

자생식물 추출물의 MTT assay를 이용한 항바이러스 활성 연구

박은희[†] · 민상기 · 박연경 · 박소현 · 김남호 · 황수정 · 진성현
[†]역학조사과 · 미생물과

Study for Antiviral Activity of Methanol Extracts in Indigenous Plants by MTT assay

Eun-Hee Park[†], Sang-Kee Min, Yon-Koung Park, So-Hyun Park, Nam-Ho Kim, Su-Jeong Hwang and Sung-Hyun Jin
[†]Epidemiology Division · Microbiology Division

Abstracts

The methanol extracts from seven indigenous plants in Busan were tested for antiviral activities against echovirus serotype 30 (ECV 30) and influenza virus type A by MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) assay in *vero* and MDCK cells, respectively. Cytotoxicity in *vero* and MDCK cells was shown under 50% cytotoxic dose by extracts concentration of *Zea mays* (corn silk) and *Equisetum arvense* at 1,000 ug/mL. The inhibition rates of *Zea mays* (corn silk) and *Equisetum arvense* at 10,000 ug/mL on ECV 30 were 89.5% and 17.7%, respectively. The inhibition rates of *Zea mays* (corn silk) at 5,000 ug/mL on Influenza virus A/H1N1 2009 and Influenza virus A/H3N2 were 93.4% and 93.9%. The inhibition rates of *Equisetum arvense* at 2,500 ug/mL on Influenza virus A/H1N1 2009 and Influenza virus A/H3N2 were 37.7% and 44.0%. From this study, *Zea mays* (corn silk) could be used as the candidate materials for antiviral drug with *in vitro* further research.

Key words : cytotoxicity, indigenous plant, inhibition rate, methanol extract, MTT assay

서 론

식물은 화학물질 합성공장이라 불릴 만큼 광범위한 물질을 생산하고, 특히 생명체 자기방어기작 등과 관련한 2차 대사산물은 천연 항바이러스 활성 연구대상으로 무궁한 잠재력이 있어, 국내·외적으로 자국의 민속약용식물을 중심으로 새로운 항바이러스 물질 탐색을 위한 연구가 활발하게 진행되고 있다^{1~5)}. 현재까지 알려진 식물유래 항바이러스 효능 보유 물질은 flavonoids, terpenoids, lignans, sulphides, polyphenolics, coumarins, saponins, alkaloids, polyines, thiophenes, proteins, peptides 및 향신료, 허브차의 정유 성분(essential oil) 등 다양한 phytochemicals가 지속적으로 보고되고 있으며⁶⁾, 바이러스는 숙주세포의

대사과정에 의존하여 증식하는 절대 세포내 기생체이므로 천연물을 이용한 항바이러스 물질의 개발은 인체 부작용을 줄일 수 있는 효과를 기대할 수 있다.

인플루엔자 바이러스는 바이러스 자체의 낮은 항원성 변이 때문에 영구백신 개발이 어렵고, 개발된 항바이러스제도 증상 완화 및 바이러스의 전파기간 단축 등에는 효과가 있으나, 부작용 및 내성획득 등의 문제점을 안고 있다. M2 protein 억제제로 개발된 amantadine, rimantadine은 내성바이러스 출현율 증가로 사용 제한을 권고 받으며, neuraminidase 억제제인 oseltamivir, zanamivir에 대하여도 내성주 발생이 보고되었다⁷⁾. 또한 현재 항바이러스 치료제로 사용 중인 acyclovir (anti-herpes simplex virus), zidovudine (anti-human immunodeficiency

[†] Corresponding author. E-mail : peh731@korea.kr

Tel : +82-51-757-6936, Fax : +82-51-753-1424

virus), ribavirin (anti-respiratory syncytial virus) 등에 대한 내성도 보고되고 있다⁸⁾. 또한 수족구병, 무균성 수막염 등의 원인바이러스인 엔테로바이러스는 예방백신이 없고 효과적인 치료제가 개발되지 않아 대증요법으로 치료하고 있으며, 미국 등 선진국에서 사용되는 pleconaril도 부작용의 우려가 높아 생명을 위협하는 임상 증상에 한정하여 사용하고 있다⁹⁾. 이렇듯 새로운 항바이러스제 개발의 필요성은 지속적으로 요구되고 있다.

