추출용매 변화에 따른 바나바(*Lagerstroemia speciosa* Pers.) 잎 추출물의 항당뇨 효과김균하 · 노상근 · 이춘일¹ · 김춘봉¹ · 김안드레² · 최원철*부산대학교 생물학과, ¹중국 요녕중의약대학, ²부산대학교 화학과 · 기능성물질화학연구소

Received September 12, 2008 / Accepted September 25, 2008

Anti-diabetic Effects of Banaba Leaf Extracts (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) through Solvents. Kyun Ha Kim, Sang Geun Roh, Chun-Ri Li¹, Chun-Feng Jin¹, Andre Kim² and Won Chul Choi*. *Department of Biology, College of Natural Sciences, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea, ¹Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China, ²Department of Chemistry and Chemistry Institute for functional materials, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea* - This study investigated that the antidiabetic effects of banaba extracts with variety solvents selectivity in vitro and in vivo. Banaba extracts were prepared with water, 70% ethanol, 90% ethanol, 100% ethanol and water-ethanol that of extract twice times sequentially water and ethanol. Cell toxicity and insulin secretion of banaba extracts was tested by MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay on hamster insulinoma cell line, HIT-T15. Also we tested that insulin, body weight, blood glucose, total cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride and free fatty acid in streptozotocin diabetic rats. Water-ethanol extract has remarkable antidiabetic effect compare with the other banaba extracts. For water-ethanol extract has both of hydrophilic and hydrophobic antidiabetic materials from banaba. Especially, corosolic acid, as known as unique polyphenol, has antidiabetic effect studied by many researchers till nowadays. But corosolic acid does not solve in water. Otherwise, we suggest that banaba extract of hydrophilic and hydrophobic materials (polyphenol and antioxidants) mixture more increased antidiabetic effects.

Key words : Banaba (*Lagerstroemia speciosa* Pers.), diabetes, polyphenol, water-ethanol extract, antidiabetic effects

서 론

당뇨병(diabetes mellitus)은 체내 포도당의 흡수가 정상적으로 일어나지 않아 발생하는 병으로 carbohydrate, lipid, lipoprotein metabolism의 비정상화로 특징되며 고혈당(hyperglycemia) 뿐만 아니라 고지혈증(hyperlipidemia), 저인슐린증(hyperinsulinemia) 혹은 고혈압(hypertension), 동맥경화(atherosclerosis) 등과 같은 많은 합병증을 유발한다[4]. 그러나 당뇨병의 치료와 관련된 경구투여약물들의 부작용으로 인해[2,8,9,16] 최근에는 약용식물들(herb plants)에 대한 관심이 높아지고 있으며[10] 400여 종이 넘는 약용식물들이 혈당을 낮추는 효과를 가지고 있는 것으로 보고되고 있다[1,6].

이들 식물들은 주로 씨앗(seeds), 열매(fruits), 잎(leaves), 껍질(bark) 등에 함유되어 있는 polyphenols 류가 주로 이용되고 있다[15]. 폴리페놀(polyphenol)의 특징은 외부의 침입자들에 대항하여 식물을 보호하는 역할을 가지며[5] 인체 건강에도 중요하게 작용한다[18]. 따라서 약용식물의 항당뇨 효과는 이들에게 함유된 여러 flavonoids, glycosides, terpenoids 등에 의해 발휘되며[3,7,17] 혈당조절 완화에 유용한

작용하고 있다.

