

Comparison of on Rat Intestinal Digestive Enzyme Inhibitory Activity and Antioxidant Enzyme Activity of Korean and Chinese *Schizandra chinensis*

Hee-Jun Chae, Hyun-Ik Hwang¹, In-Soon Lee¹ and Hae-Yeon Moon[†]

Department of Biotechnology, Daegu University, Kyungpook 712-714, Korea.

¹Phytochemical Co., Ltd. Business Incubating Center, Daegu University, Kyungpook 712-714, Korea

The purpose of this study was to determine the effect of rat intestinal α -glucosidase inhibitor; methanol (80%), ethanol (80%) and water extract of *Schizandra chinensis* in Korea (KS: *Schizandra chinensis* in Korea) and China (CS: *Schizandra chinensis* in China). When the final concentration was 1 mg/ml for each sample (KS and CS), methanol extract of KS (IC₅₀ 1.62 mg/ml) showed 46.8%, ethanol extract of KS (IC₅₀ 1.48 mg/ml) showed 47.4%, water extract of KS (IC₅₀ 1.72 mg/ml) showed 46.3% and methanol extract of CS (IC₅₀ 8.35 mg/ml) showed 13.3%, ethanol extract of CS (IC₅₀ 8.05 mg/ml) showed 16%, water extract of CS (IC₅₀ 8.37 mg/ml) showed 11.54% of inhibitor for p-nitrophenyl α -D-glucopyranoside (pNPG) α -glucosidase activity, respectively. And the contents of total phenol, flavonoid of *Schizandra chinensis* were measured. When the final concentration was 1 mg/ml for each sample (KS and CS), total phenol and flavonoid in KS were higher than CS, respectively. The order superoxide dismutase (SOD) activity IC₅₀ values of each solvent extracts of KS were: 2.006 mg/ml methanol extract, 2.304 mg/ml ethanol extract and 2.5 mg/ml water extract, which were higher than that of each solvent extracts CS as: 2.881 mg/ml methanol extract, 3.085 mg/ml ethanol extract and 3.190 mg/ml water extract.

Key Words: *Schizandra chinensis*, α -glucosidase, α -amylase, Antioxidant, Anti-diabetic

서 론

당뇨병은 현대인에게 많이 발생하는 만성적인 대사 이상의 질병으로, 국내의 경우 현재 약 3백만 명이 당뇨병 환자로 추정되고 있으며 이런 상태로 방치된다면 향후 10년 이내에 국민의 1/4이 당뇨병으로 인한 직간접적인 고통을 받을 것으로 예상된다 (Kim and Kang, 2004). 당뇨병은 자체 질환보다 혈당상승으로 야기되는 합병증이 더 심각한 임상적 의의를 갖고 있으며, 따라서 혈당 조절을 잘 하여 증상의 악화를 막는 것이 발병한 합병증을 치료하는 것보다 훨씬 효과적이다 (Strowing and Raskin, 1992). α -Glucosidase로 대표되는 탄수화물 분해효소들은 소장의 상피세포 내막에 위치하고 있다. 이들의 저해제를 음식과 함께 투여하였을 시, 소장 내에서 과당 및 이당류의 소화를 억제하여 소화를 전체적으로 지연시키지만, 위 내용물의 배출 속도에 미치는 영향은 없어

위 공복시간의 변화는 일어나지 않는다. 특히, 당뇨병 환자의 α -glucosidase는 정상인에 비해 활성이 높아져 있기 때문에, 음식물의 열량을 생산하는 가장 주된 영양소인 탄수화물의 섭취 시 식후 혈당이 큰 폭으로 상승하기 마련이다. 따라서 당뇨병 환자들에게 매우 문제가 되는 합병증의 발병이 용이해지기 때문에 환자들에게는 특히 흡수가 빠른 단당류가 많이 포함된 음식을 피하는 것이 권고되고 있다 (Lembock et al., 1985; Tandon et al., 1975). 특히 NIDDM 환자에게 있어서 혈당을 정상 수준으로 지속시킬 수 있다면, 이미 심각하게 발병한 합병증의 경우를 다시 개선시키는 것은 불가능하겠지만 아직 발병하기 전이라면 그 병발을 예방할 수 있고, 초기 합병증의 진전을 늦출 수 있게 된다 (Lembock et al., 1990; Ceriello et al., 1996). α -Glucosidase의 저해가 혈당강하의 가장 효과적인 방법으로 알려진 후 이 효소의 저해제 개발에 대한 많은 연구가 이루어지고 있지만, 현재까지 연구되어온 합성저해제들은 치료의 효과는 강하지만 지속적인 복용은 설사와 복통 등의 부작용이 문제점으로 야기되고 있어, 이를 대체할 물질로서 천연의 생리활성 물질을 이용하는 연구가 활발하게 진행되고 있다.

