

## 석이에서 분리한 GE974의 혈당상승억제효과

최혁재, 김남재,\* 김동현<sup>1</sup>

경희대학교 동서의학연구소, <sup>1</sup>약학대학

### Hypoglycemic Effect of GE974 isolated from *Gyrophora esculenta* in Normal and Diabetic mice

Hyuck-Jai Choi, Nam Jae Kim\* and Dong-Hyun Kim<sup>1</sup>

East-West Medical Research Institute and <sup>1</sup>College of Pharmacy,

Kyung-Hee University, Seoul 130-701, Korea

**Abstract** – GE974, isolated from *Gyrophora esculenta*, showed significant inhibitory effect on several  $\alpha$ -glucosidases *in vitro* in previous study. In the present study, GE974 showed significant inhibitory effect on blood glucose elevation in mice loaded with maltose, sucrose, starch and lactose. Also, it exhibited similar effect in alloxan and streptozotocin induced diabetic mice, and genetic diabetic mice(*db/db* mice) loaded with maltose in dose dependent manner. These results suggest that GE974 may possess hypoglycemic effect that inhibit competitively  $\alpha$ -glucosidase activities.

**Key words** – GE974, *Gyrophora esculenta*,  $\alpha$ -glucosidase inhibition, hypoglycemic effect, diabetic mice

섭취된 당질은 주로 소장 상부에 존재하는 소화효소 즉,  $\alpha$ -amylase, sucrase, maltase 등과 같은  $\alpha$ -glucosidase에 의하여 가수분해되어 단당류로 분해되어 흡수된다.<sup>1)</sup> 특히 당뇨병 환자는 소장에서  $\alpha$ -glucosidase 활성이 상승하여 소화, 흡수를 증진시키는 경향이 있으며 이는 식후 고혈당의 원인이 되고 합병증의 발병에 직접적인 원인이 된다.<sup>2)</sup> 그러므로,  $\alpha$ -glucosidase 활성을 조절하여 식후의 급격한 혈당상승을 어느 정도 억제할 수 있으면 당뇨병에서 혈당조절에 매우 유용할 것이다.<sup>3,4)</sup>

따라서, 저자들은 전보에서 석이(*Gyrophora esculenta*, Gyrophoraceae)로부터  $\alpha$ -glucosidase 저해활성을 갖는 GE974를 분리하여 이 물질이 *in vitro*에서 maltase, sucrase 등 여러  $\alpha$ -glucosidase의 활성을 억제시켰으며, 그 억제 기전은 효소의 기질 결합 부위에 대한 경쟁적 억제에 의한 것임을 보고한 바 있다.<sup>5)</sup> 이어서 GE974의  $\alpha$ -glucosidase 저해활성을 *in vivo*에서 검토하고자 정상생쥐, alloxan과 streptozotocin 처치로 유발된 당뇨 병태 생쥐 및 유전적 당뇨병

태 모델인 *db/db* 생쥐에서 maltose, sucrose, lactose, starch 등 당질 투여로 유발된 혈당상승에 대한 억제효과를 실험하여 그 결과를 보고하고자 한다.

### 재료 및 방법

**실험재료** – 본 실험에 사용된 GE974는 석이(*Gyrophora esculenta*)로부터 최<sup>5)</sup> 등의 방법에 따라 분리하여 사용하였다.

**시약 및 기기** – 본 실험에 사용한 주요 시약은 blood glucose test strips (Johnson & Johnson Co., U.S.A.), Glucobay<sup>®</sup> (Bayer Co., Germany) 등이며, 실험에 사용한 기기로는 blood glucose meter (Lifescan Inc., One Touch, U.S.A.) 등이 있다.

