

저근백피 에탄올 추출물의 혈당강하 작용에 대한 연구

김옥경[†]

[†]대진대학교 자연과학대학 식품영양학과
(2013년 7월 25일 접수; 2013년 9월 25일 수정; 2013년 9월 26일 채택)

Antidiabetic Study of ethanol extract on *Ailanthi cortex radici*

Ok-Kyung Kim[†]

[†]Department of Food Science and Nutrition, Dae Jin University,
Pochon 487-711, Korea

(Received July 25, 2013 ; Revised September 25, 2013 ; Accepted September 26, 2013)

Abstract : This study was performed to investigate the antidiabetic study effect in ethanol extract of *Ailanthicortex(A.C) radici* in Streptozotocin(STZ)-induced diabetic rats. Diabetes was induced by intravenous injection of STZ at a dose of 45mg/kg dissolved in citrate buffer. The ethanol extract of *A.C radici* was orally administrated once a day for 7 days at a dose of 500mg/kg. The content of serum glucose, triglyceride(T.G), total cholesterol were significantly decreased in treated group compared to the those of STZ-control group. The content of hepatic glycogen and activity of glucokinase(GK) were significantly increased in treated group compared to the those of STZ-control group. but activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase(G-6-PDH) was significantly increased. These results indicated that ethanol extract of A.C would have antidiabetic effect in STZ-induced diabetic rats.

Keywords : streptozotocin, triglyceride, total cholesterol, antidiabetic effects, *Ailanthicortex(A.C) radici*

1. 서론

최근 우리사회는 식습관의 서구화와 육체적 활동의 감소에 따른 운동부족으로 인하여 비만, 심혈관계질환, 고지혈증, 고혈압, 당뇨병과 같은 생활습관성 질환이 증가하고 있다[1] 이중에서도 당뇨병(diabetes mellitus)은 21세기에 들어서 전

세계적으로 빠른 속도로 확산되어가고 있으며, 당뇨병으로부터 고통받고 있는 사람들이 급격하게 증가하고 있다[2]. 당뇨병은 췌장에 있는 Langerhans islants의 β -세포에서 분비되는 insulin의 절대적 또는 상대적 분비부족으로 혈중 glucose농도가 급격하게 상승하여 체내에 비정상적인 당질대사를 초래하는 질병이다. 따라서 당뇨병에 대한 적절한 치료와 예방이 이루어지지 않는다면 혈관성 장애뿐만 아니라 신증, 신경변증, 망막변증, 백내장과 같은 심각한 합병증을 야기하

[†]Corresponding author
(E-mail : okkim@daejin.ac.kr)

기도 한다[3]. 점차 경제가 발전함에 따라 건강에 대한 인식이 증가하고, 평균수명의 증가와 고령화에 따라 천연식물을 이용하여 질병을 예방하고 치료에 대한 관심이 높아지고 있다. 본 실험에 사용한 저근백피는 일반적으로 가축나물로 불리는데, 이른봄에 잎의 새순을 부각이나 산채나물 등 식재료로 이용되고 있으며, 가축나물의 뿌리인 저근백피는 수렴작용, 항균, 항바이러스, 소염, 살충작용이 있는 것으로 알려져 있고 민간에서도 신경통, 이질과 대하증, 지사제, 그리고 살충제 등의 목적으로 사용한다[4-7]. 따라서, 본 실험에서는 예비실험 결과 혈당강하 작용이 있었던 저근백피 에탄올 추출물의 혈당강하작용에 관여하는 몇몇 효소인 Glucose-6-phosphate dehydrogenase(Glucose-6-PDH), glucose-6-phosphatase (Glucose-6-Pase), Glucokinase(GK)를 측정하여 항당뇨 기능성 식품개발에 기여할 수 있는 기초적인 자료를 얻고자 하였다.

2. 실험

2.1. 시료, 시약 및 기기

본 실험에 사용한 저근백피는 서울경동 약령시장에서 구입(경북,영천산)하였으며, 시약 및 기기는 Kim[8]의 방법에 따라 사용하였다. 즉, 시약은 streptozotocin(STZ), amyloglucosidase, glucose-6-phosphate, glucose-6-phosphate dehydrogenase, ascorbic acid, glycyglycine, Tris-HCl, NAD, ATP, bovine serum albumin 등은 Sigma Co.(U.S.A)의 제품을 사용하였으며, glucose kit는 영동제약(Korea)의 것을, 나머지 기타시약은 특급시약을 구입하여 사용하였다. 기기는 rotary vacuum evaporator(Eyela Co., Japan), deep freezer(Hannil Co., Korea), ultracentrifuge(sorval, U.S.A), centrifuge(Hannil Co., Korea), UVspectrometer(Kontron 927, Italy), homogenizer(Omni, U.S.A.) 등을 사용하였다.

