J Korean Soc Food Sci Nutr
39(12), 1761~1768(2010)

한국식품영양과학회지
DOI: 10.3746/jkfn.2010.39.12.1761

오갈피나무 속(屬) 식물의 항당뇨 및 혈당강하 효과

임상현[1†] · 박유화[1] · 권창주[1] · 함헌주[1] · 정햇님[2] · 김경희[1] · 안영섭[3]

[1]강원도 농업기술원 농산물이용시험장
[2]강원도 농업기술원 인삼약초시험장
[3]국립원예특작과학원 인삼특작부

Anti-diabetic and Hypoglycemic Effect of *Eleutherococcus* spp.

Sang Hyun Lim[1†], Yu Hwa Park[1], Chang Ju Kwon[1], Hun Ju Ham[1], Haet Nim Jeong[2], Kyung Hee Kim[1], and Young Sup Ahn[3]

[1]*Gangwon Provincial Agricultural Research & Extention Services, Gangwon 200-150, Korea*
[2]*Ginseng & Medicinal Plants Experiment Station, Gangwon 269-833, Korea*
[3]*Dept. of Herbal Crop Research, NIHHIS, RDA, Chungbuk 369-873, Korea*

Abstract

Hypoglycemic effect through activity inhibition of α-glucosidase and α-amylase was evaluated using leaves of *Eleutherococcus senticosu*, *Eleutherococcus gracilistylus*, *Eleutherococcus sieboldianus* and *Eleutherococcus sessiliflorus* which belong to *Acanthopanax sessiliflorus* genus. As a result of measuring α-glucosidase activity inhibition, extract of *Eleutherococcus gracilistylus* showed around 43.38% of activity inhibition compared with acarbose and extract of *Eleutherococcus senticosu* showed 41.24% inhibitory effect. As a result of measuring α-amylase activity inhibition, acarbose showed 73.25% of activity inhibition in 10 mg/mL concentration, and the extract of *Eleutherococcus senticosu* leaves showed 91.90% higher activity inhibition compared with acarbose. Also, after subjects in a model were induced diabetes with streptozotocin (STZ) intake plant extract from *Acanthopanax sessiliflorus* for 2 weeks, effect of improving blood glucose level and fat was examined. In all groups with specimen, *Eleutherococcus senticosu* (T1), *Eleutherococcus gracilistylus* (T2), *Eleutherococcus sieboldianus* (T3) and *Eleutherococcus sessiliflorus* (T4), blood glucose level was significantly decreased compared with that in control group (C). In an experiment of examining changes in fat concentration in blood, total cholesterol content increased in a control group compared with a normal, while in T1, T3 and T4, it decreased significantly compared with the control group. As for HDL-cholesterol, it significantly increased in all diabetes induced groups compared with the normal group, and in T3, it increased the most significantly by 55.61% compared with the control group. In case of LDL-cholesterol, specific difference between the normal group and the control group was not found; however, significant increase was detected in T2 and T3, whereas in T1 and T4, it decreased significantly compared with the control group. As for triglyceride, its concentration increased in the control group like total cholesterol. It decreased 60.16% in T3, 60.80% in T4 and 50.16% in T1 compared with the control group. As a result of measuring the concentration of triglyceride in extracted liver, the control group showed significant increase compared with the normal group, whereas T1 and T2 showed significant decrease compared with the normal group. The above results show that extracts from *Acanthopanax sessiliflorus* genus are effective for hypoglycemic and improving fat metabolism due to diabetes.

Key words: *Eleutherococcus senticosu*, *Eleutherococcus gracilistylus*, *Eleutherococcus sieboldianus*, *Eleutherococcus sessiliflorus*, α-glucosidase, α-amylase, anti-diabetic, streptozotocin

서 론

최근 서구화된 식생활과 생활습관 등으로 인하여 암, 뇌혈관질환, 심장질환 등 각종 성인병이 증가하고 있으며(1), 그 중 대사성 질환인 당뇨병은 현재 전 세계적으로 급증하고 있는 추세이다(2). 당뇨병은 유전적인 요인과 더불어 비만, 식생활, 운동부족 등 후천적인 요인에 의해 영향을 받으며 소아 당뇨 환자 또한 꾸준히 증가하고 있다(3). 당뇨병은 β-세포의 손상에 의한 인슐린 결핍으로 발생되는 제1형 당뇨병(insulin-dependent diabetes mellitus)과 인슐린 수용체의 이상, 저항성 같은 신호전달의 문제로 발생되는 제2형 당뇨병(non-insulin-dependent diabetes mellitus)으로 구분된다(4). 현재 국내에서 치료용으로 sulfonyl urea계 약물이 사용되고 있지만 치료의 한계와 부작용으로 인하여 이와 유사한

†Corresponding author. E-mail: Lsh067@korea.kr
Phone: 82-33-248-6523, Fax: 82-33-248-6555

효능을 가지면서도 안전하고 효과적으로 혈당을 조절할 수 있는 천연소재에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(5). 그 중 엉겅퀴(*Cirsium japonicum*)의 잎과 뿌리가 당뇨 유발로 인한 체중감소 및 식이 이용 효율 감소 억제 효과, 혈당 증가 완화 효과가 있음을 보고하였고(6), 돼지감자(*Helianthus tuberosus* L.)가 hamster β-cell인 HIT-T15 cell의 생존율을 높이고, 세포 보호효과를 가짐으로써 인슐린 분비능 정상화 및 NAD^+ 함량을 증가시켜 혈당 조절과 당뇨에 효과적임을 보고하였다(4). 이렇듯 독성 및 부작용의 영향을 적게 받으면서 혈당 강하 및 항당뇨에 대한 높은 활성을 보이는 천연식물 소재 발굴에 대한 노력이 계속되고 있다.

