

## 수종의 생약추출물이 PC12 Cells 중의 Dopamine 함량 변화에 미치는 영향

신정수, 김영호<sup>1</sup>, 배기환<sup>1</sup>, 김학성, 이명구\*

충북대학교 약학대학, <sup>1</sup>충남대학교 약학대학

## Effects of Herbal Medicines on Dopamine Content in PC12 Cells

Jung Soo Shin, Young Ho Kim<sup>1</sup>, KiHwan Bae<sup>1</sup>,

Hack Seang Kim and Myung Koo Lee\*

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

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Chungnam National University, Taejeon 305-764, Korea

**Abstracts**—The effects of MeOH extracts of ninety kinds of medicinal herbs on dopamine content in PC12 cells were investigated. Among them, the MeOH extracts at a concentration of 40  $\mu\text{g}/\text{ml}$  of *Symplocarpus renifolius*, *Adenocaulon himalaicum* and *Mosla punctulata* decreased 38.5~60.0% of dopamine content. Tyrosine hydroxylase, the rate-limiting enzyme of the catecholamine biosynthesis, was inhibited by the treatment of the MeOH extracts of *Symplocarpus renifolius*, *Adenocaulon himalaicum* and *Mosla punctulata* (19.9~31.3% inhibition at 40  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). These results suggested that these bioactive herbal medicines exhibited partially an inhibitory effect on dopamine biosynthesis by the reduction of tyrosine hydroxylase activity in PC12 cells.

**Key words**—*Symplocarpus renifolius*; *Adenocaulon himalaicum*; *Mosla punctulata*; dopamine; tyrosine hydroxylase; PC12 cells.

Catecholamines은 dopamine, norepinephrine, epinephrine을 말하며, 고혈압, 심장질환 등의 순환기질환, Parkinson 병, Dementia 등의 신경질환, 정신분열증, 우울증 등의 정신질환 등 인체의 광범위한 질환들과 관련이 있다고 알려져 있다.

Catecholamine 생합성 과정에는 tyrosine 수산화효소(tyrosine hydroxylase, TH), 방향족 아미노산 탈탄산효소(aromatic L-amino acid decarboxylase), dopamine- $\beta$ -수산화효소(dopamine  $\beta$ -hydroxylase), phenylethanolamine

N-methyl기 전이효소(phenylethanolamine N-methyltransferase)가 관여하고 있으며, 이중 TH (EC 1.14.16.2)는 보조효소 tetrahydrobiopterin의 존재하에 tyrosine에서 L-DOPA의 생합성을 촉매하는 catecholamine 생합성 과정의 rate-limiting 효소이다.<sup>1)</sup> 따라서, catecholamines의 함량 및 그와 관련된 TH 활성의 변화는 각종 중추신경계의 질환에서 주목을 받고 있다.

PC12 cells은 rat adrenal pheochromocytoma에서 유래한 cell line으로, catecholamines을 생합성, 저장, 유리하며 TH 등의 catecholamine 생합성 효소를 함유하고 있다.<sup>2,3)</sup> 따라서, 이

\*교신저자 : Fax 0431-268-2732

cell line은 catecholamines의 기능 및 그의 생합성 효소의 조절작용 등의 연구에 종종 이용되고 있다.

저자들은 25 여종의 중추신경계 질환에 번용되고 있는 생약에 대하여 PC12 cells 및 소부신 TH을 이용하여 catecholamine 생합성 과정에 미치는 영향을 검색하여 이중 원지, 황련 등이 생합성 저해작용을 나타내고 있음을 보고한바 있다.<sup>4,5)</sup> 또한, 황련의 protoberberine 알카로이드가 dopamine 생합성의 조절작용이 있음을 밝혔다.<sup>6-8)</sup> 본 연구에서는 catecholamine 생합성 조절작용을 가진 새로운 활성성분을 검색하기 위하여 90여종의 생약 MeOH extract가 PC12 cells 중의 dopamine 함량과 TH 활성에 미치는 영향에 대하여 검토하였다.

