

## 밀순 물추출물의 항산화 효과 및 Streptozotocin으로 유발한 당뇨 흰쥐에서 혈당강하에 미치는 영향

이선희 · 이영미<sup>1</sup> · 이희선<sup>2</sup> · 김대기\*

전북대학교 의과대학 및 의과학연구소, <sup>1</sup>원광대학교 약학대학 한약학과,  
<sup>2</sup>전북대학교 농업생명과학대학 응용생물공학부

## Anti-oxidative and Anti-hyperglycemia Effects of *Triticum aestivum* Wheat Sprout Water Extracts on the Streptozotocin-induced Diabetic Mice

Sun-Hee Lee, Young-Mi Lee<sup>1</sup>, Hoi-Seon Lee<sup>2</sup> and Dae-Ki Kim\*

Department of Immunology and Institute of Medical Science, Chonbuk National University Medical School, Jeonju, 561-180, Korea

<sup>1</sup>Department of Oriental Pharmacy, College of Pharmacy, Wonkwang University, Iksan 570-744, Korea

<sup>2</sup>Faculty of Biotechnology and Center for Agricultural Science and Technology, College of Agriculture and Life Science, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea

**Abstract** – This study was performed to investigate the anti-hyperglycemia effects of the *Triticum aestivum* wheat sprout (TAWS) water extracts in the diabetic mice. Diabetic experimental model was established by intraperitoneal injection of streptozotocin into male Balb/c mice. Mice were divided into five groups: normal (CON), diabetic control (DM), and three experimental groups (DM-100, diabetes with TAWS extracts 100mg/kg; DM-50, diabetes with TAWS extracts 50 mg/kg; DM-25, diabetes with TAWS extracts 25 mg/kg). TAWS extracts were administered orally in diabetic mice. Body weight, food intake, and blood glucose levels were recorded for 12 days and blood insulin levels were measured at the day 12. Oral administration of TAWS extracts reduced slightly food intake and induced a little body weight gain in DM-100 groups. The blood level of glucose was decreased in the dose-dependent manner; 55% in the DM-100 group and 39.7% in the DM-50 group. The blood level of insulin also was improved 10 folds in the DM-100 group and 3.6 folds in the DM-50 group compared to the DM group. The contents of total phenolic compounds and total flavonoids in 1 g dry mass of TAWS extracts were 6.6 mg of tannic acid equivalents and 1.0 mg of 8-hydroquinolline equivalents, respectively. In addition, the antioxidant and DPPH radical scavenging activity of TAWS extracts were 1.2 mM and 1.8 mM ascorbic acid equivalents, respectively. These results suggest that TAWS water extracts could contribute to attenuate clinical symptoms of diabetes mellitus.

**Key words** – *Triticum aestivum* wheat sprout, Diabetes mellitus, Blood glucose, Insulin, Streptozotocin

당뇨병은 혈중 포도당농도의 증가와 함께 탄수화물 대사 이상으로 포도당이 노로 다량 배설될 뿐만 아니라 단백질과 지질 대사 및 전해질의 대사에 이상을 초래하는 대표적인 대사성 질환이다.<sup>1)</sup> 당뇨병은 혈중 포도당의 수준을 정상화하는데 작용하는 인슐린의 분비저하 및 인슐린 작용의 결함에 의해 발병한다.<sup>2)</sup> 또한 비만, 운동부족, 음주, 흡연 등의 잘못된 생활습관도 당뇨병의 주요 유발인자로 알려져 있다. 대부분의 당뇨병환자들은 인슐린 분비 장애와 인슐린 저항성이 동시에 존재하는 경우가 많으며, 일반적으로 체내

free radical농도와 산화성 스트레스가 상승하게 되며, 특히 항산화효소 superoxide dismutase (SOD), catalase등의 활성이 감소하게 되어 동맥경화 등의 합병증을 유발한다고 알려져 있다.<sup>3)</sup>

최근 우리나라에서 당뇨병환자가 급격히 증가함에 따라 당뇨병 치료 및 개선에 관심이 높다. 양방에서 당뇨병 치료제는 크게 인슐린을 직접 투여하거나, 인슐린 분비촉진제, 인슐린저항 개선제, 그리고 당의 체내흡수를 방해하는 약물로 탄수화물 분해효소 억제제등을 복용하여 포도당 흡수를 억제하거나 대사를 유도하는 방법이 있으나 장기복용에 대한 안전성 및 높은 약가 등이 단점이 되고 있다. 따라서 대

\*교신저자 (E-mail): daekim@jbnu.ac.kr  
(Tel): +82-63-270-3080

부분의 환자들은 일반적으로 민간요법을 찾거나 양방과 병용하는 경우가 많다. 현재 당뇨병 환자의 약 70%가 민간요법에 따라 80~130여종에 이르는 항당뇨 효능이 있는 천연물질을 사용하는 것으로 알려져 있다. 당뇨병의 식이요법에 있어서 과거에는 당 및 탄수화물 섭취조절에 주로 초점이 맞추어져 있었으나, 근래에는 미량의 영양소나 생리활성물질을 함유하고 있는 천연식물성식품을 이용한 항당뇨효과에 미치는 영향이 연구 되어지고 있다.<sup>4)</sup>

