

## 육두구 추출물의 암세포증식 저해 효과

이정원 · 이성옥 · 서지희 · 유미영 · 권지웅 · 최상운 · 이강노<sup>1</sup> · 권대영<sup>2</sup> · 김영균<sup>3</sup> · 김영섭 · 유시용\*  
한국화학연구원, <sup>1</sup>성균관대학교 약학대학, <sup>2</sup>한국식품연구원, <sup>3</sup>국민대학교 삼림과학대학

### Inhibitory Effects of the Seed Extract of *Myristica fragrans* on the Proliferation of Human Tumor Cell Lines

Jung Won Lee, Sung Ok Lee, Jee Hee Seo, Mi Young Yoo, Jee Woong Kwon, Sang Un Choi, Kang Ro Lee<sup>1</sup>, Dae Young Kwon<sup>2</sup>, Young-Kyoon Kim<sup>3</sup>, Young Sup Kim, and Shi Yong Ryu\*

Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 305-606, Korea

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea

<sup>2</sup>Korea Food Research Institute, Gyeonggi-do 463-746, Korea

<sup>3</sup>College of Forest Science, Kookmin University, Seoul 136-702, Korea

**Abstract** – The methanol extract of the seed of *Myristica fragrans* (Myristicaceae) demonstrated a potent 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). The MeOH extract was fractionated into three portions by serial solvent partition, i.e., EtOAc soluble part, BuOH soluble part and remaining water layer. Among them, the EtOAc soluble part of the extract demonstrated a potent inhibition on the proliferation of cultured human tumor cells. Bioassay-guided fractionation of the EtOAc soluble part led to the isolation of six lignan constituents, i.e., safrole (1), machilin A (2), licarin B (3), macelignan (4), meso-dihydroguaiaretic acid (5) and myristargenol A (6) as well as a large amount of myristic acid as active ingredients. Structures of the isolated active components (1-6) were established by chemical and spectroscopic means.

**Key words** – *Myristica fragrans*, Myristicaceae, anti-tumor, proliferation, lignan

육두구 (肉荳蔻, *Myristica fragrans*)는 동남아 열대지방에서 재배되는 육두구과 (Myristicaceae)의 상록교목으로 높이는 8~16 m 정도이며 원산지는 인도네시아 몰루카 제도로 알려져 있다. 4~6월, 11~12월경에 둥글고 굳은 감색의 열매를 따서 씨를 꺼내어 말린 후 검은색의 단단한 씨껍질을 벗기고 석회즙에 하루밤 담갔다가 상온에 말린 것을 육두구 (肉荳蔻, Myristicae Semen)라 한다. 육두구에는 많은 양의 굳기름(28~34%)과 정유(3~9%)가 존재하며 굳기름은 주로 myristic acid와 trimyristin (myristic acid triglyceride)으로 구성되어 있다. 정유성분으로는 *d*-camphene, *d*-pinene 등 monoterpene 류가 80% 정도, myristicin이 4%, 기타 *d*-borneol, eugenol, dipentene, *l*-terpineol 등이 6% 정도 함유되어 있다고 알려져 있다. 한방에서는 주로 위경, 대장경에 작용한다고 알려져 있으며 미량에서는 입맛을 돋우고 건위

작용을 나타내며 비위가 허하여 설사할 때, 소화가 안되며 헛배가 부르고 아플 때, 토할 때 등에 쓰인다.<sup>1,2)</sup> 한편, 저자 등은 A549 (인체유래 비소세포암주) 등 5종의 인체유래 암세포주를 대상으로 하여 시험관 내 (*in vitro*) 세포증식저해효과를 지표로 하여 300 여종의 생약재 추출물들의 항암 효능을 검색하여 본 결과 육두구(Myristicae Semen)의 MeOH 추출물이 농도 의존적으로 비교적 양호한 항암효과를 보여주고 있음을 알 수 있었다. 이에 저자들은 육두구의 methanol 추출물을 상법에 따라 용매분획을 실시하고 얻은 각 분획물에 대한 세포독성을 측정 후, 유의성 있는 활성을 나타낸 ethylacetate분획을 각종 chromatography를 통하여 정제한 결과 최종적으로 6종의 활성성분을 분리하였으며 본보에서는 이들 항암활성성분의 이화학적 성상 및 기기분석 자료를 통한 화학구조의 규명 및 각 화합물들의 인체유래 암세포주에 대한 시험관 내 (*in vitro*) 세포증식저해효과를 보고하고자 한다.

