

베트남 약용식물 추출물의 알도즈 환원 효소 억제 효능 검색(II)

이윤미 · 김종민 · 김영숙 · 장대식 · 김주환¹ · 배기환² · 김진숙*
한국한의학연구원 한약제제연구부, ¹대전대학교 생명과학부, ²충남대학교 약학대학

Screening of Inhibitory Effect on Aldose Reductase of Vietnam Herbal Medicines (II)

Yun Mi Lee, Jong Min Kim, Young Sook Kim, Dae Sik Jang, Joo Hwan Kim¹,
Ki Hwan Bae² and Jin Sook Kim*

Department of Herbal Pharmaceutical Development, Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 305-811, Korea

¹Department of Life Science, Daejeon University, Daejeon 300-716, Korea

²College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Abstracts – Aldose reductase (AR), the key enzyme in the polyol pathway, plays an important role in the pathogenesis of diabetic complications such as cataract formation. AR inhibitors (ARI) can prevent or reverse early abnormalities in diabetic complications. However, none of ARI has achieved worldwide use because of limited efficacy or undesirable side effects. Therefore, evaluating natural sources for ARI potential may lead to the development of safer and more effective agents against diabetic complications. 49 Vietnam herbal medicines have been investigated with an *in vitro* evaluation system using aldose reductase inhibitory activities. Of these, 7 herbal medicines, *Artemisia annua* (leaf, stem), *Duranta repens* (leaf, stem), *Excoecaria cochinchinensis* (aerial part), *Flueggea virosa* (leaf, stem), *Khaya senegalensis* (leaf), *Polygonum orientale* (aerial part), *Toxicodendron succedanea* (leaf, stem) exhibited a significant inhibitory activity against aldose reductase. Particularly, *Duranta repens* (leaf, stem) and *Toxicodendron succedanea* (leaf, stem) showed two times more potent inhibitory activity than the positive control, 3,3-tetramethyleneglutaric acid (TMG).

Key words – Diabetic complications, Aldose reductase inhibitor, Vietnam herbal medicines

당뇨합병증의 발병 기전은 폴리올 (polyol) 경로 증가, 최종당화산물 (advanced glycation end products, AGEs)의 생성 증가 및 protein kinase C 활성화 등으로 병리 생리학적 으로 조직을 손상시켜, 당뇨성 망막증, 신증, 신경증, 백내장 등을 유발한다.¹⁾

알도즈 환원 효소 (aldose reductase)는 폴리올 경로의 첫 번째 효소로 만성 고혈당 상태에서는 과도하게 활성화되어 포도당을 소비톨로 환원시킨다. 소비톨은 일반적으로 세포막을 통과하지 못해 세포 내에 축적이 되고, 세포 내 삼투압 및 대사과정의 변이와 세포막의 안정성을 감소시켜 당뇨합병증을 야기한다.²⁾ 또한 소비톨은 소비톨 탈수소효소에 의해서 과당으로 전환되고, 이로 인해 당화가 진행되어 최종당화산물의 생성 증가로 당뇨합병증을 가속화시킨다.²⁻⁴⁾ 현재 당뇨합병증 예방 및 치료를 위해 알도즈 환원 효소 억

제제가 주목을 받고 있으며, 지금까지 개발된 알도즈 환원 효소 억제제들은 대부분이 합성물질로 임상 실험에서 효능이 낮거나 부작용으로 사용되지 못하였다. 따라서 최근에는 천연물로부터 알도즈 환원 효소 억제 물질을 개발하고자 많은 연구들이 진행되고 있다.^{5,6)}

본 연구에서는 지난 보고에 이어⁷⁾, 약용식물자원이 풍부한 베트남에서 자생하는 식물 49종의 에탄올 추출물의 알도즈 환원 효소 억제 효능을 *in vitro*에서 검색하여 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 실험에 사용된 베트남산 약용식물 (Table 1.)들은 2004~2007년 대전대학교 생명과학부 김주환 교수 팀에 의해 베트남에서 채집, 동정되었다. 증거표본은 한국한의학연구원 한약제제연구부 식물표본실에 보관 중이다.

