

## 人蔘 Butanol Fraction에 Streptozotocin 誘發 高血糖 쥐에 미치는 作用에 관한 研究

許仁會·金大英

中央大學校 藥學大學

(Received December 2, 1982)

In Hoi Huh and Dai Young Kim

College of Pharmacy, Chung Ang University, Seoul 151, Korea

### Effect of Ginseng Butanol Fraction on the Streptozotocin-induced Hyperglycemic Rats

**Abstract**—To elucidate the effect of ginseng butanol fraction on streptozotocin-induced hyperglycemia, ginseng butanol fraction was administered before and after injection of streptozotocin (50mg/kg, *i.v.*), and glucose, insulin, and cholesterol levels in serum were determined at 96 hours after streptozotocin injection. Serum glucose, insulin levels were significantly decreased by administration of ginseng butanol fraction (100mg/kg, *p.o.*) at 7hour and 7, 4, 1, hour (three times) before streptozotocin injection. The glucose levels were significantly decreased by administration of ginseng butanol fraction at 1 hour (100mg/kg) after streptozotocin injection, and also serum glucose levels in groups of continuous administration of ginseng butanol fraction (100mg/kg) for 3 days after streptozotocin injection were markedly decreased than in group of single dose of ginseng butanol fraction. Ginseng butanol fraction has the protective and relieving action against streptozotocin-induced hyperglycemia.

人蔘은 옛부터 전하여오는 東洋民俗醫學에서 仙藥 또는 靈藥으로 알려진 藥材中的 하나이며 또한 糖尿病에 效果가 있다고 알려져 왔다.

많은 學者들이 adrenaline<sup>1-5)</sup>, alloxan<sup>6-7)</sup>, 2,4-dinitrophenol<sup>8)</sup> 및 食餌<sup>9)</sup>에 의한 過血糖低下作用을 報告한 바 있다.

阿部<sup>10)</sup>와 近藤<sup>11,12)</sup>은 人蔘엑기스를 투여시 adrenaline에 의한 過血糖이 억제되나 有效成分은 알코올엑기스중 어떤 glycosides에 있고 수침엑기스에는 그러한 성분이 없다고 시사하였다. 金<sup>3)</sup>과 李<sup>5)</sup> 등의 보고를 제외하고는 전부 엑기스수준의 試料를 투여하여 얻은 결과이며 李<sup>5)</sup>이 최근 adrenaline에 의한 고혈당 및 고지방혈 증에 미치는 영향을 보고한 바 있는데 adrenaline 투여 7시간전에 복강내주사한 군에서 혈액중의 glucose, triglycerides, lipase의 活性이 대체로 人蔘 saponin 투여용량에 비례하여 억제되었음을 보고한 바 있다.

Petkov<sup>13)</sup>는 실험적으로 유도한 과혈당 증에 대해 人蔘은 그 억제작용이 있어 insulin과 協力作用을 한다고 시사하였고, 山田<sup>3)</sup>은 人蔘이 adrenaline 과혈당등에 대해 특히 현저한 저혈당효과가 있다고 보고 하였다.

Streptozotocin (STZ)은 白血病을 치료키 위해 개발된 항생제의 하나로 Langerhans섬의  $\beta$ -세포에 선택적인 손상<sup>14)</sup>을 일으키므로써 고혈당을 일으킨다고 보고한 후 Rerup<sup>15)</sup>는 실험적으로 유도

한 당뇨병이 인체에서 나타낸 당뇨병상태와 유사성이 있다고 시사하였다.

Streptozotocin은 實驗動物에 투여시 용이하게 구갈, 多尿, 高血糖 및 高尿酸 등의 發症을 일으킨다는 것으로 인정되고 있으며 현재 가장 많이 이용되는 당뇨병 발증물질이다.

本 論文에서는 STZ로 高血糖쥐를 만들고 精製된 人蔘 butanol fraction을 투여하였고 또한 같은 fraction을 투여후 STZ투여로 혈당에 미치는 效果 및 총 cholesterol 혈청치 특히 현재까지 in sulin 혈청치에 미치는 人蔘 butanol fraction의 作用이 보고된 바 없었기에 혈청중 insulin을 測定하여 약간의 知見을 얻었기에 報告코져 하는바이다.

實驗 方法

實驗動物—실험용 백서(S.D.系)를 구입하여 일정한 실험실에서 동일한 조건하에 2주이상 사육시킨 것의 140g内外의 것을 사용하였다. 1群에 6마리씩 사용하였고 좌옹은 구별치 않았다.

