

히말라야의 토양 곰팡이, *Preussia* sp. 배양액으로부터 추출된 화학 성분들 및 항염증 활성

윤의중^{1*} · 서승석¹ · 임정환¹ · 김일찬¹ · 한세종^{1,2*}

¹극지연구소 극지생명과학연구부, ²한국과학기술연합 대학원 대학교 극지과학 전공

Chemical constituents from the culture filtrate of a Himalayan soil fungus, *Preussia* sp. and their anti-inflammatory activity

Ui Joung Youn^{1*}, Seung Suk Seo¹, Jung Han Yim¹, Il Chan Kim¹, and Se Jong Han^{1,2*}

¹Division of Life Sciences, Korea Polar Research Institute, KIOST, Incheon 21990, Republic of Korea

²Department of Polar Sciences, University of Science and Technology, Incheon 21990, Republic of Korea

(Received October 26, 2017; Revised January 26, 2018; Accepted February 19, 2018)

A new naturally occurring benzoic acid derivative, benzyl 2,4-di(benzyloxy)benzoate (1) and six known compounds (2–7) were isolated from the fungus, *Preussia* sp. found in frozen soil of the Himalaya Mountain. The structures of the new compound, together with the known compounds were determined by 1D- and 2D-NMR experiments, as well as comparison with published values. In addition, to the best of our knowledge, the known compounds 2–7 were isolated for the first time from the genus *Preussia* and the family Sporormiaceae. The isolates were evaluated for cancer chemopreventive potential based on their ability to inhibit nitric oxide (NO) production induced by lipopolysaccharide (LPS) in mouse macrophage RAW 264.7 cells *in vitro*. Compounds 1 and 2 inhibited NO production by 50.7% and 88.5% at a concentration of 100 mg/ml, respectively.

Keywords: *Preussia* sp., Sporormiaceae, benzoic acid derivative, diketopiperazine, nitric oxide

Preussia 속은 Sporormiaceae 과에 속하고, 약 51종을 포함하며, 흙이나 나무 썩은 식물 등에서 발견된다(Arx von and Van der Aa, 1987; Arenal *et al.*, 2004). *Preussia* 속의 균주들은 오스

트리아, 중동 및 아프리카 등지에서 식물 내생 곰팡이로서 발견되는 것으로 보고되고 있다(Guarro *et al.*, 1997; Arenal *et al.*, 2004; Mapperson *et al.*, 2014). 이전의 연구에서 *preussiafurans* A와 B를 포함하는 dibenzofuran (Talontsi *et al.*, 2014)들 및 pyrrolidine, benzoic acid, sterol, spirobinaphthalene의 유도체 들인 spiropreussions A와 B 그리고 spiropreussomerin A (Chen *et al.*, 2009) 등이 *Preussia* sp.에서 분리되었다. *P. typharum*에서 epipolythiodiketopiperazine의 유도체들인 *preussiadins* A와 B, A₁부터 A₃ 그리고 leptosins A와 C 등이 분리 되었다(Du *et al.*, 2014). 또한 *Preussia* 속의 알코올 추출물은 cytotoxicity (Chen *et al.*, 2009; Du *et al.*, 2014; Talontsi *et al.*, 2014), antimicrobial (Chen *et al.*, 2009) 및 antiplasmodial (Talontsi *et al.*, 2014) 활성들이 있는 것으로 보고 되었다.

Nitric oxide (NO)는 3종류의 nitric oxide synthases (NOS)에 의하여 촉매화되는 반응의 아미노산 L-arginine에서 생성된다(Moncada *et al.*, 1991). Nitric oxide는 혈관 확장, 신경전달, 항균 효과와 면역조절 등의 여러 기능을 가진 물질로서 세포 기능을 변화시켜 세포 사멸, 세포 변성 등에 관여한다(Anggard, 1994). 하지만 과도한 NO 생성은 폐혈 쇼크(septicshock), 류마티스성 관절(rheumatoid arthritis), 이식편 거부반응(graft rejection), 종양 성장(tumor growth)과 전이(metastasis)로의 발전, 당뇨병(diabetes) 등의 원인이 된다(Anggard, 1994). 따

*For correspondence. (U.J. Youn) E-mail: ujyoun@kopri.re.kr; Tel.: +82-32-760-5562; Fax: +82-32-760-5509 / (S.J. Han) E-mail: hansj@kopri.re.kr; Tel.: +82-32-760-5521; Fax: +82-32-760-5509

라서 NO의 억제제는 질병의 예방 및 치료에 중요한 역할을 할 것으로 생각된다.

