생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn.
24(3):219~222(1993)

두릅나무 근피의 혈당강하 성분에 관한 연구(II)
—유효성분의 분리 및 작용—

김옥경* · 이은방 · 강삼식
*서울여자대학교 자연과학대학 · 서울대학교 천연물과학연구소

Antihyperglycemic Constituent of *Aralia elata* Root Bark (II)
—Isolation and Action of the Constituents—

Ok Kyung Kim*, Eun Bang Lee and Sam Sik Kang
*College of Natural Sciences, Seoul Woman's University, Seoul 139-774 and
Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

Abstract—An antihyperglycemic compound in a model of alloxan induced diabetic rats was isolated from the root bark of *Aralia elata*. The compound identified to be oleanolic acid 28-O-β-D-glucopyranoside was active at a dose of 100 mg/kg p.o. in the rats. It also has increased the contents of liver glycogen which were lowered by injection of alloxan in the rats.

Keywords—*Aralia elata* · alloxan · hypoglycemic compound · liver glycogen

전보[1]에서 EtOAc 분획물의 항당뇨 작용과 그 기전의 일부에 대하여 기술하였다. 본보는 이 분획물에서 유효성분의 분리를 시도하여 column chromatography를 실시하면서 생리활성을 추구한 결과를 보고하고자 한다.

실험재료 및 방법

생약재료, 시약 및 기기—전보[1]에 기록된 바와 같은 것을 사용하였다.

실험동물—전보[1]와 같다.

Column chromatography—전보[1]의 과정을 거쳐서 얻은 EtOAc 분획물을 SiO_2 column에 걸어 $CHCl_3$-MeOH-H_2O (7 : 1 : 0.5) 혼합용매로 용출시켜서 subfraction을 얻었고, 다시 새로운 column에 걸어 hexane-EtOAc로 용출하여 물질을 분리하였다.

혈액 및 간의 채취—흰쥐를 ether 마취시킨 후 꼬리의 끝을 약간 잘라 혈액을 채취하고 3,000 rpm으로 30분간 원심분리시켜 혈청을 분리시킨 다음 glucose는 원심분리 즉시 측정하였고 나머지는 측정시까지 −20°C의 냉동실에 보관하여 분석에 사용하였고 채혈후 즉시 개복하여 냉각시킨 0.9% 생리식염수로 간내의 혈액을 완전히 제거한 다음 간을 채취하여 biofreezer에 넣어 −30°C로 급냉시켰다.

혈청 glucose양 측정—전보[1]와 동일하게 실시하였다.

혈청 triglyceride양 측정—Triglyceride kit 방법[2]에 따라 다음과 같이 triglyceride를 측정하였다. 즉, 혈청 0.02 ml에 lipoprotein lipase, glycerol-3-phosphate oxidase peroxidase, 4-aminoantipyrin을 함유한 발색시약 3 ml를 넣고 잘 혼합한 후 37°C 수조에서 20분간 반응시킨 다음 1시간 이내에 spectrophotometer로 535 nm에서 비색 정량하였다.

$$\text{Triglyceride (mg/dl)} = 300 \times \frac{\text{Sample의 흡광도}}{\text{Triglyceride 표준액의 흡광도}}$$

간의 glycogen함량 측정—Kemp 등[3]의 미량 분석법에 따라서 측정하였다. 간 50 mg에 80% MeOH 2 ml를 넣고 homogenize시킨후 이 액을 시험관에 취하고 80% MeOH 3 ml로 세척하여 처음 액에 합한다. 3000 rpm/10분간 원심분리후 상등액은 버리고 침전에 5% trichloroacetic acid 용액 5 ml를 넣은 다음 현탁시키고 열탕(100°C)에서 15분간 가열시킨 다음 냉각 후 3000 rpm/10분간 원심분리시켰다. 그후 상층액 1 ml에 진한 황산 3 ml를 넣고 잘 흔든 후 열탕(100°C)에서 6.5분간 가열시킨 다음 냉각 후 520 nm에서 비색정량하였다.