*교신저자 (E-mail): jskim@kiom.re.kr
(Tel): 042-868-9465

Table I. List of Vietnam Herbal Medicines tested

Family	Scientific name	Part used
Malvaceae (아욱과)	<i>Abutilon indicum</i>	seed
Amarantaceae (비름과)	<i>Achyranthes aspera</i>	leaf
Compositae (국화과)	<i>Ageratum conyzoides</i> L.	whole plant
Amarantaceae (비름과)	<i>Alternanthera sessilis</i>	whole plant
Acanthaceae (취꼬리망초과)	<i>Andrographis paniculata</i>	whole plant
Compositae (국화과)	<i>Artemisia annua</i>	leaf, stem
Oxalidaceae (괘이밥과)	<i>Averrhoa carambola</i>	leaf, stem
Compositae (국화과)	<i>Bidens pilosa</i>	leaf, stem
Euphorbiaceae (대극과)	<i>Bischofia javanica</i>	leaf
Asclepiadaceae (박주가리과)	<i>Calotropis gigantea</i>	leaf
Sapindaceae (무환자나무과)	<i>Cardiospermum halicacabum</i>	whole plant
Fabaceae (콩과)	<i>Cassia fistula</i>	stem
Chenopodiaceae (명아주과)	<i>Chenopodium ambrosioides</i>	aerial part
Sapotaceae (사포타과)	<i>Chrysophyllum cainito</i>	leaf
Verbenaceae (마편초과)	<i>Clerodendrum paniculatum</i>	leaf, stem
Poaceae (벼과)	<i>Coix lacryma-jobi</i>	aerial part
Cucurbitaceae (박과)	<i>Cucurbita pepo</i>	leaf, stem
Solanaceae (가지과)	<i>Datura metel</i>	whole plant
Verbenaceae (마편초과)	<i>Duranta repens</i>	leaf, stem
Rutaceae (운향과)	<i>Euodia lepta</i>	leaf
Euphorbiaceae (대극과)	<i>Excoecaria cochinchinensis</i>	aerial part
Euphorbiaceae (대극과)	<i>Flueggea virosa</i>	leaf, stem
Fabaceae (콩과)	<i>Gleditsia australis</i>	fruit
Sterculiaceae (벽오동과)	<i>Helicteres angustifolia</i>	leaf, stem
Boraginaceae (지치과)	<i>Heliotropium indicum</i>	leaf, stem
Euphorbiaceae (대극과)	<i>Homonoia riparia</i>	aerial part
Convolvulaceae (매꽃과)	<i>Ipomoea aquatica</i>	whole plant
Convolvulaceae (매꽃과)	<i>Ipomoea batatas</i>	aerial part
Euphorbiaceae (대극과)	<i>Jatropha curcas</i>	leaf
Meliaceae (멀구슬나무과)	<i>Khaya senegalensis</i>	leaf
Meliaceae (멀구슬나무과)	<i>Melia azedarach</i>	leaf, stem
Fagaceae (참나무과)	<i>Mimosa pigra</i> L.	aerial part
Nyctaginaceae (분꽃과)	<i>Mirabilis jalapa</i>	leaf, stem
Cucurbitaceae (박과)	<i>Momordica charantia</i>	fruit
Rubiaceae (꼭두서니과)	<i>Mussaenda pilosissima</i>	leaf, stem
Labiatae (꿀풀과)	<i>Ocimum basilicum</i>	whole plant
Compositae (국화과)	<i>Petasites japonicus</i>	whole plant
Solanaceae (가지과)	<i>Physalis angulata</i>	whole plant
Piperaceae (후추과)	<i>Piper betle</i>	whole plant
Polygonaceae (마디풀과)	<i>Polygonum orientale</i>	aerial part
Potulacaceae (쇠비름과)	<i>Portulaca oleracea</i>	whole plant
Euphorbiaceae (대극과)	<i>Ricinus communis</i>	aerial part
Scrophulariaceae (현삼과)	<i>Scoparia dulcis</i>	whole plant
Solanaceae (가지과)	<i>Solanum nigrum</i>	whole plant
Myrtaceae (도금양과)	<i>Syzygium cuminii</i>	leaf
Anacardiaceae (웃나무과)	<i>Toxicodendron succedanea</i>	leaf, stem
Araceae (천남성과)	<i>Typhonium trilobatum</i>	whole plant
Malvaceae (아욱과)	<i>Urena lobata</i>	leaf, stem
Fabaceae (콩과)	<i>Vigna radiata</i>	seed

Table II. Inhibitory activity of Vietnam herbal medicines on aldose reductase *in vitro*.

