

## 합환피 (*Albizzia julibrissin*)의 성분이 종양세포에 미치는 영향

최병돈\* · 염 곤  
단국대학교 미생물학과

### Cytotoxicity of the Components of *Albizzia julibrissin*

Byung-Don CHOI and Kon RYEOM

Department of Microbiology, Dankook University, Cheonan, 330-714, Korea

(Received November 3, 1999; accepted December 6, 1999)

**Abstract**—By cytotoxicity screening of the 65 Korean medicinal plants against leukemia L1210 and P388D<sub>1</sub> cell line using the MTT assay *in vitro*, *Albizzia julibrissin* was studied. This plant was extracted with MeOH and MeOH extract was solvent-fractionated with CHCl<sub>3</sub>, EtOAc and n-BuOH in sequence. Each fraction by various solvents system was purified by column chromatography and preparative TLC, and four compounds were isolated. The structure of each compound was deduced from UV, IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR and CI-MS spectral data. The cytotoxic activity (IC<sub>50</sub>) of the compounds, quercetin-3-rhamnoside, 4',5,7-trihydroxyflavan-3-glucoside, spinasterol-3-glucoside and acacic acid lactone, were evaluated as 5 µg/ml, 3 µg/ml, 2 µg/ml, 1 µg/ml against L1210 and as 8 µg/ml, 10 µg/ml, 1.5 µg/ml and 0.9 µg/ml against P388D<sub>1</sub>, respectively.

**Keywords** □ *Albizzia julibrissin*, cytotoxicity, quercetin-3-rhamnoside, 4',5,7-trihydroxyflavan-3-glucoside, spinasterol-3-glucoside, acacic acid lactone

천연물로부터 생리활성 물질을 찾고자 하는 연구는 선진 각국에서 많은 연구가 이루어져 왔고, 실제로 의약품, 농업 제품, 정밀화학제품 등 여러 분야에서 실용화되고 있다. 특히, 종양의 억제와 치료에 대한 연구는 개선된 화학요법제 및 치료약물의 개발과 새로운 약물의 지속적인 개발을 요구해 왔다. 국내에서도 항암제 개발을 위하여 여러 암세포주를 이용한 항암성 물질의 검색이 수행되고 있는데 (Bae 등 1992; Lee 등 1986; Chang 등 1982)이 L1210 및 P388을 이용하여 보고한 바가 있다. *in vitro*에서 세포증식 저해활성을 측정하는 방법으로는 MTT[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] assay법 (Carmi-chael 등 1987)이 개발되어 비교적 정량적 결과를 단시일 내에 얻을 수 있어 *in vitro* screening에 널리 이용되는 방법이 지만 (Regina와 Neubauer 1987) 측정방법, 측정대상 등에 대한 차이로 인하여 결과에 많은 차이를 보이고 있다. 이 MTT assay법은 살아있는 세포내 mitochondria의 탈수소효소에 의한 것으로써, 환원된 MTT시약에 의해 생성된 formazan의 흡광도를 측정하는 간접적인 방법이다. 그러나 살아있는 세포의 수를 정확히 측정할 수 있다는 장점이 있지만 세포내의 환경에 민감하다는 단점이 있어 최근에는 SRB 방법이 사용되기도 한다. (Rubinstein 등 1990). 한편

여기에서 연구된 합환피는 콩과(Leguminosae)에 속하는 낙엽 활엽 소교목으로서 지리적으로는 아시아 및 아프리카에 분포하며 국내에서도 전국 각지에 자생한다. 이 생약은 강장, 흥분, 이뇨, 구충, 진해, 진통작용이 알려져 있는데 본 연구에서 유효한 세포독성능을 나타내는 것으로 평가되었다. 그러나 천연물의 약효는 그 활성이 각각 다를 수도 있는 전체 활성성분간의 작용이므로 현대 약물학적 관점으로는 해석하기 어려운 점이 많고, 약효검정방법과 분리조건에 따라서 전혀 다른 약효성분이 분리되기도 하여 이를 일반화 시키기에 상당히 어려운 문제점을 안고 있는 실정이다. 따라서 본 논문은 천연물을 자원으로 하여 생리활성물질을 찾던 중 세포 독성면에서 가장 효과가 좋은 것으로 판단된 *Albizzia julibrissin*을 대상으로 마우스의 암세포에 작용하는 성분들을 조사하고 그 효과를 평가하였다.

