

## 울릉도 주목(*Taxus cuspidata* var. *latifolia*)의 Taxol 및 관련 화합물의 함량분석

최명석·곽상수\*·박용구·유장렬

한국과학기술연구원 유전공학연구소 생물자원연구그룹, \*경북대학교 임학과

### Analysis of Taxol and Related Compounds in Ullung Island Yew (*Taxus cuspidata* var. *latifolia*)

Myung-Suk Choi, Sang-Soo Kwak,\* Young-Goo Park and Jang R. Liu

Bioresources Research Group, Genetic Engineering Research Institute, KIST,  
P.O. Box 115, Yusong, Taejon 305-600, Korea

\*Department of Forestry, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

#### ABSTRACT

The content of taxol and related compounds in various tissues of native yews (*T. cuspidata* var. *latifolia*) grown in 5 locations of Ullung Island were analyzed. A considerable range of variation in the content was observed in the needle and bark collected from different trees located at the same area as well as at five different areas. Taxol content was much higher in the needle (0.017% on the dry weight basis) than those in the bark, whereas the content of 10-deacetyl baccatin III (10-DAB III) was slightly higher in the bark (0.073%), regardless of the location of the trees collected. Particularly, the needle collected from the Hyunpo area, which located in North-west part of Ullung Island, contained the highest level of taxol (0.024%) exceeding the reported level in dried barks of Pacific yew and also somewhat higher level of its precursor, 10-DAB III (0.049%). These results suggested that the needle of the yew at the Ullung Island could be suitable materials as a renewable source for the mass production of taxol.

#### 서 론

Taxol은 1971년 태평양주목(*T. brevifolia*)의 수피로부터 분리된 diterpene계 taxane으로 난소암 등에 탁월한 치료효과가 있는 항암물질이다(1). 이 화합물은 tubuline polymerization을 안정 또는 촉진시키지만, 반대로 depolymerization을 억제하는 것으로 지금까지의 세포분열억제제와는 다른 특이한 작용기작을 가지고 있다(2). 그러나 공급부족으로 난소암치료뿐 아니라 유방암 등 다양한 임상시험에 많은 어려움이 있는 실정이다(3).

현재 taxol의 공급은 지구상에 자생하는 주목수피

에 의존하고 있으나 제한된 자원과 생태계 보존 측면에서 이 방법에 의한 지속적인 공급에는 한계가 있다. 또한 taxol은 구조가 복잡하여 화학합성이 매우 어렵다. 따라서 주목의 대량식재를 통하여 나무에 피해를 거의 주지 않고 지속적인 채취가 가능한 조직으로부터 taxol을 직접 추출하거나 전구물질을 확보하여 이로부터 반합성하는 방법, 조직배양 및 미생물배양에 의한 대체생산 방법이 활발히 연구되고 있다(3, 4). 프랑스 연구진은 유럽주목(*T. baccata*) 잎에 건물중당 약 0.1% 함유되어 있는 taxol의 전구물질 10-deacetyl baccatin III(이하 10-DAB III로 약함)를 추출하여 몇 단계의 화학반응에 의한 반

합성법으로 taxol과 Taxotere을 생산하는 연구가 보고되어 있다(5). 그러나 반합성보다 taxol 생산단가를 낮출 수 있는 합리적인 taxol 생산방법은 taxol을 많이 함유하고 있으면서 지속적으로 채취가 가능한 조직을 가진 식물체를 확보하여 이로부터 여러 가지 방법으로 taxol을 생산하는 것이라 하겠다.

한국에 자생하는 주목속(*Taxus*)에는 2종(*T. cuspidata* Sieb. et Zucc, *T. caespitosa* Nakai), 1변종(*T. cuspidata* var. *latifolia*)의 3종이 있다. 한국 자생 주목에 함유되어 있는 taxol 및 관련 화합물의 함량분석에 대해서는 저자들(6)과 변 등(7)의 보고가 있다. 특히 저자들에 의해 분석된 울릉도주목(*T. cuspidata* var. *latifolia*, 일명 회솔나무)의 잎에는 taxol 함량이 매우 높음이 밝혀져 taxol의 대량생산 연구에 좋은 재료로 기대되고 있다. 본 연구에서는 울릉도에 자생 또는 식재되어 있는 주목의 taxol 및 관련 화합물의 함량변이를 5개 지역으로 나누어 자세히 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 식물재료

