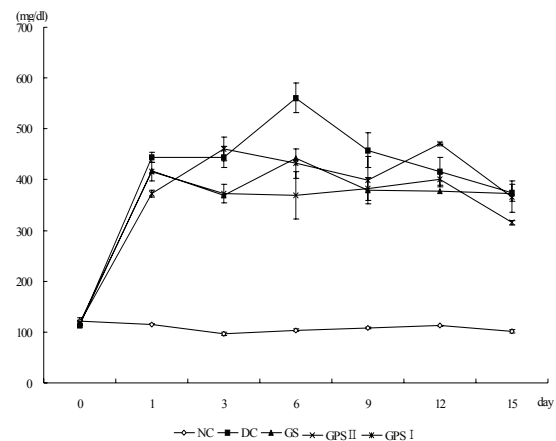


Fig. 4. Effects of red ginseng with processed sulfur extracts on blood glucose levels in STZ induced diabetic rats. Values are mean \pm SE. Means with different superscripts within a table are significant different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. Abbreviated words of experiment groups are same as Table 3.

Table 4. Effect of red ginseng with processed sulfur extracts on serum lipids concentration in STZ induced diabetic rats

	Total cholesterol	HDL-cholesterol	Triglyceride
NC	73.67±3.80	21.00±0.58 ^a	67.00±0.58 ^{ab}
DC	79.60±4.03	32.60±3.14 ^b	111.00±10.10 ^b
GS	67.33±4.06	24.00±1.16 ^{ab}	73.67±13.00 ^{ab}
GPS I	77.67±11.92	33.67±5.24 ^b	87.67±24.50 ^{ab}
GPS II	67.00±5.60	25.67±3.40 ^{ab}	49.00±9.54 ^a

Values are mean ± SE.

Means with different superscripts within a table are significant different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. Abbreviated words of experiment groups are same as Table 3.

Table 5. Effect of red ginseng with processed sulfur extracts on serum metabolic variables in STZ induced diabetic rats

	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	ALP (IU/L)	Creatinine (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Uric acid (mg/dl)
NC	138.33±10.00 ^b	39.00±2.00	240.67±15.06 ^a	0.60±0.00	22.33±0.73 ^a	1.83±0.24 ^b
DC	165.00±5.03 ^b	64.60±8.21	478.40±32.90 ^b	0.62±0.02	35.60±3.13 ^{bc}	1.20±0.09 ^a
GS	154.00±22.93 ^b	53.33±6.40	353.33±35.48 ^a	0.53±0.03	39.98±2.11 ^c	1.63±0.12 ^{ab}
GPS I	96.67±0.66 ^a	52.00±7.00	489.00±39.67 ^b	0.57±0.03	41.10±6.00 ^c	1.37±0.12 ^{ab}
GPS II	130.00±8.10 ^{ab}	54.00±11.00	306.00±40.00 ^a	0.53±0.03	28.50±3.00 ^{ab}	1.23±0.18 ^a

Values are mean ± SE of triplicate determinations.

Means with different superscripts within a table are significant different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. Abbreviated words of experiment groups are same as Table 3.

7. 혈청지질농도에 미치는 영향

각각의 추출물 투여에 따른 혈청지질 농도는 Table 4와 같다. 총 콜레스테롤농도는 모든 군에서 유의적 차이가 나타나지 않았으나 HDL-콜레스테롤은 DC군과 GPS I군의 농도가 높은 것으로 나타났고 GS군과 GPS II군은 NC군과 유사한 수준으로 나타났다. 중성지질은 당뇨대조군인 DC군이 111.00 mg/dl로 가장 높게 나타났고, GS군과 GPS I군은 NC군과 동일한 수준으로 GPS II군은 49.00 mg/dl로 모든 실험군 중 가장 낮은 것으로 나타났다.

