

엄나무 추출물이 3T3-L1 지방세포에서 인슐린 민감성과 인슐린 유사성 작용에 미치는 영향

고병섭* · 김호경 · 박선민¹

한국한의약연구원 검사사업부, ¹호서대학교 식품영양학과

(2001년 9월 12일 접수, 2001년 12월 14일 수리)

국내의 한약재 시장 등에서 당뇨병의 민간요법 약재로 많이 판매되고 있는 엄나무(*Kalopanax pictus* NAKAI) 수피의 열수 추출물에서 인슐린성 물질과 인슐린 민감성 약제로서의 가능성을 탐색하기 위해 3T3-L1 섬유아세포(fibroblast)가 3T3-L1 지방세포(adipocytes)로 분화할 때 미치는 영향과 지방 세포내로의 포도당 섭취(glucose uptake)에 미치는 영향을 조사하였다. 엄나무의 수피를 열수 추출하고 동결건조하여 만든 분말 엑스시료를 증류수에 녹여 각각 10 µg/ml 및 1 µg/ml로 3T3-L1 섬유아세포를 처리한 후, 분화유도 물질만을 첨가한 대조군의 분화 정도를 100%로 정하였을 때 이에 대한 백분율로 환산하여 결정하였다. 분화유도물질이 첨가되지 않은 경우 1 µg/ml와 10 µg/ml의 농도에서 각각 115.4 ± 5.1% (p<0.05)와 122.3 ± 2.1% (p<0.05)로 유의성있게 분화를 촉진시켰다. 분화유도물질을 첨가하였을 때, 1 µg/ml에서는 127.0 ± 5.3% (p<0.001) 분화를 촉진시켰고, 10 µg/ml에서는 분화에 거의 변화가 없었다. 3T3-L1 지방 세포내로의 포도당 섭취량은 소량의 인슐린(3 ng/ml)과 함께 0-10% 메탄올 분획층(Fr. 1)과 30% 메탄올 분획층(Fr. 3)을 0.3와 3 µg/ml 첨가하였을 때 분획층을 첨가하지 않은 대조군에 비해 모두 3.3 ± 0.5배 증가시켜 인슐린 50 ng/ml에서 반응하였을 때와 유사한 섭취 정도를 나타내었다. 엄나무의 수피는 인슐린성 물질을 함유하고 있으며, 추출물을 분획한 Fr. 1과 Fr. 3은 인슐린 저항성을 감소시키는 물질이 함유되어 있어 인슐린 민감성 제제로 개발할 수 있는 가능성을 암시하고 있다.

Key words: 엄나무, 3T3-L1, 인슐린성 물질, 포도당 섭취(glucose uptake), 인슐린 저항성, 인슐린 민감성

서 론

당뇨병은 인슐린의 절대적 또는 상대적 결핍 및 조직에서의 인슐린 작용 저하(인슐린 저항성)에 기인한 고혈당 및 이에 수반되는 대사장애를 특징으로 하는 질환군으로 제1형인 인슐린 의존형 당뇨병(Insulin dependent diabetes mellitus, IDDM)과 제2형인 인슐린 비의존형 당뇨병(Non-insulin dependent diabetes mellitus, NIDDM)으로 분류하고 있고, 우리나라의 경우 당뇨병 환자의 95% 이상이 인슐린 비의존형인 제2형 당뇨병이다.

3T3-L1 지방세포(adipocytes)는 *in vivo*에 존재하는 대사성 피이드백 루프에 관련되어 있는 복잡한 문제와 연루되어 있지 않은 지방세포로 3T3-L1 전지방세포(pre-adipocytes)는 인슐린이나 그와 유사한 유도물질의 존재 하에서 지방세포로 분화하는 특성이 있고, 분화한 지방 세포는 인슐린 수용체와 GLUT4를 세포막에 가지고 있어 인슐린이 인슐린 수용체와 결합하여 신호 전달과정을 통해 포도당의 섭취를 조절하는 역할을 가지고 있어서 인슐린의 작용력을 향상시키는 물질을 탐색하고 인슐린 신호전달체계를 연구하는 모델로 많이 이용하고 있다.^{1,2)}