Scientific name	Conc. (µg/ml)	Inhibition (%)	IC ₅₀ (µg/ml)
<i>Abutilon indicum</i>	10	20.15±1.53	24.79
	20	40.05±1.85	
	30	60.69±5.96	
<i>Achyranthes aspera</i>	40	44.22±1.73	>40
<i>Ageratum conyzoides L.</i>	15	37.6±5.74	18.45
	20	55.59±2.87	
	30	91.20±1.89	
<i>Alternanthera sessilis</i>	2.5	10.42±9.96	6.78
	5	33.24±4.71	
	10	80.0±3.81	
<i>Andrographis paniculata</i>	5	32.58±8.12	17.69
	10	43.23±3.91	
	20	51.94±5.83	
<i>Artemisia annua</i>	1	8.99±6.14	3.37
	2.5	38.85±8.24	
	5	75.54±2.72	
<i>Averrhoa carambola</i>	5	30.86±8.30	14.43
	10	36.42±8.09	
	20	63.89±2.45	
<i>Bidens pilosa</i>	5	45.23±1.62	5.93
	10	62.19±3.24	
	20	74.91±4.78	
<i>Bischofia javanica</i>	2.5	31.29±4.71	5.41
	5	48.98±1.77	
	10	77.55±5.68	
<i>Calotropis gigantea</i>	10	34.3±1.67	33.15
	30	47.36±6.03	
	40	55.07±6.32	
<i>Cardiospermum halicacabum</i>	2.5	21.51±1.94	9.03
	5	37.15±5.10	
<i>Cassia fistula</i>	10	52.79±3.78	31.67
	30	46.18±3.03	
	35	57.63±9.78	
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	40	79.77±11.7	29.59
	20	36.13±3.85	
	30	53.36±4.54	
<i>Chrysophyllum cainito</i>	40	62.18±7.67	20.49
	20	48.9±7.05	
	30	65.75±7.88	
<i>Clerodendrum paniculatum</i>	40	80.66±8.3	5.41
	5	47.22±5.24	
	10	62.5±4.54	
<i>Coix lacryma-jobi</i>	20	79.51±8.42	9.44
	1	5.85±2.77	
	5	26.77±5.93	
<i>Cucurbita pepo</i>	10	52.92±6.05	>40
	40	14.24±2.80	
	20	27.01±9.47	
<i>Datura metel</i>	20	27.01±9.47	32.52
	30	39.81±8.33	
	40	67.77±4.57	
<i>Duranta repens</i>	0.5	27.3±0.92	1.90
	1	37.42±4.01	
	2.5	58.9±2.81	

