

오미자로부터 분리된 화합물의 암세포 증식 억제 효과

서원세 · 박소연 · 민병선¹ · 김세현² · 송정호² · 심상희*
영남대학교 생명공학부, ¹대구가톨릭대학교 약학대학, ²국립산림과학원

The Antiproliferative Effects of Compounds Isolated from *Schisandra chinensis*

Won-Se Suh, So Yeon Park, Byung Sun Min¹, Sea Hyun Kim², Jeong Ho Song², and Sang Hee Shim*

School of Biotechnology, Yeungnam University
¹College of Pharmacy, Catholic University of Daegu
²Korea Forest Research Institute

Abstract We isolated twelve lignans and three terpenoids were isolated from the *n*-hexane fraction of *Schisandra chinensis* extract. Using spectroscopic data and comparison with available literature, the following compounds were identified: (1) wuweizisu C, (2) gomisins N, (3) deoxyschisandrin, (4) gomisins A, (5) schisandrin, (6) chamigrenal, (7) schisanlactone D, (8) methylgomisin O, (9) angeloylgomisins O, (10) (-)-gomisin L₂, (11) schisandronic acid, (12) (-)-gomisin L₁, (13) (+)-gomisin K₃, (14) gomisin J, and (15) tigloylgomisins H. Notably, this was the first finding that compound (8) was isolated from this plant. Each compound was evaluated for its *in vitro* cytotoxic activities toward HL-60 (human leukemia), HeLa (human cervical carcinoma), and MCF-7 (breast cancer) cell lines. Compounds (7), (8), and (9) exhibited strong cytotoxic effects on HL-60 (IC₅₀ 7.37, 6.60, and 8.00 μM, respectively), whereas compound (6) exhibited weak cytotoxicity towards MCF-7 (IC₅₀ 30.50 μM). In addition, compound (8) showed the strongest activity towards HeLa cells (IC₅₀ 1.46 μM).

Keywords: *Schisandra chinensis*, cytotoxicity, lignan, methylgomisin O

서 론

오미자(五味子)는 오미자과(Schisandraceae)에 속하는 낙엽성 목본의 덩굴식물인 오미자나무(*Schisandra chinensis* Baillon)의 붉은 색 과실을 말하며, 생약재 및 식품원료로 이용하는 주요 기능성 식물이다(1). 오미자는 단맛, 신맛, 쓴맛, 짠맛 및 매운맛의 다섯 가지 맛이 난다는 의미로 붙여진 이름으로 잘 알려져 있다. 오미자는 예로부터 한국, 중국, 일본 등에서 거담제, 자양제, 강장제 등으로 이용되어왔으며, 약리기능이 다양하며 진정, 진해, 해열 등의 중추억제작용, 혈압강화작용 그리고 알콜해독작용이 있다(2).

현재까지 알려진 오미자에 함유되어있는 주성분으로는 schizandrins A-C, gomisins A-H, gomisins J-K, gomisin N 등의 lignan (3)과 wuweizidilactones G-H, schindilactones A-G, wuwerizilactone acid 등의 triterpenoid (4)가 보고되어 있다. 또한 오미자에는 약 1.5%의 sugars, tannins, color substances과 약 3%의 citric acid, malic acid, acetic acid, succinic acid, cinnamic acid 등과 같은 organic acid류가 있으며, copper, manganese, nickel 그리고

zinc와 같은 metal류, 및 정유 성분도 보고된 바 있다(5-6).

오미자와 관련된 약리활성연구로는 오미자에서 추출된 gomisin N, schisandrin B와 같은 dibenzocyclooctadiene의 골격을 가지는 lignans들의 항산화 효과(7-8), 간세포 보호 효과(9)와 dibenzocyclooctadiene ring 내에 aromatic methylenedioxy와 hydroxyl 두 group을 모두 가지는 lignan류의 acetylcholinesterase에 대한 저해 효과(10), schisandrin의 항염증 효과(11) 등이 있다. 특히 오미자의 간 보호 효과는 탁월하여, 이미 중국에서는 오미자에 함유되어 있는 dibenzocyclooctadiene 계열의 lignan를 주요 성분으로 하여 DDB라는 간장약을 개발한 바 있다(12-13).

또한, 오미자 추출물의 항암 효과에 대한 연구로는 간암세포, 대장암세포에 대해 보고된 바 있으며, 오미자의 단일성분의 항암 효과에 대해서는 schizandrin의 유방암세포, gomisin N의 혈구암세포에 대한 연구가 보고되었다(14).

그러나 이런 항암 효과에 대한 연구는 gomisin N, schizandrin 등 오미자에 많이 함유된 major compound들에 대한 실험이 대부분이며, minor compound들에 대한 항암 효과에 대한 연구는 전무한 실정이다.

따라서, 본 연구는 오미자의 *n*-hexane 분획으로부터 13종의 lignan화합물과 3종의 terpene 화합물들을 분리하여 이들의 화학적 구조를 분광학적인 방법을 통해 규명하였다. 또한, 분리한 compound에 대한 암세포 증식 억제 활성을 알아보기 위해 본 연구에서는 HL-60 (human leukemia), MCF-7 (human breast cancer), HeLa (human cervical carcinoma cells)에 대해 MTT assay method을 이용한 세포독성 활성 평가를 실시하여 minor compound들의 암세포 증식 억제물질로써 이용 가능성을 조사하였다.

*Corresponding author: Sang Hee Shim, School of Biotechnology, Yeungnam University, Gyeongsan, Gyeongbuk 712-749, Korea
Tel: 82-53-810-3028
Fax: 82-53-810-4769
E-mail: shshim29@ynu.ac.kr
Received April 9, 2013; revised November 12, 2013;
accepted December 3, 2013

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 오미자는 2009년 9월 문경에서 재배된 과실을 구입하여 900 g을 사용하였다. 표본은 영남대학교 생명공학과 천연물화학 연구실에 보관 중이다.

