

스트렙토조토신으로 유도된 흰쥐에서 곤달비 추출물의 항당뇨 효과

최종원, 김원배¹, 남정환¹, 박희준^{2*}

경성대학교 약학대학, ¹고령지농업연구소, ²상지대학교 친환경식물학부

Anti-diabetic Effect of the Methanolic Extract of *Ligularia stenocephala* Leaves in the Streptozotocin-induced Rat

Jongwon Choi, Won-Bae Kim¹, Jung-Hwan Nam¹ and Hee-Juhn Park^{2*}

College of Pharmacy, Kyungsung University, Busan 608-736, Korea

¹National Institute of Highland Agriculture, RDA, Pyongchang 232-950, Korea

²Department of Botanical Resources, Sangji University, Wonju, Woosan-dong, Gangwon-do 220-702 Korea

Abstract - The leaves of *Ligularia stenocephala* (Compositae) are used as a vegetable food to treat anxiety, weakness and menstrual disorder and are said to be effective against diabetic disease in Korea. This research was aimed to develop this vegetable food as a functional food to treat diabetic disease. Oral administration of MeOH extract exhibited significant hypoglycemic and hypolipidemic effects in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats at 100 and 200 mg/kg dose. This extract inhibited the increase of body weight, water consumption, food intake, blood glucose, lowered atherogenic index, and overcome glucose intolerance in the STZ-treated rat. These results suggest that the leaves of *Ligularia stenocephala* could be developed as a functional food with anti-diabetic effect.

Key words - *Ligularia stenocephala*, Compositae, Diabetic, Functional food, Vegetable

서 언

곤달비(*Ligularia stenocephala*(Maximovicz) Matsumura)는 한국의 고령지에서 자생하는 식물로서 국화과의 다년생 초본식물이다. 곤달비는 특히 한국의 대관령에서 자생하고 산채로서 이용되고 있기 때문에 이 지역의 농가에서 재배하고 있다. 이 지역에서 근연식물로서 산채로 이용되고 있는 것은 곰취(*L. fischeri*(Ledeb.) Turczaninow)와 넘취(한대리곰취, *L. fischeri* var. *spiciformis*)가 있다(Ko, 2003).

곰취는 이 지역에서 가장 널리 산채로 이용되고 있고 한편 곤달비와 넘취도 산채로 이용되고 있다. 곤달비의 어린 잎을 식용 및 약용의 목적으로 이용하고 있는데 전초 혹은 뿌리를 보익, 진정 및 부인병 등에 약으로 사용한다고 한다(Kim, 1996).

저자들은 곤달비를 곰취와 넘취와 구별되는 다른 약용도를 모색하려 한 바 이미 알려진 성분들에 대해 기술하고자 한다. Wang 등(2000)은 3종의 eremophilenolide-type sesquiterpene계 성분을 분리한 바 있으며, Hwang 등(2000)은 추가적

으로 3종의 유사 성분을 분리하고 특히 이 중 furanoligularenone 성분이 LPS로 유도한 마크로파지 세포에서 NO 생성 억제효과를 나타낸다고 하였다. Choi 등(2007)은 곰취 추출물이 콜라겐으로 유도한 관절염 생쥐의 산화적 스트레스를 예방한다고 보고한 바 있다. 넘취의 성분에 대해서는 이미 저자들이 acyclic diterpene 성분으로 spiciformisin a 및 b, triterpene 으로 monocyclosqualene (Lee *et al.*, 2002), sesquiterpene 으로 6-oxoeremophilenolide(Park *et al.*, 2000)와 백혈병 세포의 분화 유도효과를 나타내는 intermedeol 등을 보고한 바 있다(Jeong *et al.*, 2002). 그리고 저자 등은 넘취의 dicaffeoyl-quinic acid 성분이 간보호 효능, 지질과산화 억제효과를 나타내는 화합물인 것으로 보고하였다(Choi *et al.*, 2005; Choi *et al.*, 2004).