오갈피나무 속(屬) 식물은 두릅나무과(Araliaceae)에 속하는 낙엽관목으로 본초강목에서 강장, 강정, 중풍 등에 효능이 있다고 알려져 있다(7). 현재 오갈피나무 속에 대한 효능 평가와 연구가 활발히 진행되고 있으며, 한방에서는 신경통, 중풍, 당뇨 등의 치료에 이용되고 있다(8). 본 실험에 사용된 오갈피나무 속 식물 중 섬오갈피나무(*Eleutherococcus gracilistylus*)는 해발 500 m 아래의 제주지역에 자생하는 약용식물로(9) 생리활성에 관한 연구로는 줄기와 뿌리 추출물의 우수한 항산화 효과(10), 채취 시기별, 재배 지대별 eleutheroside E 함량에 관한 연구 등이 보고되어 있다(7). 오가나무(*Eleutherococcus sieboldianus*)는 당오갈피나무로 불리며 약리적인 효과나 활성에 관한 연구는 보고되어 있지 않으며, eleutheroside E 함량에 관한 연구가 보고되어 있다(7). 오갈피나무(*Eleutherococcus sessiliflorus*)는 우리나라와 중국 등지에서 자생하며 관련 연구로는 오갈피 수피 및 근피에서 phytosterol의 단리에 관한 연구(11), 오갈피 잎에서 chiisanogenin의 분리에 관한 연구(12)가 보고되어 있으며 약리 효과로는 오갈피 뿌리 추출물이 IL-10을 증가시켜 IL-1β와 TNF-α의 활성을 억제함으로써 허혈 시 나타나는 염증에 효과적이라는 보고가 있다(13). 가시오갈피(*Eleutherococcus senticosus* Maxim)는 러시아 우수리강 유역 하바로부스크 지역(45~50°N), 사할린(46~51°N), 중국의 흑룡강성, 길림성, 요령성 등의 동부 산간지역(39~51°N) 및 일본의 북해도 동북부 등의 극동아시아 지역에 주로 분포하고 한국의 경우 중부 이북지역의 고산지대에서만 드물게 분포하는(14) 저온 음지성 식물이다. 면역활성, 항돌연변이, 항암효과, 항산화 효과 등 매우 다양한 분야의 생리활성이 있는 것으로 보고되고 있으며, 생약재로 주로 활용되는 줄기와 뿌리껍질 외에도 잎, 열매 등 모든 수확부위를 식품원료로 폭넓게 활용 가능하다(15-17). 전통적으로 근피 또는 수피는 동의보감을 비롯하여 한약집성방, 신농본초경 등의 고전 한의서에 약리효능이 탁월한 것으로 기재되어 있으며, 1960년대 후반에 러시아에서 eleutheroside류가 adaptogen으로서의 효능이 매우 탁월하다는 연구보고(18)가 이루어진 이후, 인삼과 함께 국내외적으로 중요한 기능성식품 원료로의 연구대상이 되고 있다. 가시오갈피 성분에 관한 연구로는 근피 추출물에서 eleutherosdie A~G의 분리가 이루어진 이래로 lignan, coumarin, diterpene, triterpenoid, steroid, 페놀화합물 등 200여종 이상의 다양한 성분이 뿌리, 줄기, 잎, 열매 등에 함유되어 있는 것으로 보고되고 있으며, 이러한 물질들의 활성작용에 대한 연구 등도 활발히 진행되고 있다(19).

본 시험에서는 오갈피나무 속의 가시오갈피(*Eleutherococcus senticosu*), 섬오갈피나무(*Eleutherococcus gracilistylus*), 오가나무(*Eleutherococcus sieboldianus*), 오갈피나무(*Eleutherococcus sessiliflorus*)의 잎 부위를 이용하여 α-glucosidase와 α-amylase 활성 저해 효과를 통한 혈당강하 효과를 비교 평가하였으며, streptozotocin(STZ)으로 당뇨를 유도한(쥐에서) 2주간 오갈피나무 속 식물 추출물을 섭취시킨 후 혈당과 지질 개선 효과를 탐색하여 항당뇨 및 기능성식품 소재 선발을 위한 기초자료로 활용하고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용된 가시오갈피(*Eleutherococcus senticosu*), 섬오갈피나무(*Eleutherococcus gracilistylus*), 오가나무(*Eleutherococcus sieboldianus*), 오갈피나무(*Eleutherococcus sessiliflorus*)의 잎 부위를 강원도농업기술원 인삼약초시험장(구 북부농업시험장)에서 2008년에 수확하여 본 시험에 사용하였다.

분석용 시료 제조

각각의 시료 500 g을 세척 후 열풍건조기에 넣고 50°C에서 72시간 건조 후 세절하여 시료량에 10배(v/w)에 해당하는 80% ethanol을 첨가하여 12시간 동안 교반, 2회 추출한 후 여과지(No. 40, Whatman, Maidstone, England)로 여과한 후 rotary vacuum evaporator(N-21NS, EYELA, Tokyo, Japan)를 사용하여 50°C에서 감압농축 시킨 후 동결건조기를 이용하여 건조한 후 분석용 시료와 동물실험용 시료로 사용하였다.

α-Glucosidase 저해 효과 측정

E-tube에 yeast baker 기원의 α-glucosidase(Sigma, St. Louis, MO, USA) 100 μL, 시료(10 mg/mL) 50 μL를 넣고 여기에 기질(40 mM maltose)를 500 μL를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 100°C에서 5분간 중탕하면서 반응을 정지시켰다. 반응액 중에서 100 μL를 24 well-plate에 넣은 후 glucose kit(ASAN set glucose, Hwaseong, Korea) 효소시약 1 mL을 첨가한 후 37°C에서 5분 동안 발색시킨 뒤 500 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 표준품은 acarbose를 시료와 같은 농도(10 mg/mL)로 제조하여 측정하였다.

