

자원에서 분리한 플라보노이드의 생리활성

최두연 · 최은진 · 김청룡 · 신지은 · 우은란*

조선대학교 약학대학

Biological Activity of Flavonoids Isolated from *Aster tataricus* L.

Doo-youn Choi, Eun Jin Choi, Qinglong Jin, Ji Eun Shin and Eun-Rhan Woo*

College of Pharmacy, Chosun University, Gwangju 501-759, Republic of Korea

Abstract – In an ongoing investigation into anti-oxidative compounds from natural products, the EtOAc soluble fraction of *Aster tataricus* L. (Compositae) showed significant anti-oxidative activity on the NBT superoxide scavenging assay. By means of an activity-guided purification, three flavonoids, kaempferol (**1**), quercetin (**2**), astragalins (**3**) and one monoterpene glycoside, shionoside A (**4**) were isolated. Their structures were determined spectral analyses. Compounds **2** and **3** showed potent anti-oxidative activity, while, compounds **1** and **4** were inactive ($IC_{50} > 120 \mu\text{g/mL}$). In addition, these compounds were examined for the effect of interleukin-6 (IL-6) production in TNF- α stimulated MG-63 cell. Compounds **1-3** showed negligible inhibitory activity against IL-6 production in TNF- α stimulated MG-63 cell, and compound **4** was inactive.

Key words – *Aster tataricus* L., antioxidant, IL-6 inhibitory activity

자원(*Aster tataricus* L.)은 국화과(Compositae)에 속하는 식물로 한국, 중국, 일본 원산으로 심산지역의 습지에서 자라는 다년생초로서 높이가 1~1.5 m이지만 재배한 것은 2 m에 달하고 근경이 짧으며 윗부분에서 가지가 갈라지고 짧은 털이 있다.¹⁾ 어린 순을 나물로 하며 뿌리와 전초는 폐한, 폐열, 폐허로 인한 해수 가래, 천식에 유효하며 항균작용이 있어서 대장균, 이질균, 변형간균, 녹농균 및 콜레라균에 일정한 억제 작용을 나타내는 것으로 알려져 있다.²⁾ 자원에는 saponin, epifriedelin, friedelin, shionone, astersaponin 등이 함유되어 있다.³⁻⁶⁾ 본 연구실에서는 국내 자생식물로부터 생리활성 물질 탐색에 대한 연구를 계속해왔으며 생리활성검색 결과 자원의 에틸아세테이트 분획물이 항산화 활성 및 IL-6 방출에 영향을 미치는 것이 관찰되어 이들 분획물로부터 활성물질의 정제를 시도하고자 본 연구에 착수하였다. Human interleukin (hIL)-6는 cytokine의 일종으로 일부는 림프구 계통의 세포가 생성하며 면역조절 역할을 하고 조절 작용을 조절하는 것으로 알려져 있다. 대부분의 cytokine은 표적세포의 세포표면 수용기를 통하여 작용하고 호르몬과 유사하며 항세포 증식 작용, 항미생물 작용, 항종양 작용 등이 있어 감염, 염증, 자가면역질환, 중앙치료제로 사용되고 있다.⁷⁻⁸⁾ 세포는 TNF- α 에 의해서 damage를 받게 되고 이때

IL-6가 세포 밖으로 방출되게 되는데 본 실험에서는 MG-63 세포를 이용하여 자원으로부터 분리한 화합물들이 IL-6의 유리에 어떠한 영향을 미치는가를 측정하였다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 실험에 사용한 자원(*Aster tataricus* L.)은 광주 시내의 약재상에서 구입하여 감정한 후 사용하였으며 자료의 일부는 표준품(CU-958)으로 조선대학교 약학대학 표본실에 보관하고 있다.