항바이러스 효능을 탐색하는 *in vitro* 검색계(screening system)로는 감수성 세포를 이용한 세포병변효과(cytopathic effect, CPE) 억제시험, 바이러스 만성감염 세포시험, 다핵거대세포 형성저해법, influenza virus, mumps virus 와 같이 혈구응집능이 있는 바이러스의 경우 혈구응집억제(HI)시험법, serum pharmacological assay¹⁰⁾, RIA를 이용한 항원량 검출법, 새로운 분자 마커를 이용한 southern blotting, PCR, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) assay¹¹⁾ 등이 있다.

본 연구는 2009년 부산지역 야산 및 생활주변에 자생하는 야생 잡초류, 수목류 및 민간약초류 125종 134건의 열수추출액을 세포부착 및 세포병변효과(CPE)시험으로 세포독성 및 항바이러스 활성을 검색한 결과 에코 및 인플루엔자 바이러스에 대해 항바이러스 활성이 확인된 옥수수수염 등 7종의 자생식물을 대상으로 메탄올로 추출하여 각 추출물에 대하여 MTT assay를 실시하여 세포독성 및 항바이러스 활성 결과에 대한 재현성과 이들 시험에 대한 정량화 및 수치화하여 과학적인 데이터를 보완하여 항바이러스제 신물질 개발을 위한 기초 자료로 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 식물은 2009년 부산지역 야산 및 생활주변에 흔히 자생하는 야생 잡초류, 수목류 및 민간약초류 등의 열수추출액 134건을 대상으로 에코바이러스와 인플루엔자바이러스에 대해 세포부착과 세포병변시험으로 세포독성 및 항바이러스 활성이 확인된 7종의 식물 중 쇠뜨기(지상부), 아카시아(꽃), 철쭉(꽃), 소루쟁이(지상부), 쪽(지상부) 및 무궁화(총영) 6종은 금련산 주변에서 채집하였으며, 옥수수수염은 시장에서 건조된 것을 구입하여 사용하였다.

시료의 조제

생체로 채집된 식물은 물로 세척한 후 세절하여 건조기에서 3일 이상 건조하여 각각의 시료 30g 당 메탄올(Merck, HPLC용) 300 mL를 넣고 실온에서 8시간 교반 추출하였다. 추출액은 36°C에서 감압 농축하고, 농축 잔여물은 최종 동결 건조하였다. 시료용액의 조제는 동결 건조된 시료를 20,000 ug/mL가 되도록 멸균증류수에 녹여 무균적으로 pore size 0.22um 멸균 필터를 통과시켜 조제하였으며, 조제된 시료는 실험에 사용할 때까지 4°C에서 냉장보관 하였다.

바이러스 배양

각 추출물의 항바이러스 활성을 측정하기 위해 사용된 바이러스는 우리나라에서 매년 유행율이 높은 echovirus serotype 30 (ECV 30)과 2009년 세계적 대유행주인 Influenza A/California/7/2009 (H1N1) 와 Influenza A/Brisbane/10/2007 (H3N2)을 사용하였다. ECV 30은 고려대학교 병원성바이러스은행(<http://www.kbpv.co.kr>)으로부터, 인플루엔자바이러스는 질병관리본부로부터 분양 받았으며, African green monkey kidney (vero) 세포와 Madin-Darby canine kidney (MDCK) 세포는 질병관리본부로부터 분양받아 사용하였다.