### 재료 및 방법

#### 세포주의 검정 및 특성 측정

##### 세포주의 검정

세포주로는 mouse lymphocytic leukemia cell인 L1210과 P388D<sub>1</sub> 및 정상세포주인 Vero E6에 사용하였다. 이들은 단국대학교 동물자원 연구소로부터 분양받아 배양해 온 것이다. 이 세포주를 well당 5×10<sup>3</sup>, 1×10<sup>4</sup>, 2.5×

\*To whom correspondence should be addressed.

10<sup>4</sup>, 5×10<sup>4</sup>, 1×10<sup>5</sup> 세포수가 되도록 넣어주고 5일 배양 후에 MTT(Sigma Co.) assay법(Carmichael등 1987)으로 실험하여 증식상태를 조사하였다.

**세포독성 측정**

3차중류수에 L-glutamine이 포함된 RPMI1640, EMEM 배지를 녹여 사용하였고, 10%우태아 혈청 [Fetal Bovine Serum(FBS), Sigma Co.] 과 1% Antibiotic- Antimycotic solution(100×) 혹은 Penicillin G 100 I.U/ml, Streptomycin 100 µg/ml을 첨가하여 사용하였다. 세포배양 배지는 Thioglycollate broth에 상,하 0.5 ml씩 배지를 접종하여 30°C에서 3일간 배양한 후 오염여부를 판단하였다. 세포주는 37°C, 5%CO<sub>2</sub>가 유지되는 항온항습기에서 3-4일 동안 배양한 후 450×g로 5분동안 원심분리하고 D-PBS(phosphate buffer saline, pH: 7.4)로 한번 세척한 후 새로운 배지에 부유시켜 culture flask(Nune Co.)에 접종한 후 CO<sub>2</sub> incubator(Yamato Co.)에서 배양하고 Fig. 1의 방법으로 실험하였다. 시료는 50% DMSO용액에 녹여 membrane filter(pore size; 0.22µm)로 제균한 뒤 실험 직전에 D-PBS로 희석하여 실험에 사용하였는데 배지내에 최종 DMSO농도가 0.5%를 넘지 않도록 하였다. 측정에 사용된 농도는 1 mg/ml~0.01 µg/ml까지 10배씩 및 100 µg/ml~0.032 mg/ml까지 5배씩 serial dilution하여 20 µl를 접종하였다. 대조군은 D-PBS만으로 처리하였으며 별도로, 비교약물로서 항암제인 Adriamycin(일동제약)을 사용하였다. 모든 실험은 3개의 well을 사용하여 평균치를 구하였고 동일 실험을 3차례 실시한 후 흡광도를 대조군의 흡

광도와 비교하여 다음의 공식에 따라 생존율(%)을 구하였다.

$$\text{생존율} = \frac{\text{실험군의 평균 흡광도} - \text{기준 흡광도}}{\text{대조군의 평균 흡광도} - \text{기준 흡광도}} \times 100$$

생약추출물의 세포 독성능은 세포의 증식을 50% 억제할 수 있는 농도(50% Inhibitory Concentration; IC<sub>50</sub>)값으로 나타내었으며 본 실험에서 사용한 MTT 점정법에서는 흡광도가 대조 well에 비해 50% 감소한 값으로 결정하였다.

**시료의 조제 및 정제**

본 실험에 사용된 생약은 경동시장에서 구입하였으며 시료 6 kg을 Fig. 2에 따라 추출하였다.

각 추출 엑스를 가지고 칼럼 크로마토그래피를 행하였다. φ41 mm×810 mm의 칼럼에 충전제로써 silicagel60 (70-230 mesh, Merck Co.)을 70 cm 충전하여 각 fraction당 30 ml씩 50개의 분획을 얻어 농축한 다음 각 fraction에 대한 세포독성을 확인한 후 유효분획을 합하였다. 이때의 세포독성 실험은 시료의 농도를 10 µg/ml이하로 하여 실험하였다.

다시 유효분획의 엑스로 다시 2차 칼럼 크로마토그래피를 하였다. φ25 mm×500 mm의 칼럼에 같은 충전물을 40 cm 충전하고 각 fraction당 10 ml씩 30개의 분획을 얻어 농축 후 유효성분을 TLC로 확인하였다.

