

牛皮消根의 polyoxypregnane 화합물의 Aldehyde Oxidase 및 지질과산화 억제효과

이동웅[#] · 이남재

동국대학교 자연과학대학 생화학과

(Received April 17, 2000)

Inhibitory Effects of Polyoxypregnane Constituents from the Roots of *Cynanchum caudatum* on the Aldehyde Oxidase Activity and Lipid Peroxidation

Dong-Ung Lee[#] and Nam-Jae Lee

Department of Biochemistry, Dongguk University, Kyongju, Kyongbuk 780-714, Korea

Abstract — The roots of *Cynanchum caudatum* (Asclepiadaceae) have been used in folk medicine in Japan and China for the prevention and treatment of various geriatric diseases and also as a cardiotoxic agent. Constituents of this plant have mainly been examined for glycosides: besides two steroidal alkaloids, gagaminine and gagamine which was firstly isolated by us, more than 35 polyoxypregnane glycosides and aglycones have also been identified. Gagaminine inhibits potently the hepatic aldehyde oxidase activity and lipid peroxidation *in vitro*. The present work deals with the comparison of antioxidative activities of gagamine, a new pregnane alkaloid, three isolated polyoxypregnanes containing a keto group at C-20 with those of gagaminine, a potent antioxidant, in order to explain the structure-activity relationships. The results of this study further prove that the cinnamoyl group of gagaminine is very important for the inhibition on the aldehyde oxidase activity while the nicotinoyl group is necessary for anti-lipid peroxidation. Besides that, the keto compounds having no ester group at C-12 were found to be more active than the others except gagaminine.

Keywords □ *Cynanchum caudatum*, polyoxypregnanes, aldehyde oxidase activity, lipid peroxidation, antioxidant

牛皮消(*Cynanchum caudatum* Max.)는 박주가리과(Asclepiadaceae)에 속하는 다년생 초본으로서 일본과 중국 등지의 고산지대에 주로 분포하고 있다.¹⁾ *Cynanchum*속 식물은 전세계에 걸쳐 12여종이 알려져 있으며 한국, 일본, 중국, 유럽 등지에서 자생하거나 재배되고 있다.牛皮消의 뿌리인 牛皮消根(*Cynanchi Radix*)은 일본의 원주민인 아이누족에게는 중요 민간약으로 노인 성질환의 치료와 예방에 사용되어 왔으며 그의 강심, 이뇨, 부종 제거 등의 목적으로 지금도 널리 사용되고 있

다.¹⁾ 이 식물의 성분에 관한 연구는 Mitsuhashi 등이 수종의 glycoside 및 aglycone으로서 penupogenin,²⁾ lineolon,³⁾ deacetylmetaplexigenin,⁴⁾ sarcostin,⁵⁾ caudatin⁶⁾ 등을 분리한 이래, 최근까지 35여종의 polyoxypregnane glycoside가 보고되었다.⁷⁻¹⁰⁾ 이 식물의 알칼로이드 성분으로는 Mitsuhashi 등¹¹⁾이 gagaminine을 분리하였으며 저자 등¹²⁾은 동속의 백하수오(*Cynanchum wilfordii*)에서 이 성분을 처음으로 분리하여 보고하였다. 한편, 저자 등¹³⁾은 최근 牛皮消의 알칼로이드 분획중에서 미지의 미량성분을 분리하여 구조를 규명하고 gagamine으로 명명하여 보고하였다. 새로운 알칼로이드 화합물인 gagamine은 국산 생약인 백하수오에서는 발견되지

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 0561-770-2224 (팩스) 0561-742-9833

않았다. 牛皮消의 생리활성에 관한 연구는 조추출물이 중추신경 흥분작용이 있음이 보고된 것이 유일하며¹⁾ 저자등이 알칼로이드 분획의 항산화활성을 확인한 다음,¹⁴⁾ 주성분인 gagaminine이 강력한 aldehyde oxidase 억제활성 ($IC_{50} = 0.8 \mu M$)¹²⁾ 및 5-lipoxygenase 억제활성 ($IC_{50} = 26 \mu M$)¹⁵⁾을 가지고 있음을 보고하였다.

