Isolation and Identification of Lipids from the Fruits of *Acanthopanax sessiliflorus*

Su-Yeon Kim · Dae-Young Lee · Kyeong-Hwa Seo · Young-Deok Rho ·
Gye-Won Kim · Dae-Sung Cheoi · Nam-In Baek

오가피(*Acanthopanax sessiliflorus* Seeman) 열매로부터 지질 화합물의 분리 및 동정

김수연 · 이대영 · 서경화 · 노영덕 · 김계원 · 최대성 · 백남인

Received: 28 March 2012 / Accepted: 8 May 2012 / Published Online: 30 June 2012
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2012

Abstract *Acanthopanax sessiliflorus* Seeman fruits (Araliaceae) were extracted at room temperature with 70% aqueous ethanol (EtOH). The concentrated extract was partitioned with ethyl acetate (EtOAc), *n*-butyl alcohol, and H₂O, successively. From the EtOAc fraction, four compounds were isolated through the repeated silica gel and octadecyl silica gel (ODS) column chromatographies. According to the results of physico-chemical and spectroscopic data including NMR, IR, and gas chromatography/mass spectrometer, the chemical structures of the compounds were determined as stigmaterol (1), linoleic acid (2), β -sitosterol (3), and stigmast-5-en-3 β ,7 β -diol (4).

Keywords *Acanthopanax sessiliflorus*, linoleic acid, NMR, β -sitosterol, stigmaterol, stigmast-5-en-3 β ,7 β -diol

서 론

오가피(*Acanthopanax sessiliflorus* Seeman)는 두릅나무과(Araliaceae)에 속하는 식물로 낙엽활엽관목이다. 우리나라를 비롯하여 중국 남경, 일본 북해도 등에 널리 자생한다. 높이는 약 1.5–2.0 m이며, 줄기에는 종에 따라 드물게 큰 가시가 있고, 잎은 장상복엽으로 3–5엽이다. 꽃은 산형화서로서 무경 또는 단경이며 과실은 핵과이며 9월경에 검게 익는다(Lee, 1996; Ryoo 등, 2003).

한방에서는 오가피가 신농본초경 중품에 수재되어 있고, 중풍, 신경통, 견근골(堅筋骨), 보중익정(補中益精), 경신내노(輕身耐老), 거풍습약(去風濕藥)으로 사용한다고 기재되어 있다(Ryoo 등, 2003). 우리나라에서 한약재로 사용되었던 주된 오가피 품종은 오가피(*A. sessiliflorus*), 가시오가피(*A. senticosus*), 털오가피(*A. rufinerve*), 지리산오가피(*A. chiisanensis*), 서울오가피(*A. seoulense*) 등이며, 국내에 자생하고 있는 오가피는 14종이 알려져 있다(Lee 등, 1979; Song 등, 2003; Ahn 등, 2005).

지금까지 오가피의 잎과 줄기에서 분리 및 보고된 화합물로는 (-)-sesamin, savinin을 비롯하여 chiisanoside, β -sitosterol, stigmaterol, campesterol, 비타민, 미네랄, eleutherosides B, E 등이 있으며(Lee 등, 2001; Ryoo 등, 2003), 면역증진, 항류마티즘, 항염증, 항산화, nitrosoamine 생성 억제 활성 등이 보고되어 있다(Lee 등, 2003; Jeong 등, 2006; Choi 등, 2011). 특히, 오가피의 대표적인 생리활성 성분인 eleutheroside E는 T세포 증가작용, 정력증대, 학습력 향상, 면역세포활성, 콜레스테롤 수치저하, 전립선 기능 강화, 간 기능 개선, 항암 등의 활성이 보고되고 있다(Brekman와 Dardmov, 1969). 오가피는 오가피의 열매로 혈전 작용, 항종양, 항산화 등의 활성이 보고되어 있으나(Lee 등, 2003; Jing 등, 2004), 활성 성분의 연구는 줄기나 뿌리에 비해 거의 알려진 바가 없다.

