

베트남 약용식물 추출물의 알도즈 환원 효소 억제 효능 검색(XI)

최소진¹ · 김영숙¹ · 김주환² · 김진숙^{1*}

¹한국한의약연구원 한약연구본부 한의신약연구그룹, ²가천대학교 생명과학과

Screening of Vietnamese Herbal Medicines with Inhibitory Effect on Aldose Reductase (XI)

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

¹Korean Medicine-Based Herbal Drug Research Group, Herbal Medicine Research Division, Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 305-811, Korea

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

Abstracts – Aldose reductase (AR) has been indicated the critical enzyme of the polyol pathway in the development of the diabetic complications. In this study, 119 Vietnamese herbal medicines have been investigated for inhibitory activities on AR. Among them, 7 herbal medicines, *Synedrella nodiflora* (stems and leaves), *Combretum sundaicum* (stems and leaves), *Argyrea acuta* (stems and leaves), *Platea latifolia* (whole plants), *Linociera sangda* (whole plants), *Rhaphiolepis indica* (whole plants), *Harrisonia perforata* (stems and leaves) and 2 fractions from *Harrisonia perforata* (stems and leaves) with EtOAc and BuOH, exhibited a significant inhibitory activity against AR. Particularly, *S. nodiflora*, *A. acuta* and *H. perforata* (stems and leaves) showed 1.0-1.8 times more potent inhibitory activity than the positive control, 3,3-tetramethyleneglutaric acid (TMG).

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

재료 및 방법

알도즈 환원 효소(aldehyde reductase)는 당뇨병증의 발병기전 중하나인 폴리올 경로의 첫 번째 효소로 만성적 고혈당에 상태에서 과도하게 활성화되어 포도당을 술비톨로 환원시킨다. 술비톨은 일반적으로 세포막을 통과하지 못하고 축적되어 세포 내 삼투압 및 대사과정의 변이와 세포막의 안정성을 감소시켜 당뇨병증을 야기한다. 또한 술비톨은 술비톨 탈수소효소에 의해서 과당으로 전환되고, 이로 인해 당화가 진행되어 최종당화산물의 생성을 증가시켜 당뇨병증을 가속화시킨다.¹⁻³⁾ 최근 독성이나 부작용이 없는 천연물로부터 알도즈 환원 효소 억제 물질을 개발하고자 많은 연구들이 진행되고 있다.^{4,5)} 본 연구팀에서도 생약 추출물 및 생약에서 추출한 단일화합물의 알도즈 환원 효소 활성 억제 효능을 확인하였다.⁶⁻¹⁰⁾

본 연구에서는 지난 보고에 이어¹¹⁻¹⁸⁾ 베트남에서 자생 또는 재배되는 119종의 생약을 *in vitro*에서 알도즈 환원 효소 억제 효능을 검색하여 후보물질을 선별하고자 한다.

실험재료 – 본 실험에 사용된 베트남산 약용식물들(Table I)은 가천대학교 김주환 교수팀에 의해 베트남에서 채집되었으며, 동정을 거친 후 실험에 사용하였다. 증거표본은 한국한의약연구원 한약연구본부 한의신약연구그룹 표본실에 보관중이다.

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 건조기에서 건조하였다. 추출물은 실험 수행 전에 감압 하에서 P₂O₅를 이용하여 24시간 이상 재건조 한 후 DMSO(Sigma, St. Louis, MO, USA)에 용해시켜 stock solution을 조제하였으며, 분획물은 에탄올 추출물을 증류수에 현탁시킨 후 에틸아세테이트(EtOAc), 부탄올(n-BuOH), 증류수로 각각 3 회씩 순차적으로 용매분획하여 에틸아세테이트, 부탄올 및 물 분획물들을 각각 얻었다. 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 특급시약을 사용하였다.