人蔘總 Saponin의 分離 및 精製—錦山産四年生 白蔘을 粉粹하여 Sanada 등의 方法<sup>16)</sup>에 따라 n-butanol fraction을 얻어 감압건조시킨 것을 실험에 사용하였다.

Streptozotocin의 投與—Streptozotocin을 冷 citrate buffer (5mM, pH4.5)에 용해시켜만든 것을 50mg/kg 적의 streptozotocin을 쥐피리 정맥내 주사하였다. STZ는 Sigma 社製이며 투여시마

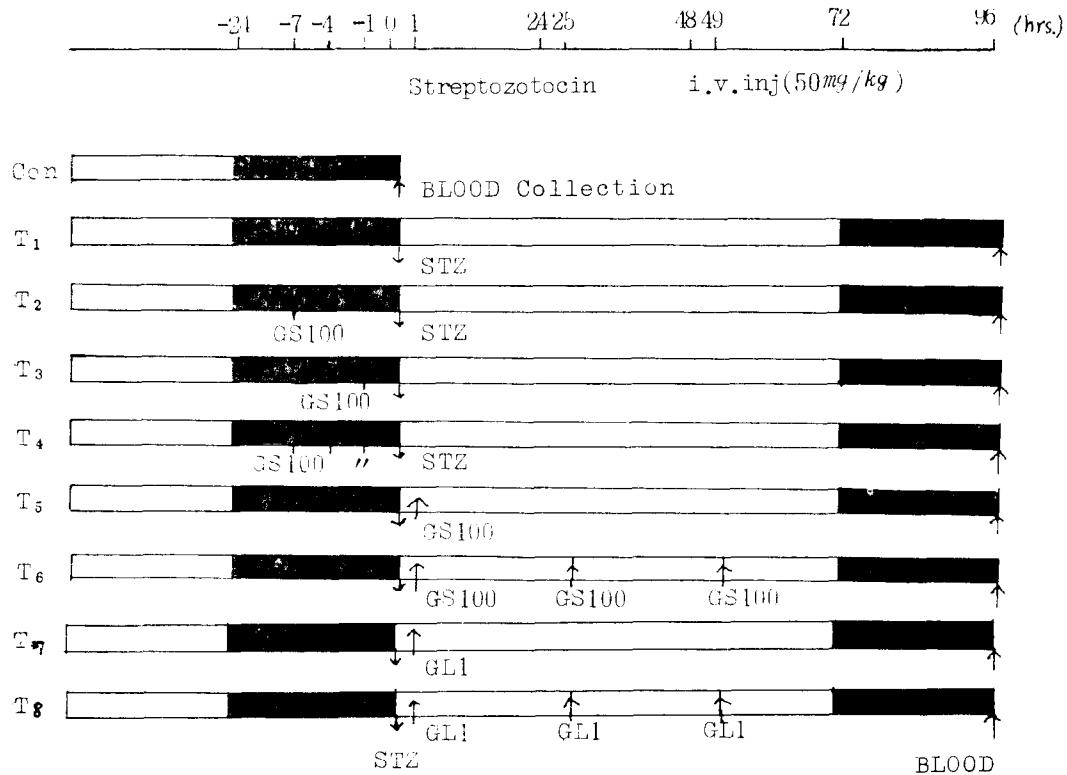


Fig. 1-Experimental schedule.

Collection

Fasting       Feeding  
 GS 100: Ginseng BuOH Fr. 100mg/kg (p.o.)    GL1: Glibenclamide 1mg/kg (p.o.)  
 STZ: Streptozotocin injection

다 새로 만들었고 쥐는 STZ투여 전 24시간 絶食시켰고 STZ주사 후 1시간에 먹이를 주었다.

**人蔘 Butanol Fraction의 投與**—이 fraction을 증류수에 용해시켜 STZ투여 7시간, 1시간에 각각 투여한 군과 3회 투여 한 군, 이 밖에 STZ투여후에 人蔘 butanol fraction을 투여한 군, 그리고 대조약물로 glibenclamide를 투여한 군이 있다. 투여량 및 시간등을 Fig. 1에 나타내었다.

