

중국 약용식물의 최종당화산물 생성저해활성 검색(XIII)

최소진¹ · 김영숙¹ · 김주환² · Sun Hang³ · 김진숙^{1*}

¹한국한의약연구원 한의약융합연구부, ²가천대학교 생명과학과, ³중국과학원 곤명식물연구소 생태생물자원연구실

Screening of Herbal Medicines from China with Inhibitory Activity on Advanced Glycation End Products Formation (XIII)

So Jin Choi¹, Young Sook Kim¹, Joo Hwan Kim², Sun Hang³ and Jin Sook Kim^{1*}

¹Korean Medicine Convergence Research Group, Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 305-811, Korea,

²Department of Life Science, Gachon University, Seongnam, Kyonggi-do 461-701, Korea

³Laboratory of Biodiversity and Biogeography, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Yunnan 650204, China

Abstract – Advanced glycation end products (AGEs) have been postulated to play a central role in the development of diabetic complications. A variety of different agents that inhibit AGEs have been under investigation. In this study, 111 herbal medicines from China have been investigated with an *in vitro* evaluation system using AGEs formation inhibitory activity. Of these, 9 herbal medicines (IC₅₀: <5 µg/ml) were found to have significant AGEs formation inhibitory activity. Particularly, herbal medicines *Barleria cristata* (leaves), *Calotropis gigantea* (stems), *Ardisia virens* (leaves), *Dalbergia yunnanensis* (leaves), *Pittosporum runcatum* (leaves), *Ardisia japonica* (leaves), *Rhododendron racemosum* (twigs), *Oxyria sinensis* (aerial parts), *Pyrrosia calvata* (whole plants), showed more potent inhibitory activity (approximately 15-40 fold) than the positive control aminoguanidine (IC₅₀: 76.47 µg/ml).

Key words – Advanced glycation end products (AGEs), Diabetic complications, Herbal medicines

당뇨합병증의 원인으로는 최종당화산물(Advanced glycation end products, AGEs)의 생성, polyol pathway flux의 증가 및 protein kinase C 활성화 등이 주요 발병기전으로 알려져 있다.¹⁻³⁾ 그 중 최종당화산물은 혈당이 정상으로 회복되어도 일단 생성된 최종당화산물은 분해가 되지 않고 단백질과 교차결합(AGEs-protein cross-link)하여 혈액 단백질이나 여러 조직에 축적되어 당뇨 합병증을 유발한다.⁴⁻⁷⁾ 따라서 생체 내에서 최종당화산물의 생성을 저해하거나 이미 생성된 최종당화산물의 단백질과의 교차결합을 억제 또는 절단하여 당뇨합병증을 예방하거나 치료하기 위해 많은 연구들이 진행되고 있다.⁸⁻¹¹⁾ 본 연구에서는 기존에 보고된 바 없는 중국에서 사용되는 약용식물 111종의 에탄올 추출물에서 최종당화산물 생성 저해 활성을 *in vitro*에서 검색하였다.

재료 및 방법

실험재료 – 약용식물은 2011년 6월부터 2013년 9월까지 중국에서 채취되어, 가천대학교 생명과학과 김주환 교수의 감정을 거친 후 실험 재료로 사용되었다(Table I). 사용한 실험 재료의 증거표본은 한국한의약연구원 표본실에 보관 중이다.

추출 및 시료조제 – 분쇄한 시료 200 g에 2 L의 에탄올을 넣고 실온상태에서 3일간 3회 추출하였다. 이를 여과하여 40°C의 수욕 상에서 감압농축을 실시한 후, 동결 건조기에 건조하였다. 추출물은 실험 수행 전에 감압 하에서 P₂O₅를 이용하여 24시간 이상 재건조한 후 DMSO(Sigma, St. Louis, MO, USA)에 용해시켜 stock solution을 조제하였으며 최종 DMSO의 농도가 0.2%가 되도록 15% TWEEN 80(Sigma, St. Louis, MO, USA)용액으로 희석하여 사용하였다. 추출에 이용한 에탄올 및 그 외 시약은 1급 및 특급 시약을 사용하였다.

*교신저자(E-mail): jskim@kiom.re.kr
(Tel): +82-42-868-9465, +82-10-8706-4122

Table I. Inhibitory activity of the ethanol extracts of the herbal medicines on AGEs formation *in vitro*

