



## Antiviral activity of methanol extract from *Rhus chinensis* gall

Doseung Lee<sup>1</sup> · TaeSun Min<sup>2</sup> · Dong-Sun Lee<sup>2,3</sup>

### 오배자 추출물의 항바이러스 활성

이도승<sup>1</sup> · 민태선<sup>2</sup> · 이동선<sup>2,3</sup>

Received: 19 October 2018 / Accepted: 7 November 2018 / Published Online: 31 December 2018  
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2018

**Abstract** Trafficking process of viral glycoprotein to cell surface results in the syncytium formation when baby hamster kidney (BHK) cells was infected by Newcastle disease virus (NDV). *Rhus chinensis* gall, well-known as a medicinal plant, inhibited not only syncytium formation, but also trafficking of glycoprotein, hemagglutinin-neuramidase (HN) to the cell-surface. Modification of viral glycoprotein is processed within the endoplasmic reticulum and golgi body during trafficking into surface. *R. chinensis* gall extracts showed the strong inhibitory activities (IC<sub>50</sub> 12.5 µg/mL) against α-glucosidase, when compared with the β-glucosidase. And this inhibitory activities is increased by the samples in a dose-dependent pattern. These data showed that the extracts of *R. chinensis* gall inhibited the cell-surface expression of NDV-hemagglutinin-neuramidase glycoprotein without significantly affecting HN glycoprotein synthesis in NDV-infected BHK cells.

**Keywords** α-glucosidase inhibition · Antiviral activity · Methanol extract of *Rhus chinensis* gall

Doseung Lee and Tae Sun Min are contributed equally to this work.

Dong-Sun Lee (✉)  
E-mail: dongsunlee@jejunu.ac.kr

<sup>1</sup>Jeju Biodiversity Research Institute (JBRI), Jeju Technopark, Jeju 63208, Republic of Korea

<sup>2</sup>Faculty of Biotechnology, College of Applied Life Science (SARI), Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

<sup>3</sup>Aroma Biotechnology Center, Jeju National University, Jeju 63243 Republic of Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

### 서론

Glucosidases는 세포내 당단백질 생합성과정에서 glucose trimming을 통하여 당단백질 또는 당지질의 수식에 관여하며, 특히 당뇨, 암, 바이러스 감염 등과 같은 많은 질병을 유발하는 것으로 알려져 있다. 그리고 α-glucosidase 저해제는 당단백질 혹은 당지질의 수식을 통해 항당뇨, 항암 및 항바이러스 활성을 나타낸다고 보고되어 있다[1-5]. 그리고, Dengue 바이러스, HIV, 간염 바이러스 등을 포함한 해로운 바이러스들은 glucosidase 저해에 매우 민감한 것으로 알려져 있어 α-glucosidase 저해제는 많은 질병의 치료제 개발 및 작용기작 연구에 이용이 되고 있다[6].

α-glucosidase 저해제로 알려진, Nojirimycin, N-butyldeoxy-nojirimycin, nectricine, castanospermine 등의 항바이러스제는 당단백질 수식의 초기단계를 저해함으로써 인간면역결핍 바이러스(HIV, human immunodeficiency virus)의 복제, 세포융합을 통한 합포체 형성의 저해활성을 나타내는 것으로 보고되었다[7-12]. 특히 HIV-1 envelope glycoprotein (Env)으로 알려진 outer membrane gp120와 transmembrane gp41 subunits은 precursor gp160의 절단으로부터 유래된다[13]. T helper cell 표면에 위치한 HIV 수용체인 gp41와 gp120은 lymphocytes 표면의 CD4 수용체에 결합하며, 이러한 상호작용을 통하여 거대하고 비기능적인 막융합을 야기시켜 합포체를 형성한다[8,14].

