

제2형 당뇨 동물모델에서 일반메밀과 쓴메밀의 항당뇨 효과 비교

김수정^{1†} · 손황배^{1†} · 최지명^{2,3} · 조은주² · 남정환¹ · 이종남¹ · 서종택¹ · 장동철⁴ · 김윤희^{5,*}
¹농촌진흥청 국립식량과학원 고령지농업연구소, ²부산대학교 식품영양학과 및 김치연구소, ³경성대학교 식품영양학과,
⁴바이오에너지 작물연구소, ⁵농촌진흥청 국립식량과학원 중부작물과

Anti-diabetic effects of common buckwheat and tartary buckwheat in type II diabetes animal model

Su Jeong Kim^{1†}, Hwang Bae Sohn^{1†}, Ji Myung Choi^{2,3}, Eun Ju Cho², Jung Hwan Nam¹,
Jong Nam Lee¹, Jong Taek Suh¹, Dong Chil Chang⁴, and Yul Ho Kim^{5,*}

¹Highland Agriculture Research Institute, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration

²Department of Food Science and Nutrition, Kimchi Research Institute, Pusan National University

³Department of Food and Nutrition, Kyungsung University

⁴Bioenergy Crop Research Institute, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration

⁵Central Area Crop Breeding Division, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration

Abstract In this study, we evaluated the antioxidant and antidiabetic effects of buckwheat. The diabetic animal models were divided into four groups: normal mice group (NOR), streptozotocin-induced diabetic mice group (STZ), group treated with seeds of common or tartary buckwheat (SCB or STB), and the group treated with whole plants of common or tartary buckwheat (PCB or PTB). Rutin content was 44-48 times higher in STB or PTB than in SCB. Oral glucose tolerance and insulin resistance were significantly reduced by treatment with STB, PCB, and PTB. Treatment with PTB also decreased the serum glucose level significantly and the serum insulin levels slightly compared with the STZ group. These results suggest that rutin content and antioxidant activity are closely related to the antidiabetic effect of the treatment. Our results demonstrate that the seeds of tartary buckwheat and whole plants of either common or tartary buckwheat have antidiabetic effects-attenuating blood glucose in an animal model of type II diabetes.

Keywords: blood glucose, common buckwheat, rutin, tartary buckwheat, type II diabetes

서 론

최근 생활수준의 향상과 식생활의 서구화 등 생활 패턴의 변화로 당뇨 등 대사질환을 가진 환자가 매년 급속히 늘어나고 있는 추세이다(Lee 등, 2021; Son 등, 2016). 당뇨병은 기전에 따라 인슐린 의존형인 제1형 당뇨병과 인슐린 비의존형인 제2형 당뇨병으로 분류되며, 우리나라의 당뇨 환자는 대부분 제2형 당뇨병에 속한다고 보고되고 있다(Hue 등, 2009). 제2형 당뇨병은 고령, 비만, 약물 등의 환경적인 요인으로 주로 발생하는 것으로 알려져 있으며, 인슐린 저항성으로 인해 인슐린이 세포에 제대로 유입이 되지 못하게 되어 말초조직에서는 포도당 이용이 감소하고, 간에서는 포도당 생산이 증가되어 체내에 혈당수치가 높아지게 된다(Wilcox, 2005). 제2형 당뇨병의 체내 인슐린 분비와 혈당 조

절에 주로 사용되는 경구 혈당 강하제로는 당 분해에 관여하는 효소들을 저해하는 물질로 작용기전에 따라 인슐린 분비촉진제, 포도당 흡수를 지연시키는 α -glucosidase 저해제, 간에서 포도당 신생합성 억제제 등으로 분류된다(Hwang과 Han, 2007). 그러나 현재 시판되고 있는 치료제들은 장기간 사용 시 신장 기능 악화, 간 독성, 체중증가 및 설사 등 여러 가지 부작용을 나타낸다고 알려져 있어 부작용이 적고 혈당 조절에 효과를 나타내는 천연 소재에 대한 관심이 높아지는 추세이다(Kim 등, 2016; Lee 등, 2021).

메밀(*Fagopyrum* spp.)은 쌍자엽식물의 마디풀과 중 메밀속에 속하는 일년생 초본으로 재배종과 야생종을 포함하여 20여종이 전세계적으로 분포되어 있으며, 일반메밀(*Fagopyrum esculentum* Moench)과 쓴메밀(*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.)이 주로 재배되고 있다(Kim 등, 2017; Krefit 등, 2020). 일반메밀은 우리나라를 비롯한 중국, 일본 등의 아시아 지역과 프랑스, 이탈리아, 슬로베니아 등 유럽지역, 캐나다, 미국 등 아메리카 지역까지 전세계적으로 재배되고 있다. 쓴메밀은 중국, 인도, 네팔, 부탄, 일본 등에서 재배되고 있으며, 우리나라에서도 메밀주산단지 중심으로 재배면적이 확대되고 있다(Kim과 Kim, 2018; Krefit 등, 2020). 메밀의 재배기간은 다른 작물보다 짧은 작부체계상 유리하며, 파종부터 수확까지 일반메밀은 60-70일, 쓴메밀은 80-90일 정도 걸린다. 메밀은 풍부한 영양성분과 루틴을 포함한 다양한 생리활성

[†]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author: Yul Ho Kim, Central Area Crop Breeding Division, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Suwon 16429, Korea
Tel: +82-31-695-4050

E-mail: kimyuh77@korea.kr

Received September 25, 2021; revised October 25, 2021;

accepted December 13, 2021

물질을 가지고 있어 일반적으로 종실을 주로 이용하지만 최근 종실을 비롯해 새싹이나 전초 등도 식품소재로 활용하는 사례가 늘어나고 있다(Kim 등, 2004; Park, 2006). 메밀의 건강기능성에 관한 연구로는 메밀의 무기질, 비타민 및 식이섬유 함량(Kreft, 2016), 메밀 싹 발효 추출물의 항산화 항균활성 효과(Hwang 등, 2006), 메밀 투여로 고혈압 쥐의 혈압, 혈당 및 혈중 지질 수준에 미치는 영향(Lee 등, 2000), 발아 메밀의 항산화 및 세포독성 효과(Lee 등, 2021), 쓴메밀의 항염증 효과(Kim 등, 2019), 메밀 추출물의 항당뇨 관련 α -amylase와 α -glucosidase의 저해 활성 효과(Kim, 2006) 등이 있다. 그러나, 국내에서 육성한 일반메밀, 쓴메밀 품종의 종실과 전초의 생리활성 및 항당뇨에 대한 효과를 비교분석한 연구는 부족한 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 streptozotocin (STZ)으로 당뇨를 유발한 마우스 모델을 대상으로 메밀의 종실 및 전초 분말을 첨가한 식이를 5주간 급여한 후 혈당 변화와 혈당 조절과 관련된 지표의 영향을 분석하여 항당뇨 효과를 구명하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에는 농촌진흥청 국립식량과학원에서 육성한 일반메밀 (*Fagopyrum esculentum* Moench) ‘양절메밀’과 쓴메밀 (*Fagopyrum tataricum* Gaertner) ‘황금미소’ 2품종을 사용하였으며, 강원도 평창군 대관령면(북위 37.40°, 동경 128.45°, 750 m)에 위치한 시험 포장에서 4주간 재배한 개화단계의 식물체와 수확한 종실을 실험재료로 이용하였다. 실험재료는 -70°C의 초저온냉동고(deep freezer, Ilsin BioBase Co. Ltd., Yangju, Korea)에 24시간 보관한 후 동결건조기(freeze dryer, Iksan BioBase Co., Ltd., Dongducheon, Korea)로 96시간 건조하여 사용하였다(Fig. 1). 동결 건조된 시료를 분쇄기(Grinder SFM-555 SP, Shinil Co., Seoul, Korea)로 마쇄하고 40 메쉬(mesh)체로 거른 후 분말화하여 시료분석과 실험 식이에 활용하였다.

루틴 및 퀘세틴 분석

메밀 원료의 루틴 및 퀘세틴 분석은 Kim 등(2017)의 방법에 따라 초고속액체크로마토그래프(Ultra Performance Liquid Chromatograph, UPLC, Waters Corporation, Milford, MA, USA)로 분석하였다. 동결건조한 종실과 잎 분말시료에 100배의 100% 메탄올(J.T. Baker Avantor Korea Co. Suwon, Korea)을 첨가하여 속슬랫추출기(Soxhlet heater DH-43, Jisico Sci., Seoul, Korea)를 활용하여 80°C 항온수조에서 1시간 환류냉각추출(reflux extraction)하여 유용 성분을 추출하였다. 추출액을 여과지(No. 6, Whatman, Maidstone, UK)로 여과한 다음 불활 플라스틱으로 옮겨 담아 100 mL로 정용한 후 멤브레인 필터(PTFE 13 mm 0.20 μ m, PALL Life Sciences, Ann Arbor, MI, USA)로 다시 여과한 후 UPLC로 분석하였다. UV 검출기를 장착한 UPLC에 분석 칼럼(Acquity UPLC CSH C18, 2.1 mm i.d., 100 mm length, 1.7 μ m particle size, Waters Corporation, Milford, MA, USA)을 장착하여 분석하였다. 분석에 사용된 시약으로는 HPLC급 순도의 아세토니트릴(acetonitrile, Tedia Co., Cincinnati, OH, USA)과 포름산(formic acid, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)을 사용하였으며, 증류수는 초순수증류수제조기(Milli-Q system, Millipore, Bedford, MO, USA)에서 정제한 증류수를 사용하였다. 이동상으로 용매 A (1% Formic acid in water, v/v)와 용매 B (0.1% Formic acid in acetonitrile, v/v)를 사용하여 유속 0.25 mL/min으로 흘려주었다. 용



Fig. 1. Seed and plant of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) and tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.). A, seed of common buckwheat (SCB); B, seed of tartary buckwheat (STB); C, whole plant of common buckwheat in flowering time (PCB); D, whole plant of tartary buckwheat in flowering time (PTB).

매 이동은 구배(gradient) 방식으로, 용매 B를 7%의 농도로 처음 시작하여 2분에서 11분까지 17%로 증가시킨 후 11분에서 13분까지 25%로 다시 증가시킨 다음 19분까지 그 농도로 유지하였다. 이후 용매 B를 19분에서 21분까지 25%에서 7%로 감소시킨 후 23분까지 2분동안 7%의 농도로 안정화하였다. UPLC 기기내 컬럼은 30°C, 추출물은 20°C의 온도로 설정하였고, 검출 파장(detection wavelength)은 259 nm로 하였으며, 시료 주입량을 1 μ L로 설정하였다. 분석에 사용된 표준물질은 순도 $\geq 99\%$ 의 루틴(rutin, Extrasynthese, Genay, France)과 퀘세틴(querceetin, Extrasynthese, Genay, France)이었으며, 머무름 시간(retention time)은 8.96분과 17.54분이었다. 검량식은 표준물질을 농도별로 UPLC로 분석하여 검량선을 작성한 다음 산출하였다.