**실험동물** – 본 실험에서 사용한 실험 동물은 중앙동물에서 구입한 ICR계의 체중 25±5g의 웅성 생쥐를 사용하였고, *db/db* 생쥐는 연세대학교 의과대학 임상의학연구소로부터 평균 8-10주령, 체중 35±10g의 것을 암수 각 10마리씩 분양받아 실험에 사용하였다. 사료는 삼양유지(주)의 소동물용 고형사료를 사용하였고, 물은 상수를 사용하여 충분히 공급하면서 실험

\*교신저자 : Fax : 02-966-2801

현실 환경에서 2주간 순응시킨 후 사용하였다. 특별히 명시하지 않는 한 실험은 24±2°C, 습도 60%의 항온, 항습 장치가 되어 있는 실험실내에서 실시하였다.

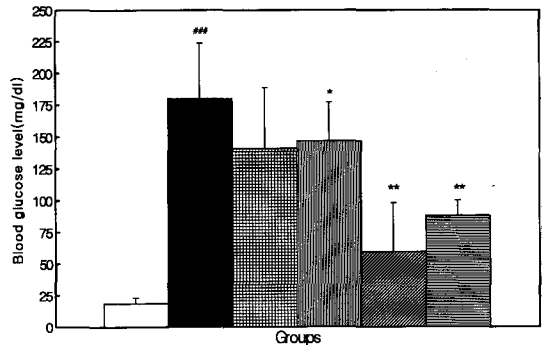
**Maltose 부하 시 GE974의 경시적 투여에 의한 혈당강하작용** - 기질(maltose)을 투여하기 30분전, 10분전, 동시, 10분 후에 각각 검액을 경구 투여한 다음 maltose 투여를 기준으로 30분 후에 혈당을 측정하여 가장 양호한 혈당상승억제작용을 나타내는 시간을 선정하고자 하였다. 혈당 측정은 생쥐의 꼬리정맥에 메스로 상처를 내어 blood glucose meter를 이용하여 측정하였다.

**Alloxan 및 streptozotocin에 의한 당뇨병태모델 및 db/db 생쥐에서 당부하 실험** - Alloxan 및 streptozotocin 처치로 유발되는 당뇨 병태모델 생쥐의 작성은 전보<sup>9)</sup>의 방법에 준하였다. 정상 생쥐, alloxan 및 streptozotocin 처치로 유발된 당뇨 생쥐와 db/db 생쥐 각각 1군을 5마리로 하여 실험전 16시간 동안 절식시킨 뒤 앞의 방법에 따라 혈당을 측정한다. 다음 기질로 maltose, sucrose, starch 및 lactose를 각각 2 g/kg을 검액과 동시에 경구투여하고 maltose와 sucrose 처치군은 30분 후에, starch와 lactose는 1시간 후에 각각 혈당을 측정하여 당부하 전후의 혈당량 차이로부터 혈당강하작용을 산출하였다.

### 실험결과

**Maltose 부하 시 GE974의 경시적 투여에 의한 혈당상승억제효과** - 검액 GE974 100 mg/kg을 당 maltose 부하 전 또는 동시 및 부하 후 경시적으로 투여하여 가장 양호한 혈당상승억제효과를 나타내는 검액의 투여방법을 검토하였다. 그 결과 검액 GE974를 당부하 30분 전 처치군에서는 대조군에 비하여 별다른 영향을 미치지 못하였으나, 10분 전, 당과 동시 투여군 및 당부하 10분 후 처치한 실험군에서는 각각 p<0.05와 p<0.01의 유의한 혈당상승억제효과를 관찰할 수 있었다. 특히 당과 동시 또는 10분 후에 처치한 실험군이 당부하 10분 전에 처치한 실험군 보다도 강한 혈당상승억제효과를 보여 주었다(Fig. 1).

**각종의 당 부하 정상 생쥐에서 GE974의 혈당상승억제효과** - 생쥐에 maltose, sucrose, lactose 및 starch를 각각 부하시킨 후 검액을 동시에 투여하여 혈당상승에 미치는 영향을 기존의 α-glucosidase 저해제인 acarbose와 비교하여 그 결과를 Fig. 2-5에 나



**Fig. 1.** Time dependent inhibitory effect of GE974 on blood glucose elevation in mice loaded maltose.

Each group had five animals and all of GE974 treated groups were injected GE974 at the dose of 100 mg/kg. □, Normal; ■, Control; ▨, 30 min Prior; ▩, 10 min Prior; ▤, Simultaneously and ▥, 10 min Posterior.

