



[UCI]I804:24011-200000265363



2016년 2월 박사학위논문

상백피의 식물화학적 성분과 항염증 활성 연구

조선대학교 대학원

약 학 과

장 영 수



상백피의 식물화학적 성분과 항염증 활성 연구

Phytochemical constituents and their anti-inflammatory activities of Mori Radicis Cortex

2016년 2월 25일

조선대학교 대학원

약 학 과

장 영 수





상백피의 식물화학적 성분과 항염증 활성 연구

Phytochemical constituents and their anti-inflammatory activities of Mori Radicis Cortex

지도교수 우 은 란

이 논문을 박사학위신청 논문으로 제출함

2015년 10월

조선대학교 대학원

약 학 과

장 영 수





장영수의 박사학위논문을 인준함

위원	[]] 장	전남대학교 교	수	<u>이 익 수 (인)</u>
위	원	조선대학교 교	수	<u>유진철 (인)</u>
위	원	조선대학교 교	수	<u>홍 준 희 (인)</u>
위	원	목포대학교 교	수	<u>김 현 정 (인)</u>
위	원	조선대학교 교	수	<u>우은란 (인)</u>

2016년 2월

조선대학교 대학원





Contents

Contents	I
List of SchemesI	
List of TableI	
List of Figures ······I	۷
Abstract ····································	/

I.서 론 ···································
비.실 험
1. 실험재료4
2. 시약 및 기기
2-1. 시약4
2-2. ارار 5
3. 화합물의 분리
3-1 상백피의 성분6
3-1-1. 추출 및 분획6
3-1-2. 상백피 EtOAc 분획으로부터 화합물의 분리6
3-1-3 상백피 EtOAc 분획으로부터 얻은 화합물
3-1-4. 상백피 CH ₂ Cl ₂ 분획으로부터 화합물의 분리
3-1-5. 상백피 CH₂Cl₂ 분획으로부터 얻은 화합물
4. 항염증활성 ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
4-1. MG-63 cell line에서 hlL-6의 유리 확인





Ⅲ. 결과 및 고찰
1. Compound 1 의 구조 ···································
2. Compound 2 의 구조 ···································
3. Compound 3 의 구조 ······23
4. Compound 4 의 구조 ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
5. Compound 5 의 구조 ······23
6. Compound 6 의 구조 ······24
7. Compound 7 의 구조 ······24
8. Compound 8 의 구조 ·····24
9. Compound 9 의 구조 ······25
10. Compound 10 의 구조 ······25
11. Compound 11 의 구조 ·····26
12. Compound 12 의 구조 ·····26
13 Compound 13 의 구조 ·····26
14. Compound 14 의 구조 ·····27
15. Compound 15 의 구조 ·····27
16. Compound 16 의 구조 ·····28
17. Compound 17 의 구조 ·····28
18. 항염증활성
18-1. MG-63에서 IL-6의 유리 확인
Ⅳ. 결 론 ··································
V. 참고 문 헌 ··································
APPENDIX





List of Schemes

Scheme	Ι.	Extraction	and	fractiona	tion o	of MeC)Hextr	act from	Mor	i Rad	icis
		Cortex····	•••••	•••••	•••••	•••••	•••••	••••••	••••	•••••	6
Scheme	11.	Isolation	of	compounds	1–8	from	Et0Ac	extract	of	Mori	Radicis
		Cortex	•••••		•••••	•••••	•••••	•••••	•••••	•••••	7
Scheme	III .	Isolation	of	compounds	9-12	from	Et0Ac	extract	of	Mori	Radicis
		Cortex	••••	•••••	•••••	•••••	•••••		•••••	•••••	
Scheme	IV.	lsolation of	of c	ompound 13	from	CH ₂ CI	2 extra	ct of Mo	ri F	Radici	S
		Cortex	•••••			•••••					16

List of Table

Table	1.	Inhibit	ory	effect	of	compounds	1-11	against	IL-6	production	in
		TNF- α	sit	imulated	I MG-	-63 cells	•••••			•••••	33





