

## 한국산 주목의 부위별 Taxol 함량

변 상 요 · 강 인 선 · 김 공 환  
아주대학교 공과대학 생물공학과

### Taxol Content in Various Parts of Yew Trees in Korea

Sang Yo Byun, In Seon Kang and Kong Hwan Kim

Department of Biotechnology, College of Engineering,  
Ajou University, Suwon 441-749, Korea

#### ABSTRACT

Taxol is the promising diterpene alkaloid with antineoplastic activities. The taxol content in various parts of yew trees in Korea, Mt. Deokyu, Mt. Sobaek, Mt. Taebaek and Suwon area, have been determined. The highest taxol content was observed in yew trees of Mt. Soback. In various parts of trees the taxol content in bark was highest and the taxol content in twig was higher than that in leaves.

#### 서 론

최근 항암제로 각광을 받고 있는 taxol은 매우 복잡하고 고기능성을 갖는 diterpene 알칼로이드이다. 이 물질은 1971년에 미국 국립암연구소(NCI)의 natural product program의 연구에 의거하여 Wani에 의하여 태평양주목(*Taxus brevifolia*)의 줄기 껍질로부터 분리되어 보고되었다(1). 이것의 구조는 X-ray 및 기타 화학적 분석방법에 의하여 밝혀진 결과, 첫째 taxane의 한 종류이며 둘째 oxetane ring 구조에 13번 탄소에 변형된 phenyl isoserine ester 싸이드 체인을 가지는 흔히 볼 수 없는 특이한 구조를 가지는 것으로 밝혀졌다(2, 3). Taxol은 현재 약 56개 정도 규명된 diterpene 물질(4, 5)중에서도 가장 구조가 복잡한 물질중의 하나로 알려져 있으며 일반적으로 taxane들이 이에 속한다. 이러한 tazane ring 구조를 가지는 물질들은 taxane 이외에도 cephalomannine, baccatin III와 10-deacetyl-

baccatin III 등이 알려져 있으며 taxol과 함께 주목에 대부분 생성되어 있는 물질들이다.

Taxol의 항암효과는 매우 특이하게 mitosis를 억제하는데 주로 tubulin polymerization을 촉진하여 기능을 상실한 microtubules로 유도함으로써 항암효과를 발휘한다(1, 6). Taxol 발견 초기에는 주로 leukemia 시스템에 대한 억제효과로부터 시작하여 그후 난소암 등 여러 tumor 시스템에 대한 탁월한 효과가 입증되었다(7, 8). 1983년 미국 국립암연구소에서 phase I을 성공적으로 마치고, 최근 phase II 임상도 성공적으로 완료되었다(9). 또한 최근에 FDA의 허가를 받아 Bristol-Myers Squibb에서 난소암 치료제로 판매되고 있다. Phase II의 임상에서 제한적인 세 종류의 암에 대한 시험결과 난소종양에 탁월한 효과가 있었고(10, 11, 12). melanoma에도 효과가 있었으나(13, 14) renal cell carcinoma에는 효과가 없었다. 그러나 phase I 임상에서 여러 종류의 암, 특히 폐암 등 말기 암에 효과가 있다는 제

한적인 시험결과가 있었다. 현재 계속적으로 여러 종류의 암에 대한 임상 시험이 진행되고 있는데 미국 국립암연구소는 taxol의 임상시험에 상당한 우선순위를 부여하고 있다.