흔히 바나바(banaba)로 불리는 *lagerstroemia speciosa*는 그 동안 대표적인 항당뇨 활성을 가진 식물로 알려지고 있으며 혈당을 낮추는 효과는 1940년 초에 처음으로 보고되었으며[12] 이후 추가 연구[13,14]를 통해 이들의 혈당조절효과가 검증되었다. 기존 바나바를 항당뇨 효과를 위한 추출방법으로는 70~90% 에탄올을 사용한 추출법을 많이 사용하는데 본 연구에서는 기존의 바나바 추출 방법과는 다른 100% 열수(hot water)와 100% 에탄올로 혼합하지 않고 각각 독립된 추출과정을 거쳐 추출한 물질과 기존의 70~90% 에탄올추출물로 알려진 기존 제품을 비교함으로써 추출방법에 따른 항당뇨 효과의 변화를 관찰하였다. 항당뇨 효과를 나타내는 대표적인 바나바의 함유물질은 폴리페놀류로 알려지고 있다. 하지만 폴리페놀류는 그 종류가 너무 많고 구조나 특성이 다양하여 추출 용매에 따른 용해도의 차이를 나타내기도 한다. 따라서 이러한 문제점을 해결하기 위하여 친수성용매와 소수성 용매로 각각 추출한 후 혼합한 추출물(열수에탄올 추출물)을 얻어 기존의 추출물들과 비교분석 하였다. 세포독성 실험과 β 세포(cell) 인슐린(insulin) 분비 실험, 당뇨유발쥐들의 혈당측정, 인슐린 농도 측정, 총콜레스테롤(total cholesterol: TC), HDL-cholesterol (HDL-C), triglyceride (TG), free fatty acid (FFA) 농도를 각각 측정하여 비교분석 하였다.

*Corresponding author

Tel : +82-51-510-2262, Fax : +82-51-510-3736

E-mail : wcchoi@pusan.ac.kr

재료 및 방법

재료

본 실험에서 사용한 바나바(*Lagerstroemia speciosa* Pers.) 잎 추출물은 90% 에탄올 추출물인 일본산(한국, Wellness banaba사로부터 구입)과 70% 에탄올 추출물인 미국산(미국, New Direction Aromatics사로부터 구입)을 사용하였고, 바나바 잎을 열수(hot water)로 한번 추출 후 다시 100% 에탄올로 재추출과정을 반복한 후 두 추출물을 혼합 건조한 제품(한국, (주)트리플엔사로부터 구입)을 사용하였다. 또한 바나바 열수추출과 100% 에탄올 추출물을 각각 얻기 위하여 필리핀 마닐라 지역에서 채배된 5년생 이상의 바나바 잎(필리핀, Carica herbal health products, inc/Carica Green life co.로부터 수입)을 사용하였다. 사용된 에탄올은 Aldrich사의 제품을 사용하였다.

세포 독성 실험

HIT-T15 Cell을 각 well 당 5×10^3 개로 24well에 분주한 후 포도당을 제거한 RPMI 1640 배양액에서 37°C 5% CO₂ incubator 조건으로 24시간 동안 배양하였다. 앞에서 준비한 5가지 바나바 잎 추출물에 증류수를 이용하여 50 µg/ml 농도로 조정 한 후 extract 당 3개씩의 well에 분주하여 다시 24시간 동안 배양시켰으며 바나바 추출물을 처리하지 않은 3개의 well을 control로 사용하였다. 각 well의 인슐린 농도는 인슐린 측정 kit를 이용하여 반응시킨 후 450 nm에서 흡광도를 측정하여 산출하였다.

β cell 인슐린 분비 실험

인슐린 분비 실험을 위해 Hamster pancreas β cell인 HIT-T15를 Korean Cell Line bank (서울, Korea)로부터 구입하였으며 사용된 미디어는 RPMI 1640 (Gibco BRL Life Technology, USA) 10% fetal bovine serum (Gibco BRL Life Technology, USA)과 1% penicillin/ streptomycin (Gibco BRL Life Technology, USA)을 첨가하여 사용하였고 37°C 5% CO₂ 하에서 배양에 사용하였다.

인슐린 분비 측정에는 Rats Insulin ELISA Kit (Shibayagi, Gunma, Japan)을 이용하였으며 Sunrise Remote Control (TECAN, Salzburg, Austria)로 결과를 reading하였다.

바나바 잎 추출물들의 성분비 측정

90% 에탄올 추출물(90% EtOH)과 열수에탄올 추출물(Water-EtOH), 열수 추출물(Water)의 성분비 측정은 한국기능식품연구원에 의뢰하여 측정하였다. 측정항목으로는 탄수화물(%), 조단백질(%), 조지방(%), 수분(%), 불용성식이섬유(%), 수용성식이섬유(%), 폴리페놀(%), 코로솔린산(corosolic acid)(%) 등이다.