실험결과 및 고찰

EtOAc 분획의 subfraction 분리—Column chromatography에 의해 subfr. A (17 g, 35%), subfr. B (27 g, 55%), subfr. C (4.8 g, 9.8%)를 얻었다. 다시 작용시험을 실시하고 subfr. A로 부터 compound I 및 compound II를 얻었다. 본 화학적 분리에 대하여는 별도로 보고되었다.[4]

EtOAc 분획층의 subfraction이 alloxan 유발 당뇨쥐의 혈당강하에 미치는 영향—EtOAc 분획층을 column chromatography에 의해 나눈 subfr. A, B, C를 alloxan 유발 당뇨쥐에게 투여한 후 혈청 glucose 함량의 변화는 Table I과 같다. 당 유발후 subfr. A, C를 투여한 군에서 alloxan 단독투여군과 비교할 때 각각 47.1%, 46.2%의 유의적인 혈당저하를 나타내었다. 즉 subfr. A에서 가장 현저한 혈당강하 작용이 있음을 알 수 있었다.

Compound I 및 II의 alloxan 유발 당뇨쥐의 혈당강하 작용—혈당강하 작용이 있는 subfr. A로부터 compound I과 II를 얻었고 이에 대한 혈당 저하작용은 Table II과 같다. Alloxan 단독투여군과 비교할때 당 유발후 compound II를 투여한 군에서 259.3±69.9 mg/dl로 41.3%의 유

Table I. Effects of serum glucose in diabetic rats by the treatment of EtOAc subfractions

Group	Dose (mg/kg, p.o.)	Number of animals	Serum glucose(mg/dl, M±S.E.) 0	3 day
Control		5	169.3± 8.6	157.5± 5.6
Alloxan[1]		5	551.4±59.3###	559.2±43.6###
Alloxan+Subfr. A	150	4	416.1±23.7	295.7±76.6*
Alloxan+Subfr. B	150	4	514.7±77.6	439.8±97.0
Alloxan+Subfr. C	150	4	469.4±37.0	301.1±85.5*

[1] Alloxan was given i.v. at a dose of 40 mg/kg.
* $p<0.05$ (statistically different from the alloxan).
$p<0.001$ (statistically different from the control).

Table II. Effects of serum glucose in diabetic rats by the treatment of compounds I and II

Group	Dose (mg/kg, p.o.)	Number of animals	Serum glucose(mg/dl, M±S.E.) 0	3 day
Control		6	118.1± 6.8	140.1± 3.6
Alloxan[1]		6	466.9±26.8###	442.0±26.4###
Alloxan+compound I	100	6	427.6±57.6	314.0±63.0
Alloxan+compound II	100	6	391.4±33.1	259.3±69.9*

[1] Alloxan was given i.v. at a dose of 40 mg/kg.
* $p<0.05$ (statistically different from the alloxan).
$p<0.001$ (statistically different from the control).

Table III. Effects of compounds **I** and **II** on the contents of triglyceride in the serum, glycogen in the liver of rats

Group	Dose (mg/kg, p.o.)	Number of animals	Triglyceride(mg/dl, M±S.E.) 0	Triglyceride(mg/dl, M±S.E.) 3 day	Liver glycogen (g% of wet tissue)
Control		6	89.2± 6.0	88.7± 8.1	3.5±0.19
Alloxan[1]		6	203.4± 8.4###	201.0±14.9###	1.6±0.12###*
Alloxan+Gliclazide	12	6	198.3±15.9	162.2± 7.5*	2.6±0.80***
Alloxan+Compound **I**	100	6	201.5± 6.5	183.5± 6.2	2.0±0.15
Alloxan+Compound **II**	100	6	205.5± 9.8	172.9± 6.4	2.1±0.18*

[1] Alloxan was given i.v. at a dose of 40 mg/kg.
* $p<0.05$ (statistically different from the alloxan).
*** $p<0.001$ (statistically different from the alloxan).
$p<0.001$ (statistically different from the control).

