

꾸지뽕나무 근피의 항당뇨병 효과

박용양 · 노재섭 · 이경순*

충북대학교 약학대학

Hypoglycemic Effect of *Cudrania tricuspidata* Root Bark

Woong Yang Park, Jai Seup Ro and Kyong Soon Lee*

College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

Abstract – The present study was undertaken to elucidate the hypoglycemic effect and inhibitory effect of *Cudrania tricuspidata* root bark on aldose reductase activity. *C. tricuspidata* MeOH ext. 1,000 mg/kg showed a significant blood glucose lowering effect on alloxan-induced hyperglycemic rats and increasing body weight. *C. tricuspidata* MeOH ext. showed a potent inhibitory effect on bovine lens aldose reductase.

Key words – *Cudrania tricuspidata* root bark, hypoglycemic effect, aldose reductase inhibitor

대표적인 만성 소모성 질환의 하나인 당뇨병은 그 자체보다는 합병증이 더 무서운데 당뇨병성 합병증의 형태는 아주 다양하다. 고혈당이 직접적인 원인이 되는 것으로서 말초 신경 장애, 망막증, 신증 및 백내장 등이 있는데 적절하게 치료하지 않고 그대로 방치하게 되면 종종 돌이킬 수 없는 합병증의 발병으로 치료가 더욱 어려워진다. 당뇨병은 이환기가 길수록 합병증의 발생 빈도가 높아지며 최근에 우리나라에서는 급격한 생활 수준의 향상으로 당뇨병 및 합병증의 발병이 증가되고 있다.¹⁻³⁾ 당뇨병 합병증 발증 기전의 하나로 polyol 대사의 이상을 들 수 있는데, polyol 대사 경로란 glucose 대사경로의 하나로 glucose는 aldose reductase에 의하여 sorbitol로 전환된다.⁴⁾ 정상 상태에서는 aldose reductase의 glucose에 대한 기질 친화성이 매우 낮아 sorbitol의 생성이 거의 일어나지 않게 된다.⁵⁾ 그러나 당뇨병 상태에서는 lens, 말초 신경, 망막과 같은 insulin-비감수성 조직에서의 glucose 농도가 상승하게 되고 위의 경로에 의해 다량의 sorbitol이 생성되게 된다.^{5,6)} 이러한 각 조직에서의 sorbitol 축적이 당뇨성 백내장, 말초 신경 장애, 망막

증 등의 원인이 된다. 따라서 백내장 등의 당뇨성 합병증 예방 및 치료제로서 aldose reductase 억제제가 주목을 받고 있으며 합성 물질 뿐 아니라 천연물질로부터 aldose reductase 억제성분을 규명하려는 연구가 활발하게 이루어지고 있는데 alestatin, sorbinil, flavonoid, tannin, coumarin, essential oil 등이 소나 rat 또는 사람의 여러 조직에서 조제된 aldose reductase 활성에 대한 억제효과가 있다고 보고되었다.⁷⁻¹⁵⁾ 상백 피로부터 혈당강하 물질이 분리·보고되었고, 상업의 혈당 강하 활성²⁾과 혐기처리한 뽕잎의 혈당 강하 효과³⁾도 이미 보고된 바 있다.

이에 꾸지뽕나무 근피가 민간에서 당뇨병에 사용되고 있으며 alloxan 유발 고혈당 동물실험에서의 혈당 강하 효과 및 Bovine Lens Aldose Reductase의 활성을 억제하는 효과가 확인되었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

실험재료 – 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata* (Carr.) Bur.)는 뽕나무과(Moraceae)에 속하는 落葉小喬木 또는 灌木으로 가지에 가시가 있으며 小枝에 털이 있다. 뿌리는 황색으로 황해도 이남에서 자란다.

*교신저자 : Fax : 043-268-2732

본 실험에 사용한 재료는 충북 옥천군 및 충북대학교 구내에 자생하고 있는 꾸지뽕나무 근피를 채취하여 감정받아 음건하고 세절하여 사용하였다. *In vitro* 실험에서 사용한 소의 눈은 사용시에 청주 도축장에서 도축직후 구입하여 수정체를 분리하여 사용하였다.

