Journal of the Korean Chemical Society 2010, Vol. 54, No. 6 Printed in the Republic of Korea DOI 10.5012/jkcs.2010.54.6.701

# 염생식물 갯방풍의 화학적 성분연구

엄영란<sup>†</sup>·이정임·이진혁·김해진·예성수<sup>‡</sup>·서영완\*

한국해양대학교 해양환경·생명과학부 <sup>\*</sup>한국한의학연구원 신한방제제연구센터 <sup>\*</sup>인제대학교 의과대학 생화학교실 (접수 2010. 8. 21; 수정 2010. 9. 27; 게재확정 2010. 9. 29)

## Chemical Constituents of the Halophyte Glehnia littoralis

Young Ran Um<sup>†</sup>, Jung Im Lee, Jinhyeok Lee, Haejin Kim, Sung Su Yea<sup>‡</sup>, and Youngwan Seo\*

Division of Marine Environment and Bioscience, Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea <sup>†</sup>Center for Herbal Medicine Improvement Research, Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 305-811, Korea <sup>‡</sup>Department of Biochemistry, College of Medicine, Inje University, Busan 614-735, Korea (Received August 21, 2010; Revised September 27, 2010; Accepted September 29, 2010)

**요약.** 우리나라 동해안에 서식하는 염생식물인 갯방풍으로부터 2개의 polyacetylene 화합물인 falcarindiol(1)과 falcarinol(2), 4개의 coumarin 화합물인 bergapten(3), xanthotoxin(4), umbelliferone(5), scopoletin(6) 및 1개의 sesquiterpene 화합물인 (5β,10α)-lasidiol angelate(7)가 분리되었다. 이들 화합물 중 scopoletin(6)과 (5β,10α)-Lasidiol angelate(7)는 갯방풍으로부터 처음 분리 되어진 것이다. 분리된 화합물의 구조결정은 <sup>1</sup>H COSY, HMQC 그리고 HMBC와 같은 2D NMR 분광학적 실험과 문헌에 보고 된 값을 비교하여 이루어졌다.

**주제어:** 염생식물, 갯방풍, Coumarin, Polyacetylene, Sesquiterpene

**ABSTRACT.** Two polyacetylenes (1 and 2), four coumarins (3-6), and one sesquiterpene (7) were isolated from the halophyte *Glehnia littoralis*. Particularly, compound 6 and 7 were isolated for the first time from *Glehnia littoralis*. Their chemical structures have been determined by extensive 2-D NMR experiments such as <sup>1</sup>H, COSY, HMQC and HMBC and by comparison with the reported data in the literature.

Keywords: Halophyte, Glehnia littoralis, Coumarin, Polyacetylene, Sesquiterpene

## 서론

우리나라에 자생하는 갯방풍(*Glehnia littoralis* Fr. Schm. ex Miq.)은 산형과(Umbelliferae) 갯방풍속(*Glehnia*)의 다년 생 초본으로 우리나라를 포함한 일본, 중국, 만주, 사할린, 오 츠크, 큐릴열도 및 북미 캘리포니아에서 알래스카까지 주로 태평양 연안에 분포한다.<sup>1</sup> 갯방풍의 서식지는 해양의 영향을 강하게 받는 바닷가 해안사구로써 바닷물로부터 직간접적으 로 염분이 유입되어 일반적으로 다른 육상식물들이 생존하 기 어려운 염분함량이 높은 독특한 생태계이므로 갯방풍에 는 기존 육상식물들과는 다른 이차 대사물질들이 존재할 것 으로 예상되었다.

갯방풍은 한방에서 중풍, 해열, 진통, 신경통 등에 자주 이 용되어져 왔으며 선행 연구에서도 이들 효능이 검증된 바 있 다<sup>2</sup>. 현재 갯방풍의 자생지는 해수욕장이나 위락시설의 개발 로 인해 대부분 사라져 가고 있는 실정이며,<sup>3</sup> 환경부에서는 이를 막기 위해 보호가 필요한 희귀 자원식물 종으로 선정하 였다.<sup>4</sup> 지금까지 갯방풍의 이차 대사물질에 대한 수 편의 논 문이 발표된 바 있으나 우리나라에 자생하는 갯방풍의 이차 대사물질에 대한 연구는 지방산이나 스테롤 또는 정유성분 을 제외하고는 거의 연구가 이루어지지 않았다.<sup>5-10</sup> 최근에 본 연구그룹에서는 한국에서 자생하는 갯방풍으로부터 3 개의 glucopyranosides와 4 개의 furanocoumarins 그리고 2 개의 polyacetylenes을 분리하여 암세포 증식억제 효과를 보고한 바 있다.<sup>11-12</sup>

