

碩士學位論文

α -glucosidase 활성 저해
기능식물 검색

指導教授 李 璿 柱



濟州大學校 教育大學院

化學教育專攻

金 國 熙


2003年 8月

α -glucosidase 활성 저해 기능식물 검색

指導教授: 李 璿 柱

이 論文을 教育學碩士學位論文으로 提出함.

2003年 8月

 제주대학교 중앙도서관
濟州大學校 教育大學院 化學教育專攻

金 國 熙

金 國 熙의 教育學 碩士學位 論文을 認准함.

2003年 8月

審査委員長	鄭 惠 商 印
審査 委員	李 璿 柱 印
審査 委員	金 原 亨 印

α -glucosidase 활성 저해 기능식물 검색

김 국 희

제주대학교 교육대학원 화학 교육전공

지도교수: 이 선 주

제주도에서 채취한 30가지의 식물들로부터 메탄올 추출한 시료들이 가지는 maltase, sucrase에 대한 효소 활성 저해 능력과 비 특이적 α -glucosidase 저해 작용에 대해 측정 하였다. 활성을 측정 할 때 반응 용액상의 시료 최종 농도를 0.2mg/ml이 되도록 하였다. 그 결과 등대풀, 자금우, 석위 뿌리, 싸리나무, 위릉채는 maltase의 활성을 저해 시킬 수 있는 능력이 80%이상이고, 더덕, 자금우와 위릉채에는 sucrase의 활성을 80%이상 저해 할 수 있는 성분들이 포함되어 있는 것으로 밝혀 졌다. 비 특이적 α -glucosidase 의 저해작용을 80%이상 할 수 있는 추출물은 등대풀과 자금우이다. 이들 결과를 종합해 보면 등대풀과 자금우 그리고 위릉채는 상당한 항 당뇨 효과가 있음을 알 수 있다. 뿐만 아니라, 항산화 약품으로 시중에 판매되고 있는 소나무 추출물인 pycnogenol은 maltase, sucrase, 비 특이적 α -glucosidase의 강력한 저해 기능을 가진 것으로 밝혀 졌다. 앞으로 항 당뇨에 활성을 지니는 성분들을 순수하게 분리 추출하여 구조 및 화학적, 생물학적 기능과 활용성에 대하여 연구할 것이다.

* 본 논문은 2003년 8월 제주대학교 교육대학원 위원회에提出된 教育學 碩士學位 論文임.

목 차

국문초록	i
List of Tables and Figures	iv
I. 서론	1
1. 탄수화물 대사	1
1)포도당 및 기타 다른 당의 인산화	2
2)해당 경로	3
3)TCA 회로(크렙스 회로)	6
2. 당뇨병의 정의와 분류	6
1)Insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM)	7
2)Noninsulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM)	7
3)당뇨병과 혈장 아미노산과의 관계	8
4. 당뇨병과 지방과의 관계	8
1)당뇨병과 비만증	9
2)인슐린 비 의존형 당뇨병(NIDDM)과 지질대사	9
3)인슐린 비 의존형 당뇨병(NIDDM)과 PPAR	9
4)인슐린 비 의존형 당뇨병(NIDDM)과 Leptin	11
5. 인슐린의 구조와 분비	13
6. 글루카곤(Glucagon)	14
1)글루카곤의 작용기전	14
2)당뇨병과 글루카곤	17
3) α -Glucosidase	17
II. 재료 및 실험방법	19
1. 재료 및 기기	19
2. 실험방법	20
1)시료의 추출	20

2)maltase의 활성 저해 실험	20
3)sucrase의 활성 저해 실험	21
4)비 특이적 α -Glucosidase 저해 실험	21
III. 결과 및 고찰	22
1. 항 당뇨 측정 결과	22
1) sucrase의 활성	23
2) maltase의 활성 측정	25
3)비 특이적 α -Glucosidase의 활성 측정	27
2. 자금우의 항 당뇨 효과	29
3. 위릉채의 항 당뇨 효과	30
4. 등대풀의 항 당뇨 효과	31
IV. 결론	32
V. 참고문헌	33
ABSTACT	35



표 목 차

표 1. sucrase활성 측정	23
표 2. maltase 활성 측정	25
표 3. 비 특이적 α -glucosidase(α -PNGD) 활성 측정	27

그림 목차

그림 1. 세포에서의 탄수화물 해당 경로	5
그림 2. 간에서의 글루카곤 작용기전	16
그림 3. sucrase inhibition effect of methanol extract	22
그림 4. 자금우의 α -glucosidase 저해 능력	29
그림 5. 위릉채의 α -glucosidase 저해 능력	30
그림 6. 등대풀의 α -glucosidase 저해 능력	31

I. 서론

1. 탄수화물 대사

탄소, 수소 및 산소로 구성되어 있는 유기화합물인 탄수화물은 신체의 에너지 공급원으로 중요한 위치를 차지하고 있으며, 단당류, 이당류 및 다당류로 분류할 수 있다. 단당류는 탄소의 수에 따라 3탄당, 4탄당, 5탄당, 6탄당 등으로 나눌 수 있는데 이중 5탄당과 6탄당이 신체 내에서 중요한 역할을 하고 있다. 우리가 섭취한 탄수화물은 6탄당인 포도당(glucose), 과당(fructose), 갈락토스(galactose) 상태로 장에서 흡수되고 이중 포도당이 가장 많은 부분을 차지한다.

$C_6H_{12}O_6$ 로 표기되는 6탄당은 인체내에 가장 많이 존재하는 단당류로서 포도당, 과당, 갈락토스등이 해당되며, 포도당과 갈락토스는 알데히드가 있어 알도스(aldose)라고 하고 과당은 케톤기가 있어 케토스(ketose)라고 불리운다. 5탄당은 세포내에서 6탄당으로부터 합성되며, 에너지원으로서의 가치는 별로 없으나, 리보스 및 데옥시리보스는 핵산 RNA 및 DNA의 구성물질로서 중요한 역할을 하며 기타 ATP, ADP, NAD, NADP, FAD등이 주요 구성성분을 이룬다. 이당류는 단당류 2분자가 글루코시드 결합을 하고 있는 물질로서 포도당과 갈락토스는 락토오스를, 그리고 포도당 2분자가 말토스를 형성한다. 다당류는 복합탄수화물로서 여러 개의 단당류가 모여 이루어진 물질이다.¹⁾

포도당은 세포내에서 일련의 대사과정을 거쳐 포도당에 들어있는 잠재에너지가 고에너지 화합물인 ATP(adenosine triphosphate)를 합성하는데, ATP는 아데닌, 리보스 그리고 세 개의 인산기가 결합된 물질로서 말단의 인산기가 가수분해될 때에 많은 에너지가 방출되는 고에너지 결합을 가지고 있다.

인체의 많은 부분을 차지하고 있는 골격근조직은 공복 상태에서는 지방산을 이용하고, 기아상태 및 당뇨병이 있는 경우에는 케톤체도 이용이 가능하다. 한편 운동시에는 탄수화물을 이용하는데 포도당이나 글리코젠을 해당작용(glycolysis)을 통해 유산(lactic acid)으로 전환 시킨다. 간 조직은 에너지원으로 지방산의 산

화에 크게 의존하며 일부 탄수화물을 이용하기도 한다. 뇌세포는 아세트아세트산이나 3-하이드록시부티르산이 정상시보다 비정상적으로 높은 경우를 제외하고는 거의 포도당에 의존한다. 적혈구는 주로 포도당을 이용하기 때문에 오랫동안 굶는 경우 전체 포도당 중에서 적혈구에서 사용되는 포도당이 큰 비중을 차지하게 된다.

탄수화물 대사의 조절은 크게 대사 과정 중에 생긴 중간체에 의한 조절과 호르몬에 의한 조절로 나누어 생각해 볼 수 있다. 우리 몸은 항상 정상 범위의 포도당 농도를 유지하도록 조절되고 있어 혈액 내 포도당 농도가 감소하면 췌장에서 글루카곤, 부신수질에서 에피네프린, 부신 피질에서 당질코르티코이드 등이 분비되어 글리코겐분해와 포도당신합성(glyconeogenesis)을 촉진하여 혈당을 상승시키고, 반대로 췌장에서는 인슐린분비를 저하시켜 역시 혈당을 상승시키게 된다.

당뇨병에서는 인슐린의 작용 및 분비가 저하되고 상대적으로 글루카곤 분비는 증가되어 말초조직에서의 포도당 이용률을 저하시키고, 포스포프락토카이네이스(phosphofructokinase)를 활성화시켜 해당작용을 촉진시키고, 또 과당이인산효소(fructose diphosphatase)의 활성 억제를 통하여, 포도당신합성을 억제하는 2,6-이인산과당(fructose 2,6-diphosphate)농도를 저하시켜 혈당이 증가하게 된다.²⁾

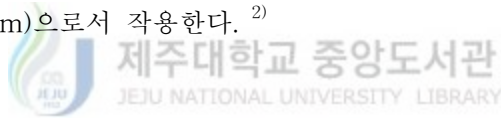
이와 같은 탄수화물대사의 주요 경로는 해당작용, 피부르산 탈수소효소(pyruvate dehydrogenase)에 의해 피부르산을 산화시키는 TCA회로(크렙스회로) 등 대사에 관여하는 효소와 함께 알아보고자 한다.

1)포도당 및 기타 다른 당의 인산화

인산화 과정은 포도당을 이용하는 해당작용, 글리코겐합성, 펜토스 인산회로 등에서 제일 처음 일어나는 중요한 과정이다. 세포내에서 포도당 이외의 단당류인 과당, 갈락토스, 만노스(mannose)등도 그에 해당되는 카이네이스에 의해 인산염 에스테르를 형성한 후 결국은 포도당의 인산화 된 유도체로 이성질화되어(isomerize)해당작용이나 글리코겐 합성과정 등에 이용된다. 대개 세포내로 포도당이 들어오게 되면 이어서 인산화과정이 일어나는데 이와 같은 분자적인 변화

가 확산에 의존하는 포도당의 흡수과정을 가속화하게 된다.

