

## 갈근에서 분리한 화합물의 $\alpha$ -glucosidase와 $\alpha$ -amylase 활성 저해 효과

박지희\*\*\* · 백목련\* · 이병희\* · 연규환\* · 유시용\* · 김영섭\* · 박상언\*\* · 홍경식\*†

\*한국화학연구원, \*\*충남대학교 농학과

### $\alpha$ -Glucosidase and $\alpha$ -Amylase Inhibitory Activity of Compounds from Roots Extract of *Pueraria thunbergiana*

Jee Hee Park\*\*\*, Mok Ryeon Baek\*, Byung Hoi Lee\*, Gyu Hwan Yon\*, Shi Yong Ryu\*, Young Sup Kim\*, Sang Un Park\*\*, and Kyung Sik Hong\*†

\*Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 305-606, Korea.

\*\*Chungnam National University, Department of Crop Science, Daejeon 305-764, Korea.

**ABSTRACT :** Compounds of isolated from roots extract of *Pueraria thunbergiana* were tested their inhibitory effects on  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase. Inhibitory activity of methylene chloride (MC) fraction and ethyl acetate (EA) fraction against  $\alpha$ -glucosidase showed more than 60% at a concentration of 500  $\mu$ g/ml. Among the nine compounds tested on  $\alpha$ -glucosidase, biochanin A, (-)-tuberosin and calycosin from MC fraction and daidzein from EA fraction were stronger inhibitors than acarbose (IC<sub>50</sub> = 530  $\mu$ g/ml), and their IC<sub>50</sub> were 9, 144, 328 and 20  $\mu$ g/ml, respectively. Biochanin A and (-)-tuberosin also inhibited  $\alpha$ -amylase activity as like as acarbose IC<sub>50</sub> = 20.5  $\mu$ g/ml), and their IC<sub>50</sub> were 22 and 348  $\mu$ g/ml, respectively. Although daidzein was already known  $\alpha$ -glucosidase inhibitory effects, it was newly evaluated that biochanin A and (-)-tuberosin inhibited  $\alpha$ -glucosidase as well as  $\alpha$ -amylase, and that calycosin did  $\alpha$ -glucosidase.

**Key Words :** *Pueraria thunbergiana*,  $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -amylase, biochanin A, (-)-tuberosin

## 서 언

당뇨병은 우리나라에서 급격히 증가하고 있는 질환 중의 하나로 최근에는 당뇨병과 그로 인한 합병증의 발병율이 급격하게 증가하고 있는 추세이다. 당뇨병은 인슐린 등의 호르몬 불균형으로 생리적 대사 조절기능에 이상이 발생하여 고혈당 증세가 나타나고 증상이 지속되면서 심혈관계 등에서 심각한 합병증을 유발시키는 질병이다 (Choi *et al.*, 2008). 당뇨병의 치료 방법에는 크게 두 가지로 인슐린을 투여하여 치료하는 방법 (1형 당뇨병)과 경구 혈당 강하제를 복용하여 혈당을 조절하는 방법 (2형 당뇨병)으로 나눌 수 있으며 (Kim *et al.*, 2007), 우리나라에서 대부분의 당뇨병 환자는 2형 당뇨병을 앓고 있다.

2형 당뇨병의 치료방법인 경구 혈당 강하제는 당 분해에 관여하는 효소들을 저해하는 물질을 이용한 것으로, 당의 분해에 관여하는 효소 중에서  $\alpha$ -glucosidase와  $\alpha$ -amylase가 중요한 역할을 하는 것으로 알려지고 있으며 (Lee *et al.*, 2008a), 전자는 이당류를 단당류로, 후자는 다당류를 단당류로 분해한

다. 이러한 당 효소의 저해제는 당의 분해를 억제하여 결국엔 복합 탄수화물의 흡수를 억제하므로 소장 전체에 포도당이 흡수되도록 하여 식후 혈당 상승이 완만해지는 장점이 있다. 현재 당 효소의 저해제로  $\alpha$ -glucosidase 저해제인 acarbose, voglibose 등이 사용되고 있지만 이들은 부작용으로 복부팽만, 설사 등 위장 관련 증상이 나타나고 있다. 따라서 이런 문제점을 해결하기 위하여 새로운  $\alpha$ -amylase와  $\alpha$ -glucosidase 저해 물질을 찾아낼 필요가 있다.

