

극지 지의류들로부터 암세포 억제 화합물 연구

Study of bioactive metabolites for
cancer cells from polar lichen



한국해양과학기술원
부설극지연구소

제 출 문

극지연구소장 귀하

본 보고서를 “ 극지 지의류들로부터 암세포 억제 화합물에 관한 연구” 과제의 (최종)보고서로 제출합니다.

2018. 05. 31

연구책임자 : 윤 의 중

참여연구원 : 김 경 희



보고서 초록

과제관리번호	BSPE	해당단계 연구기간	2017. 04. 03 - 2018. 03 . 31	단계 구분	(해당단계) / (총단계)
연구사업명	중 사업명	예시) 중점국가연구개발사업, 선도기술개발사업 등			
	세부사업명	신진연구원 지원과제			
연구과제명	중 과제명	극지 지의류들로부터 암세포 억제 화합물 연구			
	세부(단위)과제명				
연구책임자	윤의중	해당단계 참여연구원수	총 : 2명 내부 : 2명 외부 : 1명	해당단계 연구비	정부: 30,000 천원 기업: 천원 계: 30,000 천원
연구기관명 및 소속부서명	극지연구소/극지생명과학연구부		참여기업명		
국제공동연구	상대국명 :	상대국연구기관명 :			
위탁연구	연구기관명 :	연구책임자 :			
요약(연구결과를 중심으로 개조식 500자 이내)				보고서 면수	50
<p>- 남극 지의류 추출물들 중 <i>Stereocaulon caespitosum</i> (Ant-23번)이 피부암, 자궁 경부암, 폐암 세포 종들에 대하여 농도 의존적으로 억제 활성을 나타내었음</p> <p>- 남극 지의류 추출물들 중 Ant-42번, -47번, -64번이 NO 생성에 대하여 농도 의존적으로 억제 활성을 나타내었음</p> <p>- 남극 지의류 <i>S. caespitosum</i> (Ant-23)으로부터 총 8 종의 화합물, 5-O-methylhiascic acid (1), atranorin (2), lecanoric acid (3), orsellinylmontagnetol C (4), methyl orsellinate (5), atraric acid (6), methyl haematommate (7), orcinol (8)들을 분리</p> <p>- 화합물들 중 1번, 3번, 4번, 8번 물질들은 이 종을 비롯하여 <i>Stereocaulon</i> 속 및 <i>Stereocaulaceae</i> 과에서도 처음으로 분리되었음</p> <p>- 화합물 2번 (Atranorin)에 대하여 암세포 증식 억제 실험, Apoptosis 유도 실험, DNA 복제 억제 실험, 암세포의 자가 치유력 억제 실험, 암세포의 정상세포로의 침윤 및 이동 억제 실험 등을 실시하였음</p> <p>- 기전 실험들을 통하여 화합물 2번이 대장암, 간암, 피부암 암세포에서 농도 의존적으로 억제함을 발견</p>					
색인어 (각 5개 이상)	한글	남극지의류, 스테레오카울론 카에스피토쥬, 이차대사산물, 암세포독성, 항암기전			
	영어	Antarctic lichen, <i>Stereocaulon caespitosum</i> , secondary metabolite, cytotoxicity, anticancer mechanism			

요 약 문

I. 제 목

극지 지의류들로부터 암세포 억제 화합물 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 목적

가. 극지 지의류들로부터 암 세포 억제 활성 물질 확보

2. 필요성

가. 극지 지의류에 대한 학문적 연구 및 산업적 응용 미흡

나. 극지 지의류들로부터 학술적 가치를 발견하고, 신약개발에 필수적인 정보 발견 및 다수의 선도물질 개발

다. 육상 및 온대 식물의 경우 많은 연구가 이루어져 연구개발에서 한계에 다다르고 있어, 국가적 차원에서 극지 생물자원의 주권을 확보하고 극지 생물자원을 이용한 고부가가치 산업 창출 필요

III. 연구개발의 내용 및 범위

1. 극지 지의류들에 대한 추출물 제조

가. 활성 추출물들로부터 HPLC 등을 이용한 단일 성분의 분리 및 NMR 과 MS등을 활용한 화학 구조 분석

나. 추출물 및 단일 성분들의 활성 시험

다. 단일 성분들의 기전 실험

IV. 연구개발결과

1. 남극 지의류 추출물들 중 *Stereocaulon caespitosum* (Ant-23번)이 피부암, 자궁 경부암, 폐암 세포 종들에 대하여 농도 의존적으로 억제 활성을 나타내었음

2. 남극 지의류 추출물들 중 Ant-42번, -47번, -64번이 NO 생성에 대하여 농도 의존적으로 억제 활성을 나타내었음

3. 남극 지의류 *S. caespitosum* (Ant-23)으로부터 총 8 종의 화합물,

5-*O*-methylhiascic acid (1), atranorin (2), lecanoric acid (3), orsellinylmontagnetol C (4), methyl orsellinate (5), atraric acid (6), methyl haematommate (7), orcinol (8)들을 분리

4. 화합물 2번 (Atranorin)에 대하여 암세포 증식 억제 실험, Apoptosis 유도 실험, DNA 복제 억제 실험, 암세포의 자가 치유력 억제 실험, 암세포의 정상세포로의 침윤 및 이동 억제 실험등을 실시
5. 화합물들 중 1번, 3번, 4번, 8번 물질들은 이 종을 비롯하여 Stereocaulon 속 및 Stereocaulaceae 과에서도 처음으로 분리되었음
6. 기전 실험들을 통하여 화합물 2번이 농도 의존적으로 암세포를 억제함을 발견

V. 연구개발결과의 활용계획

1. 신약 개발 및 산업화

가. 극지 천연자원의 고부가 가치 물질 개발

- (1) 극지 생물자원은 생명공학산업의 필수적인 기초자원으로서 보호의 대상이면서 고부가가치 신 성장산업의 근간이 되며 신약, 식품, 소재, 기능성 신물질로의 이용이 가능
- (2) 극지 생물자원에 대하여 활성이 높고 산업적으로 유용한 추출물이 밝혀질 경우 건강기능식품 및 신약후보물질 도출로 최종 산업화에 활용

나. 관련 산업으로의 발전

- (3) 극지 천연물 신약개발 사업은 천연물화학, 약리학, 독성학, 의학, 화학, 생물학, 미생물학, 생명공학, 병리학 등 여러 분야의 첨단 지식을 기반으로 하는 지식집약형 핵심기술로서 극지 천연물과학 육성 및 신약개발 촉진은 보건의료, 농림, 해양수산 등의 발전에 적용범위가 매우 광범위

S U M M A R Y

I. Title

Study of bioactive metabolites for cancer cells from polar lichen

II. Purpose and Necessity of R&D

1. Purpose

(A). Securement and isolation of bioactive materials for cytotoxicity from the Arctic and Antarctic lichens.

2. Necessity

(A). Insufficiency in industry and science for the Arctic and Antarctic lichens.

(B). Development of lead compounds and information in new drugs from the Arctic and Antarctic lichens.

(C). Necessity in a higher value-added business using polar natural products in a nation-wide since there are number of researches in temperate climate regions.

III. Contents and Extent of R&D

1. Manufacture of extract for polar lichen.

2. Structure analysis using NMR and MS methods and isolation of bioactive materials using HPLC from active lichen extracts.

3. Bioactivity test for extracts and pure compounds.

IV. R&D Results

1. The extract from *Stereocaulon caespitosum* (Ant23) showed potent cytotoxicity for three cancer cell lines in dose dependently.

2. Ant42, Ant47, and Ant64 from the Antarctic lichen showed NO inhibitory activity in dose dependently.

3. Eight compounds, 5-*O*-methylhiascic acid (1), atranorin (2), lecanoric acid (3), orsellinylmontagnetol C (4), methyl orsellinate (5), atraric acid (6), methyl haematommate (7), orcinol (8) were isolated from *S. caespitosum* (Ant-23)

4. Compound 2 (Atranorin) was performed on cell proliferation, cell cycle arrest,

apoptosis inducing effect, wound healing capacity, cancer cell migration and invasion assay

5. In particular, compounds **1**, **3**, **4**, and **8** are isolated for the first time from the genus *Stereocaulon* and the family Stereocaulaceae.
6. Atranolin (**2**) has been found to have considerable anti-cancer activity.

V. Application Plans of R&D Results

1. Development of higher value-added business using polar natural products

- (A). Necessity in a higher value-added business using polar natural products in a nation-wide since there are number of researches in temperate climate regions.
- (B). Application in industry finally as a result of lead compounds for new drug and health functional food in case of they are identified as bioactive extracts.

2. Development to related industry

- (A). New drug discovery is important research area in natural product chemistry, pharmacy, toxicology, medical, chemistry, biochemistry, microbiology, and life science
- (B). Promotion of polar natural science and new drug discovery is widely applicable in health and medical treatment, agriculture and forestry, and Maritime Affairs and Fisheries.

C O N T E N T S

Chapter 1 Introduction

- 1-1. Purpose of research 1
- 1-2. Necessity of research 1

Chapter 2 Current R&D Status in Korea and Other Nations

- 2-1. Internal trend 3
- 2-2. Overseas trend 5
- 2-3. Patent trend 9
- 2-4 Trend in Government support policy 11

Chapter 3 R&D Implementation Contents and Results

- 3-1. Method in theoretical and experimental approach 12
- 3-2. Contents and Results of research 16

Chapter 4 Degree of R&D Goal Achievement and Degree of Contribution to Outside Research Institute

- 4-1. Achievement of research objective in year-on-year 35
- 4-2. Application in related research 35

Chapter 5 Application Plans of R&D Results

- 5-1. Necessity of additional research 37
- 5-2. Development to related industry 37
- 5-3. Plane of commercialization 37

Chapter 6 Information of oversea' s scientific technique in research procedure

- 6-1. Scale of research undertaking 38

Chapter 7 References 40

List of Figures

Fig. 1. Isolation procedure of pure compounds	12
Fig. 2. Procedure of alcohol extraction	13
Fig. 3. Instrument for identification of chemical structure	15
Fig. 4. ¹ H NMR spectrum (600 MHz, MeOD) of 1	18
Fig. 5. ¹³ C NMR spectrum (150 MHz, MeOD) of 1	18
Fig. 6. HSQC spectrum of 1	19
Fig. 7. HMBC spectrum of 1	19
Fig. 8. ¹ H NMR spectrum (600 MHz, CDCl ₃) of 2	20
Fig. 9. ¹³ C NMR spectrum (150 MHz, CDCl ₃) of 2	20
Fig. 10. ¹ H NMR spectrum (600 MHz, MeOD) of 3	21
Fig. 11. ¹³ C NMR spectrum (150 MHz, MeOD) of 3	21
Fig. 12. ¹ H NMR spectrum (600 MHz, MeOD) of 4	22
Fig. 13. ¹³ C NMR spectrum (150 MHz, MeOD) of 4	22
Fig. 14. HSQC spectrum of 4	23
Fig. 15. HMBC spectrum of 4	23
Fig. 16. ¹ H NMR spectrum (600 MHz, MeOD) of 5	24
Fig. 17. ¹³ C NMR spectrum (150 MHz, MeOD) of 5	24
Fig. 18. ¹ H NMR spectrum (600 MHz, MeOD) of 6	25
Fig. 19. ¹³ C NMR spectrum (150 MHz, MeOD) of 6	25
Fig. 20. ¹ H NMR spectrum (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) of 7	26
Fig. 21. ¹ H NMR spectrum (600 MHz, MeOD) of 8	26
Fig. 22. Chemical structures from <i>S. caespitosum</i> (Ant.23)	27
Fig. 23. Structure identification by 2D NMR analyses	27
Fig. 24. Cytotoxicity of lichen extracts	29
Fig. 25. Anti-inflammatory activity (Nitric Oxide) of lichen extracts	30
Fig. 26. Cell proliferation assay of atranorin (2)	31
Fig. 27. Apoptosis inducing effect of atranorin (2)	32
Fig. 28. Cell cycle arrest assay of atranorin (2)	32
Fig. 29. Wound healing capacity of atranorin (2)	33
Fig. 30. Cancer cell migration and invasion inhibition effect of atranorin (2)	34

목 차

제 1 장 서 론

- 1-1. 연구개발의 목적 1
- 1-2. 연구개발의 필요성 1

제 2 장 국내외 기술개발 현황

- 2-1. 국내 동향 3
- 2-2. 국외 동향 5
- 2-3. 특허 동향 9
- 2-4. 정부지원정책 현황 11

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

- 3-1. 이론 및 실험적 접근 방법 12
- 3-2. 연구개발 내용 및 결과 16

제 4 장 연구개발 목표 달성도 및 대외기여도

- 4-1. 연도별 연구목표 달성도 35
- 4-2. 관련분야 연구에의 응용 35

제 5 장 연구개발 결과의 활용 계획

- 5-1. 추가연구의 필요성 37
- 5-2. 타연구에의 응용 37
- 5-3. 기업화 추진 계획 37

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 6-1. 연구개발 사업 및 규모 38

제 7 장 참고문헌 40

제 1 장 서 론

1-1. 연구개발의 목적

- 가. 극지 지의류 탐사를 통하여 극지 지의류의 생물학적 보전가치를 규명하고 활용기반을 구축하여 차세대 국가 성장 동력을 창출함
- 극지 지의류 탐사 및 확보
 - 극지 지의류 유래 대사체 활용가치 규명

1-2. 연구개발의 필요성

가. 기술적 측면

- (1) 극지 지의류와 공생미생물의 화학적 분석 및 변화 규명하고 화학적 성분 특이성 검증
- (2) 극지지의류는 극한환경에서 생존하기 위한 특이한 적응 메카니즘을 보유하고 있어, 다른 지역에서 서식하는 생물들과는 구별되는 신규 유전자원과 신소재 개발의 가능성이 매우 높음
- (3) 생체개량기술의 개발이나 생물공정기술의 개발 등 생명공학의 기술혁신을 위해서는 원천적으로 새로운 생체기능이나 형질을 가진 생물종이나 효소 또는 유전자의 탐색 및 확보가 선행되어야 하며, 이를 통해 생체기능 또는 생물공정의 생산성과 경제성을 향상시킬 수 있음
- (4) 생물소재 개발을 위해 원천기술인 유용 물질의 기능성 규명과 특성을 분석하기 위하여 대사체에 대한 핵심기반기술을 확립하고 유용생물소재의 응용성을 확대가 필요

나. 경제·산업적 측면

- (1) 생명공학기술을 바탕으로 생물체의 기능과 정보를 활용하여 인류를 위한 유용물질과 서비스 등 다양한 부가가치를 생산하는 바이오산업의 규모가 전 세계적으로 연평균 11%이상 성장 예상
- (2) 2020년경에는 1,540억 달러 규모로 성장할 것으로 전망되며, 자원외교를 벌일 만큼 부존자원이 빈약한 우리나라는 생명공학과 바이오산업을 21세기 국가발전의 중요한 요체로 보고 제 1, 2 차 생명공학육성기본계획을 수립
- (3) 생명공학과 바이오산업의 발전을 위해서는 그 원천 소재가 되는 생명자원을 계속 발굴하고 연구개발을 통하여 원천 기술 및 지적재산권을 쌓아간다면 앞으로 바이오산업 강국이 될

것으로 기대

- (4) 극지 생물자원이 가지는 산업전반에 걸친 중요성은 이런 기술로 암 뿐만 아니라 다른 질병에 이용함으로써 국가적인 의료기술의 선진화를 꾀함과 동시에 국민 의료 복지에도 크게 이바지 할 것으로 기대

다. 사회·문화적 측면

- (1) 생명공학산업의 21세기의 주력산업으로 다양한 생물자원, 유전자원의 확보가 국가경쟁력과 직결됨을 인식하면서 우리나라가 미래 자원인 극지생물자원을 선점
- (2) 서구선진국의 경우 확보된 생물자원을 바탕으로 광범위한 생물정보시스템을 구축하고 있음. 선진국 수준의 기술력을 확보하기 위해서는 유용생물자원의 확보와 이용에 대한 체계적인 시스템 구축이 절실함
- (3) 국제 경쟁력 있는 생물소재의 탐색 및 산업화를 위해서 새로운 생물자원 확보에 대한 수요는 급증하고 있음. 생물다양성 협약에 따라 생물자원의 무기화현상이 더욱 심화될 것이며 국가차원의 생물자원확보와 지속 가능한 이용기술 개발이 생체분자공학, 생체촉매 설계, 생물반응기, 생체저분자 의약활성물질, 생물학적 환경복원 등의 생물산업에 미치는 직접적인 영향도 증대될 것임
- (4) 생물다양성(CBD), 생물다양성정보기구(GBIF), OECD 생물자원 등 생물다양성 조약 발효 등 자국 내 생물자원에 대한 보호 및 강화로 인한, 자국 생물자원 확보의 한계를 극복하기 위하여 극지생물의 한정자원을 다른 국가에 우선하여 선점함
- (5) 고도산업 사회로의 발전과 소득수준의 향상에 따른 식생활 양식의 서구화와, 보건의료의 증진에 의한 수명연장에 따른 필연적 수반 질병인 암과 성인형 질환의 발병 및 이에 따른 치료제 수요의 급속한 증가는 불가피함. 따라서 국내의 의약시장은 더욱 신장할 것이며 이에 따른 새로운 의약품의 개발이 필연적으로 요구되고 있음.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

2-1. 국내 동향

가. 극지고유 생물자원 확보

- (1) 2009년 쇄빙연구선 “아라온” 건조에 따라 2010년부터 접근이 불가능 했던 극지 및 극권 접근이 가능하게 되어 극지해 해양생물 자원 평가 및 확보를 위한 탐사활동이 활발해질 것으로 전망
- (2) “남극활동및환경보호에관한법률”에 의거, “남극활동진흥기본계획”이 수립되었으며, 이에 따라 정부차원의 극지연구 활성화를 위한 지원이 이루어지고 있음. 국내에서는 다양한 생물자원에 대하여 평가 및 이용에 대한 연구과제가 진행되어 왔으나, 극지 고유생물 대상으로 중장기적인 생물자원 확보 및 이용성을 연구한 과제는 아직 없음
- (3) 극지 고유생물의 생명현상 연구는 ‘미생물유전체 프론티어사업’, ‘마린바이오 사업’ 등에서 극지 생물체의 미생물자원 확보, 유전체 연구 등을 부분적으로 수행하였으나, 극지 생물체의 생명현상 및 기능에 대한 기초 연구는 미비하며, 일부 국내 연구진의 경우 기술력 자체만을 보면 세계 선두권의 기술을 보유하고 있으나 국내 전반적인 인프라, 시설지원, 네트워크, 인력 측면에서 기초수준에 있음
- (4) 극지 고유생물 관련 DB 및 분양시스템의 경우, 국내에는 국가연구소재은행, 생물자원센터 (KCTC), 해양극한생물자원뱅크 (MEBiC), 국립농업유전자원센터 (NAC), 한국농업미생물자원센터 (KACC) 등 소재의 특성 및 활용범위에 따라 다양한 자원센터가 운영되고 있으며 학술연구와 다양한 산업분야에 소재를 공급하는 역할을 수행하고 있음
- (5) 극지 고유생물의 자원관리는 대부분의 경우 개별 연구자가 관리하고 있으며 일부 자원은 ATCC, CBS, DSMZ, JCM, KACC, KCTC 등 다양한 균주은행에 분산 보존되어 있음. 이로 인하여 종합적이고 체계적인 관리가 이루어지지 않고 있음
- (6) 남극 로스해 연안에서의 해양생물을 대상으로 한 연구는 전무하며, 세종과학기지를 중심으로 남극반도 인근 지역에서의 해양생태계에 대한 장기모니터링연구가 수행 중이며, 로스해 연안 및 외양에 대한 다학제적 국제공동연구의 필요성이 국내외적으로 대두되고 있음

