생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn.
35(2) : 134 ~ 138 (2004)

한국산 겨우살이 전초의 Methanol 추출물로부터 암세포증식 저해성분의 분리

서지희 · 최연희 · 김정숙 · 김성기 · 최상운 · 김영섭 · 김영균[1] · 김성훈[2] · 유시용*
한국화학연구원, [1]국민대학교 삼림과학대학, [2]경희대학교 동서의학대학원

Active Principles of the Methanol Extract of Korean Mistletoe Responsible for the Inhibitory Effect on the Proliferation of Human Tumor Cell Lines

Jee Hee Seo, Yeon Hee Choi, Jung Sook Kim, Seong Kie Kim, Sang Un Choi, Young Sup Kim, Young Kyoon Kim[1], Sung-Hoon Kim[2], and Shi Yong Ryu*
Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 305-606, Korea
[1]College of Forest Science, Kookmin University, Seoul 136-702, Korea
[2]Graduate School of East-West Medical Science, Kyunghee Uniersity, Yongin 449-701, Korea

Abstract – A bioassay-guided fractionation of the whole extract of *Viscum album* var. *coloratum* Ohwi (Loranthaceae) led to the isolation of two triterpenoidal components; oleanolic acid (**1**) and β-amyrin acetate (**2**), and a flavonoid, homoflavoyadorinin B (**3**) as well as large quantity of free fatty acid mixtures as active ingredients of the extract responsible for the antitumoral property. The EtOAc soluble fraction and BuOH soluble fraction of the extract demonstrated a significant inhibition on the proliferation of cultured human tumor cells such as A549 (non small cell lung), SK-OV-3 (ovary), SK-MEL-2 (melanoma), XF498 (central nerve system), and HCT-15 (colon) *in vitro*, whereas the remaining water soluble fraction exhibited a poor inhibition. The intensive phytochemical investigation of the EtOAc soluble fraction and BuOH soluble fraction of the extract indicated that the oleanolic acid (**1**) and large amounts of free fatty acid mixtures might be attributed to the *in vitro* antitumoral property of the whole extract of *Viscum album* var. *coloratum*.

Key words – *Viscum album* var. *coloratum*, Loranthaceae, oleanolic acid, fatty acid, antitumor, cytotoxicity

한국산 겨우살이(Korean misletoe; *Viscum album* L. var. *coloratum* Ohwi)는 상록성 관목으로 주로 참나무류, 버드나무, 팽나무, 밤나무 등에 붙어 사는 Loranthaceae (겨우살이과)에 속하는 寄生식물로서 황록색 줄기와 잎으로 Y자를 만들며 엉켜 자란다. 본 식물은 스스로도 광합성을 하는 반기생식물 (semi-parasitic plant)로서 한방명으로는 기생목(寄生木), 상기생(桑寄生), 상상기생(桑上寄生), 곡기생(槲寄生), 광기생(廣寄生) 등으로 불리우고 있다. 한편, 최근까지 大韓藥典外韓藥(生藥)規格集에는 곡기생 (*Viscum album* L. var. *coloratum* Ohwi ; 겨우살이) 및 상기생 (Loranthus parasiticus; 뽕나무겨우살이)이 각각 별개의 생약재로 수록되어 왔으나 2002년에 발간된 수정판에는 겨우살이 및 뽕나무겨우살이 모두 상기생(桑寄生)으로 통합정리 수록되어 있다.

*교신저자(E-mail) : syryu@krict.re.kr
(FAX) : 042-860-7160

한국산 겨우살이 (*Viscum album* L. var. *coloratum* Ohwi)는 긴 타원형의 혁질의 잎을 가지고 꽃은 이른봄에 지며 과실은 구형으로 대개는 약간 투명한 황녹색을 띄며 열매의 표면에 점질액이 있어 조류의 발에 부착하여 다른 수목에 이식하여 발아하며, 항암,[1-3] 항고혈압, 항균, 항바이러스, 강심효과 등의 약리효능이 보고되고 있다.[4,5] 특히 겨우살이는 독일 등 유럽에서 오래전부터 항암 활성을 널리 인정받아 각종 악성종양의 치료 및 치료보조제로 광범위하게 사용되고 있으며 항암활성의 유효성분으로는 당단백질(glycoprotein) 계열에 속하는 lectin류와 단백질계열에 속하는 viscotoxin류가 잘 알려져 있다.[6-8]

