

지유 추출물의 α -glucosidase 활성 억제에 의한 항바이러스 활성

이동선*, 양정모

**제주대학교, 한국산학연합회

e-mail: dongsunlee@jejunu.ac.kr, jmyang@auri.go.kr

Extract of Sanguisorba officinalis has Anti-viral Activity by Inhibition of α -glucosidase

Dong-Sun Lee*, Jung-Mo Yang

**Jeju National University, AURI

요 약

α -glucosidase 활성을 저해하는 지유 메탄올 추출물의 항바이러스 활성을 연구하였다. Newcastle disease virus (NDV) 감염된 baby hamster kidney (BHK) 세포에서 Syncytium (합포체) 형성은 세포막 표면으로의 수송된 바이러스 당단백질 hemagglutinin-neuramidase (HN)에 의해 일어난다. 지유 추출물(IC₅₀ 25 μ g/mL) 처리된 세포에서 바이러스 당단백질의 수송과 함께 합포체 형성이 저해되었다. 또한 IC₅₀ 농도에서는 세포내에서 당단백질 생합성은 저해되지 않으며 당단백질의 수송을 저해하는 것으로 추론된다.

1. 서론

당뇨, 암, 바이러스 감염 등과 같은 많은 질병에 관여하는 것으로 알려진 glucosidases는 세포내 glucose trimming을 통하여 당단백질 혹은 당지질의 수식에 관여한다. 그리고 α -glucosidase 저해제는 당단백질 혹은 당지질의 수식을 통하여 항당뇨, 항암 및 항바이러스 활성을 나타낸다(Dennis 등, 1987). 특히, 당기 바이러스, HIV, 간염바이러스 등을 포함한 해로운 바이러스들은 glucosidase 저해에 매우 민감한 것으로 알려졌다(Courageot 등, 2000). 이러한 이유로 인하여, α -glucosidase 저해제는 관련된 많은 질병의 치료제 개발 타겟으로써 뿐만 아니라 작용기작 연구에 이용된다. Nojirimycin, N-butyldeoxynojirimycin, nectricine 및 castanospermine와 같은 α -glucosidase 저해제는 당단백질 수식의 초기단계를 저해함으로써 인간면역결핍 바이러스(HIV, human immunodeficiency virus)의 복제, 세포융합을 통한 syncytium (합포체) 형성의 저해활성을 나타낸다(Papandrou 등, 2002). HIV-1 envelope glycoprotein (Env)으로 알려진 outer membrane gp120와 transmembrane gp41 subunits는 precursor gp160의 절단으로부터 유래된다. T helper cell 표면에 위치한 HIV 수용체인 gp41와 gp120은 lymphocytes 표면의 CD4 수용체에 결합하며, 이러한 상호작용을 통하여 거대하고 비기능적인 막융합을 야기시켜 syncytium(합포체)을 형성한다. α -glucosidase inhibitor로써 Deoxynojirimycin과 그 유사체들은 gp160으로부터 gp41와 gp120으로의 절단 활성을 감소시켜 정상적인 glycan processing을 저해함으로써 감염세포 내에서 HIV 수용체의 형성을 방해한다. HIV 감염된 세포에서의 합포체 형성은 Newcastle disease virus(NDV) 감염된 baby hamster kidney (BHK) 세포에서도 관찰되며(Lee 등, 2011), 합포체 형성을 저해하는 저해제 탐색방법은 항 HIV 활성물질 스크리닝을 위한 훌륭한 전략으로 기대된다.

지유는 한의학에서 장미과 식물인 오이풀(Sanguisorba officinalis, L.)의 뿌리나 뿌리줄기를 말린 것을 일컫는 말이다. 잎이 느릅나무[榆] 잎과

