생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn.
34(1) : 109 ~ 117 (2003)

한국 자생식물로부터 아라키돈산 대사계 효소 저해제 검색(1)

문태철 · 정혜진 · 이은경 · 박해영[1] · 전수진[1] · 손건호[1] · 김현표[2] · 배기환[3] · 강삼식[4] · 권동렬[5] · 장현욱*
영남대학교 약학대학, [1]안동대학 식품영양학과, [2]강원대학 약학대학, [3]충남대학교 약학대학,
[4]서울대학교 천연물과학연구소, [5]원광대학교 약학대학 한약학과

Screening of Arachidonic acid Cascade Related Enzymes Inhibitors from Korean Indigenous Plants(1)

Tae Chul Moon, Hyejin Jung, Eunkyung Lee, Hae Young Park[1], Su Jin Jeon[1], Kun Ho Son[1], Hyun Pyo Kim[2], KiHwan Bae[3], Sam Sik Kang[4], Dong Yeul Kwon[5], and Hyeun Wook Chang*
College of Pharmacy, Yeungnam University, Korea, [1]Depart. Food & Nutrition, Andong National University, Korea
[2]College of Pharmacy, Kangwan National University, Korea,
[3]College of Pharmacy, Chungnam National University, Taejin 305-764, Korea
[4]Natural Products Res. Institute. Seoul National University, Korea
[5]Department of Oriental Pharmacy, College of Pharmacy and Korea Institute of Oriental Pharmacy, Wonkwang University, Iksan, Chonbuk 570-749, Korea

Abstract – Arachidonic acid (AA), which is stored in membrane glycerophospholipids, is liberated by phospholipase A_2 (PLA_2) enzymes and is sequentially converted to cyclooxygenase (COX) and lipoxygenase (LOX) then to various bioactive prostaglandins (PGs,) and leukotrienes (LTs). In order to find the specific inhibitors of AA metabolism enzymes such as PLA_2, COX-2, 5-LO and lyso PAF acetyltransferase, 195 Korean indigenous plant extracts were evaluated for their inhibitory activity on PGD_2, LTC_4 production from cytokine-induced mouse bone marrow-derived mast cells (BMMC) and arachidonic acid released from phospholipid and PAF production from lyso PAF. From this screening procedure, methanol extract of eight plants such as *Saururus chinensis, Aster tataricus, Chrysanthemum cinerariaefolium, Reynoutria japonica, Dioscorea nipponica, Epimedium koreanum, Impatiens textori, Veronica rotunda var. subintegra* were found to inhibit production of inflammatory mediators in vitro assay system.

Key words : Secretory phospholiase A_2, cyclooxygenase-2, 5-lipoxygenase, lyso PAF acetyltransferase, inhibitors, korean indigenous plants, anti-inflammatory agents

세포가 자극을 받게되면 phospholipase A_2 (PLA_2)에 의한 세포막 인지질로부터 arachidonic acid (AA) 및 lysophospholipid가 생성된다. PLA_2에 의해 생성된 AA는 cyclooxygenase (COX)와 lipoxygenase (LOX)에 의해 염증의 강력한 매개체인 prostaglandins (PGs), thromboxanes (TXs) 및 leukotrienes (LTs)로 각각 합성된다. 이때 생성된 lysophospholipid는 극히 미량으로 혈소판을 활성화하며 다양한 염증성질환에 관여하는 platelet activating factor (PAF, 혈소판 활성화인자)로 합성되므로 PLA_2는 각종의 염증성질환에 관여하는 매개체 생성의 율속 효소로 알려져 있다. 최근 PLA_2도 많은 연구가 진행되어 현재는 10종의 isozyme이 존재함이 알려졌다.[1,2] 이들 중 특히 사람 및 동물모델에서 염증반응이나 allergy 반응, 조직 손상에 type IIA $sPLA_2$가 직·간접적으로 관여하고 있음이 밝혀졌으며,[3-6] 급, 만성 염증질병의 치료제 개발에 PLase A_2 저해제가 유력한 후보 물질이라는 기대감으로 연구가 활발히 진행되고 있다. 최근 종래의 막 구성형 COX-1에 대하여 사이토카인 (cytokine) 등의 자극에 의해 유도되는 새로운 효소인 COX-2가 발견되어, COX는 적어도 2종류의 isozyme이 존재함이 밝혀졌다. COX-1이 위, 신장을 비롯한 여러 조직에 발현되어 있는 반면 COX-2는 염증성 자극에 의해 단시간에 유도되는 발현

*교신저자(E-mail) : hwchang@yu.ac.kr
(FAX) : 053-811-3871

현상을 나타내어 두 효소가 다른 효소임이 알려졌다.[7,8] 세포에서의 COX-1의 역할은 그들의 "House keeping activity"를 조절하는데 필요한 prostanoid를 생산하는 것으로 예를 들면, 혈소판에 의한 TXA_2 (thromboxane A_2)의 생산이나, 혈관내피세포에 의한 항 혈전 prostacycline의 생산, 소화기 점막에서의 cytoprotective prostanoid 생산, 신장에서의 신혈류조절작용을 갖는 prostanoid의 생산 등이며, COX-1 유전자 역시 다른 일반적인 "House keeping genes"의 특징인 TATA-less promoter를 가지는 것으로 알려져 있다. COX-2는 각종의 cytokine, 성장인자, 그람음성균세포의 세포벽구성성분인 LPS (lipopolysaccaride), phorbol ester, cAMP elevating agent, 그리고 몇몇 G-protein 관련시약 등에 대하여 반응하여 즉각적으로 유도되어짐이 알려져 있다.[9-11] 따라서 COX-1에 영향이 없으면서 COX-2에 특이적으로 저해하는 약의 개발은 "부작용이 없는 새로운 NSAID"로 될 수 있다는 기대감으로 최근 활발히 연구되어 Celebrex, Vioox 등이 개발되어 현재 임상에 사용되고 있다. 또한 5-LO에 의해 생성되는 LTB_4는 호중구의 주화성 인자로, LTC_4 및 LTD_4는 강력한 기관지 평활근 수축작용이 있어 천식과 같은 알레르기 염증질환에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 현재까지 개발된 항염증제 및 개발 중인 항 염증제는 주로 COX-2 선택적 저해제이며 그 외 COX-2와 LOX 동시 저해제, LTs 생합성 저해제, LTC_4, LTD_4 길항제, PLA_2 저해제, PAF길항제 및 PAF 생합성 저해제, 세포 adhesion molecule 길항제 및 발현 조절제, 염증성 cytokine저해제 및 이들에 대한 항체등을 들 수 있다.