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

## 실험 방법

**실험재료** - 본 실험에 사용된 생약재 육두구 (*Myristica Semen*)는 2003년 10월에 시중 건재상에서 구입하여 국민대학교 김영균 교수의 감정 후 실험에 사용하였으며 표본은 한국화학연구원 (표본번호 KR0197-2003)에 보관되어 있다.

**기기 및 시약** - NMR은 Bruker의 AM-300과 AMX 500을 사용하였다. 선광도는 JASCO DIP-4 digital polarimeter를 사용하였고, low resolution MS (70 eV)는 JEOL사의 JMS-DX 303 mass spectrometer를 사용하였으며, column packing 용 silica gel은 Kiesel gel 60 (Merck)를 사용하였고, TLC plate는 Kiesel gel 60F<sub>254</sub> (Merck)를 사용하였다. 발색 시약은 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 사용하였으며 UV는 254 nm, 365 nm에서 확인하였다. 세포독성 실험은 sulforhodamin B(SRB) bioassay 방법을 응용하여 수행하였다.<sup>3)</sup> 실험에 사용한 암세포주들은 A549 (non small cell lung carcinoma), SK-OV-3 (ademon-carcinoma, ovary malignant ascites), SK-MEL-2 (malignant melanoma, metastasis to skin of thigh), XF-498 (central nerve system tumor) 및 HCT-15 (colon adenocarcinoma)이며 모두 human origin tumor cell line들로서, 미국 국립암연구소(NCI)로부터 분양받아 한국화학연구원에서 계대배양 중인 것을 사용하였다.

**추출 및 분획** - 건조된 육두구 1.8 kg을 7일간 methanol에 상온 냉침 시켰다. 추출액을 감압농축하여 MeOH extract 300 g을 얻었으며, 이를 H<sub>2</sub>O에 현탁시킨 후 ethylacetate (EA)와 *n*-butanol (BuOH)로 단계적으로 용매분획하여 EA 분획 255 g과 BuOH 분획 6 g을 얻었다.

**화합물의 분리** - EA 분획 128 g을 silica gel column chromatography (*n*-hexane : EA = 20:1, 10:1, 5:1, 1:1)를 실시하여 9개의 분획 (M1~M9)으로 나누었으며, 이 중 M2 (4 g)분획을 silica gel column chromatography (*n*-hexane : EA)를 반복하여 미황색 유상물질 1.23 g (화합물 1)을 얻었다. 한편 M4 (36 g)분획은 silica gel column chromatography (*n*-hexane : EA = 20:1, 10:1, 5:1, 1:1)를 통하여 재차 4개의 소분획 (M41~M44)으로 나누었다. 그 중 소분획 M42 (10 g)을 RP-18 column chromatography (70, 80, 100% MeOH)로 정제한 결과 미황색 유상물질 (화합물 2) 500 mg과 백색 무정형침전 (myristic acid) 5 g을 얻었다. 또 소분획 M44 (17 g)를 RP-18 column chromatography (60~100% MeOH)로 정제하여 미황색 유상물질 (화합물 3) 20 mg을 얻었다. M7 분획 5 g은 silica gel column chromatography를 실시하여 5개의 소분획 (M71~M75)으로 나누고, 이 중 소분획 M72 (1.3 g)을 dichloromethane에 녹인 후 alumina gel chromatography로 정제하여 무색결정 (화합물 4) 1.1 g을 얻었다. 한편 M9 분획 35 g을 dichloromethane에 녹인 후 alumina gel을 통과시켜 myristic acid 등 지방산을 제거하고 silica gel

