

Human Immunodeficiency Virus Type 1에 대한 수종 식물 추출물의 억제활성 검색

유영범*, 박종철¹, 이종호², 김경업², 조성기, 변명우,
Hirotsuku Miyashiro³, Masao Hattori³

한국원자력연구소, ¹순천대학교 한약자원학과, ²경상대학교 식품영양학과,
³일본도야마의과약과대학 화한약연구소

Screening of Some Plant Extracts for Inhibitory Effects on HIV-1 and Its Essential Enzymes

Young-Beob Yu*, Jong-Cheol Park¹, Jong-Ho Lee², Gyeong-Eup Kim²,
Sung-Kee Jo, Myung-Woo Byun, Hirotsuku Miyashiro³ and Masao Hattori³
*Food Irradiation Team, Korea Atomic Energy Research Institute, 105 Yusong,
Taejon 305-600, Rep. of Korea; ¹Department of Oriental Medicine Resources,
Suncheon National University, Suncheon 540-742, Rep. of Korea; ²Department of Food
and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju 600-701 Rep. of Korea; and
³Research Institute for Wakan-Yaku, Toyama Medical and Pharmaceutical University
2630 Sugitani, Toyama 930-0194, Japan*

Abstract—In order to elucidate the relationship between anti-HIV-1 enzyme activity and inhibition of HIV-1 replication by natural sources, extracts from some plants using the foods and oriental medicines were tested for inhibitory effects on the viral replication, reverse transcriptase (RT), protease and α -glucosidase. In the anti-RT test, water extracts of *Ficus carica* (leaf), *Houttuynia cordata* (aerial part) and *Ixeris tamagawaensis* (aerial part) showed more than 79% inhibition at a concentration of 100 μ g/ml. The protease and α -glucosidase-inhibiting samples in the screening were water extract of *Syringa dilatata* (leaf) and methanol extract of *Hibiscus syriacus* (leaf and stem), which showed more than 40% inhibition at a concentration of 100 μ g/ml. In the primary anti-HIV-1 test, water extracts of *Equisetum arvense* (aerial part), *Hibiscus syriacus* (leaf), *Ixeris tamagawaensis* (aerial part) and *Pueraria thunbergiana* (leaf) showed the potent inhibition against HIV-1 induced cytopathic effects.

Key words—anti-HIV-1; reverse transcriptase; protease; α -glucosidase; *Citrus junos*; *Cucurbita moschata*; *Equisetum arvense*; *Ficus carica*; *Houttuynia cordata*; *Hibiscus syriacus*; *Ixeris tamagawaensis*; *Pueraria thunbergiana*; *Syringa dilatata*.

Retrovirus의 한 종이며 에이즈(acquired immune deficiency syndrome, AIDS)의 aetiological agent인 HIV-1(human immunodeficiency virus type 1)은 RNA를 유전적 모태로 하고 있다.^{1,2)} HIV-1은 surface protein인 glycoprotein 120(gp120)이 Helper T cell의 CD4⁺ receptor와 interaction한 후^{3,4)} RNA를 숙주 세포에 삽입하고 reverse transcriptase(RT)⁵⁾에 의해 viral DNA로 전사되어 host chromosome에 proviral DNA 형태로 존재한다. 숙주세포에서 잠복기를 거쳐 gene이 expression될 때 RNA polymerase에 의해 viral mRNA가 생산되고, protease(PR)에 의해 viral protein의 processing이 이루어지며,⁶⁾ glucosidase(GL) 등의 작용으로 viral surface glycoprotein이 형성되어^{7,8)} mature virion으로 budding된다. 이렇듯 virus가 helper T cell 등에 자신의 유전자를 삽입하고 잠복기를 거쳐 자신을 replication하는 과정에서 host cell을 파괴하므로써 인간의 면역기전에 심각한 장애를 유발하는 것으로 알려져 있다.

항 HIV-1의 chemotherapy는 suramin⁹⁾을 시작으로 다양한 치료약물이 개발되고 있으며 RT의 억제약물로 nucleoside analogues인 azidothymidine(AZT),¹⁰⁾ didanosine(ddI) 및 zalcitabine(ddC) 등과 non-nucleosides analogues인 TIBO, nevirapine 및 pyridinone 등이 임상에서 사용되고 있다. 하지만 AZT는 장기투여 환자에게 myopathy와¹¹⁾ oral mucosa pigmentation 등의¹²⁾ 부작용이 있으며, ddI는 췌장염을 일으킨다고 보고되어 있다.¹³⁾ 이렇듯 AIDS 치료 약물의 부작용으로 인해 다양한 치료 약물 개발이 요구되고

있다.

최근에는 천연물을 이용한 AIDS 치료약물 개발이 활성화되고 있으며 gossypol과 그 합성 유도체,¹⁴⁾ 해양 천연 알카로이드인 pyrido[4,3,2-mn]thiazolo[5,4-b]acridine,¹⁵⁾ tannin,¹⁶⁾ flavonoid¹⁷⁾ 등의 항 HIV-1 억제활성이 보고되었고, 또한 천연물엑스의 광범위한 screening이¹⁸⁾ 행해지고 있는 실정이다.