최종 정제를 위해 유효분획 엑스를 가지고 preparative TLC (silicagel 60F<sub>254+365</sub>, Merck Co.)를 행하였고 분석용

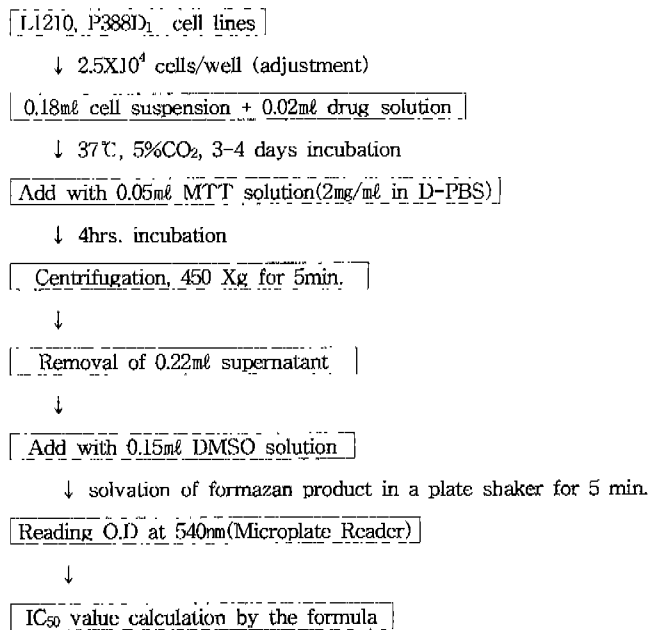


Fig. 1. Experimental procedure of MTT assay.

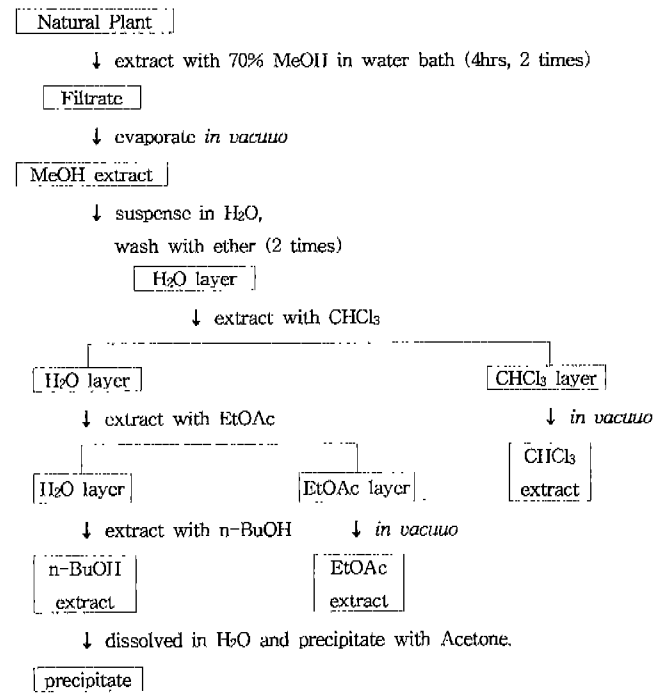


Fig. 2. Extraction procedure of crude materials from natural plant.

TLC와 병행하여 유효성분의 위치를 확인하였다. 확인된 유효성분은 따로 분리하여 알맞은 용매로 추출 후 농축하여 최종물질을 4종 분리하였는데  $\text{CHCl}_3$ 층에서의 화합물 1은 64 mg, EtOAc층에서의 화합물 2, 3은 32 mg과 27 mg, n-BuOH층에서의 화합물 4는 45 mg을 얻었다. 그리고 정제하는 동안 시료는 20  $\mu\text{g/ml}$ 에서 0.0064  $\mu\text{g/ml}$ 까지 5배수로 희석하고 전과 동일한 방법으로 세포독성시험을 행하였다.

#### 물질의 동정

분리된 4종의 물질을 가지고 물질의 구조를 확인하였다.  $\text{CHCl}_3$ 층에서 분리된 물질을 화합물 1로, EtOAc층에서 분리된 물질을 화합물 2, 3으로, n-BuOH층에서 분리된 물질을 화합물 4로 명명하였다. 이들 물질의 용매로서 화합물 1은 MeOH에, 화합물 2, 3, 4는  $\text{CHCl}_3$ 에 용해하여 분석을 행하였다.

