

## 한국산 개비자 나무 (*Cephalotaxus koreana*) 의 알칼로이드 함량분석: 지역 및 계절에 따른 변화

김 상 익 · 최 형 균 · 송 재 영 · 김 진 현 · 이 현 수 · †홍 승 서  
삼양제넥스 생명공학연구소  
(접수 : 2000. 6. 24., 게재승인 : 2000. 9. 6.)

## Analysis of Alkaloid Contents in Korean Plumyew (*Cephalotaxus koreana*): Variation with Location and Season

Sang-Ic Kim, Hyung-Kyoon Choi, Jai-Young Song, Jin-Hyun Kim, Hyun-Soo Lee, and Seung-Suh Hong†  
Samyang Genex Biotech Research Institute, Taejon 305-348, Korea  
(Received : 2000. 6. 24., Accepted : 2000. 9. 6.)

The contents and composition of alkaloids including homoharringtonine, harringtonine, and cephalotaxine were determined in Korean native plumyew tree (*Cephalotaxus koreana*) collected from 17 different sites in Korea. The alkaloid contents of *C. koreana* varied with locations and plant populations from 11.8 mg/g to 195.2 mg/g of dry weight while *C. koreana* in southern area had higher alkaloid contents. The alkaloid compositions in *C. koreana* were highest with homoharringtonine (40%) and followed harringtonine (32%) and cephalotaxine (28%). Total alkaloids and homoharringtonine contents in needles were higher than those of stem by 2 fold. Alkaloid contents of *C. koreana* were the highest in winter, and the lowest in summer. Comparison of alkaloid contents and composition with other species of *Cephalotaxus* revealed that *C. koreana* was different to *C. harringtonia*, and contents of homoharringtonine were higher than other species. *C. koreana* could be potential source for homoharringtonine and related alkaloids.

**Key Words :** *Cephalotaxus koreana*, alkaloid, cephalotaxine, harringtonine, homoharringtonine, seasonal variation

### 서 론

개비자 나무 (*Cephalotaxus* 속)는 중국과 동북아시아에 서식하는 상록 교목으로 8-9개의 종을 포함한다(1). 한국에는 오직 *Cephalotaxus koreana* 한 종만이 자생하는데 북위 38도 이남에 널리 분포한다. 개비자 나무는 수고가 3 m 까지 자라고 3.5 - 4 cm 길이의 잎은 선형으로, 끝이 뾰족하고, 뒷면에 중륵이 뚜렷하고, 그 양측에 2개의 흰 줄이 있다. 꽃은 대개 자웅 동주로 3, 4월에 피고, 타원형의 열매는 10-1월에 열린다(2,3).

개비자 나무의 추출액은 예로부터 중국 한방에서 종양치료제로 사용되어 왔다(4). Powell 등(5)은 *Cephalotaxus harringtonia*의 추출액으로부터 homoharringtonine을 분리하고, P388 leukemia, L1210 leukemia, B16 melanoma 세포에 대한 항암 활성을 확인하였다. 그 후 현재까지 약 40 종 이상의 알칼로이드가 *Cep-*

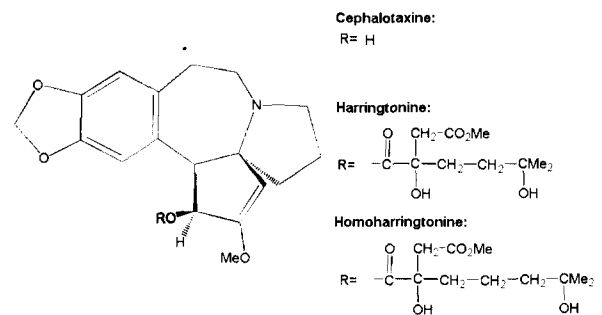
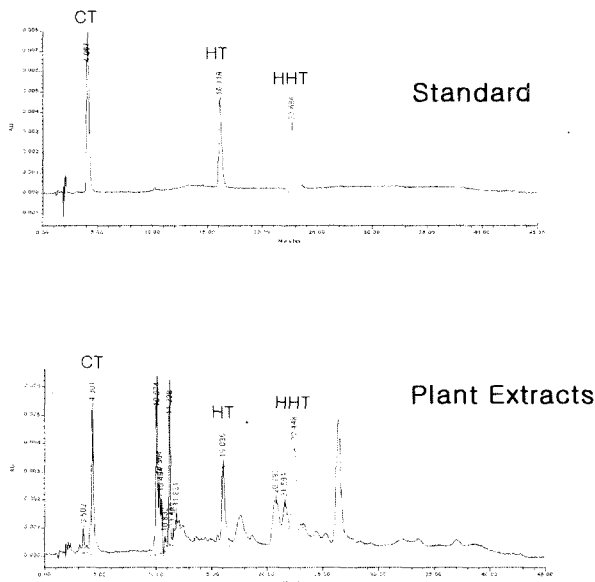