Table II. Continued

Scientific name	Conc. (µg/ml)	Inhibition (%)	IC ₅₀ (µg/ml)
<i>Euodia lepta</i>	5	23.18±7.05	15.59
	10	41.78±6.91	
	20	58.49±7.77	
<i>Excoecaria cochinchinensis</i>	2.5	37.0±7.44	4.80
	5	53.14±6.36	
<i>Flueggea virosa</i>	10	75.56±2.05	4.75
	2.5	39.09±2.57	
	5	51.44±1.89	
<i>Gleditsia australis</i>	10	74.9±3.97	5.83
	2.5	26.45±6.98	
	5	44.19±6.80	
<i>Helicteres angustifolia</i>	10	79.35±1.48	17.11
	5	22.03±2.19	
	10	36.52±3.14	
<i>Heliotropium indicum</i>	30	77.68±9.62	>40
	40	36.53±5.67	
	40	36.53±5.67	
<i>Homonoia riparia</i>	2.5	22.84±4.60	7.05
	5	44.29±7.54	
	10	63.79±2.932	
<i>Ipomoea aquatica</i>	10	28.03±4.33	19.91
	20	52.49±4.85	
	30	70.07±3.77	
<i>Ipomoea batatas</i>	2.5	24.15±6.96	7.85
	5	30.19±6.585	
	10	63.04±2.51	
<i>Jatropha curcas</i>	10	43.52±2.88	14.39
	20	57.48±3.50	
	30	78.07±2.64	
<i>Khaya senegalensis</i>	1	32.1±7.12	3.85
	2.5	45.39±3.89	
	5	55.35±2.56	
<i>Melia azedarach</i>	20	27.42±3.63	28.79
	30	51.61±3.20	
	40	80.65±7.55	
<i>Mimosa pigra L.</i>	5	44.30±7.91	7.06
	10	58.23±7.91	
	15	70.89±5.80	
<i>Mirabilis jalapa</i>	40	41.23±8.32	>40
<i>Momordica charantia</i>	40	27.59±0.80	>40
<i>Mussaenda pilosissima</i>	2.5	22.74±8.22	6.73
	5	46.03±1.26	
	10	66.30±7.53	
<i>Ocimum basilicum</i>	2.5	7.19±6.11	16.15
	5	23.35±3.74	
	10	60.18±7.20	
<i>Petasites japonicus</i>	5	39.26±2.57	8.05
	10	56.30±6.70	
	20	94.81±9.25	
<i>Physalis angulata</i>	40	43.97±1.90	>40
<i>Piper betle</i>	10	39.91±4.83	17.03
	20	55.96±3.64	
	30	65.6±5.50	

Table II. Continued

Scientific name	Conc. (µg/ml)	Inhibition (%)	IC ₅₀ (µg/ml)
<i>Polygonum orientale</i>	2.5	37.06±9.46	
	5	46.19±2.33	5.27
	10	75.63±6.04	
<i>Portulaca oleracea</i>	10	23.99±2.79	
	20	40.22±3.99	28.42
	30	51.29±3.32	
<i>Ricinus communis</i>	2.5	33.61±5.09	
	5	42.02±2.18	7.18
	10	60.08±5.68	
<i>Scoparia dulcis</i>	5	28.33±3.55	
	10	66.21±8.0	9.09
	20	79.52±5.42	
<i>Solanum nigrum</i>	2.5	35.71±8.95	
	5	45.11±7.51	6.47
	10	62.41±4.56	
<i>Syzygium cuminii</i>	2.5	18.18±4.55	
	5	31.44±3.99	9.62
	10	51.14±2.27	
<i>Toxicodendron succedanea</i>	2.5	47.92±6.17	
	5	64.17±2.60	2.47
	10	81.25±4.51	
<i>Typhonium trilobatum</i>	20	36.71±3.02	
	30	61.84±6.54	26.20
	40	71.01±8.82	
<i>Urena lobata</i>	20	32.61±4.45	
	30	39.35±4.2	35.29
	40	57.95±2.8	
<i>Vigna radiata</i>	40	45.53±3.21	>40
	TMG ^a	3.724	31.42±5.71
		5.586	56.42±9.60
	7.448	69.69±8.15	5.34

Inhibitory activity was expressed as mean±S.D. of triplicate experiments. IC₅₀ values were calculated from the dose inhibition curve.

^aTMG (3,3-Tetramethyleneglutaric acid) was used as positive control.

시약 및 기기 – Sodium phosphate monobasic, potassium phosphate dibasic, lithium sulfate, imidazole, NADP, NADPH, DL-glyceraldehyde, 3,3-tetramethyleneglutaric acid, 2-mercaptoethanol, Bovine Serum Albumin 등은 Sigma사 (St. Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였으며, 용매는 대정 화금 (한국) 제품을 사용하였다. 형광 분석을 위해 Spectrofluorometric detector (Synergy HT Bio-TEK, USA)를 사용하였다.

추출 및 시료조제 – 시료를 분쇄한 후 300 g을 칭량하여 2배 용적의 100% 에탄올을 넣고 실온에서 3회 추출하였다. 여과 후 40°C 이하의 수욕상에서 감압농축하고, 다시 동결 건조기에서 건조하였다. 추출물은 실험 직전에 감압 하에서

P₂O₅를 이용하여 12시간 이상 재 건조한 후 DMSO에 용해하고 3차 증류수로 희석하였다.

