

1단계
최종보고서

열대도서생물로부터 생리활성물질 추출 연구

(A study on the isolation of bioactive compounds
from tropical island organisms)

한국해양연구원

교육과학기술부

제 출 문

교육과학기술부장관 귀하

본 보고서를 “열대도서생물로부터 생리활성물질 추출 연구” 과제의 1단계 최종보고서로 제출합니다.

2009 년 10 월 15 일

연구기관명 : 한국해양연구원

연구책임자 : 이 희 승

연구원 : 이 순 길, 신 희 재,
박 흥 식, 강 도 형,
이 연 주, 한 유 리,
이 종 욱, 김 창 권,
홍 사 원

보고서 요약서

과제고유번호	PN64540	해당단계 연구기간	2006.08.01- 2009.10.31	단 계 구 분	1/3
연구사업명	중 사업명	국제공동연구사업			
	세부사업명	지구적 생물다양성 협력네트워크 구축사업			
연구과제명	대 과제명	열대도서생물로부터 생리활성물질 추출 연구			
	세부과제명				
연구책임자	이 희 승	해당단계 참 여 연구원수	총 : 54명 내부 : 20명 외부 : 34명	해당단계 연 구 비	정부 : 500백만원 기업 : 백만원 계 : 500백만원
		총연구기간 참 여 연구원수	총 : 54명 내부 : 20명 외부 : 34명	총연구비	정부 : 500백만원 기업 : 백만원 계 : 500백만원
연구기관명 및 소 속 부 서 명	한국해양연구원 해양바이오연구센터		참여기업명		
국제공동연구	상대국명 :		상대국연구기관명 :		
위 탁 연 구	연구기관명 :		연구책임자 :		
요 약			보고서 면수	60	
<ul style="list-style-type: none"> - 열대도서지역인 마이크로네시아의 측주와 코스레주에 서식하는 식물 311종을 채집 국내 반입하였음 - 열대 도서생물 노니(<i>Morinda citrifolia</i>)로부터 fatty acid glucoside계 화합물 7종을 분리 정제하여 분광학적 자료의 해석으로 화학적 구조를 규명하였음 <ul style="list-style-type: none"> - Fatty acid glucoside계 화합물의 항산화 및 향미생물 효과를 검색하였음 - 열대 도서생물 카바(<i>Piper methysticum</i>)로부터 kavalactone계 화합물 6종을 분리하여 분광학적 자료의 해석으로 화학적 구조를 규명 <ul style="list-style-type: none"> - Kavalactone계 화합물 6종의 항동맥경화 활성을 검색하였음 					
색 인 어 (각 5개 이상)	한 글	열대도서지역, 생물자원, 노니, 카바, 항산화			
	영 어	Tropical Island Region, Biological Resource, Noni, Kava, Antioxidant			

요 약 문

I. 제 목 열대도서생물로부터 생리활성물질 추출 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

- 천연생리활성물질에 대한 연구는 생명공학의 기반기술로서 정밀화학 산업과 생물 산업의 원천이다. 이러한 천연물 연구에 있어서 생물체내에 함유된 이차대사물질의 분리정제 및 구조결정은 모든 고부가가치화 연구를 위한 첫 단계라는 점에서 매우 중요하다. 열대도서지역의 생물은 오랜 기간 외부와 고립 환경에서 진화를 거듭하여 왔으며, 이러한 특징은 해양 및 육상 생물에 고스란히 나타나 있다. 특히 이들 지역의 해양생물 다양성은 육상의 아마존지역에 비교할 만큼 우수하며, 생물자원으로 활용가치가 높은 것으로 알려져 있다. 천연으로부터 생리활성물질을 찾는 노력은 새로운 생물자원의 확보로부터 효율성의 증대를 기대할 수 있으며, 이러한 관점에서 볼 때 열대 도서생물의 확보와 이들의 추출물연구는 유용물질 발굴의 기대를 높인다.

- 열대도서생물로부터 생리활성 천연물을 개발하고자 하는 연구의 일환으로 시도된 본 연구에서는 마이크로네시아의 축주와 코스래주로부터 열대도서생물 311종이 채집되어 국내 반입되었으며, 이들 중에서 현지인들이 약용으로 사용하는 2종의 생물로부터 생리활성물질을 분리, 정제하여 그 실체를 규명하는 것을 목적으로 하였다.

III. 연구개발 내용 및 범위

- 열대도서생물 확보.
- 선정된 시료로부터 활성물질을 추출.
- 다양한 분획기법과 크로마토그래피로 물질을 분리, 정제.
- 다양한 분광기법과 유기반응을 종합하여 천연물의 화학적 구조를 규명.
- 구조가 규명된 천연물의 항산화, 항미생물활성 및 기타 생리활성을 검색.
- 천연물의 생리활성 기작과 구조와 활성간의 상관관계 파악.

IV. 연구개발 결과

- 열대도서지역에 서식하는 식물 311종을 채집, 국내 반입
- 열대 도서생물 노니(*Morinda citrifolia*)로부터 fatty acid glucoside계 화합물 7종을 분리 정제하여 분광학적 자료의 해석으로 화학적 구조를 규명
- 열대 도서생물 카마(*Piper methysticum*)로부터 kavalactone계 화합물 5종 및 chalcone계 화합물 1종을 분리하여 분광학적 자료의 해석으로 화학적 구조를 규명
- 구조가 동정된 천연물에 대하여 항산화, 항미생물 활성 및 항동맥경화 활성을 검색

V. 연구개발 결과의 활용계획

- 본 연구로 구조가 확인된 천연물은 향후 천연물 유래 신약개발 연구를 위한 소재로 활용
- 본 연구로 개발된 천연물의 효과적인 분리정제 및 구조 결정 기술은 천연물 관련 제반 연구를 위한 기반 기술로 광범위하게 활용.

SUMMARY

In the research of natural products for industrial development, chemical investigation of metabolites, which includes the isolation and structure determination of bioactive compounds, is one of the most preliminary and essential parts of advanced and/or applied research. The organisms in South Pacific island have been developed under isolated environment to exhibit the particular features. In this study, tropical island organisms and their extracts will be prepared in the actual local areas and carried into Korea.

As a part of research on the development of bioactive compounds from tropical island organisms, this study has been focussed on bioactive, preferably antioxidative metabolites from tropical sponges. In this study, seven fatty acid glucosides were isolated from the tropical plant Noni (*Morinda citrifolia*). In addition, five kavalactones and a substituted chalcone were isolated from Kava (*Piper methysticum*). The structures of these compounds were identified by combined spectroscopic methods. The preliminary bioactivity test showed moderate antioxidant activity. The isolated metabolite are evaluated to have potential to be developed as new leads for industrial development.

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요	1
제 1 절	연구개발의 목적 및 필요성	1
제 2 절	연구개발의 범위	1
제 2 장	국내외 기술개발 현황 및 과학기술정보	2
제 1 절	외국의 생물자원 확보와 이용	2
제 2 절	국내의 생물자원 연구동향	2
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	3
제 1 절	열대도서지역으로부터 식물시료 확보	3
제 2 절	열대식물 노니로부터 생리활성물질 분리	26
제 3 절	열대식물 카바로부터 생리활성물질 분리	46
제 4 장	연구개발 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	57
제 5 장	연구개발결과의 활용계획	58
제 6 장	참고문헌	59

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성

도서생물지리설에 의하면, 도서생물의 특징은 섬의 위치와 규모에 의해 생물종 다양성이 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 본 연구의 대상지역인 마이크로네시아는 대표적인 열대도서 지역으로 이 지역의 생물은 오랜 기간 외부와 고립 환경에서 진화를 거듭하여 왔으며, 이러한 특징은 해양 및 육상 생물에 고스란히 나타나 있다. 특히 이들 지역의 해양생물 다양성은 육상의 아마존지역에 비교할 만큼 우수하며, 생물자원으로 활용가치가 높은 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 열대 도서지역의 다양한 환경으로부터 생물을 확보하고 국내 반입하여, 생명공학의 연구재료로 사용할 수 있도록 연구기반을 조성함과 동시에 주요 생물종을 화학적으로 분석하여 생리활성 물질을 확보하고자 하였다.

천연생리활성물질에 대한 연구는 생명공학의 기반기술로서 정밀화학 산업과 생물 산업의 원천이다. 이러한 천연물 연구에 있어서 생물체내에 함유된 이차대사물질에 대한 분리정제 및 구조결정은 모든 고부가가치화 연구를 위한 첫 단계라는 점에서 매우 중요하다. 천연으로부터 생리활성물질을 찾는 노력은 새로운 생물자원의 확보로부터 효율성의 증대를 기대할 수 있으며, 이러한 관점에서 볼 때 열대 도서생물의 확보와 이들의 추출물연구는 유용물질 발굴의 기대를 높인다. 이러한 측면에서 열대도서생물로부터 생리활성 천연물을 개발하고자 하는 연구의 일환으로 시도된 본 연구에서는 마이크로네시아의 축주와 코스래주로부터 열대도서생물이 채집되어 국내 반입되었으며, 이들 중에서 현지인들이 약용으로 사용하는 생물로부터 생리활성물질을 분리, 정제하여 그 실체를 규명하는 것을 목적으로 하였다.

제 2 절 연구개발의 범위

본 연구과제의 범위는 열대 도서생물의 확보와 선정된 대상 생물에 대한 천연물 화학적 연구의 제반 과정을 포함하고 있다.

연구의 내용을 분류하면,

- 1) 열대 도서생물의 채집, 국내 반입
- 2) 선정된 시료로부터 유기물질을 추출
- 3) 활성천연물이 농축된 분획의 확보
- 4) 다양한 크로마토그래피 기법을 활용한 천연물의 분리정제
- 5) 핵자기공명, 질량분석 등 분광학적 자료와 유기반응을 이용한 천연물의 구조결정
- 6) 생리활성을 체계적으로 검색
- 7) 천연물의 화학적 구조와 생리활성 검색 결과를 바탕으로 향후 응용연구를 위한 소재와 생물정보 확보

로 나눌 수 있다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황 및 과학기술정보

제 1 절 외국의 생물자원 확보와 이용

미국은 국립암연구소(NCI)를 통해 1960년부터 세계 각지로부터 생물자원을 확보하고 있으며, 2008년 현재 약 75,000종의 생물자원과 200,000종의 추출물을 확보하고 있는 것으로 알려져 있다. 이들 추출물을 대상으로 Antitumor, Anti-HIV, Molecular Targeted Screening 등의 기초 Screening을 수행하여 생리활성 물질 확보를 위한 연구대상 생물을 선정하고 있고 제약기업을 참여시켜 천연물질의 성분 분석, 이용에 초점을 맞춘 응용연구에 집중하고 있다. NCI는 이러한 일련의 연구를 통해 Organism Library, Compound Library, Microorganism Library 등 세 종류의 Library를 구축하여 실질적인 생명공학 연구의 기반을 제공하고 있다.

해양생물분야에 있어서도 생물자원의 확보를 위한 선진 각국의 연구는 시간이 지날수록 더욱 활발한 양상을 보이고 있다. 미국의 국립 심해과학연구소(NIUST, National Institute for Undersea Science & Technology)는 NOAA의 심해연구 프로그램(NOAA's Undersea Research Program, NURP)과 연계하여 2002년에 설립되었으며, 하와이, 알래스카, 푸에르토리코, 괌, 사이판, 사모아 등지에서 채집한 해양 생물자원으로부터 약 2천 점의 추출물 बैं크(bank)를 만들어 산업화의 기반을 구축하였다.

러시아 태평양생유기화학연구소 PIBOC(Pacific Institute of Bioorganic Chemistry)는 1964년 Marine Research Station을 설치하여 해양생물 연구를 시작하였고, 1980년대 초부터 연구조사선을 이용하여 해외 해양생물의 채집과 이용연구를 수행하고 있다. PIBOC는 지난 30여 년간 호주, 베트남, 마다가스카라, 앙골라 등 열대 해역을 중심으로 해양 무척추동물 5,800여종을 채집하여 냉동보관하고 있으며, 2007년 베트남, 2008년에는 캄차카 인근해역에서 대규모 해양생물 채집활동을 전개한 바 있다. 이들의 주요 연구분야는 생리활성물질의 화학구조와 생물학적 기능, 해양생물유래 효소공학, 해양 미생물학, 해양생명공학 등이 있으며 기초연구를 통한 산업적 이용에 역량을 집중하는 것으로 알려져 있다.

일본은 팔라우의 해외기지와 JICA(Japan International Cooperation Agency) 활동을 통해 해외 해양생물자원 수집사업을 전개하고 있으며, 해양생물자원이 풍부한 필리핀, 인도네시아 등 개발도상국과 해양 생물자원 공동조사사업을 통해 해외 해양생물자원 확보하고 있다.

제 2 절 국내의 생물자원 연구동향

우리나라에서도 생명공학연구의 프론티어 사업인 자생식물이용 기술개발 사업 외에 서울대학교 천연물과학연구소는 4,000 여종의 자생식물에 대한 데이터베이스 구축하였으며, 산림청 국립수목원은 국내외 유용식물자원 탐사 및 수집 연구를 2001년부터 10년간 수행하고 있다.

한편, 한국화학연구원은 화합물은행을 구축하여 국내외에서 생산된 화합물 15만종이상을 확보하였고, 신약개발 등 생명산업의 핵심적인 자원으로 이용하고 있다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 열대 도서지역으로부터 식물시료 확보

1. 연구의 배경

세계 전체 면적의 7%를 차지하고 있는 열대우림은 우리가 잘 알고 있는 대부분의 식물의 반을 가지고 있는 만큼 식물 자원의 양이 풍부하다. 전문가들은 약 5km의 평방에 1500종 이상의 꽃식물과 750종 이상의 나무가 존재한다고 예측한다.

열대 지역의 식물은 연간 평균기온이 20~28℃로 연간기온의 교차가 적은 지역에 생육하고 있는 식물로 적도를 중심으로 남북 20° 이내에 존재하며 열대우림, 우륵림, 사바나, 사막 등으로 불리는 지대에서 볼 수 있다. 열대우림은 위에서 언급 했듯이 대단히 많은 식물종이 있으며, 그 중 가장 많은 종을 가지고 있는 것은 거대한 상록 활엽수이고, 이 외에도 목생인 양치 식물류, 덩굴식물, 착생식물 등이 많은 특수한 경관을 나타낸다. 잎 몸의 끝이 꼬리 모양으로 구부러져서 잎 끝이 뾰족하거나 줄기에 직접 꽃이 붙은 줄기 꽃, 뿌리의 기부가 지주같이 발달한 나무관자로 된 뿌리 등이 열대 식물의 특징이다.

열대 지역에 서식하고 있는 종 가운데에는 나무높이가 60m 이상 되는 수종도 있어 일반적으로 종류의 조성은 다양하다. 1ha 당 평균 수종이 40종에 달하며, 100종에 달하는 곳도 많이 있다. 눈은 난대나 온대의 식물과 같이 보호하는 눈비늘이 없고 잎도 털이 없으며, 광택이 나는 다육(多肉)의 것이 많다.

이런 열대식물들은 경제적으로 유용한 식물들이 많다. 이 식물들은 원산지에서 생산되어 이용도 되지만 멀리 떨어진 다른 열대지역에 도입되어 오히려 원산지를 능가하는 것들도 많다. 특히 남아프리카 원산의 열대 식물들에 그 예가 많다. 파라고무나무는 브라질 원산이지만 지금은 자바나 말레이시아가 주요산지이다. 키니네의 원료가 되는 식물은 남아메리카의 안데스 산맥 고지가 원산이지만 원산지에서는 거의 절멸했고, 자바에서 전 세계 총생산량의 90%를 차지하고 있다. 이러한 열대 식물 중, 재목용으로 티크, 마호가니, 고무는 고무나무, 구타페르카나무가 있고, 향신료로 쓰이는 후추, 과실로서는 파인애플, 바나나, 망고, 파타야, 팡나누, 듀리언 등이 있다. 관상용으로는 온실에서 재배하는 야자나무류, 인도고무, 삼도일엽, 선인장류, 네펜더스, 연꽃 등이 있다.

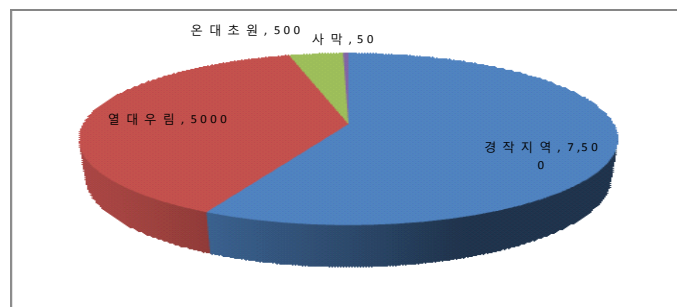


Figure 1. 열대 우림 지역의 식물 생산성

또한 많은 열대 식물들이 약용으로 사용되고 있다. 열대 식물의 약효 효능은 2차 세계 대전 이후에 많은 국가와 제약회사의 관심을 가지게 만들었으며, 지금까지도 많은 국가와 기업들이 열대 지역에 진출하여 더 많은 약용 식물을 발견하고 그들의 제약적 가치를 높여가고 있다. 약용으로 쓰이고 있는 열대 식물 중에서 가장 대표적인 것은 인도네시아 자바 섬 부근에 있는 Noni 나무이다. Noni 나무는 남태평양의 열대 화산지역에서 자생하는 다년생 수목으로 학명은 '*Morina citrifolia*'이다. 남태평양의 광범위한 화산지역에 자생하고 있는 Noni는 수 천년에 걸쳐 영약으로, 기근 시에는 아주 중요한 구황식품으로 요긴하게 사용되어져 왔다. Noni의 효능으로는 열매, 꽃, 나무, 껍질, 잎 등이 눈을 밝게 해주고, 상처, 종기, 잇몸, 목, 호흡기, 변비, 열등을 다스리는 약재로 쓰였으며, 그 외에 강장제, 위장병과 산후조리, 관절염, 천식, 성병 치료뿐만 아니라 심지어는 샴푸로까지 쓰였다. 그 외에도 흔히 Kava라 불리는 '*Piper methysticum*'은 스트레스와 불면증, 불안감에 효과를 가지고 있다. 이외에도 다양한 식물들이 약용으로 쓰이고 있다. 전 세계적으로 처방되어 팔리고 있는 약 120종의 약품이 열대식물에서 추출 또는 거기서 유래한 유도체들로 구성되어 있을 정도이다. 미국 국립암센터(U.S. National Cancer Institute)에서는 항암물질의 2/3가 열대 식물에서 온 것이라고 한다. 또한 열대 식물에서 분리된 몇 개의 화합물은 말라리아, 심장병, 기관지염, 고혈압, 류머티즘, 당뇨병, 근육통, 관절염, 녹내장, 이질과 결핵 등의 치료제로 개발되고 있다.

이와 같이 열대 지역의 식물은 경제적 또는 약용으로 많은 가치를 가지고 있으며, 무한한 잠재력이 있다고 생각한다. 우리는 이와 같은 자원을 다른 나라들 보다 먼저 선점하기 위하여 열대 도서 지역 중의 한 곳인 마이크로네시아의 축주와 코스래 주에서 육상 식물을 확보하게 되었다.

2. 열대 도서 지역

(1) 태평양 도서 국가

태평양 도서 국가는 총 14개의 국가로 구성되어 있으며, 3천만 km² 면적의 98%가 대양으로 구성되어 있다. 영토 면적은 550,000km² 면적으로서 총 면적의 0.41%를 차지하고 있다. 국가는 크게 멜라네시아, 폴리네시아, 마이크로네시아로 구분하고 있으며, 대략 7,500개의 섬으로 구성되어 있다. (2002, USGS) 인구는 820만 명이 500여개의 섬에서 거주하고 있는데, (2004년 기준) 이는 전 세계 총 인구의 0.1%를 차지한다. 산업 구조는 광물, 삼림, 농수산물을 수출하고 공산품과 에너지를 수입하는 구조이나 경제 원조로 거의 유지 되고 있다.

(2) 마이크로네시아 연방

마이크로네시아는 '작은 섬들'이라는 뜻으로 북서태평양상의 필리핀에서 하와이에 이르기 까지 있는 2,203개의 작은 섬들을 말한다. 마이크로네시아 연방공화국은 압, 축, 폰페이, 코스래

4개의 주로 구성되어 있으며 80여개의 환초로 이루어져 있다. 면적은 701.4 km² 이며, 인구는 약 15만명이다. 언km2영어와 현 k를 쓰며, 정치 체제는 연방 공화국제이다. 관광, 농업 (코코넛, 바나나 등), 수산업이 주된 산업이나 농업생산력 미비로 식량을 대부분 수입에 의존하며, 화폐 경제와 전통적 자급경제가 혼존하고 있다. 제조업 및 기술부일존하며식료, 생필품 등을 대부분 수입에 의존하는 만성적인 무역적자국으로 미국, 일본이 주 교역국이다. 높은 실업률과 미국에 대한 과도한 의존 등이 문제로 지적되고 있다.

