

## 한국산 한약재 (생약) 추출물의 알도즈 환원 효소 억제 효능 검색과 꽃개오동의 수정체 혼탁 억제 (I)

이윤미 · 김란희 · 김종민 · 김영숙 · 장대식 · 김주환<sup>1</sup> · 배기환<sup>2</sup> · 김진숙\*  
한국한의약연구원 한약제제연구부, <sup>1</sup>대전대학교 생명과학부, <sup>2</sup>충남대학교 약학대학

## Screening of Inhibitory Effect on Aldose Reductase of Korean Herbal Medicines and Preventive Effect of *Catalpa bignonioides* against Xylose-induced Lens Opacity (I)

Yun Mi Lee, Nan Hee Kim, Jong Min Kim, Young Sook Kim, Dae Sik Jang,  
Joo Hwan Kim<sup>1</sup>, Ki Hwan Bae<sup>2</sup> and Jin Sook Kim\*

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

<sup>1</sup>Department of Life Science, Daejeon University, Daejeon 300-716, Korea

<sup>2</sup>College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

**Abstracts** – Aldose reductase (AR), the principal enzyme of the polyol pathway, has been shown to play an important role in the diabetic complications, including diabetic cataract. The inhibitors of AR, therefore, would be potential agents for prevention of diabetic complications. As part of our ongoing project directed toward the discovery of preventive and/or treatment for diabetic complications, 48 Korean herbal medicines have been investigated with an *in vitro* evaluation system using aldose reductase inhibitory activities. Of these, 12 herbal medicines exhibited a significant inhibitory activity against aldose reductase. Particularly, seven herbal medicines, i.e., *Eurya japonica*, *Chrysanthemum indicum*, *Akebia quinata*, *Saururus chinensis*, *Catalpa bignonioides*, *Lonicera japonica*, *Vitex rotundifolia* showed two times more potent inhibitory activity than the positive control 3,3-tetramethyleneglutaric acid (TMG). In addition, *Catalpa bignonioides* showed the retardation of cataract-opacification of the lens of the eye under diabetic condition by xylose. Therefore, this result may provide a potential therapeutic approach for preventing and treating diabetic cataracts.

**Keywords** – Diabetic cataract, Aldose reductase, AGEs, Korean herbal medicines

당뇨성 백내장은 실명을 유발하는 주 원인 중 하나이다. 다른 당뇨 합병증과는 달리 실명은 실제 생활에 있어서 환자와 그가 속한 가족 및 사회에 끼치는 영향이 매우 크다. 그러므로 당뇨가 완치가 안 되어도 실명 발병시기가 몇 년이라도 지연이 될 때, 이로 인한 긍정적인 파생효과가 매우 큰 말을 할 나위 없다.

당뇨성 백내장에는 세 개의 기전 – 비정상적으로 활성화된 폴리올 경로 (polyol pathway), 수정체 단백질의 비효소 당화 반응 (advanced glycation end products: AGEs), 산화성 스트레스 – 이 관여함이 보고되었다.<sup>1)</sup>

알도즈 환원 효소 (aldose reductase)는 폴리올 대사 경로의 첫 번째 효소로 정상적인 상태에서는 기질에 대한 친화성이 매우 낮아 정상 농도의 포도당이 소비톨로 전환되는데 영향을 미치지 못하고 오히려 인체에 해독한 알데하이드를 무독화 한다.<sup>2)</sup> 그러나 고혈당 상태에서는 알도즈 환원 효소가 비정상적으로 활성화되어 고농도의 포도당을 소비톨로 환원시킨다. 이렇게 생성된 소비톨은 수정체 세포막을 통과하지 못하여 축적되어 수정체 삼투압이 증가된다. 이때 수정체는 삼투압의 평형을 유지하기 위하여 수분을 수정체의 섬유소로 흡수하는데, 이 때문에 수정체 섬유소가 팽창하기 시작하여 섬유소가 상하여 심각한 액화 (liquefaction) 현상이 일어나 공포가 생성되면서 백내장이 발병하기 시작한다.<sup>3,4)</sup> 이는 여러 동물실험과 임상실험 결과에서 알도즈 환

\*교신저자 (E-mail): jskim@kiom.re.kr  
(FAX): 042-868-9471

원 효소 억제가 당뇨병증을 예방한다는 보고에 의해 뒷받침되고 있다.<sup>5,6)</sup> 당뇨병증의 예방 및 치료를 위해 소비톨 생산을 저하시킬 수 있는 알도즈 환원 효소 억제제가 개발되고 있다. 그러나 임상에서의 부작용과 효능이 낮아 널리 사용되지 못하고 있으며, 보다 안전하고 우수한 효능을 지닌 새로운 물질 발굴을 위해 많은 연구들이 진행되고 있다.<sup>7)</sup>

고혈당 환경에서는 비효소 반응이 비가역적으로 진행되어 schiff 염기를 거쳐 아마도리 산물이 생성되고 최종당화 산물이 생성된다. 이렇게 생성된 최종당화산물이 비교적 수명이 긴 수정체의 단백질과 결합한다. 이러한 반응이 가속화됨으로 백내장 발병을 유도한다.<sup>1)</sup>

본 연구는 당뇨병 백내장의 예방 및 치료를 위한 후보물질 도출을 위해 한국에서 자생 또는 재배되는 48종의 한약재 (생약)들을 *in vitro*에서 알도즈 환원 효소 억제 효능을 확인하고, 그 중 효능이 좋은 꽃개오동에서 쥐의 수정체를 이용한 혼탁지연효과 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

**실험재료** - 본 실험에 사용된 한약재 (생약) (Table I.)들은 2004~2007년 대전대학교 생명과학부 김주환 교수팀에 의해 국내에서 채집, 동정되었다. 증거표본은 한국한의학연구원 한약제제연구부 식물표본실에 보관 중이다.

