

db/db 마우스에서 상엽 에탄올가용분획의 항당뇨활성

류정화 · 서성훈 · 정성현*

경희대학교 약학대학

(Received August 26, 1998)

Antidiabetic Activity of Mori Folium Ethanol Soluble Fraction in db/db mice

Jeong Wha Ryu, Seong Hoon Seo and Sung Hyun Chung

College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

Abstract—Antidiabetic activity of Mori folium ethanol soluble fraction (MFESF) was examined in db/db mice, which is a spontaneously hyperglycemic, hyperinsulinemic and obese animal model. 500 and 1000 mg/kg dose for MFESF (designated by SY 500 and SY 1000, respectively) and 5 mg/kg dose for acarbose were administered for 6 weeks. Body weight gain, fasting and non-fasting serum glucose, glycosylated hemoglobin and triglyceride were all reduced dose dependently when compared between db/db control group and MFESF treated group. At 11th and 13th week after birth, MFESF increased an insulin secretion which may result in lowering serum glucose level. Total activities of sucrase and maltase in SY 500 treated group were decreased when compared to db/db control. On the other hand, those in SY 1000 and acarbose treated groups were increased. This result may suggest that proteins for sucrase and maltase were compensatorily induced due to significant inhibition of glycosidase-catalyzed reaction at doses administered in this study.

Keywords □ Mori folium, db/db mouse, glycosylated hemoglobin, triglyceride, insulin, sucrase, maltase, glycosidase.

당뇨병은 현대의학으로 아직 근원적인 치료는 불가능하고 다만 정상범위의 혈당을 가급적 유지하도록 하는 것이 최선의 치료방법으로 알려져 있다. 현재 당뇨병의 치료방법으로 식사요법, 운동요법과 함께 약물요법이 시도되고 있으며 우리나라의 경우 상당수의 환자들이 민간요법과 한약을 부분별하게 사용하고 있다.¹⁾ 특히 민간요법은 개인적인 경험에 의해 그 효과가 구전되어 오는 것으로 대부분 과학적인 근거가 희박하고 과량 복용으로 인한 독성이나 제조공정 및 보관상의 오염, 변질의 위험이 높다. 따라서 민간요법이나 한약제에 대한 과학적인 접근이 요구된다.

상엽(뽕나무 잎)은 본초강목 등의 동양의약서에 상백피, 누에고치 등과 함께 消渴症(지금의 당뇨)에 치료효

과가 있음이 기록되어 있다.²⁾ 정성현 등은 상엽수층의 메탄올가용분획이 정상마우스에서 소장내 glycosidase 활성을 억제하여 전분, 맥아당 혹은 서당 부하시 혈당상승에 저해활성이 탁월함을 밝힌바 있고,³⁾ 최근에는 고탄수화물식을 장기간 마우스에 투여한 동물 모델에서 상엽과 누에분말 추출액이 체중, 혈중 포도당 및 인슐린 량 그리고 소장내 glycosidase의 부위별 활성에 미치는 영향을 보고한 바 있다.⁴⁾

db/db 마우스(C57BL/KsJ)는 시상하부에 위치하는 비만유전자(leptin)의 수용체인 Ob-Ra가 mutation 되어 시상하부에서 leptin의 신호전달과정에 결함이 생겨 결과 과도한 먹이섭취, 지방축적이 일어나 제2형 당뇨와 유사한 형태의 비만증, 고인슐린혈증, 고혈당 등을 특징적으로 나타내는 동물이다.⁵⁾ 본 연구에서는 사람의 제2형 당뇨와 아주 유사한 형태의 동물모델인 db/db 마우스를 이용하여 상엽 에탄올가용분획을 6주간 장기

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-961-0373 (팩스) 02-966-3885

투여한 후 체중과 식이섭취량, 혈중 포도당과 인슐린량, 혈중 혈색소와 중성지방 그리고 소장내 glycosidase 활성으로 sucrase와 maltase에 대해 부위별로 효소 활성을 측정하였다.

실험재료 및 방법

시료 - 농업진흥청 잠사곤충연구소에서 제공받은 뽕나무(*Morus bombycis*)의 분말을 환류냉각기를 장치하여 수욕상에서 증류수로 3시간씩 3회 추출한 후 온시여과하고 여액을 모아 rotary evaporator를 사용하여 감압 건조하여 물추출물을 얻었다. 물 추출물 일정량을 증류수에 용해시킨 다음 증류수 부피의 10배에 해당하는 에탄올을 가하여 4°C에서 24시간 섞어준 후 여과하고 여액을 감압 건조후 동결 건조하여 에탄올 가용분획을 얻어 본 실험에 사용하였다. 이때 상업 분말로부터의 수득율은 6.8% 이었다.