극지방 및 고지대의 산 등과 같이 혹한의 기후에 적응하고 있는 미생물들을 연구하는 과정에서 히말라야 산의 동토로부터 분리된 미생물, *Preussia* sp.의 메탄을 추출물이 nitric oxide (NO) 생성에 대한 억제 활성을 나타냄을 확인하였다. 본 연구에서 *Preussia* sp.의 배양액으로부터 분리된 화합물의 화학구조를 동정하였고, 이들의 항 염증 활성을 측정하였다.

재료 및 방법

미생물 균주

연구에 사용된 *Preussia* sp. (MG753547)는 2010년 9월 네팔, 히말라야(Himalaya) 산의 동토에서 채집되었으며, internal transcribed spacer 1 and 4 (ITS1 & ITS4)의 계통 발생적 분류법에 의하여 동정되었다. 연구에 사용된 *Preussia* sp.의 원 배양 물은 -70°C로 보존되었다.

기기 및 시약

UV 및 IR은 각각 Shimadzu PharmaSpec-1700 UV-visible spectrophotometer 와 Bruker Tensor-27 spectrophotometer 모델을 사용하였다. 1D 및 2D NMR은 Bruker AVANCE (600 MHz) spectrometer를 사용하였다. Mass spectra는 JEOL JMS-700 mass spectrometer (JEOL)를 이용하였다. TLC는 Merck precoated silica gel F254 plates를 사용하였으며, RP TLC로는 RP-C18 F254s plates가 이용되었다. UV light를 이용하여 254 nm와 365 nm 파장에서 1차적으로 확인하고 10% sulfuric acid를 이용하여 발색 확인하였다. Column chromatography에 이용된 충전제는 silica gel 60 (230-400 mesh, Merck), RP-C18 silica gel (YMC GEL ODS-A, 12 nm, S-75 µm)과 Sephadex LH-20 (Pharmacia Co.)가 이용되었다. Semi-preparative HPLC는 YL9100 HPLC system (Young Lin)을 이용하였고, column으로는 Alltech reversed-phase YMC-Pak C-18 column (10 µm, 20 × 250 mm)을 사용하였다.

추출 및 분리

Preussia sp.는 25°C에서 4 g/L malt extract, 10 g/L glucose 와 4 g/L yeast extract로 배합된 2 L의 modified yeast-malt-glucose medium에서 30일 동안 다섯 개의 4-L penicillin flasks (Duran)를 사용하여 배양되었다. 균체는 원심분리기를 사용

하여 제거되었고, 0.45-µm filter를 사용하여 여과하였으며, 여과액은 유리관에 Amberlite XAD-20 resin (40 × 8 cm)을 충전하고, 이동상 용매로는 H₂O-MeOH (100:0에서 0:100)을 사용하였으며, MeOH (메탄올)의 극성을 올리며 정제를 하였다. 유리관 column chromatography법에 의하여 분리된 추출물을 진공 농축기를 이용하여 용매를 제거하여 건조하였고, 추출물 4.5 g을 얻었다. 추출물은 H₂O (1 L)로 희석하였고, 에틸아세테이트(EtOAc, 0.5 L, 3회)를 이용하여 EtOAc 분획물 2 g을 얻었다. EtOAc 분획물(1.9 g)은 silica gel column (230-400 mesh, 2 kg), CHCl₃-MeOH (100:0에서 50:50)의 용매 조건으로 분리를 진행하였고, 6개의 분획물(ES1-ES6)들을 얻었다. 분획물 ES2 (200 mg)는 C18 gel column과 이동상으로 H₂O-MeOH (100:0에서 100% MeOH) 용매를 사용하여 4개의 소분획(ES2R1에서 ES2R4)들을 얻었다. 화합물 3 (35 mg)은 분획물 ES2R4로부터 CHCl₃ 용매를 이용하여 흰색의 가루 형태로 정제 되었다. 소분획 ES2R2 (30 mg)로부터 분취용 HPLC에서 RP-18 column과 MeOH-H₂O 혼합 용매(60:40에서 0:100)를 사용하여 화합물 4 (2 mg, *t_R* 85 min)와 5 (1.5 mg, *t_R* 90 min)를 각각 분리하였다. 화합물 6 (1.5 mg)은 소분획 ES3 (50 mg)로부터 silica gel column과 분취용 HPLC [MeOH/H₂O (40:60에서 100% MeOH)]를 사용하여 정제 하였다. 분획물 ES4 (100 mg)는 Sephadex LH-20 gel column (200 g)과 이동상 용매, H₂O-MeOH (90:10에서 0:100)를 이용하여 4개의 소분획(ES4L1에서 ES4L4)들을 얻었다. 이들 중 ES4L2 및 ES4L3는 RP-C18 F254s plates (H₂O:MeOH-30:70, UV: 254 nm)를 이용하여 주 성분들을 확인하였다. 화합물 1 (8.0 mg)과 2 (dimerumic acid, 12.0 mg)는 분획물 ES4L2와 ES4L3로부터 CHCl₃-MeOH (1:1)로 정제되어 각각의 순수한 흰색 및 갈색의 파우더 형태로 얻어졌다. 화합물 7 (adenosine, 1.5 mg)과 2 (4.0 mg)는 소분획 ES5 (100 g)로부터 반복된 silica gel column 및 분취용 HPLC [MeOH/H₂O (0:100에서 20:80)]를 사용하여 분리하였다.

