

## Systemic Analysis of Antibacterial and Pharmacological Functions of *Anisi Stellati Fructus*

Jeong A Han<sup>1</sup>, Ji Eun Choo<sup>1</sup>, Jee Won Shon<sup>1</sup>, Youn Sook Kim<sup>2</sup>, Su Yeon Suh<sup>3</sup> and Won Gun An<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>School of Korean Medicine, Pusan National University, Yangsan 50612, Korea

<sup>2</sup>School of Medicine, Pusan National University, Yangsan 50612, Korea

<sup>3</sup>Okpo Korean Medicine Clinic, Daegu 42970, Korea

Received January 15, 2019 / Revised February 12, 2019 / Accepted February 13, 2019

The purpose of this study was to acquire the active compounds of *Anisi stellati fructus* (ASF) and to analyze the genes and diseases it targets, focusing on its antibacterial effects using a system pharmacological analysis approach. Active compounds of ASF were obtained through the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology (TCMSP) Database and Analysis Platform. This contains the pharmacokinetic properties of active compounds and related drug - target - disease networks, which is a breakthrough in silico approach possible at the network level. Gene information of targets was gathered from the UniProt Database, and gene ontology analysis was performed using the David 6.8 Gene Functional Classification Tool. A total of 201 target genes were collected, which corresponded to the nine screened active compounds, and 47 genes were found to act on biological processes related to antimicrobial activity. The representative active compounds involved in antibacterial action were luteolin, kaempferol, and quercetin. Among their targets, Chemokine ligand2, Interleukin-10, Interleukin-6, and Tumor Necrosis Factor were associated with more than three antimicrobial biological processes. This study has provided accurate evidence while saving time and effort to select future laboratory research materials. The data obtained has provided important data for infection prevention and treatment strategies.

**Key words** : *Anisi Stellati Fructus*, antibacterial action, gene ontology analysis, system pharmacological analysis

### 서론

현대 사회는 국가 간의 무역과 교류가 증가하고 사람들의 생활 범위도 세계화됨에 따라 다양한 생명체와 접촉하는 빈도도 높아지고 있다. 확장된 생물체의 이동은 병원체의 전파를 활발하게 유도하며, 전염병의 발생률 또한 증가 시킨다[3]. 모든 감염질환은 치료보다 예방이 중요하다. 감염 예방이 중요한 이유는 첫 번째로 전염병의 발생으로 타국의 무역 규제나 타 국민의 입국 규제에 의한 경제적 손실과 국가 간의 분쟁이 발생 할 수 있다[15]. 현대의학은 다양한 질병들에 맞서 싸울 힘을 키워왔으나 증가하는 병원체의 변이와 약에 대한 내성을 극복할 새로운 항생제 개발은 상응하지 못하여 감염 예방의 중요성이 강조되게 되었다[4]. 다양한 병원체에 대한 치료법 개발의 한계는 예방을 우선시 하는 항균, 항바이러스에 초점

을 맞추게 하였다[10]. 기본적으로 감염은 기본 인체 면역 방어선이 무너진 경우에 잘 발생한다. 특히 현대인들은 다양한 스트레스를 받게 되며, 과다한 신체적, 정신적 스트레스는 면역력 저하를 유발한다. 면역력 저하는 곧 다양한 병원체에 대한 감염에 취약하게 할 뿐 아니라, 상처회복이나 발암 확률 상승 등 부가적인 문제도 발생하게 된다[6].

서양의학의 합성 화학약품은 천연물을 소재로 한 한약보다 독성과 부작용이 더 크므로 인체에 좀 더 자연 친화적이고 장기적으로 사용에도 안전한 한약제 추출물에 대한 관심이 높아지고 있다. 그러나 다 성분으로 구성된 한약제에서 단일 타깃을 연구하는 방식은 한계가 많은 접근법이다. 본 연구는 축적된 빅데이터를 이용하여 한약제의 주요 성분 및 지표성분, 그리고 특정 성분의 항균작용 기전을 신속하고 정확하게 파악하여 추후 감염병의 예방과 치료 전략에 효율적으로 이용할 수 있는 기반을 제시하고자 한다.

대회향(생약명; *Anisi Stellati Fructus*)은 붓순나무과(Illiaciaceae)에 속한 상록교목(常綠喬木, *Illicium verum* Hook f.)의 성숙한 과실로서 가을~다음해 봄까지 열매가 황색에서 녹색으로 변할 때 채취하여 약한 불에 말리거나 물에 침포(浸泡)하여 과실이 붉게 되면 썰건(曬乾)하여 사용하는 한약제이다. 주로 중국 남서부, 베트남 북부의 국경지역, 말레이 반도에서

#### \*Corresponding author

Tel : +82-51-510-8455, Fax : +82-51-510-8420

E-mail : wgan@pusan.ac.kr

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.

자생하며, 중국의 복건성, 광둥성, 광서성, 운남성과 인도, 인도차이나 반도에서 널리 재배되고 있다. 대회향은 star anise, 또는 약재의 모양이 독특한 팔각형 형태를 가지고 있어 팔각향(八角香), 팔각회향(八角茴茴), 팔각(八角), 팔각대회(八角大茴), 회향팔각주(茴香八角珠)라는 이름으로도 불린다[14].

