

식물추출물의 Matrix Metalloproteinase-2에 대한 저해활성

이상명 · 전효곤 · 이호재 · 이충환 · 김진희 · 고영희*

한국생명공학연구원

Inhibitory Activity of Plant Extracts on Matrix Metalloproteinase-2

SangMyung Lee, HyoKon Chun, HoJae Lee, ChoongHwan Lee, JinHee Kim and YungHee Kho*

Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, P.O. Box 115, Yusong, Taejeon 305-600, Korea

Abstract – The inhibitory effects of methanol extracts of 165 medicinal herbs on matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) activity were investigated. Amongst the herbal extracts, *Youngia denticulate*, *Platycarya strobilacea*, *Sedum kamschaticum*, *Euscaphis japonica*, and *Cornus controversa* showed a significant inhibitory effect with above 80% at 1 µg/ml. Above mentioned five kind extracts, which exclude polyphenols and/or tannin by techniques for their removal, showed a mild inhibitory effect on MMP-2 activity except for *Y. denticulate* at the same concentration.

Key words – matrix metalloproteinase-2, *Youngia denticulate*

암의 전이과정은 전이성 암세포가 최초발생부위에서 이 탈하여 주변조직으로 침윤하여 다른 부위에서의 증식에 의해 2차 종양을 형성하게 되는 일련의 과정에 의해 이루어진다. 즉, 전이 과정은 이동, 집착, 침윤의 세가지 주요 단계로 구성되며,¹⁾ 이 과정에 있어서 MMP-2를 포함한 여러 금속단백분해효소(matrix metalloproteinase, MMP)들은 암세포가 세포외기질(extracellular matrix, ECM) 과 기저막(basement membrane, BM)을 분해하여 암세포의 침윤을 유도하는데 중요한 역할을 한다.²⁾ MMPs는 ECM와 BM 성분의 분해에 관여하는 분비형 또는 막통과형 효소의 일군으로 구조와 기능적 특성에 따라 BM의 fibrillar collagen을 분해하는 collagenase 와 proteoglycan, glycoprotein 등을 분해하는 stromelysin, BM의 collagen과 gelatin을 분해하는 gelatinase, 그리고 membrane type MMP(MT-MMP) 등 크게 4개의 subfamily가 존재하며, 최근 collagenase-3 및 4개의 MT-MMP를 포함하여 17종류가 분리 확인 되었다.³⁾ 특히, 이들 효소 중 MMP-2와 MMP-9는 BM의 주성분인 type IV collagen을 분해하는 효소로서⁴⁾ B16-F10과 같은 고전이성 암세포주에서 과다 분비되는 것으로 알려져 있다.⁵⁾ 이와 같이 암세포의 생육이나 전이의 동물실험 모델에 있어서 MMP-2 및 MMP-9의 암세포전이 억제 표적 효소로서의

중요성이 평가됨에 따라 이 효소들의 저해제에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

저자 등은 식물성분으로부터 MMP-2 저해물질 탐색을 목적으로 국내에서 자생하는 식물 165종을 무작위로 선정하여 그의 MeOH 추출물들의 MMP-2에 대한 형광성기질 분해 저해활성을 검사하였다.

재료 및 방법

식물재료 – 실험에 사용한 165종의 시료는 전국의 산야에 자생하는 식물을 채취, 음건, 쇠질 후 메탄올에 냉침하여 그의 추출물을 감압 농축한 것이다. 이들 각 시료들은 다시 메탄올에 10 mg/ml로 희석하여 스크리닝실험에 사용하였다.

MeOH 추출물로부터 polyphenol성 화합물의 제거 – 각 시료들 중에 함유된 tannin 등의 polyphenol 화합물을 제거하기 위하여 Wall 등의 방법을 사용하였다.⁶⁾ 즉, 1 ml (10 mg/ml)의 식물 시료에 0.1 g의 vinylpyrrolidone (PVP) 0.1 g을 가하고 30분간 37°C에서 반응시킨 후 14000 g에서 20분간 원심분리하여 상등액을 취하여 감압건조 한 후 시료로 사용하였다.

