

桑枝가 흰쥐의 혈압 및 Streptozotocin유발 당뇨에 미치는 영향

함인혜[#], 정은식, 이병희, 최호영*

경희대학교 한의과대학 본초학교실

The Study on Anti-hypertensive and Anti-diabetic Effect of Mori Ramulus

Inhye Ham[#], Eunsik Jeong, Byonghee Lee, Hoyoung Choi

Dept. of Herbology, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University

ABSTRACT

Objectives : This study was performed to prove the anti-hypertensive and anti-diabetic effect of Mori Ramulus(MR).

Methods : The examination was done on the femoral artery occlusion of the rat, and check the blood pressure. In addition, we observed therapeutic effects on diabetes rats induced by streptozotocin.

Results : MR MeOH Ex. showed few effect on descending blood pressure in SD rat model. MR CHCl₃ layer (MRC) showed significant effect on descending blood pressure. MR was effective on the streptozotocin-induced diabetes SD rats. Especially MRC reduced the amount of serum glucose, BUN, triglyceride and insulin level.

Conclusions : MRC could induce descending blood pressure in the rat model. Also, it is expected to be effective in diabetes treatment.

Key words : *Scrophularia buergeriana*, hypotensive effect, DNA analysis

서론

桑枝(Mori Ramulus)는 뽕나무과(Moraceae)에 속한 낙엽교목인 뽕나무 *Morus alba* L., 산뽕나무 *Morus bombycis* Koidz의嫩枝를 건조한 것으로,嫩桑枝, 桑枝尖, 子名椹, 桑條 등의異名이 있으며 전세계적으로 분포한다¹⁻³⁾.

性은 平無毒하고, 味는 苦하고, 肝經으로 歸經한

다^{2,4,5)}. 주요 효능으로는 祛風濕, 利關節⁵⁾하여 風濕痺痛, 四肢拘攣, 關節酸痛麻木^{2,4)}하며 行水氣, 利小便¹⁾의 작용이 있어 脚氣, 浮腫을 다스리며, 降壓작용⁴⁾으로 高血壓에 응용되고, 咳嗽¹⁾, 風痺⁵⁾에도 쓰이고, 皮毛生長促進^{2,4,12)}, 淋巴細胞轉化促進^{2,5)}, 抗菌⁵⁾ 등의 작용이 있는 것으로 알려져 있다. 늦은 봄과 초여름에 어린 가지를 채취하여 雜質을 제거하고 生用하거나 햇볕에 말려 사용한다.

* 교신저자 : 최호영, 서울시 동대문구 회기동 1 경희대학교 한의과대학 본초학교실
· Tel : 02-961-9372 · E-mail : hychoi@khu.ac.kr
제1저자 : 함인혜, 서울시 동대문구 회기동 1 경희대학교 한의과대학 본초학교실
· Tel : 02-961-0325 · E-mail : iham@khu.ac.kr
· 접수 : 2008년 5월 26일 · 수정 : 2008년 6월 20일 · 채택 : 2008년 6월 20일

최근 桑枝에 대하여 鄭⁶⁾은 高血壓 및 動脈硬化에 미치는 영향을, 許⁷⁾는 혈청 총 cholesterol 및 血壓에 미치는 영향을, 白⁸⁾은 혈압 및 利尿에 미치는 영향을, 郭⁹⁾은 桑枝, 桑葉, 桑白皮 및 桑椹子의 抗脂血效果에 관한 연구를, 柳¹⁰⁾는 鎮痛, 解熱, 消炎 및 抗菌작용을 연구하여 보고한 바 있다. 한편 桑白皮에 대하여 尹¹¹⁾은 桑白皮 추출물이 당뇨 쥐의 혈당 및 효소에 미치는 영향을, 林¹²⁾은 桑白皮 추출물이 당뇨병 마우스에 미치는 영향을 연구하여 보고하였고, 桑葉에 대해 劉¹³⁾는 당뇨병 동물모델에서 桑葉추출물의 抗糖尿효과 및 기전을, 李 등¹⁴⁾은 streptozotocin 유도 당뇨병동물모델에서 桑葉추출물의 抗糖尿효과 및 기전을 연구하여, 각각 桑白皮와 桑葉이 당뇨에 유의한 효과가 있는 것으로 보고하였는데, 桑枝가 당뇨에 미치는 효과에 대한 연구는 아직 파악된 바 없어 桑枝의 抗糖尿효과와 降壓효과를 연구한 바 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

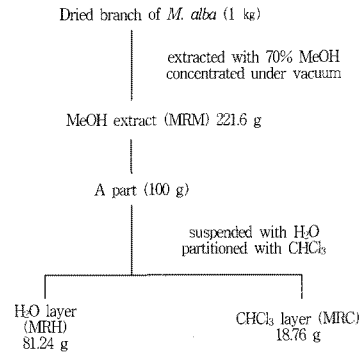
본 실험에 사용한 桑枝(Mori Ramulus)는 뽕나무 *Morus alba L.*의 嫩枝이다. 경북 영천시 고정면 오령 2리에서 채취하였고, 약재는 慶熙大學校 韓醫科大學에서 형태를 통해 기원을 검증하고 정선하여 실험에 사용하였으며, 약재의 일부는 慶熙大學校 韓醫科大學 本草學教室에 표본으로 보관하고 있다.

2) 동물

실험동물은 체중 200±5 g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐[중앙실험동물(주), 한국]를 구입하였다. 동물실험윤리규정에 준수하여 22.0±2.0°C, 습도는 55±5%, 낮과 밤의 주기는 12시간으로 유지한 사육실 내에서 한 달간 고형사료와 물을 충분히 공급하면서 350±20 g이 된 것을 혈압실험에 사용하였고, 체중 250 g 내외의 것은 당뇨실험에 사용하였다.

3) 검액의 제조

국산 桑枝 1 kg을 70% MeOH 약 30 l를 가하여 2시간 동안 끓이는 조작을 3회 반복추출하고 감압농축한 후 동결건조하여 70% MeOH extract(MRM) 221.6 g을 얻었다. 그 중 100 g을 熱水에 녹인 후 CHCl₃를



Scheme 1. Extraction of branch of *M. alba L.*

이용하여 분별증류하여 H₂O층(MRH)과 CHCl₃층(MRC)으로 나누었다. 이를 다시 감압농축한 후 동결건조하여 H₂O층 81.24 g과 CHCl₃층 18.76 g을 얻어 실험에 사용하였다(Scheme 1).