대회향은 온양산한(溫陽散寒), 이기지통(理氣止痛)의 효능이 있으며, 한산복통(寒疝腹痛)과 신허요통(腎虛腰痛), 위한구토(胃寒嘔吐), 완복냉통(腕腹冷痛)을 치료하는데 응용된다. 이 외에도 염증, 불면, 류마티스 통증 등에 사용되며[19], 대회향의 essential oil은 담배나 술의 향료로도 쓰인다. 또한 대회향의 성분인 shikimic acid (SKM)는 항 바이러스제제인 타미플루(Tamiflu)의 주된 화학 성분이다[5]. 최근 연구에 따르면 대회향은 악성 암세포의 전이와 혈관신생 작용을 막는 작용도 나타냈다[12]. 대회향의 추출물은 다양한 활성 성분을 함유하고 있으며, 이 성분들은 항균, 항바이러스, 항산화, 살충제, 진통제 및 진정제 등 광범위한 작용을 나타낸다.

대회향은 다양한 효능이 있음에도 불구하고 그간 한방 처방에 자주 쓰이지 않았으며, 연구도 많이 이루어지지 않았다. 전체 성분 추출물의 작용과 주요 성분인 아네톨(anethole)의 작용에 관한 연구가 몇 건 있을 뿐이다[9]. 대회향의 다양한 활성 성분과 관련 타깃 유전자에 관한 연구는 이루어진 바 없다. 항균작용에 관한 연구도 거의 이루어지지 않았다. 본 연구에서는 대회향의 잠재적 활성성분과 관련 타깃 유전자를 네트워크 약리학적 분석을 이용하여 밝혀내었다. 나아가서 대회향 관련 유전자들의 생체 작용을 예측한 후, 그 중 항균작용에 초점을 맞춰 분석을 진행하였다. 본 연구로 주목 받지 못하던 약재인 대회향의 신약으로서 새로운 가능성과 그 생물정보학적 기초자료를 제시하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 활성 성분의 동정

Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology (TCMSP, <http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>) Database and Analysis Platform을 이용하여 대회향의 활성성분을 스크리닝하였다[16]. 본 연구의 전체적 흐름도는 Fig. 1에 요약하였다. 약물의 흡수와 분포, 대사, 배설(ADME, absorption, distribution, metabolism, extraction) 지표에 근거를 둔 약리화 (Drug-Likeness, DL), 생리활성도(Oral Bioactivity, OB), 장내 흡수도(Caco-2 permeability, Caco-2) 값을 기준으로 스크리닝하였다. DL 값은 생체 내에서 예측되는 약리 활성에 대한 값으로 값이 높을수록 생리 활성이 높다. 본 논문에서는 DL값을 0.10 이상으로 설정하였다. OB값은 구강 투여된 물질이 위장관, 간, 소장 등 생체 내에서 용해되어 활성성분으로 흡수되는 수치로 약동학에서 가장 중요한 척도이다. 본 연구에서는 OB 값 35% 미만은 제외하였다. Caco-2는 구강 투여된 약물이 가

장 많이 흡수되는 소장에서의 흡수도로 약물의 체내 흡수력을 예측하는 척도이다. 본 연구에서는 Caco-2 값 -0.4 미만은 제외하였다. 위의 3가지 척도로 스크리닝된 활성성분 이외에 대회향의 대표성분으로 기존의 논문에서 언급된 anethole, SKM도 포함하여 진행하였다.

### 타깃 단백질 수집 및 관련 생체대사 분석

활성성분과 연관된 모든 타깃 유전자는 UniProt database (<http://www.uniprot.org>)를 이용하여 각 유전자의 정보를 확보하였다. 수집한 유전자에 연관된 생체대사 과정을 찾기 위하여 DAVID 6.8 Gene Functional Classification Tool을 사용하였고 P값은 0.01 미만으로 설정하였으며, Benjamini-Hochberg 방법으로 P값을 보정하였다[7, 8].

### 수집된 타깃 에 대한 네트워크 분석

Cytoscape 3.7.0 (<https://cytoscape.org/>)를 이용하여 대회향의 다양한 활성성분과 타깃 유전자들과의 관련성을 알아보기 위해 활성성분과 수집된 타깃에 대한 네트워크(Compound-Target network, C-T network)를 만들었다(Fig. 3A). 가장 많은 타깃이 포함된 생물학적 대사과정을 선별하여 생체대사에 관한 네트워크(Pathway-Target network, P-T network)를 구성하였다(Fig. 3B).

## 결 과

### 활성성분의 동정

TCMSP분석에서 확보된 49개의 잠재적 활성성분 가운데  $OB \geq 35\%$ ,  $caco-2 \geq -0.4$ ,  $DL \geq 0.10$ 의 조건에 부합하는 7개의 활성성분과 두 가지 대표성분(anethole, SKM)을 더하여 총 9개의 활성성분으로 타깃 정보를 수집하였다(Table 1).

