

팔손이나무(*Fatsia japonica*) 줄기의 성분연구

이 환 · 우은란 · 이동성*

조선대학교 약학대학 약학과

Chemical Constituents of *Fatsia japonica* Stem

Hwan Lee, Eun-Rhan Woo, and Dong-Sung Lee*

College of Pharmacy, Chosun University, Gwangju 61452, Republic of Korea

Abstract – *Fatsia japonica* is grown wild to Eastern Asia, including Korea, Japan, and Taiwan and it is known as ornamental plant, and it is also known that pharmacological action. In this study, we have selected the stem of *F. japonica* with consideration about biological activities and amount of yield. In addition, four compounds (1-4) were isolated from the stem of *F. japonica*. Extensive spectroscopic and chemical studies established the structures of these compounds as maltose (1), begoniifolide A (2), leiyemudanoside B (3), leonticin F (4). All of the compounds were investigated for their anti-inflammatory, anti-neuroinflammatory, and neuro-protective effects on RAW264.7, BV2, and HT22 cells. However, among four compounds, there were no effects by maltose (1), begoniifolide A (2), leiyemudanoside B (3), leonticin F (4) on the anti-inflammatory, anti-neuroinflammatory, and neuro-protective action. This is the first report on the isolation of maltose (1), begoniifolide A (2), leiyemudanoside B (3), leonticin F (4) from the stem of *F. japonica*. Begoniifolide A (2), leiyemudanoside B (3), leonticin F (4) were isolated for the first time from this plant. It might be necessary to continue the further studies to find the biological active compounds isolated from the stem of *F. japonica*.

Keywords – *Fatsia japonica*, stem, Begoniifolide A, Leiyemudanoside B, Leonticin F

팔손이나무(*Fatsia japonica*)는 두릅나무과(Araliaceae)에 속하는 관목으로 이명으로는 팔각금반(八角金盤)이라 불리는 여러해살이 식물이다.¹⁾ 두릅나무과의 특징은 흔히 줄기에 가시가 있으며 꽃은 산형화서로 달리고, 하위자방의 각실에 1개의 배주가 들어있고 열매는 장과 또는 핵과이며, 팔손이나무와 함께 두릅나무, 오갈피, 황칠나무, 음나무, 인삼 등이 두릅나무과에 속해 있다. 또한 선행연구에 의하면 60~80속 정도의 범위가 설정되어 있으며, 약 900종이 주로 열대와 아열대를 중심으로 분포하고 있는 것으로 알려져 있다. 국내에는 8속 14종 5변종 1품종이 자생하는 것으로 알려져 있다. 팔손이나무의 자생지는 한국, 일본 및 대만 등 동아시아 지역에 분포하며 우리나라에서는 제주도를 비롯한 경상남도 및 전라남도 등 남부 지방의 해안가 근처에 자라는 상록활엽수 관목이다. 팔손이나무의 특징은 잎의 양면에 털이 없고 표면은 짙은 녹색으로 윤태가 있으며, 뒷면은 황록색을 띄며 직사광선에 잎이 상하므로 그늘진 곳에

서 잘 자란다.²⁾ 팔손이나무의 키는 1~3 m이며, 둥근 잎은 어긋나나 가지 끝에서는 긴 잎자루 끝에 뭉쳐나는데, 잎의 길이는 20~40 cm로 매우 크고 잎몸이 7~9개로 크게 갈라져 손바닥을 편 모양을 나타내어 팔손이나무라고 부른다. 팔손이나무는 관상용 식물로 알려져 있으며 팔손이나무 잎을 통한 약리작용으로는 진해, 거담, 동통, 요통, 류마티스에 효과가 있다고 알려져 있다.³⁾ 또한 선행연구에 의해 분리 및 보고된 팔손이나무의 성분은 fatsioside A, palmitic acid, adenosine, oleanolic acid, hederagenin, acacetin, arabinopyranoside, isovitexin, astragaln, quercetin 등으로 알려진 상태이다. 그러나 팔손이나무는 관상용 식물로 널리 알려진 만큼 활성성분분리 및 생리활성에 대한 선행연구는 미미한 상태이다. 또한 보고된 약리작용이 대부분 잎을 통해 작용되는 것으로 알려져 있으며 잎에는 독성물질인 fatsiasapotoxin, α -fatsin, β -fatsin이 있는 것으로 알려져 있다.^{4,6)}

이에 본 연구에서는 팔손이나무의 줄기로부터 성분을 분리하고 그 구조를 규명하여 자원으로서의 가능성 여부를 알아보고자 MeOH 추출물로부터 4종의 화합물을 분리하고 그 구조를 밝혔기에 이를 보고하고자 한다. 또한, 분리된 화합

*교신저자(E-mail): dslee2771@chosun.ac.kr
(Tel): +82-62-230-6386

물의 항염증 억제, 뇌염증억제 및 뇌세포 보호효과 조절 연구를 확인하였다.

재료 및 방법

실험재료 - *F. japonica*의 줄기는 2014년 9월 조선대학교 약초원에서 채집되었으며, 조선대학교 약학과 우은란 교수에 의해 동정되어 표본(1147-17)은 조선대학교 약학대학 표본실에 보관하였다.

시약 - TLC 분석 plate 및 컬럼 크로마토그래피에 사용된 담체는 Silica Gel F plates(Merck, art. 5715), RP-18F plates(Merck, art. 15389) 및 silica gel 60(40-63 및 63-200 mm, Merck, Germany), MCI gel CHP20P(75-150 μ m, Mitsubishi Chemical Co., Japan), Sephadex LH-20(25-100 μ m, Sigma, USA), LiChroprep RP-18(40-63 μ m, Merck)를 사용하였다. 컬럼 크로마토그래피에 사용된 기기는 MPLC(Grace, USA, Reveleris flash Chromatography system, Part No. 5148513) 및 FMI QSY-0 pump(Fluid Metering, Inc., USA)가 연결된 Lichroprep Lobar[®]-A RP-18 LPLC(240 \times 9 \times 10 mm, Merck) 컬럼으로 수행되었다. Phosphate-buffered saline(PBS)[phosphate buffer(pH 7.4), 137 mM NaCl, 2 mM KCl]은 Amresco (USA)에서 구입하여 사용하였다. Fetal Bovine Serum(FBS)은 Welgene(Korea)에서 구입하여 사용하였다. 이외의 명시되지 않은 시약들은 Sigma(USA)에서 구입하여 사용하였다.

