

석이에서 분리한 GE974의 α -Glucosidase 저해효과

최혁재, 김남재,* 김동현¹

경희대학교 동서의학연구소, ¹약학대학

Inhibitory Effect of GE974 isolated from *Gyrophora esculenta* on α -Glucosidase

Hyuck-Jai Choi, Nam Jae Kim,* Dong-Hyun Kim¹

East-West Medical Research Institute and ¹College of Pharmacy,
Kyung-Hee University, Seoul 130-701, Korea

Abstract – This study was conducted to search for the α -glucosidase inhibitor from the natural products. In the previous study, the water extract of *Gyrophora esculenta* exhibited a potent inhibitory effect on α -glucosidase activities. Then, by bioassay-guided fractionation followed by chromatographic separation of the water extract of *Gyrophora esculenta*, α -glucosidase inhibitor was isolated as GE974. GE974 showed significant inhibitory activities on some kinds of α -glucosidases *in vitro*. Its inhibitory mechanism seemed to be competitive for disaccharides. Also, it markedly inhibited α -glucosidases of intestine separated from both nondiabetics and diabetics.

Key words – hyperglycemia, *Gyrophora esculenta*, GE974, α -glucosidase inhibitor, diabetics

당뇨병은 췌장 β 세포의 자가 면역적 파괴 등으로 인한 인슐린의 결핍으로 인해 발생하는 인슐린 의존형(IDDM)과 인슐린 저항성이 주된 특징인 인슐린 비의존형(NIDDM)으로 나누고 있다.¹⁻⁵⁾ 당뇨병환자는 자체 질환보다 고혈당증으로 야기되는 미세 혈관성 및 거대 혈관성 합병증이 더 심각한 임상적 의의를 갖고 있다.⁶⁻¹²⁾ 따라서, 혈당 조절을 잘 하여 증상의 악화를 막는 것이 발병한 합병증을 치료하는 것보다 훨씬 효과적이며, 혈당이 잘 조절된 환자의 수명은 정상인에 가깝게까지 연장시킬 수 있다.¹³⁾ 혈당을 효과적으로 조절하기 위해서 도입된 가장 직접적인 방법은 식후 혈당 증가의 내적 요인인 α -glucosidase를 특이적으로 억제하는 약물을 투여하여 탄수화물의 가수분해를 억제함으로써 식후 혈당의 증가를 억제하는 것이다.

α -Glucosidase로 대표되는 탄수화물 분해효소들은 소장 상피세포 내막에 위치하며, 통칭하여 disaccharidase(이당가수분해효소) 또는 oligosaccharidase(과당 가수분해효소)라고 명칭한다.¹⁴⁾ 최근 들어 α -glucosidase 저해제들이 당뇨, 고지혈증, 비만 등을 치료하기

위해서 미생물로부터 개발되어왔으며, 이들의 작용 양식은 α -glucosidase의 oligosaccharide 결합 부위에 경쟁적으로 결합하는 것으로서 작용기전은 유사하지만, 기질에 따른 특이성을 갖고 있다. 음식과 함께 투여하였을 시, α -glucosidase 저해제 들은 소장내에서 과당 및 이당류의 소화를 억제하여 이들이 소장 전체에 걸쳐서 분해되도록 하여 소화를 전체적으로 지연시키며, 위내용물 배출 속도에 미치는 영향은 없어 위 공복 시간을 변화시키지는 않는다.^{15,16)} 따라서 α -glucosidase를 투여하게 되면, 식후 단당류의 흡수는 지연되어 혈당 증가는 현저하게 감소됨에 따라 혈중의 insulin이 감소되게 되고, 점차적으로 공복시 혈당을 감소시키는 효과를 가져오게 한다.¹⁷⁾

최근에는 천연물에서 이 α -glucosidase에 저해 효과를 가진 물질에 대한 연구가 여러 연구자들에 의해 보고되었으며,¹⁸⁻²⁰⁾ 이에 저자 등은 우리나라에서 빈용되는 생약들을 대상으로 하여 α -glucosidase 저해활성을 검색하여 석이 등이 효과가 있음을 보고하였다.²¹⁾

석이(*Gyrophora esculenta*, Gyrophoraceae)는 임벽 등지에서 서식하는 지의류의 일종으로 식용으로 오랫동안 사용되어 왔으며, 옛 의서 등에는 자양(慈養)하

*교신저자 : Fax : 02-966-2801

며, 지혈(止血) 등의 효능이 있는 것으로 알려졌다. 즉, 일용본초(日用本草)에는 심(心)을 맑게 하고, 위(胃)를 양(養)하게 하며, 지혈의 작용이 있다고 하였으며, 본초강목(本草綱目)에서는 눈을 맑게 하는 작용을 수재하였고, 의림찬요(醫林纂要)에서는 심(心)을 보(補)하고, 위를 맑게 하며, 열독(熱毒)을 풀어주는 효능이 있다고 하는 등 다양한 효과가 있는 것으로 알려져 왔다.²²⁾