| Family name | Scientific name | Part used | Conc. ($\mu\text{g/ml}$) | Inhibition (%) | IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$) |
|------------------------|----------------------------------|--------------|-------------------------------|-------------------|--|
| Acanthaceae (쥐꼬리망초과) | <i>Barleria cristata</i> | Leaves | 1 | 16.28±1.09 | 4.97±0.10 |
| | | | 2.5 | 27.36±0.30 | |
| | | | 5 | 50.71±0.79 | |
| Apocynaceae (협죽도과) | <i>Trachelospermum axillare</i> | Leaves | 75 | 34.34±1.66 | >75 |
| Apocynaceae (협죽도과) | <i>Trachelospermum axillare</i> | Twigs | 25 | 1.51±2.04 | 70.44±1.52 |
| | | | 50 | 30.73±1.57 | |
| | | | 75 | 53.75±1.90 | |
| Aquifoliaceae (감탕나무과) | <i>Ilex centrochinensis</i> | Leaves | 75 | 15.88±1.67 | >75 |
| Aquifoliaceae (감탕나무과) | <i>Ilex centrochinensis</i> | Twigs | 75 | 12.54±4.41 | >75 |
| Araceae (천남성과) | <i>Rhaphidophora decursiva</i> | Leaves | 2.5 | 5.72±1.34 | 7.72±0.38 |
| | | | 5 | 49.69±1.36 | |
| | | | 10 | 58.93±3.32 | |
| Araceae (천남성과) | <i>Rhaphidophora decursiva</i> | Twigs | 75 | 24.02±2.19 | >75 |
| Araceae (천남성과) | <i>Rhaphidophora megaphylla</i> | Leaves | 75 | 26.48±2.99 | >75 |
| Araceae (천남성과) | <i>Rhaphidophora megaphylla</i> | Twigs | 75 | 35.26±3.13 | >75 |
| Araliaceae (두릅나무과) | <i>Schefflera venulosa</i> | Leaves | 10 | 29.21±1.70 | 36.25±0.75 |
| | | | 25 | 26.18±0.95 | |
| | | | 50 | 69.15±1.51 | |
| Asclepiadaceae (박주가리과) | <i>Calotropis gigantea</i> | Leaves | 2.5 | 15.18±2.92 | 7.76±0.12 |
| | | | 5 | 31.07±2.68 | |
| | | | 10 | 65.07±0.60 | |
| Asclepiadaceae (박주가리과) | <i>Calotropis gigantea</i> | Stems | 1 | 44.70±105 | 2.08±0.32 |
| | | | 2.5 | 54.53±1.05 | |
| | | | 5 | 57.71±1.65 | |
| Asparagaceae (아스파라거스과) | <i>Aspidistra fenghuangensis</i> | Whole plants | 75 | -34.46±1.48 | >75 |
| Asteraceae (국화과) | <i>Saussurea stella Maxim.</i> | fruits | 5 | 19.32±2.67 | 21.99±0.75 |
| | | | 10 | 34.17±2.19 | |
| | | | 25 | 53.93±1.00 | |
| Betulaceae (자작나무과) | <i>Betula utilis</i> | Leaves | 75 | 19.30±0.85 | >75 |
| Betulaceae (자작나무과) | <i>Betula utilis</i> | Stems | 75 | 32.04±1.14 | >75 |
| Bombacaceae (판야과) | <i>Bombax malabaricum</i> | Leaves | 25 | 33.16±0.46 | 62.81±1.83 |
| | | | 50 | 45.88±0.84 | |
| | | | 75 | 54.60±1.16 | |
| Buxaceae (회양목과) | <i>Buxus henryi</i> | Twigs | 75 | 46.97±0.17 | >75 |
| Buxaceae (회양목과) | <i>Pachysandra terminalis</i> | Whole plants | 75 | -20.29±2.06 | >75 |
| Celastraceae (노박덩굴과) | <i>Euonymus hederaceus</i> | Leaves | 75 | -5.39±1.02 | >75 |
| Celastraceae (노박덩굴과) | <i>Euonymus hederaceus</i> | Twigs | 75 | 23.23±1.91 | >75 |
| Celastraceae (노박덩굴과) | <i>Euonymus nitidus</i> | Leaves | 10 | 16.68±2.13 | 44.46±2.97 |
| | | | 25 | 32.62±1.13 | |
| | | | 50 | 54.96±3.39 | |
| Celastraceae (노박덩굴과) | <i>Euonymus nitidus</i> | Twigs | 10 | 43.76±2.23 | 21.27±3.94 |
| | | | 25 | 52.57±2.82 | |
| | | | 50 | 63.66±0.17 | |
| Celastraceae (노박덩굴과) | <i>Euonymus microcarpus</i> | Leaves | 5 | 30.33±1.30 | 21.59±2.80 |
| | | | 10 | 44.98±2.25 | |
| | | | 25 | 53.34±1.00 | |

