

약용식물 물 추출물이 항당뇨 효소의 유전자 발현에 미치는 영향

김현숙¹ · 김태우^{1,2} · 김대중^{1,2} · 김경곤² · 최 면^{1,2*}

¹강원대학교 웰빙특산물산업화지역혁신센터

²강원대학교 생명건강공학과

Effects of Medicinal Plant Water Extracts on Expression of Anti-diabetic Enzymes mRNA

Hyun Sook Kim¹, Tae Woo Kim^{1,2}, Dae Jung Kim^{1,2}, Kyoung Kon Kim², and Myeon Choe^{1,2*}

¹Well-being Bioproducts RIC Center and ²Dept. of Bio-Health Technology,

Kangwon National University, Gangwon 200-701, Korea

ABSTRACT This study evaluated the anti-diabetic effects of medicinal plant water extracts on expression of hepatic glucokinase (GCK), pyruvate dehydrogenase (PDH) and acetyl-CoA carboxylase (ACC) mRNA. GCK, PDH and ACC mRNA expression levels were measured by RT-PCR. The medicinal plants used in our study were *Cordyceps militaris* (CM), *Perilla sikokiana* (PS), *Salvia miltiorrhiza* Bunge (SMB), *Panax notoginseng* (PN) and *Angelica utilis* Makino (AUM). We found that GCK mRNA expression was increased to about 181% at the 250 ppm of CM water extract. Furthermore, we also found that CM and AUM water extracts stimulated PDH mRNA expression level related to glucose metabolism, however, PS, SMB and PN did not stimulate PDH mRNA expression as expected. Expression of ACC mRNA was also significantly higher in both CM and AUM water extracts. Overall, the results of our study suggest that CM and AUM water extracts stimulate expression of hepatic GCK, PDH and ACC mRNA.

Key words: glucokinase, pyruvate dehydrogenase, acetyl-CoA carboxylase, anti-diabetic

서 론

당뇨병은 현재 근원적으로 치료할 수 있는 방법이 개발되어 있지 않은 질병으로서 운동 및 식이요법과 함께 약물요법이 절대적으로 필요하다. 당뇨병 관리에는 인슐린 제제, 경구용 혈당강하제의 약물요법이 많이 사용되고 있으나 부작용 등의 문제로 최근 천연소재의 특성을 이용한 기능성 식품들이 많이 개발되고 있다.

우리나라에는 민간요법으로 혈당강하를 비롯하여 다양한 효능이 있다고 알려진 약용식물들이 많이 있다. 약용식물 중 동충하초(*Cordyceps(C.) martialis*)는 항암, 항산화, 면역증강, 혈당강하 등 다양한 생리활성을 지닌 기능성 소재로서 *Cordyceps*를 중심으로 많은 연구가 진행되어 왔다. *C. sinensis* 다당체 부분의 항암, 면역강화, 항피로 등이 보고되고 있으며(1-3), *C. sinensis* 및 *C. militaris*에서 분리된 β -D-glucan polysaccharide, cordycepin, ergosterol peroxide에 의한 항암 효과 등이 보고되었다. 항당뇨 효능에 대한 연구에서 *C. militaris* 추출물의 혈당강하 효능이 입증되었고(4), *C. sinensis* 자실체에서 다당류를 분리하여

혈당강하 작용이 있음이 보고되었다(5). 당대사 관련 효소에 대한 연구에서는 *C. militaris* 열수 추출물에서 분리된 유효성분이 간세포 glucokinase 효소 활성을 증가시킨 것으로 보고되었다(6). 자소엽(*Perilla sikokiana*)은 차조기 또는 소엽이라고도 하며 강력한 항산화 능력이 있으며, 자소엽 성분 중 luteolin은 신경세포의 손상을 억제하여 노인성 질환인 파킨슨병에 이용될 수 있다고 하였다(7). 또한 항암, 항균, 식균작용 등이 알려져 있다(8-10). 단삼(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)은 주요 화학성분으로 tanshinone I, II A, II B 등을 포함하는 diterpene 화합물과 danshensu, protocatechuic aldehyde, salvianolic acid B 등을 포함하는 phenolic 화합물, 그 외에 baicalin, β -sitosterol, ursolic acid, vitamin E, tannin 등이 알려져 있다(11). 단삼의 생리활성으로는 항암, 항돌연변이, 항산화, 항혈전 등이 있으며(12-15), 최근 단삼이 당뇨병성 신증 모델 흰쥐의 신증의 악화와 진행을 억제하는 효능이 있음이 실험적으로 밝혀져 보고되었다(16). 전철(*Panax notoginsengs*)은 오가피과(Panax) 식물로서 주요 성분은 dammarane계 saponin이고(17) 이외에도 polyacetylene계 화합물과 sesquiterpene계 화합물 등이 보고된 바 있다(18). 명월초(*Angelica utilis* Makino)는 비타민과 무기질이 풍부하며(19), 주성분으로 flavonoid, coumarin, saponin 등이 함유되어 있다

Received 8 March 2013; Accepted 2 April 2013

*Corresponding author.

E-mail: kimhs4324@hanmail.net, Phone: 82-33-250-8645

(20). 명월초는 민간에서는 고혈압, 당뇨에 효능이 있다고 알려져 있으며, 항산화, 고지혈증 개선과 간독성 해독 등의 효능이 보고되고 있다(21,22). 그러나 이들 약용식물의 혈당강하 작용에 대한 과학적인 연구는 미비한 실정이므로 기능성 식품에 적용시키기 위한 생리활성의 검색을 위해서는 더 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

본 연구에서는 5종의 약용식물인 동충하초, 자소엽, 단삼, 전칠, 명월초의 물 추출물이 당대사 관련 효소인 glucokinase(GCK), pyruvate dehydrogenase(PDH), acetyl-CoA carboxylase(ACC) mRNA의 발현에 미치는 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

추출물의 제조

본 실험에 사용된 동충하초, 자소엽, 단삼, 전칠, 명월초는 건재상에서 구입하여 수세한 후 10배 증류수를 가하여 60°C에서 24시간 동안 교반하면서 추출하였다. 이를 실온에서 방냉하고 여과한 다음 감압농축기(SB-1000, EYELA, Tokyo, Japan)로 농축하였고, 동결건조기(FD 8508, Ilshin, Yangju, Korea)를 이용하여 -70°C에서 건조한 시료를 냉동보관 하면서 사용하였다.

