



약학박사 학위논문

## 음양곽의 화학 성분과 PCSK9 발현 억제 활성

# Chemical constituents of *Epimedium koreanum* and their inhibitory activity against PCSK9 expression

2021년 8월

서울대학교 대학원

약학과 생약학 전공

김 이 레

음양곽의 화학 성분과 PCSK9 발현 억제 활성

Chemical constituent of *Epimedium koreanum* and their inhibitory activity against PCSK9 expression

지도 교수 김 진 웅

이 논문을 약학박사 학위논문으로 제출함 2021년 8월

> 서울대학교 대학원 약학과 생약학 전공 김 이 레

김이레의 약학박사 학위논문을 인준함 2021년 8월

위원장

부위원장

위 원

위 원

위 원

## 초 록

Epimedium은 Berberidaceae과에 속하는 식물로 주로 동, 남, 중앙아시아와 유럽 등지에 분포한다. 음양곽의 지상부는 오랫동안 강장제로 사용되었으며 치매, 고혈압, 발기부전, 류마티스성과 마비성 질환에 사용되었다. 이전의 연구 결과로부터 리그난, 페놀 배당체, 프레닐 플라보노이드 등의 활성 성분이 존재함이 알려져 있다. 이러한 활성 성분들은 간세포 보호, 항염증, 항골다공증, 항종양 활성과 면역 보강 활성을 가진 것으로 알려졌다.

Proprotein convertase subtisilin/kexin type 9 (PCSK9)은 clathrin-dependent endocytosis를 통해 LDLR을 분해하고 LDLR의 재활용을 방해하여 결과적으로 LDL의 세포 내 흡수를 저해시키는데 관여한다. 따라서 PCSK9의 발현의 증가는 고지혈증의 발생과 연관이 있으며 PCSK9의 발현 혹은 활성 차단은 고지혈증 환자의 치료에 사용될 수 있다. 2015년 이후로 두가지의 항체치료제가 임상적으로 처방되고 있다.

약용 식물에서 PCSK9 발현 억제 화합물을 발견하기 위한 연구의 일환으로, *E. koreanum* 지상부의 *n*-BuOH 분획이 PCSK9 mRNA 발현을 억제함을 확인하였다. 그러나 이 식물로부터 PCSK9 억제 물질에 대한 보고가 없었으므로 식물화학적 연구를 진행하였고, 이들의 PCSK9 억제 활성을 확인하였다.

음양곽 지상부를 메탄올로 초음파 추출하여 극성에 따라 *n*-헥산, 클로로포름, *n*-부탄올 분획으로 나누었다. 이 중 PCSK9 mRNA 억제 활성을 보인 *n*-부탄올 분획을 대상으로 여러 크로마토그래피법을 사용하여 분리를 실시, 22종의 화합물을 분리하였다. 분리된 22종의 화합물을 각종 분광학적 방법을 통해 구조를 4'-methoxy-5-hydroxy-8-3,3dimethylallylflavone 3-*O*-[4-*O*-acetyl-α-L-rhamnopyranoside]-7-*O*-β-D-gluco-

i

pyranoside (1), 4'-methoxy-5-hydroxy-8-3,3-dimethylallylflavone 3-O-[2-O-2-((4methoxy-4-oxobutan-2-yl)oxy) acetic acid-α-L-rhamnopyranoside]-7-O-β-D-glucopyranoside (2), 4'-methoxy-5-hydroxy-8-3,3-dimethylallylflavone 3-O-[2-O-2-((4- $\alpha$  oxopropan-2-vl)oxy)acetic acid methyl ester- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside]-7-O- $\beta$ -Dgluco-pyranoside (3), 4'-methoxy-5-hydroxy-8-3,3-dimethylallylflavone 3-O-[2-O-2-((4-methoxy-4-oxobutan-2-yl)oxy)acetic acid butyl ester-a-L-rhamnopyranoside]-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (4), koreanoside E (5), icariside I (6), ikarisoside A (7), icariside II (8), epimedoside A (9), icariin (10), epimedin A (11), korepimedoside C (12), epimedin B (13), epimedin C (14), anhydroicaritin  $3-O-\beta$ -D-fuco-pyranosyl( $1 \rightarrow 2$ )- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside-7-*O*- $\beta$ -D-gluco-pyranoside (15), icarisid I (16), korepimedoside A (17), epimedokoreanoside I (18), korepimeoside C (19), epimedin L (20), caohuoside B (21), epimedoicarisoside A (22) 로 동정하였으며, 이 중 화합물 1~4는 천연에서 처음 분리, 보고되는 물질이다.

분리한 22종의 화합물에 대하여 HepG2 세포에서 PCSK9 mRNA 발현 억제 활성과 LDLR mRNA 발현 증식 효과를 평가한 결과 화합물 7 (ikarisoside A)이 PCSK9 mRNA 발현을 억제함과 동시에 LDLR mRNA의 발현을 유의미하게 증식시킴이 확인되었다.

주요어 : 음양곽, Berberidaceae, *Epimedium korenum*, PCSK9 발현 억제, 플라보노이드, 고지혈증 학 번 : 2010-21671

ii

1.	서 론	1
	1. 연구의 배경	1
	1.1 Epimedii Herba	1
	1.2 음양곽의 식물화학적 연구	3
	1.2.1 Flavonoid	3
	1.2.2 Lignan	5
	1.2.3 기타 화합물	5
	2. Proprotein converase subtisilin/kexin type 9 (PCSK9)	7
	3. 연구의 목적	12
2.	실험 재료 및 방법	13
	1. 재료	13
	2. 방법	15
	2.1. 추출 및 분획	15
	2.2. 분리 및 정제	16
	2.3. 당의 절대 구조 결정	19
3.	결과 및 고찰	
	1. 화합물 구조동정	
	1.1. 화합물 1의 구조	
	1.2. 화합물 <b>2</b> 의 구조	40
	1.3. 화합물 <b>3</b> 의 구조	47
	1.4. 화합물 <b>4</b> 의 구조	53
	1.5. 화합물 5의 구조	58
	1.6. 화합물 <b>6</b> 의 구조	60
	1.7. 화합물 <b>7,8</b> 의 구조	62
	1.8. 화합물 9,10의 구조	65
	1.9. 화합물 11의 구조	68
	1.10. 화합물 <b>12</b> 의 구조	70
	1.11. 화합물 <b>13</b> 의 구조	72
	1.12. 화합물 14의 구조	74
	1.13. 화합물 <b>15</b> 의 구조	76
	1.14. 화합물 <b>16</b> 의 구조	78
	1.15. 화합물 17의 구조	80
	1.16. 화합물 <b>18</b> 의 구조	
	1.17. 화합물 <b>19</b> 의 구조	
	1.18. 화합물 <b>20</b> 의 구조	
	1.19. 화합물 <b>21</b> 의 구조	
	1.20. 화합물 <b>22</b> 의 구조	90
	2.PCSK9 발현 억제 활성	94
	2.1. 생리활성 평가	

목 차

## iii

참고문헌	
Abstract	

## List of schemes

Scheme 1. Extraction and fractionation of <i>E. koreanum</i>	5
Scheme 2. Isolation of compounds from the <i>n</i> -BuOH soluble extract of <i>E</i> .	coreanum
*	18

## List of tables

Table 1. Pharmacological studies reported in the genus <i>Epimedium</i> .	2
Table 2. The PCSK9 inhibitor agents from natural products	
Table 3. <sup>1</sup> H and <sup>13</sup> C-NMR Data of compounds 1-4 (CD <sub>3</sub> OD)	

## List of figures

Fig 1. Structrue of flavonoids reported in the genus Epimedium	4
Fig 2. Structure of lignans reported in E. koreanum.	5
Fig 3. Structure of miscellaneous compounds reported in E. koreanum	6
Fig 4. LDL-cholesterol metabolism in the presence or absence of PCSK9	8
Fig 5. The PCSK9 inhibitor agents from natural products	10
Fig 6. <sup>1</sup> H and <sup>13</sup> CNMR spectra of compound <b>1</b>	37
Fig 7. <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H COSY spectrum of compound <b>1</b>	38
Fig 8. HMBC spectrum of compound 1.	39
Fig 9. <sup>1</sup> H NMR spectrum of compound <b>2</b>	42
Fig 10. <sup>13</sup> C NMR spectrum of compound <b>2</b> .	43
Fig 11. <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H COSY spectrum of compound <b>2</b>	44
Fig 12. HMBC spectrum of compound 2.	45
Fig 13. Optimized HMBC spectrum (2 Hz) of compound 2	46
Fig 14. <sup>1</sup> H NMR spectrum of compound <b>3</b> .	48
Fig 15. <sup>13</sup> C NMR spectrum of compound <b>3</b>	49
Fig 16. <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H COSY spectrum of compound <b>3</b>	50
Fig 17. HMBC spectrum of compound <b>3</b>	51
Fig 18. The long-range COSY spectrum of compound 3	52
Fig 19. <sup>1</sup> H NMR spectrum of compound 4	54
Fig 20. <sup>13</sup> C NMR spectrum of compound 4.	55
Fig 21. <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H COSY spectrum of compound <b>4</b>	56
Fig 22. HMBC spectrum of compound 4.	57
Fig 23. <sup>1</sup> H and <sup>13</sup> C spectra of compound <b>5</b>	59
Fig 24. <sup>1</sup> H and <sup>13</sup> C spectra of compound <b>6</b>	61
Fig 25. <sup>1</sup> H and <sup>13</sup> C spectra of compound 7	63
Fig 26. <sup>1</sup> H and <sup>13</sup> C spectra of compound <b>8</b>	64

## 1. 서론

## 1. 연구의 배경

#### 1.1 Epimedii Herba

Epimedium (삼지구엽초속)은 매자나무과(Berberidaceae)에 속해 있으며 약 52종의 초본 식물이 보고되었다. 주로 중국에 분포하며 동아시아, 남아시아, 중앙아시아와 유럽 등지에도 분포하고 있다. 한국에서는 Epimedium koreanum (삼지구엽초), E. brevicornum (심엽음양곽), E. pubescens (유모음양곽), E. wushanense (무산음양곽), E. sagittatum (전엽음양곽)의 지상부를 음양곽으로 사용하고 있다.



E. korenum



E. pubescens



E. wushanense





E. brevicornum

E. sagittatum

E. koreanum (삼지구엽초)는 강원, 경기 지역에서 자생하고 있으며 줄기와
2회 3출 복엽으로 되어있다. 줄기는 가늘고 길며 원기둥 모양이고, 길이

20~30 cm이다. 소엽은 난상 심형이며 길이 4~9.5 cm, 너비 3~8.5 cm이다. 선단은 길게 뾰족하고 엽기는 심형이며 양쪽 소엽의 외열관은 내열판보다 크고 잎 가장자리에는 황갈색이고 가시 모양인 거치가 있다. 바깥쪽은 진한 녹색 또는 황록색이며 매끄럽고 광택이 있다. 뒷면은 회록색이고 잎맥은 돌출하며 황갈색의 부드러운 털이 성글게 나있고 가운데 맥상의 털은 비교적 촘촘하다. 잎은 얇고 질은 종이 모양이다. 아시아 지역에서 매우 오래전부터 약용식물로 사용되어 그 효능이 입증되었다. 중국과 일본에서는 *E. sagittatum*과 *E. grandiflorum*을 발기부전, 조루, 골다공증, 갱년기 증상, 류머티즘, 고혈압, 만성 기관지염 치료제로 사용하였으며 한국에서는 *E. korenum*을 발기부전, 정액루, 건망증 치료제로 사용하였다 (Perry and Metzger 1980, Tang and Eisenbrand 2013). 이와 같은 근거로 음양곽의 활성에 대해 많은 연구가 진행되었고 이를 table 1. 에 정리하였다

Table 1. Pharmacological studies reported in the genus *Epimedium*.

Therapeutic target	Extracts/compounds	References	
Sextual dysfuction	Water extract	(Chen 2009)	
	Water extract	(Chen and Chiu 2006)	
	Icariin	(Tian et al. 2004)	
Osteoporosis	Icariin	(Wang et al. 2002)	
	EtOH extract	(Meng et al. 2005)	
	Icariin	(Chen et al. 2005)	
	Icariin	(Zhang et al. 2007)	
	Flavonoids	(Zhang et al. 2008)	
Immunologic	Epimedin C	(Liang et al. 1997)	
	Water extract	(Kim et al. 2002)	
	Icariin	(Rhew and Han 2012)	

Antitumor	Icariside II (Lin, LI et al. 1999)	
	EtOH extract	(Cheng, Wang et al. 2007)
	Icariside II	(Choi, Eun et al. 2008)
	Icariside II	(Lee, Lee et al. 2009)
Antihypoxia	Flavonoids	(Zhang, Jia et al. 2009)
Antihepatotoxic	Icariside II	(Cho, Sung et al. 1995)
	Icariin	(Lee, Choi et al. 1995)
Melaogenesis	Ikarisoside A	(Jeon, Jeong et al. 2001)
Angiogenesis	Icariin	(Chung, Kim et al. 2008)
Antiinflammatory	Ikarisoside A	(Choi, Eun et al. 2008)
Antioxidant	Flavonoids	(Kim, Kim et al. 2008)
Antiviral	Water extract	(Cho Kim at al 2012)

#### 1.2 음양곽의 식물화학적 연구

#### 1.2.1. Flavonoid

음양곽의 식물화학적 연구 또한 많이 진행되어있다. 대표적인 화합물 계열은 flavonoid와 lignan이 있다. Flavonoid와 그 유도체들은 음양곽의 주요 성분으로 flavonol, flavone, chalcone, flavanone, flavonol glycoside들이 포함되어 있으며 C-8 위치에 pentenyl group이 존재하는 경우가 많다. 3-O-, 7-O-, 혹은 3,7-di-O-glycoside가 주요 활성을 가진 화합물이다. 배당체의 당은 주로 glucose, rhamnose, xylose이며 1-2개의 acetyl기가 당에 존재하는 경우도 있다. 활성 성분을 나타내는 주요 flavonoid에는 icariin, icaritin, desmethylicaritin, desmethylanhydroicaritin, icariside II, ikarisoside A, icariside II, ikarisoside A, epimedokoreanin B, breviflavone B, luteolin, hyperoside, epimedin B, epimedin C등이 있으며 항종양, 간세포보호, 항산화, 항염증, 강심효과 등의 활성이 보고되어 있다 (Fukai and Nomura 1988, Ito et al. 1988, Chin et al. 1990, Pachaly et al. 1990, Kang et al. 1991, Mizuno et al. 1991, Li et al. 1995, Li et al. 1995, Sun et al. 1998).



Fig 1. Structrue of flavonoids reported in the genus Epimedium

Lignan 은 폴리페놀계 화합물로 두개의 phenyl-propanoid 분자가 8-8' 탄소 결합으로 연결된 구조를 가진 이차 대사산물이다. *E. koreanum* 에서는 (-)lovil, lariresinol, (+)-cycloolivil, 3-[4-[2-hydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1-(hydroxymethyl)ethoxy]-3-methoxyphenyl]propyl 6-deoxy-α-l-mannopyranoside 등이 분리 보고되었다 (Su et al. 2018).



Fig 2. Structure of lignans reported in E. koreanum.

1.2.3. 기타 화합물

그 외에도 페놀성 화합물인 4-hydroxybenzoic acid, protocatechuic acid, naringeninic acid, caffeic acid, methyl chlorogenate 등이 분리 보고되었으며 (Su

et al. 2018), 9,10-dihyrophenanthrene 유도체인 epimedoicarisoside A 가 보고되었는데 이는 *E.koreanum* 에서만 분리된 화합물이다 (Li et al. 1995).



Fig 3. Structure of miscellaneous compounds reported in E. koreanum.

#### 2. Proprotein convertase subtisilin/kexin type 9 (PCSK9)

Low-density lipoprotein (LDL) receptor 는 LDL-cholesterol 을 헤파토사이트로 흡수시켜 혈중 콜레스테롤을 조절한다. LDL receptor 는 헤파토사이트에서 재활용되어 다시 세포 표면으로 보내져 지속적으로 LDL-cholesterol 을 흡수한다. PCSK9 은 LDL receptor 의 재활용을 조절함으로써 LDLcholesterol 의 농도에 영향을 끼친다. PCSK9 은 간세포 표면에서 LDL receptor 와 직접적으로 결합해 internalization 을 촉진하고 LDL/LDL receptor 복합체는 분해되어 LDL receptor 재활용을 막아 세포 표면의 LDL receptor 를 감소시켜 혈중 LDL cholesterol 농도를 증가시킨다. 특히 statin 계열 약물 처방시 negative-feedback 을 통해 PCSK9 의 발현량이 늘어나 치료 효과를 감소시킨다 (Sabatine 2019).

현재 두종류의 monoclonal antibody 치료제가 사용되고 있으며 이들은 PCSK9 에 직접적으로 결합해 PCSK9 이 LDL receptor 에 결합하는 것을 차단한다. 이로 인해 LDL receptor 의 재활용이 증가하므로 혈중 LDL-cholesterol 수치는 감소하게 된다. Statin 과 PCSK9 inhibitor 를 복합처방 할 경우 statin 단독으로 치료할 때 보다 LDL-cholesterol 의 수치를 50-60% 더 감소시키는 것이 확인되었다 (Gallego-Colon et al. 2020).



7



Fig 4. LDL-cholesterol metabolism in the presence or absence of PCSK9.

그러나 antibody drug 의 부작용으로 인해 천연물에서 PCSK9 inhibitor 를 찾고자 하는 연구가 진행중이며 특히 경구 투여가 가능할 것으로 생각되는 천연 유래의 저분자 물질들이 주목받고 있다. 천연 유래의 저분자 물질들은 PCSK9 과 LDL receptor 의 직접적인 결합 저해 외에도 PCSK9 의 transcription, translation, secretion 등에도 관여하는 것으로 밝혀졌다.