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

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

Family name	Scientific name	Part used	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition (%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
Acanthaceae (취꼬리망초과)	<i>Tarphochlamys affinis</i>	Whole plants	10	45.78 \pm 1.15	>10
Annonaceae (포포나무과)	<i>Alphonsea hainanensis</i>	Whole plants	10	10.37 \pm 0.76	>10
Apocynaceae (협죽도과)	<i>Bousigonia mekongensis</i>	Whole plants	10	16.23 \pm 1.77	>10
Apocynaceae (협죽도과)	<i>Niebhuria siamensis</i>	Whole plants	10	12.20 \pm 0.21	>10
Apocynaceae (협죽도과)	<i>Tabemaemontana corymbosa</i>	Whole plants	10	6.58 \pm 0.13	>10
Apocynaceae (협죽도과)	<i>Strophanthus caudafus</i>	Whole plants	2.5 5 10	17.50 \pm 0.07 30.83 \pm 2.83 51.62 \pm 0.56	9.55 \pm 0.25
Aquifoliaceae (감탕나무과)	<i>Ilex chapaensis</i>	Stems and leaves	2.5 5 10	30.10 \pm 2.20 42.90 \pm 1.76 61.34 \pm 1.21	7.10 \pm 0.30
Araliaceae (두릅나무과)	<i>Schefflera pauciflora</i>	Stems and leaves	2.5 5 10	18.75 \pm 2.30 30.83 \pm 1.52 55.98 \pm 2.06	8.66 \pm 0.15
Asteraceae (국화과)	<i>Synedrella nodiflora</i>	Stems and leaves	1 2.5 5	15.86 \pm 0.65 31.80 \pm 0.04 50.63 \pm 0.37	4.84 \pm 0.04
Asteraceae (국화과)	<i>Synedrella nodiflora</i> (EtOAc fraction)	Stems and leaves (EtOAc fraction)	0 0.5 1	0.00 \pm 1.92 34.09 \pm 2.94 54.13 \pm 1.63	0.88 \pm 0.04
Asteraceae (국화과)	<i>Synedrella nodiflora</i> (n-BuOH fraction)	Stems and leaves	2.5 5 10	22.01 \pm 0.67 34.65 \pm 0.82 52.86 \pm 0.39	9.17 \pm 0.09
Asteraceae (국화과)	<i>Synedrella nodiflora</i> (water fraction)	Stems and leaves	10	23.14 \pm 2.22	>10
Asteraceae (국화과)	<i>Artemisia indica</i>	Stems and leaves	10	3.15 \pm 0.25	>10
Boraginaceae (지치과)	<i>Coradia grandis</i>	Whole plants	10	12.58 \pm 0.90	>10
Capparaceae (풍접초과)	<i>Capparis cantoniensis</i>	Stems and leaves	10	9.9 \pm 1.91	>10
Capparaceae (풍접초과)	<i>Stixis suaveolens</i>	Stems and leaves	1 2.5 5	24.43 \pm 1.91 41.69 \pm 1.61 51.96 \pm 0.76	4.45 \pm 0.05
Celastraceae (노박덩굴과)	<i>Celastrus gemnatus</i>	Stems and leaves	10	36.12 \pm 2.25	>10
Clusiaceae (물레나물과)	<i>Garcinia aff gaudichaudii</i>	Whole plants	10	44.94 \pm 1.20	>10
Clusiaceae (물레나물과)	<i>Garcinia aff.gaudichaudii</i>	Stems and leaves	2.5 5 10	30.39 \pm 2.32 42.32 \pm 2.13 61.91 \pm 0.68	7.06 \pm 0.19
Clusiaceae (물레나물과)	<i>Garcinia multiflora</i>	Stems and leaves	2.5 5 10	28.15 \pm 3.37 41.23 \pm 5.40 68.25 \pm 1.63	6.58 \pm 0.51