시약 및 사용기기 – 시료 제조에 사용한 vinylpyrrolidone (PVP)는 Sigma, 기질분해 효소로 사용한 ProMMP-2는

*교신저자(E-mail) : ykko@mail.kribb.re.kr

Table I. Inhibitory effects of methanol extracts from medicinal plants on MMP-2

| Kor. name | Scientific name | Family name | Used part | MMP-2 inhibitor | |
|-----------|---------------------------------|-------------------|-------------|----------------------|------------------------|
| | | | | effect ¹⁾ | % ²⁾ |
| (참)오동나무 | <i>Paulownia tomentosa</i> | Scrophulariaceae | Stem | - | 10 ± 1.4 |
| (참)오동나무 | <i>Paulownia tomentosa</i> | Scrophulariaceae | Fruit | - | 12 ± 0.8 |
| (참)오동나무 | <i>Paulownia tomentosa</i> | Scrophulariaceae | Leaf | - | 5 ± 1.7 |
| (참)오동나무 | <i>Paulownia tomentosa</i> | Scrophulariaceae | Pericarp | + | 23 ± 1.2 |
| 갈매나무 | <i>Rhamnus davurica</i> | Rhamnaceae | Stem | - | -3 ± 0.9 |
| 갈매나무 | <i>Rhamnus davurica</i> | Rhamnaceae | Leaf | - | 4 ± 1.6 |
| 개감수 | <i>Euphorbia sieboldiana</i> | Euphorbiaceae | Whole | - | 13 ± 2.1 |
| 개구리발톱 | <i>Aquilegia adoxoides</i> | Ranunculaceae | Stem, Leaf | - | 20 ± 3.1 |
| 개대황 | <i>Rumex longifolius</i> | Polygonaceae | Root | - | 2 ± 1.0 |
| 개비자나무 | <i>Cephalotaxus koreana</i> | Taxaceae | Stem, Leaf | - | 14 ± 1.2 |
| 개시호 | <i>Bulpleurum longiradiatum</i> | Umbelliferaeaceae | Whole | - | 11 ± 0.2 |
| 개오동나무 | <i>Catalpa ovata</i> | Bignoniaceae | Stem | - | 3 ± 0.2 |
| 거지덩굴 | <i>Cayratia japonica</i> | Vitaceae | Whole | - | -10 ± 1.6 |
| 결명자 | <i>Cassiae tora</i> | Leguminosa | Root | ++ | 41 ± 2.7 |
| 결명자 | <i>Cassiae tora</i> | Leguminosa | Aerial part | + | 32 ± 2.1 |
| 고광나무 | <i>Philadelphus schrenckii</i> | Saxifragaceae | Leaf | - | 12 ± 0.9 |
| 고비 | <i>Osmunda japonica</i> | Osmundaceae | Aerial part | - | 3 ± 0.1 |
| 고비 | <i>Osmunda japonica</i> | Osmundaceae | Root | - | 15 ± 2.1 |
