

식후 혈당강하작용에 대한 매화지의류 추출물의 효과

이 경 애 · 정 혜 영*

한국식품개발연구원, *경원전문대학 가정과

Inhibitory Effect of Extracts from *Parmelia austrosinensis* and *P. praesorediosa* on Postprandial Hyperglycemia

Kyung-Ae Lee and Hae-Young Chung*

Korea Food Research Institute, Sungnam 463-420, Korea

*Dept. of Home Economics, Kyungwon College, Sungnam 461-702, Korea

Abstract

An inhibitory activity against α -glucosidase was identified in extracts of medicinal lichens, *Parmelia austrosinensis* and *P. praesorediosa*. The extracts retained almost all of their original activities when treated with heat, acid and alkaline conditions, and some hydrolytic enzymes. Partially purified inhibitor showed strong inhibition against disaccharide hydrolytic enzymes of mammalian and mold origin, but weak or no inhibition against polysaccharide hydrolytic enzymes except glucoamylase. The inhibitors from the two *Parmelia* sp. showed almost same retention time in HPLC. The inhibitor suppressed elevation of blood glucose level in rats after oral administration of soluble starch or sucrose.

Key words : *Parmelia*, α -glucosidase inhibitor, blood glucose level.

서 론

생활수준이 향상되고 식생활 패턴이 변화되면서 당뇨병 및 비만과 이들의 합병증에 의한 문제가 심각히 대두되고 있다. 특히 주 에너지원인 glucose가 insulin 결핍 또는 insulin 작용기구의 손상에 의해 장기간 고농도의 혈당을 유지함으로써 각종 합병증을 유발하게 된다^{1,2)}. 고혈당을 억제하여 당뇨병을 개선하거나 비만을 방지하기 위한 방법의 하나로, 최근 식후 탄수화물을 분해하는 효소를 저해시켜 체내 당 흡수를 억제하는 연구가 활발히 진행되고 있다³⁾. 미생물에서 유래한 물질 중 acarbose와 voglibose가 각각 의약품으로서 당뇨병환자의 식후 혈당강하에 사용되고 있으며, 이와 함께 녹차, 뽕나무, 누에 등 상용 가능한 식품이나 다양한 천연물 성분에 의한 혈당강하효과를 이용하고자 하는 연구가 지속적으로 진행되고 있다^{3~6)}.

지의류(Lichen)는 균류(fungi)와 조류(algae)의 공생체로서⁷⁾, lichenic acids로 알려진 특유한 대사산물들의 약리작용과 향으로 인해 예로부터 동서양을 막론하고 전통적으로 식품 또는 약재의 원료로 사용되어 왔다^{8,9)}. 석이(*Umbilicaria esculenta*)는 한국, 중국, 일본 등지에서 특유의 향에 의해 식품으로 사용되거나 복통, 염증 등에 대한 약재로서 다양하게 사용되어 왔으며, *Usnea* sp.는 항균, 강심, 진해, 지혈 등에, *Nephromopsis ornata*는 건위제로, *Thamnolia* sp., *Lethariella* sp. 등은 고혈압, 진통, 진정, 해열에 사용되었고, 이 밖에 *Evernia prunastri*는 향료에, *Parmelia omphalodes*는 염료에도 이용되고 있다^{8,10,11)}. 그러나 일반적으로 지의류는 수년간에 걸쳐 천천히 성장하며 오염된 대기환경에 대해 민감하고 인공 배양이 어려워, 지의류가 생성하는 물질과 생리작용의 상관관계도 많은 부분이 밝혀지지 않고 있다^{9,12)}.

본 연구자들은 식품 또는 생약재로 사용가능한 천

* Corresponding author : Hae-Young Chung

연물로부터 효소저해에 의한 식후 혈당강하작용을 연구하던 중, 약용 지의류의 일종인 매화지의류(*Parmelia*) 추출물로부터 α -glucosidase에 대한 억제작용을 발견하고 이 물질에 의한 식후 혈당 억제작용을 확인하여 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 매화지의류는 경동시장에서 구입하였으며, Yoshimura¹³⁾ 및 조 등¹⁴⁾의 방법에 따라 *Parmelia austrosinensis*와 *P. praesorediosa*로 동정하여 사용하였다.