**시약 및 기기** - Sodium phosphate monobasic, potassium phosphate dibasic, lithium sulfate, imidazole, NADP, NADPH, DL-glycealdehyde, 3,3-tetramethyleneglutaric acid, 2-mercaptoethanol, Bovine Serum Albumin, DL-glycealdehyde 등은 Sigma사 (St. Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였으며, 용매는 대정화금 (한국) 제품을 사용하였다. Gentamycine (Gibco, USA)과 fungizione (Gibco, USA), medium 199 (Gibco, USA), xylose (Aldrich, USA), Spectrofluorometric detector는 Bio-TEK, Synergy HT (USA, Ex. 360 nm, Em. 460 nm)를 사용하였다. 광학현미경은 Leica DMIL (LEICA MICROSYSYSTEMS: Germany) 제품을 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 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>를 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 Dufrane<sup>8)</sup> 방법으로 분리하였다. 135 mM Na, K-phosphate buffer (pH 7.0)와 10 mM 2-mercaptoethanol을 적출한 수정체와 함께 분쇄하였다. 14,000 rpm에서 30분간

원심 분리한 다음 상층액을 0.2 µm의 filter로 여과하였다. 효소의 단백질은 bovine serum albumin을 표준으로 이용하여 Lowry<sup>9)</sup> 방법으로 정량하였다. 135 mM Na, K-phosphate buffer (pH 7.0), 100 mM lithium sulfate, 0.03 mM NADPH, 0.04 mM DL-glycealdehyde와 100 µg/ml 효소 혼합액에 0.1% DMSO에 녹인 시료를 가하여 최종용액을 1 ml로 한 뒤 37°C에서 10분간 반응시켰다. 이때 공시료는 0.04 mM DL-glycealdehyde를 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 ml를 가하여 60°C에서 10분간 반응시켜 NADPH가 NADP로 전환되는 것을 측정, 분석하여 IC<sub>50</sub> 값으로 나타냈다. 알도즈 환원효소 억제제로 알려진 3,3-tetramethyleneglutaric acid<sup>10)</sup>를 양성 대조군으로 택하여 효능을 비교하였다. 모든 시료는 triplicate로 수행하였다.

**수정체 organ 배양 및 항 백내장 실험** - 생후 4주된 체중 200 g 내외의 흰쥐 (Sprague-Dawley: 오리엔트, 한국)를 사용하였으며, 경추 파열로 희생시킨 뒤 안구를 적출하고, PBS (Welgen, USA) 1 ml가 들어있는 1.5 ml 튜브에 담가 놓는다. 안구에서 수정체를 분리하기 위해 후방 (posterior approach)에서 조심스레 꺼내 홍채와 모양소대를 제거하였고 외과적 손상 (surgical damage)이 없는 온전한 수정체들을 골라 실험에 사용하였다.<sup>11)</sup> 배양은 24 well plate에 수정체를 5 mg/l gentamycine과 0.5 mg/l fungizione이 첨가된 1 ml medium 199에 옮겨 담은 후 5% CO<sub>2</sub>, 95% air atmosphere와 37°C를 유지하면서 시료를 처리하고 2일 동안 배양하였다.<sup>12)</sup> Sugar cataract는 20 mM xylose로 유도하였다.

**수정체 혼탁도 측정 및 분석** - 배양된 수정체는 2일 동안 CCD 카메라가 연결된 광학현미경으로 관찰하였고, 매일 동일 시간에 이미지를 얻었다.<sup>13)</sup> 수정체 혼탁도는 Scion image analyzer (Scion Corporation, USA)로 측정하였고 측정수치는 pixel 당 arbitrary units (AU)로 표현하였다. 이 결과는 Prism software 4.03 (Graph Pad, San Diego, CA, USA) 통계 package를 이용하여 표준오차를 계산하였고, Two-way ANOVA를 통해  $p < 0.05$  수준에서 각 실험군의 평균치간의 유의성을 검정하였다.

## 결과 및 고찰

알도즈 환원 효소에 대한 활성을 검색하여 Table II와 같은 결과를 얻었다.