2. 방법

1) 혈압에 미치는 영향

(1) 검액의 투여

흰쥐 4마리를 1군으로 하여 양성대조군인 Norvasc 2 mg/kg 투여군(Norvasc), 桑枝 70% MeOH (MRM) 100 mg/kg 투여군, 桑枝 H₂O층(MRH) 100 mg/kg 투여군, 桑枝 CHCl₃ 층(MRC) 100 mg/kg 투여군으로 나누었다. 검액의 투여는 혈압측정 개시 후 혈압이 안정되고 나면 경구투여 하였다.

(2) 혈압측정

흰쥐에 20% urethane 수용액을 1 mg/g의 용량으로 복강주사 하였다. 마취된 흰쥐를 고정대에 고정시킨 후 대퇴부를 수술용 가위로 절제하고 forcep과 핀셋을 사용하여 지방과 막층을 벌려 대퇴동맥을 확보하였다. 하지부 대퇴동맥의 말단을 의료용 봉합사로 묶어 폐쇄시키고 대퇴동맥의 복부쪽 부위는 미리 의료용 봉합사로 묶을 준비를 해 놓고, 복부쪽 대퇴동맥을 micro vessel clip으로 폐쇄하였다. Vannas-Miniature로 하지부 대퇴동맥을 폐쇄한 봉합사와 micro vessel clip으로 폐쇄한 사이의 대퇴동맥에 가로 방향으로 혈관직경의 1/3을 절개하고, 절개된 곳을 통해 polyethylene tube (20FT)를 삽입하였다. 미리 묶어둔 봉합사를 이용하여 polyethylene tube를 혈관과 함께 묶어 고정시킨 후 micro vessel clip을 제거하였다.

Polyethylene tube에 연결된 physiological pressure

transducer로 측정된 혈압은 polygraph (Model 7, Grass instruments)를 통하여 전기적 신호로 바뀐 후 PowerLab 4/sp를 통하여 분석되었다.

$$\text{Mean Blood Pressure Ratio(\%)} = \times 100 \frac{\text{B.P. after sample treated}}{\text{B.P. before sample treated}}$$

(3) 통계처리

실험성적은 평균±표준오차(Mean±S.E.)로 나타내었으며, 시간에 따른 mean B.P. Ratio의 평균의 차이를 검정할 때에는 paired Student's t-test로 검정하여 p<0.05일 때 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

2) Streptozotocin으로 유발한 당뇨에 미치는 영향 실험

(1) 검역의 투여

흰쥐 5마리를 1군으로 하여 정상군(이하 Normal), 대조군(이하 Control), 양성대조군(Gliclazide 40mg/kg 투여군, Glibenclamide 5mg/kg 투여군) 및 MRM 100 mg/kg, 400mg/kg 투여군, MRH 100mg/kg, 400mg/kg 투여군, MRC 100mg/kg, 400mg/kg 투여군으로 나누었다. 검역은 streptozotocin을 주사한 날부터 매일 같은 시간에 5일간 경구투여 하였다.

(2) 당뇨 유발 및 체질

당뇨는 1주일 동안 실험실 환경에서 적응시킨 Sprague-Dawley 웅성 흰쥐를 12시간 동안 絶食한 후 streptozotocin(이하 STZ)을 체중 1 kg 당 50 mg으로 총주사량이 0.5 ml가 되도록 복강주사하여 유발시켰다. STZ는 중성 pH와 실온에서는 급속히 불활성화 되기 때문에 citrate buffer (pH 4.0)에 녹여 냉장상태를 유지한 후 10분 이내에 사용하였다. 당뇨유발 확인은 STZ 주사 7일후 꼬리정맥으로부터 채혈하여 혈당을 glucometer로 측정하였고, 300 mg/dl 이상의 것을 실험적 당뇨 모델로 사용하였다.

5일동안 경구투여 후 16시간동안 다시 絶食시켜 ether로 가볍게 마취하여 심장채혈 하였다. 채혈한 혈액은 실온에서 30분 방치한 후 원심분리기로 4,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 혈청중의 glucose, creatinine, BUN, total cholesterol, triglyceride, insulin의 수치를 측정하였다.

(3) 혈청성분 측정

① 혈청 glucose 함량 측정

혈청 glucose 함량은 colorimetry^{17,18)}, Enzymatic¹⁹⁾ 방법으로 측정하였다. 사용한 시약은 SICDIA L T-CHO REAGENT (Eiken 제조, 신양화학 공급)이

고, 측정기기는 Hitachi 7600-110/7170(Japan)를 사용하였다.

② 혈청 creatinine 함량 측정

혈청 creatinine 함량은 유리 glycerol 소거법²⁰⁾(GPO with Glycerol blank)으로 측정하였다. 사용한 시약은 SICDIA L T-CHO REAGENT (Eiken 제조, 신양화학 공급)이고, 측정기기는 Hitachi 7600-110/7170 (Japan)를 사용하였다.

③ 혈청 BUN 함량 측정

혈청 BUN 함량은 효소법(Urease법)²¹⁾으로 측정하였다. 사용한 시약은 Pureauto SUN (DAIICHI에서 제조, 중외제약 공급)이고, 측정기기는 Hitachi 7600-110/7170(Japan)을 사용하였다.

④ 혈청 total cholesterol 함량 측정

혈청 total cholesterol 함량은 Jaffe reaction법(kinetic alkaline picrate)으로 측정하였다. 사용한 시약은 Clinimate CREA (DAIICHI 제조, 중외제약 공급)이고, 측정기기는 Hitachi 7600-110/7170 (Japan)을 사용하였다.

⑤ 혈청 triglyceride 함량 측정

혈청 triglyceride 함량은 Hexokinase UV법²²⁾으로 측정하였다. 사용한 시약은 LQDIA GLU (아산제약)이고, 측정기기는 Hitachi 7600-110/7170(Japan)을 사용하였다.

⑥ 혈청 insulin 함량 측정

혈청 insulin 함량은 면역방사계수법 (Immunoradiometric Assay)법¹³⁾으로 측정하였다. 사용한 시약은 INSULIN-IRMA (Biosource 제조, 광원 공급)이고, 측정기기는 1470 wizard γ-counter를 사용하였다.