갯방풍 추출물 시료의 크로마토그래피 분획을 자세히 분 석해 본 결과 구조적으로 또 다른 형태의 화합물들이 미량으 로 존재하는 것이 확인되어 갯방풍 시료를 대량으로 채집하 였으며 이러한 미량성분들의 분리를 시도하였다. 본 연구에 서는 우리나라에 자생하는 갯방풍에서 추가적으로 분리된 3 가지 화합물과 이들의 구조결정 및 생리활성에 대하여 보고 하고자 한다.

## 실험방법

#### 시약 및 기기

화합물의 분리에 사용한 칼럼 충전물질은 RP18(YMC-GEL ODS-A, 12 nm, S-75 μM), silica gel(silica gel 60, 0.0063-0.200 mm, Merck), HP20(HP-20 supelco, 250 - 850 μM, Sigma) 을 사용하였으며, TLC plate는 Silica F254s(Merck)를 사용하 였다. 추출, 분획 및 칼럼 크로마토그래피에 사용한 모든 용 매는 1급 시약을 사용하였다. RI detector가 장착된 고성능 액 체 크로마토그래피(HPLC, Dionex P580)를 이용하여 화합물 을 분리·정제하였으며 HPLC column은 YMC pack ODS-A (250 × 10 mm, S 5 μM, 12 mm)을 사용하였다. 선광도는 CHCl<sub>3</sub> 용매로 polarimeter (ATAGO, POLAX-2L)를 사용하여 측정 하였다. 화합물의 구조 동정은 Varian NMR (300 MHz)을 사 용하였으며 NMR 측정 용매는 CD<sub>3</sub>OD와 CDCl<sub>3</sub>(Cambridge Isotope Laboratories, Inc., USA)를 사용하였다.

### 실험재료

실험에 사용한 갯방풍(Glehnia littoralis)은 2004년 9월 경 상북도 포항시 해안에서 직접 채집하여 경성대학교 문성기 박사에 의해서 동정되었으며 응달에서 건조 후 추출하기 전 까지 -25 °C에서 냉동 보관하였다.

#### 시료의 추출 및 분획

채집하여 실온에서 음건한 갯방풍(건조 중량 1.2 kg)은 -25 °C의 냉동고에 보관하였으며 추출하기 위하여 해빙 시킨 후, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>속에 담그고 24시간 방치한 후 여과하였다. 이 과 정을 2번 반복하였으며, 얻어진 추출액은 40 °C 수욕 상에서 rotary vacuum evaporator(EYELA JAPAN, N-N series)로 농 축하였다. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>로 추출하고 남은 잔사에 동량의 MeOH을 부어 위와 동일한 과정을 반복하여 추출물을 얻었다. 두 용매 로 추출한 양을 합하여 얻어진 추출물 340 g은 용매 극성에 따 라 순차적으로 분획하여, *n*-hexane, 85% aq. MeOH, *n*-BuOH, H<sub>2</sub>O 분획물을 각각 22.09 g, 8.95 g, 16.92 g, 125.0 g 얻었다.

