

수종의 천연물이 모노아민 옥시다제 활성에 미치는 영향 (제2보)¹⁾

김영호* · 이상선 · 배기환* · 김학성 · 이명구[#]

충북대학교 약학대학, *충남대학교 약학대학

(Received September 21, 1998)

Effects of Herbal Medicines on Monoamine Oxidase Activity (II)¹⁾

Young Ho Kim*, Sang Seon Lee, KiHwan Bae*,
Hack Seang Kim and Myung Koo Lee[#]

College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju 361-763 and

*College of Pharmacy, Chungnam National University, Taejeon 305-764, Republic of Korea

Abstracts—The effects of MeOH extracts from 88 herbal medicines on monoamine oxidase (MAO) activity were investigated. MAO was purified from mouse brain and its activity was determined by fluorospectrophotometer using kynuramine as a substrate. The K_m and V_{max} values ($n=4$) of MAO were $78.2 \pm 4.0 \mu M$ and $0.65 \pm 0.05 \text{ nmol/min/mg protein}$, respectively. Four MeOH extracts from *Melilotus suaveolens*, *Eupatorium lindleyanum*, *Bupleurum longiradiatum* and *Sorbaria sibirifolia* showed a strong inhibitory effect with less than $100 \mu g/ml$ in their IC_{50} values on MAO activity. Six MeOH extracts including *Agastache rugosa* showed a mild inhibitory effect with $100 \sim 200 \mu g/ml$ in their IC_{50} values. Twenty-two MeOH extracts including *Melandryum seoulense* exhibited a weak inhibition of MAO activity with $200 \sim 300 \mu g/ml$ in their IC_{50} values.

Keywords □ *Melilotus suaveolens*; *Eupatorium lindleyanum*; *Bupleurum longiradiatum*; *Sorbaria sibirifolia*; Monoamine oxidase; Mouse brain; Kynuramine.

Monoamine oxidase(EC, 1.4.3.4; MAO)는 세포내의 미토콘드리아 외막에 존재하여, 신경전달물질인 활성 monoamine류 catecholamines(dopamine, norepinephrine, epinephrine) 및 serotonin 등을 불활성화시키는 FAD 함유효소이다.²⁾ 중추성 MAO의 활성은 우울증등의 정신질환과 말초에서는 고혈압등의 질환과 관련이 되어 있다.

MAO는 기질 및 저해제의 특이성에 따라 MAO-A 및 MAO-B로 분류된다. MAO(A 및 B)는 tyramine, dopamine, kynuramine 등을 기질로 하며, iproniazid, nialamide, phenelzine 등에 의하여 저

해된다.³⁾ MAO-A의 기질은 norepinephrine, serotonin(5-hydroxytryptamine) 등이며, 이의 저해제로는 clorgyline, harmine, harmaline 등이 알려져 있다.⁴⁾ MAO-B는 β -phenylethylamine, benzylamine 등을 기질로 하며, deprenyl, pargyline, imipramine, amitriptyline 등에 의하여 저해된다.⁵⁾

본 연구는 전보¹⁾에 이어 MAO 활성 저해작용을 가진 새로운 화합물을 개발하고 이를 항우울 등의 중추신경계 질환의 치료제로 응용하기 위하여, 수종의 천연물이 MAO 활성에 미치는 영향에 대하여 활성검색을 진행하였다. 효소 MAO는 mouse의 뇌로부터 부분정제하여 사용하였으며,⁶⁾ MAO 활성은 기질 kynuramine을 사용하여 측정하였다.^{6,7)} 활성검색은 88종의 천연물 MeOH 엑스를 사용하였으며, 이중 MAO 활성 저해작

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 0431-261-2822 (팩스) 0431-268-2732

용을 나타낸 천연물은 전동싸리(*Melilotus suaveolens*)의 32종이었다.

실험방법

실험재료 - Kynuramine, 4-hydroxyquinoline은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, 미국)로부터 구입하였으며, 그 이외의 시약은 특급을 사용하였다. 천연물 시료는 시중에서 구입, 또는 채집하고 감정후 사용하였으며 표품은 충남대학교 약학대학 표본실에 보관하였다.