분석 기기 - Optical rotations 측정은 Autopol-IV polarimeter (Rudolph Research Analytical, USA)을 사용하여 측정하였으며, IR spectra는 IMS 85(Bruker, USA), CD spectra는 JASCO J-810 spectropolarimeter(JASCO Co., Japan), HR-ESI-MS spectra는 Q-ToF mass spectrometry(Synapt HDMS system, Waters, USA)을 사용하여 분석하였다. 500, 125 MHz의 ¹H, ¹³C-NMR spectra, COSY, heteronuclear single quantum coherence(HSQC) 및 HMBC 분석은 KBSI 광주센터의 Varian UNITY INOVA 500 NMR spectrometer기기를 이용하여 분석되었다.

추출 및 분리 - 추출 방법은 건조된 *F. japonica* 5 kg을 80°C에서 2시간 동안 메탄올(MeOH)로 3회 가열추출하였다. 이후, *F. japonica*로부터 추출된 MeOH 용액을 여과, 감압농축하여 252.49 g의 MeOH extract를 얻었으며, 그 중 112.9 g을 물에 용해시킨 후, chloroform(CHCl₃), ethyl acetate(EtOAc) 및 normal-butyl alcohol(*n*-BuOH)을 이용하여 분획하였다. 각 용매별로 분획하여 감압농축한 결과, CHCl₃ 분획물은 11.9 g, EtOAc 분획물은 3.3 g, *n*-BuOH 분획물은 32.0 g, H₂O 분획물은 51.0 g을 얻었다. 화합물 분리를 진행하기 위해 *n*-BuOH 분획물을 MeOH로 용해시키는 과정에서 *crystal*이 석출되어 화합물 1(111.0 mg)을 얻었다. 이후, MeOH에 녹인 *n*-BuOH 분획물 7.0 g에 대해 실리카

겔 컬럼을 연결한 MPLC 기기를 이용하여 CHCl₃: MeOH: H₂O(5:1:0.1→1:1:0.1)의 이동상 조건으로 크로마토그래피를 진행하여 10개의 하위분획물(FJBS-1~14)을 얻었다. 이후 TLC를 이용하여 분리가 용이할 것으로 판단된 FJBS3(400 mg) 분획물에 대해 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 CHCl₃: MeOH: H₂O(6:1:0.1→2:1:0.1)의 조건으로 수행하여 15개의 하위분획물(FJBS3-01~15)를 얻었으며, 그 중 FJBS313(52 mg) 분획물에 대해 RP-18 컬럼 크로마토그래피를 MeOH: H₂O(45:55)의 조건으로 수행하여 화합물 2(3.7 mg)를 얻었다. 그러나, 추가적인 분리를 진행할수록 하위분획물의 수득량이 부족한 것으로 판단되어, *n*-BuOH 분획물 10 g을 다시 MeOH에 녹여 실리카겔 컬럼 크로마토그래피 CHCl₃: MeOH: H₂O(6:1:0.1→1:1:0.1)조건으로 재분리를 진행하였다. 재분리를 진행한 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로부터 7개의 하위분획물(FJBN-1~7)을 얻었으며, FJBN6(3707 mg)에 대해 LPLC를 이용한 RP-18 크로마토그래피를 MeOH: H₂O(1:2→1:1)의 조건으로 수행하여 화합물 3(6.2 mg), 4(6.0 mg)를 얻었다.

화합물 1 - Appearance: Crystal, Molecular formula: C₁₂H₂₂O₁₁, Molecular weight: 342.30, Melting point: 102-103°C. ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 5.17 (1H, *J*=3.5 Hz, H-1), 3.56 (1H, H-2), 3.47 (1H, H-3), 3.88 (H-1, *J*=9.0 Hz, H-4), 3.17 (1H, H-5), 3.58 (1H, H-6a), 3.49 (1H, H-6b), 4.79 (1H, H-1'), 3.65 (1H, H-2'), 3.77 (1H, H-3'), 3.12 (1H, *J*=9.5 Hz, H-4'), 3.56 (1H, H-5'), 3.40 (2H, *J*=12.5 Hz, H-6'); ¹³C NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 91.77 (C-1), 82.57 (C-2), 72.89 (C-3), 77.05 (C-4), 71.65 (C-5), 60.51 (C-6), 104.05 (C-1'), 72.83 (C-2'), 74.31 (C-3'), 69.87 (C-4'), 62.16 (C-5'), 62.08 (C-6').

화합물 2 - Appearance: white amorphous powder, Molecular formula: C₅₉H₉₆O₂₆, Molecular weight: 1221.38. HRESIMS: *m/z* 1243.6039 [M + Na]⁺ (calcd for C₅₉H₉₆O₂₆Na, 243.6088). MS/MS (parent ion 1243.6): *m/z* 1097.4 [M - 146 + Na]⁺, 935.4 [M - (146 + 162) + Na]⁺, 773.4 [M - (146 + 162 + 162) + Na]⁺. ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2.98 (1H, m, H-3), 5.15 (1H, br, s, H-12), 2.73 (1H, dd, *J*=4.0 Hz, 14.5, H-18), 1.23 (3H, s, H-23), 0.74 (3H, s, H-24), 0.86 (3H, s, H-25), 0.68 (3H, s, H-26), 0.95 (3H, s, H-27), 0.87 (3H, br, s, H-29), 1.07 (3H, br, s, H-30), Glue-1: 5.20 (1H, d, *J*=6.0 Hz, H-1), Glue-2: 4.69 (1H, br, s, H-1), Glue-3: 4.40 (1H, d, *J*=5.0 Hz, H-1), Ara: 4.33 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-1), Rha: 4.26 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-1), 1.09 (3H, s, H-6); ¹³C NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 38.12 (C-1), 27.27 (C-2), 87.99 (C-3), 39.90 (C-4), 54.98 (C-5), 22.13 (C-6), 32.29 (C-7), 38.73 (C-8), 47.10 (C-9), 36.31 (C-10), 23.40 (C-11), 121.71 (C-12), 143.45 (C-13), 41.33 (C-14), 28.72 (C-15), 22.48 (C-16), 46.00 (C-17), 40.73 (C-18), 45.56 (C-19), 30.32 (C-20), 31.72 (C-21),