Aldehyde oxidase 및 xanthine oxidase는 superoxide anion과 hydroxyl radical등의 활성산소종(ROS)을 생성하는 효소로서 세포막의 지질과산화물 유발하여 세포를 손상시키는 효소계로 알려져 있다. 그러므로 이러한 효소활성을 억제시키는 물질은 ROS를 감소하여 세포막을 보호하는 항산화제로 작용할 수 있다. 저자등은 gagaminine이 aldehyde oxidase 및 지질과산화 억제효과가 특히 강하였으므로 구조-활성 상관관계를 설명하기 위하여 전보¹⁶⁾에서 gagaminine을 포함한 polyoxypregnane 화합물들의 aldehyde oxidase 및 지질과산화 억제활성을 보고하였으며 이번 연구에서는 새로 발견된 신규화합물인 gagamine 및 C-20이 keto기로 된 3종의 pregnane 화합물을 분리하여 구조를 동정하고 gagaminine과 함께 이들의 항산화 활성을 비교함으로써 동일한 구조골격에서 치환기의 종류에 따른 항산화 효과의 차이를 검토하였다.

실험방법

생약재료 - 牛皮消(*Cynanchum caudatum* Max.)는 1997년 9월 일본의 Shinshu에서 채집된 것이며 Prof. N. Takao(Kobe Pharmaceutical University, Japan)에 의해 감정되었고 표본은 University of Shizuoka (Japan)에 보관되어 있다.

실험재료 및 기기 - 효소원 제조를 위해 사용한 동물은 SD계 흰쥐(220~250 g)를 사용하였으며 실험 전 16시간 동안 물만 주고 사육하였다. Malondialdehyde, sodium dodecylsulfate, *N*-methylnicotinic acid amide, 2-thiobarbituric acid 등은 Sigma사 제품을 사용하였으며 기타 시약은 특급을 사용하였다. 녹는점은 Electrothermal IA9100(Aldrich Chemical Co.)로 측정하였으며 보정하지 않았다. FT-IR spectra는 Bomem MB100-10으로 측정하였고 ¹H- 및 ¹³C-NMR spectra는 각각 Bruker AC-250(250 MHz)과 Varian XL-200(200 MHz)으로 분석하였으며 용매는 CDCl₃ 또는 CDCl₃ + DMSO-d₆를 사용하였다. Column chromatography용

silica gel은 230~400 mesh(Sigma사)를, TLC용 plate는 Kieselgel 60F254 aluminum sheets(Merck사)를 사용하였다.

Crude glycoside의 추출 - 건조된 牛皮消 뿌리 1 kg을 분말로 하여 methanol로 3시간씩 2회 수욕상에서 추출하고 농축하여 조추출물을 제조한 다음, 이 추출물에 물을 가하고 n-hexane으로 진탕하여 oil상 물질을 제거하였다. 물에 불용성인 침전물과 수층을 ether로 추출하고 농축한 부분을 합하여 glycoside 혼합물을 제조하였다. 이 혼합물은 Keller-Kiliani test¹⁷⁾에 양성(청자색)을 나타내었으므로 2-desoxy sugar를 함유한 배당체임을 확인하였다.

Polyoxypregnane aglycone의 분리 - 7.5 g의 crude glycoside를 30 ml methanol에 녹인 다음, 0.2 N 황산 40 ml를 가하고 25분간 가열하여 산 가수분해하였다. 용매를 제거한 다음, 수층을 chloroform으로 추출하고 5% 탄산수소나트륨 및 물로 차례로 세척한 후, 농축하여 갈색의 oil상 물질 약 3 g을 얻었다. 이 물질은 Keller-Kiliani test에 음성을 나타내었으므로 당부분이 모두 떨어져 나간 비당체의 혼합물임을 확인하였으며 Liebermann-Burchard test에는 양성(청록색)이었으므로 steroid골격을 가진 화합물임을 알 수 있었다. 다음으로 3 g의 aglycone 혼합물에 5% KOH-MeOH 250 ml를 가하고 5시간 동안 가열반응시켜 약 1.5 g의 잔사를 얻었으며 여기에 acetone을 가하고 가운한 다음, 여과하고 여액을 농축하였다. 이 가수분해 산물을 silicagel column chromatography법(CH₂Cl₂-MeOH 95:5)으로 3종류의 aglycone을 각각 분리하였다.

deacylmetaplexigenin(3). C₂₁H₃₂O₆ (mw. 380). mp. 216-218°C (217-221°C)⁴⁾. IR (nujol): 3450 cm⁻¹ (OH), 1710 cm⁻¹ (CO). ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR: Table I. EI-MS: 337(M-acetyl), 319(337-H₂O, base peak), 301(319-H₂O), 283(301-H₂O), 265(283-H₂O). PI-NI-DCIMS (NH₃): 398(M+NH₄⁺), 381(MH⁺)/379(M-H)⁻.