지역 구분	국가명	독립시기	언어(토착어)	인구	EEZ면적(km ²)
멜라네시아	파푸아뉴기니	1975	영어(850)	4,705,126	1,695,200
	피지	1970	영어(5)	812,918	1,034,700
	바누아트	1980	영/불(108)	189,036	735,895
	솔로몬	1978	영어(88)	455,429	1,340,100
폴리네시아	사모아	1962	영어(1)	229,979	100,290
	통가	미국령	영어(1)	109,082	640,050
	쿡제도	1965	영어(2)	20,200	1,916,200
	투발루	1978	영어(1)	10,588	725,000
	나우에	1975	영어(1)	2,103	293,953
	나우루	1968	영어(1)	10,605	326,000
	키리바티	1979	영어(?)	85,501	3,540,000
마이크로네시아	마이크로네시아	1986	영어(5)	131,500	2,900,000
	마셜공화국	1979	영어(1)	65,507	2,131,000
	팔라우	1994	영어(1)	20,016	343,251

Table 1. 태평양 도서 국가 정보

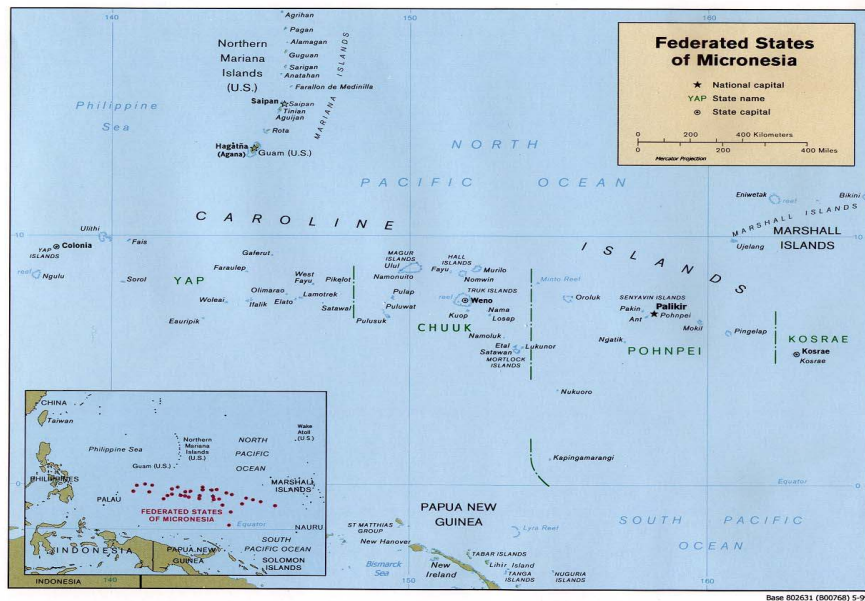


Figure 2. 마이크로네시아 연방 공화국

(3) 마이크로네시아 축(Chuuk)주

축은 캐롤라인 (Caroline) 제도의 한 부분으로 환초내부는 화산 11개를 포함한 15개의 주요 섬과 14개의 외각 환초제도를 포함한 80여개의 작은 섬들로 구성 되어 있다. 환초 외부는 192개의 작은 외각섬으로 구성되어 있으며, 총 290여개의 섬들로 구성되어 있다. 축주의 주요 부분은 Chuuk Lagoon 으로 환초 내부의 15개 주요 섬의 면적이 72km²이고, 라군의 면적은 2,000km²이며, 최장 64km 폭의 라군으로 이루어져 있으며 세계 최장 224km의 원형 환초로 유지되고 있다. 육지 면적은 128km²이고, 주요 섬으로는 웨노(Weno), 토노아스(Tonoas), 우만(Uman), 페판(Fefan) 등이 있다. 인구는 53,000명으로 마이크로네시아 연방 공화국 중에서도 가장 많은 수를 차지하고 있다. 종교는 기독교이며, 언어는 영어와 지역언어를 같이 사용하고 있다. 국민소득은 1930불이며, 주요 산업으로는 참치어업 입어료와 다이빙 관광 수입이 있다. 경제 체제는 역시 미국원조 및 수입에 의존하는 문제점을 가지고 있다.

(4) 마이크로네시아 코스래(Kosrae)주

코스래는 캐롤라인 섬 제도의 동쪽 끝에 있는 섬으로 43.2 km² 크기의 마이크로네시아에서 두 번째로 큰 섬이다. 고대 시대의 화산 활동으로 섬 내부 지역의 70퍼센트가 가파른 능선과 산꼭대기 그리고 계곡으로 이루어졌다. 이 자연 상태의 고지는 많은 종의 희귀 식물과 동물의 서식지인 열대 우림으로 덮여있다. 뾰뾰한 밀림은 해안 내부로부터 경사가 진 매우 기름진 땅을 점유하고 있다. 맹그로브 숲의 광대한 지역은 코스래를 둘러싸고 있는 아름다운 산호초를 유지한다. 코스래주는 지리학적으로 그리고 행정상으로 Lelu, Malem, Tafunsak 과 Utwe 등 4개의 지방자치구로 나누어진다. 인구는 7,517명이며, 종교는 기독교이다. 언어는 영어와 지역언어를 같이 쓰고 있다. 1인당 국민소득은 1,963불로 추정되며, 주요 산업으로는 해양 자원, 관광, 농업 그리고 작은 규모의 주택 사업이 있다. 코스래도 역시 미국 원조 및 수입에 의존하는 한계점을 가지고 있다.

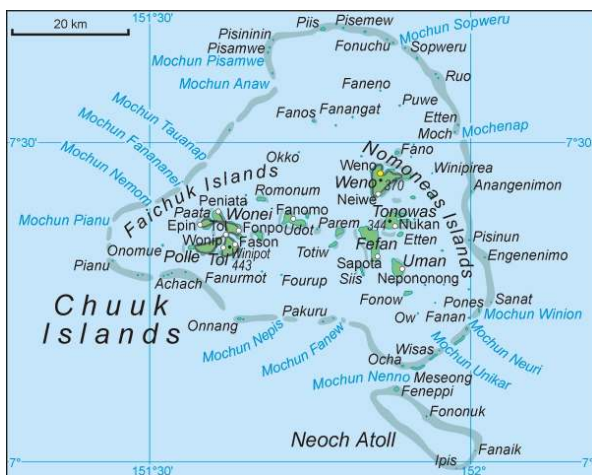


Figure 3. 마이크로네시아 연방 축(Chuuk)주



Figure 4. 마이크로네시아 연방 코스래(Kosrae)주

3. 열대 도서 지역에서의 식물 채집

(1) 축(Chuuck)주 1차 채집(2007)

1) 채집 장소 : 마이크로네시아 축주, 웨노섬 (FSM, Chuuk, Weno island) (Appendix-figure 5 참조)

2) 육상 식물 채집 목록

번호	샘플번호	현지 이름	부위	사용	무게
1	07Ch-P101	manow		약(관절 및 목젓)	
2	07Ch-P102	nior		약(상처치료, 두통)	
3	07Ch-P103	pwanang		약 및 향수로 사용	
4	07Ch-P104	ruke		파티에 장식으로 사용	
5	07Ch-P105	anes		약 및 스프에 향신료로 사용	
6	07Ch-P106	chichi		약(상처 치료)	
7	07Ch-P107	nlkameur		약(두통, 우울증, 식욕 촉진제)	
8	07Ch-P108	tapioka		잎만 약으로 사용. 약은 전신용	
9	07Ch-P109	nuk		약	
10	07Ch-P110	upp		현지 담배잎, 물고기 잡을때 사용	
11	07Ch-P111	nopwur		약	
12	07Ch-P112	futaw		약(관절 및 목젓)	
13	07Ch-P113	apwereka			
14	07Ch-P114	tiin(brown)		약	
15	07Ch-P115	fetin-niap			
16	07CH-P116	chapar	잎,줄기		325.7g
17	07CH-P117	fetin-niap		음식할 때 사용	
18	07CH-P118	sakura		귀과개	
19	07CH-P119				
20	07CH-P120	kakauo		약(피부)	
21	07CH-P121	awen		약(목에 가시가 걸렸을 때)	
22	07CH-P122				
23	07CH-P123	tunun		약(로션처럼 사용)	
24	07CH-P124	kuchun			
25	a1		잎		387g

			줄기		178.6g
26	a2	manow	잎		514.2g
27	a3	sinife	잎	약(상체의 뼈에 효과)	486.3g
			줄기		305g
28	a4	tub	잎		403g
			줄기		240.9g
29	a5		잎	약(내장 기관)	274.9g
			줄기		209.3g
30	a6	nikeket	잎		195g
			줄기		574g
31	a7		잎		373g
32	a8	anes	잎		222g
			줄기		200.9g
33	b1	nior			
34	c1	net	잎	약(눈병)	531.5g
			줄기		576g
35	c2	engy	잎, 줄기		1019g
36	c3	fach	잎	약(생리통)	864.6g
			줄기		581.9g
37	c4	amonoset	잎	약(호흡기가 안 좋을때)	539.6g
38	c5	as	잎	약(허리근육 & 심장)	258.4g
			줄기		849.2g
39	c6	akuran	잎	약(골반)	777.3g
40	c7	nopwur	잎		885.7g
41	c8	chichi	잎	약(상처 치료)	989.6g
			뿌리		740.3g
42	c9	nuk			342.3g
43	c10	anne	잎	약	346.5g
			줄기		93g
44	c11	onuw	잎	약(눈병)	443.2g
45	d1	puropun	잎	약(소아들에게 사용)	753.2g
			줄기		693.8g
46	d2	rukuruk	잎	약	304.5g
			줄기, 뿌리		235.3g

47	d3	sun-flower		외래 종 - 꾀	1203.8g
48	d4	apuchi	잎, 줄기	약(두통)	905.3g
49	d5	finanu	잎		102.1g
			줄기		270.3g
50	d6	bene	잎		152.9g
			줄기		583.4g
51	d7	rekich	잎	약(전신)	1002.63g
52	d8	sinser			
53	d9	kun	잎	약(아기들에게 사용)	808.4g
54	sonneratia alba		잎		722.4g
			줄기		556.2g
55	d10	amarew		관상용	128.9g
56	d16	asas		약	383g
57	d17	auw	잎	약	751.2g
58	e1				
59	e2	ususu	잎, 줄기	약	753.8g
60	07CH-P602	chapar	잎		656.2g
61	07CH-P604	seeup	줄기	약	142g
62	07CH-P605		플	요리	854.2g
63	Red Mangrove		잎	환경 정화	845.1g
64	Black Mangrove		잎	환경 정화	399.4g
65	07CH-P611	tiin(blue)	잎	약	761g
66	07CH-P612	feriam	잎	과일은 식용	683g
			줄기		153g
67	07CH-P613		잎	약 더러워 진 피를 맑게 해줌)	831.9g
68	07CH-P614	john	잎, 줄기	약 혈액 관련)	541.9g
69	07CH-P615	yosep	잎	약	666.2g
			줄기		205.9g
70	07CH-P616	muchnoki	잎, 줄기	모기향	1153.6g
71	07CH-P617		잎		1361.6g
72	잘피		줄기, 뿌리	환경 정화	821.6g

(2) 축(Chuuck)주 2차 채집(2007)

1) 채집 장소 : 마이크로네시아 축주, 웨노섬 (FSM, Chuuk, Weno island) (Appendix-figure 6 참조 참조), 마이크로네시아 축주, 듀블론섬 (FSM, Chuuk, Dublon island) (Appendix - Figure 7 참조)

2) 육상 식물 채집 목록

번호	샘플 번호	현지이름	효능	채집장소	무게(g)
1	07CH-PD01	izinpoku	조경수	Dublon	341.4
2	07CH-PW01		medicine	Weno	739.5
3	07CH-PW02			Weno	612.4
4	07CH-PW03	tagantagan	medicine(leg parts, cook & drink)	Weno	728.8
5	07CH-PW04			Weno	452.1
6	07CH-PW05	annebuke	medicine & decoration	Weno	382
7	07CH-PW06	aragot	medicine	Weno	350.6
8	07CH-PD02		조경수	Dublon	1027.2
9	07CH-PD03	aset	대나무	Dublon	647.6
10	07CH-PD04	hoho	대나무	Dublon	811.1
11	07CH-PD05	anibut	medicine(혈액을 맑게 해줌)	Dublon	619.9
12	07CH-PD06	antor	medicine(감기나 폐렴에 사용)	Dublon	375.3
13	07CH-PD07	sinser	perfume	Dublon	883.9
14	07CH-PD08	ice	medine(기억상실)	Dublon	380
15	07CH-PD09	nikarous	medicine	Dublon	854.6
16	07CH-PD10	jjaebaeng	medicine(심장을 빠르게 뛰게 만듦)	Dublon	716.8
17	07CH-PD11			Dublon	545.8
18	07CH-PD12			Dublon	532.7
19	07CH-PD13	dick	medicine	Dublon	482
20	07CH-PW07	sashap	eat	Weno	784.9
21	07CH-PN01	azukii	eat & 식용색소	Weno	951
22	07CH-PN02	potato	eat	Weno	1379
23	07CH-PN03	lime	eat(fruit), 잎을 먹게 되면 사람	Weno	898.2

24	07CH-PN04			Weno	1130.2
25	07CH-PN05	ot	eat(root)	Weno	321
26	07CH-PN06	kat	eat(root)	Weno	647.3
27	07CH-PN07	warawan	씹는 담배를 싸는데 이용	Weno	935.8
28	07CH-PN08	sedan	medicine(drink)	Weno	438
29	07CH-PN09			Weno	1366.2
30	07CH-PN10	soup	perfume	Weno	1037.3
31	07CH-PN11	pinuts	eating make a soup	Weno	749.9

(3) 축(Chuuck)주 3차 채집(2008)

1) 채집 장소 : 마이크로네시아 축주, 웨노섬 (FSM, Chuuk, Weno island) (Appendix-figure 8 참조), 마이크로네시아 축주, 듀블론섬 (FSM, Chuuk, Dublon island) (Appendix-figure 9 참조)

2) 육상 식물 채집 목록

번호	샘플 번호	현지이름	효능	채집장소	무게(g)
1	08CHD-P201			Dublon	471.7g
2	08CHD-P202			Dublon	224g
3	08CHD-P203		약(스크래치)	Dublon	
4	08CHN-P204	siabu		Nugarap	436.6g
5	08CHN-P205	nikaku		Nugarap	696g
6	08CHN-P206		들꽃	Nugarap	505.4g
7	08CHN-P207	arorisi	강아지풀	Nugarap	614.8g
8	08CHN-P208			Nugarap	494.8g
9	08CHN-P209			Nugarap	399.7g
10	08CHD-P210	raos	무궁화처럼 생김	Dublon	578.5g
11	08CHD-P211			Dublon	260.8g
12	08CHD-P212	amros	약	Dublon	430.8g
13	08CHW-P213			Dublon	543g

14	08CHD-P214			Dublon	461.1g
15	08CHD-P215	abou		Dublon	538.7g
16	08CHD-P216잎	kartenia		Dublon	403g
	08CHD-P216줄기			330g	
17	08CHD-P217	aziz	들꽃	Dublon	204.7g
18	08CHD-P218	zi	들꽃	Dublon	224.6g
19	08CHD-P219	agb	들꽃	Dublon	345.5g
20	08CHD-P220			Dublon	359.5g
21	08CHD-P221잎	atuic		Dublon	250.9g
	08CHD-P221줄기			153.5g	
22	08CHD-P222	saipan	사이판에서 들어옴	Dublon	461.3g
23	08CHD-P223	perti		Dublon	454.2g
24	08CHD-P224	japanros	일본에서 들어옴	Dublon	505.2g
25	08CHW-P225잎	mango	망고	Weno	512.2g
	08CHW-P225줄기				629.7g
26	08CHW-P226잎	amweses	약	Weno	453.8
	08CHW-P226줄기				336.5g
27	08CHW-P227	sier	관상용	Weno	234.1g
28	08CHD-P228	pataya		Weno	467.5g
29	08CHD-P229	saan	바나나	Weno	372.7g
30	08CHW-P230	fisi	바나나	Weno	412.5g
31	08CHW-P231	taiwan	바나나	Weno	406.1g
32	07CH-PD01	izinpoku	조경수	Dublon	
33	07CH-PN01	azukii	식용색소	Nugarap	
34	07CH-PN03	lime	식용	Nugarap	
35	07CH-PW07	sashap	식용	Weno	
36	07CH-PN07	warawan	씹는 담배를 싸는데 이용	Nugarap	

(4) 코스래(Kosrae)주 1차 채집(2008)

1) 채집 장소 : 마이크로네시아 코스래섬 (FSM, Kosrae island)

2) 육상 식물 채집 목록

번호	샘플 번호	현지이름	부위	효능	무게(g)
1	K1		leaf		471.7g
2	K2		leaf		224g
3	K3		leaf		
4	K3-2		stem		436.6g
5	K5	Lo	leaf	복통, 피부 상처	696g
6	K5-2		bark		505.4g
7	K7		leaf		614.8g
8	K8		leaf		494.8g
9	K9		leaf		399.7g
10	K10	yellow ang	leaf	생강과 비슷함	578.5g
11	K11		leaf		260.8g
12	K12		leaf		430.8g
13	K13		leaf		543g
14	K16	Saka Sakau	leaf	두통, 마취용	461.1g
15	K16-2		root		538.7g
16	K16-3		stem		855
17	K18		leaf	피부 상처	365
18	K21	Giup	leaf		780
19	K21-2		root		150
20	K21-3		stem		1500
21	K22	Sruhsruhn	leaf	약	310
22	K22-2		bark		215
23	K23	Coconut root	root	피부상처	500
24	K24	Hibicus	leaf	피부	40
25	K26	Sraseng	leaf	복통	250

26	K28	Fienkek	leaf	두통	275
27	K29	Ang	leaf		285
28	K29-2		root		35
29	K30	Pane	leaf		370
30	K31	Yosep	leaf		580
31	K31-2		stem		275
32	k32	Kengal	leaf		265
33	K33		leaf		915
34	K33-2		root		470
35	K34	Masring	leaf	생선에 물린 상처	130
36	K35	Rosfinol	leaf		420
37	K36	Rosimine	leaf	피부 상처	480
38	K37	Maskak	leaf		115
39	K38	Sratol	leaf	피부 종양	215
40	K39	Alkoros	leaf		155
41	K39-2		stem		2175
42	K40	Ros rang rang inima	leaf	피부 상처	255
43	K41	Ka	leaf		290
44	K42	Kalsru	leaf	피부 상처	570
45	K43	Mwetkem	leaf		320
46	K44	Mafalfal	leaf		135
47	K51	Fokunnes	young leaf	복통, 기침	465
48	K52	Tok	leaf	차	710
49	K53	Ingingkel	root	감미료	430
50	K54		stem	기침, 천식	420
51	K55		leaf	신장 질환	250
52	K56	Oa	leaf	두통	300
53	K57		leaf	화상	155
54	K58		leaf	복통	30

55	K59		leaf		120
56	K60		leaf		160
57	K61		leaf		275
58	K62		leaf	피부염	465
59	K63		leaf		245
60	K64		leaf		160
61	K65		leaf	비둘기에 쪼인 상처	145
62	K67		leaf		270
63	K68		leaf	피부염	150
64	K69		leaf	독	155
65	K70		bark		100
66	K71		leaf		380
67	K71-2		stem		270
68	K71-3		bark		500

(5) 코스래 (Kosrae) 주 2차 채집(2008)

- 1) 채집 장소 : 마이크로네시아 코스래섬 (FSM, Kosrae island)
- 2) 육상 식물 채집 목록

번호	현지이름	학명	채집 장소	특징
1			Okat(Meluh,Tafunsak)	앞에서 흰액이 나옴,
2			Okat(Inkah,Tafunsak)	앞에서 흰액이 나옴,
3			Okat(Inkah,Tafunsak)	
4			Okat(Inkah,Tafunsak)	
5			Okat(Inkah,Tafunsak)	
6			Okat(Inkah,Tafunsak)	여러 가지 약재로 사용, 차용, 바름
7	Mah fusracsr	Cammelina Diffusr	Tafunsak(Kemweun)	피부상처 난데 바름, 알코올 또는 코브라와 섞어 사용
8			Tafunsak(Srupunyot)	꽃을 빵아 머리에 바름(Gel), 두통
9	Srahl		Tafunsak(Sroampal)	Insect Bite(모기 외)

10	Kacwahk		Tafunsak(Sroampal)	감기약재, 잎을 끓여 마시고 냄새 맡음
11	Kwemkwem		Tafunsak(Kupyac)	설사약, 간약, 배아픔, 작은 잎 따서 먹음
12	Mah keng		Lelu(Insrefusr)	피부병, 고혈압, 당뇨, 고기 넣고 요리 재료
13	Sahk pahl		Lelu(Pukusrik)	모발 약재, 잎과 코브라 섞어 바름
14	Alko	Commersonia bartramia	Lelu(Pukusrik)	설사병, 빵아 물과 섞어 마심
15	Ma kwekwe		Lelu(Pukusrik)	womp cure, 산후 조리 등
16	Turian		Lelu(Pukusrik)	과일
17			Lelu(Pukusrik)	
18	SRA KITO FAMILY		Lelu(Pukusrik)	일부가정에서 약재로 사용
19	Sack Fuhlact		Lelu(Pukusrik)	Um 사용 시 넣음, 단맛이 남
20	ELOT		Lelu(Pukusrik)	피부에 닿으면 간지럽다.
21			Lelu(Pukusrik)	
22	Ma keng okah	Polygala pauiculata	Tafunsak(Wasr wasr)	뿌리가 향기롭다
23			Tafunsak(Wasr wasr)	부인 약재로 사용
24	KURAK		Tafunsak(Wasr wasr)	배앓이, 열매를 삶거나 Um
25	WILD WOOD		Tafunsak(Wasr wasr)	돼지 사료로 사용
26	TENORAK		Tafunsak(Wasr wasr)	돼지 사료로 사용
27	Sra mos foksrurak	Artocarpus altilis	Tafunsak(Wasr wasr)	For Pink eye and eye infection
28	Rose Fol		Tafunsak(Kemweun)	꽃을 빵아 머리에 바름, 두통
29	Sak Sruhsra		Tafunsak(Sroampal)	복어 해독제로 사용, 작은 잎을 찢어 사용
30	Ma In Sim		Tafunsak(Sroampal)	감기 약재, 잎을 끓여 마시고 냄새 맡음
31	Asengseng		Lelu(Pukusrik)	감기 약재료
32	Sra Kito		Okat(Tafunsak)	피부병, 배앓이, 뿌리가 향기롭다
33	Kenguhl		Srupunyt(Tafunsak)	부인 약재로 사용과 피부에 사용
34	Kusrohsr		Lelu(Pukusrik)	Eye infection, 두통, 등 여러 가지
35	Sra oa		Okat(Wan, Tafunsak)	감기 약재료, 어린아이 감기 약
36			Tafunsak(Sroampal)	암 재료 사용, 돼지 사료 등
37	Ma	Acanthus family	Tafunsak(Sroampal)	눈 충혈 시 즙을 짤아 넣음
38	Aring	Mentha cordifolia opiz	Tafunsak(Sroampal)	꽃물이 심할 때 즙을 짜서 코에 넣음
39	Okan Meng	Pandanus tectorius	Semo(Tafunsak)	For Bowel movement
40	Itu		Sialat(Tafunsak)	
41	Mokmok		Tafunsak(Kemweun)	
42				눈병 치료
43	Lo		Semo(Tafunsak)	