현재 taxol의 항암효과를 밝히기 위한 임상시험에서 가장 어려운 문제는 taxol의 공급 부족이라 할 수 있다. 태평양주목(*Taxus brevifolia*)의 줄기 껍질에는 약 0.01~0.02%의 taxol이 함유되어 있고, 잎이나 뿌리에는 이보다 적은 양이 함유되어 있다. 또한 *T. baccata*, *T. cuspidata*, *T. wallichiana*, *T. caespitosa* 및 *T. chinensis* 등에도 함유되어 있으나 *T. brevifolia*보다 함량이 적은 것으로 알려져 있다. 현재 한 명의 암환자 치료에는 taxol 2g이 필요한데 이 양은 3년생 주목의 껍질 60lb 또는 100년생 주목 6그루로부터 얻을 수 있는 양이다. 지금까지의 임상시험에 쓰인 양은 약 2.5kg으로 미국 국립암연구소에서 공급하였고, 앞으로 많은 양이 더 필요한 것으로 알려져 있다. 이 모든 양은 *T. brevifolia* 줄기 껍질로부터 추출 생산될 예정이다. 그러나 탁월한 임상결과는 새로운 문제를 야기하게 되었다. 미국만해도 매년 평균 12,000명이 난소암으로 죽어가는데 이들의 치료를 위해선 24kg의 taxol 또는 약 36,000그루의 주목이 필요하다는 계산이 나온다. 만약 추후 임상결과 다른 종류의 암에도 효과가 입증되면(입증될 가능성이 상당히 높음), taxol의 수요는 10배 이상되리라 예측하고 있다. 이렇게 증대되는 수요에 비하여 공급은 극히 제한적인 수밖에 없는 상황이다. 태평양주목을 포함하여 일반적으로 주목은 성장이 매우 느려 줄기가 1인치 굵어지기까지는 약 30년 정도 소요된다. 또한 주목들은 제한된 지역에서 군락을 형성하며 성장하기 때문에 주목단지의 파괴에 의한 생태계의 변화도 큰 문제로 제기된다. 현재 미국에선 Environment Defense Fund 등 여러 환경단체에서 주목의 난벌에 대한 환경 파괴 조사를 시작하였으며 생태계 보호를 위한 대책을 호소하고 있다.

공급 부족과 환경보존을 해결하기 위하여 나무로부터 직접 추출하지 않고 taxol을 공급할 수 있는 방법에 대한 연구가 많이 진행되고 있다. 합성과 식물체 배양에 의한 생산이 그 대표적인 방법들이다. 그러나 taxol에 대한 부분적인 합성이나 세포 배양에 의한 생산이 활발히 연구되고 있지만 현재까지 가장 유용한 생산방법은 주목나무 껍질로부터의 직접 추출이라 할 수 있다. 국내에도 taxol을 함유하는 여러 종류의 주목이 서식하고 있으며 이들로 부터

taxol의 생산이 가능하다.

따라서 본 연구에서는 국내에 서식하는 주목을 대상으로 서식 지역별 및 나무 부위별 taxol 함량을 측정, 비교하여 국내 주목으로부터 taxol 생산을 위한 기초 자료로 활용하고자 한다.

## 재료 및 방법

### Plant material

본 연구에서는 서식지역별로 덕유산, 소백산, 태백산 그리고 수원지역(아주대학교 캠퍼스)에서 8월에 주목 시료를 채취하였다. 덕유산에서는 5그루의 주목나무로부터 부위별로 채취하였는데 이들의 밑둥 직경은 1~1.2m였다. 태백산에서는 6그루의 주목나무에서 부위별로 시료를 채취하였는데 이들도 직경이 1~1.3m씩 되었으며 수령이 약 500년 정도로 추정되었다. 소백산에서는 군락 단지 내에서 수령 300~500년 정도의 주목 10그루에서 시료를 채취하였다. 수원지역은 아주대학교 캠퍼스 내에서 약 10년 수령의 관상용 주목에서 시료를 채취하였다.

주목의 종류별로 분류를 하면 덕유산, 태백산 및 수원지역의 주목은 *Taxus cuspidata*이었고 소백산의 채취대상 주목들은 7그루가 *Taxus cuspidata*이었고 3그루가 *Taxus caespitosa*였다. 채취된 시료들은 껍질(bark), 잔가지(twig), 뿌리(rot), 잎(leaves)로 분리하여 건조하였다. 건조된 지역별, 부위별 시료는 동량씩 혼합한 뒤 추출과정을 거친 후 분석하였다.

### Extraction

채취된 각 시료를 잘게 잘라 55°C 건조기에서 24시간 이상 건조시킨 후 막자사발을 이용하여 가루로 만든다. 건조 분쇄된 시료를 물로 잘 세척하면서 sonication을 2분간 실시한다. 그후 원심분리하여 고형성분과 물을 분리한다. 이렇게 만들어진 시료 1g당 10ml의 메탄올을 가하여 상온에서 한 시간 동안 sonication시킨다. 그후 이것을 3000rpm에서 20분간 원심분리 시켜서 메탄올 추출액을 시료로부터 분리한다. 이러한 추출 과정을 한 번 반복한다. 메탄올 추출액은 40°C 진공상태에서 건조시킨 후 동량의  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 를 가한다. 이  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 에 동량의 물을 가해준 후 partition 작업을 3회 반복한다. 물층을 완전히 분리, 제거한 후  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 를 다시 진공하의 35°C에서 건조시킨 후 동량의 메탄올을 가한다(1). 이 최종 메탄올 추출액은 HPLC 분석을 위해 0.45μm

membrane filter를 이용하여 여과시켜 4℃의 냉장고에서 보관한다.