Table I. Continued

| Family name | Scientific name | Part used | Conc. (µg/ml) | Inhibition (%) | IC ₅₀ (µg/ml) |
|------------------------|--------------------------------|------------------|---------------|----------------|--------------------------|
| Celastraceae (노박덩굴과) | <i>Euonymus microcarpus</i> | Twigs | 2.5 | 29.10±1.30 | 6.56±0.21 |
| | | | 5 | 46.79±2.21 | |
| | | | 10 | 64.30±22.57 | |
| Celastraceae (노박덩굴과) | <i>Euonymus carnosus</i> | Twigs | 75 | 12.38±58.33 | >75 |
| Compositae (국화과) | <i>Synotis nagensium</i> | Leaves | 75 | 26.71±2.65 | >75 |
| Compositae (국화과) | <i>Synotis nagensium</i> | Twigs | 10 | 13.05±1.19 | 37.90±0.83 |
| | | | 25 | 32.31±1.36 | |
| | | | 50 | 66.36±1.43 | |
| Compositae (국화과) | <i>Cyathocline purpurea</i> | Twigs | 25 | 29.24±2.39 | 55.59±0.83 |
| | | | 50 | 46.69±0.68 | |
| | | | 75 | 62.76±0.65 | |
| Compositae (국화과) | <i>Vernonia parishii</i> | Leaves | 75 | 41.12±0.00 | >75 |
| Compositae (국화과) | <i>Vernonia parishii</i> | Twigs | 75 | 21.16±0.20 | >75 |
| Cyperaceae (사초과) | <i>Eriophorum comosum</i> | Leaves and stems | 2.5 | 13.98±1.67 | 6.90±0.09 |
| | | | 5 | 36.33±0.67 | |
| | | | 10 | 74.14±1.26 | |
| Cyperaceae (사초과) | <i>Juncus effusus</i> | Aerial parts | 75 | 40.08±10.60 | >75 |
| Ericaceae (진달래과) | <i>Rhododendron wardii</i> | Stems | 2.5 | 26.02±0.26 | 9.63±0.37 |
| | | | 5 | 31.77±0.41 | |
| | | | 10 | 51.96±1.54 | |
| Ericaceae (진달래과) | <i>Rhododendron yunnanense</i> | Twigs | 2.5 | 33.33±1.03 | 5.40±0.15 |
| | | | 5 | 46.44±0.85 | |
| | | | 10 | 78.06±1.03 | |
| Ericaceae (진달래과) | <i>Rhododendron racemosum</i> | Twigs | 1 | 7.54±1.17 | 3.70±0.13 |
| | | | 2.5 | 41.94±1.25 | |
| | | | 5 | 64.77±3.67 | |
| Euphorbiaceae (대극과) | <i>Macaranga indica</i> | Twigs | 75 | 42.15±1.95 | >75 |
| Fabaceae (콩과) | <i>Bauhinia brachycarpa</i> | Twigs | 2.5 | 32.77±1.12 | 6.94±0.31 |
| | | | 5 | 49.96±3.66 | |
| | | | 10 | 57.30±1.07 | |
| Fabaceae (콩과) | <i>Sophora dunnii</i> | Twigs | 75 | 22.36±3.68 | >75 |
| Fabaceae (콩과) | <i>Acacia farnesiana</i> | fruits | 75 | 16.85±3.11 | >75 |
| Fagaceae (참나무과) | <i>Quercus myrsinifolia</i> | Leaves | 75 | 49.66±0.88 | >75 |
| Fagaceae (참나무과) | <i>Quercus myrsinifolia</i> | Twigs | 75 | 11.16±1.86 | >75 |
| Fagaceae (참나무과) | <i>Quercus glauca</i> | Leaves | 75 | 46.42±0.69 | >75 |
| Fagaceae (참나무과) | <i>Quercus glauca</i> | Twigs | 2.5 | (-)4.89±0.95 | 8.99±0.27 |
| | | | 5 | 15.88±8.16 | |
| | | | 10 | 58.59±0.59 | |
| Fagaceae (참나무과) | <i>Castanopsis delavayi</i> | Twigs | 75 | 16.09±2.70 | >75 |
| Hamamelidaceae (조록나무과) | <i>Loropetalum chinense</i> | Leaves | 2.5 | 0.89±0.94 | 9.71±0.40 |
| | | | 5 | 16.45±3.48 | |
| | | | 10 | 52.43±2.89 | |
| Hypoxidaceae (히포시스과) | <i>Curculigo capitulata</i> | Leaves | 75 | 23.43±2.70 | >75 |
| Hypoxidaceae (히포시스과) | <i>Curculigo capitulata</i> | Stems | 75 | 11.25±1.10 | >75 |
| Lauraceae (녹나무과) | <i>Cinnamomum fargesii</i> | Leaves | 75 | 43.36±0.64 | >75 |

Table 1. Continued

| Family name | Scientific name | Part used | Conc. ($\mu\text{g/ml}$) | Inhibition (%) | IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$) |
|-----------------------|-------------------------------------|------------------|-------------------------------|-------------------|--|
| Lauraceae (녹나무과) | <i>Cinnamomum wilsonii</i> | Leaves and twigs | 75 | 47.34±0.43 | >75 |
| Leguminosae (콩과) | <i>Indigofera szechuensis</i> | Stems | 2.5 | 6.46±1.91 | 7.12±0.09 |
| | | | 5 | 27.72±1.00 | |
| | | | 10 | 78.37±0.79 | |
| Leguminosae (콩과) | <i>Sennasiamea</i> | Leaves | 10 | 27.26±2.92 | 31.05±0.87 |
| | | | 25 | 40.84±2.12 | |
| | | | 50 | 72.51±0.90 | |
| Leguminosae (콩과) | <i>Senna siamea</i> | Stems | 10 | 13.31±1.55 | 38.82±0.43 |
| | | | 25 | 48.46±0.53 | |
| | | | 50 | 56.64±1.14 | |
| Leguminosae (콩과) | <i>Indigoferapendula</i> | Stems | 2.5 | 12.88±1.75 | 8.69±0.24 |
| | | | 5 | 23.81±0.81 | |
| | | | 10 | 59.22±1.71 | |
| Leguminosae (콩과) | <i>Dalbergia yunnanensis</i> | Leaves | 1 | 29.30±0.25 | 3.52±0.30 |
| | | | 2.5 | 29.63±0.41 | |
| | | | 5 | 69.77±5.73 | |
| Leguminosae (콩과) | <i>Dalbergia yunnanensis</i> | Stems | 10 | 41.45±0.62 | 29.61±2.01 |
| | | | 25 | 46.60±1.77 | |
| | | | 50 | 60.11±0.68 | |
| Linaceae (아마과) | <i>Tirpitzia sinensis</i> | Twigs | 75 | 40.33±2.91 | >75 |
| Malvaceae | <i>Hibiscus indicus</i> | Twigs | 75 | 23.62±2.80 | >75 |
| Moraceae (뽕나무과) | <i>Ficus sarmentosa</i> | Leaves | 75 | 45.43±3.18 | >75 |
| Moraceae (뽕나무과) | <i>Ficus sarmentosa</i> | Twigs | 75 | 17.71±1.76 | >75 |
| Moraceae (뽕나무과) | <i>Ficus tinctoria</i> | Twigs | 75 | 11.08±3.74 | >75 |
| Moraceae (뽕나무과) | <i>Ficus auriculata</i> | Leaves | 75 | 46.67±1.23 | >75 |
| Myrsinaceae (자금우과) | <i>Ardisia virens</i> | Leaves | 1 | 25.11±1.18 | 2.93±0.06 |
| | | | 2.5 | 44.84±0.56 | |
| | | | 5 | 76.24±0.73 | |
| Myrsinaceae (자금우과) | <i>Ardisia virens</i> | Stems | 1 | 21.65±0.12 | 6.69±0.02 |
| | | | 2.5 | 38.53±1.22 | |
| | | | 5 | 72.36±0.54 | |
| Myrtaceae (도금양과) | <i>Psidium guajava</i> | Twigs | 75 | 40.33±1.06 | >75 |
| Oleaceae (물푸레나무과) | <i>Ligustrum strongylophyllum</i> | Leaves | 75 | 42.59±4.77 | >75 |
| Oleaceae (물푸레나무과) | <i>Ligustrum strongylophyllum</i> | Twigs | 75 | 31.99±3.63 | >75 |
| Oleaceae (물푸레나무과) | <i>Ligustrum gracile</i> | Twigs | 75 | 24.46±2.45 | >75 |
| Pinaceae (소나무과) | <i>Pinuskesiya</i> | Leaves | 75 | 19.84±0.69 | >75 |
| Pittosporaceae (돈나무과) | <i>Pittosporum truncatum</i> | Leaves | 1 | 37.12±2.42 | 1.93±0.11 |
| | | | 2.5 | 63.15±2.38 | |
| | | | 5 | 71.92±1.26 | |
| Pittosporaceae (돈나무과) | <i>Pittosporum truncatum</i> | Twigs | 75 | 39.43±1.23 | >75 |
| Pittosporaceae (돈나무과) | <i>Pittosporum brevicalyx</i> | Leaves | 75 | 38.10±1.36 | >75 |
| Pittosporaceae (돈나무과) | <i>Pittosporum brevicalyx</i> | Twigs | 75 | 37.97±1.51 | >75 |
| Poaceae (벼과) | <i>Drepanostachyum fractiflexum</i> | Aerial parts | 75 | 25.22±1.06 | >75 |
| Poaceae (벼과) | <i>Anthoxanthum hookeri</i> | Aerial parts | 75 | 28.29±2.94 | >75 |
| Polygonaceae (마디풀과) | <i>Rheum alexandrae</i> | Stems | 75 | 39.69±4.16 | >75 |