α-glucosidase inhibitor로써 Deoxynojirimycin와 그 유사체들은[8], gp160으로부터 gp41와 gp120으로의 절단 활성을 감소시켜 정상적인 glycan processing을 저해함으로써 감염세포내에서 HIV 수용체의 형성을 방해한다. HIV 감염된 세포에서의 합포체 형성은 Newcastle disease virus (NDV) 감염된 baby hamster kidney (BHK) 세포에서도 관찰되며[9], 이러한 수식과정은 HIV 바이러스 감염성에 중요한 envelope glycoprotein의 수식과정과도 유사하다[15]. 따라서 항바이러스 활성물질을 탐색하기 위한 전략으로 합포체 형성을 저해하는 저해제 탐색방법과 α-glucosidase 활성 저해제 탐색방법이 기대된다.

오배자는 율무과(Anacardiaceae)의 낙엽소교목인 붉나무

(*Rhus chinensis* Mill.)에 오배자면충(*Melaphis chinensis*)이 기생하여 발생한 벌레집(insect gall)을 건조한 것으로 예로부터 수렴제나 해독제의 기능을 하며 설사, 충혈, 출혈, 해독 및 구강염 등에 약제로 사용되었으며, 탄닌 함량이 높아 매염제 및 잉크 등의 제조에 사용되었다[16,17]. 또한 오배자 중 gallotannin 류 및 triterpenoid 화합물 등은 항산화, 항혈전, 항바이러스 및 멜라닌 생합성 억제 활성 등에 관여하는 것으로 보고되었다[16,18-21]. 따라서, 본 연구에서는 오배자 추출액의 항바이러스 작용기작에 대한 연구로써  $\alpha$ -glucosidase 저해활성과 세포내 바이러스 당단백질 분비과정의 저해작용에 대한 활성을 규명하고자 연구를 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 세포주, 바이러스 및 시약

BHK 세포주(일본 이화학연구소 분양)는 37°C, humidified CO<sub>2</sub> incubator (5% CO<sub>2</sub>-95% air)내에서 10% calf serum (BD)이 포함된 Eagle's minimum essential medium (BD, Carlsbad, CA, USA)에서 배양하였다. NDV; Miyadera strain는 국립보건연구원(National Institute of Health, Seoul, Korea)에서 분양받은 BHK 세포에서 증식하였다. 증식된 바이러스 stock 들은 monolayer BHK 세포주상 plaque forming units의 assay를 통하여 적정하였다. 모든 시험에 사용된 시약들은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) 사로부터 구입하여 사용하였다.

### 시료 추출

오배자 시료는 대구시내에 위치한 한약방으로부터 구입하여 사용하였다. 오배자 시료 10 g을 각각 메탄올(100 mL)로 상온에서 24시간동안 추출하여 Whatman filter paper을 사용하여 여과하였다. 그리고 메탄올을 제거하기 위하여 여과액을 감압농축(40°C)하여 동결건조 한 후 4°C에 보관하여 활성 시험의 재료로 사용하였다[22].

### 효소 활성 검정

오배자 추출물은 시판하는 다양한 glucosidase에 대하여 효소 활성 억제를 보였다. glycosidase의 assay는 Lee 등[22]의 방법에 따라 수행하였다.  $\alpha$ -glucosidase와 다른 glucosidase의 활성 분석을 위하여 기질로 p-nitrophenol (PNP) glycosides (1 mM)를 포함하는 50 mM phosphate 완충용액(pH 6.7)을 조제하여 사용하였다. 시료를 완충용액에 첨가하고 37°C, 5분 효소 반응 개시 후 기질을 첨가하여 37°C, 10분 간 효소 반응을 수행하였다. 효소반응 종료는 3배 vol.의 1 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 첨가하여 반응을 종한 후 OD<sub>405</sub>를 측정하여 흡광도 변화로부터 효소저해활성을 계산하였다. 활성단위인 1 unit는 활성측정 조건에서, 1분 동안 PNP 1.0  $\mu$ mol을 생성하는데 사용된 효소 양으로 정하였다. 억제율 계산은 아래와 같이 하였다.

