

YK-209뽕잎이 Streptozotocin 유발 당뇨쥐 소장의 이당류분해 효소 활성과 혈당강하에 미치는 영향

유수경 · 김미지 · 김진원* · 이순재†

대구가톨릭대학교 식품영양학과
*농업과학기술원 잠사곤충부

Effects of YK-209 Mulberry Leaves on Disaccharidase Activities of Small Intestine and Blood Glucose-Lowering in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Su-Kyung Yoo, Mi-Ji Kim, Jin-Won Kim* and Soon-Jae Rhee†

Dept. of Food Science and Nutrition, Catholic University of Daegu, Gyungsan 712-702, Korea

*National Sericulture and Entomology Research Institute, RDA, Suwon 441-100, Korea

Abstract

The purpose of this study was investigated the effects of YK-209 mulberry leaves on disaccharidase activities of small intestine and blood glucose-lowering in diabetic rats induced with streptozotocin (STZ). Male Sprague-Dawley rats weighing 100 ± 10 g were randomly assigned to one normal and four STZ-induced diabetic groups; YK-209 0% mulberry leaves diet (DM group), 0.1% YK-209 mulberry leaves diet (DM-0.1Y group), 0.2% YK-209 mulberry leaves diet (DM-0.2Y group), and 0.4% YK-209 mulberry leaves diet (DM-0.4Y group). Diabetes was induced by intravenous injection of 55 mg/kg body weight of STZ in sodium citrate buffer (pH 4.3) via tail vein after 3 weeks feeding of experimental diets. Rats were sacrificed at the 9th day of diabetic states. The functional ingredients in the mulberry leaves, the 1-deoxynojirimycin (DNJ) contents of YK-209 mulberry leaves was higher than those of the Cheongil mulberry leaves. γ -Aminobutyric acid (GABA) and rutin contents of YK-209 mulberry leaves were 1.3 and 1.4 times higher than those of the Cheongil mulberry leaves, respectively, and vitamin C contents of YK-209 mulberry leaves were also higher than those of the Cheongil mulberry leaves. Intestine index was increased in all diabetic groups, compared with normal group but not significantly different among all diabetic groups. Level of blood glucose was decreased in diabetic rats by supplementation YK-209 mulberry leaves. The disaccharidase activities in proximal part of intestine such as maltase, sucrase, and lactase in YK-209 mulberry leaves supplementation groups were significantly lower than those of DM group. In conclusion, this research indicated that the functional ingredients of YK 209 mulberry leaves were higher than those of the Cheongil leaveses, and YK-209 mulberry leaves has the hypoglycemic effect in STZ-induced diabetic rats.

Key words: diabetes, YK-209 mulberry leaves, disaccharidase activities, blood glucose

서 론

당뇨병은 고혈당을 특징으로 하는 대사성 질환으로서 혈당 농도의 증가와 함께 당이 뇨로 배설되는 등의 탄수화물 대사이상 뿐만 아니라 단백질과 지질대사 및 전해질의 대사에 이상을 초래한다(1). 탄수화물의 대사는 인슐린을 비롯한 여러 호르몬들이 세포내에서 당대사조절에 관여하므로써 혈중 포도당의 수준을 정상화하는데 작용하나 소화효소에 의해서도 그 대사가 조절되기도 한다. 즉 외부로부터 섭취된 탄수화물을 분해하는 일련의 효소들의 작용이 중요하므로 이들 효소들의 조절을 통한 당질대사 조절도 필요하다.

민간에서 당뇨병 치료의 목적으로 사용하고 있거나 또는

혈당강하작용이 기대되는 천연유래 물질중에서 잠상물질로부터 혈당강하 효과가 보고(2,3)되면서 많은 관심이 모이고 있다. 최근에는 뽕나무 잎이나 뿌리껍질에서도 혈당강하 작용물질을 분리하여 그 효과가 보고되기도 한다(4,5). 따라서 뽕잎을 이용하여 당뇨병의 병리상태를 호전시킬 수 있는 방법 모색이 중요시되고 있다.

뽕잎에 존재하는 일반성분은 50여종의 각종 무기성분이 함유되어 있고 methionine 등 아미노산도 21종이 함유되어 있다. 기능성 성분으로는 rutin, quercetin, isoquercetin과 같은 플라보노이드가 함유되어 있으며(6-10), α -glycosidase 저해활성을 갖는 1-deoxynojirimycin(DNJ)(11,12)와 N-containing sugars(13-16)도 함유되어 있는 것으로 알려져 있

†Corresponding author. E-mail: sjrhee@cataegu.ac.kr
Phone: 82-53-850-3523, Fax: 82-53-850-3504

다. 빵잎의 α -glycosidase 저해활성을 가지는 물질은 혈당 강하 작용을 나타내는 천연자원으로 평가되면서 많은 연구의 대상이 되고 있다(13,14).

지금까지 빵잎의 생리활성에 대한 여러 연구중에서 특히, α -glycosidase 활성억제에 의한 혈당강하 효과(16,17)와 혈중 중성지방과 콜레스테롤 저하작용, 동맥경화증 및 고지혈증효과 등이 연구되고 있다(18,19). Lee 등(4)도 빵잎 20% 첨가 사료를 상용한 동물실험에서 유의적인 혈당 강하 효과를 보고하였다. 이와 같이 빵잎의 생체내 혈당강하 및 생리적인 기능에 대한 연구는 이루어지고 있으나 당뇨쥐에서 소장 이당류분해 효소활성과 혈당강하에 대한 빵잎의 구체적인 작용 기작에 관한 연구는 미비한 실정이다.