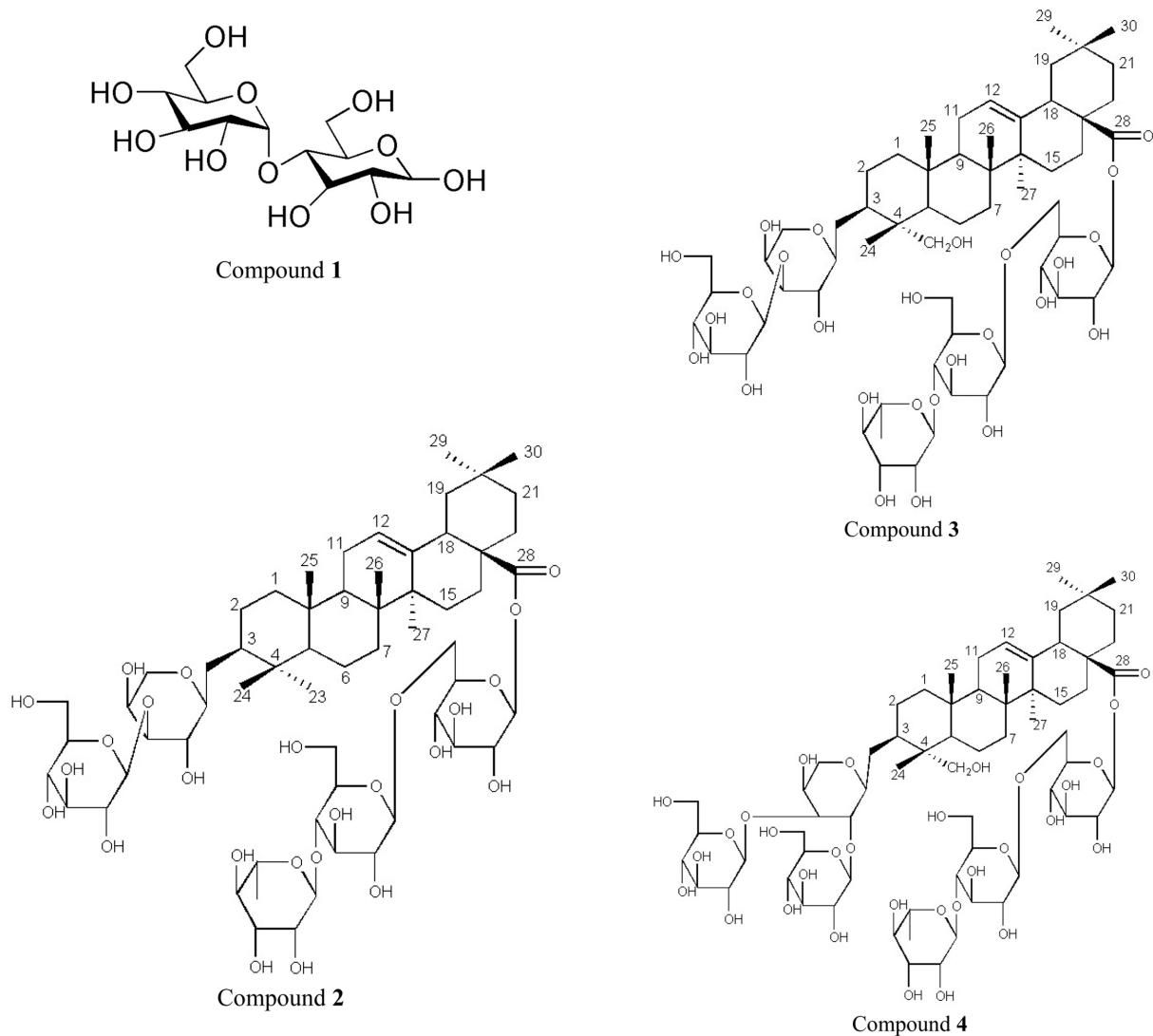


Fig. 1. Structure of compound 1 – 4.

33.28 (C-22), 29.03 (C-23), 16.19 (C-24), 15.23 (C-25), 16.72 (C-26), 27.64 (C-27), 175.32 (C-28), 32.77 (C-29), 25.52 (C-30), Glue-1: 94.03 (C-1), 74.54 (C-2), 78.62 (C-3), 71.26 (C-4), 76.54 (C-5), 69.88 (C-6), Glue-2: 100.56 (C-1), 75.23 (C-2), 76.76 (C-3), 69.28 (C-4), 76.45 (C-5), 59.96 (C-6), Glue-3: 103.32 (C-1), 75.51 (C-2), 76.94 (C-3), 67.57 (C-4), 76.39 (C-5), 60.87 (C-6), Ara: 103.82 (C-1), 72.25 (C-2), 71.96 (C-3), 66.36 (C-4), 63.17 (C-5), Rha: 102.57 (C-1), 70.69 (C-2), 70.66 (C-3), 73.79 (C-4), 168.63 (C-5), 17.78 (C-6).