2.2. 추출 실험

구입한 저근백피 200g에 95% Ethanol 1,000 ml를 넣고 95°C의 water bath에서 4시간씩 3번 가열 추출한 후 여액을 감압-농축하였다.

2.3. 실험동물사육, 당뇨유발 및 검역의 조제

Sprague-Dawley(SD)계 수컷 흰쥐(rat)를 (주) 오리엔트 바이오에서 구입하여 일주일간 고탄사료(주, 삼양사)를 먹여 사육장 환경에 적응시킨 후 215g±10g의 흰쥐를 하룻밤 동안 절식시킨 후 췌장의 β -cell 에만 선택적으로 작용하여 당뇨를 유발하는 Streptozotocin(STZ)을 45mg/kg.b.w 용량으로 0.01M citric acid buffer(pH 4.5)에 녹여 2 ml/kg.b.w 용량으로 미정맥 주사를 하였다. STZ 주사 48시간이 경과한 후 안와 정맥으로 부터 혈액을 채취하여 혈당이 300mg/dl 이상인 것을 당뇨가 유발된 것으로 간주하여 5마리씩 당뇨 유발 대조군(STZ-Control), 당뇨 유발 실험군(STZ-Sample)으로 나누었으며 정상 군과 당뇨유발 대조군은 0.5% CMC를, 당뇨 유발 실험군에는 저근백피의 Etanol 추출물을 500mg/kg, b.w.의 용량으로 0.5% CMC 용액에 현탁시켜 10 ml/kg, b.w. 씩 1일 1회 7일간 경구투여 하였다.

2.4 효소원 조제 및 분석

혈청중의 glucose, TG, 총콜레스테롤 함량과 간조직 중의 glycogen함량과 당대사를 위한 glucose-6-phosphatase(G-6-pase), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH), glucokinase(GK)활성 측정은 Kim[8]과 같은 방법으로 측정하였다.

2.5. 통계처리

모든 실험 결과는 평균치와 \pm 표준 오차로 계산하였고, 각 군간의 차이는 Student's t-test를 실시하여 p값이 5% 미만일 때 유의성이 있다고 판정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. Ethanol 추출물의 수율

구입한 저근백피 200g에 95% Ethanol 1,000 ml를 넣고 95°C의 water bath에서 4시간씩 3번 가열 추출한 후 여액을 감압-농축 한 결과 19g(수율 9.5%)을 얻었다.

3.2. 혈당 저하 효과

혈청내의 혈당저하 효과는 Table 1과 같다. 정상군의 혈당치가 128.10±24.41mg/dl에 비해 당

Table 1. The Serum Glucose Level of Normal and Diabetic Rats Fed on ethanol Extract of *Ailanthi cortex*(A.C) radici

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	Glucose(mg/dl)
Normal	-	128.10±24.41 ¹⁾
STZ ²⁾ -control	-	516.16±10.79 [#]
STZ+A.C ³⁾ radici	500	314.28±23.17 [*]

¹⁾Values are the mean±S.E.(n=5)

²⁾Streptozotocin(45mg/kg,b.w) [0.01M citric acid buffer(pH 4.5)] was intraperitoneal(i.p) injected into the tail vein. [#]Significantly different from normal at p<0.05, ^{*}Significantly different from STZ-control at p<0.05 by student's *t*-test.

³⁾The ethanol extract of *Ailanthi cortex*(A.C) radici was administrated orally once a day in experimental rats for 7 days.

노 대조군은 516.16±10.79 mg/dl로 유의적인 증가를 나타내었다. 이는 Williamson등[9]이 STZ 투여 1~3일 후에 현저한 고혈당과 hypoinsulinemia는 간장의 인슐린 저항으로 당의 이용 감소를 나타내고, 상승된 혈당수준은 vascular oxidation 대사의 이상을 초래하며 산소가 불완전하게 산화되어 생성된 유리기와 활성화로 β -세포의 자동면역기능이 파괴되어 당뇨 증상을 보이게 된다고 보고하였다. 그러나 저근백피 추출물 투여군에서 314.28±23.17 mg/dl로 유의적인 감소를 나타내었다.

