

개오가피의 성분 및 항암효과

육창수* · 노영수 · 서성훈 · 임재윤 · 한덕용*
경희대학교 동서약학연구소, *중앙대학교 약학대학
(Received January 12, 1996)

Chemical Components of *Acanthopanax divaricatus* and Anticancer Effect in Leaves

Chang Soo Yook*, Young Soo Rho, Seong Hoon Seo,
Jae Yoon Leem and Dug Ryong Han*

Kyung Hee Dong Seo Pharmaceutical Research Institute, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea
*College of Pharmacy, Chung Ang University, Seoul 156-756, Korea

Abstract—*Acanthopanax divaricatus* Seem. is a medicinal plant growing widely throught Korea, Japan and China. The plant material of *Acanthopanax* spp. is used as analgesic, tonic, sedative drug as well as for the treatment of hypertension, rheumatism and diabetes. From the stem barks and root barks of *A. divaricatus*, diterpenoid compound was isolated and identified as pimaric acid ($C_{20}H_{30}O_2$, mp 164°C), lignan compounds were isolated and identified as *d*-sesamin ($C_{20}H_{18}O_6$, mp 123~124°C), eletheroside E ($C_{30}H_{48}O_{18}$, mp 257~259°C), three sterol compounds were identified as β -sitosterol, campesterol, stigmasterol, and six fatty acid compounds were identified as stearic acid, palmitic acid, oleic acid, linolenic acid, arachidonic acid and behenic acid. And also leaves of *A. divaricatus*, chiisanoside were identified, one of secotriterpenoidal compound(white amorphorous powder crystal, mp 228°C). Anticancer activity and nephrotoxicity were tested by MTT assay. Anticancer effect of chiisanoside was much lower than that of cisplatin.

Keywords □ *Acanthopanax divaricatus*, pimaric acid, *d*-sesamin, oleanolic acid, eletheroside E, chiisanoside, β -sitosterol, campesterol, stigmasterol, stearic acid, palmitic acid, oleic acid, linolenic acid, arachidonic acid, behenic acid etc.

개오갈피나무 *Acanthopanax divaricatus*(Sieb. et Zucc) Seem. 는 두릅나무과 Araliaceae에 속하는 낙엽활엽관목으로서 한국 중부, 중국 남경, 일본 북해도등에 널리 자생한다.

오갈피나무의 근피 및 수피는 한방에서 강정, 강장, 진경, 근골통통등에 유효한 것으로 고증되어 있고 민간에서는 전제나 술로 만들어 고혈압, 중풍, 당뇨병, 류마티스등에 이용하여 왔다.

오가피에 관한 약리학적 연구로는 생체기관의 전반적인 기능증대, 중추신경 흥분작용, 근육운동, 촉진작용,

항암작용, alloxan유도 항당뇨작용, 해독작용, 항류마티스, radiation질병과 실험적 신경증의 치료효과, 수명연장작용, 단백동화작용, 환경변화에 대한 적응능 등의 다양한 생리적 작용이 보고되어 있다. Brekhman등은 가시오갈피나무 *Eleutherococcus senticosus*에서 분리한 eletheroside류의 항피로작용과 항스트레스작용에 대해서 보고하였으며 이러한 광범위한 효능이 있는 것은 오가피성분이 비특이적, 비국소적으로 생체에 대한 생리적, 화학적 또는 생물학적 영역에 대하여 생체의 저항력을 증대시켜주는 adaptogen작용을 갖고 있기 때문이라고 보고했다. 또한 김등은 한국특산인 지리산오갈피나무 *Acanthopanax chiisanensis*의 생물학적 효능 검색결과 항히스타민작용 및 항당뇨작용, 해독작용, 항지방간변성작

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-961-0355 (팩스) 02-966-3885

Table 1. Compound isolated from *Eleutherococcus* and *Acanthopanax* spp.

species	sources	constituents
<i>E. senticosus</i>	root barks	eleutheroside A, B, C, D, E, F, G., ⁹⁾ coniferylaldehyde, friedelin, caffeic acid ethylester ¹⁰⁾ , isoflaxidin ¹¹⁾
	leaves	senticosid A, B, C, D, E, F ¹²⁾ , isoflaxidin, eleutheroside I, K, L, M., ¹³⁾ oleanolic acid ¹²⁾
<i>A. sessiliflorum</i>	root barks	acanthoside A, B, C, D., ¹⁴⁾ (-) sesamin ¹⁵⁾ , (-) savinin ¹⁴⁾
<i>A. Sciadophylloides</i>	foliums	kaempferitrin, anthoside, scyllitol ¹⁶⁾
	leaves	acanthoside A, B, C, D., dotriacontanol, taracerol, hirsutin, myoinositol ¹⁷⁾
<i>A. gracilistylus</i>	root barks	kaurenoic acid, syringin ¹⁸⁾ 16 α -hydroxy (-) kauran-19oic acid
<i>A. chiisanensis</i>	root barks	(-) sesamin ²⁰⁾ , eleutheroside E. ²¹⁾
	leaves	chiisanoside ²²⁾
<i>A. trifoliatus</i>	leaves	acanthodiol ²³⁾ , 24-nor-lupanes, taraxeryl acetate, scyllitol, taraxerol ²⁴⁾
<i>A. koreanum</i>	root barks	eleutheroside E., faltarindiol, ent-pimara-9(11), 15-dien-19oic ²⁵⁾
	stem barks	eleutheroside E., syringin, coniferin, ent-pimara-9(11), 15-dien-19ol ²⁵⁾
<i>A. divaricatus</i>	fruits	delphinidin-3-xylosylgalactoside ²⁶⁾

용 등이 있음을 보고하였고, 최근 이등은 한국특산인 섬 오갈피나무 *Acanthopanax koreanum*의 근피 및 수피로부터 분리한 diterpenoid계의 새로운 성분인 ent-pimara-9(11), 15-diene-19-oic acid와 ent-pimara-9(11), 15-diene-19-oacetate를 가지고 소염, 진통작용 검색결과 국소 염증부위에서 백혈구의 유주에 대해 매우 강력한 억제작용이 있음을 보고하였다.

이상의 문헌조사에 의하면 개오갈피나무 *Acanthopanax divaricatus*의 과실에서 anthocyanin계 화합물외에는 어떤 천연물에 대한 화학적, 약리학적인 보고가 없었으며 오갈피가 민간에서 고�혈압에 사용되어 왔음에 착안하여 우선 개오갈피나무 *Acanthopanax divaricatus*의 수피 및 근피의 성분을 규명하고자 하였다. 아울러 앞에서 secotriterpenoid glycoside를 분리, 동정함과 동시에 분리한 chiisanoside를 이용하여 MTT assay에 의한 항암성실험 및 신장독성 실험을 행하여 양호한 결과를 얻었기에 보고코져 한다.