항산화 활성 분석

항산화 활성은 Kim 등(2019)의 방법에 따라 루틴 분석과 동일하게 추출 및 여과하여 -20°C 냉동고에 보관하면서 분석하였다. 항산화 활성은 UV/VIS 분광광도계를 장착한 Multi-mode microplate reader (Cytation 5 cell imaging multimode reader, Biotek instruments Inc. Winooski, VT, USA)로 측정하였다. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Sigma-Aldrich Co. St. Louis, MO, USA) radical 소거법은 항산화 물질의 전자공여능으로 인해 환원되는 원리를 이용하였다(Choi 등, 2006). 96 well plate에 표준물질과 시료 추출물 50 μ L를 첨가한 후 0.2 mM DPPH 용액(99.9% ethanol에 용해) 200 μ L를 첨가하여 실온에서 30분간

반응 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH radical 소거 활성은 시료 100 g당 mg TE (Trolox equivalent antioxidant capacity)로 나타내었다. ABTS (2,2'-azino-bis-3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid, Sigma-Aldrich Co. St. Louis, MO, USA) radical 소거 활성은 추출물의 항산화 성분에 의해 ABTS⁺가 소거되는 원리를 이용하였다(Lee 등, 2016). ABTS 7.4 mM과 potassium persulphate 2.6 mM을 하루 동안 암실에 보관하여 ABTS 양이온을 형성시킨 후 이 용액을 735 nm에서 몰흡광계수($\epsilon=3.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)를 이용하여 흡광도 값이 1.4-1.5가 되도록 메탄올로 희석하였다. 96 well plate에 표준물질과 시료 추출물 50 μL 를 넣고, 희석된 ABTS 용액 200 μL 를 첨가한 후 실온에서 60분간 반응시켜 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS radical 소거 활성은 시료 100 g당 mg TE로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량은 노란색으로 발색하는 원리를 이용하였다(Dewanto 등, 2002). 96 well plate에 표준물질과 시료추출물 50 μL 에 증류수 100 μL 와 5% NaNO_2 (Sigma-Aldrich Co. St. Louis, MO, USA) 15 μL 를 넣은 다음, 5분 후 10% $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 30 μL 를 가하여 6분간 반응시켰다. 이 후 1 N NaOH (Sigma-Aldrich Co. St. Louis, MO, USA) 100 μL 를 첨가하고, 11분 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 플라보노이드 함량은 표준물질인 루틴을 사용하여, 시료 100 g당 mg rutin equivalent (RE, dry basis)로 나타내었다.

총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu phenol reagent가 추출물의 폴리페놀성 화합물에 의해 환원되는 원리로 분석하였다(Dewanto 등 2002; Folin와 Denis, 1912). 96 well plate에 표준물질과 시료 추출물 50 μL 와 2% Na_2CO_3 용액(Sigma-Aldrich Co. St. Louis, MO, USA) 200 μL 를 가한 후 실온에서 3분간 반응시킨 후 50% Folin-Ciocalteu reagent (Sigma-Aldrich Co. St. Louis, MO, USA) 20 μL 를 첨가하여 30분간 반응시킨 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 표준물질인 gallic acid (Sigma-Aldrich Co. St. Louis, MO, USA)를 사용하여 시료 100 g당 mg gallic acid equivalent (GAE, dry basis)로 나타내었다.

STZ에 의한 제2형 당뇨병마우스 모델 실험 설계

실험동물은 4주령의 수컷 C57BL/6N 마우스(Orient Bio Co., Seongnam, Korea)를 구입하여 동물실험실의 생육조건을 적절한 온도($21 \pm 2^\circ\text{C}$)와 습도($50 \pm 10\%$)로 유지하며 12시간 주기로 명암을

조절하여 충분히 적응시킨 다음 실험 일정에 착수하였다(Fig. 2). 실험군은 정상군(NOR), 당뇨 대조군(streptozotocin, STZ), 일반메밀 종실군(Seed of Common Buckwheat, SCB), 쓴메밀 종실군(Seed of Tartary Buckwheat, STB), 일반메밀 전초군(Whole Plant of Common Buckwheat, PCB), 쓴메밀 전초군(Whole Plant of Tartary Buckwheat, PTB)으로 나누었으며, 각 처리군마다 6마리 마우스를 반복으로 사용하였다(Table 1). NOR을 제외한 나머지 마우스에서 2형 당뇨의 가장 큰 특징인 인슐린 저항성을 유도하기 위해 총 열량의 60 kcal % 고지방식이를 4주간 급여하였다. 이후 췌장 세포의 부분적 손상에 의한 당뇨 유발을 위해 STZ (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 0.1 M citrate 용액(pH 4.5)에 녹여 100 mg/kg을 1회 복강주사하였다. STZ 주사 1주일째 12시간 이상 마우스를 금식시킨 후 혈당 측정 결과 혈당이 200-250 mg/dL인 마우스만을 제2형 당뇨병 유발 마우스로 간주하여 추후 실험에 사용하였다. 당뇨유발 후 SCB, STB, PCB 및 PTB는 고지방식이에 일반메밀 및 쓴메밀의 종실 또는 전초 분말이 10% 비율로 혼합(Dooyeolbioteck, Seoul, Korea)된 사료를 공급하였다. 모든 동물 실험 과정은 부산대학교 동물실험윤리 위원회의 승인을 받은 후 진행하였다(PNU-2020-2765).

공복혈당 측정(Fasting blood glucose test, FBG)

STZ를 복강투여한 후 1주일 간격으로 마우스를 12시간 절식 후 꼬리정맥으로부터 혈액을 얻어 혈당측정기(Accu-Check Active, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)를 이용해 공복 시 혈당을 측정하였다.

경구 당부하 검사(Oral glucose tolerance test, OGTT)

실험 종료 1주일전에 마우스를 12시간 절식시킨 후 꼬리 정맥에서 채혈하여 공복 시 혈당을 측정한 후, 25% 포도당 용액(glucose solution)을 경구 투여하고, 30, 60, 90 및 120분 후 각각 꼬리 정맥에서 채혈하여 혈당측정기로 혈당을 측정하였다.

인슐린 내성 검사(Insulin tolerance test, ITT)

실험 종료 2주일전, 마우스를 12시간 동안 절식시켜 정맥에서 채혈하여 공복시 혈당을 측정한 후, 인슐린을 복강 투여한 다음 30, 60 및 90분 후 꼬리 정맥에서 혈액을 채취하여 혈당측정기를 통해 혈당을 측정하였다.

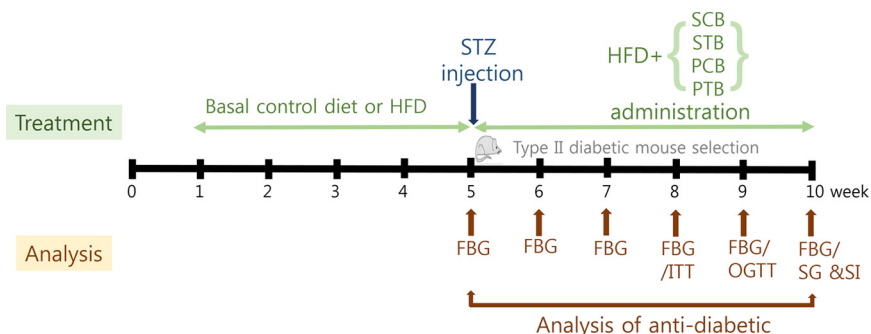


Fig. 2. Schedule for treatment of mice in experiment for 10 weeks. Type 2 diabetic mice were divided into each group: NOR, STZ, SCB, STB, PCB, and PTB. HFD refer to high fat diet; NOR, normal mice group (normal rats+basal control diet); STZ, streptozotocin-induced diabetic mice group (Streptozotocin-induced diabetic rats+high fat diet with 60 calories); SCB or PCB (Streptozotocin-induced diabetic rats+feed diet containing 10% seed or whole plant powder of common buckwheat), seed or whole plant powder of common buckwheat treated group; STB or PTB, seed or plant powder of tartary buckwheat treated group (Streptozotocin-induced diabetic rats+feed diet containing 10% seed or whole plant powder of tartary buckwheat); FBG, fasting blood glucose; ITT, insulin tolerance test; OGTT, oral glucose tolerance test; SG & SI, serum glucose & serum insulin.

Table 1. Composition of diet-control, fat diet, and buckwheat diet

(unit: g/kg)

Ingredients	Experimental group ¹⁾					
	NOR	STZ	Seed		Whole plant	
			SCB	STB	PCB	PTB
Casein	200	200	200	200	200	200
L-cystein	3	3	3	3	3	3
Corn starch	315	-	-	-	-	-
Maltodextrin	35	125	125	125	125	125
Sucrose	350	69	69	69	69	69
Cellulose	50	50	50	50	50	50
Soybean oil	25	25	25	25	25	25
Lard	20	245	245	245	245	245
Mineral mixture ²⁾	10	10	10	10	10	10
Vitamin mixture ³⁾	10	10	10	10	10	10
Buckwheat powder	- ⁴⁾	-	100	100	100	100

¹⁾NOR, Normal mice group; STZ, Streptozotocin-induced diabetic mice group; SCB or PCB, seed or whole plant powder of common buckwheat treated group; STB or PTB, seed or whole plant powder of tartary buckwheat treated group.

²⁾Based on AIN-93-MX mineral mixture.

³⁾Based on AIN-93-MX vitamin mixture.

⁴⁾-, without buckwheat powder.

