

연구노트

## Effect of the extracts from *Schisandra chinensis* Fruit and *Morus alba* Leaf on Insulin Secretion in Glucose-induced HIT-T15 Cells

Yoo Seok Jeong<sup>1</sup>, Joo-Heon Hong<sup>2</sup> and Hee Kyoung Jung<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Biohealthconvergency Center, Daegu Technopark, Daegu 704-801, Korea

<sup>2</sup>Department of Food Science and Technology, Catholic University of Daegu, Gyungsan 712-702, Korea

### 오미자와 뽕잎 추출물이 glucose에 의해 유도된 HIT-T15세포의 인슐린 분비능에 미치는 영향

정유석<sup>1</sup> · 홍주헌<sup>2</sup> · 정희경<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>(재)대구테크노파크 바이오헬스융합센터

<sup>2</sup>대구가톨릭대학교 식품가공학전공

#### Abstract

This study aimed to examine the effect of the *Schisandra chinensis* fruit and *Morus alba* leaf on insulin expression in HIT-T15 cells, which is exposed by glucose. The total polyphenol contents of the *S. chinensis* fruit ethanol extract and the *M. alba* leaf hot-water extract were 20.11±0.35 mg/g and 50.02±0.62 mg/mL, respectively. The *S. chinensis* fruit ethanol extract and the *M. alba* leaf hot-water extract contained 2.85±0.15 and 8.76±0.43 mg/g flavonoids, respectively. The antioxidant ability of the *M. alba* leaf hot-water extract was found to be superior to that of the *S. chinensis* fruit ethanol extract. Compared to the HIT-T15-treated 10 mM 2-deoxy-D-glucose, the 100 µg/mL *S. chinensis* ethanol extract was found to have a two fold increase in insulin productivity. Moreover, the 100 µg/mL *M. alba* leaf hot-water extract promoted the insulin secretion of high-glucose-damaged HIT-T15 almost ten fold. The above results showed that the *S. chinensis* fruit ethanol extract and *M. alba* leaf hot-water extract may improve the insulin productivity of the beta cell with glucose-induced oxidative damage. These data suggest that the *S. chinensis* fruit ethanol extract and the *M. alba* leaf hot-water extract can be used as food materials for the regulation of insulin secretion.

Key words : *Schisandra chinensis*, *Morus alba*, HIT-T15, insulin secretion

#### 서 론

당뇨병은 비만과 함께 국민 보건상 위협을 가하는 만성 질환으로 매해 그 발병율이 증가되고 있다. 당뇨병은 1형 당뇨병과 2형 당뇨병 두 가지로 나누어 볼 수 있으며, 인슐린 의존성인 1형 당뇨병은 어린이에게 일반적으로 나타나는 것으로 자가 면역 장애에 의해 선천적으로 베타세포에서 인슐린 생산을 할 수 없는 경우를 말한다(1). 반면, 주로 성인에서 나타나는 인슐린 비의존성인 2형 당뇨병은 인슐린에 대한 말초조직의 저항성 증가에 의해 포도당 이동이

감소된 것이다. 최근 Butler 등(2)은 2형 당뇨병에서 인슐린 분비의 감소는  $\beta$ -cell replication과 apoptosis 경로에 불균형이 야기되어 상대적으로  $\beta$ -cell의 apoptosis가 증가하여 일어나는 것으로 보고하였다. 또한  $\beta$ -cell의 apoptosis는 혈중 glucose 농도에 의해 촉진되는 것(3)으로 알려져 있으며, 고농도 glucose에  $\beta$ -cell의 장기간 노출은 인슐린의 gene expression을 감소시켜  $\beta$ -cell의 손상이 일어나도록 하는 glucose toxicity 현상을 일으킨다(4). 이뿐만 아니라 cytokine 자극 후 유도되는 reactive oxygen species (ROS)와 nitric oxide (NO)도  $\beta$ -cell의 손상에 영향을 주는 것으로 알려지고 있는데 특히, ROS는 인슐린 합성을 억제하고 apoptosis를 유도시키는 것으로 알려져 있다(5). 즉, 2형 당뇨병에 있어 산화적 스트레스는  $\beta$ -cell의 손상을 증가시킬 수 있다는

\*Corresponding author. E-mail : zangone@ttp.org  
Phone : 82-53-602-1880, Fax : 82-53-602-1898

것으로 2형 당뇨 환자 혈청에서 조직의 산화적 스트레스 마커인 8-hydroxydeoxyguanine, 4-hydroxy-2-nonenal protein, 8-epi-prostaglandin F2 $\alpha$  등이 증가되었다는 보고도 있다(6).