세포 배양

HepG2 세포는 한국세포주은행(Seoul, Korea)에서 분양 받았으며, 25 mM HEPES, 25 mM NaHCO₃, 90% minimum essential medium(MEM, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 배지에 10% heat-inactivated fetal bovine serum(FBS, Sigma-Aldrich)과 1% penicillin-streptomycin을 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다.

세포 생존율

세포 생존율은 MTT[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] 환원방법을 이용하여 측정하였다(23). HepG2 세포를 96-well plates에 1×10⁴ cells/mL 농도로 100 µL 분주한 뒤 24시간 동안 배양한 후 FBS와 1% penicillin-streptomycin이 첨가되지 않은 배지에 농도별로 제조한 후 세포에 처리하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. MEM의 10분의 1에 해당하는 MTT 용액(5 mg/mL)을 가하고 37°C에서 4시간 더 배양하여 MTT를 환원시켜 생성된 formazan을 조심스럽게 제거하였다. 암조건에서 30분간 건조한 후 dimethyl sulfoxide(DMSO, Sigma-Aldrich)를 100 µL 분주하여 1 시간 동안 혼합한 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Total RNA 추출 및 cDNA 합성

Kim 등(24)의 방법에 의거하여 HepG2 세포를 6-well plates에 1×10⁶ cells/mL 분주하여 24시간 동안 배양한 후

각 소재의 추출물을 농도별로 처리하였고 24시간 동안 배양하였다. 배지를 제거한 후 QIAzol lysis buffer를 각 well에 500 µL 분주하여 세포를 lysis한 후 -70°C에 보관하였다. 시료를 실온에서 녹인 후 chloroform 200 µL 분주하여 15 초간 혼합하였다. 그 후 12,000×g에서 15분간 원심분리하여 상층액을 isopropanol 500 µL 들어 있는 튜브에 옮겨 섞었다. 다시 10분간 원심분리 하여 상층액을 제거한 후 100% ethanol과 0.1% diethyl pyrocarbonate(DEPC)를 75:25로 섞어 만든 75% ethanol을 각 튜브에 1 mL 분주하여 5분간 원심분리한 뒤 상층액을 제거하여 실온에서 건조시켰다. Nuclease free water를 40 µL 분주하여 녹인 후 RNA 5 µL에 0.1 % DEPC를 995 µL 첨가하여 260 nm에서 흡광도를 측정하였고 total RNA 양을 정량하였다.

Oligo(dT)₁₅ primer(500 µg/mL) 1 µL, dNTP mix(10 mM) 1 µL, 추출한 RNA(2 µg)와 RNase free water로 11 µL 맞추고 65°C에서 5분간 반응시킨 후 5배 first-stand 완충용액 4 µL, nuclease free water 1 µL, DTT(100 mM) 2 µL, SuperScript III reverse transcriptase 1 µL를 섞어 9 µL씩 각 PCR tube에 더한 후 42°C에서 50분, 70°C에서 15분간 반응시켜 cDNA를 합성하였다. 실험에 사용한 primer sequence는 Table 1과 같다.

RT-PCR(reverse transcription-polymerase chain reaction)

GCK, PDH, ACC mRNA 발현 정도를 측정하기 위하여 cDNA로 RT-PCR을 실시하였다. Go Taq Green Master 10 µL, nuclease free water 8 µL, forward primer(15 µM)와 reverse primer(15 µM)를 각각 0.5 µL, 합성한 first-stand cDNA 1 µL를 PCR tube에 넣은 후 PCR을 실행하였다. GCK PCR 조건은 94°C에서 4분(1 cycle), 94°C에서 30초, 62°C에서 30초 그리고 72°C에서 30초(21 cycles), 72°C에서 5분(1cycle)이었다. 내부표준 유전자인 18s PCR 조건은 94°C에서 4분(1 cycle), 94°C에서 30초, 55°C에서 30초 그리고 72°C에서 30초(21 cycles), 72°C에서 5분(1 cycle)이었다. PCR 산물은 0.002% ethidium bromide 첨가한 1.2% agarose gel에 100 v에서 30분간 전기영동한 후 자외선광으로 유전자 발현량을 측정하였다. 그 밴드의 강도를 ImageJ(NIH, Baltimore, MD, USA) 소프트웨어에

Table 1. PCR primer sequences

Gene	Primer	Sequence ¹⁾
GCK	Forward	GCT CAC TCA GGA CTT TGA TGC
	Reverse	AGC CAC TCA GTG ATG GTA TGG
PDH	Forward	AAT CCA ACT GGT TAC TTT TGA AGA
	Reverse	AAG AGC TGA GCA GCT GTG TAA
ACC	Forward	CTC CTG CTC ATC ACA GTA TG
	Reverse	GCA AGG CTA CTA AGG CAG G
18S	Forward	GAG CCT GAG AAA CGG CTA C
	Reverse	CCC ATT ATT CCT AGC TGC G

¹⁾Primers are shown 5'→3'.