Benzyl 2,4-di(benzyloxy)benzoate (1) : White amorphous powder, UV/Vis λ_{\max} (MeOH) nm (log ϵ): 270 (4.10), HRMS -FAB: *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₂₈H₂₅O₄, 425.1753; found: 425.1741, ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): see Table 1. ¹³C NMR (150 MHz CDCl₃): see Table 1.

Dimerumic acid (2) : Amorphous light brown powder, UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ) 215 (3.9) nm, HRFABMS *m/z* 485.2602 [M + H]⁺ calcd (C₂₂H₃₇N₄O₈), ¹H-NMR (600 MHz, D₂O) δ_{H} 5.93 [6.22]^a (1H, s, *J* = 7.2 Hz, H-7/H-7'), 4.21 [4.21] (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2/H-2'), 3.79 [3.78] (1H, dd, *J* = 7.2, 2.4 Hz,

Table 1. ¹H- and ¹³C-NMR data of compound 1

Position	1^a				
	δ_C	δ_H		δ_C	δ_H
1	113.3, C		1"	136.63, CH	7.25-7.44, m ^c
2	160.5, C		2"	127.2, CH	7.25-7.44, m ^c
3	113.3, CH	6.61, d (2.4 Hz)	3"	127.7-128.9, CH ^b	7.25-7.44, m ^c
4	163.5, C		4"	127.7-128.9, CH ^b	7.25-7.44, m ^c
5	101.5, CH	6.58, dd (8.4, 2.4 Hz)	5"	127.7-128.9, CH ^b	7.25-7.44, m ^c
6	134.2, CH	7.91, d (8.4 Hz)	6"	127.2, CH	7.25-7.44, m ^c
7	165.8, C		7"	70.8, CH ₂	5.12, s
1'	136.68, CH	7.25-7.44, m ^c	1'''	136.30, CH	7.25-7.44, m ^c
2'	128.1, CH	7.25-7.44, m ^c	2'''	127.7, CH	7.25-7.44, m ^c
3'	127.7-128.9, CH ^b	7.25-7.44, m ^c	3'''	127.7-128.9, CH ^b	7.25-7.44, m ^c
4'	127.7-128.9, CH ^b	7.25-7.44, m ^c	4'''	127.7-128.9, CH ^b	7.25-7.44, m ^c
5'	127.7-128.9, CH ^b	7.25-7.44, m ^c	5'''	127.7-128.9, CH ^b	7.25-7.44, m ^c
6'	128.1, CH	7.25-7.44, m ^c	6'''	127.7, CH	7.25-7.44, m ^c
7'	66.5, CH ₂	5.32, s	7'''	70.4, CH ₂	5.06, s

^aSpectra were recorded at ¹H (600 MHz) and ¹³C NMR (150 MHz) in CDCl₃. Chemical shifts (δ) are in ppm, and coupling constants (J in Hz) are given in parentheses. The assignments are based on DEPT, COSY, NOESY, HSQC, and HMBC experiments.

