

마타리 뿌리로부터 분리한 Lignan 화합물의 IL-6 저해활성

최은진 · 김청룡 · 신지은 · 김현규* · 김정진* · 우은란[#]

조선대학교 약학대학, *HL 지노믹스(주)

(Received April 22, 2009; Revised May 10, 2009; Accepted May 20, 2009)

Lignans Isolated from the Roots of *Patrinia scabiosaefolia* F. and their IL(Interleukin)-6 Inhibitory Activity

Eun Jin Choi, Qinglong Jin, Ji Eun Shin, Hyun-Gyu Kim*, Jung Jin Kim* and Eun-Rhan Woo[#]

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

*HL Genomics Co., Kyungi-do 408-20, Korea

Abstract — In an ongoing investigation into anti-inflammatory compounds from natural products, the CH₂Cl₂ soluble fraction of *Patrinia scabiosaefolia* F. (Valerianaceae) was found to inhibit IL-6 production in TNF- α stimulated MG-63 cell line. By means of a bioassay-directed chromatographic separation technique, lappaol E (**1**), and nortrachelogenin (**2**) were isolated. These compounds have been isolated from this plant for the first time. Compounds **1**~**2** showed potent antioxidative activity using NBT superoxide scavenging assay. Moreover, compound **1** decreased IL-6 production in TNF- α stimulated MG-63 cell line.

Keywords □ lappaol E, nortrachelogenin, IL (interleukin)-6, anti-inflammatory activity, antioxidative, *Patrinia scabiosaefolia* F.

마타리(*Patrinia scabiosaefolia* F.)는 마타리과에 속하는 여러해살이풀로서 개화기는 7월~8월이고 우리나라, 일본, 타이완, 중국, 시베리아 동부 등지에 분포하며 산이나 들에서 자란다.¹⁻³⁾ 성분은 전초의 경우 주로 정유가 함유되어 있고 뿌리와 근경에는 다량의 정유성분, iridoid, saponin, coumarin이 함유되어 있다.^{4,12)} 본 연구에서는 마타리의 정유성분에 기인하는 진정 최면작용 이외의 생리활성에 대한 탐색을 위해 마타리 뿌리의 MeOH 추출물 및 용매분획에 의해 얻어진 CH₂Cl₂, EtOAc, *n*-BuOH 및 H₂O 분획에 대해 NBT assay를 통한 항산화 활성, MG-63 세포주를 이용한 TNF- α 에 의해 유도된 IL-6 유리 저해활성을 검색하였다. 그 결과 마타리 뿌리로부터 얻은 CH₂Cl₂ 분획이 항산화 활성 및 IL-6 저해활성을 가진 것으로 나타났고, 이를 바탕으로 CH₂Cl₂ 분획에 대한 활성 지향 정제를 실시하였다. IL(interleukin)-6는 cytokine 일종의 단백질 그룹으로 일부는 림프구 계통의 세포가 성장하여 면역조정 역할을 하며 조절작용을 조절한다. 대부분의 cytokine은 표적세포의 세포표면 수용기를 통하여 작용

하고 호르몬과 유사하며 항세포 증식 작용, 항미생물 작용, 항종양 작용 등이 있어 감염, 염증, 자가면역 질환, 종양치료제로 사용되고 있다.^{13,14)} 세포는 TNF- α 에 의해서 상해를 받게 되고 이때 IL-6가 세포 밖으로 방출되게 되는데 본 실험에서는 MG-63 세포를 이용하여 마타리 뿌리로부터 분리한 화합물들이 IL-6의 유리에 어떠한 영향을 미치는가와 NBT assay를 통한 항산화 활성을 검토하였기에 이에 보고하고자 한다.

실험방법

실험재료

본 실험에 사용한 마타리(*Patrinia scabiosaefolia* F.)뿌리는 조선대 약초원에서 채집하여 정확히 감정한 후 사용하였고 자료의 일부는 표준품(CU-958)으로 조선대학교 약학대학 표본실에 보관하고 있다.