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

### Syncytium 형성 및 cytopathic 효과

BHK cell의 표적 세포 단일층(monolayer)은 96 well microtiter plate에 5 multiplicity of infection 농도의 NDV를 감염시킨 후 표시된 농도의 시료를 첨가하여 배양하였다. 그런 후 NDV 감염 세포주에서 syncytium 형성여부와 cytopathic 효능 (CPE), cytopathic units (CPU) 정량을 광학현미경으로 관찰하였다[23].

96 well microtiter plate에 배양된 BHK 세포주에 2배 희석 농도가 되게 하여 VSV를 감염시킨 후 CPU 정량을 하였다. CPU는 세포병변효과가 일어나는 추출물 농도 이전의 최대 희석 배율로 정하며, 세포병변효과에 내성을 갖는 물질의 최대 희석농도를 의미한다.

### Cell growth

96 well plates에 BHK 세포를 분주한 후 2배 농도로 희석된 오배자 추출물을 처리하여 37°C, CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. BHK 세포 성장은 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium monosodium salt (Sigma-Aldrich)를 이용한 colorimetric 방법에 준하여 결정하였다.

### 적혈구응집(Hemagglutination) 및 혈구흡착(hemadsorption)

바이러스 당단백질 NDV-hemagglutinin-neuramidase (NDV-HN) 생합성은 NDV 감염 세포주의 용해물에 혈구응집단위(hemagglutination units, HAU)를 결정하여 정량하였다. 세포 표면에서 NDV-HN 발현유무는 혈구흡착(hemadsorption, HAD)의 정량으로 결정하였다[23].

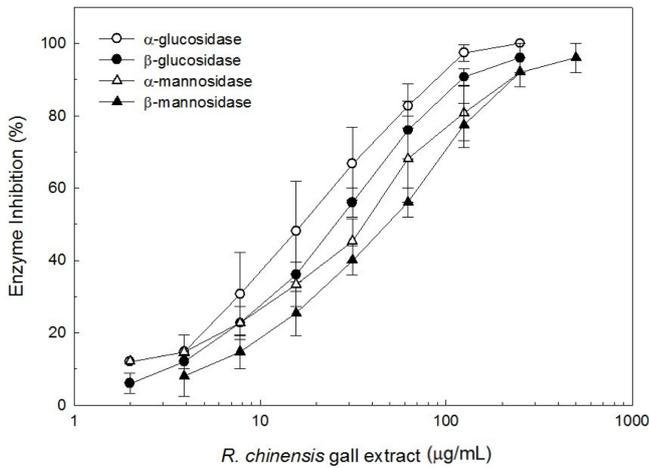
6-well plates (Falcon; BD, Detroit, MI, USA)에 1 HAU/mL 농도의 NDV를 2 mL 처리 하여 감염시킨 후 14시간, 37°C, humidified 5% CO<sub>2</sub>-95% air incubator에서 BHK 세포의 Confluent 배양을 수행하였다. 배양한 배지를 제거한 후 냉각된 식염수(chilled saline)에 있는 1% (v/v) 닭 적혈구 (chicken red blood) 세포 2 mL를 각각의 well에 분주 한 후 4°C, 30분 간 정치하였으며, 가끔씩 가볍게 흔들어 주었다. 흡착되지 않은 혈구세포를 제거 한 후, cell layer를 냉각한 식염수 2 mL로 3회 씻어주었다. 적혈구 세포는 1% 암모니아가 포함된 멸균수로 swollen 후 OD<sub>550</sub>를 측정하여 정량하였다.

