

식물추출물의 파네실 전달효소 저해활성 검색

강현미 · 이승호 · 유시용¹ · 손광희 · 양덕조² · 권병목*

한국생명공학연구원 항생물질연구실, ¹한국화학연구원, ²충북대학교 자연과학대학 생명과학부

Screening of Inhibitory Activity of Plant Extracts against Farnesyl Protein Transferase

Hyun-Mi Kang, Seung-Ho Lee, Shi Yong Ryu¹, Kwang-Hee Son,
Deok Cho Yang², and Byoung-Mog Kwon*

Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology, P. O. Box 115, Yusung, Taejeon 305-333, Korea

¹Korea Research Institute of Chemical Technology 100 Jangdong Yoosung, Taejeon 305-606, Korea

²College of Natural Sciences, Chungbuk National University Cheongju 360-763, Korea

Abstract – Ras proteins play an important role in intracellular signal transduction pathways involved in cell growth and the mutated ras genes have been found in thirty percent of human cancers. Ras proteins (H-, K- and N-Ras) are small guanine nucleotide binding proteins that undergo a series of posttranslational modifications including the farnesylation onto cysteine 186 at C-terminal of Ras by farnesyl protein transferase (FPTase). This is a mandatory process for retention of transforming ability. Therefore, inhibitors of FPTase have a promising to be effective antitumor agents. In our screening program for FPTase inhibitors, the methanol extracts of 193 plants were screened for the inhibitory activity against FPTase partially purified from the rat brain. Extracts of 7species plants including *Areca catechu*, *Saururus chinensis*, *Curcuma longa*, *Artemisia princeps*, *Paeonia suffruticosa*, *Spatholobus suberectus*, *Cinnamomum cassia*, *Cinnamomum japonicum* inhibited more than 60% of FPTase activity at a concentration of 100 µg/ml.

Key words – Farnesyl protein transferase, Ras.

1990년대는 암 발생을 유도하는 세포의 비정상적인 증식과 이와 연관된 유전학적 현상들에 대한 연구가 활발히 진행되어, 종양에 대한 분자적 수준의 이해가 가능하게 된 시대였다. 이러한 연구들을 통해 여러 발암 유전자들이 발견되고, 그들의 세포 내 기능을 규명하게 되었다. 이를 바탕으로 항암제 개발을 위한 여러 표적 분자들이 제안되었으며, 그 중 대표적인 것이 라스 (Ras)라는 단백질이다.¹⁾

발암관련 유전자 중의 하나인 라스 (Ras) 유전자의 산물인 라스 단백질 (H-, K-, N-Ras)은 188-189 개의 아미노산으로 구성되어 있고, 21 kDa의 작은 분자량을 가지는 구아닌 뉴클레오타이드 결합 단백질 (small G-protein) 중의 하나이며, 모든 체내 조직과 세포에서 발현된다. 라스 단백질은 세포 성장, 증식, 발달, 분화 등을 조절하는 세포 성장 인자 (growth factor; EGF, PDGF, FGF 등) 신호 전이 과정에

있어, 세포 외부로부터 온 신호를 세포 내의 Raf/MAP kinase 또는 PI₃ kinase/Akt로 전달하여 적절한 유전자가 발현하도록 하는 스위치로서의 중요한 역할을 담당하고 있다. 사람에게서 발생하는 암 중 30% 이상의 암에서 돌연변이된 형태의 라스 유전자가 발견되었으며, 특히, 췌장암 (90%), 직장암 (50%) 등에서는 돌연변이된 라스 유전자가 높은 빈도로 확인되었다.²⁾ 돌연변이된 라스 유전자는 항상 활성형의 형태로 라스 단백질을 발현하게 되어 세포 증식의 정상적인 조절이 불가능해짐에 의해 세포의 무작위적인 증식을 초래하게 된다.

라스 단백질은 세포질에서 합성된 후, 카르복실 말단에 존재하는 CaaX box 부분이 단계적으로 번역 후 변형과정 (post-translational modification)을 거쳐 원형질막으로 이동함에 의해 고유의 기능을 수행할 수 있게 되고, 또한 세포를 형질 전환시킬 수 있는 능력도 얻게 된다. 라스 단백질의 번역 후 변형 과정의 첫 단계는, FPTase (farnesyl protein

*교신저자(E-mail) : kwonbm@kribb.re.kr
(FAX) : 042-861-2675

transferase)에 의해 CaaX box의 시스테인 잔기에서 일어나는 파네실화 (farnesylation) 반응이다.²⁾ 이 과정이 차단되면 라스 단백질이 원형질막으로 이동할 수 없게 되고, 고유의 기능 또한 수행하지 못하게 된다. 따라서, FPTase 저해제는 돌연변이 된 형태의 라스 유전자에 의해 발생하는 암을 예방하거나 치료할 수 있는 물질로서의 가능성이 제안되어 왔다.³⁾ 실제로 FPTase의 저해제들은 세포 수준에서는 세포의 형태학적인 변화, 세포사멸 유도 그리고 세포주기 조절 등에 탁월한 효과를 보여주는 것¹¹⁾으로 나타났으며, 또한 xenografts와 transgenic mice를 이용한 전임상 실험에서, 큰 부작용을 일으키지 않으면서 종양의 성장을 저해하거나 퇴화 시키는 것으로 보고되었다.