인산화 과정은 헥소카이네이즈나 글루코카이네이즈에 의해 이뤄지는데 이들 효소들은 포도당을 기질로 사용하고 또 만들어진 산물도 같아서 유사한 작용을 하지만, 중요한 차이점은 헥소카이네이즈는 글루코카이네이즈에 비해 낮은 포도당의 K_m (Michaelis Constant)에서도 활성을 나타낸다는 것이다. 두 가지 효소 모두 ATP, 마그네슘이온을 보조기질로 이용하며 헥소카이네이즈는 6-인산포도당에 의해 억제되지만 글루코카이네이즈는 억제되지 않는다. 모든 포유류의 세포는 포도당은 분해하는 해당작용 경로를 가지고 있다. 이를 위해서는 인산화효소가 필수적인데, 개개의 세포는 헥소카이네이즈가 주이지만 간에서는 글루코카이네이즈가 존재하며 2가지 효소 모두 과당이나 만노스 같은 다른 단당류도 인산화시킨다. 글루코카이네이즈는 특히 포도당에 대해 4배정도 작용이 더 강하다. 인슐린을 생성하는 췌장 β 세포에서도 글루코카이네이즈가 존재하는데, 이는 포도당 수송체와 함께 전구 인슐린의 합성과 인슐린의 분비과정에 관여하는 감지기전(sensing mechanism)으로서 작용한다.²⁾



2) 해당경로

체내에서 포도당을 피부르산으로 전환시키면서 ATP를 생성하는 반응으로, 탄수화물 대사에 있어서 가장 기본적인 경로이다. 주로 세포질 내에서 반응이 일어나지만 적혈구에서는 세포막에 있는 일부 효소, 그리고 뇌세포의 헥소카이네이즈는 미토콘드리아의 막과 연관 될 수도 있다.

세포의 미토콘드리아에서 산소의 적절한 공급 하에 해당 작용의 종말 산물은 피부르산(pyruvate)이며 이를 호기성 당분해라고 하고, 이러한 반응은 피부르산을 산화적 탈 카르복실화시켜 구연산회로의 주연료인 아세틸(acetyl CoA)을 만들게 한다. 한편, 포도당이 유산(lactate)으로 전환 시킬 때에는 산소가 필요하지 않으므로 이를 혐기성 당분해라고 한다.³⁾

해당작용의 주요한 의의는 포도당의 혐기상태에서 에너지(ATP)를 형성하는 것이다. 이 에너지는 적혈구를 비롯한 다른 세포들이 일반적인 생리조건하에서는

이용하기 충분할 정도의 양이라고 할 수 있다. 전 과정을 통해서 NAD^+ 에서 NADH 가 생성되는 환원반응과 NADH 가 NAD^+ 로 되는 산화반응이 각각 하나씩 있으므로 전체적으로는 산화 및 환원이 일어나지 않으며, 포도당 1분자당 2분자의 ATP 가 ADP 로 분해되어 소비되고, ADP 로부터 4분자의 ATP 가 생성되므로 결국은 2분자의 ATP 가 생성된다. 해당작용에 중요한 역할을 하는 3가지 조절 효소에는 hexo -kinase, phosphofructokinase, pyruvate kinase가 있다. 포도당을 인산화 시키는 효소로서 glucokinase는 hexokinase와는 달리 간 세포내 포도당 농도가 높을 때에만 작용하며, 글루코스-6-인산에 의해 hexokinase는 억제되나 glucokinase는 억제되지 않는다.^{2),3)}



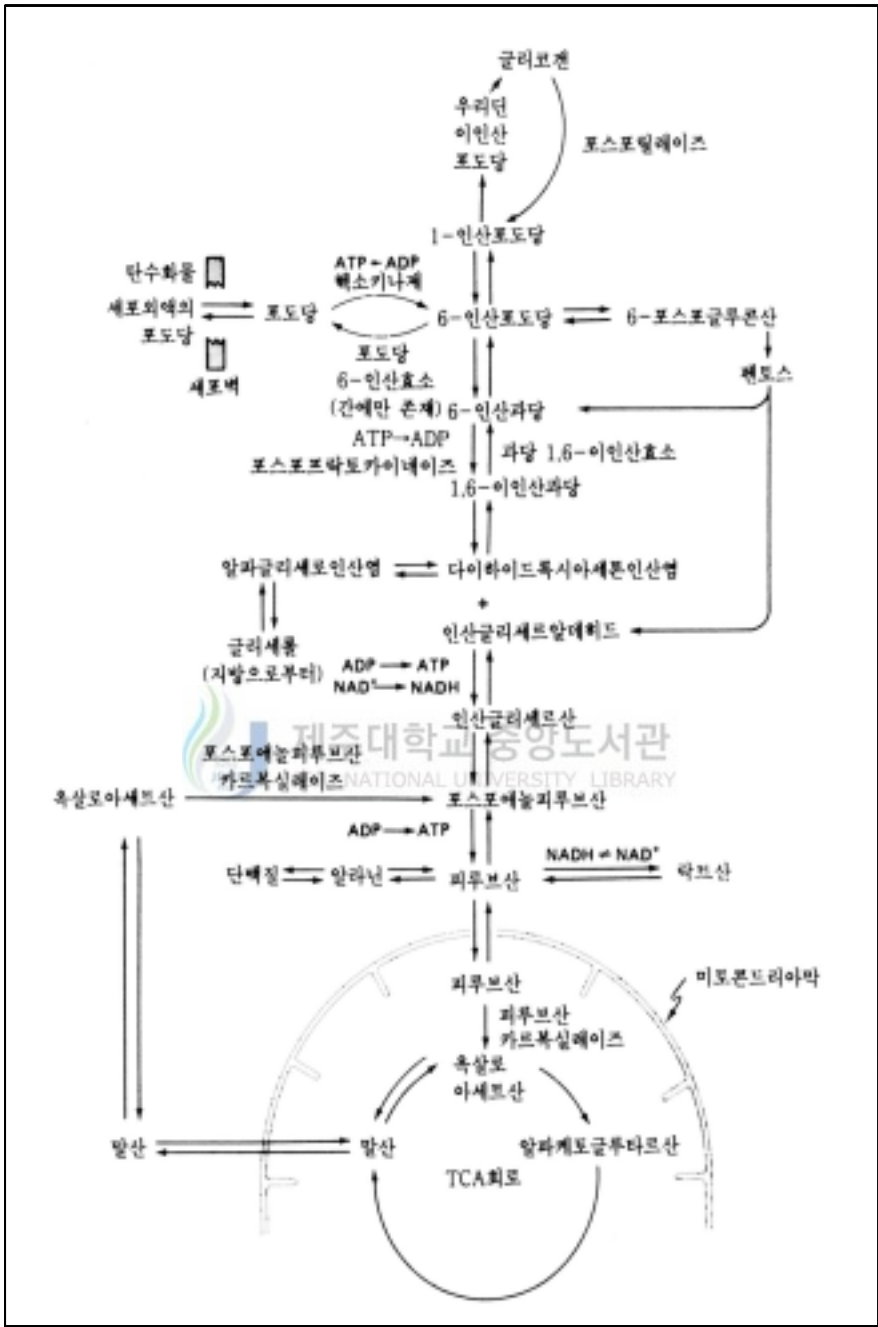


그림 1. 세포에서의 탄수화물 해당경로

3) TCA회로(크렘스회로)

처음에는 미토콘드리아의 기질에서 3탄당인 피루브산으로부터 피루브산 탈수소 효소에 의해 산화되면서 탈 카르복실화가 일어나고 거기에 조효소A가 작용하게 되어 2탄당인 아세틸 CoA(acetyl-CoA)가 형성된다. 여기에 4탄당인 옥살로아세트산이 결합되어 6탄당인 구연산염이 된다. 구연산염은 다시 이성질화되어 이소 구연산염으로 변화한 다음, 산화 및 탈 카르복실화되어 5탄당인 알파케토글루타르산염(α -ketoglutarate)으로 된다. 이것은 다시 산화성 탈카르복실효소 반응에 의해서 4탄당인 숙시닐 CoA(acetyl-CoA)로 전환된 후, 이는 CoA를 상실하면서 숙신산염이 된다. 숙신산염은 숙신산 탈수소효소에 의해 푸마르산염이 되며, 말산염(malate)을 거쳐 최종적으로 옥살로아세트산염을 형성하게 된다.²⁾

2. 당뇨병의 정의와 분류



당뇨병이란 인슐린이 충분치 못하거나 제 기능을 못하도록 된 메카니즘에 의하여 생체의 에너지 양의 조절기능을 상실함으로써 발생하는 것이다. 이러한 당뇨병을 한방에서는 소갈(消渴)이라 하여 일찍부터 그 원인 규명과 처방에 대해서 많은 관심을 가져왔다. 정상인의 혈액에서 포도당 농도는 공복시에 60~110mg/dl 이고 과당, 갈락토스, 만노스, 유당, 서당, 5탄당 등이 미량으로 존재한다. 포도당은 음식물로 섭취한 다당류가 소화효소에 의해 분해되어 소장의 상부에서 흡수되어 간장으로 운반된다. 혈액속의 포도당 농도는 장에서 흡수된 당질이 간장으로 가서 일부는 당원으로 합성 또는 포도당으로 분해되는 정도, 말초조직에서의 포도당의 이용 정도 및 신장에서의 배설과 재흡수등 여러 인자에 의해 좌우된다. 뿐만 아니라 농도 조절은 자율신경계와 각종 호르몬이 밀접한 관계를 갖고 있다. 당뇨병은 40~50세에 집중적으로 발생되고 있는 문화병으로 취급되고 있으나 생활의 변화에 따라 소아 당뇨 환자도 증가하고 있는 추세이다. 당뇨의 발병 방식은 크게 두가지의 경로에 의한다.