나. 극지고유 생물자원 활용을 위한 기반연구

- (1) 1985년 이후 물질특허제의 도입과 함께 천연물 과학 분야에 대한 관심이 높아져 한국생명공학연구원, 한국과학기술원, 한국화학연구원, 한국해양연구원 등을 중심으로 천연물 성분 연구에 대한 관심이 증대하고 있음
- (2) 2001년을 시작으로 “천연물신약연구개발촉진계획”이 수립됨에 따라 경쟁력 있는 글로벌 천연물신약 연구기반을 구축하고, 만성, 난치성, 노인성 질환 치료 천연물신약을 개발하기 위해서 정부차원의 지원이 한층 강화되었으며 최근 3차 천연물 신약연구개발촉진계획 (2011~2015)이 수립되어 기존사업 확대 및 신규 사업에 투자되었음
- (3) 그러나, 국내의 경우 천연물신약개발에 기초가 되는 천연물 생리활성 탐색기술과 약리작용 및 독성연구 등에 대한 기초연구가 아직 미흡한 편이며, 이에 따라 대부분의 천연물 성분 및 생리활성 연구가 지속적, 조직적, 효율적, 체계적으로 이루어지지 못하고 있음
- (4) 극지 고유생물 유래 신규 생물소재 탐색 및 바이오소재 생산기술 개발연구는 과학기술부의 ‘생명현상 및 기능연구 사업단’에서 세포신호전달연구, 생체물질구조/기능연구, 세포조절핵심유전자 연구, 세포/인체조절기전 연구, 생물다양성 연구를 중점분야로 의약품개발의 표적인자, 산업/의약품용 효소 및 핵심소재, 항암선도물질, 건강보조식품, 유전자치료소재, 형질전환작물, 신규 생리활성물질 등의 개발 연구를 수행하였으나 극지생물을 대상으로 연구된 것은 미약함 (한국보건산업진흥원, 2002)
- (5) 대사체 분석을 위한 LC-MS 라이브러리 연구는 국내의 경우, 식물, 식품, 미생물 등의 대사체 profiling이 대학 및 기초과학지원연구원, 생명공학연구원 등에서 바이오소재 개발을 위하여 진행되고 있으며, 극지 생물권을 연구범위로 진행하는 프로그램은 아직 진행되고 있지 않음
- (6) 우리나라에는 BT분야 연구개발 예산의 높은 투자 비중에도 불구하고 해양바이오 분야에 대한 지원은 미흡, BT 예산 대비 3%에 불과하며, 극지분야 선진국들과 달리 극지연구 활동을 주관할 수 있는 국가적 단위의 연구기관이 미약하며, 정부부처 간에 원활한 업무 협조를 위한 공식적인 체계가 구축되어 있지 않음
- (7) 특히 양극해 해양생물 관련 연구의 경우 양극해의 독특한 극한환경으로 인한 자원 확보의 어려움이 존재하므로 해양생물자원 활용 연구 및 산업화의 저변확대를 위해서는 제한생물자원의 체계적인 확보 및 관리를 위한 국토해양부차원의 지원정책이 필요함
- (8) 추출은행은 최근 과학기술부에 의해 시행되고 있는 23개의 “프런티어연구개발사업” 중 8개의 사업단이 생명과학분야이고 이들 대부분이 천연물을 소재로 하고 있음

으며, 국토해양부에서도 2004년도부터 “마린바이오21사업”을 수행하고 있음. 최근 한국과학기술연구원은 강릉에 천연물연구소 분원을 설립하였고 각 지방자치단체에서도 거의 대부분이 천연물을 활용한 바이오산업을 목표로 하고 있어 천연물과학 분야의 연구에 대한 관심이 증대되고 있음 (신종현 외, 1991)

- (9) 국내 천연물신약 개발 현황을 살펴보면 6개 품목(스티렌, 조인스정, 푸로스판, 살사라진, 아피톡신, 편자환)이 개발 완료되어 시판 중임. 특히, 시판 중인 품목 중 천연물신약의 첫 번째 블록버스터로 주목받고 있는 동아제약의 스티렌캡셀(위염 치료제)과 SK케미칼의 조인스정(관절염 치료제)의 경우 2010년까지의 누적 매출 규모를 비교했을 때 동아제약의 스티렌이 4,000억원의 매출을 올렸으며 SK케미칼 조인스가 1,300억원의 누적매출을 올려 시장에서 성공적인 천연물신약의 제품화 사례로 꼽히고 있음
- (10) 2012년 천연물신약 연구개발동향에 따르면 2001년을 시작으로 천연물신약연구개발촉진계획이 수립됨에 따라 경쟁력 있는 천연물신약 연구기반을 구축하고, 만성, 난치성, 노인성 질환 치료 천연물신약을 개발하기 위해서 정부차원의 지원이 한층 강화되었음. 2013년 신약개발연구동향에 따르면 2013년 기준 현재까지 국내에서 개발에 성공한 신약 중 천연물 신약은 8개로 약 24%를 차지하는데 2011년 3개, 2012년 2개의 천연물신약이 허가 받음
- (11) Metabolomics는 신규 기술 분야로 국제적 기술차가 적어 연구개발에 집중 투자할 경우 단시간에 국제적 수준의 연구능력 보유가 가능할 것으로 예상. 국내 여러 연구기관에서 천연물 및 생체, 환경 대사체 분석을 목적으로 다양한 연구가 진행 중이긴 하나 현 연구 및 기술 수준은 국제적 수준에 비해 떨어짐

2-2. 국외 동향

가. 극지고유 생물자원 확보

- (1) 선진국들은 쇄빙선, 대륙기지 및 남북극권 국가 간의 공동연구를 통하여 극지 해양생물에 대한 자원탐사를 실시하고 있으며, 현재에도 과학 활동의 명목으로 미답지역의 생물자원을 확보하고 있음
- (2) '57/'58 IPY 이후 본격적으로 남극연구를 시작하고 남극연구 선진국들은 이미 30년 전부터 자원탐사를 실시해 오고 있으며, ‘남극환경보호의정서’의 발효에 따라 향후 50년간 광물 관련 개발이 금지되어 있음 ('98. 01 발효)
- (3) SCAR 내 EBA(Evolution and Biodiversity in the Antarctic) 프로그램에서는 남극생물의 진화, 적응, 생태적 서식처의 다양성, 다양성의 예측 등에 대한 연구를 진행

- (4) 미국은 북극이사회 회원국이자 남극조약 원초서명국으로 국립과학재단 (National Science Foundation: NSF)이 극지연구정책 및 연구사업을 총괄하고 있으며, 재단 내의 극지프로그램연구청(Office of Polar Program: NSF-OPP)이 크게 남극연구부와 북극연구부로 구분되어 남극·북극 과학 연구를 담당하고 있음
- (5) 미국 해양대기국(NOAA)은 크릴의 주 어장인 남쉐틀랜드 군도 주변 해역에서 해양생태계와 크릴 자원 조사를 19년째 운영하고 있으며, 2003년 ‘계놈시대의 극지생물학 프론티어’ 보고서를 내고 극지생물의 유전체 연구를 지원
- (6) 미국의 CCMP는 남·북극해 해양생물자원 확보를 위하여 남극 McMurdo와 Dry Valleys 지역, 남극해 등에서 수집한 수 천종의 극지미세조류를 보유하고 있음
- (7) 영국은 LTMS (Long-term Monitoring and Survey) 장기 모니터링 및 관측 프로그램은 별도로 운영하고 있으며, 국립해양센터를 중심으로 해양 생물다양성 조사(Census of Marine Life)를 실시하여 남극해에 서식하는 생물종과 환경을 보고하였으며, 해양생명공학의 소재로 특유의 방어 기작을 지닌 극지 저서동물 연구를 확대하고 있음
- (8) 벨기에는 “국제 극지의 해(IPY, International Polar Year)” 사업의 일환으로 SCAR-MarBIN (SCAR-Marine Biodiversity Information Network) 포털을 구축하여 세계 각국의 과학자들이 보고한 남극 해양 환경의 생물다양성 정보를 관리
- (9) 일본 NIPR은 Queen Maud Land에서 Enderby Land에 이르는 지역에서 수집한 시료를 보관 중에 있으며, 중국 극지연구소는 Sea Ice Algae를 수집하고 대사체 연구를 진행
- (10) 중국은 ‘중국 극지연구소’ 주도하에 ‘극지표본자원 공유 플랫폼’ 사업을 통하여 남극지역을 대상으로 자원 활용이 가능한 남극 광물, 생물자원을 수집하고 있음
- (11) 호주는 “Australian Antarctic Data Centre” 를 설립하여 지리정보, 인공위성 정보, 생물다양성 정보 등 남극에 관련된 종합적인 정보관리 센터를 운영하고 있으며, 호주의 남극연구소는 영국의 남극연구소와 공동으로 30년 가까이 약 5년 단위의 장기 프로그램을 통해 남극 해양생태계 변동과정 연구를 지속적 수행 중

나. 극지고유 생물자원 활용을 위한 기반연구

- (1) 극지생물다양성, 생물계통·진화, 스트레스 반응 등에 대한 연구를 위해 2007/2008 IPY를 통하여 국제공동연구 체계가 이루어지고 있으며, 이외 저온효소 등의 신규 생물소재 연구를 공식적으로 보고
- (2) 1986년부터 약 5만 여종의 식물 추출물과 NCI (국립암연구소, www.nci.nih.gov)를 주

축으로 만 여종의 해양생물 유래 추출물 은행을 구축하고 분양사업을 실시하고 있으며, 미국의 제약회사인 Lilly group, Corey group, Merck 등에서도 천연물을 이용한 신약개발 프로젝트를 진행하고 있음. 따라서, 남·북극해 해양생물의 추출물 활용을 위한 은행구축이 시급 (신희재, 2010)

- (3) 극지 생물자원 유래 신규 생물소재 탐색 및 의약품 바이오소재 개발을 위하여 저온 적응(Cold adaptation), 자외선 노출(Ultraviolet light exposure), 내분비(Endocrinology), 면역(Immunology), 피부(Epidemiological study), 생체리듬(Chronobiology) 등의 관련 물질 등이 연구대상임
- (4) 미국의 University of Alabama at Birmingham의 연구진은 수년간 남극유래 해양생물을 대상으로 한 이차대사물질 연구를 지속적으로 수행하고 있으며, 최근 2016년에 남극유래 균주로부터 methicillin 내성을 갖는 darwinolide라는 대사체를 분리하였음(von Salm *et al.* 2016)
- (5) 노르웨이의 UiT The Arctic University of Norway의 연구진은 수년간 남극유래 해양생물을 대상으로 한 이차대사물질 연구를 지속적으로 수행하고 있으며, 최근 2014년에 남극유래 해초로부터 synoxazolidinones 대사체 2종과 pulmonarins 대사체 2종을 분리 하였음 (Trepas *et al.*, 2014)
- (6) 이탈리아의 Consiglio Nazionale Delle Ricerche - Istituto Di Chimica Biomolecolare의 연구진은 남극유래의 nudibranch로부터 granuloside라는 대사체를 분리 하였음 (Cutignano *et al.*, 2015)
- (7) 칠레의 University of Chile의 연구진은 남극유래의 균주로부터 nitroasterric acid 계열의 대사체 4종을 분리 하였음 (Figueroa *et al.*, 2015)
- (8) 중국의 Ocean University of China의 연구진과 South China Sea Institute of Oceanology의 연구진은 각각 남극유래의 균주로부터 chrodri-manins 대사체 2종과 α -pyrone merosesquiterpenoids계열 대사체 6종을 분리 하였음 (Wang *et al.*, 2015; Zhou *et al.*, 2015)
- (9) 미국의 경우 2000년대 초부터 신약 및 신물질 개발·평가 단계에서의 오믹스 기술의 유용성이 널리 인식되어 이 분야에 대한 지속적인 투자가 진행되어 왔으며, 최근에는 신약개발 단계뿐만 아니라 식품·의약품의 안전성 연구 전반에 오믹스 기술을 적용하기 위한 노력이 FDA 등 규제기관과 국립보건원을 중심으로 확대되고 있음.
- (10) 일본 후생노동성 산하 국립의약품식품위생연구소의 주도로 2002년 유전체 연구프로그램을 신설하고 5년간 1000억 원의 예산을 투입하여 오믹스 기술을 이용한 안전성 연구를 수행하고 있음

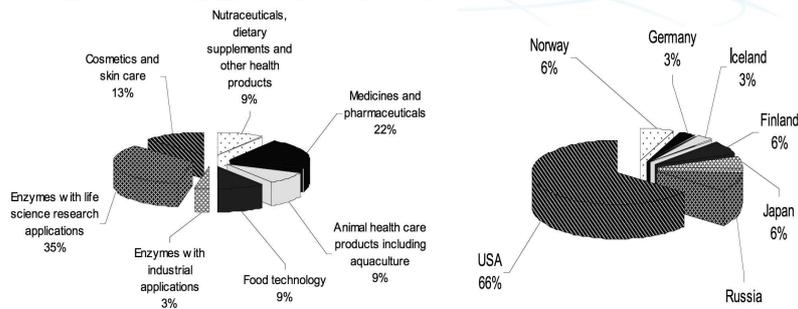
- (11) 최근 electronic circular dichroism(ECD)를 포함한 chiroptical spectroscopy 분야에 많은 발전이 있었고, 특히 vibrational spectroscopy 분야에 많은 연구가 진행됨에 따라 vibrational circular dichroism(VCD)를 이용한 절대입체구조의 결정은 기존 방법의 문제점인 구조적 제한성, 물리적 상태 등에 제한을 받지 않고 절대입체구조를 결정. VCD 방법은 최근 몇 년 전에 도입되어 정립단계에 있는 기술로 전 세계적으로 관련 논문이 극소수이며 국내 천연물, 유기화학 및 약학 관련 연구자 및 논문이 전무하여 VCD 기술 도입 및 연구가 시급한 상황임
- (12) NCI를 중심으로 항암물질, 항바이러스물질을 탐색하여 개발하고자 하는 체계적인 연구가 각 대학과 기업체의 협동연구로 활발히 이루어지고 있으며 National Sea Grant College Program이 기초연구에 중점을 두는 반면 NCI의 지원연구는 제약기업도 참여하여 천연활성성분의 이용 및 개발에 중점을 둔 응용연구의 성격이 짙음
- (13) 1966년 NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration) 산하에 National Sea Grant College Program을 시작하여 29개 주 또는 지역의 50여개 대학연구진에 program을 개발하여 연구투자를 하였음
- ※ 남극조약 지역 내에서 최근 생물탐사와 관련한 활동이 증가하고 있으나, 남극조약에 명확한 규정이 없어 연구자, 당사국, 활동 참여기업 등이 혼선을 겪고 있음. 현재 남극생물을 이용하여 생물공학적인 이익이 창출된 경우에 그 일부를 남극조약국간에 이익 공유를 실현하려고 하는 협의가 진행되고 있으며, 북 유럽국가의 경우, 북극권 생물자원에 대한 선점 및 이용에 자국의 권리를 주장하고 있음

극지연구소

2-3. 특허 동향

가. 극지 고유생물 관련 특허동향

- (1) 남극에서 분리한 *Candida antarctica*가 생산하는 지방분해효소 lipase B는 세계적인 효소회사인 덴마크 노보자임스(Novozymes)사에서 Novozym 435라는 이름으로 세계적으로 독점 공급하고 있으며, 재구성 지질의 상업적 생산에 활용되고 있음
- (2) 미국에서는 극지해양 어류의 혈청으로부터 항동결 당펩타이드(antifreeze glycopeptide)를 분리하여 저온환경에 노출되는 식물과 동물의 세포 및 조직을 보존/보호하기 위해 이용하고 있음
- (3) 오메가-3를 포함하여 대부분 생선에서 추출하는 제품들은 중금속 및 환경 호르몬 위험에 상당히 노출되어 있는데, 일반적으로 깊고 찬물에 서식하는 어류일수록 중금속 및 환경호르몬 노출위험이 가장 적음. 현재 북유럽 노르웨이 앞바다 및 북극 크릴 등을 이용한 오메가-3 제품이 가장 높게 인정받고 있음(Nordic Naturals 제품 등)
- (4) 노르웨이 트롬소에 있는 Marine Bioactives and Drug Discovery 센터(MabCent)에서는 북극해양 생물들의 분석을 통해, 항암, 항생 물질에 대해서 특허를 얻었으며, 이 외 20여 가지의 물질에 대해 특허를 준비 중에 있음



[해양 생물자원의 특허현황 및 국가별 특허등록현황]

- (5) 노르웨이에서는 크릴로부터 전체 지질분획을 제조하는 방법을 개발함. 다른 지질로부터 인지질을 분리하는 방법 및 크릴밀을 제조하는 방법을 발명하여 크릴의 이용성을 높임
- (6) Novozymes과 일부 회사에서는 세탁용/주방용 세제 첨가용으로 다양한 종류의 산업용 효소를 판매하고 있으나, 효소생산 균주와 특허에 대한 정보는 보고되지 않음
- (7) 미국은 극지해 어류와 해양미생물로부터 항동결단백질(antifreeze protein)들을 분리하여 의약품, 음식, 화장품 등이 저온에서 발생할 수 있는 손상을 보존하기 위해 이용하고 있음

- (8) 크릴오일은 식이보조제(dietary supplements)나 피부관리를 위해 매우 인기 있는 물질이며, 캐나다 Neptune Bioresources, 노르웨이 Aker BioMarine과 이스라엘 Enzymetec 등은 크릴오일에 대한 특허를 보유하고 있음
- (9) 남극해 해면(sponge) Kirkpatrickia variolosa에서 분리된 Variolin은 강력한 항암 약제로 활용될 가능성이 있으며, 스페인 ParmaMar 사에서 현재 효능을 검사 중에 있음
- (10) 미국에서는 남극어류에 대하여 수 십년 간 개체에서 분자생물에 이르는 체계적인 연구가 이루어져 왔으며, 저온적응과 관련된 대표적 연구성과는 Dr. DeVries에 의해 70년대 초 남극대구류에서 체액의 결빙을 방지하는 부동물질(antifreeze)인 당단백질(glycopeptide)을 추출하고 구조를 밝힌 것임. 최근에는 이미 이들 어류에서 추출해낸 수종의 부동물질이 상품으로 개발되어 시판되고 있음

[덴마크 Novozymes 사에서 생산하는 상용화 효소]

Trade Names	Source organism	Manufacturer
Alkaline proteases/ subtilisins		
Alclase	<i>Bacillus licheniformis</i>	Novo Nordisk, Denmark
Savinase	Alkalophilic <i>Bacillus</i> sp.	Novo Nordisk, Denmark
Esperase	Alkalophilic <i>Bacillus</i> sp.	Novo Nordisk, Denmark
Liquanase		Novo Nordisk, Denmark
Everlase		Novo Nordisk, Denmark
Ovozyme		Novo Nordisk, Denmark
Polarzyme		Novo Nordisk, Denmark
Maxacal	Alkalophilic <i>Bacillus</i> sp.	Gist-brocades, Delft, The Netherlands
Maxatase	Alkalophilic <i>Bacillus</i> sp.	Gist-brocades, Delft, The Netherlands
Opticlean	Alkalophilic <i>Bacillus</i> sp.	Solvay Enzymes GmbH, Hannover, Germany
Optimase	Alkalophilic <i>Bacillus</i> sp.	Solvay Germany
Protosol	Alkalophilic <i>Bacillus</i> sp.	Advanced Biochemicals Ltd., Thane, India
Alkaline protease "Wuxi"	Alkalophilic <i>Bacillus</i> sp.	Wuxi Synder Bioproducers Ltd., China
Proleather	Alkalophilic <i>Bacillus</i> sp.	Amano Pharmaceuticals Ltd., Nagoya, Japan
Protease P	<i>Aspergillus</i> sp.	Amano, Japan
Durazym	Protein engineered variant of Savinase	Novo Nordisk, Denmark
Maxapem	Bleach-resistant, protein engineered variant of alkalophilic <i>Bacillus</i> sp.	Solvay, Germany
Purafect	Recombinant enzyme donor <i>Bacillus lentus</i> Expressed in <i>Bacillus</i> sp.	Genencor International Inc., Rochester, USA
Amylases		
BAN	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> Recombinant enzyme	Novo Nordisk, Denmark
Termamyl	Donor- <i>Humicola</i> sp. Expressed in <i>Aspergillus</i> sp.	Novo Nordisk, Denmark
Stainzyme		Novo Nordisk, Denmark
Duramyl		Novo Nordisk, Denmark
Maxamyl	Alkalophilic <i>Bacillus</i> sp.	Gist-brocades, Delft, The Netherlands
Solvay amylase	Thermostable <i>Bacillus licheniformis</i>	Solvay, Germany
Lipases		
Lipolase	Recombinant enzyme Donor- <i>Humicola lanuginosa</i> Expressed in <i>Aspergillus oryzae</i>	Novo Nordisk, Denmark
Lumafast	Recombinant enzyme Donor- <i>Pseudomonas mendocina</i> Expressed in <i>Bacillus</i> sp.	Genencor, USA
Lipofast	NA	Advanced Biochemicals, India
Cellulases		
Celluzyme	<i>Humicola insolens</i>	Novo Nordisk, Denmark
Endolase		Novo Nordisk, Denmark
Mannanase		
Mannaway		Novo Nordisk, Denmark

(Novozyme report, 2006; Kumar et al., 1998).

