

## 중국 약용식물 추출물의 알도즈 환원 효소 억제 효능 검색 (IV)

이윤미 · 김영숙 · 배기환<sup>1</sup> · 김주환<sup>2\*</sup> · 김진숙\*

한국한의학연구원 한의융합연구본부 당뇨합병증연구센터, <sup>1</sup>충남대학교 약학대학, <sup>2</sup>경원대학교 생명과학과

## Screening of Chinese Herbal Medicines with Inhibitory Effect on Aldose Reductase (IV)

Yun Mi Lee, Young Sook Kim, Ki Hwan Bae<sup>1</sup>, Joo Hwan Kim<sup>2\*</sup> and Jin Sook Kim\*

Diabetic Complications Research Center, Division of Traditional Korean Medicine (TKM) Integrated Research, Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 305-811, Korea

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

<sup>2</sup>Department of Life Science, Kyungwon University, Seongnam, Kyonggi-do 461-701, Korea

**Abstracts** – Aldose reductase (AR), the principal enzyme of the polyol pathway, has been shown to play an important role in the development of the diabetic complications. Evaluating natural sources for ARI potential may lead to the development of safer and more effective agents against diabetic complications. Sixty four Chinese herbal medicines have been investigated for inhibitory activities on AR. Among them, thirteen herbal medicines, *Imula helianthus-aquaticus* C. Y. Wu ex Ling. (whole plant), *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand. Mazz. (whole plant), *Lonicera hypoglauca* Miq. (leaf, stem), *Scutellaria orthocalyx* Hang. Mazz. (whole plant), *Berchemia floribunda* Brongn. (leaf, stem), *Michelia alba* DC. (flower), *Oroxylum indicum* (seed), *Punica granatum* L. (peel), *Elsholtzia capituligera* (whole plant), *Trachelospermum jasminoides* (Lindl.) Lem. (whole plant), *Elsholtzia strobilifera* Benth. (whole plant), *Agrimonia pilosa* var. *nepalensis* (D. Don) Nakai (whole plant) and *Aster poliothamnus* Diels (whole plant) exhibited a significant inhibitory activity against AR. Particularly, *Imula helianthus-aquaticus* C. Y. Wu ex Ling. showed seven times more potent inhibitory activity than the positive control, 3,3-tetramethyleneglutaric acid (TMG).

**Key words** – diabetic complications, aldose reductase inhibitor, Chinese herbal medicines

알도즈 환원 효소 (aldose reductase, AR)는 폴리올 경로 의 첫번째 효소로 인슐린 비의존성 조직인 안구 (렌즈, 망막), 신장, 신경조직에 분포하며,<sup>1)</sup> 만성 고혈당 상태에서 활성화되어 포도당을 소비톨 (sorbitol)로 환원시킨다. 이 소비톨은 최종당화산물 (advanced glycation end products, AGEs) 생성을 촉진시키며 세포 내에 축적이 되어 삼투압 증가 및 대사과정의 변이와 세포막의 안정성을 감소시켜 당뇨병 망막증 (Diabetic retinopathy), 신경증 (D. neuropathy), 신증 (D. nephropathy) 등의 당뇨병증을 유발시킨다.<sup>2,4)</sup> 지금까지 개발된 알도즈 환원 효소 억제제는 대부분 합성물질로 동물실험에서 당뇨병증 예방 및 지연 효능이 보고되었으나, 임상실험에서 효능이 낮거나 부작용으로 인해 개발 과정에서 중단되었다. 최근에는 천연물에서 분리한 독성이 낮고 효능이 우수한 생리활성물질의 알도즈 환원 효소

억제 물질을 개발하고자 많은 연구들이 진행되고 있다.<sup>5,6)</sup> 한방에서 널리 쓰이는 감초(*Glycyrrhiza uralensis*) 성분들이 알도즈 환원 효소 억제 효능을 나타내었고,<sup>7)</sup> 영지(*Ganoderma lucidum*) 추출물은 알도즈 환원 효소 억제 효능과 동물실험에서 수정체 소비톨 축적 저해 효능이 보고되었다.<sup>8)</sup> 본 연구팀에서도 개망초 (*Erigeron annuus*),<sup>9,10)</sup> 뱀딸기 (*Duchesnea chrysantha*),<sup>11)</sup> 홍대극 (*Knoxia valerianoides*)<sup>12)</sup> 등에서 분리한 화합물들이 알도즈 환원 효소의 과도한 활성을 억제하는 것을 확인하였다. 벌개미취 추출물의 알도즈 환원 효소 억제 활성과 소비톨 축적 억제는 수정체 섬유세포의 부종, 균질화와 공포변성을 지연하여 당뇨병성 백내장 발병 지연 후보물질로써 가능성을 제시하였다.<sup>13)</sup> 본 연구에서는 지난 보고에 이어<sup>14-16)</sup> 당뇨병증 예방 및 치료를 위한 후보물질 도출을 위해 중국에서 자생 또는 재배되는 64종의 한약재 (생약)을 *in vitro*에서 알도즈 환원 효소 억제 효능을 검색하여 그 결과를 보고하고자 한다.