시약 및 기기

용접측정기는 Fisher Scientific(Model 307N0043, Canada)를 사용하였고 선광도는 AUTOPOL IV automatic polarimeter (Rudolph Research Flangers, NJ 07836)를 사용하였으며, IR

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 062-230-6369 (팩스) 062-222-5414
(E-mail) woer@chosun.ac.kr

스펙트럼은 JASCO FT/IR-300E(JASCO Co., Japan)를 사용하였다. $^1\text{H-NMR}$ 과 $^{13}\text{C-NMR}$ 는 VARIAN Unity Inova 500 및 JEOL JNM-LA 300을 사용하였다. 분취용 column chromatography의 packing material로는 Kieselgel 60(230-400 mesh, ASTM, Art. 7734, Merck), Kieselgel 60(40~60 μm , Art. 9385, Merck), LiChroprep RP-18(40~63 μm , L610400 138, Merck)을 사용하였다. Thin layer chromatography용 plate는 precoated silica gel 60 F₂₅₄ plate(layer thickness 0.25 mm, 20*20 cm, Art. 5715, Merck)를 사용하였으며 추출 및 컬럼 크로마토그래피용 용매는 1급 시약을 기타 시약은 1급 또는 특급을 각각 사용하였으며 발색 시약으로는 10% H_2SO_4 를 사용하였다.

추출 및 분리

음건한 마타리(*Patrinia scabiosaefolia* F.)뿌리 1 kg을 MeOH 9 L로 80°C에서 3시간 동안 3회에 걸쳐 진탕하면서 추출한 후 여과, 감압 농축하여 151.1 g의 MeOH extract를 얻었다. 이를 증류수로 현탁하고 CH_2Cl_2 , EtOAc, *n*-butanol 순서로 분획하였다. 항산화 활성을 나타낸 CH_2Cl_2 분획 10 g을 실리카젤을 이용하여 컬럼 크로마토그래피를 실시하였다. 용매는 hexane : acetone = 10 : 1을 이용하여 용출시키고 각각의 분획들을 TLC pattern에 따라 유사한 것들을 합쳐 16개의 sub-fraction을 얻었다. Sub-fr. D14에 대해서 실리카젤을 이용하여 hexane : acetone = 5 : 1의 용매조건에서 컬럼 크로마토그래피를 실시한 후 RP-18을 이용하여 MeOH : H_2O = 2 : 1 용매조건에서 column chromatography를 실시하여 화합물 1(10 mg)을 얻었다. 화합물 1은 UV 254 nm에서 흡수가 있었으며 10% 황산용액에서 옅은 붉은 빛으로 발색된 후 노란색으로 변화 발색되었다. Sub-fr. D15에 대해서 실리카젤을 이용하여 Chloroform : MeOH = 50 : 1의 용매조건에서 컬럼 크로마토그래피를 실시한 후 RP-18을 이용하여 MeOH : H_2O = 2 : 1을 용매로 하여 화합물 2(10 mg)를 얻었다. 화합물 2는 UV 254 nm에서 흡수가 있었으며 10% 황산용액에서 옅은 노란색으로 발색되었다.

화합물 1

Yellowish oil, $[\alpha]_D^{20} = -26.56^\circ$ (C, 1.0 in CHCl_3); IR V_{max} (KBr) cm^{-1} : 3430, 1760, 1600, 850, 810; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.40(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2), 6.88(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5), 6.49(1H, dd, $J=8.0, 2.0$ Hz, H-6), 2.53(1H, dd, $J=7.0, 2.0$ Hz, H-7), 2.59(1H, dd, $J=13.5, 7.0$ Hz, H-7), 2.44(1H, m, H-8), 6.59(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2'), 6.61(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5'), 6.80(1H, dd, $J=8.0, 2.0$ Hz, H-6'), 2.85(1H, dd, $J=14.0, 7.0$ Hz, H-7'), 2.93(1H, dd, $J=14.0, 5.0$ Hz, H-7'), 2.56(1H, m, H-8'), 3.88(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-9'), 4.23(1H, dd, $J=9.0, 7.5$ Hz, H-9'), 6.78(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2''), 6.78(1H, d,

