

상심자(*Morus alba*)의 운동능력 향상과 스트레스 개선효과

황 금 희

건국대학교 바이오식품의약연구센터

Anti-stress and Promoting Effect of the Fruit of *Morus alba*

Keum Hee Hwang

Bio-Food and Drug Research Center, Konkuk University

Effects of *Morus alba* fruit extracts on monoamine oxidase (MAO) activity were examined in rats during and after physical exercise. Oral administration of *M. alba* extract (0.3 g/kg body weight) significantly increased brain MAO-A activity but decreased liver MAO-B activity when they were measured using serotonin and benzylamine as substrates. Type of physical exercises had significant effect on MAO activity. Brain MAO-A activity markedly decreased with physical activity-related stress compared to normal group, whereas Liver MAO-B activity increased up to 60 min after exercise. Lactate dehydrogenase (LDH) activity and lactate concentration in blood, clinical indices of physical exercise activities, were also determined for correlation to MAO activities. MAO-A activity of rats subjected to oral administration of *M. alba* extract and physical exercise increased whereas MAO-B and LDH activities, and lactate level decreased. All indices eventually recovered normal levels. These results suggest *M. alba* may increase capability of physical activities by modulating MAO activities during exercise.

Key words: monoamine oxidase (MAO), lactate dehydrogenase (LDH), *Morus alba*, exercise, anti-stress effect

서 론

Monoamine oxidase(amine:oxygen oxidoreductase(deaminating) EC1.4.3.4., MAO)는 중추신경계나 말초조직 등 동물조직 중의 mitochondria에 널리 존재하면서 신경 전달물질이나 호르몬성 amines 화합물의 대사를 관장하는 효소이다(1). MAO는 기질 특이성에 따라 serotonin, norepinephrine, epinephrine을 산화적으로 deamination 시키는 A-form과 benzylamine, phenethylamine의 산화를 촉매 하는 B-form의 두 가지 유형으로 나눌 수 있다(2).

MAO 저해제는 전통적으로 우울증(3,4)과 고혈압(3,5), 편두통(6)을 치료하고 파킨슨병의 진행을 지연하는 약물로 이용되어 왔다(3,7,8). 또한 새로운 MAO 저해제의 기능이 연구되고 있어서 Alzheimer's disease를 치료하는 강력한 후보물질로서 MAO 저해제들의 새로운 기능이 보고되었으며(9) HIV감염 환자의 우울증 치료(10), 사회성 분노장애의 극복을 위한 약물치료에도 응용되고 있다(11). 아직 연구 단계에 있지만 MAO 저해제의 대뇌활동자극효과(12), 기억력 증진작용이 확인되기도 하였다(13). 저자 등은 국내에서 한약재 및 식용으로 이용되는 식물을 대상으로 MAO 저해활성을 검색하였으며 (14,15) 이들

식물 중 뽕나무의 열매인 상심자가 활성이 우수한 것을 확인하여 보고한 바 있다(16).

한의학에서는 뽕나무 잎을 상엽(桑葉)이라 하고, 뿌리를 상근(桑根), 뿌리껍질을 상백피(桑白皮), 가지를 상지(桑枝), 열매를 상심자(桑椹子), 잎에서 나오는 유액을 상엽즙(桑葉汁), 껍질에서 채취된 유액은 상피즙(桑皮汁)이라 하며 목재를 태운 재를 상시회(桑柴灰)라고 한다. 뽕나무와 관련된 약재는 대체로 독성이 강하지 않아서 안전하게 사용할 수 있으며, 체내에 쌓인 좋지 않은 열을 없애는데 효과가 있어 고혈압과 당뇨병 등에 응용되고 있다(17).

Lactate dehydrogenase(EC.1.1.1.27, LDH)는 백색 근섬유에서 일어나는 당 분해 과정의 첫 단계인 Lactate + NAD⁺ → pyruvate + NADH의 화학반응을 촉매 하는 산화환원효소의 한 종류로서 이 반응의 역반응은 심장이나 적색 근 섬유에서 일어나는 유산분해과정과 간장에서의 포도당 전환과정의 첫 단계이며 대부분 세포의 세포질에 존재하는 이 효소의 혈중 농도를 확인하여 각종 진단에 이용하고 있다(18).

본 연구에서는 자생식물의 MAO 저해활성을 검색하던 중 동물조직을 이용한 시험관 실험과 동물에게 경구 투여하는 *in vivo* 실험을 통해 추출물 수준에서 MAO 저해활성을 갖는 것으로 확인된 상심자 추출물을 운동을 전후하여 경구로 섭취한 후 운동으로 변화된 체내 MAO 활성에 어떤 영향을 미치는지를 조사하였다. 사람의 경우 운동의 강도와 종류에 따라 체내의 serotonin 농도가 다르게 나타나는 것을 이용하여 개인의 체력과 상황에 적합한 운동 처방을 할 수 있다는 사실에 착안하

*Corresponding author: Keum Hee Hwang 322, Bio-Food and Drug Research Center, Konkuk University, 322 Danwol-dong, Chungju-city, Chungbuk 380-701, Korea
Tel: 82-43-840-3891
Fax: 82-43-840-3891
E-mail: hwangkh@kku.ac.kr

여(19) 동물을 대상으로 운동을 전후한 스트레스의 반응으로 일어나는 체내 MAO 활성 변화를 관찰하였다. 한편 운동 시 체내 변화의 지표효소인 혈중 LDH의 활성 변화와 혈중 lactate의 농도변화를 함께 관찰함으로써 MAO 활성과의 상관관계를 비교하였다.

본 연구는 자생식물을 이용하여 운동 능력을 향상하고 훈련 효과를 높일 수 있는 스포츠용 식음료를 개발하기 위한 기초 연구로 수행되었다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약

실험재료용 상심자는 서울시 소재 경동시장 대덕환의원에서 건조시킨 한약재를 구입하여 사용하였고 효소활성 측정에 사용한 serotonin, benzylamine, ion 교환수지 Amberlite CG-50, lactate reagent 등은 Sigma사 제품을 사용하였고 LDH assay kit는 Sigma사 제품(St. Louis, MO, USA)과 (주)영동제약의 제품을 사용하였으며 기타 용매 및 시료 추출용 용매는 국산 특급 시약을 사용하였다.

실험동물용 운동장치

실험동물용 운동장치로는 속도와 시간을 임의로 조절할 수 있는 흰쥐 한 마리용 트레드밀을 특수 제작하여(정도산업) 사용하였으며 수영장은 지름 40 cm, 높이 50 cm의 수조를 이용하여 수온을 30°C로 유지하면서 한 마리씩 강제 수영을 하도록 하였다.