Table I. Continued

Family name	Scientific name	Part used	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition (%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
Combretaceae (콤브레타과)	<i>Combretum sundaicum</i>	Stems and leaves	0.5	17.7 \pm 2.7	1.78 \pm 0.06
			1	33.4 \pm 3.9	
			2.5	66.7 \pm 0.2	
Connaraceae (콘나루스과)	<i>Agelaea macrophylla</i>	Stems and leaves	10	28.7 \pm 2.10	>10
Connaraceae (콘나루스과)	<i>Ellipanthus tomentosus</i>	Stems and leaves	1	28.15 \pm 2.69	4.96 \pm 0.18
			2.5	37.53 \pm 1.61	
			5	50.02 \pm 0.74	
Convolvulaceae (메꽃과)	<i>Argyria acuta</i>	Stems and leaves	0.25	24.4 \pm 1.9	0.67 \pm 0.01
			0.5	41.3 \pm 1.3	
			0.75	54.0 \pm 1.4	
Cyperaceae (사초과)	<i>Thoracostachyum balansae</i>	Whole plants	10	24.81 \pm 0.93	>10
Cyperaceae (사초과)	<i>Thoracostachyum banacanum</i>	Whole plants	10	31.33 \pm 0.13	>10
Dilleniaceae (오이과과)	<i>Dillenia ovata</i>	Whole plants	10	43.72 \pm 1.39	>10
Dioscoreaceae (마과)	<i>Dioscorea cirrhosa</i>	Stems and leaves	10	17.4 \pm 3.40	>10
Dipterocarpaceae (이엽사과)	<i>Dipterocarpus kerril</i>	Whole plants	10	39.83 \pm 0.50	>10
Dipterocarpaceae (이엽사과)	<i>vatica odorata</i>	Whole plants	10	41.02 \pm 0.13	>10
Elaeocarpaceae (담팔수과)	<i>Elaeocarpus limitaneus</i>	Whole plants	2.5	32.57 \pm 0.13	6.91 \pm 0.05
			5	48.04 \pm 0.31	
			10	58.72 \pm 0.26	
Erythroxylaceae (담팔수과)	<i>Erythroxylum novagranatense</i>	Whole plants	10	24.39 \pm 0.22	>10
Euphorbiaceae (대극과)	<i>Aporosa tetrapleura</i>	Whole plants	2.5	25.51 \pm 1.22	7.33 \pm 0.13
			5	41.27 \pm 0.13	
			10	61.93 \pm 1.50	
Euphorbiaceae (대극과)	<i>Aporosa yunnanesis</i>	Whole plants	10	22.04 \pm 0.76	>10
Euphorbiaceae (대극과)	<i>Blachia jatrophifolia</i>	Whole plants	10	35.55 \pm 0.31	>10
Euphorbiaceae (대극과)	<i>Bridelia balansae</i>	Stems and leaves	2.5	19.71 \pm 1.49	7.48 \pm 0.16
			5	44.91 \pm 3.25	
			10	60.29 \pm 2.20	
Euphorbiaceae (대극과)	<i>Chaetocarpus castanocarpus</i>	Whole plants	10	13.59 \pm 0.86	>10
Euphorbiaceae (대극과)	<i>Glochidion obliquum</i>	Whole plants	10	45.43 \pm 0.54	>10
Euphorbiaceae (대극과)	<i>Macaranga balansae</i>	Whole plants	1	31.86 \pm 1.03	3.43 \pm 0.03
			2.5	40.43 \pm 0.58	
			5	63.46 \pm 0.91	
Fabaceae (콩과)	<i>Dalbergia assamica</i>	Stems and leaves	2.5	28.69 \pm 0.87	8.93 \pm 0.16
			5	34.89 \pm 0.28	
			10	54.22 \pm 0.78	

Table I. Continued

Family name	Scientific name	Part used	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition (%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
Fabaceae (콩과)	<i>Millettia diptera</i>	Stems and leaves	10	30.64 \pm 1.19	>10
Fabaceae (콩과)	<i>Millettia dielsiana</i>	Stems and leaves	10	48.40 \pm 0.23	>10
Fabaceae (콩과)	<i>Millettia dielsiana</i>	Stems and leaves	10	12.67 \pm 2.78	>10
Fagaceae (참나무과)	<i>Castanopsis pyriformis</i>	Whole plants	1 2.5 5	33.81 \pm 0.40 46.37 \pm 0.05 50.83 \pm 0.25	4.06 \pm 0.07
Fagaceae (참나무과)	<i>Lithocarpus pseudosundaicus</i>	Whole plants	10	38.17 \pm 1.01	>10
Flacourtiaceae (이나무과)	<i>Homalium dasyanthum</i>	Whole plants	10	36.08 \pm 0.55	>10
Flacourtiaceae (이나무과)	<i>Casearia balansae</i>	Whole plants	10	25.69 \pm 0.71	>10
Gesneriaceae (괘이귀과)	<i>Aeschynanthus acuminatus</i>	Stems and leaves	10	45.80 \pm 0.88	>10
Gnetaceae (네틀과)	<i>Gnetum ontanum</i>	Stems	10	33.84 \pm 1.39	>10
Hippocrateaceae (히포크라테아과)	<i>Aesculus assamica</i>	Whole plants	10	45.89 \pm 0.75	>10
Icacinaceae (이카키나과)	<i>Platea latifolia</i>	Whole plants	0.5 1 2.5	24.11 \pm 0.18 31.41 \pm 0.34 50.28 \pm 0.23	2.47 \pm 0.01
Illiciaceae (붓순나무과)	<i>Illicium verum</i>	Stems and leaves	10	24.90 \pm 2.99	>10
Lamiaceae (꿀풀과)	<i>Orthosiphon spiralis</i>	Stems and leaves	10	35.2 \pm 3.0	>10
Lauraceae (녹나무과)	<i>Ampelopsis cantoniensis</i>	Stems and leaves	1 2.5 5	27.3 \pm 1.40 32.6 \pm 2.40 51.1 \pm 1.40	5.05 \pm 0.12
Lauraceae (녹나무과)	<i>Cinnamomum iners</i>	Stems and leaves	10	22.75 \pm 1.12	>10
Lauraceae (녹나무과)	<i>Litsea balansae</i>	Stems and leaves	1 2.5 5	33.68 \pm 0.25 36.75 \pm 1.03 54.49 \pm 0.14	>10
Lauraceae (녹나무과)	<i>Litsea griffithii</i>	Stems and leaves	10	21.78 \pm 1.86	>10
Lauraceae (녹나무과)	<i>Litsea monopetala</i>	Stems and leaves	10	33.99 \pm 1.23	>10
Lauraceae (녹나무과)	<i>Machilus odoratissima</i>	Stems and leaves	10	18.6 \pm 2.9	>10
Loranthaceae (겨우살이과)	<i>Dendrophthoe pentandra</i>	Whole plants	1 2.5 5	13.09 \pm 0.52 39.51 \pm 1.00 54.45 \pm 1.00	4.28 \pm 0.10
Loranthaceae (겨우살이과)	<i>Helixanthera parasitica</i>	Whole plants	2.5 5 10	22.26 \pm 0.35 36.17 \pm 0.39 55.46 \pm 0.12	8.60 \pm 0.00