### 통계분석

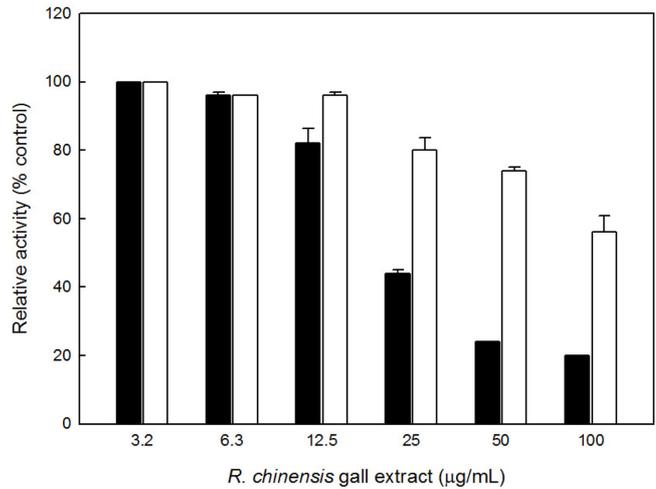
모든 실험은 3회 이상 반복하여 실시하였으며, 실험 결과는 SAS (Statistical Analysis System, SAS Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 one-way ANOVA 분석을 실시하였으며, Duncan의 다범위 검정(Duncan's multiple range test)을 통하여 5% 수준에서 시료간의 유의적인 차이를 검증하였다[24].

## 결과 및 고찰

오배자(Rhus Galls)는 붉나무의 잎위에 오배자면충이 기생하여 만든 벌레혹으로 쉽게 부서지는 특성을 보이며, 벌레혹에는 붉나무 유래의 gallic acid, methyl gallate, syringic acid 등과 탄닌 성분이 검출되며, 오배자면충의 자극에 의해 붉나무에서 페



**Fig. 1** Inhibition by *R. chinensis* gall extracts against 0.5 U/mL of various glucosidases. Enzyme solutions were treated with designated concentrations of the samples. The amount of enzymes were as follows: 0.5 U/mL α-glucosidase (○), 0.5 U/mL β-glucosidase (●), 0.5 U/mL α-mannosidase (△), and 0.5 U/mL β-mannosidase (▲). The mixtures of enzyme and the samples were kept at room temperature for 1 h



**Fig. 2** Blockade of the cell surface expression of NDV-HN glycoprotein by *R. chinensis* gall extracts with no significant effects on its synthesis. Synthesis of NDV-HN glycoprotein was quantified by determining hemagglutination units (HAU, □) in whole lysates of NDV-infected cells. NDV-HN expressed on the cell surface was quantified by hemadsorption (HAD, ■). Results are expressed as a % of the control

**Table 1** Effect of *R. chinensis* gall extracts on syncytium formation and Cytopathic effect

Concentration (µg/mL)	3.2	6.3	12.5	25	50	100
α-glucosidase inhibition (%)	18	25	50	64	82	96
%HAU	100	100	96	79	73	55
Syncytium formation	++	++	+	-	-	-
CPE	-	-	-	-	+	+

Confluent monolayer cultures of BHK cells in 96-well titer plates were infected with NDV. Methanol extract was added at 1 h after infection and the cells were incubated for a further 18 h. The syncytium formation and cytopathic effect (CPE) in NDV-infected cells was determined under an optical microscope. The degrees of syncytium formation and cytopathic effect was expressed as follows: -, none; +, moderate; ++, severe

농성성분의 합성이 일어난다. 그리고 붉나무 및 오배자는 뛰어난 항균작용, 항산화작용, 지사작용 및 독감바이러스 억제작용 등의 효능으로 한약재로 주로 사용되고 있다.