| 고추나물 | <i>Hypericum erectum</i> | Guttiferae | Whole | - | 10 ± 1.1 |
| 골풀 | <i>Juncus effusus</i> | Juncaceae | Whole | - | -12 ± 1.1 |
| 곰취 | <i>Ligularia fischeri</i> | Compositae | Whole | ++ | 42 ± 2.1 |
| 관중 | <i>Dryopteris crassirhizoma</i> | Aspidiaceae | Root | +++ | 74 ± 1.7 |
| 광대수염 | <i>Laminum barbatum</i> | Labiatae | Stem, Leaf | + | 38 ± 2.0 |
| 구절초 | <i>Chrysanthemum zawadskii</i> | Compositae | Whole | ++ | 54 ± 1.6 |
| 국수나무 | <i>Stephanandra incisa</i> | Rosaceae | Aerial part | - | 18 ± 1.9 |
| 굴거리나무 | <i>Daphniphyllum macropodum</i> | Euphorbiaceae | Fruit | - | 13 ± 1.1 |
| 굴피나무 | <i>Platycarya strobilacea</i> | Juglandaceae | Aerial part | ++++ (++) | 90 ± 2.1 (41 ± 1.6) |
| 금불초 | <i>Inula britannica</i> | Compositae | Whole | - | 1 ± 0.2 |
| 금창초 | <i>Ajuga decumbens</i> | Labiatae | Stem, Leaf | + | 23 ± 1.9 |
| 기린초 | <i>Sedum kamschaticum</i> | Crassulaceae | Whole | ++++ (++) | 89 ± 4.7 (43 ± 2.1) |
| 긴담배풀 | <i>Carpesium divaricatum</i> | Compositae | Whole | - | 16 ± 1.2 |
| 까마귀머루 | <i>Vitis thunbergii</i> | Vitaceae | Aerial part | - | 16 ± 2.1 |
| 꼭두서니 | <i>Rubia akane</i> | Rubiaceae | Root | ++ | 54 ± 2.3 |
| 꼭두서니 | <i>Rubia akane</i> | Rubiaceae | Aerial part | ++ | 43 ± 1.4 |
| 꽃향유 | <i>Elsholtzia splendens</i> | Labiatae | Whole | - | -2 ± 1.0 |
| 나도물통이 | <i>Nanocnide japonica</i> | Urticaceae | Whole | - | 12 ± 2.1 |
| 나도하수오 | <i>Pleuropterus cilinervis</i> | Polygonaceae | Root | - | 0 ± 0.3 |
| 나비나물 | <i>Vicia unijuga</i> | Leguminosa | Whole | - | -5 ± 3.2 |
| 노랑하늘타리 | <i>Trichosanthes</i> | Cucurbitaceae | Aerial part | - | -12 ± 6.1 |
| 노루발 | <i>Pyrola japonica</i> | Pyrolaceae | Whole | - | 10 ± 1.1 |
| 노루오줌 | <i>Astilbe chinensis</i> | Saxifragaceae | Root | - | 7 ± 2.3 |
| 노루오줌 | <i>Astilbe chinensis</i> | Saxifragaceae | Aerial part | - | 9 ± 2.1 |