2. 추출 및 부분정제

매화지의는 2~3일간 자연 건조한 후, 막자사발에서 잘게 갈아 사용하였다. 이를 동일 중량의 methanol에 현탁시킨 후, 실온에서 12시간 교반하면서 추출하였다. 추출액은 여과지(Whatman No. 2)로 여과한 후 여과액을 40°C에서 감압증류하고, 증류수에 재 용해시켜 pH 6.5~7.0으로 조정하여 사용하였다. 추출 시료는 이온교환수지 및 활성탄 등을 이용하여 Fig. 1과 같은 단계를 통해 부분정제하고 활성획분을 회수하여 효소저해능 실험과 혈당강하 실험에 사용하였다. 부분정제한 시료는 HPLC(Jasco UV 975)상에서 YMC pack NH₂ column(semi-preparative, 10×250 mm)를 사용하여 flow rate: 7.5ml/min, eluent: acetonitril: water=83:17(v/v), detection: 203nm의 조건에서 비교하였다.

3. 사용 효소

α -Glucosidase, α -amylase, sucrase 등의 돼지 소장유래의 효소들은 돼지 소장을 절개하여 창자벽의 효소를 0.05M 인산완충용액으로 4°C에서 24시간 추출하고 원심분리(5,000xg, 20min)한 후, 상등액을 ammonium sulfate(80% 포화도)로 침전시키고 침전물을 동일한 완충용액에 4°C에서 24시간 투석하여 사용하였다. 기타의 효소는 Sigma사에서 구입하였다.

4. 효소 및 효소저해능 측정

α -Glucosidase의 활성 및 저해능은 *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside(PNPG)를 기질로 하여 측정하였다. PNPG 용액(2mM in 0.1M acetate buffer, pH 4.5) 0.5ml에 효소용액 0.1ml을 넣어 30°C에서 10분간 반응시킨 후, 0.9ml의 1M Na₂CO₃를 첨가하고 405nm

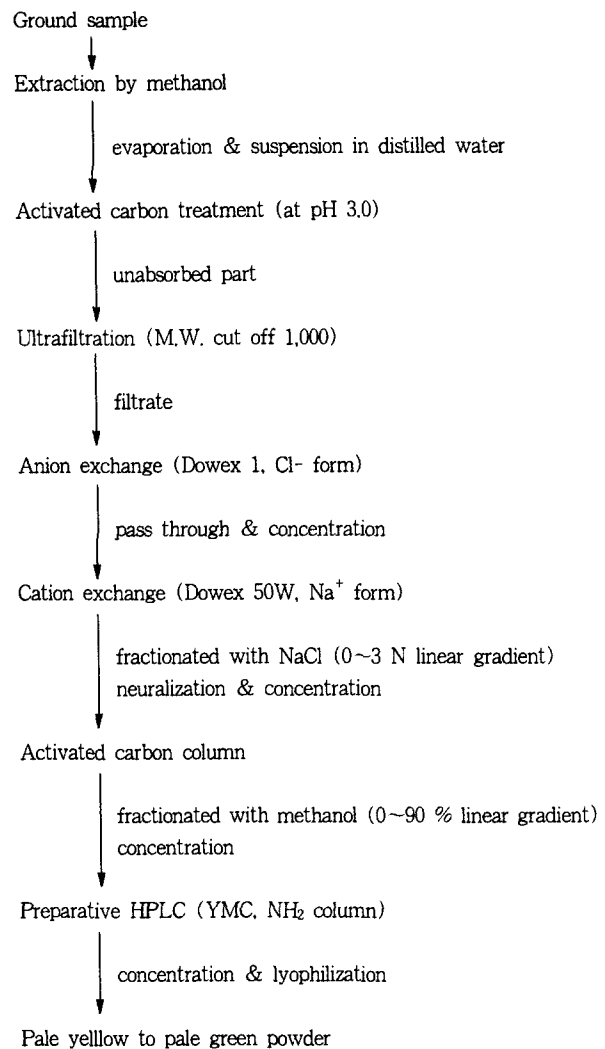


Fig. 1. Partial purification procedure of α -glucosidase inhibitor from *Parmelia* sp.

에서 spectrophotometer(Hitachi, U-3210)로 흡광도를 측정하였다. 효소 1unit는 상기조건하에서 1 μ M의 nitrophenol을 형성하는 효소의 양으로 정의하였으며, α -glucosidase 저해활성도 1unit는 동일 조건하에서 효소활성을 50% 억제하는 저해물질의 양으로 정의하였다.