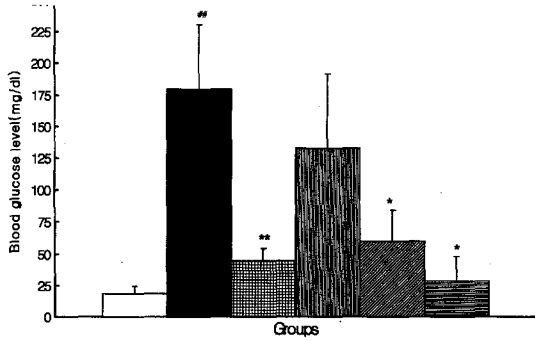
#, Statistically significant compared with normal data (###, p<0.001)

\*, Statistically significant compared with control data (\*, p<0.05 and \*\*, p<0.01)

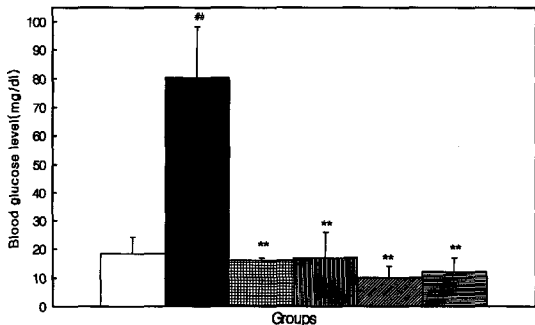
타내었다. 우선 이당류인 maltose를 부하시킨 결과 검액 GE974 100 mg/kg 및 200 mg/kg 투여군은 대조군에 비하여 p<0.05의 유의한 혈당상승억제효과가 인정되었고 이러한 효과는 검액의 농도의존적이었다. 또한, 비교약물 acarbose 50 mg/kg 투여군에서도 유의한 혈당상승억제효과를 보였으며 검액 GE974 200 mg/kg 투여군과 유사하였다(Fig. 2). 그리고, sucrose 부하시에서도 검액 GE974 처치시 유의한 혈당상승억제효과를 관찰할 수 있었으며, 특히 50 mg/kg 투여군은 비교약물 acarbose 50 mg/kg 투여군과 유사한 혈당상승억제효과를 보여 주었다(Fig. 3).

한편, 다당류인 starch 부하시에서도 검액 GE974 50 mg/kg, 100 mg/kg 및 200 mg/kg 투여군에서 각각 대조군에 비하여 유의한 혈당상승억제효과를 관찰할 수 있었으며 이러한 효과는 검액의 농도의존적임을 알 수 있었으며 비교약물 acarbose 50 mg/kg 투여군은 검액 GE974 200 mg/kg 투여군과 유사한 혈당상승억제효과를 보여 주었다(Fig. 4). 한편, lactose 부하시에는 비교약물 acarbose 처치군에서는 대조군에 비하여 별다른 영향을 미치지 못하였으나 검액 GE974 100 mg/kg 및 200 mg/kg 투여군에서는 각각 p<0.05과 p<0.01의 유의한 혈당상승억제효과를 보여 주었다(Fig. 5).