지난 10여년 동안에 많은 FPTase 저해제가 개발되었는데, 그 중 대표적인 것들로는 CaaX box의 peptido-mimetics인 FTI-276,⁴⁾ L-739750⁵⁾과 미생물 유래 물질인 clavarinic acid,⁶⁾ chaetomelic acid A, B⁷⁾ 그리고 식물 유래 물질인 arteminolide,⁸⁾ rhombenone,⁹⁾ 2'-hydroxycinnam-aldehyde¹⁰⁾ 등이 있다. 또한 현재 임상 실험 단계에 있는 FPTase 저해제로는 BMS-214662, R-114777, SCH-66336 등이 있으며, 그 중 R-115777은 임상 2단계 실험까지 보고된 바 있다.¹²⁾

현재까지의 FPTase 저해제는 주로 화학 합성물이나 미생물에서 유래된 것이 대부분이며, 생약 자원에서 분리된 FPTase 저해제에 대한 연구는 아직 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 생약자원으로부터 유래된 FPTase 저해제 또는 선도 물질을 개발하기 위해, 193 종의 생약 자원 추출물을 이용하여 FPTase 저해 활성을 조사하였으며, 높은 활성을 보여주는 몇 가지 화합물을 분리, 정제하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 기기 - 본 실험에 사용된 실험 재료들 중에서 한약재는 서울소재 한약 유통과 충남 금산의 한약 견재 상에서 구입하였다. 추출 및 분리에 사용한 용매들은 덕산 화학에서 구입한 일급시약을 사용하였고 효소 활성 검정을 위한 시료의 조제 시에는 Sigma 사로부터 구입한 DMSO를 사용하였다. 분리와 분석에 사용한 silica gel, TLC-plate, C18 silica gel 등은 Merck 사의 제품을 사용했고, 그 밖의 시약들은 일급 및 특급 시약을 사용하였다. 효소의 활성은 liquid scintillation counter (LSC, Wallac)를 이용하여 측정하였다.

시료의 조제 - 채집된 식물들은 100% 메탄올로 2-3일간 상온에서 추출한 후 여과하고, 이 추출물을 완전히 진공 건조 시켰다. 효소 저해 활성에 대한 1차 탐색을 위해서는 건조된 추출물을 1 mg/ml의 농도로 DMSO에 녹인 다음, 이

로부터 10 µl씩을 취해 효소 활성을 측정하였다. 1차 탐색에서 활성이 높은 시료에 대해서는 추출물 농도를 단계적으로 희석하여 효소 저해 활성을 측정함으로써 활성을 재확인하였다.

효소 저해 활성의 측정¹³⁾ - FPTase 저해 활성은 Scintillation Proximity Assay (SPA) 방법으로 수행하였으며, 실험에 사용한 FPTase는 쥐의 뇌로부터 분리하여 사용하였다. 효소 활성은 [³H] farnesyl pyrophosphate로부터 [³H] farnesyl 그룹이 기질인 Biotin-KKKSKTKCVIM 펩타이드로 전달되는 정도를 Avidin-coated SPA bead (Amersham Bioscience)를 이용하여 LSC로 측정함에 의해 결정하였다. 효소 반응 용액 (최종 부피; 100 µl)은 50 mM Tris-HCl, pH 7.5, 30 mM MgCl₂, 20 mM KCl, 5 mM DTT, 5 mM Na₂HPO₄, 0.01% Triton X-100, 150-250 nM [³H] farnesyl pyrophosphate (60 µM, 1Ci/µl), 10-200 nM Biotin-KKKSKTKCVIM으로 구성되어 있으며, 2-5 µg의 효소 추출물을 첨가한 후 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응은 150 µl의 SPA bead/stop reagent를 첨가함에 의해 정지되었고, 30분 동안 상온에서 방치한 후, LSC로 방사선의 양을 측정하였다. 효소 저해 활성을 측정하기 위해서는 식물 추출물을 DMSO에 녹인 후 DMSO의 최종 농도가 10%가 되도록 효소 반응 용액에 첨가하였다.