천연물 엑스의 제조 - 천연물시료는 세절한 후 상법에 따라 MeOH을 가한 후 상온에서 2회 반복 추출하였다. 추출액은 감압농축하여 건조시킨 다음 시료엑스로 하였으며 4~7°C에서 보관하였다.

MAO 효소원의 부분정제 - MAO 시료는 Naoi의 방법에 준하여 부분정제하였다.⁶⁾ Mouse의 뇌(8.8 g)를 세절한 후 10 mM potassium phosphate buffer를 함유한 0.25 M Sucrose 용액(pH 7.4) 가하여 균질화시켰다. Homogenate를 1,200×g로 원심분리하고 상등액을 다시 16,000×g로 원심분리하여 얻은 pellet에 대하여 농도가 100~300 mg/ml가 되도록 10 mM sodium phosphate buffer(pH 7.4)을 가하여 현탁시킨 다음 MAO 효소원으로 하였다. MAO 효소원은 -20°C에 보관하였다. 단백질 함량은 표품 bovine serum albumin을 사용하여 Lowry 등의 방법으로 측정하였다.⁸⁾

MAO 활성 측정 - MAO의 활성은 Krajl의 방법에 준하여 다음과 같이 측정하였다.^{6,7)} 효소반응액은 0.2 M potassium phosphate buffer(pH 7.4) 720 μ l, 효소원 30 μ l, 시료 MeOH 엑스 50 μ l, kynuramine(500 μ M) 200 μ l 이다. 효소반응(30분) 후 10% ZnSO₄ 250 μ l와 1 N NaOH 50 μ l를 가한다음, 반응액을 원심분리하고 상등액 700 μ l에 1 N NaOH 1.4 ml를 가한다. 최종 반응생성물 4-hydroxyquinoline의 농도를 형광광도계(Model F-3000, Hitachi, Tokyo, 일본)($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$: 315 nm/380 nm)로 측정하고, 이를 표준곡선을 사용, 정량하여 MAO 활성을 측정하였다. K_m 및 V_{max} 값은 Lineweaver-Burk 법으로 계산하였다.

통계처리 - 실험결과는 means \pm SEM으로 나타내었으며(n=4), 대조군에 대한 유의성 검정은 Student's t-test를 사용하였다.

결과 및 고찰

MAO는 mouse brain으로부터 부분정제하였으며, 실험에 사용된 대조군 MAO의 활성은 0.309 \pm 0.018 nmol/min/mg protein이 되도록 조정하여 사용하였다.

88 여종의 천연물 MeOH 엑스가 MAO 활성에 미치는 영향을 조사한 결과를 Table I에 나타내었다. 대조군(control)은 MeOH 엑스를 가하지 않은 군이며, 천연물 MeOH 엑스는 증류수에 용해시켜 사용하였고 일부 증류수에 불용인 MeOH 엑스는 용해된 상등액을 활성검색에 사용하였다. 반응액중 MeOH 엑스의 농도를 250 μ g/ml으로 처리하였을 경우, MAO 활성은 대조군에 비하여 전동싸리 15.4%, 골등골나무 20.7%, 개시호(지상부) 27.7%, 쉬땅나무 21.5%, 배초향 31.1%, 송이풀 30.7%, 조희풀 46.4%, 쑥방망이 39.0%, 말채나무 42.8%, 이팝나무 30.7% 등으로, 유의성 있는 MAO 활성 저해작용을 나타내었다(Table I).

MAO 활성 저해작용을 나타낸 천연물에 대하여 IC₅₀ 값을 조사한 결과, 전동싸리(전초) 38 μ g/ml, 골등골나무(지상부) 51 μ g/ml, 개시호(지상부) 64 μ g/ml, 쉬땅나무(지상부) 91 μ g/ml 등으로 나타나 강한 MAO 활성 저해작용을 나타내었으며(Table II), 배초향(지상부) 137 μ g/ml, 송이풀(전초) 157 μ g/ml, 조희풀(뿌리) 164 μ g/ml, 쑥방망이(전초) 177 μ g/ml, 말채나무(잎, 줄기) 186 μ g/ml, 이팝나무(잎) 187 μ g/ml 등으로 나타나 비교적 유의적인 MAO 활성 저해작용을 나타내었다(Table II).

