

생리활성 극지 대사체 발굴연구

Isolation and identification of bioactive metabolites from
polar organisms



원광대학교 산학협력단

제 출 문

극지연구소장 귀하

본 보고서를 “포스트 극지유전체 프로젝트: 극지 유용유전자 발굴을 위한 기능유전체 연구”과제의 위탁연구“생리활성 극지 대사체 발굴연구”과제의 최종보고서로 제출합니다.

2026. 01. 22.



총괄연구책임자 : 김 진 형

위탁연구기관명 : 원광대학교
산학협력단

위탁연구책임자 : 오 현 철

참 여 연 구 원 :

“ : 윤 치 수

“ : 우 수 현

“ : 조 용 하

보고서 초록

위탁연구과제명		생리활성 극지 대사체 발굴연구				
위탁연구책임자	오 현 철	해당단계 참여연구원수	7	해당단계 연구비	91,000,000원	
연구기관명 및 소속부서명	원광대학교 산학협력단		참여기업명	해당 없음		
국제공동연구	상대국명 : 해당 없음		상대국연구기관명 :			
요약(연구결과를 중심으로 개조식 500자이내)					보고서 면수	176
[연구목표] 신규 생리활성 물질 제공자원의 가능성을 가지는 극지 고유 생물자원 유래의 이차대사물질 추출물을 대상으로 성분 및 활성 추적법을 적용하여 항염, 항당뇨, 피부질환 개선 등의 생리활성을 보유한 순수 이차대사물질을 발굴하여 본과제의 연구목표인 극지 고유생물 대사체 활용까지 규명의 목표 달성에 기여함 [연구내용] - 유용성을 함유한 극지고유생물자원 확보 - 분광학적 분석 및 각종 크로마토그래피 방법을 적용한 유효/지표 성분 확보 방법의 최적화 - 효소 수준의 활성 검색을 적용한 항당뇨 활성 효능 연구 - 마우스의 대식세포 유래 RAW264.7 세포와 미세아교세포 유래 BV2 세포를 이용한 극지생물 유래 이차대사체의 항염증 효능 연구 - HaCaT/HT22 세포 보호 효과 평가를 통한 극지생물 유래 피부염증 및 항노화 억제 기능성 소재 탐색 [연구결과] - 극지생물 유래 진균 배양체로부터 총 27종의 순수 이차대사물질을 분리 하였음 - 남극유래 진균 배양추출물로부터 diketopiperazine 유형의 indole alkaloids, naphtha-γ-pyrones 유도체등 의 구조를 결정 - Diketopiperazine 유형의 prenylated indole alkaloid형 대사체 brevianamide K는 LPS로 염증이 유도된 BV2 세포와 RAW264.7 세포에서 증가한 NF-κB 경로의 단백질 p65 단백질에 대한 발현 억제 효과를 확인함 - 진균 SF-7343으로부터 분리된 3종 대사체를 대상으로 BV2 및 HT22 cell에서 활성 기작을 검토하였으며 이중 SF7343-44-1은 BV2 세포에서 Nrf2 인자를 세포질에서 핵내로 translocation시켜 HO-1 단백질의 발현을 증가시켰으며 이를 통하여 항염증 효과를 보이는 것으로 예측됨						
색 인 어 (각 5개 이상)	한 글	극지생물, 미생물, 생리활성 이차대사물질, 항염, 항당뇨 효과				
	영 어	polar organisms, microbes, bio-active secondary metabolites, anti-inflammation, cytoprotective effects				

요 약 문

I. 제 목

- 생리활성 극지 대사체 발굴연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 필요성

- 지구상에 존재하는 다양한 생물종이 생산하는 이차대사체는 신약개발의 초기 단계인 신약후보물질의 발굴과정에서 매우 중요한 신약후보물질을 제공해온 유용한 화합물 군임
- 신약후보물질의 발굴과정에서 중요한 관점중의 하나는 화합물의 구조적 다양성이며 이러한 구조적 다양성은 이차대사물질이 생산되는 생물종의 다양성과 밀접한 관계를 가짐
- 극한 환경 조건에 적응 및 지속적인 생명활동이 유지되어온 극지 생물 종은 현재까지 발굴된 이차대사체와는 상이한 화학구조 및 그에 따른 생리 활성을 보일 가능성이 높다고 평가 됨
- 따라서 아직 많은 연구가 이루어지지 않은 극지생물종을 대상으로 한 생리활성 극지대사체 발굴연구는 신약개발의 초기단계에서 요구되는 분자구조의 다양성 구축에 기여할 수 있음

2. 목표

- 신규 생리활성 물질 제공자원의 가능성을 가지는 극지 고유 생물자원 유래의 이차대사물질 추출물을 대상으로 성분 및 활성 추적법을 적용하여 항염, 항당뇨, 피부질환 개선 등의 생리활성을 보유한 순수 이차대사물질을 발굴하여 본과제의 연구목표인 극지 고유생물 대사체 활용까지 규명의 목표 달성에 기여함

Ⅲ. 연구개발의 내용 및 범위

▶ 유용성 함유 극지고유생물자원의 선제적 확보

본 연구에서는 추출물 수준에서 확보되는 화학적 성분분석 자료 (HPLC, NMR 등)와 생리활성 분석 자료를 면밀히 검토하여 구조적 또는 생리활성적 독창성을 가진 극지생물 자원 선정

▶ 유효/지표 성분 확보 방법의 최적화

- 각종 크로마토그래피를 이용하여 활성물질을 분리
- 순수하게 분리된 활성물질은 UV, IR, MS, NMR, 특히 다양한 1D 및 2D NMR 분석방법을 활용하여 활성물질의 구조를 확인

▶ 항당뇨 활성 효능 연구

- 1차적 효능 항당뇨 치료제의 약물 표적중 하나인 PTP1B 효소를 대상으로 효소활성을 억제하는 이차대사물질을 확인

▶ 항염 활성 효능 연구

- 마우스의 대식세포 유래 RAW264.7 세포와 미세아교세포 유래 BV2 세포를 이용하여 lipopolysaccharide(LPS)로 유발하는 염증반응에서 분리된 이차대사체가 보이는 nitric oxide(NO) 생성 억제 효과 확인
- 추가로 RAW264.7와 BV2 세포의 LPS 유발 모델에서 염증 매개 인자들의 발현 및 생성에 대한 (예: iNOS, NO, COX-2, PGE₂, TNF- α , IL1- β 등) 극지생물유래 이차대사체의 억제 효과 검증
- 항염증 효능 검색을 위해 MTT assay, Western blot analysis, ELISA, qPCR, EMSA assay 등의 각종 분자생물학적, 의약학적 방법 활용

▶ 극지 대사체의 피부염증 및 항노화 억제 기능성 소재 연구

- 세포주를 활용한 극지 소재 피부염증억제 기능성 평가는 극지 소재의 HaCaT 세포 보호 효과 평가, 극지 소재의 싸이토카인 유래 피부염증 억제 효과 측정 및 극지 소재의 HaCaT 세포에서 케모카인 분비억제 효과 검토를 통하여 수행
- 세포주를 활용한 극지 소재 피부염증억제 기전 연구는 HaCaT 세포에서 ROS 조절 HO-1/Nrf-2 활성 기작 연구 및 HaCaT 세포에서 ICAM-1, Filaggrin, involucrin 등 단백질 발현 분석을 통한 활성 기작 연구 수행

IV. 연구개발결과

연구 범위	연구 결과
○ 생리활성 대사체의 분리	- 극지생물 유래 미생물 SF7367를 포함 총 4종의 남극환경에서 채집된 진균 배양 추출물로부터 다양한 크로마토그래피법을 주로 적용하여 총 27종의 순수 이차대사물질을 분리 정제함
○ 활성 대사체의 구조 분석	- 남극유래 진균 SF-7367의 배양 추출물로부터 epi-deoxybrevianamide E로 확인된 SF7367-3-8등 diketopiperazine 유형의 indole alkaloids 등으로 구분되는 총 10종의 이차대사체의 구조를 결정 - 극지생물 유래 미생물 SF7420으로부터 naphtha-γ-pyrones 유도체 인 SF7420-434-1등 대사체 4종의 구조를 규명함 - 극지생물 유래 미생물 SF7570으로부터 biphenyl 형의 대사체 및 chatoglobosin형의 대사체 4종의 구조 분석을 완료함 - 극지생물 유래 미생물 SF7573으로부터 diketopiperazine dimer형의 sF7573-4-5-1-2 포함 총 9종위 대사체의 구조를 확인함
○ 활성 대사체의 활성 기작 검토	- SF7367로부터 분리된 대사산물 중 diketopiperazine 유형의 prenylated indole alkaloids 구조를 갖는 5종 화합물에 대하여 항염증 기전 연구를 진행 - SF7367로부터 분리된 대사산물 중 brevianamide K는 LPS로 염증이 유도된 BV2 세포와 RAW264.7 세포에서 증가한 NF-κB 경로의 단백질 p65 단백질에 대한 발현 억제 효과를 확인 - 진균 추출물 SF7343 유래 대사체 chrysanthone B의 BV2 및 HT22 cell에서의 항염증 및 뇌세포보호 효과의 활성 기작을 검토 - chrysanthoe B의 BV2 세포의 항염증 작용과 HT22 세포에서의 세포보호효과는 HO-1 단백질 발현과 연관성이 있음을 확인함 - 극지생물 유래 미생물 SF-7343으로부터 분리된 신규물질 3종 대사체를 대상으로 BV2 및 HT22 cell에서 활성 기작을 검토하였으며 이중 SF7343-44-1은 BV2 세포에서 Nrf2 인자를 세포질에서 핵내로 translocation시켜 HO-1 단백질의 발현을 증가시켰으며 이를 통하여 항염증 효과를 보이는 것으로 판단됨

V. 연구개발결과의 활용계획

- 본 연구에서 확인된 세포수준에서의 항염증 및 세포보호 효능 화합물들은 물질특히 획득이 가능하며 향후 추가적인 활성 확인을 통하여 기능성소재나 기타 의약품으로의 개발 가능성을 타진해 볼 수 있음
- 또한 만약 단일 물질로서 의약품으로 개발 등이 불가능해도, chemical probe로서 다양한 생명과학의 분야에서 고가의 연구용 소재로서 상업적으로 개발해도 전망이 밝다고 사료됨
- 따라서 향후, 후속 연구로서 본 연구에서 검토된 생물자원으로부터 추가적으로 물질을 확보 하고 추가적인 세포 및 실험동물수준에서 관련 활성을 검증 등의 추가 연구가 필요하다고 사료됨



SUMMARY

(영문요약문)

I. Title

Isolation and identification of bioactive metabolites from polar organisms

II. Purpose and Need for R&D

1. Necessity

- Secondary metabolites produced by various species of organisms on earth are a useful group of compounds that have provided very important drug candidates in the drug discovery process, which is the initial stage of drug development.
- One important aspect of drug discovery is the structural diversity of the compounds, which is closely related to the diversity of the species from which the secondary metabolites are produced.
- Polar species, which have adapted to extreme environmental conditions and have sustained life, are suggested to have different chemical structures and thus different physiological activities than the secondary metabolites discovered from other environment to date.
- Therefore, the discovery of bioactive polar metabolites from relatively untapped polar organisms can contribute to the construction of the molecular diversity required in the early stages of drug discovery program.

2. Objectives

- To isolate secondary metabolites with bioactivities such as anti-inflammatory, anti-diabetic, and skin disease improvement by applying bio-assay guided methods to extracts of secondary metabolites from polar endemic biological resources that have the potential to provide new bioactive substances, thereby contributing to the goal of this project, which is to identify the utilization of polar endemic biological metabolites.

III. Contents and Scope of R&D

► Preemptively securing useful polar biological resources

In this study, we carefully reviewed chemical composition analysis data (HPLC, NMR, etc.) and bioactivity analysis data obtained at the extract level to select polar biological resources with structural or bioactive uniqueness

► Optimization of methods for obtaining active component(s)

- Isolation of active substances using various chromatographic methods
- The purely isolated active substance is subjected to UV, IR, MS, NMR, and especially various 1D and 2D NMR analysis methods to confirm the structure of the active substance

► Evaluation of antidiabetic activity

- Identify secondary metabolites that inhibit enzymatic activity against the PTP1B enzyme, one of the drug targets of first-line efficacy antidiabetic drugs

► Evaluation of anti-inflammatory activity

- Using mouse macrophage-derived RAW264.7 cells and microglia-derived BV2 cells, we confirmed the inhibitory effects of isolated secondary metabolites on nitric oxide (NO) production in lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammatory responses
- Further validate the inhibitory effects of polar-derived secondary metabolites on the expression and production of inflammatory mediators (e.g., iNOS, NO, COX-2, PGE2, TNF- α , IL1- β) in LPS-induced models of RAW264.7 and BV2 cells
- Utilization of various molecular biological and pharmaceutical methods such as MTT assay, Western blot analysis, ELISA, qPCR, EMSA assay, etc. to detect anti-inflammatory effects

► Evaluations of skin anti-inflammation and anti-aging functions of polar metabolites

- Functional evaluation of skin inflammation inhibition of polar materials using cell lines was conducted by evaluating the protective effect of polar materials on HaCaT cells, measuring the inhibitory effect of polar materials on cytokine-induced skin inflammation, and examining the inhibitory effect of polar materials on chemokine secretion in HaCaT cells
- Research on the mechanism of inhibition of skin inflammation in polar regions using cell lines by studying the mechanism of ROS-regulated HO-1/Nrf-2 activity in HaCaT cells and analyzing the expression of proteins such as ICAM-1, Filaggrin, and involucrin in HaCaT cells

IV. R&D Results

Scope	Research Results
○ Isolation and purification of bioactive metabolites	- A total of 27 pure secondary metabolites were isolated and purified from fungal culture extracts collected from four Antarctic environments, primarily using various chromatography methods, including the polar microorganism-derived microorganism SF7367.
○ Structure elucidation of bioactive compounds	- Elucidated the structures of a total of 10 secondary metabolites, including diketopiperazine-type indole alkaloids such as SF7367-3-8, identified as epi-deoxybrevianamide E, isolated from the culture extract of the Antarctic-derived fungus SF-7367. - The structures of four metabolites isolated from the Antarctic fungal strain SF7420, including a naphtha-γ-pyrone derivative, SF7420-434-1, were elucidated. - Structural analysis were completed for biphenyl-type metabolites and four chatoglobosin-type metabolites from the Antarctic fungal strain SF7570. - Structures were confirmed for a total of nine metabolites, including the diketopiperazine dimer SF7573-4-5-1-2, from the Antarctic fungal strain SF7573.
○ Studies on the mechanism of bioactivity for the active metabolites	- Investigated anti-inflammatory mechanisms of five diketopiperazine-type prenylated indole alkaloids isolated from SF7367, and it was confirmed that brevianamide K, isolated from SF7367, suppresses the expression of p65 protein in the NF-κB pathway, which is increased in LPS-induced inflammatory BV2 and RAW264.7 cells - Examined the mechanism of the anti-inflammatory and neuroprotective effects of chrysanthone B, a metabolite derived from fungal extract SF7343, in BV2 & HT22 cells, and it was confirmed that the anti-inflammatory action of chrysanthone B in BV2 cells and its neuroprotective effect in HT22 cells are associated with HO-1 protein expression - The mechanisms of bioactivity for three novel metabolites isolated from the SF-7343 were examined in BV2 and HT22 cells. Among these, SF7343-44-1 was found to increase HO-1 protein expression in BV2 cells by translocating the Nrf2 factor from the cytoplasm to the nucleus, thereby exhibiting anti-inflammatory effects.

V. Plan for utilization of the R&D Results

- The anti-inflammatory and PTP1B inhibitory compounds identified in this study can be patented and may be developed into functional materials or other pharmaceuticals through further confirmation of their activity.
- In addition, even if it is not possible to develop a single substance as a drug, the bioactive secondary metabolites identified in this study might have promise for commercial development as chemical probes and high-value research materials in various life sciences.in various life sciences.
- Therefore, as a follow-up study, further research is warranted, including obtaining additional materials from the biological resources reviewed in this study and validating relevant activities at additional cellular and experimental animal levels.



C O N T E N T S

1. Introduction	13
2. Trends in research	18
3. Research results	23
4. Research achievements and impacts	168
5. Perspective on the application of research results	172
6. Collected scientific information during research process	173
7. References	174

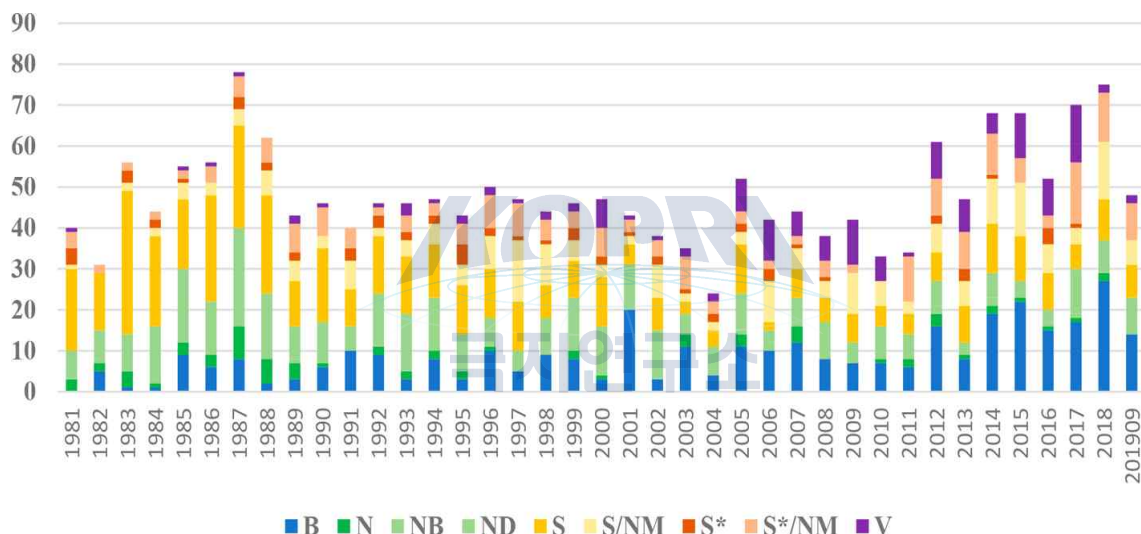
목 차

제 1 장 서론	13
제 2 장 국내외 기술개발 현황	18
제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과	23
제 4 장 연구개발 목표 달성도 및 대외기여도	168
제 5 장 연구개발결과의 활용계획	172
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	173
제 7 장 참고문헌	174

제 1 장 서론

제 1 절 연구개발의 목적

- 전 세계 의약품 시장규모는 18년 1.2조 달러에서 23년 1.5조달러로 연평균 3~6% 성장하고 있으며, 그중 천연물신약 시장규모는 18년 279억 달러에서 23년 406억 달러로 추산됨.
- 천연물은 다양한 구조 및 생리활성을 풍부하게 지니고 있는 자원으로 인식되며, 1981년부터 2019년까지 FDA에서 승인된 의약품 [그림]을 보면 꾸준히 천연물을 이용한 의약품의 개발이 이루어지고 있음 [1]



[그림] 1981~2019년까지 FDA에 허가된 의약품 [N(천연물); NB (천연물제제); ND (천연물유래의약품)]

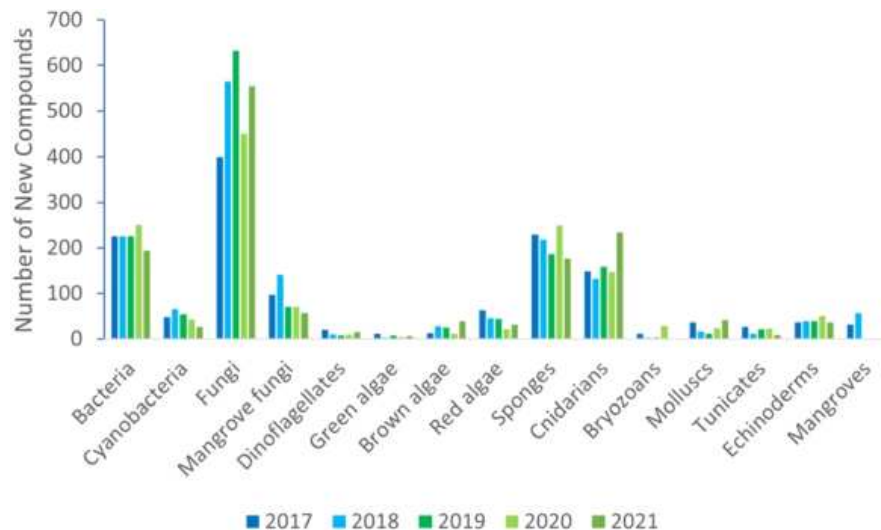
- 따라서 신규 의약 소재 및 기타 기능성 소재의 원천재료로서의 무한한 잠재가치를 가지는 극지고유생물 유래 이차대사물질을 효과적으로 분리하고 관련 기초자료를 제공하기 위하여 본 연구에서는 다음과 같은 연구내용을 수행하고자 함
 - 극지고유생물자원 유래 대사체 추출물 확보
 - 약물타겟 효소 및 세포수준의 생리활성 검정법을 이용한 검색계 운영
 - 표준화된 분획 방법을 적용하여 대사체 추출물로부터 혼합물의 성분을 특정 할 수 있는 대사체 분획물 확보
 - 활성 및 성분 추적법을 적용하여 이차대사물질 발굴 및 항염, 항당뇨, 피부질환 개선 생리활성 검정

- 본 과제의 연구목표인 극지 고유생물의 생물공학적 보존가치를 규명하고 활용기반을 구축하여 차세대 국가 성장 동력 창출 의 기초자료를 제공에 기여 하고자 함

제 2 절 연구개발의 필요성

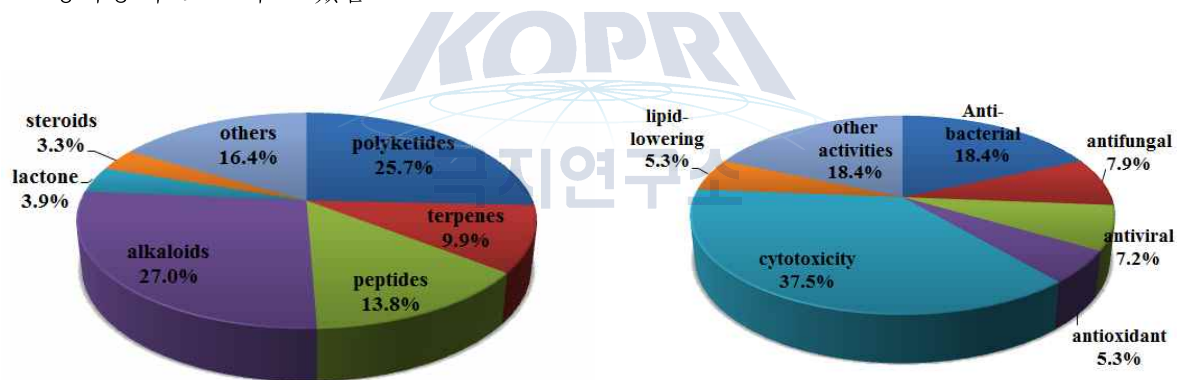
- 지금까지 인류가 질병의 치료에 사용하고 있는 대부분의 의약품은 식물이나 미생물의 대사산물이나 성분들에서 유래한 것으로 현재 가장 많이 사용하고 있는 항암제, 항생제, 면역억제제, 콜레스테롤 합성 저해제, 당뇨병 치료제들은 그 기원이 대부분 미생물의 대사산물이나 식물에서 발견된 2차 대사산물들에서 출발한 것들임
- 특히 질병의 원인이 발현된 단백질의 이상화나 유전자의 발현조절의 이상화로 기인한다는 결과가 밝혀지면서 의약품의 개발을 위한 새로운 방법으로 원인 단백질의 구조를 밝히고 작용점을 정확히 분석하여 이를 근거로 화학합성에 의해서 이들을 조절하는 화합물을 설계하거나 수백만 개의 chemical library에서 특이적 조절제를 HTS에 의해서 발굴하고 이 화합물을 출발물질로 하여 의약품으로 개발을 시도하고 있음
- 그러나 식물이나 미생물유래의 2차 대사산물들은 단백질과 화합물의 구조와 활성과의 상관관계를 예측할 수 없었던 경우가 대부분이고 화합물을 분리하여 활성을 분석한 후에나 단백질 구조와의 상관관계를 알 수 있을 정도로 현재까지의 구조기반 설계기술에서 불가능한 새로운 화합물을 제공할 수 있음
- 따라서 이들 대사산물의 발굴은 타겟 단백질과 결합부위를 분석하여 새로운 화합물의 설계를 가능하게 하거나 타겟 단백질이나 질병원인의 새로운 기작을 제공할 수 있는 기술로 여전히 그 중요성이 인정되고 있음
- 아울러 화학합성의 어려움이나 자연계에 존재하는 2차 대사산물은 앞으로 발굴될 수 있는 화합물의 구조를 전혀 예측할 수 없기 때문에 현재 확보된 chemical library의 화합물 골격과 유도체의 다양성의 한계를 극복할 수 있어서 여전히 의약품개발을 위한 중요한 선도물질의 제공원으로 인식됨
- 따라서 생물자원유래의 2차 대사산물이 의약품개발을 위한 화합물의 제공원으로 사용하는 이유는 2차 대사산물의 화합물 구조의 다양성에 기인하며 의약활성을 예측할 수 없는 골격구조의 다양성과 아울러 유도체들의 변환성의 부가로 인간이 예상할 수 있는 화학합성의 골격구조와 유도체들의 다양성 한계를 극복하는 새로운 돌파구를 제공할 가능성이 높음.

- 이러한 화합물의 다양성은 자연계에 존재하는 생물종의 종류가 무수히 많고 또한 각각의 생물종은 그 생육조건이나 환경에 따라 대사 기작이 달라지게 되어 이들이 생산하는 2차 대사산물은 다양성을 무한적으로 제공할 수 있을 것으로 기대됨
- 신약개발에 있어 이차대사산물이 가지는 다양성의 가치는 많은 과학자들이 새로운 구조를 가지는 이차대사산물의 발굴에 관심을 가지게 하는 중요한 요인이며 특히
“The most interesting natural products come mainly from recently accessed biota”의 인식하에 새로운 환경의 생물종에 대한 관심이 높아지고 있음
- 극지환경에 서식하는 생물종은 낮은 온도, 강한 바람, 적은 영양공급원, 높은 UV 노출 등과 같은 극한의 환경에서 살아남기 위해 적응과 진화를 이루어 냈으며 이는 다른 지역에서 자라는 생물종과 다른 새로운 대사산물을 만들어 낼 것으로 판단됨. [2]
- 예를 들면, 비교적 생리활성 물질의 자원으로서의 가치가 알려지지 않은 해양 천연물은 식물, 동물, 미생물 유래의 다른 천연물들 중에서도 강력하고 유망한 약물 공급원으로 기대되고 있으며, 현재까지 해양 유래 약물 20종이 임상에서 사용 중임. 해양 의약품은 다양한 구조적 특성과 작용 기전을 지니고 있으며 지난 수십 년간 임상 사용이 승인된 해양 의약품 수가 상당히 증가했는데, 이는 전 세계 연구실에서 해양 화합물에 대한 연구가 증가한 데 기인함. [3]
- 해양 생물은 지구 생물자원의 상당 부분을 구성한다는 점과 독특한 구조, 대사 경로, 생식 시스템, 화학 방어 메커니즘을 갖기 때문에 새로운 화합물의 제공 원으로서 과학적 관심이 높아지고 있는 생물자원이며 실질적으로 해양유래의 천연물은 그 구조가 육상에서 분리되는 물질과 상이한 경우가 많음으로 신약 개발 시 중요한 요소로 인식되는 분자구조의 다양성구축면에서 장점을 지니고 있음
- 최근 발표된 해양천연물연구를 보면 대부분이 진균에 관한 연구임을 알 수 있음. [4] 해양진균이 만들어 내는 많은 물질들이 구조적으로 독특하고, 흥미를 유발하는 생물학적, 약리학적 특징들을 가지고 있음이 밝혀지고 있음



[그림] 최근 발표된 해양천연물 연구 중 해양생물종에 따른 분류

- 현재 보고되는 2차 대사산물의 구조는 대부분 alkaloids 나 polyketides 형이며 그 외 다른 형태의 화합물도 보고되고 있으며 생물활성의 측면에서는 다수의 세포독성효과와 항생작용이 보고되고 있음



[그림] 해양진균 유래 신규 대사체의 구조적 특성

[그림] 해양진균 유래 신규 대사체의 생물학적 활성

- 따라서 천연물연구 대상을 극지 환경에서 서식하는 생물종으로 범위를 확대하고 생리활성검색법의 종류나 범위를 확대한다면 극지유래 천연물은 향후에도 신약개발의 가능성을 가지는 천연물탐색의 좋은 생물자원이 될 수 있을 것으로 기대됨
- 따라서 본 연구에서 관심을 가지고 수행하고자 하는 항염증 활성을 가지는 극지환경 유래 생물종으로 부터의 2차대사물질 발굴은 신규 천연물 또는 기지의 물질이나 신규의 생리활성을 확인할 가능성이 높다고 평가 됨

- 현재 사용되는 대부분의 염증 치료제는 스테로이드 계열과 NSAID (non-steroidal anti-inflammatory drugs)이며, 이들 치료제의 치료효과는 인정되나 경우에 따라 심각한 부작용이 발생한다. 따라서 상기 약물의 작용기전과 구별되는 작용기전에 근거한 항염증 치료제의 개발이 필요함
- 또한 만성염증이 직접, 간접적으로 심장질환, 암, 당뇨, 관절염, 치매등과 같은 만성질환과 관련이 있는 것이 밝혀짐으로서, 항염증 약물에 대한 조사는 그 중요성이 더욱 커지고 있으며 이 경우 다양한 염증인자의 생성을 억제하는 천연물의 탐색이 중요한 연구 분야가 될 수 있음. 최근에는 극지유래 천연물을 이용한 항염증 연구 또한 활발하게 이루어지고 있음.



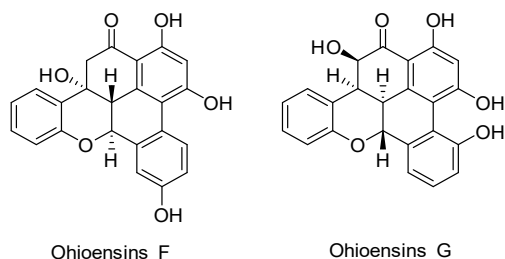
제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국외 기술개발 현황

- 선진국들은 쇄빙선, 대륙기지 및 남북극권 국가 간의 공동연구를 통하여 극지 해양생물에 대한 자원탐사를 실시하고 있으며, 현재에도 과학 활동의 명목으로 미답지역의 생물자원을 확보하고 있음
- 극지생물다양성, 생물계통·진화, 스트레스반응 등에 대한 연구를 위해 2007/2008 IPY를 통하여 국제공동연구 체계가 이루어지고 있으며, 이외 저온효소 등의 신규 생물소재 연구를 공식적으로 보고
- SCAR 내 EBA(Evolution and Biodiversity in the Antarctic) 프로그램에서는 남극생물의 진화, 적응, 생태적 서식처의 다양성, 다양성의 예측 등에 대한 연구를 진행
- 미국은 북극이사회 회원국이자 남극조약 원초서명국으로 국립과학재단(National Science Foundation: NSF)이 극지연구정책 및 연구사업을 총괄하고 있으며, 재단 내의 극지프로그램연구청(Office of Polar Program: NSF-OPP)이 크게 남극연구부와 북극연구부로 구분되어 남극·북극 과학 연구를 담당하고 있음
- 러시아는 극지연구소 (Arctic and Antarctic Research Institute of Roshydromet: AARI)가 연구 활동을 주관하여 담당하고 있으며 남북극 환경 구성요소(빙설권, 수권, 지권, 대기권, 고층대기권) 내 기작 및 기작 간 상호작용에 대한 규명, 원거리 탐사 및 심부빙하시추 기술개발 및 수행, 동토공학, 북극 생태연구, 남북극 해양활동 지원을 위한 수문기상 연구 및 실시간 모니터링 활동 등 활발한 연구를 진행 중임
- 영국은 LTMS (Long-term Monitoring and Survey) 장기 모니터링 및 관측 프로그램은 별도로 운영하고 있으며, 국립해양센터를 중심으로 해양 생물다양성 조사(Census of Marine Life)를 실시하여 남극해에 서식하는 생물종과 환경을 보고하였으며, 해양생명공학의 소재로 특유의 방어 기작을 지닌 극지 저서동물 연구를 확대하고 있음

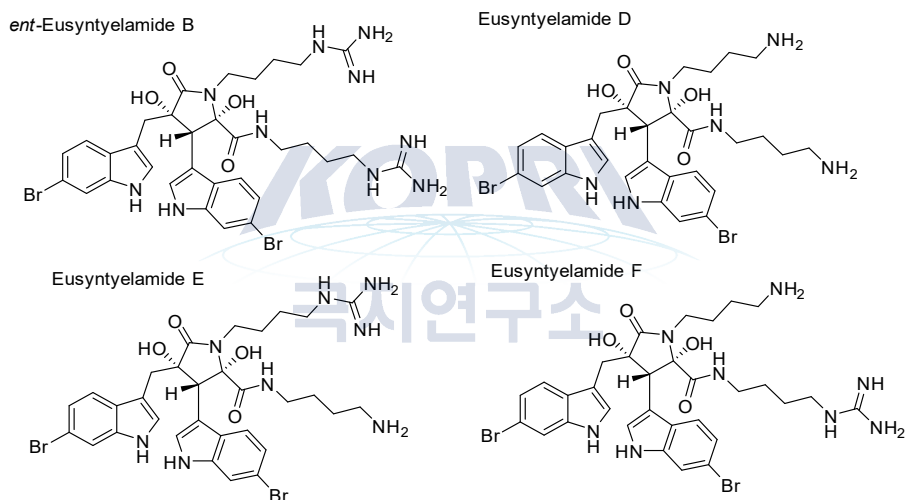
- 호주의 남극연구소는 영국의 남극연구소와 공동으로 30년 가까이 약 5년 단위의 장기 프로그램을 통해 남극 수산자원과 해양생태계 변동과정 연구를 지속적 수행 중
- 중국은 ‘중국 극지연구소’ 주도하에 ‘극지표본자원 공유 플랫폼’ 사업을 통하여 남극지역을 대상으로 자원 활용이 가능한 남극 광물, 생물자원을 수집하고 있으며, 해양사업 발전계획에 따라 2020년까지 해양환경 변화와 해양생물자원의 지속가능한 이용, 대양 및 심해 연구에 대한 지원을 강화함
- 우리나라와 함께 북극 이사회 옵저버 국가로 활동 중인 일본은 일본 문부과학성 산하 국립 극지연구소(National Institute of Polar Research: NIPR)가 남북극 연구 활동을 주관하고 있으며, 크게 다섯 개로 구성된 연구그룹의 하나인 생명과학 연구 그룹은 해양생물연구, 육상생물연구, ‘펭귄, 크릴, 해포 등 생물에 대한 해동생태연구’등으로 나뉘어짐
- 칠레의 University of Chile의 연구진은 남극유래의 균주로부터 nitroasteric acid 계열의 대사체 4종을 분리 하였음
- 미국의 University of Alabama at Birmingham의 연구진은 수년간 남극유래 해양생물을 대상으로 한 이차대사물질 연구를 지속적으로 수행하고 있으며, 최근 2016년에 남극유래 균주로부터 methicillin 내성을 갖는 darwinolide라는 대사체를 분리 하였음
- 이탈리아의 Consiglio Nazionale Delle Ricerche - Istituto Di Chimica Biomolecolare의 연구진은 남극유래의 nudibranch로부터 granulocide라는 대사체를 분리 하였음
- 중국의 Ocean University of China의 연구진과 South China Sea Institute of Oceanology의 연구진은 각각 남극유래의 균주로부터 chrodrimanins 대사체 2종과 α -pyrone merosesquiterpenoids계열 대사체 6종을 분리 하였음
- 노르웨이의 UiT The Arctic University of Norway의 연구진은 수년간 남극유래 해양생물을 대상으로 한 이차대사물질 연구를 지속적으로 수행하고 있으며, 최근 2014년에 남극유래 해초로부터 synoxazolidinones 대사체 2종과 pulmonarins 대사체 2종을 분리 하였음

- 극지유래 이끼류 *Polytrichastrum alpinum* 종의 연구결과 알려진 화합물인 ohioensins A와 C 외에 새롭게 F와 G가 분리되었으며, 네가지 화합물 모두 PTP1B효소를 억제하는 효과를 보였음. [2]



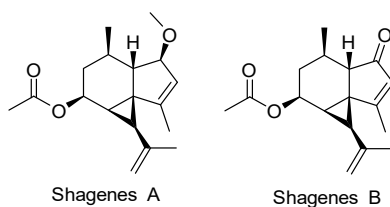
[그림] 극지유래 이끼로 부터 분리된 Ohioensins 화합물들의 화학구조

- 극지유래 태형동물 (bryzoans) *Tegella* cf. *spitzbergensis* 종의 연구결과 새로운 Eusyntylamide 계열의 화합물이 분리되었으며, 항미생물 효과를 보였음 [2]



[그림] 극지유래 태형동물로 부터 분리된 Eusyntylamide 화합물들의 화학구조

- 극지유래 자포동물(cnidarians) *Alcyonium grandis* 종의 연구결과 shagenes A와 B 화합물이 새롭게 분리되었으며, 이 화합물들은 기생충에 의해 유도된 내장의 전염병을 억제하는 효과를 보였음. [2]



[그림] 극지유래 자포동물로 부터 분리된 Shagenes 화합물들의 화학구조

제 2 절 국내 기술개발 현황

- 1985년 이후 물질특허제의 도입과 함께 천연물 과학 분야에 대한 관심이 높아져 한국생명공학연구원, 한국과학기술원, 한국화학연구원, 한국해양연구원 등을 중심으로 천연물 성분 연구에 대한 관심이 증대하고 있음
- 우리나라에서는 2001년을 시작으로 천연물신약연구개발촉진계획이 수립됨에 따라 경쟁력 있는 글로벌 천연물신약 연구기반을 구축하고, 만성, 난치성, 노인성 질환 치료 천연물신약을 개발하기 위해서 정부차원의 지원이 한층 강화되었으며 최근 4차 천연물 신약연구개발 촉진계획 (2020~2024)이 수립되어 기존사업 확대 및 신규 사업에 투자되었음
- 그러나 국내의 경우 천연물신약개발에 기초가 되는 천연물 생리활성 탐색기술과 약리작용 및 독성연구 등에 대한 기초연구가 아직 미흡한 편이며 이에 따라 대부분의 천연물 성분 및 생리활성 연구가 지속적, 조직적, 효율적, 체계적으로 이루어지지 못하고 있음
- 우리나라는 1988년 남극에 세종기지가 건설되면서 본격적인 극지에 관한 과학적 연구가 시작되었고, 북극에 관한 연구는 2002년 노르웨이 스발바드 군도 스피츠베르겐 섬 니알슨에 한국해양연구원이 다산과학기지를 개설한 후부터 본격적으로 시작되었음
- 2004년 한국해양연구원 부설 극지연구소 설립 후 학연 협동연구가 활발히 진행되고 있으며, 다산과학 기지가 있는 니알슨 섬은 국제적인 북극 연구 단지로서 우리나라를 비롯한 노르웨이, 독일, 영국, 프랑스, 일본, 이탈리아, 중국, 인도 등 9개국이 기지를 운영하고 있고 국가 간 협력 또는 연구소 간의 협력에 기반 한 국제 공동연구를 진행 중임
- 우리나라의 극지연구소는 극지바이오 연구 활성화를 위하여 극지생물 DB 구축/운영, 극지 저온 생물 연구, 극지 생물해양 연구, 극지생물 기능 유전체 연구 등을 통해 극한환경 적응 기작, 대사체 확보 및 활용연구를 진행하고 있음.
- 한국해양수산개발원 (KMI)에서는 최신 전세계 극지연구에 대한 동향을 파악하여 월간지 및 발간자료를 만들고 있는데, 2023년 9월 발행된 극지연구소 정책개발실 자료에 따르면 한국에서는 국가환경시료은행에 8종류 167점 남극시료를 보관하는 등 극지의 시료 확보에 힘쓰고 있음.
- 우리나라에는 BT분야 연구개발 예산의 높은 투자 비중에도 불구하고 극지 바이오 분야에 대한 지원은 미흡, 극지분야 선진국들과 달리 극지연구 활동을 주관할 수 있는 국가적 단위의 독립 연구기관이 없으며, 정부부처 간에 원활한 업무 협조를 위한 공식적인 체계가 구축되어 있지 않음

- 특히 극지생물 관련 연구의 경우 극지의 독특한 극한환경으로 인한 자원 확보의 어려움이 존재하므로 해양생물자원 활용 연구 및 산업화의 저변확대를 위해서는 제한생물자원의 체계적인 확보 및 관리를 위한 지원정책이 필요함



제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

제 1 절 연구 범위 및 연구 수행 방법

1. 연구 범위 및 추진 체계

- 본 연구는 극지고유생물자원 유래의 생리활성성분 탐색연구를 통하여 항염 및 세포보호 활성 선도물질을 발굴하고, 이를 토대로 추후 신약 개발 가능성 및 비임상 연구 기초 자료제공을 목표로 함.
- 위의 연구목표 달성을 통하여 본과제의 연구목표인 극지 고유생물의 생물공학적 보전가치를 규명하고 활용기반을 구축하여 차세대 국가 성장동력 창출 의 기초자료를 제공 함.



<그림. 연구 추진 체계>

▶ 유용성함유 극지고유생물자원의 선제적 확보

- 향후 특정한 생리활성에 기반한 유용성분의 발굴은 가능한 빠르게 기지 물질을 연구개시 단계에서 배제 (chemical dereplication) 하거나 이미 알려진 기지의 생리활성을 배제 (biological dereplication) 하는 전략이 매우 중요함.
- 따라서 본 연구에서는 추출물 수준에서 확보되는 화학적 성분분석 자료 (HPLC, NMR 등)와 생리활성 분석 자료를 면밀히 검토하여 구조적 또는 생리활성적 독창성을 가진 미생물 유래 대사 물질의 선제적 확보를 추진함.

▶ **유효/지표 성분 확보 방법의 최적화**

- 각종 크로마토그래피를 이용하여 활성물질을 분리함.
- 순수하게 분리된 활성물질은 UV, IR, MS, NMR, 특히 다양한 1D 및 2D NMR 분석방법을 활용하여 활성물질의 구조를 확인함.
- 본 연구실은 천연물 성분 분리, 구조규명 및 효능평가 기술과 인프라를 충분하게 구축하고 있음.
- 본 연구실에서 이미 보유하고 있는 항염 및 항당뇨 활성 성분 과 관련한 assay system을 활용하면 초기단계에서 확인 되는 활성 대사물질의 효소 및 세포수준에서의 작용기전 연구를 효과적으로 수행 할 수 있을 것으로 기대함.



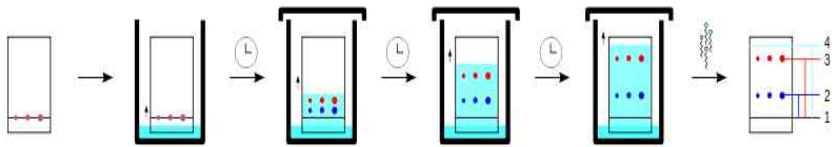
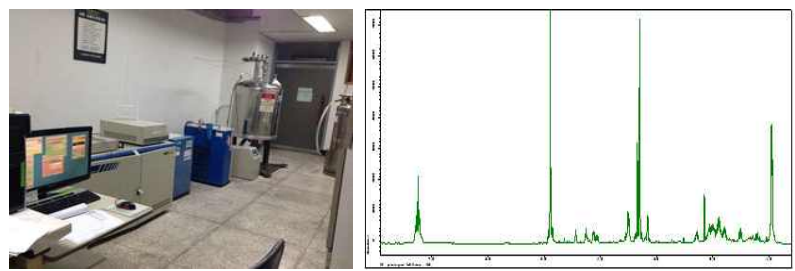
[극지고유생물자원 으로부터 이차대사물질 분리]

2. 연구 수행 방법

- 각종 크로마토그래피법을 적용한 단일성분 분리연구
- 본과제의 극지연구소 연구진으로부터 제공되는 극지고유생물자원 또는 극지고유생물자원 유래 추출물을 대상으로 성분의 혼합도에 따라 적절한 성분 분석법을 적용하여 최적의 크로마토그래피 방법을 적용하여 단일 성분 분리 연구를 수행함.

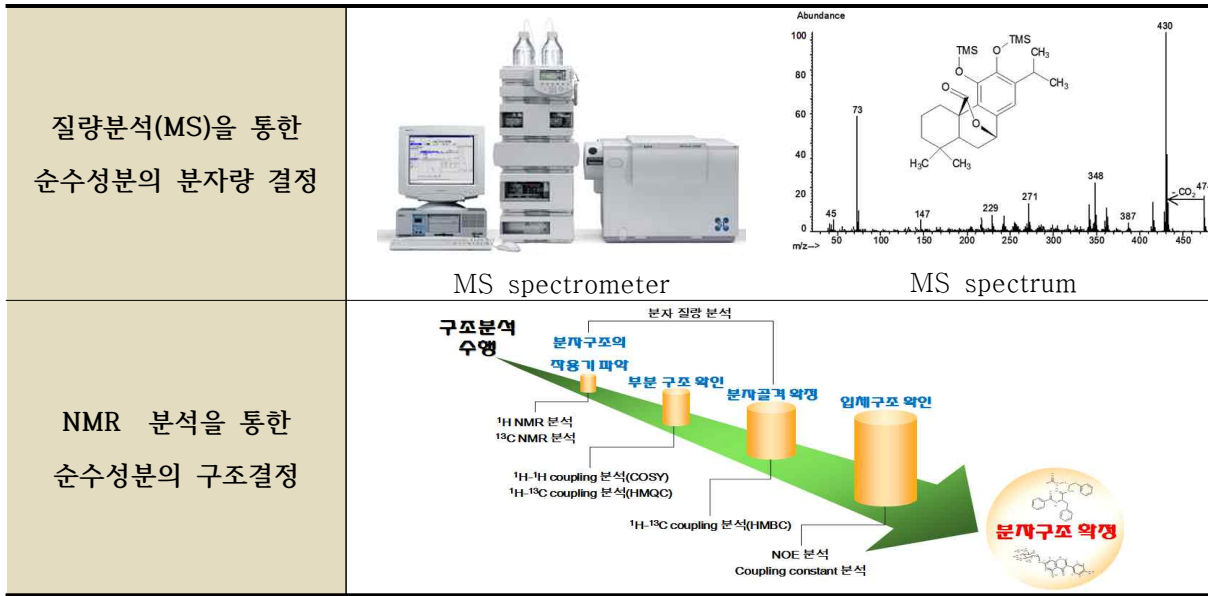
- 아래에 기술한 각종 크로마토그래피를 이용하여 활성 물질을 분리함.

종 류	특 징
향류분배 크로마토그 래피	서로 혼화되지 않는 2상의 용매계에의 분배계수의 차이를 이용하여 혼합물 중의 성분을 분리하는 방법임. 장점 : ① 분리조건이 온화함 ② 담체를 이용하지 않는 액-액간의 분배이기 때문에 담체와의 접촉에 따른 분해, 흡착에 의한 손실이 없음 ③ 극성이 극단적으로 다른 물질들이 공존하는 경우에도 분리에 방해가 되지 않음
Sephadex LH-20 크로마토그 래피	그물구조를 가진 gel을 이용하여 분자의 크기가 그물보다 작을수록 gel의 입자에 들어가기 쉽게 되어 column을 통과하는 속도가 늦어지게 되는 점을 이용하여 물질을 그 크기에 따라 분리 정제하는 방법임. 시료의 담체에 대한 흡착성이 높지 않으므로 회수율이 높으며 담체와의 접촉에 의한 분해의 위험성을 줄일 수 있는 장점이 있음
Silica gel 크로마토그 래피	흡착크로마토그래피의 일종으로 담체로서 silica gel을 이용하여 혼합물의 흡착성의 차이에 의해 적당한 용출용매를 사용함으로써 활성물질의 분리를 시행함
Reversed phase C-18 크로마토그 래피	실리카젤의 실라놀기에 octadecyl기를 도입한 담체를 이용하여 역상 크로마토그래피를 실시하여 물과 유기용매 등 중극성의 용매를 사용하면 극성이 낮은 물질일수록 고정상에 흡착되기 때문에 극성이 높은 물질부터 순차적으로 용출됨
HPLC	각종 open column 크로마토그래피를 이용하여 분리가 힘든 활성분획에 대해서는 주로 역상 HPLC를 이용하여 활성물질을 분리함

TLC 분석을 통한 혼합성분의 특성 파악 및 최적의 크로마토그래피법 확정	 박층 크로마토그래피 (TLC) 분석
^1H NMR 분석을 통한 혼합성분의 특성 파악 및 최적의 크로마토그래피법 확정	 핵자기공명 스펙트럼 (NMR spectrum) 분석
최적의 단일성분 분리를 위한 크로마토그래피법 확립	 액체 크로마토그래피 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC)

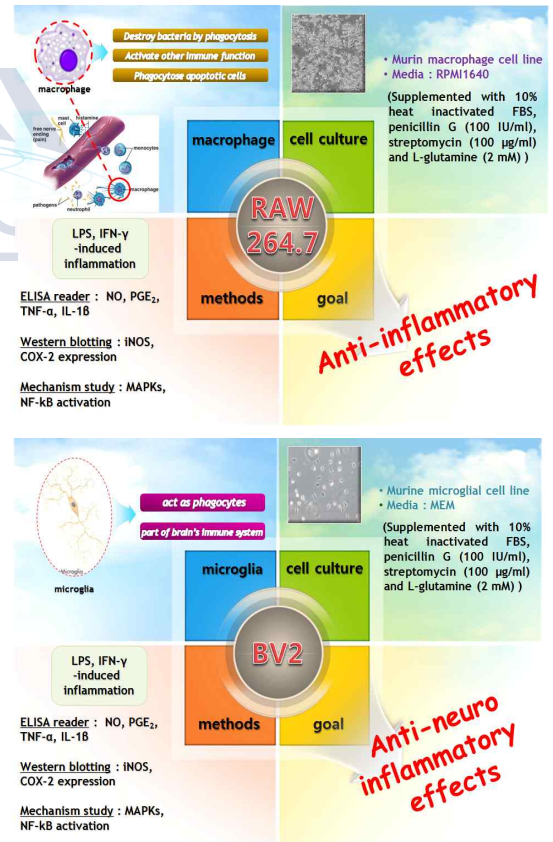
극지연구소

- 기기 분석(MS, NMR)을 통한 활성물질의 구조 규명
 - 크로마토그래피법을 적용하여 순수 분리된 성분의 구조는 질량분석기를 이용한 분자량의 확인 및 핵자기공명분광법을 인요한 구조분석을 통하여 확정함.
 - 특히, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C COSY, DEPT, HMBC 및 NOESY 등의 NMR spectra를 이용하여 그 구조를 동정 또는 결정함.



○ 생쥐 유래 대식세포/미세아교 세포(RAW264.7/BV2 cell system)에서 항염증효과 검증

- 면역반응에 의해 활성화되는 대식세포 계열의 RAW264.7 세포주는 lipopolysaccharide(LPS) 또는 Interferon gamma (IFN)- γ 와 같은 염증 유발 인자를 이용한 염증 연구 모델로서 많이 이용됨.
- 면역반응에 의해 활성화되는 미세아교세포 계열의 BV2 세포주는 lipopolysaccharide(LPS) 또는 Interferon gamma (IFN)- γ 와 같은 염증 유발 인자에 대한 뇌질환의 염증 연구 모델로서 많이 이용됨.
- Nitric oxide (NO)는 nitr oxide synthase (NOS)가 생성하는 부산물로서 특히 cytokine 등의 자극에 의해 유도 발현되는 iNOS는 많은 양의 NO를 오랫동안 (수 시간- 수 일) 생성하게 되는데 이 때 생성되는 NO는 주로 면역반응 조절 및 세포 독성에 관여하는 것으로 알려짐.
- PGE₂는 염증 전과 면역 조절 효과를 가진 것으로 알려진 arachidonic acid 대사산물이며 생리적 그리고 병리적 상태 하에 PGE₂ 생산은 pro-inflammatory cytokines과 세균에 의한 생산물에 의해 유도된 cyclooxygenases (COX)-2의 활성화와 밀접히 연관됨.



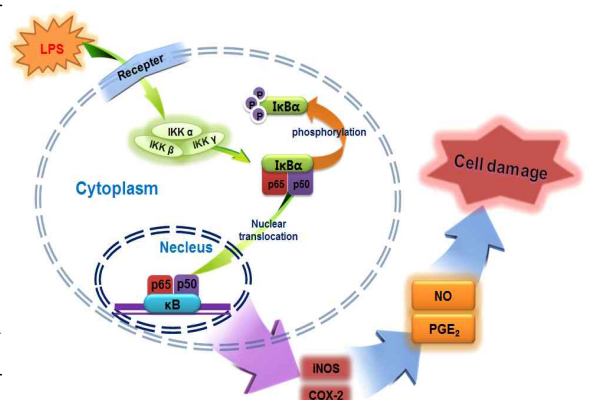
RAW264.7/BV2 세포에서 LPS를 처리하여 생성되는 염증인자인 NO의 생성 억제 효과를 각 단계의 시료를 대상으로 확인(Griess reaction을 이용한 NO assay)	Griess reaction $2\text{NO}_3^- + \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O}_5 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{NO}_2$ $2\text{NO}_2 + \text{H}_2\text{N}-\text{SO}_2-\text{NH}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{N}-\text{SO}_2-\text{N}(\text{NH}_2)-\text{NH}_2 + \text{H}_2\text{O}$ $\text{H}_2\text{N}-\text{SO}_2-\text{N}(\text{NH}_2)-\text{NH}_2 + \text{N}-1-\text{naphthylethylenediamine} \rightarrow \text{Azo Dye}$ NO-Releasing Material
RAW264.7/BV2 세포에서 LPS를 처리하여 생성되는 염증인자인 PGE₂의 생성 억제 효과를 각 단계의 시료를 대상으로 확인(R&D kit를 이용한 PGE₂ assay)	

○ 항염증효과 추가검증 및 관련 기전 연구

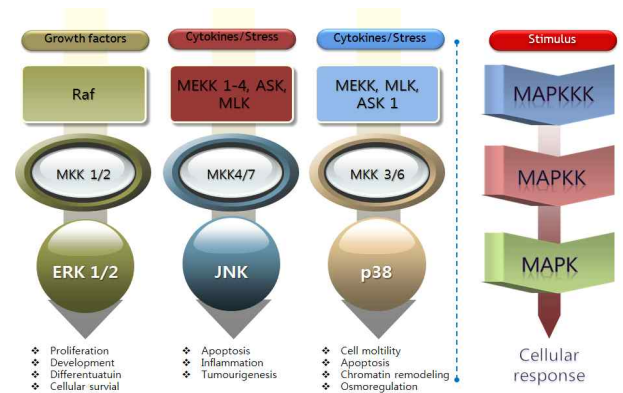
- **Nuclear factor κ B (NF- κ B)**는 면역과 염증반응에 관여하는 유전자의 enhancer 부위에 결합하여 그 유전자의 발현을 조절하는 인자임.

- 자극되지 않은 세포에서 NF- κ B는 I κ B- α 라 불리는 억제 단백질에 의해 결합되어 세포질 내에 존재함.

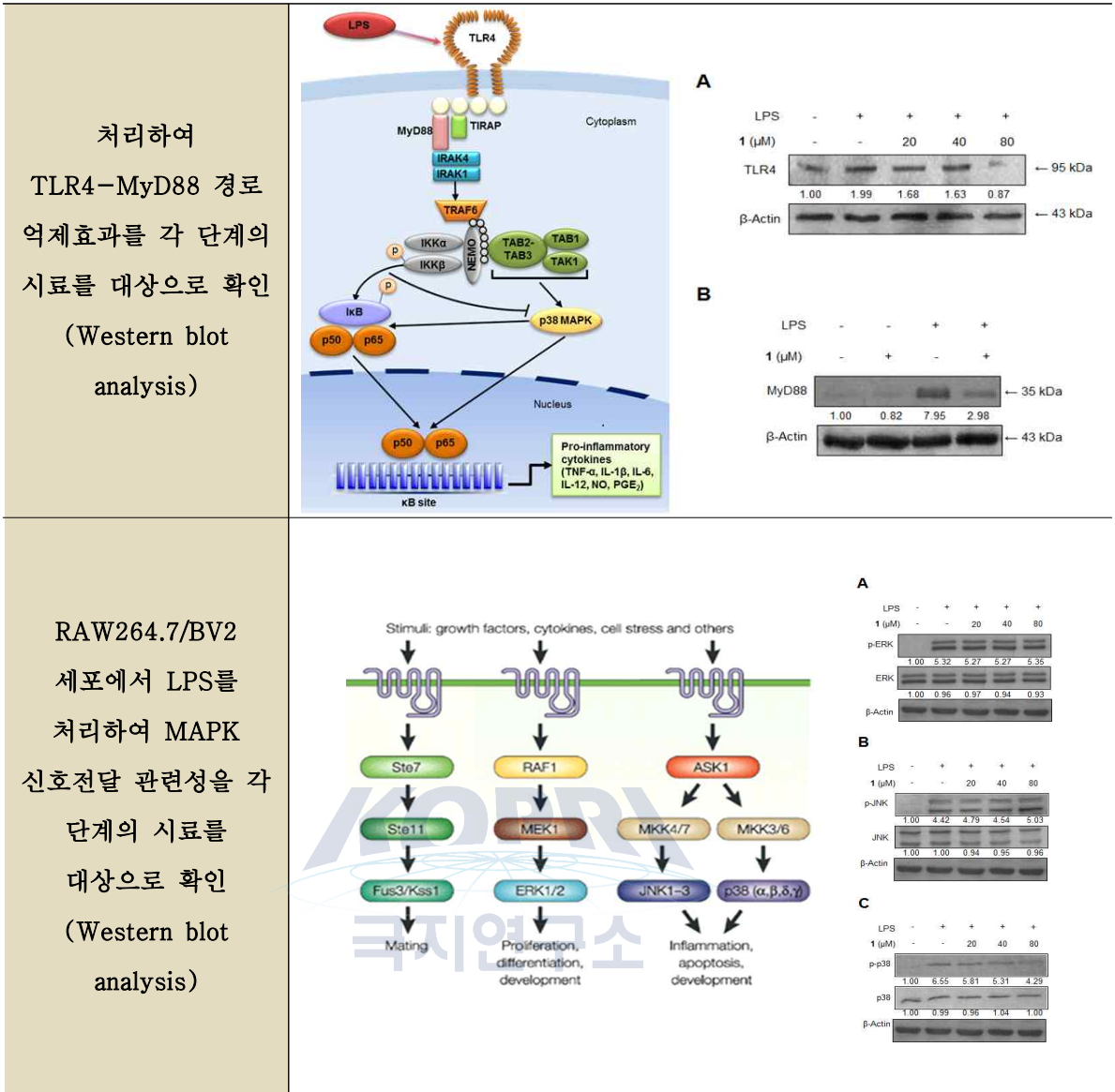
- 세포가 LPS, IL-1 β 와 같은 자극원에 의해 자극되면 TLR4-MyD88 경로가 활성화 되고, IKK α / β / γ 를 인산화 시키고 결과적으로 I κ B- α 에서 분리된 NF- κ B heterodimer (p50, p65)는 핵 내로 이동하여 표적 유전자의 promotor 부위의 특정염기 서열에 결합하여 염증매개인자(TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12, NO, PGE₂)를 전사하여 염증반응을 일으킴.



- Mitogen-activated protein kinase (MAPK)는 생체 내에서 신호전달, 유전자 발현, 염증반응에 중요한 역할을 한다고 알려져 있음.
- MAPK는 extracellular signal-regulated kinase (ERK1/2), p38 MAPK, 및 c-Jun N-terminal kinase (JNK)를 통한 3개의 주요한 신호전달경로로 구성 되어 있으며, 이들은 외부자극에 각각 다른 반응을 나타냄.
- 이러한 MAPK 는 인산화 과정을 통해 활성화되며, MAPK는 외부의 스트레스에 민감하여 LPS, 병적 자극에 의한 세포성장, 분화, 염증성 사이토카인의 생성에 있어서 중요한 역할을 담당하고 있음.

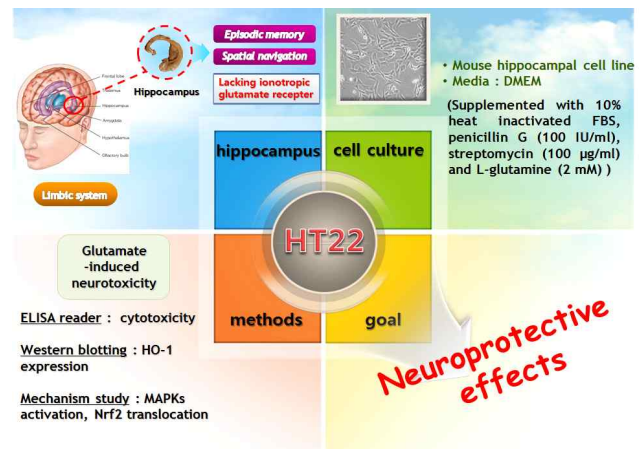


RAW264.7/BV2 세포에서 LPS를 처리하여 생성되는 염증성 매개인자 (TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-12) 전사 억제 효과를 각 단계의 시료를 대상으로 확인 (qRT-PCR)	
RAW264.7/BV2 세포에서 LPS를 처리하여 NF-κB 기전연구를 각 단계의 시료를 대상으로 확인 (Western Blot Analysis)	
RAW264.7/BV2 세포에서 LPS를	



○ Glutamate/HT22 cell system : 세포보호 효과 및 관련 기전 연구

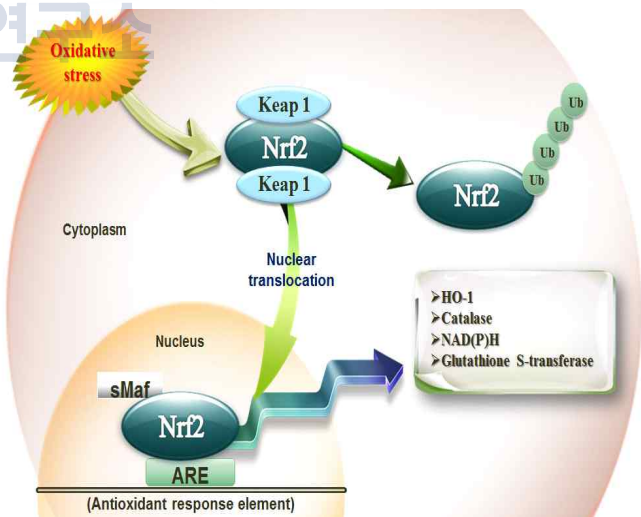
- 생쥐의 해마유래 세포주인 HT22세포주는 글루타메이트 수용체가 없는 세포주로서 글루타메이트와 함께 처리할 때 신경흥분독성이 아닌 산화적 스트레스로 인하여 세포가 손상을 받으며, 산화적 스트레스로 인한 퇴행성 뇌질환 연구에 있어서 유용한 실험모델 중의 하나임.



- 산화적 스트레스 및 ROS (reactive oxygen species)는 신경 세포의 파괴와 기능 이상을 초래하여 알츠하이머, 파킨슨병, 뇌졸중 등의 신경 퇴행성 질환을 유발하는 것으로 알려져 있음.
- 산화적 스트레스에 의한 뇌 손상의 기전으로 신경흥분 독성 (excitotoxicity)이 주요한 기전 중 하나로 알려져 있는데 이는 과다 분비된 glutamate 등 흥분성 아미노산에 의한 수용체들의 과도한 자극으로 인한 신경세포 세포사멸(neuronal cell death)이 일어나게 함.

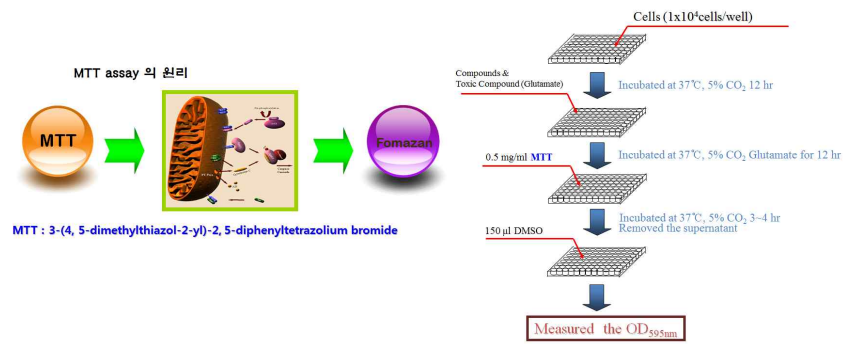
○ 세포보호 효과 추가검증 및 관련 기전 연구

- Heme oxygenase-1(HO-1)은 heme oxygenase 유도체 중의 하나로 세포내의 heme을 분해하여 부산물인 일산화탄소, 철, 빌리버딘을 만들며, 그 부산물과 함께 세포사멸 억제, 항염증 및 항산화 작용을 갖는 것으로 알려져 다양한 질병의 타겟으로 큰 주목을 받고 있음.

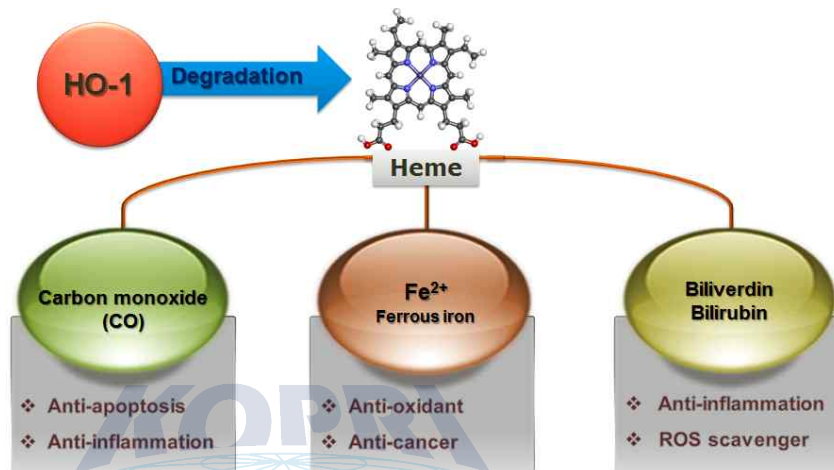


- 특히 뇌 세포 보호 기전에 있어 HO-1은 그 부산물과 함께 ROS 제거 및 세포 보호, 항산화 등의 역할을 통하여 산화적 스트레스로 인한 뇌 세포 손상을 억제하는 것으로 많은 연구가 진행 중임.
- HO-1 단백질의 발현에 대한 메커니즘 중 nuclear factor-E2-related factor 2 (Nrf2)의 핵내전사가 가장 직접적인 관련이 있는 것으로 알려져 있으며, Nrf2는 전사인자로서 HO-1과 같은 항산화 단백질의 유전자에 존재하는 ARE(Antioxidant Response Element)에 결합하여 이들 유전자의 발현을 조절하고 단백질발현을 항진시켜 산화스트레스에 대한 생체방어기구에 중심적 역할을 담당함.

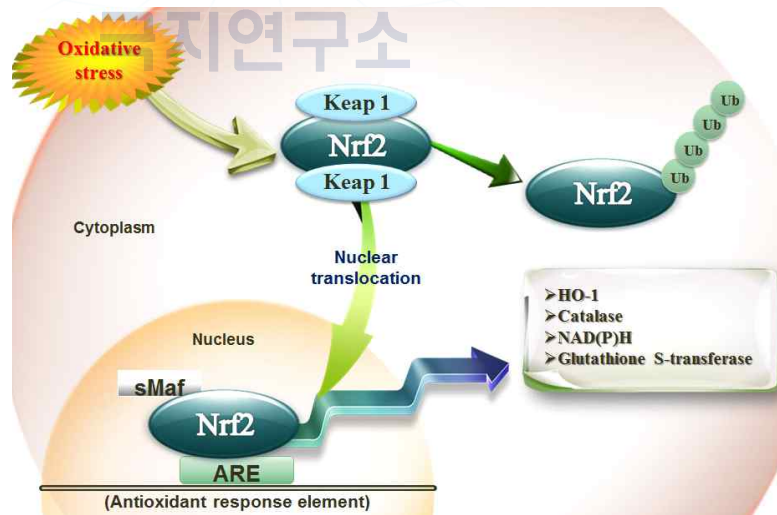
HT22 세포에서
Glutamic acid를
처리하여 세포독성 및
보호 활성 검색을
위한
MTT assay 이용



HT22 세포에서
뇌세포 보호효과 검정
및 작용기전 연구
(Western blot을
통한
HO-1 발현 확인)



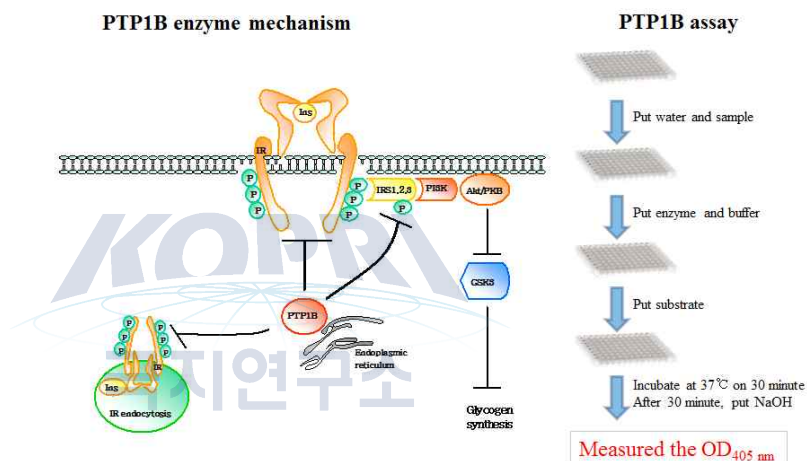
HT22 세포에서
뇌세포 보호효과
검정을 위한 작용기전
연구
(Nuclear
extraction을 통한
Nrf2 핵내 전사
확인)



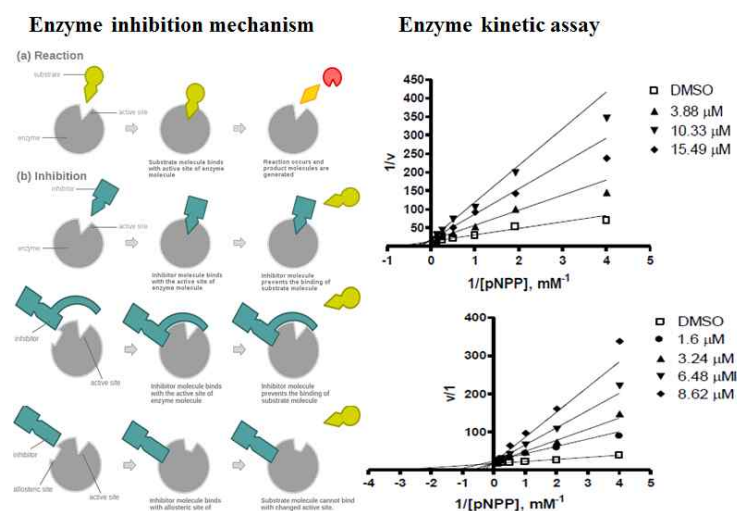
○ PTP1B 효소 작용 억제를 통한 항당뇨 효과 검증

- Protein tyrosine phosphatase(PTP-1B)는 2형 당뇨병의 발병과 관련이 있는 효소로서 인슐린의 신호를 차단하여 글루코오스 대사에 이상을 초래함.
- PTP1B의 작용기전은 인슐린 수용체의 인산화 혹은 인슐린 수용체 물질의 탈인산화를 통하여 인슐린의 신호를 차단하거나, 식욕 조절 호르몬은 leptin의 수용체의 탈인산화를 조절하여 인슐린의 신호를 차단하여 글루코오스 대사에 이상을 초래함.
- 따라서, PTP1B 효소의 작용을 억제함으로써 인슐린 수용체의 탈인산화를 차단하면 인슐린 감수성이 증가하여 인슐린 저항성 당뇨병인 제 2형 당뇨병을 치료하고, 아울러 과도한 식욕에 의한 지방의 축적으로 야기되는 비만을 조절할 수 있는 비만형의 당뇨병을 치료할 수 있는 가장 가능성 있는 목표기작으로 알려짐.

항당뇨 활성 검색을
위한
PTP1B assay를 이용



항당뇨 효과 검정을
위한 효소 억제
기전 연구
(Enzyme kinetic
assay를 통한
억제 방식 확인)



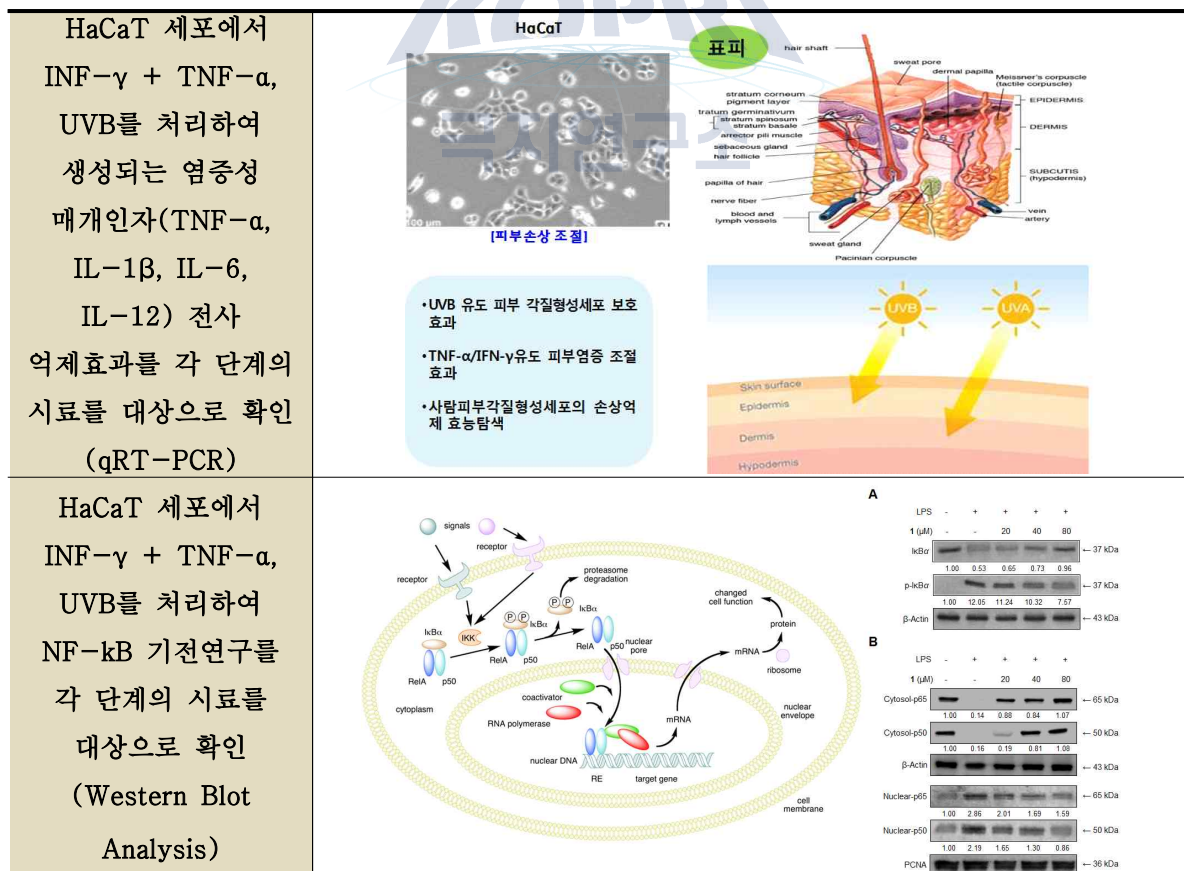
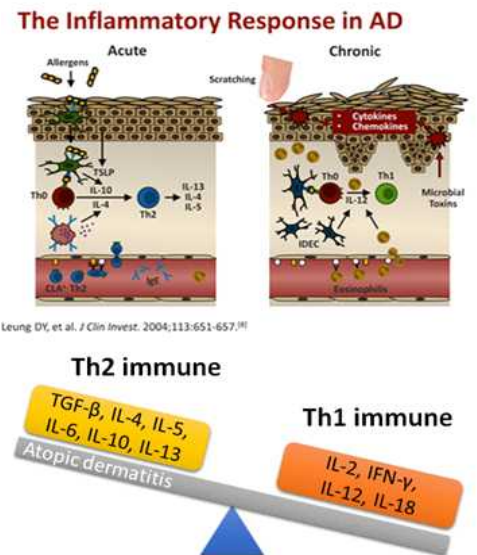
○ Human Keratinocyte(HaCaT cell)를 통한 피부질환 개선 효과 검증

- 현재 까지 밝혀진 아토피성 피부염(Atopic dermatitis, AD)의 발생의 주된 원인은 Th1과 Th2 면역 불균형 때문에 발생한다고 알려져 있으며, 그 중 아토피 환자의 대부분은 Th2 면역이 증가되어 있다는 것이 밝혀졌음.

- 면역관련 T 세포 중 보조T세포는 다시 Th1, Th2, Th17, Treg을 비롯한 다양한 종류의 Th 세포가 있음. 이 중에서 주로 아토피를 일으키는 것은 Th2 세포이며, 아토피의 대부분이 Th2세포가 분비하는 사이토카인의 증가로 발생된다고 보고되었음.

- 아토피피부염에는 여러 가지 세포들 (T lymphocytes, eosinophils, keratinocytes, macrophages, mast cells)과 인자들(cytokine 들과 immunoglobulin 특히 IgE)이 관여한다고 알려져 있음.

- Keratinocyte(각질형성세포)는 각질층 구성에 필수적인 세포로 피부에서 발생하는 면역반응의 일차적인 유도체(inducer)와 표적(target)으로 작용함.



