

중국 약용식물 추출물의 알도즈 환원 효소 억제 효능 검색 (III)

이윤미 · 김종민 · 김영숙 · 장대식 · 김주환¹ · 배기환² · 김진숙*

한국한의약연구원 한의융합연구본부 당뇨합병증연구센터, ¹경원대학교 생명과학과, ²충남대학교 약학대학

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

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

¹Department of Life Science, Kyungwon University, Seongnam, Kyonggi-do 461-701, Korea

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

Abstracts – Aldose reductase (AR) is a critical enzyme in the development of the diabetic complications. AR, the first enzyme in the polyol pathway, catalyzes the reduction of the aldehyde form of glucose to sorbitol with concomitant conversion of NADPH to NADP⁺. None of aldose reductase inhibitor (ARI) has achieved worldwide use because of limited efficacy or undesirable side effects. Therefore, evaluating natural sources for ARI potential may lead to the development of safer and more effective agents against diabetic complications. Forty eight Chinese herbal medicines have been investigated for inhibitory activities on AR. Among them, seven herbal medicines, *Buddleja officinalis* (whole plant), *Lonicera japonica* (leaf and flower), *Polygonum aviculare* (aerial part), *Polygonum aviculare* (whole plant), *Salvia miltiorrhiza* (root), *Schisandra chinensis* (stem), and *Zanthoxylum armatum* (leaf and stem) exhibited a significant inhibitory activity against AR. Particularly, *L. japonica* and *P. aviculare* showed two 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 환원효소(aldose reductase)는 aldo-keto reductase의 일종으로 당뇨병 망막증, 신증, 신경증, 백내장 등의 당뇨병 합병증 발병에 중요한 역할을 한다. 만성 고혈당 상태에서는 polyol 경로의 첫번째 효소인 알도즈 환원효소가 NADPH를 조효소로 이용하여 포도당을 술비톨로 전환시킨다. 이 과정에서 세포막을 통과하지 못하는 술비톨로 인해 세포내 삼투압이 증가하여 myo-inositol이 감소하여 대사과정의 변이가 발생하고, Na⁺/K⁺-ATPase 활성이 저하되며 NADH/NAD⁺증가와 NADPH 감소로 세포의 redox potential이 변화되어 세포 손상이 나타나 당뇨병증을 유발한다.¹⁻³⁾ 지금까지 개발된 알도즈 환원 효소 억제제들인 sorbinil,^{4,7)} fidarestat,⁵⁾ epalrestat, zopolrestat, ponarestat,⁶⁾ tolrestat⁷⁾과 ranirestat⁸⁾ 등이 동물실험에서 당뇨병증으로의 진행을 예

방하거나 지연시킨다고 알려져 있다. 그러나 임상실험에서 낮은 효능 또는 부작용으로 인해 개발 과정에서 중단되었고, 현재 ranirestat와 fidarestat이 임상실험 중이며^{6,9,10)} epalrestat (ONO-2235, Kinedak; Ono Pharmaceutical Co., Ltd., Chuo-ku, Osaka, Japan)는 일본에서 시판중이다.¹¹⁾ 본 연구에서는 지난 보고에 이어,^{12,13)} 중국에서 자생하는 48종의 약용식물 에탄올 추출물에 대해 *in vitro*에서 알도즈 환원 효소 억제 효능을 검색하였기에 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 실험에 사용된 중국산 약용식물 (Table I) 들은 2004~2007년 경원대학교 생명과학과 김주환 교수팀에 의해 중국에서 채집, 동정되었다. 증거표본은 한국한의약연구원 한의융합연구본부 당뇨합병증연구센터 식물표본실에 보관 중이다.

