

두충나무의 抗糖尿活性에 關한 研究

홍남두 · 노영수 · 원도희* · 김남재 · 조보선

경희대학교 약학대학 · 국립보건원*

Studies on the Anti-diabetic Activity of *Eucommia ulmoides* Oliver

Nam Doo Hong, Young Soo Rho, Do Hee Won*, Nam Jae Kim and Bo Sun Cho

College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul 131 and

*National Institute of Health, Seoul 122, Korea

Abstract—The anti-diabetic effects of the methanol extracts of Cortex, Ramulus and Folium part of *Eucommia ulmoides* Oliver were investigated by the experimental diabetic model in rats. The increased blood glucose level in the diabetic rats induced by alloxan and streptozotocin was significantly lowered and a marked increase in body weight was shown with the treatments of the extracts of Cortex and Folium. The blood insulin level lowered by streptozotocin pretreatment was significantly recovered with the treatment of the extract of Folium. In glucose tolerance test, the extracts of Cortex and Folium displayed a significant inhibitory effect on the glucose level. The extracts of Cortex and Folium also caused a marked inhibition in increased blood pressure in the diabetic rats induced by alloxan.

Keywords—*Eucommia ulmoides* Oliver · Eucommiaceae · anti-diabetic activity · alloxan · streptozotocin · experimental diabetic model

두충나무(*Eucommia ulmoides* Oliv.)는 杜冲科(Eucommiaceae)에 속하는 落葉喬木으로서 일반적으로 두충나무의 樹皮를 藥用으로 使用하고 있으며 「神農本草經」의 上品에 杜仲으로 收載되어 있다.^{1,2)}

杜仲은 古來로부터 漢方에서 肝과 腎을 補하고 筋骨을 強하게 하며 胎를 安定되게 하는데 쓰여져왔고, 또 血壓을 낮추며 腰痛을 멎게 한다고 하여 高血壓症에 對한 處方에 配合하여 쓰여져 왔으며, 強壯, 強精, 鎮痛藥 등으로 광범위하게 利用되어 왔다.^{2~4)}

最近 杜仲의 藥理學的 研究로서 血壓降下作用^{5,6)}, 心臟收縮力抑制作用, 血管擴張作用, 縮腫作用, 摘出腸管 및 摘出子宮에 對한 作用^{4,7)} 그리고 高血壓에 對한 人蔘과의 併用效果^{8,9)} 등에 관해서 많은 報告가 發表되어 있다.

著者 등은 民間에서 糖尿에 杜冲을 茶로 쓰고 있으며 또한 漢方에서도 肝腎을 補하며, 筋骨을 強하게 한다는 點에 착안하여 杜冲나무에 抗糖尿活性이 있을 것으로 생각되었으나, 杜冲의 糖尿病에 關한 報告는 아직 接한 바 없으므로 두충나무의 抗糖尿活性機序와 活性部位를 究明하고자 化學的 成分研究에 先行하여 本 實驗에 着手하였다. 따라서 두충나무 各 部位의 메탄올엑기스의 抗糖尿活性에 對한 藥理學的 實驗을 行하여 若干의 知見을 얻었기에 報告하는 바이다.

實 驗

1. 實驗材料 및 實驗動物

1) 實驗材料

本 實驗에 使用한 材料는 水原市 부국농원에

서 채배되는 두충나무(*Eucommia ulmoides* Oliv.)를 9月末에 채취하여 陰乾한 樹皮(Cortex), 小枝(Ramulus) 및 葉(Folium)을 各各 精選하여 使用하였다.

2) 檢液의 調製

두충나무의 Cortex, Ramulus 및 Folium 各各 1,200 g을 70% MeOH로 水浴上에서 5時間씩 3回 환류 加溫抽出하고 여과한 濾液을 減壓濃縮하여 粘租性的 抽出物을 各各 280 g, 210 g 및 250 g(收率 各各 23.3, 17.5 및 20.8%)을 얻어 本 實驗에 必要로 하는 濃度로 稀釋하여 使用하였다.