저해율(%)=1−{(반응구의 흡광도−반응구의 blank의 흡광도)/(대조구의 흡광도−대조구의 blank의 흡광도)}×100

α-Amylase 저해 효과 측정

1%의 agar와 1%의 가용성 전분을 증류수에 녹여 끓인 후, 121°C에서 15분간 멸균하여 약 20 mL씩 petri dish에 부어 준비한 plate에 10 mg/mL로 준비한 시료 16.8 μL(10, 5, 1 mg/mL)와 효소액 13.2 μL(300 U/mL)를 섞어 plate에 놓인 disc paper 위에 각각 분주하였다(20). 대조구는 시료 대신 증류수를 넣어 37°C에서 3일간 배양하였으며, I_2/KI(5 mM I_2 in 3% KI) 2 mL을 가하여 15분간 발색시킨 후 다음의 식으로 저해율을 계산하였고, 각 시료는 3회 반복하여 평균하였다.

$$\text{저해율}(\%)=\left(\frac{\text{대조구의 면적}-\text{반응구의 면적}}{\text{대조구의 면적}}\right)\times 100$$

당뇨 유발 및 실험군 구성

6주령의 수컷 SD-rat(174±5.4 g)을 (주)오리엔트바이오(Seongnam, Korea)로부터 구입하여 1주일간 적응시킨 후 본 실험에 사용하였다. 실험동물의 사육 조건은 습도 50±5%, 온도 24±2°C이었으며, 물과 사료는 자유롭게 섭취할 수 있도록 공급하였다. 실험군 설정은 아래의 Table 1과 같다. 당뇨 유발은 실험동물을 6시간 절식시킨 후 100 mM citrate buffer(pH 4.5)에 녹인 25 mg/kg의 streptozotocin(STZ)을 3일간 매일 복강 투여하였고 투여 3일 후 혈당측정기를 이용하여 전혈의 혈당을 측정하여 유발된 것과 유발이 낮을 것을 제외하고 각 군의 평균 혈당이 336±0.75 mg/dL이 되도록 동물을 배치하였다. 시료는 군 분리 이후 매일 2주간 경구 투여하였다.

체중 및 식이, 음수량 측정

대조군과 실험군의 체중, 식이량 및 음수량은 2주 동안 측정하였으며, 1주일 단위로 측정하였다.

혈청의 생화학적 분석

혈청의 생화학적 검사를 위하여 STZ 투여 후 3일, 그리고 소재(시험시료) 투여 후 14일 후에 18시간 절식 후 시험 종료일에는 Zoletil : Runpun(4:1)으로 마취 후 복대정맥에서 2 mL 채혈하여 3000 rpm에서 10분간 원심분리 하여 혈청을 분리하였다. 혈중 포도당 농도, cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triglyceride의 농도는 자동혈청분석기(BT1000, Biotecnica, Rome, Italy)를 이용하여 분석하였다.

Table 1. Design of experimental group

Experimental group[1)]	Dose (mg/kg)	Number of animal
Normal	–	8
STZ[2)]-Control	–	8
T1+STZ	250	8
T2+STZ	250	8
T3+STZ	250	8
T4+STZ	250	8

[1)]T1: *Eleutherococcus senticosus*, T2: *Eleutherococcus gracilistylus*, T3: *Eleutherococcus sieboldianus*, T4: *Eleutherococcus sessiiflorus*.
[2)]Streptozotocin (25 mg/kg, BW) [100 mM citrate buffer (pH 4.5)].

간 조직 내 중성지방 농도 분석

실험 종료일에 부검을 통해 적출한 간을 -70°C에서 보관 후 1 g의 간을 정량하여 homogenizer로 곱게 분쇄하여 지질을 추출한 후, 아산제약 중성지방 측정용 kit를 사용하여 흡광도 550 nm에서 spectrophotometer(UVM340, ASYS, Engendorf, Austria)를 이용하여 측정하였다.

통계처리

실험 결과는 평균값과 표준편차로 나타내었으며, 통계처리는 SPSS(statistical package for social sciences, version 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 one-way ANOVA 분석을 실시한 후 Duncan's multiple range test로 유의성을 $p<0.05$ 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

추출물 수율

오갈피나무 속의 4종에 대하여 80% ethanol로 추출한 수율은 가시오갈피 잎이 24.35%, 섬오갈피나무 잎이 30.96%, 오가나무 잎이 36.71%, 오가피나무 잎이 28.48%로 나타났다.

α-Glucosidase 활성 억제에 의한 혈당강하 활성검증

α-Glucosidase는 소장의 brush-border membrane에 존재하는 소화효소이다. 이들은 이당류나 다당류가 탄수화물이 소화 흡수되기 위한 상태인 단당류로 가수분해하는 역할을 한다. 소장 내 α-glucosidase들에 의한 탄수화물의 흡수는 대개 소장 상부에서 신속하게 이루어지게 되어 식후 혈당치의 급격한 상승을 초래한다. 정상인의 경우 소장 내에 maltase나 sucrase 같은 α-glucosidase들을 적절히 억제함으로써 식후에 급격한 혈당상승을 억제하는 것으로 알려져 있다(21). 따라서 α-glucosidase 저해제는 제 2형 당뇨와 같은 당질 관련 질병을 위한 치료제 개발에 유용하다(22). 가시오갈피, 섬오갈피나무, 오가나무, 오갈피나무 잎의 80% 에탄올 추출물로부터 당 분해를 억제할 수 있는 기능성을 찾기 위한 항당뇨 효과의 지표로 α-glucosidase 활성 저해 효과를 측정한 결과 Table 2와 같이 나타났다. α-glucosidase 활성 저해를 비교한 결과 섬오갈피나무 잎 추출물이 acarbose 대비 약 43.38%의 활성 저해 효과를 나타내었고, 가시오갈피 잎 추출물이 41.24%의 저해 효과를 보였다. 한편 오가나무와 오갈피나무 잎 추출물은 acarbose 대비 각각 24.19%, 27.05%로 상대적으로 낮은 활성을 나타냈다. Niu 등(23)은 가시오갈피의 syringin 성분이 당뇨를 유발한 쥐 모델에서 농도 의존적으로 혈당을 감소시켜 혈당강하 효과가 있음을 보고 하였는데 이번 실험결과 역시 *in vitro* 상에서 가시오갈피 추출물이 효과적으로 혈당을 억제함을 알 수 있었다. 현재 acarbose, voglibose 등이 α-glucosidase 저해제로 사용

Table 2. Inhibition activity of α-glucosidase by *Eleutherococcus* spp. at 80% ethanol extract

Samples	Inhibition activity (%)[1)]
Eleutherococcus senticosus	35.94±2.81[2)b3)]
Eleutherococcus gracilistylus	37.81±2.45[b]
Eleutherococcus sieboldianus	21.09±2.39[a]
Eleutherococcus sessiiflorus	23.58±3.39[a]
Acarbose	87.15±1.01[c]

[1)]Treatment concentration of samples: 10 mg/mL.
[2)]Values are mean±SD (n=3).
[3)]Values with different superscripts within a column indicate significant difference ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

되고 있지만 복부팽만, 설사 등 위장 관련 부작용(24)들로 인해 새로운 대체 물질을 찾아낼 필요성이 요구되고 있으며, 이번 실험 결과 섬오갈피나무와 가시오갈피 잎 등 천연 추출물이 항당뇨 관련 기능성 소재로써 유용하게 사용될 수 있으리라 사료된다. 저해제로써의 활용가치를 높이기 위해서는 향후 섬오갈피나무 잎과 가시오갈피 잎의 추출물로부터 분획을 실시하여 혈당강하 활성을 평가하고, 항당뇨 활성 물질을 분리, 정제를 위한 심도 있는 연구가 수행되어야 하겠다.