S.-Y. Kim · D.-Y. Lee · K.-H. Seo · Y.-D. Rho · N.-I. Baek (✉)
Graduate School of Biotechnology & Department of Oriental Medicinal
Materials and Processing, Kyung Hee University, Yongin 446-701,
Republic of Korea
E-mail: nibaek@khu.ac.kr

G.-W. Kim
Brewing Research Center, Hankyung National University, Ansung 456-
749, Republic of Korea

D.-S. Cheoi
Jeongseon Agricultural Extension Center, Jeongseon 233-852, Republic of
Korea

그러므로 본 연구에서는 오가자로부터 이차대사산물을 분리 및 동정하여 그 화합물에 대한 여러 가지 생리활성과 관련한 연구를 진행시킴으로써 오가자의 기능성 식품 또는 의약품 개발 등과 같은 활용방안을 모색하고자 하였다. 오가자로부터 용매추출, 용매분획 및 column chromatography를 실시하여 4종의 화합물을 분리하였고, NMR, IR 및 gas chromatography/mass spectrometer (GC/MS) 등의 기기분석을 통하여 구조를 결정하였다.

재료 및 방법

실험재료. 본 실험에 사용한 오가피(*A. sessiliflorus* Seeman) 열매는 강원도 정선군에서 재배한 것으로 2009년 강원도 정선군 농업기술센터에서 제공 받아 사용하였다. 표본시료(KHU090809)는 경희대학교 천연물화학실에 보관되어 있다.

시약 및 기기. Column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60 (Merck, Germany)을 octadecyl silica (ODS) gel은 LiChroprep RP-18 (Merck)을 사용하였다. Thin layer chromatography (TLC)는 Kieselgel 60 F₂₅₄와 RP-18 F_{254S} (Merck)를 사용하였고, 실험에 이용한 모든 시약은 특급시약을 사용하였다. NMR 스펙트럼은 Varian Inova AS 400 (Varian, USA)으로 측정하였고, IR spectrum은 Perkin model 599B (USA)로 측정하였다. GC는 GC-14B (Shimadzu, Japan)로, GC/MS 및 EI/MS는 JMS-700 (JEOL, Japan)으로 측정하였으며, UV lamp는 Spectrolone (Model ENF-240 C/F, Spectronics Corporation, USA)을 사용하였다. 용점은 Fisher-Johns 용점 측정기(Fisher Scientific, USA)를 사용하여 측정하였고 미보정하였다.

추출 및 분획. 건조 및 분쇄된 오가자 10.0 kg을 70% ethanol (EtOH) 수용액에 담가서 실온에서 추출하였다. 추출물을 여과하고, 남은 것은 동일한 방법으로 2회 더 추출하였다. 얻어진 여액을 모두 합쳐 감압농축하여 EtOH 추출물(2012.0 g)을 얻었다. 얻어진 EtOH 추출물을 ethyl acetate (EtOAc) (4 L×3)로 분배 추출하였고, 다시 H₂O 층을 *n*-butyl alcohol (*n*-BuOH) (3.5 L×3)로 분배 추출하였다. 각 층을 감압농축하여 EtOAc 분획(118.0 g), *n*-BuOH(284.0 g) 및 H₂O 분획(1610.0 g)을 얻었다.

EtOAc 분획으로부터 화합물의 분리. EtOAc 분획(100.0 g)으로부터 silica gel column chromatography (c.c.) (φ 15×20 cm, CHCl₃-MeOH→15:1→13:1→12:1→11:1→10:1→7:1→5:1→3:1→1:1→1:3 MeOH)를 실시하여 15개의 분획물(ASFE1~ASFE15)을 얻었다. 그 중에서 ASFE1 분획[7.3 g, Ve/Vt (elution volume/total volume) 0.01-0.15]을 silica gel c.c. (φ 6×10 cm, *n*-hexane-EtOAc=6:1→4:1→2:1→1:1→MeOH, 6850 mL)로 22개의 분획(ASFE1-1~ASFE1-22)으로 나누었고 화합물 1(ASFE1-8, 4.4 mg, Ve/Vt 0.54-0.55, SiO₂ TLC R_f 0.40, *n*-hexane-EtOAc=4:1)을 분리하였다. 다시 소분획 ASFE1-5(249.0 mg, Ve/Vt 0.37-0.42)에 대하여 ODS c.c. (φ 3.5×5 cm, MeOH-H₂O=3:2→2:1, 6760 mL)를 실시하여 화합물 2 (ASFE1-5-12, 4.0 mg, Ve/Vt 0.31-0.38, ODS TLC R_f 0.41, MeOH-H₂O=12:1)를 분리하였다. ASFE1-7 (771.0 mg, Ve/Vt 0.55-0.64)에 대하여 silica gel c.c. (φ 4.5×10.5 cm, *n*-hexane-EtOAc=5:1)하여 화합물 3 (ASFE1-7-10, 80.0 mg, Ve/Vt 0.78-0.92, SiO₂ TLC R_f 0.42, *n*-hexane-EtOAc=4:1)을 얻었다. ASFE3