결과 및 고찰

천연자원으로부터 FPTase의 저해제 탐색을 위하여, 193 종의 생약 자원들을 부위별로 메탄올로 2일간 추출한 후, 그 추출물을 1 mg/ml의 농도로 조제하여, FPTase 활성을 저해하는 시료를 1차 탐색하였다. 그 결과 50% 이상 FPTase 저해 활성을 나타내는 것 중에서, 활성을 나타내는 식물이 가장 많이 분포하는 과 (family)는 콩과 (Leguminosae), 모란과 (Paeoniaceae)로 나타났고 그 다음 생강과 (Zingiberaceae), 녹나무과 (Lauraceae), 미나리아재비과 (Ranunculaceae), 국화과 (Compositae) 등으로 나타났다. 100 µg/ml의 농도에서 60% 이상의 저해 활성을 나타내는 식물은 *Areca catechu* (63%), *Saururus chinensis* (63%), *Curcuma longa* (64%), *Artemisia princeps* (71%), *Paeonia suffruticosa* (86%), *Spatholobus suberectus* (87%), *Cinnamomum cassia* (93%), *Cinnamomum japonicum* (97%)으로 나타났으며 이 결과는 Table I에 정리하였다. 1차 탐색 시에는 전반적으로 total extract 형태로 실험을 수행하였으며, 1차 탐색 결과 활성이 좋은 시료에 대해서는 활성 물질을 분리, 정제하였다. 그 중에서, 1차 탐색에서 64%의 저해 활성을 보여준 울금 (*Curcuma longa*)은 각종 컬럼 크로마토그래피를 이용하여

Table I. FPTase에 대한 생약자원의 저해 활성

일 반 명	학 명	과 명	부 위	저해활성 (%)
가시오가피	<i>Acanthopanax senticosus</i>	Araliaceae	뿌리	10
가자	<i>Solanum melongena</i>	Combretaceae	열매	22
갈근	<i>Pueraria lobata</i>	Leguminosae	뿌리	3
갈화	<i>Pueraria thunbergiana</i>	Leguminosae	꽃	31
감국	<i>Chrysanthemum indicum</i>	Compositae	전초	25
감송향	<i>Nardostachys chinensis</i>	Valerianaceae	뿌리	5
감초	<i>Glycyrrhiza glabra</i>	Leguminosae	뿌리	19
강활	<i>Ostericum praetericum</i>	Umbelliferae	뿌리	16
건강	<i>Zingiber officinale</i>	Zingiberaceae	뿌리줄기	31
검인	<i>Euryale ferox</i>	Nymphaeaceae	종자	19
결명자	<i>Cassia tora</i>	Leguminosae	종자	2
계피	<i>Cinnamomum japonicum</i>	Lauraceae	줄기껍질	97
계혈등	<i>Spatholobus suberectus</i>	Leguminosae	뿌리	87
고량강	<i>Alpinia officinarum</i>	Scitamineae	뿌리	26
고본	<i>Ligusticum tenuissimum</i>	Umbelliferae	뿌리	29
고삼	<i>Sophora flavescens</i>	Leguminosae	뿌리	15
골담초	<i>Caragana sinica</i>	Leguminosae	뿌리	49
골쇄보	<i>Davallia mariesii</i>	Polypodiaceae	뿌리줄기	3
과채	<i>Cucumis melo</i>	Cucurbitaceae	열매의꼭지	28
곽향	<i>Agastache rugosa</i>	Labiatae	전초	15
관동화	<i>Petasites Japonicus</i>	Compositae	꽃	38
팔루인	<i>Trichosanthes kirilowii</i>	Cucurbitaceae	종자	23
괴화	<i>Sophora japonica</i>	Leguminosae	꽃	7
구맥	<i>Dianthus sinensis</i>	Caryophyllaceae	전초	10
구절초	<i>Chrysanthemum zawadskii</i>	Compositae	전초	19
구척	<i>Cibotium barometz</i>	Cyatheaceae	뿌리	55
귀전우	<i>Euronymus alatus</i>	Celastraceae	가지	-
금앵자	<i>Rosa laevigata</i>	Rosaceae	종자	-
금은화	<i>Lonicera japonica</i>	Capripoliaceae	꽃	7
길경	<i>Platycodon grandiflorum</i>	Campanulaceae	뿌리	21
내복자	<i>Raphanus sativa</i>	Cruciferae	종자	-
노근	<i>Phragmites communis</i>	Gramineae	뿌리줄기	31
노회	<i>Aloe vera</i>	Liliaceae	잎	27
누로	<i>Echinops setifer</i>	Compositae	뿌리	6
단삼	<i>Sslvia miltiorrhiza</i>	Labiatae	뿌리	28
당귀	<i>Angelica gigas</i>	Umbelliferae	뿌리	1
대계초	<i>Cirsium japonicum</i>	Compositae	전초,뿌리	23
대풍자	<i>Hydnocarpus anthelmintica</i>	Flacourtiaceae	종자	40
대황	<i>Rheum undulatum</i>	Polygonaceae	뿌리줄기	28
도인	<i>Prunus persica</i>	Rosaceae	속씨	27
독활	<i>Aralia cordata</i>	Araliaceae	뿌리	34
동과	<i>Benincasa hispida</i>	Cucurbitaceae	종자	6
동규자	<i>Malva verticillata</i>	Malvaceae	종자	8
두충	<i>Eucommia ulmoides</i>	Eucommiaceae	줄기껍질	29
등심초	<i>Juncus effusus</i>	Juncaceae	줄기	3