\*교신저자(E-mail):jskim@kiom.re.kr, kimjh2009@kyungwon.ac.kr  
(Tel): +82-42-868-9465, +82-42-868-9471

## 재료 및 방법

**실험재료** - 본 실험에 사용된 중국산 약용식물 (Table I) 들은 2009년 경원대학교 생명과학과 김주환 교수팀에 의해 중국에서 채집되었으며, 동정을 거친 후 실험에 사용하였다. 증거표본은 한국한의학연구원 한의융합연구본부 당뇨합병증연구센터 표본실에 보관 중이다.

**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 화학 (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 무수 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 용해 하고 3차 증류수로 희석하였다.

**In vitro에서 알도스 환원 효소 억제 실험** - Sprague-Dawley rat (250~280 g)의 수정체로부터 알도스 환원 효소를 Dufrane<sup>17)</sup> 방법으로 분리하였다. 135 mM Na, K-phosphate buffer (pH 7.0)와 10 mM 2-mercaptoethanol을 적출한 수정

체와 함께 분쇄하였다. 14,000 rpm에서 30 분간 원심 분리 한 다음 상층액을 0.2 µm의 filter로 여과하였다. 효소의 단백질은 bovine serum albumin을 표준으로 이용하여 Bradford<sup>18)</sup> 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 µl로 한 뒤 37°C에서 10분간 반응시켰다. 이때 공시료는 0.04 mM DL-glyceraldehyde를 첨가하지 않았으며, 표준액은 135 mM Na, K-phosphate buffer (pH 7.0), 100 mM lithium sulfate 에 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°C에서 10분간 반응시켜 NADPH가 NADP로 전환되는 것을 Spectrofluorometric detector로 (Ex. 360 nm, Em. 460 nm) 측정하였다. 모든 시료는 triplicate로 수행하여 IC<sub>50</sub> 값으로 나타냈다. 알도스 환원 효소 억제제로 알려진 3,3-tetramethyleneglutaric acid (TMG)<sup>19)</sup>를 양성대조군으로 택하여 효능을 비교하였다.

## 결과 및 고찰

천연물로부터 알도스 환원효소 억제 약물을 검색하기 위해 중국산 64종의 에탄올 추출물을 이용해 효능을 검색하여 Table I과 같은 결과를 얻었다.

**Table I.** Inhibitory effect of extracts from herbal medicines on the activities of aldose reductase

Family	Scientific name	Part used	Conc. (µg/ml)	Inhibition (%)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
Rosaceae	<i>Agrimonia pilosa</i> var. <i>nepalensis</i> (D. Don) Nakai	whole plant	1	12.85 ± 5.18	4.61
			2.5	33.86 ± 1.09	
			5	52.98 ± 4.31	
Liliaceae	<i>Allium bakeri</i> Regel	root	2.5	8.46 ± 1.91	>10
			5	19.49 ± 5.84	
			10	18.38 ± 2.21	
Zingiberaceae	<i>Alpinia officinarum</i> Hance	rhizome	2.5	-9.89 ± 7.60	>10
			5	-3.04 ± 4.01	
			10	27.76 ± 6.28	
Vitaceae	<i>Ampelopsis japonica</i> (Thunb.) Makino	stem	2.5	35.14 ± 2.32	>10
			5	36.29 ± 7.23	
			10	42.08 ± 4.18	
Caryophyllaceae	<i>Arenaria polytrichoides</i>	whole plant	2.5	13.48 ± 1.29	>10
			5	14.04 ± 6.69	
			10	35.11 ± 4.21	
Aristolochiaceae	<i>Aristolochia zhongdianensis</i> J. S. Ma	whole plant	2.5	6.48 ± 2.96	>10
			5	37.54 ± 6.71	
			10	43.34 ± 5.91	
Compositae	<i>Aster poliothamnus</i> Diels	whole plant	1	24.23 ± 5.34	4.76
			2.5	33.92 ± 5.29	
			5	52.42 ± 5.76	

Table I. Continued.