우리나라에서 재배되고 있는 뽕나무(*Morus alba* L.) 품종 중에서 누에 사육이 목적이 아니라 잎을 이용한 건강보조식품 개발에 적합하도록 1989년도에 농촌진흥청 잠사곤충부에서 용천뽕(Y)과 잎 수량이 많은 개량뽕(K)을 교배하여 얻은 것으로 내한성이 강하고 잎이 넓고 수량이 많아서 잎 이용에 좋은 YK-209 뽕이라는 새로운 품종을 개발하였다. 그러므로 아직까지 새로 육종되었고 또한 기능성 성분 함량이 우수한 것으로 알려진 YK-209 뽕잎을 대상으로 한 이당류 분해효소 활성에 따른 혈당강하 효과에 대한 연구는 보고된 바 없다.

따라서 본 연구에서는 YK-209 뽕잎의 일반성분 및 기능성 성분을 분석하고, YK-209 뽕잎 수준을 달리한 실험식으로 흰쥐를 일정기간 사육한 후 당뇨를 유발시켜 뽕잎의 혈당강하 효과를 규명하였다.

재료 및 방법

뽕잎 시료 제조

본 실험에 사용한 뽕잎은 YK-209 품종으로 영천 양잠농협 협동조합에서 재배한 것을 5월 말경에 채취하여 흐르는 물에 3번 정도 세정한 후 열풍 건조기로 수분 함량이 5~7%까지 건조하여 200 mesh 정도로 분말화하여 이용하였다.

YK-209 뽕잎의 일반 성분 분석

수분 함량 측정에는 수분 측정기(HG53 Moisture Analyzers)를 사용하여 측정하였고, 조단백질은 Kedahl 법(20)에 의하여 kjeltec auto sampler system 1035 analyzer를 이용하여 측정하였다. 조지방은 Soxhlet 추출법(21)에 의하여 측정하였으며, 환원당은 Somogyi-Nelson 비색법(22)에 의하여 정량하였다. 회분은 AOAC법(23)에 의해 450°C에서 회화하여 회분을 5% HNO₃에 녹인 다음, 원자 흡광분광계(Unicarm, Solar 929, UK)를 이용하여 Ca, Fe, Na 및 K를 측정하였다.

YK-209 뽕잎의 기능성 성분 분석

1-deoxynojirimycin(DNJ) 정량은 Stead and Richards(24)와 Cole 등(25)방법으로 high performance liquid chro-

matography(HPLC: SpectraSYSTEM HPLC, ThermoQuest Co.)를 사용하여 column: phenomenex Luna C₁₈ column(4.6 × 250 mm) : 30°C, flow rate: 1 mL/min, detection: 264~314 nm, mobile phase: 0.1% AcOH : CH₃CN (50 : 50, v/v) 조건에서 분석하였다. γ -aminobutyric acid(GABA)는 model: Pharmacia Biotech Co., Biochrom 20 Swis, column: Li-form, retention time: 110 min, loading volume: 40 μ L, standard solution conc: 10 mM, 20 mM 조건으로 자동 아미노산 분석기로 측정하였다. Rutin 분석은 HPLC(YOUNG · IN Co.)을 사용하여 column: C₁₈ column(3.9 × 300 mm), flow rate: 0.8 mL/min, detection: 350 nm, mobile phase: 2.5% AcOH : MeOH : CH₃CN(70 : 10 : 20, v/v/v)조건으로 측정하였다. L-ascorbic acid의 정량은 Wimalasiri and Wills 방법(26)에 따라 HPLC(YOUNG · IN Co.)을 사용하여 column: μ -Bondapak NH₂, mobile phase: CH₃CN/0.01 M NH₄H₂PO₄ (pH 4.3)(70 : 30, v/v), flow rate: 1 mL/min, detection: 254 nm, injection volume: 10 μ L, chart speed: 0.5 cm/min 조건으로 측정하였다.

동물 사육 및 식이

실험동물은 체중 100 g 내외의 Sprague-Dawley종 수컷을 환경에 적응시키기 위해 일반 배합사료(삼양 Co.)로 일주일간 예비 사육한 후, 난괴법(randomized complete block design)에 의해 정상군과 당뇨군으로 나눈 후 당뇨군을 다시 Table 1과 같이 식이내에 조제한 뽕잎의 농도별로 나누어 각 군마다 10마리씩 5군으로 나누어 3주간 사육한 후 streptozotocin(STZ)으로 당뇨유발 후 9일째 희생하여 본 실험에 사용하였다. 기본 실험 식이조성은 Table 1과 같다. 실험기간중 식이는 4°C에서 보관하였고 매일 일정 시간에 공급하여 자유로이 섭취하게 하였다. 이때 사육실의 온도는 22 ± 1°C였고, 습도는 50 ± 10%이었다. 당뇨 유발은 실험동물에 STZ 55 mg/kg B.W.을 신선한 0.1 M sodium citrate buffer(pH 4.3)에 녹여서 꼬리 정맥을 통하여 주사하여 유발시켰으며 당뇨유발 후 9일째에 혈당농도가 300 mg/dL 이상인 동물만 희생하여 본 실험에 사용하였다.

혈액 및 장기채취

실험 종료 후 실험동물을 가벼운 ether 마취하에서 복부 대동맥으로부터 혈액을 채혈한 후 소장을 채취 하였다. 혈액은 실온에서 30분간 방치한 1500 × g에서 각각 15분간 원심 분리하여 혈청을 얻었다.

혈당 측정

혈당 측정은 아산제약(한국)의 enzymatic kit AM 201K를 사용하여 500 nm에 비색 정량하였다.