기기 및 시약

TLC (thin layer chromatography)의 확인은 UV detector (VL-6-LC, Virber Lourmat, France)을 이용한 254 nm, 365 nm detection과 발색을 병행하여 이루어졌다. 선광도 측정은 JASCO DIP1000 (Tokyo, Japan) automatic digital polarimeter를 통해 이루어졌다. 분리 및 정제를 위해 사용된 HPLC는 G1322A vacuum degasser, G1311A quaternary pump 및 G1315D DAD detector가 장착된 Agilent 1200 infinity series (Santa Clara, CA, USA)이다. HPLC에 사용된 column은 Luna C₁₈ (250×10.00 mm, Phenomenex)과 ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ column (Semi-preparative 9.4×250 mm 5 μm, Agilent), ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ (Semi-preparative 4.6×150 mm, 5 μm, Agilent)이다. NMR spectrum은 Varian VNS 600 spectrometer (¹H: 600 MHz, ¹³C: 150 MHz, Varian Walnut Creek, CA, USA)와 Varian Unity INOVA FT-NMR spectrometer (500 MHz, Varian Walnut Creek, CA, USA), 그리고 Bruker DPX 300 spectrometer (¹H: 300 MHz, ¹³C: 75 MHz, Ettlingen, Germany)를 사용하여 측정하였고, NMR chemical shift value는 part per million (ppm)단위로 나타내었다. 추출, 분획 및 column chromatography용 용매는 시약용 1급(OCI Company Ltd., DC Chemical Co. Ltd.)을 사용하였고, HPLC용 용매는 HPLC grade의 water, acetonitrile (ACN), 그리고 MeOH (Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)을 사용하였다. NMR용 용매에는 CDCl₃ (Cambridge Isotope Laboratories, Andover, MA, USA)가 사용되었다. Column chromatography용 고정상은 70-230 mesh의 silica gel과 70 mesh 이하의 silica gel (Merck, Darmstadt, Germany)를 사용하였고, TLC용으로는 Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck, Darmstadt, Germany)를 plate로 사용하였으며 20% aq H₂SO₄가 발색시약으로 사용되었다.

오미자 추출물로부터 성분들의 분리

건조된 오미자 과실 900 g을 MeOH로 추출하여 MeOH 추출물 503.4 g을 얻었다. 이것을 극성에 따라 순차적으로 *n*-hexane, CH₂Cl₂, 및 EtOAc로 분획을 실시하여 각각 34.6, 10.6, 135.2 g의 분획물을 얻었다. 그 중 *n*-hexane 층 34 g에 대하여 open column chromatography 및 semi-preparative HPLC를 실시하여 lignan 화합물 12종과 terpenoid 화합물 3종, 총 15종의 화합물들을 분리, 정제하였다(Fig. 1).

암세포 증식 억제 활성 평가

세포주(HL-60, MCF-7 및 HeLa)는 10% FBS와 2% penicillin-streptomycin (Sigma-Aldrich Chemical, St. Louis, MO, USA)가 있는 L-glutamine을 함유하는 RPMI 1640 (Sigma-Aldrich Chemical, St. Louis, MO, USA)에 보관하였다가 37°C에서 5% CO₂ incubator (Thermo Scientific, Woburn, MA, USA)에서 배양하였다. 세포독성은 변형된 MTT assay를 이용하여 측정하였다(15). 살아 있는 세포들은 96 well에 각 well 당 growth medium 100 μL에 1×10⁴개의 세포가 들어가도록 하여 37°C에서 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 각 시료는 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 녹인

후 5.0에서 150 μM가 되도록 growth medium으로 희석하여 최종적으로 DMSO 농도는 0.1%를 넘지 않도록 하였으며, 각 시료 당 동일한 방법으로 세 개를 준비하였다. 24 h 후 test sample 10 μL를 각 well에 추가하였고, 동일한 양의 DMSO를 control well에 넣었다. Test sample 처리 48 h 후 medium을 제거하고, MTT 10 μL (Alfa Aesar Inc., Ward Hill, MA, USA)를 최종 농도 5 mg/mL가 되도록 각 well에 첨가하였다. 4 h incubation 후 plate를 제거하고, 생성된 formazan crystals을 DMSO 150 mL에 녹이고, 570 nm에서 optical density (O.D.)를 측정하였다. IC₅₀는 vehicle-treated control에 비하여, 흡광도가 50% 감소된 시료의 농도로 정의한다.

통계분석

모든 실험은 3반복으로 실시하였으며 data는 평균치±표준편차로 표기하였다. 정량적인 결과의 통계는 Student's t-test를 이용하여 분석하였으며 *p*<0.05 이하인 경우 통계적 유의성을 평가하였다.

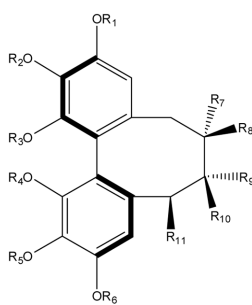
결과 및 고찰

오미자에서 분리된 화합물들의 구조 규명

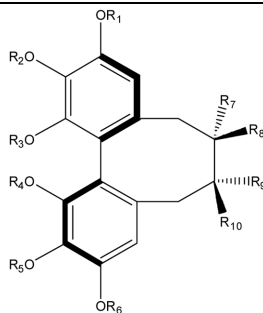
오미자 *n*-hexane layer로부터 column chromatography 및 HPLC를 이용하여 12종의 lignan 화합물 및 3종의 terpenoid 화합물들을 분리하여 총 15종의 화합물들을 분리하였다. 이 화합물들의 화학 구조는 분광학적인 방법을 이용하여 각각 wuweizisu C (**1**) (16), gomisin N (**2**) (17-18), deoxyschisandrin (**3**) (17-18), gomisin A (**4**) (17,19), schisandrin (**5**) (18), chamigrenal (**6**) (20), schisanlactone D (**7**) (21), methylgomisin O (**8**) (22), angeloylgomisin O (**9**) (23), (-)-gomisin L2 (**10**) (23), schisandronic acid (**11**) (24), (-)-gomisin L1 (**12**) (23), (+)-gomisin K3 (**13**) (17), gomisin J (**14**) (17), tigloylgomisin H (**15**)로 규명하였다.