이와 같이 곰취와 넘취에 대해서는 비교적 자세히 연구되어 있으나 이의 근연식물인 곤달비의 식물화학적 연구결과를 찾은 결과 주로 benzofuran 유도체로서 monomer-, dimeric- 및 polymeric benzofuran 들이 다수 보고되었지만, 생리활성이 대한 연구를 보고는 없었다(Toyota *et al.*, 2005; Yan *et al.*, 2005). 저자들은 곤달비를 당뇨병에 유효한 산채 및 건강기능성

*교신저자(E-mail) : hjpark@sangji.ac.kr

식품으로 개발하기 위하여 우선 스트렙토조토신으로 유도한 당뇨병 및 당뇨성 고지혈에 유효한지를 알기 위하여 실험을 한 결과 이 추출물이 현저한 효과를 나타내었으므로 보고하고자 한다.

재료 및 방법

식물재료

강원도 고령지농업연구소에서 공급받은 곤달비를 음건하고 세절하여 재료로 사용하였다. 500g의 식물재료를 라운드 플라스크에 넣고 환류 하에 5시간씩 3회 반복 추출하였다. 추출액을 여과하고 진공농축기를 이용하여 감압하에 농축하였다. 농축물을 동결건조한 다음 그 메탄올 추출물을 얻었다(곤달비 76g). 이 추출물을 동물실험을 위한 재료로 사용하였다.

투여

이들 메탄올 추출물을 생리식염수로 조제한 10% tween 80 용액에 용해시켜 100 및 200mg/kg을 oral jonde를 사용하여 경구로 실험동물에 2주간 투여하였다.

실험동물 및 처치

실험동물은 (주)대한 바이오링크(충북 음성)로부터 분양 받은 대학 동물사에서 일정한 조건(온도: $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도: $55 \pm 3\%$, 명암: 12시간 light/dark cycle)으로 1주 동안 고형 사료로 적응시킨 체중 $200 \pm 10\text{g}$ 의 Sprague-Dawley계 웅성흰쥐를 사용하였다. 실험 시간 전 24시간 동안 물만 주고 절식하였다. 이때 효소 활성의 일중 변동을 고려하여 실험동물을 일정시간(오전 10:00-12:00) 내에서 처치하였다.

당뇨병 유발 및 시료의 투여

당뇨병의 유발은 STZ 50mg/kg을 0.05M citrate buffer (pH 4.5)에 녹여 꼬리정맥으로 투여한 후 48시간 후에 눈의 정맥으로부터 혈당을 측정하여 300-400mg/dl의 범위에 들어오는 흰쥐를 선별하여 실험동물로 사용하였다. 시료의 투여는 실험동물에 곤달비 메탄올 추출물을 생리식염수로 조제한 10% tween 80용액에 용해시켜 100 및 200mg/kg을 oral jonde를 사용하여 경구로 실험동물에 1일 1회씩 2주간 투여하였다. 동물의 처치는 처치일 마지막 날 7시간동안 절식한 후 CO_2 로 가볍게 마취한 후 복부대동맥에서 채혈한 후 약 3분 동안 실온에 방치한 후 3,000rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 취하여 실험에 사용하였다.

혈당, 체중 변화, 물 및 사료섭취량 측정

혈중 glucose의 정량은 glucose oxidase법에 따라 조제된

kit(Exactech)를 사용하였으며, 체중의 변화는 실험동물을 처리하기 24시간 전에 측정하여 최초 무게에 대한 체중변화를 산출하였으며 물 및 사료 섭취량은 동물 처치 24시간 전의 하루 동안의 양을 측정하였다.

혈당 내성검사(Oral glucose tolerance test)

STZ로 유도한 당뇨성 쥐에 시료를 투여하고 약 10-14시간 정도 절식시킨 후 Glucose(1.5g/kg)를 경구로 투여하고 0, 30, 60, 120분 간격으로 혈액을 채취하여 혈당을 측정하였다.

혈중 지질 함량의 측정

1) Total cholesterol 함량의 측정: Richmond 등의 효소법(1976)에 의하여 조제된 kit(AM 202-K, Asan)를 사용하여 실험하였다. 즉, 빙냉상에서 효소시약(cholesterol esterase 20.5U/l, cholesterol oxidase 10.7U/l, sodium hydroxide 1.81g/l 함유)을 효소시약 용해액(potassium phosphate monobasic 13.6g/l, phenol 1.88g/l 함유)에 용해한 후 시료 20 μl 에 조제한 효소시액 3.0ml을 첨가한 후 37 $^\circ\text{C}$ 에서 5분간 incubation하여 시약 blank를 대조로 파장 500nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준검량선에 준해 혈중 함량은 mg/dl로 표시하였다.