## 재료 및 방법

**실험재료** - 활성검색에 사용한 생약(90종)은 시장에서 구입 또는 채집하여 감정후 사용하였으며, 표본은 충남대학교 약학대학 표본실에 보관하였다. L-Tyrosine, alumina, DL-6-methyl-5,6,7,8-tetrahydropterin, catalase 등은 Sigma(St. Louis, MO, 미국)로부터 구입하였으며, 그밖의 시약은 특급 또는 HPLC 용을 사용하였다.

**표준액의 제조** - 각각의 생약은 건조후 세절하고 상법에 따라 MeOH을 가하여 실온에서 2회 반복 추출한 다음 여과하였다. 여과액을 감압건조시켜 시료 extract(MeOH 시료)로 하였으며 필요시 동결 건조하였다.

**PC12 cells의 배양** - PC12 cells은 10% heat-inactivated horse serum, 5% fetal calf serum (Gibco, Grand Island, NY, 미국), 100 units/ml penicillin과 100 µg/ml streptomycin(Sigma)을 포함한 RPMI 1640(Gibco) 배양액을 사용하여 상법에 준하여 배양하였다.<sup>3)</sup> 세포배양은 수증기 포화된 5% CO<sub>2</sub>, 37°C의 배양기를 사용하였다.

**시료액의 전처리** - PC12 cells(ca.  $1 \times 10^5$  cells/cm<sup>2</sup>)에 생약 extract(배지중 40 µg/ml, DMSO에 용해하여 사용)를 가한 다음 48시간 배양하였다. 배양후 cells(ca.  $1.5 \sim 2 \times 10^5$  cells/cm<sup>2</sup>)을 phosphate buffered saline(500 µl)을 가하여 원심분리하여 pellet를 얻은 다음 dopamine 함량 및 TH 활성 측정용 시료로 하였다. Dopamine 함량

및 TH 활성에 미치는 생약 extract의 영향은 대조군과 비교하여 %로 나타내었다.

**Dopamine 함량 측정** - Dopamine 함량 측정은 Mitsui 등<sup>9)</sup>과 Lee 등<sup>10)</sup>의 방법을 보정하여 사용하였다. 시료용액(100~200 µl)에 3.0 M trichloroacetic acid(100 µl) 및 isoproterenol(1.0 nmol/ml, 100 µl; 내부표준)을 가한다음 원심분리하였다. 상등액을 Toyopak SP cartridge(Toso, Tokyo, 일본)를 통과시켜 흡착된 amines을 0.6 M potassium chloride-acetonitrile(1:1, v/v) 혼합액(2 ml)을 사용하여 용출시킨다. 용출액에 diethylenediamine 시약을 가하여 형광유도체를 만들고, 최종 반응액 100 µl를 고속액체크로마토그래프(HPLC, Toso)에 주입하여 dopamine 함량을 측정하였다. HPLC의 조건은 Lee 등<sup>10)</sup>의 방법에 준하였다.

**TH 활성 측정** - TH 활성측정은 Nagatsu 등<sup>11)</sup>의 방법을 보정하여 사용하였다. 효소반응은 sodium acetate(1.5 M, pH 6.0, 75 µl), catalase(2 mg/ml, 50 µl), L-tyrosine(10 mM, 50 µl), DL-6-methyltetrahydropterin(10 mM, 25 µl) 및 효소시료(100 µl)를 사용하였다. 효소반응(37°C, 10분) 후 반응액을 alumina cartridge를 통과시킨후 용출액 100 µl를 HPLC를 사용하여 L-DOPA의 농도를 정량하여 효소활성을 측정하였다. HPLC의 조건은 Nagatsu 등<sup>11)</sup> 및 Lee 등<sup>8)</sup>의 방법에 준하였다.

**단백질 함량 측정** - Dopamine 함량 및 TH 활성은 각 시료중의 단백질 함량을 측정하여 보정하였다. 단백질 함량은 bovine serum albumin을 사용한 Lowry 법<sup>12)</sup>에 의하여 측정하였다.