Figure 1. Chemical structures of cephalotaxine esters in *Cephalotaxus*.

*halotaxus* 여러 종에서 분리되었다(6). 항암 활성을 갖는 *Cephalotaxus* 알칼로이드는 모두 cephalotaxine 유도체로 harringtonine, homoharringtonine, isoharringtonine과 deoxyharringtonine 등이 있다 (Figure 1). 특히 homoharringtonine의 경우 현재 미국과 중국에서 만성 백혈병 (Chronic Myeloid Leukemia)에 대한 임상 2기가 진행 중이다(7).

*Cephalotaxus* 알칼로이드에 대한 연구는 주로 중국과 일본을 중심으로 여러 연구가 이루어졌는데 *Cephalotaxus* 각 종에 대한 새로운 알칼로이드를 분리, 동정하고 이들의 항암

†Corresponding Author : Samyang Genex Biotech Research Institute, Taejon 305-348, Korea  
Tel : +82-42-865-8341, Fax : +82-42-865-8398  
E-mail : sshong@gensex.co.kr



**Figure 2.** HPLC chromatographs of authentic cephalotaxine (CT), homoharringtonine (HT) and homoharringtonine (HHT) and extracts from twigs of Korean native plumyew (*C. koreana*). (A): standard; (B): plant extracts

활성을 조사하였다(6). 국내에 자생하는 개비자 나무 (*C. koreana*) 에서도 항암 활성을 가지는 homoharringtonine과 harringtonine이 존재한다는 보고(8)는 있었으나, 국내 분포하는 개비자 나무의 지역별, 계절별 성분의 변화에 대한 자세한 연구가 부족하다.

본 연구에서는 국내에 자생하는 개비자 나무에서의 알칼로이드 함량과 성분을 조사하고, 이를 다른 *Cephalotaxus* 종과 비교하였다. 또한, 조직별, 계절별 알칼로이드 함량의 변화에 대해서도 조사하였다. 이 결과들은 향후 개비자 나무의 알칼로이드 연구에 기초적인 자료가 될 뿐 아니라, 항암제로 가능성이 있는 homoharringtonine의 산업적인 생산에 이용할 수 있다.

## 재료 및 방법

### 식물 재료

본 연구에 사용한 한국산 개비자 나무 (*C. koreana*)는 1999년 2월에서 2000년 1월까지 국내의 수목원과 산에서 채집하였다. 수고 1.5 m 높이에서 잎과 줄기를 포함한 잔가지를 채취하였으며, 한 지역에서 2 내지 4개체의 개비자 나무에서 채집하였다. 다른 종의 *Cephalotaxus*는 천리포 수목원, Arnold Arboretum (미국), Royal Botanical Garden in Edinburgh (영국)에서 입수하였다. 식물체 시료는 60도에서 16시간 동안 건조시킨 후 분쇄하고 0.1 mm mesh를 통과시켜 분말로 만들어 이후 분석에 사용하였다.

### 알칼로이드의 추출

알칼로이드 분석은 Wickremesinhe 방법(9)을 변형시켜 사용하였다. 건조시킨 식물체 1 g을 methanol (50 ml)에 녹인 후 10분 간 sonication하여 추출하였다. 추출액은 감압농축시킨 후 0.5% ammonium hydroxide에 녹이고 (10 ml/g), 동량

의 chloroform으로 3회 분획한 다음, 분리한 chloroform 층을 감압농축 시켰다. 건조물을 methanol (1 ml/g)에 녹인 후 0.2  $\mu$ m filter로 여과하여 HPLC로 분석하였다.