α-Amylase 활성 억제에 의한 혈당강하 활성검증

α-Amylase는 탄수화물의 소화에 관여하는 중요한 효소로써 섭취된 다당류는 α-amylase에 의해서 이당류로 분해되고, 분해된 이당류는 α-glucosidase에 의해 단당류로 분해되어 흡수된다(25). α-Amylase inhibitor는 탄수화물의 소화속도를 조절하여 식후 혈당 상승을 억제한다. 현재 많은 당효소 저해제들이 의약품으로 개발되어 사용되고 있으나 위장 관련 부작용으로 인해 새로운 대체자원이 요구된다. 가시오갈피, 섬오갈피나무, 오가나무, 오갈피나무의 잎 추출물로부터 α-amylase 활성 저해 효과를 측정한 결과는 Table 3과 같다. Acarbose가 10 mg/mL의 농도에서 73.25%의 활성 저해 효과를 보였으며, 가시오갈피 잎 추출물이 acarbose 대비 91.90%의 높은 활성 저해 효과를 나타내었다. 나머지 섬오갈피나무, 오가나무, 오갈피나무 추출물은 acarbose 대비 30%의 이하의 낮은 활성 저해 효과를 보였다. 농도별(10, 5, 1 mg/mL)로 α-amylase 저해 활성을 측정한 후 50% 저해 농도를 환산한 결과 acarbose가 5.45 mg/mL를 나타냈으며, 가시오갈피 잎 추출물이 7.24 mg/mL로 acarbose와 유사한 수준으로 높은 활성을 보였다. 가시오갈피 잎 추출물은 혈당강하 효과뿐만 아니라 α-amylase 저해 활성을 통해 다당류의 가수분해를 저해하고 탄수화물의 흡수를 조절하여 비만 예방 효과도 나타낼 것으로 보인다. 향후 α-amylase 저해 활성이 우수했던 가시오갈피 잎 추출물로부터 활성 물질을 분리 및 구조 동정에 관한 추가적인 연구가 필요하겠다.

체중에 미치는 영향

시료 투여 기간 동안의 체중 변화는 Table 4와 같다. 정상군의 경우 288 g 정도였고 꾸준히 증가하여 시험 마지막 날에는 340.33±19.10 g을 나타낸 반면 STZ투여군은 260 g 내외에서 시작하여 정상군보다는 낮은 증가율을 보였다. 초기 체중은 실험군 간에 차이는 보이지 않았으며 실험 1주째에는 정상군에 비해 당뇨 대조군과 시료 투여군에서 유의적

Table 3. Inhibition activity of α-amylase by *Eleutherococcus* spp. at 80% ethanol extract

Samples	Area of clear zone (cm^2)	Inhibition activity (%)[1)]	IC_{50} (mg/mL)[2)]
Eleutherococcus senticosus	2.54±0.33	67.32±8.19[3)c4)]	7.24
Eleutherococcus gracilistylus	6.22±0.42	19.97±9.22[b]	25.15
Eleutherococcus sieboldianus	7.23±0.15	6.97±5.97[ab]	68.73
Eleutherococcus sessiiflorus	7.40±0.25	4.79±8.11[a]	99.44
Acarbose	2.03±0.20	73.25±5.05[c]	5.45

[1)]Treatment concentration of samples: 10 mg/mL.
[2)]IC_{50} represents the concentration of a compound required for 50% inhibition of α-amylase.
[3)]Values are mean±SD (n=3).
[4)]Values with different superscripts within a column indicate significant difference ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

Table 4. Effect of *Eleutherococcus* spp. at 80% ethanol extract on body weight in the streptozotocin-induced diabetic rats

Experimental group[1)]	Body weight (g)		
	1 day	7 days	14 days
Normal	288.33±8.04[3)b4)]	314.17±11.14[b]	340.33±19.10[b]
STZ[2)]-Control	265.50±10.65[a]	277.67±17.97[a]	298.00±23.98[a]
T1+STZ	265.50±9.18[a]	272.50±13.15[a]	285.75±17.33[a]
T2+STZ	259.88±11.09[a]	264.13±19.66[a]	282.50±22.28[a]
T3+STZ	260.75±9.29[a]	270.25±13.90[a]	283.86±19.90[a]
T4+STZ	258.75±8.73[a]	268.13±12.86[a]	283.63±15.95[a]

[1)]T1: *Eleutherococcus senticosus*, T2: *Eleutherococcus gracilistylus*, T3: *Eleutherococcus sieboldianus*, T4: *Eleutherococcus sessiiflorus*.
[2)]Streptozotocin (25 mg/kg, BW) [100 mM citrate buffer (pH 4.5)].
[3)]Values are mean±SD (n=8).
[4)]Values with different superscripts within a column indicate significant difference ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

Table 5. Effect of *Eleutherococcus* spp. at 80% ethanol extract on food and water intake in the streptozotocin-induced diabetic rats

Experimental group[1)]	Food intake (g/day/rat)		water intake (mL/day/rat)	
	0 day	14 days	0 day	14 days
Normal	27.33±0.00[3)a4)]	29.17±0.24[a]	34.17±0.24[a]	42.00±5.19[a]
STZ[2)]-Control	32.50±0.71[b]	39.50±9.19[b]	71.13±17.85[b]	167.83±65.29[b]
T1+STZ	32.50±0.35[b]	32.13±5.83[ab]	86.00±16.26[b]	86.13±50.38[ab]
T2+STZ	31.25±1.06[ab]	34.88±0.53[ab]	98.00±15.91[b]	104.13±11.14[ab]
T3+STZ	30.38±4.07[ab]	32.42±5.77[ab]	91.88±12.90[b]	81.54±13.02[ab]
T4+STZ	33.00±0.00[b]	33.38±3.36[ab]	87.25±16.97[b]	104.50±8.84[ab]