**당뇨 유발 생쥐에서 GE974의 혈당상승억제효과** - Alloxan과 streptozotocin으로써 실험적으로 유발한 당

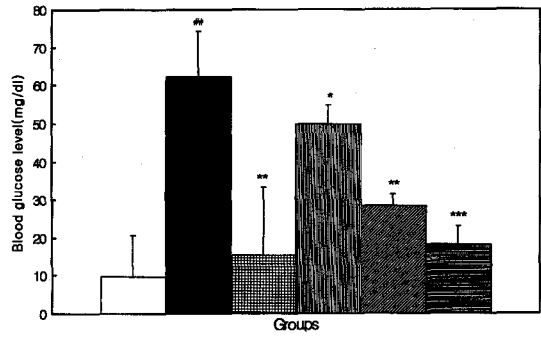


**Fig. 2.** Inhibitory effects of GE974 and acarbose on blood glucose elevation mice loaded maltose. Each group had five animals. □, Normal; ■, Control; ▨, Acarbose 50 mg/kg; ▩, GE974 50 mg/kg; ▤, GE974 100 mg/kg and ▥, GE974 200 mg/kg . #, Statistically significant compared with normal data (##,  $p < 0.001$ ) \* , Statistically significant compared with control data (\*,  $p < 0.05$  and \*\*,  $p < 0.01$ )

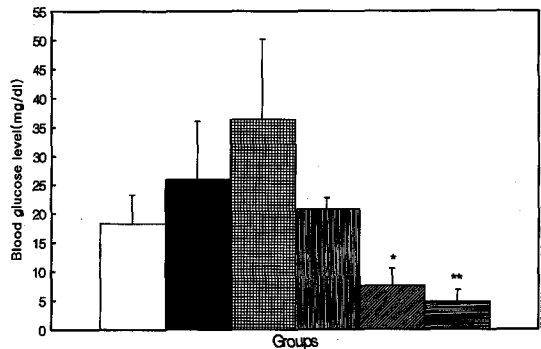


**Fig. 3.** Inhibitory effects of GE974 and acarbose on blood glucose elevation in mice oaded sucrose Legend of each group is depicted under the Fig. 2. #, Statistically significant compared with normal data (##,  $p < 0.01$ ) \* , Statistically significant compared with control data (\*\*,  $p < 0.01$ )

노 생쥐와 유전적으로 당뇨가 유발된 *db/db* 생쥐에 maltose를 부하시켜 GE974의 혈당상승억제효과를 Fig. 6-8에 제시하였다. 정상 생쥐에서의 경우와 마찬가지로 alloxan 및 streptozotocin으로 유발된 당뇨병 태도 모델 동물에서도 검액 GE974 처치로 혈당상승을 검액의 농도의존적으로 유의하게 상승억제효과를 나타내었으며, alloxan으로 당뇨를 유발시킨 생쥐에서 감수성이 높음을 관찰할 수 있었다(Fig. 6, 7). 그리고, 유전적으로 당뇨가 유발된 *db/db* 생쥐에서도 검액 GE974 처치로 용량의존적으로 유의하게 혈당상승을



**Fig. 4.** Inhibitory effects of GE974 and acarbose on blood glucose elevation in mice loaded starch Legend of each group is depicted under the Fig. 2. #, Statistically significant compared with normal data (##,  $p < 0.001$ ) \* , Statistically significant compared with control data (\*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$  and \*\*\*,  $p < 0.001$ )

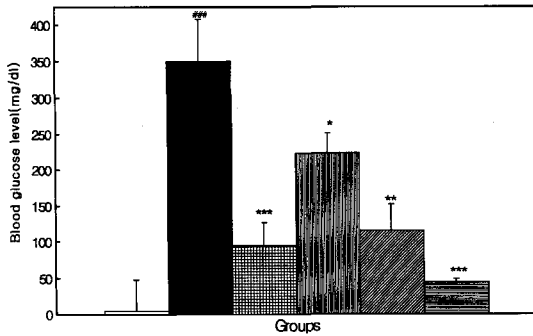


**Fig. 5.** Inhibitory effects of GE974 and acarbose on blood glucose elevation in mice loaded lactose Legend of each group is depicted under the Fig. 2. \* , Statistically significant compared with control data (\*,  $p < 0.05$  and \*\*,  $p < 0.01$ )