시약 및 기기 – 용적측정기는 Fisher Scientific (Model 307N0043, Canada)를 사용하였고 선광도는 AUTOPOL[®] automatic polarometer (Rudolph Research Flangers, NJ 07836)를 사용하였으며 IR 스펙트럼은 JASCO FT/IR-300E (JASCO Co., Japan)를 사용하였다. FAB-MS는 JMS 700 (JEOL, Japan)을 사용하였고 ¹H-NMR과 ¹³C-NMR은 VARIAN Unity Inova 500 및 JEOL JNM-LA 300을 사용하였다. 분취용 컬럼 크로마토그래피의 packing material로는 Kieselgel 60 (230-400 mesh, ASTM, Art. 9385, Merck), Kieselgel 60 (40-60 μm , Art. 9385, Merck), LiChroprep RP-18 (40-63 μm , Merck), Lipophilic Sephadex LH-20 (Bead size 25-100 μm , Sigma)을 사용하였다. Thin layer chromatography용 plate는 precoated silica gel 60 F₂₅₄ plate (layer thickness 0.25 mm, 20×20 cm, Art. 5715,

*교신저자 (E-mail): woer@chosun.ac.kr
(Tel): 062-230-6369

Merck)와 precoated RP-18 F₂₅₄ S plate (layer thickness 0.25 mm, 20×20 cm, Art. 15423, Merck)를 사용하였으며 추출 및 컬럼 크로마토그래피용 용매는 1급 시약을 기타시약은 1급 또는 특급을 각각 사용하였으며 발색시약으로는 10% H₂SO₄를 사용하였다.

추출 및 분리 - 자원(*Aster tataricus* L.) 2.4 kg 을 MeOH로 3시간 동안 3회 반복 환류냉각 열탕추출하고 여과한 후 감압농축하여 575.3 g의 MeOH extract를 얻었다. MeOH extract를 증류수로 헹타하고 CH₂Cl₂, EtOAc, *n*-BuOH 및 H₂O 순으로 계통분획하여 각각 34.5 g, 23.5 g, 59.6 g, 301.0 g의 분획물을 얻었다. 항산화활성을 나타낸 EtOAc 분획 7 g을 silica gel을 이용하여 컬럼 크로마토그래피를 실시하였다. 용매는 CH₂Cl₂ : EtOAc : MeOH = 20 : 1 : 1을 이용하여 용출시키고 각각의 분획들은 TLC pattern에 따라 유사한 것들을 합쳐 8개의 sub-fraction을 얻었다. Sub-Fr. E2에 대해서 Sephadex LH-20을 이용하여 MeOH : H₂O = 4 : 6 을 전개 용매로 하여 컬럼 크로마토그래피를 실시하여 화합물 1 (17 mg)을 얻었다. 화합물 1은 UV 254 nm 와 365 nm 에서 모두 갈색형광을 나타냈고 10% 황산용액에서 노란색으로 발색되었다. Sub-Fr. E3에 대해서 Sephadex LH-20을 이용하여 MeOH : H₂O = 4 : 6을 용매로 하여 컬럼 크로마토그래피를 실시한 결과 화합물 2 (7 mg)를 얻었다. Sub-Fr. E6에 대해서 Sephadex LH-20을 MeOH : H₂O = 4 : 6을 용매로 하여 컬럼 크로마토그래피를 실시한 후 silica gel을 이용하여 CHCl₃ : MeOH : H₂O = 10 : 1.1 : 0.1을 용매로 하여 컬럼 크로마토그래피를 실시하여 화합물 3 (4.8 mg)을 얻었다. Sub-Fr. E7에 대해서 Sephadex LH-20을 이용하여 MeOH : H₂O = 4 : 6을 용매로 하여 컬럼 크로마토그래피와 silica gel을 이용하여 CHCl₃ : MeOH : H₂O = 10 : 1.1 : 0.1을 용매로 하여 컬럼 크로마토그래피를 실시하고 RP-18을 이용하여 MeOH : H₂O = 1 : 1을 용매로 하여 컬럼 크로마토그래피를 실시한 후 다시 RP-18을 이용하여 MeOH : H₂O = 4 : 6을 용매로 하여 컬럼 크로마토그래피를 실시한 결과 화합물 4 (14.9 mg)를 얻었다.