2-4. 정부지원정책 현황

가. 극지관련법령, 정부정책 및 담당기관

- (1) 국토해양부 “쇄빙연구선 아라온호를 활용한 종합연구계획(안) 도출 기획연구” 제안 과제 1-3 ‘남극해 생태계 보전과 수산자원/희귀생물자원 활용 연구’ 부분에 해당
- (2) 교과부 “해양극지 기초원천기술개발사업 기획연구(극지 분야)” 중형과제 제 7 연구주제인 ‘극지해양 유전자원 확보 및 이용기술 개발’ 부분에 해당
- (3) 제사회 기여 및 미래자원 확보’에서 “남·북극해 연구 / 극한 미답지 탐사와 자원 조사” 항목과 일치
- (4) “2011년도 정부연구개발투자 방향” 중점 연구분야 중 “국민 삶의 질 향상 및 안전 위한 공공기술개발 지원 강화” 부분에 적합

나. 정부지원 정책사업 종류와 현황

- (1) 교육과학기술부 : “해외생물소재 확보를 위한 허브형 네트워크 구축·운영사업”은 한국생명공학연구원이 주관하여 2006년부터 수행. “국가생물자원 마스터 플랜”(2011-2020)은 10년간 기존사업 확대, 신규 사업 투자, 국가생명자원정보관리센터를 국가생명연구자원센터로 격상
- (2) 농림수산식품부 : “생명산업 2020+ 발전전략” (2011-2020)은 생명자원 종합정보통합시스템 구축을 위하여 생명자원 확보, 정보제공, 생명산업 R&D 강화, 산업기반 조성 및 창업지원, 사업 활성화 및 마케팅 지원을 목적으로 함
- (3) 환경부 : “생물자원보존, 관리 및 이용 마스터 플랜” (2011-2020)은 야생생물자원 보존, 관리체계 선진화 및 활용 극대화를 추진하며, 한반도 생물자원 관리, 이용 DB 구축, 유전자원은행 설치/운영, 유용 생물자원 활용기반 구축을 통한 생물자원 활용도 제고와 산업적 활용을 지원
- (4) 지식경제부 : “글로벌 선도 천연물 소재 신약개발” (2011-2020)은 천연물 신약에 10조원을 투자하고 2020년 1,000조원 의약시장에 도전하는 정책을 지원

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

3-1. 이론 및 실험적 접근 방법

가. 시료 확보 및 조사

- (1) 시료들의 수집 및 확보
 - (가) 남극 지의류 확보
- (2) 남극 지의류 유사 종들의 이차 대사산물의 성분 비교 및 예측

나. 채집된 시료들에 대한 알코올 추출물 제조

- (1) 시료들의 추출물 제조: 100% 메탄올을 이용한 추출물 제조

다. 시료들로부터 생리활성성분 분리

- (1) 시료의 추출과 분획 및 유효성분의 분리:

시료들을 메탄올로 추출하여 농축한 후 (2회 추출), 헥산으로 분획하여 비극성 부분을 분리한다. 남은 수층을 에틸아세테이트로 분획하여 감압 농축한다. 남은 수층을 다시 부탄올로 분획하여 감압 농축한다. 이렇게 극성별로 나누어진 헥산 층, 에틸아세테이트 층, 부탄올 층, 물 층의 분획들을 silica gel로 세 분획 하고 다시 여러 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 각각의 세 분획을 계속하여 각 시료들의 유효성분들을 분리함

- (2) 분획 및 물질의 분리는 silica gel 뿐 아니라, sephadex LH-20, ODS-A, preparative MPLC, 또는 preparative HPLC 등의 다양한 크로마토그래피법을 이용하여 시행

라. 분리된 생리활성 화합물들의 구조결정

: 화합물들이 순수하게 분리되면 다음과 같은 여러 가지 분석 방법으로 생리활성 화합물들의 구조를 결정

- (1) 1D 및 2D NMR 및 MS 등의 방법들을 활용한 화학구조 분석

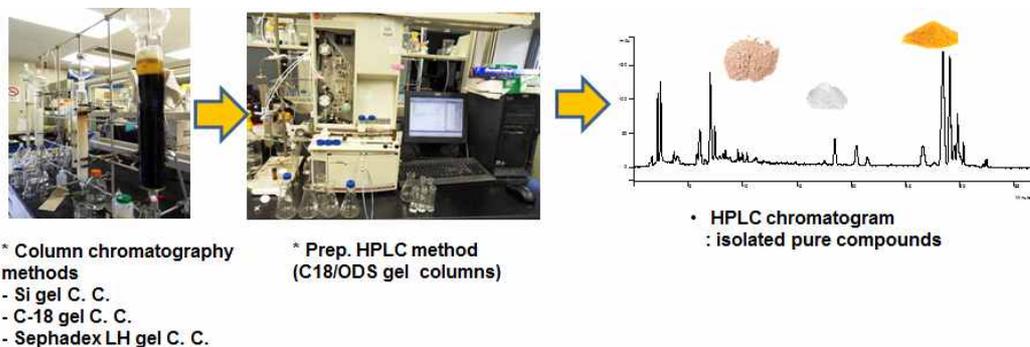


Fig. 1. Isolation procedure of pure compounds.



Fig. 2. Procedure of alcohol extraction.

마. 분리된 생리활성 화합물들의 구조결정

: 화합물들이 순수하게 분리되면 다음과 같은 여러 가지 분석 방법으로 생리활성 화합물들의 구조를 결정

(1) 물리적 방법

(가) 정상 및 mp 등의 물리적 방법으로 기존의 물질과 비교하여 구조 예측

(2) 분광학적 방법

(가) 자외선 흡수 분석 (UV)

: 분자 구조 중 공액 이중결합, ene-one (α,β -unsaturated carbonyl), aromatic ring 등의 존재 여부를 확인할 수 있다

(나) 자외선 흡수 분석 (IR)

: $4000 \sim 1300 \text{ cm}^{-1}$ 에서 hydroxyl group, carbonyl group, aromatic ring, alkyne, amino group 등의 각종 분자들의 관능기 (functional group)의 존재를 확인한다. 그리고 물질의 finger print 영역인 $1300 \sim 900 \text{ cm}^{-1}$ 은 시료의 검정에 흔히 이용한다.

(다) 질량 분석 (Mass Spectroscopy)

: 분자량을 알기 위한 분석법으로 분리된 화합물들중 어떤 것은 electron volt에는 불안정한 경우가 있으므로 soft ionization 방법 중 ES-MS나 FAB-MS로 분자량을 측정한다.

본 연구에서는 오차 범위는 $\pm 0.005\%$ 인 고분해능질량분석 (HRMS, high resolution MS)를 이용 하여 화합물의 분자식을 얻고 이로부터 화합물의 불포화도 (Index of Hydrogen Deficiency, μ)를 구할 수 있는데 이것은 골격을 예상하기 어려운 화합물의 구조 결정에 매우 유용한 정보를 제공한다. 한편 물질의 분리와 질량분석을 동시에 할 수 있는 방법으로 LC-MS 방법을 이용할 수 있다.

(라) 핵자기 공명 스펙트럼 분석 (NMR Spectroscopy)

: ^1H -NMR 및 ^{13}C -NMR의 chemical shift로부터 분자 구조에 대한 정보를 얻을 수 있다. NMR Spectroscopy도 기법에 따라 1D-NMR (one dimensional)과 2D-NMR (two dimensional)이 있는데 본 연구에서는 골격을 예측하기 어려운 구조의 화합물이 대부분이므로 1D-뿐만 아니라 2D-NMR도 필수적으로 측정해야 함. 1D-NMR에는 ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, DEPT, Selective INEPT 등이 있고, 2D-NMR에는 ^1H - ^1H COSY, HMQC, HMBC, NOESY, TOCSY, INADEQUATE 등이 있다.

- ① ^1H -NMR : 분자 내에서 수소의 종류와 결합 형태에 관한 정보를 제공하여 주고 또 수소 주변 환경에 대한 정보를 제공하여 준다.
- ② ^{13}C -NMR : 분자 내의 탄소에 관한 직접적인 정보를 준다. 기지 물질과의 비교, 동정에 가장 직접적인 정보를 제공한다.
- ③ ^{15}N -NMR : 일부 천연물들은 N을 다량함유하는 경우가 많으므로 질소에 관한 정보를 얻을 수 있다.
- ④ DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) :
각 탄소에 결합하고 있는 수소수를 알 수 있다. 즉 탄소 peak의 다중도를 결정
- ⑤ Selective INEPT (Insensitive Nuclei Enhanced by Polarization Transfer) :
특정 proton을 irradiation 시키면 이로부터 three bond 떨어진 C signal 이 선택적으로 enhancement된다. 화합물 구조 결정에 있어 regioisomer를 구별하기 위해 많이 사용하고 또 ^1H - ^1H COSY로 이끌어 낸 부분구조들을 연결시키기 위해서도 사용할 수 있는 기법
- ⑥ ^1H - ^1H COSY (Correlation Spectroscopy): 수소 상호간의 spin-spin 결합 상태를 2차원적으로 표시한 것. 본 연구에서처럼 구조가 복잡한 화합물의 경우, 이로써 화합물의 부분 구조를 이끌어 내 Selective INEPT나 HMBC spectrum을 해석하여 각각을 연결시키는 방법으로 화합물의 구조를 결정
- ⑦ HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Correlation): C의 signal과 그 탄소에 직접 화학 결합되어 있는 H의 signal의 교차점에 상관 peak가 나타남
- ⑧ NOESY (Nuclear Overhauser Enhanced Spectroscopy): 한 수소를 irradiation시켜 포화시키면 공간적으로 가까이 있는 다른 수소의 signal이 증폭되는 NOE(Nuclear Overhauser Effect)를 2차원적으로 표시한 것. 즉 공간적으로 가까운 수소들 간의 NOE를 관찰할 수 있으므로 화합물 중 결합된 관능기(functional group)의 relative stereochemistry를 결정하기 위해 매우 필수적으로 이 기법을 사용하고 있다. 또한 화합물 중의 이중 결합의 (E/Z) configuration을 결정하기 위해서도 많이 사용됨
- ⑨ HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) :

C-H spin 결합이 두개 이상일 경우. 수소 수가 적고 불포화도가 높은 방향족 화합물 뿐만 아니라 carbonyl기 등 4급 탄소를 갖는 화합물에 대해서도 구조 해석에 중요한 정보를 얻을 수 있다. 화합물 중의 functional group의 위치를 결정할 때 매우 필수적이며 분자의 부분구조들을 연결시킬 때도 매우 필수적인 NMR 기법

- ⑩ TOCSY (Total Correlation Spectroscopy) : 이는 Prep, Evolution, mixing, detection의 순서로 펄스를 주며, 이실험은 HOHAHA(HOMonuclear HArtman-HAHn)라고도 불리우며 이는 3 또는 4bond의 수소간의 관계를 보여줌
- ⑪ INADEQUATE(Incredible Natural Abundance Double Quantum Transfer Experiment) : 이는 multi quantum 실험으로 분류되는 NMR 실험 중 가장 대표적인 실험으로 탄소와 탄소간의 커플링 상수를 알아냄으로써 분자의 탄소 골격을 연결시켜 구조를 알아낼 수 있는 방법이다. 이 실험의 단점은 탄소와 탄소의 커플링 상수를 구하기란 매우 어려우므로 많은 시간을 필요로 하는 실험
- ⑫ X-선 분석법 (X-ray Crystallography)
결정의 진동 사진이나 바이센베르크 사진을 이용하여 각 회절무늬의 밀러지수를 정하는 동시에 단위 격자의 크기를 결정하고 X선의 세기를 측정하며, 이론적인 결정구조 인자의 계산값과 실측 값을 비교 하여 결정구조를 판정 함. X선결정학은 1912년 M.라우에가 X선회절 현상을 발견한 이래 근대적 의미에서 결정학의 주요 부분을 차지하고 있음
- ⑬ 선광분산법 (optical rotatory dispersion, ORD)
부제 탄소의 절대 배치는 X-선 분석으로도 알 수 있으나 절대 배치가 알려진 화합물과 ORD spectrum을 비교하여 결정할 수도 있다. cotton 효과가 증폭되어 곡선이 복잡한 것은 원편광이 색성 (circular dichroism, CD)을 측정

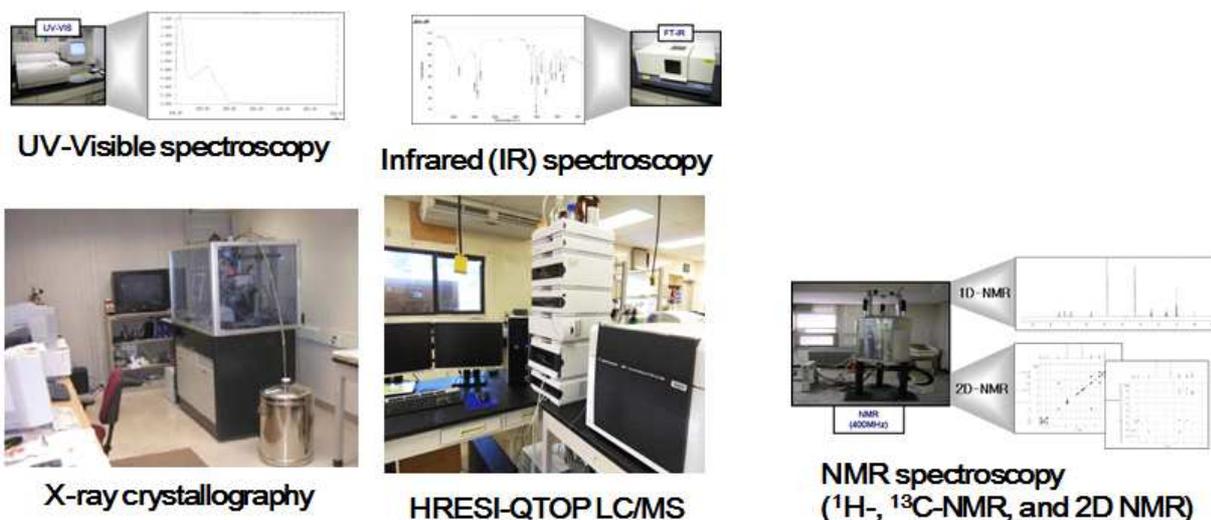
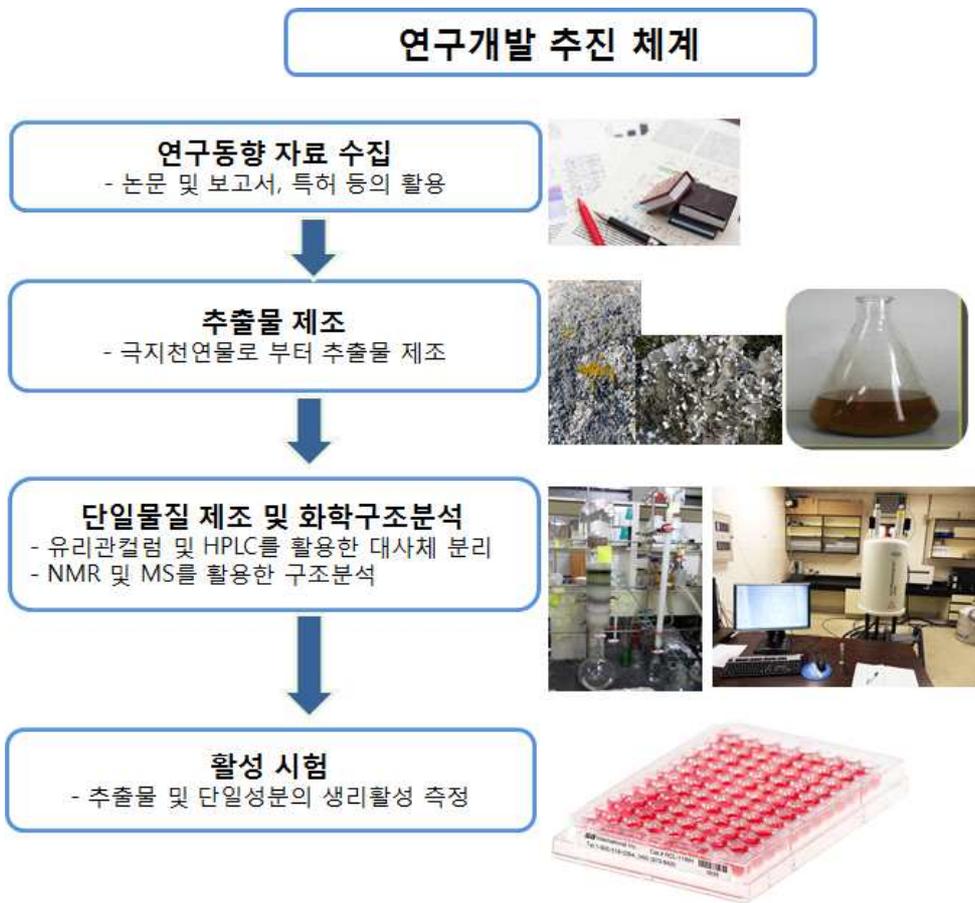


Fig. 3. Instrument for identification of chemical structure.