시약 - Glucose, maltose, sucrose, PIPES, Trinder kit, GPO-Trinder kit, glycated hemoglobin HbA1 kit 등은 Sigma사로부터 구입하였으며, 인슐린 radioimmuniassay kit는 EIKEN사로부터 구입하였고 Bradford 시약(Coomassie-Brilliant Blue G-250 dye)은 Bio-Rad사에서 구입하여 사용하였다. 그의 시약은 시판 특급 혹은 일급시약을 사용하였다.

실험기기 - 본 실험에 사용한 기기 및 모델명은 다음과 같다. Centrifuge(CF-6000, Vision, Korea), Freeze dryer(FD-5N, EYELA, Japan), Homogenizer(Mazala A-1100, EYELA, Japan), Refrigerated bath circulator(RC-10V, JEIO TECH Co., Korea), Rotary evaporator(NE-1, EYELA, Japan), Shaking water bath(NTS-2000, EYELA, Japan), UV spectrophotometer(U-3210, Hitachi, Japan).

실험동물 - 7 주령의 웅성 C57BL/KsJ db/db 마우스(Jackson Laboratory, USA)를 4군으로 나누어 증류수 투여군을 db/db 대조군, 체중/kg당 상업 에탄올 가용분획 500, 1000 mg 투여군을 각각 SY 500, SY 1000군, acarbose 5 mg/kg 투여군을 acarbose군으로 설정하였고, 정상군으로 7 주령의 웅성 C57BL/KsJ +/+ 마우스를 사용하였으며 lean군으로 명명하였다. 약물 투여기간은 7 주령에서 13 주령까지의 6주간으로 증류수에 시료를 용해시켜 음용수로 공급하였다.

매주 1회 공복, 비공복시의 혈액중 포도당 농도와 체

중을 측정하였고 시료투여 마지막주인 13주에는 공복시의 혈액을 채취하여 혈액중 포도당, 인슐린, 당화 혈색소, 중성지방의 농도를 측정하였으며, 척추 분리법으로 마우스를 희생시킨 후 소장을 절취하여 -70°C 냉동고에 보관한 후 glycosidase 활성 측정을 위해 사용하였다.

공복시의 체중측정과 혈액 채취는 13 시간(PM 9:00~AM 10:00) 절식시킨 후 오전 10시에 실시하였고, 비공복시의 체중 측정과 혈액 채취는 오후 2시에 실시하였다. 혈액중 포도당 농도 측정을 위한 혈액은 마취 없이 안와정맥을 통해 채취한 후 5000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 혈장을 사용하였다.

생화학적 분석

혈액중 포도당 농도 측정 - 안와정맥에서 얻은 혈액을 5000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 혈장내 포도당 농도를 glucose-oxidase 반응에 기초한 Trinder법(Sigma diagnostic glucose reagent)⁶⁾으로 측정하였다.

혈액중 인슐린 농도 측정 - 11 주령과 13 주령 마우스의 안와정맥에서 얻은 혈액을 5000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 혈장내 인슐린농도를 방사면역법(radioimmunoassay)⁷⁾으로 측정하였다.

혈액중 당화 혈색소 농도 측정 - 13주의 마우스로부터 공복시의 혈액을 채취한 후 cation-exchange chromatography법(Sigma glycated hemoglobin HbA1 kit)⁸⁾으로 측정하였다.

혈액중 중성지방 농도 측정 - 13주의 마우스로부터 공복시의 혈액을 채취한 후 5000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 혈장에서 중성지방을 McGowan 등의 방법⁹⁾이 변형된 변법(Sigma GPO-Trinder reagent)을 사용하여 측정하였다.

소장의 glycosidase 활성 검색 - 13주의 마우스에서 절취한 소장을 얼음 위에서 생리식염수로 세척하고 십이지장 부분을 같은 길이로 세 등분하여 각각을 proximal, middle, distal로 구분하여 각 부분별로 glycosidase 효소액을 제조하였다. 각 군별, 각 부분별 효소액을 기질과 반응시켜 glycosidase의 효소 활성을 측정하였고 이때 단백질량은 Bradford법¹⁰⁾으로 측정하여 단위 단백질당 glycosidase의 specific activity를 계산하였다. 소장의 glycosidase 효소액 제조와 활성 측정¹¹⁾은 아래의 방법으로 실시하였다.