Berberine 은 PCSK9 inhibitor 활성을 가진 천연화합물 중 가장 많은 연구가 이루어진 화합물로 LDLR mRNA 의 안정성을 증가시켜 존속기간을 늘림으로써 LDL 리셉터의 발현을 증가시키고 PCSK9 의 transcription 단계를 차단한다. Statin 의 부작용을 완화시키는 작용을 하기 때문에 statin 계열 화합물과 combination therapy 방식으로 임상실험도 진행되었다(Kong et al. 2004, Cameron et al. 2008). Berberine 은 좋은 활성을 가지고 있음에도 bioavailability가 낮아 제재의 구성이나 개인의 흡수율에 따라 효능에 큰 편차를 보이고 있으며 이를 해결하기 위해 non-natural 유도체를 합성하거나 drug delivery nanotechnology 등을 활용하는 연구가 진행중이다(Ochin and Garelnabi 2018, Wu et al. 2019). Quercetin, epigallocatechin gallate, resveratrol, curcumin, silibinin A, naringin, pinostrobin, eugenol 등은 polyphenol 계 화합물로 대부분 LDL receptor 발현 증가 활성을 가지고 있다. Polyphenol 계 화합물 대부분이 용해도가 낮고 경구 흡수율이 낮으며, 장내 미생물에 의해 다양한 대사과정을 거치므로 in vitro 와 in vivo 의 활성이 달라지는 경우가 많다(Durazzo et al. 2019, Poti et al. 2019).

Quercetin, epigallocatechin gallate 는 transcription 차단 외에도 secretion 을 차단하는 기전을 가지고 있으며 (Mbikay et al. 2018) resveratrol 과 eugenol, lycopnene 은 PCSK9 과 직접적으로 결합하여 활성을 차단하는 기전을 가지고 있다(Alvi et al. 2017, Li et al. 2018, Zia et al. 2020).



Fig 5. The PCSK9 inhibitor agents from natural products

Natural Compound	Bioavail.	Mechanism of Action	Level of Evidence on PCSK9	<b>Counteracts Statins</b>
Berberine	0.37%	Inhibits trnascription	In vitro, in vivo and clinical	Yes
Quercetin	0.31%	Inhibits secretion and transcription	In vitro and in vivo	Not known
Epigallocatechin gallate	0.1%	Inhibits secretion and transcription	In vitro	Yes
Resveratrol	<1%	Inhibits transcription and interaction PCSK9-LDLR	In vitro and in vivo	Not known
Curcumin	<1%	Inhibits trnascription	In vitro and in vivo	Yes
Silibin A	<1%	Inhibits transcription	In vitro	Yes
Naringin	<1%	Inhibits transcription	In vivo	Not known
Pinostrobin	1.8% (S); 13.8% (R)	Inhibits transcription and catalytic activity	In vitro	Not known
Eugenol	<1%	Direct interaction with PCSK9 and inhibits transcription	In vitro	Not known
kaempferol	2.5%	Inhibits transcription	In vitro	Yes
<i>p</i> -Coumaric acid	24%	Inhibits transcription	In vitro	Yes
Lycopene	33.9%	nhibits transcription and interaction PCSK9-LDLR	In vitro and in vivo	Not known
Protodioscin	0.2%	Inhibits transcription	In vitro and in vivo	Not known
Emodin	low	Inhibits transcription	In vitro	Not known

Table 2. The PCSK9 inhibitor agents from natural products

3. 연구의 목적

PCSK9 inhibitor 는 statin 의 부작용을 줄이고 치료 효과를 크게 향상시키는 것이 증명되었다 (Dadu and Ballantyne, 2014). 따라서 본 연구는 천연물에서 PCSK9 inhibitor 활성을 가진 small molecule 을 찾아 새로운 PCSK9 inhibitor 를 개발하고자 하였다. 이전 연구 결과에서 prenylated flavonoid 가 PCSK9 억제 활성이 확인되었으므로 (Ahn et al. 2019) 이를 주요 화합물로 가진 음양곽에서 새로운 활성물질을 찾고자 한다.

## 2. 실험 재료 및 방법

1. 재료

#### Epimedium koreanum (삼지구엽초)

삼지구엽초 (Epimedium koreanum Nakai)는 대림약업사(청주, 한국)에서 구매하였으며 서울대학교 약학대학 김진웅 교수로부터 감정 받은 후 실험에 사용하였다. 표본 (CYWSNUKP-00019)은 서울대학교 약초원에 보관되어 있다.

시약

모든 크로마토그래피에 사용한 유기용매는 분석용이며 대정화금 (경기도, 한국)에서 구매하였다. HPLC 등급 acetonitrile은 SK chemical (서울, 한국)에서 구매하였으며, 정제수는 Millipore Milli-Q 정수시스템을 이용하였다. 크로마토그래피에 사용한 diaion HP20은 Mitsubishi chemical (Tokyo, Japan)에서, silica gel 은 Zeochem (Rüti, Switzerland)에서, silica gel RP-18은 YMC·GEL (Kyoto, Japan)에서 제조된 것을 사용하였으며 TLC 분석에 사용된 plate는 Merck (Darmstadt, Germanay)에서 제조된 것을 사용하였다. L-cycsteine methyl ester hydrochloride와 *O*-tolylisothiocyanate는 Tokyo chemical industry (Tokyo, Japan)에서 구매하였다.

장비

Optical ratations: P-2000 digital polarimeter (Jasco, Tokyo, Japan). NMR: Jeol 400, 600 (JEOL, Tokyo, Japan), AVANCE 500, 800 (Bruker, MA, USA). UV spectrometer: Lamda 25 (Perkin Elmer, MA, USA) HPLC: Gilson HPLC 805 module equid with 306 pump and 151 UV/Vis detector 13 (Gilson, USA)

MPLC: Isolera One (biotage, Cardiff, UK).

HPLC 컬럼: Luna 5µ C18 column 250 × 21.20 mm (Phenomenex, CA, USA),

Synergi 4 $\mu$  hydro-RP column 250 × 21.20 mm (Phenomenex, CA, USA)

ESI-QTOF-HRMS: Agilent 6530 ESI-QTOF mass spectrometer (Agilent

Technologies, Santa Clara, CA, USA)

Evaporator: EYELANE (Japan)

### 2. 방법

2.1. 추출 및 분획

음양곽 지상부 (2.0 kg)을 메탄올로 상온 추출하여 추출물 238 g을 얻었다. 추출물을 증류수에 현탁시켜 *n*-hexane, chloroform, *n*-BuOH 순으로 분획을 실시하였고 각각 15.4, 31.5, 94.2 g의 분획물을 확보하였다.



Scheme1. Extraction and fractionation of E. koreanum

2.2. 분리 및 정제

BuOH 분획물을 HP-20 (20% → 100% MeOH) 컬럼크로마토그래피를 실시하여 5개의 소분획으로 나누었다 (Bu20, 40, 60, 80, 100). Bu80 (21.1 g) 소분획을 silica gel 컬럼크로마토그래피 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O, 50:5:1-7:5:1)를 통해 10개의 소분획으로 분리하였다 (Bu80.1~10). Bu80.9 소분획에서 침전물이 발생하였고 이를 재결정하여 화합물 10 (2.5 g)을 분리하였다. 소분획 Bu80.3 (275 mg)을 MPLC (C<sub>18</sub> 25g, 40% → 100% MeOH)를 실시하여 5개의 소분획 (Bu80.3.1~5)으로 나누었으며 이 중 소분획 Bu80.3.3 (89.9 mg)을 HPLC (41% aqueous MeCN)로 분리하여 화합물 5 (12 mg, *t*<sub>R</sub> = 34.83 min), 2 (18.7 mg, *t*<sub>R</sub> = 37.21 min)와 소분획 Bu80.3.3.2 (15.7 mg)을 획득하였다. 소분획 Bu80.3.2는 다시 HPLC (37% aqueous MeCN) 정제를 통해 화합물 3 (3.4 mg, *t*<sub>R</sub> = 57.69 min)을 분리하였다.

소분획 Bu80.6 (475.1 mg)을 MPLC (C<sub>18</sub> 50g, 30% → 100% MeOH)를 통해 3개의 소분획 (Bu80.6.1~3)으로 나누었으며 이 중 Bu80.6.2 (149.3 mg) 소분획을 HPLC (41% aqueous MeCN,)로 분리하여 화합물 21 (5.5 mg, *t*<sub>R</sub> = 30.27 min), 7 (8.4 mg, *t*<sub>R</sub> = 42.21 min))과 소분획 Bu80.6.2.2 (49.3 mg)을 획득하였다. 소분획 Bu80.6.2.2에서 HPLC (37% aqueous MeCN) 정제를 통해 화합물 20 (29.7 mg, *t*<sub>R</sub> = 48.4 min))을 분리하였다.

소분획 Bu80.8 (475.1 mg)을 MPLC (C<sub>18</sub> 50g, 30 → 100 MeOH)를 통해 4개의 소분획 (Bu80.8.1~4)으로 분리하였다. 이 중 소분획 Bu80.8.2 (322.8 mg)을 HPLC (39% aqueous MeCN)로 분리하여 소분획 Bu80.8.2.2 (33.2 mg)과 Bu80.8.2.3 (27.5 mg)을 획득하였으며, 각각 HPLC (35% aqueous MeCN)로 정제하여 화합물 18 (28.3 mg, *t*<sub>R</sub> = 32.84 min)과 19 (17.4 mg, *t*<sub>R</sub> = 39.35 min)를 분리하였다.

소분획 Bu80.10 (8.5 g)은 MPLC (C<sub>18</sub> 120g, 30% → 100% MeOH)를 통해

8개의 소분획 (Bu80.10.1~8)으로 나뉘었으며, 소분획 Bu80.10.3 (405.5 mg)를 HPLC (25% aqueous MeCN)로 분리하여 화합물 9 (14.7 mg, *t*<sub>R</sub> = 32.62 min)를 획득하였다. 소분획 Bu80.10.4 (5.8 g)에서는 HPLC (29% aqueous MeCN) 분리 결과 화합물 11 (19.4 mg, *t*<sub>R</sub> = 37.65 min), 13 (32.8 mg, *t*<sub>R</sub> = 42.29 min), 14 (29.5 mg, *t*<sub>R</sub> = 45.61 min), 15 (7.1 mg, *t*<sub>R</sub> = 49.59 min), 16 (3.6 mg, *t*<sub>R</sub> = 51.08 min), 12 (7.6 mg, *t*<sub>R</sub> = 66.50 min)를 획득하였다.

Bu100 소분획 16.9g을 silica gel 컬럼크로마토그래피 [CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O (50:5:1-7:5:1)]를 통해 10개의 소분획으로 나누었다 (Bu100.1~10).

Bu100.4 (1.1 g) 소분획을 MPLC (C<sub>18</sub> 50g, 40%  $\rightarrow$  100% MeOH)로 분리하여 4개의 소분획 Bu100.4.1~4로 나누었다. 이 중 Bu100.4.1 (46.3 mg) 소분획에서 HPLC (28% aqueous MeCN) 분리를 통해 화합물 22 (4.4 mg,  $t_{\rm R}$  = 25.77 min)를 획득하였다. Bu100.4.3 (402.3mg) 소분획을 HPLC (42% aqueous MeCN)로 정제한 결과 화합물 6 (16.5 mg,  $t_{\rm R}$  = 28.69 min), 8 (66.7 mg,  $t_{\rm R}$  = 39.30 min), 4 (8.2 mg,  $t_{\rm R}$  = 48.42 min), 17 (21.3 mg,  $t_{\rm R}$  = 56.22 min)가 분리정제 되었다.

Bu100.7 (1.4 g)소분획을 MPLC (C<sub>18</sub> 50g, 40% → 100% MeOH로 분리하여 Bu100.7.1~4 소분획을 획득하였다. 이중 Bu100.7.2 (552.9 mg)을 HPLC (aqueous 22% MeCN)로 분리하여 화합물 1 (12.5 mg, *t*<sub>R</sub> = 70.69 min)을 획득하였다.

17



Scheme2. Isolation of compounds from the *n*-BuOH soluble extract of *E.koreanum* 

2.3. 당의 절대 구조 결정

화합물 1~4를 1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (200 μL)에 녹여 90°C에서 2시간 가수분해한 뒤, 포화 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액으로 중화하여 농축하였다. 이를 pyridine (200 μL)에 녹이고 L-cytein methyl ester hydrochloride (1mg)을 첨가하여 1시간동안 60°C에서 반응시켰다. 이 용액에 O-tolylisothiocyanate 2 μL를 첨가한 뒤 다시 1시간동안 60°C에서 반응시킨 후 이 용액을 RP-HPLC (Phenomenex Gemini 5μ C18 column, 250 × 4.60 mm, 25% aq. MeCN, 0.8 ml/min) 로 분석한 뒤 그 결과를 D-glucsoe, L-rhamnose 표준품의 분석 결과와 대조하여 일치함을 확인하였다. 화합물 1

Yellow amorphous powder

C35H42O16

 $[\alpha]_{D}^{25}$  -137.2 (*c* 0.1, MeOH)

UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  268 (1.17), 312 (0.64), 352 (0.51) nm

IR (KBr) v<sub>max</sub> 3409, 2923, 1647, 1597, 1261 cm<sup>-1</sup>

HRMS (ESI-TOF) *m/z* 719.2529 [M+H]<sup>+</sup> (calcd. for C<sub>35</sub>H<sub>43</sub>O<sub>16</sub>, 719.2551).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz), <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz): see Table 1.

화합물 2

Yellow amorphous powder

 $C_{40}H_{50}O_{20}$ 

 $[\alpha]_{\rm D}^{20}$  -79.3 (*c* 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ<sub>max</sub> (log ε) 267 (1.25), 313 (0.70), 344 (0.56) nm

IR (KBr) v<sub>max</sub> 3383, 2931, 1738, 1654, 1596, 1511, 1437, 1376, 1342, 1303, 1259,

1220, 1181, 1143 cm<sup>-1</sup>

HRMS (ESI-TOF) *m/z* 849.2815 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>40</sub>H<sub>49</sub>O<sub>20</sub>, 849.2817).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz), <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz): see Table 1.

화합물 3

Yellow amorphous powder

 $C_{39}H_{48}O_{20}$ 

 $[\alpha]_{\rm D}^{20}$  -56.1 (*c* 0.1, MeOH)

UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ) 267 (1.01), 313 (0.57), 342 (0.47) nm

IR (KBr)  $\nu_{max}$  2924, 1748, 1595, 1508, 1489, 1339, 1259, 1181 cm<sup>-1</sup>

HRMS (ESI-TOF) *m/z* 835.2620 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>39</sub>H<sub>47</sub>O<sub>20</sub>, 835.2661).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz), <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz): see Table 1.

화합물 4

Yellow amorphous powder  $C_{44}H_{58}O_{20}$ [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> -65.2 (*c* 0.1, MeOH) UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\varepsilon$ ) 267 (1.15), 313 (0.64), 345 (0.53) nm IR (KBr)  $\nu_{max}$  3414, 2932, 1739, 1653, 1597, 1511, 1438, 1375, 1304, 1259, 1219, 1181 cm<sup>-1</sup> HRMS (ESI-TOF) *m/z* 951.3529 [M+HCOO]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>45</sub>H<sub>59</sub>O<sub>22</sub>, 951.3498). <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz), <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz): see Table 1.

화합물 5

Yellow amorphous powder

 $C_{27}H_{30}O_{11}$ 

 $[\alpha]_{D}^{20}$  -77.9 (*c* 0.14, MeOH)

UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ) 270 (0.76), 303 (0.42), 340 (0.34) nm

HRMS (ESI-TOF) *m*/*z* 513.1756 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>O<sub>10</sub>, 513.1761).

<sup>1</sup>H NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 400 MHz): δ 7.93 (2H, d, *J* = 8.8Hz, H-2', 6'), 7.08 (2H, d, *J* = 8.8Hz), 6.26 (1H, s, H-6), 5.45 (1H, brs, H-1"), 4.75 (1H, s, H-14a), 4.68 (1H, s, H-14b), 4.37 (1H, t, *J* = 6.8 Hz, H-12), 3.89 (3H, s, 4'-OMe), 1.72 (3H, s, H-15), 0.87 (3H, d, *J* = 6 Hz)

<sup>13</sup>C NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 100 MHz): δ 179.9 (C-4), 164.1 (C-7), 163.4 (C-4'), 161.2 (C-5), 158.7 (C-2), 156.3 (C-9), 148.8 (C-13), 136.1 (C-3), 131.9 (C-2', 6'), 124.1 (C-1'), 115.1 (C-3', 5') 111.2 (C-14), 105.3 (C-10) 103.3 (C-1"), 99.6 (C-6), 76.3 (C-12), 73.2 (C-3"), 72.1 (C-4"), 72.0 (C-2"), 71.9 (C-5"), 56.0 (4'-OMe), 30.2 (C-11), 17.7 (C-15), 17.6 (C-6") 화합물 6

Yellow amorphous powder

 $C_{27}H_{30}O_{11}$ 

 $[\alpha]_{D}^{20}$  -57.5 (*c* 0.14, MeOH)

UV (MeOH) λ<sub>max</sub> (log ε) 270 (1.39), 302 (0.74), 343 (0.59)

HRMS (ESI-TOF) m/z 531.1852 [M+H]<sup>+</sup> (calcd. for C<sub>27</sub>H<sub>31</sub>O<sub>11</sub>, 531.1866). <sup>1</sup>H NMR (DMSO- $d_6$ , 400 MHz):  $\delta$  8.16 (2H, d, J = 8.4Hz, H-2', 6'), 7.14 (2H, d, J= 9.2Hz), 6.62 (1H, s, H-6), 5.22 (1H, m, H-12), 5.02 (1H, d, J = 6.4Hz, H-1"), 3.86

(3H, s, 4'-OMe), 1.78 (3H, s, H-15), 1.64 (3H, s, H-14)

<sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz): δ 176.4 (C-4), 160.5 (C-4'), 160.0 (C-7), 158.5 (C-5), 152.6 (C-9), 146.7 (C-2), 136.2 (C-3), 131.1 (C-13), 129.2 (C-2', 6'), 123.3 (C-1'), 122.3 (C-12), 114.0 (C-3', 5'), 108.0 (C-8), 104.4 (C-10), 100.3 (C-1"), 97.3 (C-6), 77.1 (C-5"), 76.4 (C-3"), 73.2 (C-2"), 69.5 (C-4"), 60.5 (C-6"), 55.3 (4'-OCH<sub>3</sub>), 25.4 (15), 21.4 (C-11), 17.9 (C-14)

화합물 7

Yellow amorphous powder

 $C_{26}H_{28}O_{10}$ 

 $[\alpha]_{D}^{20}$  -76.1 (*c* 0.22, MeOH)

UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ) 270 (2.52), 317 (1.44), 342 (1.25)

HRMS (ESI-TOF) *m/z* 499.1590 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>26</sub>H<sub>27</sub>O<sub>10</sub>, 499.1604).

