

## 석이(*Umbilicaria esculenta*) 추출물에 의한 식후 혈당강하작용

이경애, 김무성<sup>1,\*</sup>

한국식품개발연구원

<sup>1</sup>(주)태평양 기술연구원

### Effect of extract from *Umbilicaria esculenta* on postprandial hyperglycemia

Kyung-Ae Lee and Moo-Sung Kim<sup>1,\*</sup>

Korea Food Research Institute, Songnam 463-420, Korea

<sup>1</sup>Pacific R&D Center, Yongin 449-900, Korea

**Abstract** – An inhibitory activity against  $\alpha$ -glucosidase was identified in extract of an edible lichen, *Umbilicaria esculenta*. The inhibitor was very stable retaining above 95% of its original activity when treated with heat, acid and alkaline conditions, and some hydrolytic enzymes. Partially purified inhibitor showed strong inhibition against disaccharide hydrolytic enzymes of mammalian and mold origin, but weak or no inhibition against polysaccharide hydrolytic enzymes except glucoamylase. The inhibitor suppressed elevation of blood glucose level in rats after oral administration of soluble starch or sucrose.

**Key words** – *Umbilicaria esculenta*,  $\alpha$ -glucosidase inhibitor, blood glucose level

지의류(地衣類)는 균(菌)류와 조(藻)류의 공생체로서, 특유의 대사산물을 생성하여 건조, 강한 자외선 등의 물리화학적 극한 환경과 생물학적 공격에 저항하면서 생존하는 특유의 생물집단이다.<sup>1,2)</sup> 지의산(Lichen acids)으로 알려진 특유의 대사산물의 약리작용으로 인하여 예로부터 동서양을 막론하고 민간 전승약으로서 다양한 지의류의 이용이 보고되었다.<sup>3,4)</sup> *Usnea* sp.는 항균, 강심, 진해, 지혈 등에 이용되며, *Nephromopsis ornata*는 건위제로, *Thamnolia* sp., *Lethariella* sp. 등은 고혈압, 진통, 진정, 해열에 사용된다.<sup>3)</sup> 또 *Evernia prunastri*는 향료에, *Parmelia omphalodes*는 염료에 이용되며, *Protousnea* sp., *Hypogymnia* sp. 등이 일부 미백원료로 사용되고 있다.<sup>5,6,7)</sup> 그러나 일반적으로 지의류는 수년간에 걸쳐 천천히 성장하며 오염된 대기환경에 대해 민감하고 인공 배양이 어려워, 실제 광범위하게 이용되는 지의류는 극소수에 불과하며 지의류가 생성하는 물질과 생리작용의 상관관계도 많은 부분이 밝혀지지 않고 있다.<sup>4,8)</sup>

지의류의 일종인 석이(石耳)는 전통적으로 한국, 중

국, 일본 등에서 버섯의 일종으로 알려져 있으며, 특유의 향에 의해 식품으로 사용 되거나, 북통, 염증 등에 대한 약재로서 광범위하게 사용되어 왔다.<sup>3,9)</sup> 최근 석이가 가지는  $\beta$ -glucan류 성분에 의한 항암작용,<sup>10)</sup> depside계 물질의 phospholipase A<sub>2</sub> 억제에 의한 항염증 가능성,<sup>11)</sup> 석이추출물의 항돌연변이원성<sup>12)</sup> 등 일부 생성물질의 작용이 밝혀지고 있으나 고유의 전통 식품 또는 약재 원료로서 보다 많은 부분의 연구가 필요하다.

본 연구자들은 석이가 생성하는 물질과 효능을 연구하던 중 석이추출물로부터  $\alpha$ -glucosidase에 대한 억제작용을 발견하고 이 물질에 의한 식후 혈당억제작용을 확인하여, 당뇨병 조절 또는 비만억제를 위한 천연원료로서 석이의 이용 가능성을 보고한다.