44	Srohtacl	Viga marina	Semo(Tafunsak)	피부고름제거(조고약),어린잎사귀사용
45	Mahkwekwe	Eleusine indica	Tafunsak(Sroampal)	
46	Meng	Pandanus odoratissimus L.	Semo(Tafunsak)	작은뿌리껍질벗겨액과코코넛주스와마심
47	Kwenlahk	Guettarda speciosa	Lelu(Fipukal)	당뇨,고혈압 등 성인병에 주로 사용
48	Owopuhk	Pes-caprae	Lelu(Finanpes)	피부고름제거 외, 작은 입 두개를 뜯어사용
49	Kalsruh	Ixora casei	Tafunsak(Mutunte)	원주민들이 약재 사용
50	Sak srusrun	Heliotrope Tree		For cuts or wound, 암환자 및 콩팥,간 등
51	Ros rangrang	Sunflower family	Lelu(Pukusrik)	간지러움 알레르기에 사용
52	Rose hibiscus	Hibiscus rosa sinensis Linn.		
53	Sra Frog	Kalanchoe	Tafunsak(Inkweyac)	
55	Ikoack	Cordia subcordata	Tafunsak(Keokat)	
56	Kufafa		Okat(Meluh,Tafunsak)	설사 및 복통
57	Okan koanu	Cocos nucifera	Tafunsak	녹슨 철로 인한 상처 감염 소독
58	op			

(6) 축(Chuuck)주 3차 채집(2009)

1) 육상 식물 채집 목록

번호	샘플 번호	현지이름	무게(줄기)	효능	무게(잎)
1	09Ch-P001	A fan	142g	액즙을 피부에 바름- 피부 영양제	187g
2	09Ch-002	Annes	446g	음식에 맛을 내는 첨가물	417g
3	09Ch-003	nuk			418g
4	09Ch-P004	nikasuk	570g	배가 아플때 줄기를 태워 연가를 들여 마심	460g
5	09Ch-P005	Wihit Tiin	551g	접촉 시 가려움증 유발	360g
6	09CH-P006	nopur	695g	줄기-이 통증 마취 작용 뿌리-관절염 잎-속 이플때	434g
7	09Ch-P007	Tuup	399g		590g
8	09Ch-P008	uup	796g		406g

9	P005-1	Spat whit Tiin		접촉시 가려움증 유발	427g
10	09Ch-P009	worung	594g		774g
11	09CH-P010	Nikousus			190g
12	09Ch-P011	Nite	273g		260g
13	09Ch-P012	Rose	279g		482g
14	09Ch-P013	Taiper	297g		492g
15	09Ch-P014	Nepat	702g	물에 삶아 수증기를 고혈압에 사용	655g
16	09CH-P015	Guava		복통에 사용	537g
17	09Ch-P016	Tupeis		치약 대용으로 사용	702g
18	09Ch-017	Green tea	394g		740g
19	09Ch-018	Oot			590g
20	09Ch-019	Enge	473g		680g
21	09Ch-020	Sening	418g		646g
22	09Ch-021	Tigo	303g	향수 대용	279g
23	09Ch-022	Sesenen	702g	해열제	694g
24	09Ch-023	Atieti	250g		459g
25	09Ch-024	Efor	403g	해열제	423g
26	09Ch-025	Sipa		콧물 감기	509g
27	09Ch-026	Saimu	248g		529g
28	09Ch-027	Ousus	390g		900
29	09Ch-028	Achru	188g		332g
30	09Ch-029	Nikekechiw	328g		445g
31	09Ch-030	Epson	308g		485g
32	09Ch-031	Ototango	213g		222g
33	09Ch-032	Ker	462g	애기 경기에	598g
34	09Ch-033	Monesa	182g	상처에	218g
35	09Ch-034	Afidei			787g
36	09Ch-035	Mechemeche	174g		243g
37	09Ch-036	Anget	318g		336g
38	09Ch-037	Spinach	124g	잎을 비타민대용으로	207g

39	09Ch-038	Wenu	444g		425g
40	09Ch-039	Otukupwin	240g		208g
41	09Ch-040	Peckonia	329g	화상에 사용	473g
42	09Ch-041	Akurang	276g		454g
43	09Ch-042	Oror	323g		355g
44	09Ch-043	Nukunipe	344g		198g
45	09Ch-044	Tiit			274g
46	09Ch-045	Fifinauw			696g

(7) 채집된 열대 식물들



Wedelia trilobata (L.) Hitchc



Morinda citrifolia L.



Hibiscus tileaceus L.



Ipomoea littoralis (L.) Blume



Desmodium incanum DC.



Terminalia calorinensis Kaneh.



Clerodendrum inerme (L.) Gaert



Derris elliptica (Roxb.) Benth



Neubergia celabica



Cananga odorata (Lam.) Hook.f.



Tournefortia argentea L. f.



Hippobroma longiflora



Barringtonia racemosa (L.) Spreng



Hedychium coronarium



Garcinia ponapensis Lauterb.



Chromolaena odorata (L.) R. M.



Calopogonium mucunoides



Ixora casei Hance

◆ Appendix

Figure 5. 마이크로네시아 축주, 웨노섬 (FSM, Chuuk, Weno island)



Figure 6. 마이크로네시아 축주, 웨노섬 (FSM, Chuuk, Weno island)



Figure 7. 마이크로네시아 축주, 듀블론섬 (FSM, Chuuk, Dublon island)



Figure 8. 마이크로네시아 축주, 웨노섬 (FSM, Chuuk, Weno island)



Figure 9. 마이크로네시아 축주, 듀블론섬 (FSM, Chuuk, Dublon island)



제 2 절 열대식물 노니로부터 생리활성물질 분리

1. 연구의 배경

열대식물 Noni (*Morinda citrifolia*) 는 cancer, colds, diabetes, flu, hypertension 등 많은 질병에 민간치료제로서 수천년 동안 이어져 내려왔으며 최근 들어서는 noni fruit juice의 개발을 통해 대중적인 음료로도 이용되고 있다. 실제로 Noni 에는 amino acids, anthraquinones, coumarins, flavonoids, iridoids, lignans, polysaccharides, 등 많은 유용한 이차대사산물이 존재하는 것으로 알려져 있어 이에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 또한, 이러한 물질들은 anti-inflammatory 에 효과가 있어 cyclooxygenase-2 (COX-2) 15-lipoxygenase (5-LO)같은 저해 활성 실험에서 좋은 결과를 나타내었다. Noni 는 bark, stem, root, leaf, and fruit 여러 부분들이 모두 효능이 있는 것으로 알려져 있으며, 본 연구에서 관심 있게 진행된 부분은 Noni fruit 부분이다. Noni fruit 은 arthritis, high blood pressure, muscle pains, menstrual difficulties, headaches, heart disease, AIDS 등 다양한 질병에 효능이 있는 물질이 많이 포함되어 있는 것으로 보고되고 있다. 따라서 본 실험에서는 Noni fruit에 있는 물질 중 기존에 분리되지 않은 활성이 좋은 New compound를 찾는 데 주력하였다.



Figure 10. 노니 열매와 이를 재료로 한 과즙음료

2. 분리 및 구조결정

(1) 천연물의 추출 및 분획

Morinda citrifolia (Noni)는 남태평양에 위치한 코스레섬에서 채집하였으며, 시료는 응달에서 건조한 다음 상온에서 MeOH 2회, CH₂Cl₂로 1회 순차적으로 추출하였고, 각각의 용매를 Rotary evaporator를 사용하여 감압농축 후 추출물(71g)을 얻었다. 추출물은 최초에 물과 *n*-butanol로 분획하여, 염과 기타 수용성 불순물을 제거하고 유기물질이 포함되어 있는 *n*-butanol 층을 다시 15% aqueous MeOH(9.42g)과 *n*-hexane(5.53g)로 분획하여 지방산을 제거하였다.

(2) Chromatography에 의한 천연물의 분리정제

15% aqueous MeOH 층에 용해된 물질을 취하여 C18 고속 감압 크로마토그래피 (reversed-phase vacuum flash chromatography)를 실시하였으며, 용출용매는 극성별로 50%, 40%, 30%, 20%, 10% aqueous MeOH, 100% MeOH, 100% Acetone, 100% ethyl acetate(E.A)를 순차적으로 사용하였다.

C18 고속 감압 크로마토그래피 (reversed-phase vacuum flash chromatography)에서 얻어진 50% aqueous MeOH 층을 HPLC로 분리하기 위해 이동상 용매로 sample을 녹인 후 Cepak filter를 통해 예비실험을 하였다. 그 후에 C18 Reversed-Phase HPLC (Column: YMC Pack ODS, 10mm×250 (내경×길이), 이동상: 75% aqueous MeOH, 용출속도 2.0ml/min, RI detector)를 사용하여, retention time 26분, 40분에서 화합물 [7], [4]을 얻었다.

같은 방법으로 40% aqueous MeOH 층도 C18 Reversed-Phase HPLC (Column: YMC Pack ODS, 10mm×250(내경×길이), 이동상: 60% aqueous MeOH, 용출속도 2.0ml/min, RI detector)를 사용하여 retention time 30분에 화합물 [6]을 얻었으며 48분에 얻어진 화합물이 mixture 상태로 판단되어 C18 Reversed-Phase HPLC (Column: YMC Pack ODS A, 4.6mm×250(내경×길이), 이동상: 65% aqueous MeOH + 1% acetic acid, 용출속도 0.7ml/min, RI detector)를 통해 정제를 실시하였다. 그 결과, retention time 19분, 24분에 화합물 [3], [5]을 얻었다.

30% aqueous 층 역시 C18 Reversed-Phase HPLC (Column: YMC Pack ODS, 10mm×250(내경×길이), 이동상: 40% aqueous MeOH, 용출속도 2.0ml/min, RI detector)를 사용하여 retention time 38분에서 화합물 [2]을 얻었으며, 마지막으로 화합물 [1]은 10% aqueous 층을 C18 Reversed-Phase HPLC (Column: YMC Pack ODS, 10mm×250(내경×길이), 이동상: 20% aqueous MeOH+ 0.1% Acetic acid, 용출속도 2.0ml/min, RI detector)를 사용하여 분리하였다.

화합물 [1]과 [2]은 현재까지 알려지지 않은 New compound로 밝혀졌다.

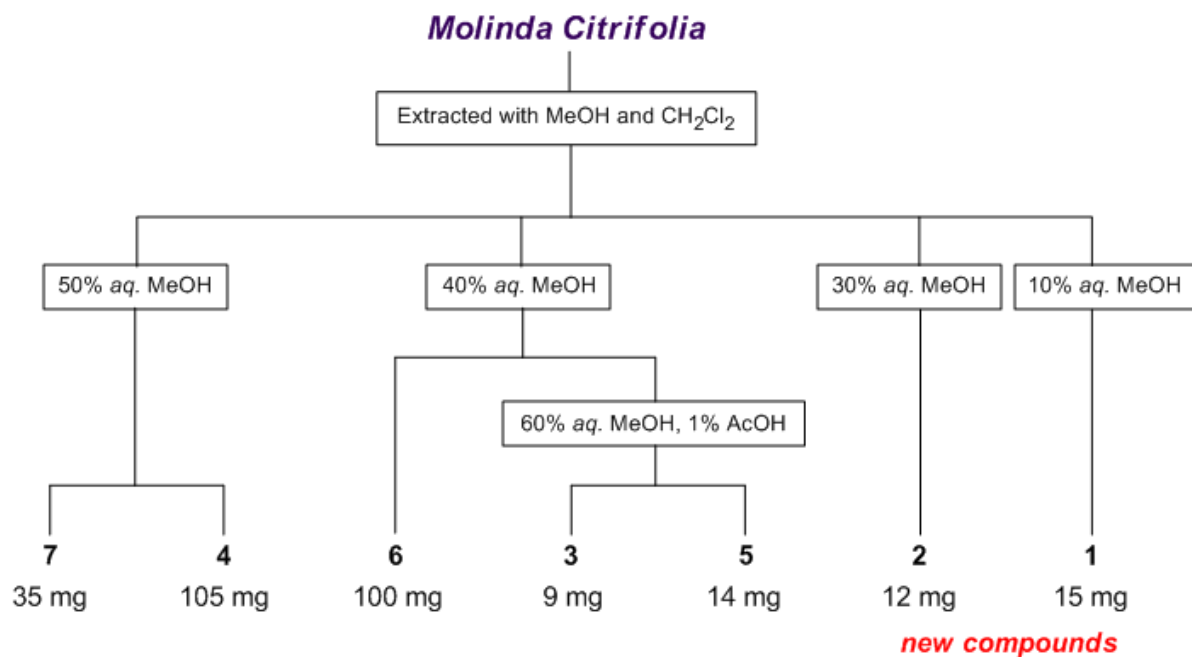


Figure 11. Isolation scheme

(3) 천연물의 구조 결정

Morinda citrifolia(Noni)로부터 추출-분리된 compound 1~7의 구조는 다음과 같다.

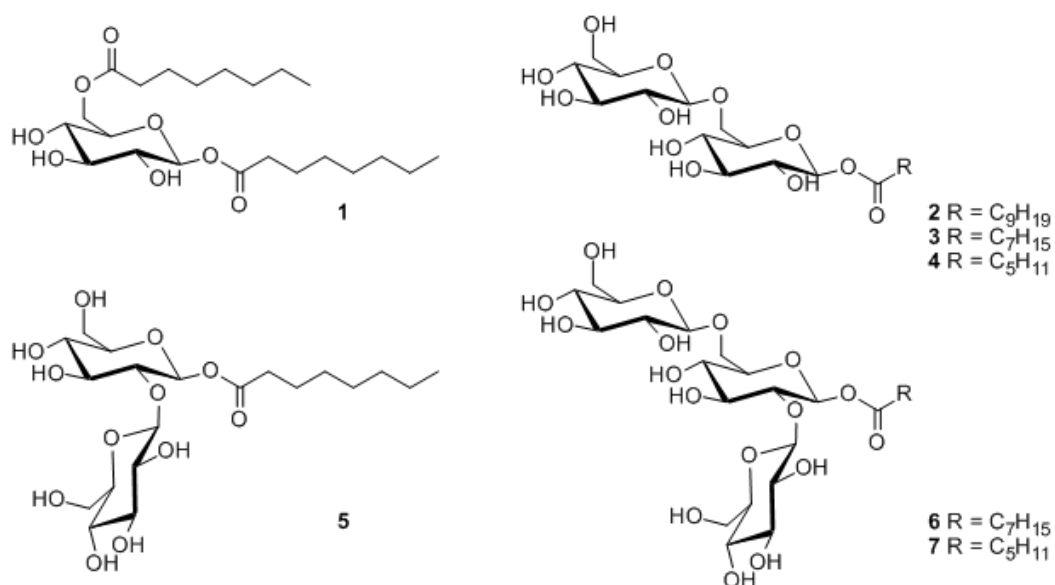
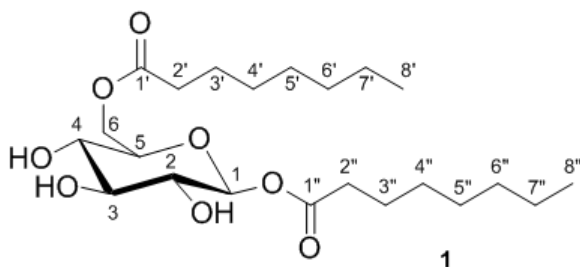


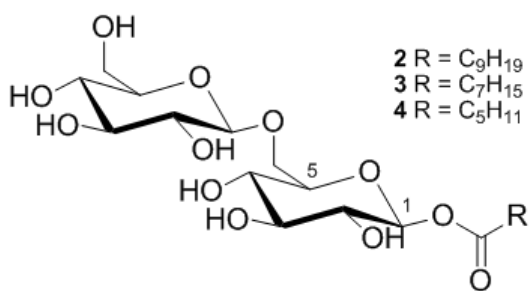
Figure 12. Structures of isolated compounds

1) Compound 1 의 구조 결정



화합물은 MS ($m/z=428.31$)와 ^{13}C NMR 실험을 통해 분자식을 $\text{C}_{24}\text{H}_{44}\text{O}_6$ 으로 결정하였고, COSY, HSQC, HMBC등 2D NMR을 통해 구조를 규명하였다. 육탄당 고리의 1번과 5번탄소에 Octanoyl ester moiety가 붙은 형태의 구조이며, ^1H NMR 적분값과 Mass를 통해 alkyl chain의 길이를 확인하였다. 13개의 methylene group, 2개의 methyl 그룹이 관찰되었고 현재까지 문헌조사 결과, new compound임이 밝혀졌다. (Table 2)

2) Compound 2, 3, 4 의 구조 결정



Compound 2 (6-*O*-(β -*D*-glucopyranosyl)-1-*O*-decanoyl- β -*D*-glucopyranose)

는 $m/z=496.25$ 와 ^{13}C NMR 실험을 통해 분자식 $\text{C}_{22}\text{H}_{40}\text{O}_{12}$ 로 결정되었고, 2D NMR을 통해 구조를 규명하였다. 육탄당 고리의 1번 탄소에 decanoyl ester moiety가 붙은 형태의 구조이며 5번 탄소에 또 하나의 육탄당 고리가 붙은 형태이다. 8개의 methylene 그룹과 말단에 1개의 methyl 그룹이 형태이 존재하며, Mass spectrum을 통해 alkyl chain의 길이를 확인하였다. compound 2는 new compound임이 밝혀졌다. ^1H NMR (CD_3OD , 500 MHz); 5.45 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 4.31(1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1''), 4.14(1H, dd, $J = 11.4, 3.0$ Hz, H-6'), 3.85(1H, dd, $J = 12.1, 2.2$ Hz, H-6''), 3.76 (1H, dd, $J = 11.4, 5.1$ Hz, H-6'), 3.65 (1H, dd, $J = 12.1, 5.4$ Hz, H-6''), 3.53(1H, m, H-5'), 3.42(1H, m, H-4'), 3.41(1H, m, H-3'), 3.34(1H, dd, $J = 9.1, 8.8$ Hz, H-3''), 3.32(1H, dd, $J = 9.3, 7.8$ Hz, H-2') 3.28(1H, dd, $J = 8.8, 8.8\text{Hz}$, H-4''), 3.25(1H, m, H-5'') 3.20 (1H, dd, $J = 9.1, 7.8$ Hz, H-2''), 2.38 (2H, m, H-2), 1.62 (2H, tt, $J = 7.3\text{Hz}$, H-3), 1.30-1.35 (8H, m, H-4, H-5, H-6, H-7), 0.90 (3H, t, $J = 7.1\text{Hz}$, H-8). ^{13}C NMR (CD_3OD , 125 MHz) 174.1(s, C-1), 104.5(d, C-1''), 95.5(d, C-1'), 77.9(d, C-3''), 77.9(d, C-5''), 77.7(d, C-3'), 77.7(d, C-5'), 75.0 (d, C-2''), 73.8(d, C-2'), 71.4(d, C-4''), 70.8(d, C-4'), 69.4(t, C-6'), 62.6(t, C-6''), 34.9(t, C-2), 32.8(t, C-6), 30.1(t, C-4).

Compound 3 (6-*O*-(β -*D*-glucopyranosyl)-1-*O*-octanoyl- β -*D*-glucopyranose)은 $m/z=468.22$ 와 ^{13}C NMR 실험을 통해 분자식 $\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{O}_{12}$ 로 결정되었고, 2D NMR을 통해 구조를 규명하였다. 육탄당 고리의 1번 탄소에 Octanoyl ester moiety가 붙은 형태의 구조이며, 기존에 알려진 compound이다.

Compound 4 (6-*O*-(β -*D*-glucopyranosyl)-1-*O*-hexanoyl- β -*D*-glucopyranose)는 $m/z=440.19$ 와 ^{13}C NMR 실험을 통해 분자식 $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_{12}$ 로 결정되었고, 육탄당 고리의 1번 탄소에 hexanoyl

ester moiety가 붙은 형태의 구조이며, 역시 기존에 알려진 compound이다.

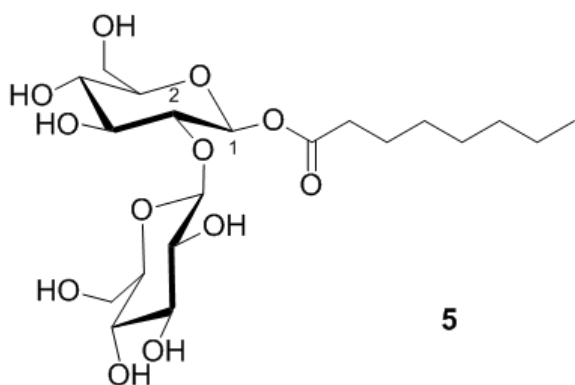
Table 2. Assignment of ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy of compound **1**

no.	δ_{H}	δ_{C}	HMBC
3	3.4(1H, t, $J=9.0$)	76.1	2, 4
4	3.3(1H, dd, $J=14.0, 18.5$)	71.3	3, 6
5		77.8	
6	4.3(1H, d, $J=11.5$), 4.2(1H, dd, $J=12.0, 12.0$)	64.2	1', 2
1'		173.9	
2'	2.4(1H, t, $J=14.5$) 2.3(1H, t, $J=14.5$)	32.8	1'
3'	1.6(2H, quint, $J=14$)	23.6	1'
4'	1.32(8H)	26.0	8'
5'			8''
6''			8''
7''			8''
7'		25.6	8'

no.	δ_{H}	δ_{C}	HMBC
8'	0.90(3H, t, $J=7.5$)	14.4	
1''		173.9	
1''		173.9	
2''	2.4(1H, t, $J=14.5$), 2.3(1H, t, $J=14.5$)	32.8	1''
3''	1.6(2H, quint, $J=14$)	23.6	1''
4''	1.32(8H)	26.0	8''
5''			8''
6''			8''
7''			8''
8''	0.90 (3H, t, $J=7.5$)	14.4	
1	5.4 (1H, d, $J=8.5$)	95.4	1''
2	3.5(1H, t, $J=6.0$)	73.8	

3) Compound **5** 의 구조결정

Compound **5** (2-*O*-(β -*D*-glucopyranosyl)-1-*O*-octanoyl- β -*D*-glucopyranose)는 $m/z=468.22$ 와 ^{13}C NMR 실험을 통해 분자식 $\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{O}_{12}$ 로 결정되었고, 2D NMR을 통해 구조를 규명하였다.