소장점막의 이당류 분해효소 활성 측정

소장점막중의 maltase, sucrase 및 lactase활성은 Dahlqvist 방법(27)에 의해 측정하였다. 즉 절제한 소장을 얼음 위에서

Table 1. Composition of experimental diets (g/kg diet)

Ingredients	Diabetic groups ⁹⁾				
	Normal	DM	DM-0.1Y	DM-0.2Y	DM-0.4Y
Starch ¹⁾	698	698	697	696	694
Casein ²⁾	150	150	150	150	150
DL-methionine ³⁾	2	2	2	2	2
Salt mixture ⁴⁾	40	40	40	40	40
Vitamin mixture ⁵⁾	10	10	10	10	10
Corn oil ⁶⁾	50	50	50	50	50
Cellulose ⁷⁾	50	50	50	50	50
Mulberry leaves ⁸⁾	-	-	1	2	4
Total (g)	1000	1000	1000	1000	1000

¹⁾Pung Jin Chem. Co., Seoul, Korea.

²⁾Lactic Casein, 30 mesh, New Zealand Dairy Board, Wellington, N. Z.

³⁾Sigma Chem. Co., St. Louis, Missouri, USA.

⁴⁾AIN-76 salt mixture (g/kg mixture): CaHPO₄ · 2H₂O 500, NaCl 74, K₂C₆H₅O₇ · H₂O 220, K₂SO₄ 52, MgO 24, MgCO₃ (45~48% Mn) 3.5, Fe citrate (16~17% Fe) 6, Zn carbonate (70% Zn) 1.6, Cu carbonate (53~55% Cu) 0.3, KIO₃ 0.01, Na₂SeO₃ · 5H₂O 0.01, CrK(SO₄)₂ · 12H₂O 0.55; filled up to 1,000 with sucrose.

⁵⁾AIN-76 vitamin mixture (mg/kg mixture): thiamin · HCl 600, riboflavin 600, pyridoxin · HCl 700, nicotinic acid (nicotinamide in equivalent) 3,000, calcium pantothenate 1,600, folic acid 200, biotin 20, cyanocobalamin 1, retinyl palmitate or acetate 400,000 IU, DL- α tocopheryl acetate, 5,000 IU, cholecalciferol (100,000 IU) 2.5, menaquinone 5, filled up to 1,000 with sucrose.

⁶⁾Dong Bang Oil Co., Seoul, Korea.

⁷⁾Sigma Chem. Co. CMC (sodium carboxyl methyl cellulose, non-nutritive fiber), St. Louis, Missouri, USA.

⁸⁾YK-209 mulberry leaves powder.

⁹⁾DM group: injection of streptozotocin + no supplementation YK-209 mulberry leaves.

DM-0.1Y group: injection of streptozotocin + 0.1% YK-209 mulberry leaves.

DM-0.2Y group: injection of streptozotocin + 0.2% YK-209 mulberry leaves.

DM-0.4Y group: injection of streptozotocin + 0.4% YK-209 mulberry leaves.

생리식염수로 세척하고 십이지장 부분을 제거한 후 같은 길이로 세 등분하여 proximal, middle, distal로 구분하여 절개한 후 각각 차게 냉장시킨 생리 식염수로 깨끗하게 씻어 cheese cloth로 수분을 제거하였다. 얼음위 냉각판에서 점막을 microscopic glass로 긁어서 무게를 달고 4배의 증류수와 함께 homogenizer로 균질화시켜 측정시료로 사용하였다. 희석시킨 효소 시료 0.1 mL와 기질용액 10.056 M disaccharide solution/0.1 M sodium malate buffer(pH 6.0) 0.1 mL을 시험관에 넣고 잘 혼합해서 37°C 수욕중에서 60분간 반응시킨 다음 증류수를 0.8 mL 첨가하고 2분간 끓는 물에 담근 후 수돗물로 식혔다. 위의 시료용액 중 0.5 mL를 시험관에 취하고 glucose oxidase 용액 3 mL 첨가된 후 37°C 수욕중에서 1시간 반응시킨 다음 420 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리

모든 실험결과에 대한 통계처리는 각 실험군별로 표준 차이가 있는가를 검증하기 위해 분산분석을 수행하였으며 분

산분석결과 유의성이 발견된 경우 군간의 유의도는 Tukey's HSD test에 의해 분석하였다. 각 지표간의 상관관계는 SAS program을 이용하여 상관 분석하였다.

결 과

YK-209 뽕잎의 일반성분 함량

본 연구에 사용된 시료인 YK-209 뽕잎의 일반 성분을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 건물중 YK-209 뽕잎의 수분 함량은 5.6%, 환원당은 4.0%, 조단백질과 조지방 및 회분은 각각 21.1%, 2.1%, 9.0%이었으며 청일뽕잎은 수분 함량은 5.5%, 환원당은 4.3%, 조단백질과 조지방 및 회분은 각각 21.2%, 3.9%, 9.0%로써 두 뽕잎간 차이가 나지 않았다. 그러나 일반 성분중 조지방 함량은 YK-209에서 청일뽕보다 낮게 나타났다. 시료중의 무기질 함량은(Table 3) YK-209 뽕잎은 청일뽕잎에 비해 Fe 함량이 높았으나 다른 무기질 성분은 청일뽕잎에서 높았다.

YK-209 뽕잎의 기능성 성분함량

YK-209 뽕잎중 혈당강화 성분인 1-deoxyinojirimycin (DNJ), 혈압상승억제제인 γ aminobutyric acid(GABA) 함량 그리고 vitamin C 함량은 Table 4와 같다. 건물중의 DNJ의 함량은 1.93 mg/g, GABA함량은 2.36 mg/g이며 vitamin C의 함량은 1.3 mg/g을 함유하고 있었다. DNJ, GABA 및 vitamin C의 경우 청일 뽕잎에 비해 YK-209 뽕잎의 함량이 현저히 높게 나타났다. Rutin의 함량 또한 YK-209 뽕잎이 2.97 mg/g으로 청일 뽕잎 2.14 mg/g에 비해 훨씬 높았다.