Table I. Continued

| Family name | Scientific name | Part used | Conc. ($\mu\text{g/ml}$) | Inhibition (%) | IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$) |
|-----------------------|-------------------------------|--------------|-------------------------------|-------------------|--|
| Polygonaceae (마디풀과) | <i>Polygonum chinense</i> | Leaves | 75 | 40.16 \pm 0.69 | >75 |
| Polygonaceae (마디풀과) | <i>Polygonum chinense</i> | Twigs | 75 | 45.21 \pm 1.85 | >75 |
| Polygonaceae (마디풀과) | <i>Oxyria sinensis</i> | Aerial parts | 1 | 13.71 \pm 1.92 | 3.51 \pm 0.13 |
| | | | 2.5 | 30.20 \pm 1.67 | |
| | | | 5 | 74.73 \pm 2.55 | |
| Polypodiaceae (고란초과) | <i>Pyrosia calvata</i> | Whole plants | 1 | 9.58 \pm 2.68 | 3.88 \pm 0.11 |
| | | | 2.5 | 15.75 \pm 5.98 | |
| | | | 5 | 72.73 \pm 2.58 | |
| Primulaceae (앵초과) | <i>Primulasikkimensis</i> | Roots | 25 | 33.04 \pm 1.00 | 58.75 \pm 1.96 |
| | | | 50 | 49.26 \pm 0.23 | |
| | | | 75 | 55.82 \pm 1.68 | |
| Primulaceae (앵초과) | <i>Ardisia japonica</i> | Leaves | 1 | 37.56 \pm 1.18 | 1.93 \pm 0.12 |
| | | | 2.5 | 62.07 \pm 1.33 | |
| | | | 5 | 73.16 \pm 1.88 | |
| Primulaceae (앵초과) | <i>Ardisia japonica</i> | Twigs | 10 | 9.31 \pm 0.44 | 38.52 \pm 2.55 |
| | | | 25 | 35.05 \pm 7.91 | |
| | | | 50 | 64.39 \pm 2.36 | |
| Primulaceae (앵초과) | <i>Myrsine kwangsiensis</i> | Aerial parts | 75 | 18.08 \pm 0.35 | >75 |
| | | | 25 | 0.46 \pm 0.55 | |
| Primulaceae (앵초과) | <i>Myrsine kwangsiensis</i> | Twigs | 50 | 24.17 \pm 0.10 | 73.20 \pm 0.35 |
| | | | 75 | 52.69 \pm 0.51 | |
| | | | 75 | 52.69 \pm 0.51 | |
| Primulaceae (앵초과) | <i>Piper betle</i> | Leaves | 75 | 19.92 \pm 2.33 | >75 |
| Primulaceae (앵초과) | <i>Piperbetle</i> | Twigs | 75 | 25.98 \pm 0.69 | >75 |
| Pteridaceae (봉의꼬리과) | <i>Pteris vittata</i> | Whole plants | 75 | 44.44 \pm 0.58 | >75 |
| Rhamnaceae | <i>Ziziphus abyssinica</i> | fruits | 75 | 37.90 \pm 2.05 | >75 |
| Rosaceae (장미과) | <i>Malus rockii</i> | Leaves | 75 | 23.91 \pm 4.29 | >75 |
| Rosaceae (장미과) | <i>Malus rockii</i> | Stems | 75 | 14.87 \pm 0.78 | >75 |
| Rubiaceae (꼭두서니과) | <i>Tarenoidewallichii</i> | Leaves | 75 | 27.29 \pm 2.97 | >75 |
| Rubiaceae (꼭두서니과) | <i>Tarenoidewallichii</i> | Stems | 75 | 47.50 \pm 1.66 | >75 |
| Rubiaceae (꼭두서니과) | <i>Luculia pinceana</i> | Twigs | 75 | 46.09 \pm 4.95 | >75 |
| Rutaceae (운향과) | <i>Zanthoxylum multijugum</i> | Leaves | 75 | 25.08 \pm 3.49 | >75 |
| | | | 10 | 13.58 \pm 3.47 | |
| | | | 25 | 48.25 \pm 2.56 | 38.28 \pm 1.61 |
| 50 | 57.51 \pm 2.24 | | | | |
| Rutaceae (운향과) | <i>Psilopeganum sinense</i> | Whole plants | 75 | 44.44 \pm 2.06 | >75 |
| Rutaceae (운향과) | <i>Clausena excavata</i> | Leaves | 75 | 25.28 \pm 0.42 | >75 |
| Rutaceae (운향과) | <i>Clausena excavata</i> | Twigs | 75 | 33.49 \pm 0.78 | >75 |
| Sabiaceae (나도밤나무과) | <i>Sabia yunnanensis</i> | Leaves | 75 | 22.07 \pm 2.89 | >75 |
| Sabiaceae (나도밤나무과) | <i>Sabia yunnanensis</i> | Twigs | 75 | 13.50 \pm 3.73 | >75 |
| | | | 10 | 0.25 \pm 2.10 | |
| | | | 25 | 23.31 \pm 1.21 | 39.91 \pm 0.59 |
| 50 | 67.69 \pm 1.97 | | | | |
| Schisandraceae (오미자과) | <i>Schisandra grandiflora</i> | Stems | 75 | 35.55 \pm 3.19 | >75 |
| Stachyuraceae (정절화과) | <i>Stachyurushimalaicus</i> | Leaves | 2.5 | 4.58 \pm 0.68 | 9.53 \pm 0.03 |
| | | | 5 | 15.64 \pm 0.86 | |
| | | | 10 | 54.35 \pm 0.13 | |