### 알칼로이드의 정량 및 정성 분석

HPLC 분석은 C18 Column (4.6  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m)에서 이동상으로는 methanol과 0.1 M ammonium formate 용액을 사용하였다. 용매의 gradient 조건은 1.0 ml/min 유속으로 methanol : 0.1 M ammonium formate가 20:80에서 시작하여 30분 후 40:60이 되도록 하였다. 각 화합물의 검출은 290 nm 파장에서의 흡광도를 측정하여 결정하였다. 이 조건에서 알칼로이드의 검출 시간은 cephalotaxine: 5 min, harringtonine: 17 min, homoharringtonine: 24 min (Figure 2)이었다. 알칼로이드의 정량은 Sigma사에서 구입한 표준 물질의 피크 면적으로 표준 정량선을 작성한 후 계산하였다.

## 결과 및 고찰

### 지역별 알칼로이드 함량의 차이

국내의 개비자 나무는 북위 38도 이남에 널리 분포하고 있는데, 설악산, 오대산, 주왕산, 태안반도, 변산반도와 치악산을 제외한 국내 모든 주요 산에 개비자가 서식하고 있다(10). 이들 국내 자생하는 개비자 나무의 알칼로이드를 분석하기 위해 국내 수목원 (광릉 수목원, 홍릉 수목원, 서울대 수목원, 전주 수목원, 제주도 여미지, 한라 수목원)과 산 (관악산, 충북 음성, 소백산, 주흘산, 계룡산, 덕유산, 내장산, 지리산, 월출산, 한려수도, 다도해)에서 개비자 나무를 채집하여 그들의 알칼로이드 함량과 조성을 HPLC를 이용하여 분석하였다. 총 알칼로이드는 분석한 cephalotaxine, harringtonine, homoharringtonine (Figure 1)의 합으로 측정하였다. 그림 2의 HPLC chromatogram에서 보이는 것과 같이 3가지 알칼로이드들이 분명하게 분리되므로 본 실험에 사용한 분석 조건이 적합하다는 것을 알 수 있었다.

총 알칼로이드의 함량은 지역에 따라 큰 차이를 보였는데 건조중량의 11.8 mg/g에서 195.2 mg/g의 범위 안에 존재하였다 (Table 1). 조사 지역 중 특히 월출산과 다도해의 개비자에서의 알칼로이드 함량이 195.2 mg/g와 159.6 mg/g로 가장 높았으며 수목원의 개비자의 경우 전주 수목원에 식재되어 있는 개비자에서의 알칼로이드 함량이 147.0 mg/g로 높게 나타났다. 자생하는 개비자와 수목원에 식재되어 있는 개비자의 알칼로이드 함량 차이는 개체간의 차이를 감안할 때 거의 무시할 만한 수준이었다. 전체 분포에서 보면 남쪽으로 갈수록 총 알칼로이드와 homoharringtonine의 함량이 증가되는 경향을 나타내었다. 개비자의 알칼로이드 함량은 기후와 환경 조건에 밀접한 관련이 있는 것으로 보인다. 남쪽에 자생하는 개비자의 경우 북쪽에 비해 수고가 높고 잎의 크기가 증가하는 형태학적인 특징을 보였다. 남쪽의 습하고 따뜻한 기후가 개비자 나무의 성장 뿐만 아니라, homoharringtonine과 같은 알칼로이드 축적에 유리하다고 생각된다. 알칼로이드 함량의 변화는 또한 나무의 채취 시기에 의해서도 큰 영향을 받았다.

총 알칼로이드 함량이 지역별, 개체별로 큰 차이를 보임에도 불구하고, 분석한 3가지 알칼로이드의 존재 비는 homo-

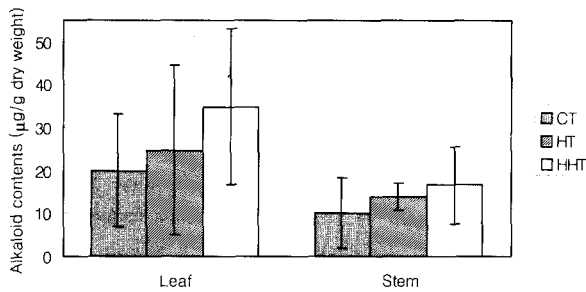


Figure 3. The variation of alkaloid contents with plant parts in *C. koreana*. (CT: cephalotaxine, HT: harringtonine, HHT: homoharringtonine)

