

리포폴리사카라이드에 의해 유도되는 대식세포의 프로스타글란딘 생합성을 저해하는 천연물의 탐색

노민수 · 하준용 · 이창훈 · 이우영 · 이수환** · 이정준**

(주) 태평양 기술연구원, *아주대학교 의과대학, **생명공학연구소

(Received October 23, 1998)

Inhibitory Activities of Natural Products on Lipopolysaccharide Induced Prostaglandin Production in Mouse Macrophages

Min-Soo Noh, Jun Yong Ha, Chang Hoon Lee, Woo Young Lee,
*Soo Hwan Lee and **Jung Joon Lee

Pharmaceutical Research Institute, Pacific Co, Yongin, Kyunggi-Do 449-900,

*Department of Physiology, School of Medicine, Ajou University, Suwon, Kyunggi-Do 442-749,

**Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, KIST, Taejon 305-600, Korea.

Abstract—Two isoforms of cyclooxygenase (COX) have been identified - COX-1, which is constitutively expressed in most tissues, and the inducible form, COX-2, of which expression is induced by inflammatory signals and mitogens. It has been considered that the beneficial effects of NSAIDs are due to the inhibition of COX-2 activity and the side effects are from the inhibition of COX-1 activity. Therefore, it is essential to develop selective COX-2 inhibitor for developing new GI-tolerable NSAIDs. To discover new leads for developing selective COX-2 inhibitors, three-hundred extracts of natural products were primarily screened with the system of prostaglandin accumulation in LPS-stimulated mouse peritoneal macrophages. To identify whether these inhibitory activities of crude extracts on the accumulation of prostaglandins were derived from direct action against COX-2, the effects of selected extracts on exogenous arachidonic acid-derived production of prostaglandins by LPS-stimulated macrophages were determined. Among them, 5 methanol extracts of natural products, such as *Zingiberis Rhizoma*, *Alpiniae Officinarum Rhizoma*, *Caryophylli Flos*, *Scutellariae Radix*, *Dalbergia odorifera*, inhibited more than 70% of the prostaglandin production in LPS-stimulated mouse peritoneal macrophages at a concentration of 1 µg/ml.

Keywords □ Prostaglandins, cyclooxygenase-2, macrophage, natural products.

아스피린으로 대표되는 비스테로이드성 항염증제(이하 NSAID)는 생체에 고르게 분포하는 prostaglandin endoperoxide synthase의 cyclooxygenase(이하 COX) 활성을 억제하여 소염 진통 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다.¹⁾ 이러한 COX는 생체내에 두 종류의 이성 효소가 존재하는 것으로 최근 밝혀져 있는데,^{1,2)} 정상 상태에서 발현하여 위장관보호, 신장기능조절과 같은

신체의 항상성 유지에 관여하는 COX-1과, 염증이나 기타 면역 반응시 세포분열인자(mitogen)나 사이토카인류(cytokines)에 의해 세포내 발현이 증가하는 COX-2가 있음이 알려져 있다.^{1,3)} NSAID류 약물들은 COX-2 효소를 억제함으로써 소염진통효과를 나타내고, 위장관 출혈이나 신장 독성과 같은 부작용은 COX-1 효소를 불필요하게 억제하기 때문일 것으로 추정되고 있는데, 여러 실험 결과들이 이를 입증하고 있다.^{4,5)}

최근 기존 NSAID의 부작용을 감소시키기 위해 COX-2 효소만을 선택적으로 억제하는 약물의 개발이 많은

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

(전화) 0331-219-5043 (팩스) 0331-219-5049

연구자들에 의해 이루어지고 있다.⁶⁻⁹⁾ 새로운 선택적 COX-2 저해제를 개발하기 위해서는 신규 모핵의 탐색이 필수적인데, 천연물로부터 새로운 모핵을 탐색하려는 작업들이 활발히 진행되고 있다. 지금까지 이루어진 COX-2 저해제 모핵 탐색 연구는 분리정제한 COX 효소를 이용한 실험, COX가 발현되는 세포주를 이용하는 실험으로 구분할 수 있는데,¹⁰⁾ 특히, 마우스의 대식세포에 lipopolysaccharide(LPS)를 처리하면, 프로스타글란딘 생합성이 증가하게 되며 이는 주로 COX-2 효소에 기인하는 것으로 보고된 바 있어 COX-2 억제 활성 검색에 유용한 것으로 알려져 있다.¹¹⁾

본 연구에서는 천연물로부터 COX-2 저해를 하는 선도물질을 발견하기 위해 대식세포 모델을 이용하여 약 300 여종의 국산 생약 추출물의 COX-2 저해활성을 평가하였다. 그리고 시료의 처리 과정과 프로스타글란딘 생합성을 유도하는 방법이 상이한 COX-2 효소에 대한 유도억제모델과 활성억제모델을 사용하여 검색하였다.