Table I. Continued

| Family name | Scientific name | Part used | Conc. (µg/ml) | Inhibition (%) | IC ₅₀ (µg/ml) |
|---------------------------|-------------------------------------|-----------|---------------|----------------|--------------------------|
| Thelypteridaceae (치너고사리과) | <i>Pronophrum gymnopteridifrons</i> | Leaves | 25 | 22.09±0.71 | 56.34±0.99 |
| | | | 50 | 44.90±1.82 | |
| | | | 75 | 66.27±1.38 | |
| Thymelaeaceae (팔꽃나무과) | <i>Daphneaurantiaca</i> | Leaves | 2.5 | 13.75±3.26 | 7.49±0.14 |
| | | | 5 | 42.02±2.34 | |
| | | | 10 | 63.10±0.58 | |
| Thymelaeaceae (팔꽃나무과) | <i>Daphneaurantiaca</i> | Stems | 10 | 16.15±1.77 | 33.53±0.65 |
| | | | 25 | 35.43±1.73 | |
| | | | 50 | 75.18±0.39 | |
| Urticaceae (쐐기풀과) | <i>Pilea plataniflora</i> | Twigs | 25 | 26.57±1.65 | 55.34±0.66 |
| | | | 50 | 45.95±2.53 | |
| | | | 75 | 65.05±1.74 | |
| Woodsiaceae (우드풀과) | <i>Allantodia dilatata</i> | Leaves | 2.5 | 9.01±2.90 | 7.60±0.16 |
| | | | 5 | 31.30±2.88 | |
| | | | 10 | 68.17±0.71 | |
| Woodsiaceae (우드풀과) | <i>Allantodiadilatata</i> | Stems | 75 | 34.81±3.47 | >75 |
| | Aminoguanidine | | | | 76.47 |

IC₅₀ values were calculated from the dose inhibition curve.

*In vitro*에서 최종당화산물 생성저해 실험 – Vinson과 Howard¹²⁾의 방법을 변형하여 실험을 실시하였다. 본 실험에서는 10 mg/ml의 우혈청 알부민(bovine serum albumin, Sigma)을 0.2 M phosphate buffer(pH 7.4)에 용해시키고, 0.2 M의 fructose와 glucose를 처리하였다. 이 때 0.2 M phosphate buffer에 0.02% sodium azide를 넣어 반응기간 동안 박테리아의 생성을 방지하였다. 이 반응액에 추출물 또는 최종당화산물 생성저해제인 aminoguanidine을 넣은 후 37°C에서 7일 동안 반응시켰다. 이때 시료의 IC₅₀값을 구하기 위해 1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 75 µg/ml의 7개 농도에서 실험 하였다. 배양 후에는 spectrofluorometric detector(Bio-TEK, Synergy HT, USA)를 이용하여 형광도를 측정하였다 (Ex: 350, Em: 450nm). IC₅₀값은 n=3으로 하여 계산되었다.