**오배자 추출물의 α-Glucosidase 억제 활성**

Glucosidase 저해제 스크리닝 시스템을 이용하여 α-glucosidase에 대하여 활성저해능을 갖는 오배자 추출물을 선별하여 조사하였다. 추출물의 저해활성을 조사하기 위하여 50% inhibition (IC<sub>50</sub>) values를 결정하였으며, 효소활성 저해능은 샘플 추출액 농도의 로그 값에 대한 상대활성 %을 정하여 나타내었다. Fig. 1에서와 같이, α-glucosidase에 대한 추출물의 IC<sub>50</sub>값은 12.5 µg/mL이었으며 추출물에 대한 α-Glucosidase 활성 억제를 3개의 다른 효소와의 IC<sub>50</sub>의 비교 변화를 보았을 경우도 유사한 양상을 나타내었다. 이러한 결과는 오배자 추출물이 농도 의존적으로 α-glucosidase에 대한 억제활성이 증가하였다고 사료된다. Fig. 1에서 나타난 바와 같이, β-glucosidase, α-mannosidase, β-mannosidase에 대한 오배자 추출물의 IC<sub>50</sub>은 각각 26, 36, 50 µg/mL로 나타났다. 즉, 오배자 추출물은 β-type glycosidases 보다 α-type glycosidase에 대한 효소활성 저해능이 우수하였다.

이러한 결과들은 오배자 추출물은 세포내 당단백질의 당쇄화 수식에 강한 저해 활성을 가는 것으로 추론된다.

α-glucosidase에 대한 억제활성을 나타내는 다수 활성 물질인 α-glucosidase inhibitor들은 세포내에서 바이러스 단백질들의 글리코실화(glycosylation)와 같은 당단백질 수식과정을 억제함으로써 항바이러스 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다[1-4]. 따라서, Fig. 1과 같이 α-glucosidase 억제 활성을 보이는 오배자 추출물이 세포내에서 바이러스 당단백질의 합성과정 및 세포표면으로의 분비과정 등을 이해하는데 유용한 재료로 이용될 수 있을 것이라 기대된다.

**오배자 추출물에 의한 바이러스 당단백질의 세포내 발현 억제**

본 연구는 세포수준에서 오배자 추출물의 항바이러스 억제활성을 조사하기 위하여, NDV 감염된 BHK 세포 내에서 발현되는 바이러스 당단백질(NDV-HN)의 생합성 및 세포표면으로의 분비 효능을 알아보았다.

오배자 추출물이 합포체 형성을 억제시키는 Minimum inhibitory concentration (MIC) 값은 25 µg/mL로 나타났다(Table 1). 그러나, 부분적으로 합포체 형성이 지연되는 MIC 값은 12.5 µg/mL로 나타났다. 또한 NDV 감염된 BHK 세포에서의 합포체 형성은 HIV 감염시와 유사하기 때문에[9,12,14], 오배자 추출물에 의한 α-glucosidase 활성억제는 virus 감염 세포주에서의 glycan 형성 과정을 억제하므로써 합포체 형성을 저해한다고 할 수 있다.

오배자 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 용해물에서 전체 HAU 측정으로 정량화한다는 연구가 보고되었다[23]. NDV 감염된 세포배양액을 초음파 파쇄하여 닭 적혈구 (chicken red

blood cells)을 첨가한 후, 용해물에서 hemagglutination 활성을 측정하였다. HAU는 오배자 추출물의 농도가 25과 3.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  사이에서는 현저하게 감소하는 경향을 나타내지는 않았지만(Fig. 2, white bar □), NDV 감염된 세포에 닭 적혈구 세포를 첨가하여 혈구 흡착(HAD %) 정도를 측정한 결과, 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도(Fig. 2, black bar ■)에서 광범위한 흡착능의 감소를 나타내었다. 즉, NDV 감염된 세포에 대하여 오배자 추출물 처리한 결과, 추출물 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도로 처리한 샘플 구에서 바이러스 당단백질의 세포내 생합성은 저해되지 않으나(Fig. 2, white bar □), 당단백질이 세포표면으로의 분비가 저해되어 혈구흡착이 되지는 않았다(Fig 2, black bar ■). 이러한 결과는 오배자 추출물이 NDV 감염된 BHK 세포에서 바이러스 당단백질의 분비 과정을 저해함으로써 세포표면으로의 당단백질 발현을 억제함으로써 결국 항바이러스 작용을 하는 것으로 추론이 된다. 향후 오배자 추출물로부터 항바이러스 활성 물질의 분리 및 작용 기작 연구가 필요하다고 사료된다.