#### 이화학적 분석

각 시료의 0.01% 용액을 가지고 LB reaction, Ferric chloride reaction, Mg-HCl 또는 Zn-HCl reaction 등을 관찰하였다.

#### 당의 분석

시료 5 mg을 취하여 10%황산 1 ml를 넣고 100°C에서 6 hr가수분해시켰다. 여과 후 여액을  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  수용액으로 중화하고 TLC(silicagel GF<sub>254</sub>, Merck Co.)법으로 분석하였다. 전개용매로는 n-BuOH : Acetone : Phosphate buffer (pH : 5.0)=40 : 50 : 10을 사용하고 발색제로서 Anisaldehyde-sulfuric acid를 분무 후에 105°C로 가열하여 발색되는 당의 위치를 표준품과 비교하였다.

#### 융점의 측정

시료를 약 2 mg을 취하여 융점 측정기(Mettler FP61)로 측정하였다.

#### UV spectrum의 측정

시료는 각 용매에 녹이고 UV Spectrophotometer(Jasco V-550)로 측정하였고 이중에서 flavonoid로 추정되는 화합물 1과 2는 다음과 같이 측정하였다. 시료를 흡광도 약 0.6이 되도록  $\text{CHCl}_3$  또는 MeOH에 용해한다. 시료 2 ml에 NaOMe(sodium meth-oxide) 3적을 가해 혼합하여 spectrum을 측정하고 5분 후 분해되는 spectrum을 다시 측정하였다. 따로 시료 2 ml에  $\text{AlCl}_3$ (5%수용액) 6적을 넣

고 혼합하여 spectrum을 측정하고 HCl 3적을 가해  $\text{AlCl}_3/\text{HCl}$  spectrum을 측정하였다. 그리고 시료 2 ml에 NaOAc(sodium acetate) 100 mg을 넣어 녹인 후 NaOAc spectrum을 측정하고  $\text{H}_3\text{BO}_3$  50 mg을 가해 NaOAc/ $\text{H}_3\text{BO}_3$  spectrum을 측정하였다.

#### IR spectrum의 측정(Krebs등 1969)

각 화합물의 관능기를 조사하기 위하여 IR spectrum(Jasco FT/IR-5300)을 KBr정제법에 의해 측정하였다.

#### <sup>1</sup>H-NMR에 의한 분석

각 화합물의 proton 위치 및 수를 조사하기 위하여 <sup>1</sup>H-NMR (Varian Vxr200s, Bruker Arx-300)을 사용하였고, 시료에 따라 약 5 mg을  $\text{CDCl}_3$ +TMS 또는  $\text{CD}_3\text{OD}$ 에 용해하여 측정하였다.

<sup>13</sup>C-NMR에 의한 분석-각 화합물에 대한 carbon의 위치와 수를 분석하기 위하여 <sup>13</sup>C-NMR (Bruker Arx-300)을 사용하였고 시료에 따라 약 1 mg을 알맞은 용매에 용해하여 측정하였다.

CI-MS에 의한 분석-각 화합물의 분자량을 조사하기 위하여 Mass Spectrophotometer (Exrel ELQ-400)를 사용하여 화학적 이온화 방법으로 측정하였다.

## 결과 및 고찰

국내에 자생하는 식물로부터 생약으로 사용되고 있는 65종을 선정하여 중앙세포에 독성을 나타내는 생약을 검색하던 중 효과가 가장 좋은 것으로 분석된 *Albizzia julibrissin*을 선별하였는데 이의 중앙세포 독성을 보면 강 등 Kang등 (1986)이 보고한 20  $\mu\text{g/ml}$ 보다 우수한 10  $\mu\text{g/ml}$ 을 보여주었고 정상세포 독성은 Adriamycin에 비해 독성능이 약한 것으로 나타났다.

#### 세포주의 활성화

세포주는 양호한 증식상태를 보였고 각기  $2.5 \times 10^4$  cells/well의 수가 가장 증식률이 높아 실험을 하기에 가장 최적의 농도로 판단하였다.

