

Streptozotocin으로 유발된 당뇨쥐에서 맥문동 에탄올 추출물의 당뇨개선효과

김옥경[†]

[†]대진대학교 과학기술대학 식품영양학과
(2017년 5월 14일 접수: 2017년 6월 5일 수정: 2017년 6월 10일 채택)

Antidiabetic Effect of Ethanol Extract of *Liriope platyphylla* in Streptozotocin Induced Diabetic Rats

Ok-Kyung Kim[†]

[†]Department of Food Science and Nutrition, Dae Jin University,
Pochon 487-711, Korea
(Received May 14, 2017; Revised June 5, 2017; Accepted June 10, 2017)

요약 : 본 연구에서는 스트렙토조토신(Streptozotocin,STZ)으로 유발된 당뇨쥐에게 맥문동(*Liriope platyphylla*,Lp)에탄올 추출물(수율:30.7%)을 1,000mg/kg용량으로 7일간 경구 투여 후 혈청속의 혈당 함량과 당대사와 관련된 몇몇 효소와 지질대사와 관련된 물질을 측정하여 결과 혈당과 triglyceride(TG), total cholesterol의 농도는 STZ대조군과 비교하여 맥문동 투여군에서 유의적인 감소를 나타내었고, glucose-6-pase(g-6-pase)활성은 STZ 대조군과 비교하여 유의적인 감소를, glucokinase(gk)활성은 증가를 나타내었다. 또한 hepatic glycogen 함량은 STZ대조군과 비교하여 유의적인 증가를 나타내었다. 따라서 본 실험 결과 맥문동 에탄올 추출물을 스트렙토조토신으로 유발된 당뇨쥐에 있어서 항 당뇨 성분을 함유하고 있음을 알 수 있었다.

키워드 : 스트렙토조토신, 맥문동, 항 당뇨효과, 당대사 활성, 지질대사

Abstract : The ethanol extraction yield of *Liriope platyphylla*(Lp) was about 30.7% by extract apparatus. This study was done to investigate the carbohydrate metabolism related enzyme activities effects of Lp in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. The contents of serum glucose, triglyceride (TG) were significantly decreased in Lp treated group compared to the those of STZ-control group, also content of Total cholesterol was decreased. High density lipoprotein (HDL)-cholesterol was increased in Lp treated group. The activity of glucose-6-pase(G-6-Pase) was significantly decreased in Lp treated group. Also the activity of glucokinase(Gk) was increased in Lp treated group. The content of hepatic glycogen was significantly increased in Lp treated

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

group. These results indicated that ethanol extract of Lp would have antidiabetic effect in STZ-induced diabetic rats.

Keywords : Streptozotocin, *Liriope platyphylla*(Lp), antidiabetic effects

1. 서론

경제발전과 소득의 증대로 육제적 활동이 줄어드는 생활방식으로 변해가면서 전 세계적으로 심각한 대사성 질환이 대두되고 있다. 당뇨병은 질병 자체가 큰병이라기보다는 특징적인 만성적 대사 장애로 인하여 발생하는 여러 합병증이 삶의 질을 저하시키며 수명도 단축시킨다. 당뇨병의 1차적인 목적은 혈당강하이며 현재 사용되고 있는 혈당강하제로는 sulfonylurea제제, biguanide제제 등이 쓰이나 장기간 복용시 젖산 축적의 위험성, 신부전 증상의 악화 및 피부질환, 알레르기 등의 부작용이 나타남으로 당뇨병과 관련된 성인병 문제가 중요한 사회문제로 대두되어 이에 대한 관심이 날로 증가되고 있는 추세이다. 최근에는 식물체가 갖고 있는 phytochemical을 이용한 당뇨 예방에 대한 연구가 많이 시도되고 있다[1-4]. 본 실험에 사용한 맥문동은 백합과에 속한 다년생 초본으로 수염뿌리의 끝에 짧은 방추형 괴근의 착생부위를 약용으로 사용하며 우리나라 중부 이남, 일본, 중국 남부에 분포하며, 진해, 거담제로 사용되어 왔으며 그 밖에 자양, 강장, 이뇨, 지갈 등에 사용되어 왔다[5]. 맥문동의 성분연구로는 스테로이드 사포닌계[6], 이소플라보노이드[7], 올리고당 및 다당류[8] 등이 보고되었다. 약리 작용으로는 혈당강하작용[9] 항염증작용[10], IgM항체생산억제작용[11], 항부정맥효과[12,13], 최근에는 Cho등[14]이 각종 암세포주에 대한 강한 세포독성을 보고하였다. 이에 본 연구에서는 기능성 식품 개발의 기초자료를 얻기 위하여 streptozotocin (STZ)으로 유발된 당뇨 흰쥐에게 맥문동의 에탄올 추출물을 1일 1회 7일간 경구 투여한 후, 혈중의 혈당 강하 작용과 몇가지 효소활성에 미치는 영향을 분석하였다.