List of Figures

Fig.	1.	Structures of compounds 1-17 isolated from
		Mori Radicis Cortex
Fig.	2.	Inhibitory effect of compounds 1-11 against IL-6 production in TNF-
		α sitimulated MG-63 cells ···································
Fig.	3.	¹ H-NMR spectrum of compound 1 42
Fig.	4.	¹³ C-NMR spectrum of compound 1 43
Fig.	5.	¹ H-NMR spectrum of compound 2 44
Fig.	6.	¹³ C-NMR spectrum of compound 2
Fig.	7.	¹ H-NMR spectrum of compound 3 46
Fig.	8.	¹³ C-NMR spectrum of compound 3 47
Fig.	9.	¹ H-NMR spectrum of compound 4 48
Fig.	10.	¹³ C-NMR spectrum of compound 4 49
Fig.	11.	¹ H-NMR spectrum of compound 5 50
Fig.	12.	¹³ C-NMR spectrum of compound 5 51
Fig.	13.	¹ H-NMR spectrum of compound 6 52
Fig.	14.	¹³ C-NMR spectrum of compound 6 53
Fig.	15.	¹ H-NMR spectrum of compound 754
Fig.	16.	¹³ C-NMR spectrum of compound 7 55
Fig.	17.	¹ H-NMR spectrum of compound 8 56
Fig.	18.	¹³ C-NMR spectrum of compound 8 57
Fig.	19.	¹ H-NMR spectrum of compound 9 58
Fig.	20.	¹³ C-NMR spectrum of compound 9 59
Fig.	21.	¹ H-NMR spectrum of compound 10 60
Fig.	22.	¹³ C-NMR spectrum of compound 10 61
Fig.	23.	¹ H-NMR spectrum of compound 11 62
Fig.	24.	¹³ C-NMR spectrum of compound 11 63
Fig.	25.	¹ H-NMR spectrum of compound 12 64





Fig.	26.	¹³ C-NMR spectrum of compound 12	
Fig.	27.	¹ H-NMR spectrum of compound 13	
Fig.	28.	$^{\rm 13}{\rm C-NMR}$ spectrum of compound 13	
Fig.	29.	¹ H-NMR spectrum of compound 14	68
Fig.	30.	$^{\rm 13}\text{C-NMR}$ spectrum of compound 14	69
Fig.	31.	¹ H-NMR spectrum of compound 15	70
Fig.	32.	$^{\rm 13}\text{C-NMR}$ spectrum of compound 15	71
Fig.	33.	¹ H-NMR spectrum of compound 16	
Fig.	34.	$^{\rm 13}{\rm C-NMR}$ spectrum of compound 16	73
Fig.	35.	¹ H-NMR spectrum of compound 17	
Fig.	36.	$^{\rm 13}\text{C-NMR}$ spectrum of compound 17	75





Abstract

Phytochemical constituents and their anti-inflammatory activities of Mori Radicis Cortex

> Chang Young-Su Advisor : Prof. Woo Eun-Rhan Ph.D. Department of Pharmacy, Graduate School of Chosun University

The root bark of *Morus alba* L., called "Sang-Baek-Pi" in Korea, has been used in traditional medicines for the treatment of lung-heat, cough, asthma, hematemesis, dropsy, and hypertension. Previous phytochemical investigations resulted in the isolation of polyphenolic constituents including prenylated flavonoids, benzofurans and Diels-Alder type adducts with various biological activity such as cytotoxicity, antioxidant, cancer cell invasion and migration, and hepatoprotection. In addition, the prenylated flavonoids, main constituents of this plant, have also been shown to exhibit various anti-inflammatory activities. However, the pharmacological evaluation on the minor constituents of the root of *M. alba* has not been performed in detail. because of its difficulty for the isolation and the presence of trace amount. In the present study, by means of repeated column chromatography using silica gel, Sephadex LH-20, and LiChroprep RP-18, twelve prenylated flavonoids, along with four benzofuran compounds and one triterpenoid were isolated. The structures of the known compounds were identified as kuwanon G (1), kuwanon E (2), oxyresveratrol (3), moracin M (4), mulberrofuran G (5), moracin R (6), maracin 0 (7), noratocarpanone (8), kuwanon T (9), morusin (10), mulberofuran mulberofuran B (12), α -amyrin acetate(13), sanggenon A (14), A (11). sanggenon M (15), sanggenon F (16), and sanggenol A (17), by comparing their