^{b,c}Overlapping signals in NMR spectra.

H-10/H-10'), 3.73 [3.72] (1H, dd, $J = 7.2, 2.4$ Hz, H-5/H-5'), 2.40 [2.44] (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-9/H-9'), 1.89 (1H, m, H-3/H-3'), 1.79 [1.73] (1H, m, H-4/H-4'), 1.85 [2.0] (1H, m, CH₃-11/CH₃-11')^a
¹³C-NMR (150 MHz, D₂O) δ_C 169.9 (C-1), 54.15 [54.18]^a (C-2), 30.4 [30.6] (C-3), 21.6 [22.1] (C-4), 47.2 [51.1] (C-5), 166.8 [169.3] (C-6), 117.6 [116.6] (C-7), 147.8 [151.6] (C-8), 40.9 [42.2] (C-9), 59.20 [59.25] (C-10), 17.8 (CH₃-11). ^aBrackets indicate a minor rotameric peak

Uracil (3) : White amorphous powder, FABMS m/z 113 [M + H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ_H 5.45 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-5), 7.39 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-6).

Uridine (4) : Colorless needle, UV (MeOH) λ_{max} (log *e*) 256 (3.98) nm, ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ_H 8.55 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6), 5.81 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.83 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-1'), 4.92 (1H, m, H-2'), 4.91 (1H, m, H-3'), 4.67 (1H, m, H-4'), 4.21-4.32 (2H, dddd, $J = 2.0, 2.0, 12.0, 12.0$ Hz, H-5'), ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ_C 152.2 (C-2), 164.4 (C-4), 102.8 (C-5), 131.1 (C-6), 90.2 (C-1'), 76.0 (C-2'), 71.2 (C-3'), 86.8 (C-4'), 61.8 (C-5'), FABMS m/z 244 [M]⁺.

Adenine (5) : Colorless amorphous powder, FABMS m/z 136 [M + H]⁺, ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ_H 8.06 (1H, s, H-2), 8.02 (1H, s, H-8).

2'-Deoxyadenosine (6) : Colorless needle, ¹H-NMR (600 MHz,

DMSO-*d*₆) δ_H 8.32 (1H, s, H-2), 8.18 (1H, s, H-8), 6.44 (1H, t, $J = 6.0$ Hz, H-1'), 4.57 (1H, dd, $J = 3.5, 3.0$ Hz, H-3'), 4.07 (1H, dd, $J = 3.5, 3.0$ Hz, H-4'), 3.85 (1H, m, H-5'a), 3.75 (2H, dd, $J = 3.2, 12.0$ Hz, H-5'b), 2.82 (2H, dd, $J = 3.2, 12.0$ Hz, H-2'a), 2.42 (2H, dd, $J = 3.2, 12.0$ Hz, H-2'b), FABMS m/z 251 [M]⁺.

Adenosine (7) : Colorless needle, ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ_H 8.73 (1H, s, H-2), 8.61 (1H, s, H-8), 6.76 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-1'), 5.50 (2H, dd, $J = 3.5, 6.0$ Hz, H-2'), 5.07 (1H, dd, $J = 3.5, 6.0$ Hz, H-3'), 4.78 (1H, m, H-4'), 4.15-4.33 (2H, dd, $J = 3.2, 12.0$ Hz, H-5'), ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ_C 153.4 (C-2), 150.0 (C-4), 121.5 (C-5), 157.2 (C-6), 140.5 (C-8), 90.8 (C-1'), 75.5 (C-2'), 72.2 (C-3'), 87.8 (C-4'), 63.8 (C-5'), FABMS m/z 267 [M]⁺.

Nitric oxide (NO) 활성 실험

RAW 264.7 대식세포를 96 well plate에 2×10^5 cells/well 세포 농도로 분주하고 24시간동안 배양한 후, LPS (0.5 μ g/ml) 처리 1시간전에 화합물을 다양한 농도로 (0, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 μ g/ml) 미리 세포에 처리했다. LPS 처리 후 20-24시간 동안 세포를 배양한 다음 세포 배양액 100 μ l를 같은 양의 Griess 시약[1% sulfanilamide, 5% phosphoric acid, 0.1% N-(1-naphthyl) ethylenediamine]과 혼합하였다. 이 혼합물을 실온에서 10분 동안 반응시킨 다음, microplate reader을 사용하여 파장 540

nm에서 흡광도를 측정하였다. 아질산염(Nitrite) 농도는 sodium nitrite calibration curve (0-100 μM)를 사용하여 결정하였다.