화합물 3 – Appearance: white amorphous powder, Molecular formula: $C_{59}H_{96}O_{27}$, Molecular weight: 1237.38, Melting point: 190-195°C. ESI-MS (pos.): m/z 1225 ($[M+NH_4]^+$), 1238 ($[M+H]^+$), $C_{59}H_{97}O_{27}^+$, 1076 ($[M+H-162]^+$), 914 ($[M+H$

$-162-162]^+$), 944 ($[M+H-162+132]^+$), 782 ($[M+H-162-162+132]^+$), 752 ($[M+H-162-162-162]^+$). ESI-MS (neg.): m/z 1236 ($[M-H]^-$). 1H -NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 2.98 (1H, m, H-3), 5.17 (1H, br, s, H-12), 2.74 (1H, dd, $J=4.0$, 14.5 Hz, H-18), 0.74 (3H, s, H-24), 0.86 (1H, s, H-25), 0.68 (3H, s, H-26), 0.95 (3H, s, H-27), 0.87 (3H, s, H-29), 1.07 (3H, s, H-31), Glue-1: 5.20 (1H, d, $J=6.0$ Hz, H-1), Glue-2: 4.69 (1H, br, s, H-1), Glue-3: 4.40 (1H, d, $J=5.0$ Hz, H-1), Ara: 4.33 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-1), Rha: 4.26 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-1), 1.09 (3H, s, H-6); ^{13}C NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 38.54 (C-1), 27.66 (C-2), 88.39 (C-3), 40.20 (C-4), 55.39 (C-5), 22.91 (C-6), 32.70 (C-7), 39.14 (C-8), 47.51 (C-9), 36.72 (C-10), 23.82 (C-11), 122.12 (C-12), 143.87 (C-13), 41.74 (C-14), 25.98 (C-15), 23.41 (C-16), 46.41 (C-17),

41.14 (C-18), 45.96 (C-19), 30.73 (C-20), 32.14 (C-21), 33.67 (C-22), 62.07 (C-23), 16.61 (C-24), 15.64 (C-25), 17.14 (C-26), 28.05 (C-27), 175.71 (C-28), 33.18 (C-29), 25.93 (C-30), Gluc-1: 94.43 (C-1), 74.95 (C-2), 79.03 (C-3), 71.66 (C-4), 76.95 (C-5), 70.28 (C-6), Gluc-2: 100.97 (C-1), 75.64 (C-2), 77.18 (C-3), 69.69 (C-4), 76.84 (C-5), 60.37 (C-6), Gluc-3: 103.72 (C-1), 75.93 (C-2), 77.36 (C-3), 67.97 (C-4), 76.81 (C-5), 61.27 (C-6), Ara: 104.24 (C-1), 72.62 (C-2), 72.37 (C-3), 66.75 (C-4), 63.54 (C-5), Rha: 102.98 (C-1), 71.11 (C-2), 71.07 (C-3), 74.20 (C-4), 69.04 (C-5), 18.20 (C-6).

화합물 4 – Appearance: white amorphous powder, Molecular formula: $C_{65}H_{106}O_{32}$, Molecular weight: 1399.52, Melting point: 231-233°C. FABMS (neg.): m/z: 1397 [M-H]⁻, 1251 [M - Rha - H]⁻, 1235 [M - Glc - H]⁻, 1089 [M - Rha - Glc]⁻, 927 [M - Rha - 2Glc - H]⁻, 765 [M - Rha - 3Glc - H]⁻, 603 [M - Rha - 4Glc - H]⁻, 471 [M - Rha-4Glc-Ara-H]⁻. ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 2.98 (1H, m, H-3), 5.17 (1H, br, s, H-12), 2.74 (dd, 1H, *J*=4.0, 14.5 Hz, H-18), 0.73 (3H, s, H-24), 0.85 (3H, s, H-25), 0.67 (3H, s, H-26), 0.95 (3H, s, H-27), 0.86 (3H, s, H-29), 1.07 (3H, s, H-30), 2.02 (1H, s, H-32), Rha: 1.09 (3H, s, H-6) Gluc-1: 5.20 (1H, m, H-1), Gluc-2: 4.69 (1H, m, H-1), Gluc-3: 4.40 (1H, d, *J*=5.0 Hz, H-1), Gluc-4: 4.59 (1H, m, H-1) Ara: 4.33 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-1), Rha: 4.29 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-1), 1.09 (3H, s, H-6); ¹³C NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 38.53 (C-1), 27.68 (C-2), 88.39 (C-3), 40.20 (C-4), 55.40 (C-5), 22.92 (C-6), 32.72 (C-7), 39.14 (C-8), 47.52 (C-9), 36.73 (C-10), 23.80 (C-11), 122.13 (C-12), 143.87 (C-13), 41.75 (C-14), 25.99 (C-15), 23.39 (C-16), 46.41 (C-17), 41.15 (C-18), 45.97 (C-19), 30.74 (C-20), 32.11 (C-21), 33.69 (C-22), 63.29 (C-23), 16.61 (C-24), 15.64 (C-25), 17.14 (C-26), 28.06 (C-27), 175.69 (C-28), 33.19 (C-29), 25.94 (C-30), 170.61 (C-32), 21.11 (C-31), Gluc-1: 94.42 (C-1), 74.96 (C-2), 79.05 (C-3), 71.66 (C-4), 76.94 (C-5), 70.29 (C-6), Gluc-2: 100.97 (C-1), 75.64 (C-2), 77.18 (C-3), 69.70 (C-4), 77.31 (C-5), 60.37 (C-6), Gluc-3: 103.73 (C-1), 75.93 (C-2), 77.37 (C-3), 68.18 (C-4), 76.81 (C-5), 61.28 (C-6), Gluc-4: 101.36 (C-1), 75.43 (C-2), 77.93 (C-3), 70.99 (C-4), 72.71 (C-5), 69.42 (C-6), Ara: 104.25 (C-1), 72.64 (C-2), 72.25 (C-3), 66.75 (C-4), 63.54 (C-5), Rha: 102.88 (C-1), 71.11 (C-2), 71.08 (C-3), 74.00 (C-4), 69.04 (C-5), 18.17 (C-6).

세포주 – 본 연구에 사용된 세포인 mouse유래 RAW264.7 대식세포, BV2 미세아교세포, HT22 해마세포는 원광대학교 생약천연물화학연구소에서 분양받아 사용하였다.