실험동물

실험동물은 생후 5주된 Sprague-Dawley계 숫컷 흰쥐를 (주)바이오제노믹스사에서 공급받아 온도 23±3°C, 습도 50±10%, 12 시간 주기로 조명을 조절하는 동물 사육실에서 일반 고형 사료(바이오제노믹스)와 물을 자유롭게 공급하면서 2주간 적응시킨 후 실험에 이용하였다.

실험동물의 운동

예비운동: 본 운동을 시작하기 일주일 전 동물 사육실에서 2주간 적응시킨 동물을 대상으로 5 m/5 min을 시작으로 매일 운동속도와 시간을 증가시키면서 트레드밀 예비운동을 하였으며 최종일의 운동조건은 10 m/8 min이었다. 수영 예비운동은 30°C의 수조에서 매일 3분씩 강제 수영을 하도록 하였으며 최종일 까지 운동조건은 변동을 없었다. 예비운동 중 운동능력이 현저히 낮은 동물은 제외시키고 평균 이상의 운동 능력을 보인 동물만을 본 실험을 위한 동물로 선정하였다.

본 운동: 일주일간 예비운동을 거쳐 선정된 동물을 5그룹으로 나누어 2그룹의 동물은 트레드밀 운동(Treadmill, medium (Tm), n=6, 10 m/10 min), (Treadmill high (Th), n=6, 15 m/10 min)그룹으로 다른 2그룹은 수영 운동(Swimming, medium (Sm), n=6, 3 min), (Swimming, high (Sh), n=6, 5 min)그룹으로 분류하고 나머지 한 그룹은 대조군(Control (Con), n=6)으로 분류하였다. 트레드밀 운동 그룹은 매일 정해진 속도의 기계 위에서 10분씩 운동을 하였으며 수영 그룹은 30°C의 수조에서 각각 3분 혹은 5분씩 강제로 수영을 하게 하였다.

운동에 의한 흰쥐 MAO의 활성 변화 측정

일반 실험실 조건에서 적응시킨 SD계 흰쥐 6마리를 한 군

으로 하여 일주일 동안 예비운동을 통해 운동에 적응시키고 그룹을 나누어 다시 일주일 동안 본 운동을 시킨 후 운동을 하지 않은 그룹을 대조군으로 운동 직후(0 min), 운동 후 5분(5 min), 30분 후(30 min), 1시간 후(60 min)에 각 동물의 뇌와 간에서 각각 MAO-A와 MAO-B의 활성 변화를 측정하였다. 또한 채혈한 혈액을 3000 rpm에서 15분 원심 분리하여 얻은 혈장을 -80°C 냉동고에 보관하였다가 혈중 LDH 활성 변화와 lactate 함량 변화를 측정하였다.

Brain MAO-A의 효소활성 측정

효소원의 조제: 흰쥐의 뇌 조직을 이용하여 Hwang의 보고에 의하여 조제한 단백질을 희석하여 효소원으로 사용하였다(14). 실험동물을 12시간 절식시킨 후 ethylether로 마취하여 좌심실로부터 채혈하여 실험 시키고 즉시 두개골을 절개하여 뇌를 적출하였다. 이를 0.01 M phosphate buffered saline (PBS, pH 7.0)으로 세척하고 습증량 1 g당 9 mL의 차가운 0.25 M sucrose 용액을 가하여 Turrax disperser로 1분간 homogenate 하였다. 이 homogenate를 4°C에서 700×g로 20분간 원심분리하고 그 상등액을 취하여 다시 18,000×g로 20분간 고속 원심분리 한 후 상등액을 버리고 pellet을 중량 1 g당 PBS 5 mL에 현탁시켜 효소원으로 사용하였다.

효소활성 측정: 조제한 효소원 0.5 mL를 시험관에 넣고 기질 용액으로 1.0 mM serotonin 용액 0.5 mL를 가하고 37.5°C 항온조에서 90분간 incubation 하였다. 95°C 수욕 상에서 3분간 가열하여 반응을 중단시킨 후 즉시 700 g로 원심분리하고 상등액 1.0 mL를 취하여 미리 준비한 Amberlite CG-50 (H⁺ form) 칼럼 (0.6×4 cm)에 넣었다. 증류수로 수지를 충분히(40 mL 이상) 세척한 후 4 N 초산용액 3 mL를 수지에 넣고 이때 용출액을 시험관에 받아 277 nm에서 흡광도를 측정하였다. 따로 반응 개시점 대신 반응 종말점에서 기질용액을 넣은 보정군을 시험군과 함께 실행하였다. 각 실험군의 대조군을 기준으로 하여 온도변화와 약물투여에 따른 효소 활성의 변화를 정해진 수식에 따라 계산하였다(14,15).

Liver MAO-B의 효소활성 측정

효소원의 조제: 흰쥐의 간 미토콘드리아 분획을 상법에 따라 분리하여 효소원으로 사용하였다. 실험동물을 12시간 절식시킨 후 ethylether로 마취하여 좌심실에서 채혈하여 실험시킨 후 간을 적출하여 0.01 M phosphate buffered saline(PBS, pH 7.0)에 씻고 습증량 1 g당 0.25 M sucrose 용액 5 mL를 가하여 Turrax disperser로 1분간 homogenation 하였다. 이 homogenate를 즉시 4°C에서 700×g로 20분간 원심분리하였다. 상등액을 취하여 다시 18,000×g에서 20분 고속원심분리하고 상등액을 버리고 가라앉은 pellet을 PBS 5 mL에 현탁시켜 효소원으로 사용하였다.

효소활성 측정: McEwen 등의 방법에 의하여 효소원 0.5 mL와 기질용액으로 4.0 mM benzylamine HCl 용액 0.5 mL를 시험관에 넣고 37.5°C 항온조에서 90분간 incubation 하였다. 반응을 중지시키기 위하여 60% perchloric acid 0.2 mL씩을 가하고 동시에 cyclohexane 4 mL를 가하여 진탕시킨 후 700×g로 20분간 원심분리 하여 cyclohexane층을 취하였다. 이 cyclohexane층을 242 nm에서 흡광도를 측정하였다. 따로 MAO-A에서와 마찬가지로 보정군을 시험군과 함께 실행하였다. 각 실험군의 대조군을 기준으로 하여 온도변화와 약물투여에 따른 효소 활성

의 변화를 정해진 수식에 따라 계산하였다(20).