사스레피 나무의 가지와 잎 (2.0 µg/ml), 으름의 뿌리 (2.06 µg/ml), 감국의 지상부와 감국의 꽃 (2.05 µg/ml, 3 µg/ml), 삼백초의 가지와 잎 (2.11 µg/ml), 꽃개오동의 가지와 잎 (2.25 µg/ml), 순비기 나무의 가지와 잎 (2.27 µg/ml), 인

Table I. List of Korean Herbal Medicines tested

Family	Scientific name	Part used	Collection date	Collection area
Amarantaceae (비름과)	<i>Achyranthes japonica</i> (쇠무릎)	root	2006-03-17	대전시 동구
Amarantaceae (비름과)	<i>Achyranthes japonica</i> (쇠무릎)	stem, leaf	2006-03-17	대전시 동구
Actinidiaceae (쥐꼬리망초과)	<i>Actinidia polygama</i> (개다래)	leaf, stem	2006-06-27	충남 천안시
Lardizabalaceae (으름덩굴과)	<i>Akebia quinata</i> (으름)	root	2005-04-23	충남 금산군
Alismataceae (택사과)	<i>Alisma lantago-aquatica</i> var. <i>orientale</i> Samuel (질경이택사)	inflorescence	2004-09-02	충북 공주시
Alismataceae (택사과)	<i>Alisma plantago-aquatica</i> var. <i>orientale</i> Samuel (질경이택사)	leafstalk	2004-09-02	충북 공주시
Haemodoraceae (지모과)	<i>Anemarrhena asphodeloides</i> (지모)	root, stem	2007-01-01	전남 강진군
Umbelliferae (산형과)	<i>Angelica dahurica</i> (구릿대)	root	2006-10-16	경북 봉화군
Fagaceae (참나무과)	<i>Castanea crenata</i> (밤나무)	staminate flower	2006-08-01	대전시 동구
Fagaceae (참나무과)	<i>Castanea crenata</i> (밤나무)	bark, twig	2006-08-01	대전시 동구
Fagaceae (참나무과)	<i>Castanea crenata</i> (밤나무)	leaf	2006-08-01	대전시 동구
Bignoniaceae (능소화과)	<i>Catalpa bignonioides</i> (꽃개오동)	twig, leaf	2006-06-10	전남 보성군
Compositae (국화과)	<i>Chrysanthemum boreale</i> (산국)	whole	2005-11-01	충남 태안군
Compositae (국화과)	<i>Chrysanthemum indicum</i> (감국)	stem, flower, leaf	2004.10.14	전북 무주군
Compositae (국화과)	<i>Chrysanthemum indicum</i> (감국)	flower	2006-11-07	전남 화순군
Ranunculaceae (미나리아재비과)	<i>Cimicifuga heracleifolia</i> (승마)	whole	2006-05-18	충남 계룡산
Ranunculaceae (미나리아재비과)	<i>Clematis terniflora</i> DC. (참으아리)	flower	2004-09-12	전남 고흥군
Ranunculaceae (미나리아재비과)	<i>Clematis terniflora</i> DC. (참으아리)	stem, leaf	2004-09-12	전남 고흥군
Cornaceae (층층나무과)	<i>Cornus officinalis</i> (산수유)	seed	2004-11-03	대전시 동구
Umbelliferae (산형과)	<i>Dystaenia takeshimana</i> (섬바디)	root	2006-09-09	경북 울릉군
Berberidaceae (매자나무과)	<i>Epimedium koreanum</i> (삼지구엽)	leaf, stem	2005-07-21	강원도 철원군
Theaceae (차나무과)	<i>Eurya japonica</i> (사스레피나무)	twig, leaf	2006-09-24	제주도 제주시
Saururaceae (삼백초과)	<i>Houttuynia cordata</i> (어성초)	whole	2006-06-22	경남 사천시
Caprifoliaceae (인동과)	<i>Lonicera japonica</i> (인동)	whole	2006-06-09	전남 여수군

Table I. Continued

Family	Scientific name	Part used	Collection date	Collection area
Labiatae (꿀풀과)	<i>Lycopus ramosissimus</i> var. <i>japonicus</i> (쉽사리)	whole	2006-09-19	경북 문경시
Labiatae (꿀풀과)	<i>Mentha arvensis</i> var. <i>piperascens</i> (박하)	whole	2004-10-04	전북 진안군
Moraceae (뽕나무과)	<i>Morus bombycis</i> (산뽕나무)	root	2006-06-27	충남 천안시
Moraceae (뽕나무과)	<i>Morus bombycis</i> (산뽕나무)	stem	2005-04-30	경북 영천시
Umbelliferae (산형과)	<i>Ostericum koreanum</i> (강활)	leaf	2004-09-05	강원도 치악산
Umbelliferae (산형과)	<i>Ostericum koreanum</i> (강활)	stem	2004-09-05	강원도 치악산
Ranunculaceae (미나리아재비과)	<i>Paeonia lactiflora</i> var. <i>hortensis</i> (작약)	root	2006-11-01	전남 화순군
Ranunculaceae (미나리아재비과)	<i>Paeonia suffruticosa</i> (모란)	stem	2006-12-01	전남 강진군
Compositae (국화과)	<i>Petasites japonicus</i> (머위)	leaf, stem	2006-10-19	충북 영동군
Rutaceae (운향과)	<i>Phellodendron amurense</i> (황벽나무)	bark	2005-05-23	전북 완주군
Labiatae (꿀풀과)	<i>Phlomis umbrosa</i> (속단)	leaf, stem	2006-06-27	충남 천안시
Liliaceae (백합과)	<i>Polygonatum sibiricum</i> Redoute 층층(갈고리)등글레	root	2006-05-11	충북 제천시
Labiatae (꿀풀과)	<i>Prunella vulgaris</i> (꿀풀)	leaf, stem	2006-06-28	경기도 안성시
Rosaceae (장미과)	<i>Prunus armeniaca</i> (살구나무)	seed	2006-05-01	대전시 동구
Scrophulariaceae (현삼과)	<i>Rehmannia glutinosa</i> (생지황)	root	2006-09-20	경북 안동시
Scrophulariaceae (현삼과)	<i>Rehmannia glutinosa</i> (지황)	root, stem	2006-11-18	전북 정읍시
Polygonaceae (마디풀과)	<i>Reynoutria sachalinensis</i> (왕호장)	aerial part	2005-10-26	경북 울릉군
Saururaceae (삼백초과)	<i>Saururus chinensis</i> (삼백초)	leaf, stem	2006-06-22	경남 사천시
Compositae (국화과)	<i>Siegesbeckia glabrescens</i> (진득찰)	whole	2004-10-28	전남 여수시
Rosaceae (장미과)	<i>Sorbus commixta</i> (마가목)	stem, leaf	2006-09-09	경북 울릉군
Labiatae (꿀풀과)	<i>Teucrium viscidum</i> var. <i>miquelianum</i> (덩굴곽향)	whole	2005-09-27	충남 공주시
Ulmaceae (느릅나무과)	<i>Ulmus parvifolia</i> (참느릅나무)	bark	2004-10-09	전북 무주군
Violaceae (제비꽃과)	<i>Viola takesimana</i> (섬제비꽃)	whole	2005-10-27	경북 울릉군
Verbenaceae (마편초과)	<i>Vitex rotundifolia</i> (순비기나무)	twig, leaf	2006-09-24	제주도 제주시