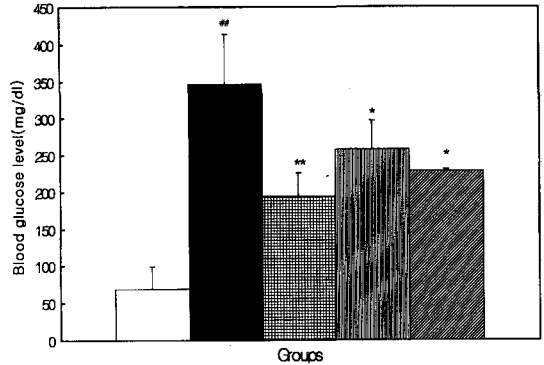
억제시켰다(Fig. 8).

## 고 찰

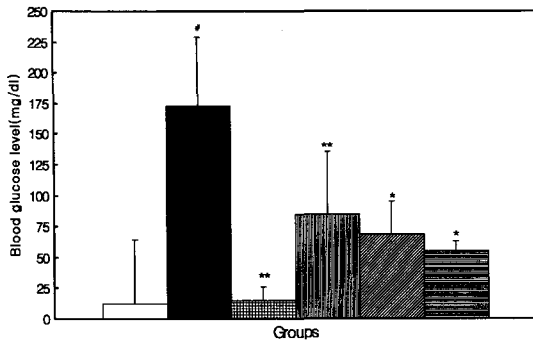
당뇨나 비만 환자들이 있어서 과다한 당의 흡수로 인한 부작용 발현이 문제가 됨에 따라 당질의 섭취제한은 필수적이지만 동시에 섭취제한이 용이하지 않으나, 근래에 당질의 소화에 관여하는  $\alpha$ -glucosidase 효소 저해제인 acarbose, voglibose 등이 개발되어 임상에서 그 유용성이 높게 평가되고 있다. 따라서, 본 저자들은 석이(*Cyrophora esculenta*)로부터 분리한 GE 974가 *in vitro*에서  $\alpha$ -glucosidase 저해활성이 있음을 보고한 바 있고,<sup>5)</sup> 계속하여 *in vivo*에서 혈당상승에



**Fig. 6.** Inhibitory effects of GE974 and acarbose on blood glucose elevation in alloxan-induced diabetic mice loaded maltose  
 Legend of each group is depicted under the Fig. 2.  
 #, Statistically significant compared with normal data (###,  $p < 0.001$ )  
 \*, Statistically significant compared with control data ( $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$  and \*\*\*,  $p < 0.001$ )



**Fig. 8.** Inhibitory effects of GE974 and acarbose on blood glucose elevation in db/db mice loaded maltose  
 Legend of each group is depicted under the Fig. 2.  
 #, Statistically significant compared with normal data (##,  $p < 0.01$ )  
 \*, Statistically significant compared with control data ( $p < 0.05$  and \*\*,  $p < 0.01$ )



**Fig. 7.** Inhibitory effects of GE974 and acarbose on blood glucose elevation in streptozotocin-induced diabetic mice loaded maltose  
 Legend of each group is depicted under the Fig. 2.  
 #, Statistically significant compared with normal data ( $p < 0.05$ )  
 \*, Statistically significant compared with control data ( $p < 0.05$  and \*\*,  $p < 0.01$ )

미치는 영향을 관찰하기 위하여 정상 생쥐, alloxan과 streptozotocin 처치로 유발된 당뇨병태 생쥐 및 유전적 당뇨병태모델인 db/db 생쥐에 각종 당질을 부하시켜 혈당상승에 미치는 효과를 검토하였다.