$J=8.0$ Hz, H-5''), 6.82(1H, dd, $J=8.0, 2.0$ Hz, H-6''), 4.73(1H, d, $J=4.5$ Hz, H-7''), 3.08(1H, dd, $J=6.5, 4.5$ Hz, H-8''), 3.86(1H, d, $J=3.5$ Hz, H-9''), 4.13(1H, dd, $J=9.5, 7.0$ Hz, H-9''), 3.82(3-OCH₃), 3.81(3'-OCH₃), 3.90(3''-OCH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 129.8(C-1), 110.9(C-2), 146.7(C-3), 144.4(C-4), 114.1(C-5), 121.3(C-6), 38.3(C-7), 41.0(C-8), 178.7(C-9), 129.5(C-1'), 122.1(C-2'), 146.6(C-3'), 144.5(C-4'), 111.5(C-5'), 114.4(C-6'), 34.6(C-7'), 46.6(C-8'), 71.3(C-9'), 132.9(C-1''), 108.6(C-2''), 145.2(C-3''), 146.7(C-4''), 114.3(C-5''), 118.4(C-6''), 85.9(C-7''), 54.2(C-8''), 71.7(C-9'') 55.8(3-OCH₃), 55.8(3'-OCH₃), 55.9(3''-OCH₃).

화합물 2

Yellowish oil, $[\alpha]_D^{25} = -29.3^\circ$ (C, 1.1 in CHCl_3); IR V_{max} (KBr) cm^{-1} : 3430, 1760; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.69(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2), 6.84(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5), 6.62(1H, dd, $J=8.0, 2.0$ Hz, H-6), 2.52(1H, m, H-7), 2.92(1H, dd, $J=8.5, 2.5$ Hz, H-7), 2.50(1H, m, H-8), 3.98(1H, dd, $J=15.0, 8.0$ Hz, H-9), 4.02(1H, dd, $J=15.0, 8.0$ Hz, H-9), 6.60(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2'), 6.82(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5'), 6.63(1H, dd, $J=8.0, 2.0$ Hz, H-6'), 2.91(1H, d, $J=14.0$ Hz, H-7'), 3.08(1H, d, $J=14.0$ Hz, H-7'), 3.85(3-OCH₃), 3.84(3'-OCH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 130.3(C-1), 112.7(C-2), 146.6(C-3), 145.0(C-4), 114.5(C-5), 123.1(C-6), 31.6(C-7), 43.8(C-8), 70.1(C-9), 126.0(C-1'), 111.5(C-2'), 146.6(C-3'), 144.3(C-4'), 114.5(C-5'), 121.5(C-6'), 42.1(C-7'), 76.4(C-8'), 178.4(C-9'), 56.0(3-OCH₃), 55.9(3'-OCH₃).

NBT superoxide scavenging assay

NBT superoxide scavenging assay는 조금 수정된 방법을 사용하였다.¹⁵⁾ 15 mM Na_2EDTA (50 mM $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{KOH}$ pH 7.4 in D.W.) 용액 20 μl , 0.6 mM NBT 용액 50 μl , 50 mM KOH에 녹인 3 mM hydroxanthine 30 μl 를 취한 다음 일정농도로 녹인 시료 100 μl 를 첨가한다. 여기에 xanthine oxidase(1 unit in 10 ml buffer)용액 50 μl 를 넣은 후 25°C incubator 안에서 30분 동안 반응을 시킨 다음 570 nm에서 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.