실험 동물

실험을 위해 사용된 실험 동물은 생후 6주된 Wistar Hannover male 쥐 120마리를 Samtako Experiment Animal (Samtako Bio, Kyung Gi-Do, Korea)로부터 구입하였으며 실험을 위해 1주일 동안 left to acclimatize 하였다. 이들은 실온 22±2°C 상대습도 55±5% 그리고 12시간 낮과 12시간 밤의 조건으로 관리되었으며 실험기간동안 standard pellets (Samtako Bio, Kyung Gi-Do, Korea)와 water에 대해 free access하였다.

실험 동물의 당뇨 유발

실험동물의 당뇨유발을 위해 Streptozotocin (STZ) (65 mg/kg)을 0.01 M citrate buffer (pH 4.5)에 녹여 250 µl을 주사로 꼬리에 투여하였다. STZ를 투여한지 3일 후 꼬리정맥에서 혈액을 채취하여 혈당이 300 mg/dl 이상인 쥐를 당뇨유발로 간주하였으며 7일 후에 실험에 이용하였다. 혈당의 측정에는 ACCU-CHEK Active (Roche, Germany)를 이용하였으며 측정기의 포도당 측정범위 한계인 600 mg/dl를 초과하는 쥐는 실험에서 제외하였다.

바나바 추출물들의 경구투여

본 실험에서는 실험 동물의 체중이 유사하도록 선별하였으며 4주간 해당 추출물을 섭취시켰으며 group 당 실험쥐는 20마리씩 사용하였다. 이들 groups의 실험쥐는 매일 체중을 측정하여 체중 1 kg당 1.5 ml 기준으로 해당 바나바 추출물을 1일 2회씩 경구투여 방식으로 섭취시켰으며 정산쥐와 당뇨유발쥐는 동량의 생리식염수를 섭취시켰다.

실험 동물들의 항당뇨 효과 변화 측정

혈액 내 콜레스테롤과 지질의 농도를 측정하기 위하여 ADVIA 1650 (Bayer, Deerfield, IL, USA)를 사용하였고, 조직절편의 동위원소측정을 위하여 Gamma counter COBRA-II Packard, Ramsey, MN, USA)장비를 이용하였으며 인슐린 농도는 Sensitive Rat RIA kit (Linco research, Billerica, MA, USA)로 분석하였다. 또한 조직의 절편을 만들기 위해서 Rotary microtome (Leica, Wetzlar, Germany)를 사용하였다. Periodic Acid-Schiff (PAS) stain은 SS002 Kit (BioGenex, San Ramon, CA, USA)를 사용하였고 면역조직화학적 염색(immunohistochemical stain)의 1차 항체(primary antibody)는 mouse anti-insulin (BioGenex, San Ramon, CA, USA)를 사용하였고, 2차 항체(secondary antibody)는 Super Sensitive™ polymer-HRP detection kit (BioGenex, San Ramon, CA, USA)를 이용하였다.

혈액의 채취는 실험군 별로 매주 5마리의 실험쥐를 ethyl ether를 이용하여 마취한 후 흉부를 절개하여 주사기로 심장에서 직접 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 즉시 4°C 4,000

rpm으로 10분간 원심분리하여 serum을 -70°C 에서 냉동 보관하였으며 4주간의 실험이 완료된 후 glucose, 인슐린, 총콜레스테롤(TC), HDL-cholesterol (HDL-C), triglyceride (TG), free fatty acid (FFA) 농도를 측정하였다.

조직검사를 위하여 실험 4주에 혈액샘플을 채취한 실험동물은 생리식염수를 심장에 주사하여 장기에 남아있는 잔여혈액을 제거한 후 채장을 분리하였다. 분리된 이들 조직은 생리식염수로 세척하여 10% Neutral formalin 용액에 12시간 고정하였고, 다시 12시간 동안 수돗물로 수세하여 고정액을 제거한 후 탈수, 투명, 침투 과정을 거쳐 파라핀으로 포매하였다. 파라핀에 포매된 각 조직은 $4\ \mu\text{m}$ 크기의 조직절편으로 박절하여 채장을 immunohistochemical 염색인 Avidin-biotin complex (ABC)를 통해 인슐린 함유를 분석하였다.