β -Glucosidase 및 α -galactosidase, β -galactosidase 활성 및 저해능은 각각 *p*-nitrophenyl- β -D-glucopyranoside, *o*-nitro-phenyl- α -D-galactopyranoside, *o*-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside를 기질로 하여 α -glucosidase와 동일한 방법으로 측정하였다. 이외의 탄수화물 분해효소의 활성 및 저해능은 dinitrosalicylic acid method¹⁵⁾에 의해 각각의 기질 0.5%(w/v)를 사용하여 측정하였다.

5. 식후 혈당강하능 실험

실험에 사용한 rat은 Sprague-Dawley계의 7~8주령(무게 250~300g)된 것을 1 시험군당 8마리씩 사용하였다. Rat은 사용전 15시간 동안 절식시킨 후 가용성 전분 또는 설탕 용액 1.5g/kg을 각각 부분정제된 매화지의 추출 시료와 동시에 경구투여하고, 투여 후 30분 간격으로 꼬리 정맥에서 채혈해 BM kit (Accutrend GC, Boehringer Mannheim)를 이용하여

혈당을 측정하였다. 결과의 유의성 검정은 ANOVA test를 이용하였고, p값이 0.05 이하의 것을 유의성이 있는 것으로 인정하였다.

결과 및 고찰

1. 효소 저해물질의 안정성

매화지의(*Parmelia austrosinensis*, *P. praesorediosa*)의 추출액은 두 종 모두 100°C로 가열하거나 최

Table 1. Residual activities of α -glucosidase inhibitor from *Parmelia* sp. after various treatments extract

Treatment	Residual activity (%)	
	<i>P. austrosinensis</i>	<i>P. praesorediosa</i>
0.1 N HCl, 30°C, 6 hr	95.5	96.0
0.1 N NaOH, 30°C, 6 hr	96.0	96.5
100°C, 30 min	95.5	95.0
Pepsin(1%), pH 2, 37°C, 1 hr	98.5	99.0
Trypsin(1%), pH 8, 37°C, 1 hr	100.0	100.0
α -Amylase(1%), pH 7, 37°C, 1 hr	100.0	99.0

(10 ml, α -glucosidase inhibitor activity 100 unit/ml) was treated with each condition.

Table 2. Inhibitory characteristics of α -glucosidase inhibitor from *Parmelia* sp. against various hydrolytic enzymes

Enzyme	Source	Inhibition	
		<i>P. austrosinensis</i>	<i>P. praesorediosa</i>
α -Glucosidase	Porcine intestinal	+++++	+++++
	<i>Aspergillus niger</i>	+++++	+++++
β -Glucosidase	Almond	++++	++++
	<i>A. niger</i>	+++++	++++
α -Galactosidase	<i>A. sp.</i>	+++	+++
β -Galactosidase	Bovine liver	+++	+++
Sucrase	<i>Saccharomyces sp.</i>	+	+
	Porcine intestinal	+++++	++++
α -Amylase	Human saliva	-	-
	Porcine intestinal	-	-
	<i>Bacillus subtilis</i>	-	-
Glucoamylase	<i>Rhizopus sp.</i>	+++	+++
Carboxymethylcellulase	<i>A. niger</i>	-	-
Xylanase	<i>Trichoderma viride</i>	-	-

Inhibitory rating used were as follows: +++++, 81~100%; +++++, 61~80%; +++, 41~60%; ++, 21~40%; +, 1~20%; -, 0% inhibition.

Extract (α -glucosidase inhibitor activity: 100 unit/ml) was added to each enzyme solution(10 unit/ml).

종 농도 0.1N HCl 또는 NaOH의 강한 산성, 알칼리성 조건에서도 α -glucosidase 저해능의 95% 이상을 유지하였으며, 단백분해효소인 pepsin, trypsin 등과 탄수화물분해효소인 α -amylase를 처리하였을 때에도 거의 영향을 받지 않는 대단히 안정한 성질을 나타내었다(Table 1). 즉 추출액의 효소저해물질은 구조적으로 안정하여 실제 소화기관에서 소화효소 및 위산에 의해 분해되지 않음으로써 효소억제 작용을 안정적으로 유지시킬 수 있을 것으로 추측된다.