비슷하게 생긴 것이 처음에 자랄 때 땅바닥에 깔리므로 지유(地榆)라고 한다. 설사와 출혈을 멎게 하며 설사나 위장 출혈, 월경과다, 위산과다증, 악성 종기, 화상 등에 사용한다. 보통 외용약으로 만들어 사용할 때는 찌어서 즙으로 만들어 바르거나 가루로 만들어서 몸에 뿌려 사용한다. 약재로 사용되는 지유에는 sanguisorbinin과 Tannin이 함유되어 있다. 잎이나 줄기를 비비면 오이냄새가 난다. 지유는 우리나라 각처의 산과 들에 나는 다년초로써, 줄기는 30-150cm 가량이며, 근생엽은 잎자루가 길고 깃꼴 겹 잎이며, 작은 잎은 5-11장으로 구성된다. 그리고 잎의 가장자리에 이 모양의 톱니를 갖으며, 꽃은 4수성으로 검붉은색과 흰색으로 나타나며, 이삭화서(꽃차례)의 길이는 1-2cm, 폭은 6-8mm, 원통형으로 곧게 서는 특징이 있다. 열매는 수과로 사각형으로 꽃받침으로 싸여있으며, 개화기는 6-9월, 결실기는 9-11월 경이다. 지유를 이용한 항바이러스 활성에 관한 연구는 이루어지고 있지는 않는 실정이다. 따라서, 우리는 이러한 시스템을 이용하여 초두구 추출액이 α -glucosidase 저해활성과 항바이러스 활성에 관한 연구를 수행하였다.

2. 결과 및 고찰

지유 추출물의 α -Glucosidase 억제 활성.

다수의 α -glucosidase inhibitor들은 항바이러스 활성 물질로 알려져 있다 (Courageot 등, 2000). Glucosidase 저해제 스크리닝 시스템을 이용하여 α -glucosidase에 대한 활성저해능을 갖는 초두구 추출물을 선별하여 조사하였다. 추출물의 저해활성을 조사하기 위하여 50% inhibition (IC₅₀) values을 결정하였으며, 효소활성 저해능은 샘플 추출액 농도의 로그 값에 대한 상대활성 %을 정하여 나타내었다. Fig. 1에서와 같이, α -glucosidase에 대한 추출물의 IC₅₀ 값은 8 μ g/mL이었으며, 또한 추출물에 대한 α -glucosidase 활성 억제를 3개의 다른 효소와의 IC₅₀의 비교 변화를 보았을 경우도 유사한 양상을 나타내었다.

이러한 결과는 지유 추출물이 농도 의존적으로 α -glucosidase에 대한 억제 활성이 증가하였다고 사료된다. Fig. 1에서 나타난 바와 같이, 지유 추출물

은 β -type glycosidases 보다 α -type glycosidase에 대한 효소활성 저해능이 우수하였다. β -glucosidase, α -mannosidase, β -mannosidase에 대한 초두구 추출물의 IC_{50} 은 각각 15, 25, 80 $\mu\text{g/mL}$ 로 나타났다. 보고된 연구논문에 따르면(Courageot 등, 2000), α -glucosidase에 대한 억제 활성을 나타내는 것은 세포내에서 바이러스 단백질들의 glycosylation와 같은 당단백질 수식과정을 억제하는 것으로 보고되었다. 따라서, 그림 1과 같이 α -glucosidase 억제 활성을 보이는 초두구 추출물이 세포내에서 바이러스 당단백질의 합성과정 및 세포표면으로의 분비과정 등을 이해하는데 유용한 재료로 이용될 수 있을 것이라 기대된다.

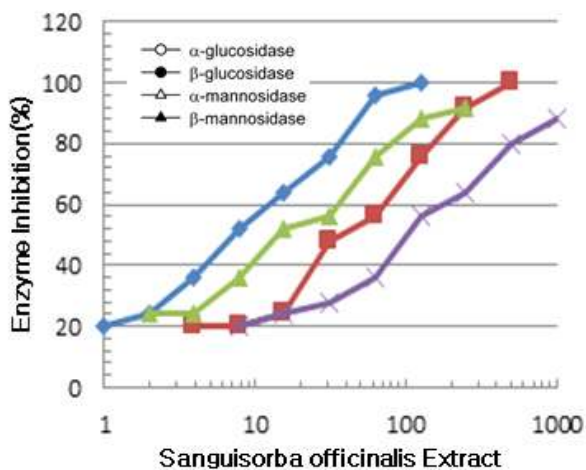


그림1. 지유 추출물의 glucosidase 저해 활성

지유 추출물에 의한 바이러스 당단백질의 세포내 발현 억제.