세포가 자극을 받을 때 인지질로부터 생성되는 PAF는 극히 미량으로 혈소판을 활성화시키며, 또한 염증, 알러지반응, 기관지 천식, 혈압강하, 패혈증등 각종 질환에 직·간접적으로 관여함이 밝혀진 이래 세계적으로 많은 연구소, 제약회사에서 PAF길항제 발견이 새로운 치료약으로 개발될 수 있다는 기대감으로 많은 연구가 활발히 수행되어 왔다.[12,13] 최근에는 PAF길항제 개발이외도 PAF의 생합성의 율속 효소인 lyso PAF-acetyltransferase (lyso PAF-AT) 저해제를 찾아서 새로운 의약품을 개발하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 본 연구자는 이 효소의 저해제를 검색하던 중 luteolin 등과 같은 flavonoid에서 저해활성을 발견하여 보고하였다.[14]

쥐 골수세포에 interleukin-3 (IL-3)존재 하에서 배양하면 특이적으로 비만세포가 분화됨이 알려져 있으며, 쥐 골수유래비만세포 (bone marrow-derived mast cells, BMMC)는 IL-10, IL-1β의 혼합조건에서 *c-kit* ligand (KL) 또는 FcεRI 교차에 의하여 활성화되면 COX-2의 발현과 함께 prostaglandin D_2 (PGD_2) 및 5-LO에 의한 LTC_4의 생성 및 내재성 cytokine의 발현 등이 유도된다고 보고되었다.[15,16] 특히, arachidonic acid cascade 대사산물이나 cytokine의 장시간의 점진적인 생산, 유리는 기관지 천식이나, 아토피성 피부염과 같은 만성적인 알러지환자의 상태를 반영하는 것이기 때문에, 최근에는 비만세포 활성화시의 변화와 분자기전에 대한 관심이 높아지고 있다.

본 연구자 등은 이미 BMMC 배양계를 이용하여 COX-2의 선택적인 제해제인 rutaecarpine을 발견하였으며,[17] 또한 *in vitro* 검색계를 이용하여 type IIA $sPLA_2$의 선택적인 저해제인 ochnaflavone 발견하여 보고한바 있다.[18] 또한 저자 등은 이미 천연물에서 PLA_2 및 COX-2 저해물질에 대한 검색결과를 보고한 바 있다.[20,21]

이상에서 기술한 것과 같이 본 연구진은 지금까지 천연물에서 성분의 분리 및 구조결정에 관한 다년간의 경험을 바탕으로 *in vitro* 검색계를 사용하여 195종의 자생식물로부터 새로운 항 염증 작용을 나타내는 자생식물의 발굴을 통하여 새로운 치료제 개발에 필요한 기초적인 자료를 제공하려고 한다.

재료 및 방법

시료의 조제

건조한 시료 100 g을 메타놀 (methanol)로 3시간 3회 열추출하고, 이 추출액을 농축 건조하여 이를 저해제 검색에 사용하였다.

실험재료 – 본 연구에 사용한 생약은 의성, 봉화 약초시험장 시험포에서 수집하였으며, 본 논문의 공동저자인 배기환 교수가 감정하여 실험재료로 사용하였다.

시약 – Recombinant mouse *c-Kit* ligand (KL), IL-10, aspirin은 Sigma Chemical사 (St. Louis, MO), IL-1β, IL-3, WEHI-3 cell는 일본 Showa 대학 Kudo Ichiro 교수로부터, Lipopolysaccaride (LPS)는 Difco Laboratories사 (Detroit, MI), RPMI-1640 Medium은 GIBCO BRL사, Fetal bovine serum (FBS)는 Hyclone사, LTC_4 및 PGD_2 EIA kit (Cayman사), BCA Protein Assay Reagent는 PIERCE사, dimethylsulfoxide (DMSO)는 MERCK사에서 구입하여 사용하였으며, [^{3}H]acetyl Coenzyme A (Amersham사), Tris (hydroxymethyl) aminomethane, $CaCl_2$등은 Sigma사로부터, 1.4-bis[2-(phenyloxazolyl)]-benzene(POPOP), 2,5-diphenyloxazole (DPO)는 Dojin사로부터 구입하여 사용하였으며, 이외의 모든 시약은 특급품을 사용하였다.

Human secretory Phospholipase A_2-IIA ($sPLA_2$-IIA) 조제

$sPLA_2$-IIA의 유전자 (450 b.p)를 함유한 PUC 119 plasmid

(PCU 119-hIIPLA$_2$)로부터 insect cell expression vector인 PVL 1392 vector에 subcloning한 후 insect cell인 SF 9 cell에 감염시켜 (Low Temp. Incubator, 27°C) Grace's insect medium (Invitroge사)/10% FCS로 배양한 후, 배양액중에 분비되는 정제하여 효소원으로 사용하였다.

Phospholipase A_2 활성의 측정

PLA_2 활성 측정은 100 mM Tris-HCl(pH 9.0), 6 mM $CaCl_2$, 기질 2.5 μM 1-acyl-2-[1-^{14}C] arachidonoyl-sn-glycerolphosphoethanolamine (48 mCi/m mole, NEN) 및 효소(10 ng) 및 천연물 추출액 2.5 μg/ml를 함유한 반응액을 37°C로, 지정된 시간 동안 반응한 후, 생성된 [^{14}C]유리지방산을 Dole등의 방법[21]에 따라 추출하여 liquid scintillation counter Minaxi Tri-Carb, Packard, USA)로 측정하여 PLA_2 활성으로 환산하였다. 검체는 (2.5 μg/ml) 15 분간 전 처리한 하였다. 본 실험에 사용한 검체는 전부 DMSO에 녹여서 사용하였다.