석이의 약리작용에 관한 연구로는 수용성 고분자 물질의 sarcoma-180 암세포주에 대한 항암작용 등이 보고되었고, 그 외에도 함유된 여러 분자량의 당류에 대한 약리작용의 연구가 기대되고 있다.²³⁾ 따라서, 본 연구자들은 현재 당뇨병이나 비만 등에 임상적 유용성이 매우 높은 α -glucosidase 저해제를 개발하고자 α -glucosidase 저해활성이 우수한 석이로부터 활성성분의 분리와 활성물질의 기질 특이성 및 저해 기전 등을 보고하고자 한다.

재료 및 방법

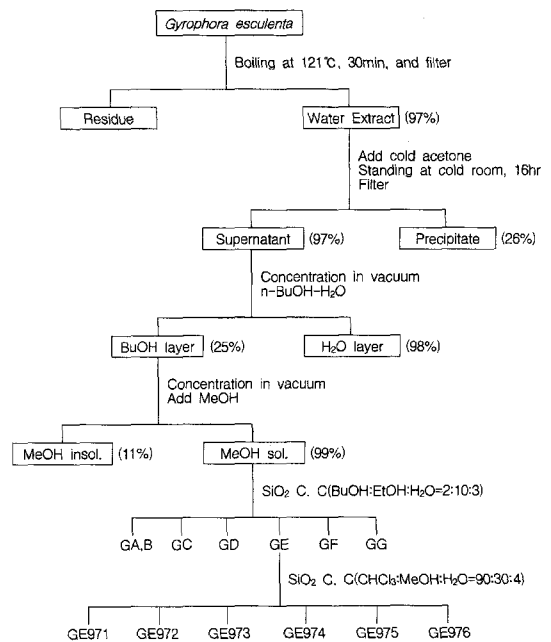
실험재료 - 본 실험에 사용된 석이는 서울특별시 경동시장내 반도상회로부터 구입하여 잘게 분쇄한 것을 사용하였으며, voucher sample은 본 연구소에 보관하고 있다.

시약 및 기기 - 본 실험에 사용한 주요 시약은 O-phenylenediamine, peroxidase (Wako Co. Japan), maltase (Tokyo Kansei Co. Japan), glucose oxidase, starch azure, α -nitrophenyl- α -D-glucopyranoside, alloxan, streptozotocin, bovine serum albumin, α -amylase (Sigma Co. U.S.A.), Bio-protein assay kit (Bio-Rad Co. U.S.A.), Glucobay® (Bayer Co. Germany), silica gel(Merck Co. Germany) 등이며, 기타 분리 및 분석용 시약은 1급 시약을 사용하였다. 실험에 사용한 기기로는 UV spectrophotometer (UV-160, Shimadzu, Japan), shaking water bath (Han Back Sci. Co., HB-205, Korea), sonicator (Eyela Co., XL 2020, Japan), centrifuger (Vision Co., HA-300, Korea), autoclave (Hwa-shin Co., AMSCO, Korea), Freeze Dryer (Eyela Co., FD-1, Japan), fraction collector (Eyela Co., Japan), blood glucose meter (Lifescan Inc., One Touch, U.S.A.) 등이 있다.

활성 성분의 분리 - 석이를 물을 용매로 사용하여 고압증기 멸균기에서 121°C, 30분 동안 추출하여 여

과하고, 70%의 cold acetone을 가하여 16시간 동안 냉소에 방치하여 침전시킨 뒤, 흡입 여과하여 얻어진 여액을 감압농축하였다. 잔류물에 물을 가하여 녹이고 수회 부탄올로 분획추출하여 수층을 감압농축한 다음 동결 건조하였다. 이 동결 건조물을 다시 메탄올로 분획하여 메탄올에 가용성인 분획을 농축하여 BuOH:EtOH:H₂O (2:10:3)의 전개 용매를 사용하여 silica gel column chromatography를 행하여 7개의 조분획을 얻었고(GA-GG), 이중 활성이 가장 높고 수득률이 좋았던 GE분획에 대하여 다시 CHCl₃:MeOH:H₂O (90:30:4)의 전개 용매를 사용하여 재 column chromatography를 행하여 6개의 분획을 얻었다(GE 971-976). 이 중, 가장 활성과 수득률이 좋은 분획(GE974)을 택하여 실험의 주된 활성 물질로 사용하였다(Scheme D).