Vero 세포는 5% fetal bovine serum (FBS)과 penicillin / streptomycin을 첨가한 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)을 이용하여 유지 계대하였으며, 접종용 배지는 2% FBS(+) DMEM을 사용하였고, MDCK 세포의 유지 배양용 배지는 10% FBS (GIBCO BRL, USA)와 penicillin / streptomycin / nystatine을 각각 1% 포함하는 minimum essential medium (MEM, GIBCO BRL, USA)을 사용하였으며, 접종용 배지는 vitamin solution, D-glucose, trypsin을 함유한 serum-free MEM을 사용하였다.

세포독성 시험

추출물에 대한 세포독성은 MTT assay로 시험하였으며, 기존에 상품화되어 있는 MTT cell viability assay kit (Biotium, Inc. USA)를 사용하였다. 96 well plate에 well당 세포(MDCK: 3.6×10^4 cells, vero: 4.3×10^4 cells)를 접종하여 5% CO₂, 37°C에서 24시간 배양하여 세포단층을 얻은 후, phosphate buffered saline (PBS)으로 1회 세척하고, 배양액 100 uL와 세포접종용 배지로

희석한 추출물 1,000 ug/mL를 100 uL/well씩 접종하여 5% CO₂, 37°C 배양기에서 48시간 배양하였다. 세포 병변도를 확인한 후 배양액 100 uL씩을 제거한 후, MTT 용액 10 uL씩을 각 well에 가하여 5% CO₂, 37°C 배양기에서 4시간 동안 정치하였다. MTT 용액을 완전히 제거하여 배양 plate를 건조한 후 200 uL dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma-Aldrich, USA)로 세포 내에 형성된 formazan 결정체를 용해하여 ELISA plate reader (BioTec Ex800, USA)로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포독성비율은 정상세포와 식물추출물을 처리한 군의 비율로 식(1)에 따라 계산하였다.

바이러스 증식 억제능 분석

에코바이러스와 인플루엔자바이러스에 대한 각 추출물의 바이러스 증식 억제능은 vero 세포와 MDCK 세포를 세포독성시험 때와 같은 조건으로 배양한 후, 기존의 배양액을 제거하고 각 추출물을 농도(100, 250, 500, 1,000, 5,000, 10,000 ug/mL)별로 100 uL/well 씩 접종하였다.

에코 및 인플루엔자 바이러스는 75 cm² tissue culture flask (Corning, USA)에서 배양하여 CPE가 일어나 부착된 세포들이 떨어지면 freezing-thawing을 2번 반복한 후, 1,500×g에서 5분간 원심분리 하였다. Cell debris는 제거하고 바이러스를 함유하고 있는 상등액을 cryogenic vial (Nalgene, USA)에 소분 후 -80°C에 보관 사용하였다. 접종용 바이러스의 감염역가는 Reed-Muench method¹²⁾를 이용하여 50% tissue culture infective dose (TCID₅₀)를 산정하여, 에코바이러스는 TCID₅₀ (3.6×10⁷/mL)를 인플루엔자바이러스는 100 TCID₅₀ (A/H1N1 2009 : 3.1×10⁴/mL, A/H3N2: 4.3×10⁴/mL) 100 uL/well 씩을 접종하여 5% CO₂, 37°C 배양기에서 48시간 배양하였으며, 세포독성시험과 동일한 MTT assay로 각 바이러스에 대한 증식 억제능 분석을 실시하였다.

각 처리군은 바이러스를 처리하지 않은 정상세포 군의 흡광도(A), 식물추출물만 처리한 군의 흡광도(B), 바이러스만 처리한 군의 흡광도(C), 바이러스와 식물추출물을 같이 처리한 군의 흡광도(D)를 기준으로, 각각 식물추출물의 세포독성비율과 식물추출의 바이러스 증식억제 비율¹³⁾을 계산하였다.