갈근 (葛根, *Pueraria thunbergiana*)은 콩과의 여러해살이 낙엽 덩굴식물인 칩의 뿌리로 예부터 발열이나 두통 등의 증상에 사용되어 왔다 (Ahn., 1998). 주요 성분으로는 irisolidone, genistein, daidzein, biochanin A 등의 isoflavonoid 계열의 화합물과 quercetin 등의 flavonoid 계열 화합물이 보고되어 있다 (Kubo *et al.*, 1975; Kurihara *et al.*, 1975). 특히 flavonoid 계열의 화합물들은 관상 동맥 확장 작용, 동맥 경련을 막아주며 물에 달인 물은 혈압 강하작용을, 알코올 추출물은 해열작용을 가진다고 보고되어 있다 (Ahn., 1998). 갈근에 대해서 다양한 실험이 이루어 지고 있으며 특히 갈근에서 분

†Corresponding author: (Phone) +82-42-860-7027 (E-mail) kshong@kriict.re.kr  
Received 2009 August 9 / Revised 2009 October 12 / Accepted 2009 October 19

리된 화합물 중 puerariafuran, coumestrol, daidzein, genistein 은 당뇨 합병증 유발 원인 중의 하나인 최종 당화 산물의 생성을 억제하는 효과가 있으며 (Kim *et al.*, 2007), 당뇨병에 효과가 있다고 보고된 생약제 혼합 조성물에 갈근이 포함되어 있다 (Kim *et al.*, 1992; Kim *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2008b).

본 연구팀에서는 여러 가지 식물체 추출물들의  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성과  $\alpha$ -amylase 저해 활성을 탐색한 결과, 식물체의 조추출물 보다 분획물, 혹은 분리된 화합물에서 활성이 좋은 것을 확인하였고 그 중 갈근의 methanol 추출물이 당뇨병 치료제 중 대표적인  $\alpha$ -glucosidase 저해제인 acarbose가 나타내는 활성의 약 40%를 나타냄에 따라, 갈근 추출물의 분획물이나 분획물로부터 분리된 물질들이 두 가지 당뇨 관련 효소에 대한 활성이 있을 것이라고 판단되었다. 따라서 본 실험은 갈근의 용매 분획물과 이로부터 분리된 물질들의  $\alpha$ -glucosidase와  $\alpha$ -amylase에 대한 저해 활성을 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

본 실험에 사용된 갈근은 2006년 10월 시중 건재상에서 구

입하였으며 표품은 한국화학연구원 (KR0035-2006)에 보관되어 있다. 본 연구에서는 갈근의 methanol (MeOH) 추출물과 본 연구팀에서 기 확보한 (Baek *et al.*, 2009) 용매 분획물 및 이로부터 각종 chromatography를 통하여 분리정제 후 구조가 동정된 10종의 천연화합물 (Fig. 1)을 사용하였고 대조약제인 acarbose는 Sigma사에서 구입하여 이용하였다.

### 2. $\alpha$ -Glucosidase inhibition assay

$\alpha$ -Glucosidase inhibition assay 방법은 Watanabe *et al.* (1997)의 방법을 이용하였으며 효소는 효모로부터 얻어진  $\alpha$ -glucosidase (Sigma, USA)를, 기질은 *p*-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (Fluka chemica, Germany)를 사용하였다.  $\alpha$ -Glucosidase는 0.2% BSA와 0.02%  $\text{NaN}_3$ 가 포함된 100 mM sodium phosphate buffer (pH 7.0)에 0.7 U/ml 가 되도록 녹여서 효소 용액으로 사용하였으며, *p*-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside는 100 mM sodium phosphate buffer (pH 7.0)에 5 mM이 되도록 녹여서 기질 용액으로 사용하였다. DMSO에 녹인 시료를 microplate에 10  $\mu\text{l}$ 씩 처리하고, 무처리구에는 DMSO를 10  $\mu\text{l}$ 씩 처리하였다. 시료를 처리한 microplate에 효소 용액을 50  $\mu\text{l}$ 씩 첨가하여 섞어 주고 5분 동안 실온에서 전 반응시킨 후에 microplate reader (BIO-RAD, USA)로 405 nm 에서 흡광도를 측정하였다. 측정 후 기질 용액을 50  $\mu\text{l}$ 씩