본 저자들은 A549 (non small cell lung), SK-OV-3 (ovary), SK-MEL-2 (melanoma), XF498 (central nerve system) 및 HCT-15 (colon) 등 5종의 인체유래 암세포에 대한 세포성장 저해효과[9]를 지표로 하여 300여종의 생약재의 항암활성

을 검색하여 본 결과 한국산 겨우살이 전초의 MeOH 추출물이 모든 암세포주에 대하여 우수한 세포성장 저해효과를 나타내고 있음을 관찰할 수 있었다. 이러한 연구 결과는 한국산 겨우살이의 전초를 MeOH을 추출용매로 사용하여 추출할 경우 추출이 거의 불가능하고 부분적으로 추출이 가능하다고 하더라도 그 약리활성이 모두 소실된다고 알려진 lectin 혹은 viscotoxin 등 지끔껏 잘 알려진 수용성 고분자 유효성분들과는 전혀 다른 계열의 항암 유효성분들이 겨우살이 전초의 MeOH 추출물 중에 함유되어 있음을 암시하고 있다. 이와 같은 가설 하에 본 저자 등은 한국산 겨우살이 전초의 MeOH 추출물로부터 lectin류와 viscotoxin류에 속하지 않는 또다른 항암유효성분을 분리 정제하고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

시약 및 기기 – 본 연구에 사용된 시약은 모두 특급 (GR) 및 1급 (EP) 시약을 사용하였으며 velutin 및 지방산표준품은 Aldrich사로부터 구입하였다. 융점은 Haakebuchler 미량융점 측정기를 이용하여 측정하였으며 측정치는 따로 보정하지 아니하였다. 선광도 [α]D는 JASCO DIP-4 digital polarimeter를, Low resolution MS (70 eV)는 JEOL사의 JMS-DX 303 mass spectrometer, 각종 proton 및 carbon NMR spectra는 Bruker의 AM-300 및 AMX-500을 이용하여 측정하였다. 특별히 기재하지 않은 한 사용한 용매의 peak를 기준 peak로 사용하여 chemical shift치를 정하였으며 δ(ppm)으로 표시하였다. Column chromatography는 silica gel (70 – 230 mesh, Merck), Lichroprep RP-18 (40 – 63 μm, Merck)를 사용하였다.

암세포 증식 저해활성(*in vitro* cytotoxicity)의 측정 – 실험에 사용한 암세포 들은 A-549 (non small cell lungcarcinoma), SK-OV-3 (adenocarcinoma, ovary malignant ascites), SK-MEL-2 (malignant melanoma, metastasis to skin of thigh), XF 498 (central nerve system tumor), HCT 15 (colon adenocarcinoma)이며 이 암세포들은 모두 human origin tumor cell line들로써, 미국의 국립암연구소 (NCI)로부터 분양받아 한국화학연구원에서 계대배양 중인 것을 사용하였다. 배양액은 5% fetal bovine serum으로 보강된 RPMI 1640 medium을 사용하였으며, 37°C 항온 항습 5% CO_2 incubator에서 배양하였다. 세포의 계대는 3 – 4일에 1회씩 하였으며, 계대시 세포를 용기 부착면으로 부터 탈리시키기 위하여 phosphate buffered saline (PBS)-용액에 0.25% trypsin과 3 mM *trans*-1,2-di-amino- -cyclohexane-n,n,n,n,-tetraacetic acid (CDTA)를 녹인 용액을 사용하였다.