3.3. 지질함량에 미치는 영향

Triglyceride함량, Cholesterol 함량 및 HDL-cholesterol 함량

당뇨가 잘 조절되지 않으면 간장의 hydroxyl methyl glutaryl CoA(HMG-CoA) reductase의 활성 저하로 장의 HMG-CoA reductase 활성이 증가되어 순환 혈액으로 cholesterol의 이동이 증가되어 혈장 cholesterol치가 증가된다는 보고 [10]와 인슐린의 작용에 문제가 있는 당뇨병의 경우에는 lipoprotein lipase의 작용 부족으로 간의 VLDL의 생성이 증가되어 혈액 속의 VLDL과 LDL의 농도를 증가시킨 결과 혈중의 TG와 cholesterol의 농도를 증가시킨다는 보고[11]에 따라 본 실험에서도 Table 2와 같이 TG 함량은 정상 군이 25.70±9.15 mg/dl인 것에 비해 당뇨 대

조군은 242.57±71.23 mg/dl로 유의적인 증가를 나타내었으나, 저근백피 추출물을 투여한 군에서는 93.55±4.82 mg/dl로 유의적인 감소를 나타내었다. Total cholesterol 함량도 정상군의 75.36±5.04mg/dl에 비해 당뇨 대조군에서 113.84±8.04 mg/dl로 유의적인 증가를 나타내었다. 그러나 저근백피 추출물을 투여한 실험 군에서는 58.53±9.42 mg/dl로 유의적인 감소를 나타내었다 HDL-cholesterol은 말초조직으로부터 cholesterol을 간장으로 운반하고 LDL-cholesterol이 혈관 벽에 축적되는 것을 방지할 뿐 만 아니라 혈관 벽에 축적된 cholesterol을 제거함으로써 동맥경화를 방지한다고 알려져 있다. 본 실험결과 Table 2와 같이 정상군이 122.06±7.32 mg/dl 비해 당뇨대조군은 64.81±7.05 mg/dl로 유의적인 감소를 나타내었다. 이는 당뇨병 유발시 HDL-cholesterol 함량이 감소한다는 보고 [12,13]와 유사한 결과를 나타내었다. 저근백피 추출물을 투여한 군에서는 당뇨 대조군에 비해 유의적인 증가를 나타내었다. 따라서 저근백피 에탄올 추출물이 지질대사 개선에 효과가 있는 것으로 사료된다.

4. 당대사 반응에 미치는 영향

4.1 간 조직중의 Glycogen 함량

STZ에 의해 당뇨가 유발된 쥐에서는 glycogen

Table 2. The Serum Lipid Profile of Normal and Diabetic Rats Fed on Ethanol Extract of *Ailanthi cortex(A.C) radici*

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	Triglyceride (TG)	Total cholesterol	HDL cholesterol
		(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)
Normal	-	125.70±9.15 ¹⁾	75.36±5.04	122.06±7.32
STZ ²⁾ -control	500	242.57±71.23 [#]	113.84±8.04 [#]	64.81±7.05 [#]
STZ+ A.C ³⁾ radici		93.55±4.82 [*]	58.53±9.42 [*]	92.19±6.50 [*]

^{1,2,3)} See the legend of Table 1.

Table 3. The Content of Hepatic Glycogen of Normal and Diabetic Rats Fed on Ethanol Extract of *Ailanthi cortex(A.C)radici*

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	Glycogen (mg/g)
Normal	-	82.06±9.78 ¹⁾
STZ ²⁾ -control	-	34.44±10.15 [#]
STZ+ A.C ³⁾ radici	500	67.17±8.54 [*]

^{1,2,3)} See the legend of Table 1

synthase phosphatase활성의 감소[14]와 장의 β -세포 파괴에 의한 인슐린 분비 부족으로 glycogen phosphorylase가 활성화되어 glycogen 분해가 증대되어 간의 glycogen 함량이 감소한다는 meglasson등의 보고[14]에 따라 간내의 glycogen 함량은 Table 3과 같이 정상군의 조직내 82.06±9.78 mg/g 와 비교하여 당뇨대조군에서 34.44±10.15 mg/g 로 유의적인 감소를 나타내었다. 그러나 저근백피 추출물 투여 군에서 67.17±8.54mg/g로 유의적인 증가를 나타내었다. 이는 혈당저하 실험에서 저근백피 추출물 투여군에서 유의적인 혈당저하 효과가 간의 glycogen 함량을 증가시킨 것으로 사료된다.

4.2. Glucose-6-phosphatase(G-6-Pase) 활성

간 조직에서 glucose-6-phosphate를 glucose로 합성시 촉매반응에 관여는 당신생합성과정의 첫 번째 효소인 G-6-pase 활성은 Table 4와 같다.