Nitrite assay – RAW264.7 대식세포 및 BV2 미세아교세포에서 LPS로 유도한 후 nitrite 생성을 측정하였다. 24

well plate에 1×10^5 cell/well로 동일하게 분주하고 6시간 경과 후 각 well당 농도별로 시료를 넣은 후 3시간 경과 후 LPS를 1 µg/mL 처리하여 18시간 경과 후 Greiss 시약 [0.1%(w/v) N-(1-naphthyl)-ethylenediamine, 1%(w/v) sulfanilamide in 5%(v/v) phosphoric acid]을 통해 반응시켜 VersaMax™ Tunable Microplate Reader(Molecular Devices, USA) 기기를 사용하여 570 nm에서 측정하였다.

MTT assay – MTT assay의 경우 24 well plate에서 추출물을 농도별로(50-200 µg/mL) 처리 후 세포독성물질인 glutamate를 처리하였다. 이후 12 h 경과 후 MTT를 측정하여 세포 생존율을 측정하였다.

통계처리 – 본 실험의 통계처리는 GraphPad Prism, version 3.03(GraphPad Software Inc., USA)을 사용하였다. 각 실험군 간의 결과값은 평균과 표준편차로 나타냈으며, ANOVA test를 사용하여 분석하고 유의적인 차이가 있는 항목에 대해서만 검정하였다.

결과 및 고찰

화합물 1의 ¹H-NMR에서 13개의 hydroxyl proton[δ 5.17 (1H, *J*=3.5 Hz, H-1), 3.56 (1H, H-2), 3.47 (1H, H-3), 3.88 (H-1, *J*=9.0 Hz, H-4), 3.17 (1H, H-5), 3.58 (1H, H-6a), 3.49 (1H, H-6b), 4.79 (1H, H-1'), 3.65 (1H, H-2'), 3.77 (1H, H-3'), 3.12 (1H, *J*=9.5 Hz, H-4'), 3.56 (1H, H-5'), 3.40 (2H, *J*=12.5 Hz, H-6')]에 대한 signal을 나타내었으며, ¹³C-NMR에서 2개의 anomeric carbon[δ 91.77 (C-1), 104.05 (C-1')]을 통해 2개의 primary alcoholic group[δ 60.51 (C-6), 62.08 (C-6')]의 존재 유무를 확인하였다. 이후 DQF-COSY, TOCSY, ROESY 및 NOESY spectra와 참고문헌을 비교하여 maltose로 구조동정되었다.⁷⁻⁹⁾

화합물 2의 ¹H-NMR spectrum에서 7개의 tertiary methyl group(δ 1.23, 0.74, 0.86, 0.68, 0.95, 0.87, 1.07)에 대한 signal을 나타내었으며, 5개의 anomeric sugar protons [δ 5.20 (1H, d, *J*=6.0 Hz), 4.69 (1H, br, s), 4.40 (1H, d, *J*=5.0 Hz), 4.33 (1H, d, *J*=8.0 Hz), 4.26 (1H, d, *J*=8.0 Hz)]를 통해 oleanane type의 triterpene glycoside로 예상할 수 있었다. 또한, ¹H-NMR spectrum의 δ 5.15 (1H, br, s) signal이 전형적인 H-12의 위치로 확인되었으며, 이를 통해 ¹³C-NMR spectrum에서 δ 121.71 및 143.45 signal이 C-12 및 C-13 위치로 연결된 것을 확인할 수 있었다. 이 결과를 통해 화합물 2의 골격이 3β-12-en-28-oic acid임을 예상할 수 있었다. 이를 통해, 화합물 2의 ether 결합과 ester 결합의 당 사슬 부분을 ¹³C-NMR spectrum을 통해 비교하였으며, HMBC spectrum에 의해 확인하였다. HMBC correlation signal을 통해 발견된 δ 4.33 (1H, d, *J*=8.0 Hz, Ara, H-1)/87.99 (C-3) 및 4.40 (1H, d, *J*=5.0 Hz, Gluc-3, H-1)/71.96 (Ara, C-3)은 C-3에

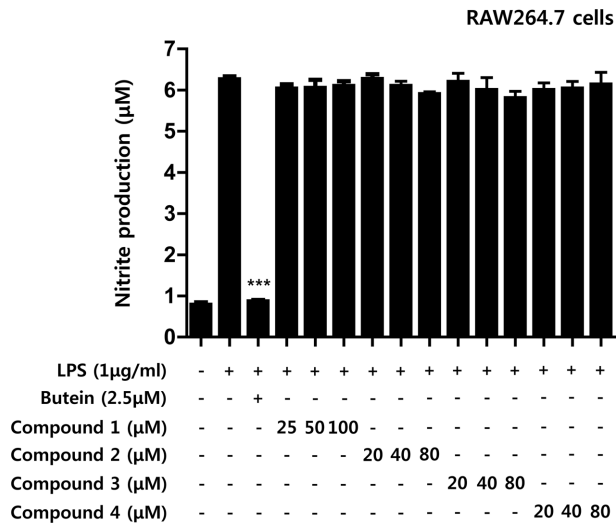


Fig. 2. The effects of compounds 1–4 from *Fatsia japonica* on nitrite reduction in RAW264.7 cells. RAW264.7 cells were treated with fractions from *Fatsia japonica* and then incubated for 24 h with LPS (1 µg/mL). Data are presented as mean±SD values of 3 independent experiments. Butein (2.5 µM) was used as the positive control. ****P*<0.001 vs. LPS.