3) 實驗動物 및 試藥

實驗動物로는 中央動物飼育場의 體重 140~200 g(♂)의 흰쥐를 使用하였으며, 飼料은 삼양유지사료(株)의 固形飼料로 飼育하였고, 물은 充分히 供給하면서 2週間 實驗室 環境에 順應시킨 後에 使用하였다. 實驗은 24±3°에서 實施하였다. Alloxan은 BDH Chemicals, Ltd. (England), streptozotocin(STZ)은 Sigma Co. (USA)의 特級試藥을 使用하였다.

2. 實驗方法

1) Alloxan糖尿病 病態흰쥐에 對한 作用

흰쥐 1群을 5마리로 하여 alloxan 43 mg/kg씩 꼬리정맥으로 投與하고¹⁰⁾, 檢液을 每日 1,000 mg/kg씩 17日間 經口投與했다. 따로 檢液대신 0.9% 生理食鹽水를 投與하여 對照群으로 하였고, 또한 alloxan 및 檢液을 投與하지 않고 正常群으로 하였다. 血糖量과 體重은 alloxan注射 後 2, 5, 8, 11, 14 및 17일에 測定하였다.

2) STZ糖尿病 病態흰쥐에 對한 作用

흰쥐 1群을 5마리로 하여 pH 4~4.5의 구연산완충액에 溶解시킨 STZ을 38 mg/kg씩 17日間 連續 經口投與하였다.¹¹⁾ 따로 檢液대신 0.9% 生理食鹽水를 投與하여 對照群으로 하였다. 血糖值와 體重은 STZ 注射 後 第 2, 5, 8, 11, 14 및 17일에 測定하였다.

3) STZ糖尿病 흰쥐의 血清 insulin值에 對한 두충葉의 作用

흰쥐 1群을 5마리로 하여 STZ 38 mg/kg씩 꼬리정맥으로 投與하고, 二충葉엑기스를 每日 1,000 mg/kg씩 18日間 經口投與하였다. 따로 檢

液대신 生理食鹽水를 投與하여 對照群으로 하였다. 血清 insulin值은 STZ 投與 後 第 2, 6, 10, 14 및 18일에 採血하여 測定하였다.

4) 糖負荷試驗에 있어서 흰쥐 血糖值에 對한 作用

하룻밤(16時間) 絶食시킨 흰쥐 1群을 5마리로 하여 檢液을 腹腔內 注射하고 30分 後 glucose 1,800 mg/kg을 50%溶液으로 하여 꼬리정맥으로 注射하였다. 對照群은 檢液대신 生理食鹽水를 投與하였고, 血糖值은 glucose負荷 前, 負荷 30, 60, 120, 180 및 240分 後에 採血하여 測定하였다.

5) Alloxan糖尿病 흰쥐의 血壓에 對한 作用

흰쥐 1群을 5마리로 하여 alloxan 43 mg/kg씩 꼬리정맥으로 投與하고 檢液을 每日 1,000 mg/kg씩 14日間 經口投與하였다. 따로 檢液대신 生理食鹽水를 投與하여 對照群으로 하였다. 血壓은 alloxan注射 前, 注射 2, 6, 10 및 14일에 흰쥐의 꼬리에서 日本 夏目製作所의 Natsume KN-209를 使用하여 測定하였다.

6) 採血 및 血清分離

血中 glucose量을 測定한 때는 0.5 ml, insulin 值을 測定한 때에는 1.5 ml씩 ether마취下에서 直接 心臟에서 採血하여 各各 3,000 rpm, 20分間 遠心分離하여 血清을 分離하였다.

7) 血清中 Glucose含量 및 insulin值의 測定

Glucose가 glucose oxidase에 의하여 酸化되어 生成되는 과산화수소를 peroxidase의 촉매작용으로 diethylaniline 및 4-aminoantipyrine과 酸化的으로 縮合에 의해 生成되는 quinone型色素를 比色定量하는 酸化酵素法(glucose oxidase method)으로 血糖值을 測定하였다¹²⁾(日本, 日水製藥의 kit試藥使用).