2) Triglyceride 함량의 측정: McGowan 등(1983)의 방법에 준하여 조제된 kit(AM 157S-K, Asan)를 사용하여 실험하였다. 즉, 빙냉상에서 효소시약(lipoprotein lipase 10800U, glycerol kinase 5.4U, peroxidase 135000U, L- α -glycero phosphooxidase 160U 함유)을 효소시약 용해액[N,N-bis(2-hydroxyethyl)-2-aminomethane sulfonic acid 0.427g/dl 함유]에 용해한 후 시료 20 μl 에 조제한 효소시액 3.0ml을 첨가한 후 37 $^\circ\text{C}$ 에서 10분간 incubation하여 시약 blank를 대조로 파장 550nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 검량선에 준해 혈중 함량은 mg/dl로 표시하였다.

3) High density lipoprotein-cholesterol(HDL-C) 함량의 측정: Noma 등(1978)의 효소법에 의하여 조제된 kit(AM 203-K, Asan)를 사용하여 실험하였다. 즉, 혈청 20 μl 에 침강시약(dextran sulfate 0.1%, magnesium chloride 0.1M 함유) 0.2ml를 가하고 잘 혼합한 후 실온에서 10분간 방치하고 3000rpm에서 10분간 원심 분리하였다. 그리고 그 상침액을 0.1ml 취하여 효소시액 3.0ml와 잘 혼합하여 37 $^\circ\text{C}$ 에서 5분간 incubation하여 시약 blank를 대조로 파장 500nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 검량선에 준해 그 함량을 mg/dl로 표시하였다.

4) LDL-cholesterol 함량의 결정: Low density lipoprotein-cholesterol(LDL-C) 함량은 Fridewald 등(1972)의 방법에 따라 다음의 식에 의하여 산출하였다.

Table 1. Effect of the MeOH extract of *L. stenocephala* leaves on the gains of body weight, water consumption and food intake in STZ-induced hyperglycemic rats

Treatment	Dose (mg/kg)	Body weight (g)	Water consumption (ml/day/rat)	Food intake (g/day/rat)
Untreated		70.6 ± 6.89 ^{a,1,2)}	36.7 ± 9.23 ^d	22.3 ± 6.24 ^a
STZ		- 28.0 ± 7.40 ^d	118.7 ± 20.9 ^a	38.7 ± 7.26 ^a
MeOH extract	100	- 10.4 ± 5.01 ^c	93.8 ± 8.26 ^{bc}	31.2 ± 7.35 ^{ab}
	200	13.0 ± 8.60 ^b	79.6 ± 10.3 ^c	28.8 ± 3.47 ^{ab}

Fifty mg/kg of STZ-in 0.2ml 0.01M-citrate buffer (pH 4.5)-was injected into tail vein. Rats were orally administered with the MeOH extract at 100 and 200mg/kg dose daily for consecutive two weeks after STZ-induced hyperlipidemic state. The rats were sacrificed two weeks later for the last administration. The assay procedure was described in the experimental methods, ¹⁾Values are expressed mean ± S.D. for groups of six experiments, ²⁾Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

$$LDL-C = [\text{총콜레스테롤양} - (\text{HDL-C} + \text{Triglyceride양}/5)]$$

통계처리

본 실험에서 얻어진 결과는 평균치±표준편차로 표시하였고, 통계적 유의성 검증은 Duncan's multiple range test를 이용하였다.

결과 및 고찰

체중변화, 물 및 사료 섭취량에 미치는 영향

당뇨병의 증세로서 실험동물의 체중은 감소하며, 물과 식이의 섭취량이 증가하게 된다. Table 1에 나타내었듯이 STZ를 투여한 쥐는 투여하지 않은 정상쥐에 비해 체중이 심하게 감소되었으며 물과 식이의 섭취량이 매우 현저히 증가하였다. 곤달비의 추출물을 투여한 군에서는 이러한 현상을 완화시켰으며 농도의 의존성이 관찰되었다.