식물의 2차대사물에 항당뇨 생리활성 연구는 혈당이나 혈중 인슐린 농도 및 α-glucosidase 저해활성에 대한 연구가 대부분

으로, 항상성 유지와 기능의 조절 역할을 담당하는 Biological Response Modifier(BRM)로서 작용하거나 세포들의 수용체의 기능을 조절함으로써 치료 효과를 내는 인슐린 저항성과 인슐린 분비능 및 작용력에 대한 측정이나 물질 탐색과 관련된 연구는 거의 없는 실정이다. 근래 동·식물에서 인슐린처럼 작용하는 물질(인슐린성 물질, Insulin like substances)이 존재하고 있음이 확인되어 새로운 당뇨병 치료제의 선도 물질로서 이용 가능성을 시사하고 있다.^{3,4)}

Takaku 등⁵⁾은 마황에서 norpseudoephedrine을 분리하여 인슐린성 물질을 확인하였고, Kameda 등⁶⁾도 royal jelly에 함유하고 있는 불포화지방산 trans-10-hydroxy-2-decanoic acid가 인슐린성 물질임을 확인하여 royal jelly가 당뇨병 예방 및 치료에 효과가 있음을 보고하였다. 또한, Krenisky 등⁷⁾은 페루 전통의 약식물 *Otholobium pubescens*에서 bakuchiol을 분리하여 인슐린 민감성에 관여하고 있는 물질이라고 보고하였다. 또한, Hong 등⁸⁾은 인삼, 천문동, 황금, 지골피, 황백, 맥문동으로 구성된 혼합처방이 3T3-L1 지방세포에서 포도당 섭취를 증가시켰다고 보고하고 있다.

본 연구에서는 국내의 한약재 시장 등에서 당뇨병의 민간요법 약재로 많이 팔고 있는 엄나무(*Kalopanax pictus* NAKAI)에서 인슐린성 물질과 인슐린 민감성 약제로서의 가능성을 탐색하기 위해 3T3-L1 지방세포 모델을 이용하여 3T3-L1 섬유아세포(fibroblast)가 3T3-L1 지방세포로 분화할 때 미치는 영향과 지방세포로의 포도당 섭취를 살펴보았다.

*연락처

Phone: 82-2-3447-7985; Fax: 82-2-3442-0220
E-mail: bsko@kiom.re.kr

재료 및 방법

한약재료. 본 실험에 사용한 업나무(*Kalopanax pictus* NAKAI)의 수피는 서울 경동시장에서 구입하여 한국한의학연구원에서 보관하고 있는 표본과 비교하여 엄격하게 선정한 후, 우석대학교 본초학교실의 주영승교수가 감정한 것을 사용하였고, 일련 번호를 붙이고 한국한의학연구원 표본실에 보관하고 있다.

시료의 조제. 업나무의 수피 1 kg에 증류수 10 l을 넣고 2 시간 열수로 2회 반복 추출한 후 거즈로 여과하고 2000 rpm으로 원심분리하여 상정액을 회전진공 농축기에서 감압농축한 후 동결건조하여 분말 엑스시료 279.8 g을 만들었다. 분말 엑스시료를 물에 현탁시킨 후 메탄올을 증량시켜 극성을 변화시키면서 Amberlite XAD-4 gel을 충전한 column chromatography를 실시하여 0~10% 메탄올(**Fr. 1**), 10~30% 메탄올(**Fr. 2**), 30% 메탄올(**Fr. 3**), 30~50% 메탄올(**Fr. 4**), 60~90% 메탄올(**Fr. 5**) 및 90~100% 메탄올(**Fr. 6**)으로 나누어 분획하여 저온에서 감압농축 후 동결건조하여 사용하였다.

균주 및 배지. 실험에 사용한 3T3-L1 세포는 한국세포주은행에서 구입하였고 10% fetal bovine serum(FBS), gentamycin(100 units/ml), streptomycin(100 µg/ml) 등을 첨가한 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM)에서 배양하였다. 3T3-L1 섬유아세포는 배양 3일 간격으로 배양세포 표면을 phosphate buffered saline(PBS, Sigma) 용액으로 씻어준 후 50 ml flask당 1 ml의 0.25% trypsin-EDTA 용액을 넣고 실온에서 1분간 처리한 다음 trypsin 용액을 버리고 37°C에서 5분간 보관하여 세포를 탈착하여 계대배양하였다. 탈착된 세포는 10% FBS가 첨가된 DMEM 배양액 10 ml에 부유시킨 다음 새로운 배양용기(50 ml culture flask)에 옮겨 1:20의 split ratio로 CO₂ 배양기(37°C, 5% CO₂)에서 배양하였다.