1) Insulin-dependent diabetes mellitus(IDDM)

IDDM은 insulin을 생산하는 췌장 β 세포의 자가 면역적 파괴에서 온다. β 세포의 자가면역성 파괴를 개시하는 방아쇠로서의 바이러스 감염은 바이러스 감염에 의한 β 세포의 새로운 항원 생성, 바이러스 항원과 β 세포의 자가항원과의 분자구조 유사성, β 세포에서 바이러스 감염에 의한 조직적합항원의 비전형표현, 또는 바이러스 감염에 의한 숙주 면역체계의 변화 등에 의해 IDDM 당뇨병을 유발하는 것으로 알려져 있다. 관련된 주요 유전자는 chromosome 6의 major histocompatibility complex(MHC)이다.⁴⁾

IDDM 환자의 특징으로는 흔히 심한 고혈당증이나 케톤증에 빠지기 쉬우며, 심한 인슐린 결핍에 의해 갈증, 다뇨, 체중감소, 피로감 등의 임상증상이 비교적 갑자기 시작되어 케톤증이 발생하고 환자는 보통 마른편이다.

2) Noninsulin-dependent diabetes mellitus(NIDDM)

NIDDM은 전인구의 5-7%에서 발생하며, 인슐린에 의존하지도 않으며 증상이 없는 경우도 있고, ketosis의 경향도 없다.⁴⁾ 특징적인 급성 합병증인 비 케톤성 고삼투압성 혼수는 심한 고혈당과 탈수를 특징으로 하고 포도당의 생성과 소변으로의 배설사이에 불균형이 있어 포도당의 배설 및 대사되는 정도가 세포 외액으로 유입된 비율보다 낮은 경우에 발생한다.

NIDDM은 NIDDM에 대한 유전적 감수성, 인슐린 저항성, 내당능장애(Impaired Glucose Tolerance)를 거쳐 당뇨병으로 발병하는 것으로 일반적으로 생각되고 있다. 유전적 감수성에 의해 말초조직, 특히 근육조직에서 인슐린 작용이 일차적으로 감소되고 이를 보상하기 위하여 고 인슐린혈증이 나타나지만 다른 어떤 인자에 의해 β 세포 기능 장애가 동반되면 내당능장애에 도달하고, 다시 다른 인자가 더해지면 당뇨병으로 이행한다고 알려져 있다. 글루코키나제는 NIDDM을 일으키는 유전자의 하나로, 인슐린 저항성과 인슐린 분비 장애를 일으킬 수 있다고 한다.

NIDDM의 발병에는 비만이 주요하게 작용하며, 체지방의 분포에 따라 직접적으로 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 동일한 비만 정도라 할지라도 체지방이 주로 상체에 분포된 경우, 즉 상체 비만(중심성 비만, 복부비만)인 경우에 더더욱 증가한다. ⁵⁾

3. 당뇨병과 혈장 아미노산과의 관계

당뇨병 환자의 혈장 아미노산치에 관여하는 당뇨성 케톤산 혈증이 있을 때 아미노산 분포 변동에 대해서 많은 보고가 있는데, 이는 혈당 조절 상태에 따라 다르고, 식사를 통해 공급된 단백질의 양과 질에 따라 다른 양상을 보인다고 한다. 특히, 후자인 경우에는 단백질 섭취 결핍이 심한 환자에서의 혈장 아미노산 분포는 필수 아미노산은 감소하고 불 필수 아미노산은 큰 변화를 보이지 않는다고 한다. ⁶⁾

중등도의 고혈당을 보이는 인슐린 의존형 당뇨병 환자에서 혈장 아미노산의 변화는 alanine을 포함하여 glucogenic amino acid의 감소와 주로 ketogenic effect를 나타내는 branched chain amino acid의 증가가 특징이다. 이로 인해 당뇨병 환자에서는 포도당 신생이 간장의 포도당 방출량의 정상인의 2배 이상이 된다. ⁶⁾

필수 아미노산 중에서 threonine과 lysine은 외부의 공급에 의존하는 아미노산으로 알려져 있고, 불 필수 아미노산 중 glutamine은 인슐린 부족에 의한 효과뿐만 아니라, 저 체중 환자의 감소된 근육 부피를 반영한다. ⁶⁾

4. 당뇨병과 지방과의 관계

1) 당뇨병과 비만증

비만증에서 관찰되는 것은 가장 중요한 대사 장애로 고 인슐린 혈증과 인슐린 저항성이 동반되는 현상이 있다. 이 때 혈청 중성지방과 유리 지방산의 증가 및 고혈압도 동반 된다. 당뇨병에서는 인슐린 작용이 부족하기 때문에 포도당이 저

하된다. 이 포도당 이용이 저하를 보상하기 위해 간장에서는 당신생의 증가 및 포도당의 방출 증대가 되어 고혈당을 초래한다. 지방 조직에서는 포도당의 대사가 저하되므로, triglyceride의 소재가 된 glycerophosphoric acid의 공급이 부족해서 triglyceride생성이 감소된다. 뿐만 아니라, triglyceride분해가 항진된다. 이러한 이유로 유리지방산과 triglyceride가 대량 방출된다.

유리 지방산이 많아지면 지방, 근육 등의 말초에서 포도당 이용률을 감소시켜 인슐린 저항성을 초래하고, 세포 내로의 포도당 운반 능력 감소와 이로 인한 세포 내 포도당 이용이 감소된다.⁷⁾

신경내분비계의 기능장애가 비만의 일차적 원인이 되기도 하고, 식용조절중추 중 섭식중추(feeding center)인 시상하부위 복내측핵(ventromedial nucleus, VMH)이 파괴되거나, 유전적으로 결함이 있는 경우, 과식과 인슐린 분비 이상이 일어나며, 비만과 인슐린 저항성이 증가된다. 인슐린 저항성을 극복할 만큼 인슐린 분비 증가가 뒤따라 주지 못하면 당뇨병이 일어난다.⁷⁾

2) 인슐린 비 의존형 당뇨병(NIDDM)과 지질대사

운동 부족과 식생활의 서구화로 인해 체중과다 특히, 복부 비만 발생이 증가하고 있는 추세이다. 내당능장애와 NIDDM 환자들은 정상적인 당질 대사를 갖는 사람들과 비교하여 볼 때, 심한 인슐린 저항성을 보이고 NIDDM에서 고혈당은 고 인슐린 혈증을 유지하지 못하는 경우에 발생한다. 인슐린 저항성은 당질 대사 뿐만 아니라, 지질 대사에도 영향을 미쳐 고 인슐린 혈증을 보이며 발병 초기에는 인슐린 저항성이 문제가 되고 장기적인 심한 고혈당은 인슐린 분비에 결함을 초래한다.⁸⁾

3) 인슐린 비 의존형 당뇨병(NIDDM)과 PPAR

비만은 심장질환이나 당뇨병, 고혈압을 초래하기 때문에 비만 조직의 형성과 생리를 밝히는 것은 아주 중요하다. peroxisome의 증식은 각종 화학 물질에 대한 세포의 반응이며 세포의 형태와 효소의 활성화에 변화를 일으키는 여러 가지 병리

형태 생리학적 조건에 대한 세포의 반응이다. peroxisome 효소는 장쇄 지방산과 그 유도체의 β -oxidation, 지방산의 연장, 콜레스테롤과 glycerolipid의 생합성, hexose monophosphate 경로를 통한 포도당 대사 등이 관련되어 있다.

peroxisome proliferator-activated receptor(PPAR)는 여러 가지 호르몬에 대한 핵 수용체군의 하나로서, 지방 세포의 분화를 조절하는 전사 요소이다.⁹⁾ 사람에게 대한 임상 실험 결과 thiazolidinedione은 인슐린 감수성을 향상시켜 인슐린 저항성을 개선하는 효과를 가지고 있으나 혈중 중성지방치를 상승시키는 효과가 있다고 알려져 있어 PPAR γ 는 thiazolidinedione가 지방 세포에 영향을 미치는 분자 수준의 목표물이라 할 수 있고, 항당뇨 작용에 대한 최종 목표일 가능성이 있다. 즉 지방 조직에서 PPAR γ 가 활성화되면 지방 대사에 관여하는 유전자들이 발현이 증가되어 지방 대사가 증진되고 결국 지방 조직으로부터 지방산이 적게 유리될 것이다. 지방산은 인슐린 저항성을 유발할 수 있으므로 지방산 유리가 줄어들면 그 만큼 인슐린 저항성은 개선될 것이다.

지방 세포의 분화와 기능에 결정적인 조절인자로 알려져 있는 PPAR γ 의 유전자는 3번 염색체의 3p25에 위치한다고 알려져 있으며, 같은 유전자에서 다른 촉진자에 의해 alternative splicing이 이뤄져 PPAR γ 1과 PPAR γ 2의 동형체가 생성되어 진다.⁹⁾ PPAR γ 1은 지방, 골격근, 심방과 간장에서 표현되는데 반해, PPAR γ 2는 절대적으로 지방조직에서만 표현되는 것으로 보아 PPAR γ 2가 지질과 에너지 대사에 결정적인 역할을 담당하고 인슐린 저항, NIDDM, 비만증과 같은 질환에 관련된 후보 유전자일 가능성이 높다. PPAR γ 2는 지방 전구 세포를 지방 세포로 분화시키는 전사요소라 할 수 있으며, 섬유모세포 세포주에서 PPAR γ 의 지나친 발현이 섬유 세포가 지방 세포로 전환된다.⁹⁾

지방세포에 특이적으로 발현되는 유전자는 adipocyte-specific fatty acid-binding protein gene(aP2)이며, 이 유전자의 프로모터 영역에 CCAAT/enhancer binding protein- α (C/EBP α)와 peroxisome proliferator-activated receptor gamma(PPAR γ)의 두 가지 중요한 지방화 전사인자가 작용한다.