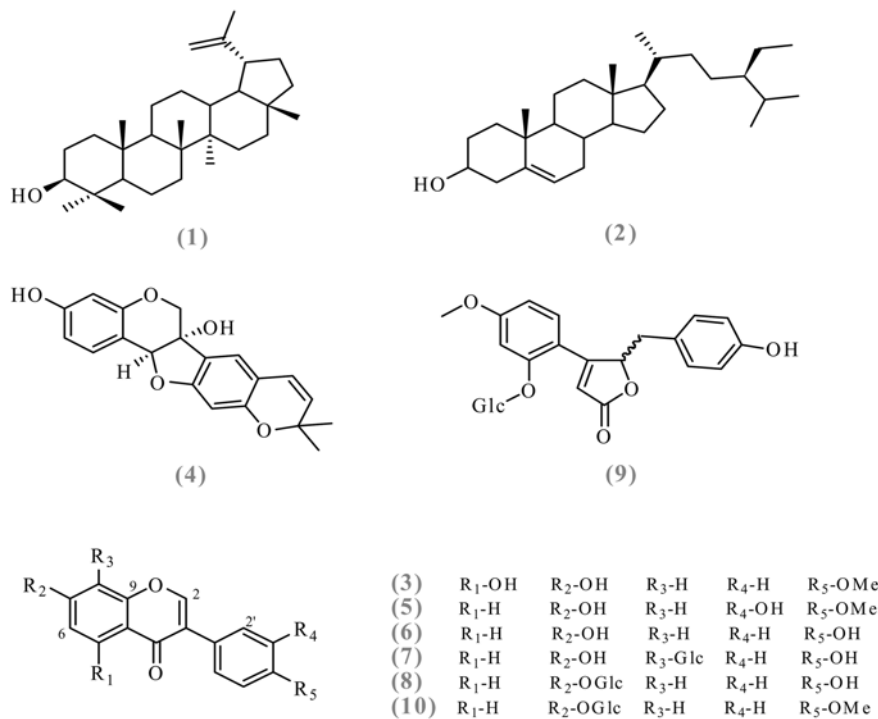


Fig. 1. Structures of isolated compounds from root of *Pueraria thunbergiana*. (1) lupeol (2)  $\beta$ -sitosterol (3) biochanin A (4) (-)-tuberosin (5) calycosin (6) daidzein (7) puerarin (8) daidzin (9) (+)-puerol-B2-O- $\beta$ -glucopyranoside (10) formononetin-7-O- $\beta$ -glucopyranoside.

첨가하고 5분 동안 실온에서 반응시킨 후에 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 기질 첨가 후 변화된 흡광도의 차이를 무처리구와 비교하여 저해율을 계산하였다. 실험은 3반복으로 수행하였다.

