

계지(桂枝)에서 정제한 보체계 활성화 다당의 작용양식과 당쇄구조

나경수[†] · 안현정* · 권미향**

대구공업전문대학 식품영양과

*한국식품개발연구원

**고려대학교 생명공학연구소

Activation Mode and Glycosidic Linkage of Anti-Complementary Polysaccharide Isolated from Young Stems of *Cinnamomum cassia* Blume

Kyung-Soo Ra[†], Hyun-Jung An* and Mee-Hyang Kweon**

Dept. of Food Nutrition, Taegu Technical Junior College, Taegu 704-305, Korea

*Korea Food Research Institute, Songnam 463-430, Korea

**Institute of Biotechnology, Korea University, Seoul 136-701, Korea

Abstract

The paper describes the activation mode and the glycosidic linkage of anti-complementary polysaccharide isolated from *Cinnamomum cassia*. The polysaccharide fractions, CC-IIIa, CC-IIIb, and CC-IIIc, activated C3 component existed in normal human serum and produced C3 cleavage segments, C3a and C3b. The polysaccharide, CC-2-IIIa-3 activated the complement system both in the presence and absence of Ca⁺⁺, suggesting that it involved in both classical and alternative complement pathways. Methylation of CC-2-IIIa-3 was performed with methylsulphinyl carbanion and methyl iodide in DMSO. The methylated products was hydrolyzed, then converted into the partially methylated alditol acetates. Gas chromatography-mass spectrometry(GC-MS) revealed derivatives of terminal Glc_p and Gal_p, 1,2-linked Rhap, 1,6-linked Man_p, 1,3-linked Glc_p, 1,6-linked Gal_p etc.

Key words: *Cinnamomum cassia*, anti-complementary polysaccharide

서 론

단백질과 핵산의 생물활성 및 구조연구에 비하여 상대적으로 연구가 활발하지 않은 다당류의 생체조절 기능이 근간에 와서 수종의 버섯류 및 한약재에서 분리된 다당류를 중심으로 연구가 활발히 진행되고 있다. 현재까지 알려진 다당류의 생체조절 기능으로서 항종양 활성(1), 식작용 강화 활성(2), 항보체 활성(3,4)을 중심으로 하는 생체방어계에서의 역할과 혈액의 항응고 활성(5,6) 등을 통한 순환계에서의 다당의 기능이 주목을 받고 있다. 이들 다당류들은 중성의 β -glucan들과, 중성의 복합다당류 및 산성의 복합다당류들로 분류되고 있으며, 분자량은 6,000에서 1,000,000의 범위로 다양하게 보고되고 있다. 또한 구조적으로 선상의 나선구조와 가지상구조의 다당류들이 함께 보고되고 있으며 생체조절기능 다당류들의 뚜렷한 구조적 공통점은 아

직 명확하지 않으나 수종의 기능성 다당류에서 다당의 활성과 구조간의 상관관계나 활성부위에 대한 연구가 있었다(7).

최근 저자들은 계피나무의 어린가지인 계지로부터 액성면역계에서 항체와 함께 중요한 역할을 담당하는 보체계를 활성화하여 면역조절 역할이 기대되는 항보체 활성(anti-complementary) 다당류 CC-IIIa-3를 정제하여 화학적 특성을 보고 한 바 있다(8). 이 다당류는 물에 쉽게 녹지않는 난용성의 산성복합다당류로서 분자량은 240,000으로 확인되었다. CC-2-IIIa-3의 Mayer법을 응용한 항보체 활성(ITCH₅₀)은 1mg/ml의 농도에서 대조군의 94%를 나타내었으며 구성당 조성은 arabinose, xylose, glucose, galactose, galacturonic acid 및 glucuronic acid가 5.56 : 3.77 : 1.87 : 1.00 : 5.12 : 3.13의 몰비율로 구성되어 있었다. 본 연구에서는 CC-IIIa-3가 인체의 혈액중에 존재하는 보체 성분들 중에

[†]To whom all correspondence should be addressed

서 가장 중추적인 역할을 담당하는 보체 C3인자에 대한 활성화를 검토하였으며 보체 활성화 양식과 CC-IIIa-3의 당쇄결합을 분석하였다.