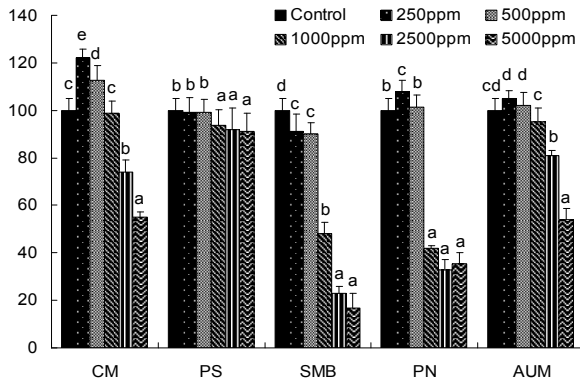


Fig. 1. Effect of medicinal plant water extracts on the cell viability in HepG2 cells. Results are from three experiments and expressed as mean±SE (n=3). Means with the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$). CM, *Cordyceps militaris*; PS, *Perilla sikokiana*; SMB, *Salvia miltiorrhiza* Bunge; PN, *Panax notoginseng*; AUM, *Angelica utilis* Makino.

의해 정량하였다.

통계분석

실험결과는 SPSS(statistical package for social sciences, Version 10.0, Chicago, IL, USA)를 이용하여 평균±표준오차로 표시하였다. 각 농도의 평균차는 one-way ANOVA를 실시하여 $P < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 검정하였다.

결과 및 고찰

세포독성

약용식물 물 추출물의 세포독성을 250~5,000 ppm 범위에서 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 5종의 약용식물 모두 250, 500 ppm 농도에서는 90% 이상의 세포 생존율을 나타

내었지만, 단삼과 전칠 물 추출물의 경우 1,000 ppm 농도에서 각각 48%, 42%의 생존율로 세포독성을 나타내었다. 이를 토대로 간세포 GCK, PDH, ACC mRNA 발현 정도를 측정하기 위한 약용식물 물 추출물의 농도는 500 ppm 범위로 희석하여 진행되었다.

Glucokinase mRNA 발현

HepG2 세포에 동충하초, 자소엽, 전칠, 단삼, 명월초 물 추출물을 처리한 후 GCK mRNA 발현 정도를 측정하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 자소엽, 전칠, 명월초 물 추출물의 GCK mRNA 발현 정도는 농도 의존적으로 증가되었으며 차후 500 ppm 이상의 농도에서 GCK 유전자 발현을 측정할 필요성이 대두되었다. 5종 약용식물을 상대적으로 비교했을 때 동충하초 물 추출물의 GCK mRNA 발현이 250 ppm 농도에서 181%로 가장 높게 나타났다. 그러나 다른 소재들의 GCK mRNA 발현은 대조구보다 낮거나 비슷한 수준을 유지하였다. 결과적으로 간세포 GCK mRNA 발현을 증가시킬 수 있는 소재로 동충하초가 선정되었다.

GCK는 당대사의 항상성 유지에 관여하는 효소로서, 특히 당뇨병에 있어서 GCK 활성 감소가 특징적으로 나타나고 활성 감소 시 당대사 이용률을 저하시킨다(25). GCK의 활성을 증가시키는 것은 당뇨병 치료를 위해 중요한 것이며, GCK가 활성화되면 혈당은 에너지 생산을 위해 사용되거나 간에 글리코젠으로 저장되기 때문에 혈당이 감소하게 된다(26). 본 연구에서는 다른 소재들에 비해 동충하초 물 추출물이 GCK mRNA 발현을 현저히 증가시키는 것으로 나타났다. Kim(27)의 보고에서 정상군과 비교하여 당뇨병대조군에서 GCK 활성이 감소되었지만 밀리타리스 동충하초 열수 추출물을 투여한 결과 GCK 활성이 유의적으로 증가한 것으로 나타나 이러한 사실을 뒷받침하였다. 저자들은 선행 연구에서 동충하초 분획물이 GCK 활성을 증가시켰고, 이는 혈당강하로 이어져 식후 혈당이 37.3% 감소되었음을 보고한

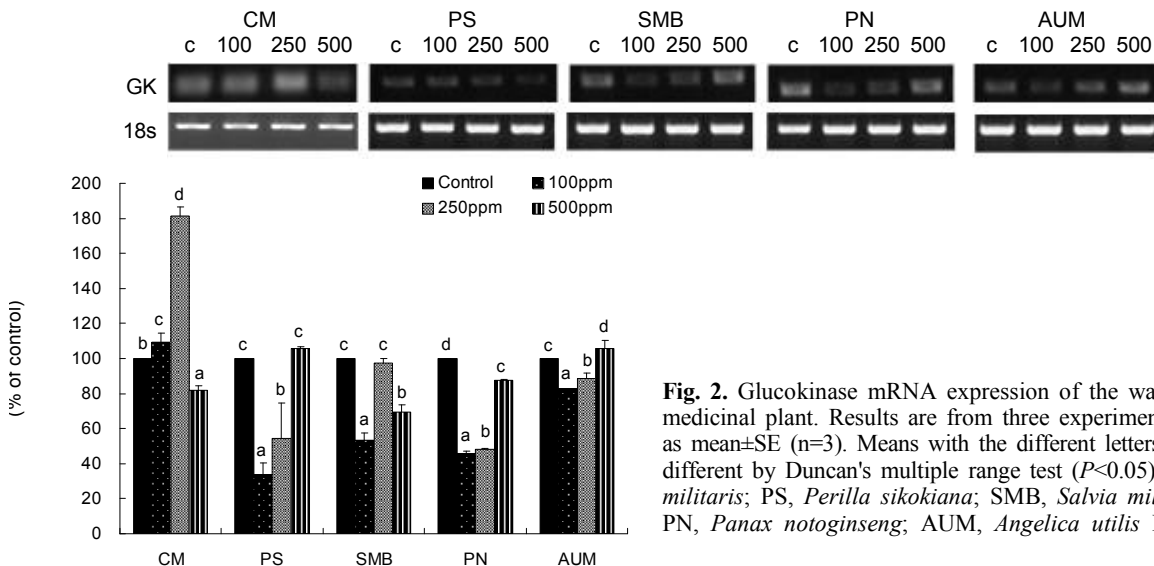


Fig. 2. Glucokinase mRNA expression of the water extracts from medicinal plant. Results are from three experiments and expressed as mean±SE (n=3). Means with the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$). CM, *Cordyceps militaris*; PS, *Perilla sikokiana*; SMB, *Salvia miltiorrhiza* Bunge; PN, *Panax notoginseng*; AUM, *Angelica utilis* Makino.