실험방법

시약 및 재료 - LPS(*E. coli* 0111 : B4), aspirin 등의 시약은 Sigma Chemical(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. Fetal bovine serum(FBS), penicillin-streptomycin 등은 GIBCO BRL(Gaithersburg, MD, USA)에서 구입하였다. Prostaglandin E₂(PGE₂) 등은 Cayman(Ann Arbor, MI)에서 구입하였다. 방사성면역분석법(radioimmunoassay, RIA)이나 효소면역분석법(enzyme immunoassay)을 위한 항체는 Dray의 방법에 따라 제조하고 그 특성을 규명하였다.¹²⁾ 본 연구에 사용한 생약은 한약도매시장에서 최상품을 구입하였다.

검색시료의 조제 - 생약시료 500 g을 잘게 분쇄한 다음 적정량의 메탄올을 넣고 냉각콘덴서가 달린 추출기에서 4시간 끓여서 냉각시킨 후 왓만 2번 여과지로 여과하였다. 이 추출물을 냉각콘덴서가 달린 증류장치에서 40°C에서 감압농축하여 건조중량을 측정한 후 검색시료로 사용하였다.

대식세포의 분리 및 배양 - C57BL/6 마우스의 복강에 4°C의 phosphate buffered saline(PBS) 5 ml를 주입하고 일정시간이 지난 다음 주사기를 이용하여 복강액을 회수하였다. 대식세포가 현탁되어 있는 복강액을 원심분리하여 3회 세척한 후 FBS가 없는 RPMI 배지로 10⁶세포/ml가 되도록 현탁하였다. 이 현탁액에 최

중농도가 500 μM이 되도록 아스피린을 첨가해 세포에 잔존하는 COX 활성을 비가역적으로 억제하였다. 이 현탁액을 96 well 세포배양판의 각 well에 100 μl를 가하여 5% CO₂, 37°C에서 2시간동안 배양하여 대식세포를 용기 표면에 부착시켰다. 부착된 대식세포를 PBS로 3회 세척한 후, 표면에 남은 대식세포를 실험에 사용하였다.

COX-2 저해활성의 측정 : 유도모델(induction model)

- 대식세포가 있는 각 well에 10 μg/ml의 LPS를 함유한 3% FBS-RPMI1640 배지 200 μl를 넣은 직후, 억제 활성을 평가하고자 하는 검색 시료 적정량을 처리하였다. 5% CO₂, 37°C에서 16시간 배양한 후, 상층액을 회수하여 유리된 프로스타글란딘양을 방사성면역분석법이나 효소면역분석법을 이용하여 정량하였다. 100% 활성은 LPS를 처리한 군과 처리하지 않는 군에서 생성된 PGE₂의 차이를 기준으로 하였다.

COX-2 저해활성의 측정 : 활성모델(activity model)

- 대식세포가 있는 각 well에 10 μg/ml의 LPS를 함유한 3% FBS-RPMI1640 배지 200 μl를 처리하고, 5% CO₂, 37°C에서 배양하여 COX-2 활성을 유도시켰다. 16시간 후 PBS로 대식세포를 세척하고, 각 well에 FBS가 없는 RPMI1640 배지 200 μl를 넣고 검색 시료를 처리하여 5~15분간 37°C에서 방치하였다. 그리고 최종농도가 10 μM가 되도록 아라키돈산(arachidonic acid, 이하 AA)을 처리하여 추가로 15~20분간 배양하였다. 상층액을 회수하여 유리된 프로스타글란딘양을 방사성면역분석법이나 효소면역분석법을 이용하여 정량하였다. 100% 활성은 AA를 처리한 군과 처리하지 않는 군에서 생성된 PGE₂의 차이를 기준으로 하였다.