화합물 **1** (wuweizisu C) - 백색 침상 결정. [α]_D²⁰ = -59.4° (c 1.0×10⁻³ g/mL, chloroform). ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 0.70 (3H, d, *J*=6.9 Hz, 7-CH₃), 0.94 (3H, d, *J*=6.9 Hz, 8-CH₃), 1.75 (1H, m, H-8), 1.82 (1H, m, H-7), 2.07 (1H, m, H-9), 2.24 (1H, m, H-9'), 2.52 (1H, m, H-6), 2.57 (1H, m, H-6'), 5.91 (2H, d, *J*=1.5 Hz, OCH₂O), 5.93 (2H, br s, OCH₂O), 6.46 (1H×2, s, H-4, H-11), 3.80 (3H, s, OCH₃), 3.81 (3H, s, OCH₃); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 148.8 (C-1), 134.8 (C-2), 147.7 (C-3), 106.2 (C-4), 132.9 (C-5), 38.9 (C-6), 33.7 (C-7), 40.8 (C-8), 35.4 (C-9), 138.4 (C-10), 103.3 (C-11), 148.8 (C-12), 134.5 (C-13), 141.1 (C-14), 121.1 (C-15), 122.3 (C-16), 21.9 (C-17), 12.7 (C-18), 100.9 (OCH₂O×2), 59.8 (OCH₃×2).

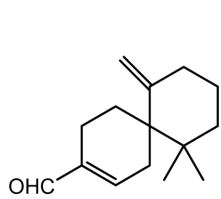
화합물 **2** (gomisin N) - 백색 결정. [α]_D²⁰ = -87.7° (c 1.0×10⁻³ g/mL, chloroform). ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 0.71 (3H, d, *J*=6.9 Hz, 7-CH₃), 0.95 (3H, d, *J*=7.8 Hz, 8-CH₃), 1.78 (1H, m, H-8), 1.89 (1H, m, H-7), 2.01 (1H, m, H-9), 2.22 (1H, m, H-9'), 2.51 (1H, m, H-6), 2.58 (1H, m, H-6'), 5.90 (2H, br s, OCH₂O), 6.45 (1H, s, H-11), 6.59 (1H, s, H-4) 3.52 (3H, s, OCH₃), 3.79 (3H, s, OCH₃), 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.87 (3H, s, OCH₃); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 151.6 (C-1), 140.0 (C-2), 151.6 (C-3), 110.6 (C-4), 134.1 (C-5), 39.1 (C-6), 33.6 (C-7), 40.7 (C-8), 35.5 (C-9), 137.8 (C-10), 103.0 (C-11), 148.7 (C-12), 134.6 (C-13), 141.1 (C-14), 121.3 (C-15), 123.3 (C-16), 21.7 (C-17), 12.9 (C-18), 100.8 (C-OCH₂O), 61.1, 60.6, 59.7, 55.9 (C-OCH₃).



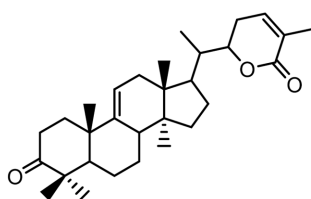
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉	R ₁₀	R ₁₁
1	Wuweizisu C		CH ₂	Me	Me		CH ₂	Me	H	Me	H	H
2	Gomisin N		CH ₂	Me	Me	Me	Me	Me	H	Me	H	H
8	Methylgomisin O		CH ₂	Me	Me	Me	Me	Me	H	Me	H	OMe
9	Angeloylgomisin O		CH ₂	Me	Me	Me	Me	Me	H	Me	H	angeloyl
10	Gomisin L ₂	H	Me	Me	Me		CH ₂	Me	H	Me	H	H
12	Gomisin L ₁	Me	Me	H	Me		CH ₂	Me	H	Me	H	H
14	Gomisin J	H	Me	Me	Me	Me	H	Me	H	Me	H	H



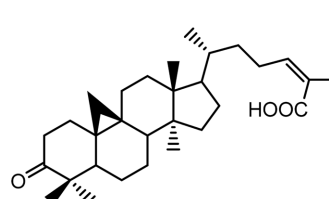
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉	R ₁₀
3	Deoxyschisandrin	Me	Me	Me	Me	Me	Me	Me	H	Me	H
4	Gomisin A		CH ₂	Me	Me	Me	Me	Me	H	Me	OH
5	Schisandrin	Me	Me	Me	Me	Me	Me	Me	H	Me	OH
13	Gomisin K ₃	Me	Me	H	Me	Me	Me	Me	H	Me	H
15	Tigloylgomisin H	Me	Me	Tigloyl	Me	Me	Me	Me	H	Me	OH



chamigrenal (6)



schisanlactone D (7)



schisandronic acid (11)

Fig. 1. Chemical structures of compounds isolated from *S. chinensis*.

화합물 **3** (deoxyschisandrin) - 백색 분말. $[\alpha]_D^{25} = -4.5^\circ$ (c 1.0×10⁻³ g/mL, chloroform). ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 0.69 (3H, d, $J=6.9$ Hz, 8-CH₃), 0.95 (3H, d, $J=6.9$ Hz, 7-CH₃), 1.78 (1H, m, H-8), 1.86 (1H, m, H-7), 2.01 (1H, d, $J=13$ Hz, H-9), 2.24 (1H, dd, $J=9.6, 13$ Hz, H-6'), 2.45 (1H, d, $J=13$ Hz, H-9), 2.53 (1H, d, m, H-6), 3.54 (6H, s, 2×OCH₃), 3.83 (6H, s, 2×OCH₃), 3.84 (6H, s, 2×OCH₃), 6.50 (2H, s, H-4, 11); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 151.6 (C-1), 140.1 (C-2), 152.9 (C-3), 107.2 (C-4), 139.2 (C-5), 35.6 (C-6), 40.8 (C-7), 33.8 (C-8), 39.2 (C-9), 133.9 (C-10), 110.5 (C-11), 151.6 (C-12), 139.7 (C-

13), 151.4 (C-14), 123.4 (C-15), 122.3 (C-16), 12.7 (C-17), 21.9 (C-18), 55.8, 55.9, 60.6 (3×OCH₃), 60.9 (3×OCH₃).

