

영지, 상황버섯 주정추출물의 항당뇨 효능

조재한¹ · 박혜성¹ · 한재구¹ · 이강호¹ · 전창성^{2*}¹농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부 버섯과²월간버섯 J&K 버섯연구소Anti-diabetic efficacy of the alcoholic extracts in *Ganoderma* sp. and *Phellinus Baumi*Jae-Han Cho¹, Hye-Sung Park¹, Jae-Gu Han¹, Kang-Hyo Lee¹ and Chang-Sung Jhune^{2*}¹Mushroom Research Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA Chungbuk Eumseong 277-09, Korea²J&K Institute, The Korea Mushroom Journal, Gangnam-daero 34, Seoul, Korea

ABSTRACT: This study was carried out to anti-diabetic efficacy of alcoholic extracts in *Ganoderma* species and *Phellinus Baumi*. *Ganoderma* species and *Phellinus Baumi*. showed inhibitory activity of PTP1B, which acts as negative regulator of diabetes. The α -amylase is an important enzyme in the digestion of carbohydrates in the saliva and pancreatic. If inhibition of the enzyme delaying the digestion rate of the carbohydrate can be reduced postprandial rise in blood glucose levels. The results of the tests the active level that showed a similar inhibition α -amylase inhibitory activity and a positive control. *Phellinus Baumi*. showed the inhibitory activity to 89%, Acarbose as positive control. α -glucosidase is an essential enzyme in the digestion and absorption of carbohydrates that break down carbohydrates into simple sugars polysaccharides. The results of the tests the active level that showed a low inhibitory activity. It is thought to be able to complement the shortcomings of conventional anti-diabetic drugs.

KEYWORDS: Anti-diabetic, PTP1B, α -amylase, α -glucosidase

서론

당뇨병은 2000여 년 전부터 알려진 질환으로, 최근 서구화된 식생활로 인한 비만인구의 증가로 당뇨병 환자가 매년 10% 이상 증가하고 있고, 전 세계적으로 3%가 당뇨병으로 고통을 받고 있으며, 그로 인해 삶의 질을 떨어뜨리는 1위 질환으로 알려져 있다. 국내에서도 당뇨병 및 당뇨병 합병증으로 인한 사망률이 전체 사인의 네 번째를

차지하는 것으로 보고되고 있다(Anoja 등, 2002). 당뇨병은 유전이나 대사적 요인 등에 의하여 췌장 β -cell에서의 인슐린 분비장애와 조직에서의 인슐린 저항성 등으로 발생되며 고혈당이 주요 증상이다(Xu 등, 2011). 당뇨병은 발생 원인에 따라 제1형 당뇨병과 제2형 당뇨병으로 나누어지는데, 제1형 당뇨병은 ‘소아 당뇨병’이라고 불리며, 인슐린을 전혀 생산하지 못하는 것이 원인이 되어 발생하는 질환이고, 제2형 당뇨병은 인슐린이 상대적으로 부족한 우리나라에서 최근 급격하게 증가하는 추세이며, 혈당을 낮추는 인슐린 기능이 떨어져 세포가 포도당을 효과적으로 연소하지 못하는 것이 특징이다. 제2형 당뇨병은 식생활의 서구화에 따른 고열량, 고지방, 고단백의 식단, 운동 부족, 스트레스 등 환경적인 요인이 크게 작용하는 것으로 보이지만, 이 외에 특정 유전자의 결합에 의해서도 당뇨병이 생길 수 있으며, 췌장 수술, 감염, 약제에 의해서도 생길 수 있다.

당뇨병은 인슐린 작용(insulin action) 및 인슐린 분비(insulin secretion)의 이상, 췌장 베타세포 양(pancreatic β -cell mass)의 부족 등 다양한 병리 기전에 의해 발생된다. 우리나라 대부분의 성인당뇨병은 비만으로 발생되는

J. Mushrooms 2015 December, 13(4):326-329
<http://dx.doi.org/10.14480/JM.2015.13.4.326>
 Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853
 © The Korean Society of Mushroom Science

*Corresponding author

E-mail : csjhune@naver.com

Tel : +82-2-572-7723, Fax : +82-2-529-6011

Received November 27, 2015

Revised December 26, 2015

Accepted December 28, 2015

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

인슐린 비의존형(제2형 당뇨)환자가 대부분을 차지하는 것으로 보고되고 있고(Lee 등, 1984), 세계적으로 항당뇨제 시장이 확대되고 있는 가운데, 당뇨병의 치료는 대부분 약물치료, 식이요법과 운동요법에 의존하고 있으며, 약물복용에 따른 독성문제와 환자의 내성문제 등 많은 부작용이 대두되고 있다.