본 연구에서는 수종식물의 H₂O 및 MeOH 엑스를 이용하여 HIV-1 기원의 효소인 reverse transcriptase 억제활성을 ELOSA(Enzyme Linked Oligonucleotide Sorbent Assay) 방법으로 assay하였고, protease 억제활성을 기질 cleavage를 HPLC로 검출하는 방법으로, 그리고 α -glucosidase의 억제활성은 p-nitrophenyl- α -D-glucoside의 cleavage를 spectrophotometer로 각각 측정하였다. 식물엑스의 항 HIV-1 복제억제활성은 MT-4 세포에 대한 HIV-1 유도 세포변형억제를 광학현미경으로 관찰하였다.

재료 및 방법

식물재료 - 시료로 사용한 9종의 약용식물은 전남 순천시 근교에서 채취하여 순천대학교 생물학과 식물 분류학실에서 동정한 후, 음건 세절하여 추출용 시료로 사용하였다(Table I). 시료는 순천대학교 한약자원학과 표본실에 보관중이다.

시약 및 기기 - 용매는 특급 및 1급 시약을 사용하였다. Microplate washer는 Immunowash model 1250(Biorad, Nippon Biorad KK, Tokyo, Japan)을, microplate reader는 Biorad 3550-UV(Biorad, Nippon Biorad KK, Tokyo, Japan)를, HPLC는

Table I. Plant materials

| Sample No. | Botanical Name | Family Name | Used Parts |
|------------|--------------------------------------|--------------|-------------|
| 1 | <i>Citrus junos</i> Tanaka | Rutaceae | stem |
| 2 | <i>Cucurbita moschata</i> Duchesne | Cucubitaceae | leaf |
| 3 | <i>Equisetum arvense</i> L. | Equisetineae | aerial part |
| 4 | <i>Ficus carica</i> L. | Moraceae | leaf |
| 5 | <i>Hibiscus syriacus</i> L. | Malvaceae | leaf |
| 6 | <i>Hibiscus syriacus</i> L. | Malvaceae | stem |
| 7 | <i>Houttuynia cordata</i> Thunb | Saururaceae | aerial part |
| 8 | <i>Ixeris tamagawaensis</i> Kitamura | Compositae | aerial part |
| 9 | <i>Pueraira thunbergiana</i> Benth | Leguminosae | leaf |
| 10 | <i>Pueraira thunbergiana</i> Benth | Leguminosae | stem |
| 11 | <i>Syringa dilatata</i> Nakai | Oleaceae | leaf |

[System controller: Shimadzu SCL-6B, Pump: Shimadzu LC-9A, Detector: Shimadzu SPD-6A (UV spectrophotometric detector), Recorder & integrator: Shimadzu C-R6A Chromatopac.]을 각각 이용하였다.

시료의 추출 - 시료 5 g을 각각 H₂O(100 ml) 또는 MeOH(100 ml)로 3시간씩 열수 추출한 후 감압 농축하여 MeOH의 최종농도가 2%가 넘지 않게 동결건조하여 활성실험의 재료로 사용하였다. 시료는 활성실험시에 멸균된 증류수나 DMSO에 100 µg/ml의 농도로 희석하여 사용하였다.

HIV-1 reverse transcriptase 활성 억제 - RT 활성 억제 실험은 Dupont사로부터 구입한 RT-Detect™ kit NEK-070A(Dupont medical products, Boston, MA, USA)를 이용한 ELOSA 방법으로 4℃ 이하에서 저장하면서 assay 조건을 설정하였다. 효소는 유전자 재조합에 의해 생산된 HIV-1 RT(10 U/µl, 100 mM potassium phosphate, pH 7.1, 1 mM dithiothreitol, 50% glycerol)를 효소완충액[100 mM Tris-HCl, pH 8.0, 160 mM KCl, 1 mM EDTA, 3 mM dithiothreitol, 0.3% (v/v) Triton X-100, and 10% (v/v) glycerol]에 0.005 U/µl로 희석하여 사용하였고 반응혼합물(reaction mixture)은 primer가 부착된 RNA template와 triphosphate-DNA nucleosides를 반응혼합물 완충액(reaction buffer: 200 mM Tris-HCl, pH 8.0, 40 mM MgCl₂)에 희석하여 사용하였다. 역전사 효소의 활성억제는 10 µl 반응혼합물 완충액, 20 µl 반응혼합물, 4 µl 식물추출물, 5.2 µl 효소완충액을 500 µl test tube(ependorf)에 넣고 37℃에서 4분간 예비배양한 후 효소 0.8 µl를 가해 37℃에서 1시간 동안 역전사시키고 90℃에서 1분간 반응을 정지시켰다. 반응을 마친 RNA template를 알카리용액(5.62% potassium hydroxide, 94.38% water)으로 37℃에서 15분간 가수분해한 후, 완충액(13.6% sodium phosphate, monobasic monohydrate, 86.4% water)으로 중화하였다. ELOSA 반응을 위해 중화시킨 반응액 50 µl를 streptavidin-coated microplate well에 옮기고, horseradish peroxidase(HRP)-labeled detector probe와 biotin-labeled capture probe를 포함하는 ELOSA 용액 50 µl 첨가하여 37℃에서 2시