혈중 LDH의 효소활성 측정

혈중 LDH 효소활성은 LDH assay kit(Sigma, USA)를 사용하여 측정하였다(21). 실험동물로부터 채혈한 혈액을 즉시 3000 rpm에서 15분 원심 분리하여 혈장을 취하여 -80°C 냉동고에 보관하고 실험 시 냉장온도에서 해동하여 50 L를 1 mL의 시약이 담긴 30°C 용기에 넣고 섞어준 후 항온수조가 장착된 spectrophotometer에서 30초 후에 340 nm에서의 흡광도를 측정하고(초기 흡광도) 60초 후에 측정된 흡광도를 최종 흡광도로 하였다. 측정된 최종 흡광도에서 초기 흡광도를 빼준 값 (ΔA/min)을 분당 변화된 흡광도로 계산하고 효소활성은 다음의 계산식으로부터 얻었다. LDH 1 unit은 효소활성 측정 조건에서 분당 NADH 1 mole을 생성하도록 촉매 하는 효소의 활성으로 정의하였다.

$$LDH \text{ activity (U/L)} = \frac{\Delta A / \text{min} \times TV \times 1000}{6.22 \times SV \times LP}$$

- ΔA/min = change in absorbance per minute at 340 nm
- TV = total reaction mixture volume (1.05 mL)
- SV = sample volume (0.05 mL)
- LP = light path (1 cm)
- 1000 = converts units per mL to units per liter
- 6.22 = millimolar absorptivity of NADH at 340 nm

혈중 lactate 함량 측정

혈중 lactate 함량은 Sigma kit reagent를 이용하여 측정하였다(22). 혈장 10 L를 30°C로 유지되는 1 mL의 시약이 담긴 용기에 넣고 10분 동안 반응 시킨 후 공시험군을 기준으로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 혈장 대신 lactate standard solution을 농도별로 가하고 같은 방법으로 측정하여 검량선을 작성하였으며 다음의 수식을 이용하여 혈액 중의 lactate 함량을 계산하였다.

$$Lactate \text{ (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbance test} \times 40}{\text{Absorbance standard}} \times 0.111$$

- 40 = concentration of lactate in standard
- 0.111 = to convert the results to mmol/L, multiply mg/dL

상심자의 경구투여

경구투여용 시료의 조제: 건조한 상심자 100 g을 가정용 분쇄기를 이용하여 분말로 만들고 여기에 약 800 mL의 80% 에탄올을 가하여 환류냉각하면서 100°C에서 6시간씩 3회 반복하여 가열추출 하였다. 탈지면으로 여과하고 여액을 40°C 수욕상에서 감압 농축하여 에탄올 추출물 17.67 g을 얻었고 이를 다시 동결 건조하여 건조된 분말 16 g을 얻었다. 동결 건조한 분말을 -80°C 냉동고에 보관하고 실험 시 증류수에 녹여 사용하였다.

시료의 경구투여: 동결 건조한 상심자 분말 10 mg을 증류수 1 mL에 녹이고 이 액을 12시간 절식시킨 동물에게 오전에 4 mL씩 경구 투여하고 매일 오후 운동을 하도록 하였다. 대조군과 공시험군에는 같은 조건으로 증류수 4 mL씩을 경구투여 하였다. 본 운동과 시료의 경구 투여는 일주일 동안 시행하였다. 이 양은 시료 건조 중량으로 동물 체중 당 0.3 g/kg되는 양으로 시험관 실험에서 얻은 IC₅₀값을 반영한 값이며(16) 사람 하

루 용량에 대한 문헌 치 18-20 g/60 kg에 해당하는 양을 동물 용량으로 환산한 양이다(14).

상심자 경구투여가 운동에 의한 흰쥐 MAO의 활성 변화에 미치는 영향 측정

운동 후의 체내 효소활성 변화를 관찰한 실험 결과 3분 동안 수영을 한 동물의 체내 효소활성 변화율이 가장 현저하게 변하는 것으로 확인 되었으므로(26) 상심자 투여가 운동에 의한 동물의 체내 효소활성 변화를 측정하는 본 실험에서는 운동의 종류를 3분 수영으로 통일하여 실시하였다. 대조군은 운동을 하고 상심자 추출물 대신 증류수를 경구로 투여한 군이었으며 공시험군은 운동을 하지 않고 증류수를 경구 섭취한 군이었다.

단백질 정량

단백질 함량은 bovine serum albumin을 표준물질로 하고 Bradford method를 이용하여 측정하였다(23).

통계처리

실험 결과는 SAS 통계프로그램을 이용하였으며(24) 각 실험군의 결과는 평균치와 표준오차로 나타내었으며 각 실험군 간의 결과는 one way ANOVA test를 사용하여 유의차 검정을 하고 유의적인 차이가 있는 항목에 대해서만 Duncan's multiple range test에 의해 실험군간의 차이를 95% 수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

트레드밀 운동에 의한 흰쥐 MAO의 활성 변화 측정

뇌 MAO-A의 효소활성 변화: 운동 직후(0min), 운동 후 5분, 30분, 1시간에 각 동물의 뇌에서 MAO-A의 활성 변화를 측정 한 결과는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 운동을 한 후 동물의 뇌 MAO-A 효소활성은 운동 직후부터 운동을 하지 않은 동물에 비해 현저히 낮아지는 것으로 확인되었다. 이 결과는 한의학의 기미론을 체내 MAO 활성의 변화로 설명하려는 시도로 행해진 열성 병증모델 운동 시 MAO-A의 활성 변화와 일치하는 결과이므로(25) 동물이 신체적인 스트레스에 노출되었을 때 뇌에서 MAO-A의 활성이 일정 기간동안 감소하는 것을 다시 한번 확인 할 수 있는 결과이다. 이는 또한 운동을 전후한 스트레스에 대한 반응으로 신경전달물질인 serotonin의 농도가 급속히 변화하며 강한 신체 훈련을 시킨 동물의 뇌 조직에서 serotonin의 농도와 serotonin 조절 조직의 농도가 증가하며 이 기전에 따라 다양한 운동처방이 가능하다는 사실을 MAO 활성의 변화로서 설명할 수 있는 결과이기도 하다. 한편 트레드밀 운동 속도를 10 m/min과 15 m/min으로 두 그룹으로 나누어 실험을 진행하였는데 운동을 하지 않은 그룹과는 95% 수준에서 통계적인 유의차를 보이는 반면 운동 속도를 달리한 두 그룹 간의 유의적인 차이는 발견할 수 없었다.