혈중 Glucose 함량에 미치는 영향

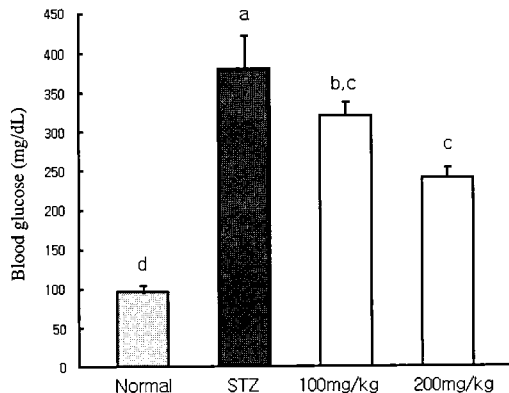


Fig. 1. Effect of the MeOH extract of *L. stenocephala* leaves on the blood glucose concentration in the STZ-induced hyperglycemic rat.

¹⁾Values are expressed mean ± S.D. for groups of six experiments. ²⁾Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

당뇨병의 가장 중요한 특징은 혈액 중의 포도당의 농도가 매우 현저히 증가하는 것이다. Fig. 1에 나타내었듯이 STZ를 투여한 흰쥐는 혈중 포도당 농도가 매우 높아진 것을 알 수 있었다. 곤달비 100mg/kg, 200mg/kg을 투여한 흰쥐는 혈중 포도당의 농도를 각각 21.2%, 49.3% 감소시켰다. 이 실험으로 곤달비가 당뇨병에 효과가 있음을 알 수 있었다.

Oral glucose tolerance test에 미치는 영향

본 실험결과는 당내성 실험의 결과로서 혈당이 과다할 때 당의 세포내 흡수속도를 측정한 결과이다. 경구로 포도당만을 투여한 흰쥐의 혈당은 점점 증가하여 120분에 최대의 혈당을 나타내었다. 곤달비 추출물의 처리군에서 비교적 고른 혈중 포도당 농도를 나타내어 곤달비의 경우 최고 46.0%의 혈당강하효과를, 최저 34.9%의 혈당강하효과를 나타내었다. (Fig. 2)

혈청 중 중성지질 함량에 미치는 영향

고지혈증은 동맥경화증의 지수로서 소장에서 중성지질의 합성과 chylomi-cron의 분비증가, 간장에서 중성지방의 합성 증

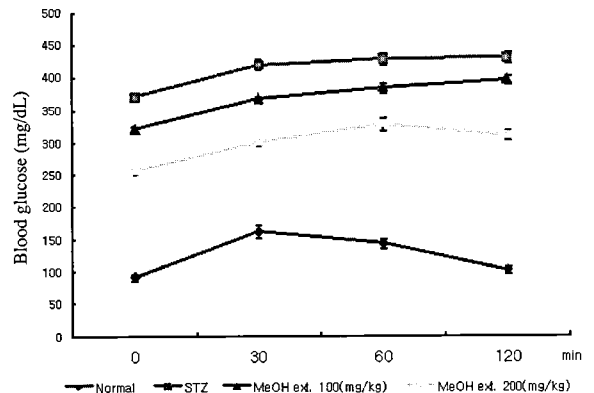


Fig. 2. Glucose tolerance by MeOH extract of *L. stenocephala* leaves in the STZ-induced hyperglycemic rat.

¹⁾Values are expressed mean ± S.D. for groups of six experiments. ²⁾Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

Table 2. Effect of the MeOH extract of *L. stenocephala* leaves on the serum triglyceride concentration of STZ-induced hyperglycemic rats

Treatment	Dose (mg/kg)	Total triglyceride (mg/dl)
Untreated		76.3 ± 7.28 ^{d1,2)}
STZ		137.7 ± 6.27 ^a
MeOH extract	100	103.8 ± 5.34 ^{bc}
	200	96.4 ± 4.29 ^b

¹⁾Values are expressed mean ± S.D. for groups of six experiments.

²⁾Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

가, VLDL, LDL-Cholesterol 합성 및 분비증가, HDL-Cholesterol의 합성 감소 및 lipase의 활성 감소로 인한 말초조직에서의 중성지방의 제거 감소에 기인한 것이다(Miller, 1978). 본 실험에서는 STZ로 당뇨성 고지혈증을 유도된 흰쥐에서 total cholesterol 혈중 함량이 현저히 증가되던 것이 곤달비 추출물의 투여로 감소하였다. 곤달비 200mg/kg의 투여군의 혈청 중성지방 감소효과는 67.3%로 매우 큰 효과를 나타내었다 (Table 2).