<sup>1</sup>H NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 400 MHz): δ 7.76 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-2', 6'), 6.91 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3', 5'), 6.23 (1H, s, H-6), 5.35 (1H, brs, H-1"), 5.16 (1H, m, H-12), 1.69 (3H, s, H-15), 1.64 (3H, s, H-14), 0.90 (1H, d, *J* = 5.6 Hz, H-6").

<sup>13</sup>C NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 100 MHz): δ 179.8 (C-4), 163.1 (C-4'), 161.5 (C-7), 160.7 (C-5), 159.2 (C-2), 155.7 (C-9), 136.0 (C-3), 132.4 (C-13), 131.9 (C-2', 6'), 123.7 (C-1'), 122.9 (C-12), 116.5 (C-3', 5'), 107.9 (C-8), 105.9 (C-10), 103.5 (C-1"), 99.3 (C- 6), 73.2 (C-4"), 72.1 (C-5"), 72.0 (C-3"), 71.9 (C-2"), 25.9 (C-14), 22.4 (C-11), 18.1 (C-15), 17.6 (C-6")

## 화합물 8

Yellow amorphous powder

 $C_{27}H_{30}O_{10}$ 

 $[\alpha]_{D}^{20}$  14.5 (*c* 0.07, MeOH)

UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\varepsilon$ ) 270 (2.70), 316 (1.54), 349 (1.34)

HRMS (ESI-TOF) m/z 513.1779 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>O<sub>10</sub>, 513.1761).

<sup>1</sup>H NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 400 MHz): δ 7.82 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2', 6'), 7.04 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.22 (1H, s, H-6), 5.37 (1H, brs, H-1"), 5.14 (1H, m, H-12), 3.85 (3H, s, 4'-OCH<sub>3</sub>), 1.68 (3H, s, H-15), 1.62 (3H, s, H-14), 0.88 (1H, d, *J* = 5.6 Hz, H-6").

<sup>13</sup>C NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 100 MHz): δ 179.8 (C-4), 163.3 (C-4'), 163.2 (C-7), 160.8 (C-5), 158.7 (C-2), 155.7 (C-9), 136.2 (C-3), 132.4 (C-13), 131.8 (C-2', 6'), 124.1 (C-1'), 123.7 (C-12), 115.1 (C-3', 5'), 107.9 (C-8), 106.0 (C-10), 103.5 (C-1"), 99.3 (C-6), 73.2 (C-4"), 72.1 (C-5"), 72.0 (C-3"), 71.9 (C-2"), 56.0 (4'-OMe), 25.9 (C-14), 22.4 (C-11), 18.1 (C-15), 17.7 (C-6")

## 화합물 9

Yellow amorphous powder

 $C_{32}H_{38}O_{15}$ 

 $[\alpha]_{D}^{20}$  -46.2 (*c* 0.14, MeOH)

UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ) 270 (0.79), 320 (0.44), 348 (0.42) nm

HRMS (ESI-TOF) *m/z* 661.2152 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>32</sub>H<sub>37</sub>O<sub>15</sub>, 661.2132).

<sup>1</sup>H NMR (MeOH- $d_4$ , 400 MHz):  $\delta$  7.78 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.94 (2H, d, J

= 8.4 Hz, H-3', 5'), 6.63 (1H, s, H-6), 5.38 (1H, brs, H-1"), 5.19 (1H, m, H-12), 5.06

(1H, d, *J* = 6.8 Hz, H-1<sup>\*\*\*</sup>), 1.72 (3H, s, H-15), 1.64 (3H, s, H-14), 0.92 (1H, d, *J* = 5.2 Hz, H-6<sup>\*\*</sup>).

<sup>13</sup>C NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 100 MHz): δ 180.1 (C-4), 162.0 (C-4'), 161.8 (C-7), 161.0 (C-5), 159.7 (C-2), 155.0 (C-9), 136.3 (C-3), 132.6 (C-13), 132.0 (C-2', 6'), 123.6 (C-1'), 122.6 (C-12), 116.6 (C-3', 5'), 110.5 (C-8), 107.5 (C-10), 103.5 (C-1"), 101.9 (C-1""), 99.3 (C-6), 78.3 (C-5""), 78.2 (C-3""), 74.9 (C-2""), 73.2 (C-4"), 72.12 (C-5"), 72.08 (C-3"), 71.9 (C-2"), 71.2 (C-4""), 62.4 (C-6""), 25.9 (C-14), 22.7 (C-11), 18.3 (C-15), 17.7 (C-6")

## 화합물 10

Yellow amorphous powder

 $C_{33}H_{40}O_{15}$ 

 $[\alpha]_{D}^{25}$  -74.9 (*c* 11.8, pyridine)

UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ) 275 (2.12), 320 (1.22), 358 (1.02) nm

HRMS (ESI-TOF) *m/z* 675.2308 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>33</sub>H<sub>39</sub>O<sub>15</sub>, 675.2289)

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz):  $\delta$  12.56 (1H, s, OH-5), 7.89 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2', 6'), 7.13 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3', 5'), 6.64 (1H, s, H-6), 5.35 (1H, d, *J* = 5.6 Hz, 2'''-OH), 5.28 (1H, d, *J* = 2 Hz, H-1''), 5.16 (1H, m, H-12), 5.11 (1H, d, *J* = 4.4 Hz, 3'''-OH), 5.05 (1H, d, *J* = 4.8 Hz, 4'''-OH), 5.01 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, H-1'''), 4.98 (1H, d, *J* = 4.4 Hz, 2''-OH), 4.72 (1H, d, *J* = 5.2 Hz, 4''-OH), 4.65 (1H, d, *J* = 6.0 Hz, 3''-OH), 4.62 (1H, t, *J* = 5.4 Hz, 6'''-OH), 4.00 (1H, m, H-2''), 3.86 (3H, s, 4'-OCH<sub>3</sub>), 3.72 (1H, m, H-6'''), 3.57(1H, m, H-11), 1.68 (3H, s, H-15), 1.60 (3H, s, H-14), 0.79 (1H, d, *J* = 6.0 Hz, H-6'').

<sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz): δ 178.3 (C-4), 161.4 (C-4'), 160.5 (C-7), 159.0 (C-5), 157.3 (C-2), 153.0 (C-9), 134.6 (C-3), 131.1 (C-13), 130.5 (C-2', 6'), 122.3 (C-1'), 122.1 (C-12), 114.1 (C-3', 5'), 108.3 (C-8), 105.6 (C-10), 102.0 (C-1''), 100.5 (C-1'''), 98.1 (C-6), 77.2 (C-5'''), 76.6 (C-3'''), 73.3 (C-2'''), 71.1 (C-4''), 70.7 (C-5''), 70.3 (C-3''), 70.0 (C-2''), 69.6 (C-4'''), 60.6 (C-6'''), 55.5 (4'-OCH<sub>3</sub>), 25.4 (C-

#### 14), 21.4 (C-11), 17.8 (C-15), 17.4 (C-6")

## 화합물 11

Yellow amorphous powder

 $C_{39}H_{50}O_{20}$ 

 $[\alpha]_{D}^{20}$  -53.9 (*c* 0.15, MeOH)

UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ) 270 (2.10), 318 (1.18), 349 (1.03) nm

HRMS (ESI-TOF) *m/z* 837.2819 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>39</sub>H<sub>49</sub>O<sub>20</sub>, 837.2817)

<sup>1</sup>H NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 400 MHz): δ 7.85 (2H, d, *J* = 9.2 Hz, H-2', 6'), 7.09 (2H, d, *J* = 9.2 Hz, H-3', 5'), 6.66 (1H, s, H-6), 5.73 (1H, d, *J* = 1.2 Hz, H-1"), 5.17 (1H, m, H-12), 5.07 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, H-1""), 4.43 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-1""), 4.30 (1H, m, H-2"), 3.89 (3H, s, 4'-OCH<sub>3</sub>), 1.71 (3H, s, H-15), 1.63 (3H, s, H-14), 0.91 (3H, d, *J* = 5.6 Hz, H-6")

<sup>13</sup>C NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 100 MHz): δ 180.0 (C-4), 163.6 (C-4'), 162.1 (C-7), 161.0 (C-5), 159.3 (C-2), 155.0 (C-9), 136.7 (C-3), 132.7 (C-13), 131.9 (C-2', 6'), 123.8 (C-1'), 123.5 (C-12), 115.2 (C-3', 5'), 110.6 (C-8), 107.6 (C-10), 107.1 (C-1'''), 102.6 (C-1''), 101.9 (C-1''''), 99.5 (C-6), 82.6 (C-2''), 78.3 (C-5'''), 78.2 (C-3'''), 77.93 (C-5'''), 77.87 (C-3'''), 75.3 (C-2'''), 74.9 (C-2''''), 73.4 (C-4''), 72.0 (C-3''), 71.8 (C-5''), 71.2 (C-4'''), 70.9 (C-4''''), 62.4 (C-6''''), 62.3 (C-6'''), 56.1 (4'-OCH<sub>3</sub>), 25.9 (C-14), 22.7 (C-11), 18.3 (C-15), 17.6 (C-6'')

## 화합물 12

Yellow amorphous powder

 $C_{41}H_{52}O_{21}$ 

 $[\alpha]_{D}^{20}$  -53.6 (*c* 0.05, MeOH)

UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ) 270 (2.46), 318 (1.40), 348 (1.22) nm

HRMS (ESI-TOF) *m/z* 879.2916 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>41</sub>H<sub>51</sub>O<sub>21</sub>, 879.2923)

<sup>1</sup>H NMR (MeOH- $d_4$ , 400 MHz):  $\delta$  7.90 (2H, d, J = 9.2 Hz, H-2', 6'), 7.15 (2H, d, J = 9.2 Hz, H-3', 5'), 6.66 (1H, s, H-6), 5.53 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-1"), 5.20 (1H, m, H-12), 5.07 (1H, d, J = 7.2 Hz, H-1""), 4.96 (1H, t, J = 9.6 Hz, H-3"), 4.43 (1H, m, H-2"), 4.39 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-1"), 3.98 (1H, dd, J = 9.6, 3.0 Hz, H-3"), 3.92 (3H, s, 4'-OCH<sub>3</sub>), 2.02 (3H, s, 4"-OMe), 1.72 (3H, s, H-15), 1.64 (3H, s, H-14), 0.81 (3H, d, J = 6.0 Hz, H-6")

<sup>13</sup>C NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 100 MHz): δ 180.0 (C-4), 172.3 (4"-OAc), 163.7 (C-4'), 162.2 (C-7), 161.1 (C-5), 159.4 (C-2), 155.0 (C-9), 135.6 (C-3), 132.7 (C-13), 132.0 (C-2', 6'), 123.8 (C-1'), 123.5 (C-12), 115.3 (C-3', 5'), 110.6 (C-8), 107.5 (C-10), 106.2 (C-1"'), 102.4 (C-1"), 101.9 (C-1""), 99.4 (C-6), 79.1 (C-3"), 78.3 (C-5""), 78.2 (C-3""), 77.9 (C-3", C-5"), 74.9 (C-2"), 74.8 (C-2""), 73.2 (C-4"), 71.4 (C-2"), 71.1 (C-5", C-4"), 69.8 (C-4""), 62.4 (C-6", C-6""), 56.2 (4'-OCH<sub>3</sub>), 25.9 (C-14), 22.7 (C-11), 21.1 (4"-OAc), 18.3 (C-15), 17.6 (C-6")

#### 화합물 13

Yellow amorphous powder

 $C_{38}H_{48}O_{19}$ 

 $[\alpha]_{D}^{20}$  -23.2 (*c* 0.12, MeOH)

UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ) 270 (0.79), 316 (0.44), 349 (0.36) nm

HRMS (ESI-TOF) *m/z* 807.2722 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>38</sub>H<sub>47</sub>O<sub>19</sub>, 807.2712)

<sup>1</sup>H NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 400 MHz): δ 7.84 (2H, d, *J* = 9.2 Hz, H-2', 6'), 7.07 (2H, d, *J* = 9.2 Hz, H-3', 5'), 6.63 (1H, s, H-6), 5.44 (1H, brs, H-1''), 5.19 (1H, m, H-12), 5.07 (1H, d, *J* = 6.8 Hz, H-1'''), 4.30 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, H-1'''), 4.21 (1H, brs, H-2''), 3.89 (3H, s, 4'-OCH<sub>3</sub>), 1.78 (3H, s, H-15), 1.65 (3H, s, H-14), 0.98 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-6''')

<sup>13</sup>C NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 100 MHz): δ 180.1 (C-4), 163.5 (C-4'), 162.0 (C-7), 160.9 (C-5), 159.0 (C-2), 154.9 (C-9), 136.9 (C-3), 132.6 (C-13), 131.8 (C-2', 6'), 123.7 (C-1'), 123.6 (C-12), 115.2 (C-3', 5'), 110.5 (C-8), 107.7 (C-10), 107.5 (C-1'''), 103.1 (C-1"), 101.9 (C-1""), 99.4 (C-6), 82.6 (C-2"), 78.3 (C-5""), 78.2 (C-3""), 77.7 (C-3""), 75.2 (C-2""), 74.9 (C-2""), 73.6 (C-4"), 71.8 (C-3"), 71.1 (C-4""), 70.9 (C-4""), 67.1 (C-5""), 62.4 (C-6""), 56.1 (4'-OCH<sub>3</sub>), 25.9 (C-14), 22.7 (C-11), 18.3 (C-15), 17.7 (C-6")

## 화합물 14

Yellow amorphous powder

 $C_{39}H_{50}O_{19}$ 

 $[\alpha]_{D}^{20}$  -79.5 (*c* 0.13, MeOH)

UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ) 270 (1.92), 316 (1.07), 349 (0.89) nm

HRMS (ESI-TOF) *m/z* 821.2880 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>39</sub>H<sub>49</sub>O<sub>19</sub>, 821.2868)

<sup>1</sup>H NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 400 MHz): δ 7.86 (2H, d, *J* = 9.2 Hz, H-2', 6'), 7.07 (2H, d, *J* = 9.2 Hz, H-3', 5'), 6.65 (1H, s, H-6), 5.53 (1H, brs, H-1"), 5.19 (1H, m, H-12), 5.07 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, H-1""), 5.00 (1H, brs, H-1""), 4.29 (1H, brs, H-2"), 3.88 (3H, s, 4'-OCH<sub>3</sub>), 1.72 (3H, s, H-15), 1.64 (3H, s, H-14) 1.21 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-6""), 0.91 (3H, d, *J* = 4.8 Hz, H-6"")

<sup>13</sup>C NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 100 MHz): δ 180.0 (C-4), 163.5 (C-4'), 162.0 (C-7), 161.0 (C-5), 159.2 (C-2), 154.9 (C-9), 136.5 (C-3), 132.6 (C-13), 131.9 (C-2', 6'), 123.8 (C-1'), 123.6 (C-12), 115.2 (C-3', 5'), 110.5 (C-8), 107.5 (C-10), 103.7 (C-1'''), 102.2 (C-1''), 101.9 (C-1'''), 99.4(C-6), 78.9 (C-2''), 78.3 (C-5'''), 78.2 (C-3'''), 74.9 (C-2'''), 73.9 (C-4'''), 73.5 (C-4''), 72.2 (C-3'''), 72.1 (C-3''), 71.93 (C-5''), 71.87 (C-2'''), 71.1 (C-4''''), 70.3 (C-5'''), 62.4 (C-6'''), 56.0 (C-4'), 25.9 (C-14), 22.7 (C-11), 18.3 (C-15), 17.9 (C-6'''), 17.8 (C-6'')

## 화합물 15

Yellow amorphous powder C<sub>39</sub>H<sub>50</sub>O<sub>19</sub>  $[\alpha]_{D}^{20}$  -68.6 (*c* 0.12, MeOH)

UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log ε) 270 (1.16), 316 (0.65), 348 (0.54) nm HRMS (ESI-TOF) *m/z* 821.2864 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>39</sub>H<sub>49</sub>O<sub>19</sub>, 821.2868) <sup>1</sup>H NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 400 MHz): δ 7.89 (2H, d, *J* = 9.2 Hz, H-2', 6'), 7.11 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 6.66 (1H, s, H-6), 5.68 (1H, brs, H-1"), 5.20 (1H, m, H-12), 5.07 (1H, d, *J* = 6.8 Hz, H-1""), 4.33 (1H, d, *J* = 6.4 Hz, H-1""), 3.89 (3H, s, 4'-OMe), 1.72 (3H, s, H-15), 1.64 (3H, s, H-14), 1.14 (3H, d, *J* = 6.0 Hz), 0.92 (3H, d, *J* = 6.4 Hz) <sup>13</sup>C NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 100 MHz): δ 180.2 (C-4), 163.6 (C-4'), 162.2 (C-7), 161.1 (C-5), 159.3 (C-2), 155.1 (C-9), 137.1 (C-3), 132.7 (C-13), 132.0 (C-2', 6'), 124.0 (C-1'), 123.6 (C-12), 115.3 (C-3', 5'), 110.7 (C-8), 107.8 (C-1"'), 107.6 (C-10), 103.2 (C-1"), 102.0 (C-1""), 99.4 (C-6), 83.1 (C-2"), 78.4 (C-5""), 78.3 (C-3""), 75.1 (C-4""), 75.0 (C-2""), 73.6 (C-4"), 73.0 (C-5""), 72.7 (C-3""), 72.2 (C-3"), 71.9 (C-5", C-2""), 71.2 (C-4""), 62.4 (C-6"")

## 화합물 16

Yellow amorphous powder

 $C_{39}H_{50}O_{19}$ 

 $[\alpha]_{D}^{20}$  -26.5 (*c* 0.11, MeOH)

UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\varepsilon$ ) 270 (0.64), 316 (0.37), 347 (0.32) nm HRMS (ESI-TOF) *m/z* 821.2878 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>39</sub>H<sub>49</sub>O<sub>19</sub>, 821.2868) <sup>1</sup>H NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 400 MHz):  $\delta$  7.90 (2H, d, *J* = 9.2 Hz, H-2', 6'), 7.11 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 6.66 (1H, s, H-6), 5.63 (1H, brs, H-1"), 5.20 (1H, m, H-12), 5.07 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, H-1""), 4.37 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-1""), 3.90 (3H, s, 4'-OMe), 1.73 (3H, s, H-15), 1.64 (3H, s, H-14), 1.15 (3H, d, *J* = 6.0 Hz), 0.94 (3H, d, *J* = 6.4 Hz) <sup>13</sup>C NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 100 MHz):  $\delta$  180.2 (C-4), 163.6 (C-4'), 162.1 (C-7), 161.0 (C-5), 159.3 (C-2), 155.0 (C-9), 137.0 (C-3), 132.7 (C-13), 132.0 (C-2', 6'), 123.9 (C-1'), 123.5 (C-12), 115.3 (C-3', 5'), 110.6 (C-8), 107.5 (C-10), 107.2 (C-1""), 103.1
(C-1"), 101.9 (C-1""), 99.4 (C-6), 83.0 (C-2"), 78.3 (C-5""), 78.2 (C-3""), 77.6 (C-4""), 76.8 (C-3""), 75.6 (C-2""), 74.9 (C-2""), 73.5 (C-4", 5""), 71.9 (C-3"), 71.8 (C-5"), 71.2 (C-4""), 62.4 (C-6""), 56.1 (4'-OMe), 25.9 (C-14), 22.8 (C-11), 18.3 (C-15), 18.0 (C-6"), 17.6 (C-6")

화합물 17

Yellow amorphous powder

 $C_{37}H_{44}O_{17}$ 

 $[\alpha]_{D}^{20}$  -65.3 (*c* 0.18, MeOH)

UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ) 271 (2.45) nm

HRMS (ESI-TOF) *m/z* 759.2515 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>37</sub>H<sub>43</sub>O<sub>17</sub>, 759.2500)

<sup>1</sup>H NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 400 MHz):  $\delta$  7.88 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2', 6'), 7.13 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-3', 5'), 6.27 (1H, s, H-6), 5.53 (1H, brs, H-1"), 5.19 (1H, m, H-12), 4.42 (1H, d, H-1""), 3.91 (3H, s, 4'-OMe), 2.06 (3H, s, 6'"-OAc), 2.03 (3H, s, 4"-OAc), 1.71 (3H, s, H-15), 1.66 (3H, s, H-14), 0.81 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-6") <sup>13</sup>C NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 100 MHz):  $\delta$  179.7 (C-4), 172.9 (6'"-OAc), 172.3 (4''-OAc), 163.5 (C-7), 163.4 (C-4'), 160.9 (C-5), 158.6 (C-2), 155.8 (C-9), 135.4 (C-3), 132.5 (C-13), 131.9 (C-2', 6'), 124.1 (C-12), 123.7 (C-1'), 115.3 (C-3', 5'), 108.0 (C-8), 106.4 (C-10), 106.0 (C-1""), 102.3 (C-1"), 99.5 (C-6), 79.4 (C-3"), 77.8 (C-3""), 75.3 (C-5""), 74.6 (C-2""), 73.1 (C-4""), 71.9 (C-4""), 71.7 (C-2"), 69.9 (C-5"), 65.1 (C-6""), 56.2 (4'-OMe), 26.0 (C-14), 22.5 (C-11), 21.1 (6""-OAc), 20.9 (4"-OAc), 18.2 (C-15), 17.6 (C-6")

## 화합물 18

Yellow amorphous powder  $C_{43}H_{54}O_{22}$  $[\alpha]_D^{20}$  -150.2 (*c* 0.1, MeOH) UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\varepsilon$ ) 269 (1.84), 316 (0.89), 348 (0.75) nm HRMS (ESI-TOF) *m/z* 921.3024 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>43</sub>H<sub>53</sub>O<sub>22</sub>, 921.3028) <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz):  $\delta$  7.91 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2', 6'), 7.17 (2H, d, *J* = 9.2 Hz), 6.65 (1H, s, H-6), 5.37 (1H, brs, H-1"), 5.18 (1H, m), 5.01 (1H, d, *J* = 6.8 Hz, H-1""), 3.89 (3H, s, 4'-OMe), 1.99 (3H, s, 6"'-OAc), 1.96 (3H, s, 4"-OAc), 1.69 (3H, s, H-15), 1.61 (3H, s, H-14), 0.72 (3H, d, *J* = 6.0 Hz) <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz):  $\delta$  178.1 (C-4), 170.4 (4"-Ac), 169.7 (6"-Ac), 161.7 (C-7), 160.6 (C-5), 159.1 (C-4'), 157.3 (C-2), 153.1 (C-9), 133.8 (C-3), 131.1 (C-13), 130.5 (C-2', 6'), 122.1 (C-1'), 122.0 (C-12), 114.1 (C-3', 5'), 108.4 (C-8), 105.6 (C-10), 104.9 (C-1""), 101.1 (C-1"), 100.6 (C-1""), 98.3 (C-6), 77.2 (C-3"), 76.8 (C-5""), 76.6 (C-3", C-3""), 73.7 (C-5"), 73.4 (C-2""), 72.9 (C-2""), 71.1 (C-4"), 70.3 (C-4""), 69.7 (C-2"), 69.6 (C-4""), 68.4 (C-5"), 64.0 (C-6""), 60.6 (C-6""), 55.6 (4'-OCH<sub>3</sub>), 25.5 (C-14), 21.4 (C-11), 20.7 (4"-OAc), 20.6 (6"-OAc), 17.8 (C-15), 17.0 (C-6")

# 화합물 19

Yellow amorphous powder

 $C_{43}H_{54}O_{22}$ 

 $[\alpha]_{D}^{20}$  -64.5 (*c* 0.17, MeOH)

UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ) 270 (1.50), 315 (0.80), 349 (0.65) nm

HRMS (ESI-TOF) *m/z* 921.3066 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>43</sub>H<sub>53</sub>O<sub>22</sub>, 921.3028)

<sup>1</sup>H NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 400 MHz): δ 7.89 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-2', 6'), 7.15 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.66 (1H, s, H-6), 5.51 (1H, brs, H-1''), 5.19 (1H, m, H-12), 5.07 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, H-1''') 4.48 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-1'''), 3.92 (3H, s, 4'-OCH<sub>3</sub>), 2.11 (3H, s, 3'''-OAc), 2.02 (3H, s, 4''-OAc), 1.72 (3H, s, H-15), 1.63 (3H, s, H-14), 0.81 (3H, d, *J* = 6.0 Hz, H-6''')

<sup>13</sup>C NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 100 MHz): δ 179.9 (C-4), 172.7 (3<sup>\*\*\*</sup>-OAc), 172.4 (4<sup>\*\*\*</sup>-OAc), 163.7 (C-4<sup>\*\*\*</sup>), 162.1 (C-7), 161.0 (C-5), 159.4 (C-2), 155.0 (C-9), 135.7 (C-3), 132.7

(C-13), 132.0 (C-2', 6'), 123.8 (C-1'), 123.5 (C-12), 115.3 (C-3', 5'), 110.6 (C-8), 107.5 (C-10), 106.1 (C-1'''), 102.4 (C-1''''), 101.9 (C-1''), 99.4 (C-6), 79.7 (C-3''), 79.0 (C-3''', C-5'''), 78.3 (C-5'''), 78.2 (C-5'''), 77.6 (C-3'''), 74.9 (C-2'''), 73.0 (C-4'', 4''''), 71.3 (C-4'''), 71.2 (C-2'''), 69.8 (C-2''), 69.2 (C-5''), 62.4 (C-6'''), 62.0 (C-6''''), 56.2 (C-4'), 25.9 (C-14), 22.7 (C-11), 21.1 (4''-OAc), 21.07 (3'''-OAc), 18.3 (C-15), 17.6 (C-6'')

## 화합물 20

Yellow amorphous powder

 $C_{45}H_{56}O_{23}$ 

 $[\alpha]_{D}^{20}$  -74.9 (c 11.8, pyridine)

UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ) 270 (1.84), 315 (0.99), 349 (0.79) nm

HRMS (ESI-TOF) *m/z* 963.3145 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>45</sub>H<sub>55</sub>O<sub>23</sub>, 963.3134)

<sup>1</sup>H NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 400 MHz): δ 7.90 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-2', 6'), 7.15 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.66 (1H, s, H-6), 5.53 (1H, brs, H-1"), 5.19 (1H, m, H-12), 5.07 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, H-1"") 4.47 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-1""), 3.93 (3H, s, 4'-OCH<sub>3</sub>), 2.11 (3H, s, 3""-OAc), 2.06 (3H, s, 6""-OAc), 2.02 (3H, s, 4"-OAc), 1.72 (3H, s, H-15), 1.64 (3H, s, H-14), 0.81 (3H, d, *J* = 6.0 Hz, H-6"")

화합물 21

Yellow amorphous powder

 $C_{45}H_{56}O_{23}$ 

 $[\alpha]_{D}^{20}$  -54.6 (*c* 0.25, MeOH)

UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\varepsilon$ ) 270 (1.04), 315 (0.56), 349 (0.45) nm

HRMS (ESI-TOF) *m/z* 963.3124 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>45</sub>H<sub>55</sub>O<sub>23</sub>, 963.3134)

<sup>1</sup>H NMR (MeOH- $d_4$ , 400 MHz):  $\delta$  7.90 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 7.14 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.67 (1H, s, H-6), 5.48 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-1"), 5.20 (1H, m, H-12), 5.07 (1H, d, J = 6.8 Hz, H-1"") 4.44 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-1""), 3.92 (3H, s, 4'-OCH<sub>3</sub>), 2.10 (3H, s, 6"'-OAc), 2.04 (3H, s, 4"'-OAc), 2.03 (3H, s, 4"-OAc), 1.72 (3H, s, H-15), 1.64 (3H, s, H-14), 0.82 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-6"") <sup>13</sup>C NMR (MeOH- $d_4$ , 100 MHz):  $\delta$  180.0 (C-4), 172.6 (6"'-OAc), 172.3 (4"'-OAc), 172.0 (4"-OAc), 163.7 (C-4'), 162.2 (C-7), 161.1 (C-5), 159.3 (C-2), 155.0 (C-9), 135.8 (C-3), 132.7 (C-13), 131.9 (C-2', 6'), 123.9 (C-1'), 123.5 (C-12), 115.3 (C-3',

5'), 110.6 (C-8), 107.5 (C-10), 106.4 (C-1'''), 102.5 (C-1''), 101.9 (C-1''''), 99.5 (C-6), 79.6 (C-3''), 78.3 (C-5'''), 78.3 (C-3'''), 75.5 (C-2'''), 74.9 (C-2''''), 74.7 (C-4''), 73.1 (C-4'''), 73.0 (C-5'''), 72.4 (C-3'''), 71.6 (C-4''''), 71.2 (C-2''), 69.9 (C-5''), 64.1 (C-6'''), 62.4 (C-6'''), 56.2 (C-4'), 25.9 (C-14), 22.7 (C-11), 21.0 (6'''-OAc), 20.9 (4'''-OAc), 20.8 (4''-OAc), 18.3 (C-15), 17.6 (C-6'')

## 화합물 22

Yellow amorphous powder

 $C_{24}H_{30}O_{10} \\$ 

 $[\alpha]_D^{20}$  -27.5 (*c* 0.11, MeOH)

UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\varepsilon$ ) 216 (1.95), 280 (0.93), 302 (0.71) nm

HRMS (ESI-TOF) m/z 523.1799 [M+HCOO]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>25</sub>H<sub>31</sub>O<sub>12</sub>, 523.1816) <sup>1</sup>H NMR (MeOH- $d_4$ , 400 MHz):  $\delta$  7.96 (1H, s, H-16), 6.91 (1H, s, H-8), 6.84(1H, s,

H-13), 4.96 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, H-1), 3.92 (3H, s, H-21), 3.85 (6H, s, H-23, 24), 3.73 (3H, s, H-22), 2.69 (4H, m, H-10, H-11)

<sup>13</sup>C NMR (MeOH-*d*<sub>4</sub>, 100 MHz): δ 152.6 (C-19), 150.7 (C-7), 149.2 (C-14), 148.6 (C-15), 143.4 (C-20), 136.0 (C-9), 132.7 (C-12), 126.3 (C-17), 123.6 (C-18), 113.3 (C-8), 112.9 (C-13), 112.5 (C-16), 102.7 (C-1), 78.3 (C-5), 78.1 (C-3), 75.0 (C-2), 71.4 (C-4), 62.6 (C-6), 62.1 (C-21), 61.1 (C-22), 56.7 (C-23), 56.4 (C-24), 31.4 (C-10), 30.3 (C-11)

Position	1		2		3		4	
	$\delta_{\rm H}(J \text{ in Hz})$	δc	$\delta_{\rm H}$ ( <i>J</i> in Hz)	δc	$\delta_{\rm H}(J \text{ in Hz})$	δc	$\delta_{\rm H}$ ( <i>J</i> in Hz)	δc
2		159.4		159.2		159.4		159.3
3		135.9		136.8		136.6		136.9
4		180.0		180.0		180.0		180.1
5		161.0		161.0		160.9		161.1
6	6.65, s	99.4	6.65, s	99.4	6.67, s	99.9	6.67, s	99.4
7		162.1		162.1		162.1		162.2
8		110.5		110.6		110.7		110.6
9		155.0		155.0		155.0		155.1
10		107.5		107.5		107.5		107.5
11	3.52, m, 3.57, m	22.7	3.51, m, 3.57, m	22.7	3.52, m, 3.58, m	22.7	3.53, m, 3.57, m	22.8
12	5.19, t (6.8)	123.5	5.18, m	123.6	5.20, m	123.4	5.19, m	123.6
13		132.6		132.7	,	132.8		132.7
14	1.64, s	25.9	1.64, s	25.9	1.64, s	25.9	1.64, s	25.9
15	1.73, s	18.3	1.72, s	18.3	1.75, s	18.3	1.72, s	18.3
1'		123.9		123.8		123.7		123.9
2', 6'	7.85, d (8.8)	131.9	7.86, d (8.8)	131.9	7.90, d (8.4)	131.9	7.89, d (8.8)	132.0
3', 5'	7.10, d (8.8)	115.2	7.08, d (8.8)	115.2	7.10, d (8.4)	115.2	7.10, d (8.8)	115.3
4'		163.6		163.5		163.6		163.6
4'-OMe	3.89, s	56.1	3.89, s	56.1	3.90, s	56.1	3.89, s	56.1
Glucose								
1	5.07, d (7.2)	101.9	5.07, d (6.8)	101.9	5.07, d (7.2)	101.8	5.07, d (7.2)	101.9
2	3.53, m	74.9	3.53, m	74.9	3.54, m	74.9	3.53, m	74.9
3	3.51, m	78.2	3.51, m	78.3	3.52, m	78.3	3.51, m	78.4
4	3.43, m	71.1	3.43, m	71.1	3.43, m	71.1	3.42, m	71.2
5	3.48, m	78.3	3.48, m	78.2	3.48, m	78.2	3.49, m	78.3
6	3.92, m 3.74, m	62.4	3.92, m 3.74, m	62.4	3.92, m 3.74, m	62.3	3.92, m 3.74, m	63.4

**Table 3.** <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C-NMR Data of compounds **1-4** (CD<sub>3</sub>OD)

Rhamnose								
1	5.50, brs	102.7	5.45, d (1.6)	102.2	5.45, d (2.0)	102.0	5.45, brs	102.2
2	4.21, brs	71.7	4.33, brs	80.0	4.36, brs	80.0	4.34, brs	79.9
3	3.85, dd (9.8, 3.0)	70.0	3.80, dd (9.2, 3.2)	71.9	3.92, m	72.2	3.80, dd (9.6, 3.2)	71.9
4	4.82, t (10.0)	/4.9 60.6	3.38, m	/ 3.3	3.41, m	71.7	3.39, m	73.4
5	3.23, m	17.5	3.33, m	17.2	3.34, m	72.9	3.29, m	72.2
0	0.77, d (6.0)	17.5	0.95, d (6.0)	1/./	0.94, d (6.4)	17.6	0.95, d (5.2)	17.7
4-O-Ac		172.3						
	2.01, s	20.9						
Terminal								
1"			5.21, s	101.1	5.25, s	100.4	5.21, s	101.3
2"				170.0		169.4		169.7
2"-OMe					3.78, s	52.9		
1'''				173.1		174.4		173.1
2'''			2.46, m 2.60, m	42.5	4.53, q (6.8)	73.2	2.46, m 2.62, m	42.6
3'''			4.18, sextet (6.0)	73.3	1.39, d (6.8)	18.8	4.18, m	73.4
4'''			1.21, d (6.4)	21.6			1.21, d (6.0)	21.7
1'"-OMe			3.65, s	52.2			3.66, s	52.2
1''''							4.16, m	66.4
2""							1.66, m	31.7
3""							1.42, m	20.2
4''''							0.95, t (7.2)	14.1

<sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C-NMR spectra were obtained from 400 and 100 MHz, respectively.

# 3. 결과 및 고찰

## 1. 화합물 구조동정

#### 1.1 화합물 1의 구조

화합물 1은 황색무정형 분말로 분리되었으며 분자식은 C35H42O16으로 확인되었다 [m/z 719.2529 [M+H]<sup>+</sup> (calcd. for C<sub>35</sub>H<sub>43</sub>O<sub>16</sub>, 719.2551)]. <sup>1</sup>H-NMR spectrum에서  $\delta_{\rm H}$  6.65 (1H, s),  $\delta_{\rm H}$  7.85 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.10 (2H, d, J = 8.8 Hz)를 통해 flavonol 골격을 확인하였으며 δ<sub>H</sub> 3.52 (1H, m), 3.57 (1H, m), 5.19 (1H, t, J=6.8 Hz), 1.64 (3H, s, H-14), 1.73 (3H, s)을 통해 prenyl group을 확인하였다.  $\delta_{\rm H}$  3.89 (3H, s)에서 methoxy를 확인하였고 두개의 anomeric protons  $\delta_{\rm H}$  5.07 (1H, d, J = 7.2 Hz),  $\delta_{\rm H}$  5.50 (1H, brs)에서 각각  $\beta$ -glucose와  $\alpha$ -rhamnose를 확인하였다. 이상의 결과는 icariin의 결과와 유사한 것으로 확인되었으나 (Omnia et al., 2020) δ<sub>H</sub> 2.01 (3H, s), δ<sub>C</sub> 172.3, δ<sub>C</sub> 20.9를 통해 추가적인 acetyl group이 존재함을 확인하였다. HMBC에서 of δ<sub>H</sub> 4.82 (Rha H-4)/δ<sub>C</sub> 172.3, δ<sub>H</sub> 2.01/δ<sub>c</sub> 172.3의 correlation을 확인하여 acetyl group의 위치를 특정하였으며  $\delta_{\rm H}$  5.07 (Glc H-1)/ $\delta_{\rm C}$  161.0 (C-7),  $\delta_{\rm H}$  5.50 (Rha H-1)/ $\delta_{\rm C}$  135.9 (C-3) correlation으로 당의 위치도 결정하였다. 당의 절대구조는 anomeric proton의 coupling constant와 LC 분석을 통해 D-glucose와 L-rhamnose로 결정하였다 (Tanaka et al., 2007). 이상의 결과를 토대로 화합물 1을 4'methoxy-5-hydroxy-8-3,3-dimethylallylflavone 3-O-[4-O-acetyl-α-Lrhamnopyranoisde]-7-O-β-D-glucopyranoside 로 동정하였다.