## 초 록

Newcastle disease virus (NDV) 감염된 baby hamster kidney 세포에서 Syncytium (합포체) 형성은 세포막 표면으로의 수송된 바이러스 당단백질 hemagglutinin-neuramidase에 의해 일어난다. HAU 값은 추출물의 농도가 25과 3.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  사이에서는 현저하게 감소하였으나, 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서는 NDV 감염된 HAD (%)는 광범위한 흡착능의 감소를 나타냈으나 바이러스 당단백질의 세포내 생합성은 저해되지 않았다. 그러므로 오배자 추출물은 바이러스 당단백질의 세포막으로의 수송과 함께 합포체 형성을 저해하여 항바이러스 활성을 갖는 것으로 결론된다. 또한 오배자 추출물의 저해활성을 조사한 결과  $\alpha$ -glucosidase에 대한 추출물의  $\text{IC}_{50}$ 은 12.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이었으며,  $\beta$ -glucosidase,  $\alpha$ -mannosidase,  $\beta$ -mannosidase에 대한 오배자 추출물의  $\text{IC}_{50}$ 은 각각 26, 36, 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 나타나  $\beta$ -type glycosidases 보다  $\alpha$ -type glycosidase에 대한 효소활성 저해능이 우수하였다. 따라서  $\text{IC}_{50}$  농도에서는 세포내에서 당단백질 생합성은 저해되지 않으며 당단백질의 수송을 저해하는 것으로 판단되었으며 향후 항바이러스 관련 작용기작의 연구가 필요하다고 사료된다.

**Keywords** 알파글루코시다제 저해 · 오배자 추출물 · 항바이러스 활성

**Acknowledgment** This work was supported by the grants form Basic Science Research Program (2012R1A1A4A01019357) through the National Research Foundation of Korea (NRF).