혈청 중 Cholesterol 함량과 동맥경화 위험지수에 미치는 영향

고콜레스테롤증은 결국 동맥경화를 일으키기 쉬운 것으로 알려져 있다. 또, LDL의 산화는 lipid peroxide와 oxygen free radical을 증가시키고 이들 분자들은 endothelial cell에 독성을 미치며, 산화된 LDL은 혈관벽에 쉽게 부착되어 혈관세포를 손상시켜 혈관조직을 변형시킴과 동시에 변형된 세포의 분열을 촉진시켜 주변의 산화 LDL, 혈소판 및 macrop-hage가 혈관벽에 더 쉽게 부착되도록 돕는다고 알려져 있다(Steinberg, 1997). 한편, HDL은 콜레스테롤 대사에 기여하는 것으로 알려져 있다. 그러므로 혈청 LDL 농도 값이 높을수록, HDL 농도 값이 낮을수록 동맥경화 위험지수는 높아지게 된다. STZ를 단독으로 처리한 군은 혈청 total cholesterol과 LDL-cholesterol이 매우 현저히 증가되었으며, HDL-cholesterol도 약간 증가가 인정되었다. 곤달비의 추출물의 투여는 이를 완화시켰다. 각 추출물의 100mg/kg의 투여는 통계적 유의성이 관찰되지 않았으나 200mg/kg에서는 유의성있게 혈청 total cholesterol과 LDL-cholesterol을 감소시켰으며 혈청 HDL-cholesterol의

큰 변화는 나타나지 않았다. 동맥경화 위험지수는 각 추출물의 투여로 크게 완화되었다(Table 3).

적 요

곤달비 메탄올 추출물은 100mg/kg 및 200mg/kg의 경구투여로 STZ로 유도된 당뇨병의 제반 증상을 완화하였다. 즉, STZ의 투여는 흰쥐의 체중, 수분 섭취, 식이섭취를 증가시켰으며, 혈당량, 혈청 triglyceride 량, 동맥경화 위험지수를 증가시켰으나, 곤달비 추출물의 투여는 이러한 당뇨병에 관련된 증상을 개선하였다.

이와 더불어, 위의 당뇨병 모델 쥐에서 당내성 실험에서도 곤달비 추출물이 현저한 효과를 나타내었으므로 혈당의 세포내 이행을 촉진시키는 것으로 확인되었다. 이상과 같은 결과로부터 곤달비 추출물은 당뇨병 및 그에 따르는 고지혈증에 유효하였으므로 당뇨병 질환의 완화를 위하여 사용될 수 있는 산채 식품인 것으로 나타났다. 이러한 결과를 바탕으로 곤달비의 활성 물질의 입증과 그 이용에 관한 계속적인 연구가 필요한 것으로 생각된다.

사 사

이 연구는 농촌진흥청 고령지농업연구소의 지원에 의해 이루어졌으므로 이에 감사드립니다.

인용문헌

Choi, E.M. 2007. *Ligularia fischeri* leaf extract prevents the oxidative

Table 3. Effect of the MeOH extract of *L. stenocephala* leaves on the serum total-, LDL-, HDL-cholesterol and atherosclerotic index in STZ-induced hyperglycemic rats

Treatment	Dose mg/kg	Total	LDL	HDL	AI
		mg/dl			
Untreated		65.3 ± 6.27 ^{c,1,2)}	14.1 ± 3.49 ^c	35.7 ± 3.06 ^d	0.83 ± 0.09 ^b
STZ		147.4 ± 5.19 ^a	76.2 ± 19.8 ^a	43.3 ± 2.25 ^{bc}	2.41 ± 0.25 ^a
MeOH extract	100	123.8 ± 4.59 ^{ab}	56.9 ± 15.3 ^{ab}	46.5 ± 3.11 ^{abc}	1.67 ± 0.48 ^{ab}
	200	104.6 ± 5.17 ^b	38.2 ± 11.7 ^b	50.3 ± 1.43 ^a	1.08 ± 0.40 ^{ab}

¹⁾Values are expressed mean ± S.D. for groups of six experiments.