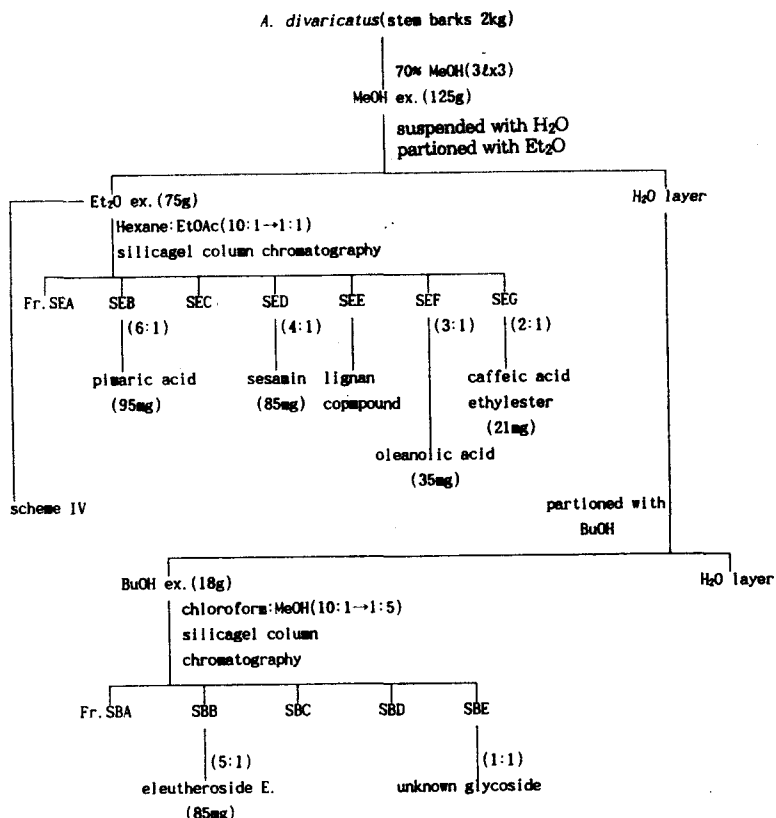
실험방법

재료 - 1988년 경기도 광릉에서 채집하여 풍건후 음

건한 개오갈피나무의 수피 2kg과 근피, 잎 800g을 조말로 하여 사용하였다.

시약 및 기기 - 시약중 표준품으로 stearic acid methylester, palmitic acid methylester, oleic acid methylester, linolenic acid methylester, arachidonic acid methylester, behenic acid methylester, margaric acid methylester, β -sitosterol, stigmasterol, campesterol, cholesterol, d-sesamin 등이 사용되었으며 기기로는 ultrospec 4050UV(U.V.), Beckmann IR-20A(I.R.), JASCO DIPO-140(polarimeter), Bruker AM-300(NMR), JEOL JMN FX-100(NMR), Hewlett Packard Model HP 5985(MS), JEOL JMS DX-300(MS) 및 PERKIN ELMER 900(G.C.)등을 사용하여 측정하였다.

수피의 추출 및 분리 - 수피 2kg을 세절하여 70% MeOH(31 \times 3)로 수욕상에서 가열, 추출하고 냉각후 여과하였다. 여액을 모아 감압농축하여 MeOH엑스 125g을 얻었다. 이 MeOH엑스를 Scheme I과 같이 처리하여 Et₂O엑스 75g과 BuOH엑스 18g을 얻었다. Et₂O엑스를 Hexane : EtOAc(10 : 1 \rightarrow 1 : 10)로 sil-



Scheme I. Extraction and Isolation of compounds from stem barks of *A. divaricatus*.

icagel column chromatography하여 Fr. SEA-SEG로 분획하였고 BuOH엑스는 CHCl₃: MeOH (10:1→1:5)로 silicagel column chromatography하여 Fr. SBA-SBE로 분획하였다.

compound I, II, III의 단리 - Fr. SEB, Fr. SED 및 Fr. SEF를 용매 Hexane: EtOAc (6:1), (4:1) 및 3:1 비율로 혼합 silicagel chromatography하여 compound I, II, III의 조결정을 얻었으며 compound I은 pet. Ether로 재결정하여 무색의 침상결정 95 mg을, compound II는 MeOH로 재결정하여 백색의 침상결정 85 mg을 그리고 compound III는 MeOH로 재결정하여 백색의 침상결정 35 mg을 얻었다.

compound I - mp 164°C

Anal. Calcd. for C₂₀H₃₀O₂: C, 79.40 H, 9.920

Found: C, 79.42 H, 10.00

[α]_D²⁰ = -120.6 (c = 1.34 CHCl₃)

UV_{max}^{EtOH} nm: 237.5, 287.5

IR_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3390(OH), 2960(ali.CH), 1695

(CO), 1650(C=C), 1465(CH₃), 998, 917(HC=CH₂), 865, 850(C=CH)

MS(m/z): 302(M⁺), 287(M⁺-CH₃), 257(M⁺-COOH)

¹H-NMR(300 MHz, CDCl₃) δppm: 0.65(3H, s, CH₃-19), 0.99(3H, s, CH₃-20), 1.25(3H, s, CH₃-17), 4.81(1H, dd, H-16 cis), 4.91(1H, dd, H-16 trans), 5.10(1H, s, H-14), 5.59(1H, dd, H-15)

¹³C-NMR(75 MHz, CDCl₃) δppm: 13.7(C-20), 14.1(C-19), 24.0(C-6), 43.9(C-4), 50.4(C-5), 56.1(C-9), 112.8(C-16), 127.9(C-14), 137.9(C-8), 147.2(C-15), 183.6(C-18)

compound II - mp 123~124°C

Anal. Calcd for C₂₀H₁₈O₆: C, 68.01; H, 5.12

Found: C, 68.36; H, 5.28

[α]_D²⁰ = -68.1 (c = 1.34 CHCl₃)