**血液 採取 및 血清 分析**—STZ투여 4일만에 채혈전 24시간 절식시킨후(물은 자유로히 먹임) ether 마취하 腹部大靜脈에서 採血하여 실온에서 30分間 放置후 3,000rpm 원심분리하여 혈청을 분리하였다.

a) 血糖測定: 血清中 glucose測定은 RaBA 3010(日本 中外株式 會社製) Rapid Blood Analyzer 와 glucose kit를 이용하였다.

b) Insulin測定: Boehringer Mannheim GmbH(韓國綠十字株式會社 實驗室 器具)의 免疫學的 檢사용(immunodiagnosics) Enzymun-Test insulin kit를 이용하여 波長 Hg405nm에서 測定하였다.

c) 총 Cholesterol測定: Insulin 측정시와 같은 會社의 Monotest cholesterol (CHOD-PAP method)을 사용하여 波長 Hg 546nm에서 혈청 총 cholesterol을 測定하였다.

### 實驗結果 및 考察

STZ 誘發 高血糖에 미치는 人蔘 Butanol Fraction의 效果: STZ유발 고혈당쥐에 STZ투여전 이 fraction을 7시간전, 1시간전, 또한 7, 4, 1시간전에 100mg/kg의 인삼 fraction을 각각 경구투여하여 예방적인면에서의 실험결과와 STZ으로 유발시킨후 1시간에, 또한 1일 1회씩 3일간 1mg/kg의 인삼투여군 및 용량을 증가하여 200mg/kg을 각각 1회 또는 1일 1회 3일간 투여군의 실험 결과는 대조군 및 glibenclamide 약물 대조군등에서 실험치를 Table I에 나타내었다.

24시간 절식시킨후 정상대조군의 혈당치와 STZ투여후 24시간절식시킨 4일째에 測定된 STZ대조군의 혈당치를 비교할때 유의성있게 증가하였고 STZ투여전 7시간에 人蔘 butanol fraction을 100mg/kg 1회 경구투여군, 1시간전에 1회투여군 및 7, 4, 1시간에 3회 투여군에서 각각 STZ투여군에 비하여 현저히 저혈당이 일어났음을 보여주고 있다.

한편 STZ투여 후 1시간에 人蔘 butanol fraction을 100mg/kg 투여군에서는 유의성 있는 감소는 나타내고 있으나 STZ 투여를 기준으로 인삼을 前投與한 群에 比하여 혈당저하작용이 보다 적음을 나타내고 있다. 그러나 人蔘 butanol fraction을 100mg/kg씩 1일 1회 3일 투여군과 200mg/kg씩 1일 1회 3일 투여군에서는 유의성있는 감소를 나타내었고 1일 200mg/kg씩 3일간 투여군에서 최저의 혈당치를 나타내고 있다.

今村<sup>9)</sup>는 人蔘이 adrenaline hyperglycemia에 대한 작용기전이 adrenaline이 갖는 glycogenolysis 기능을 억제하기 때문이라고 풀이 하고 있는데 최근 Nakaki등<sup>17)</sup>은 쥐의 韃장섬에 있는  $\alpha$ -adrenaline 수용체는 토끼정맥 ( $\alpha_1$ -R) 수용체와는 다르고  $\alpha_2$ -adrenaline 수용체 즉 전형적인 post synaptic  $\alpha_2$ -receptor가 있다고 주장하고 있다. 이에 앞서 Nakadate 등은<sup>20)</sup> insulin 유리를 조절하는  $\alpha_2$ -adrenaline 수용체가 혈당조절 가능성이 있음을 시사하였다. 이 밖에 Cherksey<sup>19)</sup> 등은 [<sup>3</sup>H]-dihydroalpreolol과 [<sup>3</sup>H]-dihydroergocriptine을 사용해서 쥐의 韃장섬세포에  $\alpha$ - 및  $\beta$ -adrenaline 결합부위가 있다고 시사한바 있다. 그런데 Nakadate등<sup>18)</sup>은 mice에서 STZ 유발당뇨병은 韃장섬에서 insulin을 유리조절하는  $\beta$ - 및  $\alpha_2$  수용체가 관여되고  $\alpha_1$ 수용체는 관여치않는다고 시사하였는데 이것은 glycogenolysis를 촉진시키는 adrenaline 수용체와 관련성이 있다고 보여진다.

Table I-Effects of ginseng butanol fraction on the diabetogenic action of STZ in rats.