제 2 절 연구 수행 세부 내용 및 결과

□ 성과목표 1: 극지고유생물자원 유래 항염증/항당뇨/피부질환 개선 생리활성 이차대사물질 발굴(1차년도)

○ 세부목표 1-1: 생리활성 대사체의 분리

연구 내용	연구 결과
- 극지생물 유래 미생물로 제조된 후보 분획물에서 활성 대사체 분리 연구	- 극지생물 유래 미생물 SF7367의 추출물유래 활성 대사체 분리 연구 : 활성 후보 대사체 10종 분리[별첨 1-1]

[별첨 1-1] 극지생물 유래 미생물 SF-7367유래 활성 대사체 분리 연구

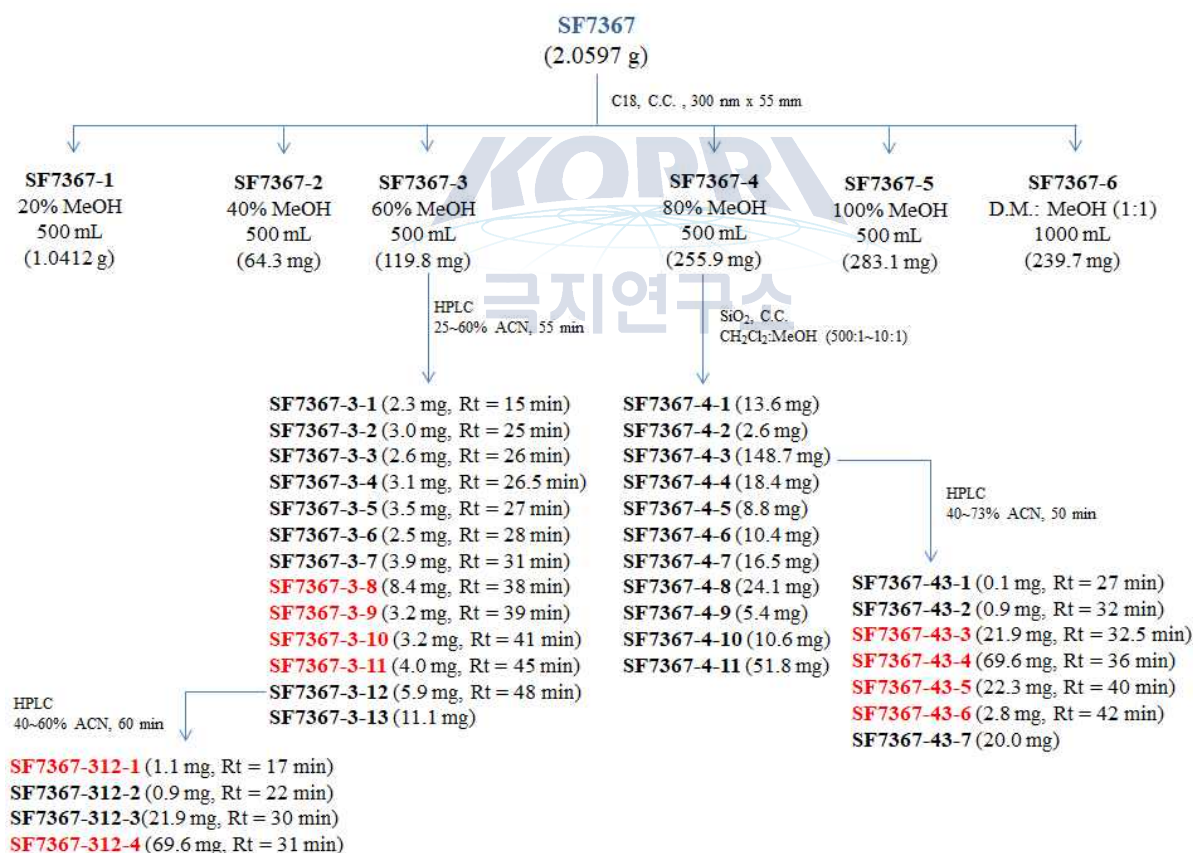


Figure 1. 곰팡이 균주 SF7367 대사체의 분리도

남극 생물종에서 분리된 곰팡이 균주 SF7367은 20개의 fernbach flasks에 3% NaCl (v/v)이 함유된 PDA 배지 150 mL를 균한 후 균주는 각각 2 mL씩 접종되었으며, 14일 동안 25 °C incubator에서 배양되었다. 배양이 완료된 배지는 EtOAc를 1 L씩 넣어 추출을 하였다.

추출물은 종이필터로 여과 후 감압 농축하여 용매를 증발시켰으며, 그 결과 조추출물 2.0597 g을 획득하였다. 조추출물은 C₁₈ flash column chromatography (5.5 cm × 30 cm)를 진행하였으며, 용매는 20%, 40%, 60%, 80%, 100% (v/v) MeOH (in H₂O) 500 mL 제조 후 순서대로 용리시켜 SF7367-1 ~ SF7367-5까지 총 5개의 분획물을 얻었다. 분획물 SF7367-3 (119.8 mg)은 C₁₈ prep HPLC를 이용하여 25%-60% CH₃CN (in H₂O) 조건으로 55분 동안 용매 기울기를 주어 SF7367-3-8 (8.4 mg, t_R = 38 min), SF7367-3-9 (3.2 mg, t_R = 39 min), SF7367-3-10 (3.2 mg, t_R = 41 min), SF7367-3-11 (4.0 mg, t_R = 45 min) 및 SF7367-3-1~7, SF7367-3-12 총 13개의 소분획물을 얻었다. 그 중 SF7367-3-12 (5.9 mg)은 C₁₈ prep HPLC로 정제하였고 40%-60% CH₃CN (in H₂O)이 되도록 60분 동안 용매 기울기를 주어 SF7367-312-1 (1.1 mg, t_R = 17 min), SF7367-312-4 (69.6 mg, t_R = 31 min)를 획득하였다. 분획물 SF7367-4 (255.9 mg)은 silica gel column (30 cm × 4.0 cm)을 진행하였으며, CH₂Cl₂: MeOH (500:1~10:1) 비율로 용매를 조성하여 SF7367-4-1 ~ SF7367-4-11 총 11개의 소분획물을 얻었다. 그 후 SF7367-4-3 (148.7 mg)은 C₁₈ prep HPLC로 정제하였고 40~73% CH₃CN (in H₂O) 조건으로 50분 동안 용매 기울기를 주어 SF7367-43-3 (21.9 mg, t_R = 32.5 min), SF7367-43-4 (69.6 mg, t_R = 36 min), SF7367-43-5 (22.3 mg, t_R = 40 min), SF7367-43-6 (2.8 mg, t_R = 42 min)를 획득하였다.



○ 세부목표 1-2: 생리활성 대사체의 구조 분석

연구 내용	연구 결과
- 분리한 활성 대사체의 구조 분석	- SF-7367 추출물로부터 분리된 10종 활성 후보물질의 <u>구조 분석 완료</u> [별첨 1-2]

[별첨 1-2] 극지생물 유래 진균 SF7394 로부터 분리된 이차대사물질의 구조분석

1.2.1. SF7367-3-8의 구조 분석

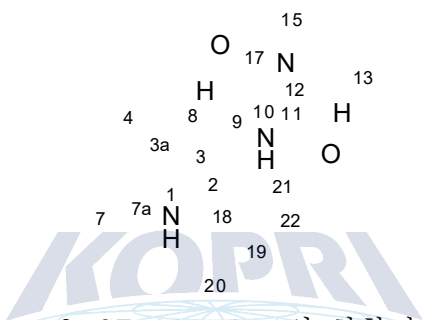


Figure 2. SF7367-3-8의 화학적 구조

SF7367-3-8은 연황색 가루 형태이다. HR-EI-MS 스펙트럼 (m/z 374.1880 $[M + Na]^+$ [calcd. for 374.1839], 352.2057 $[M + H]^+$ [calcd. for 352.2020]) 분석을 통해 분자식은 $C_{21}H_{25}N_3O$ 으로 확인되었다. SF7367-3-8의 ^1H 와 COSY NMR data에서 ortho-disubstituted benzene이 δ_H 7.47 (1H, dd, $J = 7.6, 1.2$ Hz, H-4), 7.37 (1H, dd, $J = 8.0, 1.2$ Hz, H-7), 7.09 (1H, ddd, $J = 8.0, 6.8, 0.8$ Hz, H-6), 7.02 (1H, ddd, $J = 8.0, 6.8, 1.2$ Hz, H-5)에서 나타났고, mono-substituted olefin은 δ_H 6.22 (1H, dd, $J = 17.6, 10.8$ Hz, H-19), 5.13 (1H, dd, $J = 16.4, 1.2$ Hz, H-20), 5.10 (1H, dd, $J = 10.8, 0.8$ Hz, H-20)에서 나타났으며, two methine protons이 δ_H 4.52 (1H, ddd, $J = 11.2, 4.0, 1.6$ Hz, H-9), 4.22 (1H, ddd, $J = 8.8, 6.8, 1.6$ Hz, H-12)에서 나타났고, four methylene groups은 δ_H 3.65 (1H, dd, $J = 15.2, 4.4$ Hz, H-8), 3.56 (2H, m, H-15), 3.14 (1H, dd, $J = 15.2, 11.2$ Hz, H-8), 2.28 (1H, m, H-13), 2.02 (1H, m, H-14), 1.93 (2H, m, H-13, H-14)에서 나타났으며, two equivalent tertiary methyls은 δ_H 1.57 (3H, s, H-21), 1.55 (3H, s, H-22)에서 나타났다. SF7367-3-8의 ^{13}C NMR 및 DEPT 스펙트럼은 21개의 탄소를 나타내었으며, lactam carbonyls은 δ_C 171.5 (C-11), 168.0 (C-17)에서 나타났고, diketopiperazine type indole alkaloid signals은 δ_C 143.2 (C-2), 136.7 (C-7a), 130.2 (C-3), 122.5 (C-6), 120.3 (C-5), 118.5 (C-4), 112.2 (C-7), 104.8 (C-3)에서 나타났다. 또한 prenyl group은 δ_C 147.8 (C-19), 112.2 (C-20), 40.3 (C-18), 28.5 (C-21, 22)에서 나타났고, two methine carbons은 δ_C 60.2 (C-12), 56.3 (C-9)에서 나타났으며, four

methylene carbons은 δ_c 46.4 (C-15), 29.3 (C-13), 27.2 (C-8), 23.4 (C-14)에서 나타났다. 1D와 2D NMR data를 기존에 보고된 data와 비교한 결과 SF7367-3-8의 구조는 epi-deoxybrevianamide E [5]로 확인되었다.

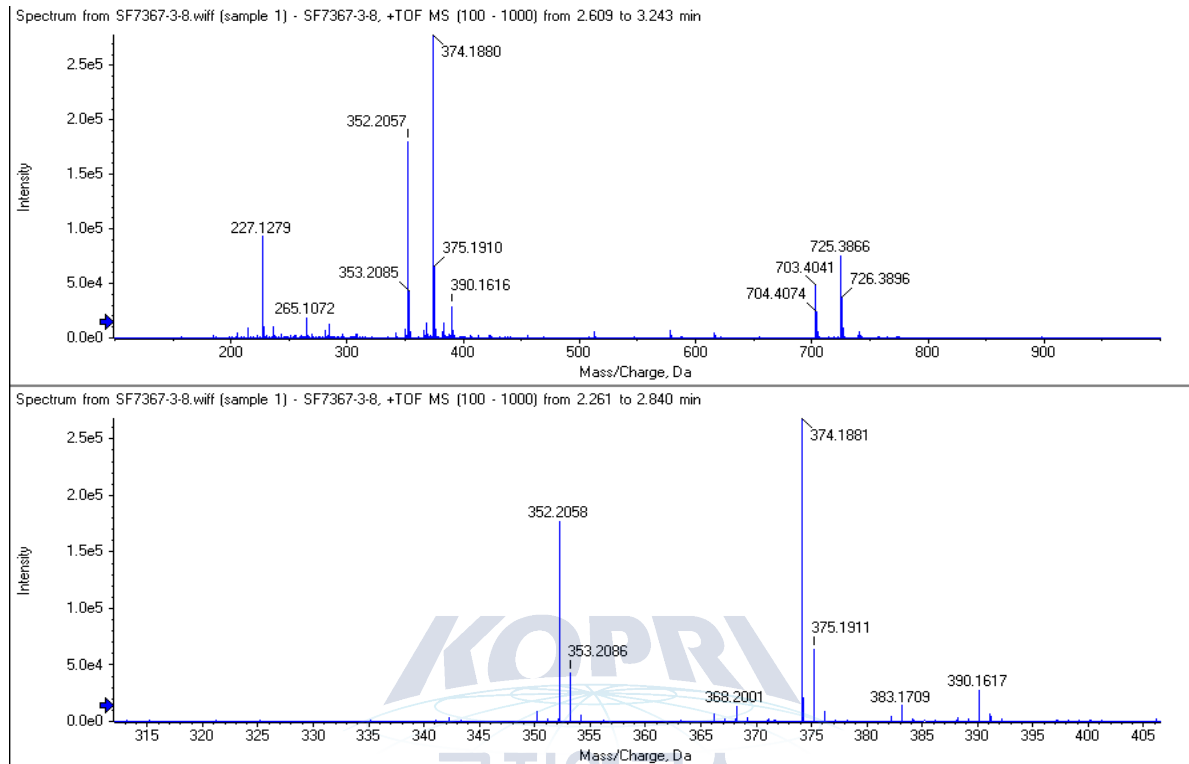


Figure 3. SF7367-3-8의 MS spectrum

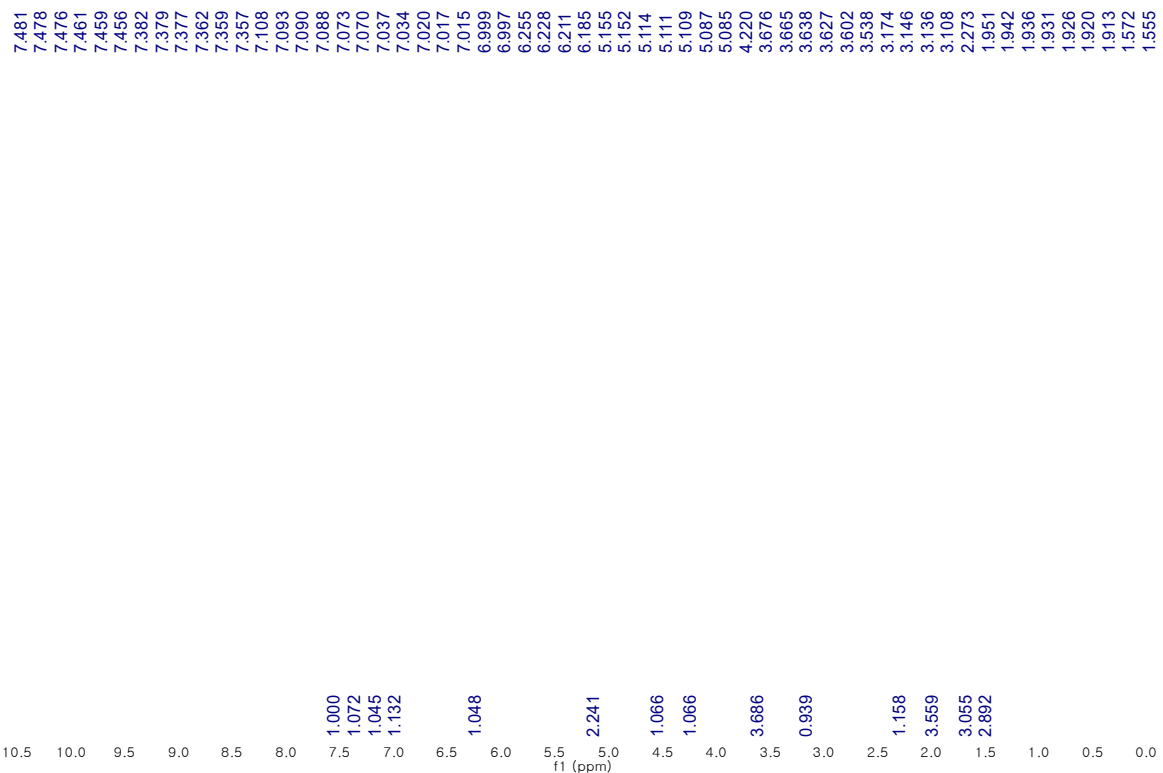


Figure 4. SF7367-3-8의 ^1H NMR spectrum (Recorded in methanol- d_4)

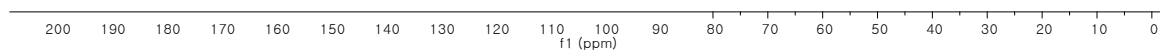


Figure 5. SF7367-3-8의 ^{13}C NMR spectrum (Recorded in methanol- d_4)

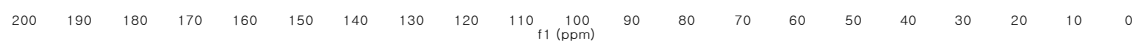


Figure 6. SF7367-3-8의 DEPT spectrum (Recorded in methanol- d_4)

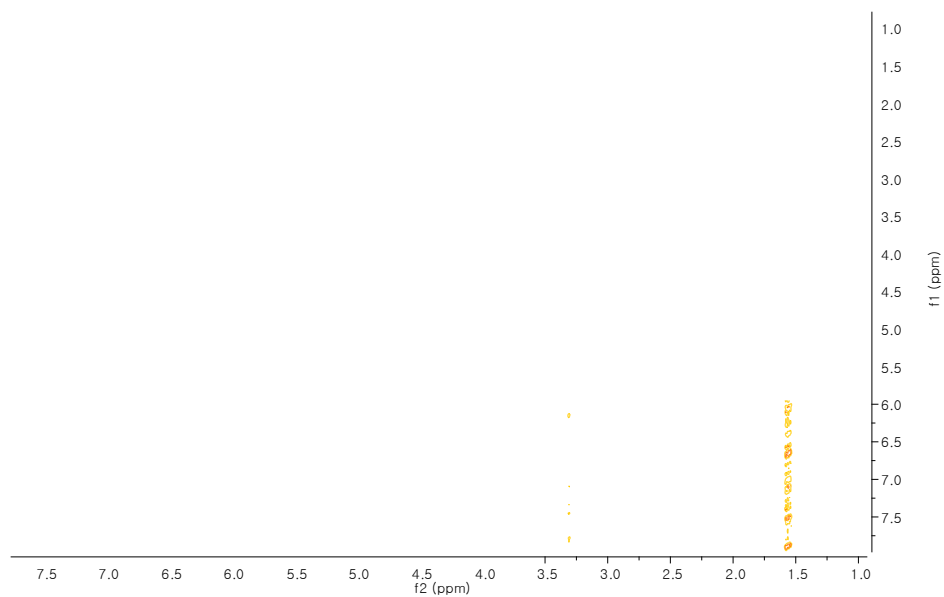


Figure 7. SF7367-3-8의 COSY spectrum (Recorded in methanol- d_4)

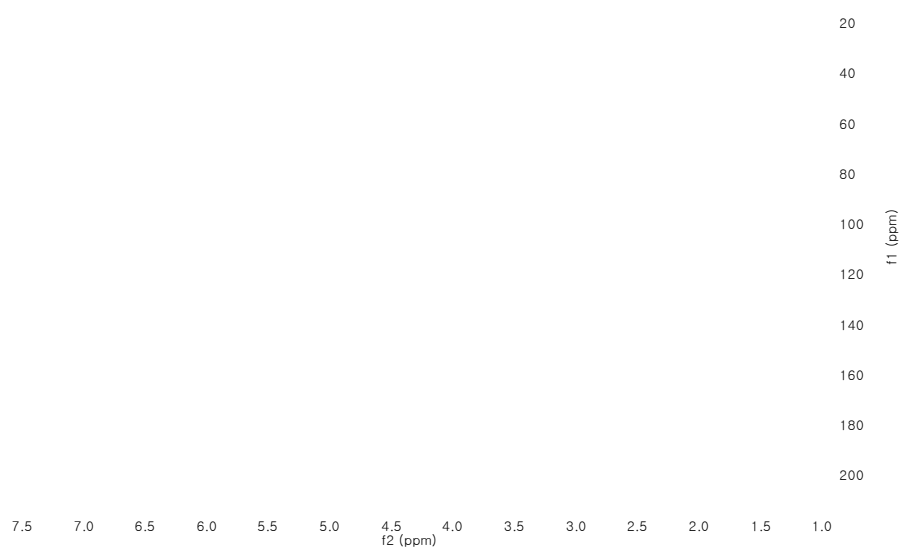


Figure 8. SF7367-3-8의 HMQC spectrum (Recorded in methanol- d_4)

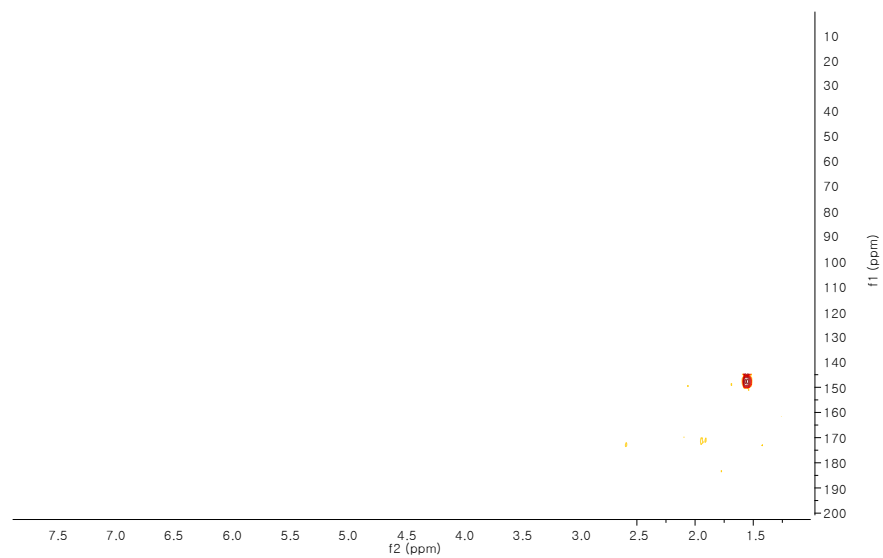


Figure 9. SF7367-3-8의 HMBC spectrum (Recorded in methanol- d_4)

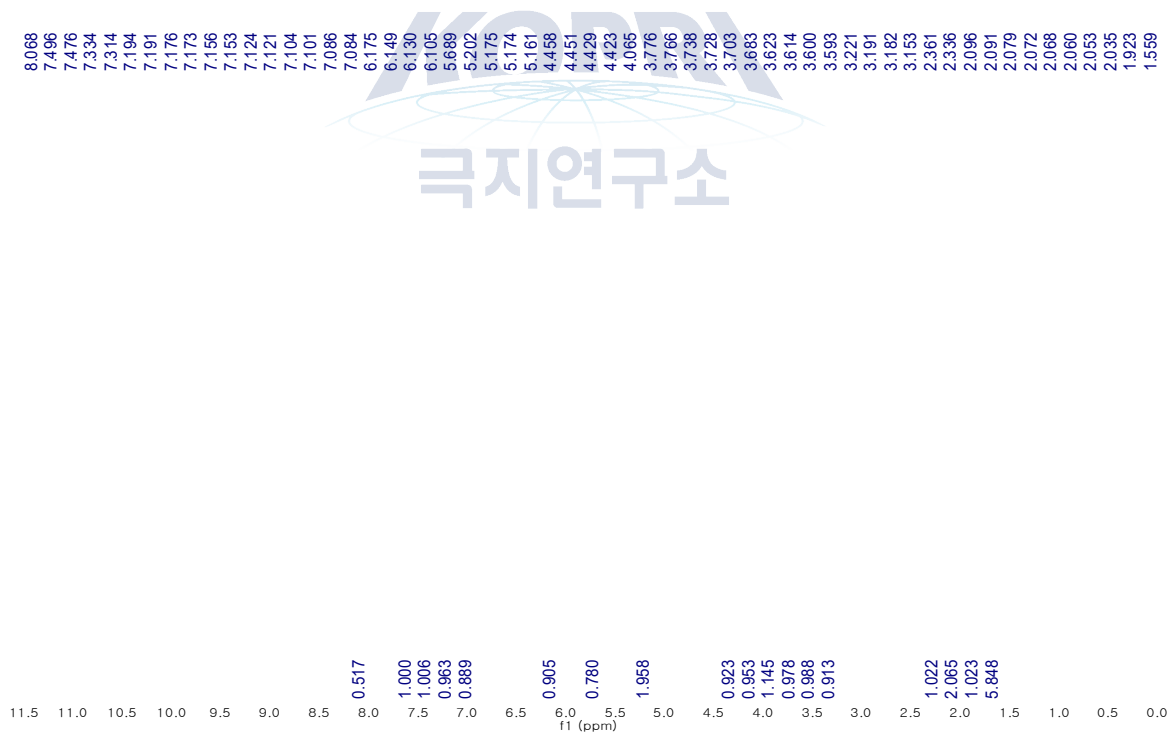


Figure 10. SF7367-3-8의 ^1H NMR spectrum (Recorded in chloroform- d)

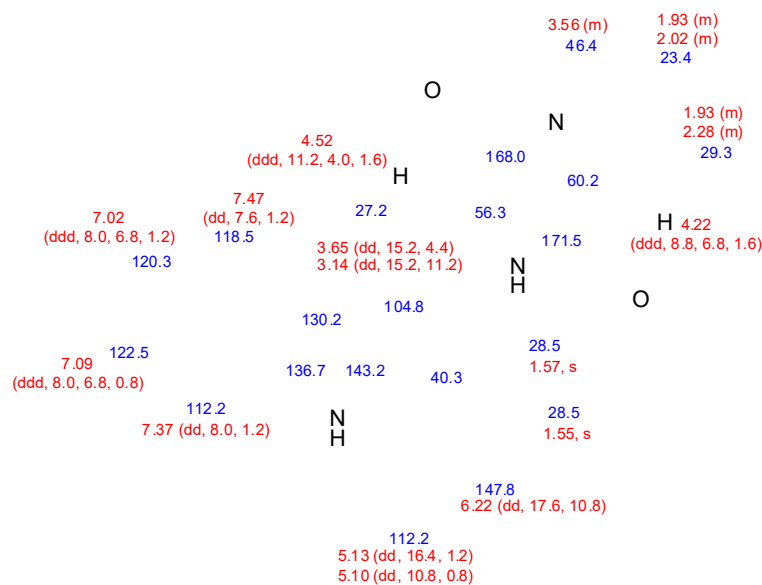


Figure 11. SF7367-3-8의 ^1H , ^{13}C NMR chemical shift 및 COSY, HMBC NMR에서 상관관계 (Recorded in methanol- d_4)

1.2.2. SF7367-3-9의 구조 분석



Figure 12. SF7367-3-9의 화학적 구조

SF7367-3-9은 백색 결정 형태이다. HR-EI-MS 스펙트럼 (m/z 372.1729 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ [calcd. for 372.1682], 350.1902 $[\text{M} + \text{H}]^+$ [calcd. for 350.1863]) 분석을 통해 분자식은 $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_2$ 으로 확인되었다. 또한 SF7367-3-9의 NMR data는 C-8과 C-9의 proton, carbon shifts을 제외하고 SF7367-3-8 (Figure 2.2.7)과 거의 동일한 화학적 이동을 나타냈다. 1D NMR data를 기존에 보고된 data와 비교한 결과 SF7367-3-9은 brevianamide V [6]로 확인되었다.

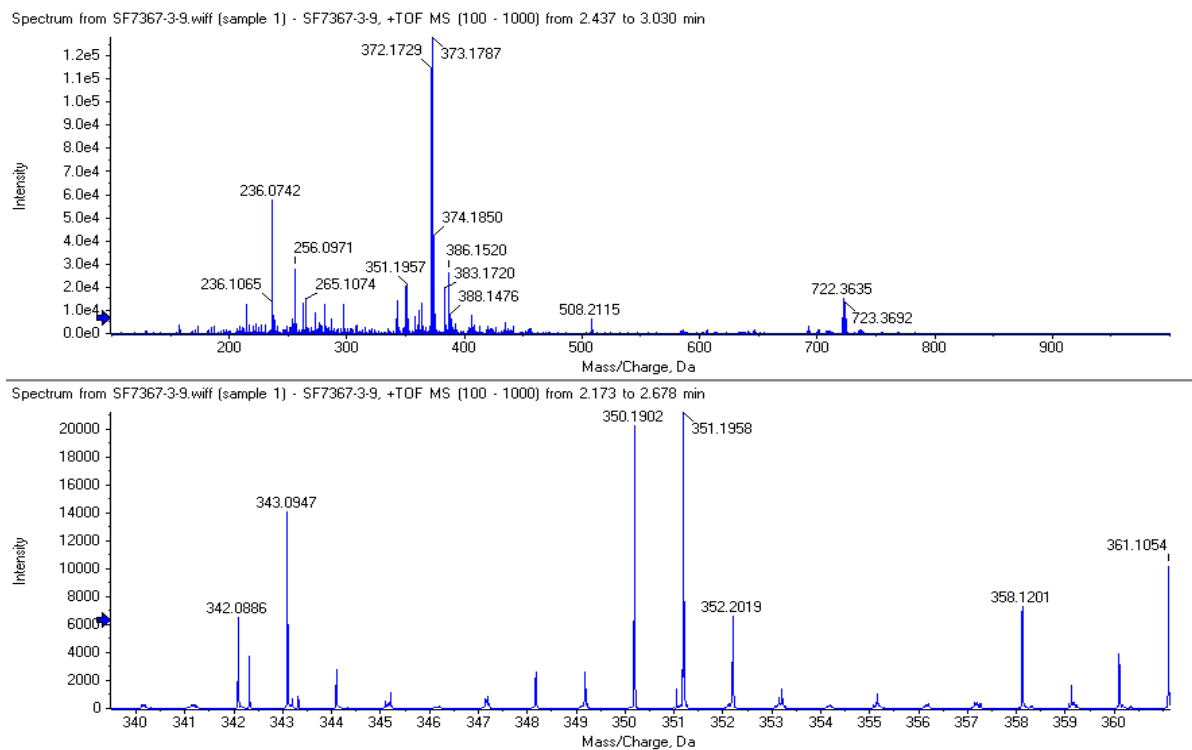


Figure 13. SF7367-3-9의 MS spectrum

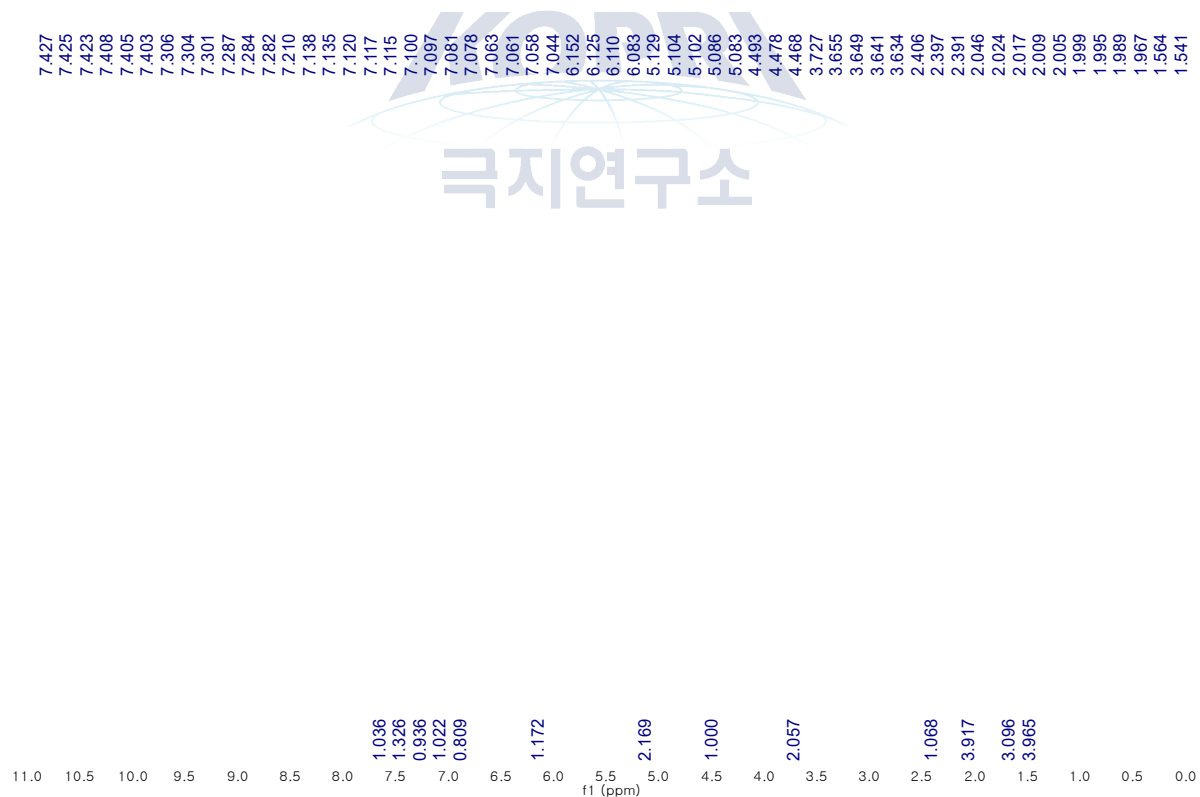


Figure 14. SF7367-3-9의 ^1H NMR spectrum (Recorded in methanol- d_4)

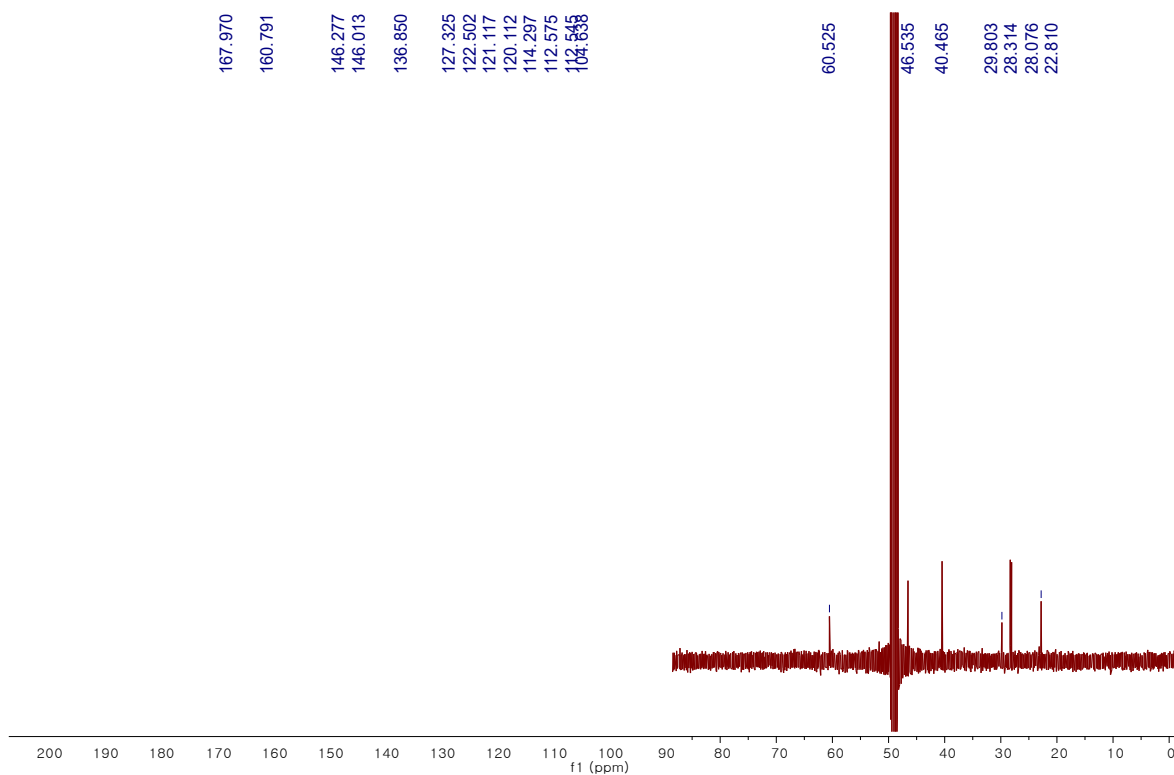


Figure 15. SF7367-3-9의 ^{13}C NMR spectrum (Recorded in methanol- d_4)



Figure 16. SF7367-3-9의 DEPT spectrum (Recorded in methanol- d_4)

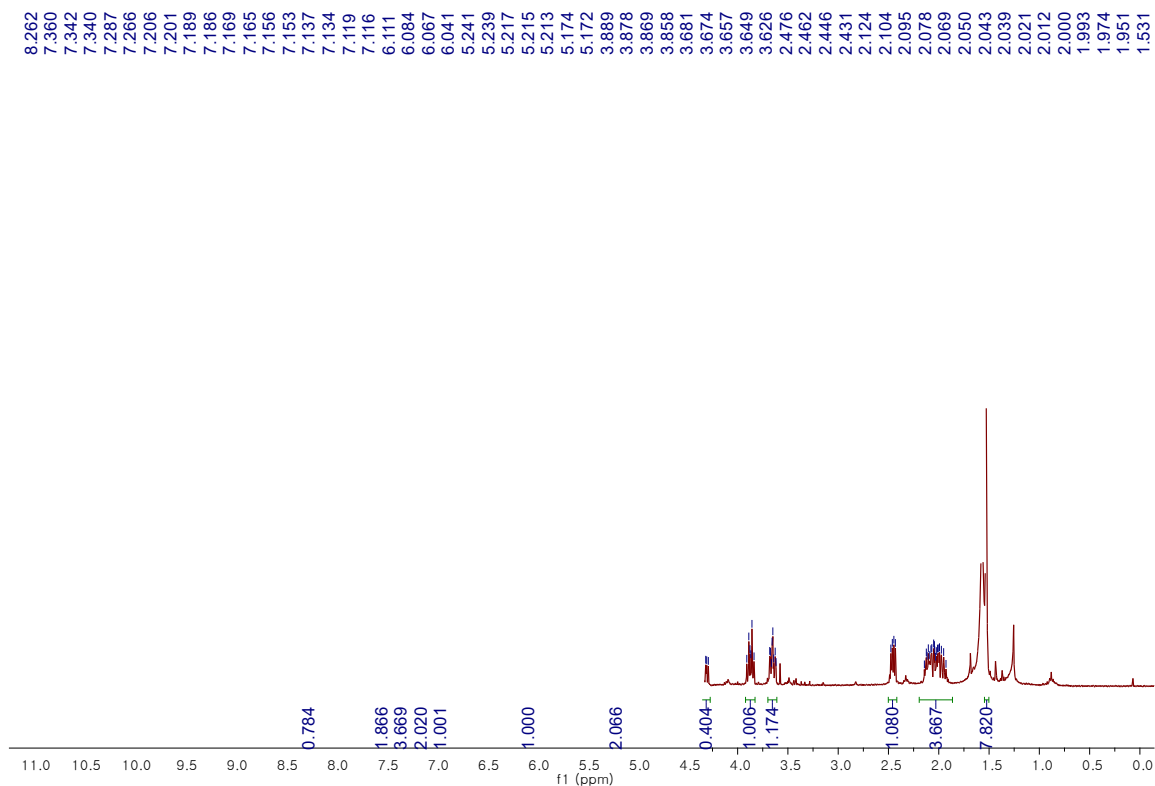


Figure 17. SF7367-3-9의 ^1H NMR spectrum (Recorded in chloroform- d)

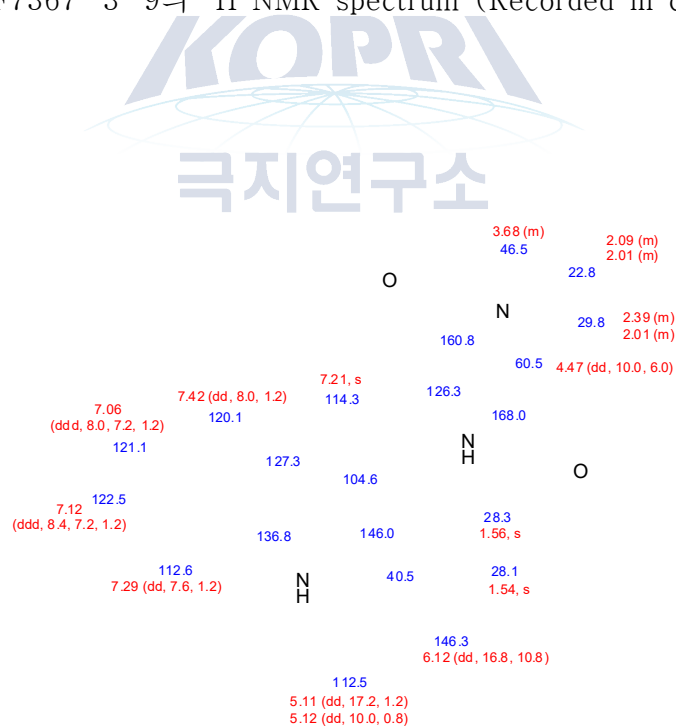


Figure 18. SF7367-3-9의 ^1H 및 ^{13}C NMR data (Recorded in methanol- d_4)

1.2.3. SF7367-3-10의 구조 분석

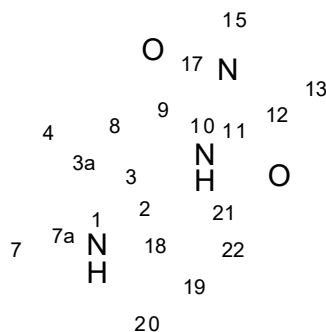


Figure 19. SF7367-3-10의 화학적 구조

SF7367-3-10은 백색 결정 형태이다. HR-EI-MS 스펙트럼 (m/z 370.1576 $[M + Na]^+$ [calcd. for 370.1526], 348.1749 $[M + H]^+$ [calcd. for 348.1707]) 분석을 통해 분자식은 $C_{21}H_{21}N_3O_2$ 으로 확인되었다. SF7367-3-10의 NMR data는 double bond의 C-12 (Figure 2.3.8)를 제외하면 SF7367-3-9와 거의 동일하다. 1D and 2D NMR data를 기존에 보고된 data와 비교한 결과 SF7367-3-10은 brevianamide K [7]로 확인되었다.

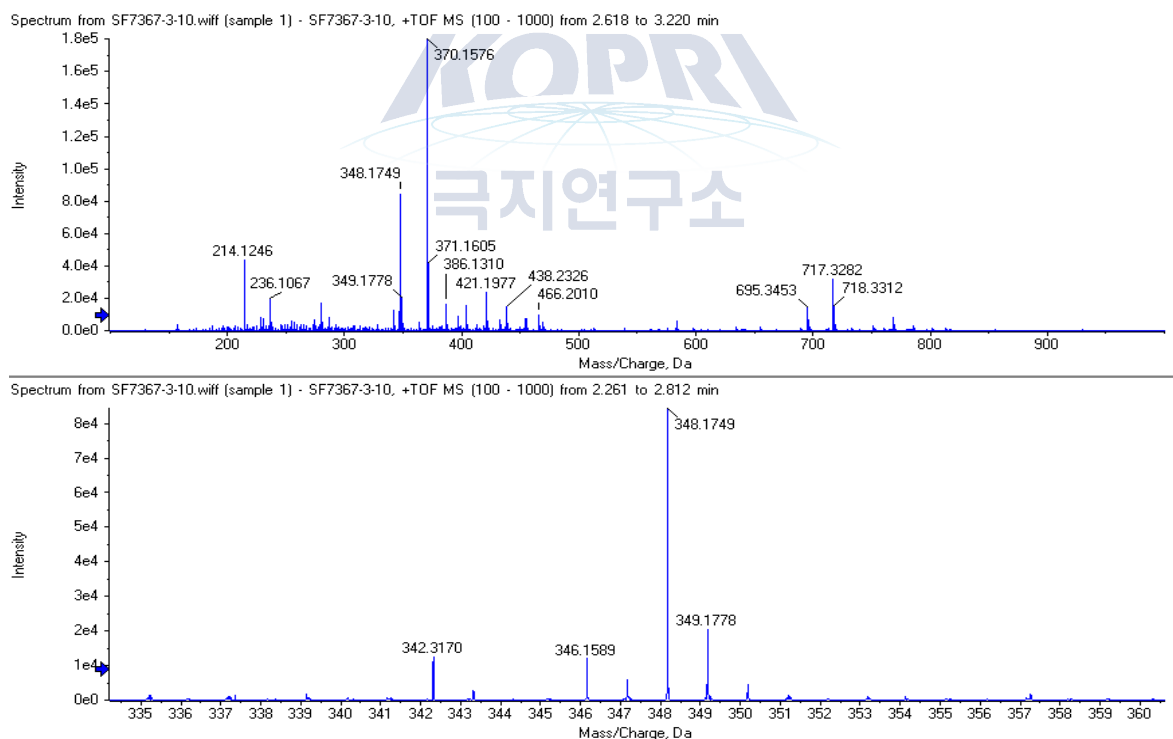


Figure 20. SF7367-3-10의 MS spectrum

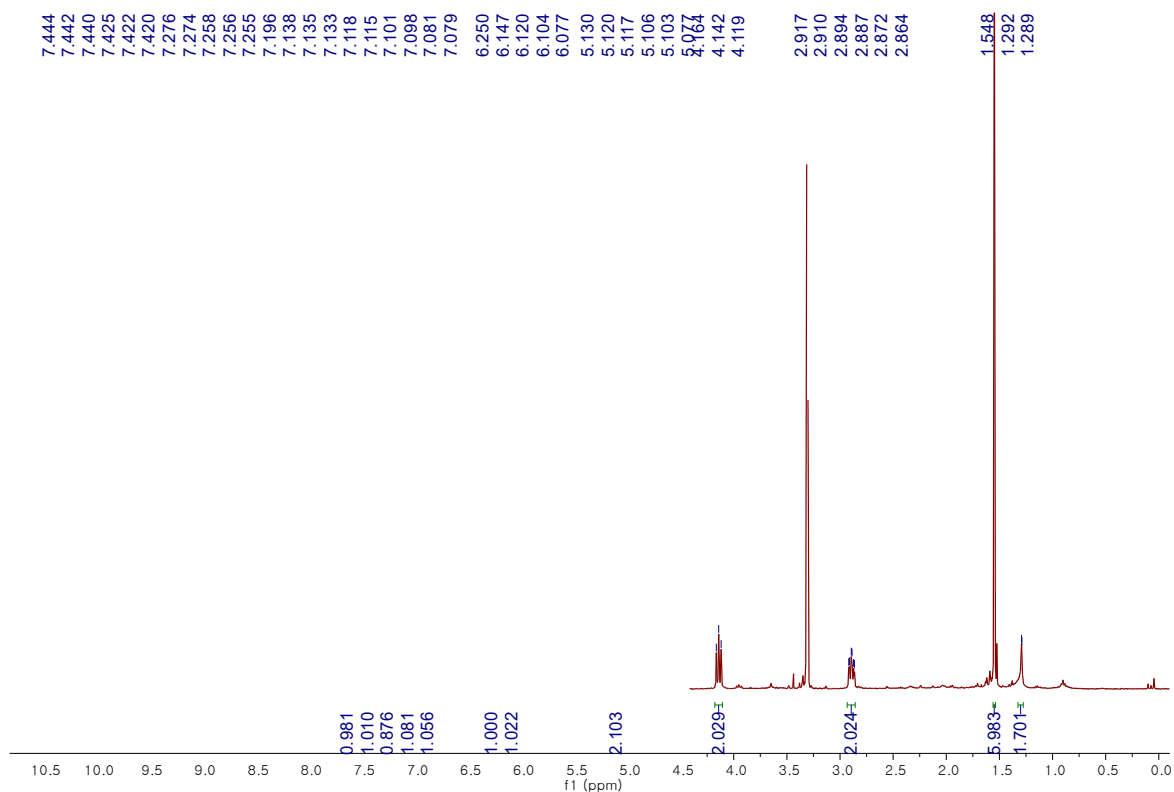


Figure 21. SF7367-3-10의 ^1H NMR spectrum (Recorded in methanol- d_4)

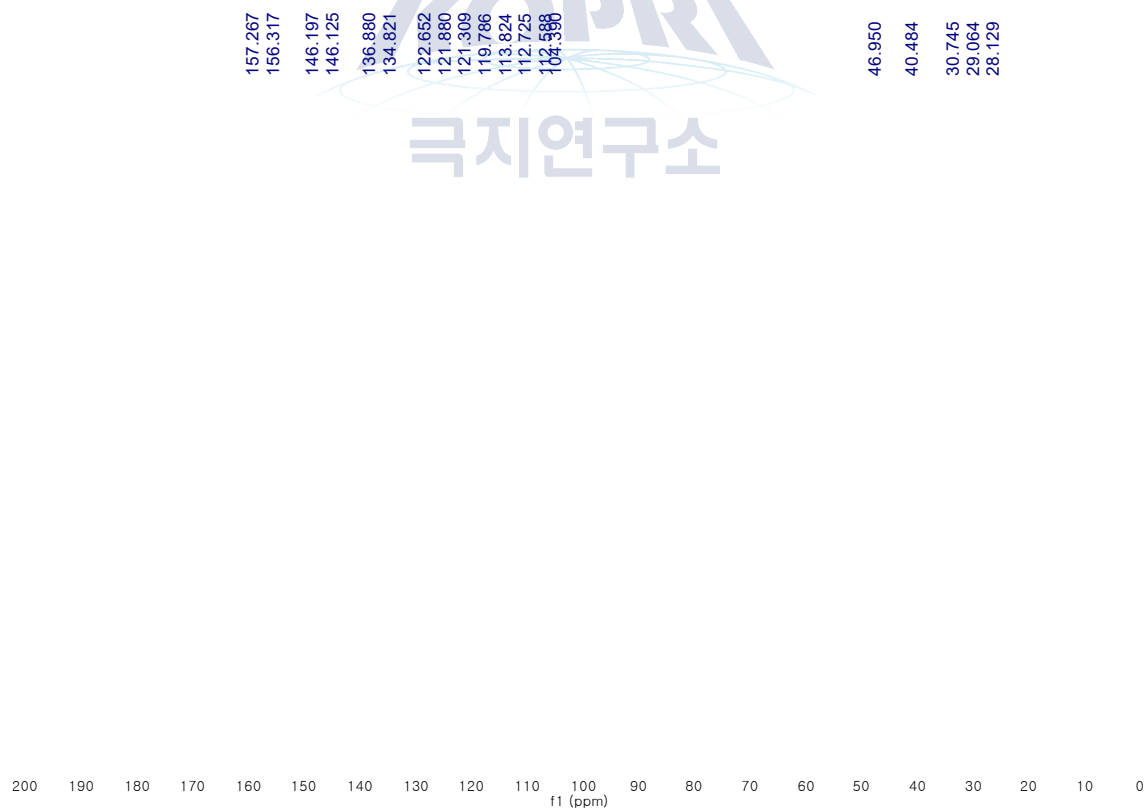


Figure 22. SF7367-3-10의 ^{13}C NMR spectrum (Recorded in methanol- d_4)

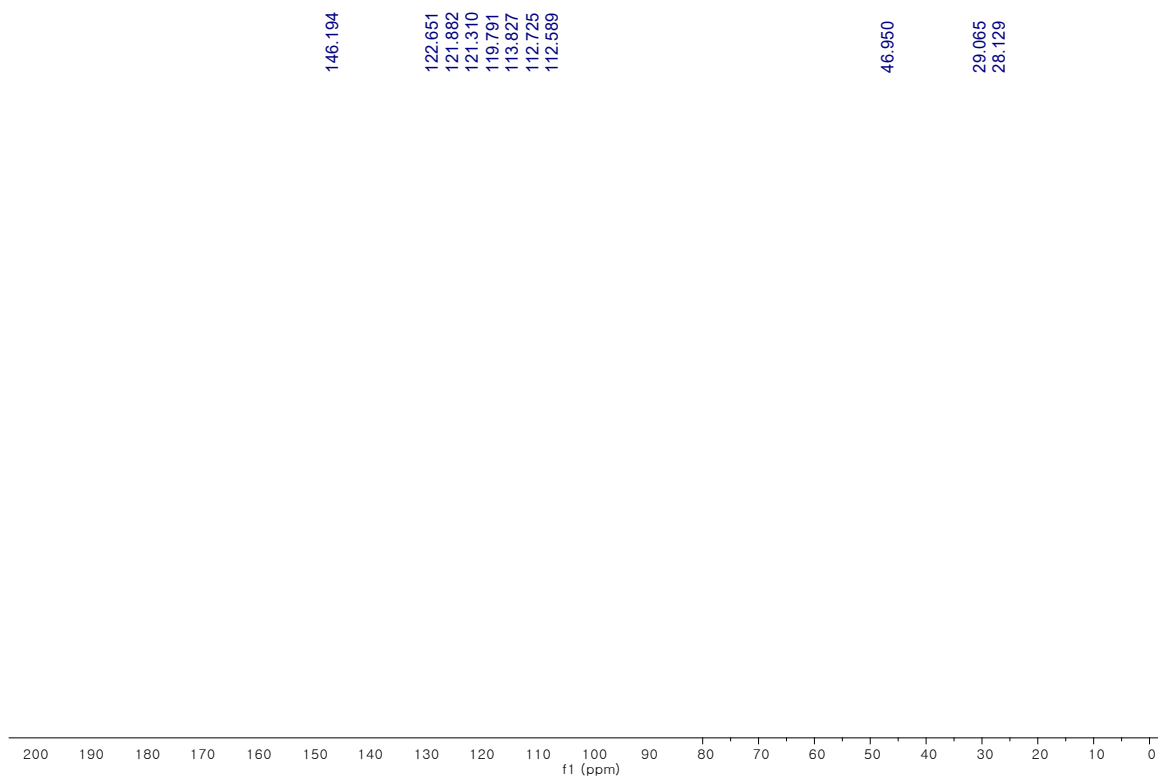


Figure 23. SF7367-3-10의 DEPT spectrum (Recorded in methanol- d_4)

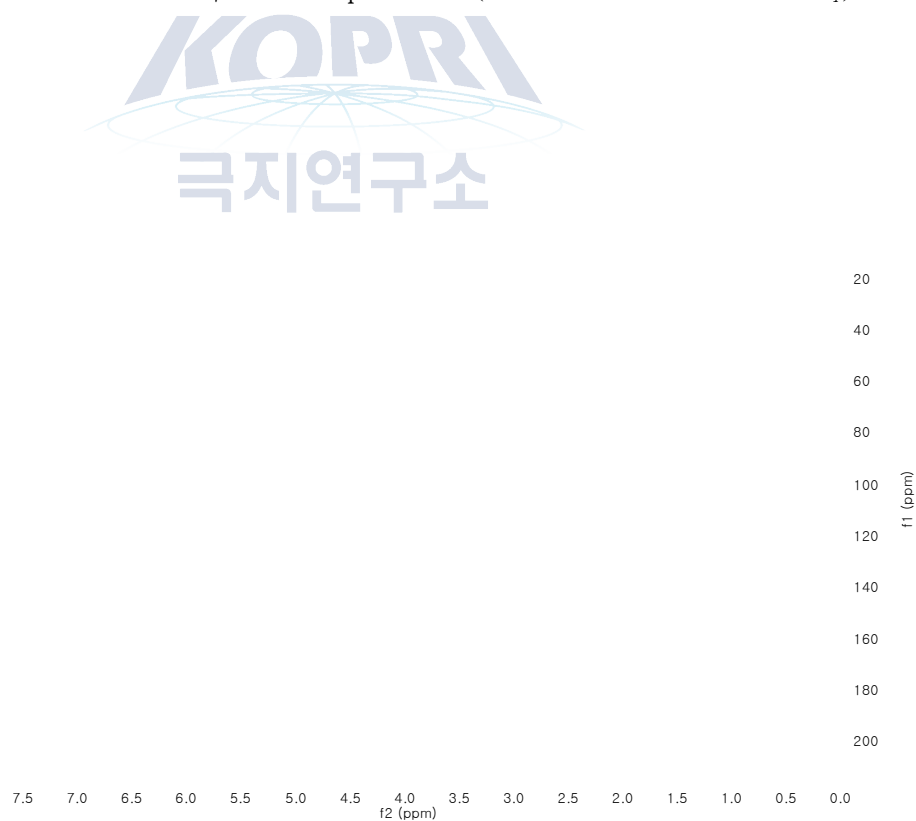


Figure 24. SF7367-3-10의 HMQC spectrum (Recorded in methanol- d_4)

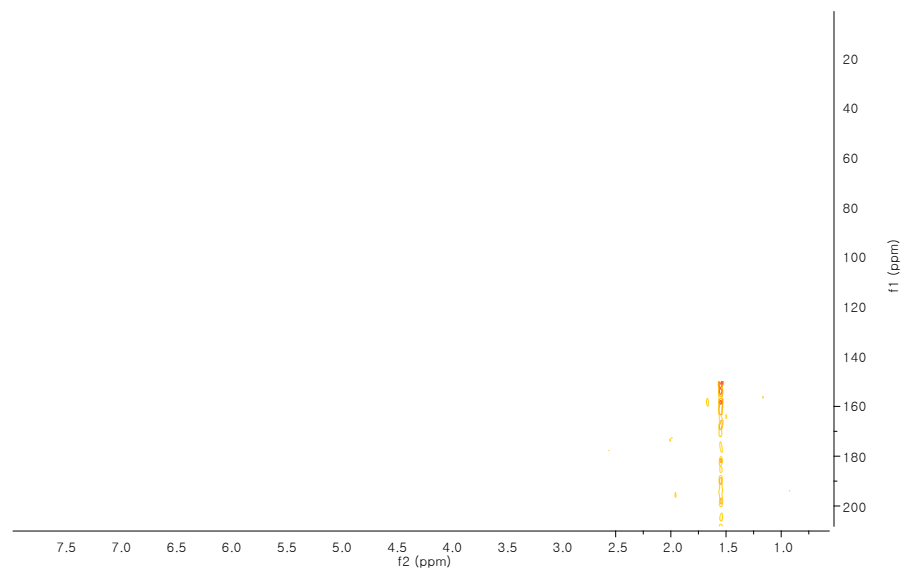


Figure 25. SF7367-3-10의 HMBC spectrum (Recorded in methanol- d_4)

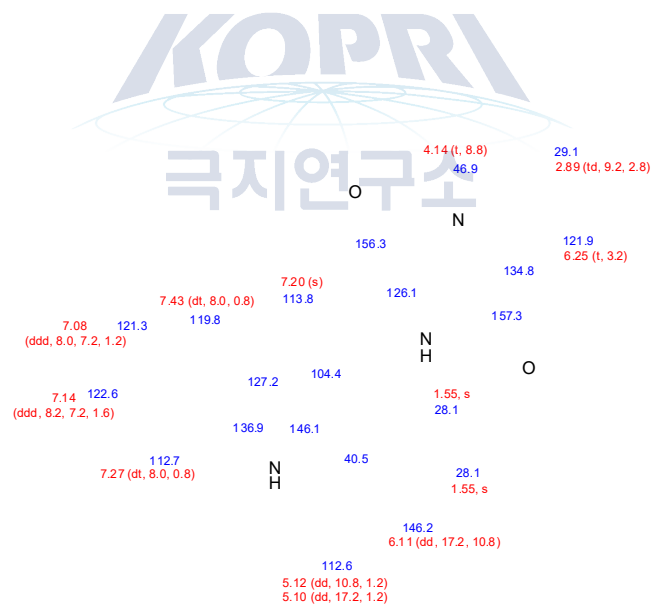


Figure 26. SF7367-3-10의 ^1H , ^{13}C NMR chemical shift 및 HMBC에서 상관관계 (Recorded in methanol- d_4)

1.2.4. SF7367-312-4의 구조 분석

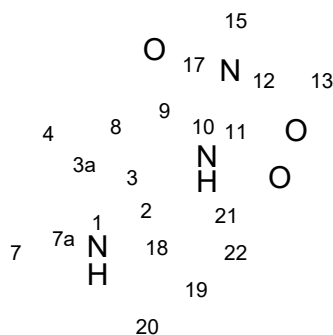


Figure 27. SF7367-312-4의 화학적 구조

SF7367-312-4는 무색 결정 형태이다. HR-EI-MS 스펙트럼 (m/z 402.1846 $[M + Na]^+$ [calcd. for 402.1788], 418.1588 $[M + K]^+$ [calcd. for 418.1528], 380.2018 $[M + H]^+$ [calcd. for 380.1969]) 분석을 통해 분자식은 $C_{22}H_{25}N_3O_3$ 으로 확인되었다. SF7367-312-4의 NMR data는 methoxy group의 C-12 (Figure 2.4.10)를 제외하면 SF7367-3-9와 거의 동일하다. 1D 및 2D NMR data를 기존에 보고된 data와 비교한 결과 SF7367-312-4는 brevianamide R [8, 9]로 확인되었다.

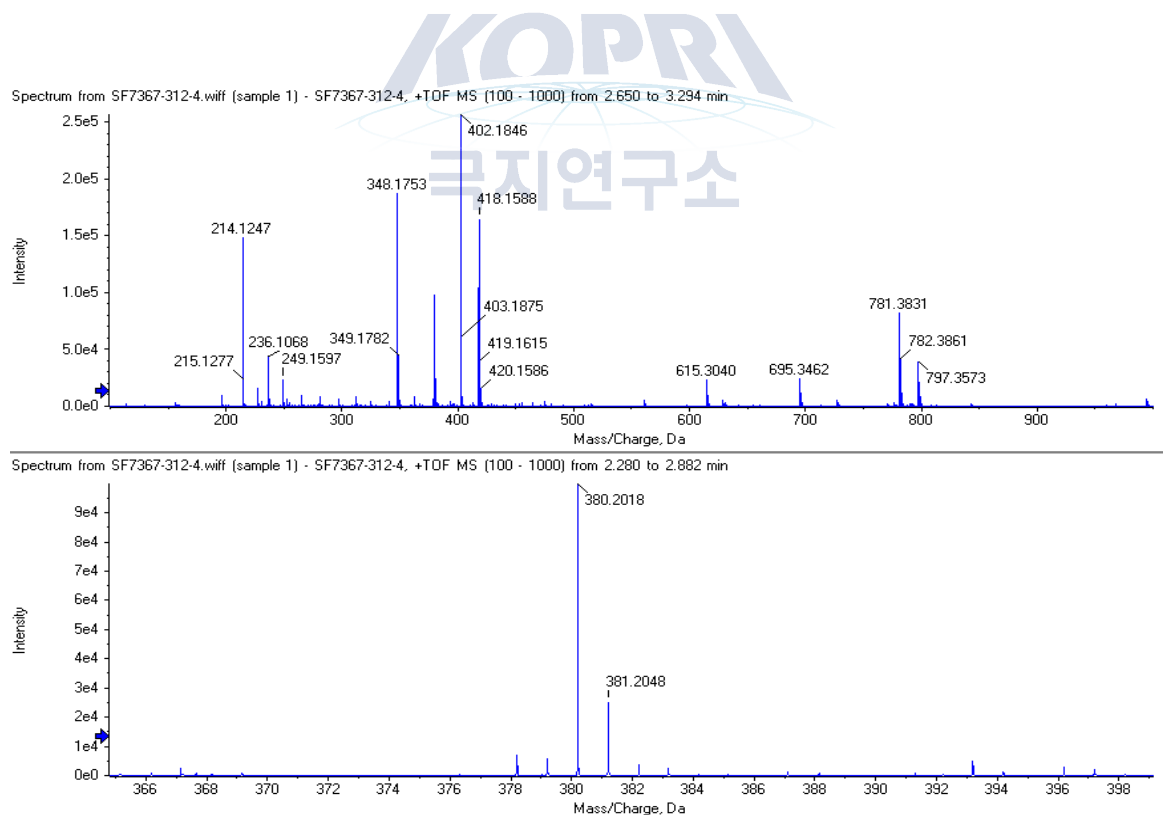


Figure 28. SF7367-312-4의 MS spectrum

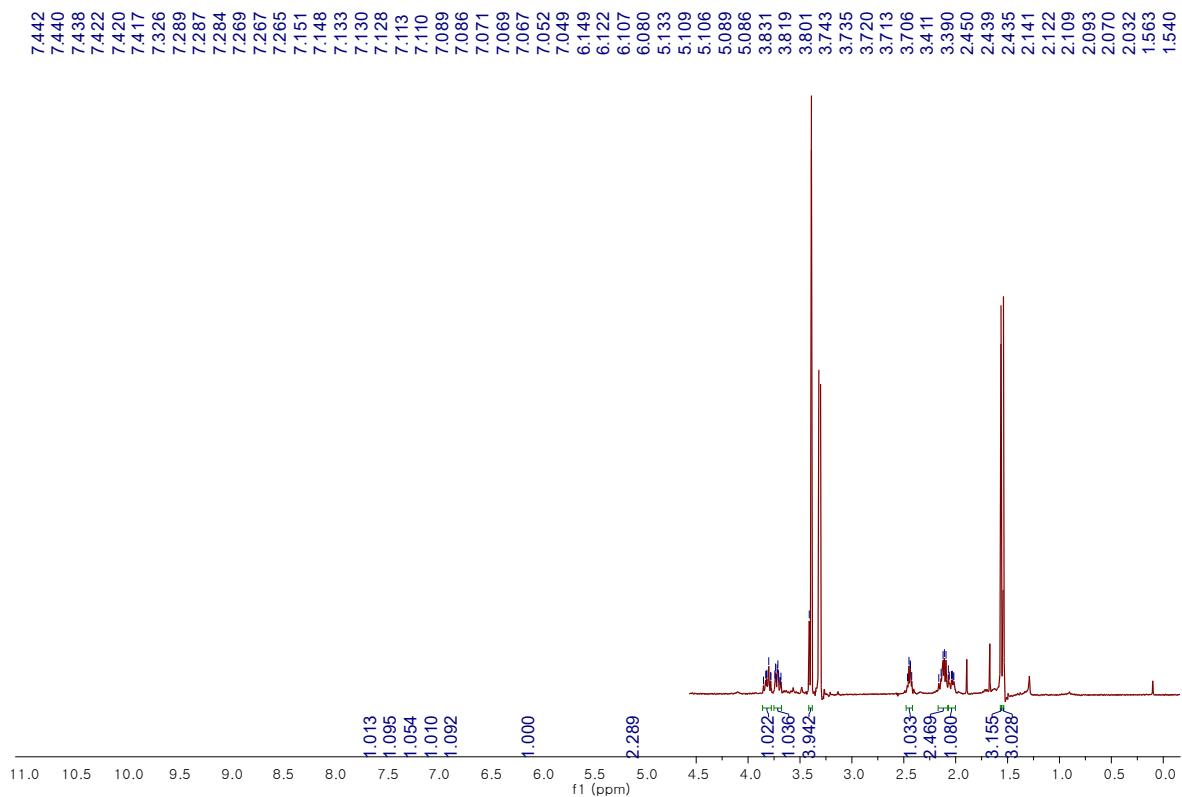


Figure 29. SF7367-312-4의 ^1H NMR spectrum (Recorded in methanol- d_4)



Figure 30. SF7367-312-4의 ^{13}C NMR spectrum (Recorded in methanol- d_4)

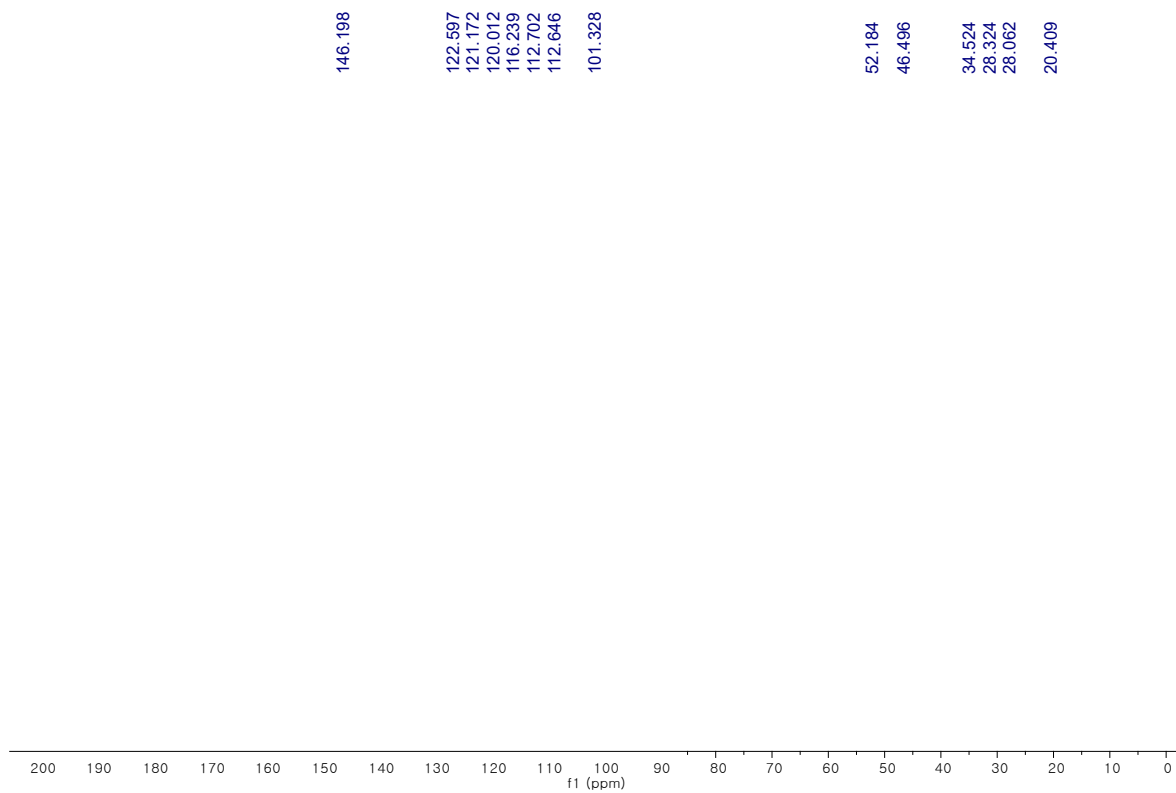


Figure 31. SF7367-312-4의 DEPT spectrum (Recorded in methanol- d_4)

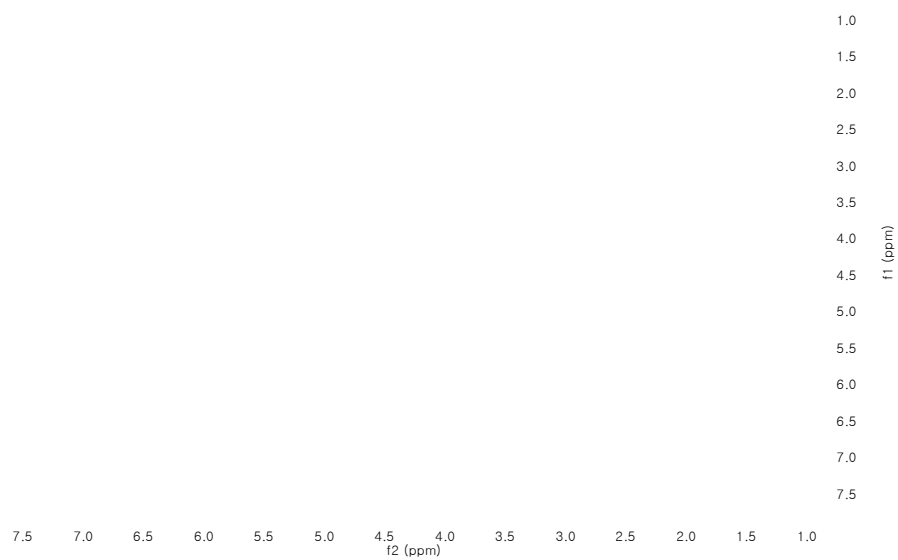


Figure 32. SF7367-312-4의 COSY spectrum (Recorded in methanol- d_4)

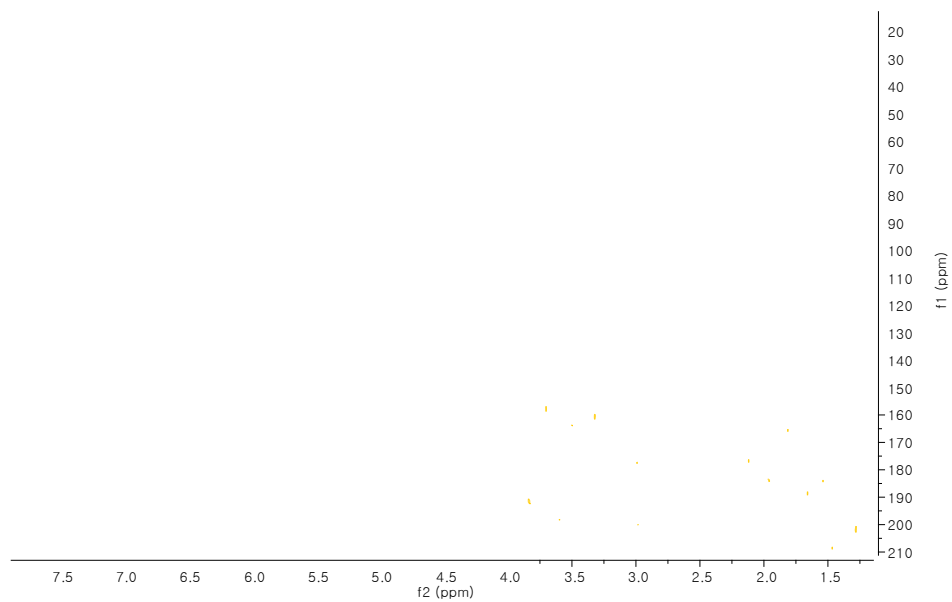


Figure 33. SF7367-312-4의 HMQC spectrum (Recorded in methanol- d_4)

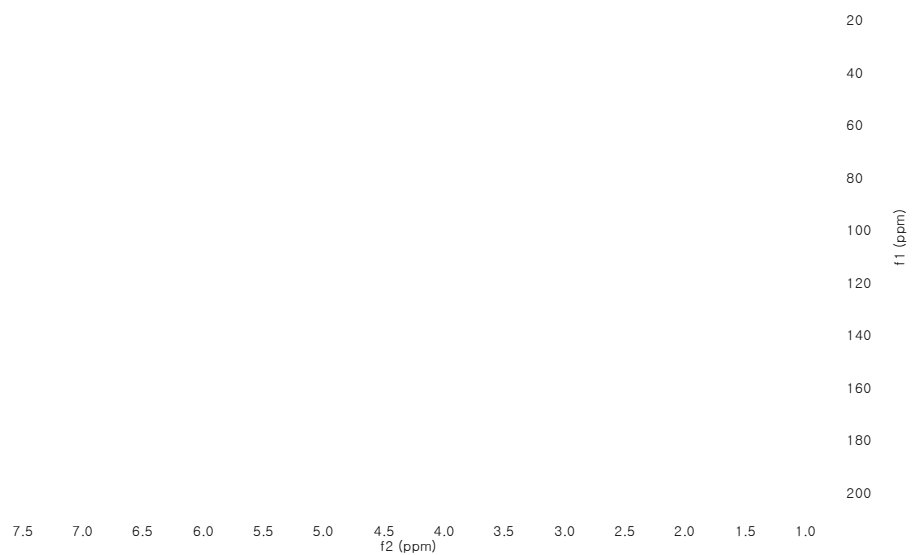


Figure 34. SF7367-312-4의 HMBC spectrum (Recorded in methanol- d_4)

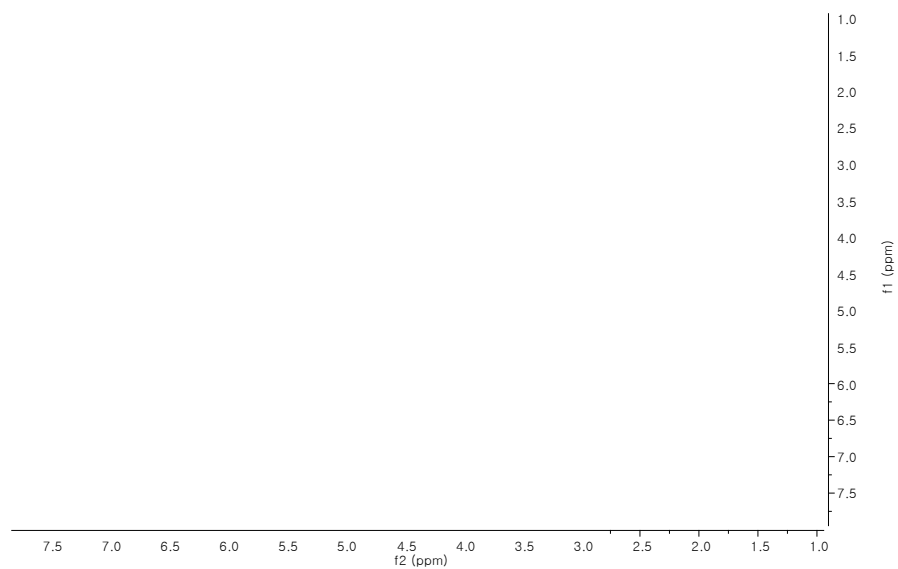


Figure 35. SF7367-312-4의 NOESY spectrum (Recorded in methanol- d_4)

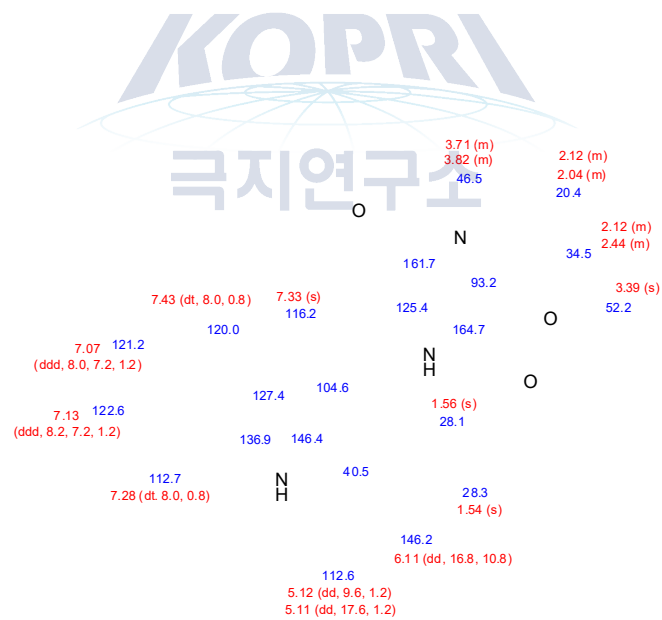


Figure 36. SF7367-312-4의 ^1H , ^{13}C NMR chemical shift 및 COSY, HMBC에서 상관관계(Recorded in methanol- d_4)

1.2.5. SF7367-312-1의 구조 분석

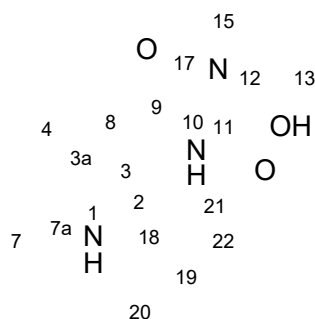


Figure 37. SF7367-312-1의 화학적 구조

SF7367-312-1은 무색 결정 형태이다. HR-EI-MS 스펙트럼 (m/z 388.1634 $[M + Na]^+$ [calcd. for 388.1632], 366.1814 $[M + H]^+$ [calcd. for 366.1812]) 분석을 통해 분자식은 $C_{21}H_{23}N_3O_3$ 으로 확인되었다. SF7367-312-1의 NMR data는 C-12 (Figure 2.5.6)의 methoxy group 대신 hydroxyl group가 존재하는 것을 제외하고 SF7367-312-4와 거의 동일하다. 1D NMR과 기존에 보고된 data와 비교한 결과 SF7367-312-1은 brevianamide Q [8, 9]로 확인되었다.