In vitro에서 알도즈 환원 효소 억제 실험 – Sprague-Dawley rat (250~280 g)의 수정체로부터 알도즈 환원 효소를 Dufrane⁸⁾ 방법으로 분리하였다. 135 mM Na, K-phosphate buffer (pH 7.0)와 10 mM 2-mercaptoethanol을 적출한 수정체와 함께 분쇄하였다. 14,000 rpm에서 30 분간 원심 분리한 다음 상층액을 0.2 µm의 filter로 여과하였다. 효소의 단백질은 bovine serum albumin을 표준으로 이용하여 Lowry⁹⁾ 방법으로 정량하였다. 135 mM Na, K-phosphate buffer (pH 7.0), 100 mM lithium sulfate, 0.03 mM NADPH, 0.04 mM DL-glyceraldehyde와 100 µg/ml 효소 혼합액에 0.1% DMSO에 녹인 시료를 가하여 최종용액을 1 ml로 한 뒤 37°C 에서 10분간 반응시켰다. 이때 공시료는 0.04 mM DL-glyceraldehyde를 첨가하지 않았으며, 표준액은 135 mM Na, K-phosphate buffer (pH 7.0), 100 mM lithium sulfate에 50 µl NADP (0.2~5 µM)를 사용하였다. 0.3 ml의 0.5 N HCl을 첨가하여 반응을 종료시킨 뒤, 10 mM imidazole이 첨가된 6 M NaOH 1 ml을 가하여 60°C 에서 10분간 반응시켜 NADPH가 NADP로 전환되는 것을 Spectrofluorometric detector로 (Ex. 360 nm, Em. 460 nm) 측정하였다. 모든 시료는 triplicate로 수행하여 IC₅₀ 값으로 나타냈다. 알도즈 환원 효소 억제제로 알려진 TMG¹⁰⁾를 양성대조군으로 택하여 효능을 비교하였다.

결과 및 고찰

당뇨합병증의 주요 원인 중 하나인 폴리올 경로의 알도즈 환원 효소의 억제가 당뇨합병증 치료 및 예방에 중요한 역할을 한다.¹¹⁾ 지금까지 개발된 알도즈 환원 효소 억제제들인 zopolrestat, ponalrestat, sorbinil, tolrestat, fidarestat, ranirestat와 epalrestat 등이 여러 동물실험에서 당뇨합병증을 예방, 지연시킨다는 보고가 있다.¹²⁻¹⁶⁾ 그러나 임상에서 zopolrestat와 ponalrestat은 효능이 낮았고, sorbinil의 과민반응과 tolrestat의 간기능 장애와 같은 부작용으로 개발 과정에서 중단되었다.^{17,18)} 현재 일본과 미국에서는 ranirestat와 fidarestat의 임상실험이 진행되고 있다.¹⁵⁾ Epalrestat (ONO-2235, Kinedak; Ono Pharmaceutical Co., Ltd., Chuo-ku, Osaka, Japan)는 미국식품의약국 (FDA)에는 승인되지 않았다.^{19,20)} 그러나 유일하게 일본에서 1992년에 승인되어 시판 중이며,²⁰⁾ 당뇨병 신경증 환자에게 3년 이상 장기 투약한 결과 일부에서 나타나는 간기능 장애와 오심 등의 부작용이 나타났지만, 대부분 환자에서는 우수한 효능을 나타내었다.¹⁵⁾ 또한 당뇨병 백내장과 신증의 예방 및 지연 효과에 관한 연구도 보고되었다.^{16,21)} 본 연구는 알도즈 환원 효소 억제 후보물질을 선별하기 위해 베트남 약용식물 49종의 에탄올 추

추출물을 이용해 Table 2와 같은 결과를 얻었다.