화합물 **4** (gomisin A) - 백색 분말. $[\alpha]_D^{25} = +36.8^\circ$ (c 1.0×10⁻³ g/mL, chloroform). ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 0.80 (3H, d, $J=7.2$ Hz, 8-CH₃), 1.23 (3H, s, 7-CH₃), 1.86 (1H, br s, H-8), 2.31 (1H, dd, $J=7.5, 13.8$ Hz, H-9), 2.34 (1H, d, $J=13.8$ Hz, H-6'), 2.57 (1H, d, $J=13.5$ Hz, H-9), 2.67 (1H, d, $J=13.8$ Hz, H-6), 5.95 (2H, d, $J=2.4$ Hz, OCH₂O), 6.46 (1H, s, H-11), 6.60 (1H, s, H-4) 3.49 (3H, s, OCH₃), 3.82 (3H, s, OCH₃), 3.88 (3H×2, s, OCH₃); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) 152.3 (C-1),

140.7 (C-2), 152.1 (C-3), 110.3 (C-4), 132.0 (C-5), 40.5 (C-6), 71.7 (C-7), 42.0 (C-8), 33.7 (C-9), 132.5 (C-10), 105.9 (C-11), 147.8 (C-12), 134.9 (C-13), 141.2 (C-14), 121.8 (C-15), 124.1 (C-16), 15.8 (C-17), 30.1 (C-18), 100.8 (-OCH₂O-), 55.9, 59.7, 60.6, 61.1 (4×OCH₃).

화합물 **5** (schisandrin) - 백색 분말. $[\alpha]_D^{20} = +75.2^\circ$ (*c* 1.0×10⁻³ g/mL, chloroform). ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 0.80 (3H, d, *J*=7.5 Hz, 8-CH₃), 1.23 (3H, s, 7-CH₃), 1.87 (1H, m, H-8), 2.33 (1H, m, H-6), 2.37 (1H, m, H-9'), 2.60 (1H, m, H-9), 2.65 (1H, m, H-6'), 6.51 (1H, s, H-11), 6.58 (1H, s, H-4), 3.55 (3H, s, OCH₃), 3.57 (3H, s, OCH₃), 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.86 (3H, s, OCH₃), 3.87 (3H, s, OCH₃), 3.88 (3H, s, OCH₃); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 151.9 (C-1), 140.8 (C-2), 152.4 (C-3), 110.5 (C-4), 131.9 (C-5), 40.9 (C-6), 71.9 (C-7), 41.9 (C-8), 34.3 (C-9), 133.9 (C-10), 110.0 (C-11), 152.1 (C-12), 140.2 (C-13), 151.6 (C-14), 122.8 (C-15), 124.2 (C-16), 15.9 (C-17), 29.9 (C-18), 56.1 (2×OCH₃), 60.7 (2×OCH₃), 61.0 (2×OCH₃).

화합물 **6** (chamigrenal) - 노란색 oil. $[\alpha]_D^{20} = -53.7^\circ$ (*c* 1.0×10⁻³ g/mL, chloroform). ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 0.79 (3H, s, H-12), 0.83 (3H, s, H-13), 4.26 (1H, s, H-14A), 4.78 (1H, s, H-14B), 6.71 (1H, dd, *J*=4.2, 3.6 Hz, H-4), 9.29 (1H, s, H-15); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 25.0 (C-1), 19.1 (C-2), 140.8 (C-3), 151.1 (C-4), 31.0 (C-5), 46.0 (C-6), 148.4 (C-7), 31.9 (C-8), 23.5 (C-9), 36.8 (C-10), 37.2 (C-11), 23.1 (C-12), 25.0 (C-13), 110.7 (C-14), 193.7 (C-15).

화합물 **7** (schisanlactone D) - 백색 분말. $[\alpha]_D^{20} = +36.8^\circ$ (*c* 1.0×10⁻³ g/mL, chloroform). ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 6.61 (1H, br s, H-24), 5.30 (1H, br s), 4.48 (1H, d, *J*=14.7 Hz), 2.73 (1H, m), 2.40-2.05 (6H, m), 1.92 (3H, m, H-27), 0.99 (3H, m, H-21), 1.24, 1.08, 1.07, 0.74, 0.72 (each 3H, s, H-29, H-30, H-19, H-28, H-18); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 36.8 (C-1), 34.9 (C-2), 216.7 (C-3), 46.7 (C-4), 53.6 (C-5), 22.6 (C-6), 27.8 (C-7), 42.0 (C-8), 147.4 (C-9), 39.2 (C-10), 116.1 (C-11), 37.2 (C-12), 44.9 (C-13), 47.7 (C-14), 34.0 (C-15), 26.9 (C-16), 46.9 (C-17), 14.3 (C-18), 22.0 (C-19), 39.2 (C-20), 13.3 (C-21), 80.6 (C-22), 23.6 (C-23), 139.3 (C-24), 128.5 (C-25), 166.5 (C-26), 16.9 (C-27), 18.6 (C-28), 25.7 (C-29), 21.8 (C-30).

화합물 **8** (methylgomisin O) - 백색 분말. $[\alpha]_D^{20} = -2.4^\circ$ (*c* 1.0×10⁻³ g/mL, chloroform). ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 0.85 (6H, d, *J*=6.9 Hz, 7, 8-CH₃), 1.58 (1H, m, H-8), 1.81 (1H, m, H-7), 1.95 (1H, m, H-9A), 2.37 (1H, m, H-9B), 2.97 (3H, s, 6-OCH₃), 3.69, 3.72, 3.77, 3.82 (each 3H, s, 4×OCH₃), 6.01, 6.03 (each 1H, s, -OCH₂O-), 6.55 (1H, s, H-11), 6.59 (1H, s, H-4); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 142.6 (C-1), 137.7 (C-2), 148.4 (C-3), 107.5 (C-4), 133.7 (C-5), 90.6 (C-6), 39.5 (C-7), 37.5 (C-8), 39.3 (C-9), 137.2 (C-10), 107.4 (C-11), 154.1 (C-12), 140.8 (C-13), 152.9 (C-14), 123.5 (C-15), 124.5 (C-16), 17.1 (C-17), 17.2 (C-18), 59.5 (1-CH₃), 55.9 (6-CH₃), 56.1 (12-CH₃), 60.6 (13-CH₃), 60.5 (14-CH₃), 102.1 (-OCH₂O-).