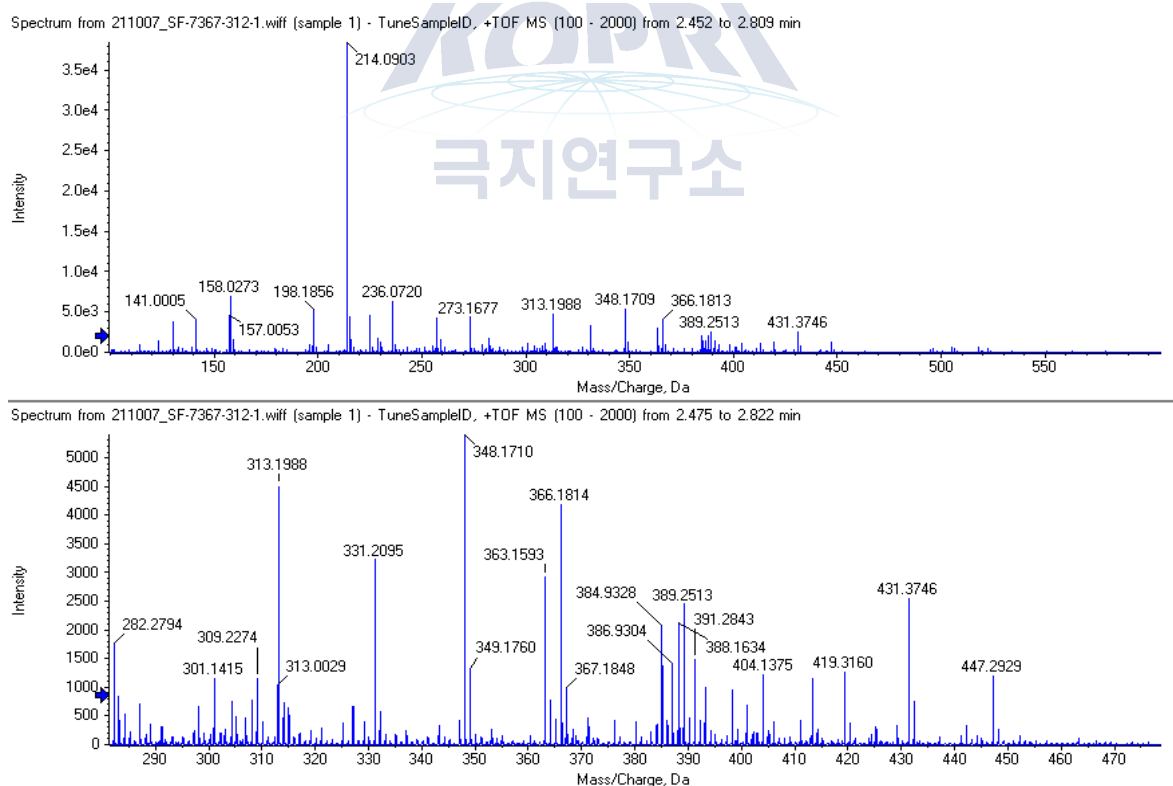


Figure 38. SF7367-312-1의 MS spectrum

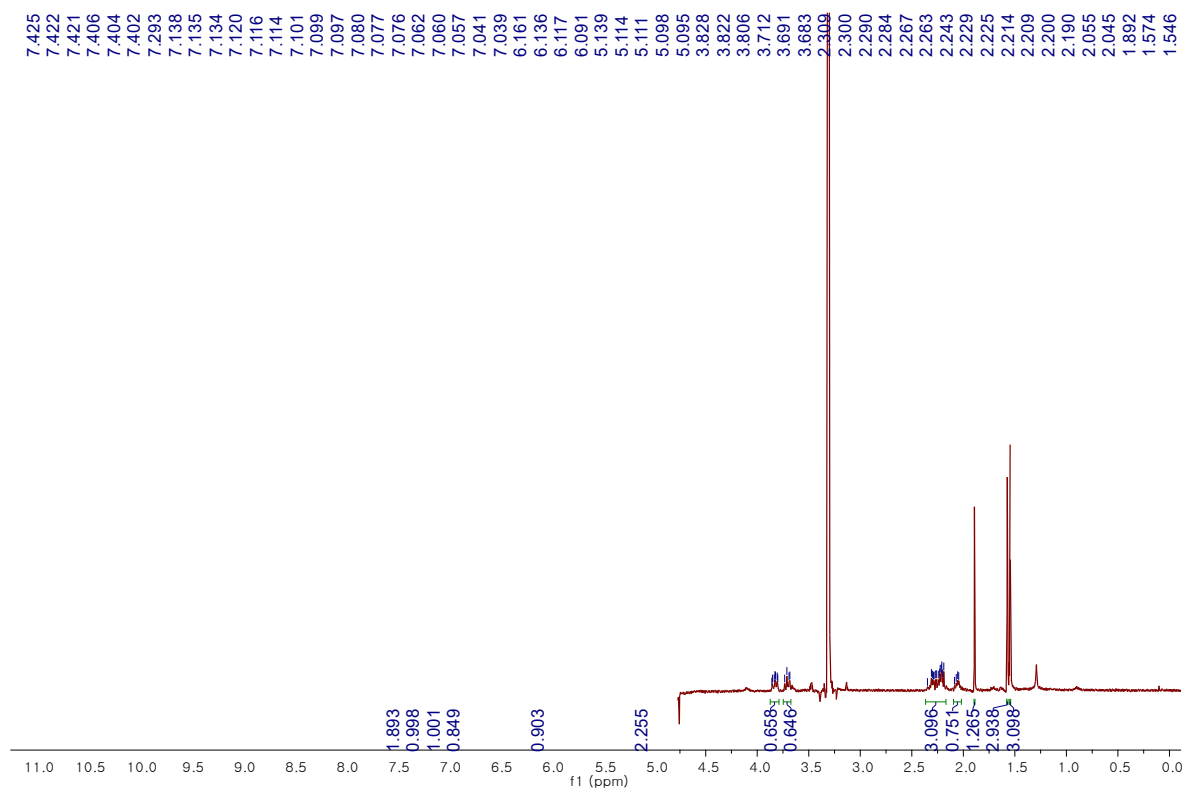


Figure 39. SF7367-312-1의 ^1H NMR spectrum (Recorded in methanol- d_4)

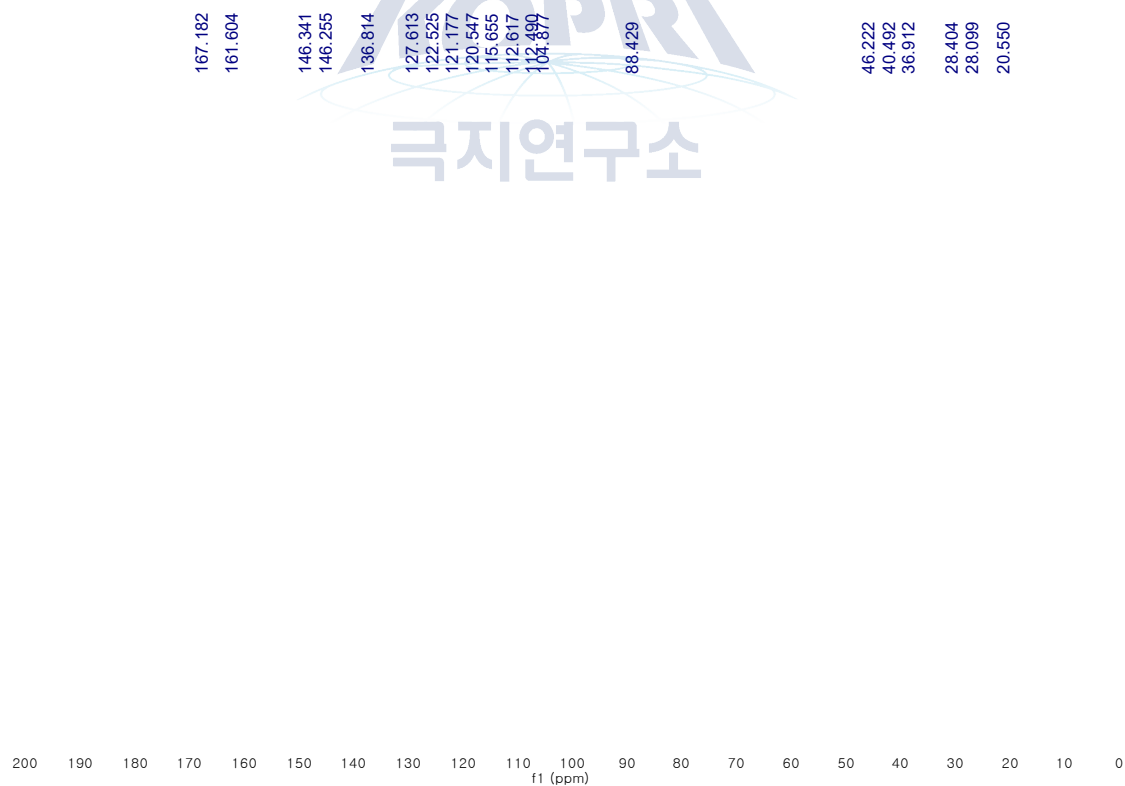


Figure 40. SF7367-312-1의 ^{13}C NMR spectrum (Recorded in methanol- d_4)

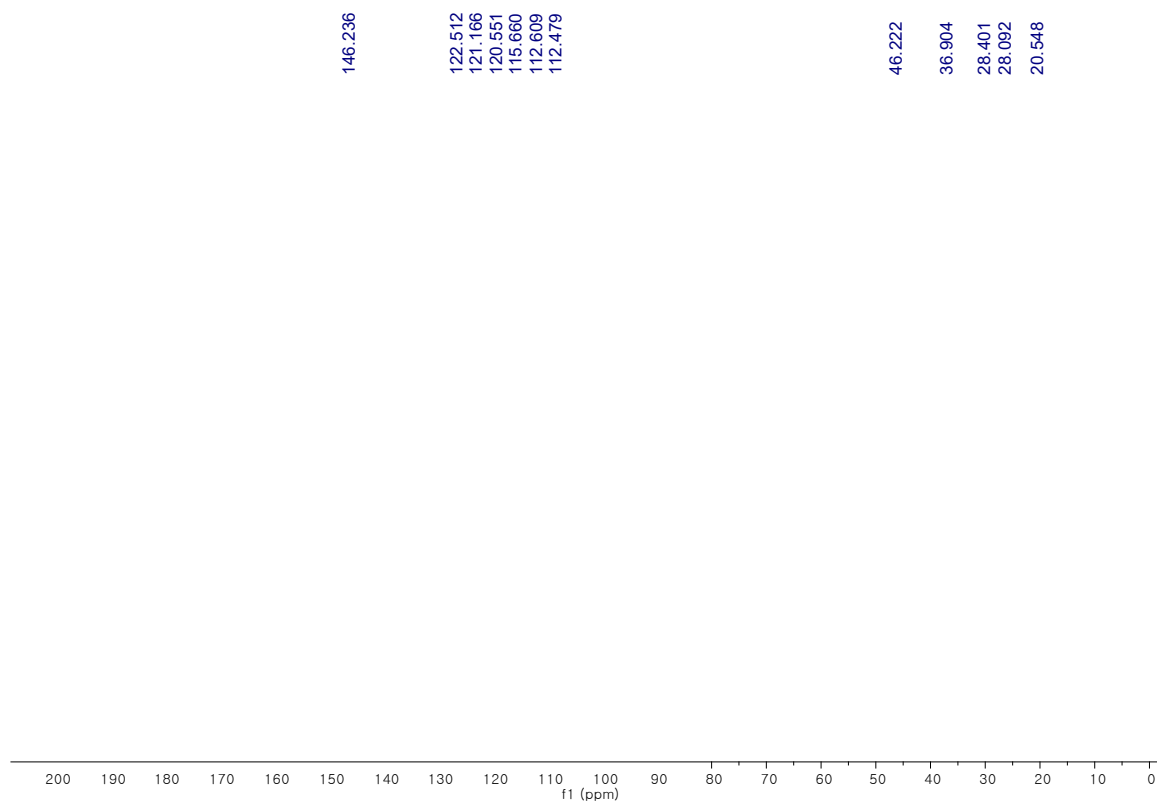


Figure 41. SF7367-312-1의 DEPT spectrum (Recorded in methanol- d_4)

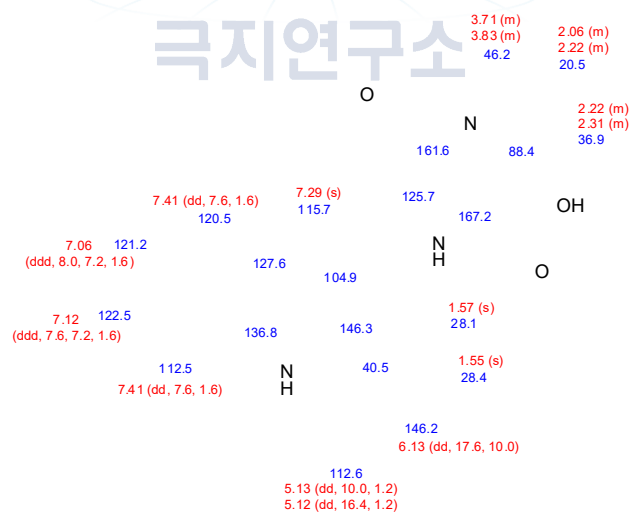


Figure 42. SF7367-312-1의 ^1H , ^{13}C NMR data (Recorded in methanol- d_4)

1.2.6. SF7367-3-11의 구조 분석

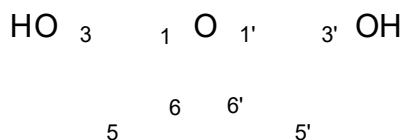


Figure 43. SF7367-3-11의 화학적 구조

SF7367-3-11은 연황색 기름 형태이다. HR-EI-MS 스펙트럼 (m/z 253.0860 $[M + Na]^+$ [calcd. for 253.0835], 231.1041 $[M + H]^+$ [calcd. for 231.1016]) 분석을 통해 분자식은 $C_{14}H_{14}O_3$ 으로 확인되었다. SF7367-3-11의 ^1H NMR에서 aromatic proton은 δ_H 6.35 (2H, brs, H-6, H-6'), 6.27 (2H, brs, H-4, H-4'), 6.19 (2H, t, $J = 2.0$ Hz, H-2, H-2')에서 나타났고 methyl group은 δ_H 2.22 (6H, s, 5-CH₃, 5'-CH₃)에서 나타났다. SF7367-3-11의 ^{13}C NMR 및 DEPT 스펙트럼에서는 7개의 carbon signal을 확인하였으며, aromatic methine carbon은 δ_C 112.0 (C-6, C-6'), 111.8 (C-4, C-4'), 104.2 (C-2, C-2')에서 나타났고 methyl carbon은 δ_C 21.5 (5-CH₃, 5'-CH₃)에 나타났다. 위의 언급된 SF7367-3-11 data는 diphenyl ether [6]를 가지고 있고 기존에 보고된 data와 비교한 결과 SF7367-3-11은 diorcinol [10]로 확인되었다.

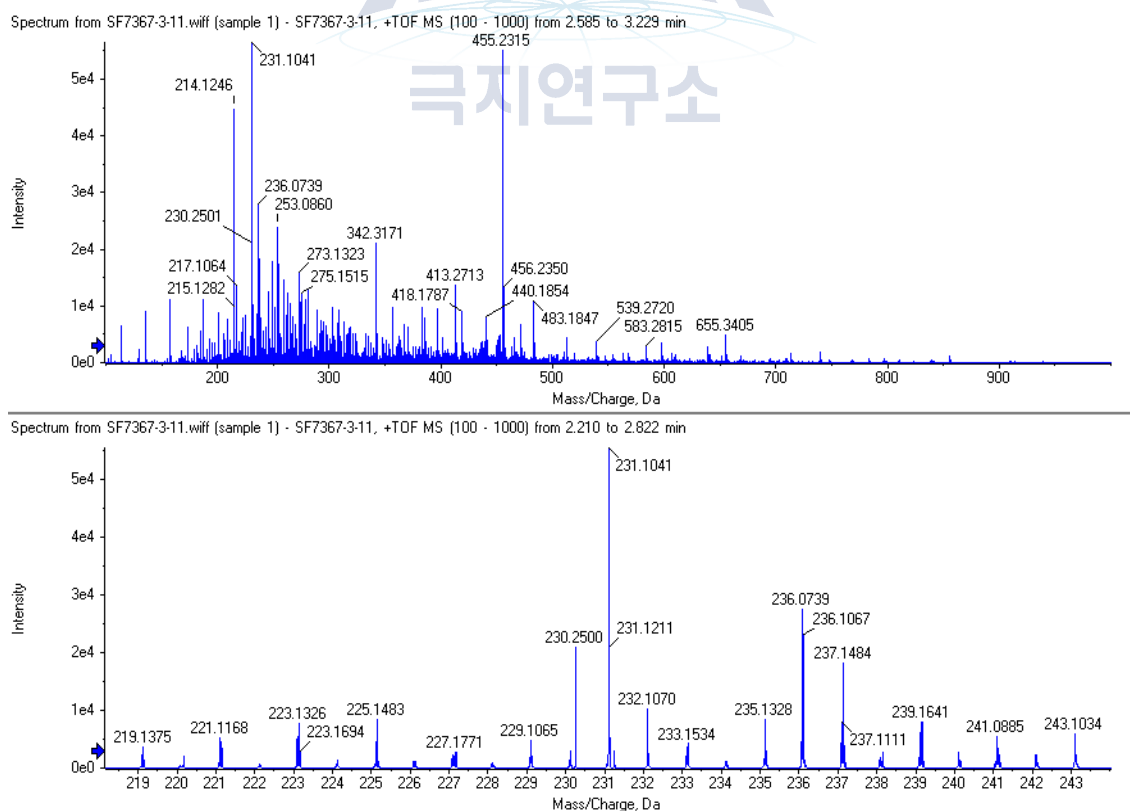


Figure 44. SF7367-3-11의 MS spectrum

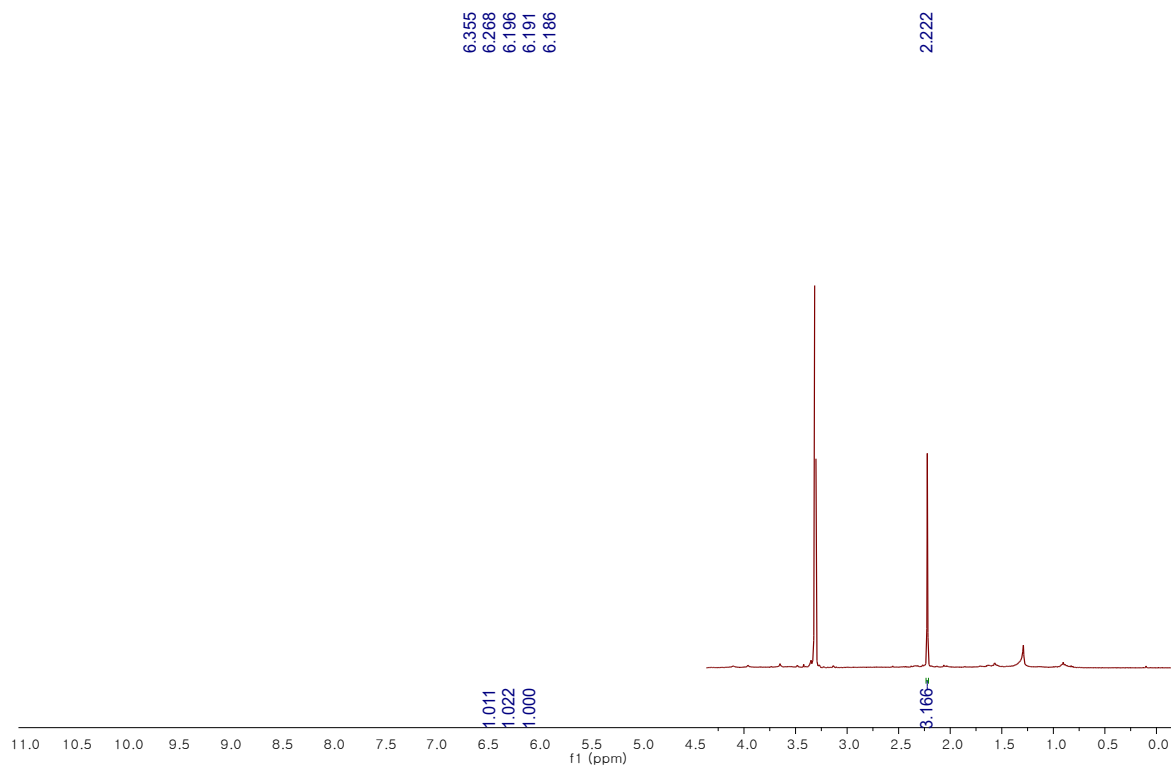


Figure 45. SF7367-3-11의 ¹H NMR spectrum (Recorded in methanol-*d*₄)



Figure 46. SF7367-3-11의 ¹³C NMR spectrum (Recorded in methanol-*d*₄)

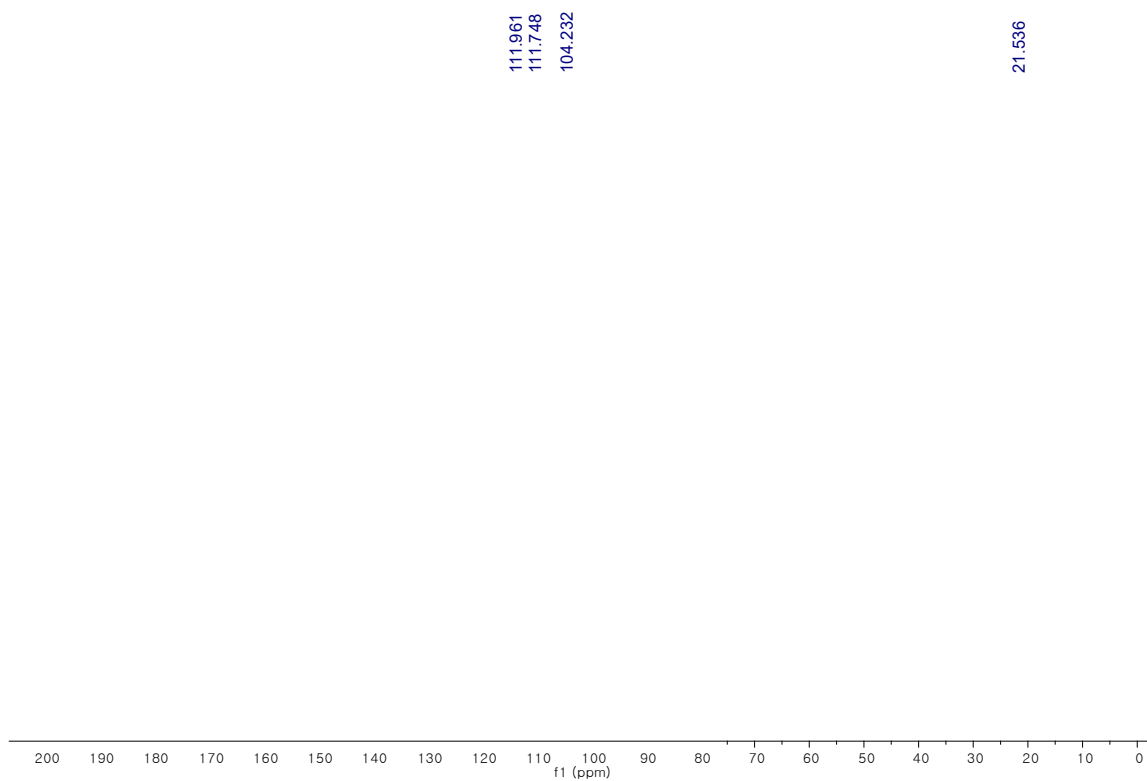


Figure 47. SF7367-3-11의 DEPT spectrum (Recorded in methanol- d_4)

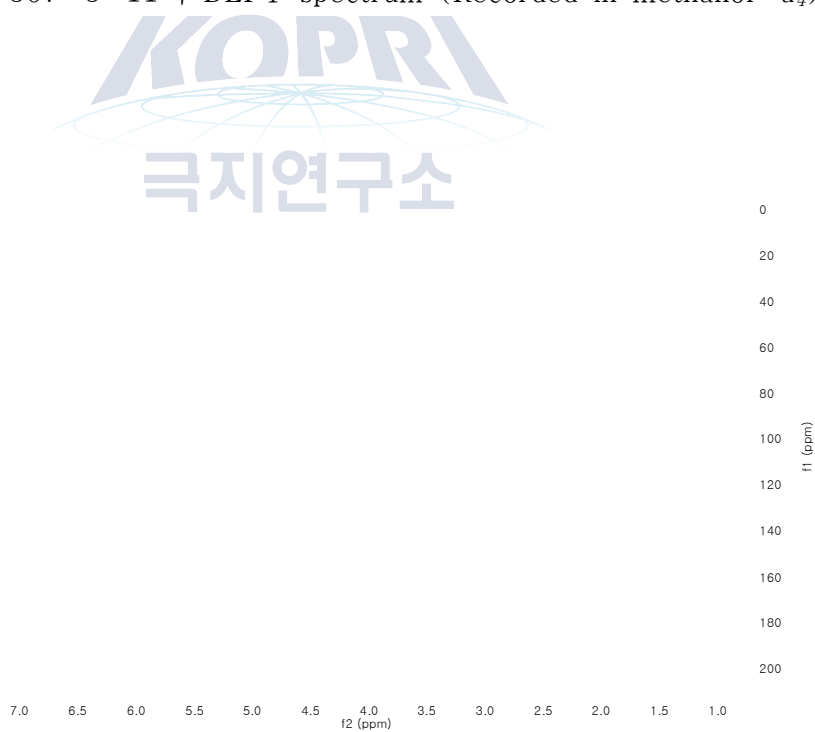


Figure 48. SF7367-3-11의 HMQC spectrum (Recorded in methanol- d_4)

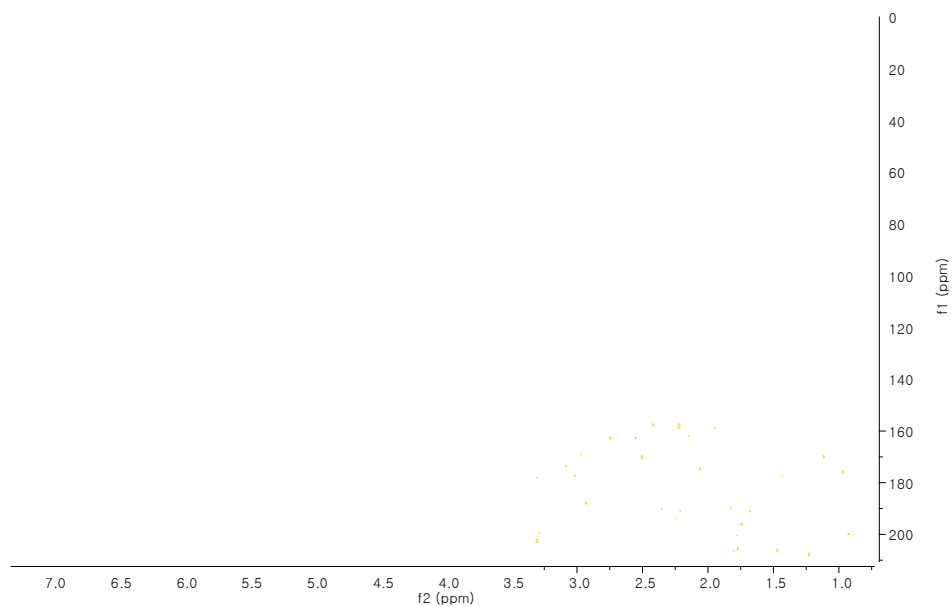


Figure 49. SF7367-3-11의 HMBC spectrum (Recorded in methanol- d_4)

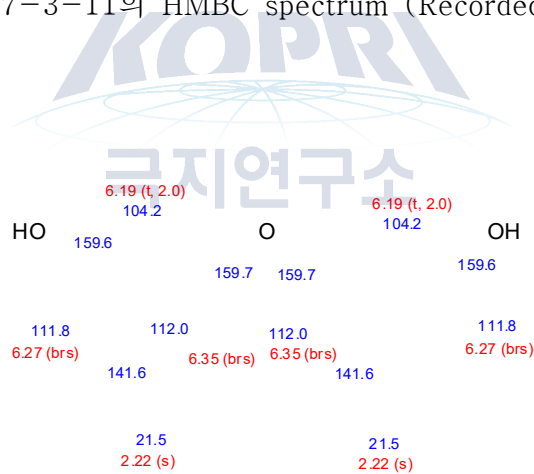


Figure 50. SF7367-3-11의 ^1H , ^{13}C NMR chemical shift 및 HMBC에서 상관관계 (Recorded in methanol- d_4)

1.2.7. SF7367-43-3의 구조 분석

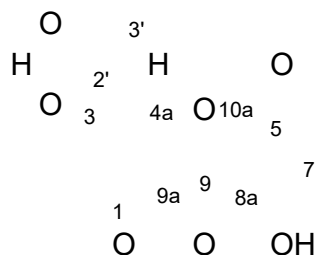


Figure 51. SF7367-43-3의 화학적 구조

SF7367-43-3은 노란 침상 결정 형태이다. HR-ESI-MS 스펙트럼 (m/z 355.0814 $[M+H]^+$ [calcd. for 355.0812]) 분석을 통해 분자식은 $C_{19}H_{14}O_7$ 으로 확인되었다. ^1H NMR에서 hydroxy signal은 δ_H 12.60 (1H, s)에서 나타났고 two ortho-coupled aromatic proton signals은 δ_H 7.16 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-6), 6.66 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-5)에서 나타났으며, acetal signal은 δ_H 6.81 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, H-1')에 나타났다. 또한 aromatic proton의 one-singlet은 δ_H 6.41 (1H, s, H-2)에서 나타났고 one pair of cis-olefinic protons은 δ_H 6.48 (1H, dd, $J = 2.8, 2.4$ Hz, H-4'), 5.49 (1H, t, $J = 2.4$ Hz, H-3')에서 나타났으며, sp^3 hybridized methine proton은 δ_H 4.83 (1H, dt, $J = 7.2, 2.0$ Hz, H-2')에서 나타났고 two methoxy groups은 δ_H 3.98 (3H, s, 1-OCH₃), 3.91 (3H, s, 5-OCH₃)에 나타났다. SF7367-43-3의 ^1H NMR data를 기존에 보고된 data와 비교한 결과 5-methoxysterigmatocystin [11, 12]와 유사했다.

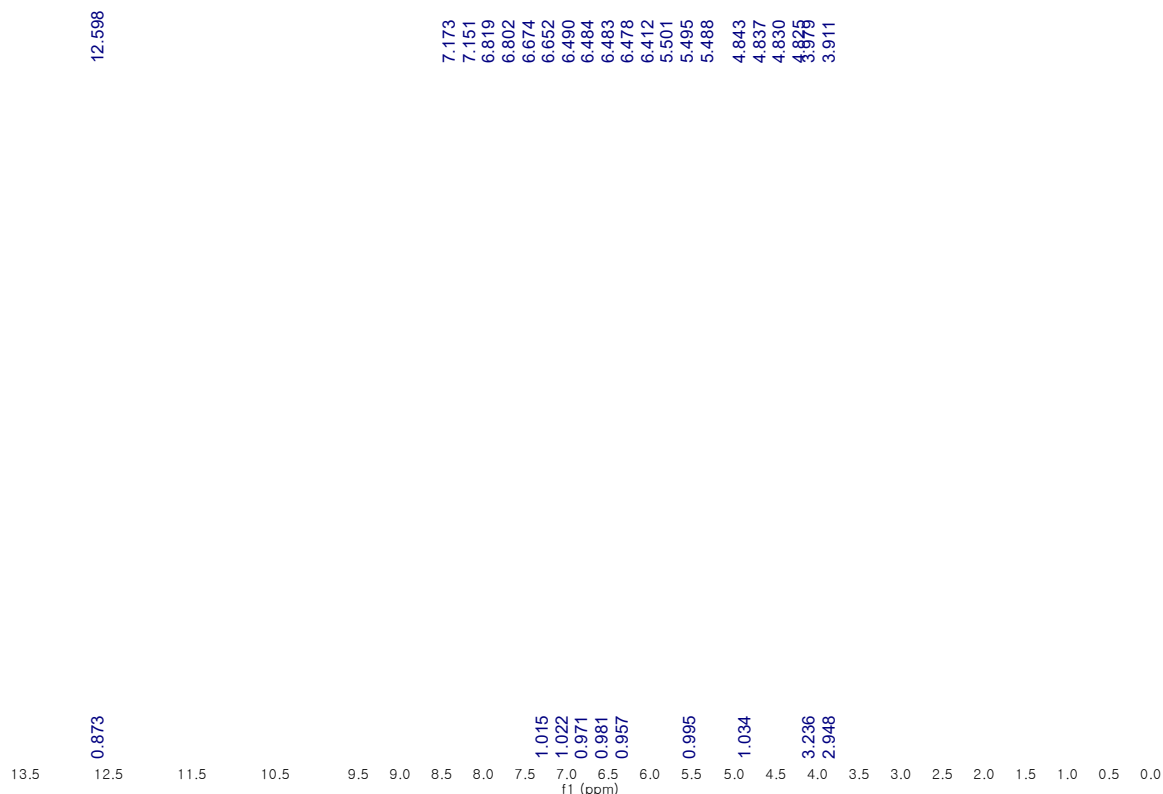


Figure 52. SF7367-43-3의 ^1H NMR spectrum (Recorded in chloroform-*d*)

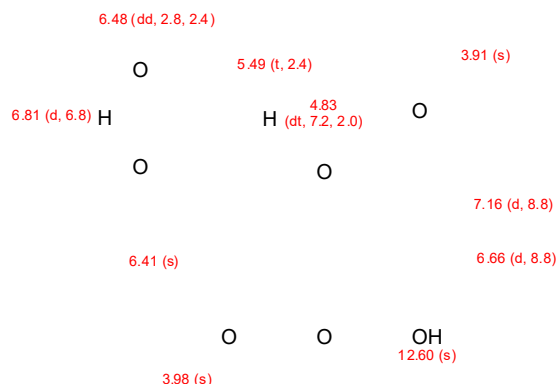


Figure 53. SF7367-43-3의 ^1H NMR data 및 Structure (Recorded in chloroform-*d*)

1.2.8. SF7367-43-4의 구조 분석

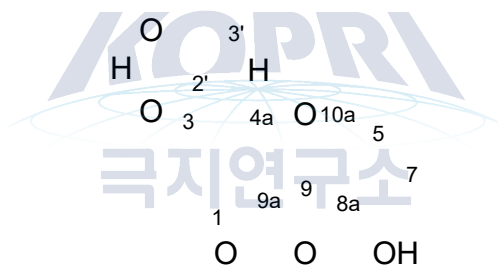


Figure 54. SF7367-43-4의 화학적 구조

SF7367-43-4은 노란 침상 결정 형태이다. HR-ESI-MS 스펙트럼 (m/z 347.0509 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ [calcd. for 347.0526]) 분석을 통해 분자식은 $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{O}_6$ 으로 확인되었다. ^1H NMR에서 hydroxy signal은 δ_{H} 13.20 (1H, s)에서 나타났고 ABX system은 δ_{H} 7.45 (1H, t, $J = 8.4$ Hz, H-6), 6.77 (1H, dd, $J = 8.4, 0.8$ Hz, H-5), 6.71 (1H, dd, $J = 8.4, 1.2$ Hz, H-7)에서 나타났으며, acetal signal은 δ_{H} 6.78 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1')에서 나타났다. 그리고 aromatic methine proton은 δ_{H} 6.38 (1H, s, H-2)에서 나타났고 one pair of cis-olefinic protons은 δ_{H} 6.48 (1H, dd, $J = 2.8, 2.0$ Hz, H-4'), 5.41 (1H, t, $J = 2.8$ Hz, H-3')에서 나타났으며 sp^3 hybridized methine proton은 δ_{H} 4.74 (1H, dt, $J = 7.2, 2.0$ Hz, H-2')에서 나타났고 methoxy group은 δ_{H} 3.96 (3H, s, 1-OCH₃)에서 나타났다. SF7367-43-4의 NMR data는 기존에 보고된 data와 비교한 결과 sterigmatocystin [13, 14]로 확인되었다.

1.2.9. SF7367-43-5의 구조 분석

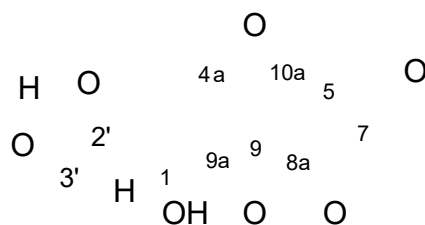


Figure 57. SF7367-43-5의 화학적 구조

SF7367-43-5는 노란 고체 형태이다. positive ion mode HR-EI-MS 스펙트럼 (m/z 369.0949 $[M + H]^+$ [calcd. for 369.0969])분석을 통해 분자식은 $C_{20}H_{16}O_7$ 으로 확인되었다. ^1H NMR에서 hydroxy signal은 δ_H 13.49 (s, 1H)에서 나타났고 two meta-coupled aromatic protons은 δ_H 7.42 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-5), 6.76 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-7)에서 나타났으며, acetal signal은 δ_H 6.44 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-1')에서 나타났다. 그리고 one singlet aromatic proton은 δ_H 7.18 (1H, s, H-4)에서 나타났고 sp^3 hybridized methine proton은 δ_H 4.14 (1H, m, H-2')에서 나타났으며 one hydroxyl methylene group은 δ_H 4.14 (1H, m, H-4'), 3.66 (1H, m, H-4')에서 나타났다. one methylene group은 δ_H 2.36 (1H, dd, $J = 12.8, 4.4$ Hz, H-3'), 2.26 (1H, m, H-3')에서 나타났고 two methoxy groups은 δ_H 4.01 (3H, s, 8-OCH₃), 3.97 (3H, s, 6-OCH₃)에서 나타났다. 1D NMR data을 확인한 결과 SF7367-43-5은 aversionin [11, 13]으로 확인되었다.

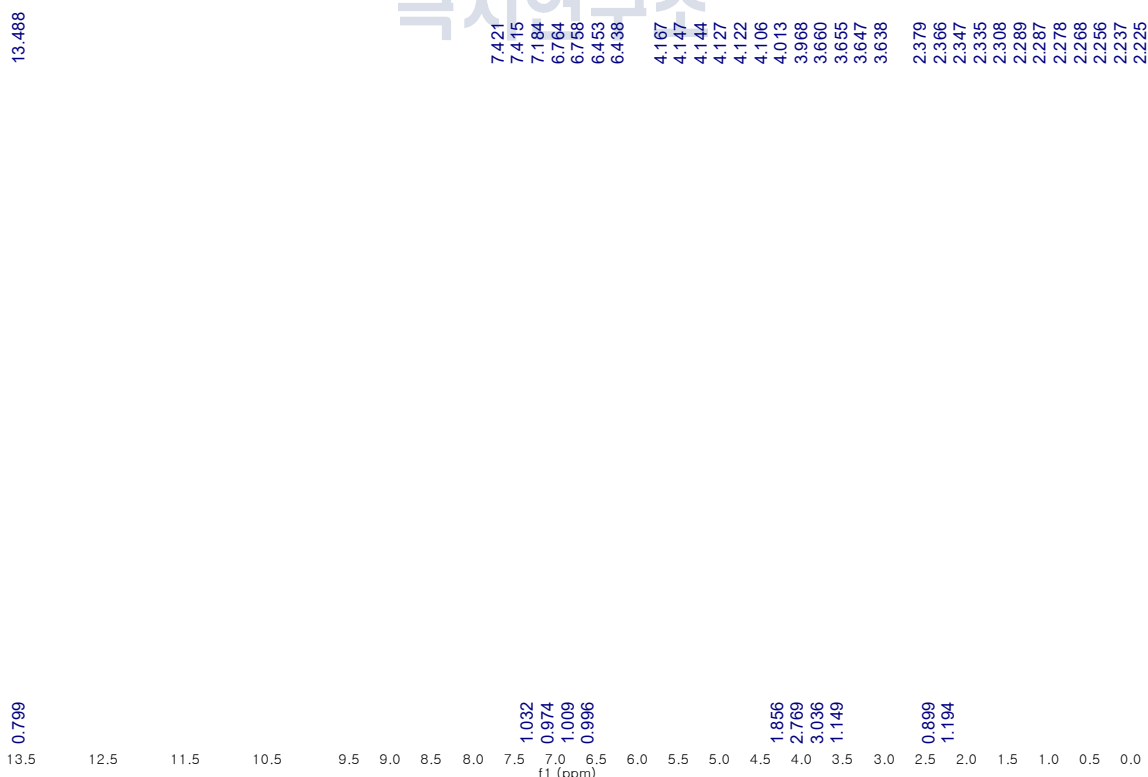


Figure 58. SF7367-43-5의 ^1H NMR spectrum (Recorded in chloroform- d)

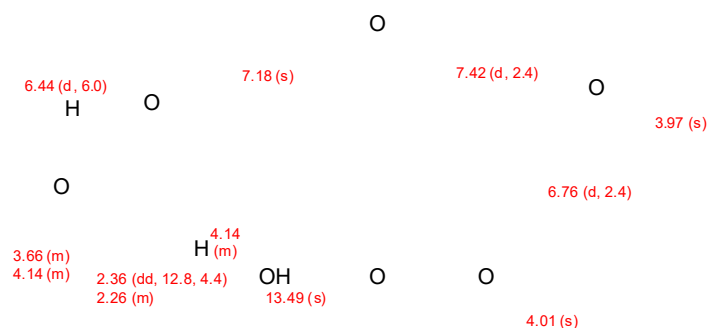


Figure 59. SF7367-43-5의 ^1H NMR data 및 Structure (Recorded in chloroform- d)

1.2.10. SF7367-43-6의 구조 분석

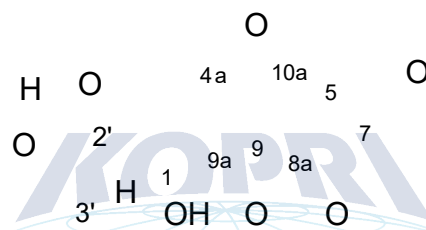


Figure 60. SF7367-43-6의 화학적 구조

SF7367-43-6은 노란 가루 형태이다. HR-ESI-MS 스펙트럼 (m/z 389.0609 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ [calcd. for 389.0632]) 분석을 통해 분자식은 $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_7$ 으로 확인되었다. ^1H NMR에서 hydroxy signal은 δ_{H} 13.41 (s, 1H)에서 나타났고 two meta-coupled aromatic protons은 δ_{H} 7.45 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-5), 6.78 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-7)나타났으며, acetal signal은 δ_{H} 6.79 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1')에서 나타났다. 그리고 one-singlet of aromatic proton은 δ_{H} 7.30 (1H, s, H-2)에서 나타났고 one pair of cis-olefinic protons은 δ_{H} 6.48 (1H, dd, $J = 2.8, 2.4$ Hz, H-4'), 5.46 (1H, t, $J = 2.4$ Hz, H-3')에서 나타났으며 sp^3 hybridized methine proton은 δ_{H} 4.73 (1H, dt, $J = 6.8, 2.4$ Hz, H-2')에서 나타났고 two methoxy groups은 δ_{H} 4.03 (3H, s, 8- OCH_3), 3.98 (3H, s, 6- OCH_3)에서 나타났다. SF7367-43-6의 1D NMR data는 6,8-O-dimethylversicolorin A [13]로 확인되었다.

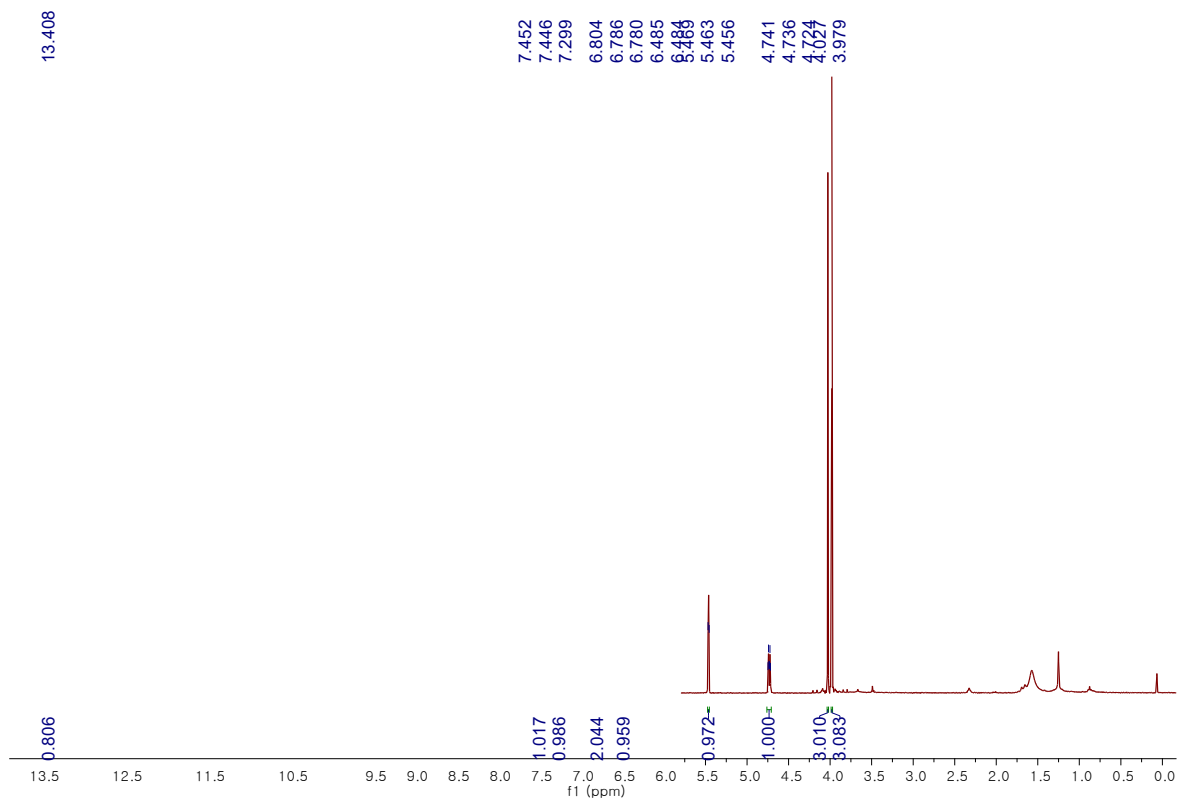


Figure 61. SF7367-43-6의 ^1H NMR spectrum (Recorded in chloroform- d)

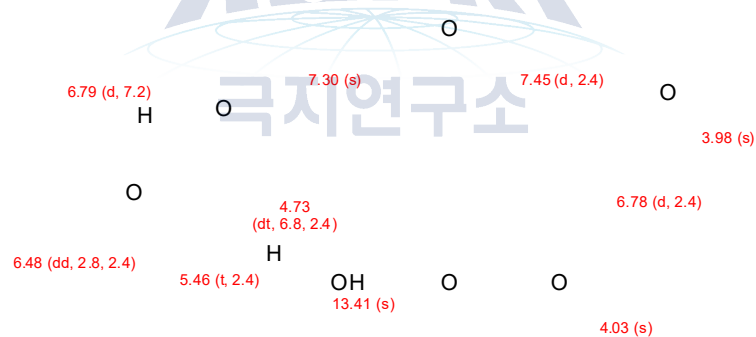


Figure 62. SF7367-43-6의 ^1H NMR data 및 Structure (Recorded in chloroform- d)

○ 세부목표 1-3: 활성 대사체의 활성 기작 검토

연구 내용	연구 결과
- 활성 대사체의 활성 기작 검토 (5 중 검토)	- 진균 추출물 SF7367 유래 대사체의 PTP1B 억제 활성과 BV2 cell 에서의 항염증 효과 검색을 실시함 [별첨 1-3-1] - 극지생물 유래 미생물 SF-7367로부터 분리된 5종의 대사체를 대상으로 BV2 및 RAW264.7 cell에서 활성 기작을 검토함[별첨 1-3-2]

[별첨 1-3-1] SF7367 유래 진균 대사체의 활성 평가

Table 1. BV2 cell의 NO 생성 억제 및 PTP1B 억제에 관한 분리된 대사체의 효과.

Compounds	NO inhibitory effects*	PTP1B inhibitory effects*
SF7367-3-8	6.62 ± 0.08	15.36 ± 1.19
SF7367-3-9	8.12 ± 0.23	15.44 ± 2.15
SF7367-3-10	8.09 ± 0.22	8.31 ± 1.92
SF7367-3-11		1.26 ± 0.57
SF7367-312-4	>20	>80
SF7367-43-3	<5	>80
SF7367-43-4	<5	>80
SF7367-43-5	>10	>80
SF7367-43-6	>10	>80

*(IC₅₀ = μM)

○ 분리된 대사산물 중 SF7367-3-11과 SF7367-3-10은 IC₅₀ 값이 각각 1.26 및 8.31 μM 에서 PTP1B 억제에 높은 효과를 나타냈다. 또한 분리된 diketopiperazine 유형의 indole alkaloids SF7367-3-8, SF7367-3-9, SF7367-3-10과 sterigmatocystins SF7367-43-3, SF7367-43-4는 IC₅₀ values < 8μM 농도에서 BV2세포의 LPS로 유도한 NO 생성 억제에 유의한 효과를 나타냈다.

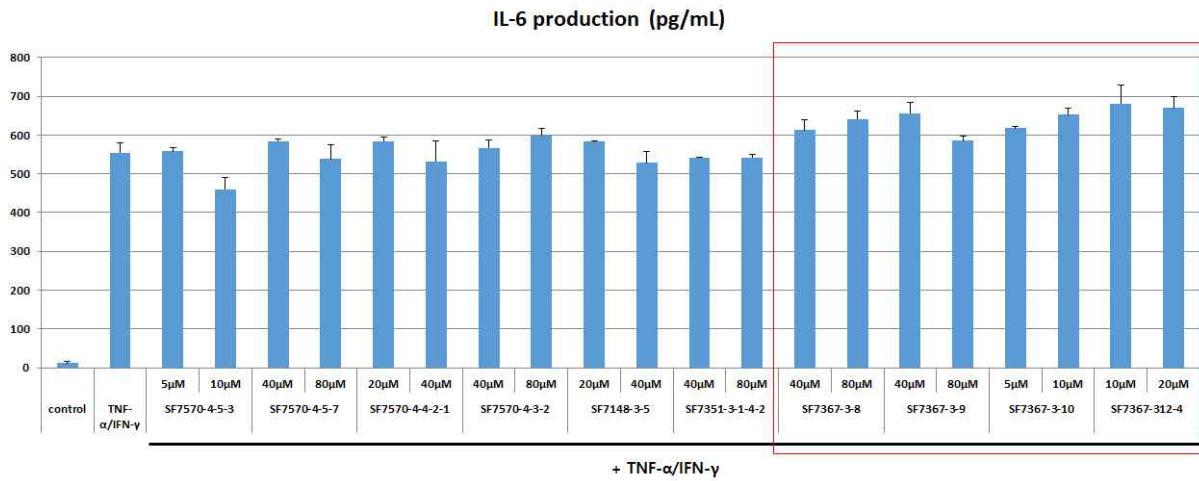
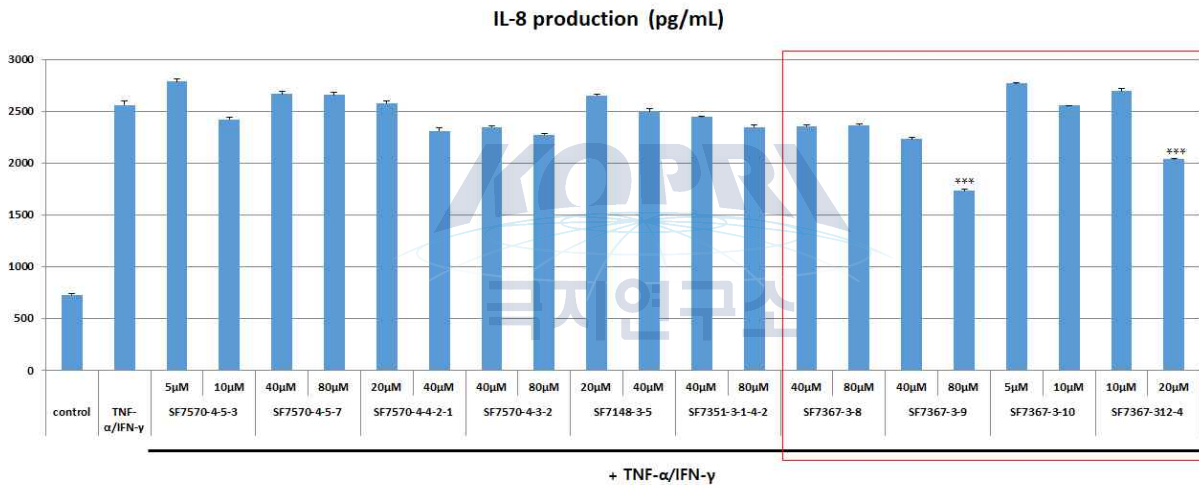


Figure 63. LPS로 유도한 HaCaT keratinocyte에 분리된 diketopiperazine type의 indole alkaloids SF7367-3-8, SF7367-3-9, SF7367-3-10, SF7367-3-12-4의 IL-6 억제 효과



* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ compared with TNF-α/IFN-γ-treated group

Figure 64. LPS로 유도한 HaCaT keratinocyte에 분리된 diketopiperazine type의 indole alkaloids SF7367-3-8, SF7367-3-9, SF7367-3-10, SF7367-3-12-4의 IL-8 억제 효과.

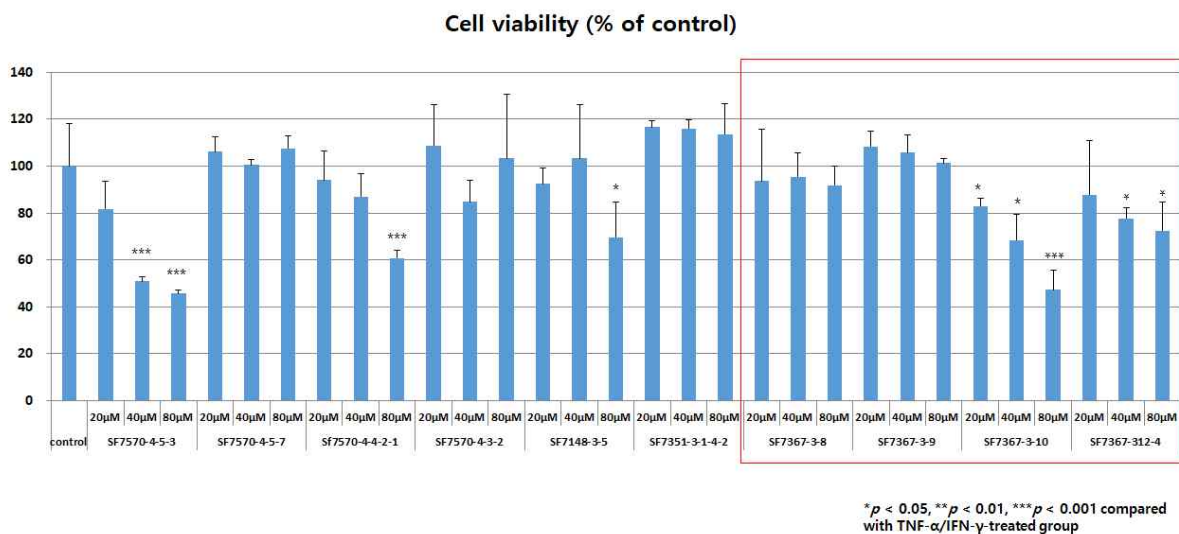


Figure 65. LPS로 유도한 HaCaT keratinocyte에 분리된 diketopiperazine type의 indole alkaloids SF7367-3-8, SF7367-3-9, SF7367-3-10, SF7367-312-4의 세포 생존율.

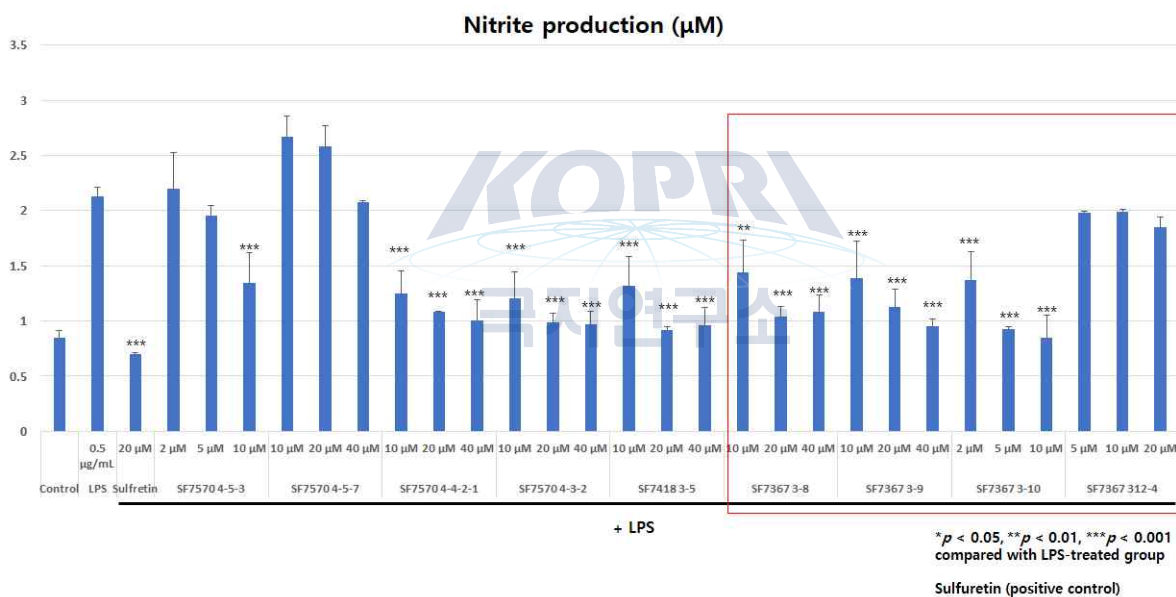


Figure 66. LPS로 유도한 BV2 cell에 분리된 diketopiperazine type의 indole alkaloids SF7367-3-8, SF7367-3-9, SF7367-3-10, SF7367-312-4의 NO 억제 효과

[별첨 1-3-2] SF7367 유래 진균 대사체의 항염증 활성 기전 검토

- SF7367로부터 분리된 대사산물 중 diketopiperazine 유형의 prenylated indole alkaloids 구조를 갖는 5종 화합물에 대하여 항염증 기전 연구를 진행하였다

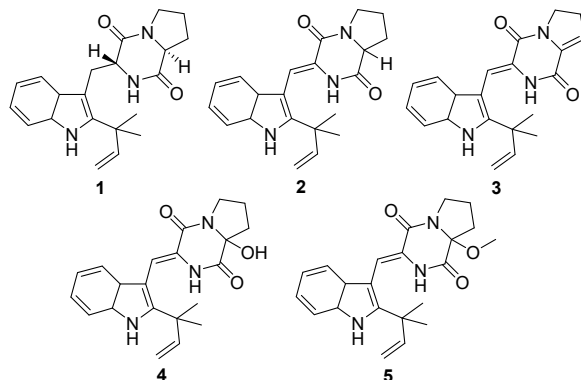


Figure 67. SF7367 종으로부터 분리된 diketopiperazine type의 prenylated indole alkaloids 5종 화합물의 구조

- SF7367로부터 분리된 대사산물 5종 화합물을 BV2 세포와 RAW264.7 세포에 처리하여 독성을 나타내지 않는 농도를 확인하였다. (Figure 68) SF7367로부터 분리된 대사산물 5종 화합물의 LPS로 염증이 유도된 BV2 세포와 RAW264.7 세포에서 증가한 염증성 사이토카인 NO, TNF- α , IL-6에 대한 억제 효과를 확인하였다 (Figure 69 ~ 71)

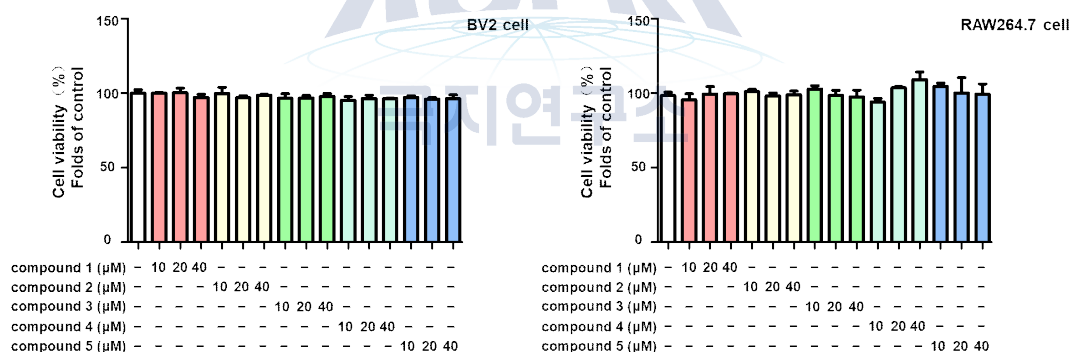


Figure 68. BV2 세포와 RAW264.7 세포에 SF7367로 부터 분리된 diketopiperazine type의 prenylated indole alkaloids 5종 화합물의 세포 독성 확인

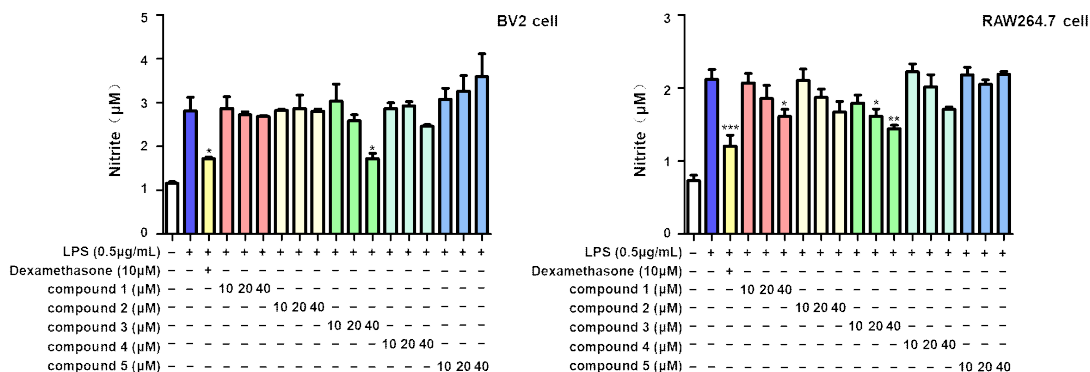


Figure 69. LPS로 염증을 유발 시킨 BV2 세포와 RAW264.7 세포에 SF7367로 부터 분리된

diketopiperazine type의 prenylated indole alkaloids 5종 화합물의 NO 억제 효과 확인

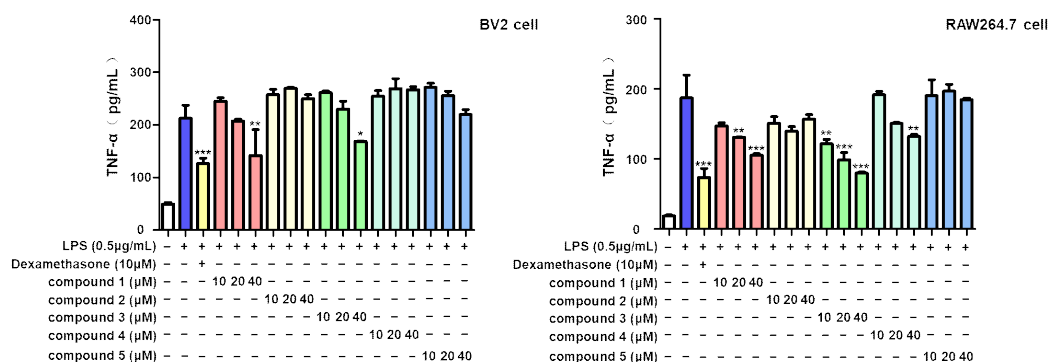


Figure 70. LPS로 염증을 유발 시킨 BV2 세포와 RAW264.7 세포에 SF7367로 부터 분리된 diketopiperazine type의 prenylated indole alkaloids 5종 화합물의 TNF- α 억제 효과 확인

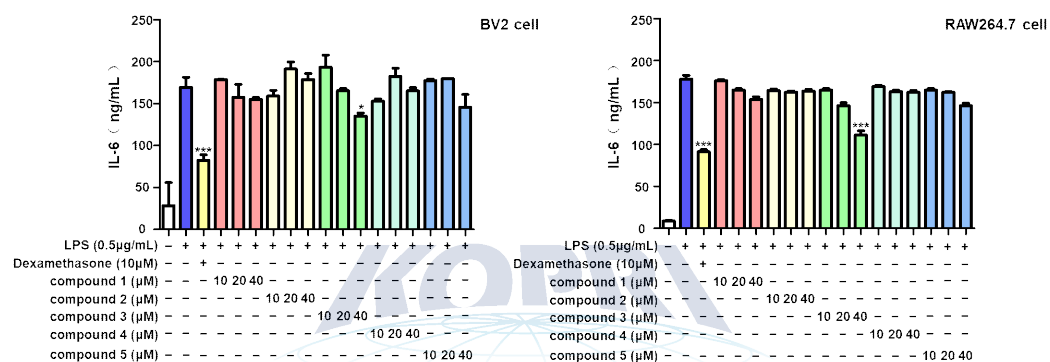


Figure 71. LPS로 염증을 유발 시킨 BV2 세포와 RAW264.7 세포에 SF7367로 부터 분리된 diketopiperazine type의 prenylated indole alkaloids 5종 화합물의 IL-6 억제 효과 확인

○ SF7367로부터 분리된 대사산물 5종 중 사이토카인 억제효과가 우수한 화합물 3 (brevianamide K)의 LPS로 염증이 유도된 BV2 세포와 RAW264.7 세포에서 증가한 염증 인자 단백질 iNOS, COX-2 단백질에 대한 발현 억제 효과를 확인하였다 (Figure 72)

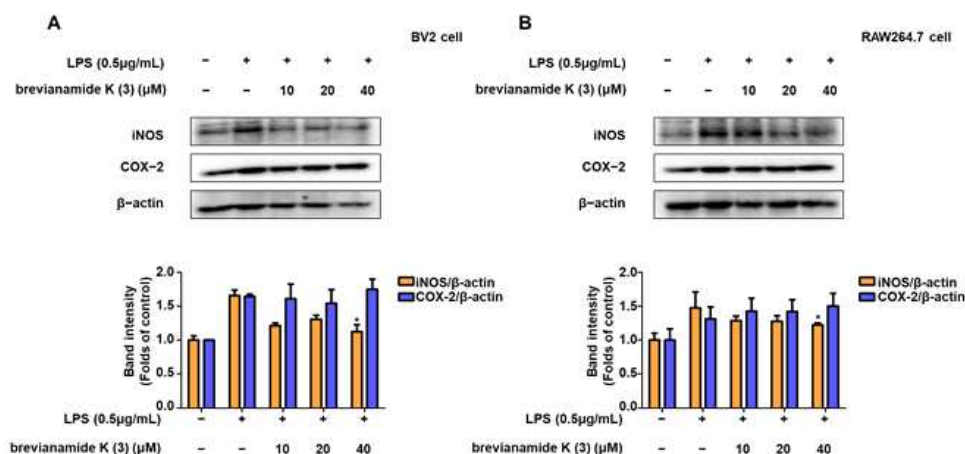


Figure 72. LPS로 염증을 유발 시킨 BV2 세포와 RAW264.7 세포에 화합물 3 (brevianamide K)의 iNOS와 COX-2 단백질 발현 억제 효과 확인

○ 화합물 3 (brevianamide K)의 LPS로 염증이 유도된 BV2 세포와 RAW264.7 세포에서 증가한 NF- κ B 경로의 단백질 p65 단백질에 대한 발현 억제 효과를 확인하였다 (Figure 73 ~ 75)

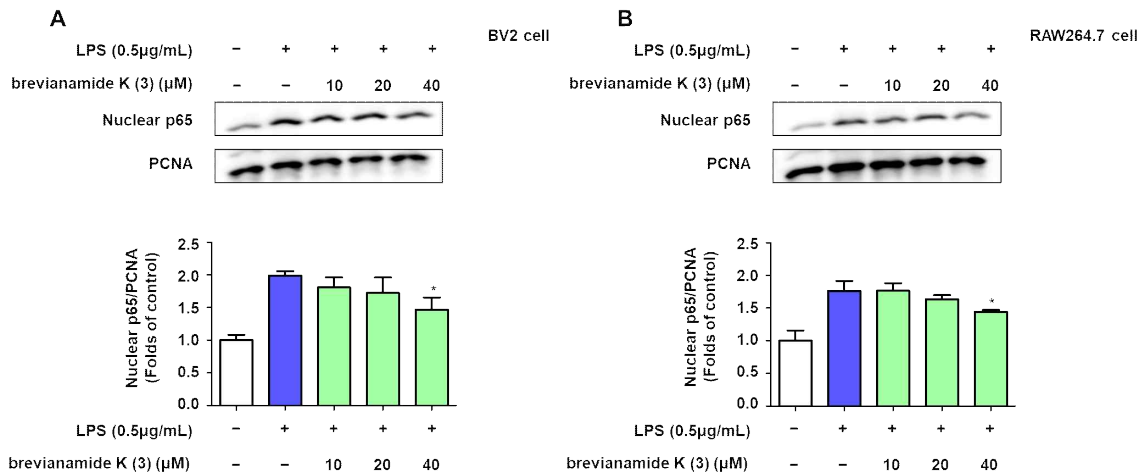


Figure 73. LPS로 염증을 유발 시킨 BV2 세포와 RAW264.7 세포에 화합물 3 (brevianamide K)의 NF- κ B 경로 억제 효과 확인

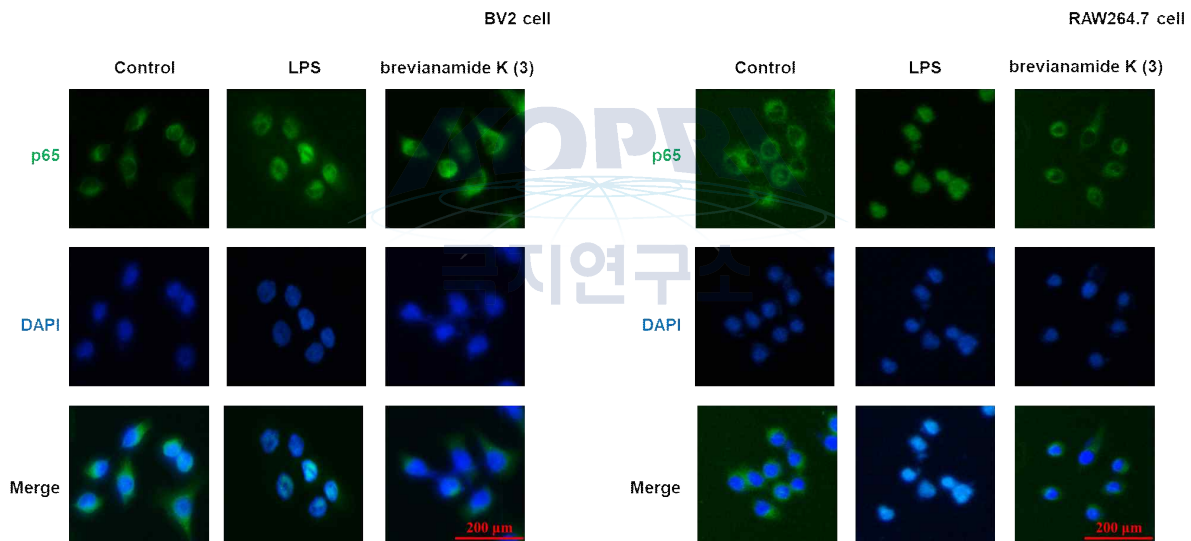


Figure 74. LPS로 염증을 유발 시킨 BV2 세포와 RAW264.7 세포에 화합물 3 (brevianamide K)의 NF- κ B 경로 억제 효과 확인 (세포 형광 염색 사진)

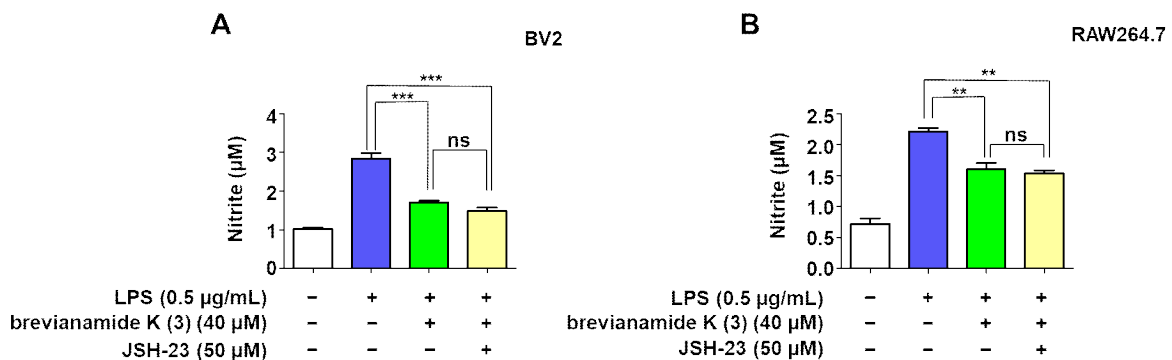


Figure 75. LPS로 염증을 유발 시킨 BV2 세포와 RAW264.7 세포에 화합물 3 (brevianamide

K)의 NF- κ B 경로 억제 효과 확인 (NF- κ B 경로 억제제 JSH-23와 비교)

○ In-silico 분석을 통해 화합물 3 (brevianamide K)의 NF- κ B 경로의 단백질 p65 단백질에 결합하는 것과 p65 단백질의 아미노산 작용기 부착 부위를 확인하였다 (Figure 76)

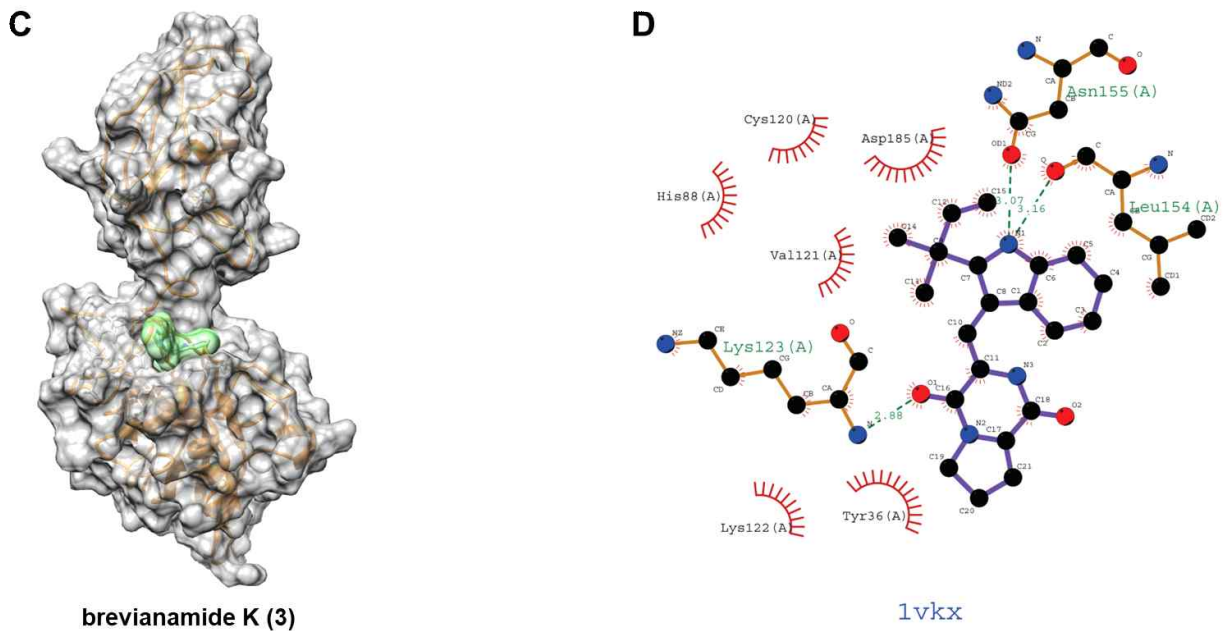


Figure 76. 화합물 3 (brevianamide K)의 NF- κ B 경로 단백질 p65와 결합 simulation 결과



□ 성과목표 2: 극지고유생물자원 유래 항염증/항당뇨/피부질환 개선 생리활성 이차대사물질 발굴(2차년도)

○ 세부목표 2-1: 생리활성 대사체의 분리

연구 내용	연구 결과
- 극지생물 유래 미생물로 제조된 후보 분획물에서 활성 대사체 분리 연구	- 극지생물 유래 미생물 SF7420의 추출물유래 활성 대사체 분리 연구 : 활성 후보 대사체 4종 분리[별첨 2-1-1] - 극지생물 유래 미생물 SF75700의 추출물유래 활성 대사체 분리 연구 : 활성 후보 대사체 4종 분리[별첨 2-1-2] - 극지생물 유래 미생물 SF7573의 추출물유래 활성 대사체 분리 연구 : 활성 후보 대사체 9종 분리[별첨 2-1-3]

[별첨 2-1-1] 극지생물 유래 미생물 SF-7420유래 활성 대사체 분리 연구

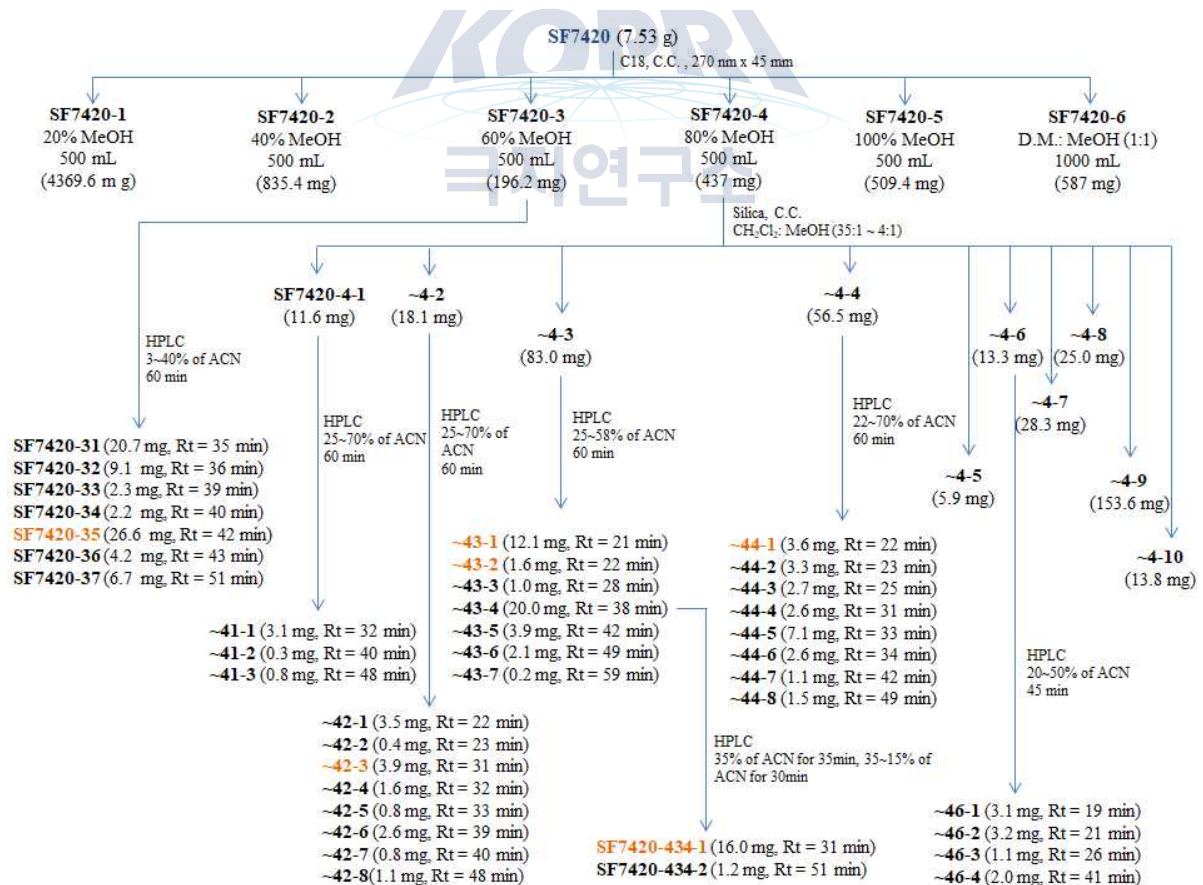


Figure 77. 곰팡이 균주 SF7420 대사체 분리도

극지생물로부터 분리된 진균 균주 SF7420는 20개의 fernbach flasks에 각각 3% NaCl (w/v) PDA 배지 650 mL에 2 mL씩 접종되었으며, 14일 동안 25 °C incubator에서 배양되었다. 그 후 배양이 완료된 균주는 EtOAc (20 L)를 넣어 추출하였고 EtOAc 추출물은 filter paper로 여과 후 농축시킨 결과 조추출물 7.53 g을 얻었다. SF7420 조추출물은 reversed-phase (RP) C₁₈ flash column chromatography (4.5 × 27 cm)에 loading 후 20%, 40%, 60%, 80%, 100% (v/v) MeOH (in H₂O) 500 mL를 순서대로 용리시켜 SF7420-1 ~ SF7420-5 총 5개의 분획물을 얻었다. 그 중 SF7420-3 (196.2 mg)은 C₁₈ prep HPLC [eluted with a gradient solvent system of 3%-40% CH₃CN in H₂O, over 60 min]을 진행하였으며, SF7420-35 (26.6 mg, t_R = 42 min)를 획득하였다. SF7420-4 (437 mg)는 silica gel column (30 cm × 4.0 cm)을 이용하여 CH₂Cl₂:MeOH (35:1~4:1) 혼합 용매로 용리시켜 하위 분획물 SF7420-4-1 ~ SF7420-4-10을 얻었다. 하위 분획물 SF7420-4-2 (18.1 mg)는 C₁₈ prep HPLC [eluted with a gradient solvent system of 25%-70% CH₃CN in H₂O, over 60 min]를 진행하여 SF7420-42-3 (3.9 mg, t_R = 31 min)을 분리하였으며, SF7420-4-3 (83.0 mg)은 C₁₈ prep HPLC [eluted with a gradient solvent system of 25%-58% CH₃CN in H₂O, over 60 min]를 진행하여 SF7420-43-1 (12.1 mg, t_R = 21 min), SF7420-43-2 (1.6 mg, t_R = 22 min), SF7420-43-4 (20.0 mg, t_R = 38 min)를 획득하였다. 이후 SF7420-43-4는 C₁₈ prep HPLC [eluted with a solvent system of 35% CH₃CN in H₂O, over 35 min, 35-15% CH₃CN in H₂O, over 30 min]로 정제하여 SF7420-434-1 (16.0 mg, t_R = 31 min)를 획득하였으며, 마지막으로 SF7420-4-4 (56.5 mg)를 C₁₈ prep HPLC (22%-70% CH₃CN in H₂O, over 60 min)를 하여 SF7420-44-1 (3.6 mg, t_R = 22 min)을 얻었다.