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

Family	Scientific name	Part used	Conc. ( $\mu\text{g/ml}$ )	Inhibition (%)	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )
Amarantaceae (비름과)	<i>Achyranthes japonica</i> (쇠무릎)	root	10	32.92±1.96	24.64
			20	48.9±1.96	
			40	64.26±2.49	
Amarantaceae (비름과)	<i>Achyranthes japonica</i> (쇠무릎)	stem, leaf	10	5.02±9.83	> 40
			20	30.12±2.73	
			40	41.31±2.18	
Actinidiaceae (취꼬리망초과)	<i>Actinidia polygama</i> (개다래)	leaf, stem	10	34.19±5.66	31.0
			20	47.79±3.37	
			40	54.04±6.74	
Lardizabalaceae (으름덩굴과)	<i>Akebia quinata</i> (으름)	root	0.5	26.33±4.34	2.06
			1	35.11±5.87	
			2.5	56.43±6.80	
Alismataceae (택사과)	<i>Alisma plantago-aquatica var. orientale Samuel</i> (질경이택사)	leafstalk	10	4.55±2.14	35.29
			20	26.77±5.00	
			40	57.07±9.29	
Alismataceae (택사과)	<i>Alisma lantago-aquatica var. orientale Samuel</i> (질경이택사)	inflorescence	2.5	19.18±9.24	9.50
			5	33.06±5.77	
			10	51.43±2.89	
Haemodoraceae (지모과)	<i>Anemarrhena asphodeloides</i> (지모)	root, stem	2.5	36.36±1.01	7.21
			5	45.12±2.54	
			10	57.24±3.09	
Umbelliferae (산형과)	<i>Angelica dahurica</i> (구릿대)	root	5	23.55±8.71	17.07
			10	35.84±5.15	
			20	55.97±1.77	
Fagaceae (참나무과)	<i>Castanea crenata</i> (밤나무)	bark, twig	1	24.69±9.80	4.63
			2.5	26.78±2.61	
			5	55.23±2.61	
Fagaceae (참나무과)	<i>Castanea crenata</i> (밤나무)	leaf	5	34.6±2.64	10.83
			10	41.77±6.33	
			20	81.86±1.46	
Fagaceae (참나무과)	<i>Castanea crenata</i> (밤나무)	staminate flower	2.5	42.54±0.48	4.33
			5	53.59±3.31	
			10	70.44±0.96	
Bignoniaceae (능소화과)	<i>Catalpa bignonioides</i> (꽃개오동)	twig, leaf	0.5	7.69±3.46	2.25
			1	30.77±4.0	
			2.5	53.46±4.66	
Compositae (국화과)	<i>Chrysanthemum boreale</i> (산국)	whole	5	37.9±3.89	7.43
			10	64.92±5.27	
			20	85.48±1.21	
Compositae (국화과)	<i>Chrysanthemum indicum</i> (감국)	flower	1	31.85±7.40	3.0
			2.5	48.89±1.11	
			5	65.19±2.57	
Compositae (국화과)	<i>Chrysanthemum indicum</i> (감국)	stem, flower, leaf	0.25	25.83±0	2.05
			1	37.92±8.84	
			5	87.50±5.89	
Ranunculaceae (미나리아재비과)	<i>Cimicifuga heracleifolia</i> (승마)	whole	5	44.6±7.02	7.32
			10	56.47±2.25	
			20	75.54±0.62	
Ranunculaceae (미나리아재비과)	<i>Clematis terniflora DC.</i> (참으아리)	flower	2.5	33.95±5.26	8.35
			10	55.81±9.87	
			20	79.53±11.84	
Ranunculaceae (미나리아재비과)	<i>Clematis terniflora DC.</i> (참으아리)	stem, leaf	10	40.12±5.08	17.28
			20	56.29±0.85	
			40	72.46±5.08	