오미자는 목련과 (Magnoliaceae)의 식물인 오미자 [*Schizandra chinensis* (Turca.) Baillon]의 과실로 시고, 달고, 맵고,

*논문 접수: 2005년 11월 1일

수정재접수: 2005년 12월 7일

[†]교신저자: 문혜연, (우) 712-714 경상북도 경산시 진량읍,

대구대학교 공과대학 식품·생명·화학 공학부

Tel: 053-850-6552, Fax: 053-850-6559

e-mail: moonhy@daegu.ac.kr

쓰고, 뚝은맛을 낸다고 하여 지어진 이름이다. 오미자에는 시잔드롤 (Schizandrol), 시잔드린 (Schizandrin) A, B, C, 안질로일고미신 (angeloylgomisin) O, P, 에피고미신 (epigomisin), 프레고모이신 (pregomoisin), 데옥시시잔드린 (Deoxyschizandrin) 등을 함유하고 있으며, 오래전부터 수렴, 자양, 강장, 진해약, 해주독, 목마름, 익기생진, 보신염심 등의 약효를 가지고 있어 생약원료로 한방에서 사용해오던 재료이다 (De-Fronzo et al., 1992; Kadowaki et al., 2003). 아직까지 오미자의 혈당강하효과에 대한 연구는 미비하나, 동의보감에 기록된 당뇨병 (소갈) 처방의 하나인 옥천산의 주원료로 오미자가 사용된 것으로 보아 오미자가 혈당강하 능력이 있음을 의미하는 것으로 사료된다.

따라서 본 연구에서는 국산 및 중국산 오미자 추출물을 이용하여 당뇨를 유발시킨 쥐 소장 점막의 α -glucosidase의 저해효과를 검증함으로써 당뇨병 치료의 목적으로서 오미자의 활용 가능성을 비교 분석하고자 하였다.

재료 및 방법

1. α -Glucosidase 저해제의 추출

본 실험에 사용한 국산 및 중국산 오미자는 경북 영천 한약업 도매시장에서 구입하여 0~4°C에서 보관하였다. 우선 구입한 오미자를 1:10 (w:v)의 비율로 methanol (80%), ethanol (80%) 그리고 증류수에 각각 6일 동안 추출 후 감압 농축하여 실험에 사용하였다.

2. 국산 및 중국산 오미자의 추출조건에 따른 함량 분석

오미자의 수율과 수분함량은 AOAC (1990)법에 따라 정량하였으며, 조단백질과 총 당의 함량은 Lowry (1951)와 Dey (1990)에 따라 bovine serum albumin과 glucose으로 표준곡선을 작성하여 정량하였다.

3. 쥐 소장으로부터 α -glucosidase의 분리와 활성 측정

α -Glucosidase는 streptozotocin (45 mg/ml BW)을 투여하여 48시간 후 혈당이 250 mg/ml 이상인 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐의 소장 점막을 분리하여, 생리 식염수로 씻은 후, homogenizer로 5분간 균질화하고, 5배의 buffer를 넣었다 (0.5 M NaCl, 0.5 M KCl, 5 mM EDTA (pH 7.0)). 그 후 4°C, 1,000 ×g에서 30분간 원심분리하여 얻은 상등액을 조효소액으로 사용하였다 (Rhinehart et al., 1987).

상기의 방법으로 얻어진 조효소액을 14 mM의 각 기질 (Maltose, Sucrose, Lactose, p-nitrophenyl α -D-glucopyranoside) 과 37°C에서 30분 동안 반응시킨 후 생성된 포도당은 glucose kit (아산제약)를 사용하여 측정하여 각 효소 활성을 계산하였다 (Dahlqvist, 1974).

4. α -Glucosidase에 대한 저해 활성의 측정

α -Glucosidase 저해 활성 측정은 국산 및 중국산 오미자의 유기용매 및 물 추출물 1, 5, 10 mg/ml을 저해제로 하여 조효소액과 phosphate buffer (pH 7.0), 기질인 p-nitrophenyl α -D-glucopyranoside를 넣어 37°C에서 30분간 반응 후, Glycin-NaOH (pH 9.0)을 넣어 반응을 종결시키고, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 후 405 nm에서 흡수치를 측정하였다. 공시험군은 100°C에서 3분간 끓인 조효소액을 사용하였다 (Holmes and Lobley, 1989). 상대 저해 활성은 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{[A(\text{inhibition}) - A(\text{control})]}{[A(\text{enzyme}) - A(\text{blank})]} \times 100$$

또한, 국산 및 중국산 오미자에 대한 α -glucosidase enzyme kinetics는 유기용매 및 물 추출물을 저해제로 하여 phosphate buffer (pH 6.9)에 기질인 p-nitrophenyl α -D-glucopyranoside (0.5, 1, 1.5, 2%)와 저해제 (5, 10, 100, 1000 μ g/ml)의 농도를 다양하여 오미자의 α -glucosidase에 대한 억제 타입을 측정하였으며, 그 결과를 Lineweaver-Burk plot 방법으로 표현하였다 (Shim et al., 2003).