(4) 통계처리

실험성적은 평균±표준오차(Mean±S.E.)로 나타내었으며, 평균의 차이를 검정할 때에는 paired Student's t-test로 검정하여 p<0.05일 때 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

1. 혈압에 미치는 영향

1) 桑枝 70% MeOH 추출물

桑枝 70% MeOH 추출물이 혈압에 미치는 영향에

서 양성 대조약물로 사용한 ACE 억제제인 Norvasc는 투여 후 20분부터 78.71±4.90%로 혈압강하효과가 나타나기 시작하여, 30분에는 82.02±3.63%, 35분에는 77.57±3.26%의 유의성(p<0.01)을 나타냈으며, 80분에서 84.04±4.63%로 혈압강하의 유의성이 없었고, 나머지 시간대에는 꾸준히 유의성을 보였다. 특히 120분 77.02±3.00%부터는 p<0.01의 지속적이고 매우 유의성 있는 혈압강하효과를 보여주었다.

桑枝 70% MeOH 추출물 100mg/kg을 투여한 후 5분에는 102.53±1.62%, 10분에는 102.82±2.71%, 30분에는 100.65±1.92%, 60분에는 100.32±2.74%, 90분에는 100.84±3.66%로 오히려 혈압이 투여전보다 높은 경향을 보였으며, 150분에는 98.02±6.29%, 300분에는 86.72±7.60%, 360분에는 89.64±5.97%로 혈압이 강하하는 경향을 보였다(Table 1, Fig. 1).

Table 1. Effect of Norvasc and Mori Ramulus (70% MeOH Ex., H2O layer, CHCl3 layer) on the Ratio of Mean Blood Pressure in rats (n=4) (%)

Time (min.)	Sample (dose)	Norvasc (2mg/kg)	MRM (100mg/kg)	MRH (100mg/kg)	MRC (100mg/kg)
0		100.00	100.00	100.00	100.00
5		90.88±3.50 ^a	102.53±1.62	97.14±2.98	103.70±2.13
10		86.74±4.19	102.82±2.71	96.33±2.16	102.94±1.36
15		84.16±4.41	101.52±2.37	92.72±2.47	103.06±2.36
20		78.71±4.90 [*]	101.01±1.86	93.98±2.12	99.34±1.49
25		83.18±4.66	100.48±2.12	93.21±4.33	97.67±2.05
30		82.02±3.63 [*]	100.65±1.92	92.79±3.26	97.32±1.76
35		77.57±3.26 ^{**}	100.00±2.14	90.18±4.14	97.06±2.06
40		77.17±3.51 [*]	99.83±2.94	92.56±2.15 [*]	98.91±1.23
45		81.21±3.46 [*]	100.27±2.04	89.28±1.86 [*]	97.43±2.36
50		78.74±2.73 ^{**}	99.60±1.99	87.02±2.79 [*]	94.69±2.31
55		79.92±3.72 [*]	100.37±2.64	91.20±2.27 [*]	90.28±2.55 [*]
60		77.10±2.85 ^{**}	100.32±2.74	90.26±3.00 [*]	91.54±3.34
65		79.72±4.84 [*]	99.03±2.51	90.15±2.59 [*]	89.91±2.13 [*]
70		79.93±5.00 [*]	99.40±2.85	87.63±2.55 [*]	91.42±2.23 [*]
75		80.28±4.40 [*]	99.36±2.26	87.32±2.46 [*]	90.17±2.71 [*]
80		84.04±4.63	99.09±2.61	87.88±5.25	89.02±4.09
85		81.54±4.22 [*]	99.06±2.31	88.53±4.69	88.16±4.16
90		80.02±3.57 [*]	100.84±3.66	89.25±4.47	87.81±2.10 [*]
120		77.02±3.00 ^{**}	100.41±5.04	92.88±2.56	86.92±1.50 ^{**}
150		72.68±3.73 ^{**}	98.02±6.29	95.17±2.24	36.71±0.68 ^{**}
180		75.73±2.57 ^{**}	96.76±6.55	93.74±2.17	84.33±1.73 ^{**}
210		74.47±2.34 ^{**}	94.87±5.80	92.44±3.10	82.22±1.30 ^{**}
240		74.21±2.67 ^{**}	90.26±7.37	92.55±2.66	84.17±1.40 ^{**}
270		73.66±2.01 ^{**}	88.27±7.37	95.26±3.10	86.49±1.45 ^{**}
300		76.94±2.34 ^{**}	86.72±7.60	98.63±3.30	86.23±1.47 ^{**}
330		77.67±2.85 ^{**}	90.56±5.91	100.01±4.14	86.80±2.74 [*]
360		78.14±3.19 ^{**}	89.64±5.97	99.64±2.97	87.69±2.54 [*]

a), indicates Mean±S.E. (n=4)

*, represents p<0.05 compared to before sample administration

**, represents p<0.01 compared to before sample administration

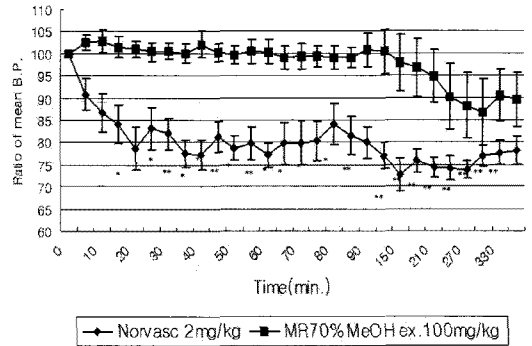


Fig. 1. Effect of Mori Ramulus 70% MeOH extract on the ratio of mean blood pressure in rats (n=4)

2) 桑枝 H₂O층

桑枝 70% H₂O층이 혈압에 미치는 영향에서 양성 대조약물로 사용한 ACE 억제제인 Norvasc는 투여 후 투여 후 20분부터 78.71±4.90%로 혈압강하효과가 나타나기 시작하여, 30분에는 82.02±3.63%, 35분에는 77.57±3.26% (p<0.01)의 유의성을 나타냈으며, 80분에서 84.04±4.63%로 혈압강하의 유의성이 없었으며, 나머지 시간대에는 계속 유의성을 보였다. 특히 120분 77.02±3.00%부터는 p<0.01의 지속적이고 매우 유의성 있는 혈압강하효과를 보여주었다.

桑枝 H₂O층 100mg/kg을 투여한 군에서는 투여 후 부터 혈압이 강하하기 시작하여 40분에 92.56±2.15%, 45분에 89.28±1.86%, 50분에 87.02±2.79%, 55분에 91.20±2.27%, 60분에 90.26±2.30%, 65분에 90.15±2.59%, 70분에 87.63±2.55%, 75분에 87.32±2.46%로 p<0.05의 유의성으로 혈압강하 효과를 보였다(Table 1, Fig. 2).