실험동물 - 본 실험에서 사용한 실험 동물은 중앙동물에서 구입한 Sprague-Dawley계의 체중 250±50 g의 웅성 흰쥐와 ICR계의 체중 25±5 g의 웅성 생쥐를 사용하였고, 사료는 삼양유지(주)의 소동물용 고형사료를 사용하였고, 물은 상수를 사용하여 충분히 공급하면서 실험실 환경에서 2주간 순응시킨 후 사용하였다. 특별히 명시하지 않는 한 실험은 24±2



Scheme I. Systematic fractionation of *Gyrophora esculenta*. Each data in parenthesis represents inhibitory effect on maltase. Final concentration of each sample is 1.0 mg/ml.

°C, 습도 60%의 항온, 항습 장치가 되어 있는 실험실 내에서 실시하였다.

α -Glucosidase 조효소액의 조제 - 하루동안 절식 시킨 흰쥐의 소장 상피층을 취하여 생리식염수로 현탁한 뒤, 초음파로 15초간 3회 분쇄하고, 4°C, 10,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 상등액을 조효소액으로 사용하였다.

Maltase와 sucrase 활성측정 - 조효소액, 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0), 기질(maltose는 2m M, sucrose는 10 mM) 및 검액을 가하여 40분간(sucrase는 3시간) 37°C에서 배양한 다음, 끓는 수욕상에서 효소를 불활성화시키고 원심분리하여 상등액 0.1 ml에 O-phenylenediamine 5 mg/100 ml, peroxidase 0.5 mg/100 ml, glucose oxidase 0.1 mg/100 ml 등으로 조제한 반응액 0.75 ml를 가하여 30분간 배양후, 1 N HCl을 가하여 492 nm에서 흡광도를 측정하였다.²⁴⁾

α -Amylase 활성측정 - 조효소액, starch azure 1 unit/20 mM phosphate buffer(pH 7.0) 및 검액을 가하여 1시간 배양후, 0.1 N HCl로 반응을 정지시킨 다음 원심분리하여 620 nm에서 상등액 1 ml의 흡광도를 측정하였다.²⁵⁾

비특이적 α -glucosidase(*p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside) 활성측정 - 2 mM의 기질에 조효소액 및 검액을 가하여 30분간 배양후, 1 M glycine-Na OH(pH 9.0)로 반응을 정지시킨 후, 원심분리하여 405 nm에서 상등액 0.8 ml의 흡광도를 측정하였다.

Alloxan에 의한 당뇨 생쥐 및 흰쥐의 유도과 α -glucosidase 효소활성측정 - 생쥐의 경우에는 alloxan 70 mg/kg을 주사용 증류수에 녹여 꼬리 정맥에 주사하였고, 흰쥐의 경우에는 alloxan 210 mg/kg을 주사용 증류수에 100 mg/ml의 농도로 녹여 흰쥐에 복강 투여한지 각각 2일 후에 혈당을 측정해 200-450 mg/dl의 범위 내에 들어가는 생쥐 및 흰쥐를 선별하여 실험에 사용하였다.²⁶⁾ 당뇨병이 유도된 생쥐 및 흰쥐를 각 군당 5마리로 하여 16시간 동안 절식시킨 다음 ether로 마취시켜 치사시킨 뒤, 십이지장을 제거한 소장 전체를 취해 생리 식염수로 세척하여 wet weight를 측정하였다. 이어서, 상피층을 취하여 생리 식염수로 현탁한 뒤, 초음파로 분쇄, 원심분리하여 조효소액을 조제한 다음 총 단백질량을 Bradford 법을 사용하여 Bio-protein assay kit로써 측정하고, 또한 maltase 및 sucrase 활성을 측정하여 정상 생쥐 및 흰쥐의 활성과 비교하였다. 그리고, 각각 조효소액에 대하여 GE974의 maltase와 sucrase활성 억제 효

과를 acarbose를 대조로 하여 전술한 Dahlqvist법에 의하여 측정하였다.²⁷⁾

혈당은 생쥐의 꼬리정맥에 메스로 상처를 내어 blood glucose meter를 이용하여 측정하였다.

Streptozotocin에 의한 당뇨 생쥐 및 흰쥐의 유도과 α -glucosidase 효소활성측정 - 생쥐의 경우에는 streptozotocin 300 mg/kg을 0.05 M citrate buffer (pH 4.5)에 녹여 복강내로 투여한 다음 하루 후에, 흰쥐의 경우에는 streptozotocin 50 mg/kg을 정맥 투여한 다음 이틀 후에 각각 혈당을 측정해 200-450 mg/dl의 범위내에 들어가는 생쥐 및 흰쥐를 선별하여 16시간 동안 절식시킨 다음 실험에 사용하였다.²⁸⁾ 소장내 효소 활성 및 GE974의 억제 효과 측정은 alloxan의 경우와 동일하게 실시하였다.