Table I. Continued

Family name	Scientific name	Part used	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition (%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
Malvaceae (아욱과)	<i>Kydia calycina</i>	Stems and leaves	10	28.50±2.01	>10
Melastomataceae (산석류과)	<i>Melastoma sanguineum</i>	Stems and leaves	1	8.3±0.5	3.73±0.13
			2.5	37.2±3.2	
			5	66.3±1.5	
Melastomataceae (산석류과)	<i>Memecylon umbellatum</i>	Whole plants	2.5	15.33±0.27	9.66±0.01
			5	27.43±0.31	
			10	51.65±0.14	
Meliaceae (멀구슬나무과)	<i>Aglaia perviridis</i>	Stems and leaves	10	45.25±1.00	>10
Mimosaceae (미모사과)	<i>Archidendronsp</i>	Stems and leaves	10	24.4±1.42	>10
Mimosaceae (미모사과)	<i>Tamarindus indica</i>	Stems and leaves	10	37.25±0.98	>10
Moraceae (뽕나무과)	<i>Tetrastigma cauliflorum</i>	Stems and leaves	10	26.7±1.50	>10
Myrsinaceae (자금우과)	<i>Ardisia cochinchinesis</i>	Whole plants	10	31.47±1.15	>10
Myrsinaceae (자금우과)	<i>Embelia sandens</i>	Whole plants	10	29.16±0.33	>10
Myrsinaceae (자금우과)	<i>Maesa tomentella</i>	Stems and leaves	10	29.6±2.5	>10
Myrsinaceae (자금우과)	<i>Myrsine faberi</i>	Whole plants	10	34.06±0.80	>10
Myrtaceae (도금양과)	<i>Syzygium zeylanicum</i>	Stems and leaves	2.5	14.97±1.66	9.18±0.16
			5	34.67±0.50	
			10	52.41±0.66	
Ochnaceae (금연목과)	<i>Ochna atropurpurea</i>	Whole plants	10	32.23±0.20	>10
Olacaceae (철청수과)	<i>Olax imbricata</i>	Whole plants	10	28.98±0.46	>10
Oleaceae (물푸레나무과)	<i>Jasminum subtriplinerve</i>	Stems and leaves	1	19.5±2.5	3.72±0.11
			2.5	40.8±2.2	
			5	62.0±0.4	
Oleaceae (물푸레나무과)	<i>Linociera sangda</i>	Whole plants	0.5	32.10±1.26	1.93±0.18
			1	40.96±1.01	
			2.5	56.53±2.90	
Onagraceae (바늘꽃과)	<i>Ludwigia octovalvis</i>	Stem(Rhizome)	2.5	30.80±1.75	7.60±0.32
			5	44.03±0.88	
			10	57.16±1.16	
Pandanaceae (판다나과)	<i>Pandanus humillis</i>	Whole plants	10	46.40±0.24	>10
Piperaceae (후추과)	<i>Piper cambodiana</i>	Stems and leaves	10	24.64±0.42	>10
Ranunculaceae (미나리아재비과)	<i>Clemantis granulata</i>	Whole plants	10	25.34±0.56	>10
Rhamnaceae (갈매나무과)	<i>Berchemia loureiriana</i>	Stems and leaves	10	31.25±3.71	>10