Liver MAO-B의 효소활성 변화: 트레드밀 운동 후 동물의 간에서 측정된 MAO-B의 활성변화를 Fig. 1에 나타냈다. 운동을 한 후 동물의 간 MAO-B 효소활성은 운동 직후부터 운동을 하지 않은 동물에 비해 현저히 증가되는 것으로 확인되었다. 이 결과는 한의학의 기미론을 체내 MAO 활성의 변화로 설명해 보려는 시도로 행해진 열성 병증모델 운동 시의 MAO-B의 활성 변화를 관찰하는 연구 결과에서도 발견된 사실이며

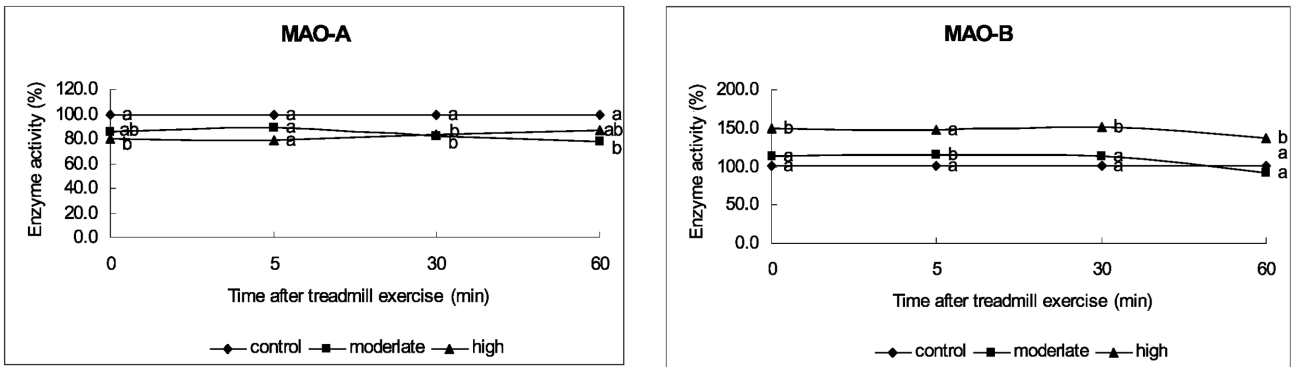


Fig. 1. The changes of MAO activities after treadmill exercise in rat.
 The rats were trained to run (5 days/week) in a treadmill by progressively increasing the duration of the exercise. Tm: Treadmill, moderate, n=6, 10 m/10min, Th: Treadmill high, n=6, 15 m/10 min, Con: Control, n=6.

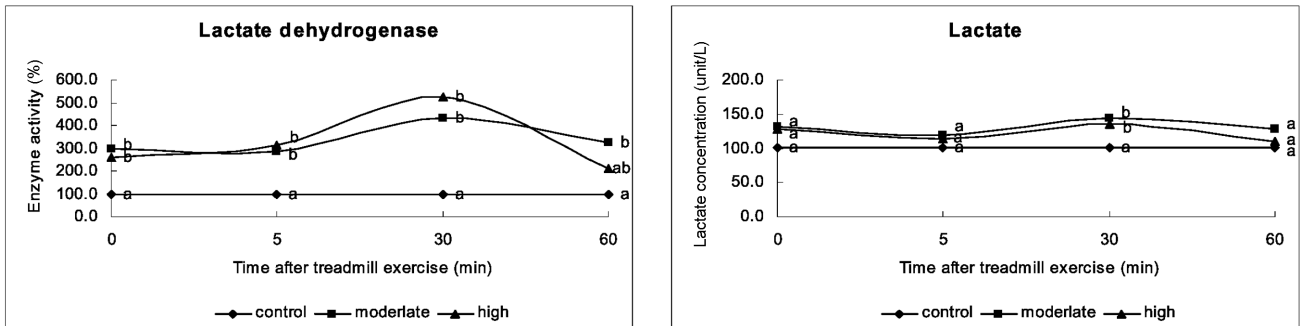


Fig. 2. The changes of blood lactate level and LDH activity after treadmill exercise in rat.
 The rats were trained to run (5 days/week) in a treadmill by progressively increasing the duration of the exercise. Tm: Treadmill, moderate, n=6, 10 m/10 min, Th: Treadmill high, n=6, 15 m/10 min, Con: Control, n=6.

MAO-A와는 달리 동물이 신체적인 스트레스에 노출되었을 때 간에서 MAO-B의 활성은 일정 기간동안 증가된 상태를 유지하는 것을 확인 할 수 있었다. 한편 트레드밀 운동 속도를 10 m/min과 15 m/min으로 두 그룹으로 나누어 실험을 진행하였는데 MAO-A와는 달리 증가된 상태를 유지하는 경향은 같았지만 10 m/min 그룹에 비해 15 m/min 그룹의 효소활성이 현저히 증가하였다. 두 그룹 간에 이러한 유의적인 차이가 나타나는 것으로 보아 운동의 강도에 따라 더욱 민감한 변화를 나타내는 효소 유형은 MAO-B인 것을 알 수 있었다.

혈중 LDH 효소활성 변화: 트레드밀 운동 후 동물의 혈액에서 측정된 LDH의 활성변화를 Fig. 2에 나타냈다. 운동을 한 후 동물의 혈중 LDH 효소활성은 운동 직후부터 운동을 하지 않은 동물에 비해 현저히 증가되는 것으로 확인되었다. 이 결과는 간 MAO-B의 변화양상과 같은 경향을 갖는 것으로 나타난다는 흥미로운 사실을 알게 되었다. LDH는 동물체 내에서 lactate를 분해하거나 합성하는 가역적인 활성을 갖는 효소로서 무산소 운동을 할 때 간으로부터 lactate를 분해하여 에너지 대사전구 물질인 피브루산을 생성하면서 동물체가 사용하는 에너지 형태 중 하나인 NADH를 생산하는 효소이다. 혈액 중에서도 LDH는 혈당 부족 시 lactate를 분해하여 에너지를 생산하는 기능을 나타내지만 운동 중 근육에서 LDH는 lactate를 합성함으로써 무 산소 운동 중 근육내의 lactate 농도를 높여 근육의 피로를 알리는 지표로 알려져 있다. 운동 속도를 10 m/min과 15 m/min으로 두 그룹으로 나누어 운동했을 때 트레드밀 운

동 후 동물의 혈액에서 측정된 LDH 효소활성은 운동을 하지 않은 동물에 비해 현저히 증가하였으며 운동의 강도에 따른 변화는 크지 않았으나 두 그룹 모두 약 한 시간 동안 증가된 상태를 유지하고 있는 것으로 나타났다.

혈중 lactate 함량 변화: 트레드밀 운동을 한 후 동물의 혈중 lactate 함량은 운동 후 30분부터 운동을 하지 않은 동물에 비해 아주 약간 증가되는 것으로 확인되었다(Fig. 2). 이 결과는 간 MAO-B의 변화양상이나 혈중 LDH 효소활성과 같은 변화 경향을 갖는 것이다. Lactic acid는 무산소 운동을 할 때 근육에서 lactate가 합성됨으로서 lactate 농도를 높여 근육의 피로를 알리는 지표물질로 알려져 있다. 간에서 분해되어 에너지 대사전구물질인 피브루산을 생성하면서 동물체가 사용하는 에너지 형태 중 하나인 NADH를 생산하거나 글리코겐으로 저장되는 물질이다. 트레드밀의 속도를 10 m/min과 15 m/min으로 두 그룹으로 나누어 운동했을 때 트레드밀 운동 후 동물의 혈액에서 측정된 lactate 농도는 운동을 하지 않은 동물과 비교했을 때 큰 차이를 보이지는 않았다. 오히려 운동 직후에는 아주 약간 감소하는 경향이다가 약하게 증가하는 것으로 나타났으나 두 그룹 모두 약 한 시간 이내에 정상 수준을 회복하였다.