실험결과 및 고찰

COX-2 효소에 직접 작용하는 구조적 모핵과 항염 활성을 가진 신물질 탐색하기 위해 본 연구에서는 대식세포에 LPS를 처리하여 COX-2를 발현시키는 모델을 사용하였다. 이 모델을 선택한 이유는 정제한 효소를 사용한 실험보다 세포주를 이용하는 실험들이 비교적 *in vivo* 항염증 효과와 상관성이 우수하다는 인정을 받고 있고, 대식세포가 염증에서 중요한 역할을 하기 때문이다.¹⁰⁾ 본 연구에서는 일차적으로 대식세포에 LPS와 검색시료를 동시에 처리하여 일정시간 대식세포에서 증가

Table I—Inhibitory activity of methanol extracts of natural products on prostaglandin release and on COX-2 activity in LPS-stimulated mouse peritoneal macrophages

Samples	PGE ₂ Release			COX-2 Activity			
	μg/ml.	% Inhibition		μg/ml.	% Inhibition		
	10	3	1	100	30	10	3
Treminaliae Fructus (가자)	5<						
Puerariae Radix (갈근)	24						
Puerariae Flos (갈화)	26						
Chrysanthemi Flos (감국)	38						
Euphorbiae Kansui Radix (감수)	40			23			
Glycyrrhizae Radix (감초)	89	47	24	68	46		
Angelicae Koreanae Radix (강활)	20						
Curcumae Longae Radix (강황)	72			48			
Zingiberis Rhizoma (건강)	100	99	93	100	89	76	33
Rehmanniae Radix (건지황)	10						
Cassiae Semen (결명자)	16						
Galli Stomachichum Corium (계내금)	5<						
Meliae Cortex (고련피)	40						
Angelicae Tenuissimae Radix (고본)	9						
Sophorae Radix (고삼)	82	31	15	5<			
Caraganae Radix (골담초)	7						
Drvnariae Rhizoma (골쇄)	26						
Crassirhizomae Rhizoma (관중)	11						
Trichosanthis Semen (팔루인)	5<						
Sophorae Flos (괴화)	13						
Lycii Fructus (구기자)	15						
Dianthi Herba (구백)	16						
Limbricus (구인)	24						
Testudinis Plastrum (구판)	5<						
Euonymi Lignum Suberatum (귀전우)	6						
Rosae Laeuigatae Fructus (금앵자)	5<						
Platycodi Radix (길경)	10						
Echinopsis Radix (누로)	5<						
Angelicae Gigantis Radix (당귀)	5<						
Arecae Pericarpium (대복피)	18						
Zizyphi Fructus (대추)	7						
Hydnocarpi Semen (대풍자)	13						
Rhei Rhizoma (대황)	38						
Anisi Stellati Fructus (대회향)	58						
Persicae Semen (도인)	5<						
Araliae Cordatae Radix (독활)	43			5<			
Benincasae Semen (동과자)	8						
Malvae Semen (동규자)	9						
Eucommiae Cortex (두충)	19						
Strychni Semen (마전자)	5<						
Ephedra Herba (마황)	12						
Ephedra Radix (마황근)	16						
Codomopsis Radix (만삼)	7						
Vitidis Fructus (만형자)	20						
Liriopsis Tuber (맥문동)	10						
Hordei Fructus Germinatus (맥아)	60			56	34	22	
Gossypii Semen (면실자)	32						
Chaenomelis Fructus (모과)	65	12	6				
Oystreae Testa (모려분)	13						
Moutan Cortex Radicis (목단피)	31						
Equiseti Herba (목적)	5<						
Saussureae Radix (목향)	71	32	11	47	20		
Myrrha (몰약)	84	69	46	13			
Buddleiae Flos (밀몽화)	28						
Menthae Herba (박하)	21						
Pinelliae Tuber (반하)	5<						