효소억제양식의 검토 - Maltose 및 sucrose의 농도를 4가지로 하고, GE974의 농도를 달리하여 각각의 효소 억제율을 측정하여 Michaelis-Menten 상수를 구하였다. 각 3회 측정된 평균값으로부터 Lineweaver-Burk 식을 작성하여 효소의 억제 양식을 추정하였다.

실험결과

석이의 α -glucosidase의 저해효과 및 활성성분의 분리 - 앞서의 연구에서 석이는 maltase와 sucrase에 대하여 각각 강한 저해효과를 보였고, α -amylase에 대한 저해활성은 거의 나타내지 않았으나, 비특이적 α -glucosidase에 대하여도 강한 저해활성을 나타냄을 보고한 바 있다.²¹⁾ 이어서 효소저해효과를 나타내는 활성성분을 분리하기 위하여 물추출물에 70% acetone 용액이 되도록 acetone을 가하여 침전시키면 maltase에 대한 저해활성이 상등액으로 이행되며, 상등액을 감압농축하여 BuOH로 추출한 바 효소저해활성은 수층으로 이행됨을 알 수 있었다(Scheme 1). 계속하여 활성물질을 분리하고자 수층에 MeOH를 가하여 녹인 바 MeOH 가용부로 활성이 이행되어 이를 silica gel column chromatography로 분리한 결과 GE 분획물에서 높은 저해활성을 보여 주었다. GE 분획물을 재칼럼하여 6개의 분획물을 얻어 그 각각의 조분획물에 대한 maltase의 억제 활성을 검색하여 그 결과를 Table I에 나타내었다. 네 번째 분획에서 수득률이 높고 가장 강한 maltase 저해활성을 보여 이 분획을 GE974라 하였다. GE974를 재칼럼 등을 행하여 정제한 바 백색 결정이고, 단당류의 확인시험인

Table I. Inhibitory effects of compounds isolated from *Gyrophora esculenta* on rat intestinal maltase

Subfraction	IC ₅₀ (mg/ml)	Compounds	IC ₅₀ (mg/ml)
GA, B	0.122	GE971	0.367
GC	0.411	GE972	0.409
GD	0.320	GE973	0.272
GE	0.156	GE974	0.026
GF	0.302	GE975	0.075
GG	0.424	GE976	0.544

Each result was mean of triplicates.

Molish test와 amine기 확인시험인 ninhydrin test 결과 양성 반응을 나타내어 aminosugar의 하나로 추정되며, FAB-Mass 결과 분자량은 560(M+Na)이었고 그 정확한 구조에 대해서는 동정 중에 있다.

GE974의 α-glucosidases 활성저해효과 - 흰쥐의 소장내 점막에서 분리한 조효소액 및 정제된 maltase, α-amylase를 효소원으로 사용하여 GE974의 저해효과를 acarbose를 대조로 하여 *in vitro*에서 측정하였다. Maltase에 대한 저해효과는 acarbose보다는 낮았지만, 강한 억제효과를 보였고, 정제된 maltase나 sucrase에 대한 저해효과는 acarbose와 비슷한 정도로 높았다. 한편, α-PNG를 기질로 사용한 α-glucosidase에 대한 저해효과는 acarbose보다 훨씬 높았다. 반면에 α-amylase나 정제된 α-amylase에 대한 저해효과는 acarbose와는 달리 매우 낮았다(Table II). GE974의 α-glucosidase 저해양식을 검토하기 위하여 기질의 농도를 달리 하여 저해효과를 측정할 때 maltase와 sucrase에 대하여 모두 경쟁적으로 억제함을 알 수 있었다(Fig. 1, 2).

당뇨병태모델 동물에서 GE974의 α-glucosidases 저해효과 - 정상 및 당뇨 생쥐 및 흰쥐의 소장내 α-glucosidase 활성의 차이와 이 효소에 대한 GE974의 억제효과를 검토하기 위하여 먼저 소장의 중량 및 총단백질량을 비교하여 본 결과, 전반적으로 생쥐 및

Table II. Inhibitory effects of GE974 and acarbose on α-glucosidases

Enzymes	IC ₅₀ (mg/ml)	
	GE974	Acarbose
Crude maltase	0.026	0.011
Purified maltase	0.003	0.002
Crude sucrase	0.016	0.011
Crude α-Amylase	>1	0.246
Purified α-amylase	>1	0.636
α-Glucosidase	0.020	0.085

Each result was mean of triplicates.