바. 연구개발 추진체계



극지연구소

사. 항암 작용 연구

(1) 암세포주 및 배양

미국 세포주 은행(American Tissue Type Culture Collection)에서 다양한 A549, P388, HCT15, MCF7, HL60, Hep G2, SK-MEL-2, V-937, L1210, HT-29, AGS 등의 암세포들에 대하여 RPMI 1640 또는 DMEM (10% 우태아 혈청 첨가, 1% 항생제 포함) 배지에 현탁하여 37 °C, 5% CO₂ 조건에서 배양 후 극지 지의류로부터 분리된 물질들에 대한 활성 시험

3-2. 연구개발 내용 및 결과

가. 연구결과

(1) 극지 지의류들로부터 이차 대사산물 분리 및 화학 구조분석

(가) 극지 지의류 들로부터 메탄올 추출물 제조

- ① 각각의 지의류 30g을 100% 메탄올을 이용하여 4일간 추출
 - ㉠ 추출물들을 극성이 각각 다른 용매 (헥산, 에틸아세테이트, 부탄올 등)들로 처리하여 분획 실시
 - ㉡ 용매를 제거하여 분획물들을 건조

- ② 남극 세종기지 인근의 지의류 Ant-23로부터 활성 화합물 분리
 - ㉠ 지의류 Ant-23 (50 g)을 메탄올을 사용하여 추출물을 제조
 - ㉡ 에틸아세테이트 (EtOAc) 용매를 사용하여 분획 실시
 - ㉢ EtOAc 분획은 C-18 gel 컬럼 및 MeOH:H₂O,(10:90 to 100% MeOH) 용매조성을 사용하여 18개의 분획물을 얻음 (ER1 to ER18).
 - ㉣ 분획물 Ant-23R1 번은 분리용 HPLC [ODS column, 1.5 ml 유속, PDA 검출기]를 이용하였고, 10%에서 80% 의 메탄올 수용액을 사용하여 단일 화합물 4 (1.5 mg, t_R 80 min), 8 (1 mg, t_R 95 min), 5 (2 mg, t_R 110 min)을 분리.
 - ㉤ 분획물 Ant-23R13 번은 분리용 HPLC [ODS column, 1.5 ml 유속, PDA 검출기]를 이용하였고, 50%에서 80% 의 메탄올 수용액을 사용하여 단일 화합물 3 (2.5 mg, t_R 85 min) 과 5 (6 mg, t_R 90 min)을 분리
 - ㉥ Atranorin (화합물 2, 10 mg)은 분획물 ER12 (50 mg)로부터 100% chloroform (CHCl₃)을 사용하여 재결정에 의하여 분리
 - ㉦ 분획물 Ant-23R14 번은 분리용 HPLC [ODS column, 1.5 ml 유속, PDA 검출기]를 이용하였고, 40%에서 90% 의 메탄올 수용액을 사용하여 각각의 단일 화합물 6 (5 mg, t_R 100 min) 과 7 (3.5 mg, t_R 105 min)을 분리
 - ㉧ 분획물 Ant-23R18 번은 클로로포름 (Chloroform)용매를 이용하여 재결정 법으로 단일 화합물 1 (8 mg, t_R 87 min)을 분리

- ③ ¹H 및 ¹³C NMR, HSQC, HMBC spectra로부터 단일 화합물들의 구조결정
 - ㉠ 분리된 8종의 화합물들에 대하여 ¹H 및 ¹³C NMR에서 화합물의 기존 골격을 예측하였음
 - ㉡ HSQC, HMBC spectra에서 H과 C의 상관관계를 규명하여 최종 화합물의 작용기 및 이들의 위치를 결정하였음

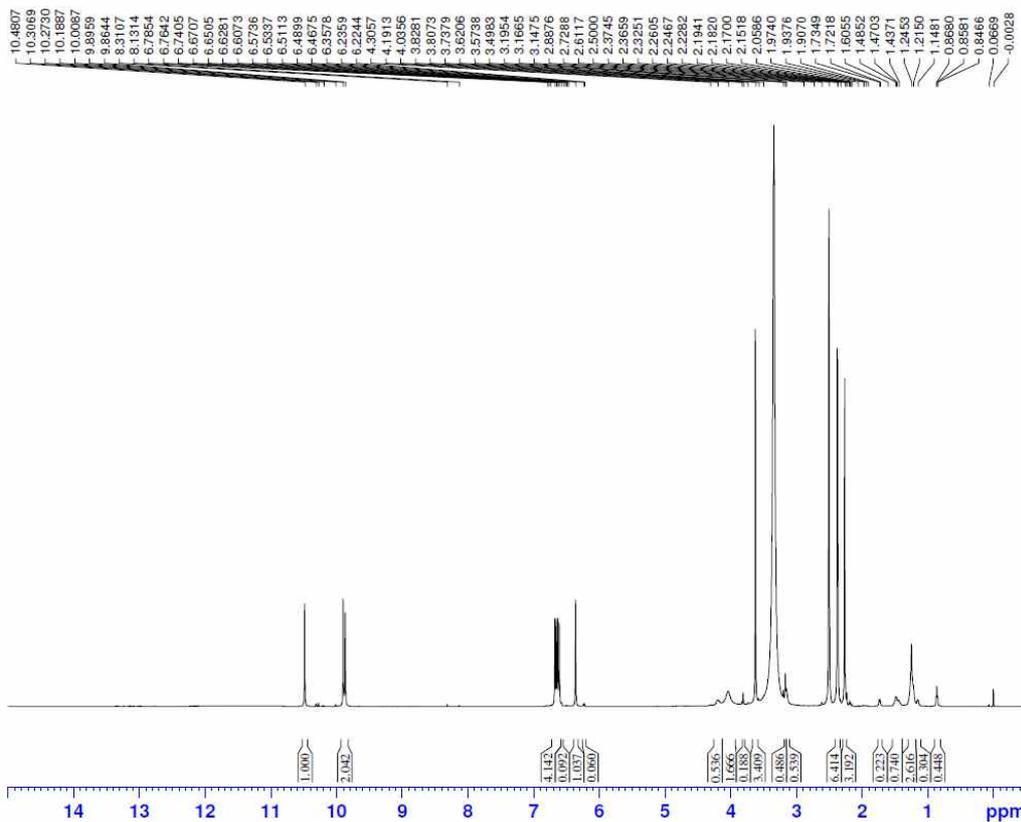


Fig. 4. ^1H NMR spectrum (600 MHz, MeOD) of 1.

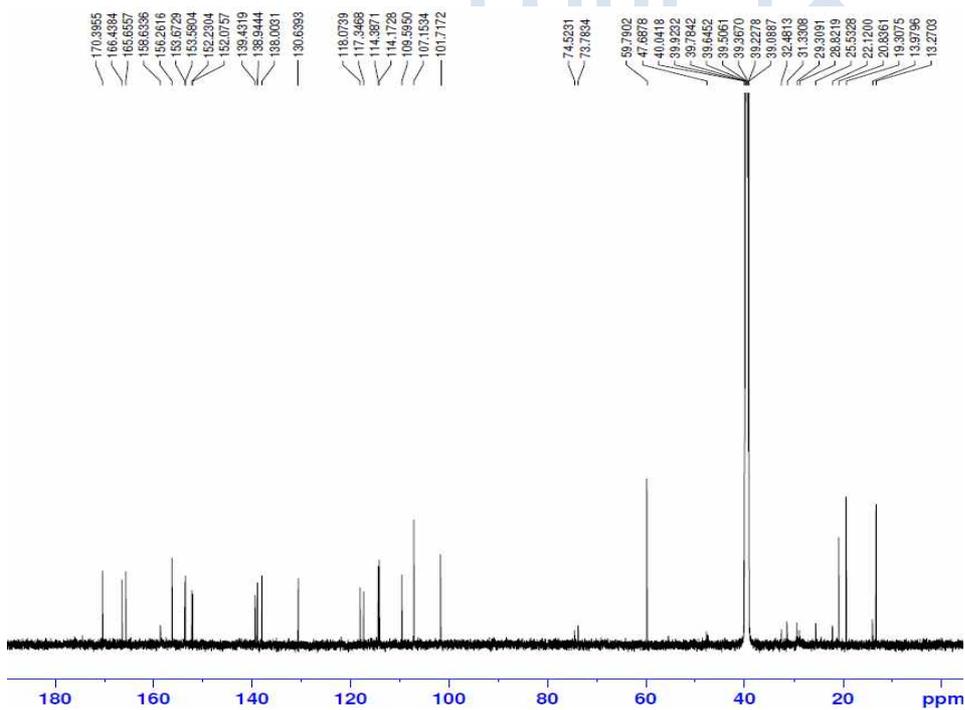


Fig. 5. ^{13}C NMR spectrum (150 MHz, MeOD) of 1.

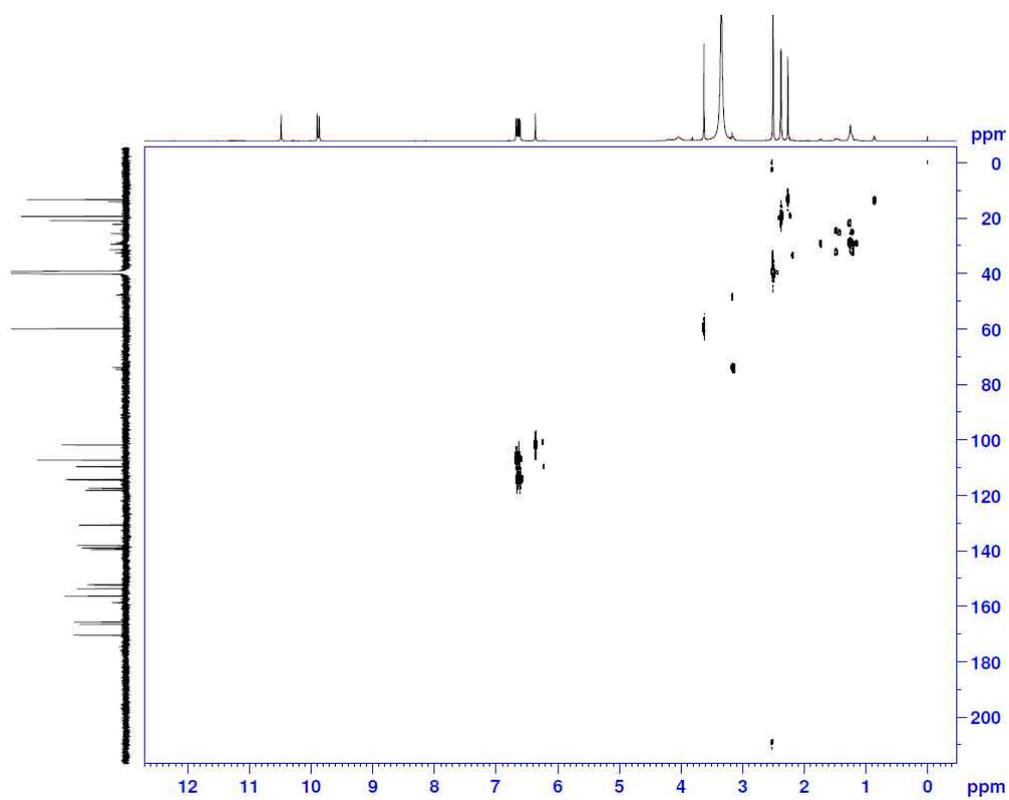


Fig. 6. HSQC spectrum of **1**.

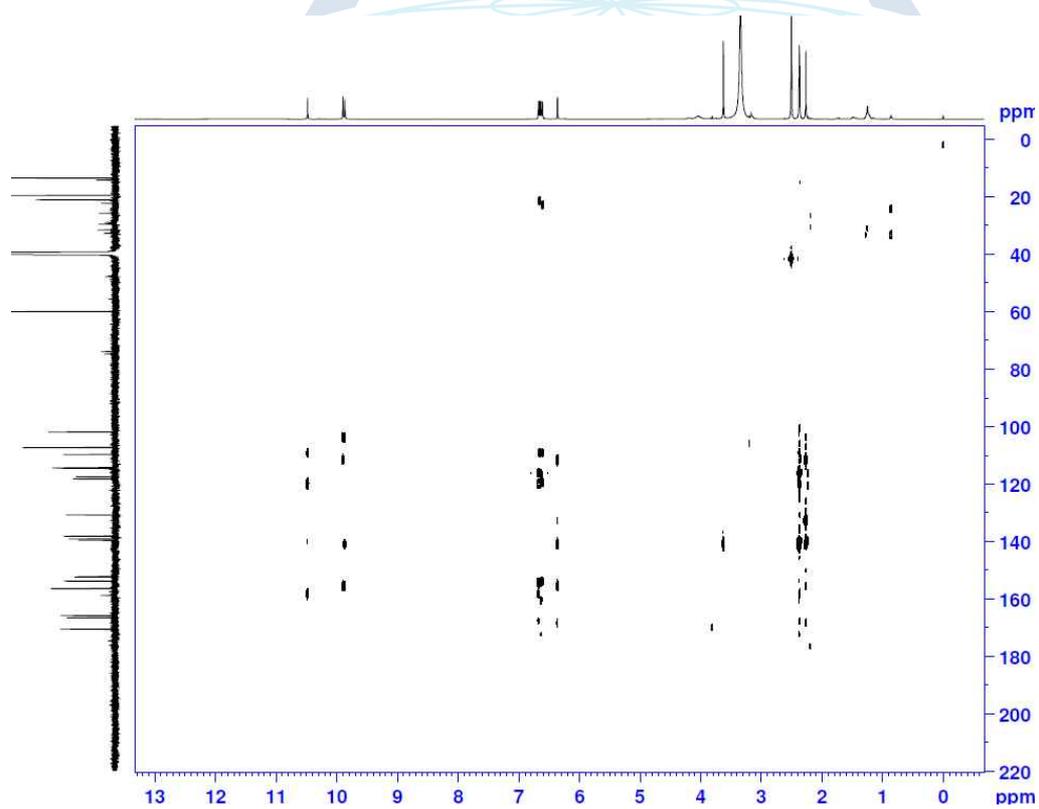


Fig. 7. HMBC spectrum of **1**.

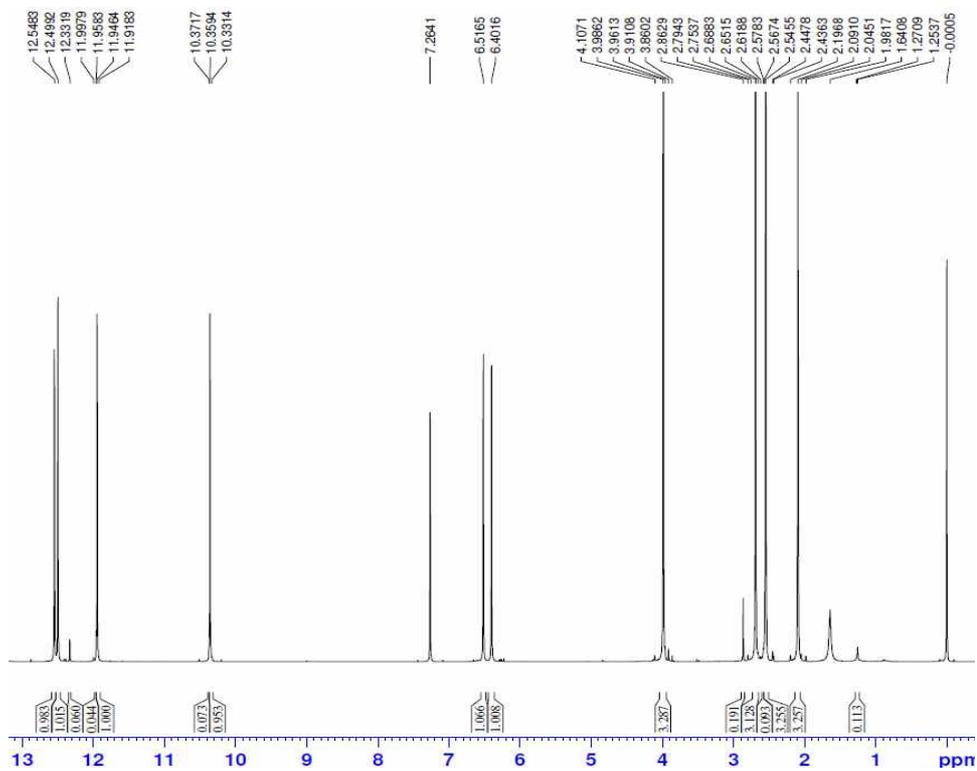


Fig. 8. ^1H NMR spectrum (600 MHz, CDCl_3) of **2**.

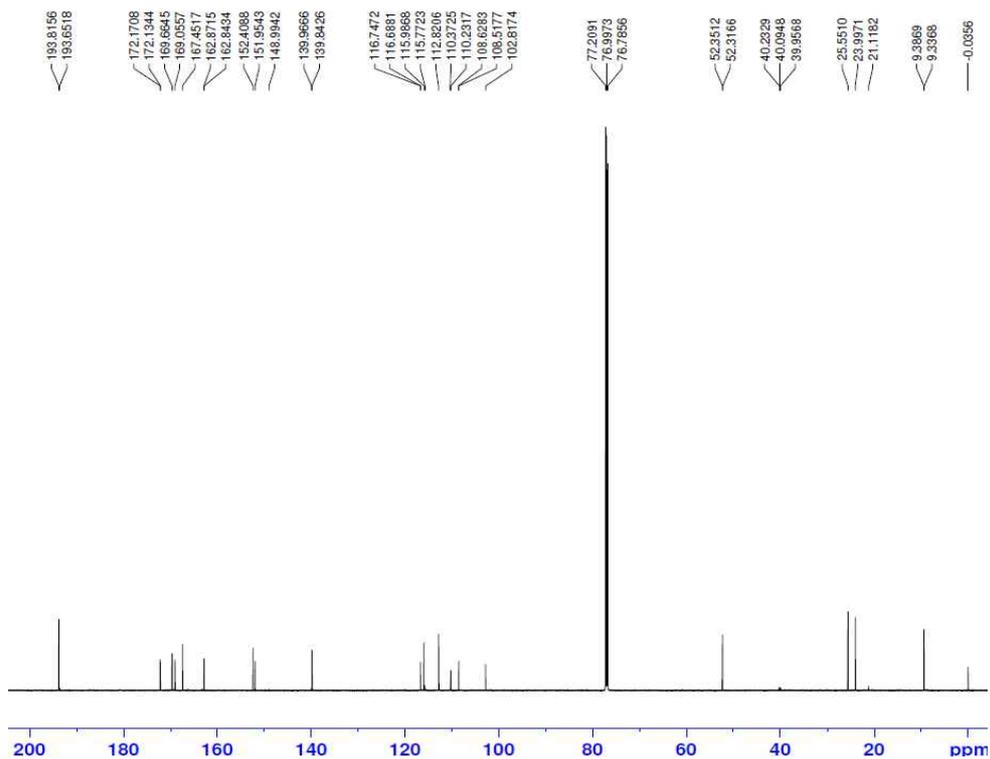


Fig. 9. ^{13}C NMR spectrum (150 MHz, CDCl_3) of **2**.

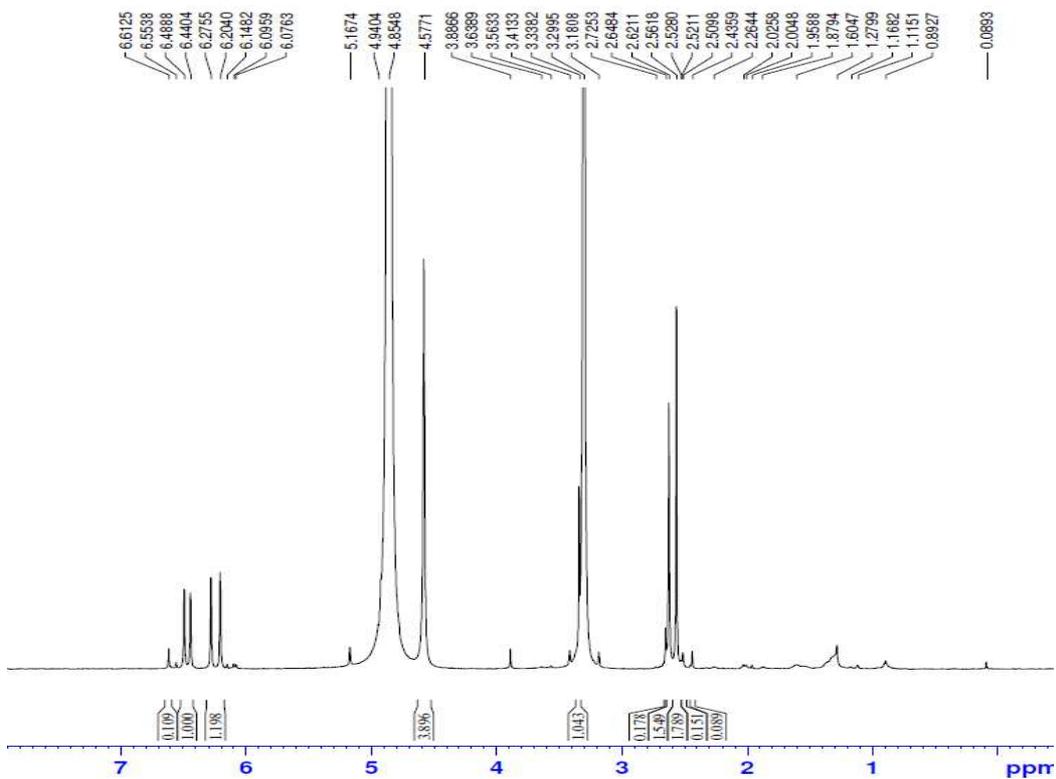


Fig. 10. ^1H NMR spectrum (600 MHz, MeOD) of **3**.