### 타깃 유전자 수집 및 관련 생체대사 분석

9개의 활성성분과 연관 있는 201개의 유전자가 중복을 제외하여 수집되었다(Table 2). David 6.8 (Gene Functional Classification Tool)을 이용하여 취합한 유전자들이 관여하는 348개의 생물학적 과정을 확보하였다. 이 중에서 상대적으로 많은 유전자가 관련된 생물학적 과정을 그룹화 하여 보니, apoptosis (n=91), proliferation (n=90), 면역(n=72), 항균(n=47), growth (n=32), differentiation (n=26), 항바이러스(n=19) 순으로 분류되었다(Fig. 2). 연구의 주제인 항균 작용 그룹은 4번째로 많은 유전자의 관련성이 높았으며, 항균에 관련된 유전자들 중 3개 이상의 과정에 관여하는 유전자는 47개 중 4개로 CCL2, IL-10, IL-6, TNF이었다. 결론을 요약하면, 먼저 대회향의 잠재적인 49개의 활성성분 중 설정한 조건( $OB \geq 35\%$ ,  $caco-2 \geq -0.4$ ,  $DL \geq 0.10$ )을 충족한 7개의 활성성분과 추가한 anethole, SKM을 포함한 총 9개의 활성성분과 연관된 201개의



Fig. 1. Workflow: the performance of systems pharmacological network analysis of *Anisi Stellati Fructus* (ASF), active compounds screening, target fishing, gene ontology analysis, and network constructions.

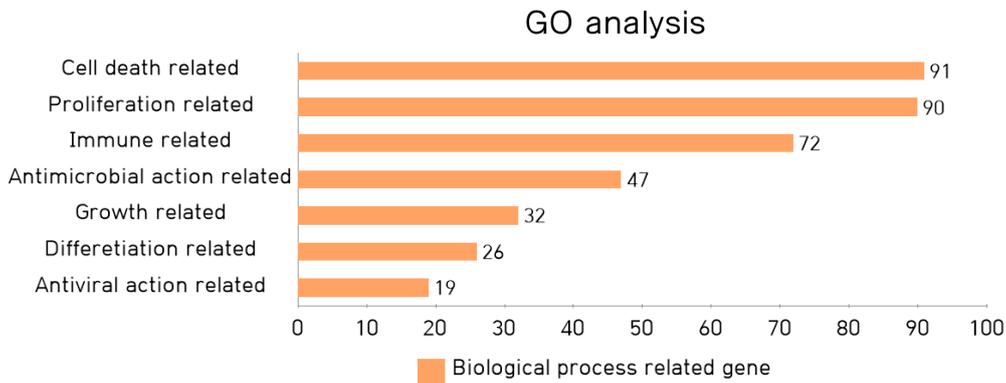


Fig. 2. Gene Ontology analysis shows 7 biological processes. The y-axis represents the terms of biological processes, and the x-axis represents counts of target genes ( P value <0.01).

유전자를 확보하였다(Table 1, Table 2). 이렇게 수집된 유전자들은 항균, apoptosis, 면역, cell proliferation, differentiation, growth, 그리고 항바이러스 등 총 348개의 생물학적 과정에 관여하였다. 이 중에서 항균작용과 관련된 추가 네트워크 분석을 한 결과, 주요 활성성분으로 루테올린(C7, luteolin), 캠퍼롤(C6, kaempferol), 퀘르세틴(C5, quercetin)이 관여하였으며,

Table 1. 9 Active compounds of *Anisi Stellati Fructus* (OB≥35%, caco-2≥-0.4, DL≥0.10) including additionally added anethole and SKM

ID	Active compounds	OB (%)	Caco-2	DL
C1	136458-42-9	80.86	1.42	0.12
C2	honokiol	60.67	1.43	0.15
C3	Mairin	55.38	0.73	0.78
C4	(+)-catechin	54.83	-0.03	0.24
C5	quercetin	46.43	0.05	0.28
C6	kaempferol	41.88	0.26	0.24
C7	luteolin	36.16	0.19	0.25
C8	anethole	32.49	1.75	0.03
C9	SKM	46.24	-1.16	0.04

주요 타깃 유전자는 CCL2, IL-10, IL-6, TNF를 선별하였다 (Fig. 3B).

위의 결과들을 통해, 한약재 대희향의 주요 활성 성분이 항균에 중요한 작용을 할 수 있음을 확인하였으며, 주요 타깃과 활성성분을 선별하여 효율적으로 실험적 검증을 진행할 수 있는 기반을 마련하였다.

### 고찰

Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology (TCMSP) Database and Analysis Platform은 한약재의 시스템 약리학적 플랫폼으로 약물과 표적물질 및 질병 사이의 상관관계를 파악하게 해준다. 데이터베이스에는 화학 물질-표적, 약물 - 표적 네트워크 및 관련 약물 - 표적 - 질환 네트워크, 그리고 oral bioavailability, drug-likeness, intestinal epithelial permeability 등 천연 화합물의 약동학적 특성이 포함