Table I. Continued

일 반 명	학 명	과 명	부 위	저해활성 (%)
마두령	<i>Aristolochia contorta</i>	Aristolochiaceae	열매	17
마황	<i>Ephedra sinica</i>	Ephedraceae	지상부	-
만형자	<i>Vitex rotundifolia</i>	Verbenaceae	열매	-
맥문동	<i>Liriope platyphylla</i>	Liliaceae	비늘줄기	4
맥아	<i>Hordeum vulgare</i>	Poaceae	종자	3
모근	<i>Imperata cylindrica</i>	Poaceae	뿌리	-
목단피	<i>Paeonia suffruticosa</i>	Paeoniaceae	뿌리껍질	86
목별	<i>Momordica cochinchinensis</i>	Cucurbitaceae	종자	32
목향	<i>Inula helenium</i>	Compositae	뿌리	20
몰약나무	<i>Commiphora myrrha</i>	Burseraceae	수지	5
무이	<i>Ulmus macrocarpa</i>	Ulmaceae	꽃, 열매, 잎	-
밀몽화	<i>Buddleia officinalis</i>	Loganiaceae	꽃	20
박하	<i>Mentha arvensis</i>	Labiatae	전초	-
반하	<i>Pinellia ternata</i>	Labiatae	덩이뿌리	-
방기	<i>Sinomenium acutum</i>	Menispermaceae	줄기	-
방풍	<i>Saposhnikovia seseloides</i>	Umbelliferae	뿌리	11
백과	<i>Ginkgo biloba</i>	Ginkgoaceae	종자	34
백단향	<i>Santalum album</i>	Santalaceae	줄기	4
백두구	<i>Amomum cardamomum</i>	Zingiberaceae	과실	-
백두옹	<i>Pulsatilla koreana</i>	Ranunculaceae	뿌리	40
백렴	<i>Ampelopsis japonica</i>	Vitaceae	뿌리	-
백미	<i>Cynanchum atratum</i>	Asclepiadaceae	뿌리	13
백부근	<i>Stemona japonica</i>	Liliaceae	뿌리	-
백선피	<i>Dictamnus dasycarpus</i>	Rutaceae	뿌리껍질	10
백작약	<i>Paeonia japonica</i>	Paeoniaceae	뿌리	59
백출	<i>Atractylodes japonica</i>	Compositae	뿌리	12
백합	<i>Lilium longiflorum</i>	Liliaceae	비늘줄기	1
보골지	<i>Pasoralia corylifolia</i>	Leguminosae	열매	43
복분자	<i>Rubus crataegifolius</i>	Rosaceae	열매	39
봉출	<i>Curcuma zedoaria</i>	Zingiberaceae	뿌리	11
부소맥	<i>Triticum aestivum</i>	Poaceae	종자	5
부자	<i>Aconitum carmichaelli</i>	Ranunculaceae	뿌리줄기	-
부평	<i>Spirodela polyrhiza</i>	Lemnaceae	전초	23
비파엽	<i>Eriobotrya japonica</i>	Rosaceae	잎	18
비해	<i>Dioscorea tokoro</i>	Dioscoreaceae	뿌리	-
빈랑	<i>Areca catechu</i>	Palmae	종자	63
사간	<i>Belamcanda chinensis</i>	Iridaceae	뿌리줄기	3
사군자	<i>Quisqualis india</i>	Combretaceae	열매	-
사삼	<i>Adenophora triphylla</i>	Campanulaceae	뿌리	6
사상자	<i>Torilis japonica</i>	Umbelliferae	열매	16
사인	<i>Amomum xanthioides</i>	Zingiberaceae	열매	12
산두근	<i>Sophora subprostrata</i>	Leguminosae	뿌리	0
산사자	<i>Crataegus pinnatifida</i>	Rosaceae	열매	3
산수유	<i>Cornus officinalis</i>	Cornaceae	열매	38
산약	<i>Dioscorea batatas</i>	Dioscoreaceae	뿌리줄기	21