시약 및 기기 - Alloxan, NADPH, *dl*-glyceraldehyde 등은 Sigma Co.(U.S.A.), ammonium sulfate 및 potassium phosphate (monobasic, dibasic)은 Shinyo Pure Chem. Co.(Japan)에서 구입하여 사용하였고 유기용매는 시판 특급 및 일급 시약을 사용하였다. 사용한 기기는 감압 농축기(Büchi, Switzerland), centrifuge(MSE Coolspin 2, U.K.), lyophilizer(Edward 12K Freeze Dryer, U.K.), blood glucose monitor(Accutrend®, Germany) 등을 사용하였다.

실험 동물 - 체중 140~200 g 인 웅성 Sprague-Dawley 계 rat를 온도 23±1°C, 습도 60±5%로 유지되는 동물 사육실에서 사료와 물을 충분히 공급하면서 1주일간 환경에 적응시킨 후 사용하였다.

실험 동물의 고혈당 유발 - Rat 10마리를 1군으로 하여 고혈당을 유도하기 위하여 alloxan 175 mg/kg을 복강내 주사하였다.^{17,18)} 48시간 후에 blood glucose monitor를 사용하여 꼬리 정맥에서 채혈하여 혈당이 350 mg/100 ml 이상인 것 만을 고혈당이 유도된 것으로 간주하여 실험하였다.

시료의 조제 - 꾸지뽕나무 근피 1 kg 썬을 MeOH

과 H₂O로 각각 3 l 썬 넣고 환류냉각기를 장치하여 수욕상에서 5시간씩 3회 추출한 후 온시 여과하였다. 여액을 모아 감압 농축한 후 50°C vacuum oven에서 완전 건조시켜 분말 상태로 만들어 50, 100, 250, 500, 1000 mg/kg의 농도로 생리식염수에 현탁시켜 사용하였다.

고혈당 rat를 이용한 혈당 강하 작용 및 체중 변화 검색 - 조제한 시료를 매일 1회 7일 동안 정시에 경구투여하고 대조군에는 생리 식염수만을 경구 투여하였다.

7일째 경구 투여한 후 24시간 절식시키고 꼬리정맥에서 혈액을 채취하여 혈당량을 측정하였다. 체중의 변화는 시료를 경구투여하기 직전 체중을 측정하였다.

Bovine lens aldose reductase - Harris 등¹⁹⁾의 방법에 따라 bovine lens를 적출한 후 정량하여 3배량의 5 mM sodium phosphate buffer(pH 7.4)에 넣고 ice bath 내에서 mince하여 glass homogenizer로 homogenizing 한 후 homogenate를 4°C에서 10,000×g로 40분간 원심 분리하여 상등액을 취한 후 30% 가 될 때까지 ammonium sulfate powder를 가하고 가끔 저어 주면서 15분간 방치하였다. 이 용액을 3,000×g로 30분간 원심 분리한 후 상등액을 취하여 75%가 되게 ammonium sulfate powder를 가하고 가끔 저어 주면서 15분간 방치 후 원심 분리하여 침전을 취한 후 5 mM phosphate buffer(pH 7.4)에 녹여

Table I. Effects of the *Cudrania tricuspidata* root bark ext. on the blood glucose levels in alloxan induced hyperglycemic rats

Group	Dose (mg/kg, P.O.)	Blood Glucose Level (mg/100 ml)			
		Before the Sample administration	After the Sample administration for 7 days	Changes of Blood glucose level	Lowered %
Normal		102.80± 7.42	75.00± 7.52	27.80	27.04
Alloxan induced hyperglycemia		512.50±12.50	334.70± 7.04	177.80	34.69
MeOH ext.	50	371.30± 4.88	188.75± 9.32	182.55	49.17
	100	466.70±19.24	258.67± 8.49	208.03	44.57
	250	480.00±17.89	238.50± 1.50	241.50	50.31
	500	435.00±23.78	184.60± 1.84	250.40	57.56
	1000	475.00±27.95	94.33± 0.98	380.67	80.14**
H ₂ O ext.	50	372.00± 4.27	192.00± 4.27	180.00	48.39
	100	433.33±19.24	221.33±12.83	212.00	48.92
	250	452.00±26.89	226.18±26.89	225.82	49.96
	500	515.60±36.69	236.50± 2.47	279.10	54.13
	1000	550.00±25.00	173.50± 1.77	376.50	68.45*

The data represents the mean ± S.D. of 10 rats.