Mouse Bone Marrow Derived Mast Cell (BMMC)의 배양 및 활성화

Male BALB/cJ mice로부터 채취한 골수세포는 50% enriched medium(RPMI 1640 containing 100 units/ml penicillin, 100 μg/ml streptomycin, 10 mg/ml gentamycin, 2 mM L-glutamine, 0.1 mM nonessential amino acids and 10% fetal bovine serum)과 IL-3의 공급원으로 50% WEHI-3 cell-conditioned medium을 사용하여 배양하면 약 4주 후 98% 이상의 BMMC를 얻을 수 있었으며, 4주 후의 세포를 사용하였다.

COX-2 활성의 측정

BMMC내의 COX-1를 불 활성화시키기 위하여 BMMC를 미리 1×10^7 cells/ml 농도로 하여 10 μg/ml aspirin으로 2시간동안 배양한 후 COX-2 발현을 위하여 BMMC를 enriched medium으로 3회 세척한다. 이후 1×10^6 cells/ml 농도로 하여 100 ng/ml KL (*c-kit* ligand), 100 U/ml IL-10, 5 ng/ml IL-1β, 100 ng/ml LPS 및 메타놀 추출물의 혼합조건에서 37°C CO_2 inubator내에서 8 시간 동안 배양하였다. 반응은 120×g, 4°C에서 5 분간 원심분리 하여 종결시키며, 원심분리 후 상층액을 PGD_2 유리량의 측정에 이용하였다. 배양상등액내의 PGD_2는 EIA kit (Cayman사)를 사용하여 ELISA법으로 측정하여 COX-2의 저해활성을 검토하였다. PGD_2 assay kit (Amersham, Buckinghamshire, UK)를 사용하여 측정한 후 COX-2 활성으로 환산하였다. 이때 검체는 (12.5 μg/ml) 10 분간 전 처리하였다.

5-LO 활성의 측정

상기 방법으로 BMMC에 KL 혼합자극제를 처리하여 30분 후 배양 상등액 중의 LTC_4를 EIA kit (Cayman사)를 사용하여 ELISA법으로 측정하여 5-LO 활성으로 환산하였다. 이때 검체는 (25 μg/ml) 5 분간 전 처리하였다.

Lyso PAF-acetyltransferse 효소원 조제

효소원으로서는 rat 비만세포 유래의 cell line인 RBL-2H3를 대량 배양하여 homogenize한 후 100,000×g로 원심분리하여 pellet를 이용하였다.

Lyso PAF-acetyltransferse의 활성 측정

RBL cell lysate, [^{3}H] acetyl CoA , lyso PAF 및 100 mM Tris-HCl (pH 6.9)를 가하여 37°C 10분 반응시킨 후 생성되는 [^{3}H] acetyl PAF를 유기용매법으로 추출한 후 액체 scintillation counter로 측정한다. 이때 검체는 (50 μg/ml) 2분간 전 처리한 후 [^{3}H] PAF생성량을 측정하였다.

결과 및 고찰

국내 자생하는 식물을 무작위로 195종을 선택하여, 유기용매법으로 추출한 후 염증반응에 직, 간접적으로 관여하고 있음이 알려진 아라키돈산 대사계에 관련된 효소들의 저해활성을 검색한 결과를 Table I에 요약하였다.

Table I의 결과에 사람 재조합 group IIA PLase A_2 및 랫트 유래의 비만세포주인 RBL-2H3 cell lysat를 효소원으로 그리고 쥐 골수에서 분화시킨 비만세포계를 이용하여 검색한 결과 강한 저해활성을 나타내는 식물은 다음과 같다.

1. Group IIA에 90% 이상 강한 저해활성을 나타내는 식물로는 모란(*Paeonia suffructicosa*), 쥐손이풀(*Geranium sibiricum*), 석결명(*Cassia occidentalis*), 대극(*Euphorbium pekinensis*), 호장(*Reynoutria japonica*), 이삭여뀌(*Persicaria filiformis*)등 6종류이었다.

2. PAF 생합성에 70% 이상 강한 저해활성을 나타내는 식물로는 강활(*Angelica koreana*), 달맞이꽃(*Oenothera odorata*), 진달래(*Rhododendron mucronulatum*), 범부채 (*Belamcanda chinensis*), 박하(*Mentha arvensis*), 호장 (*Reynoutria japonica*), 고본(*Angelica tenuissima*), 좁쌀풀 (*Lysimachia dahurica*), 유럽감초(*Glycyrrhiza glabra*), 이삭여뀌(*Persicaria filiformis*) 등 10종류이었다.

3. COX-2에 60% 이상 강한 저해활성을 나타내는 식물로는 의성개나리(*Forsythia viridissima*), 적하수오 (*Pleuropterum multiflorum*), 맥문동(*Liriope platyphylla*), 강활(*Angelica koreana*), 삽주(*Atractylodes japonica*), 큰까치수염

Table I. Inhibitory activity of methanol extract of medicinal plants against secretory group II phospholipase A_2 ($sPLA_2$-IIA) cycloxygenase-2 COX-2), 5-lipoxygenase (5-LO) and lyso PAF-acetyltransferase (Lyso PAF-AT)