극지연구소

[별첨 2-1-2] 극지생물 유래 미생물 SF-7570 유래 활성 대사체 분리 연구

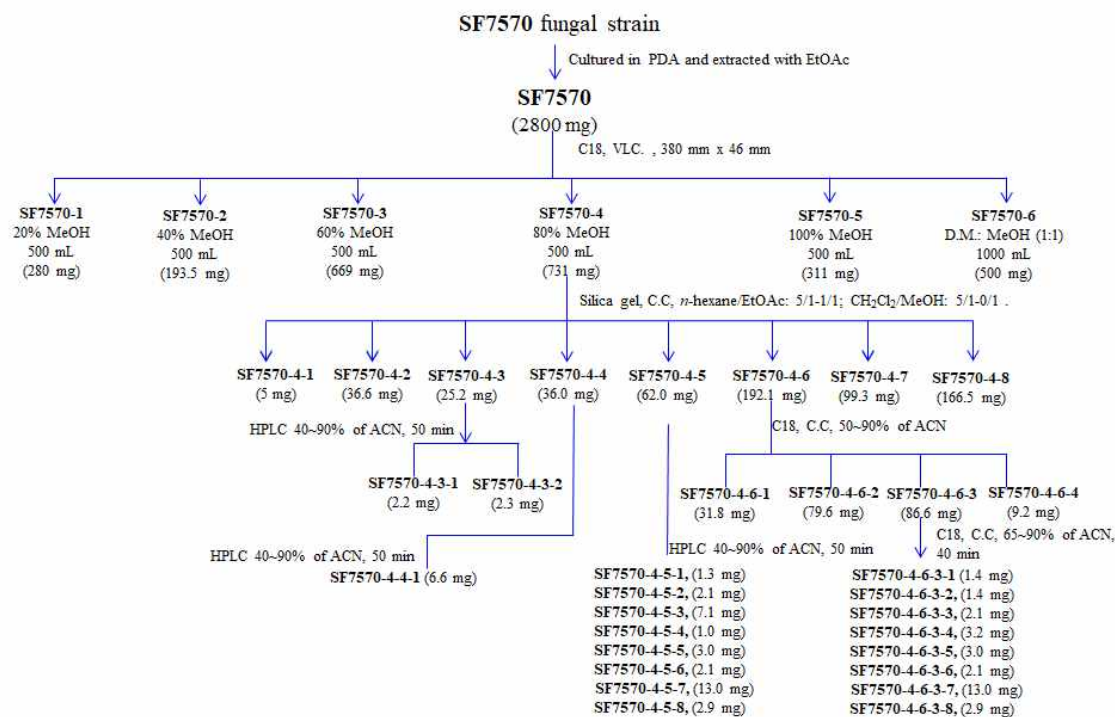


Figure 78. 곰팡이 균주 SF7570 대사체 분리도

곰팡이 균주 SF7570은 3% NaCl (w/v) PDA 배지 300 mL가 포함된 Fernbach flask 20 개에 2 mL씩 접종되었으며, 25 °C에서 14일 동안 배양되었다. 그 후 배양이 완료된 균주는 EtOAc로 3회 (3 L) 혼합 후 추출하였다. EtOAc 추출물은 filter paper로 여과 후 농축시킨 결과 조추출물 2.8 g 획득하였다. 조추출물은 reversed-phase (RP) C₁₈ flash column chromatography (4.5 × 30 cm)로 분획되었으며, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% (v/v) MeOH (in H₂O) 600 mL를 순서대로 용리시켜 SF7570-1 ~ SF7570-5 총 5개의 분획물을 얻었다. 그 중 SF7570-4 (731 mg)는 silica gel column chromatography (3 × 35 cm)를 진행하여 SF7570-4-1 ~ SF7570-4-8 총 8개의 분획물을 얻었다. 그 중 SF7570-4-3 (25.2 mg)은 C₁₈ prep HPLC [eluted with a gradient solvent system of 40%-90% CH₃CN in H₂O (0.1% HCOOH), over 50 min]를 진행하여 SF7570-4-3-2 (2.3 mg, t_R = 38.8 min)를 획득하였으며, SF7570-4-4 (36.0 mg)는 C₁₈ prep HPLC [eluted with a gradient solvent system of 40%-90% CH₃CN in H₂O (0.1% HCOOH), over 50 min]를 진행하여 SF7570-4-4-2-1 (6.6 mg, t_R = 38.5 min)를 획득하였다. 마지막으로 SF7570-4-5 (62.0 mg)는 C₁₈ prep HPLC [eluted with a gradient solvent system of 40%-90% CH₃CN in H₂O (0.1% HCOOH), over 50 min]로 정제하여 SF7570-4-5-3 (7.1 mg, t_R = 35 min)과 SF7570-4-5-7 (13.0 mg, t_R = 42 min)를 획득하였다.

[별첨 2-1-3] 극지생물 유래 미생물 SF-7573 유래 활성 대사체 분리 연구

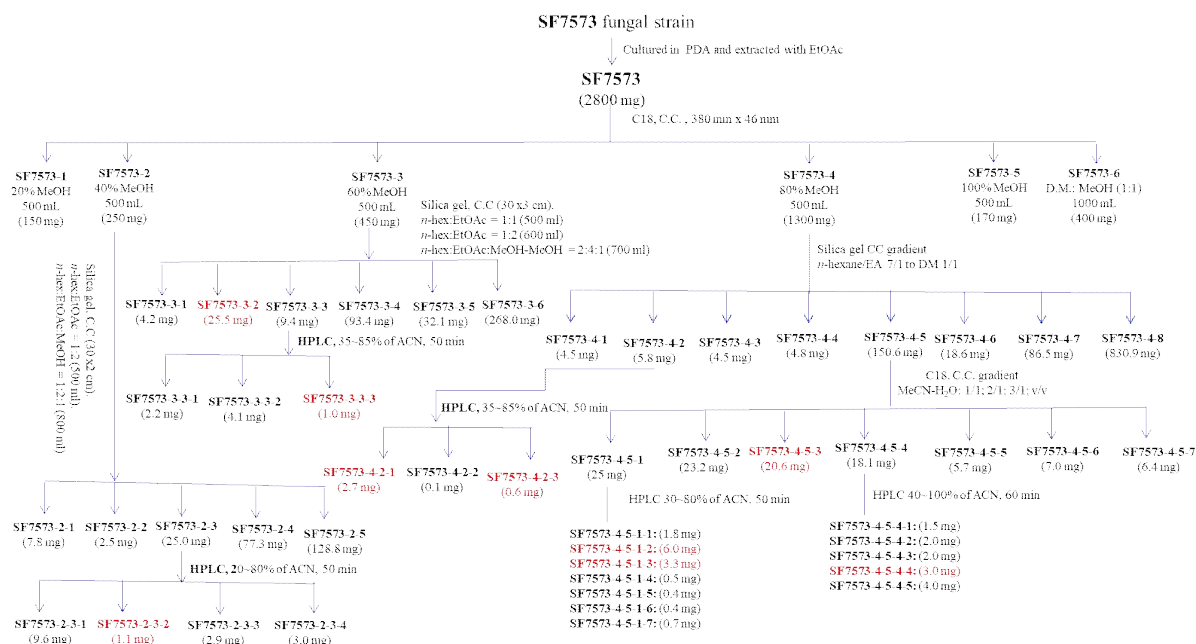


Figure 79. 곰팡이 균주 SF7573의 대사체 분리도

곰팡이 균주 SF7573은 3% NaCl (w/v) PDA 배지 300 mL가 함유된 20개의 fernbach flasks에 각각 2 mL씩 접종되었으며, 25 °C에서 14일동안 배양되었다. 배양이 완료된 배지는 EtOAc는 3회 (3 L)에 걸쳐 추출되었고 추출 후 filter paper를 통해 여과 후 감압 농축하여 건조시켰으며, 그 결과 조추출물 2.8 g을 획득하였다. 조추출물은 C₁₈ flash column chromatography (38 x 4.6 cm)를 통해 20%, 40%, 60%, 80%, 100% (v/v) MeOH (in H₂O) 500 mL씩 gradient하여 5개의 하위 분획물 SF7573-1 ~ SF7573-5를 획득하였다. SF7573-4 (1300 mg)는 silica gel을 사용하여 column chromatography (3 × 35 cm)를 진행하였으며, 8개의 하위 분획물 SF7573-4-1 ~ SF7573-4-8을 획득하였다. SF7573-4-5 (150.6 mg)는 C₁₈을 사용하여 column chromatography를 진행하였으며, 8개의 하위 분획물 SF7573-4-5-1 ~ SF7573-4-5-8로 분리하였고 **SF7573-4-5-3** (20.6 mg)을 획득하였다. 그 중 SF7573-4-5-1 (25.2 mg)은 C₁₈ prep HPLC (30%-80% CH₃CN in H₂O (0.1% HCOOH) over 50 min)로 추가로 정제하여 **SF7573-4-5-1-2** (6.0 mg)와 **SF7573-4-5-1-3** (3.3 mg)을 얻었으며, SF7573-4-5-4 (18.1 mg)도 C₁₈ prep HPLC (40%-100% CH₃CN in H₂O (0.1% HCOOH) over 60 min)로 정제되어 **SF7573-4-5-4** (3.0 mg)를 획득하였다. SF7573-4-2 (5.8 mg)는 YL9100 HPLC system (CAPCELL PAK C18 type MG 5μm, 150 x 20 mm column; flow rate 5 mL/min; mobile phase composition MeCN-H₂O gradient solvent of 35%-85% CH₃CN in H₂O, over 50 min)으로 정제하여 **SF7573-4-2-1** (2.7 mg)와 **SF7573-4-2-30** (0.6 mg, *t_R* = 34.5 min)을 획득하였다. SF7573-3 (450.0 mg)은 silica gel C.C를 이용하여 *n*-hexane:EtOAc:MeOH (1:1:0, 1:2:0, 1:2:0.5 v/v) 조건으로 용리시켜 6개의 하위 분획물 SF7573-3-1 ~ SF7573-3-6과 **SF7573-3-2** (25.5 mg)을 얻었다. SF7573-3-3 (9.4 mg)은 semipreparative HPLC

(MeCN-H₂O, 35 to 85% MeCN, 5 mL/min)로 추가 정제하여 SF7573-3-3-3 (1.0 mg, t_R = 14.5 min)을 얻었다. SF7573-2 (250 mg)는 silica gel column를 이용하여 *n*-hexane:EtOAc:MeOH (1:2:0 and 1:2:1, v/v) 용매로 용리시켜 5개의 하위 분획물 SF7573-2-1 ~ SF7573-2-5를 획득하였다. 마지막으로 SF7573-2-3 (25.0 mg)은 semipreparative HPLC (MeCN-H₂O, 20 to 80% MeCN, 5 mL/min)로 정제하여 SF7573-2-3-2, (1.1 mg, t_R = 10.9 min)를 획득하였다.



○ 세부목표 2-2: 생리활성 대사체의 구조 분석

연구 내용	연구 결과
- 분리한 활성 대사체의 구조 분석	- SF-7420 추출물로부터 분리된 4종 활성 후보물질의 <u>구조 분석 완료</u>[별첨 2-2-1] - SF-7570 추출물로부터 분리된 4종 활성 후보물질의 <u>구조 분석 완료</u>[별첨 2-2-2] - SF-7573 추출물로부터 분리된 4종 활성 후보물질의 <u>구조 분석 완료</u>[별첨 2-2-3]

[별첨 2-2-1] 극지생물 유래 진균 SF7420로부터 분리된 이차대사물질의 구조분석

2.2.1.1. SF7240-43-1 = SF7240-44-1의 구조 분석



Figure 80. SF7420-43-1의 화학적 구조

SF7420-43-1은 백색 결정 형태이다. HR-ESI-MS 스펙트럼 (m/z 276.1217 [$M + Na$]⁺ [calcd. for 276.1206]) 분석을 통해 분자식은 $C_{13}H_{19}NO_4$ 으로 확인되었다. SF 7420-43-1의 ^1H NMR data에서 2개의 coupled olefinic proton은 δ_H 6.14 (1H, dd, $J = 2.4, 0.4$ Hz, H-5), 5.60 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-3)에서 나타났고 2개의 methine은 δ_H 4.49 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-7), 1.95 (1H, m, H-8)에서 나타났다. methoxy 작용기는 δ_H 3.88 (3H, s, 4- OCH_3)에서 methylene 작용기는 δ_H 1.59 (1H, m, H_{α} -9), 1.23 (1H, m, H_{β} -9)에서 나타났으며, 3개의 methyl 작용기는 δ_H 2.01 (3H, s, H-2'), 0.95 (3H, t, $J = 7.6$ Hz, H-10), 0.90 (3H, t, $J = 6.8$ Hz, H-11)에서 나타났다. ^{13}C NMR 및 DEPT 스펙트럼은 13개의 ^{13}C 피크가 관찰되었으며, pyrone ring은 [δ_C 173.4 (C-4), 166.8 (C-2), 164.6 (C-6), 102.4 (C-5), 88.9 (C-3)]에 나타났고 sec-butyl 작용기는 [δ_C 57.2 (C-7), 37.6 (C-8), 26.2 (C-9), 16.0 (C-11), 11.1 (C-10)]에서 나타났다. 또한 acetyl 작용기는 [δ_C 173.1 (C-1'), 22.3 (C-2')]에서 methoxy 작용기는 [δ_C 57.0 (4- OCH_3)]에서 나타났다. sec-butyl 작용기와 pyrone ring 부분 구조를 확인하기 위해 ^1H - ^1H COSY 분석을 실시하였다 (Figure 2.2.10). 1D 및 2D NMR data를 기존에 보고된 data와 비교한 결과 SF7420-43-구조는 campyrone A [15]로 확인되었다.

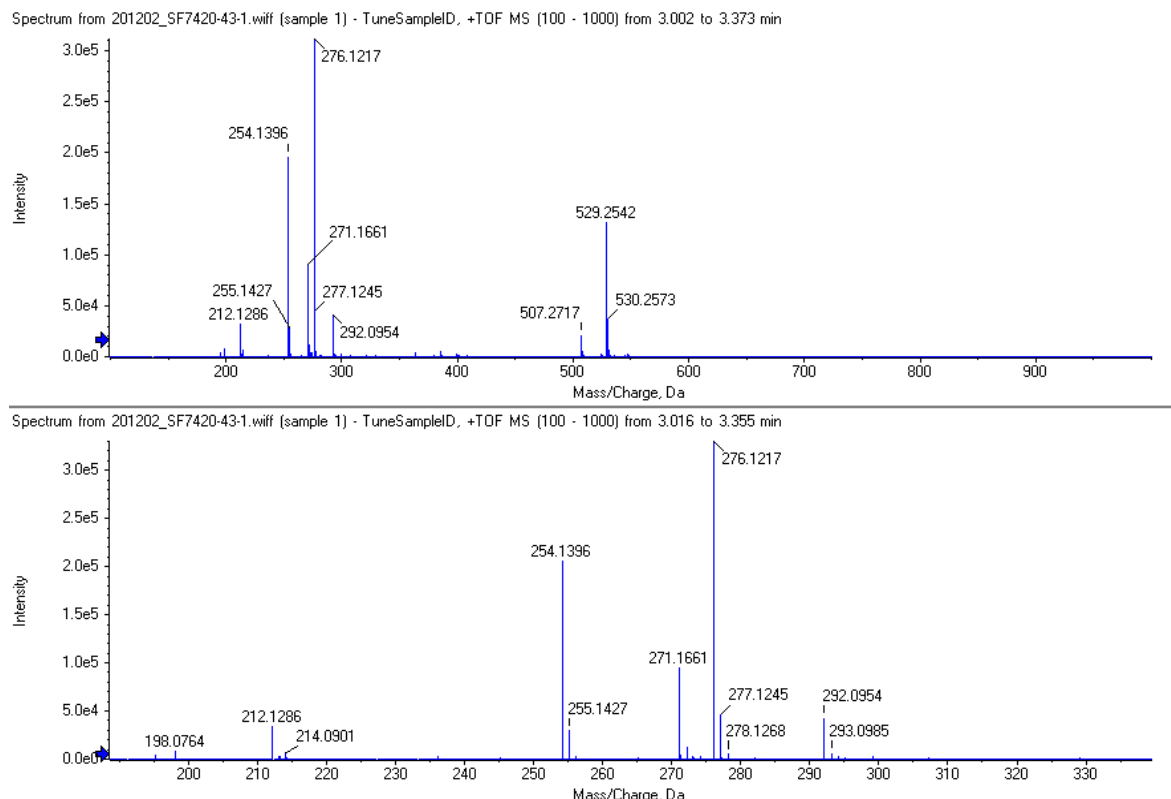


Figure 81. SF7420-43-1의 MS spectrum

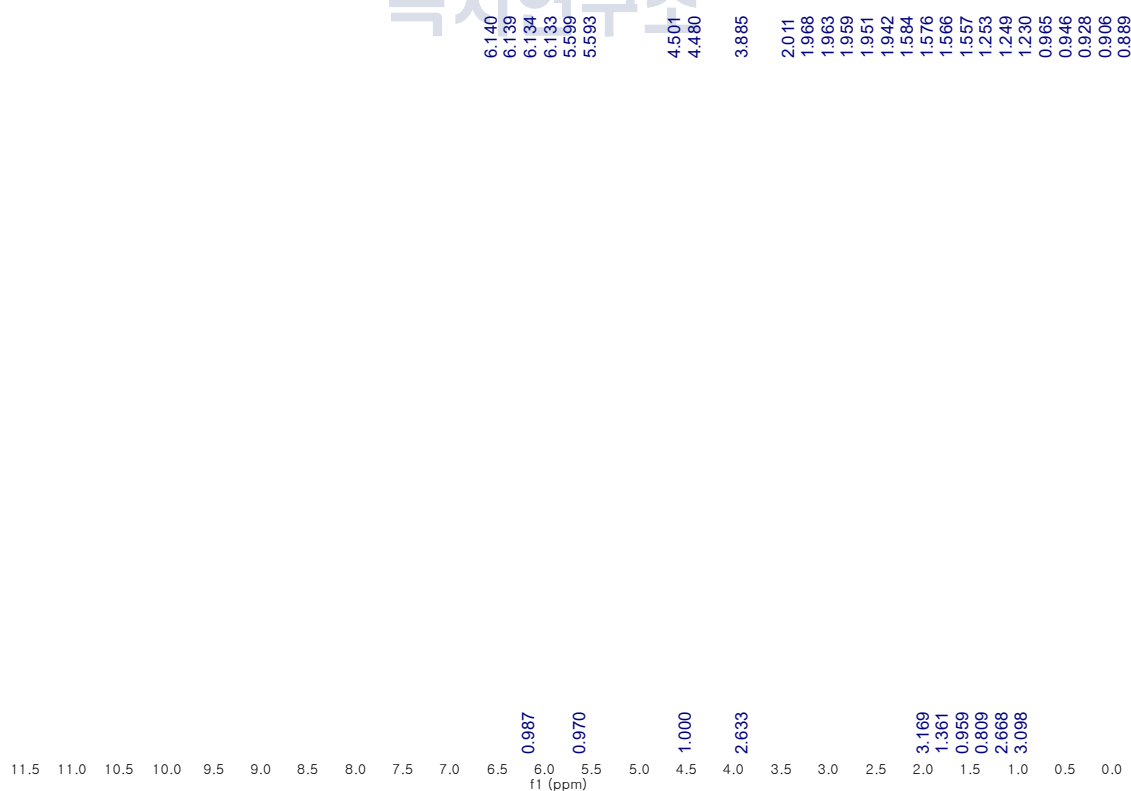


Figure 82. SF7420-43-1의 ^1H NMR spectrum (Recorded in methanol- d_4)

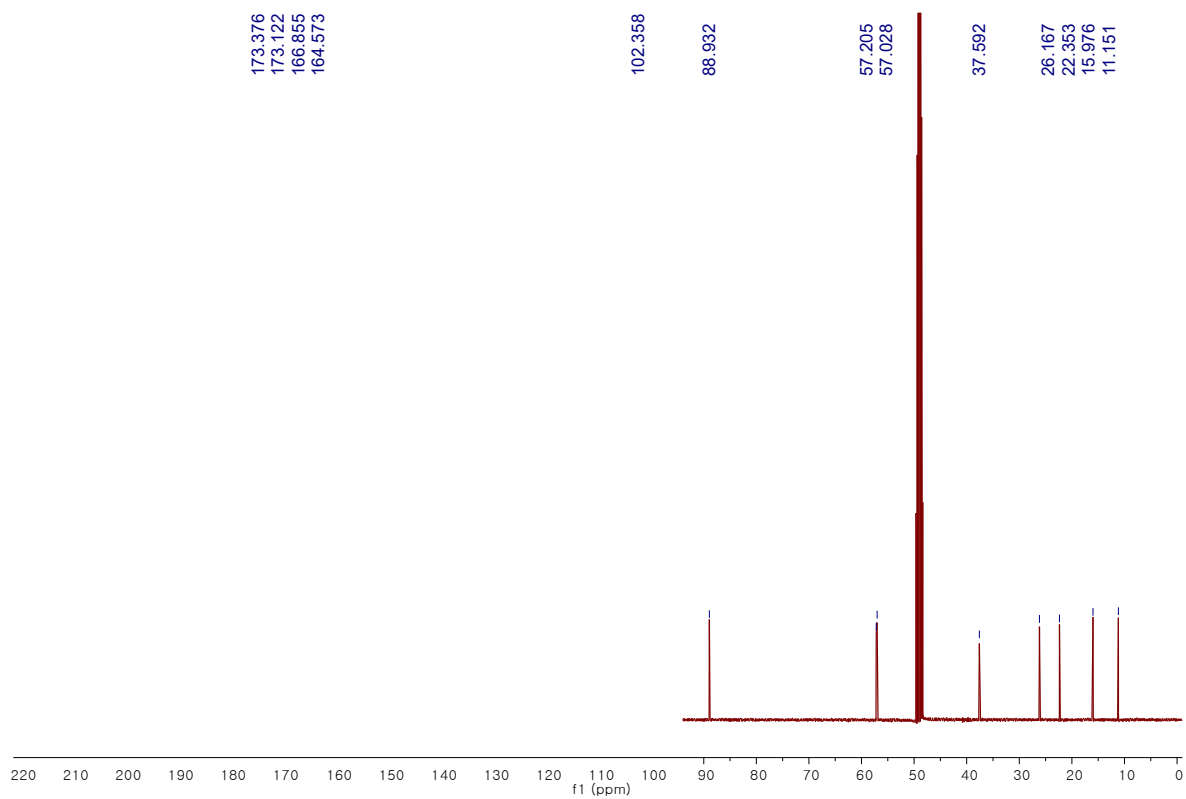


Figure 83. SF7420-43-1의 ¹³C NMR spectrum (Recorded in methanol-*d*₄)

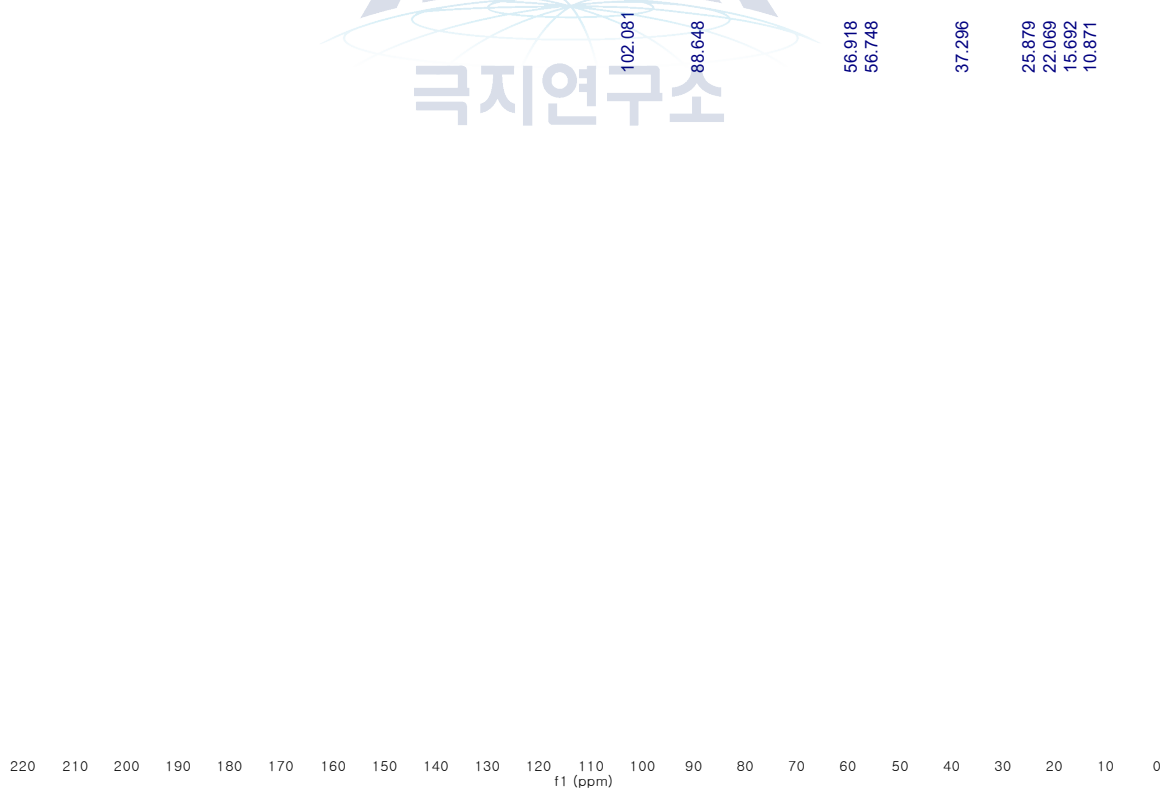
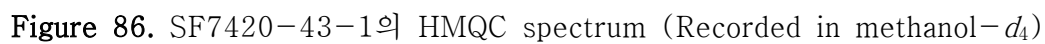


Figure 84. SF7420-43-1의 DEPT spectrum (Recorded in methanol-*d*₄)



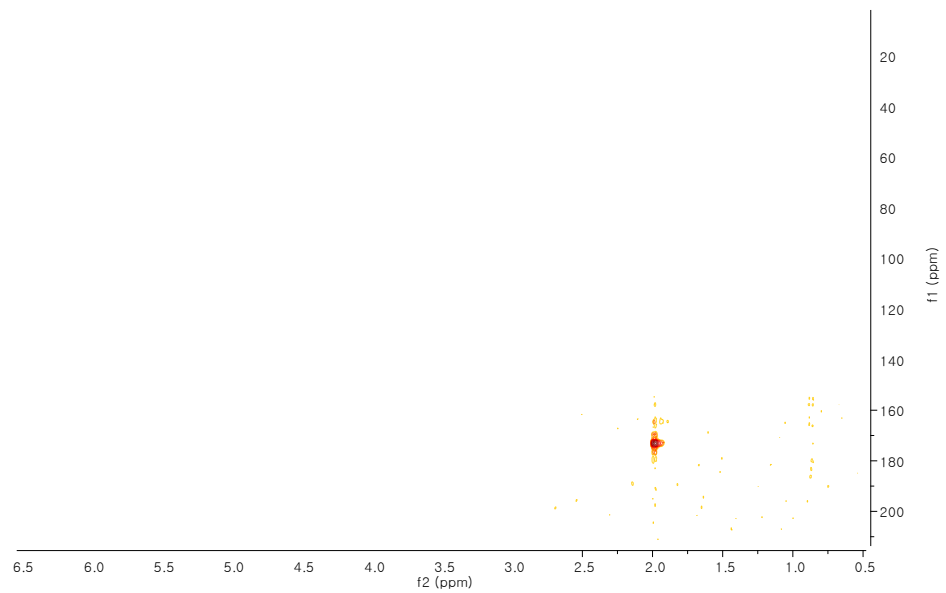


Figure 87. SF7420-43-1의 HMBC spectrum (Recorded in methanol- d_4)

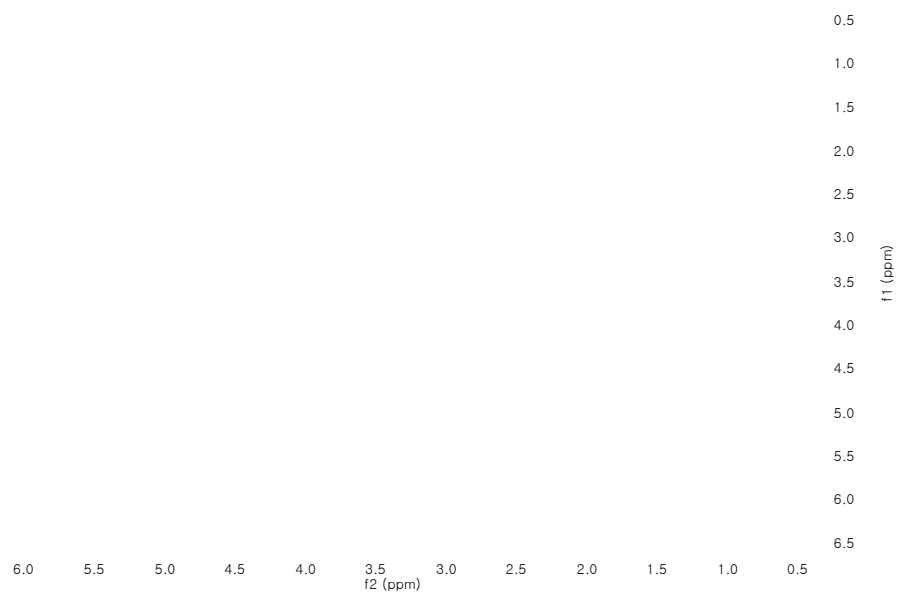


Figure 88. SF7420-43-1의 NOESY spectrum (Recorded in methanol- d_4)

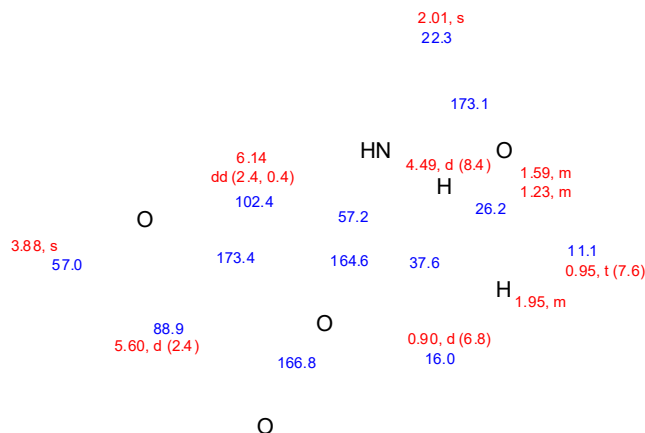


Figure 89. SF7420-43-1의 ^1H , ^{13}C NMR data 및 COSY, HMBC 상관관계 (Recorded in methanol- d_4)

2.2.1.2. SF7420-43-2의 구조 분석



Figure 90. SF7420-43-2의 화학적 구조

SF7420-43-2는 백색 결정 형태이다. HR-ESI-MS 스펙트럼 (m/z 276.1229 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ [calcd. for 276.1206]) 분석을 통해 분자식은 $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{NO}_4$ 으로 확인되었다. SF 7420-43-2는 proton 및 carbon shifts는 C-7, C-8, C-9, C-11 (Figure 2.2.9)을 제외하면 SF7420-43-1과 거의 동일하다. SF7420-43-2는 HMBC 및 COSY data에서 SF7420-43-1과 매우 유사한 구조이다. 하지만 HMBC상에서 H-7/C-8, H-8/C-7, C-9, H-10/C-8, H-11/C-9는 차이점이 확인되었다. 1D 및 2D NMR data과 기존에 보고된 data와 비교한 결과 SF7420-43-1은 campyrone B [15]로 확인되었다.

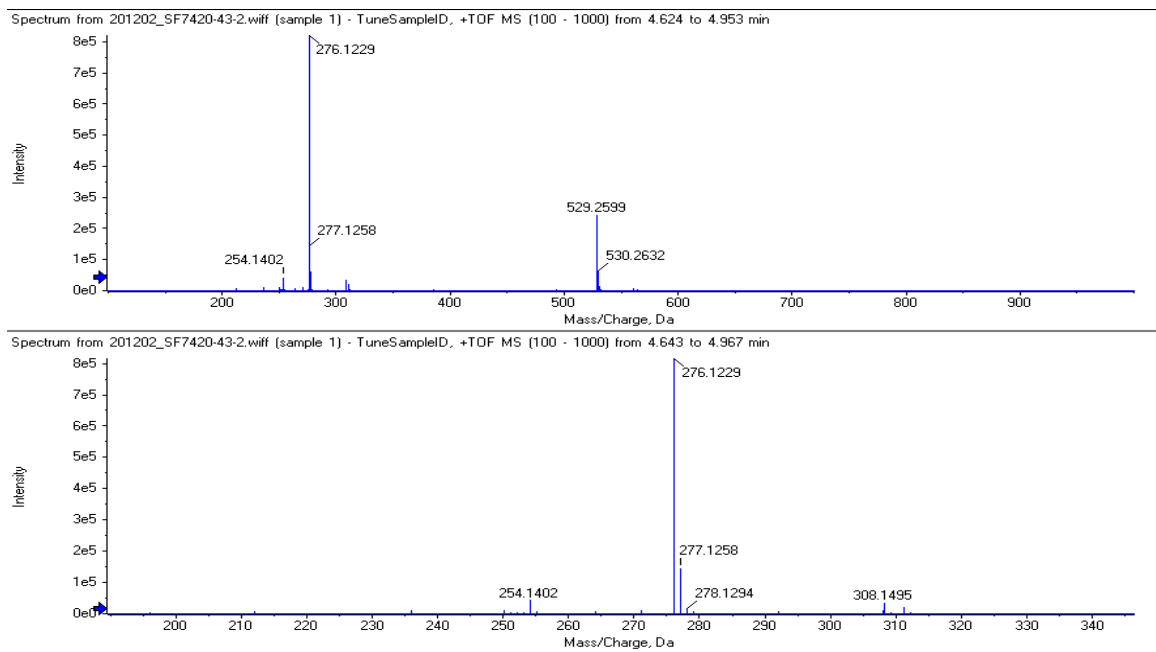


Figure 91. SF7420-43-2의 MS spectrum

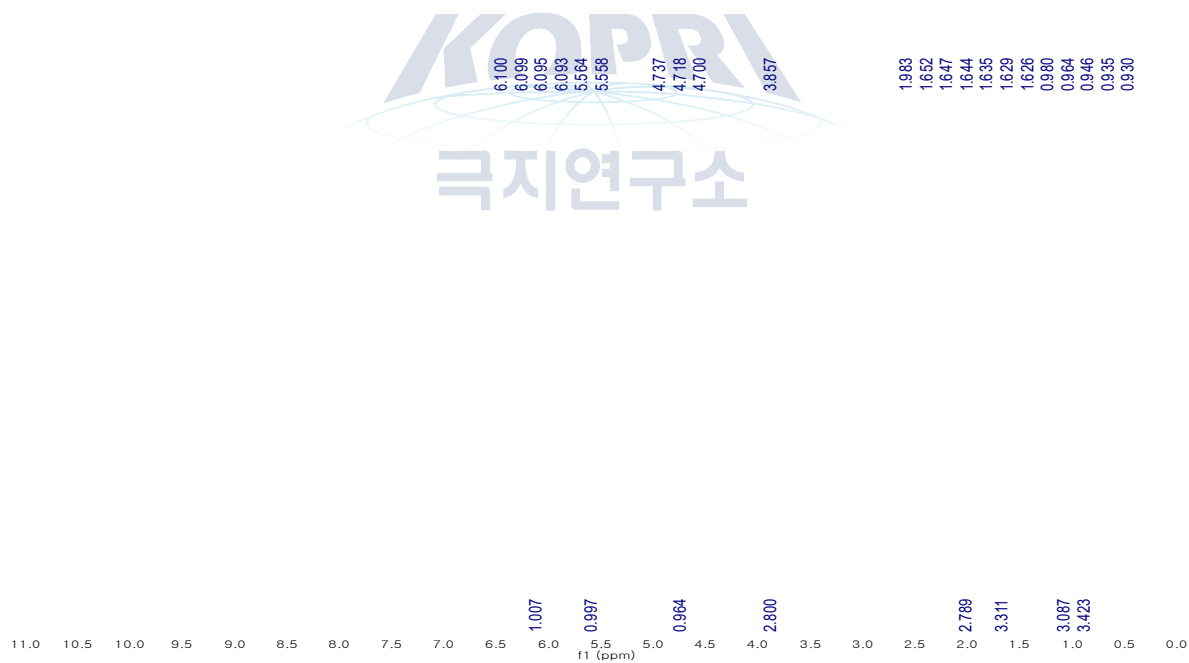


Figure 92. SF7420-43-2의 ^1H NMR spectrum (Recorded in methanol- d_4)

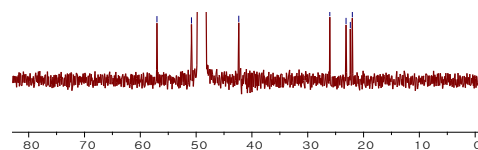


Figure 93. SF7420-43-2 ^{13}C NMR의 spectrum(Recorded in methanol- d_4)



Figure 94. SF7420-43-2의 DEPT spectrum (Recorded in methanol- d_4)

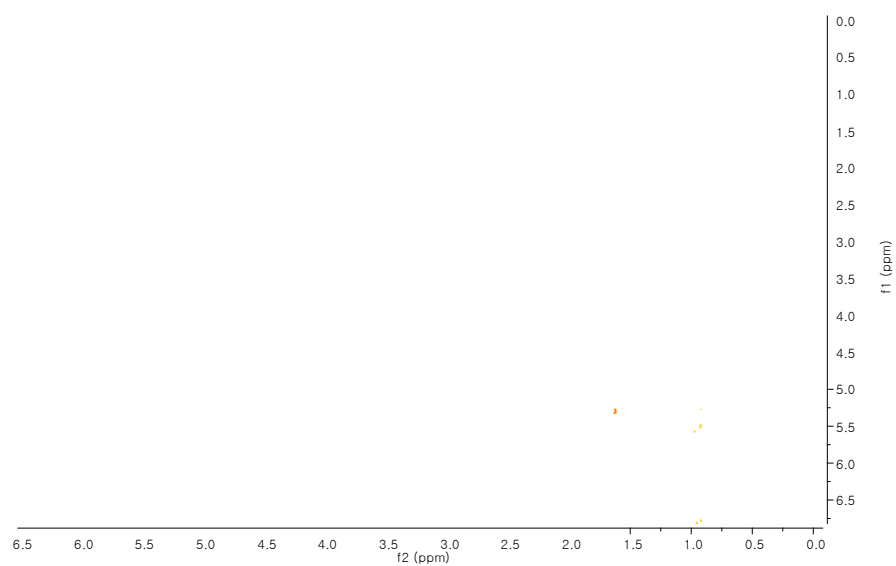


Figure 95. SF7420-43-2 COSY의 spectrum (Recorded in methanol- d_4)

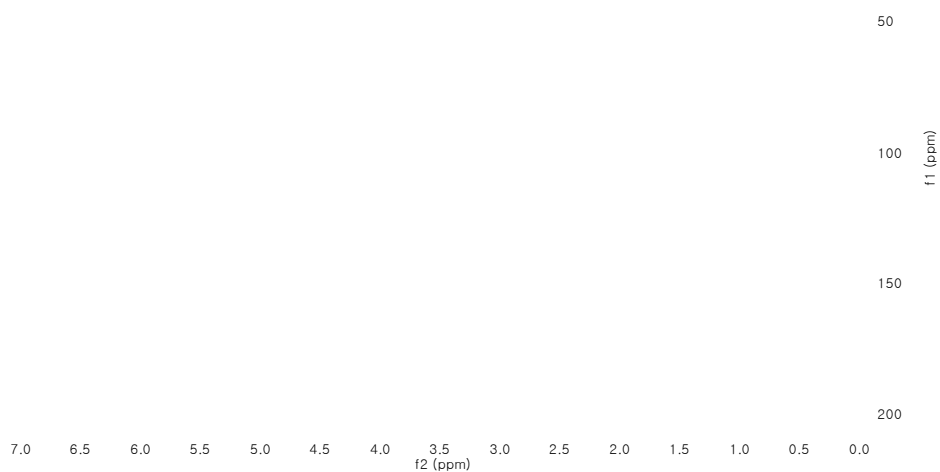


Figure 96. SF7420-43-2의 HMQC spectrum(Recorded in methanol- d_4)

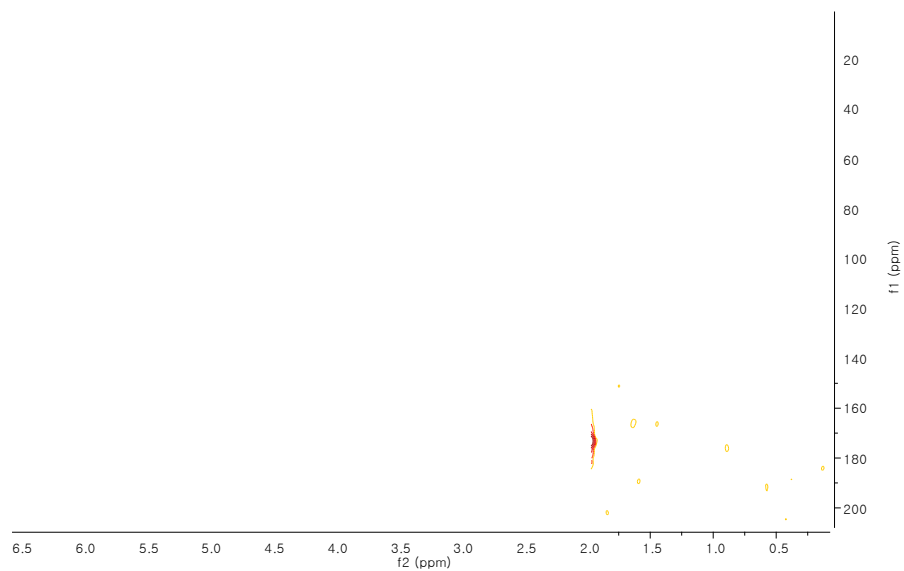


Figure 97. SF7420-43-2의 HMBC spectrum (Recorded in methanol- d_4)

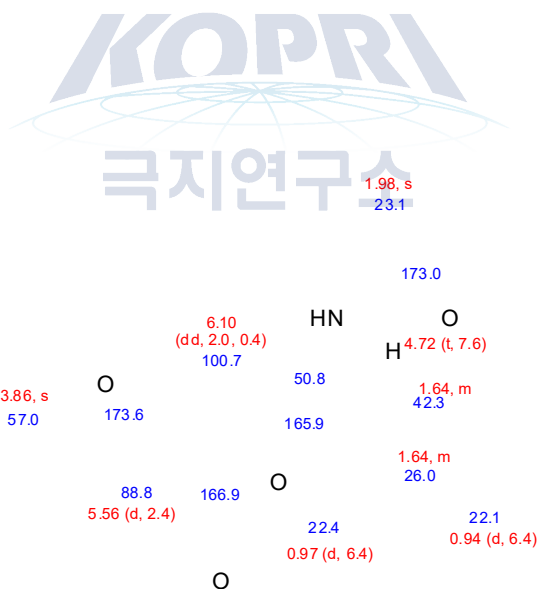


Figure 98. SF7420-43-2의 ^1H , ^{13}C NMR data 및 COSY, HMBC 상관관계(Recorded in methanol- d_4)

2.2.1.3. SF7240-35의 구조 분석

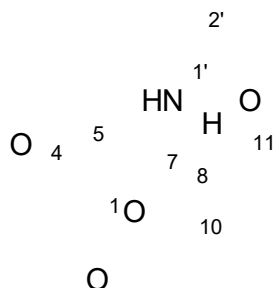


Figure 99. SF7420-35의 화학적 구조

SF7420-35은 백색 결정 형태이다. HR-ESI-MS 스펙트럼 (m/z 262.1071 [$M + Na$]⁺ [calcd. for 262.1050]) 분석을 통해 분자식은 $C_{12}H_{17}NO_4$ 로 확인되었다. SF7420-35는 NMR data를 통해 methylene 작용기는 C-9 (Figure 2.3.1)를 제외하면 SF7420-43-2과 거의 동일하였다. SF7420-35의 HMBC 및 COSY data는 SF7420-43-2와 매우 유사하였다. 하지만 HMBC에서 H-7/C-8, C-1', H-10/C-7, C-8, H-11/C-7, C-8 (Figure 2.3.10) 상관관계에서 차이점을 보였다. 1D 및 2D NMR data를 기존에 보고된 data와 비교한 결과 campyrone C로 확인되었다.

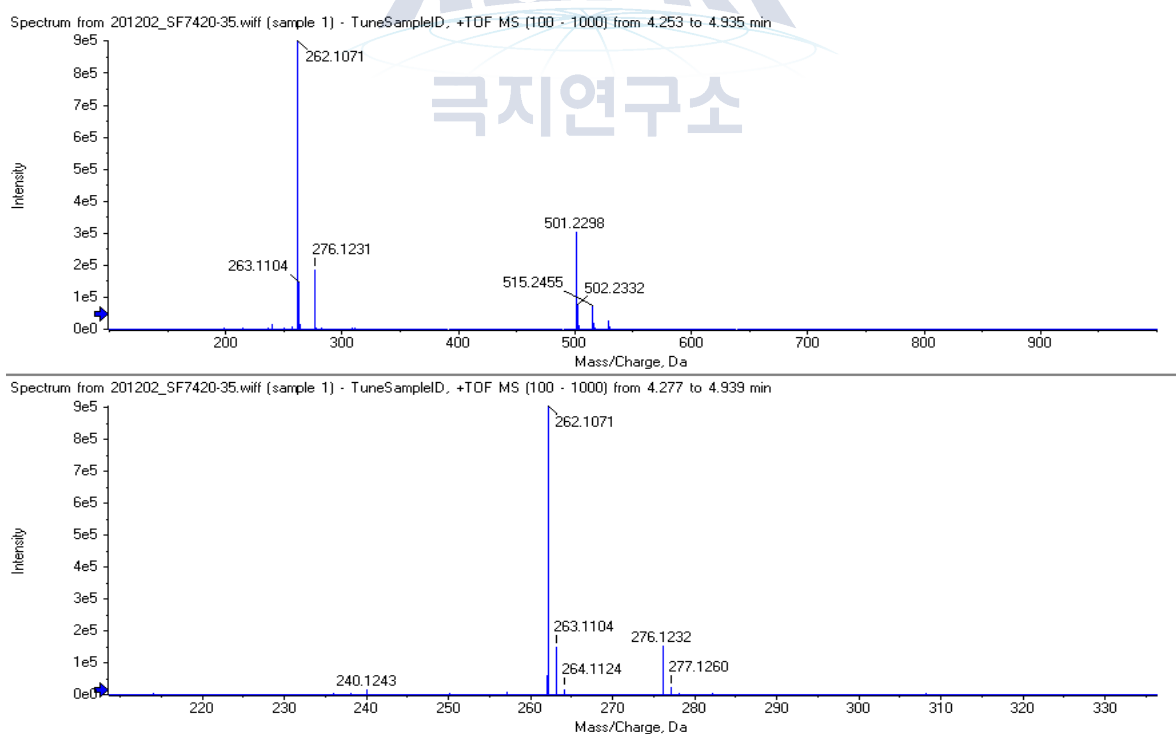


Figure 100. SF7420-35의 MS spectrum

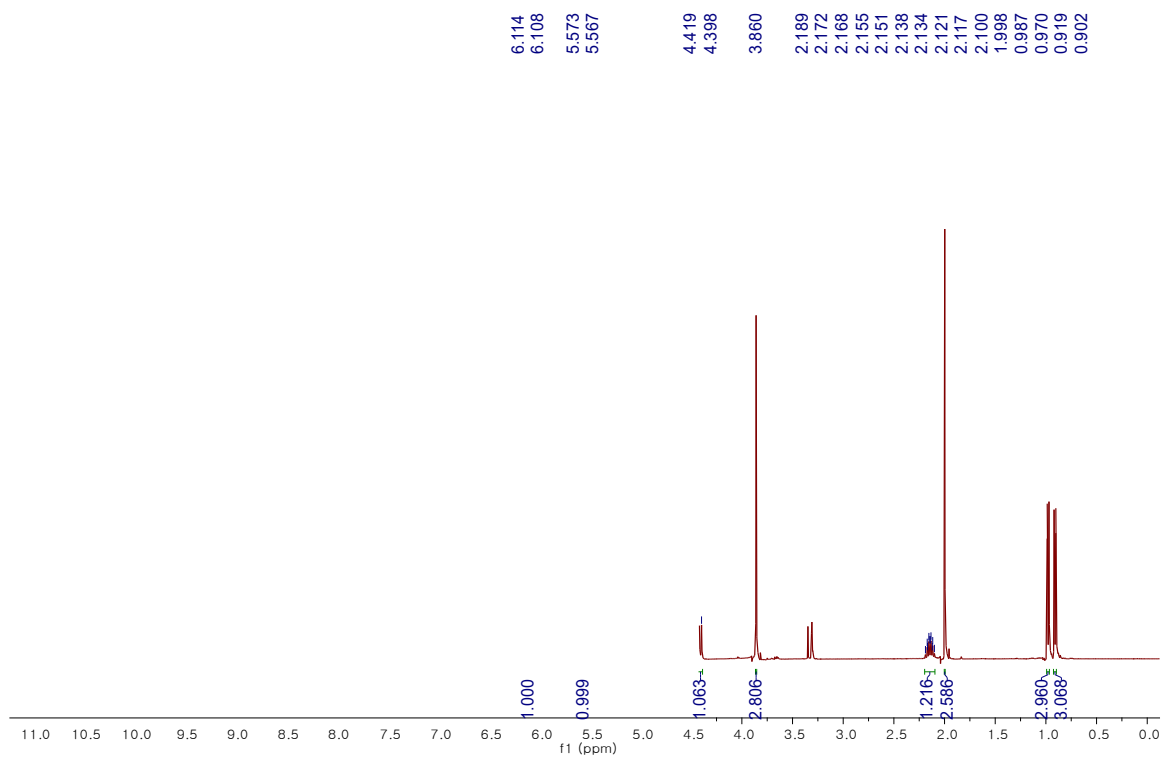


Figure 101. SF7420-35의 ¹H NMR spectrum (Recorded in methanol-*d*₄)

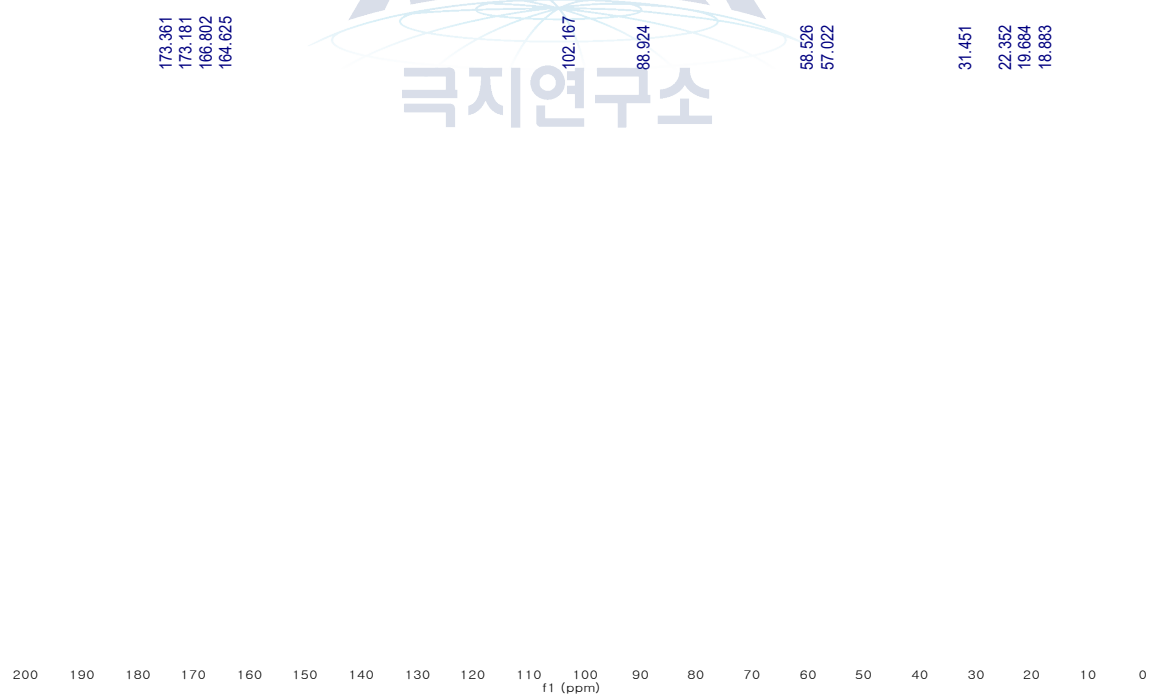


Figure 102. SF7420-35의 ¹³C NMR spectrum (Recorded in methanol-*d*₄)

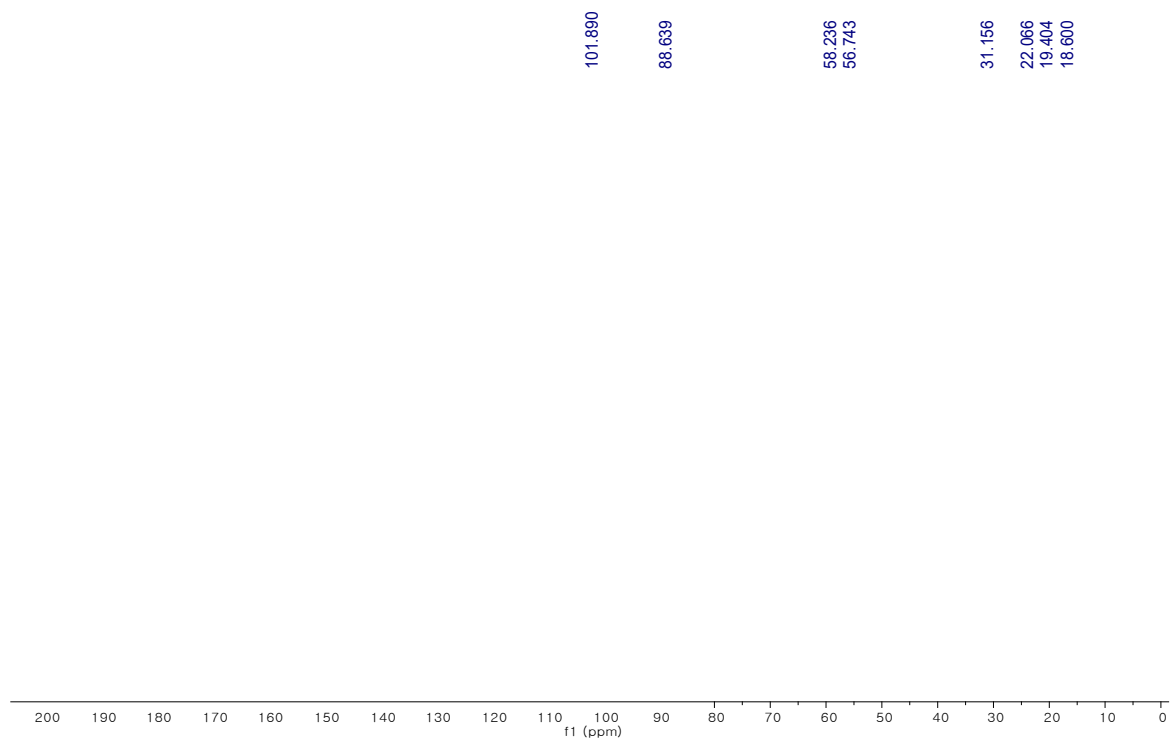


Figure 103. SF7420-35의 DEPT spectrum (Recorded in methanol- d_4)

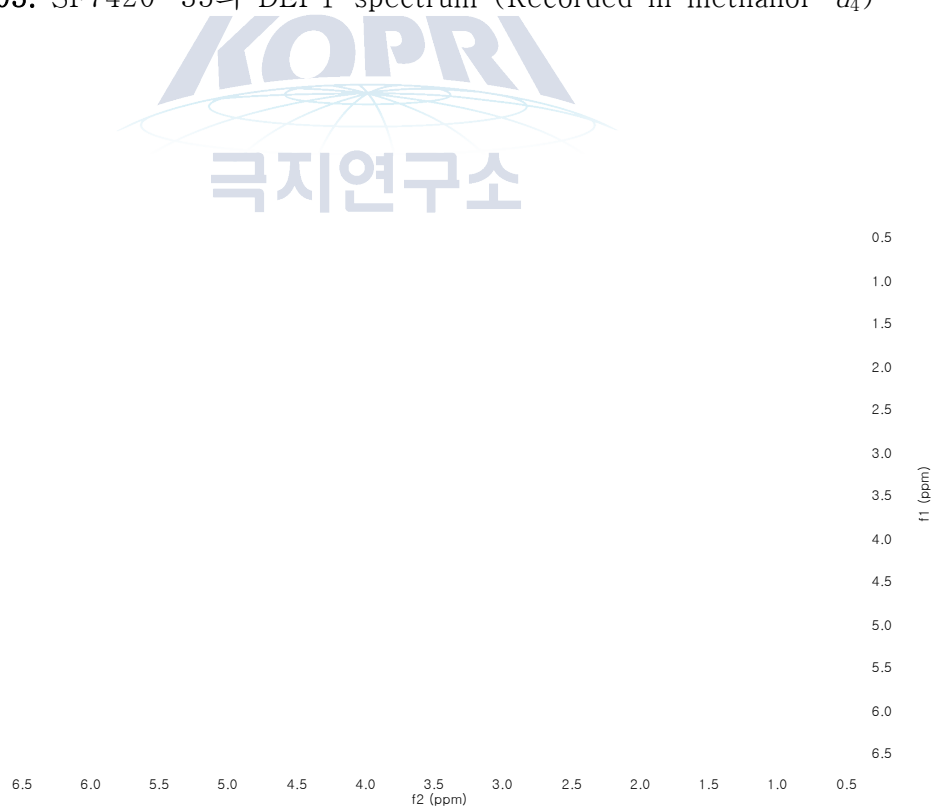


Figure 104. SF7420-35의 COSY spectrum (Recorded in methanol- d_4)

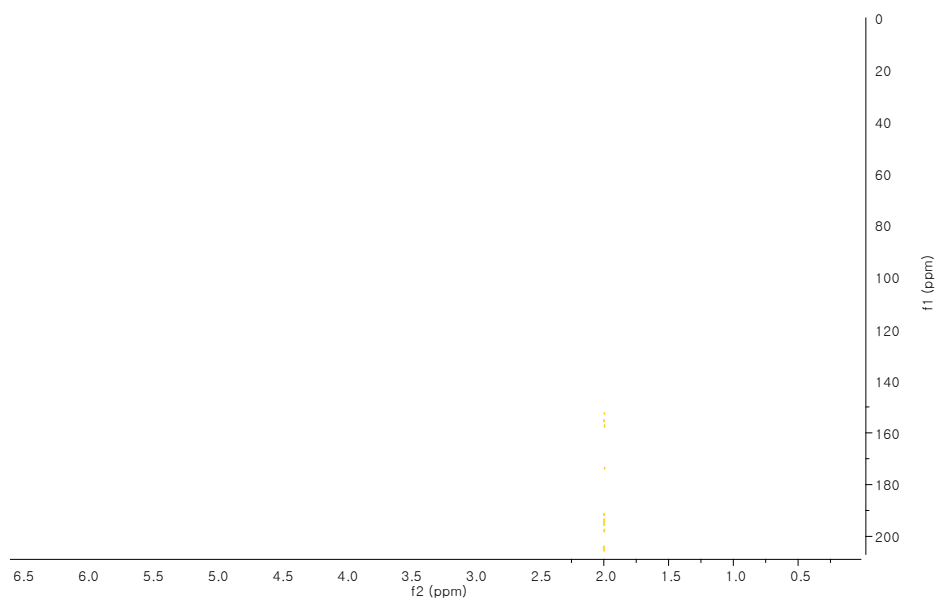


Figure 105. SF7420-35의 HMQC spectrum (Recorded in methanol- d_4)

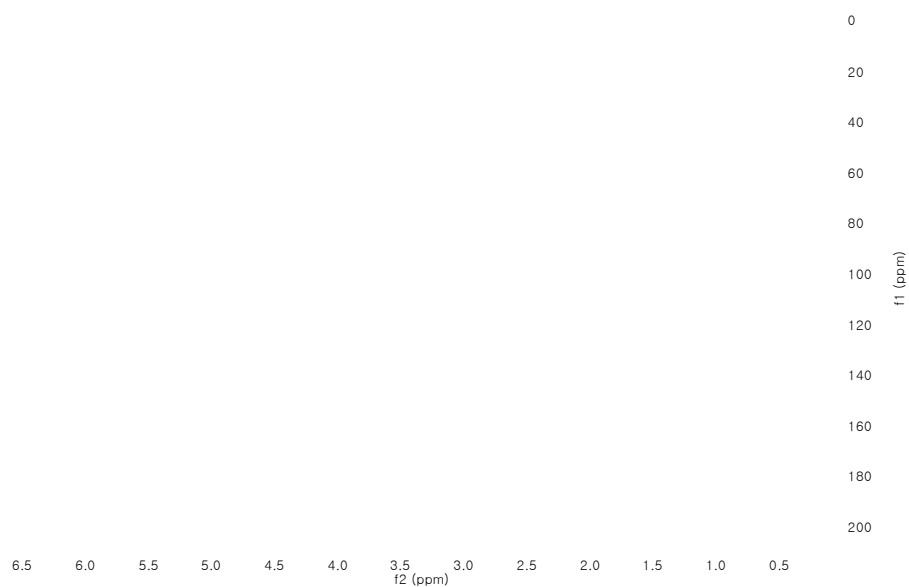


Figure 106. SF7420-35 HMBC spectrum (Recorded in methanol- d_4)

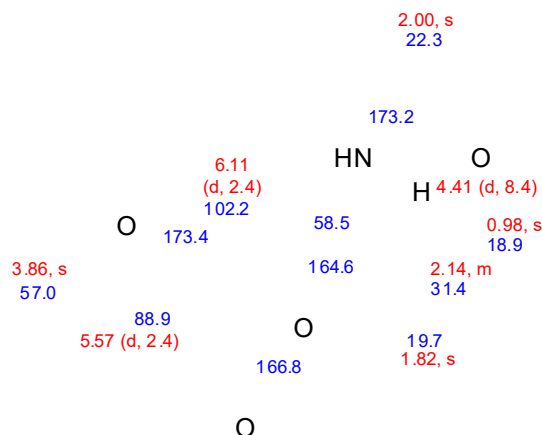


Figure 107. SF7420-35의 ^1H , ^{13}C NMR data 및 COSY, HMBC 상관관계 (Recorded in methanol- d_4)

2.2.1.4. SF7420-434-1의 구조 분석

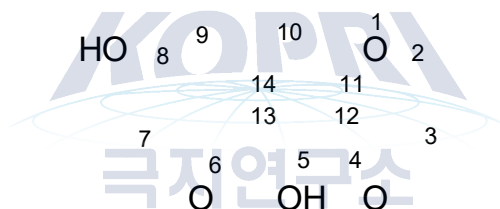


Figure 108. SF7420-434-1의 화학적 구조

SF7420-434-1은 무정형의 녹색 가루형태이다. HR-ESI-MS 스펙트럼 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$ at m/z 295.0581, calculated 295.0577; $[\text{M} + \text{K}]^+$ at m/z 311.0322, calculated 311.0316; $[\text{M} + \text{H}]^+$ at m/z 273.0761, calculated 273.0757) 분석을 통해 분자식은 $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$ 확인되었다. SF7420-434-1은 ^{13}C NMR 및 DEPT spectra에서 15개의 ^{13}C 피크가 관찰되었다. carbonyl carbon은 (δ_{C} 183.6)에 나타났고 12개의 olefinic carbon 중 산소를 포함한 carbon은 [δ_{C} 168.4, 162.3, 160.5, 160.0, 152.4]에 나타났으며, methoxy carbon은 (δ_{C} 56.7)에서 methyl carbon은 (δ_{C} 20.1)에서 나타났다. SF7420-434-1은 ^1H NMR spectrum에서 *ortho*-coupled benzene ring protons은 δ_{H} 7.00 (1H, s, H-10), 6.13 (1H, s, H-3)에서 나타났고 *meta*-coupled benzene ring protons은 δ_{H} 6.62 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-9), 6.41 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-7)에서 나타났다. 그리고 methoxy group은 δ_{H} 3.85 (3H, s, 6- OCH_3)에서 methyl group은 δ_{H} 2.35 (3H, s, 2- CH_3)에서 나타났다. 이는 11개의 불포화도를 구성하는 요소 중 10개를 차지하며, 이를 통해 SF7420-434-1은 naphtha- γ -pyrones 유도체 [2]임을 보여준다. SF7420-434-1의 NMR data HSQC, HMBC, NOESY spectra를 통해 기존에 보고된 data와 비교한 결과 SF7420-434-1은 TMC-256A1 [16]로 확인되었다.