Table I. Continued

Family name	Scientific name	Part used	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition (%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
Rhamnaceae (갈매나무과)	<i>Scutia myrtina</i>	Whole plants	10	38.47 \pm 1.38	>10
Rosaceae (장미과)	<i>Rhaphiolepis indica</i>	Whole plants	0.5	36.38 \pm 0.29	1.36 \pm 0.01
1			47.34 \pm 0.00		
2.5			65.36 \pm 0.27		
Rosaceae (장미과)	<i>Rhaphiolepis salicifolia</i>	Stems and leaves	10	25.4 \pm 2.2	>10
Rubiaceae (꼭두서니과)	<i>Ixora nigricans</i>	Whole plants	10	31.63 \pm 0.16	>10
Rubiaceae (꼭두서니과)	<i>Lasianthus kampufensis</i>	Whole plants	10	38.03 \pm 1.71	>10
Rubiaceae (꼭두서니과)	<i>Randia dasycarpa</i>	Stems and leaves	10	44.21 \pm 0.66	>10
Rubiaceae (꼭두서니과)	<i>Randia spinosa</i>	Stems and leaves	10	34.1 \pm 0.68	>10
Rubiaceae (꼭두서니과)	<i>Uncaria rhynchophylla</i>	Whole plants	2.5	19.30 \pm 1.01	9.53 \pm 0.12
5			34.93 \pm 0.52		
10			50.78 \pm 0.52		
Rubiaceae (꼭두서니과)	<i>Canthium dicoccum</i>	Whole plants	2.5	22.21 \pm 1.38	7.88 \pm 0.12
5			35.92 \pm 0.96		
10			60.58 \pm 0.81		
Rutaceae (운향과)	<i>Glycosmis mauritinata</i>	Stems and leaves	10	13.0 \pm 2.4	>10
Rutaceae (운향과)	<i>Glycosmis petelotii</i>	Stems and leaves	2.5	31.35 \pm 0.73	9.27 \pm 0.40
5			35.43 \pm 3.41		
10			52.88 \pm 1.93		
Rutaceae (운향과)	<i>Glycosmis tetracronia</i>	Stems and leaves	10	30.51 \pm 0.38	>10
Rutaceae (운향과)	<i>Luvunga scandens</i>	Stems and leaves	10	30.2 \pm 0.7	>10
Rutaceae (운향과)	<i>Tetradium diniellii</i>	Stems and leaves	10	42.61 \pm 1.76	>10
Rutaceae (운향과)	<i>Tetradium trichotomum</i>	Twigs and leaves	10	44.3 \pm 2.95	>10
Sabiaceae (나도밤나무과)	<i>Meliosma simplicifolia</i>	Whole plants	10	23.55 \pm 0.68	>10
Sapindaceae (무환자나무과)	<i>Lepisanthes tetraphylla</i>	Whole plants	10	19.11 \pm 0.31	>10
Sapindaceae (무환자나무과)	<i>Xerospermum noronhianum</i>	Whole plants	2.5	32.02 \pm 1.78	7.44 \pm 0.50
5			45.99 \pm 1.71		
10			56.81 \pm 1.48		
Sapotaceae (사포타과)	<i>Madhuca floribunda</i>	Whole plants	10	43.18 \pm 0.18	>10
Saxifragaceae (범의귀과)	<i>Itea chinensis</i>	Stems and leaves	10	31.1 \pm 1.73	>10