### 재료 및 방법

**실험재료** – 본 실험에 사용한 석이는 수원시 건재도매상에서 구입하여 사용하였다.

**추출 및 부분정제** – 구입한 석이는 동결건조한 후,

\*교신저자 : Fax 0331-281-8397

믹서기로 갈아서 분말화하여 사용하였다. 석이분말은 2 배 중량의 methanol에 현탁시키고, 실온에서 12 시간 교반하면서 추출하였다. 추출액은 여과지로 여과한 후 여과액을 감압증류하고, 증류수에 재 용해시켜 pH 6.6~7.0으로 조정한 후 사용하였다. 추출 시료는 이온교환수지 및 활성탄 등을 이용하여 Fig. 1과 같은 단계를 통해 부분정제하고 활성획분을 회수하여 효소 저해능 실험과 혈당강하 실험에 사용하였다.

**사용 효소** -  $\alpha$ -Glucosidase를 포함한 돼지 소장유래의 효소들은 돼지 소장을 절개하여 창자벽의 효소를 0.05 M 인산완충용액으로 4°C에서 24 시간 추출하고 원심분리(5,000×g, 20 min)한 후, 상등액을 ammonium sulfate(80% 포화도)로 침전시키고 침전물을 동일한 완충용액에 4°C에서 24 시간 투석하여 사용하였다. 기타의 효소는 Sigma사에서 구입하였으며, 일부 사상균 유래의 효소는 (주)태평양 생화학사업부에서 공급받아 사용하였다.

**효소 및 효소저해능 측정** -  $\alpha$ -Glucosidase의 활성도는 p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside(PNPG)를 기질로 하여 측정하였다. PNPG 용액(2 mM in 0.1 M acetate buffer, pH 4.5) 0.5 ml에 효소용액 0.1 ml를 넣어 30°C에서 10 분간 반응시킨 후, 0.9 ml의 1 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 첨가하고 405 nm에서 spectrophotometer (Hitachi, U-3210)로 흡광도를 측정하였다. 효소 1

unit는 상기조건하에서 1  $\mu$ M의 nitrophenol을 형성하는 효소의 양으로 정의하였으며,  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성도 1 unit는 동일 조건하에서 효소활성을 50% 억제하는 저해물질의 양으로 정의하였다.

$\beta$ -Glucosidase 및  $\alpha$ -galactosidase,  $\beta$ -galactosidase 활성 및 저해능은 각각 p-nitrophenyl- $\beta$ -D-glucopyranoside, o-nitro-phenyl- $\alpha$ -D-galactopyranoside, o-nitro-phenyl- $\beta$ -D-galactopyranoside를 기질로 하여  $\alpha$ -glucosidase와 동일한 방법으로 측정하였다. 이외의 탄수화물 분해효소의 활성 및 저해능은 dinitrosalicylic acid method<sup>13)</sup>에 의해 각각의 기질 0.5%(w/v)를 사용하여 측정하였다.

**식후 혈당강하능 실험** - 실험에 사용한 rat은 Sprague-Dawley계로서 7-8주령(무게 250-300 g)된 것을 1 시험군당 8마리씩 사용하였다. Rat은 사용전 15 시간 동안 절식시킨 후 가용성 전분 또는 설탕 용액 1.5 g/kg을 각각 부분정제된 석이추출 시료와 동시에 경구투여하고, 투여후 30 분 간격으로 꼬리 정맥에서 채혈해 BM kit(Accutrend GC, Boehringer Mannheim)를 이용하여 혈당을 측정하였다. 결과의 유의성 검정은 ANOVA test를 이용하였고, p 값이 0.05 이하의 것을 유의성이 있는 것으로 인정하였다.