각 식물 추출물의 세포독성비는 다음 식(1)에 따랐으며,

$$\text{식(1)} \quad \text{세포독성비율(\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

각 식물 추출물의 바이러스 증식 억제능은 다음 식(2)에 따라 구하였다.

$$\text{식(2)} \quad \text{바이러스 증식 억제능(\%)} = \frac{D - C}{B - C} \times 100$$

결과 및 고찰

세포독성 시험

2009년 부산지역 야산 및 생활주변에 자생하는 야생식물 125종 134건의 열수추출액에 대한 세포부착 및 세포병변효과시험으로 바이러스 억제능이 확인된 옥수수수염 [*Zea mays* (corn silk)], 쇠뜨기(*Equisetum arvense*, 지상부), 아카시아(*Robinia pseudoacacia*, 꽃), 철쭉(*Rhododendron schlippenbachii*, 꽃), 소루쟁이(*Rumex crispus*, 지상부), 쪽(*Persicaria tinctoria*, 지상부) 및 무궁화(*Hibiscus syriacus*, 층영) 7종의 메탄올 추출물에 대하여 MTT assay로 1,000 ug/mL 농도에서 세포독성을 확인하였다.

Vero 세포에 대해서는 옥수수수염 48.6%, 쇠뜨기 19.6%였으며, 무궁화 층영, 쪽, 철쭉, 아카시아 및 소루쟁이 추출물의 세포독성은 각각 59.4%, 75.9%, 84.5%, 95.4% 및 96.1%였다(표 1). MDCK 세포에 대해서는 옥수수수염 14.3%, 쇠뜨기 5.8% 및 무궁화(층영) 49.9%로 나타났으며, 쪽, 철쭉, 아카시아 및 소루쟁이 추출물은 86.3%, 94.8%, 94.9% 및 70.7%의 세포독성을 나타내었다(표 1). 바이러스 억제능 분석에는 1,000 ug/mL 농도에서 vero 및 MDCK 세포에 대해 50% cytotoxic dose (CD₅₀) 미만으로 확인된 옥수수수염 및 쇠뜨기 추출물에 대해 농도별로 세포독성 및 바이러스 증식 억제능을 분석하였다.

열수추출액을 사용하여 세포 독성을 나타내지 않는 최대 희석배수(MNTD) 농도에서 세포부착성으로 확인한 세포독성시험에 대한 2009년의 연구결과(Table 1)와 비교해 볼 때 다소 차이가 있었다. 이는 사용한 추출액의 농도가 정량화되지 못하고, 부착된 세포량의 유무 판별이 실험자의 육안에 의존하는 주관적 판정에 기인하는 것으로, 세포배양 후 현미경적 검경에 의한 세포부착 정도로는 세포독성 정도 판정이 어렵다고 사료된다.

Table 1. Cytotoxicity results by methanol and aqueous extracts of indigenous plants against vero and MDCK cells

Botanical name	MTT assay ^{a)} (%)		Cell attachment test ^{b)}	
	Vero cell	MDCK cell	Vero cell	MDCK cell
<i>Equisetum arvense</i> (aerial part)	19.6	5.8	+1	+4
<i>Hibiscus syriacus</i> (plant gall)	59.4	49.9	+1	+1
<i>Persicaria tinctoria</i> (aerial part)	75.9	86.3	+1	+4
<i>Rhododendron schlippenbachii</i> (flower)	84.5	94.8	+1	+2
<i>Robinia pseudoacacia</i> (flower)	95.4	94.9	+1	+1
<i>Rumex crispus</i> (aerial part)	96.1	70.7	+4	+1
<i>Zea mays</i> (corn silk)	48.6	14.3	+1	+1

^{a)}MTT assay; Cytotoxicity(%) of methanol extracts concentration at 1,000 ug/ml)

^{b)}Cell attachment test; Cytotoxicity score of 2-fold dilution factor for aqueous extracts showing (-) cytotoxicity at the maximum non-toxic dose (MNTD)

Table 2. Cytotoxicity and Inhibition rates of methanol extracts on ECV 30 in vero cells by MTT assay

Extracts conc. (ug/ml)	<i>Zea mays</i> (corn silk)		<i>Equisetum arvense</i>	
	Cytotoxicity(%)	Inhibition rate(%)	Cytotoxicity	Inhibition rate(%)
100	15.6	2.9	9.1	2.2
500	44.9	33.8	11.6	2.3
1,000	48.6	42.1	19.6	-
2,500	46.8	63.2	21.5	-
5,000	49.7	63.9	34.7	2.2
10,000	48.9	89.5	51.4	17.9