체중증가 및 소장의 무게

실험기간 동안 실험동물의 체중증가량, 소장의 무게는 Table

Table 2. Proximate compositions in two varieties of mulberry leaves (% dry weight.)

Mulberry leaves	Moisture	Reducing sugar	Protein	Lipid	Ash
YK-209	5.6	4.0	21.1	2.1	9.00
Cheongil	5.5	4.3	21.2	3.9	9.00

Table 3. Mineral composition in two varieties of mulberry leaves (mg/100 g dry weight)

Mulberry leaves	Ca	Fe	Na	K
YK 209	247.4	79.7	48.6	2900
Cheongil	325.4	59.1	65.8	3161

Table 4. Quantification of 1-deoxyinojirimycin (DNJ), γ -aminobutyric acid (GABA), L-ascorbic acid (L-ASA) and rutin in two varieties of mulberry leaves (mg/g dry weight)

Mulberry leaves	DNJ	GABA	L-ASA	Rutin
YK-209	1.93	2.36	1.3	2.97
Cheongil	1.55	1.98	0.8	2.14

5와 같다. 체중증 변화는 Fig. 1과 같고 체중증가량은 당뇨유 발균들은 현저하게 감소하였으며 실험군간의 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 단위 체중당 소장 무게는 정상군에 비해 뽕잎 비공급 당뇨군인 DM군은 증가되었으며 YK-209 뽕잎공급군은 DM군과 차이가 없었으며 뽕잎 공급군간에서도 유의적인 차이가 관찰되지 않았다. 소장의 길이는 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다(Table 6).

혈당수준

YK-209뽕잎의 혈당강하 효과를 관찰하기 위하여 혈청중 포도당 함량을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 정상군에 비해

Table 5. Body weight, body weight gains of experimental rats

Groups	Initial weight (g)	Final weight (g)	Weight gain (g)
During 3 weeks before STZ injection			
Normal	200 ± 12.98 ^{1NS}	305.5 ± 12.51 ^{NS}	105 ± 14.9 ^{NS}
DM	197 ± 12.08	308.17 ± 34.00	112 ± 2.62
DM-0.1Y	192 ± 12.05	293.00 ± 23.90	101 ± 4.75
DM-0.2Y	183 ± 12.58	290.30 ± 23.92	107 ± 1.08
DM-0.4Y	189 ± 12.03	293.4 ± 23.42	104 ± 2.06
During 9 days after STZ injection			
Normal	307.5 ± 13.50 ^{NS}	331.5 ± 12.90 ^{2a)}	24.61 ± 13.0 ^a
DM	311.0 ± 13.62	243.0 ± 13.25 ^b	-67.2 ± 5.85 ^b
DM-0.1Y	310.00 ± 14.20	249.5 ± 8.05 ^b	-60.2 ± 4.72 ^b
DM-0.2Y	310.00 ± 15.00	247.9 ± 12.58 ^b	-62.1 ± 4.87 ^b
DM-0.4Y	305.00 ± 3.56	242.8 ± 12.03 ^b	-62.2 ± 7.78 ^b

¹⁾All values are mean ± SE (n=10).

²⁾Values within a column with different superscripts are significantly different at p<0.05 by Tukey's-HSD test. Experimental conditions were same as give in Table 1.

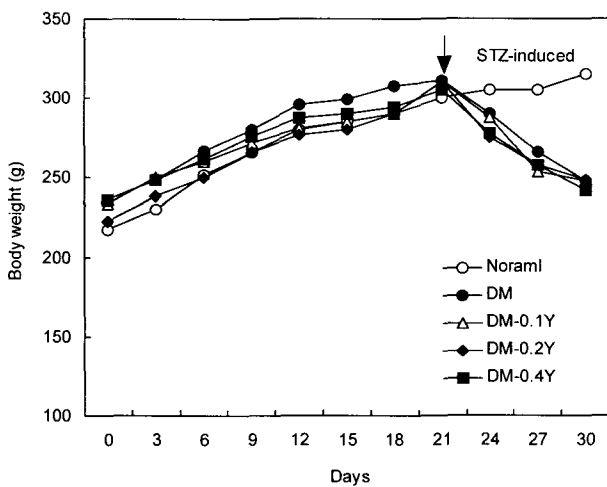


Fig. 1. Changes in body weight in rats fed experimental diets for 30 days.

Intravenous injection of streptozotocin (55 mg/kg of body weight) in 0.1 M sodium citrate buffer (pH 4.3) via tail vein.
 DM: 0% YK-209 mulberry leaves powder.
 DM-0.1Y group: 0.1% YK-209 mulberry leaves powder.
 DM-0.2Y group: 0.2% YK-209 mulberry leaves powder.
 DM-0.4Y group: 0.4% YK-209 mulberry leaves powder.

Table 6. Effect of YK-209 mulberry leaves on intestine index and intestine length in STZ-induced diabetic rats

Groups	Intestine weight (g)	Intestine index (g/100 g body wt)	Intestine length (cm)
Normal	7.64 ± 0.47 ^{1a2)}	2.42 ± 0.39 ^a	102.75 ± 19.65 ^{NS}
DM	11.74 ± 0.98 ^b	4.52 ± 1.07 ^b	127.7 ± 13.24
DM-0.1Y	11.11 ± 1.09 ^b	4.58 ± 0.39 ^b	118.17 ± 8.42
DM-0.2Y	10.44 ± 0.58 ^b	4.54 ± 0.67 ^b	115.14 ± 15.18
DM-0.4Y	12.07 ± 1.21 ^b	5.06 ± 0.15 ^b	122.5 ± 2.08

¹⁾All values are mean ± SE (n=10).