오미자(*Schisandra chinensis*)와 뽕잎(*Morus alba* leaf)은 항당뇨 소재로 일반인들에게 많이 알려져 있다. 오미자는 신맛을 나타내며, 따뜻한 성질을 가지는 약재로 중국 약전에서는 강장제 또는 진정제로 사용이 되었으며, 천식에도 효과가 있다고 기록되어 있다(7). 오미자는 항산화, 항균성 및 항암효과 등 다양한 생리활성이 보고(8,9) 되고 있으며, 국내에서는 약재뿐만 아니라 식품소재로도 널리 이용되고 있다. 뽕나무의 뽕잎은 다류 제품으로 많이 이용되고 있는데 뽕잎이 항산화 및 지방축적 억제효과가 있다는 연구가 보고되고 있어 기능성 식품소재로 그 가치가 높다(10,11). 오미자와 뽕잎의 항당뇨 효과에 대한 선행연구를 살펴보면, 뽕잎은 alloxan으로 유발한 당뇨쥐에서 혈당강하 효과가 있음이 확인 되었으며, 오미자는  $\alpha$ -glucosidase의 저해활성에 의해 항당뇨 효과가 있다고 보고되었다(12,13).

따라서 본 연구에서는 일정농도의 glucose에 노출된 HIT-T15 세포에서 오미자 및 뽕잎 추출물의 처리가  $\beta$ -cell 인슐린 분비능 개선에 도움을 줄 수 있는지를 조사하였으며 항당뇨 소재로서 오미자 및 뽕잎의 기능적 우수성을 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 연구에 사용한 오미자 및 뽕잎은 대구소재 (주)푸드웰에서 제공받아 실험에 사용하였다. Kim 등(13)의 방법에 따라 오미자 1 kg에 60% 발효주정(Woori ethanol Co, Pusan)을 10배(v/w) 첨가하고 60°C에서 3시간동안 추출하였고, 일반적으로 침출차로 많이 응용되고 있는 뽕잎은 뽕잎 1 kg에 10배(v/w)의 물을 첨가한 후 80°C에서 3시간 열수 추출 후 이를 방냉 한 다음 Whatman paper (No 2)로 여과하였다(11). 이 여과액을 50°C에서 감압농축기(Rotary Vacuum Evaporator, N-1000, Eyela, Tokyo, Japan)를 이용하여 농축하고 동결건조기(Freeze Dryer, PVTFD10R, Ilshin lab, Dongdocheon, Korea)를 이용하여 동결 건조한 다음, 건조 분말을 추출조건에 사용한 용매조건인 즉, 50% 에탄올 및 멸균 증류수에 1 mg/mL의 농도로 용해하여 세포 실험에 이용하였다. 이 때 추출 수율은 동결 건조 후 무게를 측정하여 원료량에 대한 백분율로 계산하였다.

### 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis 방법(14)에 따라 추출조건에 따른 추출액 0.5 mL에 2 N Folin-ciocalteau reagent 0.1 mL를 첨가하고 충분히 혼합한 다음 8.4 mL의 멸균

증류수를 가하여 실온에서 3분간 반응시킨 후 20% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1 mL를 첨가하고 실온에서 1시간 반응 시킨 후 분광광도계(Ultraspec 2100 pro, Amersham Co, Uppsala, Sweden)를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀의 함량은 tannic acid (Sigma, St Louis, MO, USA)를 정량하여 작성한 표준곡선으로부터 계산하였다. 이때 폴리페놀 함량을 위한 정량 표준곡선은 tannic acid를 사용하여 mg/g으로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량은 Jia 등(15)의 방법을 변형하여 측정하였다. 각 시료 1 mL에 5% sodium nitrite solution (NaNO<sub>2</sub>) 150  $\mu$ L를 넣어 상온에서 5분간 반응시켰으며 10% aluminium (III) chloride solution (AlCl<sub>3</sub>) 300  $\mu$ L를 첨가하여 상온에서 5분간 반응시킨 뒤 1 M-sodium hydroxide (NaOH)를 1 mL 넣어 혼합한 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

시료의 총 flavonoid 함량은 catechin (Sigma, St Louis, MO, USA)을 이용한 표준곡선을 이용하여 mg/g으로 나타내었다.