Table II. Continued

Family	Scientific name	Part used	Conc. ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Inhibition (%)	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )
Cornaceae (층층나무과)	<i>Cornus officinalis</i> (산수유)	seed	10	46.69 $\pm$ 3.19	10.49
			15	73.51 $\pm$ 5.10	
			20	94.70 $\pm$ 6.76	
Umbelliferae (산형과)	<i>Dystaenia takeshimana</i> (섬바디)	root	5	25.1 $\pm$ 9.25	13.8
			10	38.91 $\pm$ 1.92	
			20	67.78 $\pm$ 5.66	
Berberidaceae (매자나무과)	<i>Epimedium koreanum</i> (삼지구엽초)	leaf, stem	5	27.97 $\pm$ 3.97	13.41
			10	42.31 $\pm$ 7.92	
			20	66.43 $\pm$ 3.15	
Theaceae (차나무과)	<i>Eurya japonica</i> (사스레피나무)	twig, leaf	0.5	15.97 $\pm$ 5.92	2.0
			1	26.04 $\pm$ 1.04	
			2.5	56.25 $\pm$ 3.76	
Saururaceae (삼백초과)	<i>Houttuynia cordata</i> (어성초)	whole	10	47.79 $\pm$ 3.47	11.23
			20	61.40 $\pm$ 3.31	
			40	83.09 $\pm$ 1.68	
Caprifoliaceae (인동과)	<i>Lonicera japonica</i> (인동)	whole	0.5	25.44 $\pm$ 5.94	2.34
			1	34.84 $\pm$ 6.39	
			2.5	51.57 $\pm$ 7.12	
Labiatae (꿀풀과)	<i>Lycopus ramosissimus</i> var. <i>japonicus</i> (쉽사리)	whole	2.5	19.11 $\pm$ 9.22	8.32
			5	36.52 $\pm$ 2.71	
			10	57.34 $\pm$ 4.84	
Labiatae (꿀풀과)	<i>Mentha arvensis</i> var. <i>piperascens</i> (박하)	whole	5	-3.65 $\pm$ 5.81	13.86
			10	28.77 $\pm$ 11.62	
			20	85.84 $\pm$ 13.56	
Moraceae (뽕나무과)	<i>Morus bombycis</i> (산뽕나무)	root	2.5	23.43 $\pm$ 6.88	5.56
			5	48.95 $\pm$ 3.68	
			10	84.27 $\pm$ 9.32	
Moraceae (뽕나무과)	<i>Morus bombycis</i> (산뽕나무)	stem	5	41.12 $\pm$ 6.13	> 40
			20	45.48 $\pm$ 7.26	
			40	49.84 $\pm$ 2.35	
Umbelliferae (산형과)	<i>Ostericum koreanum</i> (강활)	leaf	5	35.68 $\pm$ 4.98	10.73
			10	48.90 $\pm$ 4.98	
			20	72.25 $\pm$ 10.59	
Umbelliferae (산형과)	<i>Ostericum koreanum</i> (강활)	stem	2.5	0	12.63
			10	39.53 $\pm$ 8.77	
			20	84.50 $\pm$ 0	
Ranunculaceae (미나리아재비과)	<i>Paeonia lactiflora</i> var. <i>hortensis</i> (작약)	root	10	31.65 $\pm$ 9.05	23.98
			20	44.78 $\pm$ 1.17	
			40	71.04 $\pm$ 4.77	
Ranunculaceae (미나리아재비과)	<i>Paeonia suffruticosa</i> (모란)	stem	5	26.59 $\pm$ 5.05	16.08
			10	35.65 $\pm$ 2.40	
			20	58.91 $\pm$ 2.77	
Compositae (국화과)	<i>Petasites japonicus</i> (머위)	leaf, stem	10	43.41 $\pm$ 3.10	16.43
			20	52.41 $\pm$ 2.43	
			40	79.74 $\pm$ 4.42	
Rutaceae (운향과)	<i>Phellodendron amurense</i> (황벽나무)	bark	5	26.42 $\pm$ 7.12	12.04
			10	45.91 $\pm$ 4.25	
			20	74.21 $\pm$ 7.91	
Labiatae (꿀풀과)	<i>Phlomis umbrosa</i> (속단)	leaf, stem	10	32.92 $\pm$ 8.76	25.11
			20	44.44 $\pm$ 4.28	
			40	66.67 $\pm$ 3.7	
Liliaceae (백합과)	<i>Polygonatum sibiricum</i> Redoute 층층(갈고리)둥글레	root	10	44.33 $\pm$ 3.42	15.3
			20	55.32 $\pm$ 2.81	
			40	74.11 $\pm$ 2.46	