- : non inhibitory effect

따라서 다수의 시료를 대상으로 세포독성 유무를 판별하기에는 MTT assay가 시간과 경비가 적게 들고 실험 방법이 비교적 간편하며, 살아있는 세포 내에 형성된 fomazan의 흡광도 측정으로 세포독성 유무의 객관적 판정이 가능하므로 대량의 항바이러스 활성 물질 검색에는 MTT assay가 적합하다고 사료된다.

Echo virus 30에 대한 억제능 분석

Vero 세포에 대해 각 추출물의 농도별(100, 500, 1,000, 5,000, 10,000 ug/mL) 세포독성은 옥수수수염 추출물은 100 ug/mL에서 15.6%와 500, 1,000, 5,000 및 10,000 ug/mL에서 44.9%, 48.6%, 46.8%, 49.7% 및 48.9%를 나타내었으며, 쇠뜨기 추출물은 시험한 각 농도에서 9.1%, 11.6%, 19.6%, 21.5%, 34.7% 및 51.4%의 세포독성을 나타내어 추출물 농도의 증가에 따라 세포독성도 높았으며, 100~5,000 ug/mL에서는 쇠뜨기 추출물이 옥수수수염 추출물보다 vero 세포에 대한 독성이 낮았다(표 2).

바이러스증식 억제능은 옥수수수염 추출물은 2,500 ug/mL 와 5,000 ug/mL에서 63%의 억제능을, 10,000

ug/mL에서는 89.5%로 가장 높은 바이러스증식 억제능을 나타내었으며, 쇠뜨기 추출물은 100~5,000 ug/mL에서 거의 항바이러스 활성이 나타나지 않았고, 10,000 ug/mL에서 17.9%의 바이러스증식 억제능이 확인되어(표 2), 에코바이러스 증식 억제능은 옥수수수염 추출물이 쇠뜨기 추출물보다 우수하였다.

Influenza virus type A에 대한 억제능 분석

MDCK 세포에 대해 각 추출물의 농도별(250, 500, 1,000, 5,000, 10,000 ug/mL) 세포독성은 옥수수수염 추출물은 250~500 ug/mL에서 7% 미만의 세포독성이 확인되었으며, 1,000~10,000 ug/mL에서도 13% ~ 32.8%의 세포독성이 확인되어 vero 세포보다는 세포독성 정도가 낮았고, 쇠뜨기 추출물은 250~5,000 ug/mL에서는 8.2%~14.6%의 세포독성을, 10,000 ug/mL에서는 30%의 세포독성을 나타내어 MDCK세포에 대한 세포독성 정도는 옥수수수염 추출물과 비슷하였다(표 3).

바이러스증식 억제능은 옥수수수염 추출물의 경우 인플루엔자 A/H1N1 2009에는 1,000 ug/mL 이하에서는

Table 3. Cytotoxicity and Inhibition rates of methanol extracts of *Zea mays* (corn silk) and *Equisetum arvense* on Influenza virus type A in MDCK cells by MTT assay

Extracts conc. (ug/mL)	Cytotoxicity(%)		Inhibition rate(%)			
	<i>Zea mays</i> (corn silk)	<i>Equisetum arvense</i>	Influenza virus A/H1N1 2009		Influenza virus A/H3N2	
			<i>Zea mays</i> (corn silk)	<i>Equisetum arvense</i>	<i>Zea mays</i> (corn silk)	<i>Equisetum arvense</i>
250	4.7	8.2	-	11.3	-	16.6
500	6.9	7.7	-	25.3	-	40.3
1,000	14.3	5.8	2.0	37.3	22.7	32.7
2,500	17.1	11.8	29.2	37.7	82.3	44.0
5,000	21.0	14.6	93.4	19.3	93.9	-
10,000	32.8	30.0	-	-	-	-