Table I. Continued

| Kor. name | Scientific name | Family name | Used part | MMP-2 inhibitor | |
|-----------|-----------------------------------|------------------|-------------|----------------------|------------------------|
| | | | | effect ¹⁾ | % ²⁾ |
| 노박덩굴 | <i>Celastrus orbiculatus</i> | Celastraceae | Stem | + | 23 ± 1.1 |
| 녹나무 | <i>Cinnamomum camphora</i> | Lauraceae | Fruit | - | 0 ± 1.1 |
| 다래나무 | <i>Actinidia arguta</i> | Actinidiaceae | Stem | - | 0 ± 2.3 |
| 다릅나무 | <i>Maackia amurensis</i> | Fabaceae | Stem | - | -10 ± 3.2 |
| 까마귀쭈나무 | <i>Litsea japonica</i> | Lauraceae | Leaf | - | -13 ± 1.2 |
| 닥나무 | <i>Broussonetia kazinoki</i> | Moraceae | Leaf | - | -9 ± 1.0 |
| 단풍취 | <i>Ainsliaea acerifolia</i> | Compositae | Whole | - | 19 ± 2.1 |
| 단풍취 | <i>Ainsliaea acerifolia</i> | Compositae | Stem, Leaf | - | 10 ± 2.9 |
| 단풍취 | <i>Ainsliaea acerifolia</i> | Compositae | Root | - | 0 ± 1.1 |
| 달맞이꽃 | <i>Oenothera odorata</i> | Onagraceae | Aerial part | - | -1 ± 1.0 |
| 댕댕이덩굴 | <i>Cocculus trilobus</i> | Menispermaceae | Stem | - | 12 ± 3.1 |
| 덤불오리나무 | <i>Alnus fruticosa</i> | Betulaceae | Stem, Leaf | - | 5 ± 2.5 |
| 덩굴딸기(줄딸기) | <i>Rubus pungens</i> | Rosaceae | Whole | - | 2 ± 1.0 |
| 도깨비부채 | <i>Rodgersia podophylla</i> | Saxifragaceae | Root | - | 8 ± 1.1 |
| 도꼬마리 | <i>Xanthium strumarium</i> | Compositae | Whole | - | 0 ± 1.6 |
| 도깨비바늘 | <i>Bidens bipinnata</i> | Compositae | Whole | + | 21 ± 1.2 |
| 돌단풍 | <i>Aceriphyllum rosii</i> | Saxifragaceae | Root | - | -11 ± 2.1 |
| 동자꽃 | <i>Lychnis cognata</i> | Caryophyllaceae | Whole | - | -12 ± 3.1 |
| 두충 | <i>Eucommia ulmoides</i> | Eucommiaceae | Whole | - | 18 ± 2.1 |
| 둥근잎조팝나무 | <i>Spiraea betulifolia</i> | Rosaceae | Whole | - | 12 ± 1.0 |
| 들깨풀 | <i>Mosla punctulata</i> | Labiatae | Whole | + | 28 ± 0.1 |
| 등골나물 | <i>Eupatorium chinensis</i> | Compositae | Whole | - | 10 ± 2.1 |
| 등나무 | <i>Wisteria floribunda</i> | Leguminosa | Stem | ++ | 59 ± 0.3 |
| 등침 | <i>Aristolochia manshuriensis</i> | Aristolochiaceae | Stem | - | 9 ± 3.1 |
| 딱지꽃 | <i>Potentilla chinensis</i> | Rosaceae | Whole | - | 2 ± 2.1 |
| 딱총나무 | <i>Sambucus williamsii</i> | Caprifoliaceae | Stem, Leaf | - | -1 ± 3.7 |
| 떡쑥 | <i>Gnaphalium affine</i> | Compositae | Whole | + | 15 ± 2.6 |
| 똥판지 | <i>Helianthus tuberosus</i> | Compositae | Aerial part | - | 17 ± 2.5 |
| 마가목 | <i>Sorbus commixta</i> | Rosaceae | Cortex | - | 11 ± 1.1 |
| 마름 | <i>Trapa japonica</i> | Trapaceae | Whole | - | -1 ± 1.4 |
| 마삭줄 | <i>Trachelospermum asiaticum</i> | Apocynaceae | Aerial part | - | -13 ± 2.5 |
| 마삭줄 | <i>Trachelospermum asiaticum</i> | Apocynaceae | Fruit | - | 10 ± 2.1 |
| 마타리 | <i>Patrinia scabiosaefolia</i> | Valerianaceae | Root | - | 17 ± 4.2 |
| 만병초 | <i>Rhododendron brachycarpum</i> | Ericaceae | Stem, Leaf | - | 18 ± 1.4 |
| 말오줌대 | <i>Euscaphis japonica</i> | Staphyleaceae | Aerial part | ++++ (+) | 90 ± 3.5 (31 ± 2.1) |
| 맑은대쑥 | <i>Artemisia keiskeana</i> | Compositae | Whole | - | 10 ± 1.1 |
| 매듭풀 | <i>Kummerowia striata</i> | Leguminosa | Stem, Leaf | +++ | 75 ± 2.5 |
| 매발톱나무 | <i>Berberis amurensis</i> | Berberidaceae | Whole | - | 16 ± 3.1 |
| 머귀나무 | <i>Zanthoxylum allanthoides</i> | Rutaceae | Aerial part | - | 9 ± 4.0 |
| 멸가치 | <i>Adenocaulon himalaicum</i> | Compositae | Whole | - | -1 ± 2.0 |
| 무릇 | <i>Scilla scilloides</i> | Liliaceae | Whole | - | -20 ± 2.1 |
| 문주란 | <i>Crinum asiaticum</i> | Amaryllidaceae | Bulb | - | 0 ± 3.8 |
| 물레나물 | <i>Hypericum ascyron</i> | Guttiferae | Whole | - | 10 ± 2.1 |