등분한 소장을 생리식염수로 세척한 후 균질화 완충

액(0.5 M NaCl, 0.5 M KCl, 5 mM EDTA, pH 7.0)을 가하여 polytron homogenizer를 이용하여 균질화한 후 20,000 g에서 30 분간 원심분리하여 얻은 침전물에 다시 균질화 완충액을 가하여 원심분리하였다. 마지막에 얻은 침전물에 생리식염수를 가한 후 3,000 rpm에서 40 분간 원심분리하여 얻은 상등액을 효소액으로 사용하였다.

50 mM PIPES buffer(pH 6.8)에서 각 효소에 해당되는 이당류(maltose, sucrose)를 기질로 하여 효소액과 함께 37°C에서 30분간 반응시켰다(반응액중 최종 기질 농도 30 mM, 총 부피 200 µl). 효소반응 결과 유리된 D-glucose는 Trinder법으로 측정하였다.

통계처리 - 모든 실험결과의 통계처리는 SAS 통계 program을 사용하여 Student's t-test로 검증하였으며 이 때 유의수준은 p<0.1, p<0.05 또는 p<0.01로 하였다.

결과 및 고찰

식이 섭취량 및 체중

하루 평균 식이 섭취량은 lean, db/db 대조군, SY 500, SY 1000, acarbose군의 순으로 각각 3.58, 6.94, 5.87, 5.40, 6.27 g이었다. db 대조군은 lean에 비해 두 배가량 먹이 섭취량이 많았으며 시료투여군에서는 용량의존적으로 먹이 섭취량이 감소하였다. Acarbose군 역시 약간의 감소를 나타내었다.

6주간의 시료 투여후 체중의 변화를 살펴보면 lean, db/db 대조군, SY 500, SY 1000, acarbose군의 순으로 각각 4.1, 14.4, 12.4, 13.5, 15.1 g 증가하여 시료 투여군에서 체중의 증가가 db 대조군보다 감소된 경향을 나타내었다. 체중 증가 양상을 살펴보면 db 대조군은 7주에서 9 주까지 평균 10 g 정도 급격히 체중이 증가한 후 유지되는 경향을 나타낸 반면, 시료투여군은 전체 실험기간을 통해 점진적으로 증가하였다(Table I). Acarbose는 투여용량에 따라 식이 섭취량이 증가되거나 혹은 감소를 나타내는 등 실험동물에 따라 상반된 결과를 나타낸 반면 체중은 식이 섭취량에 관계없이 감소를 나타내는 것으로 보고되었으나,¹²⁾ 본 실험에서 사용한 용량에서 acarbose군의 체중은 db 대조군과 차이를 보이지 않았다.

포도당 농도

공복시 혈당은 db 대조군의 경우 체중의 변화와 같이 7주에서 9주 사이에 급격한 증가 현상을 보였으며 9주에서 13주까지는 혈당이 350~450 mg/dl 수준으로 유지되는 경향을 나타내었다. 시료투여군에서는 투여 2주째 혈당강하 효과가 나타나기 시작하여 마지막 주인

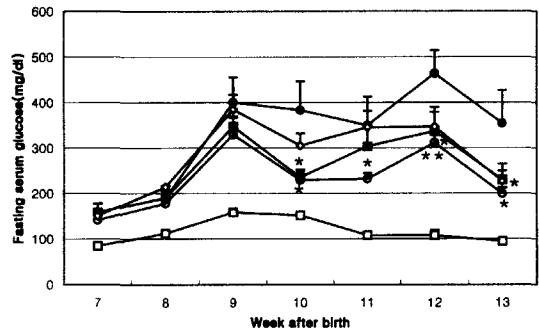


Fig. 1 - Effects of ethanol soluble fraction of Mori Folium and acarbose on fasting serum glucose level in db/db mice. Fasting serum glucose level was measured by weekly. All data are mean ± SE. Open square, closed circle, closed square, open circle and open diamond represent lean, db/db, SY 500, SY 1000, acarbose, respectively. SY 500 and SY 1000 designate groups administered with 500 and 1000 mg/kg of Mori Folium ethanol soluble fraction, respectively. * p<0.1, ** p<0.05 : significantly different from the db/db control.