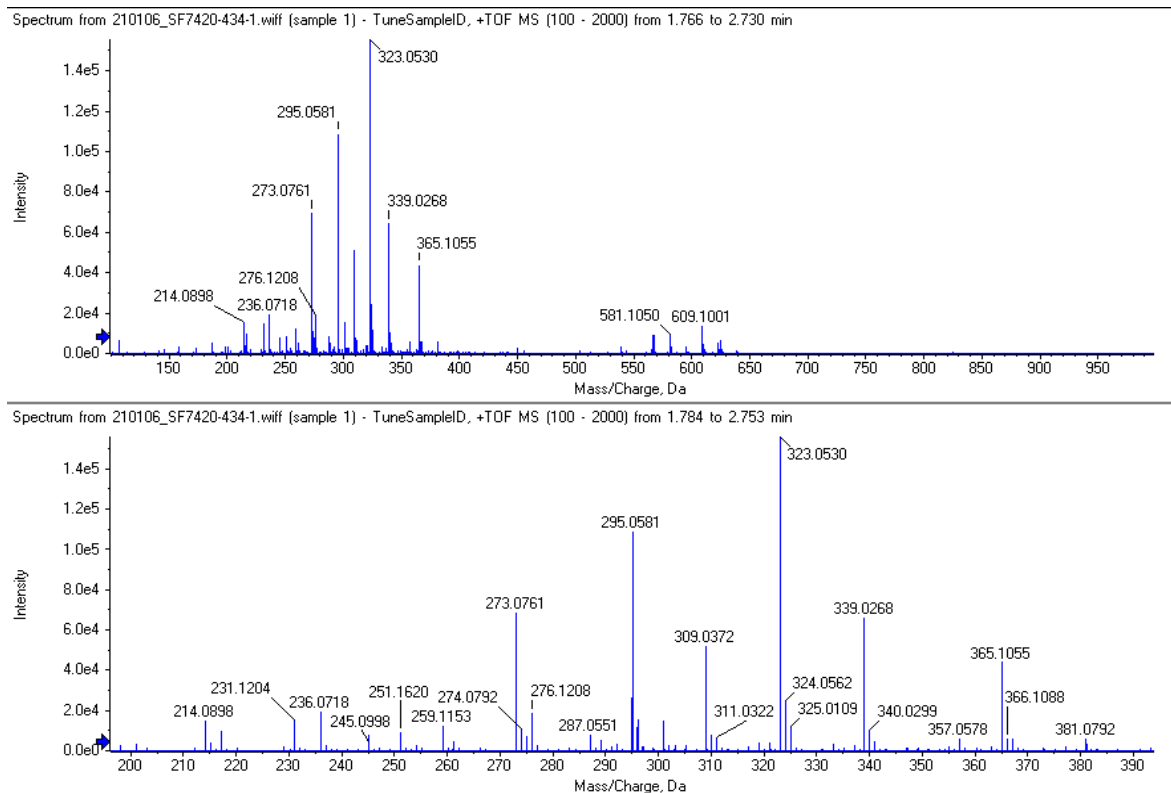


Figure 109. SF7420-434-1의 MS spectrum

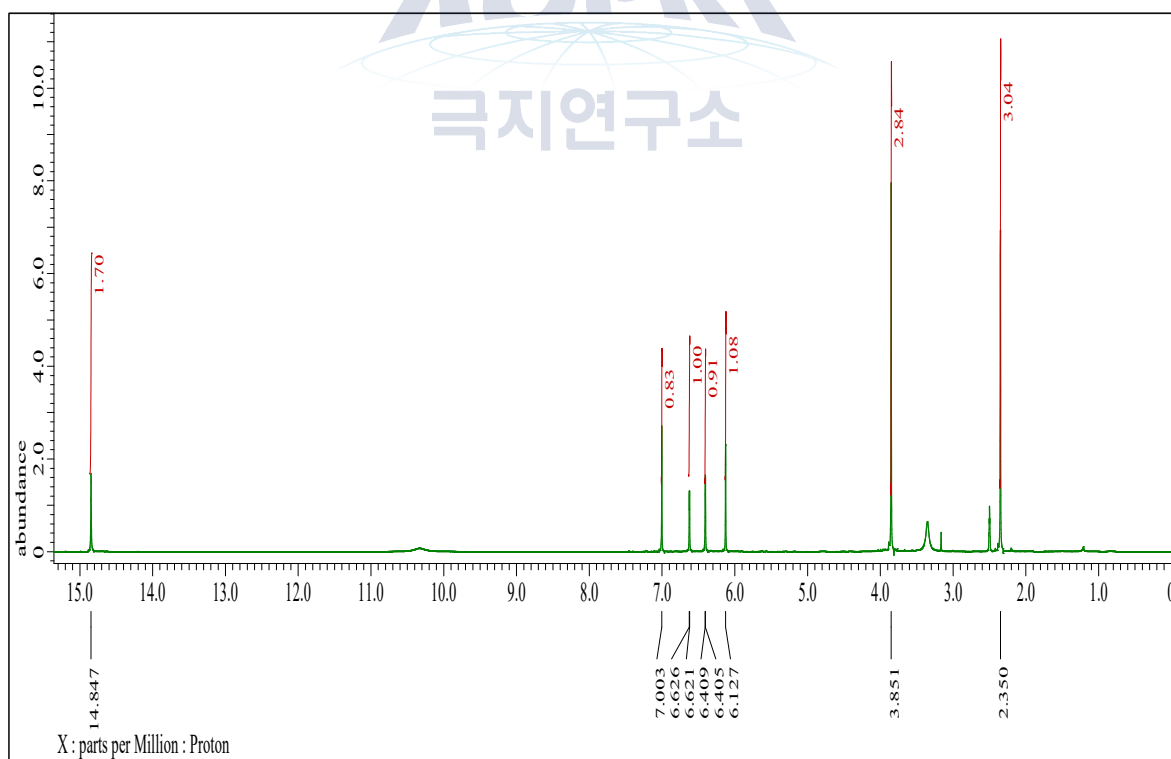


Figure 110. SF7420-434-1의 ^1H NMR spectrum (Recorded in $\text{DMSO}-d_6$)

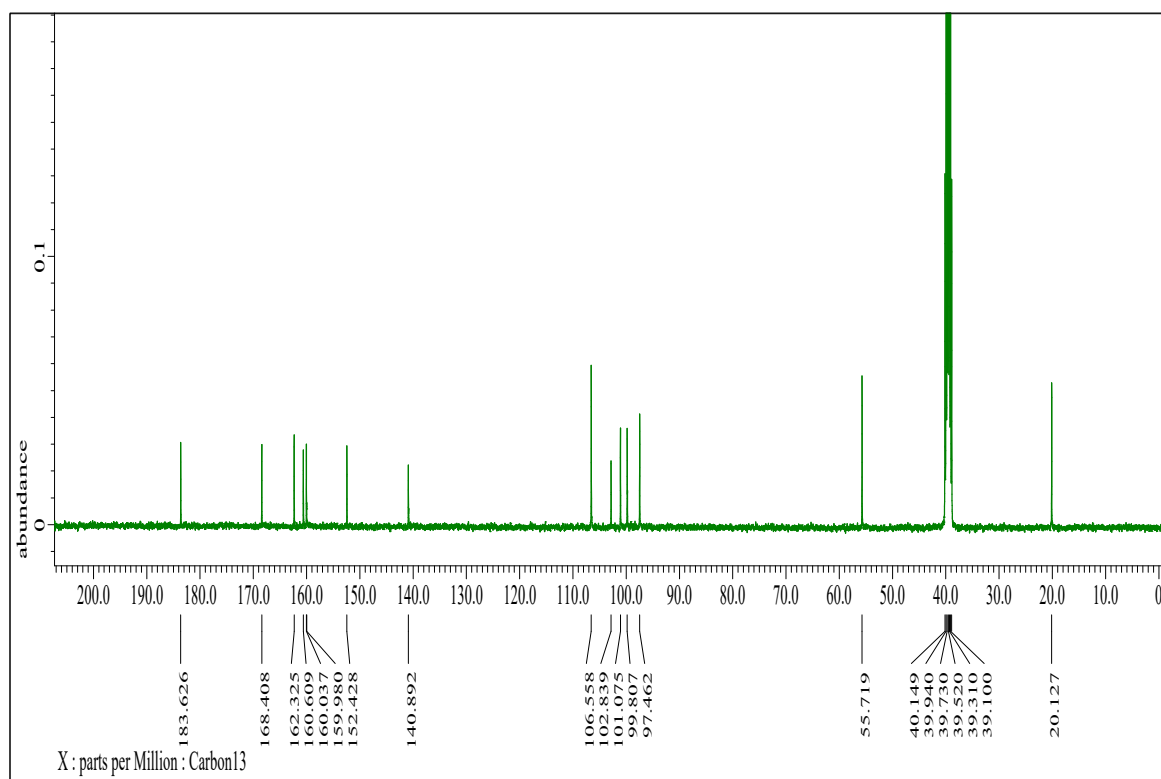


Figure 111. SF7420-434-1의 ^{13}C NMR spectrum (Recorded in $\text{DMSO}-d_6$)

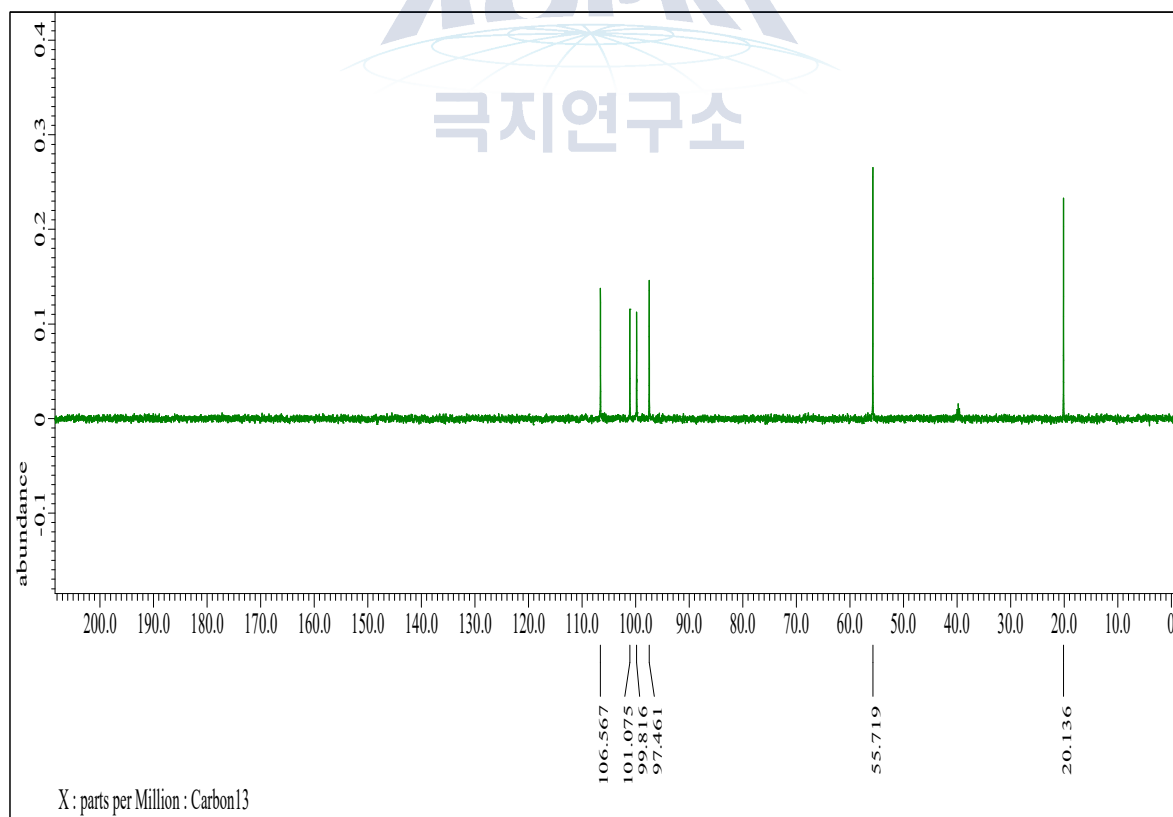


Figure 112. SF7420-434-1의 DEPT spectrum (Recorded in $\text{DMSO}-d_6$)

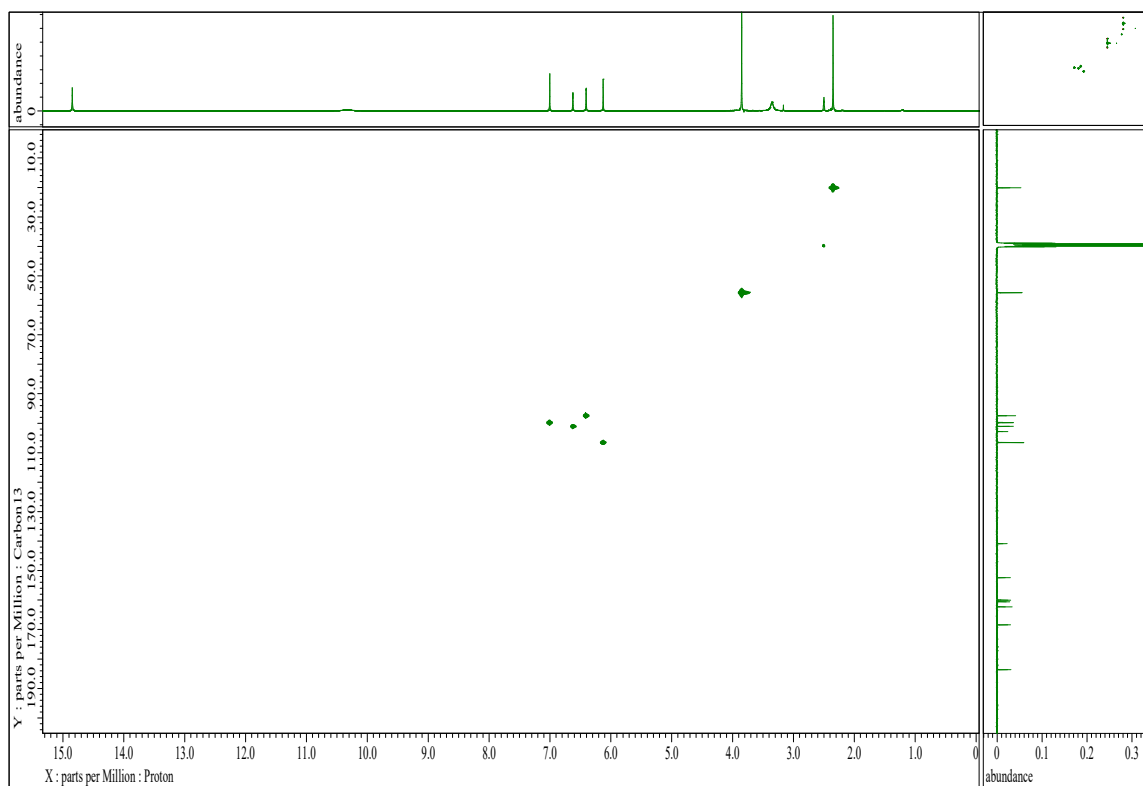


Figure 113. SF7420-434-1의 HMQC spectrum (Recorded in DMSO- d_6)

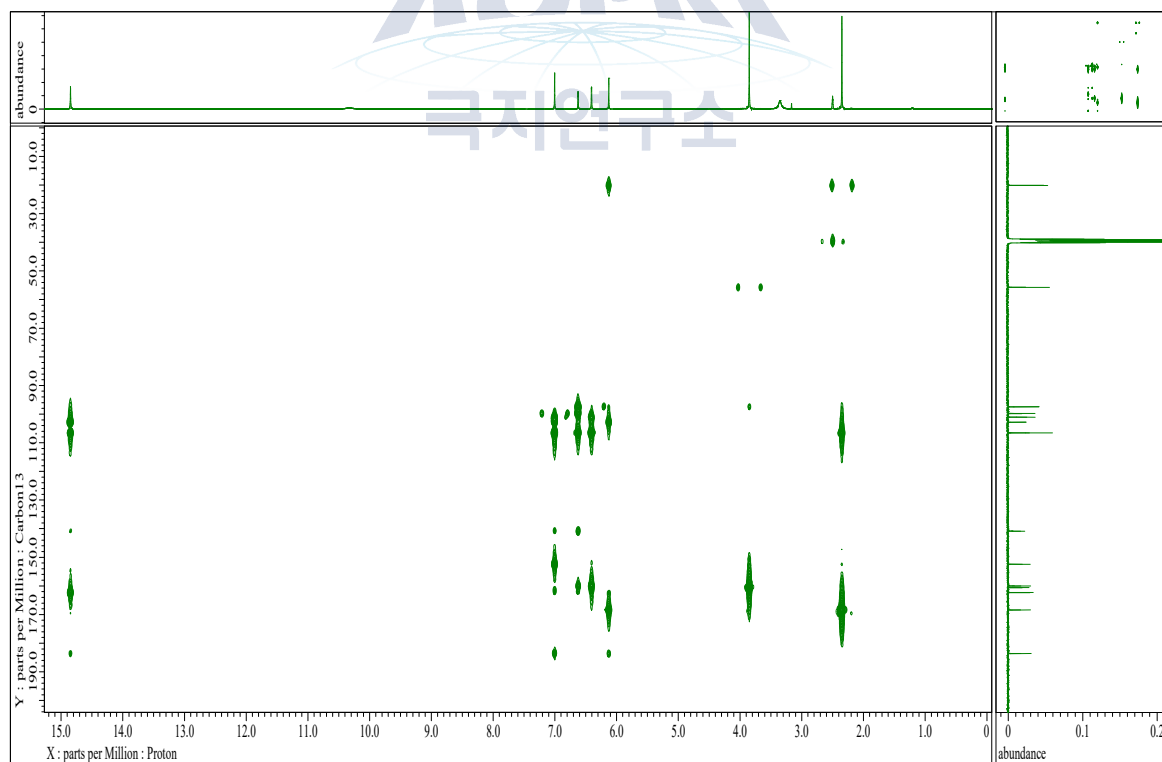


Figure 114. SF7420-434-1의 HMBC spectrum (Recorded in DMSO- d_6)

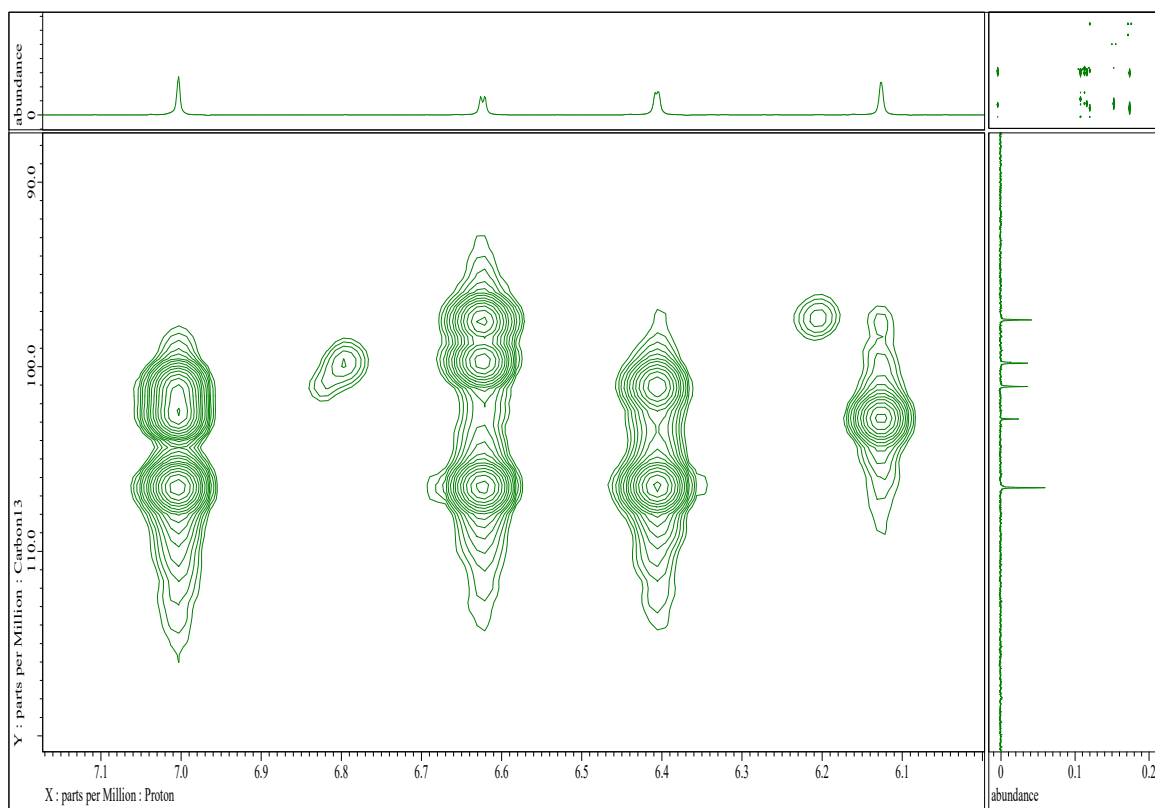


Figure 115. SF7420-434-1의 expanded HMBC spectrum (Recorded in DMSO- d_6)

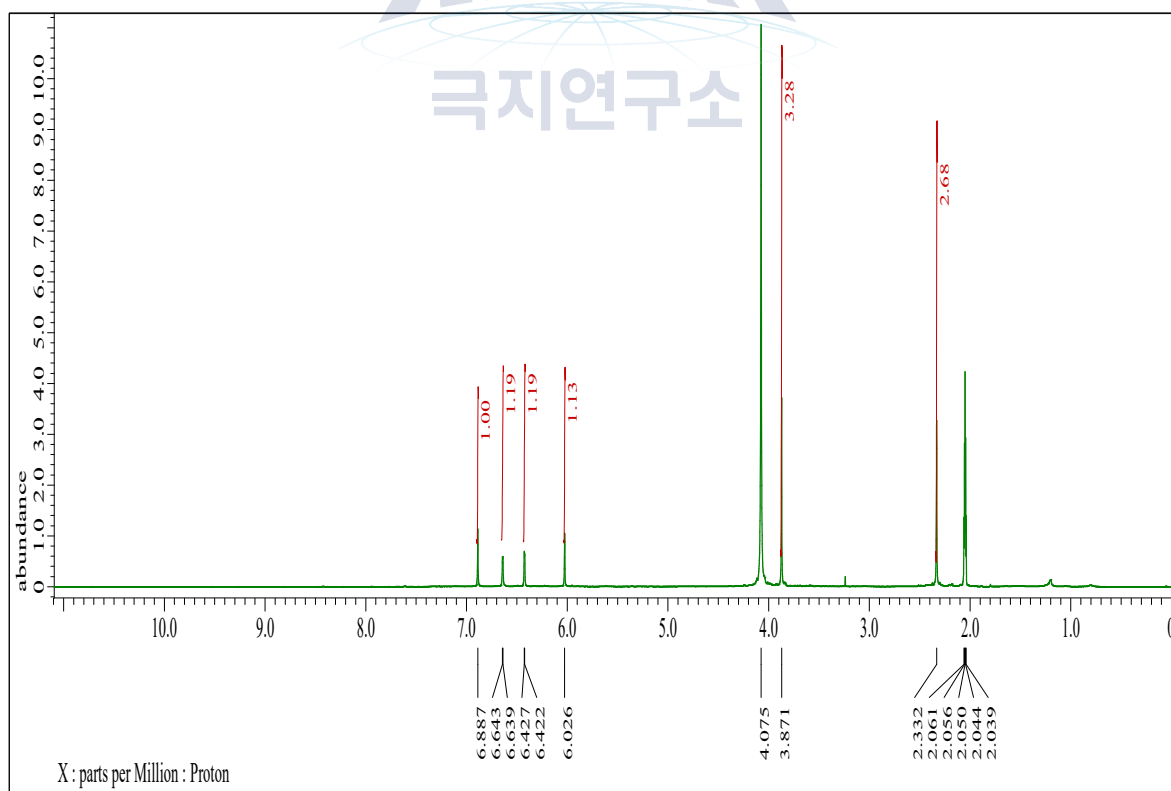


Figure 116. SF7420-434-1의 ^1H NMR spectrum (Recorded in acetone- $d_6/\text{D}_2\text{O}$ (7/1))

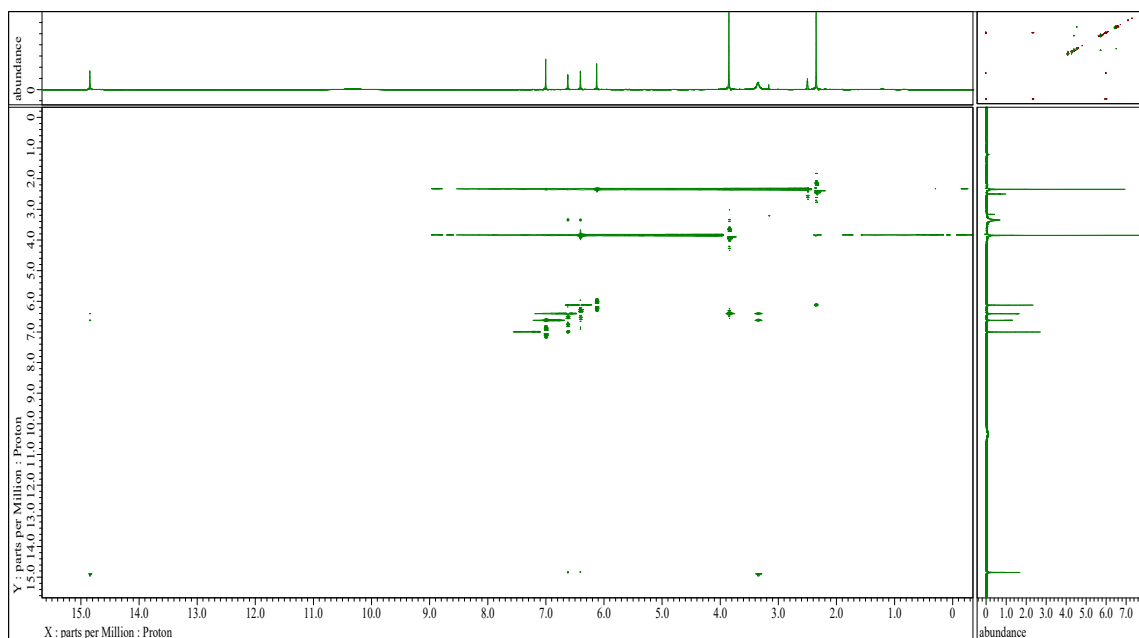


Figure 117. SF7420-434-1의 NOESY spectrum (Recorded in DMSO- d_6)

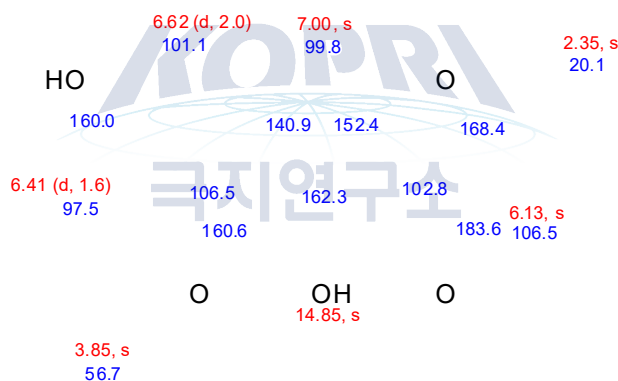


Figure 116. SF7420-434-1의 ^1H , ^{13}C NMR data 및 HMBC, NOESY 상관관계 (Recorded in DMSO- d_6)

Table 2. SF7420-434-1 및 보고된 TMC-256A1 [2] ^1H NMR data 비교

Position	SF7420-434-1 ^a	TMC-256A1 ^a [2]
3	6.13, s	6.13, s
7	6.41, d (1.6)	6.41, d (2.2)
9	6.62, d (2.0)	6.63, d (2.2)
10	7.00, s	7.01, s
2-CH ₃	2.35, s	2.36, s
6-OCH ₃	3.85, s	3.86, s
5-OH	14.85, s	14.84, s

^aRecorded in DMSO- d_6 , 400MHz

[별첨 2-2-2] 극지생물 유래 진균 SF7570로부터 분리된 이차대사물질의 구조분석

2.2.2.1. SF7570-4-4-2-1의 구조 분석

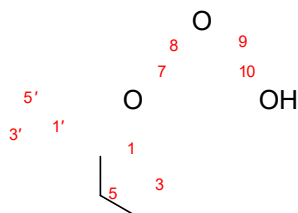


Figure 117. SF7570-4-4-2-1 의 화학적 구조

SF7570-4-4-2-1 은 무정형 가루형태이다. HR-ESI-MS 스펙트럼 (m/z $[M+H]^+$ 259.1330 [calcd. for $C_{16}H_{19}O_3^+$, 259.1329], 및 m/z $[M+Na]^+$ 281.1153 [calcd. for $C_{16}H_{18}NaO_3^+$, 281.1148]) 분석을 통해 분자식은 $C_{16}H_{18}O_3$ 으로 확인되었다. Compound 1 (SF7570-4-4-2-1)의 구조는 ^1H , ^{13}C NMR, COSY, HMBC data 로 확인되었다. 이 화합물은 천연물 연구에서 발견된 첫 사례이며, 본 연구에서는 Compound 1 의 NMR data 를 최초로 보고하였다.

Table 3. SF7570-4-4-2-1 의 ^1H , ^{13}C NMR data

C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ mult. (J in Hz)
1	155.9	-
2	112.9	7.06 dd (1.1, 8.7)
3	128.4	7.29 m
4	121.0	7.01 td (7.5, 1.1)
5	130.4	7.28 m
6	131.1	-
7	68.2	4.11 m
8	69.4	3.75 m
9	72.5	3.50 dd (4.0, 5.4)
10	61.0	3.58 dd (4.2, 5.7)
1'	138.7	-
2'	127.5	7.35 m
3'	129.3	7.51 t (1.1)
4'	126.5	7.27 m
5'	129.3	7.51 d (1.6)
6'	127.5	7.35 m

^arecorded in CD_3OD , ^b100 MHz, ^c400 MHz

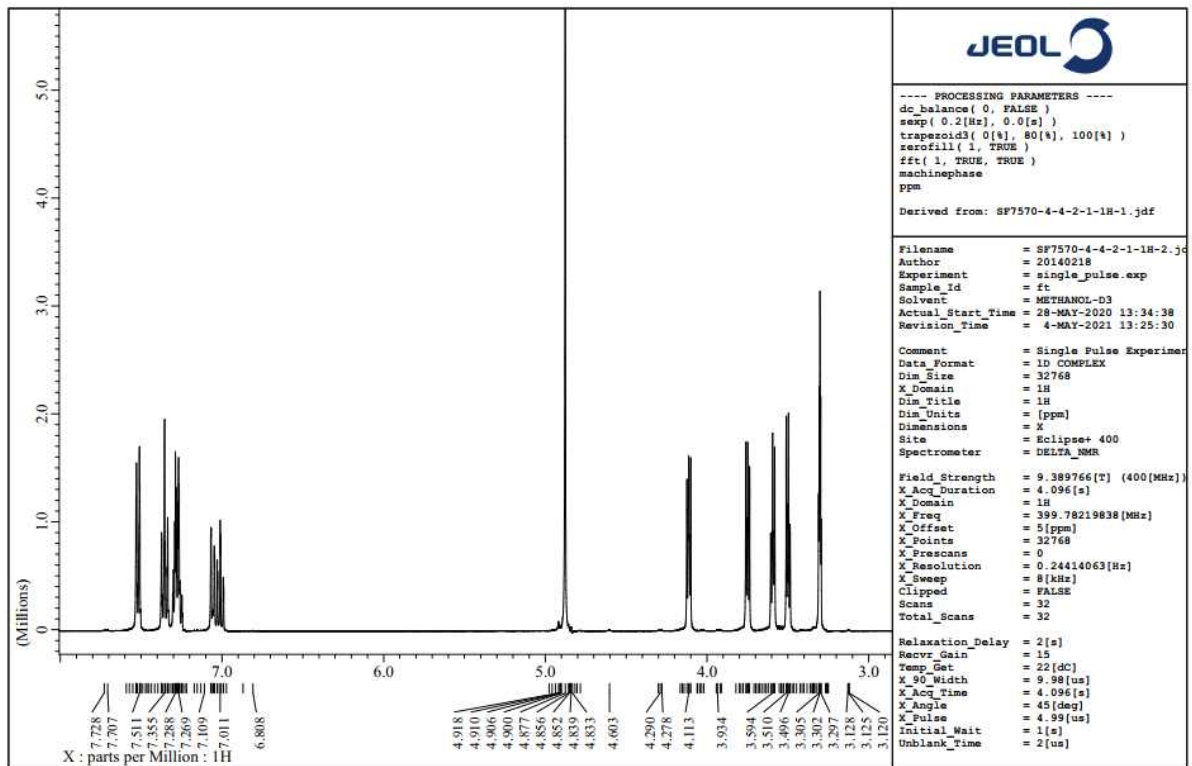


Figure 118. SF7570-4-4-2-1의 ^1H -NMR spectrum (Recorded in CD_3OD , 400MHz)

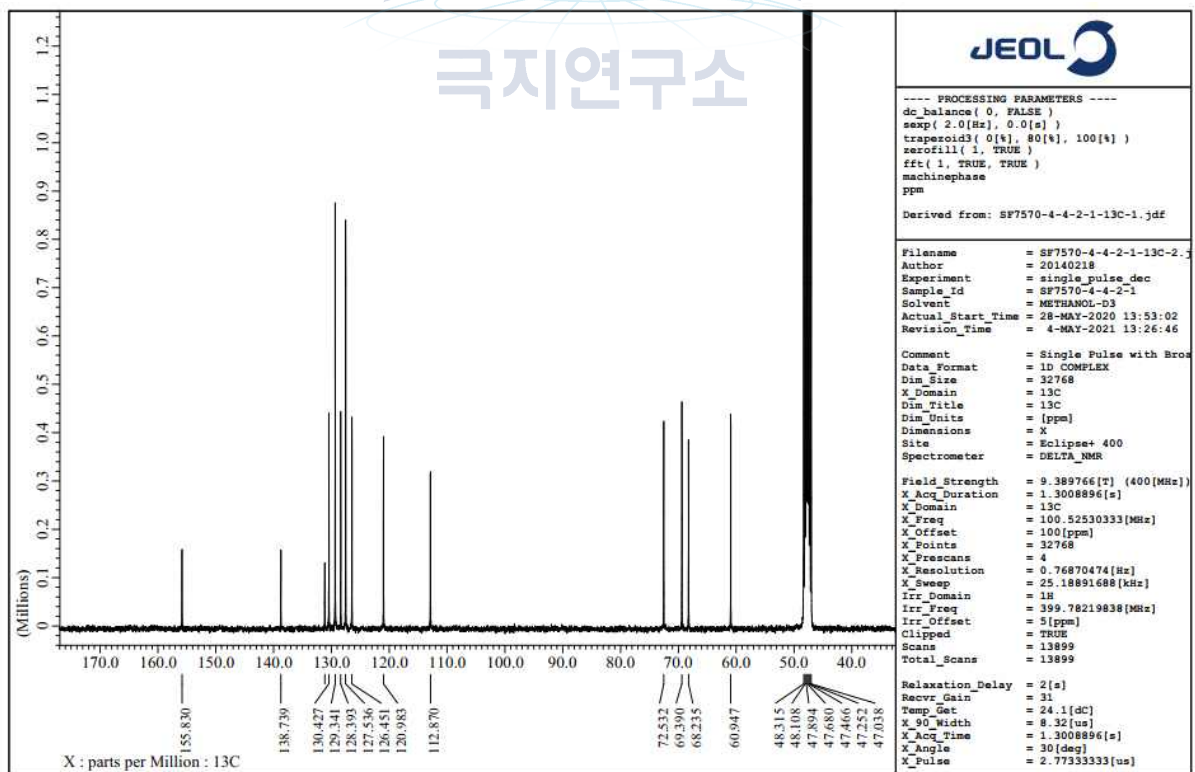


Figure 119. SF7570-4-4-2-1의 ^{13}C -NMR spectrum (Recorded in CD_3OD , 100 MHz)

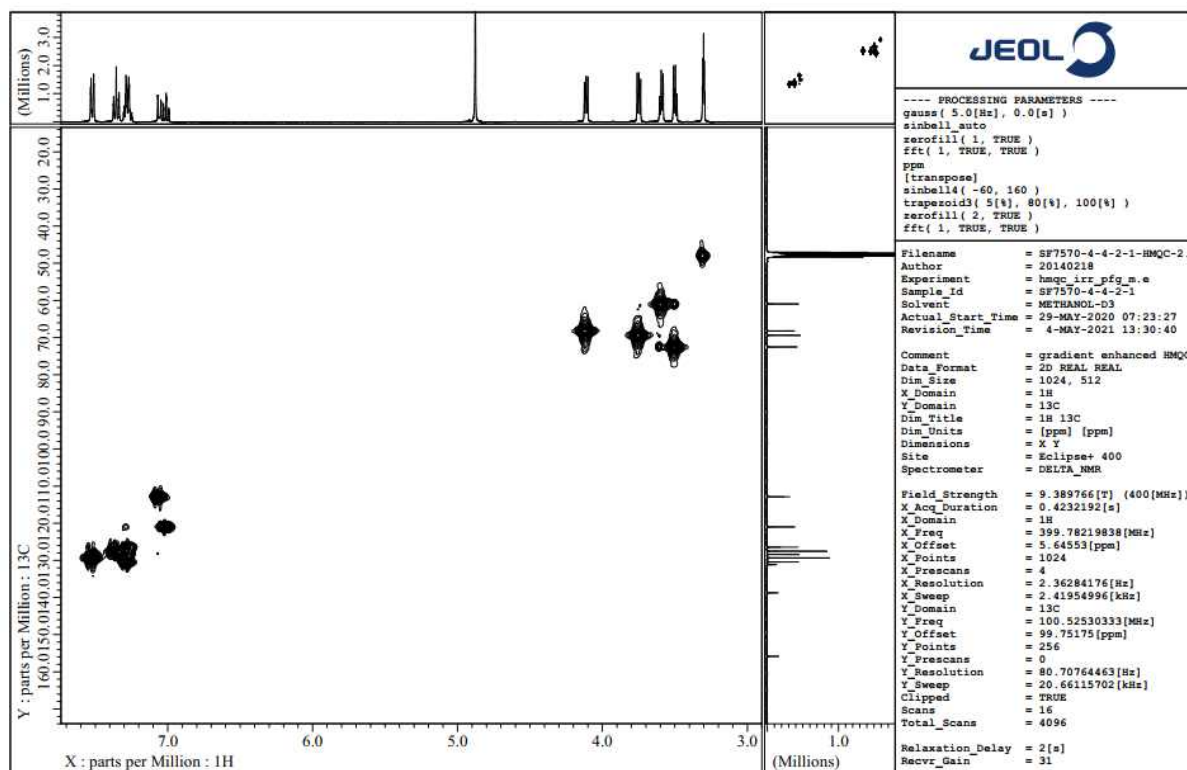


Figure 122. SF7570-4-4-2-1의 HMQC spectrum (Recorded in CD₃OD)

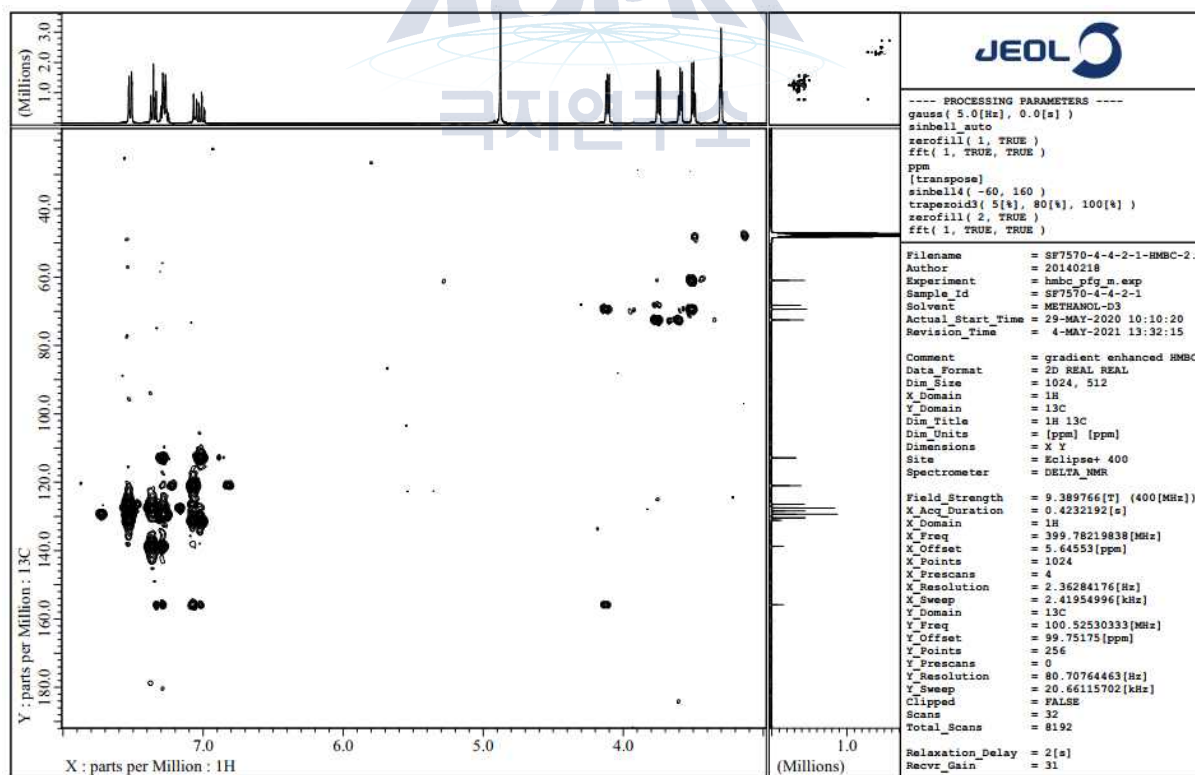


Figure 123. SF7570-4-4-2-1의 HMBC spectrum (Recorded in CD₃OD)

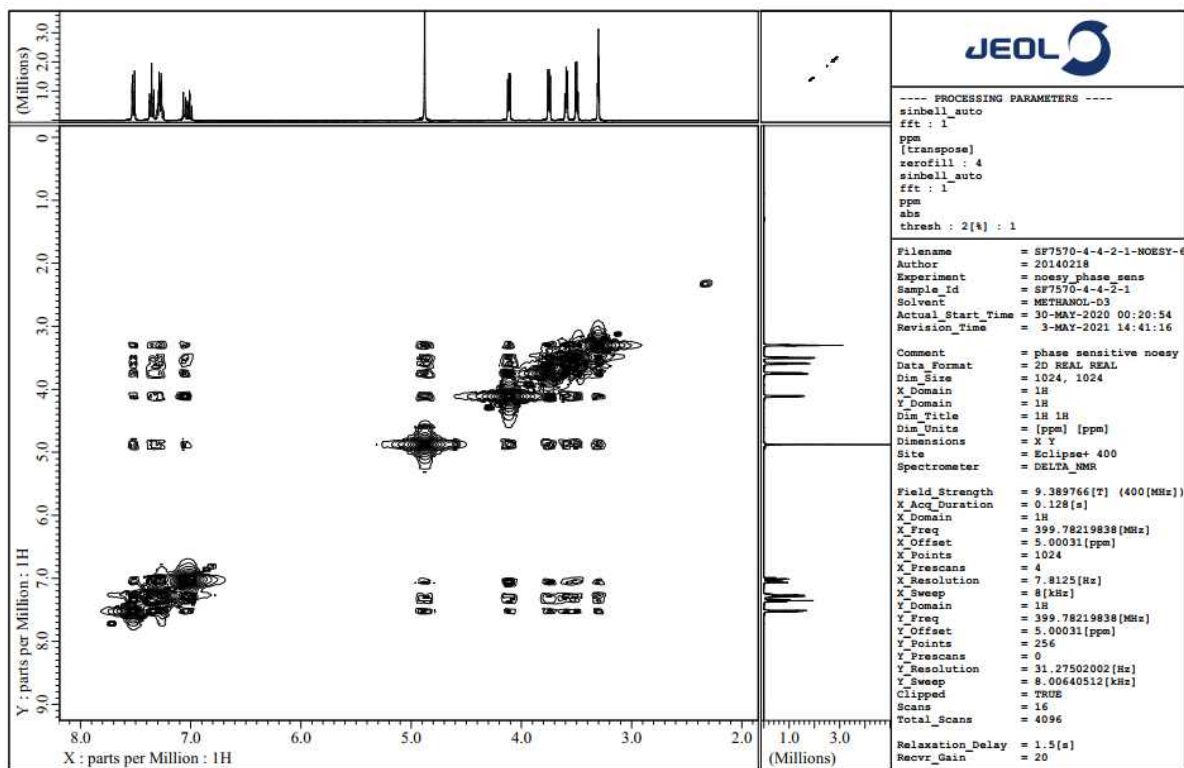


Figure 124. SF7351-3-1-4-2의 NOESY spectrum (Recorded in CD₃OD)

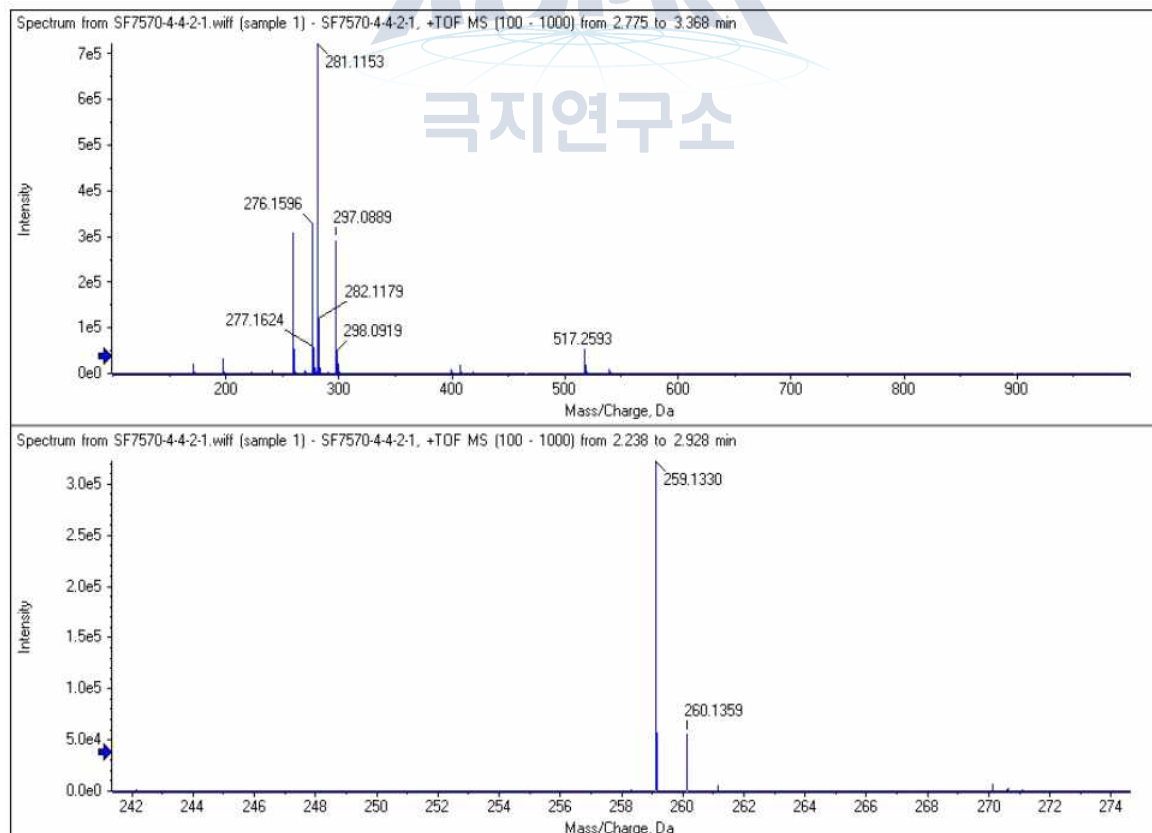


Figure 125. SF7570-4-4-2-1의 QToF-MS spectrum

2.2.2.2. SF7570-4-3-2의 구조 분석

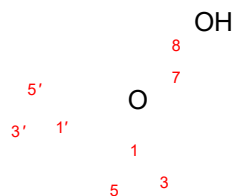


Figure 126. SF7570-4-3-2의 화학적 구조

SF7570-4-3-2는 하얀 무정형 가루형태이다. HR-ESI-MS 스펙트럼 (m/z $[M+H]^+$ 215.1062 (calcd. for $C_{14}H_{15}O_2^+$, 215.1067), 및 m/z $[M+Na]^+$ 237.0886 [calcd. for $C_{14}H_{14}NaO_2^+$, 237.0886]) 분석을 통해 분자식은 $C_{14}H_{14}O_2$ 로 확인되었다. 이 화합물은 천연물 연구에서 발견된 첫 사례이며, 본 연구에서는 Compound 2의 NMR data를 최초로 보고하였다.

Table 4. SF7570-4-3-2의 ^1H , ^{13}C NMR data

C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ mult. (J in Hz)
1	155.9	-
2	113.1	7.07 dd (1.1, 8.7)
3	128.4	7.30 m
4	121.0	7.02 m
5	130.5	7.30 m
6	131.2	-
7	70.0	4.04 m
8	60.4	3.78 m
1'	138.8	-
2'	127.6	7.36 m
3'	129.3	7.53 m
4'	126.4	7.26 m
5'	129.3	7.53 m
6'	127.6	7.36 m

^arecorded in CD_3OD , ^b100 MHz, ^c400 MHz

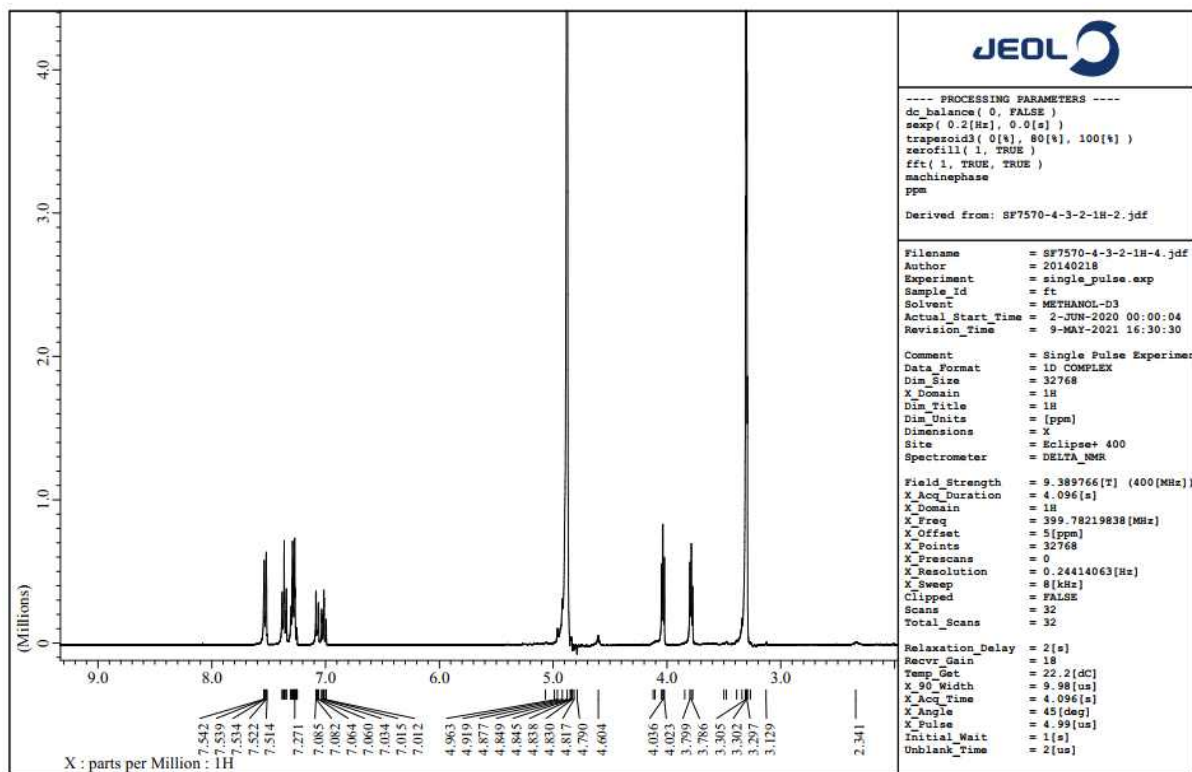


Figure 127. SF7570-4-3-2의 ^1H -NMR spectrum (Recorded in CD_3OD , 400 MHz)

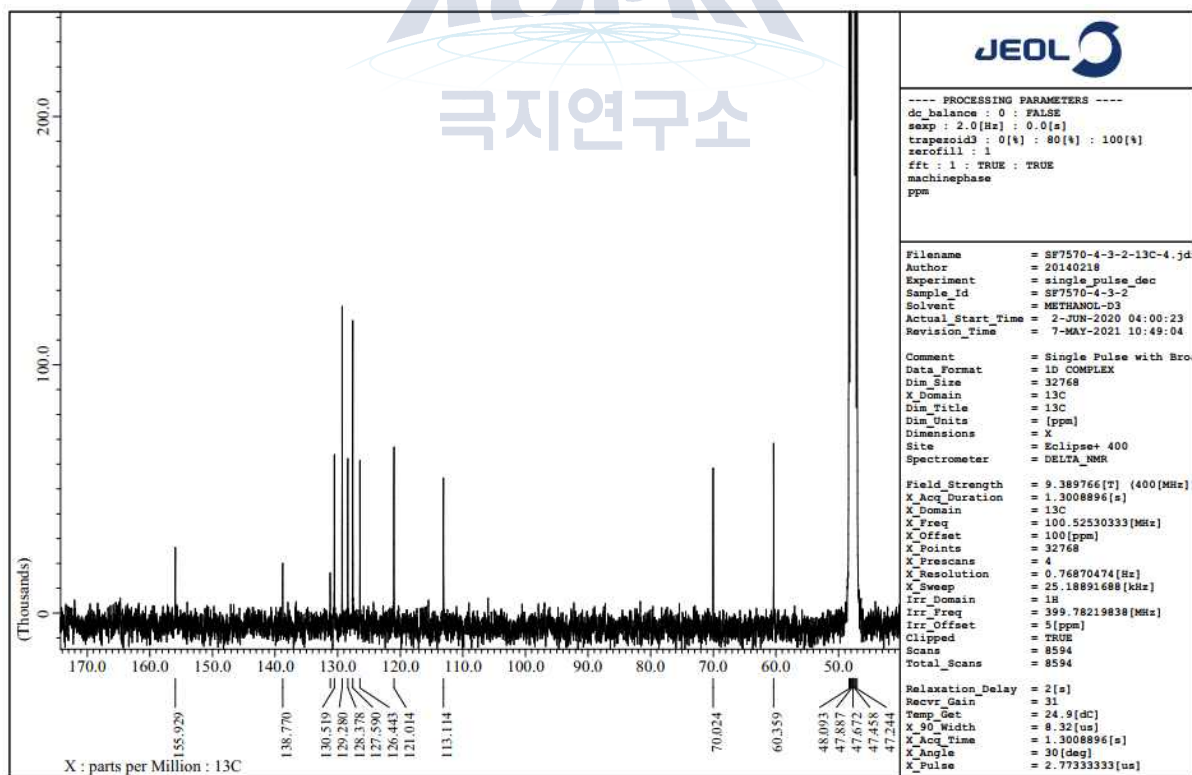


Figure 128. SF7570-4-3-2의 ^{13}C -NMR spectrum (Recorded in CD_3OD , 100 MHz)

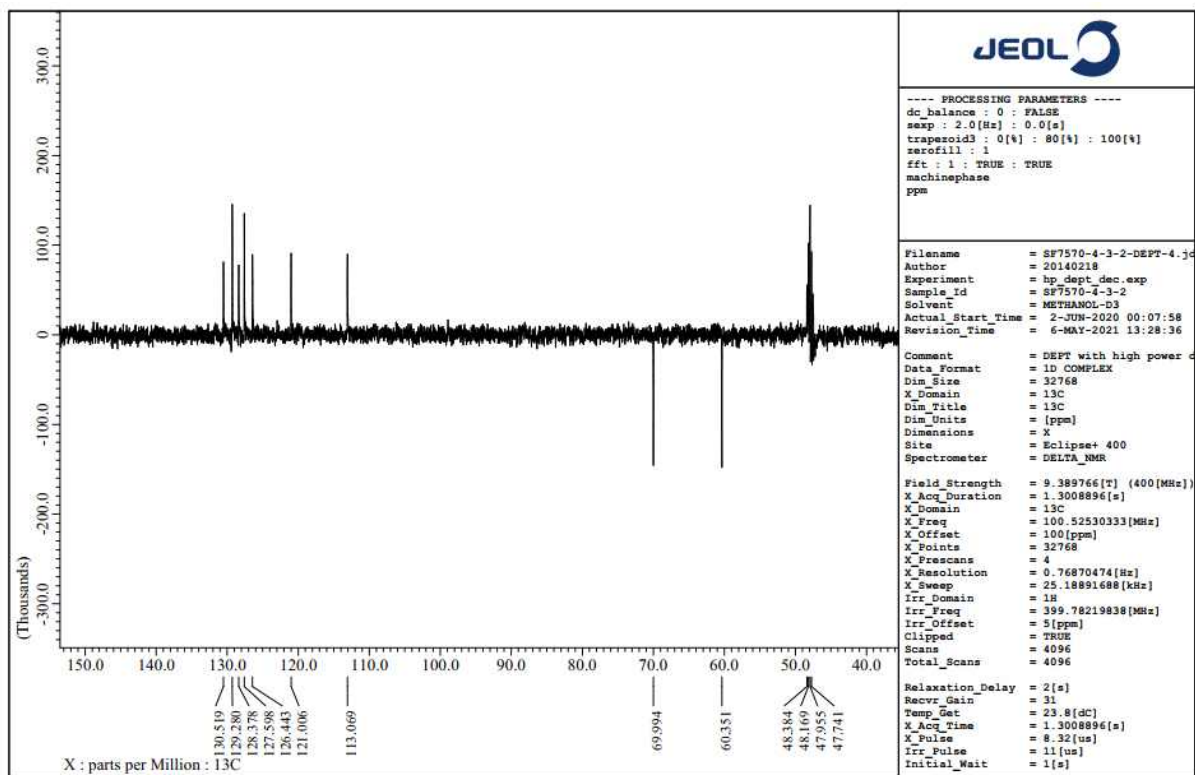


Figure 129. SF7570-4-3-2의 DEPT spectrum (Recorded in CD₃OD)

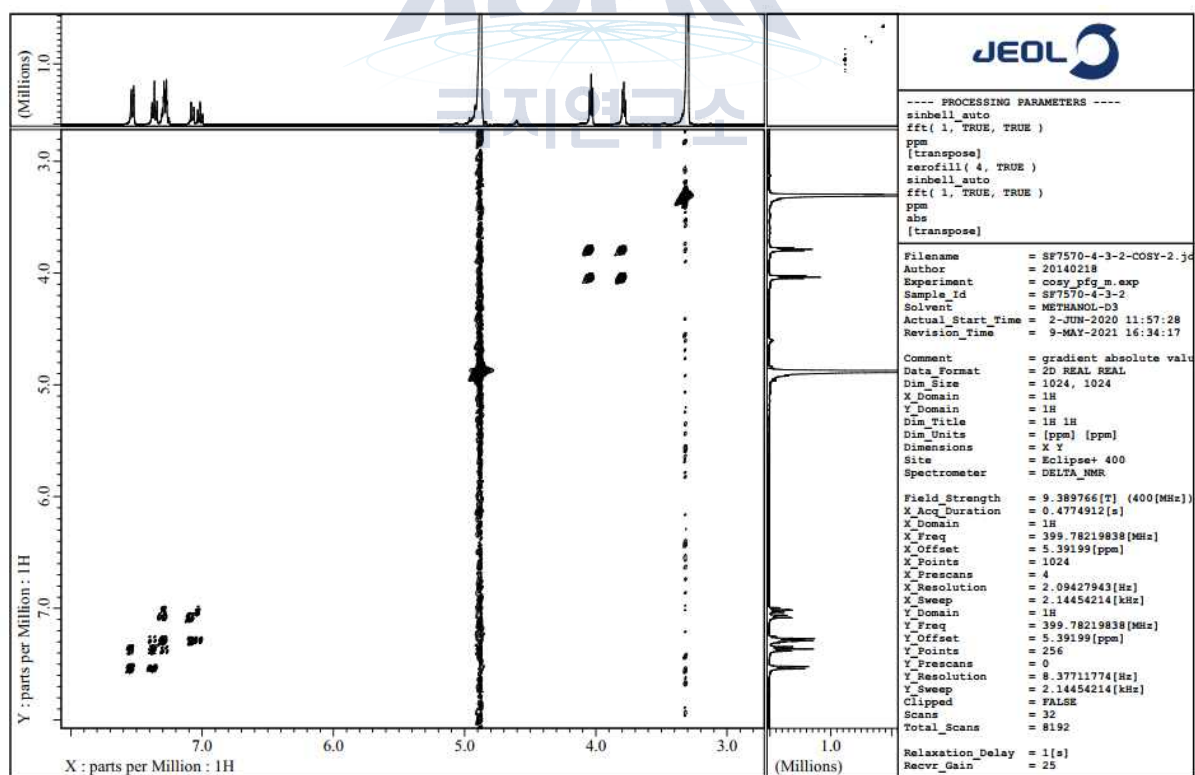


Figure 130. SF7570-4-3-2의 COSY spectrum (Recorded in CD₃OD)

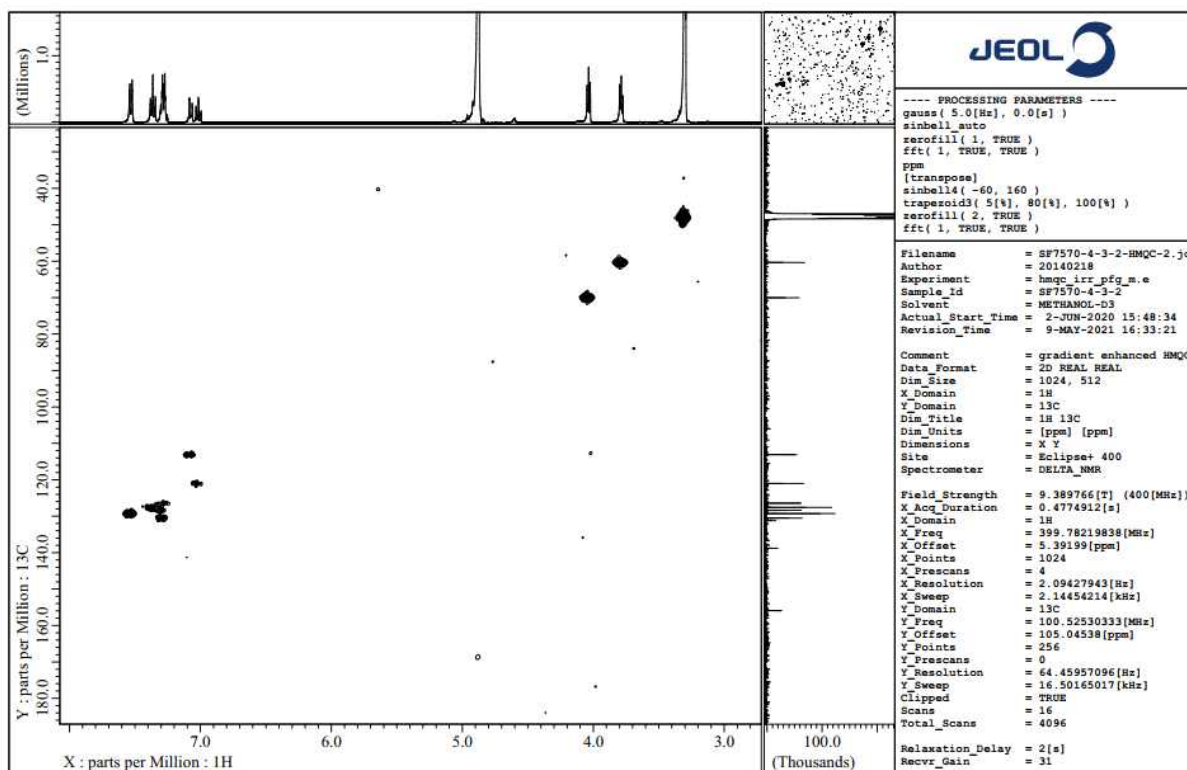


Figure 131. SF7570-4-3-2의 HMQC spectrum (Recorded in CD₃OD)

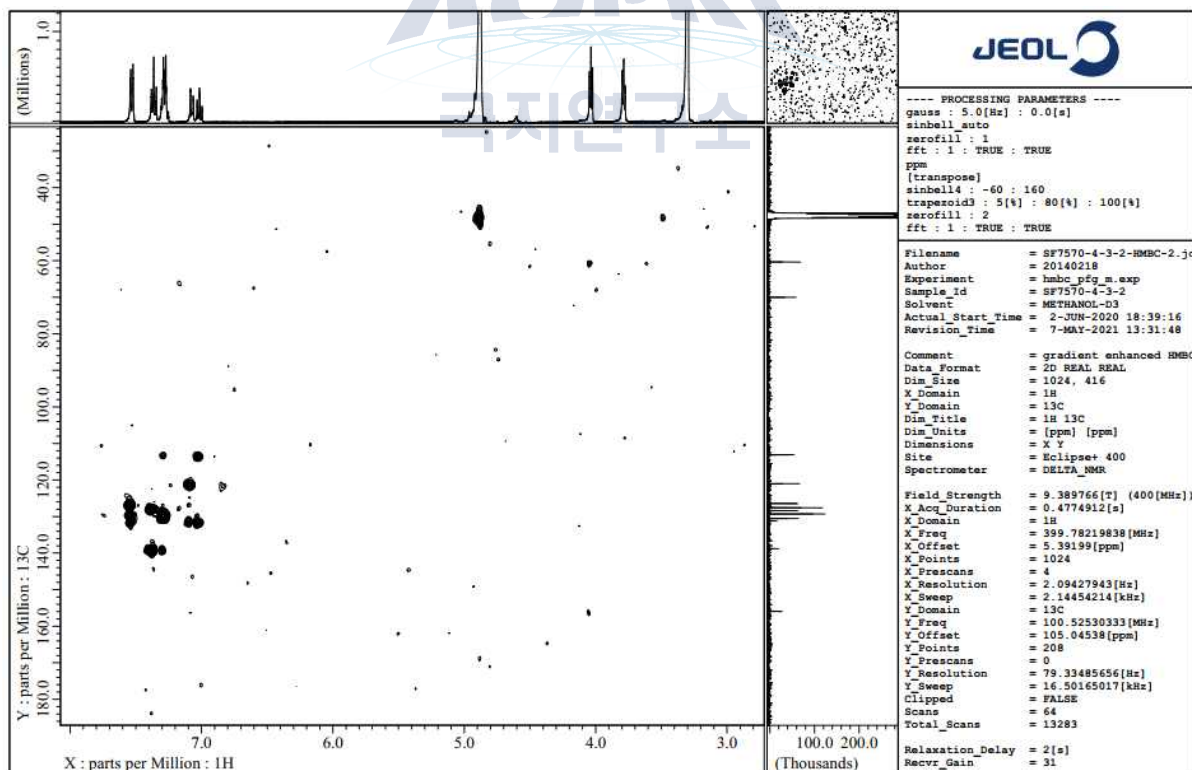


Figure 132. SF7570-4-3-2의 HMBC spectrum (Recorded in CD₃OD)

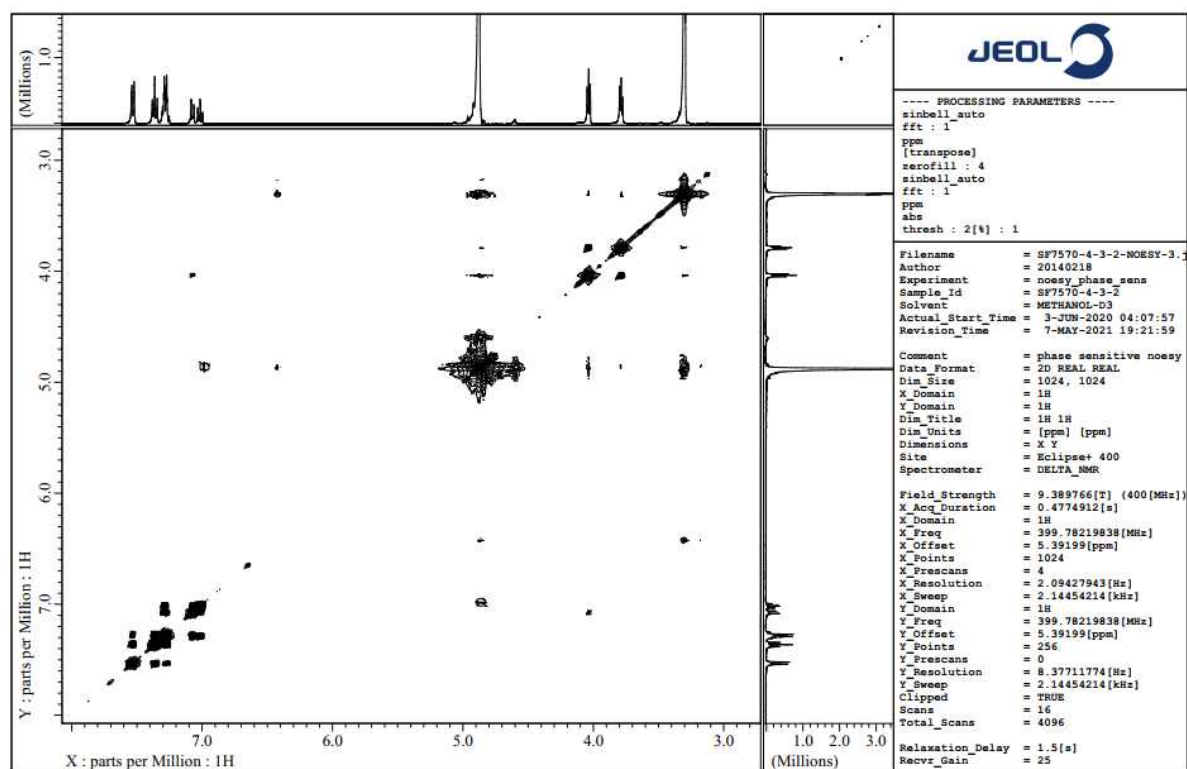


Figure 133. SF7570-4-3-2 NOESY spectrum (Recorded in CD₃OD)

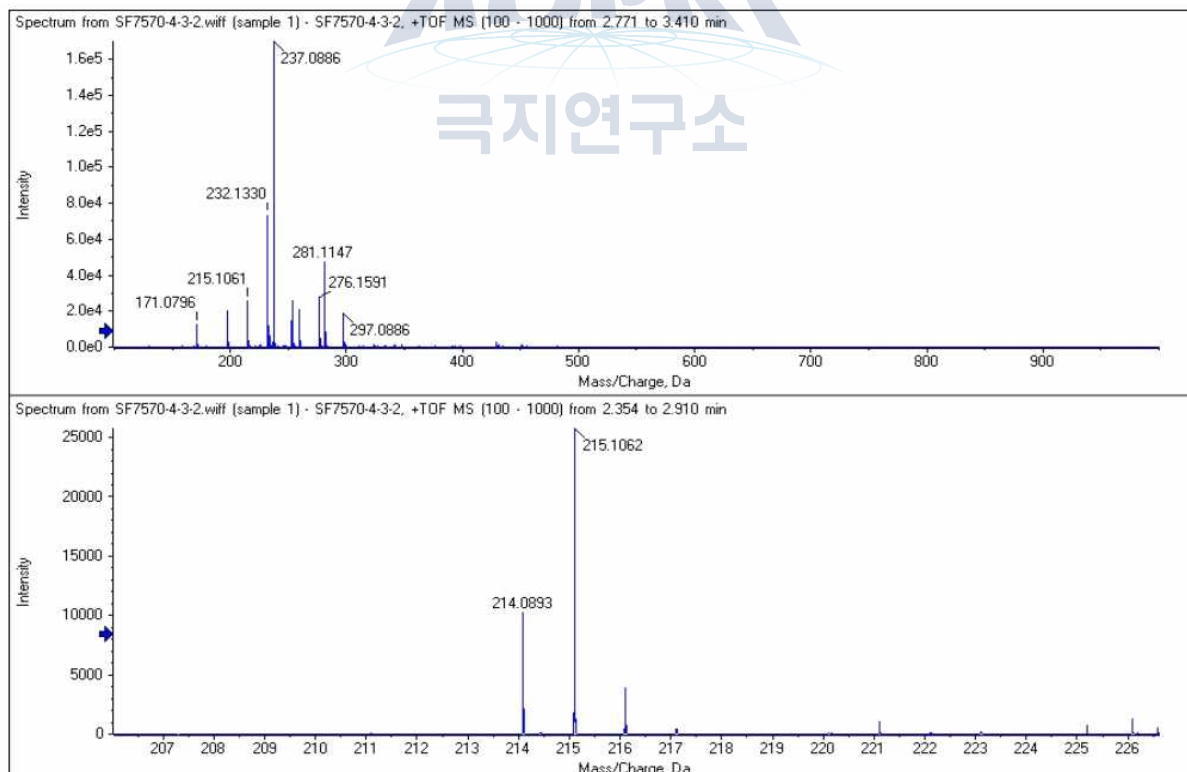


Figure 134. SF7570-4-3-2의 HR-QToF-MS spectrum

2.2.2.3. SF7570-4-5-3의 구조 분석

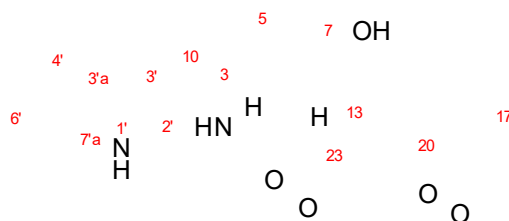


Figure 135. SF7570-4-5-3의 화학적 구조

SF7570-4-5-3은 하얀 무정형 가루형태이다. HR-ESI-MS (m/z $[M+H]^+$ 529.2706 [calcd. for $C_{32}H_{37}N_2O_5^+$, 529.2697], m/z $[M+Na]^+$ 551.2526 [calcd. for $C_{32}H_{36}N_2NaO_5^+$, 551.2516]) 분석을 통해 분자식은 $C_{32}H_{36}N_2O_5$ 으로 확인되었다. Compound 3의 ^1H , ^{13}C NMR data를 기준에 보고된 data와 비교를 통하여 SF7570-4-5-3은 chatoglobosin G [17]로 확인되었다.

Table 5. SF7570-4-5-3의 ^1H , ^{13}C NMR data

C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ mult. (J in Hz)	$^d\delta_C$
1	175.9	-	176.3
2			
3	58.6	3.51 m	58.5
4	50.7	2.91 m	52.5
5	127.0	5.10 m	127.0
6	136.8		134.9
7	68.4	3.78 d (10.0)	69.0
8	52.6	2.16 t (10.0)	54.2
9	61.7	-	62.5
10	31.7	2.55 dd (9.2, 14.2), 2.93 m	33.9
11	16.0	1.19 s	17.8
12	13.3	1.61 s	15.4
13	123.6	7.02 m	125.0
14	127.3	6.15 m	129.3
15	40.2	1.95 m, 2.43 m	40.8
16	32.4	3.24 m	33.9
17	156.7	6.08 m	156.9
18	135.3	-	133.1
19	197.4	-	198.1
20	205.6	-	206.9
21	33.3	2.30 m	34.4
22	37.7	3.19 m	38.9
23	208.9	-	210.3
1'			

2'	123.6	7.02 ddd (1.2, 5.6, 8.2)	123.4
3'	111.2	-	111.5
3'a	127.3	-	128.4
4'	117.8	7.48 m	119.2
5'	118.8	7.02 m	119.8
6'	123.6	7.02 m	122.3
7'	111.2	7.34 m	112.6
7'a	136.8	-	138.1
16'-Me	18.4	1.05 d (6.7)	19.6
18'-Me	9.1	1.81 d (1.3)	10.8

(^arecorded in CD₃OD, ^b100 MHz, ^c400 MHz, ^d δ_c of chaetoglobosin G [1])

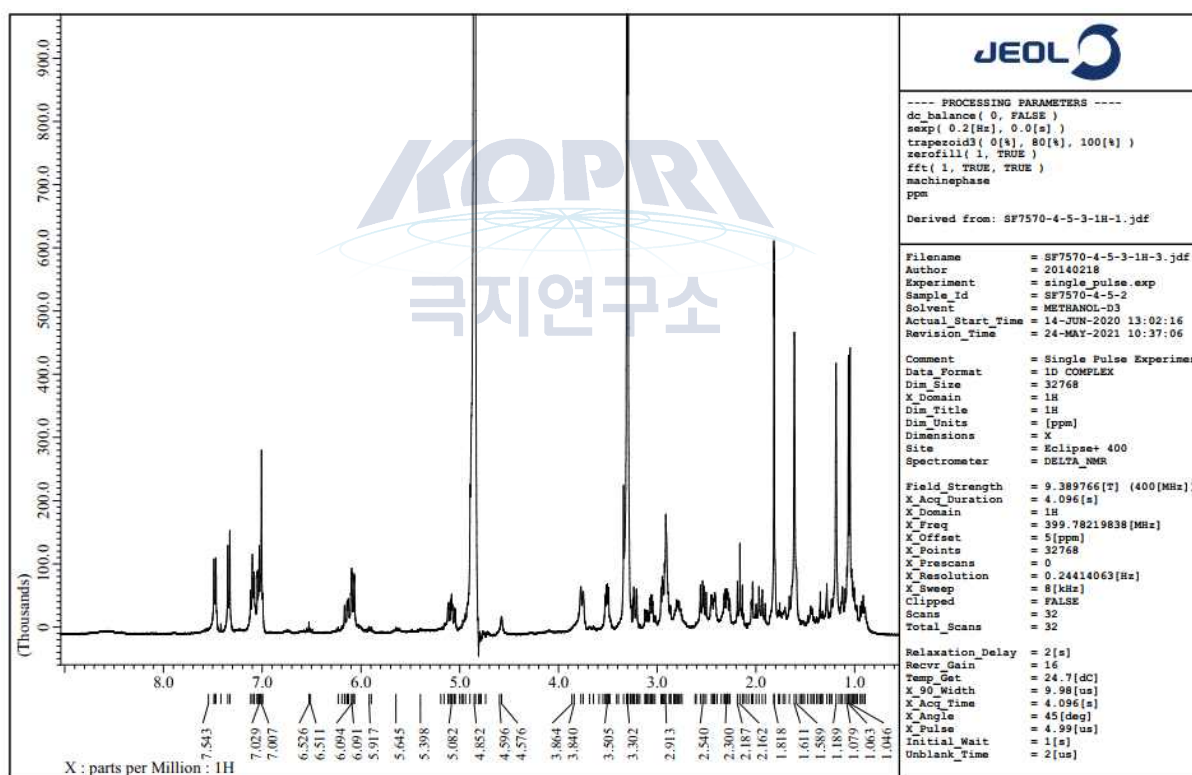


Figure 136. SF7570-4-5-3의 ¹H-NMR spectrum (Recorded in CD₃OD, 400 MHz)

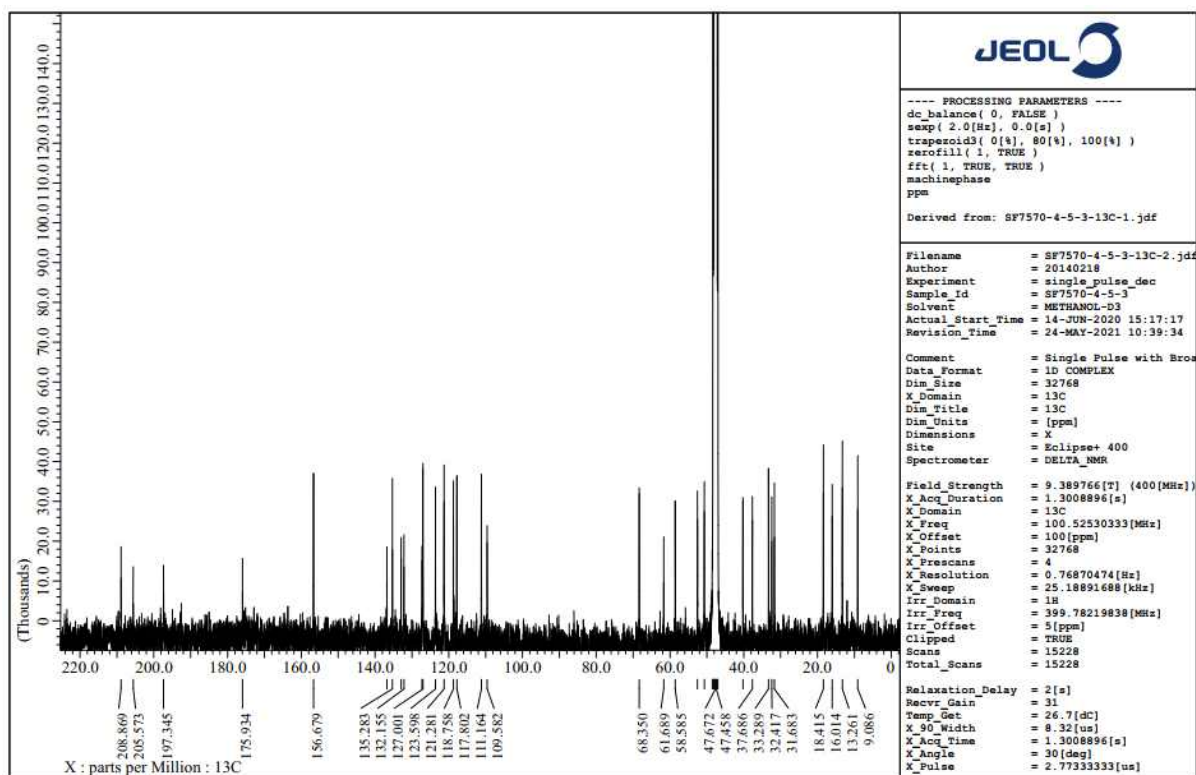


Figure 2.3.3. SF7570-4-5-3의 spectrum (Recorded in CD₃OD, 100 MHz)

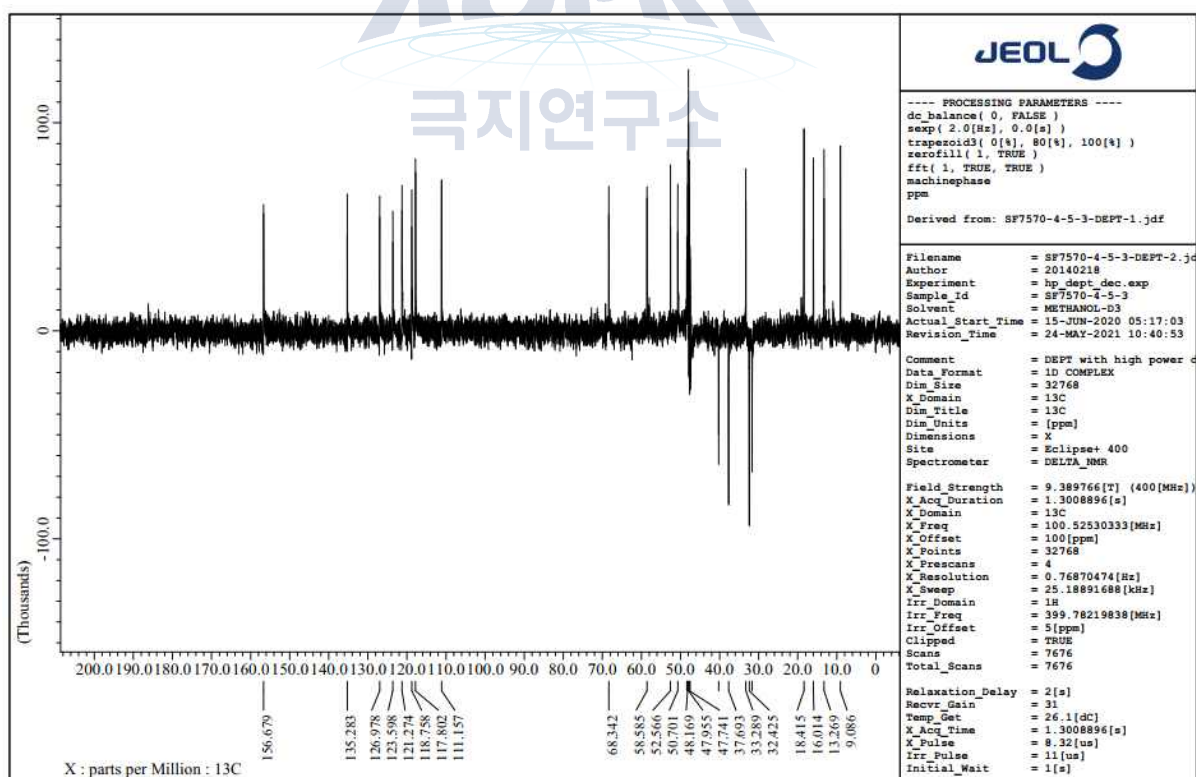


Figure 137. SF7570-4-5-3의 DEPT spectrum (Recorded in CD₃OD)

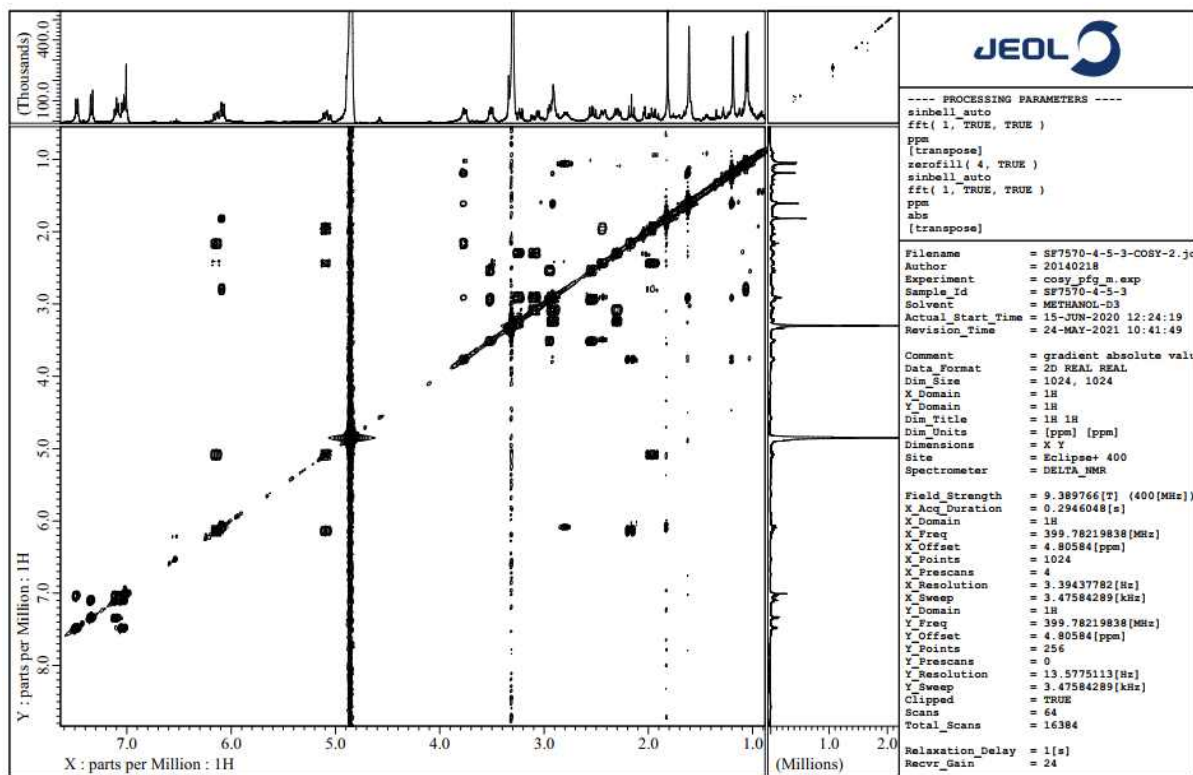


Figure 138. SF7570-4-5-3의 COSY spectrum (Recorded in CD₃OD)

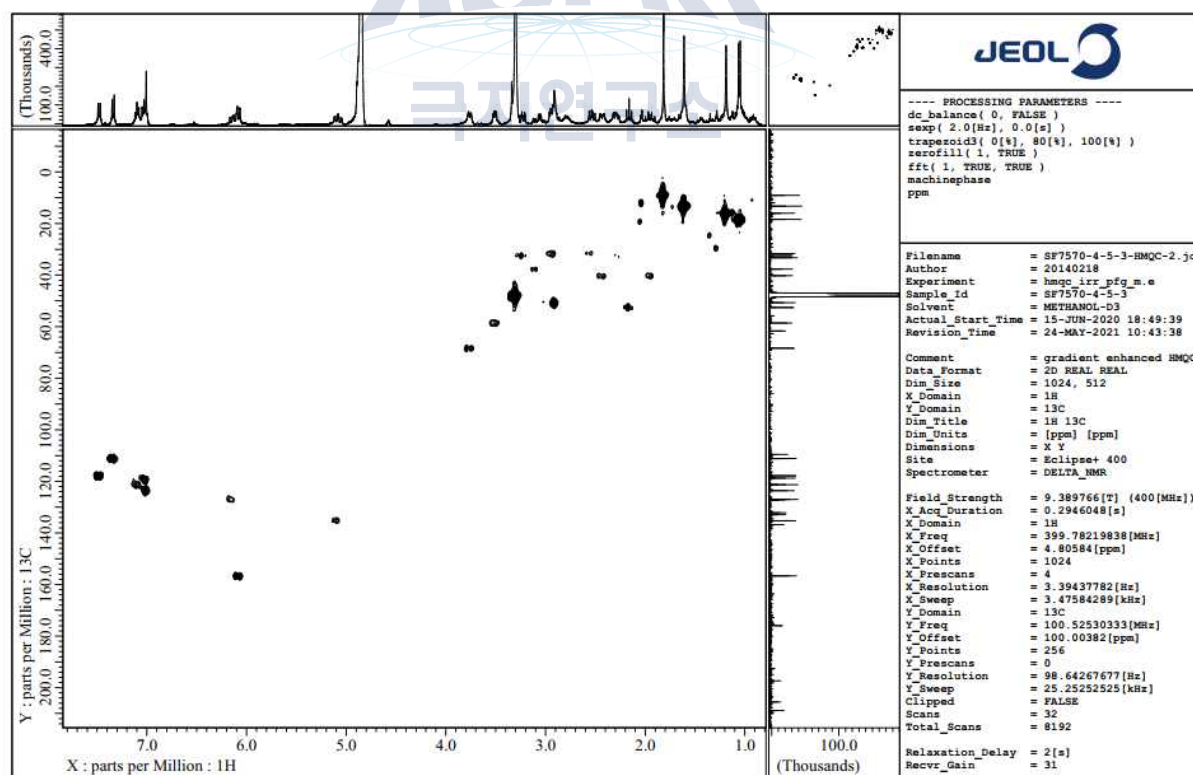


Figure 139. SF7570-4-5-3의 HMQC spectrum (Recorded in CD₃OD)

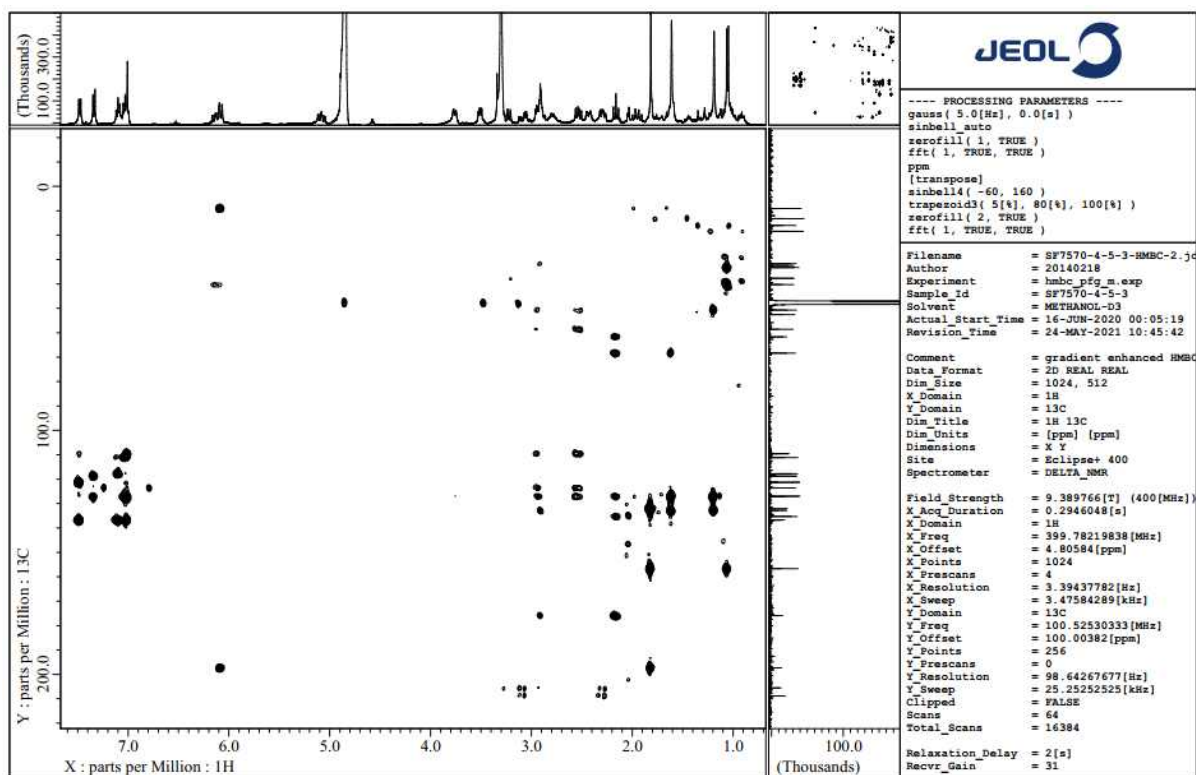


Figure 140. SF7570-4-5-3의 HMBC spectrum (Recorded in CD₃OD)

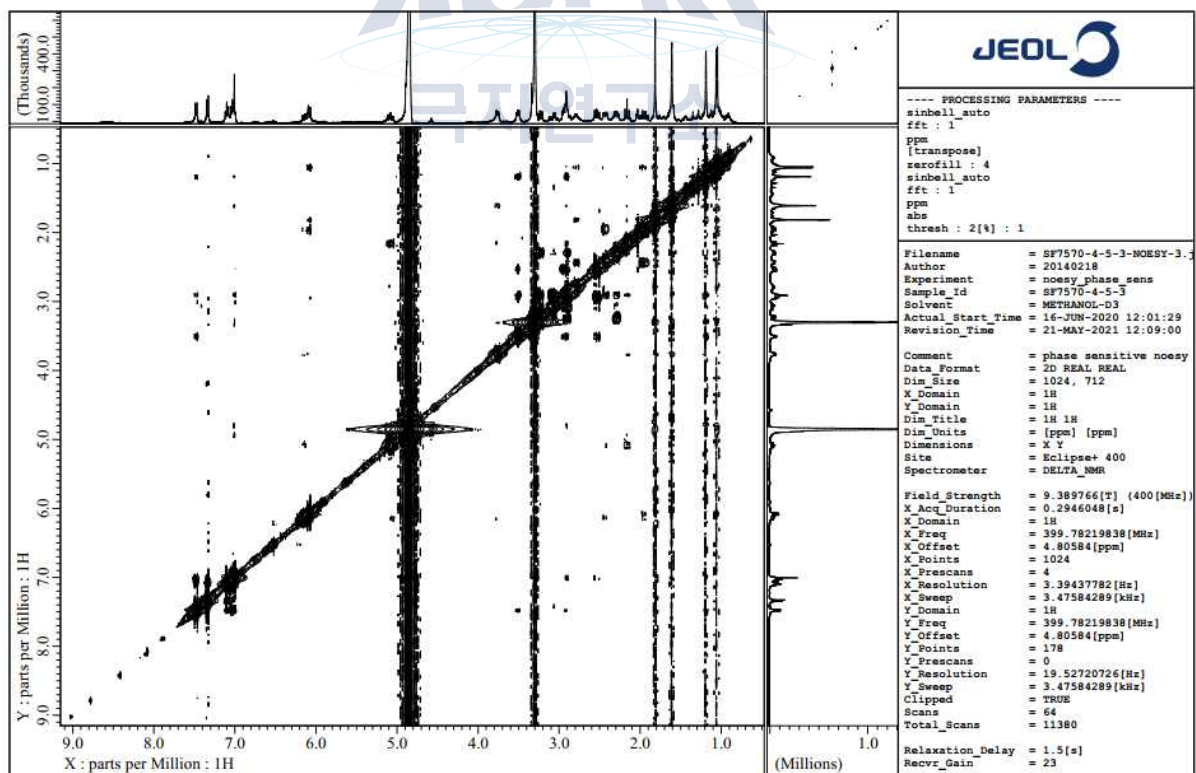


Figure 141. SF7570-4-5-3의 NOESY spectrum (Recorded in CD₃OD)

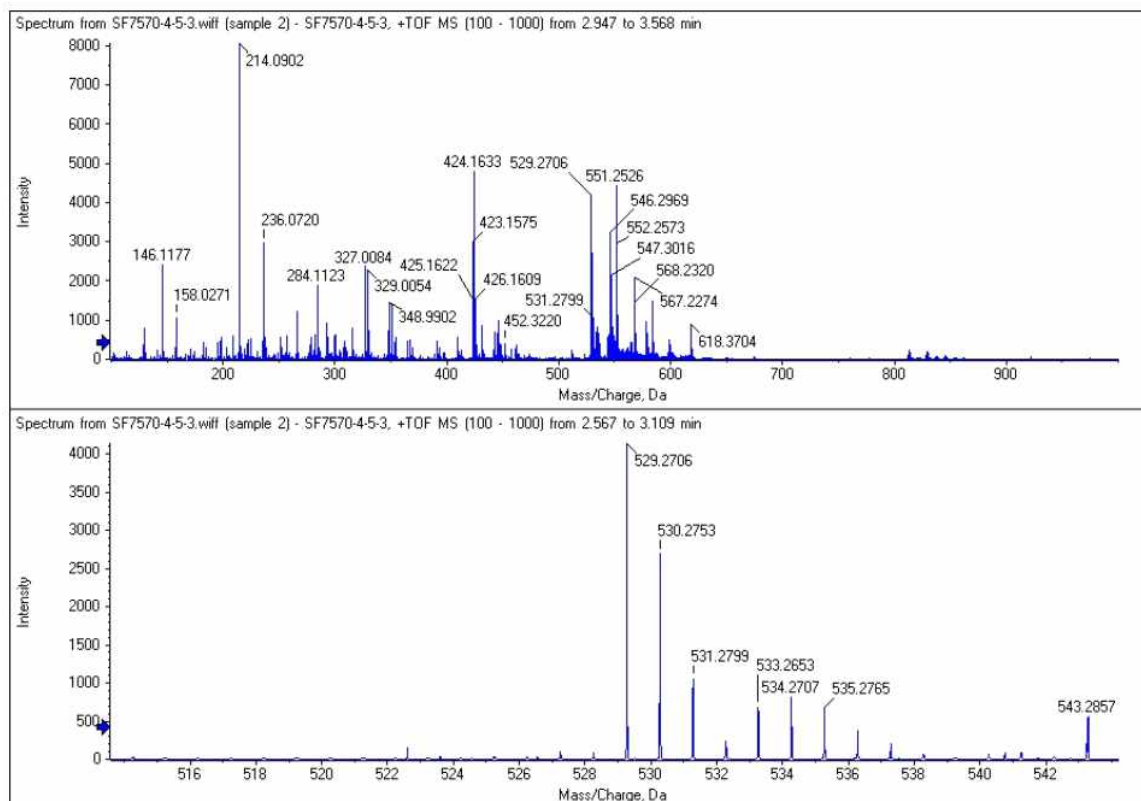


Figure 142. SF7570-4-5-3의 HR-QToF-MS spectrum

2.2.2.4. SF7570-4-5-7의 구조 분석

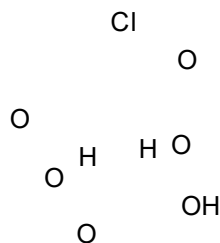


Figure 143. SF7570-4-5-7의 화학적 구조

SF7570-4-5-7는 하얀 무정형 가루형태이다. HR-ESI-MS 스펙트럼(m/z $[M+H]^+$ 435.1576 [calcd. for $C_{23}H_{28}ClO_6^+$, 435.1569], m/z $[M+Na]^+$ 457.1390 [calcd. for $C_{23}H_{27}ClNaO_6^+$, 457.1388]) 분석을 통해 분자식은 $C_{23}H_{27}ClO_6$ 으로 확인되었다. DEPT 및 HMQC 실험으로 1개의 primary methyl 작용기는 (C-13), 3개의 secondary methyl은 (11-CH₃, 4-CH₃ and C-6), 1개의 tertiary methyl은(7-CH₃), 1개의 methylene은 (C-12), 4개의 sp^2 -hybridized methine은 (C-1, C-4, C-9, C-10), 산소를 포함한 carbon은 (C-1), 5개의 sp^3 - methine은 (C-8, C-11, C-2, C-4, C-5), 1개의 oxymethine은 (C-5), 2개의 산소를 포함한 quaternary sp^3 -carbon은 (C-7, C-3), hemiacetal carbon은 (C-3), 4개의 quaternary sp^2 -carbon은 (C-3, C-4a, C-5, C-8a), 2개의 carbonyl은 (C-6, C-1)에 나타났다. Compound 4 (SF7570-4-5-7)는 ^1H , ^{13}C NMR 및 COSY, HMBC data를 분광 분석을 바탕으로 chaetomugilin D [18]로 확인되었다.