Fig 6. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>CNMR spectra of compound 1



Fig 7. <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY spectrum of compound **1** 



Fig 8. HMBC spectrum of compound 1

1.2 화합물 **2**의 구조

화합물 2는 황색무정형 분말로 분리되었으며 ESIHRMS m/z 849.2815 [M-H<sup>-</sup>(calcd. for C<sub>40</sub>H<sub>49</sub>O<sub>20</sub>)를 통해 분자식은 C<sub>40</sub>H<sub>50</sub>O<sub>20</sub>을 확인하였다. <sup>1</sup>H NMR spectrum에서  $\delta_{\rm H}$  7.86 (2H, d, J = 8.8 Hz),  $\delta_{\rm H}$  7.08 (2H, d, J = 8.4 Hz),  $\delta_{\rm H}$  6.65 (1H, s)을 통해 4'이 치환된 B-ring과 5, 7, 8이 치환된 A-ring을 확인하였다. δ<sub>H</sub> 1.64 (3H, s), 1.72 (3H, s)와 δ<sub>H</sub> 5.18 (1H, m), 그리고 다섯 개의 carbon 값 (δ<sub>C</sub> 132.7, 123.6, 25.9, 22.7, 18.3)를 통해 prenyl기를 확인하였으며 HMBC correlation을 통해 8번 탄소에 연결되어 있음을 확인하였다. δ<sub>H</sub> 3.65, 3.86 (3H, s), 과  $\delta_{\rm C}$  52.2, 56.1를 통해 두개의 methoxy기를 확인하였으며  $\delta_{\rm H}$ 3.86/C-4' (δ<sub>C</sub> 163.6), δ<sub>H</sub> 3.65/C-1''' (δ<sub>C</sub> 173.1) correlation을 통해 위치를 특정하였다. Anomeric proton δ<sub>H</sub> 5.45 (1H, d, J = 1.6 Hz)을 통해 3-O-α-Lrhamnopyranoside가 존재할 것으로 추정하였으며 methyl protone  $\delta_{\rm H}$  0.95 (3H, d, J = 6 Hz)과 carbon signal 102.2, 80.0, 71.9, 73.3, 72.2, 17.7를 통해 확정하였다. 또다른 anomeric proton δ<sub>H</sub> 5.07 (1H, d, J=6.8 Hz)과 δ<sub>C</sub> 101.9, 78.3, 78.2, 74.9, 71.1, 62.4을 통해 7-*O*-β-D-glucopranoside 또한 확인하였다. δ<sub>H</sub> 5.21 (1H, s),  $\delta_{C}$  101.1, 170.0, 그리고  $\delta_{H}$  5.21/ $\delta_{C}$  170.0의 HMBC (optimized at long range J = 2 Hz) correlation을 통해 2,2-dihydroxyacetic acid 부분구조를 특정하였다. 또한 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY spectrum에서 H-2" (δ<sub>H</sub> 2.60 and 2.46)/H-3""(δ<sub>H</sub> 4.18, sextet, J = 6.0 Hz)/H-4" (δ<sub>H</sub> 1.21, d, J = 6.4 Hz)의 순차적인 correlation을 확인하였고 HMBC에서 H-3"'/C-1"(δc 101.1)의 correlation을 확인하여 2hydroxy-2-((4-methoxy-4-oxobutan-2-yl)oxy)acetic acid 부분구조를 특정하였다. H-2"/δ<sub>C</sub> 80.0 (Rha C-2) HMBC correlation을 통해 부분구조의 위치를 결정하였으며 이를 바탕으로 화합물 2의 구조를 4'-methoxy-5hydroxy-8-3,3-dimethylallylflavone 3-O-[2-O-2-hydroxy-2-oxo-1-(4-methoxy-4oxobutan-2-yl)oxy-α-L-rhamnopyranoisde]-7-O-β-D-glucopyranoside 呈

동정하였다.



Fig 9. <sup>1</sup>H NMR spectrum of compound 2



Fig 10. <sup>13</sup>C NMR spectrum of compound **2** 



Fig 11. <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY spectrum of compound **2** 



Fig 12. HMBC spectrum of compound 2



Fig 13. Optimized HMBC spectrum (2 Hz) of compound 2

1.3 화합물 **3**의 구조

화합물 3은 황색무정형 분말로 분리되었으며 분자식은 C39H48O20 이다 [m/z 835.2620 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>39</sub>H<sub>47</sub>O<sub>20</sub>, 835.2661)]. 화합물 **3**의 1D NMR spectra는 화합물 2와 유사하나 화합물 2의 methyl 3-hydroxybutanoate 부분구조 대신 2-hydroxypropanoic acid 부분구조가 있는 것이 다르다. 'H NMR spectrum  $\Im \land \exists \delta_{\rm H} 7.90 (2 {\rm H}, {\rm d}, J = 8.4 {\rm Hz}), \delta_{\rm H} 7.10 (2 {\rm H}, {\rm d}, J = 8.4 {\rm Hz}), \delta_{\rm H} 6.65$ (1H, s)을 통해 flavonol 골격을 확인하였으며 δ<sub>H</sub> 3.52 (1H, m), 3.58 (1H, m), 5.20 (1H, m), 1.64 (3H, s), 1.75 (3H, s)를 통해 prenyl group을 확인하였고 HMBC를 통해 C-8에 위치함을 확인하였다. δ<sub>H</sub> 3,78 (3H, s), 3.90 (3H, s), δ<sub>C</sub> 52.9, 56.1을 통해 두개의 methoxy를 확인하였으며 각각 δ<sub>H</sub> 3.78/δ<sub>C</sub> 169.4 (C-2"), δ<sub>H</sub> 3.90/δ<sub>C</sub> 163.6 (C-4') HMBC correlation을 통해 위치를 특정하였다. δ<sub>H</sub> 4.53 (1H, quintet, J = 6.8 Hz H-2"), 1.39 (3H, d, J = 6.8 Hz H-3"),  $\delta_{\rm C}$  174.4 (C-1""), 73.2 (C-2""), 18.8 (C-3"")을 통해 2-hydroxy-propanoic acid 부분구조를 확인하였고,  $\delta_{\rm H}$  4.53(H-2"')/ $\delta_{\rm C}$  100.4 (C-1"),  $\delta_{\rm H}$  5.25(H-1")/ $\delta_{\rm C}$  80.0 (Rha C-2) HMBC correlation과  $\delta_{\rm H}$  3.78/ $\delta_{\rm H}$  5.25(H-1")의 long-range COSY correlation으로 각각의 위치를 확인하였다. 이상의 결과를 토대로 화합물 3의 구조를 4'methoxy-5-hydroxy-8-3,3-dimethylallylflavone 3-O-[2-O-2-((4-oxopropan-2yl)oxy) acetic acid methyl ester-α-L-rhamnopyranoside]-7-O-β-Dglucopyranoside로 동정하였다.



Fig 14. <sup>1</sup>H NMR spectrum of compound **3** 



Fig 15. <sup>13</sup>C NMR spectrum of compound **3** 



Fig 16.  $^{1}\text{H}-^{1}\text{H}$  COSY spectrum of compound **3** 



Fig 17. HMBC spectrum of compound **3** 



1.4 화합물 4의 구조

화합물 4는 황색무정형 분말로 ESIHRMS를 통해 분자식 C44H58O20 을 확인하였다 [[M + HCOO<sup>-]-</sup> m/z 951.3529 (calcd. for C<sub>45</sub>H<sub>59</sub>O<sub>22</sub>, 951.3498]. 화합물 4의 1D NMR spectra는 화합물 2와 유사하며 butyl group이 추가로 존재하는 것이 확인되었다. H NMR spectrum에서  $\delta_{\rm H}$  7.89 (2H, d, J = 8.8 Hz), δ<sub>H</sub> 7.10 (2H, d, J = 8.8 Hz), δ<sub>H</sub> 6.67 (1H, s)을 통해 flavonol 골격을 확인하였으며 δ<sub>H</sub> 3.53 (1H, m), 3.57 (1H, m), 5.19 (1H, m), 1.64 (3H, s), 1.72 (3H, s)를 통해 prenyl group을 확인하였고 HMBC를 통해 C-8에 위치함을 확인하였다. δ<sub>H</sub> 3,66 (3H, s), 3.89 (3H, s), δ<sub>C</sub> 52.2, 56.1을 통해 두개의 methoxy를 확인하였으며 각각 δ<sub>H</sub> 3.66/δ<sub>C</sub> 173.1 (C-1""), δ<sub>H</sub> 3.89/δ<sub>C</sub> 163.6 (C-4") HMBC correlation을 통해 위치를 특정하였다. <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY spectrum에서 δ<sub>H</sub> 4.16 (2H, m, H-1''')/1.66 (2H, m, H-2''')/1.42 (2H, m, H-3''')/0.95 (3H, t, J = 7.2 Hz, J = 7.2 Hz)H-4"")의 순차적인 correlation을 확인할 수 있으며 이를 통해 butyl group을 확인하였고 HMBC spectrum에서 H-1"" (δ<sub>H</sub> 4.16)/C-2" (δ<sub>C</sub> 169.7) correaltion을 통해 butyl group의 위치를 특정하였다. 이상의 결과를 토대로 화합물 4의 구조를 4'-methoxy-5-hydroxy-8-3,3-dimethylallylflavone 3-O-[2-O-2-((4-methoxy-4-oxobutan-2-yl)oxy)acetic acid butyl ester-α-Lrhamnopyranoside]-7-*O*-β-D-glucopyranoside로 동정하였다.



Fig 19. <sup>1</sup>H NMR spectrum of compound 4



Fig 20. <sup>13</sup>C NMR spectrum of compound 4



Fig 21.  $^{1}\text{H}$ - $^{1}\text{H}$  COSY spectrum of compound 4



Fig 22. HMBC spectrum of compound 4

화합물 5는 황색무정형 분말로 ESI-HRMS를 통해 분자식 C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>11</sub>을 구하였다 [*m*/*z* 513.1756 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>O<sub>10</sub>, 513.1761)]. δ<sub>H</sub> 7.93 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), δ<sub>H</sub> 7.08 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), δ<sub>H</sub> 6.26 (1H, s)을 통해 4'이 치환된 Bring과 5, 7, 8이 치환된 A-ring을 확인하였다. δ<sub>H</sub> 3.89 (3H, s)와 δ<sub>c</sub> 56.0을 통해 methoxy를 확인하였으며 δ<sub>H</sub> 4.75 (1H, s)와 4.68 (1H, s)에서 말단 C=C결합을, δ<sub>H</sub> 1.72 (3H, s)에서 methyl기를 확인하였다. δ<sub>H</sub> 4.37 (1H, t, *J* = 6.8 Hz)으로부터 hydroxy가 존재함을 확인할 수 있다. Anomeric proton δ<sub>H</sub> 5.45 (1H, brs)과 δ<sub>H</sub> 0.87 (3H, d, *J* = 6.0 Hz), δ<sub>c</sub> 103.3, 73.2, 72.1, 72.0, 71.9, 17.6 에서 3-O-α-L-rhamnopyranoside를 특정하였다. 이상의 결과를 문헌과 대조하여 3-[(6-deoxy-α-L-mannopyranosyl)oxy]-5,7-dihydroxy-8-(2-hydroxy-3-methylbut-3-en-1-yl)-2-(4-methoxyphenyl)-4*H*-1-benzopyran-4-one, 일반명 koreanoside E로 동정하였다 (Li et al. 2015).



Fig 23. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C spectra of compound 5

1.6 화합물 **6**의 구조

화합물 6은 황색무정형 분말형태로 분리되었다. ESI-HRMS를 통해 분자식 C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>11</sub>을 알아내었고 [*m*/*z* 531.1852 [M+H]<sup>+</sup> (calcd. for C<sub>27</sub>H<sub>31</sub>O<sub>11</sub>, 531.1866)], <sup>1</sup>H NMR spectrum에서 δ<sub>H</sub> 8.16 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), δ<sub>H</sub> 7.14 (2H, d, *J* = 9.2 Hz), δ<sub>H</sub> 6.62 (1H, s)을 통해 4'이 치환된 B-ring과 5, 7, 8이 치환된 Aring을 확인하였다. δ<sub>H</sub> 1.78 (3H, s), 1.64 (3H, s)와 δ<sub>H</sub> 5.12 (1H, m), 그리고 다섯 개의 carbon 값 (δ<sub>C</sub> 131.1, 122.3, 25.4, 21.4, 17.9)를 통해 prenyl기를 확인하였으며 down-field shift 된 C-8 (δ<sub>C</sub> 108.0)을 통해 8번에 연결되어 있음을 확인하였으며 δ<sub>H</sub> 3.86 (3H, s)과 δ<sub>C</sub> 55.3를 통해 methoxy기를 확인하였고 Anomeric proton δ<sub>H</sub> 5.02 (1H, d, *J* = 6.4 Hz)과 δ<sub>C</sub> 100.3, 77.1, 76.4, 73.2, 69.5, 60.5을 통해 7-O-β-D-glucopranoside를 확인하였다. 문헌과의 비교를 통해 화합물 6의 구조를 3-hydroxy-7-O-β-glucose-8-prenyl-4'methoxychrysin, 일반명 icariside L으로 동정하였다 (Mei et al. 2015).



Fig 24. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C spectra of compound 6

1.7 화합물 7,8의 구조

화합물 7는 황색무정형 분말형태로 분리되었으며 ESIHRMS ion peak [M-H]<sup>-</sup> 499.1590을 통해 분자식  $C_{26}H_{28}O_{10}$ 을 확인하였고 (calcd. for  $C_{26}H_{27}O_{10}$ , 499.1604)  $\delta_{\rm H}$  7.76 (2H, d, J = 8.0 Hz),  $\delta_{\rm H}$  6.91 (2H, d, J = 8.4 Hz),  $\delta_{\rm H}$  6.23 (1H, s)을 통해 flavonol 골격 구조를 확인하였다.  $\delta_{\rm H}$  1.69 (3H, s), 1.64 (3H, s)와  $\delta_{\rm H}$  5.16 (1H, m), 그리고 다섯 개의 carbon ( $\delta_{\rm C}$  132.4, 122.9, 25.9, 22.4, 18.1)를 통해 prenyl기를 확인하였으며 down-field shift 된 C-8 ( $\delta_{\rm C}$  107.9)을 통해 8번에 연결되어 있음을 확인하였다. Anomeric proton  $\delta_{\rm H}$  5.35 (1H, brs)과  $\delta_{\rm H}$  0.90 (3H, d, 5.6Hz),  $\delta_{\rm C}$  103.5, 73.2, 72.1, 72.0, 71.9, 17.6에서 3-O- $\alpha$ -L-rhamno-pyranoside를 특정하였다. 문헌과의 비교를 통해 화합물 7의 구조를 5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl)-3-[(2*S*,3*R*,4*R*,5*R*,6*S*)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxychromen-4-one, 일반명 ikarisoside A 로 동정하였다 (Fukai and Nomura 1988).

화합물 8 역시 황색무정형 분말형태로 분리되었으며 ESIHRMS를 통해 분자식 C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>O<sub>10</sub>을 확인하였다 [*m*/*z* 513.1779 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>O<sub>10</sub>, 513.1761)]. 1D NMR 데이터는 화합물 7과 매우 유사하였으며 δ<sub>H</sub> 3.93 (3H, s)와 δ<sub>C</sub> 56.2를 통해 추가적인 methoxy의 존재를 확인하였다. 문헌과의 비교를 통해 화합물 Bu80.3.5-2의 구조를 5,7-dihydroxy-2-(4methoxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl)-3-[(2*S*,3*R*,4*R*,5*R*,6*S*)-3,4,5-trihydroxy-6methyloxan-2-yl]oxychromen-4-one, 일반명 icariside II 로 동정하였다 (Liu et al. 2005).



Fig 25. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C spectra of compound 7



Fig 26. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C spectra of compound 8
1.8 화합물 9,10의 구조

화합물 9는 황색무정형 분말형태로 분리되었으며 ESIHRMS를 통해 분자식 C<sub>32</sub>H<sub>38</sub>O<sub>15</sub>를 확인하였다 [*m*/z 661.2152 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>32</sub>H<sub>37</sub>O<sub>15</sub>, 661.2132)].  $\delta_{\rm H}$  7.78 (2H, d, J = 8.4 Hz),  $\delta_{\rm H}$  6.94 (2H, d, J = 8.4 Hz),  $\delta_{\rm H}$  6.63 (1H, s)을 통해 flavonol 골격을 확인하였다. δ<sub>H</sub> 1.72 (3H, s), 1.64 (3H, s)와 δ<sub>H</sub> 5.19 (1H, m), 그리고 다섯 개의 carbon (δ<sub>c</sub> 132.6, 122.6, 25.9, 22.7, 18.3)를 통해 prenyl기를 확인하였으며 down-field shift 된 C-8 (δ<sub>c</sub> 110.5)을 통해 8번에 연결되어 있음을 확인하였다. Anomeric proton  $\delta_{\rm H}$  5.38 (1H, brs)을 통해 3-Oα-L-rhamnopyranoside가 존재할 것으로 추정되며 methyl protone  $\delta_{\rm H}$  1.68 (3H, s)과 carbon signal 103.5, 73.2, 72.12, 72.08, 71.9, 17.7을 통해 확정하였다. 또다른 anomeric proton  $\delta_{\rm H}$  5.06 (1H, d, J = 6.8 Hz)과  $\delta_{\rm C}$  101.9, 78.3, 78.2, 74.9, 71.2, 62.4을 통해 7-O-β-D-glucopyranoside 또한 확인하였다. 문헌과의 비교를 통해 화합물 9의 구조를 5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-8-(3methylbut-2-enyl)-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy-3-[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxychromen-4one, 일반명 epimedoside A로 동정하였다 (Mizuno et al. 1991, Su et al. 2018).