결과 및 고찰

바나바 추출물들의 세포 독성 측정

5가지 바나바추출물(Water-EtOH, 90% EtOH, 70% EtOH, EtOH, Water) 시료 모두 바나바잎 추출물을 처리하지 않은 control에 비해 세포 생존율이 높아($p<0.01$) 모두 인체에 무해한 것으로 나타났다(Fig. 1).

바나바 추출물들의 인슐린분비실험

5가지 바나바 추출물 시료의 β cell에 대한 인슐린 분비는 Fig. 2와 같다. 시료들의 인슐린 분비능은 모두 대조군에 비해 유의하게 높았으며($p<0.01$), 이들 중에서는 열수추출물이 100% 주정 추출물보다 높았으며, 열수에탄올추출물(Water-EtOH), 70% 에탄올추출물(70% EtOH), 90% 에탄올추출물(90% EtOH)의 순서로 인슐린 분비 경향성을 나타내었다.

이러한 결과는 추출용매에 따른 용해도(solubility) 차이에 의한 것으로 바나바 잎의 유효성분을 추출하는데 있어 에탄올의 함량이 높을수록 소수성 항당뇨 관련 물질들이 많이 추

Fig. 1. Cell viability of treated HIT-T15 cells using MTT assay. Cell were treated with banaba extracts for 48 hr. $p<0.05$ vs. untreated control.

Fig. 2. Effect of banaba extracts on insulin secretion of normal HIT-T15 Cells. $p<0.001$ vs control.

출되며 친수성 항당뇨 활성 관련 물질들은 덜 추출되거나 추출되지 않기 때문이다. 지금까지 알려진 바나바 잎에 함유된 항당뇨 활성 폴리페놀 성분인 코로소린산은 물에는 거의 녹지 않는 소수성 물질이다. 따라서 많은 연구자와 기업은 에탄올의 비율을 높은 용매를 사용하여 바나바 잎에서 항당뇨 물질을 추출하였다. 하지만 바나바에 관한 연구가 진행되어진 약 60여년 후인 2007년에 Klein *et. al.*에 의해서 코로소린산이 직접적으로 항당뇨 효과가 있는 물질이 아니라는 주장에 제시되었고[18], 이것은 바나바잎의 단일 성분이 항당뇨 활성을 나타내는 것이 아니라 여러 가지 복합된 물질들이 어우러져 항당뇨 활성을 나타내어지는 것이다. 따라서 본 연구에서는 친수성 물질과 소수성 물질은 순차적으로 추출하여 혼합한 추출물이 친수성 및 소수성 폴리페놀을 가장 이상적으로 녹여내어 뛰어난 항당뇨활성을 갖는다고 생각된다. 대표적으로 알려진 친수성 폴리페놀은 lagerstroemin, gallo-tannin, penta-O-galloyl-D-glucopyranose (PGG) 등이 있다 [18]. Fig. 3은 lagerstroemin의 구조이다.

Fig. 3. The structure of lagerstroemin.

바나바 잎 추출물들의 성분비 측정

Table 1에서와 같이 90% 에탄올 추출물과 열수에탄올 추출물, 열수추출물의 성분비에서 보면 특이할 만한 것은 폴리페놀성분으로 90% 에탄올 추출물과 열수추출물이 각각 522.37 mg/100 g과 511.69 mg/ 100 g인데 비하여 열수에탄올 추출물은 1,384.61 mg/ 100 g의 높은 함유량을 나타내었다. 코로소린산도 바나바잎에 함유되어있는 대표적인 폴리페놀의 한 종류이지만 Klein *et. al.*에 의해서 코로소린산이 직접적으로 항당뇨효과가 있는 물질이 아니라는 주장을 뒷받침해 준다[18]. 90% 에탄올 추출물과 열수에탄올 추출물, 열수추출물 등 3가지 물질이 각각 코로소린산을 1.47%, 1.02%, 0.004%로 모두 다른 함유량을 보이지만 인슐린 분비능은 이와 비례하지 않게 나타나고 있기 때문이다. 이에 비례 폴리페놀의 함량과 인슐린의 분비능은 밀접한 관련이 있는 것으로 나타났다.