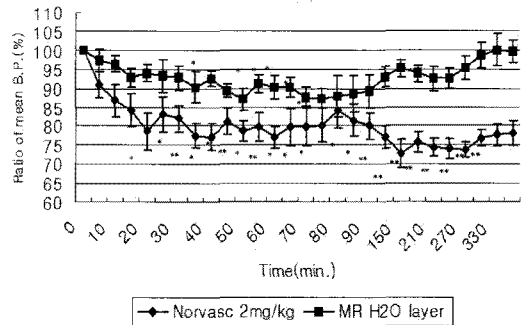


Fig. 2. Effect of Mori Ramulus H₂O layer on the ratio of mean blood pressure in rats (n=4)

3) 桑枝 CHCl₃층

桑枝 CHCl₃층이 혈압에 미치는 영향에서 양성 대

조약물로 사용한 ACE 억제제인 Norvasc는 투여 후 20분부터 78.71±4.90%로 혈압강하효과가 나타나기 시작하여, 30분에는 82.02±3.63%, 35분에는 77.57±3.26% (p<0.01)의 유의성을 나타냈으며, 80분에서 84.04 ± 4.63%로 혈압강하의 유의성이 없었으며, 나머지 시간 대에는 계속 유의성을 보였다. 특히 120분 77.02± 3.00%부터는 p<0.01의 지속적인고 매우 유의성 있는 혈압강하효과를 보여주었다.

桑枝 CHCl₃층 100mg/kg을 투여한 군에서는 투여 후 15분까지 혈압이 상승하다가 20분부터 99.34± 1.49%로 혈압이 강하하기 시작하여 투여 후 55분에는 90.28±2.55%로 p<0.05의 유의성 있는 혈압강하효과를 나타냈다. 다시 65분에 89.91±2.13%, 70분에 91.42±2.23%, 75분에 90.17±2.71%, 90분에 87.81±2.10 %로 p<0.05의 유의성 있는 혈압강하효과를 나타냈다. 120분부터는 86.92±1.50%, 150분에 86.71±0.68%, 180분에 84.33±1.73%, 210분에 82.22±1.30%, 240분에 84.17±1.40%, 270분에 86.49±1.45%, 300분에 86.23± 1.47%로 p<0.01의 대단히 유의성 있는 혈압강하효과를 보이다가, 330분에 86.80±2.74%, 360분에 87.69± 2.54%로 p<0.05의 혈압강하효과를 나타냈다(Table 1, Fig. 3).

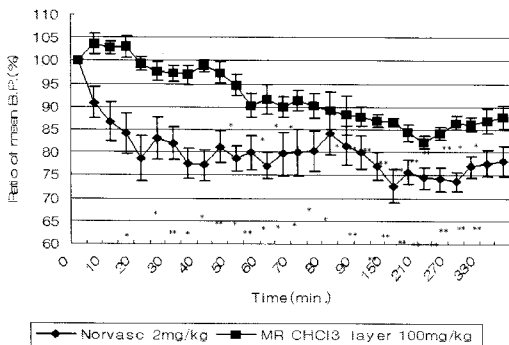


Fig. 3. Effect of Mori Ramulus CHCl₃ layer on the ratio of mean blood pressure in rats (n=4)

2. 당뇨에 미치는 영향

1) 혈청 Glucose 함량

정상군의 혈청 glucose 함량인 78.00±9.53 mg/dl 에 비하여 대조군은 201.80±32.98 mg/dl로서 유의성 (p<0.05) 있는 상승을 보였으며, 당뇨치료약물로 알려진 gliclazide 투여군은 86.00±8.00 mg/dl, glibenclamide 투여군은 97.60±9.25 mg/dl로서 각각 대조군에 비하여 유의성(p<0.05) 있는 감소 효과를 보였다. 桑枝 70% MeOH 추출물 100mg/kg(MRM 100) 투여군은

111.40±9.56 mg/dl, 桑枝 CHCl₃층 400mg/kg (MRC 400) 투여군은 91.80±8.45 mg/dl, 桑枝 H₂O층 100mg/kg (MRH 100), 400mg/kg (MRH 400) 투여군은 각각 94.80±9.02 mg/dl, 92.00±7.23 mg/dl로 대조군에 비하여 유의성(p<0.05) 있는 감소 효과를 나타내었다 (Table 2, Fig. 4).

Table 2. Effect of Mori Ramulus, Gliclazide and Glibenclamide on Serum Glucose Level in Rats with Diabetes induced by Streptozotocin

Group	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of Animal	Glu-PBS(S) (mg/dl)
Normal	-	5	78.00 ± 9.53 ^{a)}
Control	-	5	121.80 ± 32.98 [#]
Gliclazide	40	5	86.00 ± 8.00 [*]
Glibenclamide	5	5	97.60 ± 9.25 [*]
MRM	100	5	111.40 ± 9.56 [*]
	400	5	115.00 ± 6.20
MRC	100	5	134.00 ± 13.47
	400	5	91.80 ± 8.45 [*]
MRH	100	5	94.80 ± 9.02 [*]
	400	5	92.00 ± 7.23 [*]

a), indicates Mean±S.E.

#, means p<0.05 compared to the normal

*, means p<0.05 compared to the control

**, means p<0.01 compared to the control.

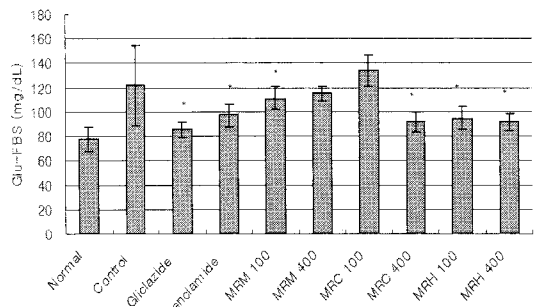


Fig. 4. Effect of Mori Ramulus, gliclazide and glibenclamide on serum glucose level in rats with diabetes induced by streptozotocin

The glucose value of gliclazide, glibenclamide, MRM 100, MRC 400, MRH 100, and MRH 400 were all significantly (p<0.05) lower than that of control.