[1)]T1: *Eleutherococcus senticosus*, T2: *Eleutherococcus gracilistylus*, T3: *Eleutherococcus sieboldianus*, T4: *Eleutherococcus sessiiflorus*.
[2)]Streptozotocin (25 mg/kg, BW) [100 mM citrate buffer (pH 4.5)].
[3)]Values are mean±SD (n=8).
[4)]Values with different superscripts within a column indicate significant difference ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

으로 감소하였고 실험 2주째에는 정상군에 비해 당뇨 대조군과 시료 투여군에서 유의적으로 체중이 감소하였다. Sexton (26)은 STZ으로 유발된 당뇨쥐의 경우 골격근의 위축현상으로 인해 체중감소 현상이 나타난다고 보고 하였는데 이번 실험결과 역시 정상군에 비하여 당뇨 유발군의 체중 증가율이 감소함을 알 수 있었다. 대조군과 시료 투여군 간의 유의할 만한 차이는 나타나지 않았다(Table 4).

사료 및 음수 섭취량에 미치는 영향

STZ 투여 이후 0, 14일째 각각 사료, 음수 섭취량을 측정한 결과는 Table 5와 같다. 사료 섭취량의 경우 정상군은 시험물질 투여 전과 14일 후의 사료 섭취량에 큰 변화가 없으나 대조군에서는 약 21%가량 사료 섭취량이 증가하였으며, 가시오갈피 투여군(T1), 오갈피나무(T4)에서는 큰 변화가 관찰되지 않았고, 섬오갈피나무(T2)와 오가나무(T3) 투여군에서는 소량 증가하였다. 음수 섭취량은 당뇨 유발군 모두에서 2배 이상 증가하였으며, 대조군(C)의 경우 0일째 섭취량이 71.13 mL이었으나 시험 종료일에는 약 2.3배 증가한 167.83 mL를 보였다. 반면 시료 투여군은 대조구에 비하여 음수 섭취량이 유의적인 수준으로 감소하였으며, 이는 오갈피 속 식물 추출물들이 다갈 증상의 해소에 도움이 됨을 알 수 있었다(Table 5).

혈당에 미치는 영향

STZ은 췌장의 β-세포를 손상시켜 인슐린 분비가 감소되고 이로 인해 당대사가 비정상화되어 당 생성이 증가하는 것으로 알려져 있다(6). STZ으로 당뇨를 유발하여 최초 혈당을 측정하였고, 시료 투여 후 14일째 복대 정맥에서 채혈하여 혈당의 변화를 관찰하였다. STZ 투여로 인하여 모든 당뇨 유발군은 정상군에 비하여 혈당 수준이 유의적으로 증가하였다. 14일 후 당뇨 유발 대조군(C)의 경우 평균값이 320 mg/dL로 6% 정도 감소하였으며 시료 투여군인 가시오갈피(T1), 섬오갈피나무(T2), 오가나무(T3), 오갈피나무(T4)군 모두 혈당이 크게 감소하여 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였다. 가시오갈피군(248.13 mg/dL)이 26.20%로 가장 크게 혈당을 감소시켰고, 다음으로는 오가나무군(250.63 mg/dL)이 25.15%, 오갈피나무군(274.5 mg/dL)이 18.66%, 섬오갈피나무군(276.63 mg/dL)이 17.51% 순으로 혈당을 감소시켰다. 따라서 가시오갈피 잎, 섬오갈피나무 잎, 오가나무 잎, 오갈피나무 잎의 섭취를 통해 혈당을 감소시켜 당뇨병을 개선시킬 수 있음을 알 수 있었다(Table 6).

Table 6. Effect of *Eleutherococcus* spp. at 80% ethanol extract on blood glucose level in the streptozotocin-induced diabetic rats

Experimental group[1)]	Blood glucose level (mg/dL)	
	0 day	14 days
Normal	114.50±7.06[3)]	161.17±19.97
STZ[2)]-Control	340.50±36.37	320.50±25.90[b4)]
T1+STZ	336.25±31.04	248.13±30.25[a]
T2+STZ	335.37±29.68	276.63±28.58[ab]
T3+STZ	336.37±27.30	250.63±30.42[a]
T4+STZ	337.50±26.62	274.50±29.67[ab]

[1)]T1: *Eleutherococcus senticosus*, T2: *Eleutherococcus gracilistylus*, T3: *Eleutherococcus sieboldianus*, T4: *Eleutherococcus sessiiflorus*.
[2)]Streptozotocin (25 mg/kg, BW) [100 mM citrate buffer (pH 4.5)].
[3)]Values are mean±SD (n=8).
[4)]Values with different superscripts within a column indicate significant difference ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

혈중 지질 농도의 변화

당뇨 유발 후 시험물질 투여에 의한 혈중 지질 농도의 변화는 Table 7과 같다. 총 콜레스테롤의 함량은 정상군에 비하여 당뇨 유발 대조군은 증가하는 경향을 나타내었다. 반면 시료 투여군인 가시오갈피(T1), 섬오갈피(T2), 오가나무(T3), 오갈피나무(T4)군에서는 당뇨 유발 대조군에 비하여 유의적으로 감소함을 알 수 있었고, 특히 오갈피나무(T4)군은 60.75 mg/dL로 정상군보다 낮은 수치를 보였으며 대조군과 비교하여도 44% 정도 감소함을 알 수 있었다. HDL-cholesterol은 당뇨 유발군 모두 정상군에 비하여 유의적으로 증가하였다. 이는 기존 연구들에서도 이와 유사한 결과들이 보고되고 있지만 명확한 기작에 대해서는 추가적인 연구가 필요하다(27). 또한 가시오갈피와 오갈피나무는 대조군

Table 7. Effects of *Eleutherococcus* spp. at 80% ethanol extract on total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol and triglyceride in the streptozotocin-induced diabetic rats