## 화합물의 분리

갯방풍의 85% aq. MeOH 분획층 4 g을 aq. MeOH 용액(50, 60, 70, 80, 90% aq. MeOH and 100% MeOH)을 이용하여 C<sub>18</sub> 역상 진공 칼럼 크로마토그래피를 실시하였으며 7개의 fractions (rfc 1 ~ 7)를 얻었다. 그 중 50% aq. MeOH fraction(rfc 1, 1.17 g)은 HP20 column chromatography를 실시하여 5개의 subfractions (100% H<sub>2</sub>O, 50% aq. MeOH, 50% aq acetone, 100% MeOH, 100% acetone)로 다시 나누었으며 Si prep. TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:dioxane:H<sub>2</sub>O = 9.2:0.6:0.2)를 통하여 subfraction 3 에서 umbelliferone(**5**)과 scopoletin(**6**)을 각각 2.2 mg과 1.5 mg 얻었다. 60% aq. MeOH fraction(rfc 2, 0.12 g)은 Si prep. TLC (100% CHCl<sub>3</sub>)로 10개의 subfractions로 세분화하였으며 그 중 subfraction 1에서 bergapten(**3**)이 22.8 mg 얻어 졌다. Subfraction 4를 다시 역상 HPLC(YMC-A, 2 mL/min, 65% aq. MeOH)로 분리하였으며 xanthotoxin(**4**) 9.2 mg이 얻어 졌다. 80% aq. MeOH fraction(rfc 4, 0.25 g)은 Si prep. TLC와 역상 HPLC(YMC-A, 2 mL/min, 65% aq. MeOH)를 실시하여 falcarindiol(**1**)가 6.0 mg 얻어졌다. 90% aq. MeOH fraction (rfc 5, 0.53 g)은 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(20% EtOAc in *n*-hexane)와 역상 HPLC(YMC-A, 2 mL/min, 65% aq. MeOH)를 연속적으로 실시하여 (5β,10α)-Lasidiol angelate(**7**)를 1.5 mg 얻 었다.

또한 *n*-hexane 분획은 실리카겔 칼럼 크로마토그래피를 실시하여 11개의 subfraction을 얻었으며 subfraction 2(10% EtOAc/*n*-hexane)와 3(20% EtOAc/*n*-hexane)으로부터 Si prep. TLC(각각 100% CHCl<sub>3</sub> 와 *n*-hexane:ethyl ether = 2:1)를 순차 적으로 실시하여 falcarinol(**2**)을 8.2 mg 분리하였다.

#### Umbelliferone(5)

Yellow crystal; mp 230 °C; <sup>1</sup>H NMR(300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.80(1H, d, *J* = 9.1 Hz, H-4), 7.41(1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-5), 6.76(1H, d, *J* = 8.5, 2.2 Hz, H-6), 6.67(1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-8), 6.15(1H, d, *J* = 9.1 Hz, H-3); <sup>13</sup>C NMR(75 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ 163.4(C, C-2), 162.9(C, C-7), 157.0(C, C-9), 145.8(CH, C-4), 130.4(CH, C-5), 114.3(C, C-6), 113.0(C, C-10), 112.2(CH, C-3), 103.2(CH, C-8); EI-MS m/z 162[M]<sup>+</sup>.

#### Scopoletin(6)

Yellow crystal; mp 204 °C; <sup>1</sup>H NMR(300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.82(1H, d, *J* = 9.4 Hz, H-4), 7.07(1H, s, H-5), 6.74(1H, s, H-8), 6.18(1H, d, *J* = 9.4 Hz, H-3), 3.89(3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR(75 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 163.8(C, C-2), 152.7(C, C-7), 151.2(C, C-9), 146.8(C, C-6), 145.9(CH, C-4), 112.5(CH, C-3), 112.4(C, C-10), 109.7(CH, C-5), 103.8(CH, C-8), 56.7(CH<sub>3</sub>, 6-OMe); FAB-MS m/z 215 [M+Na]<sup>+</sup>.

## (5β,10α)-Lasidiol angelate(7)

Pale yellow oil; <sup>1</sup>H NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 6.04(1H, qq, J = 6 Hz, H-3'), 5.40(1H, d, J = 6 Hz, H-9), 5.15(1H, d, J = 6 Hz, H-10), 2.15(1H, m, H-6), 2.04(1H, m, H-7), 2.01(3H, dq, J = 7.1, 1.3 Hz, H-4'), 1.99(1H, m, H-6), 1.96(1H, m, H-7), 1.90(3H, q, J = 1.3 Hz, H-5'), 1.79(1H, sd, J = 6.6, 1.9 Hz, H-11), 1.69(3H, s, H-15), 1.63(3H, m, H-3, -4), 1.37(2H, m, H-2), 1.01(3H, s, H-14), 0.98(3H, d, J = 6.9 Hz, H-13), 0.92 (3H, d, J = 6.9 Hz, H-12); <sup>13</sup>C NMR(75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 167.2 (C, C-1'), 142.2(C, C-8), 138.4(CH, C-3'), 127.7(C, C-2'), 122.0 (CH, C-9), 83.2(C, C-5), 77.3(CH, C-10), 56.2(C-H, C-4),

53.5(C, C-1), 35.9(CH<sub>2</sub>, C-2), 35.3(CH<sub>2</sub>, C-6), 30.3(CH<sub>2</sub>, C-7), 26.7(CH, C-11), 25.8(CH<sub>3</sub>, C-15), 24.9(CH<sub>2</sub>, C-3), 24.4(CH<sub>3</sub>, C-13), 22.9(CH<sub>3</sub>, C-14), 21.0(CH<sub>3</sub>, C-5'), 15.8(CH<sub>3</sub>, C-4'); CI-MS m/z 320[M]<sup>+</sup>.