결과 및 고찰

최종당화산물은 신장, 안구, 뇌 등 조직 내 단백질과 반응하여 각 장기에 축적되어 당뇨병성 신증(Diabetic nephropathy), 망막증(D. retinopathy), 백내장(D. cataract), 신경병증(D. neuropathy) 등의 당뇨합병증으로 진행된다.^{4,5)} 본 연구팀은 최종당화산물 생성을 강력하게 억제하는 천연물 소재를 발굴하기 위하여 많은 천연소재들의 효능을 검색 발표하였다.¹³⁻²²⁾

본 연구에서도 중국에서 자생하는 약용식물 111종의 에탄올 추출물을 이용하여 최종당화산물 생성 저해 효능을 측정하였다. 양성 대조 약물인 aminoguanidine의 IC₅₀값

(76.47±4.81 µg/ml)을 근거로 하여, 추출물이 IC₅₀: <50 µg/ml이면 효능이 있다고 판단하였다. 24종의 식물 추출물에서 IC₅₀: <10 µg/µl로 최종당화산물 생성 저해 효능을 보였고, 그 중에서 9종의 추출물 *Barleria cristata*의 잎(4.97±0.10 µg/ml), *Calotropis gigantea*의 줄기(2.08±0.32 µg/ml), *Ardisia virens*의 잎(2.93±0.06 µg/ml), *Dalbergia yunnanensis*의 잎(3.52±0.30 µg/ml) *Pittosporum runcatum*의 잎(1.93±0.11 µg/ml), *Ardisia japonica*의 잎(1.93±0.12 µg/ml), *Rhododendron racemosum*의 소지(3.70±0.13 µg/ml), *Oxyria sinensis*의 지상부(3.51±0.13 µg/ml), *Pyrrosia calvata*의 전초(3.88±0.11 µg/ml)는 IC₅₀가 5 µg/ml 이하로 aminoguanidine보다 약 15-40배 이상의 우수한 효능이 있음을 알 수 있었다.

쥐꼬리망초과 *B. cristata*의 잎은 항염효과가 있으며,²³⁾ 간 손상이 유발된 쥐에서 간보호 효과가 있다고 보고되었다.²⁴⁾ 또한 잎에 함유되어 있는 alkaloids, flavonoids, glycosides, saponins, phenols, tannins가 항산화효과가 있다고 보고되었다.²⁵⁾ 잎의 분획에서 얻은 saponin은 *Klebsiella Pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, *Aspergillus parasites*에 대해 항균작용을 한다고 보고되었다.²⁶⁾ 또한 건조한 씨앗이 당뇨 모델 쥐에서 혈당을 낮추어 항당뇨 소재로서 가능성이 있다고 보고되었다.²⁷⁾ 박주가리과의 *C. gigantea*는 지상부가 지사제작용,²⁸⁾ 뿌리는 해열작용,²⁹⁾ 항균작용³⁰⁾ 구강암세포와 백혈병세포에 대해 세포독성을 나타내 항암작용에 효과가 있다고 보고되었다.³¹⁾ 꽃은 진통작용,³²⁾ 잎은 항균작용을 한다고 보고되었고,³³⁾ 꽃과 잎의 추출물은 당뇨 모델 쥐에서 free radical 소거 활성을 나타낸다고 보고되었다.³⁴⁾ C.

*gigantea*는 carbon tetrachloride로 인해 간손상이 유발된 쥐의 간보호 효과가 있다고 보고되었다.³⁵⁾ 자금우과의 *Ardisia virens*의 뿌리와 줄기에서 분획한 alkyl benzoquinones 성분이 지방암과 중추신경계암세포에서 세포독성을 나타내 항암작용을 한다고 보고되었다.³⁶⁾ 콩과의 *D.yunnanensis*는 당뇨병증의 발병기전 중 하나인 알도스 환원 효소의 억제제로서 효과가 있다고 보고되었다.³⁷⁾ 앵초과의 *A. japonica*의 지상부는 anti-human immunodeficiency virus(HIV-1) 효과가 있으며,³⁸⁾ 인슐린 신호억제에 관여하여 당뇨병 치료제 개발의 표적이 되고 있는 protein tyrosin phosphatase 1B(PTP1B) 억제 효과가 있다고 보고되었다.³⁹⁾ 또한 생리활성 물질인 triterpenoid saponin이 함유되어 있으며, 이는 간암세포에 대해 항암효과가 있다고 보고되었다.⁴⁰⁻⁴²⁾ 돈나무과의 *P. runcatum*, 진달래과의 *R. racemosum*, 마디풀과의 *O. sinensis*, 고란초과의 *P. calvata*는 효능 및 성분과 관련한 연구가 진행된 바 없으며, 위 언급된 9종의 약용 식물은 최종당화산물 생성 억제 효능이 보고된 바 없었다. 9종 모두 양성 대조 약물 보다 15-40배 이상 최종당화산물 생성 억제 효능이 우수한 것으로 확인되었으므로, 전임상 실험을 통해 *in vivo* 효능 확인이 필요하다고 생각된다. 본 연구 결과는 중국 약용식물로부터 안전하고 효능이 좋은 최종당화산물 생성 저해제 후보를 발굴하기 위한 기초 자료로 활용될 수 있으며, 당뇨에 의해 나타나는 합병증 치료제 개발의 기반을 구축하는데 기여할 수 있을 것이다.