정상군 7.51±0.26 nmol/mg protein/min 인 것에 비하여 당뇨 대조군은13.70±0.52nmol/mg protein/min로 유의적인 증가를 나타내었다. 이는 당뇨동물에서 고혈당 현상과 함께 혈장의 protein kinase 활성도와 insulin농도는 감소하였으나 G-6-pase 활성도는 증가하였다는 Ghosh등의 보고[15]와 유사하였다. 본 실험결과 저근백피 추출물 투여군에서 유의적인 감소를 나타내었다.

4.3 Glucose-6-phosphate dehydrogenase(G-6-PDH)활성

G-6-PDH의 활성은 Table 4와 같다. 정상군이 0.11±0.01 unit/mgprotein/min인 것에 비하여 당뇨대조군은 0.02±0.01 unit/mg protein/min로 유의적인 감소를 나타내었다. G-6-PDH는 체내의 모든 세포에 존재하며 glucos 대사와 정의 pentose phosphate pathway로 들어가는 최초의 과정에 관여하는 효소이며, 또한 GSH-Px가 GSSG를 GSH로 환원시키는데

Table 4. The activities of the Cytosolic Glucose-6-phosphatase(Glucose-6-pase), Glucose-6-phosphate Dehydrogenase(Glucose-6-PDH), and Glucokinase(GK) in Normal and Diabetic Rats Fed on ethanol Extract of *Ailanthi* cortex(A,C)radici

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	Glucose-6-Pase ¹⁾	Glucose-6-PDH ²⁾	Glucokinase ³⁾
Normal	-	7.51±0.26 ⁴⁾	0.11±0.01	0.17±0.03
STZ ⁵⁾ -control	-	13.70±0.52 [#]	0.02±0.01 [#]	0.05±0.01 [#]
STZ+A.C ⁶⁾ radici	500	10.55±0.25 [*]	0.08±0.02 [*]	0.09±0.01 [*]

¹⁾Glucose-6-phosphatase: nmole/mg/protein/min

²⁾Glucose-6-phosphate dehydrogenase: moles/mg/protein/min

³⁾nmole/mg/protein/min

^{4,5,6)} See the legend of Table 1.

필요NADP를 생성하는 효소로서[16], STZ투여에 의해 당뇨가 유발된 군은 G-6-PDH의 효소활성 감소에 따라 ribose-5-phosphate와 NADPH의 생성 감소를 유발하며 이러한 일련의 대사 변화는 당뇨 유발시 환원력의 감소로 인한 세포막의 구조변화와 여러 세내 소기관의 구조변형을 유발시키며 세포의 증식 및 성장의 감소에 영향을 미친다. 본 실험 결과, 저근백피 추출물 투여 군에서 당뇨대조군과 비교하여 유의적인 증가를 나타내었다.

4.4.간 조직중의 Glucokinase(GK) 활성

해당 작용의 첫 단계 주요조절 효소인 glucokinase는 hexokinase group의 isozyme들 중 하나로서 간세포와 췌장의 β -세포에만 존재하며 두 조직의 당대사 조절에서 주요한 역할을 한다. Glucokinase는 hexokinase 보다 당에 대해 높은 특이적 기질농도 값(Km)을 갖고 있어서, 혈당의 변화에 따라 당산화속도를 적절히 변화시킬 수도 있고, 영양 상태나 호르몬 상태에 따라 그 활성도가 변화되어서 간의 총 당인산화 능력의 변화에 기여한다. 간 조직에서 glucose의 인산화를 촉매하여 glucose-6-phosphate로 만드는 당분해 과정에 관여하는 효소인 GK의 효소활성은 Table 5와 같다. 정상군의 0.17±0.03nmol/mg/protein/min와 비교하여 당뇨대조군에서 0.05±0.01nmol/mg/protein/min를 나타내어 유

의적인 감소를 나타내었으나 저근백피 추출물 투여군에서 0.09±0.01nmol/mg protein /min 로 유의적으로 증가하여 비정상적인 당대사 반응을 정상화시켜주고 있음을 알 수 있었다.

4. 결론

STZ투여로 당뇨가 유발된 흰쥐에게 저근백피 에탄올 추출물을 500mg/kg, b.w.의 용량으로 1일, 1회, 7일간 투여한 결과 혈당저하 및 몇가지 당대사 효소를 분석한 결과 다음과 같았다.