현재 시판되고 있는 제품으로는 α -glucosidase 저해제가 시판되고 있으나 이들 약제를 장기간 복용할 경우 일부환자에 있어서 복부팽만감, 구토, 설사 등 부작용이 나타날 수 있어 그 사용이 제한될 수 있다(Braunwald 등, 2011, Matough 등, 2012). 이러한 부작용을 줄이고 식후 혈당강화 효과를 가지는 천연물에 대한 관심이 높아지면서 새로운 α -glucosidase나 α -amylase 저해물질을 찾는 연구가 꾸준히 진행되고 있다. 항당뇨 활성을 가지는 약용버섯에 관한 연구는 미비한 실정이지만, 최근 당뇨병과 항산화 작용이 밀접한 관계가 있는 것으로 알려 지면서 항산화 및 항당뇨 연구가 활발히 수행되고 있다(Jeong 등, 2002, Tsujimoto 등, 2008). 따라서 본 연구에서는 영지와 상황버섯 주정 추출물의 항당뇨 효능을 측정하여, 당뇨병의 치료 및 예방에 쓰일 약제로서의 가치를 확인하고자 수행하였다.

재료 및 방법

공시균주

Table 1. List of *Ganoderma* strains and *Phellinus Baumi* used in this study

ASI No.	Scientific name	Collection year	Country
7002	<i>Ganoderma lucidum</i>	1980	Korea
7004	<i>Ganoderma lucidum</i>	1985	Korea
7013	<i>Ganoderma lucidum</i>	1984	Korea
7061	<i>Ganoderma lobatis</i>	1988	USA
7070	<i>Ganoderma oregonense</i>	1988	Korea
7071	<i>Ganoderma lucidum</i>	1988	Korea
7105	<i>Ganoderma adpersum</i>	1994	Korea
7108	<i>Ganoderma lucidum</i>	1994	Japan
7111	<i>Ganoderma tsugae</i>	1996	Taiwan
7113	<i>Ganoderma tropicum</i>	1996	Taiwan
7137	<i>Ganoderma</i>	2008	Korea
7139	<i>Ganoderma</i>	2008	Korea
7140	<i>Ganoderma</i>	2008	Korea
7143	<i>Ganoderma</i>	2008	Korea
7151	<i>Ganoderma</i>	2011	Korea
7176	<i>Ganoderma</i>	2012	Philippines
7183	<i>Ganoderma</i>	2012	Netherlands
	<i>phellinus Baumi</i>		

실험에 사용된 영지버섯, 상황버섯 자실체는 Table 1과 같이 농촌진흥청 국립원예특작과학원 버섯과에 보존되어 있는 ASI(Agricultural Sciences Institute) 균주 중 17균주와 상황버섯을 충북 음성군에 위치한 버섯과 버섯종합재배동 원목재배사에서 재배하였다. 재배법은 영지 및 상황버섯의 표준재배법에 따라 참나무 원목에 재배하여 각각의 자실체를 수확한 후에 열풍 건조하여 분쇄한 시료를 얻었다. (Table 1)

추출용매별 분석용 시료 제조

수확한 자실체를 열풍 건조하여 건조시료 0.5 g을 각각 시료의 20배(V/W)의 발효주정(95%) 10 ml에 24시간씩 3반복 추출한 후, 원심분리하여 흡입 여과하였고, 여과액을 speed-vacuum(Hanil, Modul 4080C)을 이용하여 회전감압으로 농축하였다.

PTP1B 저해 활성

96-well plate 각 well에 distilled water 30 μ L, 10 \times PTP assay buffer 30 μ L와 10 \times flouoro-phospho-substrate 5 μ L씩 넣은 후 recombinant PTP1B를 첨가하여 상온에서 15분 동안 incubation하고, 각 well에 developing buffer 20 μ L와 developing reagent 5 μ L를 넣은 후 상온에서 15분 동안 incubation하였다. 25 μ L의 stop-solution을 넣은 후 반응을 중단시키고. 형광강도는 여기파장 502 nm, 측정파장 530 nm에서 측정하였다.