Table I—Continued

Samples	PGE ₂ Release μg/ml. % Inhibition			COX-2 Activity μg/ml. % Inhibition			
	10	3	1	100	30	10	3
Sinomeni Caulis et Rhizoma (방기)	5<						
Ledebouriella Radix (방풍)	13						
Bombycis Corpus (백강잠)	5<						
Sinapis Semen Alba (백개자)	5<						
Chelidonii Herba (백굴채)	5<						
Bletillae Rhizoma (백급)	14						
Ammomi Rotuni Fructus (백두구)	5<						
Plsatille Radix (백두홍)	11						
Ampelopsis Radix (백련)	5<						
Imperatae Radix (백모근)	16						
Cynanchi Radix (백미)	21						
Aconiti Koreanae Rhizoma (백부자)	5<						
Dictamni Radicis Cortex (백선피)	10						
Thujae Semen (백자인)	5<						
Paeoniae Radix (백작약)	5<						
Angelicae Dahuricae Radix (백지)	20						
Tribuli Fructus (백질여)	23						
Atractylodes Rhizoma Alba (백출)	100	66	26	43	33		
Dolichoris Semen (백편두)	5<						
Cynanchi Wilfordi Radix (백하수오)	16						
Lilii Bulbus (백합)	5<						
Amydae Carapax (별갑)	5<						
Ignati Semen (보두)	17						
Hoelen (북명)	18						
Rubi Fructus (북분자)	13						
Zedoariae Rhizoma (봉출)	67	42	20	19			
Spirodela Herba (부평초)	5<						
Torreyae Semen (비자)	5<						
Eriobotryae Folium (비파엽)	6						
Tokoro Rhizoma (비해)	5<						
Belamcandae Rhizoma (사간)	25						
Quisqualis Fructus (사군자)	5<						
Adenophorae Radix (사삼)	8						
Torilidis Fructus (사상자)	33						
Amoni Semen (사인)	21						
Crataegi Fructus (산사)	13						
Corni Fructus (산수유)	18						
Dioscoreae Rhizoma (산약)	12						
Zizyphi spimosi Semen (산조인)	19						
Notoginseng Radix (삼칠근)	41						
Loranthi Ramulus (상기생)	9						
Mori Cortex Radicis (상백피)	26						
Tenodera Ootheca Mantidis (상표초)	5<						
Dendrobii Herba (석곡)	69	31	11	84	51	21	
Acori graminei Rhizoma (석창포)	13						
Inulae Flos (선복화)	5<						
Agrimonia pilosa LEDEB (선학초)	5<						
Asuasari Radix (세신)	30						
Caesalpiniae Lignum (소목)	62			46	5<		
Perillae Herba (소엽)	15						
Foeniculi Fructus (소회향)	19						
Phlomidis Radix (속단)	12						
Resina Pini (송지)	15						
Cynomori Herba (쇄양)	9						
Cimicifugae Rhizoma (승마)	15						
Bupleuri Radix (시호)	18						
Medicata Fermentata (신곡)	5<						

Table I—Continued

Samples	PGE ₂ Release μg/ml, % Inhibition			COX-2 Activity μg/ml, % Inhibition			
	10	3	1	100	30	10	3
Magnoliae Flos (신이화)	25						
Gambir (아선약)	9						
Benzoinum (안식향)	5<						
Artemisiae Asiaticae Herba (애엽)	76	42	7				
Alpinae Officinarum Rhizoma (양강)	100	99	88	100	82	85	67
Hoitiyniae Herba (어성초)	5<						
Ligudtri Fructus (여정실)	22						
Forsythiae Fructus (연교)	93	61	24	18			
Nelumbinis Semen (연자육)	10						
Polygalae Japonicae Herba (영신초)	16						
Ganoderma (영지)	8			5<			
Acanthopanax Cortex (오가피)	48						
Schizandrae Fructus (오미자)	16						
Galla Rhois (오배자)	5<						
Evodiae Fructus (오수유)	91	80	34	90	66	9	
Melandrii Herba (왕불유행)	15						
Fossilis Ossis Mastodi (용골)	13						
Longanae Arilus (용안육)	8						
Curcumae Rhizoma (울금)	100	93	61	58	53	12	
Polygalae Radix (원지)	11						
Ulmii Pumilae Cortex (유근피)	77			37	26		
Olibanum (유향)	19						
Myristicae Semen (육두구)	95	51	19	75	64	30	
Cistanchis Herba (육종용)	9						
Epimedii Herba (음양곽)	21						
Leonuri Herba (익모초)	12						
Alpiniae Fructus (익지인)	88	72	36	84	63	4	
Artemisiae Capillaris Herba (인진호)	5<						
Lithosperimi Radix (자근)	24						
Polyporus (저형)	10						
Broussonetiae Fructus (저실자)	6						
Halloysitum Rubrum (적석지)	32						
Paeoniae obovata Radix (적작약)	5<						
Polygoni multiflori Radix (적하수오)	10						
Anthrisci Radix (전호)	5<						
Sorbus Cortex (정공피)	5<						
Caryophylli Flos (정향)	96	90	89	100	100	100	70
Caryophylli Cortex (정향피)	30						
Gleditsiae Spina (조각자)	5<						
Uncariae Ramulus et Uncus (조구등)	5<						
Bambusae Caulis in Taenium (죽여)	48			98	49	18	
Bambusae Folium (죽엽)	85	44	24	40	12		
Auranthii Fructus (지각)	40			14			
Lycii Cortex Radicis (지골피)	13						
Anemarrhenae Rhizoma (지모)	19						
Kochiae Fructus (지부자)	5<						
Sanguisorbae Radix (지유)	5<						
Aurantii Nobilis Pericarpium (진피)	51			60	15		
Plantaginis Semen (차전자)	2						
Atractylodes Rhizoma (창출)	27						
Cnidii Rhizoma (천궁)	95	55	24	61	44	26	
Meliae Rhizoma (천련자)	10						
Gastrodiae Rhizoma (천마)	10						
Asparagi Tuber (천문동)	17						
Manitis Squama (천산갑)	5<						
Aconitii Tuber (천오)	13						
Trichosanthes Radix (천화분)	17						
Aurantii Immatri Pericarpium (청피)	55			66	54	5<	