8. 혈청 대사지표물질에 미치는 영향

간기능과 관계된 효소활성에 대한 측정결과는 Table 5와 같다. AST는 DC군과 GS군이 각각 165.00 IU/L, 154.00 IU/L로 가장 높은 것으로 나타났고, GPS I군이 96.67 IU/L로 실험군 중 가장 낮은 것으로 나타났다. GPS II군은 130.00 IU/L로 GPS I군보다 높은 것으로 나타났다. ALT활성은 군간의 유의적 차이는 나타나지 않았으나 당뇨유발군들이 NC군에 비해 높은 것으로 나타났다. ALP는 NC군이 가장 낮게 나타났고, DC군 478.40 IU/L, GPS I군 489.00 IU/L로 가장 높게 나타났으며, GS군 353.33 IU/L,

GPS II군 306.00 IU/L로 통계적으로는 NC군과 동일한 수준으로 나타났다. 혈중 creatinine은 각 군 간의 유의적인 차이가 나타나지 않았고, BUN의 경우는 당뇨유발군들이 NC군 22.33 mg/dl에 비해 농도가 높은 것으로 나타났다. 추출물 투여군 중에서는 GPS II군이 28.50 mg/dl로 가장 낮게 나타났고 GPS I군이 41.10 mg/dl, GS군이 39.98 mg/dl로 높게 나타났다. Uric acid의 경우 당뇨유발군들보다 NC군이 높은 것으로 나타났으며 추출물투여군 중에서는 GS군이 1.63 mg/dl로 가장 높고, GPS II군이 1.23 mg/dl로 가장 낮게 나타났다.

고 찰

유향의 法製에 관해서는 《雷公炮炙論》에 藥汁을 이용한 製法에 대해 기록하고 있고, 《證類本草》에 火煉, 燒煉하는 製法과 《三因極一病證方論》에 猪腸內煮製法, 《普濟方》의 蘿菴製, 《醫學入門》의 豆腐中煮 등의 제법이 기록되어 있고 현재는 蘿菴製, 豆腐中煮, 猪腸內煮 등의 방법이 주로 사용되고 있다. 이들 法製 방법은 대략 3가지로 요약할 수 있는데 하나는 藥汁이나 두부 등을 이용해 끓이는 방법으로 주로 유향의 순도를 높이고 독성을 경감시키기 위함이고,

두 번째는 불을 이용해 炒하거나 燉하는 방법으로 이는 補元陽하는 효능을 높이기 위함이며, 세 번째는 기타 輔料 즉, 猪腸이나 米泔, 童便 등을 이용하는 방법으로 輔料의 종류에 따라 각각 그 목적이 다르다^{19,25)}. 본 실험에서는 유황의 法製 방법 중에서 蘿菴製를 변형한 것으로 硫黃을 蘿菴子 외 松葉·麥芽·米糠·甘草·生薑 등 5종의 한약재와 煎湯한 후 침지, 회수하여 가열하여 완전히 용융시킨 뒤 건조해 사용하였다. 이렇게 法製된 유황(PS II)은 法製하지 않은 生硫黃(S)과 외부에서 法製한 유황(PS I)과 함께 홍삼의 추출에 3000 ppm씩 첨가한 후 동결건조하여 사용하였다.

홍삼의 주요 유효성분은 흔히 사포닌(saponin)으로 잘 알려져 있는데 사포닌이란 식물계에 널리 존재하는 배당체의 비당부분(aglycon)이 여러 고리 화합물로 이루어진 것의 총칭을 말한다²⁶⁾. 각각 시료의 조사포닌 함량을 측정된 결과 GS의 경우 control군으로 사용한 홍삼추출물에 비해서도 그 함량이 떨어지는 것으로 나타났으나 GPS I, GPS II는 control 보다 높은 것으로 나타났고 그 중에서도 GPS II의 조사포닌 함량이 높게 나타나 法製유황의 첨가가 홍삼 조사포닌의 함량을 높이는 결과를 나타내었다. 또한 황함량에 있어서는 홍삼에 3000 ppm씩 동일한 양을 첨가했음에도 GPS II의 황함량이 다른 시료들에 비해 매우 높게 나타났다. 이러한 결과에 대한 기전은 향후 황과 사포닌 성분의 상관성 및 法製를 통한 황함량 변화 등에 대해 심도있는 연구를 통해 밝혀내야 할 것으로 판단된다.