재료 및 방법

면역전기영동(Immunoelectrophoresis, IEP)

보체를 함유하는 혈청, 3차 증류수와 buffer를 동량 혼합한 대조군과 1mg/ml의 다당시료(CC-2-IIIa, -IIIb, -IIIc), 보체를 함유하는 혈청과 buffer를 동량 혼합한 액을 37°C에서 30분간 반응시킨 후 반응액을 pH 8.6의 barbital buffer에 용해시켜 만든 agarose gel plate(1.5 mm, 1% agarose)에 분주하고 약 1.5시간 동안 전기영동을 실시하였다(2.1mA/cm). Agarose plate의 중앙선을 절개하고 goat anti-human C3를 분주하여 4°C에서 24시간 방치한 후 침강선(precipitin line)을 확인하였다. Agarose plate를 0.3M, 0.15M NaCl용액으로 미반응 단백질을 세척한 후 Ponceau 3R로 침강선을 염색하였다(9).

정제 다당의 보체 활성화경로 검토

정제된 다당의 보체계 활성화경로를 알아보기 위해 시료와 buffer, NHS를 혼합하여 1차 반응시키는 단계에서 GVB⁺⁺(gelatin veronal buffered saline, pH 7.5)와 GVB⁺⁺에서 Ca⁺⁺이온만을 제거한 MG⁺⁺-EGTA-GVB⁻⁻를 사용한 경우의 항보체 활성화와 2가 금속을 모두 제거한 10mM EDTA-GVB⁻⁻에서의 ITCH₅₀(Inhibition of 50% total complement hemolysis), 즉 항보체 활성을 비교하였다. 항보체 활성화는 전보(8)에 따라 행하였다.

정제 다당의 당쇄결합 분석

Methylsulphinyl methyl sodium preparation

3개의 가지달린 flask에 mineral oil이 혼합된 sodium hydride(NaH) 2g과 무수에테르 10ml를 혼합하여 교반한 후 진공상태에서 공기를 제거하면서 질소를 채우고 무수DMSO(dimethylsulfoxide, 30ml)를 가하였다. Flask속 수소 제거를 촉진하기 위하여 고무마개에 연결된 유리주사기를 사용하였으며 flask속 용액은 60°C water bath상에서 1시간 내지 1.5시간 동안 교반하여 용액이 투명한 녹색을 띠 때까지 반응시켜 methylsulphinyl methyl sodium의 생성을 확인하였다. 이 용액을 2500rpm에서 5분간 원심분리하여 상등액을 1ml씩 tube에 분주함과 동시에 질소충진하여 밀봉한 후 냉동보관

하여 메틸화분석에 carbanion으로 이용하였다.

Methylation

Pyrex tube에 시료(2mg)를 넣고 40°C 감압상에서 24시간 동안 건조시킨 후 무수DMSO(500μl)를 첨가하면서 질소 충전하고 sonication하여 완전히 녹였다. 실험직전에 녹인 carbanion(0.5~1ml)을 가하고 상온에서 4~5시간 교반하여 당의 유리수산기에 alkoxide가 생성하게 하였다. 시험관내 반응액이 짙은 청록색이 되었을 때 건조 methyl iodide(CH₃I)를 첨가하여 12시간 동안 sonication하고 triphenyl methane을 이용하여 메틸화 완성여부를 확인하고 Sep-pak C₁₈ cartridge를 이용하여 메틸화된 부분을 회수하였다(23). 메틸화된 다당을 2M TFA를 이용하여 121°C에서 1시간 동안 가수분해한 후 sodium borohydride(NaBH₄)를 첨가하여 3시간 동안 실온에서 환원시켰다.

Acetylation

메틸화하여 가수분해한 시료에 acetic anhydride(1.5 ml)를 가하여 121°C에서 3시간 동안 아세틸화시켰다. Toluene(1ml)을 위 반응액에 가하고 용매는 25°C에서 air로 건조시켰다. 시료를 소량의 chloroform에 녹인 후 3차 증류수로 세척하여 methylated alditol acetate 유도체(10)를 완성하였으며 GC/Mass spectrometry를 이용하여 다당의 당쇄결합을 분석하였다.