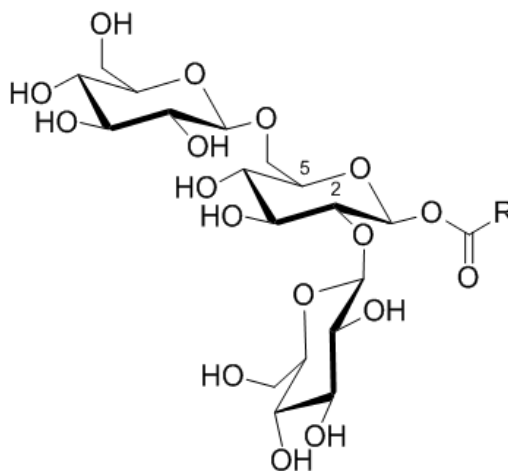


육탄당 고리의 1번 탄소에 octanoyl ester moiety 가 붙은 형태의 구조이며 2번 탄소에 또 하나의 육탄당 고리가 붙은 형태이므로, 알려진 compound이다. ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD); 5.60(1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-1'), 4.56(1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1''), 3.83(2H, dt, $J = 2.1, 2.0$ Hz, Hb-6' and Hb-6''), 3.68(2H, dd, $J = 4.5, 12.1$ Hz, Ha-6' and Ha-6''), 3.68(2H, dd, $J = 4.5, 12.1$ Hz, Ha-6' and Ha-6''), 3.62(1H, dd,

$J = 7.7, 9.2$ Hz, H-2'), 3.59(1H, dd, $J = 7.5, 9.2$ Hz, H-3'), 3.40(1H, dd, $J = 7.5, 9.0$ Hz, H-4'), 3.38 (1H, H-5'), 3.36(1H, dd, $J = 7.9, 9.2$ Hz, H-3''), 3.29(1H, dd, $J = 7.9, 9.0$ Hz, H-4''), 3.27 (1H, H-5''), 3.19(1H, dd, $J = 7.5, 9.2$ Hz, H-2''), 2.47(1H, dt, $J = 16.3, 7.4$ Hz, Hb-2), 2.38(1H, dt, $J = 16.3, 7.4$ Hz, Ha-2), 1.63(2H, quint., $J = 7.2$ Hz, H-3), 1.33(8H, H-4, H-5, H-6, and H-7), .0 H(t, $J = 60$ Hz, H-8); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD); 174.0(s, C-1), 105.6(d, C-1''), 94.0(d, C-1'), 82.5(d, C-2'), 78.7(d, C-5'), 78.2(d, C-5''), 77.8(d, C-3' and C-3''), 76.0(d, C-2''), 71.4(d, C-4''), 70.8(d, C-4'), 62.7(t, C-6''), 62.2 (d, C-6'), 34.9(t, C-2), 32.8(t, C-6), 30.1(C, t, C-4 and C-5), 25.5(t, C-3), 23.6(t, C-7), 14.4(t, C-8).

4) Compound 6, 7의 구조 결정

Compound 6 (2,6-di-*O*-(β-*D*-glucopyranosyl)-1-*O*-octanoyl-β-*D*-glucopyranose)는 $m/z=630.22$ 와 NMR 및 2D NMR을 통해 구조를 규명하였다. 옥탄당 고리의 1번 탄소에 octanoyl ester moiety 가 붙은 형태의 구조이며, 2번과 5번 탄소에 두개의 옥탄당 고리가 붙은 형태로 known compound이다. ^1H NMR; 2.38(1H, dt, $J = 16.6, 7.3$ Hz; H-2a), 2.47(1H, dt, $J = 16.6, 7.3$ Hz; H-2b), 1.62(2H, quint, $J = 7.3$ Hz; H-3), 1.30-1.35(2H, m, H-4, H-5, H-6, H-7), 0.90(3H, t, $J = 7.1$ Hz; H-8), 5.59(1H, d, $J = 7.8$ Hz; H-1'), 3.60(1H, dd, $J = 8.8, 7.8$ Hz; H-2'), 3.61(1H, dd, $J = 8.8, 8.6$ Hz; H-3') 3.48(1H, dd, $J = 9.8, 8.6$ Hz; H-4') 3.55(1H, ddd, $J = 9.8, 4.9, 2.0$ Hz; H-5') 3.76(1H, dd, $J = 11.5, 4.9$ Hz; H-6'), 4.14(1H, dd, $J = 11.5, 2.0$ Hz; H-6'), 4.55 (1H, d, $J = 7.8$ Hz; H-1''), 3.18 (1H, dd, $J = 9.3, 7.8$ Hz; H-2''), 3.34 (1H, dd, $J = 9.3, 9.3$ Hz; H-3''), 3.26 (1H, dd, $J = 9.3, 8.1$ Hz; H-4''), 3.27 (1H, m, H-5''), 3.67 (1H, dd, $J = 12.0, 5.0$ Hz; H-6'') 3.82 (1H, dd, $J = 12.0, 2.0$ Hz; H-6''). ^{13}C NMR; 174.0(C-1), 34.9(C-2), 25.5(C-3), 30.15(C-4), 30.13(C-5), 32.88(C-6), 23.7(C-7), 14.5(C-8), 94.0(C-1'), 82.4(C-2'), 77.6(C-3'), 70.6(C-4'), 77.6(C-5'), 69.4(C-6') 105.6(C-1''), 76.0(C-2''), 77.7(C-3''), 71.4(C-4''), 78.0(C-5''), 62.7(C-6''), 104.6(C-1'''), 75.1 (C-2''') 78.2(C-3'''), 71.5(C-4'''), 78.0 (C-5'''), 62.7(C-6''')



6 R = C₇H₁₅
7 R = C₅H₁₁

Compound 7 (2,6-di-*O*-(β-*D*-glucopyranosyl)-1-*O*-hexanoyl-β-*D*-glucopyranose) 은 $m/z=612.12$ 와 ^{13}C NMR 실험과 2D NMR을 통해 구조를 규명하였다. 옥탄당 고리의 1번 탄소에 hexanoyl ester moiety , 2번과 5번 탄소에 두개의 옥탄당 고리가 붙은 형태로 known compound이다.

3. 항산화력 분석

3.1 DPPH (1,1-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical 소거활성

시료의 free radical 소거활성은 stable radical인 DPPH에 대한 환원력을 측정하는 실험방법을 사용하였다. Noni로부터 분리, 동정한 6개의 화합물을 99% 에탄올에 녹여 희석농도가 1000 μ g/ml, 800 μ g/ml, 600 μ g/ml, 400 μ g/ml, 200 μ g/ml, 100 μ g/ml, 20 μ g/ml, 2 μ g/ml이 되도록 하였으며, 시료와 0.2ml와 DPPH Solution (4 \times 10⁻⁴M/EtOH) 0.8ml 를 넣어 비율이 1:4(v/v)가 되도록 혼합한 후 37°C에서 15분간 방치하고, 525nm에서 감소한 흡광도를 측정하였으며 활성을 비교하기 위하여 동일한 농도의 Trolox를 기준물질로 사용하였다.

DPPH scavenging effect (%)

$$= \frac{[(\text{대조군의 흡광도} - \text{시료의 흡광도}) / \text{대조군의 흡광도}] \times 100}{}$$

3.2 ABTS radical 소거활성

ABTS radical 을 이용한 항산화력 측정은 100mM potassium phosphate buffer(pH 7.4)를 이용하여 1.0mM의 AAPH 와 2.5mM의 ABTS용액을 제조한 후 AAPH와 ABTS를 1:1로 섞어 70°C 항온 수조에서 20~25분간 반응시켜 ABTS^{•+}를 생성하고, 734nm에서 흡광도가 0.65~0.70가 되도록 조절하였다. 이 용액 950 μ l에 농도별로 희석한 각 Sample을 50 μ l씩 첨가 하였으며 (50 μ g/ml, 40 μ g/ml, 30 μ g/ml, 20 μ g/ml, 10 μ g/ml, 5 μ g/ml, 1 μ g/ml, 0.1 μ g/ml) vortex로 혼합 후 37°C 에서 10분간 반응시키고, 734nm에서 감소되는 흡광도를 측정하여 동일한 농도로 희석한 Trolox와 비교하였다.

ABTS radical scavenging activity(%)

$$= \frac{[(\text{대조군의 흡광도} - \text{시료의 흡광도}) / \text{대조군의 흡광도}] \times 100}{}$$

3.3 TBARS(thiobarbituric acid reactive substance)측정

구리로부터 유도된 LDL의 산화도는 TBARS을 이용하여 측정하였으며 실험방법은 Satake의 방법을 변형하여 사용하였다.

1) LDL의 산화

CuSO₄ 25 μ mol을 함유한 phosphate-buffered saline(pH 7.4) 50ml에 LDL (100 μ g/ml) 5mg을 가하여 잘 혼합한 후 농도별로 희석한 각 sample 과 메탄올 추출물을 50 μ l씩 넣어 최종적으로 (50 μ g/ml, 20 μ g/ml)의 농도가 되게 한 후 37°C에서 6시간동안 반응시켜 구리에 의한 LDL의 산화를 유도하였다.

2) TBARS 측정

산화된 LDL에 EDTA를 20 μ l씩 넣어주어 산화를 중지시킨 후 TBARS reagent (15% TCA, 0.0375% TBA, 0.25 N hydrochloric acid)를 각각 1ml씩 첨가하여 혼합한 후 95°C 수조에서 30분간 가열하고 냉각시켰다. 이 반응액을 3000rpm에서 15분간 원심분리한 후 상등액을 취하여 생성된 MDA의 함량을 515nm에서 측정하였으며 대조군으로 합성 항산화제인 BHT를 동량 넣어 비교 관찰하였다.

LDL oxidation inhibition ratio (%)

$$= \frac{[(\text{대조군의 흡광도} - \text{시료의 흡광도}) / \text{대조군의 흡광도}] \times 100}{}$$

3.4 통계처리

실험을 통해 얻은 자료들은 SAS(SAS 9.1, Cary, NC, USA)를 이용하여 분산분석(ANOVA)과 Duncan's multiple range test로 유의차를 검증하였으며 각 시료의 농도별 유의수준과 시료군 간의 유의수준은 $p < 0.05$ 로 하였다.

3.5 항산화력 분석 결과

(1) DPPH 라디칼 소거능

항산화 활성 측정방법 중 DPPH 법은 실제 항산화 활성과 연관성이 높은 방법으로서, 활성 라디칼에 전자를 공여하여 지방질의 산화를 억제시키는 척도로 사용되고 있으며, 인체 내에서 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 작용의 척도로 사용되고 있다. DPPH법은 항산화 물질의 전자공여능으로 인해 환원되어 자색이 탈색되는 정도로 항산화능을 나타내는 것이다. 본 실험에서는 노니로부터 분리 동정한 각 화합물의 항산화 활성을 관찰하기 위하여 DPPH 라디칼 소거능을 측정하여 Figure 13에 나타내었으며 50%의 전자공여능을 갖는데 필요한 화합물의 농도인 IC₅₀값은 Table 3에 나타내었다. 노니로부터 분리 동정한 모든 화합물이 농도가 증가함에 따라 활성이 증가하는 경향을 나타내었으며 1000 μ g/ml의 농도에서 각 화합물의 항산화력은 MeOH 추출물이 93.8 \pm 0.2%로 가장 높게 나타났고 각각의 화합물은 [7] 83.1 \pm 0.2%, [2] 80.9 \pm 0.2%, [4] 63.4 \pm 3.3%, [6] 43.9 \pm 0.1%, [5] 36.5 \pm 2.2%, [3] 30.1 \pm 0.8% 순으로 각 화합물간에 유의차를 보였으며 모든 농도에서 화합물간에 유의차가 나타났다($p < 0.01$). 화합물 [2]~[7]의 IC₅₀(μ M) 값 또한 각각 [2] 1284 \pm 0.00, [3] 7951 \pm 0.18, [4] 1365 \pm 1.37, [5] 8509 \pm 1.70, [6] 3312 \pm 0.07, [7] 763 \pm 0.00, 로 나타나 화합물 [7]가 가장 큰 활성을 나타내는 것을 볼 수 있었다. 화합물 [4], [7]은 농도 의존적으로 나타났다가 점차 항산화력이 증가하였으며 두 화합물은 서로 각 화합물간의 유의차가 있는 것보다 나타났다가 나타났다($p < 0.01$). MeOH 추출물과 화합물[4] 또한 농도가 증가함에 따라 항산화력이 증가하는 경향을 나타내었으며 실험 농도 안에서 유의차를 나타내었다($p < 0.01$). 실험에 기준물질로 사용된 헤에 lox는 100 μ g/ml의 농도에서 99.4 \pm 0.1%의 라디칼 소거율을 보였으며 1000 μ g/ml의 농도에서 98.68 \pm 0.3%의 라디칼 소거율을 나타내어 100 μ g/ml 농도일 때와 큰 차이를 보이지 않았고 헤에 lox에 대한 IC₅₀(μ M) 값은 25 \pm 0.00 으로 가장 높은 활성을 나타내

었다. 또한 1000 $\mu\text{g/ml}$ 농도의 노니 추출물은 800 $\mu\text{g/ml}$ 농도의 해에 lox 보다 높은 전자공여능을 보여 1000 $\mu\text{g/ml}$ 농도의 MeOH 추출물이 800 $\mu\text{g/ml}$ 농도의 해에 lox 보다 높은 항산화력] 3지는 것타났다나타났고, 화합물 [2], [7]은 기준물질인 해에 lox 20 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도수준에 상응하는 항산화력] 3지는 것타났다관찰되었다. 화합물 [3], [4], [5], [6] 는 기준물질인 해에 lox의 20 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도수준에 상응하는 항산화력] 3지지 못하였으나 해에 lox 2 $\mu\text{g/ml}$ 농도가 가지는 항산화력 보다는 우수한 항산화력] 나타내었고 1000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 [2]-[7]의 화합물며 모든 농도에서의 항산화력] 가해볼 때 모든 농도에서이 상대나타났다높은 항산화력] 갖는 것타났다관찰되었으며 800 $\mu\text{g/ml}$ 농도 수준에서 메탄올 추출물의 전자공여능이 $42.6 \pm 0.1\%$ 로 나타난 것에 비하여 6종의 화합물의 전자공여능은 각각 [2] $47.1 \pm 0.1\%$, [3] $32.9 \pm 0.5\%$, [4] $52.6 \pm 0.1\%$, [5] $34 \pm 0.9\%$, [6] $36.4 \pm 0.2\%$, [7] $65.9 \pm 0.0\%$ 로 나타나 1000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도와는 조금 다른 결과를 나타내었다.

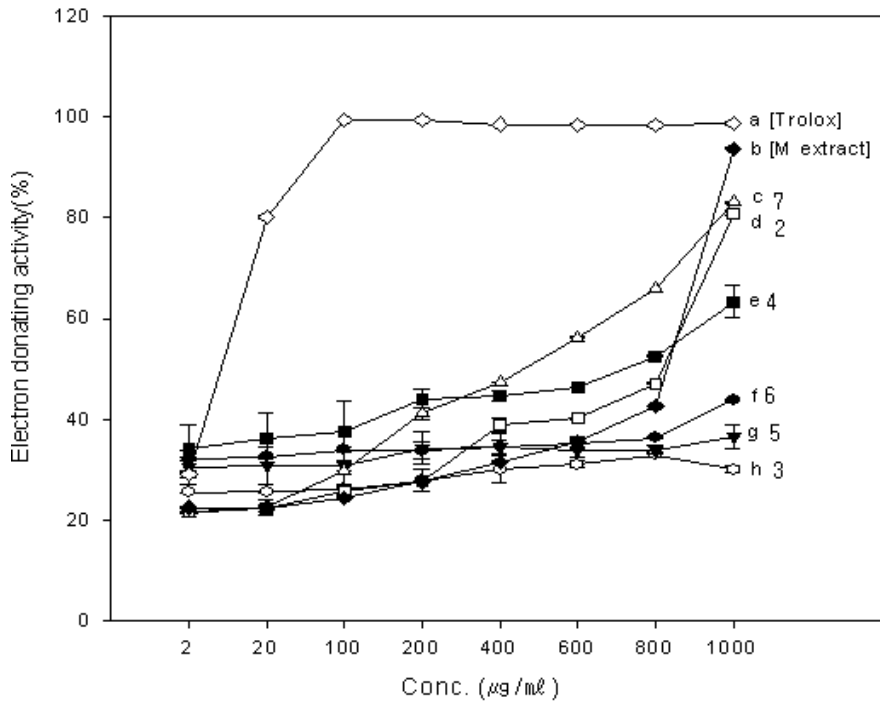


Figure 13. Electron donating activity

Table 3. Electron donating activity (IC_{50}) of compounds [1]-[6] and trolox

compound	IC_{50} (μM)
2	1284 ± 0.00
3	7951 ± 0.19
4	1365 ± 1.37
5	8509 ± 1.70
6	3312 ± 0.07
7	763 ± 0.00
Trolox	25 ± 0.00

(2) ABTS 라디칼 소거활성

ABTS radical 소거활성은 2-azino-bis 의 색을 띤 양이온 라디칼의 감소에 근거하여 항산화력을 검사하고자 하는 시료와 표준물질인 Trolox의 값을 비교하여 항산화능력을 측정하는 방법으로 추출물의 항산화력에 의하여 ABTS+·가 소거되어 청록색으로 탈색된 free radical의 제거 정도를 흡광도 값으로 나타내어 ABTS+·의 소거활성능을 측정하는 방법이다. 본 실험에서는 노니로부터 분리 동정한 6종의 화합물과 메탄올 추출물, Trolox의 ABTS+·소거활성을 비교 측정하여 Figure 14에 나타내었으며 각 화합물의 IC₅₀값은 Table 4에 나타내었다.

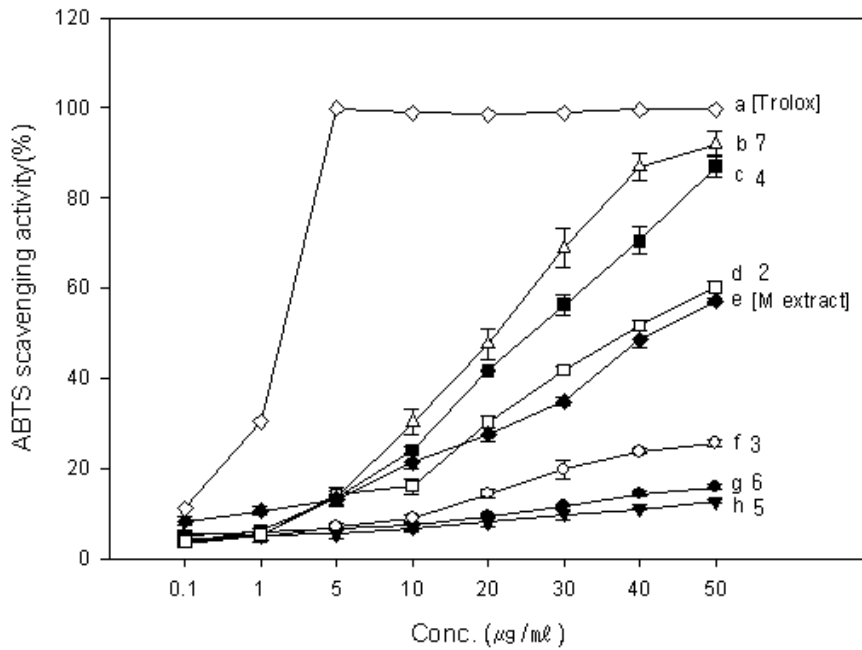


Figure 14. ABTS scavenging activity

Table 4. ABTS scavenging activity (IC₅₀) of compounds [1]-[6] and Trolox

compound	IC ₅₀ (µM)
2	78.2 ± 0.00
3	213.2 ± 0.00
4	60.8 ± 0.00
5	634.8 ± 0.02
6	329.9 ± 0.02
7	38.1 ± 0.00
Trolox	8.7 ± 0.00

소거활성법에서 기준물질로 사용되는 trolox는 5 μ g/ml의 농도에서 99.7 \pm 0.3%의 소거활성을 나타내어 가장 우수한 소거활성을 보였으며 노니로부터 분리 동정한 화합물 [6]은 농도 의존적으로 ABTS+·를 소거하는 경향을 나타냈지만 50 μ g/ml에서 16.0 \pm 0.7%의 소거능을 나타낼 정도로 항산화력이 약한 것으로 나타났다. 노니로부터 분리 동정한 화합물 [3], [5]도 마찬가지로 농도가 증가함에 따라 항산화력이 증가하는 경향을 보였으나 각각 50 μ g/ml의 농도에서 25.7 \pm 0.9%, 12.7 \pm 0.4%의 약한 항산화력을 보이는 것으로 관찰되었다. 화합물 [7]는 50 μ g/ml농도에서 92.0 \pm 2.8%의 ABTS+·소거능을 보여 trolox의 5 μ g/ml 농도에 상응하는 항산화력을 나타내었으며 화합물 [4]는 50 μ g/ml농도에서 87.1 \pm 2.5%의 라디칼 소거능을 가지는 것으로 나타났고 화합물 [2]은 50 μ g/ml농도에서 60.3 \pm 1.2%의 라디칼 소거능을 가지는 것으로 관찰되었으며 노니의 메탄올 추출물은 57.2 \pm 0.6%의 항산화력을 가지는 것으로 관찰되었다. 각 화합물의 항산화력 정도는 50 μ g/ml 농도에서 [7]>[4]>[2]>[3]>[6]>[5]로 나타났고 6종의 화합물이 모든 농도에서 화합물간의 유의차를 나타내었으며(p<0.01). 화합물 [4]와 메탄올 추출물[M]은 농도 의존적으로 항산화력이 증가하는 것으로 관찰되었고 각각의 농도사이에 유의차를 보였다(p<0.01). 또한 화합물 [2]~[7]의 IC50(μ M) 값은 각각 [2] 78.2 \pm 0.00, [3] 213.2 \pm 0.00, [4] 60.8 \pm 0.00, [5] 634.8 \pm 0.02, [6] 329.9 \pm 0.02, [7] 38.1 \pm 0.00, 로 나타나 화합물 [7]가 가장 큰 활성을 나타내었다.

(3) 구리로부터 유도된 LDL의 산화도측정 (TBARS)

TBARS를 통한 지질과산화 억제효과의 측정은 불포화지방산을 함유한 지질이 산화되어 형성되는 지질과산화물 malondialdehyde(MDA)와 thiobarbituric acid (TBA)가 반응하여 붉은색의 TBARS를 형성하게 되는데, 발색의 정도를 비색정량하여 항산화력을 측정하는 방법이다. 노니로부터 분리 동정한 각 화합물[2]-[7]의 TBARS의 값은 Figure 17 에 나타내었다.