*In vitro*에서  $\alpha$ -glucosidase에 대한 저해활성을 나타낸다 하더라도 peptide 등과 같이 위산이나 생체 성분에 의하여 가수분해되거나 분해되는 것은 *in vivo*에서 유효한 기대효과를 얻지 못하는 경우가 있을 수 있다. 한편, GE974는 최 등<sup>3)</sup>이 보고한 바와 같이 당에 amine기가 결합된 aminosugar의 형태이므로 *in vivo*에서  $\alpha$ -glucosidase에 대한 저해효과를 발현할 가

능성이 있다고 사료되어 정상 생쥐에서 maltose, sucrose, starch, lactose 등 당부하로 인한 혈당상승에 대한 억제효과를 검토하였다. 우선, 검액 GE974 투여 시간을 경시적으로 검토하고자 당질 maltose 처치 30분과 10분전, 동시 및 10분후에 검액을 처치한 경우, 검액과 당을 동시에 투여하는 것이 가장 유효한 혈당상승억제효과를 나타내었다. 이러한 효과는 검액 GE974가 *in vitro*에서  $\alpha$ -glucosidase에 대한 경쟁적 저해효과가 있음을 밝힌 바 있어 *in vivo*에서도  $\alpha$ -glucosidase에 대한 경쟁적 억제효과에 기인하는 것으로 사료된다.

따라서, 당질의 부하시험에 의한 혈당상승억제효과 검토는 검액과 당질을 동시에 투여하도록 하였다. 정상 생쥐에 이당류로 maltose와 sucrose를 사용하여 부하시킨 경우 검액 GE974의 농도의존적인 혈당상승억제효과가 인정되었으며 양성 비교약물 acarbose와 유사한 억제효과를 나타내었다. 한편, 검액 GE974는 *in vitro*에서  $\alpha$ -amylase에 대한 저해활성이 비교적 낮았지만 다당류인 starch를 부하시킨 생쥐에서 검액 GE974는 유의한 혈당상승억제효과를 보여 주었다. 이는 생체내에서 starch가 일단 분해되어 생성된 이당류를 이차적으로 억제함으로써 혈당상승을 억제하는 것으로 사료된다. 또한, lactose는 lactase에 의하여 분해되며, lactase는  $\beta$ -galactosidase로서  $\alpha$ -1,4 결합을 가진 기질에 대하여 작용한다고 알려진 acarbose는 lactose 부하로 유발된 혈당상승에 대한 억제효과를 나타내지 않는 반면에 검액 GE974는 검액의 농

## 인용문헌

도의존적인 혈당상승억제효과가 인정되어 GE974는  $\beta$ -결합을 지닌 당의 분해에도 저해 효과를 나타내는 것으로 사료된다.

Alloxan은 type 1(insulin 의존형) 형태의 당뇨를 유발시키며, streptozotocin은 type 2(insulin 비의존형) 형태의 당뇨를 유발시키는 대표적 유도약물이다. Alloxan 및 streptozotocin 처치로 유발된 당뇨 생쥐에 maltose의 부하에 의한 혈당상승에 대하여 검액 GE974 200 mg/kg 투여군에서는 대조군에 비하여 각각 87.7%와 68.8%로 각각 유의한 혈당상승억제효과가 인정되었으며, 비교적 alloxan 처치로 유발된 당뇨 병태모델에서 감수성이 다소 우수한 것으로 사료된다. 이러한 효과는 alloxan으로 당뇨를 유발시켰을 때  $\alpha$ -glucosidase 효소활성이 증가되어 단당류의 흡수가 훨씬 촉진되는 것과 상관성이 있는 것으로 보여진다.<sup>8,11)</sup>

또한, 비만에 기인하는 것으로 알려진 유전적 당뇨 병태 모델동물인 db/db 생쥐에서 검액 GE974 200 mg/kg 처치군에서는 대조군에 비하여 34.1%의 유의한 혈당상승억제효과가 인정되었으나 alloxan 또는 streptozotocin 처치로 유발된 당뇨병태 모델동물에서 비하여 낮았다. 이는 분양 받은 동물의 주령이 비교적 오래되어 증세가 더 많이 진전되었기 때문에 혈당 수치변화의 탄력성이 저하되어 있기 때문인 것으로 사료된다.<sup>12)</sup>

이상의 실험결과로부터 석이에서 분리한 GE974는  $\alpha$ -glucosidase 효소활성에 경쟁적 저해에 의한 혈당상승억제효과가 인정되었으며, 앞으로 당뇨나 비만 등 당질 섭취에 제한을 받는 질환에 유효하게 이용할 수 있을 것으로 기대된다.