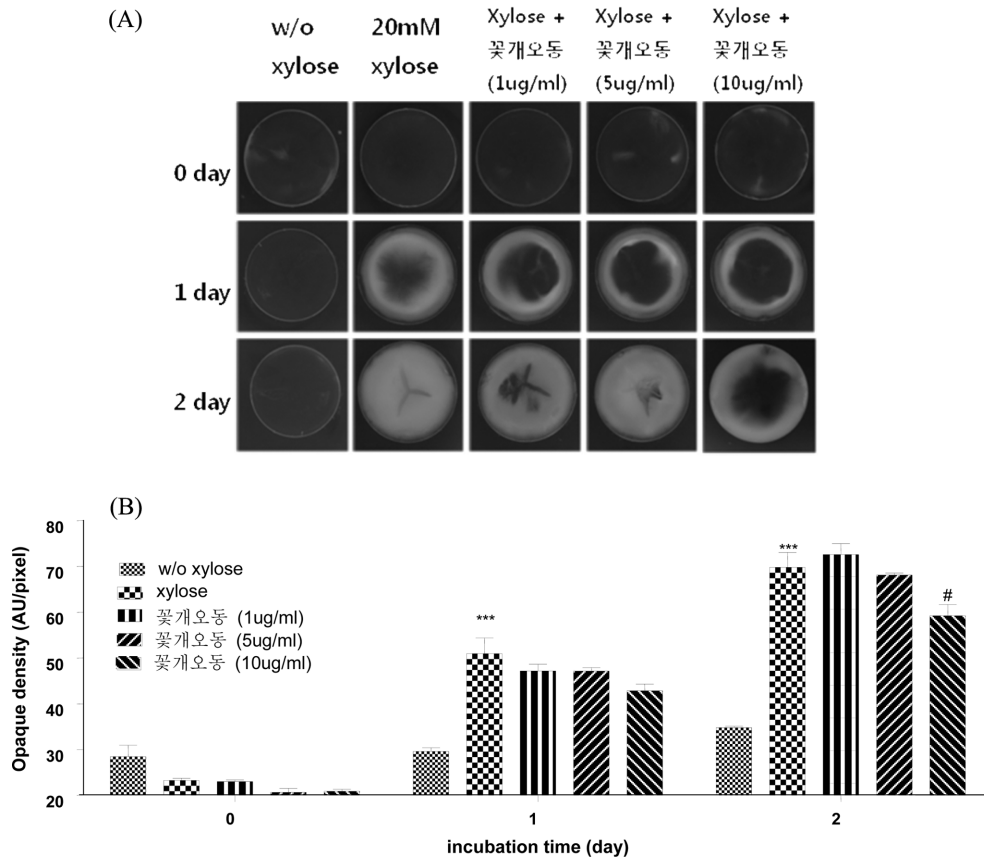
Table II. Continued

Family	Scientific name	Part used	Conc. ( $\mu\text{g/ml}$ )	Inhibition (%)	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )
Labiatae (꿀풀과)	<i>Prunella vulgaris</i> (꿀풀)	leaf, stem	5	43.95 ± 3.04	7.88
			10	53.23 ± 10.29	
			20	83.06 ± 3.63	
Rosaceae (장미과)	<i>Prunus armeniaca</i> (살구나무)	seed	10	18.33 ± 4.76	> 40
			20	31.83 ± 7.74	
			40	41.48 ± 2.23	
Scrophulariaceae (현삼과)	<i>Rehmannia glutinosa</i> (생지황)	root	20	-2.45 ± 9.0	> 40
			30	22.02 ± 5.11	
			40	34.25 ± 1.06	
Scrophulariaceae (현삼과)	<i>Rehmannia glutinosa</i> (지황)	root, stem	5	44.41 ± 1.55	11.17
			10	47.80 ± 2.35	
			20	59.32 ± 5.28	
Polygonaceae (마디풀과)	<i>Reynoutria sachalinensis</i> (왕호장)	aerial part	5	40.65 ± 6.62	10.46
			10	46.26 ± 1.62	
			20	70.56 ± 3.71	
Saururaceae (삼백초과)	<i>Saururus chinensis</i> (삼백초)	leaf, stem	0.5	23.0 ± 1.60	2.11
			1	29.62 ± 5.36	
			2.5	57.14 ± 6.36	
Compositae (국화과)	<i>Siegesbeckia glabrescens</i> (진득찰)	whole	2.5	26.70 ± 8.84	8.73
			5	28.98 ± 5.62	
			20	100	
Rosaceae (장미과)	<i>Sorbus commixta</i> (마가목)	stem, leaf	1	26.02 ± 9.08	4.67
			2.5	38.66 ± 7.73	
			5	51.30 ± 3.41	
Labiatae (꿀풀과)	<i>Teucrium viscidum var. miquelianum</i> (덩굴곽향)	whole	5	46.73 ± 9.19	5.18
			10	68.22 ± 9.54	
			20	92.06 ± 3.24	
Ulmaceae (느릅나무과)	<i>Ulmus parvifolia</i> (참느릅나무)	bark	10	37.07 ± 4.21	25.34
			20	44.86 ± 2.47	
			40	62.93 ± 1.08	
Violaceae (제비꽃과)	<i>Viola takesimana</i> (섬제비꽃)	whole	5	44.2 ± 3.14	8.05
			10	55.25 ± 2.87	
			20	64.92 ± 0.96	
Verbenaceae (마편초과)	<i>Vitex rotundifolia</i> (순비기나무)	twig, leaf	0.5	28.21 ± 3.53	2.27
			1	31.5 ± 4.96	
			2.5	53.48 ± 0.63	
	3,3-Tetramethyleneglutaric acid (positive control)		3.72	31.42 ± 5.71	5.34
		5.59	56.42 ± 9.60		
		7.45	69.69 ± 8.15		

Inhibitory activity was expressed as mean ± S.D. of triplicate experiments. IC<sub>50</sub> values were calculated from the dose inhibition curve.