### 3. $\alpha$ -Amylase inhibition assay

$\alpha$ -Amylase inhibition assay 방법은 Gowri *et al.* (2007)의 방법을 변형하여 이용하였다. 효소는 돼지 췌장으로부터 얻어진  $\alpha$ -amylase (Sigma, USA)를 1 U/ml (in 20 mM sodium phosphate buffer, 6.7 mM NaCl, pH 6.9)로 조제하였으며, 기질은 0.5% starch (in 20 mM sodium phosphate buffer, pH 6.9)를 사용하였다. DMSO로 조제한 시료 10  $\mu$ l (최종농도의 20배)에  $\alpha$ -amylase 용액 90  $\mu$ l를 첨가하고 6분 동안 전반응시킨 뒤에 기질 용액을 100  $\mu$ l 첨가하고 다시 6분 동안 반응시켰다. 반응 후에 바로 DNS 용액 (40 mM 3,5-dinitrosalicylic acid, 400 mM NaOH, 1 M K-Na tartrate) 100  $\mu$ l를 가하여 반응을 정지시키고 80~100°C에서 약 10분간 발색시킨 뒤 충분히 냉각시켰다. 이때 각 blank에는 효소 용액 첨가 후 기질을 넣기 전에 DNS 용액을 먼저 넣어주었다. Microplate에 반응물을 50  $\mu$ l씩 2반복으로 넣고 증류수 100  $\mu$ l를 가하여 충분히 섞어준 뒤 microplate reader (BIO-RAD, USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하여 각 blank와의 차이를 구한 후 시료액 대신에 DMSO를 10  $\mu$ l 넣어준 무처리구의 경우와 비교하여 저해율을 계산하였으며, 실험은 3반복으로 수행하였다.

## 결과 및 고찰

갈근 MeOH 추출물 (500  $\mu$ g/ml)의  $\alpha$ -glucosidase에 대한 저해활성은 약 20% 정도로 acarbose가 나타내는 활성의 약 40%를 나타내었다. 갈근 추출물은 증류수로 현탁 후 methylene chloride (MC), ethyl acetate (EA), butanol (BuOH)을 이용하여 순차적으로 분획되었다. 갈근 추출물의 4가지 분획물에 대하여 동일한 농도 (500  $\mu$ g/ml)에서  $\alpha$ -glucosidase와  $\alpha$ -amylase에 대한 저해 활성을 살펴 본 결과, MC분획물과 EA분획물은  $\alpha$ -glucosidase에 대하여 약 60~70%의 저해활성을 나타내어 조추출물보다 활성이 증가하였고 BuOH분획물과 물층에서는 거의 활성을 나타내지 않았다. 따라서 활성물질이 MC분획물과 EA분획물에 존재함을 알 수 있었으며 용매분획만으로도 acarbose (약 50%)보다 높은 활성을 얻을 수 있었다. 한편  $\alpha$ -amylase에 대하여는 EA분획물에서 약 20% 저해하여 조추출물의 경우보다 다소 증가하였고 MC분획물에서는 조추출물과 유사하였으며 다른 분획물에서는 활성을 인정할 수 없어 EA층과 BuOH층에서  $\alpha$ -glucosidase와  $\alpha$ -amylase에 대하여 동시에 저해활성을 나

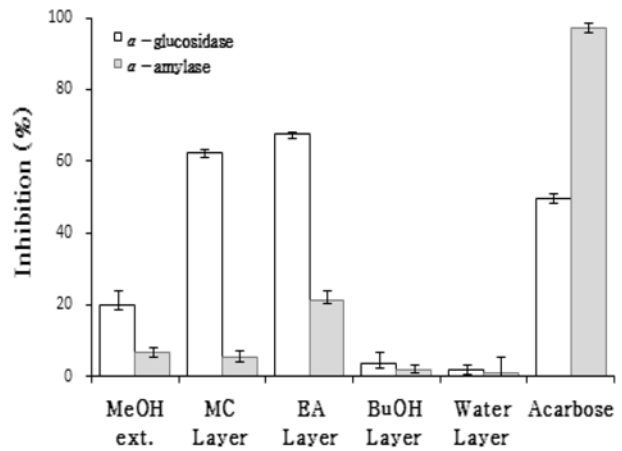


Fig. 2. Enzyme inhibitory activity of MeOH extracts of *Pueraria thunbergiana* and their solvent fractions at the concentration of 500  $\mu$ g/ml. Each value represents the mean  $\pm$  S.D. of three replicates.