### Analysis

Taxol의 HPLC(Spectra physics8800 pump, Waters 484 U. V. Detector) 분석에는 reverse-phase phenyl 칼럼(Dynamax, 8 $\mu$ m, 4.6 $\times$ 250mm)을 이용하였다. 전개용매는 MeOH-H<sub>2</sub>O-NeCN을 gradient 조성으로 사용하였다. 시작할 때의 용매 조성은 MeOH-H<sub>2</sub>O-NeCN이 20 : 65 : 15이었고 20분 후에 20 : 45 : 35로 유지하다 50분 후에 20 : 25 : 55의 조성으로 끝을 내었다. 용매의 flow rate는 1ml/min이었고, 샘플 주입량은 20 $\mu$ l로 유지하였다. UV흡광도는 227nm에서 측정하였다(15, 16). 표준시약은 Calbiochem사(La Jolla CA)로부터 구입하여 사용하였다.

### 결과 및 고찰

본 연구에서 taxol의 함량을 조사하기 위한 시료들은 덕유산, 소백산, 태백산 그리고 수원지역에서 채취한 주목들로서 각 부위별로 함량을 조사하였으며 그 결과는 Table 1과 같다. 표에서 서식 지역별로 taxol의 함량을 비교하면 소백산에서 서식하는 주목이 전체적으로 가장 높은 값을 보였다. 또한, 부위별로 살펴보면 껍질(bark)에서 가장 많은 taxol이 추출되었고 그 다음으로 잔가지(twig), 잎(leaves) 순서로 많이 추출되었다. 뿌리(root)의 taxol 함량은 수원지역에서만 측정, 가능하였는데 껍질과 비료하여 낮은 수치를 보이지만 잔가지 보다 함량이 많았다. 이러한 부위별 측정치는 외국에 서식하는 주목들과 비교할 때 절대값에서는 차이가 있지만 taxol 함유 순서는 일치하였다(17). 단, 잔가지와 잎의 함량을 비교할 때 외국 주목나무에서는 이들 값이 비슷하였으나 본 연구에서는 잔가지에서의 함량이 많은 결과를 보이는데 이것은 시료 채취시 잔가지의 범주를 결정하는 견해차에 의한 것이라 생각된다.

소백산에서 채취한 주목의 껍질, 잔가지, 잎들은 모두 다른 지역에서 채취한 것들보다 높은 taxol 함량을 보이고 있다. 소백산 주목이 다른 지역 주목과 다른 점은 크게 두 가지로 시료의 30%가 *Taxus caespitosa*인 것과 군락을 이루며 서식하고 있는 환경의 차이이다. 주목의 taxol 함량은 그 성장지역의 기후와 환경조건에 매우 밀접한 관계를 가지고 있으

Table 1. Taxol content of yew trees in Korea(weight %).

주목 분포지역	plant material	taxol %
덕 유 산	bark	0.0174
	leaves	0.0039
	twig	0.0093
소 백 산	bark	0.0366
	leaves	0.0132
	twig	0.0250
태 백 산	bark	0.0111
	leaves	0.0048
	twig	0.0094
수 원 지 역	bark	0.0136
	twig	0.0046
	root	0.0076

며 또한 나무의 수령 및 주목나무가 채취된 계절 등에 크게 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 보통 주목 나무에 함유되어 있는 taxol의 양은 빛에 의한 영향을 크게 받는 것으로 알려져 있다. 보통 그늘진 지역에서 자라난 주목나무가 같은 지역에서 햇볕을 받고 자라난 주목보다 더 많은 taxol을 함유하고 있는 것으로 알려져 있다(18). 또한 주목나무의 taxol 함량은 기후적인 영향을 많이 받기 때문에 나무의 채취 계절이라든지 그 성장지역이 날씨와 밀접한 관계를 갖게된다. 따라서 같은 주목나무도 그 채취시기에 따라 taxol 함량에 차이가 나는 것으로 알려져 있다. 실제로 전년도 12월의 주목나무의 껍질에서의 taxol의 농도는 그 다음에 8월이 될 때까지 계속해서 증가된다는 보고도 있다(18).