화합물 **9** (angeloylgomisin O) - 백색 결정. $[\alpha]_D^{20} = 54.6^\circ$ (*c* 1.0×10⁻³ g/mL, chloroform). ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 0.84 (3H, d, *J*=7 Hz, 7-CH₃), 0.96 (3H, d, *J*=7 Hz, 8-CH₃), 1.83 (2H, m), 2.2 (2H, m), 3.53, 3.67, 3.92, 3.92 (each 3H, s, 4×OCH₃), 5.93 (2H, s, -OCH₂O-), 5.74 (1H, d, *J*=8 Hz) 6.43 (1H, s, H-11),

6.80 (1H, s, H-4), 1.58 (3H, m), 1.83 (3H, m), 5.93 (1H, m) (angeloyl); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 151.9 (C-1), 141.7 (C-2), 151.9 (C-3), 111.3 (C-4), 132.8 (C-5), 80.8 (C-6), 37.0 (C-7), 37.2 (C-8), 37.9 (C-9), 135.1 (C-10), 102.3 (C-11), 148.8 (C-12), 134.6 (C-13), 142.0 (C-14), 121.7 (C-15), 123.8 (C-16), 17.8 (C-17), 15.8 (C-18), 60.4 (1-CH₃), 60.9 (2-CH₃), 56.0 (3-CH₃), 59.3 (14-CH₃), 100.7 (-OCH₂O-), 166.8 (C-1'), 128.0 (C-2'), 138.1 (C-3'), 15.5 (C-4'), 20.0 (C-2'-CH₃) (angeloyl).

화합물 **10** (-gomisin L₂) - 백색 분말. $[\alpha]_D^{20} = -75.5^\circ$ (*c* 1.0×10⁻³ g/mL, chloroform). ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 0.73 (3H, d, *J*=6.5 Hz, H-18), 0.97 (3H, d, *J*=6.5 Hz, H-17), 1.78 (1H, m, H-8), 1.78 (1H, m, H-7), 2.52 (2H, m, H-9), 2.10 (2H, m, H-6), 5.78 (1H, s, 3-OH), 3.52, 3.78, 3.95 (each 3H, s, 3×OCH₃), 5.95 (2H, s, OCH₂O), 6.50 (1H, s, H-11), 6.63 (1H, s, H-4); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 150.4 (C-1), 137.5 (C-2), 148.8 (C-3), 110.4 (C-4), 140.3 (C-5), 35.1 (C-6), 40.9 (C-7), 33.9 (C-8), 39.0 (C-9), 132.7 (C-10), 106.1 (C-11), 140.7 (C-12), 135.1 (C-13), 141.3 (C-14), 121.5 (C-15), 122.5 (C-16), 12.4 (C-17), 21.8 (C-18), 59.6, 60.1, 61.0 (3×OCH₃), 100.8 (-OCH₂O-).

화합물 **11** (schisandronic acid) - 백색 분말. $[\alpha]_D^{20} = 16.4^\circ$ (*c* 1.0×10⁻³ g/mL, chloroform). ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 6.07 (1H, t, *J*=7.2 Hz, H-24), 1.90 (3H, s, H-27), 1.08 (3H, s, H-28), 1.02 (3H, s, H-30), 0.97 (3H, s, H-29), 0.89 (6H, s, H-21, 18, CH₃ ×2), 0.76, 0.55 (each 1H d, *J*=4.6 Hz, H-19); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 36.1 (C-1), 34.7 (C-2), 218.1 (C-3), 47.6 (C-4), 52.5 (C-5), 19.7 (C-6), 26.6 (C-7), 41.9 (C-8), 37.1 (C-9), 37.2 (C-10), 21.3 (C-11), 31.2 (C-12), 44.8 (C-13), 50.2 (C-14), 31.2 (C-15), 28.1 (C-16), 50.6 (C-17), 16.1 (C-18), 21.3 (C-19), 36.6 (C-20), 18.8 (C-21), 36.3 (C-22), 27.0 (C-23), 147.4 (C-24), 126.2 (C-25), 173.8 (C-26), 20.7 (C-27), 24.5 (C-28), 23.5 (C-29), 21.5 (C-30).

화합물 **12** (-gomisin L₁) - 백색 분말. $[\alpha]_D^{20} = -67.3^\circ$ (*c* 1.0×10⁻³ g/mL, chloroform). ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 0.73 (3H, d, *J*=6.5 Hz, H-18), 0.95 (3H, d, *J*=6.5 Hz, H-17), 1.80 (1H, m, H-8), 1.80 (1H, m, H-7), 2.50 (2H, m, H-9), 2.10 (2H, m, H-6), 5.70 (1H, s, 3-OH), 3.87, 3.90, 3.91 (each 3H, s, 3×OCH₃), 5.95 (2H, s, OCH₂O), 6.50 (1H, s, H-11), 6.37 (1H, s, H-4); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 146.8 (C-1), 133.3 (C-2), 151.7 (C-3), 103.9 (C-4), 133.9 (C-5), 35.4 (C-6), 40.8 (C-7), 33.9 (C-8), 39.0 (C-9), 133.1 (C-10), 106.4 (C-11), 147.8 (C-12), 135.0 (C-13), 141.2 (C-14), 121.4 (C-15), 115.8 (C-16), 12.3 (C-17), 21.9 (C-18), 55.7, 59.7, 61.0 (3×OCH₃), 100.8 (-OCH₂O-).