Table I - Effects of ethanol soluble fraction of Mori Folium and acarbose on fasting body weight in db/db mice

Group	Body weight (g)						
	7th	8th	9th	10th	11th	12th	13th
Lean	22.2±0.3	21.5±0.3	23.5±0.3	23.3±0.4	24.7±0.3	25.3±0.2	26.3±0.3
db/db	36.4±0.3	39.4±0.4	46.8±0.4	46.5±0.5	47.4±0.7	49.4±0.8	50.8±1.0
SY 500	35.5±1.5	38.5±1.4	42.4±1.3	44.1±1.2	45.4±1.3	46.0±1.1**	47.9±0.1*
SY 1000	35.3±0.4	38.1±0.4**	41.8±0.4**	43.9±0.5**	45.6±0.5*	47.3±0.5*	48.8±0.1*
Acarbose	35.0±0.5	38.7±0.6	43.5±0.6	45.2±0.6	47.0±0.6	48.2±0.5	50.1±0.6

Fasting body weight was measured by weekly. All data are mean ± SE. * p<0.1, ** p<0.05 : significantly different from the db/db control.

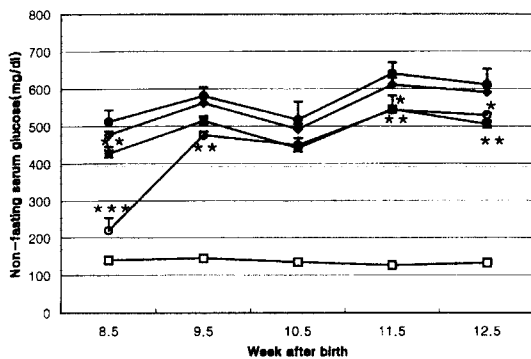


Fig. 2—Effects of ethanol soluble fraction of Mori Folium and acarbose on non-fasting serum glucose level in db/db mice. Non fasting serum glucose level was measured by weekly. All data are mean±SE. Open square, closed circle, closed square, open circle and open diamond represent lean, db/db, SY 500, SY 1000, acarbose, respectively. SY 500 and SY 1000 designate groups administered with 500 and 1000 mg/kg of Mori Folium ethanol soluble fraction, respectively.

*p<0.1, **p<0.05, ***p<0.01: significantly different from the db/db control.

13주의 공복시 혈당은 lean, db/db 대조군, SY 500, SY 1000, acarbose군의 순으로 95, 354, 230, 199, 227 mg/dl로서 시료 투여군에서 용량 의존적으로 혈당 강하 활성이 나타났고, acarbose군의 경우 10주부터 혈당강하 효과가 나타나기 시작하여 투여 6주(13th)에는 db 대조군보다 130 mg/dl 정도 낮은 혈당치를 보였다(Fig. 1).

비공복시 혈당은 lean, db 대조군 모두 실험기간 동안 유의적인 차이를 나타내지 않았으며, 시료 투여군에서는 10일 경과후(Fig. 2에서 생후 8.5주) SY 500, SY 1000, acarbose군에서 db 대조군보다 평균 102, 219, 43 mg/dl, 17 일 경과 후(생후 9.5주)에는 각각 37, 142, 25 mg/dl 감소하였고 이 차이는 실험기간의 끝까지 비슷하게 유지되었으나 상업 에탄올 가용분획의 용량에 의한 차이는 투여 2주후 부터는 관찰되지 않았다(Fig. 2).

본 실험 결과를 분석해 보면 비공복시 혈당의 경우 시료를 투여한 후 빠르게 혈당이 낮아진 반면 공복시 혈당은 4주이상의 시간이 경과한 후에 그룹간 혈당에 유의한 차이가 관찰되었다. 이러한 결과는 glycosidase 저해제를 비만한 당뇨병환자(혹은 쥐)에 투여하였을 경우 투여 초기에는 식후 혈당이 감소하지만 장기적으로 보

Table II—Effects of ethanol soluble fraction of Mori Folium and acarbose on fasting serum insulin level in db/db mice

Group	Fasting serum insulin level (μ U/ml)	
	11th	13th
Lean	17.9±3.5	26.4±11.1
db/db	87.0±3.1	91.4±12.1
SY 500	148.5±29.0*	150.2±5.0**
SY 1000	230.8±45.8**	113.5±11.6*
Acarbose	161.6±37.3*	103.6±12.3

Fasting serum insulin level was measured on the 11th and 13th week after birth. All data are mean±SE.

*p<0.1, **p<0.05: significantly different from the db/db control.