바 있다(28,29). 또한 GCK 효소의 활성 증가율은 천연소재 복합물에서 동충하초의 배합 비율이 높아질수록 GCK 활성 증가율도 높아졌음을 확인하여 동충하초의 항당뇨 소재로서의 가능성을 제시한 바 있다(29). Song 등(30)은 사이토카인에 의한 췌장 β-세포 독성에 대하여 동충하초 추출물이 방어하였으며, 그 방어 기전은 사이토카인에 의한 NFκB 활성 증가의 억제, iNOS 발현의 억제, NO 생성의 억제가 관여하였다고 보고하였다. 이러한 결과는 동충하초 추출물도 당뇨병 예방 또는 치료제로 개발할 수 있는 가능성을 확인한 것으로 생각된다.

당뇨병과 GCK의 활성 연관성에 대한 연구에서 감귤에 존재하는 hesperin과 naringin이 GCK를 증가시켜 항당뇨 효능을 나타내었고(31), 인삼성분 ginsenoside Rb2가 고혈당 개선에 가장 큰 효과를 나타내며 간의 GCK 활성 변화에 효과가 있다고 보고되었다(32). 또한 당뇨로 인해서 GCK 활성이 현저하게 억제되었으나 자단껍질, 백복령, 다시마 투여에 의해 상승되었음이 관찰되었다(33-35). 한편 Kang 등(36)은 당뇨유발 흰쥐의 GCK 활성 및 GCK mRNA 발현은 정상쥐에 비하여 낮았지만 인슐린 투여 후 증가되었으며, 인슐린은 GCK 효소의 합성을 증가시키는 것으로 보고하였다. Ko 등(37)은 길경 분획물이 GCK mRNA 발현을 증가시켰고, 이는 베타세포의 기능을 향상시켜 포도당 자극에 의한 인슐린 분비를 향상시켰기 때문이라고 하였다.

최근 당뇨병에 의한 사망률이 계속해서 증가하고 있는 현실을 감안할 때 본 연구는 약용식물 추출물의 항당뇨 효과와 더불어 동충하초 추출물의 GCK mRNA 및 단백질 발현 증가로 항당뇨 제품을 개발할 수 있는 가능성을 확인하였다. 차후 인슐린과 GCK의 상관관계를 증명하기 위한 연구가 진행되어야 할 것으로 판단된다.

결과는 Fig. 3과 같다. 동충하초 물 추출물의 PDH mRNA 발현은 농도 의존적으로 증가되었지만, 전칠 물 추출물은 농도가 증가할수록 PDH 유전자 발현을 점차적으로 감소시켰다. 약용식물 물 추출물을 100 ppm 농도로 처리했을 때 PDH mRNA 발현은 명월초(215%) > 단삼(193%) > 전칠(125%) > 동충하초(111%)의 순으로 높았다. 250 ppm에서는 명월초 물 추출물이 PDH 유전자 발현을 251% 증가시켰고, 500 ppm에서는 동충하초 물 추출물이 PDH mRNA 발현을 210% 증가시켰다. 따라서 PDH mRNA 발현량을 효과적으로 높일 수 있는 소재는 동충하초와 명월초를 꼽을 수 있겠다.

간의 PDH 활성은 공복이나 당뇨 시에는 낮고 이들 효소의 활성도 감소는 고혈당의 요인이며 인슐린 저항성에 관련이 있다(38). 항당뇨 효능 관련 연구에서 Lee 등(39)은 홍삼의 사포닌 성분이 PDH를 활성화시켜 당뇨를 개선해 줄 수 있다고 보고하였고, Kim(27)은 *C. militaris* 분획물이 PDH 활성을 3~4배 증가시켰다고 보고하여 동충하초의 혈당강하 효능을 입증한 바 있다. 또한 산수유, 백복령, 목단피, 숙지황, 천화분, 산약 물 추출물이 PDH 활성을 증가시키는 효과가 있음을 입증하였다(40). 본 실험에 사용된 명월초는 신선초(*Angelica keiskei* Koidz), 명월엽, 신립초, 선삼초 등으로 불린다. 신선초에 관한 연구로는 항산화, 멜라닌 생성 억제활성 및 항암 효과 등이 보고되었다(41-43).

한편 GCK 이외의 당대사 관련 효소들의 활성 조절과 관련된 연구는 미비한 실정므로, 본 연구에서 동충하초 및 명월초 물 추출물이 PDH mRNA 발현을 증가시킴으로써 혈당 강화작용을 나타낼 수 있다는 것을 탐색한 것은 매우 의미가 있다고 판단된다.