## 결과 및 고찰

PC12 cells을 사용하여 시료 extract가 dopamine 함량변화에 미치는 영향을 검토한 결과를 Table I에 나타내었다. 각 생약 extract의 전처리 용량은 40 µg/ml medium 이며, 이 용량에서는 PC12 cells에 대한 세포독성은 인정되지 않았다. 90종의 생약중, 멀가치, 들깨풀, 앓은부채의 3종의 생약에서 유의성 있는 dopamine 함량 감소현상(대조군에 비하여 38.5~60.0% dopamine 함량 감소)이 나타났다.

**Table I.** Effects of herbal extracts on dopamine content in PC12 cells

Plant name (40 µg/ml)	Scientific name	Family	Used part <sup>a)</sup>	Dopamine content <sup>b)</sup> (nmol/mg protein)
Control				3.54±0.25 (100)
가는장구채	<i>Melandryum seoulensis</i>	Cargophyllaceae	Ap	3.76±0.27 (106)
가시파리	<i>Physaliastrum japonicum</i>	Solanaceae	Ap	3.39±0.33 (95.7)
가시여뀌	<i>Persicaria fauriei</i>	Polygonaceae	Wp	3.72±0.12 (105)
각시취	<i>Saussurea pulchella</i>	Compositae	Wp	3.21±0.26 (90.6)
감태나무	<i>Lindera glauca</i>	Lauraceae	L	3.76±0.24 (106)
강활	<i>Osterium koreana</i>	Umbelliferae	Ap	3.38±0.21 (95.4)
개미취	<i>Aster tataricus</i>	Compositae	Wp	3.53±0.31 (100)
개시호	<i>Bupleurum longiradiatum</i>	Umbelliferae	Ap	3.14±0.38 (88.7)
개싸리	<i>Lespedeza tomentosa</i>	Leguminosae	L	3.27±0.24 (91.5)
개암나무	<i>Corylus heterophylla</i> var. <i>japonica</i>	Betulaceae	S	3.54±0.42 (100)
겨우살이	<i>Viscum album</i> var. <i>coloratum</i>	Loranthaceae	Wp	3.39±0.37 (95.6)
고추나무	<i>Staphylea bumalda</i>	Staphyleaceae	S	3.77±0.33 (106)
골동골나물	<i>Eupatorium lindleyanum</i>	Compositae	Ap	3.79±0.54 (107)
기름나물	<i>Peucedanum terebinthaceum</i>	Umbelliferae	Ap	3.53±0.21 (100)
긴담배풀	<i>Carpesium divaricatum</i>	Compositae	Ap	3.51±0.29 (99.1)
까치고들빼기	<i>Youngia chelidoniifolia</i>	Compositae	Ap	3.55±0.48 (100)
나도하수오	<i>Pleuropterus cilinervis</i>	Polygonaceae	Ap	3.53±0.31 (100)
노각나무	<i>Stewartia koreana</i>	Theaceae	L	3.45±0.41 (97.4)
누리장나무	<i>Clerodendron trichotomum</i>	Verbenaceae	S	3.22±0.36 (90.7)
눈개승마	<i>Aruncus dioicus</i> var. <i>kamtschaticus</i>	Rosaceae	Ap	3.54±0.39 (100)
늦고사리삼	<i>Botrychium virginianum</i>	Ophioglossaceae	Wp	3.61±0.35 (102)
단풍취	<i>Ainsliaea acerifolia</i>	Compositae	Wp	3.47±0.26 (98.0)