## 결과 및 고찰

**저해물질의 안정성** - 석이로부터 추출한 용액은 100 °C로 가열하거나 최종 농도 0.1 N HCl이나 NaOH의 강한 산성, 알칼리성 조건에서도  $\alpha$ -glucosidase 저해능의 95% 이상을 유지하였으며, pepsin, trypsin, bacterial protease 등의 단백질분해효소 및  $\alpha$ -amylase, glucoamylase 등의 탄수화물분해효소 등을 처리하였을 때에도 거의 영향을 받지 않는 대단히 안정한 성질을 나타내었다(Table I). 저해물질의 이러한 안정성은 Fig. 1과 같은 단계의 양, 음이온교환수지 등에 의한 활성성분의 정제를 용이하게 할 뿐 아니라, 실제 소화기관에서 활성성분이 소화효소에 의해 분해되지 않음으로써 효소억제 작용을 안정적으로 유지시킬 수 있을 것으로 판단된다.

**효소 종류별 저해특성** - 부분정제된 저해물질의 효소저해능을 여러 기원의 효소에 대해 측정한 결과,  $\alpha$ -glucosidase 뿐 아니라 각종 이당류 분해효소, 특히 포유류 및 사상균 유래의 효소에 대해 높은 저해능을 나타내었으며, 다당류 분해효소에 대해서는 glucoamylase를 제외한 대부분 효소에 매우 약한 저해 활성을

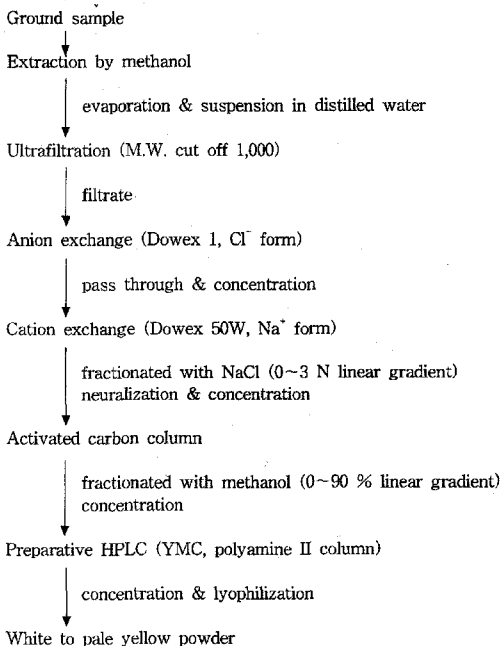


Fig. 1. Partial purification procedure of  $\alpha$ -glucosidase inhibitor from *U. esculenta*

**Table I.** Residual activities of  $\alpha$ -glucosidase inhibitor from *U. esculenta* after various treatments

Treatment	Residual activity (%)
0.1 N HCl, 30°C, 12 hr	96.0
0.1 N NaOH, 30°C, 12 hr	96.0
100°C, 30 min	95.0
Protease(1 %)	
<i>Bacillus subtilis</i> , pH 7, 37°C, 1 hr	100.0
Pepsin, pH 2, 37°C, 1 hr	98.0
Trypsin, pH 8, 37°C, 1 hr	100.0
$\alpha$ -Amylase(1 %)	
Porcine pancreatic, pH 7, 30°C, 1 hr	96.0
Glucoamylase(1 %)	
<i>Rhizopus</i> sp., pH 5, 30°C, 1 hr	100.0

Extract(10 ml,  $\alpha$ -glucosidase inhibitor activity 100 unit/ml) was treated with each condition.

나타내었다(Table II). 이와 같은 저해 특성으로 보아 석이추출물은 체내에서 전분 등의 다당류 자체의 분해를 억제하기 보다는 maltose, sucrose와 같이 저분자화된 당의 분해를 억제할 것으로 판단된다.

**혈당강하능** - 부분정제된 석이추출물을 가용성 전분 또는 설탕 용액과 함께 rat에 투여한 결과, 효소저해물질을 투여하지 않은 rat는 식후 30 분경의 혈당치가 각각 식전에 비해 최대 2 배 및 1.8 배 정도 급격히 상승하는데 반해, 석이추출물을 동시에 투여한 경우는 전분과 설탕 모두에서 혈당치가 현저히 감소함을 볼 수 있었다(Table III, IV). 특히 혈당치가 가장 높은 식후 30 분경의 급격한 초기 혈당상승에 대해 석이추출물을 20 mg/kg 이상 투여하였을 경우 전분 투여군은 약 80%, 설탕 투여군은 약 72% 이상 강하게 억제하는 현상을 보여, 석이의  $\alpha$ -glucosidase