면 공복시 혈당도 감소하는 임상결과와 일치한다. 상업 혹은 아카보스를 6주간 투여하였을 때 공복시 혈당의 감소는 6주후 당화혈색소의 감소와도 일치되는 결과라 할 수 있다.

인슐린 분비

본 실험에서 시료투여후 4주(생후 11주)의 공복시 혈액중의 인슐린 농도를 측정된 결과, db 대조군은 lean군에 비해 5배 정도 높은 인슐린 농도를 나타내었고 SY 500, 1000군은 db 대조군에 비하여 1.7배, 2.6배, acarbose군은 1.8배 증가된 인슐린치를 나타내었다. 시료투여후 6주(생후 13주)에는 4주에 비해 lean군의 인슐린 농도는 증가하고 db 마우스에서는 비슷한 수치를 나타내었으며(이때 db 대조군은 lean군에 비해 3.5배), SY 500, 1000군은 db 대조군에 비하여 1.6, 1.2배, acarbose군은 1.1배로 측정되었다(Table II). 곧 시료투여후 4주에는 acarbose뿐만 아니라 상업 에탄올 가용분획의 경우도 용량에 비례하여 인슐린의 분비를 증가시켰고 6주에는 시료의 경우 용량에 상관없이 인슐린의 분비를 증가시키는 활성을 보여주었다.

Kimura 등은 상업에서 분리한 fagomine(1,2-di-deoxynojirimycin)이 3 mM 농도에서 인슐린의 분비를 4배 이상 증가시켰다는 보고를 한 바 있다.¹³⁾ Acarbose의 경우는 소장내 α -glycosidase 활성을 억제하여 식후 혈당상승을 저해하는 약물이기 때문에, 이 약물을 투여하면 식후 혈당이 감소하고 결과 인슐린분비가 감소하는 경향¹⁴⁾이 있는 반면 db/db 마우스를 이용한 본 실험에서는 오히려 인슐린분비를 증가시키는 결과를 보여주었다. Acarbose 투여후 혈당치와 인슐린치의

변동 양상은 정상인과 당뇨병환자에서 다른 경향을 나타내고 있으므로 본 연구의 결과도 당뇨 동물모델에 따른 결과의 차이라고 보여진다.

db/db 마우스는 특징적으로 생후 6~7주에 심한 고인슐린혈증을 보여 이 결과 급격한 체중증가와 지방축적을 일으켜 인슐린저항성을 나타낸다. 그 이후부터는 췌장 베타세포의 지속적인 파괴로 인해 혈중 인슐린치는 서서히 감소하여 생후 10개월쯤에 이르러 심한 케톤산혈증으로 인해 죽게된다.¹⁵⁾ 본 실험에서 인슐린치를 측정할 시기인 11주와 13주의 db/db 마우스는 혈당치와 체중은 계속 증가하면서 인슐린치는 지속적으로 떨어지는 상대적으로 인슐린이 부족한 시기이다. 상업 에탄올 가용분획은 베타세포의 손상을 차단시켜 인슐린분비능을 보존하는 활성을 나타내어 결과 혈중 인슐린치를 증가시키고 혈당치를 감소시킨 것으로 해석이 가능하다. 췌장 β cell line(HIT-T15, RINm5F)과 췌장에서 분리한 소도세포를 이용하여 앞으로 상업 에탄올 가용분획이 췌장 베타세포를 보호하는 활성이 있는지를 규명할 계획이다.

당화혈색소 농도

당뇨병 환자의 경우 고혈당이 상당기간 지속됨으로서 효소에 의해 매개되지 않는 단백질의 비특이적 당화반응이 촉진되며 당뇨병성 미세혈관 합병증이 발병하게 된다. 혈색소 또한 비특이적으로 당화반응을 받게 되므로 혈액중 당화혈색소 수치는 당뇨병 환자에 있어서 장기간 혈당 조절의 지표로 사용된다. 당뇨병성 망막증의 경우 당화혈색소가 혈액중 포도당보다 제2형 당뇨 환자의 망막병증 발병과 진행에 더 의미있는 지표로서, 당화혈색소의 수치가 9%에서 11%로 2% 증가하면 망막병증의 위험이 두배 증가함이 보고된 바 있다.¹⁶⁾ 따라서 당화혈색소의 수치는 약물치료 효과를 판정하는데 매우 중요한 자료가 된다.