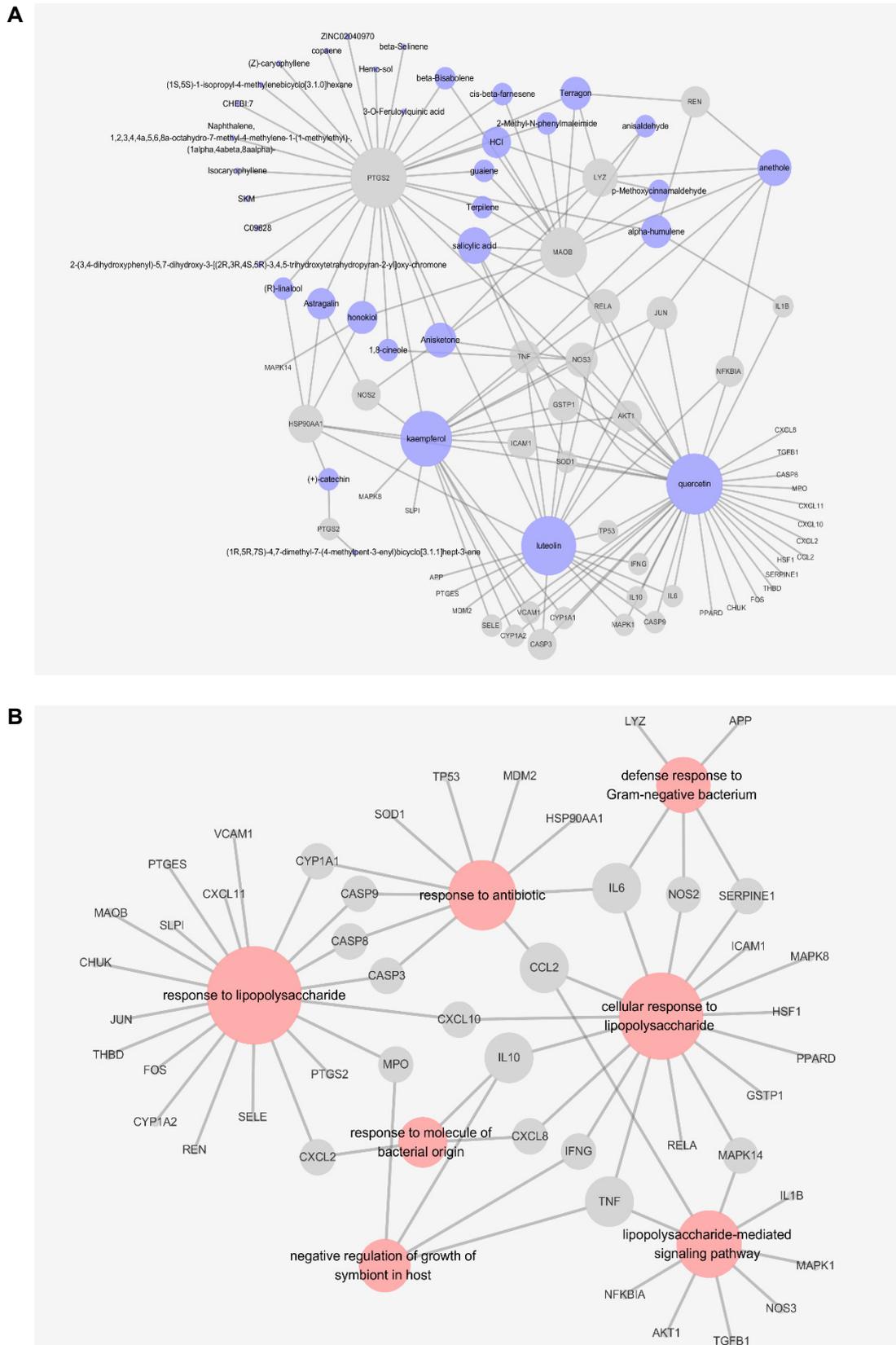


Fig. 3. The network of *Anisi Stellati Fructus*. (A) compound-target network, blue nodes ; active compounds, grey nodes ; target genes. (B) pathway-target network, red nodes ; pathway, grey nodes ; target genes.

Table 2. Related targets of *Anisi Stellati Fructus*

UniProt ID	Target	Gene name
P06401	Progesterone receptor	PGR
P20309	Muscarinic acetylcholine receptor M3	CHRM3
P11229	Muscarinic acetylcholine receptor M1	CHRM1
P08172	Muscarinic acetylcholine receptor M2	CHRM2
P14867	Gamma-aminobutyric acid receptor subunit alpha-1	GABRA1
P23219	Prostaglandin G/H synthase 1	PTGS1
P10275	Androgen receptor	AR
P35354	Prostaglandin G/H synthase 2	PTGS2
P08238	Heat shock protein HSP 90	HSP90AB1
P07477	Trypsin-1	PRSS1
Q15596	Nuclear receptor coactivator 2	NCOA2
P17612	mRNA of PKA Catalytic Subunit C-alpha	PRKACA
P27487	Dipeptidyl peptidase IV	DPP4
P48736	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit, gamma isoform	PIK3CG
Q04206	Transcription factor p65	RELA
P00533	Epidermal growth factor receptor	EGFR
P31749	RAC-alpha serine/threonine-protein kinase	AKT1
P15692	Vascular endothelial growth factor A	VEGFA
P24385	G1/S-specific cyclin-D1	CCND1
Q07817	Bcl-2-like protein 1	BCL2L1
P38936	Cyclin-dependent kinase inhibitor 1	CDKN1A
P55211	Caspase-9	CASP9
P08253	72 kDa type IV collagenase	MMP2
P14780	Matrix metalloproteinase-9	MMP9
P28482	Mitogen-activated protein kinase 1	MAPK1
P22301	Interleukin-10	IL10
P06400	Retinoblastoma-associated protein	RB1
P11802	Cell division protein kinase 4	CDK4
P01375	Tumor necrosis factor	TNF
P05412	Transcription factor AP-1	JUN
P05231	Interleukin-6	IL6
P42574	Caspase-3	CASP3
P04637	Cellular tumor antigen p53	TP53
P25963	NF-kappa-B inhibitor alpha	NFKBIA
P47989	Xanthine dehydrogenase/oxidase	XDH
P11387	DNA topoisomerase 1	TOP1
Q00987	E3 ubiquitin-protein ligase Mdm2	MDM2
P05067	Amyloid beta A4 protein	APP
P03956	Interstitial collagenase	MMP1
P04626	Receptor tyrosine-protein kinase erbB-2	ERBB2
P37231	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma	PPARG
P09601	Heme oxygenase 1	HMOX1
P55210	Caspase-7	CASP7
P05362	Intercellular adhesion molecule 1	ICAM1
Q07820	Induced myeloid leukemia cell differentiation protein Mcl-1	MCL1
O15392	Baculoviral IAP repeat-containing protein 5	BIRC5
P60568	Interleukin-2	IL2
P14635	G2/mitotic-specific cyclin-B1	CCNB1