### 전자공여능 측정

항산화능을 측정하기 위한 전자공여능은 1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)의 환원력을 이용하여 측정하였다(16). 즉, 추출물 1 mL에 4 $\times$ 10<sup>-4</sup> M DPPH용액(99.9% ethyl alcohol에 용해) 1 mL을 가하여 총액의 부피가 2 mL가 되도록 하였다. 이 반응액을 약 10초간 혼합하고 실온에 30분 방치한 후 분광광도계(Ultraspec 2100pro, Amersham Co., Uppsala, Sweden)를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여효과는 추출물의 첨가 전·후의 차이를 아래 식에 따라 백분율로 나타내었다.

$$\text{Electron donating ability (\%)} = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A : 추출물 첨가구의 흡광도

B : 추출물 무첨가구의 흡광도

### ORAC(Oxygen Radical Absorbance Capacity) 측정

오미자 및 뽕잎추출물의 항산화 활성은 Talcott와 Lee(17)가 항산화 활성 측정에 사용한 ORAC (oxygen radical absorbance capacity) 분석법을 이용하였다. 본 실험에서 검액 및 표준액의 농도별 희석과 실험용 시료의 제조에는 중성 phosphate buffer (61.6:38.9 v/v, 0.75 M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> and 0.75 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)를 사용하였다. 검량 곡선을 작성하기 위하여 항산화 활성 비교 표준액으로 Trolox (Water soluble analogue of vitamin E, 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, Aldrich Chem, Inc, St Louis, MO, USA)를 인산완충액을 가해 각각 0.0, 1.65, 3.125, 6.25, 12.5, 25.0, 50.0  $\mu$ M 농도로 희석하고 fluorescent stock (Sigma, St Louis,

MO, USA) 10  $\mu$ L를 phosphate buffer 50 mL에 용해하여 제조하였고 측정기기는 fluorescent microplate reader (Infinite M200 PRO, Tecan Co., Männedorf, Switzerland)를 사용하여 485 nm에서 전자가 여기 되고 538 nm에서 방출되게 조절하여 본 실험에 적용되었다.

### 세포배양 및 세포독성 조사

오미자와 뽕잎 추출물에 의한 산화적 스트레스에서 췌장 세포와 인슐린 분비 회복을 측정하기 위해 Hamster pancreatic  $\beta$ -cell인 HIT-T15 cell line을 한국세포주은행 (Seoul, Korea)에서 구입하여 이용하였다. 세포는 RPMI (Roswell Park Memorial Institute) 1640 medium (Welgene Co, Daegu, Korea)에 10% FBS (Welgene Co, Daegu, Korea), 100 unit/mL penicillin (Gibco, Grand Island, NY, USA), 100  $\mu$ g/mL streptomycin (Gibco, Grand Island, NY, USA)을 첨가한 배지를 이용하여 37°C 온도와 5% CO<sub>2</sub>가 공급되는 조건 하에서 배양하였다.

오미자와 뽕잎에 대한 HIT-T15 세포 독성은 MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)법을 이용하여 측정하였다. 96 well plate에 세포를 3.5 $\times$ 10<sup>4</sup> cells/well 농도로 분주한 후 37°C, CO<sub>2</sub> incubator에서 배양 후 오미자와 뽕잎 추출물을 농도별로 처리하였다. 이를 24시간 배양한 뒤 MTT 용액을 0.5 mg/mL로 첨가하고 다시 4시간 동안 추가 반응 시킨 다음 배지를 제거하고 형성된 formazan을 150  $\mu$ L dimethyl sulfoxide로 녹여 ELISA reader (Infinite M200 PRO, Tecan, Groedig Salzburg, Austria)를 이용하여 540 nm에서 측정 하였다. 시료에 대한 세포 독성은 시료를 처리하지 않은 세포의 흡광도 값을 100%로 하여 상대적인 세포 성장율로 나타내었다.

### 인슐린 분비량 측정

HIT-T15 세포는 상기와 동일하게 96 well plate에 3.5 $\times$ 10<sup>4</sup> cells/well 농도로 분주하고 5% CO<sub>2</sub>, 37°C 조건하에서 24시간 배양 후, glucose free KRBH (pH 7.0) buffer로 두 번 세척 하였다. 그런 다음 다시 glucose free KRBH (pH 7.0) 100  $\mu$ L를 각 well에 첨가하고 시료농도는 Jo 등(31)의 방법과 Andallu와 Varadacharyulu (32)의 방법에 따라 오미자 발효주정 추출물과 뽕잎 열수 추출물을 각각 50, 100  $\mu$ g/mL로 처리한 후 1시간 배양 하였다.

최종적으로 농도별 시료와 0, 5, 10, 16.7 mM glucose를 첨가한 KRBH를 세포에 첨가하고 5% CO<sub>2</sub>, 37°C 조건하에서 12시간 배양한 후 배양 상등액을 회수하여 Insulin ELISA kit (Mercordia Co., NY, USA)를 이용하여 세포로부터 분비된 인슐린량을 측정하였다. 이때 0, 5, 10, 16.7 mM glucose만을 첨가한 KRBH로 배양시킨 HIT-T15 세포 배양 상등액을 대조구로 이용하였다(18).