수영에 의한 흰쥐 MAO의 활성 변화 측정

뇌 MAO-A의 효소활성 변화: 각 동물의 뇌에서 MAO-A의 활성 변화를 측정된 결과는 Fig. 3에서 보는 바와 같이 운동을 한 후 동물의 뇌 MAO-A 효소활성은 운동 직후부터 운동을 하

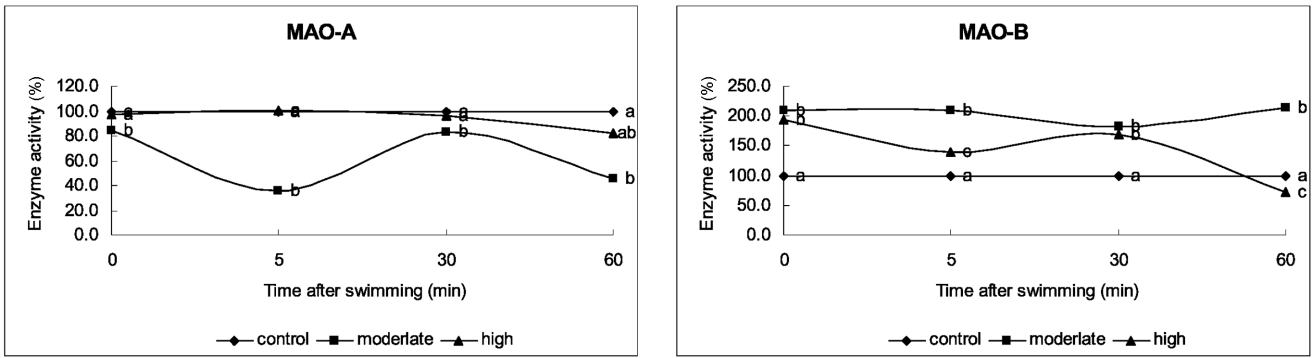


Fig. 3. The changes of MAO activities after forced swimming in rat. The rats were swam (5 days/week) in 30°C water started with 3 min/day and increased daily in 1 min steps. Sm; Swimming, moderate, n=6, 13 min, Sh: Swimming high, n=6, 5 min, Con: Control, n=6.

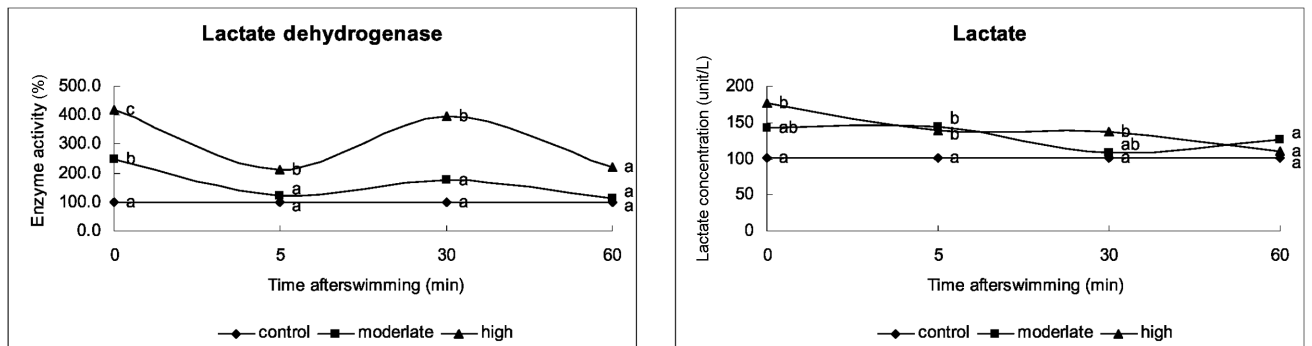


Fig. 4. The changes of blood lactate level and LDH activity after forced swimming in rat. The rats were swam (5 days/week) in 30°C water started with 3 min/day and increased daily in 1 min steps. Sm; Swimming, moderate, n=6, 13 min, Sh: Swimming high, n=6, 5 min, Con: Control, n=6.

지 않은 동물에 비해 현저히 낮아지는 것으로 확인되었다. 이 결과는 트레드밀 운동 시보다 훨씬 급격한 변화양상을 보임으로서 동물이 신체적인 스트레스에 노출되었을 때 뇌에서 MAO-A의 활성의 변화 양상을 관찰할 수 있는 좋은 보기가 될 것으로 생각한다. 한편 수영시간을 3분과 5분으로 두 그룹으로 나누어 실험을 진행하였을 때 3분 동안 수영을 한 그룹이 수영을 하지 않은 그룹과 유의적인 차이($p < 0.05$)를 보인 반면 5분 동안 수영한 그룹의 경우에는 대조그룹과 유의적인 차이를 보이지 않는 결과를 나타내 이후 실험에서는 3분 동안 수영하는 그룹을 대조그룹으로 하여 실험을 진행하면서 효소활성 변화를 다시 확인하였다.

간 MAO-B의 효소활성 변화: 수영 후 동물의 간 MAO-B 효소활성은 운동 직후부터 운동을 하지 않은 동물에 비해 현저히 증가되는 것으로 확인되었다(Fig. 3). 이 결과는 트레드밀 운동 후의 효소활성 변화와 일치하는 경향을 보이며 변화 양상은 MAO-A 같은 곡선을내었다. MAO-A와는 달리 동물이 신체적인 스트레스에 노출되었을 때 간에서 MAO-B의 활성은 운동 시간에 따른 변화가 관찰되었으며 세 그룹 간에 통계적으로 유의적인 차이($p < 0.05$)를 보였다.

혈중 LDH 효소활성 변화: 수영 후 동물의 혈중 LDH 효소활성은 운동 직후부터 운동을 하지 않은 동물에 비해 현저히 증가되는 것으로 나타났다(Fig. 4). 이 결과는 간 MAO-B의 변화양상과 같은 경향을 갖는 것으로 나타났으며 효소활성의 변

화 양상이 유사한 곡선으로 나타난다는 흥미로운 사실을 알게 되었다. 운동시간을 3분과 5분으로 두 그룹으로 나누어 수영했을 때 수영 후 동물의 혈액에서 측정된 LDH 효소활성은 운동을 하지 않은 동물에 비해 현저히 증가하였으며 운동의 강도에 따라 유의적인 차이($p < 0.05$) 나타내고 두 그룹 모두 약한 시간 후에는 정상 상태로 회복되는 것으로 나타났다. 운동의 지표효소인 LDH의 활성이 MAO-B 활성과 유사한 변화양상을 갖는다는 사실을 확인함으로써 운동 중 체내 MAO활성 변화를 조절하는 물질을 운동능력향상과 스트레스개선을 위한 식품 소재로 이용할 수 있는 근거로 제시할 수 있을 것으로 생각한다.

