

## 상심자의 모노아민산화효소 저해활성

황금희 · 송 임  
(주) STC 생명과학연구원

### The Inhibitory Activity on Monoamine Oxidase of the Fruit of *Morus alba*

Keum Hee Hwang and Im Song

STC NARA Co. STC Life Science Center, Seoul 135-010, Korea

**Abstract** – We examined the inhibitory activities against monoamine oxidase (MAO) of *Morus alba* *in vitro* and *in vivo* methods. Methanolic extract of *M. alba* showed significantly inhibitory activities on MAO-A and MAO-B that were prepared from rat brain and liver *in vitro*. The inhibitory activities were measured by serotonin and benzylamine as substrates, respectively. MAO-A and MAO-B activities were potently inhibited by ethylacetate extracts of *M. alba* *in vitro* tests. Those activities *in vivo* tests have different tendency each other. MAO-A activity was increased by the oral administration of methanolic extract of *M. alba*, while, MAO-B activity was decreased. Consequently, we can suggest that *M. alba* may have the effects on the inhibitory activities against MAO both *in vitro* and *in vivo*.

**Key words** – Monoamine oxidase (MAO), Serotonin (5-HT), *Morus alba*

상심자 (오디)는 뽕나무과 (Moraceae)에 속한 낙엽교목인 뽕나무 (*Morus alba* L.)의 열매가 자홍색을 나타낼 때 채취하여 식용하거나 건조한 후 한약재로 사용하며 한방에서는 어지러움과 이명, 구갈, 소갈 등의 치료에 이용하는 것으로 알려져 있으며 뽕나무와 관련된 약재는 대체로 독성이 강하지 않아서 안전하게 사용할 수 있으며, 체내에 쌓인 좋지 않은 열(熱)을 없애는데 효과가 있어 고혈압과 당뇨병에 응용되고 있다.<sup>1)</sup> 일본에서는 양혈거풍의 효능과 풍열을 다스리며 강장, 진통약, 불면증, 이명, 어지러움, 요통, 변비 등의 치료에 응용하는 것으로 알려져 있다.<sup>2)</sup> 동의보감에는 소갈을 다스리고 오장을 이롭게 하며 뽕나무의 정(精)이 모여 있다고 적고 있다.<sup>3)</sup> 오디는 각종 비타민류, 유기산류, 당류 등의 성분이 보고 되어 있고 활성 성분에 대한 연구보고는 아직 없다.

모노아민산화효소 (Monoamine oxidase (amine: oxygen oxidoreductase (deaminating) EC1.4.3.4.)(MAO)는 중추신경계나 말초조직 등 동물조직 중의 미토콘드리아에 널리 존재하면서 신경 전달물질이나 호르몬성 아민 화합물의 대사를 관장하는 효소로서 다음과 같은 반응으로 아민 화합물의

산화적 탈아민 반응을 촉매하여 신경전달물질과 식사와 장내 박테리아에 의해 유래되는 호르몬성 아민을 분해한다.<sup>4)</sup>  
$$: RCH_2NH_2 + O_2 + H_2O \rightarrow RCHO + NH_3 + H_2O_2$$
 MAO는 내인성 기질로서 카테콜아민과 인돌알킬아민 또는 그 유도체를 주로 이용하며 기질 특이성에 따라 세로토닌, 노르에피네프린, 에피네프린을 산화적으로 탈아민화 시키는 A형과 벤질아민, 페네틸아민의 산화를 촉매 하는 B형의 두 가지 형으로 나눌 수 있다.<sup>5)</sup>

본 연구에서는 MAO 저해 활성을 나타내는 자생식물을 이용하여 항 우울, 항 피로, Parkinson's disease 등의 중추신경계와 관련한 질환의 치료제 개발 및 운동 능력 향상을 위한 건강기능식품 소재 개발 연구의 일환으로 동물을 이용한 시험관 실험에서 오디(상심자) 메탄올추출물이 추출물 수준에서 MAO 저해활성을 갖는 것을 확인하였으며 경구투여를 통한 *in vivo* 실험을 통해 체내 MAO 활성에 미치는 영향을 확인하였다.