5. 항산화 활성 측정

1) DPPH에 의한 항산화능 실험

Hatano (1989) 등의 방법에 의하여 각 시료 0.1 ml (control: 80% methanol)에 0.1 mM DPPH용액 (80% methanol) 1.9 ml을 가하였다. Vortex mixer로 10초간 진탕한 후 37°C에서 30분간 반응하였으며, 이후 517 nm에서 흡수치를 측정하였다. 양성 대조 약물로는 BHT (Butylated hydroxytoluene)를 사용하였으며, 항산화작용은 DPPH에 대한 IC₅₀ 값 (DPPH radical 형성을 50% 억제하는데 필요한 mg농도)으로 나타내었다.

2) Superoxide dismutase (SOD)

SOD 효소 활성 검정은 SOD의 효소 활성이 NBT의 환원을 저해하는 능력을 검정하는 photochemical NBT (Nitroblue tetrazolium) method를 사용하였다 (Beyer and Fridovich, 1987). 각 시료 0.1 ml에 0.9 ml의 NBT 용액 (xanthine, NBT, phosphate buffer-EDTA (pH 7.4))과 1 ml의 xanthine oxidase (0.05 U/ml)용액을 넣어 37°C에서 20분간 반응시켰다. 이후 2 N HCl을 가하여 반응을 중지시킨 후, 560 nm에서 흡수치를 측정하였다. 항산화 활성 정도는 NBT의 환원을 50% 저해하는데 필요한 시료의 양 (IC₅₀)으로 표시하였다.

6. 총 페놀과 플라보노이드 함량 측정

국산 및 중국산 오미자 유기용매 및 물 추출물 1 ml을

Table 1. Comparison of proximate composition in *Schizandra chinensis* in Korea and China according to extraction solvents

Nutrient(g/g)	KS ¹⁾			CS ²⁾		
	Methanol	Ethanol	Water	Methanol	Ethanol	Water
Yield	0.69	0.77	0.79	0.47	0.5	0.55
Protein	0.32	0.28	0.28	0.25	0.25	0.24
Total sugar	0.3	0.29	0.24	0.17	0.19	0.13
Moisture	0.31	0.23	0.21	0.53	0.5	0.45

¹⁾KS: *Schizandra chinensis* in Korea, ²⁾CS: *Schizandra chinensis* in China

water로 1 mg/ml로 희석하여 사용하였다. Folin & Ciocalteu's phenol 시약 1 ml을 가하여 5분간 반응시킨 후, 10 ml의 7% Na₂CO₃와 증류수를 총 반응물이 25 ml이 되도록 가하였다. 90분 후 750 nm에서 흡수치를 측정하였다. Gallic acid로 표준곡선을 작성하여 총 페놀을 계산하여 측정하였다 (Arvouet-Grand et al., 1994).

국산 및 중국산 오미자 유기용매 및 물 추출물 1 ml을 증류수로 1 mg/ml로 희석하여 사용하였다. 0.3 ml의 5% NaCO₂를 가해 5분간 반응시키고, 0.3 ml의 AlCl₃를 첨가하여 6분간 반응시킨 뒤, 1 M NaOH와 증류수를 총 반응물이 10 ml이 되도록 가하여 510 nm에서 흡수치를 측정하였다. Catechin으로 표준곡선을 작성하여 총 플라보노이드를 계산하여 측정하였다 (Sin, 1999).

결 과

1. 국산 및 중국산 오미자의 추출조건에 따른 함량 분석

국산과 중국산 오미자의 일반 성분을 비교 조사한 결과는 Table 1와 같다. 국산 오미자의 수율, 조단백질, 수분, 총당의 함량이 물 추출물의 경우 0.79 g/g, 0.28 g/g, 0.24 g/g, 0.21 g/g이었으며, 중국산 오미자의 물 추출물의 경우 0.55 g/g, 0.24 g/g, 0.13 g/g, 0.45 g/g으로 나타나 수분함량을 제외한 수율 및 다른 성분의 함량이 국산 오미자가 중국산 오미자보다 높게 나타났다. 이러한 결과는 유기용매 추출물에서도 비슷한 경향을 보였다.

2. 쥐 소장으로부터 분리한 α -glucosidase의 활성

α -Glucosidase로 대표되는 탄수화물 분해효소들은 소장의 상피세포 내막에서 여러 복합체가 결합된 형태로 존재하므로 각각의 복합체를 분리하지 않고 모든 복합체들의 활성을 모두 가지도록 분리하였다 (Shim et al., 2003). STZ로 당뇨를 유발시킨 쥐의 소장 점막으로부터 추출한 조효에 각각의 기질을 사용하여 활성을 측정한 결과, 기질 maltose에 대한 비활성도가 0.96 U/mg protein 가장 높았으며, sucrose가 0.47 U/mg protein, lactose와 p-nitrophenyl α -D-glucopyranoside가 0.1 U/mg protein으로 나타났다 (Table 2).

Table 2. α -Glucosidase and α -amylase activity of substrate, respectively

Substrate	Activity ¹⁾
Maltose	0.96
Sucrose	0.47
Lactose	0.1
pNGP ²⁾	0.1

¹⁾One unit is defined as the amount of enzyme that substrate 1 mole of product per minute.