C/EBP α 는 basic leucine zipper(bZIP)을 가지는 전사인자군에 속하며, 지방세포 전 단계에서는 발현되지 않다가 지방세포로 분화되는 과정에서 발현되기 시작하

는데, 특히 지방 세포 관련 유전자가 발현되기 바로 직전에 발현된다. 또한 프로 모터 부위에 C/EBP 결합 부위를 가지고 있어 C/EBP β 와 C/EBP δ 도 발현되는데, C/EBP α 의 발현 직전에 동시에 나타난다.

지방세포에 각각의 기능이나 역할은 그 지방세포에서 어떤 물질을 만들어 내는가에 달려 있다. 지방세포에서 만드는 물질의 유전자를 조절하는 물질은 지방 세포의 특성을 결정하는 역할을 하게 될 것이며, 가장 중요한 것이 PPAR γ 와 C/EBP α 라고 한다. PPAR γ 과 비만, 당뇨병의 관계의 실험 내용을 보면 PPAR γ 결핍 생쥐는 일반 식이를 할 경우 정상인 상태를 유지하지만, 고지방 식이를 주어도 비만해지지 않고, 특히 비만도에 따른 인슐린 저항성이 거의 생기지 않는다.¹⁰⁾ 또한 PPAR은 스테로이드 호르몬 수용체나 활성형 지용성 비타민 수용체와 유사한 구조를 가지며 약물 투여에 의해 유전자 전사 활성화를 매개하는 DNA결합성 전사 인자로 작용한다. 인슐린 저항성 개선제인 thiazolidinediones 유도체가 PPAR 동위체중의 하나에 특이적인 고친화성 리간드로 밝혀져 고지혈증, 당뇨, 비만 등에 약제의 작용점으로 PPAR의 기능을 한다.¹¹⁾

PPAR family는 장쇄 지방산, 지방산 대사물, 그리고 일종의 지질저하 약물에 의해 활성화되어지며 그 외 thiazolidinediones, 프로스타그란딘 J2(PGJ2) 유도체 등도 PPAR γ 의 리간드로 알려져 있다. 특히, thiazolidinediones은 지방 전구세포와 간엽 간세포에 현저한 지방 생성 효과가 있음이 증명되었고, NIDDM형 동물 모델에서도 항당뇨 효과가 있음이 밝혀졌다. 즉 thiazolidinediones은 인슐린 감수성을 향상시켜 인슐린 저항성을 개선하는 효과를 가지고 있다.⁹⁾

4)인슐린 비 의존형 당뇨병(NIDDM)과 Leptin

4개의 역 평행행 α -나선구조로 구성되어 있는 Leptin은 뇌에서 몸 상태에 대한 정보인 체지방량과 그에 따른 식이습관, 대사상태 및 개체의 영양학적 상태에 따른 내분비 생리학적인 조절에 중요하다고 한다. 다시 말해, Leptin은 포도당 운반, 당질 합성, 지방 합성 그리고 단백질 합성등 인슐린이 관여하는 중요한 대사 과정에 관여할 뿐만 아니라, 인슐린의 분비를 저해하는 효과를 가져 온다.

Stroide 호르몬이나, 이용 가능한 포도당이 많은 상태에서의 인슐린은 지방 조직에서 지방 유전자인 Ob 유전자의 발현을 증가시켜 Leptin 분비를 증가시킨다.¹²⁾ 혈중 Leptin농도는 탄수화물 섭취량에 따라 변화하지만, 비교적 장시간이 요구되는 것으로 밝혀져 있고, Leptin의 분비가 인슐린 등의 자극에 의해 빠르게 일어난다.¹³⁾

Leptin의 생합성과 분비는 지방 세포에 전달된 내분비와 주변 분비, 신경학적 인 신호 전달에 의해 조절되는데 이는 체지방량에 따라 지방 세포에 의해 분비되므로 우리 몸의 항상성을 이루는데 중요한 역할을 한다. 식사를 할 경우, Ob 유전자의 mRNA가 증가하게 되고, 금식을 할 경우 Ob 유전자의 mRNA가 떨어져 Ob 유전자 발현이 영양 조절에 따라 이뤄져 이 때 Leptin의 양도 같이 변하게 된다.¹⁴⁾

포도당과 지질을 섭취하였을 때 지방 세포와 근육 세포에서의 Leptin 발현이 증가하였다. 이것은 Leptin이 조직에서 영양의 흐름을 감지하여 조절 신호를 전달하고 있다는 것을 말해준다. 개별 지방 세포의 지방 분해 작용에 있어 Leptin이 직접 자율 분비 및 주변 분비계를 통해 신호 전달을 한다는 증거가 보도되고 있으며 Leptin은 acetyl-CoA carboxylase 유전자의 발현, 지방산 합성 그리고 지방 합성을 억제하는 것으로 보아 지방 조직 대사에 직접 조절하는 것으로 관여된다. 또한 인슐린은 에스트르겐과 당질코르티코이드로 장시간 치료했을 때와 마찬가지로 지방 유전자인 Ob gene 발현을 촉진하고, 안드로겐과 성장 호르몬은 Ob gene 발현을 유발하여 Ob mRNA와 Leptin의 농도를 떨어뜨린다. 혈장 내 Leptin 농도와 지방 세포의 Ob mRNA 발현 정도는 비만 평가와 강한 연관성을 가지고 있으며 지방 세포의 크기는 Leptin 합성에 중요한 결정 인자로 크기가 큰 지방 세포일 수록 Leptin을 더 많이 함유하고 있다.¹⁴⁾

비만치료제로서의 역할보다 당뇨병과 인슐린 저항성과 같은 대사 장애에 Leptin이 관여할 것이라는 연구 결과가 발표되고 있다. 인슐린 저항성을 가진 사람이 인슐린 저항성이 없는 사람에 비해 혈중 Leptin 농도가 높게 측정되었다. 이는 체중의 증가와 더불어 인슐린 저항성이 발생하는데 고 인슐린 혈증이 Leptin의 농도를 증가시킴으로서 체중 증가를 억제하고자 하는 생리기전으로 보고 있다.

인슐린 분비를 담당하는 췌장 β 세포에서 Leptin 수용체가 발견되었고, Leptin이 직접 인슐린 분비를 억제한다고 한다. Leptin을 합성 할 수 있는 바이러스를 투여한 고 렵틴 혈증 유발 백서에서 소도세포를 분리하면 Leptin에 의해 소도세포에서 지질이 고갈되어 β 세포의 인슐린 분비 기능을 상실함을 보여주었다. 이로 인해 Leptin이 인슐린 분비를 억제함을 알 수 있고, 결론적으로 Leptin이 인슐린 저항성과 관련이 있어 췌장에서 인슐린 분비를 억제하는 연구 결과들로 비만 치료제 보다는 당뇨병의 유발 인자로 여기고 있음을 알 수 있다. ¹⁵⁾

Nitric oxide(NO)는 자유기로서 생체 내 거의 모든 장기에 존재하며 신호 전달을 조절하거나 세포 독성을 일으키는 물질로 인식되어 왔으나 최근에는 여러 조직에서 분비 조절에 관여하는 것으로 밝혀있다. 혈압 향상성과 관련되어 Leptin은 신경학적인 억제 작용과 동시에 NO 매개를 억제하는 작용에 의해 혈관 긴장도를 조절해 비만 환자에서 고혈압과 심혈관 질환 발생 증가를 설명하고 있을 뿐만 아니라, NO는 이자섭에 작용하여 insulin의 합성과 분비에 영향을 미치는 것으로 확인되고 있다. ¹⁴⁾



5. 인슐린의 구조와 분비

인슐린 합성의 전반적인 과정은 인슐린 유전자에서 전전구인슐린이 만들어지고, 전전구인슐린에서 24개의 아미노산이 잘려나가 전구인슐린이 되고, 전구인슐린에서 다시 4개의 아미노산이 잘려나가면서 51개의 아미노산을 가진 인슐린과 31개의 아미노산을 가진 C-펩타이드로 변화되는 일련의 과정을 통하여 일어나게 된다. 사람의 전전구 인슐린은 110개 아미노산으로 전구 인슐린에 24개의 아미노산이 첨가되어 있다. 전구 단백질의 기능은 지방 친화성이 있어서 단백질이 과립막을 용이하게 통과할 수 있는 장치라 생각한다. 사람의 전구 인슐린은 86개의 아미노산으로 되어있으며, 35개의 아미노산은 A와 B사슬 사이의 C-펩타이드가 된다. C-펩타이드의 기능은 인슐린의 A사슬과 B사슬을 연결하여 전구 인슐린으로부터 인슐린으로 전환되는 과정에서 단백분해효소가 효과적으로 작용하도록 하는 기능을 하는 것으로 알려져 있다. ¹⁶⁾

부교감신경의 말달에서 분비되는 아세틸 콜린과 상부장관에서 분비되는 콜레시스토키닌은 포스포이노시톨 단백카이네이즈를 통하여 인슐린 분비를 자극한다. 인슐린이 β 세포에서 혈액으로 분비되면 두가지 기전에 의해 처리되는데, 하나는 간, 근육등에서 수용체결합을 통한 분해이고, 또 하나는 신장배설을 통한 기전이다. 전구 인슐린은 인슐린과 같은 방법으로 대사되지만, 인슐린 수용체에 대한 친화력이 매우 낮아서 수용체를 통하는 부분은 아주 작고 신장을 통하여 처리된다. C-펩타이드는 신장을 통하여 분해되고, 일부는 신장을 통하여 소변으로 배설된다.^{16),17)}

6.글루카곤(Glucagon)