(36.4 g, Ve/Vt=0.15-0.5) 분획에 대하여 silica gel c.c. (φ 6×16 cm, CHCl₃-EtOAc=40:1, 10500 mL)를 실시하여, 3개의 분획물(ASFE3-1~ASFE3-3)을 얻었고, 그 중 ASFE3-3 (1.8 g, Ve/Vt 0.34-1.00)분획을 silica gel c.c. (φ 3.5×18 cm, *n*-hexane-EtOAc=1:1, 6000 mL)하여 19개의 분획(ASFE3-3-1~ASFE3-3-19)으로 나누었다. 이 중에서 ASFE3-3-7 (184.0 mg, Ve/Vt 0.07-0.08)분획을 ODS c.c. (φ 3.5×5.5 cm, acetone-H₂O=3:2→2:1, 2100 mL)하여 화합물 4 (ASFE3-3-7-23, 12.2 mg, Ve/Vt 0.75-0.79, ODS TLC R_f 0.32, acetone-H₂O=4:1)를 분리하였다.

화합물 1 Colorless crystals (*n*-hexane-CHCl₃); m.p. 160-161°C; [α]_D²² -42.9° (c=0.2, CDCl₃); EI/MS *m/z* 412 [M]⁺; IR (KBr, cm⁻¹) 3465, 2932, 1651, 1556, 1337, 1062; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ_H) 5.33 (1H, br. d, *J*=4.8 Hz, H-6), 5.15 (1H, dd, *J*=15.6, 8.8 Hz, H-22), 5.02 (1H, dd, *J*=15.6, 8.8 Hz, H-6), 3.49 (1H, m, H-3), 1.03 (3H, d, *J*=6.8 Hz, H-21), 0.99 (3H, s, H-19), 0.83 (3H, d, *J*=6.4 Hz, H-26), 0.81 (3H, t, *J*=6.8 Hz, H-29), 0.77 (3H, d, *J*=6.4 Hz, H-27), 0.66 (3H, s, H-18); ¹³C-NMR (100 MHz, CHCl₃, δ_C) 140.6 (C-5), 138.2 (C-22), 129.2 (C-23), 121.6 (C-6), 71.8 (C-3), 56.7 (C-14), 55.9 (C-17), 51.3 (C-24), 50.2 (C-9), 45.9 (C-4), 42.4 (C-13), 40.6 (C-20), 39.8 (C-12), 39.7 (C-1), 37.3 (C-10), 31.9 (C-8, 25), 31.7 (C-7), 29.2 (C-2), 28.3 (C-16), 26.1 (C-28), 24.4 (C-15), 21.3 (C-21), 21.2 (C-11, 26), 19.9 (C-19), 19.5 (C-27), 12.1 (C-29), 12.0 (C-18).

화합물 2 Colorless oil; EI/MS *m/z* 280 [M]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ_H) 5.40 (4H, m), 2.63 (2H, dd, *J*=6.6, 6.4 Hz), 2.30 (2H, t, *J*=8.4 Hz), 2.18 (2H, m), 2.14 (2H, dt, *J*=6.6, 6.7 Hz), 1.52-1.27 [16H, (CH₂)₈, m], 0.90 (3H, t, *J*=7.2 Hz, terminal methyl); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, δ_C) 178.4 (carbonyl-C), 130.3 (×2, olefine-carbon), 128.0 (×2, olefine-carbon), 33.6, 31.8, 29.9, 29.8, 29.6, 29.5, 29.4, 29.0 (×2), 27.5, 25.4, 22.9 (methylene), 14.4 (terminal methyl).