Table I. Continued

일 반 명	학 명	과 명	부 위	저해활성 (%)
산조인	<i>Ziziphus jujuba</i>	Rhamnaceae	종자	39
산초	<i>Zanthoxylum schinifolium</i>	Rutaceae	열매껍질	-
삼릉	<i>Sparganium erectum</i>	Sparganiaceae	덩이줄기	-
삼백초	<i>Saururus chinensis</i>	Saururaceae	지상부	63
상기생	<i>Hyphear tanakae</i>	Loranthaceae	전초	6
상륙	<i>Phytolacca esculenta</i>	Phytolaccaceae	뿌리	20
상백피	<i>Morus alba</i>	Moraceae	뿌리껍질	6
석곡	<i>Dendrobium moniliforme</i>	Orchidaceae	전초	44
석위	<i>Pyrrhosia lingua</i>	Polypodiaceae	지상부	18
석창포	<i>Acorus gramineus</i>	Araceae	뿌리줄기	-
선모	<i>Curculigo orchioides</i>	Amaryllidaceae	뿌리	-
선복화	<i>Inula britannica</i>	Compositae	꽃	12
선학초	<i>Agrimonia pilosa</i>	Rosaceae	전초	49.4
세신	<i>Asiasarum sieboldii</i>	Aristolochiaceae	뿌리	4
소목	<i>Caesalpinia sappan</i>	Leguminosae	줄기	53
소엽	<i>Perilla frutescens</i>	Labiatae	잎	16
속단	<i>Phlomis umbrosa</i>	Labiatae	뿌리	1
쇄양	<i>Cynomorium songaricum</i>	Cynomoriaceae	전초	17
승마	<i>Cimicifuga heracleifolia</i>	Ranunculaceae	뿌리줄기	21
시라자	<i>Anethum graveolens</i>	Umbelliferae	열매	13
시체	<i>Diospyros Kaki</i>	Ebenaceae	꽃받침	30
시호	<i>Bupleurum falcatum</i>	Umbelliferae	뿌리	12
신이	<i>Magnolia liliflora</i>	Magnoliaceae	꽃봉오리	31
아선약	<i>Acacia antechu</i>	Leguminosae	줄기	14
아위	<i>Ferula assafoetida</i>	Umbelliferae	가지	39
애엽	<i>Artemisia princeps</i>	Compositae	잎	71
어성초	<i>Houttuynia cordata</i>	Saururaceae	전초	12
여정실	<i>Ligustrum lucidum</i>	Oleaceae	열매	26
연자육	<i>Nelumbo nucifera</i>	Nymphaeaceae	과실	54
예지자	<i>Akebia quinata</i>	Lardizabalaceae	종자	13
오가피	<i>Acanthopanax sessiliflorus</i>	Araliaceae	뿌리껍질	-
오두	<i>Glycine max</i>	Leguminosae	종자	6
오매	<i>Prunus mume</i>	Amygdalaceae	열매	16
오미자	<i>Schizandra chinensis</i>	Magnoliaceae	열매	22
오수유	<i>Evodia officinalis</i>	Rutaceae	열매	25
오약	<i>Lindera strichnifolia</i>	Lauraceae	뿌리	18
용뇌	<i>Dryobalanops aromatica</i>	Dipterocarpaceae	가지	5
용담	<i>Gentiana scabra</i>	Gentianaceae	뿌리	4
용안육	<i>Euphoria longa</i>	Sapindaceae	종자	-
우방자	<i>Arctium lappa</i>	Compositae	열매	41
우슬	<i>Achyranthes japonica</i>	Amaranthaceae	뿌리	13
옥리인	<i>Prunus japonica</i>	Amygdalaceae	종자	6
울금	<i>Curcuma longa</i>	Zingiberaceae	뿌리	64
원지	<i>Polygala tenuifolia</i>	Polygalaceae	뿌리	2
원화	<i>Daphne genkwa</i>	Thymelacaceae	꽃봉오리	24