% Intensity = (Fluorescence Intensity of Test Sample / Fluorescence Intensity of Solvent Control) \times 100

α -Amylase 억제활성

추출물을 500 μ L(1,000 μ g/mL)에 타액 유래 α -amylase 효소액(5 unit/mL, in 50 mM potassium phosphate buffer, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 500 μ L와 혼합하여 실온에서 5분간 pre-incubation 한 후 기질 용액인 1%starch를 500 μ L 넣어 교반한 후 실온에서 5분간 반응시킨다. 반응 후 3,5-dinitrosalicylic acid(DNS) 용액 1.5 mL를 넣고 100 $^{\circ}$ C에서 5분간 끓여 발색을 시킨 후 냉각하여 D.W. 2.5 mL를 넣고 교반한 뒤 UV spectrophotometer로 550 nm에서 흡광도를 측정하였고, 이때 활성 비교를 위하여 대조구로 Acarbose(Sigma-Aldrich)를 사용하였으며, 효소활성의 저해정도는 다음 식에 의하여 산출하였다.

Inhibition rate (%) =

$$\left(1 - \frac{\text{Abs}_{\text{sample}} - \text{Abs}_{\text{blank}}}{\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{control blank}}}\right) \times 100$$

α -Glucosidase 억제활성

rat intestinal acetone powder(Sigma-Aldrich) 30 mg을

차가운 50 mM potassium phosphate buffer 1 mL와 혼합하여 녹인 후 4°C, 4,000 rpm에서 10분 동안 원심분리 (Hitachi Koki Co., Ltd.) 한 후 중간층을

α -glucosidase의 효소액으로 사용하고, 추출액 100 μ L를 α -glucosidase 효소액 50 μ L를 튜브에 담은 후, 3 mM p -nitrophenyl- α -D-glucopyranoside(p NPG) 100 μ L와 혼합하여 37°C에서 60분 동안 반응시킨 후 microplate reader로 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. Acarbose (Sigma-Aldrich)를 positive control로 사용하였으며, α -glucosidase[^]저해활성은 다음 식에 의하여 산출하였다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Abs}_{\text{sample}} - \text{Abs}_{\text{blank}}}{\text{Abs}_{\text{control}}}\right) \times 100$$

결과 및 고찰

PTP1B 저해 활성

PTP1B는 당뇨병에 있어서 중요한 역할을 담당하고 있으며, 인슐린 시그널의 negative regulator로 제안되었고, PTP1B 활성의 증가는 분비된 인슐린 양을 감소시키고 이로 인해 혈당이 증가하게 되어 당뇨병의 원인이 된다. 이에 PTP1B의 활성을 감소시킴으로써 분비된 인슐린 양을 증가시키게 되고, 혈당이 감소하여 당뇨병을 막을 수 있게 된다. PTP1B 억제활성은 PTP1B fluorometric assay

kit(Abnova)를 사용하여 측정하였다. 그 결과 영지버섯 균주 중 ASI 7061이 상대적 강도가 29%로 가장 높게 PTP1B의 활성을 감소시키는 것을 알 수 있었으며, 상황버섯은 상대적 강도가 54%로 PTP1B의 활성을 감소시켰지만 대체적으로 영지버섯보다는 25%정도 약함을 알 수 있었다.

α -Amylase 억제활성

탄수화물의 α -D-(1,4)-glucan 결합을 분해하는 효소로써 사람이 탄수화물을 섭취하면 이를 분해하기 위해 가장 먼저 작용하는 소화효소가 타액의 α -amylase와 췌장내의 α -amylase로 탄수화물의 소화에서 중요한 효소로 알려져 있다. 이 효소를 저해시킴으로써 탄수화물의 소화 속도를 지연시켜 식후 혈당 상승을 억제할 수 있다. α -amylase 저해제로 사용한 약물로는 글루코베이(glucobay)란 상품명으로 잘 알려진 아카보스(acarbose)를 양성 대조구로 사용하였으며, α -amylase 억제활성정도를 실험으로 확인한 결과 양성대조구와 비슷한 억제활성을 보였으며, 상황버섯은 89%로 Acarbose와 같은 억제 활성을 보였다.