GC/Mass spectrometry

정제다당과 표준물질로 amylose, amylopectin, starchyose, pectin, xylan 등을 같은 조건에서 메틸화후 alditol acetate 유도체로 각각 전환하여 분석하였다. 분석은 Hewlett-packard II GC/Hewlett-packard 5988 MS(Ultra 1: 25m×0.2mm×0.33μm)를 이용하여 60°C(1min)→160°C(15°C/min, 6min held)→210°C(2°C/min, 5min held)의 온도 프로그램으로, He(0.5ml/min)을 carrier gas로 사용하였다.

결과 및 고찰

계지 CC-IIIa-3에 의한 보체 C3의 활성화

생체방어에 있어서 항체와 함께 중요한 역할을 담당하는 보체계를 활성화하는 물질로는 대부분 한약재, 담자균류 및 고등식물기원의 다당류와 단백질다당체들로 알려져 있으며(11) 저분자 물질로서 식물 호르몬의 일종인 pytosterol류(12)들에서도 항보체 활성이 보고되어 있다. 한편, Nagai 등(12,13)은 계피의 열수추출물(CCAq)은 보체 활성화(complement activation)을 저해하는 효과가 있어 보체에 의한 immunological hemoly-

sis를 억제하고 보체로부터 chemotactic factor, phlogistic fragment(C3a, C5a)의 방출을 억제함으로써 항보체 활성이 있다고 하였으며 따라서 보체가 관여하는 수술 후 거부반응(transplantation rejection), immune complex-mediated autoimmune disease인 류마티즘관절염(rheumatoid arthritis), 사구체 신염(glomerulonephritis) 등의 난치성 염증질환의 증세 완화에 이용할 수 있다고 하였다. Meyer법에 따른 assay에서는 1차 반응에서 시료가 소모하고 남은 보체에 의한 SRBC용혈을 측정 한 후 용혈 억제정도를 항보체 활성(anti complementary activity)이라 하여 1차 반응에서 시료에 의한 보체 활성화에 따른 소모와 보체 활성억제에 따른 소모를 모두 포함할 수 있다(14). 본 연구에서는 저자들이 식품 및 약용소재인 계지의 열수추출물에서 분리한 항보체다당들이 보체계 활성화 과정에서 activator로서 작용여부를 확인하기 위하여 먼저 정상인의 혈청을 대상으로 CC-IIIa, CC-IIIb 및 CC-IIIc에 의한 주요 보체성분인 C3의 활성화를 실험하였다. 즉 보체를 함유하는 혈청에 1mg/ml의 다당시료(CC-2-IIIa, -IIIb, -IIIc)를 37°C에서 30분간 반응시킨 후 전기영동을 실시하고 goat anti-human C3에 대한 확산시험한 결과 Fig. 1과 같이 침강선들을 확인할 수 있었다. 대조군의 경우 보체 C3와 anti-C3가 반응하여 하나의 침강선만이 관찰되었으나 계지에서 분리한 항보체 활성의 다당획분들인 CC-2-IIIa, -IIIb, -IIIc와 함께 처리한 반응액은 C3의 활성화 산물인 C3a, C3b들이 생성되어 2 개의

침강선(precipitin line)을 보였다. C3 활성은 보체계 활성의 주요한 단계이므로 계지 열수추출물에서 분리한 다당은 계피 열수추출물과 달리 보체계 활성화를 통한 높은 항보체 활성효과를 나타내는 것으로 확인되었다.