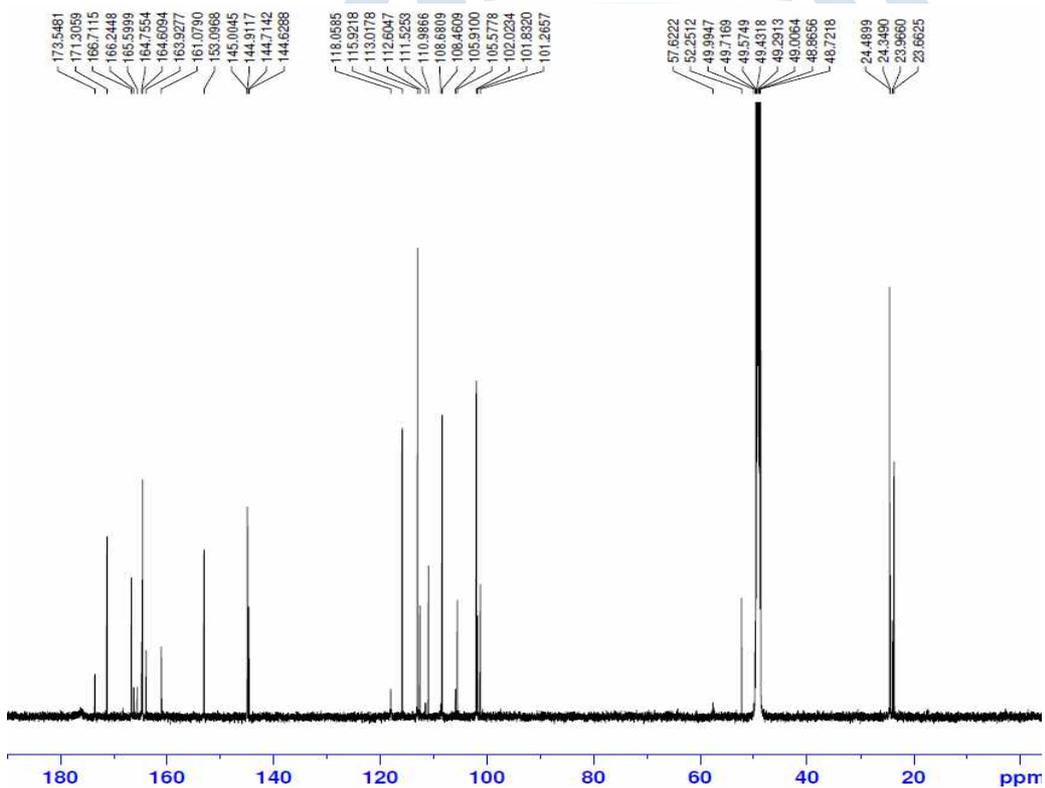


Fig. 11. ^{13}C NMR spectrum (150 MHz, MeOD) of **3**.

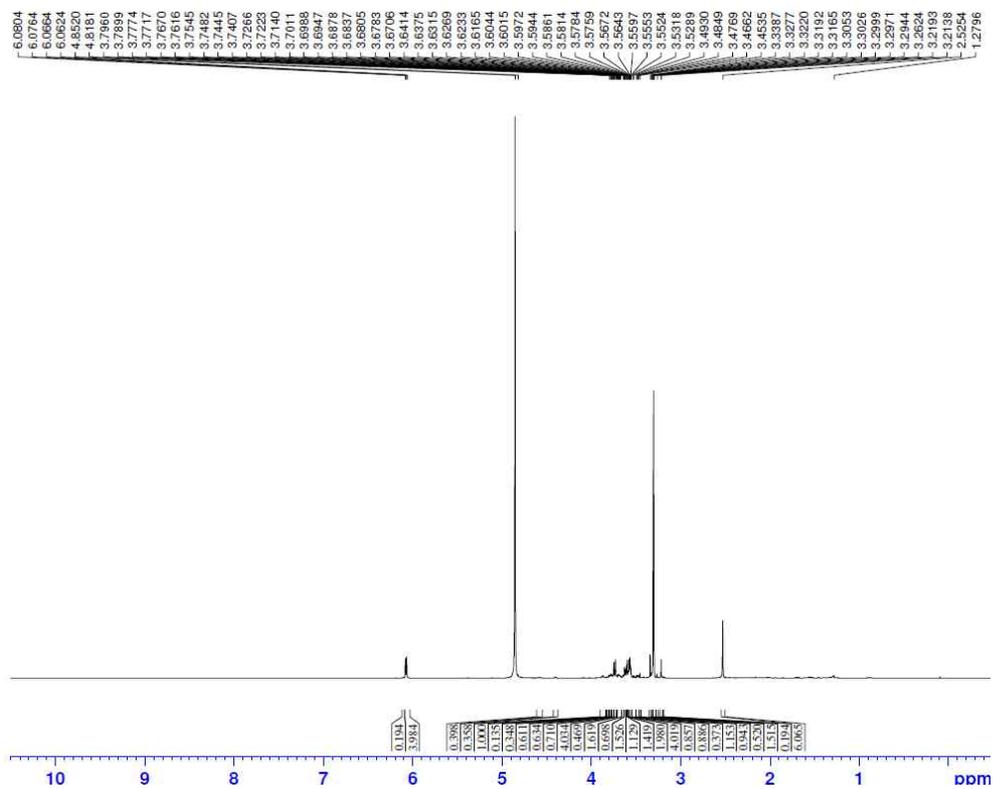


Fig. 12. ^1H NMR spectrum (600 MHz, MeOD) of 4.

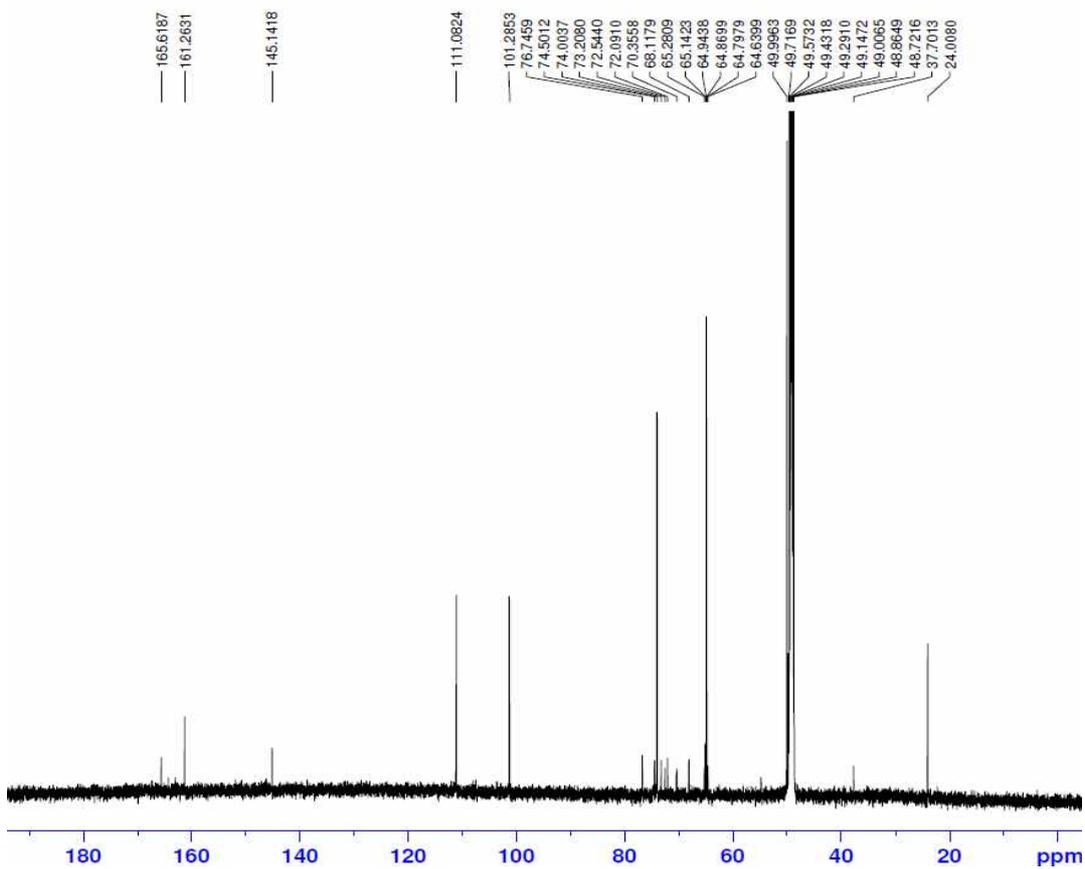


Fig. 13. ^{13}C NMR spectrum (150 MHz, MeOD) of 4.

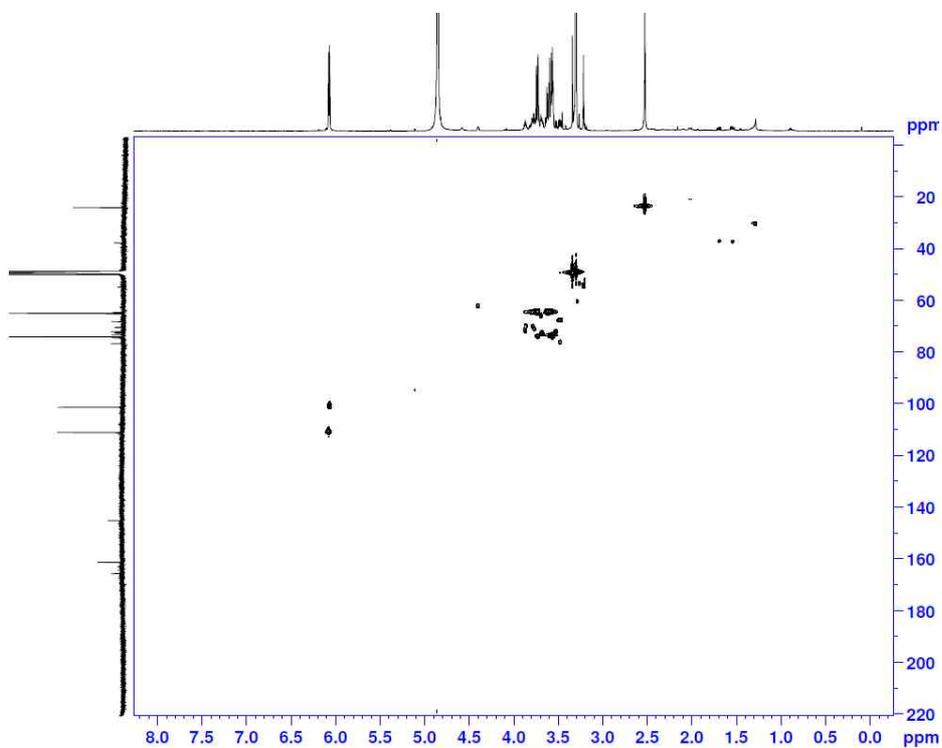


Fig. 14. HSQC spectrum of **4**.

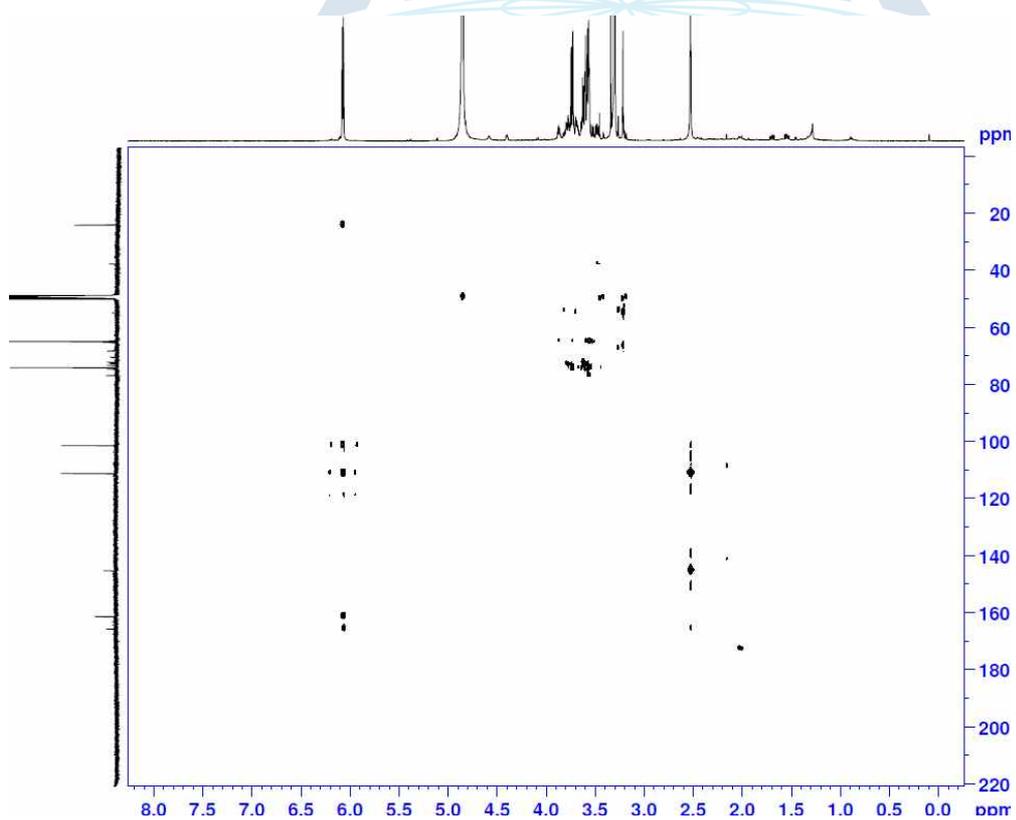


Fig. 15. HMBC spectrum of **4**.

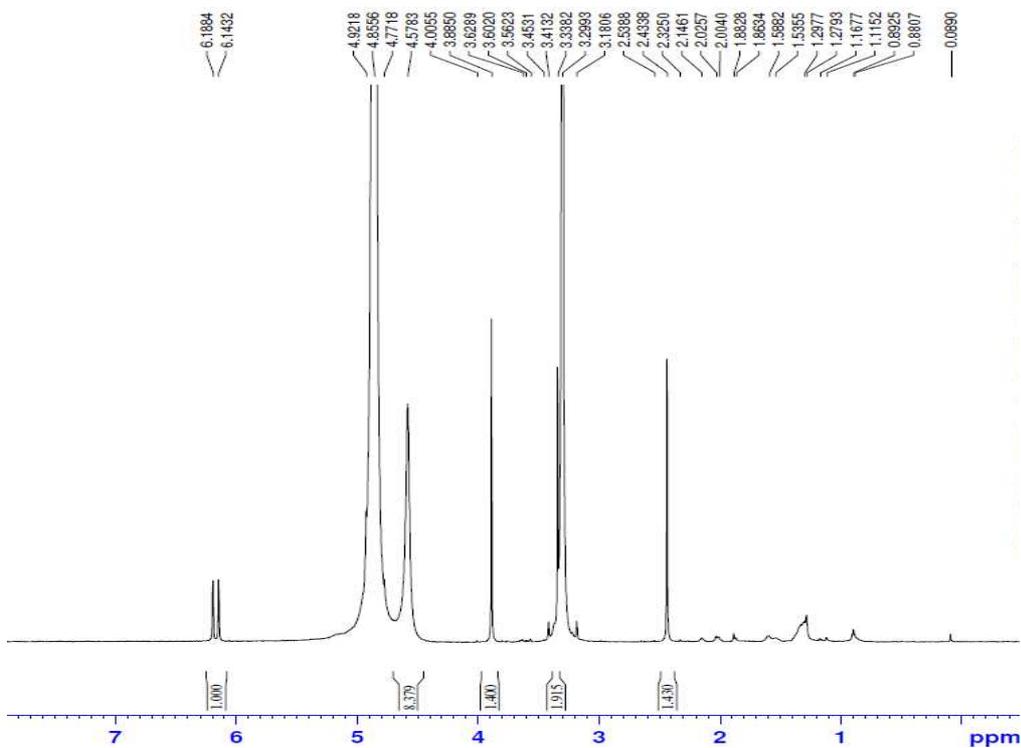


Fig. 16. ^1H NMR spectrum (600 MHz, MeOD) of 5.

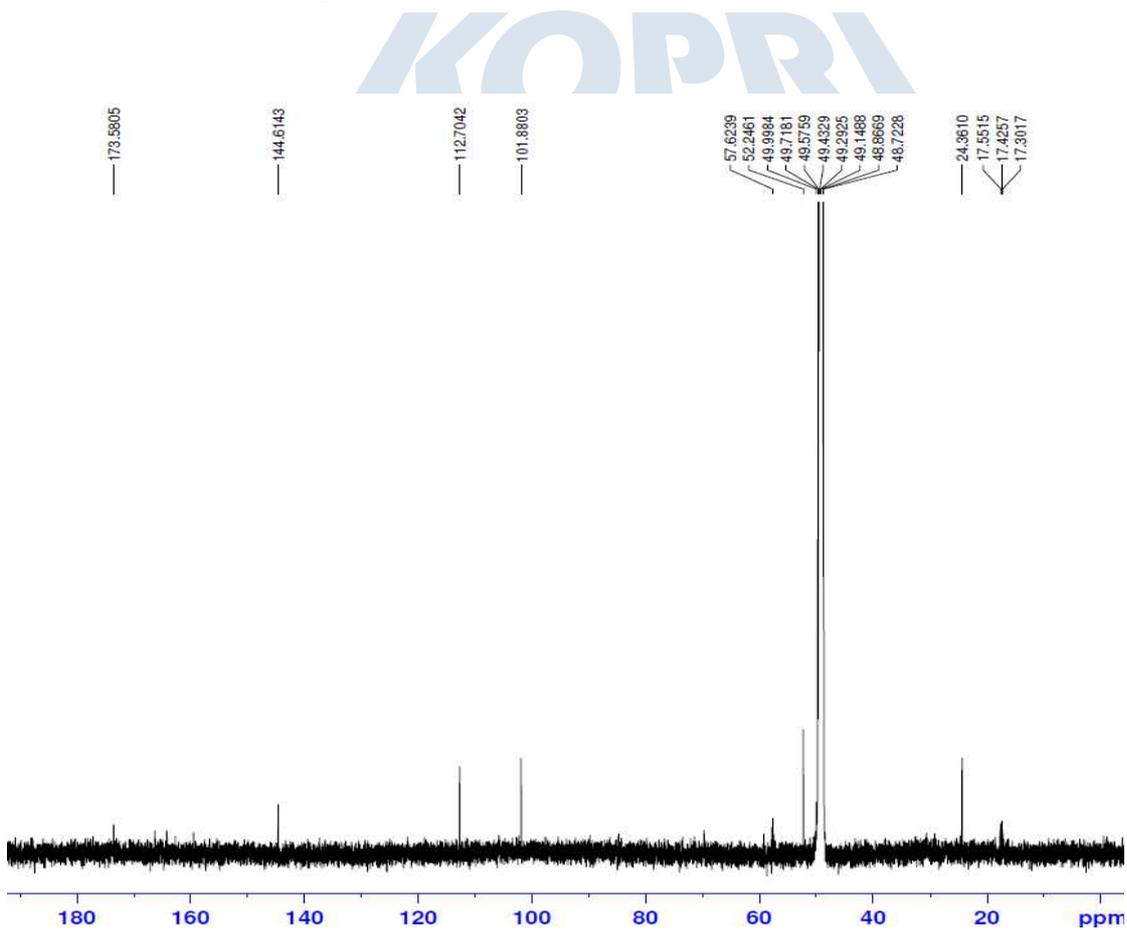


Fig. 17. ^{13}C NMR spectrum (150 MHz, MeOD) of 5.