column chromatography (*n*-hexane : EA = 5:1)를 실시하여 2개의 소분획 (M91~M92)으로 나누고, 그 중 소분획 M92 (16 g)를 재차 silica gel column chromatography (*n*-hexane : EA = 5:1)를 실시하여 300 mg의 화합물 4와 무색 결정 (화합물 5) 1.2 g 및 무정형분말 (화합물 6) 570 mg을 얻었다.

**화합물 1** - slightly yellow oil ; EI-MS  $m/z$  : 162 [M]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  3.22 (2H, d,  $J=6.6$  Hz, H-7),  $\delta$  5.00 (1H, m, H-9a),  $\delta$  5.02 (1H, m, H-9b),  $\delta$  5.85 (1H, m, H-8),  $\delta$  5.83 (2H, s, -OCH<sub>2</sub>O-),  $\delta$  6.58 (1H,  $J=8.1$  Hz, H-6),  $\delta$  6.63 (1H, m, H-2),  $\delta$  6.67 (1H, d,  $J=8.1$  Hz, H-5); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  133.4 (C-1), 108.0 (C-2), 147.3 (C-3), 145.5 (C-4), 108.8 (C-5), 121.1 (C-6), 40.0 (C-7), 137.8 (C-8), 115.4 (C-9), 100.7 (-OCH<sub>2</sub>O-).

**화합물 2** - yellow oil ; EI-MS  $m/z$  : 326 [M]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  0.75 (6H, d,  $J=6.7$  Hz, H-9, 9'),  $\delta$  1.67 (2H, m, H-8, 8'),  $\delta$  2.29 (2H, dd,  $J=13.4, 9.3$  Hz, H-7a, 7'a),  $\delta$  2.65 (2H, dd,  $J=13.4, 4.8$  Hz, H-7b, 7'b),  $\delta$  5.82 (4H, s, -OCH<sub>2</sub>O-  $\times 2$ ),  $\delta$  6.52 (2H, dd,  $J=7.8, 1.6$  Hz, H-6, 6'); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  135.6 (C-1, 1'), 107.9 (C-2, 2'), 145.4 (C-3, 3'), 147.4 (C-4, 4'), 109.3 (C-5, 5'), 121.7 (C-6, 6'), 39.4 (C-7, 7'), 39.0 (C-8, 8'), 16.1 (C-9, 9'), 100.6 (-OCH<sub>2</sub>O-)

**화합물 3** - yellow oil, [ $\alpha$ ]<sub>D</sub> -45.4° (c=0.1, CHCl<sub>3</sub>); EI-MS  $m/z$ : 324 [M]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  1.31 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-9),  $\delta$  1.79 (3H, d,  $J=6.7$  Hz, H-9'),  $\delta$  3.3 (1H, m, H-8),  $\delta$  3.82 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>),  $\delta$  5.02 (1H, d,  $J=9.0$  Hz, H-7),  $\delta$  5.88 (2H, s, -OCH<sub>2</sub>O-),  $\delta$  6.03 (1H, dq,  $J=15.7, 6.7$  Hz, H-8'),  $\delta$  6.28 (1H, d,  $J=15.7$  Hz, H-7'),  $\delta$  6.70-6.86 (5H, m, H-2, 4, 5, 2', 6'); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  134.3 (C-1), 106.7 (C-2), 147.8 (C-3), 147.5 (C-4), 108.1 (C-5), 121.1 (C-6), 93.3 (C-7), 45.7 (C-8), 17.8 (C-9), 132.2 (C-1'), 113.3 (C-2'), 133.0 (C-3'), 146.5 (C-4'), 144.1 (C-5'), 109.4 (C-6'), 130.9 (C-7'), 123.3 (C-8'), 18.3 (C-9'), 56.0 (-OCH<sub>3</sub>), 101.0 (-OCH<sub>2</sub>O-)