실험 동물들의 항당뇨 효과 변화 측정

실험 동물들의 체중 증가는 Table 2와 같다. 실험 직전과 비교하여 당뇨 유발쥐의 체중은 통계적으로 유의한 차이가 없어 제1형 당뇨병의 특징인 체중 감소를 나타내었다. 바나바추출물 섭취한 쥐의 체중은 실험 전에 비해 유의한 증가량을 보였으며($p<0.05$) 그 증가량은 당뇨유발 대조군에 비해 열수에탄올 추출물이 가장 높아($p<0.01$) 당뇨병으로 유발된 체중감량을 가장 많이 개선되었다.

실험군들의 glucose 농도 변화는 Table 3과 같으며 혈액

Table 1. The contents of banaba extracts by variety solvents

	90% EtOH	Water-EtOH	Water
Carbohydrate (%)	21.82	6.69	6.85
(except dietary fiber)			
Curde protein (%)	4.31	5.16	6.69
Curde fat (%)	8.44	14.67	0.19
Miosture (%)	4.58	2.69	3.17
Insoluble dietary fiber (%)	13.59	11.01	8.28
Soluble dietary fiber (%)	39.31	38.53	60.63
Polyphenol (mg/100 g)	522.37	1384.61	511.69
Corosolic acid (%)	1.47	1.02	0.0004

Table 2. Effect of Banaba extract on rat's body weight

Group	Body weight (g)		
	Initial	Final	Gain
NC	206.8±2.9	311.0±1.8	104.2±0.5
DC	186.5±16.9	191.4±15.2	4.9±0.7
70% EtOH ex.	190.1±9.8	209.0±8.8	18.9±0.3
90% EtOH ex.	189.1±12.8	202.3±12.1	13.2±0.7
100% EtOH ex.	187.2±20.7	198.1±20.6	10.9±1.8
Water ex.	188.7±10.2	205.5±10.4	11.8±0.6
Water ex.+EtOH ex.	191.9±7.8	213.2±8.9	21.3±0.8

Table 3. Effect of Banaba extract on rat's blood glucose concentration

Group	Glucose concentration (mg/dl)			
	1 week	2 week	3 week	4 week
NC	182.3±18.7	193.7±8.7	194.2±8.7	181.6±21.8
DC	564.9±12.5	589.5±10.9	648.8±18.7	651.2±28.5
70% EtOH ex.	452.9±18.5	555.0±28.5	541.8±19.0	525.8±19.2
90% EtOH ex.	458.8±16.4	510.9±21.2	542.1±20.6	531.8±11.1
100% EtOH ex.	451.6±23.4	549.1±10.9	576.1±30.1	532.0±11.6
Water ex.	445.3±19.2	498.0±15.1	534.2±22.8	519.0±22.0
Water ex.+ EtOH ex.	458.2±18.0	492.1±25.4	513.1±18.0	501.2±12.8

중 glucose 농도는 계속 증가하였고 실험 3주부터는 648.8 mg/dl 이상으로 매우 높아 당뇨병의 특징인 고혈당이 유발된 것으로 나타났다. 반면에 열수에탄올 추출물을 섭취한 당뇨 유발쥐의 glucose 농도는 실험 1주부터 당뇨유발 대조군에 비해 유의하게 낮았으며($p<0.01$) 실험 4주에는 당뇨유발 쥐에 비해 23.0% 감소하였다. 90% 에탄올 추출물을 섭취한 쥐의 glucose 농도 또한 당뇨유발 대조군에 비해 실험 1주부터 유의하게 낮았으며($p<0.01$) 실험 4주에는 diabetes 쥐에 비해 18.3% 낮게 나타났다. 그러나 실험 4주의 glucose 농도는 열수에탄올 추출물이 90% 에탄올 추출물에 비해 유의하게 낮아($p<0.01$) 열수에탄올 추출물이 더 당뇨 개선효과가 높은 것으로 나타났다.

70% 에탄올 추출물을 섭취한 쥐의 glucose 농도는 실험 1주부터 대조군에 비해 조금 낮았으며($p<0.01$) 실험 4주에는 당뇨 유발쥐에 비해 19.3% 감소하였다. 100% 에탄올 추출물을 섭취한 쥐의 glucose 농도 또한 90% 에탄올 추출물과 비슷한 18.3% 낮게 남을 확인하였다.