울릉도에 자생 또는 식재되어 있는 주목(*Taxus cuspidata* var. *latifolia*, 일명 회솔나무)의 각 지역간 taxol 및 전구물질인 10-DAB III의 함량변이를 조사하기 위해 Fig. 1에 나타낸 5개 지역 37개체(통구미지역 5개체, 기타 지역은 각 8개체)로부터 1.5m 높이의 결가지를 1993년 8월에 채취하여 잎과 수피를 분리하였다. 또한 부위별 함량변이를 조사하기 위하여 통구미지역의 주목 5개체로부터 잎, 수피, 신초줄기, 미성숙 종자를 같은 시기에 채취하였다. 분리한 각 부위를 50°C에서 24시간 건조시킨 후, 0.1mm 메쉬를 통과하도록 유탄에서 분말을 만들어 -70°C에서 보관하여 분석에 사용하였다.

### Taxol 및 관련물질의 추출

Taxol 및 관련물질의 추출 및 분석은 Vidensek 등(8)의 방법을 변형하여 실시하였다. 건조분말 1.5g을 100ml 삼각플라스크에 넣고 n-hexane 20ml로 12시간 추출하여 n-hexane 가용부분을 여과하여 제거하였다. 여기에  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH(1:1) 혼합액 20ml를 넣고 12시간 추출하여(이 과정을 2회 반복) 얻어진 추출액을 40°C에서 감압여과하였다. 농축액을  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 와  $\text{H}_2\text{O}$ 의 혼합용액(각 20ml)으로 분배한(이 과정을 2회 반복) 후, 원심하여

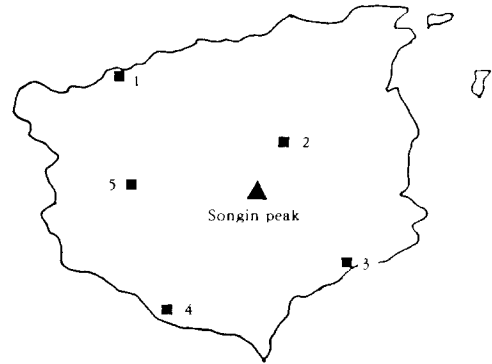


Fig 1. Sampling sites of native yews(*Taxus cuspidata* var. *latifolia*) grown in 5 locations of Ulung Island(1:Hyunpo, 2: Nari basin, 3: Dodong, 4: Tonggumi, 5: Taewha pass). All samples were collected in August, 1993.

$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 가용부분을 감압 농축하였다. 농축액을 소량의 MeOH에 녹인 후, 분취용 TLC plate(Silica gel 60 F<sub>254</sub>, 1.0×20×20cm, Merck)에 충전하여 전개 용액으로  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH(98:2)을 사용하여 화합물을 분리하였다. 이 조건에서 taxol과 10-DABIII의 R<sub>f</sub> 값은 각각 0.42와 0.22였다. R<sub>f</sub> 값 0.32-0.49와 0.17-0.29를 각각 taxol 분획과 10-DABIII분획으로 하였다. 각각의 분획을 TLC plate로부터 분리하고 MeOH로 taxane류를 추출한 후 농축하였다. 농축액을 소량의 MeOH에 녹여 0.45 $\mu\text{m}$  FH-type Millipore filter로 여과한 후 HPLC로 정량분석하였다.

### Taxol 및 관련물질의 정량분석

HPLC 분석은 Curosil-G column(250×4.6mm, 6 $\mu\text{m}$ )을 이용하여 표준 taxane화합물과 비교하여 정량분석 하였다. 용출액(10mM ammonium acetate, pH 4.0: acetonitrile, 55:45)의 유속은 1.5ml/min로 하였으며, UV 228 nm에서 각 화합물을 검출하였다. 이때 taxol, cephalomannine, baccatin III 및 10-DAB III의 retention time은 각각 10.35, 8.91, 3.95, 2.85분이었다(Fig. 2).