²⁾pNGP: p-nitrophenyl α -D-glucopyranoside

3. α -Glucosidase의 저해 활성

국산 및 중국산 오미자의 유기용매 및 물 추출물을 대상으로 α -glucosidase에 대한 저해 활성을 조사한 결과를 Table 3에 나타내었다. STZ에 의해 당뇨 유발된 쥐 소장 점막 α -glucosidase를 50% 저해하는 저해제의 농도는 국산 오미자의 경우 methanol 1.62 mg/ml, ethanol 1.48 mg/ml, 물 1.72 mg/ml로 나타났으며, 중국산 오미자의 경우 methanol 8.35 mg/ml, ethanol 8.05 mg/ml, 물 8.37 mg/ml으로 나타났다. 그리고 대조군인 acarbose의 경우 2.95 mg/ml으로 나타났다. 이것으로 보아 α -glucosidase에 대한 국산 및 중국산 오미자 추출물의 저해 활성은 국산 오미자가 비교적 높은 것으로 사료되며, 국산 오미자의 경우 혈당강하제로 사용되고 있는 acarbose보다 저해 활성이 더 뛰어난 것으로 나타났으나, 중국산 오미자의 경우에는 그렇지 못한 것으로 나타났다. 또한 국산 및 중국산 오미자 모두 ethanol 추출물에서 α -glucosidase에 대한 저해 활성이 높게 나타난 것으로 보아 오미자의 α -glucosidase에 대한 저해물질은 ethanol 층에서 비교적 많이 분리가 되는 것으로 사료된다.

Fig. 1은 국산 오미자의 α -glucosidase에 대한 저해기작을 나타낸 것으로, 경쟁적 형태의 저해작용을 하는 것으로 나타났다. 중국산 오미자 역시 같은 형태의 저해작용을 하는 것으로 나타났다 (date not show). 이러한 특성은 경쟁적인 형태의 acarbose (Yoon and Robyt, 2003)와 같은 기작으로 저해 활성을 나타내고 있다.

Table 3. α -Glucosidase inhibitory activities of extracts from *Schizandra chinensis* in Korea and China

Concentration (mg/ml) ⁴⁾	Inhibition (%)						Acarbose ³⁾
	KS ¹⁾			CS ²⁾			
	Methanol	Ethanol	Water	Methanol	Ethanol	Water	
1	46.79	47.44	46.37	13.35	16.03	11.54	43.38
5	67.20	68.25	66.14	33.33	35.45	32.28	64.17
10	93.12	95.34	92.06	58.20	59.37	58.52	90.16
IC ₅₀ (mg/ml) ⁵⁾	1.62	1.48	1.72	8.35	8.05	8.37	2.95

¹⁾ KS: *Schizandra chinensis* in Korea,

²⁾ CS: *Schizandra chinensis* in China,

³⁾ Acarbose: the positive control.

⁴⁾ The final concentration in the reaction mixture.

⁵⁾ The concentration which caused 50% inhibition of rat intestinal α -glucosidase activity were calculated from regression equation