Table I—Continued

Samples	PGE ₂ Release μg/ml, % Inhibition			COX-2 Activity μg/ml, % Inhibition			
	10	3	1	100	30	10	3
	Alpiniae Katsumadaii Semen (초두구)	80	62	30	82	93	81
Biotae Orientalis Folium (측백)	7						
Lycopi Herba (택란)	12						
Alismatis Rhizoma (택사)	9						
Similacis Rhizoma (토복령)	12						
Cuscutae Semen (토사자)	38						
Psoraleae Semen (파고지)	89	76	62	76	46	34	
Morindae Radix (파극)	5<						
Tiglii Semen (파두)	5<						
Fritillariae Bulbus (패모)	6						
Patriniae Radix (패장)	12						
Polygoni Avicularis Herba (편측)	12						
Piperis Longi Fructus (필발)	57			54	54	29	
Prunellae Herba (하고초)	11						
Kalopanax Cortex (해동피)	21						
Notarchi Eachii Ovum (해분)	5<						
Armeniaca Semen (행인)	5<						
Cyperi Rhizoma (향부자)	7						
Elsholtziae Herba (향유)	5<						
Scrophulariae Radix (현삼)	9						
Granii Herba (현초)	5<						
Corydalis Tuber (현호색)	21						
Schizonepetae Herba (형개)	9						
Trigonellae Semen (호로파)	6						
Sesami Semen (호마인)	5<						
Polygoni Cuspidati Radix (호장근)	72	63	33	89	77	47	
Piperis Nigri Fructus (호초)	55	33	11				
Picrorrhizae Rhizoma (호황연)	5<						
Carthami Flos (홍화)	9						
Carthami Semen (홍화인)	49			54	17		
Betulae Cortex (화피)	12						
Scutellariae Radix (황금)	98	96	88	84	78	44	25
Astragali Radix (황기)	10						
Coptidis Rhizoma (황련)	40						
Phellodendri Cortex (황백)	16						
Polygonati Rhizoma (황정)	5<						
Machili Cortex (후박)	20						
Pharbitidis Semen (흑측)	25						
Pinna pectinata (각우자)	5<						
Nardostachys chinensis (감송향)	43						
Dalbergia odorifera (강진향)	90	89	76	92	60	23	10
Castanea creanata (견울)	28						
Spatholobus suberectus (계혈등)	5<						
Agastache rugosa (곽향)	15						
Tussilago farfara (관동화)	23						
Chrysanthemum sibiricum (구절초)	56	44	10	5<			
Cibotium barometz (구척)	39						
Arisaema consanguineum (남성)	5<						
Phragmites communis (노근)	12						
Salvia multiorrhiza (단삼)	95	78	34	51	29		
Cirsium japonicum (대계근)	62		61				
Euphobia pekinensis (대극)	5<						
Juncus decipiens (등심)	5<						
Ulmus macrocarpa (무이)	98	84	37	83	51	36	
Ginkgo biloba (백과)	24						
Stemona japonica (백부근)	16						
Oldenlandia diffusa (백화사설초)	10						
Kaempferia galanga (삼내자)	84	70	29	44	26		