화합물 1 - Yellow amorphous powder; m.p., 276~277°C; IR, ν_{\max}^{KBr} 3335 (OH), 2923 (CH), 1613 (C=O), 1173 (C-O) cm⁻¹; FAB-MS, m/z 287 [M+H]⁺, 154, 136; ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.05 (2H, d, $J=9.0$ Hz, H-2', 6'), 6.93 (2H, d, $J=9.0$ Hz, H-3', 5'), 6.44 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.19 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 176.4 (C-4), 164.4 (C-7), 161.2 (C-5), 159.7 (C-4'), 156.7 (C-9), 147.3 (C-2), 136.1 (C-3), 130.0 (C-2'), 130.0 (C-6'), 122.2 (C-1'), 115.9 (C-3'), 115.9 (C-5'), 98.7 (C-6), 94.0 (C-8).

화합물 2 - ESI-MS, m/z 301([M-H]⁺); ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.77 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-2'), 7.67

(1H, dd, $J=8.5, 2.1$ Hz, H-6'), 6.92 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5'), 6.43 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.22 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 175.9 (C-4), 164.0 (C-7), 160.8 (C-5), 156.2 (C-9), 147.7 (C-4'), 146.9 (C-2), 145.1 (C-3'), 135.8 (C-3), 122.1 (C-1'), 120.1 (C-6'), 115.7 (C-5'), 115.2 (C-2'), 103.1 (C-10), 98.3 (C-6), 93.5 (C-8).

화합물 3 - Yellowish crystal; m.p., 176~180°C; IR, ν_{\max}^{KBr} 3450 (OH), 1660 (C=O) cm⁻¹; ESI-MS, m/z 471[M+Na]⁺; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 8.05 (2H, d, $J=9.0$ Hz, H-2', 6'), 6.89 (2H, d, $J=9.0$ Hz, H-3', 5'), 6.39 (1H, br d, H-8), 6.19 (1H, br d, H-6), 5.23 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-1"), 3.56 (1H, H"-6a), 3.36 (1H, H"-6b), 3.50-3.09 (4H, H-2", 3", 4", 5") ; ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 179.6 (C-4), 167.1 (C-7), 163.2 (C-5), 161.7 (C-4'), 159.1 (C-9), 158.7 (C-2), 135.6 (C-3), 132.4 (C-6'), 132.4 (C-2'), 123.0 (C-1'), 116.2 (C-3'), 116.2 (C-5'), 105.6 (C-10), 104.3 (C-1"), 100.4 (C-6), 95.1 (C-8), 78.2 (C-5"), 78.6 (C-3"), 75.9 (C-2"), 71.5 (C-4"), 62.8 (C-6").

화합물 4 - Plate crystal; m.p., 120~125°C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +4.23^{\circ}$ (c=0.10, in MeOH); IR, ν_{\max}^{KBr} 3375 (OH), 1630, 1592 (aromatic C=C), 1170, 1085 (C-O)cm⁻¹; FAB-MS, m/z 285 [M-H]⁺; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 5.02 (d, $J=2.5$ Hz, H-1"), 4.22 (d, $J=8.0$ Hz, H-1'), 3.98 (br dd, $J=11.5, 9.5$ Hz, H-8b), 3.97 (d, $J=9.5$ Hz, H-2'), 3.91 (d, $J=2.5$ Hz, H-2"), 3.90 (br d, H-6'b), 3.77 (d, $J=9.5$ Hz, H-4"b), 3.61 (br dd, $J=11.0, 9.5$ Hz, H-8a), 3.58 (2H, s, H-5"), 3.52 (dd, $J=9.5, 6.5$ Hz, H-6'a), 3.38 (1H, dd, $J=6.5, 2.0$ Hz, H-5'), 3.28 (d, $J=9.5$ Hz, H-4'), 3.15 (1H, s, H-4"a), 2.28 (1H, br s, H-1), 1.73 (2H, s, H-2, 4), 1.68 (1H, br d, H-7, syn), 1.63 (1H, br d, H-5b), 1.44 (1H, br d, H-6b), 1.28 (1H, br d, H-5a), 1.26 (1H, br d, H-6a), 1.20 (1H, br d, H-7, anti), 0.94 (3H, s, exo, H-10), 0.89 (3H, s, endo, H-9); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 111.1 (C-1"), 104.6 (C-1'), 80.7 (C-3"), 78.3 (C-3'), 78.1 (C-2"), 77.0 (C-5'), 75.2 (C-2'), 75.1 (C-4"), 71.8 (C-4'), 69.7 (C-6'), 68.7 (C-8), 65.8 (C-5"), 50.9 (C-2), 50.8 (C-4), 41.9 (C-1), 38.2 (C-7), 37.9 (C-3), 33.0 (C-10), 25.6 (C-5), 22.2 (C-6) 21.6 (C-9).