이러한 여러 가지 이유들에 의하여 소백산 주목이 꼭 가장 taxol의 함량이 높은 *Taxus*로 단정지을 수 없다. 이 소백산 주목이 채취된 지역은 소백산 주목 나무 군락지역으로서 taxol 함량이 증가하기에 적합한 환경조건을 보유할 수도 있으리라 생각된다. 이 지역의 기온, 날씨, 토질 등의 환경조건이 이 지역의 주목나무를 taxol 함량이 많은 *Taxus*로 만들었다는 것이 더 타당한 설명일지도 모르겠다. 따라서 *Taxus* 함량이 많은 주목나무를 얻기 위해서는 이런 지역의 기후, 토질, 자연상태 등의 환경을 조사하여 그 주목 나무의 성장환경을 만들어 주는 것이 주용하다고 할 수 있다.

그렇지만 주목나무로부터 직접 taxol을 추출하는 방법은 무엇보다도 그 적은 함량이 문제가 된다고 할 수 있다. 따라서 이들의 수요를 충족시키기 위해서는 엄청난 양의 주목나무가 필요하게 된다. 이러

한 문제를 해결하기 위해서는 taxol의 합성이나 세포배양에 의한 생산 가능성을 타진해 보는 것도 중요하다 생각된다.

## 요 약

Taxol은 최근 항암제로 각광을 받고 있는 물질로서 매우 복잡하고 고 기능성을 갖는 diterpene 알칼로이드이다. 본 연구에서는 국내의 덕유산, 소백산, 태백산 및 수원지역에서 서식하고 있는 주목나무들의 부위별 taxol 함량을 조사하였다. 그 결과 소백산에서 채취한 주목나무에서 가장 많은 taxol 양이 분석되었다. 부위별로는 껍질, 잔가지, 잎 순으로 taxol 함량이 높게 나타났다.

## 감 사

본 연구는 생물공정 연구센터의 지원으로 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

## 참고문헌

1. M. C. Wani, H. L. Taylor, M. E. Wall. P. Coggeon and A. T. Mcphail(1971), *J. Amer. Chem. Soc.*, **93**, 2325.
2. B. Lynghgoe, K. Nakanishi and S. Uyeo (1974), *Proc. Chem. Soc.*, **301**.
3. C. M. Suffress and G. A. Cordell(1985), *Alkaloids*, 25 1, Academic Press, New York.
4. R. W. Miller(1980), *J. Nat. Prod.*, **43**, 425.
5. W. M. Chen(1990), *Acta Phamm. Sinica*, **25**, 2276.
6. M. Suffness(1989), *GANN*, **36**, 21.
7. P. B. Schiff, S. B. Horwitz and J. Fant (1979), *Nature*, **277**, 665.
8. P. B. Schiff and S. B. Horwitz(1980), *Proc. Nat. Acad Sci.(USA)*, **77**, 1561.
9. E. K. Rowinsky, L. A. Cazenave and R. C. Donehower(1990), *J. Nat. Cancer Inst.*, **82**, 1247.
10. A. I. Einzing, P. H. Wiernik, J. Sasloff, S. Garl, C. Runowica. K. A. O'Hanlan and G. Goldberg(1990), *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.*, **31**, 1114.
11. T. Thigpen, J. Blessing, H. Ball, S. Hummel and R. Barret(1990), *Proc. Amer. Soc. Clin. Oncol.*, **7**, 963.
13. W. P. McGuire, E. K. Rwoinsky, N. B. Rosenshein, F. C. Grumbine, D. S. Ettinger, D. K. Armstrong and R. C. donehower (1989), *Ann. Intem. Med.*, **111**, 273.
14. S. S. Legha, S. Ring, N. Papadopoulos, M. Raber and R. S. Benjamin(1990), *Cancer*, **65**, 2478.
15. K. M. Witherup, S. A. Look, M. W. Stasko, T. G. McCloud, H. J. Issaq and G. M. Muschik(1989), *J. Liquid Chromatography.*, **12**, 2117.
16. A. G. Fett-Neto, F. DiCosmo, W. F. Reynolds and K. Sakata(1992), *Biotechnology*, **10**, 1572.
17. N. Vidensek, P. Lim, A. Campbell and C. Carson(1990), *J. Nat. Prod.*, **53**, 1609.
18. N. C. Wheeler, K. Jech, S. Masters, S. W. Brobst, A. B. Alvarado and A. J. Hoover (1992), *J. Nat. Prod.*, **55**, 432.