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

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

Family	Scientific name	Part used	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition (%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
Amarantaceae	<i>Achyranthes asper</i>	leaf	10	42.49 \pm 7.90	13.69
			20	62.89 \pm 5.66	
			30	82.72 \pm 4.36	
Adiantaceae	<i>Adiantum davidii</i>	whole plant	5	40.89 \pm 3.36	9.97
			10	54.22 \pm 6.30	
			20	62.67 \pm 4.0	
Apocynaceae	<i>Alstonia scholaris</i>	leaf	10	23.24 \pm 1.76	18.40
			15	41.18 \pm 9.35	
			20	54.12 \pm 4.67	
Zingiberaceae	<i>Amomum tsao-ko</i>	fruit	1	18.0 \pm 4.85	9.38
			5	36.4 \pm 7.20	
			10	51.2 \pm 3.67	
Umbelliferae	<i>Angelica sinensis</i>	root	20	43.33 \pm 4.36	23.56
			30	62.38 \pm 7.19	
			40	72.86 \pm 1.43	
Leguminosae	<i>Bauhinia brachycarpa</i>	leaf, stem	2.5	21.85 \pm 8.03	6.15
			5	46.36 \pm 1.99	
			10	75.17 \pm 5.53	
Loganiaceae	<i>Buddleja officinalis</i>	whole plant	2.5	49.12 \pm 8.20	3.32
			5	52.94 \pm 5.39	
			10	75.59 \pm 4.44	
Leguminosae	<i>Campylotropis polyantha</i>	stem, leaf	5	25.46 \pm 6.67	14.54
			10	42.80 \pm 7.54	
			20	60.89 \pm 4.19	
Lauraceae	<i>Cinnamomum cassia</i>	bark	5	26.19 \pm 1.65	28.47
			10	29.05 \pm 9.72	
			30	51.9 \pm 3.30	
Rutaceae	<i>Citrus junos</i>	fruit	5	40.64 \pm 0.79	11.13
			10	45.21 \pm 3.62	
			20	67.12 \pm 2.74	
Rutaceae	<i>Citrus reticulata</i>	pericarp	20	31.05 \pm 4.19	35.19
			30	42.74 \pm 4.25	
			40	56.45 \pm 4.36	
Rosaceae	<i>Cotoneaster dammeri</i>	stem, leaf	5	32.66 \pm 5.08	10.72
			10	49.83 \pm 4.08	
			20	75.42 \pm 5.56	
Rosaceae	<i>Cotoneaster glaucophyllus</i>	stem, leaf	2.5	22.98 \pm 4.83	6.35
			5	43.83 \pm 1.28	
			10	73.62 \pm 7.80	
Rosaceae	<i>Crataegi fructus</i>	fruit	40	40.57 \pm 8.84	>40
Rosaceae	<i>Crataegus pinnatifida</i>	fruit	40	40.45 \pm 5.15	>40
Boraginaceae	<i>Cynoglossum amabile</i>	leaf	10	48.8 \pm 7.67	10.73
			20	60.48 \pm 7.35	
			30	69.46 \pm 0	
Labiatae	<i>Elsholtzia rugulosa</i>	whole plant	2.5	19.58 \pm 7.53	7.33
			5	37.08 \pm 5.91	
			10	66.25 \pm 3.75	
Ephedraceae	<i>Ephedra sinica</i>	stem	20	28.13 \pm 5.41	30.96
			30	44.2 \pm 3.87	
			40	71.43 \pm 7.38	