## DPPH 라디칼 소거 활성 측정

2 mg DPPH를 15 mL ethanol에 녹인 용액과 ethanol, DMSO 를 각각 1.2 : 3: 0.5 의 비율로 혼합하여 DPPH radical 용액을 만든다. 각각 농도별로 준비한 시료 100 μL와 제조한 DPPH radical 용액 900 μL를 혼합하여 10분간 상온에서 반응시킨 후 518 nm에서 흡광도를 측정한다. 시료를 첨가하지 않은 대 조군과 비교하여 유리 라디칼 소거 활성을 백분율로 나타내 었으며, 대조군의 UV-vis 흡광도는 0.94 ~ 0.97이 되도록 조 정하였다. 그리고 3회 반복 실험하여 얻은 결과를 평균한 값 으로 나타내었다.



#### 세포 배양

섬유 육종 세포(HT-1080), 위암세포(AGS), 결장암세포 (HT-29)은 한국 세포주 은행(Korean Cell Line Bank, KCLB) 으로부터 분양 받아 배양하여 실험에 사용하였다. HT-1080세 포는 100 units/mL의 penicillin-streptomycin과 10%의 fetal bovine serum(FBS, Hyclone, Utah, USA)가 함유된 DMEM (Hyclone, Utah, USA) medium을 사용하였으며, AGS와 HT-29 세포의 경우, 100 units/mL의 penicillin-streptomycin과 10% 의 FBS가 함유된 RPMI 1640(Hyclone, Utah, USA) medium 을 사용하여 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> incubator(Sanyo, Osaka, Japan)에 서 배양하였다. 배양된 각각의 암세포는 2 - 3일 간격으로 배지 를 교환하고 6 - 7일마다 계대 배양하면서 실험에 사용하였다.

#### ROS(reactive oxygen species) 소거능 측정

세포 내 자유라디칼 생성 정도는 DCF-DA assay로 측정하 였다. 섬유 육종 세포 HT-1080은 96 well plate에 5 × 10<sup>3</sup> cells/ well로 분주하여 24시간 동안 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배 양하였다. Hank's balanced salt solution(HBSS)으로 희석한 20  $\mu$ M의 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate(DCF-DA, fluorescence probe)를 첨가하여 20분간 배양한 후, 일정한 농 도의 시료를 첨가하였다. 1시간 후에 PBS로 3회 씻은 후, 500  $\mu$ M 의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하여 2시간 동안 세포내 자유라디칼 생성을 유도하였다. 세포내 자유라디칼 생성은 ELISA reader(Bio-Tek instruments, Winooski, VT)를 이용하여  $\lambda_{\text{excitation}}$  485 nm,  $\lambda_{\text{emission}}$ 528 nm에서 DCF fluorescence intensity를 측정하였다.

## 세포 생존율 측정

분리된 화합물의 암세포 증식억제 효과 분석은 MTT assay 를 이용하여 확인하였다. HT-29와 AGS 세포는 well당 1 × 10<sup>5</sup> cells/mL가 되도록 96-well plate에 분주하여 24시간 동안 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양한 후, 실험에 사용하였다. 화합물을 농도별로 제조하여 암세포주에 처리하였으며, 대 조군에는 시료 대신 PBS를 처리하여 24시간 동안 배양한 후 100 μL의 MTT 용액(1 mg/mL)을 첨가하여 동일한 배양 조건 에서 4시간 동안 더 배양하였다. 생성된 formazan crystal은 100 μL의 DMSO에 녹여서 ELISA reader(Bio-Tek instruments, Winooski, VT)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하여 암세포 증식 억제율 (%)을 구하였다.