## 결과 및 고찰

울릉도 주목(*Taxus cuspidata* var. *latifolia*, 일명 회솔나무)의 각 부위로부터 taxol 및 관련 화합물의

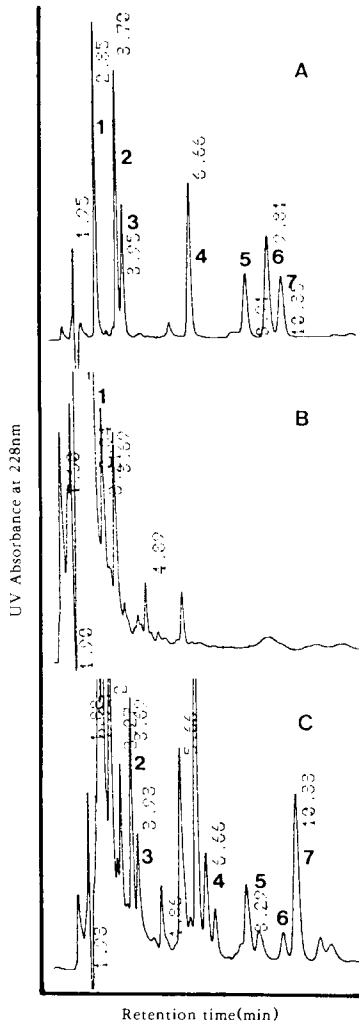


Fig 2. HPLC chromatograms of authentic taxane compounds(A) and extracts from needles of native yew growing in Ulung Island(B, C). A: authentic taxane compounds, 1; 10-deacetyl baccatin III, 2; 7-epi 10-deacetyl baccatin III, 3; baccatin III, 4; 10-deacetyl taxol, 5; cephalomannine, 6; 7-epi-10-deacetyl taxol, 7; taxol, B; 10-DAB III TLC fraction, C; taxol TLC fraction.

함량을 조사하였다. Table 1은 통구미지역에 재식된 주목을 1993년 8월에 채집하여 각 부위별로 taxol 및 관련 화합물의 함량을 분석한 결과이다. 동일개

Table 1. The content of taxol and related compounds in various tissues of yews (*T. cuspidata* var. *latifolia*) grown in the Tonggumi area of Ullung Island\*

	Taxol	Cephalomannine	Baccatin III	10-DAB III
Bark	43.5±32.2	83.2±65.5	106.8±112.5	1328.6±1134.4
Needle	195.3±77.4	404.3±146.8	96.6±131.3	855.3±733.1
Seed	6.7±4.2	2.3±0.9	12.0±17.1	17.0±10.4
Stem	7.6±4.5	9.6±7.8	7.0±5.4	85.7±32.1

\* Taxane content( $\mu\text{g}$ ) was showed on the g dry weight in bark, needle and stem, whereas on the g fresh weight in seed.

체의 잎, 수피, 신초줄기 및 미숙종자에서의 taxol 및 관련 화합물의 함량은 매우 큰 차이를 보였다. Taxol 및 관련 화합물의 함량은 잎과 수피에서 높았으며, 신초줄기와 미숙종자에서는 낮았다. 잎에서 taxol과 cephalomannine의 함량은 각각 0.0195%와 0.040%로 가장 높았으며, 전구물질인 10-DAB III와 baccatin III의 함량은 수피에서 건물 중 기준으로 0.133%와 0.086%로 가장 높았다.

울릉도 전역에 자생 또는 재식되어 있는 주목에 함유되어 있는 taxol 및 전구물질(10-DAB III)의 함량변이를 조사하기 위하여 Fig. 1에 표시된 5개 지역으로부터 채취한 잎과 수피를 대상으로 함량분석한 결과를 Table 2에 나타내었다. 조사지역 중 나리분지와 태화령은 자생지에 해당하며, 기타 3개 지역은 자생지로부터 재식된 지역이다. 조사한 5개 지역의 주목잎과 수피에서는 taxol을 비롯한 관련 물질이 검출되었으며, 이들 taxane 화합물의 함량은 개체뿐 아니라 지역간에도 큰 변이를 보였다. 건물중 기준으로 계산한 37개체 잎의 평균 taxol 함량은 0.017%로 수피의 0.003%보다 월등히 높았으며, 이는 보고된 태평양주목 수피의 함량(0.02%)에 상당하는 것이다. 전구물질 10-DAB III의 전체 평균 함량은 수피에서 0.073%로 잎의 함량 0.054%보다 약간 높았다.

