

## 밀리타리스 동충하초(*Cordyceps Militalis*) 열수 추출물이 스트렙토 조토신으로 유발된 당뇨 흰쥐의 항 당뇨 대사에 미치는 영향

김옥경<sup>†</sup>

대진대학교 자연과학대학 식품영양학과  
(2011년 7월 26일 접수 ; 2011년 9월 19일 채택)

### Antidiabetic Metabolism Effect on the water Extract of *Cordyceps Militalis* in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Ok-Kyung Kim<sup>†</sup>

Department of Food and Nutrition, Dae Jin University,  
Pochun 487-711, Korea

(Received July 26, 2011 ; Accepted September 19, 2011)

**Abstract** : This study was carried to investigate the antidiabetic metabolism effect of water extract *Cordyceps Militalis*(C.M.) in Streptozotocin(STZ) induced diabetic rats. Diabetes were induced by intravenous injection of STZ at a dose of 42mg/kg,b.w. dissolved in citrate buffer. The water extract of C.M. was orally administrated once a day for 7 days at a dose of 500mg/kg,b.w.(body weight). or 1,000mg/kg.b.w. The content serum glucose was significantly decreased in C.M. treated group compared to the those of STZ-control group. The content of hepatic glycogen and activities of glucose-6-phosphate dehydrogenase(G-6-PDH), glucokinase(GK) were significantly increased, but activity of glucose-6-phosphatase(G-6-Pase) was significantly decreased in C.M. treated group compared to the those of STZ-control group. These results indicated that water extract of C.M. would have antidiabetic metabolism effect in STZ-induced diabetic rats.

**Keywords** : streptozotocin, antidiabetic metabolism effect, *Cordyceps Militalis*.

### 1. 서론

당뇨병은 혈중 및 뇨중의 당의 증가로 단백 분해가 증가되어 ketosis 및 acidosis등의 증상을 나타내는 질환으로 췌장의  $\beta$ -cell에서 분비

되는 인슐린의 절대적 또는 상대적 결핍이거나, 비정상적인 글루카곤의 증가 또는 인슐린 길항 물질(예: 성장호르몬, 교감신경성 아민류, 스테로이드등)의 증가에 따른 탄수화물대사에서 이상이 나타나는 만성질환이다[1], 최근 우리나라에서도 소득증가와 함께 점점 증가 일로에 있는 생활 습관병으로 당뇨병은 그 자체에도

<sup>†</sup>주저자 (E-mail : okkim@daejin.ac.kr)

많은 문제점을 갖지만, 이에 의한 합병증으로 당뇨의 치료에 중요한 문제가 되고 있다. 특히 지속되는 당뇨상태로 체내의 산화적 스트레스가 지속되어 순환계 및 신경계 질환등[2,3]이 유발되어, 이에 대한 적절한 대책이 요망되고 있다. 현재까지 이러한 당뇨상태를 개선하기 위해 sulfonylurea제[4,5], biguanide계[6]등의 경구용 혈당강하제가 이용되고 있으나, 장기간 복용시 췌산 축적의 위험성, 신부전 증상의 악화 및 피부질환, 알레르기등의 부작용이 나타남으로 최근에는 천연물로부터 혈당강하 소재를 개발하기 위한 연구가 국내 뿐 아니라 일본, 미국에서도 활발히 이루어지고 있다. 또한 최근에는 식품의 기능성이라는 과제가 대두되면서 특히 식물성 물질에 포함되어 있는 미량 성분의 phytochemical물질이 여러 가지 질병을 억제하는 것으로써 활발한 연구가 이루어지고 있다. 본 실험에서 사용한 밀리타리스 동충하초(Cordyceps Militaris)는 우리나라 대표적인 동충하초로 땅속에 있는 죽은 나비목(Lepidoptera)의 큰번데기에서 발견되며, 그 성분은 수분10.84%, 지방8.45%, 조단백 25.32%, 조섬유질18.53%, 탄수화물28.90%, 회분4.12%, 그밖에 퀴산(quinic acid)의 이성체인 Cordycepin(3'-deoxyadenosine) 특히 자실체 성분인 코디세핀(Cordycepin)은 기생하는 곤충에는 독소로 작용[7]하며, 면역세포 탐식능 강화작용, 항산화작용[8], 항암작용[9]등의 약리작용이 보고되었다. 따라서 본 연구는 국내에서 인공 배양한 밀리타리스 동충하초 열수 추출물을 Streptozotocin으로 유발된 당뇨 흰쥐에게 1주일간 투여하여 측정된 결과 당대사에 영향을 미쳤으며 이를 연구하게 되었다.