²⁾Value within a column with different superscripts are significantly different at p<0.05 by Tukey's HSD test. Experimental conditions were same as give in Table 1.

DM군은 387% 증가되었으며, DM군에 비해 YK-209 뽕잎 투여군인 DM-0.1Y군, DM-2Y군 및 DM-0.4Y군은 각각 25%, 22% 및 22%씩 감소되었다.

소장점막의 이당류 분해효소 활성

소장을 동일하게 세부분 proximal, middle, distal으로 나누어 후 소장용모막의 maltase, sucrase 및 lactase의 활성도에 미치는 뽕잎의 영향을 관찰해 본 결과 Fig. 3과 같다. Maltase의 경우 proximal 부분에서 정상군과 DM군에서는 차이가 나타나지 않았으나, YK-209 뽕잎 공급군은 유의적으로 감소됨을 볼 수 있었다. Middle 부분에서는 DM군에 비해 DM-0.1Y, DM-0.2Y 및 DM-0.4Y군이 각각 106%, 85% 및 83%씩 증가되었으며, 뽕잎공급군간에 유의적인 차이가 없었다. 그러나 distal 부분에서는 DM군에 비해 DM-0.1Y, DM-0.2Y 및 DM-0.4Y군에서 각각 19%, 28% 및 28%씩 감소되었다.

각 부분간 효소활성의 크기는 정상군은 proximal>middle>distal의 순으로 낮아졌으며, 뽕잎 비공급군인 DM군은 distal>proximal>middle, YK-209 뽕잎 투여군에서는 distal>middle>proximal 순으로 낮아졌다(Fig. 3). 이와 같이

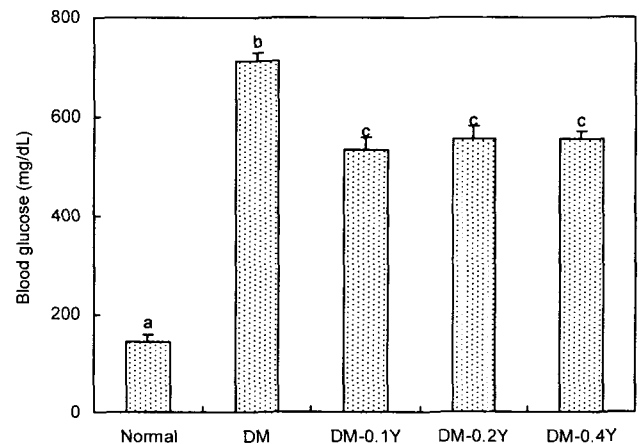


Fig. 2. Effects of YK-209 mulberry leaves on blood glucose levels in STZ-induced diabetic rats.

All values are Mean ± SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at p<0.05 by Tukey's HSD test. Experimental conditions were same as in Table 1.

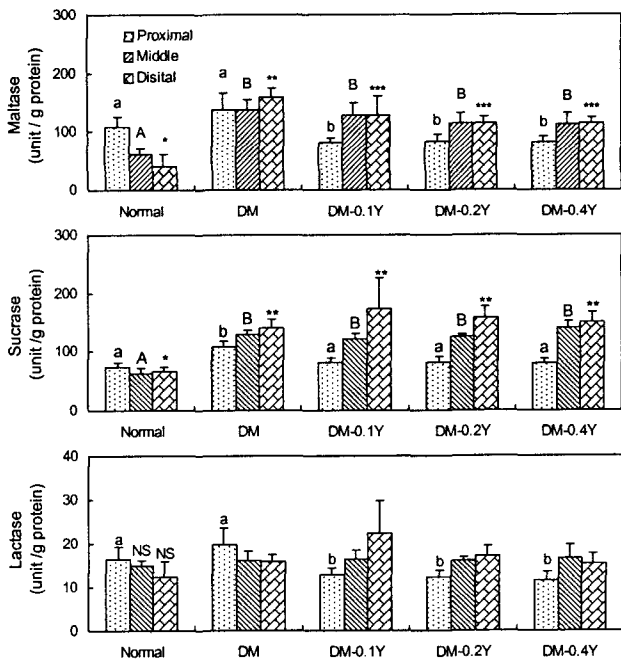


Fig. 3. Effects of YK-209 mulberry leaves on maltase, sucrase and lactase activities of small intestine in STZ-induced diabetic rats.

All values are Mean ± SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at p<0.05 by Tukey's-HSD test. Experimental conditions were same as Table 1.

YK-209뽕잎은 소장 proximal부분의 maltase활성을 저해하여 급격한 혈당상승을 억제시킴을 보였다.

Sucrase의 경우는 proximal 부분에서는 정상군에 비해 DM군에서 유의적으로 증가되었고 뽕잎을 첨가한 군들은 정상군 수준이었다. Middle과 distal 부분에서는 정상군에 비해 당뇨 실험군이 유의적으로 높았으며 뽕잎 공급군도 같은 경향이었다(Fig. 3). 이와 같이 sucrase 활성의 경우도 proximal 부분에서 뽕잎공급군에서 효소활성이 저해되어 혈당상승 억제 효과가 있음을 보여주었다.