화합물 **13** (+gomisin K₃) - 백색 침상 결정. $[\alpha]_D^{20} = +15.2^\circ$ (*c* 1.0×10⁻³ g/mL, chloroform). ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 0.73 (3H, d, *J*=7.0 Hz, 8-CH₃), 1.00 (3H, d, *J*=7.0 Hz, 7-CH₃), 1.82 (2H, m, H-7, 8), 2.13 (2H, m, H-6), 3.63 (3H, s, OCH₃), 3.90, 3.92 (each 6H, s, 4×OCH₃), 6.38 (1H, s, H-11), 6.58 (1H, s, H-4); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 151.3 (C-1), 139.8 (C-2), 153.2 (C-3), 107.3 (C-4), 139.7 (C-5), 35.7 (C-6), 40.8 (C-7), 33.7 (C-8), 39.1 (C-9), 134.5 (C-10), 107.7 (C-11), 150.5 (C-12), 134.0 (C-13), 146.7 (C-14), 117.0 (C-15), 121.2 (C-16), 12.7 (C-17), 21.9 (C-18), 56.0, 55.9, 61.0, 61.0, 61.1 (5×OCH₃).

화합물 **14** (gomisin J) - 백색 침상 결정. $[\alpha]_D^{20} = -94.7^\circ$ (*c* 1.0×10⁻³ g/mL, chloroform). ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 0.75 (3H, d, *J*=6.9 Hz, 8-CH₃), 0.99 (3H, d, *J*=6.9 Hz, 7-CH₃), 2.0-1.7

Table 1. IC₅₀ values of compounds against human cancer cell lines

No.	Compound	IC ₅₀ (μM)		
		HL-60 ¹⁾	HeLa ²⁾	MCF-7 ³⁾
1	Wuweizisu C	23.18±3.91	191.04±13.15	107.23±2.91
2	Gomisin N	33.14±7.21	73.64±0.92	78.21±2.38
3	Deoxyschisandrin	51.14±5.12	119.47±3.21	171.78±9.11
4	Gomisin A	111.39±10.21	>200	>200
5	Schisandrin	>200	>200	>200
6	Chamigrenal	17.27±1.52	39.25±1.51	30.50±3.12
7	Schisanlactone D	7.37±0.72	10.56±3.02	33.76±6.71
8	Methylgomisin O	6.60±0.24	1.46±0.45	34.53±5.12
9	Angeloylgomisin O	8.00±0.25	153.96±11.21	69.62±6.82
10	(-)-Gomisin L ₂	33.19±4.81	59.74±6.82	82.69±2.84
11	Schisandronic acid	21.48±1.51	78.09±3.01	80.93±6.71
12	(-)-Gomisin L ₁	82.02±5.62	166.19±3.51	>200
13	(+)-Gomisin K ₃	54.01±1.63	136.03±3.14	99.83±8.11
14	Gomisin J	35.27±1.34	86.44±5.42	79.16±5.24
15	Tigloylgomisin H	133.85±13.11	>200	>200
	Adriamycin ⁴⁾	0.79±0.17	6.48±0.34	7.64±1.13

¹⁾HL-60: human leukemia²⁾HeLa: human cervical carcinoma cells³⁾MCF-7: human breast cancer⁴⁾Adriamycin: positive control

Data represent the mean values±SD (standard deviations) of three experiments.

(4H, m, benzyl), 3.50 (6H, s, 2×OCH₃), 3.94 (6H, s, 2×OCH₃), 6.63 (2H, s, H-4, 11); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 150.1 (C-1), 137.6 (C-2), 147.4 (C-3), 113.2 (C-4), 134.8 (C-5), 38.7 (C-6), 33.6 (C-7), 40.8 (C-8), 35.1 (C-9), 140.1 (C-10), 110.1 (C-11), 148.6 (C-12), 137.3 (C-13), 150.3 (C-14), 121.3 (C-15), 122.3 (C-16), 21.7 (C-17), 12.4 (C-18), 60.0, 60.1, 60.8, 60.9 (4×OCH₃).

화합물 **15** (tigloylgomisin H) - 백색 분말. [α]_D²⁰=93.7° (c 1.0×10⁻³ g/mL, chloroform). ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 0.84 (3H, d, J=7.5 Hz, 8-CH₃), 1.23 (3H, s, 7-CH₃), 1.93 (1H, m, H-8), 1.92 (1H, m, H-7), 2.35 (1H, m, H-9'), 2.75 (1H, m, H-9), 2.75 (1H, m, H-6), 2.30 (1H, m, H-6'), 6.57 (1H, s, H-11), 6.68 (1H, s, H-4), 3.50, 3.83, 3.84, 3.89, 3.90 (each 3H, s, OCH₃), 1.70 (6H, m, tigloyl methyl), 6.78 (1H, m, tigloyl proton).

위의 화합물들 중에서 methylgomisin O (**8**)는 오미자에서 처음으로 분리되어 본 연구에서 보고되는 화합물들이다.

암세포 증식 억제 활성 평가

오미자의 *n*-hexane layer에서 분리한 compound **1-15**에 대해서

세포독성 활성 평가를 시행하였다. 모든 compound들은 HL-60, HeLa, 그리고 MCF-7 cancer cell lines에서의 세포독성 활성을 adrimycin을 positive control로 사용하여 두고 측정하였다(Table 1).