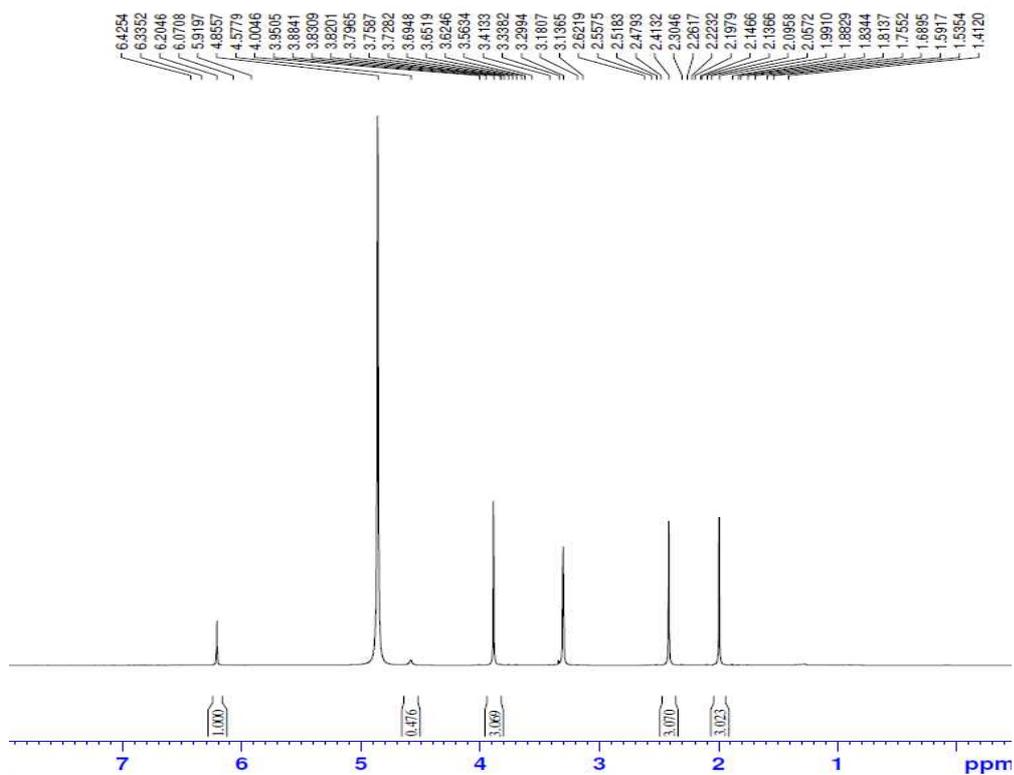


Fig. 18. ^1H NMR spectrum (600 MHz, MeOD) of **6**.

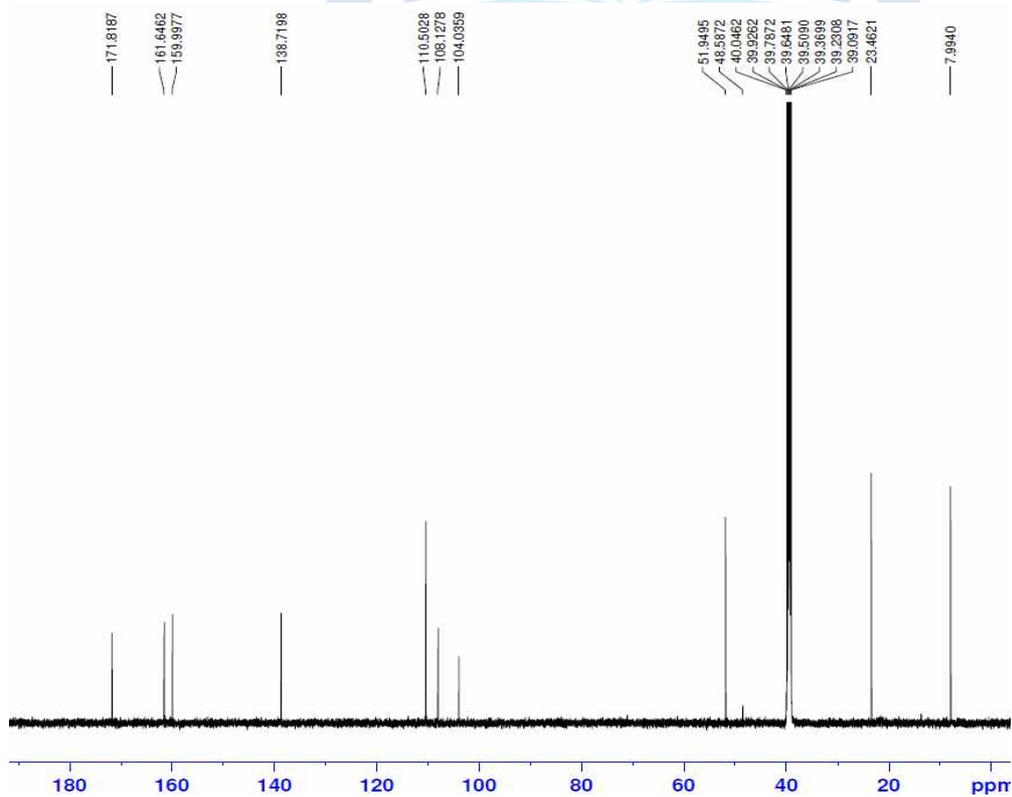


Fig. 19. ^{13}C NMR spectrum (150 MHz, MeOD) of **6**.

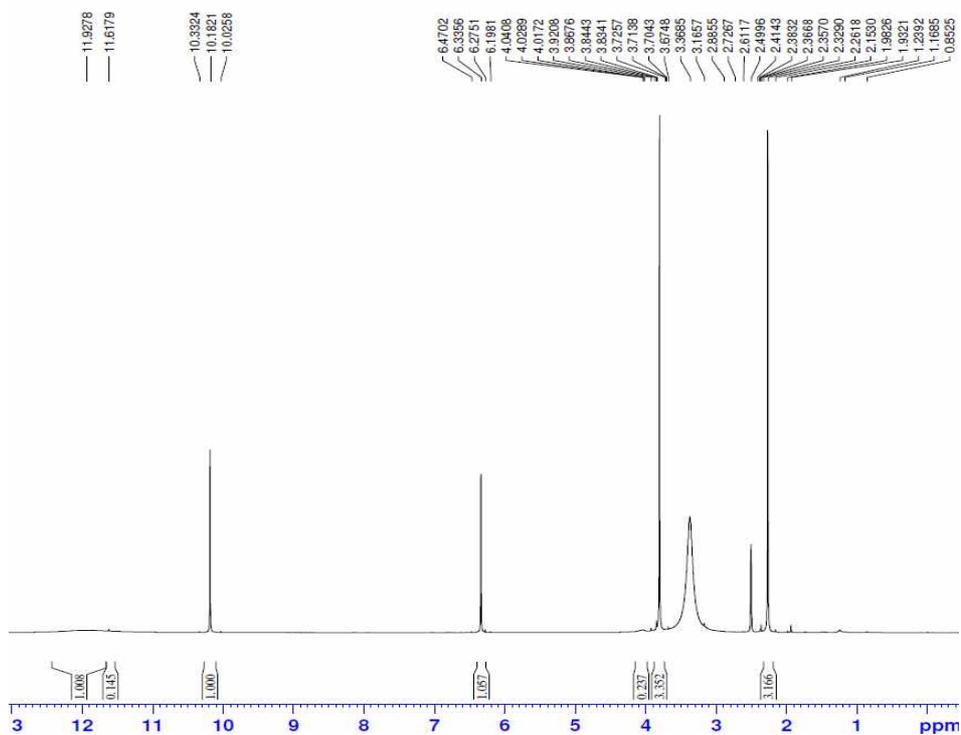


Fig. 20. ^1H NMR spectrum (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) of **7**.

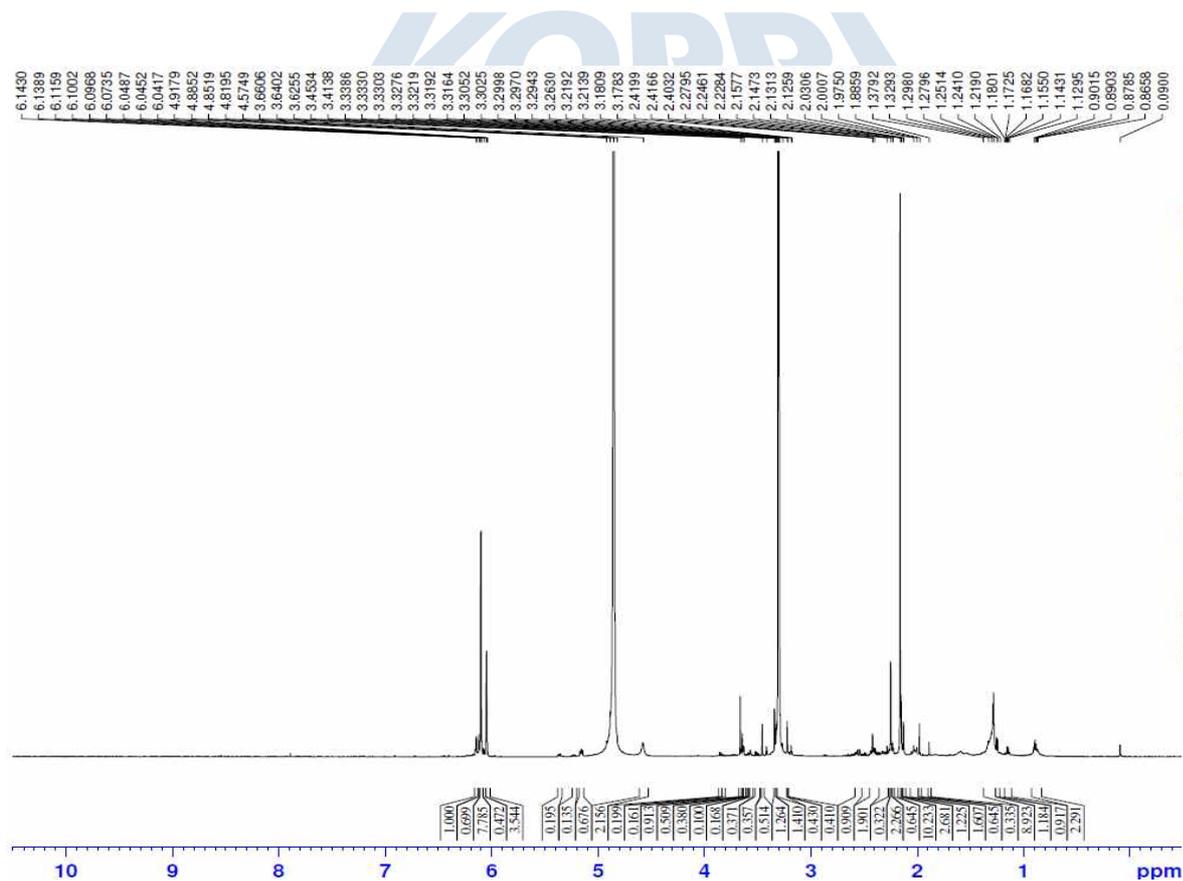


Fig. 21. ^1H NMR spectrum (600 MHz, MeOD) of **8**.

④ 분리된 화합물들의 구조

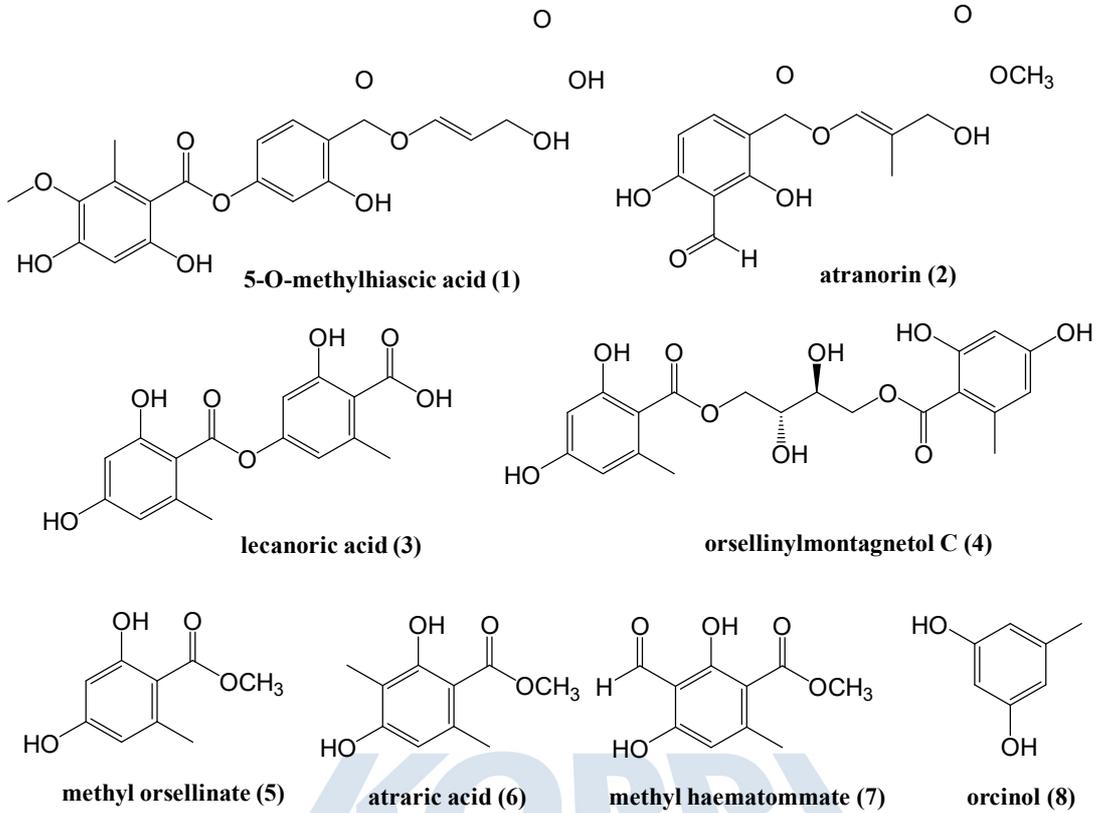


Fig. 22. Chemical structures from *S. caespitosum* (Ant.23)

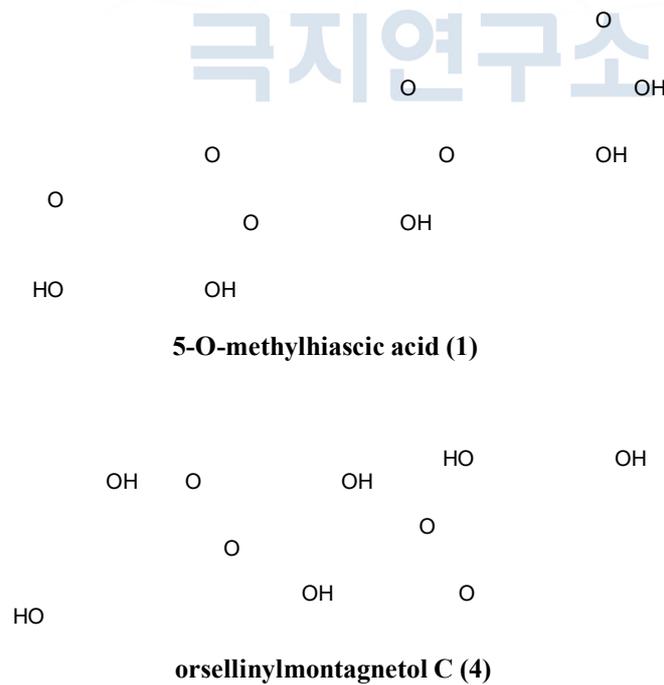


Fig. 23. Structure identification by 2D NMR analyses.

(2) 항염증 활성 실험

(가) 1차적 효능 규명은 마우스의 대식세포 유래 RAW264.7 세포와 미세아교세포 유래 BV2 세포를 가지고 lipopolysaccharide(LPS)로 유발하는 염증반응에 Nitric oxide(NO) 생성 억제 활성 측정

(나) 활성 분획물 및 단일 화합물을 RAW264.7 세포와 BV2 세포를 이용하여 효능 규명.

(다) RAW264.7와 BV2 세포의 LPS 유발 모델 이용

(라) 효능 검색을 위해 각종 분자생물학적, 의약학적 방법을 이용함.

예) MTT assay, Western blot analysis, ELISA, qPCR, EMSA assay 등

(3) 항암 활성 실험

(가) 세포독성 측정: 극지 지의류들로부터 얻어진 추출물은 Dimethyl sulfoxide (DMSO)에 완전히 녹인 후 20 mg/mL의 농도로 준비하고 DPBS에 희석하여 실험에 이용함. 세포독성은 MTT 세포독성 분석법을 사용하여 측정하며 이 과정에서 흡광도(OD; optical density)의 값은 살아있는 세포의 수를 반영하므로 세포생존 지수는 상대적 비율로 나타냄

(나) Western blotting 분석: RIPA buffer (50 mM Tris · Cl, pH 7.5, 150 mM NaCl, 2 mM EDTA, 1% NP-40, 0.5% Na-deoxycholate)을 이용하여 세포를 lysis 하고 전체 50 µg에 해당하는 단백질을 4-20% Criterion™ Tris · HCl precast gel(BioRad)에 전기영동한 후 nitrocellulose (NC)에 transfer시킴. Membrane은 4° C에서 overnight동안 1차항체 처리한 후, 1시간동안 2차항체(HRP)과 반응시킴. ECL(enhanced chemiluminescence) 방법으로 단백질 발현량을 측정함

(다) FACS 분석: 세포사멸(apoptosis)을 측정하는 분석법으로 세포사멸이 진행되면 세포막 안쪽에 존재하는 특정지질(phosphatidylserine)이 세포막 밖으로 이동하게 되며 이때 특정 표지, Annexin V 와 결합하는 정도를 분석하여 세포사멸을 알아볼 수 있음. 극지생물 추출물을 처리한 피부정상세포 및 암세포를 PBS를 사용하여 두 번 세척한 후 1×Binding Buffer을 가지고 1×10⁶ cells/ml 세포농도로 맞추어 여기서 100 µl (1×10⁵ cells/ml)을 5 ml 튜브에 옮긴 후, FITC Annexin V와 PI 5 µl을 각각 넣어 섞어주고 빛이 차단된 조건에서 15분 동안 반응시킴. 1×Binding Buffer 400 µl을 첨가한 후 1시간이내 flow cytometry분석을 실시함

(라) Invasion and migration 분석: 세포의 Invasion과 migration 분석을 위해 Cell Biolabs에서 판매하는 Transwell insert chambers (8µm)을 이용함. PBS로 3회 세척한 1.6×10⁶ cells/ml 세포를 다양한 추출물 농도가 포함된 serum-free medium가 있는

top chamber에 분주한 후 48시간동안 5% CO₂(95%), 37°C 에서 배양함. 세포invasion 및 migration 정도를 측정하기 위해 top chamber에 있는 세포를 cotton-tipped swab 을 이용하여 제거한 후 Cell Stain Solution을 이용하여 염색시킴. 염색된 세포는 위상 차 현미경으로 시각화 했으며 또한 extraction solution을 이용하여 염색된 세포를 추출하여 OD₅₆₀을 측정하여 invasion 및 migration 정도를 측정함.