Korean name (part)	Scientific name (family)	$sPLA_2$-IIA	Lyso-PAF-AT	COX-2	5-LO
		Final concentration (μg/ml)			
		2.5	50	12.5	25
		Inhibition (%)			
제비꽃(전초)	*Viola mandshurica* (제비꽃과)	33.2	13.6	0.0	52.7
제비꽃(지상부)	*Viola mandshurica* (제비꽃과)	11.0	17.1	0.0	83.1
씀바귀(전초)	*Ixeris dentata* (국화과)	50.4	33.9	0.0	21.1
삼백초(전초)	*Saururus chinensis* (삼백초과)	74.7	47.9	46.5	42.8
죽자초(잎)	*Macleaya cordata* (양귀비과)	0.0	0.0	0.0	40.6
도라지(뿌리)	*Platycodon gradiflorum* (초롱꽃과)	0.0	10.5	31.5	44.4
긴강남차(종자)	*Cassia tora* (콩과)	45.5	45.4	11.1	26.8
모란(뿌리)	*Paeonia suffructicosa* (작약과)	95.8	43.4	26.4	0s.0
모란(꽃)	*P. suffructicosa* (작약과)	98.3	22.5	22.9	0.9
목향(뿌리)	*Inula helenium* (국화과)s	77.3	0.0	25.6	0.0
치커리(뿌리)	*Cichorium intybus* (국화과)	0.0	2.8	4.7	62.6
개박하(지상부)	*Nepeta cataria* (꿀풀과)	0.0	18.9	0.0	32.2
의성개나리(열매)	*Forsythia viridissima* (물푸레나무과)	20.3	35.6	61.1	4.7
적하수오(뿌리)	*Pleuropterum multiflorum* (마디풀과)	36.7	0.0	62.0	0.0
쥐손이풀(전초)	*Geranium sibiricum* (쥐손이풀과)	97.4	65.0	0.0	34.7
석결명(종자)	*Cassia occidentalis* (콩과)	94.5	64.1	38.4	0.0
사철쑥(전초)	*Artemissia capillaris* (국화과)	60.9	38.1	36.2	16.5
사철쑥(지상부)	*Artemisia capillaris* (국화과)	2.0	31.4	17.4	24.9
강활(뿌리)	*Angelica koreana* (미나리과)	54.0	79.3	73.0	9.9
삽주(뿌리줄기)	*Atractylodes japonica* (국화과)	23.8	54.9	75.2	21.1
부자(뿌리줄기)	*Aconitum carmichaelli* (미나리아재비과)	18.7	12.9	28.2	28.3
산초나무(열매)	*Zanthoxylum schinifolium* (운향과)	38.4	24.0	6.1	11.6
양하(뿌리줄기)	*Zingibera mioga* (생강과)	15.7	41.5	25.9	0.0
노랑붓꽃(전초)	*Iris koreana* (국화과)	8.7	2.4	0.0	0.0
오갈피나무(잎)	*Acanthopanax sessiliflorus* (두릅나무과)	1.9	3.8	10.6	33.6
오갈피나무(열매)	*A. sessiliflorus* (두릅나무과)	0.0	24.7	21.3	41.3
은방울꽃(지상부)	*Convallaria keiskei* (백합과)	5.8	18.5	18.7	45.9
은방울꽃(지하부)	*C. keiskei* (백합과)	0.0	13.1	28.5	48.0
짚신나물(전초)	*Agrimonia pilosa* (장미과)	82.8	55.3	0.0	0.0
달맞이꽃(전초)	*Oenothera odorata* (바늘꽃과)	75.8	96.0	0.0	0.0
운향(지상부)	*Ruta graveolens* (운향과)	9.5	0.7	11.8	0.9
부용(지상부)	*Hibiscus sinensis* (아욱과)	14.4	21.1	0.0	66.2
오이풀(종자)	*Sanguisorba officinalis* (장미과)	40.2	32.3	0.0	11.6
무화과나무(가지)	*Ficus carica* (뽕나무과)	48.5	1.4	42.6	8.2
무화과나무(잎)	*Ficus carica* (뽕나무과)	16.4	37.9	0.0	0.0
능소화(잎)	*Campsis grandiflora* (능소화과)	35.8	6.1	0.0	0.0
으름덩굴(잎)	*Akebia quinata* (으름덩굴과)	31.7	38.6	22.3	0.0
돌외(잎)	*Gynostemma pentaphyllum* (박과)	0.3	9.8	9.1	57.7
참쑥(지상부)	*Artemisia lavandulaefolia* (국화과)	5.5	0.0	0.0	51.1
목화(잎)	*Gossypium indicum* (아욱과)	49.7	40.6	0.0	0.0
벌개미취(전초)	*Gymnaster koraiensis* (국화과)	4.1	14.4	1.2	36.0