caudatin(4). C₂₈H₄₂O₇ (mw. 490). mp. 188-193°C (158-160°C/190-195°C)⁶⁾. IR (nujol): 3450 cm⁻¹ (OH), 1715 and 1680 cm⁻¹ (CO). ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR: Table I. EIMS m/z: 447(M-acetyl), 319, 301, 283, 110(base peak). PI-NI-LSIMS(glycerol/MeOH): 491 (MH⁺)/489 (M-H).

lineolon(5). C₂₁H₃₃O₅ (mw. 364). mp. 240-242°C (dec.) (240-243°C)¹⁸⁾. IR (nujol): 3443 cm⁻¹ (OH), 1684

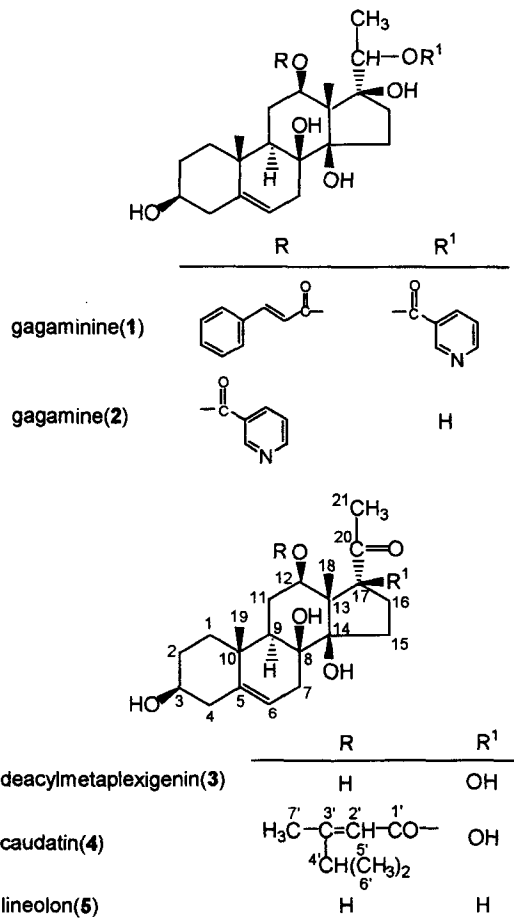


Fig. 1 - Chemical structures of polyoxypregnanes isolated from the roots of *Cynanchum caudatum*.

cm⁻¹(CO). ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR: Table I. EI-MS: 364 (M⁺), 346(M-H₂O, base peak), 328(346-H₂O), 313, 295, 226, 180, 161, 147, 120. CD(c = 0.005, MeOH)Δε(nm): -1.20(283).

Gagaminine(1)과 gagamine(2)의 분리 - Steroidal alkaloid인 gagaminine은 전보¹²⁾의 방법으로 분리한 것을 사용하였으며, 저자들이 최초로 구조를 규명하고 명명한 gagamine은 최근의 보고¹³⁾에 따라 분리한 것을 사용하였다.

Aldehyde oxidase 억제활성 측정 - Aldehyde oxidase (EC 1.2.3.1) 활성 측정은 Rajagopalan 등의 방법¹⁹⁾에 의해 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5) 일정량에 기질인 *N*-methylnicotinic acid amide 1.5 mM과 효소원 0.4 ml를 첨가해 37°C에서 20분간 반응시킨 다음, 20% trichloroacetic acid(0.5

ml)를 가해 반응을 종료시켰다. 반응 종료후 생성된 6-pyridone을 파장 300 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 효소의 활성도를 산정하였다. 효소 활성도는 1분당 1 mg의 단백질이 생성시킨 6-pyridone의 양을 nmole로 나타내었다.

과산화지질 함량 측정 - 과산화지질 함량 측정은 Ohkawa등의 방법²⁰⁾에 준해 간조직 마쇄균질액 0.1 ml에 8.1% sodium dodesyl sulfate, 20% acetate buffer(pH 3.5) 및 0.8% 2-thiobarbituric acid용액을 가해 95°C에서 1시간동안 반응시키고 실온으로 냉각한 다음, 생성된 홍색의 착색물질을 *n*-butanol : pyridine (15 : 1) 혼액으로 이행시켜 파장 532 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 정량하였다. 과산화지질의 함량은 조직 1 g당 malondialdehyde의 양을 nmole로 나타내었다.