Table I. Continued

일 반 명	학 명	과 명	부 위	저해활성 (%)
위령선	<i>Clematis mandshurica</i>	Ranunculaceae	뿌리	9
위유	<i>Polygonatum odoratum</i>	Liliaceae	뿌리	5
유향	<i>Boswellia carterii</i>	Burseraceae	가지	25
육계	<i>Cinnamomum cassia</i>	Lauraceae	가지	93
육두구	<i>Myristica fragrans</i>	Myristicaceae	종자	19
육종용	<i>Cistanche salsa</i>	Orobanchaceae	뿌리	17
음양곽	<i>Epimedium koreanum</i>	Berberidaceae	지상부	31
의이인	<i>Coix lachrymajobi</i>	Poaceae	종자	21
이고들빼기	<i>Youngia denticulata</i>	Compositae	전초	-
익모초	<i>Leonurus japonicus</i>	Labiatae	전초	39
익지인	<i>Alpinia oxyphylla</i>	Zingiberaceae	열매	43
인진	<i>Artemisia capillaris</i>	Compositae	잎	47
자근	<i>Lithospermum erythrorhizon</i>	Boraginaceae	뿌리	22
자원	<i>Aster tataricus</i>	Compositae	뿌리줄기	12
저령	<i>Polyporus umbellatus</i>	Polyporaceae	균핵	23
저실자	<i>Broussonetia papyrifera</i>	Moraceae	종자	24
적작약	<i>Paeonia lactiflora</i>	Paeoniaceae	뿌리	29
진호	<i>Angelica decursiva</i>	Umbelliferae	뿌리	13
정력자	<i>Lepidium apetalum</i>	Cruciferae	종자	5
정향	<i>Eugenia caryophyllata</i>	Myrtaceae	꽃봉오리	32
제니	<i>Adenophora remotiflora</i>	Campanulaceae	뿌리	2
조구등	<i>Uncaria rhynchophylla</i>	Rubiaceae	가지	22
조협	<i>Gleditsia sinensis</i>	Leguminosae	열매	13
지각	<i>Citrus aurantium</i>	Rutaceae	열매	6
지골피	<i>Lycium chinense</i>	Solanaceae	뿌리껍질	5
지구자	<i>Hovenia dulcis</i>	Rhamnaceae	열매	17
지모	<i>Anemarrhena asphodeloides</i>	Haemodoraceae	뿌리줄기	-
지부자	<i>Kochia scoparia</i>	Chenopodiaceae	종자	9
지실	<i>Poncirus trifoliata</i>	Rutaceae	열매	6
지유	<i>Sanguisorba officinalis</i>	Rosaceae	뿌리줄기	30
진교	<i>Lycotomum loczyanum</i>	Ranunculaceae	뿌리줄기	26
진피	<i>Fraxinus rhychophylla</i>	Oleaceae	줄기껍질	6
질려자	<i>Tribulus terrestris</i>	Zygophyllaceae	과실	20
창이자	<i>Xanthium strumarium</i>	Compositae	열매	23
천궁	<i>Cnidium officinale</i>	Umbelliferae	뿌리줄기	1
천남성	<i>Arisaema amurense</i>	Araceae	뿌리	23
천련자	<i>Melia toosendan</i>	Meliaceae	열매	-
천마	<i>Gastrodia elata</i>	Orchidaceae	뿌리줄기	-
천문동	<i>Asparagus cochinchinensis</i>	Liliaceae	비늘줄기	18
천초근	<i>Rubia akane</i>	Rubiaceae	뿌리	43
청대	<i>Persicaria tinctoria</i>	Polygonaceae	잎	15
초과	<i>Amomum taso-ko</i>	Zingiberaceae	과실	31
초두구	<i>Alpinia katsumadai</i>	Zingiberaceae	종자	34
초오	<i>Aconitum Monanthum</i>	Ranunculaceae	뿌리줄기	32
측백엽	<i>Thuja orientalis</i>	Cupressaceae	잎	35

Table I. Continued

일 반 명	학 명	과 명	부 위	저해활성 (%)
치자	<i>Gardenia jasminoides</i>	Rubiaceae	열매	39
택란	<i>Lycopus lucidus</i>	Labiatae	전초	38
택사	<i>Plantago asiatica</i>	Alismataceae	뿌리줄기	23
토복령	<i>Smilax china</i>	Liliaceae	뿌리줄기	29
토사자	<i>Cuscuta japonica</i>	Convolvulaceae	종자	20
파극천	<i>Morinda officinalis</i>	Rubiaceae	뿌리	11
파두	<i>Croton tiglium</i>	Euphorbiaceae	종자	20
판람근	<i>Lsatis tinctoria</i>	Cruciferae	뿌리	13
패장	<i>Patrinia scabiosaefolia</i>	Valerianaceae	전초	20
편축	<i>Polygonum aviculare</i>	Polygonaceae	전초	26
패모	<i>Fritillaria thunbergii</i>	Liliaceae	비늘줄기	-
토천궁	<i>Angelica polymorpha</i>	Umbelliferae	뿌리	-
포공영	<i>Taraxacum mongolicum</i>	Compositae	전초	10
포황	<i>Typha orientalis</i>	Typhaceae	꽃가루	31
피마자	<i>Ricinus communis</i>	Euphorbiaceae	종자	26
하고초	<i>Prunella vulgaris</i>	Labiatae	전초	10
하수오	<i>Pleuropterus meltiflorus</i>	Polygonaceae	덩이뿌리	6
학슬	<i>Carpesium abrotanoides</i>	Compositae	열매	45
합환피	<i>Albizia julibrissin</i>	Leguminosae	줄기껍질	19
해금사	<i>Lygodium japonicum</i>	Schizaeaceae	포자	22
해동피	<i>Kalopanax pictus</i>	Araliaceae	줄기껍질	11
행인	<i>Prunus armeniaca</i>	Amygdalaceae	종자	6
향부자	<i>Cyperus rotundus</i>	Cyperaceae	뿌리줄기	14
현삼	<i>Scrophularia buergeriana</i>	Scrophulariaceae	뿌리	-
현초	<i>Geranium thunbergii</i>	Geraniaceae	전초	51
현호색	<i>Corydalis turtschaninovii</i>	Fumariaceae	덩이줄기	6
형개	<i>Schizonepeta tenuifolia</i>	Labiatae	전초	9
호박	<i>Cucurbita moschata</i>	Cucurbitaceae	열매	27
호장근	<i>Reynoutria japonica</i>	Polygonaceae	뿌리줄기	52
홍화자	<i>Carthamus tinctorius</i>	Compositae	종자	36
황금	<i>Scutellaria baicalensis</i>	Labiatae	뿌리	42
황기	<i>Astragalus membranaceus</i>	Leguminosae	뿌리	7
황련	<i>Coptis japonica</i>	Ranunculaceae	뿌리줄기	55
황백	<i>Phellodendron amurense</i>	Rutaceae	줄기껍질	12
황정	<i>Polygonatum sibiricum</i>	Liliaceae	비늘줄기	30
회향	<i>Foeniculum vulgare</i>	Umbelliferae	종자	23
후박	<i>Magnolia officinalis</i>	Magnoliaceae	줄기, 뿌리	13
후추	<i>Piper nigrum</i>	Piperaceae	과실	21
희렴	<i>Siegesbeckia glabrescens</i>	Compositae	전초	28