화합물 3 White powder (*n*-hexane-CHCl₃); m.p. 140°C; [α]_D²⁵ 3.7° (c=0.6, CHCl₃); EI/MS *m/z* 414 [M]⁺; IR (KBr, cm⁻¹) 3400, 1640, 1050, 845, 830, 802; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ_H) 5.33 (1H, br. d, *J*=5.2 Hz, H-6), 3.49 (1H, m, H-3), 0.99 (3H, s, H-19), 0.90 (3H, d, *J*=6.4 Hz, H-21), 0.83 (3H, t, *J*=7.6 Hz, H-29), 0.81 (3H, d, *J*=7.6 Hz, H-26), 0.79 (3H, d, *J*=6.8 Hz, H-27), 0.65 (3H, s, H-18); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, δ_C) 140.6 (C-5), 121.6 (C-6), 71.8 (C-3), 56.8 (C-14), 56.1 (C-17), 50.2 (C-9), 45.9 (C-24), 42.4 (C-4), 42.3 (C-13), 39.8 (C-12), 37.3 (C-1), 36.6 (C-10), 36.2 (C-20), 34.0 (C-22), 32.0 (C-2), 31.7 (C-7), 29.2 (C-8), 29.0 (C-25), 28.3 (C-16), 26.1 (C-23), 24.4 (C-15), 23.1 (C-28), 21.2 (C-11), 19.9 (C-19), 19.5 (C-26), 19.1 (C-27), 18.9 (C-21), 12.1 (C-29), 11.9 (C-18).

화합물 4 Colorless needles (CHCl₃); m.p. 157-158°C; [α]_D²⁵ -15.8° (c=0.3, CHCl₃); EI/MS *m/z* 430 [M]⁺, 412 [M-H₂O]⁺, 394 [M-2H₂O]⁺, 289, 271, 253; IR (KBr, cm⁻¹) 3420, 1660; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ_H) 5.57 (1H, d, *J*=5.2 Hz, H-6), 3.83 (1H, br. d, *J*=7.6 Hz, H-7), 3.55 (1H, br dd, *J*=11.6, 4.4 Hz, H-3), 0.97 (3H, s, H-19), 0.90 (3H, d,

$J=6.4$ Hz, H-21), 0.82 (3H, t, $J=7.6$ Hz, H-29), 0.81 (3H, d, $J=7.6$ Hz, H-27), 0.78 (3H d, $J=7.6$, H-26), 0.66 (3H, s, H-18); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3 , δ_{C}) 146.1 (C-5), 123.7 (C-6), 73.1 (C-7), 71.3 (C-3), 55.6 (C-17), 49.4 (C-14), 45.8 (C-24), 42.2 (C-4), 42.1 (C-13), 42.0 (C-9), 39.2 (C-12), 37.5 (C-10), 37.1 (C-1), 37.0 (C-8), 36.0 (C-20), 34.0 (C-22), 31.4 (C-2), 29.2 (C-25), 28.3 (C-16), 26.1 (C-23), 23.1 (C-15, 28), 20.7 (C-11), 19.8 (C-26), 19.1 (C-27), 18.8 (C-21), 18.3 (C-19), 12.0 (C-18), 11.7 (C-29).

지방산의 GC 및 GC/MS 분석. 시료 ASFE1-5-12(화합물 2) 1 mg를 1 mL의 CHCl_3 에 녹인 후 3 μL 를 취하여, FID가 설치된 GC (GC-14B, Shimadzu, Japan)의 주입구에 넣고, 탈착시켜 분석하였다. 분석용 컬럼은 DB-5 (30 m $\times$ 0.32 mm ID $\times$ 0.25 μm , J & W, USA)를 사용하였으며, GC의 injector 온도는 300°C, oven 온도는 처음 3분 동안 150°C로 유지하였고, 분당 승온 속도를 7로 하여 최종온도가 300°C가 되도록 한 후 5분간 300°C를 유지하도록 하였다. 분석한 화합물 2의 retention time (min)은 11.50으로 나타났다. 분석한 화합물을 동정하기 위하여, GC (Agilent technologies, USA)와 연결된 massspectrometer (JMS-700, JEOL)를 사용하였고, 분석용으로 사용한 컬럼 (HP-5, 30 m $\times$ 0.32 mm ID $\times$ 0.25 μm , USA) 이외의 모든 분석 조건은 GC 조건과 동일하였다. GC/MS로 분석하여 11.50분에서 나타난 peak의 최종 확인은 library (Wiley GC/MS Library)와 비교하여 확인하였다.