UV_{max}^{EtOH} nm: 237.5, 287.5

IR_{max}^{KBr} cm⁻¹ = 3.97(aro.CH), 2895(ali.CH), 1606,

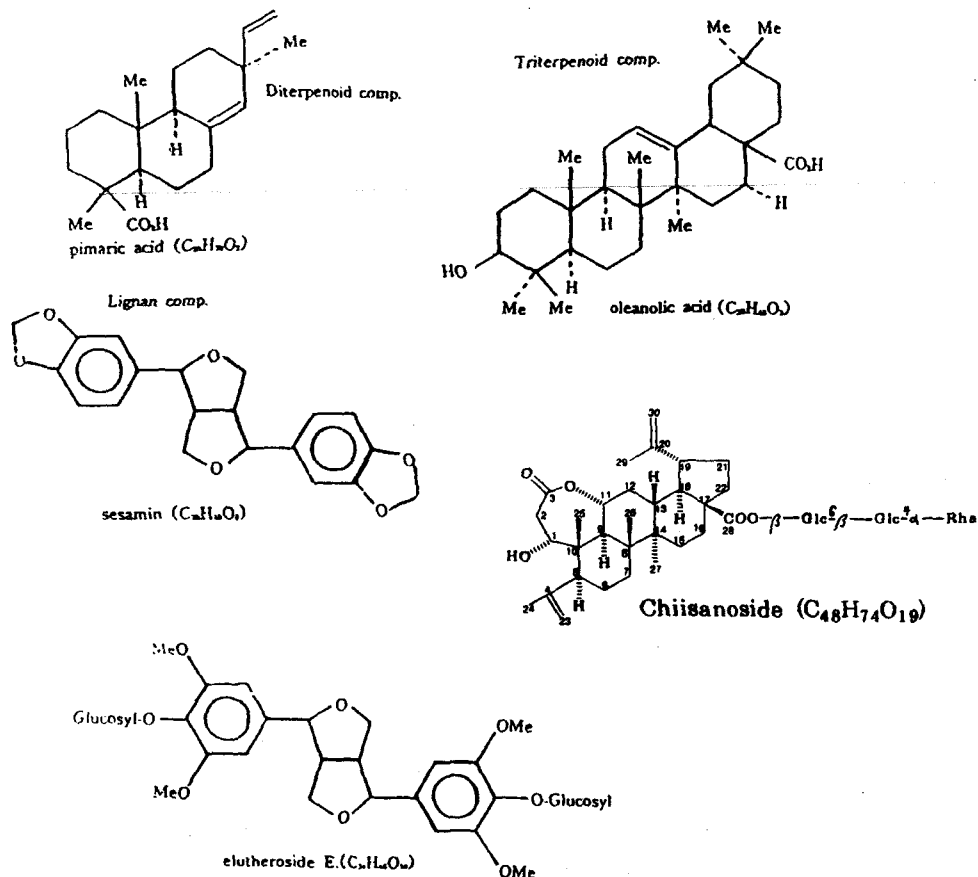


Fig. 1 — Structures of compounds from *A. divaricatus*.

1467 (aro. C=C), 1237, 1093 (C-O-C)

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δppm: 3.01 (2H, m, H-1, 5), 3.83 (2H, dd, H-4-8), 4.19 (2H, m, H-4, 8), 4.69 (2H, d, H-2, 6), 5.93 (4H, s, H-7, 7'), 6.75 (6H, m, H-2', 3', 6', 2'', 3'', 6'')

MS (m/z): 354 (M⁺), 336 (M-H₂O)

compound III - mp 310°C

Anal. Calcd for C₃₀H₄₈O₃: C, 78.39; H, 10.41

Found: C, 78.31; H, 10.48

[α]_D²⁰ = +83.3 (c=0.6 CHCl₃)

UV_{max}^{BuOH} nm: 207

IR_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3442 (OH), 2932 (ali. CH), 1696, 1272 (CO), 1375, 1385 (CH₃), 1461 (CH₂)

MS (m/z): 456 (M⁺), 438 (M⁺ - H₂O), 248 (base peak 100)

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δppm: 0.74 (3H, d),

0.90 (9H, m), 1.13 (9H, s), 1.25, 1.30, 1.40, 1.59, 1.71, 1.87 (10 × CH₂), 5.28 (1H, s, H-12)

compound IV의 단리 - BuOH 엑스의 Fr. SBB를 CHCl₃: MeOH (5:1)의 용매로 silicagel column chromatography 하여 조절점을 얻어 MeOH로 재결정하여 백색의 침상결정을 얻었다.

mp 257~259°C

Anal. Calcd for C₃₄H₄₆O₁₈: C, 54.90; H, 6.20,

Found: C, 54.86; H, 6.26 25

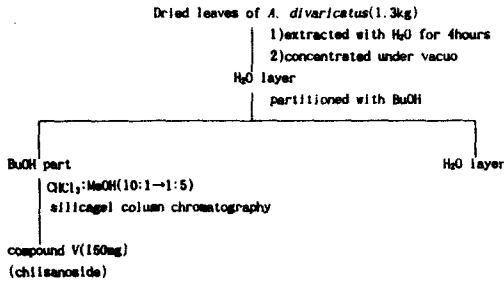
[α]_D²⁵ = -5.6 (c=0 H₂O)

UV_{max}^{BuOH} nm: 234, 272

IR_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3379 (OH), 2903 (ali. CH), 1600, 1594, 1463 (C=C), 1235, 1066 (C-O), 812 (phenyl max ring)

MS (m/z): 742 (M⁺), 418 (M⁺ - 2glucose)

¹H-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δppm: 3.19 (2H,



Scheme II—Extraction and Isolation of compound V from leaves of *A. divaricatus*.

m, H-1.5), 3.76(12H, s, 4×OCH₃), 4.23(2H, m, H-4, 8), 4.66(2H, m, H-2, 6), 4.87(8H, m, glc.H), 6.66(4H, s, aro.H)
¹³C-NMR(25 MHz, DMSO-d₆) δppm: 54.1(C-1, 5), 56.8, 56.9(-OCH₃), 70.3(glc.C-4), 71.8(C-4, 8), 74.6(glc.C-5), 76.8(glc.C-3), 77.5(glc. C-5), 85.4(C-2,6), 103.3(glc.C-1), 104.5(aro.C-6), 104.6(aro. C-2), 134.3(aro. C-1), 137.5(aro.C-4), 152.7(aro. C-5), 152.9(aro.C-3)

compound V의 단리 - 물추출액의 BuOH분획을 CHCl₃ : MeOH(10 : 1 → 10 : 5)용매로 silicagel column chromatography하여 조절정을 얻어 MeOH로 재결정하여 백색의 분말상 결정을 얻었다.