MG-63 세포에서 IL-6의 저해활성^{16,17)}

세포주는 10% FBS가 포함된 DMEM 배지를 사용하여 37°C,

5% CO₂ incubator에서 culture dish에 증식한 후 하루 동안 배양하고 배지를 교체하였다. 여기에 TNF- α 와 세포독성이 없는 농도의 시료를 처리한 후 37°C incubator에서 배양한 후 24시간과 48시간 뒤 각각 70 μ l씩 배지를 채취하여 냉동 보관하였다. 96 well plate에 1차 antibody 100 μ l(anti-human IL-6, 2 μ g/ml in 0.1 M NaHCO₃)을 넣은 후 4°C에서 overnight하여 1차 antibody가 96 well plate에 부착되도록 하였다. 결합되지 않은 1차 antibody를 씻어 내기 위해 washing solution (0.05% Tween 20 in PBS 100 μ l로 3번 씻어낸 후 blocking solution(3% BSA in PBS) 200 μ l를 처리하고 실온에서 2시간 동안 방치한 후 washing solution 200 μ l로 2번 씻어냈다. 위에서 24시간 후와 48시간 후에 채취한 배양액 50 μ l와 blocking solution 50 μ l를 넣어 실온에서 4시간 또는 4°C에서 overnight 하여 1차 antibody와 결합하도록 하였다. 100 μ l washing solution으로 4번 세척한 후 100 μ l의 2차 antibody (biotin conjugated rat anti-human IL-6 1 μ g/ml in blocking sol.)를 첨가하여 45분 동안 결합시킨 뒤 결합되지 않은 2차 antibody를 100 μ l의 washing solution으로 6번 세척하여 씻어냈다. 100 μ l streptavidin HRP(sol. 0.1% BSA, 0.05% Tween in tris buffered saline pH 7.3)를 첨가하여 20분 동안 결합시킨 뒤 washing solution으로 6번 세척하였다. TMB (Tetra Methyl Benzidine) 100 μ l를 넣어 발색시킨 즉시 micro plate reader를 사용하여 450 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. IL-6의 저해활성은 Inhibition(%)=(A-B)/A \times 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.

실험결과 및 고찰

화합물 1은 황색 오일상 물질로 $[\alpha]_D^{20}$ 는 -26.56로 측정되었고, IR spectrum 에 나타난 3430 cm⁻¹의 흡수피크로 OH 피크를, 1760 cm⁻¹의 흡수피크로 γ -lactone기가 존재함을 확인하였다. ¹H-NMR spectrum 에서 δ 6.40~6.89에 특징적인 3개의 1,3,4-trisubstituted aromatic ring에 기인하는 9개의 proton 피크가 δ 3.81, 3.82, 3.90에 각각 3개의 methoxyl 피크가 관찰되었다. δ 3.88(1H, d, J=2.0 Hz, H-9), δ 3.08(1H, dd, J=6.5, 4.5 Hz, H-8"), 4.73(1H, d, J=4.5 Hz, H-7")에 oxygenated proton이 관찰되었고 δ 2.53, 2.59, 2.85, 2.93에 methylene proton이 관찰되어 이 화합물은 butyrolactone 형태의 sesquignan으로 추측되었다. 한편 ¹³C-NMR spectrum에서 δ 178.7에 C-9의 카르보닐기가 δ 71.3, 71.7에 C-9, C-9"에 기인하는 oxygen bearing methylene carbon 피크가 관찰되었고 δ 129.8, 110.9, 146.7, 144.4, 114.1, 121.3, 129.5, 122.1, 146.6, 144.5, 111.5, 114.4, 132.9, 108.6, 145.2, 146.7, 114.3, 118.4에서 3개의 aromatic

Table I – Antioxidative activity of compounds 1~2 isolated from *P. scabiosaefolia*

Compunds	EC ₅₀ (μ g/ml)
Lappaol E (1)	10.7
Nortrachelogenin (2)	13.1
Allopurinol	1.7

*Used as a positive control

ring에 기인하는 피크가 관찰되었다. 또한 δ 38.3, 34.6에 C-7, C-7"에 기인하는 methylene carbon 피크가 관찰되었다. δ 85.8에 C-7"에 기인하는 oxymethine carbon 피크가 관찰되었으며, δ 41.0, 46.6, 54.2에 C-8, C-8', C-8"에 기인하는 methine carbon 피크가 관찰되었다. 이상의 분광학적인 결과 및 문헌상에 나타난 data와의 비교를 통해 화합물 1은 butyrolactone sesquignan인 lappaol E로 동정하였으며,¹⁸⁻²² 마타리 뿌리로부터 처음으로 분리된 화합물이다.