저해 활성을 나타내는 물질들인 curcuminoids를 순수 분리 하였으며, 이들의 IC₅₀ 값은 9-17 µg/ml이었다. 또한, 계혈 등 (*Spatholobus suberectus*), 호장근 (*Reynoutria japonica*) 으로부터 정제한 활성 물질은 구조 분석 중에 있다.

*Cinnamomum japonicum*의 주성분은 cinnamic aldehyde 및 cinnamic alcohol이며 진통, 발열, 두통에 사용되고, *Paeonia suffruticosa*는 뿌리에 paeonol과 그 배당체인 paeonoside, paeonolide등이 있으며 부인과 질환에 많이 이

용하며, *Spatholobus suberectus*은 혈액순환에 관련된 질병에 주로 사용하는 생약이다. 또한 *Saururus chinensis*에는 quercetin, isoquercetin과 같은 플라보노이드가 주성분으로 소염, 해독, 이뇨 등에 사용되며, *Areca catechu*은 arecoline, arecaidine, guvacine 등이 주성분으로, 건위, 조충구제약으로 사용되고, *Artemisia princeps*은 eucalyptol, thujone 등의 성분을 갖고 있으며 복통, 토혈, 자양강장제 등으로 사용된다. 특히 *Curcuma longa*은 그 주성분이 curcumin인데 이 성분은 항산화제, 항암제 등 생물학적 활성에 대해 많은 연구가 이루어져 임상 2단계에 있는 성분이며, 이 식물은 카레의 원료 등과 같은 향신료로도 사용되고 있다.

본 연구의 결과들을 종합해 볼 때, 식물들의 분류, 효능, 효과, 부위, 채집시기, 추출 전처리 과정 등이 활성물질 탐색에 중요한 요소가 되는 것으로 보여진다. 따라서, 보다 체계적인 연구가 이루어 질 때 생약 자원으로부터 더 많은 약제 개발에 대한 기대를 가질 수 있을 것이다. 차후에 이런 여러 가지 요인들을 충분히 고려하여 유용 생약 자원으로부터 활성 물질의 체계적인 탐색을 하고자 한다. 또한 천연 의약품으로의 실용화를 위해서는 좀더 다양한 종류의 생약제로부터 저해제를 탐색하려는 시도가 필요하며, 이러한 연구를 통해 얻어진 결과가 천연 자원으로부터의 신약 개발을 위한 유용한 자료로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

현재 생약 추출물을 이용한 FPTase 활성 저해제 탐색 결과를 바탕으로, 강한 저해 활성을 보이는 생약 자원에 대해서는 활성 성분을 분리하고 그 구조를 규명하기 위한 연구가 진행 중에 있으며, 앞으로 라스 관련 세포주나 동물 모델을 이용한 *in vivo*에서의 활성 측정과 더불어 세포 내 또는 생체 내에서의 작용 기작 연구를 수행하고자 한다.

결 론

생약자원으로부터 FPTase 저해제를 탐색할 목적으로 193종의 식물 생약 추출물에 대한 저해 활성을 측정하였다. 그 결과, *Areca catechu*, *Saururus chinensis*, *Curcuma longa*, *Artemisia princeps*, *Paeonia suffruticosa*, *Spatholobus suberectus*, *Cinnamomum cassia*, *Cinnamomum japonicum* 등의 시료에서 60% 이상의 저해 활성이 나타났다. 이와 같이 1차 탐색에서 선정된 생약 시료 중 *Curcuma longa*로부터 FPTase 저해 활성을 갖는 물질인 curcuminoids를 순수 분리하였고, *Spatholobus suberectus*로부터 FPTase 저해 활성을 갖는 물질의 분리, 정제를 수행 중에 있다.