본 실험에서 시료 투여 마지막주에 당화혈색소를 측정해본 결과 lean, db/db 대조군, SY 500, SY 1000, acarbose군의 순으로 각각 7.0 ± 0.2 , 11.4 ± 0.9 , 10.2 ± 0.4 , 9.1 ± 0.1 , $10.8 \pm 0.9\%$ 로 시료투여군은 lean군보다는 높지만 db 대조군과 비교시 용량 의존적으로 감소함을 관찰하였다(Fig. 3). 이는 시료투여군에서 용량 의존적으로 혈당이 감소한 결과와도 일치하는 것으로 지속적으로 혈당이 조절되었음을 시사한다. 더욱이 상업에는 myoinositol이 상당량 존재하므로¹⁷⁾ 상업 에탄

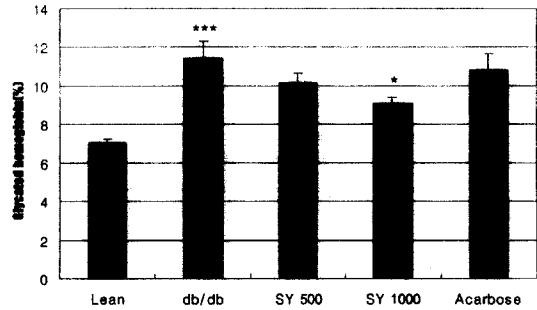


Fig. 3 — Effects of ethanol soluble fraction of Mori Folium and acarbose on blood glycated hemoglobin level in db/db mice. At the completion of the experiment (13th week after birth), blood glycated hemoglobin level was measured. All data are mean \pm SE.

*** $p < 0.01$: significantly different from the lean control. * $p < 0.1$: significantly different from the db/db control.

올가용분획의 투여는 고혈당의 조절과 함께 Na^+ , K^+ -ATPase 활성을 증가 또는 개선시켜 당뇨병성 망막병증을 비롯한 당뇨병성 미세혈관 합병증의 발병을 예방하거나 진행을 지연시켜줄 수 있을 것으로 기대된다.

중성지방 농도

제2형 당뇨병환자들에서 볼 수 있는 지질대사 이상으로 고지혈증, 특히 고중성지방혈증이 가장 높은 빈도로 나타나며¹⁸⁾ 이러한 고지혈증은 그 자체가 죽상 동맥경화를 유발하거나 진행을 가속화시킨다. 고중성지방혈증은 간에서 초저밀도지질단백(very low density lipoprotein, VLDL)의 합성이 증가되거나 lipoprotein lipase의 활성감소로 인해 발병한다. 제2형 당뇨에서 저밀도지질단백(low density lipoprotein, LDL)은 정상농도를 유지하나 VLDL의 합성이 증가하는 IIb형 고지혈증이 일반적이며 이들 환자에서 혈중 유리 지방산의 증가는 인슐린 저항성을 조장하여 혈당의 조절을 악화시킬 수 있다.¹⁹⁾

본 실험에서 시료 투여 마지막주에 혈액 중 중성지방 농도를 측정해본 결과 lean, db/db 대조군, SY 500, SY 1000, acarbose군의 순으로 각각 81 ± 3.9 , 249 ± 43.4 , 203 ± 21.6 , 192 ± 19.0 , 211.5 ± 12.4 mg/dl로서 lean군에 비해 db 대조군은 3배 이상 증가되었고, SY 1000군은 db 대조군에 비해 22.9% 유의적으로 감소함을 관찰하였다(Fig. 4).

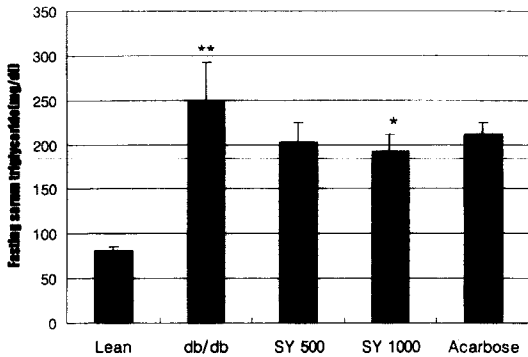


Fig. 4—Effects of ethanol soluble fraction of Mori Folium and acarbose on fasting serum triglyceride level in db/db mice. At the completion of the experiment (13th week after birth), fasting serum triglyceride level was measured. All data are mean \pm SE.

** $p < 0.05$: significantly different from the lean control. * $p < 0.1$: significantly different from the db/db control.

소장 glycosidase 활성

상엽 물추출액이 정상마우스에서 소장내 α -glycosidase 저해활성이 있음을 시험관내와 생체내 실험을 통하여 밝힌바 있는 본 연구실의 연구결과를 근거로 하여 본 실험에서는 시료를 6주간 장기투여후 소장내 α -glycosidase 효소활성의 변화 양상을 소장 부위별로 살펴 보았다.