50 μ g/ml의 농도에서 항산화 활성은 [2], [3], [4], [5], [7], [6]의 순으로 감소하는 경향을 나타냈다. 화합물 [2] 은 23.3 \pm 1.2%의 억제율을 나타내어 가장 높은 활성을 보였으며 화합물 [6]은 10.3 \pm 1.1%의 억제율을 나타내어 노니로부터 분리 동정한 화합물중 가장 낮은 활성을 나타내는 것으로 관찰되었다. 전자공여능을 통해 활성을 측정하는 DPPH 실험과 라디칼 소거정량을 통한 ABTS를 이용한 실험에서 화합물 [3]는 미약한 정도의 항산화 활성을 나타내었지만 LDL 산화도 측정에서는 19.2 \pm 1.0%의 억제율을 보여 화합물 중 두 번째로 큰 활성을 나타내었고, 화합물 [5], [4]의 과산화 억제율은 각각 14.6 \pm 0.4%, 14.9 \pm 0.4% 로 비슷한 수준의 항산화 활성을 나타내었으며 화합물 [7]는 16.0 \pm 1.3%의 항산화활성을 나타내었고 메탄올 추출물의 경우 11.7 \pm 2.7%의 억제율을 나타내었다. 6종의 화합물 사이에는 유의차가 있는 것으로 나타났으며 (p<0.01), 화합물 [4], [5], [7] 간의 유의차는 없었고 화합물 [6]과 메탄올 추출물 사이에도 유의차는 나타나지 않았다. 20 μ g/ml 농도에서 각 화합물의 항산화력은 [2], [3], [7], [5], [4], [6]의 순으로 감소하는 경향을 나타내었고, 각각 18.0 \pm 0.7%, 16.1 \pm 0.5%, 15.1 \pm 1.8%, 14.9 \pm 1.9%, 12 \pm 1.1%, 11.1 \pm 0.9%의 활성을 나타내었으며 화합물 [2]~[7] 사이에 유의차가 있는 것으로 나타났지만(p<0.001), 화합물 [3], [5], [7] 간의 유의차는 없었으며 화합물 [4], [6]와 메탄올 추출물 사이에도 유의차는 없었다.

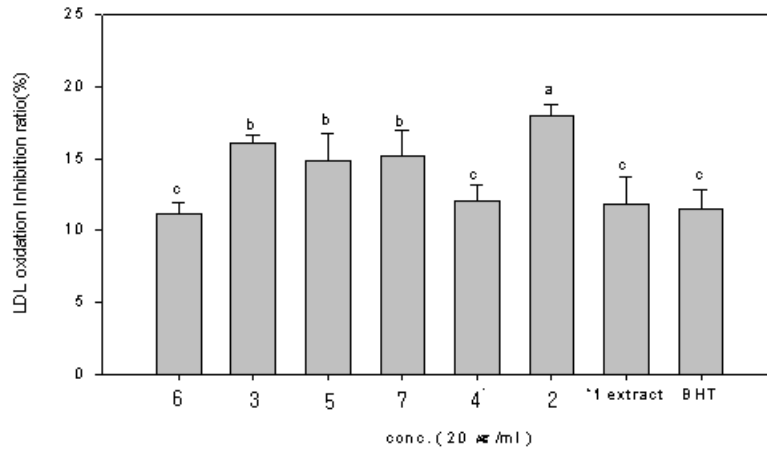


Figure 15. LDL oxidation inhibition ratio

3.6 고찰(Dicussion)

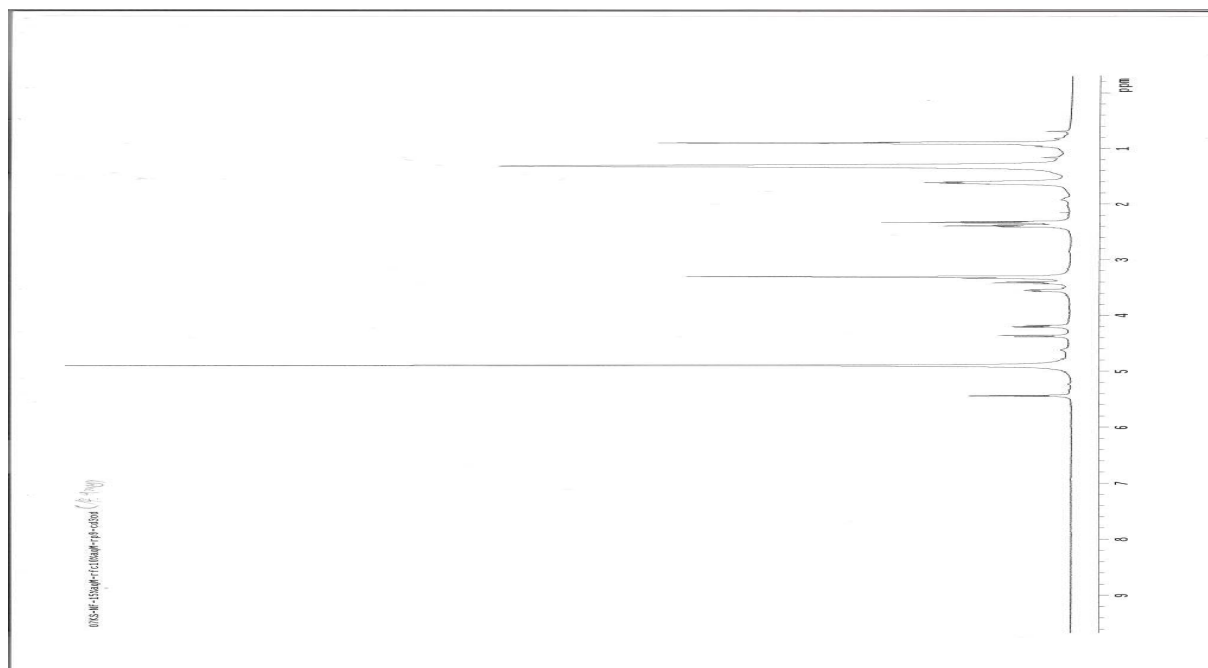
*Morinda citrifolia*로부터 분리 동정한 주요 화합물을 이용하여 항산화 활성을 관찰한 본 연구에서는 6종의 화합물이 모두 항산화 활성을 가지는 화합물로 나타났으며 실험 방법에 따라 각기 다른 항산화 활성을 갖는 것으로 관찰되었다. 이러한 연구결과는 노니의 메탄올 추출물이 항산화 활성을 갖는다는 연구결과를 뒷받침해주고 있으며 6종의 화합물이 노니열매의 항산화력에 기여하고 있음을 시사한다.

본 연구에서 분리 동정한 6종의 화합물중 [2]-[7]의 화합물은 선행연구에 의하여 그 구조가 밝혀진 바가 있으며 6종의 화합물은 모두 fatty acyl glycoside계 화합물로 화합물 [3]와 [5]은 이성질체이며 신물질로 확인된 [2]의 화합물은 화합물 [4]와 유사한 구조로 탄소의 수가 다른 것이 차이점이다. [3]~[7]의 화합물은 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate(TPA)로부터 유도된 항염증 효과에 관한 연구에서 각각의 화합물이 효과가 있음이 입증되었으며 노니 추출물이 사람의 혈소판에서 prostaglandin E2 생성에 미치는 영향을 관찰한 결과 cyclooxygenase(COX)-2 selective inhibitor인 Celebrex와 비슷한 억제 효과를 나타냈다고 보고되었다. 이러한 결과로 볼 때 노니 추출물은 강력한 항산화 작용과 염증 매개 물질을 생성하는 COX-2의 억제제로 작용하여 항염증 효과를 나타내는 것으로 사료된다. 또한 신물질로 밝혀진 화합물 [2]는 본 논문에서 DPPH를 이용하여 활성 실험을 하였을 때 $80.9 \pm 0.2\%$ 의 높은 항산화력을 갖는 것으로 나타났으며 ABTS를 이용한 in vitro 실험에서 $50 \mu\text{g/ml}$ 농도 수준일 때 $60.3 \pm 1.2\%$ 의 라디칼 소거능을 보였다. 또한 TBARS를 이용한 LDL 과산화 억제율은 $23.3 \pm 1.2\%$ 로 6종의 화합물 중 가장 높은 활성을 나타내어 항산화력을 관찰한 모든 실험에서 6종의 화합물 가운데 비교적 높은 수준의 항산화력을 가지는 것으로 관찰되어 화합물 [3]이 노니열매의 항산화력에 상당히 기여하고 있는 것으로 생각되어진다. 본 실험에서는 전자공여능으로 인해 환원되어 자색이 탈색되는 정도로 항산화능을 나타내는 DPPH 법을 이용한 실험에서 화합물 [2], [7]이 $1000 \mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 각각 $80.9 \pm 0.2\%$, $83.1 \pm 0.2\%$, 의 비교적 높은 수준의 항산화 활성을 보였으며 노니열매의 메탄올 추출물의 경우 $1000 \mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 $93.8 \pm 0.2\%$ 의 가장 높은 항산화 활성을 나타내었

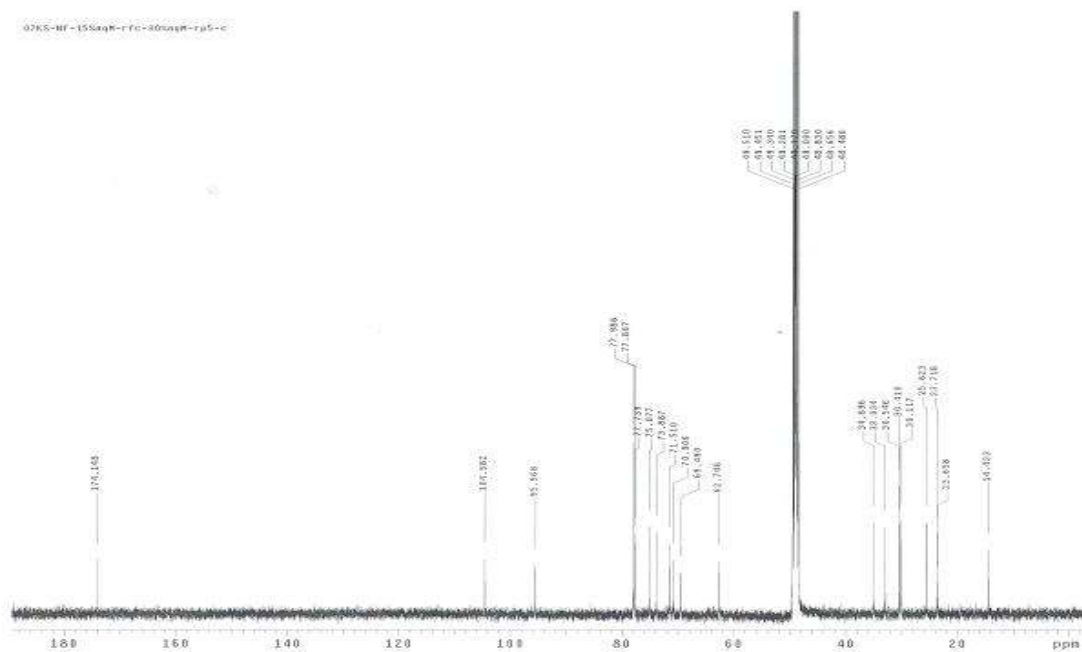
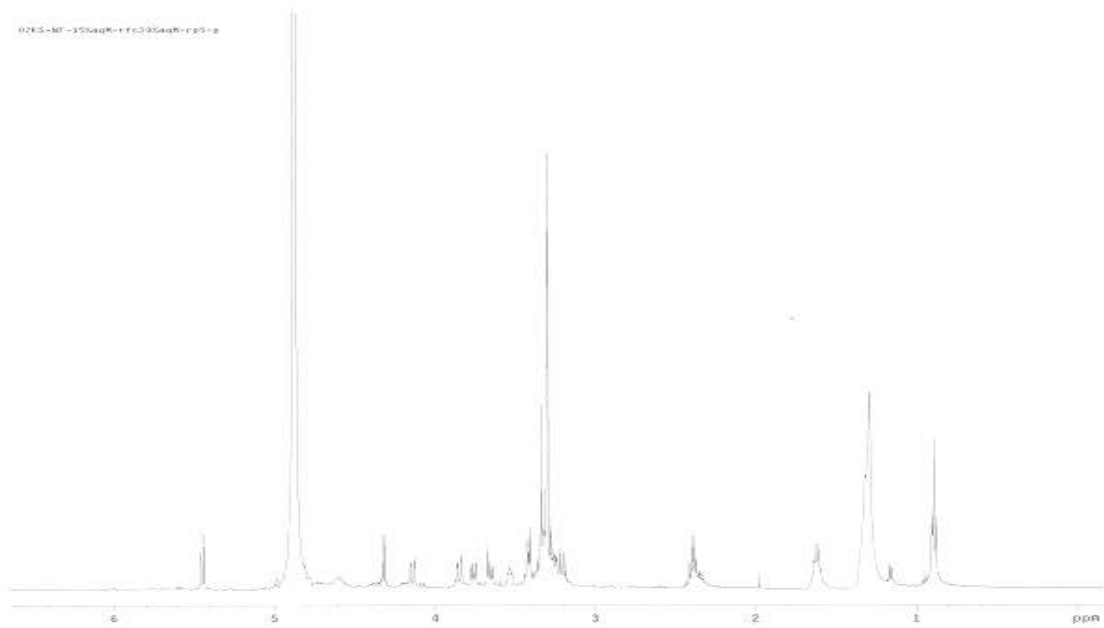
다. 따라서 DPPH 라디칼 소거능을 통한 노니열매의 항산화력은 각 화합물이 1000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도수준에서 단일한 화합물로 존재할 때보다 복합적인 화합물로 존재할 때 더 큰 항산화력을 갖거나 본 실험에서 분리한 주요화합물 이외에 강력한 항산화 능력을 갖는 미량의 화합물이 추출물에 포함된 것으로 생각되어지며 각 화합물이 800 $\mu\text{g/ml}$ 농도 수준에서는 메탄올 추출물이 화합물 [2], [4], [7]의 항산화력보다 더 낮은것을 감안할 때 메탄올 추출물에 존재하는 수많은 미량의 화합물이 800 $\mu\text{g/ml}$ 농도보다 더 높은 수준에서 활성을 나타내는 것으로 생각되어진다.

선행연구에 의하면 노니의 메탄올 추출물은 phenolic, hydroxy-phenolic compounds, acids, alcohols, sugars 또는 glycosides 를 포함하고 있으며 메탄올 추출물의 항산화 활성은 phenolic 그룹에 의하여 이루어진다고 하였다. 그러나 본 연구의 결과로 볼 때 다량을 차지하는 fatty acyl glycoside도 항산화 활성 결과로 는 것으로 보인다. ABTS 을 이용한 radical 소거 활성 서는 노니의 메탄올 추출물이 50 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 57.2 \pm 0.6%의 항산화력을 가지는 것으로 관찰되어 DPPH를 통한 실험결과와는 조금 다른 양상을 보였는데 화합물 [666650 $\mu\text{g/ml}$ 에서 16 \pm 0.7%의 소거능을 나타낼 정도로 항산화력이 약한 것으로 나타났고, 화합물 [3], [화합도 마찬가지로 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 25.7 \pm 0.9%, 도에.7 \pm 0.4%의 약한 항산화력을 보이는 것으로 관찰되었다. 화합물 [766650 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 92 \pm 2.8%, 서 25.7 \pm 는 87.1 \pm 2.5%, [2]는 60.3 \pm 1.2%의 라디칼 소거능을 가지는 것으로 관찰되었는데 모든 화합물이 농도의존적으로 활성이 증, 는 경되었는 나타내어 각 화합물이 DPPH를 이용한 실험보다 ABTS를 이용한 실험에서 더 민감 게 반응하였다. TBARS를 통한 지질과산화 억제효과의 측정 서는 6종의 화합물이 각각 [2] 도8 \pm 0.7%뿐 것으로 16.1 \pm 0.5%, [웃로 12 \pm 1.1%, [응로 14.9 \pm 1.9%, [66 11.1 \pm 0.9%, [76 15.1 \pm 1.8%, 의 항산화 활성을 나타내었는데 DPPH서는ABTS를 이용한 in vitro 실험에서 낮은 활성을 보인 화합물 [3]이 \pm 0번째로 높은 항산화 활성을 나타내었다. 노니의 항암효과는 근본적으로 유화력산소 라디칼을 제거하여 지방과산화물의 9%D1 \pm 0 는 BT연관성이 있는데 선행 라디칼 따르면 노니의 잎사귀 추출물은 구리 이온성을물은 구산화를 5%1 \pm 0차지] 18하였으며 구리에 의추출물은 구산화시 메탄올 추출물BT에틸 아세테이트 추출물에서 각각 88%, 86%의 산화 \pm 0력을 나타내었다] 18하였는데 본 연구에서는 가장 활성이 강한 것으로 관찰된 화합물 [2]이 23.3 \pm 1.2%, 메탄올 추출물이 11.8 \pm 1.9%의 억제율을 보이는데 그쳐 선행연구에 비하여 노니 메탄올 추출물의 활성이 미약하게 나타난 것을 알 수 있었는데 이는 실험방법이나 농도의 차이로 인한 것으로 생각되어진다.

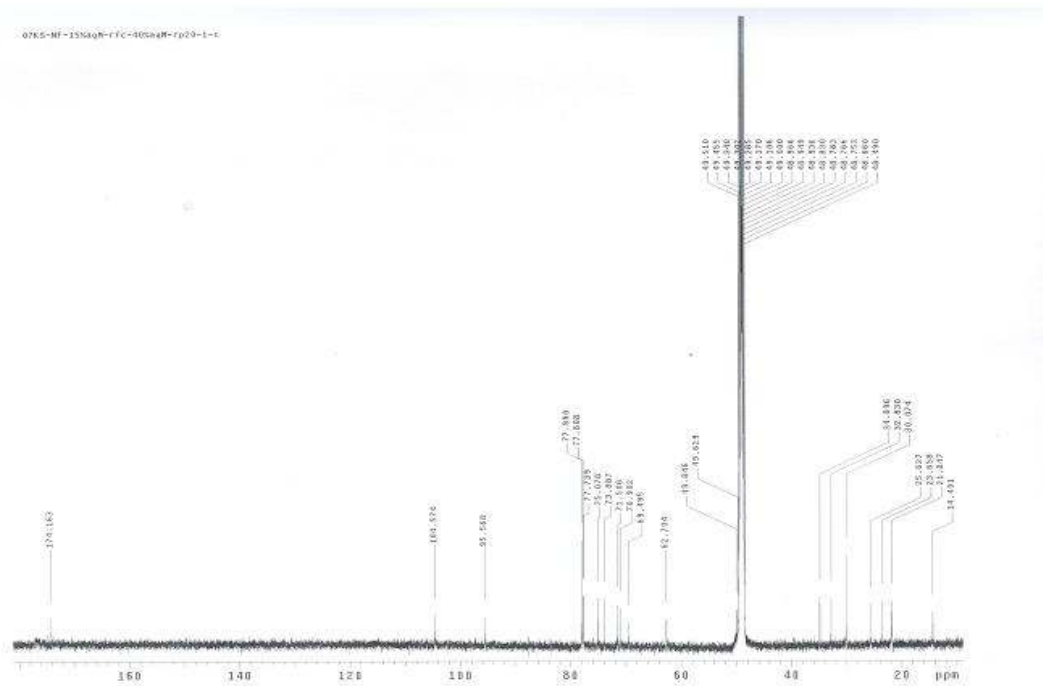
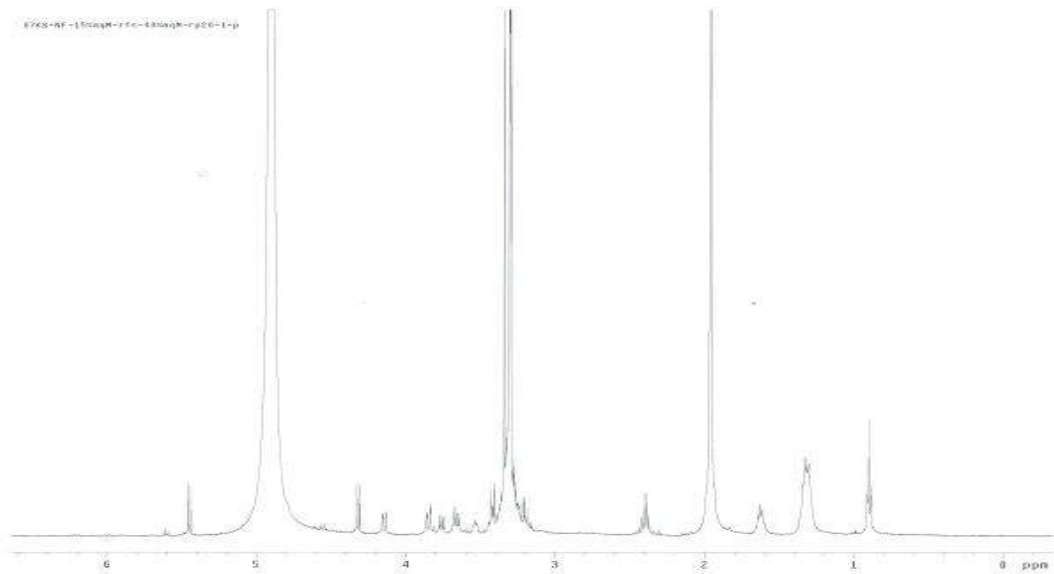
◆ Appendix