### 통계처리

실험에서 얻어진 결과의 통계적 유의성은 SPSS (statistical package for social sciences, Version 10.0, Chicago, IL, USA) program을 이용하여 실험군당 평균 $\pm$ 표준편차로 표시하였고, 각 농도의 평균치의 통계적 유의성을 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 수율, 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드함량

오미자 발효주정 추출물과 뽕잎 열수 추출물의 추출 수율은 각각 24.83 $\pm$ 1.16%, 17.31 $\pm$ 1.84%로 오미자 발효주정 추출물이 높았다. 그러나 총 폴리페놀 함량은 오미자 발효주정 추출물이 20.11 $\pm$ 0.35 mg/g, 뽕잎 열수 추출물은 50.02 $\pm$ 0.62 mg/g로 추출 수율과는 정반대로 뽕잎 열수 추출물이 더 높았다. Kim 등(19)은 오미자 메탄올 추출물에서 총 폴리페놀함량이 84.04 mg/g인 것으로 보고하였고, Kim 등(20)은 대황에서 페놀화합물 추출시 에탄올과 메탄올 용매에 따라 폴리페놀함량의 차이가 나타남을 보고하였다. Cho 등(21)은 뽕잎 품종간 열수 추출에서 각자용산종이 20.82 mg/g로 폴리페놀 함량이 높다고 보고하였는데 본 연구에서는 총 폴리페놀 함량이 이보다 2배 정도 높은 것으로 나타났다.

플라보노이드 함량은 오미자 발효주정 추출물이 2.85 $\pm$ 0.15 mg/g, 뽕잎 열수 추출물이 8.76 $\pm$ 0.43 mg/g로 총 폴리페놀함량 결과와 동일하게 뽕잎 열수 추출물이 오미자 발효주정 추출물과 비교시 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 모두 높음을 알 수 있었다(Table 1).

**Table 1. Yield, total polyphenol and total flavonoid content of *Schisandra chinensis* fruit (SC) and *Morus alba* leaf (MAL)**

Extracts <sup>1)</sup>	SC	MAL
Yield (%)	24.83 $\pm$ 1.16 <sup>2)</sup>	17.31 $\pm$ 1.84
Total polyphenol (mg/g)	20.11 $\pm$ 0.35	50.02 $\pm$ 0.62
Total flavonoid (mg/g)	2.85 $\pm$ 0.15	8.76 $\pm$ 0.43

<sup>1)</sup>SC: *Schisandra chinensis* fruit 60% ethanol extract, MAL: *Morus alba* leaf hot water extract.

<sup>2)</sup>Values are mean $\pm$ SD (n=3).

### 전자공여능 및 ORAC (oxygen radical absorbance capacity)

전자공여능은 활성 라디칼에 전자를 공여하고 식품 중의 지방질 산화를 억제하는 목적으로 사용되며, 인체 내에서는 활성 라디칼에 의한 노화를 억제시키는 작용으로 이용되고 있다. 라디칼 소거작용은 인체의 질병과 노화를 방지하는데 대단히 중요한 역할을 한다. 따라서 전자공여능 측정에는 DPPH 라디칼 소거법으로 측정하며, DPPH법은 tocopherol,

ascorbate, flavonoid 화합물, 방향족 아민류, Maillard형 갈변 생성물질, peptide 등의 항산화 활성을 나타내는 생리활성 물질에 의해 환원됨으로서 짙은 자색이 발색되는 정도에 따라 항산화 효과를 수소공여능으로 측정하는 방법으로 알려져 있다(22). 오미자 발효주정 추출물과 뽕잎 열수 추출물을 동일농도로 용해하고 DPPH 시약을 이용하여 전자공여능을 조사한 결과, 오미자 발효주정 추출물은 60.84±1.86% 였으며, 뽕잎 열수 추출물은 83.21±3.96%로 오미자 발효주정 추출물보다 뽕잎 열수 추출물이 더 높았다(Table 2). 오미자 발효주정 추출물과 뽕잎 열수 추출물의 동일농도에서 전자공여능의 차이는 자유 라디칼 소거능이나 속도에 있어 뽕잎 열수 추출물에 함유된 폴리페놀 화합물이 오미자 발효주정 추출물 보다 더 높다는 것을 의미하며, 이는 뽕잎 열수 추출물의 항산화능이 더 우수하다는 것을 보여준다.