계지 항보체 다당들에 의한 보체계 활성 경로 검토

보체계 활성화는 보체 중요성분인 C3의 활성화 방법에 따라 고전경로(classical pathway)와 부경로(alternative pathway)로 대별된다(15). 고전경로는 IgM, IgG 등의 항체가 항원과 결합한 항원항체에 C1q subcomponent가 항체부위의 CH₂(IgG)나 CH₄(IgM)영역에 결합함으로써 개시되며, 부경로(alternative pathway)는 항원항체의 관여없이 보체가 활성화되는 새로운 경로를 1954년에 Pillemer 등에 의해 발견되어 본경로(고전경로)에 대한 부경로로 명명되었다(16). 부경로의 활성화에는 C1, C2, C4 및 Ca⁺⁺이온을 필요로 하지 않으며 항체의 도움없이 병원체 세포막의 세포막과 결합하여 C3로부터 C3b를 형성하는데 보체계의 진화는 여기에서 시작되며 고전경로(classical pathway)까지 이른 것으로 생각되어지고 있다(17). 물론 고전경로를 통한 보체활성화가 항원항체 복합체에 C1q의 결합을 통하여 주로 개시되지만 면역복합체 관여없이 C1q에 직접적으로 결합하여 보체계를 활성화하는 C1q binding activator들도 알려져 있으며 대표적으로 LPS중의 lipid 부분, 일부 virus들, polyanion 등이 있다. 이들 다양한

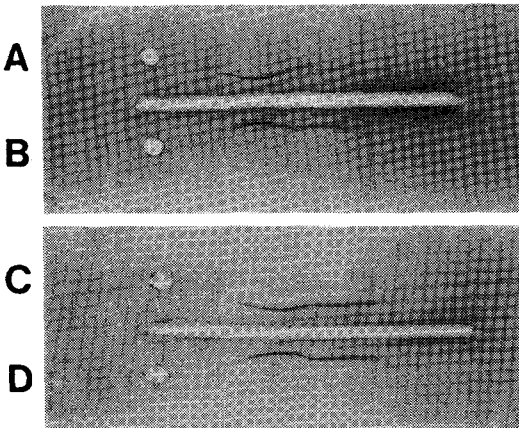


Fig. 1. C3 activation in normal human sera by anticomplementary polysaccharides from *Cinnamomum cassia*.

Normal human serum was incubated with GVB⁺⁺ and samples at 37°C for 30min. The sera were then subjected to immunoelectrophoresis using anti-human C3 to locate C3 cleavage products. The anode is to the right.

A: NHS only, B: CC-IIIa, C: CC-IIIb, D: CC-IIIc

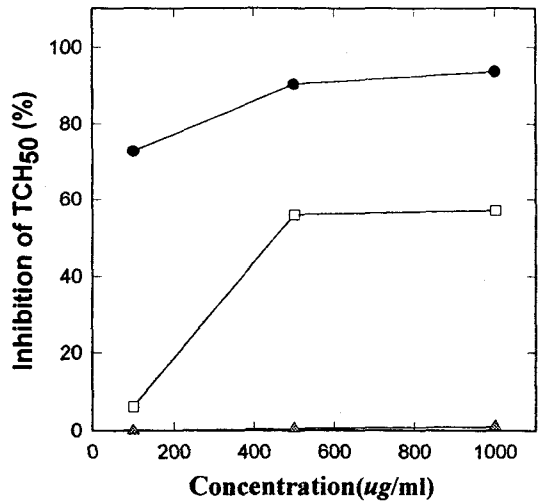


Fig. 2. Changes in anti-complementary activity of the polysaccharide CC-2-IIIa-3 in the presence or absence of Ca⁺⁺ and Mg⁺⁺.

●-●: GVB⁺⁺ (Ca⁺⁺ and Mg⁺⁺)
 □-□: Mg⁺⁺-EGTA-GVB⁺⁺ (Ca⁺⁺ free condition)
 △-△: EDTA-GVB⁺⁺ (metal ion free condition)