Table 2. Continued

UniProt ID	Target	Gene name
P14679	Tyrosinase	TYR
P01579	Interferon gamma	IFNG
P05112	Interleukin-4	IL4
P11388	DNA topoisomerase 2-alpha	TOP2A
P09211	Glutathione S-transferase P	GSTP1
P14672	Solute carrier family 2, facilitated glucose transporter member 4	SLC2A4
P06213	Insulin receptor	INSR
P29965	CD40 ligand	CD40LG
O14684	Prostaglandin E synthase	PTGES
Q9BZD4	Kinetochore protein Nuf2	NUF2
Q08462	Adenylate cyclase type 2	ADCY2
P08581	Hepatocyte growth factor receptor	MET
P35228	Nitric oxide synthase, inducible	NOS2
P37231	Peroxisome proliferator activated receptor gamma	PPARG
P00734	Thrombin	F2
P29474	Nitric-oxide synthase, endothelial	NOS3
P47869	Gamma-aminobutyric-acid receptor alpha-2 subunit	GABRA2
P22303	Acetylcholinesterase	ACHE
P23975	Sodium-dependent noradrenaline transporter	SLC6A2
P35368	Alpha-1B adrenergic receptor	ADRA1B
P11388	DNA topoisomerase II	TOP2A
P08709	Coagulation factor VII	F7
P0DP23	Calmodulin	CALM1
O14920	Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit beta	IKBKB
P10415	Apoptosis regulator Bcl-2	BCL2
Q07812	Apoptosis regulator BAX	BAX
O95433	Activator of 90 kDa heat shock protein ATPase homolog 1	AHSA1
P42224	Signal transducer and activator of transcription 1-alpha/beta	STAT1
P06493	Cell division control protein 2 homolog	CDK1
P08684	Cytochrome P450 3A4	CYP3A4
P05177	Cytochrome P450 1A2	CYP1A2
P16581	E-selectin	SELE
P19320	Vascular cell adhesion protein 1	VCAM1
O75469	Nuclear receptor subfamily 1 group I member 2	NR1I2
Q16678	Cytochrome P450 1B1	CYP1B1
P09917	Arachidonate 5-lipoxygenase	ALOX5
Q92819	Hyaluronan synthase 2	HAS2
P35869	Aryl hydrocarbon receptor	AHR
O43242	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 3	PSMD3
Q14994	Nuclear receptor subfamily 1 group I member 3	NR1I3
P49895	Type I iodothyronine deiodinase	DIO1
Q08209	Serine/threonine-protein phosphatase 2B catalytic subunit alpha isoform	PPP3CA
P09488	Glutathione S-transferase Mu 1	GSTM1
P28161	Glutathione S-transferase Mu 2	GSTM2
P42330	Aldo-keto reductase family 1 member C3	AKR1C3
P03973	Antileukoproteinase	SLPI
P03372	Estrogen receptor	ESR1
P19793	Retinoic acid receptor RXR-alpha	RXRA
P04040	Catalase	CAT