Table I. Continued

Family	Scientific name	Part used	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition (%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
Myrtaceae	<i>Eugenia caryophyllate</i>	seed	2.5	44.14 \pm 3.25	6.35
			5	48.65 \pm 4.13	
			7.5	51.35 \pm 4.77	
Leguminosae	<i>Gleditsia japonica</i>	thorn	2.5	28.15 \pm 2.31	7.77
			5	33.70 \pm 4.49	
			10	61.48 \pm 4.49	
Leguminosae	<i>Gleditsia japonica</i>	fruit	5	37.92 \pm 5.61	9.57
			10	52.04 \pm 2.23	
			20	75.84 \pm 0.64	
Compositae	<i>Gynura segetum</i>	whole plant	40	0.89 \pm 2.53	>40
Leguminosae	<i>Indigofera hancockii</i>	stem, leaf	2.5	26.57 \pm 2.56	7.47
			5	44.28 \pm 0.64	
			10	59.04 \pm 2.93	
Labiatae	<i>Isodon polystachys</i>	whole plant	5	44.78 \pm 0.58	7.22
			10	56.57 \pm 2.67	
			20	79.12 \pm 7.45	
Labiatae	<i>Leonurus japonicus</i>	whole plant	5	26.62 \pm 2.03	12.50
			10	49.35 \pm 10.98	
			20	67.53 \pm 2.45	
Solanaceae	<i>Leptodermis pilosa</i>	whole plant	5	37.76 \pm 1.24	11.38
			10	44.40 \pm 2.59	
			20	70.12 \pm 6.59	
Caprifoliaceae	<i>Lonicera japonica</i>	leaf, flower	1	38.07 \pm 6.48	1.86
			2.5	60.72 \pm 3.98	
			5	83.86 \pm 8.06	
			10	83.86 \pm 8.06	
Compositae	<i>Lycopus ludidus</i>	whole plant	5	37.99 \pm 9.15	8.79
			10	58.42 \pm 2.71	
			20	72.04 \pm 1.86	
Ericaceae	<i>Lyonia ovalifolia</i>	stem, leaf, fruit	5	38.0 \pm 5.54	10.06
			10	48.0 \pm 3.86	
			20	68.80 \pm 6.24	
Nelumboaceae	<i>Nelumbo nucifera</i>	seed	10	18.58 \pm 2.74	35.08
			20	27.67 \pm 2.05	
			40	57.31 \pm 1.19	
			10	57.31 \pm 1.19	
Crassulaceae	<i>Orostachys japonica</i>	whole plant	10	36.18 \pm 2.15	19.77
			20	53.56 \pm 1.31	
			40	72.93 \pm 1.31	
Ranunculaceae	<i>Paeonia japonica</i>	root	10	39.01 \pm 2.05	18.66
			20	51.57 \pm 2.69	
			30	64.57 \pm 3.39	
Ranunculaceae	<i>Paeonia suffruticosa</i>	root bark	10	44.21 \pm 7.79	11.78
			20	74.74 \pm 1.58	
			30	100.53 \pm 3.97	
Plantaginaceae	<i>Plantago major</i>	whole plant	2.5	25.07 \pm 3.90	9.23
			5	35.73 \pm 2.18	
			10	52.45 \pm 0.86	
Cupressaceae	<i>Platycladus orientalis</i>	seed	10	34.23 \pm 3.25	20.38
			20	49.55 \pm 2.70	
			30	64.56 \pm 2.60	
Polygonaceae	<i>Polygonum aviculare</i>	aerial part	1	31.46 \pm 2.97	2.13
			2.5	62.55 \pm 5.66	
			5	82.40 \pm 7.65	

Table I. Continued

Family	Scientific name	Part used	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition (%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)		
Polygonaceae	<i>Polygonum aviculare</i>	whole plant	2.5	39.89 \pm 3.32	4.20		
			5	56.38 \pm 0.92			
			10	78.19 \pm 1.84			
Pteridaceae	<i>Pteridium excelsum</i>	whole plant	5	32.37 \pm 5.03	16.98		
			10	42.74 \pm 7.57			
			20	53.53 \pm 5.75			
Rhamnaceae	<i>Rhamnus leptophyllus</i>	stem, leaf	2.5	31.0 \pm 4.47	6.43		
			5	46.49 \pm 7.03			
			10	64.58 \pm 3.99			
Labiatae	<i>Salvia miltiorrhiza</i>	root	1	18.31 \pm 4.88	4.26		
			2.5	35.21 \pm 8.45			
			5	56.34 \pm 6.45			
Caprifoliaceae	<i>Sambucus chinensis</i>	leaf, stem	30	42.70 \pm 3.34	>30		
Magnoliaceae	<i>Schisandra chinensis</i>	stem	2.5	35.84 \pm 5.03	5.29		
			5	49.56 \pm 6.08			
			10	72.57 \pm 4.66			
Selaginellaceae	<i>Selaginella pulvinata</i>	whole plant	2.5	32.08 \pm 3.15	6.39		
			5	38.75 \pm 5.73			
			10	70.0 \pm 2.5			
Umbelliferae	<i>Seseli delavayi</i>	root	2.5	33.33 \pm 7.56	9.49		
			5	48.24 \pm 5.39			
			20	65.88 \pm 1.18			
Crudiferae	<i>Sinapis alba</i>	seed	40	39.02 \pm 2.60	>40		
Liliaceae	<i>Smilax menispermoides</i>	stem, leaf	5	38.38 \pm 6.67	11.08		
			10	49.08 \pm 1.11			
			20	64.94 \pm 2.30			
Theaceae	<i>Ternstroemia gymnanthera</i>	stem, leaf	5	39.57 \pm 5.16	11.31		
			10	44.26 \pm 4.48			
			20	68.09 \pm 5.85			
Rutaceae	<i>Zanthoxylum armatum</i>	stem, leaf	1	17.38 \pm 3.93	4.93		
			2.5	28.20 \pm 2.60			
			5	51.48 \pm 6.70			
			3,3-Tetramethyleneglutaric acid	3.724		31.42 \pm 5.71	5.34
			5.586	56.42 \pm 9.60			
			7.448	69.69 \pm 8.15			

Inhibitory activity was expressed as mean \pm S.D. of triplicate experiments. IC₅₀ values were calculated from the dose inhibition curve. ^aTMG (3,3-Tetramethyleneglutaric acid) was used as positive control.