 대조구의 흡광도 - 시료처리구의 흡광도

 (%) =

 대조구의 흡광도

 대조구의 흡광도

## 결과 및 고찰

#### 갯방풍으로부터 분리된 화합물 5-7의 구조결정

갯방풍 85% aq. MeOH 분획과 *n*-hexane 분획을 칼럼 크로 마토그래피, Si prep. TLC 그리고 역상 HPLC를 차례로 수행 하여 7개의 화합물을 분리하였다. 분리한 화합물은 CDCl<sub>3</sub>와 CD<sub>3</sub>OD 용매를 이용하여 2D-NMR을 측정한 후 구조를 결정 하였으며 이미 보고된 물질의 문헌치와 비교하여 구조를 최 종 확인하였다(*Fig.* 1).

Compound 1-4는 본 연구그룹에서 이미 분리된 바 있으며 기존에 보고한 데이터와 비교하여 각각 falcarindiol(1), falcarinol(2), bergapten(3), xanthotoxin(4)로 결정되었다.<sup>13-16</sup>

Compound 5은 노란색의 결정형태로 분리되었으며 EI-S 스펙트럼과 <sup>13</sup>C NMR 데이터에 의해서 C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>로 확인되었 다.<sup>1</sup>HNMR 스펙트럼에서는 6개의 분리된 신호가 downfield 에서 관측되었다. δ 112.2(CH, C-3)와 145.8(CH, C-4) 영역의 carbon에 연결된 proton 신호가 δ 6.15(1H, d, J=9.1 Hz, H-3) 와 7.80(1H, d, J = 9.3 Hz, H-4)에서 같은 J값을 보이면서 doublet으로 관측되었다. 또한 δ 130.4(CH, C-5), 114.3(C, C-6) 와 103.2 (CH, C-8) 영역의 carbon에 연결된 proton은 각각 δ 7.41(1H, d, J = 8.52 Hz, H-5), 6.76(1H, d, J = 8.52, 2.2 Hz, H-6) 영역에서 doublet으로, δ 6.67(1H, d, J = 2.2 Hz, H-8) 영 역에서 singlet으로 관측되었다. <sup>13</sup>C NMR 스펙트럼에서는 coumarin 유도체의 carbonyl 작용기에 의한 peak인 δ 163.4 (C, C-2)의 신호가, δ 162.9(C-OH, C-7) 영역에서는 -OH기에 의한 peak가 관측되었다. 그 외에 δ 112.2(CH, C-3), 145.8 (CH, C-4), 130.4(CH, C-5), 114.3(C, C-6), 103.2(CH, C-8), 157.0(C, C-9), 113.0(C, C-10)의 peak가 각각 관찰되었고, 2D



*Fig.* 1. Chemical structures of isolated compounds from *Glehnia littoralis*.

NMR 데이터를 비롯한 분광학적 데이터를 종합하여 이 화합 물을 7-hydroxycoumarin으로 결정하였다. 문헌조사결과 이 화합물은 이전에 *Chamomilla recutita*와 *Acacia nilotica*로부 터 분리된 umbelliferone이라는 것이 확인되었으며 보고된 데이터와 잘 일치하였다.<sup>17,18</sup>

Compound 6은 노란색의 결정형태로 분리되었으며 FAB-MS 스펙트럼과 <sup>13</sup>C NMR data에 의해서 C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>로 확인되 었다. NMR 데이터에서는 compound **3**과 유사한 peak가 관 측되었으며 뚜렷한 차이점으로는  $\delta$  146.8(C, C-6)영역의 quaternary carbon에 연결된 methoxy group이  $\delta$  3.89(3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>)에서 관측되었다. 이러한 NMR 분광 데이터에 근거하 여 문헌조사를 실시한 결과 이 화합물은 알려진 화합물인 scopoletin으로 확인되었다.<sup>19,20</sup>

 Compound 7은 약간 노란색을 띠는 oil 형태로 분리되었

 으며 분자량은 CI-MS 분석과 <sup>13</sup>C NMR에 의해서 C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>O<sub>3</sub>