결과 및 고찰

Pressia sp.의 메탄올 추출물을 silica 및 C-18 gel column 크로마토그래피로 분획한 후 재결정법 및 분취용 HPLC를 실시하여 총 7종의 대사산물들을 분리하였다(Fig. 1).

화합물 1은 흰색의 가루 형태로 얻어졌으며, positive-ion HRFABMS에서 이 물질의 $[M + H]^+$ 에 해당하는 ion을 425.1741 m/z 에서 관찰하였고, 이를 근거로 계산값(425.1753 m/z , $C_{28}H_{25}O_4$)과 비교하여 $C_{28}H_{24}O_4$ 의 분자식과 분자량을 유추하였다. 화합물 1의 1H -NMR (Table 1) spectrum은 화학적 이동 값(δ_H 7.91 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-6), 6.61 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-3), 6.58 (1H, dd, $J=8.4, 2.4$ Hz, H-5)]에서 ABX type의 aromatic system과 δ_H 5.32 (2H, s, H-7), 5.12 (2H, s, H-7''), 5.06 (2H, s, H-7''')에서 3개의 oxygenated methylene들 및 δ_H 7.25-7.44 (15H, m, H-1' to H-6''')에서 단일 치환된 benzene ring들을 의미하는 15개의 aromatic proton들을 나타내었다. ^{13}C -NMR spectrum으로부터 화학적 이동 값 δ_C 165.8 (OC=O)에서 하나의 ester carbonyl carbon, δ_C 160.5 (C-2)와 δ_C 163.5 (C-4) 시그널들에서 두 개의 oxygenated aromatic carbon들, [δ_C 136.68 (C-1'), 136.63 (C-1''), 136.3 (C-1''')]에서 3개의 quaternary aromatic carbon들, [δ_C 66.8

(C-1'), 70.8 (C-1''), 70.4 (C-1''')]에서 3개의 oxymethylene들 및 δ_C 127.2부터 128.9 (C-2' to C-6''')까지의 화학적 이동값들로부터 15개의 protonated aromatic carbon들의 정보를 얻었다. HMBC spectrum은 H-7'과 OC=O/C-2', H-7''과 C-2/C-2'', H-7'''과 C-4/C-2'''들 사이의 밀접한 1H - ^{13}C 상관관계를 보였으며, 이는 3개의 benzyl 작용 기들이 각각 하나의 ester bond와 두 개의 ether bond들을 통하여 aromatic ring의 C-1, C-2, C-4 위치에 연결되어 있음을 의미하였다(Fig. 2). 따라서, 화합물 1은 benzyl 2,4-di(benzyloxy)benzoate로 명명되었다.

화합물 1은 지금까지 합성물의 형태로 잘 알려져 있으나 (Tang *et al.*, 2014), 본 연구에서 네팔 Himalaya 동토층의 미생물(*Pressia* sp.)로부터 처음으로 분리되었다.

화합물 2 (dimerumic acid)는 밝은 갈색의 가루 형태로 얻어졌으며, positive-ion HRFABMS에서 $[M + H]^+$ 에 해당하는 ion을 485.2602 m/z 에서 관찰하였고, 이를 근거로 이 물질에 대한 $C_{22}H_{36}N_4O_8$ 의 분자식 및 분자량을 유추하였다. 화합물 2 (dimerumic acid)의 1H - 및 ^{13}C -NMR spectrum은 4개의 methylene group들과 하나의 oxymethylene group, 하나의 methine group, 3치환된 olefin group을 나타내는 δ_H 5.93 (1H, s, $J=7.2$ Hz, H-7)/ δ_C 117.6 (C-7)와 δ_C 147.8 (C-8)에서의 화학적 이동값들, 그리고 두 개의 ketone group들을 보였다. HRFABMS에서 얻은 분자량 및 분자식으로 볼 때 화합물 2 (dimerumic acid)는 대칭구조를 이루고 있을 것으로 예측하였으며, 1H - ^{13}C HMBC 실험을 통하여 이들의 상관 관계를 확인하였다. 따라서,