- : non inhibitory effect

바이러스 억제능이 거의 확인되지 않았으며, 5,000 ug/mL에서 93.4%의 바이러스 억제능이 확인되었다. 인플루엔자 A/H3N2에 대해서는 250~500 ug/mL에서는 바이러스 억제능이 확인되지 않았으나, 2,500 ug/mL과 5,000 ug/mL에서 각각 82.3%와 93.9%의 바이러스증식 억제능이 확인되어 A/H1N1 2009보다 다소 낮은 농도에서 바이러스 억제능이 확인되었다(표 3). 쇠뜨기 추출물은 2,500 ug/mL에서 인플루엔자 A/H1N1 2009는 37.7%와 인플루엔자 A/H3N2는 44.0%로 최고의 억제능이 확인되어, 인플루엔자 바이러스증식 억제능도 옥수수수염 추출물이 쇠뜨기 추출물보다 우수하였다(표 3).

식물추출물의 인플루엔자바이러스에 대한 항바이러스 효과에 관한 이전 연구보고와 비교해 볼 때 Park 등¹⁴⁾은 모과와 생강의 열수추출물 농도 390 ug/mL 와 195 mg/mL에서 인플루엔자바이러스 A형에 대하여 강하게 항바이러스 효과가 있다고 보고하였고, Mariam 등⁸⁾은 에티오피아 약용식물 *Euclea schimperi* (Ebenaceae, 감나무과) 추출물이 6.22 ug/mL에서 influenza virus type A에 대해 억제능이 있다고 보고하여, 본 연구의 옥수수수염 추출물이 5,000 ug/mL에서 높은 항바이러스 효과가 나타난 것과 달리 낮은 추출물 농도에서 항인플루엔자바이러스 효과가 확인되었다.

Rym 등¹⁵⁾은 잔나비결상버섯 수용성 물질이 104 ug/mL에서 vesicular stomatitis virus (VSV)에 대한 항바이러스 효과가 가장 높았다고 보고하였고, Kwon 등¹³⁾은 전통 약용식물 중 초피나무, 구지뽕나무, 누리장나무의 열수추출물 1,000 ug/mL에서 돼지위장염바이러스(TGEV)에 90% 이상의 바이러스 억제효과를, 초피나무, 조각자나무,

마황의 열수추출물은 돼지유행성 설사바이러스(PEDV)에 대하여 50% 이상의 항바이러스 효과를 나타낸다고 보고하였다. 또한 herpes simplex virus (HSV)에 대한 항바이러스 효과를 탐색한 결과, Lee 등¹⁶⁾은 flavonoid 화합물 중 naringenin이 7.6 ug/mL에서 항 HSV-1, hesperetin이 22.2 ug/mL에서 항 HSV-2에 대한 항바이러스 효과가 있다고 보고하였고, Lee 등¹⁷⁾은 알로에(*Aloe arborescens*) 추출물이 HSV-1, measles virus, hantaan virus, VSV에 대하여 항바이러스 효과가 있다고 보고하여, 성병 및 피부병변을 유발하는 HSV-1, 2에 대한 항바이러스 효과 보유 식물 검색 연구는 많이 보고되고 있다.

이전의 많은 항바이러스 효능 검색 연구 보고에도 불구하고 항바이러스치료제로서 상품화에 성공한 예는 많지 않다. 이는 *in vitro*에서 세포배양을 이용한 항바이러스 효능 검색 시험이 숙주세포의 다양성과 세포배양 환경요인이 실험실마다 다르고, *in vivo* 임상 실험에서 세포내 절대기생체인 바이러스의 유전적 변이, 표적 숙주세포와의 안전성 평가 등의 요인으로 인하여 결과에 차이가 있기 때문이라 사료된다. 이는 *in vitro*의 세포배양에서 항바이러스 효과를 나타내는 유효성분이 추출물의 농도, 추출방법 등에 따라 *in vivo*에서는 활성이 나타나지 않을 수 있다는 보고¹⁸⁾에서 찾아볼 수 있다.