2. 효소 종류별 저해 특성

두 종의 매화지의 추출물에서 부분정제된 저해물질의 효소저해능을 여러 종류 및 기원의 효소에 대해 측정된 결과, 두 종 모두 α -glucosidase 뿐 아니라 각종 이당류 분해효소, 특히 포유류 및 사상균 유래의 이당류 분해효소(sucrase, galactosidase)에 대해 높은 저해능을 나타내었으며, 다당류 분해효소에 대해서는 대부분의 효소에 매우 약한 저해 활성을 나타내었으나 glucoamylase에 대해서는 비교적 강한 저해활성을 나타내었다(Table 2). 이와 같은 저해 특성으로 보아 매화지의의 효소저해물질은 소화기관 내에서 전분 등 다당류의 분해를 직접 억제하기보다는 maltose, sucrose와 같이 다당류에서 일차 저분자화된 당의 분해를 억제할 것으로 판단된다.

3. 효소 저해물질의 분석

두 종의 매화지의(*P. austrosinensis*, *P. praesorediosa*) 추출물로부터 부분정제한 효소저해물질은 HPLC 상에서도 거의 동일한 retention time을 나타내었다(Fig. 2). 즉 상기한 안정성 및 효소종류별 저해특성과 함께, 분석상에서도 거의 유사함을 보여, 두 종으로부터 추출한 효소저해물질은 동일한 물질일 것으로 판단된다.

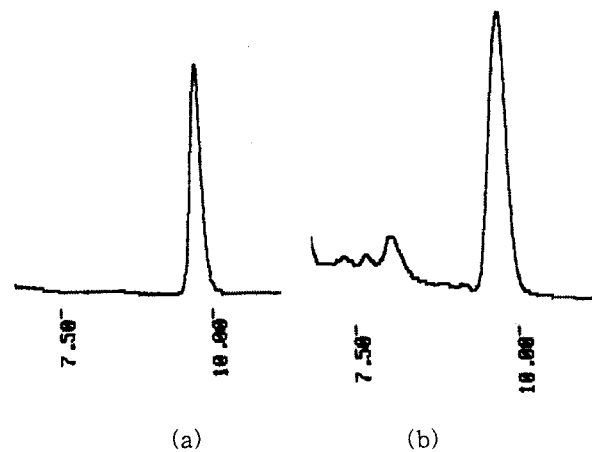


Fig. 2. Comparison of retention time in HPLC of partial purified α -glucosidase inhibitor from *Parmelia* sp. (a) inhibitor from *P. austrosinensis* (b) inhibitor from *P. praesorediosa*

4. 혈당강하능

부분정제된 매화지의 추출물 중 *P. austrosinensis*의 것을 혈당강하능 실험에 사용하였다. 가용성 전분 또는 설탕 용액과 함께 저해물질을 농도별로 rat에 투여한 결과, 효소저해물질을 투여하지 않은 rat는 식후 30분경의 혈당치가 식전에 비해 각각 최대 2배 정도 급격히 상승하는데 반해, 효소저해물질을 동시에 투여한 경우는 전분과 설탕 모두에서 혈당치가 현저히 감소함을 볼 수 있었다(Table 3, 4). 특히 혈당치가 급격히 상승하는 식후 30분경의 초기 혈당상승에 대해, 효소저해물질을 30mg/kg 이상 투여한 경우 혈당상승의 억제도가 전분 투여군에서는 약 79%, 설탕 투여군에서는 약 75% 이상 강하게 억제하는 현상을 보여, 매화지의류의 α -glucosidase 저해성분이 효과적인 혈당강하작용의 물질로 사용될 수 있을 것으로 나타났다.

당뇨병 개선 또는 비만방지를 위한 방법의 하나로 식후 탄수화물의 분해 및 흡수를 억제하는 연구가 활

Table 3. Effects of extract from *Parmelia austrosinensis* on blood glucose level after starch administration on rats

Extract loaded (mg/kg)	Blood glucose(mg/dl)				
	0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
Control	71±12.7	142 ± 18.1	96±12.5	88±16.3	80±12.1
10	72±11.7	138 ± 16.9	100±13.9	87±19.5	81±16.2
30	72±14.8	87 ± 20.0*	105±19.8	95±12.9	77±15.7
50	77±12.2	80 ± 15.2*	91±14.4	84±17.0	77±13.2

Soluble starch(1.5g/kg) was loaded on rats. Values are mean±SD. Significantly different from control (*p<0.05).

Table 4. Effects of extract from *Parmelia austrosinensis* on blood glucose level after sucrose administration on rats

Extract loaded (mg/kg)	Blood glucose(mg/dl)				
	0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
Control	70±13.5	138 ± 17.9	121 ± 14.5	91±12.5	80±11.9
10	72±11.5	134 ± 19.1	130 ± 15.8	102±18.0	81±15.7
30	75±12.8	92 ± 11.2*	101 ± 13.0	92±18.7	79±14.2
50	73±15.4	82 ± 14.3*	91 ± 11.4*	79±16.4	75±15.5

Soluble starch(1.5g/kg) was loaded on rats. Values are mean±SD. Significantly different from control (*p<0.05).