### 재료 및 방법

#### 실험재료 및 시약

실험에 사용한 상심자는 서울시 소재 경동시장 대덕한의원에서 건조시킨 한약재를 구입하여 사용하였고 시료의 일

\*교신저자(E-mail) : hwang-kh@hanmail.net  
(FAX) : 02-511-6705

부는 표준품(NP20-187)으로 보관하였다. 효소활성 측정에 사용한 세로토닌, 벤질아민, 이온교환수지 Amberlite CG-50 등은 Sigma사 제품을 사용하였고 기타 컬럼 크로마토그래피용 용매 및 시료 추출용 용매는 국산 특급 시약을 사용하였다.

### 실험동물

5주령의 Sprague Dawley계 웅성 흰쥐를 (주) 바이오제노믹스에서 공급받아 온도  $23\pm 3^{\circ}\text{C}$ , 습도  $50\pm 10\%$ , 12 시간 주기로 조명을 조절하는 동물 사육실에서 일반 고형 사료와 물을 자유롭게 공급하면서 2~4주간 적응시킨 후 실험에 이용하였다.

### 상심자의 경구투여

**경구투여용 시료의 조제** - 건조한 상심자 100 g을 가정용 분쇄기를 이용하여 분말로 만들고 여기에 약 800 ml의 80% 에탄올 용액을 가하여 환류냉각하면서  $100^{\circ}\text{C}$ 에서 6 시간씩 3회 반복하여 가열추출 하였다. 탈지면으로 여과하고 여액을  $40^{\circ}\text{C}$  수욕 상에서 감압 농축하여 에탄올 추출물 17.67 g을 얻었고 남아 있는 에탄올을 완전히 제거한 후 동결 건조하여 건조된 분말 16.00 g을 얻었다. 동결 건조한 분말을  $-80^{\circ}\text{C}$  deep freezer에 보관하고 실험 시 증류수에 녹여 사용하였다.

**시료의 경구투여** - 동결 건조한 상심자 분말 10 mg을 증류수 1 ml에 녹이고 이 액을 실험 하루 전에 절식시킨 동물에게 전날 오후와 실험 당일 2시간 전에 2회에 걸쳐 4 ml씩 경구 투여하였다. 대조군에는 같은 조건으로 증류수 4 ml씩을 경구투여 하였다. 이 양은 시료 건조 중량으로 동물 체중 당 0.3 g/kg되는 양으로 사람 하루 용량에 대한 문헌치<sup>1)</sup> 18-20 g/60 kg에 해당하는 양이다.

### Brain MAO-A의 효소활성 측정

**효소원의 조제** - 흰쥐의 뇌 조직을 이용하여 전보에 보고한 방법대로 조제한 단백질을 회석하여 효소원으로 사용하였다.<sup>6)</sup>

**효소활성 측정** - 조제한 효소원을 사용하여 문헌의 방법에 준하여 효소활성을 측정하고 각 실험군의 대조군을 기준으로 하여 효소 활성의 변화를 정해진 수식에 따라 계산하였다.<sup>6,7)</sup>

### Liver MAO-B의 효소활성 측정

**효소원의 조제** - 흰쥐의 간 미토콘드리아 분획을 상법에 따라 분리하여 효소원으로 사용하였다.

**효소활성 측정** - McEwen 등의 방법에 준하여 효소활성

을 측정하고 각 실험군의 대조군을 기준으로 하여 효소 활성의 변화를 정해진 수식에 따라 계산하였다.<sup>8)</sup>

### 상심자 경구투여에 의한 rat MAO의 활성 변화 측정

일반 실험실 조건에서 적응시킨 SD계 흰쥐 6 마리를 한 군으로 하여 12시간 전에 절식시킨 동물에게 위에서 언급한 방법으로 조제한 상심자 동결건조 분말을 2회 경구투여 하고 2 시간이 경과한 후 해부하여 좌심실에서 채혈하여 실험혈시킨 후 뇌와 간을 적출하여 MAO-A, MAO-B의 활성 변화를 측정하였다. 한편 약물대신 증류수를 투여한 동물의 효소활성을 따로 측정하여 약물에 의한 효소활성의 변화에 대한 대조군으로 하였다.