또 血清中 insulin值은 방사선동위원소(¹²⁵I) 및 insulin antibody를 利用하여 radioactivity를 測定하고 insulin值을 구하는 radioimmunoassay 法^{11,13)}을 利用하는 진단용 kit시약 「insulin · Riabead」(Dainabot Co. Ltd.)을 使用하여 測定하였다.

實驗 結果

1) Alloxan糖尿病 病態흰쥐에 對한 效果

Alloxan에 의해 誘發된 高血糖에 對하여 두층 Cortex를 投與한 群에서는 第11, 14日에서 $p < 0.05$, 그리고 第 17日에서는 $p < 0.01$ 의 有意性 있는 血糖上昇抑制效果를 보였고, Folium 投與群에서는 第14 및 17日에 各各 $p < 0.05$ 및 $p < 0.01$ 의 血糖上昇抑制效果가 觀察되었다. 반면에 Ramulus의 投與群에서는 實驗 全 期間동안 對照群에 比하여 有意性있는 變化를 觀察할 수 없었다(Table I).

또 alloxan으로 誘發된 당뇨흰쥐의 體重變化에서는 對照群에서 alloxan 投與 後 5日까지는 體

重이 減少되었으며 그 이후는 完만한 회복을 보였다. 이에 比해 Cortex와 Folium의 投與群에서는 第 5日 이후 對照群에 比하여 顯著한 體重의 增加를 보였다(Fig. 1).

2) STZ糖尿病 病態흰쥐에 對한 效果

Table II에 나타낸 바와 같이 STZ에 의해 誘發된 糖尿病에 對해서 Cortex의 投與群에서 有意한 血糖上昇抑制效果를 보였으며, Folium의 投與에 의해서도 第11 및 14日에 $p < 0.05$, 第17日에 $p < 0.01$ 의 有意性있는 血糖降下效果를 보였지만, Ramulus 投與群에서는 別다른 血糖上昇抑制效果를 보이지 않았다.

또한 STZ에 의한 당뇨흰쥐의 體重變化에 對해서 두층 Cortex 및 Folium의 投與群은 對照群에 比해 顯著한 體重減少抑制效果를 보였다

Table I. Effects of *Eucommia ulmoides* on blood glucose levels at various periods in alloxan-treated rats

Groups	Dose (mg/kg, p.o.)	number of animals	Time after iniection of alloxan (mg/dl)					
			2	5	8	11	14	17(days)
Normal	—	5	94.8±10.10	81.9± 6.47	88.0± 6.56	105.1± 5.17	77.2± 7.87	90.8± 8.04 ^{a)}
Control	—	5	309.9±11.31	353.6±13.95	325.3±13.34	296.1±13.92	251.8±14.90	217.0± 8.56
Cortex	1,000	5	303.4±17.87	336.9±17.03	292.7±15.82	245.3±12.60*	193.3±16.87*	144.4±14.53**
Ramulus	1,000	5	305.9±16.54	356.4±16.54	326.0±18.36	297.1±16.39	252.3±20.02	213.1±17.14
Folium	1,000	5	315.0±15.18	361.1±19.64	316.2±18.26	269.0±15.89	204.1±13.51*	164.1±11.26**

Normal; Alloxan-untreated group,

Control; Alloxan-treated group (43mg/kg, i.v.)

a) Mean±standard error

* Statistical significance compared with control data; * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$.