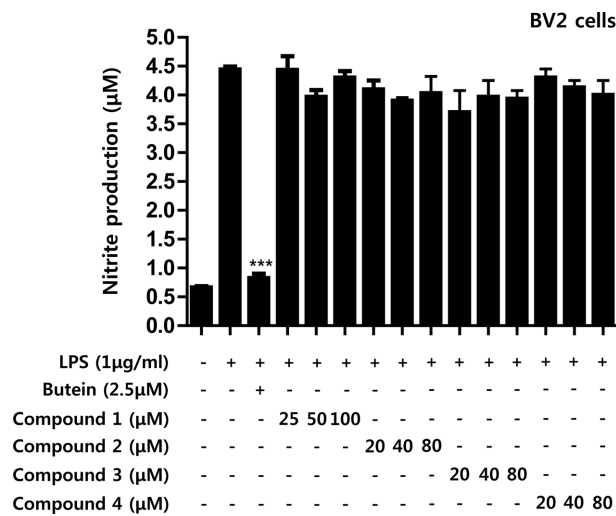


Fig. 3. The effects of compounds 1–4 from *Fatsia japonica* on nitrite reduction in BV2 cells. BV2 cells were treated with fractions from *Fatsia japonica* and then incubated for 24 h with LPS (1 µg/mL). Data are presented as mean±SD values of 3 independent experiments. Butein (2.5 µM) was used as the positive control. ****P*<0.001 vs. LPS.

서 ether 결합 당 사슬이 β-D-glucopyranosyl-(1→3)-α-L-arabinopyranosyl로 확인되었다. 또한, δ 5.20 (1H, d, *J*=6.0 Hz, Gluc-1, H-1)/175.32 (C-28), 4.69 (1H, br, s, Gluc-2, H-1)/69.88 (Gluc-1, C-6) 및 4.26 (1H, d, *J*=8.0 Hz, Rham, H-1)/69.28 (Gluc-2, C-4)는 C-28에서 ester 결합 당 사슬이 α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-

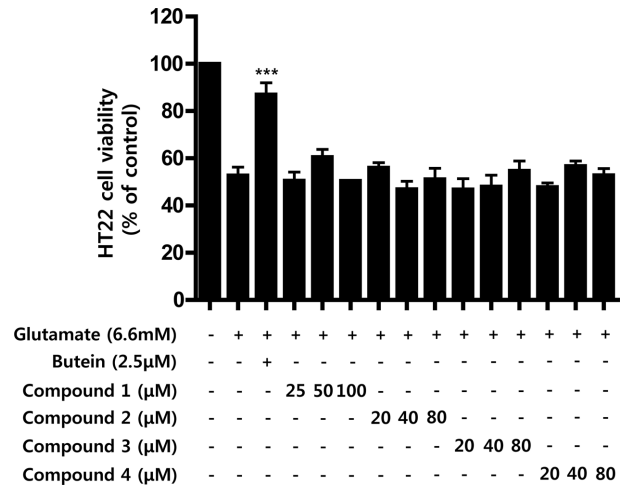


Fig. 4. The effects of compounds 1–4 from *Fatsia japonica* on cell viability by MTT assay in HT22 cells. HT22 cells were treated with fractions from *Fatsia japonica* and then incubated for 12 h with glutamate (6.6 mM). Data are presented as mean±SD values of 3 independent experiments. Butein (2.5 µM) was used as the positive control. ****P*<0.001 vs. glutamate.

D-glucopyranosyl로 확인되었다. 데이터와 참고문헌을 비교 하여, 화합물 2는 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→3)-α-L-arabinopyranosyl-olean-12-en-28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl ester 또는 begoniifolide A로 구조동정되었다.^{10,11)}

화합물 3의 ¹H-NMR spectrum은 6개의 tertiary methyl group(δ 0.74, 0.86, 0.68, 0.95, 0.87, 1.07)에 대한 signal을 나타내었다. 또한, 5개의 당[δ 5.20 (1H, d, *J* 6 Hz), 4.69 (1H, br, s), 4.40 (1H, d, *J*=5.0 Hz), 4.33 (1H, d, *J*=8.0 Hz), 4.26 (1H, d, *J*=7.5 Hz)]이 확인되었으며, 이는 HSQC spectrum을 통해 각각 δ 94.43, 100.97, 103.72, 104.24 및 102.98의 carbon signal과 correlation된다. anomeric protoncoupling constant에 따르면, arabinopyranosyl, rhamnopyranosyl 및 glucopyranosyl 단위의 상대적 배열은 각각 α, α 및 β로 결정되었다. ¹H-NMR spectrum의 δ 5.17 (1H, br. s) signal이 전형적인 H-12의 위치로 확인되었으며, 이를 통해 ¹³C-NMR spectrum에서 2개의 oxygenated carbon[δ 62.07 (C-23), 88.39 (C-3)]을 확인할 수 있었다. 이 결과를 통해 화합물 2의 골격이 3β-23 hydroxy-12-en-28-oic acid임을 예상할 수 있었다. 또한, HMBC spectrum에서 H-23은 C-3, C-4, C-5, C-24와 long-range correlation를 보여 구조의 단위를 예측할 수 있었다. 이를 통해, 화합물 3의 ether 결합과 ester 결합의 당 사슬 부분을 ¹³C-NMR spectrum을 통해 비교하였으며, HMBC spectrum에 의해 확인하였다. HMBC correlation signal을 통해 발견된 δ 4.33 (1H, d, *J*=8.0 Hz, Ara, H-1)/88.39 (C-3) 및 4.40 (1H, d, *J*=5.0 Hz, Gluc-3, H-1)/72.37 (Ara, C-3)은 C-

3에서 ether 결합 당 사슬이 β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl로 확인되었다. 또한 δ 5.20 (1H, d, $J=6.0$ Hz, Gluc-1, H-1)/175.71 (C-28), 4.69 (1H, br, s, Gluc-2, H-1)/70.28 (Gluc-1, C-6) 및 4.26 (1H, d, $J=7.5$ Hz, Rham, H-1)/69.69 (Gluc-2, C-4)는 C-28에서 ester 결합 당 사슬이 α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl로 확인되었다. 데이터와 참고문헌을 비교하여, 화합물 3는 3 β - [(O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl)oxy]-23-hydroxyolean-12-en-28-oic acid O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl ester 또는 leiyemudanoside B로 구조동정되었다.^{11,12)}