1. STZ투여로 증가된 혈당치는 저근백피 에탄올 추출물 500mg/kg,bw투여에 의해 유의적인 감소를 나타내었다.
2. STZ 투여로 감소된 Glycogen함량과, Glucose-6-phosphate dehydrogenase 활성과, Glucokinase 활성도가 저근백피 에탄올 추출물로 인하여 유의적인 증가를 나타내었고, 증가된 Glucose-6-phosphatase활성도는 유의적인 감소를 나타내었다.

이와같이, 저근백피 에탄올 추출물을 500mg/kg,b.w.의 용량으로 투여한 결과 혈당 저하와 정상적인 몇가지 당 대사 활성을 갖는 유효성분을 함유하고 있음을 알 수 있었다

REFERENCES

1. J.H.Shin., S.J.Lee., J.K.Seo., H.J.Lee., J.C.Ju., N.J.Sung, Effect of a Combined Extract of *Orostachyas japonicus* with Medicinal Plants on the Lipid Composition of the Liver and Kidney from streptozotocin-induced Diabetic Rats, *J.Ko. Soc. Food Sci Nutr.* **41**,510(2012).
2. P. Daisy., K. Saipriya., Biochemical analysis of *cassia fistula* aqueous extract and phytochemically synthesized gold nanoparticles as hypoglycemic treatment for diabetes mellitus. *Int. J. nanomedicine*, **7**, 1189(2012).
3. S.H. Choi., J.R. Park., Lipid Modulatory Functions of Cysteine Compounds found in genus *Allium* plants in diabetic mice. *Ko. J. Food Nutr.* **23**. 361 (2010).
4. J. Kim., H.K.,Kim, S.W.Park., J.W., Choi., C.K., Lee, Studies on the Biological activities of the constituents of *Ailanthi cortex radicis* II. Acute and renal toxicity of cgloroorm fraction on epoxide hydrolyzing system in Liver. *Ko. J. Pharmacogn.* **25**, 47 (1994).
5. K. Kubota., N. Hukamiya., H. Tokuda. H., K. Tagahara, Quassinoids as Inhibitors of Epstein-Barr virus early antigen activation. *Cancer Letters* **113**, 165 (1997).
6. M.J., Pascual., A., Robledo, Screening for antiinsect activity in *mediterranean* plants. *Industr. crops Prod.* **8**, 183 (1998).
7. Y.M., Jeong., S.K., Park., K.J.,Lee., Y.M., Kim., W.S., Kim, Effect of *Ailanthus altissima* on the apoptosis and cell cycle of HL-6-leukemia cell line *Ko. Oriental Physiol.* **17**. 914 (2003).
8. O. K. Kim, Antidiabetic and antioxidative effects of *Lycii fructus* in streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *J. Oil chemists Soc.* **25**, 73 (2008).
9. J. R, Williamson, K. Chang, M. Franges, K.S, Hasan, Perspectives in diabetic hyperglycemic pseudohypoxia and diabetic complications. *Diabetes*, **42**, 801 (1993).
10. N.M.G,Omera, R.bevery, O. collins, P.B, Johnson, A.H, Tomkin, G.H, Chol, Metabolism in alloxan-induced diabetic rabbits. *Diabetes*, **39**, 626 (1990).
11. S. Y. Cho, J. Y. Park, E. M, Park, M. S, Choi, M. K. Lee, S. M. Jeon, M. K, Jang, M. J, Kim, Y. B, Park, Alternation of hepatic antioxidant enzyme activities and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats by supplementation of dandelion water extract. *Clin. Chim. Acta.*, **317**, 109 (2002).
12. R. B.Goldberg, Lipid disorders in diabetes. *Diabetes Care.*, **4**, 561 (1981).
13. K. M. West, M. M. S, Ahuja, P. H. Bennett, The role of circulating glucose and triglyceride concentration and their interaction with other "risk factor" as determinants of atherosclerotic disease in nine diabetic population samples from WHO multinational study. *Diabetes Care*, **6**, 361 (1983).
14. M. D. Meglasson, P. T. Burch, D. K. Berner, H. Najafi, F.M, Matschinsky, Identification of glucokinase as an alloxan-sensitive glucose sensor of the pancreatic- β -cell. *Diabetes* **35**, 1163 (1986).
15. R. Ghosh, B. Mukherjee, M. A, Chatterjee, A novel effect of selenium on streptozotocin induced diabetic mice. *Diabetes Res.*, **25**, 165 (1994)
16. S. Himeno, A. Takekawa, N. Imura, Special difference in hydroperoxide scavenging enzyme with special reference to glutathione peroxidase in guinea-pigs. *Comp. Biochem. Physiol. B.*, **104**, 27 (1993).