Table II. Effects of *Eucommia ulmoides* on blood glucose levels at various periods in STZ-treated rats

Groups	Dose (mg/kg, p.o.)	Number of animals	Time after injection of STZ (mg/dl)					
			2	5	8	11	14	17(days)
Normal	—	5	94.8±10.10	81.9± 6.47	88.0± 6.56	105.1± 5.17	77.2± 7.87	90.8± 8.04 ^{a)}
Control	—	5	248.4±13.01	288.5±14.02	264.5±15.03	234.4±12.58	201.1±13.37	190.7±14.38
Cortex	1,000	5	264.2±12.70	289.9±13.41	241.4±12.60	192.5±11.96*	163.1±12.28	126.2±10.01
Ramulus	1,000	5	255.3±14.19	283.7±14.50	270.2±14.46	248.8±13.89	204.0±13.41	185.4±12.84
Folium	1,000	5	249.6±12.16	262.1±10.97	235.8±10.94	180.8±10.10*	156.6± 9.66	119.4± 9.67**

Normal; STZ-untreated group,

Control; STZ-treated group (38 mg/kg, i.v.),

a) Mean±standard error,

* Statistical significance compared with control data; * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$.

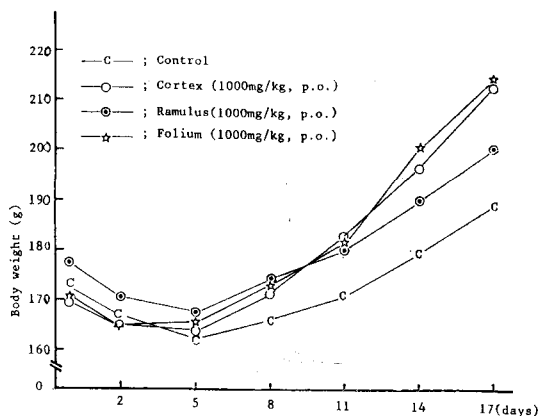


Fig. 1. Effects of *Eucommia ulmoides* on body weight at various periods in alloxan-treated rats. Normal; Alloxan-untreated group Control; Alloxan-treated group(43 mg/kg, i.v.).

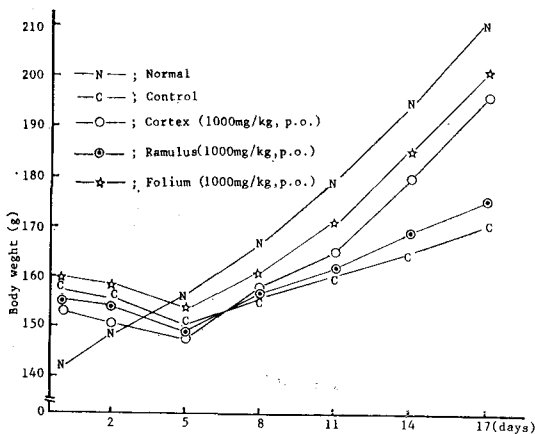


Fig. 2. Effects of *Eucommia ulmoides* on body weight at various periods in STZ-treated rats. Control; STZ-treated group(38 mg/kg, i.v.).

(Fig. 2).

3) STZ糖尿病 흰쥐 血清 insulin值에 對한 두층葉의 效果

STZ 投與에 의해 낮아진 血清 insulin值에 對해서 두층 Folium의 投與 第 14日에서 對照群에 비해 $p < 0.05$ 의 有意性있는 上昇效果를 보였다.

(Table III).

4) 糖負荷時 흰쥐 血糖值에 對한 效果

Glucose의 靜脈注射로 인해 上昇되는 血糖值에 對해서 두층 Cortex 投與群에서는 糖負荷 30, 60, 120分에서 對照群에 비하여 各各 $p < 0.05$ 의 有意性이 있는 血糖上昇抑制效果를 나타냈고,

Table III. Effects of *Eucommia ulmoides* on insulin levels at various periods in STZ-induced diabetic rats

Groups	Number of animals	Time after injection of STZ (μ U/ml)				
		2	6	10	14	18(days)
Control	5	26.84 \pm 2.45	21.78 \pm 3.63	22.62 \pm 3.79	25.74 \pm 3.37	30.14 \pm 4.11 ^{a)}
Folium(1,000mg/kg, p.o.)	5	25.86 \pm 3.47	26.08 \pm 2.73	32.28 \pm 3.35	38.82 \pm 3.73*	39.80 \pm 4.25

Control; STZ-treated group(38 mg/kg, i.v.)

a) Mean \pm standard error,

* Statistical significance compared with control data; * $p < 0.05$.