간동안 배양하였다.¹⁹⁾ 반응을 마치고 microplate well에 남은 시약이나 가수분해된 RNA를 제거하기 위해 세척액(2-chloroacetamide 용액 20X)을 D. W로 희석하여 3회 세척하였다. 세척한 microplate에 형광검출액(3,3',5,5'-tetramethylbenzidine substrate 용액) 100 µl를 첨가하여 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후 정지액(2.2% citric acid, 1.5% HCl, 1.5% sulfuric acid and 94.8% water) 100 µl를 첨가하여 반응을 정지시켰다.²⁰⁾ 반응액은 spectrophotometer로 450 nm에서 흡광도를 측정하였으며 억제율의 계산은 다음과 같이 하였다.

$$\text{Inhibition(\%)} = \frac{(\text{Activity}_{\text{control}} - \text{Activity}_{\text{sample}}) / \text{Activity}_{\text{control}} \times 100}$$

HIV-1 protease 활성 억제 - 유전자 재조합으로 생산된 HIV-1 protease에 의한 기질의 cleavage를 HPLC로 측정하였고 효소원은 Kusumoto 등의 방법¹⁸⁾에 의해 준비하였다. 즉 HIV-1 protease(PR)의 DNA를 나타내는 JM 105 *Escherichia coli*에서 생산된 HIV-1 protease를 {[50 mM NaOAc(pH 5.0), 1 mM EDTA-2Na, 2 mM 2-Mercaptoethanol]: Glycerol} = 75:25 용액에 희석하여 사용하였고, 기질은 oligopeptide {His-Lys-Ala-Arg-Val-Leu-(pNO₂-Phe)-Glu-Ala-Nle-Ser-NH₂(M.W. 1315)}를 (주)단백질 연구소(Osaka, Japan)로부터 구입하여 완충액(50 mM NaOAc, pH 5.0)에 2 mg/ml 농도로 희석하여 사용하였다. 항 HIV-1 protease 반응은 완충액 1 µl, 기질 1.0 µl, 식물추출물 1 µl, 효소용액 2 µl을 각각 가하여 전량 5 µl의 반응혼합물을 조제하고 37℃에서 1시간 반응시킨 후 90℃에서 60초간 가열하여 효소 반응을 정지시켰다. 반응혼합물을 증류수 35 µl로 희석한 후 HPLC 분석을 행하였으며 HPLC 분석 조건으로 column은 LiChrospher 100 RP-18(column size, 250×4 mm, Merck, Darmstadt, FRG)을, 용매는 0.1% TFA와 acetonitrile(20%~50% gradient)로 하였으며, 유속은 1.0 ml/min로 하면서 UV 280 nm에서 분석하였다(Fig. 1).

α-Glucosidase 활성 억제 - α-glucosidase에 의한 *p*-nitrophenyl-α-D-glucoside의 cleavage를 spectrophotometer로 측정하는 방법을 이용하였다. 실험에 사용한 효소원은 *Saccharomyces*

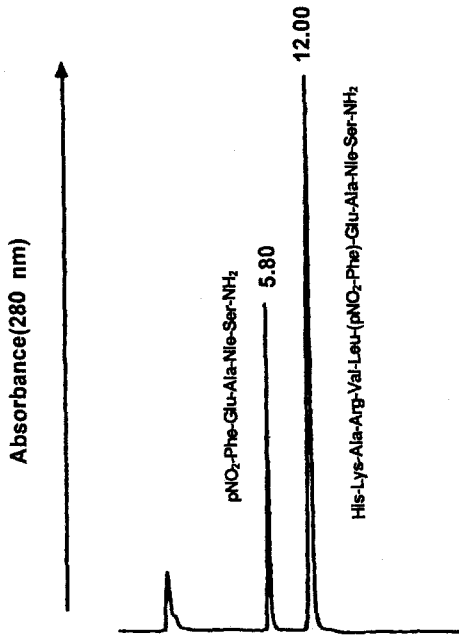


Fig. 1. HPLC profile of the reaction mixture of HIV-1 protease. The substrate and its hydrolysate were detected at 280 nm and their referention times were 12.00 and 5.80 min, respectively.

sp.에서 얻은 α -glucosidase(Toyobo Company, Osaka, Japan)를 완충액(10 mM sodium phosphate, pH 7.0, 20% glycerol)에 0.5 U/ml가 되도록하여 사용하였으며, 기질은 *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside(Nacalai Tesque Inc., Osaka, Japan)를 멸균 증류수에 10 mM이 되도록하여 사용하였다. 항 α -glucosidase 반응액의 조성은 50 μ l 완충액(100 mM Sodium phosphate, pH 7.0), 100 μ l 기질용액과 20 μ l 식물추출물로 하고 37 $^{\circ}$ C에서 5분간 예비배양한 후 30 μ l 효소를 첨가하여 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 배양하였다. 그리고 140 μ l 정지액(0.2 M sodium carbonate)으로 반응을 정지시킨 후 microplate well에 옮겨 405 nm에서 흡광도를 측정하였고 억제율의 계산은 다음과 같이 하였다.

$$\text{Inhibition(\%)} = \frac{(\text{Activity}_{\text{control}} - \text{Activity}_{\text{sample}}) / \text{Activity}_{\text{control}} \times 100}$$