글루카곤은 인슐린과 함께 혈당을 아주 좁은 정상 범위로 유지하는 포도당의 항상성 유지에 중요한 호르몬이다. 또한 모든 형의 당뇨병에서 글루카곤은 인슐린에 비해 상대적으로 과잉되어 간의 포도당 신생 및 케톤체 생성이 증가된다.¹⁸⁾



1) 글루카곤의 작용기전

글루카곤의 포도당 대사에 대한 작용은 cAMP증가후 cAMP의존성 단백카이네이즈의 활성화를 통해 각종 세포 내 효소를 인산화하여 시작된다. 글리코겐 분해에 속도조절 효소인 b형 포스포릴레이즈를 인산화시켜 활성형의 a형 글리코겐 합성효소는 인산화시켜 비활성 b형 효소로 전화하여 글리코겐의 생성을 감소시킨다. 글루카곤에 의해 효소가 인산화 되면 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase 와 L형 피부르산 카이네이즈의 인산화를 통해 당신생과 케톤체 생성을 증가시킨다. 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase 는 인산화 상태에 따라 해당과 당신생을 모두 조절할 수 있는 두 가지 기능을 가진 효소이다. 글루카곤에 의해 이 효소가 인산화되면 fructose-2,6-bisphosphatase로서 작용하게 되고 fructose-2,6-bisphosphate(F-2,6-P₂)가 감소된다. F-2,6-P₂ 는 해당과 당 신생의 주요 조절인자로서 감소되면 포스포프락토카이네

이츠의 활성이 억제되어 해당과정이 감소되며 과당-1,6-비스포스파레이즈을 자극하여 포도당 신생을 증가시킨다.

글루카곤은 F-2,6-P₂ 감소로 해당과정을 억제하여 지방생성의 원료인 3탄당의 유출을 감소시킨다. carnitine palmyoyl transferase-1 (CPT-1)의 억제제인 말로닐(malonyl) CoA의 농도는 극심하게 낮아져서 CPT-1의 활성이 증가되므로 fatty acyl CoA가 fatty acylcarnitine으로 에스테르화되어 미토콘드리아 내로 쉽게 이동되어 케톤으로 산화된다. ¹⁸⁾



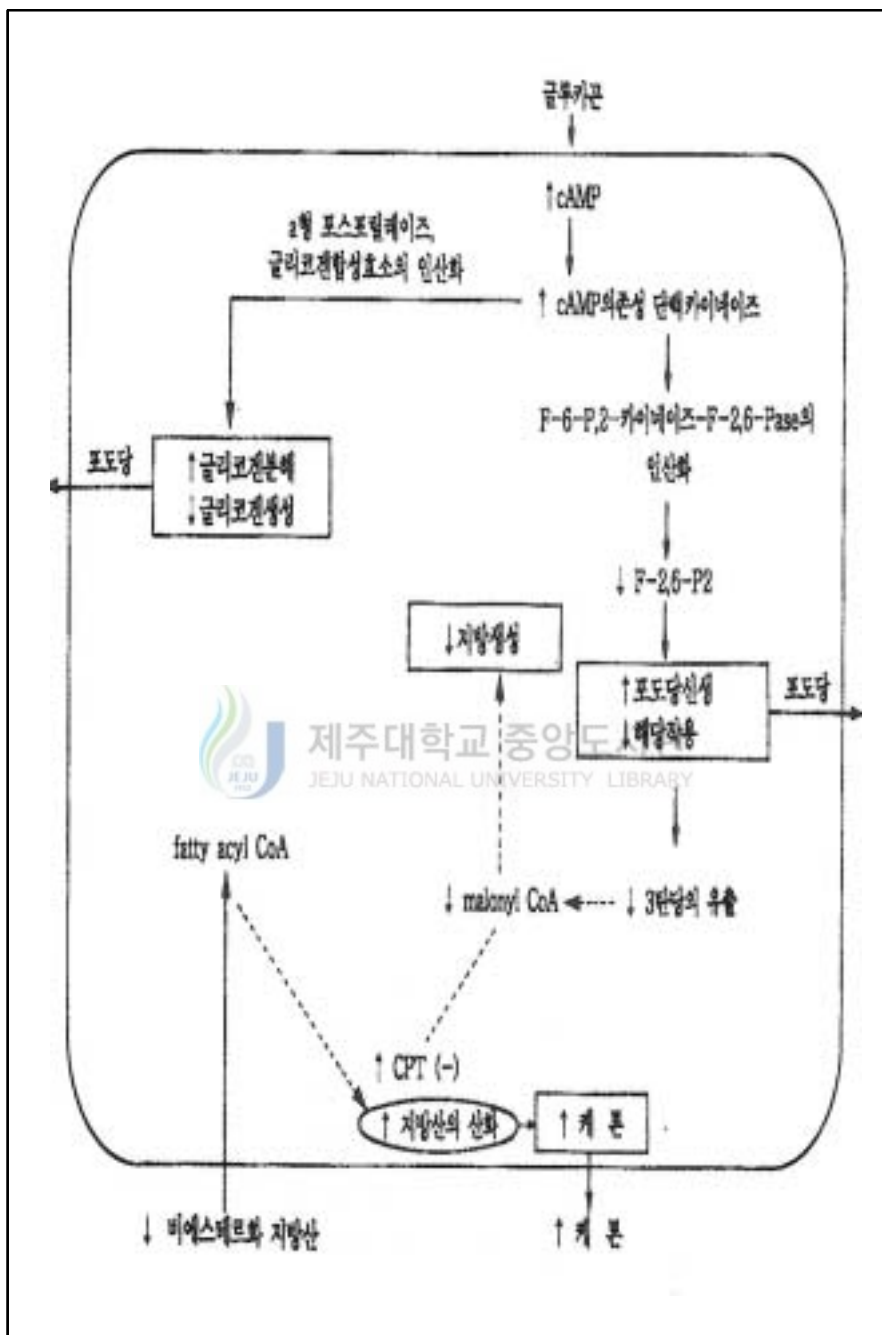


그림 2. 간에서 글루카곤의 작용기전

*CPT: carnitine palmitoyl transferase

2) 당뇨병과 글루카곤

인슐린 부족해도 글루카곤이 없으면 포도당과 케톤이 과잉 생산되지 않는다. 인슐린과 글루카곤이 모두 결핍되면 포도당의 이용이 억제되고 지방의 분해가 증가되나 공복시 고혈당과 케톤이 경미하게 증가될 뿐이다. 인슐린은 간에서 세포내 cAMP를 감소시키고 cAMP의존성 단백카이네이즈를 억제하여 글리코겐의 분해, 포도당 신합성 및 케톤체 생성을 차단한다. 그러나 글루카곤이 없다면 간의 cAMP농도와 cAMP의존성 단백카이네이즈의 활성화도 낮을 것이므로 인슐린의 결핍으로만 당뇨병에서 발생 될 수 있는 고혈당과 케톤산증을 유발 할 수 없다. 결론적으로 당뇨병에서 인슐린의 절대적 혹은 상대적 결핍과 동시에 글루카곤의 상대적 증가에 의해 대사 장애가 발생된다고 할 수 있다.¹⁸⁾

3) α -Glucosidase

배당체를 가수분해하는 효소를 glucosidase라고 총칭하지만, 특히 당 부분이 glucose일 때 glucosidase라고 부른다. 글루코시드결합이 α 인가 β 인가에 따라서 α -D-glucosidase와 β -D-glucosidase로 나눈다.

탄수화물 분해효소는 소장 상피세포의 brush-border membrane에 위치하여 기질인 당에 작용하기 용이하게 되어 있다. 이들 가수분해 효소를 통칭하여 disaccharides라고 하나, 실제로는 대개 세 개 내지 그 이상의 육탄당 요소를 분해하므로 oligosaccharidases라고 명명한다. 이들 효소는 공장에 가장 많이 분포되어 있으나, 회장의 대부분에 걸쳐서 생리학적으로 중요한 밀도를 유지한다. 결장은 이 oligosaccharidases가 결핍되어 있다. Oligosaccharidases는 모두 최적 pH가 6.0 정도인 거대 당단백으로 되어 있다. Glucoamylase는 췌장에서 분비되는 α -amylase와는 달라서 α -1, 4결합의 비환원성 말단으로부터 glucose 1분자를 해리하는 작용을 한다. Sucrase- α -dextrinase는 실제로 두 효소가 혼성된 효소이며, 하나는 sucrose를 분해하고 다른 하나는 α -말단 dextrin의 α -1, 6 결합을 분해한다. 이 효소는 다른 이름으로 sucrase-isomaltase라고도 불리나, 장관내에

따로 isomaltase가 존재하지 않으므로 정확한 명칭은 아니다.

이들 α -glucosidases는 trehalase를 제외하고는 모두 maltose를 분해할 수 있으므로 maltase라고도 할 수 있으나, 더 정확한 명칭은 각자에게 특이성을 갖는 기질에 따라서 불러야 한다.⁴⁾

최근 천연물에서 α -Glucosidase 저해제들을 개발하는 연구가 많이 이루어지고 있어 본 연구에서는 제주도 자생식물에서 생체 분자들을 메탄올로 추출 해 α -Glucosidase의 활성을 저해하는 물질을 찾아내고자 한다. 천연물로부터 새로운 생리 활성 물질을 찾아 이러한 성분들이 항 당뇨 효과가 있는지의 가능성을 확인하여 향후 의학 자료의 기초 자료로 활용하는데 그 목적이 있다.



II. 재료 및 실험방법

1. 재료 및 기기

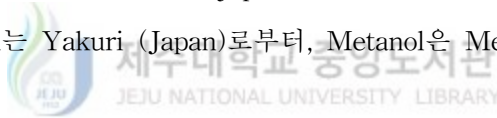
글루코시다제의 활성측정에 사용된 UV-visible Spectrophotometer는 Hewlett Packard 8453 (USA)을 사용하였으며, 시료준비를 위해서 Aspirator A-3S와 rotary vacuum evaporator SB-651(Eyela, Japan)를 사용하였다. Vacuum freezer dryer 는 Heto FD을 사용하였다.