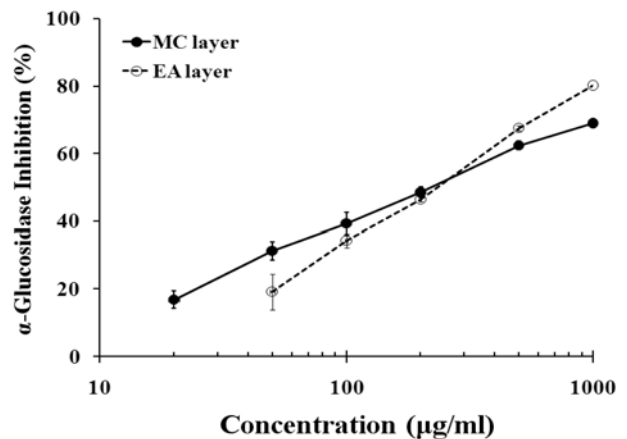
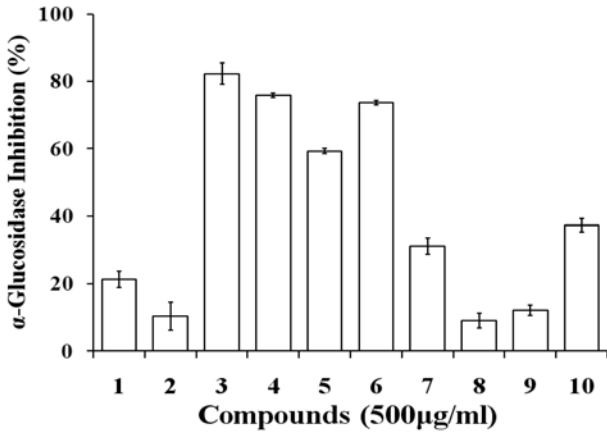


Fig. 3.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity of MC layer and EA layer from *Pueraria thunbergiana* MeOH extract. Each value represents the mean  $\pm$  S.D. of three replicates.

타낸 사철쭉의 경우 (Lee and Kim, 2007)와는 다른 양상이었다 (Fig. 2).

MC분획물과 EA분획물의 농도를 달리하여  $\alpha$ -glucosidase에 대한 저해활성을 평가한 결과 Fig. 3과 같이 MC분획물은 기울기가 상대적으로 낮고 EA분획물은 기울기가 높은 농도의존적인 반응을 나타내었다. MC 분획물과 EA 분획물의  $\alpha$ -glucosidase 효소의 50% 저해농도는 각각 214, 225  $\mu$ g/ml로 분획물 상태에서도 기존의 당뇨병치료에 사용되고 있는 acarbose의 534  $\mu$ g/ml에 비하여 2배 이상 활성이 강한 것으로 나타났다.

갈근에서 분리된 10개의 화합물중 lupeol,  $\beta$ -sitosterol, biochanin A, (-)-tuberosin, calycosin 등 5개 화합물은 MC 분획물로부터 분리된 것이며, daidzein, puerarin, daidzin, (+)

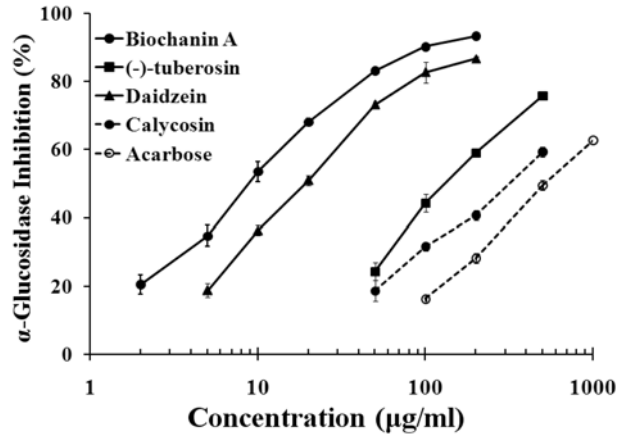


**Fig. 4.**  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity of compounds isolated from *Pueraria thunbergiana* (1. lupeol, 2.  $\beta$ -sitosterol, 3. biochanin A, 4. (-)-tuberosin, 5. calycosin, 6. daidzein, 7. puerarin, 8. daidzin, 9. (+)-puerol-B2-O- $\beta$ -glucopyranoside, 10. formononetin-7-O- $\beta$ -glucopyranoside). Each value represents the mean  $\pm$  S.D. of three replicates.