HIV-1 복제 억제-HIV-1 복제억제활성 실험은 Otake 등의 방법²¹⁾에 의해 행하여 졌다. 실험에 사용된 세포는 HTLV-1에 감염된 MT-4 cell line으로

penicillin G 100 U/ml(Banyu Pharmaceutical, Tokyo, Japan)와 streptomycin 100 μ g/ml(Meiji Seika, Tokyo, Japan) 그리고 10% fetal calf serum(FCS, Flow Laboratories, North Ryde, Australia)이 제공되는 RPMI-1640 배지(Flow Laboratories, Irvine, Scotland)에 5% CO₂와 37 $^{\circ}$ C를 유지하면서 실험에 사용하였다. 바이러스는 MOLT-4/HTLV-3III_B 세포로부터 얻은 HIV-1(strain HTLV-III_B)을 이용하였다. 항 HIV-1 활성은 MT-4 세포를 50%-tissue culture infective dose(TCID₅₀)에서 1시간 동안 HIV-1(HTLV-III_B)에 감염시켰다. 그리고 RPMI-1640배지에서 1 \times 10⁵ cells/ml로 재현탁시키고 현탁된 세포를 200 μ l/well씩 96-well culture plate에 식물엑스와 함께 처리하고 5일간 배양하였다. 식물엑스의 MT-4세포에 대한 HIV-1 유도 세포변성(CPE, cytopathic effect)을 완전히 억제하는 농도(IC, inhibitory concentration)을 광학현미경으로 관찰하였으며 세포독성(CC, cytotoxic concentration)은 MT-4 세포의 생존력 감소로 측정하였다. 대조군은 HIV-1에 감염시킨 세포와 시키지 않은 세포에 식물엑스를 넣지 않고 측정하였다. 양성대조군은 AZT와 DS8000을 각각 이용하였다.

결과 및 고찰

에이즈의 치료연구를 위해 세계각지의 식물을 대상으로 광범위한 anti-HIV-1 screening과 활성화 함물의 분리 및 합성 등이 이루어지고 있다.¹³⁻¹⁸⁾ 본 연구에서는 에이즈의 원인 바이러스인 HIV-1의 주요 효소와 그 바이러스를 대상으로 한국산 식물들의 억제 효능을 살펴보았다.

시료로 사용된 식물들은 한방에서 건위, 소화, 구충에 사용되는 유자나무의 줄기(Sample No. 1), 보중익기, 소염진통의 호박 잎(Sample No. 2), 이뇨, 지혈의 쇠뜨기 지상부(Sample No. 3), 유즙부족, 지사, 구충의 무화과 잎(Sample No. 4), 청열, 해독의 무궁화 잎과 줄기(Sample No. 5, 6), 이뇨, 소염 등의 어성초 지상부(Sample No. 7), 위열의 냇쭈마귀 지상부(Sample No. 8), 해열, 주독의 칩잎과 줄기(Sample No. 9, 10) 및 라일락 줄기(Sample No. 11)을 각각 이용하였으며 이중 호박,

쇠뜨기, 무화과, 어성초, 냇씀바귀, 칩은 식용으로도 이용되고 민간약으로서의 역할이 다양하여 이용 가치가 높은 식물들이다(Table I).²²⁻²⁵⁾

RT 활성 억제 실험에서는 무화과 잎, 어성초 지상부 및 냇씀바귀 지상부의 H₂O 엑스가 79.8%, 84% 및 79.8%의 강한 억제를 100 µg/ml 농도에서 보였으며, 유자 줄기, 쇠뜨기 지상부, 무궁화 잎 및 칩 잎의 H₂O 엑스는 59.4%, 64.9%, 44.3% 및 50.8%의 활성을 보여주었다(Fig. 2). PR 억제에서는 라일락의 잎 H₂O 엑스만 50.5%의 억제를 나타내었고(Fig. 3) GL 억제활성에서도 무궁화 잎과 줄기의 MeOH 엑스가 42.2%와 48.5%의 약한 활성을 보여주었다(Fig. 4).

HIV-1 복제억제활성에서는 호박 잎, 쇠뜨기 지상부, 무궁화 잎, 냇씀바귀 지상부 그리고 칩 잎의 H₂O 엑스가 50 µg/ml에서 HIV-1 유도 세포 변성(CPE, cytopathic effect)을 완전히 억제하였다(Table II).

HIV-1 복제 억제에 활성을 보인 식물엑스들 중

Sample No 3, 8의 H₂O 엑스는 RT 억제 활성과 강한 상관성을 보여주므로서 HIV-1 복제 억제가 RT의 억제에 기인한 것을 추정해 볼 수 있었으며, Sample No. 5, 7, 9의 H₂O 엑스는 RT 억제와 virus 복제억제와 상관성이 유의성있게 인정되었다. 반면 RT 억제에 강한 활성을 보인 Sample No. 4는 virus복제와 상관성을 전혀 보이지 않았고, PR과 GL에 활성을 보인 Sample No. 11의 H₂O 엑스와 Sample No. 5, 6의 MeOH 엑스에서도 virus 복제억제와 관련성을 찾아 볼 수 없었다. 그리고 효소억제에 활성을 보이지 않은 Sample No. 2는 50 µg/ml 농도에서 강한 virus 복제억제활성을 보였다.