Family	Scientific name	Part used	Conc. ( $\mu\text{g/ml}$ )	Inhibition (%)	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )
Rhamnaceae	<i>Berchemia floribunda</i> Brongn.	leaf, stem	0.5	33.90 $\pm$ 1.27	1.94
			1	35.59 $\pm$ 1.94	
			2.5	58.47 $\pm$ 5.29	
Celastraceae	<i>Celastrus gemmatus</i> Loes.	leaf, stem	2.5	31.78 $\pm$ 3.77	>10
			5	32.05 $\pm$ 0.47	
			10	32.88 $\pm$ 2.07	
Ulmaceae	<i>Celtis tetrandra</i> Roxb.	branch, leaf	2.5	31.68 $\pm$ 8.12	>10
			5	34.73 $\pm$ 7.51	
			10	46.18 $\pm$ 3.03	
Plumbaginaceae	<i>Ceratostigma minus</i> Stapf	whole plant	2.5	26.82 $\pm$ 6.33	>10
			5	29.50 $\pm$ 2.89	
			10	45.59 $\pm$ 9.36	
Leguminosae	<i>Cercis chinensis</i> Bunge	leaf, stem	2.5	32.72 $\pm$ 5.61	6.46
			5	47.71 $\pm$ 6.42	
			10	61.16 $\pm$ 2.80	
Chenopodiaceae	<i>Chenopodium foetidum</i> Schrad.	whole plant	2.5	2.05 $\pm$ 6.31	>10
			5	22.13 $\pm$ 5.54	
			10	32.79 $\pm$ 4.97	
Calycanthaceae	<i>Chimonanthus praecox</i> (L.) Link	flower	2.5	1.44 $\pm$ 9.16	>10
			5	14.90 $\pm$ 5.77	
			10	32.69 $\pm$ 3.33	
Dieksoniaceae	<i>Cibotium barometz</i> J. Smith	root	2.5	13.46 $\pm$ 4.20	>10
			5	29.66 $\pm$ 3.82	
			10	35.78 $\pm$ 0.92	
Orchidaceae	<i>Cremastra variabilis</i> Nakai	root	2.5	10.03 $\pm$ 3.68	>10
			5	10.68 $\pm$ 5.91	
			10	22.01 $\pm$ 4.04	
Asclepiadaceae	<i>Cynanchum wilfordii</i> (Maxim.) Hemsl.	root	2.5	15.73 $\pm$ 6.15	>10
			5	32.87 $\pm$ 7.92	
			10	33.22 $\pm$ 4.24	
Cynomoraceae	<i>Cynomorium songaricum</i> Rupr.	rhizome	2.5	12.50 $\pm$ 3.38	>10
			5	19.14 $\pm$ 2.34	
			10	21.09 $\pm$ 7.16	
Leguminosae	<i>Desmodium styracifolium</i> (Osbeck.) Merr.	whole plant	2.5	25.25 $\pm$ 5.48	7.17
			5	40.00 $\pm$ 4.51	
			10	64.26 $\pm$ 2.27	
Rosaceae	<i>Dichotomanthus tristaniaecarpa</i> Kurz	leaf, stem	2.5	20.83 $\pm$ 4.30	>10
			5	25.38 $\pm$ 1.31	
			10	32.95 $\pm$ 1.97	
Saxifragaceae	<i>Dichroa febrifuga</i> Lour.	stem	2.5	24.25 $\pm$ 3.42	8.70
			5	35.82 $\pm$ 6.17	
			10	55.60 $\pm$ 5.52	
Rosaceae	<i>Docynia delavayi</i> (Fr.) Schneid.	aerial part	2.5	34.95 $\pm$ 2.93	7.30
			5	49.24 $\pm$ 5.34	
			10	55.02 $\pm$ 3.20	
Leguminosae	<i>Dumasia villosa</i> DC.	whole plant	2.5	1.80 $\pm$ 5.12	>10
			5	22.52 $\pm$ 1.56	
			10	25.68 $\pm$ 7.15	
Thymeleaceae	<i>Edgeworthia gardneri</i> Meissn.	seed	2.5	32.74 $\pm$ 7.55	8.07
			5	46.90 $\pm$ 7.02	
			10	54.42 $\pm$ 9.78	

Table I. Continued.