## 2. 실험

### 2.1. 시료, 시약 및 기기

본 실험에 사용한 밀리타리스 동충하초는 서울 경동시장에서 구입(담양, 국내산)하였으며 시약 및 기기는 Kim[10]의 방법에 따라 사용하였다.

즉, 시약은 Streptozotocin (STZ), Amyloglucosidase, Glucose-6-phosphate, Glucose-6-phosphate dehydrogenase, Ascorbic acid, Glycylglycine, tris-HCl, NAD, ATP,

Bovine serum albumin 등은 Sigma Co.(U.S.A)를 사용하였으며, Glucose kit는 영동제약의 것을 나머지 기타 시약은 특급시약을 구입하여 사용하였다.

기기는 Rotary Vacuum Evaporator(Eyela Co., Japan), Deep Freezer(Hannil Co., Korea), Centrifuge(Hannil Co., Korea), UV Spectrometer(Kontron 927, Italy), Homogenizer(Omni, U.S.A.)등을 사용하였다.

### 2.2. 추출 실험

밀리타리스 동충하초 200g을 2차 증류수 1,500ml를 넣고, 100℃로 4시간 가열, 여과, 감압농축하여 열수 추출물을 얻었다.

### 2.3. 당뇨유발 및 검액의 조제

체중 215±20 g 내외의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 1주일간 적응시킨 후 4군으로 나누어 하룻밤 동안 절식시킨 후 당뇨유발군은 Streptozotocin(STZ)을 42mg/kg.b.w.용량으로 정상군은 0.9%saline을 꼬리정맥(미정맥)에 주사를 하였다. 미정맥 주사 48시간 후에 눈의 정맥(안와정맥)으로부터 채혈하여 3000rpm, 20분 원심 분리하여 얻은 혈청으로부터 포도당 측정용 키트를 사용하여 혈당수준이 300mg/dl 이상인 것을 당뇨 유발 흰쥐로 간주하였다. 실험군은 정상군(normal), 당뇨 유발 대조군(STZ-control), 당뇨 유발 실험군(STZ-sample)의 3군으로 나누고 그룹 당 7마리씩 나누어 정상군과 당뇨 유발 대조군에는 0.5% CMC 용액만을, 실험군은 밀리타리스 동충하초 열수 추출물을 500mg/kg b.w(body weight)과 1,000mg/kg, b.w의 두 용량으로 각각 0.5% CMC 용액에 현탁시켜 10ml/kg b.w.씩 1일 1회 7일간 경구 투여 하였다.

### 2.4. 효소원 조제 및 분석

혈청중의 Glucose 함량과 간조직 중의 Glycogen함량, 당대사를 위한 Glucose-6-phosphatase(G-6-pase), Glucose-6 phosphate dehydrogenase(G-6-PDH), Glucokinase(GK) 측정은 Kim[10]과 같은 방법으로 측정하였다.

즉, Glycogen 함량을 위한 효소원 전처리에는 간 2g을 0.1M ice-cold citrate buffer(pH 4.2) 6ml를 넣어 균질화시킨 후 3,000rpm, 10분간 원심분리하여 상층액에서

Glycogen 함량, Glucose-6-phosphatase (G-6-Pase)과 Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH) 활성을 측정하였고, Glucokinase 측정은 간 2g을 1mM EDTA가 혼합된 buffer 6ml에 넣어 균질화한 다음, 12,000×g에서 1시간 동안 원심분리하여 상층액을 취하여 Glucokinase 활성을 측정하였다.

**2.5. 통계처리**

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

**3. 결과 및 고찰**

**3.1. 밀리타리스 동충하초의 열수 추출물**

밀리타리스 동충하초 200g을 2차 증류수 1,500ml에 넣고, 100℃가 유지되는 추출장치에서 4시간씩 3회 추출 후 일반 여과지에서 여과하여 회전 농축기에서 농축하여 40g의 열수 추출액(수율:20%)을 얻었다.