본 연구에서 사용한 ORAC (oxygen radical absorbance capacity)방법은 radical chain reaction의 가장 핵심적인 단계인 수소전자 전달과 관련하여 AAPH (2,2'-azobis-2-methylpropanimidamide, dihydrochloride)에 의해 생성된 자유라디칼에 대한 항산화 물질의 소거 능력, 즉 radical chain breaking antioxidant capacity를 측정함으로써 식품내에 존재하는 hydrophobic 성분과 hydrophilic 성분 모두에 반응하기 때문에 응용범위가 넓은 장점을 가지고 있다(23). 오미자 및 뽕잎 추출물의 ORAC은 Table 2와 같이 각각 32.22±1.46, 63.54±2.52 μmoles TE/g였는데, 뽕잎 열수 추출물이 오미자 발효주정 추출물보다 높은 항산화능을 보여주었다. Kim과 Kim(24)은 다양한 용매를 이용하여 분리한 인삼 분획물의 ORAC 분석에서 13.1±1.9~27.2±3.0 μmoles TE/g였다고 보고하였는데, 본 연구에서 사용한 오미자 및 뽕잎 추출물의 항산화 활성이 우수함을 알 수 있었다.

**Table 2. Antioxidant activity of *Schisandra chinensis* fruit (SC) and *Morus alba* leaf (MAL)**

Extracts <sup>1)</sup>	SC	MAL
Electron donating ability (%)	60.84±1.86 <sup>2)</sup>	83.21±3.96
ORAC (μmoles TE/g)	32.22±1.46	63.54±2.52

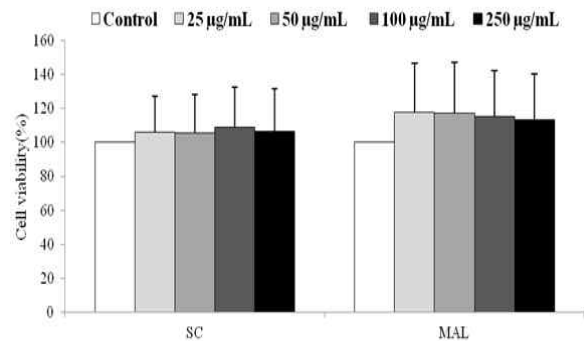
<sup>1)</sup>SC: *Schisandra chinensis* fruit 60% ethanol extract, MAL: *Morus alba* leaf hot water extract, ORAC: oxygen radical absorbance capacity.

<sup>2)</sup>Values are mean±SD (n=3).

**처리농도에 따른 HIT-T15의 세포독성**

Hyperglycemia 상태에서 산화적 스트레스는 정상적인 glycemic control 유지를 방해하기 때문에 2형 당뇨 환자에 있어서 산화적 스트레스 감소를 위한 노력은 필수적이다 (25). Feillet-Coudray 등(26)은 당뇨유발 rat에서 항산화제인 비타민 E 섭취가 lipid peroxidation 및 항산화 활성의 증가시켜 고혈당 상태에서의 산화적 스트레스에 도움을 줄 수 있다고 보고하였다. 인슐린 분비능을 가지는 췌장

세포인 HIT-T15는 일정기간 고농도의 glucose에 노출시 인슐린 분비능이 오히려 저하된다(27). 이를 glucose toxicity라 하는데 glucose toxicity에서 생산된 ROS가 산화적 스트레스를 일으켜 췌장세포의 파괴를 유도하여 인슐린 분비능을 감소시킨다(28). 오미자 발효주정 추출물과 뽕잎 열수 추출물의 항산화능이 고농도의 당에 노출된 췌장 베타세포의 손상을 보호하여 인슐린 분비능 개선에 긍정적인 영향을 줄 수 있는지 햄스터 췌장 베타세포인 HIT-T15를 이용하여 조사하였다. 우선 HIT-T15에 처리할 시료 농도 결정을 위해 0~250 μg/mL의 농도로 오미자 발효주정 추출물과 뽕잎 열수 추출물을 HIT-T15에 처리하고 세포 생육도를 조사한 결과, Fig 1에서와 같이 무처리군 세포 생육도를 100%로 하여 상대적 비교 해 볼 때, 오미자 발효주정 추출물 및 뽕잎 열수 추출물 250 μg/mL에서 106.31±25.41%, 113.36±26.92%로 생육을 나타내어 250 μg/mL농도까지는 시료에 대한 세포 독성 없는 것으로 확인되어 오미자 발효주정 추출물 및 뽕잎 열수 추출물은 췌장 베타세포에 생육에는 영향을 주지 않는 것을 알 수 있었다.



**Fig. 1. Cell viability of HIT-T15 treated with *Schisandra chinensis* fruit (SC) and *Morus alba* leaf (MAL).**

SC: *Schisandra chinensis* fruit 60% ethanol extract, MAL: *Morus alba* leaf hot water extract. The value showed as mean (bar)±standard deviation (error bar) of triplicate determinations.