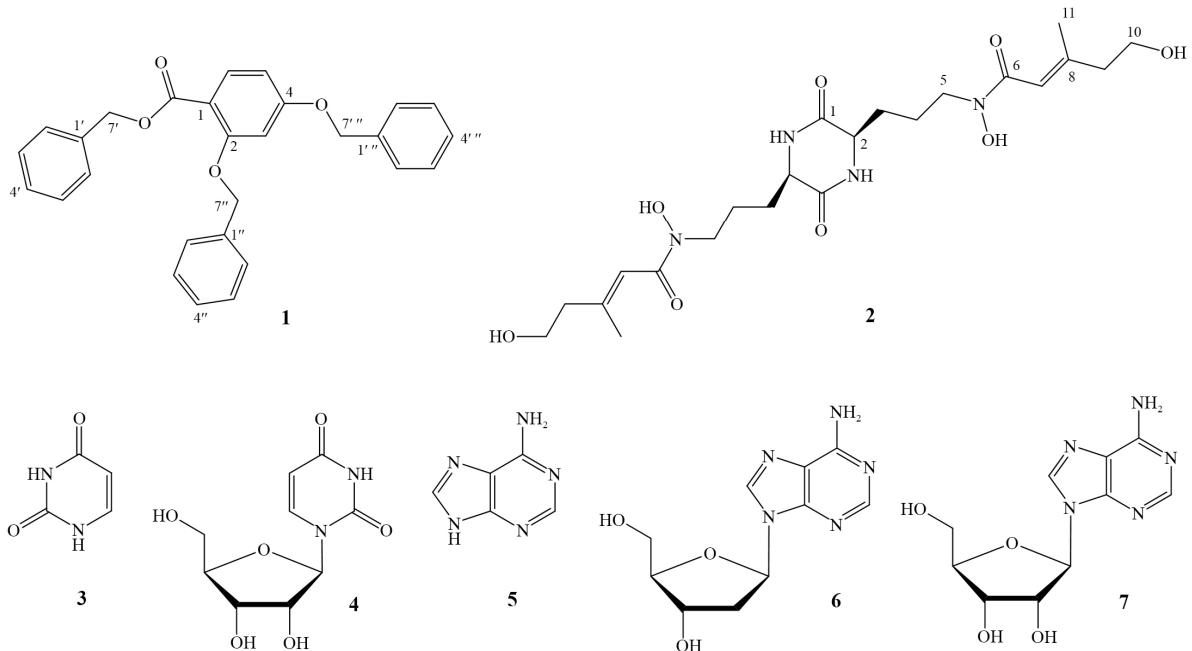


Fig. 1. Chemical structures of compounds 1-7.

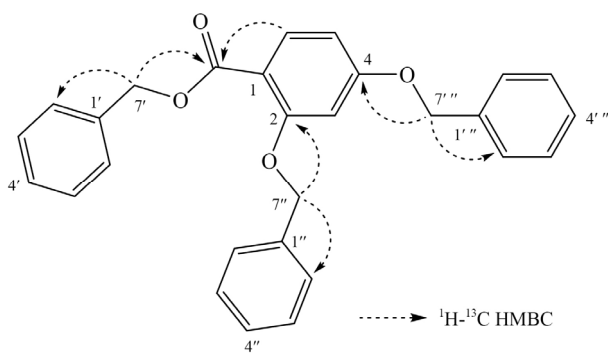


Fig. 2. Key ^1H - ^{13}C HMBC correlations of compound 1.