혈중 lactate 함량 변화: 수영 후 동물의 혈중 lactate 함량은 수영 직후에는 운동을 하지 않은 동물에 비해 현저히 증가하였으나 운동 후 30분을 전후 하여 정상 상태를 회복하는 것으로 나타났다(Fig. 4). 이 결과는 간 MAO-B의 변화양상이나 혈중 LDH 효소활성과 같은 경향을 갖는 것을 알게 되었다. 운동 시간을 3분과 5분으로 두 그룹으로 나누어 운동했을 때 수영 직후부터 수영 30분 후까지는 두 그룹 간에 유의적인 lactate 함량 차이를 보였으나 ($p < 0.05$) 한 시간이 경과하자 모든 그룹에서 정상적인 상태를 회복하였다.

상심자 경구투여가 운동에 의한 흰쥐 MAO의 활성 변화에 미치는 영향

뇌 MAO-A의 효소활성 변화: 상심자 추출물을 일주일 간 경

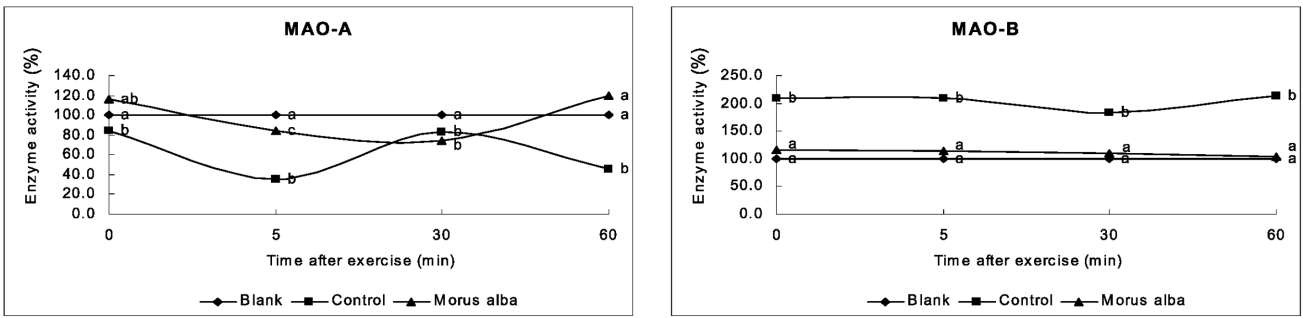


Fig. 5. Effect of the extract of *Morus alba* on the changes of MAO-A and MAO-B activities after swimming exercise in rat. The rats were administrated the extract of the *M. alba* and were swam in 30°C water for 5 days. In each group animal numbers were 6.

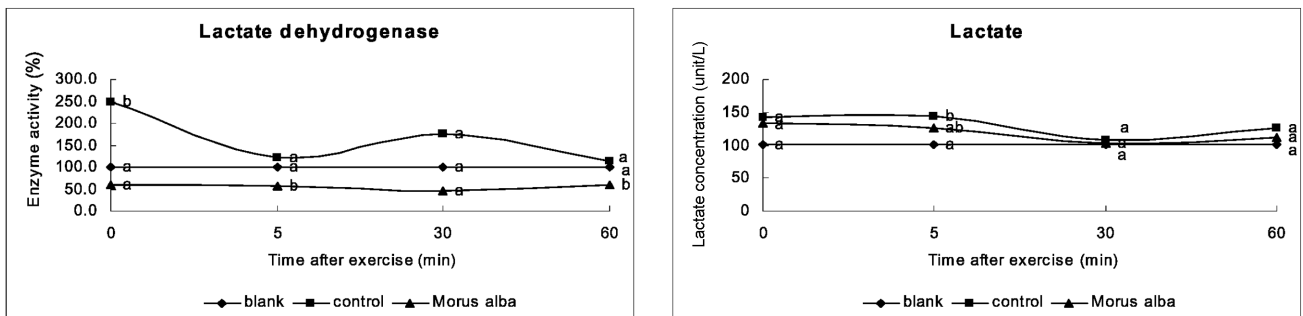


Fig. 6. Effect of the extract of *Morus alba* on the changes of LDH activities and lactate level after swimming exercise in rat. The rats were administrated the extract of the *M. alba* and were swam in 30°C water for 5 days. In each group has 6 rats.

구로 투여하고 운동을 하지 않은 그룹을 대조군으로 운동 직후(0min), 운동 후 5분, 30분, 1시간에 각 동물의 뇌에서 MAO-A의 활성 변화를 측정 한 결과는 Fig. 5와 같다. 운동 직후부터 운동을 하지 않은 동물에 비해 현저히 낮아지는 뇌 MAO-A 효소활성은 상심자 추출물을 투여한 동물에서 운동을 하지 않은 동물과 같은 수준으로 회복되는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 5). 이 결과로부터 상심자 추출물이 동물의 체내에서 MAO-A의 활성을 증가시킴으로서 운동으로 인한 동물체 내의 스트레스 조건에서 활성이 현저히 저하된 효소활성을 원 상태로 회복한 것으로 추정할 수 있었다. 이 기전에 따라 상심자가 운동능력을 향상시키고 피로회복을 촉진하는 기능성을 나타내는 식품소재로 활용이 가능하다는 사실을 설명할 수 있는 결과이다.

간 MAO-B의 효소활성 변화: 수영 후 동물의 간에서 측정 한 MAO-B의 활성변화는 운동 직후부터 운동을 하지 않은 동물에 비해 현저히 증가하는데 상심자 추출물을 투여한 동물에서 운동을 하지 않은 동물과 같은 수준으로 거의 완전히 회복 되는 것을 확인할 수 있었다. 이 결과는 상심자 추출물이 동물의 체내에서 MAO-B의 활성을 감소시킴으로서 운동으로 인한 동물체 내의 스트레스 조건에서 활성이 현저히 증가된 MAO-B 효소활성을 운동하기 전의 상태로 회복시킨 것이다. 이 결과는 MAO-A에 대한 상심자 추출물의 영향을 관찰한 것보다 훨씬 눈에 띄게 확실한 변화 양상을 나타냄으로서 경구로 투여한 상심자 추출물이 뇌에서 뿐 아니라 간에서도 MAO 활성에 적극적으로 영향을 미치고 있다는 사실을 확인한 것이다. 따라서 상심자 추출물이 운동능력을 향상시키고 스트레스를 개선할 수 있는 식품소재로 활용 가능하다는 추정이 가능하다. 이 결과는 한성 및 열성 스트레스 상태에 있는 동물에게 약물

을 경구투여하고 효소활성의 변화를 관찰한 실험에서 확인된 결과와 같은 경향을 나타내는 것으로 확인되었다(25). 즉 한성 약물을 경구투여하고 한성 및 열성 스트레스를 유발시킨 경우 열성 스트레스에 의해 감소된 MAO-A의 활성을 현저히 증가 시킴으로서 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 Hwang등의 이전 실험 결과(26)와 일치되는 결과를 알 수 있었다.