NBT Superoxide Scavenging Assay - NBT superoxide scavenging assay는 조금 수정된 방법을 사용하였다. 15 mM Na₂EDTA (50 mM KH₂PO₄/KOH pH 7.4 in d.w.) 용액 20 μ l, 0.6 mM NBT 용액 50 μ l, 50 mM KOH에 녹인 3 mM hydroxanthine 30 μ l를 취한 다음 일정농도로 녹인 sample 100 μ l를 첨가한다. 여기에 xanthine oxidase (1 unit in 10 ml buffer)용액 50 μ l를 넣은 후 25°C incubator 안에서 30분 동안 산화가 일어나도록 반응을 시킨 다음 570 nm

microplate reader를 통해 흡광도를 측정하였다. 시료를 녹였던 5% DMSO in buffer 용액을 control로 하였으며 실험의 표준물질로는 allopurinol을 사용하였다. 항산화 활성(%)은 control에 대한 상대적인 퍼센트 즉, [(rate of control - rate of sample reaction)/rate of control]×100으로 표시하였다.⁹⁻¹⁰⁾

Cytotoxicity Assay - 본 실험에서는 SRB 검색법을 이용하여 세포독성을 측정하였으며 사용한 세포주는 MG-63으로 세포주는 10% FBS가 포함된 DMEM 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하고, 10회 이상 계대한 후 trypsinization (trypsin-EDTA)하여 single cell suspension을 확보한 뒤, 세포의 성장속도를 고려하여 적정수의 세포(3×10⁴)를 96-well plate에 200 µl씩 접종하였다. 시료는 DMSO에 10 mg/ml 되도록 용해시키고, 실험 농도에 따라 serial dilution하여 DMSO의 최종 농도가 1% 이하가 되도록 100 µl 씩 각 well에 첨가 하였다. 검체 투여가 끝난 plate는 37°C, 5% CO₂ 존재 하에서 48시간 배양하였다. 배양이 종료된 후 부착성 세포는 10% formalin solution 100 µl를 가하여 실온에서 30분 동안 충분히 고정시켰다. 고정된 각 well의 세포로부터 formalin을 제거하기 위해 증류수로 5회 세척한 후 건조시켰다. 건조된 well에 1% acetic acid에 녹인 0.4% SRB (sulforhodamine B)용액 100 µl를 가한 후, 상온에서 30분 이상 방치하여 충분히 염색시키고 1% acetic acid로 5회 세척하여 건조시켰다. 완전히 건조시킨 후 200 µl의 10 mM Tris-base 용액(pH 8.0)으로 염색된 세포를 부유시켜, micro plate reader를 사용하여 540 nm에서 OD (optical density)를 측정하였다. 세포주에 대해 대조군의 평균 OD값과 실험군의 평균 OD값을 비교하여 세포독성(%)을 구하였다.¹¹⁻¹³⁾