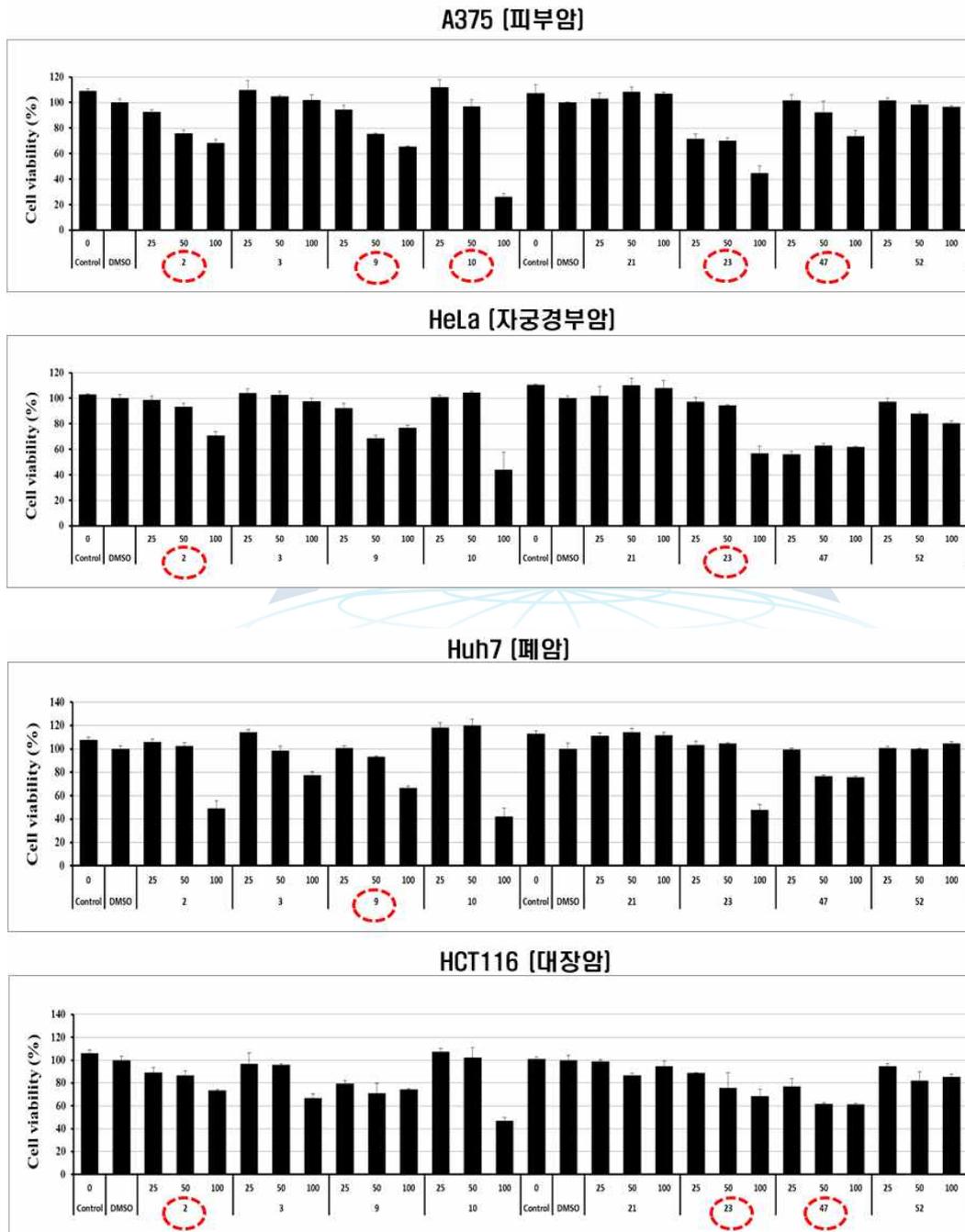


Fig. 24. Cytotoxicity of lichen extracts.

(마) 남극 지의류 추출물의 항암 활성 측정

: 남극 지의류들을 피부암, 자궁경부암, 폐암, 대장암, 피부암 등에 대하여 세포 독성 실험

- ① 지의류 추출물 2번, 9번, 10번, 23번, 47번이 피부암 세포종에 대하여 농도 의존적으로 억제 활성을 나타 내었음
- ② 지의류 추출물 2번, 23번이 자궁경부암 세포종에 대하여 농도 의존적으로 억제 활성을 나타 내었음
- ③ 지의류 추출물 9번이 폐암 세포종에 대하여 농도 의존적으로 억제 활성을 나타 내었음
- ④ 지의류 추출물 2번, 23번, 47번이 대장암 세포종에 대하여 농도 의존적으로 억제 활성을 나타 내었음

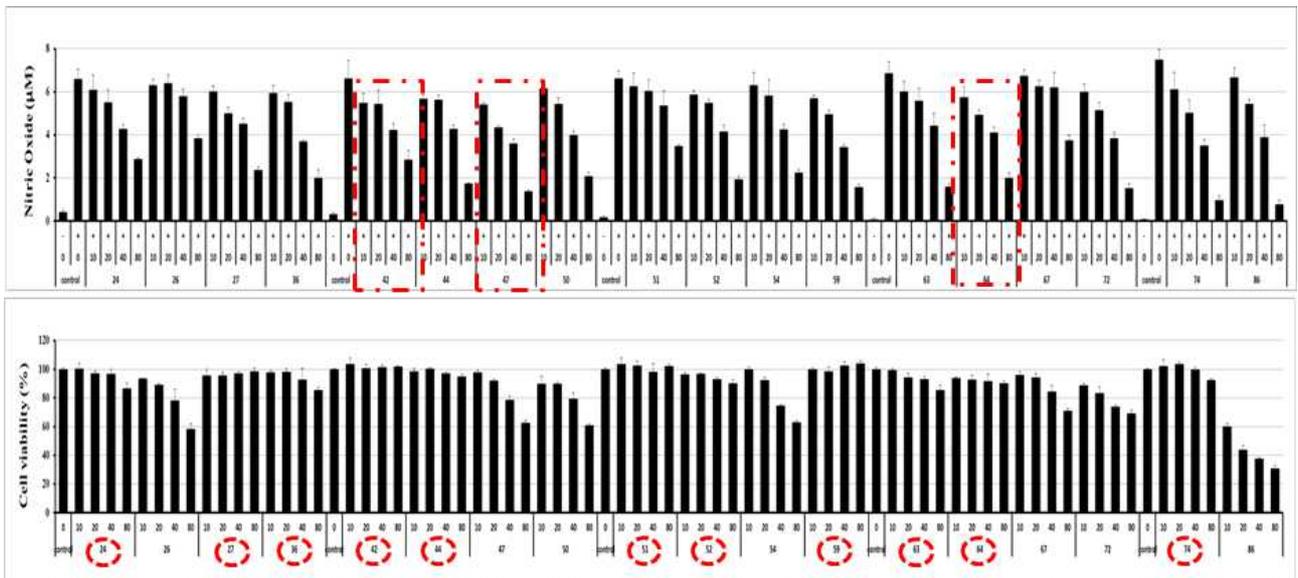


Fig. 25. Anti-inflammatory activity (Nitric Oxide) of lichen extracts.

(바) 남극 지의류 추출물의 항염증 활성 측정

: 남극 지의류들을 Nitric Oxide (NO) 생성에 대한 억제활성 실험

- ① 지의류 추출물 42번, 47번, 64번이 NO 생성에 대하여 농도 의존적으로 억제 활성을 나타 내었음

(사) Atranorin (2)의 암세포 증식 억제 실험

: atranorin을 폐암 (Huh7), 피부암 (Sk-Hep1), 간암 (SNU-182) 세포의 증식억제 실험 측정

- ① 그림 26의 A에서처럼 atranorin이 각각의 암세포 종의 증식을 농도 의존적으로 억제
- ② 폐암 세포에 대하여 40 µg/ml에서 강한 활성을 나타내었음
- ③ 그림 26 B의 현미경 사진에서도 암 세포의 증식이 억제되는 것을 관찰 함

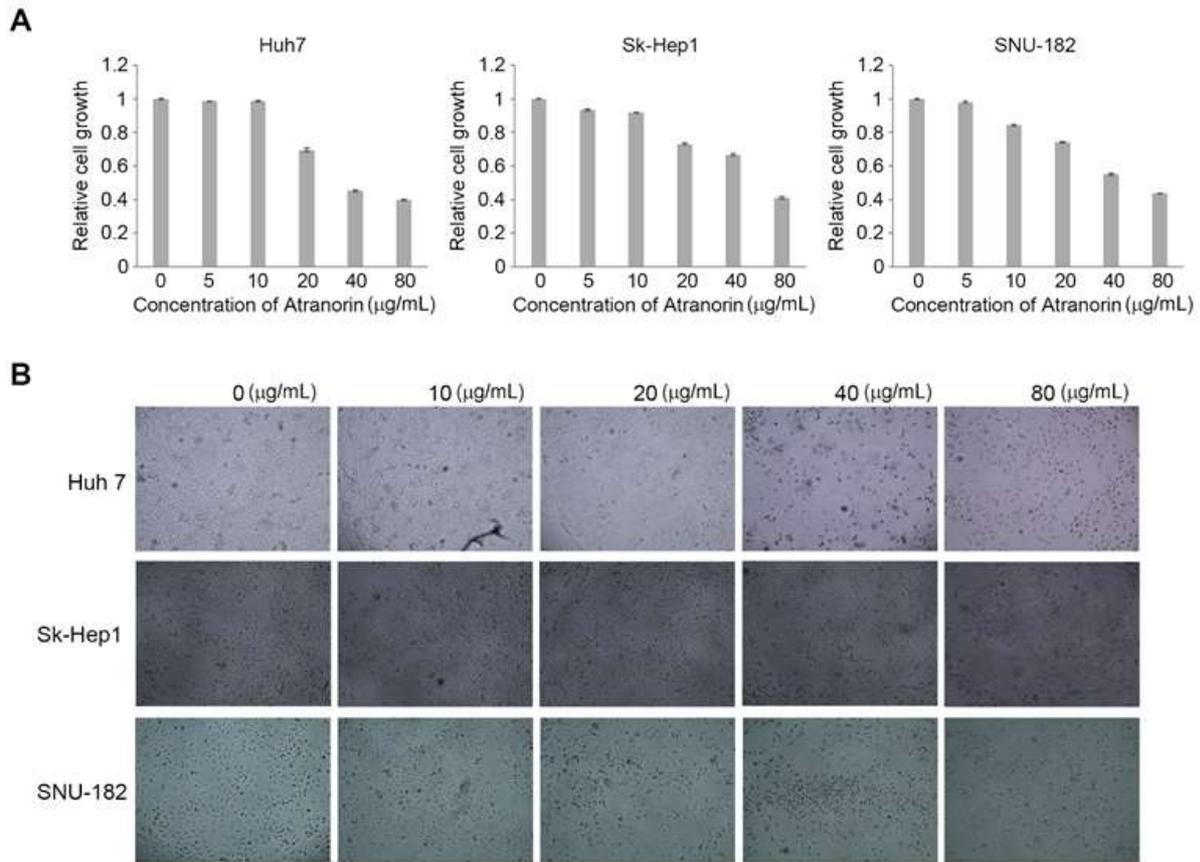


Fig. 26. Cell proliferation assay of atranorin (2).

(아) Atranorin (2)의 Apoptosis 유도 실험

: atranorin을 피부암 (Sk-Hep1) 세포에서 자가 사멸 (apoptosis)유도 실험

① 그림 27의 A, B, C에서처럼 atranorin을 20, 40 µg/ml으로 처리했을 때 피부암 세포 종의 자가 사멸을 유도 함

(자) Atranorin (2)의 DNA 복제 억제 실험

: atranorin을 피부암 (Sk-Hep1) 세포에서 cell cycle 억제 실험

① 그림 28 에서처럼 atranorin을 20, 40 µg/ml으로 처리했을 때 피부암 세포 종의 cell cycle 억제 함

② cell cycle의 G2/M 기에서 농도의존적으로 세포분열을 억제 함

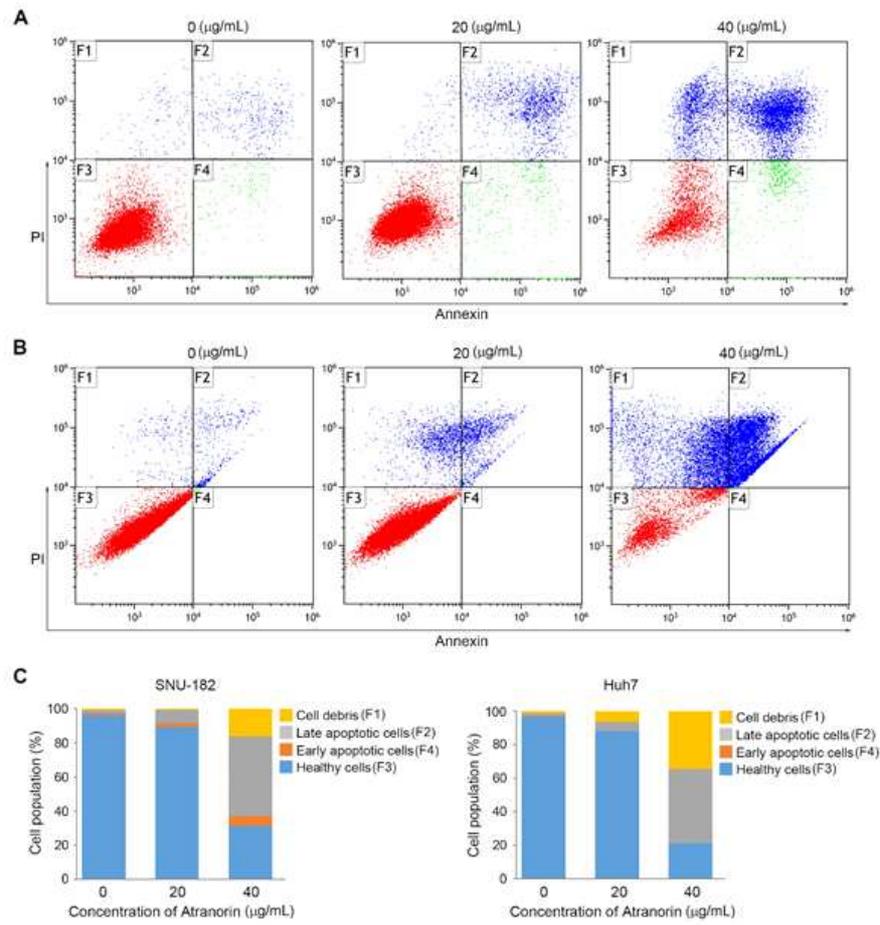


Fig. 27. Apoptosis inducing effect of atranorin (2).

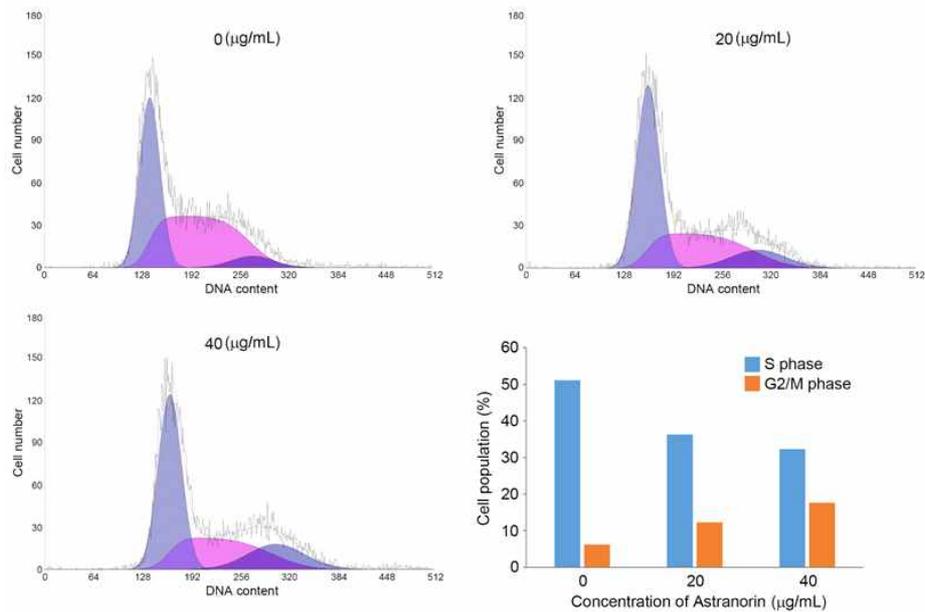


Fig. 28. Cell cycle arrest assay of atranorin (2).

(차) Atranorin (2)을 이용한 암세포의 자가 치유력 억제 실험

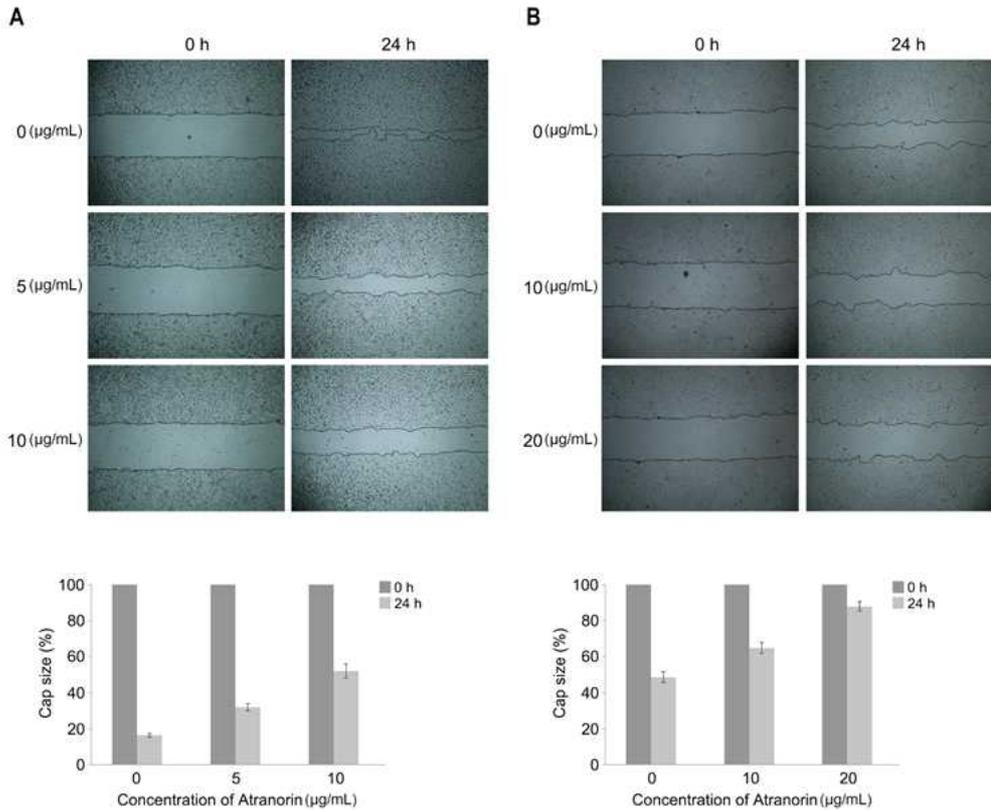


Fig. 29. Wound healing capacity of atranorin (2).