밀 (*Triticum aestivum* Lamarck)은 외떡잎식물 벼목 화본과의 한해살이 작물로써 소맥이라고도 한다. 동의보감에서 밀은 성질이 약간 차고, 맛이 달며 독이 없으며, 번열(煩熱)을 제거하고, 갈증을 줄이며, 이뇨작용 및 간기(肝氣)를 보양한다고 하였다. 또한 소맥피(小麥皮)라고 불리는 밀껍질은 성질이 차지만 알곡은 성질이 열하여 탕약에 껍질을 벗기지 않고 달여 탕으로 먹으면 땀을 멈추게 하고, 허열을 치료한다고 하였다. 서구 선진국에서는 wheatglass라는 밀순을 분말 또는 착즙하여 영양부족 및 성인병 등의 건강 기능성보조식품으로 많이 이용되고 있으며, 이는 주로 밀이 발아 후 7-10일정도 재배한 어린 순을 사용한다.<sup>5)</sup> 밀순에는 아미노산, 미네랄, 비타민, 클로로필 등의 영양소가 풍부하며<sup>6)</sup> 뛰어난 항산화작용을 가지고 있다.<sup>7)</sup> 최근 Bar-Sela 등은 wheatglass주스가 암환자의 항암제 투여에 대한 부작용을 개선함을 보고하였고,<sup>8)</sup> Ben-Arye 등은 위장관치료에 효과가 있음을 발표하였다.<sup>9)</sup> 그러나 우리나라에서는 밀순에 대한 연구가 미진한 상태이다.

본 연구는 마우스에 streptozotocin (STZ)을 주입하여 유발시킨 제 1형 당뇨 실험동물모델을 대상으로 국산 우리밀 품종 중 대표적인 금강밀 어린순(*T. aestivum* weat sprout; TAWS)의 물추출물을 경구투여 함으로써 당뇨에 미치는 영향을 규명하기 위하여 본 실험을 수행하였다.

## 실험방법

**실험 재료** - 본 실험에 사용된 시료는 국립식량과학원에서 수확한 우리밀 품종 금강밀로써 평균 온도 20±1°C, 상대 습도 60~70%를 유지하며 무균 유기농 발아용 피트머스 위에서 발아시킨 후 10일 동안 키운 어린 밀순이다. 이를 시기별로 3월 초순, 5월 초순, 7월 초순에 수확하여 동결건조하여 잘게 분쇄한 후, TAWS건조분 100 g을 정제수 1 L에서 환류냉각하에 30분간 열탕하였다. 그 추출물을 Whatmann paper filter로 여과한 후 rotary evaporator(EYELA사)에서 감압농축하고 완전한 건조를 위하여 다시 동결 건조하여 실험에 사용하였다. 본 실험에 사용한 모든 시약들은 Sigma사로부터 구입하였다.

**당뇨실험동물** - 본 실험을 위하여 생후 8주령의 Blab/c 수컷 마우스들을 (주)샘타코로부터 공급받아 본 동물사육실의

시설 환경에 1주일이상 적응시키고, 평균체중이 22 g±1 g 내외의 마우스를 대상으로 streptozotocin (STZ)을 0.1 M sodium citrate buffer (pH 4.3)에 녹여 체중 kg당 50 mg을 24시간 간격으로 2회 복강주사하여 고혈당 당뇨모델을 구축하였다.<sup>10)</sup> 최종 복강주사 하고 48시간 후 공복시 혈중 포도당 농도가 250 mg/dL 이상인 것을 당뇨병이 유발된 흰쥐로 인정하고 실험에 사용하였다. 사육실 온도는 22±2°C로 유지하였으며, 음료는 정수기를 통과한 물을 멸균하여 충분히 공급하였고, 사료는 중앙실험동물(주)에서 구입한 AIN-76 식이사료를 제공하였다. 실험동물은 정상대조군 (CON)과 당뇨대조군 (DM), 및 TAWS물추출물 100 mg/kg (DM-100), 50 mg/kg (DM-50) 또는 25 mg/kg (DM-25) 등을 1일 2회 경구 투여한 실험군으로 분류하였다. TAWS물추출물은 용량별로 사용직전에 정제수에 녹여 사용하였다.

**식이섭취량 및 체중** - 실험기간 동안 각각 실험동물들에게 AIN-76식이사료를 제공하였으며 섭취량을 매일 일정한 시각에 측정 후 12일간의 총 섭취량에서 평균 1일 섭취량을 계산하였다. 체중은 3일 간격으로 일정 시각에 측정하였으며, 최종 체중에서 실험 개시전의 체중을 감하여 실험기간 중의 체중 변화 정도를 산출하였다.

**혈중 포도당 측정** - 실험동물의 꼬리 정맥으로부터 소량의 혈액을 채취하였으며 혈당 test machine (Abbott Diabetes Care Ltd.)을 이용하여 혈중 포도당 농도를 측정하였다. 모든 실험군들의 혈중 포도당 농도는 시료의 투여직전과 3일 간격으로 매회 일정시각에 12일간 측정하였다.