$$\text{Cytotoxicity (\% inhibition)} = (1 - T/C) \times 100$$

C : 대조군의 평균 OD값

T : 실험군의 평균 OD값

MG-63 세포에서 IL-6의 유리 확인 실험 - 세포주는 10% FBS가 포함된 DMEM 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 culture dish에 증식시킨 MG-63세포를 24 well plate에 적정수의 세포(3×10⁴)를 500 µl씩 접종한 후 하루 동안 배양하고 배지를 교체하였다. 여기에 TNF (tumor necrosis factor)-α와 세포독성이 없는 농도의 sample을 처리한 후 37°C incubator에서 배양한 후 24시간과 48시간 뒤 각각 70 µl씩 배지를 채취하여 냉동 보관하였다. 96 well plate에 1차 antibody 100 µl(anti-human IL-6 2 µg/mL in 0.1 M NaHCO₃)를 넣은 후 4°C에서 overnight하여 1차 antibody가 96 well plate에 부착되도록 하였다. 결합되지 않은 1차 antibody를 씻어내기 위해 washing solution (0.05% Tween 20 in PBS) 100 µl로 3번 씻어낸 후 blocking

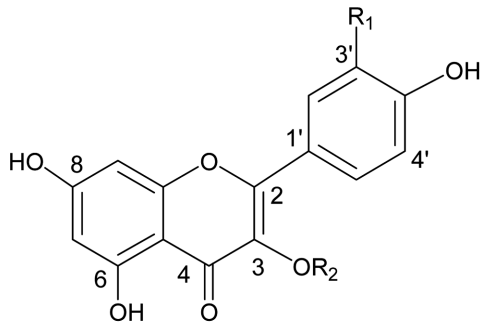
solution (3% BSA in PBS) 200 µl를 처리하고 실온에서 2시간 동안 방치한 후 washing solution 200 µl로 2번 씻어낸다. 위에서 24시간 후와 48시간 후에 채취한 배양액 50 µl와 blocking solution 50 µl를 넣어 실온에서 4시간 또는 4°C에서 overnight하여 1차 antibody와 결합하도록 하였다. 100 µl의 washing solution으로 4번 세척한 후 100 µl의 2차 antibody (biotin conjugated rat anti-human IL-6 1 n/mL in blocking sol.)를 첨가하여 45분 동안 결합시킨 뒤 결합되지 않은 2차 antibody를 100 µl의 washing solution으로 6번 세척하여 씻어냈다. 100 µl streptavidin HRP (sol. 0.1% BSA, 0.05% Tween 20 in tris buffered saline pH 7.3)를 첨가하여 20분 동안 결합시킨 뒤 washing solution으로 6번 세척하였다. TMB (Tetra Methyl Benzidine) 100 µl를 넣어 발색시킨 즉시 micro plate reader를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. IL-6의 저해활성은 Inhibition (%) = (A-B)/A × 100 [Where A is the IL-6 concentration when the TNF-α only was treated, and B is the IL-6 concentration when the compounds were treated] 로 하였다.¹⁴⁻¹⁵⁾

결과 및 고찰

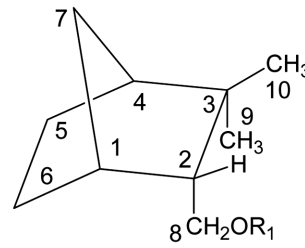
화합물 1은 황색분말상의 물질로서 m.p.는 276~277°C이며 10% H₂SO₄ 발색에서 황색을 나타냈다. ¹H-NMR spectrum에서 flavonoid A ring의 H-6과 H-8의 signal이 각각 δ 6.19(1H, d, J=2.0 Hz) 및 δ 6.44(1H, d, J=2.0 Hz)에서 나타났으며 B ring의 H-2', H-3', H-5', H-6'의 AA'BB' type coupling이 δ 8.05와 δ 6.93에서 관찰되어 kaempferol로 추정할 수 있었다. ¹³C-NMR spectrum에서는 C-3가 δ 136.1로 이동되어 나타나므로 hydroxyl기로 치환되어 있음을 알 수 있었고, δ 176.4에서 C-4의 carbonyl기를 관찰할 수 있었으며 δ 159.7의 피크로 C-4'위의 수소가 hydroxyl기로 치환되어 있음을 알 수 있었다. 이상의 분광학적인 결과 및 문헌상의 data와의 비교를 통해 화합물 1은 kaempferol로 동정하였다.¹⁶⁻¹⁹⁾