2. 실험

2.1. 시료, 시약 및 기기

본 실험에 사용한 맥문동은 서울 경동시장에서 구입(밀양산)하였으며 시약 및 기기는 Kim[15]의 방법에 따라 사용하였다.

2.2. 추출 실험

맥문동 600g을 95% ethanol 1000mL를 넣고 95°C로 4시간 가열, 감압, 농축하여 ethanol 추출물을 얻었다.

2.3. 당뇨유발 및 검액의 조제

체중 210 ± 10 g 내외의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 (주)오리엔트바이오에서 구입하였으며, 동물실험은 2015년 대전대학교 동물실험 윤리위원회 의 재 승인을 받아(심의번호:2015-05) 행하였으며, 고행사료((주)삼영사)를 먹였다. 1주일간 적응시킨 후 3군으로 나누어 하룻밤 동안 절식시킨 후 당뇨 유발군은 STZ을 45 mg/kg 용량으로 정상군은 0.9 % saline을 꼬리정맥(미정맥)에 주사를 하였다. 미정맥 주사 48시간 후에 눈의 정맥(안와정맥)으로부터 채혈하여 3000 rpm/ 20분 원심분리하여 얻은 혈청으로부터 포도당 측정용 키트를 사용하여 혈당수준이 300mg/dL 이상인 것을 당뇨 유발 흰쥐로 간주하였다. 실험군은 정상군(normal), 당뇨유발대조군(STZ-control), 당뇨유발 실험군(STZ-sample)의 3군으로 나누고 그룹당 5마리씩 나누어 정상군과 당뇨 유발 대조군에는 0.5% carboxy methyl cellulose sodium (CMC) 용액만을, 실험군은 맥문동 에탄올 추출물을 1,000 mg/kg B.W의 용량으로 0.5% CMC 용액에 현탁시켜 10 ml/kg B.W.씩 1일 1회 7일간 경구 투여 하였다.

2.4. 효소원 조제 및 분석

혈청중의 glucose, triglyceride(TG), total-cholesterol함량, 간조직 중의 glycogen함량과 당대사를 위한 glucose-6-phosphatase(G-6-pase), glucose-6 phosphate dehydrogenase (G-6-PDH), glucokinase(GK) 효소활성 측정은

Table 1. The serum glucose level of normal and diabetic rats fed on ethanol extract of *Liriope platyphylla*

Experimental group	Dose(mg/k.g,B,W,p.o)	Glucose((mg/dL)
Normal	-	132.12±6.51 ¹⁾
STZ ²⁾ -control	-	528.94±15.93 [#]
STZ+Lp ³⁾	1000	305.18±8.06 [*]

¹⁾Values are the mean±S.E.(n=5)

²⁾Streptozotocin(45mg/kg, b.w) [0.01M citric acid buffer(pH 4.5)] was 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 *Liriope platyphylla* was administrated orally once a day in experimental rats for 7 days.

Table 2. The effect of ethanol extract of on the level *Liriope platyphylla* of serum T.G, total cholesterol, HDL-cholesterol in streptozotocin induced diabetic rats

Experimental group	Dose (mg/kg,B,W,p.o)	Triglyceride (TG)	Total cholesterol	HDL-cholesterol
		(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)
Normal	-	123.15±10.42 ¹⁾	78.21±6.18	118.03±2.37
STZ ²⁾ -control	-	618.53±34.72 [#]	103.72±8.12 [#]	62.91±6.04 [#]
STZ + Lp ³⁾	1000	237.19±15.64 [*]	86.50±3.08 [*]	97.27±10.26 [*]

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

Kim[15]과 같은 방법으로 측정하였다.

2.5. 통계처리

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

3. 결과 및 고찰

3.1. 맥문동 에탄올 추출물

맥문동 600 g을 95% 에탄올 1,000 ml에 넣고 95°C가 유지되는 추출장치에서 4시간씩 3회 추출 후 일반 여과지에서 여과하여 회전 농축기에서 농축하여 페이스트상의 184 g (수율30.7 %)의 에탄올 추출물을 얻어 냉장 저장하면서 시료로 사용하였다.