인슐린성 물질 탐색 실험. 혈구계산기(Hemocytometer)로 계산된 5×10³ cells/ml의 세포를 24 well plate의 각 well에 넣고 PBS로 세척한 후 10% FBS를 함유하고 있는 DMEM 배지에서 2일 동안 배양한 후, 새로운 DMEM 배지로 갈아주고 열수로 추출한 업나무 시료를 각각 10 µg/ml 및 1 µg/ml로 첨가하여 5일간 배양하였다. 그리고, 인슐린과의 관계를 알아보기 위해, 분화유도물질인 dexamethasone(DEX, Aldrich) 0.25 M, 1-methyl-3-isobutylxanthine(MIX, Aldrich) 0.5 mM, insulin(10 µg/ml, Sigma)이 함유된 DMEM 배지에 증류수로 녹인 시료를 각각 10 µg/ml 및 1 µg/ml로 첨가하여 5일간 배양하였다. 대조군은 분화유도물질만이 함유된 DMEM 배지를 사용하였다. 분화정도의 측정에는 Oil-Red-O로 염색하여 측정하였는데, PBS로 2회 세척 후, 10% formalin을 50 µl씩 첨가(최종농도 3% formalin)으로 30분간 세포를 고정시키고, 증류수로 3회 반복하여 세척하고, 공기 중에서 건조한 다음 Oil-Red-O로 2시간 동안 염색하였다. 염색후 증류수로 3회 세척하고, 공기 중에서 건조시키고 isopropyl alcohol 100 µl씩 분주하여 1시간 동안 용출시켜 ELISA reader(Spectra 340, Molecular Devices)로 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

지방세포내로의 포도당 섭취 실험. 3T3-L1 섬유아세포를 계대배양과 동일한 방법으로 완전히 채워질(confluent 상태)때까

지 배양하였다. 배양용기 바닥을 완전히 채운지 2일 후에 유도 분화 물질을 넣어 3일 동안 배양한 후 2일에 한번씩 DMEM을 새로 바꾸어 주어 지방세포로 완전히 전환된 10-15일 사이에 포도당 섭취 실험을 하였다. 배양용기에 있는 지방세포의 수를 세어 12 well plate의 well을 빈 공간없이 완전히 채울 수 있도록 분주하였다. Well plate에 옮긴 지방세포를 PBS로 세척한 후 1% bovine serum albumin을 함유하고 있는 저농도의 포도당을 함유한 DMEM에서 12시간 이상 지난 후에 HEPES 용액에서 37°C에서 30분 동안 배양한 후 1 µCi/ml의 [¹⁴C]2-deoxyglucose와 1 mM 포도당을 첨가하고 22°C에서 30분 동안 배양하여 포도당의 세포내로의 섭취 정도를 ¹⁴C이 세포내로 이동한 양으로 측정하였다. 비특이적인 포도당 섭취를 배제하기 위해서 glucose transporter 4(GLUT4)의 작용을 억제하는 cyto B와 함께 배양하였을 때의 포도당 이동량을 빼고 세포내로 이동한 포도당의 양을 측정하였다. 세포는 10 mM 포도당을 함유한 PBS으로 세척하고 0.5 N NaOH로 세포를 분해하였다. 분해된 세포를 초산으로 중화시키고 함유된 ¹⁴C의 함량을 베타 counter(Tri-Carb 2100TR, Packard Bioscience, IL)로 측정하였다. 한편, 인슐린 dosage에 따라 3T3-L1 지방세포의 포도당 섭취에 미치는 영향을 조사하기 위해서 인슐린 0, 1, 3, 5, 10, 25, 50, 75 ng/ml에서의 포도당 섭취 정도를 측정하였다.

업나무 추출물 분획이 포도당 섭취에 미치는 영향. 업나무의 수피 추출물 분획을 DMSO에 100 µg/ml로 녹인 후 이것을 PBS에 0.3와 3 µg/ml로 희석시켜 두 가지 농도에서 포도당 섭취를 측정하였다.