화합물 2는 황색오일상 물질로 $[\alpha]_D^{25}$ 는 -29.3로 측정되었다. IR spectrum에서 3430 cm⁻¹의 흡수피크로 OH 피크를, 1760 cm⁻¹의 흡수피크로 γ -lactone기가 존재함을 확인하였다. ¹H-NMR spectrum에는 δ 6.60~6.84에서 특징적인 2개의 1,3,4-trisubstituted aromatic ring 에 기인하는 6개의 proton 피크가 관찰되었고 또한 δ 3.84, 3.85에서 methoxy기에 기인하는 피크가 관찰되었다. δ 2.52~3.08에 H-7, H-7"에 기인하는 methylene 피크가 관찰되었고 δ 3.98(1H, dd, J=15.0, 8.0 Hz), 4.02(1H, dd, J=15.0, 8.0 Hz)에 H-9에 기인하는 oxygen bearing methylene 피크가 관찰되었으며 δ 2.50에 H-8"에 기인하는 methine 피크가 관찰되었다. ¹³C-NMR spectrum에서 δ 178.4에 C-9에 기인하는 카르보닐기가 관찰되었고 δ 130.3, 112.7, 146.6, 145.0, 114.5, 123.1, 126.0, 111.5, 146.6, 144.3, 114.5, 121.5에 2개의 aromatic ring 에 기인하는 피크가 나타났으며, δ 55.8, 55.9에 methoxy기에 기인하는 피크가 관찰되었다. 한편 δ 31.6, 42.1에 C-7, C-7"에 기인

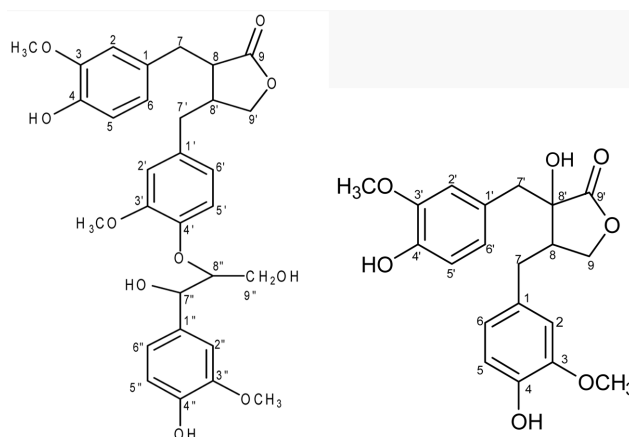


Fig. 1 – Chemical structure of compounds 1~2 isolated from *P. scabiosaefolia*.

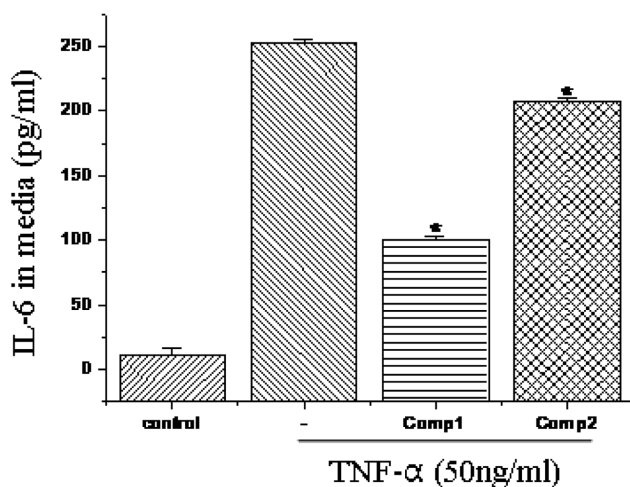


Fig. 2 – Inhibitory activity of compounds 1~2 on IL-6 production from TNF- α stimulated MG-63 cell. MG-63 (3×10^4 cells/well) was incubated for 24h. Cultures were incubated with TNF- α and DMSO with or without compounds for 24 h. IL-6 in the supernatant was measured by ELISA as described in Materials and Methods. Results are expressed as the mean \pm S.E. from three separate experiments. * $p < 0.05$ compared with TNF- α treated value.

하는 methylene carbon 피크가 관찰되었고 $\delta 70.1$ 에 C-9에 기인하는 oxygen bearing methylene carbon 피크가 관찰되었으며 $\delta 76.4$ 에 C-8'에 기인하는 피크가 $\delta 43.0$ 에 C-8에 기인하는 피크가 각각 관찰되었다. 이상의 결과 및 문헌상의 data와의 비교를 통해 화합물 2는 dibenzylbutyrolactone 인 nortrachelogenin으로 동정하였으며,²³⁻²⁷ 마타리 뿌리로부터 처음으로 분리된 화합물이다.