Family	Scientific name	Part used	Conc. ( $\mu\text{g/ml}$ )	Inhibition (%)	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )
Labiatae	<i>Elsholtzia capituligera</i>	whole plant	1	24.04 $\pm$ 3.80	3.85
			2.5	37.99 $\pm$ 0.91	
			5	60.49 $\pm$ 2.79	
Labiatae	<i>Elsholtzia strobilifera</i> Benth.	whole plant	1	14.83 $\pm$ 2.60	4.58
			2.5	34.83 $\pm$ 6.29	
			5	52.76 $\pm$ 4.18	
Berberidaceae	<i>Epimedium brevicornum</i> Maxim	root	2.5	23.37 $\pm$ 7.46	9.45
			5	30.93 $\pm$ 2.06	
			10	53.26 $\pm$ 6.86	
Compositae	<i>Erigeron breviscapus</i> (Vant.) Hand. Mazz.	whole plant	0.5	38.89 $\pm$ 5.01	1.76
			1	45.37 $\pm$ 2.12	
			2.5	56.02 $\pm$ 3.50	
Rosaceae	<i>Eriobotrya japonica</i> Lindl	leaf	2.5	18.45 $\pm$ 5.20	>10
			5	31.76 $\pm$ 3.41	
			10	35.62 $\pm$ 7.73	
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia sieboldiana</i> Merr. et Dence.	stem, leaf	2.5	23.08 $\pm$ 4.64	>10
			5	38.94 $\pm$ 6.82	
			10	47.12 $\pm$ 1.67	
Ericaceae	<i>Gautheria forrestii</i> Diels	stem, leaf	2.5	32.92 $\pm$ 6.28	6.33
			5	45.85 $\pm$ 1.07	
			10	64.92 $\pm$ 4.62	
Gentianaceae	<i>Gentiana veitchiorum</i> Hemsl.	flower	2.5	12.02 $\pm$ 4.87	>10
			5	36.48 $\pm$ 1.49	
			10	39.91 $\pm$ 4.52	
Leguminosae	<i>Indigofera pseudotinctoria</i> Mats	leaf, stem	2.5	19.17 $\pm$ 2.93	>10
			5	31.95 $\pm$ 2.54	
			10	45.69 $\pm$ 5.86	
Compositae	<i>Inula helianthus-aquatilis</i> C. Y. Wu ex Ling.	whole plant	0.25	30.38 $\pm$ 4.38	0.75
			0.5	41.14 $\pm$ 0.95	
			1	59.49 $\pm$ 1.98	
Liliaceae	<i>Lilium brownii</i> F. E. Brown	flower	2.5	35.07 $\pm$ 2.17	>10
			5	36.11 $\pm$ 4.21	
			10	43.75 $\pm$ 2.76	
Caprifoliaceae	<i>Lonicera hypoglauca</i> Miq.	leaf, stem	1	44.27 $\pm$ 1.86	1.82
			2.5	54.80 $\pm$ 1.42	
			5	71.83 $\pm$ 2.34	
Berberidaceae	<i>Mahonia flavida</i> Schneid.	leaf, stem	2.5	11.59 $\pm$ 7.50	>10
			5	23.51 $\pm$ 3.44	
			10	42.72 $\pm$ 7.52	
Magnoliaceae	<i>Michelia alba</i> DC.	flower	0.25	14.04 $\pm$ 6.20	1.98
			0.5	28.37 $\pm$ 3.58	
			2.5	58.74 $\pm$ 2.58	
Leguminosae	<i>Millettia velutina</i> Dunn	leaf, stem	2.5	9.38 $\pm$ 5.65	>10
			5	25.63 $\pm$ 4.72	
			10	37.81 $\pm$ 7.04	
Rubiaceae	<i>Morinda officinalis</i> How	root	2.5	2.37 $\pm$ 8.74	>10
			5	10.67 $\pm$ 4.79	
			10	11.46 $\pm$ 3.81	
Bignoniaceae	<i>Oroxylum indicum</i>	seed	0.5	22.70 $\pm$ 4.98	2.35
			1	27.01 $\pm$ 4.42	
			2.5	52.87 $\pm$ 1.32	

Table I. Continued.