화합물 2의 구조는 dimerumic acid로 동정 하였다(Lee and Pan, 2013; Krasnoff et al., 2014). 또한, 나머지 5개의 화합물들은 물리 화학적 실험 및 문헌 값과의 비교에 의하여 각각 uracil (3) (Kitajima et al., 1999), uridine (4) (Kitajima et al., 1999), adenine (5) (Saladino et al., 2006), 2'-deoxyadenosine (6) (Kitajima et al., 1999), adenosine (7) (Uemoto et al., 1999; Saladino et al., 2006) 구조들로 동정되었으며, 이들 6개의 화합물 모두 *Preussia* 속은 물론 Sporormiaceae과에서 처음으로 얻어졌다. 이들 중 *P. typharum*으로부터 분리된 thiolated epipolydiketopeperazine과 구조적으로 유사한 dimerumic acid (2)는 entomopathogenic fungus *Metarhizium robertsii* 및 *Monascus*-발효균에서 보고 되었다(Lee and Pan, 2013; Krasnoff et al., 2014). 화합물 1은 화합물 2 및 3과 함께 *Preussia* sp.의 주 성분으로 분리 되었고, 화합물 1은 아직까지 생리 활성이 보고되지 않았으며, 화합물 2번(dimerumic acid)과 이것의 *N*-oxidized 유도체들은 항산화(Yamashiro et al., 2008; Lee and Pan, 2013), 항암(Kawada et al., 2010), 및 신경보호작용(Tseng et al., 2016) 같은 활성들이 보고 되었다.

본 연구에서는 화합물 1번과 2번에 대하여 쥐의 대식세포 RAW 264.7 cells에서 lipopolysaccharide (LPS) 처리에 의하여 유도된 nitric oxide (NO)의 생성량 억제를 측정하였다. 이들의 nitric oxide활성을 측정한 결과 농도 의존적으로 억제하는 것을 보였으며, 특히 화합물 2번은 RAW 264.7 세포에 독성을 나타내지 않는 100 mg/ml의 농도로 처리했을 때 LPS에 의하여 유도된 NO 생성량(63.5 mM)과 비교하여 7.3 mM까지 약 88.5% 억제하는 것을 보였고, 화합물 1번은 동일 농도에서 31.3 mM까지 약 50.7% 억제하는 것으로 나타났다(Fig. 3). 처음으로 활성이 보고되는 화합물 1 및 2번과 관련된 유도체들에 대한 추가적인 연구가 필요하다고 생각되며, 앞으로 항염증 질환 및 관련된 질병 치료에 많은 기여를 할 것으로 사료된다.

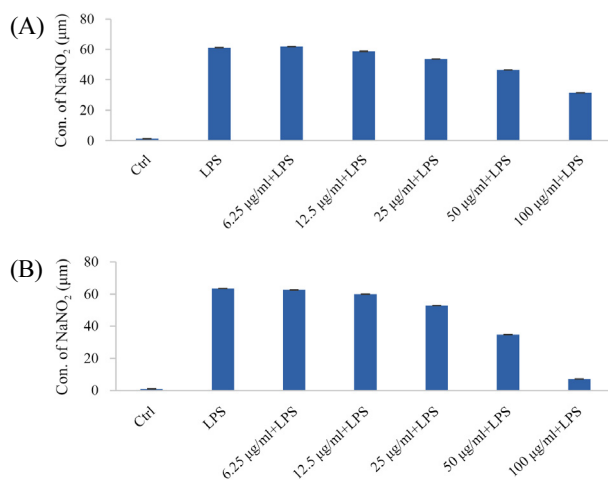


Fig. 3. Inhibition effect of compounds 1 and 2 against the NO production in LPS-stimulated RAW 264.7 cells (A, treatment with 1 + LPS; B, treatment with 2 + LPS).

적 요

히말라야산의 동토에서 발견된 *Preussia* sp.로부터 신규 벤조산 유도체 benzyl 2,4-di(benzyloxy)benzoate (1)와 6개의 알려진 화합물들(2-7)이 분리되었다. 신규물질 및 다른 화합물들의 구조는 1D-와 2D NMR 실험 및 문헌 값과의 비교에 의하여 결정되었다. 화합물 2-7은 동 속 및 Sporormiaceae과에서 처음으로 얻어졌다. 분리된 물질들은 쥐의 대식세포 RAW 264.7 cells에서 lipopolysaccharide (LPS) 처리에 의하여 유도된 nitric oxide (NO)의 생성량 억제를 측정하였다. 화합물 1번과 2번은 100 mg/ml의 농도로 처리했을 때 LPS에 의하여 유도된 NO 생성량을 각각 50.7% 및 88.5%까지 억제하는 것을 보였다.

감사의 말

본 연구는 극지연구소, KOPRI (PE17100)의 지원을 받아 수행되었다. 서울대학교 기초과학 공동 기기 원의 질량 분석실, 신혜숙 연구원님의 도움을 받았으며, 이에 감사드립니다.