화합물 1~2에 대해 NBT superoxide scavenging assay를 이용한 항산화활성을 검색한 결과 화합물 1~2의 EC₅₀는 각각 10.7, 13.1 $\mu\text{g/ml}$ 로 강한 활성을 나타냈으며 이는 aromatic ring 및 화합물에 존재하는 OH기가 활성발현에 중요한 역할을 하는 것으로 추정된다.²⁸⁾

또한 화합물 1~2에 대해 MG-63 세포에서 IL-6의 유리(%)를 검토한 결과 화합물 1~2의 IL-6의 유리(%)는 각각 66.1 ± 2.5 , 18.7 ± 8.3 로 나타나 화합물 1은 MG-63 세포로부터 IL-6의 유리를 현저히 감소시키는 것으로 관찰되었다.

결 론

마타리 뿌리로부터 얻은 메틸렌크로라이드 분획에 대한 컬럼 크로마토그래피를 실시하여 화합물 1(lappaol E), 2(nortrachelogenin)를 분리하여 구조를 규명하였고 이 화합물은 마타리 뿌리로부터는 처음으로 분리된 화합물이었다. 활성검색결과 화합물 1~2는 강한 항산화활성을 나타냈고 화합물 1은 TNF- α 로 유도

한 MG-63 세포에서 IL-6 분비 저해활성을 나타냈다.

감사의 말씀

본 연구결과는 HL 지노믹스(주)의 일부 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드리고 NMR 측정에 도움을 주신 한국 기초과학지원연구원 광주분소에도 감사드립니다.

참고문헌

- 1) 김태정 : 한국의 자원도감 식물IV, 서울대학교 출판부, p.156 (1996).
- 2) 배기환 : 한국의 약용식물, 교학사, p.475 (2000).
- 3) 이창복 : 대한식물도감, 향문사 p.714 (1980).
- 4) Kang, S. S. and Kim, J. S. : A Triterpenoid sapoin from *Patrinia scabiosaefolia*. *J. Nat. Prod.* **60**, 1060 (1997).
- 5) Kouno, I., Koyama, I., Jiang, Z.-H., Tanaka, T. and Yang, D.-M. : Patrinioside, an esterified monocyclic iridoid glucoside from *Patrinia scabra*. *Phytochemistry* **40**, 1567 (1995).
- 6) Kouno, I., Yasuda, I., Mizoshiri, H., Tanaka, T., Marubayashi, N. and Yang, D.-M. : Two new iridolactones and their glycosides from the root of *Patrinia scabra*. *Phytochemistry* **37**, 467 (1994).
- 7) Larchenko, V. A., Fursa, N. S. and Drozd, G. A. : A new antibiotic sesquiterpenoid from *Collybia confluens*. *Khim. Prir. Soedin.* **50**, 852 (1979).
- 8) Bagchi, A., Oshima, Y. and Hikino, H. : Iridoid of *Randia ruiziana*. *Plant. Med.* **54**, 87 (1988).
- 9) Boros, C. A., Stermitz, F. R. and Harris, G. H. : Iridoid glycosides and a pyridine monoterpene alkaloid from *Orthocarpus*, new artifactual iridoid dienals. *J. Nat. Prod.* **53**, 72 (1990).
- 10) Kamel, M. S., Mohamed, K. M., Hassanean, H. A., Ohtani, K., Kasai, R. and Yamasaki, K. : Iridoid and megastigmane glucoside from *Phlomis aurea*. *Phytochemistry* **55**, 353 (2000).
- 11) Woo, W. S., Choi, J. S. and Seligmann, O. : Sterol and triterpenoid glycosides from the roots of *Patrinia scabiosaefolia*. *Phytochemistry* **22**, 1045 (1983).
- 12) An, R. B., Min, B. S., Na, M. K. and Bea, K. H. : Iridoid esters from *Patrinia scaniculaefolia*. *Chem. Pharm. Bull.* **51**, 583 (2006).
- 13) Hirano, T., Akira, S., Taga, T. and Kishimoto, T. : Biological and clinical aspects of interleukin 6. *Immunol. Today* **11**, 443 (1990).
- 14) Van Damme, J., Opdenakker, G., Simpson, R. J., Rubira, M. R., Cayphas, S., Vink, A., Billiau, A. and Van Snick, J. : Identification of the human 26-kD protein, interferon beta 2 (IFN-beta 2), as a B cell hybridoma/plasmacytoma growth factor induced in interleukin 1 and tumor necrosis factor. *J.*