Table I. Continued

Korean name (part)	Scientific name (family)	$sPLA_2$-IIA	Lyso-PAF-AT	COX-2	5-LO
		Final concentration (μg/ml)			
		2.5	50	12.5	25
		Inhibition (%)			
접시꽃(전초)	*Althea rosea* (아욱과)	12.2	0.0	5.7	0.0
백선(뿌리)	*Dictamnus dasycarpus* (운향과)	2.6	0.0	12.2	2.8
진달래(가지)	*Rhododendron mucronulatum* (진달래과)	6.9	78.9	18.8	0.0
배초향(지상부)	*Agastache rugosa* (꿀풀과)	13.3	50.2	17.1	82.0
개미취(뿌리)	*Aster tataricus* (국화과)	13.9	58.9	36.2	49.9
마삭줄(줄기)	*Trachelospermum asiaticum* (협죽도과)	0.0	0.0	39.1	28.2
고사리(전초)	*Pteridium aqulinum* var. *latiusculum* (고사리과)	9.8	23.3	24.7	0.0
절굿대(뿌리)	*Echinops setifer* (국화과)	8.1	3.2	32.3	9.9
윤판나물(전초)	*Disporum sessile* (백합과)	13.4	38.4	7.9	33.4
배암차즈기(전초)	*Salvia plebeia* (꿀풀과)	4.3	27.2	3.5	37.2
할미꽃(뿌리)	*Pulsatilla koreana* (미나리아재비과)	0.1	0.0	0.0	6.4
벌노랑이(전초)	*Lotus corniculatus* var. *japonicus* (콩과)	7.5	0.0	30.7	0.0
붓꽃(전초)	*Iris sanguinea* (붓꽃과)	5.9	40.1	3.5	36.0
석곡(전초)	*Dendrobium nobile* (난초과)	5.8	1.9	14.2	0.0
구절초(전초)	*Chrysanthemum zawadskii* var. *latilobum* (국화과)	3.3	0.0	10.4	0.0
다래나무(잎)	*Actinidia arguta* (다래나무과)	12.3	38.3	0.0	0.0
방울빗자루(전초)	*Asparagus oligoclinos* (백합과)	20.6	48.3	0.0	0.0
큰까치수염(전초)	*Lasymachia barystachys* (앵초과)	60.3	61.9	62.4	0.0
우엉(지상부)	*Arctium lappa* (국화과)	4.2	23.4	9.7	15.1
우산나물(지상부)	*Syneiles palmata* (국화과)	0.0	38.3	0.0	80.4
차즈기(전초)	*Perilla frutescens* var. *acuta* (꿀풀과)	29.6	57.1	0.0	0.0
컴프리(전초)	*Symphytum officinale* (지치과)	38.1	51.0	12.0	0.0
컴프리(뿌리)	*Symphytum officinale* (지치과)	3.8	19.6	30.1	44.8
참죽나무(잎)	*Cedrela sinensis* (멀구슬나무과)	38.8	60.8	0.0	0.0
왕원추리(뿌리)	*Hemerocallis fulva* var. *kwanso* (백합과)	31.5	20.4	0.0	0.0
타래붓꽃(전초)	*Iris pallasi* var. *chinensis* (붓꽃과)	21.4	57.0	0.0	0.0
황정(뿌리줄기)	*Polygonatum sibiricum* (백합과)	25.7	24.2	0.0	9.9
지황(잎)	*Rehmania glutinosa* (현삼과)	0.0	0.0	0.0	30.8
머루(잎)	*Vitis coignetiae* (포도과)	11.1	21.3	9.1	60.2
약메밀(지상)	*Houttuynia cordata* (삼백초과)	5.9	28.2	0.0	0.0
소리쟁이(뿌리)	*Rumex crispus* (마디풀과)	18.7	26.2	10.6	0.0
술패랭이꽃(지상부)	*Dianthus superbus* var. *longicalycinus* (패랭이꽃과)	5.0	0.0	0.0	84.8
골담초(뿌리)	*Caragana sinica* (콩과)	8.8	28.9	0.0	13.3
범부채(열매)	*Belamcanda chinensis* (붓꽃과)	71.8	83.1	0.0	19.6
대극(잎)	*Euphorbium pekinensis* (대극과)	91.5	12.6	0.0	83.1
솜양지꽃(전초)	*Potentilla discolor* (국화과)	53.5	25.3	0.0	0.0
제충국(전초)	*Chrysanthemum cinerariaefolium* (국화과)	0.0	37.9	48.0	82.0
익모초(전초)	*Leonurus sibiricus* (꿀풀과)	30.2	56.0	0.0	0.0
익모초(지상부)	*Leonurus sibirica* (꿀풀과)	21.4	49.4	4.7	68.8
갯기름나물(뿌리)	*Peucedanum japonicum* (미나리과)	17.1	0.0	10.4	0.0
참나물(지상부)	*Pimpinella brachycarpa* (미나리과)	15.1	9.7	7.7	61.8
묏대추나무(열매)	*Zizyphus jujuba* (갈매나무과)	0.0	16.3	31.8	24.9

Table I. Continued

Korean name (part)	Scientific name (family)	$sPLA_2$-IIA	Lyso-PAF-AT	COX-2	5-LO
		Final concentration (μg/ml)			
		2.5	50	12.5	25
		Inhibition (%)			
산딸기(열매)	*Rubus crataegifolius* (장미과)	0.0	21.4	4.7	61.0
부추(전초)	*Allium tuberosum* (백합과)	14.6	0.0	1.6	0.0
토천궁(뿌리)	*Cnidium officinale* (미나리과)	0.0	24.5	0.0	70.1
지모(뿌리)	*Anemarrhena asphodeloides* (지모과)	23.2	55.1	0.0	0.0
꽈리(전초)	*Physalis alkekengi* var. *franchelli* (가지과)	0.0	41.0	29.6	26.4
박하(전초)	*Mentha arvensis* (꿀풀과)	59.7	74.0	0.0	0.0
층층등글레(지하부)	*Polygonatum stenophyllum* (백합과)	0.0	19.5	35.0	43.6
산부추	*Allium thunbergii* (백합과)	27.5	12.5	21.3	0.0
겨자무(지상부)	*Armoracia lapathifolia* (십자화과)	0.0	23.9	29.6	60.2
겨자무(잎)	*A. lapathifolia* (십자화과)	0.0	35.3	37.1	52.1
엉겅퀴(뿌리)	*Cirsium maackii* (국화과)	7.1	27.9	0.0	50.0
산옥잠화(잎)	*Hosta lancifolia* (백합과)	8.2	32.2	0.0	57.7
대황(잎)	*Rheum undulatum* (마디풀과)	3.4	36.6	0.0	45.9
독활(잎)	*Aralia cordata* (두릅나무과)	7.9	0.0	0.0	38.3
독활(종자)	*A. cordata* (두릅나무과)	8.3	68.5	3.1	11.6
독활(열매)	*A. cordata* (두릅나무과)	3.3	59.8	0.0	43.6
향부자(뿌리줄기)	*C. rotundus* (사초과)	12.4	18.5	10.6	43.6
향부자(종자)	*Cyperus rotundus* (사초과)	0.0	41.6	13.4	55.9
회향(지상부)	*Foeniculum vulgare* (미나리과)	6.8	37.3	0.0	0.0
부처손(전초)	*Selaginella tamariscina* (부처손과)	6.1	19.8	0.0	57.7
꽈리(잎)	*Physalis franchetii* (가지과)	49.7	36.5	0.0	0.0
마(잎)	*Dioscorea opposita* (마과)	1.5	34.7	25.0	41.3
황기(뿌리)	*Astragalus membranceous* (콩과)	13.6	7.6	28.2	0.0
산뽕나무(잎)	*Morus bombycis* (뽕나무과)	7.5	23.2	0.0	76.6
톱풀(전초)	*Achillea alpina* (국화과)	23.7	45.4	0.0	0.0
돌나물(전초)	*Sedum lineare* var. *contractum* (돌나물과)	0.0	20.8	22.5	38.8
호장(잎)	*Reynoutria japonica* (마디풀과)	91.6	77.5	0.0	0.0
호장근(뿌리)	*Reynoutria japonica* (마디풀과)	29.1	67.2	47.2	0.0
호장근(지상부)	*R. japonica* (마디풀과)	44.0	50.0	48.0	68.8
오미자(잎)	*Schizandra chinensis* (목련과)	66.2	47.6	0.0	0.0
감국(지상부)	*Chrysanthemum indicum* (국화과)	7.5	22.4	0.0	71.9
율무(지상부)	*Coix lachryma-jobi* var. *mayuen* (벼과)	44.6	31.3	0.0	68.8
산초(잎)	*Zanthoxylum schniflorum* (운향과)	27.5	12.5	21.3	0.0
애기똥풀(지상부)	*Chelidonium majus* (양귀비과)	0.0	12.0	0.0	55.0
마타리(전초)	*Patrinia scabiosaefolia* (마타리과)	16.0	26.1	33.6	0.0
가는기린초(지상부)	*Sedum aizoon* (돌나물과)	28.2	38.5	0.0	56.8
갯기름나물(지상부)	*Peucedanum japonicum* (미나리과)	3.9	9.9	34.0	50.1
쇠무릎(지상부)	*Achyrnathes japonica* (비름과)	0.2	48.4	39.0	23.4
머위(지상부)	*Petasites japonica* (국화과)	6.1	58.7	21.3	11.6
속새(지상부)	*Equisetum hiemale* (속새과)	6.1	26.3	20.0	32.2