#### 정제단계별 세포독성

각 추출물에 대한 정제단계별 세포독성은 Table 2와 같으며 대조물질의 세포독성은  $\text{IC}_{50}$ 값이 L1210에서 0.5

Table 1. Chromatographic conditions of various solvents for fractionation from crude material

Material	1st. Chromatography	2nd. Chromatography	pTLC	Identification
C ex.	C:M (2 : 1 → 1 : 1 → 1 : 2)	C:E:A (5 : 1 : 4)	T : C : A (40 : 25 : 35)	UV254,365
E ex.	B:M (2 : 1 → 1 : 1 → 1 : 2)	B:E (8 : 2)	E:M:W (10 : 2 : 1)	UV254, Vanillin- $\text{H}_2\text{SO}_4$
B ex.	C:M (2 : 1 → 1 : 1 → 1 : 2)	B:C:M (43 : 43 : 13)	C:M (94 : 6)	Vanillin- $\text{H}_2\text{SO}_4$

C :  $\text{CHCl}_3$ ; M : MeOH; B : Benzene; E : EtOAc; T : Toluene; W :  $\text{H}_2\text{O}$ ; A : Acetone

**Table 2.** Cytotoxicity of the extracts and compounds from *Albizzia julibrissin*

Original plant	I C <sub>50</sub> (μg/ml)		
	L1210	P388D <sub>1</sub>	Vero E6
Control	0.5	0.8	60
MeOH extract	10	40	100
CHCl <sub>3</sub> extract	3	10	70
EtOAc extract	3	4	60
BuOH extract	7	18	90
compound 1	5	8	*
compound 2	3	10	-
compound 3	2	1.5	-
compound 4	1	0.9	-

\* : not examined

μg/ml, P388D<sub>1</sub>에서 0.8 μg/ml을 나타낸 바, 각 화합물들은 adriamycin에 비해서 암세포독성이 약한 것으로 판단되었다.

**화합물 1**

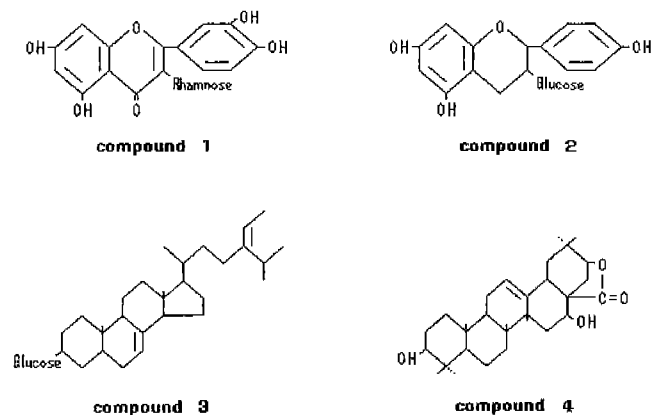
황색의 분말, 용점 168°C, Zn-및 Mg-HCl(홍색), FeCl<sub>3</sub>(녹색)을 나타내 flavonoid계통으로 추정되었다. 당은 rhamnose로 확인되었고(Harborne와 Mabry 1982). UV spectrum (λ<sub>max</sub>: nm) 및 Band 이동은 MeOH에서 257, 351; NaOMe 첨가시 271, 327(7번-OH), 394; AlCl<sub>3</sub> 첨가시 274, 429; AlCl<sub>3</sub>/HCl 첨가시 271, 355, 402이고 AlCl<sub>3</sub>/HCl 첨가시보다 AlCl<sub>3</sub> 첨가시 shift의 이동이 크게 일어난 것으로 보아 A ring의 5위 및 B ring에 free dihydroxyl group이 존재한다는 것을 알 수 있었다(Markham, 1982). NaOAc 첨가시 272, 324, 384; NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 첨가시 271, 297, 369이며 bathochromic shift가 나타났다. IR spectrum (ν<sub>max</sub>: cm<sup>-1</sup>)은 3355(-OH), 1657(carbonyl), 1607, 1505, 814(aromatic C=C), 1204~997(glycosidic C-O)를 나타냈다(Nelson, 1973). <sup>1</sup>H-NMR spectrum(δ: ppm)은 5.3, 0.9, aromatic field의 6.1과 6.3에서 flavonoid A의 6 및 8위(proton의 double signal), 6.8, 7.3(doublet signal)을 나타내 B환의 3, 4위의 hydroxyl기로 추정되었다. <sup>13</sup>C-NMR spectrum (δ: ppm)은 159.6(C-2), 136.5(C-3), 179.9(C-4), 163.5(C-5), 100.1(C-6), 166.1(C-7), 95.0(C-8), 158.8(C-9), 106.1(C-10), 123.1(C-1'), 117.2(C-2'), 146.7(C-3'), 150.0(C-4'), 116.6(C-5'), 123.3(C-6'), 103.8(C-1''), 72.2(C-2''), 72.3(C-3''), 73.5(C-4''), 72.4(C-5''), 17.9(C-6'), CI-MS에서는 분자량이 448로 나타나 화합물 1은 flavonoid계 화합물인 Quercetin-3-rhamnoside로 추측하였다(Kim과 Kim 1992).