화합물 2는 황색분말상의 물질로서 10% H₂SO₄ 발색에서 황색을 나타냈다. ¹H-NMR spectrum에서 flavonoid A ring의 H-6과 H-8의 signal이 각각 δ 6.22 (1H, d, J=2.0 Hz) 및 δ 6.43 (1H, d, J=2.0 Hz)에서 나타났으며 B ring의 ABX type의 H-2', H-5', H-6'의 signal이 각각 δ 7.77(1H, d, J=2.0 Hz), δ 6.92 (1H, d, J=8.5 Hz), δ 7.67 (1H, dd, J=8.5, 2.0 Hz)에서 나타나 quercetin으로 추정할 수 있었다. 또한 ¹³C-NMR spectrum에서 quercetin의 특징적인 피크들이 δ 135.8, δ 175.9, δ 145.1, δ 147.7에서 관찰되었다. 이상의 분광학적인 결과 및 문헌상의 data와의 비교를 통해 화합물 2는 quercetin으로 동정하였다.¹⁶⁻¹⁹⁾

화합물 3은 황색 결정성 물질로 m.p.는 176~180°C로 나



Compound 1 : $R_1 = H, R_2 = H$
 Compound 2 : $R_1 = OH, R_2 = H$
 Compound 3 : $R_1 = H, R_2 = -\beta\text{-D-Glc}$



Compound 4 : $R_1 = -\beta\text{-D-Glc (6-1)-}\beta\text{-D-Api}$

Fig. 1. Chemical structures of compounds 1-4 isolated from *A. tataricus*

타났으며 10% H_2SO_4 발색에서 황색을 나타냈다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum의 aromatic 영역에서 화합물 1과 아주 흡사한 스펙트럼을 나타냈으며 δ 5.23 (1H, d, $J=7.5$ Hz)의 피크 및 δ 3.56-3.09에 당의 수소 피크가 관찰되어 화합물 3은 kaempferol glycoside로 추정할 수 있었다. 산 가수분해 결과 비당체 부분 kaempferol로 확인되었고 당 부분은 TLC 결과 표준품인 D-glucose와 일치하였다. 당의 결합형태는 anomeric 수소의 결합상수가 7.5 Hz로 나타나 β -결합을 하고 있는 것으로 추정되었다. 이상의 결과들은 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서도 확인할 수 있었다. 분광학적인 결과 및 문헌상의 data와의 비교를 통해 화합물 3은 astragalin으로 동정하였으며 이 식물로부터는 처음으로 분리된 화합물이었다.¹⁶⁻¹⁹⁾

화합물 4는 백색의 판상결정성물질로 m.p.는 120~125°C 였고 10% H_2SO_4 에서 황색으로 나타났다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum 에서는 H-7(syn)와 H-7(anti)의 signal이 각각 δ 1.68 (br d) 및 δ 1.20 (br d)에서 관찰되었으며 H-9 (endo)와 H-10 (exo)의 signal이 각각 δ 0.89 (3H, s) 및 δ 1.00 (3H, s)에 나타났다. 두 개의 anomeric proton이 각각 δ 4.22 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-1')와 5.02 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-1'')로 coupling constant가 나타났고 문헌치와의 비교를 통해 두개의 당이 각각 β 로 결합한 것으로 추정하였다. $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서는 두개의 methyl carbon이 δ 21.6과 33.0에서, 3개의 methylene carbon이 δ 22.2, 25.6, 68.7에서, 3개의 methine carbon이 δ 41.9, 50.9, 50.8에서 한 개의 quaternary carbon이 δ 37.9에서 관찰되었으며 4개의 oxymethylene carbon이 δ 68.7, 69.7, 75.1, 65.8에서, 5개의 oxymethine carbon이 δ 75.2, 78.3, 71.9, 77.0, 78.1에서, 하나의 hydroxylated quaternary carbon이 δ 80.7에서, 그리고 두 개의 anomeric carbon이 δ 104.6, 111.1에서 관찰되었

Table I. Antioxidative activity of compounds 1-4 isolated from *A. tataricus*

| Compound | IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$) |
|--------------|---------------------------------------|
| 1 | >120 |
| 2 | 19.3 |
| 3 | 50 |
| 4 | >120 |
| Allopurinol* | 1.7 |