단백질 정량 및 통계처리 - 단백질의 정량은 Lowry 등의 방법²¹⁾에 준해 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 실시하였다. 모든 실험결과는 mean ± S.D로 표시하였고 통계적 유의성은 Student's *t*-test로 검정하였다.

실험결과 및 고찰

화합물의 구조동정 - 화합물 3, 4, 5의 ¹H-NMR spectrum을 gagaminine(1) 및 gagamine(2)의 spectrum과 비교해 본 결과, 3번과 12번의 특징적인 methine proton 및 6번의 olefinic proton이 나타났으므로 이들 화합물이 1이나 2와 같은 pregnene 화합물인 것으로 추정할 수 있다. 그러나 세가지 화합물 모두 2의 spectrum에서 보이는 H-20(δ 3.63 ppm)이 나타나지 않았고 또 IR spectrum과 ¹³C-NMR spectrum에서 carbonyl기가 확인되었으므로 이들이 모두 C-20이 ketone형의 화합물로 생각되었다. 그리고 5의 spectrum에는 3, 4와 달리 17-OH signal이 사라지고 (D₂O exchange) 대신 3.40 ppm에서 triplet signal이 새롭게 나타난 것으로 보아 H-17의 methine proton으로 생각할 수 있으며 이는 5에서 OH와 결합되지 않은 C-17 chemical shift가 OH와 결합된 3, 4의 C-17 chemical shift보다 30 ppm이상 고자장에 나타난 것으로 보아도 알 수 있다(Table I). 이상의 결과와 질량분석 data를 종합하여 3은 deacylmetaplexigenin, 4는 caudatin, 5는 lineolon으로 각각 동정하였으며 특

Table I – ^1H -NMR and ^{13}C -NMR data of deacylmetaplexigenin (3) caudatin (4) and lineolon (5)

Proton	^1H			Carbon	^{13}C		
	3	4	5		3	4	5
H-3	3.49(m)	3.55(m)	3.56(m)	C-1	38.75	38.74	38.68
H-6	5.33(t) ¹⁾	5.37(br s)	5.35(t) ⁴⁾	C-2	30.70	29.20	30.91
H-12	3.55(m)	4.57(dd) ²⁾	3.72(ddd) ⁵⁾	C-3	71.58	77.81	71.94
H-17	-	-	3.40(t) ⁶⁾	C-4	41.82	39.24	42.04
Me-18	1.31	1.41	1.26	C-5	140.12	140.21	141.16
Me-19	1.17	1.15	1.17	C-6	117.84	118.53	117.50
Me-21	2.31	2.17	2.25	C-7	34.23	34.38	34.27
H-2'	-	5.53	-	C-8	74.11	74.42	74.64
H-4'	-	2.37	-	C-9	44.08	44.02	44.12
H-5'	-	1.08(d) ³⁾	-	C-10	36.81	37.25	36.96
H-6'	-	1.08(d) ³⁾	-	C-11	28.02 ⁷⁾	24.85	23.29
H-7'	-	2.13	-	C-12	69.07	72.06	68.30
				C-13	60.52	58.12	55.88
				C-14	88.16	88.98	85.68
				C-15	28.02 ⁷⁾	33.52	27.21
				C-16	33.37	32.45	33.16
				C-17	91.96	92.05	60.74
				C-18	7.95	10.28	12.97
				C-19	18.49	18.43	19.00
				C-20	213.32	208.95	214.81
				C-21	32.28	27.23	31.86

Chemical shifts of methylene protons and OH protons are omitted.

1) $J = 3.6$ Hz, 2) $J = 9.6$ Hz, 7.7 Hz, 3) $J = 6.8$ Hz, 4) $J = 3.8$ Hz, 5) $J = 11.8$ Hz, 4.1 Hz, 2.9 Hz, 6) $J = 10.2$ Hz (t may be changed to dd by a expanded spectrum), 7) Chemical shifts of C-11 and C-15 may be almost same, since the peak intensity at $\delta 28.02$ ppm is two times larger than other peaks and the expanded spectrum shows a shoulder peak.