**화합물 2**

미황색의 분말, 용점 158°C, Zn- 및 Mg-HCl(음성), FeCl<sub>3</sub>(녹색)의 발색으로 보아 phenolic 물질임을 알 수 있었다. 당은 glucose로 확인되었고 UV spectrum(λ<sub>max</sub>: nm) 및 Band 이동은 CHCl<sub>3</sub>에서 213, 240, catechin에 기인된 것으로 추측되는 275 nm의 흡수곡선을 나타내었다.(Ahn 1989). AlCl<sub>3</sub> 및 AlCl<sub>3</sub>/HCl과 같은 shift reagent에 의해서는 변화를 나타내지 않았으므로 A 및 B ring에 인접한 hydroxyl기가 없다는 것을 보여준다. NaOMe+NaOAc 첨가시 242, 321의 장파장 이동으로 보아 7-OH, 4'-OH기가 존재하는 것으로 추측하였다. IR spectrum(λ<sub>max</sub>: cm<sup>-1</sup>)은 3366(-OH), 1612, 1518(aromatic C=C), 1121~880(glycosidic C-O)를 나타내었다. <sup>1</sup>H-NMR (δ: ppm)에서는 7.8 및 7.7의 doublet signal은 H-2', 6' 및 H-3', 5'로 추측하였고 6.4와 6.5의 signal은 flavonoid A핵의 H-6, -8의 방향족 수소로 추측하였다.(Park등 1989). 그리고 4.9(H-2), 2.9~3.2(H-4), 3.4~4.2 (sugar-H)를 나타냈다. <sup>13</sup>C-NMR spectrum(δ: ppm)에서는 80.7(C-2), 136.0(C-3), 28.6(C-4), 161.3(C-5), 98.9(C-6), 166.8(C-7), 95.9(C-8), 156.3(C-9), 99.9(C-10), 130.8(C-1'), 119.2(C-2'), 116.0(C-3'), 143.9(C-4'), 114.3(C-5'), 119.7(C-6'), 104.4(C-1''), 73.7(C-2''), 77.8(C-3''), 72.6(C-4''), 76.7(C-5''), 62.1(C-6'')을 나타내고 [M+H]<sup>+</sup>는 437을 보여주어 화합물 2는 4', 5, 7-Trihydroxyflavan-3-glucoside로 추측하였다(Park과 Kim 1973).

**화합물 3**

갈색의 분말, 용점 273°C, LB test(자색), 당은 glucose이고 UV spectrum(λ<sub>max</sub>: nm)은 200이상에서 peak를 보이지 않아 불포화도가 적음을 알았다. IR spectrum(ν<sub>max</sub>: cm<sup>-1</sup>)은 3428(-OH), 2926(C-H), 1732(aromatic C=C), 1098(C-O)를, <sup>1</sup>H-NMR(δ: ppm)은 0.75~1.1(angular methyl signal), 1.2~2.5(steroid-H), 3.8~4.6(sugar-H), 5.25(olefinic proton의 H-7)을 나타내었다. <sup>13</sup>C-NMR spec-