결과 및 고찰

오가자를 70% 주정으로 추출하여 얻어진 추출물에 대하여 용매의 극성에 따라 EtOAc, *n*-BuOH 및 H_2O 로 순차 분획하고 각 분획을 감압 농축하여 3개의 분획을 얻었다. EtOAc 분획으로부터 silica gel, ODS column chromatography를 반복 실시하여, 4종의 화합물을 분리하였다.

화합물 1(colorless crystals)은 TLC에 전개시키고 10% H_2SO_4 로 분무 가열하였을 때 보라색으로 발색되었다. EI/MS를 측정하였을 때 m/z 412 $[\text{M}]^+$ 의 분자이온 peak가 관측하여 분자량을 412로 결정하였고, IR 스펙트럼으로부터 수산기 (3465 cm^{-1})와 이중결합(1651 cm^{-1})의 작용기를 갖는 것으로 확인되었다. ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) spectrum에서 olefine methine proton signal [δ_{H} 5.33 (br. d, $J=4.8$ Hz, H-6), 5.15 (dd, $J=15.6$, 8.8 Hz, H-22) 및 5.02 (dd, $J=15.6$, 8.8 Hz, H-6)] 3개가 관측되었으며, oxygenated olefine methine proton signal [δ_{H} 3.49 (H-3)]이 관측되었다. 고자장 영역에서 singlet methyl proton signal [δ 0.99 (H-19), 0.66 (H-18)] 2개와, doublet methyl proton signal [δ_{H} 1.03 (H-21), 0.83 (H-26), 0.77 (H-27)] 3개, triplet methyl proton signal [δ_{H} 0.81 (H-29)] 1개가 관측되어 sterol 화합물로 추정할 수 있었다. ^{13}C -NMR (100 MHz) spectrum에서 29개의 탄소가 관측되어 stigmastane 골격의 sterol로 확인되었다. 1개의 olefine quaternary carbon signal (δ_{C} 140.6, C-6)과 3개의 olefine methine carbon signal [δ_{C} 138.2 (C-22), 129.2 (C-23), 121.6 (C-6)] 그리고, 1개의 oxygenated olefin methine carbon signal (δ_{C} 71.8, C-3)이 관측되었다. 고자장 영역에서 methyl carbon signal 6개가 관측되었다. 이를 종합하여 본 결과, *trans* 배향($J_{22,23}=15.6$ Hz)의 이중

결합을 포함하여 이중결합 2개와 수산기를 가진 탄소 수 29개의 stigmastane 골격의 sterol 화합물임을 알 수 있었다. 문헌과 비교한 결과, 화합물 1은 stigmast-5,22-dien-3 β -ol(stigmasterol)로 동정하였다(Habib 등, 2007).

화합물 2 (colorless oil)는 TLC에 전개시켜 관찰한 결과 UV 흡수가 없고, 10% H_2SO_4 를 분무, 건조한 후 발색한 결과 연한 갈색으로 발색되었다. ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) spectrum에서 δ_{H} 5.40 (4H, m)의 signal로부터 olefine methine proton 4개가 존재함을 확인하였고, δ_{H} 2.63 (2H, dd, $J=6.6$, 6.4 Hz), δ_{H} 2.30 (2H, t, $J=8.4$ Hz), δ_{H} 2.18 (2H, m) 및 δ_{H} 2.14 (2H, dt, $J=6.6$, 6.7 Hz)의 signal로부터 allyl 위치의 4개의 methylene이 관측되었으며, δ_{H} 1.52~1.27 사이에서 다수의 methylene proton signal과 δ_{H} 0.90 (3H, t, $J=7.8$ Hz)에서 triplet의 말단 methyl proton signal이 관측되었다. 따라서 이 화합물은 두 쌍의 이중결합을 갖고 있는 aliphatic chain 형태의 화합물로 판단되었다. ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) spectrum에서 18개의 탄소 signal이 관측되었다. δ_{C} 178.4에서 carbonyl signal과, δ_{C} 130.3, 128.0에서 각각 2개, 즉 4개의 olefine methine carbon signal이 관측되었고 δ_{C} 34.0~22.8 사이에서 다수의 methylene carbon signal과 δ_{C} 14.0에서 terminal methyl carbon signal이 확인되어 이를 결과로 2쌍의 이중결합을 갖는 탄소 18개의 불포화 지방산으로 확인하였다. 보다 정확한 지방산 동정을 위하여 GC와 GC/MS를 이용하여 분석한 결과, 11.50분에서 단일 peak가 관측되었으며, EI/MS spectrum에서 M^+ 이온 peak m/z 280 $[\text{M}]^+$ 이 관측되었다. 이 결과를 토대로 Wiley library를 이용하여 비교한 결과, 화합물 2를 (9Z,12Z)-octadecadienoic acid (linoleic acid)로 동정하였다(Kwak 등, 2008).