Table I. Continued

Korean name (part)	Scientific name (family)	$sPLA_2$-IIA	Lyso-PAF-AT	COX-2	5-LO
		Final concentration (μg/ml)			
		2.5	50	12.5	25
		Inhibition (%)			
산꼬리풀(전초)	*Veronica rotunda* var. *subintegra* (현삼과)	47.3	66.2	17.4	50.1
하수오(잎)	*Pleuroopterus multiflorum* (마디풀과)	3.0	31.7	31.8	24.9
맑은대쑥(전초)	*Artemisia keiskeana* (국화과)	0.0	31.7	0.0	66.2
만년청(잎)	*Rohdea japonica* (백합과)	5.0	23.2	0.0	0.0
구기자(줄기)	*Lycium chinensis* (가지과)	2.3	50.6	0.0	50.1
구기자(열매)	*L. chinensis* (가지과)	0.5	12.9	11.7	6.0
구기자(잎)	*L. chinensis* (가지과)	11.4	30.1	0.0	58.5
창포(잎)	*Acorus calamus* (천남성과)	38.0	24.8	0.0	18.1
영춘화(지상부)	*Jasminum nudiflorum* (물푸레나무과)	0.0	11.1	0.0	5.9
좁쌀풀(전초)	*Lysimachia dahurica* (앵초과)	65.5	85.2	13.4	2.8
닥풀(잎)	*Hibiscus manihat* (아욱과)	15.1	43.8	0.0	4.6
닥풀(꽃)	*H. manihot* (아욱과)	5.4	0.0	1.5	24.9
참취(전초)	*Aster tartaricus* (국화과)	0.7	0.0	17.1	49.1
고삼(뿌리)	*Sophora flavescens* (콩과)	17.0	39.7	22.1	55.9
황금(지상부)	*Sophora baicalensis* (꿀풀과)	1.9	58.9	25.6	18.5
참나리(지상부)	*Lilium tigninum* (백합과)	0.0	32.0	35.4	0.0
고본(뿌리)	*Angelica tenuissima* (미나리과)	0.0	85.1	0.0	0.0
천남성(열매)	*Arisaema japonicum* (천남성과)	0.8	7.0	33.3	34.9
박주가리(지상부)	*Metaplex japonica* (박주가리과)	4.9	39.4	0.0	0.0
긴강남콩(종자)	*Cassia tora* (콩과)	0.0	29.6	26.8	16.8
맥문동(열매)	*Liriope platyphylla* (백합과)	0.0	0.7	36.4	0.0
맥문동(전초)	*Liriope platyphylla* (백합과)	0.0	30.7	0.0	8.2
고비(지상부)	*Osmunda japonica* (고비과)	4.1	14.6	23.3	33.6
금불초(지상부)	*Inula japonica* (국화과)	9.4	29.7	0.0	7.9
고려엉겅퀴(지상부)	*Cirsium setidens* (국화과)	14.4	21.1	0.0	66.2
까치수염(지상부)	*Lysimachia barystachys* (앵초과)	21.4	35.1	7.5	60.2
큰꿩의비름(전초)	*Sedum spectabile* (돌나물과)	18.1	1.0	15.8	33.6
더위지기(전초)	*Artemisia iwayomogi* (국화과)	0.0	0.0	20.9	0.0
닭의장풀(잎)	*Commelia communis* (닭의장풀과)	0.0	0.0	20.9	0.0
닭의장풀(꽃)	*C. communis* (닭의장풀과)	0.0	0.0	6.0	16.8
두메부추(전초)	*Allium senescens* (백합과)	0.3	28.9	27.9	0.0
도꼬마리(열매)	*Xanthium stromarium* (국화과)	0.0	38.3	0.0	44.8
토목향(뿌리)	*Inula helenium* (국화과)	0.0	36.1	41.2	0.0
만삼(지상부)	*Codonopsis pilosula* (도라지과)	0.0	20.0	48.1	32.2
메발톱꽃(전초)	*Aquilegia buergeriana* var. *oxysepala* (미나리아재비과)	0.0	49.7	13.1	0.0
민들레(지상부)	*Taraxacum platycarpum* (국화과)	0.0	33.8	11.7	41.3
부채마(지상부)	*Dioscorea nipponica* (마과)	2.6	48.8	56.9	86.0
뱀무(지상부)	*Geum japoicum* (장미과)	19.6	47.4	3.1	52.2
천문동(뿌리줄기)	*Asparagus cochinchinensis* (백합과)	22.8	28.6	0.0	0.0
무릇(지상부)	*Scilla scilloides* (백합과)	10.8	26.7	11.8	0.0
무릇(종자)	*Scilla scilloides* (백합과)	0.0	19.4	18.7	2.0
뱀딸기(지상부)	*Duchesnea chrysantha* (장미과)	2.8	36.6	19.6	72.4