Lactase의 경우(Fig. 3), proximal 부분에서는 정상군에 비해 당뇨 실험군 중 DM군은 19.82±3.82 unit/g protein으로 현저하게 증가되었으나 YK-209 뽕잎 투여군은 다소 감소되었다. Middle 부분에서는 실험군간의 유의적인 차이가 없었으며, distal의 경우 정상군에 비해 DM군이 현저하게 증가되었으나 뽕잎 공급군은 정상군 수준이었다(Fig. 3). 이와 같이 YK-209 뽕잎은 소장 proximal부분의 maltase, sucrase 및 lactase의 활성을 저해시킴으로서 급격한 혈당상승을 억제시키는 것으로 볼 수 있었다.

고찰

본 연구는 YK-209 뽕잎의 혈당강하효과 기작을 규명하기 위하여 STZ으로 유발시킨 당뇨병 쥐 소장의 이당류분해효소 활성과 혈당수준 변화를 관찰하였다.

본 실험에서 사용된 YK-209 뽕잎의 일반 성분중 수분, 환원당, 조단백질, 조지방, 회분은 건물중 5.6%, 4.0%, 21.1%, 2.1%, 9.0%이었고 무기질 함량은 칼슘, 철분, 나트륨, 칼륨으로 각각 건물중에 247.4 mg/100 g, 79.7 mg/100 g, 48.6 mg/100 g, 2900 mg/100이었으며 청일 뽕잎과의 함량의 차이는 없었다. 이러한 일반 성분 결과는 5월에 채취한 청일뽕잎을 이용하여 일반 성분을 분석한 Lee 등(28)의 연구결과인 조단백질 22.4%, 조지방 5%, 회분 8.5%와 유사한 결과였다. 기능성 성분중 혈당강하 성분인 1-deoxyojirimycin(DNJ)는 YK-209 뽕잎중에 건물 중 1.93 mg/g이고 청일뽕잎에는 1.55 mg/g으로 YK-209뽕잎이 청일 뽕잎에 비해 1.3배 정도 높았다. 혈압상승 억제제이며 인체내에서 신경계나 혈액에 함유되어 있는 γ -aminobutyric acid(GABA)의 함량은 YK-209 뽕잎이 청일 뽕잎에 비해 많이 함유하고 있으며, 또한 vitamin C 함량도 더 높았다. 그리고 flavonoid의 일종이며 모세혈관강화작용과 수축 작용, 순환계질환 치료제 및 고혈압 치료제 등의 주성분으로 알려진(29) rutin함량은 YK-209 뽕잎이 청일 뽕잎보다 약 1.4배 높았다. 이상과 같이 청일 뽕잎과 YK-209 뽕잎을 비교하였을 때 YK-209 뽕잎이 기능성 성분 함량이 높은 것을 관찰할 수 있었으므로 본 실험에서 효능관찰을 위한 동물실험에는 YK-209 뽕잎을 사용하였다.

동물 실험에서 STZ에 의해 유발된 당뇨병 쥐의 체중 증가량은 정상군은 전 실험기간동안 지속적인 증가를 보인 반면 STZ 유발 당뇨병군들은 현저한 체중감소를 보였으며 많은 당뇨병 실험(30)에서 보고된 바와 같은 결과이었고 당뇨병군들간의 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 단위 체중당 소장 무게는 정상군에 비해 뽕잎 비공급 당뇨병군 DM군은 증가되었으며 뽕잎 공급군간에서는 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 당뇨병으로 인한 급격한 체중의 감소로 소장의 상대적 무게가 증가된 것으로 사료된다. 소장의 길이는 실험군간에 유의적인 차이가 없었다.

뽕잎의 혈당강하 효과를 관찰하기 위하여 혈청중 포도당 함량을 측정된 결과 당뇨 유발군 모두에서 고혈당 현상이 초래되었으며 YK-209 뽕잎을 투여한 군들에서는 DM군보다 유의적으로 감소되었다. 이러한 결과는 Lee(31)의 연구에서는 STZ투여 고혈당 마우스에서 상업추출물이 공복시 DM군에 비해 수층투여군과 에탄올층 투여군에서 혈당강하효과가 있었다는 결과와 비슷한 경향을 보였다. 최근 Basnet 등(16)은 아르헨티나산 뽕나무 잎(*Morus insignis*)의 에틸아세테이트 및 부탄올 분획이 혈당강하 활성을 나타낸다는 사실과 이 분획으로부터 두 개의 새로운 화합물인 2-aryl-benzofuran 유도체들을 분리함을 보고한 바 있다. Asano 등(13,14)은 상업 추출물의 혈당강하 작용은 주로 물추출물에 기인한 것으로 보고되었으며 물 추출물로부터 분리된 아미노당 화합물이 혈당강하 작용을 나타내는 활성물질로 보고한 바 있다. 그러나 이들 보고에서는 어느 물질이 혈당강하작용을 나타내는 유효성분인지 밝히지 못했다. 그러나 Kimura 등(32)

은 상업에서 6가지의 N-containing sugar를 분리하여 이중 fagomin(1,2-dideoxynojirimycin)과 GAL-DNJ(2-O-D-Gal-actopyranosyl-1-deoxynojirimycin)이 가장 높은 혈당강하 효과를 나타냄을 밝혔다. GAL-DNJ의 경우 α -glucosidase, α -mannosidase, β -galactosidase에 대해 억제 작용을 나타냈으나 인슐린 농도에는 영향이 관찰되지 않았다고 보고하고 있어 deoxynojirimycin(DNJ) 성분이 혈당강하 작용이 있음을 보고하였다.