**HIT-T15의 인슐린 분비능에 미치는 영향**

상기 결과를 기초로 오미자 발효주정 추출물과 뽕잎 열수 추출물을 50 μg/mL 및 100 μg/mL로 처리 농도를 결정하고 glucose 처리와 함께 HIT-T15에 첨가하여 인슐린 분비량을 측정하였다. 시료를 처리 하지 않은 HIT-T15세포에서는 glucose 무처리군과 비교시 glucose 증가에 따라 인슐린 생산량은 증가되는 경향을 나타내었으나 glucose 16.7 mM에서는 인슐린 생산량이 1.54±0.09 μg/g protein으로 무처리군 (1.06±0.04 μg/g protein)과 유사하였다. 즉, 고농도의 glucose에 췌장세포를 노출시 인슐린 생산량이 감소되는 경향은 Robertson 등(29)의 보고와 동일하였다. 고농도 glucose로 산화적 손상을 유도한 HIT-T15에서 오미자 발효주정 추출물과 뽕잎 열수 추출물의 첨가에 따른 인슐린 생산량의 변화를 살펴보면, 50 μg/mL 농도의 오미자 발효

주정 추출물과 빵잎 열수 추출물을 처리한 세포에서는 대조군과 비교시 유의적 변화를 관찰 할 수 없었다( $p < 0.05$ ). 그러나 glucose 10 mM 농도를 처리한 HIT-T15에 오미자 발효주정 추출물 100  $\mu\text{g/mL}$  첨가시 인슐린 생산량이  $5.18 \pm 0.95 \mu\text{g/g protein}$ 로 10 mM glucose로 처리하여 산화적 손상을 유발시킨 HIT-T15의 인슐린 생산량( $2.41 \pm 0.82 \mu\text{g/g protein}$ )과 비교시 약 2배정도 향상됨을 확인하였다. Jung 등(30)은 오미자 건조와 저장에 관한 연구에서 오미자에는 총당이 14%이며 과즙중에 fructose, sucrose, glucose, maltose가 함유되어 있다고 보고하였는데, 포함되어 있는 일부 glucose가 인슐린 생산량에 영향을 주었다고 사료된다.

빵잎 열수 추출물 100  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 16.7 mM glucose로 처리한 HIT-T15의 인슐린 생산량을 대략 6.7배( $10.31 \pm 1.08 \mu\text{g/g protein}$ )정도 증가시켰다. 따라서 당 독성에 의해 파괴된 췌장 베타세포에서 인슐린 생산성 향상은 빵잎 열수 추출물이 오미자 발효주정 추출물보다 우수함을 확인 할 수 있었다.

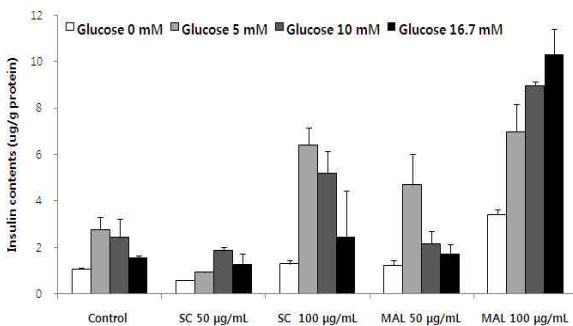


Fig. 2. Insulin secretion from HIT-T15 treated with *Schisandra chinensis* fruit (SC) and *Morus alba* leaf (MAL).

SC: *Schisandra chinensis* fruit 60% ethanol extract, MAL: *Morus alba* leaf hot water extract. The value showed as mean(bar) $\pm$ standard deviation(error bar) of triplicate determinations. The results which have significant difference from control group were indicated with letters ( $p < 0.05$ ).

오미자는  $\alpha$ -amylase와  $\beta$ -glucosidase 활성을 저해 시키는 것으로 보고되고 있으며, 빵잎은 lipid peroxidation 및 항산화 효소를 개선시킬 수 있다고 연구되어 두 소재 모두 혈당을 강하 시킬 수 있는 항당뇨 기능성 소재로 잘 알려져 있다(31,32). 본 연구에서는 오미자와 빵잎의 췌장 베타세포에 대한 영향을 조사하여 오미자와 빵잎의 항당뇨 효과를 검토하고자 하였다. 이에 오미자 발효주정 추출물과 빵잎의 열수 추출물의 항산화 활성을 확인하였으며, 오미자 발효주정 추출물과 빵잎의 열수 추출물이 고농도의 당으로부터 유도되는 췌장세포의 인슐린 분비를 개선시킬 수 있음을 확인하였다. 따라서 오미자 발효주정 추출물과 빵잎 열수 추출물은 2형 당뇨병에 있어 혈당 조절과 함께 당뇨의 근본적 원인인 고농도의 당에 의해 일어나는 손상된 췌장 베타세포의 인슐린 생산성을 증가시켜 2형 당뇨의 예방에 도움을 줄 것으로 기대되어진다. 또한 오미자 발효주정 추출물과

빵잎 열수 추출물의 복합 기능성 항당뇨 소재로서 사용을 위해서는 향후 *in vivo* 동물에서의 효능평가가 연구되어야 할 것이다.