Family	Scientific name	Part used	Conc. ( $\mu\text{g/ml}$ )	Inhibition (%)	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )
Polygonaceae	<i>Oxyria digyna</i> (L.) Hill.	stem, leaf	2.5	17.21 $\pm$ 9.55	>10
			5	26.64 $\pm$ 5.12	
			10	30.74 $\pm$ 9.31	
Saxifragaceae	<i>Philadelphus henryi</i> Koehne	leaf, stem	2.5	26.34 $\pm$ 0.71	>10
			5	32.92 $\pm$ 9.59	
			10	41.15 $\pm$ 4.99	
Solanaceae	<i>Physalis alkekengi</i> var. <i>franchetii</i> (Masters) Hort.	fruit	2.5	7.38 $\pm$ 3.89	>10
			5	12.55 $\pm$ 3.83	
			10	23.62 $\pm$ 5.75	
Phytolaccaceae	<i>Phytolacca acinosa</i> Roxb.	root	2.5	18.0 $\pm$ 4.58	>10
			5	21.0 $\pm$ 4.36	
			10	22.67 $\pm$ 2.52	
Scrophulariaceae	<i>Picrorrhiza scrophulariaeflora</i>	root	2.5	41.32 $\pm$ 3.94	5.85
			5	48.96 $\pm$ 2.08	
			10	60.07 $\pm$ 4.92	
Leguminosae	<i>Piptanthus leiocarpus</i> Stapf	leaf, stem	2.5	11.88 $\pm$ 4.25	>10
			5	25.14 $\pm$ 3.14	
			10	42.27 $\pm$ 2.09	
Betulaceae	<i>Polygala arillata</i> Buch- Ham.	leaf, stem	2.5	35.35 $\pm$ 1.01	7.97
			5	41.08 $\pm$ 5.18	
			10	57.91 $\pm$ 7.71	
Leguminosae	<i>Pterocarpus santalinus</i> L.	stem	2.5	24.35 $\pm$ 2.79	>10
			5	28.04 $\pm$ 5.07	
			10	43.54 $\pm$ 5.07	
Punicaceae	<i>Punica granatum</i> L.	peel	1	36.97 $\pm$ 3.23	2.72
			2.5	47.89 $\pm$ 4.00	
			5	67.61 $\pm$ 2.20	
Rosaceae	<i>Pyrus pyrifolia</i> (Burm.f.) Nakai	fruit	2.5	10.51 $\pm$ 6.13	>10
			5	12.01 $\pm$ 3.16	
			10	20.72 $\pm$ 5.02	
Polygonaceae	<i>Rheum palmatum</i> Linn.	root	2.5	28.51 $\pm$ 3.98	9.83
			5	35.12 $\pm$ 7.05	
			10	50.41 $\pm$ 2.15	
Saxifragaceae	<i>Rodgersia aesculifolia</i>	root	2.5	38.56 $\pm$ 0.73	7.64
			5	47.03 $\pm$ 5.14	
			10	55.51 $\pm$ 5.54	
Rosaceae	<i>Rubus alceaefolius</i> Poir.	leaf, stem	2.5	36.74 $\pm$ 6.56	8.74
			5	43.56 $\pm$ 3.65	
			10	51.52 $\pm$ 2.37	
Labiatae	<i>Scutellaria orthocalyx</i> Hang. Mazz.	whole plant	0.5	28.21 $\pm$ 5.36	1.89
			1	35.36 $\pm$ 6.19	
			2.5	59.64 $\pm$ 4.06	
Compositae	<i>Siegesbeckia orientalis</i> L.	stem	2.5	26.00 $\pm$ 4.58	6.85
			5	41.67 $\pm$ 1.53	
			10	66.33 $\pm$ 5.03	
Liliaceae	<i>Smilax scobinicaulis</i> C.H. Wright	leaf, stem	1	12.74 $\pm$ 2.92	8.82
			2.5	19.75 $\pm$ 2.53	
			10	55.73 $\pm$ 2.92	
Leguminosae	<i>Sophora japonica</i> L.	fruit	2.5	34.62 $\pm$ 2.18	7.04
			5	41.61 $\pm$ 6.66	
			10	60.84 $\pm$ 4.24	

Table I. Continued.

Family	Scientific name	Part used	Conc. (µg/ml)	Inhibition (%)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)	
Leguminosae	<i>Sophora subprostrata</i> Chun et T. Chen	rhizome, root	2.5	27.37 ± 7.29	6.87	
			5	38.60 ± 0.61		
			10	67.02 ± 1.61		
Sympllocaceae	<i>Symplocos sinensis</i>	leaf, stem	2.5	19.70 ± 4.10	>10	
			5	42.73 ± 1.57		
			10	47.88 ± 4.67		
Combretaceae	<i>Terminalia chebula</i> Retz.	fruit	2.5	32.59 ± 2.51	6.04	
			5	37.34 ± 4.14		
			10	77.85 ± 6.87		
Apocynaceae	<i>Trachelospermum jasminoides</i> (Lindl.) Lem.	whole plant	1	8.85 ± 0.57	4.46	
			2.5	26.56 ± 3.72		
			5	57.05 ± 6.01		
Leguminosae	<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	fruit	2.5	22.78 ± 4.70	>10	
			5	34.91 ± 5.20		
			10	44.97 ± 4.44		
Rubiaceae	<i>Uncaria sinensis</i> (Oliv.) Havil	stem	1	18.75 ± 6.58	8.57	
			2.5	31.25 ± 7.81		
			10	55.63 ± 5.16		
	TMG			3.72	20.92 ± 6.52	5.34
				4.66	35.15 ± 6.91	
				5.59	56.90 ± 4.41	

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

<sup>a</sup>TMG (3,3-Tetramethyleneglutaric acid) was used as positive control.