양성대조군인 TMG의 IC₅₀ 값 (5.34 µg/ml)을 기준으로 알도스 환원 효소 억제 효능을 판단하였으며, *Artemisia annua*의 잎, 줄기 (3.37 µg/ml), *Duranta repens*의 잎, 줄기 (1.9 µg/ml), *Excoecaria cochinchinensis*의 지상부 (4.8 µg/ml), *Flueggea virosa*의 잎, 줄기 (4.75 µg/ml), *Khaya senegalensis*의 잎 (3.85 µg/ml), *Polygonum orientale*의 지상부 (5.27 µg/ml), *Toxicodendron succedanea*의 잎, 줄기 (2.47 µg/ml)의 효능이 우수하였다. *Artemisia annua*의 주성분으로는 coumarin, terpenes, flavonoids²²⁾ 등으로 이 중 quinic acid가 항산화, 간보호 효능이 지닌다고 보고되었다.²³⁻²⁵⁾ *Duranta repens*와 *Toxicodendron succedanea*는 항산화 활성이 있으며,²⁶⁻²⁷⁾ *Duranta repens*의 flavonoid 성분들은 α-glucosidase 억제활성 효능이 보고되었다.²⁸⁾ *Excoecaria cochinchinensis*는 diterpenoids,²⁹⁾ megastigmane glucosides³⁰⁾의 성분을 함유하고 있으며, 베트남에서 전통적으로 소양증, 설사 증기 치료에 사용되었다.³¹⁾ *Flueggea virosa*는 항말라리아 효능이 보고되었으며,^{32,33)} *Khaya senegalensis*는 항암,³⁴⁾ 항원충작용, 항균 작용³⁵⁾이 있다. *Polygonum orientale*은 항균, 항바이러스, 항진균 활성³⁶⁾이 있음이 확인되었다. 지금까지 보고된 천연물에서 분리한 단일화합물의 경우 flavonoid와 phenol 화합물들이 우수한 알도스 환원 효소 억제 효능을 지닌다.^{5,6,37)} 그러나 위의 결과에서 활성을 나타낸 식물들이 알도스 환원 효소 억제 활성을 가지는 유효 성분에 대한 연구가 아직까지 이뤄지지 않아 이에 대한 구체적인 연구가 필요하다고 사료된다. 본 연구 결과는 안전하고 우수한 알도스 환원 효소 억제 효능을 가지는 선도 화합물의 발굴을 위한 기초자료로 활용될 수 있을 뿐만 아니라, 당뇨병증 예방 및 치료제 개발에 이용될 수 있을 것이다.

결 론

49종의 베트남산 생약 추출물 중에서 7종의 추출물이 *in vitro*에서 알도스 환원 효소 억제활성을 나타내었다. *Artemisia annua*의 잎, 줄기, *Duranta repens*의 잎, 줄기, *Excoecaria cochinchinensis*의 지상부, *Flueggea virosa*의 잎, 줄기, *Khaya senegalensis*의 잎, *Polygonum orientale*의 지상부, *Toxicodendron succedanea*의 잎, 줄기가 양성대조군인 3,3-tetramethyleneglutaric acid (TMG)보다 효능이 있음을 확인하였고, 그 중 *Duranta repens*의 잎, 줄기, *Toxicodendron succedanea*의 잎, 줄기 2종은 양성대조군보다 2배 이상 우수한 효능을 나타내었다.