Table III은 그룹간 sucrase 활성을 비교한 결과이다. db 대조군에서 lean군보다 세 부분 모두 sucrase 효소 활성이 유도되었고(proximal 2배, middle 3배, distal 2.5배), 각 부분간 효소 활성의 크기는 proximal > mid-

Table III—Effects of ethanol soluble fraction of Mori Folium and acarbose on intestinal sucrase activity in db/db mice

Groups	Sucrase activity		
	Proximal	Middle	Distal
Lean	444.7	251.3	180.7
db/db	847.0	732.0	452.7
SY 500	696.3	613.7	484.7
SY 1000	891.7	718.3	574.0
Acarbose	950.7	847.0	341.0

At the completion of the experiment, animals were sacrificed. Immediately the entire jejunioleum was removed and divided into three segments of equal length. Intestinal segment of individual mouse in each group was pooled, homogenated and its sucrase activity was determined by nmoles of released glucose per mg protein in one minute.

dle > distal의 순이었다. 이러한 결과는 db 대조군의 경우 lean에 비해 소장을 통해 흡수되는 포도당의 총량이 2배 이상임을 의미하며 그 결과 혈중 포도당치가 증가하고 과잉의 포도당으로 인해 db 대조군에서 과도한 지방 축적이 이루어짐을 시사한다. SY 500군의 경우 proximal, middle 부분에서는 db 대조군보다 감소하였으나 SY 1000군에서는 db 대조군과 거의 비슷하였고, acarbose군의 경우는 오히려 증가하는 경향이 관찰되었다. Distal 부분의 sucrase 활성은 SY 500, SY 1000군에서 모두 증가하였고 acarbose군에서는 proximal, middle 부분과 달리 오히려 감소하였다. 즉 시료 투여군의 경우 상대적으로 sucrase의 활성이 큰 proximal, middle 부분에서는 감소 또는 유지되고 활성이 작은 distal 부분에서는 효소활성이 증가하였다. 반면, acarbose군은 proximal, middle 부분에서는 증가하고 활성이 작은 distal 부분에서는 감소하였다.

Table IV는 그룹간 maltase 활성을 비교한 결과이다. db 대조군이 lean군보다 proximal, middle, distal 전부분에서 2배 정도 maltase 활성이 증가되었고 sucrase와는 반대로 각 부분의 활성의 크기는 proximal < middle < distal의 순이었다. SY 500군은 db 대조군과 비교시 전 부분에서 감소된 반면 SY 1000군은 proximal, middle 부분에서는 증가하고 distal 부분에서는 감소하는 경향을 나타내었다. Acarbose군의 경우는 세 부분에서 전반적으로 maltase 활성이 증가되었는데, 특히 distal 부분에서는 db 대조군보다 2배 가까이 증가하였다.

그룹간 glycosidase 활성을 비교한 Table III과 IV를

Table IV—Effects of ethanol soluble fraction of Mori Folium and acarbose on intestinal maltase activity in db/db mice

Groups	Maltase activity		
	Proximal	Middle	Distal
Lean	7.59	7.59	7.94
db/db	12.46	13.20	15.92
SY 500	11.85	11.86	9.61
SY 1000	14.40	17.22	11.87
Acarbose	14.13	16.98	25.41

At the completion of the experiment, animals were sacrificed. Immediately the entire jejunioleum was removed and divided into three segments of equal length. Intestinal segment of individual mouse in each group was pooled, homogenated and its maltase activity was determined by μ moles of released glucose per mg protein in one minute.

종합해 보면, db 대조군은 lean 군에 비해 소장 전부분에 걸쳐 효소활성이 유도되었다. 시료투여군의 경우 SY 500군에서는 총 효소활성(proximal에서 distal까지 합친)이 db 대조군에 비해 감소하였다. 곧 sucrase와 maltase의 활성은 db 대조군과 SY 500군에서 각각 총 효소활성이 2,031(단위는 nmoles of glucose produced/mg protein/min)에서 1,794로, 그리고 41,580에서 33,320으로 8,260이 감소하였다. 이 결과는 상업 에탄올 가용분획 500 mg/kg 용량에서 소장내 glycosidase 효소활성이 지속적으로 저해를 받고 있음을 의미한다. 한편 SY 1000군과 acarbose군에서는 각 효소의 총 활성이 오히려 db 대조군에 비해 증가되는 경향을 보여 주었다. 이 용량에서 glycosidase에 대한 강한 저해작용의 결과 보상적으로 효소 단백질의 발현이 증가된 것이 아닌가 추측된다.