Table I. Continued

Family name	Scientific name	Part used	Conc. (µg/ml)	Inhibition (%)	IC ₅₀ (µg/ml)		
Simaroubaceae (소태나무과)	<i>Harrisonia perforata</i>	Stems and leaves	0.5	31.27±0.97	1.23±0.01		
			1	48.68±0.67			
			2.5	76.90±0.14			
Simaroubaceae (소태나무과)	<i>Harrisonia perforata</i> (EtOAc fraction)	Stems and leaves	0.5	11.77±1.68	2.37±0.12		
			1	28.15±0.67			
			2.5	51.54±2.38			
Simaroubaceae (소태나무과)	<i>Harrisonia perforata</i> (n-BuOH fraction)	Stems and leaves	0.5	15.71±1.05	2.35±0.05		
			1	27.85±1.17			
			2.5	52.12±0.87			
Simaroubaceae (소태나무과)	<i>Harrisonia perforata</i> (water fraction)	Stems and leaves	10	36.91±3.02	>10		
Smilacaceae (청미래덩굴과)	<i>Smilax corbularia</i>	Stems	1	37.54±1.50	4.14±0.37		
			2.5	41.02±1.42			
			5	54.57±2.79			
Sterculiaceae (벽오동과)	<i>Pterospermum heterophyllum</i>	Stems and leaves	10	25.8±3.0	>10		
Theaceae (차나무과)	<i>Adinandra bockiana</i>	Whole plants	2.5	20.87±1.15	7.91±0.03		
			5	39.91±1.46			
			10	58.86±0.45			
Theaceae (차나무과)	<i>Adinandra lienii</i>	Whole plants	10	32.46±1.04	>10		
Theaceae (차나무과)	<i>Adinandra megaphylla</i>	Whole plants	10	24.55±1.03	>10		
Theaceae (차나무과)	<i>Camellia chrysantha</i>	Whole plants	10	11.01±1.40	>10		
Theaceae (차나무과)	<i>Gordonia intricate</i>	Whole plants	10	33.84±0.13	>10		
Theaceae (차나무과)	<i>Eurya trichocarpa</i>	Whole plants	2.5	11.01±1.83	9.27±0.03		
			5	27.41±0.34			
			10	53.61±0.13			
Tiliaceae (피나무과)	<i>Colona auriculata</i>	Whole plants	10	23.95±0.56	>10		
Urticaceae (썩기풀과)	<i>Archiboehmeria obata</i>	Whole plants	10	42.61±0.16	>10		
Verbenaceae (마편초과)	<i>Avicennia alba</i>	Stems and leaves	10	16.8±1.55	>10		
Verbenaceae (마편초과)	<i>Avicennia marina</i>	Stems and leaves	10	38.3±3.0	>10		
Verbenaceae (마편초과)	<i>Callicarpa longissima</i>	Stems and leaves	2.5	37.87±1.75	7.34±0.05		
			5	49.13±0.68			
			10	54.03±0.39			
			3,3-tetramethyleneglutaric acid	0.47		30.03±0.16	1.23±0.006
			0.93	47.77±1.01			
1.86	62.69±0.47						

IC₅₀ values were calculated from the dose inhibition curve.

*In vitro*에서 알도즈 환원 효소 억제 실험 - Sprague-Dawley rat(250-280 g)의 수정체로부터 aldose reductase를 Dufrane¹⁹⁾ 방법으로 분리하였다. 150 mM sodium phosphate buffer(pH 6.2)와 10 mM 2-mercaptoethanol을 적출한 수정체와 함께 분쇄하여 14,000 rpm에서 30분 간 원심 분리한 다음 상층액을 0.22 μ M의 filter로 여과하였다. 효소의 단백질은 bovine serum albumin을 표준으로 이용하여 Bradford²⁰⁾ 방법으로 정량하였다. 150 mM sodium phosphate buffer(pH 6.2), 0.15 mM NADPH, 10 mM DL-glyceraldehyde와 700 μ g/ml 효소 혼합액에 0.5% DMSO에 녹인 시료를 가하여 최종용액을 1 ml로 한 뒤 37°C에서 10분간 반응시켰다. 이때 공시료는 10 mM DL-glyceraldehyde를 첨가하지 않았으며, 표준액은 시료 대신 0.5% DMSO가 들어가도록 하였다. 0.15 ml의 0.5 N HCl을 첨가하여 반응을 종료시킨 뒤, 10 mM imidazole이 첨가된 6 M NaOH 0.5 ml을 가하여 60°C에서 15분간 반응시켜 NADPH가 NADP로 전환되는 것을 Spectrofluorometric detector(Ex. 360 nm, Em. 460 nm)로 측정하였다. 모든 시료는 triplicate로 수행하여 IC₅₀ 값으로 나타냈다. Aldose reductase inhibitor로 알려진 3,3-tetramethyleneglutaric acid(TMG)²¹⁾를 양성대조군으로 택하여 효능을 비교하였다.

결과 및 고찰

천연물로부터 알도즈 환원효소 억제 약물을 검색하기 위해 베트남산 119종의 에탄올 추출물을 이용해 효능을 검색하여 Table I과 같은 결과를 얻었다.