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

추출 및 시료조제 - 시료를 분쇄한 후 300 g을 칭량하여 2배 용적의 100% 에탄올을 넣고 실온에서 3회 추출하였다. 여과 후 40°C 이하의 수욕상에서 감압농축하고, 다시 동결

건조기에서 건조하였다. 추출물은 실험 직전에 감압 하에서 P₂O₅를 이용하여 12시간 이상 재 건조한 후 DMSO에 용해하고 3차 증류수로 희석하였다.

In vitro에서 알도즈 환원 효소 억제 실험 - Sprague-Dawley rat (250~280 g)의 수정체로부터 알도즈 환원 효소를 Dufrane¹⁴⁾ 방법으로 분리하였다. 135 mM Na, K-phosphate buffer (pH 7.0)와 10 mM 2-mercaptoethanol을 적출한 수정체와 함께 분쇄하였다. 14,000 rpm에서 30 분간 원심 분리한 다음 상층액을 0.2 μm 의 filter로 여과하였다. 효소의 단백질은 bovine serum albumin을 표준으로 이용하여 Bradford¹⁵⁾ 방법으로 정량하였다. 135 mM Na, K-

phosphate buffer (pH 7.0), 100 mM lithium sulfate, 0.03 mM NADPH, 0.04 mM DL-glyceraldehyde와 100 µg/ml 효소 혼합액에 0.1% DMSO에 녹인 시료를 가하여 최종용액을 1 ml로 한 뒤 37°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 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 Spectrofluorometric detector로 (Ex. 360 nm, Em. 460 nm) 측정하였다. 모든 시료는 triplicate로 수행하여 IC₅₀ 값으로 나타났다. 알도즈 환원 효소 억제제로 알려진 3,3-tetramethyleneglutaric acid (TMG)¹⁶⁾를 양성대조군으로 택하여 효능을 비교하였다.

결과 및 고찰

당뇨합병증 치료 및 예방을 위해 알도즈 환원 효소 억제 물질 개발을 위해 많은 연구가 진행되고 있다.¹⁷⁾ 이미 여러 동물실험과 임상실험 결과에서 알도즈 환원효소 억제가 당뇨합병증을 예방한다는 보고가 있으나,¹⁸⁾ 아직까지 미 식품의약국(FDA)에 승인된 약물은 없다.¹¹⁾ 지금까지 한국산, 베트남산 약용식물 추출물에서 알도즈 환원효소 억제 물질을 찾고자 하는 연구가 진행되었고,^{12,13)} 중국산의 경우는 스크리닝 보다는 이미 선별된 약용식물의 성분들에서 억제 효능 연구가 진행되었다.^{19,20)} 본 연구에서는 많은 알도즈 환원효소 억제 후보 물질군을 선별하고자, 중국산 약용식물 48종의 에탄올 추출물을 이용해 효능을 검색하여 Table I과 같은 결과를 얻었다.

양성대조군인 TMG의 IC₅₀ 값 (5.34 µg/ml)을 기준으로 알도즈 환원 효소 억제 효능을 판단하였으며, *Buddleja officinalis*의 전초 (3.32 µg/ml), *Lonicera japonica*의 잎·꽃 (1.86 µg/ml), *Polygonum aviculare*의 지상부 (2.13 µg/ml), 전초 (4.20 µg/ml), *Salvia miltiorrhiza*의 뿌리 (4.26 µg/ml), *Schisandra chinensis*의 줄기 (5.29 µg/ml), *Zanthoxylum armatum*의 잎·줄기 (4.93 µg/ml)의 효능이 우수하였다. *B. officinalis*의 꽃은 한국과 중국에서 혈관질환, 당뇨, 뇌경색, 두통, 신경계질환에 사용되고 있으며^{21,22)} terpenoid, flavonoid, phenylethanoid 및 saponin 성분을 가지고 있다.^{22,23)} 70% 메탄올 꽃 추출물과 꽃에서 분리한 Luteolin과 apigenin 그리고 이들의 배당체들의 알도즈 환원효소 억제 효능²⁴⁾이 보고되었으며, 본 연구결과에서는 *B. officinalis*의 전초 효능이 3.32 µg/ml로 확인되었다. 지난 보고에¹²⁾ *L. japonica* 전초의 IC₅₀ 값이 2.34 µg/ml로 나타났으나 본 연구 결과 잎·꽃이 1.86 µg/ml로 효능이 더 우수한 것으로