결 론

기원이 확인된 중국산 약용식물 111종의 에탄올 추출물이 *in vitro*에서 최종당화산물 생성저해 효능이 검색되었다. 그 결과 24종이 양성대조군인 aminoguanidine 보다 우수한 효능이 있음을 확인하였고, 특히 *B. cristata*의 잎, *C. gigantea*의 줄기, *A. virens*의 잎, *D. yunnanensis*의 잎 *P. runcatum*의 잎, *A. japonica*의 잎, *R. racemosum*의 소지, *O. sinensis*의 지상부, *P. calvata*의 전초, 9종의 추출물은 양성대조군 보다 15-40배 억제 효능이 우수하므로 당뇨병증 예방 및 치료제로 개발될 가능성이 있다.

사 사

본 연구는 한국한의학연구원 기관고유사업(K14040, K15270)의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Sakurai, T. and Tsuchiya, S. (1988) Superoxide production from nonenzymatically glycosylated protein. *FEBS Lett.* **236**: 406-410.
- Shinohara, R., Mano, T., Nagasaka, A., Sawai, Y., Uchimura, K., Hayashi, R., Hayakawa, N., Nagata, M., Makino, M., Kakizawa, H., Itoh, Y., Nakai, A. and Itoh, M. (1998) Effects of thyroid hormone on the sorbitol pathway in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochim. Biophys. Acta* **1425**: 577-586.
- Bucala, R., Cerami, A., Vlassara, H. (1995) Advanced glycosylation end products in diabetic complications. *Diabetes Rev.* **3**: 258-268.
- Larkins, R. G. and Dunlop, M. E. (1992) The link between hyperglycaemia and diabetic nephropathy. *Diabetologia* **35**: 499-504.
- Ahmed, N. (2005) Advanced glycation endproducts-role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **67**: 3-21.
- Yokozawa, T., Nakagawa, T. and Terasawa, K. (2001) Effects of oriental medicines on the production of advanced glycation endproducts. *J. Trad. Med.* **18**: 107-112.
- Huebschmann, A. G., Vlassara, H., Regensteiner, J. G. and Reusch, J. (2006) Diabetes and advanced glycoxidation end products. *Diabetes Care* **29**: 1420-1432.
- Rahbar, S. and Figarola, J. L. (2003) Novel inhibitors of advanced glycation endproducts. *Arch. Biochem. Biophys.* **419**: 63-79.
- Wilkinson-Berka, J. L., Kelly, D. J., Koerner, S. M., Jaworski, K., Davis, B., Thallas, V. and Cooper, M. E. (2002) ALT-946 and aminoguanidine, inhibitors of advanced glycation, improve severe nephropathy in the diabetic transgenic (mREN-2) 27 rat. *Diabetes* **51**: 3283-3289.
- Peppas, M., Brem, H., Cai, W., Zhang, J. G., Basgen, J., Li, Z., Vlassara, H. and Uribarri, J. (2006) Prevention and reversal of diabetic nephropathy in db/db mice treated with alagebrium (ALT-711). *Am. J. Nephrol.* **26**: 430-436.
- Yang, S., Litchfield, J. E. and Baynes, J. W. (2003) AGE breakers cleave model compounds, but do not break maillard crosslinks in skin and tail collagen from diabetic rats. *Arch. Biochem. Biophys.* **412**: 42-46.
- 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.
- Jang, D. S., Lee, Y. M., Kim, Y. S. and Kim, J. S. (2006) Screening of Korean traditional herbal medicines with inhibitory activity on advanced glycation end products (AGEs) formation. *Kor. J. Pharmacogn.* **37**: 48-52.
- Lee, Y. M., Kim, Y. S., Kim, J. M., Jang, D. S., Kim, J. W., Yoo, J. L. and Kim, J. S. (2008) Screening of Korean herbal medicines with inhibitory activity on advanced glycation end products (AGEs) formation (II). *Kor. J. Pharmacogn.* **39**: 223-227.
- Jeong, I. H., Kim, J. M., Jang, D. S., Kim, J. H., Cho, J. H. and Kim, J. S. (2009) Screening of Korean herbal medicines with inhibitory activity on advanced glycation end products