3.2. 혈당 저하 효과

혈청내의 혈당저하 효과는 Table 1과 같다. 정상군의 혈당치가 132.12±6.51 mg/dL에 비해 당뇨 대조군은 528.94±15.93 mg/dL으로 유의적인 증가를 나타내었으나 맥문동 에탄올 추출물 1,000 mg/kg을 투여한 군에서는 305.18±8.06 mg/dL로 유의적인 감소를 나타내었다.

3.3. 지질성분 함량분석

당뇨 흰쥐에게 추출물 투여 후 지질함량의 변화는 Table 2와 같다. 혈중 TG 농도는 당뇨대조군이 618.53±34.72 mg/dL로 정상군의 123.15±10.42 mg/dL보다 유의적으로 높게 나타났다. 이는 당뇨 유발시 insulin분비의 감소로 very low density lipoprotein(VLDL)생성이 증가되고, 말초조직에서의 lipoprotein lipase활성이 저하되어 VLDL과 chylomicron대사가 원활히 이루어지지 않기 때문[16]이다. 반면에 추출물 투

Table 3. The content of hepatic glycogen in normal and diabetic rats fed on water extract of *Liriope platyphylla*

Experimental group	Dose (mg/kg, B.W, p.o)	Glycogen ¹⁾
Normal	-	201.84±10.73 ²⁾
STZ ³⁾ -control	-	72.26±15.04 [#]
STZ +Lp ⁴⁾	1,000	217.64±32.25 [*]

¹⁾mg/g of tissue ^{2,3,4)}#,* : See the legend of Table 1

Table 4. The cytosolic Glucose-6-Pase, Glucose-6-PDH, GK activities of normal and diabetic rats fed on ethanol extract of *Liriope platyphylla*

Experimental group	Dose (mg/kg, B.W, p.o)	Glucose-6-Pase ¹⁾	Glucose-6-PDH ²⁾	Glucokinase ³⁾
Normal	-	7.23±0.14 ⁴⁾	0.02±0.01	0.21±0.02
STZ ⁵⁾ -control	-	15.68±0.13 [#]	0.01±0.01	0.07±0.03 [#]
STZ +Lp ⁶⁾	1000	9.03±0.15 [*]	0.02±0.01	0.19±0.04 [*]

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

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

³⁾nmoles/mg/protein/min, ^{4,5,6)}#,* : See the legend of Table 1.

여군은 237.19±15.64 mg/dL 으로 당뇨대조군과 비교하여 유의적으로 낮게 나타나 혈중TG 농도 감소에 효과가 있음을 알 수 있었다. 혈중 total cholesterol 농도는 당뇨대조군이 103.72±8.12 mg/dL로 정상군의 78.21±6.18 mg/dL 보다 유의적으로 높게 나타났다. 이는 당뇨 유발시 체내에 당대사가 정상적으로 이루어지지 않아 간내의 hydroxy methyl glutaryl-coA(HMG-CoA) reductase활성이 감소되고 장내의 HMG-CoA활성 증가에 기인한다[17]. 추출물 투여시 당뇨대조군보다 낮게 나타났지만 유의성은 없었다. HDL-cholesterol의 경우 당뇨대조군이 정상군보다 유의적으로 낮게 나타났다. 이는 당뇨유발시 lipoprotein lipase활성 저하로 인한 지단백질 분해의 감소로 HDL-cholesterol 생성이 억제되기 때문이다[18]

3.4. Glycogen 함량

간 조직중의 glycogen 함량은 Table 3과 같다. 정상군의 glycogen 함량은 201.84±10.73mg/g of tissue인 것에 비해 당뇨대조군은 72.26±15.04mg/g of tissue로 유의적으로 낮았다. 이는 당뇨유발시 insulin분비 장애가 나타나 간에서 glycogen 합성에 관여하는 glycogen synthase가 glycogen

synthase phosphatase로 활성이 저하되어 간 조직내의 glycogen합성이 감소되기 때문이다[19] 한편 추출물 투여군에서 glycogen함량이 217.64±32.25mg/g 로 당뇨대조군과 비교하여 유의적인 증가를 나타내었는데, 이것은 Table 1의 혈당저하 실험에서 당뇨대조군과 비교하여 추출물 투여시 유의적으로 혈당치를 감소시킨 결과 간의 glycogen 함량을 증가시킨 것으로 사료된다.