화합물 3 (white powder)은 TLC에 전개하고, 10% 황산을 분무, 건조한 후 발색한 결과 붉은색으로 발색되었다. EI/MS 측정하였을 때 m/z 414 $[\text{M}]^+$ 의 분자이온 peak가 관측되어 분자량을 414로 결정하였으며, IR 스펙트럼으로부터 수산기(3400 cm^{-1})와 이중결합(1640 cm^{-1})의 작용기를 갖는 것이 확인되었다. ^1H -NMR 스펙트럼에서 δ_{H} 5.33 (1H, br. d, $J=5.2$ Hz, H-6) signal로부터 1개의 olefinic methine을 확인하였고, δ_{H} 3.49 (1H, m, H-3) signal로부터 1개의 oxygenated olefine methine을 확인하였다. 또한 δ_{H} 2.32~1.00 사이에서 다수의 methylene과 methine proton signal을 관측 하였고, δ_{H} 0.65 (3H, s), δ_{H} 0.99 (3H, s)에서 2개의 singlet methyl proton signal, δ_{H} 0.79 (3H, d, $J=6.8$ Hz), δ_{H} 0.81 (3H, d, $J=7.6$ Hz) 및 δ_{H} 0.90 (3H, d, $J=6.4$ Hz)에서 3개의 doublet methyl proton signal을, 그리고 δ_{H} 0.83 (3H, t, $J=7.6$ Hz)에서 1개의 triplet methyl proton signal을 확인하였다. ^{13}C -NMR spectrum에서 탄소수가 29개이고 methyl carbon이 6개 관측된 점으로부터 stigmastane 골격의 sterol 화합물인 것을 확인하였다. δ_{C} 140.6, 121.6 signal로부터 1개의 이중 결합이 존재하는 것과 δ_{C} 71.8로부터 1개의 oxygenated methine carbon을 확인 하였다. 또한 δ_{C} 19.9, 19.5, 19.1, 18.9, 12.1 및 11.9에서 6개의 methyl carbon을 확인하였다. 이를 종합하여 비교한 결과 화합물 3은 여러 가지 식물에서 널리 함유되어 있는 sterol인 stigmast-5-en-3 β -ol(β -sitosterol)로 동정하였다(Habib 등, 2007).

화합물 4 (colorless needles)는 TLC에 전개하고, 10% 황산을 분무, 건조한 후 발색한 결과 푸른색으로 발색되었다. EI/MS를 측정하였을 때 m/z 430 $[\text{M}]^+$ 의 분자이온 peak로부터 분

Fig. 1 Chemical structures of Lipids from the fruits of *Acanthopanax sessiliflorus*.

자랑을 430으로 결정하였다. IR 스펙트럼으로부터 수산기(3420 cm^{-1})와 이중결합(1660 cm^{-1})의 작용기를 갖는 것으로 확인되었다. $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 5.57 ($J=5.2\text{ Hz}$, H-6)에서 1개의 olefin methine proton signal을, δ_{H} 3.83 (br d, $J=7.6\text{ Hz}$, H-7)과 3.55 (br dd, $J=4.4, 11.6\text{ Hz}$, H-3)에서 2개의 oxygenated olefin methine proton signal을 확인하였다. 그리고 2개의 singlet methyl signal [δ_{H} 0.97 (H-19), 0.66 (H-18)]을 관측하였고, δ_{H} 0.90 ($J=6.4\text{ Hz}$, H-21), 0.81 ($J=7.6\text{ Hz}$, H-27), 그리고 0.78 ($J=7.6\text{ Hz}$, H-26)에서 3개의 doublet methyl signal을 확인하여 sterol 화합물임을 예상하였다. $^{13}\text{C-NMR}$ 과 DEPT 스