Pyruvate dehydrogenase mRNA 발현

약용식물 물 추출물의 PDH mRNA 발현 정도를 측정한다

Acetyl-CoA carboxylase mRNA 발현

HepG2 세포에 다양한 농도(100, 250, 500 ppm)로 약용식물 물 추출물을 처리한 후 ACC mRNA 발현 정도를 측정

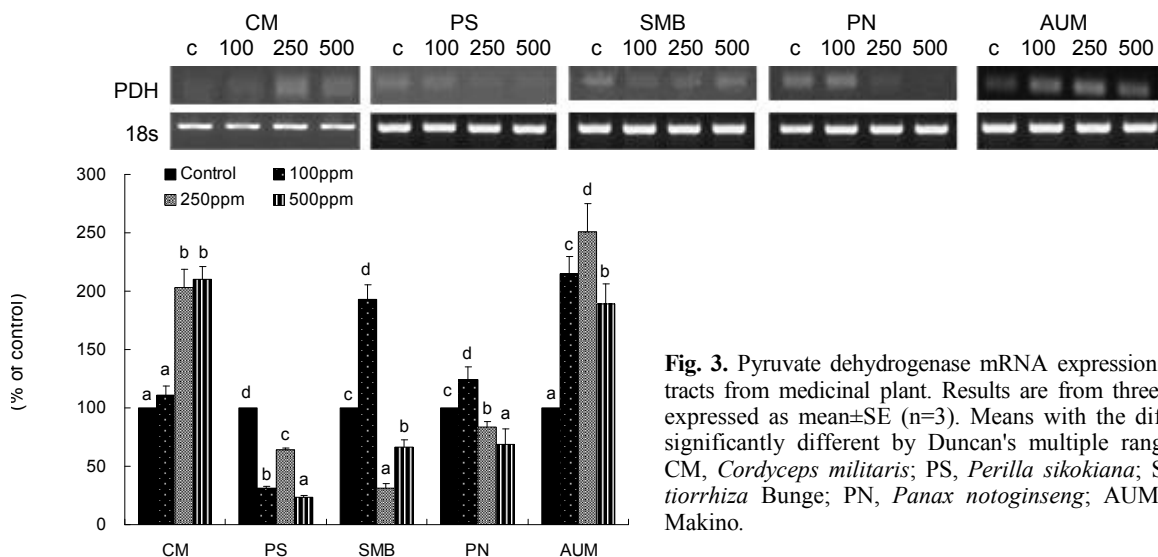


Fig. 3. Pyruvate dehydrogenase mRNA expression of the water extracts from medicinal plant. Results are from three experiments and expressed as mean±SE (n=3). Means with the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($P<0.05$). CM, *Cordyceps militaris*; PS, *Perilla sikokiana*; SMB, *Salvia miltiorrhiza* Bunge; PN, *Panax notoginseng*; AUM, *Angelica utilis* Makino.

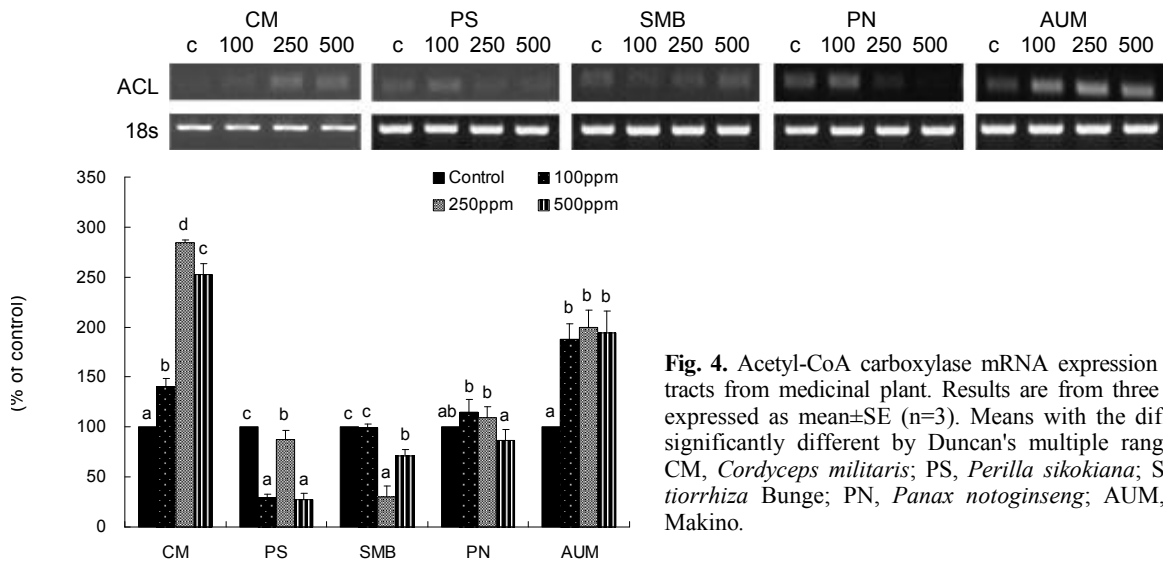


Fig. 4. Acetyl-CoA carboxylase mRNA expression of the water extracts from medicinal plant. Results are from three experiments and expressed as mean±SE (n=3). Means with the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($P<0.05$). CM, *Cordyceps militaris*; PS, *Perilla sikokiana*; SMB, *Salvia miltiorrhiza* Bunge; PN, *Panax notoginseng*; AUM, *Angelica utilis* Makino.

한 결과는 Fig. 4와 같다. 자소엽, 단삼, 전칠 물 추출물의 ACC mRNA 발현은 대조구와 비교했을 때 낮거나 유사한 수준을 나타내었다. 그러나 동충하초 및 명월초 물 추출물을 처리했을 때 ACC mRNA 발현은 유의적으로 증가되었다. 동충하초 물 추출물의 ACC mRNA 발현은 100 ppm에서 대조구와 비교하여 141% 증가되었고, 250 ppm에서는 284%로 유전자 발현이 크게 증가되었다. 명월초 물 추출물은 187~199% 범위의 ACC mRNA 발현을 나타내었다. 이상의 결과에서 간세포 ACC 효소의 유전자 발현을 가장 높일 수 있는 소재는 명월초와 동충하초로 나타났다.