동의 전초 (2.34  $\mu\text{g/ml}$ ), 밤나무의 꽃과 수피, 가지 (4.33  $\mu\text{g/ml}$ , 4.63  $\mu\text{g/ml}$ ), 마가목의 가지와 잎 (4.67  $\mu\text{g/ml}$ ), 덩굴곽향의 전초 (5.18  $\mu\text{g/ml}$ ) 등이 양성대조군인 3,3-tetramethyleneglutaric acid (5.34  $\mu\text{g/ml}$ ) 보다 효능이 우수하였다. 삼백초<sup>14)</sup>와 꽃개오동<sup>15)</sup>의 주성분은 플라보노이드와 안트라퀴논 계열이며, 순비기 나무<sup>16)</sup>와 감국<sup>17,18)</sup>의 주성분은 페놀계와 플라보노이드 및 테르페노이드 계열이다. 인동<sup>19-21)</sup>은 플라보노이드와 트리테르페노이드 계열이며, 밤나무 꽃은 페놀계와 방향족 알코올 계열이 주성분이다.<sup>22)</sup> 1970년대 중반 이후부터 천연물에서 유래한 알도즈 환원효소 억제 효능에 관한 연

구가 계속 진행되고 있으며, 단일화합물의 경우 플라보노이드와 페놀 유도체들이 우수한 알도즈 환원효소 억제 효능을 지닌다고 보고되었다.<sup>23-28)</sup> 본 실험 결과에서도 활성을 나타낸 식물들이 플라보노이드나 페놀유도체들을 함유하고 있음을 확인하였으며, 감국의 꽃 추출물<sup>28)</sup>과 꽃에서 분리한 플라보노이드 화합물과 세스퀴테르펜,<sup>17,18,28,29)</sup> 순비기 나무 성분 중 루테올린<sup>30)</sup>과 사스레피 나무의 잎 추출물<sup>31)</sup>들이 알도즈 환원효소 억제 효능이 있다는 보고와 본 실험의 결과가 일치되었다. 그러나 사스레피 나무, 마가목, 으름, 덩굴곽향 추출물들이 효능이 우수하나, 아직 그 성분에 관한 연구가 보고되지 않았다.



**Fig. 1.** Preventive effects of *Catalpa bignonioides* against cataractogenesis of rat lens opacities induced by 20 mM xylose. (A) Representative image of rat lenses incubated for various times (B) Opaque density of each lens. All opacities were analyzed from each lens. All data are expressed as mean±SEM. (n=4). \*\*\*p<0.001 vs. w/o Xylose. #p<0.05 vs Xylose.

쥐의 수정체를 *ex vivo* 상태에서 xylose로 처리, 배양한 후, 24시간이 경과하면 유의성 있게 수정체의 혼탁이 진행되었으며, 꽃개오동 추출물 처리군은 2일째 10 µg/ml 처리군이 유의성 있게 혼탁이 지연되었다. (Fig. 1.)

이로써 본 연구결과는 보다 안전하고 우수한 알도즈 환원 효소 억제 효능을 가지는 새로운 선도 화합물의 발굴을 위한 기초자료로 이용될 수 있을 뿐만 아니라 당뇨병증, 특히 당뇨병성 백내장의 발병 지연 및 치료제 개발에 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

### 결론

48종의 한국산 한약재 (생약) 중에서 12종의 추출물이 *in vitro*에서 알도즈 환원 효소 억제활성 효능을 나타내었다. 양성대조군인 3,3-tetramethyleneglutaric acid (TMG)보다 효능이 2배 우수한 사스레피 나무, 감국, 으름, 삼백초, 꽃개오동, 인동, 순비기나무 등 7종은 당뇨병증 예방 및 치료를 위한 후보물질로 사료된다. 특히 꽃개오동 추출물은 유의성 있게 수정체 혼탁지연 효능을 보였다.

### 사사

본 연구는 한국한의학연구원 일반사업비 (L07010)의 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. 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.
3. Lee, Y. S., Lee, S. H., Kim, B. K. and Shin, K. H. (2004) Screening for aldose reductase inhibitory activity of extracts of the marine plants from Korea. *Algae* **19**: 349-352.
4. Varna, S. D. and Richards, R. D. (1984) Etiology of cataracts in diabetics. *Int. Ophthalmol. Clin.* **24**: 93-110.
5. Handelsman, D. J. and Turtle, J. R. (1981) Clinical trial of an aldose reductase inhibitor in diabetic neuropathy. *Diabetes* **30**: 459-464