## 요 약

본 연구는 당에 의해 유도된 HIT-T15를 이용하여 항당뇨 소재로 잘 알려져 있는 오미자 및 빵잎 추출물의 인슐린 분비능에 미치는 영향에 대해 조사하였다. 오미자 발효주정 추출물과 빵잎 열수 추출물의 총 폴리페놀함량은 각각  $20.11 \pm 0.35 \text{ mg/g}$  및  $50.02 \pm 0.62 \text{ mg/g}$ 이었으며, 총 플라보노이드함량은  $2.85 \pm 0.15 \text{ mg/g}$  및  $8.76 \pm 0.43 \text{ mg/g}$  이었다. 전자공여능은 빵잎 열수 추출물이  $83.21 \pm 3.96\%$ 로 오미자 발효주정 추출물의  $60.84 \pm 1.86\%$ 보다 높았으며 오미자 및 빵잎 추출물의 ORAC은 각각  $32.22 \pm 1.46$ ,  $63.54 \pm 2.52 \mu\text{moles TE/g}$ 였는데, 빵잎 열수 추출물이 오미자 발효주정 추출물보다 높은 항산화능을 보여주었다. Glucose 10 mM 농도를 처리한 HIT-T15에 오미자 발효주정 추출물 100  $\mu\text{g/mL}$  첨가시 인슐린 생산량은 2배 정도 증가되었다. 고농도인 16.7 mM의 glucose가 처리된 HIT-T15의 인슐린 생산량( $1.54 \pm 0.09 \mu\text{g/g protein}$ )은 glucose 무첨가에서 생산되는 인슐린량( $1.06 \pm 0.04 \mu\text{g/g protein}$ )과 유사하였는데 빵잎 열수 추출물 100  $\mu\text{g/mL}$  첨가에 의해 인슐린 생산성은 대략 6.7배 정도 향상되었다. 따라서 오미자 발효주정 추출물과 빵잎의 열수 추출물이 고농도의 당으로부터 유도되는 췌장세포의 인슐린 분비를 개선시킬 수 있음을 확인하였다.

## 감사의 글

본 연구는 지식경제부 지역전략기획기술개발사업(과제번호 : 70004935) 연구비지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Kaprio J, Tuomilehto J, Koskenvuo M, Romanov K, Reunanen A, Eriksson J, Stengård J, Kesäniemi YA (1992) Concordance for type 1 (insulin-dependent) and type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus in a population-based cohort of twins in Finland. *Diabetologia*, 35, 1060-1067
- Butler AE, Janson J, Susan BW, Rizzan RA, Butler PC (2003)  $\beta$ -Cell deficit and increased  $\beta$ -cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes*, 52, 102-110