펙트럼으로부터 3개의 quaternary carbon signal, 10개의 methine signal, 10개의 methylene signal, 6개의 methyl signal을 확인하여 탄소 수 29개의 stigmasterol 골격의 sterol임을 확인하였다. 1개의 olefin quaternary carbon signal (δ_{C} 146.1 , C-5), 1개의 olefin methine carbon signal (δ_{C} 123.7 , C-6), 그리고 2개의 oxygenated methine carbon signal (δ_{C} 73.1 , C-7; δ_{C} 71.3 , C-3)이 관측되었다. gHMBC를 측정한 결과, δ_{C} 3.83 의 oxygenated proton signal이 한 쌍의 olefin carbon [δ_{C} 146.1 (C-5), 123.7 (C-6)]과 cross peak를 보여 C-7에 수산기가 결합한 것을 확인하였다. 또한 δ_{C} 3.55 의 oxygenated methine proton signal과 δ_{C} 31.4 (C-2) 및 42.2 (C-4)의 2개의 methylene carbon signal에서 보이는 cross peak를 통해 C-3에 수산기가 결합하였음을 확인하였다. 관련된 탄소와 수소 signal의 chemical shift와 (C-7: δ_{C} 73.1 ; H-7: δ_{H} 3.83 ; C-3: δ_{C} 71.3 ; H-3: δ_{H} 3.55) coupling constant (H-3: br. dd, $J=11.6, 4.4\text{ Hz}$; H-7: br. d, $J=7.6\text{ Hz}$)를 통하여 2개의 수산기 모두 β -배열을 하고 있다고 판단하였다. 이를 종합하고 문헌과 비교한 결과 화합물 4를 stigmast-5-en-3,7,7-triol로 동정하였다(Lee 등, 2009).

지금까지 오가자에서 분리 보고된 성분으로는 (-)-sesamin, scoparone, protocatechuic acid, ursolic acid, hyperin, 5-hydroxymethylfurfural이 있으며 추출물 및 소분획에 대하여 TLC를 전개하고 10% H_2SO_4 발색하여 확인한 결과 이러한 계열의 화합물이 존재함을 확인하였다(Lee 등, 2002).

오가자로부터 분리된 화합물들을 문헌 조사해 본 결과 생리 활성이 있는 것으로 확인되었다. Linoleic acid (2)는 항균활성이 높을 뿐 아니라 농도 의존적인 세포독성과 항염증 활성을 나타냈다(Akino, 1975; Kwak 등, 2008). 또한 sterol 화합물 중 β -sitosterol, stigmasterol은 많은 식물에 존재하는 물질이지만 다양한 활성이 알려져 있다. Stigmasterol은 항산화 및 항균 활성 등이 보고되어 있으며(Ghorab 등, 2006; Glisic 등, 2007), β -sitosterol은 항바이러스작용, 항염증, 해열작용을 나타낸다(Hyun 등, 1996). Stigmast-5-en-3,7,7-triol은 간암에 대한 항암활성이 있는 것으로 보고되어 있다(Lee 등, 2009).

초 록

오가피(*Acanthopanax sessiliflorus* Seeman) 열매 10.0 kg을 실온에서 70% EtOH 수용액으로 추출하고 이 추출물을 ethyl acetate (EtOAc) 분획, *n*-butyl alcohol 분획, H_2O 분획으로 나누었다. EtOAc 분획에 대하여 silica gel 및 octadecyl silica gel chromatography column chromatography를 반복 실시하여 4종의 화합물을 분리, 정제하였다. NMR, IR, EI/MS, 및 GC/MS 등을 통하여 화합물 1(stigmasterol), 화합물 2(linoleic acid), 화합물 3(β -sitosterol), 화합물 4(stigmast-5-en-3,7,7-triol)의 구조를 결정하였다.