업나무의 각 분획에 인슐린 민감성제제가 함유되어 있는지의 여부를 조사하기 위해서 3T3-L1 지방세포에 인슐린 3 ng/ml와 함께 각 분획을 넣고 1시간 동안 배양한 후에 포도당 섭취 정도를 인슐린 50 ng/ml에서의 결과와 비교하였다. 대조군으로 인슐린 0 ng/ml(basal), 3 ng/ml, 인슐린 50 ng/ml을 사용하였다. 모든 실험은 세번 반복하였고, 분리한 물질이 인슐린의 작용에 관계없이 detergent로 작용하여 세포막을 파괴시켜 포도당 섭취를 증가시키는 것을 배제하기 위해서 인슐린이 0 ng/ml에서 분리한 물질과 함께 포도당 섭취를 측정하였을 때 이 값이 기저(basal) 값보다 높은 것은 포도당 섭취를 증가시킨다고 해도 인슐린 민감성 제재로서의 작용이 없는 것으로 간주하였다.

통계적 처리. 세포의 분화능에 미치는 검액의 효과는 대조군의 흡광도에 대한 실험군의 흡광도를 백분율로 환산하여 산정하고, 통계처리는 이항검정 p-value로 처리하였다. 대조군에 대한 p-value는 0.05(*)와 0.001(***)로 유의성을 판정하였다. 업나무 분획을 첨가하였을 때 포도당 섭취가 증가하는 정도는 인슐린 3 ng/ml만을 넣고 측정한 값과 인슐린 3 ng/ml와 업나무 분획을 함께 넣고 측정한 값을 two sample t-test로 통계적 유의성을 검증하였다. 모든 통계 처리의 유의성 검증은 α=0.05로 정하였다.

결 과

인슐린성 물질 탐색. 전지방세포(pre-adipocyte)인 3T3-L1 세포는 생물학적 특성이 잘 밝혀져 있고, 적절한 조건하에서 배

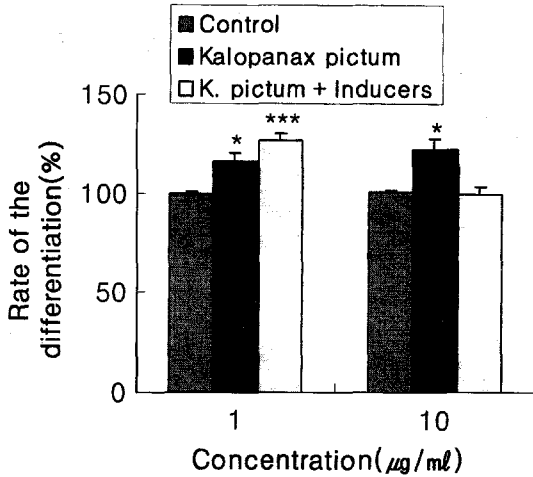


Fig. 1. Effect of fractions of *Kalopanax pictum* NAKAI on 3T3-L1 adipocyte differentiation. ***: Significantly different from control group at $p < 0.001$. *: Significantly different from control group at $p < 0.05$.

양하면 지방세포로 분화하는 성질을 갖고 있어 지방세포의 대사과정에 있어 지방분해 억제 혹은 합성 연구에 사용하고 있는데 인슐린과 같은 유도물질의 존재 하에서는 효소활성을 급격히 증가시켜 분화를 촉진하는 특성을 이용하여 인슐린성 물질의 존재 여부를 탐색하였다.

3T3-L1 섬유아세포는 DMEM/FBS 배지로 통상적인 조건인 37°C의 5% CO₂ 항온기에서 배양되면 doubling time이 20~30 시간 걸린다고 알려져 있으나, 본 실험에 사용한 3T3-L1 섬유아세포의 표준증식을 조사한 결과 doubling time은 16.7시간이었으며 포화밀도(saturation density)는 5×10^4 cells/cm²로 측정되어, 3T3-L1 섬유아세포의 일반적인 증식특성을 보유하고 있는 것으로 확인되었다.