화합물 10은 황색 무정형 분말로 분리되었으며 ESIHRMS를 통해 분자식 C<sub>33</sub>H<sub>40</sub>O<sub>15</sub>를 확인하였다 [*m*/*z* 675.2308 [M-H]<sup>-</sup>(calcd. for C<sub>33</sub>H<sub>39</sub>O<sub>15</sub>, 675.2289)]. 1D NMR spectrum을 통해 화합물 9와 유사하게 flavonol 골격, 8-prenyl group, 3-*O*-α-L-rhamnopyranoside, 7-*O*-β-D-glucopyranoside가 존재함을 확인하였고 추가로 δ<sub>H</sub> 3.86 (3H, s)과 δ<sub>c</sub> 55.5를 통해 methoxy가 존재함을 확인하였다. 문헌과의 비교를 통해 화합물 10의 구조를 5-Hydroxy-2-(4methoxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl)-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy-3-[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6methyloxan-2-yl] oxychromen-4-one, 일반명 icariin으로 동정하였다 (Kim et

al. 2008).



Fig 27. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C spectra of compound 9

100.0 10

06.07 - 10 01.04 / 10 20.0 | | // 10181 | 99857

100.0 10





Fig 28.  $^{1}$ H and  $^{13}$ C spectra of compound 10

1.9 화합물 11의 구조

화합물 11은 황색의 무정형 분말로 ESIHRMS m/z 837.2819 [M-H] (calcd. for C<sub>39</sub>H<sub>49</sub>O<sub>20</sub>, 837.2817), 분자식은 C<sub>39</sub>H<sub>50</sub>O<sub>20</sub> 이다. δ<sub>H</sub> 7.85 (2H, d, J = 9.2 Hz), 7.09 (2H, d, J = 9.2 Hz)를 통해 4'이 치환된 B-ring을 확인하였고, δ<sub>H</sub> 6.66 (1H, s)에서 5, 7, 8이 치환된 A-ring을 확인하였다. 두개의 methyl proton δ<sub>H</sub> 1.71 (3H, s), 1.63 (3H, s)과 δ<sub>H</sub> 5.17 (1H, m)을 통해 prenyl기를 확인하였으며 δ<sub>C</sub> 110.6 (C-8)가 down-field shift 되었으므로 8번에 위치함을 확인하였다. δ<sub>H</sub> 3.89 (3H, s)와 δ<sub>C</sub> 56.1로부터 methoxy의 존재를 확인하였다. Anomeric proton  $\delta_{\rm H}$  5.73 (1H, d, J = 1.2 Hz)  $\overrightarrow{P}$   $\delta_{\rm H}$  0.91 (3H, d, J = 5.6 Hz),  $\delta_{\rm C}$  102.6, 82.6, 73.4, 72.0, 71.8, 17.6에서 3-O-α-L-rhamno-pyranoside를 특정하였고, δ<sub>H</sub> 5.07 (1H, d, J=7.2 Hz), δ<sub>c</sub> 101.9, 78.3, 78.2, 74.9, 70.9, 62.4를 통해 7-O-β-D-glucopranoside를 확인하였다. δ<sub>H</sub> 4.43 (1H, d, J = 8.0 Hz), δ<sub>C</sub> 107.1, 77.93, 77.87, 75.3, 71.2, 62.3를 통해 또다른 β-D-glucopranoside를 확인하였으며 δc 82.6 (C-2")가 downfield shift 되었으므로 rhamnoside의 2번 위치에 치환된 것으로 확인하였다. 이상의 결과를 결과 문헌과 대조한 4'-methoxy-5-hydroxy-8-3,3dimethylallylflavone 3-O- $\beta$ -D-gucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)-  $\alpha$ -L-rhamnopyranoside-7-Oβ-D-glucopyranoside, 일반명 epimedin A로 동정하였다 (Ito et al. 1988).



Fig 29.  $^{1}$ H and  $^{13}$ C spectra of compound 11

1.10 화합물 12의 구조

화합물 12는 황색의 무정형 분말로 ESIHRMS m/z 879.2916 [M-H] (calcd. for C<sub>41</sub>H<sub>51</sub>O<sub>21</sub>, 879.2923), 분자식은 C<sub>41</sub>H<sub>52</sub>O<sub>21</sub> 이다. H NMR spectrum에서 δ<sub>H</sub> 7.90 (2H, d, J = 9.2 Hz, H-2', 6'), 7.15 (2H, d, J = 9.2 Hz, H-3', 5'), 6.66 (1H, s, H-6)을 통해 flavonol 골격을 확인하였으며 δ<sub>H</sub> 5.20 (1H, m, H-12), 1.72 (3H, s, H-15), 1.64 (3H, s, H-14) = 통해 prenyl group =  $\delta_{\rm H}$  3.92 (3H, s, 4'-OCH<sub>3</sub>) = 통해 methoxy group을, δ<sub>H</sub> 2.02 (3H, s, 4"-OMe)와 δ<sub>C</sub> 172.3 (4"-OAc), 21.1 (4"-OAc)에서 acetyl group을 확인하였다. Anomeric proton δ<sub>H</sub> 5.53 (1H, d, J = 2.0 Hz)과 δ<sub>H</sub> 0.81 (3H, d, J = 6.0 Hz), δ<sub>C</sub> 102.4, 79.1, 73.2, 71.4, 71.1, 17.6에서 3-Oα-L-rhamno-pyranoside를 특정하였고, δ<sub>H</sub> 5.07 (1H, d, J=7.2 Hz), δ<sub>C</sub> 101.9, 78.3, 78.2, 74.8, 69.8, 62.4를 통해 7-O-β-D-glucopranoside를 확인하였다. δ<sub>H</sub> 4.39 (1H, d, J = 8.0 Hz), δ<sub>c</sub> 106.2, 77.9, 77.9, 74.9, 71.1, 62.4를 통해 또다른 β-Dglucopranoside를 확인하였으며 HMBC spectrum에서  $\delta_{\rm H}$  3.92/ $\delta_{\rm C}$  163.7 (C-4'), δ<sub>H</sub> 5.53/δ<sub>C</sub> 135.6 (C-3), δ<sub>H</sub> 5.07/δ<sub>C</sub> 162.2 (C-7), δ<sub>H</sub> 4.39/δ<sub>C</sub> 79.1 (C-3"), δ<sub>H</sub> 4.97 (H-4")/δc 172.3의 correlation을 통해 각각의 위치를 특정하였다. 이상의 결과를 문헌과 대조하여 화합물 12의 구조를 anhydroicaritin 3-O-β-D- $(1\rightarrow 3)$ - $\alpha$ -L-(4-O-acetyl) gucopyranosyl rhamnopyranoside-7-O-β-Dglucopyranoside, 일반명 korepimedoside C로 동정하였다 (Sun et al. 1998).



Fig 30.  $^{1}$ H and  $^{13}$ C spectra of compound 12

1.11 화합물 13의 구조

화합물 13은 황색 무정형의 분말로 ESIHRMS m/z 807.2722 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>38</sub>H<sub>47</sub>O<sub>19</sub>, 807.2712)이며 분자식은 C<sub>38</sub>H<sub>48</sub>O<sub>19</sub> 이다. δ<sub>H</sub> 7.84 (2H, d, J = 9.2 Hz, H-2', 6'), 7.07 (2H, d, J = 9.2 Hz, H-3', 5')을 통해 4'이 치환된 B-ring을 확인하였고 δ<sub>H</sub> 6.63 (1H, s, H-6)으로부터 A-ring 5, 7,8이 치환되었음을 확인하였다. δ<sub>H</sub> 5.19 (1H, m, H-12), 1.78 (3H, s, H-15), 1.65 (3H, s, H-14)로부터 prenyl기가 존재함을 확인하였고  $\delta_{\rm C}$  110.5 (C-8)이 down-field shift 되어있으므로 8번 위치에 치환되어 있음을 확인하였고 δ<sub>H</sub> 3.89 (3H, s)와 δ<sub>C</sub> 56.1로부터 methoxy의 존재를 확인하였다. δ<sub>H</sub> 0.98 (3H, d, J=6.4 Hz, H-6<sup>''</sup>), 로부터 deoxy-sugar가 존재할 것이라 추측하였고 δ<sub>H</sub> 5.44 (1H, brs, H-1")와  $\delta_{\rm C}$  103.1, 82.6, 73.6, 71.8, 17.7을 통해 3-O-α-L-rhamnopyranoside를 확인하였다. δ<sub>H</sub> 4.30 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-1"")과 δ<sub>C</sub> 107.5, 77.7, 75.2, 70.9, 67.1로부터 β-D-xylopyranose를 확인하였으며 δc 82.6 (C-2")의 down-field shift를 통해 여기에 위치함을 확인하였다. δ<sub>H</sub> 5.07 (1H, d, J=6.8 Hz), δ<sub>C</sub> 101.9, 78.3, 78.2, 74.9, 71.1, 62.4로부터 7-*O*-β-D-glucopyranoside 존재를 확인하였다. 이상의 결과를 문헌과 대조한 결과 4'-methoxy-5-hydroxy-8-3,3dimethylallylflavone 3-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)-  $\alpha$ -L-rhamnopyranoside-7-Oβ-D-glucopyranoside, 일반명 epimedin B로 동정하였다 (Ito et al. 1988).



Fig 31.  $^{1}$ H and  $^{13}$ C spectra of compound 13

1.12 화합물 14의 구조

황색의 무정형 분말로 HRESIMS m/z 821.2880 [M-H] (calcd. for C<sub>39</sub>H<sub>49</sub>O<sub>19</sub>, 821.2868), 분자식은 C<sub>39</sub>H<sub>50</sub>O<sub>19</sub> 이다. δ<sub>H</sub> 7.86 (2H, d, J = 9.2 Hz), 7.07 (2H, d, J = 9.2 Hz)을 통해 4'이 치환된 B-ring을 확인하였고, δ<sub>H</sub> 6.65 (1H, s)에서 5, 7, 8이 치환된 A-ring을 확인하였다. 두개의 methyl proton δ<sub>H</sub> 1.72 (3H, s), 1.64 (3H, s)과 δ<sub>H</sub> 5.19 (1H, m)을 통해 prenvl기를 확인하였으며 δ<sub>C</sub> 110.5 (C-8)가 down-field shift 되었으므로 8번에 위치함을 확인하였다.  $\delta_{\rm H}$  3.88 (3H, s)와  $\delta_{\rm C}$ 56.0로부터 methoxy의 존재를 확인하였다. Anomeric proton  $\delta_{\rm H}$  5.53 (1H, brs)과 δ<sub>H</sub> 0.91 (3H, d, 4.8Hz), δ<sub>C</sub> 102.2, 78.9, 73.5, 72.1, 71.93, 17.8에서 3-O-α-L-rhamnopyranoside를 특정하였고,  $\delta_{\rm H}$  5.07 (1H, d, J = 7.2 Hz),  $\delta_{\rm C}$  101.9, 78.3, 78.2, 74.9, 71.1, 62.4를 통해 7-O-β-D-glucopyranoside를 확인하였다. δ<sub>H</sub> 5.00 (1H, brs),  $\delta_{\rm C}$  103.7, 73.9, 72.2, 71.87, 70.3, 17.9  $\stackrel{\circ}{\vdash}$  a-L-rhamnopyranoside 이 며  $\delta_{\rm C}$ 78.9 (C-2")가 down-field shift 되었으므로 rhamnoside의 2번 위치에 치확된 것으로 확인하였다. 이상의 결과를 문헌과 대조한 결과 4'-methoxy-5hydroxy-8-3,3-dimethylallylflavone 3-*O*-α-L-rhamnopyranosyl  $(1\rightarrow 2)-\alpha-L-$ 일반명 rhamnopyranoside-7-*O*-β-D-gluco-pyranoside, epimedin C로 동정하였다 (Ito et al. 1988).



Fig 32.  $^{1}$ H and  $^{13}$ C spectra of compound 14

1.13 화합물 **15**의 구조

황색의 무정형 분말로 분자식은 C<sub>39</sub>H<sub>50</sub>O<sub>19</sub> 이다 [*m/z* 821.2864 [M-H]<sup>-</sup>(calcd. for C<sub>39</sub>H<sub>49</sub>O<sub>19</sub>, 821.2868)]. δ<sub>H</sub> 7.90 (2H, d, *J* = 9.2 Hz), 7.11 (2H, d, *J* = 8.4 Hz)을 통해 4'이 치환된 B-ring을 확인하였고, δ<sub>H</sub> 6.66 (1H, s)에서 5, 7, 8이 치환된 A-ring을 확인하였다. 두개의 methyl proton δ<sub>H</sub> 1.72 (3H, s), 1.64 (3H, s)과 δ<sub>H</sub> 5.20 (1H, m)을 통해 prenyl기를 확인하였으며 HMBC를 통해 δ<sub>H</sub> 5.20 (1H, m)/δ<sub>C</sub> 110.7 (C-8) correlation을 확인하였다. δ<sub>H</sub> 3.90 (3H, s)와 δ<sub>C</sub> 56.1로부터 methoxy의 존재를 확인하였고 HMBC를 통해 δ<sub>C</sub> 163.6 (C-4')에 위치한 것을 확인하였다. Anomeric proton δ<sub>H</sub> 5.68 (1H, brs)과 δ<sub>H</sub> 0.92 (3H, d, J = 6.4 Hz), δ<sub>c</sub> 103.2, 83.1, 73.6, 72.2, 71.9, 17.7에서 3-O-α-L-rhamnopyranoside를 특정하였고, δ<sub>H</sub> 5.07 (1H, d, J = 6.8 Hz), δ<sub>C</sub> 102.0, 78.4, 78.3, 75.0, 71.2, 62.4를 통해 7-O-β-D-glucopyranoside를 확인하였다. δ<sub>H</sub> 4.33 (1H, d, J = 6.4 Hz),  $\delta_{C}$ 107.8, 75.1, 73.0, 72.7, 71.9, 16.7을 통해 β-fucopyranosyl을 확인하였으며 HMBC에서  $\delta_{\rm H}$  4.33 (1H, d, J = 6.4Hz, H-1"")/ $\delta_{\rm C}$  83.1 (C-2") correlation을 확인하였으므로 rhamnoside의 2번 위치에 치환된 것으로 확인하였다. 이상의 결과를 문헌과 대조한 결과 anhydroicaritin 3-*O*-β-Dfucopyranosyl( $1 \rightarrow 2$ )- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside-7-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside 로 동정하였다 (Chin et al. 1990).



Fig 33.  $^{1}$ H and  $^{13}$ C spectra of compound 15

1.14 화합물 16의 구조

황색의 무정형 분말이며 ESIHRMS m/z 821.2878 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>39</sub>H<sub>49</sub>O<sub>19</sub>, 821.2868)로부터 분자식 C<sub>39</sub>H<sub>50</sub>O<sub>19</sub>를 확인하였다. δ<sub>H</sub> 7.90 (2H, d, J = 9.2 Hz), 7.11 (2H, d, J=8.4 Hz)을 통해 4'이 치환된 B-ring을 확인하였고, δ<sub>H</sub> 6.66 (1H, s)에서 5, 7, 8이 치환된 A-ring을 확인하였다. 두개의 methyl proton δ<sub>H</sub> 1.73 (3H, s), 1.64 (3H, s)과 δ<sub>H</sub> 5.20 (1H, m)을 통해 prenyl기를 확인하였으며 δ<sub>C</sub> 110.6 (C-8)가 down-field shift 되었으므로 8번에 위치함을 확인하였다. δ<sub>H</sub> 3.90 (3H, s)와 δ<sub>C</sub> 56.1로부터 methoxy의 존재를 확인하였다. Anomeric proton  $\delta_{\rm H}$  5.63 (1H, brs)과  $\delta_{\rm H}$  0.94 (3H, d, J = 6.4 Hz),  $\delta_{\rm C}$  103.1, 83.0, 73.5, 71.9, 71.8, 17.6에서 3-O-α-L-rhamnopyranoside를 특정하였고, δ<sub>H</sub> 5.07 (1H, d, J = 7.2 Hz), δ<sub>C</sub> 101.9, 78.34, 78.26, 74.9, 71.2, 62.4를 통해 7-*O*-β-D-glucopyranoside를 확인하였다. δ<sub>H</sub> 4.37 (1H, d, J = 8 Hz), δ<sub>C</sub> 107.2, 77.6, 76.8, 75.6, 73.5, 18.0을 통해  $\beta$ -quinovopyranosyl을 확인하였으며 HMBC에서  $\delta_{\rm H}$  4.37 (1H, d, J = 8 Hz, H-1"")과 δ<sub>C</sub> 83.0 (C-2")의 correlation을 확인하였으므로 rhamnoside의 2번 위치에 치환된 것으로 확인하였다. 이상의 결과를 문헌과 대조한 결과 4'-methoxy-5-hydroxyl-8-prenyl-3-O- $\beta$ -d-quinovopyranosyl- $(1 \rightarrow 2)$ - $\alpha$ -lrhamnopyranosyl-flavonol-7-O-β-d-glucopyranoside로 특정하였다 (Ye et al. 2020).