**화합물 4** - colourless prisms, mp 70-72°C, [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> +5.28° (c=1.8, CHCl<sub>3</sub>); EI-MS  $m/z$  (rel. int.): 328 [M]<sup>+</sup> (11), 137 [C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (100) and 135 [C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (68), <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  6.87 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-5),  $\delta$  6.76 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-5'),  $\delta$  6.66 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-2),  $\delta$  6.63 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-2'),  $\delta$  6.64 (1H, dd,  $J=7.8, 1.8$  Hz, H-6),  $\delta$  6.70 (1H, dd,  $J=7.8, 1.8$  Hz, H-6'),  $\delta$  5.95 (2H, s, O-CH<sub>2</sub>-O),  $\delta$  5.32 (1H, s, 4'-OH),  $\delta$  3.87 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>),  $\delta$  2.76 and  $\delta$  2.30 (each 2H, m, H-7, 7'),  $\delta$  1.78 (2H, m, H-8, 8'),  $\delta$  0.88 (6H, m, H-9, 9'); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  135.6 (C-1), 107.8 (C-2), 147.4 (C-3),

145.5 (C-4), 109.3 (C-5), 121.7 (C-6), 39.0 (C-7), 39.3 (C-8), 16.1 (C-9), 133.6 (C-1'), 111.4 (C-2'), 146.2 (C-3'), 143.5 (C-4'), 114.0 (C-5'), 121.6 (C-6'), 38.7 (C-7'), 39.2 (C-8'), 16.0 (C-9'), 55.7 (-OCH<sub>3</sub>), 100.6 (-OCH<sub>2</sub>O-)

**화합물 5** – colorless crystals ; mp 87-88°C; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub> 0° (c=0.7, CHCl<sub>3</sub>): IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3559, 3371, 3047, 1648, 1592; EI-MS *m/z* (70 eV): 330[M<sup>+</sup>], 192, 183; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  0.63 (6H, d, *J*=6.63 Hz, H-9, 9'),  $\delta$  1.54 (2H, m, H-8, 8'),  $\delta$  2.07 (2H, m, H-7a, 7'a),  $\delta$  2.51 (2H, m, H-7b, 7'b),  $\delta$  3.63 (6H, s, -OCH<sub>3</sub> × 2),  $\delta$  5.20 (2H, s, -OH × 2),  $\delta$  6.42 (2H, s, H-2, 2'),  $\delta$  6.46 (2H, d, *J*=8.0 Hz, H-6, 6'),  $\delta$  6.62 (2H, d, *J*=8.0 Hz, H-5, 5'); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  133.8 (C-1, 1'), 111.5 (C-2, 2'), 146.3 (C-3, 3'), 143.5 (C-4, 4'), 114.0 (C-5, 5'), 121.7 (C-6, 6'), 39.2 (C-7, 7'), 38.9 (C-8, 8'), 16.2 (C-9, 9'), 56.0 (-OCH<sub>3</sub> × 2)