**혈중 인슐린 측정** - 실험동물의 혈중 인슐린 농도는 ELISA법으로 측정하였다. 시료를 12일 동안 투여하고 각각 실험군을 ethyl ether로 마취시킨 후 미리 헤파린나트륨을 혈액 1 mL당 100 IU를 전 처리한 주사기를 사용하여 심장으로부터 혈액을 채취하였다. 혈액채취 후 4°C에서 3000 rpm, 15분간 원심분리하여 혈장을 분리하였으며, 수시간 내에 Mouse insulin ELISA kit (SHIBAYAGI Co. Japan)를 이용하여 제조회사에서 제공한 매뉴얼에 따라 혈중 인슐린 농도를 측정하였다.

**총폴리페놀 함량 측정** - 시료에 함유하는 총폴리페놀의 함량은 Folin-Denis 방법을 응용하여 측정하였다.<sup>11)</sup> 건조 추출물 100 mg을 70%에탄올 10 ml에 완전히 녹인 후 이중 1 mL을 취하여 증류수 3 mL과 섞고, Folin-ciocalteu's phenol reagent 1 mL를 첨가한 후 상온에서 혼합하였다. 5분 후 NaCO<sub>3</sub> 포화용액 1 mL을 잘 혼합하여 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 이를 흡수분광광도계 (Optizen 2120UV, Mecasys Co.)를 이용하여 640 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 페놀화합물 함량은 표준물질 tannic acid를 사용하여 검량선을 얻고 이를 통하여 tannic acid에 준하는 총폴리페놀 함량을 산출하였다.

**총플라보노이드 함량 측정** - 총플라보노이드 함량은 Neiva

Moreno<sup>12)</sup> 등 건조 추출물 100 mg을 70%에탄올 10 ml에 완전히 녹인 후 0.5 ml를 취하여 초순수로 희석한 10% aluminium nitrate nonhydrate 0.1 ml, 1M potassium acetate 0.1 ml 그리고 80% ethanol 4.3 mL를 순차적으로 가하여 실온에 40분 방치한 뒤 415 nm에서 흡수분광광도계 (Optizen 2120UV, Mecasys Co.)로 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 표준물질 8-hydroxyquinoline에 준하는 시료 g당 함유량으로 산출하였다.

**Antioxidant Capacity – Antioxidant activity assay**는 Marklund<sup>13)</sup>의 방법에 따라 실시하였다. 각 시료용액 0.2 ml에 Tris-HCl (pH 8.5) 완충 용액 2.6 ml와 7.2 mM pyrogallol 0.2 ml를 가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후 1 N HCl을 가하여 반응을 정지시켜 산화된 pyrogallol의 양을 420 nm에서 측정하였다. 표준물질 ascorbic acid를 이용하여 antioxidant activity를 결정하였다.

**DPPH Radical Scavenging Capacity 측정 – DPPH** ( $\alpha, \alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl)시약은 항산화물질로부터 전자나 수소를 받아 불가역적으로 안정한 분자를 형성하는 전자공여능 활성이 있다. 전자공여능 측정방법은 Blois 방법에 준하여 실행하였다.<sup>14)</sup> 전자공여능의 측정은 메탄올 추출물 2 ml에 0.2 mM DPPH 1 ml를 넣고 vortex mix 후, 30분간 반응 시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질 ascorbic acid를 이용하여 DPPH radical scavenging capacity를 결정하였다.

**통계처리** – 실험을 통하여 얻어진 결과치는 통계 처리하여 평균치와 표준오차 (mean±SE)를 계산하였고, 각 당뇨 대조군과 실험군간의 유효성 검증을 위하여 Student t-test를 사용하였다.

## 결과 및 고찰

**체중 변화에 TAWS물추출물의 효과** – 실험기간 동안 TAWS물추출물을 투여한 실험군과 대조군들의 체중변화를 측정하였다. 실험개시에는 각 실험군의 평균체중은 비슷하였으며, 정상 실험동물에 TAWS추출물을 농도별 2주간 경구투여 한 경우 정상군과 비교하여 체중변화에 차이를 보이지 않았다 (Table I). STZ를 투여한 당뇨 실험동물의 경우 3일 이후부터 체중이 유의적으로 감소하였으며, 12일 경과 후 당뇨대조군은 정상군에 비하여 약 35% 정도 체중감소를 보였다(Table II). 그러나 TAWS추출물 100 mg/kg을 투여한 DM-100군에서는 당뇨병성 체중감소가 유의성 있게 억제되었다. STZ 유발 당뇨 흰쥐의 체중감소현상은 물과 용질 교환이 가능한 모세혈관의 최대표면적이 상대적으로 감소되어 골격근을 위축시킨다고 알려져 있다. 이렇게 STZ 주사에 의해 유도된 당뇨 실험동물의 경우 감소된 체중은 alloxan으로 유도된 당뇨와는 달리 체중 회복이 쉽지 않다

는 보고가 있다.<sup>15)</sup> 일반적으로 STZ에 의해 유도된 당뇨 실험동물에서는 세포의 포도당이용이 저하되고, 기아상태의 대사특징을 보이기 때문에 TAWS추출물을 투여한 실험군에서의 체중감소 억제효과는 제한적인 것으로 사료된다.