양성대조군인 TMG의 IC<sub>50</sub> 값 (5.34 µg/ml)을 기준으로 알도즈 환원 효소 억제 효능을 판단하였으며, *Inula helianthus-aquatilis* C. Y. Wu ex Ling.의 전초 (0.75 µg/ml), *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand. Mazz.의 전초 (1.76 µg/ml), *Lonicera hypoglauca* Miq.의 잎줄기 (1.82 µg/ml), *Scutellaria orthocalyx* Hang. Mazz.의 전초 (1.89 µg/ml), *Berchemia floribunda* Brongn.의 잎줄기 (1.94 µg/ml), *Michelia alba* DC.의 꽃(1.98 µg/ml), *Oroxylum indicum*의 종자 (2.35 µg/ml), *Punica granatum* L.의 열매껍질 (2.72 µg/ml), *Elsholtzia capituligera*의 전초 (3.85 µg/ml), *Trachelospermum jasminoides* (Lindl.) Lem.의 전초 (4.46 µg/ml), *Elsholtzia strobilifera* Benth.의 전초 (4.58 µg/ml), *Agrimonia pilosa* var. *nepalensis* (D. Don) Nakai의 전초 (4.61 µg/ml), *Aster poliothammus* Diels의 전초 (4.76 µg/ml)가 우수한 효능을 지닌 것으로 확인되었다.

*Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand. Mazz.는 쥐에서 NMDA (N-methyl-D-aspartate)에 의한 망막신경 손상 보호 효능<sup>20)</sup>이 보고되었으며, *Lonicera hypoglauca* Miq.는 마우스의 Xanthine Oxidase와 혈중 요산 억제효능 보고되었다.<sup>21)</sup>

중국에서 전통적으로 쓰인 약용식물인 *Oroxylum indicum*는 진통제, 기관지염 등에 사용되었고,<sup>22)</sup> *Berchemia floribunda* Brongn.는 류마티스 관절염, 황달, 타박상 등에

사용되었으며 성분 연구가 보고되었다.<sup>23-25)</sup> *Punica granatum* L.의 열매껍질은 항암활성 성분을 함유하고 있으며,<sup>26)</sup> *in vitro*와 *in vivo*에서 항산화 효능이 확인되었다.<sup>27,28)</sup> *Trachelospermum jasminoides* (Lindl.) Lem.는 진통제, 항염 효능<sup>29)</sup>이 있으며, *Agrimonia pilosa* var. *nepalensis* (D. Don) Nakai에 관한 보고는 아직 없으나 *Agrimonia pilosa* Ledeb는 항암<sup>30)</sup>과 항산화<sup>31)</sup> 효능과 1형 당뇨병 동물모델에서 혈당 강하작용<sup>32)</sup>을 나타내었다. *Elsholtzia strobilifera* Benth., *Aster poliothammus* Diels와 *Michelia alba* DC.는 일부 성분에 관한 보고가 있으나 구체적인 성분과 효능에 대한 연구가 필요하다.<sup>33-35)</sup> *Inula helianthus-aquatilis* C. Y. Wu ex Ling., *Scutellaria orthocalyx* Hang. Mazz., *Elsholtzia capituligera*의 식물에 대한 연구, 보고는 이뤄지지 않았으며, 위 13종 모두 알도즈 환원 효소 억제 효능에 관해 보고된 바 없었다. 지금까지 보고된 천연물 유래 단일화합물의 경우 flavonoid와 phenol 화합물들이 우수한 알도즈 환원 효소 억제 효능이 있음이 보고되었다.<sup>5,6)</sup> *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand. Mazz.,<sup>36)</sup> *Oroxylum indicum*,<sup>22)</sup> *Punica granatum* L.,<sup>37)</sup> *Trachelospermum jasminoides* (Lindl.) Lem.,<sup>38)</sup> *Agrimonia pilosa* var. *nepalensis* (D. Don) Nakai<sup>39)</sup> 5종의 약용식물은 flavonoid등의 phenol 화합물을 함유하고 있었다. 위 5종을 제외한 나머지 8종은 알도즈 환원 효소

억제 활성을 가지는 유효 성분에 대한 연구가 아직까지 이뤄지지 않아 이에 대한 심화 연구가 필요하다. 본 연구 결과는 안전하고 우수한 알도스 환원 효소 억제제 후보 물질 발굴을 위한 기초자료로 활용될 수 있을 뿐만 아니라, 당뇨병 예방 및 치료제 개발에 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