암세포 증식저해활성은 1989년에 미국의 국립암연구소 (NCI)에서 약물의 *in vitro* 항암활성을 1차적으로 측정하기 위하여 개발된 sulforhodamine B (SRB) assay 방법[9]을 활용하였다. 즉 계대중인 세포들을 실험에 사용하기 위하여 우선 trypsin-CDTA 용액으로 용기부착면으로부터 탈리시키고, 96 well flat bottom microplate (Falcon)에 각 well 당 세포수가 5×10^3 (A 549, HCT 15), 1×10^4 (SK-MEL-2, XF 498), 2×10^4 (SK-OV-3) 이 되도록 분주하였다. 분주된 세포들은 CO_2 incubator 내에서 24시간 배양하여 바닥에 부착시킨 후 aspirator로 media를 제거하고 6농도의 log dose로 medium으로 희석한 test material 용액들을 세포가 들어있는 well에 각각 100 μl씩 3배수(triplicate)로 넣어주고, 48시간동안 더 배양하였다. 검체용액은 소량의 DMSO (dimethylsulfoxide)에 녹인 후 배지용액으로 희석하였으며 총 반응액 중 DMSO의 농도는 0.5% 이하가 되도록 하였다. 검체용액은 세포에 가하기 전에 miliphore filter로 여과하여 실험의 무균상태를 유지하였다. 세포를 약물과 48시간 배양한 후 각 well의 medium을 제거하고 10% trichloroacetic acid (TCA)를 100 μl씩 가하여 4°C에서 1시간동안 방치하여 세포들을 plate의 바닥면에 고정시켰다. 세포의 고정이 끝난 후 plate를 증류수로 5 – 6회 세척하여 남아있는 TCA 용액을 완전히 제거하고 실온에서 남은 물기가 없도록 건조시켰다. 완전히 건조된 plate는 well당 100 μl의 1% acetic acid 용액에 0.4% SRB를 녹인 염색용액을 가하여 30분간 세포를 염색하고 다시 1% acetic acid 용액으로 5 – 6회 세척하여 세포에 결합하지 않은 과잉의 SRB을 제거하였다. 이렇게 염색된 cell plate들을 다시 실온에서 건조시킨 후 well 당 100 μl의 10 mM trisma base (unbuffered)용액을 가하여 titer plate shaker로 10분간 shaking하여 염색액을 용출시킨 후 microplate reader를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 암세포들에 대한 약물의 효과를 계산하기 위하여 약물을 가하는 시점에서의 세포수(Tz, zero time)와 약물 대신 동량의 배지만을 가하여 48시간 배양했을 때의 세포수(C, control) 및 각농도의 약물과 함께 48시간 배양했을 때의 세포 수(T, test)을 각각 측정하여 다음의 수식에 따라 항암활성을 계산하였다. 즉 Tz > T인 경우에는 $[(T-Tz)/(C-Tz)]\times100$으로 계산하였고, Tz < T인 경우에는 $[(T-Tz)/Tz]\times100$의 수식으로 계산하였다. 이렇게 계산된 값들로 부터 LOTUS program의 data regresion tool을 이용하여 약물이 암세포의 증식을 50% 저해하는 농도인 50% effective dose (IC_{50})를 계산하였다.

실험재료

실험에 사용된 한국산 겨우살이는 2000년 9월 경남 산청

군에서 채집하여 국민대학교 김영균 교수의 감정을 거친 후 실험에 사용하였으며 voucher specimen은 한국화학연구원 및 국민대학교 삼림과학 대학에 각각 보관되어 있다.

추출 및 분리

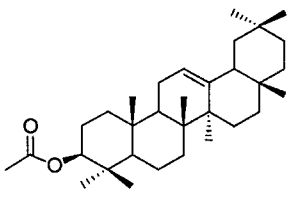
건조된 겨우살이 3 kg을 MeOH에 5일간 냉침시킨 후 추출액을 감압 농축하여 MeOH extract 132 g을 얻었다. 이 MeOH extract를 ethylacetate (EtOAc)와 증류수로 partition 한 후 EtOAc층을 감압농축하여 EtOAc soluble fraction 23.0 g을 얻었다. 잔류 물층은 butanol (BuOH)로 재차 추출하여 BuOH soluble fraction 32.7 g을 얻었다. EtOAc soluble fraction 23.0 g을 hexane/EtOAc 혼합용매를 용출용매로 사용하여 stepwise gradient elution 방식으로 silica gel (70 – 230 mesh, 750 g) column (∅=5.0 × 100 cm) chromatography를 실시하여 Fr-1 (176 mg), Fr-2 (6.4 g), Fr-3 (5.0 g), Fr-4 (6.4 g) 및 Fr-5 (5.0 g) 등 총 5개의 분획으로 나누었다. 이 중 Fr-2를 silica gel column (∅=2.0 × 40 cm) chromatography (hexane/EtOAc=20:1)를 실시하여 Fr-21 (4.3 g), Fr-22 (1.0 g) 및 Fr-23 (1.0 g)을 얻었다. Fr-21은 EtOAc/hexane에 녹인 후 alumina column (∅=1.0 × 20 cm)을 통과시켜 Fr-211 (2.0 g), Fr-212 (50 mg) 및 Fr-213 (24 mg)을 얻었다. Fr-211을 EtOAc/MeOH 혼합용매에 방치한 결과 무색 침상결정 (compound **1**) 200 mg을 얻었다. 또, Fr-3을 hexane/EtOAc 용매에 방치하여 무색 침상결정 (compound **2**) 1.3 g를 얻었다.