Experimental group[1)]	Serum lipid profiles (mg/dL)			
	CHO	HDL	LDL	TG
Normal	65.33±7.37[3)]	32.05±8.15	34.48±6.02	80.00±13.94
STZ[2)]-Control	87.67±10.93[b4)]	39.58±10.56[a]	33.28±6.06[ab]	104.17±8.95[b]
T1+STZ	68.38±12.36[a]	41.46±10.30[a]	31.14±6.34[a]	52.25±11.84[a]
T2+STZ	73.13±9.11[ab]	50.25±8.55[ab]	48.90±10.93[c]	105.13±17.01[b]
T3+STZ	65.75±7.07[a]	61.59±8.55[b]	43.86±7.80[bc]	41.50±12.81[a]
T4+STZ	60.75±10.74[a]	47.14±6.93[a]	31.48±9.38[a]	40.38±8.73[a]

[1)]T1: *Eleutherococcus senticosus*, T2: *Eleutherococcus gracilistylus*, T3: *Eleutherococcus sieboldianus*, T4: *Eleutherococcus sessiiflorus*.
[2)]Streptozotocin (25 mg/kg, BW) [100 mM citrate buffer (pH 4.5)].
[3)]Values are mean±SD (n=8).
[4)]Values with different superscripts within a column indicate significant difference ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

과 비교하여 유의적인 차이점이 없었으며, 오가나무군과 섬오갈피에서는 대조군에 비하여 각각 55.61, 27.01%의 유의적 증가를 보였다. 이는 오가나무와 섬오갈피가 고지혈증 예방과 더불어 동맥경화 예방에 효과적으로 작용할 것으로 보인다. LDL-cholesterol은 콜레스테롤의 주된 운반형으로 동맥벽과 말초조직에 콜레스테롤을 운반 및 축적시킴으로써 고콜레스테롤 혈증과 동맥경화를 촉진한다고 알려져 있다(28). LDL-cholesterol의 경우 정상군과 대조군과의 큰 차이가 관찰되지 않았으며, 가시오갈피와 오갈피나무 투여군에서는 대조군에 비하여 유의적으로 감소함을 알 수 있었다. 가시오갈피와 오갈피나무는 LDL-cholesterol을 감소시켜 혈관질환 합병증 개선에 도움을 줄 것으로 기대된다. 반면 섬오갈피(T2), 오가나무(T3)는 정상군과 대조군에 비하여 유의적으로 증가함을 알 수 있었다. 섬오갈피와 오가나무는 총 콜레스테롤 함량과 HDL-cholesterol 함량을 기준으로 당뇨 및 합병증 개선에 도움을 줄 수 있을 것으로 판단하였으나 특히 섬오갈피는 LDL-cholesterol 함량과 중성지방 농도 실험 결과를 볼 때 향후 항 당뇨 소재로 활용하기 위해서는 보다 세부적인 추가 연구가 필요하겠다. 혈중 중성지방의 경우 또한 총 콜레스테롤과 유사하게 정상군 대비 대조군의 경우 혈중 농도가 증가하였다. 대조군(C)의 경우 혈중 중성지방 농도가 104.17 mg/dL로 증가하였고, 약물 투여군인 오가나무군은 41.50 mg/dL로 60.16%, 오갈피나무군은 40.38 mg/dL로 60.80%, 가시오갈피군은 52.25 mg/dL로 대조군 대비 50.16% 유의적으로 감소하였다. 반면 섬오갈피에서는 대조구 대비 유의적인 차이가 없었다. 지질 농도의 변화를 살펴 본 결과, 당뇨 유발군은 혈중 지질 농도가 증가함을 볼 수 있었고 혈중 콜레스테롤 개선 효과는 가시오갈피, 오가나무, 오갈피나무 잎 추출물이 우수하게 나타났으며 혈중 중성지방의 개선 효과 또한 유사한 결과를 얻었으며 대조군에 비하여 유의적인 차이를 나타냈다. 당뇨환자의 경우 혈장 내 높은 수준의 콜레스테롤과 중성지방 농도로 주 합병증 중 하나인 고지혈증을 유발한다는 보고가 있다(29). 실험 결과 가시오갈피와 오갈피나무, 오가나무는 당뇨대사 이상으로 인한 지질대사의 개선에 도움을 주어 고지혈증과 심혈관계 질환 등에 효과적으로 작용될 수 있을 것으로 사료된다.

간 조직 내 중성지방의 변화

당뇨 유발 후 14일간 시험물질 투여를 종료하고 적출한 간 내의 중성지방의 농도를 측정한 결과는 Table 8과 같다. 측정 결과 대조군(C)의 경우 340.15 mg/dL로 정상군(N) 276.21 mg/dL에 비교하여 유의적인 증가를 보였다. 모든 시료 투여군에서 대조군과 대비하여 중성지방의 농도가 감소하였으며, 특히 가시오갈피(T1)군, 섬오갈피(T2)군은 각각 258.36 mg/dL, 244.91 mg/dL로 대조군 대비 각각 24.04, 28.01% 유의적으로 감소하였다. 실험 결과 가시오갈피와 섬오갈피나무, 오가나무나무, 오갈피나무의 잎 추출물은 당뇨로 기인한 지질대사 이상을 개선하는데 효과적으로 활용될 수 있을 것으로 판단된다. 한편 섬오갈피(T2)군의 경우 간 조직 내 중성지방 수준은 정상군(N)보다도 유의적으로 감소시키지만, 혈중 중성지방의 경우는 대조군과 유의적인 차이를 나타내지 않는 결과를 보이고 있다. 이는 지질대사에 관여하는 효소활성적인 측면에서 볼 때 섬오갈피 추출물이 세포내에서 lipoprotein lipase(LPL) 활성 억제, acyl coenzyme A synthetase(ACS) 및 carnitine-acetyl transferase(CAT)

Table 8. Effect of *Eleutherococcus* spp. at 80% ethanol extract on triglyceride in liver in the streptozotocin-induced diabetic rats

Experimental group[1)]	Triglyceride (mg/dL)
Normal	276.21±53.65
STZ[2)]-Control	340.15±52.82[3)b4)]
T1+STZ	258.36±36.42[a]
T2+STZ	244.91±20.58[a]
T3+STZ	301.12±40.43[ab]
T4+STZ	291.64±65.78[ab]

[1)]T1: *Eleutherococcus senticosus*, T2: *Eleutherococcus gracilistylus*, T3: *Eleutherococcus sieboldianus*, T4: *Eleutherococcus sessiiflorus*.
[2)]Streptozotocin (25 mg/kg, BW) [100 mM citrate buffer (pH 4.5)].
[3)]Values are mean±SD (n=8).
[4)]Values with different superscripts within a column indicate significant difference ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

의 활성 촉진 등에 작용하여 지방산 산화를 촉진하여 간 조직 내 중성지방 함량을 감소시켰을 것이라 추론된다. 향후 각 소재에 대한 효소 활성 검증을 통해 추가적인 지질대사에 관한 연구가 요구된다.