harringtonine의 함량이 총 알칼로이드의 40%로 가장 높게 존재하였고, harringtonine이 32%, 그리고 cephalotaxine의 함량이 28%로 가장 낮게 함유되어 있었다 (Table 1). 개비자 나무에서의 알칼로이드의 조성비는 Delfel 등(11)이 지적했듯이 *Cephalotaxus* 알칼로이드의 생합성 경로와 깊은 관련이 있다고 생각된다. 그림 2의 HPLC chromatogram에서 보면 확인되지 않은 몇 개의 peak가 존재하는데, 이들은 새로운 cephalotaxine esters이거나 *C. koreana*에 특이적으로 존재하는 물질일 가능성이 있다. 그러므로 이들 화합물에 대한 좀 더 깊은 연구가 진행되어야 할 것이다.

조직별, 계절별 알칼로이드 함량 변화

식물 조직에서의 알칼로이드 함량을 분석하기 위해 국내 자생하는 20개체의 개비자로부터 잎과 줄기를 분리하여 알칼로이드를 정량하였다 (Figure 3). 개비자 나무 잎에서의 총 알칼로이드 함량은 79.7±45.3 mg/g로 줄기 (40.7±20.4 mg/g)의 약 2배 정도이고 homoharringtonine의 함량도 34.9±18.3 mg/g로 줄기의 16.6±9.0 mg/g보다 높게 존재하였다. *C. oliveri*에서 harringtonine은 뿌리에서 가장 높고 밑가지, 윗가지 순으로 위로 올라갈수록 줄어들었다(12). *C. fortunei*와 *C. sinensis*

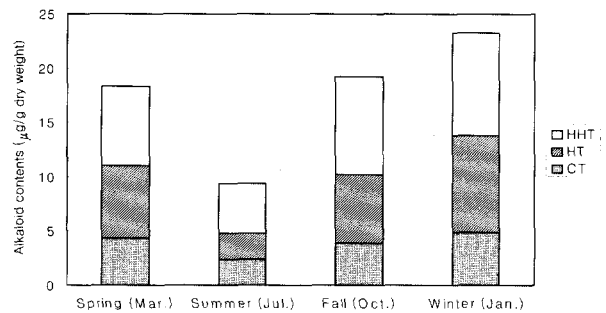


Figure 4. Seasonal change of *Cephalotaxus* alkaloid contents in *C. koreana* located in Kyeryong mountain.

(CT: cephalotaxine, HT: harringtonine, HHT: homoharringtonine)

의 homoharringtonine과 harringtonine 함량은 stem, bark, 잔가지, 뿌리에서보다 종자에서 가장 높았다(13). 비록 *C. koreana*의 뿌리와 종자에서의 함량을 분석하지는 못하였으나 잎에서의 homoharringtonine의 함량이 비교적 높으므로 homoharringtonine의 생산에 가능한 원료로 사용이 가능하다. 잎은 또한 매년 재생이 가능한 renewable sources이므로 다른 조직에 비해 안정된 공급원으로 사용될 수 있다.

계절별 알칼로이드 함량의 변화를 관찰하기 위해 계룡산에 서식하는 개비자 나무를 1999년 3월에서 2000년 1월까지 각 계절마다 채집하여 분석하였다. 계절에 따른 총 알칼로이드의 함량 변화를 살펴보면 봄 (3월)에 채집한 개비자 나무의 알칼로이드 함량은 건조 중량의 약 18 mg/g이고, 여름 (7월)에 가장 낮게 존재한다 (9 mg/g). 이후, 가을 (10월)에 약간 증가하며 (19 mg/g) 겨울 (1월)에 가장 높은 수치로 건조중량의 25 mg/g의 알칼로이드가 존재한다. Delfel 등(11)에 의하면 *C. harringtonia*에서도 여름에 알칼로이드 함량이 가장 낮게 함유되어 있다. 또 *C. oliveri*에서의 harringtonine 함량도 겨울에 가장 높게 존재한다(13). 일반적으로 개비자 나무는 일광이 길고 기온이 높은 여름 기간에 빠른 성장을 보인다.

Table 1. The contents of cephalotaxine (CT), harringtonine (HT), and homoharringtonine (HHT) from 17 different sites of Korea.