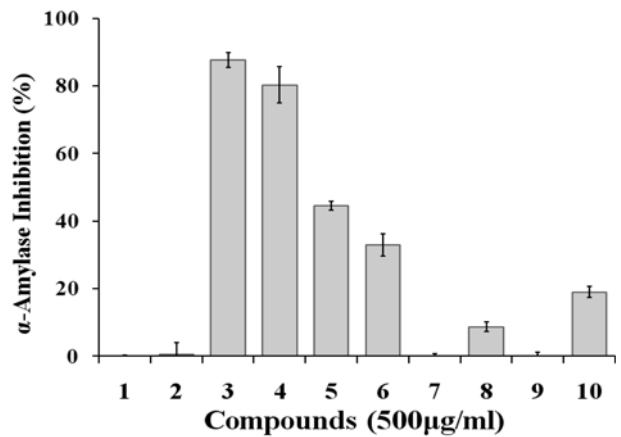
puerol-B2-O- $\beta$ -glucopyranoside, formononetin-7-O- $\beta$ -glucopyranoside 등 5개 화합물은 EA분획물로부터 분리된 것이다. 이들의  $\alpha$ -glucosidase에 대한 저해 활성을 500  $\mu$ g/ml 농도에서 평가한 결과 Fig. 4와 같이 biochanin A, (-)-tuberosin, daidzein 등은 70% 이상, calycosin은 약 60%의 억제활성을 나타내었으며, 그 다음으로는 formononetin-7-O- $\beta$ -glucopyranoside, puerarin, lupeol의 순이었다. Kim *et al.* (2000)은 21개의 flavonoide 화합물에 대하여  $\alpha$ -glucosidase 억제활성을 조사한 결과 luteolin, amantoflavone, luteolin 7-O-glucoside, daidzein, genistein 등의 순서로 활성이 높다고 보고하였는데 daidzein의 경우 본 연구의 결과와 유사한 정도의 활성을 나타내었다.

활성이 높게 나타난 biochanin A, (-)-tuberosin, calycosin, daidzein 등의 4개 화합물을 여러 농도로 처리한 후  $\alpha$ -glucosidase에 대한 억제활성을 acarbose와 비교한 결과 Fig. 5와 같이 농도의존적인 반응을 나타내었다. 50% 저해농도를 환산한 결과 biochanin A는 9  $\mu$ g/ml, (-)-tuberosin은 144  $\mu$ g/ml, calycosin은 328  $\mu$ g/ml 그리고 daidzein은 20  $\mu$ g/ml로 나타나 acarbose의 534  $\mu$ g/ml에 비하여  $\alpha$ -glucosidase에 대한 억제활성이 각각 약 60배, 3.7배, 1.6배, 27배 강한 것으로 나타났다. Biochanin A는 항염증 작용에 관한 연구가 보고되어 있고 (Lee *et al.*, 1994), 지방대사와 관련하여 당뇨병에 효능을 지닌다고 알려져 있지만 (Garg *et al.*, 2008),  $\alpha$ -glucosidase에 대한 저해활성이 우수하며, (-)-tuberosin과 calycosin 역시 acarbose보다 동등 이상의 저해활성을 나타낸다는 결과는 본 연구를 통하여 처음으로 보고되는 것이다.

한편 10개 화합물의  $\alpha$ -amylase에 대한 저해활성을 500



**Fig. 5.**  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity of biochanin A, (-)-tuberosin, daidzein, calycosin and acarbose. Each value represents the mean  $\pm$  S.D. of three replicates.



**Fig. 6.**  $\alpha$ -Amylase inhibitory activity of compounds isolated from *Pueraria thunbergiana* (1. lupeol, 2.  $\beta$ -sitosterol, 3. biochanin A, 4. (-)-tuberosin, 5. calycosin, 6. daidzein, 7. puerarin, 8. daidzin, 9. (+)-puerol-B2-O- $\beta$ -glucopyranoside, 10. formononetin-7-O- $\beta$ -glucopyranoside). Each value represents the mean  $\pm$  S.D. of three replicates.