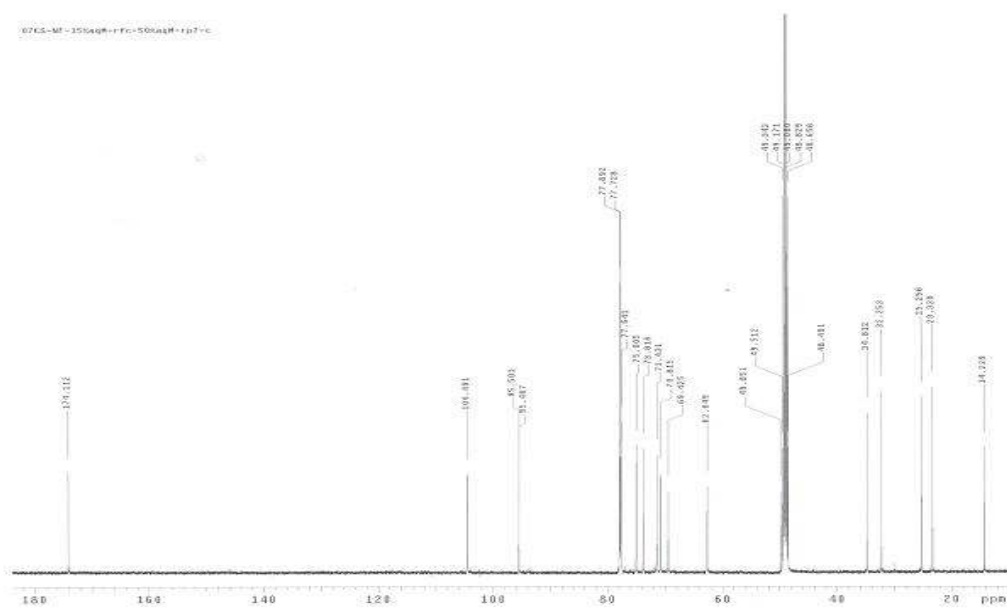
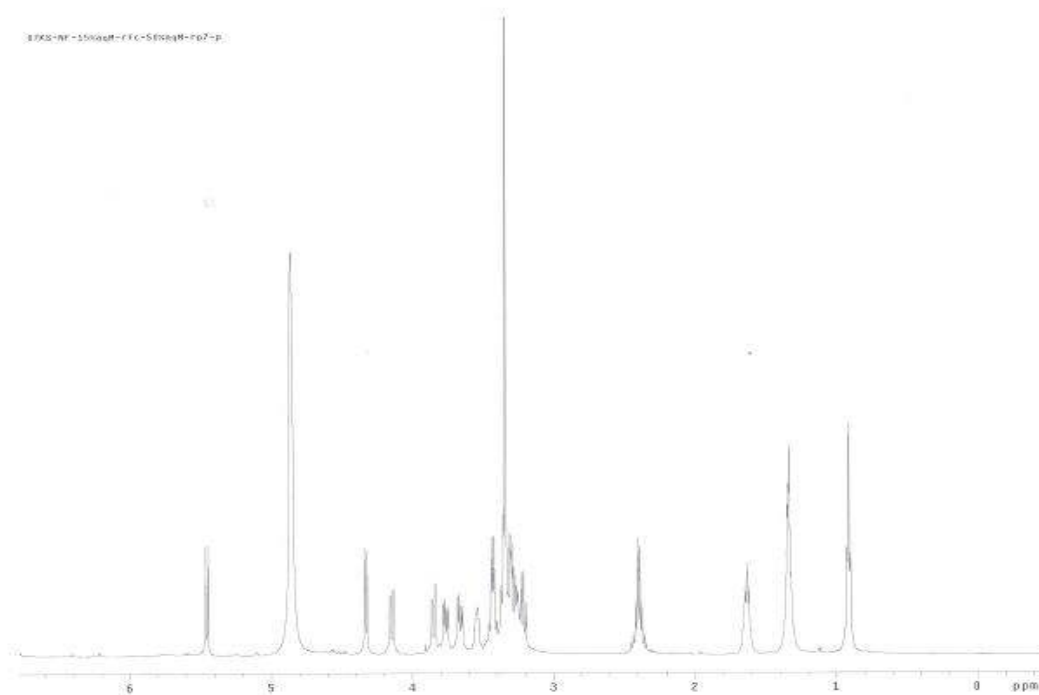
¹H and ¹³C NMR spectrum of compound 1



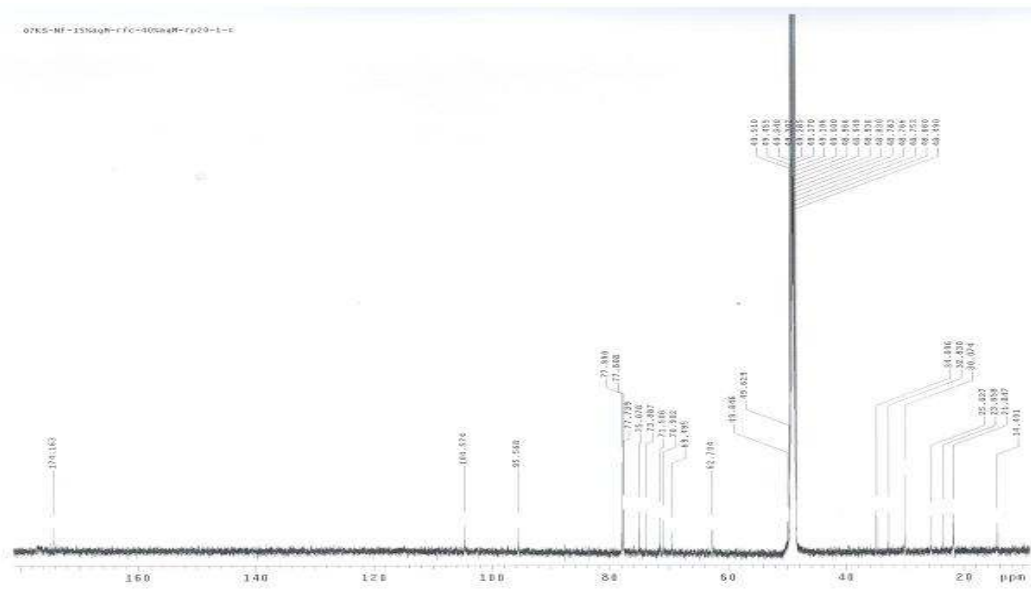
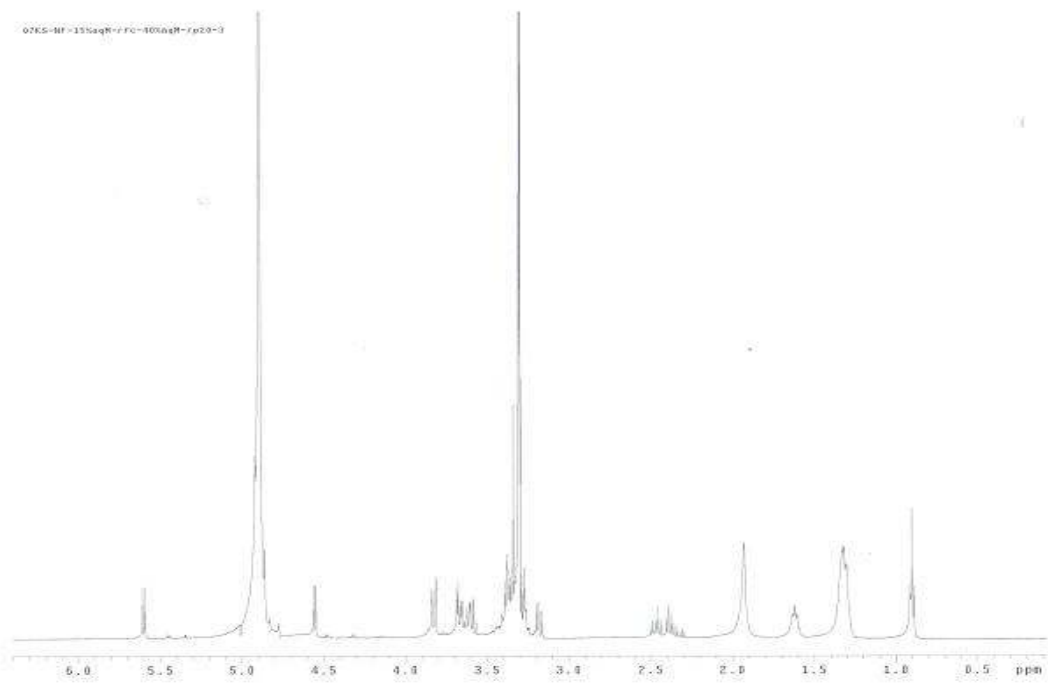
^1H and ^{13}C NMR spectrum of **2**



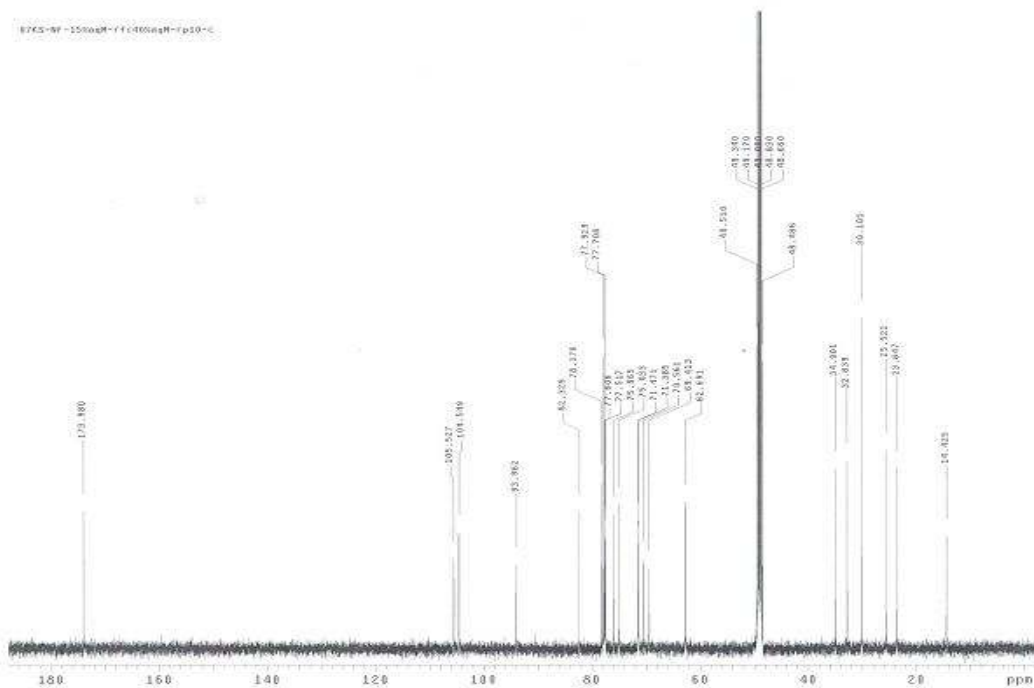
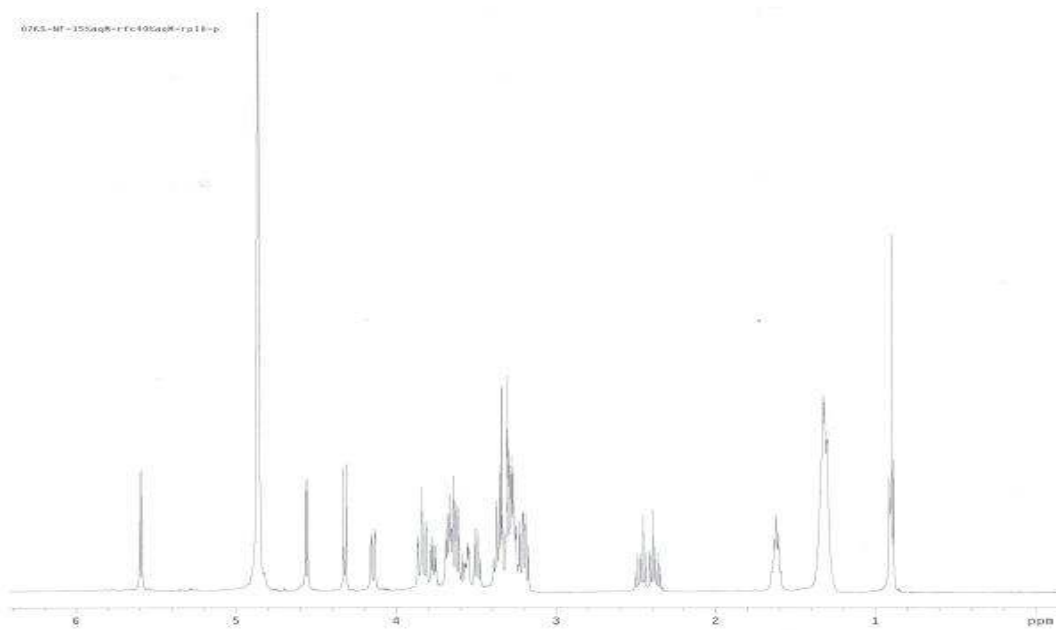
^1H and ^{13}C NMR spectrum of **3**



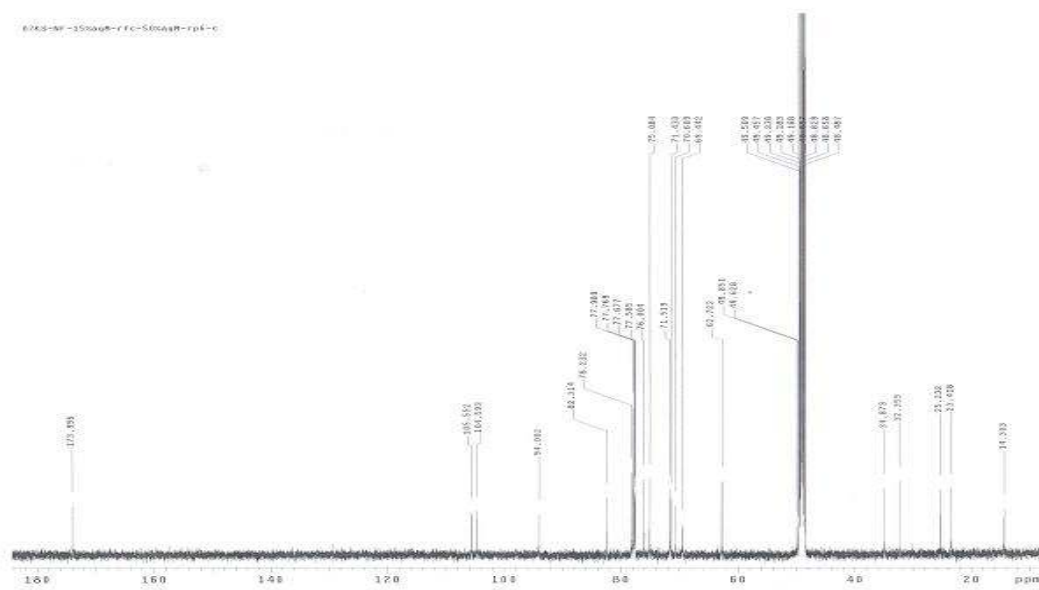
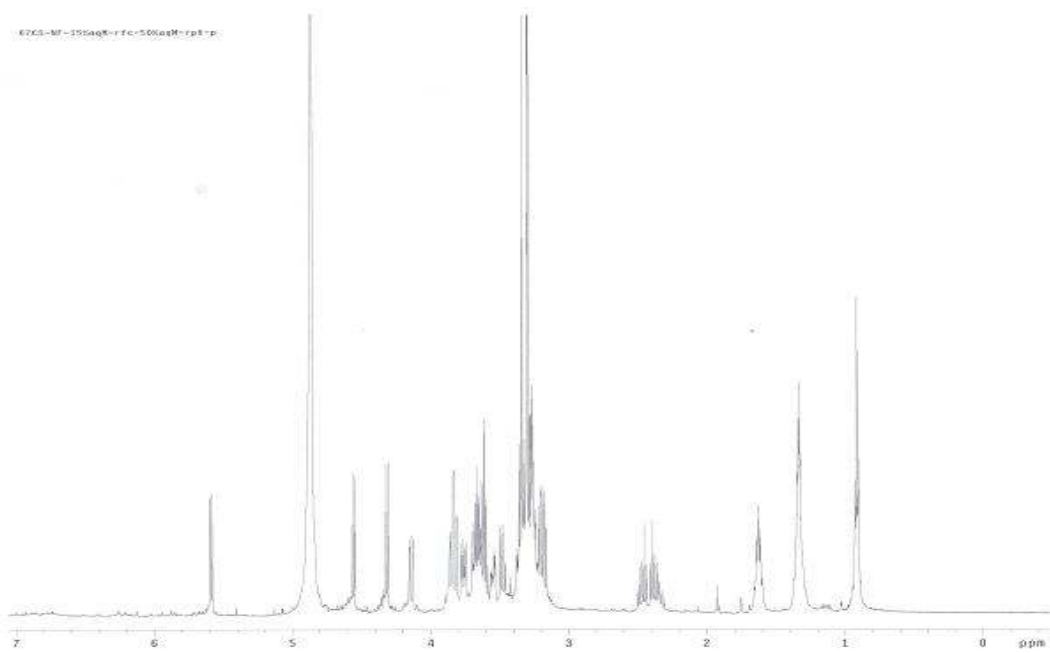
^1H and ^{13}C NMR spectrum of **4**



^1H and ^{13}C NMR spectrum of **5**



^1H and ^{13}C NMR spectrum of **6**



^1H and ^{13}C NMR spectrum of **7**

제 3 절 열대식물 카바로부터 생리활성물질 분리

1. 연구의 배경

카바 (*Kava-Piper methysticum*)는 남태평양 섬에서 번식하는 잡목이다. 카바라는 이름은 약초를 지칭할 뿐 아니라 전통음료로서도 언급되는데 그것은 뿌리를 과육과 혼합해 섞어서 만든 것이다. 수천년간 남태평양 주민들 사이에서 사회적 행사나 종교적인 제식에서 중요한 역할을 하고 있어 사교를 조장하고 화해감을 유도하는 것과 같은 목적을 띄고 있는 것으로 알려져 있다.

심장모양의 잎을 가진 카바라는 식물은 두텁고 옹기가 있는 뿌리들을 나누어주어야만 증식해 갈 수 있다. 이 식물의 무게는 22파운드까지 나가며 오늘날도 남태평양의 많은 섬들에서 카바는 널리 그 뿌리에 함유된 유효성분 때문에 약용식물로 재배되고 있다.

카바의 뿌리는 광범위한 치유효과를 가지는 이른바 kavalactones이라는 유효성분들을 함유하고 있는데, 이들 때문에 카바는 많은 나라에서 항불안 및 항우울제로 이용이 되고 있다. 이 약초의 효능 메커니즘이 완전히 밝혀지지는 않았지만, 정서를 관장하는 뇌의 원시적인 부분인 대뇌변연계(limbic system) 카바가 표적하고 있다고 알고 있다. kavalactones이라 불리는 카바의 약리활성 성분의 30% 이상을 함유하는 표준화된 카바 추출물 중에서, 식물의 뿌리에서 추출된 것이 중요하다고 알려져 있는데, 그 이유는 뿌리 추출물은 kavalactones 이외에도 상당수의 유효성분들의 혼합물이기 때문이다.

또한, 카바를 복용하는 사람들에게서 내성이 생기지 않아 부차적으로 카바는 일반적으로 중독성을 유발하지 않는 것이라고 생각하고 있다. 그러나 위장장애라는 부작용과 함께 고용량의 환자들에게서는 식욕부진, 거친 호흡, 충혈 등의 중독현상을 보이고 있어 많이 복용하는 것은 좋지 않다.

이러한 생리활성의 유효성 때문에 유럽, 아시아, 아메리카 등 여러 나라에서는 아직도 많은 연구가 진행 중인데, 우리는 이 식물로부터 카바 유도체를 규명하고, 효과적 분리 방법을 개발하고자 한다.



Figure 16. 카바

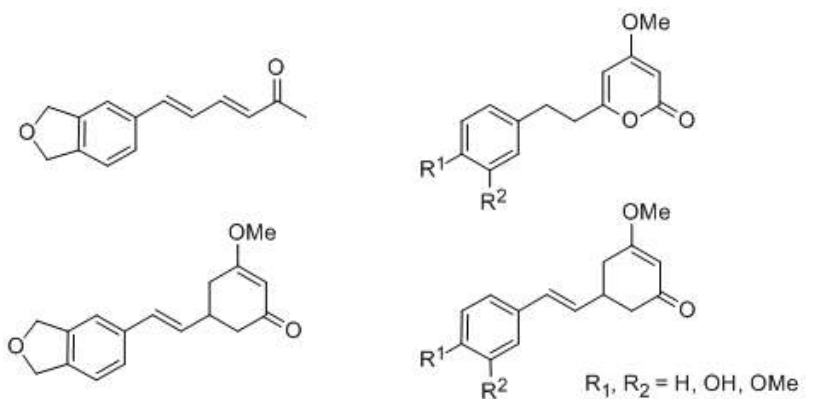


Figure 17. 카바로부터 분리된 물질들

2. 분리 및 구조결정

(1) 기기 및 시약

NMR 측정은 Bruker AMX-500 기기를 사용하여 수소 스펙트럼은 주파수 500 MHz에서 탄소는 125 MHz에서 각각 얻어졌다. 2차원 실험을 위해 필요한 변수는 표준시료를 사용하여 얻어진 기존 값을 이용하였으며 data processing은 Varian사에서 제공되는 VNMR software를 사용하였다. 실험에 사용된 주요 NMR 용매는 MeOH-d₄이며 모든 측정은 24 °C에서 이루어졌다. HPLC는 Spectra-physics의 Isochrom isocratic pump를 중심으로 Rheodyne 7825 injector, Shodex RI detector 그리고 linear 2-pen recorder로 구성하여 semi-prep column (1 X 25 cm), YMC C18 reversed-phase semi-prep column(1 X 25 cm)와 각각의 guard column cartridge를 사용하였다. Mass 측정은 서울소재 기초과학지원센터의 질량분석실에 의뢰하여 이루어졌으며 기기의 모델은 JEOL JMS-SX 102A와 JMS-700 high-resolution mass spectrometer를 이용하였다. IR spectra는 Mattson GALAXY spectrometer를 이용하였다. UV spectra는 Hitachi U-3210 spectrometer를 이용하였으며 Optical rotation은 Φ 3.5 X 50 mm cell을 이용하여 JASCO사의 P-1020 Digital polarimeter로 측정하였다.