Table I. Continued

Korean name (part)	Scientific name (family)	$sPLA_2$-IIA	Lyso-PAF-AT	COX-2	5-LO
		Final concentration (μg/ml)			
		2.5	50	12.5	25
		Inhibition (%)			
산국(꽃)	*Chrysanthemum boreale* (국화과)	10.4	21.2	0.0	60.2
삼지구엽초(지상부)	*Epimedium koreanum* (매자나무과)	16.3	29.1	35.0	80.5
산마늘(뿌리)	*Allium ochotense* (백합과)	2.5	0.0	0.0	20.2
질경이(지상부)	*Plantago asiatica* (질경이과)	14.9	0.0	9.1	60.2
질경이(종자)	*Plantago asiatica* (질경이과)	3.7	41.4	10.6	0.0
질경이(전초)	*Plantago asiatica* (질경이과)	28.4	14.2	7.6	0.0
토목향(뿌리)	*Inula helenium* (국화과)	0.0	36.1	41.2	0.0
작두콩(지상부)	*Canavalia gladiata* (콩과)	11.4	37.8	14.8	80.0
작두콩(열매)	*C. gladiata* (콩과)	8.0	17.1	21.3	38.8
잔대(뿌리)	*Adenophola triphylla* (도라지과)	1.9	0.0	0.0	30.8
옥잠화(전초)	*Hosta plantaginea* (백합과)	9.7	2.2	0.0	0.0
유럽감초(뿌리)	*Glycyrrhiza glabra* (콩과)	34.1	37.5	0.0	0.0
유럽감초(종자)	*G. glabra* (콩과)	48.7	71.4	15.9	19.6
만삼(지상부)	*Codonopsis pilosula* (도라지과)	0.0	20.0	48.1	32.2
새모래덩굴(줄기)	*Menispermum dahuricum* (새모래덩굴과)	6.2	8.0	9.1	48.0
중나리(전초)	*Lilium pseudo-tigrinum* (백합과)	18.2	12.4	4.7	67.6
쥐손이풀(지상부)	*Geranium sibiricum* (쥐손이풀과)	66.0	45.3	6.2	54.0
뚝갈(전초)	*Patrinia villosa* (마타리과)	3.6	24.6	45.9	0.0
꼬리풀(전초)	*Veronica linariaefolia* (현삼과)	41.5	37.2	38.4	0.0
소회향(열매)	*Foeniculum vulgare* (미나리과)	8.5	1.8	1.6	52.1
구릿대(뿌리)	*Angelica dahurica* (미나리과)	23.0	50.6	33.1	0.0
일천궁(지상부)	*Ligusticum officinale* (미나리과)	12.6	62.8	9.1	67.5
당귀(열매)	*Angelica japonica* (미나리과)	26.3	48.7	11.8	0.9
일당귀(지상부)	*Angelica acutiloba* (미나리과)	1.0	21.5	0.0	71.3
이삭여뀌(지상부)	*Persicaria filiformis* (마디풀과)	92.5	70.8	6.2	30.8
물봉선(지상부)	*Impatiens textori* (봉선화과)	62.0	56.9	26.2	61.0
홀아비꽃대(지상부)	*Chlolanthus japonicus* (홀아비꽃대과)	2.8	41.2	0.0	78.4
골잎원추리(전초)	*Hemerocallis coreana* (백합과)	20.3	34.0	0.0	0.0
골잎원추리(지하부)	*Hemerocallis coreana* (백합과)	10.3	27.7	0.0	6.0
패랭이꽃(전초)	*Dianthus chinensis* (패랭이꽃과)	23.8	35.5	0.0	0.0

(*Lasymachia barystachys*)등 6종류이었다.

4. 5-LO에 대하여 80% 이상 강한 저해활성을 나타내는 식물로는 배초향(*Agastache rugosa*), 우산나물(*Syneiles palmata*), 술패랭이꽃(*Dianthus superbus* var. *longicalycinus*), 대극(*Euphorbium pekinensis*), 제충국(*Chrysanthemum cinerariaefol*), 제비꽃(*Viola mandshurica*), 부채마(*Epimedium koreanum*), 삼지구엽초(*Epimedium koreanum*), 작두콩(*Canavalia gladiata*)등 9종류이었다.

5. 비록 각각의 효소에 대하여 강한 저해활성은 나타내지 않았지만 아라키돈산 대사계효소 전반에 걸쳐 비교적 강한 저해활성을 나타내는 식물로는 삼백초(*Saururus chinensis*), 개미취(*Aster tataricus*), 제충국(*Chrysanthemum cinerariaefolium*), 호장(*Reynoutria japonica*), 부채마(*Dioscorea nipponica*), 삼지구엽초(*Epimedium koreanum*), 물봉선(*Impatiens textori*), 산꼬리풀(*Veronica rotunda* var. *subintegra*)등 8종류이었다.

금후 아라키돈 대사계 관련효소에 대한 선택적인 저해제 개발이나 광범위한 저해 활성을 나타내는 물질을 찾고자 할 때는 상기의 식물을 중심으로 유기용매 분획법으로 분리한 검체를 사용하여 저해제를 검색하면 지금까지 보고된 저해

제와는 다른 구조를 가진 항염증 및 항알러지제의 개발이 가능하리라 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 21세기 프론티어연구개발사업인 자생식물이용기술개발사업단의 연구비(PF 002104-01)에 의해 수행되었기에 이에 감사를 드립니다.