## 사 사

본 연구는 한국한의학연구원 기관고유사업비 (K10040)로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

- Shan, V. O., Dorin, R. I., Sun, Y., Braun, M. and Zager, P. G. (1997) Aldose reductase gene expression is increased in diabetic nephropathy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **82**: 2294-2298.
- 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.
- Dvonik, D., Gabbay, K. H. and Kinoshita, J. H. (1973) Polyol accumulation in galactosemic and diabetic rats. *Science* **182**: 1146-1148.
- Vinson, J. A. and Howard, 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.
- Jesús Ángel, de la F. and Sonia, M. (2003) Aldose reductase inhibitors from natural sources. *Nat. Prod. Rep.* **20**: 243-251.
- Kawanishi, K., Ueda, H. and Moriyasu, M. (2003) Aldose Reductase Inhibitors from the Nature. *Curr. Med. Chem.* **10**: 1353-1374.
- Lee, Y. S., Kim, S. H., Jung, S. H., Kim, J. K., Pan, C. H. and Lim, S. S. (2010) Aldose reductase inhibitory compounds from *Glycyrrhiza uralensis*. *Biol. Pharm. Bull.* **33**: 917-921.
- Fatmawati, S., Kurashiki, K., Takeno, S., Kim, Y. U., Shimizu, K., Sato, M., Imaizumi, K., Takahashi, K., Kamiya, S., Kaneko, S. and Kondo, R. (2009) The inhibitory effect on aldose reductase by an extract of *Ganoderma lucidum*. *Phytother. Res.* **23**: 28-32.
- Jang, D. S., Yoo, N. H., Kim, N. H., Lee, Y. M., Kim, C. S., Kim, J. Kim, J. H. and Kim, J. S. (2010) 3,5-Di-O-caffeoyl-epi-quinic acid from the leaves and stems of *Erigeron annuus* inhibits protein glycation, aldose reductase and cataractogenesis. *Biol. Pharm. Bull.* **33**: 329-333.
- Yoo, N. H., Jang, D. S., Yoo, J. L., Lee, Y. M., Kim, Y. S., Cho, J. H. and Kim, J. S. (2008) Erigeroflavanone, a flavanone derivative from the flowers of *Erigeron annuus* with protein glycation and aldose reductase inhibitory activity. *J. Nat. Prod.* **71**: 713-715.
- Kim, J. M., Jang, D. S., Lee, Y. M., Yoo, J. L., Kim, Y. S., Kim, J. H. and Kim, J. S. (2008) Aldose reductase and protein glycation inhibitory principles from the whole plant of *Duchesnea chrysantha*. *Chem. Biodivers.* **5**: 352-356.
- Yoo, N. H., Jang, D. S., Lee, Y. M., Jeong, I. H., Cho, J. H., Kim, J. H. and Kim, J. S. (2010) Anthraquinones from the roots of *Knoxia valerianoides* inhibit the formation of advanced glycation end products and rat lens aldose reductase in vitro. *Arch. Pharm. Res.* **33**: 209-214.
- Kim, C. S., Kim, J., Jeong, I. H., Kim, Y. S., Lee, J., Jang, D. S. and Kim, J. S. (2009) Slow development of diabetic cataract in streptozotocin-induced diabetic rats via inhibition of aldose reductase activity and sorbitol accumulation by use of *Aster koraiensis* extract. *Kor. J. Pharmacogn.* **40**: 339-344.
- 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.
- Lee, Y. M., 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 Vietnam herbal medicines (II). *Kor. J. Pharmacogn.* **39**: 324-329.
- Lee, Y. M., Kim, J. M., Kim, Y. S., Jang, D. S., Kim, J. H., Bae, K. H. and Kim, J. S. (2009) Screening of Chinese Herbal Medicines with Inhibitory Effect on Aldose Reductase (III). *Kor. J. Pharmacogn.* **40**: 394-399.
- Dufrane, 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.
- Bradford, M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**: 248-254.
- 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.
- Shi, J., Jiag, Y. and Liu, X. (2004) Neuroprotective effect of *Erigeron breviscapus* (vant) hand-mazz on NMDA-induced retinal neuron injury in the rats. *Yan Ke Xue Bao.* **20**: 113-117.
- Chien, S. C., Yang, C. W., Tseng, Y. H., Tsay, H. S., Kuo, Y. H. and Wang, S. Y. (2009) *Lonicera hypoglauca* inhibits xanthine oxidase and reduces serum uric acid in mice. *Planta Med.* **75**: 302-306.
- Chen, L. J., Games, D. E. and Jones, J. (2003) Isolation and identification of four flavonoid constituents from the seeds of *Oroxylum indicum* by high-speed counter-current chromatography. *J. Chromatogr. A.* **988**: 95-105.