mp 228°C

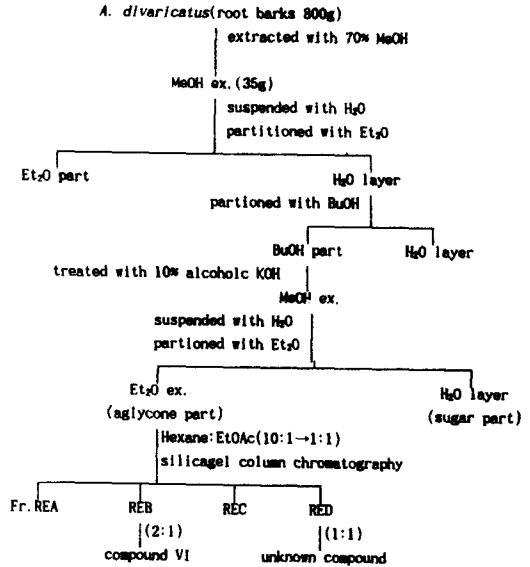
[α]_D²⁵ = +7.7(c=1.69 MeOH)

IRν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3410(OH), 2980(CH), 1700(C=O), 1360(C=C), 1370(CH₃), 1280(COO), 1070 (glycosidic CO)

MS(m/z): 954(M⁺), 792, 630, 484[M⁺-(2glc+rha)], 466(M⁺-H₂O)

¹H-NMR(100 MHz, DMSO-d₆) δppm: 0.7~1.5 (3H, 23, 24, 29, 30-CH₃), 1.25~1.32(25, 26, 27-CH₃), 1.70~1.75(6,12,15,21-CH₃), 2.70~3.00(glucosyl proton), 4.30(7H, rhamnosyl proton), 4.80 (glucosyl proton)

근피의 추출 및 분리 - 근피 800 g을 세절하여 70% MeOH(11×3)로 수욕상에서 가열 추출하고 냉각후 여과하였다. 여액을 모아 감압농축하여 MeOH 엑스 35 g을 얻었다. 이 MeOH엑스를 schemeIII와 같이 처리하여 얻은 BuOH엑스를 10% alcoholic KOH로 4시간 환류냉각하면서 가수분해시켰다. MeOH를 완전히 제거한후 H₂O 10 ml를 넣고 Et₂O로 비당부를 전용시



Scheme III—Extraction and Isolation of compounds from root barks of *A. divaricatus*.

켜 Et₂O엑스 2.3 g을 얻었다. Et₂O엑스를 Hexane : EtOAc(10 : 1 → 1 : 1)로 silicagel column chromatography하여 Fr.REA-RED를 얻었다.

compound VI의 분리 - Fr. REB를 Hexane : EtOAc(2 : 1)의 전개용매로 silicagel column chromatography하여 백색의 침상결정을 얻었다.

mp 310°C

[α]_D²⁰ = +83.3(c=0.6 CHCl₃)

IRν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3442(OH), 2932(CH), 1696(CO-), 1461(CH₂), 1375, 1385(CH₃)

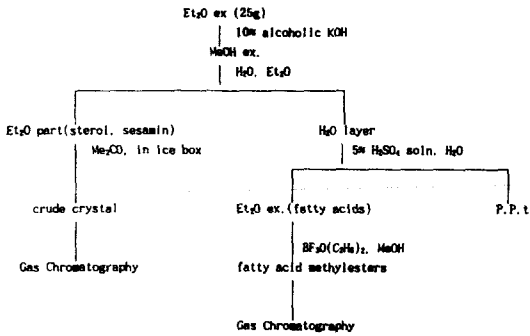
MS(m/z): 456(M⁺), 438(M⁺-H₂O)

¹H-NMR(300 MHz, CDCl₃) δppm: 0.74(3H,d), 0.90(9H, m), 1.13(9H, s), 1.25, 1.30, 1.40, 1.59, 1.71, 1.87(10×CH₂), 5.28(1H, s, H-12)

개오갈피나무 수피의 sterol 및 지방산의 추출 - scheme I의 Et₂O엑스를 10% alcoholic KOH로 4시간 환류냉각하여 검화시킨후 불검화물을 취하여 Me₂CO을 가하고 냉장실에서 24시간 방치하여 sterol및 sesamin의 조절정을 얻었다. 또한 scheme IV에서 얻은 검화물을 5% H₂SO₄시액으로 중화하여 얻은 혼합지방산을 methylation하여 지방산의 ester를 얻었다.

Sterol 및 sesamin의 동정

조결정 2 mg을 정평하여 Me₂CO 5 ml에 녹여



Scheme IV — Systematic separation of sterols, sesamin and fatty acids from stem barks of *A. divaricatus*.

Table II — GLC. condition of sterols, sesamin and fatty acid methylesters from stem barks of *A. divaricatus*

	sterol, sesamin	fatty acid methylesters
column	2% OV-17 (chromatosorb W. 80/100)	10% OV-17 (Chromatosorb W. 80/100)
detector	FID	FID
column temp.	250°	260°
oven temp.	280°	260°
injector temp.	280°	260°
carrier gas	N ₂	N ₂
attenuation	×8	×64
chart speed	0.5 cm/min	0.25 cm/min

Table II의 G.C조건으로 gas chromatography를 행하였다. 이때 표준물질로 sesamin, β-sitosterol, cholesterol, stigmasterol, campesterol의 gas chromatogram을 얻어 그 retention time을 비교하여 동정하였다.(Fig. 5)

지방산의 동정

지방산 methylester 의 각 표준물질 2 mg씩을 정량하여 Me₂CO에 녹이고 internal standard(이하 Int. std.로 약함)인 0.2% methyl margarate 1ml를 첨가해 Table II의 G.C조건으로 gas chromatography를 행하였으며 혼합 지방산의 methylester 2 mg을 취한 후 Int.std. 1 ml를 첨가하여 gas chromatogram을 얻었다.

Chiisanoside의 항암활성실험 및 신장독성실험

실험동물 - 본 실험에 사용한 동물은 체중 1.8~2.0

kg의 가토를 사용하였으며 고형사료와 충분한 물을 공급하면서 온도와 습도가 조절된 사육실에서 2주간 실험 환경에 순응 시킨후 23±2°C에서 실험은 실시하였다. 한편, L-1210 leukemia cell line은 미국 National Cancer Institute(NCI)에서 공급받아 사용하였다.