Group & Adm. dose	Glucose(mg/dl)	Cholesterol(mg/dl)	Insulin( $\mu$ u/ml)
Control	126.7 $\pm$ 6.7 <sup>1</sup>	34.0 $\pm$ 1.4	5.7 $\pm$ 1.0
T1 STZ	225.0 $\pm$ 29.4 <sup>2</sup>	30.4 $\pm$ 2.0	5.5 $\pm$ 0.7
T2 GB100(before 7hrs)	82.5 $\pm$ 15.7 <sup>3</sup>	16.1 $\pm$ 4.2	2.8 $\pm$ 1.3
T3 GB100(before 1hrs)	73.7 $\pm$ 13.9	26.0 $\pm$ 2.6	2.2 $\pm$ 0.4
T4 GB100(3 times)	80.0 $\pm$ 7.6	18.4 $\pm$ 5.8	2.0 $\pm$ 0.5
T5 G100	136.5 $\pm$ 25.4	25.3 $\pm$ 5.0	3.2 $\pm$ 0.8
T6 G100(3 times)	71.3 $\pm$ 8.9	33.4 $\pm$ 12.1	3.8 $\pm$ 0.3
T7 GL1	61.4 $\pm$ 8.2	18.2 $\pm$ 4.5	3.7 $\pm$ 1.9
T8 GL1(3 times)	92.8 $\pm$ 7.4	31.4 $\pm$ 5.1	2.8 $\pm$ 0.3
Conversion factor into SI Unit.	$\times 0.0555$ (m mol/l)	$\times 0.0286$ (m mol/l)	$\times 1000$ (m U/l)

1: SE, 2: P<0.01 vs Control, 3: P<0.001 vs STZ Control

STZ: No treatment before or after streptozotocin Inj.

GB100: Ginseng extract 100mg/3ml/kg *p.o* Adm. before STZ inj.

G100 : Ginseng extract 100mg/3ml/kg *p.o* Adm. after STZ inj.

GL1 : Glibenclamide 1mg/3ml/kg *p.o* Adm. after STZ inj.

人蔘 butanol fraction을 STZ투여전 또는 투여후 1시간에 또한 glibenclamide도 STZ 투여후 한 시간에 투여했기 때문에 어느 정도 예방적 즉 췌장  $\beta$ -islet의 손상을 막아주었을 것으로 생각되나 더욱 추구해야 할 과제라 사료된다.

**Insulin**值에 미치는 人蔘 Butanol Fraction의 影響—STZ으로 고혈당을 유발시키는 동안 혈장 insulin과 간장 glycogen농도 변화는 alloxan 유발후와 같은 현상을 보이는데 혈장면역반응 insulin은 현저한저혈당증 일때 높으며 당뇨병이 발생된 후 쥐에서 혈장 insulin은 정상 범위이내로 온다고 시사한바 있다.<sup>20)</sup> Table I에서 보는 바와 같이 대조군과 STZ 투여후 4일째 測定한 值가 유사한 insulin值를 보이고 있는데 이것은 STZ투여후 4일째 당뇨병쥐가 되었기 때문인 것으로 보인다. 50mg/kg씩 1회 STZ을 정맥주사하면 100% 당뇨병을 이룬다고<sup>14)</sup> 하였는데 인삼 butanol fraction을 STZ투여전 먹었을때 현저한 감소를 나타내고, 200mg/kg의 인삼 butanol fraction을 1일 1회 3일간투여군에서 현저한 감소를 내는 한편 glibenclamide 1mg/kg투여 군에서도 감소현상을 나타내고 있다.

Insulin值를 glucose치와 비교할때 STZ 투여전 인삼투여군에서 혈당치가 내려가면 insulin치도 감소하는 경향이다. STZ 투여후 3일 1회 200mg/kg씩 투여군에서도 비슷하게 비례해서 감소하는 현상이며 단 1회투여한 제 7군에서 혈당치가 대조군보다 증가하였는데 insulin치는 거의 대조군치에 도달하고 있다.

이것은 STZ 투여로 당뇨병이 만들어진 쥐는 거의 정상 insulin值를 이룬다는 說<sup>20)</sup>과 혈당치가 감소하면 insulin值가 저하 한다는데 기인되지 않았는가 생각되어진다.

Nicotinamide(50mg/kg)를 STZ 투여전 10분에 복강내주사한바 쥐나 마우스에서 고혈당증유발을 완전히 방어한 보고가<sup>21,22)</sup> 있는데 인삼 butanol fraction도 방어적, 치료적 효과를 나타낸다고 볼 수 있다.

Tokunaga등<sup>23)</sup>도 STZ유발 고혈당증이 taurine의 예방작용에 관한 보고에서 마우스의 경우 STZ

대조군에서 고혈당치이지만 insulin치는  $6\mu\text{U/ml}$ 로 정상대조군과 유사한치를 나타내고 있다. 그러나 본 실험에서 인삼 butanol fraction 투여로 인한 저혈당 효과의 작용기전을 명확히 밝힐수 없다.