Keywords 오가피 · linoleic acid · NMR · β -sitosterol · stigmasterol · stigmast-5-en-3,7,7-triol

감사의 글 본 연구는 정선군 기술용역사업(20100903-20101224)의 ‘정선 오가피열매로부터 기능성분 분리 및 구조동정’ 및 농림수산식품부의 ‘양귀비과(Papaveraceae) 식물추출물을 이용한 친환경 해충방제제 개발(과제번호 109090-03-3-SB010)’으로 수행되었으며 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- Ahn JK, Park SY, Lee WY, and Lee JJ (2005) Effects of growth regulators on adventitious root growth and eleutherosides and chlorogenic acid accumulation in air lift bioreactor culture of *Eleutherococcus koreaum*. *Korean J Plant Biotechnol* **32**, 57–61.
- Akino N (1975) Antioxidants from Rape (*Brassica campestris* var. japonica Hara) oil cake. *Nat Prod RES* **18**, 231–9.
- Brekhman II and Dardmov IV (1969) New substances of plant origin which increase nonspecific resistance. *Annu Rev Pharmacol* **9**, 419–30.
- Choi JM, Kim KY, Lee SH, and Ahn JB (2011) Functional properties of water extracts from different parts of *Acanthopanax sessiliflorus*. *Food Engineering Progress* **15**, 130–5.
- Ghorab AH, Mahgoub MH, and Bekheta M (2006) Effect of some bioregulators on the chemical composition of essential oil and its antioxidant activity of Egyptian carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). *J Essent Oil-Bearing Plants* **9**, 214–22.
- Glisic SB, Mistic DR, Stamenic MD, Zizovic IT, Asanin RM, and Skala DU (2007) Supercritical carbon dioxide extraction of carrot fruit essential oil: chemical composition and antimicrobial activity. *Food Chem* **105**, 346–52.
- Habib MR, Nikkon F, Rahman M, Haque ME, and Karim MR (2007) Isolation of stigmasterol and beta-sitosterol from methanolic extract of root bark of *Calotropis gigantea* (Linn). *Pakistan J Biol Sci* **10**, 4174–6.
- Hyun JW, Yang YM, Sung MS, Chung HS, Paik WH, Kang SS et al. (1996) The Cytotoxic activity of sterol derivatives from *Pulsatilla chinensis* regel. *J Korean Cancer* **28**, 145–50.
- Jeong SC, Jeong YT, Yang BK, and Song CH (2006) Chemical characteristics and immuno-stimulating properties of biopolymers extracted from *Acanthopanax sessiliflorus*. *Biochem Molecular Biol* **39**, 84–90.
- Jing JL, Lee SH, Lee YY, Kim JM, Heo JE, and Yun-Choi HS (2004) Platelet anti-aggregating triterpenoids from the leaves of *Acanthopanax senticosus* and the fruits of *A. sessiliflorus*. *Planta Medica* **70**, 564–6.
- Kwak HY, Lee SJ, Lee DY, Jung LK, Bae NH, Hong SY et al. (2008) Cytotoxic and anti-inflammatory activities of lipids from the Nuruk (*Rhizopus oryzae* KSD-815). *J Korean Soc Appl Biol Chem* **51**, 142–7.
- Lee DY, Lee SJ, Kwak HY, Jung LK, Heo JE, Hong SY et al. (2009) Sterols Isolated from Nuruk (*Rhizopus oryzae* KSD-815) inhibit the migration of cancer cells. *J Microbiol Biotechnol* **19**, 1328–32.
- Lee SH, Kim BK, Cho SH, and Shin KH (2002) Phytochemical constituents from the fruits of *Acanthopanax sessiliflorus*. *Arch Pharm Res* **25**, 280–4.
- Lee SH, Lee YS, Jung SH, Ji J, Shin KH, Kim BK et al. (2003) Antitumor and immunostimulating activities of *Acanthopanax sessiliflorus* fruits. *Nat Prod Sci* **9**, 112–6.
- Lee WT (1979) Distribution of *Acanthopanax* plants in Korea. *Korean J Pharmacol* **10**, 103–7.
- Lee WT (1996) In *Lineamenta Florae Korea* (vol. 770). Academy CO, Korea.
- Ryoo HS, Park SY, Chang SY, and Yook CS (2003) Triterpene components from the leaves of *Acanthopanax sessiliflorus* Seem. *Korean J Pharmacogn* **34**, 269–73.
- Song MS, Lee YW, and Kim JD (2003) Extraction of *Acanthopanax senticosus* by supercritical fluid. *Hwahak Konghak* **41**, 207–12.