Table I. Continued

| Kor. name | Scientific name | Family name | Used part | MMP-2 inhibitor | |
|-----------|---------------------------------|-------------------|---------------|----------------------|-----------------|
| | | | | effect ¹⁾ | % ²⁾ |
| 물매화 | <i>Parnassia palustris</i> | Saxifragaceae | Whole | - | 14 ± 1.5 |
| 불양지꽃 | <i>Potentilla cryptotaeniae</i> | Rosaceae | Whole | - | 12 ± 1.9 |
| 미역취 | <i>Solidago virga-aurea</i> | Compositae | Whole | + | 21 ± 1.4 |
| 바위취 | <i>Saxifraga stolonifera</i> | Saxifragaceae | Whole | ++ | 42 ± 3.9 |
| 박새 | <i>Veratrum patulum</i> | Liliaceae | Root | - | 9 ± 2.0 |
| 박쥐나무 | <i>Alangium platanifolium</i> | Alangiaceae | Stem | - | 2 ± 1.2 |
| 박태기나무 | <i>Cercis chinensis</i> | Leguminosa | Stem | - | 12 ± 1.1 |
| 백목련 | <i>Magnolia denudata</i> | Magnoliaceae | Fruit | - | 17 ± 1.4 |
| 뱀무 | <i>Geum japonicum</i> | Rosaceae | Whole | - | 10 ± 1.8 |
| 부처꽃 | <i>Lythrum anceps</i> | Lythraceae | Whole | - | 13 ± 2.1 |
| 붉은서나물 | <i>Erechtites hieracifolia</i> | Compositae | Whole | - | -2 ± 3.3 |
| 붉은대극 | <i>Euphorbia ebracteolata</i> | Euporbiace | Whole | +++ | 78 ± 3.8 |
| 비비추 | <i>Hosta longipes</i> | Liliaceae | Root | - | 2 ± 2.0 |
| 비수리 | <i>Lespedeza cuneata</i> | Leguminosa | Whole | - | 2 ± 1.0 |
| 사랍주나무 | <i>Sapium japonicum</i> | Euphorbiaceae | Stem, Leaf | - | 3 ± 1.1 |
| 사상자 | <i>Torilis japonica</i> | Umbelliferaeaceae | Whole | - | -1 ± 1.9 |
| 사위질빵 | <i>Clematis apiifolia</i> | Ranunculaceae | Whole | - | 10 ± 4.1 |
| 사철나무 | <i>Euonnmus japonica</i> | Celastraceae | Fruit | - | 13 ± 1.9 |
| 사철쭉 | <i>Artemisa capillaris</i> | Compositae | Whole | - | 12 ± 2.1 |
| 산국 | <i>Chrysanthemum boreale</i> | Compositae | Flora | - | 1 ± 2.2 |
| 산수국 | <i>Hydrangea serrata</i> | Saxifragaceae | Aerial part | +++ | 73 ± 3.1 |
| 상산 | <i>Orixa japonica</i> | Rutaceae | Stem, Leaf | - | 1 ± 1.9 |
| 새모래덩굴 | <i>Menispermum dahuricum</i> | Menispermaceae | Leaf | - | -1 ± 1.0 |
| 생강나무 | <i>Lindera obtusiloba</i> | Lauraceae | Stem, Leaf | - | 15 ± 2.1 |
| 생이가래 | <i>Salvinia natans</i> | Salviniaceae | Whole | - | 12 ± 4.1 |
| 서양칠엽수 | <i>Aesculus turbinata</i> | Hippocastanaceae | Leaf | - | 10 ± 2.0 |
| 솔장다리 | <i>Salsola collina</i> | Chenopodiaceae | Whole | - | 0 ± 1.8 |
| 숨나물 | <i>Leibnitzia anandria</i> | Compositae | Whole | - | 18 ± 1.1 |
| 송이풀 | <i>Pedicularis resupinata</i> | Scrophulariaceae | Whole | - | 10 ± 4.7 |
| 송장풀 | <i>Leonurus macranthus</i> | Labiatae | Whole | + | 21 ± 2.1 |
| 수까치깨 | <i>Corchoropsis tomentosa</i> | Sterculiaceae | Aerial part | - | 0 ± 0.4 |
| 영경귀 | <i>Cirsium japonicum</i> | Compositae | Flora | + | 29 ± 4.9 |
| 영경귀 | <i>Cirsium japonicum</i> | Compositae | Aerial part | ++ | 43 ± 10.2 |
| 여로 | <i>Veratrum maackii</i> | Liliaceae | Rhizome | - | 19 ± 3.5 |
| 여우오줌 | <i>Carpesium macrocephalum</i> | Compositae | Leaf | - | 10 ± 5.2 |
| 예덕나무 | <i>Mallotus japonicus</i> | Euphorbiaceae | Aerial part | - | 12 ± 5.9 |
| 오리방풀 | <i>Plectranthus excisus</i> | Labiatae | Leaf | + | 21 ± 3.9 |
| 오리방풀 | <i>Plectranthus excisus</i> | Labiatae | Stem | + | 26 ± 1.0 |
| 왕고들빼기 | <i>Lactuca indica</i> | Compositae | Whole | - | -5 ± 0.4 |
| 왕머루 | <i>Vitis amurensis</i> | Vitaceae | Aerial part | - | -2 ± 0.3 |
| 우산나물 | <i>Syneilesis palmata</i> | Compositae | Whole | - | 12 ± 2.0 |
| 원추리 | <i>Hemerocallis fulva</i> | Liliaceae | Tuberous root | - | 10 ± 2.8 |
| 은방울꽃 | <i>Convallaria keiskei</i> | Liliaceae | Whole | - | -2 ± 1.1 |
| 은조롱 | <i>Cynanchum wilfordii</i> | Asclepiadaceae | Aerial part | - | 2 ± 3.2 |