**Fig. 3.** Structure of each compound extracted from *Albizzia julibrissin*.

trum( $\delta$ : ppm)에서는 36.8(C-1), 29.0(C-2), 91.1(C-3), 41.9(C-4), 55.1(C-5), 31.0(C-6), 122.0(C-7), 140.0 (C-8), 48.8(C-9), 37.5(C-10), 23.9(C-11), 39.2(C-12), 42.4 (C-13), 56.5(C-14), 25.4(C-15), 28.2(C-16), 56.5(C-17), 7.8(C-18), 16.0(C-19), 35.8(C-20), 19.1(C-21), 115.8 (C-22), 120.0(C-23), 46.7(C-24), 29.0(C-25), 19.8(C-26), 19.1(C-27), 23.0(C-28), 12.9(C-29), 101.0(C-1'), 78.2(C-2'), 79.2(C-3'), 73.1(C-4'), 79.2(C-5'), 63.2(C-6')을 나타내었는데 7번과 8번, 22번과 23번 탄소에 해당하는 피크가 각각 122.0, 140.0, 115.8, 120.0 ppm에서 나타나는 것으로 보아 이중결합을 하고 있음을 알 수 있었다.  $[M+H]^+$ =575를 나타내 화합물 3은 steroid계 saponin인 Spinasterol-3-glucoside로 추측하였다.

#### 화합물 4

백색의 분말, 용점 243°C, LB test(청색), UV spectrum( $\lambda_{max}$ : nm)은 212이고, IR spectrum( $\nu_{max}$ :  $cm^{-1}$ )은 3439(-OH), 2930(C-H), 1730(ester), 806(trisubstituted double bond)를 나타내었다.  $^1H$ -NMR( $\delta$ : ppm)에서는 0.68 ~ 1.2(angular methyl signal), 5.3(olefinic proton), 4.0(methine proton), 4.1(H-21), 3.1을 나타내는 것으로 보아 triterpenoid계통으로 추정하였다.  $^{13}C$ -NMR spectrum( $\delta$ : ppm)은 40.8(C-1), 28.3(C-2), 79.1(C-3), 39.0(C-4), 48.5 (C-5), 18.6(C-6), 33.4(C-7), 39.9(C-8), 48.5(C-9), 37.2 (C-10), 22.2(C-11), 124.1(C-12), 139.4(C-13), 42.2(C-14), 28.3(C-15), 24.0(C-16), 48.9(C-17), 49.1(C-18), 38.0(C-19), 39.0(C-20), 32.3(C-21), 34.0(C-22), 27.9(C-23), 16.2(C-24), 15.8(C-25), 15.6(C-26), 22.2(C-27), 178.5(C-28), 15.8(C-29), 21.2(C-30)을 나타내고  $[M+H]^+$ 가 471임에 따라 화합물 4는 Triterpenoid화합물인 Acacic acid lactone(You 등 1982)으로 추측하였다. 일반적으로 flavonoid계 화합물은 고등식물계에 널리 분포하고 있는 물질로써, 이 화합물의 세포독성이 L1210에서 5, P388D<sub>1</sub>에서 8  $\mu g/ml$ 인 것으로 보아 비교적 완화된 약물로 추측된다. 그러나 flavone의 핵에 geranyl화 또는 methyl화 등, 유도체로 하면 항암효과가 상승한다는 것이 보고되고 있어 (Baik와 Ahn 1988) 개발의 가능성을 제시하여 준다. 그러나 아직까지 밝혀진 생약의 활성성분은 극히 일부이므로 현시점에서 활성성분에 의해 생약의 특성을 총괄하기는 어렵다. 따라서 생약이 가지고 있는 특성과 문제점을 현대적으로 해석해야 하는 것이 급선무이고 또한 이를 통하여 새로운 치료영역의 개발 및 새로운 약리기전을 가지는 신약의 가능성을 제시하여야 할 것으로 여겨진다.