이상의 결과에서 각 식물들의 MeOH 엑스보다 H₂O 엑스가 효소억제나 바이러스 복제억제에 높은 활성을 나타냄을 알 수 있었다. 이는 식물중 고분자 활성 물질인 tannin, polysaccharide, protein 등이 H₂O 추출물에 다량 함유되어 있어 효소나 바이러스 표면의 당단백에 결합이 용이하므로 강한 활

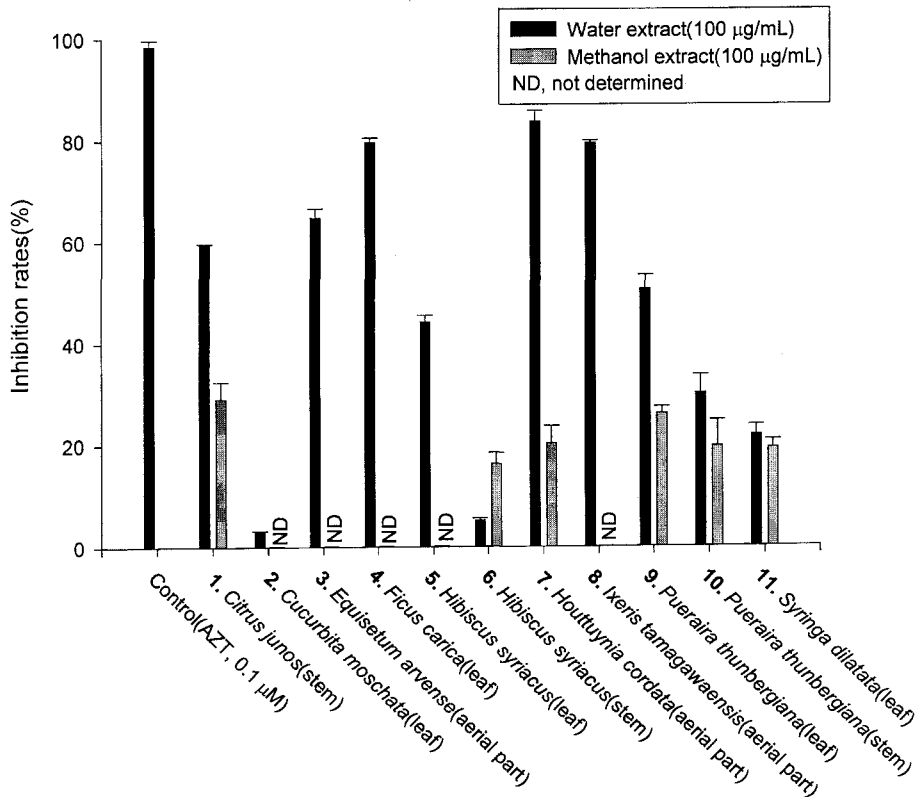


Fig. 2. Inhibition rates of Korean plants extracts on HIV-1 reverse transcriptase.

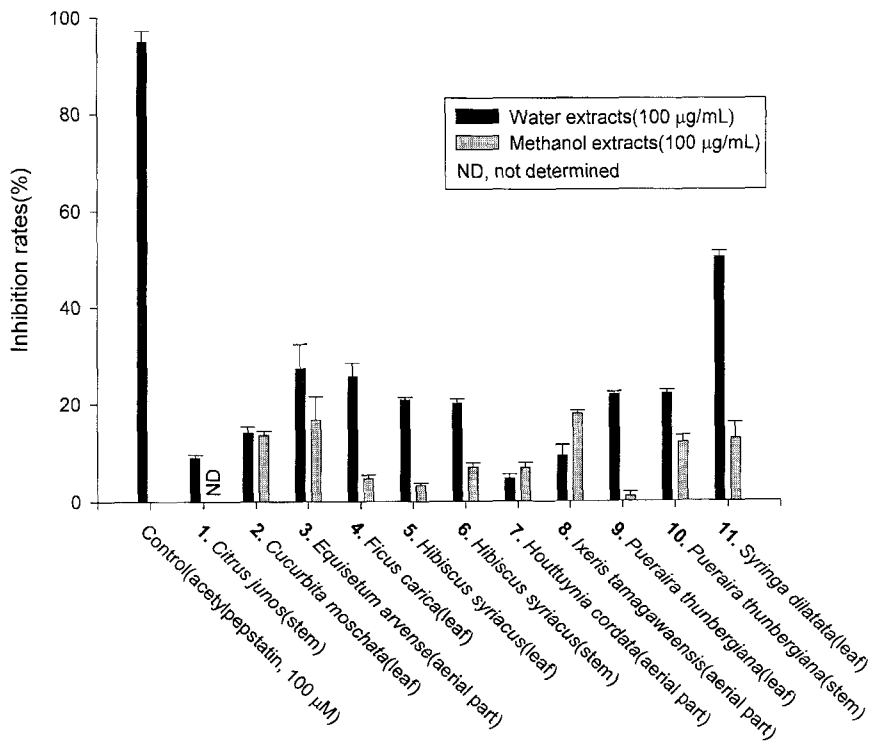


Fig. 3. Inhibition rates of Korean plants extracts on HIV-1 protease.