또한, 가는장구채(지상부), 가시여뀌(전초), 개미취(전초), 기름나무(지상부), 긴담배풀(지상부), 나도하수오(전초), 들깨풀(전초), 뚝갈(전초), 마가목(잎), 벌개떡굴(전초), 비목나무(잎), 비수리(전초), 사위질빵(전초), 산박하(전초), 산비장이(전초), 산쑥바귀(전초), 새삼(지상부), 알며느리밥풀(전초), 오리방풀(뿌리), 오리방풀(지상부), 조밥나무(전초), 층층이꽃(전초), 회나무(잎) 등의 천연물(23종)은 IC₅₀ 값이 200~300 μ g/ml 이었으며, 약한 MAO 활성 저해작용을 나타내었으며(Table I), 그 외의 천연물에서는 MAO 활성 저해작용이 미약하거나 유의성이 인정되지 않았다.

따라서, 생리활성이 나타난 천연물(전동싸리 외 32종)에 대하여 생리활성 성분을 분리하고, 이들 활성 성분을 이용한 효소화학적 작용기전의 연구 및 *in vivo* 동물모델에 적용한 연구가 진행되어야 할 것으로

Table I — Effects of MeOH extracts from herbal medicines on mouse brain monoamine oxidase (MAO)

Plant name	Scientific name	Family	Used part ^{a)}	MAO activity ^{b)}
				(nmol/min/mg protein) Concentration (250 µg/ml)
Control				0.309±0.018 (100)
가는장구채	<i>Melandryum seoulensis</i>	Caryophyllaceae	Ap	0.148±0.005 (48.2)*
가시파리	<i>Physalistrum japonicum</i>	Solanaceae	Ap	0.170±0.001 (55.3)*
가시여뀌	<i>Persicaria fauriei</i>	Polygonaceae	Wp	0.165±0.003 (53.6)*
각시취	<i>Saussurea pulchella</i>	Compositae	Wp	0.257±0.006 (83.3)*
감태나무	<i>Lindera glauca</i>	Lauraceae	L	0.254±0.011 (82.3)
강활	<i>Ostericum koreana</i>	Umbelliferae	Ap	0.199±0.012 (64.7)*
개미취	<i>Aster tataricus</i>	Compositae	Wp	0.151±0.013 (49.2)*
개시호	<i>Bupleurum longiradiatum</i>	Umbelliferae	R	0.169±0.001 (55.0)*
개시호	<i>Bupleurum longiradiatum</i>	Umbelliferae	Ap	0.084±0.005 (27.7)*
개싸리	<i>Lespedeza tomentosa</i>	Leguminosae	L	0.265±0.001 (85.8)
겨우살이	<i>Viscum album</i> var. <i>coloratum</i>	Loranthaceae	Wp	0.189±0.031 (61.4)*
골동골나물	<i>Eupatorium lindleyanum</i>	Compositae	Ap	0.624±0.001 (20.7)**
기름나물	<i>Peucedanum terebinthaceum</i>	Umbelliferae	Ap	0.157±0.001 (51.2)*
긴담배풀	<i>Carpesium divaricatum</i>	Compositae	Ap	0.160±0.005 (52.0)*
까치고들빼기	<i>Youngia chelidoniifolia</i>	Compositae	Ap	0.239±0.002 (77.5)
나도하수오	<i>Pleuropterus cilinervis</i>	Polygonaceae	Ap	0.124±0.022 (40.4)*
노각나무	<i>Stewartia koreana</i>	Theaceae	L	0.282±0.008 (91.5)
노각나무	<i>Stewartia koreana</i>	Theaceae	S	0.245±0.001 (79.3)
눈개승마	<i>Aruncus dioicus</i> var. <i>kamtschaticus</i>	Rosaceae	Ap	0.257±0.007 (83.2)
늦고사리삼	<i>Botrychium virginianum</i>	Ophioglossaceae	Wp	0.260±0.005 (84.1)
단풍취	<i>Ainsliea acerifolia</i>	Compositae	Wp	0.220±0.001 (71.2)*
담배풀	<i>Carpesium abrotanoides</i>	Compositae	Wp	0.198±0.006 (64.2)*