혈중 LDH 효소활성 변화: 수영 후 운동 직후부터 대조군에 비해 현저히 증가되는 것으로 확인된 동물의 혈중 LDH 효소활성은 상심자 추출물을 경구 투여한 실험동물 군에서 MAO-B와 상당히 유사한 패턴의 효소활성 변화 패턴을 보이며 원 상태로 회복되고 있는 것으로 확인되었다(Fig.6). 이 결과로부터 운동과 상심자 추출물 경구투여 동물에서 LDH의 변화 양상이 간 MAO-B의 변화양상과 같은 경향을 갖는다는 흥미로운 사실을 확인할 수 있었다.

혈중 lactate 함량 변화: 수영 후 운동 직후부터 대조군에 비해 현저히 증가되는 것으로 확인된 동물의 혈중 lactate level은 상심자 추출물을 경구 투여한 실험동물 군에서 LDH와 마찬가지로 MAO-B와 상당히 유사한 패턴의 효소활성 변화 패턴을 보이며 원 상태로 회복되고 있는 것으로 확인되었다(Fig.6). 이 결과로부터 운동과 상심자 추출물 경구투여 동물에서 LDH와 lactate의 변화 양상이 간 MAO-B의 변화양상과 같은 경향을 갖는다는 흥미로운 사실을 확인할 수 있었고 이러한 사실로부터 MAO에 대하여 저해활성을 갖는 상심자가 정신적, 육체적 스

트레스로부터 회복을 촉진하는 활성을 갖는 것을 추정할 수 있을 것으로 생각된다.

결론

실험동물에게 예비운동을 거쳐 두 종류의 운동을 각각 두 가지 강도로 적용하여 체내에서 일어나는 LDH 및 MAO의 활성 변화와 lactate 수준변화를 관찰하였으며 상심자 추출물을 경구 투여 하였을 때 운동으로 변화된 이들 지표가 어떻게 변화하는지를 관찰하였다.

위의 실험을 통하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

첫째, 운동의 종류와 강도와는 관계없이 뇌 MAO-A의 효소 활성은 운동 직후부터 운동을 하지 않은 동물에 비해 현저히 낮아지는 것으로 확인되었다. 이 결과는 한의학의 기미론을 체내 MAO 활성의 변화로 설명하려는 시도로 행해진 열성 병증 모델 운동 시의 MAO-A의 활성 변화와 일치하는 결과이며 동물이 신체적인 스트레스에 노출되었을 때 뇌에서 MAO-A의 활성이 일정 기간동안 감소하는 것을 확인 할 수 있는 결과이다. 이는 또한 운동을 전후한 스트레스에 대한 반응으로 일어나는 serotonin 농도의 급속한 변화를 MAO 활성의 변화로서 설명할 수 있는 결과이기도 하다.

둘째, 운동의 종류와 강도에 따라 약간의 차이는 있었으나 간 MAO-B의 효소활성은 운동 직후부터 운동을 하지 않은 동물에 비해 현저히 증가하는 것으로 확인되었다.

셋째, 운동을 한 후 동물의 혈중 LDH 효소활성은 운동 직후부터 운동을 하지 않은 동물에 비해 현저히 증가되는 것으로 확인되었으며 간 MAO-B의 변화양상과 같은 경향을 갖는 것으로 나타났으며 효소활성의 변화 양상이 유사한 곡선으로 나타난다는 흥미로운 사실을 알게 되었다. 운동시간과 강도에 따라 효소활성의 변화는 유의적인 차이를 나타내고 약 한 시간 후에는 정상 상태로 회복되는 것으로 나타났다.

넷째, 운동을 한 후 동물의 혈중 lactate 함량은 수영 직후에는 운동을 하지 않은 동물에 비해 현저히 증가하였으나 운동 후 30분을 전후 하여 정상 상태를 회복하는 것으로 확인되었다. 이 결과는 간 MAO-B의 변화양상이나 혈중 LDH 효소활성과 같은 경향을 갖는 것을 알게 되었다. 운동의 지표효소인 LDH와 운동의 지표물질인 lactate의 변화 양상이 MAO-A와 MAO-B의 활성과 유사한 변화양상을 갖는다는 사실을 확인함으로써 운동 중 체내 MAO활성 변화를 조절하는 물질을 운동 능력향상과 스트레스개선을 위한 식품 소재로 이용할 수 있는 근거로 제시할 수 있을 것으로 생각한다.

다섯째, 운동 직후부터 운동을 하지 않은 동물에 비해 현저히 낮아지는 뇌 MAO-A 효소활성은 상심자 추출물을 투여한 동물에서 운동을 하지 않은 동물과 같은 수준으로 회복되는 것을 확인할 수 있었다. 이 결과로부터 상심자 추출물이 동물의 체내에서 MAO-A의 활성을 증가시킴으로서 운동으로 인한 동물 체내의 스트레스 조건에서 활성이 현저히 저하된 효소활성을 원 상태로 회복한 것으로 추정할 수 있었다.

여섯째, 운동 직후부터 운동을 하지 않은 동물에 비해 현저히 증가되는 간 MAO-B 효소활성은 상심자 추출물을 투여한 동물에서 운동을 하지 않은 동물과 같은 수준으로 거의 완전히 회복되는 것을 확인할 수 있었다. MAO-A 보다 훨씬 눈에 띄게 확실한 변화 양상을 나타냄으로서 경구로 투여한 상심자 추출물이 뇌에서 뿐 아니라 간에서도 MAO 활성에 적극적으로 영향을 미치고 있다는 사실을 확인한 것이다. 따라서 상심

자 추출물이 운동능력을 향상시키고 스트레스를 개선할 수 있는 식품의 소재로 활용 가능하다는 추정이 가능하다.

일곱째, 운동에 의해 대조군에 비해 현저히 증가된 동물의 혈중 LDH 효소활성과 혈중 lactate 농도는 상심자 추출물에 의하여 MAO-B와 상당히 유사한 패턴의 효소활성 변화 패턴을 보이며 원 상태로 회복되고 있는 것으로 확인되었다. 이 결과로부터 운동과 상심자 추출물 경구투여 동물에서 LDH의 변화 양상이 간 MAO-B의 변화양상과 같은 경향을 갖는다는 사실을 확인할 수 있었다. 이러한 사실로부터 MAO에 대하여 저해 활성을 갖는 상심자가 운동이나 신체의 스트레스로부터 회복을 촉진하는 활성을 나타낼 수 있을 것으로 생각한다.