각각의 추출물에 대한 항산화활성을 측정된 결과, 총 폴리페놀화합물의 함량은 각 시료간의 유의적 차이가 나타나지 않아 유황의 法製에 따라 페놀성 화합물의 함량이 달라지지는 않는 것으로 나타났다. 그러나 전자공여능에서는 10 mg/ml 농도를 제외하고는 모든 농도에서 法製하지 않은 GS보다 法製한 GPS I, GPS II의 전자공여능이 유의적으로 우수한 것으로 나타났고, GPS I, GPS II 중에서는 GPS II가 GPS I보다 다소 높은 것으로 나타남에 따라 法製를 통해 전자공여능을 높일 수 있을 것으로 판단되며 SOD 유사활성도 1 mg/ml 농도에서는 GS보다 法製한 GPS I, GPS II의 활성이 높은 것으로 나타나 전자공여능과 유사한 경향으로 나타났다. 法製한 유황의 첨가로 인한 항산화활성의 증가는 상기 실험결과에 비추어 볼 때 폴리페놀 물질에 의한 것으로는 보이지 않으나 그 원인에 대해서는 좀더 심도있는 연구가 이루어져

야 할 것으로 사료된다.

당뇨병 치료의 혈당강하제는 인슐린 분비 촉진제, 인슐린 유사작용제, 인슐린 저항성 개선제, 탄수화물 소화 효소 억제제 등이 사용되고 있는데 그 중에서 소장 상피세포 내막에 위치한 탄수화물 분해효소로 이당류나 다당류를 단당류로 가수분해 하는 α -glucosidase²⁷⁾의 저해제는 식후 단당류의 흡수를 지연시켜 혈당 증가를 현저하게 감소시킴으로써 혈중의 인슐린이 감소하게 되고 점차적으로 공복 시 혈당을 감소시키는 효과를 가져와 많은 연구자들이 α -glucosidase 저해제의 개발에 주목^{28,29)}하고 있다. 이에 유황을 처리한 홍삼 추출물이 혈당에 미치는 영향과 그 기전의 기초자료로 삼고자 각 추출물들의 α -glucosidase 저해활성을 측정된 결과 양성대조군인 acarbose가 17.88%의 저해활성을 나타낸 데 비해 GS는 8.56%, GPS I은 9.70%의 활성을 나타내 acarbose에 비해 활성이 떨어지는 것으로 나타났으나 GPS II는 16.03%로 acarbose와 유의적으로 동일한 수준을 나타내었다.

이러한 추출물의 생리활성분석 결과를 토대로 췌장의 β -세포에만 특이적으로 작용하여 다른 기관에 영향을 미치지 않는다고 알려진 STZ를 이용하여 당뇨를 유발한 흰쥐에 홍삼 발효추출물들을 2주간 투여하여 생체 내에서의 작용을 관찰하였다.

간, 신장, 고환 등 장기무게는 모든 당뇨유발군이 NC군보다 높게 나타났으며 간과 신장은 DC군의 무게가 추출물투여군보다 유의적으로 높은 것으로 나타났다. 이는 당뇨로 인한 인슐린의 기능저하로 간의 지방축적과 당뇨발병초기 신사구체 여과율 증가로 인한 콩팥의 용적 및 크기 증대에 따른 것으로 유황처리한 홍삼추출물의 투여가 DC군에 비해 당뇨로 인한 간과 신장의 기능장해가 적었던 것으로 판단된다. 간의 경우 추출물간의 유의적 차이는 나타나지 않았고, 신장의 경우에는 GS군이 GPS I군, GPS II군 보다 높게 나타났다.