엄나무의 수피를 열수추출하고 동결건조하여 만든 분말 엑스 시료를 증류수에 녹여 각각 10 µg/ml 및 1 µg/ml로 처리하였는데, 분화유도물질인 DEX 0.25 M, MIX 0.5 mM, insulin(10 µg/ml)들을 첨가여부에 따라 분화정도를 백분율로 환산하여 측정하였다. 대조군은 분화유도물질만을 첨가한 것을 100%로 하였다. 분화유도물질을 첨가하지 않고 추출물 1 µg/ml와 10 µg/ml의 농도를 첨가하였을 때 대조군에 비해 각각 $115.4 \pm 5.1\%$ ($p < 0.05$)와 $122.3 \pm 2.1\%$ ($p < 0.05$)로 유의성 있게 분화를 촉진시켰다. 한편, 추출물을 1와 10 µg/ml과 함께 분화유도물질을 첨가하였을 때, 대조군에 비해 1 µg/ml에서는 $127.0 \pm 5.3\%$ ($p < 0.001$)로 분화를 촉진시켰으나, 10 µg/ml에서는 분화 정도가 대조군과 거의 차이가 없었다(Fig. 1).

지방세포내로의 포도당 섭취. 인슐린 0, 1, 3, 5, 10, 25, 50, 75 ng/ml에서의 포도당 섭취 정도를 측정하였을 때 인슐린 농도가 25 ng/ml까지는 인슐린 농도가 증가함에 따라 포도당 섭취가 증가하였고, 25 ng/ml보다 높은 인슐린 농도에서는 세포내로의 포도당 섭취가 인슐린 농도에 따른 차이가 없었다(Fig. 2). 인슐린 dosage response에서 포도당 섭취는 인슐린이 없는 기저값에 비해 인슐린이 1, 3, 5, 10, 25로 증가하였을 때 포도당 섭취는 각각 1.3, 2.4, 4.6, 8.2, 8.8 배로 증가하였으나, 인슐린이 50과 75 ng/ml에서는 25 ng/ml와 통계적으로 차이가

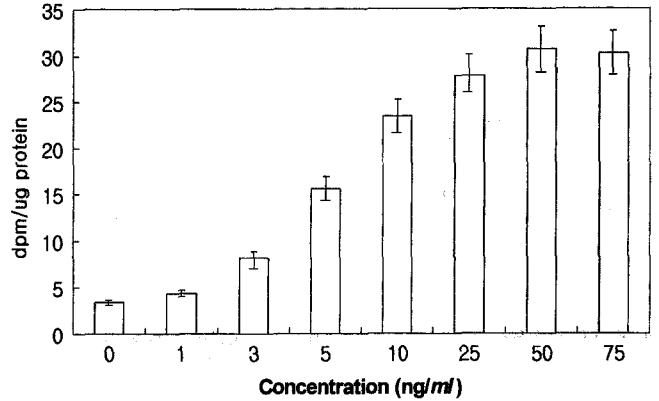


Fig. 2. Glucose uptake by 3T3-L1 adipocytes upon insulin dosage.

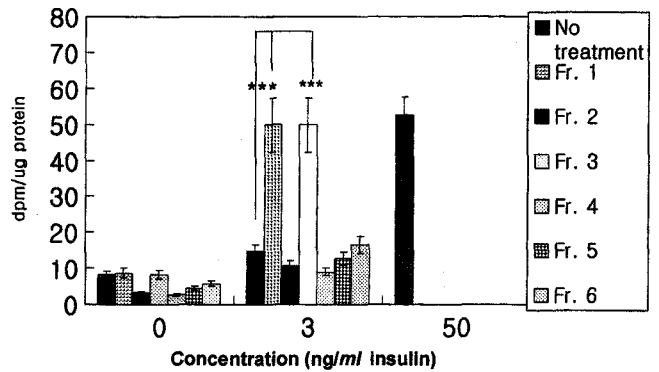


Fig. 3. Glucose transport affected by six fractions isolated from *Kalopanax pictum* NAKAI at the concentration of 0.3 µg/ml. ***Significantly different from no treatment group at $p < 0.001$.

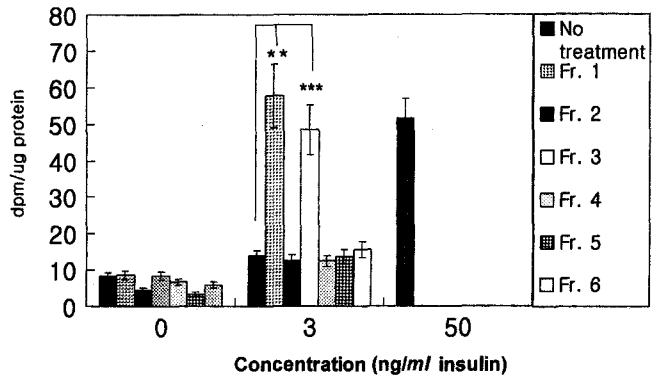


Fig. 4. Glucose transport by six fractions isolated from *Kalopanax pictum* NAKAI at the concentration of 3 µg/ml. ***Significantly different from no treatment group at $p < 0.001$.