발히 진행되어 왔으며, 특히 혈당강하효과를 나타내면서 상용 가능한 식품이나 천연물 성분에 의한 검색이 지속적으로 진행되고 있다. 매화지의류는 *Parmelia* 속 균주의 총칭으로 전통적으로 건위, 지혈 등의 작용으로 한약재로 상용되는 재료로서¹⁶⁾, 본 연구 결과는 혈당강하를 위한 천연원료로서 매화지의류의 이용 가능성을 나타낼 뿐 아니라, 기존의 알려진 매화지의류의 효능 해석에도 유용할 것으로 사료된다.

요 약

약용 매화지의류인 *Parmelia austrosinensis*와 *P. praesorediosa*의 추출물로부터 α -glucosidase에 대한 저해작용을 확인하였다. 효소저해물질은 가열, 산, 알칼리 조건 및 수중의 가수분해효소에 대해 대단히 안정한 특성을 나타내었다. 부분정제된 효소저해물질은 α -glucosidase 이외에도 각종 이당류 분해효소, 특히 포유류와 사상균 유래의 효소류에 대해 강한 저해작용을 나타내었으며, 다당류 분해효소에 대해서는 glucoamylase를 제외하고는 대부분 매우 약한 저해활성을 나타내었다. 두 종의 매화지의 추출물로부터 부분정제한 α -glucosidase 저해물질은 HPLC 상에서도 거의 동일한 retention time을 나타내었다. 실험용 rat에 전분 또는 설탕과 함께 매화지의에서 추출한 α -glucosidase 저해물질을 경구 투여한 결과, 식후 30분경의 급격한 혈당상승을 억제하는 효과를 나타내었다.

참고문헌

1. Froguel, P. and Hager, J. : Human diabetes and obesity: tracking down the genes, 13, 52~55 (1995).
2. 정성현. : 인슐린과 당뇨병, *의약정보*, 1, 130~135 (1994).
3. Mueller, L. : Chemistry, biochemistry and therapeutic

potential of microbial α -glucosidase inhibitors, In Demain A. L. (ed) Novel microbial products for medicine and agriculture, Elsevier: Amsterdam, p.109~116 (1989).

4. Matsumoto, N., Ishigaki, F., Ishigaki, A., Iwashina, H. and Hara, Y. : Reduction of blood glucose levels by tea catechin, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 57, 525~527 (1993).
5. Hikino, H., Mizuno, Y., Oshima, T. and Konno, C. : Isolation and hypoglycemic activity of moran A, a glycoprotein of *Morus alba* root barks, *Planta Medica.*, 51, 159~160 (1985).
6. 정성현, 유정화, 김은주, 류강선 : 누에의 혈당강하활성, *경희대 약대 논문집*, 24, p.367 (1995).
7. Alexopolous, C. J. and Mims, C. W. : Introductory mycology, 3th ed., John Wiley & Sons, New York, NY, USA, p.573~587 (1979).
8. 魏江春 : 中國藥用地衣, 科學出版社, 中國 (1982).
9. Crittenden, P. D. and Porter, N. : Lichen forming fungi: potential sources of novel metabolites, *Trends Biotechnol.*, 9, 409~414 (1991).
10. 羅獻瑞 : 實用中草藥彩色圖集 第2册, 庵東科技出版社, 中國, p.482~483 (1994).
11. Richardson, D. H. S. : Medicinal and other economic aspects of lichens, In Galun, M. (ed) Handbook of lichenology, CRC Press, USA, Vol. 3, 93~108 (1988).
12. Ahmadjian, V., and Reynolds J. T. : Production of biologically active compounds by isolated lichenized fungi, *Science*, 133, 700~701 (1961).
13. Yoshimura, I. : Lichen flora of Japan in color, 6th ed., Hoikusha Publishing Co. Ltd., Osaka, p.58~86 (1994).
14. 조성식, 이영록 : 덕유산 일대의 매화나무이끼류에 관하여, *한국균학회지*, 8, 149~157 (1980).
15. Miller, G. L. : Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars, *Anal. Biochem.*, 28, 353~360 (1959).
16. 赤松金芳. : 和漢藥, 醫齒藥出版株式會社, 日本, p.709~710 (1980).

(2000년 3월 29일 접수)