엔테로바이러스는 분변에 의해 오염된 강, 양식장 등 물 환경에서 오랫동안 감염력 입자로 존재하며¹⁹⁾, 분변-구강 경로를 통하여 사람에게 전파²⁰⁾되어, 무증상 감염에서 감기, 수족구병 등 다양한 증상을 나타내지만 치료제가 없어 대증요법으로 치료하고 있는 실정이다. 이에 본 연구에서 옥수수수염 메탄올 추출물이 10,000 ug/mL에

서 vero 세포에 대해 세포독성은 48.9%이었지만, 항 ECV30 바이러스에 대한 효과가 89.5%로 비교적 높게 나타나 항 엔테로바이러스 치료제 개발을 위한 후보물질로서의 연구 가치가 있다고 사료된다.

또한 Snook 등²¹⁾은 옥수수수염에 maysin이라는 항생 물질이 corn earthworm의 생육을 억제한다고 보고하였고, 본 연구에서도 옥수수수염의 메탄올 추출물이 인플루엔자 바이러스 A형에 대한 항바이러스 효과를 나타내어, 향후 옥수수수염 메탄올 추출물의 에코 및 인플루엔자 바이러스 증식 억제능을 나타내는 유효성분 물질 정제 및 항바이러스 활성성분의 바이러스에 대한 작용 기작 규명과 이들 물질의 다른 바이러스에 대한 활성 시험 등이 수행되어야 할 것으로 사료된다.

요 약

부산지역의 자생식물 7종의 메탄올 추출물로부터 MTT assay로 vero 및 MDCK 세포를 사용하여 에코바이러스와 인플루엔자바이러스에 대한 세포독성 및 항바이러스 효능을 검색하였다. 7종의 자생식물 메탄올 추출물 1,000 ug/mL 농도에서 옥수수수염 및 쇠뜨기 추출물이 50% cytotoxic dose 미만의 세포독성을 나타내었다. 항바이러스 효과는 에코바이러스에 대해서 각각의 추출물 농도 10,000 ug/mL에서 옥수수수염은 89.5%, 쇠뜨기는 17.9%의 바이러스증식 억제능이 확인되었다. 인플루엔자바이러스에 대해서는 옥수수수염 추출물이 5,000 ug/mL에서 인플루엔자 A/H1N1(2009)에 93.4%, 인플루엔자 A/H3N2에 93.9% 바이러스 억제능을 나타내었으며, 쇠뜨기 추출물은 2,500 ug/mL에서 인플루엔자 A/H1N1(2009)에 37.7%, 인플루엔자 A/H3N2에 44.0%의 바이러스 억제능을 나타내었다.