2) 혈청 Creatinine 함량

정상군의 혈청 creatinine 함량인 0.48±0.03 mg/dl 에 비하여 대조군은 0.52±0.02 mg/dl로서 수치가 약간 상승했으나 유의성은 없었다. 당뇨치료약물로 알려진 gliclazide 투여군은 0.48±0.01 mg/dl, glibenclamide 투여군은 0.47±0.04 mg/dl로서 대조군에 비하여 약간의 억제 효과를 보였으나 유의성은 없었다. 桑枝 CHCl₃

Table 3. Effect of Mori Ramulus, Gliclazide and Glibenclamide on Serum Creatinine Level in Rats with Diabetes induced by Streptozotocin

Group	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of Animal	Creatinine (mg/dl)
Normal	-	5	0.48±0.03 ^{a)}
Control	-	5	0.52±0.02
Gliclazide	40	5	0.48±0.01
Glibenclamide	5	5	0.47±0.04
MRM	100	5	0.46±0.02
	400	5	0.51±0.02
MRC	100	5	0.48±0.02
	400	5	0.47±0.02**
MRH	100	5	0.53±0.01
	400	5	0.50±0.03

a), indicates Mean±S.E.

** , means p<0.01 compared to the control.

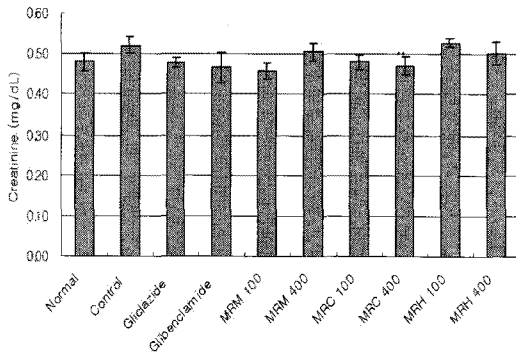


Fig. 5. Effect of Mori Ramulus, gliclazide and glibenclamide on serum creatinine level in rats with diabetes induced by streptozotocin.

층 400mg/kg (MRC 400) 투여군은 0.47±0.02 mg/dl로 대조군에 비하여 매우 유의성(p<0.01) 있는 억제 효과를 나타내었다, 그 외桑枝 투여군은 억제 효과가 나타나지 않았다 (Table 3, Fig. 5).

3) 혈청 BUN 함량

정상군의 혈청 BUN 함량인 10.76±1.23 mg/dl에 비하여 대조군은 25.06±2.82 mg/dl로서 유의성 (p<0.05) 있는 상승을 보였으며, 당뇨치료약물로 알려진 Gliclazide 투여군은 20.28±6.38 mg/dl, Glibenclamide 투여군은 25.46±5.19 mg/dl로서 대조군에 비하여 Gliclazide 투여군은 약간의 억제 효과를 보였으나 유의성은 없었고, Glibenclamide 투여군은 오히려 대조군에 비하여 수치가 약간 상승하였다. 桑枝 70% MeOH 추출물 100mg/kg (MRM 100) 투여군과 70% MeOH 추출물 400mg/kg (MRM 400) 투여군은 각각 15.72 ± 2.45 mg/dl과 13.48 ± 1.79 mg/dl, 桑枝 CHCl₃층 400mg/kg (MRC 400) 투여군은 10.70 ±

Table 4. Effect of Mori Ramulus, Gliclazide and Glibenclamide on serum BUN Level in Rats with Diabetes induced by Streptozotocin

Group	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of Animal	BUN (mg/dl)
Normal	-	5	10.76±1.23 ^{a)}
Control	-	5	25.06±2.82 [*]
Gliclazide	40	5	20.28±6.38
Glibenclamide	5	5	25.46±5.19
MRM	100	5	15.72±2.45 ^{**}
	400	5	13.48±1.79 ^{**}
MRC	100	5	21.90±3.41
	400	5	10.70±0.78 ^{**}
MRH	100	5	12.72±1.22 ^{**}
	400	5	17.10±1.79 [*]

a), indicates Mean±S.E.

* , means p<0.05 compared to the control

** , means p<0.01 compared to the control

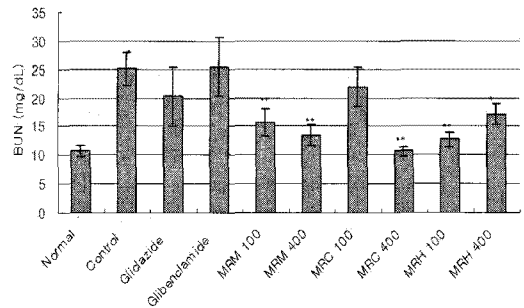


Fig. 6. Effect of Mori Ramulus, gliclazide and glibenclamide on serum BUN level in rats with diabetes induced by streptozotocin.

0.78 mg/dl, 桑枝 H₂O층 100mg/kg (MRH 100) 투여군은 각각 12.72 ± 1.22 mg/dl, 92.00 ± 7.23 mg/dl로 대조군에 비하여 매우 유의성 (p<0.01) 있는 억제 효과를 나타내었고, 桑枝 H₂O층 400mg/kg (MRH 400) 투여군은 17.10 ± 1.79 mg/dl로 대조군에 비하여 유의성 (p<0.05) 있는 억제 효과를 나타내었다 (Table 4, Fig. 6).

4) 혈청 Total Cholesterol 함량

정상군의 혈청 Total Cholesterol 함량인 93.00±8.61 mg/dl에 비하여 대조군은 57.80±6.34 mg/dl로서 오히려 수치가 낮아져 유의성(p<0.05) 있는 하강이 있었다. 당뇨치료약물로 알려진 Gliclazide 투여군은 83.00 ±15.09 mg/dl로서 오히려 대조군에 비하여 유의성 (p<0.05) 있게 증가하였다. 桑枝 70% MeOH 추출물 100mg/kg 투여군 (MRM 100)과 400mg/kg (MRM 400) 투여군은 각각 79.60±9.65 mg/dl, 93.00±11.82 mg/dl로 대조군에 비해 유의성(p<0.05)있게 증가하였다.