유황을 처리한 홍삼추출물의 혈당조절효능을 보기 위해 혈당 농도의 변화를 3일 간격으로 측정된 결과 실험종료시 혈당은 GPS II군이 315.50 mg/dl로 가장 낮게 나타났으며 당뇨유발 후 3일째부터 실험종료일까지의 평균혈당이 367.92 mg/dl로 DC군의 평균혈당인 450.56 mg/dl보다 18.34% 낮은 것으로 나타났으며 혈당변화경향에 있어서도 다른 실험군들에 비해 안정적인 혈당변화를 나타내었다. GS군과 GPS I군은 DC군에 비해선 평균혈당이 낮으나 GPS II군에 비해서는 떨어지는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 동일

량의 홍삼에 동일량의 유허을 첨가했음에도 法製 방법에 따라 혈당조절에 미치는 영향이 달라지는 것을 나타내는 것으로 홍삼의 항당뇨기전 외에 法製유허의 첨가로 인한 혈당조절 기전에 대한 연구의 필요성을 제기하는 결과로 볼 수 있다.

당뇨병에서 혈당조절기능의 이상은 혈장 지방단백질대사의 이상으로 이어지며 이는 허혈성 심장질환을 비롯한 당뇨병의 심혈관계 합병증의 발생에 영향을 미친다³⁰⁾. 때문에 혈청 지질 농도는 혈당 조절과 더불어 합병증예방을 위한 중요한 변수가 된다. 당뇨가 잘 조절되지 않은 상태에서는 간장의 hydroxymethylglutaryl-CoA (HMG-CoA) reductase의 활성이 감소되고 장의 HMG-CoA reductase의 활성이 증가되어 장내의 콜레스테롤 이동이 증가됨으로 인해 당뇨를 유발시킨 흰쥐에 있어서 고콜레스테롤혈증과 고중성지질혈증이 나타난다고 보고³¹⁾된 바 있다. 본 연구에서 콜레스테롤 농도는 모든 실험군에서 유의적 차이가 나타나지 않았으나 중성지질은 DC군이 가장 높게 나타남에 따라 당뇨에 의한 중성지질의 상승을 확인할 수 있었으나 추출물투여군들의 경우 중성지질 농도가 다소 높긴 하였으나 NC군과 통계적으로 동일한 수준으로 나타났고 GPS II군의 경우는 NC군보다도 중성지질의 농도가 낮은 것으로 나타났다. Chae 등³²⁾은 法製유허을 30%함유한 복합한약재제가 혈중지질 농도를 낮춘다는 보고를 한 바 있는데 이들은 황 함 유물질이 norepinephrine 분비를 증가시켜 갈색 지방세포의 성장을 촉진하고 중성지방 분해를 촉진하여 혈장지질 농도를 감소시킨다는 보고에 근거해 기전을 설명하고 있다. 그러나 본 실험에서 GPS II군의 중성지질 강하효능은 당뇨유발 동물에서의 작용이며 法製유허 자체의 지질강하효능에 대한 연구는 전무하므로 향후 고지혈증모델에서의 실험과 지질강하기전과 관련된 물질들에 대한 검증은 통해 밝혀져야 할 것으로 판단된다.

AST와 ALT, ALP 모두 간 손상시 세포외로 다량 유출되어 혈액에 증가됨으로써 간손상의 지표로 이용되는 효소이다³³⁾. 본 연구에서 AST의 경우 DC군이 가장 높게 나타났고 GPS I군, GPS II군이 다른 실험군들에 비해 낮게 나타났고 ALT는 유의적 차이가 나타나지 않았으나 당뇨유발군들이 NC군에 비해 높은 것으로 그 중에서 DC군이 가장 높은 것으로 나타났다. ALP의 경우도 당뇨유발군들이 NC군에 비해 높은 것으로 나타났으며 GPS II군은 당뇨유발군들 중 가장 낮은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 streptozotocin에 의한 당뇨유발

과 고혈당으로 인한 간기능대사의 저하로 사료되며 유허에 의한 특이적 간손상은 없는 것으로 판단된다.

혈중 creatinine은 체내에서 사용된 단백질의 노폐물로서 근육내에서 에너지로 사용된 후 혈중으로 유출되며 유출된 creatinine의 양은 신장기능을 판단하는데 중요한 지표³⁴⁾가 되나 본 실험에서는 각 군 간의 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 혈중 요소질소인 BUN의 경우 NC군에 비해 당뇨유발군들이 높은 것으로 나타났으나 GPS II군은 간기능에서 처럼 다른 군들에 비해 낮은 농도로 나타났다. 요산의 경우 정상대조군이 오히려 당뇨유발군들에 비해 높은 것으로 나타났다.