Table I. Continued

| Kor. name | Scientific name | Family name | Used part | MMP-2 inhibition | |
|-----------|----------------------------------|------------------|-------------|----------------------|------------------------|
| | | | | effect ¹⁾ | % ²⁾ |
| 인동덩굴 | <i>Lonicera japonica</i> | Caprifoliaceae | Aerial part | - | 1 ± 1.0 |
| 이고들빼기 | <i>Youngia denticulata</i> | Compositae | Whole | ++++ (++++) | 90 ± 0.9 (88 ± 2.1) |
| 자귀나물 | <i>Albizzia julibrissin</i> | Leguminosa | Aerial part | - | 17 ± 3.0 |
| 자라풀 | <i>Hydrocharis dubia</i> | Hydrocharitaceae | Whole | - | 12 ± 2.2 |
| 작살나무 | <i>Callicarpa japonica</i> | Verbenaceae | Stem | - | 10 ± 3.0 |
| 장구채 | <i>Melandryum firmum</i> | Caryophyllaceae | Whole | - | 1 ± 0.6 |
| 조록나무 | <i>Distylium racemosum</i> | Hamamelidaceae | Aerial part | - | 2 ± 4.9 |
| 조뱅이 | <i>Breca segeta</i> | Compositae | Whole | - | 1 ± 2.0 |
| 조희풀 | <i>Clematis heracleifolia</i> | Ranunculaceae | Stem, Leaf | - | 3 ± 1.1 |
| 죽제비싸리 | <i>Amorpha fruticosa</i> | Leguminosa | Aerial part | - | -4 ± 2.0 |
| 좀깨잎나무 | <i>Boehmeria spicata</i> | Urticaceae | Whole | - | 12 ± 1.7 |
| 죽단화 | <i>Kerria japonica</i> | Rosaceae | Aerial part | - | 18 ± 4.9 |
| 취다래나무 | <i>Actinidia kolomikta</i> | Actinidiaceae | Stem, Leaf | - | 1 ± 3.3 |
| 지칭개 | <i>Hemistepta lyrata</i> | Compositae | Whole | - | 2 ± 2.9 |
| 진득찰 | <i>Siegesbeckia glabrescens</i> | Compositae | Stem, Leaf | - | -9 ± 5.9 |
| 짚신나물 | <i>Agrimonia pilosa</i> | Rosaceae | Whole | +++ | 71 ± 9.0 |
| 쪽동백 | <i>Styrax obassia</i> | Styracaceae | Whole | - | 13 ± 0.6 |
| 참마 | <i>Dioscorea japonica</i> | Dioscoreaceae | Aerial part | - | 1 ± 2.8 |
| 참중나무 | <i>Cedrela sinensis</i> | Meliaceae | Leaf | - | -1 ± 1.2 |
| 참취 | <i>Aster scaber</i> | Compositae | Whole | - | 19 ± 4.8 |
| 참취 | <i>Aster scaber</i> | Compositae | Root | + | 32 ± 2.1 |
| 참취 | <i>Aster scaber</i> | Compositae | Aerial part | - | -5 ± 4.0 |
| 춧대승마 | <i>Cimicifuga simplex</i> | Ranunculaceae | Whole | - | 14 ± 3.2 |
| 층층나무 | <i>Cornus controversa</i> | Cornaceae | Stem | ++++ (-) | 91 ± 1.9 (17 ± 1.0) |
| 콩짜개덩굴 | <i>Lemmaphyllum microphyllum</i> | Polypodiaceae | Whole | - | 2 ± 0.9 |
| 큰개불알꽃 | <i>Cypripedium guttatum</i> | Orchidaceae | Stem, Leaf | - | 13 ± 7.0 |
| 큰까치수염 | <i>Lysimachia chlethroides</i> | Primulaceae | Whole | - | -1 ± 2.6 |
| 털진득찰 | <i>Siegesbeckia pubescens</i> | Compositae | Stem | - | 12 ± 3.3 |
| 팔손이나무 | <i>Fatsia japonica</i> | Araliaceae | Stem | - | 18 ± 3.2 |
| 패랭이꽃 | <i>Dianthus chinensis</i> | Caryophyllaceae | Whole | - | -2 ± 2.9 |
| 풀거북꼬리 | <i>Boehmeria tricuspis</i> | Urticaceae | Aerial part | - | 19 ± 2.0 |
| 할미꽃 | <i>Pulsatilla koreana</i> | Ranunculaceae | Whole | - | 10 ± 0.3 |
| 홀아비꽃대 | <i>Chloranthus japonica</i> | Chloranthaceae | Whole | ++ | 51 ± 0.1 |
| 잇꽃 | <i>Carthamus tinctorius</i> | Compositae | Whole | - | 10 ± 3.7 |
| 회양목 | <i>Buxus microphylla</i> | Buxaceae | Stem, Leaf | - | 13 ± 2.1 |

¹⁾The symbols used for the effect are represented as follows: -:<20% inhibition occurred, +:20-40%, ++:40-60%, +++:60-80%, ++++:>80.

²⁾Each samples was treated 1 µg/ml and results are mean of triplicate.

³⁾The sample excludes tannin or/and polyphenols by Wall's method.