세포독성 활성 평가를 실시한 화합물들 중 chamigrenal (**6**), schisanlactone D (**7**), methylgomisin O (**8**), 그리고 angeloylgomisin O (**9**)가 비교적 강한 활성을 나타내었다. HeLa cells에 대하여 methylgomisin O (**8**)는 IC₅₀=1.46 μM로 강한 세포독성 효과를 보였고, HL-60 cell line에 대하여 schisanlactone D (**7**), methylgomisin O (**8**) 그리고 angeloylgomisin O (**9**)가 각각 IC₅₀=7.37, 6.60, 8.00 μM으로 비교적 강한 세포독성 효과를 보였으며, MCF-7 cancer cell lines에서는 chamigrenal (**6**)이 IC₅₀=30.50 μM으로 adrimycin (IC₅₀=7.64 μM)에 비해 약한 활성이지만, 분리된 다른 compound들에 비하여 비교적 강한 세포독성 효과가 나타났다(Fig. 2). Chamigrenal은 이전에 혈소판 활성화 인자(platelet-activating factor)에 대해 길항 효과가 있는 것으로, 또한 간 부전증에 대해 효과가 있는 것으로 보고된 바가 있다 (25). 또한 methylgomisin O는 염증반응에 관여하는 TNF-α나 IL-6와 같은 cytokine에 저해 활성이 있는 것으로 보고된 바가 있다 (26). 그러나 이들 화합물들의 암세포 증식 억제활성에 관하여는

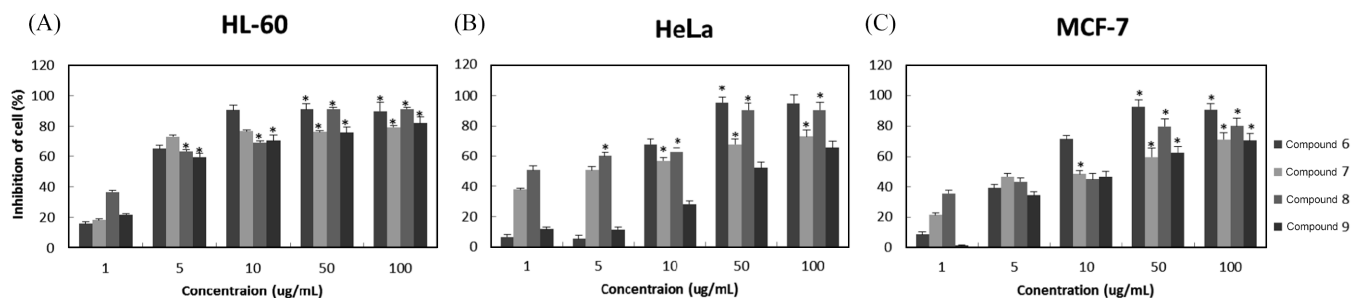


Fig. 2. Anti-proliferative effects of compounds **6-9** on human cancer cell lines. Data represent the means±SD from triplication (A; HL-60, B; HeLa cells, C; MCF-7). **p*<0.05, significantly differ from control.

연구된 바가 없다. 최근 오미자 리그난 성분들의 암세포 증식 억제활성과 구조와 활성 효과에 대한 연구가 보고된 바 있다(27-28). 이 연구 결과에 의하면, *S*-biphenyl 배치가 활성에 영향이 있고, 7번 위치에 OH기가 없을수록, 그리고 12, 13 위치에 methylenedioxy 기가 있으면 효과가 좋다고 보고된 바 있다(27-28). 본 연구의 결과는 비록 대상 암세포주는 다르지만 기존의 그것과 어느 정도 유사한 관계를 확인할 수 있었다. *S*-biphenyl 배치에 12, 13 위치에 methylenedioxy 기가 치환되어 있는 화합물이 활성이 좋았고, 또한 6번 위치가 치환되어 있는 화합물일수록 암세포 증식 억제활성이 높은 것을 확인할 수 있었다. 이러한 구조-활성 상관관계는 천연물 유래 항암제 개발의 중요한 자료가 될 것으로 사료된다.

요 약

오미자 추출물의 *n*-hexane 분획으로부터 open column chromatography, 분취용 HPLC 등 여러 가지 크로마토그래피를 이용하여 총 15종의 화합물을 분리하였다. 분리된 화합물들은 각각 기기분석 데이터를 문헌치와 비교하여, 각각 wuweizisu C (1), gomisin N (2), deoxyschisandrin (3), gomisin A (4), schisandrin (5), chamigrenal (6), schisanlactone D (7), methylgomisin O (8), angeloylgomisin O (9), (-)-gomisin L₂ (10), schisandronic acid (11), (-)-gomisin L₁ (12), (+)-gomisin K₃ (13), gomisin J (14), tigloylgomisin H (15)으로 동정하였다. 이들 중 methylgomisin O (8)는 이 식물에서 처음으로 분리되었다. 분리된 화합물들은 HL-60 (human leukemia), HeLa (human cervical carcinoma) 및 MCF-7 (breast cancer cells) 세포주에 대하여 세포독성 실험을 실시하였다. 그 결과 화합물 7, 8 및 9는 HL-60 세포주에 대하여 각각 7.37, 6.60 및 8.00 μM의 IC₅₀로 비교적 강한 세포독성 효과를 나타냈다. 화합물 6은 MCF-7 에 대하여 IC₅₀ 30.50 μM로 적절한 세포독성을 나타냈다. 그리고 화합물 8은 HeLa cells에 대하여 IC₅₀ 1.46 μM로 비교적 강한 세포 독성으로 나타났다.