## References

- Dennis JW, Laferté S, Waghorne C, Breitman ML, Kerbel RS (1987) Beta 1-6 branching of Asn-linked oligosaccharides is directly associated with metastasis. *Science* 236: 582–585
- Goss PE, Baker MA, Carver JP, Dennis JW (1995) Inhibitors of carbohydrate processing: A new class of anticancer agents. *Clin Cancer Res* 1: 935–944
- Lee DS, Lee JM, Kim SU, Chang KT, Lee SH (2007) Ceftezole, a cephem antibiotic, is and  $\alpha$ -glucosidase inhibitor with *in vivo* anti-diabetic activity. *Int J Mol Med* 20: 379–383
- Mehta A, Zitzmann N, Rudd PM, Block TM, Dwek RA (1998)  $\alpha$ -Glucosidase inhibitors as potential broad based anti-viral agents. *FEBS Lett* 430: 17–22
- van de Laar FA, Lucassen PL, Akkermans RP, van de Lisdonk EH, Rutten GE, van Weel C (2005) Alpha-glucosidase inhibitors for patients with type 2 diabetes: Results from a Cochrane systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care* 28: 154–163
- Courageot MP, Frenkiel MP, Duarte Dos Santos C, Deubel V, Despres P (2000)  $\alpha$ -Glucosidase inhibitors reduce dengue virus production by affecting the initial steps of virion morphogenesis in the endoplasmic reticulum. *J Virol* 74: 564–572
- Dettenhofer M, Yu XF (2001) Characterization of the biosynthesis of human immunodeficiency virus Type 1 Env from infected T-cells and the effects of glucose trimming of Env on virion infectivity. *J Biol Chem* 276: 5985–5991
- Fischer PB, Collin M, Karlsson GB, James W, Butters TD, Davis SJ, Gordon S, Dwek RA, Platt FM (1995) The  $\alpha$ -glucosidase inhibitor Nbutyldeoxyjirimycin inhibits human immunodeficiency virus entry at the level of post-CD4 binding. *J Virol* 69: 5791–5797
- Gruters RA, Neeffes JJ, Tersmette M, de Goede RE, Tulp A, Huisman HG, Miedema F, Ploegh HL (1987) Interference with HIV induced syncytium formation and viral infectivity by inhibitors of trimming glucosidase. *Nature* 330: 74–77
- Johnson VA, Walker BD, Barlow MA, Paradis TJ, Chou TC, Hirsch MS (1989) Synergistic inhibition of human immunodeficiency virus type 1 and type 2 replication *in vitro* by castanospermine and 3'-azido-3'-deoxythymidine. *Antimicrob Agents Ch* 3: 53–57
- Papandréou MJ, Barbouche R, Guieu R, Kieny MP, Fenouillet E (2002) The  $\alpha$ -glucosidase inhibitor 1-deoxyjirimycin blocks human immunodeficiency virus envelope glycoprotein-mediated membrane fusion at the CXCR4 binding step. *Mol Pharmacol* 61: 186–193
- Tsuji E, Muroi M, Shiragami N, Takatsuki A (1996) Nectrisine is a potent inhibitor of  $\alpha$ -glucosidases, demonstrating activities similarly at enzyme and cellular levels. *Biochem Bioph Res Co* 220: 459–466
- Quinn TC (2008) HIV epidemiology and the effects of antiviral therapy on long-term consequences. *AIDS* 22(Suppl 3): 7–12
- Einfeld D (1996) Maturation and assembly of retroviral glycoproteins. *Curr Top Microbiol* 214: 133–176
- Lee DS, Kim SC, Kim DH, Kim JH, Park SP, Riu YC, Kim MY, Cho SK, Riu KZ, Lee DS (2011) Screening of *Phellinus linteus*, a medicinal mushroom, for anti-viral activity. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 54: 475–478
- Bae JS, Lee HS, Lee HY, Yoo BH, Kim TW, Kim YH, Kim TH (2012) Evaluation of Acetylcholinesterase Inhibitory and Antioxidative Activities of *Rhus javanica*. *Korean J Food Preserv* 19: 751–756
- Kang BH (2008) Korean herbal medicine ecology book. Geobook, 1p-0773, Seoul
- Cha BC, Lee SB, Rhim TJ, Lee KH (2000) Constituents of antioxidative activity and free radical scavenging effect from *Galla Rhois* (*Rhus javanica* Linne). *Kor J Pharmacogn* 31: 185–189
- Song GY, Park BJ, Kim SH (2002) Antithrombotic effect of *Galla Rhois*. *Kor J Pharmacogn* 33: 120–123
- Kurokawa M, Basnet P, Ohsugi M, Hozumi T, Kadota S, Namba T, Kawana T, Shiraki K (1999) Anti-herpes simplex virus activity of moronic acid purified from *Rhus javanica* *in vitro* and *in vivo*. *J Pharmacol Exp Ther* 289: 72–78
- Chen LG, Chang WL, Lee CJ, Lee LT, Shin CM, Wang CC (2009) Melanogenesis inhibition by gallotannins from Chinese galls in B16 mouse melanoma cells. *Biol Pharm Bull* 32: 1447–1452
- Lee DS, Lee SH (2001) Genistein, a soy isoflavone, is a potent  $\alpha$ -glucosidase inhibitor. *FEBS Lett* 501: 84–86
- Lee JM, Kim JG, Kim TH, Lee DS, Kim JH, Cho SK, Riu KZ, Lee DS, Lee SH (2010) Nonactin hinders intracellular glycosylation in virus infected baby hamster kidney cells. *Mol Med Rep* 3: 115–119
- SAS (1998) SAS User's Guide: Statistics, 3th ed, SAS Institute Statistical Analysis System, Cary