**Table II.** Inhibitory characteristics of  $\alpha$ -glucosidase inhibitor from *U. esculenta* against various hydrolytic enzymes

Enzyme	Source	Inhibition
$\alpha$ -Glucosidase	Porcine intestinal	+++++
	<i>Aspergillus niger</i>	+++++
$\beta$ -Glucosidase	Almond	++++
	<i>A. niger</i>	+++++
$\alpha$ -Galactosidase	<i>A. sp.</i>	+++
$\beta$ -Galactosidase	Bovine liver	+++
Sucrase	<i>Saccharomyces</i> sp.	+
	Porcine intestinal	+++++
$\alpha$ -Amylase	Human saliva	-
	Porcine intestinal	-
	<i>Bacillus subtilis</i>	-
$\beta$ -Amylase	Barley	-
Glucoamylase	<i>Rhizopus</i> sp.	+++
Carboxymethyl cellulase	<i>A. niger</i>	-
Polygalacturonase	<i>A. niger</i>	-
Xylanase	<i>Trichoderma viride</i>	-

Inhibitory rating used were as follows: +++++, 81~100 %; +++++, 61~80%; +++, 41~60%; ++, 21~40%; +, 1~20 %; -, 0% inhibition.

Extract( $\alpha$ -glucosidase inhibitor activity 100 unit/ml) was added to each enzyme solution(10 unit/ml).

저해성분이 효과적인 혈당강하작용의 물질로 사용될 수 있을 것으로 나타났다.

최근 당뇨병 개선 및 비만방지를 위한 방법으로서 식후 탄수화물의 분해 및 흡수를 억제하는 연구가 다양하게 진행되고 있다.<sup>14)</sup> 주로 방선균 기원의 물질이 많이 보고되어 이중 acarbose와 voglibose가 각각의 약품으로서 혈당강하에 사용되고 있으며, 이와 함께 녹차, 뽕나무, 누에 등의 상용 가능한 식품이나 약재

**Table III.** Effects of extract from *U. esculenta* on blood glucose level after starch administration on rats

Extract loaded (mg/kg)	Blood glucose(mg/dl)				
	0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
Control	70±10.57	144±17.1	97±15.25	88±15.54	80±10.2
10	72±10.75	108±16.01*	119±12.98*	114±15.05*	85±16.4
20	80±10.78	86±20.20*	102±14.87	90±10.27	78±12.42
40	79±12.02	82±14.32*	92±15.54	85±16.01	78±13.03

Soluble starch(1.5 g/kg) was loaded on rats. Values are mean±SD. Significantly different from control (\*p<0.05).

**Table IV.** Effects of extract from *U. esculenta* on blood glucose level after sucrose administration on rats

Extract loaded (mg/kg)	Blood glucose(mg/dl)				
	0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
Control	71±12.55	135±16.9	120±15.50	92±14.45	84±11.29
10	78±9.75	111±19.01*	130±16.58	100±16.02	85±15.48
20	80±10.83	87±12.20*	97±13.80*	90±8.97	78±12.25
40	73±14.02	82±14.28*	92±11.34*	78±16.11	75±13.65

Sucrose(1.5 g/kg) was loaded on rats. Values are mean±SD. Significantly different from control (\*p<0.05).

의 성분에 의한 혈당강하효과를 이용하는 연구도 지속적으로 진행되고 있다.<sup>15,16,17</sup> 석이는 전통적으로 식품 또는 한약재로 상용되는 재료로서, 본 연구 결과는 혈당강하를 위한 천연원료로서 석이의 이용 가능성을 나타낼 뿐 아니라, 기존의 알려진 석이의 효능 해석에도 유용할 것으로 사료된다.