3. Paul R, Jamie H, Phuong OT, Yoshito T, Hiroki T (2003) Glucose Toxicity in  $\beta$ -Cells: Type 2 Diabetes, Good Radicals Gone Bad, and the Glutathione Connection. *Diabetes*, 52, 581-587
4. Abir TE, Amany A, Amal JF (2005) Protective effect of red grape seeds proanthocyanidins against induction of diabetes by alloxan in rats. *Pharmacol Res*, 52, 264-270
5. Paul R, Jamie H, Phuong OT, Vincent P (2004)  $\beta$ -Cell Glucose Toxicity, Lipotoxicity and Chronic Oxidative Stress in Type 2 Diabetes. *Diabetes*, 53, 5119-5124
6. Rodney CR, Roger BM (2001) Use of Antioxidant Nutrients in the Prevention and Treatment of Type 2 Diabetes. *J Am Coll Nutr*, 20, 363-369
7. Hancke JL, Burgos RA, Ahumada F (1999) *Schisandra chinensis*(Turcz) Baill. *Fitoterapia*, 70, 451-471
8. Cho YJ, Ju IS, Kin BC, Lee WS, Kim MJ, Lee BG, An BJ, Kim JH, Kwon OJ (2007) Biological activity of Omija(*Schizandra chinensis* Baillon). *J Korean Soc Appl Biol Chem*, 50, 193-203
9. Rho SN, Oh HS (2002) Effect of Omija(*Schizandra chinensis* Baillon) extracts on the growth of liver cancer cell line SNU-398. *Korean J Nutr*, 35, 201-206
10. Choi JH, Kim DI, Park SH, Kim DW, Lee JS, Ryu KS, Lee WC (1999) Effect of Mulberry leaf extract on oxygen radicals and their scavenger enzymes in serum of rats. *Korean J Seric Sci*, 41, 135-140
11. Do GP, Lee HI, Do JR, Kim HK (2011) Inhibition of adipogenesis in 3t3-L1 adipocytes with water and ethanol extracts of *Curdrania tricuspidata* leaves. *Korean J Food Preserv*, 18, 244-249
12. 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, 123-129
13. Kim SI, Sim KH, Ju SY, Han YS (2009) A study of antioxidative and hypoglycemic activities of Omija(*Schizandra chinensis* Baillon) extract under variable extract conditions. *Korean J Food and Nutr*, 22, 41-47
14. Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticult*, 16, 144-158
15. Jia Z, Tang M, Wu J (1999) The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*, 64, 555-559
16. Lee EJ, Kim JS, Kwon JH (2008) Optimization of microwave-assisted extraction conditions for total catechin and electron donating ability of grape seed extracts. *Korean J Food Preserv*, 15, 840-846
17. Talcott ST, Lee JH (2002) Ellagic acid and flavonoid antioxidant content of muscadine wine and juice. *J Agri Food Chem*, 50, 3186-3192
18. Leng SH, Lu FE, XU LJ (2004) Therapeutic effects of berberine in impaired glucose tolerance rats and its influence on insulin secretion. *Acta Pharmacol Sin*, 25, 496-502
19. Kim JH, Jeong CH, Choi GN, Kwak JH, Choi SG, Heo HJ (2009) Antioxidant and Neuronal cell protective effects of Methanol extract from *Schizandra chinensis* using an in vitro system. *Korean J Food Sci Technol*, 41, 712-716
20. Kim CJ, Suh HJ (2005) Antioxidant activities of Rhubarb extracts containing phenolic compounds. *Korean J Food Culture*, 20, 77-85
21. Cho YJ, Chun SS, Kwon HJ, Kim JH, Lee KH, An BJ, Choo JW (2006) Inhibitory effects of water and 80% Ethanol extracts from Mulberry leaves(*Morus alba* L) on angiotensin converting enzyme and xanthine oxidase. *J Korean Soc Appl Biol Chem*, 49, 114-124
22. Villano D, Fernandez-Pachon MS, Moya ML, Troncoso AM, Garcia-Parrilla MC (2007) Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 71, 230-235
23. Prior RL, Hoang H, Gu L, Wu X, Bacchiocca M, Howard L, Hampsch-Woodill M, Huang D, Ou B, Jacob R (2003) Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity oxygen radical absorbance capacity (ORAC) of plasma and other biological and food samples. *J Agri Food Chem*, 51, 3273-3279
24. Kim SH, Kim YM (2007) Determination of the antioxidant capacity of korean ginseng using an ORAC assay. *J East Asian Soc Dietary Life*, 17, 393-401
25. Unger J (2008) Reducing oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus: a primary care call to action. *Insulin*, 3, 176-184
26. Feillet-Coudraya C, Rock E, Coudray C, Grzelkowska K, Azais-Braesco V, Dardevet D, Mazur A (1999) Lipid peroxidation and antioxidant status in experimental diabetes. *Clinica Chimica Acta*, 284, 31-43
27. Robertson RP, Zhang HJ, Pyzdrowski KL, Walseth TF (1992) Preservation of Insulin mRNA levels and insulin secretion in HIT cells by avoidance of chronic exposure to high glucose concentrations. *J Clin Invest*, 90, 320-325
28. Lee YJ, Suh KS, Choi MC, Chon S, Oh SJ, Woo JT,

- Kim SW, Kim JW, Kim YS (2010) Kaempferol protects HIT-T15 pancreatic beta cells from 2-deoxy-d-ribose-induced oxidative damage. *Phytother Res*, 24, 419-423
29. Robertson RP, Zhang HJ, Kathryn LP, Timothy FW (1992) Preservation of insulin mRNA levels and insulin secretion in HIT cells by avoidance of chronic exposure to high glucose concentrations. *J Clin Invest*, 90, 320-325
30. Jung GT, Ju IO, Choi JS (1998) Studies on drying and preservation of Omija(*Schizandra chinensis* BAILL.). *Korean J Food Preserv*, 5, 217-223
31. Jo SH, Ha KS, Moon KS, Lee OH, Jang HD, Kwon YI (2011) In Vitro and in vivo anti-hyperglycemic effects of Omija(*Schizandra chinensis*) Fruit. *Int J Mol Sci*, 12, 1359-1370
32. Andallu, B, Varadacharyulu NC (2003). Antioxidant role of mulberry(*Morus indica* L. cv. Anantha)leaves in streptozotocin-diabetic rats. *Clinica Chimica Acta*, 338, 3-10

---

(접수 2011년 5월 27일 수정 2011년 10월 18일 채택 2011년 10월 21일)