화합물 4의 ¹H-NMR spectrum은 7개의 methyl group [δ H 0.73 (3H, s, H-24), δ H 0.85 (3H, s, H-25), δ H 0.67 (3H, s, H-26), δ H 0.95 (3H, s, H-27), δ H 0.86 (3H, s, H-29), δ H 1.07 (3H, s, H-30) 및 sugar methyl δ H 1.09 (3H, s, Rha-H-6)]에 대한 signal을 나타내었다. 또한, ¹H 및 ¹³C-NMR spectrum을 분석한 결과 hederagenin의 위치와 유사하게 carboxylic acid group [δ 175.69 (C-28)], trisubstituted double bond [δ 122.13 (C-12) and 143.87 (C-13)], proton signal at δ 5.17 (1H, br, s, H-12)], primary alcoholic group [δ 63.29 (C-23)], secondary alcoholic hydroxyl group [δ 88.39 (C-3)], proton signal at δ 2.98 (1H, m, H-3)]을 나타내었다. 화합물 4의 당 부분의 특성화는 DQF-COSY, TOCSY, T-ROESY, HSQC 및 HMBC spectrum을 통해 분석하였으며, 6개의 단당류에 해당하는 spin systems은 TOCSY spectrum에서 명확하게 구분할 수 있었다. DQF-COSY spectrum의 complementary 데이터를 사용하여 당 잔기 각각의 상대적 입체화학을 각각 β -D-glucopyranose, α -L-rhamnopyranose 및 α -L-arabinopyranose로 특성화되었다. 당 부분의 순차적 할당은 T-ROESY에서 파생되었으며 HMBC 실험에 의해 추가로 확인하였다. arabinose는 aglycone의 H-3과 2개의 말단 glucose 잔기로 ROES를 보여 aglycone의 C-3에 연결된 trisaccharide의 성질을 나타낸다. 또한, glucose 잔기에서 anomeric proton과 H-3 사이의 1,3-diaxial interaction에서 발생하는 잔류물 내 ROE 상관관계는 DQF-COSY 및 TOCSY에서 중첩되는 glucose H-3 및 H-4의 공명을 구별했습니다. 따라서, 화합물 4의 구조는 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranosyl-hederagenin 28-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside 또는 leonticin F로 구조동정되었다.¹³⁾

*F. japonica*로부터 분리된 화합물 중 begoniifolide A(2)는 *Acanthopanax henryi*,¹⁴⁾ *Akebia quinata*,¹⁵⁾ *Akebia trifoliata* Caulis¹⁶⁾ 등 에서 분리된 화합물로 보고되었으며, leiyemudanoside B(3)¹⁷⁾ 및 leonticin F(4)¹⁸⁾는 *Caulophyllum robustum*으로부터 분리된 화합물로 보고되어있다. 그러나 begoniifolide

A(2), leiyemudanoside B(3), leonticin F(4)는 *F. japonica*로부터 처음 분리된 화합물들이다. 현재까지 모든 화합물들에 대해 보고된 활성은 없는 것으로 확인되었으며, 추가적으로 분리된 화합물들에 대해 항염, 항신경염, 신경보호 작용을 확인하였다.

글루타메이트는 흥분성 신경전달물질이며 중추신경계의 운동 조절, 기억 및 학습과 관련된 뇌 발달 및 과정에서 핵심적인 역할을 한다.¹⁹⁾ 그러나, 글루타메이트 수용체가 과한 자극을 받게되면, 신경퇴행성 질환에서 관찰되는 신경 손상과 관련된 증상이 일어난다. 이러한 과정에서, 뇌의 기억력을 담당하는 해마는 글루타메이트 수용체가 결핍되어 있어 글루타메이트-매개 세포사를 유발할 수 있다. 글루타메이트로 인한 세포사멸 과정은 오랜시간동안 연구되어왔으며, 선행연구들에 의해 병리학적인 메커니즘이 자세하게 보고되어있다.²⁰⁾ 또한, 뇌의 대식세포로 불리는 중추신경계의 주요 상주 면역세포인 미세아교세포는 정상 면역상태에서 중추신경계 손상에 반응하고, 손상을 복구 및 항상성에 기여하며, 글루타메이트 수송체와 항산화제를 생성하여 정확한 신경 기능을 촉진하는 역할을 한다.²¹⁾ 그러나, 미세아교세포가 손상 혹은 병리학적인 결합 등으로 인해 과활성화되면 신경 질환, 중추신경계 장애와 관련된 nitric oxide 및 여러 염증성 사이토카인을 비롯한 신경독성 물질을 생성할 수 있다. 따라서 우리는 *F. japonica*로부터 분리된 화합물 1-4의 항염, 항신경염, 신경보호 작용을 확인하고자 mouse 유래 해마세포인 HT22와 미세아교세포인 BV2, 대식세포인 RAW264.7 세포주를 이용하였다. 독성평가를 진행한 결과 maltose(1)는 100 μ M의 농도에서 독성을 나타내지 않았으며, 이외의 화합물들은 80 μ M의 농도에서 독성을 나타내지 않았다. 결과를 바탕으로 화합물들의 처리 농도를 설정한 후, 각 세포주별로 화합물들의 신경보호 및 항염증효과를 확인한 결과, maltose(1), begoniifolide A(2), leiyemudanoside B(3), leonticin F(4)의 항염증, 항신경염증 및 신경 보호 작용 효과는 나타나지 않았다. 그러므로, 추가연구를 수행하여 *F. japonica*로부터 항염증, 항신경염증 및 신경보호 작용 효과를 나타내는 활성성분을 확보하고자 한다.

결 론

본 연구에서는 *F. japonica*의 줄기로부터 함유된 화합물들을 발견하고자 다양한 크로마토그래피를 수행하여 분리를 시도하였다. 그 결과, *F. japonica* 줄기로부터 4개의 화합물(1-4)이 분리되었으며, 광범위한 분광학 및 화학 분석을 통해 화합물의 구조를 maltose(1), begoniifolide A(2), leiyemudanoside B(3), leonticin F(4)로 구조동정하였다. 분리된 화합물들은 RAW264.7, BV2 및 HT22 세포를 이용하여 항염증, 항신경염 및 신경 보호 효과를 조사하였으며, 모

든 화합물들에서 항염, 항신경염 및 신경 보호효과가 나타나지 않았다. 그러나, begoniifolide A(2), leiyemudanoside B(3), leonticin F(4)는 *F. japonica*의 줄기로부터 처음으로 분리된 화합물들이며, 본 연구로부터 분리된 화합물들이 처음 분리된 만큼 추가적인 분리 연구를 통해 *F. japonica*의 줄기에 함유된 화합물의 정보 개발이 필요할 것으로 생각된다.