토끼의 근위세뇨관 상피세포의 배양 - 체중 1.8~2.0 kg의 토끼를 cervical dislocation에 의하여 처사시킨 다음 신동맥을 보존한 채 신장을 적출하였다. 신동맥을 통하여 인산완충액(phosphate buffered saline, pH 7.4)을 주입하여 세척한 다음 DME/F₁₂(1:1) medium으로 2회 세척하였다. 0.5% 산화철 용액(iron oxide)을 주입하고 신피질만을 박리하여 DME/F₁₂(pH 7.4) medium에 넣은 후 Dounce homogenizer type B pestle을 사용하여 homogenize시켰다. Homogenate를 253 um filter는 통과시키고 83 um filter에 모아진 세포관과 사구체를 DME/F₁₂ medium에 옮긴 다음 사구체는 magnetic stirrer를 사용하여 제거하였다. 그 직후 soybean trypsin inhibitor(0.025%)와 collagenase(0.125 mg/ml)를 넣어 실온에서 2분간 incubation한 후 insulin(5 ug/ml), transferrin(5 ug/ml) 및 hydrocortisone(5×10⁻⁸ M)을 첨가한 DME/F₁₂ medium에 부유시키어 일정량씩 배양접시에 접종하고 CO₂ incubator에서 37°C로 2주간 배양하였다.

항암활성 실험 - L-1210 leukemia cell을 각각 96 well titer plate에 10⁵ cell/well이 되도록 심어준 후 37°C, 5% CO₂ incubator에서 30분간 배양시킨 후 검액을 500 uM, 50 uM 및 5 uM의 농도가 되도록 각 well에 넣어주고 48시간 동안 배양하였다. 배양액속에 5 mg/ml농도의 MTT용액 0.05 ml씩을 가하여 4시간 배양한 후 상등액을 제거하고 DMSO 0.05 ml를 가하여 침전물을 용해시킨 다음 ELISA LEADER로 630 nm에서 흡광도를 측정하였다. 비교약물로는 동일한 농도의 항암제 cisplatin을 사용하였고 검체없이 동일한 조건하에서 배양된 세포군을 대조군으로 하였으며 다음의 산출식에 따라 항암활성(%)를 구하였다.

$$\text{항암활성 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{검액의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}}\right) \times 100$$

신장독성실험 - 일차 배양한 토끼의 근위세뇨관 상피세포를 사용하여 전술한 항암활성 실험에서 실시한 MTT assay에 준하여 실험을 실시하였으며 동일한 산

Table III—Antitumor activities of chiisanoside on the L-1210 leukemia cells

Samples	Concentration(uM)	Cytotoxicity Index(%)
Cisplatin	5	47.1±2.38
	50	70.2±1.39
	500	92.7±1.10
Chiisanoside	5	27.0±5.38
	50	44.9±5.56
	500	60.8±5.10

출식에 의해 세포독성을 판정하였다.

$$\text{Cytotoxicity Index(\%)} = \left(1 - \frac{\text{검역의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}}\right) \times 100$$

결과 및 고찰

Chiisanoside의 항암효과 및 신독성

항암효과 - MTT assay방법에 의하여 chiisanoside의 cancer cell에 대한 항암활성을 검토한 결과를 Table 9에 나타내었다. L-1210 leukemia cell에 대해 chiisanoside 및 cisplatin의 두가지 검체 모두 500 uM, 50 uM, 5 uM의 농도에서 실험을 실시하였다.

500 uM의 농도에서 cisplatin이 92.7%의 항암활성을 나타낸 반면 chiisanoside는 60.8%의 비교적 높은 활성을 나타내었다. 같은 농도에서 cisplatin보다 항암활성은 낮지만 농도가 높아질수록 항암활성은 높아졌다.

토끼의 근위세뇨관 상피세포에 대한 신독성 - MTT assay방법에 의한 토끼의 근위세뇨관 상피세포에 대한 독성을 Table IV에 나타내었다.

500 uM의 고농도에서 cisplatin의 Cytotoxicity Index가 92.6%인 반면 chiisanoside의 독성정도는 14.0%로 현저히 낮았으며 50 uM과 5 uM의 농도에서도 chiisanoside는 각각 8.7%와 6.3%로 cisplatin의 87.9%와 21.1%에 비하여 현저히 낮은 수치를 나타내었다.

compound I - mp 163~164°C의 무색의 침상결정으로 TLC로 전개후에 10% H₂SO₄로 발색시켰을때 암적색이었다. IR spectrum경우 3390 cm⁻¹에서 OH, 1695 cm⁻¹에서 COOH의 흡수대가 나타났으며 또 998, 917 cm⁻¹에서 monosubstituted double bond, 865, 850 cm⁻¹에서 trisubstituted double bond에 의한 흡수대를 관찰했으며 1450 cm⁻¹에서 cycloalkane의 흡수대를 관찰하였다. ¹H-NMR spectrum의 δ 0.65,

Table IV—Cytotoxic activities of chiisanoside on the proximal tubele cells of rabbit kidney

Sample	Concentration(uM)	Cytotoxicity Index(%)
Cisplatin	5	21.1±2.79
	50	87.9±0.44
	500	92.6±0.13
Chiisanoside	5	6.3±1.99
	50	8.7±2.82
	500	14.0±1.31

Table V—¹³C-NMR values of various pimaradiens

carbo No.	chemical shifts (ppm)			
	pimarinic acid from <i>Aralia cordata</i>	compound I from <i>A. divaricatus</i>	isopimaric acid	sandraco-pimaric acid
C-1	38.6	38.5	39.2	38.4
2	18.5	19.1	17.9	18.3
3	37.5	36.3	37.23	37.1
4	47.6	43.9	46.4	47.2
5	49.1	50.4	45.4	48.7
6	25.5	24.0	25.7	24.9
7	35.8	35.7	121.5	35.5
8	138.5	137.9	136.0	136.2
9	51.9	56.1	52.4	50.7
10	38.1	37.9	35.5	37.8
11	19.5	19.5	20.5	18.8
12	36.0	34.1	36.0	34.6
13	39.0	39.1	37.5	37.4
14	128.2	127.9	46.5	129.3
15	147.8	147.2	150.7	149.0
16	113.2	112.8	109.7	110.5
17	29.9	29.6	21.9	26.2
18	185.7	193.6	183.9	185.3
19	17.6	14.1	17.5	16.8
20	15.4	13.7	15.7	15.3

0.99, 1.25에서 3개의 tertiary methyl proton signal과 δ 5.10에서 trisubstituted olefin에 의한 broad singlet을 관찰 할 수 있었고 δ 4.81, 4.91, 5.59에 나타난 dd는 각각 monosubstituted double bond에 기인하는 특징적인 ABX계의 peak pattern을 시사하며 δ 12.18에서 carboxyl기의 singlet을 관찰하였다. ¹³C-NMR에서 carbon 20개의 diterpeoid임을 알 수 있었고 chemical shift로부터 pmaradiene type으로 추정했으며 이중결합의 위치를 확인하기 위해 Table III에 나타난 짝과 같이 isopimaric acid와 sandracopimaric acid의 chemical shift를 비교한 결과 double bond의 위치를 8(14)로 추정할 수 있었다. MS spectrum경우 MS fragmentation에서 m/z 234등의 fragment ion peak를 관찰할 수 있었기에