3.5. 당대사관련 효소활성 측정

가. G-6-Pase 활성

G-6-Pase활성은 Table4와 같다. G-6-Pase는 microsome에 존재하는 막부착효소로서[20] 탄수화물 대사에 중요하게 작용, 특히 이것은 glycerol의 분해 및 포도당 신생작용의 촉매 효소이며 cyclic AMP, glucocorticoids, glucose, fatty acid 및 간 췌장 부분의 절개에 의해 억제된다 [21] 특히 STZ투여는 G-6-pase mRNA의 발현을 증가시키고 그 결과 당뇨병에서G-6-pase활성을 증가시키며 고혈당과 함께 혈장의 protein kinase 활성도와 insulin 농도를 감소시킨다는 보고[22]에 따라 본 실험에서도 당뇨유발로 인해 정상군과 비교하여 유의적인 증가를 나타내었

나 추출물 투여로 인해 유의적인 감소를 나타내었다.

나. G-6-PDH 활성

G-6-PDH의 활성은 Table 4와 같다. G-6-PDH는 glucose 대사 과정의 pentose phosphate pathway로 들어가는 최초 과정에 관여하는 효소이며, 또한 GSH-Px가 gssg를 gsh로 환원시키는데 필요한 NADPH를 생성하는 효소로서[23]로서 본 실험에서는 STZ 투여로 정상군에 비하여 당뇨대조군에서 감소를 나타내었으며 추출물 투여로 증가를 나타내었으나 유의성은 없었다.

다. GK 활성

GK활성은 Table 4와 같다. GK는 당대사의 항상성 유지에 관여하고 insulin에 의해 조절되며, 특히 당뇨병 유발시에 GK 활성 감소가 특징적으로 나타나며, 활성 감소시 당대사 이용율을 저하시킨다는 보고[24]에 따라 본 실험에서도 정상군과 비교하여 당뇨대조군에서도 감소를 나타내었으나 추출물 투여군에서 당뇨대조군과 비교하여 증가를 보였다.

4. 결론

본연구는 STZ로 유발된 당뇨 흰쥐에게 맥문동 에탄올 추출물의 혈당저하, 지질 및 당대사 효소 활성을 분석 한 결과는 다음과 같았다.

1. STZ 투여로 증가된 혈당치와 TG, Total cholesterol 함량은 추출물 투여에 의해 유의적인 감소를 나타내었다.
2. STZ 투여로 HDL-cholesterol함량은 유의적인 증가를 나타내었다.
3. STZ 투여로 Glycogen 함량의 유의적인 증가와, G-6-Pase 활성의 유의적인 감소를 나타내었다.
4. G-6-PDH와 GK 활성은 유의적인 증가를 나타내었고 G-6-PDH 활성은 증가를 나타내었으나 유의성은 없었다.

이와같이, 맥문동 에탄올 추출물 1,000mg/kg을 당뇨 흰쥐에게 투여한 결과 혈당 저하, 지질

대사의 개선 효과 및 정상적인 당 대사 활성을 갖는 유효성분을 함유하고 있음을 알 수 있었으며, 앞으로 이에 대한 성분 분리가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

References

1. M.H. Kweon, S.T. Kweon, M.S. Ma, Y.I. Park. Lowering effects in plasm cholesterol and body weight by mycellial extract of two mushrooms: agaricus blazai and lentinus edodes. *Koean J. Microbial Biotechnol* **30**:402-409 (2002).
2. Y.J. Cho, M.A. Bang. hypoglycemic and antioxidative effects of dietary sea-tangle extracts supplementation in streptozotocin-induce diabetic rats. *The korean of Nutrition* **37**:5-14(2004).
3. T.S. Kang, M.S. Kang, J.M. Kang, H.R. Shon, S.Y. Lee. Effect of pleurotus eryngii on the blood glucose and cholesterol in diabetic rats. *Koean J. Micology* **29**:86-90(2001).
4. S.Y. Kim, W.C. Lee, H.B. Kim, A.J. Kim, S.K. Kim. Antihyperlipidemic effects of methanol extracts from mulberry leaves in cholesterol-induced hyperlipidemia rats. *J. Koean Soc. Food Sci. Nutr.* **27**:1217-1222 (1998).
5. S.D. Kim, Y.S. Ku, I.Z. Lee, I.K. Park, K.S. Youn. Optimization for hot water extraction condition of Liriope spicata tuber using response surface methodology. *Koean J. Postharvest Sci. Technol.* **8**:157-163(2001).
6. S.S. Kang, D.Y. Lee, K.H. Son, J.C. Do. two steroidal saponins from the tubers of *Liriope spicaru*. *Phar. Res.* **12**:295-299 (1989).
7. A. Tada, T. Saitoh, J. Shoji. studies on the constituents of Ophiopogonins tuber. VII. Synthetic studies of homoisoflavonoids. *Chem. Pharm. Bull* **28**:2487-2493(1980).
8. M. Tomoda, S. Kato. water soluble carbohydrates of Ophiopogonins tuber. II