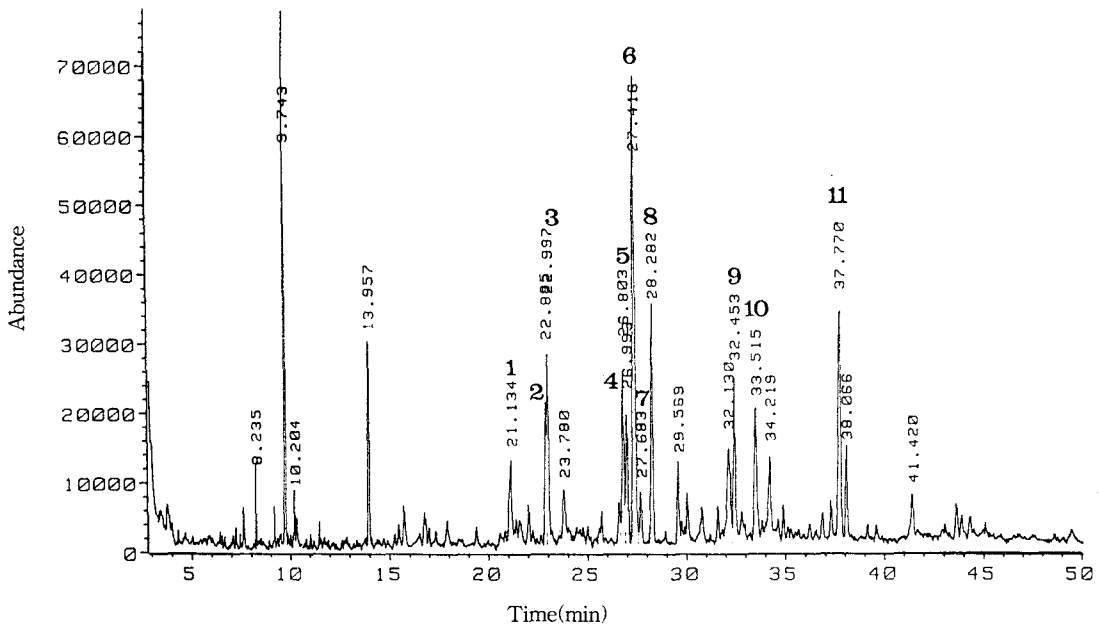


Fig. 3. Total ion chromatogram of partially methylated alditol acetate of CC-IIIa-3 from *Cinnamomum cassia*.

classical activator들이 생화학적·구조적으로 공통점을 공유하는지에 대하여는 아직 확실히 밝혀지지 않고 있다. 부경로에서 C3의 활성화 물질들의 대부분은 효모나 세균의 세포벽에서 유래되는 다당류들로서 이들의 화학구조는 제한적으로 보고되기도 하였다(18). Alternative activator들의 정확한 작용부위나 명확한 구조적 공통점이 명확하지 않으나($\beta 1 \rightarrow 3$)-glucan구조의 다당류들(11)에 의한 부경로 보체계 부경로의 활성화는 거의 인정되고 있는 부분이라 하겠다.

계지에서 분리된 보체계 활성화 다당인 CC-IIIa-3의 보체 활성화양식을 검토하기 위하여 고전적 경로에서는 Ca^{++} 이, 부경로는 Mg^{++} 이 각각 관여하는 것을

이용하여 선택적으로 buffer에서 이들을 제거하면서 항보체 활성을 측정하였다. Fig. 2의 결과를 보면 $1mg/ml$ 농도에서 93% 활성을 보인 대조구(GVB^{++})에 비해 Mg^{++} -EGTA- GVB^{--} 계에서는 약 57% 정도로 활성이 감소하였고 EDTA- GVB^{--} 계에서는 활성이 나타나지 않았다. 따라서 CC-2-IIIa-3는 보체 부경로외에 고전적 경로를 통해서도 보체계를 활성화하는 것으로 확인되었다. 이 결과는 그동안 저자 등이 분리한 대복피, 고사리, 고추 등에서 분리한 보체계 활성화 다당들과 유사한 경향(19)으로써 현재까지는 다당의 산성당 부분이 보체의 고전경로에 중요한 활성부위인 것으로 추정하고 있으나 향후 다당의 활성부위에 대한 진전된

Table 1. Glycosidic linkages of the polysaccharide CC-IIIa-3 by methylation analysis