* P<0.05 ** P<0.01 Significantly different from the normal control group.

Table II. Effects of the *Cudrania tricuspidata* root bark ext. on body weight of alloxan induced hyperglycemic rats

Groups	Dose (mg/kg p. o.)	Changes of Body Weight (g)										increasing body weight
		Before the Sam. Adm.	1st day	2nd day	3rd day	4th day	5th day	6th day	7th day			
Normal		198.00±12.63	200.00±13.54	201.00±14.14	203.00±13.66	207.00±14.64	212.00±14.64	217.00±14.37	220.00±15.34	22.00(100)		
Alloxan induced hyperglycemia		133.88± 9.47	121.43±10.02	121.25±11.68	120.71±11.67	117.86±10.73	117.85±10.63	112.14± 9.63	106.17±11.23	-25.71		
MeOH ext. treated groups	50	154.17± 4.77	148.33± 5.94	143.33± 6.94	146.67± 5.89	152.50± 4.36	156.67± 3.80	157.50± 4.86	157.50± 4.19	3.33(15.14)		
	100	146.25± 8.14	145.00± 9.16	138.75±10.64	137.50±11.16	142.50±11.29	146.25±11.84	150.00±13.69	150.00±13.66	3.75(17.05)		
	250	151.67± 4.09	148.33± 6.77	140.00± 7.00	141.67±10.51	146.67±10.36	151.67±12.16	153.33±12.99	156.67±12.12	5.00(22.73)		
	500	154.00± 8.86	149.00±12.18	147.00±11.08	152.00±10.79	157.00± 8.77	158.00± 9.04	159.00± 9.21	161.00± 9.82	7.00(31.82)		
	1000	129.40± 7.04	128.33± 9.63	125.00±10.75	132.00±10.36	136.67± 8.90	137.00± 6.24	138.33± 8.29	140.33± 7.56	10.93(49.68)		
H ₂ O ext. treated groups	50	167.50±10.38	161.67± 7.82	160.00± 9.67	16.67± 8.55	167.50± 7.85	171.67± 7.79	173.33± 9.02	173.33± 8.97	5.83(26.50)		
	100	142.50± 8.45	138.75±10.95	137.50±10.70	141.25± 9.26	142.25± 9.82	146.50±10.04	147.50±10.53	148.75±10.53	6.25(28.41)		
	250	149.50± 6.53	142.50±11.33	133.75±12.19	141.25±11.59	145.00±11.03	152.50±10.70	152.50±11.76	156.25±12.27	6.75(30.68)		
	500	160.00± 5.17	156.67± 9.64	145.00± 8.84	15.00± 3.60	160.00± 1.36	161.67± 1.36	163.33± 1.36	166.67± 2.36	6.67(30.32)		
	1000	114.67± 5.69	111.25± 5.12	110.67± 3.60	113.33± 3.60	113.75± 5.69	118.33± 6.81	121.22± 2.72	124.33± 1.36	9.66(43.39)		

The data represents the mean ± S.D. of 10 rats. Parenthesis are percentage of recovery values

Table III. Inhibition of bovine lens aldose reductase by MeOH · H₂O ext.

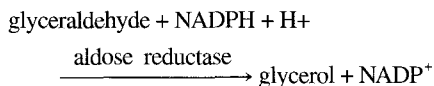
	Inhibition rate(%)
MeOH ext.	76
H ₂ O ext.	74

효소원으로 하였다.