(2) 천연물의 추출 및 분획

Kava 시료(시료 번호 08KS-16-2)는 2008년 4월 남태평양의 Kosrae island에서 채집하였다. 시료는 채집 즉시 현장에서 드라이아이스로 냉동시킨 후 이 상태에서 운반하여 냉동고 (-25 °C)에 보관되었다. 시료를 해빙시킨 후 동결 건조하여 수분을 제거 하고 (drt wt 0.96 Kg), MeOH (1.5 L X2)와 CH₂Cl₂ (3 L X1)을 사용하여 유기물질을 추출하였다. 각각의 용매를 증발시킨 후에 합한 조추출물에 대하여 물과 *n*-butanol의 분획을 이용하여 소금과 기타의 염을 제거하였다. 얻어진 *n*-butanol의 분획 중 16.8g을 사용하여 이 유기층을 다시 15% aqueous MeOH (1 L)와 *n*-hexane (1 L)을 사용하여 극성과 용해도에 따른 분획을 하고, 각각의 분획을 건조시킨 결과 14.0g의 유기층이 얻어졌다. Reverse-phase column을 통하여 8개의 분획으로 나누었으며 NMR 분석을 통하여 분획 4에서 Kava 계열 물질이 있을 것으로 예상할 수 있었다. Fraction 4은 감압 건조 한 후 유기물질을 35 % aqueous MeOH 용리용체를 이용하여 역상 반분취 HPLC 컬럼 (C18 reverse-phase semi-preparative HPLC column) (YMC ODS-AQ, 입자 직경 5 μ m, 250 x 10 mm (길이 x 내경), 용출속도 2 ml/min, 굴절을 검출기)상에서 크로마토그래피하여 12개의 fraction을 얻었다. 이 중 fraction 5은 감압 건조 한 후 유기물질을 25 % EtOAc / *n*-hexane 용리용체를 이용하여 순상 HPLC 컬럼 (normal-phase semi-preparative HPLC column) (YMC SIL column, 입자 직경 5 μ m, 250 x 10 mm (길이 x 내경), 용출속도 2 ml/min, 굴절을 검출기)상에서 머무름 시간 순서대로 화합물 (, B를 (, 약 20mg, 30mg을 얻을 수 있다. Fraction 7은 35 % aqueous MeOH 용리용체를 이용하여 역상 HPLC 컬럼 (C18 reverse-phase semi-preparative HPLC column) (YMC ODS-AQ, 입자 직경 5 μ m, 250 x 10 mm (길이 x 내경), 용출속도 2 ml/min, 굴절을 검출기)상에서 머무름 시간 순서대로 화합물 C, D를 각각 약 5.0mg, 4.0mg을 얻을 수 있다. Fraction 9는 30 % aqueous MeOH 용리용체를 이용하여 역상 HPLC 컬럼 (C18 reverse-phase semi-preparative HPLC column) (YMC ODS-AQ, 입자 직경 5 μ m, 250 x 10 mm (길이 x 내경), 용출속도 2 ml/min, 굴절을 검출기)상에서 화합물 E를 약 17mg를 얻을 수 있다. 마지막으로, fraction 12은 25 % aqueous MeOH 용리용체를 이용하여 역상

HPLC 컬럼 (C18 reverse-phase semi-preparative HPLC column) (YMC ODS-AQ, 입자 직경 5 μm , 250 x 10 mm (길이 x 내경), 용출속도 2 ml/min, 굴절을 검출기)상에서 화합물 F를 약 2.0mg 얻을 수 있다. 이렇게 얻어진 6종의 물질은 NMR 실험을 통하여 구조를 분석해 본 결과 dihydrokavain, kavain, *cis*-yangonin, yangonin, desmethoxyyangonin, flavokavain C인 것을 알 수 있었다.

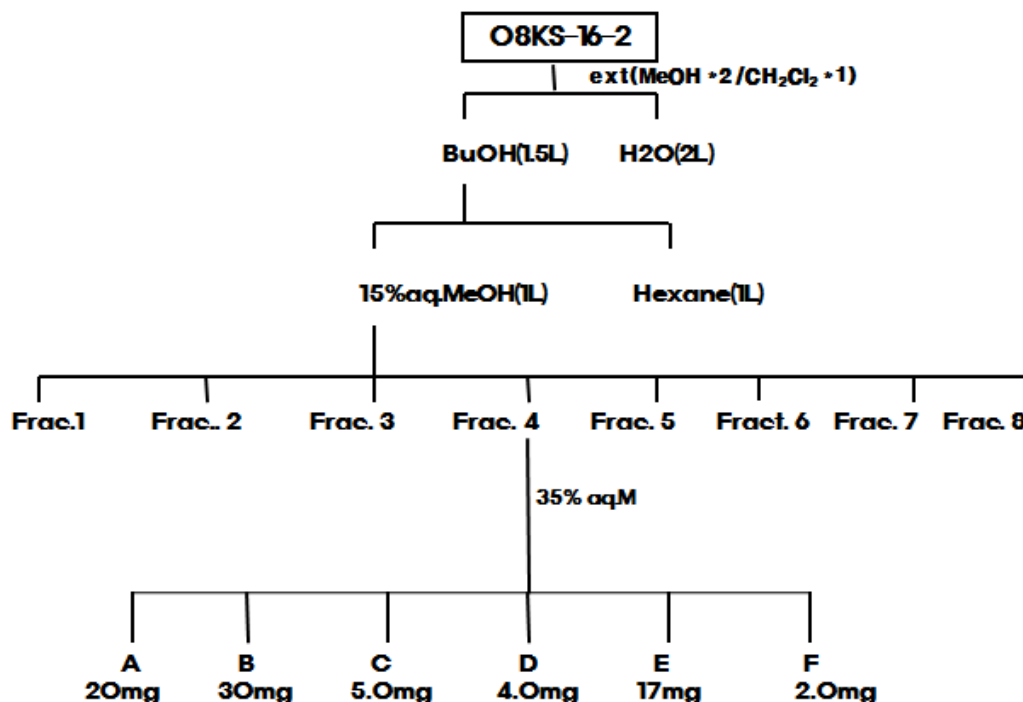


Figure 18. Isolation scheme

(4) 천연물의 구조 결정

대사물질인 화합물 D는 ^{13}C NMR 자료를 검토한 결과 δ 171.6과 114.7 위치에 methoxy group 형태가 결합되어 있는 구조로 생각되었다. δ 128.4 위치의 phenyl group과 δ 7.42와 6.42 위치에 doublet이 δ 159.4가 위치해 있는 lactone에 연결 되어 있다. methine과 methyl group은 2D NMR실험인 HSQC의 correlation을 통해 알 수 있다. 또한 δ 128.4, 7.42, 6.42, 159.4는 2D NMR실험인 HMBC correlation을 통해 알 수 있다. 2쌍의 doublet은 각각 같은 coupling constant를 갖고 있는 것과 2D NMR실험인 COSY의 correlation을 통해 이웃하여 있는 aromatic protons인 것을 확인 할 수 있었다. ^{13}C NMR 자료에서도 각각의 수소에 해당하는 aromatic과 upfield methyl 탄소 peak 들이 발견되었다. ^{13}C NMR에서는 δ 114.7, 128.4, 159.4, 171.6, 167.5에서 quaternary 탄소가 발견되었다. ^1H COSY 스펙트럼에서 2쌍의 aromatic proton들이 서로 연결되어 있는 것으로 확인되었으며, 이러한 해석은 HSQC와 HMBC 자료의 해석으로 증명되었다. (Table 5)

이러한 특징을 바탕으로 문헌 조사를 한 결과 대사물질 D의 평면구조는 기지의 물질 KAVA(*Piper methysticum*)과 동일한 것으로 결론이 내려졌다. 다른 대사물질인 화합물 A- C, E- F의 물질들도 거의 비슷한 수소와 탄소 NMR 시그널을 갖고 있었으며 2D spectrum을 종합하여 본 결과 dihydrokavain, kavain, *cis*-yangonin, yangonin, desmethoxyyangonin, flavokavain C인 것을 알 수 있었다 (Fig. 3).

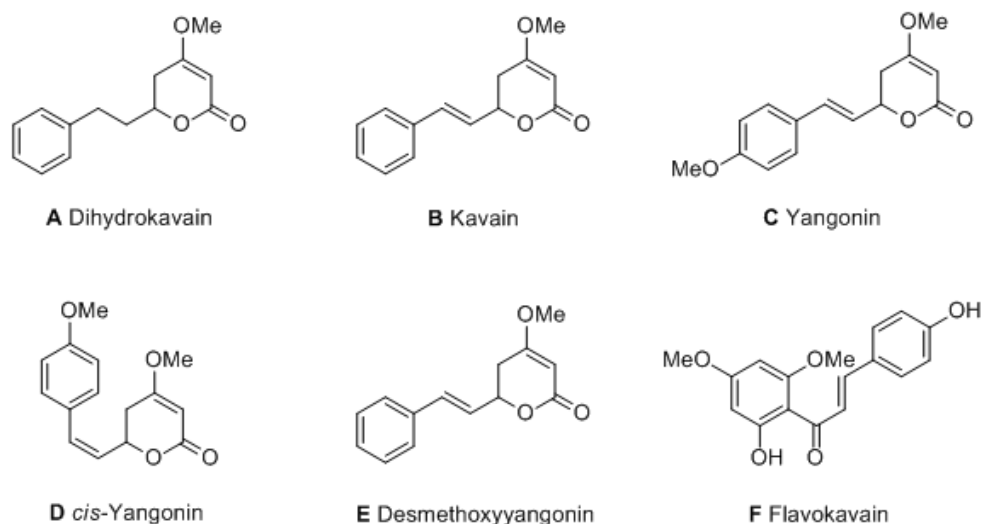


Figure 19. Isolated compounds

no.	δ_H	δ_C
2		161.0
3	5.48(1H, d, $J = 2.5$)	88.6
4		171.5
5	5.91(1H, d, $J = 2.5$)	100.7
6		164.4
7	6.46(1H, d, $J = 15.5$)	116.6
8	7.42(1H, d, $J = 15.0$)	135.7

no.	δ_H	δ_C
9		128.2
10	7.46(1H, d, $J = 8.5$)	129.2
11	6.91(1H, d, $J = 8.5$)	114.6
12		159.3
12-OCH ₃	3.85(3H, s)	56.1
4-OCH ₃	3.84(3H, s)	55.6

Table 5. Assignment of ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy of compound **C**

Dihydrokavain (A) : White crystals (1.17%), mp 58–60 °C ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.27 (2H, m, H-11 and H-13), 7.18 (3H, m, H-10, H-12 and H-14), 5.12 (1H, d, $J = 1.3$ Hz, H-3), 4.34 (1H, m, H-6), 3.70 (3H, s, 4-OCH₃), 2.84 (1H, m, H-8), 2.73 (1H, m, H-8), 2.48 (1H, ddd, $J = 1.3, 11.9, 17.0$ Hz, H-5), 2.28 (1H, dd, $J = 3.9, 17.0$ Hz, H-5), 2.11 (1H, m, H-7), 1.91(1H, m, H-7); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 167.5(C-2), 90.6(C-3), 173.2(C-4), 33.3(C-5), 75.2(C-6), 36.6(C-7), 31.3(C-8), 141.3(C-9), 128.8(C-10), 128.9(C-11), 126.5(C-12), 128.9(C-13), 128.8(C-14), 56.4(15-OCH₃)

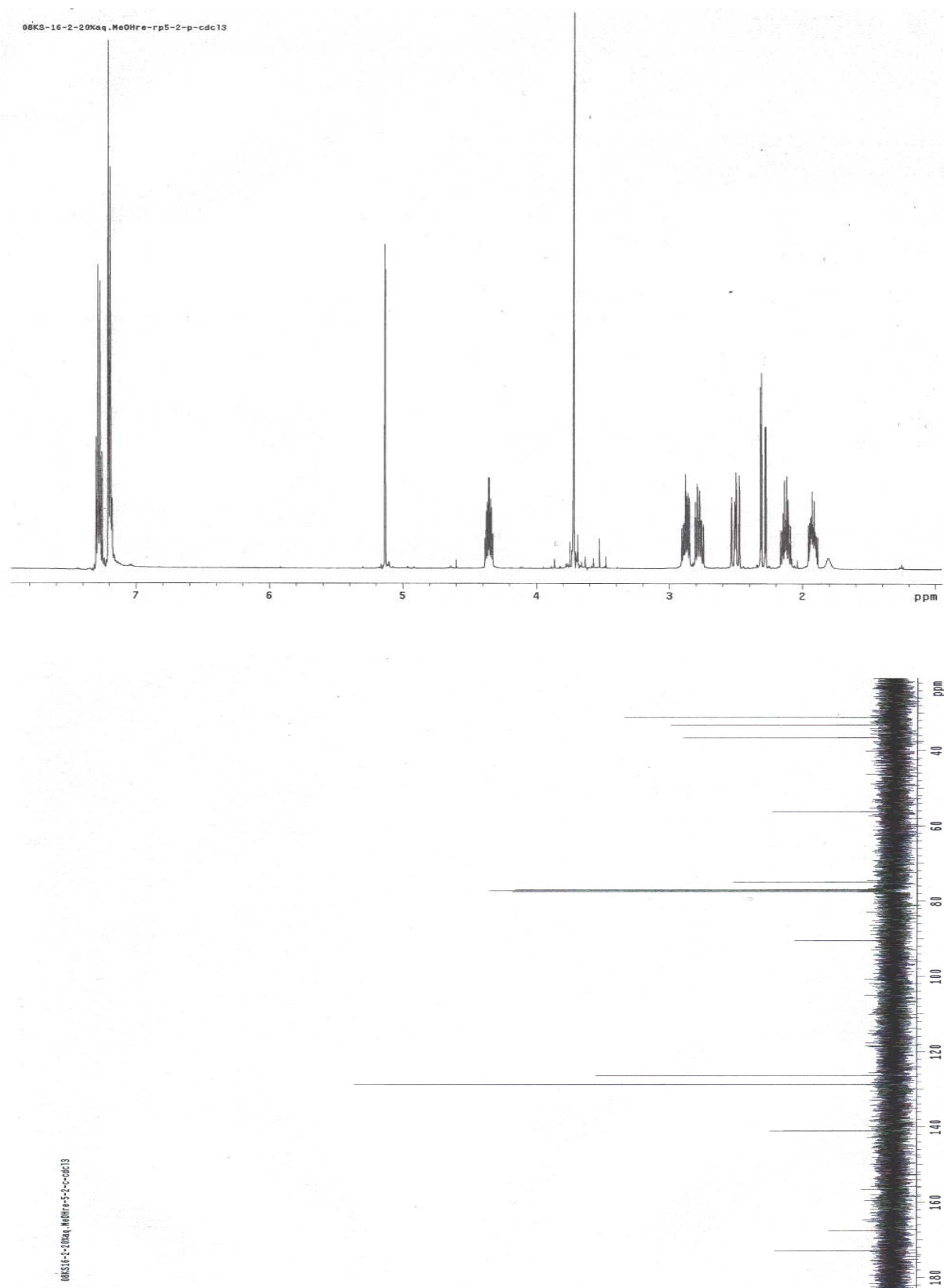
Kavain (B) : White crystals (0.53%), mp 108–110 °C ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.32 (2H, m, H-11 and H-13), 7.25 (2H, m, H-10 and H-14), 7.20 (1H, m, H-12), 6.70 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8), 6.23 (1H, dd, $J = 6.14, 15.9$ Hz, H-7), 5.16 (1H, s, H-3), 5.02 (1H, m, H-6), 3.72 (3H, s, H-15), 2.63 (1H, dd, $J = 10.7, 17.0$ Hz, H-5), 2.51 (1H, dd, $J = 17.0, 4.5$ Hz, H-5); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 167.0(C-2), 90.8(C-3), 172.8(C-4), 33.5(C-5), 76.2(C-6), 126.1(C-7), 133.3(C-8), 136.1(C-9), 127.1(C-10), 129.0(C-11), 128.7(C-12), 129.0(C-13), 127.1(C-14), 56.5(15-OCH₃)

Yangonin (D) : Yellow needles (0.4%), mp 152–155 °C ; ¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.41 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-10 and H-14), 6.80 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-11 and H-13), 6.74 (1H, d, *J* = 13.0 Hz, H-8), 5.98 (1H, d, *J* = 12.5 Hz, H-7), 5.95 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-5), 5.46 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-3), 3.83 (3H, s, 12-OCH₃), 3.78 (3H, s, 4-OCH₃). ¹³C NMR (125MHz, CDCl₃) δ 171.0(C-4), 164.3(C-6), 160.1(C-2), 159.3(C-12), 137.2(C-7), 131.0(C-8), 128.0(C-9), 119.1(C-7), 114.0(C-10), 102.1(C-5), 89.0(C-3), 56.0(12-OCH₃), 55.5(4-OCH₃)

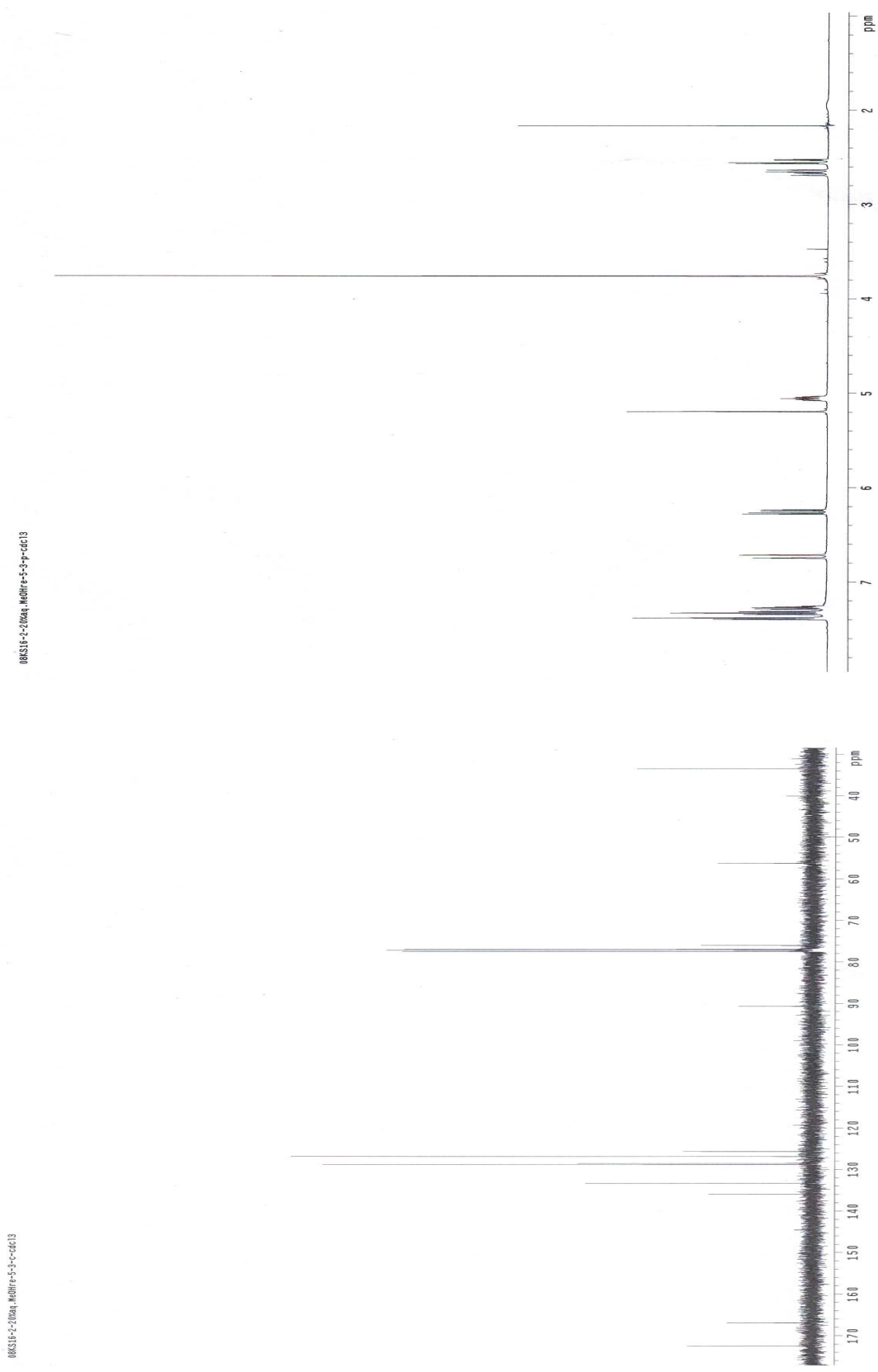
Desmethoxyyangonin (E) : White amorphous solid (0.21%), mp 138–140 °C ;
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.48 (2H, m, H-10 and H-14), 7.44 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-8), 7.35–7.31 (3H, m, H-11, H-12 and H-13), 6.54 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-7), 5.90 (1H, s, H-5), 5.44 (1H, d, *J* = 1.4 Hz, H-3), 3.76 (3H, s, H-15); ¹³C NMR(125 MHz, CDCl₃) δ 164.2(C-2), 89.2(C-3), 171.4(C-4), 101.8(C-5), 158.9(C-6), 119.1(C-7), 135.8(C-8), 135.6(C-9), 127.8(C-10), 129.2(C-11), 129.8(C-12), 129.2(C-13), 127.8(C-14), 56.3(15-OCH₃)

Flavokavain (F) : White crystalline compound (0.012%), mp 185–188 °C ; ¹H NMR(CDCl₃) δ 7.72 (1H, d, *J* = 16.2 Hz, H-β), 7.65 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-α), 7.44 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2 and H-6), 6.82 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3 and H-5), 6.02 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H-3'), 5.94 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-5'), 3.86 (3H, s, 6'-OCH₃), 3.77 (3H, s, 4'-OCH₃)