*positive control

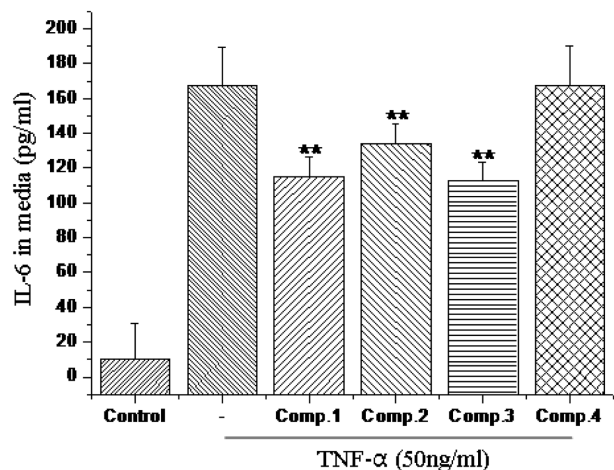


Fig. 2. Effects of compounds 1-4 on IL-6 production from TNF- α stimulated MG 63

MG-63 (3×10^4 cells/well) was incubated for 24h. Culture were incubated with or without compounds and then stimulated with TNF- α for 24h. IL-6 in the supernatant was measured by ELISA. Results were expressed as the mean \pm S.E. from three different experiments. ** $p < 0.05$ compared with TNF- α treated values.

다. 또한 ^1H - ^1H COSY와 HSQC spectrum을 통하여 각각의 carbon과 proton을 귀속시킨 후 HMBC spectrum에서 C-8과 glucose의 1번 수소, glucose 6번 탄소와 apiose 1번 탄소 사이의 correlation peak를 확인하여 각 결합위치를 확인하였다. 이상의 분광학적인 결과 및 문헌상의 data와의 비교를 통해 화합물 4는 shionoside A로 동정하였다.²⁰⁾(Fig. 1 참조).

자원 EtOAc의 분획으로부터 분리한 화합물 1-4에 대해서 NBT superoxide scavenging assay에 의한 항산화 활성을 검토한 결과(Table 1 참조) quercetin의 IC₅₀ 값이 19.3 µg/ml로 가장 강력한 활성을 나타냈고 이와 같은 활성은 화합물 구조에 있어서 ortho-dihydroxy (catechol)에 기인한 것으로 판단되었다.²¹⁾ 또한 화합물 1-4가 MG-63세포에서 IL-6의 유리에 미치는 영향을 검토한 결과 화합물 1-4의 IL-6 유리량은 각각 115±10.02, 134.0±5.43, 113.2±6.9, 167.0±12.73 pg/ml로 나타났다. 이들 결과로부터 화합물 1-4의 IL-6 유리(%)는 69.2±6.01, 80.4±3.25, 67.8±4.13, 100±10.67%로 각각 나타나 화합물 4는 전혀 활성이 없으며 화합물 1-3은 약한 IL-6 유리 저해활성을 나타내는 것으로 관찰되었다.

사 사

NMR 측정에 도움을 주신 한국기초과학지원연구원 광주 분소에 감사드립니다.