혈중 포도당 및 인슐린 측정(Serum glucose and serum insulin test, SG & SI)

실험 종료 후 마우스를 12시간 절식시킨 다음, 희생시켜 심장으로부터 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리했고, 분석 전까지 -80°C 초저온 냉동고에 보관하였다. 채취한 혈청에서 포도당 함량은 glucose kit (Asan chem., Seoul, Korea)를 이용하여 측정하였다. 혈청 내 인슐린의 농도는 mouse insulin ELISA kit (Crystal chem, Elk Grove Village, IL, USA)를 사용하여 측정하였다. 인슐린 저항성을 측정하기 위한 지표인 Homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR)와 Quantitative insulin sensitivity check index (QUICKI)는 혈청 포도당 및 인슐린 농도를 이용하여 산출하였다.

$$\text{HOMA-IR} = [\text{공복인슐린}(\mu\text{U/mL})] \times [\text{공복혈당}(\text{mmol/L})] / 22.5$$

$$\text{QUICKI} = 1 / [\log(\text{공복인슐린}, \mu\text{U/mL}) + \log(\text{공복혈당}, \text{mg/dL})]$$

통계분석

모든 시험 결과를 평균(mean)±표준편차(standard deviation, SD)로 나타냈으며, 각 결과에 대한 통계분석은 프로그램으로 SAS (ver. 9.4)와 R studio Team (ver. 3.6.1)을 이용하여 One-way ANOVA를 실시하였고, 평균값의 통계적 유의성은 *p*-value로 검정하였다

결과 및 고찰

일반메밀과 쓴메밀의 루틴 함량과 항산화 활성 비교

일반메밀과 쓴메밀의 종실과 전초의 루틴과 퀘세틴 함량은 Table 2에 나타내었다. 루틴 함량은 쓴메밀 전초에서 1,561.4 mg/100 g, 종실에서 1,459.1 mg/100 g으로 일반메밀 종실보다 각각 48, 44배 높았다. 퀘세틴 성분은 일반메밀과 쓴메밀의 전초에서만 검출(9.0-14.7 mg/100 g) 되었으며, 쓴메밀에서 높았다. 쓴메밀은 루

Table 2. Rutin and quercetin contents in seed and whole plant from common buckwheat and tartary buckwheat.

Material ¹⁾	Rutin (mg/100 g)	Quercetin (mg/100 g DW)
SCB	33.1±0.4 ^{d2)}	N.D. ^c
STB	1,459.1±7.3 ^a	N.D. ^c
PCB	1,208.8±10.1 ^c	9.0±0.2 ^b
PTB	1,561.4±7.6 ^b	14.7±0.2 ^a
F value ³⁾	69,577***	7,155***
C.V. ⁴⁾	0.61	4.18

¹⁾Material was cultivated in Deagwallyeong, Pyeongchang. SCB or PCB, seed or whole plant powder of common buckwheat treated group; STB or PTB, seed or whole plant powder of tartary buckwheat treated group.

²⁾Data shown are the mean±SD (n=6). Values with different superscripts in the same column are significantly different (*p*<0.05) between groups by DMRT.

³⁾The variables in four buckwheat materials expressed ***significant at *p*<0.001.

⁴⁾C.V., Coefficient of variation.

틴 함량이 일반메밀에 비해 51-100배 높아 식의약소재로 활용하기 위한 다양한 연구가 시도되고 있다고 하였는데(Kim 등, 2019; Yoon 등, 2012), 본 연구에서도 쓴메밀의 루틴 함량이 일반메밀에 비해 44-48배 높은 것으로 나타나 기존의 연구결과와 일치하는 경향을 보였다. 기존의 메밀의 루틴 및 퀘세틴은 에탄올 추출을 할 경우 일반메밀 종실은 17.8 mg/100 g으로 나왔으며, 쓴메밀은 1,386 mg/100 g으로 나타났다(Kim 등, 2019). 본 연구에서 추출효율을 높이기 위해 메탄올을 이용하였으며, 에탄올로서도 천연물 소재의 생리활성 및 기능성 평가에 있어 추출이 가능하다.

일반메밀과 쓴메밀의 종실과 전초에서 DPPH 및 ABTS radical 소거 활성법으로 항산화 활성을 측정하였다(Fig. 3). DPPH radical 소거 활성은 쓴메밀 종실이 966 mg TE/100 g으로 일반메밀 종실의 623 mg TE/100 g보다 1.6배 높았다(Fig. 3A). 또한, 일반메

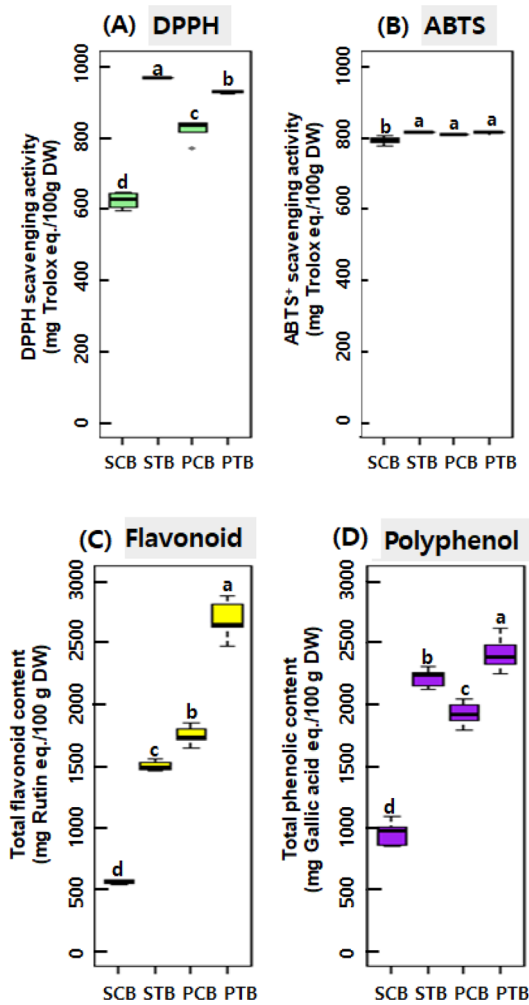


Fig. 3. Boxplots of anti-oxidant activities in seed and whole plant from common buckwheat and tartary buckwheat based on material parts, including DPPH (A), ABTS (B), flavonoid (C), and polyphenol contents (D). Material of buckwheat was cultivated in Deagwallyeong, Pyeongchang. SCB, seed of common buckwheat; STB, seed of tartary buckwheat; PCB, whole plant of common buckwheat in flowering time; PTB, whole plant of tartary buckwheat in flowering time. The levels of DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) and ABTS radical scavenging activity, flavonoid and polyphenol content in the extractions were determined by a multi-mode microplate reader, respectively. All microplate images passed through multi-mode reader at standard solution, which are as follows: (1) DPPH standard (0.00-0.083 mg/mL, yellow-purple); (2) ABTS standard (0.00-0.083 mg/mL, white-turquoise); (3) Flavonoid standard (0.00-0.400 mg/mL, white-orange); and (4) Polyphenol standard (0.00-0.400 mg/mL, white-molybdenum blue). UV/Vis absorbance detectors of anti-oxidants are as follows: DPPH (520 nm); (2) ABTS (734 nm); (3) Flavonoid (510 nm); and (4) Polyphenol (750 nm). Data shown are the mean±SD (n=6). In each categorized aberration, different letters indicate statistically significant differences ($p < 0.05$, Duncan's multiple range test).

밀 종실의 ABTS radical 소거 활성은 791 mg TE/100 g, 쓴메밀 종실이나 전초는 815 mg TE/100 g인 것으로 1.1배 정도 높았다 (Fig. 3B). Kim 등(2019)의 연구에서도 종실 에탄올 추출 시 쓴메밀이 일반메밀보다 DPPH radical 소거능은 2.0배, ABTS radical 소거능은 1.2배 높았다고 보고하여 본 연구 결과와 같은 경향을 나타냈다.

메밀의 총 플라보노이드 함량은 루틴(rutin)을 기준물질로, 총 페놀 함량은 갈산(gallic acid)를 기준물질로 측정되었다. 쓴메밀 전초와 일반메밀 종실에 함유되어 있는 총 플라보노이드 함량은 각각 2,682, 562 mg/100 g으로 쓴메밀이 일반메밀보다 4.8배 정도 많았으며, 처리 간에 유의적인 차이가 있었다($p < 0.05$) (Fig. 3C). 메밀의 총 페놀 함량도 각각 2,409, 960 mg/100 g로 쓴메밀 전초가 일반메밀 종실보다 2.5배 높았으며, 유의적인 차이가 있었다 ($p < 0.05$) (Fig. 3D). 따라서 본 연구에서 사용된 시료 중에서 쓴메밀 전초가 항산화 활성에서 가장 우수한 것으로 확인되었다.

천연물에 존재하는 폴리페놀 화합물들은 활성산소에 의한 산화를 지연 또는 예방하는 물질로, 분자 내 phenolic hydroxyl기가 효소 단백질과 같은 물질과 결합하는 성질을 가지고 있어 항산화, 항암, 항당뇨, 심혈관 질환 및 골다공증을 예방하며 (Sakihama 등, 2002; Scalbert 등, 2005), α -glucosidase 활성 억제, 포도당 흡수율 개선, 인슐린 의존성을 조절한다고 보고하였다 (Vinayangam 등, 2016). 메밀의 다양한 기능성 효과는 이미 기존의 많은 연구 (Campbell, 1997; Kim 등, 2020)에서 확인되었으며, 이러한 효과는 루틴 등 플라보노이드 성분 및 폴리페놀 성분의 함량과 관련이 있다 (Park, 2006; Yoon 등, 2012).

제2형 당뇨 동물모델에서 메밀 종실 및 전초 식이에 따른 공복혈당의 변화

당뇨병을 확인하는 대표적인 지표 중 하나인 공복혈당은 식후 혈당과의 작용기전이 다르다 (Faerch 등, 2009; Kwon 등, 2020). 간의 인슐린 민감성 감소, 췌장 β -cell의 기능 결핍과 지속적인 무게 감소, GLP^{-1} (glucagon-like peptide) 분비 변화, 글루카곤 분비 조절 기능 저하 등이 공복혈당 수치를 증가시킨다고 알려져 있다 (Faerch 등, 2009; Rhee 등, 2010). 제2형 당뇨가 유발된 마우스에 메밀 종실과 전초의 분말을 4주간 투여한 후 공복혈당을 측정하였다 (Fig. 4).