조사지역 중 잎의 taxol 함량은 현포지역에서 건물중 당 0.024%로 가장 높았고, 다음은 통구미(0.020%), 도동지역(0.019%)에서 높았으나, 자생지역인 나리분지와 태화령의 시료에서는 0.013%와 0.011%로 타지역에 비해 비교적 낮은 수준이었다. 수피의 taxol 함량은 조사 전지역에서 기존 보고되어 있는 주목수피의 taxol 함량에 비해 매우 낮았다. 한편 taxol의 전구물질 10-DAB III의 함량은 통구미

**Table 2.** The content of taxol and its precursor, 10-deacetyl baccatin III in the needle and bark of native yew(*T. cuspidata* var. *latifolia*) grown in 5 locations of Ullung Island.

Location	Taxol ( $\mu\text{g/g}$ dry weight)		10-Deacetyl baccatin III ( $\mu\text{g/g}$ dry weight)	
	Needle	Bark	Needle	Bark
Hyunpo (n=8)	243.0 $\pm$ 101	24.2 $\pm$ 30	494.0 $\pm$ 418	576.4 $\pm$ 650
Nari basin (n=8)	128.4 $\pm$ 32	16.5 $\pm$ 16	526.9 $\pm$ 421	790.1 $\pm$ 484
Dodong (n=8)	192.6 $\pm$ 99	36.6 $\pm$ 20	480.3 $\pm$ 335	670.6 $\pm$ 826
Tonggumi (n=5)	195.3 $\pm$ 77	43.7 $\pm$ 32	855.1 $\pm$ 733	1,328.4 $\pm$ 1,135
Taewha pass(n=8)	106.9 $\pm$ 23	44.5 $\pm$ 50	367.2 $\pm$ 235	280.8 $\pm$ 688
Mean (n=37)	173.2 $\pm$ 55	33.1 $\pm$ 12	544.7 $\pm$ 184	729.3 $\pm$ 384

지역에서 잎과 수피 모두에서 각각 0.086%와 0.133%로 가장 높았다. 특히 섬 북서지역에 위치한 현포지역 주목잎의 평균 taxol 함량은 건물중 당 약 0.024%로 기존에 보고된 태평양주목의 수피의 함량보다 높은 것이며, 전구물질의 함량도 0.049%로 비교적 높았다. 이상의 결과로 지속적으로 채취가 가능한 울릉도 주목잎은 taxol 생산의 중요한 자원이 될 수 있을 것으로 기대된다.

태평양주목의 경우 내륙 산간지방의 주목에 비해 서북부 해안지역의 것이 taxol 함량이 높고, 유럽 주목 잎에서 taxol의 전구물질이 특이하게 많이 함유되어 있는 것은 아마도 자생지역의 환경적인 요인에 의한 것으로 여겨진다(9, 10). 한편, 식물세포배양에 의한 유용물질생산은 여러 가지 배양요인에 의해 생산성이 크게 좌우되는데, 특히 NaCl을 *Catharanthus roseus*(11), *Coffea arabica*(12), *Datura innoxia*(13)의 현탁배양세포에 처리하여 알칼로이드 생산성을 증가시킨 연구가 있다. 이러한 측면에서 울릉도주목 잎에서 taxol의 고함량은 울릉도지역의 특수한 환경적인 요인(salt stress, 높은 습도 등)에 의한 것으로 간주된다. 특히 울릉도에서도 섬의 중앙에 위치한 자생지역보다 해안 인접지역의 주목에서 함량이 높았으며, 특히 울릉도의 북부지역에 해당하는 현포지역에서 taxol 함량이 가장 높은 점은 환경요인 측면에서 주목할 만하며 이에 대한 자세한 검토가 있어야 하겠다. 또한 울릉도주목은 소백산, 지리산 등에 내륙주목(*T. cuspidata* Sieb. et Zucc)의 변종(var. *latifolia*는 잎이 크다는 의미임)으로 잎의 길이가 약 2.60cm로 소백산(2.00cm)과 지리산(1.82cm)의 것보다 매우 길 뿐 아니라, 진한 잎색을 띠는 특징도 taxol 고함량과 무관하지는 않

은 것 같다(6).