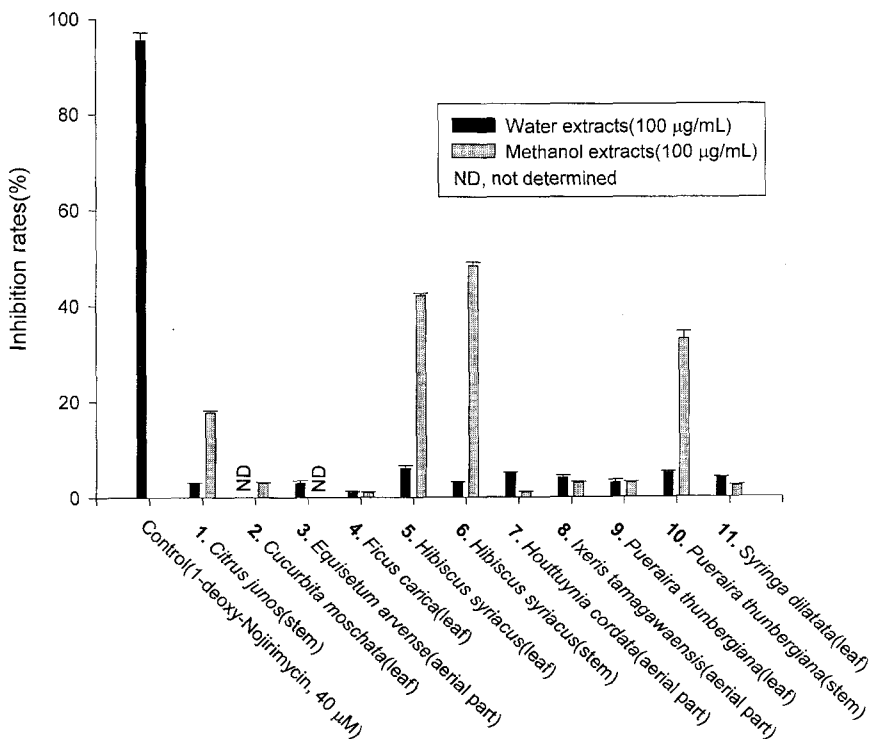


Fig. 4. Inhibition rates of Korean plant extracts on α-glucosidase.

Table II. Inhibitory effects of extracts of some Korean edible and medicinal plants against HIV-1 viral replication

| Sample No. | Botanical Name | Family Name | Used Parts | Extracts | IC ($\mu\text{g/ml}$) | CC ($\mu\text{g/ml}$) |
|------------------|--------------------------------------|---------------|-------------|----------|-------------------------|-------------------------|
| 1 | <i>Citrus junos</i> Tanaka | Rutaceae | stem | W | NE | >100 |
| | | | | M | NE | >100 |
| 2 | <i>Cucurbita moschata</i> Duchesne | Cucurbitaceae | leaf | W | 50 | >100 |
| | | | | M | NE | >100 |
| 3 | <i>Equisetum arvense</i> L. | Equisetineae | aerial part | W | 50 | >100 |
| | | | | M | NE | >100 |
| 4 | <i>Ficus carica</i> L. | Moraceae | leaf | W | NE | >100 |
| | | | | M | NE | >100 |
| 5 | <i>Hibiscus syriacus</i> L. | Malvaceae | leaf | W | 50 | >100 |
| | | | | M | NE | >100 |
| 6 | <i>Hibiscus syriacus</i> L. | Malvaceae | stem | W | NE | >100 |
| | | | | M | NE | >100 |
| 7 | <i>Houttuynia cordata</i> Thunb | Saururaceae | aerial part | W | 100 | >100 |
| | | | | M | NE | >100 |
| 8 | <i>Ixeris tamagawaensis</i> Kitamura | Compositae | aerial part | W | 50 | >100 |
| | | | | M | NE | >100 |
| 9 | <i>Pueraira thunbergiana</i> Benth | Leguminosae | leaf | W | 50 | >100 |
| | | | | M | NE | >100 |
| 10 | <i>Pueraira thunbergiana</i> Benth | Leguminosae | stem | W | 100 | >100 |
| | | | | M | NE | >100 |
| | | | | M | NE | >100 |
| 11 | <i>Syringa dilatata</i> Nakai | Oleaceae | leaf | W | NE | >100 |
| | | | | M | NE | >100 |
| Positive control | AZT | | | | 0.00195 | >1 |
| | DS8000 | | | | 0.97 | >1000 |

W, water extract; M, methanol extract. Water extracts are dissolved in distilled water, methanol extracts are dissolved in DMSO or 10% DMSO in water. IC, the minimum concentration for complete inhibition of HIV-1 induced CPE (cytopathic effect) in MT-4 cells by microscopic observation. CC, the minimum concentration for appearance of MT-4 cell toxicity by microscopic observation. NE, not effective

성을 보이는 것으로 추정할 수 있다.^{18,26,27)} 그리고 식물 엑스들이 protease에 낮은 활성을 보이는 것은 실험에 사용한 유전자 재조합 protease가 138 amino acid monomer로서 native HIV-1 protease(99 amino acid monomer)의 1번 아미노산인 proline에 39개의 amino acid가 fused 되어 있으며, Ki(for acetylpepstatin) 또한 native가 0.04 μM , 재조합 protease는 40 μM 로 차이가 많이 있음을 참조해야 할 것이다.²⁸⁾

각 식물 엑스들의 virus 복제억제와 효소활성 억제제의 상관성을 살펴본 결과는 효소활성 억제작용이 virus의 복제억제의 필수요인이 아니라는 결과를 도출할 수 있었다. 이는 식물 엑스 내에 다양한 복합 분자들이 분포되어 있어 이들이 단지 효소 억제 작용 뿐만 아니라, 바이러스의 CD4⁺ 흡착의 방해라든가,²⁹⁾ lectin,³⁰⁾ triterpene³¹⁾ 등과 같이 virus-cell fusion 억제, host cell genome에서 copy DNA 형성의 integration 억제, 감염된 세포로부터

virus 분자의 방출억제³²⁾ 등에도 관여하는 것으로 생각되어 진다.