Bovine lens aldose reductase 활성의 측정 - Kohda 등²⁰⁾과 Kato 등²¹⁾의 방법에 따라 UV cell 안에 250 μM NADPH 150 μM *dl*-glyceraldehyde 0.3 ml, 0.1 M phosphate buffer(pH 6.2) 0.6 ml, 시료 및 증류수를 넣고 shaking 한 후 효소를 가하여 3.0 ml가 되게 하여 검액의 농도는 0.001%가 되게 하였다. 효소를 가하여 반응 시작 5분 후의 흡광도 변화를 340 nm에서 측정하고 대조군의 변화치에서 공시험군의 변화치를 감해 준 흡광도의 차는 0.030±0.005 unit/5 min로 하였다.²²⁾ 반응은 25±0.5°C에서 3회 반복 실시하였다. 공시험군은 기질인 *dl*-glyceraldehyde 만을 제외시켜 NADPH 이외의 타요인에 의한 반응을 보정하였다.

효소저해율(%)

$$= 100 \times \frac{(\text{대조군}-\text{공시험군})-(\text{시료}-\text{시료의 공시험군})}{\text{대조군}-\text{공시험군}}$$



결과 및 고찰

혈당 강하 활성 및 체중 변화 - 꾸지뽕나무 근피의 MeOH ext.과 H₂O ext. 수준에서 혈당 강하 효과를 검토한 결과, Table I에 나타내었듯이 MeOH ext. 1,000 mg/kg 투여군에서 거의 normal control group에 가까운 혈당량을 나타내었고 H₂O ext. 1,000 mg/kg 투여군에서도 유의성 있는 혈당 강하 효과(68.45%)를 나타내었다. Normal 및 alloxan induced diabetic group에서도 각각 27.04%, 34.69%씩 혈당량이 감소하였는데, 이는 24시간 절식시켜 혈당량을 측정하였기 때문이라 사료된다.

체중변화를 검토한 결과를 Table II에 나타내었다. 시료 투여 5일 째부터 원래의 체중을 회복하였고 normal control group과 비교하여 MeOH ext. 및

H₂O ext. 혈당 강하 효과 및 체중 변화에서 시료의 투여 용량에 비례하여 효과가 증가함을 알 수 있었다.

Bovine lens aldose reductase 활성의 측정 - 꾸지뽕나무 근피의 MeOH ext. 및 H₂O ext. 0.001% 농도에서의 bovine lens aldose reductase inhibition 효과는 각각 MeOH ext. 76%, H₂O ext. 74%를 나타내었다(Table III).

이상에서 살펴 본 바와 같이 꾸지뽕나무 근피의 MeOH ext. 및 H₂O ext.의 혈당 강하 효과와 체중 증가 효과 및 aldose reductase 억제 효과 모두에서 MeOH ext.가 H₂O ext. 보다 효과가 좋았으며 특히 MeOH ext. 1,000 mg/kg 투여 용량에서의 혈당 강하 효과는 normal control에 근접할 정도의 혈당량으로 회복시킴을 알 수 있었다. 따라서 앞으로 더 연구를 수행하여 당뇨병 치료제로의 개발 가치가 충분하다고 사료된다.

사 사

본 연구는 한국학술진흥재단의 '96 박사 후 연수 지원금에 의해 수행되었으며 이에 깊은 감사를 드립니다.

인용문헌

1. 김선여, 류강선, 이완주, 구현옥, 이희선, 이강노 (1999) 혐기 처리한 뽕잎의 혈당강하 효과. 생약학회지. **30**(2): 123-129.
2. 이주선, 최명현, 정성현 (1995) 상업의 혈당강하 활성. 약학회지. **39**(4): 367-372.
3. 김학성, 박응양, 성연희 (1996) 인삼 성분의 Rat Lens Aldose Reductase 활성에 대한 억제효과. *Korean J. Ginseng Sci.* **20**(1): 106-110.
4. Gabbay, K. H. and O'sullivan, J. B. (1968) The Sorbitol Pathway. *Diabetes.* **17**(5): 239-243.
5. Collins, J. B. and Corder, C. N. (1977) Aldose Reductase and Sorbitol Dehydrogenase Distribution in Substructures of Normal and Diabetic Rats Lens. *Invest. Ophthalmol. Visual Sci.* **16**(3): 242-243.
6. Dvonik, D., Gabbay, K. H. and Kinoshita, J. H. (1973) Polyol Accumulation in Galactosemic and Diabetic Rats. *Science.* **182**: 1146-1148.
7. Sawada, H., Hamatake, M., Hara, A., Nakagawa, M. and Nakayama, T. (1989) Inhibition of Human Placenta Aldose Reductase by Tannic Acid. *Chem. Pharm. Bull.* **37**(6): 1662-1664.