담배풀	<i>Carpesium abrotanoides</i>	Compositae	Wp	3.56±0.34 (100)
당개지치	<i>Brachybotrys paridiformis</i>	Boraginaceae	Ap	3.41±0.41 (96.3)
더위지기	<i>Artemisia iwayomogi</i>	Compositae	Ap	3.33±0.54 (94.0)
도깨비부채	<i>Rodgersia podophylla</i>	Saxifragaceae	R	3.40±0.16 (96.0)
돼지풀	<i>Ambrosia artemisiaefolia</i>	Compositae	Wp	3.84±0.39 (108)
들깨풀	<i>Mosla punctulata</i>	Labiatae	Wp	2.18±0.15 (61.5)*
뜯갈	<i>Patrinia villosa</i>	Valerianaceae	Ap	3.73±0.42 (105)
똥판지	<i>Helianthus tuberosus</i>	Compositae	Wp	3.53±0.22 (100)
마가목	<i>Sorbus commixta</i>	Rosaceae	S	3.52±0.21 (99.4)
마타리	<i>Patrinia scabiosaefolia</i>	Valerianaceae	Wp	3.71±0.37 (105)
말채나무	<i>Cornus walteri</i>	Cornaceae	S, L	3.21±0.26 (90.6)
매미꽃	<i>Hylomecon hylomeconoides</i>	Papaveraceae	Ap	3.40±0.14 (96.0)
멸가치	<i>Adenocaulon himalaicum</i>	Compositae	Wp	2.80±0.19 (79.1)*
모감주나무	<i>Koeleruteria paniculata</i>	Sapindaceae	S	3.45±0.41 (97.4)
물양지꽃	<i>Potentilla cryptotaeniae</i>	Rosaceae	Wp	3.39±0.34 (95.7)
배초향	<i>Agastache rugosa</i>	Labiatae	Ap	3.76±0.24 (106)
벌개미취	<i>Aster koraiensis</i>	Compositae	R	3.61±0.26 (102)
벌개덩굴	<i>Meehania urticifolia</i>	Labiatae	Wp	3.53±0.31 (100)
비목나무	<i>Lindera erythrocarpa</i>	Lauraceae	L	3.74±0.41 (105)
비수리	<i>Lespedeza cuneata</i>	Leguminosae	Wp	3.14±0.34 (88.7)
비파나무	<i>Eriobotrya japonica</i>	Rosaceae	S	3.64±0.38 (103)
사릅나무	<i>Sapium japonicum</i>	Euphorbiaceae	L	3.39±0.33 (95.7)
사위질빵	<i>Clematis apiifolia</i>	Ranunculaceae	Wp	3.53±0.31 (100)
산박하	<i>Isodon inflexus</i>	Labiatae	Wp	3.50±0.32 (98.9)
산비장이	<i>Serratula coronata</i> ssp. <i>insularis</i>	Compositae	R	3.51±0.11 (99.3)
산사나무	<i>Crataegus pinnatifida</i>	Rosaceae	S	3.55±0.24 (100)
산썸바귀	<i>Lactuca raddeana</i>	Compositae	Wp	3.45±0.42 (97.4)
새삼	<i>Cuscuta japonica</i>	Convolvulaceae	Wp	3.39±0.34 (95.7)
섬오갈피	<i>Acanthopanax koreanum</i>	Araliaceae	Sb	3.74±0.33 (105)
세잎양지꽃	<i>Potentilla freyniana</i>	Rosaceae	Wp	3.27±0.12 (92.1)
송이풀	<i>Pedicularis resupinata</i>	Scrophulariaceae	Wp	3.45±0.20 (97.4)
쇠물푸레	<i>Fraxinus sieboldiana</i>	Oleaceae	S	3.14±0.38 (88.7)