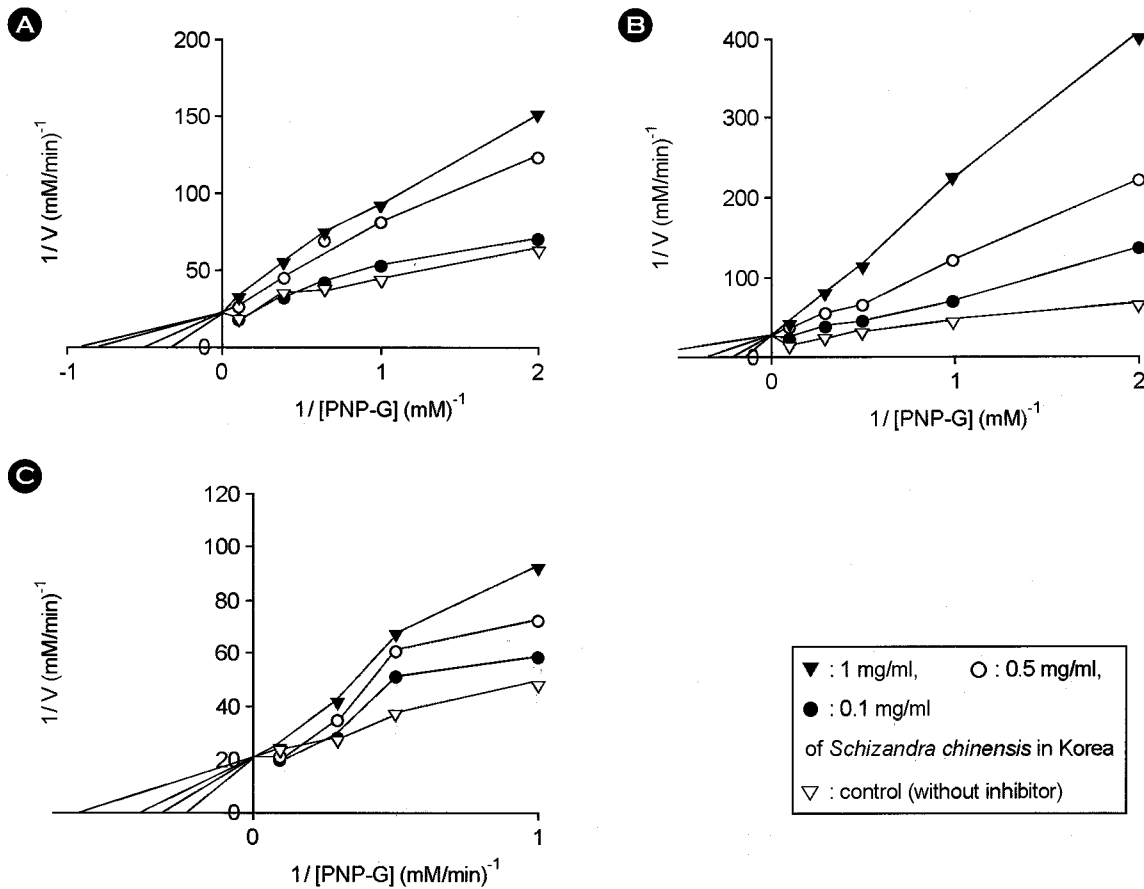


Fig. 1. Lineweaver-Burk plots of the inhibition of rat intestinal α -glucosidase by *Schizandra chinensis* in Korean. A): extract of methanol, B): extract of ethanol, C) extract of water.

4. 총 페놀과 플라보노이드 함량

국산과 중국산 오미자의 유기용매 및 물 추출물 중의 총 페놀 및 플라보노이드 함량 측정결과를 Table 4에 나타내었다. 국산 오미자의 총 페놀함량은 methanol 6.39, ethanol 6.11, 물 6.62 mg/g DW이었으며, 중국산 오미자의 경우 methanol 3.33, ethanol 3.08, 물 3.59 mg/g DW로 국산 오미자가 중국

산 오미자보다 더 많이 함유되어 있는 것으로 나타났다. 또한 국산 오미자의 총 플라보노이드 함량은 methanol 5.66, ethanol 5.86, 물 5.36 mg/g DW이었으며, 중국산 오미자의 경우 methanol 2.59, ethanol 2.07, 물 2.32 mg/g DW로 국산 오미자가 중국산 오미자보다 많이 함유되어 있는 것으로 나타나 국산 오미자의 우수함을 알 수 있었다.

Table 4. Total phenol and flavonoid contents in extracts of *Schizandra chinensis* obtained from different locations

mg/g DW ¹⁾	KS ²⁾			CS ³⁾		
	Methanol	Ethanol	Water	Methanol	Ethanol	Water
Total Phenol Con.	6.39	6.11	6.62	3.33	3.08	3.59
Favonoid Con.	5.66	5.86	5.36	2.59	2.07	2.32

¹⁾The dry weight of *Schizandra chinensis* extracts, ²⁾KS: *Schizandra chinensis* in Korea, ³⁾CS: *Schizandra chinensis* in China
Values are the mean of triplicates

Table 5. Antioxidative activity of *Schizandra chinensis* extracts (IC₅₀ mg/ml)

	IC ₅₀ (mg/ml)						BHT ⁵⁾
	KS ¹⁾			CS ²⁾			
	Methanol	Ethanol	Water	Methanol	Ethanol	Water	
DPPH ³⁾	2.27	2.071	2.091	4.251	3.617	3.339	20.414
O ⁴⁾	2.006	2.304	2.5	2.881	3.085	3.190	4.774

¹⁾KS: *Schizandra chinensis* in Korea, ²⁾CS: *Schizandra chinensis* in China, ³⁾DPPH: DPPH free radical scavenging activity.

⁴⁾O: Superoxide anion radical scavenging activity, ⁵⁾BHT: Buthylated hydroxytoluene, sythesis antioxidant

5. 항산화 활성

1) DPPH에 의한 항산화능 측정

대조 약물인 BHT와 비교하였을 때 국산과 중국산 오미자 모두 BHT보다 높은 활성을 나타내었으며, 특히 국산 오미자의 methanol 추출물이 2.07 mg/ml, 중국산 오미자의 물 추출물이 3.339 mg/ml로 우수한 radical scavenging activity를 나타내었다 (Table 5).

2) SOD에 의한 항산화능 측정

NBT 환원법에 의해 superoxide anion radical 소거에 관련된 SOD 효소 활성을 검정한 결과, 대조 약물인 BHT와 비교하였을 때 국산과 중국산 오미자 모두 BHT보다 높은 활성을 나타내었다. 특히 국산과 중국산 오미자 모두 methanol 추출물이 2.006, 2.881 mg/ml로 높은 SOD 활성 능력을 나타내었다 (Table 5).