본 연구에서 확인된 울릉도주목 잎의 taxol함량은 보고된 태평양주목의 수피의 함량에 필적하는 양으로 울릉도주목은 taxol의 경제적인 생산에 좋은 재료가 될 것으로 사료된다. 즉 자생 또는 재식되어 있는 주목 잎 또는 고탍유 식물체를 삼복 등으로 번식한 후 재배 주목 잎으로부터 taxol과 전구물질을 추출하거나, 세포배양의 방법으로 생산에 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

## 요 약

울릉도주목(*Taxus cuspidata* var. *latifolia*, 일명 회솔나무)의 각 부위에 함유되어 있는 taxol 및 관련 화합물의 함량을 조사한 결과 taxol 및 cephalomannine함량은 잎에서 높았고, 전구물질인 10-deacetyl baccatin III(10-DAB III), baccatin III의 함량은 수피에서 높았으며, 신초출기와 종자에서의 taxane 함량은 매우 낮았다. 또한 울릉도 전역에 자생 또는 재식되어 있는 주목의 taxol 및 전구물질 10-DAB III의 함량변이를 조사한 결과, 5개 지역(나리분지, 태화령, 현포, 통구미, 도동)의 잎과 수피에서 이들의 함량은 개체뿐 아니라 지역 사이에 큰 변이를 나타내었다. 분석개체 전체의 잎에서의 평균 taxol 함량(건물중 기준으로 0.017%)은 수피의 것(0.003%)보다 월등히 높았으며, 전구물질 10-DAB III의 전체 평균함량은 수피(0.073%)가 잎(0.054%) 보다 약간 높았다. 특히 섬 북서지역에 위치한 현포지역 주목 잎의 평균 taxol 함량은 약 0.024%로 이는 보고된 태평양주목의 수피의 것보다 높은 것이며, 전구물질의 함량도 0.049%로 비교적 높았다. 이상의 결과로 지속적으로 채취가 가능한 울릉도주목 잎은 taxol 생산을 위한 중요한 자원이 될 수 있을 것으로 기대된다.

## 감 사

본 논문은 과학기술처 선도기술개발사업의 연구결과(N81160W)이다. 표준 화합물을 제공하여 준 미국 국립보건원 국립암연구소(NIH-NCI)와 Virginia Polytechnic Institute and State University의 D. G. I. Kingston 교수에게 감사한다. 또한 본 논문의 세심한 수정과 논평을 해 준 이문순 박사에게 감사한다.

## 참고 문헌

1. M. C. Wani, H. L. Taylor, M. E. Wall, P. Coggon and A. T. McPhail(1971), *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 2325.
2. P. B. Schiff, J. Fant and S. B. Horwitz (1979), *Nature*, **277**, 665.
3. G. M. Cragg, S. A. Schepartz, M. Suffness and M. R. Grever(1993), *J. Nat. Prod.*, **56**, 1657.
4. A. Stierle, G. Strobel and D. Stierle(1993), *Science*, **260**, 214.
5. J. P. Denis, A. E. Green, D. Guenard, F. Gueritte-Voegelein, L. Mangatal and P. Potier(1988), *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 5917.
6. M. S. Choi, M. K. Lee, S. S. Kwak, Y. G. Park, Y. H. Ahn and J. R. Liu(Submited to *J. Nat. Prod.*,).
7. S. Y. Byun, I. S. Kang and K. H. Kim(1993), *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **8**, 122.
8. N. Vidensek, P. Lim, A. Campbell and C. Carlson(1990), *J. Nat. Prod.*, **53**, 1609.
9. M. Suffness(1993), *Stony Brook Symposium on Taxol and Taxotere: New Hope for Breast Cancer Chemotherapy*, May 1993, Abstract, 3.
10. N. C. Wheeler, K. Jech, S. Masters, S. W. Brobst, A. B. Alvarado, A. J. Hoover and K. M. Snader(1992), *J. Nat. Prod.*, **55**, 432.
11. J. I. Smith, N. J. Smart, W. G. W. Kurz and M. Misawa(1987), *J. of Experi. Bot.*, **38**, 1501.
12. P. M. Frischknecht and T. W. Baumann (1985), *Phytochem.*, **24**, 2255.
13. J. Brachet and L. Cosson(1986) *J. of Experi. Bot.*, **37**, 650.