본 연구에서는 5종 약용식물 추출물이 혈당을 지방으로 전환시켜 혈당을 감소시키는데 관여하는 효소의 활성을 조절하는지를 알아보기 위해 ACC mRNA 발현을 측정된 결과, 동충하초와 명월초 물 추출물이 ACC 유전자 발현을 효과적으로 증가시켜 지방 합성을 용이하도록 작용하는 것으로 판단하였다. ACC 효소와 관련된 연구에서, Ryu 등(44)은 *db/db* 마우스에 상엽 에탄올가용분획을 투여하였을 때 대조군보다 약간 상승된 ACC mRNA 발현을 나타내었고, GLUT-2 mRNA 발현을 증가시켜 간조직 내로 포도당 수송을 증가시킨 결과 당신생과정을 억제시키는 활성을 나타낼 수 있을 것이라 하였다. 상지 및 곤피 추출물은 고지방식이 섭취로 증가된 ACC 활성을 정상 수준으로 감소시킴으로써 지방의 과잉 흡수를 억제하여 각종 성인병의 발병을 어느 정도 억제할 수 있다고 보고되었다(45,46). Kim과 Kang (47)은 흑삼추출물이 당뇨병 유발 쥐의 저하된 ACC 활성을 회복시키는데 기여하며 지방 합성을 용이하도록 작용하는 것으로 보고하였다. 한편 ACC는 영양이나 호르몬 상태에 의해서 영향을 받는다. 영양 상태에 의한 ACC 유전자 발현을 보았을 때 25 mM 포도당 첨가시 ACC 활성이 약 1.7배 증가된 것으로 나타나 glucose regulated-element가 있음을 뒷받침해 주었고, 또한 ACC 유전자 발현은 인슐린 농도에 의해서 크게 증가한 것으로 보고된 바 있다(48). Joo와

Kim(49), Joo 등(50)은 인슐린의 절대적 결핍인 실험적 당뇨병 쥐의 간에서 ACC 활성이 억제됨이 확인되었으며, 인삼 사포닌 또는 홍삼 지용성 분획의 투여로 ACC 활성이 상승현상을 나타낸 것은 이들 성분이 췌장 베타세포의 손상을 완화시켜 인슐린 분비기능을 활성화하기 때문이라고 추정하였다. 이러한 결과를 토대로 향후 ACC 유전자 발현에 영향을 주는 혈당이나 췌장세포 관련 구체적인 연구가 수행되어야 한다고 본다.

버섯은 다양한 종류의 성분을 함유하고 있어 식용과 약용으로 사용되고 있으며, 당뇨에 의한 대사 장애와 관련하여 버섯의 효능에 대한 연구가 다소 이루어졌다. 목이버섯, 잎새버섯, 하늘색갈때기버섯, 검은산그물버섯 등이 강한 α -glucosidase 저해활성을 나타낸다고 보고되었고(51-53), 표고버섯은 제2형 당뇨병 환자의 식후 혈당의 급격한 상승을 억제한다고 하였다(54). 차가버섯추출물은 NIDDM 모델 당뇨 생쥐의 혈당 및 hepatic glucose-6-phosphatase 활성을 감소시킴으로써(55) 함박잎새버섯의 혈당에 대한 조절은 췌장의 손상 감소에 기인함이 보고되었다(56). 이러한 버섯의 항당뇨 효능은 버섯의 성분 중 β -glucan과 inositol 등이 인슐린 분비 조절을 통하는 것으로 추정되고 있다(57,58). 본 연구에서는 동충하초 추출물이 hepatic GCK, PDH, ACC mRNA 발현을 증가시킴으로써 항당뇨 효과를 나타낼 것으로 판단되었으며 향후 동충하초의 성분대 연구가 진행되어야 할 것이다.

요 약

본 연구에서는 동충하초, 자소엽, 단삼, 전칠, 명월초 물 추출물이 당대사 관련 효소인 GCK(glucokinase), PDH(pyruvate dehydrogenase) 및 ACC(acetyl CoA carboxylase) mRNA 발현 정도에 미치는 영향을 검토하였다. GCK mRNA 발현은 동충하초 물 추출물을 250 ppm로 처리했을

때 181%로 가장 높게 증가되었다. PDH mRNA 발현은 100 ppm에서 명월초(215%) > 단삼(193%) > 전칠(125%) > 동충하초(111%)의 순으로 증가되었으며, 250 및 500 ppm에서는 각각 명월초(251%)와 동충하초(210%) 물 추출물에서 높게 나타났다. ACC mRNA 발현은 자소엽, 단삼, 전칠의 경우 대조구보다 낮거나 유사한 수준을 나타내었지만, 동충하초 물 추출물은 대조구와 비교하여 100 ppm에서 141%, 250 ppm에서 284%로 크게 증가되었다. 명월초 물 추출물은 187~199% 범위에서 ACC mRNA 발현을 크게 증가시켰다. 결과적으로 동충하초와 명월초 물 추출물이 다른 소재들에 비해 간의 GCK, PDH, ACC mRNA 발현을 증가시킴으로써 혈당강하 작용을 나타낼 것으로 판단하였다.

감사의 글

본 연구는 강원대학교 LINC 사업단 및 웰빙특산물산업화지역혁신센터(RIC)의 연구 지원으로 수행된 결과입니다.