당개지치	<i>Brachybotrys paridiformis</i>	Boraginaceae	Ap	0.209±0.003 (67.7)*
도깨비부채	<i>Rodgersia podophylla</i>	Saxifragaceae	R	0.257±0.007 (83.4)
돼지풀	<i>Ambrosia artemisiaefolia</i>	Compositae	Wp	0.236±0.003 (76.5)
들깨풀	<i>Mosla punctulata</i>	Labiatae	Wp	0.144±0.005 (46.9)*
뚝갈	<i>Patrinia villosa</i>	Valerianaceae	Ap	0.153±0.002 (49.8)*
뚝갈	<i>Patrinia villosa</i>	Valerianaceae	Wp	0.192±0.003 (62.3)*
똥판지	<i>Helianthus tuberosus</i>	Compositae	Ap	0.217±0.010 (70.6)*
마가목	<i>Sorbus commixta</i>	Rosaceae	S	0.202±0.004 (65.5)*
마가목	<i>Sorbus commixta</i>	Rosaceae	L	0.136±0.001 (44.4)*
마타리	<i>Patrinia scabiosaefolia</i>	Valerianaceae	Wp	0.215±0.005 (69.8)*
말채나무	<i>Cornus walteri</i>	Cornaceae	S, L	0.131±0.005 (42.8)*
매미꽃	<i>Hylomecon hylomeconoides</i>	Papaveraceae	Ap	0.207±0.004 (67.2)*
매미꽃	<i>Hylomecon hylomeconoides</i>	Papaveraceae	R	0.207±0.007 (67.3)*
별가치	<i>Adenocaulon himalaicum</i>	Compositae	Wp	0.202±0.001 (65.6)*
배초향	<i>Agastache rugosa</i>	Labiatae	Ap	0.096±0.002 (31.1)**
별개미취	<i>Aster koraiensis</i>	Compositae	R	0.247±0.001 (80.0)
별개미취	<i>Aster koraiensis</i>	Compositae	Ap	0.178±0.001 (58.0)*
별개당굴	<i>Meehania urticifolia</i>	Labiatae	Wp	0.148±0.002 (48.1)*
비목나무	<i>Lindera erythrocarpa</i>	Lauraceae	L	0.147±0.003 (47.5)*
비수리	<i>Lespedeza cuneata</i>	Leguminosae	Wp	0.135±0.003 (44.1)*
비파나무	<i>Eriobotrya japonica</i>	Rosaceae	S	0.220±0.008 (71.4)*
비파나무	<i>Eriobotrya japonica</i>	Rosaceae	Fl	0.220±0.003 (71.2)*
비파나무	<i>Eriobotrya japonica</i>	Rosaceae	L	0.194±0.005 (62.9)*
사람주나무	<i>Sapium japonicum</i>	Euphorbiaceae	L	0.197±0.006 (64.0)*
사위질빵	<i>Clematis apiifolia</i>	Ranunculaceae	Wp	0.170±0.006 (55.2)*
산박하	<i>Isodon inflexus</i>	Labiatae	Wp	0.165±0.004 (53.6)*
산비장이	<i>Serratula coronata</i> ssp. <i>insularis</i>	Compositae	R	0.222±0.006 (71.9)
산비장이	<i>Serratula coronata</i> ssp. <i>insularis</i>	Compositae	Ap	0.153±0.001 (49.8)*
산사나무	<i>Crataegus pinnatifida</i>	Rosaceae	S	0.237±0.002 (77.0)
산사나무	<i>Crataegus pinnatifida</i>	Rosaceae	L	0.228±0.003 (73.8)
산쭈바귀	<i>Lactuca raddeana</i>	Compositae	Wp	0.151±0.002 (49.1)*
새삼	<i>Cuscuta japonica</i>	Convolvulaceae	Wp	0.156±0.002 (50.8)*
섬오갈피	<i>Acanthopanax koreanum</i>	Araliaceae	Sb	0.194±0.011 (63.1)*
송이풀	<i>Pedicularis resupinata</i>	Scrophulariaceae	Wp	0.094±0.002 (30.7)**