나타났다. 이는 부위나 산지, 채집시기²⁵⁾에 따른 성분 차이의 결과라 생각되어진다. *P. aviculare*는 항산화 효능²⁶⁾이 있으며, 지질과산화억제 및 간보호 효과²⁷⁾와 혈관긴장완화 효능²⁸⁾이 보고되었다. *S. miltiorrhiza*는 심혈관계 질환²⁹⁾과 항산화 효능³⁰⁾이 보고되었으며, *S. chinensis*는 항산화 활성과 항돌연변이 활성,^{31,32)} *Z. armatum*는 모기 살충효능³³⁾이 보고되었다. 위 결과에서 *B. officinalis*를 제외한 나머지 식물들이 알도즈 환원 효소 억제 활성이나, 유효 성분에 대한 보고가 이뤄지지 않아 이에 대한 구체적인 연구가 필요하다고 사료된다. 본 연구 결과는 안전하고 우수한 알도즈 환원 효소 억제 효능을 가지는 선도 화합물의 발굴을 위한 기초자료로 활용될 수 있을 뿐만 아니라, 당뇨합병증 예방 및 치료제 개발에 이용될 수 있을 것이다.

결 론

48종의 중국산 약용식물 에탄올 추출물을 *in vitro*에서 알도즈 환원 효소 억제활성 검색하였다. 그 결과 7종의 추출물이 양성대조군인 TMG보다 효능이 있음을 확인하였고, 그 중 *L. japonica*의 잎·꽃, *P. aviculare*의 지상부 2종은 양성대조군보다 2-3배 우수한 효능을 나타내었다.

사 사

본 연구는 한국한의약연구원 일반 및 기관고유 사업비 (L08010, K09030)로 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

인용문헌

- Kyseloa, A., Stefek, M. and Bauer, V. (2004) Pharmacological prevention of diabetic cataract. *J. Diabetes Complicat.* **18**: 129-140.
- Greene, D. A., Lattimer, S. A., and Sima, A. F. (1987) Sorbitol, phosphoinositides and sodium-potassium-ATPase in the pathogenesis of diabetic complication. *New. Eng. J. Med.* **316**: 599-606.
- Maccari, R., Ottana, R., Curinga, C., Vigorita, M. G., Rakowitz, D., Steindl, T. and Langer, T. (2005) Structure-activity relationships and molecular modeling of 5-arylidene-2,4-thiazolidinediones active as aldose reductase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **13**: 2809-2823.
- Sun, W., Oates, P. J., Coutcher, J. B., Gerhardinger, C. and Lorenzi, M. (2006) A selective aldose reductase inhibitor of a new structural class prevents or reverses early retinal abnormalities in experimental diabetic retinopathy. *Diabetes* **55**: 2757-2762.
- Drel, V. R., Pacher, P., Ali, T. K., Shin, J., Julius, U., El-Remessy, A. B. and Obrosova, I. G. (2008) Aldose reductase