## 결 론

국내에 자생하는 생약 65종을 시료로 하여 세포독성을

측정하던 중 마우스 암세포에 유효성이 있는 *Albizzia julibrissin*을 선별하고 *in vitro*에서 mouse lymphocytic leukemia cell인 L1210과 P388D<sub>1</sub>을 대상으로 MTT assay법을 이용하여 세포독성능을 측정하였다. 또한 이 생약을 가지고 유기용매, 칼람 크로마토그래피 및 pTLC를 통하여 4종의 성분을 분리하고 이화학적 반응, UV, IR,  $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR 및 CI-MS를 통해 각 물질을 확인하였다. 그 결과, 각 성분의 화학식 및 세포독성을 다음과 같이 확인하였다. 화합물 1은 Quercetin-3-rhamnoside이고 세포독성능(IC<sub>50</sub>)은 L1210에서 5  $\mu g/ml$ , P388D<sub>1</sub>에서 8  $\mu g/ml$ 이었다. 화합물 2는 4',5,7-Trihydroxyflavan-3-glucoside 이고 세포독성능은 L1210에서 3  $\mu g/ml$ , P388D<sub>1</sub>에서 10  $\mu g/ml$ 이었다. 화합물 3은 Spinasterol-3-glucoside이고 세포독성능은 L1210에서 2  $\mu g/ml$ , P388D<sub>1</sub>에서 1.5  $\mu g/ml$ 이었다. 화합물 4는 Acacic acid lactone이고 세포독성능은 L1210에서 1  $\mu g/ml$ , P388D<sub>1</sub>에서 0.9  $\mu g/ml$ 으로 나타났다.

## 참고문헌

- Ahn, B. Z., (1980).  $^{13}C$ -NMR of the phenolic compounds. *Kor. J. Pharmacogn*, **11**, 153-158. Baik, K. U. and Ahn, B. Z. (1988). Cytotoxic activities of some geranylated flavones against L1210 cell. *Yakhak Hoeji*, **32**, 125-128.
- Bae, K. H., Min, B. S., Do, D. S., Kim, N. S., Yang, K. J. and Ahn, B. Z. (1992). Screening on cytotoxicity of medicinal plants against L1210 cell. *Yakhank Hoeji*, **36**, 491-495.
- Chang, I. M., Kim, J. M. and Han, D. S. Toxicological evaluation of medicinal plants used for herbal drugs (IV); Acute toxicity and antitumor activities. *Kor. J. Pharmacogn*, **13**, 62-69 (1982).
- Carmichael, J., Degraff, W. G., Gazdar, A. F. Minna, J. D. and Mitchell, J. B. (1987). Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay; Assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res.*, **47**, 936-942.
- Harborne, J. B. and Mabry, J. J. (1982). The flavonoids; Advances in Research. London, N. Y., Chapman and Hall, pp. 86-131.
- Kim, K. H. and Kim, M. N. (1992). Constituents of *Carthami flos*. *Yakhak Hoeji*, **36**, 556-562.
- Krebs, K. G., Heusser, D. and Wimmer, H. (1969). Spray reagents; Thin-layer chromatography. (Ed. by Egon Stahl), Springer-Verlag, N. Y., Heidelberg, Berlin, pp. 854-905.
- Lee, J. H. Kang, K. S. and Ahn, B. Z. (1986). Antineoplastic natural products and the analogues (XI); Cytotoxic activity against L1210 cell of some raw drugs from the oriental medicine and folklore. *Kor. J. Pharmacogen*, **17**, 286-290.
- Markham, K. R. (1982). Techniques of flavonoid identification; Biological techniques series. Academic Press. pp. 36-51.
- Nelson, L. A., Keiser, W. E. and Szymanski, H. A. (1973). IR-theory and practice of Infrared Spectroscopy. Plenum-

- Rosetta, N. Y., pp. 184-302.
- Park, J. H., Son, B. W. and Zee, O. P. (1989). Catechin glycoside from *Ulmus davidiana*. *Arch. Pharm. Res.*, **12**, 219-222.
- Park, J. C. and Ok, K. D. (1993). Phenolic compounds isolated from *Rosa Rugosa Thunb.* in Korea. *Yakhak Hoeji*, **37**, 365-369.
- Regina, L. R and Neubauer, R. H. (1987). Semiautomated colorimetric assay for *in vitro* screening of anticancer compounds. *Cancer Treatment Reports*, **71**, 1141-1149.
- Rubinstain, L. V., Shoemaker, R. H., Paull, K. D., Simon, S. M., Tosini, S., Skehan, P., Scudiero, D. A., Monka, A. and Boyd, M. R. (1990). Comparison of *in vitro* anticancer drug screening data generated with a tetrazolium assay versus a protein assay against a diverse panel of human tumor cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.*, **82**, 1113-1118.
- You, Y. H., Woo, W. S. Choi, J. S. and Kang, S. S. (1982). Isolation of a new sapogenin from *Albizia julibrissin*. *Arch. Pharm. Res.*, **5**, 33-38.