23. Xin-Hua-Ben-Cao-Guang-YaoN. (1990) Jiangsu New Medical College, Shanghai Technology Publisher Shanghai, 156.
  24. Wei, X., Jiang, J. S., Feng, Z. M and Zhang, P. C. (2008) Anthraquinone-benzisochromanquinone dimers from the roots of *Berchemia floribunda*. *Chem. Pharm. Bull.* **56**: 1248-1252.
  25. Wang, Y. F., Cao, J. X., Efferth, T., Lai, G. F. and Luo, S. D. (2006) Cytotoxic and new tetralone derivatives from *Berchemia floribunda* (Wall.) Brongn. *Chem. Biodivers.* **3**: 646-653.
  26. Song, B. H., Tran, H. N. A. and Bae, S. Y. (2007) Pomegranate (*Punica granatum*) as resources of phytoestrogen and anticancer substances. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **35**: 81-97.
  27. Althunibat, O. Y., Al-Mustafa, A. H., Tarawneh, K., Khleifat, K. M., Ridzwan, B. H. and Qaralleh, H. N. (2010) Protective role of *Punica granatum* L. peel extract against oxidative damage in experimental diabetic rats. *Process Biochem.* **45**: 581-585.
  28. Singh, R. P., Chidambara Murthy, K. N. and Jayaprakasha, G. K. (2002) Studies on the antioxidant activity of Pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *J. Agric. Food Chem.* **50**: 81-86.
  29. Sheu, M. J., Chou, P. Y., Cheng, H. C., Wu, C. H., Huang, G. K., Wang, B. S., Chen, J. S., Chien, Y. C. and Huang, M. H. (2009) Analgesic and anti-inflammatory activities of a water extract of *Trachelospermum jasminoides* (Apocynaceae). *J. Ethnopharmacol.* **126**: 332-338.
  30. Koshiura, R., Miyamoto, K., Ikeya, Y. and Taguchi, H. (1985) Antitumor activity of methanol extract from roots of *Agrimonia pilosa* Ledeb. *Jpn. J. Pharmacol.* **38**: 9-16.
  31. Zhu, L., Tan, J., Wang, B., He, R., Liu, Y. and Zheng, C. (2009) Antioxidant activities of aqueous extract from *Agrimonia pilosa* Ledeb and its fractions. *Chem. Biodivers.* **6**: 1716-1726.
  32. Jung, C. H., Jung, S., Ding, G. X., Kim, J. H., Hong, M. H., Shin, Y. C., Kim, G. and Ko, S. G. (2006) Antihyperglycemic activity of herb extracts on streptozotocin-induced diabetic rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **70**: 2556-2559.
  33. Melkani, A. B., Dev, V., Beauchamp, P. S., Negi, A., Mehta, S. P. S. and Melkani, K. B. (2005) Constituents of the essential oil of a new chemotype of *Elsholtzia strobilifera* Benth. *Biochem. Syst. Ecol.* **33**: 419-425.
  34. Zhang, J., Chen, Y., Li, B. and Wang, M. (1997) Chemical constituents of *Aster poliothammus* Diels. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* **22**: 103-104, 128.
  35. Wang, H. M., Lo, W. L., Huang, L. Y., Wang, Y. D. and Chen, C. Y. (2010) Chemical constituents from the leaves of *Michelia alba*. *Nat. Prod. Res.* **24**: 398-406.
  36. Tao, Y. H., Jiang, D. Y., Xu, H. B. and Yang, X. L. (2008) Inhibitory effect of *Erigeron breviscapus* extract and its flavonoid components on GABA shunt enzymes. *Phytomedicine* **15**: 92-97.
  37. Sudheesh, S. and Vijayalakshmi, N. R. (2005) Flavonoids from *Punica granatum* potential antiperoxidative agents. *Fitoterapia* **76**: 181-186.
  38. Tan, X. Q., Guo, L. J., Chen, H. S., Wu, L. S. and Kong, F. F. (2010) Study on the flavonoids constituents of *Trachelospermum jasminoides*. *Zhong Yao Cai* **33**: 58-60.
  39. Pan, Y., Liu, H. X., Zhuang, Y. L., Ding, L. Q., Chen, L. X. and Qiu, F. (2008) Studies on isolation and identification of flavonoids in herbs of *Agrimonia pilosa*. *Zhongguo zhongyao zazhi* **33**: 2925-2928.
- (2010. 10. 5 접수; 2010. 11. 5 심사; 2010. 11. 10 게재확정)