8. Moon, C. K., Lee, S. C., Yun, Y. P., Ha, B. J. and Yook, C. S. (1988) Effects of Some Coumarin Derivatives on the Bovine Lens Aldose Reductase Activity. *Arch. Pharm. Res.* **11**(4): 308-311.
9. Okuda, J., Miwa, I., Inagaki, K., Horie, T. and Nakayama, M. (1982) Inhibition of Aldose Reductase from Rat and Bovine Lenses by Flavonoids. *Biochemical Pharmacology.* **31**(23): 3807-3822.
10. Varma, S. D. and Kinoshita, J. H. (1976) Inhibition of Lens Aldose Reductase by Flavonoids-Their Possible Role in the Prevention of Diabetic Cataracts. *Biochemical Pharmacology.* **25**: 2505-2513.
11. Moon, C. K., Choi, S. Y. and Ha, B. J. (1988) Effects of Some Monoterpenes on Bovine Lens Aldose Reductase Activity. *Arch. Pharm. Res.* **11**(4): 312-314.
12. Okuda, J., Yashima, K., Inagaki, K. and Miwa, I. (1985) Effects of an Aldose Reductase Inhibitor, 1-[(*p*-Bromophenyl)-sulfonyl] hydantoin, on Cataract Formation and Tissue Polyol Levels in Galactosemic Rats. *Chem. Pharm. Bull.* **33**(7): 2990-2995.
13. Sestani, K. and Bellini, F. (1984) *N*-[[5-(Trifluoromethyl)-6-methoxy-1-naphthalenyl] thioxomethyl]-*N*-methylglycine (Tolrestat), a Potent, Orally Active Aldose Reductase Inhibitor. *J. Med. Chem.* **27**: 255-256.
14. Beyer, M. A. and Farnsworth, P. N. (1979) Diminished Sugar Cataractogenesis by Quercetin. *Exp. Eye Res.* **28**: 709-716.
15. Parmar, N. S. and Ghosh, M. N. (1979) Effect of Gossypin, a Flavonoid, on the Formation of Galactose-induced Cataracts in Rats. *Exp. Eye Res.* **29**: 229-232.
16. Hikino, H., Mizuno, T., Oshima, Y. and Konno, C. Isolation and hypoglycemic activity of Moran A, a glycoprotein of mouse alba Root Barks. *Planta medica.* **51**: 159-160.
17. Baek, B. K., Kang, S. K. and Ahn, B. Z. (1985) Antidiabetic Activity of *Trichosanthes kirilowii* on the Alloxan-treated Mouse. *Yakhak Hoeji.* **29**(3): 152-157.
18. Hong, S. P., Yim, M. H. and Joo, H. K. (1976) The Effect of Korean Ginseng on Alloxan Diabetes. *Kor. J. Pharmacogn.* **7**(2): 114-118.
19. Harris, E. L. V. and Angal, S. (1989) Protein Purification Methods: a practical approach. *Oxford University Press.* Oxford, pp. 154-157.
20. Kohda, H., Takeda, O., Tanimoto, T., Kanda, N. and Tanaka, A. (1987) Search for Lens Aldose Reductase Inhibitor in Medicinal Plants. *Shoyakugaku Zasshi* **41**(4): 341-343.
21. Kato, K., Nakayama, K., Mizota, M., Miwa, I. and Okuda, J. (1991) Properties of Novel Aldose Reductase Inhibitors, M16209 and M16287, in Comparison with Known Inhibitors, ONO-2235 and Sorbinil. *Chem. Pharm. Bull.* **39**(6): 1540-1545.
22. Itogawa, H., Mihara, K. and Takeyama, K. (1983) Studies on a Novel Anthraquinone and Its Glycosides isolated from *Rubia cordifolia* and *R. akane*. *Chem. Pharm. Bull.* **31**(7): 2353-2358.

(2001년 8월 9일 접수)