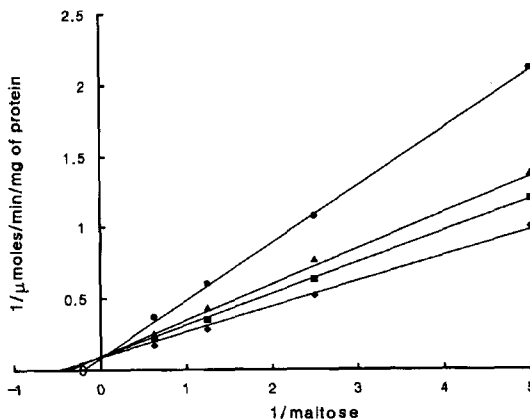


Fig. 1. Lineweaver-Burk plot of maltase inhibition by GE974 ◆, Control; ■, GE974 0.4 μg/ml; ●, GE974 0.8 μg/ml and ▲, GE974 1.6 μg/ml.

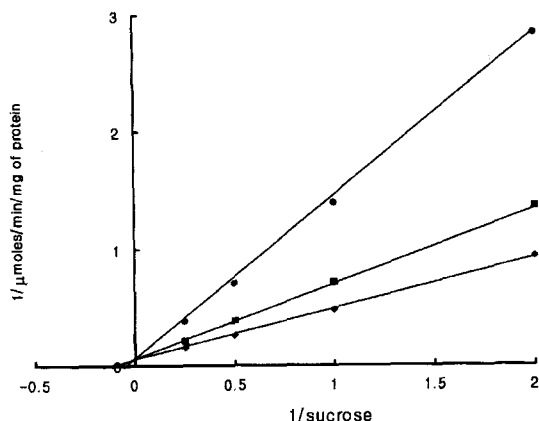


Fig. 2. Lineweaver-Burk plot of sucrase inhibition by GE974 ◆, Control; ■, GE974 0.4 μg/ml and ●, GE974 1.6 μg/ml

흰쥐 모두 정상군이 당뇨 유발군보다 중량 및 총단백질량이 더 높았다. 특히, 흰쥐에서는 정상군의 총단백질량이 alloxan 유도군에 비해서 약 3배 정도 높았다 (data not shown). 또한, 정상에 비하여 당뇨상태에서 α-glucosidase의 활성변화 여부를 알아보기 위하여 정상과 당뇨 생쥐 및 흰쥐의 소장내에서 분리한 조효소액 중의 maltase와 sucrase의 활성 변화를 비교하였다. 생쥐의 maltase와 sucrase의 활성은 정상 생쥐에 비하여 alloxan 및 streptozotocin으로 유발시킨 당뇨 생쥐에서 크게 증가하여 있음을 알 수 있었으며, 특히 maltase 활성의 증가가 특히 큰 편이었다 (data not shown). 정상 및 당뇨 생쥐 소장의 maltase와 sucrase에 대한 GE974의 억제활성을 acarbose를 대

조로 하여 비교하였다. 전반적으로 maltase에 대한 GE974의 억제활성은 정상 생쥐와 당뇨 생쥐에서의 차이는 별로 없었으나, sucrase에 대한 저해활성은 정상 생쥐에서 ED₅₀가 각각 0.056 mg/ml에 비하여 streptozotocin으로 유발된 당뇨 생쥐에서 ED₅₀가 0.033 mg/ml로 약 2배 이상 감수성이 높음을 알 수 있었다(Table III). 흰쥐의 경우에는 당뇨 흰쥐와 정상 흰쥐에서의 GE974의 maltase와 sucrase 저해활성은 유사하였다(Table IV).

고 찰

당뇨병의 합병증으로서 동맥경화성 질환, 신장에, 신경장애, 망막증 등이 있으며 이러한 합병증은 고혈당이 직접적인 원인이 되거나 또는 고혈당에 따른 당화 단백질의 증가가 원인이 되고 있다. 이러한 합병증을 치료하기 위해서는 식후에 급상승하는 혈당을 조절하는 것이 중요시되고 있다.

특히, 당뇨병 환자의 소장내 α -glucosidase는 정상인에 비해 활성이 높아져 있기 때문에, 음식물의 열량을 생산하는 가장 주된 영양소인 탄수화물의 섭취 시 식후 혈당이 큰 폭으로 상승하기 마련이다. 따라서, 당뇨병 환자들에게 매우 문제가 되는 합병증의 발병이 용이해지기 때문에 환자들에게는 특히 흡수가 빠른 단당류가 많이 포함된 음식을 피하는 것이 권고

Table III. Inhibitory effects of GE974 and acarbose on intestinal α -glucosidase in diabetic mice

Groups	IC ₅₀ (mg/ml)			
	Maltase		Sucrase	
	GE974	Acarbose	GE974	Acarbose
Nondiabetes	0.058	0.042	0.056	0.043
Alloxan diabetes	0.058	0.042	0.052	0.043
STZ diabetes	0.065	0.046	0.033	0.023

STZ is abbreviation of streptozotocin.
Each result was mean of triplicates.