Table 6. SF7570-4-5-7 의 ^1H , ^{13}C NMR data

C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ mult. (J in Hz)	$^d\delta_C$
1	146.2	7.44 s	145.6
3	158.2	-	157.7
4	104.5	6.68 s	105.0
4a	140.9	-	140.5
5	109.7	-	110.0
6	189.3	-	189.2
7	83.3	-	83.9
8	49.3	3.33 td (6.6, 4.5)	50.5
8a	114.7	-	114.3
9	120.4	6.26 d (15.8)	120.2
10	146.2	6.56 m	146.9
11	38.8	2.27 m	38.9
12	29.0	1.46 m	29.2
13	10.7	0.91 t (7.5)	11.7
7-CH ₃	22.2	1.34 d (6.6)	23.3

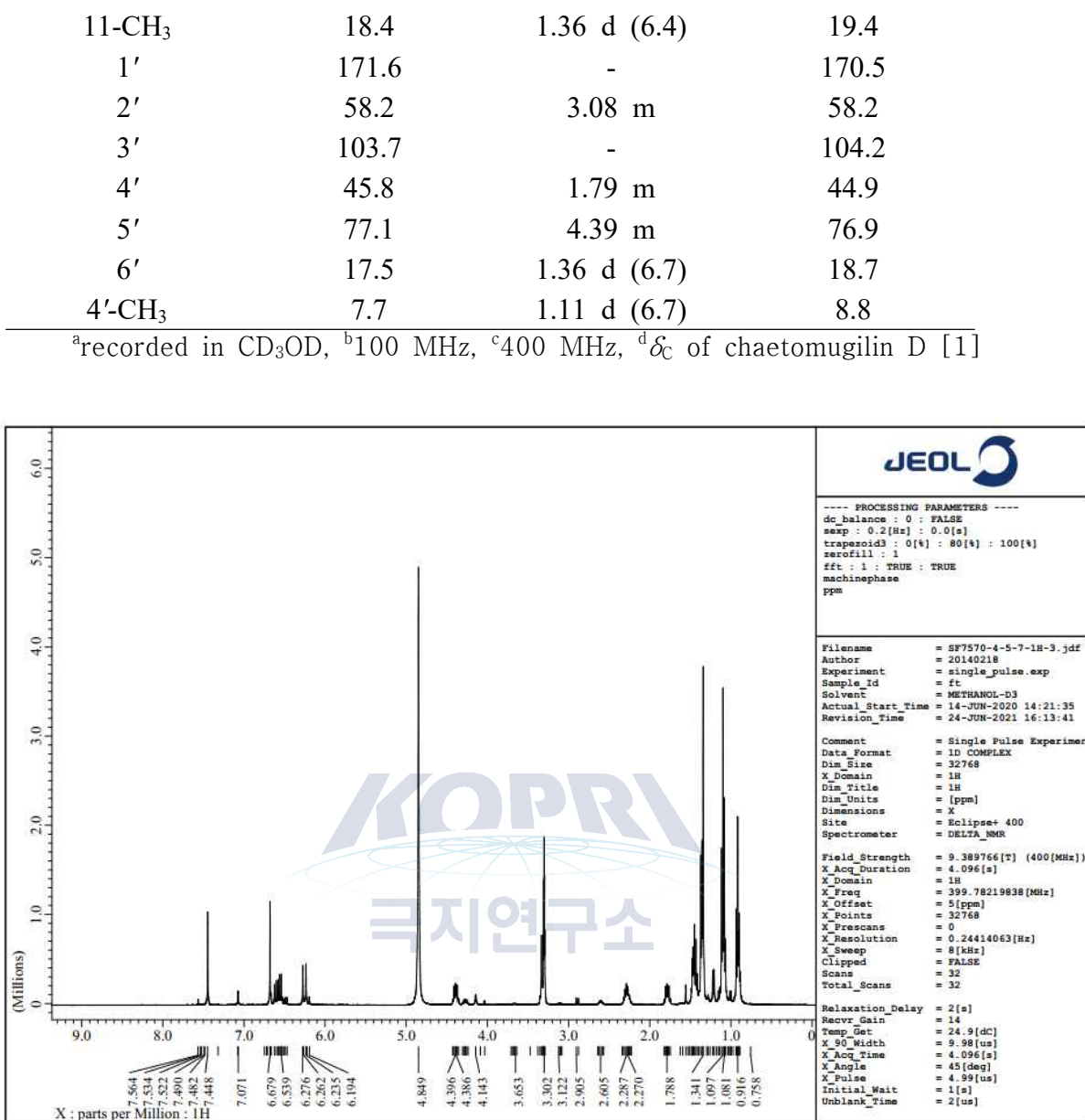


Figure 144. SF7570-4-5-7의 ¹H NMR spectrum (Recorded in CD₃OD, 400 MHz)

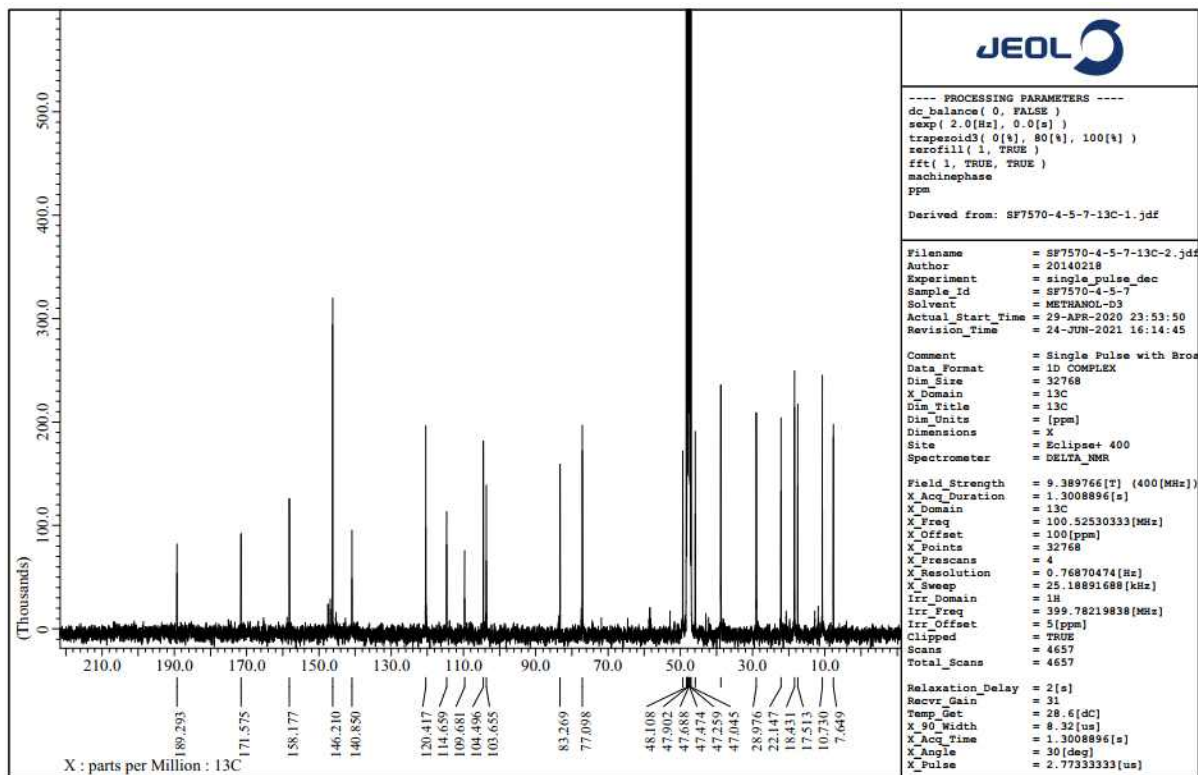


Figure 145. SF7570-4-5-7의 ^{13}C NMR spectrum (Recorded in CD_3OD , 100 MHz)

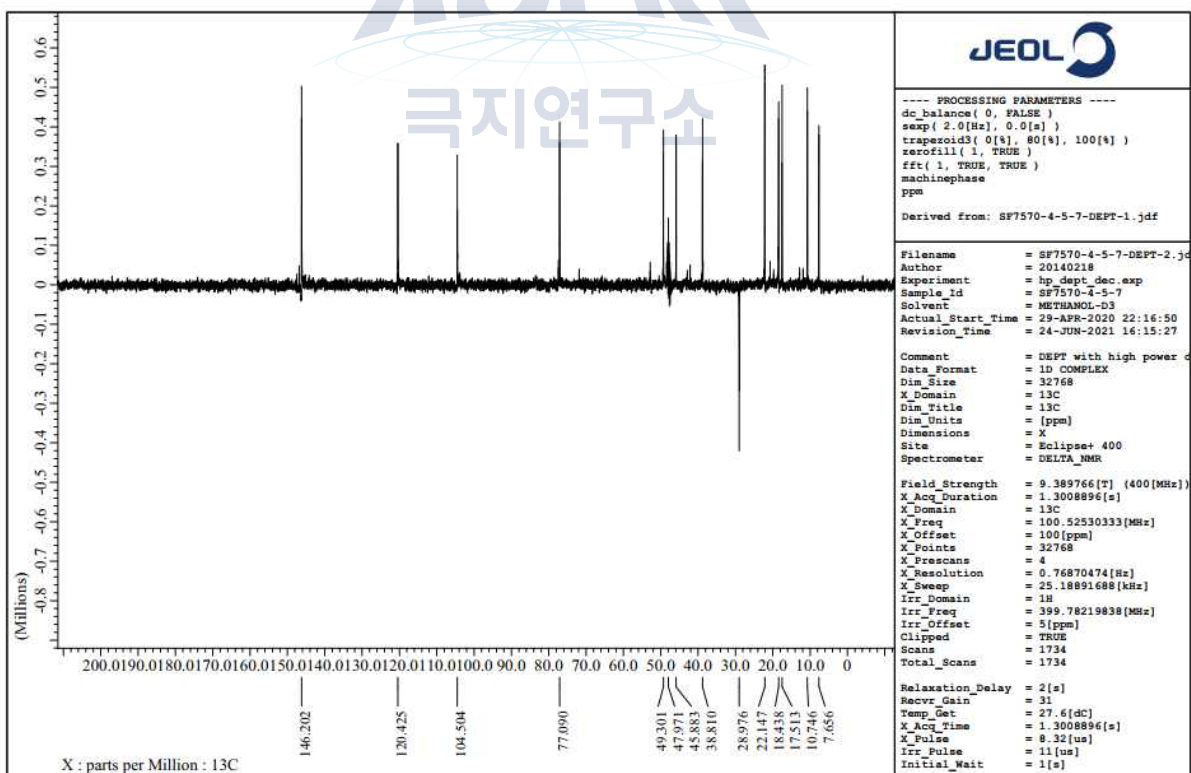


Figure 146. SF7570-4-5-7의 DEPT spectrum (Recorded in CD_3OD)

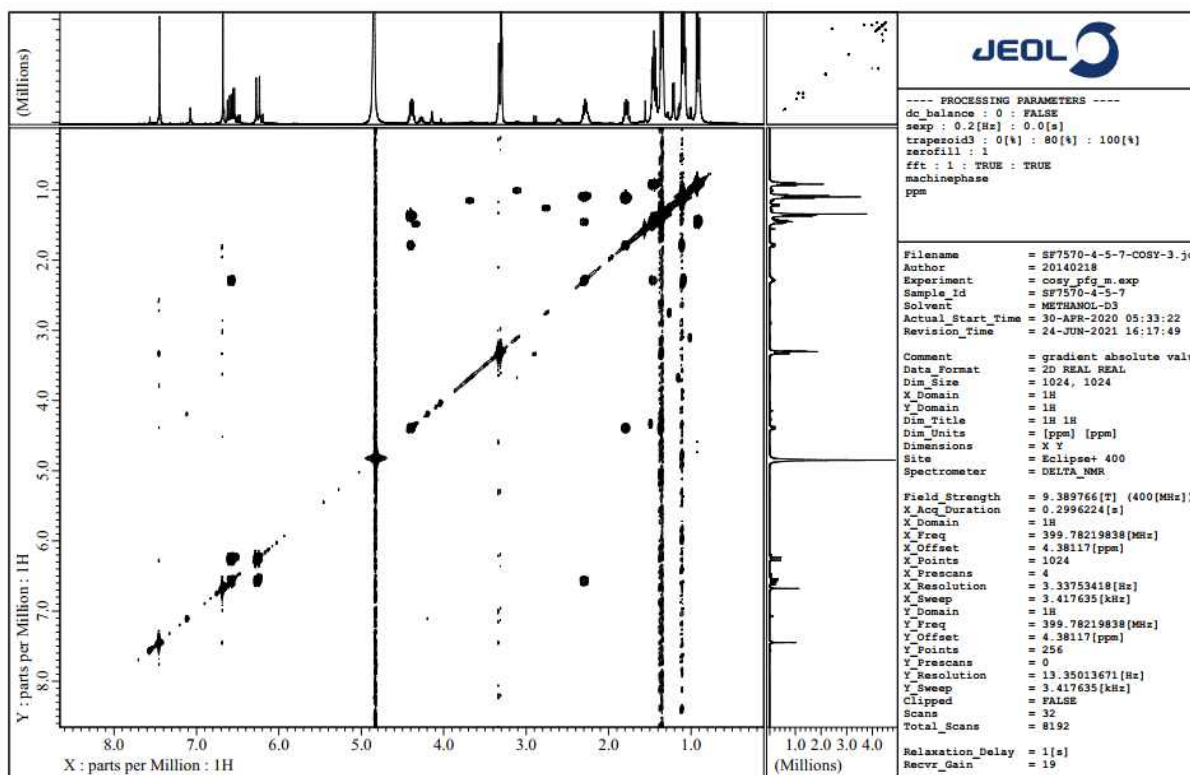


Figure 147. SF7570-4-5-7의 COSY spectrum (Recorded in CD₃OD)

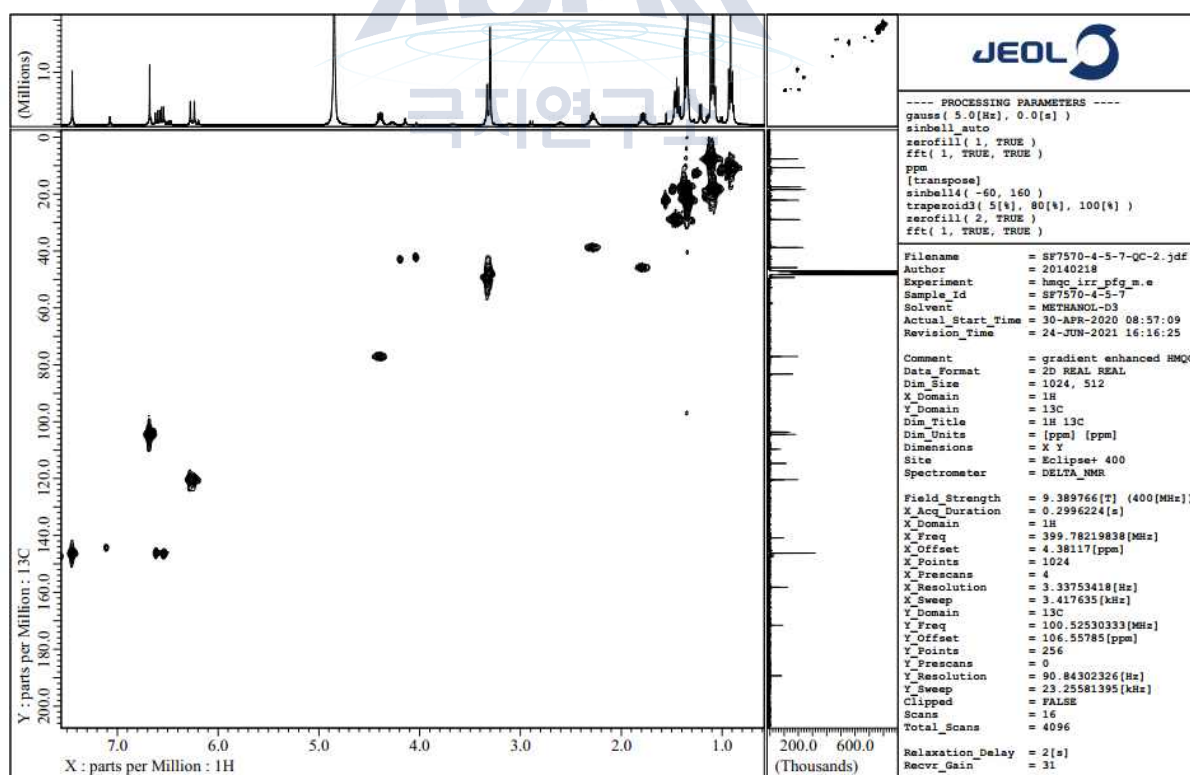


Figure 148. SF7570-4-5-7의 HMQC spectrum (Recorded in CD₃OD)

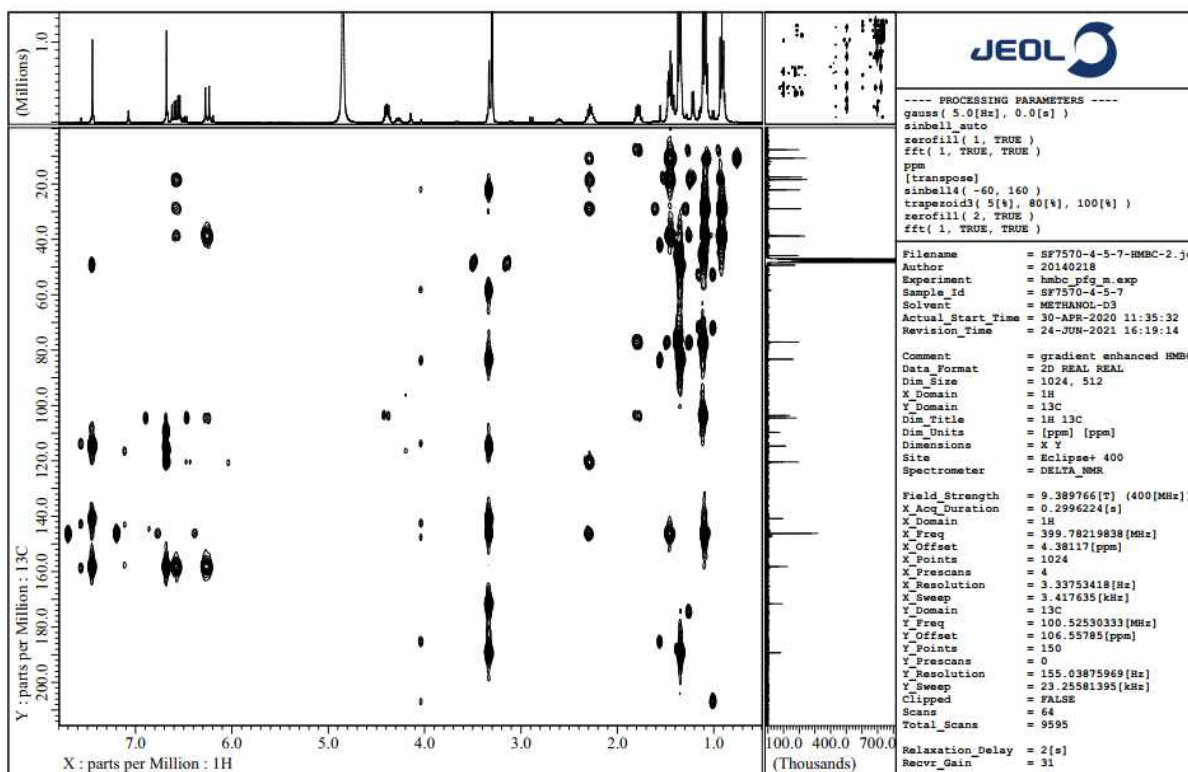


Figure 149. SF7570-4-5-7의 HMBC spectrum (Recorded in CD₃OD)

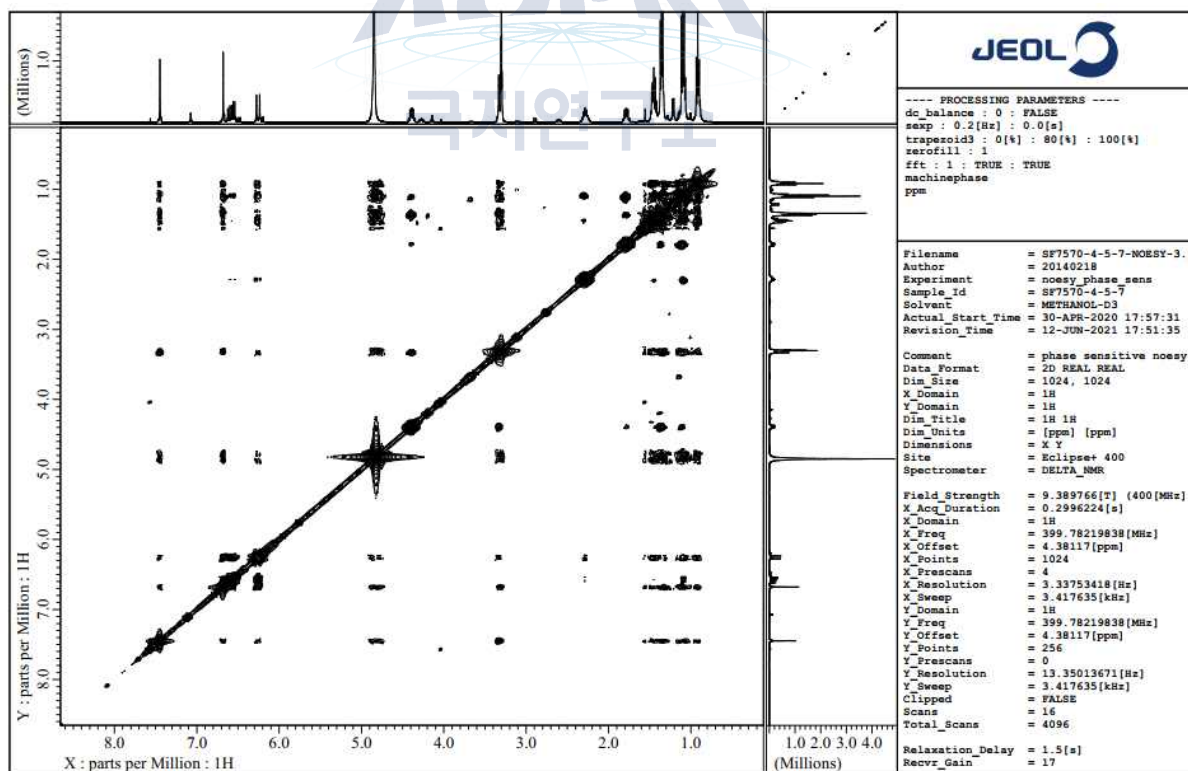


Figure 150. SF7570-4-5-7의 NOESY spectrum (Recorded in CD₃OD)

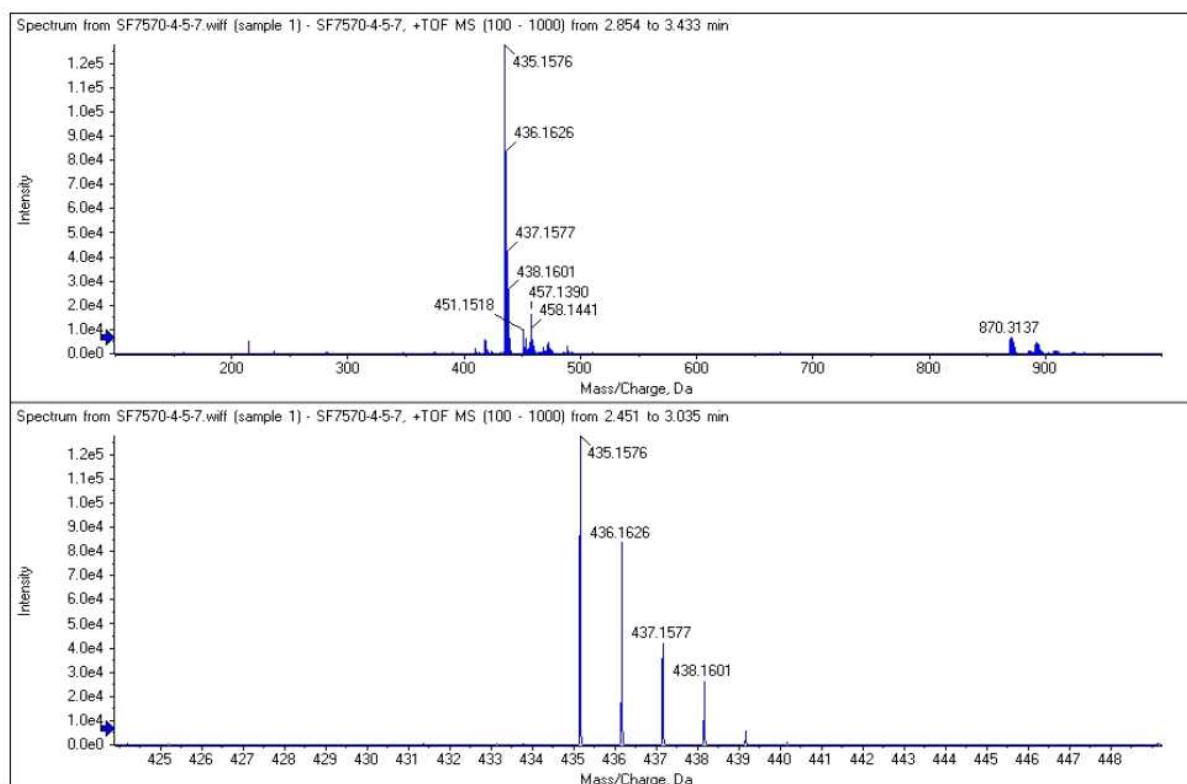


Figure 151. SF7570-4-5-7의 HR-QToF-MS spectrum

[별첨 2-2-3] 극지생물 유래 진균 SF7573로부터 분리된 이차대사물질의 구조분석

2.2.3.1. SF7573-4-5-3 구조 분석

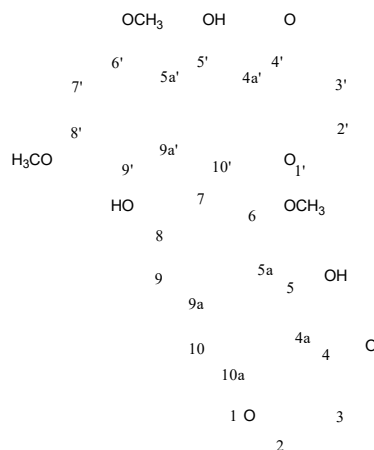


Figure 152. SF7573-4-5-3의 화학적 구조

SF7573-4-5-3은 노란 가루 형태이다. HR-ESI-MS 스펙트럼 (m/z $[M + H]^+$ 557.151 [calcd. 557.1448]) 분석을 통해 분자식은 $C_{31}H_{24}O_{10}$ 으로 확인되었다. ^1H , ^{13}C NMR data를 통해 31개의 carbon signal이 나타났으며, 2개의 carbonyl carbon은 [δ_C 183.9, 184.0]에서 나타났고 2개의 methyl은 [δ_H 2.42 (s, CH_3 -2), δ_H 2.14 (s, CH_3 -2'); δ_C 20.6, 20.2]에서 나타났다. 3개의 methoxy group은 [δ_H 3.37 (s, OCH_3 -6), 3.93 (s, OCH_3 -6'), 3.58 (s, OCH_3 -8'); δ_C 61.5, 56.1, 55.1]에서 나타났고 6개의 aromatic hydrogen은 [δ_H 6.21 (s, H-3), 7.12 (s, H-9), 7.27 (s, H-10), 6.23 (s, H-3'), 6.55 (d, $J = 2.2$, H-7'), 6.15 (d, $J = 2.2$, H-9'); δ_C 106.6, 105.3, 100.4, 106.8, 96.5, 96.8]에서 나타났다. ^1H , ^{13}C NMR data를 통해 SF7573-4-5-3은 (*aS*)-dianhydro-aurasperone C [19]로 확인되었으며, 1D (^1H , ^{13}C , DEPT NMR), 2D (HMQC, HMBC) data (recorded in $CDCl_3$)와도 일치를 보였다.

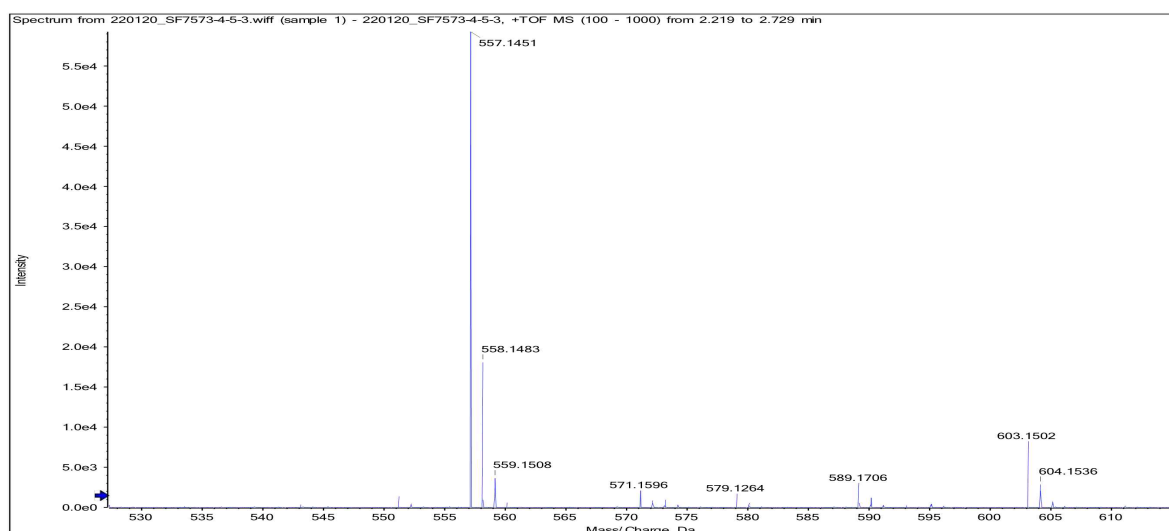


Figure 153. SF7573-4-5-3의 MS spectrum

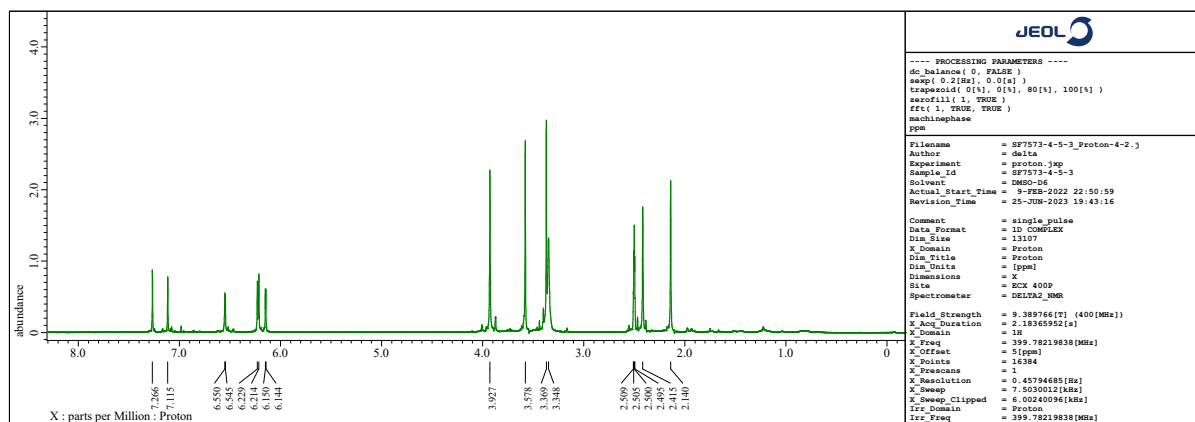


Figure 154. SF7573-4-5-3의 ^1H NMR spectrum (Recorded in $\text{DMSO}-d_6$)

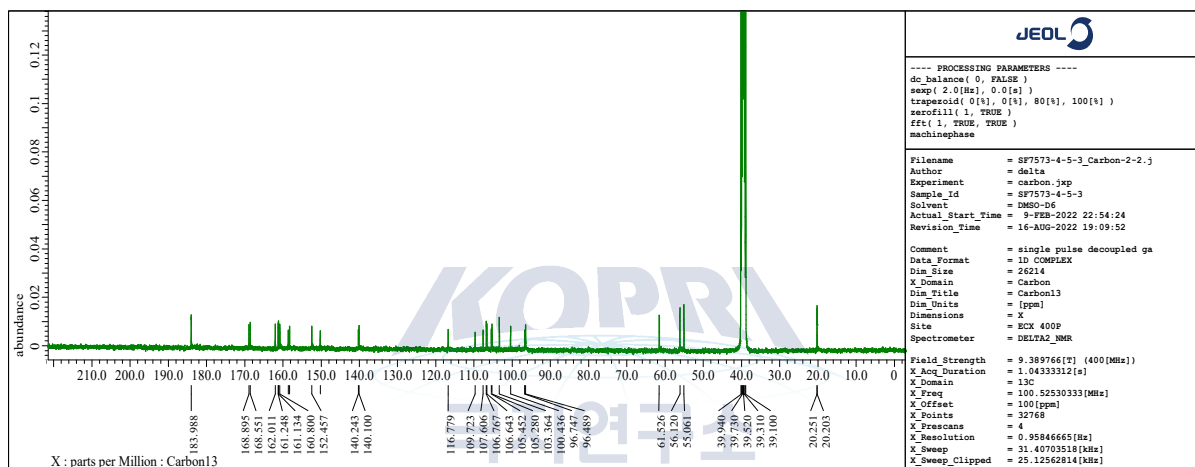


Figure 2.1.4. SF7573-4-5-3의 ^{13}C NMR spectrum (Recorded in $\text{DMSO}-d_6$)

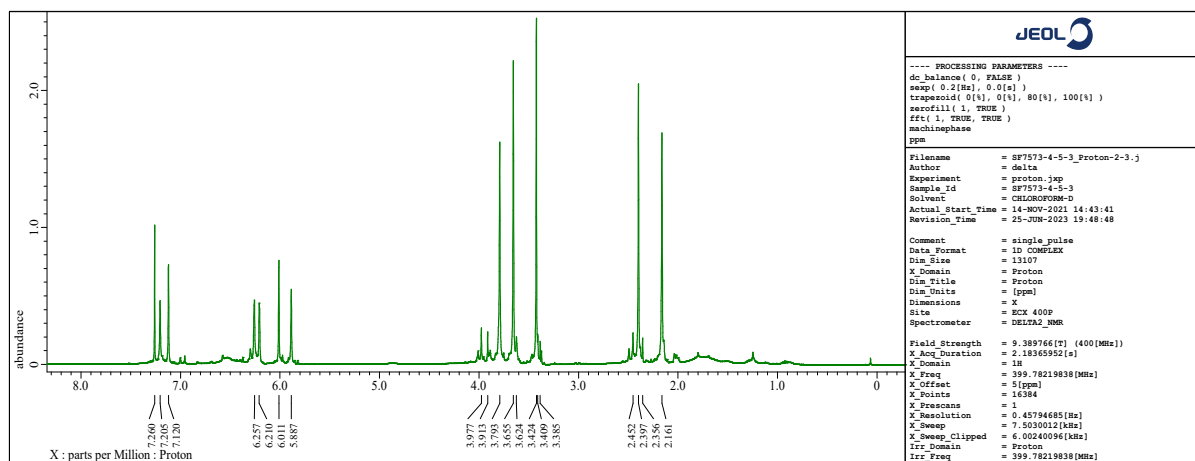


Figure 155. SF7573-4-5-3의 ^1H NMR spectrum (Recorded in CDCl_3)

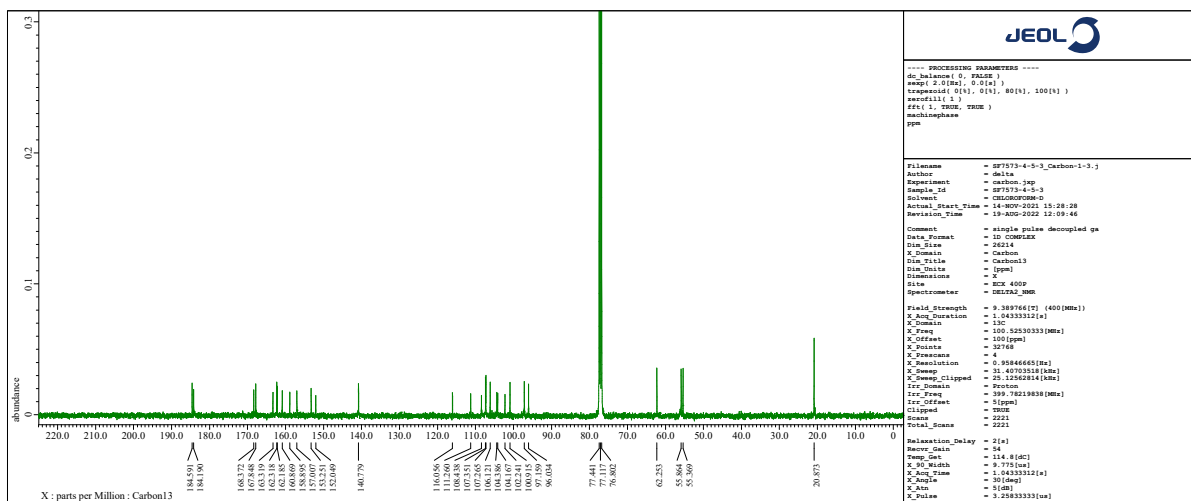


Figure 156. SF7573-4-5-3의 ^{13}C NMR spectrum (Recorded in CDCl_3)

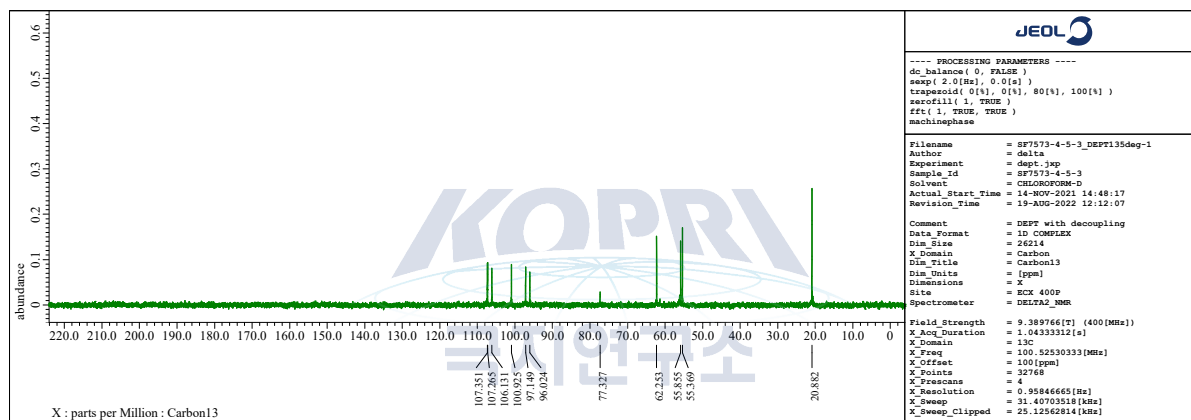


Figure 157. SF7573-4-5-3의 DEPT spectrum (Recorded in CDCl_3)

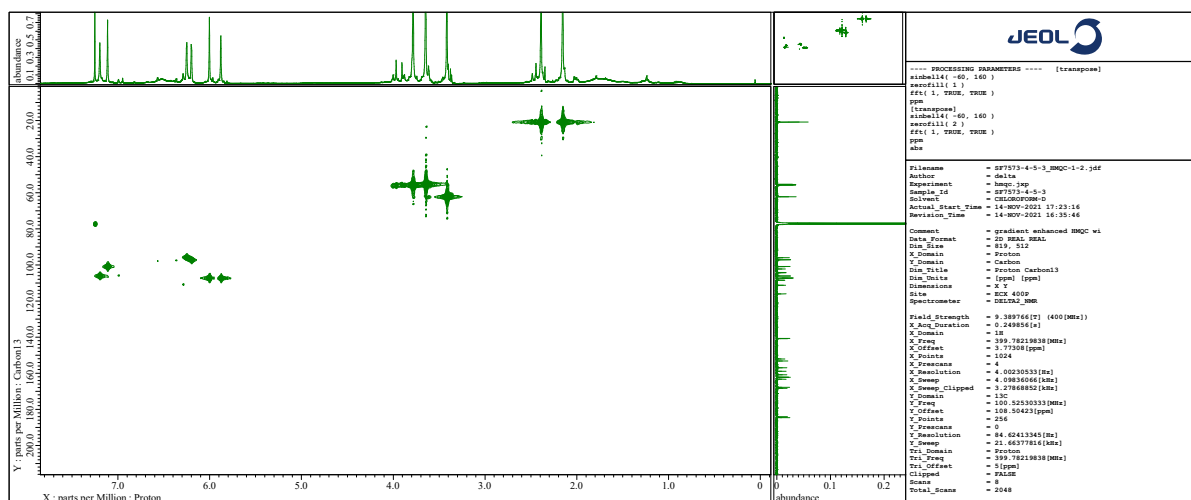


Figure 158. SF7573-4-5-3의 HMQC spectrum (Recorded in CDCl_3)

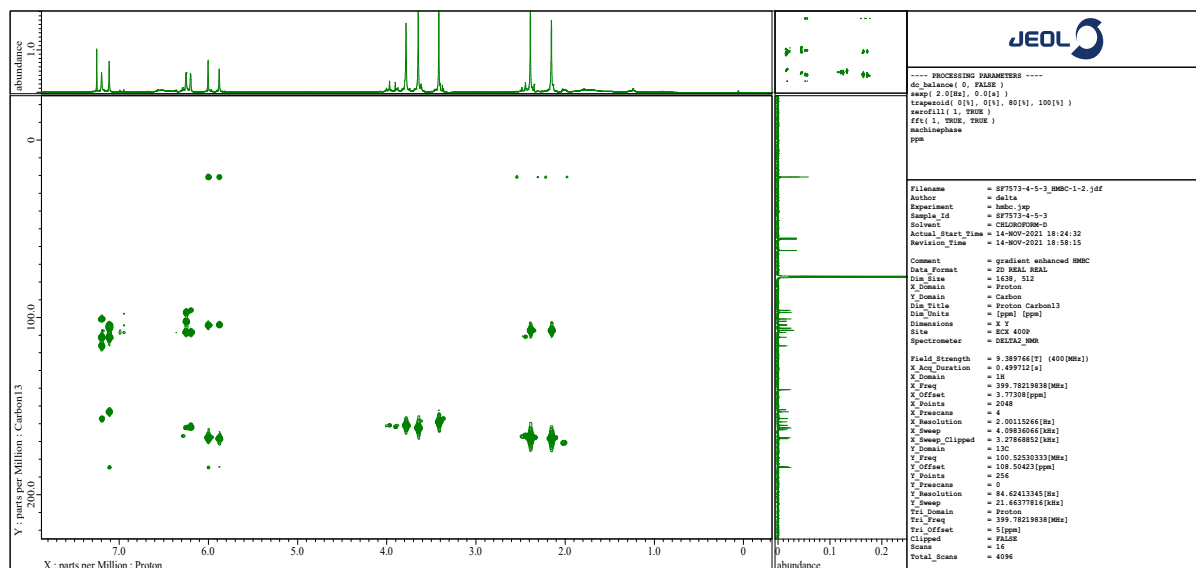


Figure 159. SF7573-4-5-3의 HMBC spectrum (Recorded in CDCl₃)



Table 7. SF7573-4-5-3 및 (aS)-Dianhydro-aurasperone NMR data 비교

position	(aS)-Dianhydro-aurasperone C*			SF7573-4-5-3*		
	¹³ C (δ _C (ppm))	¹ H (δ _H (ppm)) <i>J</i> in Hz		¹³ C (δ _C (ppm))	¹ H (δ _H (ppm)) <i>J</i> in Hz	
1	-	-		-	-	
2	169.3	-		168.9	-	
3	107.2	6.20 (1H, s)		106.6	6.21 (1H, s)	
4	184.4	-		183.9	-	
4a	103.8	-		103.4	-	
5	161.7	-		161.3	-	
5a	110.2	-		109.7	-	
6	158.7	-		158.3	-	
7	117.2	-		116.8	-	
8	159.1	-		158.6	-	
9	105.7	7.11 (1H, s)		105.3	7.12 (1H, s)	
9a	140.7	-		140.2	-	
10	100.8	7.23 (1H, s)		100.4	7.27 (1H, s)	
10a	152.9	-		152.5	-	
CH ₃ -2	20.7	2.41 (3H, s)		20.3	2.42 (3H, s)	
OH-5	-	15.00 (1H, s)		-	-	
OH-8	-	10.25 (1H, s)		-	10.30 (1H, s)	
OCH ₃ -6	62.0	3.39 (overlap)		61.5	3.37 (3H, s)	
1'	-	-		-	-	
2'	169.0	-		168.6	-	
3'	107.1	6.20 (1H, s)		106.8	6.23 (1H, s)	
4'	184.5	-		184.0	-	
4a'	103.8	-		103.4	-	
5'	162.5	-		162.0	-	
5a'	108.1	-		107.6	-	
6'	161.3	-		160.8	-	
7'	96.9	6.55 (1H, d, 1.7)		96.5	6.55 (1H, d, 2.2)	
8'	161.6	-		161.1	-	
9'	97.2	6.15 (1H, d, 1.7)		96.8	6.15 (1H, d, 2.2)	
9a'	140.6	-		140.1	-	
10'	105.9	-		105.4	-	
10a'	150.7	-		150.3	-	
CH ₃ -2'	20.6	2.14 (3H, s)		20.2	2.14 (3H, s)	
OH-5'	-	15.10 (1H, s)		-	-	
OCH ₃ -6'	56.6	3.93 (3H, s)		56.1	3.93 (3H, s)	
OCH ₃ -8'	55.5	3.58 (3H, s)		55.1	3.58 (3H, s)	

* Recorded in DMSO-*d*6

2.2.3.2. SF7573-4-5-4-4의 구조 분석

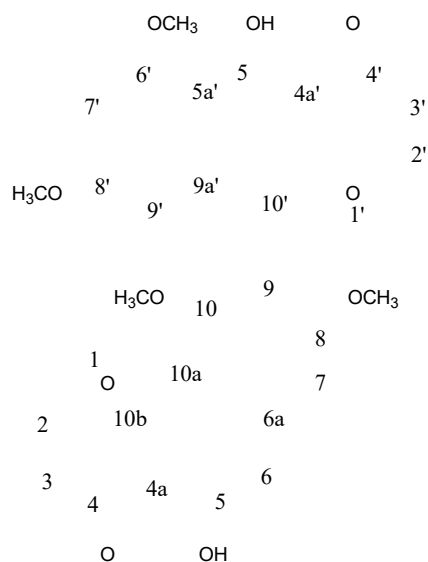


Figure 160. SF7573-4-5-4-4의 화학적 구조

SF7573-4-5-4-4은 노란 가루 형태이다. HR-ESI-MS 스펙트럼 (m/z [M + Na]⁺ 593.1433 [calcd. 593.1424]) 분석을 통해 분자식은 C₃₂H₂₆O₁₀로 확인되었다. SF7573-4-5-4-4의 ¹H, ¹³C NMR data는 32개의 carbon signal이 확인되었다. 6개의 aromatic methine은 [δ_H/δ_C 6.33/131.8, 7.05/106.1, 6.69/101.7, 6.00/107.5, 6.42/97.1, 6.18/96.4]에서 나타났으며, 2개의 methyl group은 [δ_H/δ_C 2.48/20.7; 2.13/20.8]에서 나타났다. 4개의 methoxy group은 [δ_H/δ_C 3.78/56.1, 3.42/61.3, 4.02/56.3, 3.61/55.3]에서 나타났고 8개의 quaternary carbon은 [δ_C 167.6, 109.5, 156.8, 140.9, 160.1, 117.2, 157.0, 108.1, 155.2, 166.9, 104.3, 162.9, 108.7, 161.2, 161.7, 140.7, 105.1, 150.9]에서 나타났으며, 마지막으로 2개의 carbonyl group은 [δ_C 183.0, 184.7]에서 나타났다. SF7573-4-5-4-4는 NMR data 비교 결과 Fonsecinone A [20]로 확인되었으며, 추가적으로 SF7573-4-5-4-4는 1D (¹H, ¹³C, DEPT NMR) 2D (COSY, HMBC) data (recorded in DMSO-*d*₆)와도 일치를 보였다.

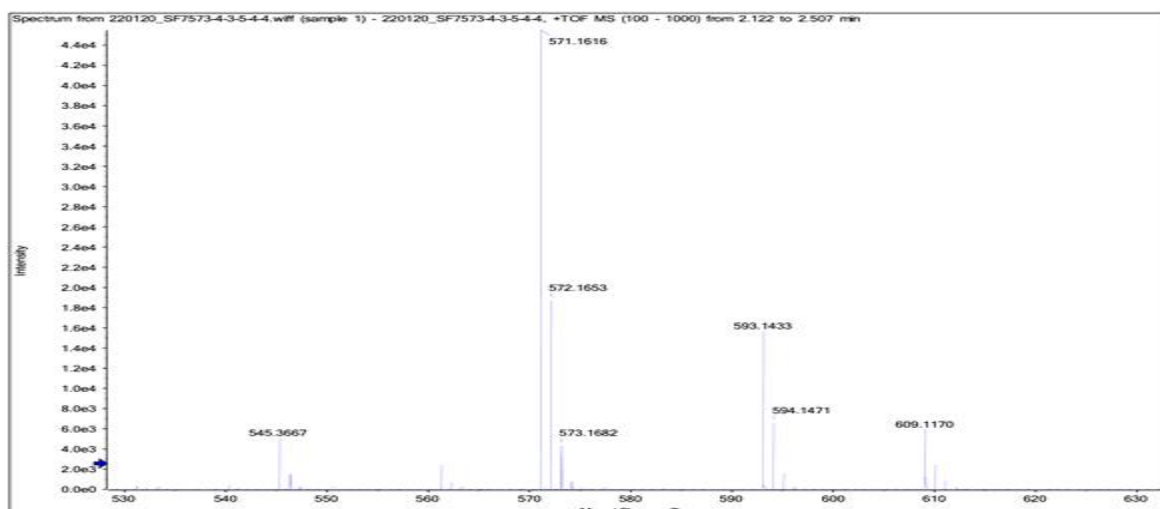


Figure 161. SF7573-4-5-4-4의 MS spectrum

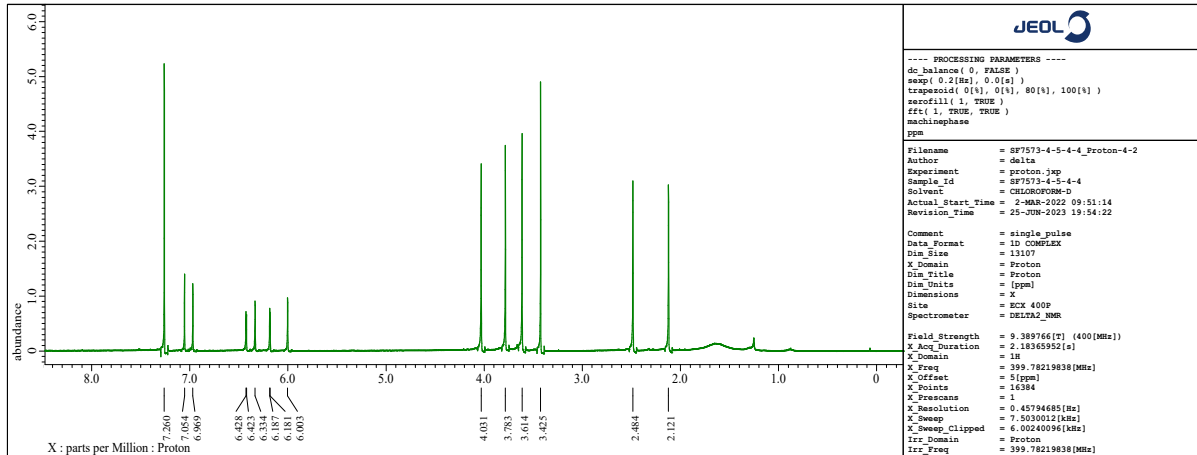


Figure 162. SF7573-4-5-4-4의 ^1H NMR spectrum (Recorded in CDCl_3)

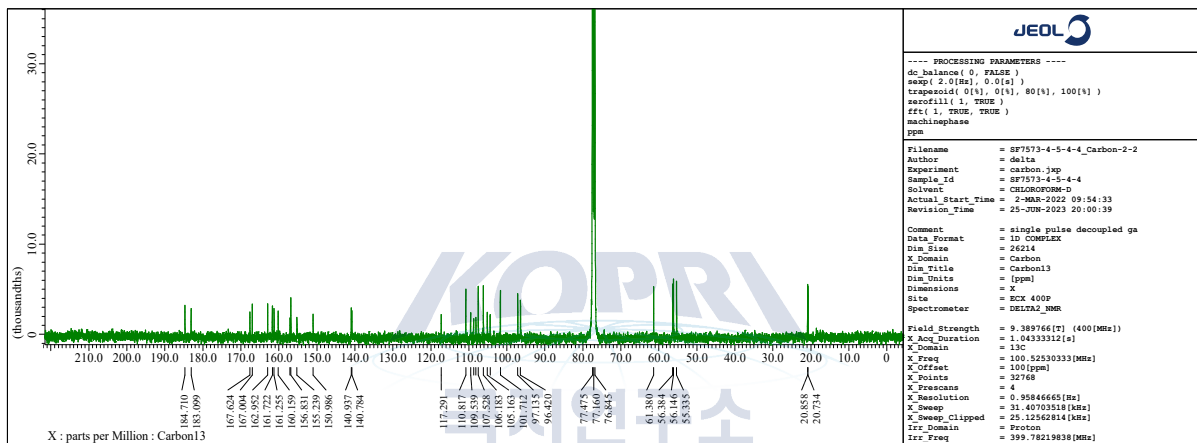


Figure 163. SF7573-4-5-4-4의 ^{13}C NMR spectrum (Recorded in CDCl_3)

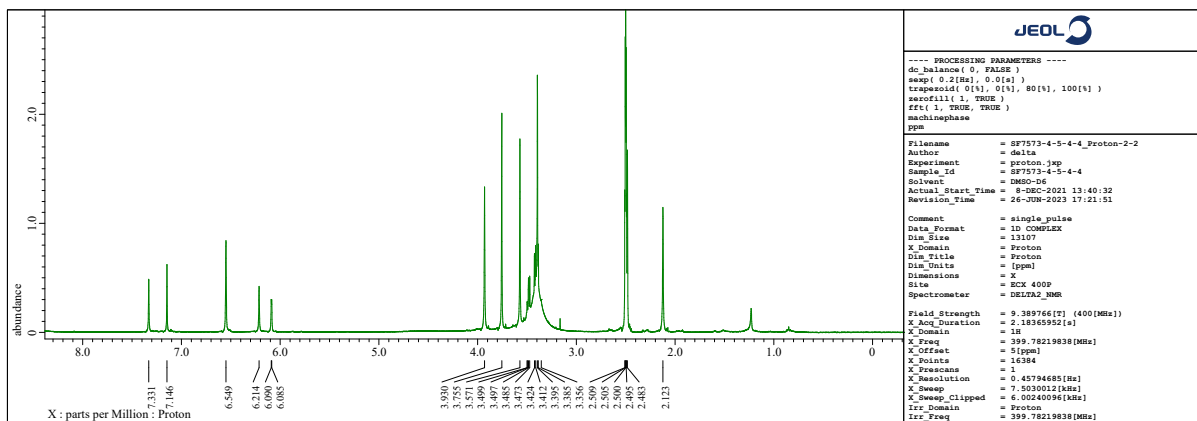


Figure 164. SF7573-4-5-4-4의 ^1H NMR spectrum (Recorded in $\text{DMSO}-d_6$)

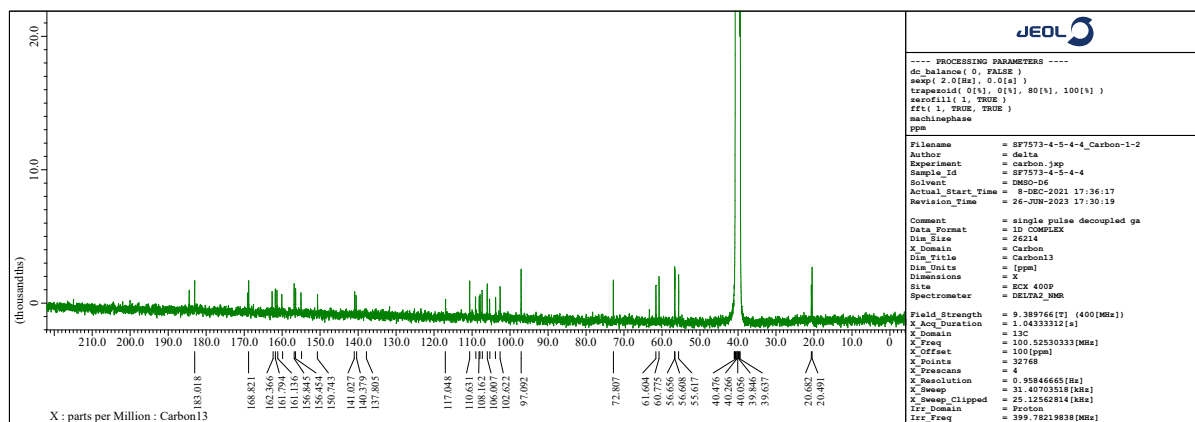


Figure 165. SF7573-4-5-4-4의 ^{13}C NMR spectrum (Recorded in $\text{DMSO}-d_6$)

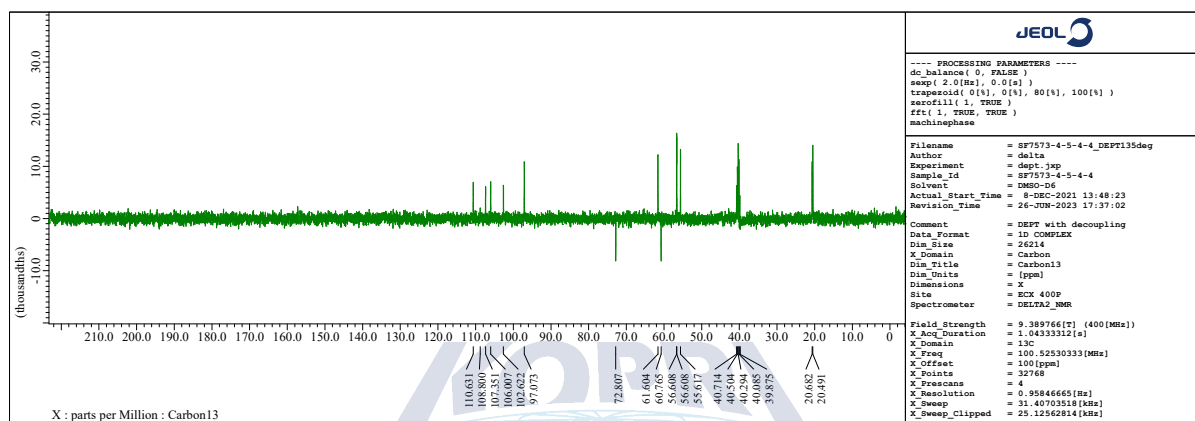


Figure 166. SF7573-4-5-4-4의 DEPT spectrum (Recorded in $\text{DMSO}-d_6$)

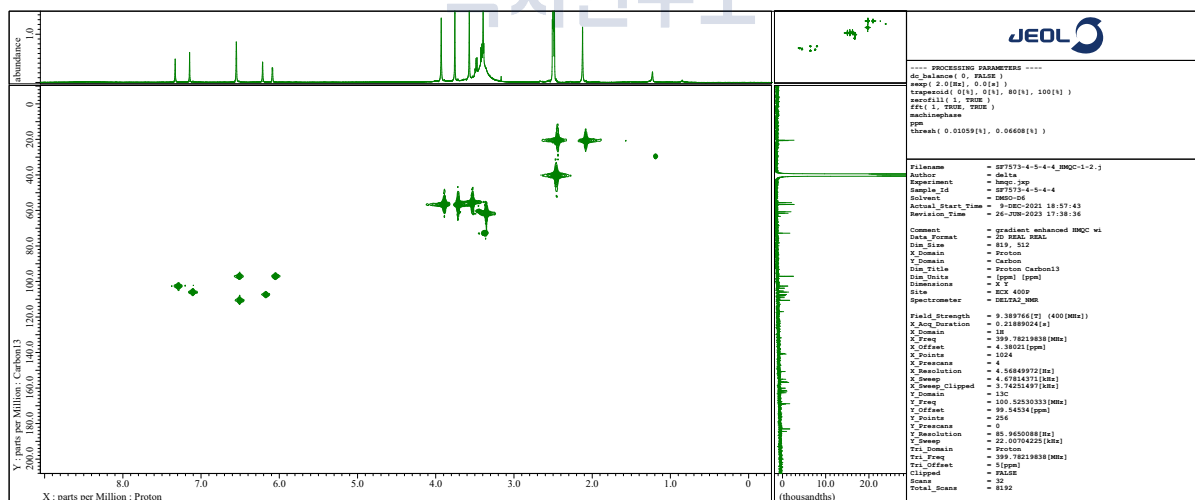


Figure 167. SF7573-4-5-4-4의 HMQC spectrum (Recorded in $\text{DMSO}-d_6$)

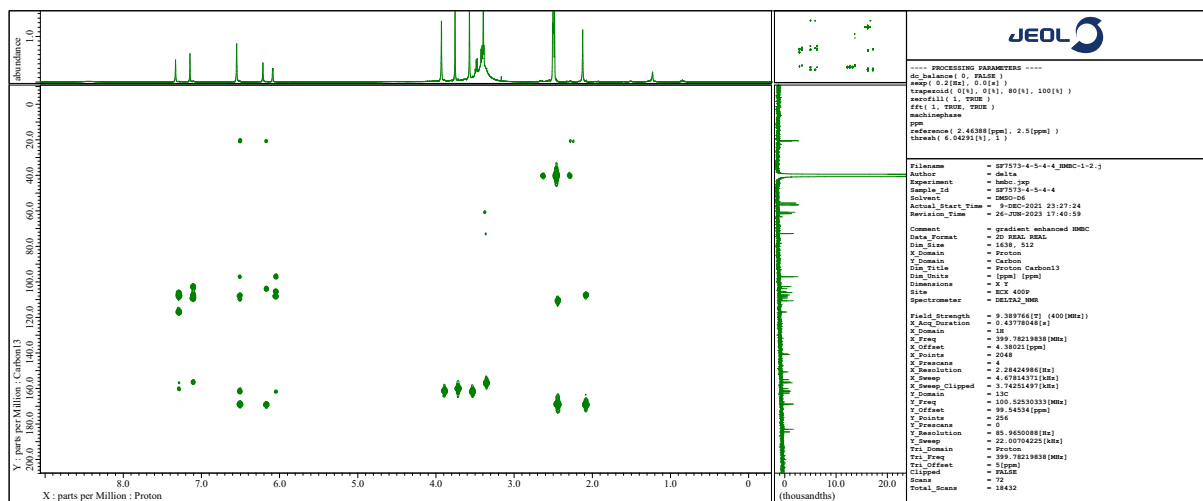


Figure 168. SF7573-4-5-4-4의 HMBC spectrum (Recorded in DMSO- d_6)



Table 8. SF7573-4-5-4-4 및 Fonsecinone A NMR data 비교

position	Fonsecinone A*			SF7573-4-5-4-4*		
	^{13}C (δ_{C} (ppm))	^1H (δ_{H} (ppm)) J in Hz		^{13}C (δ_{C} (ppm))	^1H (δ_{H} (ppm)) J in Hz	
1	-	-		-	-	
2	167.5	-		167.6	-	
3	110.7	6.34 (1H, s)		110.8	6.33 (1H, s)	
4	183.0	-		183.0	-	
4a	109.4	-		109.5	-	
5	156.7	-		156.8	-	
6	106.1	7.06 (1H, s)		106.1	7.05 (1H, s)	
6a	140.8	-		140.9	-	
7	101.6	6.79 (1H, s)		101.7	6.96 (1H, s)	
8	160.0	-		160.1	-	
9	117.2	-		117.2	-	
10	156.9	-		157.0	-	
10a	108.0	-		108.1	-	
10b	155.1	-		155.2	-	
CH ₃ -2	20.6	2.49 (3H, s)		20.7	2.48 (3H, s)	
OH-5	-	12.85 (1H, s)		-	-	
OCH ₃ -8	56.0	3.79 (3H, s)		56.1	3.78 (3H, s)	
OCH ₃ -10	61.3	3.44 (3H, s)		61.3	3.42 (3H, s)	
1'	-	-		-	-	
2'	166.9	-		166.9	-	
3'	107.4	6.01 (1H, s)		107.5	6.00 (1H, s)	
4'	184.6	-		184.7	-	
4a'	104.3	-		104.3	-	
5'	162.8	-		162.9	-	
5a'	108.6	-		108.7	-	
6'	161.1	-		161.2	-	
7'	97.0	6.43 (1H, d, 2.2)		97.1	6.42 (1H, d, 2.2)	
8'	161.6	-		161.7	-	
9'	96.3	6.19 (1H, d, 2.2)		96.4	6.18 (1H, d, 2.2)	
9a'	140.6	-		140.7	-	
10'	105.0	-		105.1	-	
10a'	150.8	-		150.9	-	
CH ₃ -2'	20.7	2.13 (3H, s)		20.8	2.13 (3H, s)	
OH-5'	-	15.27 (1H, s)		-	-	
OCH ₃ -6'	56.3	4.04 (3H, s)		56.3	4.02 (3H, s)	
OCH ₃ -8'	55.2	3.63 (3H, s)		55.3	3.61 (3H, s)	

*NMR data recorded in CDCl₃

2.2.3.3. SF7573-4-5-1-2의 구조 분석

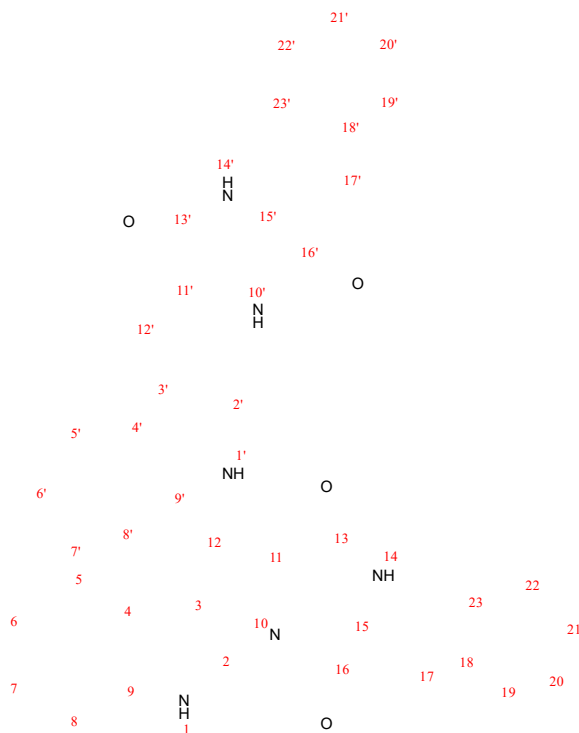


Figure 169. SF7573-4-5-1-2의 화학적 구조

SF7573-4-5-1-2는 하얀 가루 형태이다. HR-EI-MS 스펙트럼 (m/z $[M + H]^+$ 665.2923 [calcd. 665.2876]) 분석을 통해 분자식은 $C_{40}H_{36}N_6O_4$ 로 확인되었다. ^1H NMR에서 aromatic proton 신호는 [δ_H 6.64 ~ δ_H 7.47]이며, aromatic carbon은 ^{13}C NMR, DEPT spectra에서 확인하여 (Fig. 2.3.6)에 나타내었다. 추가적으로 SF7573-4-5-1-2는 ^{13}C , DEPT NMR data에서 4개의 methylene signal은 [δ_C 28.6, 37.9, 38.7, 39.1]에서 나타났으며, 4개의 carbonyl carbon은 [δ_C 167.2, 167.3, 168.0, 168.4]에서 나타났다. SF7573-4-5-1-2는 문헌 [21]과 NMR data 비교한 결과 asperazine인 diketopiperazine dimer로 확인되었다.