실험 시작 혈당은 정상군(147.0 mg/dL)을 제외하고 나머지 고지방식이 실험군 간의 혈당(409.5-411.8 mg/dL)에서 유의적인 차이가 없었다. 그러나, 고지방식이 실험군의 경우 STZ 주입 이후 공복혈당이 유의적으로 상승하는 것이 확인되었는데, 대조적으로 메밀을 투여한 모든 실험군에서 당뇨대조군에 비하여 공복혈당이 유의적으로 감소하는 것을 관찰하였다. 실험 5주차에 일반메밀 종실군(400.7 mg/dL)과 쓴메밀 종실군(464.7 mg/dL)은 당뇨대조군(666.0 mg/dL)에 비해 각각 40, 31%의 유의성 있는 혈당 감소를 나타냈다 ($p < 0.05$) (Fig. 4A). 또한, 전초를 투여한 당뇨 마우스의 공복혈당 변화를 비교한 결과, 실험 3주차부터 공복혈당이 감소하기 시작하였으며, 실험 종료 5주차의 일반메밀 전초군(486.0 mg/dL)과 쓴메밀 전초군(461.3 mg/dL)은 당뇨대조군(666.0 mg/dL)에 비해 각각 28, 31%의 유의성 있는 혈당 감소를 나타냈다 ($p < 0.05$) (Fig. 4B). 이는 당뇨병의 특징 중에서 인슐린에 대한 저항성이 증가함에 따라 인슐린에 대한 민감성이 감소하여 혈당의 조절이 어려워져서 공복혈당이 증가한 것을 뜻하며 (Kwon 등, 2020), 실험에 사용된 당뇨 마우스의 렙틴(leptin) 수용체 유전자 변형으로 인한 고혈당증이 유발되었다고 하였다 (Lee 등, 2021). 또한, 고지방식이와 STZ의 투여는 인슐린 저항성과 함께 췌장 β 세포의 선택적인 파괴를 유도해 제2형 당뇨병을 유발한다고 하였다 (Lee 등, 2014; Son 등, 2016). STZ 투여로 유도된 당뇨병에서 혈당이 증가하는 것은 생체내에서 생성된 nitric oxide (NO)가 superoxide anion과 반응하여 peroxynitrite를 생성하였기 때문인 것으로 알려졌다 (Matkovic 등, 1998). 이런 현상이 지속되면 공복혈당장애가 유도되는데 메밀 종실 또는 전초의 식이로 인해

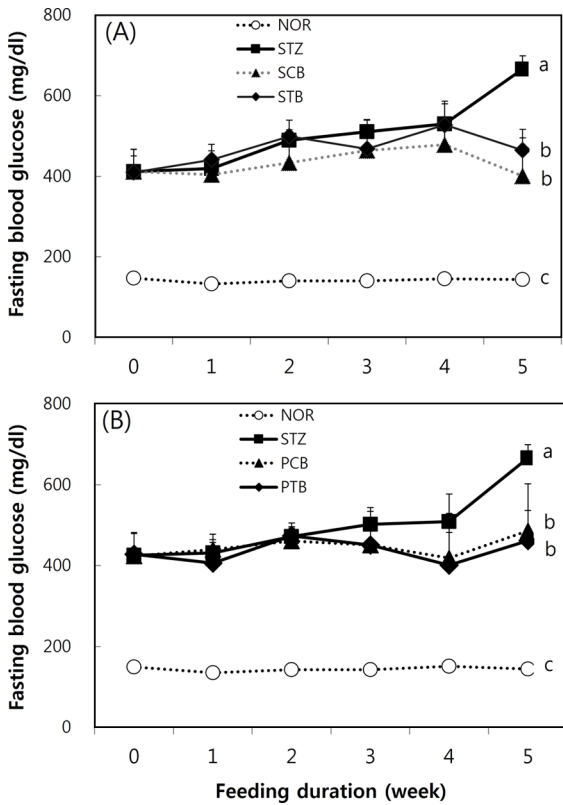


Fig. 4. Changes in fasting blood glucose of STZ-induced diabetic mice fed with experimental diets of buckwheat seed (A) and whole plant (B). NOR (○), Normal mice group (normal rats+basal control diet); STZ (■), Streptozotocin-induced diabetic mice group (Streptozotocin-induced diabetic rats+high fat diet with 60 calories); SCB or PCB (▲), seed or whole plant powder of common buckwheat treated group (Streptozotocin-induced diabetic rats+feed diet containing 10% seed or whole plant powder of common buckwheat); STB or PTB (◆), seed or whole plant powder of tartary buckwheat treated group (Streptozotocin-induced diabetic rats+feed diet containing 10% seed or whole plant powder of tartary buckwheat). Mean±SD (n=6) with different superscripts at the top of bar represent that they are significantly different according to DMRT at $\alpha=0.05$. Superscript “a” indicates the highest value while “c” indicates the lowest value. The standard bar in the figure represents the standard deviation.

공복혈당이 감소하여 혈당조절에 도움을 주는 것을 확인하였다. 따라서, 본 연구에서 STZ에 의해 유도된 당뇨 모델에서 당뇨대조군에 비해 메밀의 종실과 전초군에서 모두 유의성 있게 혈당이 감소하였다. 이는 혈당조절에 있어 천연재료인 메밀의 종실과 전초를 활용할 수 있다는 것을 의미하는 결과이다.

제2형 당뇨 동물모델에서 메밀 종실 및 전초 식이에 따른 경구 내당능 효과

내당능이란 체내에서 포도당을 조절하는 능력으로, 정상인의 경우 혈중 포도당 수준이 높아지면 인슐린이 세포질에 있던 포도당 운반체를 세포막으로 이동시켜 세포 내로 포도당이 유입되는 것을 도와 혈중 포도당 농도를 감소시키지만, 인슐린 저항성을 동반한 당뇨의 경우에는 체내 인슐린 작용이 저하되어 혈중 포도당을 정상적으로 이용하지 못해 내당능 장애가 발생한다(Lee 등, 2014). 경구 당부하 검사는 당뇨 연구에서 내당능장애를 확인하기 위해 이용되는 바이오마커로, 정상상태에서는 포도당을

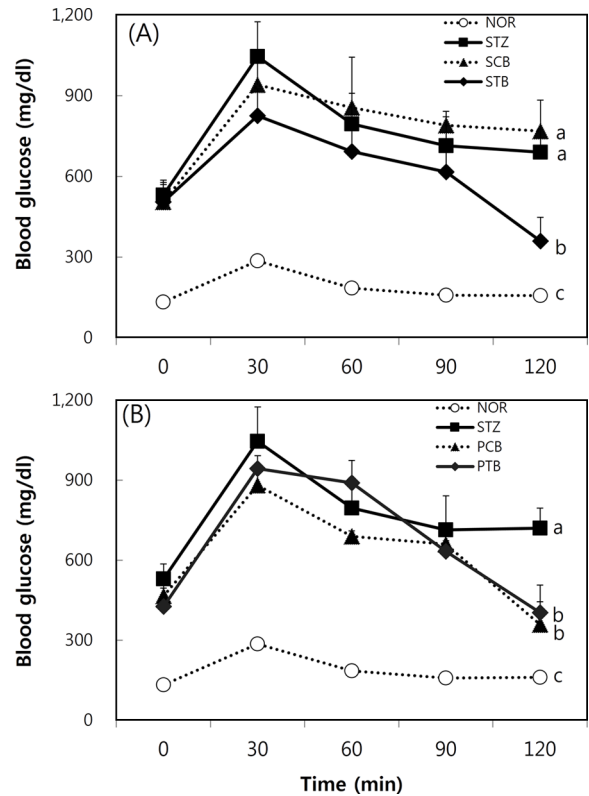


Fig. 5. Effects of buckwheat seed (A) and whole plant (B) intake on oral glucose tolerance test in STZ-injected mice. NOR (○), Normal mice group (normal rats+basal control diet); STZ (■), Streptozotocin-induced diabetic mice group (Streptozotocin-induced diabetic rats+high fat diet with 60 calories); SCB or PCB (▲), seed or whole plant powder of common buckwheat treated group (Streptozotocin-induced diabetic rats+feed diet containing 10% seed or whole plant powder of common buckwheat); STB or PTB (◆), seed or whole plant powder of tartary buckwheat treated group (Streptozotocin-induced diabetic rats+feed diet containing 10% seed or whole plant powder of tartary buckwheat). Mean±SD (n=6) with different superscripts at the top of bar represent that they are significantly different according to DMRT at $\alpha=0.05$. Superscript “a” indicates the highest value while “c” indicates the lowest value. The standard bar in the figure represents the standard deviation.

경구투여하면 투여 후 30-60분 사이에 가장 높은 혈당치를 보인 다음 인슐린 작용에 의해 혈당이 빠르게 원래의 혈당치로 돌아오지만, 당뇨의 경우 혈당이 정상상태에 비해 현저히 높아지고 원래의 혈당치로 돌아오는 속도도 상대적으로 느리다고 알려졌다(Kim 등, 2005).

메밀의 종실과 전초의 분말을 투여한 제2형 당뇨 마우스의 120분간 경구 내당능 효과는 Fig. 5에 나타냈다. 당뇨 마우스에게 포도당을 섭취시킨 60분 후부터 쓴메밀 종실군에서 당뇨대조군에 비해 유의성 있게 혈당이 감소하기 시작했다(Fig. 5A). 또한, 120분에서 일반메밀 종실군은 당뇨대조군에 비해 혈당감소 효과가 없었으나, 쓴메밀 종실군(359.0 mg/dL)은 당뇨대조군(689.5 mg/dL)에 비해 48%의 유의적인 혈당 감소를 보여, 포도당 투여 전 혈당 수준으로 떨어졌다.

전초를 투여한 당뇨 마우스의 경구 내당능 효과는 60분 후부터 혈당 감소가 관찰되었으며, 일반메밀 전초군, 쓴메밀 전초군이 전반적으로 혈당 감소 속도에서 정상군보다는 느렸지만, 당뇨

대조군(719.3 mg/dL)과 비교하였을 때는 일반메밀 전초군(359.0 mg/dL)과 쓴메밀 전초군(402.7 mg/dL)의 혈당값은 현저히 낮은 것으로 나타났다(Fig. 5B).

당뇨 환자의 경우 혈당이 제대로 관리되지 못하면 망막변증, 신부전, 뇌혈관질환 등의 당뇨합병증이 발생할 가능성이 높아지므로, 당뇨 치료에 있어 혈당을 정상 수치로 유지하는 것은 매우 중요하다(Jeon 등, 2010). 공복혈당과 식후혈당은 다른 기전으로 혈당이 조절되며, 공복혈당 장애는 인슐린 저항성이, 식후혈당 장애는 인슐린 분비 감소와 연관성이 크다고 보고되어 있다(Faerch 등, 2009; Park, 2007; Rhee 등, 2010). 포도당 투여에 의한 경구 내당능 검사에서 고혈당이 나타날 경우 심혈관 합병증 위험에 노출될 가능성이 높다는 것을 의미한다(Gordon 등, 1977). 본 연구에서 메밀의 종실과 전초를 투여한 당뇨 마우스는 당 섭취 후 일반메밀 종실군을 제외한 다른 메밀 실험군에서 모두 유의성 있는 혈당감소 효과를 보였다. 특히, 전초에서 일반메밀과 쓴메밀 모두에서 경구 내당능 효능이 우수했으며, 종실은 쓴메밀이 일반메밀보다 경구 내당능에서 우수한 효과를 나타냈다.