- Exp. Med.* **165**, 914 (1987).
- 15) Kirby, A. J. and Schmidt, R. J. : The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and of placebo herbs - I. *J. Ethnopharmacol.* **56**, 103 (1997).
 - 16) Cai, X. F., Shen, G., Dat, N.T., Kang, O. H., Kim, J. A., Lee, Y. M., Lee, K. J. and Kim, Y. H. : Inhibitory effect of TNF- α and IL-8 secretion by pimarane-type diterpenoids from *Acanthopanax koreanum*. *Chem. Pharm. Bull.* **51**, 605 (2003).
 - 17) Kim, B. H., Chung, E. Y., Ryu, J.-C., Jung, S.-H., Min, K. R. and Kim, Y. : Anti-inflammatory mode of isoflavone glycosides sophoricoside by inhibition of interleukin-6 and cyclooxygenase-2 in inflammatory response. *Arch. Pharm. Res.* **26**, 306 (2003).
 - 18) Warashina, T., Nagatani, Y. and Noro, T. : Further constituents from the bark of *Tabebuia impetiginose*. *Phytochemistry* **66**, 589 (2005).
 - 19) Ichihara, A., Numata, Y., Kanai, S. and Sakamura, S. : New sesquilignans from *Arctium lappa* L. The structure of Lappaol C, D and E. *Agric. Biol. Chem.* **41**, 1813 (1977).
 - 20) Ichihara, A., Numata, Y., Kanai, S. and Sakamura, S. : Structures of Lappaol F and H, dilignans from *Arctium lappa* L. *Tetrahedron Letters.* **33**, 3035 (1978).
 - 21) Ichihara, A., Oda, K., Numata, Y. and Sakamura, S. : Lappaol A and B, novel lignans from *Arctium lappa* L. *Tetrahedron Letters.* **44**, 3961 (1976).
 - 22) Ichihara, A., Nakamura, Y., Kawgishi, H. and Sakamura, S. : Stereochemistry of Lappaol, A and F. *Tetrahedron Letters.* **39**, 3735 (1979).
 - 23) Ichihara, A., Kanai, S., Nakamura, Y. and Sakamura, S. : Structure of Lappaol F and H, dilignans from *Arctium lappa* L. *Tetrahedron Letters.* **33**, 3035 (1978).
 - 24) Park, S. Y., Hong, S. S., Han, X. H., Hwang, J. S., Lee, D. H. Ro, J. S. and Hwang, B. Y. : Lignans from *Arctium lappa* and their Inhibition of LPS-Induced nitric oxide production. *Chem. Pharm. Bull.* **55**, 150 (2007).
 - 25) Ichihara, A., Numata, Y., Kanai, S. and Sakamura, S. : New sesquilignans from *Arctium lappa* L. The Structure of Lappaol C, D and E. *Agric. Biol. Chem.* **41**, 1813 (1977).
 - 26) Wang, L.-Y., Noriko, U. and Kitanaka, S. : Lignans from roots of *Wikstroemia indica* and their DPPH radical scavenging and nitric oxide inhibitory activities. *Chem. Pharm. Bull.* **53**, 1348 (2005).
 - 27) Li, N., Wu, J. L., Hasegawa, T., Sakai, J., Wang, L. Y. and KaKuta, S. : Bioactive dibenzylbutyrolactone and dibenzylbutanediol lignans from *Peperomia duclouxii*. *J. Nat. Prod.* **66**, 234 (2006).
 - 28) Han, S.-H., Lee, H.-H., Lee, I.-S., Moon, Y. H. and Woo, E.-R. : A new phenolic amide from *Lycium chinense* Miller. *Arch. Pharm. Res.* **25**, 433 (2002).