**음료 및 식이 섭취량 변화에 TAWS물추출물의 효과** – STZ으로 유도된 제1형 당뇨병에서는 고혈당과 더불어 다음, 다식, 및 다뇨의 특징적인 당뇨증상을 보인다. 당뇨 실험동물에서 음료 및 식이 섭취량에 있어서 TAWS추출물이 미치는 영향을 12일 동안 측정하고 이를 하루 평균섭취량

**Table I.** Effects of TAWS water extracts on body weight and weight gain in normal mice experimental mice for 2 weeks.

Groups <sup>1)</sup>	Initial weight (g)	Final Weight (g)	Weight gain (g)
CON	22.60±1.12 <sup>2,3)</sup>	25.60±0.98 <sup>2,3)</sup>	3.00
T25	22.30±1.08	25.34±0.99	3.04
T50	22.52±1.23	25.54±0.53	3.02
T100	22.78±0.98	25.96±1.06	3.18

<sup>1)</sup>CON: Normal mice.

T25 group: Normal mice treated with 25 mg/kg of TAWS extracts.

T50 group: Normal mice treated with 50 mg/kg of TAWS extracts.

T100 group: Normal mice treated with 100 mg/kg of TAWS extracts.

<sup>2)</sup>All values are mean±SE (n=5).

<sup>3)</sup>Values within a column with same superscripts are not significantly different at p<0.05 by Student t-test.

**Table II.** Effects of TAWS water extracts on body weight and weight gain in STZ-induced diabetic mice for 12 days.

Groups <sup>1)</sup>	Initial weight (g)	Final Weight (g)	Weight gain (g)
CON	22.90±1.05 <sup>2,3)</sup>	27.00±1.01 <sup>2,3)</sup>	4.10
DM	21.40±1.23	17.40±1.03	-4.00
DM-25	21.20±0.79	17.10±0.7	-4.10
DM-50	21.50±0.15	17.27±1.26	-4.23
DM-100	21.70±0.41	18.80±0.91	-2.90

<sup>1)</sup>CON group: Normal mice.

DM group: Diabetic control mice.

DM-25 group: Diabetic mice treated with 25 mg/kg of TAWS extracts.

DM-50 group: Diabetic mice treated with 50 mg/kg of TAWS extracts.

DM-100 group: Diabetic mice treated with 100 mg/kg of TAWS extracts.

<sup>2)</sup>All values are mean±SE (n=5).

<sup>3)</sup>Values with different superscripts are significantly different at p<0.05 by Student t-test.

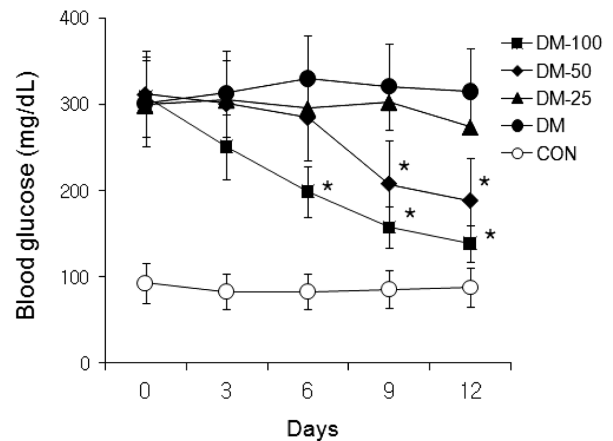
**Table III.** Effects of TAWS water extracts on of feed and water intake in STZ-induced diabetic mice for 12 days.

Groups <sup>1)</sup>	Feed intake <sup>2)</sup> (g/day)	water intake <sup>2)</sup> (mL/day)
CON	3.44±0.26 <sup>3,4)</sup>	4.29±0.41 <sup>3,4)</sup>
DM	5.63±1.26	14.25±2.01
DM-25	5.15±0.92	14.01±1.53
DM-50	5.63±1.26	13.90±1.97
DM-100	4.49±0.69	13.05±1.94

<sup>1)</sup>Abbreviation are the same as those of Table 2.  
<sup>2)</sup>Feed intake and water intake were measured everyday for 12 days and normalized to intake weights and volumes for 24 hours, respectively.  
<sup>3)</sup>All values are expressed as mean±SE (n=5).  
<sup>4)</sup>Values within a column with different superscripts are significantly different at p<0.05 by Student t-test.

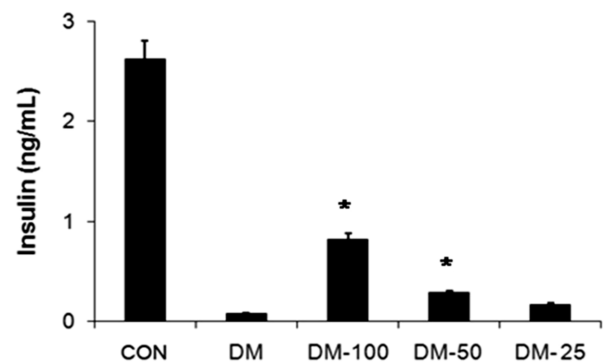
으로 계산한 결과를 Table III에 나타내었다. 정상 대조군(NDM)은 실험 전기간에 걸쳐 음료 및 식이섭취량에 있어서 커다란 차이를 보이지 않았지만, 당뇨병이 유발된 대조군(DM)과 실험군(DM-100, DM-50, DM-25)은 정상 대조군에 비하여 음료섭취량이 3배 및 식이 섭취량이 1.5배 이상 큰 폭으로 증가하였다. TAWS추출물을 투여한 경우 DM-100실험군에서 음료 및 식이 섭취량이 당뇨대조군에 비하여 유의적으로 감소함을 보였으나 저농도의 TAWS추출물 투여군에서의 식이 섭취량은 유의적인 차이가 없었다. 이와 같은 결과는 TAWS추출물이 용량 의존적으로 당뇨의 임상적 증상을 완화시키는 것으로 보인다. 그러나 본 실험에서 사용된 시료의 물리적 특성 때문에 경구로 고용량을 투여하는데 제한이 있었으며, 실험군에서의 음료 및 식이섭취량의 감소는 영양성분을 함유하고 있는 TAWS추출물의 강제 투여가 섭취량의 감소를 초래했을 가능성도 있다.