◆ Appendix



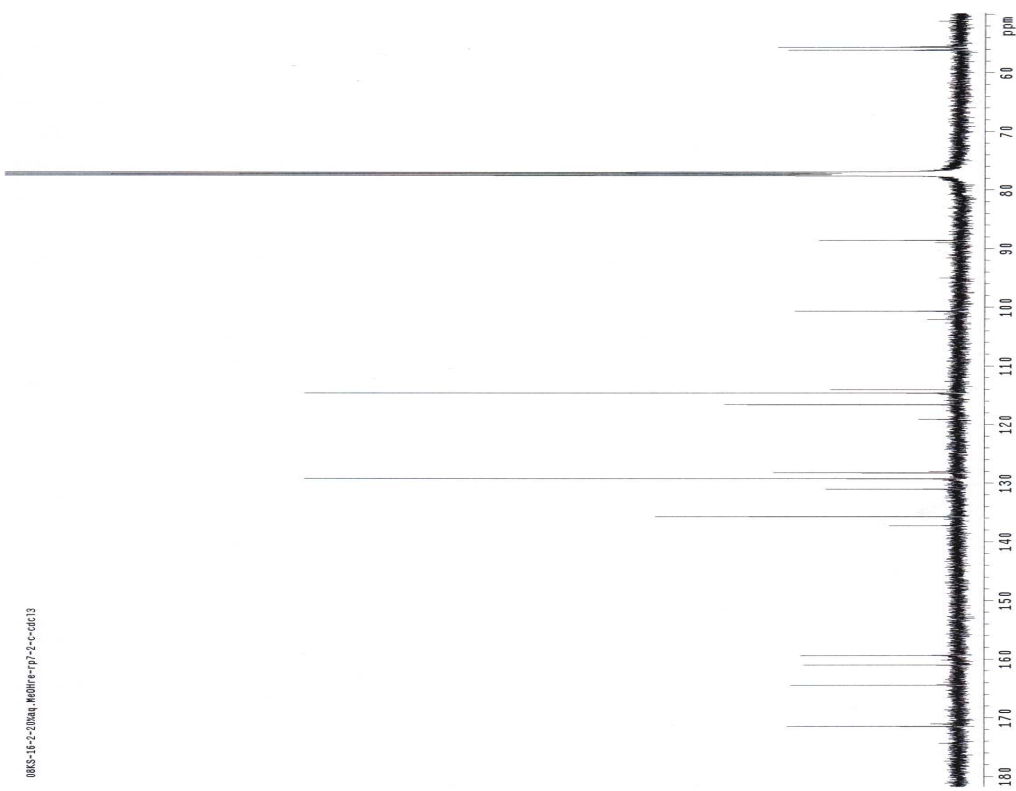
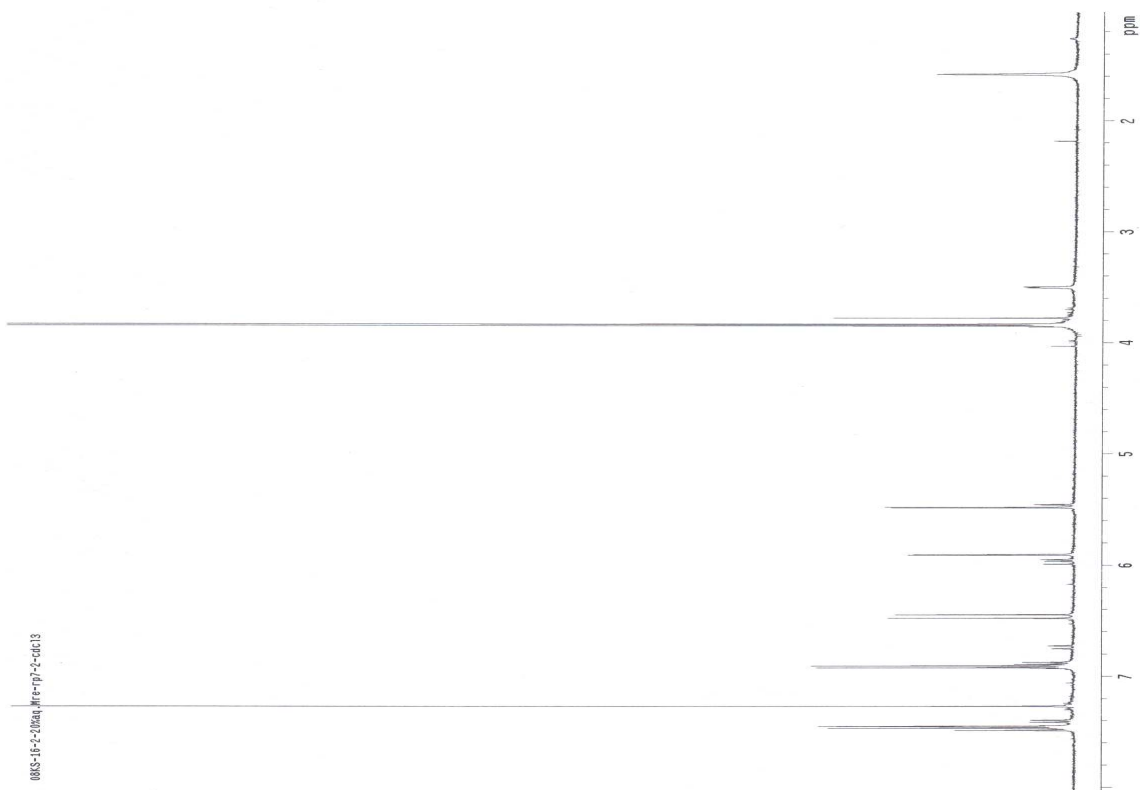
¹H and ¹³C NMR spectrum of A



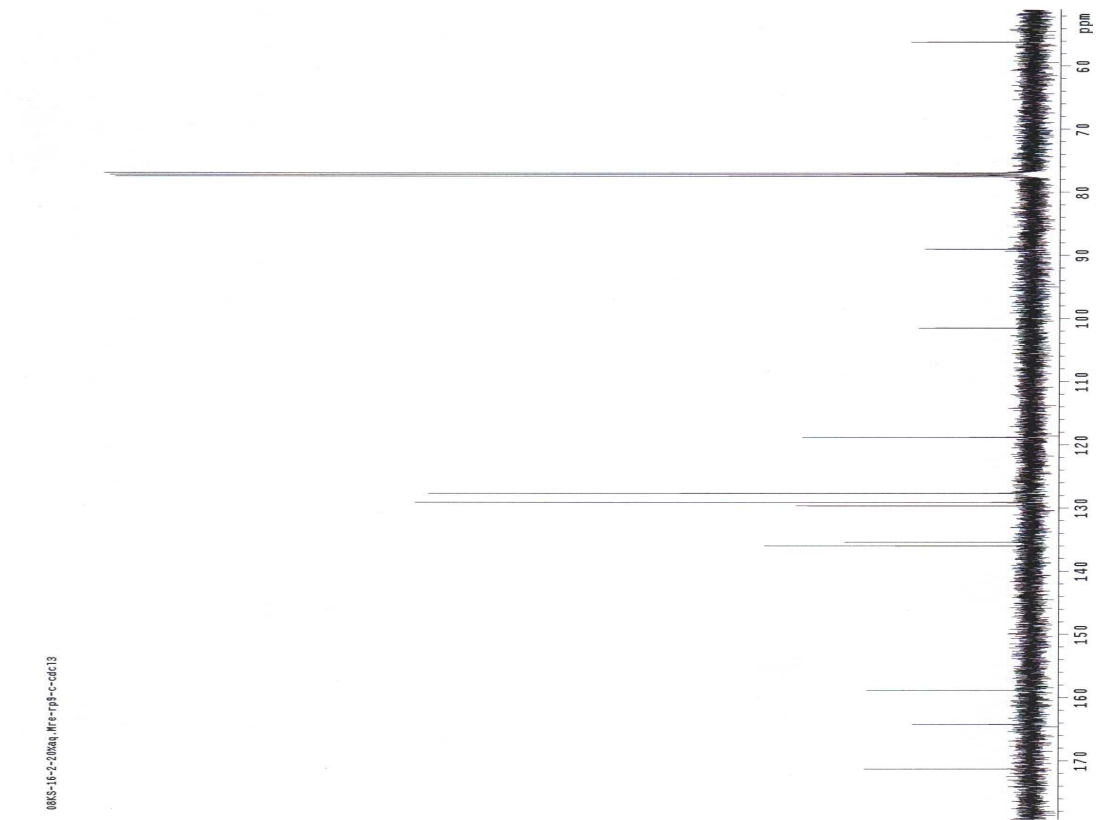
^1H and ^{13}C NMR spectrum of **B**



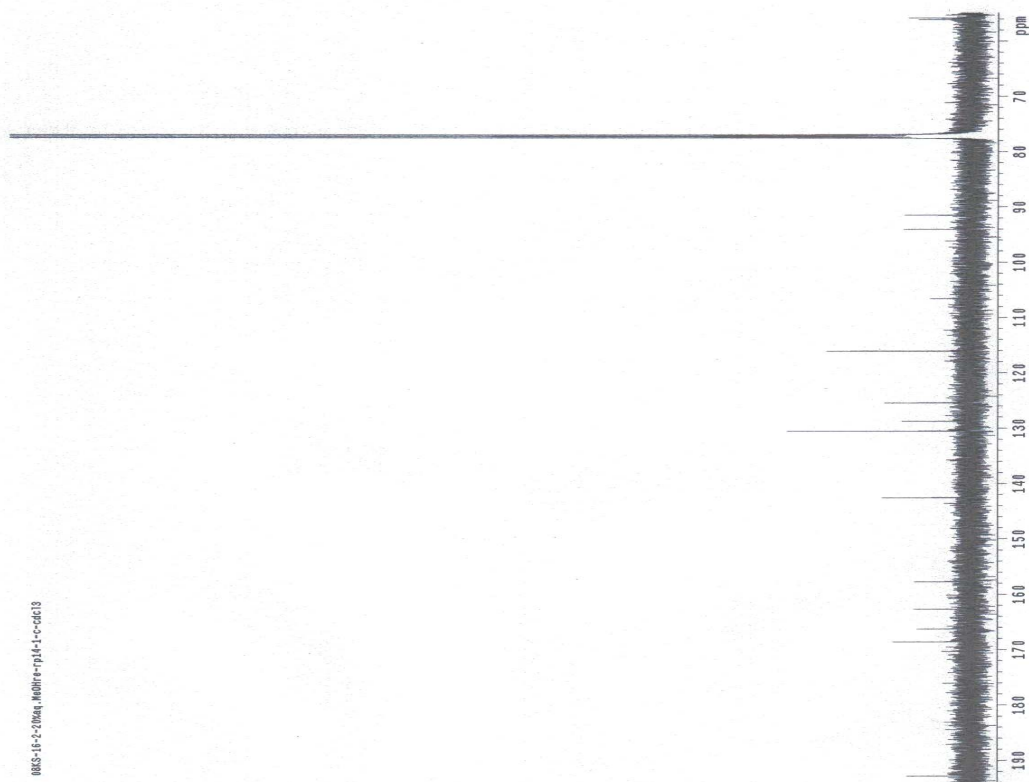
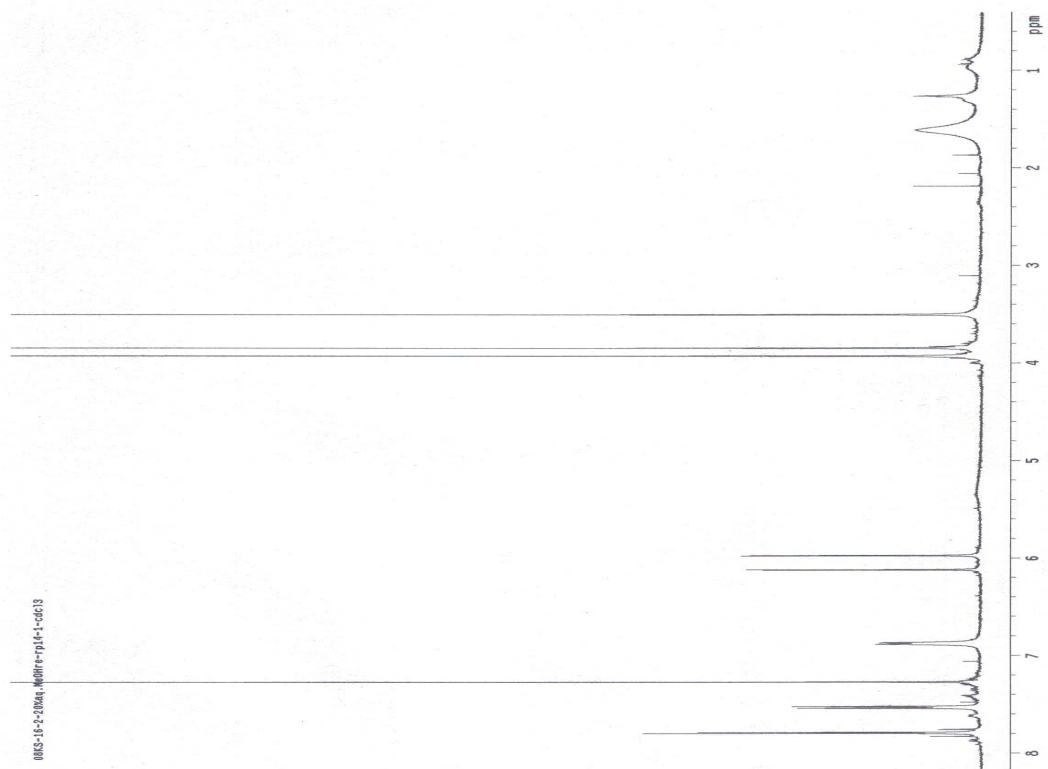
^1H and ^{13}C NMR spectrum of **C**



^1H and ^{13}C NMR spectrum of D



^1H and ^{13}C NMR spectrum of **E**



¹H and ¹³C NMR spectrum of F

제 4 장 연구개발 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

·본 연구과제는 주관 연구기관과 공동으로 마이크로네시아 축주와 코스래주에서 열대도서 생물을 채집 국내에 반입하여 생명공학 관련분야에 연구소재로 제공하는 것을 주요 목적으로 하고 있음. 1단계 3년간의 열대 도서국가에서 311종의 육상식물을 채집하여 현지에서 1차 가공 후 적법절차를 거쳐 국내 반입 추출물을 확보하였음.

·확보한 열대 도서 식물 중 약용으로 사용되는 노니(*Morinda citrifolia*)와 카마(*Piper methysticum*)로부터 13종의 천연물을 분리 정제하여 화학적 구조를 규명하였음. 이들은 fatty acid glucoside계 화합물 7종과 kavalactone계 화합물 6종으로 국내 육상식물에서 얻기 힘든 화합물들임.

·본 연구는 전 연구기간 동안 주관기관과의 긴밀한 협동연구를 통하여 수행되었으며 그 결과 상기의 결과로 2 편의 학술논문을 준비중임.

·상기한 바와 같이 311종의 열대도서생물자원의 확보와 13종의 천연물의 분리정제 및 구조 동정으로 본 연구과제는 성실히 수행되었으며 천연물 화학적 제반 기술수준을 만족하였고 당초에 설정되었던 목표를 대부분 달성하였음.

·본 연구의 결과는 일부 신규 생리활성 천연물의 발견 자체뿐 아니라 열대 도서생물의 천연물이 화학적 우수함을 보이는 계기가 되었으며 국내의 천연물 연구의 대상이 해외의 생물자원에 접근해야 함을 시사하였다는 점에서 큰 의의가 있음.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

·열대도서지역에 서식하는 식물 311종을 채집 국내 반입하였으며, 현지인들이 약용으로 사용하는 2종의 시료로부터 13종의 천연물을 분리 동정하고 일차적인 생리활성 파악을 완료하였음. 이들은 모두 국내 식물에서 찾아볼 수 없는 화합물이며, 이러한 연구결과들은 향후의 천연물 관련 연구들을 위한 소재로 직접 활용될 예정임. 천연 생리활성물질을 활용하는 대표적인 분야는 신약개발인 바 이들은 천연물 그 자체 혹은 합성유도체로서 선도물질의 역할을 수행할 수 있으며 생물유기화학이나 약화학적 연구에도 연구용시약으로 개발이 가능함. 따라서 향후 이들의 생체내 작용기전을 완벽히 파악하고 생리활성에 대한 각각의 부분구조의 역할을 규명하여 천연물의 산업적 개발을 위한 선도물질로 활용할 계획임.

·연구과제를 통하여 유기물질의 추출, 분획의 최적화, 다양한 크로마토그래피 기법을 활용한 천연물의 분리정제, 현대화된 분광학적 기법을 활용한 천연물의 구조 결정 등 천연물화학의 제반 단위기술의 개선이 이루어졌음.

·요약하여 본 연구과제에서 개발된 천연물 화학기술은 향후의 유용신물질 산업화 연구를 위한 요소기술로 활용되며 확보된 화합물은 생명공학 관련분야 개발연구를 위한 우수한 소재로 이용될 것임.

제 6 장 참고문헌

- (1) Jhoo, J.-W.; Freeman, J. P.; Heinze, T. M.; Moody, J. D.; Schnackenberg, L. K.; Beger, R. D.; Dragull, K.; Tang, C.-S.; Ang, C. Y. W.. In Vitro Cytotoxicity of Nonpolar Constituents from Different Parts of Kava Plant (*Piper methysticum*). *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 3157-3162.
- (2) Backleh, M.; Ekici, P.; Leupold, G.; Parlar H.. Quantitative Elimination of Flavokavines A and B from Kava-kava (*Piper methysticum* G. Forst) by Isoelectric Focused Adsorptive Bubble Separation. *Naturwissenschaften.* **2003**, *90*, 366-369.
- (3) Billo, M.; Cabalion, P.; Waikedre, J.; Fourneau, C.; Bouttier, S.; Hocquemiller, R.; Fournet, A.. Screening of some New Caledonian and Vanuatu Medicinal Plants for Antimycobacterial Activity. *Journal of Ethnopharmacology* **2005**, *96*, 195-200.
- (4) Singh, Y. N.. Potential for Interaction of Kava and St. John's Wort with Drugs. *Journal of Ethnopharmacology* **2005**, *100*, 108-113.
- (5) Jhoo J.-W.; Ang C. Y. W.; Heinze, T. M.; Deck, J.; Schnackenberg, L. K.; Beger, R. D.; Dragull, K.; Tang, C.-S.. Identification of C-glycoside Flavonoids as Potential Mutagenic Compounds in Kava. *Journal Of food science* **2007**, *72*, 120-125.
- (6) Bobeldijk, I.; Boonzaaijer, G.; Spies-Faber E. J.; Vaes, W. H. J.. Determination of Kava lactones in Food Supplements by Liquid Chromatography-Atmospheric Pressure Chemical Ionization Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **2005**, *1067*, 107-114.
- (7) Bilia, A. R.; Scalise, L.; Bergonzi, M. C.; Vincieri, F. F.. Analysis of Kavalactones from *Piper methysticum* (kava-kava). *Journal of Chromatography B*, **2004**, *821*, 203-214.
- (8) Zi, X.; Simoneau, A. R.. Flavokavain A, A Novel Chalcone from Kava Extract, Induces Apoptosis in Bladder Cancer Cells by Involvement of Bax Protein-dependent and Mitochondria Dependent Apoptotic Pathway and Suppresses Tumor Growth in Mice. *Cancer Res* **2005**, *65*, 3479-3486.
- (9) Folmer, F.; Blasius, R. ; Morceau, F.; Tabudravu, J.; Dicato, M.; Jasparsa, M.; Diederich, M.. Inhibition of TNF α -induced Activation of Nuclear Factor kB by Kava (*Piper methysticum*) Derivatives. *Biochemical Pharmacology*, **2006**, *71*, 1206-1218.
- (10) Ranjith, H.; Dharmaratne, W.; Nanayakkara, N. P. D.; Khan, I. A.. Kavalactones from *Piper methysticum*, and Their C-13 NMR Spectroscopic Analyses. *Phytochemistry*, **2002**, *59*, 429-433.
- (11) Wu, D.; Nair, M. G.; Dewitt D.L.. Novel Compounds from *Piper methysticum* Forst (Kava kava) Roots and Their Effect on Cyclooxygenase Enzyme. *J Agric Food Chem*, **2002**, *50*, 701-705.
- (12) Wu, D.; L. Yu.; Nair M. G.; Dewitt D.L.; Ramsewak, R. S.. Cyclooxygenase Enzyme Inhibitory Compounds with antioxidant activities from *Piper methysticum* (kava kava) roots. *Phytomedicine*, **2002**, *9*, 41-7.
- (13) Dragull, K.; Yoshida, W. Y.; Tang, C.-S.. Piperidine Alkaloids from *Piper methysticum*. *Phytochemistry*, **2003**, *63*, 193-198.
- (14) Hashimoto T.; M. Suganuma; Fujiki, H.; Yamada, M.; Kohno, T.; Asakawa, Y.. Isolation

- and Synthesis of TNF- α Release Inhibitors from Fijian Kava (*Piper methysticum*). *Phytomedicine*, **2003**, *10*, 309–317.
- (15) Xuan, T. D.; Elzaawely, A. A.; Fukuta, M.; Tawata, S.. Herbicidal and Fungicidal Activities of Lactones in Kava(*Piper methysticum*). *J. Agric. Food Chem*, **2006**, *54*, 720–725.
- (16) Tabudravu, J. N.; Jaspars, M.. Anticancer Activities of Constituents of Kava (*Piper methysticum*). *The South Pacific Journal of Natural Science*, **2005**, *23*, 26–29.
- (17) Bilia, A. R.; Bergonzi, M. C.; Lazari, D.; Vincieri, F. F.. Characterization of Commercial Kava–Kava Herbal Drug and Herbal Drug Preparations by Means of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *J. Agric. Food Chem*, **2002**, *50*, 5016–5025.
- (18) Dietz, B.; Bolton, J. L.; Botanical Dietary Supplements Gone Bad. *Chem. Res. Toxicol*, **2007**, *20*, 586–590.
- (19) Amaral, P. A.; Gouault, N.; Le Roch, M.; Eifler–Lima V. L.; David, M.. Towards Synthesis of Kavalactone Derivatives. *Tetrahedron Letters*, **2008**, *49*, 6607–6609.
- (20) Sarris, J.; Kavanagh, D. J.; Deed, G.; Bone, K. M.. St. John’s Wort and Kava in Treating Major Depressive Disorder with Comorbid Anxiety: A Randomised Double-blind Placebo–controlled Pilot Trial. *Hum. Psychopharmacol Clin Exp*, **2009**, *24*, 41–48.
- (21) Folmer, F.; Jaspars, M.; Dicato, M.; Diederich, M. Marine Natural Products as Targeted Modulators of the Transcription Factor NF- κ B. *Biochemical Pharmacology*. **2008**. *75*, 603–617.
- (22) Scheuer, P. J.. Some Marine Ecological Phenomena – Chemical Basis and Biomedical Potential. *Science*, **1990**, *248*, 173–177.
- (23) Seeram, N. P.; Jacobs, H.; Mclean S.; Reynolds, W. F.. Prenylated Hydroxybenzoic acid Derivatives from *Piper Murraynum*. *Phytochemistry*, **1996**, *43*, 863–865.

주 의

1. 이 보고서는 교육과학기술부에서 시행한 국제공동연구사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 교육과학기술부에서 시행한 과학기술국제화사업 중 국제공동연구사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.