$\mu$ g/ml의 농도에서 비교한 결과 Fig. 6과 같이 biochanin A와 (-)-tuberosin이 각각 약 88%와 80%의 높은 억제효과를 나타내었으며 그 다음으로 calycosin이 45%이었고 기타 화합물은 이보다 활성이 미약하였다. 특히  $\alpha$ -glucosidase에 대하여 다른 화합물들 보다 비교적 높은 저해 활성을 보였던 daidzein의  $\alpha$ -amylase에 대한 저해 활성은 약 33%로 biochanin A, (-)-tuberosin에 비하여 매우 낮았다.

활성이 높았던 biochanin A와 (-)-tuberosin을 여러 농도로 처리한 후  $\alpha$ -amylase에 대한 억제활성을 acarbose와 비교한 결과 Fig. 7과 같이 농도의존적인 반응을 나타내었다. 각 화합물의 50% 저해농도를 환산한 결과 biochanin A는 22  $\mu$ g/ml로 acarbose의 20.5  $\mu$ g/ml와 비슷한 수준이었으며 (-)-tuberosin

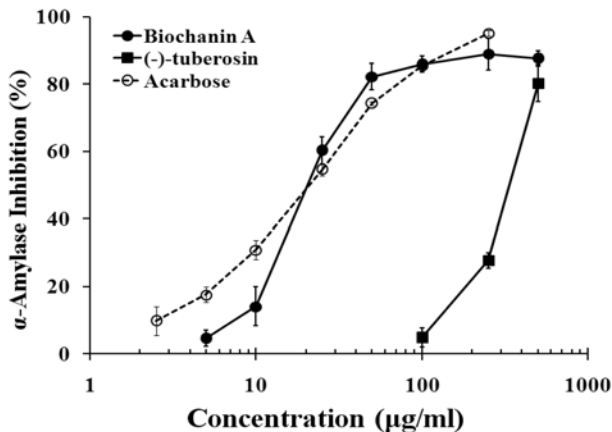


Fig. 7.  $\alpha$ -Amylase inhibitory activity of biochanin A, (-)tuberosin and acarbose. Each value represents the mean  $\pm$  S.D. of three replicates.

은 348  $\mu$ g/ml로 이들보다 활성이 낮은 것으로 나타났다. Bhandari *et al.* (2008)은 네팔에서 Pakhanbhed (*Bergenia ciliata*, Haw.)라고 불리는 약용 식물로부터  $\alpha$ -glucosidase와  $\alpha$ -amylase의 활성을 저해하는 flavonoid계열의 화합물 (-)-3-O-galloylepicatechin과 (-)-3-O-galloylcatechin을 분리하였으나 이 화합물들의 활성은 acarbose보다 낮았다고 하였으며, Kim *et al.* (2000)은 21종류의 flavonoid 계열 화합물에 대한 연구에서 luteolin, kaempferol-3-O-[6"-O-(3-hydroxy-3-methylglutaroyl)glucoside], 그리고 luteolin 7-O-glucoside의 억제활성이 가장 높았고 그 다음으로 astragalol, hyperin, rhoifolin, lonicerin, daidzein 등도 다소 활성이 있었으며 50% 저해농도로 비교한 luteolin의 활성은 acarbose의 약 1/10 수준이었다고 하였다. Biochanin A와 (-)-tuberosin이  $\alpha$ -amylase에 대하여 저해 활성을 나타낸다는 결과는 본 연구에서 처음으로 보고되는 것이다. 이상의 결과로부터 갈근에서 분리된 여러 가지 단일 물질들 중에서 특히 biochanin A와 (-)-tuberosin은  $\alpha$ -glucosidase 및  $\alpha$ -amylase의 활성을 동시에 억제하며, calycosin는 주로  $\alpha$ -glucosidase의 활성을 억제하는 것을 알 수 있었으며 이들 단일성분들을 직접 또는 이들 성분이 함유된 MC 분획물을 이용하여 앞으로 항당뇨활성을 직접적으로 평가할 수 있는 일련의 표준 실험을 통하여 천연물의약이나 기능성식품 소재로의 개발에 관한 연구가 이루어질 필요가 있는 것으로 판단되었다.