제2형 당뇨 동물모델에서 메밀 종실 및 전초 식이에 따른 인슐린 내성 효과

메밀 종실과 전초 분말을 투여한 제2형 당뇨 마우스의 90분간 인슐린 내성 효과는 Fig. 6과 같다. 종실을 식이한 당뇨 마우스에 인슐린을 투여하고 60분이 경과하였을 때 일반메밀 종실군(178.7 mg/dL)과 쓴메밀 종실군(166.0 mg/dL)의 혈당수치는 당뇨 대조군(305.3 mg/dL)에 비해 낮아 유의성 있는 혈당 감소를 보였다(Fig. 6A). 또한 전초를 투여한 실험군에서는 당뇨 마우스의 인슐린을 투여한 후 60분에서 일반메밀 전초군(162.0 mg/dL)과 쓴메밀 전초군(202.5 mg/dL)이 당뇨대조군(283.5 mg/dL)에 비해 낮은 혈당값을 보였다(Fig. 6B). 따라서 메밀의 종실과 전초 모두 고지방식이와 STZ로 유발된 당뇨 마우스에서 인슐린 저항성을 완화시키는 역할을 한 것으로 판단된다.

일반적으로 혈당은 인슐린에 의해 조절되기 때문에 인슐린 분비가 많으면 혈당이 떨어지게 되는데, 인슐린 저항성이 생기게 되면 인슐린 분비량이 많아져도 혈당은 잘 떨어지지 않아 정상보다 높은 농도의 인슐린이 분비된다. 이러한 인슐린 저항성은 고인슐린혈증을 동반하게 되고 간에서 지방합성을 촉진시켜 포도당 흡수와 당원합성을 저하시키고 고혈당과 더불어 β -cell의 기능을 약화시키게 된다(Park, 2007). Wu 등(2018)은 쓴메밀에서 주요 파고피리톨(fagopyritol)은 파고피리톨 B1이었으며, 당뇨 마우스에 파고피리톨 B1을 투여하면 혈당의 점진적인 상승이 억제되고 내당능 장애가 개선된다고 하였다. 이러한 효과는 파고피리톨 B1의 유효성분인 파고피리톨과 유리 D-이노시톨(free D-chiro-inositol)이 P13K/AKT/mTDR 경로를 활성화함으로써 나타난다고 하였다(Park 등, 2004; Wu 등, 2018). 본 연구에서도 메밀 식이에 따른 인슐린 저항성 완화 효과를 확인할 수 있었다.

제2형 당뇨 동물모델에서 메밀 종실 및 전초 식이에 따른 혈중 포도당 및 인슐린 농도 측정

제2형 당뇨병의 발병과정을 보면 정상혈당 상태에서 생활 습관 등의 외부요인에 의해 체내조직의 인슐린 저항성 증가로 공복혈당장애 및 내당능장애가 발생하면 혈중 포도당의 농도를 낮추기 위한 보상작용으로 혈중 인슐린 농도는 증가하게 된다(Lee 등, 2021). 당뇨병 전 단계에서 공복혈당장애나 내당능장애가 개선되지 않고 지속되면 인슐린 저항성으로 인해 혈중 인슐린 농도가 증가하여도 혈중 포도당 농도가 감소하지 않고 지속해서 증

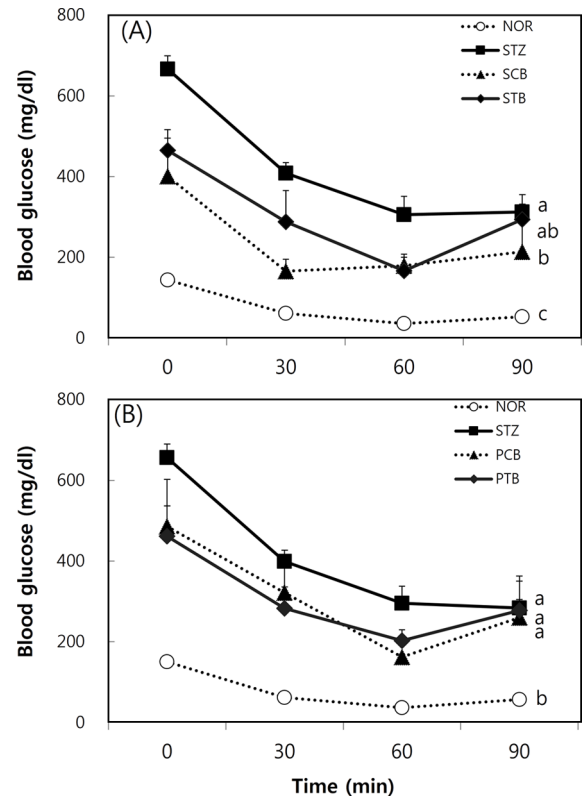


Fig. 6. Effects of buckwheat seed (A) and whole plant (B) intake on insulin tolerance test (ITT) in STZ-injected mice. NOR (○), Normal mice group (normal rats+basal control diet); STZ (■), Streptozotocin-induced diabetic mice group (Streptozotocin-induced diabetic rats+high fat diet with 60 calories); SCB or PCB (▲), seed or whole plant powder of common buckwheat treated group (Streptozotocin-induced diabetic rats+feed diet containing 10% seed or whole plant powder of common buckwheat); STB or PTB (◆), seed or whole plant powder of tartary buckwheat treated group (Streptozotocin-induced diabetic rats+feed diet containing 10% seed or whole plant powder of tartary buckwheat). Mean±SD (n=6) with different superscripts at the top of bar represent that they are significantly different according to DMRT at $\alpha=0.05$. Superscript “a” indicates the highest value while “c” indicates the lowest value. The standard bar in the figure represents the standard deviation.

가하게 되면 체내에서는 혈중 포도당 농도를 낮추기 위해 인슐린을 과다 분비하게 된다(Kwon 등, 2020; Park, 2007). 결국에는 인슐린을 분비하는 췌장의 β -cell의 기능장애가 시작되고, 당뇨로 발전하면서 혈중 인슐린 농도가 감소하게 된다(Redondo 등, 2001; Wilcox, 2005). 본 실험에서 메밀의 종실과 전초를 급여한 제2형 당뇨 마우스의 실험개시 4주치의 혈중 포도당 및 인슐린 농도에 미치는 영향을 확인한 결과를 Fig. 7에 나타내었다.

메밀의 종실과 전초를 급여한 제2형 당뇨 마우스의 실험개시 4주치의 혈중 포도당 농도는 정상군(344.3 mg/dL)에 비해 STZ와 고지방식이의 당뇨대조군(755.3 mg/dL)이 높은 반면, 쓴메밀 종실군(569.3 mg/dL)이 유의하게 낮았으며, 이는 공복혈당 변화와 유사한 경향을 보였다(Fig. 7A). 쓴메밀 전초군(551.1 mg/dL)의 경우에도 당뇨대조군(679.3 mg/dL)과 비교하여 포도당 농도가 낮아졌다(Fig. 7B).

메밀 종실 식이시 혈중 인슐린 농도를 측정된 결과, 정상군(0.14 ng/mL)에 비해 당뇨대조군(0.52 ng/mL)이 높았으나 일반메밀 종실군(0.18 ng/mL)과 쓴메밀 종실군(0.06 ng/mL)은 매우 낮아 고

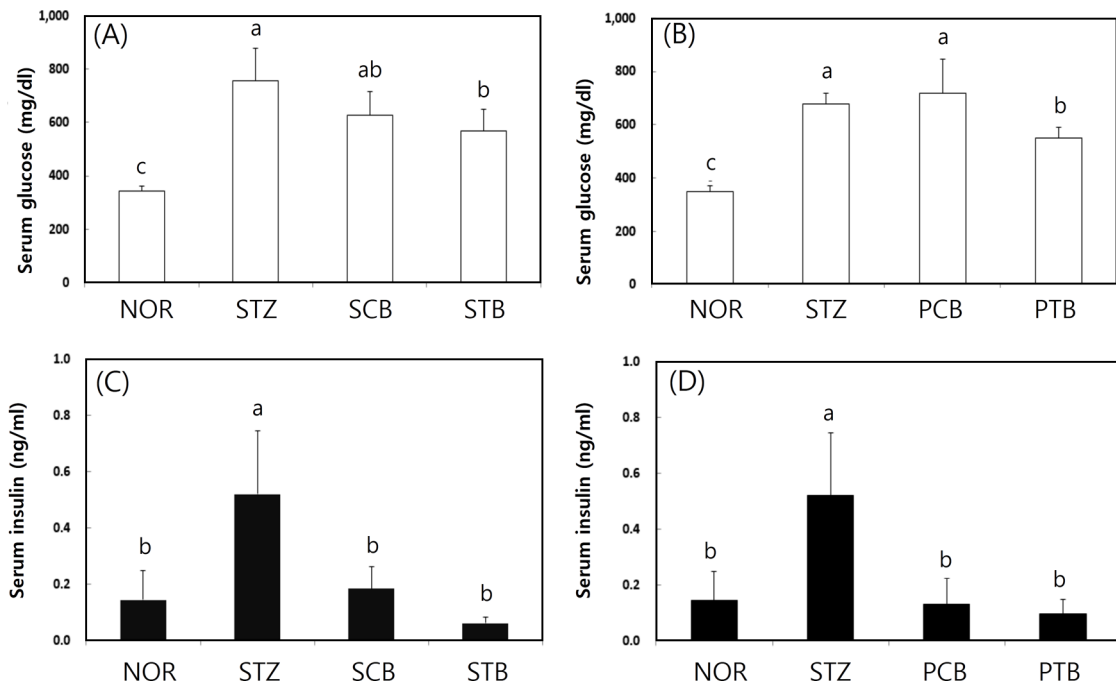


Fig. 7. Effects of buckwheat seed (A, C) and whole plant (B, D) intake on serum glucose and insulin level test in STZ-injected mice. NOR, Normal mice group (normal rats+basal control diet); STZ, Streptozotocin-induced diabetic mice group (Streptozotocin-induced diabetic rats+high fat diet with 60 calories); SCB or PCB, seed or whole plant powder of common buckwheat treated group (Streptozotocin-induced diabetic rats+feed diet containing 10% seed or whole plant powder of common buckwheat); STB or PTB, seed or whole plant powder of tartary buckwheat treated group (Streptozotocin-induced diabetic rats+feed diet containing 10% seed or whole plant powder of tartary buckwheat). Mean±SD (n=6) with different superscripts at the top of bar represent that they are significantly different according to DMRT at $\alpha=0.05$. Superscript “a” indicates the highest value while “c” indicates the lowest value. The standard bar in the figure represents the standard deviation.