Table I—Continued

Samples	PGE ₂ Release μg/ml, % Inhibition			COX-2 Activity μg/ml, % Inhibition			
	10	3	1	100	30	10	3
Rhinocerotis Cornu (서각방)	5<						
Haliotis diversicolor (석결명)	17						
Pyrosia lingua (석위)	5<						
Cephalonoplos segetum (소계)	5<						
Euphorbia lathyris (속수자)	82	54	33				
Pinus densiflora (송엽)	5<						
Whitmania pigra (수질)	5<						
Trogopterus xanthipes (오령지)	30						
Prunus mume (오매)	21						
Lindera aggregata (오약)	67			49	27		
Zea mays (옥축서예)	11						
Solanum nigrum (용규)	24						
Dipterocarpus (용뇌)	13						
Arctium lappa (우방자)	8						
Prunus japonica (옥이인)	12						
Coriolus versicolor (운지)	5<						
Clematis mandshurica (위령선)	15						
Lonicera japonica (인동)	19						
Pterocarpus indicus (자단향)	18						
Ailanthus altissima (저근백피)	18						
Poria cocos (적복령)	25						
Lepidium apetaium (정력자)	8						
Poncirus trifoliata (지실)	5<						
Aconitum pseudo-laeve (진범)	10						
Xanthium strumarium (창이자)	5<						
Rubia cordifolia (천초)	9						
Isatis indigotica (청대)	12						
Celosia argentea (청상자)	5<						
Aconitum sungpanense (초오)	5<						
Althaea rosea (축규화)	13						
Tetrapanax papyriferus (통초)	5<						
Carpesium rosulatum (학술)	48			32			
Forsythia suspensa (한련초)	12						
Albizia julibrissin (합환피)	5<						
Hippocampus kelloggi (해마)	5<						
Sepiella maindrom (해표초)	5<						
Daemonorops draco (혈갈)	65	19	6	10			
Corispermum stautonii (호미초)	23						
Glycine max (흑두)	5<						
Siegesbeckia pubescens (회침)	5<						

되는 프로스타글란딘 생합성에 대한 억제작용을 평가하였다(Table I). 이 유도모델에서는 COX-2 효소 저해 이외에도 LPS에 의해 COX-2가 발현되는 세포 신호 전달 과정과 기타 세포내에서 phospholipase A₂ (PLA₂)에 의한 AA의 유리 과정을 차단하는 저해 물질에 의해서도 프로스타글란딘 생합성 억제 활성을 나타낸다.¹³⁾ 따라서 COX-2 효소에 직접 작용하는 저해물질을 탐색하기 위해서는 추가적인 실험이 필요하다고 판단되어, 본 연구에서는 대식세포에 COX-2 효소를 충분히 유도-발현시킨 후, 일정 시간 시료를 전처리하고, AA를 처리하여 생

성되는 프로스타글란딘의 양으로부터 COX-2 활성을 평가하는 모델을 사용하였다(Table I). 실험 결과는 건강, 양강, 울금, 익지인, 초두구, 삼내자, 맥아, 석곡, 옥두구, 파고지, 호장근, 황금 등이 유도모델과 활성모델에서 모두 강한 억제 활성을 보였다(그룹1). 고삼, 몰약, 봉출, 연교 등은 유도모델에서는 강한 억제 활성을 보이지만 활성모델에서는 약하거나 거의 활성을 보이지 않았다(그룹2). 죽여는 유도모델에서는 다른 검색 시료에 비해서는 강한 억제 활성을 보이지 않았지만 활성모델에서는 상대적으로 강한 억제 활성을 보였다(그룹3). 이