: atranorin을 처리 했을때 피부암 (Sk-Hep1) 세포에서의 자가 치유력 억제 실험

- ① 그림 29의 A에서처럼 atranorin을 5, 10 µg/ml을 24시간 처리했을 때 피부암 세포 종의 자가 치유력을 농도 의존적으로 억제 함
- ② 그림 29의 B에서처럼 atranorin을 10, 20 µg/ml을 24시간 처리했을 때 피부암 세포 종의 자가 치유력을 매우 강하게 억제 함

(카) Atranorin (2)을 이용한 암세포의 침윤 및 이동 억제 실험

: atranorin을 처리 했을 때 폐암 및 피부암 세포의 정상세포로의 이동 및 침윤 억제 실험

- ① 그림 30의 A에서처럼 atranorin을 20 µg/ml을 처리했을 때 폐암 세포에서 50%, 피부암 세포에서 40% 까지 정상조직으로의 침윤을 억제 함
- ② 그림 30의 B에서처럼 atranorin을 20 µg/ml을 처리했을 때 폐암 및 피부암 세포에서 각각 20% 까지 정상조직으로의 이동을 억제 함

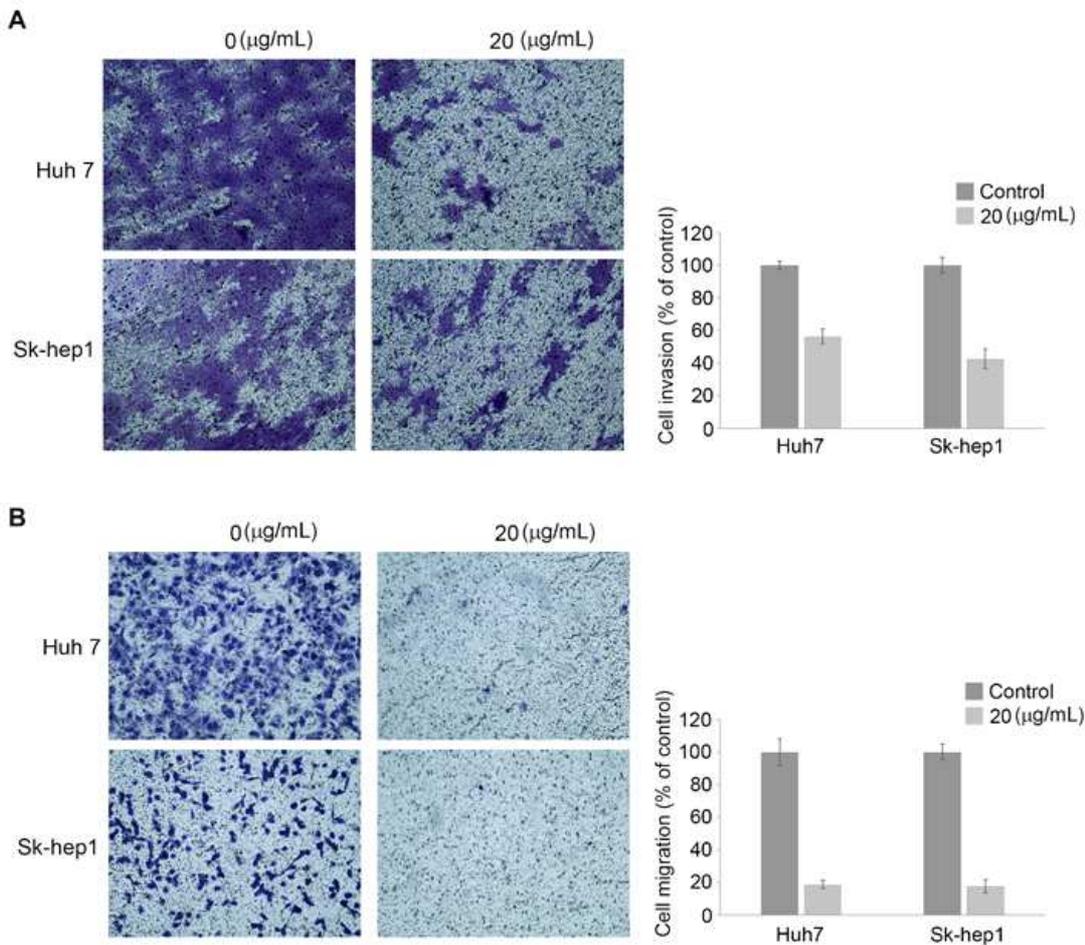


Fig. 30. Cancer cell migration and invasion inhibition effect of atranorin (2).

극지연구소

(4) 결과 요약

- (가) 남극 지의류 추출물들 중 23번이 피부암, 자궁 경부암, 폐암 세포 종들에 대하여 농도 의존적으로 억제 활성을 나타내었음
- (나) 남극 지의류 추출물들 중 42번, 47번, 64번이 NO 생성에 대하여 농도 의존적으로 억제 활성을 나타내었음
- (다) 남극 지의류 *S. caespitosum* (Ant-23)으로부터 총 8 종의 화합물, 5-O-methylhiascic acid (1), atranorin (2), lecanoric acid (3), orsellinylmontagnetol C (4), methyl orsellinate (5), atraric acid (6), methyl haematommate (7), orcinol (8)들을 분리
- (라) 화합물 2번 (Atranorin)에 대하여 암세포 증식 억제 실험, Apoptosis 유도 실험, DNA 복제 억제 실험, 암세포의 자가 치유력 억제 실험, 암세포의 정상세포로의 침윤 및 이동 억제 실험등을 실시
- (마) (라)의 기전 실험들을 통하여 화합물 2번이 농도 의존적으로 암세포를 억제함을 발견

제 4 장 연구개발 목표 달성도 및 대외기여도

4-1. 연도별 연구목표 달성도

가. 월별 추진 일정

세부연구분야	주 단위 추진계획 (2017년)											
	1월	2월	3월	4월	5월	6월	7월	8월	9월	10월	11월	12월
연구 동향 자료 수집												
추출물 제조												
단일성분 분리 및 화학구조분석												
단일물질들의 활성 시험												
논문투고 및 보고서 작성												

나. 연차별 연구개발 목표 및 내용

구분	연구 개발 목표	연구개발 내용 및 범위	연구목표 달성도
1차년도 (2017)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 극지 지의류들에 대한 추출물 확보 ○ 단일성분들의 분리 및 화학구조 동정 ○ 단일성분들의 활성 시험 	<ul style="list-style-type: none"> - 극지 지의류들에 대한 추출물 제조 - 활성 추출물들로부터 HPLC 등을 이용한 단일 성분의 분리 및 NMR 과 MS등을 활용한 화학 구조 분석 - 추출물 및 단일 성분들의 활성 시험 	100% 달성

4-2. 관련분야 연구에의 응용

가. 본 연구를 통해 확보된 해양생물의 발현유전체를 활용하여 생명현상에 대한 연구 및 분자수준에서 관찰되는 생물 영향과 개체수준에서의 변화에 대한 비교 연구는 국내외 다양

한 분야의 연구자들에게 극지생물의 극한 환경 적응기작 규명 및 극지 생태환경 연구를 위한 기초자료로 활용될 것이며, 향후 생태계의 변화를 이해하는데 중요한 자료로 활용될 수 있을 것이다.

나. 극지 생물로부터 분리된 공생미생물, 추출물 및 생리활성검색자료를 바탕으로 국가생명자원을 확보하고 확보된 공생미생물 자원으로부터 생리활성소재의 발굴을 통한 논문투고 및 특허를 확보함으로써 신규자원의 우선권을 확보할 수 있으며, 극지 지의류 공생미생물로부터 얻어진 자료의 DB를 구축하여 국내연구진과 공동연구를 통한 원천기술 및 응용을 통한 산업화 촉진할 수 있다.

다. 본 연구를 통해 확보된 candidate 들을 이용하여 극지 유래 활성물질들의 정확한 target 및 이에 따른 세포 및 모델동물에서 약효를 검증하고자 한다. 이러한 결과 분석을 국내외 다양한 분야의 연구자들에게 제공함으로써, 극지생물의 극한 환경 적응기작 규명 및 극지 생물을 이용한 drugable target 정보 제공에 활용될 것이다.



제 5 장 연구개발 결과의 활용 계획

5-1. 추가 연구의 필요성

가. 신규 대사체 탐색 및 추가적인 활성 규명

- (1) 극지 지의류들은 다양한 대사체를 생성함으로 신규 활성을 가지는 화합물들이 존재 가능
(가) 일부 구조들은 온대 지역에서 발견되는 구조와는 다른 형태의 구조를 가지고 있으며, 추가 활성 연구를 통한 기전 연구의 필요성이 있다.
- (2) 의약품 및 산업용으로 개발 가능한 유용 대사체 확보
(가) 극지 생물 자원으로부터 분리된 대사산물들은 다양한 의료 및 약학, 그리고 화장품 등의 산업용 소재로 개발이 가능하므로 다양한 대사체를 확보할 필요가 있다.
- (3) 신규 대사체 물질특성 규명 연구의 필요
(가) 극지 생물 자원으로부터 분리된 대사산물들은 각각의 작용기에 따라 다양한 특징을 가지므로 연구 가치가 있다.
(나) 극지 대사체들의 구조 연구는 향후 연구에 구조적, 생물학적으로 모태가 될 수 있다.
- (4) In vivo mouse model에서 종양의 억제 활성 실험
(가) 현재까지 셀에서의 기전 실험만 진행하였으며, 실제 동물 모델에서는 기전연구가 되어있지 않음.
(나) 동물 모델에서 독성에 대한 연구가 필요함.
- (5) 유기 합성법에 의한 활성 유도체 및 대량 합성 법 개발
(가) 극지의 자원으로부터 이차 대사산물을 얻는다는 한계가 있음.
(나) 따라서 유기 합성법 개발을 통하여 생물 자원 보존 및 목표로하는 물질을 대량으로 개발할 필요가 있음.
(다) 활성물질에 대하여 다양한 가능성이 있는 유도체들을 합성할 필요가 있음.
- (6) 화합물의 안정성 실험 및 동물 모델에서 체내 약물 동력 등 측정
(가) 약물은 시간이 지남에 따라 분해되어 인체에 독성을 나타내는 경우가 있으므로 온도, 시간, 빛 등에서 분해되는 정도 및 독성을 평가할 필요가 있음.
(나) 동물 모델에서 체내에 약물이 흡수되는 정도 및 배출되는 양을 측정할 필요가 있음.

5-1. 타연구에의 응용

- 연구의 초기 단계로 추가 연구 이후 응용 가능성 모색

5-1. 기업화 추진 계획

- 연구의 초기 단계로 추가 연구 이후 기업화 가능성 모색

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학 기술정보

6-1. 연구 개발 사업 및 규모

- 가. 선진국들은 쇄빙선, 대륙기지 및 남북극권 국가 간의 공동연구를 통하여 극지 해양생물에 대한 자원탐사를 실시하고 있으며, 현재에도 과학 활동의 명목으로 미답지역의 생물자원을 확보하고 있음
- 나. 미국 : 주목으로부터 개발한 “Taxol“은 연간 12억 달러 이상의 매출을 기록하고 있으며 최근에도 AIDS 바이러스에 대한 치료가능성이 있는 화합물을 발굴
- 다. 국립암연구소(NCI)에서는 항암제를 생산하는 해면과 이끼벌레를 해저에서 대규모로 양식하여 해당물질을 대량으로 확보하는 단계에 돌입
- 라. 제약회사인 Lilly group, Corey group, Merck사 등에서도 천연물을 이용한 신약개발 프로젝트를 진행하고 있음
- 마. 북극이사회 회원국이자 남극조약 원초서명국으로 국립과학재단 (National Science Foundation: NSF)이 극지연구정책 및 연구사업을 총괄하고 있으며, 재단 내의 극지프로그램 연구청(Office of Polar Program: NSF-OPP)이 크게 남극연구부와 북극연구부로 구분되어 남극·북극 과학 연구를 담당하고 있음
- 바. University of Alabama at Birmingham의 연구진은 수년간 남극유래 해양생물을 대상으로 한 이차대사물질 연구를 지속적으로 수행하고 있으며, 최근 2016년에 남극유래 균주로부터 methicillin 내성을 갖는 darwinolide라는 대사체를 분리 하였음 (von Salm *et al.*, 2016)
- 사. 전통의학의 처치방법을 토대로 하여 1958년부터 미국 국립 암센터(NCI) 주도하에 1,550속, 3,390종의 식물의 114,000개 추출물로 항암제 개발을 위한 검색 실시. Lilly, Corey, Merck 社 등에서 천연물을 이용한 신약개발 프로젝트 진행 중. 미국 Bristol-Myers Squib사에서 Taxus 속 식물로부터 항암제 Taxol을 개발. 또한, 팔각회향으로부터 개발된 타미플루 (Oseltamivir) 는 2009년 전 세계 매출액이 30억 달러에 달함
- 아. 2000년대 초부터 신약 및 신물질 개발·평가 단계에서의 오믹스 기술의 유용성이 널리 인식되어 이 분야에 대한 지속적인 투자가 진행되어 왔으며, 최근에는 신약개발 단계뿐만 아니라 식품·의약품의 안전성 연구 전반에 오믹스 기술을 적용하기 위한 노력이 FDA 등 규제기관과 국립보건원을 중심으로 확대되고 있음
- 자. Univ. of South Florida의 연구진은 남극유래의 Tunicate로부터 항암세포 사멸효과를 가지는 palmerolide A라는 신규 macarolide형 대사체를 분리
- 차. 정부연구기관, 대학, 기업체 연구소간의 유기적인 협동연구 및 분업화가 이상적으로 이루어지고 있어 연구투자가 낭비 없이 매우 효율적으로 운용되고 있음
- 카. 2013년 들어 미국의 다국적 제약사인 일라이릴리 (Eli Lilly)사에서는 솔라네주맙 (solanezumab)을 가지고 주로 치매증상의 초기와 중기(mild to moderate)에 해당하는 환자들을 대상으로 다시 임상 3상 실험을 진행하기로 미국 FDA에서 승인을 받았음
- 타. 2014년 현재 미국에서는 총 64개의 치매신약이 개발되고 있음. 주로 아밀로이드베타와

타우단백질을 작용점으로 하고 있으며 초기치매환자의 치료를 위하여 비강내로 분무하여 뇌혈류막을 통과할 수 있는 약 혹은 유전자 치료제등이 개발되고 있음

파. 유럽에서는 1970년대 이전부터 전통적 사용경험을 인정하는 허가제도를 인정하고, 천연물분야에 집중적인 투자와 연구를 시작하였는데, 1976년에는 독일약품법 (AMG II) 을 제정하여 천연물의약품은 식물약품이라는 개념을 성립하였으며 1996년부터 정부 주도하 민간회사와 함께 천연물 성분과 유도체를 수집, 확보하여 신약 등으로 개발하는 ‘Natural Product Pool’ 프로그램 시행중. 특히 은행잎의 ginkgo-flavonoid 성분을 혈액순환장애 치료제로 개발하여 독일 내 1개 품목의 연간 매출액이 2억 달러에 달함

하. 독일은 천연물 분야에 집중적인 투자와 연구를 시작하여 버드나무로부터 아스피린을 개발한바 있으며 은행잎으로부터 ginkoflavone glycoside를 분리 개발한 혈액순환 개선제는 연간 약 20억 달러이상의 매출을 기록하고 있으며 최근 정부주도하에 “Natural Product Pool“을 시작하여 천연물 성분물질과 유도체를 수집하여 대단위생리활성 검색을 통하여 신의약품, 신농약 등의 개발 사업을 시작



제 7 장 참고문헌

- Amri, B.J., 2017. *J. Biosciences* 72, 55-62.
- Baron, M., Gorin, P.A.J., Iacomini, M., 1988. *Carbohydr. Res.* 177, 235-239.
- Bhattacharai, H.D., Kim, T., Oh, H., Yim, J.H., 2013. *J. Antibiot.* 66, 559-561.
- Claudia, C., Emerson, F.Q., Laurence, M., Jean-Luc, W., Jabrane, A., Daniel, G., Stéphane, B., Normand, V., 2017. *J. Nat. Prod.* 80, 210-214.
- Elix, J.A., Jayanthi, V.K., Leznoff, C.C., 1981. *Aust. J. Chem.* 34, 1757-1761.
- Fraser, M.H., Cuerrier, A., Haddad, P.S., Arnason, J.T., Owen, P.L., Johns, T., 2007. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 85, 1200-1214.
- Fox, C.H., Klein, E., Huneck, S., 1970. *Phytochemistry* 9, 2567-2571.
- Gonzalez, A.G., Rodriguez, P., Elsa, M., Hernandez, P., Consuelo, E., Bermejo, B.J., 1992. *J. Biosciences* 47, 503-507.
- Hamada, N., Ueno, T., 1990. *Phytochemistry* 29, 678-679.
- Hanssen, H.-P., Schadler, M., 1985. *Dtsch. Apoth. Ztg.* 24, 1239-1243.
- Hylands, P.J., Ingolfssdottir, K., 1985. *Phytochemistry* 24, 127-129.
- Huneck, S., Yoshimura, I., 1996. *Identification of Lichen Substances*. Heidelberg: Springer Verlag, Berlin.
- Huneck, S., 1974. *Phytochemistry* 13, 2313-2314.
- Ingolfssdottir, K., Gissurarson, S.R., Muller-Jakic, B., Breu, W., Wagner, H., 1996. *Phytomedicine* 2, 243-246.
- Ingolfssdottir, K., Gissurarson, S.R., Nenninger, A., Neszmelyi, A., Wiedemann, B., Wagner, H., 1997. *Phytomedicine* 2, 243-246.
- Ingolfssdottir, K., Chung, G.A.C., Skulason, V.G., Gissurarson, S.R., Vilhelmsdottir, M., 1998. *Eur. J. Pharm. Sci.* 6, 141-144.
- Ismed, F., Lohézic-Le Dévéhat, F., Delalande, O., Sinbandhit, S., Bakhtiar, A., Boustie, J., 2012. *Fitoterapia* 83, 1693-1698.
- Ismed, F., Lohezic-Le Devehat, F., Rouaud, I., Ferron, S., Bakhtiar, A., Boustie, J., 2017. *J. Biosciences* 72, 55-62.
- Konig, G.M., Wright, A.D., 1999. *Phytochem. Anal.* 10, 279-284.
- Lavergne, R., 1989. *Plantes medicinales indigenes tisanerie et tisaneurs de la Reunion*. Sciences biologiques. Montpellier: Université des Sciences et Techniques du Languedoc; p. 519-521.

- Lee, K., Yim, J.-H., Lee, H.K., Pyo, S., 2016. Arch. Pharm. Res. 39, 83-93.
- Lopes, T.I.B., Coelho, R.G., Yoshida, N.C., Honda, N.K. 2008. Chem. Pharm. Bull. 56, 1551-1554.
- Luis Vila, J., Canaviri Paz, P., Sterner, O., 2004. Rev. Bol. Quim. 21, 76-79.
- Miyagawa, H., Yamashita, M., Ueno, T., Hamada, N., 1997. Phytochemistry 46, 1289-1291.
- Narui, T., Sawada, K., Takatsuki, S., Okuyama, T., Culberson, C.F., Culberson, W.L., Shibata, S., 1988. Phytochemistry 48, 815-822.
- Nash III, T.H., 2008. Lichen Biology, second ed. Cambridge Univ. Press., Cambridge, New York.
- Øvstedal D.O., Smith. R.I.L., 2001. Lichens of Antarctica and South Georgia: A guide to their identification and ecology. Cambridge, UK, p. 320.
- Seo, C., Sohn, J.H., Ahn, J.S., Yim, J.H., Lee, H.K., Oh, H., 2009. Bioorg. Med. Chem. Lett. 19, 2801-2803.
- Seo, C., Yim, J.H., Lee, H.K., Park, S.M., Sohn, J.-H., Oh, H., 2008. Tetrahedron Lett. 49, 29-31.
- Vila, J., Mollinedo, P., Flores, Y., Sterner, O., 2008. Rev. Bol. Quim. 25, 1-3.
- Vila, J.L., Gimenez, A., 1999. Rev. Bol. Quim. 16, 50-51.
- Vu, T.H., Le Lamer, A.C., Lalli, C., Boustie, J., Samson, M., Lohezic-Le Devehat, F., Le Seyec, J., 2015. PLoS One 10, e0120405/1-e0120405/14.
- Yokota, I., Shibata, S., 1978. Chem. Pharm. Bull. 26, 2668-70.

주 의

1. 이 보고서는 극지연구소에서 수행한 기본연구사업의 연구결과보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 극지연구소에서 수행한 기본연구사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.