감사의 말씀

본 논문은 과학기술부 21세기 프런티어연구개발사업의 자생식물이용기술사업단과 바이오그린 연구사업의 연구비에 의하여 수행된 결과로 연구비 지원에 감사 드립니다.

인용문헌

- Hill, B.T., Perrin, D. and Kruczynski, A. (2000) Inhibition of RAS-targeted prenylation: protein farnesyl transferase inhibitors revisited. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **33**: 7-23.
- Qian, Y., Sebti, S. M. and Hamilton, A. D. (1997) Farnesyltransferase as a target for anticancer drug design. *John Wiley & Sons, Inc. Biopoly.* **43**: 25-41.
- Kohl, N. E., Wilson, F. R., Mosser, S. D., Giuliani, E. A., DeSolms, S. J., Conner, M. W., Anthony, N. J., Holtz, W. J., Gomez, R. P., Lee, T. J., Smith, R. L., Hartman, G. D., Gibbs, J. B. and Oliff, A. (1994) Protein Farnesyltransferase Inhibitors Block the Growth of ras-Dependent Tumors in Nude Mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **91**: 9141-9145.
- Sun, J., Qian, Y., Hamilton, A. D. and Sebti, S. M. (1995) Ras CaaX peptidomimetic FTI 276 selectively blocks tumor growth in nude mice of a human lung carcinoma with k-ras mutation and p53 deletion. *Cancer Res.* **55**: 4243-4247.
- Kohl, N. E., Mosser, S. D., DeSolms, S. J., Giuliani, E. A., Pompliano, D. L., Graham, S. L., Smith, R. L., Scolnick, E. M., Oliff, A. and Gibbs, J. B. (1993) Selective inhibition of ras-dependent transformation by a farnesyltransferase inhibitor. *Science* **260**: 1934-1937.
- Jayasuriya, H., Silverman, K. C., Zink, D. L., Jenkins, R. G., Sanchez, M., Pelaez, F., Vilella, D., Lingham, R. B. and Singh, S. B. (1998) Clavatic acid: A triterpenoid inhibitor of farnesyl protein transferase from *Clavariadelphus truncatus*. *J. Nat. Prod.* **61**: 1568-1570.
- Singh, S.B., Zink, D.L., Liesch, J.M., Goetz, M.A., Jenkins, R.G., Nallin-Omstead M., Silverman, K.C., Bills, G.F., Mosley, R.T., Gibbs, J.B., Albers-Schonberg G., Lingham, R.B.(1993) Isolation and structure of chaetomelic acid A and B from *Chaetomella acustiseta*: farnesyl pyrophosphate mimics inhibitors of Ras farnesyl-protein transferase. *Tetrahedron.* **49**: 5917-5926.
- Lee, S. H., Kim, M. J., Bok, S. H., Lee, H., Kwon, B. M., Shin, J. and Seo, Y. (1998) Arteminolide, an inhibitor of farnesyl transferase from *Artemisia sylvatica*. *J. Org. Chem.* **63**: 7111-7113.
- Kwon, B. M., Lee, S. H., Kim, K. S., Lee, I. R., Hong, U. C. and Bok, S. H. (1997) *Bioorganic & Med. Chem. Lett.* **7**: 971-974.
- Kwon, B. M., Cho, Y. K., Lee, S. H., Nam, J. Y., Bok, S. H., Chun S. K., Kim, J. A. and Lee, I. R. (1996) 2-

- Hydroxycinnamaldehyde from stem bark of *Cinnamomum cassia*. *Planta Med.* **62**: 183-184.
11. Tamanoi, F., Gau, C. L., Jiang, C., Edamatsu, H. and Kato-Stankiewicz, J. (2001) Protein farnesylation in mammalian cells: effects of farnesyltransferase inhibitors on cancer cells. *Cell. Mol. Life. Sci.* **58**: 1636-1649.
 12. Johnston, S., Ellis, P. Houston, S. *et al.*: (2000) A phase II study of the farnesyltransferase inhibitor R115777 in patients with advanced breast cancer[abstract]. *Proc. Am. Soc. Oncol.* **19**: 83a
 13. Reiss, Y., Goldstein, J. L., Seabra, M. C., Casey, P. J. and Brown, M. S. (1990) Inhibition of purified p21^{ras} farnesyl: protein transferase by Cys-AAX tetrapeptides. *Cell.* **62**: 81-88.

(2002년 7월 20일 접수)