참고문헌

1. 이창복 (1980) 대한식물도감, p. 738. 향문사, 서울.
2. 배기환 (1999) 원색도감. 한국의 자연시리즈 13 한국의 약용식물, p. 492. 교학사, 서울.
3. Chung, D. K. (1978) Studies on the development of anticarcinomatous resources chemical constituents of the root of *Aster divaricatus* L. *Kor. J. Pharmacogn.* **9**: 73-75.
4. Cheng, D. L., and Shao, Y. (1994) Terpenoid glycosides from the roots of *Aster tataricus*. *Phytochemistry* **35**: 173-176.
5. Cheng, D. L., Shao, Y., Hartmann, R., Roeder, E., and Zhao, K. (1996) New pentapeptides from *Aster tataricus*. *Phytochemistry* **41**: 225-227.
6. Nagao, T., Okabe, H., and Yamauchi, T. (1990) Studies on the constituents of *Aster tataricus* L. III. Structures of Aster saponins E and F isolated from the root. *Chem. Pharm. Bull.* **38**: 783-785.
7. Chang, S. W., Beak, S. H., Kim, C. H. and Lim, S. S. (2002) Interleukin-6 and interleukin-10 in experimentally induced rat inflammation. *대한치과보존학회지* **27**: 232-238.
8. Mysliwiec, J., Kretowski, A., Topolska, J., Stepien, A. and Kinalska, I. (2002) The influence of corticosteroids on IL-6/IL-6R system in patients with Graves' ophthalmopathy. *Pol. Arch. Med. Wewn.* **108**: 739-744.
9. Piao, M. S., Kim, M. R., Lee, D. G., Park, Y.-K., Hahn, K.-S., Moon, Y. H. and Woo, E.-R. (2003) Antioxidative constituents from *Buddleia officinalis*. *Arch. Pharm. Res.* **26**: 453-457.
10. Kirby, A. J. and Schmidt, R. J. (1997) The antioxidant activity of chinese herbs for eczema and of placebo herbs-I. *J. Ethnopharmacol.* **56**: 103-108.
11. Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D. A., Monks, A., McMahon, J., Vistica, D., Warren, J. T., Bokesch, H. and Kenny, S. (1990) A new colorimetric cytotoxicity assay for anticancer drug screening. *J. Natl. Cancer Inst.* **82**: 1107-1112.
12. Rubinstein, L. V., Shoemaker, R. H., Paul, K. D., Simon, R. M., Tosini, S., Skehan, P., Scudiero, D. A. and Monks, A. (1990) Comparison of *in vitro* anticancer-screening data generated with a terazolium assay versus a protein assay against a diverse panel of human tumor cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.* **82**: 1113-1118.
13. Monks, A., Scudiero, D., Cronise, P., Vaigro-Wolff, A., Goodrich, M. G., Campbell, H., Mayo, J. and Boyd, M. (1991) Feasibility of a high flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell line. *J. Natl. Cancer Inst.* **83**: 757-767.
14. Joo, S. S., Kang, H. C., Lee, M. W., Choi, Y. W. and Lee, D. I. (2003) Inhibition of IL-6 in osteoblast-like cell by isoflavones extracted from *Sophorae fructus*. *Arch Pharm. Res.* **26**: 1029-1035.
15. Liu, Q. H., Jeong, J.-E., Choi, E. J., Moon, Y. H. and Woo, E.-R. (2006) A new furofuran lignan from *Geranium thunbergii*. *Arch. Pharm. Res.* **29**: 1109-1112.
16. Markham, K. R. and Wallace, J. W. (1980) C-glycosylxanthone and flavonoid variation with in the Filmy-Ferns (hypomenophyllaceae). *Phytochemistry* **19**: 415-421.
17. Kim, M. J. (2001) Chemical constituents and biological activities from the leaves and stem of *Prunus persica* (L.) Batsh. College of Pharmacy, Chungbuk National University, Ph. D. thesis p 28-29, 31.
18. Peng, Z. F., Strack, D., Baumert, A., Subramaniam, R., Goh, N. K., Chia, T. F., Tan, S. N. and Chia, L. S. (2003) Antioxidant flavonoids from leaves of *Polygonum hydropiper* L. *Phytochemistry* **62**: 219-228.
19. Crublet, M.-L., Long, C., Sevent, J., Hadi, H. A. and Lavaud, C. (2003) Acylated flavonol glycosides from leaves of *Planchonia grandis*. *Phytochemistry* **64**: 586-589.
20. Nagao, T., Okabe, H. and Yamauchi, T. (1998) Studies on the constituents of *Aster tataricus* L., f. I. structures of shionosides A and B, monoterpene glycosides isolated from the root. *Chem. Pharm. Bull.* **36**: 571-577.
21. Pietta, P. G. (2000) Flavonoids antioxidants. *J. Nat. Prod.* **63**: 1035-1042.

(2009년 5월 22일 접수)