α -Glucosidase 억제활성

α -glucosidase는 소장점막의 미세용모막에 존재하는 효소로써 다당류의 탄수화물을 단당류로 분해하는 탄수화물의 소화와 흡수에 필수적인 효소이며, 이 효소의 활성을

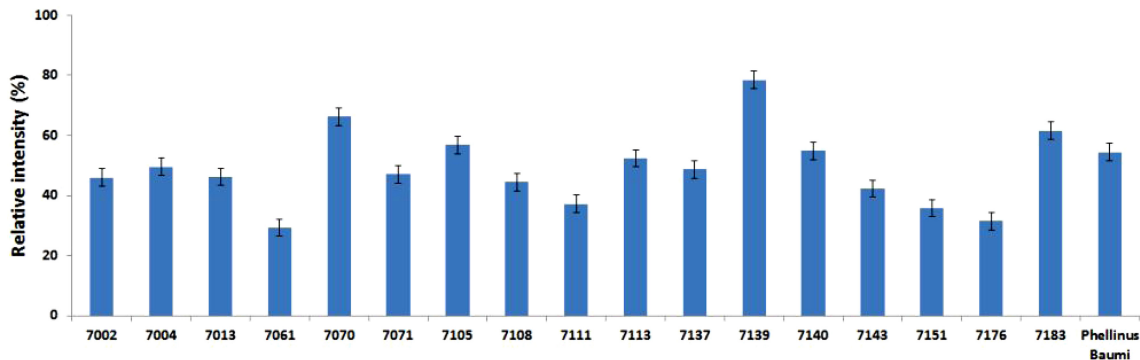


Fig. 1. PTP1B inhibition activity of *Ganoderma* sp. and *Phellinus Baumi*.

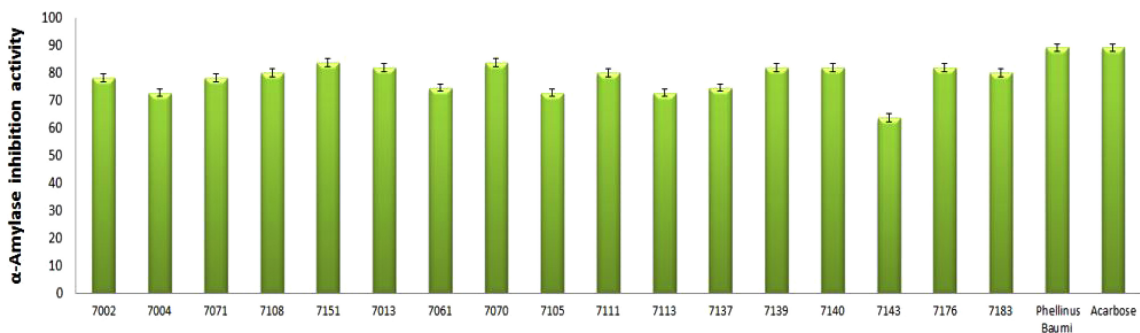


Fig. 2. α Amylase inhibition activity of *Ganoderma* sp. and *Phellinus Baumi*.

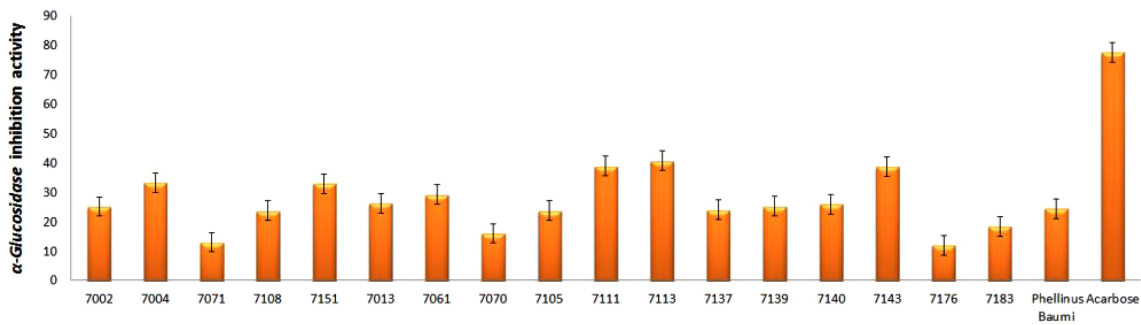


Fig. 3. α -Glucosidase inhibition activity of *Ganoderma* sp. and *Phellinus Baumi*