Table I. Continued

Plant name (40 µg/ml)	Scientific name	Family	Used part <sup>a)</sup>	Dopamine content <sup>b)</sup> (nmol/mg protein)
쇠서나물	<i>Picris hieracioides</i> var. <i>glabrescens</i>	Compositae	Wp	3.27±0.24 (92.4)
수까치깨	<i>Corchoropsis tomentosa</i>	Sterculiaceae	Wp	3.13±0.34 (88.4)
수리취	<i>Synurus deltoides</i>	Compositae	Wp	3.76±0.24 (106)
숙은노루오줌	<i>Astilbe koreana</i>	Saxifragaceae	Ap	3.50±0.28 (98.9)
쉬땅나무	<i>Sorbaria sorbifolia</i> var. <i>stellipila</i>	Rosaceae	Ap	3.37±0.54 (95.2)
실새삼	<i>Cuscuta australis</i>	Convolvulaceae	S, Fr	3.61±0.41 (102)
쑥방망이	<i>Senecio argunensis</i>	Compositae	Wp	3.54±0.32 (100)
얇은부채	<i>Symplocarpus renifolius</i> var. <i>ovalifolium</i>	Araceae	R	1.42±0.08 (40.0)**
알며느리밥풀	<i>Melampyrum roseum</i>	Scrophulariaceae	Wp	3.71±0.31 (105)
애기부들	<i>Typha angustata</i>	Typhaceae	Ap	3.29±0.32 (92.9)
야광나무	<i>Malus baccata</i>	Rosaceae	S	3.73±0.39 (105)
영경귀	<i>Cirsium japonicum</i> var. <i>ussuriensis</i>	Compositae	R	3.54±0.42 (100)
여로	<i>Vveratrum maackii</i> var. <i>japonica</i>	Liliaceae	Ap	3.50±0.26 (98.9)
영아자	<i>Phyteuma japonicum</i>	Campanulaceae	Ap	3.27±0.22 (92.4)
오갈피나무	<i>Acanthopanax sessiliflorum</i>	Araliaceae	S	3.18±0.37 (89.8)
오리방풀	<i>Isodon excisus</i>	Labiatae	R	3.21±0.32 (90.7)
이팝나무	<i>Chionanthus retusus</i>	Oleaceae	L	3.40±0.14 (96.0)
익모초	<i>Leonurus sibiricus</i>	Labiatae	Ap	3.21±0.24 (90.7)
인동덩굴	<i>Lonicera japonica</i>	Caprifoliaceae	Ap	3.33±0.54 (94.1)
장구채	<i>Melandryum firmum</i>	Caryophyllaceae	Wp	3.61±0.26 (102)
전동싸리	<i>Melilotus suaveolens</i>	Leguminosae	Wp	3.77±0.33 (106)
조릿대	<i>Sasa borealis</i>	Gramineae	S, L	3.27±0.22 (92.3)
조밥나물	<i>Hieracium umbellatum</i>	Compositae	Wp	3.70±0.38 (104)
조희풀	<i>Clematis heracleifolia</i>	Ranunculaceae	R	3.33±0.54 (94.1)
지리산오가피	<i>Acanthopanax chiisanensis</i>	Araliaceae	Fr	3.57±0.38 (101)
쪽	<i>Persicaria tinctoria</i>	Polygonaceae	Wp	3.79±0.54 (107)
쪽동백나무	<i>Styrax obassia</i>	Styracaceae	S	3.38±0.13 (95.4)
층층이꽃	<i>Clinopodium chinense</i> var. <i>parviflorum</i>	Labiatae	Wp	3.27±0.42 (92.3)
칼잎용담	<i>Gentiana uchiyamai</i>	Gentianaceae	Ap	3.40±0.14 (96.0)
큰개별꽃	<i>Pseudostellaria palibiniana</i>	Caryophyllaceae	Ap	3.29±0.31 (92.9)
털진득찰	<i>Siegesbeckia pubescens</i>	Compositae	Wp	3.48±0.13 (98.3)
토현삼	<i>Scrophularia koraiensis</i>	Scrophulariaceae	Ap	3.17±0.22 (89.5)
반디나물	<i>Cryptotaenia japonica</i>	Umbelliferae	Wp	3.54±0.28 (100)
피나무	<i>Tilia amurensis</i>	Tiliaceae	L	3.27±0.24 (92.3)
회나무	<i>Euonymus sachalinensis</i>	Celastraceae	L	3.76±0.27 (106)
후박나무	<i>Machilus thunbergii</i>	Lauraceae	Sb	2.98±0.14 (84.1)

<sup>a)</sup> Ap: aerial part, Wp: whole plant, L: leaf, S: stem, Sb: stem bark, Fr: Fruit. <sup>b)</sup> The value in parenthesis means a % content of dopamine compared with that of control. 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).