**3.2. 혈당저하 효과**

혈청내의 혈당저하 효과는 Table 1과 같다. 정상군의 혈당치가 106.61±8.90 mg/dl에 비해 당뇨 대조군은 453.87±15.84 mg/dl으로 유의적인 증가(p<0.05)를 나타내었으나 밀리타리스 동충하초 열수 추출물 1,000mg/kg을 투여한 군에서는 유의적인 감소(p<0.05)를 나타내었다.

Table 1. Serum Glucose Level of Normal and Diabetic Rats Fed on Water Extract of *Cordyceps Militaris*

Experimental group	Dose (mg/kg,b.w.)	Glucose((mg/dl)
Normal	-	106.61±8.90 <sup>1)</sup>
STZ <sup>2)</sup> -control	-	453.87±15.84 <sup>#</sup>
STZ+C.M <sup>3)</sup>	500	394.38±9.87
STZ+C.M	1000	308.89±30.49 <sup>*</sup>

<sup>1)</sup>Values are the mean±S.E.(n=7, 실험에

사용한 흰쥐 마리수)

<sup>2)</sup>Streptozotocin(42mg/kg, b.w) [0.01 M-citric acid buffer(pH 4.5)] was intraperitoneal(i.p) injected into the tail vein. <sup>#</sup>Significantly different from normal at p<0.05, <sup>\*</sup>Significantly different from STZ-control at p<0.05 by student's t-test.

<sup>3)</sup>The water extract of *Cordyceps Militaris* was administrated orally once a day in experimental rats for 7 days.

**3.3. 간 조직중의 Glycogen 함량**

간 조직 중의 Glycogen 함량은 Table 2와 같다. 정상군과 비교하여 당뇨 대조군에서 63.47±9.44mg/g of 조직으로 유의적인 감소(p<0.05)를 나타내었다. 이것은 Peter 등[11], Lim 등[12]의 보고와 유사한 결과를 나타내었다. 그 원인은 Kim[10], Kim등[13]의, 보고에 따라 STZ 당뇨 유발제가 β-cell에만 선택적으로 작용한 결과 파괴가 일어나 glycogen 분해가 촉진되어 정상군과 비교하여 당뇨대조군에서 감소를 나타내었으나 밀리타리스 동충하초 열수추출물 투여, 특히 1,000mg/kg,b.w을 투여한 군에서 96.34±10.20mg/g of tissue 로 당뇨대조군과 비교하여 유의적인 증가(p<0.05)를 나타내었는데, 이것은 Table 1의 혈당저하 실험에서 당뇨대조군과 비교하여 추출물 1,000mg/kg,b.w.을 투여시 유의적으로 혈당치를 감소시킨 결과 간의 glycogen 함량을 증가시킨 것으로 사료된다.

Table 2. The Serum Glucose Level of Normal and Diabetic Rats Fed on Water Extract of *Cordyceps Militaris*

Experimental group	Dose (mg/kg,b.w.)	Glycogen <sup>1)</sup>
Normal	-	114.37±10.11 <sup>1)</sup>
STZ <sup>2)</sup> -control	-	63.47±9.44 <sup>#</sup>
STZ+C.M <sup>3)</sup>	500	42.20±4.56
STZ+C.M	1000	96.34±10.20 <sup>*</sup>

<sup>1)</sup>mg/g of tissue <sup>2,3,4)</sup>:see the legend of

Table 1.

### 3.4. 간 조직 중의 Glucose-6-phosphatase (G-6-Pase)활성

G-6-Pase활성은 Table 3와 같다. G-6-Pase는 microsome에 존재하는 막부착 효소[14]로서 탄수화물 대사에 중요하게 작용, 특히 이것은 glycogen의 분해 및 포도당 신생 작용의 촉매 효소이며 cyclic AMP, gluco-corticoids, glucose, fatty acid 및 간 췌장 부분의 절개에 의해 발현이 증가되는 반면에 insulin, tumor necrosis factor 및 interleukin-6에 의해 억제된다[15]. 특히 STZ 투여는 G-6-Pase mRNA의 발현을 증가시키고, 그 결과 당뇨병에서 G-6-Pase 활성을 증가시키며 고혈당과 함께 혈장의 protein Kinase 활성도와 insulin 농도를 감소시킨다는 보고[16]에 따라 본 실험에서도 STZ 투여로 인해 정상군과 비교하여 당뇨 유발 대조군에서 유의적인 증가( $p<0.05$ )를 나타내었으나 밀리타리스 동충하초 열수 추출물 1,000mg/kg투여로 인해 유의적인 감소( $p<0.05$ )를 나타내었다.