참고문헌

1. Yoon, J. C., J. J. Cho, S. M. Yoo, and Y. M. Ha., Antiviral activity of ascorbic acid against herpes simplex virus. *J. Korean Soc. Microbiol.* 35, pp.1~8(2000).
2. Kim, H. K., E. J. Kang, B. J. Kang, K. J. Park, and B. S. Ko., Isolation of anti-herpes simplex virus type 1 component from *Thujae orientalis* semen. *Kor. J. Pharmacogn.* 29, pp.277~282 (1998).
3. McCutcheon, A. R., T. E. Roberts, E. Gibbons, S. M. Ellis, L. A. Babiuk, R. E. W. Hancock, and G. H. N. Towers., Antiviral screening of British Columbian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 49, pp.101~110(1995).
4. Goncalves, J. L. S., R. C. Lopes, D. B. Oliveira, S. S. Costa, M. M. F. S. Miranda, M.T. V. Romanos, N. S. O. Santos, and M. D. Wigg., In vitro anti-rotavirus activity of some medicinal plants used in Brazil against diarrhea. *Journal of Ethnopharmacology* 99, pp.403~407(2005).
5. Paredes, A., M. Hasegawa, F. Prieto, J. Mendez, M. Rodriguez, and M. R. ortega., Biological activity of *Guatteria cardoniana* fractions. *Journal of Ethnopharmacology* 78, pp.129~132 (2001).
6. Biological research information center. <http://bric.postech.ac.kr/webzine>.
7. Kim, K. A., J. Y. Lee, W. K. Kim, Y. Kim, Y. K. Park, and C. Kang., Amantadine and zanamivir resistance of Influenza A/H3N2 viruses isolated in Korea, 2002/03~2003/04. *Journal of Bacteriology and Virology.* 38, pp.127~137(2008).
8. Mariam, T. G., R. Neubert, P. C. Schmidt, P. Wutzler, and M. Schmidtke., Antiviral activities of some Ethiopian medicinal plants used for the treatment of dermatological disorders. *Journal of Ethnopharmacology* 104, pp.182~187(2006).
9. 질병관리본부. 감염병실험실진단 질환별시험법 II. pp. 650~651(2005).
10. Kurokawa, M., H. Ohyama, T. Hozumi, T. Namba, M. Nakano, and K. Shiraki., Assay for antiviral activity of herbal extracts using their absorbed sera. *Chem. pharm. Bull.* 44, pp.1270~1272(1996).
11. Lee, J. S., J. G. Nam, H. R. Lee, Y. J. Lee and Y. O. Shin, Evaluation of anti-human immunodeficiency virus compounds by MYY [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl

- tetrazolium bromide] assay. *J. of Kor. Soc. of Virology* 21(1), pp.69~76(1991).
12. Hierholzer, J. C. and R. A. Killington., Virus isolation and quantitation. In: *Virology Methods Manual*, In Mahy, B. W. J. and H. O. Kangro (eds.), Academy Press, San Diego, pp.35~37(1996).
 13. Kwon, D. H., M. B. Kim, D. Y. Toon, Y. H. Lee, J. W. Kim, H. G. Lee, I. S. Choi, J. S. Lim, and Y. K. Choe., Screening of plant resources of anti viral activity. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 11, pp.24~30(2003).
 14. Park, K. J. and H. H. Lee., *In vitro* antiviral activity of aqueous extracts from Korean medicinal plants against influenza virus type A. *J. Microbial, Biotechnol.* 15, pp.924~929 (2005).
 15. Rym, K. H., S. K. Eo, Y. S. Kim, C. K. Lee, and S. S. Han., Antiviral activity of water soluble substance from *Elfvigia applanata*. *Kor. J. Pharmacogn.* 30, pp.25~33(1999).
 16. Lee, J. H., Y. S. Kim, C. K. Lee, H. K. Lee, and S. S. Han., Antiviral activity of some flavonoids on herpes simplex viruses. *Kor. J. Pharmacogn.* 30, pp.34~39(1999).
 17. Lee, P. W., Y. C. Kim, D. H. Chung., Antiviral action of aloe extracts. *J. of Kor. Soc. of Virology* 22, pp.207~215(1992).
 18. Vlietinck, A. J., and Vanden Berghe, D., Can ethnopharmacology contribute to the development of antiviral drugs. *Journal of Ethnopharmacology* 32, pp.141~153(1991).
 19. Rodgers, F. G., Concentration of viruses in fecal samples from patients with gastroenteritis. In: Goddard, M., Bulter, M.(Eda), *Viruses and Wastewater Treatment*, Pergamon Press, New York, pp.15~18(1981).
 20. Formiga-Cruz M., Tofino-Quesada G., Bofill-Mass S., Lees D. N., Henshilwood K., Allard A. K., Distribution of human viral contamination in shellfish from different growing areas in Greece, Spain, Sweden and the United Kingdom. *Applied and Environ. Microbiology.* 68, pp.5990~5998(2002).
 21. Snook M. E., Gueldner R. C., Widstrom N. W., Wiseman B. R., Himmelsbach D. S., Harwood J. S., Costello C. E., Levels of maysin and maysin analogues in silk of maize germplasm. *J. Agr. Food Chem.* 41(9), pp.1481~1485(1993).