6. David, R. T., Elizabeth, J. S. and Lara, T. D. (1994) Aldose reductase inhibitors and their potential for the treatment of diabetic complications. *Trends Pharmacol. Sci.* **15**: 293-297.
7. Hotta, N., Toyota, T., Matsuoka, K., Shigeta, Y., Kikkawa, R., Kaneko, T., Takahashi, A., Sugimura, K., Koike, Y., Ishii, J. and Sakamoto, N. (2001) Clinical efficacy of fidarestat, a novel aldose reductase inhibitor, for diabetic peripheral neuropathy: a 52-week multicenter placebo-controlled double-blind parallel group study. *Diabetes Care* **24**: 1776-1782.
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**: 158: 472-475.
11. Spector, A., Wang, G. M. and Wang, R. R. (1993) The prevention of cataract by oxidative stress in cultured rat lenses. II. Early effects of photochemical stress and recovery. *Exp. Eye Research* **57**: 659-667.
12. Chung, Y. S., Choi, Y. H., Lee, S. J., Choi, S. A., Lee, J. H., Kim, Harriet and Hong, E. K. (2005) Water extract of *Aralia elata* prevents cataractogenesis in vitro and in vivo. *J. Ethnopharmacol.* **101**: 49-54.
13. Chand, D., H. EL-Aguizy, Richards R.D. and Varma S.D.(1982) Sugar cataracts in vitro: implication of oxidative stress and aldose reductase I. *Exp. Eye Research* **35**: 491-497.
14. Rao, K. V. and Reddy, G. C. (1990) Chemistry of *Saururus cernuus*, V. sauristolactam and other nitrogenous constituents. *J. Nat. Prod.* **53**: 309-312.
15. Munoz-Mingarro, D., Acero, N., Llinares, F., Pozuelo, J. M., Galán de Mera, A., Vicenten, J. A., Morales, L., Alguacil, L. F. and Pérez, C. (2003) Biological activity of extracts from *Catalpa bignonioides* Walt. (*Bignoniaceae*) *J. Ethnopharmacol.* **87**: 163-167.
16. Yoshioka, T., Inokuchi, T., Fujioka, S. and Kimura, Y. (2004) Phenolic compounds and flavonoids as plant growth regulators from fruit and leaf of *Vitex rotundifolia*. *Z. Naturforsch.* **59**: 509-514.
17. Yoshikawa, M., Morikawa, T., Murakami, T., Toguchida, I., Harima, S. and Matsuda, H. (1999) Medicinal flowers. I. Aldose reductase inhibitors three new eudesmane-type sesquiterpenes, kikkanol A, B, and C, from the flowers of *Chrysanthemum indicum* L. *Chem. Pharm. Bull.* **3**: 340-345.
18. Yoshikawa, M., Morikawa, T., Toguchida, I., Harima, S. and Matsuda, H. (2000) Medicinal flowers. II. Inhibitors of nitric oxide production and absolute stereostructures of five new germacrane-type sesquiterpenes, kikkanol D, D monoacetate, E, F, and F monacetate from the flowers of *Chrysanthemum indicum* L. *Chem. Pharm. Bull.* **48**: 651-656.
19. Son, K. H., Park, J. O., Chung, K. C., Chang, H. W., Kim, H. P., Kim, J. S. and Kang, S. S. (1992) Flavonoids from aerial parts of *Lonicera japonica*. *Arch Pharm. Res.* **15**: 365-370.
20. Son, K. H., Kim, J. S., Kang, S. S., Kim, H. P. and Chang, H. W. (1994) Isolation of flavonoids from *Lonicera japonica*. *Kor. J. Pharmacog.* **25**: 24-27.
21. Kwak, W. J., Han, C. K., Chang, H. W., Kim, H. P., Kang, S. S. and Son, K. H. (2003) Loniceroid C, an Antiinflammatory Saponin from *Lonicera japonica*. *Chem. Pharm. Bull.* **51**: 333-335.
22. Kang, K. H. (1998) Volatile flavor components of chestnut honey produced in Korea. *Agri. Chem. Biotechnol.* **41**: 84-88.
23. Shambhu, D. V. and Jin, H. K. (1976) Inhibition of lens aldose reductase by flavonoids-Their possible role in the prevention of diabetic cataracts. *Biochem. Pharmacol.* **15**: 2505-2513.
24. Okuda, J., Miwa, I., Inagaki, K., Horie, T. and Nakayama, M. (1982) Inhibition of aldose reductases from rat and bovine lenses by flavonoids. *Biochem. Pharmacol.* **31**: 3807-3822.
25. Jung, S. H., Kang, S. S., Shin, K. H. and Kim, Y. S. (2004) Inhibitory effects of naturally occurring flavonoids in rat lens aldose reductase. *Nat. Prod. Sci.* **10**: 35-39.
26. Jesús Ángel, de la F. and Sonia, M. (2003) Aldose reductase inhibitors from natural sources. *Nat. Prod. Rep.* **20**: 243-251.
27. Kawanishi, K., Ueda H. and Moriyasu, M. (2003) Aldose Reductase Inhibitors from the Nature. *Curr. Med. Chem.* **10**: 1353-1374.
28. 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.
29. Matsuda, H., Morikawa, T., Toguchida, I., Harima, S. and Yoshikawa, M. (2002) Medicinal flowers. VI. Absolute stereostructures of two new flavanone glycosides and a phenylbutanoid glycoside from the flowers of *Chrysanthemum indicum* L.: their inhibitory activities for rat lens aldose reductase. *Chem. Pharm. Bull.* **50**: 972-975.
30. Shin, H. K., Kang, S. S., Kim, H. J. and Shin, S. W. (1994) Isolation of an aldose reductase inhibitor from the fruits of *Vitex rotundifolia*. *Phytomedicine.* **1**: 46-48.
31. Jung, S. H., Lim, S. S., Lee, S. H., Lee, Y. S., Shin, K. H. and Kim, Y. S. (2003) Aldose reductase inhibitory activity of methanol extracts from the Korean plants. *Nat. Prod. Sci.* **9**: 34-37.