1.15 화합물 17의 구조

화합물 17은 황색의 무정형 분말로 분리되었다. 분자식은 C<sub>37</sub>H<sub>44</sub>O<sub>17</sub> 이며  $[m/z 759.2515 [M-H]^{-}$  (calcd. for C<sub>37</sub>H<sub>43</sub>O<sub>17</sub>, 759.2500)]  $\delta_{\rm H}$  7.88 (2H, d, J = 8.4 Hz), 7.13 (2H, d, J=8.0 Hz)을 통해 4'이 치환된 B-ring을 확인하였고, δ<sub>H</sub> 6.27 (1H, s)에서 5, 7, 8이 치환된 A-ring을 확인하였다. 두개의 methyl proton δ<sub>H</sub> 1.71 (3H, s), 1.66 (3H, s)과 δ<sub>H</sub> 5.19 (1H, m)을 통해 prenyl기를 확인하였으며 δ<sub>C</sub> 108.0 (C-8)이 down-field shift 되었으므로 8번에 위치함을 확인하였다. δ<sub>H</sub> 3.91 (3H, s)와 δc 56.2로부터 methoxy의 존재를 확인하였다. Anomeric proton  $\delta_{\rm H}$  5.53 (1H, brs)과  $\delta_{\rm H}$  0.81 (3H, d, J = 6.4 Hz),  $\delta_{\rm C}$  102.3, 79.4, 73.1, 71.7, 69.9, 17.6에서 3-O-α-L-rhamnopyranoside를 특정하였고, δ<sub>H</sub> 4.42 (1H, d), δ<sub>C</sub> 106.0, 77.8, 75.3, 74.6, 71.9, 65.1 ℃ β-D-glucopranoside이며 δ<sub>C</sub> 79.4 (C-3")이 downfield shift 되었으므로 rhamnoside의 3번 위치에 치환된 것을 확인하였다. 또한 2개의 acetyl기(8c 172.9/21.1, 172.3/20.9)가 확인되었으며 chemical shift를 근거로 각각 δ<sub>c</sub> 65.1 (C-6'''), 73.1 (C-4'')에 위치할 것으로 추정하였다. 이상의 결과를 문헌과 대조하여 3-*O*-β-D-(6-*O*-일반명 acetyl)glucopyranosyl- $(1\rightarrow 3)$ - $\alpha$ -L-(4-O-acetyl)rhamnopyranoside, korepimedoside A 로 동정하였다 (Sun et al. 1995).



Fig 35.  $^{1}$ H and  $^{13}$ C spectrum of compound 17

1.16 화합물 **18**의 구조

화합물 18는 황색의 무정형 분말로 ESIHRMS m/z 921.3024 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>43</sub>H<sub>53</sub>O<sub>22</sub>, 921.3028), 분자식은 C<sub>43</sub>H<sub>54</sub>O<sub>22</sub> 이다. H NMR spectrum에서 δ<sub>H</sub> 7.91 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2', 6'), 7.17 (2H, d, J = 9.2 Hz, H-3', 5'), 6.65 (1H, s, H-6)을 통해 flavonol 골격을 확인하였으며 δ<sub>H</sub> 5.18 (1H, m, H-12), 1.69 (3H, s, H-15), 1.61 (3H, s, H-14) = 통해 prenyl group =  $\delta_{\rm H}$  3.89 (3H, s, 4'-OCH<sub>3</sub>) = 통해 methoxy group을, δ<sub>H</sub> 1.96 (3H, s, 4"-OAc)와 δ<sub>C</sub> 170.4 (4"-OAc), 20.7 (4"-OAc) 그리고  $\delta_{\rm H}$  1.99 (3H, s, 6<sup>'''</sup>-OAc)와  $\delta_{\rm C}$  169.7 (6<sup>'''</sup>-OAc), 20.6 (6<sup>'''</sup>-OAc)에서 2개의 acetyl group을 확인하였다. Anomeric proton  $\delta_{\rm H}$  5.53 (1H, d, J = 2.0 Hz)과 δ<sub>H</sub> 0.81 (3H, d, J = 6.0 Hz), δ<sub>C</sub> 102.4, 79.1, 73.2, 71.4, 71.1, 17.6에서 3-*O*-α-L-rhamno-pyranoside를 특정하였고, δ<sub>H</sub> 5.07 (1H, d, *J* = 7.2 Hz), δ<sub>C</sub> 101.9, 78.3, 78.2, 74.8, 69.8, 62.4를 통해 7-O-β-D-glucopranoside를 확인하였다. δ<sub>H</sub> 4.39 (1H, d, J = 8.0 Hz), δ<sub>C</sub> 106.2, 77.9, 77.9, 74.9, 71.1, 62.4를 통해 또다른 β-D-glucopranoside를 확인하였으며 HMBC spectrum에서 δ<sub>H</sub> 3.92/δ<sub>C</sub> 163.7 (C-4'), δ<sub>H</sub> 5.53/δ<sub>C</sub> 135.6 (C-3), δ<sub>H</sub> 5.07/δ<sub>C</sub> 162.2 (C-7), δ<sub>H</sub> 4.39/δ<sub>C</sub> 79.1 (C-3"), δ<sub>H</sub> 4.83 (H-4"/δ<sub>C</sub> 170.4, δ<sub>H</sub> 4.14, 4.18 (H-6")/δ<sub>C</sub> 169.7의 correlation을 통해 각각의 위치를 특정하였다. 이상의 결과를 문헌과 대조하여 화합물 18의 구조를 3-*O*- $\beta$ -D-(6-*O*-acetyl)gucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-(4-*O*-acetyl) anhydroicaritin rhamnopyranoside-7-O-β-D-glucopyranoside, 일반명 epimedokoreanoside I으로 동정하였다 (Su et al. 2018).



Fig 36. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C spectra of compound 18

1.17 화합물 19의 구조

화합물 19는 황색의 무정형 분말로 ESIHRMS m/z 921.3066 [M-H] (calcd. for C<sub>43</sub>H<sub>53</sub>O<sub>22</sub>, 921.3028), 분자식은 C<sub>43</sub>H<sub>54</sub>O<sub>22</sub> 이다. H NMR spectrum에서 δ<sub>H</sub> 7.89 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 7.15 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.66 (1H, s, H-6)을 통해 flavonol 골격을 확인하였으며 δ<sub>H</sub> 5.19 (1H, m, H-12), 1.72 (3H, s, H-15), 1.63 (3H, s, H-14) = 통해 prenyl group =  $\delta_{\rm H}$  3.92 (3H, s, 4'-OCH<sub>3</sub>) = 통해 methoxy group을, δ<sub>H</sub> 2.02 (3H, s, 4"-OAc)와 δ<sub>C</sub> 172.4 (4"-OAc), 21.1 (4"-OAc) 그리고 &H 2.02 (3H, s, 3<sup>'''</sup>-OAc)와 & 172.7 (3<sup>'''</sup>-OAc), 21.07 (3<sup>'''</sup>-OAc)에서 2개의 acetyl group을 확인하였다. Anomeric proton δ<sub>H</sub> 5.51 (1H, brs)과  $\delta_{\rm H}$  0.81 (3H, d, J = 6.0 Hz),  $\delta_{\rm C}$  101.9, 79.7, 73.0, 69.8, 69.2, 17.6에서 3-Oα-L-rhamnopyranoside를 특정하였고,  $\delta_{\rm H}$  5.07 (1H, d, J = 7.2 Hz),  $\delta_{\rm C}$  102.4, 78.3, 77.6, 73.0, 71.2, 62.0을 통해 7-O-β-D-glucopyranoside를 확인하였다. δ<sub>H</sub> 4.48 (1H, d, J = 8.0 Hz), δ<sub>c</sub> 106.1, 79.0, 79.0, 74.9, 71.3, 62.4를 통해 또다른 β-Dglucopyranoside를 확인하였으며 HMBC spectrum에서  $\delta_{\rm H} 3.92/\delta_{\rm C} 163.7$  (C-4'),  $\delta_{\rm H}$  5.51/ $\delta_{\rm C}$  135.7 (C-3),  $\delta_{\rm H}$  5.07/ $\delta_{\rm C}$  162.1 (C-7),  $\delta_{\rm H}$  4.48/ $\delta_{\rm C}$  79.0 (C-3"),  $\delta_{\rm H}$  4.93 (H-4"/δ<sub>C</sub> 172.4, δ<sub>H</sub> 4.96 (H-3")/δ<sub>C</sub> 172.7의 correlation을 통해 각각의 위치를 특정하였다. 이상의 결과를 문헌과 대조하여 화합물 19의 구조를 anhydroicaritin  $3-O-\beta-D-(3-O-acetyl)glucopyranosyl$  $(1\rightarrow 3)$ - $\alpha$ -L-(4-O-acetyl) rhamnopyranoside-7-*O*-β-D-glucopyranoside, 일반명 korepimeoside C로 동정하였다 (Li et al. 2016).



Fig 37.  $^{1}$ H and  $^{13}$ C spectra of compound 19

1.18 화합물 **20**의 구조

화합물 20은 황색의 무정형 분말로 HRESIMS m/z 963.3145 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>45</sub>H<sub>55</sub>O<sub>23</sub>, 963.3134), 분자식은 C<sub>45</sub>H<sub>56</sub>O<sub>23</sub> 이다. δ<sub>H</sub> 7.90 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.15 (2H, d, J=8.8 Hz)을 통해 4'이 치환된 B-ring을 확인하였고, δ<sub>H</sub> 6.66 (1H, s)에서 5, 7, 8이 치환된 A-ring을 확인하였다. 두개의 methyl proton δ<sub>H</sub> 1.72 (3H, s), 1.64 (3H, s)과 δ<sub>H</sub> 5.19 (1H, m)을 통해 prenvl기를 확인하였으며 HMBC correlation을 통해 8번에 위치함을 확인하였다.  $\delta_{\rm H}$  3.93 (3H, s)와  $\delta_{\rm C}$ 56.2로부터 methoxy의 존재를 확인하였고 HMBC를 통해 163.7 (C-4')에 위치함을 확인하였다. Anomeric proton δ<sub>H</sub> 5.53 (1H, brs)과 δ<sub>H</sub> 0.81 (3H, d, J = 6.0 Hz), δ<sub>c</sub> 102.3, 78.7, 72.9, 71.2, 70.1, 17.6에서 3-O-α-L-rhamnopyranoside를 특정하였고, δ<sub>H</sub> 5.07 (1H, d, J = 7.2Hz), δ<sub>C</sub> 101.9, 78.32, 78.25, 74.9, 71.6, 62.4를 통해 7-O-β-D-glucopyranoside를 확인하였다. δ<sub>H</sub> 4.47 (1H, d, J = 8.0 Hz), δ<sub>C</sub> 106.2, 79.8, 75.1, 72.8, 69.9, 64.8은 β-D-glucopyranoside이며 HMBC correlation을 통해 rhamnoside의 3번 위치에 치환된 것을 확인하였다. 또한 3개의 acetyl기(8c 172.7/21.1, 172.6/21.0, 172.3/20.8)가 확인되었으며 각각 δ<sub>C</sub> 64.8 (C-6<sup>'''</sup>), 79.8 (C-3<sup>'''</sup>), 72.9 (C-4<sup>''</sup>)에 위치함을 HMBC correlation을 통해 확인하였다. 이상의 결과를 문헌과 대조하여 3-O-β-D-(3,6-O-diacetyl)glucopyranosyl- $(1\rightarrow 3)-\alpha$ -L- $(4^{"}-O-\text{acetyl})$ ranosyl- $(7-O-\alpha)$ β-D-glucopyranoside, 일반명 epimedin L 로 동정하였다 (Li et al. 1995).



Fig 38.  $^{1}$ H and  $^{13}$ C spectra of compound 20

1.19 화합물 **21**의 구조

화합물 21은 황색의 무정형 분말로 HRESIMS m/z 963.3124 [M-H]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>45</sub>H<sub>55</sub>O<sub>23</sub>, 963.3134), 분자식은 C<sub>45</sub>H<sub>56</sub>O<sub>23</sub> 이다. δ<sub>H</sub> 7.90 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.14 (2H, d, J=8.8 Hz)을 통해 4'이 치환된 B-ring을 확인하였고, δ<sub>H</sub> 6.67 (1H, s)에서 5, 7, 8이 치환된 A-ring을 확인하였다. 두개의 methyl proton δ<sub>H</sub> 1.72 (3H, s), 1.64 (3H, s)과 δ<sub>H</sub> 5.20 (1H, m)을 통해 prenvl기를 확인하였으며 HMBC correlation으로 C-8에 위치함을 확인하였다.  $\delta_{\rm H}$  3.92 (3H, s)와  $\delta_{\rm C}$ 56.2로부터 methoxy의 존재를 확인하였고 HMBC를 통해 163.7 (C-4')에 위치함을 확인하였다. Anomeric proton δ<sub>H</sub> 5.48 (1H, d, J=1.6 Hz)과 δ<sub>H</sub> 0.82 (3H, d, J = 6.4 Hz), δ<sub>c</sub> 102.5, 79.6, 74.7, 71.2, 69.9, 17.6에서 3-O-α-Lrhamnopyranoside를 특정하였고,  $\delta_{\rm H}$  5.07 (1H, d, J = 6.8 Hz),  $\delta_{\rm C}$  101.9, 78.3, 78.3, 74.9, 71.6, 62.4를 통해 7-O-β-D-glucopyranoside를 확인하였다. δ<sub>H</sub> 4.44 (1H, d, J = 7.6 Hz),  $\delta_{\rm C}$  106.4, 75.5, 73.1, 73.0, 72.4, 64.1  $\stackrel{\circ}{\leftarrow}$   $\beta$ -D-glucopyranoside  $\circ$  ]  $\stackrel{\circ}{\dashv}$ HMBC 연결을 통해 rhamnoside의 3번 위치에 치환된 것을 확인하였다. 또한 3개의 acetyl기(8c 172.6/21.0, 172.3/20.8, 172.0/20.8)가 확인되었으며 각각 δ<sub>C</sub> 64.1 (C-6<sup>'''</sup>), 73.1 (C-4<sup>'''</sup>), 74.7 (C-4<sup>''</sup>)에 위치함을 HMBC correlation을 통해 확인하였다. 이상의 결과를 문헌과 대조하여 3-O-β-D-(4,6-O-diacetyl)glucopyranosyl- $(1\rightarrow 3)-\alpha$ -L-(4''-O-acetylrhamnopyranoside)-7-O-acetylrhamnopyranoside)β-D-glucopyranoside, 일반명 caohuoside B 로 동정하였다 (Li et al. 1995).



Fig 39.  $^{1}$ H and  $^{13}$ C spectra of compound 21

1.20 화합물 22의 구조

황색의 무정형 분말로 분리되었으며 ESIHRMS를 통해 분자식 C<sub>24</sub>H<sub>30</sub>O<sub>10</sub>을 확인하였다 [*m*/z 523.1799 [M+HCOO]<sup>-</sup> (calcd. for C<sub>25</sub>H<sub>31</sub>O<sub>12</sub>, 523.1816)]. δ<sub>H</sub> 2.69 (4H, brs)에서 네 개의 benzylic methylene을 확인하였고 δ<sub>H</sub> 3.73 (3H, s), 3.92 (3H, s), 3.85 (6H, s)에서 네 개의 methyl group을 확인하였다. δ<sub>H</sub> 6.84, 6.91, 7.96 (1H, s)에서 aromatic proton 세 개를 확인하였으며  $\delta_{\rm H}$  4.96 (1H, d, J = 7.2Hz)에서 anomeric proton을 확인하였다. 이상의 데이터로 화합물의 구조를 4개의 methoxy기와 1개의 당이 있는 9,10-dihydrophenanthrene으로 추측하였다. δ<sub>H</sub> 4.96와 δ<sub>C</sub> 102.7, 78.3, 78.1, 75.0, 71.4, 62.6으로부터 당이 glucose임을 확인하였고, HMBC를 통해 δ<sub>H</sub> 4.96 (H-1)와 δ<sub>C</sub> 150.7 (C-7)의 연결을 확인하였다. Methoxy proton들은 HSQC를 통해  $\delta_{\rm H}$  3.92/ $\delta_{\rm C}$  62.1 (C-21),  $\delta_{\rm H}$  3.73/ $\delta_{\rm C}$  61.1(C-22),  $\delta_{\rm H}$  3.85/ $\delta_{\rm C}$  56.7 (C-23), 56.4 (C-24)의 연결을 확인하였으며 HMBC를 통해 δ<sub>H</sub> 3.92/δ<sub>C</sub> 143.4 (C-20), δ<sub>H</sub> 3.73/δ<sub>C</sub> 152.6 (C-19), δ<sub>H</sub> 3.85/δ<sub>C</sub> 148.6 (C-15), 149.2 (C-14)의 연결을 확인하였다. 이상의 결과를 문헌과 대조하여 2-hydroxy-3,4,6,7tetramethoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2-*O*-β-dglucopyranoside, 일반명 epimedoicarisoside A로 동정하였다 (Tanaka et al. 2007).



ΟН

Fig 40.  $^{1}$ H and  $^{13}$ C spectra of compound 22











11

7 R=H 8 R=Me













Fig 41. Isolated compounds from E. koreanum

## 2. PCSK9 발현 억제 활성

2.1 생리활성 평가

모든 화합물에 대하여 HepG2 cell에서 PCSK9과 LDLR mRNA 발현에 미치는 영향을 확인하였다. 그 결과 화합물 6, 7, 10, 15와 17-22가 다른 화합물에 비해 현저히 PCSK9 mRNA 발현을 억제함을 확인할 수 있었다. 활성 화합물들 중에서 화합물 7 (ikarisoside A)는 LDLR mRNA 발현을 현저히 증가시켰다. 따라서 화합물 7이 LDL 흡수를 높여 혈중 콜레스테롤 농도를 낮출 수 있을 것으로 기대된다.



Fig 42. Effects of compounds 1–22 and berberine HCl (BER) on PCSK9 and LDLR regulation in the HepG2 human hepatocellular liver carcinoma cell line. The mRNA expressions of PCSK9 (A) and LDLR (B) were assayed by qRT-PCR in cells treated with compounds 1–22 for 24 h.

- Adorni, M. P., Zimetti, F., Lupo, M. G., Ruscica, M., & Ferri, N. (2020). Naturally Occurring PCSK9 Inhibitors. *Nutrients*, 12, 1440.
- Ahn, J., Chae, H.-S., Pel, P., Kim, Y.-M., Choi, Y. H., Kim, J., & Chin, Y.-W. (2021).
  Dilignans with a chromanol motif discovered by molecular networking from the stem barks of Magnolia obovata and their proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 expression inhibitory activity. *Biomolecules*, *11*, 463.
- Ahn, J., Kim, Y.-M., Chae, H.-S., Choi, Y. H., Ahn, H.-C., Yoo, H., Kang, M., Kim, J., & Chin, Y.-W. (2019). Prenylated flavonoids from the roots and rhizomes of *Sophora tonkinensis* and their effects on the expression of inflammatory mediators and proprotein convertase subtilisin/kexin type 9. *Journal of Natural Products*, 82, 309-317.
- Alvi, S. S., Ansari, I. A., Ahmad, M. K., Iqbal, J., & Khan, M. S. (2017). Lycopene amends LPS induced oxidative stress and hypertriglyceridemia via modulating PCSK-9 expression and Apo-CIII mediated lipoprotein lipase activity. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 96, 1082-1093.
- Cameron, J., Ranheim, T., Kulseth, M. A., Leren, T. P., & Berge, K. E. (2008). Berberine decreases PCSK9 expression in HepG2 cells. *Atherosclerosis*, 201, 266-273.
- Chae, H.-S., Kim, H. J., Ko, H.-J., Lee, C. H., Choi, Y. H., & Chin, Y.-W. (2020). Transcriptome Analysis Illuminates a Hub Role of SREBP2 in Cholesterol Metabolism by α-Mangostin. ACS Omega, 5, 31126-31136.
- Chae, H.-S., You, B. H., Kim, D.-Y., Lee, H., Ko, H. W., Ko, H.-J., Choi, Y. H., Choi, S. S., & Chin, Y.-W. (2018). Sauchinone controls hepatic cholesterol homeostasis by the negative regulation of PCSK9 transcriptional network. *Scientific Reports*, 8, 1-14.