Table 5. Effect of Mori Ramulus, Gliclazide and Glibenclamide on Serum Total Cholesterol Level in Rats with Diabetes induced by Streptozotocin

Group	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of Animal	Total Cholesterol(mg/dl)
Normal	-	5	93.00±8.61 ^{ab}
Control	-	5	57.80±6.34 ^c
Gliclazide	40	5	83.00±15.09 ^a
Glibenclamide	5	5	65.80±15.46
MRM	100	5	79.60±9.65 ^c
	400	5	93.00±11.82 ^a
MRC	100	5	90.60±3.78 ^{ab}
	400	5	86.60±6.74
MRH	100	5	73.00±4.99
	400	5	87.60±6.99 ^a

a), indicates Mean±S.E.,
 *, means p<0.05 compared to the control
 **, means p<0.01 compared to the control

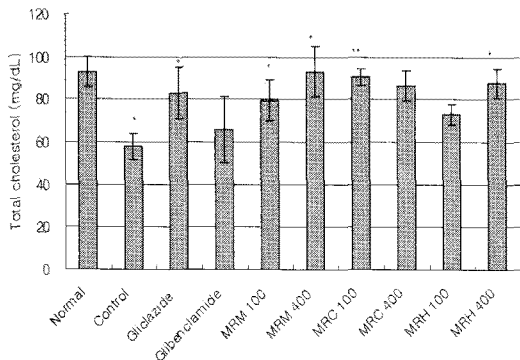


Fig. 7. Effect of Mori Ramulus, gliclazide and glibenclamide on serum total cholesterol level in rats with diabetes induced by streptozotocin.

桑枝 CHCl₃층 100mg/kg (MRC100)투여군은 90.60±3.78 mg/dl로 대조군에 비해 매우 유의성 있게 (p<0.01) 증가하였다. 桑枝 CHCl₃층 400mg/kg (MRC 400) 투여군과 桑枝 H₂O층 100mg/kg (MRH 100) 투여군은 각각 86.60±6.74 mg/dl, 73.00±4.99 mg/dl로 유의성이 없었다. 桑枝 H₂O층 400mg/kg (MRH 400) 투여군은 87.60±6.99 mg/dl로 대조군에 비해 유의성 (p<0.05) 있게 증가하였다(Table 5, Fig. 7).

5) 혈청 Triglyceride 함량

정상군의 혈청 Triglyceride 함량인 32.80±5.02 mg/dl에 비하여 대조군은 35.80±7.43 mg/dl로서 약간 증가하였으나 유의성은 없었으며, 당뇨치료약물로 알려진 Gliclazide 투여군은 23.00±11.09 mg/dl로서 대조군에 비하여 유의성이 없었고, Glibenclamide 투여군은 17.40±7.96 mg/dl로 유의성(p<0.05) 있게 감소하였다. 桑枝 70% MeOH 추출물 100mg/kg 투여군

Table 6. Effect of Mori Ramulus, Gliclazide and Glibenclamide on Serum Triglyceride Level in Rats with Diabetes induced by Streptozotocin

Group	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of Animal	Triglyceride(mg/dl)
Normal	-	5	32.80±5.02 ^{ab}
Control	-	5	35.80±7.43
Gliclazide	40	5	23.00±11.09
Glibenclamide	5	5	17.40±7.96 ^c
MRM	100	5	12.40±2.99 ^c
	400	5	28.00±6.29
MRC	100	5	13.80±3.15
	400	5	35.20±3.11
MRH	100	5	29.20±6.68
	400	5	25.20±2.01

a), indicates Mean±S.E.
 *, means p<0.05 compared to the control

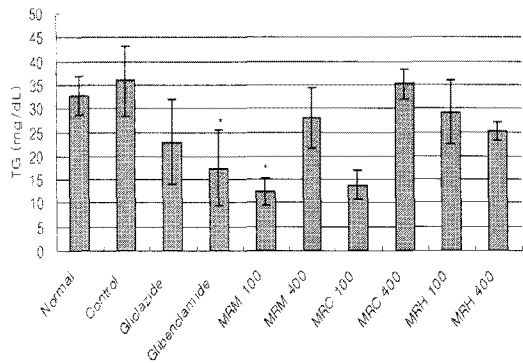


Fig. 8. Effect of Mori Ramulus, gliclazide and glibenclamide on serum triglyceride level in rats with diabetes induced by streptozotocin

(MRM 100)이 8.40±2.99 mg/dl로 유의성(p<0.05) 있게 감소하였으나, 桑枝 70% MeOH 추출물 400mg/kg (MRM 400), 桑枝 CHCl₃층 100mg/kg (MRC 100), 桑枝 CHCl₃층 400mg/kg (MRC 400), 桑枝 H₂O층 100 mg/kg (MRH 100), 桑枝 H₂O층 400mg/kg (MRH 400) 투여군은 각각 28.00±6.29 mg/dl, 13.80±3.15 mg/dl, 35.20±3.11 mg/dl, 29.20±6.68 mg/dl, 25.20±2.01 mg/dl로 대조군에 비하여 감소하였지만 유의성은 없었다(Table 6, Fig. 8).

6) 혈청 Insulin 함량

정상군의 혈청 Insulin 함량인 3.69±0.51 mg/dl에 비하여 대조군은 6.26±0.17 mg/dl로서 매우 유의성 (p<0.01) 있는 상승을 보였으며, 당뇨치료약물로 알려진 Gliclazide 투여군은 2.53±0.20 mg/dl이므로 대조군에 비해 대단히 유의성(p<0.001) 있는 감소효과를 보였다. Glibenclamide군은 5.16 ± 2.56 mg/dl로 유의

Table 7. Effect of Mori Ramulus, Gliclazide and Glibenclamide on Serum Insulin Level in Rats with Diabetes induced by Streptozotocin

Group	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of Animal	Insulin (mg/dl)
Normal	-	5	3.69±0.51 ^a
Control	-	5	6.26±0.17 ^{**}
Gliclazide	40	5	2.53±0.20 ^{***}
Glibenclamide	5	5	5.16±2.56
	100	5	4.93±1.29
MRM	400	5	4.56±1.21
	100	5	3.78±1.43
MRC	400	5	4.29±0.63 [*]
	100	5	3.38±0.69 [*]
MRH	100	5	3.04±0.69 [*]
	400	5	3.04±0.69 [*]

a), indicates Mean±S.E.

*, means p<0.05 compared to the control

***, means p<0.01 compared t to the control

****, means p<0.001 compared to the control.

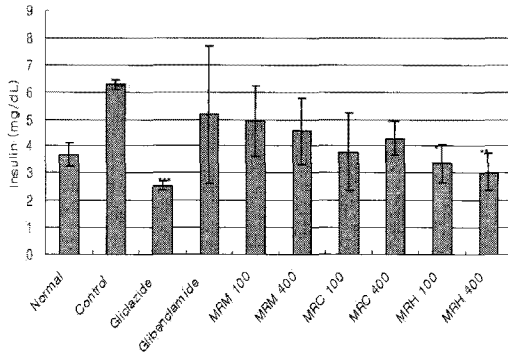


Fig. 9. Effect of Mori Ramulus, gliclazide and glibenclamide on insulin level in rats with diabetes induced by streptozotocin.