**화합물 6** – colorless needles ; mp 133°C; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub> +9.9° (c=0.8, EtOH): EI-MS *m/z* (70 eV): 344[M<sup>+</sup>], <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, acetone-*d*<sub>6</sub>) :  $\delta$  0.62 (3H, d, *J*=7.0 Hz, H-9), 0.85 (3H, d, *J*=7.0 Hz, H-9'),  $\delta$  1.80 (1H, m, H-8),  $\delta$  2.38 (1H, m, H-8'),  $\delta$  2.13 (1H, dd, *J*=12.9, 2.0 Hz, H-7a'),  $\delta$  2.95 (1H, dd, *J*=12.9, 3.4 Hz, H-7b'),  $\delta$  4.45 (1H, dd, *J*=9.2, 1.0 Hz, H-7),  $\delta$  6.68 (1H, dd, *J*=9.0, 1.3 Hz, H-6'),  $\delta$  6.80 (1H, dd, *J*=8.1, 2.0 Hz, H-6),  $\delta$  6.73 (1H, d, *J*=9.0 Hz, H-5'),  $\delta$  6.76 (1H, d, *J*=8.1 Hz, H-5),  $\delta$  6.70 (1H, br s, H-2'),  $\delta$  7.01 (1H, d, *J*=1.3 Hz, H-2),  $\delta$  3.84 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>),  $\delta$  5.94 (2H, s, O-CH<sub>2</sub>-O)  $\delta$  5.62 (s, Ar-OH); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, acetone-*d*<sub>6</sub>) :  $\delta$  138.6 (C-1), 111.5 (C-2),

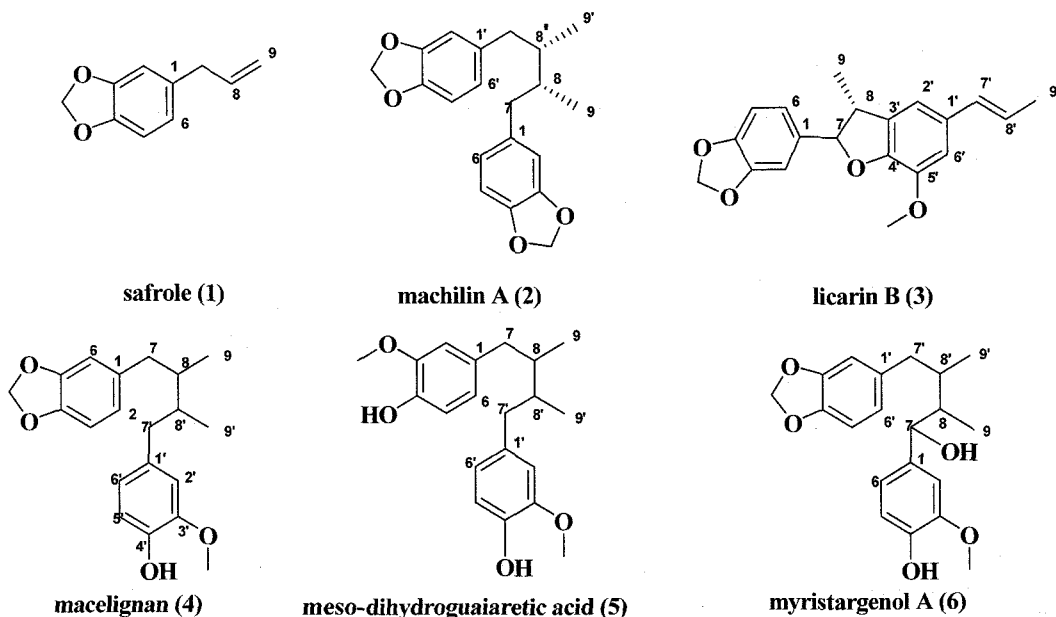
148.6 (C-3), 148.5 (C-4), 115.6 (C-5), 121.0 (C-6), 77.4 (C-7), 46.4 (C-8), 12.3 (C-9), 137.8 (C-1'), 109.0 (C-2'), 148.9 (C-3'), 146.8 (C-4'), 110.6 (C-5'), 123.2 (C-6'), 38.2 (C-7'), 36.6 (C-8'), 18.4 (C-9'), 56.7 (-OCH<sub>3</sub>), 102.0 (O-CH<sub>2</sub>-O)