히, lineolon의 경우에는 C-17의 입체배열이 α -form (lineolon)인지 β -form (isolineolon)인지 확인하기 위하여 CD spectrum을 측정 한 결과, 283 nm에서 negative Cotton effect를 나타내었으므로 문헌³⁾에 근거하여 17α -lineolon으로 확정하였다.

Aldehyde oxidase 억제활성 - 생체내의 조효소로서 다양한 생화학적 산화반응에 참여하며 여러종류의 생리기능을 조절, 보존하여 항상성 유지에 중요한 역할을 하는 NAD의 대사산물인 *N*-methylnicotinic acid amide를 기질로 하고 흰쥐 간 세포질(cytosol) 분획을 효소원으로 하는 반응액중에 각 시료화합물을 용량별로 첨가하고 aldehyde oxidase 활성변화를 관찰하였다 (Fig. 2).

각 화합물의 농도가 증가될수록 대부분 용량 의존적으로 aldehyde oxidase활성이 억제됨을 관찰할 수 있었으며 그 효과는 화합물의 구조에 따라 차이를 보여 주었다. 그러나 전보¹²⁾에서 보고한 gagamine의 활성 ($\text{IC}_{50} = 0.8 \mu\text{M}$)에 비해 나머지 화합물은 모두 활성이 약하였다. 구조에 따른 활성차이를 살펴보면, C-12에 ester기를 가진 gagamine (2)과 caudatin (4)은 gagamine (1) 보다 활성이 매우 약하였다. Gagamine은 gagamine

과 같은 steroidal alkaloid이지만 활성은 0.01 mg/ml에서 대조군에 비해 13.9%로 나타났으며 alkaloid가 아닌 caudatin의 경우에도 같은 용량에서 32.2%로 나

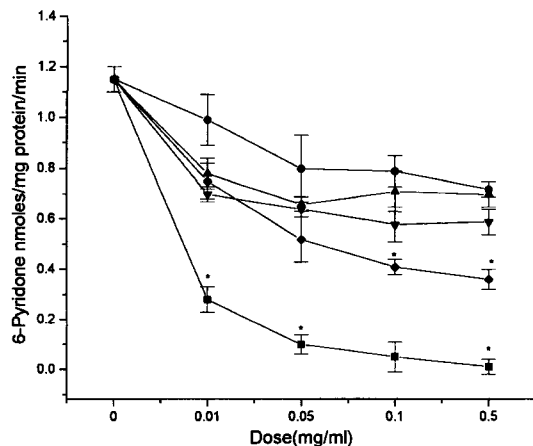


Fig. 2 – Inhibitory effect of some polyoxypregnane compounds on the hepatic aldehyde oxidase activity *in vitro*. Values are means \pm S.D. (n=3). *: $p < 0.05$. ■; gagamine (1), ●; gagamine (2), ▼; deacylmetaplexigenin (3), ▲; caudatin (4), ◆; lineolon (5).

타나 gagaminine의 활성(75.7%)과 유의성 있는 차이를 보여주었다. 이는 cinnamic ester인 gagaminine과 penupogenin의 활성이 C-12의 cinnamoyl기에 기인한다는 전보¹⁶⁾의 보고를 뒷받침하는 결과로서, gagamine과 같은 nicotinic ester나 caudatin과 같은 ikemaic ester는 aldehyde oxidase의 효소활성에 큰 영향을 미치지 못하는 것으로 분석할 수 있다.

다음으로 전보¹⁶⁾에서 비 ester화합물인 sarcostin이 활성이 거의 없는 것으로 나타났으므로 비 ester이면서도 구조가 sarcostin과는 다른 화합물인 deacetylmetaplexigenin (3)과 lineolon (5)의 활성을 비교해 보았다. 3과 5는 C-20이 keto형의 화합물로서 C-20이 이차 알코올형인 sarcostin과 비교했을 때, 두 화합물 모두 sarcostin보다 강하게 나타났다. 이 가운데 lineolon은 0.05 mg/ml의 농도에서 54.8%의 억제활성을 보여 deacetylmetaplexigenin의 활성(44.3%)이나 같은 C-20 keto형인 caudatin의 활성(42.6%)보다 약간 높았다. 이들 3가지 화합물중에서 lineolon은 C-17이 H인데 비해 나머지 두가지 화합물은 OH 치환체이므로 C-17 알코올형의 활성이 다소 약한 것으로 분석된다. 이상의 구조-활성관계를 고려해 보면 C-12에 cinnamoyl기가 치환되고 C-20이 keto형인 lineolon의 cinnamic ester 화합물은 gagaminine보다도 aldehyde oxidase 억제활성이 보다 강할 것으로 추정할 수 있으나 이러한 화합물은 아직 천연에서나 합성이 보고되지 않아 지속적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