사 사

이 논문은 2019년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구입니다(No. NRF-2018R1C1B6001913 & NRF-2019R1F1A1057076).

인용문헌

- Lee, S. H., Kim, S. Y., Kim, D. W., Jang, S. H., Lim, S. S., Kwon, H. J., Kang, T. C., Won, M. H., Kang, I. J., Lee, K. S., Park, J., Eum, W. S. and Choi, S. Y. (2008) Active component of *Fatsia japonica* enhances the transduction efficiency of Tat-SOD fusion protein both in vitro and in vivo. *J. Microbiol. Biotechnol.* **9**: 1613-1619.
- Lee, H. J., Lee, H. J., Yun, G. H., Lee, O. G. and Kang, H. Y. (2006) *Fatsia japonica* extract components and physiological activity. *J. Korean Wood Sci. Technol.* **2006**: 272-273.
- Aoki, T., Tanio, Y., Suga, T. (1976) Triterpenoid saponins from *Fatsia japonica*. *Phytochemistry* **15**: 781-784.
- Yu, S., Ye, X., Xin, W., Xu, K., Lian, X. Y. and Zhang, Z. (2014) Fatsioside A, a rare baccharane-type glycoside inhibiting the growth of glioma cells from the fruits of *Fatsia japonica*. *Planta Med.* **80**: 315-320.
- Grishkovets, V. I., Sobolev, E. A., Shashkov, A. S. and Chirva, V. Y. (2000) Triterpenoid glycosides of *Fatsia japonica*. II. Isolation and structure of glycosides from the leaves. *Chem. Nat. Compd.* **36**: 501-505.
- Wei, Q., Qiu, Z., Xu, F., Li, Q. R. and Yin, H. (2015) Chemical components from leaves of *Fatsia japonica* and their antitumor activities in vitro. *Zhong Yao Cai* **38**: 745-750.
- Fraschini, C., Greffe, L., Driguez, H. and Vignon, M. R. (2005) Chemoenzymatic synthesis of 6omega-modified maltooligosaccharides from cyclodextrin derivatives. *Carbohydr. Res.* **340**: 1893-1899.
- Bekiroglu, S., Kenne, L. and Sandström, C. (2003) ¹H NMR studies of maltose, maltoheptaose, alpha-, beta-, and gamma-cyclodextrins, and complexes in aqueous solutions with hydroxy protons as structural probes. *J. Org. Chem.* **68**: 1671-1678.
- Roslund, M. U., Tähtinen, P., Niemitz, M. and Sjöholm, R. (2008) Complete assignments of the (1)H and (13)C chemical shifts and J(H,H) coupling constants in NMR spectra of D-glucopyranose and all D-glucopyranosyl-D-glucopyranosides. *Carbohydr. Res.* **343**: 101-112.
- Cioffi, G., Dal, P. F., Vassallo, A., Venturella, F., Caprariis, P. D., Simone F. D. and Tommasi, N. D. (2008) Antiproliferative oleanane saponins from *Meryta denhamii*. *J. Nat. Prod.* **71**: 1000-1004.
- Li, G., Zhang, Y., Yang, B., Xia, Y., Zhang, Y., Lü, S. and Kuang, H. (2010) Leiyemudanosides A-C, three new bidesmosidic triterpenoid saponins from the roots of *Caulophyllum robustum*. *Fitoterapia* **81**: 200-204.
- Wegner, C., Hamburger, M., Kunert, O. and Haslinger, E. (2000) Tensioactive compounds from the aquatic plant *Ranunculus fluitans* L. (Ranunculaceae). *Helv. Chim. Acta.* **83**: 1454-1464.
- Chen, M., Wu, W. W., Nanz, D. and Sticher, O. (1997) Leoniticins D-H, five triterpene saponins from *Leontice kiangnanensis*. *Phytochemistry* **44**: 497-504.
- Li, X. J., Tang, S. Q., Huang, H., Luo, J., Zhang, X. D., Yook, C. S., Whang, W. K., Kim, Y. C. and Liu, X. Q. (2021) *Acanthopanax henryi*: Review of botany, phytochemistry and pharmacology. *Molecules* **26**: 2215.
- Ko, H. J., Lee, J. H., Kim, Y. S., Lee, J. H. and Woo, E. R. (2015) A New Triterpene glycoside from the stems of *Akebia quinata*. *Bull. Korean Chem. Soc.* **36**: 356-359.
- Yuan, M. M., Wang, X., Wu, X., Zeng, S., Zou, C. S., Zhong, R. J. and Zhou, G. P. (2020) Chemical constituents of n-butanol extract part of *Akebia trifoliata* Caulis. *Zhongguo Shiyan Fangjixue Zazhi* **24**: 139-146.
- Lü, S., Dong, S., Xu, D., Duan, J., Li, G., Guo, Y., Kuang, H. and Wang, Q. (2017) Spectrum-effect relationships between fingerprints of *Caulophyllum robustum* Maxim and inhabited pro-inflammation cytokine effects. *Molecules* **22**: 1826.
- LI, G. Y. (2015) Saponin constituents from roots and rhizomes of *Caulophyllum robustum*. *Chin. Tradit. Herb. Drugs.* **24**: 1431-1436.
- Coyle, J. T. and Puttfarcken, P. (1993) Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science* **262**: 689-695.
- Dong, X. X., Wang, Y. and Qin, Z. H. (2009) Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta. Pharmacologica. Sinica.* **30**: 379-387.
- Hanisch, U.K. and Kettenmann, H. (2007) Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nat. Neurosci.* **10**: 1387-1394.

(2021. 12. 7 접수; 2021. 12. 15 심사;
2021. 12. 16 게재확정)