- Chen, C. Y.-C. (2009). Computational screening and design of traditional Chinese medicine (TCM) to block phosphodiesterase-5. *Journal of Molecular Graphics* and Modelling, 28, 261-269.
- Chen, K., Ge, B., Ma, H., Liu, X., Bai, M., & Wang, Y. (2005). Icariin, a flavonoid from the herb Epimedium enhances the osteogenic differentiation of rat primary bone marrow stromal cells. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 60, 939-942.
- Chen, K.-K., & Chiu, J.-H. (2006). Effect of *Epimedium brevicornum* Maxim extract on elicitation of penile erection in the rat. *Urology*, 67, 631-635.
- Cheng, Y., Wang, X., & Zhang, D. (2007). Nonflavanoid compounds from *Epimedium koreanum. Chinese Traditional and Herbal Drugs*, *38*, 1135.
- Chin, M., Mihashi, H., Nakajima, K., & Ueda, T. (1990). Flavonoid glucoside and 5-lipoxygenase inhibitor containing the flavonoid as active ingredient. JP04159295A.
- Cho, N. J., Sung, S. H., Lee, H. S., Jeon, M. H., & Kim, Y. C. (1995). Antihepatotoxic activity of icariside II, a constituent of *Epimedium* koreanum. Archives of Pharmacal Research, 18, 289-292.
- Cho, W.-K., Kim, H., Choi, Y. J., Yim, N.-H., Yang, H. J., & Ma, J. Y. (2012). *Epimedium koreanum* Nakai water extract exhibits antiviral activity against porcine epidermic diarrhea virus in vitro and in vivo. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 985151
- Choi, H. J., Eun, J.-S., Kim, D. K., Li, R. H., Shin, T.-Y., Park, H., Cho, N.-P., & Soh, Y. (2008). Icariside II from *Epimedium koreanum* inhibits hypoxiainducible factor-1α in human osteosarcoma cells. *European Journal of Pharmacology*, 579, 58-65.
- Choi, H. J., Eun, J.-S., Park, Y.-R., Kim, D. K., Li, R., Moon, W. S., Park, J. M., Kim, H. S., Cho, N.-P., & Cho, S.-D. (2008). Ikarisoside A inhibits inducible nitric oxide synthase in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells via p38

kinase and nuclear factor-кВ signaling pathways. *European Journal of Pharmacology*, 601, 171-178.

- Chung, B.-H., Kim, J.-D., Kim, C.-K., Kim, J. H., Won, M.-H., Lee, H.-S., Dong, M.-S., Ha, K.-S., Kwon, Y.-G., & Kim, Y.-M. (2008). Icariin stimulates angiogenesis by activating the MEK/ERK-and PI3K/Akt/eNOS-dependent signal pathways in human endothelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 376, 404-408.
- Dadu, R. T., & Ballantyne, C. M. (2014). Lipid lowering with PCSK9 inhibitors. *Nature Reviews Cardiology*, *11*, 563.
- Durazzo, A., Lucarini, M., Souto, E. B., Cicala, C., Caiazzo, E., Izzo, A. A., Novellino, E., & Santini, A. (2019). Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. *Phytotherapy Research*, 33, 2221-2243.
- Fukai, T., & Nomura, T. (1988). Seven prenylated flavonol glycosides from two Epimedium species. *Phytochemistry*, 27, 259-266.
- Gallego-Colon, E., Daum, A., & Yosefy, C. (2020). Statins and PCSK9 inhibitors: A new lipid-lowering therapy. *European Journal of Pharmacology*, 878, 173114.
- Ito, Y., Hirayama, F., Suto, K., Sagara, K., & Yoshida, T. (1988). Three flavonol glycosides from *Epimedium koreanum*. *Phytochemistry*, 27, 911-913.
- Jeon, H. J., Jeong, S. I., & Kim, I. G. (2001). Effect of ikarisoside A isolated from *Epimedium koreanum* on melanogenesis. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 22, 1159-1162.
- Kang, S. S., Kang, Y.-J., & Lee, M.-W. (1991). Flavonoids from *Epimedium* koreanum. Journal of Natural Products, 54, 542-546.
- Kim, E.-S., Kim, M.-K., Kang, H.-K., Park, Y.-I., Dong, M.-S., Kim, D.-H., & Chung, H.-S. (2008). Flavonol glycosides with antioxidant activity from the

aerial parts of *Epimedium koreanum* Nakai. *Natural Product Sciences*, *14*, 233-238.

- Kim, J.-H., Mun, Y.-J., Im, S.-J., Lee, S.-Y., Lee, S.-W., & Woo, W.-H. (2002). Effects of the aqueous extract of Epimedii Herba on the induction of oral tolerance in mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25, 1000-1005.
- Kong, W., Wei, J., Abidi, P., Lin, M., Inaba, S., Li, C., Wang, Y., Wang, Z., Si, S., & Pan, H. (2004). Berberine is a novel cholesterol-lowering drug working through a unique mechanism distinct from statins. *Nature Medicine*, *10*, 1344-1351.
- Lee, K.-S., Lee, H.-J., Ahn, K. S., Kim, S.-H., Nam, D., Kim, D. K., Choi, D.-Y., Ahn, K.-S., Lu, J., & Kim, S.-H. (2009). Cyclooxygenase-2/prostaglandin E2 pathway mediates icariside II induced apoptosis in human PC-3 prostate cancer cells. *Cancer Letters*, 280, 93-100.
- Lee, M.-K., Choi, Y.-J., Sung, S.-H., Shin, D.-I., Kim, J.-W., & Kim, Y. C. (1995). Antihepatotoxic activity of icariin, a major constituent of *Epimedium koreanum. Planta Medica*, 61, 523-526.
- Li, H. M., Zhou, C., Chen, C. H., Li, R. T., & Lee, K. H. (2015). Flavonoids Isolated from Heat-Processed *Epimedium koreanum* and Their Anti-HIV-1 Activities. *Helvetica Chimica Acta*, 98, 1177-1187.
- Li, J.-Y., Li, H.-M., Liu, D., Chen, X.-Q., Chen, C.-H., & Li, R.-T. (2016). Three new acylated prenylflavonol glycosides from *Epimedium koreanum. Phytochemistry Letters*, *17*, 206-212.
- Li, L., Shen, C., Huang, Y.-X., Li, Y.-N., Liu, X.-F., Liu, X.-M., & Liu, J.-H. (2018).
   A new strategy for rapidly screening natural inhibitors targeting the PCSK9/LDLR interaction in vitro. *Molecules*, 23, 2397.
- Li, W.-K., Pan, J.-Q., Lü, M.-J., Zhang, R.-Y., & Xiao, P.-G. (1995). A 9, 10dihydrophenanthrene derivate from *Epimedium koreanum*. *Phytochemistry*, 39, 231-233.

- Li, W.-K., Xiao, P.-G., Tu, G.-Z., Ma, L.-B., & Zhang, R.-Y. (1995). Flavonol glycosides from *Epimedium koreanum*. *Phytochemistry*, *38*, 263-265.
- Liang, H.-R., Vuorela, P., Vuorela, H., & Hiltunen, R. (1997). Isolation and immunomodulating effect of flavonol glycosides from *Epimedium hunanense*. *Planta Medica*, 63, 316-319.
- Lin, X., LI, W. K., & XIAO, P. G. (1999). Effects of Icariside II from *Epimedium* koreanum on Tumour Cell Lines In-vitro. *Pharmacy and Pharmacology* Communications, 5, 701-703.
- Liu, R., Li, A., Sun, A., Cui, J., & Kong, L. (2005). Preparative isolation and purification of three flavonoids from the Chinese medicinal plant *Epimedium koreamum* Nakai by high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1064, 53-57.
- Makarova, M. N., Pozharitskaya, O. N., Shikov, A. N., Tesakova, S. V., Makarov,
  V. G., & Tikhonov, V. P. (2007). Effect of lipid-based suspension of *Epimedium koreanum* Nakai extract on sexual behavior in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 114, 412-416.
- Mbikay, M., Mayne, J., Sirois, F., Fedoryak, O., Raymond, A., Noad, J., & Chrétien, M. (2018). Mice fed a high-cholesterol diet supplemented with quercetin-3glucoside show attenuated hyperlipidemia and hyperinsulinemia associated with differential regulation of PCSK9 and LDLR in their liver and pancreas. *Molecular Nutrition & Food Research*, 62, 1700729.
- Mei, Q., Wang, C., Zhao, Z., Yuan, W., & Zhang, G. (2015). Synthesis of icariin from kaempferol through regioselective methylation and para-Claisen–Cope rearrangement. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 11, 1220-1225.
- Meng, F., Xiong, Z., Jiang, Z., & Li, F. (2005). Osteoblastic proliferation stimulating activity of *Epimedium koreanum*. Nakai extracts and its flavonol glycosides. *Pharmaceutical Biology*, 43, 92-95.
- Meng, F.-H., Li, Y.-B., Xiong, Z.-L., Jiang, Z.-M., & Li, F.-M. (2005). Osteoblastic proliferative activity of *Epimedium brevicornum* Maxim. *Phytomedicine*, 12, 189-193.
- Mizuno, M., Kanie, Y., Iinuma, M., Tanaka, T., & Lang, F. A. (1991). Two flavonol glycosides, hexandrasides C and D, from the underground parts of *Vancouveria hexandra*. *Phytochemistry*, 30, 2765-2768.
- Nhoek, P., Chae, H.-S., Kim, Y.-M., Pel, P., Huh, J., Kim, H. W., Choi, Y. H., Lee, K., & Chin, Y.-W. (2021). Sesquiterpenoids from the aerial parts of Salvia plebeia with inhibitory activities on proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 expression. *Journal of Natural Products*, 84, 220-229.
- Ochin, C. C., & Garelnabi, M. (2018). Berberine encapsulated PLGA-PEG nanoparticles modulate PCSK-9 in HepG2 Cells. Cardiovascular & Haematological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Cardiovascular & Hematological Disorders), 18, 61-70.
- Oshima, Y., Okamoto, M., & Hikino, H. (1987). Epimedins A, B and C, flavonoid glycosides of *Epimedium koreanum* herbs. *Heterocycles*, *26*, 935-938.
- Pachaly, P., Schönherr-Weißbarth, C., & Sin, K. (1990). New prenylflavonoid glycosides from *Epimedium koreanum*. *Planta Medica*, *56*, 277-280.
- Pel, P., Chae, H.-S., Nhoek, P., Kim, Y.-M., Khiev, P., Kim, G. J., Nam, J.-W., Choi, H., Choi, Y. H., & Chin, Y.-W. (2020). A stilbene dimer and flavonoids from the aerial parts of *Chromolaena odorata* with proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 expression inhibitory activity. *Bioorganic Chemistry*, 99, 103869.
- Perry, L. M., & Metzger, J. (1980). Medicinal Plants of East and Southeast Asia: Attributed Properties and Uses. MIT press, Cambridge, USA.
- Potì, F., Santi, D., Spaggiari, G., Zimetti, F., & Zanotti, I. (2019). Polyphenol health effects on cardiovascular and neurodegenerative disorders: A review and metaanalysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 351.

- Rhew, K. Y., & Han, Y. (2012). Immunoadjuvant activity of icariin that induces Th1-type antibody in mice. *Archives of Pharmacal Research*, *35*, 1685-1691.
- Sabatine, M. S. (2019). PCSK9 inhibitors: clinical evidence and implementation. *Nature Reviews Cardiology*, *16*, 155-165.
- Stoekenbroek, R. M., Lambert, G., Cariou, B., & Hovingh, G. K. (2019). Inhibiting PCSK9—biology beyond LDL control. *Nature Reviews Endocrinology*, 15, 52-62.
- Su, X. D., Li, W., Ma, J. Y., & Kim, Y. H. (2018). Chemical constituents from *Epimedium koreanum* Nakai and their chemotaxonomic significance. *Natural Product Research*, 32, 2347-2351.
- Sun, P., Chen, Y., Shimizu, N., & TAKEDA, T. (1998). Studies on the constituents of *Epimedium koreanum*. III. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 46, 355-358.
- Sun, P., Ye, W., Zhao, J., Pei, Y., Wang, Z., Chen, Y., Ogihara, Y., & Takeda, T. (1995). Studies on the constituents of *Epimedium koreanum*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 43, 703-704.
- Taechalertpaisarn, J., Zhao, B., Liang, X., & Burgess, K. (2018). Small molecule inhibitors of the PCSK9· LDLR interaction. *Journal of the American Chemical Society*, 140, 3242-3249.
- Tanaka, T., Nakashima, T., Ueda, T., Tomii, K., & Kouno, I. (2007). Facile discrimination of aldose enantiomers by reversed-phase HPLC. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 55, 899-901.
- Tang, W., & Eisenbrand, G. (2013). Chinese Drugs of Plant Origin: Chemistry,Pharmacology, and Use in Traditional and Modern Medicine. Springer Science& Business Media, Berlin, German.
- Tian, L., Xin, Z.-C., Liu, W.-J., Yang, Y.-M., Liu, G., Chen, L., Fu, J., & Wang, L.-L. (2004). Effects of icariin on the erectile function and expression of nitrogen

oxide synthase isoforms in corpus cavernosum of arterigenic erectile dysfunction rat model. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, *84*, 954-957.

- Wu, C., Xi, C., Tong, J., Zhao, J., Jiang, H., Wang, J., Wang, Y., & Liu, H. (2019).
  Design, synthesis, and biological evaluation of novel tetrahydroprotoberberine derivatives (THPBs) as proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) modulators for the treatment of hyperlipidemia. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, *9*, 1216-1230.
- Xu, S., Luo, S., Zhu, Z., & Xu, J. (2019). Small molecules as inhibitors of PCSK9: current status and future challenges. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 162, 212-233.
- Ye, Z.-J., He, X.-A., Wu, J.-P., Li, J., Chang, X.-W., Tan, J., Lv, W.-Y., Zhu, H., Sun, H.-H., & Wang, W.-X. (2020). New prenylflavonol glycosides with xanthine oxidase inhibitory activity from the leaves of *Cyclocarya paliurus*. *Bioorganic Chemistry*, 101, 104018.
- Zhang, D.-W., Cheng, Y., Wang, N.-L., Zhang, J.-C., Yang, M.-S., & Yao, X.-S. (2008). Effects of total flavonoids and flavonol glycosides from *Epimedium koreanum* Nakai on the proliferation and differentiation of primary osteoblasts. *Phytomedicine*, 15, 55-61.
- Zhang, D.-W., Cheng, Y., Zhang, J.-C., Wang, N.-L., Yang, M.-S., & Yao, X.-S. (2007). Effects of icariin on the differentiation and bone-resorption function of osteoclasts. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 23, 463-467.
- Zhang, R., Jia, Z., Li, F., Li, M., & Qiu, J. (2009). Antihypoxic effect of total flavonoids of Herba Epimedii on hypoxia model mice. *Journal of Chinese Medicine Materials*, 32, 1736-1738.
- Zia, S., Batool, S., & Shahid, R. (2020). Could PCSK9 be a new therapeutic target of Eugenol? In vitro and in silico evaluation of hypothesis. *Medical Hypotheses*, 136, 109513.

## Abstract

## Chemical constituents of *Epimedium koreanum* and their inhibitory activity against PCSK9 expression

*Epimedium* (Berberidaceae) is a genus of about 52 species of herbaceous planats and mainly distributed in East, South, Central Asia and Europe. The dried aerial parts of Epimedium koreanum Nakai, Herba Epimedii, have been used as a tonic or for the treatment of dementia, hypertension, impotence, rheumatic and paralytic diseases. Previous phytochemical studies reported that lignans, phenol glycosides, and prenylated flavonoids are present as chemical constituents of this plant. Individual constituents including icariin and extracts of E. koreanum demonstrated a variety of biological activities such as anti-hepatotoxic, anti-inflammatory, anti-osteoporosis, anti-tumor and immunoadjuvant activities as well as improvement of sexual function. Proprotein convertase subtisilin/kexin type 9 (PCSK9) is involved in degrading LDLR via clathrin-dependent endocytosis and preventing LDLR recycling, and resultantly decreasing the capacity of LDL uptake into cells. Thus, high expression of PCSK9 is often associated with the incidence of hypercholesterolemia and inhibition of PCSK9 expression or activity has been suggested as a tool to treat patients with familial hypercholesterolemia. Currently, two antibody drugs are prescribed clinically since 2015.

As part of our ongoing project to discover PCSK9 expression inhibitory compounds from medicinal plants, *n*-BuOH-soluble fraction of the aerial parts of *E. koreanum* was selected for further investigation due to its initial PCSK9 mRNA expression inhibitory activity. Four new acylated flavonoids (1-4) and 18 known compounds (5-22) were isolated from *n*-BuOH soluble fraction of *E. koreanum*. The structures of new compounds were elucidated by NMR, MS, and chemical method. All isolated compounds were tested for their inhibitory activities against PCSK9 mRNA expression in the HepG2 cells. Of the isolates, compounds 6, 7 and 16 were found to inhibit PCSK9 mRNA expression. In addition, compound 7 showed to increase LDLR mRNA expression. Thus, this compound 7 may merit potential to increase LDL uptake and lower cholesterol level in blood.

Keywords : Herba Epimedii; *Epimedium koreanum*; prenylated flavonoid; PCSK9; LDLR; cholesterol Student Number : 2010-21671