본 실험에서 사용된 YK-209 뿌잎의 DNJ 함량이 높았는데 이러한 혈당강하 성분으로 인하여 대조군 DM군에 비해 뿌잎공급군에서 혈당함량이 낮아진 것으로 보여진다. 이러한 뿌잎에서의 혈당강하 작용은 소장 상부에서 다당류가 단당류로 분해되는 과정에 관여하는 이당류 분해효소가 경쟁적으로 결합하여 효소활성을 억제함으로써 장내에서 당질의 소화와 포도당의 흡수를 지연시켜 식후 급격한 혈당의 상승과 이에 따른 불필요한 인슐린의 분비를 막아주는 것으로 사료된다. 소장내 당의 흡수는 주로 proximal 부분에서 일어난다고 알려져 있으므로(28) 본 연구에서도 소장부분별 차이에 따른 혈당상승과의 관계를 알기 위해 나누어서 관찰하였다. 본 연구에서 소장을 동일하게 proximal, middle, distal 세부분으로 나누어 이당류 분해효소 활성을 측정해 본 결과 maltase와 sucrase의 활성도에서 각 부분간 활성의 크기는 정상군은 proximal>middle>distal의 순이었으며, 당뇨유발실험군별로 비교하였을 때 DM군은 distal>proximal \geq middle이었으나 YK-209 뿌잎 공급군은 distal \geq middle>proximal 순이었다. 이는 Lee 등(28)의 결과에의 활성도가 middle>proximal>distal의 순과는 비슷한 경향으로 proximal 부분에서 그 활성이 억제되어 혈당의 급상승을 방지함을 볼 수 있었다. 또한 sucrase의 경우는 proximal 부분에서는 정상군과 당뇨유발 실험군인 DM군에서 유의적인 차이를 보였으나 YK-209 뿌잎을 농도별로 첨가한 뿌잎공급군들 간에서는 유의적인 차이가 없었다. Middle 부분과 distal 부분에서는 정상군에 비해 당뇨 실험군이 유의적으로 높은 활성이 나타났다. 특히, YK-209 뿌잎 공급군에서는 proximal 부분에서는 낮은 활성을 distal 부분에서 높은 활성을 나타내었다. Lactase의 경우 middle, distal 부분에서는 그룹간의 유의적인 차이가 없었으며, proximal 부분에서 다소 감소함을 관찰할 수 있었다. 이는 Kim(33)과 같이 상업추출물이 lactase에 대해서도 약간의 효소작용을 가지는 것으로 나타난 것과 비슷한 결과를 보여주었다.

이상의 결과들을 종합해보면 전체적으로 소장 전반부에서 강한 작용을 나타내는 이당류 분해효소들이 뿌잎공급군에서 특히 proximal 부분에서는 그 활성이 억제되고 middle과 distal 부분에서는 활성이 점차 증가되었다. 이는 proximal부분에서 미처 다 분해되지 못한 다당류들이 소장 후반부로 가면서 천천히 분해되기 때문일 것으로 유추된다. 이러한 소장내의 효소 활성의 변화로 인해 탄수화물 섭취시 일어날 수 있는

급격한 혈당의 상승을 완만하게 하여 갑작스런 혈액내의 인슐린 증가를 막아 당뇨병으로 인한 당질대사 변화를 개선시킬 수 있을 것으로 보여진다.

요 약

YK-209 뿌잎이 STZ 유발 당뇨쥐의 혈당강하작용에 미치는 영향을 관찰코저 정상군(normal group)과 STZ 유발 당뇨군으로 나누고 당뇨군은 다시 식이내 YK-209 뿌잎 함량에 따라 각각 YK-209 뿌잎을 공급하지 않은 당뇨 대조군(DM group), 0.1% 뿌잎 공급군(DM-0.1Y group), 0.2% 뿌잎 공급군(DM-0.2Y group) 및 0.4% 뿌잎 공급군(DM-0.4Y group)으로 나누어 자유섭식시켰다. 3주후 STZ으로 당뇨를 유발한 후 9일째에 희생하였다. 본 실험에 사용된 YK-209 뿌잎 시료의 기능성 성분 함량은 DNJ(1-deoxynojirimycin), rutin, GABA(γ -aminobutyric acid) 및 vitamin C는 1.93 mg/g, 2.97 mg/g, 2.36 mg/g, 1.3 mg/g이었으며 청일 뿌잎에 비해 각 1.3배, 1.4배, 1.3배, 1.6배 높았다. 체중증가는 당뇨유발 후 모든 당뇨군에서 현저하게 감소되었으며 당뇨군간에 유의적인 차이는 없었다. 단위체중당 소장무게는 정상군에 비해 당뇨유발군에서 증가되었으며 뿌잎 공급군간에서는 유의적인 차이가 없었다. 소장의 길이는 실험군간에 유의적인 차이가 없었다. 혈당수준은 YK-209 뿌잎 공급군에서 비공급군에 비해 유의적으로 감소되었으며 농도에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았다. 소장 점막중의 maltase, sucrase 및 lactase 활성은 DM군의 소장 proximal 부분에서 증가되었으나 뿌잎 첨가군의 proximal 부분에서는 모두 저해되었다. 결론적으로 뿌잎은 STZ 유발 당뇨쥐 소장의 proximal 부분의 이당류 분해효소 활성을 억제시켜 혈당 상승을 완하시킴을 알 수 있다.

문 헌

- Abrams JJ, Ginsberg H, Grundy SM. 1982. Metabolism of cholesterol and plasma triglycerides in nonketotic diabetes mellitus. *Diabetes* 31: 903-910.
- Lee EB, Kim OK. 1993. Antihyperglycemic constituent of *aralia elata* root bark (I). *Kor J Pharmacol* 24: 213-218.
- Kim OK, Lee EB, Kang SS. 1993. Anti hyperglycemic constituent of *aralia elata* root bark (II). *Kor J Pharmacol* 24: 219-222.
- Lee HS, Chung KS, Kim SY, Ryu KS, Lee WC. 1998. Effect of several sericultural products on blood glucose lowering for alloxan induced hyperglycemic mice. *Kor J Seric Sci* 40: 38-42.
- Asano N, Oseki K, Kizu H, Matsui K. 1994. Nitrogen-in-the-ring pyranoses and furanoses: Structural basis of inhibition of mammalian glycosidase. *J Med Chem* 37: 3701-3706.
- Naitoh K. 1968. Studies on the micro constituent in mulberry leaves part 2. Isolation of rutin and quercetin from mulberry leaves. *Nippon Nogei Kagaku Kaishi* 42: 422-425.