- Purifications properties and structures of three oligosacchrides. *Chem. Pharm. Bull* **16** (1968).
9. I.J. Lee. Effect of Liriopis tuber extract on the decrease of blood glucose *Hyosung Bull. Pharm. Sci.* **2**:49-56(1997).
 10. M.Shibata., R. Noguchi, M. Suzuki, H.I wase, K. Sieda, K. Niwayama, F. Kataoka, K. Kusuda. and M. Hamano. pharmacological studies on medical plant components 1. On the extracts of Ophiopogon and some jolk medicines. *Proc. Hoshi. Pharm.* **13**:66-76(1971).
 11. A. Mita, R. Shida, N. Kasai. and J. Shoji. Enhancement and suppression I production of IgMantibody in mice treated with purified saponins. *Biomedicine*, **31**:223-227(1979).
 12. M. Tomoda. S. Kato. water soluble carbohydrates of Ophiopogon tuber.II. Purifications properties and structures of three oligosaccharides. *Chem. Pharm. Bull.* **16**:113-116(1968).
 13. S. Tada. T. Saitoh. J. Shoji. Stuiies on the constituents of Ophioponins tuber. VII. Sythetic studies of homoisoflavonoides. *Chem. Pharm. Bull.* **28**:2487-2493(1980).
 14. Y.J. Cho, M.A. Bang. Effects of dietary seaweed on bood glucose, lipid and glutation enzymes in streptozotocin induced diabetic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **33**:987-994(2004).
 15. O.K. Kim. Antidiabetic and Antioxidative effect of Lycii fructus in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Kor. J. Pharmacogn.* **40** 128(2009).
 16. N.Y. Kim, H.K. Jung. Effects of fomes fomentarius extract on blood of pinus densiflora extract on blood glucose level, OGTT and biochemical parameters in streptozotocin induced diabetic rats. *J. Korean soc. food sci. nutr.* **34**, 973(2005).
 17. W.G. Kim, H.J. Kim, Chung M.S., Effects of Germanium-forified tricholoma matsutake mycelium and yeast on blood glucose and serum lipid in streptozotocin induced diabetic rats. *Kor. J. Oriental preventive medical society.* **13**. 89(2009).
 18. H.K. Han, S.J. Yoon, G.H. Kim. Effects of composite plants on plasma glucose and lipid level in streptozotocin induced diabetic rats. *J. koreans soc. food sci. nutr.* **38**, 674(2009).
 19. 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-cell. *Diabetes* **35**, 1163 (1986).
 20. Jo Y.J., Bang M.A. Effect of dietary seaweed on blood glucose, lipid and glutation enzymes in streptozotocin induced diabetic tars. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 987(2004).
 21. Z. Liu, E.J. Barrett, A.C. Dalkin, A.D. Zwart and J.Y. Chou, Effect of Acute Diabetes on the Rat Hepatic Glucose-6-phosphatase Activity and its Messenger RNA Level. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **38**, 680 (1994).
 22. S. Himeno, A. Takekawa, and N. Imura, Species Diffence in Hydroperoxide Scavenging Enzymes with Special Reference to Glutathione Peroxidase in Guinea-Pigs. *Comp. Biochem. Physiol. B*, **104**, 27 (1993).
 23. A.V. Alabro, : Liver glukinase(A4564) induces potent hypoglycemia without dyslipidemia through a paradoxical induction of the catalytic subunit of glucose-6-phosphatase *Int. J. Endocriboi.*, 707928 (2011)
 24. V. Vats, S. P. Yadav, and J. K. Grover, Ethanolic Extract of Ocimum Sanctum Leaves Partially Attenuates Streptozotocin-Induced Alterations in Glycogen Content and Carbohydrate Metabolism in Rats, *J. of ethnopharmacology*, **90**, 155 (2004).