Methylated sugar	Peak No in Fig. 3	Glycosidic linkage	Abundance(%) ¹⁾
1,2,5-tri-O-acetyl-3,4-di-O-methyl rhamnitol	1	$\rightarrow 2Rhap1 \rightarrow$	1.33
1,5-di-O-acetyl-2,3,4,6-tetra-O-methyl glucitol	2	(T)Glc1 \rightarrow ²⁾	5.56
1,5-di-O-acetyl-2,3,4,6-tetra-O-methyl galacitol	3	(T)Gal1 \rightarrow ³⁾	9.44
1,5,6-tri-O-acetyl-2,3,4-tri-O-methyl mannitol	4	$\rightarrow 6Manp1 \rightarrow$	8.32
1,5,6-tri-O-acetyl-2,3,4-tri-O-methyl glucitol	5	$\rightarrow 6Glc1 \rightarrow$	6.43
1,3,5-tri-O-acetyl-2,4,6-tri-O-methyl glucitol	6	$\rightarrow 3Glc1 \rightarrow$	26.67
1,4,5-tri-O-acetyl-2,3,6-tri-O-methyl galacitol	7	$\rightarrow 4Gal1 \rightarrow$	2.54
1,5,6-tri-O-acetyl-2,3,4-tri-O-methyl galacitol	8	$\rightarrow 6Gal1 \rightarrow$	11.24
1,3,5,6-tetra-O-acetyl-2,4-di-O-methyl glucitol	9	$\rightarrow 3,6Glc1 \rightarrow$	6.47
1,2,5,6-tetra-O-acetyl-3,4-di-O-methyl hexitol	10	$\rightarrow 2,6Hexp1 \rightarrow$	8.41
1,2,3,4,5-penta-O-acetyl-6-O-methyl hexitol	11	$\rightarrow 2,3,4Hexp1 \rightarrow$	13.97

¹⁾ Calculated from abundance of total ion of the each sugar derivative obtained from EI-MS spectra, ^{2,3)} Nonreducing terminal residues are indicated by T

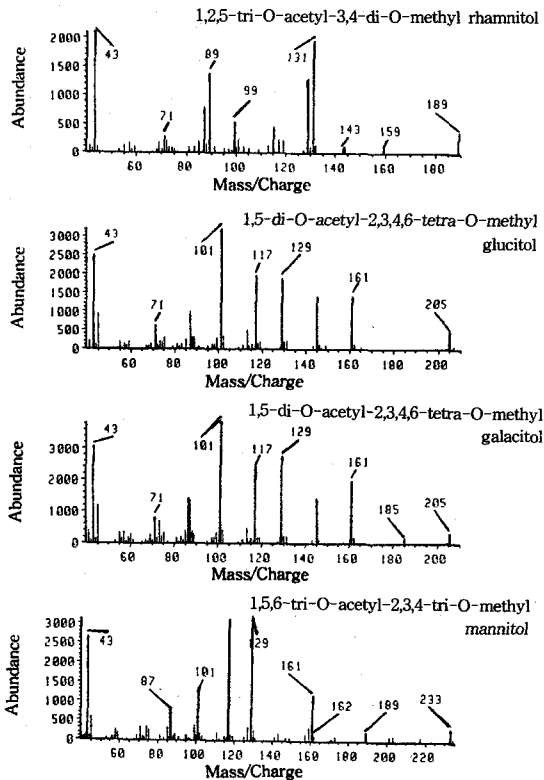


Fig. 4. Mass spectra of partially methylated alditol acetates of CC-IIIa-3 isolated from *Cinnamomum cassia*.

연구가 필요할 것으로 본다.

정제 다당의 메틸화 분석

계지에서 분리된 주요 보체계 활성화 다당인 CC-IIIa-3은 분자량이 약 240,000정도의 산성 복합다당류로서 구성당 조성은 arabinose, xylose, glucose, galactose, galacturonic acid 및 glucuronic acid가 5.56 : 3.77 : 1.87 : 1.00 : 5.12 : 3.13의 몰비율로 구성되어 있었다 (8). 이 다당의 구조연구를 위하여 당쇄결합을 methylation analysis를 통하여 분석하였다. 즉 다당을 methylation시킨 후 GC/MS로 분석하여 부분적으로 구성당들 사이의 glycosidic linkage 위치 및 구성당의 ring form에 대한 정보를 얻고자 하였다. 메틸화 분석시 free hydroxyl group의 완전한 메틸화를 위하여 Hakomori 방법으로 중성당만을 methylation, hydrolysis, reduction, acetylation한 후 GC/MS로 분석하여 부분 당쇄결합 양식을 살펴 보았다. Fig. 3에는 partially methylated alditol acetate CC-IIIa-3의 GC 분석 크로마토그램을 나타내었으며 Fig. 4에서는 주요 피크의 MS 패턴을 나타내었다. Fig. 3에서 분리된 피크의 분석 결과는