**혈중 포도당 농도의 변화에 TAWS물추출물의 효과** - 실험동물에 TAWS추출물을 12일 동안 투여하고 각각 대조군과 실험군에서 3일 간격으로 혈중 포도당 농도를 측정하여 비교한 결과는 Fig. 1과 같다. 당뇨대조군인 DM군 (301±45 mg/dL)에 비하여 TAWS추출물을 투여한 DM-25군에서는 혈당저하를 보이지 않았지만 DM-100군과 DM-50군은 투여기간에 비례하여 현저한 혈당 감소를 보였으며, 특히 12일간 투여 후 DM-100군이 309±45 mg/dL에서 139±21 mg/dL, DM-50군이 312±43 mg/dL에서 188±49 mg/dL로 각각 55%와 39.7% 혈당 수준이 감소하였다. 혈당저하 효과는 TAWS추출물의 투여량에 비례하여 증가하였으며 이러한 결과는 TAWS추출물에 항당뇨 물질이 함유하고 있음을 제시한다. 제1형 당뇨병 환자에게 처방되고 있는 대표적인 치료제는 인슐린 및 인슐린 분비촉진제이며, 부분적으로 당의 체내흡수를 방해하는 탄수화물 분해효소 억제제가 알려져



**Fig. 1.** Effects of TAWS water extracts on blood glucose levels in STZ-induced diabetic mice.

The blood glucose levels of all groups were measured at intervals of 3 days for 12 days. All values are given as means±SE (n=5). Values with asterisk are significantly different at p<0.05 vs. the diabetic groups received with/without TAWS extracts.

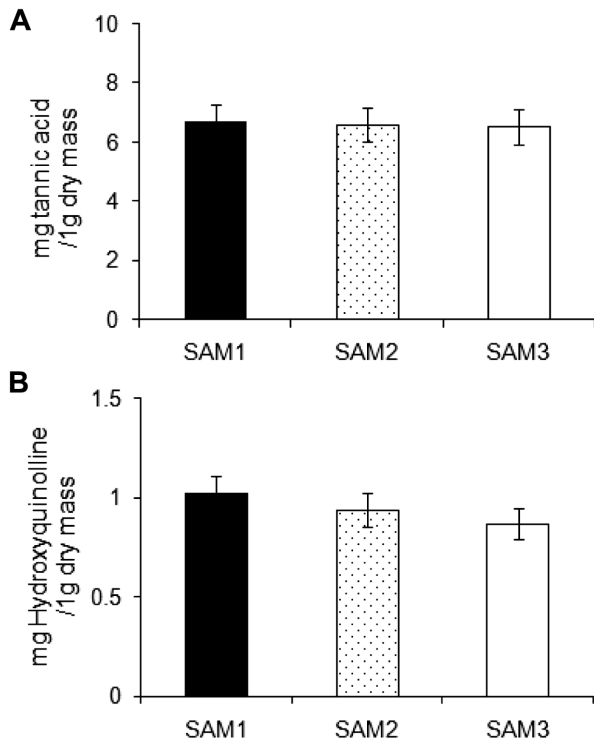


**Fig. 2.** Effects of TAWS water extracts on plasma insulin levels in STZ-induced diabetic mice.

All animals were sacrificed at 12 days after induction of diabetes, and bloods were collected by heart puncture. All values are given as means±SE (n=5). Values with asterisk are significantly different at p<0.05 vs. the diabetic groups received with/without TAWS extracts.

있다.<sup>16)</sup> Oneda등은 밀 낱알에 아밀라제 억제제가 함유하고 있음을 보고하였고,<sup>17)</sup> 오래전부터 당뇨병에 사용되어온 빵잎에는 alpha-glycosidase 저해활성이 있는 1-deoxynojirimycin<sup>18)</sup> 및 N-containing sugars<sup>19)</sup>이 함유되어 항당뇨효과가 있음이 보고되었다. 따라서 TAWS추출물에서도 이와 같은 아밀라제 활성을 억제하는 물질로부터 혈당저하를 유도할 가능성이 있다.