로 결정되었다.<sup>1</sup>H NMR 스펙트럼에서는 double bonds와 연 결된 3개의 methyl peaks[δ 2.01(3H, dq, J=7.1, 1.3 Hz, H-4'),  $1.90(3H, q, J = 1.3 Hz, H-5'), \delta 1.01(3H, s, H-14), 1.69(3H, s, s)$ H-15)]와 isopropyl moiety로 존재하는 2 개의 methyl peaks[δ 0.92(3H, d, J = 6.9 Hz, H-12), 0.98(3H, d, J = 6.9 Hz, H-13)가 관찰되었다. 또한 downfield 영역에서는 δ 6.04(1H, q, J= 6 Hz, H-3')에서 1개의 quartet 신호와 δ 5.40(1H, d, J=6 Hz, H-9), 5.15(1H, d, J = 6 Hz, H-10)에서 2개의 doublet 신호들 을 관찰하였다. Quartet 신호는 δ 1.90(3H, q, J=1.3 Hz, H-5') 영역의 methyl 신호와 coupling을 보여주었다.<sup>13</sup>C NMR 스 페트럼에서는 δ 142.2(C, C-8), 122.0(CH, C-9), 127.7(C, C-2') 그리고 138.4(CH, C-3') 영역의 이중결합을 보이는 carbon들 을 확인할 수 있었고, 6개의 methyl group인 δ 21.4(CH<sub>3</sub>, C-12), 24.4(CH<sub>3</sub>, C-13), 22.9(CH<sub>3</sub>, C-14), 25.8(CH<sub>3</sub>, C-15) 신 호를 확인하였다. 또한 ester group과 hydroxy group에 기인 한 신호들인 δ 167.2(C, C-1'), 83.2(C, C-5), 77.3(CH, C-10) peak를 관찰하였다. 따라서 이 화합물은 2개의 고리를 가지 는 불포화도 5인 구조임을 확인할 수 있었다. 전체적인 화합 물의 구조는 2D NMR 분광학적 데이터를 분석하여 결정하 였고 문헌조사를 통해 본 화합물은 (5β,10α)-Lasidiol angelate로 확인되었으며 이 물질의 입체구조는 carotol로부터의 부분합성에 의하여 (1R, 4R, 5R, 10S)로 보고된 바 있다.<sup>21-23</sup> 문헌에 의하면 이 화합물의 C-13에 대한 carbon 신호가 δ 22.8 로 보고되어 있고 C-14에 대한 값은 언급되지 않았다. 따라서 본 연구를 통하여 C-13 대한 chemical shift 값을  $\delta$  24.4로 수 정하였고 C-14의 값은 δ 22.9로 결정하였다.

## DPPH 라디칼 소거 활성

갯방풍으로부터 분리된 화합물 5-7의 DPPH 라디칼 소거 활성 정도는 *Fig.* 2와 같이 나타났으며, control과 비교하였을 때 Vit. C와 BHT가 500 μM 농도에서 각각 96.7. 83.8%의 높 은 DPPH 라디칼 소거활성을 보이는데 비하여 화합물 5-7은 각각 10.2, 12.4, 12.5%의 낮은 활성을 나타내었다.

#### 암세포 증식억제 효과

AGS, HT-29 세포에 대하여 화합물 5-7을 각각 50, 10, 5 μM 의 농도로 처리한 결과 화합물 7을 50 μM의 농도로 처리했을 때에 AGS 위암세포에 대하여 93%의 높은 암세포 증식 억제 효과를 보이는 것을 관찰 할 수 있었다(*Fig.* 3).

## ROS (reactive oxygen species) 소거능

갯방풍으로부터 분리된 화합물 5-7의 세포 내 활성산소종 소거 효과는 섬유육종 세포인 HT-1080을 사용하였으며 형 광염료인 DCF-DA가 세포내 생성된 자유라디칼과 반응하여 형광물질인 DCF로 산화되는 원리를 이용하여 측정하였다. 세포내 자유라디칼 생성은 30분 간격으로 120분 동안 형광정



*Fig.* 2. Scavenging effect of compounds 5-7 from *Glehnia littoralis* on DPPH radical.



*Fig.* **3.** Inhibitory effects of compounds **5-7** from *Glehnia littoralis* on the growth of human cancer cell lines (a) AGS, (b) HT-29.

도를 측정하여 나타내었다. Fig. 4와 같이 화합물 3종의 ROS 소거능은 시료를 처리하지 않고 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>만을 처리한 control과 비교하여 모두 농도 의존적으로 ROS를 소거하는 것으로 확 인되었으며 그중 화합물 5의 경우 50 μM 농도에서 control 대 비 가장 높은 활성산소종 소거능을 보여주었다.