### 상심자의 시험관내 MAO 저해활성

**시료의 추출 및 검액 조제** - 건조한 약재용 상심자 100 g을 정량하여 가정용 분쇄기로 1 분간 마쇄하여 분말로 만들고 여기에 80% 메탄올 1000 ml를 가하여  $95^{\circ}\text{C}$  수욕 상에서 환류 냉각하면서 6시간 가열추출 하였다. 실온으로 식힌 후 여과하고 그 박을 80% 메탄올로 세척하여 여액이 1000 ml되게 하고  $45^{\circ}\text{C}$  수욕 상에서 감압농축 하여 메탄올 추출물을 얻었다. 이 추출물을 상법에 따라 분획하여 클로로포름 분획, 에틸아세테이트 분획, 부탄올 분획, 물 분획을 각각 얻었다. 각 분획을 10 mg/ml 용액이 되도록 증류수로 녹이고 이 액을 원액으로 1(10 mg/ml), 1/2(5 mg/ml), 1/4(2.5 mg/ml) 희석액을 검액으로 사용하였다.

**효소활성 측정** - MAO-A 및 MAO-B의 효소원 조제 및 효소활성 측정은 앞에서 서술한 방법에 준하였다.

### 통계처리

실험 결과는 SAS 통계프로그램을 이용하였으며<sup>9)</sup> Student *t*-test를 사용하여 유의차 검정을 하였다. 모든 통계는 5% 수준에서 유의성을 검정하였다.

### 단백질 정량

단백질 함량은 bovine serum albumin을 표준물질로 하고 Bradford's method를 이용하여 측정하였다.<sup>10)</sup>

## 결과 및 고찰

### 상심자 메탄올 추출 및 용매분획

건조한 약재용 상심자 100 g을 정량하여 가정용 분쇄기로 1 분간 마쇄하여 분말로 만들고 여기에 80% 메탄올 1000 ml를 가하여  $95^{\circ}\text{C}$  수욕 상에서 환류 냉각하면서 6시간 가열추출 하였다. 실온으로 식힌 후 여과하고 그 박을 80% 메

**Table I.** MAO Inhibitory Activities of *Morus alba* (Solvent extraction and fractionation)

Fraction	Amount of Extract (g)	MAO A			MAO B		
		IC <sub>50</sub> (mg)	Total activity (unit)*	Specific activity (unit/g)	IC <sub>50</sub> (mg)	Total activity (unit)	Specific activity (unit/g)
80% MeOH	354.85	6.80	0.52 × 10 <sup>5</sup>	0.15 × 10 <sup>3</sup>	3.80	0.93 × 10 <sup>5</sup>	0.26 × 10 <sup>3</sup>
CHCl <sub>3</sub>	18.44	1.10	0.17 × 10 <sup>5</sup>	0.92 × 10 <sup>3</sup>	—	—	—
EtOAc	11.05	0.90	0.12 × 10 <sup>5</sup>	0.11 × 10 <sup>4</sup>	0.90	0.12 × 10 <sup>5</sup>	0.11 × 10 <sup>4</sup>
BuOH	86.38	1.10	0.79 × 10 <sup>5</sup>	0.91 × 10 <sup>3</sup>	1.90	0.45 × 10 <sup>5</sup>	0.52 × 10 <sup>3</sup>
H <sub>2</sub> O	267	6.00	0.45 × 10 <sup>5</sup>	0.17 × 10 <sup>3</sup>	5.40	0.49 × 10 <sup>5</sup>	0.18 × 10 <sup>3</sup>

\*One unit is defined as a sample amount to give 50% inhibition against MAO activities.

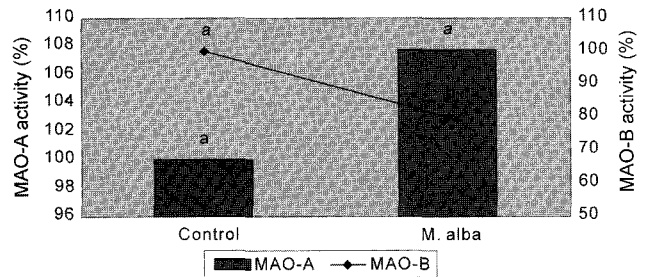
탄올로 세척하여 여액이 1000 ml 되게 하고 45°C 수욕 상에서 감압농축 하여 메탄올 추출물 1500 mg을 얻었다. 이 추출물을 상법에 따라 분획하여 클로로포름 분획 489 mg, 에틸아세테이트 분획 41 mg, 부탄올 분획 167 mg, 물 분획 849 mg을 각각 얻었다(Table I).