고 찰

당뇨병이란 인슐린이 충분치 못하거나 제 기능을 못하도록 된 메커니즘에 의하여 생체의 에너지양의 조절기능을 상실함으로써 발생하는 것이다. 당뇨의 발병 방식은 크게 두 가지 경로에 의한다. 첫째는 Insulin-dependent diabetes-mellitus (IDDM)이다. 췌장에서 생산된 인슐린은 혈액 중의 포도당의 양을 조절하는 활동을 하는데 인슐린의 호르몬 작용에 의하여 혈중에 존재하는 과다한 양의 포도당을 소모하는 신진대사가 일어나 포도당의 양을 감소시킴으로써 혈중 당의 양을 일정하게 유지한다 (Kahn et al., 1989; Soll et al., 1975). 둘째는 Noninsulin-dependent diabetes-mellitus (NIDDM)이다. NIDDM은 glucose tolerance의 비정상적인 상태가 됨에

의해 발생한다. 정상적인 glucose tolerance로부터 비정상적인 상태로 되어 당뇨병으로 전환됨에 따라 인슐린에 대한 저항성은 증가하고, 반면에 인슐린의 분비는 감소한다. β-세포가 인슐린 저항성을 상쇄할 만큼의 기능을 한다면 glucose-tolerance는 정상적인 값을 가질 수 있지만, 만약 인슐린 분비가 제대로 되지 않는다면 glucose tolerance의 손상을 입게 되어 hyperglycemia를 일으킨다. 이는 인슐린의 분비와 작용을 저해하며, 더 발전되어 glucose tolerance의 손상을 거쳐 당뇨병 및 당뇨 합병증으로 진전된다 (Chiasson et al., 2002; Henry et al., 1993).

당뇨병의 합병증으로는 동맥경화성 질환, 신경장애, 망막증 등이 있으며 이러한 합병증은 고혈당이 직접적인 원인이 되거나 또는 고혈당에 따른 당화 단백질의 증가가 원인이 되고 있다. 이러한 합병증을 치료하기 위해서는 식후에 급상승하는 혈당을 조절하는 것이 중요시되고 있다 (Choi et al., 2000). 식사 중의 당질은 소장에 존재하는 소화효소 즉 α-amylase, sucrase, maltase 등에 의해 최종적으로 단당으로 분해되어 흡수되기 때문에 이러한 효소를 저해함으로써 당질의 흡수를 지연 또는 억제한다면, 식후의 고혈당과 그에 따른 인슐린의 과잉요구가 줄어들어 당대사 이상을 수반하는 문제점을 해결할 수 있을 것으로 주목하고 있으며 acarbose, voglibose 등이 임상에서 널리 이용되고 있다.

따라서 근래에 α-glucosidase 저해제에 대한 관심이 높아지면서 천연물에서 그 저해제를 찾고자 하는 연구가 많이 진행되고 있으며 (Choi et al., 2000), 본 연구도 동의보감에 기록된 당뇨병 처방의 하나인 옥천산의 주원료로 사용된 오미자를 이용하여 당뇨병 치료의 목적으로서 오미자의 활용 가능성을 비교 분석하고자 하였다.

본 연구에서 국산 및 중국산 오미자의 유기용매 및 water

추출물을 대상으로 STZ에 의해 당뇨 유발된 쥐 소장 점막 α -glucosidase에 대한 저해 활성을 조사한 결과, 국산 오미자가 중국산 오미자보다 높은 α -glucosidase의 저해 활성을 나타내었으며, 국산 오미자의 경우 혈당강하제로 사용되고 있는 acarbose보다 높은 저해 활성을 보여 혈당강하제로서 국산 오미자의 활용 가능성을 보여주었다. 또한 국산 및 중국산 오미자 모두 ethanol 추출물에서 α -glucosidase에 대한 저해 활성이 높게 나타나 오미자의 α -glucosidase에 대한 저해 물질은 ethanol 층에서 비교적 많이 분리가 되는 것으로 사료된다. 그러나 국산 및 중국산 오미자 추출물들이 각각의 경우에 같은 생체분자들이 서로 다른 효소들의 저해작용에 관여하는지, 아니면 독립적으로 독특한 생체분자들이 효소 활성의 저해제로 작용하는지는 이 실험으로 판단할 수 없다. 그러므로 국산 및 중국산 오미자의 유기용매 및 물 추출물을 크로마토그래피와 같은 분리 정제법을 통하여 세밀하게 순수 분리하는 것이 필요하고, 저해작용의 화학적 구조를 밝히는 것이 필요할 것으로 사료된다.