원심분리기는 한일과학의 Mega 17R을 사용하였다.

α -glucosidase, p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside, Peroxidase, Glucose oxidase, O-Phenylenediamine dihydrochloride, Glycine, Sodium phosphate monobasic와 Sodium phosphate dibasic 은 Sigma (U.S.A) 제품을 사용하였다.

Maltose와 Saccharose는 Hanawa (Japan)로부터 구입하였다.

Hydrochloric acid는 Yakuri (Japan)로부터, Metanol은 Merck (Germany)로부터 각각 구입하였다.



2. 실험방법

In vitro에서 α -glucosidase 활성 저해 실험

1) 시료의 추출

실험에 사용된 각각의 시료들을 1kg씩 채취하여 2L의 메탄올에 한 달 동안 추출하였다. 그 후 상온에서 Aspirator를 이용하여 감압 여과시킨 후, vacuum freezer dryer로 완전 건조시킨 시료를 1mg/ml이 되도록 증류수에 용해시킨 후 실험에 사용하였다. 활성을 측정할 때 반응용액상의 시료 최종농도는 0.2mg/ml이 되도록 하였다.

2) maltase의 활성 저해실험

효소 반응용액은 0.1M phosphate buffer pH7.0, 기질10mM maltose에 시료를 가하여 40분간 37°C incubator에서 배양시킨 다음, 끓는 수욕상(95°C의 수조)에서 효소를 2분간 비활성화 시키고 3000rpm에서 5분간 원심분리하여 상등액 0.1 ml에 o-phenylenediamine 0.05mg/ml, peroxidase 2 unit/ml, glucose oxidase 0.384unit/ml등으로 조제한 반응액을 가하여 30분간 배양 후, 1N HCl을 가하여 효소반응을 정지시킨 후에 492nm에서 흡광도를 측정하였다.

%inhibition 값은 다음 계산에 의한 것이다.

$$\{C-(A-B)\}/C*100$$

C: control반응으로 시료의 저해 반응 조건에서 시료를 제외한 상태에서 반응

A: 시료의 저해 반응 조건에서 시료를 포함한 상태에서 반응

B: 시료가 실험에서의 buffer와 증류수와의 반응

3) sucrase의 활성 저해실험

효소 반응용액은 0.1M phosphate buffer pH6.0, 기질 10mM sucrose에 시료를 가하여 3시간동안 37°C incubator에서 반응시킨 다음, 끓는 수용상 (95°C의 수조)에서 효소를 2분간 비활성화 시키고 3000rpm에서 5분간 원심분리하여 상등액 0.1ml에 o-phenylenediamine 0.05mg/ml, peroxidase 2 unit/ml, glucose oxidase 0.384unit/ml등으로 조제한 반응액을 가하여 30분간 배양 후, 1N HCl을 가하여 효소반응을 정지시킨 후에 492nm에서 흡광도를 측정하였다.

%inhibition 값은 maltase의 계산 방법과 같다.

4)비 특이적 α -glucosidase(α -PNGD) 활성 저해 실험

비 특이적 α -glucosidase(p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside) 활성 측정

2mM의 p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside에 효소반응 용액과 시료를 가하여 30분간 37°C에서 배양한 후, 1M Glycine-NaOH(pH 9.0)로 반응을 정지시킨다. 그 후 3000rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 얻어 405nm에서 흡광도를 측정하였다.

%inhibition 값은 maltase의 계산 값과 같다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 항 당뇨 측정 결과

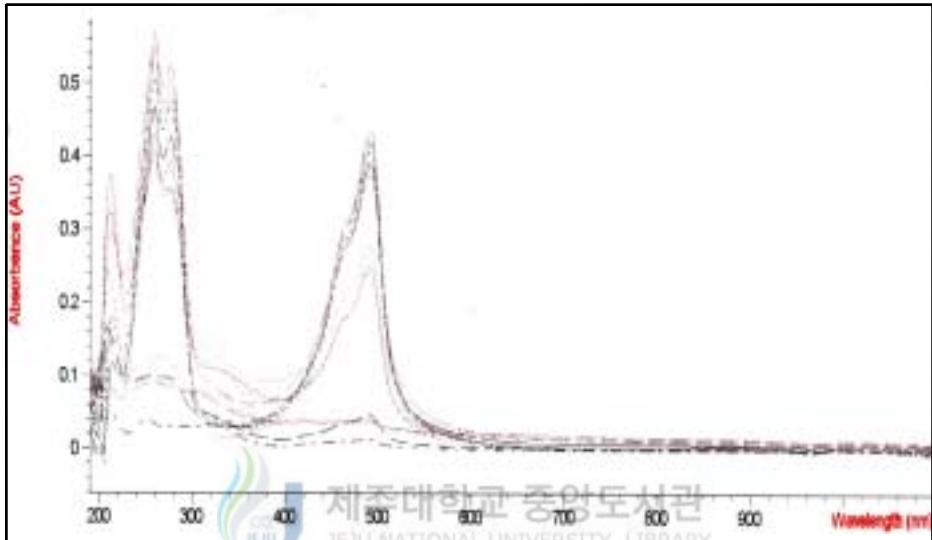


그림 3. sucrose inhibition effect of methanol extract

제주도 자생식물에서 생체 분자들을 메탄올로 추출 해 α -Glucosidase의 활성을 저해하는 물질을 UV-visible Spectrophotometer로 200nm에서 800nm범위 까지 측정 하였고, sucrose 활성 저해 실험은 492nm에서의 결과 값이다.

모든 실험은 위와 같은 방법으로 진행되었다.

표 1. sucrase 활성 측정

Materials	sucrase %inhibition(표준편차)
민들레 <i>Taraxacum mongolicum</i>	38(15.6)
광대나물 <i>Lamium amplexicaule</i>	26(5.0)
까마중 <i>Salanum nigrum</i>	37(20.7)
까실쑥부쟁이 <i>Aster ageratoides</i>	18(1.4)
꽃향류 <i>Elsholtzia splendens</i>	54(24.0)
더덕 <i>Codonopsis lanceolata</i>	81(14.1)
돌외 <i>Gynostemma pentaphyllum</i>	3(0.0)
두릅 <i>Aralia elata</i>	29(0.0)
등대풀 <i>Euphorbia helioscopia</i>	69(4.9)
무화과 <i>Syconus</i>	N.D.*
미국미역취 <i>Solidago serotina</i>	60(9.3)
보리수나무 <i>Elaeagnus Umbellata</i>	27(19.5)
복수초 <i>Adonis amurensis</i>	26(0.0)
비름 <i>Amaranthus mangostanus</i>	24(0.7)
산국 <i>Chrysanthemum boreale</i>	44(0.0)
살갈퀴 <i>Vicia angustifolia var</i>	16(8.5)
석위 <i>Pyrrosia lingua</i>	50(18.6)
석위뿌리 <i>Pyrrosia lingua</i>	72(8.1)
선인장열매 <i>Cactus</i>	10(0.0)
순비기 잎 <i>Vitex rotundifolia</i>	41(0.0)

Materials	sucrase %inhibition(표준편차)
순비기 줄기 <i>Vitex rotundifolia</i>	38(22.0)
싸리나무 <i>Lespedeza bicolor</i>	31(12.0)
위릉채 <i>Potentilla chinensis</i>	82(2.8)
으름덩굴 <i>Akebia quinata</i>	14(5.0)
자금우 <i>Ardisia japonica</i>	92(3.6)
자리공 <i>Phytolacca esculenta</i>	10(0.0)
키위열매 <i>Kiwi</i>	22(0.0)
팔손이 <i>Fatsia japonica</i>	N.D.*
환삼덩굴 <i>Humulus japonicus</i>	40(11.5)
소나무 <i>pycnogenol**</i>	98(0.5)

* N.D. 는 측정 되지 않음을 표시함.

** 소나무 추출물인 pycnogenol은 상업용을 이용함.

sucrase활성 측정 결과 60%이상의 sucrase활성 저해 효능을 보인 식물로는 더덕 81%, 등대풀은 maltase 활성 저해 효능보다 다소 낮은 69%, 미국미역취 60%, 석위뿌리 72%, 위릉채 82%, 자금우 92%, 소나무 추출물인 pycnogenol은 98%의 높은 sucrase활성 저해 효능을 보였다.

반면, 루마티스에 효능이 있다고 알려진 팔손이는 아무런 효능을 보이지 않는 거의 0값을 나타내었다. 마찬가지로 키위는 다른 식물에 비해 다소 낮은 22%의 sucrase 활성 저해 효능을 보였다.