인슐린증 유발이 유의적으로 억제되었다($p<0.05$)(Fig. 6C). 또한, 메밀 전초 투여시의 혈중 인슐린 농도에서도 일반메밀 전초군과 쓴메밀 전초군이 각각 0.13, 0.10 ng/mL로 당뇨대조군에 비해 인슐린 농도가 현저히 낮았다(Fig. 6D).

이와 같이 정상군에 비하여 당뇨대조군에서 증가한 혈당을 낮추기 위한 보상작용으로 인슐린의 농도가 유의적으로 증가하였고 대조적으로 일반메밀과 쓴메밀 모든 실험군에서 인슐린 농도가 유의적으로 감소하였다. 특히 일반메밀 전초군과 쓴메밀 전초군에서 유사한 수준으로 인슐린이 개선되었으며, 이는 메밀 싹을 투여한 마우스에서 혈중 포도당 농도를 감소시켰다는 Lee 등 (1995)의 연구와 유사한 경향을 보였다. 또한 Park 등(2020)의 선행연구에서는 C57BL/6J db/db 마우스에 홍삼추출물을 섭취시켰을 때 인슐린 민감성과 관련된 지표들의 활성화를 통해 혈당 조절에 효능을 확인하였는데, 본 연구에서 메밀 전초를 식이한 STZ 마우스에서 인슐린의 감소효과를 관찰할 수 있었다. 이러한 결과는 메밀의 섭취가 제2형 당뇨병에 있어서 혈중 인슐린 농도를 떨어뜨려 인슐린 저항성을 조절한데서 기인한 것으로 사료된다.

제2형 당뇨 동물모델에서 메밀 종실 및 전초 식이에 따른 인슐린 저항성 지표 조절 효과 비교

HOMA-IR은 인슐린 저항성 지표로 인슐린 수용체에 대한 항상성을 평가하는 방법으로 그 값이 클수록 인슐린 저항성이 높음을 의미한다(Son 등, 2014). 또한 QUICKI는 인슐린 민감성 지표로서 신뢰도와 재현성이 높다고 평가되는 지표로, 본 연구에서는 HOMA-IR과 QUICKI를 이용하여 인슐린 작용력을 평가하였다(Fig. 8). 당뇨대조군의 HOMA-IR 수치는 18.27, QUICKI 수치는 0.38로, 정상군(0.83, 0.69)에 비해 HOMA-IR 수치는 약 20배

이상 증가하고 QUICKI 수치는 2배 이상 감소하여 고지방식이와 STZ 처리로 인해 인슐린 저항성이 심화되고 민감도는 감소하였다. 그러나 당뇨를 유도한 실험동물에 메밀 종실을 고지방식이와 혼합하여 4주간 급여했을 때, 각각 HOMA-IR 수치는 일반메밀 종실군(5.00)과 쓴메밀 종실군(1.75)에서 유의하게 감소하였으며($p<0.05$)(Fig. 8A), QUICKI 수치는 당뇨대조군에 비해 일반메밀군(0.53)과 쓴메밀군(0.63)에서 QUICKI 값이 증가하는 경향을 보였다(Fig. 8C). 일반메밀 전초와 쓴메밀 전초를 급여한 당뇨 마우스의 HOMA-IR 수치는 각각 3.56, 1.99로 당뇨대조군(15.74)보다 유의적으로 감소하였으며($p<0.05$)(Fig. 8B), QUICKI 수치는 일반메밀군(0.62)과 쓴메밀군(0.63)에서 당뇨 대조군(0.40)에 비해 증가하는 경향을 나타냈다(Fig. 8D). 위의 결과로 일반메밀과 쓴메밀의 종실 및 전초 섭취가 인슐린 저항성을 감소시키고 인슐린 민감성을 증가시킴으로써 당뇨 개선 효과를 보인 것으로 생각된다.

기존의 연구에서 메밀은 당뇨를 유도한 마우스에서 혈당을 낮추고, 내당능 장애를 개선하며, 혈중 인슐린 작용을 조절함으로써 항당뇨 효과를 나타내는 것으로 보고하였다(Hwang 등, 2006; Lee 등, 2000). 본 연구에서는 일반메밀 품종인 ‘양절메밀’과 새로 육성된 쓴메밀 품종 ‘황금미소’의 당뇨 개선 효과를 평가하기 위해 STZ와 고지방식으로 당뇨를 유도한 동물모델에 이들을 급여하여 당뇨에 미치는 영향을 확인하였다. 그 결과, 일반메밀 및 쓴메밀의 식이는 당뇨 동물모델에서 인슐린 민감성을 향상시키고 고인슐린증을 완화시켜 혈당을 감소시킴으로써 혈당조절에 도움을 주었으며, 이는 인슐린 저항성 지표인 HOMA-IR과 인슐린 민감성 지표인 QUICKI에서 확인되었다. 특히 쓴메밀은 일반메밀과 비교했을 때 인슐린 민감성을 더욱 증가시킴을 확인하여, 쓴메밀이 당뇨병 환자의 인슐린 민감도를 개선하여 당뇨를 완화

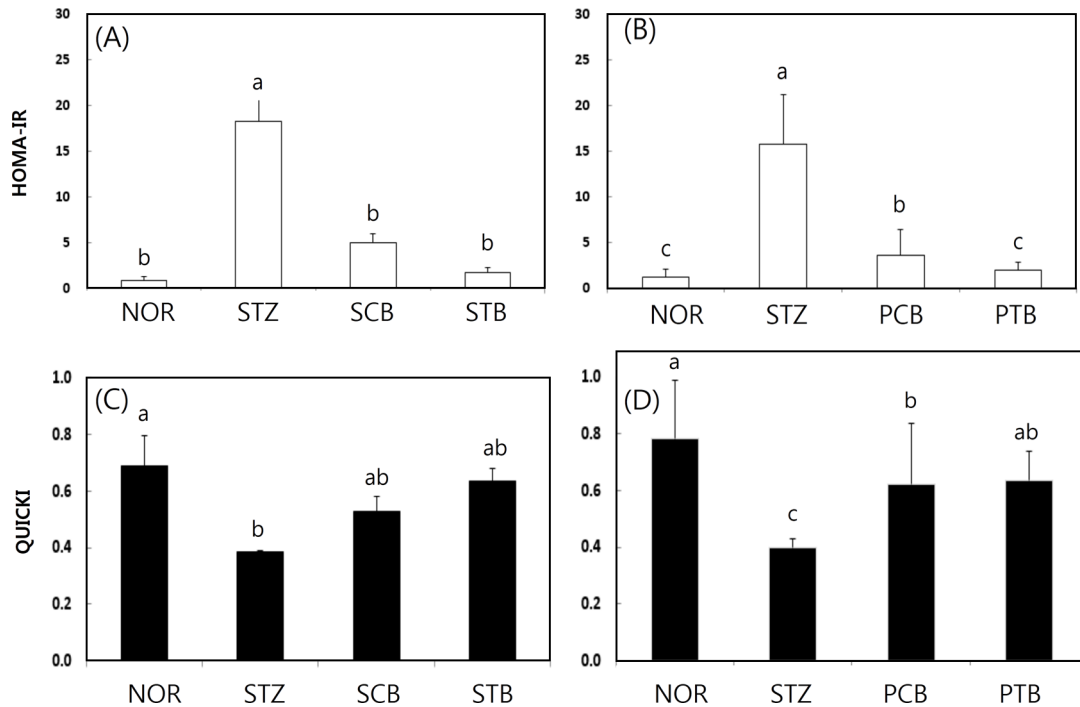


Fig. 8. Effects of buckwheat seed (A, C) and whole plant (B, D) intake on HOMA-IR and QUICKI level test in STZ-injected mice. NOR, Normal mice group (normal rats+basal control diet); STZ, Streptozotocin-induced diabetic mice group (Streptozotocin-induced diabetic rats+high fat diet with 60 calories); SCB or PCB, seed or whole plant powder of common buckwheat treated group (Streptozotocin-induced diabetic rats+feed diet containing 10% seed or whole plant powder of common buckwheat); STB or PTB, seed or whole plant powder of tartary buckwheat treated group (Streptozotocin-induced diabetic rats+feed diet containing 10% seed or whole plant powder of tartary buckwheat). Mean±SD (n=6) with different superscripts at the top of bar represent that they are significantly different according to DMRT at $\alpha=0.05$. Superscript “a” indicates the highest value while “c” indicates the lowest value. The Standard bar in the figure represents the standard deviation.

시키는 항당뇨 소재로서 유용하게 활용될 수 있을 것으로 판단된다. 또한, 메밀 종실뿐만 아니라 전초에서도 제2형 당뇨병 동물모델에서 공복혈당 감소와 내당능장애 완화 효과가 확인되었다. 이는 인슐린 저항성 개선 효과와 연관성이 있는 것으로 판단된다.

당뇨병의 과도한 당화반응은 항산화 체계의 손상으로 인해 산화적 스트레스(oxidative stress)가 증가되는 것으로 보고된 바 있다(Lee 등, 2001). 산화적 스트레스는 체내 항산화 반응의 균형이 깨져 활성산소나 자유라디칼(free radical)이 축적되어 발생하게 되며, 세포막 분해 및 손상을 일으켜 당뇨병, 동맥경화 등의 여러 질환 등을 초래하는 것으로 알려져 있다(Statman과 Berlett 1998; Wolff 등, 1991). 당뇨 시 고혈당은 내당능에 손상을 주어 포도당 수송의 결함이 나타나는데, 생체의 다양한 항산화물질이 당뇨 증세를 완화시켰으며(Adeghate과 Parvez 2000), 폴리페놀은 당뇨병 유발쥐에서 혈당 상승을 억제하여 산화질소 생성을 차단하였다고 보고하였다(Suk 등, 2006).