Sources	# of plants	Alkaloid contents (µg/g dry weight)				Alkaloid (%)		
		CT	HT	HHT	Total	CT	HT	HHT
Hongnung arboretum*	2	7.8	2.7	11.7	22.2	35	12	53
Kwangnung arboretum*	4	2.4	4.2	5.2	11.8	21	35	44
Mt. Kwanak	2	5.6	23.2	27.5	56.3	10	41	49
Suwon arboretum*	3	7.8	15.5	45.4	68.6	11	23	66
Chungbuk Umsung	2	1.5	6.7	13.8	21.9	7	31	63
Mt. Sobak	2	16.7	21.0	11.0	48.7	34	43	23
Mt. Juhuel	6	6.2	17.7	28.2	52.1	12	34	54
Mt. Kyeryong	4	5.1	6.2	9.5	20.8	25	30	46
Chunju arboretum*	1	23.3	36.8	86.9	147.0	16	25	59
Mt. Dukyoo	1	2.5	35.2	47.4	85.0	3	41	56
Mt. Naejang	4	10.9	24.3	27.3	62.6	17	39	44
Mt. Jiri	2	16.6	10.6	17.4	44.6	37	24	39
Mt. Wallchul	3	75.7	55.6	64.0	195.2	39	28	33
Hallyo Soodo	2	33.6	6.6	12.7	52.9	63	13	24
Dado Sea	2	60.0	69.5	30.1	159.6	38	44	19
Cheju Island* (2 arboretums)	3	7.1	14.6	24.2	45.8	15	32	53
Total/Average	28	24.1	27.7	34.8	86.6	28	32	40

\* means samples collected from arboretums.

**Table 2.** Comparison of alkaloid contents and composition in four species of *Cephalotaxus* and 2 related genus.

Sources	# of plants	Alkaloid contents ( $\mu\text{g/g}$ dry weight)				Alkaloid (%)		
		CT	HT	HHT	Total	CT	HT	HHT
<i>C. koreana</i>	28	24.0	28.0	35.0	87.0	28	32	40
<i>C. harringtonia</i>	7	57.0	31.0	31.0	119.0	48	26	26
<i>C. fortunei</i>	4	101.0	49.0	23.0	173.0	58	28	13
<i>C. sinensis</i>	2	4.3	9.4	11.0	24.7	17	38	45
<i>Torreya nucifera</i>	2	0.6	0.6	0.8	1.9	-	-	-
<i>Taxus cuspidata</i>	3	0.5	0.0	0.0	0.5	-	-	-

생장과 이차 대사산물은 여러 식물과 세포 배양에서 역관계를 가진다고 보고(11)되어 있다. 그러므로 이 결과를 바탕으로 볼 때 homoharringtonine의 생산을 위해 개비자를 채취할 경우 겨울이 가장 적절한 시기라고 생각된다.

### 종별 알칼로이드 함량과 조성의 차이

*Cephalotaxus*의 다른 종과의 알칼로이드 함량과 조성의 차이를 알아보기 위해 중국산 개비자 (*C. fortunei*), 일본산 개비자 (*C. harringtonia*)와 *C. sinensis*의 줄기와 잎을 포함한 잔 가지로부터 알칼로이드를 분석하였다 (Table 2). 총 알칼로이드 함량은 건중량의 173 mg/g을 함유한 *C. fortunei*가 가장 높았으며 *C. harringtonia* (119.0 mg/g), *C. koreana* (87.0 mg/g), *C. sinensis* (24.7 mg/g) 순이었다. 개비자 나무와 근연 관계에 있는 비자나무 (*Torreya nucifera*)와 주목 (*Taxus cuspidata*)에서는 homoharringtonine등이 거의 검출되지 않았다. *C. fortunei*와 *C. harringtonia*의 경우 cephalotaxine의 함량이 가장 높게 존재하는 데 이는 *C. fortunei*와 *C. harringtonia* var. *drupacea*의 잎과 줄기에 존재하는 알칼로이드 중 cephalotaxine이 각각 50%와 54% 차지한다는 이전 보고(6)와 일치한다. 종마다 알칼로이드 조성이 다른 것은 이차대사경로가 각 종에 특이하다는 것을 의미한다. 그러므로 이런 알칼로이드 조성은 개비자 나무 속의 분류에 사용될 수가 있다. *C. koreana*와 *C. harringtonia*는 분류학적으로 매우 근연 관계에 있다고 알려진 종으로 형태적으로나 지역적으로 매우 유사한 특성을 나타낸다. 일부 학자의 경우 *C. koreana*를 *C. harringtonia*의 변종 (*C. harringtonia* var. *koreana*)으로 간주하는 경우(14)도 있다. 그러나 위의 알칼로이드 분석 결과에 의하면 두 종간의 함량과 조성에서 차이를 보이며 이들 간의 분류적인 차이가 있다고 생각된다.