결론

이상의 실험결과를 종합해 보면 유허처리한 홍삼 추출물의 생리활성에 있어서 동일량의 홍삼에 동일량의 유허을 첨가했음에도 法製한 유허의 첨가가 조사포닌의 함량과 황함량을 높이는 것으로 나타났고, 전자공여능과 SOD 유사활성에서는 法製한 유허을 첨가한 추출물이 그렇지 않은 추출물에 비해 우수했다. 동물실험에 있어서는 STZ로 유발한 당뇨쥐의 혈당은 GPS II군의 실험기간중의 평균혈당이 DC군보다 18.34 % 낮은 것으로 나타났으며 혈당변화경향도 안정적이었으나 GS군과 GPS I군은 DC군에 비해선 평균혈당이 낮으나 GPS II군에 비해서는 떨어졌다. 혈중 중성지질농도는 DC군이 가장 높게 나타났고 GPS II군이 가장 낮게 나타났으며, 간기능과 신장기능관련 지표물질의 측정 결과 당뇨에 의한 손상은 있었으나 法製유허의 內服에 따른 특이적 독성반응은 없는 것으로 나타났다.

참고문헌

1. 이장천, 박맹언. 동의약용광물학. 서울 : 의성당. 2005 : 27-8.
2. 지형춘, 이상인. 대한약전의 한약규격집주해서. 서울 : 한국메디컬인덱스사. 1988 : 89.
3. 전국한의학대학 공동교재편찬위원회. 본초학. 서울 : 영림사. 2004 : 706-7.
4. Choi GH, Kim CH. Growth inhibition of extract from sulfur fed buck carcass against various cancer cell lines. Korean J Food Sci Anl Resour.