7. Shin KH, Young HS, Lee TW, Choi JS. 1995. Studies on the chemical component and antioxidative effects of solanum lyratum. *Kor J Pharmacogn* 26: 130-138.
8. Kim JS, Kang SS, Lee MW, Kim OK. 1995. Isolation of flavonoids from the leaves of *Aralia continentails*. *Kor J Phamacogn* 26: 239-243.
9. Onogi A, Osawa K, Yasuda H, Sakai A, Morita H, Tokawa H. 1993. Flavonol glycosides from the leaves of *Morus alba*. *Shoyakugaku Zasshi* 47: 423-425.
10. Kang SS, Woo WS. 1984. Flavonol glycosides from the leaves of *Zizyphus jujuba*. *Kor J Pharmacogn* 15: 170-178.
11. Yoshikumi Y. 1994. Inhibition of intestinal α -glycosidase activity and postprandial hyperglycemia by moranoline and its N-alkyl derivatives. *Agric Biol Chem* 52: 121-126.
12. 野田信三. 1996. 桑の葉茶の成人病に對する果. 月刊フードケミカル 12: 66-75.
13. Asano N, Tomioka E, Kizu H, Matsui K. 1994. Sugars with nitrogen in the ring isolated from the leaves of *Morus bombycis*. *Carbohydr Res* 253: 235-245.
14. Asano N, Oseki K, Tomioka E, Kizu H, Matsui K. 1994. N-containing sugars from *Morus alba* and their glycosidase inhibitory activities. *Carbohydr Res* 259: 243-255.
15. Yagi M, Kouno T, Acyagi Y, Murai H. 1976. The structure of morano line, a piperidine alkaloid from *Morus* species. *Nippon Nogei Kagaku* 50: 571-572.
16. Basnont P, Kadota S, Terashima S, Simazu M, Namba T. 1993. Two new 2-arylbenzofuran derivatives from hypoglycemic activity-bearing fractions of *Morus insignis*. *Chem Pharm Bull* 41: 1238-1243.
17. Kimura M, Chen FJ, Nakashimqa N, Kimura I, Asano N, Koya S. 1995. Anti hyperglycemic effect of N-containing sugars delived from mulberry leaves in streptozotocin-induced diabetic mice. *J Traditional Medicine* 12: 214-219.
18. Lee JS. 1994. Blood glucose lowering effect of *Mori folium*. *MS Thesis*. Kyung Hee University.
19. Cha JY, Kim HJ, Cho YS. 2000. Effect of water-soluble extract from leaves of *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* on the lipid peroxidation in tissue of rats. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 29: 531-536.
20. Ceirwyn SJ. 1999. *Analytical chemistry of foods*. Chapman & Hall, New York.
21. 日本食品工學會. 1983. 食品分析法 光琳.
22. Clausen CA, Highley TL. 1989. Adaptation of the Nelson-Somogyi reducing-sugar assay to a microassay using microtiter plates. *Anal Biochem* 182: 197-199.
23. AOAC. 1980. *Official methods of analysis*. 15th ed. Association of official analytical chem. p 129-133.
24. Stead DA, Richards RM. 1996. Sensitive fluorimetric determination of gentamicin sulfate in biological matrices using solid-phase extraction, pre-column derivatization with 9-fluorenylmethyl chloroformate and reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 675: 295-302.
25. Cole MD, Fellows LE, Romeo JT. 1998. Separation of hydroxy and polyhydroxy derivatives of 2-carboxy and 2-hydroxy-methyl piperidine and pyrrolidine ny high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 445: 295-298.
26. Wimalasiri P, Wills RB. 1983. Simultaneous analysis of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in fruit and vegetables by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 256: 368-371.
27. Dahlqvist A. 1984. Assay of intestine disaccharidases. *Scand J Clin Lab Invest* 44: 169-172.
28. Lee HS, Kim SY, Lee YK, Lee WC, Moon SD, Moon JY, Ryu JY. 1999. Effects of silkworm power, mulberry leaves and mulberry root bark administered to rat on gastrointestinal function. *Korean Journal of Sericultural Science* 41: 29-35.
29. Markham KR 1989. Flavones, flavonols and their glycosides. *Methods in Plant Biochemistry* 1: 197-235.
30. Junod A, Lambert AE, Stauffacher W, Renold AE. 1969. Diabetogenic action of streptozotocin : relationship of dose to metabolic response. *J Clin Invest* 48: 2129-2139.
31. Lee KH. 1999. Antidiabetic effect and mechanism of extract of *Mori folium* on streptozotocin-induced diabetic model. *Bull KH Pharma Sci* 28: 87-99.
32. Kimura M, Chen FJ, Nakashima N, Kimura I, Asano N, Koya S. 1995. Antihyperglycemic effects of N-containing sugars derived form mulberry leaves in streptozotocin-induced diabetic mice. *Journal of Traditional Medicines* 12: 214-219.
33. Kim MS. 1998. Blood glucose lowering effects of mulberry leaves and silkworm extracts on mice fed with high-carbohydrate diet. *MS Thesis*. Kyung Hee University.

(2002년 9월 14일 접수; 2002년 12월 10일 채택)