Table VI—¹³C-NMR chemical shift of chiisanoside

Aglycone moiety		Sugar moiety		
carbon	ppm	28-O-sugar	carbon	ppm
C-1	75.7	Glc inner	1	95.9
C-2	39.4		2	74.6
C-3	173.6		3	79.3
C-4	148.7		4	70.9
C-5	50.4		5	79.2
C-6	25.8		6	69.9
C-7	34.2			
C-8	42.4			
C-9	58.0			
C-10	44.8			
C-11	71.2	Glc outer	1	105.4
C-12	32.8		2	77.1
C-13	35.9		3	77.5
C-14	42.8		4	79.4
C-15	31.5		5	78.5
C-16	33.0		6	62.0
C-17	57.4			
C-18	48.2			
C-19	50.4			
C-20	151.1	Rha terminal	1	103.3
C-21	30.2		2	73.2
C-22	37.4		3	73.2
C-23	114.6		4	74.4
C-24	24.1		5	70.0
C-25	19.0		6	19.7
C-26	18.6			
C-27	14.5			
C-28	175.6			
C-29	19.7			
C-30	111.3			

double bond의 위치를 8(14)로 추정할 수 있었다. MS spectrum 경우 MS fragmentation에서 m/z 302에서 molecular ion peak를 관찰했으며 retro Diels-Alder분해에 기인하는 m/z 234등의 fragment ion peak를 관찰 할 수 있었기에 double bond의 위치를 8(14)로 확증할 수 있다. 그리고 문헌에 기재된 pimaric acid의 제반 spectra data와 비교해 볼때 일치하였으므로 ent-pamara-8(14), 15 diene-18 oic acid(Pimaric acid)로 동정하였다. (Fig. 2)

compound II - m.p 123~124°C인 백색의 침상결정으로 SbCl₃ 시액에 의해 자주색으로 변하고 UV lamp 365 nm에서 적색을 나타내며 10% H₂SO₄시액으로 발색시에 보라색을 나타내는 것으로 보아 lignan계 물질로 추정하였다. IR spectrum의 3079 cm⁻¹에서 aromatic ring의 C-H, 2895 cm⁻¹에서 aliphatic의 C-H, 1606 cm⁻¹에서 aromatic ring의 C=C, 1093과 1237에서 aryl alkyl ether의 C-O-C의 흡수대를 관찰하였기에 lignan계 화합물로 추정하였다. ¹H-NMR

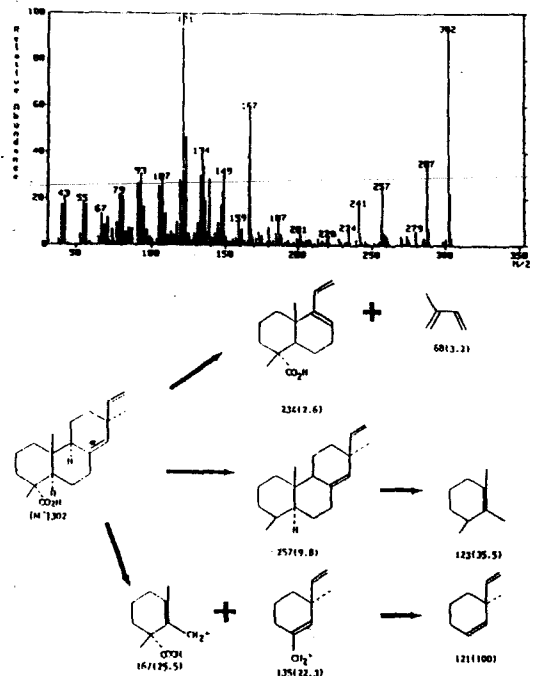


Fig. 2—MS spectrum & MS fragmentation of pimaric acid.

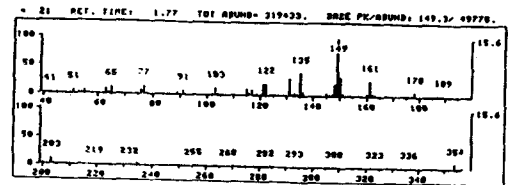


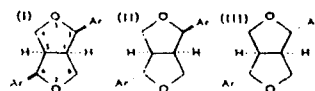
Fig. 3—MS spectrum & MS fragmentation of d-sesamin.

spectrum에서 δ 5.93 ppm의 singlet은 methylenedioxyphenyl기를 가진 화합물에서 볼 수 있는 것으로 -O-CH₂-O-의 singlet은 methylenedioxy-

Table VII—¹H-NMR values of eleutheroside E, compared with various lignan compounds

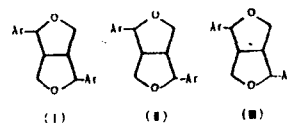
substance	form	1-H, 5-H	2-H, 6-H	4-H, 8-H
eleutheroside E	-	3.19	4.67	4.20~4.32
lirioresinol B	IIIb	3.11	4.73 d(J=4)	4.15~4, 4.5 m (2H), 3.90~4.04 m (2H)
lirioresinol A	I Ib	2.9, 3.3	4.82 d(J=5) 4.41 d(J=7.5)	4.08 m (1H), 3.88 m (2H) 3.2~5 m (1H)
lirioresinol dimethylether	Ia	3.25	4.98 (J=5)	3.63 m (2H), 3.72 m (2H)
eudesmin	IIIc	3.15	4.73 d (J=4)	4.2~4.4 m (2H), 3.8~4.0 m(2H)
epieudesmin	I Ic	2.9, 3.3	4.85 d (J=5.5) 4.45 (J-7)	4.1~4.4 m (1H), 3.7~3.9 m (2H) 3.87~3.90 m (1H)
dieudesmin	Ic	3.15	4.90 d (J=5)	3.65~4.0 m (2H), 3.3~3.65 m (2H)

a : Ar=3,4,5-trimethoxyphenyl
 b : Ar=t-hydroxy-3, 5-dimthoxyphenyl
 C : Ar=3,4-dimethoxyphenyl