처럼 Table I의 결과를 억제 활성에 따라 편의상 세 그룹으로 구분할 수 있었다. 그룹1의 천연물의 경우 COX-2에 대한 저해 활성 외에도 작용 기전이 다른 다양한 생리활성 모핵의 탐색이 가능하다. 실제로 radicicol과 같은 tyrosine kinase 저해제,¹⁴⁾ LPS에 의해 발현이 되는 p38 MAP kinase 저해제¹⁵⁾ 및 phospholipase A₂ 저해제¹³⁾ 등도 LPS에 의한 프로스타글란딘의 생합성을 억제할 수 있다는 사실이 보고된 바 있다. 그룹2의 천연물에서는 직접적인 COX-2 저해활성을 가진 모핵이 나올 확률은 상대적으로 적을 것으로 예측되지만 그룹1에서 기대되는 여타활성의 탐색이 가능하며, 그룹3의 천연물에서는 주로 COX-2에 직접적인 저해활성을 갖는 물질의 탐색이 가능하다. 이처럼 초기 검색 결과의 그룹화를 바탕으로 한 체계적인 COX-2 저해활성 검색 및 기타 항염 활성 물질의 탐색을 통해 향후 항염증 신약 개발을 위한 모핵 개발의 성공 확률을 높일 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구의 일부분은 보건 의료기술연구개발사업 연구비에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

- Vane, J. R., Bakhle, Y. S. and Botting, R. M. : Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **38**, 97 (1998).
- DeWitt, D. and Smith, W. L. : Yes, but do they still get headaches? *Cell* **83**, 345 (1995).
- Smith, W. L., Garavito, M. and DeWitt, D. L. : Prostaglandin endoperoxide synthases (Cyclooxygenases) -1 and -2. *J. Biol. Chem.* **271**, 33157 (1996).
- Masferrer, J. L., Zweifel, B. S., Manning, P. T., Hauser, S. D., Leahy, K. M., Smith, W. G., Isakson, P. C. and Seibert, K. : Selective inhibition of inducible cyclooxygenase 2 *in vivo* is antiinflammatory and nonulcerogenic. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**, 3228 (1994).
- Seibert, K., Zhang, Y., Leahy, K., Hauser, S., Masferrer, J., Rerkins, W., Lee, L and Isakson, P. : Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**, 12013 (1994).
- Penning, T. D. : Synthesis and biological evaluation of the 1,5-diarylpyrazole class of cyclooxygenase-2 inhibitors: Identification of 4-[5-(4-methylphenyl)-3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-1-yl]benzenesulfonamide. *J. Med. Chem.* **40**, 1347 (1997).
- Masaki, M., Matsushita, M. and Wakitani, K. : Inhibitory effects of JTE-522, a novel prostaglandin H synthase-2 inhibitor, on adjuvant-induced arthritis and bone changes in rats. *Inflamm. Res.* **47**, 187 (1998).
- Prasit, P. and Riendeau, D. : Selective cyclooxygenase-2 inhibitors. *Annu. Rep. Med. Chem.* **32**, 211 (1997).
- Lazer, E. S., Sorcek, R., Cywin, C. L., Thome, D., Possanza, G. J., Graham, A. G. and Churchill, L. : Antiinflammatory 2-benzyl-4-sulfonyl-4H-isoquinoline-1,3-diones: Novel inhibitors of COX-2. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **8**, 1181 (1998).
- Mitchell, J. A., Akarasereenont, P., Thiemermann, C., Flower, R. J. and Vane, J. R. : Selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**, 11693 (1994).
- Lee, S. H., Soyoola, E., Chanmugam, P., Hart, S., Sun, W., Zhong, H., Liou, S., Simmons, D. and Hwang, D. : Selective expression of mitogen-inducible cyclooxygenases in macrophages stimulated with lipopolysaccharide. *J. Biol. Chem.* **267**, 25934 (1992).
- Dray, F., Mamas, S. and Bizzini, B. : Problems of PGE antisera specificity. *Meth. Enzymol.* **86**, 258 (1982).
- Herschman, H. R. : Prostaglandin synthase 2. *Biochim. Biophys. Acta.* **1299**, 125 (1996).
- Chanmugam, P., Feng, L., Liou, S., Jang, B. C., Boudreau, M., Yu, G., Lee, J. H., Kwon, H. J., Beppu, T., Yoshida, M., Xia, Y., Wilson, C. B., Hwang, D. : Radicol, a protein tyrosine kinase inhibitor, suppresses the expression of mitogen-inducible cyclooxygenase in macrophages stimu-

- lated with lipopolysaccharide and in experimental glomerulonephritis. *J. Biol. Chem.* **270**, 5418 (1995).
- 15) Pouliot, M., Baillargeon, J., Lee, J. C., Cleland, L. G. and James, M. J. : Inhibition of prostaglandin endoperoxide synthase-2 expression in stimulated human monocytes by inhibitors of p38 mitogen-activated protein kinase. *J. Immunol.* **158**, 4930 (1997).