- (AGEs) formation (III). *Kor. J. Pharmacogn.* **40**: 382-387.
16. Kim, J. M., Kim, Y. S., Kim, J. H., Yoo, J. M. and Kim, J. S. (2009) Screening of herbal medicines from China and Vietnam with inhibitory activity on advanced glycation end products (AGEs) formation (IV). *Kor. J. Pharmacogn.* **40**: 388-393.
 17. Kim, Y. S., Choi, S. H. Kim, J. H. and Kim, J. S. (2011) Screening of herbal medicines from China with inhibitory activity on advanced glycation end products (AGEs) formation (V). *Kor. J. Pharmacogn.* **42**: 46-53.
 18. Lee, Y. M., Kim, Y. S., Kim, J. H. and Kim, J. S. (2011) Screening of herbal medicines from China with inhibitory activity on advanced glycation end products (AGEs) formation (VI). *Kor. J. Pharmacogn.* **42**: 161-168.
 19. Choi, S. J., Kim, Y. S., Song, Y. J., Lee, Y. M., Kim, J. H. and Kim J. S. (2012) Screening of Korean herbal medicines with inhibitory Activity on advanced glycation end products formation (VII). *Kor. J. Pharmacogn.* **43**: 345-351.
 20. Choi, S. J., Song, Y. J., Kim, Y. S., Kim, J. H., Hang, S., Bach, T. T. and Kim J. S. (2012) Screening of herbal medicines from China and Vietnam with inhibitory activity on advanced glycation end products (AGEs) formation (VIII). *Kor. J. Pharmacogn.* **43**: 338-344.
 21. Lee, Y. M., Kim, Y. S., Kim, J. H. and Kim, J. S. (2013) Screening of Korean herbal medicines with inhibitory Activity on advanced glycation end products formation (IX). *Kor. J. Pharmacogn.* **44**: 298-304.
 22. Choi, S. J., Song, Y. J., Kim, Y. S., Kim, J. H. and Kim, J. S. (2013) Screening of Korean herbal medicines with inhibitory Activity on advanced glycation end products formation (XI). *Kor. J. Pharmacogn.* **44**: 372-378.
 23. Gambhire, M. N., Wankhede, S. S. and Juvejar, A. R. (2009) Anti-inflammatory activity of aqueous extract of *Barleria cristata* leaves. *J. Young Pharm.* **3**: 220-224.
 24. Balaji. P., Kishor, G. and Verma, Y. (2013) *In-vivo* hepatoprotective activity of *Barleria cristata* L. ethanolic leaf extracts against CCl₄ induced hepatic injury in wistar rats. *Pharmacie Globale* **4**: 1-6.
 25. Amutha, K. and Doss, D. V. A. (2009) *In vitro* antioxidant activity of ethanolic extract of *Barleria cristata* L. leaves. *Res. J. Pharmacogn. Phytochem.* **1**: 209-212.
 26. Amutha, K. and Doss, D. V. A. (2009) Identification and antimicrobial activity of saponin fraction from the leaves of *Barleria cristata* L. *IJPSR* **3**: 4040-4044.
 27. Singh, R., Rajasree, P. and Sankar, C. (2012) Screening for anti-diabetic activity of the ethanolic extract of *Barleria cristata* seeds. *Int. J. Pharm. Life Sci.* **3**: 2044-2047.
 28. Chitme, H. R., Chandra, R. and Kaushik, S. (2004) Studies on anti-diarrhoeal activity of *calotropis gigantea* R.BR. in experimental animals. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* **7**: 70-75.
 29. Chitme, H. R., Chandra, R. and Kaushik, S. (2005) Evaluation of antipyretic activity of *Calotropis gigantea* (Asclepiadaceae) in experimental animals. *Phytother. Res.* **19**: 454-456.
 30. Alam, M. A., Habib, M. R., Nikkon, R., Rahman, M. and Karim. R. (2008) Antimicrobial activity of Akanda (*Calotropis gigantea* L.) on some pathogenic bacteria. *Bangladesh J. Sci. Ind. Res.* **43**: 397-404.
 31. Kiuchi, F., Fukao, Y., Maruyama, T., Obata, T., Tanaka, M., Sasaki, T., Mikage, M., Haque, M. E. and Tsuda, Y. Cytotoxic principles of a Bangladeshi crude drug, Akond Mul (roots of *Calotropis gigantea* L.) *Chem. Pharm. Bull.* **46**: 528-530.
 32. Pathak, A. K. and Argal, A. (2007) Analgesic activity of *Calotropis gigantea* flower. *Fitoterapia* **78**: 40-42.
 33. Kumar, G., Karthik, L. and Rao, K. V. B. (2010) Antibacterial activity of aqueous extract of *Calotropis gigantea* leaves-an *in vitro* study. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* **4**: 141-144.
 34. Rathod, N. R., Raghuvver, I., Chitme, H. R. and Chandra, R. (2009) Free radical scavenging activity of *Calotropis gigantea* on streptozotocin-induced diabetic rats. *Indian J. Pharm. Sci.* **71**: 615-621.
 35. Lodhi, G., Singh, H. K., Pant, K. K. and Hussan, Z. (2009) Hepatoprotective effects of *Calotropis gigantea* extract against carbon tetrachloride induced liver injury in rats. *Acta Pharm.* **59**: 89-96.
 36. Chang, H. S., Lin, Y. J., Lee, S. J., Yang, C. W., Lin, W. Y., Tsai, I. L. and Chen, I. S. (2009) Cytotoxic alkyl benzoquinones and alkyl phenols from *Ardisia virens*. *Phytochemistry* **70**: 2064-2071.
 37. Choi, S. J., Kim, Y. S., Kim, J. H. and Kim, J. S. (2014) Screening of Chinese herbal medicines with inhibitory effect on aldose reductase (X). *Kor. J. Pharmacogn.* **45**: 359-365.
 38. Piacente, S., Pizza, C., Tommasi, N. D. and Mahmood, N. (1996) Constituents of *Ardisia japonica* and their *in vitro* anti-HIV activity. *J. Nat. Prod.* **59**: 565-569.
 39. Li, Y. F., Hu, L. H., Lou, F. C., Li, J. and Shen, Q. (2005) PTP1B inhibitors from *Ardisia japonica*. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **7**: 13-18.
 40. Chang, X., Li, W., Lia, Z., Sayou, T., Fushiya, S. and Koike, K. (2007) Biologically active triterpenoid saponins from *Ardisia japonica*. *J. Nat. Prod.* **70**: 179-187.
 41. Li, Q., Li, w., Hui, L. P., Zhao, C. Y., He, L. and Koike, K. (2012) 13,28-epoxy triterpenoid saponins from *Ardisia japonica* selectively inhibit proliferation of liver cancer cells without affecting normal liver cells. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **22**: 6120-6125.
 42. Zhao, C. Y., Hui, L. P., He, L. and Li, Q. (2013) Study on inhibitory effect of triterpenoid saponin from *Ardisia japonica* TSP02 on proliferation and metastasis of human hepatocellular carcinoma cells and its mechanism. *China J. Chinese Mater. Med.* **38**: 861-865.

(2015. 8. 3 접수; 2015. 8. 31 심사; 2015. 9. 17 게재확정)