## 결 론

석이로부터 분리한 GE974의 생체 내에서 maltose 부하에 대한 혈당상승억제효과는 당부하 전 또는 동시 및 당부하 후에 GE974를 처치한 바 당과 검액을 동시에 투여함으로써 현저한 혈당상승억제효과가 인정되었다. 따라서, 혈당억제효과는  $\alpha$ -glucosidase 효소활성을 경쟁적 저해에 의한 것임을 알 수 있었다. 또한, *in vivo*에서 GE974는 이당류인 maltose와 sucrose, 다당류인 starch와 lactose를 각각 부하시킨 생쥐에서 용량의존적으로 혈당상승을 유의한 억제효과가 인정되었다. 그리고, maltose로 부하시킨 alloxan과 streptozotocin 당뇨유발 생쥐 및 db/db 생쥐에서도 유의한 혈당상승억제효과가 인정되었다.

1. Caspary, W. F. (1978) Sucrose malabsorption in man after ingestion of  $\alpha$ -glucosidase hydrolase inhibitor. *Lancet*. 1: 1231-1233.
2. Tandon, R. K., Srivastava, L. M. and Pandey, S. C. (1975) Increased disaccharidase activity in human diabetics. *Am. J. Clin. Nutr.* 28: 621-625.
3. Lembcke, B., Diederich, M., Fölsch, U. R. and Creutzfeldt, W. (1990) Postprandial glycemic control, hormonal effects and carbohydrate malabsorption during long-term administration of the  $\alpha$ -glucosidase inhibitor miglitol. *Digestion*. 47: 47-55.
4. Ceriello, A., Taboga, C., Tonutti, L., Giacomello, R., Stel, L., Motz, E. and Pirisi, M. (1996) Post-meal coagulation activation in diabetes mellitus : the effect of acarbose. *Diabetologia*. 39: 469-473.
5. 최혁재, 김남재, 김동현(2000) 석이로부터 분리한 GE974의  $\alpha$ -glucosidase 저해효과. *생약학회지* 31: 196-202
6. Horowitz, M., Cunningham, K. M., Wishart, J. M., Jones, K. L. and Read, N. W. (1996) The effect of short-term dietary supplementation with glucose on gastric emptying of glucose and fructose and oral glucose tolerance in normal subjects. *Diabetologia*. 39: 481-486.
7. Madariaga, H., Lee, P. C., Heitlinger, L. A. and Leberenthal, E. (1988) Effects of graded  $\alpha$ -glucosidase inhibition on sugar absorption *in vivo*. *Dig. Dis. Sci.* 33: 1020-1024.
8. Ahrn, B., Sundkvist, G., Mulder, H. and Sundler, F. (1996) Blockade of muscarinic transmission increases the frequency of diabetes after low-dose alloxan challenge in the mouse. *Diabetologia*. 39: 383-390.
9. Malaisse, W. J., Malaisse-Lagae, F., Sener, A. and Pipeleers, D. G. (1982) Determinants of the selective toxicity of alloxan on the pancreatic  $\beta$ -cell. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 79: 927-930.
10. Axelrad, A. D., Lawrence, A. L. and Hazelwood, R. L. (1970) Fasting and alloxan diabetes effects on intestinal transport of monosaccharides. *Am. J. Physiol.* 219: 860-864.
11. Caspary, W. F., Rhein, A. M. and Creutzfeldt, W. (1972) Increase of intestinal brush border hydrolases in mucosa of streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia*. 8: 412-414.
12. Like, A. A., Lavine, R. L., Poffenbarger, P. L. and Chick, W. L. (1972) Studies in the diabetic mutant mouse. *Am. J. Pathol.* 66: 193-203.