²⁾Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

- stree in DBA/1J mice with type II collage-induced arthritis. Journal of Applied Toxicology 10: ahead of print.
- Choi, J., J.K. Park, K.T. Lee, K.K. Park, W.B. Kim, J.H. Lee, H.J. Jung and H.J. Park. 2004. Inhibitory Effect of *Ligularia fischeri* var. *spiciformis* and its Active Component, 3,4-Dicaffeoylquinic acid on the Hepatic Lipid Peroxidation in Acetaminophen-Treated Rat. Nat. Prod. Sci. 10: 182-189.
- Choi, J., J.K. Park, K.T. Lee, K.K. Park, W.B. Kim, J.H. Lee, H.J. Jung and H.J. Park. 2005. *In vivo* antihepatotoxic effects of *Ligularia fischeri* var. *spiciformis* and the identification of the active component, 3,4-dicaffeoylquinic acid. J. Med. Food 8: 348-352.
- Friedewald, W.T., R.I. Levy and D.S. Fredrickson. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin. Chem. 24: 499-502.
- Hwang, B.Y., J.H. Lee, T.H. Koo, Y.S. Hog, J.S. Ro, K.S. Lee and J.J. Lee. 2002. Furanoligularenone, an eremophilane from *Ligularia fischeri*, inhibits the LPS-induced production of nitric oxide and prostaglandin E2 in macrophage RAW264.7 cells. Planta Med. 68: 101-105.
- Kim, T.J. 1996. Korean Resources Plants, The Publishing Center of Seoul National University, Seoul pp. 242-243.
- Ko, K.S. and E.S. Jeon. 2003. Ferns, Fern-Allies and Seed-bearing Plants of Korea, Iljin-Sa, Seoul pp. 680-681.
- Jeong, S.H., S.J. Koo, J. Choi, H.J. Park, J. Ha and K.T. Lee. 2002. Intermedeol isolated from the leaves of *Ligularia fischeri* var. *spiciformis* induces the differentiation of human acute promyeocytic leukemia HL-60 cells. Planta Med. 68: 881-885.
- Lee, K.T., S.J. Koo, S.H. Jung, J. Choi, H.J. Jung and H.J. Park. 2002. Structure of three new terpenoids, spiciformisins a and b, and monocyclosqualene, isolated from the herbs of *Ligularia fischeri* var. *spiciformis* and cytotoxicity. Arch. Pharm. Res. 25: 820-823.
- McGowan, M.W., J.D. Artiss, D.R. Strandbergh and B. Zak. 1983. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. Clin. Chem. 29: 538-542.
- Miller, N.E. 1978. The evidence for the antiatherogenicity of high density lipoprotein in man. *Lipid*. 13: 914-919.
- Noma, A., K. Nezu-Nakayama, M. Kita and H. Okabe. 1978. H Simultaneous determination of serum cholesterol in high- and low-density lipoproteins with use of heparin. Ca²⁺, and an anion-exchange resin. Clin. Chem. 24: 1504-1508.
- Park, H.J., S.H. Kwon, K.O. Yoo, I.C. Sohn, K.T. Lee and H.K. Lee. 2000. Sesquiterpenes from the leaves of *Ligularia fischeri* var. *spiciformis*. Planta Med. 66: 783-784.
- Richmond, W. 1976. Use of cholesterol oxidase for assay of total and free cholesterol in serum by continuous flow analysis. Clin. Chem. 22: 1579-1588.
- Steinberg, D. 1997. Oxidative modification of LDL and atherogenesis. Circulation 95: 1062-1071.
- Toyoda, K., Y. Yaoita and M. Kikuchi. 2005. Three new dimeric benzofuran derivatives from the roots of *Ligularia stenocephala* Matsum. Et Koidz. Chem. Pharm. Bull. 53: 1555-1558.
- Wang, W.S., K. Gao and Z.J. Jia. 2000. Eremophilanolides from *Ligularia fischeri*. Planta Med. 66: 189-191.
- Yan, F.L., A.X. Wang and Z.J. Jia. 2005. Three new isopropenyl benzofurans from *Ligularia stenocephala*. Pharmazie 60: 155-159.

(접수일 2007. 5. 6; 수락일 2007. 8. 5)