본 연구에서 오갈피나무 속의 4종에 대하여 항 당뇨에 대한 효과 및 지질 개선 효과를 알아본 결과 *in vitro* 효소 실험에서는 가시오갈피와 섬오갈피나무 잎 추출물이 acarbose 대비 우수한 효과를 보였다. Streptozotocin으로 당뇨를 유도한 동물 실험 모델에서는 추출물 별로 다양한 결과를 보였다. 가시오갈피와 오가나무 추출물이 혈당을 감소시켰으며, 오갈피나무 추출물은 총 콜레스테롤 함량과 혈중 중성지방 함량을 감소시켰으며, 오가나무 추출물은 HDL-cholesterol 함량을 증가시켰으며, 혈중 중성지방 함량 역시 감소시켰다. 또한 간 조직 내의 중성지방 함량은 모든 시료 투여군에서 대조군과 대비하여 중성지방의 농도가 감소하였다. 이번 실험 결과 오갈피나무 속 4종의 잎 추출물들은 대체로 혈당강하 및 항당뇨 효능에 효과적임을 알 수 있었다. *in vitro*와 *in vivo* 실험 모두에서 효능이 좋았던 가시오갈피는 국내에서 아직까지 대한약전에 오갈피속의 다른 수종과 동일 약재로 분류되어 있으며, 그 기능성 및 활용 등에 있어서도 뿌리와 줄기에 대부분 집중되어 있다. 향후 가시오갈피 잎 추출물로부터 항당뇨 활성 물질을 분리, 정제를 위한 추가적인 연구와 더불어 잎 추출물의 장기적인 투여가 체내에 미치는 영향과 조직병리학적 검사 및 유전적인 검사를 실시한다면 기능성 원료 및 의약품의 소재로서 가시오갈피 잎이 널리 활용될 수 있을 것으로 판단되며 매년 수확 가능한 가시오갈피 잎의 활용적인 측면에서도 긍정적인 효과를 가져 올 것으로 사료된다. 또한 가시오갈피 부위와 추출 용매, 재배지별 주요 약용성분은 약효의 질적 관리와 효과적인 활용을 위해 매우 중요하므로 각 특성별 라이브러리 구축과 개체선발, 육종에 대한 구체적인 연구가 차후에 수행되어야 하겠다.

요 약

오갈피나무 속의 가시오갈피(*Eleutherococcus senticosu*), 섬오갈피나무(*Eleutherococcus gracilistylus*), 오가나무(*Eleutherococcus sieboldianus*), 오갈피나무(*Eleutherococcus sessiliflorus*)의 잎 부위를 이용하여 α-glucosidase와 α-amylase 활성 저해 효과를 통한 혈당강하 효과를 평가하였다. α-Glucosidase 활성 저해 효과를 비교한 결과 섬오갈피 잎 추출물이 acarbose 대비 약 43.38%의 활성 저해 효과를 나타내었고, 가시오갈피 잎 추출물이 41.24%의 저해 효과를 보였다. α-Amylase 활성 저해 효과를 측정한 결과 acarbose가 10 mg/mL의 농도에서 73.25%의 활성 저해 효과를 보였으며, 가시오갈피 잎 추출물이 acarbose 대비 91.90%의 높은 활성 저해 효과를 나타내었다. 또한 streptozotocin (STZ)으로 당뇨를 유도한 모델에 2주간 오갈피나무 속 식물 추출물을 섭취시킨 후 혈당과 지질 개선 효과를 탐색한 결과 STZ 투여로 인하여 모든 당뇨 유발군은 정상군에 비하여 혈당 수준이 유의적으로 증가하였다. 당뇨 유발 대조군(C)과 대비하여 시료 투여군인 가시오갈피(T1), 섬오갈피나무(T2), 오가나무(T3), 오갈피나무(T4)군 모두 혈당이 크게 감소하였다. 혈중 지질 농도 변화 실험 중 총 콜레스테롤의 함량은 정상군에 비하여 당뇨 유발 대조군은 증가하는 경향을 나타내는 반면 약물 투여군인 가시오갈피(T1), 오가나무(T3), 오갈피나무(T4)군에서는 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였다. HDL-cholesterol은 오가나무군에서 대조군에 비하여 55.61% 가장 크게 유의적으로 증가하였다. LDL-cholesterol의 경우 정상군과 대조군과의 큰 차이가 관찰되지 않았으나 섬오갈피나무, 오가나무에서는 유의적으로 증가하였고, 가시오갈피와 오갈피나무 투여군에서는 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였다. 혈중 중성지방의 경우 또한 총 콜레스테롤과 유사하게 대조군의 경우 혈중 농도가 증가하였다. 약물 투여군인 오가나무군은 60.16%, 오갈피군은 60.80%, 가시오갈피군은 50.16% 대조군 대비 유의적으로 감소하였다. 적출한 간 내의 중성지방의 농도를 측정한 결과 대조군의 경우 정상군에 비교하여 유의적인 증가를 보였으며, 가시오갈피군, 섬오갈피나무군은 각각 대조군 대비 유의적으로 감소하였다. 이상의 결과들에서 오갈피나무 속 추출물들은 혈당강하 및 당뇨대사 이상으로 인한 지질대사의 개선에 효과적인 것으로 나타났다.