PC12 cells에서 생합성된 catecholamines 중 일부는 medium으로 분비(secretion)된다. 이러한 medium으로의 분비작용에는 Ca<sup>++</sup> channel 등 ion channel이 중요한 역할을 하고 있다. 그러나, 얇은부채, 들깨풀, 멸가치 등을 전처리한 경우에 있어서 이러한 medium으로의 dopamine의 분비 작용에 영향을 주지 않았다(자료미제시). 따라서, 이들 3종의 생약 extract의 전처리는 PC12 cells 중의 총 dopamine 함량(intracellular dopamine 함량 및 medium으로 분비된 dopamine 함량)은 대조군에 비하여 감소하였으며, 이는 cells 내의 do-

pamine 함량감소에 기인한 것으로 사료된다.

활성을 나타낸 3종의 생약 extract에 대하여 PC12 cells 중의 TH 활성에 미치는 영향을 검토한 결과를 Table II에 나타내었다. TH 활성은 멸가치, 들깨풀, 얇은부채의 전처리(40 µg/ml)에 의하여 유의적으로 저해되었다(대조군에 비하여 19.9~31.4% 활성 저해). 따라서, 이들 생약에 의한 PC12 cells 중의 dopamine 함량 감소작용은 부분적으로 TH 활성의 저해작용에 의한 것으로 사료된다.

저자들은 주로 중추신경계 질환에 사용되고 있는 생약 25여종 중에서 원지, 황련, 합환피, 지황 등의

**Table II.** Effects of herbal extracts on tyrosine hydroxylase (TH) activity in PC12 cells

Plant name (40 µg/ml)	Scientific name	Used part	Dopamine content (nmol/mg protein)	TH activity (nmol/ min/mg protein)
Control			3.54±0.25 (100)	3.92±0.09 (100) <sup>a</sup>
들깨풀	<i>Mosla punctulata</i>	whole plant	2.18±0.15 (61.5)*	3.14±0.31 (80.1)
멸가치	<i>Adenocaulon himalaicum</i>	whole plant	2.80±0.19 (79.1)*	2.87±0.18 (73.2)*
얇은부채	<i>Symplocarpus renifolius</i>	root	1.42±0.08 (40.0)**	2.69±0.13 (68.6)*

<sup>a</sup>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).

MeOH 엑스가 PC12 cells 중의 dopamine 생합성 저해작용이 있음을 보고한바 있다.<sup>4)</sup> 이중, 원지 및 합환피는 주성분인 saponin 계열 화합물들이 생리활성을 나타낸 것으로 사료되며,<sup>4)</sup> 황련은 protoberberine계 isoquinoline 알카로이드 화합물들이 dopamine 생합성 조절작용이 있음을 보고한바 있다.<sup>4,6-8)</sup> 또한, isoquinoline 계열 화합물중 noscapine, fangchinoline, bulboacpine 등도 PC12 cells 중의 dopamine 생합성 저해작용을 가지고 있으며, 이는 isoquinoline 화합물에 의한 TH 활성 저해작용이 부분적으로 관여하고 있음을 보고하였다.<sup>13-16)</sup>

PC12 cells 중의 TH 활성은 cyclic-AMP, PKA, PKC 및 dexamethasone 등의 전처치에 의하여 활성이 증가된다.<sup>17,18)</sup> 이는 TH 활성화에 의한 활성 증가 및 TH gene에 의한 효소량의 조절작용으로 사료된다.

따라서, dopamine 함량 감소작용을 나타낸 멸가치, 들깨풀, 얇은부채의 활성 단일성분을 분리하고, 이들 활성성분을 이용하여 PC12 cells 중의 작용기전과 catecholamine 생합성 효소에 대한 효소화학적 연구가 진행되어야 할 것으로 사료되며, 현재 이에 대한 연구를 진행중에 있다.