지질과산화 억제활성 - 흰쥐의 간조직 마쇄액과 과산화지질 생성 실험조건으로 시험관내에 각 화합물의 용량을 달리하면서 첨가시켜 과산화지질의 생성정도를 관찰하였다(Fig. 3). 모든 화합물에 있어서 첨가농도에 비례하여 과산화지질의 생성을 억제시켰으나 그 효과는 화합물의 구조에 따라 유의한 차이를 보여주었다.

전보¹²⁾에서 보고한 gagaminine (1)의 경우, 농도가 증가함에 따라 과산화지질 억제효과가 크게 증가하여 최대농도인 0.1 mg/ml에서는 대조군에 비해 40.1%의 억제효과를 나타내었으며 이는 잘 알려진 천연 항산화제인 α -tocopherol의 49.5%보다는 다소 약한 효과이다. 구조에 따른 활성차이를 다른 화합물과 비교해 보면, C-12에 ester기를 가진 gagamine (2)과 caudatin (4)은 gagaminine보다 활성이 매우 약하였다. 이러한 결과는 이들 화합물의 aldehyde oxidase 억제활성이

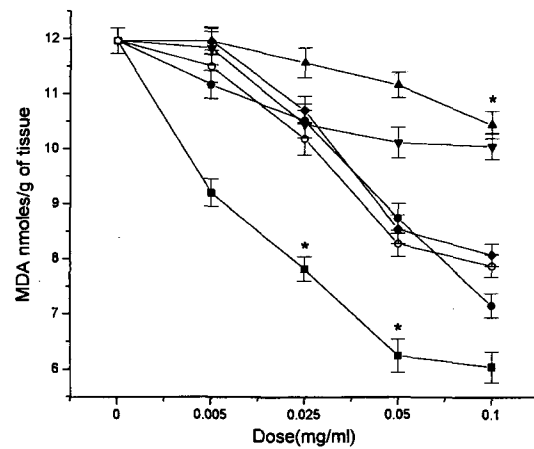


Fig. 3 - Inhibitory effect of the polyoxypregnane compounds on hepatic lipid peroxidation. Values are means \pm S.D. (n=3). * : $p < 0.05$. MDA : malondialdehyde. ■; α -tocopherol, ●; gagaminine (1), ▲; gagamine (2), ◆; deacetylmetaplexigenin (3), ▼; caudatin (4), ○; lineolon (5).

gagaminine보다 훨씬 약하게 나타난 결과와 일치하고 있다. 전보¹⁶⁾에서 gagaminine의 지질과산화 억제활성은 C-12의 nicotinoyl기에 기인하는 것으로 설명하였으나 C-20에 같은 nicotinoyl기를 가진 gagamine이 약한 활성을 보인 것은 기의 위치에 따라 활성이 달라짐을 의미하는 것이라 분석해 볼 수 있다. C-20이 keto form인 deacetylmetaplexigenin (3)과 lineolon (5)의 경우에는 억제효과가 0.05 mg/ml 이하의 농도에서 gagaminine과 비슷하게 나타났으므로 C-20의 nicotinoyl기와 함께 keto기가 지질과산화 억제활성에 중요한 역할을 하는 것으로 보인다. 그러나 같은 C-20 keto 화합물인 caudatin (4)이 효과가 없는 점으로 미루어 보아 C-12의 ester기는 오히려 지질과산화 억제 활성을 감소시키는 것으로 추정된다. Gagaminine도 C-12 ester화합물이지만 억제활성이 강한 것은 nicotinoyl기 때문으로 풀이되며 이는 nicotinic acid가 강력한 지질과산화 억제활성을 가진다는 전보¹⁶⁾의 결과로부터 충분하지는 않으나 어느 정도 설명될 수 있을 것 같다. 이상의 구조-활성관계를 고려해 보면 C-20이 nicotinic ester인 구조로서 C-12에 ester기가 없는 화합물은 지질과산화 억제효과가 매우 강력한 것으로 추정되며 이러한 화합물에 대한 지속적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

감사의 말씀

이 논문은 한국과학재단 핵심전문연구과제(Grant No. 981-0716-121-2) 연구비지원에 의한 연구결과물의 일부이며 이에 감사드립니다.