Boehringer Mannheim에서 구입하였고, MMP-2에 대한 형광기질로 사용한 7-methoxycoumarin 4-yl-acetyl-Pro-Leu-Gly-Leu-(2-[2,4-dinitrophenyl]-2,3-diaminopropionyl)-Ara-

Arg-NH₂ (Mca-Pro-Leu-Gly-Leu-Dpa(Dnp)-Ara-Arg-NH₂)는 Sigma에서 구입하여 사용하였다. MMP-2 활성저해 평가에 사용한 형광광도계는 Perkin-Elmer LS-50B를 사용하

였으며 Fluorescence Data Manager Software는 Perkin-Elmer, UK를 이용하였다. TIMP-2 free proMMP-2을 MMP-2로 활성화시키기 위한 p-aminophenylmercuric acetate (APMA)는 Sigma에서 구입하였다. 그리고 활성저해실험에 사용된 반응조는 white 96 well plate로서 Nunc 제품을 구입하여 사용하였다. 그 외 실험에 사용한 각종 시약 및 용매류는 특급시약을 사용하였다.

MMP-2 활성저해 실험 - TIMP-2 free proMMP-2(85 µg/ml) 용액 2 µl에 APMA(50 mM) 용액 1 µl를 97 µl의 TNBC 완충액에 가하여 15분간 37°C에서 반응하여 활성형 MMP-2를 만든다. MMP-2에 대한 형광성 기질인 Mca-Pro-Leu-Gly-Leu-Dpa(Dnp)-Ara-Arg-NH₂(10 µM) 10 µl와 측정 시료(각 10 mg/ml) 1 µl를 84 µl의 TNBC 완충액에 가한 후 앞에서 언급한 활성형 MMP-2용액 5 µl를 가하여 37°C에서 30분간 반응한다. 대조군은 동일한 방법으로 하며 시료를 가하지 않은 것으로 한다. 실험에 사용된 TNBC 완충액은 Tris-HCl (20 mM), CaCl₂ (5 mM), NaCl (0.15 M)을 pH 7.5로 제조하여 사용한다.

MMP-2 활성측정 - 측정시료에 대한 MMP-2 저해활성은 Spectrofluorometer LS-50B를 사용하였으며 325 nm를 반응물에 흡수시켜 420 nm 영역에서 방출되는 형광을 측정하였다. 활성도는 시료처리군의 형광도/대조군의 형광도에 대한 백분율로 평가하였다.

결과 및 고찰

형광성기질인 Mca-Pro-Leu-Gly-Leu-Dpa(Dnp)-Ara-Arg-NH₂은 MMP-2에 의하여 분해되어 Mca-Pro-Leu-Gly (MW=501.5)인 형광성 peptide로 전환된다. 이때 325 nm 영역의 파장에 의하여 420 nm의 형광을 방출하게 된다. 따라서 MMP-2의 활성을 저해하면 기질에서 방출되는 형광이 감소하여 대조군보다 낮은 형광수치를 나타내며 이 수치를 비교하여 시료에 대한 MMP-2 저해 활성도를 알 수 있다. Table I에 의하면 Mca-Pro-Leu-Gly-Leu-Dpa(Dnp)-Ara-Arg-NH₂의 분해 효소인 MMP-2에 대한 165종 식물의 MeOH 추출물의 저해활성은 *Platycarya strobilacea*, *Sedum kamtschaticum*, *Euscaphis japonica*, *Youngia denticulate*, *Cornus controversa*를 비롯한 30종의 식물 추출물에서 나타났다. 특히, 위에서 언급한 5종의 시료는 80% 이상의 강한 활성을 나타내고있다. 이들 5종의 식물 MeOH 추출물들을 Wall 등의 polyphenol 및 tannin 제거 방법에 의하여 처리하여 활성을 측정한 바, *Y. denticulate* 제외한 4종의 식물 추출물에서 MMP-2 활성 저해율(<50%)이 낮아진 것을 알 수 있었다. 문헌에 보고된 바에 의하면 *P. strobilacea* 수피

의 acetone (7% aq.) 추출물은 ellagic acid 배당체들을 다량 함유하고 있으며⁷⁾ 마찬가지로 *E. japonica*, *C. controversa*⁸⁾의 수피 추출물에도 다량의 tannin이 존재한다는 것이 보고되어있다. 이와 같은 tannin계 화합물은 MMP-2와 같은 peptide계 효소에 비특이적으로 흡착되므로 *P. strobilacea*, *E. japonica*, *C. controversa*의 MeOH 추출물이 MMP-2에 대하여 특이적 저해활성을 나타낸다고 판단하기는 어렵다. 마찬가지로 *S. chamchaticum* 등의 Sedum속 식물은 kaempferol, herbacetin, sexangularetin 등과 같은 flavonol⁹⁾ 및 tannins¹⁰⁾을 다량 함유하고 있다. 즉, *P. strobilacea*, *S. kamtschaticum*, *E. japonica*, *C. controversa* MeOH 추출물은 모두 polyphenols 및 tannin계 화합물을 함유하고 있으며 이러한 화합물을 제거한 후 MMP-2에 대한 저해활성이 현저히 낮아지는 것으로 보아 이들이 MMP-2에 대하여 나타내는 강한저해활성은 tannin 등의 polyphenol계 화합물들의 MMP-2에 대한 비특이적 흡착에 기인하는 것으로 판단한다. 그러나 *Y. denticulate*는 MeOH 추출물 및 polyphenolic 화합물을 제거한 시료에서 각각 80% 이상의 높은 MMP-2 활성 저해율이 관찰되는 것으로 보아 *Y. denticulate*의 MeOH 추출물에서는 MMP-2에 대한 비교적 유용한 저해활성을 가진 화합물이 존재 할 것으로 판단된다.