Table 1과 같다. CC-IIIa-3의 주요 당쇄결합을 보면 비환원 말단의 galactopyranose, glucopyranose가 확인되었고 1,2-linked rhamnopyranose, 1,6-linked mannopyranose, 1,3-linked glucopyranose, 1,6-linked galactopyranose 등이 확인되었다. 보체계 활성화 다당류 중 pectic polysaccharide는 pectinase-resistant부분인 ramified region이나 rhamnagalacturoran core를 가지며 측쇄부위에 neutral side chain들을 4 또는 2,4-substituted rhamnose에 연결시키는 형태로 되어 있는 경우가 많은데 그 대표적인 예로써 인삼엽에서 분리된 GL-PIII (20) 및 시호에서 분리된 BR-IIb(21)를 들 수 있다. 최근에 분리된 자근의 LR-II-d-5a(22)와 고사리의 PA-IIa-1(23)의 경우는 mannan back bone에 galactosyl, fucosyl, rhamnosyl, glucuronosyl 등으로 구성된 측쇄를 연결하는 유사한 구조로 알려졌는데 이들의 활성부위는 적어도 기존의 pectic polysaccharide의 ramified region과는 다르다고 볼 수 있다. 따라서 계지다당인 CC-IIIa-3의 미세구조와 활성부위를 해명하기 위해서는 다당의 구조수식, 선택분해 및 특정부위의 masking 등에 의한 접근이 필요하겠다.

요 약

계지에서 분리한 보체계 활성화 다당의 보체 활성화양식과 다당의 당쇄결합에 관하여 검토하였다. 계지 보체계 활성화 다당획분들(CC-IIIa, CC-IIIb, CC-IIIc)들은 정상인의 혈청중에 존재하는 주요 보체성분인 C3를 활성화하여 C3a와 C3b 보체 산물을 생성시켰는데 이 과정은 anti-human C3를 이용한 면역전기영동을 실시하여 확인하였다. Ca^{++} 유무시의 보체계 활성을 측정 한 결과 계지에서 분리된 CC-IIIa-3는 고전적 경로(classical pathway)와 부경로(alternative pathway)를 동시에 활성화시킴을 확인하였다. CC-IIIa-3을 메틸화하여 GC/MS로 분석한 결과 비환원 말단의 galactopyranose와 glucopyranose가 확인되었고 1,2-linked rhamnopyranose, 1,6-linked mannopyranose, 1,3-linked glucopyranose, 1,6-linked galactopyranose 등이 확인 되었다.

감사의 글

본연구의 일부는 1995년도 대구공업전문대학 학술 연구조성비 지원에 의하여 수행되었음.