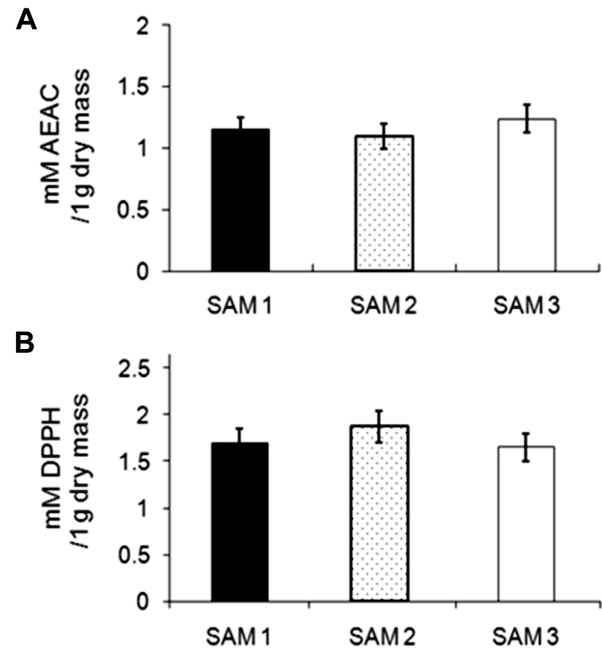
**혈중 인슐린 농도의 변화에 TAWS물추출물의 효과** - 실험동물에서 TAWS추출물에 의한 혈당저하 효과와 인슐린과의 관련성을 확인하였다. STZ으로 당뇨유발 후 12일에



**Fig. 3.** The contents of total phenolic compounds (A) and total flavonoids (B) in the water extracts of TAWS.

Three of samples grown for 10 days were obtained at different days. The content of total phenolic compounds and total flavonoids were represented as tannic acid equivalents and 8-hydroxyquinoline equivalents/1 g dry mass of TAWS extracts, respectively. The values are expressed as mean $\pm$ SE of three independent experiments.

걸쳐 시료를 투여한 후 Mouse insulin ELISA kit를 사용하여 혈중 인슐린 농도를 측정하였다(Fig. 3). 정상군(CON)에 비하여 당뇨대조군(DM)에서는 매우 낮은 수준의 혈중 인슐린이 검출되었다. 시료를 투여한 경우 당뇨 대조군 DM 군에 비해 실험군 DM-100 에서 10배 가량 혈중 인슐린 농도가 증가하였고, DM-50와 DM-25실험군에서도 각각 3.6 배와 1.6배의 혈중 인슐린 농도가 증가함을 보였다. 일반적으로 STZ를 투여하게 되면 췌장 베타세포가 파괴되고 이는 인슐린 생성부족으로 대사 이상이 나타나게 되어 혈중 포도당 농도가 증가하게 된다.<sup>20-22)</sup> 혈당저하 작용을 갖는 대부분의 천연물들은 폴리페놀류 및 플라보노이드 성분들을 함유하고 있으며 이들은 다양한 작용기전을 통하여 항당뇨 효과를 갖는다. 비파나무에서 분리한 Cinchonain Ib<sup>23)</sup> 및 녹차의 폴리페놀<sup>24)</sup> 등은 인슐린분비를 자극한다고 보고되었다. 따라서 본 실험결과 TAWS추출물이 췌장 베타세포의 인슐린 생산을 자극하는 효과가 있음을 보여주며, 또한 인슐린 분비를 유도할 수 있는 성분이 함유되어 있을 것으로 사료된다.



**Fig. 4.** Antioxidant capacity (A) and DPPH radical scavenging capacity (B) in the water extracts of TAWS.

Three of samples were obtained at different day. The ascorbic acid equivalent antioxidant capacity (AEAC) was represented as mM ascorbic acid equivalent and mM DPPH equivalent/1 g dry mass of TAWS extracts, respectively. Values are expressed as mean $\pm$ SE of three independent experiments.

TAWS물추출물의 총폴리페놀 및 총플라보노이드 함량 - 천연물의 생리활성물질로 대표되는 총폴리페놀 및 총플라보노이드 등의 함량을 조사하였다. 10일간 키운 TAWS 물추출물에서 총폴리페놀 함량은 대표물질인 tannic acid을 표준물질로 하고, 총플라보노이드 함량은 8-hydroxyquinoline을 표준물질로 하여 1 g당 함유량으로 환산하였다. 시료의 물추출 건조물에는 총폴리페놀이 약 6.6 mg/g 해당량이 검출되었으며(Fig. 3A), 총플라보노이드는 약 1.0 mg/g에 해당하는 함량을 보였다(Fig. 3B). 또한 서로 다른 시기에 10일간 재배하여 얻은 3개 시료를 비교한 결과 총폴리페놀 및 총플라보노이드 함량이 유사한 수준을 보였다. 이 결과는 10일의 짧은 재배기간에서는 TAWS들의 주요 생리활성 물질 함량에 변화가 없는 것으로 생각된다. 페놀성 물질은 다양한 구조와 분자량을 가지며, 이것들의 phenolic hydroxyl이 단백질처럼 거대분자와 결합을 하여 항산화, 항균, 항암 등의 생리기능을 가지는 것으로 알려져 있다.<sup>25)</sup> 플라보노이드는 담황색 또는 노란색을 띠는 색소화합물로서 식물중에는 대부분 당과 결합된 배당체로서 존재하며 인체에 특이한 부작용이 없는 것으로 알려져 있다.<sup>26)</sup> 최근에 Cavaliere 등은 TAWS에 Luteolin glycosides를 함유한다고 보고하였다.<sup>27)</sup>