## 결과 및 고찰

화합물 1은 미황색 oil로 MS, <sup>1</sup>H-NMR spectrum 및 <sup>13</sup>C-NMR spectrum을 검토하고 표품과 비교한 결과 safrole로 동정하였다.<sup>4)</sup> 화합물 2는 미황색 oil상 물질로서 EI-MS (M<sup>+</sup>, 326), <sup>1</sup>H-NMR과 <sup>13</sup>C-NMR data를 통해 이 화합물의 분자식은 C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub>로 추정할 수 있었다. 한편 <sup>13</sup>C-NMR spectrum에서는 모두 10개의 carbon signal만이 나타나고 있어 화합물 2는 분자내 대칭구조를 가진 meso 화합물로 추정할 수 있었으며 <sup>1</sup>H-NMR과 <sup>13</sup>C-NMR data를 문헌<sup>5)</sup>과 비교분석한 결과 machilin A [(2RS,3SR)-2,3-dimethyl-1,4-dipiperonyl-butane]로 동정되었다.

화합물 3 역시 미황색 oil상 물질로서 EI-MS (M<sup>+</sup>, 324), <sup>1</sup>H-NMR과 <sup>13</sup>C-NMR data를 통해 이 화합물의 분자식은 C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>4</sub>로 추정하였다. <sup>1</sup>H-NMR spectrum에서 하나의 methoxy기 ( $\delta$  3.82)와 methylenedioxy기( $\delta$  5.88)와 관찰되었으며 그 외 5개의 aromatic proton이  $\delta$  6.70-6.86에서 관찰되었다. <sup>13</sup>C-NMR spectrum에서는 총 20개의 carbon signal이 관찰되었으며 각각의 signal을 문헌<sup>6,7,8)</sup>치와 비교하여 본 결과 화합물 3은 licarin B로 동정할 수 있었다.

화합물 4는 무색 결정으로 M<sup>+</sup>가 *m/z* 328(C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>4</sub>)에서 나타났으며 <sup>1</sup>H-NMR과 <sup>13</sup>C-NMR data가 화합물 2의 그것들



과 유사하였으나 화합물 2의 경우  $\delta$  5.82에서 2개의 methylenedioxy 기가 관찰되고 있는 반면 화합물 4의 경우에는 하나의 methylenedioxy기( $\delta$  5.95)와 methoxy기( $\delta$  3.87)가 따로 따로 나타나고 있어 화합물 2의 두 개의 methylene-dioxy 기 중 하나가 개열된 구조임을 추정할 수 있었으며 기타  $^1\text{H-NMR}$ 과  $^{13}\text{C-NMR}$  data를 종합하여 문헌치와 비교하여 본 결과 화합물 4는 본 식물로부터 분리된 바 있는 macelignan과 일치함을 알 수 있었다.<sup>9,10,11)</sup>

한편 화합물 5는 MS,  $^1\text{H-NMR}$ 과  $^{13}\text{C-NMR}$  data를 통해 이 화합물의 분자식은  $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_4$ 로 추정할 수 있었다.  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum에서 모두 10개의 carbon signal만이 나타나고 있어 화합물 5 역시 화합물 2와 마찬가지로 분자내 대칭구조를 가진 meso 화합물로 추정할 수 있었으며  $^1\text{H-NMR}$ 과  $^{13}\text{C-NMR}$  data를 문헌<sup>11,12)</sup>값과 비교하여 본 결과 meso-dihydroguaiaretic acid와 일치함을 알 수 있었다.

화합물 6은  $^1\text{H-NMR}$ 과  $^{13}\text{C-NMR}$  data가 화합물 4의 그것들과 비교할 때 oxygenated carbon ( $\delta$  77.4)에 결합된 proton peak ( $\delta$  4.45)와 hydroxy peak ( $\delta$  4.04)가 새롭게 나타난 점을 제외하고는 전체적으로 유사한 pattern을 나타내고 있으므로 7번 혹은 7'번 위치의 carbon에 hydroxy기가 치환되어 있음을 추측할 수 있었다. 한편 COSY, HMBC, HMQC 등 spectral data를 종합하여 본 결과 hydroxy peak ( $\delta$  4.04)와 결합하고 있는 carbon ( $\delta$  77.4)은 H-6, H-7, H-8 및 H-9와 각각 correlation을 보여주어 hydroxy기가 7번 위치에 치환되어 있음을 확인할 수 있었으며 spectral data를 문헌치와 정밀 비교분석하여 본 결과 화합물 6은 myristargenol A로 최종 확인할 수 있었다.<sup>13)</sup>