Table 2. Continued

UniProt ID	Target	Gene name
Q96RG8	Muscarinic acetylcholine receptor M4	CHRM4
P28223	5-hydroxytryptamine 2A receptor	HTR2A
P35348	Alpha-1A adrenergic receptor	ADRA1A
Q01959	Sodium-dependent dopamine transporter	SLC6A3
P07550	Beta-2 adrenergic receptor	ADRB2
P31645	Sodium-dependent serotonin transporter	SLC6A4
Q16539	Mitogen-activated protein kinase 14	MAPK14
P49841	Glycogen synthase kinase-3 beta	GSK3B
P24941	Cell division protein kinase 2	CDK2
P09960	Leukotriene A-4 hydrolase	LTA4H
P27338	Amine oxidase [flavin-containing] B	MAOB
O14757	Serine/threonine-protein kinase Chk1	CHEK1
P01857	Ig gamma-1 chain C region	IGHG1
P11309	Proto-oncogene serine/threonine-protein kinase Pim-1	PIM1
P20248	Cyclin-A2	CCNA2
P61925	cAMP-dependent protein kinase inhibitor alpha	PKIA
Q15788	Nuclear receptor coactivator 1	NCOA1
O14827	Ras-specific guanine nucleotide-releasing factor 2	RASGRF2
P16389	Potassium voltage-gated channel subfamily H member 2	KCNA2
Q14524	Sodium channel protein type 5 subunit alpha	SCN5A
P00742	Coagulation factor Xa	F10
P08254	Stromelysin-1	MMP3
P56537	Eukaryotic translation initiation factor 6	EIF6
P00749	Urokinase-type plasminogen activator	PLAU
P01133	Pro-epidermal growth factor	EGF
P19419	ETS domain-containing protein Elk-1	ELK1
P16435	NADPH--cytochrome P450 reductase	POR
P11926	Ornithine decarboxylase	ODC1
Q14790	Caspase-8	CASP8
P04049	RAF proto-oncogene serine/threonine-protein kinase	RAF1
P00441	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	SOD1
P17252	Protein kinase C alpha type	PRKCA
Q16665	Hypoxia-inducible factor 1-alpha	HIF1A
Q06455	Protein CBFA2T1	RUNX1T1
P11021	78 kDa glucose-regulated protein	HSPA5
Q13085	Acetyl-CoA carboxylase 1	ACACA
Q03135	Caveolin-1	CAV1
P01106	Myc proto-oncogene protein	MYC
P13726	Tissue factor	F3
P17302	Gap junction alpha-1 protein	GJA1
P01584	Interleukin-1 beta	IL1B
P13500	C-C motif chemokine 2	CCL2
P43115	Prostaglandin E2 receptor EP3 subtype	PTGER3
P10145	Interleukin-8	CXCL8
P05771	Protein kinase C beta type	PRKCB
Q9NRD8	Dual oxidase 2	DUOX2
P29474	Nitric oxide synthase, endothelial	NOS3
P04792	Heat shock protein beta-1	HSPB1

Table 2. Continued

UniProt ID	Target	Gene name
P01137	Transforming growth factor beta-1	TGFB1
P49888	Estrogen sulfotransferase	SULT1E1
O43451	Maltase-glucoamylase, intestinal	MGAM
P00750	Tissue-type plasminogen activator	PLAT
P07204	Thrombomodulin	THBD
P05121	Plasminogen activator inhibitor 1	SERPINE1
P02452	Collagen alpha-1(I) chain	COL1A1
P60484	Phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate 3-phosphatase and dual-specificity protein phosphatase PTEN	PTEN
P01583	Interleukin-1 alpha	IL1A
P14598	Neutrophil cytosol factor 1	NCF1
Q9UNQ0	ATP-binding cassette sub-family G member 2	ABCG2
Q16236	Nuclear factor erythroid 2-related factor 2	NFE2L2
P15559	NAD(P)H dehydrogenase [quinone] 1	NQO1
O14625	C-X-C motif chemokine 11	CXCL11
P19875	C-X-C motif chemokine 2	CXCL2
Q96JK2	DDB1- and CUL4-associated factor 5	DCAF5
O96017	Serine/threonine-protein kinase Chk2	CHEK2
O14493	Claudin-4	CLDN4
Q07869	Peroxisome proliferator-activated receptor alpha	PPARA
Q03181	Peroxisome proliferator-activated receptor delta	PPARD
Q00613	Heat shock factor protein 1	HSF1
Q00613	C-reactive protein	CRP
P02778	C-X-C motif chemokine 10	CXCL10
O15111	Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit alpha	CHUK
P10451	Osteopontin	SPP1
Q13950	Runt-related transcription factor 2	RUNX2
Q9NS23	Ras association domain-containing protein 1	RASSF1
Q01094	Transcription factor E2F1	E2F1
Q14209	Transcription factor E2F2	E2F2
P15309	Prostatic acid phosphatase	ACPP
P07339	Cathepsin D	CTSD
P17936	Insulin-like growth factor-binding protein 3	IGFBP3
P01344	Insulin-like growth factor II	IGF2
P10914	Interferon regulatory factor 1	IRF1
P21860	Receptor tyrosine-protein kinase erbB-3	ERBB3
P27169	Serum paraoxonase/arylesterase 1	PON1
Q15113	Procollagen C-endopeptidase enhancer 1	PCOLCE
P55786	Puromycin-sensitive aminopeptidase	NPEPPS
P52789	Hexokinase-2	HK2
Q99801	Homeobox protein Nkx-3.1	NKX3-1
P20936	Ras GTPase-activating protein 1	RASA1
P42262	Glutamate receptor 2	GRIA2
P18825	Alpha-2C adrenergic receptor	ADRA2C
P21397	Amine oxidase [flavin-containing] A	MAOA
P61626	Lysozyme 6	LYZ
P00797	Renin, renal	REN
P35030	Trypsin-3	PRSS3

되어 있어 다양한 종류의 전통적인 한약의 후보 약물의 검색이 시스템 네트워크 수준에서 가능한 획기적인 *in silico* 접근법이다. 성분 분석 결과에서 보면 항균작용에 관여하는 대표 활성 성분은 quercetin, kaempferol, luteolin이었으며, quercetin은 79개, kaempferol은 37개, luteolin은 57개의 타깃 유전자와 관련 있음을 보여 주었다(Fig. 3A).