당뇨병으로 인한 만성 퇴행성 질환의 발생기전은 확실하게 밝혀지지는 않았으나 최근의 연구에서 이러한 당뇨의 합병증에 산화적 스트레스가 관여한다는 결과가 주목을 끌고 있다 (Baynes, 1991; Park et al., 1995). 인체는 정상적인 생리 상태에서는 자유 라디칼 (free radical)의 생산과 항산화 방어 체계 (antioxidant defense system)의 활성이 균형을 이루고 있다 (Park et al., 1995, Wolff et al., 1988). 체내에서 자유 라디칼이 과다 생성되거나 혹은 항산화 방어체계의 기능이 감소되어 균형이 깨어지면 산화적 스트레스가 일어난다 (Lawrence et al., 2001). 당뇨병 환자에서 산화적 스트레스가 증가되는 주요 원인은 비효소적 당화반응과 자동산화적 당화반응의 증가와 항산화 방어체계의 손상 등으로 추측하고 있다 (Baynes, 1991; Lee et al., 2001). 산화적 스트레스에 의한 혈관을 비롯한 여러 조직의 손상은 독성이 강한 자유 라디칼에 의한 반응의 결과이다. 자유 라디칼은 1개 또는 2개 이상의 부대전자를 가짐 독립해서 하나의 화학종으로서 존재할 수 있는 것을 가리킨다. 자유 라디칼은 세포에 상해를 주며 특히 세포막의 다불포화지방산에 작용하여 지질과산화물을 생성하고 이로 인해 세포의 기능을 손상시키므로써 (Bruce et al., 1982) 조직의 노화와 당뇨 합병증을 비롯한 여러 질병의 발병과 관련이 있다. 이러한 자유 라디칼의 제거제인 SOD는 superoxide radical을 환원시켜 H_2O_2 로 바꾸어 주며, 또 여기서 생성된 H_2O_2 는 다시 GSHpx와 catalase의 작용에 의해 H_2O 로 배설됨으로써 산소독으로부터 생체를 보호한다 (Kwag et al., 1999). 본 연구에서는 국산 및 중국산 오미자의 항산화 활성 여부를 알기 위해 SOD와 DPPH radical 소거능을 수행하였는데, 대조군인 항산화제 BHT보다 높은 활성을 보였다. 그리고 이러한 활성은 중국산 오미자보다 국산 오미

자가 더 높은 활성을 보여 국산 오미자의 우수함을 보여주었다. 조 (1994) 등의 연구에서 SOD의 활성도는 낮은 당농도 (5.6 mM/L)보다 높은 당농도 (22.2 mM/L)에서 더 낮은 효소 활성도를 보여 높은 당농도와 산화적 스트레스의 연관성을 제시한 바 있다. 이미 밝혀진대로 고혈당 상태에서 여러 종류의 단백질이 당화되는데, 이때 항산화효소 자체도 당화될 수 있을 것이며, 실제로 Naohisa (1992) 등은 인슐린 의존형 당뇨병 환자와 정상 대조군에서 glycated Cu, Zn-SOD를 측정하였는데, 당뇨병 환자에서 더 높아 SOD 자체도 당화작용에 매우 감수성이 있고, 이 당화된 SOD는 훨씬 활성이 감소된다고 하였다.

이상의 결과를 종합하면 오미자는 STZ에 의해 당뇨 유발된 쥐 소장 점막 α -glucosidase에 경쟁적인 저해 활성을 보이며, 항산화 DPPH radical 소거능과 SOD 활성을 높여주는 항산화 활성을 보이는 것으로 사료된다. 그리고 이러한 활성은 국산 오미자가 중국산 오미자보다 높게 나타났다. 이러한 국산 오미자의 우수한 품질을 활용하여 당뇨병 치료 및 건강 보조 식품으로써의 부가가치를 높인다면 그 수요가 증진될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2005년 산업자원부 지원 농산물 저장 가공 및 산업화 연구센터 지원에 의해 수행된 논문으로, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- AOAC Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Vols I and II. 15th edn. Association of Official Analytical Chemists, Inc. 1990.
- Arvouet-Grand A, Vennat B, Pourrat A, Legret P. Standardisation dun extrait de propolis et identification de ses principaux constituants. J de Pharmacie Belgique 1994. 49: 462-468.
- Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complication in diabetes. Diabetes 1991. 40: 405-412.
- Beyer WF, Fridovich Y. Assaying of superoxide dismutase activity; some large consequences of minor change in condition. Anal Biochem. 1987. 161: 559-566.
- Bruce A, James FD, Carpo MD. Biology of disease: Free radicals and tissue injury. Lab Invest. 1982. 47: 412-426.
- Ceriello AC, Taboga L, Tonutti R, Giacomello L, Stel E, Motz, Pirisi M. Post-meal coagulation activation in diabetes mellitus: the effect of acarbose. Diabetologia 1996. 39: 469-473.
- Chiasson, Jean-Louis R, Josse G, Gomis R, Markolf A, Hanefeld, Laakso M. Acarbose for Prevention of type 2 Diabetes Mel-