**Table VIII**—¹³C-NMR values of various furofuranlignans

substance	from	2-C/6-C	1-C/5-C	4-C/8-C	C-I equ./C-1 "
cudesmin	IIIa	85.77	54.31	71.72	131.411
cpieudesmin	IIa	87.53/81.96	54.44/50.11	70.92/69.64	133.51/130.8
diaeudesmin*	Ia	83.96	49.49	68.75	131.38
sesamin	IIIb	85.61	54.24	71.55	134.93
cpiscsamin	IIb	87.71/82.11	54.76/50.26	71.84/69.70	135.63/132.65
yangambin	IIIc	85.91	54.37	71.96	136.64
pinioresinol	IIId	85.7	53.7	71.31	132.0
eleutheroside E	I Ie	85.1	53.6	71.4	134.1

a : Ar=veratryl-
 b : Ar=piperonyl-
 c : Ar=3, 4, 5-trimethoxy phenyl-
 d : Ar=guajacyl
 e : Ar-4-glucopyranosylsyringyl-



phenyl기를 가진 화합물에서 볼 수 있는 것으로 -O-CH₂-O-의 signal이며 δ 6.75 ppm이 multiplet은 2개의 benzene ring에 의한 signal이며 δ 3.01 ppm의 multiplet은 dioxycyclo octane의 1,5-H, δ 3.83 ppm의 dd와 δ 4.19 ppm의 Multiplet은 4-H, 8-H, δ 4.69 ppm의 doublet은 2, 6-H의 signal이다. MS spectrum에서 m/z 354의 molecular ion peak와 m/z 121이 methylenedioxyphenyl의 fragment ion peak를 관찰하였다. 이상의 제반 spectra data 와 *A-canthopanax sessiliflorum*에서 분리 보고된 *d*-sesamin의 data가 일치하였으며 표준품과의 혼용시험결과 융점강하가 없었으므로 compound II를 *d*-sesamin으로 동정하였다. (Fig. 3)

Compound III는 mp 310°백색의 분말상 결정으로 Lieberman-Burchard 반응에서 양성인 IR spectrum의 3442 cm⁻¹에서 hydroxy기의 흡수, 2932 cm⁻¹에서 aliphatic C-H흡수, 1696 cm⁻¹와 1272 cm⁻¹의 carboxyl기 CO 흡수 등을 관찰했으며, 1461 cm⁻¹에서

CH₂, 1375, 1385 cm⁻¹등에서 methyl을 확인할 수 있다. ¹H-NMR spectrum에서 0.74 ppm, 0.90 ppm, 0.92 ppm, 1.17 ppm에서 7개의 methyl signal과 5.28 ppm에서 trisubstituted olefin에 의한 broad singlet을, 3.19 ppm의 hydroxy signal을, 그리고 1.25 ppm, 1.59 ppm, 1.71 ppm, 1.87 ppm등에서 methylene signal을 확인했다. MS spectrum과 MS fragmentation에서 456(m/z)의 molecular ion peak를 나타냈으며 C-ring이 개열된 m/z 189, 203, 207등의 fragmentation pattern으로 그 위치를 12(13)으로 결정했다.

Compound III는 spectral data와 표준품과 혼용시험 결과 융점 강하가 없었으므로 triterpene인 oleanolic acid로 동정했다.

compound IV - m.p 257~259°C인 백색의 침상 결정으로 SbCl₃시액에 의해 자주색으로 변하고 maule반응 및 anthrone반응에 모두 양성으로 lignan배당체임을 알 수 있었다. IR spectrum의 3379 cm⁻¹에서 aro-

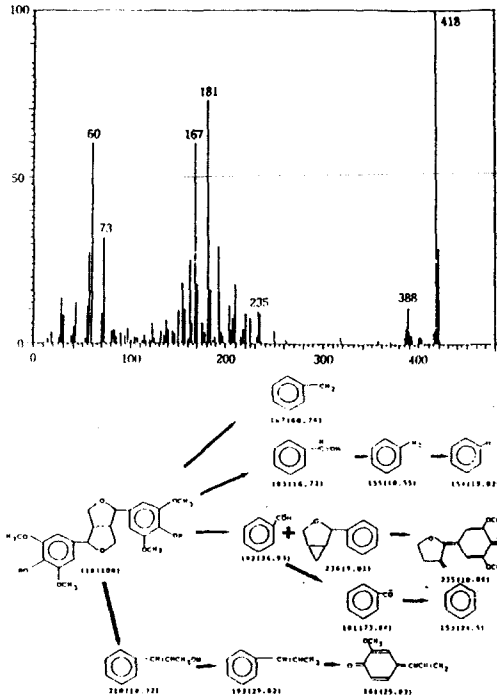


Fig. 4 - MS spectrum & MS fragmentation of eleutheroside E.

matic C=C, 1235 cm⁻¹와 1066 cm⁻¹에서 CO, 815 cm⁻¹에서 phenyl ring등의 흡수대를 관찰하였기에 lignan계 화합물임을 추정 할 수 있었다. ¹H-NMR spectrum의 δ 3.19 ppm에서 1, 5-H, δ 3.76에서 4개의 methoxyl signal, δ 4.23과 4.32에서 3, 8-H, δ 4.66에서 2, 6-H, δ 6.66이 4개의 singlet은 2개의 benzene ring의 signal이었다. ¹³C-NMR spectrum은 34개의 carbon peak대신 17개의 carbon peak를 나타내는 것으로 보아 equatorial-axial의 unsymmetrical configuration은 아니며, Table IV와 V에서 보는바와 같이 여러 isomer type의 lignan과 chemical shift를 비교해 본 결과 diequatorial configuration임을 알 수 있었다. MS spectrum과 MS fragmentation에서 molecular ion peak를 확인할 수는 없었으나 aglycone의 ion peak인 m/z 418을 볼 수 있으며 aryl substituted의 특징적인 fragmentation pattern을 나타내었고 그 pattern이 d-sesamin과 유사했다. 이상의 제반의 spectra data와 문헌에 기재된 것과 일치하였으며 표품 eleutheroside E.와 혼용시험 결과 용점강하가 없는 것으로 보아 compound IV를

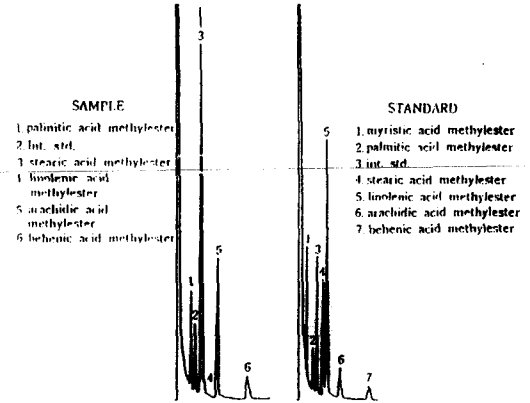


Fig. 5 - Gas Chromatogram of fatty acid methylesters
** int. std. margaric acid methylester.

eleutheroside E.((-) syringaresinol-diglucose)로 확인동정하였다. (Fig. 4)

sterol 및 sesamin - 표품 sesamin, campesterol, stigmasterol 및 beta-sitosterol등과 분리한 sterol alc sesamin을 G.C로 측정하여 유지시간(retention time)을 비교 측정하였을 때 sesamin은 10.05, campesterol은 22.07, stigmasterol은 24.42 그리고 β-sitosterol은 27.12로 나타났다.