이와 같이 식물분자의 다양성으로 인해 virus의 host cell에 흡착에서부터 virus protein의 형성, 성숙, 활성과 mature virion으로 budding될 때까지 전과정에 깊이 관여하는 것으로 추정된다.

천연물 엑스를 이용한 항 HIV-1 억제활성을 실시하여 수종식물의 에이즈치료를 위한 천연약물로서의 잠재적 가능성을 발견할 수 있었고, 이들 활성식물들에 대한 활성화합물의 분리를 진행하고 있으며, 일부 식물에서는 flavonoids와 triterpenoids 등의 화합물을 분리하여 NMR 등 분광학적 방법을 통해 그 구조를 동정하고 있다.

결 론

한국산 식용식물의 HIV-1 reverse transcriptase (RT) 억제활성 실험에서 무효과 및, 어성초 지상부

및 냇씀바귀지상부의 H₂O 엑스가 79.8%, 84% 및 79.8%로 100 µg/ml 농도에서 강한 활성을 나타냈으며, HIV-1 protease에 대해서는 라일락의 잎 H₂O 엑스만 50.5%의 억제활성을 보여주었고, α-glycosidase에 대해서는 무궁화 잎과 줄기의 MeOH 엑스가 42.2%와 48.5%의 약한 활성을 보여주었다. HIV-1 복제억제활성에서는 호박 잎, 쇠뜨기 지상부, 무궁화 잎, 냇씀바귀 지상부 그리고 칩 잎의 H₂O 엑스가 50 µg/ml에서 HIV-1 유도 세포 변성을 억제하였다. HIV-1 복제 억제에 활성을 보인 식물 엑스들 중 쇠뜨기 지상부, 냇씀바귀 지상부는 RT 억제 활성과 강한 상관성을 보여주므로서 HIV-1 복제 억제제 RT의 억제에 기인한 것을 추정해 볼 수 있었다.

사 사

본 연구는 과학재단 공공연구소 및 대학 연구인력 파견지원사업(2300-2451)에 의한 결과와 과학기술부의 원자력연구개발사업의 일환으로 수행된 결과의 일부이며 이에 깊이 감사드립니다.

인용문헌

- Kaminchik, J., Margalit R., Yaish S., Drummer H., Amit B., Saver N., Gorecki M. and Panet A. (1994) Cellular distribution of HIV type I nef protein: Identification of domains in nef required for association with membrane and detergent-insoluble cellular matrix. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 10: 1003-1010.
- Peliska, J. A. and Benkovic, S. J. (1992) Mechanism of DNA strand transfer reactions catalyzed by HIV-1 reverse transcriptase. *Science* 258: 1112-1118.
- Weiss, S., Konig, B., Muller, J. J., Seidel, H. and Goody, R.S. (1992) Synthetic human tRNA^{lys} 3 and natural bovine tRNA^{lys} 3 interact with HIV-1 reverse transcriptase and serve as specific primers for retroviral cDNA synthesis. *Gene* 111: 183-197.
- Hoxie, J. A., Flaherty, L. E., Haggarty, B. S. and Rackowski, J.R. (1986) Infection of T4 lymphocytes by HTLV-III does not require expression of the OK T4 epitope. *J. Immunol.* 136: 361-363.
- Prasad, V. R. and Goff, S. P. (1989) Linker insertion mutagenesis of human immunodeficiency virus reverse transcriptase expressed in bacteria: definition of the minimal polymerase domain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 3104-3108.
- Katz, R. A. and Skalka, A. M. (1994) The retroviral enzymes. *Annu. Rev. Biochem.* 63: 133-173.
- Taylor, D. L., Kang, M. S., Brennan, T. M., Bridges, C. G., Sunkara, P. S. and Tysms, A. S. (1994) Inhibition of alpha-glucosidase I of the glycoprotein-processing enzymes by 6-O-butanoyl castanospermine (MDL 28,574) and its consequences in human immunodeficiency virus-infected T cells. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy* 38(8): 1780-1787.
- Mohan, P. (1992) Anti-AIDS drug development: challenges and strategies. *Pharmaceutical Research* 9(6): 703-714.
- Mitsuya, H., Popovic, M., Yarchoan, R., Matsushita, S., Gallo, R.C. and Broder, S. (1984) Suramin protection of T cells *in vitro* against infectivity and cytopathic effect of HTLV-III. *Science* 226: 172-174.
- Ostertag, W., Roesler, G. and Krieg, C. J. (1974) Induction of endogenous virus and of thymidine kinase by bromodeoxyuridine in cell cultures transformed by Friend virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 71: 4980-4985.
- Schroder, J. M., Kaldenbach, T. and Piroth, W. (1996) Nuclear and mitochondrial changes of co-cultivated spinal cord, spinal ganglia and muscle fibers following treatment with various doses of zidovudine. *Acta Neuropathologica* 92(2): 138-149.
- Tadini, G., D'Orso, M., Cusini, M. and Alessi, E. (1991) Oral mucosa pigmentation: a new side effect of azidothymidine therapy in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Archives of Dermatology* 127(2): 267-268.
- Levin, T. L., Berdon, W. E., Tang, H. B. and Haller, J. O. (1997) Dideoxyinosine-induced pancreatitis in human immunodeficiency virus-infected children. *Pediatric Radiology* 27(2): 189-191.
- Prusoff, W., Lin, T. S., Pivazyan, A., Sun, A. S. and Birks E. (1993) Empirical and rational approaches for development of inhibitors of the human immunodeficiency virus-HIV-1. *Phar-*