**상심자 메탄올 추출물이 체내 MAO 활성에 미치는 영향**

실험동물에게 대표적인 한성약물인 황련을 경구로 투여했을 때 MAO-A는 그 활성이 농도 의존적으로 증가하였으며 MAO-B의 경우 역시 농도 의존적으로 활성이 현저히 감소한다는 사실을 보고한 바 있으며<sup>7)</sup> 한성약물인 상심자를 경구로 투여했을 때 운동 중 동물 체내의 MAO 활성에 미치는 효과가 황련과 비슷하게 나타날 것으로 기대하고 상심자 추출물을 경구투여한 흰쥐의 뇌와 간에서 MAO-A 및 MAO-B의 활성 변화를 측정하였다.

**MAO-A와 MAO-B의 효소활성 변화**

Fig. 1에 나타난 것처럼 상심자 추출물 대신 증류수를 투여한 대조군의 효소활성을 기준으로 비교해 보면 통계적 유의차이는 없지만 MAO-A는 상심자 추출물에 의해서 효소활성이 증가되는 것으로 나타났으며 MAO-B는 효소활성이 감소하는 경향을 나타냈다. 이 결과는 한성 및 열성스트레스 상태에 있는 동물에게 약물을 경구투여하고 효소활성의 변화를 관찰한 실험에서 확인된 결과와 같은 경향을 나타내는 것으로 확인되었다. 즉 한성약물을 경구투여하고 한성 및 열성 스트레스를 유발시킨 경우 열성 스트레스에 의해 감소된 MAO-A의 활성을 현저히 증가시킴으로서 병증의 개선효과를 기대하게 하는 반면, 한성 스트레스 유발 시에도 MAO-A의 효소활성은 증가되어 기론에 의한 한의학의 약리학적 해석이 MAO 활성 변화로 설명될 수 있음을 확인한 저자 등의 이전 실험 결과와 일치되는 결과임을 알 수 있었다.<sup>11)</sup>

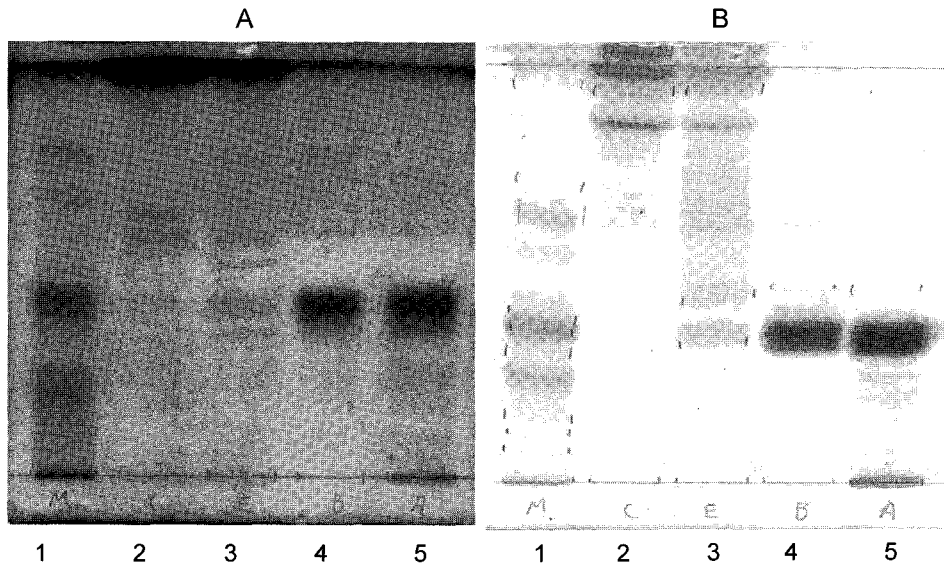


**Fig. 1.** Changes of MAO Activities on Rat Oral Administered of *Morus alba*. The reaction mixture for MAO-A assay (final volume 1 ml) contained appropriate amount of the crude enzyme, and substrate (serotonin). This incubation mixture was started by adding substrate. The reaction mixture was incubated for 90 min at 37°C in air. The reaction mixture for MAO-B assay (final volume 1 ml) contained appropriate amount of the crude enzyme, and substrate (benzylamine). The enzymatic activity was measured according to the spectrophotometric procedure as described in the experimental method.