- litus: The STOP-NIDDM Randomised Trial, *Lancet* 2002. 359: 2072-2077.
- Cho HC, Kim MJ, Seo JC, Cho YH, An KW, Chung JH, Park CG, Lee SI, Bae HY. The activity of erythrocyte antioxidant enzyme according to glucose concentration in non insulin dependent diabetes mellitus. *Kor J Diabetes* 1994. 18: 337-343.
- Choi HJ, Kim NJ, Kim DJ. Inhibitory effect of GE974 isolation from *Gyrophora esculenta* on α -glucosidase. *Kor J. Pharmacogn.* 2000. 31: 196-202.
- Dahlqvist A. Disaccharidases. In *methods of Enzymatic analysis*, Bergman, H.U. (Ed). 1974. 4. p916.
- DeFronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E. Pathogenesis of NIDDM: A balanced overview. *Diabetes Care* 1992. 15: 318-353.
- Dey PM. *Methods in plant biochemistry*, in: Carbohydrates, vol. 2, London. 1990.
- Hatano TR, Edamatsu M, Hiramatsu A, Mori Y, Fujita T, Yasuhara T, Okuda T. Effects of the interaction of tannins with co-existing substances. IV. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical and on 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem Pharm Bull.* 1989. 37: 2016.
- Henry RR, Gumbiner B, Ditzler T, Wallace P, Lyon R, Glauber HS. Intensive conventional insulin therapy for type II diabetes. *Diabetes Care* 1993. 16: 21-31.
- Holmes R, Lobley RW. Intestinal brush border revisited. *Gut* 1989. 30: 1667.
- Kadowaki T, Hara K, Yamauchi T, Terauchi Y, Tobe K, Nagai R. Molecular mechanism of insulin resistance and obesity. *Exp Biol Med.* 2003. 228: 1111-1117.
- Kahn BB, Charron MJ, Lodish HF, Cushman SW, Flier JS. Differential regulation of two glucose transporters in adipose cells from diabetic and insulin-treated diabetes rats. *J Clin Invest.* 1989. 84: 404-411.
- Kim DH, Kang YG. Investigation of antidiabetic medicinal plants using an oriental medicinal database. *Kor J. Biotechnol Bioeng.* 2004. 19: 125-131.
- Kwag OG, Yang JA, Lee SJ. Effects of Vitamin E on the antioxidant defense system of kidney in streptozotocin-induced diabetes rats. *J Kor Soc Food Sci Nutr.* 1999. 28: 654-662.
- Lawrence JC, Jilka SG, Eric PD, Joyce AD, Donald DL, Mark AY. Effect of antioxidant treatment of streptozotocin-induced diabetic rats on endoneurial blood flow, motor nerve conduction velocity, and vascular reactivity of epineurial arterioles of the sciatic nerve. *Diabetes* 2001. 50: 1927-1937.
- Lee SZ, Park SH, Lee HS. Change in *in vivo* lipid peroxidation and antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetic rats: a time course study. *Kor J Nutr.* 2001. 34: 253-264.
- Lembcke B, Diederich M, Fölsch UR, Creutzfeldt W. Postprandial glycemic control, hormonal effects and carbohydrate malabsorption during long-term administration of the α -glucosidase inhibitor miglitol. *Digestion* 1990. 47: 47-55.
- Lembeck B, Fölsch UR, Creutzfeldt W. Effect of 1-desoxynojirimycin derivatives on small intestinal disaccharidase activities and on active transport *in vitro*. *Digestion* 1985. 31: 120-127.
- Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951. 193: 265.
- Naohisa K, Tomomi O, Keiichi S, Kazutaka K, Makoto M, Naoyuki T. Increase glycosylated Cu, Zn-superoxide dismutase levels in erythrocytes of patients with insulin. *Endocrinol Metabol.* 1992. 74: 1352-1354.
- Park HS, Jang YJ, Choi DS, Namgung MA, Kang SA. Increase oxidative stress in sciatic nerves of streptozotocin-induced diabetic rat: Lack of vitamin C effect. *Diabetes* 1995. 19: 279-286.
- Rhinehart BL, Robinson KM, Liu PS, Payne AJ, Wheatley ME, Wagner SR. Inhibition of intestinal disaccharidases and suppression of bloodglucosidase by a new α -glucohydrolase inhibitor-MDL. *J Pharmacol Exp Ther.* 1987. 241: 915.
- Shim YJ, Doo HK, Ahn SY. Inhibitory effect of aqueous extract from the gall of *Zhus chinensis* on α -glucosidase activity and postprandial bloodglucose. *J Ethnopharmacol.* 2003. 85: 283-287.
- Sin YJ. Chemical composition of gamkug and quality characteristics of gamkugsulgie-dduk. Ph. D dissertation. Catholic University of Daegu. 1999.
- Soll AH, Kahn CR, Neville Jr DM, Roch J. Insulin receptor deficiency in genetic and acquired obesity. *J Clin Invest.* 1975. 56: 769-780.
- Strowing S, Raskin P. Glycemic control and diabetic complications. *Diabetes Care* 1992. 15: 1126.
- Tandon RK, Srivastava LM, Pandey SC. Increased disaccharidase activity in human diabetes. *Am J Clin Nutr.* 1975. 28: 621-625.
- Wolff SP, Jiang ZY, Hunt JV. Protein glycation and oxidative stress in diabetes mellitus. *Free Radic Biol Med.* 1988. 10: 339-352.
- Yoon SH, Robyt YJ. Study of the inhibition of four α amylases by acarbose and its 4^{IV}- α -maltohexaosyl and 4^{IV}- α -maltodecaosyl analogues. *Carbohydrate Res.* 2003. 338: 1969-1980.