저해시킴으로서 체내의 포도당 흡수를 억제시켜 식후 혈당상승을 감소시킬 수 있어, α -glucosidase 저해 물질의 탐색은 매우 유용하다고 할 수 있다. 알파 글루코시테이즈 저해제로 사용한 약물로는 글루코베이(glucobay)란 상품명으로 잘 알려진 아카보스(acarbose)를 양성 대조구로 사용을 하였으며, α -glucosidase 억제활성을 실험으로 확인한 결과 양성대조구와는 다르게 낮은 억제 활성을 보였다.

적 요

영지버섯과 상황버섯의 항당뇨 효능을 알아보기 위하여 실험을 수행하였으며, 당뇨병에 negative regulator로 작용하는 PTP1B의 억제 활성을 살펴본 결과 영지버섯과 상황버섯이 억제 활성을 보였으며, 타액의 α -amylase는 타액과 채장내에서 탄수화물의 소화에 있어서 중요한 효소로 작용하며 이 효소를 저해시킴으로서 탄수화물의 소화 속도를 지연시켜 식후 혈당 상승을 억제할 수 있다. α -amylase 억제활성정도를 실험으로 확인한 결과 양성대조구와 비슷한 억제활성을 보였으며, 상황버섯은 89%로 Acarbose와 같은 억제 활성을 보였다. α -glucosidase는 다당류의 탄수화물을 단당류로 분해하는 탄수화물의 소화와 흡수에 필수적인 효소로 억제활성을 실험으로 확인한 결과 양성대조구와는 다르게 낮은 억제 활성을 보였다. 두 가지 소화효소에 모두 억제활성을 보이는 기존제품의 단점을 보완할 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 말씀

이 연구는 농촌진흥청 기관고유연구사업인 ‘약용버섯의 특성 및 기능성평가’ 과제에서 시행한 연구결과입니다. (과제번호 : PJ008523)

References

- Anoja, S. A., Zhou, Y. P., Xie, J. T., Wu, J. A., Zhang, L., Dey, L., Pugh, W., Rue, P. A., Polonsky, K. S. and Yuan, C. S. 2002. Antidiabetic effect of Panax ginseng berry extract and the identification of an effective component. *Diabetes* 51, 1851-1858.
- Braunwald, E., Fauci, A. S., Kasper, D. L., Haase, S. L., Longo, D. L. and Jameson, J. L. 2011. Harrison's Principles of Internal Medicine. 15th ed, McGraw-Hill, New York, NY, USA. pp. 2109-2137.
- Jeong, I.-K., Chung, J.-H., Min, Y.-K., Lee, M.-S., Lee, M.-K., Kim, K.-W., Joong, Y.-E., Park, J.-Y., Hong, S.-K. and Lee, K.-U. 2002. Comparative study about effects of acarbose and voglibose in type-2 diabetic patients. *J Korean Diabetes* 26, 134-145.
- Lee, K. W., Shon, B. H., Kang, S. K., Park, D. H., Min, B. S. and Song, H. Y. 1984. Epidemiologic study for diabetes in 1821. *Koreans. Diabetes* 8, 5-14.
- Matough, F. A., Budin, S. B., Hamid, Z. A., Alwahaibi, N. and Mohamed, J. 2012. The role of oxidative stress and antioxidant in diabetic complications. *Squ Med J* 12, 5-18.
- Tsujimoto, T., Shioyama, E., Moriya, K., Kawaratani, H., Shirai, Y., Toyohara, M., Mitoro, A., Yamao, J., Fujii, H. and Fukui, H. 2008. Pneumatosis cytosides intestinalis following alpha-glucosidase inhibitor treatment: a case report and review of the literature. *World J Gastroenterol* 14, 6087-6092.
- Xu, M.-L., Wang, L., Xu, G.-F. and Wang, M.-H. 2011. Antidiabetes and angiotensin converting enzyme inhibitory activity of *Sonchus asper* (L) Hill extract. *Korean J Pharmacogn* 42, 61-67.