### 요 약

국내에 자생하는 개비자 나무 (*Cephalotaxus koreana*)에서의 알칼로이드 (homoharringtonine, harringtonine와 cephalotaxine)의 함량과 조성을 분석하였다. 알칼로이드의 함량은 지역과 개체군에 따라 큰 차이를 보였는데, 건중량의 11.8 mg/g에서 195.2 mg/g의 범위 내에 존재하였다. 알칼로이드의 함량은 남부 지방에서 자생하는 수목에서 더 높게 존재하는 경향을 보였다. 알칼로이드의 성분 조성은 homoharringtonine이 총 알칼로이드의 40%로 가장 많은 부분을 차지하고, harringtonine (32%), cephalotaxine (28%) 순이었다. 개비자 나무의 잎에서의 총 알칼로이드와 homoharringtonine 함량은 줄기에 비해 약 2배 정도 높게 존재하였다. 계절에 따라 알칼로이드의 함

량이 차이를 보였는데 겨울에 가장 높고, 여름에 가장 적게 함유되어 있었다. 다른 *Cephalotaxus* 종과 비교한 결과 *C. koreana*는 *C. harringtonia* 등과 달리 비교적 높은 homoharringtonine을 함유하고 있었다. 이 결과로 볼 때 *C. koreana*는 homoharringtonine의 생산에 적합한 원료로 사용될 수 있다.

### REFERENCES

- van Gelderen D. M. (1986), Conifers, Helm, London.
- Nakai, T. (1930), Noturae ad Plantas Japoniae et Koreae XXXIX, *Bot. Mag. Tokyo*, **44**, 507-537.
- Lee, C.B. (1980), A pictorial book of the Korean flora, p.58, Hyangmun-Sa, Seoul.
- Ohnama, T. and J. F. Holland (1985), Homoharringtonine as a new antileukemic agent, *J. Clin. Oncol.*, **3**, 604-606.
- Powell, R. G., D. Weisleder and C. R. Smith (1972), Antitumor alkaloids from *Cephalotaxus harringtonia*: structure and activity, *J. Pharm. Sci.*, **61**, 1227-1230.
- Miah, M. A., J. T. Hudlicky and J. W. Reed (1998), *Cephalotaxus* alkaloids, In *Alkaloids Vol. 51*, G.A. Cordell, Ed., p.199-265, Academic Press, New York.
- Zhou, D. C., R. Zittoun, and J. P. Marie (1995), Homoharringtonine: an effective new natural product in cancer chemotherapy, *Bull. Cancer*, **82**, 987-995.
- Park, Y. I., Y. Lee, H. C. Lee, C. W. Yun, G. S. Lee, D. S. Shin, W. H. Joo, G. R. Kwon and Y. Yeeh (1996), Identification of harringtonine and homoharringtonine and their contents in Korean native plumyew (*Cephalotaxus koreana*), *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **11**, 689-695.
- Wickremesinhe, E. R. M. and R. N. Arteca (1996), HPLC separation of cephalotaxine, harringtonine and homoharringtonine from callus and root cultures of *Cephalotaxus harringtonia*, *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.*, **19**, 889-897.
- National Parks Authority of Korea (1995), A comprehensive plan for conservation of natural ecological system in national parks of Korea, p.113-235, National Parks Authority of Korea, Seoul.
- Delfel, N. E. (1980), Alkaloid distribution and catabolism in *Cephalotaxus harringtonia*, *Phytochemistry*, **19**, 403-408.
- Pan, W., L. Mia and Y. Li (1983), *Zhongyao Tongbao* **8**, 15; *Chem. Abstr.*, **100**, 99907u.
- Ma, Y., M. Guo, T. Zhu, G. Ma, C. Lu, H. Huang and Y. Yang (1984), *Zhiwu Xuebao* **26**, 405; *Chem. Abstr.*, **101**, 207668y.
- Lee, Y.N. (1996), An illustrated book of Korean flora, p.36-37, Kyohak-Sa, Seoul.