없는 8.8배로 증가가 일정하였다.

엄나무 추출물로부터 분리한 분획이 포도당 섭취에 미치는 영향. 3T3-L1 지방세포에서 엄나무의 수피 추출물들에 대한 분획의 포도당 섭취를 조사하였을 때, 0.3 µg/ml에서의 포도당 섭취 정도는 Fig. 3에 그리고 3 µg/ml에서의 포도당 섭취는 Fig. 4에 나타냈다. 0~10% 메탄올 분획 Fr. 1과 30% 메탄올 분획 Fr. 3은 0.3 µg/ml에서 모두 포도당 섭취를 증가시켜 인슐린 50 ng/ml에서 포도당 섭취 실험을 했을 때와 유사한 포도당 섭취를 나타내었다. Fr. 1은 3 µg/ml에서 0.3 µg/ml에 비해 높

은 포도당 섭취를 얻을 수 있었고, Fr. 3에서는 3 µg/ml에 비해 오히려 0.3 µg/ml에서 포도당 섭취를 현저히 증가시켰다. 이때 분리한 물질이 포도당의 이동을 증가시키는 것이 세포에 detergent로 작용하여 포도당을 세포내로 비특이적으로 이동하는 것인지를 조사하기 위해 인슐린을 첨가하지 않은 상태에서 포도당을 섭취하는 정도를 측정하였는데 그 값이 기저값과 유사하거나 오히려 낮았다. 즉, Fr. 1과 Fr. 3의 첨가가 비특이적으로 포도당을 지방세포로의 이동을 증가시키는 것은 아니라는 것을 확인하였다. 한편 Fr. 2, 4와 5는 0.3와 3 µg/ml에서 오히려 인슐린 작용력을 감소시키는 경향을 나타내었다.

고 찰

동·식물에서 생산하는 이차대사물이 체내에서 인슐린과 같은 작용을 하는 것이 있음이 확인되어 이에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 인슐린성 물질은 인슐린의 화학적 구조는 아니지만 체내에서 인슐린처럼 행동하는 물질로서 지방합성을 촉진시키든지 지방분해를 억제하는 역할에 깊게 관여하고 있는 특성을 가지고 있는데, 3T3-L1 전지방세포는 인슐린과 같은 유도물질의 존재하에서는 효소활성을 급격히 증가시켜 3T3-L1 전지방세포를 분화시킨다. Sekiya와 Zheng⁹⁾은 약용 인삼 추출물이 3T3-L1 전지방세포의 분화를 촉진시켜 항당뇨병 작용에 관여하고 있음을 보고하였고, Broadhurst 등¹⁰⁾은 허브 및 약용식물에서 3T3-L1 섬유아세포를 모델로 인슐린성 물질의 존재를 보고하고 있다.

엄나무는 두릅나무과에 속하며 갯두릅나무라고도 부르며 수피를 약용으로 사용한다. 우리나라에서는 한약명으로 해동피(海桐皮)라 하는데, 중국과 일본에서 이에 해당하는 약재로 사용하고 있는 식물은 송곳오동나무 *Erythrina indica* L.이다.¹¹⁾ 한의학에서 엄나무는 거풍습(祛風濕)에 효능이 있고, 피부개선(皮膚疥癬) 및 치통 등에 외용하기도 하지만,¹²⁾ 근래 당뇨병의 민간요법 약재로 많이 팔고 있다.

엄나무의 수피 추출물은 3T3-L1 전지방세포가 지방세포로 분화할 때 분화유도물질이 첨가되지 않은 경우 1 µg/ml와 10 µg/ml의 농도에서 각각 유의성 있게 분화를 촉진시켰지만, 분화유도물질을 첨가하였을 때는 1 µg/ml에서는 p-value가 0.05이하로 분화를 촉진하였지만 10 µg/ml에서는 분화에 거의 영향을 미치지 않고 있어 고농도로 검액 시료를 조절하여 각각 100 µg/ml와 1 µg/ml를 처리하였지만 분화에 영향을 미치지 않았다. 이 결과는 3T3-L1 전지방세포의 분화를 촉진시키는 유도물질의 작용점에서 3T3-L1 전지방세포가 인슐린에 더욱 민감하게 작용하여 세포분화와 함께 세포막의 인슐린 수용체가 증가되는 과정에서 검액이 유도물질 사이에 상호작용을 하여 일정 농도 이상에서는 분화에 영향을 주지 않는다고 추측되며 추후 더 연구 검토되어야 할 것이다. 그러나, 유도물질이 첨가되지 않았을 때 혹은 첨가되어 있더라도 검액의 농도가 저농도에서 3T3-L1 전지방세포의 분화를 촉진시킨 것은 인슐린성 물질이 함유되어 있음을 시사하는 것이다.