표 2. maltase 활성 측정

Materials	maltase %inhibition(표준편차)
민들레 <i>Taraxacum mongolicum</i>	35(0.0)
광대나물 <i>Lamium amplexicaule</i>	48(11.0)
까마중 <i>Salanum nigrum</i>	60(0.7)
까실쑥부쟁이 <i>Aster ageratoides</i>	17(4.4)
꽃향류 <i>Elsholtzia splendens</i>	50(10.7)
더덕 <i>Codonopsis lanceolata</i>	10(2.8)
돌외 <i>Gynostemma pentaphyllum</i>	21(9.6)
두릅 <i>Aralia elata</i>	30(0.0)
등대풀 <i>Euphorbia helioscopia</i>	90(4.9)
무화과 <i>Syconus</i>	2(0.0)
미국미역취 <i>Solidago serotina</i>	29(17)
보리수나무 <i>Elaeagnus Umbellata</i>	34(11.3)
복수초 <i>Adonis amurensis</i>	17(3.5)
비름 <i>Amaranthus mangostanus</i>	17(0.5)
산국 <i>Chrysanthemum boreale</i>	6(0.7)
살갈퀴 <i>Vicia angustifolia var</i>	36(10.6)
석위 <i>Pyrrrosia lingua</i>	85(6.6)
석위뿌리 <i>Pyrrrosia lingua</i>	91(2.1)
선인장열매 <i>Cactus</i>	13(10.4)
순비기 잎 <i>Vitex rotundifolia</i>	43(7.8)
순비기 줄기 <i>Vitex rotundifolia</i>	37(2.8)

Materials	maltase %inhibition(표준편차)
싸리나무 <i>Lespedeza bicolor</i>	81(1.4)
위릉채 <i>Potentilla chinensis</i>	90(9.0)
으름덩굴 <i>Akebia quinata</i>	26(15.2)
자금우 <i>Ardisia japonica</i>	91(2.5)
자리공 <i>Phytolacca esculenta</i>	11(0.0)
키위열매 <i>Kiwi</i>	22(9.6)
팔손이 <i>Fatsia japonica</i>	29(4.2)
환삼덩굴 <i>Humulus japonicus</i>	61(11.0)
소나무 <i>pycnogenol</i> *	94(3.2)

* 소나무 추출물인 pycnogenol은 상업용을 이용함.

maltase 활성 측정 결과 60%이상의 활성을 나타낸 식물로는 까마중 60%, 등대풀 90%, 석위 85%, 석위뿌리 91%, 싸리나무 81%, 위릉채 90%, 자금우 91%의 pycnogenol을 찾아볼 수 있었다. pycnogenol은 Gascony Landes 지방 프랑스 남서 해안을 따라 자라나는 해안송의 껍질에서 추출되는 천연물질로서 94%의 높은 maltase 활성 저해 효능을 보였다.

반면, 항당뇨 효과에 탁월하다고 알려져 시판되고 있는 선인장 열매는 13%의 낮은 maltase 활성 저해 능력을 보였다.

표 3. 비 특이적 α -Glucosidase(α -PNGD) 활성 측정

Materials	α -glucosidase %inhibition(표준편차)
민들레 <i>Taraxacum mongolicum</i>	51(28.3)
광대나물 <i>Lamium amplexicaule</i>	33(0.0)
까마중 <i>Salanum nigrum</i>	39(6.4)
까실쑥부쟁이 <i>Aster ageratoides</i>	40(0.0)
꽃향류 <i>Elsholtzia splendens</i>	55(0.0)
더덕 <i>Codonopsis lanceolata</i>	15(2.5)
돌외 <i>Gynostemma pentaphyllum</i>	34(0.0)
두릅 <i>Aralia elata</i>	41(0.0)
등대풀 <i>Euphorbia helioscopia</i>	88(2.9)
무화과 <i>Syconus</i>	29(0.0)
미국미역취 <i>Solidago serotina</i>	52(17.7)
보리수나무 <i>Elaeagnus Umbellata</i>	28(18.4)
복수초 <i>Adonis amurensis</i>	28(0.7)
비름 <i>Amaranthus mangostanus</i>	37(11.0)
산국 <i>Chrysanthemum boreale</i>	24(9.0)
살갈퀴 <i>Vicia angustifolia var</i>	9(7.0)
석위 <i>Pyrrrosia lingua</i>	46(6.4)
석위뿌리 <i>Pyrrrosia lingua</i>	50(7.2)
선인장열매 <i>Cactus</i>	16(12.7)
순비기 잎 <i>Vitex rotundifolia</i>	40(0.0)
순비기 줄기 <i>Vitex rotundifolia</i>	35(7.8)

Materials	α -glucosidase %inhibition(표준편차)
싸리나무 <i>Lespedeza bicolor</i>	54(5.7)
위릉채 <i>Potentilla chinensis</i>	66(9.6)
으름덩굴 <i>Akebia quinata</i>	33(0.0)
자금우 <i>Ardisia japonica</i>	87(12.0)
자리공 <i>Phytolacca esculenta</i>	15(0.0)
키위열매 <i>Kiwi</i>	20(2.8)
팔손이 <i>Fatsia japonica</i>	31(0.0)
환삼덩굴 <i>Humulus japonicus</i>	30(18.5)
소나무 <i>pycnogenol*</i>	100(0.7)

* 소나무 추출물인 pycnogenol은 상업용을 이용함.

비 특이적 α -Glucosidase(α -PNGD) 활성 측정결과 α -Glucosidase 활성을 60% 이상 저해 시킨 식물로는 등대풀 88%, 위릉채 66%, 자금우 97% 이었고 특히 소나무 추출물인 pycnogenol은 100%의 완전한 α -Glucosidase 활성 저해 효능을 보였다. pycnogenol은 유리 라디칼로부터 신체를 보호해 주고, 각종 질환에 대한 방어 능력을 강화해주는 항산화제로써 뿐만 아니라, 스트레스를 받게 되면 호르몬인 adrenaline을 포함해 많은 신호들이 근육 수축을 유발하는데 pycnogenol로 인해 스트레스에 노출된 상황에서도 평활근이 이완됨이 밝혀진 바가 있다. 또한 혈소판이 응집되는 것을 보호해 준다는 이론도 알려져 있는데 이번 실험 결과 pycnogenol이 항 당뇨 효과가 있다는 판단을 해본다.

2. 자금우의 항 당뇨 효과

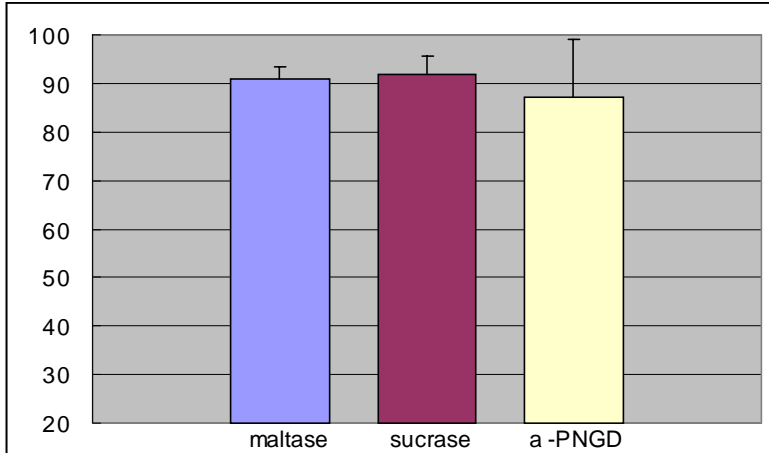


그림 4. 자금우의 각 기질에 따른 α-glucosidase 저해 능력(%)

일본, 대만, 중국 및 우리나라 제주도 등 섬지방의 해발 700m이하의 숲 속에서 흔하게 자라는 자금우는 상록소 관목으로 높이 15~20cm이며, 지하경 끝이 지상으로 올라와서 지상경으로 되어 비스듬히 뻗으면서 자란다. 특징으로는 어린 줄기의 끝 부분에 선모가 있으며, 열매는 구형이고 가을에 붉게 익는다.¹⁹⁾

제주도에서 채취한 자금우(최종 농도 0.2mg/ml)의 메탄올 층을 가지고 maltase, sucrase에 대한 효소 활성 저해능력과 비특이적 α-glucosidase(α-PNGD)저해 작용을 측정하였다. 그 결과 maltase에서는 91%, sucrase에서는 92%, 비 특이적 α-glucosidase(α-PNGD)에서는 87%의 효소 활성 저해 능력을 보였다.

maltase와 sucrase에서의 효소 활성 저해 능력 뿐만 아니라, 비 특이적 α-glucosidase (α-PNGD)에서의 효소 활성 저해 능력도 크게 나타난 것으로 보아 자금우로부터 추출한 생리 활성 물질에는 maltase, sucrase와 비 특이적 α-glucosidase(α-PNGD)의 활성을 저해하는 강력한 α-glucosidase의 저해제를 포함한다는 것을 알 수 있다.

3. 위릉채의 항 당뇨 효과

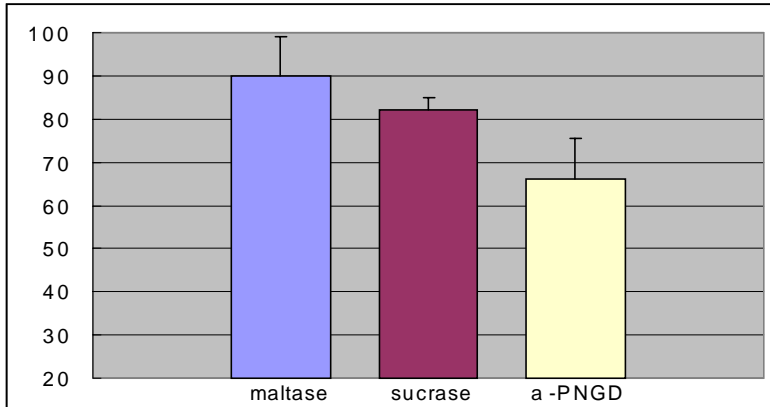


그림 5. 위릉채의 각 기질에 따른 α -glucosidase 저해 능력(%)

위릉채(떡지꽃)은 우리나라 전국 각지의 양지초원에서 자생한다. 식용, 약용으로 쓰이고 어린순을 식용하며 한방에서는 지혈, 해열 등의 약재로 쓰인다. 주로 신경계, 순환계 질환, 특히 폐, 위, 간, 대장에 효과 있는 약초이며 지혈작용에 아주 효과적이다. 설사를 멈추게 하고 피나는 것을 멈추게 하며 균(티푸스균, 적리균, 포도알균)을 죽이는데 효과적이다. 염증을 치료하고 모세혈관을 튼튼하게 하여 혈액순환을 좋게 하는 작용이 있기에 진통작용, 류머티스 관절염, 통풍, 신경통, 위염에 아주 효과적이다.²⁰⁾ 뿐만 아니라, 이번 실험 결과를 통해 당뇨병에도 효과적임이 밝혀졌다.