사 사

본 연구는 한국한의학연구원 일반사업비(L07010, L08010),

와 지식경제부 지정 대전대학교 난치성면역질환의 동서생명과학 연구센터의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. Kyseloa, A., Stefek, M. and Bauer, V. (2004) Pharmacological prevention of diabetic cataract. *J. Diabetes Complicat.* **18**: 129-140.
2. Vinson, J. A. and Howard III, T. B. (1996) Inhibition of protein glycation and advanced glycation end products by ascorbic acid and other vitamins and nutrients. *J. Nutr. Biochem.* **7**: 659-663.
3. Collins, J. B. and Corder, C. N. (1977) Aldose reductase and sorbitol dehydrogenase distribution in substructures of normal and diabetic rats lens. *Invest. Ophthalmol. Visual Sci.* **16**: 242-243.
4. Dvonik, D., Gabbay, K. H. and Kinoshita, J. H. (1973) Polyol accumulation in galactosemic and diabetic rats. *Science* **182**: 1146-1148.
5. Jesús Ángel, de la F. and Sonia, M. (2003) Aldose reductase inhibitors from natural sources. *Nat. Prod. Rep.* **20**: 243-251.
6. Kawanishi, K., Ueda, H. and Moriyasu, M. (2003) Aldose reductase inhibitors from the nature. *Current Medicinal Chemistry* **10**: 1353-1374.
7. Lee, Y. M., Kim, N. H., Kim, J. M., Kim, Y. S., Jang, D. S., Kim, J. H., Bae, K. H. and Kim, J. S. (2008) Screening of Inhibitory Effect on Aldose Reductase of Korean Herbal Medicines and Preventive Effect of *Catalpa bignonioides* against Xylose-induced Lens Opacity (). *Kor. J. Pharmacogn.* **39**: 165-173.
8. Dufrene, S. P., Malaisse, W. J. and Sener, A. (1984) A micromethod for the assay of aldose reductase, its application to pancreatic islets. *Biochem. Med.* **32**: 99-105.
9. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Radall, R. J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
10. Kinoshita, J. H., Dvornik, D., Kraml, M. and Gabbay, K. H. (1968) The effect of an aldose reductase inhibitor on the galactose-exposed rabbit lens. *Biochim. Biophys. Acta.* **24**: 472-475.
11. Kaul, D. L. and Ramarao, P. (2001) The role of aldose reductase inhibitors in diabetic complications: recent trends. *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.* **23**: 465-475.
12. Matsumoto, T., Ono, Y., Kurono, M., Kuromiya, A., Nakamura, K. and Bril, V. (2008) Ranirestat (AS-3201), a potent aldose reductase inhibitor, reduces sorbitol levels and improves motor nerve conduction velocity in streptozotocin-diabetic rats. *J. Pharmacol. Sci.* **107**: 231-237.
13. Sun, W., Oates, P. J., Coutcher, J. B., Gerhardinger, C. and Lorenzi, M. (2006) A selective aldose reductase inhibitor of a new structural class prevents or reverses early retinal abnor-