Acknowledgments. 이 논문은 2007년도 정부(교육과학기 술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원(No. 2007-0055521)을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.



*Fig.* **4**. Effect of compounds **5-7** from *Glehnia littoralis* on intracellular ROS level induced by hydrogen peroxide. After preincubation of the HT-1080 cells in 20  $\mu$ M DCF-DA, cells were treated with compounds **5-7** from *Glehnia littoraliss* for 2hr. DCF fluorescence was measured following addition of 500  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> at  $\lambda_{excitation} = 485$  nm and  $\lambda_{emission} = 528$  nm.

## REFERENCES

- Li, H. I.; Liu, T. S.; Huang, T. C.; Koyama, T.; Devol, C. E. *Flora of Taiwan, vol. 3*; National Taiwan University, Ed. National Science Council of the Republic of China Press: Taipei, Taiwan, 1977, pp 951-952.
- Chiang Su New Medicinal College (de.). *Dictionary of Chinese Crude Drug*; Shanghai Scientific Technologic Publisher: Shanghai, 1977, p 644.
- Choo, B. K.; Ji, Y. U.; Moon, B. C.; Kim, B. B.; Lee, A. Y.; Yoon, T. S.; Song, H. K.; Kim, H. K. *J. Korean Env. Res. & Reveg. Rech.* 2008, *11*, 38.
- Kim, S. M.; Shin, D. I.; Song, H. S.; Kim, S. K.; Yoon, S. T. Korean J. Medicinal Crop Sci. 2005, 13, 171.
- 5. Hiraoka, N.; Chang, J. I.; Bohm, L. R.; Bohm, B. A, *Biochem Syst Ecol.* **2002**, *30*, 321.
- Miyazawa, M.; Kurose, K.; Itoh, A.; Hiraoka, N.; Kameoka, H. *Flavour Fragr. J.* 2001, *16*, 215.
- 7. Shin, S. W. Natural product sciences. 2005, 11, 92.
- Anetai, M.; Masuda, T.; Takasugi, M. *Natural Medicines* 1996, 50, 399.
- Anetai, M.; Masuda, T.; Takasugi, M. *Natural Medicines* 1997, 51, 442.
- 10. Seo, Y. K.; Ryu, K. S. Korean J. Pharmacog. 1977, 7, 233.
- Kong, C. S.; Um, Y. R.; Lee, J. I.; Kim, Y. A.; Ye, S. S.; Seo, Y. W. Food Chem. 2010, 120, 385.
- Um, Y. R.; Kong, C. S.; Lee, J. I.; Kim, Y. A.; Nam, T. J.; Seo, Y. W. Process Biochemistry 2010, 45, 114.
- Elgmal, M. H. A.; Elewa, N. H.; Elkhrisy, E. A. M.; Duddck, H. *Phytochem.* **1979**, *18*, 139.
- 14. Masuda, T.; Takasugi, M.; Anetai, M. Phytochem. 1998, 47, 13.
- Lechner, D.; Stavri, M.; Oluwatuyi, M.; Pereda-Miranda. R.; Gibbons, S. *Phytochem.* 2004, 65, 331.
- 16. Lee, J. H.; Kim, K. H. Cancer Prev. Res. 2008, 13, 216.

- 17. Repcak, M.; Imrich, J.; Franekova, M. J. Plant Physiol. 2001, 158, 1085.
- Singh, R.; Singh, B.; Singh, S.; Kumar, N.; Kumar, S.; Arora, S. Food Chem. 2010, 120, 825.
- 19. Hirata, T.; Shimoda, K.; Fujino, T.; Ohta, S. J. Mol. Catal. B *Enzym.* **2000**, *10*, 477.
- 20. Bayoumi, S. A. L.; Rowan, M. G.; Beeching, J. R.; Blagbrough,

I. S. Phytochem. 2010, 71, 598.

- 21. Mikami, M.; Taya, S.; Nakai, T.; Fujita, Y. J. Org. Chem. 1981, 46, 5449.
- 22. Spraul, M. H.; Nitz, S.; Drawert, F.; Duddeck, H.; Hiegemann, M.; *Phytochem.* **1992**, *31*, 3109.
- 23. Appendino, G.; Jakupovic, J.; Bossio, E. *Phytochem.* **1998**, *49*, 1719.