### 3.5. 간 조직 중의 Glucose-6-phosphate dehydrogenase(G-6-PDH)활성

G-6-PDH의 활성은 Table 3와 같다. G-6-PDH는 glucose 대사 과정의 pentose phosphate pathway로 들어가는 최초 과정에 관여하는 효소이며, 또한 GSH-Px가 GSSG를 GSH로 환원시키는데 필요한 NADPH를 생성

하는 효소로서[17]로서 본 실험에서는 STZ 투여로 정상군에 비하여 당뇨 대조군에서 유의적인 감소( $p<0.05$ )를 나타내었으나 밀리타리스 동충하초 열수 추출물의 두 용량 모든 군에서 유의적인 증가( $p<0.05$ )를 나타내었다

### 3.6. 간 조직중의 Glucokinase(GK) 활성

GK는 당대사의 항상성 유지에 관여하고 insulin에 의해 조절되며, 특히 당뇨병 유발시에 GK 활성 감소가 특징적으로 나타나며, 활성 감소시 당대사 이용율을 저하시킨다는 보고[18]에 따라 본 실험에서도 정상군과 비교하여 당뇨 대조군에서도 유의적인 감소( $p<0.05$ )를 나타내었으나 동충하초 열수 추출물의 두 용량 모든 군에서 당뇨 대조군과 비교하여 유의적인 증가( $p<0.05$ )를 보였으며, 이것은 Vats 등[19], Kim 등[20]의 보고와 유사하였다. 그러나 추출물의 두 용량 모두에서 유의적인 증가( $p<0.05$ )를 나타내었다.

## 4. 결론

STZ투여로 당뇨가 유발된 흰쥐에게 밀리타리스 동충하초 열수 추출물을 500mg/kg,b.w. 과 1,000 mg/kg,b.w. 의 두 용량으로 1일, 1회, 7일간 투여한 결과 혈당저하 및 당대사 분석 결과 다음과 같다.

Table 3. The Cytosolic Glucose-6-phosphatase(Glucose-6-Pase), Glucose-6-phosphate Dehydrogenase(Glucose-6-PDH), Glucokinase(GK) Activities of Normal and Diabetic Rats Fed on Water Extract of *Cordyceps Militaris*

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w.)	Glucose-6-Pase <sup>1)</sup>	Glucose-6-PDH <sup>2)</sup>	Glucokinase <sup>3)</sup>
Normal	-	4.76±0.42 <sup>4)</sup>	0.92±0.19	0.48±0.16
STZ <sup>5)</sup> -control	-	6.03±0.20 <sup>#</sup>	0.46±0.09 <sup>#</sup>	0.09±0.002 <sup>#</sup>
STZ + C.M <sup>6)</sup>	500	4.05±0.52	0.84±0.28*	1.15±0.26*
STZ + C.M	1000	2.51±0.42*	1.24±0.24*	1.45±0.53*

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

<sup>2)</sup>Glucose-6-phosphatedehydrogenase : moles/mg/protein/min),

<sup>3)</sup>nmoles/mg/protein/min

<sup>4,5,6)</sup> : See the legend of Table 1.

1. STZ 투여로 증가된 혈당치는 밀리타리스 동충하초 열수 추출물 1,000mg/kg 투여에 의해 유의적인 감소( $p < 0.05$ )를 나타내었다.
2. STZ 투여로 감소된 Glycogen 함량과, Glucose-6-phosphate dehydrogenase, Glucokinase 활성도가 밀리타리스 동충하초 열수추출물로 인하여 각각 유의적인 증가( $p < 0.05$ )를 나타내었고, 증가된 Glucose-6-phosphatase 활성도는 유의적인 감소( $p < 0.05$ )를 나타내었다.
3. 이와같이, 밀리타리스 동충하초 열수 추출물 500mg/kg, b.w. 과 1,000mg/kg, b.w. 을 각각 투여한 결과 500mg/kg 보다는 1,000mg/kg 투여군에서 혈당 저하 와 정상적인 당 대사 활성을 갖는 유효성분을 함유하고 있음을 알 수 있었다.