References

- Kim YS, Lee CB, Kim JS, Lee JS. Plant Taxonomy, Hyang Moon Sa, Seoul. Korea pp. 203 (1991)
- Lee SI. Herbal Medicine. Soo Seo Won. Seoul. Korea. p. 172 (1981)
- Lu Y, Dao FC. Analysis of *Schizandra chinensis* and *Schizandra sphenanthera*. J. Chromatog. A. 1216: 1980-1990 (2009)
- Xiao WL, Tian RR, Pu JX, Li X, Wu L, Lu Y, Li RT, Zheng YT, Zheng QT, Sun HD. Triterpenoids from *Schizandra lancifolia* with anti-HIV-1 activity. J. Nat. Prod. 69: 277-279 (2006)
- Sladkovsky R, Solich P, Opletal L. Simultaneous determination of quercetin, kaempferol and (E)-cinnamic acid in vegetative organs of *Schizandra chinensis* lignans. J. Nat. Prod. 69: 356-359 (2006)
- Lee SH, Lee YC, Yoon SK. Isolation of the antimicrobial compounds from Omija (*Schizandra chinensis*) extract. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 483-487 (2003)
- Choi YH, Takamatsu S, Khan S, Srinivas PV, Ferreira D, Zhao J, Khan IA. Schisandrene, a dibenzocyclooctadiene lignan from *Schizandra chinensis*: Structure antioxidant activity relationships of dibenzocyclooctadiene lignans. J. Nat. Prod. 69: 356-359 (2006)
- Choi EJ, Kim SH, Shim SH, Chung HJ, Bang WS. Antioxidative activity of the *n*-hexane fractions from *Spatholobus suberectus* (SS), *Scutellaria barbata* (SB), *Psoralea corylifolia* (PC), *Curcuma doaria* (CZ), *Schizandra chinensis* (SC), and *Corydalis turtschaninovii* (CT). Korean J. Food Sci. Technol. 44: 493-497 (2012)
- Liu GT. Pharmacological actions and clinical use of fructus schizandrae. Chin. Med. J. 102: 740-749 (1989)
- Hung TM, Na M, Min BS, Ngoc TM, Lee I, Zhang X, Bae K. Acetylcholinesterase inhibitory effect of lignans isolated from *Schizandra chinensis*. Arch. Pharm. Res. 30: 685-690 (2007)
- Guo LY, Hung TM, Bae KH, Shin EM, Zhou HY, Hong YN, Kang SS, Kim HP, Kim YS. Anti-inflammatory effects of schisandrin isolated from the fruit of *Schizandra chinensis* Baill. Eur. J. Pharmacol. 591: 293-299 (2008)
- Liu GT. From the study of fructus schizandrae to the discovery of biphenyl dimethyl-dicarboxylate. Acta Pharm. Sinic. 18: 714-720 (1983)
- Liu KT, Lesca P. Pharmacological properties of dibenzo[a,c]cyclooctene derivatives isolated from fructus *Schizandra chinensis*. Interaction with rat liver cytochrome p450 and inhibition of xenobiotic metabolism and mutagenicity. Chem-biol. Interact. 39: 301-314 (1982)
- Lin S, Fuji M, Hou DX. Molecular mechanism of apoptosis induced by schizandrae-derived lignans in human leukemia HL-60 cells. Food Chem. Toxicol. 46: 590-597 (2008)
- Chen TK, Ales DC, Baenziger NC, Wiemer DF. Ant-repellent triterpenoids from *Cordia alliodor*. J. Org. Chem. 48: 3525-3531 (1983)
- Shi L, He X, Pan Y, Han L, Yang X, Zhao Y. Chemical constituents of fruit handles from *Schizandra chinensis*. J. Chin. Med. Mater. 32: 1054-1056 (2007)
- Ikeya Y, Taguchi H, Yosioka I. The constituents of *Schizandra chinensis* Baill. VII. The structures of three new lignans, (-)-Gomisin K1, and (+)-Gomisin K2 and K3. Chem. Pharm. Bull. 28: 2422-2427 (1980)
- Piao L, Lee Y, PhamPhu TT, Shin J. Dibenzocyclooctene lignan compounds isolated from the fruits of *Schizandra chinensis* Baill. Nat. Prod. Sci. 11: 248-252 (2005)
- Ikeya Y, Taguchi H, Yosioka I, Kobayashi H. The Constituents of *Schizandra chinensis* Baill. V. The structures of four new lignans, gomisin N, gomisin O, epigomisin O and gomisin E, and transformation of gomisin N to deangeloylgomisin B. Chem. Pharm. Bull. 27: 2695-2709 (1979)
- Jung KY, Oh SR, Kim DS, Kim JH, Lee JJ, Lee HK, Lee SH, Kim EH, Cheong CJ. Plateletactivation factor antagonistic activity and/sup ¹³C-NMR assignment of pregomisin and chamigrenal from *Schizandra chinensis*. Arch. Pharm. Res. 20: 633-636 (1997)
- Liu JS, Huang MF. On the structures of schisanlactone C and schisanlactone D, two new triterpene lactones from schizandra sp. Acta Chim. Sinica 42: 464-469 (1984)
- Lei C, Huang SX, Chen JJ, Pu JX, Yang LB, Zhao Y, Liu JP, Gao XM, Xiao WL, Sun HD. Lignans from *Schizandra propinqua* var. *propinqua*. Chem. Pharm. Bull. 55: 1281-1283 (2007)
- Ikeya Y, Ookawa N, Taguchi H, Yosioka I. The constituents of *Schizandra chinensis* Baill. XI. The structures of three new lignans, Angeloylgomisin O, and Angeloyl- and Benzoylisogomisin O. Chem. Pharm. Bull. 30: 3203-3206 (1982)
- Li RT, Han QB, Zhao AH, Sun HD. Micranic acids A and B: two new octanortriterpenoids from *Schizandra micrantha*. Chem. Pharm. Bull. 50: 1174-1176 (2003)
- Ren R, Ci XX, Li HZ, Li HM, Luo GJ, Li RT, Deng XM. New dibenzocyclooctadiene lignans from *Schizandra sphenanthera* and their pro-inflammatory cytokine inhibitory activities. Z. Naturforsch. B 65: 211-218 (2010)
- Lee IS, Jung KY, Oh SR, Kim DS, Kim JH, Lee JJ, Lee HK, Lee SH, Kim EH, Cheong C. Platelet-activating factor antagonistic activity and ¹³C NMR assignment of pregomisin and chamigrenal from *Schizandra chinensis*. Arch. Pharm. Res. 20: 633-636 (1997)
- Min HY, Park EJ, Hong JY, Kang YJ, Kim SJ, Chung HJ, Woo ER, Hung TM, Youn EJ, Kim YS, Kang SS, Bae KW, Lee SK. Antiproliferative effects of dibenzocyclooctadiene lignans isolated from *Schizandra chinensis* in human cancer cells. Bioorg. Med. Chem. Lett. 18: 523-526 (2008)
- Gnabe J, Unlu I, Chang T, Lisseck P, Bourne B, Scolnik R, Jacobsen NE, Bates R, Huang RC. Isolation of lignans from *Schizandra chinensis* with anti-proliferative activity in human colorectal carcinoma: Structure-activity relationship. J. Chromatogr. B 878: 2693-2700 (2010)