본 실험에서는 세포수준에서 지유 추출물의 항바이러스 억제 활성을 조사하기 위하여, NDV 감염된 BHK 세포 내에서 발현 되는 바이러스 당단백질 (NDV-HN)의 생합성 및 세포표면으로의 분비 효능을 알아보았다. 지유 추출물이 합포체 형성(SF, Syncytium formation)을 억제시키는 MIC (Minimum inhibitory concentration) 값은 25 $\mu\text{g/mL}$ 로 나타났다(Table 1). 그러나, 부분적으로 합포체 형성이 지연되는 MIC 값은 12.5 $\mu\text{g/mL}$ 로 나타났다. 또한 NDV 감염된 BHK 세포에서의 합포체 형성은 HIV 감염시와 유사하기 때문에(Lee 등, 2011), 지유 추출물에 의한 α -glucosidase 활성 억제는 virus 감염 세포주에서의 glycan 형성 과정을 억제하므로 합포체 형성을 저해한다고 할 수 있다.

표1.지유 추출물의 항바이러스 효과

Conc.($\mu\text{g/mL}$)	3.13	6.25	12.5	25.0	50.0	100.0
α -glucosidase inhibition(%)	30	45	60	70	90	100
HAU(%)	100	96	92	80	72	52
HAD(%)	100	96	80	40	24	20
SF	+	±	±	-	-	-
CPE	-	-	-	+	+	+

지유 추출물에 의한 바이러스 당단백질의 세포표면으로의 발현 억제는 세포내에서 바이러스 당단백질의 세포내 생합성 저해에 의해 일어날 가능성이 있으므로, 추출물에 의한 당단백질 생합성 저해능을 검토하였다. NDV-감염 BHK 세포에서 바이러스 당단백질 NDV-NH의 총 생합성 양은 세포 용해물 (cell lysate)에서 전체 HAU 측정으로 정량화한다는 연구가 보고되었다(Lee 등, 2011). NDV 감염된 세포배양액을 초음파 파쇄하여 닭 적혈구(chicken red blood cells)을 첨가한후, 용해물에서 hemagglutination 활성을 측정하였다. HAU는 지유 추출물의 농도가 100 $\mu\text{g/mL}$ 에서는 현저하게 감소하는 경향을 나타내지는 않았지만, NDV 감염된 세포에 닭 적혈구 세포를 첨가하여 혈구 흡착(HAD %) 정도를 측정한 결과, 25 $\mu\text{g/mL}$ 농도(Fig. 2, black bar)에서 광범위한 흡착능의 감소를 나타내었다. 즉, NDV 감염된 세포에 대하여 지유 추출물 처리한 결과, 추출물 25 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 처리한 샘플구에서 바이러스 당단백질의 세포내 생합성은 저해되지 않으나, 당단백질의 세포표면으로의 분비가 저해되어 혈구흡착은 되지 않았다(표 2). 그러므로 지유 추출물은 NDV 감염된 BHK 세포에서 바이러스 당단백질의 분비과정을 저해함으로써 항바이러스 작용을 하는 것으로 추론된다.

지유 추출물의 항바이러스 활성에 대한 정확한 보고는 없었다. 그러나, 위에서 제시한 결과와 같이 지유 추출물은 세포에 감염된 바이러스 당단백질의 세포표면으로의 분비과정을 저해함으로써 바이러스 증식을 억제하는 항바이러스 작용을 할 것이라는 결과를 확인되므로 향후, 정확한 작용 기작 연구가 필요하다.

참고문헌

- [1] Courageot MP, et al., "α-Glucosidase inhibitors reduce dengue virus production by affecting the initial steps of virion morphogenesis in the endoplasmic reticulum." J Virol Vol. 74, pp. 564 - 72, 2000.
- [2] Dennis JW, et al., "Beta 1-6 branching of Asn-linked oligosaccharides is directly associated with metastasis." Science, Vol. 236, pp. 582 - 585, 1987.
- [3] Lee DS, et al., "Screening of Phellinus linteus, a medicinal mushroom, for anti-viral activity." J Korean Soc Appl Biol Chem., Vol. 54, pp. 475 - 478, 2011.
- [4] Papandréou MJ, et al., "The α-glucosidase inhibitor 1-deoxynojirimycin blocks human immunodeficiency virus envelope glycoprotein-mediated membrane fusion at the CXCR4 binding step." Mol Pharmacol., Vol. 61, pp. 186 - 193, 2002.