血清 Cholesterol值에 미치는 影響—朴<sup>24)</sup>은 인삼 saponin이 total cholesterol phospholipids, triglycerides 등의 대사에 관해 보고한 바 있고, 韓<sup>25)</sup>은 인삼분말, 인삼 saponin 및 인삼분획물 등이 분명히 지질대사에 촉진적으로 작용하므로서 cholesterolemia가 억제됨을 제시한바 있는데 본고에서는 STZ 투여군과 정상대조군에서 유사한 值를 나타냈으나 STZ 투여전 7시간전에 100mg/kg의 인삼 butanol fraction 및 7, 4, 1 시간전 3회 투여군에서 유의성 있는 감소를 나타내었다. Ikehara등은<sup>26)</sup> ginsenoside Rb<sub>1</sub>이 cholesterol 合成을 억제시킨다고 밝힌바 있다.

結 論

STZ 유발 고혈당쥐에 人蔘 butanol fraction을 예방적으로 미리 투여한군과 유발후 인삼을 치료적인 면에서 투여한 후 혈당, 혈청 insulin值, cholesterol值를 측정하였다.

STZ 투여로 혈당치는 상승되었고 insulin, cholesterol치는 정상대조군과 유사하다. 人蔘 butanol fraction을 STZ투여이전에 투여시 유의성 있는 저혈당효과를 나타내었고 STZ 투여후 人蔘 butanol fraction 투여시는 연속투여로 저혈당 효과가 컸다. 혈청 insulin치도 인삼 butanol fraction투여로 감소를 나타내고 혈당치 증감에 따라 유사변화치를 나타낸다.

Cholesterol值는 STZ투여 7시간전에 인삼 butanol fraction을 투여한 군에서 유의성 있는 감소를 나타내었다.

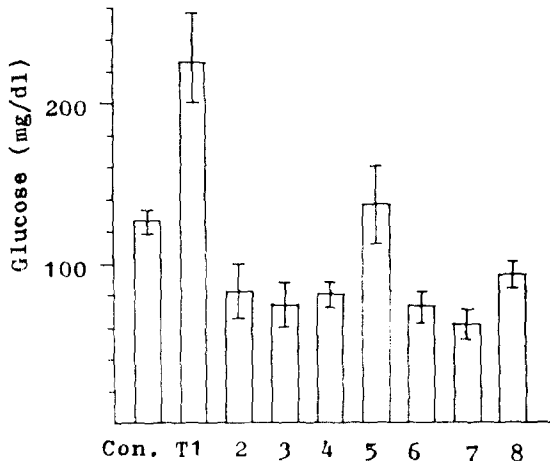


Fig. 2-Effect of ginseng butanol fraction on the diabetogenic effect of STZ in rats.

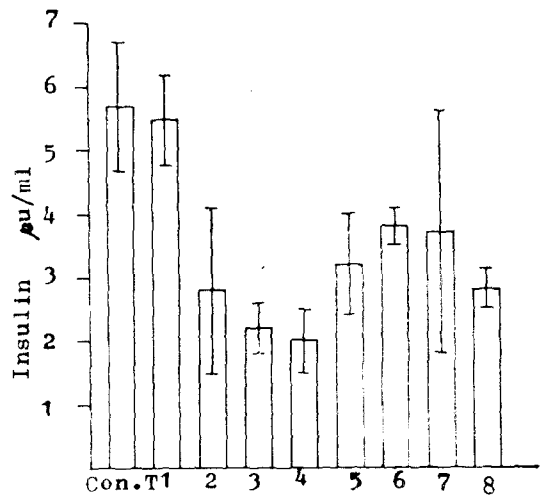


Fig. 3-Insulin level in rat administered ginseng butanol fraction before or after STZ injection.

文 獻

1. 齊藤系平, 再ビ朝鮮人蔘ノ 實驗的 過血糖ニ及ボス 作用ニ 就テ, 慶應醫學 2, 149 (1922).