3T3-L1 전지방세포가 분화유도에 의해 인슐린 수용체 수가 35배정도 급격히 증가되는 특성이 있어 당뇨병의 연구에 있어

포도당 섭취 및 전반적인 대사능이 변화를 측정하는데 이용되고 있다. Manchem 등¹³⁾의 연구에 따르면 3T3-L1 지방세포를 3.2 µM 이상의 인슐린과 함께 TLK16998을 배양하였을 때 2-deoxyglucose 섭취를 증가시켰다고 하였다. TLK16998은 인슐린이 인슐린 receptor와 결합한 후 autophosphorylation을 촉진시키고 downstream의 signalling에 있는 IRS-1 phosphorylation과 GLUT4 translocation을 촉진시켰다고 한다. 또한, Mukherjee 등¹⁴⁾에 따르면 rosiglitazone과 같은 peroxisome proliferation activated receptor(PPAR)-r agonists는 3T3-L1 지방세포의 differentiation을 증가시키지는 않지만 포도당 섭취를 증가시켰다. 동·식물에서 생산하는 이차대사물이 체내에서 인슐린 민감성 물질로 작용하기 위해서는 인슐린이 없을 때 포도당 섭취를 증가시키지 않고 인슐린이 존재할 때 포도당 섭취 물질을 첨가하지 않았을 때에 비해 3~5배 이상 증가시켜야 한다.

본 연구에서 엄나무의 수피 추출물에 대한 분획 Fr. 1과 Fr. 3도 인슐린이 존재하지 않을 때는 인슐린의 작용을 증가시키지 않았고, 인슐린과 함께 0.3와 3 µg/ml 농도로 존재할 때는 인슐린만 존재할 때에 비해 포도당 섭취를 3.3 ± 0.5배 증가시켜 Fr. 1과 Fr. 3의 도움으로 낮은 농도의 인슐린(3 ng/ml)만으로 인슐린이 50 ng/ml가 존재할 때 만큼의 포도당 섭취를 나타내었으므로 Fr. 1과 Fr. 3은 인슐린 민감성 제제로서의 가능성을 시사하였다.

본 연구 결과를 종합해보면, 당뇨병의 민간요법으로 사용하고 있는 엄나무의 수피는 인슐린성 물질을 함유하고 있으며, 추출물을 분획한 Fr. 1과 Fr. 3은 인슐린 저항성을 감소시키는 물질이 함유되어 있어 인슐린 민감성 제제로 개발 가능성을 암시하였다. 한편 이들 생리활성 물질에 대한 분리·정제 및 구조결정의 연구를 급후 계속할 계획이다.

참고문헌

1. Murakami, N., Inoue, G., Okamoto, M., Yoshimasa, Y., Kohno, S., Hayashi, T., Kato, K., Kuzuya, H. and Nakao, K. (1997) Antihyperglycemic mechanism of M16209, an antidiabetic agent, in 3T3-L1 adipocytes *Life Sci.* **60**, 1821-1822.
2. Tafuri, S. R. (1996) Troglitazone enhances differentiation, basal glucose uptake, and GLUT1 protein levels in 3T3-L1 adipocytes *Endocrinology* **137**, 4706.
3. Kreutter, D. K., Andrews, K. M., Gibbs, E. M., Hutson, N. J. and Stevenson, R. W. (1990) Insulinlike activity of new antidiabetic agent CP 68722 in 3T3-L1 adipocytes *Diabetes* **39**, 1414-1419.
4. Gray, A. M. and Flatt, P. R. (1999) Insulin-releasing and Insulin-like activity of the Traditional antidiabetic plant *Coriandrum sativum* (coriander) *Br. J. Nutr.* **81**, 203-209.
5. Takaku, T., Jiang, M., Okuda, H. and Maeda, N. (1997) Isolation of Insulin like substance from *Ephedra sinica* STAPF *J. Traditional Med.* **14**, 358-359.
6. Kameda, K., Chikaki, M., Morimoto, C., Jiang, M. and Okuda, H. (1996) Insulin like action of trans-10-hydroxy-2-decanoic acid and its related substance *J. Traditional Med.* **13**, 456-457.