실험군들의 인슐린 농도 변화는 Table 4와 같이 당뇨 유발 쥐의 인슐린 농도는 실험 2주부터 증가하여 당뇨 개선효과를 나타내었다. 열수에탄올 추출물과 90% 에탄올 추출물을 섭취한 쥐의 인슐린 농도는 당뇨 유발쥐에 비해 실험 3주와 4주에 유의하게 높았고(실험 3주: $p<0.05$, 4주: $p<0.01$) 특히 실험 4주에서는 각각 2.8와 2.1배로 높았다.

Table 4. Effect of Banaba extract on rat's serum insulin concentration

Group	Insulinconcentration (pg/dl)			
	1 week	2 week	3 week	4 week
NC	810.5±10.1	816.1±12.0	820.4±11.5	812.5±15.0
DC	116.5±3.1	107.1±3.3	101.9±3.0	100.8±2.9
70% EtOH ex.	128.9±4.1	150.2±6.2	191.4±3.0	261.4±6.0
90% EtOH ex.	120.1±6.4	149.4±6.0	189.2±6.1	214.1±6.0
100% EtOH ex.	105.1±4.0	120.8±4.1	150.2±5.4	191.4±5.8
Water ex.	110.4±2.9	138.9±1.2	164.9±3.1	207.9±4.2
Water ex.+EtOH ex.	129.2±1.8	163.5±3.1	200.3±3.4	280.5±3.6

나머지 바나바 추출물을 섭취한 쥐들의 인슐린 농도 역시 당뇨 유발쥐에 비해 실험 3주와 4주에 1.9배에서 2.6배 증가하였다.

실험군들의 총콜레스테롤(total cholesterol: TC) 농도의 변화는 Fig. 4와 같다. 당뇨 유발쥐의 TC 농도는 계속 증가하여 정상그룹에 비해 높았고($p<0.05$), 특히 실험 4주에는 정상쥐에 비해 2배 이상 높은 농도로 증가하였다. 100% 에탄올추출물을 복용한 그룹을 제외하고는 TC 농도는 실험 3주까지 증가한 후 복용 4주째부터 감소하였으며 전체적으로 당뇨 유발쥐에 비해 50% 이상 감소하여 유의한 차이를 보였다($p<0.01$). 열수에탄올추출물과 90%, 70% 에탄올추출물 모두 유발된 콜레스테롤 수치를 개선하였으나 열수에탄올 추출물은 정상쥐와 유사한 TC 농도로 회복한 반면 90% 에탄올추출물은 normal 쥐에 비해 높은 농도를 유지하여 열수에탄올 추출물의 개선효과가 더 높은 것으로 확인되었다.

실험군들의 HDL-cholesterol (HDL-C) 농도의 변화는 Fig. 5와 같다. 정상쥐와 당뇨 유발쥐의 HDL-C 농도는 실험기간 동안 점차 증가하였으며 이들 간에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 열수에탄올추출물을 섭취한 쥐의 HDL-C 농도의 경우 거의 정상쥐와 비슷한 수준으로 나타났다.

실험군들의 triglyceride (TG) 농도의 변화는 Fig. 6과 같다. 당뇨 유발쥐의 TG 농도는 실험기간 동안 정상쥐에 비해 높았고($p<0.01$) 실험 4주에는 정상쥐에 비해 5배 이상 증가하여 비정상적인 지질대사를 나타내었다. 열수에탄올 추출

Fig. 4. Effect of banaba extracts on total cholesterol. NC, Normal control; DC, Diabetic control.

Fig. 5. Effect of banaba extracts on HDL-cholesterol. NC, Normal control; DC, Diabetic control.

Fig. 6. Effect of banaba extracts on triglyceride. NC, Normal control; DC, Diabetic control.