BuOH층 32.7 g을 MeOH/H_2O 혼합용매를 용출용매로 하여 stepwise gradient elution 방식으로 RP column (Lichroprep RP-18) chromatography를 실시하여 Fr-B1, Fr-B2, Fr-B3 등 총 3개의 fraction으로 나누었다. 이 중 Fr-B3 (12.1 g)을 silica column chromatography (MC:MeOH=10:1, 8:1, 5:1)를 실시하여 Fr-B31 (2.8 g), Fr-B32 (220 mg), Fr-B33 (1.0 g) 및 Fr-B34 (1.7 g)를 얻었다. Fr-B33 (1.0 g)은 EtOAc/MeOH 용액에서 미황색침전 (compound **3**) 430 mg을 생성하였다.

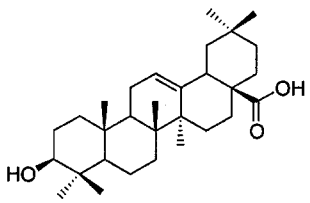
Compound **1** mp. 241°C, $C_{32}H_{52}O_2$, $[\alpha]_D$ +68.9° (c 0.5, $CHCl_3$), ^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) : δ 5.12 (1H, t, *J*= 3.5 Hz, H-12), 4.45 (1H, dd, *J*=11.0, 6.0 Hz, H-3), 1.98 (3H, s, $COCH_3$), 1.78 (3H, s, H-27), 0.98 (6H, s, H-26, 25), 0.89 (12H, s, H-30, 29, 24, 23), 0.80 (3H, s, H-28) ^{13}C-NMR (125 MHz, $CDCl_3$) : δ 171.0 ($COCH_3$), 145.2 (C-13), 121.6 (C-12), 80.9 (C-3), 55.2 (C-5), 47.5 (C-9), 47.2 (C-18), 46.7 (C-19), 38.2 (C-1), 37.1 (C-22), 34.6 (C-21), 33.3 (C-29), 32.5 (C-7), 31.1 (C-20), 28.3 (C-15), 28.0 (C-23), 26.9 (C-28), 26.1 (C-16), 25.9 (C-27), 23.6 (C-30), 23.5 (C-11), 21.3 (COCH3-3), 18.2(C-6), 16.7 (C-4), 15.7 (C-25).

Compound **2** white needles, mp. 196 – 198°C, $C_{30}H_{48}O_3$, $[\alpha]_D$=+64.6° (c 0.4, $CHCl_3$), ^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) : δ 0.76 (3H, s), 0.78 (3H, s), 0.91 (3H, s), 0.93 (3H, s), 0.94 (3H, s), 1.00 (3H, s), 1.14 (3H, s), 2.82 (1H, dd, *J*=13.6, 4.2 Hz, H-18), 3.20 (1H, dd, *J*=9.6, 4.8 Hz, H-3), 5.29 (1H, t, *J*=3.6 Hz, H-12), ^{13}C-NMR (125 MHz, $CDCl_3$) : δ 38.4 (C-1), 27.1 (C-2), 78.7 (C-3), 38.9 (C-4), 55.2 (C-5), 18.3 (C-6), 32.4 (C-7), 39.8 (C-8), 47.6 (C-9), 37.1 (C-10), 22.6 (C-11), 122.6 (C-12), 143.6 (C-13), 40.9 (C-14), 27.7 (C-15), 23.4 (C-16), 46.5 (C-17), 41.6 (C-18), 45.8 (C-19), 30.7 (C-20), 34.4 (C-21), 32.6 (C-22), 28.1 (C-23), 15.5 (C-24), 15.3 (C-25), 17.1 (C-26), 25.9 (C-27), 183.6 (C-28), 33.1 (C-29), 23.6 (C-30).