Table I—Continued

Plant name	Scientific name	Family	Used part ^{a)}	MAO activity ^{b)}
				(nmol/min/mg protein) Concentration (250 µg/ml)
쇠서나물	<i>Picris hieracioides</i> var. <i>glabrescens</i>	Compositae	Wp	0.253±0.002 (81.9)
수까치개	<i>Corchoropsis tomentosa</i>	Sterculiaceae	Wp	0.246±0.004 (79.9)
수리취	<i>Symurus deltooides</i>	Compositae	Wp	0.229±0.006 (74.3)
숙은노루오줌	<i>Astilbe koreana</i>	Saxifragaceae	Ap	0.220±0.008 (71.4)
쉬나무	<i>Evodia daniellii</i>	Rutaceae	S, L	0.183±0.004 (59.5)*
쉬땅나무	<i>Sorbaria sorbifolia</i> var. <i>stellipila</i>	Rosaceae	Ap	0.065±0.001 (21.5)**
실새삼	<i>Cuscuta australis</i>	Convolvulaceae	S, Fr	0.154±0.001 (50.3)*
쑥방망이	<i>Senecio argunensis</i>	Compositae	Wp	0.119±0.002 (39.0)**
얇은부채	<i>Symplocarpus renifolius</i>	Araceae	R	0.259±0.008 (83.9)
알며느리밥풀	<i>Melampyrum roseum</i> var. <i>ovalifolium</i>	Scrophulariaceae	Wp	0.135±0.001 (44.1)*
애기부들	<i>Typha angustata</i>	Typhaceae	Ap	0.204±0.004 (66.4)*
영경귀	<i>Cirsium japonicum</i> var. <i>ussuriensis</i>	Compositae	R	0.273±0.001 (88.5)*
여로	<i>Veratrum maackii</i> var. <i>japonica</i>	Liliaceae	Ap	0.176±0.006 (57.1)*
영아자	<i>Phyteuma japonicum</i>	Campanulaceae	Ap	0.273±0.006 (88.4)
오리방풀	<i>Isodon excisus</i>	Labiatae	R	0.157±0.002 (51.0)*
오리방풀	<i>Isodon excisus</i>	Labiatae	Ap	0.134±0.006 (43.8)*
이팝나무	<i>Chionanthus retusus</i>	Oleaceae	L	0.095±0.002 (30.7)**
익모초	<i>Leonurus sibiricus</i>	Labiatae	Wp	0.202±0.003 (65.1)*
장구채	<i>Melandryum firmum</i>	Caryophyllaceae	Wp	0.238±0.003 (77.2)
전동싸리	<i>Melilotus suaveolens</i>	Leguminosae	Wp	0.046±0.001 (15.4)**
조팝나물	<i>Hieracium umbellatum</i>	Compositae	Wp	0.163±0.003 (53.2)*
조희풀	<i>Clematis heracleifolia</i>	Ranunculaceae	R	0.142±0.006 (46.4)*
지리산오가피	<i>Acanthopanax chiisanensis</i>	Araliaceae	Fr	0.250±0.008 (80.9)
쪽	<i>Persicaria tinctoria</i>	Polygonaceae	Wp	0.227±0.007 (73.5)
층층이꽃	<i>Clinopodium chinense</i> var. <i>parviflorum</i>	Labiatae	Wp	0.163±0.009 (53.2)*
칼잎용담	<i>Gentiana uchiyamai</i>	Gentianaceae	Ap	0.232±0.001 (75.3)
칼잎용담	<i>Gentiana uchiyamai</i>	Gentianaceae	Wp	0.228±0.013 (73.8)
큰개별꽃	<i>Pseudostellaria palibiniana</i>	Caryophyllaceae	Ap	0.207±0.007 (67.3)*
털진득찰	<i>Siegesbeckia pubescens</i>	Compositae	Wp	0.253±0.006 (82.0)
반디나물	<i>Cryptotaenia japonica</i>	Umbelliferae	Wp	0.195±0.006 (63.3)*
피나무	<i>Tilia amurensis</i>	Tiliaceae	L	0.198±0.005 (64.3)*
회나무	<i>Euonymus sachalinensis</i>	Celastraceae	L	0.162±0.007 (52.8)*