luteolin은 자연에서 브로콜리, 당근, 샐러디 등 다양한 식물들에서 발견되는 중요한 플라본(flavone)이다. luteolin은 항산화, 항암, 항염증, 신경보호의 효과가 있다고 알려져 있으며 [17], 세균의 DNA topoisomerase 1, 2의 활성을 억제해 핵산과 단백질 합성을 저하시키는 항균작용도 나타낸다[20]. quercetin은 염증, 항암, 노화에 중요한 역할을 하는 물질로서 [2] 항균작용을 나타내는 기전으로 세포막 파괴, 세균의 세포벽 손상, 단백질 합성 억제, 핵산의 전사와 복제 억제 등이 있다[21]. kaempferol은 플라보노이드계 성분으로 주로 야채와 베리류, 과일, 차 등에 포함되어 있으며, 항염증, 항암, 항산화, 그리고 최근에 여드름 유발 *Propionibacterium. acnes*나 위장에서 발견되는 *Helicobacter. pylori* 균에도 효과가 있다고 알려져 있다 [11]. kaempferol의 항균기전은 명백하게 밝혀져 있지 않으나, quercetin과 비슷한 항균 작용을 보이며, 기전도 이와 비슷할 것이라 추측 할 수 있다[16].

기존 문헌에서 보여 준 바와 같이 본 TCMS 분석을 통해 밝혀진 한약재 대회향의 활성 성분 중 특히 항균작용에 뛰어난 효능을 보이는 것으로 분석된 luteolin, quercetin, kaempferol은 세균의 DNA topoisomerase 1,2 활성을 억제하여 세균의 핵산 및 단백질 합성 등을 억제하여 항균 작용을 하는 것을 볼 수 있었다. 이러한 작용기전들을 볼 때 대회향의 다양한 세균감염 예방 및 항균작용을 기대 할 수 있다.

대회향의 활성성분과 관련성이 높은 타깃들로는 CCL2, IL-10, IL-6, TNF가 있다. CCL2는 혼합 백혈구의 보충을 주된 작용으로 하는데 감염상태에 있는 조직 세포들이 CCL2를 발현하면 CCR2를 발현하는 단핵구들이 염증부위로 보충되어 면역 작용을 한다[1]. IL-10은 활성화된 일부 CD4+와 CD8+ T림프구에서 분비되며 B림프구의 증식을 자극하거나 강화한다. 또한 TGF- $\beta$ 와 함께 B림프구에서의 IgA 합성과 분비를 자극해 점막에서 병원성 미생물들이 들어오지 못하게 하는 점막 면역에 관여한다. IL-6는 대식세포와 혈관 내피 세포에서 분비되는 사이토카인으로 B림프구 계열의 증식과 항체분비를 도와 적응면역에 영향을 준다. TNF (tumor necrosis factor)는 염증과 면역의 강한 매개물질로서 단핵구, 대식세포, T림프구, B림프구, NK세포 등에서 분비된다. 호중구의 활성 산소 생성을 자극하고 포식작용을 증가시켜 항균작용을 할 수 있다[13]. 이와 같이 본 연구에서 밝혀낸 대회향의 항균효과에 대한 분석은 기존의 이론과도 부합됨을 알 수 있다.

시스템 네트워크를 이용해서 약제의 약리작용에 대한 분석을 하는 경우, 질병에 대한 해결책을 찾기 위한 약제를 탐색함

에 있어서 시간, 비용, 노력과 무수한 시행착오를 줄일 수 있다. 나날이 방대하게 축적되어가는 빅데이터를 활용하여 약제의 함유된 성분과 그 성분에 반응하는 단백질, 더 나아가 이에 관련된 질병까지 확보된 데이터는, 추후 실험적 검증에 중요한 기반을 제공할 것이다.

## 감사의 글

본 논문은 부산대학교 기본연구지원사업(2년)에 의하여 수행되었습니다.

## References

1. Abbas, A. K., Lichtman, A. H. and Pillai, S. 2018. Cellular and Molecular Immunology, pp. 43-44, 9th ed., Elsevier, Philadelphia, USA.
2. Boots, A. W., Haenen, G. R. and Bast, A. 2008. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *Eur. J. Pharmacol.* **585**, 325-337.
3. Chun, B. C. 2001. Epidermiological characteristics and ecological perspectives of zoonoses. *J. Agri. Med. Community Health* **26**, 123-144.
4. Donadio, S., Maffioli, S., Monciardini, P., Sosio, M. and Jabes, D. 2010. Antibiotic discovery in the twenty-first century: current trends and future perspectives. *J. Antibiotics* **63**, 423-430.
5. Ghosh, S., Chisti, Y. and Banerjee, U. C. 2012. Production of shikimic acid. *Biotechnol. Adv.* **30**, 1425-1431.
6. Goldbout, J. P. and Glaser, R. 2006. Stress-induced immune dysregulation: implications for wound healing, infectious disease and cancer. *J. Neuroimmune. Pharm.* **1**, 421-427.
7. Huang, D. W., Sherman, B. T. and Lempicki, R. A. 2009. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nat. Protoc.* **4**, 44-57.
8. Huang, D. W., Sherman, B. T. and Lempicki, R. A. 2009. Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. *Nucleic Acids Res.* **37**, 1-13.
9. Huang, Y., Zhao, J., Zhou, L., Wang, J., Gong, y., Chen, X., Guo, Z., Wang, Q. and Jiang, W. 2010. Antifungal activity of the essential oil of *Illicium verum* fruit and its main component trans-anethole. *Molecules* **15**, 7558-7569.
10. Kang, C. I. 2011. Therapeutic strategy for the management of multi-resistant gram-negative bacterial infections. *J. Kor. Med. Assoc.* **54**, 325-331.
11. Kataoka, M., Hirata, K., Kunikata, T., Ushio, S., Iwaki, K., Ohashi, K., Ikeda, M. and Kurimoto, M. 2001. Antibacterial action of tryptanthrin and kaempferol, isolated from the indigo plant (*Polygonum tinctorium* Lour.), against *Helicobacter pylori*-infected Mongolian gerbils. *J. Gastroenterol.* **36**, 5-9.
12. Kim, A., Im, M. and Ma, J. Y. 2014. Anisi stellati fructus extract attenuates the *in vitro* and *in vivo* metastatic and angiogenic potential of malignant cancer cells by down-