요약

상심자 추출물이 운동에 의한 체내 monoamine oxidase (MAO) 활성 변화에 미치는 영향을 연구하여, 상심자 추출물을 경구투여(0.3 g/kg body weight) 한 흰쥐의 뇌와 간에서 MAO-A와 MAO-B의 활성에 중요한 영향을 미치는 사실을 확인하였다. 각 효소활성은 serotonin과 benzylamine을 기질로 이용하여 측정하였다. 운동 전 후 운동의 유형에 따라 효소활성의 변화 경향이 서로 다른 경향을 나타내었다. 뇌에서 측정된 MAO-A 활성은 운동에 의해 효소활성이 현저히 감소하였으며 반면, 간에서 측정된 MAO-B의 활성은 운동이 끝나고 60분이 경과할 때까지 증가된 상태를 유지하고 있었다. 운동 시 체내 변화의 지표효소인 혈중 LDH의 활성 변화와 혈중 lactate의 농도변화를 함께 관찰함으로써 MAO 활성과의 상관관계를 비교하였다. 상심자 추출물을 경구투여 하고 운동을 한 동물의 MAO-A 활성은 증가하였고 MAO-B, LDH 활성과 lactate level은 감소하는 것을 확인하였다. 결과적으로 모든 지표들이 운동 전의 정상상태로 회복되는 것으로 확인 되었다. 이 연구의 결과들로부터 상심자 추출물이 운동 전후의 MAO 활성을 조절함으로써 운동능력을 향상시키고 피로를 회복하는 효능을 갖는 것으로 추정되며 이러한 기능성을 갖는 건강기능식품의 소재로 활용이 가능할 것으로 생각한다.

감사의 글

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

문헌

1. Cooper JR, Bloom FE, Roth RH. The Biochemical Basis of Neuropharmacology. Oxford university press. New York, NY, USA (1996)
2. Felner AE, Waldmeier PC. Cumulative effects of irreversible MAO inhibitors *in vivo*. Biochem. Pharmacol. 28: 995-1002 (1979)
3. Youdim MB, Finberg JP, Tipton KF. Monoamine oxidase. Handbook of Experimental Pharmacology 90: 119-192 (1988)
4. Sambamoorthi U, Olfson M, Walkup JT, Crystal S. Diffusion of new generation antidepressant treatment among elderly diagnosed with depression. Med. Care. 41: 180-194 (2003)
5. Laux G, Philipp M, Kohnen R. Hypertension with moclobemide. Lancet. 347: 1330 (1996)
6. Silberstein SD. Migraine: preventive treatment. Curr. Med. Res. Opin. 17 (Suppl. 1): s87-93 (2001)

7. Danisi F. Parkinson's disease. Therapeutic strategies to improve patient function and quality of life. *Geriatrics* 57: 46-50 (2002)
8. Ahlskog JE. Slowing Parkinson's disease progression: recent dopamine agonist trials. *Neurology* 1160: 381-389 (2003)
9. Sterling J, Herzig Y, Goren T, Finkelstein N, Lerner D, Goldenberg W, Miskolczi I, Molnar S, Rantal F, Tamas T, Toth G, Zagyva A, Zekany A, Lavian G, Gross A, Friedman R, Razin M, Huang W, Kraiss B, Chorev M, Youdim MB, Weinstock M. Novel dual inhibitors of AChE and MAO derived from hydroxy aminoindan and phenethylamine as potential treatment for Alzheimer's disease. *J. Med. Chem.* 45: 5260-5279 (2002)
10. Brown BR. Treating depression in the HIV-infected patient. *HIV Clin.* 14: 1-8 (2002)
11. Stein DJ, Cameron A, Amrein R, Montgomery SA. Moclobemide is effective and well tolerated in the long-term pharmacotherapy of social anxiety disorder with or without comorbid anxiety disorder. *Int. Clin. Psychopharmacol.* 17: 161-170 (2002)
12. Bergman J, Yasar S, Winger G. Psychomotor stimulant effects of beta-phenylethylamine in monkeys treated with MAO-B inhibitors. *Psychopharmacology* 159: 21-30 (2001)
13. Nowakowska E, Kus K, Chodera A, Rybakowski J. Investigating potential anxiolytic, antidepressant and memory enhancing activity of deprenyl. *J. Physiol. Pharmacol.* 52: 863-873 (2001)
14. Hwang KH. Monoamine oxidase inhibitory activities of Korean medicinal plants classified to cold drugs by the theory of KIMI. *Food Sci. Biotechnol.* 12: 238-241(2003)
15. Hwang KH, Kim IR, Han YN. Effects of cold and hot drugs on the activity of monoamine oxidase, *Korean J. Pharmacogn.* 30:145-150 (1999)
16. Hwang KH, Song I. The inhibitory activity on MAO of the fruit of *Morus lba*. *Korean J. Pharmacogn.* 34: 185-189 (2003).
17. Kang BS. *Bonchohak* 6th ed. Young Lim Sa. Seoul, Korea (2000)
18. Schwartz MK, Bodansky O. Lactic acid dehydrogenase (clinical aspects). *Methods in Enzymology* 14: 294-302 (1969)
19. Jensen PN, Moller HJ, Smith DF, Rosenberg R. Acute effect of exercise on human blood platelet serotonin uptake and monoamine oxidase activity. *Biol. Psychiatry.* 38: 125-127 (1995)
20. McEwen CM, Cohen JR, Cohen JD. An amine oxidase in normal human serum. *J. Lab. Clin. Med.* 62: 766-776 (1963)
21. Amador E, Dorfman LE, Wacker WEC. Serum lactic dehydrogenase: An analytical assessment of current assays. *Clin. Chem.* 9: 391-399 (1963)
22. Barhan D, Trinder P. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by oxidase system. *Analyst* 97: 142-144 (1972)
23. Daniel MB, Stuart JE. *Protein Methods*. Wiley-Liss, New York, NY, USA (1990)
24. SAS: *SAS User's Guide, Statistics*, 6th ed. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA (1988)
25. Hwang KH, Ma JY, Kim IR. The studies on the theory of KIMI by the activity of monoamine oxidase. *Korean J. Herbology* 14: 1-14 (1999)
26. Hwang KH, Ma JY, Kim IR. The studies on the theory of KIMI of symptoms by the activity of monoamine oxidase. *J. Assoc. Neo Med.* 3: 65-74 (1998)

(2004년 10월 12일 접수; 2004년 12월 14일 채택)