한편, 분리 정제된 각 화합물(1-6)를 각각 SRB 방법으로 A549 (비소세포폐암주), SK-OV-3 (난소암주), SK-MEL-2 (피부종양주), XF-498 (중추신경계종양주) 및 HCT-15 (직장

종양주) 등 5종의 human tumor cells에 대한 시험관내 세포 증식저해 효과를 검색하여 본 결과 모든 화합물들이 각각의 암세포주에 대하여 농도의존적으로 우수한 세포증식저해 효과를 보여주었으며 특히 화합물 2-6의 경우에는 각각의 암세포주에 대한  $\text{ED}_{50}$  (50% 세포증식저해 효과를 나타내는 농도) 치가 모두  $5.0 \mu\text{g}/\text{ml}$  이하의 수치를 나타내고 있어 우수한 항암제로의 개발 가능성을 시사하고 있다 (Table I).

한편 이들 6종의 lignan 계 화합물 (1-6) 이외에도 본 식물추출물로부터 다량 분리된 지방산 myristic acid (C14 : 0)의 경우 역시 실험에 사용된 각각의 암세포주에 대한  $\text{ED}_{50}$  치가 각각  $13 \mu\text{g}/\text{ml}$  (A549),  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$  (SK-OV-3),  $14 \mu\text{g}/\text{ml}$  (SK-MEL-2),  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$  (XF498) 및  $15 \mu\text{g}/\text{ml}$  (HCT15)로 나타나 유의성 있는 암세포증식저해 효과를 보여주었으며 이러한 연구결과는 이미 저자 등이 전보에 발표한 연구내용과 잘 일치하고 있다.<sup>14)</sup>

## 결 론

생약재 육두구(肉荳蔻, Myristicae Semen)의 MeOH 추출물은 A549 (인체유래 비소세포암주) 등 5종의 인체유래 암세포주에 대하여 농도 의존적으로 양호한 세포증식 저해효과를 나타내었다. 육두구(肉荳蔻, Myristicae Semen)의 MeOH 추출물을 활성유도 분획법(Bioactivity-directed fractionation)에 따라 chromatography로 정제한 결과 safrole (1) 및 5종의 lignan 화합물을 활성성분으로 분리 정제하였다. 분리된 화합물들은 각각 물리화학적 성상과 기기 분석 ( $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ ) 소견을 종합한 결과, machilin A (2), licarin B (3), macelignan (4), meso-dihydroguaiaretic acid (5), myristargenol A (6)로 확인 동정되었다. 한편 분리된 화합물 (1-6) 들을 각각 A549 (비소세포폐암주), SK-OV-3 (난

**Table I.** Inhibition of tumor cell proliferation by components isolated from Myristicae Semen

Compound	$\text{ED}_{50}$ ( $\mu\text{g} \cdot \text{ml}$ ) <sup>a</sup>				
	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
Total ex.	20.0	20.0	25.0	28.0	20.0
EtOAc fr.	10.0	23.0	10.5	33.8	23.8
BuOH fr.	50.0	28.0	30.0	40.0	28.0
1	>100	93.2	90.4	>100	99.8
2	10.6	9.7	12.0	14.1	11.2
3	5.4	9.0	8.8	7.5	5.7
4	4.2	8.6	5.3	8.4	5.1
5	3.2	3.9	3.4	3.5	3.1
6	3.7	4.8	4.2	5.5	3.7
Doxorubicin	0.1	0.2	0.1	0.2	1.8

<sup>a</sup> $\text{EC}_{50}$  value of compound against each cancer cell line, which was defined as a concentration( $\mu\text{g} \cdot \text{ml}$ ) that caused 50% inhibition of cell proliferation *in vitro*.