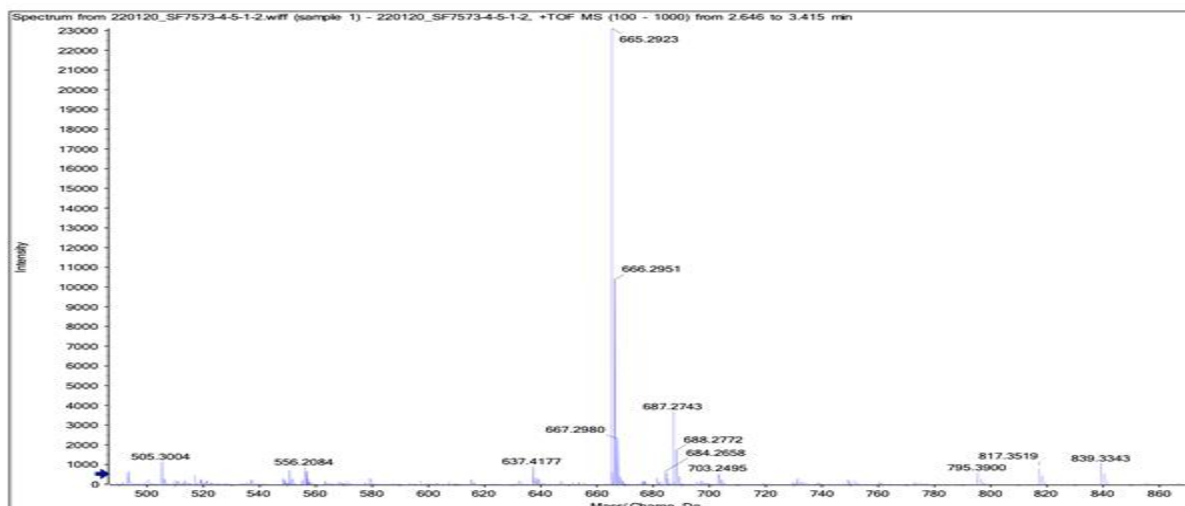


Figure 170. SF7573-4-5-1-2의 MS spectrum

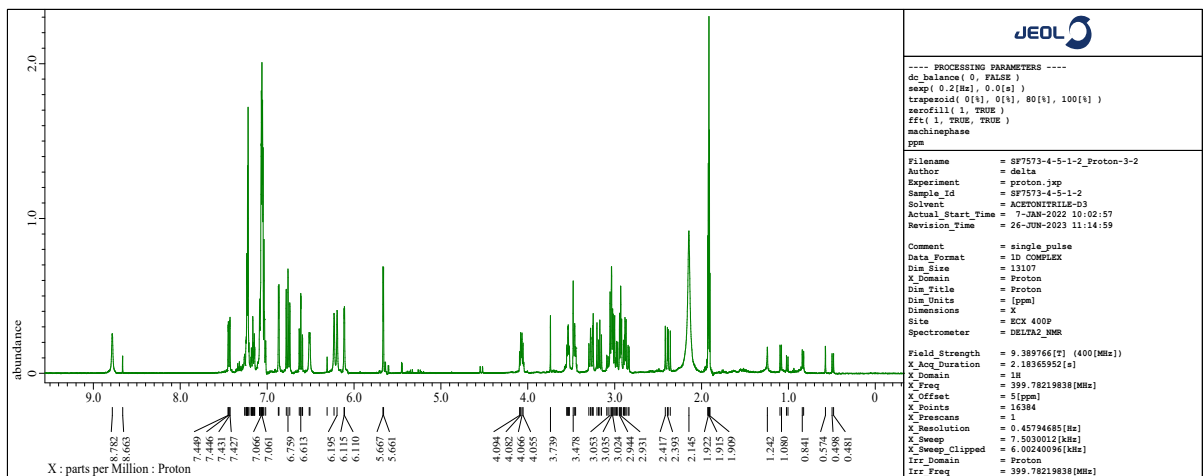


Figure 171. SF7573-4-5-1-2의 ^1H NMR spectrum (Recorded in CD_3CN)

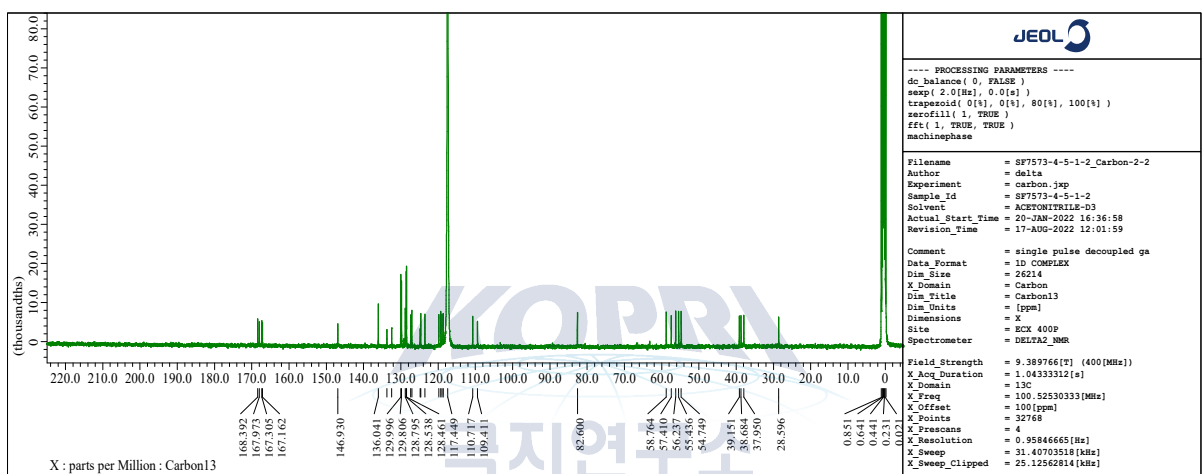


Figure 172. SF7573-4-5-1-2의 ^{13}C NMR spectrum (Recorded in CD_3CN)

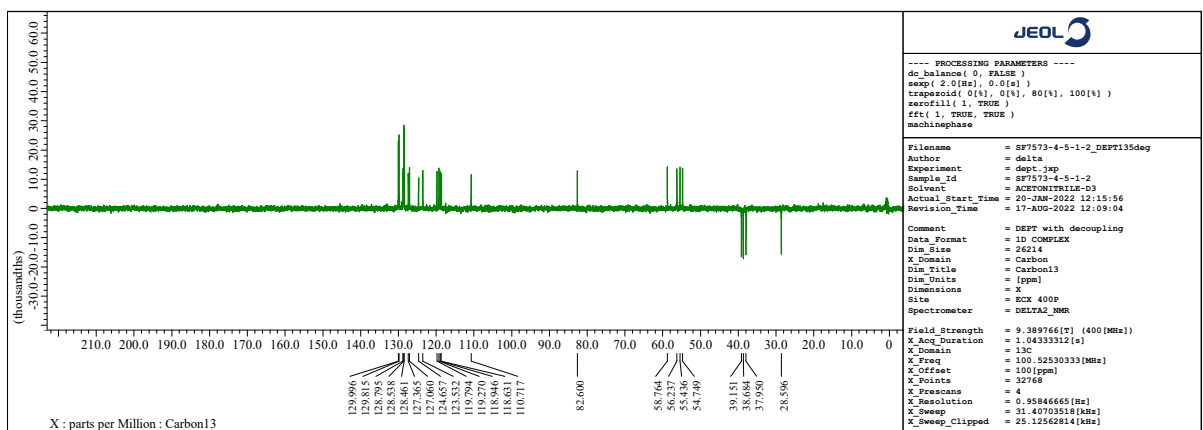


Figure 173. SF7573-4-5-1-2의 DEPT spectrum (Recorded in CD_3CN)

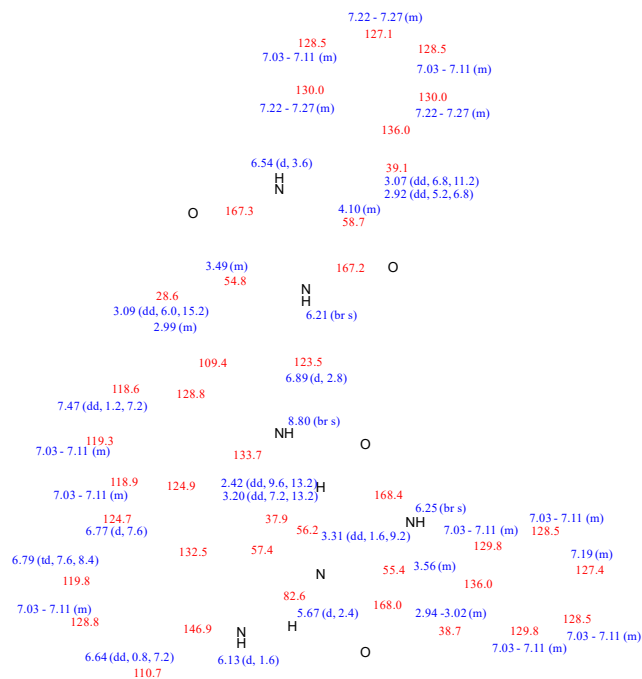


Figure 174. SF7573-4-5-1-2의 ^1H , ^{13}C NMR data



2.2.3.4. SF7573-4-5-1-3의 구조 분석

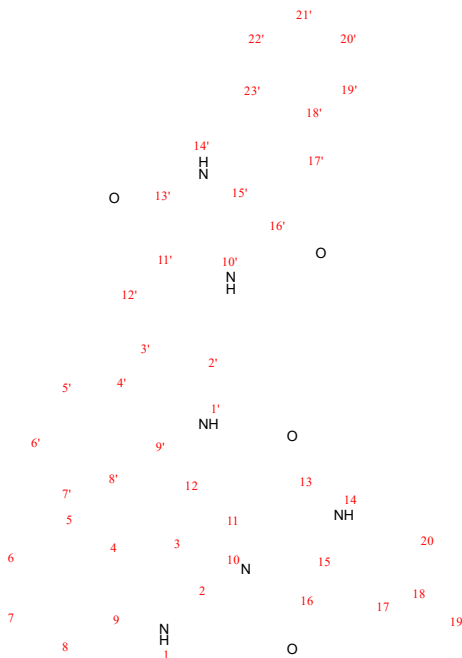


Figure 175. SF7573-4-5-1-3의 화학적 구조

SF7573-4-5-1-3은 무정형 가루 형태이다. HR-EI-MS 스펙트럼 (m/z $[M - H]^-$ 629.2934 [calcd. 629.2876]) 분석을 통해 분자식은 $C_{16}H_{22}O_5$ 로 확인되었다. SF7573-4-5-1-3의 ^1H NMR에서 2개의 methyl group은 [δ_H 0.85 (3H, d, $J = 6.6$), 0.91 (3H, d, $J = 6.6$)]에서 나타났으며, 4개의 methylene은 [δ_H 1.45 (1H, dd, $J = 5.6, 4.8$), 1.58 (1H, m); 3.35 (1H, dd, $J = 13.6, 8.0$), 2.83 (1H, m); 3.02 (1H, dd, $J = 14.4, 4.8$), 3.05 (1H, dd, $J = 14.4, 6.0$), 2.86-2.90 (2H, m)]에서 나타났다. 6개의 methine은 [δ_H 1.67 (1H, m), 3.75 (1H, m), 4.55 (1H, t, $J = 8.4$), 5.76 (1H, d, $J = 1.2$), 3.46 (1H, t, $J = 5.2$), 3.49 (1H, brs)]에서 나타났고 anomeric proton은 [δ_H 6.67 - 7.40]에서 나타났으며, HSQC spectrum (Fig. 2.4.9)에 연결되어 있다. 추가적으로, ^{13}C NMR에서 amide carbonyl은 [δ_C 167.4, 168.0, 168.4, 168.5]에서 나타났다. SF7573-4-5-1-3의 구조는 2D NMR (HSQC, COSY, HMBC)로 확인되었으며, HMBC에서 H-2(δ_H 5.76), H-12(2.83, 3.35)는 C-8' (125.5) 부분에서 교차 피크를 나타냈고 이는 C-3와 C-8' 사이의 연결성을 시사한다 (Fig. 2.3.9). SF7573-4-5-1-3과 SF7573-4-5-1-2의 ^1H , ^{13}C NMR spectroscopic data를 비교한 결과 SF7573-4-5-1-3은 monomeric subunit 중 Phe unit이 Leu로 대체된 SF7573-4-5-1-2와 유사한 diketopiperazine dimer이다. 이를 토대로 문헌 검색 결과 SF7573-4-5-1-3은 Pestalazine A [21]로 확인되었다.

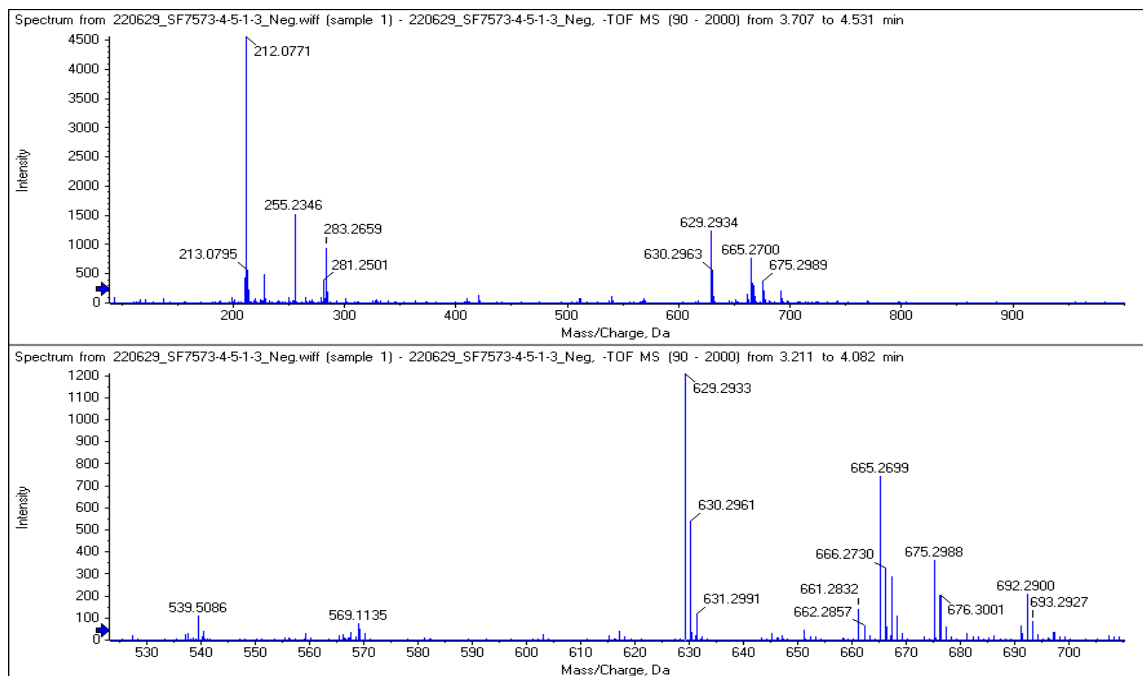


Figure 176. SF7573-4-5-1-3의 MS spectrum

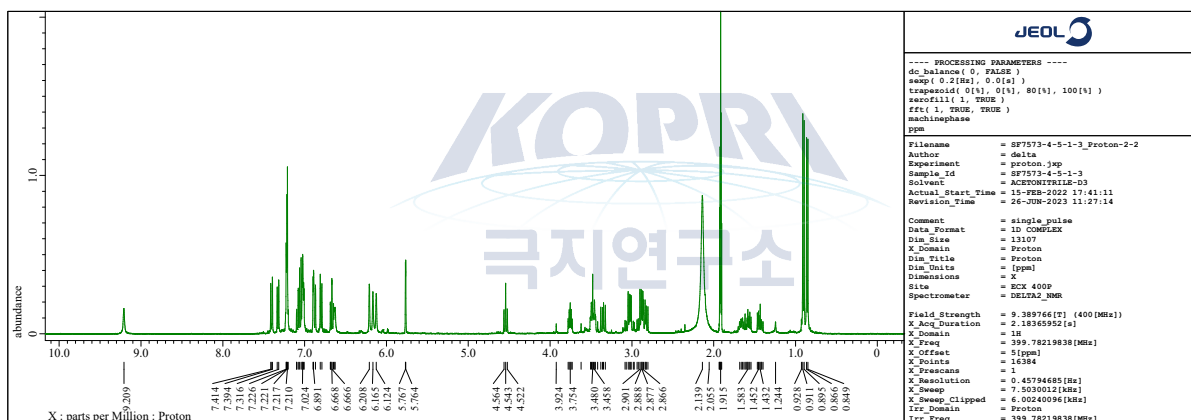


Figure 177. SF7573-4-5-1-3의 ^1H NMR spectrum (Recorded in CD_3CN)

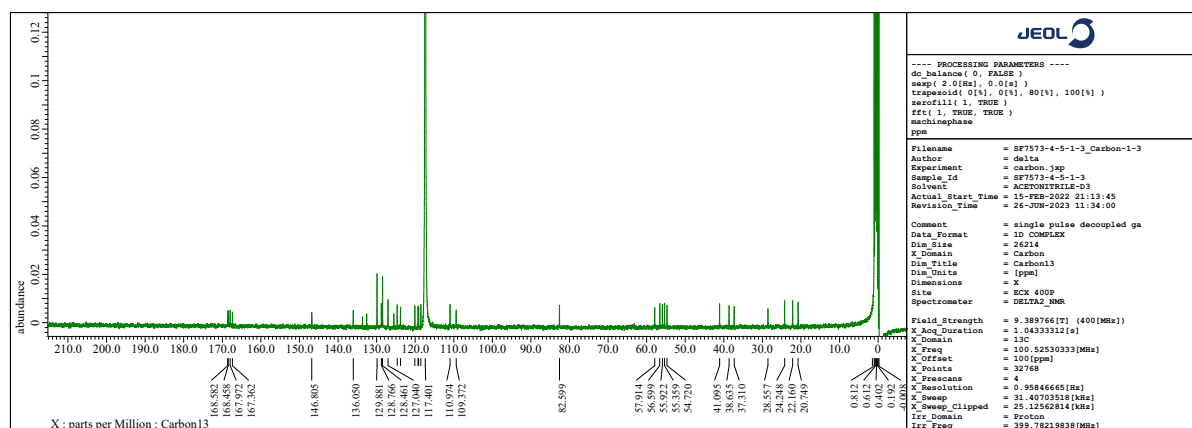


Figure 178. SF7573-4-5-1-3의 ^{13}C NMR spectrum (Recorded in CD_3CN)

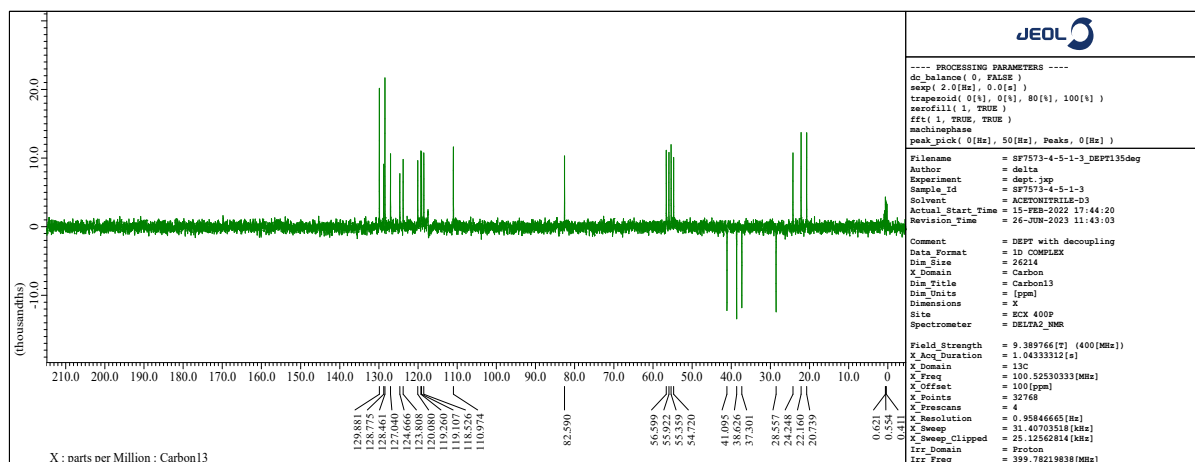


Figure 179. SF7573-4-5-1-3의 DEPT spectrum (Recorded in CD₃CN)

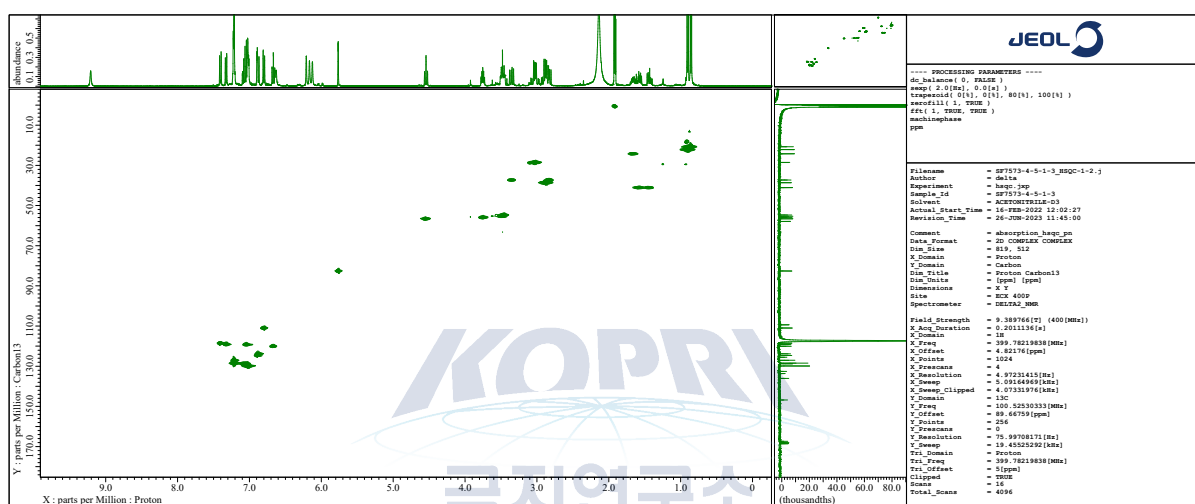


Figure 180. SF7573-4-5-1-3의 HSQC spectrum (Recorded in CD₃CN)

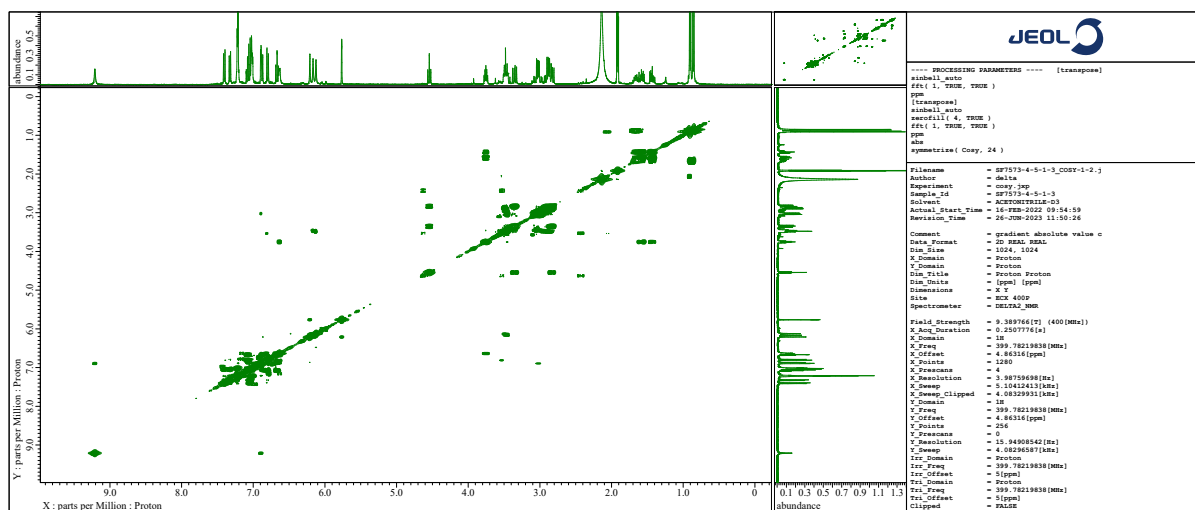


Figure 181. SF7573-4-5-1-3의 COSY spectrum (Recorded in CD₃CN)

2.2.3.5. SF7573-4-2-1의 구조 분석

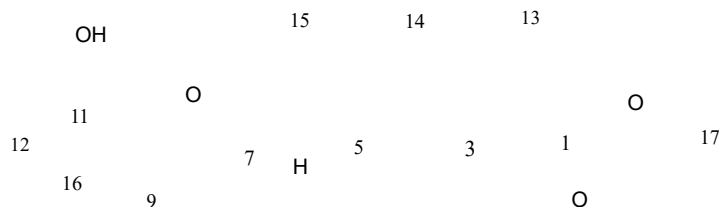


Figure 184. SF7573-4-2-1의 화학적 구조

SF7573-4-2-1은 옅은 노란 왁스 형태이다. HR-EI-MS 스펙트럼 (m/z [M + Na]⁺ 321.2035 [calcd. 321.2042]) 분석을 통해 분자식은 C₁₇H₃₀O₄로 확인되었다. SF7573-4-2-1은 ¹H, ¹³C, HSQC data를 통해 5개의 methyl group은 [δ_H 1.12 (6H, d, J = 6.8, H-12, H-13), 1.15 (3H, s, H-16), 1.60 (3H, s, H-15), 0.94 (3H, d, J = 6.4, H-14)]에서 나타났으며, HSQC spectrum 상관관계로 carbon은 [δ_C 17.2, 17.2, 24.4, 11.8, 21.0]에서 나타났다. 또한 3개의 methylene unit, 5개의 methine group, 1개의 methoxy group은 ¹³C NMR, DEPT, HSQC data (Fig. 2.5.9, Table 2.5.1)를 통해 확인되었다. 추가적으로 SF7573-4-2-1은 2D NMR (HSQC, COSY, HMBC spectra) (Fig. 2.5.9)을 통해 조사되었으며, 이전에 문헌으로 보고된 NMR [22] (Table 9)와 비교한 결과 SF7573-4-2-1은 aspericin A로 확인되었다.



Figure 185. SF7573-4-2-1의 MS spectrum

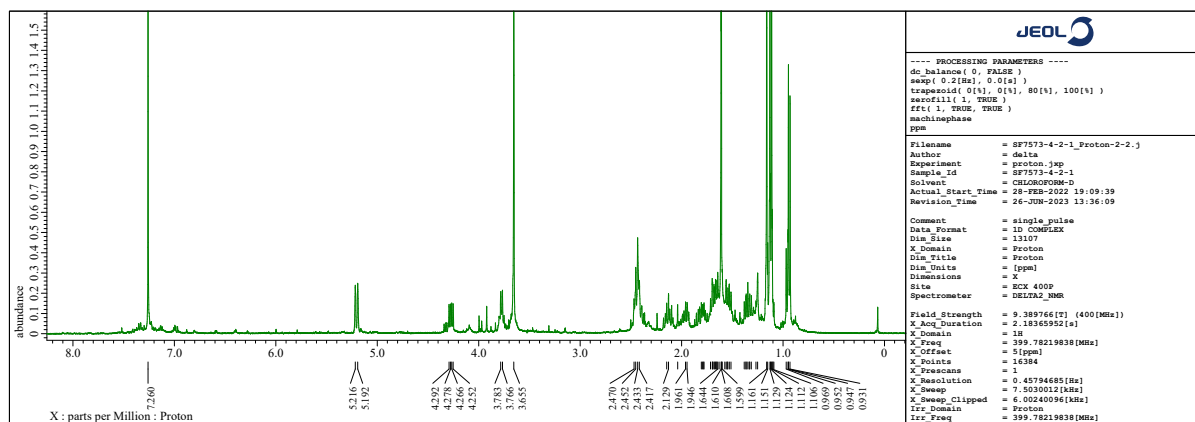


Figure 186. SF7573-4-2-1의 ^1H NMR spectrum (Recorded in CDCl_3)

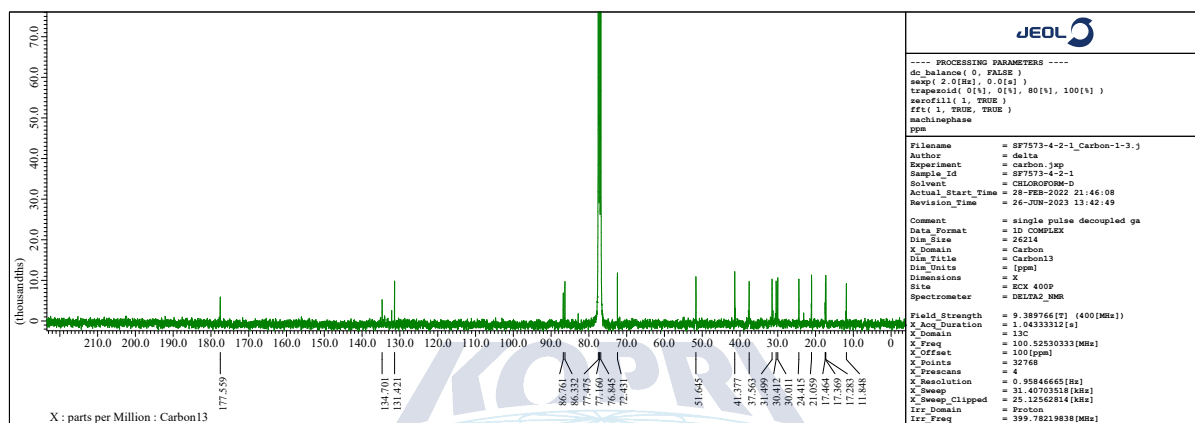


Figure 187. SF7573-4-2-1의 ^{13}C NMR spectrum (Recorded in CDCl_3)

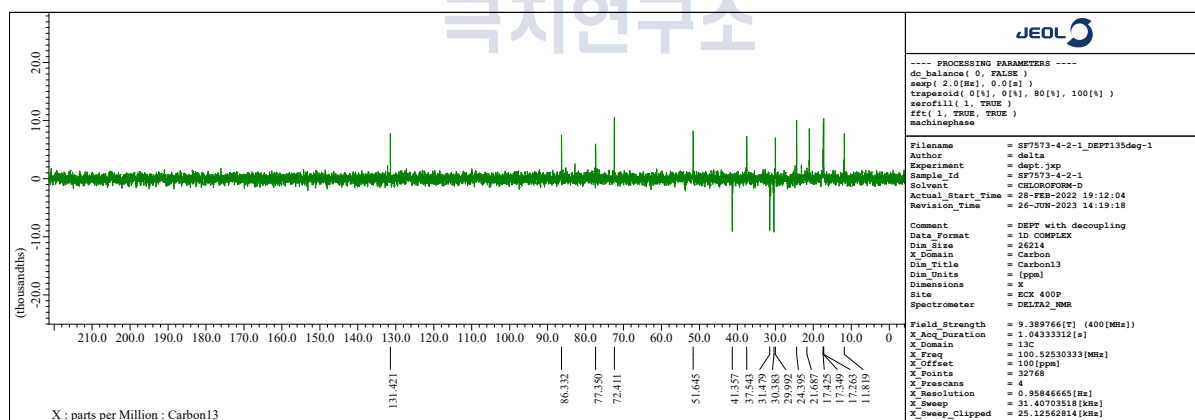
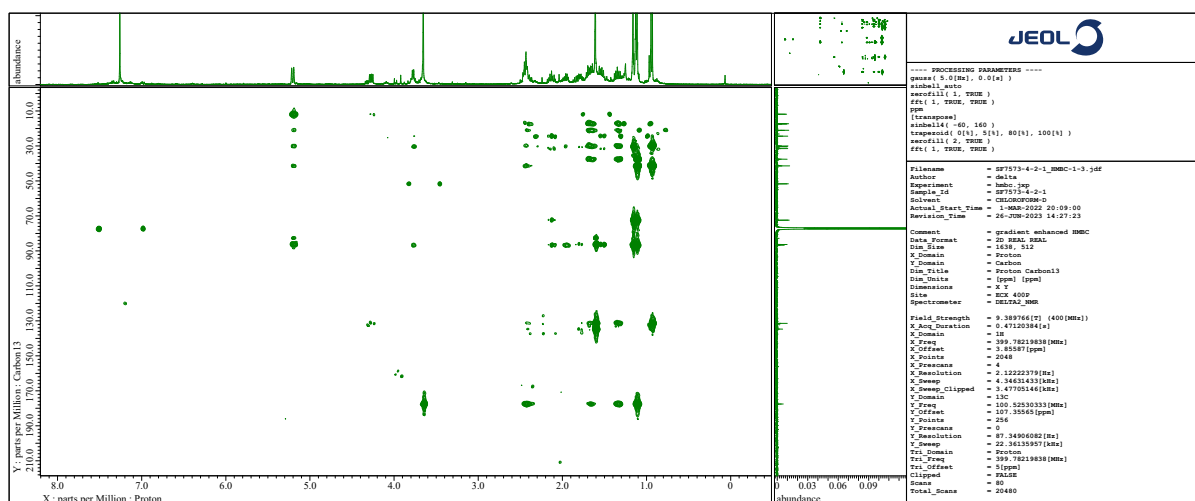
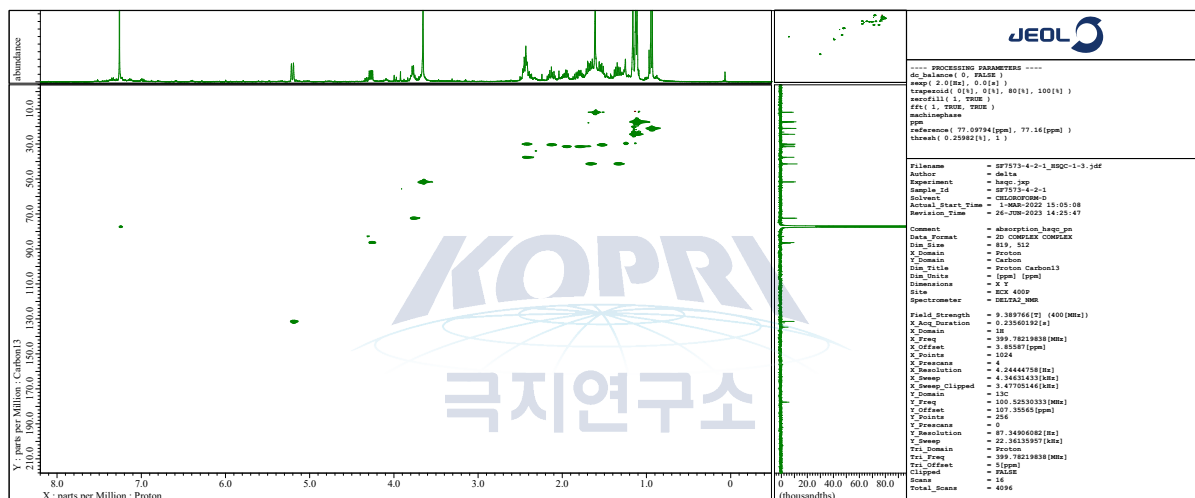
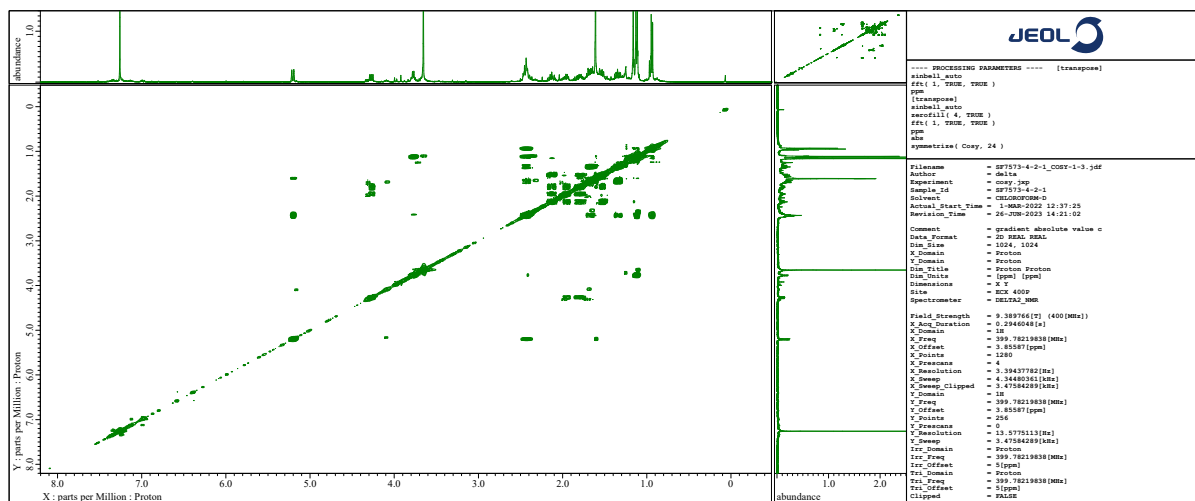


Figure 188. SF7573-4-2-1의 DEPT spectrum (Recorded in CDCl_3)



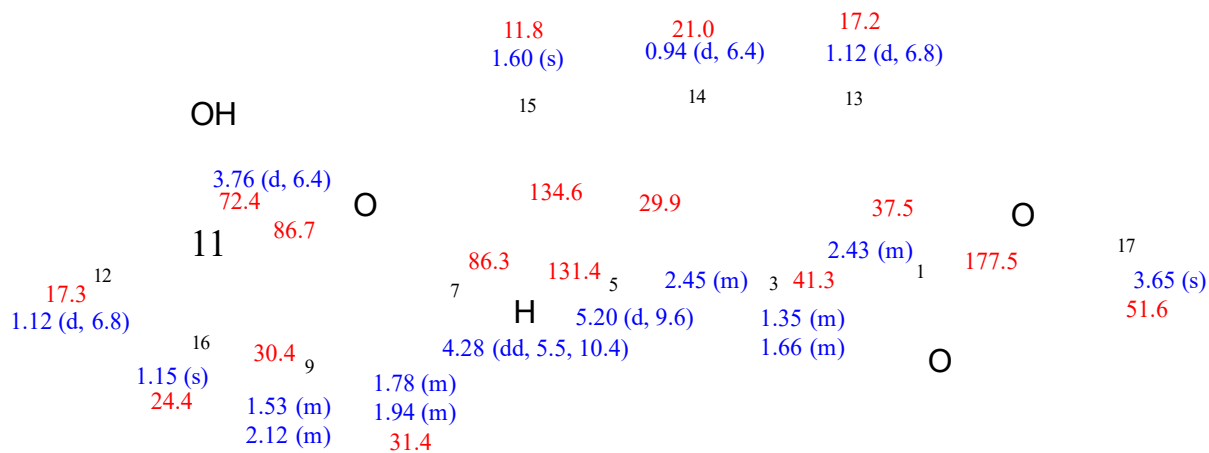


Figure 192. SF7573-4-2-1의 ^1H , ^{13}C NMR data 및 HMBC 상관관계

Table 9. SF7573-4-2-1 및 aspericin A NMR data 비교

No.	SF7573-4-2-1 ^a			aspericin A ^a	
	^{13}C (δ_{C} (ppm))	^1H (δ_{H} (ppm)) <i>J</i> in Hz		^{13}C (δ_{C} (ppm))	^1H (δ_{H} (ppm)) <i>J</i> in Hz
1	177.5 (C)	-		177.3 (C)	-
2	37.5 (CH)	2.43 (m)		37.3 (CH)	2.43 (m)
3	41.3 (CH ₂)	1.35 (m)		41.2 (CH ₂)	1.35 (m)
		1.66 (m)			1.68 (m)
4	29.9 (CH)	2.45 (m)		29.8 (CH)	2.45 (m)
5	131.4 (CH)	5.20 (d, 9.6)		131.2 (CH)	5.21 (d, 9.6)
6	134.6 (C)	-		134.5 (C)	-
7	86.3 (CH)	4.28 (dd, 5.5, 10.4)		86.1 (CH)	4.27 (dd, 5.5, 10.6)
8	31.4 (CH ₂)	1.78 (m)		31.3 (CH ₂)	1.80 (m)
		1.94 (m)			1.96 (m)
9	30.4 (CH ₂)	1.53 (m)		30.3 (CH ₂)	1.54 (m)
		2.12 (m)			2.14 (m)
10	86.7 (C)	-		86.5 (C)	-
11	72.4 (CH)	3.76 (d, 6.4)		72.2 (CH)	3.77 (q, 6.4)
12	17.3 (CH ₃)	1.12 (d, 6.8)		17.2 (CH ₃)	1.12 (d, 6.9)
13	17.2 (CH ₃)	1.12 (d, 6.8)		17.1 (CH ₃)	1.12 (d, 6.9)
14	21.0 (CH ₃)	0.94 (d, 6.4)		20.9 (CH ₃)	0.94 (d, 6.8)
15	11.8 (CH ₃)	1.60 (s)		11.6 (CH ₃)	1.61 (s)
16	24.4 (CH ₃)	1.15 (s)		24.2 (CH ₃)	1.17 (s)
17	51.6 (OCH ₃)	3.65 (s)		51.4 (OCH ₃)	3.66 (s)

a: recorded in CDCl₃

2.2.3.6. SF7573-4-2-3 구조 분석

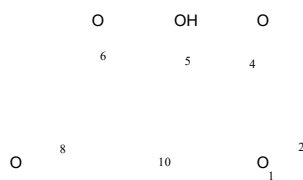


Figure 193. SF7573-4-2-3의 화학적 구조

SF7573-4-2-3은 무정형의 노란 가루 형태이다. HR-EI-MS 스펙트럼 (m/z [$M + H$]⁺ 287.0912 [calcd. 287.0919]) 분석을 통해 분자식은 C₁₆H₁₅O₅로 확인되었다. ¹H NMR spectrum에서 SF7573-4-2-3의 aromatic proton은 [δ_H 6.39 (1H, d, $J = 2.4$, H-7), 6.59 (1H, d, $J = 2.4$, H-9), 5.98 (1H, d, $J = 0.8$, H-3), 6.97 (1H, s, H-10)]에서 나타났으며, 1개의 methyl unit은 [δ_H 2.37 (3H, s)]에서 나타났고 2개의 methoxy group은 [δ_H 3.92 (3H, s), 3.99 (3H, s)]에서 나타났다. ¹³C NMR, DEPT spectra에서 16개의 carbon signal을 확인했으며, 그 중 4개의 methine은 [δ_C 97.4, 97.9, 101.2, 107.5]에서 나타났으며, 3개의 oxy-carbon은 [δ_C 160.8, 161.7, 162.8]에서 나타났다. 또한 5개의 quaternary carbon은 [δ_C 108.6, 141.2, 104.5, 153.5, 167.5]에서 나타났고 1개의 γ -lactone의 carbonyl은 [δ_C 184.4]에서 나타났다. SF7573-4-2-3의 구조는 HSQC, COSY, HMBC spectra를 근거해서 분석되었으며, 이전에 보고된 문헌 [23] (Table 10)와 비교한 결과 SF7573-4-2-3은 rubrofusarin B로 확인되었다.

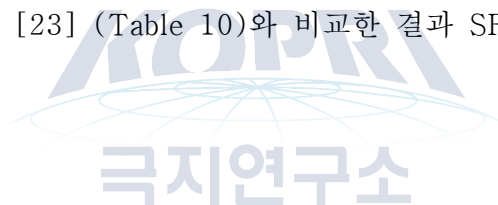


Figure 194. SF7573-4-2-3의 MS spectrum

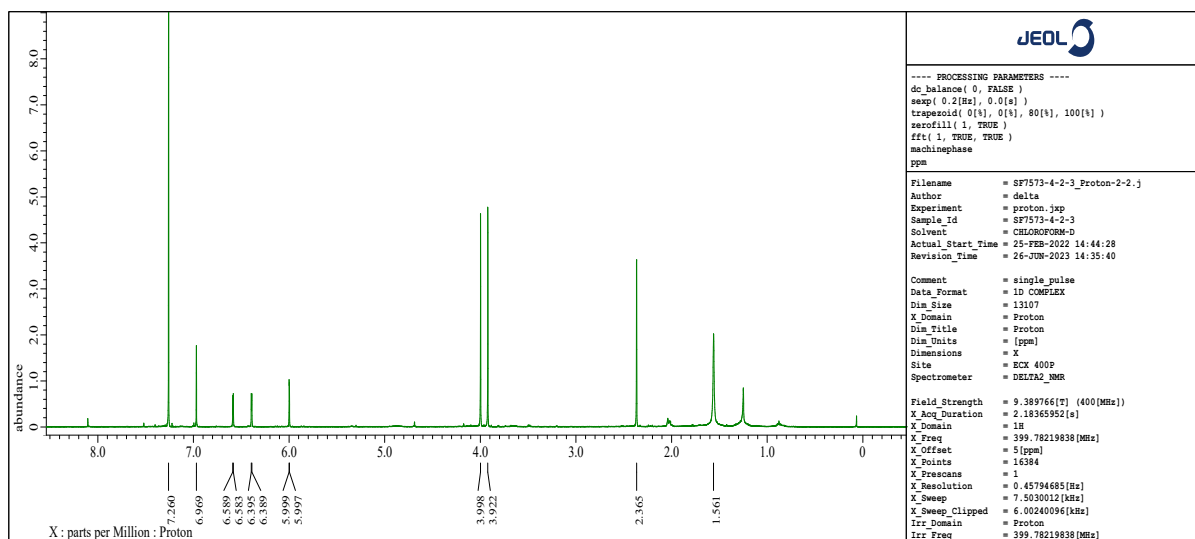


Figure 195. SF7573-4-2-3의 ^1H NMR spectrum (Recorded in CDCl_3)

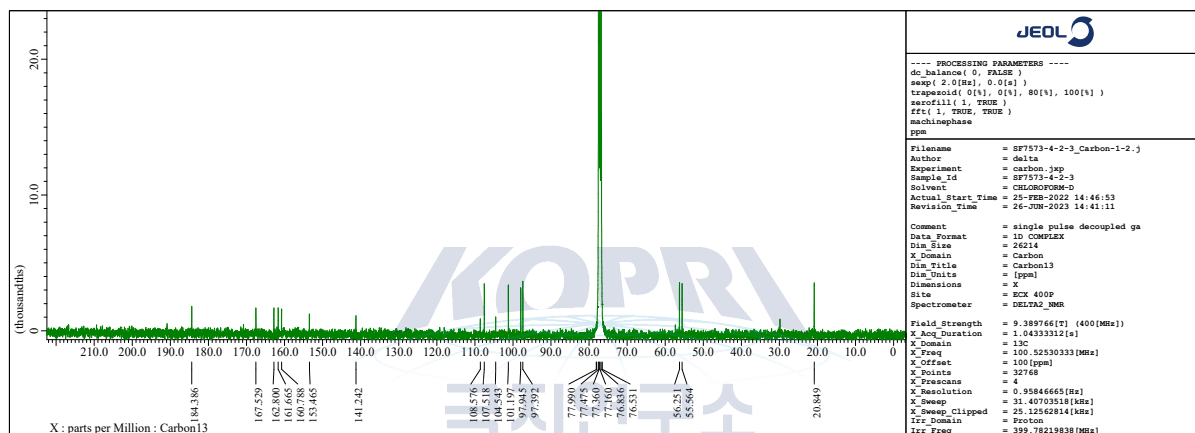


Figure 196. SF7573-4-2-3의 ^{13}C NMR spectrum (Recorded in CDCl_3)

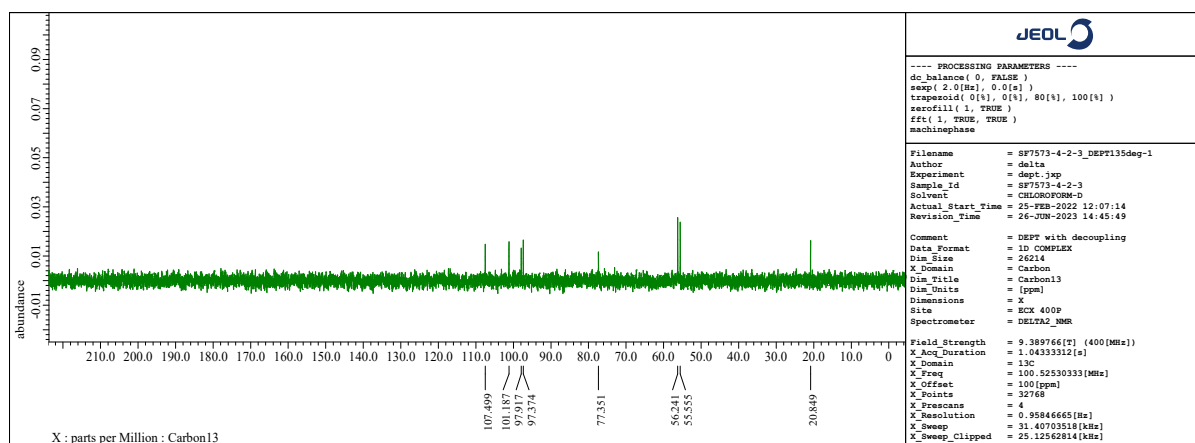


Figure 197. SF7573-4-2-3의 DEPT spectrum (Recorded in CDCl_3)

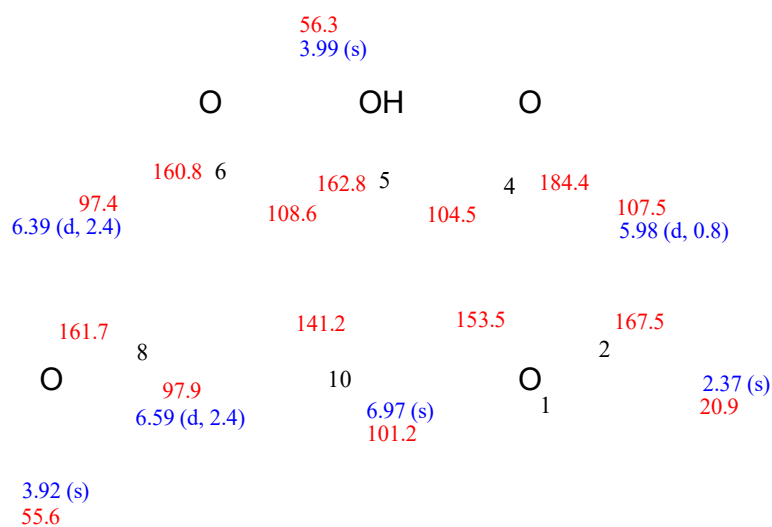
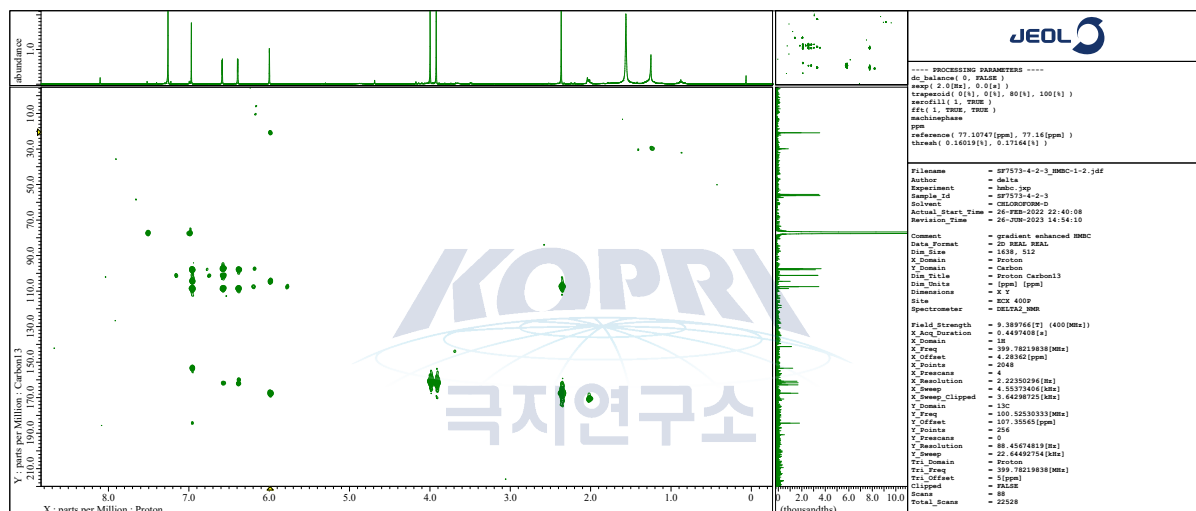
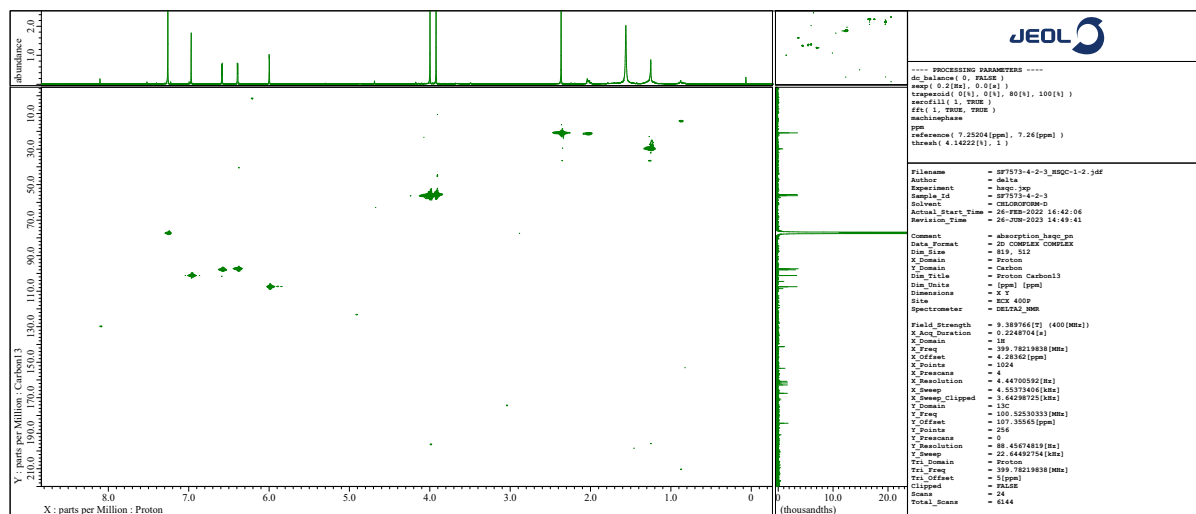


Table 10. SF7573-4-2-3 및 Rubrofusarin B의 NMR data 비교

Position	SF7573-4-2-3 ^a			Rubrofusarin B ^a		
	¹³ C (δ_C (ppm))	¹ H (δ_H (ppm))	<i>J</i> in Hz	¹³ C (δ_C (ppm))	¹ H (δ_H (ppm))	<i>J</i> in Hz
1	-	-	-	-	-	-
2	167.5	-	-	167.4	-	-
3	107.5	5.98 (1H, d, 0.8)	-	107.3	5.98 (s)	-
4	184.4	-	-	184.2	-	-
4a	104.5	-	-	104.3	-	-
5	162.8	-	-	162.6	-	-
5a	108.6	-	-	108.4	-	-
6	160.8	-	-	160.6	-	-
7	97.4	6.39 (1H, d, 2.4)	-	97.2	6.38 (d, 2.2)	-
8	161.7	-	-	161.8	-	-
9	97.9	6.59 (1H, d, 2.4)	-	97.8	6.56 (d, 2.2)	-
9a	141.2	-	-	141.0	-	-
10	101.2	6.97 (1H, s)	-	101.0	6.94 (s)	-
10a	153.5	-	-	153.3	-	-
2-CH ₃	20.9	2.37 (3H, s)	-	20.6	2.35 (s)	-
6- OCH ₃	56.3	3.99 (3H, s)	-	56.0	3.99 (s)	-
8- OCH ₃	55.6	3.92 (3H, s)	-	55.4	3.91 (s)	-

a: recorded in CDCl₃



2.2.3.7. SF7573-3-2 (= SF7573-3-3-2)의 구조 분석



Figure 201. SF7573-3-2의 화학적 구조

SF7573-3-2는 무정형의 노란 가루 형태이다. HR-ESI-MS 스펙트럼 (m/z [M + H]⁺ 230.0817 [calcd. 230.0817]) 분석을 통해 분자식은 C₁₃H₁₁NO₃로 확인되었다. ¹H NMR에서 aromatic proton은 [δ_H 7.24 (2H, d, J = 8.0 Hz), 7.35 (2H, d, J = 8.0 Hz), 7.33 (1H, dt, J = 1.6 Hz), 6.24 (1H, s), 8.72 (1H, s)]에서 나타났으며, 1개의 methylene group은 [δ_H 3.88 (2H, s)]에서 나타났다. ¹³C NMR, DEPT spectrum에서 2개의 carbonyl carbon은 [δ_C 164.0, 178.3]에서 나타났으며, 3개의 quaternary carbon은 [δ_C 119.5, 133.9, 168.9]에서 나타났다. SF7573-3-2 구조는 2D NMR (HSQC, COSY, HMBC)을 통해 상세히 분석되었다 (Fig. 2.7.10). 추가적으로, SF7573-3-2는 previous report [6]과 비교한 결과 SF7573-3-2는 Carbonarone A [24]과 유사하였다 (Table 11).



Figure 202. SF7573-3-2의 MS spectrum

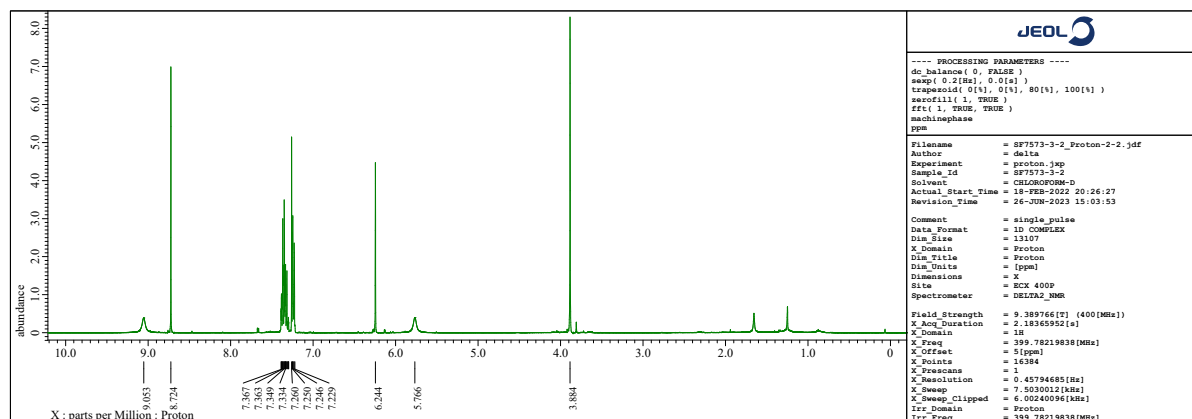


Figure 203. SF7573-3-2의 ^1H NMR spectrum (Recorded in CDCl_3)

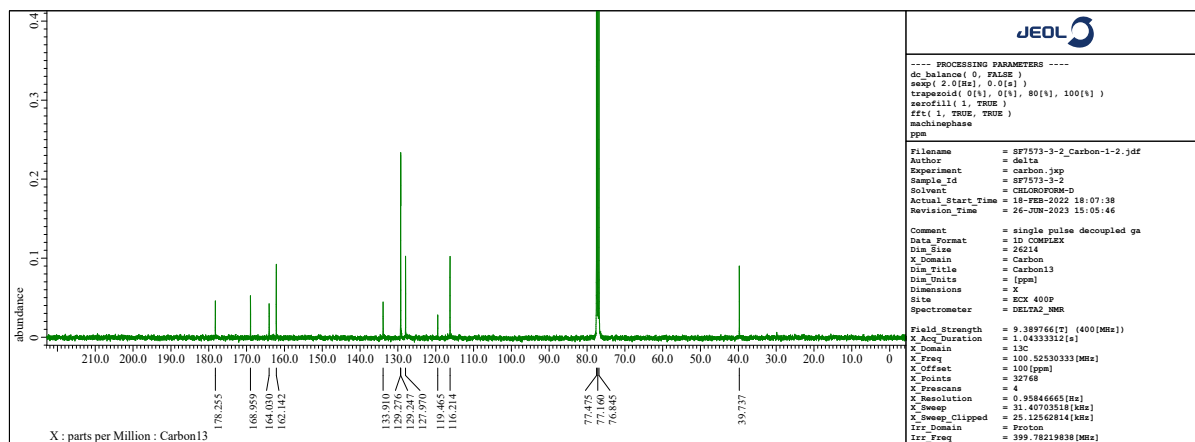


Figure 204. SF7573-3-2의 ^{13}C NMR spectrum (Recorded in CDCl_3)

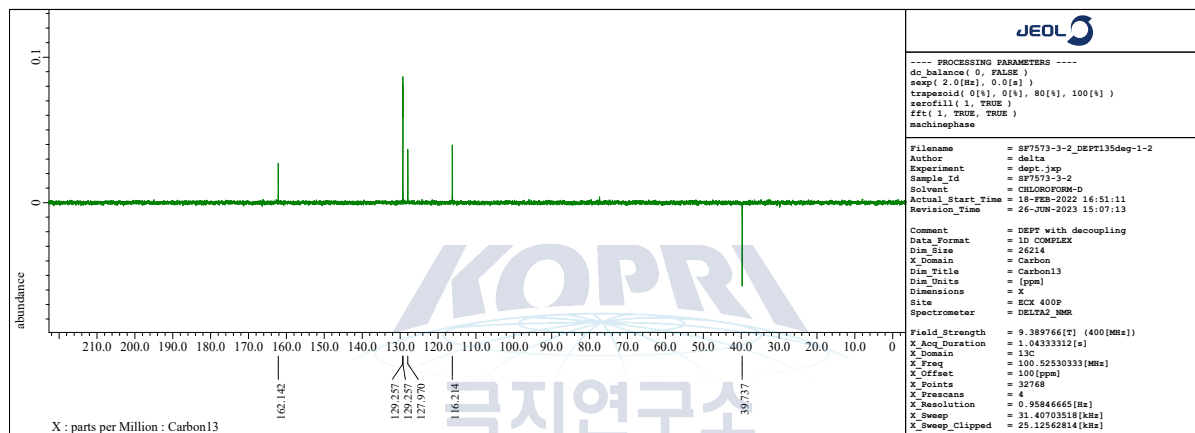


Figure 205. SF7573-3-2의 DEPT spectrum (Recorded in CDCl_3)

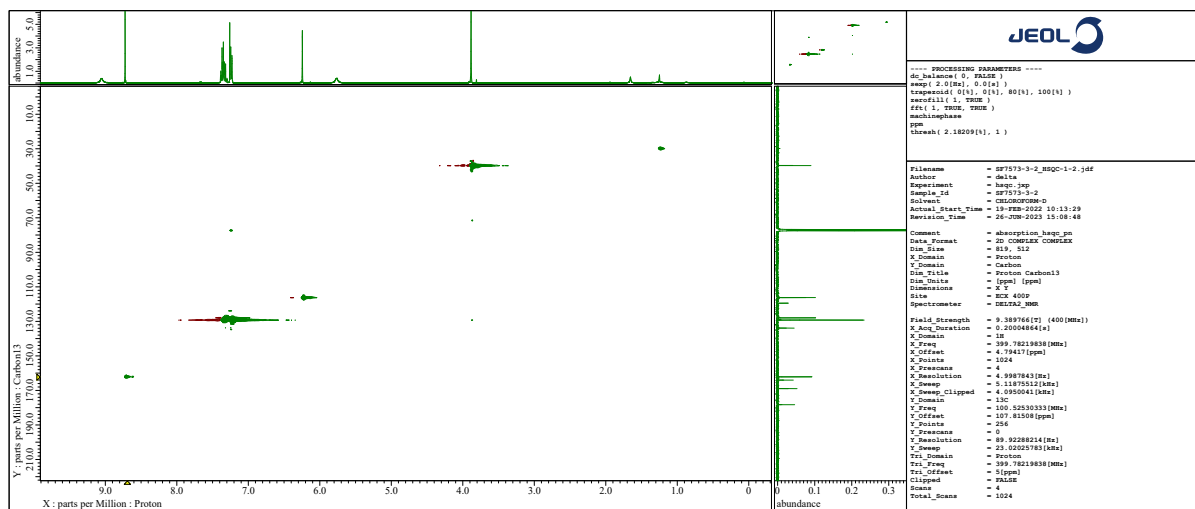


Figure 206. SF7573-3-2의 HSQC spectrum (Recorded in CDCl_3)

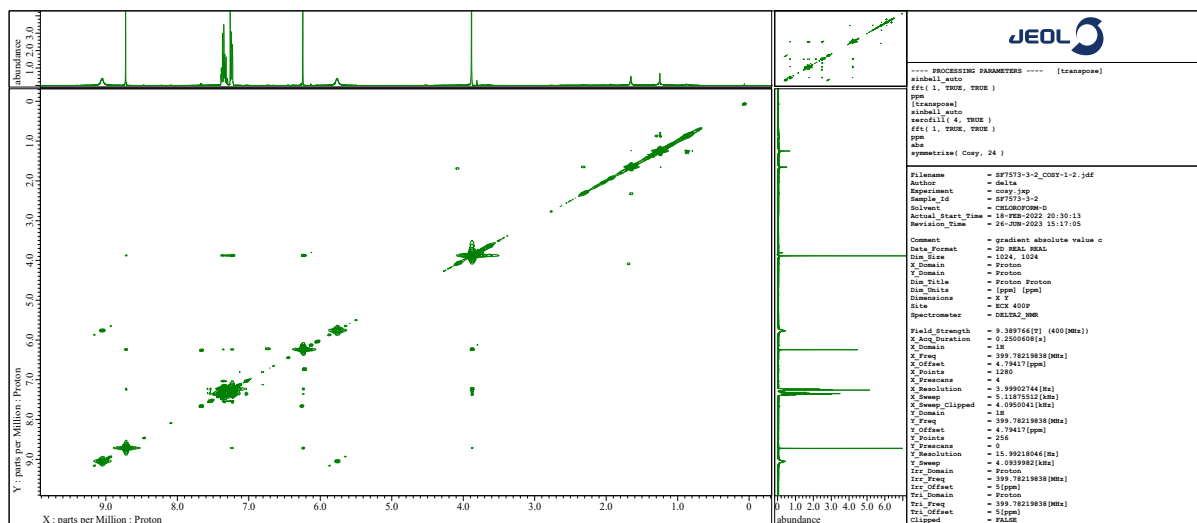


Figure 207. SF7573-3-2의 COSY spectrum (Recorded in CDCl₃)

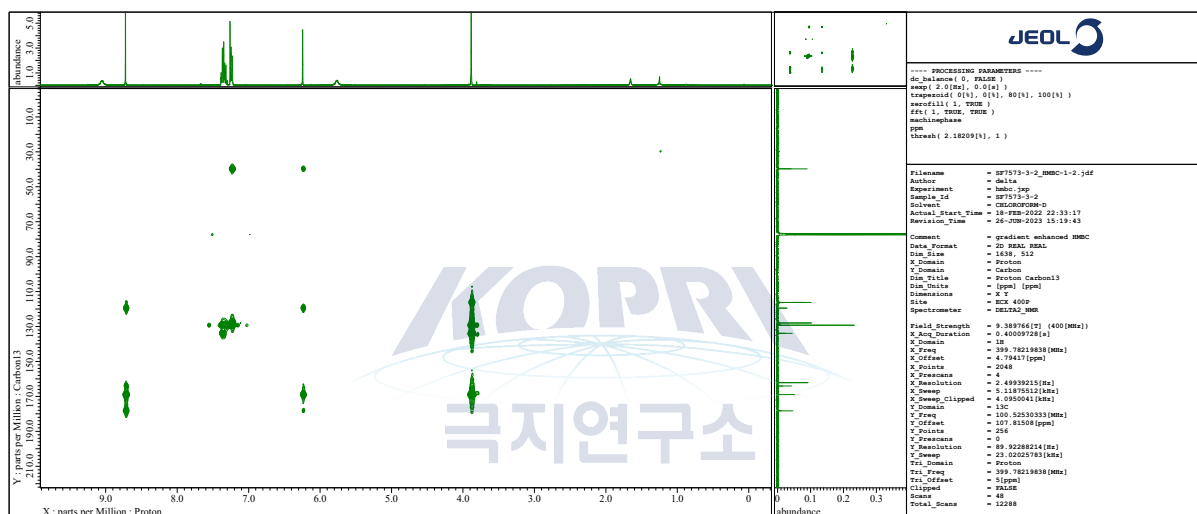


Figure 208. SF7573-3-2의 HMBC spectrum (Recorded in CDCl₃)

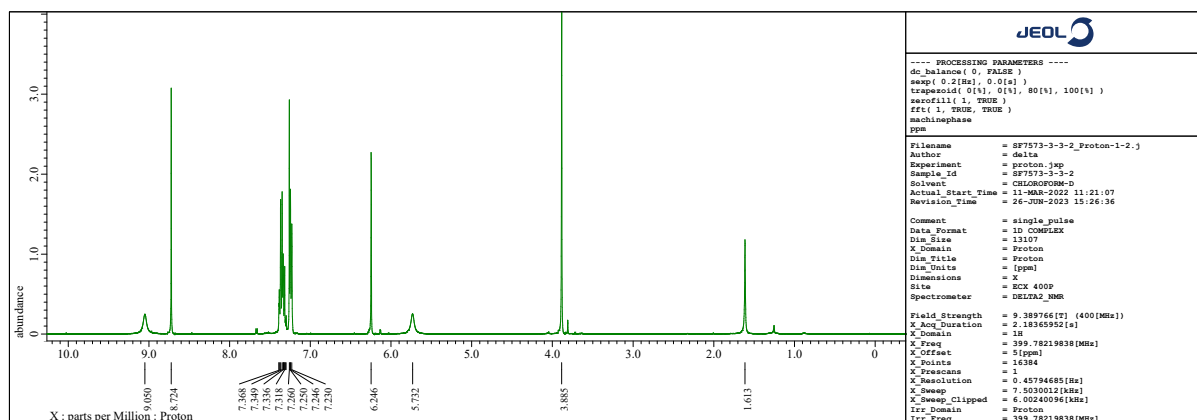


Figure 209. SF7573-3-3-2의 ^1H NMR spectrum (Recorded in CDCl_3)

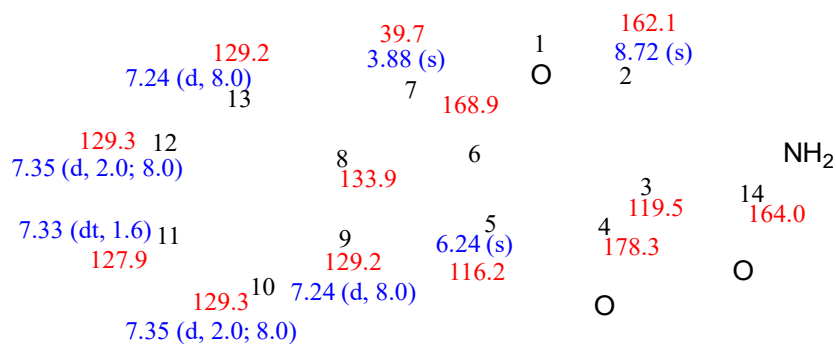


Figure 210. SF7573-3-2의 ^1H , ^{13}C NMR data 및 HMBC 상관관계

Table 11. SF7573-3-2 및 carbonarones A NMR data 비교

No.	SF7573-3-2 ^a			carbonarones A ^a		
	^{13}C (δ_{C} (ppm))	^1H (δ_{H} (ppm))	J in Hz	^{13}C (δ_{C} (ppm))	^1H (δ_{H} (ppm))	J in Hz
1	-	-	-	-	-	-
2	162.1	8.72 (1H, s)	-	162.0	8.73 (s)	-
3	119.5	-	-	119.3	-	-
4	178.3	-	-	178.1	-	-
5	116.2	6.24 (1H, s)	-	116.0	6.25 (s)	-
6	168.9	-	-	168.8	-	-
7	39.7	3.88 (2H, s)	-	39.6	3.89 (2H, s)	-
8	133.9	-	-	133.7	-	-
9	129.2	7.24 (2H, d, 8.0)	-	129.1	7.24 (d, 7.3)	-
10	129.3	7.35 (2H, dd, 2.0; 8.0)	-	129.1	7.37 (t, 7.3)	-
11	127.9	7.33 (1H, dt, 1.6)	-	127.8	7.32 (t, 7.3)	-
12	129.3	7.35 (2H, dd, 2.0; 8.0)	-	129.1	7.37 (t, 7.3)	-
13	129.2	7.24 (2H, d, 8.0)	-	129.1	7.24 (d, 7.3)	-
14	164.0	-	-	164.0	-	-
14-NH ₂	-	9.06 (1H, brs) 5.99 (1H, brs)	-	-	9.07 (1H, brs) 5.94 (1H, brs)	-

a: recorded in CDCl_3

2.2.3.8. SF7573-3-3-3의 구조 분석

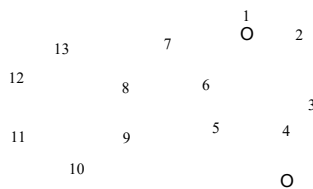


Figure 211. SF7573-3-3-3의 화학적 구조

SF7573-3-3-3은 무정형 고체 형태이다. HR-ESI-MS 스펙트럼 (m/z $[M + H]^+$ 187.0756 [calcd. 187.0759]) 분석을 통해 분자식은 $C_{12}H_{11}O_2$ 로 확인되었다. ^1H , ^{13}C NMR data 결과 SF7573-3-3-3의 구조는 ^1H NMR에서 amide group과 ^{13}C NMR에서 carbonyl 탄소 하나가 부족한 점을 제외하고 SF7573-3-2와 유사한 benzyl- γ -pyron 구조로 발견되었다. 차이점은 ^1H NMR의 double doublet signal에서 [δ_H 6.26 (1H, dd, $J = 6.0, 2.8$ Hz, H-3), 7.66 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-2)] 및 COSY spectrum에서 확인되었다. SF7573-3-3-3은 보고된 data [25] (Table 12)과 비교한 결과 aspergyllone로 확인되었다.