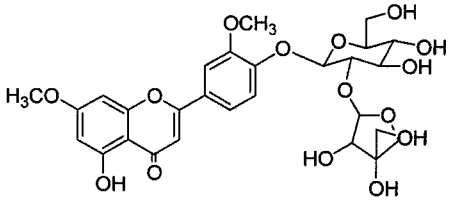
Compound **3** pale yellow needles (EtOH), mp. 208°C, $C_{28}H_{32}O_{15}$, ^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6) : δ 12.9 (s, 5-OH), 7.68 (1H, dd, *J*=8.1, 2.0 Hz, H-6'), 7.63 (1H, d, *J*= 2.0 Hz, H-2'), 7.22 (1H, d, *J*=8.1 Hz, H-5'), 7.02 (1H, s, H-3), 6.84 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.38 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 5.44 (1H, brs, anomeric H of apiose), 5.31 (1H, d, *J*=5.5 Hz, anomeric H of glucose), 3.90, 3.89 (each 3H, s, 3', 7-OCH_3), ^{13}C-NMR (125 MHz, DMSO-d_6) : δ 163.5 (C-2), 104.8 (C-3), 182.1 (C-4), 161.1 (C-5), 104.3 (C-6), 165.2 (C-7), 92.8 (C-8), 157.3 (C-9), 104.7 (C-10), 123.9 (C-1'), 110.1 (C-2'), 149.7 (C-3'), 149.1 (C-4'), 114.8 (C-5'), 119.8 (C-6'), 98.0 (C-G1), 74.80 (C-G2), 77.0 (C-G3), 69.9 (C-G4), 77.1 (C-G5), 60.6 (C-G6), 108.3 (C-A1), 76.0 (C-A2), 79.4 (C-A3), 73.9 (C-A4), 64.4 (C-A5), 56.1 (7,3'-OMe).



β -amyrin acetate (1)



oleanolic acid (2)



homoflavoyadorinin B (3)

결과 및 고찰

한국산 겨우살이 MeOH 추출물을 증류수에 현탁시킨 후 EtOAc, BuOH의 순서로 단계분획하고, 각 용매분획을 시료로 하여 A549 (비소세포폐암주), SK-OV-3 (난소암주), SK-MEL-2 (흑색종주), XF498 (중추신경계암주) 및 HCT-15 (직장암주) 등 5종의 인체유래 암세포주에 대한 시험관 내 (*in vitro*) 세포증식저해효과를 측정하여 본 결과 EtOAc solube fraction이 우수한 활성 (A549의 세포증식을 50% 저해하는 농도 [IC_{50}]는 약 30 μg/m*l*)을 보여준 반면 BuOH 가용분 및 최종 수용성 분획은 항암활성이 미미하게 나타났다([IC_{50}] > 100 μg/m*l*). 따라서 가장 우수한 암세포증식저해효과를 보여준 EtOAc solube fraction을 전술한 방법에 따라 column chromatography를 반복하여 compound **1**과 compound **2**를 분리하였다.

Compound **1**과 compound **2**의 각종 물리화학적 성상 및 분광학적 자료를 분석한 결과 compound **1**과 compound **2**는 oleanane계열의 pentacyclic triterpenoid의 일종인 β-amyrin acetate[10]와 oleanolic acid로 각각 판명되었다.[11] 이들 중 compound **2**는 10 μg/m*l* 이상의 농도영역에서 양호한 암세포증식 저해효과를 보여준 반면 compound **1**은 100 μg/m*l* 이하의 농도영역에서는 어떠한 암세포주에 대하여도 뚜렷한 세포증식 저해활성을 보여주지 못하였다(Table I).

한편 EtOAc soluble fraction을 활성유도 분획법에 따라 column chromatography로 정제하는 도중 탁월한 암세포 증식저해효과 (A549에 대한 IC_{50}=20 μg/m*l*)를 나타내고 있는 미지의 성분이 다량 검출되었다. 또한 이 성분이 중성 alumina gel에 쉽게 흡착 제거되는 특성을 이용하여 EtOAc soluble fraction을 일부분 중성 alumina gel로 정제하여본 결과 이 성분은 전체 EtOAc soluble fraction 총 중량의 20% 이상을 차지하고 있음을 알 수 있었다. 한편, 이 성분의 ^{1}H-NMR과 ^{13}C-NMR data를 분석하여 본 결과 이들은 불포화지방산과 포화지방산이 서로 비슷한 비율로 섞여 있는 유리지방산의 혼합물임을 알 수 있었으며 이들은 통상적인 silica gel column chromatography와 RP-18 column chromatography 등의 방법으로는 더 이상의 정제가 불가능하여 시판되고 있는 지방산 표준품들을 구입하여 암세포증식 저해효과를 비교 검토하여 보았다.