감사의 말씀

본 연구는 1998년도 "경희동서약학연구소" 지원 교비 연구비에 의해 수행된 것으로 이에 감사를 드립니다.

문헌

- 1) Nam, M. S., Kim, K. R., Cho, J. H., Lee, K. M., Park, H. Y., Lee, E. J., Lim, S. K., Lee, H. C. and Huh, K. B. : A study on the folk remedies by the questionnaires in Korean diabetic patients. *Diabetes* **18**(3), 242 (1994).
- 2) Li, S. Z. : Compendium of Materia Media, People's Medical Publishing House, Beijing, pp. 2067 (1978).
- 3) Lee, J. S., Choi, M. H. and Chung, S. H. : Blood glucose-lowering effects of Mori Folium. *Yakhak Hoeji* **39**(4), 367 (1995).
- 4) Kim, M. S., Choue, R. W., Chung, S. H. and Koo, S. J. : Blood glucose lowering effects of mulberry leaves and silkworm extracts on mice fed with high-carbohydrate diet. *Korean J Nutrition* **31**(2), 117 (1998).
- 5) Weigle, D. S. and Kuijper, J. L. : Mouse models of human obesity. *Science & Medicine*, May/June, 38 (1997).
- 6) Trinder, P. : Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann. Clin. Biochem.* **6**, 24 (1969).
- 7) Johnstone, A. and Thorpe, R. : Immunoassays in Immunochemistry in Practice 2nd., Blackwell Scientific Publications, London, pp. 246 (1987).
- 8) Schifreen, R. S., Hickingbotham, M. J., Bowers, G. N. : Accuracy, precision, and stability in measurement of hemoglobin A1c by "high performance" cation-exchange chromatography. *Clin. Chem.* **26**, 466 (1980).
- 9) McGowan, M. W., Artiss, J. D., Strandbergh, D. R. and Zak, B. : A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin. Chem.* **29**, 538 (1983).
- 10) Bradford, M. : A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248 (1976).
- 11) Rhinehart, B. L., Robinson, K. M., LiU, P. S., Payne, A. J., Whetley, M. E. and Wagner, S. R. : Inhibition of intestinal disaccharidase and suppression of blood glucose by a new α -glycosidase inhibitor-MDL25,637. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **241**(3), 915 (1987).
- 12) Marchand-Brustel, Y. Le., Rochet, N., Gremeaux, T., Marot, I. and Van Obberghem, E. : Effect of an α -glycosidase inhibitor on experimentally induced obesity in mice. *Diabetologia* **33**, 24 (1990).
- 13) Kimura, M., Chen, F., Nakashimqa, N., Kimura, I., Asano, N. and Koya, S. : Antihyperglycemic effect of N-containing sugars delivered from Mulberry leaves in streptozotocin-induced diabetic mice. *Journal of Traditional Medicine* **12**, 214 (1995).
- 14) Chung, S. H., Kim, M. S. and Chous, R. W. : Effect of Mori Folium column fraction on intestinal α -glycosidase activity in mice administered with a high carbohydrate-containing diet. *Yakhak Hoeji* **41**(4), 484 (1997).
- 15) Shafir, E. : Animal models of non-insulin-dependent diabetes. *Diab. Metab. Rev.* **8**(3), 179 (1992).
- 16) Klein, R., Klein, B., Moss, S., Davis, M. D., Demetts, D. L. : Glycosylated hemoglobin pre-

- dicts the incidence and progression of diabetic retinopathy. *JAMA* **260**, 2864 (1988).
- 17) Chung, S. H., Choi, M. H. and Ryu, J. W. : Rat intestinal α -glycosidase inhibitory activities of mulberry leaves (*Folium Mori*) water fraction. *The Kyung Hee J. of Genet & Mol. Biol.* **8**, 38 (1996).
- 18) Fredrick, L. D. : Hyperlipidemia in diabetes mellitus. *Diab. Metab. Rev.* **6**, 41 (1990).
- 19) Kissebah, A. H., Alfrasis, S., Evans, D. J. and Adams, P. W. : Integrated regulation of very-low-density lipoprotein triglycerides and apolipoprotein B kinetic in NIDDM. *Diabetes* **31**, 217 (1992).