Table IV. Effects of *Eucommia ulmoides* on blood glucose levels in the glucose tolerance test in rats

Groups	Dose (mg/kg, i.p.)	Number of animals	Time after injection of glucose (mg/dl)					
			0	30	60	120	180	240(min.)
Control	—	5	103.8 \pm 3.84	265.7 \pm 12.71	240.7 \pm 10.53	201.3 \pm 10.56	180.1 \pm 11.65	165.9 \pm 10.31 ^{a)}
Cortex	1,000	5	109.9 \pm 4.83	229.2 \pm 9.03*	191.4 \pm 12.42*	160.7 \pm 10.8*	152.0 \pm 8.06	142.3 \pm 8.52
Ramulus	1,000	5	76.9 \pm 6.11	262.0 \pm 12.52	240.9 \pm 12.80	200.5 \pm 11.99	183.1 \pm 11.35	172.0 \pm 10.38
Folium	1,000	5	99.7 \pm 5.62	218.8 \pm 10.83*	201.9 \pm 10.85*	175.0 \pm 8.84	165.8 \pm 7.99	146.2 \pm 8.25

Control; Glucose-treated group (1,800 mg/kg, i.v.),

a) Mean \pm standard error,

* Statistical significance compared with control data; * $p < 0.05$.

Table V. Effects of *Eucommia ulmoides* on blood pressure at various periods in alloxan-treated rats

Groups	Dose (mg/kg, p.o.)	Number of animals	Time after injection of alloxan (mmHg)				
			0	2	6	10	14(days)
Control	—	5	94.6±2.29	115.2±2.16	128.8±2.25	121.6±2.63	118.6±2.13 ^{a)}
Cortex	1,000	5	92.4±3.79	109.6±3.11	113.2±4.54*	106.4±2.38**	100.6±2.15***
Ramulus	1,000	5	92.6±2.29	118.0±3.63	119.6±4.12	115.8±1.88	113.4±3.13
Folium	1,000	5	90.2±2.93	103.2±3.55*	110.2±2.54**	105.0±2.58**	103.8±2.82**

Control; Alloxan-treated group (43 mg/kg, i.v.)

a) Mean±standard error

* Statistical significance compared with control data; *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

Folium 投與群에서도 糖負荷 30 및 60분에서 有意한 血糖上昇抑制效果가 觀察되었다. 그러나 Ramulus의 投與群에서는 對照群에 比하여 有意性있는 變化를 볼 수 없었다(Table IV).

5) Alloxan糖尿病 흰쥐의 血壓에 미치는 效果

alloxan을 投與함으로써 誘發되는 糖尿性高血壓症¹³⁾에 對하여 두층의 Cortex와 Folium을 投與한 群에서는 對照群에 比해 현저한 血壓上昇抑制效果가 認定되었으나, 두층의 Ramulus 投與群에서는 有意性있는 血壓上昇抑制效果를 나타내지 못하였다(Table V).

考察 및 結論

두층나무 各 部位의 메탄을 엑기스를 alloxan 및 STZ 投與로 誘發된 糖尿病 病態모델을 使用하여 抗糖尿效果를 追求하였다.

Alloxan은 膵臟 Langerhans섬의 β세포 파괴에 의한 insulin의 絶對不足에 기인하는 病態로서 insulin 의존성당뇨병(I형)을 誘發시킨다.^{10,14)} 또한 STZ도 거의 마찬가지로 β세포를 選擇적으로 破壞하여 膵性糖尿病을 일으켜 口渴, 多尿, 高血糖, 體重減少 및 血中 insulin値의 減少를 發症시키는 藥物로 알려져 있다.¹⁵⁾ 또 投與후 經時的인 體重을 測定함으로써 alloxan 및 STZ의 膵臟障害에 따른 全身性 作用에 對하여 檢液의 作用을 觀察할 수 있었다.¹¹⁾