Table I에서 보여주는 것과 같이 양성대조군인 TMG의 IC₅₀값(1.23 \pm 0.01 μ g/ml)을 기준으로 알도즈 환원 효소 억제 효능을 판단하였다. 이 중 *Synedrella nodiflora*의 줄기와 잎(0.88 \pm 0.04 μ g/ml), *Combretum sondaicum*의 줄기와 잎(1.78 \pm 0.06 μ g/ml), *Argyrea acuta*의 줄기와 잎(0.67 \pm 0.01 μ g/ml), *Platea latifolia*의 전초(2.47 \pm 0.01 μ g/ml), *Linociera sangda*의 전초(1.93 \pm 0.18 μ g/ml), *Rhaphiolepis indica*의 전초(1.36 \pm 0.01 μ g/ml), *Harrisonia perforata*의 줄기와 잎(1.23 \pm 0.01 μ g/ml), *Harrisonia perforata*의 줄기와 잎의 EtOAc(2.37 \pm 0.12 μ g/ml) and BuOH(2.35 \pm 0.05 μ g/ml) 분획, 9종이 IC₅₀<5 μ g/ml로 효능이 뛰어났고, 그 중 *S. nodiflora*의 줄기, 잎 그리고 *A. acuta*의 줄기, 잎, *H. perforata*의 줄기와 잎이 TMG보다 1.0-1.8 배 이상의 우수한 효능이 있음을 알 수 있었다.

국화과의 *S. nodiflora* 추출물은 항염 효과와 살충 효과가 있다고 보고되었다.^{22,23)} 콤프레타과의 *Combretum sondaicum*의 잎과 꽃의 EtOAc 추출물에서 분리된 pentacyclic triterpenoids와 그 외 새로 발견된 물질들이 antiapoptotic protein인 Bcl-xL을 억제하고, 다양한 암세포들의 세포 활성

을 억제하여 항암 작용을 한다고 보고되었다.²⁴⁾ 메꽃과의 *A. acuta*의 줄기와 잎은 본 연구팀의 연구 결과 당뇨병증의 중요한 원인 중 하나인 최종당화산물의 생성을 억제효능이 우수하여²⁵⁾ *in vitro* 실험을 통한 효능이 확인이 필요하다고 사료된다. 장미과의 *R. indica*뿌리의 methanol 분획의 dibenzofurans, biphenyls와 triterpenoids가 염증매개물질인 N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine(fMLP)가 유도된 산화 생성물을 억제하는 효능이 보고되었다.^{26,27)} 소태나무과의 *H. perforata*의 뿌리와 줄기의 methanol 추출물은 *Staphylococcus aureus*와 *Mycobacterium smegmatis*에 대해 우수한 항균성이 나타났으며,²⁸⁾ 뿌리는 유방암 세포인 MCF-7에 독성을 나타내 항암작용이 보고되었다.²⁹⁾ 또한 *plasmodium flaciparum*을 억제하여 항말라리아 활성이 보고되었다.³⁰⁾ *P. latifolia*와 물푸레나무과의 *L. sangda*는 효능 및 성분에 관한 연구가 진행된 바 없으며, 위 7종의 추출물과 2종의 분획 모두 알도즈 환원 효소 억제 효능에 관해 보고된 바 없었다. 본 연구 결과는 안전하고 우수한 알도즈 환원 효소 억제제 후보 물질 발굴을 위한 기초자료로 활용될 수 있을 뿐만 아니라, 당뇨병증 예방 및 치료제 개발에 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

결 론

119종의 베트남산 약용식물 에탄올 추출물과 분획을 *in vitro*에서 알도즈 환원 효소 억제활성 검색하였다. 그 결과 *S. nodiflora*의 줄기와 잎(0.88 \pm 0.04 μ g/ml), *C. sondaicum*의 줄기와 잎(1.78 \pm 0.06 μ g/ml), *A. acuta*의 줄기와 잎(0.67 \pm 0.01 μ g/ml), *P. latifolia*의 전초(2.47 \pm 0.01 μ g/ml), *L. sangda*의 전초(1.93 \pm 0.18 μ g/ml), *R. indica*의 전초(1.36 \pm 0.01 μ g/ml), *H. perforata*의 줄기와 잎(1.23 \pm 0.01 μ g/ml), *H. perforata*의 줄기와 잎의 EtOAc(2.37 \pm 0.12 μ g/ml)와 BuOH(2.35 \pm 0.05 μ g/ml) 분획, 9종이 IC₅₀<5 μ g/ml로 효능이 뛰어났고, 추출물이 양성대조군인 TMG와 근접한 효능이 있음을 확인하였고, 그 중 *S. nodiflora*의 줄기, 잎 그리고 *A. acuta*의 줄기, 잎, *H. perforata*의 줄기와 잎이 3종은 양성대조군 TMG보다 1.0-1.8배 이상의 우수한 효능이 있음을 알 수 있었다.