## 사 사

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

## 인용문헌

- Nagatsu, T., Levitt, M. and Udenfriend, S. (1964) Tyrosine hydroxylase. The initial step in norepinephrine biosynthesis. *J. Biol. Chem.* 239: 2910-2917.
- Greene, L. A. and Rein, G. (1977) Short-term regulation of catecholamine biosynthesis in a nerve growth factor responsive clonal line of rat pheochromocytoma cells. *J. Neurochem.* 30: 549-555.
- Greene, L. A. and Tischler, A. S. (1982) PC12 pheochromocytoma cultures in neurobiological research: *In* Advance in Cellular Neurobiology, vol. 3 (ed. Fereroff S.), 373. Academic Press, New York.
- 이명구, 황방연, 정은희, 이경순, 김학성. (1995) 수종의 생약이 PC12 cells 중의 catecholamines 생합성에 미치는 영향. *생약학회지* 26: 57-61.
- 황윤정, 이승호, 김학성, 이경순, 노재섭, 이명구. (1994) 수종의 생약이 bovine adrenal tyrosine hydroxylase 및 dopamine-hydroxylase 활성에 미치는 영향. *생약학회지* 25: 194-197.
- Lee, M. K., Park, W. K. and Kim, H. S. (1994) Inhibitory effects of the root of *Coptis japonica* on catecholamine biosynthesis in PC12 cells. *Arch. Pharm. Res.* 17: 269-272.
- Lee, M. K. and Kim, H. S. (1996) Inhibitory effects of protoberberine alkaloids from the root of *Coptis japonica* on catecholamine biosynthesis in PC12 cells. *Planta Med.* 62: 31-34.
- Lee, M. K. and Zhang, Y. H. (1996) Inhibition of tyrosine hydroxylase by berberine. *Med. Sci. Res.* 24: 561-562.
- Mitsui, A., Nohta, H. and Ohkura, Y. (1985) High-performance liquid chromatography of plasma catecholamines using 1,2-diphenyl-ethylenediamine as precolumn fluorescence derivatization reagent. *J. Chromatogr.* 344: 61-70.
- Lee, M. K., Nohta, H. and Ohkura, Y. (1986)

- Occurrence of aromatic L-amino acid decarboxylase in human plasma and its assay by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chromatogr.* 378: 329-336.
11. Nagatsu, T., Oka, K. and Kato, T. (1979) Highly sensitive assay for tyrosine hydroxylase activity by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 163: 247-252.
  12. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
  13. Shin, J. S., Lee, S. S. and Lee, M. K. (1997) Inhibitory effects of nescapine on dopamine biosynthesis in PC12 cells. *Arch. Pharm. Res.* 20: 510-512.
  14. Kim, H. S., Zhang, Y. H., Lee, M. K. and Fang, L. H. (1998) Inhibitory effects of fangchinoline on dopamine biosynthesis in PC12 cells. *Med. Sci. Res.* 26: 475-476.
  15. Shin, J. S., Kim, K. T. and Lee, M. K. (1998) Inhibitory effects of bulbocapnine on dopamine biosynthesis in PC12 cells. *Neurosci. Lett.* 244: 161-164.
  16. Zhang, Y. H., Shin, J. S., Lee, S. S., Kim, S. H. and Lee, M. K. (1997) Inhibition of tyrosine hydroxylase by bulbocapnine. *Planta Med.* 63: 362-363.
  17. Lewis, E. J., Harrington, C. A. and Chikaraishi, D. M. (1987) Transcriptional regulation of the tyrosine hydroxylase gene by glucocorticoid and cyclic AMP. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84: 3550-3554.
  18. Cahill, A. L., Horwitz, J. and Perlmutter, R. L. (1989) Phosphorylation of tyrosine hydroxylase in protein kinase C-dependent PC12 cells. *Neurosci.* 30: 811-814.

(1998년 9월 18일 접수)