성 있는 변화가 없었으며, 桑枝 70% MeOH 추출물 100mg/kg 투여군 (MRM 100), 桑枝 70% MeOH 추출물 400mg/kg 투여군 (MRM 400), 桑枝 CHCl₃층 100 mg/kg 투여군 (MRC 100)은 각각 4.93±1.29 mg/dl, 4.56±1.21 mg/dl, 3.78±1.43 mg/dl로 별 유의성이 없었으나, 桑枝 CHCl₃층 400mg/kg (MRC 400) 투여군과 桑枝 H₂O층 100mg/kg (MRH 100) 투여군은 각각 4.29 ± 0.63 mg/dl과 3.38±0.69 mg/dl로 대조군에 비해 유의성(p<0.05)있는 감소를 보였다. 桑枝 H₂O층 400mg/kg (MRH 400) 투여군은 3.04±0.69 mg/dl로서 대조군에 비해 유의성(p<0.05) 높은 감소효과를 나타내었다 (Table 7, Fig. 9).

고찰

뽕나무는 잎(桑葉), 가지(桑枝), 뿌리(桑白皮), 열매

(桑椹子) 및 기생물(桑寄生)까지 모두 한약재로 사용되며, 우리나라의 산지에 광범위하게 분포하여 그 활용범위가 넓다. 그 중 桑葉, 桑白皮가 《神農本草經》으로부터 기재되어 사용되어 왔고, 桑枝는 《大觀本草》에 최초로 기록된 이래 많은 本草書에 수재되었다⁴⁾. 桑枝는 한방 임상에서 肩臂痛 뿐 아니라 中風, 高血壓 등 질환에 사용되는 되는 한약재로 그 효능에 대한 실험적 평가가 필요하다고 생각하여 본 연구를 수행하였다.

현대 사회들어 급속한 산업화와 경제성장, 서구화된 식생활 등에 의해 高血壓, 動脈硬化, 中風 등의 순환기계 질환과 함께 糖尿와 같은 내분비계 질환의 발생 빈도가 급격히 증가하고 있다. 당뇨병 환자의 경우 그 합병증 발생도 흔히 일어나게 되는데 관상동맥 질환, 뇌혈관질환, 말초혈관질환을 포함한 동맥경화성 질환의 발생 빈도가 높으며 당뇨병에 의한 사망원인의 70~80%를 이룬 합병증이 차지하고 있어¹⁵⁾ 이에 따라 혈압과 당뇨의 예방 및 치료를 위한 약물의 연구가 많이 진행되고 있다.

본 연구의 降壓실험에서는 양성 대조약물로 사용한 ACE 억제제인 Norvasc 2 mg/kg 투여군(Norvasc)과 桑枝 70% MeOH 100 mg/kg 투여군(MRM), 桑枝 H₂O층 100 mg/kg 투여군(MRH), 桑枝 CHCl₃층 100 mg/kg 투여군(MRC)으로 나누어 혈압을 측정하였다. 측정결과 Norvasc에 비해 桑枝의 혈압강하 효과가 약하였지만 桑枝는 H₂O층과 CHCl₃층에서 유의성 있는 혈압강하효과가 나타났는데 특히 CHCl₃층에 더욱 현저하였다. 桑枝를 임상에서 보통 물에 달여 사용하는 데 桑枝 H₂O층 100mg/kg을 투여한 군에서는 투여 후부터 혈압이 강하하기 시작하여 40분에 92.56±2.15%, 45분에 89.28±1.86%, 50분에 87.02±2.79%, 55분에 91.20±2.27%, 60분에 90.26±2.3%, 65분에 90.15±2.59%, 70분에 87.63±2.55%, 75분에 87.32±2.46%로 p<0.05의 유의성으로 혈압강하 효과를 보였다.

한편 당뇨에 대한 실험에서는 桑枝의 70% MeOH 추출물과 그의 분획물인 H₂O층과 CHCl₃ 추출물을 STZ로 당뇨가 유도된 마우스에 투여하여 항당뇨 효과를 알아보려고 하였다. STZ의 당뇨유발 작용은 화학구조상 deoxyglucose 부분에 의해 脛장 β-세포에 선택적으로 세포막 투과가 향진되고 nitrosourea 부분에 의해 세포독성이 발생하는 것으로 알려져 있는데, 이는 제 1형 당뇨병 연구를 위한 동물모델일 뿐 아니라 제2형 당뇨병에서 보이는 인슐린 분비이상과도 유사성을 가진다¹⁶⁾. 당뇨가 유발되면 Glucose, Triglyceride, Total cholesterol이 상승하고, 고혈당은

신장 기능의 저하를 가져오게 된다. 이런 신장 기능의 이상은 혈중 creatine과 BUN의 상승을 통해서 알 수 있다^{12,19)}. 따라서 STZ을 흰쥐의 복강에 주사하여 당뇨를 유발하고 桑枝를 70% MeOH 추출물과 그의 분획물인 CHCl₃ 추출물과 H₂O 층으로 나누어 100mg/kg, 400mg/kg의 농도로 5일간 경구투여 후, 혈청 중의 glucose, creatinine, BUN, total cholesterol, triglyceride, insulin 함량을 측정하였다.

혈청 glucose 함량은 대조군에 MRM 100 투여군, MRC 400 투여군, MRH 100, MRH 400 투여군이 대조군에 비하여 유의성(p<0.05) 있는 감소 효과를 나타내었다.

혈청 creatinine 함량은 대조군에 비해 MRC 400 투여군이 대조군에 비하여 매우 유의성(p<0.01) 있는 감소 효과를 나타내었다.

혈청 BUN 함량은 대조군에 비하여 MRM 100 투여군과 MRM 400 투여군은, MRC 400 투여군, MRH 100 투여군이 대조군에 비하여 매우 유의성(p<0.01) 있는 감소 효과를 나타내었다.

혈청 Total cholesterol 함량은 정상군 93.00±8.61mg/dl이고 대조군은 57.80±6.34 mg/dl로 감소하였다. MRC 100 투여군은 대조군에 비해 매우 유의성 있게(p<0.01) 증가하였다. MRH 400 투여군은 87.60±6.99 mg/dl로 대조군에 비해 유의성(p<0.05) 있게 증가하였다.

혈청 Triglyceride 함량은 MRM 100이 대조군에 비해 유의성(p<0.05) 있게 감소하였다.