- inhibitor fidarestat counteracts diabetes-associated cataract formation, retinal oxidative-nitrosative stress, glial activation, and apoptosis. *Int. J. Mol. Med.* **21**: 667-676.
6. Hotta, N., Akanuma, Y., Kawamori, R., Matsuoka, K., Oka, Y., Shichiri, M., Toyota, T., Nakashima, M., Yoshimura, I., Sakamoto, N. and Shigeta, Y. (2006) Long-term clinical effects of epalrestat, an aldose reductase inhibitor, on diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes Care* **29**: 1538-1544.
 7. Constantino, L., Rastelli, G., Vianello, P., Cignarella, G. and Barlocco, D. (1999) Diabetes complications and their potential prevention: aldose reductase inhibition and other approaches. *Medical Research Reviews* **19**: 3-23.
 8. Matsumoto, T., Ono, Y., Kurono, M., Kuromiya, A., Nakamura, K. and Brill, V. (2008) Ranirestat (AS-3201), a potent aldose reductase inhibitor, reduces sorbitol levels and improves motor nerve conduction velocity in streptozotocin-diabetic rats. *J. Pharmacol. Sci.* **107**: 231-237.
 9. Ziegler, D. (2004) Polyneuropathy in the diabetic patient-update on pathogenesis and management. *Nephrol. Dial. Transplant.* **19**: 2170-2175.
 10. Chalk, C., Benstead, T. J. and Moore, F. (2007) Aldose reductase inhibitors for the treatment of diabetic polyneuropathy. *Cochrane Database Syst. Rev.* **4**: CD004572
 11. Ramirez, M. A. and Borja, N. L. (2008) Epalrestat: an aldose reductase inhibitor for the treatment of diabetic neuropathy. *Pharmacotherapy.* **28**: 646-655.
 12. 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.
 13. 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.
 14. 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.
 15. 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.
 16. 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.
 17. Handelsman, D. J. and Turtle, J. R. (1981) Clinical trial of an aldose reductase inhibitor in diabetic neuropathy. *Diabetes.* **30**: 459-464.
 18. 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.
 19. Xu, Z., Yang, H., Zhou, M., Feng, Y. and Jia, W. (2009) Inhibitory effect of total lignan from Fructus Arctii on aldose reductase. *Phytother. Res.* Apr 16. [Epub ahead of print]
 20. Feng, C. G., Zhang, L. X. and Liu, X. (2005) Progress in research of aldose reductase inhibitors in traditional medicinal herbs. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* **30**: 1496-1500.
 21. Hur, J. (1983) Tongeuibokam, 744. Namsadang, Seoul
 22. Piao, M. S., Kim, M. R., Lee, D. G., Park, Y., Hahm, K. S., Moon, Y. H. and Woo, E. R. (2003) Antioxidative constituents from *Buddleja officinalis*. *Arch. Pharm. Res.* **26**: 453-457.
 23. Guo, H., Koike, K., Li, W., Satou, T., Guo, D. and Nikaido, T. (2004) Saponins from the flower buds of *Buddleja officinalis*. *J. Nat. Prod.* **67**: 10-13.
 24. Matsuda, H., Cai, H., Kubo, M., Tosa, H. and Inuma, M. (1995) Study on anti-cataract drugs from natural sources. II. Effects of buddlejae flos on in vitro aldose reductase activity. *Biol. Pharm. Bull.* **18**: 463-466.
 25. 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. Pharmacogn.* **25**: 24-27.
 26. Hsu, C. Y. (2006) Antioxidant activity of extract from *Polygonum aviculare* L. *Biol. Res.* **39**: 281-288.
 27. Lee, C. G., Kim, N. J., Hong, N. D. and Kwon, C. H. (1994) Anti - lipid peroxidation and liver protective effects of *Polygonum aviculare* L. *Kor. J. Pharmacogn.* **25**: 59-69.
 28. Yin, M. H., Kang, D. G., Choi, D. H., Kwon, T. O. and Lee, H. S. (2005) Screening of vasorelaxant activity of some medicinal plants used in Oriental medicines. *J. Ethnopharmacol.* **99**: 113-117.
 29. Chan, P., Liu, I. M., Li, Y. X., Yu, W. J. and Cheng, J. T. (2009) Antihypertension induced by tanshinone IIA isolated from the roots of *Salvia Miltiorrhiza*. *eCAM.* 2009 Jun 19. [Epub ahead of print]
 30. Fu, X., Tian, H., Sheng, Z. and Wang, D. (1992) Multiple organ injuries after abdominal high energy wounding in animals and the protective effect of antioxidants. *Chin. Med. Sci. J.* **7**: 86-91.
 31. Jeong, J. B. and Jeong, H. J. (2009) *Schisandra Chinensis* Inhibits oxidative DNA damage and lipid peroxidation via antioxidant activity. *Korean J. Plant Res.* **22**: 195-202.
 32. Jeon, Y. H., Kil, J. H., Lim, S. M., Kim, M. H. and Kim, M. R. (2008) Analysis of antioxidative activity and antimutagenic effect of ethanol extract from *Schizandra chinensis* Baillon. *J. East Asian Soc. Dietary Life* **18**: 746-752.
 33. Tiwary, M., Naik, S. N., Tewary, D. K., Mittal, P. K. and Yadav, S. (2007) Chemical composition and larvicidal activities of the essential oil of *Zanthoxylum armatum* DC (Rutaceae) against three mosquito vectors. *J. Vector Borne Dis.* **44**: 198-204.