메밀에 많이 함유되어 있는 플라보노이드는 혈당 조절, 지질 프로필 및 항산화 상태를 개선하여 당뇨병에 유익한 효과를 나타냈으며(Vinayagam과 Xu, 2015), 특히, 플라보노이드 중 루틴(비타민 P)은 항염, 항산화, 신경보호, 신장보호, 간보호 활성을 포함한 광범위한 생물학적 효과가 보고되었다(Alinejad 등, 2013; Janbaz 등, 2002; Yang 등, 2008). Khaki 등(2010)은 STZ 유도 당뇨쥐에게 퀘세틴(15 mg/kg/day)과 양귀주스(2 cc/rat/day)를 28일간 투여한 결과 대조군에 비해 모두 유의적으로 혈당을 낮추고 혈액내 인슐린 수치를 높이는 것으로 나타났다. Cai와 Lin(2009)은 쥐 배타 세포에서 루틴은 포도당 유도 인슐린 분비를 증가시켰고, 또한 쥐의 가지미근과 횡격막 근육에서 인슐린 모방 역할

을 보여 주었으며, 이는 수송체 GLUT-4의 합성 및 전위를 활성화함으로써 근육으로의 포도당 수송을 자극한다고 하였다(Ahmed 등, 2010; Kappel 등, 2013). 인슐린 신호전달 경로와 마찬가지로 phosphoinositide 3-kinase (PI3K), protein kinase C, mitogen-activated protein kinase (MAPK)는 루틴의 세포내 전달에 관여하여 조직의 포도당 흡수를 촉진하였다(Kappel 등, 2013; Khan과 Pessin, 2002). 루틴은 또한 PPAR γ 의 발현을 증가시켜 골격근과 지방 조직에서 인슐린 저항성과 포도당 흡수를 향상시켰다(Ahmed 등, 2010). Ahmed 등(2010)은 루틴(50 mg/kg)이 간 G6Pase와 글리코겐 인산화효소의 활성을 감소시키는 것으로 나타났다고 보고하였다. 유사하게, Kamalakkannan과 Prince (2006)은 루틴(100 mg/kg) 치료가 당뇨병 쥐의 간(31%)과 신장(37%)에서 G6Pase의 활성을 감소시켰으며, 간(32%), 신장(25%), 근육(31%)에서 또 다른 주요 포도당 생성 효소인 과당-비스포스파타제(Fructose-1,6-bisphosphatase)의 활성을 감소시켰다. 또 다른 연구에서, 루틴이 랑게르한스 섬의 조직 구조를 향상시키는 것으로 나타났다(Hosseini, 등, 2015). STZ에 의해 유발된 당뇨병 쥐에게 50과 100 mg/kg의 루틴을 투여하면 췌장의 수축을 방지할 수 있었다(Niture 등, 2014). Fernandes 등(2010)은 당뇨 유발 쥐에게 루틴을 24일간 체중(kg) 당 50 mg을 투여시 혈당과 지질 수치의 유의적인 개선 효과를 관찰하였다고 하였다. 또한 루틴은 인슐린 수용체 기질 및 활성화 단백질 키나아제 신호전달을 활성화하여 쥐의 췌장 베타 세포에서 당지질독성을 억제하였다(Cai와 Lin, 2009). 당뇨병 동물에서 루틴 투여는 비효소(예: 환원 글루타티온) 및 효소(예: 슈퍼옥사이드 디스뮤타제 및 카탈라제) 항산화제를 증가시켜 다양한 조직에서 항산화 상태를 개선하였고(Akondi 등, 2011; Niture 등,

2014), 혈당 상태, 지질 프로파일, 당뇨병 관련 혈관질환 합병증에 대한 루틴의 유익한 효과를 뒷받침하였다(Ghorbani, 2017). 당뇨병 합병증의 위험과 혈당 및 지질 조절 관계를 고려할 때, 루틴은 당뇨병 합병증 예방을 위한 식이 보충제로 권장될 수 있다.

본 연구에서도 쓴메밀의 루틴 함량이 일반메밀에 비해 44-48배 높은 것으로 나타났으며, 플라보노이드 함량도 쓴메밀이 일반메밀보다 4.8배 정도 높고, 총페놀 함량도 쓴메밀 전초의 경우 일반메밀 종실보다 2.5배 높게 나타났다. 메밀에 주로 함유되어 있는 루틴은 플라보노이드 화합물의 일종으로 항산화제 역할을 하는 기능성 성분으로 콜레스테롤 저하, 혈당상승 억제, 고혈압 예방, 동맥경화 및 중풍 예방 등 다양한 기능성을 가지고 있다(Kim과 Kim, 2004; Kim과 Kim, 2018). 따라서 이런 루틴 및 퀘세틴을 포함한 항산화효과가 높은 쓴메밀 전초가 항당뇨 효능에도 높은 도움을 주리라 판단되었다. 당뇨와 관련된 다양한 기전 제어를 통해 혈당 상승과 인슐린 저항성을 조절하며 당뇨 예방에 유익한 효과를 기대할 수 있다.

종합하면, 지금까지 연구의 결과는 당뇨병과 관련된 병리를 예방하거나 치료하는 루틴의 잠재력을 뒷받침하였다. 또한, 메밀 종실뿐만 아니라 전초에서도 제2형 당뇨 동물모델에서 공복혈당 감소와 내당능장애 완화 효과가 확인되었으며, 이는 인슐린 저항성 개선 효과와 연관성이 있었다. 본 연구결과를 바탕으로 메밀 종실 뿐만 아니라 전초도 항당뇨 효과를 가진 새로운 천연자원 식품 소재로 활용이 가능할 것으로 생각된다.

요 약

메밀은 전 세계적으로 곡식, 짚, 차 등 다양한 형태로 이용되고 있으며, 주요 재배종으로는 일반메밀과 쓴메밀이 있다. 본 연구는 일반메밀과 쓴메밀 종실과 전초를 대상으로 항산화 및 항당뇨 활성 효과를 평가하였다. 루틴 함량은 쓴메밀 추출물이 일반메밀 추출물보다 44-48배 이상 높았으며, 퀘세틴은 전초에서만 검출되었다. 플라보노이드 및 폴리페놀 함량도 쓴메밀 추출물이 일반메밀 추출물보다 2.5-4.8배 높았다. STZ 투여로 제2형 당뇨가 유발된 동물모델에 일반메밀과 쓴메밀의 종실과 전초를 급여하여 공복혈당, 경구 내당능, 인슐린 내성 변화, 혈중 포도당 및 인슐린 농도 등을 통해 항당뇨 효과를 확인하였다. 종실의 경우는 일반메밀에 비해 쓴메밀 종실군에서 경구 내당능 효과가 뛰어났으며, 혈청 포도당 농도도 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다. 전초의 경우, 일반메밀이나 쓴메밀 급여 실험군에서 모두 당뇨대조군에 비하여 유의적인 항당뇨 효과를 보였으며, 인슐린 저항성 지표인 HOMA-IR과 인슐린 민감성 지표인 QUICKI를 비교해본 결과에서도 종실과 전초 섭취군 모두 인슐린 저항성을 감소시키고, 인슐린 민감성을 증가시키는 것을 확인하였다. 이러한 결과들을 고려하면 루틴 함량 및 항산화활성이 쓴메밀 전초의 경우 항당뇨 효과와 밀접한 관계가 있으며, 루틴 함량과 항산화 활성이 높은 쓴메밀 종실 및 일반메밀과 쓴메밀 전초는 항당뇨 식의약 소재로 활용 가능성이 높은 것으로 판단된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 작물시험연구사업(연구과제: 루틴 고품질 쓴메밀 우량계통 육성 및 이용성 증진 연구, 세부과제: 쓴메밀 가공적성 평가 및 이용 기술 개발, PJ01189403)에 의해 이루어진 것이며 이에 감사드립니다.

References

- Adeghate E, Parvez SH. Nitric oxide and neuronal and pancreatic beta cell death. *Toxicol.* 153: 143-156 (2000)
- Ahmed OM, Moneim AA, Yazid LA, Mahmoud AM. Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effects and the probable mechanisms of action of *Ruta graveolens* infusion and rutin in nicotinamide-streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetol. Croat.* 39: 15-35 (2010)
- Akondi RB, Kumar P, Annapurna A, Pujari M. Protective effect of rutin and naringin on sperm quality in streptozotocin (STZ) induced type 1 diabetic rats. *Iran. J. Pharm. Res.* 10: 585 (2011)
- Alinejad B, Ghorbani A, Sadeghnia HR. Effects of combinations of curcumin, linalool, rutin, safranal, and thymoquinone on glucose/serum deprivation-induced cell death. *Avicenna J. Phytomed.* 3: 321 (2013)
- Cai EP, Lin JK. Epigallocatechin gallate (EGCG) and rutin suppress the glucotoxicity through activating IRS2 and AMPK signaling in rat pancreatic β cells. *J. Agric. Food Chem.* 57: 9817-9827 (2009)
- Campbell CG. Buckwheat *Fagopyrum esculentum* Moench. *Plant Genet. Resour., CAB International.* pp. 3-93 (1997)
- Choi Y, Lee SM, Chun J, Lee HB, Lee J. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food Chem.* 99: 381-387 (2006)
- Dewanto V, Xianzhong W, Liu RH. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J. Agr. Food Chem.* 50: 4959-4964 (2002)
- Faerch K, Borch-Johnsen K, Holst JJ, Vaag A. Pathophysiology and aetiology of impaired fasting glycaemia and impaired glucose tolerance: does it matter for prevention and treatment of type 2 diabetes? *Diabetol.* 52: 1714-1723 (2009)
- Fernandes AA, Novelli EL, Okoshi K, Okoshi MP, Di Muzio BP, Guimarães JF, Fernandes Junior A. Influence of rutin treatment on biochemical alterations in experimental diabetes. *Biomed Pharmacother* 64: 214-219 (2010)
- Folin O, Denis W. On phosphotungstic phosphomolybdic compounds as color reagents. *J. Biol. Chem.* 12: 239-249 (1912)
- Ghorbani A. Mechanisms of antidiabetic effects of flavonoid rutin. *Biomed. Pharmacother.* 96: 305-312 (2017)
- Gordon T, Castelli WP, Hjortland M, Kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. *Am. J. Med.* 62: 707-714 (1977)
- Hosseini A, Shafiee-Nick R, Ghorbani A. Pancreatic beta cell protection/regeneration with phytotherapy. *Braz. J. Pharm. Sci.* 51: 1-16 (2015)
- Hue JJ, Kim JS, Kim JH, Nam SY, Yun YW, Jeong JH, and Lee BJ. Antihyperglycemic effect of carnosine in diabetic mice. *J. Fd. Hyg. Safety* 24: 391-397 (2009)
- Hwang JY, Han JS. Inhibitory effects of *Sasa borealis* leaves extracts on carbohydrate digestive enzymes and postprandial hyperglycemia. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36: 989-994 (2007)
- Hwang EJ, Lee SY, Kwon SJ, Park MH, Boo HO. Antioxidative, antimicrobial and cytotoxic activities of *Fagopyrum esculentum* Moench extract in germinated seeds. *J. Korean Medicinal Crop Sci.* 4: 1-7 (2006)
- Janbaz KH, Saeed SA, Gilani AH. Protective effect of rutin on paracetamol-and CCl₄-induced hepatotoxicity in rodents. *Fitoterapia* 73: 557-563 (2002)
- Jeon YH, Moon JW, Kweon HJ, Jeoung YJ, An CS, Jin HL, Hur SJ, Lim BO. Effects of *Lycii fructus* and *Astragalus membranaceus* mixed extracts on immunomodulators and prevention of diabetic cataract and retinopathy in streptozotocin-induced diabetes rat model. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 18: 15-21 (2010)
- Kamalakkannan N, Prince PSM. Rutin improves the antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic rat tissues. *Mol. Cell. Biochem.* 293: 211-219 (2006)
- Kappel VD, Cazarolli LH, Pereira DF, Postal BG, Zamoner A, Reginato FH, Silva FRMB. Involvement of GLUT-4 in the stimulatory effect of rutin on glucose uptake in rat soleus muscle. *J.*