– VI –



spectroscopic data with those reported in the literature. Among these isolates, the inhibitory activity of eleven compounds against IL-6 production in TNF- α stimulated MG-63 cells was examined. Most of the isolated compounds showed potent inhibitory activity against IL-6 production in TNF- α stimulated MG-63 cells. This thesis reports the isolation and structural characterization of these compounds and their inhibitory activities against IL-6 production.





Ⅰ. 서론

최근 전 세계적으로 대체의학 (Complementary and Alternative Medicine; CAM)에 대한 관심이 고조되고 있는 가운데 천연물 유래의 의약 활성물질에 대한 산업이 활성 화되고 있다. 이와 같은 추세에 따라 미국의 경우 2012년에 약 50조원을, 영국은 2012 년에 약 7조원을 대체의학, 또는 천연물의약과 관련된 부분에 투자하였다. 또한 미국 의 경우, 1992년 CAM이 창립된 이후 2009년 말까지 400억 달러 시장으로 성장하였으 며, 대체요법 이용에 따른 의료비 지출도 370억 달러로 급증하였다. 일본의 경우, 천연 물신(의)약과 밀접한 관계가 있는 특정 보건용식품 시장은 2011년에 389 품목, 5,121 억 엔 규모로 알려져 있고, 유럽은 천연물 유래 의약활성물질 시장이 2012년 426억 달 러로 급성장하고 있다. 그러나 국내의 천연물소재 건강식품 시장규모는 약 2조 8천억 원에 불과하며 더구나 한약을 포함한 세계 천연물유래 의약소재 시장에서 우리나라의 점유율은 2012년도 통계에 따르면 12%에 지나지 않는다.⁽¹⁾

전체 의약품 시장의 20% 정도를 차지하는 천연물 의약품 세계시장은 최소한 16조원 이상으로 추정되고 있어 화이자, 머크, 릴리 등 다국적 제약사들의 글로벌 천연물 의약품 개발에 대한 투자가 활발한 실정이다. 덧붙여 현재 지구상 약 60%의 인구가 병의 치료 를 식물 추출물에 전적으로 의존하고 있다는 것은 천연물이 의약품 자원으로서의 중요 성을 반증하는 것이며, 또 다른 통계를 보더라도 근래 20년간 개발된 877종의 의약품 중 약 61%가 천연물, 또는 천연물을 기반으로 하는 의약품임을 감안할 때 그 중요성은 매우 높다고 하겠다. 특히 항생제의 78%, 판매고 상위 20종의 의약품 중 9종이 천연물 유래인 것만 보더라도 천연물의 의약품으로서의 중요성을 나타내고 있다.

천연물의 장점으로는 우선 다양성을 들 수 있다. 현재까지 약 14만종의 화합물이 발견되었으며 합성 의약품에 비하여 새로운 골격을 발견할 가능성이 매우 높은 것으로 평가되고 있다. 또한 이 중 약 40%는 합성으로 얻기 불가능하거나 어려운 매우 독특한 골격을 가지고 있다. 보통 천연물은 2차 대사산물로서 저분자, 지용성 화합물로 약물 이 갖추어야 할 흡수, 대사, 배설의 측면에서 drug-like한 성질을 매우 많이 지니고 있어 의약품으로 이용될 가능성이 매우 높다고 하겠다. 천연물 신약개발은 과거 인류 가 경험적으로 사용하였던 것으로부터 분리 개발하게 되므로 화학합성 신약개발에 비 해 상대적으로 독성이 적다. 일반적으로 신약개발의 실패 요인 중 13 - 25%가 독성 및