소암주), SK-MEL-2 (피부종양주), XF-498 (중추신경계종양주) 및 HCT-15 (직장종양주) 등 5종의 human tumor cells 에 대한 시험관내 세포증식저해 효과를 검색하여 본 결과 대조약제로 사용한 doxorubicin 에 버금가는 양호한 효과를 나타내었다.

## 사 사

이 연구는 대한민국 국가과학기술연구회 산하 산업기술 연구회 소관기관 협동연구사업 프로그램 및 농촌진흥청 바이오그린 21 연구사업의 연구비지원의 지원을 받아 수행한 연구결과로 이에 감사드립니다

## 인용문헌

1. 안덕균(1999) 한국본초도감, 755. 교학사.
2. 한국의약품수출입협회(2000) 한국의약품시험연구소편 한약(생약)규정집, 370.
3. Skehan, P., Storeng, R., Schudiero, D. A., Monks, A., McMahon, J., Vistica, D., Warren, J. T., Bokesch, H., Kenny, S. and Boyd, M. R. (1990) New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer drug screening. *J. Natl. Cancer Inst.* **82**: 1107-1112.
4. Kim, K. J. and Han, Y. N. (2002) Lignans from *Myristica Fragrans*. *Yakhak Hoeji*. **46**: 98-101.
5. Shimomura, H., Sashida, Y. and Oohara, M. (1987) Lignans from *Machilus Thunbergii*. *Phytochemistry*. **26**: 1513-1515.
6. Enriquez, R. G and Chavez, M. A. (1984) Phytochemical investigations of plants of the genus *Aristolochia*, I. isolation and nmr spectral characterization of eupomatenoide derivatives. *J. Nat. Prod.* **47**: 896-899.
7. Kim, Y. B., Park, I. Y. and Shin, K. H. (1991) The crystal structure of licarin B (C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>4</sub>) a component of the seed of *Myristica Fragrans*. *Arch. Pharm. Res.* **14**: 1-6.
8. Shin, K. H., Kim, O. N. and Woo, W. S. (1988) Isolation of hepatic drug metabolism inhibitors from the seeds of *Myristica Fragrans*. *Arch. Pharm. Res.* **11**: 240-243.
9. Woo, W. S., Shin, K. H., Wagner, H. and Lotter, H. (1987) The structure of macelignan from *Myristica Fragrans*. *Phytochemistry*. **26**: 1542-1543.
10. Shin, K. H. and Woo, W. S. (1986) Biological evaluation of drug metabolism modifying activity. *Kor. J. Pharmacogn.* **17**: 189-194.
11. Lee, J. Y., Han, Y. B., Woo, W. S. and Shin, K. H. (1990) Antioxidant activity of diarylbutanes. *Kor. J. Pharmacogn.* **21**: 270-273.
12. Ikeya, Y., Taguchi, H., Yosioka, I. and Kobayashi, H. (1979) The constituents of *Schizandra chinensis* baill. IV. The structures of two new lignans, pre-gomisin and gomisin J. *Chem. Pharm. Bull.* **27**: 1583-1588.
13. Nakatani, N., Ikeda, K., Kikuzaki, H., Kido, M. and Yamaguchi, Y. (1988) Diaryldimethylbutane lignans from *Myristica Argentea* and their antimicrobial action against *Streptococcus Mutans*. *Phytochemistry*. **27**: 3127-3129.
14. Choi, Y. H., Seo, J. H., Kim, J. S., Heor, J., Kim, S. K., Choi, S. U., Kim, Y. S., Kim, Y. K. and Ryu, S. Y. (2003) Inhibitory effects of the stem bark extract of *Eucommia ulmoides* on the proliferation of human tumor cell lines. *Kor. J. Pharmacogn.* **34**: 308-313.

(2005년 8월 9일 접수)