REFERENCES

1. Tang LY, Chen A, Kuo YC, Lin CY. 1999. Efficacy of a pure compound HI-A extracted from *Cordyceps sinensis* on autoimmune disease of MRL lpr/lpr mice. *J Lab Clin Med* 134: 492-500.
2. Yamaguchi N, Yoshida J, Ren LJ, Chen H, Miyazawa Y, Fujii Y, Huang YX, Takamura S, Suzuki S, Koshimura S, Zeng FD. 1990. Augmentation of various immune reactivities of tumor-bearing hosts with an extract of *Cordyceps sinensis*. *Biotherapy* 2: 199-205.
3. Dai G, Bao T, Xu C, Cooper R, Zhu JS. 2001. CordyMax Cs-4 improves steady-state bioenergy status in mouse liver. *J Altern Complement Med* 7: 231-240.
4. Kiho T, Ookubo K, Usui S, Ukai S, Hirano K. 1999. Structural features and hypoglycemic activity of a polysaccharide (CS-F10) from the cultured mycelium of *Cordyceps sinensis*. *Biol Pharm Bull* 22: 966-970.
5. Kim HS, Roh YJ, Choe M. 2005. *Cordyceps militaris* increases hepatic glucokinase activities. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 158-161.
6. Kiho T, Hui J, Yamane Y, Ukai S. 1993. Hypoglycemic activity and chemical properties of a polysaccharide from the cultural mycelium of *Cordyceps sinensis*. *Biol Pharm Bull* 16: 1291-1293.
7. Son HU, Heo JC, Seo MS, Lee SH. 2010. Effects of *Perilla frutescens* L. on anti-oxidant and anti-inflammation activity. *Korean J Food Preserv* 17: 757-761.
8. Ueda H, Yamazaki C, Yamazaki M. 2003. Inhibitory effect of perilla leaf extract and luteolin on mouse skin tumor promotion. *Biol Pharm Bull* 26: 560-563.
9. Yamamoto H, Ogawa T. 2002. Antimicrobial activity of perilla seed polyphenols against oral pathogenic bacteria. *Biosci Biotechnol Biochem* 66: 921-924.
10. Simoniene G, Jurkstiene V, Jankauskiene K, Gailys V, Kevelaitis E, Venskutonis PR. 2005. The influence of common perilla (*Perilla frutescens* (L.) Britton) on non-specific cell-mediated immunity-phagocytosis activity. *Medicina (Kaunas)* 41: 1042-1047.
11. Fugh-Berman A. 2000. Herbs and dietary supplements in the prevention and treatment of cardiovascular disease. *Prev Cardiol* 3: 24-32.
12. Kim OH, Chung SY, Park MK, Rheu HM, Yang JS. 1999. Anticancer activity of natural products including *Salvia miltiorrhiza*. *J Appl Pharmacol* 7: 29-34.
13. Ahn BY, Kim DG, Choi DS. 1999. Antimutagenic effect of tansinone (from *Salvia miltiorrhiza* Bunge). *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 27: 197-202.
14. Kang HS, Chung HY, Byun DS, Choi JS. 2003. Further isolation of antioxidative (+)-1-hydroxypinoresinol-1-O-β-D-glucoside from the rhizome of *Salvia miltiorrhiza* that acts on peroxynitrite, total ROS and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Arch Pharmacol Res* 26: 24-27.
15. Yang SA, Im NK, Lee IS. 2007. Effects of methanolic extract from *Salvia miltiorrhiza* Bunge on *in vitro* antithrombotic and antioxidative activities. *Korean J Food Sci Technol* 39: 83-87.
16. Kim YS, Lee BC, Ahn SY, Doo HK, Ahn YM. 2008. The effects of *Salvia miltiorrhiza* on renal function and histopathological changes in streptozotocin-induced diabetic nephropathy rat model. *Korean J Orient Int Med* 29: 787-799.
17. Wang CZ, McEntee E, Wicks S, Wu JA, Yuan CS. 2006. Phytochemical and analytical studies of *Panax notoginseng* (Burk.) F.H. Chen. *J Nat Med* 60: 97-106.
18. Komakine N, Okasaka M, Takaishi Y, Kawazoe K, Murakami K, Yamada Y. 2006. New dammarane-type saponin from roots of *Panax notoginseng*. *J Nat Med* 60: 135-137.
19. Chun SS, Park JC, Kim SH, Lee DY, Choi HM, Hwang EY. 1988. Changes in biologically active component of *Angelica keiskei* by cooking methods. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 121-125.
20. Chung DJ, Kim HW, Yoon S. 1999. Analysis of antioxidant nutrients in green yellow vegetable juice. *Korean J Food Sci Technol* 31: 880-886.
21. Jeon EJ, Kim JS, Park YK, Kim TS, Kang MH. 2003. Protective effect of yellow-green vegetable juices on DNA damage in Chinese hamster lung cell using Comet assay. *Korean J Nutr* 36: 24-31.
22. Kim JS, Kim HY, Park YK, Kim TS, Kang MH. 2003. The effects of green vegetable juice (*Angelica keiskei*) supplementation on plasma lipids and antioxidant status in smokers. *Korean J Nutr* 36: 933-941.
23. Chung MJ, Walker PA, Brown RW, Hogstrand C. 2005. Zinc-mediated gene expression offers protection against H₂O₂-induced cytotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 205: 225-236.
24. Kim DJ, Kim JM, Kim TH, Baek JM, Kim HS, Choe M. 2010. Anti-diabetic effects of mixed extracts from *Lycium chinense*, *Cordyceps militaris*, and *Acanthopanax senticosus*. *Korean J Plat Res* 23: 423-429.
25. Kim SY, Kim HI, Kim TH, Im SS, Park SK, Lee IK, Kim KS, Ahn YH. 2000. SREBP-1c mediates the insulin-dependent hepatic glucokinase expression. *J Biol Chem* 275: 30823-30829.
26. Iynedjian PB, Gjinovei A, Renold AC. 1988. Stimulation by insulin of glucokinase gene transcription in liver of diabetic rats. *J Biol Chem* 263: 704-744.
27. Kim OK. 2011. Antidiabetic metabolism effect on the water extract of *Cordyceps militaris* in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Oil Chemist's Soc* 28: 267-272.
28. Kim HS, Ro YJ, Choe M. 2005. Effects of *Cordyceps militaris* on key enzymes of carbohydrate metabolism. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 1531-1535.
29. Kim HS, Choe M. 2005. Hypoglycemic effect of *Paecilomyces*