문헌

- 1) Mitsuhashi, H. and Shimizu, Y. : Studies on the constituents of Asclepiadaceae plants, I. On the components of *Cynanchum caudatum* Max. *Chem. Pharm. Bull.* **8**, 313 (1960).
- 2) Sasaki, T., Hayashi, K. and Mitsuhashi, H. : On the structure of kidjolanin and the position of the esterlinkage of penupogenin. *Chem. Pharm. Bull.* **20**, 628 (1972).
- 3) Mitsuhashi, H. and Shimizu, Y. : Structural relationship between deacycynanchogenin and sarcostin. *Chem. Pharm. Bull.* **10**, 433 (1962).
- 4) Mitsuhashi, H., Shimizu, Y., Nomura, T., Yamada, T. and Yamada, E. : Studies on the constituents of Asclepiadaceae plants. XI. Separation of new aglycones from *Cynanchum caudatum* Maxim. *Chem. Pharm. Bull.* **11**, 1198 (1963).
- 5) Shimizu, Y. and Mitsuhashi, H. : Studies on the components of Asclepiadaceae plants-XXII. Structures of cynanchogenin and sarcostin. *Tetrahedron* **24**, 4143 (1968).
- 6) Yamagashi, T. and Mitsuhashi, H. : The structure of caudatin. *Chem. Pharm. Bull.* **20**, 625 (1972).
- 7) Warashina, T. and Noro, T. : Steroidal glycosides from the root of *Cynanchum caudatum* M. *Chem. Pharm. Bull.* **43**, 977 (1995).
- 8) Warashina, T. and Noro, T. : Steroidal glycosides from roots of *Cynanchum caudatum* M. II. *Chem. Pharm. Bull.* **43**, 1734 (1995).
- 9) Warashina, T. and Noro, T. : Steroidal glycosides from roots of *Cynanchum caudatum* M. III. *Chem. Pharm. Bull.* **44**, 358 (1996).
- 10) Warashina, T. and Noro, T. : Steroidal glycosides from roots of *Cynanchum caudatum*. *Phytochem.* **44**, 917 (1997).
- 11) Yamagashi, T., Hayashi, K. and Mitsuhashi, H. : The structure and internal acyl migration of gagaminine. *Chem. Pharm. Bull.* **20**, 2289 (1972).
- 12) Lee, D. U., Shin, U. S. and Huh, K. : Inhibitory effects of gagaminine, a steroidal alkaloid from *Cynanchum wilfordii*, on lipid peroxidation and aldehyde oxidase activity. *Planta Med.* **62**, 485 (1996).
- 13) Lee, D. U., Kang, S. I., Yoon, S. H., Budesinsky, M., Kasal, A., Mayer, K. K. and Wiegrebbe, W. : A new steroidal alkaloid from the roots of *Cynanchum caudatum*. *Planta Med.* in press.
- 14) 이동웅, 신억섭, 이수진, 허근 : 牛皮消根의 알칼로이드 분획이 과산화지질 생성에 미치는 영향. *약학회지* **38**, 483 (1994).
- 15) 이동웅, 이원철 : 은조롱뿌리의 5-lipoxygenase활성 억제 성분. *생약학회지* **28**, 247 (1997).
- 16) Lee, D. U., Shin, U. S. and Huh, K. : Structure-activity relationships of gagaminine and its derivatives on the inhibition of hepatic aldehyde oxidase activity and lipid peroxidation. *Arch. Pharm. Res.* **21**, 273 (1998).
- 17) von Euw, J. and Reichstein, T. : Die Glykoside der Samen von *Strophanthus Nicholsonii* Holm. Glykoside und Aglykone. 34 Mitteilung. *Helv. Chim. Acta.* **31**, 883 (1948).
- 18) Fukuoka, M. and Mitsuhashi, H. : Studies on the constituents of Asclepiadaceae plants. XXIV. Structure of stephanol. *Chem. Pharm. Bull.* **17**, 2448 (1969).
- 19) Rajagopalan, K.V., Fridovich, I. and Handler, P. : Hepatic aldehyde oxidase. I. Purification and properties. *J. Biol. Chem.* **237**, 922 (1962).
- 20) Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K. : Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95**, 351 (1979).
- 21) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265 (1951).