인용문헌

1. Ishizaki, J., Suzuki, N., Higashino, K., Yokota, Y., Ono, T, Kawamoto, K., Fujii, N., Arita, H. and Hanasaki, K. (1999) Cloning and characterization of novel mouse and human secretory phospholipase A(2)s. *J. Biol. Chem.*. **274**: 24973-24979.
2. Valentin E., Koduri R.S., Scimeca J.C., Carle G., Gelb M.H., Lazdunski M. and Lambeau G. (1999) Cloning and recombinant expression of a novel mouse-secreted phospholipase A_2. *J. Biol. Chem.* **274**: 19152-19160.
3. Vadas, P., Pruzanski, P. (1986) Biology of diseases. Role of secretory phospholipase A_2 in the pathobiology of diseases. *Lab. Invest.* **55**: 391-404.
4. Chang, H. W., Kudo, I., Hara, S. and Inoue, K. (1986) Extracellular phospholipase A_2 activity in peritoneal cavity of casein-treated rats. *J. Biochem.* **100**: 1099-1101.
5. Hara, S., Kudo, I., Chang, H. W. and Inoue, K. (1989) Purification and characterization of extracellular phospholipase A_2 from human synivial fluid in rheumatoid arthritis. *J. Biochem.* **105**: 395-399.
6. Forster, S., Ilderton, E., Norris, JFB. and Yardley, H. J. (1985) Characterization and activity of phospholipase A_2 in normal human epidermis and in lesion-free epidermis of patients with psoriasis or eczema. *Br. J. Dermatol.* **112**: 135-147.
7. Kraemer, S.A., Meadde, E.A. and DeWitt, D.L. (1992) Prostaglandin endoperoxide synthase gene structure-identification of the transcriptional start site and 5'-flanking regulatory sequences. *Arch. Biochem. Bio. Phys.* **293**: 391-400
8. Morita, I., Schindler, M., Regier, M.K., Otto, J.C., Hori, T., DeWitt, D.L. and Smith, W.L. (1995) Different intracellular location for prostaglandin H synthase-1 and synthase-2. *J. Biol. Chem.* **270**: 10902-10908.
9. Pilbram, C.C., Kawaguchi, H., Hakeda, Y., Voznesensky, O., Alander, C. B. and Raisz, L.G (1993) Differential regulation of inducible and constitutive prostaglandin endoperoxide synthase in osteoblastic Mc 3T3-E1 cells. *J. Biol. Chem.* **268**: 25643-25649.
10. Pritchard Jr.K.A., O'Banion, M.K., Miano, J.M., Vlasic, N., Bhatia, U.G., Young, D.A. and Stemerman, M.B. (1994) Induction of cyclooxygenase-2 in rat vascular smooth-muscle cells *in-vitro* and *in-vivo*., *J. Biol. Chem.* **269**: 8504-8509.
11. Reddy, S.T. and Herschman, H.R. (1994) Ligand induced prostaglandin synthesis requires expression of the Tis10/Pgs-2 prostaglandin synthase gene in murine fibroblast and macrophages. *J. Biol. Chem.* **269**: 15473-15480.
12. Morley, J., Page, C. P., Mazzoni, L. and Sanjar, S. (1986) Effect of ketotifen upon responses to platelet activating factor: A basic for asthma prophylaxis. *Annals of Allergy*, **56**: 335-349.
13. Doebber, T. W., Wu, M.S., Robbins, J.C., Choy, B. M., Chang, M. N. and Shen, T. Y. (1986) Platelet activating factor(PAF) involvement in endotoxin-induced hypotension in rats. Studies with PAF-receptors antagonist Kadsurenone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **127**: 799-808.
14. Yanoshita R., Chang H.W., Son K.H., Kudo I. and Samejima Y (1996) Inhibition of lyso-PAF acetyltransferase activity by flavonoids. *Inflammation Res.* **45**: 546-549.
15. Murakami, M., Bingham, C.O., Matsumoto, R., Austen, K.F., and Arm, J.P. (1995) IgE-dependent activation of cytokine-primed mouse cultured mast cells induces a delayed phase of prostaglandin D_2 generation via prostaglandin endoperoxidase synthase-2. *J. Immunol.* **155**: 4445-4453.
16. Murakami, M., Matsumoto, R., Urade, Y., Austen, K.F., and Arm, J.P. (1995) c-Kit ligand mediates increased expression of cytosolic phopholipase A_2, prostaglandin endoperoxide synthase-1, and hematopoietic prostaglandin D_2 synthesis and increased IgE-dependent prostaglandin D_2 generation in immature mouse mast cells. *J. Biological Chem.* **270**: 3239-3246.
17. Moon, T.C., Murakami. M., Kudo, I., Son, K.H., Kim, H.P. and Chang H.W. (1999) A new class of COX-2 inhibitor, rutaecarpine from *Evodia rutaecarpa*. *Inflammation Res.* **48**: 621-635.
18. Chang, H. W., Baek, S. H., Chung, K. W., Son, K. H., Kim, H. P. and Kang, S. S. (1994) Inactivation of phospholipase A_2 by naturally occuring biflavonoid, ochnaflavone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **205**: 843-849.
19. Moon, T.C., Chung, K.W., Chung, K.C., Son, K.H., Kim, H.P., Kang, S.S., and Chang, H.W. (1997) Screening of inflammatory phospholipase A_2 inhibitors from natural products **41**(5): 565-570.
20. Moon, T.C., Chung, K.C., Son, K.H., Kim, H.P., Kang, S.S., and Chang, H.W. (1998) Screening of cyclooxygenase-2 inhibitors from natural products. **42**(2): 214-219.
21. Dole, V.P. and Meinertz, H. (1960) Microdetermination of long-chain fatty acids in plasma and tissue. *J. Biol. Chem.* **235**: 2595-2599.

(2002년 3월 6일 접수)