- ces japonica* in NIDDM patients. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 821-824.
30. Song JH, Park BH, Ryu DG, Kwon KB. 2008. Protective effect of *Cordyceps sinensis* extract on cytokine-induced cytotoxicity of pancreatic β -cells. *Korean J Oriental Physiology & Pathology* 22: 791-795.
 31. Jung UJ, Lee MK, Park YB, Kang MA, Choi MS. 2006. Effect of citrus flavonoids on lipid metabolism and glucose-regulating enzyme mRNA levels in type-2 diabetic mice. *Int J Biochem Cell Biol* 38: 1134-1145.
 32. Joo CN, Kim SJ. 1994. Effect of ginseng components (ginsenosides and fat soluble fraction) on rat liver glucokinase activity. *Korean J Ginseng Sci* 18: 17-24.
 33. Kondeti VK, Badri KR, Maddirala DR, Thur SK, Fatima SS, Kasetti RB, Rao CA. 2010. Effect of *Pterocarpus santalinus* bark, on blood glucose, serum lipids, plasma insulin and hepatic carbohydrate metabolic enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Food Chem Toxicol* 48: 1281-1287.
 34. Jeong BM, Hyun MK, Sin WY, Kim MR, Shin HC, Yoon CH, Jeong CJ. 2004. Effects of *Bombycis corpus* on streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Orient Int Med* 25: 288-297.
 35. Kim DS, Kim CH. 2001. Effect of sea tangle, *Laminaria japonicus*, extract on the activities of glucokinase and hexokinase in alloxan-induced diabetic mellitus mice. *Korean J Life Sci* 11: 476-482.
 36. Kang SY, Paeng JR, Seo KW, Woo JT, Kim SW, Yang IM, Kim JW, Kim YS, Kim KW, Choi YK. 1994. Regulation of glucokinase gene expression and activity in the liver of diabetic rats. *Korean J Med* 47: 203-209.
 37. Ko BS, Kwon DY, Hong SM, Park SM. 2007. *In vitro* anti-diabetic effects of crude extracts of Platycodi radix. *Korean J Food Sci Technol* 39: 701-707.
 38. Shimizu T, Parker JC, Najafi H, Matschinsky FM. 1988. Control of glucose metabolism in pancreatic β -cells by glucokinase, hexokinase and phosphofructokinase: Model study with cell lines derived from β -cells. *Diabetes* 37: 1524-1530.
 39. Lee HA, Sim HS, Choi KJ, Lee HB. 1998. Hypoglycemic action of red ginseng components (II): Investigation of the effect of fat soluble fraction from red ginseng on enzymes related to glucose metabolism in cultured rat hepatocytes. *Korean J Ginseng Sci* 22: 51-59.
 40. Choe M, Kim DJ, Lee HJ, You JK, Seo DJ, Lee JH, Chung MJ. 2008. A study on the glucose-regulating enzymes and antioxidant activities of water extracts from medicinal herbs. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 542-547.
 41. Jo HW, Park JC. 2008. Phenolic compounds isolated from the leaves of *Angelica keiskei* showing DPPH radical scavenging effect. *Kor J Pharmacogn* 39: 146-149.
 42. Son HU, Nam DY, Kim MA, Cha YS, Kim JM, Shin YK, Lee SH. 2011. Inhibitory effect of *Angelica keiskei* extracts on melanogenesis. *Korean J Food Preserv* 18: 998-1001.
 43. Jeong YJ, Kang KJ. 2011. Effect of *Angelica keiskei* extract on apoptosis of MDA-MB-231 human breast cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1654-1661.
 44. Ryu JW, Yook CS, Chung SH. 1998. Effects of Mori folium ethanol soluble fraction on mRNA expression of glucose transporters, acetyl-CoA carboxylase and leptin. *Yakhak Hoeji* 42: 589-597.
 45. Kim HS, Jeong JC. 2002. Effects of *Ramulus mori* extract on obesity and lipid metabolism in high fat diet rats. *J Korean Oriental Med* 23: 64-72.
 46. Jeong JC, Nam WG, Shin HC. 2005. Effects of *Laminariae thallus* extracts on body weight and lipid metabolism in high fat diet rats. *Korean J Oriental Physiology & Pathology* 19: 1296-1302.
 47. Kim SN, Kang SJ. 2009. Effects of black ginseng (9 times-steaming ginseng) on hypoglycemic action and changes in the composition of ginsenosides on the steaming process. *Korean J Food Sci Technol* 41: 77-81.
 48. Kim YJ, Yang JL, Kwun IS, Kim YH. 2003. Regulation of acetyl-CoA carboxylase gene expression by hormones and nutrients. *Nutraceuticals & Food* 8: 61-65.
 49. Joo CN, Kim JH. 1992. Study on the hypoglycemic action of ginseng saponin on streptozotocin induced diabetic rats (I). *J Ginseng Res* 16: 190-197.
 50. Joo CN, Koo JH, Lee HB. 1993. 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.
 51. Choi HJ, Kim NJ, Kim DH. 2000. Inhibitory effect of GE974 isolated from *Gyrophora esculenta* on α -glucosidase. *Kor J Pharmacogn* 31: 196-202.
 52. Matsuura H, Asakawa C, Kurimoto M, Mizutani J. 2002. α -Glucosidase inhibitors from the seeds of balsam pear (*Momordica charantia*) and the fruit bodies of *Grifola frondosa*. *Biosci Biotechnol Biochem* 66: 1576-1578.
 53. Kim JH, Yoo KH, Seok SJ. 2007. Screening test of wild mushrooms methanol extracts for fibronolytic and α -glucosidase inhibitory activity. *Kor J Biomed Lab Sci* 13: 245-249.
 54. Chang JH, Kim MS, Kim JY, Choi WH, Lee SS. 2007. Effects of mushroom supplementation on blood glucose concentration, lipid profile, and antioxidant enzyme activities in patients with type 2 diabetes mellitus. *Korean J Nutr* 40: 327-333.
 55. Hong HO. 2007. Effects of *Inonotus obliqua* extract on blood glucose levels in genetically diabetic mice. *Korean J Nutr* 40: 601-605.
 56. Lee SL, Park YC, Kim JB. 2007. Effects of Hambag mushroom (*Grifola frondosa*)-powder on hyperglycemia and hyperlipidemia in STZ and high fat diet-induced diabetic rats. *J Life Sci* 17: 1387-1393.
 57. Behall KM, Scholfield DJ, Hallfrisch JG. 2002. Comparison of hormone and glucose response of overweight women to barley and oats. *Agricultural Research Service* 2: 1-15.
 58. Cavallero A, Empili S, Brighenti F, Stanca AM. 2002. High (1-3, 1-4)- β -D glucan barley fractions in bread making and their effects on human glycemic response. *J Cereal Sci* 36: 59-66.