그 결과 유리지방산들은 대체로 10 μg/m*l* 이상의 농도영역에서 현저한 세포증식저해활성을 나타내었으며 lauric acid (C12:0), palmitic acid (C16:0), stearic acid (C18:0) 등 포화지방산들이 oleic acid (C18:1) 및 linoleic acid (C18:2)등 불포화지방산에 비하여 상대적으로 우수한 세포증식 저해효과를 보여주었다(Table I). 지방산(fatty acid)의 암세포증식 저해효과에 대하여서는 그간 효능의 진위여부에 대하여 많은 논란이 있었지만 최근 palmitic acid 등 지방산들이 human leukemic cell line MOLT-4에 대하여 세포증식저해효과 및 apoptosis를 유도하는 효과가 있다는 보고가 발표되고 있어 본 연구내용을 잘 뒷받침하여 주고 있다.[12,13]

한편 미약한 암세포증식저해효과를 나타내고 있는 BuOH soluble fraction를 전술한 방법에 따라 silica gel column chromatography를 실시한 결과 flavonoid 배당체의 일종인 compound 3 (homoflavoyadorinin B; luteolin 3',7-dimethyl ether 4'-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside)[14]이 분리되었다. 이 화합물은 *in vitro*에서 배양한 인체유래 암세포의 성장저해효과를 바탕으로 항암효과를 평가하여 본

Table I. Inhibition of tumor cell proliferation by components from *Viscum album* var. *coloratum* on human tumor cells

Compound	IC_{50} (μg/m*l*)[a]				
	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
oleanolic acid (**1**)	16.2 ± 0.06[b]	12.4 ± 0.08	18.5 ± 0.10	28.2 ± 0.09	12.1 ± 0.08
β-amyrin acetate (**2**)	>100	>100	>100	>100	>100
homoflavoyadorinin B (**3**)	>100	>100	>100	>100	>100
3', 7-dimethylluteolin (**3***)	8.5 ± 0.03	8.2 ± 0.03	11.2 ± 0.06	22.7 ± 0.09	2.1 ± 0.08
lauric (12:0)	13.3 ± 0.06	19.4 ± 0.08	17.8 ± 0.06	21.7 ± 0.12	15.9 ± 0.08
palmitic (16:0)	13.0 ± 0.07	7.8 ± 0.06	13.8 ± 0.06	9.2 ± 0.06	16.3 ± 0.06
stearic (18:0)	17.3 ± 0.08	10.1 ± 0.06	18.9 ± 0.08	16.2 ± 0.06	20.2 ± 0.06
oleic (18:1)	38.6 ± 0.12	30.4 ± 0.09	35.8 ± 0.10	29.4 ± 0.09	39.5 ± 0.09
linoleic (18:2)	>100	>100	>100	>100	>100
doxorubicin	0.1 ± 0.02	0.2 ± 0.02	0.1 ± 0.01	0.2 ± 0.02	1.8 ± 0.05

[a]IC_{50} value of compound against each cancer cell line, which was defined as a concentration(μg/m*l*) that caused 50% inhibition of cell proliferation *in vitro*.
[b]Data are mean ± S.E.M. of three independent experiments.

본 연구의 결과에 따르면 100 μg/ml 이하의 농도영역에서는 실험에 사용한 어떠한 암세포주에 대하여도 증식저해활성을 보여주지 못하였지만 이 화합물의 aglycon 즉 산가수분해물질인 velutin (compound **3***; luteolin 3',7-dimethyl ether)은 10 μg/ml 이상의 농도영역에서 현저한 암세포증식저해활성을 나타내었다(Table I).

결 론

A549 (비소세포폐암주), SK-OV-3 (난소암주), SK-MEL-2 (흑색종주), XF498 (중추신경계암주) 및 HCT-15 (직장암주) 등 5종의 인체유래 암세포주에 대한 시험관내 세포성장저해효과를 SRB (Sulfrhodamine B)방법으로 검색하여 본 결과 한국산 겨우살이 전초의 MeOH 추출물이 우수한 항암효과를 나타내고 있음을 확인하였다. 한국산 겨우살이 (Korean misletoe; *Viscum album* L. var. *coloratum* Ohwi) 전초의 MeOH 추출물을 EtOAc 및 BuOH로 단계적으로 분획하고 이 중 항암 활성이 우수한 EtOAc 분획을 활성유도분획법(Bioactivity-guided fractionation)에 따라 chromatography 방법으로 정제한 결과 oleanolic acid (**1**), β-amyrin acetate (**2**) 및 지방산 혼합물을 분리하였으며 BuOH 분획으로부터는 homoflavoyadorinin B (**3**)을 분리하였다. 이 중 oleanolic acid (**1**) 및 지방산 혼합물은 우수한 항암효과를 을 나타내었으며 한국산 겨우살이 (Korean misletoe; *Viscum album* L. var. *coloratum* Ohwi) 전초의 MeOH 추출물이 보여준 암세포성장저해효과는 이들 물질에 기인한 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청의 바이오그린21 연구사업의 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사를 드립니다.