Table IV. Inhibitory effects of GE974 and acarbose on intestinal α -glucosidase in diabetic rats

Groups	IC ₅₀ (mg/ml)			
	Maltase		Sucrase	
	GE974	Acarbose	GE974	Acarbose
Nondiabetes	0.029	0.012	0.029	0.026
Alloxan diabetes	0.028	0.014	0.023	0.023
STZ diabetes	0.037	0.018	0.032	0.032

STZ is abbreviation of streptozotocin.
Each result was mean of triplicates.

되고 있다.^{29,30} 특히 NIDDM 환자에게 있어서 혈당을 정상 수준으로 지속시킬 수 있다면, 이미 심각하게 발전한 합병증의 경우를 다시 개선시키는 것은 불가능하겠지만 아직 발병하기 전이라면 그 병발을 예방할 수 있고, 초기 합병증의 진전을 늦출 수 있게 된다.^{31,32}

식사 중의 당질은 소장에 존재하는 소화효소 즉 α -amylase, sucrase, maltase 등에 의해 최종적으로 단당으로 분해되어 흡수되기 때문에 이러한 효소를 저해함으로써 당질의 흡수를 지연 또는 억제한다면, 식후의 고혈당과 그에 따른 인슐린의 과잉요구가 줄어들어 당대사 이상을 수반하는 문제점을 해결할 수 있을 것으로 기대되어 α -glucosidase 저해제의 개발에 주목하고 있고 acarbose, voglibose 등이 임상에서 활용하고 있다.

따라서, 근래에 α -glucosidase 저해제에 대한 관심이 높아지면서 천연물에서 그 저해제를 찾고자 하는 연구가 많이 진행되고 있다. 이에 본 연구들도 한방에서 널리 이용되고 있는 수 백종의 한약으로부터 α -glucosidases 저해활성을 평가한 바 높은 억제 활성을 가지면서도 식품과 한약으로 오랜 기간동안 사용되어 온 식이를 선정하여 안전성이 확보된 식이로부터 유효활성물질을 추구하고자 하였다.

석이의 물추출물에서 강한 α -glucosidase 저해활성을 보임으로써 상법에 따라 고분자 물질을 얻을 수 있는 방법으로 70% cold acetone을 가하여 침전시켜 저해활성을 검토한 바 상등액으로 활성이 이행되었다. 이에 상등액을 농축시키고 BuOH로 추출하여 BuOH 층과 수층으로 분획한 바 α -glucosidase 저해활성은 수층으로 이행됨이 인정되었다. 반면에 BuOH층을 농축하여 실험동물에 투여한 바 강직성 경련이 나타나는 등 예기치 못한 부작용이 발현되어 그 독성물질을 분리한 바 orcinol을 확인할 수 있었고(data 미발표), 또한, orcinol의 LD₅₀는 844 mg/kg(rat, p.o)로 보고되어 정제과정에서 orcinol의 제거가 필요할 것으로 생각된다.³³

수층으로부터 유효물질을 분리하고자 MeOH를 가하여 가용부와 불용부로 분획한 바 가용부에서 α -glucosidase 저해활성이 인정되어 silica gel column chromatography를 수회 반복하여 저해활성이 강한 분획인 GE974를 얻었다. 이 물질은 확인시험에서 amine기 반응과 당 반응에 각각 양성을 나타내어 amine기를 갖는 aminosugar의 하나일 것으로 추정되며 정확한 구조를 동정하고 있는 중이다.

GE974는 maltase나 sucrase에 대한 저해활성이 강

하지만 α -amylase에 대해서는 극히 낮은 것을 볼 때, GE974의 α -glucosidase에 대한 저해기전은 α -amylase의 저해효과가 높은 acarbose와는 다른 것으로 사료된다. 그리고, GE974의 α -glucosidase 저해효과의 양상을 Michaelis-Menten 상수로부터 얻은 Lineweaver-Burk 식을 작성하여 검토한 바 maltase와 sucrase에 대하여 경쟁적으로 길항함이 인정되었다.