TAWS물추출물의 Antioxidant Capacity 및 DPPH Radical Scavenging Capacity - 항산화물질은 free radical에 전자나 수소를 공여하여 복합체를 만들며, 전자공여능은 시료의 플라보노이드 및 폴리페놀성 물질들에 대한 항산화 작용의 지표로 알려져 있다.<sup>28)</sup> TAWS추출물의 SOD유사 항산화 활성 및 전자공여능을 측정된 결과 TAWS물추출 건조물의 1g에서는 ascorbic acid 약 1.2 mM 해당량의 산화억제 활성을 보였으며 (Fig. 4A), 전자공여능은 DPPH의 약 1.8 mM에 해당하는 활성을 보였다(Fig. 4B). 재배시기가 다른 3개의 시료에서 항산화 활성은 총폴리페놀 및 총플라보노이드 함량 결과에서와 같이 TAWS추출물은 수확시기에 크게 영향을 받지 않고 비슷한 활성을 보였다. 최근에 Kulkarni등은 생 밀순에서 SOD유사활성 및 전자공여능의 높은 활성도를 보고하였으며,<sup>29)</sup> Calzuola 등은 70%알코올 밀순 추출물이 강력한 Super oxide scavenge 활성과 ferricyanide에 대한 환원능이 뛰어난 항산화 효과가 있음을 보고하였다.<sup>30)</sup> 본 실험결과도 이들과 일치하는 결과를 보였으며, 밀순에 함유하는 폴리페놀 및 플라보노이드의 항산화 활성으로 산화성 스트레스질환에 효과가 있을 것으로 사료된다.

## 결 론

본 연구에서는 TAWS물추출물이 streptozotocin(STZ)로 유발한 당뇨환쥐에서 혈당저하에 미치는 영향을 밝히고자 혈중 포도당 농도, 체중 변화, 사료 및 음용수 섭취량, 혈중 인슐린 농도의 변화를 조사하였다. 또한 TAWS의 생리활성 물질인 총폴리페놀, 총플라보노이드 함량을 측정하고, 항산화 활성 및 전자공여능을 확인하였다. 실험을 위해 숫컷 흰쥐들을 정상군(CON), 당뇨 대조군(DM), 당뇨쥐에 TAWS물추출물 투여량이 서로 다른 실험군(DM-100, DM-50, DM-25)으로 나누어 실험하였다. 그 결과 당뇨대조군에서 4g 이상 체중이 감소함에 반하여 추출물 농도별 투여군에서 DM-100군은 2.9g 체중감소에 그쳤다. 사료 및 음용수 섭취 측정결과 역시 추출물 투여군에서 유의적인 감소를 보였다. 혈중 포도당 농도는 정상군(CON)에 비하여 당뇨대조군(DM)이 357% 증가되었으며, 실험군인 DM-100군과 DM-50군에서는 DM-100군이 투여 전 혈당인 309±45 mg/dL에서 투여 12일째에 139±21 mg/dL, DM-50군이 312±43 mg/dL에서 188±49 mg/dL로 각각 55%와 39.7% 감소하였다. 또한 당뇨쥐의 인슐린 감수성에 대한 관찰결과 당뇨대조군에 비하여 모든 실험군에서 높은 값을 보였다. 또한 TAWS물추출물에는 폴리페놀과 플라보노이드류 화합물들이 함유되어 있으며, 항산화 활성과 전자공여능이 뛰어난 생리활성효과를 보였다. 이러한 특성은 TAWS 수확 시기가 서로 다른 경우에도 비슷한 경향을 나타내었다. 이상과 같은 결과를

통해서 TAWS 추출물은 당뇨병의 혈당저하 및 당뇨병으로 인해 발생하기 쉬운 합병증의 개선에 기여할 것으로 사료되며, 이들의 항당뇨 기전에 대해서는 앞으로 연구가 진행되어야 할 것이다.

## 사 사

본 연구는 농림수산식품부 농림기술개발사업(과제번호 :108156-03-1-CG000)의 지원에 의하여 수행되었음.

## 인용문헌

- Abrams, J. J., Ginsberg, H. and Grundy, S.M. (1982) Metabolism of cholesterol and plasma triglycerides in nonketotic diabetes mellitus. *Diabetes* **31**: 903-910.
- Tisch, R. and Mcdevitt, H. (1966) Insulin-dependent diabetes mellitus. *Cell* **85**: 291-297.
- Giugliano, D., Ceriello, A. and Paolisso, G. (1996) Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care*. **19**: 257-267.
- 김경래. (1994) 당뇨병 민간요법의 실태. *당뇨병*. **18**: 61-64.
- Hänninen, O., Rauma, A.L., Kaartinen, K. and Nenonen, M. (1999) Vegan diet in physiological health promotion. *Acta Physiol Hung.* **86**: 171-180.
- Nagaoka, H. (2005) Treatment of germinated wheat to increase levels of GABA and IP6 catalyzed by endogenous enzymes. *Biotechnol. Prog.* **21**: 405-410
- Calzuola, I., Marsili, V. and Gianfranceschi, G.L. (2004) Synthesis of antioxidants in wheat sprouts. *J. Agric. Food Chem.* **52**: 5201-5206.
- Bar-Sela, G., Tsalic, M., Fried, G. and Goldberg, H. (2007) Wheat grass juice may improve hematological toxicity related to chemotherapy in breast cancer patients: a pilot study. *Nutr. Cancer*. **58**: 43-48.
- Ben-Arye, E., Goldin, E., Wengrower, D., Stamper, A., Kohn, R. and Berry, E. (2002) Wheat grass juice in the treatment of active distal ulcerative colitis: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Scand. J. Gastroenterol.* **37**: 444-449.
- Rakieten, N., Gordon, B.S., Cooney, D.A., Davis, R.D. and Schein, P.S. (1968) Renal tumorigenic action of streptozotocin (NSC-85998) in rats. *Cancer Chemother. Rep.* **52**: 563-567.
- Folin, O. and Denis, W. (1912) On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J. Biol. Chem.* **12**: 239-249.
- Moreno, M., Isla, M., Sampietro, A. and Vattuone, M. (2000) Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J. Ethnopharmacol.* **71**: 109-114
- Pellegrin, N., Roberta, R., Min, Y. and Catherine, R.E. (1998)

- Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Method Enzymol.* **299**: 379-389.
14. Blois, M. S. (1958) Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature* **26**: 1198-1199.
  15. Sexton, W. L. (1994) Skeletal muscle vascular transport capacity in diabetic rats. *Diabetes* **43**: 225-231.
  16. Raptis, S.A. and Dimitriadis, G.D. (2001) Oral hypoglycemic agents: insulin secretagogues, alpha-glucosidase inhibitors and insulin sensitizers. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* **109 Suppl**: S265-S287.
  17. Oneda, H., Lee, S. and Inouye, K. (2004) Inhibitory Effect of 0.19 {alpha}-Amylase Inhibitor from Wheat Kernel on the Activity of Porcine Pancreas {alpha}-Amylase and Its Thermal Stability. *J. Biochem.* **135**: 421-427
  18. Asano, N., Oseki, K., Kaneko, E. and Matsui, K. (1994) Enzymic synthesis of alpha- and beta-D-glucosides of 1-deoxynojirimycin and their glycosidase inhibitory activities. *Carbohydr. Res.* **258**: 255-266.
  19. Nojima, H., Kimura, I., Chen, F.J., Sugihara, Y., Haruno, M., Kato, A. and Asano, N. (1998) Antihyperglycemic effects of N-containing sugars from *Xanthocercis zambesiaca*, *Morus bombycis*, *Aglaonema treubii*, and *Castanospermum australe* in streptozotocin-diabetic mice. *J. Nat. Prod.* **61**: 397-400.
  20. Forman, S., Estilow, M.L. and Vlienko, P. (1996) STZ diabetes alters immunoreactive b-endorphin levels and pain perception after 8wk in female rats. *Diabetes* **35**: 1309-1313.
  21. Furuse, M., Kimura, C., Mabayo, R.T. and Takahashi, H. (1993) Okumura J Dietary sorbose prevents and improves hyperglycemia in genetically diabetic mice. *J. Nutri.* **123**: 59-65.
  22. Fischer, K. J. and Stewart, J. K. (1986) Phenylethanolamine N-methyltransferase in the brains of streptozotocin diabetic rats. *Endocrinology* **119**: 2586-2589.
  23. Qa'dan, F., Verspohl, E.J., Nahrstedt, A., Petereit, F. and Matalka, K.Z. (2009) Cinchonain Ib isolated from *Eriobotrya japonica* induces insulin secretion in vitro and in vivo. *J. Ethnopharmacol.* **124**: 224-227.
  24. Li, C., Allen, A., Kwagh, J., Doliba, N.M., Qin, W., Najafi, H., Collins, H.W., Matschinsky, F.M., Stanley, C.A. and Smith, T.J. (2006) Green tea polyphenols modulate insulin secretion by inhibiting glutamate dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* **281**: 10214-10221.
  25. Dural, B. and Shetty, K. (2001) The stimulation of phenolics and antioxidant activity in pea (*Pisum sativum*) elicited by genetically transformed Anise root extract. *J. Food Biochem.* **25**: 361-377.
  26. Miyake, Y., Yamamoto, K. and Tsujihara, N. Osawa T. (1998) Protective effects of lemon flavonoids on oxidative stress in diabetic rats. *Lipid* **33**: 689-695.
  27. Cavaliere, C., Foglia, P., Pastorini, E., Samperi, R. and Laganà, A. (2005) Identification and mass spectrometric characterization of glycosylated flavonoids in *Triticum durum* plants by high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom* **19**: 3143-3158
  28. Hertog, M. G., Feskens, E. J., Hollman, P. C., Katan, M. B. and Kromhout, D. (1993) Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* **342**: 1007-1011.
  29. Kulkarni, S. D., Tilak, J. C., Acharya, R., Rajurkar, N. S., Devasagayam, T. P. and Reddy, A. V. (2006) Evaluation of the antioxidant activity of wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) as a function of growth under different conditions. *Phytother. Res.* **20**: 218-227.
  30. Calzuola, I., Gianfranceschi, G.L. and Marsili, V. (2006) Comparative activity of antioxidants from wheat sprouts, *Morinda citrifolia*, fermented papaya and white tea. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **57**: 168-177.

(2009년 10월 19일 접수)