References

- Anggard, E. 1994. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. *Lancet* 343, 1199-1206.
- Arenal, F., Platas, G., and Pelaez, F. 2004. Variability of spore length in some species of the genus *Preussia* (Sporormiella). *Mycotaxon*

- 89, 137–151.
- Arx von, J.A. and Van der Aa, H.A.** 1987. *Spororminula tenerifae* gen. et sp. nov. *Mycol. Soc.* **89**, 117–120.
- Chen, X., Shi, Q., Lin, G., Guo, S., and Yang, J.** 2009. Spirobisnaphthalene analogs from the endophytic fungus *Preussia* sp. *J. Nat. Prod.* **72**, 1712–1715.
- Du, L., Robles, A.J., King, J.B., Mooberry, S.L., and Cichewicz, R.H.** 2014. Cytotoxic dimeric epipolythiodiketopiperazines from the ascomycetous fungus *Preussia typharum*. *J. Nat. Prod.* **77**, 1459–1466.
- Guarro, J., Abdullah, S.K., Gene, J., and Al-Saadoon, A.H.** 1997. A new species of *Preussia* from submerged plant debris. *Mycol. Res.* **101**, 305–308.
- Kawada, M., Someno, T., Inoue, H., Ohba, S., Masuda, T., Kato, T., and Ikeda, D.** 2010. NBRI16716A, a new antitumor compound against human prostate cancer cells, produced by *Perisporiopsis melioides* Mer-fl6716. *J. Antibiot.* **63**, 319–323.
- Kitajima, J., Ishikawa, T., Tanaka, T., and Ida, Y.** 1999. Water-soluble constituents of fennel. IX. Glucides and nucleosides. *Chem. Pharm. Bull.* **47**, 988–992.
- Krasnoff, S.B., Keresztes, I., Donzelli, B.G.G., and Gibson, D.M.** 2014. Metachelins, mannosylated and N-oxidized coprogen-type siderophores from *Metarhizium robertsii*. *J. Nat. Prod.* **77**, 1685–1692.
- Lee, B.H. and Pan, T.M.** 2013. Dimerumic acid, a novel antioxidant identified from *Monascus*-fermented products exerts chemoprotective effects: Mini review. *J. Funct. Foods* **5**, 2–9.
- Mapperson, R.R., Kotiw, M., Davis, R.A., and Dearnaley, J.D.** 2014. The diversity and antimicrobial activity of *Preussia* sp. endophytes isolated from Australian dry rainforests. *Curr. Microbiol.* **68**, 30–37.
- Moncada, S., Palmer, R.M.J., and Higgs, E.A.** 1991. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* **43**, 109–142.
- Saladino, R., Crestini, C., Neri, V., Ciciriello, F., Costanzo, G., and Mauro, E.D.** 2006. Origin of informational polymers: The concurrent roles of formamide and phosphates. *Chembiochem* **7**, 1707–1714.
- Talontsi, F.M., Lamshöft, M., Douanla-Meli, C., Kouam, S.F., and Spiteller, M.** 2014. Antiplasmodial and cytotoxic dibenzofurans from *Preussia* sp. harboured in *Enantia chlorantha* Oliv. *Fitoterapia* **93**, 233–238.
- Tang, F., Wang, Y., and Hou, A.J.** 2014. Total syntheses of Nigrasin I and Kuwanon C. *Tetrahedron* **70**, 3963–3970.
- Tseng, W.T., Hsu, Y.W., and Pan, T.M.** 2016. Neuroprotective effects of dimerumic acid and deferricoprogen from *Monascus purpureus* NTU 568-fermented rice against 6-hydroxydopamine-induced oxidative stress and apoptosis in differentiated pheochromocytoma PC-12 cells. *Pharm. Biol.* **54**, 1434–1444.
- Uemoto, H., Tsuda, M., and Kobayashi, J.** 1999. Mukanadins A-C, new bromopyrrole alkaloids from marine sponge *Agelas nakamurai*. *J. Nat. Prod.* **62**, 1581–1583.
- Yamashiro, J., Shiraishi, S., Fuwa, T., and Horie T.** 2008. Dimerumic acid protected oxidative stress-induced cytotoxicity in isolated rat hepatocytes. *Cell Biol. Toxicol.* **24**, 283–290.