## 결 론

전통적으로 식용 및 약용으로 사용되는 지의류인 석이(*Umbilicaria esculenta*)의 추출물로부터  $\alpha$ -glucosidase에 대한 저해작용을 확인하였다. 저해물질은 가열, 산, 알칼리 조건 및 수중의 가수분해효소에 대해 대단히 안정한 특성을 나타내었다. 부분정제된 저해물질은  $\alpha$ -glucosidase 이외에도 각종 이당류 분해효소, 특히 포유류와 사상균 유래의 효소류에 대해 강한 저해작용을 나타내었으며, 다당류 분해효소에 대해서는 glucoamylase를 제외하고는 대부분 매우 약한 저해활성을 나타내었다. 실험용 rat에 전분 또는 설탕과 함께 석이추출물을 경구 투여한 결과, 식후 30분경의 급격한 혈당상승을 억제하는 효과를 나타내었다.

## 참고문헌

- Alexopolous, C. J. and Mims, C. W. (1979) Introductory mycology, 3th ed., 573-587, John Wiley & Sons, New York.
- Herbert, R. A. (1992) A perspective on the biotechnological potential of extremophiles. *Trends Biotechnol.* 10: 395-402.
- 魏江春 (1982) 中國藥用地衣, 科學出版社, 中國.
- Crittenden, P. D. and Porter, N. (1991) Lichen forming fungi: potential sources of novel metabolites. *Trends Biotechnol.* 9: 409-414.
- Richardson, D. H. S. (1988) Medicinal and other economic aspects of lichens. In Galun, M. (ed) Handbook of lichenology, vol 3, 93-108, CRC Press, USA.
- Fernandez, E., Quilhot, W., Gonzalez, I., Hidalgo, M. E., Molina, X. and Meneses, I. (1996) Lichen metabolites as UVB filters. *Cosmetics & Toiletries* 111: 69-74.
- Higuchi, M., Miura, Y., Boohene, J., Kinoshita, Y., Yamamoto, Y., Yoshimura, I. and Yamada, Y. (1993) Inhibition of tyrosinase activity by cultured lichen tissues and bionts. *Planta Medica* 59: 253-255.
- Ahmadjian, V., and Reynolds J. T. (1961) Production of biologically active compounds by isolated lichenized fungi. *Science* 133: 700-701.
- 羅獻瑞 (1994) 實用中草藥彩色圖集 第2冊, 482,483, 庵東科技出版社, 中國.
- Sone, Y., Isoda-Johmura, M. and Misaki, A. (1996) Isolation and chemical characterization of polysaccharides from Iwatake, *Gyrophora esculenta* Miyoshi. *Biosci. Biotech. Biochem.* 60: 213-215.
- 김진우, 송경식, 장현욱, 유승헌, 유익동 (1995) *Umbilicaria esculenta*가 생산하는 depside계 화합물의 구조 및 phospholipase A2 저해활성. 한국산업미생물학회지, 23: 526-530.
- 함승시, 김득하, 이득식 (1997) 목이 및 석이 메틸알콜 추출물의 항돌연변이원성. 한국식품과학회지, 29: 1281-1287.
- Miller, G. L. (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. *Anal. Biochem.* 28: 353-360.
- Mueller, L. (1989) Chemistry, biochemistry and therapeutic potential of microbial  $\alpha$ -glucosidase inhibitors. In Demain A. L. (ed) Novel microbial products for medicine and agriculture, 109-116. Elsevier: Amsterdam.
- Matsumoto, N., Ishigaki, F., Ishigaki, A., Iwashina, H. and Hara, Y. (1993) Reduction of blood glucose levels by tea catechin. *Biosci. Biotech. Biochem.* 57: 525-527.
- Hikino, H., Mizuno, Y., Oshima, T. and Konno, C. (1985) Isolation and hypoglycemic activity of moran A, a glycoprotein of *Morus alba* root barks. *Planta Medica* 51: 159-160.
- 정성현, 유정화, 김은주, 류강선 (1995) 누에의 혈당강하활성. 경희대 약대 논문집 24: 367

(1999년 11월 29일 접수)