인용문헌

1. Hajto, T., Berki, T., Boldizsar, F., and Nemeth, P. (2003) Galactoside-specific plant lectin, *Viscum album* agglutinin-I induces enhanced proliferation and apoptosis of murine thymocytes *in vivo*. *Immunol. Lett.* **86**(1): 23-27.
2. Siegle, I., Fritz, P., McClellan, M., Gutzeit, S., and Murdter, T. E. (2001) Combined cytotoxic action of *Viscum album* agglutinin-1 and anticancer agents against human A549 lung cancer cells. *Anticancer Res.* **21**(4A): 2687-2691.
3. Kim, Y. K., Kim, Y. S., Choi, S. U., and Ryu, S. Y. (2004) Isolation of flavonol rhamnosides from Loranthus tanakae and cytotoxic effect of them on human tumor cell lines. *Arch. Pharm. Res.* **27**(1): 44-47.
4. Karagoz, A., Onay, E., Arda, N., and Kuru, A. (2003) Antiviral potency of mistletoe (*Viscum album* ssp. *album*) extracts against human parainfluenza virus type 2 in Vero cells. *Phytother. Res.* **17**(5): 560-562.
5. Fernandez, T., Cerda, Z. P., Aulicino, P., Caldas, L. E., Wagner, M., Ricco, R., Hajos, S., Gurni, A., and Alvarez, E. (2003) Immunobiological features of the galactoside lectin L-Lc isolated from the Argentine mistletoe Ligaria cuneifolia. *J. Ethnopharmacol.* **85**(1): 81-92.
6. Boneberg, E. M. and Hartung T. (2001) Mistletoe lectin-1 increases tumor necrosis factor-alpha release in lipopoly-saccharide-stimulated whole blood via inhibition of interleukin-10 production. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **298**(3): 996-1000.
7. Tabiasco, J., Pont, F., Fournie, J. J., and Vercellone A. (2002) Mistletoe viscotoxins increase natural killer cell-mediated cytotoxicity. *Eur. J. Biochem.* **269**(10): 2591-2600.
8. Mengs, U., Gothel, D., and Leng-Peschlow E. (2002) Mistletoe extracts standardized to mistletoe lectins in oncology: review on current status of preclinical research. *Anticancer Res.* **22**(3): 1399-407.
9. Skehan, P., Streng, R., Scudiero, D., Monks, A., McMahon, J., and Vistica, D. (1990) New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J. Natl. Cancer. Inst.* **82**: 1107-1112.
10. Gaydou, E. M., Faure, R., and Wollenweber (1996) β-amyrin acetate epoxide from *Canarina canariensis*. *Phytochemistry* **42**: 1115-1118.
11. Balanehru, S. and Nagarajan, B. (1991) Protective effect of olenolic acid and ursolic acid against lipid peroxidation. *Biochemistry International* **24**: 981-990.
12. Harada, H., Yamashita, U., Kurihara, H., Fukushi, E., Kawabata, J., and Kamei, Y. (2002) Antitumor activity of palmitic acid found as a selective cytotoxic substance in a marine red alga. *Anticancer Res.* **22**: 2587-2590.
13. Nano, J. L., Nobili, C., Girard-Pipau, F., and Rampal, P. (2003) Effects of fatty acids on the growth of Caco-2 cells. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* **69**: 207-215.
14. Fukunaga, T., Kajikawa, I., Nishiya, K., Takeya, K., and Itogawa, H. (1989) Studies of the Japanese Mistletoe, *Viscum album* L. var. *coloratum* Ohwi grown on different Host trees. *Chem. Pharm. Bull.* **37**(5): 1300-1303.

(2004년 3월 4일 접수)