- malities in experimental diabetic retinopathy. *Diabetes* **55**: 2757-2762.
14. Drel, V. R., Pacher, P., Ali, T. K., Shin, J., Julius, U., El-Remessy, A. B. and Obrosova, I. G. (2008) Aldose reductase inhibitor fidarestat counteracts diabetes-associated cataract formation, retinal oxidative-nitrosative stress, glial activation, and apoptosis. *Int. J. Mol. Med.* **21**: 667-676.
 15. Hotta, N., Akanuma, Y., Kawamori, R., Matsuoka, K., Oka, Y., Shichiri, M., Toyota, T., Nakashima, M., Yoshimura, I., Sakamoto, N. and Shigeta, Y. (2006) Long-term clinical effects of epalrestat, an aldose reductase inhibitor, on diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes Care* **29**: 1538-1544.
 16. Constantino, L., Rastelli, G., Vianello, P., Cignarella, G. and Barlocco, D. (1999) Diabetes complications and their potential prevention: aldose reductase inhibition and other approaches. *Medical Research Reviews* **19**: 3-23.
 17. Ziegler, D. (2004) Polyneuropathy in the diabetic patient-update on pathogenesis and management. *Nephrol. Dial. Transplant.* **19**: 2170-2175.
 18. Chalk, C., Benstead, T. J. and Moore, F. (2007) Aldose reductase inhibitors for the treatment of diabetic polyneuropathy. *Cochrane Database Syst. Rev.* **4**: CD004572
 19. Ono Pharmaceutical Co, Ltd. (2005) Kinedak (epalrestat) package insert. Chuo-ku, Osaka, Japan.
 20. Ramirez, M. A. and Borja, N. L. (2008) Epalrestat: an aldose reductase inhibitor for the treatment of diabetic neuropathy. *Pharmacotherapy*. **28**: 646-655.
 21. Iso, K., Tada, H., Kuboki, K. and Inokuchi, T. (2001) Long-term effect of epalrestat, an aldose reductase inhibitor, on the development of incipient diabetic nephropathy in type 2 diabetic patients. *J. Diabetes Complicat.* **15**: 241-244.
 22. Yang, Y., Zhang, J. and Chen, Y. T. (2003) The extraction and isolation handbook of natural product constituents, 439. China Press of Traditional Chinese Medicine.
 23. Kim, H. J. and Lee, Y. S. (2005) Identification of new dicaffeoylquinic acids from *Chrysanthemum morifolium* and their antioxidant activities. *Planta Med.* **71**: 871-876.
 24. Huang, T. M., Na, M. K., Thuong, P. T., Su, N. D., Sok, D. E., Song, K. S., Seong, Y. H., and Bae, K. H. (2006) Antioxidant activity of caffeoyl quinic acid derivatives from the roots of *Dipsacus asper* Wall. *J. Ethnopharmacol.* **108**: 188-192.
 25. Xiang, T., Xiong, Q. B., Ketut, A., Tezuka, Y., Nagaoka, T., Wu, L. J. and Kadota, S. (2001) Studies on the hepatocyte protective activity and the structure-activity relationships of quinic acid and caffeic acid derivatives from the flower buds of *Lonicera bournei*. *Planta Med.* **67**: 322-325.
 26. Shahat, A. A., Nazif, N. M., Abousetta, L. M., Ibrahim, N. A., Cos, P., Miert, S. V., Pieters, L. and Vlietinck, A. J. (2005) Phytochemical investigation and antioxidant activity of *Duranta repens*. *Phytother. Res.* **19**: 1071-1073.
 27. Wu, P. L., Lin, S. B., Huang, C. P. and Chiou, R. Y. Y. (2002) Antioxidative and cytotoxic compounds extracted from the Sap of *Rhus Succedanea*. *J. Nat. Prod.* **65**: 1719-1721.
 28. Iqbal, K., Malik, A., Mukhtar, N., Anis, I., Khan, S. N. and Choudhary, M. I. (2004) a-Glucosidase inhibitory constituents from *Duranta repens*. *Chem. Pharm. Bull.* **52**: 785-789.
 29. Yang, J. H., Luo, S. D., Zhao, J. F., Wang, Y. S., Huang, R., Zhang, H. B. and Li, L. (2005) Three new highly oxygenated diterpenoids from *Excoecaria cochinchinensis* Lour. *Helvetica Chimica Acta.* **88**: 968-973.
 30. Giang, P. M., Son, P. T., Matsunami, K. and Otsuka, H. (2005) New megastigmane glucosides from *Excoecaria cochinchinensis* LOUR. var. *cochinchinensis*. *Chem. Pharm. Bull.* **53**: 1600-1603.
 31. Do, T. L. (1991) Vietnamese Medicinal Plants and Herbal Remedies. *Science and Technology, Hanoi*, 555-556.
 32. Kaou, A. M., Mahiou-Leddet, V., Hutter, S., Aïnouddine, S., Hassani, S., Yahaya, I., Azas, N. and Ollivier, E. (2008) Antimalarial activity of crude extracts from nine African medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* **116**: 74-83.
 33. Muthaura, C. N., Rukunga, G. M., Chhabra, S. C., Omar, S. A., Guantai, A. N., Gathirwa, J. W., Tolo, F. M., Mwitari, P. G., Keter, L. K., Kirira, P. G., Kimani, C. W., Mungai, G. M. and Njagi, E. N. (2007) Antimalarial activity of some plants traditionally used in treatment of malaria in Kwale district of Kenya. *J. Ethnopharmacol.* **112**: 545-551.
 34. Zhang, H., Wang, X., Chen, F., Androulakis, X. M. and Wargovich, M. J. (2007) Anticancer activity of limonoid from *Khaya senegalensis*. *Phytother Res.* **21**: 731-734.
 35. Kayser, O. and Abreu, P. M. (2001) Antileishmania and immunostimulating activities of two dimeric proanthocyanidins from *Khaya senegalensis*. *Pharm. Biol.* **39**: 284-288.
 36. Huang, K. C. and Williams, W. M. (1998) The Pharmacology of Chinese Herbs. 404, CRC Press.
 37. Hisashi, M., Toshio, M., Iwao, T. and Masayuki, Y. (2002) Structural requirements of flavonoids and related compounds for aldose reductase inhibitory activity. *Chem. Pharm. Bull.* **50**: 788-795.

(2008년 9월 11일 접수)