- macology & Therapeutics* 60(2): 315-329.
15. Taraporewala, I. B., Cessac, J. W., Chanh, T. C., Delgado, A. V. and Schinazi, R. F. (1992) HIV-1 neutralization and tumor cell proliferation inhibition *in vitro* by simplified analogues of pyrido[4,3,2-mn]thiazolo[5,4-b]acridine marine alkaloids. *Journal of Medicinal Chemistry* 35(15): 2744-2752.
 16. Nakashima, H., Murakami, T., Yamamoto, N., Sakagami, H., Tanuma, S., Hatano, T., Yoshida, T. and Okuda, T. (1992) Inhibition of human immunodeficiency viral replication by tannins and related compounds. *Antiviral Research* 18: 91-103.
 17. Kusumoto, I. T., Hattori, M. and Namba, T. (1993) A comparative study on the inhibitory effects of flavonoids and alkaloids on reverse transcriptase of different retroviruses. *Shoyakugaku Zasshi* 47: 291-294.
 18. Kusumoto, I. T., Nakabayashi, T., Kida, H., Miyashiro, H., Hattori, M., Namba T. and Shimotohno, K. (1995) Screening of various plant extracts used in ayurvedic medicine for inhibitory effects on human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) protease. *Phytother. Res.* 9: 180-184.
 19. Weber, P. C., Ohlendorf, D. H., Wendoloski, J. J. and Salemme, F. R. (1989) Structural origins of high-affinity biotin binding to streptavidin. *Science* 243: 85-88.
 20. Josephy, P. D., Eling, T. and Mason, R. P. (1989) The horseradish peroxidase-catalyzed oxidation of 3,5,3',5'-tetramethylbenzidine. *Journal of Biological Chemistry* 257: 3669-3675.
 21. Otake, T., Mori, H., Morimoto, M., Ueba, N. and Kusumoto, I. T. (1994) Anti-human immunodeficiency virus activity of some tropical medicinal plants. *J. Traditional medicines* 11: 188-193.
 22. 이창복 (1985) 대한식물도감, 50-600. 향문사, 서울.
 23. 이창복 (1997) 아세아 생약도감, 3-689. 도서출판 경원, 서울.
 24. 강소신의학원 (1985) 증약대사전(1-4권). 소학관, 북경.
 25. 김재길 (1984) 원색천연약물대사전(상, 하), 10-130. 남산당, 서울.
 26. Kakiuchi, N., Hattori, M. and Namba T. (1985) Inhibitory effect of tannins on reverse transcriptase from RNA tumor virus. *J. Natural Products* 48(4): 614-621.
 27. Batinic, D. and Robey, R. A. (1992) The V3 region of the envelope glycoprotein of human immunodeficiency virus type 1 binds sulfated polysaccharides and CD4-derived synthetic peptides. *J. Biol. Chem.* 267: 6664-6671.
 28. Erickson, J., Neidhart, D. J., VanDrie, J., Kempf, D. J., Wang, X. C., Norbeck, D. W., Plattner, J. J., Rittenhouse, J. W., Turon, M., Widevurg, N., Kohlbrenner, W. E., Simmer, R., Helfrich, R., Paul, D. A. and Knigge, M. (1990) Design, activity, and 2.8Å crystal structure of a C₂ symmetric inhibitor complexed to HIV-1 protease. *Science* 249: 527-533.
 29. De Clercq, E. (1987) Suramin in the treatment of AIDS: mechanism of action. *Antiviral Res.* 7: 1-10.
 30. Balzarini, J., Neyts, J., Schols, D., Hosoya, M., Van Damme, E., Peumans, W. and De clerq, E. (1992) The mannose-specific plants lectins from *Cymvidium hybrid* and *Epipactis helleborine* and the (N-acetylglucosamine)n-specific plant lectin from *Urtica dioica* are potent and selective inhibitors of human immunodeficiency virus and cytomegalovirus replication *in vitro*. *Antiviral Res.* 18: 191-207.
 31. Mayaux, J. F., Bousseau, A., Pauwels, R., Huet, T., Henin, Y., Dereu, N., Evers, M., Soler, F., Poujade, C., De Clercq, E. and Le Pecq J.B. (1994) Triterpene derivatives that block entry of human immunodeficiency virus type 1 into cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 3564-3568.
 32. Rossmann, M. G. (1988) Antiviral agents targeted to interact with viral capsid proteins and a possible application to human immunodeficiency virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 4625-4627.

(1998년 9월 18일 접수)