사 사

본 연구는 한국한의학연구원 기관고유사업 (K13040, K14040)의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Vinson, J. A. and Howard III, T. B. (1996) Inhibition of pro-

- tein glycation and advanced glycation end products by ascorbic acid and other vitamins and nutrients. *J. Nutr. Biochem.* **7**: 659-663.
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. Dvonik, D., Gabbay, K. H. and Kinoshita, J. H. (1973) Polyol accumulation in galactosemic and diabetic rats. *Science* **182**: 1146-1148.
 4. 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.
 5. 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.
 6. 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.
 7. 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.
 8. 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.
 9. 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.
 10. 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.
 11. 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 (I). *Kor. J. Pharmacogn.* **39**: 165-173.
 12. 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.
 13. 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.
 14. Lee, Y. M., Kim, Y. S., Bae, K. H., Kim, J. H. and Kim, J. S. (2010) Screening of Chinese herbal medicines with inhibitory effect on aldose reductase (IV). *Kor. J. Pharmacogn.* **41**: 289-296.
 15. Lee, Y. M., Kim, Y. S., Kim, J. H. and Kim, J. S. (2011) Screening of Chinese herbal medicines with inhibitory effect on aldose reductase. (V). *Kor. J. Pharmacogn.* **42**: 187-194.
 16. Lee, Y. M., Kim, Y. S., Kim, J. H. and Kim, J. S. (2011) Screening of Korean herbal medicines with inhibitory effect on aldose reductase. (VI). *Kor. J. Pharmacogn.* **42**: 161-168.
 17. Lee, Y. M., Kim, Y. S., Kim, J. H. and Kim, J. S. (2013) Screening of Chinese herbal medicines with inhibitory effect on aldose reductase (VII). *Kor. J. Pharmacogn.* **44**: 161-167.
 18. Lee, Y. M., Kim, Y. S., Kim, J. H. and Kim, J. S. (2013) Screening of Korean herbal medicines with inhibitory effect on aldose reductase (VIII). *Kor. J. Pharmacogn.* **44**: 168-175.
 19. 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.
 20. 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.
 21. 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.
 22. Abad, M. J., Bermejo, P., Carretero, E., Martínez-Acitores, C., Noguera, B. and Villar, A. (1996) Antiinflammatory activity of some medicinal plant extracts from Venezuela. *J. Ethnopharmacol.* **55**: 63-68.
 23. Martin rathi, J. and gopalakrishnan, S. (2006) Insecticidal activity of aerial parts of *Synedrella nodiflora* Gaertn (Compositae) on *Spodoptera litura* (Fab.) *J. Cent. Euro. Agric.* **6**: 223-228.
 24. Liaudon, M., Jolly, C., Le Callone, C., Cuong, D.D., Retailleau, P., Nosjean, O., Nguyen, V. H., Pfeiffer, B., Boutin, J. A. and Gueritte, F. (2009) Cytotoxic pentacyclic triterpenoids from *Combretum sondaicum* and *Lantana camara* as inhibitors of Bcl-xL/BakBH13 domain peptide interaction. *J. Nat. Prod.* **72**: 1314-1320.
 25. 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 (VIII). *Kor. J. Pharmacogn.* **43**: 338-344.
 26. Lin, C. H., Chang, H. S., Liao, C. H., Chen, I. S. and Tsai, I. L. (2010) Anti-inflammatory biphenyls dibenzofurans *Rhaphiolepis indica*. *J. Nat. Prod.* **73**: 1628-1631.
 27. Lin, C. H., Chang, H. S., Liao, H. R., Chen, I. S. and Tsai, I.

- L. (2013) Triterpenosids from the roots of *Rhaphiolepis indica* var. *tashiroi* and their anti-inflammatory activity. *J. Mol. Sci.* **14**: 8890-8898.
28. Chea, A., Jonville M. C., Bun, S. S., Laget, M., Elias, R., Dumenil, G. and Balansard, G. (2007) *In vitro* antimicrobial activity of plants used in Cambodian traditional medicine. *Am. J. Chin. Med.* **35**: 567-873.
29. Itharat, A., Reuangnoo, S., Panthong, S., Sangrapee, C., Khantham, S., Chatsuwan, J. and Sinsomboon, A. (2010) Antimicrobial and cytotoxic activities of five Thai plants used as antipyretic drug. *Planta. Med.* **76**: 106.
30. Nguyen-Pouplin, J., Tran, H., Tran, H., Phan, T. A., Dolecek, C., Farrar, J., Tran, T. H., Caron, P., Bodo, B. and Grellier, P. (2007) Antimalarial and cytotoxic activities of ethnopharmacologically selected medicinal plants from South Vietnam. *J. Ethnopharm.* **12**: 417-427.
- (2014. 9. 30 접수; 2014. 10. 24 심사; 2014. 11. 12 게재확정)