### 감사의 글

본 논문은 2011학년도 대전대학교 학술연구비지원으로 수행된 연구의 결과이며 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

1. National diabetes data group : Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Other Categories of Glucose Intolerance. *Diabetes* **28**, 1039 (1979).
2. A. J. Bames, P. Lockee, and P. R. Seuddo, Its Hypoviscosity a Treatable Component of Diabetic Microcirculatory disease *Lancet* **2**, 789 (1977).
3. N. Ashton, Studies of the Retinol Capillaries in relation to Diabetic and other retinopatheies. *Br. J. ophthalmol.* **47**, 521(1963).
4. L. P. Krall. Oral Hypoglycemics. Joslins Diabetes Mellitus, 12th. ed 412. lea and febiger, philadelphia(1985).
5. H. E. Lebovitz, M. N. Feinglos, The Oral Hypoglycemic Agents, Diabetes Mellitus-Theory and Practice, 3rd ed 591. *Excerpta medica* (1983).
6. A. Hollo, W. Mangeis, M. Dryer, J. Kuhnan and M.W. Rudiger, Biguanide Treatment Increase the Number of Insulin Receptor Sites on Human Erythrocytes. *N. Engl. J. Med.* **305**, 563 (1981).
7. M.N. Kim, S.W. Oh, D.S, Lee and S.S. Ham, Antioxidation and Antimutagenic Effect of the Ethanol Extract from the Effect of the Cordyceps Militalis. *J. Postharv Sci. Technol.* **8**, 109 (2001).
8. T. G Cory, R.J. Suhadonik, B. Desnick and M.A. Rich, Incorporation of Cordycepin(3'-deoxyanenosine) into Ribonucleic Acid and Deoxyribonucleic Acid of Human Tumor Cells. *Biochim. Biophys Acta*, **103**, 646 (1965).
9. S. K. Ko, J. S.Kim, Y. E. Choi, S. J. Lee and K.S. Park, Anti-Diabetic Effect of Mixed Water Extract from Ginseung Radix Rubra, Acanthopanax Cortex and Cordyceps. *K.J. Pharmacogn.* **4**, 337 (2002).
10. O. K .Kim, Antidiabetic and Antioxditive Effects of Lycii Fructus on Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *J. oil chemists Soc.* **25**, 73 (2008).
11. N. P. Peter, K. H. T. Benny, and H. T. Chee, The metabolism of hypoglycemic action of the semi-purified fractions of *Averrhoa bilimbi* in streptozotocin-diabetic rats, *Life Sciences*, **70**, 535 (2001).
12. S. J. Lim, H. K. Man, and J. H. Ko, Effect of Edible and Medicinal Plants Intake on Blood Glucose, Glycogen and Protein Levels in Streptozotocin Induced Diabetic rats. *Kor. J. Nutri. Soci.* **36**, 981 (2003).
13. O. K. Kim, S. Y. Park and K. H. Cho, Effect of *Commelina Commumis* Extract on Blood Glucose Level and Changes in Enzymatic Activity in Alloxan diabetic rats. *Kor. J. Pharmacogn.*, **22**, 225 (1991).
14. S. Y. Cho, Cultivation and Distribution of Silkworm-Dongchunghacho(*Paecilomyces Japonica*), 1st International Symposium

- on *Codyceps*. *Kor. J. Soc. Food Sci Nutr.* **1**, 73 (1999).
15. G. Mithieux, H. Vidal, C. Zitoun, N. Bruni, N., Daniele and C. Minassian, Glucose-6-phosphatase m-RNA and Activity are Increased to the same Extent in Kidney and Liver of Diabetic Rats, *Diabetes*, **45**, 891 (1996).
  16. 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).
  17. 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).
  18. 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).
  19. J. K. Grovwe, V. V. Vats and S.S. Rathi, Antihyperglycemic Effect of *Eugenia Jambolana* and *Tinospora Cordifolia* in Experimental Diabetes and their effects on Key Metabolic Enzymes Involved in Carbohydrate Metabolism. *J. of Ethnopharmacology*, **73**, 461 (2000).
  20. M. Vessal and M. Hemmati, Antidiabetic Effects of Quercetin in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Comp. Biochem. Physiol., Toxicol. Pharmacol.*, **135**, 357 (2003).