7. Krenisky, J. M., Luo, J. and Carney, J. R. (1999) Isolation and antihyperglycemic activity of bakuchiol from *Otholobium pubescens* (Fabaceae), a peruvian medicinal plant used for the treatment of diabetes *Biol. Pharm. Bull.* **22**, 1137-1140.
8. Hong, S. J., Fong, J. C. and Hwang, J. H. (2000) Effect of crude drugs on glucose uptake in 3T3-L1 adipocyte *Gaxiong Yi Xue Ke Xue Za Zhi* **16**, 445-451.
9. Sekiya, K. and Zheng, Y. (1997) Effect of medical plant on peradipocyte differentiation *J. Traditional Med.* **14**, 356-357.
10. Broadhurst, C. L., Polansky, M. M. and Anderson, R. A. (2000) Insulin-like biological activity of culinary and medicinal plant aqueous extracts *in vitro* *J. Agric. Food Chem.* **48**, 849-852.
11. Namba, T. (1993) In *The Encyclopedia of waka-Yaku (Traditional Sino-Japanese Medicines) with color Pictures* Vol. 1, Hoikusha, Osaka, Japan. pp. 154-156.
12. Shin, M. K. (1997) In *Clinical Traditional Herbalogy*, Yeong Lim's Publisher, Seoul, Korea. pp. 713-714.
13. Manchem, V. P., Goldfine, I. D., Kohanski, R. A., Cristobal, C. P., Lum, R. T., Schow, S. R., Shi, S., Spevak, W. R., Laborde, E., Toavs, D. K., Villar, H. O., Wick, M. M. and Kozlowski, M. R. (2001) A novel small molecule that directly sensitizes the insulin receptor *in vitro* and *in vivo* *Diabetes* **50**, 824-3012.
14. Mukherjee, R., Hoener, P. A., Jow, L., Bilakovics, J., Klausling, K., Mais, D. E., Faulkner, A., Croston, G. E. and Paterniti, J. R. (2000) A selective peroxisome proliferator activated receptor-gamma (PPARgamma) modulator blocks adipocyte differentiation but stimulates glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes *Mol. Endocrinol.* **14**, 1425-1433.

Insulin Sensitizing and Insulin-like Effects of Water Extracts from *Kalopanax pictus* NAKAI in 3T3-L1 Adipocyte

Byoung-Seob Ko*, Ho-Kyoung Kim and Sunmin Park¹ (Korea Institute of Oriental Medicine, Kangnam-Ku, Seoul 135-100, Korea; ¹Department of Food and Nutrition, Hoseo University, Asan-Si, ChungNam-Do 336-795, Korea)

Abstract: Effects of the water extract from *Kalopanax pictus* NAKAI on insulin-like action and glucose uptake in 3T3-L1 cells were investigated. The bark of *K. pictus* NAKAI was treated with hot water and the extract was freeze-dried. Total extract of *K. pictus* NAKAI was fractionated into 6 fractions with increasing gradients from 0 to 100% MeOH on Amberlite XDA-4. Treatment of 3T3-L1 fibroblasts with 1 µg/ml and 10 µg/ml of *K. pictus* NAKAI total extracts significantly increased the differentiation of the cells. When co-treated with inducers such a dexamethasone, 1-methyl-3-isobutylxanthine and insulin, the differentiation was increased at 1 µg/ml of total extract, but not at 10 µg/ml. In 3T3-L1 adipocytes, glucose uptake was increased by 3.3 times with addition of 0.3 and 3 µg/ml of **Fr. 1** (0-10% MeOH) and **Fr. 3** (30% MeOH) at 3 ng/ml insulin. In conclusion, *K. pictus* NAKAI contains such compounds that play a role of insulin-like action and insulin sensitizer.

Key words: *Kalopanax pictus* NAKAI, 3T3-L1 cell, insulin-like substances, glucose uptake, insulin resistance, insulin sensitizer

*Corresponding author