결 론

Platycarya strobilacea, *Sedum kamtschaticum*, *Euscaphis japonica*, *Youngia denticulate*, *Cornus controversa*를 비롯한 30종의 식물 추출물에서 나타났다. 활성을 나타내는 시료들 중 MMP-2에 대하여 가장 강한 활성(>80%)을 나타내는 *P. strobilacea*, *S. kamtschaticum*, *E. japonica*, *C. controversa*의 MeOH 추출물들은 그 함유성분 중 tannin 등의 polyphenolic 화합물들이 MMP-2에 대하여 비특이적 활성을 나타내는 것으로 판단된다. 반면 *Y. denticulate*는 한국의 산야에 널리 자생하는 식물로서 채취가 용이하며 그의 화학적 성분 연구가 미진한 상태이다, 특히 MMP-2에 대한 tannin 등의 polyphenolic 화합물들에 의한 비특이적 활성이 예측되지 않으므로 이 식물에 대한 적극적인 성분연구 및 그 화학성분에 대한 MMP-2 또는 그와 유사한 효소군에 대한 적절한 활성평가가 요구되어진다.

사 사

본 연구는 21세기 프론티어연구개발사업인 자생식물이용 기술개발사업단의 연구지원(과제번호 PF002107-00)에 의해 수행되었습니다.

인용문헌

1. Terranova, V. P., Liotta, L. A., Russo, R. G., and Martin, G. R. (1982) Role of laminin in the attachment and metasis of murine tumor cells. *Cancer Res.* **42**: 2265-2269.
2. Chambers, A. F., and Matrisian, L. M. (1997) Changing views of the role of matrix metalloproteinases in metastasis. *J. Natl. Cancer. Inst.* **89**: 1260-1270.
3. Johnson, L. L., Dyer, R., and Hupe, D. J. (1998) Matrix metalloproteinases. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2**: 466-471.
4. Melchiori, A., Albin, A., Ray, J. M., and Stetler-Stevenson, W. G. (1992) Inhibition of tumor cell invasion by a highly conserved peptide sequence from the matrix metalloproteinase enzyme prosegment. *Cancer Res.*, **52**: 2353-2356.
5. Noriko E., Dominic, F., and Isaiah, J. F., (1991) Inhibition of murine melanoma experimental metastasis by recombinant desulfatohirudin, a highly specific thrombin inhibitor. *Cancer Res.* **51**: 4549-4556.
6. Wall, M. E., Wani, M. C., Brown, D. M., Fullas, F., Oswald, J. B., Josephson, F. F., Thornton, N. M., Pezzuto, J. M., Beecher, C. W. W., Farnsworth, N. R., Cordell, G. A., Kinghorn, A. D., (1986) Effect of tannins on screening of plant extracts for enzyme inhibitory activity and techniques for their removal. *Phytochemistry* **25**: 2817-2820.
7. Tanaka, T., Jiang, Z. H., and Kouno, I., (1998) Distribution of ellagic acid derivatives and a diarylheptanoid in wood of *Platycarya strobilacea*. *Phytochemistry* **47**: 851-854.
8. Lee, D. H., Kang, S. J., Lee S. H., Ro, J. S., Lee, K. S., Kinghorn, A. D., Phenolic compounds from the leaves of *Cornus controversa*. (2000) *Phytochemistry* **53**: 405-407.
9. Stevens, J. F., Henkt, H., Elizabeth, T. E., Annabe, B. (1996) Flavonoid variation Eurasian sedum and sempervivum, *Phytochemistry* **41**: 503-512.
10. Stevens, J. F., Henkt, H., Roeland, C. H. J. Van. H., Elizabeth, T. E., Maya, M. V. X. Van Den E., Marjan, W., Jan, H. Z. (1995) Distribution of alkaloids and tannins in the Crassulaceae, *Biochem. Systems and Ecol.* **23**: 157-165.

(2002년 4월 18일 접수)