소장의 중량이 정상군에 비해서 당뇨가 유발된 병태모델에서 더 낮은 이유는 아마 당뇨 유발시 동반되기 마련인 여러 가지 위장관 장애와 낮은 당의 흡수를 때문에 전체적인 소장의 중량이 정상군에 비해 줄어드는 것으로 사료되며, 단백질량이 함께 낮아지는 것도 같은 이유로 생각된다. 반면에 단백질량은 줄었지만, 효소 활성은 오히려 크게 증가한 것으로 보아 전체적인 α -glucosidase의 활성이 상당히 증가한 것을 짐작할 수 있었다. GE974에 의한 효소 활성의 억제 정도가 maltase의 경우에는 생쥐와 흰쥐 모두에서 정상군과 당뇨유발군 사이에 별 차이가 없는 것으로 보아 maltase에 대한 친화력은 큰 차이가 없는 것으로 생각되며 이러한 양상은 양성비교약물 acarbose와 유사한 경향을 나타내었다. 반면에 sucrase의 경우 생쥐에서는 streptozotocin으로 유발시켰을 때 억제 활성이 커지는 것으로 보아 당뇨가 유발된 생체의 소장내 α -glucosidase에 대하여 GE974의 감수성이 정상군에 비하여 상대적으로 커질 수 있는 것으로 생각되며 acarbose에서도 비슷한 결과를 얻었다. 그러나, 흰쥐에서 streptozotocin으로 유발된 당뇨모델은 정상군과 유사한 저해활성을 나타내어 GE974가 α -glucosidase 저해활성에 대한 종차가 있는 것으로 생각되며 앞으로 추구하고자 한다.

이상의 결과를 종합하면 석이에서 분리한 GE974는 α -glucosidase에 경쟁적인 저해활성을 지닌 물질로서 식후 혈당을 감소시켜 줄 수 있을 것으로 사료된다.

결 론

석이로부터 당질의 소화효소인 α -glucosidase를 저해시키는 활성물질인 GE974를 분리하였으며 이 물질은 α -amylase를 제외하고는 우수한 저해효과가 인정되었다. 그리고, GE974의 α -glucosidase 저해활성양식은 경쟁적 저해에 의한 것으로 밝혀졌다.

정상군과 alloxan과 streptozotocin으로 유발된 당뇨모델에서 GE974 α -glucosidase 저해효과의 비교실험에서 alloxan으로 유발된 병태모델에서는 정상

군 사이에는 별다른 차이가 없었으나 streptozotocin으로 유발된 당뇨병태모델 생쥐에서 sucrase에 대한 GE974의 저해활성은 정상군에 비하여 훨씬 높은 감수성을 보여주었다.

인용문헌

1. Yki-J rvinen, H. (1990) Acute and chronic effects of hyperglycaemia on glucose metabolism. *Diabetologia*. 33: 579-585.
2. Oates, J. A. and Wood, J. J. (1989) Oral hypoglycemic agents. *NEJM*. 321: 1231-1245.
3. Yki-J rvinen, H. (1994) Pathogenesis of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *NEJM*. 343: 91-95.
4. Devlin, J. T. (1992) Effects of exercise on insulin sensitivity in humans. *Diabetes Care*. 15: 1690-1693.
5. Vessby, B., Aro, A., Skarfors, E., Berglund, L., Salmiinen, I. and Lithell, H. (1994) The risk to develop NIDDM is related to the fatty acid composition of the serum cholesterol esters. *Diabetes*. 43: 1353-1357.
6. Sima, A. A. F. and Chakrabarti, S. (1992) Long-term suppression of postprandial hyperglycaemia with acarbose retards the development of neuropathies in the BB/W-rat. *Diabetologia*. 35: 325-330.
7. Raskin, P. and Rosenstock, J. (1986) Blood glucose control and diabetic complications. *Ann. Intern. Med.* 105: 254-263.
8. Chase, H. P., Jackson, W. E., Hoops, S. L., Cockerham, R. S., Archer, P. G. and O'Brien, D. (1989) Glucose control and the renal and retinal complications of insulin-dependent diabetes. *JAMA*. 261: 1155-1160.
9. Ganda, O. P. (1980) Pathogenesis of macrovascular disease in the human diabetic. *Diabetes*. 29: 931-942.
10. Feldman, M. and Schiller, L. R. (1983) Disorders of gastrointestinal motility associated with diabetes mellitus. *Ann. Intern. Med.* 98: 378-384.
11. Salehi, A., Panagiotidis, G., Borg, L. A. H. and Lundquist, I. (1995) The pseudotetrascaccharide acarbose inhibits pancreatic islet glucan-1, 4- α -glucosidase activity in parallel with a suppressive action on glucose-induced insulin release. *Diabetes*. 44: 830-836.
12. Paolisso, G., D'Amore, A., Balbi, V., Volpe, C., Galzerano, D., Giugliano, D., Sgambato, S., Varricchio, M. and D'Onofrio, F. (1994) Plasma vitamin C affects glucose homeostasis in healthy subjects and in non-insulin-dependent diabetics. *Am. J. Physiol.* 266:

- E261-E268.
13. Goodkin, G. (1975) Mortality factors in diabetes. *J. Occup. Med.* 17: 716-721.
 14. Caspary, W. F. (1978) Sucrose malabsorption in man after ingestion of α -glucosidase inhibitor. *Lancet.* 1: 1231-1233.
 15. Lebovitz, H. E. (1998) α -Glucosidase inhibitors as agents in the treatment of diabetes. *Diabetes Rev.* 6: 132-145.
 16. Jenkins, D. J. A., Taylor, R. H., Goff, D. V., Fielden, H., Misiewicz, J. J., Sarson, D. L., Bloom, S. R. and Alberti, K. G. M. M. (1981) Scope and specificity of acarbose in slowing carbohydrate absorption in man. *Diabetes.* 30: 951-954.
 17. Lembcke, B., Fölsch, U. R. and Creutzfeldt, W. (1985) Effect of 1-desoxyojirimycin derivatives on small intestinal disaccharidase activities and on active transport *in vitro*. *Digestion.* 31: 120-127.
 18. Yoshikawa, M., Shimada, H., Nishida, N., Li, Y., Toguchida, I., Yamahara, J. and Matsuda, H. (1998) Antidiabetic principles of natural medicines. II. Aldose reductase and α -glucosidase inhibitors from Brazilian natural medicine, the leaves of *Myrcia multiflora* DC. (Myrtaceae): Structures of Myrciacitrins I and II and Myrciaphenones A and B. *Chem. Pharm. Bull.*(Tokyo) 46: 113-119.
 19. Ryu, J. W., Seo, S. H. and Chung, S. H. (1998) Antidiabetic activity of Mori Folium ethanol soluble fraction in db/db mice. *J. Pharm. Soc. Korea.* 42: 613-620.
 20. Kim, Y. Y., Choue, R. W., Chung, S. H. and Koo, S. J. (1999) Anti-hyperglycemic effect of Cortex Mori Radicis in db/db mice. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 1057-1064.
 21. Choi, H. J. (2000) Inhibitory Effect of *Gyrophora esculenta* on α -Glucosidase. Thesis for the degree of doctor of philosophy, Kyung-Hee University Graduate School. 1-100.
 22. 上海科學技術出版社 小學館 (1985) 中藥大辭典, 2: 1426-1427. 小學館, 東京.
 23. Nishikawa, Y., Tanaka, M., Shibata, S. and Fukuoka, F. (1970) Polysaccharides of lichens and fungi. IV. Antitumour active O-acetylated Pustulan-type glucans from the lichens of Umbilicaria species. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 18: 1431-1434.
 24. Dahlqvist, A. (1970) Assay of intestinal disaccharidases. *Enzymol. Biol. Clin.* 11: 52-56.
 25. Rinderknecht, H., Wilding, P. and Haverback B. J. (1967) A new method for the determination of α -amylase. *Experientia(Basel).* 23: 805.
 26. Axelrad, A. D., Lawrence, A. L. and Hazelwood, R. L. (1970) Fasting and alloxan diabetes effects on intestinal transport of monosaccharides. *Am. J. Physiol.* 219: 860-864.
 27. Lee, S. M., Bustamante, S. A., Koldovsk, O. (1983) The effect of alpha-glucosidase inhibition on intestinal disaccharidase activity in normal and diabetic mice. *Metabolism.* 32: 793-799.
 28. Yamashita, K., Sugawara, S. and Sakairi, I. (1984) Effects of an α -glucosidase inhibitor, acarbose, on blood glucose and serum lipids in streptozotocin-induced diabetic rats. *Horm. Metabol. Res.* 16: 179-182.
 29. Lembcke, B., Fölsch, U. R. and Creutzfeldt, W. (1985) Effect of 1-desoxyojirimycin derivatives on small intestinal disaccharidase activities and on active transport *in vitro*. *Digestion.* 31: 120-127.
 30. Tandon, R. K., Srivastava, L. M. and Pandey, S. C. (1975) Increased disaccharidase activity in human diabetics. *Am. J. Clin. Nutr.* 28: 621-625.
 31. Lembcke, B., Diederich, M., Fölsch, U. R. and Creutzfeldt, W. (1990) Postprandial glycemic control, hormonal effects and carbohydrate malabsorption during long-term administration of the alpha-glucosidase inhibitor miglitol. *Digestion.* 47: 47-55.
 32. Ceriello, A., Taboga, C., Tonutii, L., Giacomello, R., Stel, L., Motz, E. and Pirisi, M. (1996) Post-meal coagulation activation in diabetes mellitus: the effect of acarbose. *Diabetologia.* 39: 469-473.
 33. Susan, B. (1989) The Merck Index(11th), 984. Merck & Co., Inc., New Jersey

(2000년 5월 19일 접수)