제주도에서 채취한 위릉채(최종 농도 0.2mg/ml)의 메탄올 층을 가지고 α -glucosidase 효소 활성 저해 능력을 측정 한 결과 maltase에서는 90%의 저해 능력, sucrase에서는 82%의 저해 능력, 비 특이적 α -glucosidase (a-PNGD) 에서는 다소 낮은 66%의 효소 활성 저해 능력을 보였다. maltase와 sucrase에서의 효소 활성 저해 능력이 비 특이적 α -glucosidase (a-PNGD)에서의 효소 활성 저해 능력보다 크게 나타난 것으로 보아 위릉채의 생리 활성 물질은 maltose와 sucrose 기질과 특이적으로 반응한 α -glucosidase저해 작용이 활발히 일어나고, 다른 기질에 의해 α -glucosidase 저해 작용이 저하됨을 알 수 있다.

4. 등대풀의 항 당뇨 효과

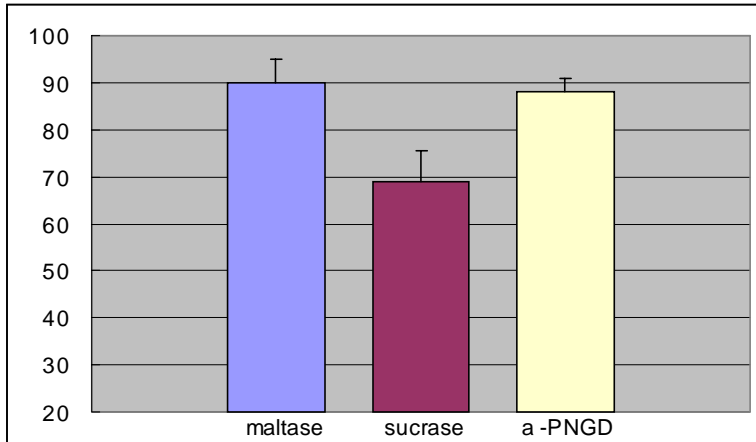


그림 6. 등대풀의 각 기질에 따른 α-glucosidase 저해 능력(%)

등대풀은 제주도, 울릉도등 남부지방의 섬에서 중부지방의 해안 들녘 논둑이나 밭둑에서 자생한다. 특히 해변가의 모래땅에서 많이 자란다. 특징으로는 두해살이 풀이며 독성이 있는 것으로 알려져 있다. 가을철에 새순이 나와 다음 해 봄에 무성하게 자라며 줄기를 자르면 유액이 나오는데 이 유액에 독성이 있는 것으로 알려져 있다. 3월에서 5월 사이에 꽃이 피고 8, 9월에 열매가 익는다고 한다. 한 방에서는 이뇨제, 치통, 부종, 부인 혈액등의 약재로 쓰인다고 보도 되어 있으며²¹⁾ 이번 실험 결과 당뇨에도 효능이 있는 것으로 밝혀졌다.

제주도 해변 등지에서 채취한 등대풀(최종 농도 0.2mg/ml)의 메탄올 층을 가지고 α-glucosidase 효소 활성 저해 능력을 측정 한 결과 maltase에서는 90%의 저해 능력, sucrase에서는 69%의 저해 능력, 비 특이적 α-glucosidase(α-PNGD)에서는 88%의 높은 효소 활성 저해 능력을 보였다.

IV. 결론

등대풀, 자금우, 석위뿌리, 위릉채, 싸리나무에는 maltase의 활성 저해 능력이 80%이상이고, 더덕, 위릉채와 자금우에는 sucrase의 활성을 80%이상 저해 할 수 있는 성분들이 포함되어 있는 것으로 밝혀졌다. 비 특이적 α -glucosidase의 저해작용을 80%이상 할 수 있는 추출물은 등대풀과 자금우이다.

반면, 광대나물, 까마중, 환삼덩굴은 maltase의 활성 저해 능력만을 크게 가지고 있는 성분들이 포함되어 있는 것으로 밝혀졌다.

개 민들레 효소 활성 성분인 경우에는 비 특이적 α -glucosidase의 저해작용이 maltase의 활성 저해나 sucrase의 활성저해보다 우위인 것으로 밝혀졌다.

특히, 항산화약품으로 시중에 판매되고 있는 소나무 추출물인 pycnogenol은 maltase, sucrase, 비특이적 α -glucosidase의 강력한 저해기능을 가진 것으로 밝혀졌다.

저해 작용이 우수한 위의 식물 추출물들이 각각의 경우에 같은 생체 분자들이 서로 다른 효소들의 저해 작용에 관여하는지, 아니면 독립적으로 독특한 생체분자들이 효소 활성의 저해제로 작용하는지는 이 실험으로 판단할 수가 없다. 그러므로 메탄올 추출물을 서로 다른 극성을 가지는 유기 용매와 크로마토그래피와 같은 정제법을 이용하여 더 세밀하게 순수 분리하는 것이 필요하겠다. 또한 효소 저해 작용이 각 식물들의 생리 활성 성분에 의한 것인지 단지 식물 내 독성에 의한 것인지를 확인해야 하겠고, 만약 생리 활성 성분에 의한 저해 작용이라면 저해 작용 물질들의 화학적 구조를 결정하고 쥐 모델을 이용한 생체 실험 등이 더 요구되겠다.

V. 참고문헌

- 1) 김응진, 이상용, 민병석, 민현기, 최영길, 이태희, 허갑범(1992), 「당뇨병학」, 대한 당뇨병 학회, p.25
- 2) 김응진, 민현기, 최영길, 이태희, 허갑범, 신순현(1998), 「당뇨병학」, 대한 당뇨병 학회, p.33-39
- 3) 이태희(1999), 「임상 당뇨병학」, 고려의학, p.8-10
- 4) 최혁재(2000), 「Inhibitory effect of *Gyrophora esculenta* on α -Glucosidase」, 박사학위 청구논문, 경희대학교 일반대학원, p.1-3
- 5) 오승준 (1996), 「인슐린 비의존형 당뇨병에서 글루코키나제 유전자 변이에 대한 연구」, 대한내과학회지, 50권 3호, p.344
- 6) 김유리, 조용욱, 김현만, 임승길, 김경래, 이현철, 허갑범(1988), 「인슐린 비의존형 당뇨병 환자의 혈장 아미노산 농도에 관한연구」, 대한내과학회지, 36권 제 2호, p.182-187
- 7) 박문규, 이정선, 이성걸, 이호심, 김용기, 이기호(1991), 「II형 당뇨병 환자의 공복시 유리지방 농도에 대한 연구」, 대한내과학회지, 140권 3호, p.372-376
- 8) 허갑범, 이현철, 정윤석, 박석원(1994), 「인슐린 비의존형 당뇨병 환자에서 인슐린 분비능력이 당질 및 지질대사에 미치는 영향」, 대한내과학회지, 47권 3호, p.295-304
- 9) 오승준, 강성이, 김영설, 김덕운, 우정택, 김성운, 양인명, 김진우, 최영길, 박혜순, 팽정령(2000), 「인슐린 비의존형 당뇨병 및 비만증 환자에서의 PPAR γ 2 유전자 다형성」, 대한내과학회지, 59권 2호, p.132-141
- 10) 차봉주(2001), 「Role of PPAR γ 」, 대한비만학회지, 10권 3호, p.181-184
- 11) 김영설(1998), 「PPAR 과 지질대사」, 대한내분비학회지, 13권 3호, p.303-307
- 12) 이성규, 노혜림, 오윤정, 김윤정, 홍은경, 채봉남, 정윤석, 이관우, 김현만 (1999), 「제 2형 당뇨병 환자와 정상인에서 혈중 렙틴 농도와 인슐린 저항

- 성 및 비만도와와의 관계」, 대한내분비학회지, 14권 1호, p.122-133
- 13) 심대중, 김상훈, 김신연, 최윤상, 정을순, 이화영, 최홍업, 김준영, 이상종 (1999), 「한국인의 인슐린 비의존형 당뇨병과 정상 대조군간의 Leptin농도 차이」, 대한비만학회지, 8권 2호, p.102-108
- 14) 이인규(2001), 「지방 세포의 역할과 렙틴 수용체의 다형성」, 대한비만학회지, 10권 3호, p.187-203
- 15) 김용성(1999), 「렙틴과 당뇨병」, 대한내분비학회지, 14권 1호, p.14-17
- 16) 김응진, 민현기, 최영길, 이태희, 허갑범, 신순현(1998), 「당뇨병학」, 대한 당뇨병 학회, p.69-79
- 17) 이종철편(1995), 「당뇨병의 치료」, 신일상사, p 57-62
- 18) 김응진, 민현기, 최영길, 이태희, 허갑범, 신순현(1998), 「당뇨병학」, 대한 당뇨병 학회, p.129-137
- 19) 김태정(1996), 「한국의 자원식물Ⅲ」, 서울대학교 출판부, p.233
- 20) 김태정(1996), 「한국의 자원식물Ⅱ」, 서울대학교 출판부, p.133
- 21) 김태정(1996), 「한국의 자원식물Ⅱ」, 서울대학교 출판부, p.285

[ABSTRACT]

Screening of Glucosidase Inhibitors From Plants

Kim, Guk Hee

Major in Education of Chemistry

Graduate School of Education, Cheju National University

Jeju, Korea

Supervised by Professor Lee, Sunjoo, Ph. D.

Methanol extracts of 30 different plants collected in Jeju Island were tested for α -glucosidase inhibition. When the final concentration of extracts was 0.2mg/ml for each sample, *Ardisia japonica Blume* showed 91%, 92% and 87% of inhibition for maltase, sucrase, and nonspecific α -glucosidase activity, respectively. *Euphorbia helioscopia* exerted 90% and 88% inhibition for maltase and nonspecific α -glucosidase activity, respectively. According to these data, *Ardisia japonica Blume* and *Euphorbia helioscopia* are candidate to develop medicine to reduce diabetes.