^{a)} Ap: aerial part, Wp: whole plant, L: leaf, R: root, S: stem, Fl: flower, Fr: fruit, Sb: stem bark.

^{b)} The control of MAO activity was taken as 0.309 nmol/min/mg protein. The percent of control activity was shown in parenthesis. The data were expressed as means±SEM for 4 experiments. Significantly different from the control value. * p<0.05, ** p<0.01 (Student's *t* test).

Table II—IC₅₀ values of MeOH extracts from herbal medicines on monoamine oxidase activity

Plant name	Scientific name	Used part ^{a)}	IC ₅₀ values (µg/ml)
전동싸리	<i>Melilotus suaveolens</i>	Wp	38
골동골나물	<i>Eupatorium lindleyanum</i>	Ap	51
개시호	<i>Bupleurum longiradiatum</i>	Ap	64
쉬땅나무	<i>Sorbaria sorbifolia</i> var. <i>stellipila</i>	Ap	91
배초향	<i>Agastache rugosa</i>	Ap	137
송이풀	<i>Pedicularis resupinata</i>	Wp	157
조희풀	<i>Clematis heracleifolia</i>	R	164
쑥방망이	<i>Senecio argunensis</i>	Wp	177
말채나무	<i>Cornus walteri</i>	S, L	186
이팝나무	<i>Chionanthus retusus</i>	L	187

^{a)} Ap: aerial part, Wp: whole plant, L: leaf, R: root, S: stem.

사료되며, 현재 이에 대한 연구를 진행중에 있다.

감사의 말씀

본 연구는 1997년도 보건의료기술연구개발사업(HMP-97-D-4-0022: 보건복지부)의 연구비로 수행되었으며 이에 깊은 감사를 드립니다.

문헌

- 1) 이상선, 김영호, 배기환, 김학성, 이명구. : 수종의 생약추출물이 monoamine oxidase 활성에 미치는 영향 (제1보). 생약학회지, **29** (1998) (인쇄중).
- 2) Nagatsu, T., Yamamoto, T. and Harada, M. : Purification and properties of human brain mitochondrial monoamine oxidase. *Enzymologia*, **39**, 15 (1970).
- 3) Houslay, M. D. and Tipton, K. F. : Multiple forms of monoamine oxidase : fact and artefact. *Life Sci.*, **19**, 467 (1976).
- 4) Donnelly, C. H. and Murphy, D. L. : Substrate- and inhibitor-related characteristics of human platelet monoamine oxidase. *Biochem. Pharmacol.*, **26**, 853 (1977).
- 5) Yang, H. Y. T. and Neff, N. H. : The monoamine oxidases of brain : selective inhibition with drugs and the consequences for the metabolism of the biogenic amines. *J. Pharm. Exp. Ther.*, **189**, 733 (1974).
- 6) Naoi, M., Nomura, Y., Ishiki, R., Suzuki, H. and Nagatsu, T. : 4-(O-Benzylphenoxy)-N-methylbutylamine (bifemelane) and other 4-(O-benzylphenoxy)-N-methylalkylamines as new inhibitors of type A and B monoamine oxidase. *J. Neurochem.*, **50**, 243 (1988).
- 7) Krail, M. : A rapid microfluorimetric determination of monoamine oxidase. *Biochem. Pharmacol.*, **14**, 1683 (1965).
- 8) Lowry, O. H., Rosebough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951).