**상심자의 각 용매분획이 시험관내 MAO 활성에 미치는 영향**

정상동물과 스트레스상태인 동물에 대한 약물의 효과로서 유사한 경향으로 나타나는 것을 확인하였고 시험관내에서 한성약물이 MAO-A 및 MAO-B의 효소활성을 강력히 저해하는 것을 확인한 바 있으므로<sup>7)</sup> 상심자 추출물이 같은 경향으로 나타날 것으로 예상하고 시험관내에서 MAO-A 및 MAO-B의 활성에 대한 효과를 측정하여 보았다.

상심자 메탄올추출물은 시험관내에서 MAO-A 및 MAO-B의 효소활성을 현저히 저해하는 것으로 나타났다. 메탄올 추출물의 MAO-A 및 MAO-B에 대한 IC<sub>50</sub> 값은 각각 6.8 mg과 3.8 mg이었다. 상심자는 비타민과 유기산이 풍부한 열매로서 생리활성을 나타내는 것으로 알려진 성분에 대한 연구가 지금까지 보고된 바가 없으므로 활성 성분에 대한 구체적인 성분연구를 시도할 목적으로 상법에 따라 용매 분



**Fig. 2.** Thin Layer Chromatogram of Each Solvent Fractions of *Morus alba*. 1, MeOH extract; 2,  $\text{CHCl}_3$  fraction; 3, EtOAc fraction; 4, BuOH fraction; 5, Aquous layer. Analytical conditions : developing solution,  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  (15:10:2.5); Detection methods, (A) 254 nm UV light, Anis aldehyde solution, (B) 365 nm UV light, 5%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  solution.

확한 각 분획을 대상으로 효소활성에 대한 저해효과를 측정하였다. 에틸아세테이트 분획에서 가장 강한 MAO-A 및 MAO-B에 대한 저해활성이 확인되었으며 에틸아세테이트 분획의 MAO-A 및 MAO-B에 대한  $\text{IC}_{50}$  값은 각각 0.90 mg이었다. 클로로포름 분획의 경우 낮은 농도에서 MAO-A에 대한 저해활성을 나타내  $\text{IC}_{50}$  값이 1.1 mg으로 나타났으나 고농도에서는 오히려 활성이 저하되는 것으로 나타났으며 MAO-B에 대한 저해활성은 나타나지 않았다. 부탄올 분획은 MAO-A 및 MAO-B에 대해 비교적 강한 저해활성을 나타냈으며 각각의  $\text{IC}_{50}$  값은 1.1 mg과 1.9 mg이었다. 물 분획의 경우는 MAO-A와 MAO-B에 대해 약하게 저해활성을 나타내는 것으로 확인 되었다. 상심자는 약용 보다는 식용으로 이용되어 왔으므로 독성이 없을 것으로 생각되며 식용으로 이용되어 온 식물들이 특징적으로 아주 강한 생리활성을 나타내지 않는 것을 고려할 때 아주 훌륭한 MAO 저해활성을 나타내는 것으로 이해할 수 있다. 각 분획의 활성 측정 결과 얻어진  $\text{IC}_{50}$  값과 total activity 및 specific activity를 계산하여 Table I에 요약하였다. Fig. 2는 상심자 추출물 각 용매분획의 박층 크로마토그램이다. 활성 검색 결과는 에틸아세테이트 분획에서 가장 활성이 강하게 나타나고 있으며 단파장(254 nm)과 장파장(365 nm)의 UV light 하에서나, 황산발색과 anisaldehyde 발색으로 특징적인 밴드가 보이지는 않고 있으나 활성성분을 추적하면서 에틸아세테이트 분획을 대상으로 여러 가지 기법의 컬럼크로마토그래피를 이용한 활성추적 분리를 실시하여 MAO 저해활성 성분분리를 진행 중에 있다.