혈청 insulin 함량은 대조군에 비해 Gliclazide 투여군이 대단히 유의성(p<0.001) 있는 감소효과를 보였다. MRH 400 투여군은 대조군에 비해 매우 유의성(p<0.01) 있는 감소효과를 나타내었다.

본 실험 결과 桑枝의 메탄올추출물(MeOH)은 유의성 있는 혈압강하 효과가 없었으나, 물(H₂O) 분획물에서는 투여 후 40분부터 70분까지 p<0.05의 유의성 있는 혈압강하 효과를 나타냈으며, 클로로포름(CHCl₃) 분획물은 가장 유의성 있는 혈압강하효과를 보여주었다.

STZ로 유발한 흰쥐의 당뇨실험에서 桑枝는 혈청 Glucose, Triglyceride 함량이 대조군에 비해 감소효과를 보였고, 혈청 Creatinine, BUN, Insulin의 함량은 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었으므로 당뇨의 치료에 유의한 효과가 있을 것으로 기대된다.

향후 桑枝 주요 성분들의 혈압 및 당뇨 치료 효과에 대한 보다 세밀한 연구가 필요하며, 기전 연구와 이를 토대로 한 임상 응용에 대한 연구가 지속적으로 수행되어야 할 것으로 사료된다.

결론

桑枝의 혈압강하효과와 streptozotocin으로 유발한 당뇨병에 미치는 영향을 연구하기 위하여 국산 桑枝를 70% MeOH로 추출, 농축하고 H₂O층, CHCl₃ 층을 분별증류하여 흰쥐에 투여해 실험한 결과 아래와 같은 결론을 얻었다.

1. 혈압강하 효과는 桑枝 CHCl₃층에서 약물 투여 (100mg/kg) 후 55분에 유의성 있는 혈압강하 효과가 나타나기 시작하여, 120분에서 300분에 매우 유의성 있는 혈압강하 효과를 보였다.
2. 혈청 creatinine 함량은 桑枝 CHCl₃층 400mg/kg 투여군이 대조군에 비하여 유의성 있는 감소 효과를 나타내었다.
3. 혈청 BUN 함량은 桑枝 70% MeOH Extract 100mg/kg, 400mg/kg과 桑枝 CHCl₃층 400mg/kg, 桑枝 H₂O층 100mg/kg 투여군이 대조군에 비하여 매우 유의성 있는 감소 효과를 나타내었다.
4. 혈청 total cholesterol 함량은 桑枝 CHCl₃층 100mg/kg 투여군이 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였다.
5. 혈청 insulin 함량은 桑枝 H₂O층 400mg/kg (MRH 400) 투여군이 대조군에 비해 매우 유의성 있는 감소효과를 나타내었다.

이와 같이 桑枝가 고혈압 및 당뇨에 유의한 효과를 보이는 것으로 나타났다. 이는 전통적으로 알려진 桑枝의 祛風濕 利關節, 行水氣 利小便의 효능과 함께 中風, 高血壓, 動脈硬化 및 糖尿病 등 현대의 대표적 만성, 난치성 질환군에 桑枝가 효과적으로 사용될 수 있음을 시사한다.

감사의 글

이 논문은 2008년도 2단계 두뇌한국21사업의 지원에 의하여 연구되었음

참고문헌

1. 國家中醫藥管理局. 中華本草. 上海 : 上海科學技術出版社. 1999 : 1104.
2. 上海中醫學院. 中草藥學. 香港 : 商務印書館.

1983 : 282-3.

3. 國家藥典委員會. 中華人民共和國藥典(1部). 北京 : 化學工業出版社. 2005 : 210.

4. 김창민, 이경순, 신민교, 안덕균. 完譯中藥大辭典, 서울 : 정담출판사. 1998 : 2824.

5. 王浴生. 中藥藥理與應用. 북경 : 人民衛生出版社. 1983 : 925-6.

6. 정지창. 桑枝가 高血壓 및 動脈硬化에 미치는 影響에 관한 실험적 연구. 慶熙醫大論文集 1978 ; 3 : 17-25.

7. 허중희. 桑枝煎湯液이 家兔의 血清 總cholesterol 및 血壓에 미치는 영향. 慶熙韓醫大論文集. 1978 ; 1 : 95-9.

8. 백창봉. 桑枝가 흰쥐의 血壓 및 利尿에 미치는 영향. 慶熙大學校 大學院. 1984.

9. 광영. 桑枝, 桑葉, 桑白皮 및 桑椹子의 抗脂血效果에 관한 연구. 慶熙醫學. 1992 ; 8(1) : 44.

10. 유경주. 桑枝의 效能에 관한 실험적 연구. 경희대학교 대학원. 1992.

11. 윤수홍. 桑白皮 추출물이 당뇨 쥐의 혈당 및 효소에 미치는 영향. 한국위생과학회지. 2001 ; 7(2) : 119-23.

12. 임석린. 桑白皮 추출물이 당뇨병 마우스에 미치는 영향. 대전대 한의학연구소 논문집. 2001 ; 10(1) : 483-8.

13. Flier JS, Kahn CR and Roth J. Receptors,

antireceptor antibodies and mechanisms of insulin resistance, N Engl J Med. 1979 ; 300(8) : 413-19.

14. 이광해. 정성현. streptozotocin 유도 당뇨동물 모델에서 桑葉추출물의 항당뇨효과 및 기전 연구. 경희약대논문집. 2000 ; 28 : 87-99.

15. Muniappan Latha, Leelavinothan Pari, Sandhya Sitasawad, Ramesh Bhonde. Insulin-secretagogue activity and cytoprotective role of the traditional antidiabetic plant *Scoparia dulcis* (Sweet Broomweed). Life Sciences. 2004. 75 : 2003-14.

16. Srivastava LM, Bora PS and Bhatt SD. Diabetogenic Action of Streptozotocin. TIPS. 1982 : 376.

17. JB Ubbirk, J Legendyk, MH Veermaak. Chromatography. 1993 ; 620 : 254-9.

18. E Bruchkert, N Jacob, L Lamaire, J Truffert, F Percheron, JL Relationship between smoking status and serum lipids in an hyperlipidemic population and analysis of possible confounding factors. Clin Chem. 1992 ; 38(9) : 1698-705.

19. Allain CC, Poon LS, Chan CS, Richmond W, Fu PC. Enzymatic determination of total serum cholesterol. Clin Chem. 1974 ; 20(4) : 470-5.

20. 이귀녕, 권오현. 임상병리과일. 서울 : 의학문화사. 2000.