- regulating proteolytic activity and pro-angiogenic factors. *Int. J. Oncol.* **45**, 1937-1948.
13. Kint, T. J., Goldsby, R. A., Osborne, B. A. and Kuby, J. 2006. Immunology, pp. 307, A-28, A-31, 6th ed., Macmillan, New York, USA.
  14. Lee, J. Y., Kim, Y. J., Kim, H. J., Lee, M. W. and Park, W. S. 2012. Effect of Anisi Stellati Fructus extract on hydrogen peroxide production in RAW 264.7 mouse macrophage. *J. Physiol. Pathol. Kor. Med.* **26**, 301-305.
  15. Lee, S. H. 2008. Epidemics, Human Security, and National Security. *Int. Area Studies* **12**, 229-246.
  16. Lim, Y. H., Kim, I. H. and Seo, J. J. 2007. *In vitro* activity of kaempferol isolated from the impatiens balsamina alone and in combination with erythromycin or clindamycin against Propionibacterium acnes. *J. Microbiol.* **45**, 473-477.
  17. Nabavi, S. F., Braidly, N., Gortzi, O., Sobarzo-Sanchez, E., Daglia, M., Skalicka-Woźniak, K. and Nabavi, S. M. 2015. Luteolin as an anti-inflammatory and neuroprotective agent: A brief review. *Brain Res. Bull.* **119**, 1-11.
  18. Suh, S. Y. and An, W. G. 2017. Systems pharmacological approach of *Pulsatillae Radix* on treating Crohn's Disease. *Evid. Based Complement Alternat. Med.* **2017**, 4198035.
  19. Wang, G. W., Hu, W. T., Huang, B. K. and Qin, L. P. 2011. Illicium verum: a review on its botany, traditional use, chemistry and pharmacology. *J. Ethnopharmacol.* **136**, 10-20.
  20. Wang, Q. and Xie, M. 2010. Antibacterial activity and mechanism of luteolin on *Staphylococcus aureus*. *Wei Sheng Wu Xue Bao* **50**, 1180-1184.
  21. Yang, X., Zhang, W., Zhao, Z., Li, N., Mou, Z., Sun, D., Cai, Y., Wang, W. and Lin, Y. 2017. Quercetin loading CdSe/ZnS nanoparticles as efficient antibacterial and anticancer materials. *J. Inorg. Biochem.* **167**, 36-48.

### 초록 : 대회향의 시스템 약리학적 분석과 항균작용

한정아<sup>1</sup> · 추지은<sup>1</sup> · 손지원<sup>1</sup> · 김윤숙<sup>2</sup> · 서수연<sup>3</sup> · 안원근<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>부산대학교 한의학전문대학원, <sup>2</sup>부산대학교 의학전문대학원 의과학과, <sup>3</sup>옥포한의원)

시스템 약리학적 분석을 통해 대회향(*Anisi Stellati Fructus*)의 활성성분 스크리닝, 표적유전자 확보 및 관련 질병과의 네트워크를 구축한 후 대회향의 항균작용을 중점적으로 분석하였다. Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology (TCMSP) Database 와 Analysis Platform을 통해 대회향의 잠재적 활성성분 49개를 확보 하였으며, 그 중 설정한 조건에 부합하는 9개 활성성분을 스크리닝 하였다. TCMSP Database는 활성성분의 약물 동태학적 특성 및 약물-표적-질병 간의 관련성을 네트워크 수준에서 파악할 수 있는 획기적인 *in silico*적 접근을 가능하게 해준다. 활성성분과 반응하는 201개의 유전자 정보를 UniProt database를 통해 확인하고, 취합한 유전자 들이 관여하는 348개의 생물학적 과정을 David 6.8 Gene Functional Classification Tool에서 확보하였다. Chemokine ligand 2, Interleukin-10, Interleukin-6, Tumor Necrosis Factor를 포함한 총 47개의 유전자가 항균작용에 관여하였고 이들을 표적으로 하는 luteolin, kaempferol, quercetin 등이 대표적 항균 관련 활성성분이었다. 이와 같이 확보된 데이터는 연구 재료 선정에 정확성과 시간, 노력, 비용 절감의 효과를 제공함과 더불어 추후 실험적 증명으로 이어져 감염병의 예방과 치료 전략에 과학적인 근거를 제시할 수 있을 것이다.