Fatty acid - Fig. 5에 보는바와 같이 standard의 7개 peak 중 sample의 peak는 6개로 myristic acid methylester와 int.std인 margaric acid methylester를 제외한 palmitic acid methylester, stearic acid methylester, linolenic acid methylester, arachidic acid methylester, behenic acid methylester등이 함유되어 있는 것으로 추정할 수 있다. 그리고 이 gas chromatogram에서 oleic acid methylester의 peak는 stearic acid methylester의 peak와 중복되어 분리가 불가능했으나 각각의 gas chromatogram에서 분리된 peak를 관찰할 수 있었다. stearic acid methylester의 rt.는 4.03, oleic acid methylester의 rt.는 4.18이었다.

결 론

한국산 개오갈피나무 *Acanthopanax divaricatus* Seem.의 근피, 수피의 성분 및 잎의 성분들의 주성분인 chiiisanoside의 항암활성을 실험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 수피 Et₂O엑스에서 diterpenoid계 물질이며 m. p. 164°C인 pimaric acid(C₂₀H₃₀O₂)를 단리하였다.

2) 수피 Et₂O엑스에서 lignan계 물질이며 m. p. 123~124°C인 *d*-sesamin(C₂₀H₁₈O₆)을 단리하였다.

3) 수피 Et₂O엑스에서 triterpenoid계 saponin이며 m. p. 310°C인 oleanolic acid(C₃₀H₄₈O₃)을 단리하였다.

4) 수피 BuOH엑스에서 lignan glycoside이며 m. P. 257~259°C인 eleutheroside E.(C₃₄H₄₆O₁₈)를 단리하였다.

5) 수피의 sterol의 조성은 beta-sitosterol, stigmasterol, campesterol등이며 lignan계 물질인 sesamin도 동정하였다.

6) 수피의 지방산의 조성은 불포화지방산으로 olic acid linolenic acid 그리고 포화지방산으로 stearic acid, palmitic acid, arachidonic acid 그리고 behenic acid등을 동정하였다.

7) 앞에서 분리된 compound IV및 V는 3, 4-seco-triterpene 이며 m. p. 228°C인 chiisanoside로 동정하였다.

8) MTT assay에 의한 항암활성 및 신독성실험결과 chisanoside의 항암효과는 cisplatin에 비해 조금 낮았지만 신독성실험에서 cisplatin에 비하여 현저히 낮은 수치를 나타내어 향후 더 많은 연구를 통하여 천연물 항암제로 개발 할 가치가 있다고 사려된다.

본 논문은 1994. 6. 경희대학교 연구처 연구비에 의하여 수행되었음.

문헌

- 1) Yook C. S. : Coloured Medicinal Plants of Korea p.376 (1993) Academy, Seoul, Korea
- 2.) Solovera, T. F., Elyakov, G. B. and Kochetkov, N. K. : The glycosides of Eleutherococcus senticosus I. Isolation and some properties of eleutheroside B and E : Khim. Prirodn. Soedin, **1**, 75 (1965).
- 3) Ovodov, Yu. S., Frolova, G. M., Nefedova, M. yu. and Elyakov, G. B. : The glycosides of Eleutherococcus senticosus II. The sturcture of eleutheroside A, B, C and D : Khim. Prirodn. Soedin, **3**, 46 (1967).
- 4) Brekhmann, I. I. and Dardymov, I. V. : Pharmacological investigation of glycosides from Ginseng and Eleutherococcus Lioydia, **32**, 46 (1969).
- 5) Brekhmann, I. I. : Ancient Ginseng and Pharmacology of the future "Nauka" publishers Leningrad through 1st international symposium of gerontology Lugaro, p.91 (1975).
- 6) Khim : Eleutherococcus glycosides on inclusion of labelled phosphorus in m-R. N. A. Veprosy Med. **17**, 267 (1972)(Russ).
- 7) Benzdetko, G. N., Dardymov, I. V., Zilber, M. L. and Rogozkin, V. A. : Effect of Eleutherococcus glycosides on nuclear activity of R. N. A. -polymerase in skeletal muscle and liver after physical load. Veprosy Med. Khimii, **19**, 245 (1973)(Russ)
- 8) Brekhmann, I. I. and Kirrilov, O. I. : Effect of Eleutherococcus on alarm phase of stress. Life Science, **3**, Part 1, 113 (1969).
- 9) Frolova, G. M. and Ovodov, Yu. S. : Triterpene glycosides of the leaves of Eleutherococcus senticosus II, structure of eleutherosides, K. and M. Khim Prirodn. Soedin, **5**, 597 (1971).
- 10) Elyakova, L. A., Dzizenko, A. K. and Elyakov, G. B. : Structure of lignan glycosides from Acanthopanax roots. Doklady. Acad. Nauk, USSR, 165, 562 (1965).
- 11) Elyakova, L. A., Dzizenko, A. K., Sova, U. V. and Elyakov, G. B. : savinin from Acanthopanax sessiliflorum and their NMR spetra. Khim Prirodn. Soedin, **2**, 117 (1966).
- 12) 韓德龍, 金昌種, 金貞姬 : 藥學會誌 **29**, 357 (1985).
- 13) 金榮鎬, 鄭普燮, 金漢柱 : 生藥學會誌 **16**, 151 (1985).
- 14) 鄭普燮, 金榮鎬 : 生藥學會誌 **17**, 62 (1986).
- 15) Chung, B. S. and Kim, Y. H. : Proc. Int. Symp. on New Drug Development from Natural Products, May 2-3, Seoul, Korea, p.19 (1989).
- 16) 장승엽 : 좀가시오갈피나무의 생약학적연구, 박사학위논문 p.19 (1990) 경희대학교.
- 17) Hahn, D. R., Kasai, R., Kim, J. H., Taniyasub, S. and Tanak, O. : A new glycosly ester of a 3, 4-seco-triterpene from Korean medical plant. chem. Pharm. Bull. **32**, 1244 (1984).