Figure 212. SF7573-3-3-3의 MS spectrum

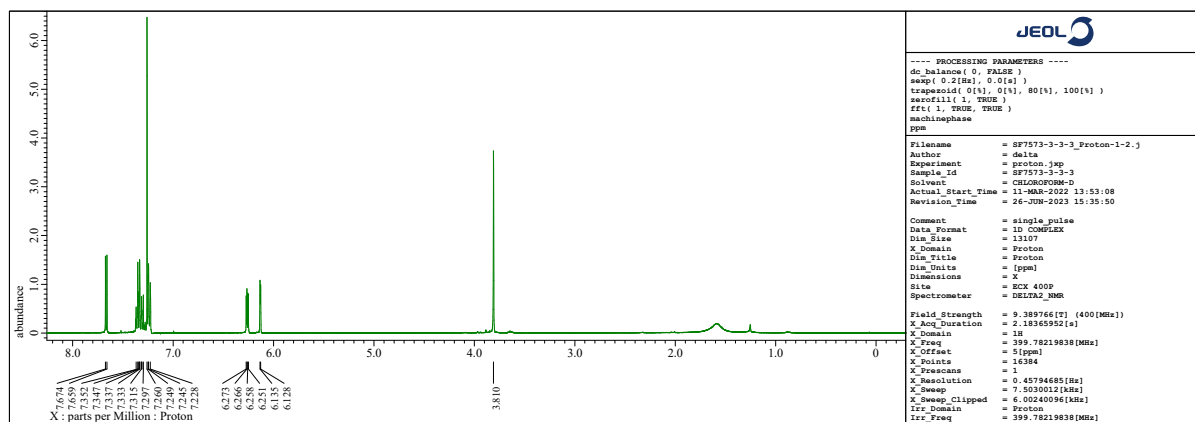


Figure 213. SF7573-3-3-3의 ^1H NMR spectrum (Recorded in CDCl_3)

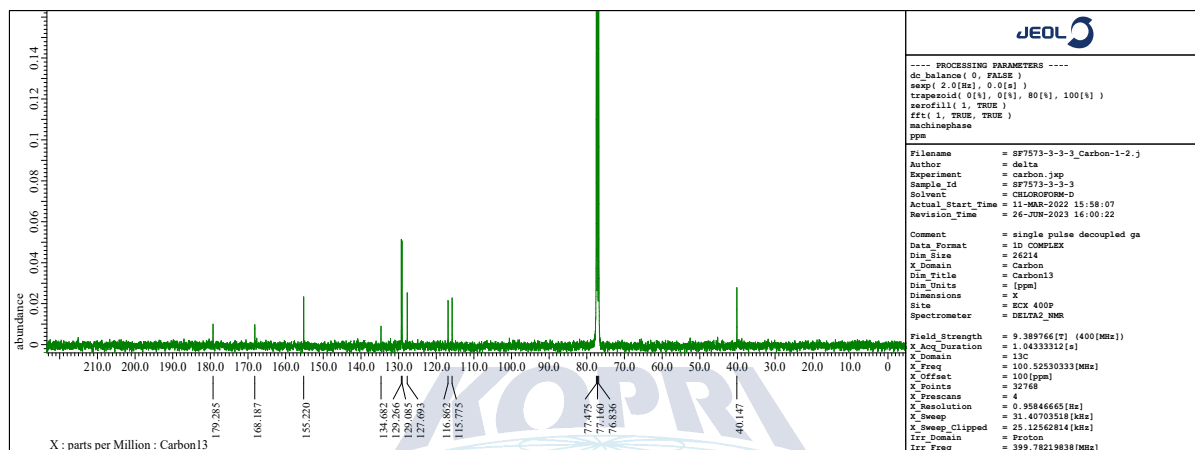


Figure 214. SF7573-3-3-3의 ^{13}C NMR spectrum (Recorded in CDCl_3)

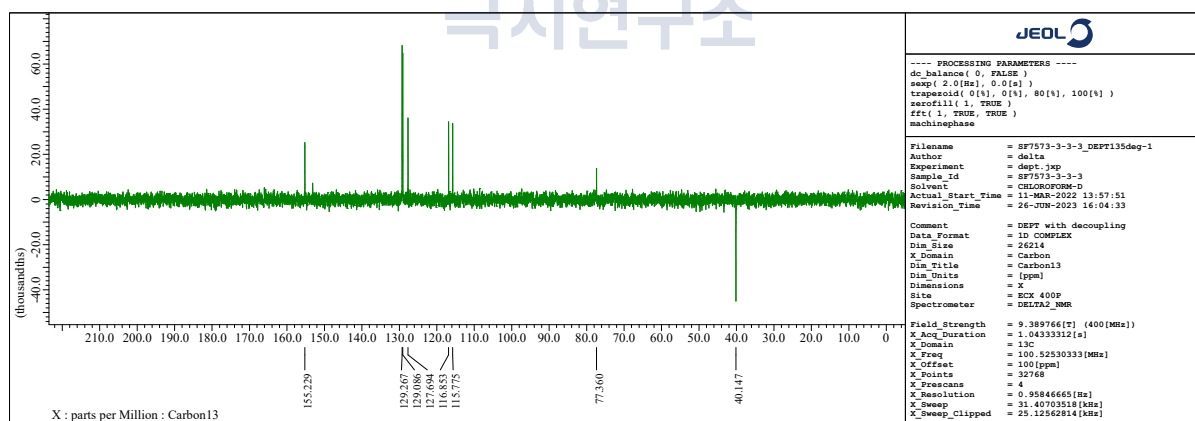


Figure 215. SF7573-3-3-3의 DEPT spectrum (Recorded in CDCl_3)

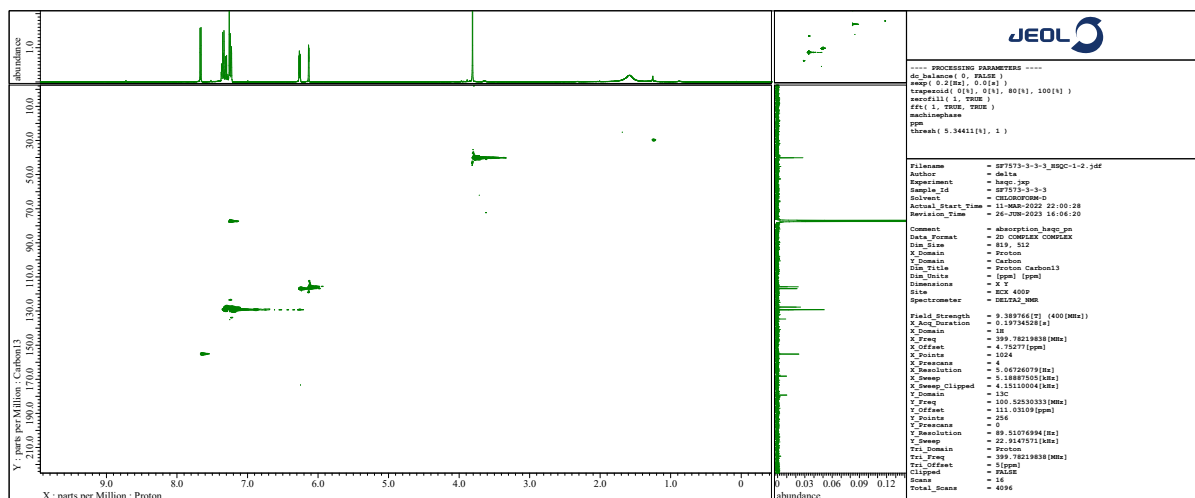


Figure 216. SF7573-3-3-3의 HSQC spectrum (Recorded in CDCl₃)

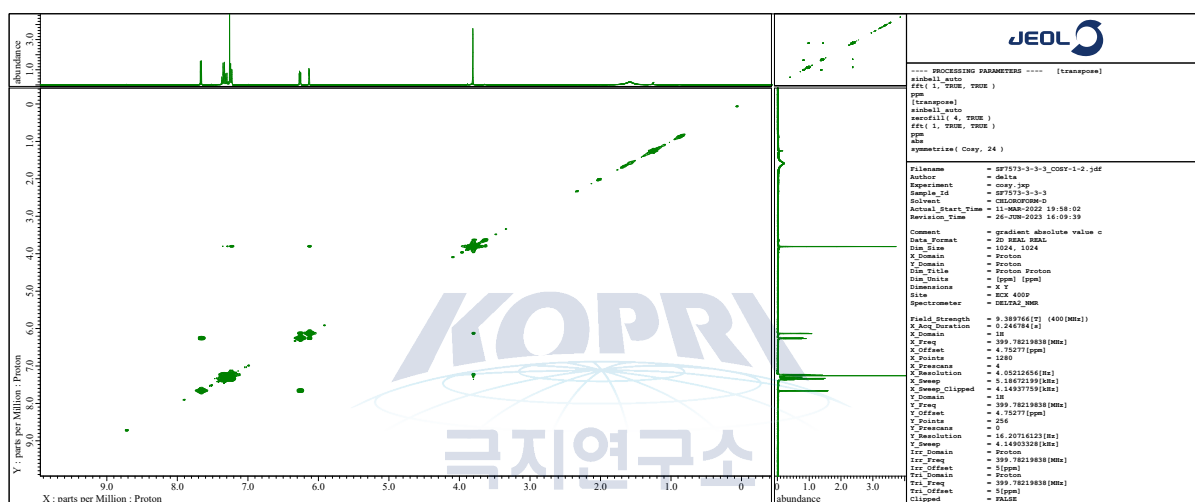


Figure 217 SF7573-3-3-3의 COSY spectrum (Recorded in CDCl₃)

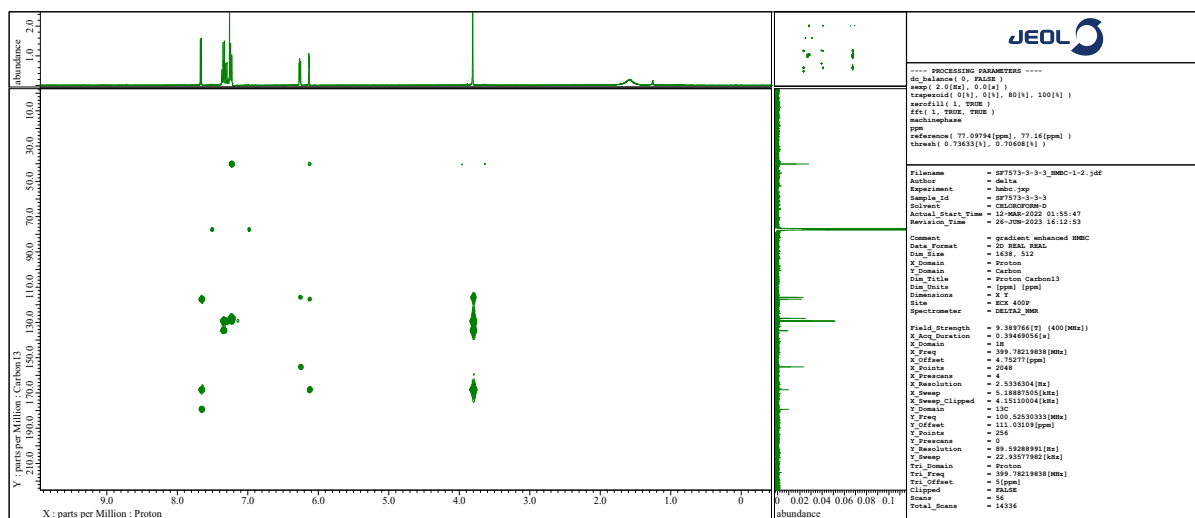


Figure 218. SF7573-3-3-3의 HMBC spectrum (Recorded in CDCl₃)

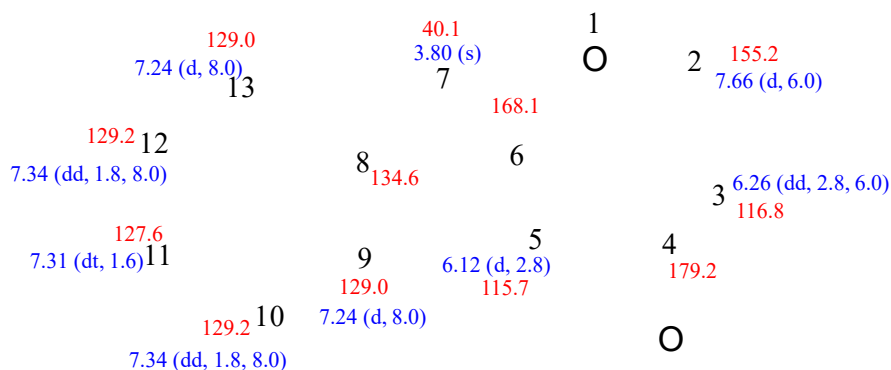


Figure 219. SF7573-3-3-3 ^1H , ^{13}C NMR data 및 HMBC 상관관계

Table 12. SF7573-3-3-3 및 Aspergyllone NMR data 비교

No.	SF7573-3-3-3 ^a			Aspergyllone ^a	
	^{13}C (δ_{C} (ppm))	^1H (δ_{H} (ppm)) J in Hz	^{13}C (δ_{C} (ppm))	^1H (δ_{H} (ppm)) J in Hz	
1	-	-	-	-	
2	155.2	7.66 (1H, d, 6.0)	154.7	7.66 (1H, d, 5.8)	
3	116.8	6.26 (1H, dd, 2.8, 6.0)	117.0	6.26 (1H, dd, 2.5, 5.8)	
4	179.2	-	178.8	-	
5	115.7	6.12 (1H, d, 2.8)	115.1	6.12 (1H, d, 2.5)	
6	168.1	-	168.8	-	
7	40.1	3.80 (2H, s)	40.1	3.80 (2H, s)	
8	134.6	-	134.9	-	
9	129.0	7.24 (1H, d, 8.0)	129.5	7.26 (dd, 1.6, 7.5)	
10	129.2	7.34 (1H, dd, 2.0; 8.0)	129.5	7.35 (dd, 1.6, 7.5)	
11	127.6	7.31 (1H, dt, 1.6)	128.0	7.35 (t, 7.5)	
12	129.2	7.34 (1H, dd, 2.0; 8.0)	129.5	7.35 (dd, 1.6, 7.5)	
13	129.0	7.24 (1H, d, 8.0)	129.5	7.26 (dd, 1.6, 7.5)	

a: recorded in CDCl_3

2.2.3.9. SF7573-2-3-2의 구조 분석

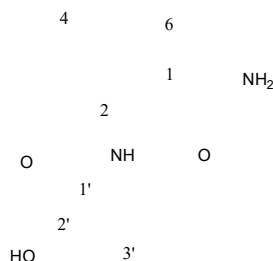


Figure 220. SF7573-2-3-2의 화학적 구조

SF7573-3-3-2는 옅은 노란 가루 형태이다. HR-ESI-MS 스펙트럼 (m/z [M + Na]⁺ 231.0745 [calcd. 231.0746]) 분석을 통해 분자식은 C₁₀H₁₂N₂O₃로 확인되었다. SF7575-2-3-2의 ¹H, ¹³C, HSQC spectroscopic data를 통해 1개의 methyl group은 [δ_H/δ_C 1.42 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-3')/19.7 (C-3')]에서 나타났으며, 1개의 methine unit은 [δ_H/δ_C 4.22 (1H, q, J = 6.8 Hz, H-2')/68.5 (C-2')]에서 나타났다. aromatic proton은 [δ_H/δ_C 7.15 (1H, ddd, J = 8.8, 7.6, 1.0 Hz, H-5)/123.1, 7.72 (1H, dd, J = 7.6, 1.4 Hz, H-6)/128.1, 7.48 (1H, ddd, J = 8.8, 7.2, 1.4 Hz, H-4)/131.9, 8.50 (1H, dd, J = 8.4, 1.0 Hz, H-3)/120.8]에서 나타났고 2개의 quaternary carbon은 [δ_C 121.5, 138.2]에서 나타났으며, 2개의 amide carbonyl은 [δ_C 171.9, 175.3]에서 나타났다. 2{[(2S)-2-hydroxypropanoyl]amino}benzamide [26]과 2{[(2R)-2-hydroxypropanoyl]amino}benzamide [27] (Table 13, 14)의 ¹H, ¹³C 및 2D NMR을 보고된 data를 비교한 결과 SF7573-2-3-2는 2{[(2S)-2-hydroxypropanoyl]amino}benzamide [26]로 확인되었다.

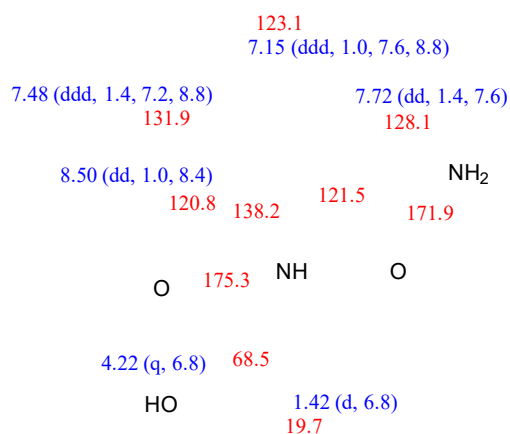


Figure 221. SF7573-2-3-2의 ¹H, ¹³C NMR data 및 HMBC 상관관계

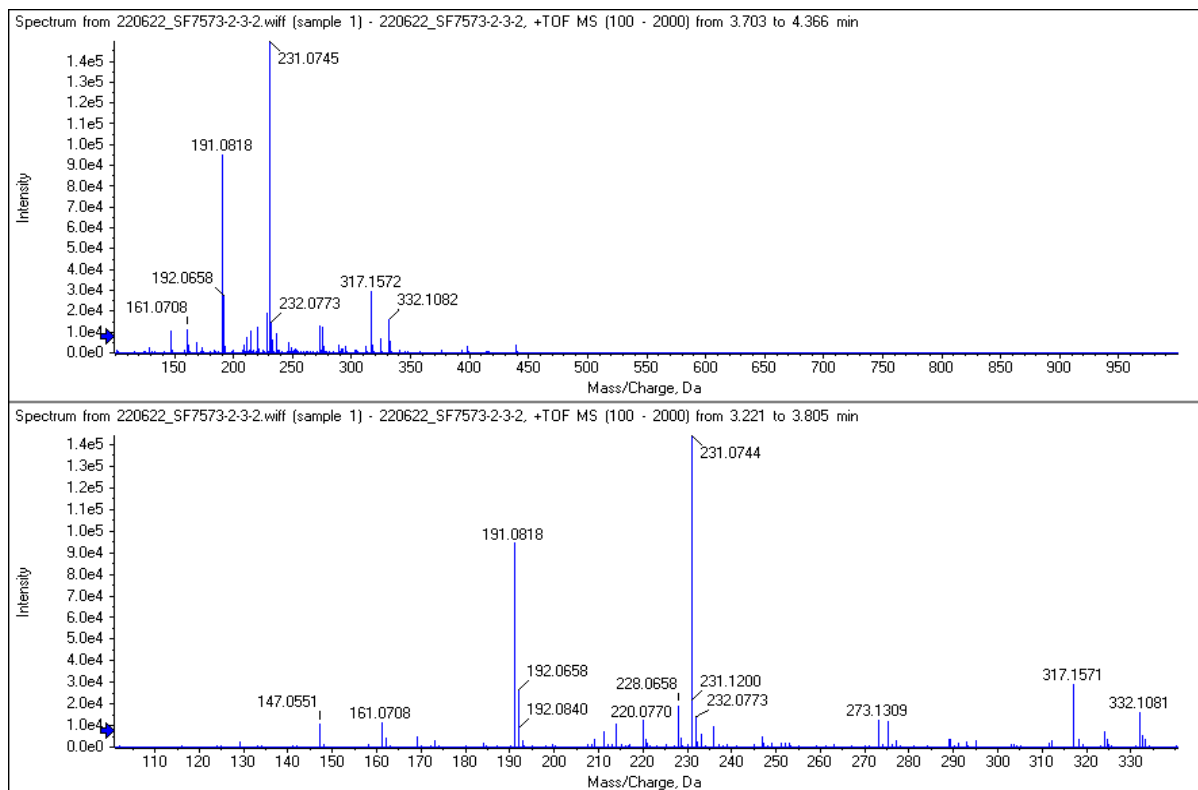


Figure 222. SF7573-2-3-2의 MS spectrum

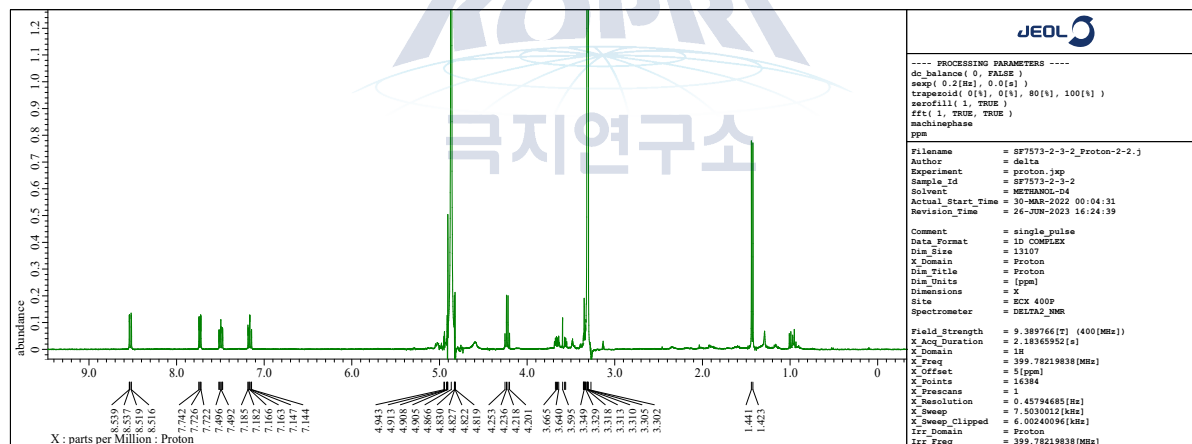


Figure 223. SF7573-2-3-2의 ^1H NMR spectrum (Recorded in Methanol- d_4)

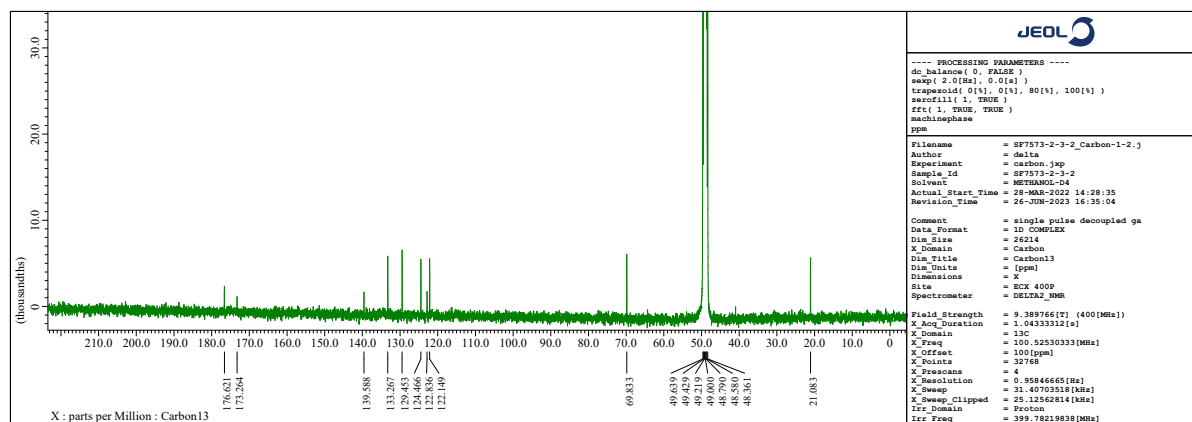


Figure 224. SF7573-2-3-2의 ^{13}C NMR spectrum (Recorded in Methanol- d_4)

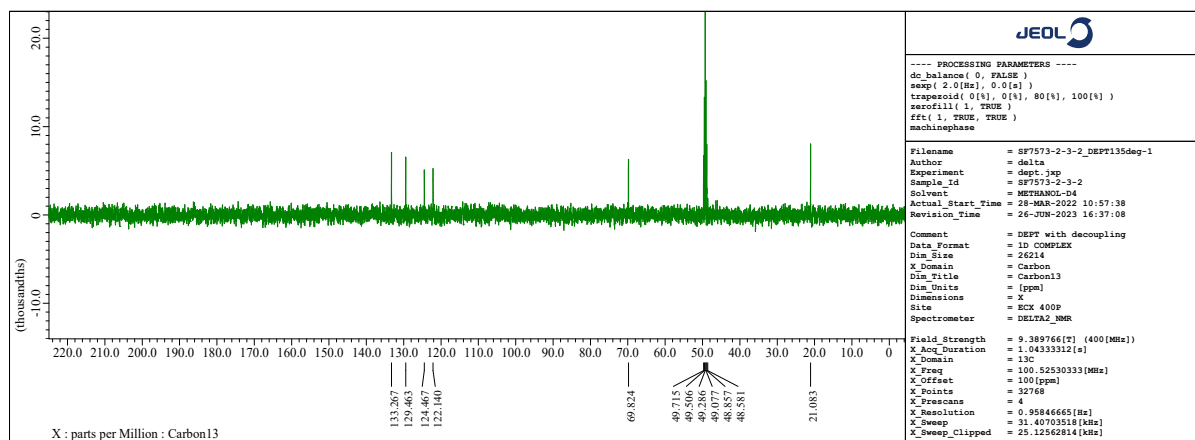


Figure 225. SF7573-2-3-2의 DEPT spectrum (Recorded in Methanol- d_4)

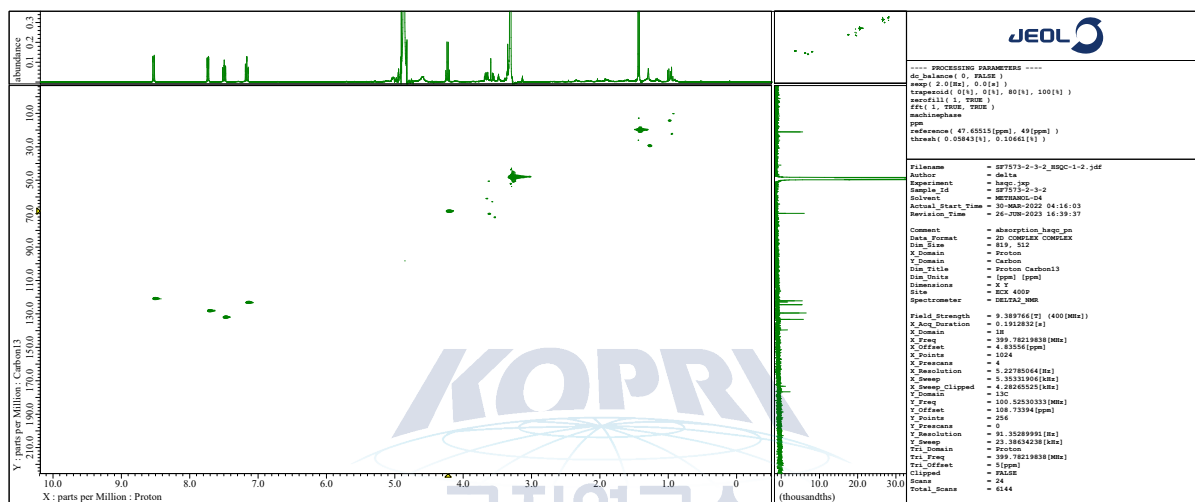


Figure 226. SF7573-2-3-2의 HSQC spectrum (Recorded in Methanol- d_4)

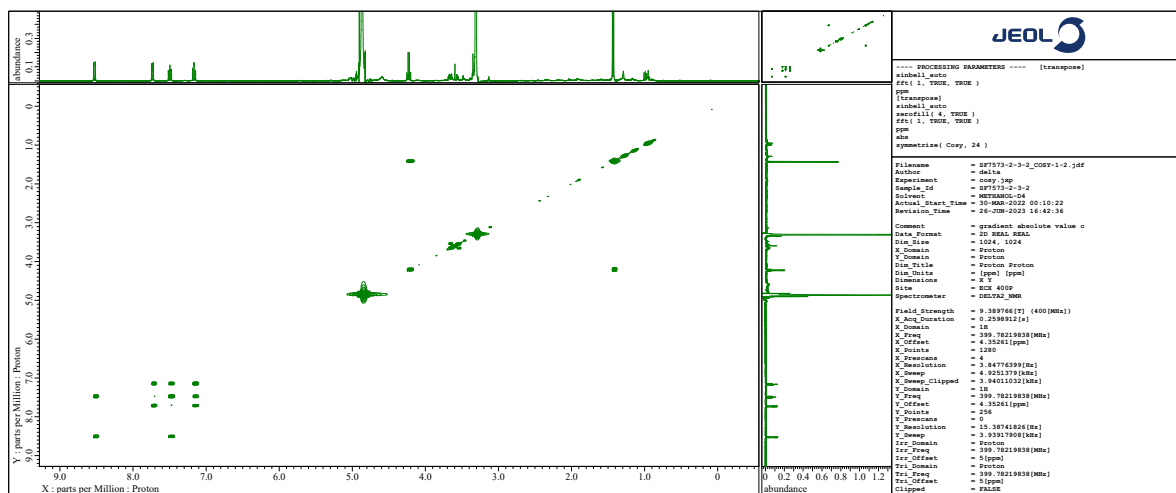


Figure 227. SF7573-2-3-2의 COSY spectrum (Recorded in Methanol- d_4)

○ 세부목표 2-3: 활성 대사체의 활성 기작 검토

연 구 내 용	연 구 결 과
- 활성 대사체의 활성 기작 검토 (1 중 검토)	- 진균 추출물 SF7343 유래 대사체 chrysanthone B의 BV2 & HT22 cell 에서의 항염증 및 뇌세포보호 효과의 활성 기작을 검토함 [별첨 2-3-1] - 극지생물 유래 미생물 SF-7343으로부터 분리된 신규 물질 3종 대사체를 대상으로 BV2 및 RAW264.7 cell 에서 활성 기작을 검토함[별첨 2-3-2]

[별첨 2-3-1] SF7343 유래 대사체 chrysanthone B의 항염증 및 뇌세포보호 효과 활성 기전 확인

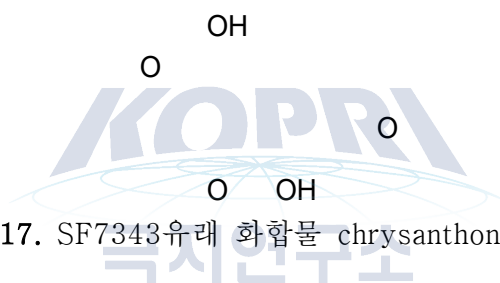


Figure 117. SF7343유래 화합물 chrysanthone B의 구조

○ chrysanthone B 는 *Pleosporales* sp SF7343에서 분리된 대사체로서 기존에 이미 알려진 물질이었고, 기존 문헌과의 분광학적 분석결과의 비교를 통해 구조를 규명하였다.

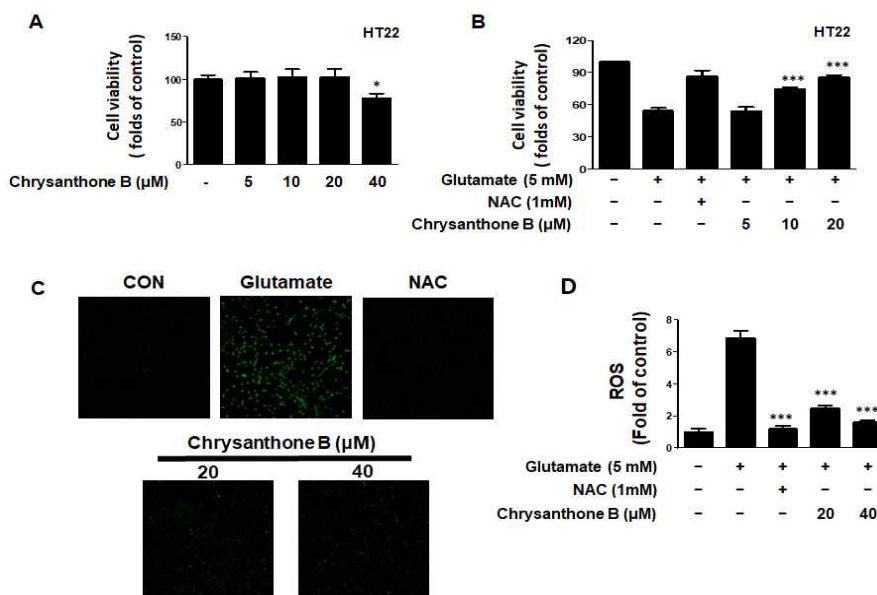


Figure 118. HT22 해마세포에서 화합물 Chrysanthone B 의 세포독성 (A)과 Glutamate로 세포독성을 유도한 상태에서 세포보호효과 (B) 및 ROS 생성 억제 효과 (C,D).

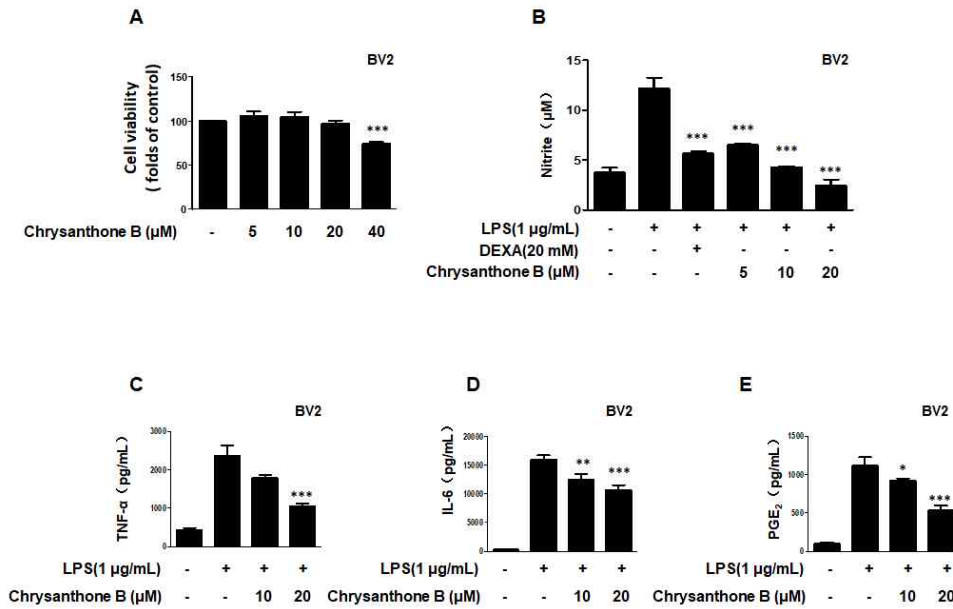


Figure 119. BV2 미세아교세포에서 화합물 Chrysanthone B 의 세포독성 (A)과 LPS로 염증을 유도한 상태에서 염증 인자 nitrite (B), prostaglandin E₂ (E) 와 염증성 사이토카인 TNF- α (C), interleukin-6 (D) 생성억제효과.

○ 이 연구에서는 chrysanthone B의 HT22 해마세포에서의 뇌세포보호효과와 BV2 미세아교세포의 항뇌염증효과를 검증하기 위한 기전연구를 진행하였다. 먼저 HT22 세포에서 세포독성을 확인하였을 때 40 μ M 농도에서 세포독성을 보여 (Figure 119 A) 추후 실험에서 20 μ M의 농도 범위에서 실험을 진행하였다. Glutamate로 세포 독성을 유도한 HT22 세포에서 세포생존률을 높였고 (Figure 119 B), glutamate로 인해 증가한 ROS의 생성을 억제하는 효과를 확인하였다 (Figure 119 C, D). 다음으로 BV2 세포에서 세포독성을 확인하였을 때 40 μ M에서 세포독성을 보여 (Figure 119 A) 추후 실험에서 20 μ M의 농도 범위에서 실험을 진행하였다. LPS로 염증을 유도한 BV2세포에서 chrysanthone B는 농도의존적으로 염증성 인자 nitrate, prostaglandin E₂ (Figure 2.3.3. B, E) 및 염증성 사이토카인 TNF- α 및 interleukin-6 의 생성을 억제하였다 (Figure 119 C, D).

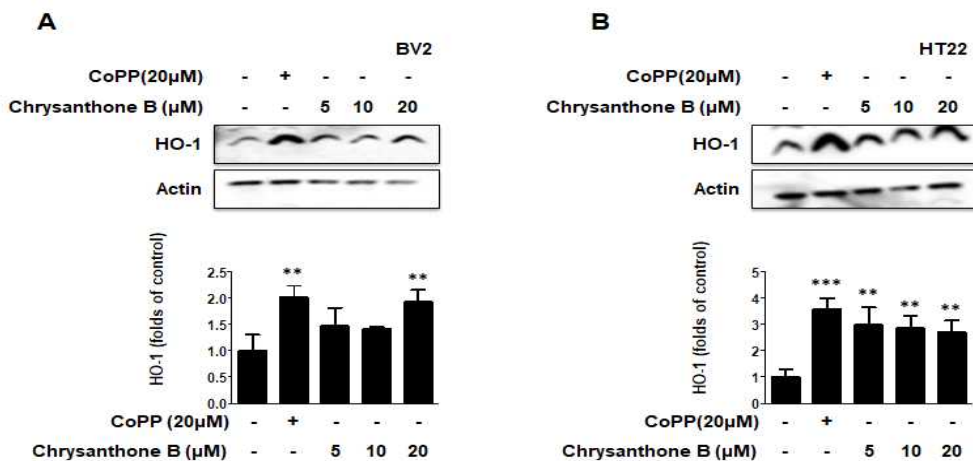


Figure 120. HT22 세포와 BV2 세포에서 화합물 Chrysanthone B 의 HO-1 단백질 발현 효과.

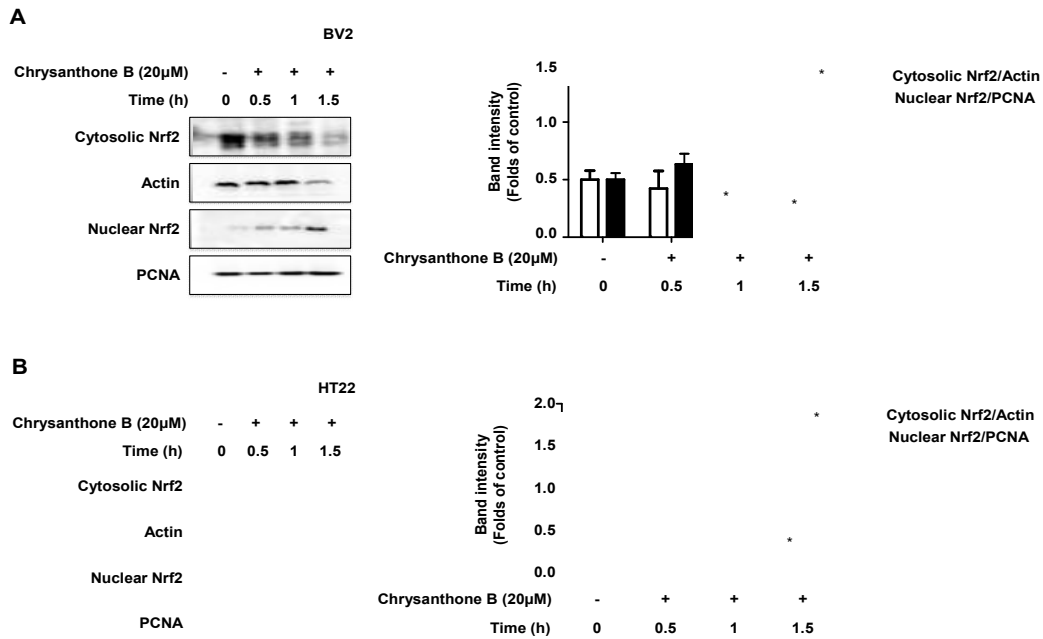


Figure 121. HT22 세포와 BV2 세포에서 화합물 Chrysanthone B가 Nrf2 인자를 세포질에서 핵내로 전사시키는 효과.

○ chrysanthoe B는 HT22 세포와 BV2 세포에서 모두 HO-1 단백질의 발현을 증가시켰으며 (Figure 120 A, B) 이를 확인하기 위해 HO-1 단백질의 발현 기전으로 알려진 Nrf2 경로를 확인하였다. chrysanthoe B는 두 세포 모두에서 Nrf2 인자를 세포질에서 핵내로 translocation시켜 HO-1 단백질의 발현에 영향을 줄 것이라고 판단되었다. (Figure 122 A, B).

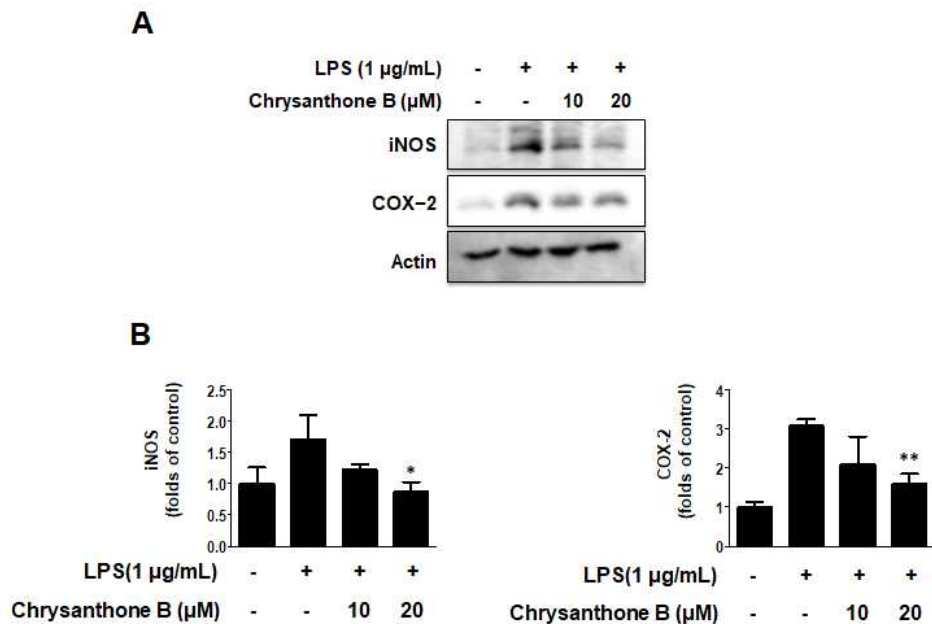


Figure 122. LPS로 염증을 유도한 BV2 세포에서 화합물 Chrysanthone B의 염증 물질 생성 단백질 iNOS 및 COX-2 발현 억제효과 (A,B).

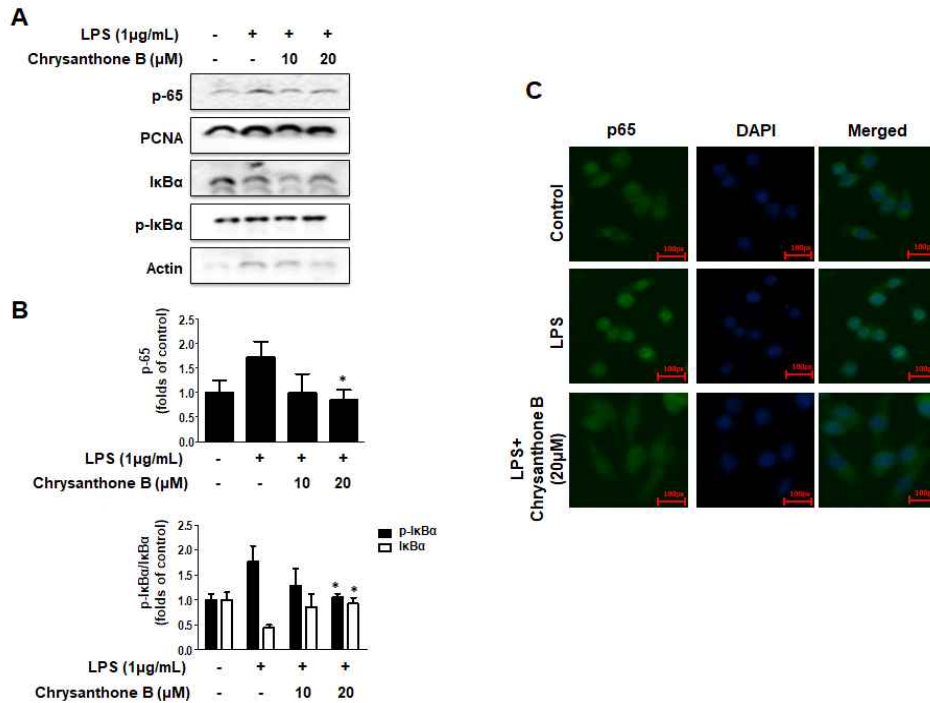


Figure 123. LPS로 염증을 유도한 BV2 미세아교세포에서 화합물 Chrysanthone B의 염증 nuclear factor kappa-B (NF-κB) 경로의 단백질 p65 및 IκB-α 발현 억제효과 (A,B) 및 p65 단백질 핵내 전사 억제효과 (C).

○ 추가적인 항염증 효과 검증에서 LPS로 염증을 유도한 BV2 세포에서 chrysanthone B는 염증성 매개체 생성 단백질인 iNOS 및 COX-2의 발현을 모두 억제하였다 (Figure 122 A, B). 염증 상위기전인 nuclear factor kappa-B (NF-κB) 경로에서 chrysanthone B는 p65 및 IκB 인자의 세포질에서 핵내로 translocation을 막아 항염증 효과에 영향을 줄 것이라고 판단되었다. (Figure 123 A-C).

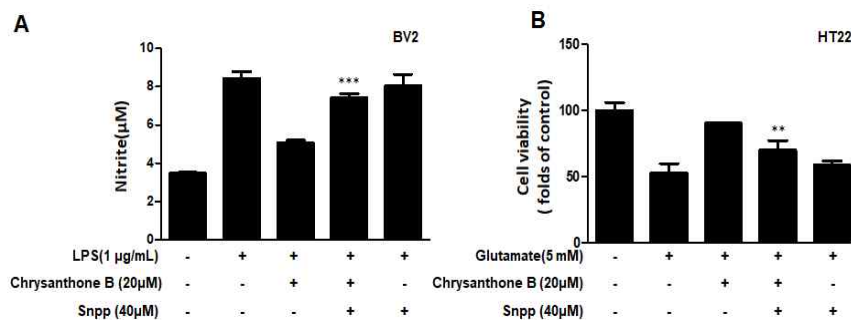


Figure 124. BV2 세포의 항염증 효과와 HT22 세포의 세포보호 효과의 HO-1 단백질 발현과 연관성 검색 (A,B).

○ chrysanthone B의 BV2 세포의 항염증 작용과 HT22 세포에서의 세포보호효과가 HO-1 단백질 발현과의 연관성을 확인하기 위해 HO-1 발현 억제제인 (Snpp)를 처리하였을 때 두 세포에서 항염증 및 세포보호 효과가 reverse 되는 것을 확인하였다 (Figure 124 A, B). 이를 통해 HO-1 단백질 발현이 항염증 효과와 세포보호 효과에 직접적으로 영향을 미치는 것을 확인하였다.

[별첨 2-4-1] SF7343 유래 신규 대사체 3종의 항염증 효과 활성 기전 확인

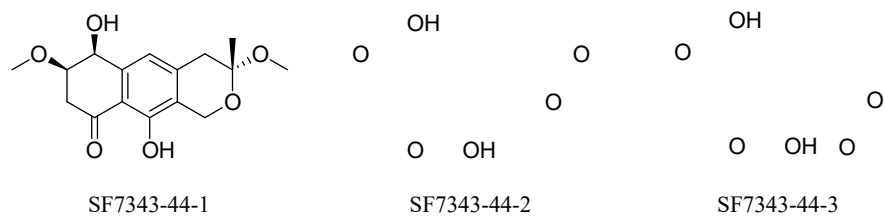


Figure 125. SF7343유래 신규 화합물들의 구조.

- *Pleosporales* sp SF7343에서 분리된 대사체 SF7343-44-1, SF7343-44-2, SF7343-44-3 은 앞선 연구인 chrysanthoe B와 구조가 유사한 것으로 확인되었고, 분광학적 분석결과를 통해 신규 구조로 규명되었다.

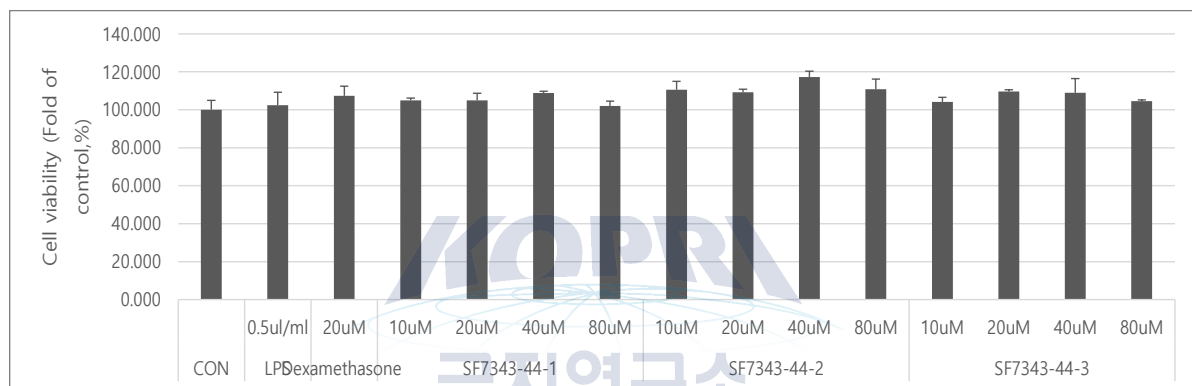


Figure 126. BV2 세포에서 화합물 SF7343-44-1, SF7343-44-2, SF7343-44-3의 세포독성.

- 이 연구에서는 SF7343-44-1, SF7343-44-2, SF7343-44-3의 HT22 해마세포에서의 뇌세포보호효과와 BV2 미세아교세포의 항뇌염증효과를 검증하기 위한 기전연구를 진행하였다. 먼저 BV2 세포에서 세포독성을 확인하였을 때 세 화합물 모두 80 μ M까지 세포독성을 보이지 않아 (Figure 126) 추후 실험에서 80 μ M의 농도 범위에서 실험을 진행하였다. LPS로 염증을 유도한 BV2세포에서 SF7343-44-1 은 농도의존적으로 염증성 인자 nitrate (Figure 127) 및 염증성 사이토카인 interleukin-6 (Figure 128)와 TNF- α (Figure 129)의 생성을 억제하였다.

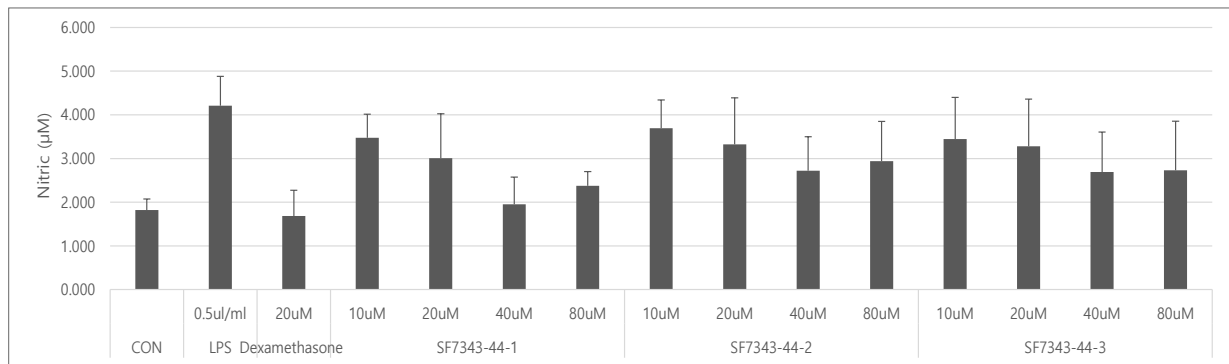


Figure 127. LPS로 염증을 유도한 BV2 세포에서 화합물 SF7343-44-1, SF7343-44-2, SF7343-44-3의 NO 생성 억제 효과.

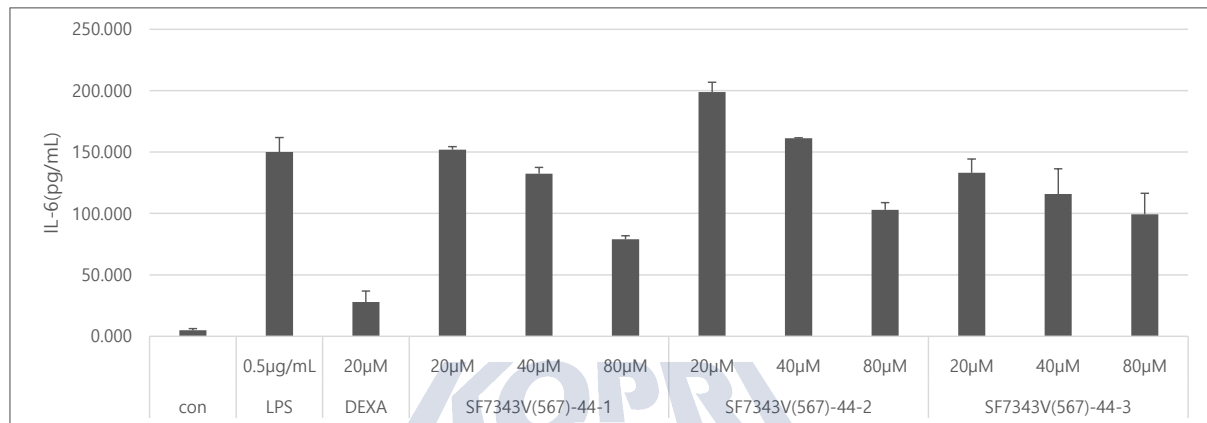


Figure 128. LPS로 염증을 유도한 BV2 세포에서 화합물 SF7343-44-1, SF7343-44-2, SF7343-44-3의 interleukin-6 생성 억제 효과.

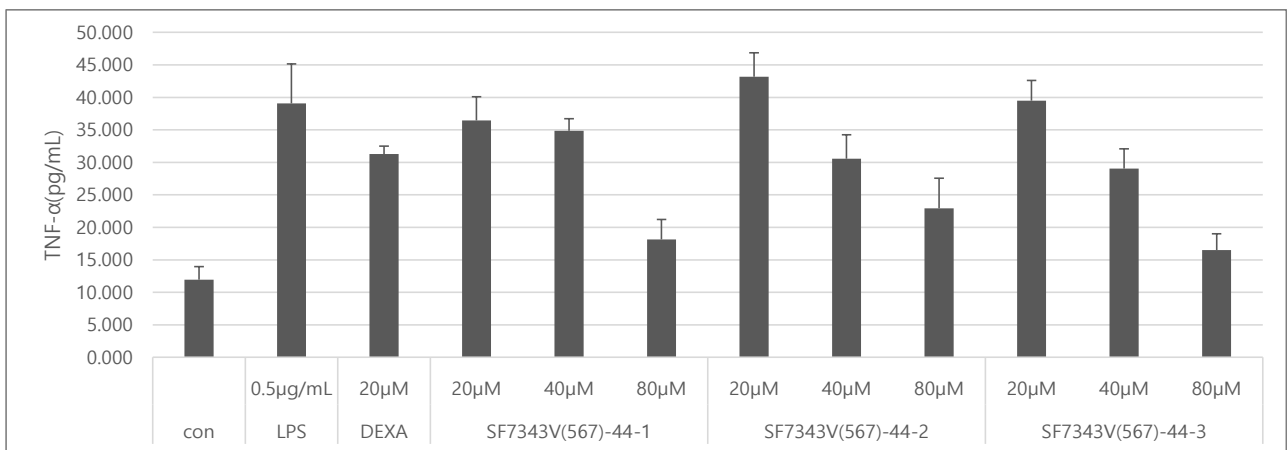


Figure 129. LPS로 염증을 유도한 BV2 세포에서 화합물 SF7343-44-1, SF7343-44-2, SF7343-44-3의 TNF-α 생성 억제 효과.

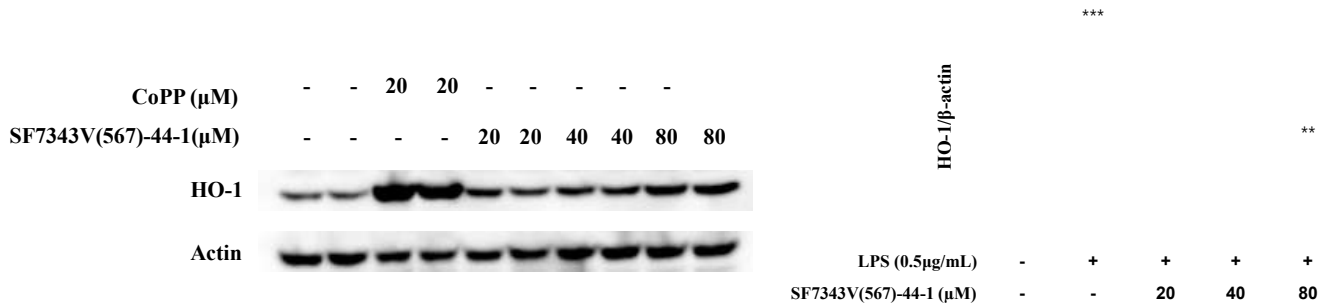


Figure 130. BV2 세포에서 화합물 SF7343-44-1의 HO-1 단백질 발현 효과.

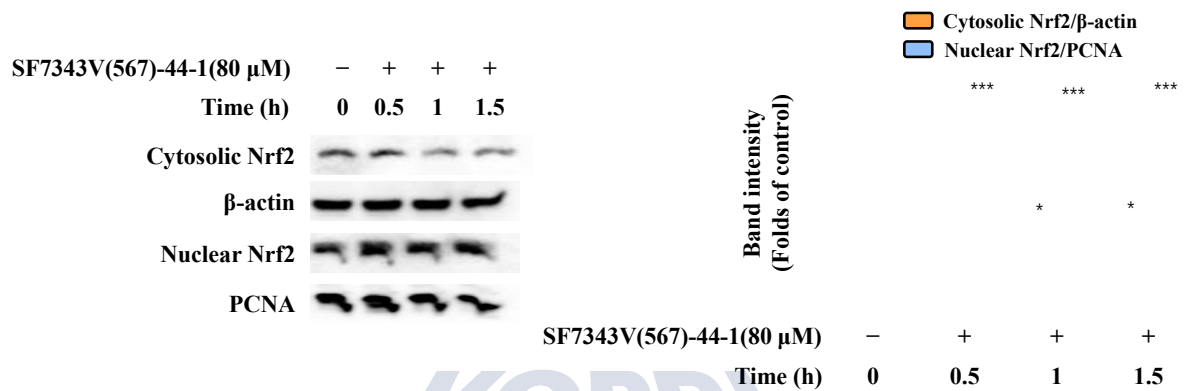


Figure 131. BV2 세포에서 화합물 SF7343-44-1의 Nrf2 경로 전사 효과.

- SF7343-44-1은 BV2 세포에서 HO-1 단백질의 발현을 증가시켰으며 (Figure 130) 이를 확인하기 위해 HO-1 단백질의 발현 기전으로 알려진 Nrf2 경로를 확인하였다. SF7343-44-1은 BV2 세포에서 Nrf2 인자를 세포질에서 핵내로 translocation시켜 (Figure 131) HO-1 단백질의 발현에 영향을 줄 것이라고 판단되었다.

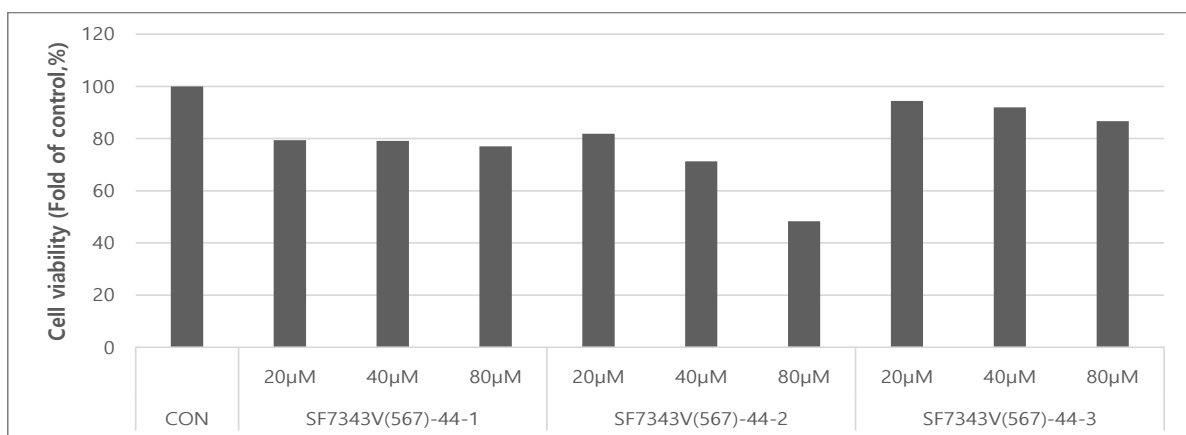


Figure 132. HT22 세포에서 화합물 SF7343-44-1, SF7343-44-2, SF7343-44-3의 세포 독성.

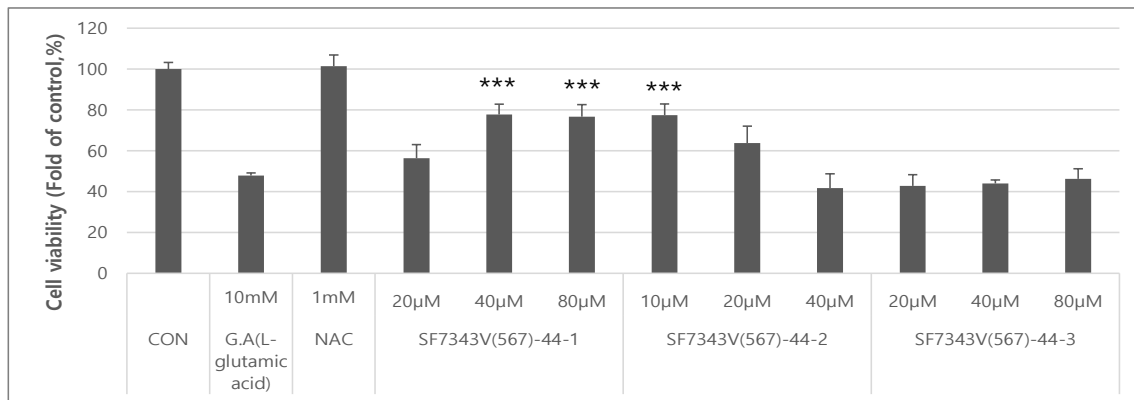


Figure 133. glutamate로 세포독성을 유발한 HT22 세포에서 화합물 SF7343-44-1, SF7343-44-2, SF7343-44-3 의 보호효과.

○ HT22 세포에서 세포독성을 확인하였을 때 화합물 SF7343-44-1, SF7343-44-3 은 80 μM 농도까지 세포독성을 보이지 않았으나 SF7343-44-2의 경우 80 μM 농도에서 세포 독성을 보였다(Figure 132). 추후 실험에서 해당 결과의 농도 범위를 고려하여 실험을 진행하였다. Glutamate로 세포 독성을 유도한 HT22 세포에서 SF7343-44-1과 SF7343-44-2는 세포 생존률을 높였으나 (Figure 133), BV2 세포실험 결과를 고려하여 추가 실험은 SF7343-44-1에 대하여 진행하였다. SF7343-44-1은 glutamate로 인해 증가한 ROS의 생성을 억제하는 효과를 나타내었다 (Figure 134).

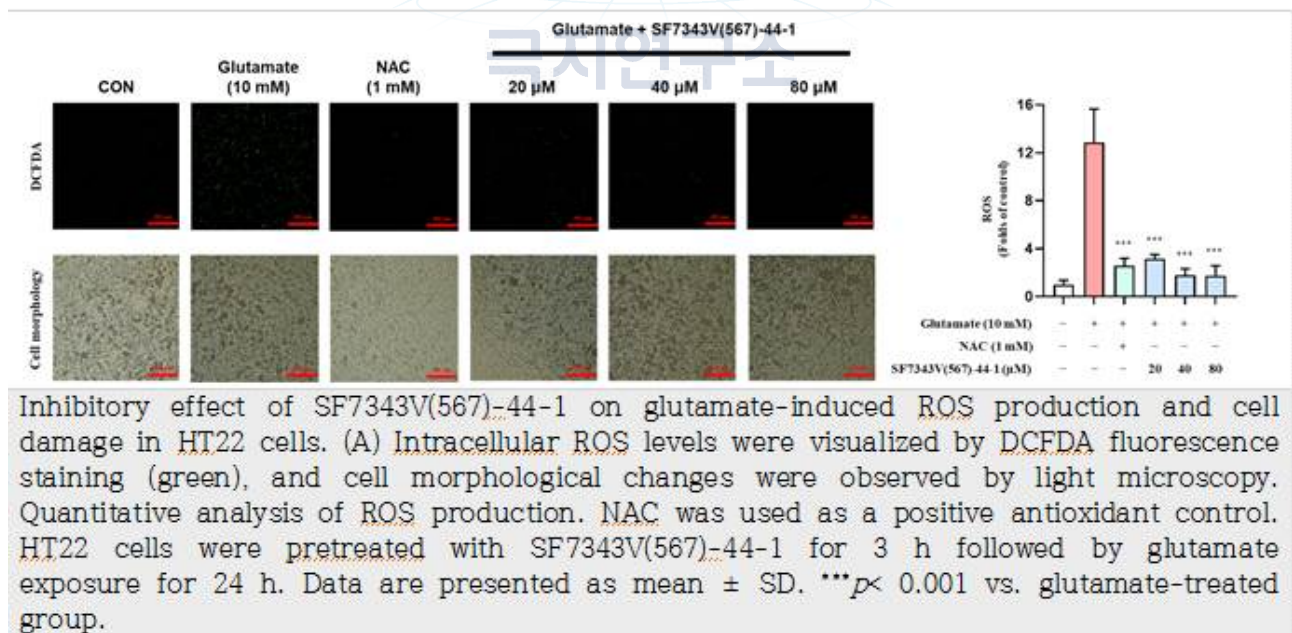


Figure 134. glutamate로 세포독성을 유발한 HT22 세포에서 화합물 SF7343-44-1의 ROS 생성 억제 효과.

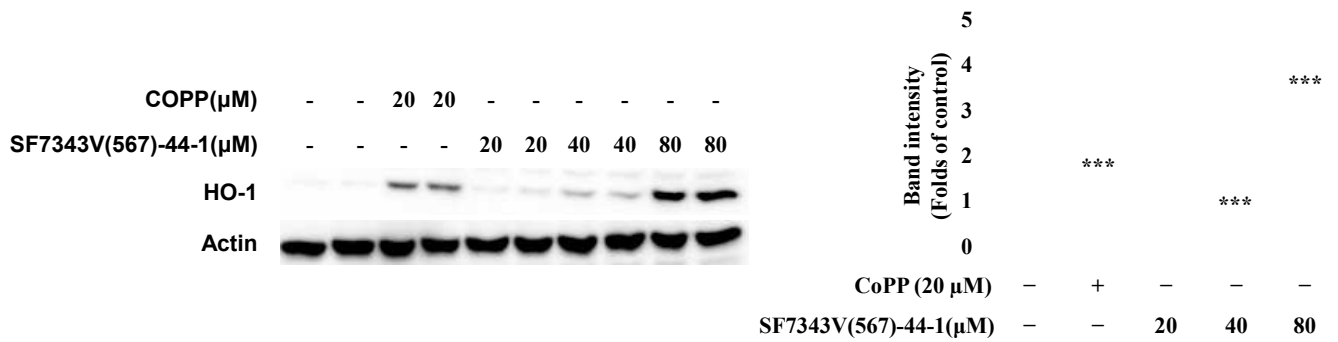


Figure 135. HT22 세포에서 화합물 SF7343-44-1의 HO-1 단백질 발현 효과.

- SF7343-44-1은 HT22 세포에서 HO-1 단백질의 발현을 증가시켰으며 (Figure 135), 이를 통해 세포보호효과가 HO-1 단백질의 발현과 연관이 있을 것으로 예상하였음.
- 종합적으로, 본 연구 결과 *Pseudogymnoascus* sp.에서 분리한 SF7343V(567)-44-1 화합물은 미세아교세포의 항염증 활성화와 해마세포의 신경 보호 효과를 동시에 갖춘 다중 효능 물질임이 입증되었음. BV2 세포에서 본 화합물은 NF- κ B 경로의 활성화를 차단하여 p65의 핵 내 이행을 억제하고, iNOS, COX-2 및 염증성 사이토카인(IL-6, TNF- α)의 발현을 유의적으로 저해하는 항염증 효과를 나타냈음. 동시에 HT22 세포에서는 Nrf2 전사 인자의 핵 이동을 촉진하여 항산화 효소인 HO-1의 발현을 유도함으로써, 글루타메이트로 인한 활성산소(ROS) 생성과 세포 사멸을 효과적으로 억제하는 강력한 신경 보호 능력을 보여주었음. 결과적으로 SF7343V(567)-44-1은 신경염증 조절과 산화적 스트레스 방어라는 이중 기전을 통해 뇌 질환을 제어할 수 있는 유망한 천연물 기반 치료 후보 물질로서 높은 가치를 지니는 것으로 사료됨.

제 4 장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도

제 1 절 연구개발 목표 달성도

성과목표
극지고유생물자원으로부터 항염/항당뇨/피부질환개선 생리활성을 가지는 이차대사물질 발굴

[1차년도 연구]

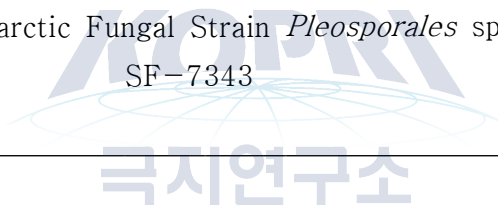
세부목표		달성 주요내용	달성도(%)
1-1	○ 생리활성 대사체의 분리	- 극지생물 유래 미생물 SF7367로부터 제조된 추출물에서 활성 대사체 분리 연구 : <u>활성 후보 대사체 10종</u> 분리 [별첨 1-1]	10 종 분리 (100%)
1-2	○ 생리활성 대사체의 구조 분석	- 극지생물 유래 미생물 SF7367로부터 분리된 연구 : <u>활성 후보 대사체 10종</u> 구조 분석 완료[별첨 1-2]	10 종 분석 (100%)
1-3	○ 생리활성 대사체의 활성 기작 검토	- 진균 추출물 SF7367 유래 대사체의 PTP1B 억제 활성과 BV2 cell 에서의 항염증 효과 검색을 실시함[별첨 1-3-1] - 극지생물 유래 미생물 SF-7367로부터 분리된 5종의 대사체를 대상으로 BV2 및 RAW264.7 cell에서 활성 기작을 검토함[별첨 1-3-2]	5 종 검토 (100%)

[2차년도 연구]

세부목표		달성 주요내용	달성도(%)
2-1	○생리활성 대사체의 분리	- 극지생물 유래 미생물 SF7420으로부터 제조된 추출물에서 활성 대사체 분리 연구 수행 : <u>활성 후보 대사체 4종</u> 분리 [별첨 2-1-1] - 극지생물 유래 미생물 SF7570으로부터 제조된 추출물에서 활성 대사체 분리 연구 수행 : <u>활성 후보 대사체 4종</u> 분리 [별첨 2-1-2] - 극지생물 유래 미생물 SF7573으로부터 제조된 추출물에서 활성 대사체 분리 연구 수행 : <u>활성 후보 대사체 9종</u> 분리 [별첨 2-1-3]	17 종 분리 (100%)
2-2	○생리활성 대사체의 구조 분석	- 극지생물 유래 미생물 SF7420으로부터 분리된 대사체 4종 구조 분석 완료[별첨 2-2-1] - 극지생물 유래 미생물 SF7570으로부터 분리된 대사체 4종 구조 분석 완료[별첨 2-2-2] - 극지생물 유래 미생물 SF7573으로부터 분리된 대사체 9종 구조 분석 완료[별첨 2-2-3]	17 종 분석 (100%)
2-3	○생리활성 대사체의 활성 기작 검토	- 진균 추출물 SF7343 유래 대사체 chrysanthone B의 BV2 및 HT22 cell에서의 항염증 및 뇌세포보호 효과의 활성 기작을 검토함 [별첨 2-3-1] - 극지생물 유래 미생물 SF-7343으로부터 분리된 신규물질 3종 대사체를 대상으로 BV2 및 HT22 cell에서의 항염증 및 뇌세포보호 효과의 활성 기작을 검토함[별첨 2-3-2]	4 종 검토 (100%)

[과제수행 관련 논문 실적]

저널명	논문명	서지정보
Molecules	Anti-inflammatory effects of prenylated indole alkaloids from the Antarctic fungus <i>Aspergillus</i> sp. strain SF-7367	Molecules 2025, 30, 294. https://doi.org/10.3390/molecules30020294
Natural Product Research	Secondary metabolites from marine-derived fungus <i>Aspergillus</i> sp. SF6390 and their biological effects	https://doi.org/10.1080/14786419.2025.2581219
ACS Omega 투고예정	Neuroprotective and anti-neuroinflammotry effects of novel chrysanthone metabolites isolated from Antarctic Fungal Strain <i>Pleosporales</i> sp. SF-7343	



제 2 절 대외 기여도

1. 학술적/기술적 측면

- 세계적으로 생명자원 확보경쟁이 치열해지는 상황에서 “극지생물자원의 확보 및 보존
⇨ 가치 발굴 및 유효 ⇨ 활용 및 산업화의 운영체계 구축”이라는 극지생물자원의 선순환 구조를 위한 거시적 구도 하에서 극지생물자원의 이차대사물질 탐색 연구는 양극해양 생명자원의 가치 발굴 및 정보화 단계를 촉진시키는 촉매의 역할을 할 것으로 기대된다.
- 발굴되는 생리활성 물질은 직접 의약품 또는 기능성 소재로의 개발을 위한 후속 연구개발에 활용되거나 의약품의 합성 연구 등에 선도물질이나 모델화합물로의 역할을 할 것으로 기대된다.
- 항피부염증/당뇨 질환에 있어서 새로운 약물개발의 새로운 접근 방법으로서 극지생물이 유용소재로 정립될 수 있다

2. 경제·산업적 측면

- 신규 소재로서 물질특허를 획득하여 독점적 활용 권에 의한 물질특허 사용료나 양도료로서 막대한 수입을 기대할 수 있다.
- 새로운 물질의 제조나 생산에 대한 관련 특허의 확보가 가능하여 물질특허 외에도 이의 활용에 의한 수입도 가능하다.
- 국내에서 최종 상품화에 성공하면 관련 기능성소재산업이나 제약산업의 성장과 활성화에 획기적인 전기를 마련할 수 있다.
- 최종 상업화에 성공하는 경우는 앞서 기술한 연구의 필요성 중 경제 산업적 측면에서 밝힌 구체적인 시장성을 감안하여 국내시장 및 수출에 의한 상당한 경제적 가치를 창출할 수 있다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

- 생리활성물질탐색의 미개척분야인 양극해 서식 해양생물자원 활용을 위한 화학성분 및 생리활성 DB 구축의 기초자료로 활용이 가능할 것이다.
- 구축되는 대사체 분획물 라이브러리는 향후 관련 연구자와의 공동연구의 연구소재로 추가 활용이 가능할 것이다.
- 발굴된 대사체의 생리활성을 기초로 하여 미지의 생명현상 규명 또는 질병현상 규명과 관련된 연구 분야에 chemical probe 으로도 활용이 가능하다.
- 발굴되는 생리활성 물질은 의약품의 합성연구 등에 선도물질이나 모델화합물로의 역할이 가능하다.
- 신규 소재로서 물질특허를 획득하여 독점적 활용 권에 의한 물질특허 사용료나 양도료로서 막대한 수입을 기대할 수 있다.
- 새로운 물질의 제조나 생산에 대한 관련 특허의 확보가 가능하여 물질특허 외에도 이의 활용에 의한 수입도 가능하다.
- 국내에서 최종 상품화에 성공하면 관련 식품의약산업이나 제약 산업의 성장과 활성화에 획기적인 전기를 마련 할 수 있다.
- 최종 상업화에 성공하는 경우는 앞서 기술한 연구의 필요성 중 경제 산업적 측면에서 밝힌 구체적인 시장성을 감안하여 국내시장 및 수출에 의한 상당한 경제적 가치를 창출할 수 있다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 없음



제 7 장 참고문헌

- [1] Newman, D.J.; Cragg, G.M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *J. Nat. Prod.* 2020, 83(3), 770–803]
- [2] Tian Y, Li YL, Zhao FC. Secondary Metabolites from Polar Organisms. *Mar Drugs.* 2017, 15(3), 28.
- [3] Haque, N.; Parveen, S.; Tang, T.; Wei, J.; Huang, Z. Marine Natural Products in Clinical Use. *Mar. Drugs* 2022, 20, 528.
- [4] Carroll, A.R.; Copp, B.R.; Davis, R.A.; Keyzers, R.A.; Prinsep, M.R. Marine natural products. *Nat Prod. Rep.* 2023, 40, 275–325.
- [5] Sobolevskaya, M.P.; Afiyatullo, S.S.; Dysholovoi, S.A.; Kirichuk, N.N.; Denisenko, V.A.; Kim, N.Y.; Bocharova, A.A. Metabolites from the marine isolate of the fungus *Aspergillus versicolor* KMM 4644. *Chem. Nat. Compd.* 2013, 49, 181–183.
- [6] Song, F.; Liu, X.; Guo, H.; Ren, B.; Chen, C.; Piggott, A.M.; Yu, K.; Gao, H.; Wang, Q.; Liu, M.; Liu, X.; Dai, H.; Zhang, L.; Capon, R.J. Brevianamides with antitubercular potential from a marine-derived isolate of *Aspergillus versicolor*. *Org. Lett.* 2012, 14, 4770–4773
- [7] Li, G.Y.; Yang, T.; Luo, Y.G.; Chen, X.Z.; Fang, D.M.; Zhang, G.L. Brevianamide J, a new indole alkaloid dimer from fungus *Aspergillus versicolor*. *Org. Lett.* 2009, 11, 3714–3717.
- [8] Li, G.Y.; Li, L.M.; Yang, T.; Chen, X.Z.; Fang, D.M.; Zhang, G.L. Four new alkaloids, brevianamides O–R, from the fungus *Aspergillus versicolor*. *Helvetica Chimica Acta.* 2010, 93, 2075–2080.
- [9] Kong, X.; Cai, S.; Zhu, T.; Gu, Q.; Li, D.; Luan, Y. Secondary metabolites of a deep sea derived fungus *Aspergillus versicolor* CXCTD-06-6a and their bioactivity. *J. Ocean Univ. China.* 2014, 13, 691–695.
- [10] Yurchenko, A.N.; Smetanina, O.F.; Kalinovskiy, A.I.; Pivkin, M.V.; Dmitrenok, P.S.; Kuznetsova, T.A. A new meroterpenoid from the marine fungus *Aspergillus versicolor* (Vuill.) Tirab. *Russ. Chem. Bull.* 2010, 59, 852–856.
- [11] Shao, C.; She, Z.; Guo, Z.; Peng, H.; Cai, X.; Zhou, S.; Gu, Y.; Lin, Y. Spectral

assignments and reference data. *Magn. Reson. Chem.* 2007, 45, 434–438.

[12] Cai, S.; Zhu, T.; Du, L.; Zhao, B.; Li, D.; Gu, Q. Sterigmatocystins from the deep-sea-derived fungus *Aspergillus versicolor*. *J. Antibiot.* 2011, 64, 193–196.

[13] Song, X.; Luo, M.; Huang, H.; Lu, L. Secondary metabolites of the marine fungus *Aspergillus versicolor* SCSIO 05772. *Chem. Nat. Compd.* 2017, 53, 354–355.

[14] Lu, F.; Li, X.; Chi, L.; Meng, L.; Wang, B. A new acyclic peroxide from *Aspergillus nidulans* SD-531, a fungus obtained from deep-sea sediment of cold spring in the South China Sea. *J. Oceanol. Limnol.* 2020, 38, 1225–1232.

[15] Talontsi, F.M.; Tatong, M.D.K.; Dittrich, B.; Meli, C.D.; Laatsch, H. Structures and absolute configuration of three α -pyrones from an endophytic fungus *Aspergillus niger*. *Tetrahedron.* 2013, 69, 7147–7151.

[16] Sakurai, M.; Kohno, J.; Yamamoto, K.; Okuda, T.; Nishio, M.; Kawano, K.; Ohnuki, T. TMC-256A1 and C1, new inhibitors of IL-4 signal transduction produced by *Aspergillus niger* var *niger* TC 1629. *J. Antibiot. Res.* 2002, 55, 685–692.

[17] An H., Kim S.-H., Kim H., Kim K., Sim J., Jang J., Paek S.-M., Suh Y.-G., Yun H. SYNTHESIS AND SYNTHESIS-BASED STRUCTURAL ELUCIDATION OF (–)-MACROSPHELIDES J AND K. *Heterocycles*, 2015, 91(5), 970–988.

[18] Yasuhide M., Yamada T., Numata A., Tanaka R. Chaetomugilins, new selectively cytotoxic metabolites, produced by a marine fish-derived *Chaetomium* species. *J. Antibiot.* 2008, 61(10), 615–622.

[19]. Hu, Y.W.; Liu, Y.; Guo, E.Y.; Wang, Y.Y.; Xu, W.Q.; Gao, Y.; Jiang, X.Y.; Feng, F.; Xu, J.; Liu, W.Y. Naphtho- γ -pyrone Dimers from an Endozoic *Aspergillus niger* and the effects of coisolated monomers in combination with cisplatin on a cisplatin-resistant A549 cell line. *J. Nat. Prod.* **2021**, 84, 1889–1897.

[20] Campos, F. R.; Barison, A.; Daolio, C.; Ferreira, A.G; Rodrigues-Fo, E. Antimicrobial Complete ^1H and ^{13}C NMR assignments of aurasperone A and fonsecinone A, two bis-naphthopyrones produced by *Aspergillus aculeatus*. *Magn. Reson. Chem.* **2005**, 43, 962–965.

[21]. Loach, R.P; Fenton, O.S; Movassaghi, M. Concise total synthesis of (+)-Asperazine, (+)-Pestalazine A, and (+)-iso-Pestalazine A. Structure revision of

(+)-Pestalazine A. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, 138, 1057–1064.

[22]. Wang, F.; Zhu, T.; Zhang, M.; Lin, A.; Zhu, W.; Gu, Q.; Structural determination of aspericins A–C, new furan and pyran derivatives from the marine-derived fungus *Rhizopus* sp.2–PDA–61, by 1D and 2D NMR spectroscopy. *Magn. Reson. Chem.* **2010**, 48, 155–158.

[23] Shaaban, M.; Shaaban K.A.; Mohamed, S.A. Seven naphtho- γ -pyrones from the marine-derived fungus *Alternaria alternata*: structure elucidation and biological properties. *Organic and Medicinal Chemistry Letters*, **2012**, 2:6.

[24] Zhang, Y.; Zhu, T.; Fang, Y.; Liu, H.; Gu, Q.; Zhu, W. Carbonarones A and B, new bioactive γ -Pyrone and α -Pyridone derivatives from the marine-derived Fungus *Aspergillus carbonarius*. *J. Antibiot.* **2007**, 60(2):153, 153–157.

[25] Padhi, S.; Masi, M.; Panda, S.K.; Luyten, W.; Cimmino, A.; Tayung, K.; Evidente, A. Antimicrobial secondary metabolites of an endolichenic *Aspergillus niger* isolated from lichen thallus of *Parmotrema ravum*. *Nat. Prod. Res.* **2020**, 34(18), 2573–2580.

[26] Yang, A.; Zhao, A.; Zheng, Z.; Shang, Q.; Zhang, F.; Han, N.; Yang, L.; Li, C. Chemical constituent of the flower buds of *Tussilago farfara*. *Chemistry of Natural Compounds*, **2017**, 53, 584–585.99

[27] Le, H.M.T.; Do, Q.T.; Doan, M.H.T.; Vu, Q.T.; Nguyen, M.A.; Vu, T.H.T.; Nguyen, H.D.; Duong, N.T.T.; Tran, M.H.; Chau, V.M.; Pham, V.C. Chemical composition and biological activities of metabolites from the marine Fungi *Penicillium* sp. Isolated from *Sediments* of Co To Island, Vietnam. *Molecules*, **2019**, 24(21): 3830.



주 의

1. 이 보고서는 극지연구소 위탁연구기관에서 수행한 연구결과보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 극지연구소에서 수행한 위탁연구의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안됩니다.