血糖은 몇종의 血糖上昇 hormone(glucagon 등)과 血糖低下 hormone인 insulin이 相反되게 作用하여 恒常性을 유지하고 있다. 糖負荷試驗은 膵臟의 內分泌機能을 감지하기 위한 일상적인 실험으로서, 糖을 負荷시킨 後 經時的으로

血糖値를 測定함으로써 血糖을 原常態로 回復시키는 耐糖能을 實驗하는 方法이다.^{11,14)}

따라서 두층나무의 抗糖尿活性에 關한 일련의 實驗을 行한 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

두층나무의 樹皮와 葉은 alloxan에 의해 誘發된 흰쥐 糖尿病 病態모델에 對해 血糖上昇抑制效果를 나타내었으며, 對照群에 比하여 顯著한 體重增加가 認定되었으며, 두층나무의 樹皮와 葉은 또 STZ에 의해 誘發된 흰쥐 糖尿病 病態모델에 對해서도 有意한 血糖上昇抑制效果를 나타내었고 현저한 體重減少의 抑制效果를 보였다. 또한 두층나무의 葉은 STZ에 의해 낮아진 血中 insulin含量에 있어서 對照群에 比해 有意性있는 回復效果를 보였다. 糖負荷試驗에서 두층나무의 樹皮와 葉은 對照群에 比하여 有意性있는 血糖上昇抑制效果를 나타내었다. 그리고 alloxan에 의해 誘發된 糖尿흰쥐의 上昇된 血壓에 對해서 두층나무의 樹皮와 葉은 현저한 血壓上昇抑制效果가 認定되었다.

以上の 實驗結果를 綜合해 보면 두층나무의 樹皮 및 葉에서 抗糖尿活性이 認定되었다.

이러한 두층나무의 抗糖尿活性에 매우 興味를 느낀 著者等은 向後 그 活性成分 研究에 關하여 계속 檢討하고자 한다.

감사의 말씀—본 研究의 一部는 慶熙醫院의 연구비 支援으로 이루어 졌으며 이에 심심한 謝意를 表하며, 또 本 實驗에서 필요한 材料를 提供하여 주신 부국농원 金弘德 사장님께도 감사를 드립니다.

〈1987년 1월 10일 접수 : 3월 2일 수리〉

文 獻

1. 李昌福：大韓植物圖鑑，서울，鄉文社，424 (1982).
2. 高木敬次郎，木村正康，原田正敏，大塚恭男：和漢藥物學，東京，南山堂，159 (1982).
3. 中國衛生部葯典委員會：中國葯典(中草及其製品)，上海，人民衛生出版社，285 (1978).
4. 小學館：中藥大辭典Ⅲ，上海，上海科學技術出版社，1964 (1985).
5. 정명현, 박정완：생약학회지 6(1), 35 (1975).
6. 江蘇新醫學院：大菊大辭典(上册)，上海，上海科學技術出版社，1031.
7. 陳存仁：圖說漢方醫藥大辭典(中國藥學大典) I，東京，講談社，324 (1982).
8. 簡東緒：「家兔血壓」岐阜醫紀 5, 480 (1957).
9. 赤松金芳：和漢藥，東京，醫齒藥出版株式會社，388 (1970).
10. 鈴木潤，木村正康：日藥理誌 83, 1 (1984).
11. 大西榮子，山田俊雄，山田和雄，井上肇，瀨山義幸，山下三郎：日藥理誌 87, 105 (1986).
12. Cawley, Z.P., Spear, F.E. and Kendall, R.: *Am. J. Clin. Pathol.* 32, 16 (1966).
13. 白崎康文，增村秀三，明石章：日藥理誌 87, 301 (1986).
14. Robert H. Williams: *Textbook of Endocrinology*, Saunders, 613.
15. 山原條二，任生寬之，澤田德之助，藤村一，瀧野晋吾，吉川雅之，兆川勲：日藥學雜誌 101(1), 86 (1981).