감사의 글

이 논문은 농촌진흥청에서 시행한 지역 특산 약용작물 명품화 기술 개발 어젠다과제(과제번호: RIMS 2009010FT-072045283)의 지원으로 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Ministry of Health and Welfare. 2005. The Third Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES Ⅲ). Korea. p 193-195.
2. McGill M, Felton AM. 2007. New global recommendations: A multi-disciplinary approach to improving outcomes in diabetes. *Primary Care Diabetes* 1: 49-55.
3. Zhang W, Xu YC, Guo FJ, Meng Y, Li ML. 2008. Anti-diabetic effects of cinnamaldehyde and berberine and their impacts on retinol-binding protein 4 expression in rats with type 2 diabetes mellitus. *Chin Med J* 121: 2124-2128.
4. Kim JL, Bae CR, Cha YS. 2010. *Helianthus tuberosus* extract has anti-diabetes effects in HIT-T15 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 31-35.
5. Won HJ, Lee HS, Kim JT, Hong CO, Koo YC, Lee KW. 2010. The anti-diabetic effects of Kocat-D1 on streptozotocin induced diabetic rats. *Korean J Food Sci Technol* 42: 204-209.
6. Han HK, Je HS, Kim GH. 2010. Effects of *Cirsium japonicum* powder on plasma glucose and lipid level in streptozo-

tocin induced diabetic rats. *Korean J Food Sci Technol* 42: 343-349.
7. Kim YJ, Park MS, Park HK, Kim S, Sung CK. 1996. Eleutheroside E content in *Eleutherococcus* spp. *Korean J Med Crop Sci* 4: 333-339.
8. Kim SK, Kim YG, Lee MK, Han JS, Lee JH, Lee HY. 2000. Comparison of biological activity according to extracting solvents of four *Acanthopanax* root bark. *Korean J Med Crop Sci* 8: 21-28.
9. Jwa CS, Yang YT, Koh JS. 2000. Changes in free sugars, organic acids, free amino acids and minerals by harvest time and parts of *Acanthophnax Koreanum*. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnal* 43: 106-109.
10. Lee SE, Son D, Yoon YP, Lee SY, Lee BJ, Lee S. 2006. Protective effects of the methanol extracts of *Acanthopanax Koreanum* against oxidative stress. *Korean J Pharmacogn* 37: 16-20.
11. Yook CS, Lee DH, Seo YK, Ryu KS. 1977. Studies on the constituents in the stem, root bark of *Acanthopanax sessiliglorus*. *Korean J Pharmacogn* 8: 31-34.
12. Ryoo HS, Park SY, Chang SY, Yook CS. 2003. Triterpene components from the leaves of *Acanthopanax sessiliglorus* Seem. *Korean J Pharmacogn* 34: 269-273.
13. Yun YD, Choi CH, Baek JU, Kim HW, Youn DH, Kim KY, Nam KW, Kim GY, Jeong HW. 2007. Effects of *Acanthopanacis cortex* roots 50% ethyl alcohol extracts on the cerebral bemodynamics and cytokine production in cerebral ischemic rats. *Korean J Oriental Physiology & Pathology* 21: 891-897.
14. Kim S, Kim KY, Park MS, Choi SY, Yun SJ. 1998. Intraspecific relationship of *E. senticosus* Max. by RAPD markers. *Korean J Med Crop Sci* 6: 165-169.
15. Park JS, Oh CH, Koh HY, Choi DS. 2002. Anti-mutagenic effect of extract of *Eleutherococcus senticosus* Maxim. *Korean J Food Sci Technol* 34: 1110-1114.
16. Park JH, Lee HS, Mun HC, Kim DH, Seong NS, Jung HG, Bang JK, Lee HY. 2004. Improvement of anti-cancer activation of ultra sonificated extracts from *Acanthopanax senticosus* Harms, Ephedra sinica Stapf, *Rubus coreanus* Miq. and *Artemisia capillaris* Thunb. *Korean J Med Crop Sci* 12: 273-278.
17. Jin LH, Han SS, Choi YS. 2002. Anti-oxidant effects of the extracts of *Acanthopanax senticosus*. *Kor J Pharmacogn* 33: 359-363.
18. Brekhman Ⅱ. 1960. A new medicinal plant of the family Araliceae the spiny *Eleutherococcus*. *Izv Sibir Otdel Akad Nauk USSR* 9: 113-120.
19. Shin KH, Lee SH. 2002. The chemistry of secondary products from *Acanthopanax* species and their pharmacological activities. *Natural Product Sciences* 8: 111-126.
20. Houghton PJ, Soumyanath A. 2006. α-Amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes with particular reference to *Phyllanthus amarus*. *J Ethnopharmacol* 107: 449-455.
21. Kim MJ, Kwon YS, Yu CY. 2005. Anti-oxidative compounds in extracts of *Eleutherococcus senticosus* Max. plantlets. *Korean J Med Crop Sci* 13: 194-198.
22. Cho HE, Choi YJ, Cho EK. 2010. Antioxidant and nitrite scavenging activity and α-glucosidase inhibitory effect of water extract from *Schizandra chinensis* Baillon. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 481-486.
23. Niu HS, Liu IM, Cheng JT. 1997. Hypoglycemic effect of syringin from *Eleutherococcus senticosus* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Planta Med* 74: 109-113.
24. Park JH, Baek MR, Lee BH, Yon GH, Ryu SY, Kim YS, Park SU, Hong KS. 2009. α-Glucosidase and α-amylase inhibitory activity of compounds from roots extract of *Pueraria thunbergiana*. *Korean J Med Crop Sci* 17: 357-362.
25. Lee JM, Park JH, Park HR, Park E. 2010. Antioxidant and alpha-glucosidase inhibitory activity of *Strychnos nux-vomica* extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1243-1248.
26. Sexton WL. 1994. Skeletal muscle vascular transport capacity in diabetic rat. *Diabetes* 43: 225-231.
27. Yoon JA, Son YS. 2009. Effects of *Opuntia ficus-indica* complexes B (OCB) on blood glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 22: 48-56.
28. Smith EB. 1974. The relationship between plasma and tissue lipid in human atherosclerosis. *Adv Lipid Res* 11: 1-7.
29. De Leo ME, Landriscina M, Palazzotti B, Borrello S, Galeotti T. 1997. Iron modulation of LPS-induced manganese superoxide dismutase gene expression in rat tissues. *FEBS Lett* 403: 131-135.

(2010년 11월 1일 접수; 2010년 12월 10일 채택)