- Pharm. Pharmacol. 65: 1179-1186 (2013)
- Khan A, Pessin J. Insulin regulation of glucose uptake: a complex interplay of intracellular signalling pathways. *Diabetol.* 45: 1475-1483 (2002)
- Khaki A, Fathiazad F, Ahmadi-Ashtiani HR, Rezazadeh SH, Rastegar H, Imani AM. Compartments of quercetin & *allium cepa* (onion) on blood glucose in diabetic rats. *J Med Plants (Suppl 6)* 9: 107-12 (2010)
- Kim HA. Isolation and characterization of antidiabetic compounds from buckwheat, Department of food science and technology Graduate School, Kunsan National University. Kunsan, Korea (2006)
- Kim SH, Hwang SY, Park OS, Kim MK, Chung YJ. Effect of *Pinus densiflora* extract on Blood glucose level, OGTT and biochemical parameters in streptozotocin induced diabetic rats. *J Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 4: 973-979 (2005)
- Kim HB, Kim SL. Quantification and varietal variation of rutin in mulberry fruits. *Korean J. Seric. Sci.* 46: 1-5 (2004)
- Kim SJ, Kim YH. Agricultural guide Buckwheat. Rural Development Administration, Jeonju, Korea. pp. 7-90 (2018)
- Kim SL, Kim SK, Park CH. Introduction and nutritional evaluation of buckwheat sprouts as a new vegetable. *Food Res. Int.* 37: 319-327 (2004)
- Kim JH, Pan JH, Cho HT, Kim YJ. Black ginseng extract counteracts streptozotocin-induced diabetes in mice. *PLoS One* 11, doi: 10.1371 (2016)
- Kim SJ, HB Sohn, Hong SY, Lee JN, Kim KD, Suh JT, Nam JH, Chang DC, Park MW, Kim YH. Construction of data system on seed morphological traits and functional component in tartary buckwheat germplasm. *Korean J. Plant Res.* 33: 446-459 (2020)
- Kim SJ, Sohn HB, Kim GH, Lee YY, Hong SY, Kim KD, Nam JH, Chang DC, Suh JT, Koo BJ, Kim YH. Comparison and validation of rutin and quercetin contents according to the extraction method of tartary Buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) *Korean J. Food Sci. Technol.* 49: 258-264 (2017)
- Kim SJ, Sohn HB, Lee KT, Shin JS, Kim SY, Nam JH, Hong SY, Suh JT, Chang DC, Kim YH. Anti-inflammatory effects of seed ethanolic extracts of the common buckwheat and tartary buckwheat are mediated through the suppression of inducible nitric oxide synthase and pro-inflammatory cytokines. in LPS-induced RAW 264.7 macrophage cells. *Korean J. Food Sci. Technol.* 51: 565-575 (2019)
- Kreft M. Buckwheat phenolic metabolites in health and disease. *Nutr. Res. Rev.* 29: 30-39 (2016)
- Kreft S, Janes D, Kreft I. The content of fagopyrin and polyphenols in common and tartary buckwheat sprouts. *Acta Pharm.* 63: 553-560 (2013)
- Kreft I, Zhou M, Golob A, Germ M, Likar M, Dziedzic K, Luthar Z. Breeding buckwheat for nutritional quality. *Breed. Sci.* 70: 67-73 (2020)
- Kwon HW, Koo GB, Lee YJ, Kim JH, Lee MH, In G. Effect of Korean red ginseng extract (KGC05P0) on regulating insulin sensitivity, insulin and blood glucose level in hyperinsulinemia type 2 diabetic mice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 49: 539-546 (2020)
- Lee EJ, Choi H, Yoon WC, Kim YS, Song BN, Lee MY, Park BR, Lee SH, Choi JH, Park SY. Anti-diabetic and Lipid Profile Effect of *Astragalus membranaceus* (Fisch.) bunge fermented by *Aspergillus awamori* in db/db mice. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 29: 263-272 (2021)
- Lee KH, Ham HM, Kim HJ, Park HY, Sim EY, Oh SK, Kim WH, Jeong HS, Woo KS. Functional components and radical scavenging activity of germinated brown rice according to variety. *Korean J. Food Nutr.* 29: 145-152 (2016)
- Lee DG, Jang IS, Yang KE, Yoon SJ, Baek SJ, Lee JY, Suzuki T, Chung KY, Woo SH, Choi JS, Lee HH. A study on the utilization of functional cosmetics materials using the bioactive compounds from buckwheat. *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.* 6: 1-8 (2008)
- Lee JS, Lee MH, Chang YK, Ju JS, Son HS. Effects of buckwheat diet on serum glucose and lipid metabolism in NIDDM. *Korean J. Nutr.* 28: 809-817 (1995)
- Lee SZ, Park SH, Lee HS. Change in vivo lipid peroxidation and antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetic rats: a time course study. *Korean J. Nutr.* 34: 253-264 (2001)
- Lee JS, Park SJ, Sung KS, Han CK, Lee MH, Jung CW, Kwon TB. Effects of germinated-buckwheat on blood pressure, plasma glucose and lipid levels of spontaneously hypertensive rats. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32: 206-211 (2000)
- Lee MY, Shin IS, Jeon WY, Shin N, Shin HK. Bangpungtongseongsan, a traditional herbal medicine, attenuates chronic asthmatic effects induced by repeated ovalbumin challenge. *Int. J. Mol. Med.* 33: 978-986 (2014)
- Matkovic B, Kotorman M, Varga C. Oxidative stress in experimental diabetes induced by streptozotocin. *Acta Physiol. Hung.* 85: 29-38 (1998)
- Niture NT, Ansari AA, Naik SR. Anti-hyperglycemic activity of rutin in streptozotocin-induced diabetic rats: an effect mediated through cytokines, antioxidants and lipid biomarkers. *Ind. J. Exp. Biol.* 52: 720-727 (2014)
- Park SM. Strategies for development of anti-diabetic functional foods. *Food Sci. Ind.* 40: 46-58 (2007)
- Park HB, Jeong NH, Park IC. Studies on the purification and production of the D-pinitol and D-chiro-inositol from soybean and buckwheat. Ministry of Agriculture. pp. 2-77 (2004)
- Park CH, Kim YB, Choi YS, Heo K, Kim SL, Lee KC, Chang KJ, Lee HB. Rutin content in food products processed from groats, leaves, and flowers of buckwheat. *Fagopyrum* 17: 63-66 (2000)
- Park JE, Lee GH, Kim JH, Choi SW, Kim EJ. Anti-obesity effect of *Ramulus mori* extracts and stilbenes in high fat diet-fed C57BL/6J mouse. *J. Nutr. Health* 53: 570-582 (2020)
- Redondo MJ, Fain PR, Eisenbarth GS. Genetics of type 1A diabetes. *Recent Prog. Horm. Res.* 56: 69-89 (2001)
- Rhee SY, Woo TJ, Chon S, Hwang YC, Oh S, Ahn KJ, Chung HY, Kim SW, Kim JW, Kim YS. Characteristics of insulin resistance and insulin secretory capacity in Korean subjects with IFG and IGT. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 89: 250-255 (2010)
- Sakihama Y, Cohen MF, Grace SC, Yamasaki H. Plant phenolic antioxidant and pro-oxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicol.* 177: 67-80 (2002)
- Son HK, Han JH, Lee JJ. Anti-diabetic effect of the mixture of mulberry leaf and green tea powder in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Korean J. Food Preserv.* 21: 549-559 (2014)
- Son HK, Lee YM, Park YH, Lee JJ. Effect of young barley leaf powder on glucose control in the diabetic rats. *Korean J. Community Living Sci.* 27: 19-29 (2016)
- Scalbert A, Johnson IT, Saltmarsh M. Polyphenols: antioxidants and beyond. *Am. J. Clin. Nutr.* 81: 215S-217S (2005)
- Stadtman ER, Berlett BS. Reactive oxygen-mediated protein oxidation in aging and disease. *Drug Metab. Rev.* 30: 325-243 (1998)
- Suk JH, Kim MK, Ju JW, Han JS, Park JH. The effect of green tea polyphenol on plasma glucose, lipid levels and antioxidant system in type 2 diabetes patients. *J. Korean Diabetes Assoc.* 30: 217-225 (2006)
- Vinayagam R, Jayachandran M, Xu B. Antidiabetic effects of simple phenolic acids: A comprehensive review. *Phytother. Res.* 30: 184-199 (2016)
- Vinayagam R, Xu B. Antidiabetic properties of dietary flavonoids: a cellular mechanism review. *Nutr. Metab.* 23: 12-60 (2015)
- Wilcox G. Insulin and insulin resistance. *Clin Biochem. Rev.* 26(2): 19-39 (2005)
- Wolff SP, Jiang ZY, Hunt JV. Protein glycation and oxidative stress in diabetes mellitus and ageing. *Free Radic. Biol. Med.* 10: 339-352 (1991)
- Wu WL, Wang J, Qiu J, Li Z. The analysis of fagopyritols from tartary buckwheat and their anti-diabetic effects in KK-Ay type 2 diabetic mice and HepG2 cells. *J. Functional Foods* 50: 137-146 (2018)
- Yang J, Guo J, Yuan J. In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT-Food Sci. Technol.* 41(6): 1060-1066 (2008)
- Yoon BR, Cho BJ, Lee HK, Kim DJ, Rhee SK, Hong HD, Kim KT, Cho CW, Choi HS, Lee BY, Lee OH. Antioxidant and anti-adipogenic effects of ethanolic extracts from tartary and common buckwheats. *Korean J. Food Preserv.* 19: 123-130 (2012)