## 결론

실험동물에게 상심자 메탄올 추출물을 경구투여한 후 동물의 체내에서 일어나는 MAO의 활성변화를 관찰하였다. 한편, 상심자 추출물의 용매 분획물들이 시험관 내에서 효소활성에 미치는 영향을 비교 관찰하였다.

위의 실험을 통하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 동물에게 상심자 추출물을 경구 투여했을 때 MAO의 활성을 변화시키며, MAO-A는 활성이 증가되고 MAO-B는 활성이 감소하는 것으로 관찰되었다.
2. 상심자 메탄올추출물은 시험관내에서 MAO-A 및 MAO-B의 효소활성을 현저히 저해하는 것으로 나타났으며 메탄올 추출물의 MAO-A 및 MAO-B에 대한  $\text{IC}_{50}$  값은 각각 6.8 mg과 3.8 mg이었다.
3. 상심자 용매분획을 대상으로 효소활성에 대한 저해효과를 측정하여 에틸아세테이트 분획에서 가장 강력한 MAO-A 및 MAO-B에 대한 저해활성이 확인되었으며 에틸아세테이트 분획의 MAO-A 및 MAO-B에 대한  $\text{IC}_{50}$  값은 각각 0.90 mg이었다.
4. 부탄올 분획은 MAO-A 및 MAO-B에 대해 비교적 강한 저해활성을 나타냈으며 각각의  $\text{IC}_{50}$  값은 1.10 mg과 1.90 mg이었다. 물 분획의 경우는 MAO-A와 MAO-B에 대해 약하게 저해활성을 나타내는 것으로 확인되었다.
5. 이상의 결론으로부터 상심자(오디)는 MAO 저해활성을 나타내는 우수한 식물로 운동능력향상, 피로회복, 우울증 개선, Parkinson' disease 등을 개선할 수 있는 건강기능식품

소재로서의 활용 가능성을 확인하였다.

## 사 사

본 연구는 21세기 프론티어연구개발사업인 자생식물이용 기술개발사업단의 연구비지원(과제번호PF002201-03)에 의해 수행되었습니다. 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

1. 강봉수(2000) 본초학. 60. 영림사. 서울.
2. Namba, T. (1993). The Encyclopedia of Wakan-Yaku with Color Pictures Vol. 1. 82-83. Hoikusha, Osaka.
3. 동의보감국역위원회(2000) 동의보감, 1217. 남산당, 서울.
4. Cooper, J. R., Bloom, F. E. and Roth, R. H. (1996) The Biochemical Basis of Neuropharmacology. Oxford university press. NY.
5. Felner, A. E. and Waldmeier, P. C. (1979) Cumulative effects of irreversible MAO inhibitors *in vivo*. *Biochem. Pharmac.* **28**: 995-1002.
6. Hwang, K. H. and Lim, S. H. (2003) Studies on monoamine oxidase inhibitory activities of Korean medicinal plants classified to cold drugs by the theory of KIMI. *Food Science and Biotechnology*. **12**(3): in press.
7. Hwang, K. H., Kim, I. R. and Han, Y. N. (1999) Effects of cold and hot drugs on the activity of monoamine oxidase. *Kor. J. Pharmacogn.* **30**: 145-150.
8. McEwen, C. M., Cohen, J. R. and Cohen, J. D. (1963) An amine oxidase in normal human serum. *J. Lab. Clin. Med.* **62**: 766-776.
9. SAS: SAS User's Guide, Statistics (1988) SAS Institute Inc., Cary, NC.
10. Daniel, M. B. and Stuart, J. E. (1990) Protein Methods. Wiley-Liss, NY.
11. Hwang, K. H., Ma, J. Y. and Kim, I. R. (1999) The Studies on the Theory of KIMI by the Activity of Monoamine Oxidase. *Kor. J. Herbology*. **14**(1): 1-14.

(2003년 5월 27일 접수)