문 헌

1. Mizuno, T., Ito, H., Shimura, K., Sumiya, T. and Ka-

- wade, M. : Fractionation and antitumor activity of polysaccharides from *Grifola frondosa* Mycelium. *Biosci. Biochem. Biochem.*, **58**, 185(1994)
2. Gonda, R., Tomoda, M., Takada, K. and Shimizu, N. : The core structure of ukoban A, a phagocytosis polysaccharide from the Rhizome of *Curcuma longa*, and immunological activities of degradation products. *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 990(1992)
 3. Zhao, I. F., Kiyohar, H., Matsumoto, T. and Yamada, H. : Anti-complementary acidic polysaccharides from roots of *Lithospermum euchromum*. *Phytochemistry*, **34**, 719(1993)
 4. Zhao, I. F., Kiyohara, H. and Yamada, H. : Anti-complementary polysaccharides from leaves of *Artemisia princeps*. *Phytochemistry*, **35**, 73(1994)
 5. Nishino, T., Kiyohara, H., Yamada, H. and Nagumo, T. : An anticoagulant fucoidan from brown seaweed *Ecklonia kurome*. *Phytochemistry*, **30**, 535(1991)
 6. Takashi, N., Yuuzou, T. and Terukazu, N. : Isolation and partial characterization of a novel β -D-galactan sulfate from the brown seaweed *Laminaria angustata* Var. *longissima*. *Carbohydrate Polymers.*, **23**, 165(1994)
 7. Yamada, H., Nagai, T., Cyong J. C. and Otsuka, Y. : Relationship between chemical structure and anti-complementary activity of plant polysaccharides. *Carbohydr. Res.*, **156**, 137(1985)
 8. 권미향, 안현정, 신광순, 나경수, 성하진, 양한철 : 계지(桂枝)의 열수추출물로부터 보체계 활성화 다당의 정제 및 특성. *한국식품과학회지*, **29**, 1(1997)
 9. Shin, K. S. : Studies on selection, purification and action mode of anti-complementary polysaccharides from *Arecae Pericarpium*. *Ph. D. Thesis*. Korea University, Seoul(1992)
 10. Yamada, H. and Kiyohara, H. : Structure of the neutral carbohydrate side chains in anti-complementary acidic polysaccharides from the root of *Angelica acutiloba* KITAGAWA. *Carbohydr. Res.*, **187**, 255(1989)
 11. Yamada, H. and Kiyohara, H. : Bioactive polysaccharides from Chinese herbal medicines. *Abstracts of Chinese Medicines*, **3**, 104(1989)
 12. Nagai, H., Shimazawa, T., Takizawa, T. and Koda, A. : Immunopharmacological studies of the aqueous extract of *Cinnamomum cassia*(CCAq) II. Effect of CCAq on the experimental glomerulonephritis. *J. Pharmacol.*, **32**, 823(1982)
 13. Nagai, H., Shimazawa, T., Matsuura, N. and Koda, A. : Immunopharmacological studies of the aqueous extract of *Cinnamomum cassia*(CCAq) I. Anti-allergic action. *Jpn. J. Pharmacol.*, **32**, 813(1982)
 14. Yamada, H., Nagai, T., Cyong, J. C. and Otsuka, Y. : Mode of complement activation by acidic heteroglycans from the leaves of *Artemisia princeps* PAMP. *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 2077(1991)
 15. Reid, K. N. M. : Preparation of human properdin. *Methods Enzymol.*, **80**, 143(1981)
 16. Pillemer, L., Schoenberg, M. D., Blum, L. and Wurzl, L. : Properidin system and immunity. II. Interaction of the properidin system with oligosaccharides. *Science*, **122**, 548(1955)
 17. Gewurz, H., Shin, H. S. and Mergenhausen, S. E. : Interactions of the complement system with endotoxin lipopolysaccharides. Consumption of each of the six terminal complement components. *J. Exp. Med.*, **128**, 1049(1968)
 18. Gerard, W. R., Hans, L. J., Dick, J. C., Han, H., Johannis, P. K. and Vliegenthart, J. F. G. : Structural studies of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus paracasei* 34-1. *Carbohydr. Res.*, **285**, 129(1996)
 19. 梁漢喆 : 食品新素材學. 生體機能調節 天然物素材研究會編, 한림원, 서울, p.62(1996)
 20. Gao, Q. P., Kiyohara, H., Cyong, J. C. and Yamada, H. : Further structural studies of anti-complementary acidic heteroglycans from the leaves of *Panax ginseng* C.A. METER. *Carbohydr. Res.*, **196**, 111(1990)
 21. Yamada, H., Ra, K. S., Kiyohara, H., Cyong, J. C., Yang, H. C. and Otsuka, Y. : Characterization of anti-complementary neutral polysaccharides from the roots of *Bupleurum falcatum*. *Phytochemistry*, **27**, 3163(1988)
 22. Zhao, I. F., Kiyohar, H., Matsumoto, T. and Yamada, H. : Anti-complementary acidic polysaccharides from roots of *Lithospermum euchromum*. *Phytochemistry*, **34**, 719(1993)
 23. Kweon, M. H., Kim, H. I., Sung, H. C. and Yang, H. C. : Core structure of the anti-complementary acidic polysaccharide(PA-IIa-1) from water extract of *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum*. *Foods Biotech.*, **3**, 137(1994)

(1997년 2월 17일 접수)