- 2002 ; 22(4) : 348-51.
5. 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순. 중약대사전. 서울 : 도서출판 정담. 1997 : 2295-99.
 6. 中藥大辭典編纂委員會. 中藥大辭典. 上海 : 上海科學技術出版社. 2006 : 3260-62.
 7. 송인선, 윤대환, 유화승. 法製유황의 경구투여가 간독성에 미치는 영향. 대한동의병리학회지. 2007 : 21(4) : 898-906.
 8. 김성은, 서영배. 法製 유황이 실험적 골 질환에 미치는 영향. 대한동의병리학회지. 1996 ; 10(1) : 79-87.
 9. 윤원호, 황진용, 김창한. 유황오리로부터 항종양 활성 성분의 분리 및 정제. 한국축산식품학회지. 2004 ; 24(3) : 293-97.
 10. 이선용, 서형식. 유황이 여드름 유발균과 염증에 미치는 영향. 한방안이비인후과학회지. 2007 ; 20(2) : 68-76.
 11. Vuksan V, Stavro MP, Sievenpiper JL, Beljan-Zdravkovic U, Leiter LA, Josse RG, Xu Z. Similar postprandial glycemic reductions with escalation of dose and administration time of American ginseng in type 2 diabetes. Diabetes care. 2000 ; 23 : 1221-6.
 12. Konno C, Murakami M, Oshima Y, Hikino H. Isolation and hypoglycemic activity of panaxans Q, R, S, T and U, glycans of Panax ginseng roots. J Ethnopharmacol, 1985 ; 14(1) : 69-74.
 13. Yokozawa, Kobayashi T, Oura H, Kawashima Y. Studies on the mechanism of the hypoglycemic activity of ginsenoside-Rb2 in streptozotocin-diabetic rats. Chem Pharm Bull. 1985 ; 33 : 869-72.
 14. Oshima Y, Konno C, Hikino H. Isolation and hypoglycemic activity of panaxans I, J, K and L, glycans of Panax ginseng roots. J Ethnopharmacol. 1985 ; 14 : 255-9.
 15. Waki I, Kyo H, Yasuda M, Kimura M. Effects of a hypoglycemic component of ginseng radix on insulin biosynthesis in normal and diabetic animals, J Pharmacobiodyn. 1982 ; 5 : 547-54.
 16. Sievenpiper JL, Sung MK, Di Buono M, Lee KS, Nam KY, Arnason JT, Leiter LA, Vuksan V. Korean red ginseng rootlets decrease acute postprandial glycemia: Results from sequential preparation-and dose-finding studies. J Am Coll Nutr. 2006 ; 25 : 100-7.
 17. Sotaniemi EA, Haapakoski E, Rautio A. Ginseng therapy in non-insulin-dependent diabetic patients. Diabetes Care. 1995 ; 18 : 1373-5.
 18. Lee WK, Kao ST, Liu IM, Cheng JT. Increase of insulin secretion by ginsenoside Rh2 to lower plasma glucose in Wistar rats. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2006 ; 33 : 27-32.
 19. 呂俠卿. 中藥炮制大全. 長沙 : 湖南科學技術出版社. 1999 : 281-2.
 20. Yang BW, Han ST, Ko SK. Quantitative analysis of ginsenosides in red ginseng extracted under various temperature and time. Kor J Pharmacogn. 2006 ; 34 : 217-20.
 21. Lee ST, Lee YH, Choi YJ, Lee SD, Lee CH, Heo JS. Growth characteristics and germanium absorption of rice plant with different germanium concentration in soil. Korean J Environ Agric. 2005 ; 24(1) : 40-4.
 22. Swain T, Hillis WE, Otega M. Phenolic constituents of *Pturus domestica*. I. Quantitative analysis of phenolic constituents. J Sci Food Agric. 1959 ; 10 : 83-8.
 23. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature. 1958 ; 181 : 1199-200.
 24. Lee WY, Ahn JK, Park YK, Park SY, Kim YM, Rhee HI. Inhibitory effects of proanthocyanidin extracted from *Distylium racemosum* on α -amylase and α -glucosidase activities. Kor J Pharmacogn. 2004 ; 35(4) : 271-5.
 25. 김기영, 송호준. 한약포제학. 서울 : 신일상사. 1992 : 515-16.
 26. 한국인삼연초연구원. 고려인삼. 서울 : 한국인삼연초연구원. 1994 : 63-88.
 27. Gua J, Jin YS, Han W, Shim TH, Sa JH, Wang MH. Studies for component analysis, antioxidative activity and α -glucosidase inhibitory activity from *equisetum arvense*. J Kor Soc Appl Biol Chem. 2006 ; 49(1) : 77-81.
 28. Lee SJ, Kim CH. Inhibitory effects of *Artemisia capillaris* Thumb. on α -glucosidase and α -amylase. Korean J Medicinal Crop Sci. 2007 ;

- 15(2) : 128-31.
29. Choi HJ, Kim NJ, Kim DH. Inhibitory effect of GE974 isolated from *Gyrophora esculenta* on α -glucosidase. *Kor J Pharmacogn.* 2000 ; 31(2) : 196-202.
30. Ditzel J. Oxygen transport impairment in diabetes. *Diabetes.* 1976 ; 25(Supple 2) : 832.
31. O'Meara NM, Devery RA, Owens D, Collins PB, Johnson AH, Tomkin GH. Cholesterol metabolism in alloxan-induced diabetic rabbits. *Diabetes.* 1990 ; 39(5) : 626-33.
32. Chea MH, No JG, Jhon DY. Hangbisan. Sulfur-based Oriental Medicine, Lowers the Blood Cholesterol Level of ob/ob Obese Mice. *J Korean Soc Food Sci Nutu.* 2006 ; 34(4) : 416-21.
33. 대한진단검사의학학회. 진단검사의학. 서울 : 도서출판 고려의학. 2001 : 87-9.
34. Kui NY, Oh HK. *Clinical pathology file.* 3th ed. Seoul : Eui-Hak Publishing & Printing Company. 2000 : 95-8.