### 감사의 글

본 연구는 산업기술연구회 소관기관 협동연구사업의 연구비 지원을 받아 수행한 연구 결과로 이에 감사드립니다.

### LITERATURE CITED

- Ahn DK. (1998). Illustrated Book of Korean Medicinal Herbs. Kyo-Hak Publishing, Seoul, Korea. P. 42.
- Baek MR, Choi YH, Yoo DS, Kim MR, Choi SU, Hong KS, Kim YS, Kim YK, Lee KR and Ryu SY. (2009). Anti-proliferative components in the roots extract from *Pueraria thunbergiana*. Korean Journal of pharmacognosy. 40:46-50.
- Bhandari MR, Nilubon JA, Hong G and Kawabata J. (2008).  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitory activities of nepalese medicinal herb Pakhanbhed (*Bergenia ciliata*, Haw.). Food Chemistry. 106:247-252.
- Choi HJ, Kang JS, Choi YW, Jeong YK and Joo WH. (2008). Inhibitory activity on the diabetes related enzymes of *Tetragonia tetragonioides*. Korean Journal of Biotechnology and Bioengineering. 23:419-424.
- Garg M and Garg C. (2008). Scientific alternative approach in diabetes-An overview. Pharmacognosy Reviews. 2:284-301.
- Gowri PM, Tiwari AK, Ali AZ and Rao JM. (2007). Inhibition of  $\alpha$ -glucosidase and amylase by bartogenic acid isolated from *Barringtonia racemosa* Roxb. seeds. Phytotherapy Research. 21:796-799.
- Kim DH, Kang YG, Kim H and Chae HJ (2004). Investigation of antidiabetic medicinal plants using an Oriental Medicinal Database. Korean Journal of Biotechnology and Bioengineering. 19:125-131.
- Kim JH, Yoo KH and Seok SJ. (2007). Screening test of wild mushroom methanol extracts for fibrinolytic and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity. Journal of Experimental & Biomedical sciences. 13:245-249.
- Kim OK and Lee EB. (1992). The screening of plants for hypoglycemic action in normal and alloxan-induced hyperglycemic rats. Korean Journal of pharmacognosy. 23:117-119.
- Kim JS, Kwon CH and Son KH. (2000). Inhibition of alpha-glucosidase and amylase by luteolin, a flavonoid. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry. 64:2458-2461.
- Kubo M, Sasaki M, Namba K, Naruto S and Nishimura H. (1975). Isolation of a new isoflavone from chinese *Pueraria* flowers. Chemical & Pharmaceutical Bulletin. 23:2449-2451.
- Kurihara T and Kikuchi M. (1975). Studies on the constituents of flowers V. On the components of flowers of *Pueraria thunbergiana* Benth. (2) Isolation of a new isoflavone glycoside. Yakugaku Zasshi. 95:1201-1204.
- Lee BB, Park ST, Han CS, Han DY, Park EJ, Park HT and LEE SC. (2008a). Antioxidant activity and inhibition activity against  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase of *Viola mandshurica* extracts. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition. 37:405-409.
- Lee JH, Cho CW, Han XF, Hwang JY, Kang MJ, JOO HJ, Kim ME, Seo YJ and Kim JI. (2008b). Amelioration of plasma glucose and cholesterol levels in db/db mice by a mixture of Chinese herbs. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 16:225-230.
- Lee SJ, Baek JH, Lee CH and Kim HP. (1994). Antiinflammatory activity of isoflavonoids from *Pueraria* radix and biochanin A derivatives. Archives of Pharmacal Research.

17:31-35.

**Lee SJ and Kim CH.** (2007). Inhibitory effects of *Artemisia capillaris* Thumb. on  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 15:128-131.

**Watanabe J, Kawabata J, Kurihara H and Niki R.** (1997). Isolation and identification of alpha-glucosidase inhibitors from Tochu-cha (*Eucommia ulmoides*). Bioscience, Biotechnology and Biochemistry. 61:177-178.