의적인 혈당 저하를 나타내었다. 그러나 compound **I**을 투여한 군에서는 감소경향은 있으나 유의성은 없었다. 별도로 저자 등[4]의 보고에서 compound **I**은 oleanolic acid이고 compound **II**는 oleanolic acid 28-O-β-D-glucopyranoside임을 밝혔다. Yamahara 등[5]은 산수유에서 분리한 oleanolic acid가 streptozotocin으로 유발시킨 당뇨쥐에 있어서 물소비와 뇨분비의 저하를 일으키나 혈액중의 당을 저하시키지는 못한다고 보고하였다. 한편 Meshcherskaya 등[6]은 본 식물의 잎에서 분리한 triterpenoid glycoside가 혈당저하 작용이 있다고 보고되어 있으나 이 compound **II**와 동일한지는 불명이다.

혈청 triglyceride 함량과 간의 glycogen 함량에 미치는 영향—일반적으로 당뇨시에는 triglyceride의 함량이 증가되어 있다는 보고가 있는 바[7,8], 본 실험에서 gliclazide 및 시료의 그에 대한 효과를 추구하였다. 또 insulin 부족시에는 glycogen 분해가 촉진됨으로 이에 대한 영향을 관찰하고자 하였다. 이 결과는 Table **III**에 표시하였다. Alloxan 투여로 인하여 triglyceride양은 유의성있게 증가되었고 glycogen양은 유의성있게 감소되었다. 이는 Thomas[9]가 alloxan의 작용으로 insulin 부족에 의해 glycogen synthetase를 비활성화시켜 glycogen신생 반응이 저하되며, glycogen phosphorylase를 활성화시킴으로써 glycogen 분해반응의 증대를 초래하므로 간 glycogen 함량을 감소시킨다는 보고와 유사하였다. 한편 gliclazide의 투여는 이미 보고[10]된 바와 같이 triglyceride양을 감소시켰고 glycogen양을 증가시켰으며, compound **II**의 투여시는 glycogen 양 만을 증가시켰다.

결 론

두릅나무 근피에서 alloxan 유발 당뇨쥐의 모델에 유효한 항당뇨성분 oleanolic acid 28-O-β-D-glucopyranoside를 얻었다. 이 물질은 100 mg/kg의 경구용량에서 유효하였고 alloxan 유발 당뇨쥐의 저하된 간장내 glycogen 함량을 증가시키는 작용을 나타내었다.

감사의 말씀—본 연구는 과학재단 연구비(과제 911-0302-020-2)에 의하여 이루어졌기에 감사드립니다.

〈1993년 8월 2일 접수 : 8월 6일 수리〉

문 헌

1. 이은방, 김옥경 : 생약학회지 **24**, 213 (1993).
2. Triglyceride-test, *International Reagent Co.*, Japan (1989).
3. Kemp, A., Adrienne, J.M. and Heijningen, K.V.: *Biochem. J.* 56, 646 (1954).
4. Kang, S.S., Kim, J.S., Kim, O.K. and Lee, E.B.: *Arch. Pharm. Res.* **16**, 104 (1993).
5. 山原條二, 壬生覓之, 澤田德之助, 藤村一, 野晋佶, 吉川雅之, 北川 勲 : 藥學雜誌 **101**, 1 (1981).
6. Meshcherskaya, K.A., Dzhumaeva, T.I. and Litvienenko, T.N.: *Rastit. Resur.* **14**, 1,83

(1978); *Chem. Abstr.* 88, 115362d (1978).
7. Daluaglio, E., Chang, F., Chang, H., Sterm, J. and Reaven, G.: *Diabetes* 32, 46 (1983).
8. Veraghavan, K.M., Mitchel, D.B. and Joseph, C.S.: *Diabetes* 32, 718 (1983).
9. Thomas, B.M.: *Am. J. Physiol.* 234, 1 (1978).
10. Puglisi, L. and Colli, S.: *Proceeding of International Symposium*, London, April 5~6, 43 (1979).