2. 金夏植, 朝鮮人蔘各成分ノ制糖作用ニ就テ, 朝鮮醫學會 雜誌 22, 221 (1932).
3. M.Y. Yamada, Pharmacological studies on *Panax ginseng*, *Folia Pharmacol. Jap.* 51, 390 (1955).
4. 丁東均, 人蔘, reserpine, 및 chlorpromazine에 epinephrine 및 morphine 過血糖에 미치는 영향, 大韓藥理學雜誌 1, 17 (1965).
5. 李東權, 林昌珍, 朴恩希, 洪淳根, 人蔘사포닌이 adrenaline에 의한 고혈당 및 고지방혈증에 미치는 영향, 藥學雜誌 25, 7 (1981).
6. C.T. Liu, H.C. Chi and C.Y. Sung, Effects on the alloxan induced diabetes of rat fed ginseng and various foods. *Yao Hsiao Hsiao Pao* 7, 213 (1975).
7. H.P. Lei and C.K. Wang, Effect of ginseng on normal and alloxan-diabetic dogs. *Chinese J. Internal Med.* 5, 861 (1957).
8. N.B. Pegel, Characteristics of the activity of ginseng, eleutherococcus and leuzea extracts on hyperglycemic caused by 2,4 dinitrophenol. *Tomsk.* 3, 137 (1964). [BA 27: 83736 (Russ)]
9. 今村靈美, 朝鮮人蔘配糖體ノ adrenaline糖原 糖化作用ニ及ボス影響ニ就テ, 日本藥物學雜誌 3, 1017 (1923).
10. 阿部藤馬, 齊藤系平, 朝鮮人蔘ノ有效成分ニ就テ, 慶應醫學 2, 263 (1922).
11. 近藤治三郎, 朝鮮人蔘(白蔘) 制糖作用ニ就イテノ研究, 日本藥物學雜誌, 5, 201 (1927).
12. 近藤治三郎, 朝鮮人蔘(紅蔘) ノ制糖作用ニ就イテノ研究, 日本藥物學雜誌 5, 389 (1927).
13. W. Petkov, Pharmacological studies of the ginseng, *Arzneimittel Forschung* 9, 305 (1959).
14. N. Rakieten, M. L. Rakieten and M.V. Nadrini, Studies on the diabetogenic actions of STZ. *Cancer Chemother. Rep.* 29, 91 (1963).
15. C.C. Rerup, Drugs producing diabetes through damage of insulin secreting cells. *Pharmacol. Rev.* 22, 485 (1970).
16. B. Sanada, N. Kondo, J. Shoji, O. Tanaka and S. Shibata, Studies of the saponins of ginseng, 1. structures of ginsenosides R<sub>0</sub>, Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, and Rc and Rd, *Chem. Pharm. Bull.* 22, 421 (1974).
17. T. Nakaki, T. Nakdate, K. Ishii and R. Kato, Postsynaptic  $\alpha$ -2 adrenergic receptors in isolated rat islets of langerhan's: inhibition of insulin release and c-3',5'-AMP accumulation, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 216, 607 (1981).
18. T. Nakadate, T. Nakaki, T. Muraki, and R. Kato, adrenergic regulation of blood glucose levels; possible involvement of postynaptic  $\alpha$ -2 type adrenergic receptors regulating insulin release. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 215, 226(1980).
19. B. Cherksey, N. Altsyuler, and J. Zadunaisky, Preponderance of  $\beta$ -adrenergic finding sites in pancreatic islet cells of the rat. *Diabetes* 30, 172 (1981).
20. A. Junod, A.E. Lambert, W. Stauffachee, and A.E. Renold, Diabetogenic action of STZ: Relationship of dose to metabolic response. *J. Clin. Invest.*, 48, 2129 (1969).
21. P.S. Schein, D.A. Cooney and M.L. Veenon, The use of nicotinamide to modify the toxicity of STZ diabetes without loss of antitumor activity. *Cancer Res.* 27, 2324 (1967).
22. P.S. Schein and S. Loftus, STZ: Depression of mouse liver pyridine nucleotides. *Cancer Res.* 28, 1501 (1968).
23. H. Tokunaga, Y. Yoneda and K. Kuriyama, Protective actions of taurine against streptozotocin-induced hyperglycemia. *Biochem. Pharmacol.* 28, 2807 (1979).
24. J.W. Park, Effect of ginseng saponins on lipid metabolism, *Chung Ang Uihak* 17, 41 (1969).
25. 韓德龍, 韓國人蔘 Symposium, 人蔘의 生理作用, 韓國生藥學會, 서울, (1974). pp.141-168.
26. M. Ikehara, Y. Shibara, T. Higashi, S. Sanada and J. Shoji, Effect of ginseng saponins on cholesterol metabolism III. Effect of ginsenoside-Rb<sub>1</sub> on cholesterol synthesis in rats fed at high fat diet. *Chem. Pharm. Bull.* 26, 2844 (1978).