물을 섭취한 쥐의 TG 농도는 당뇨유발쥐에 비해 가장 낮았고($p<0.01$) 실험 4주에는 59.4% 감소하였으나 정상쥐에 비해서는 높았다($p<0.01$). 90% 에탄올 추출물을 섭취한 쥐의 TG 농도 또한 실험기간 동안 당뇨유발쥐에 비해 낮았고($p<0.05$) 실험 4주에는 이들에 비해 약 55.8% 정도 감소하였으나($p<0.05$) 열수에탄올추출물을 섭취한 쥐에 비해서는 높았다. 즉 에탄올의 농도가 진한 추출물일수록 혈액 내 TG의 농도를 정상적으로 낮추는 효과가 떨어졌으며 또한 100% 열수로만 추출한 추출물 역시 최고의 효과를 나타내지는 못하였다. 실험군들의 free fatty acid (FFA) 농도의 변화는 Fig. 7과 같다. 당뇨유발쥐의 FFA 농도는 계속 증가하여 실험 2주부터 정상쥐에 비해 높았고($p<0.01$) 특히 실험 4주에는 정상쥐에 비해 4배 이상 높게 증가하여 비정상적인지질대사를 나타내었다. 열수에탄올추출물을 섭취한 쥐의 실험 4주의 FFA 농도는 당뇨유발쥐에 비해 약 4배 이상 감소하였고($p<0.01$) 정상쥐와 비교해도 유의한 차이가 없었다. 90% 에탄올 추출물을 섭취한 쥐의 실험 4주의 FFA 농도는 당뇨 유발쥐에 비해 약 52.5% 감소하였으나($p<0.01$) 열수에탄올추출물과 90% 에탄올추출물은 증가한 FFA 농도를 개선하였으며 그 효과는 열수에탄올추출물이 더 높은 것으로 확인되었다.

실험군들의 Langerhans' islet의 인슐린 염색 결과는 Fig. 8과 같다. 정상쥐의 Langerhans' islet의 형태는 큰 타원형이며 이들 조직의 대부분이 인슐린 염색에서 양성인 yellow-brown로 나타나 정상적인 β cell의 생존과 인슐린 분비

Fig. 7. Effect of banaba extracts on free fatty acid concentration. NC, Normal control; DC, Diabetic control.

Fig. 8. Effect of banana extracts on secretion of insulin in islets cell (ABC stain 400 $\times$). STZ-diabetic rats were fed of banana extracts for 3 weeks. Secretion of Insulin is yellow brown stain. A, Normal control rats; B, Diabetic control rats; C, Diabetic rats fed with 90% ethanol extract D, Diabetic rats fed with water extract E, Diabetic rats fed with water-ethanol extract.

를 나타내었다. 그러나 당뇨유발쥐의 Langerhans' islet은 크기가 매우 작고 수축된 형태를 나타내었고 인슐린 양성 부분도 거의 없어 type 1 diabetes로 인한 β cell의 광범위한 파괴와 인슐린 분비 결핍의 특징을 나타내었다. 열수에탄올 추출물과 90% 에탄올 추출물을 섭취한 쥐는 당뇨 유발쥐에 비해 Langerhans' islet이 크고 인슐린 양성인 부분도 중심부에서 점차 증가하였다.

이러한 실험결과와 차이는 바나바이을 추출하는 용매의 특성으로 친수성용매인 물과 소수성용매인 에탄올을 적절히 이용한 추출법이 가장효과적인 항당뇨활성 성분을 얻는 방법이다. 다양한 용매를 바나바 잎 추출에 사용할 수 있지만 식품이나 약품과 같이 인체에 적용되는 부분에는 물과 에탄올이 권장되고 있기 때문에 독성이 강한 소수성 유기용매를 이용한 실험은 수행하지 않았지만 본 연구결과만으로도 친수성 용매와 소수성 용매를 적절히 사용하여 유효성분을 추출하는 것이 항당뇨 효과가 더 우수함을 알 수 있었다.

요 약

본 연구는 바나바 잎 추출 용매에 따른 항당뇨 효과에 관한 것으로 세포 독성 실험을 통하여 인체에 대한 독성이 없음을 확인하였고 β -cell 인슐린 분비 실험을 통하여 항당뇨 효과를 알아보았다. 또한 당뇨 유발쥐를 이용한 인슐린 분비 실험, 체중변화 측정, 혈중 및 혈청의 glucose 농도, 총콜레스테롤 수치, HDL-cholesterol 농도, triglyceride 농도, free fatty acid 농도, langerhans islet에서의 인슐린 분비 의 확인을 통해 혈당 조절 효과를 비교하였다. 물 혹은 에탄올을 단독으로 이용하여 추출한 추출물이나 70%, 90% 에탄올로 추출한 추출물 보다 열수로 먼저 추출한 후 에탄올로 다시 추출하여 혼합한 추출물이 항당뇨 효과가 더 뛰어남을 알 수 있었다. 이는 친수성

(hydrophilic) 유효성분들과 소수성(hydrophobic) 유효성분들의 추출 유무나 함량에 의한 것이다. 특히, 많은 문헌에 언급된 코로소린산이라는 단일 성분(unique)에 의한 항당뇨 효과라기보다는 친수성 및 소수성 폴리페놀 및 항산화성분과 같은 유효성분들이 조합되어(mixture) 항당뇨 효과에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2005년도 정부재원(교육과학기술부 학술연구조성사업비)의 한국학술진흥재단 지원(KRF-2005-075-C00017)과 ㈜트리플엔의 지원에 의해 연구된 것입니다.

References

- Bailey, C. J. and C. Day. 1989. Traditional plant medicines as treatments for diabetes. *Diabetes Care* **12**, 553-564.
- Braunwald, E., A. S. Fauci, D. L. Kasper, S. L. Hauser, D. L. Longo and J. L. Jameson. 2001. Harrison's Principles of Internal Medicine. pp. 2109-2137, 15th eds., McGraw-Hill, New York.
- Cetto, A. A. and H. Wiedenfiend. 2001. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on STZ diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* **78**, 145-149.
- Chait, A. and J. D. Brunzell. 1996. Diabetes, lipids, and atherosclerosis. pp. 467-469 In LeRoith D., S. I. Taylor and J. M. Olefsky (Eds.), *Diabetes Mellitus*, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia.
- Dixon, R. A., D. Y. Xie and C. B. Sharma. 2005. Proanthocyanidins-a final frontier in flavonoid research. *New Phytol.* **165**, 9-28.
- Ernst, E. 1997. Plants with hypoglycemic activity in human. *Phytomedicine* **4**, 73-78.
- Farkes, L. 1998. Active principles of plants of traditional medicine as models of new drugs. *J. Ethnopharmacol.* **2**, 45-48.
- Holman, R. R. and R. C. Turner. 1991. Oral agents and insulin in the treatment of NIDDM. pp. 467-469 In Pickup J. and G. Williams (Eds.), *Text Book of Diabetes*. Blackwell, Oxford.
- Kameswara, Rao, B., R. Giri, M. M. Kesavulu and C. Apparao. 1997. Herbal medicine: in the management of diabetes mellitus. *Manphar. Vaidhya. Patrika.* **1** 33-35.
- Kar, A., B. K. Choudhary and N. G. Bandyopadhyay. 2003. Comparative evaluation of hypoglycaemic activity of some Indian medical plants in alloxan diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* **84**, 105-108.
- Klein, G., J. K. Kim, K. Himmeldirk, Y. Y. Cao and X. Z. Chen. 2007. Antidiabetes and anti-obesity activity of *lagerstroemia speciosa*. *Evid. Based Complement Alternat. Med.* **4**, 401-407.
- Ling-Hua, Z. and X. Pei-Gen. 1993. Recent advances in studies of antihyperlipaemic and antihyperglycemic compounds

- from Chinese traditional and herbal medicines. *Phytother. Res.* **7**, 217-226.
13. Marles, R. J. and N. R. Farnsworth. 1995. Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine* **2**, 137-189.
 14. Perez, G. R. M., S. M. A. Zavala, G. S. Perez and G. C. Perez. 1998, Antidiabetic effect of compounds isolated from plants. *Phytomedicine* **5**, 55-75.
 15. Prior, R. L. and L. Gu. 2005. Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in the American diet. *Phytochemistry* **66**, 2264-2280.
 16. Prout, T. E. 1974. Proceedings VIIIongress of international diabetes federation. pp. 162 *In* Malaisse W. J. and J. Pirart (Eds.), *Excerpta Medica*, Amsterdam.
 17. Vertichevan, T. and M. Jegadeesan. 2002, Anti-diabetic activity of alcholic extracts of *Aerva lanata* (L.) Juss, ex Schultes in rats. *J. Ethnopharmacol.* **80**, 103-107.
 18. Yang, C. S., J. K. Landau, M. T. Huang and H. L. Newmark. 2001, Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compound. *Annu. Rev. Nutr.* **21**, 381-406.