안전성 문제로 인한 것으로 판명되고 있다. 따라서 천연물 신약개발은 상대적으로 개 발 성공률이 높고 그에 따라 비용이 적게 소요될 것으로 예상된다. 현재 천연물로부 터 활성물질을 추출, 정제하여 천연물 신약 및 천연물 유래 의약품을 개발하는 연구에 세계 각국이 박차를 가하고 있으며, 천연물을 바탕으로 한 신약 및 건강기능성 제품의 개발은 미래 바이오산업으로서 중요한 위치를 차지하고 있다. 현재 동아제약의 스티렌 정, SK제약의 조인스정 외에 십 여 종의 국산 천연물신약이 상용화되고 있으나 국내의 천연물유래 신약 산업이 국제시장에 발 빠르게 참여 선점할 필요성이 인정된다. 더욱이 우리나라는 전통약물 지식분야에서 선진국과 비교하여 상대적 우위를 확보하고 있다. 이는 한국, 중국, 일본이 역사적으로 한약재를 기반으로 한 전통 치료기법이 서양보다 앞서 있으므로 천연물을 기반으로 한 의약품 개발에 장점을 갖고 있다고 하겠다. 또한 천연물로부터의 신약 개발과정은 화학합성 신약개발에 비교하여 상대적으로 개발 성공 률이 높고 비용이 적게 소모되므로 큰 제약회사가 적고 연구비가 상대적으로 외국의 대기업에 비하여 적은 우리나라의 연구 환경에 필요한 신약개발 방식이다. 즉 천연물 신약 개발은 축적된 풍부한 전통지식을 갖고 있는 우리 실정에 적합하면서도 글로벌시장에 서 우리가 가장 잘 할 수 있는 분야로 선진국 추종전략에서 벗어나 대한민국이 주도할 수 있 는 사업이라고 하겠다.⁽²⁾

이런 동향들로부터 볼 때 천연물연구는 불가피하게 되었으며 전통적으로 내려오는 다양한 민간요법, 예로부터의 경험, 철학 등을 기초로 세계적인 의약품으로 개발하기 위해서는 천연물에 대한 과학적인 연구가 더욱 철저히 진행되어야 한다. 천연물연구에 서 가장 중요한 단계로 물질분리, 정제를 통하여 천연물의 주요성분을 찾고 구조 규명 함으로서 더 나아가 각 주요성분들의 성질을 파악하고 서로 간의 상호작용의 비밀을 밝혀냄으로써 미래에는 중약탕제, 한약제제를 더욱 과학적이고 효율적으로 사용 할 수 있게 되어 전통의학의 세계화를 실현해야 한다.

위와 같은 연구 배경을 바탕으로 천연물, 특히 생약으로부터 새로운 의약품 후보물 질을 제시하고자 상백피에 대한 성분연구에 착수하였다.

상백피(mulberry root bark)는 뽕나무과(Moraceae)의 뽕나무속식물의 뿌리 껍질로, 예로부터 해열, 항알러지, 혈압강하, 소염,이뇨, 진해, 진통 등의 효능이 있는 것으로 알려져 있다.⁽³⁻⁵⁾ 동의보감에는 폐기의 숨이 찬 천만[喘滿, 숨이 차서 가슴이 몹시 헐 떡거리는 증세]과 수기부종[水氣浮腫]을 다스리고 폐의 수기를 없애주며, 수도[水道] 를 이롭게 하며, 해수와 침에 섞여 나오는 피를 다스린다고 알려져 있다. 지금까지 상 백피로부터 분리 보고된 성분으로는 isoprenylated-flavonoid 화합물인 sanggenol A,





Collection @ chosun

sanggenon N, sanggenol P 와 Diels-Alder 축합 화합물인 kuwanol A와 mulberrofuran G가 있으며, triterpenoid 화합물인 ursolic acid와 benzofuran 화합물인 moracin 0와 moracinM 등이 있다.⁽⁶⁻⁸⁾ 상백피의 추출물 및 분리된 화합물에 대하여 미백효과 및 항 산화작용,항염증효과, 항암효과, 혈당강하 효과 등 다양한 생리활성이 있는 것으로 밝 혀지고 있다.⁽⁹⁻¹²⁾

hlL(human interleukin)-6는 cytokine 일종의 단백질 그룹으로 일부는 림프구 계통 의 세포가 생성하여 면역조정 역할을 하며 조혈작용을 조절한다. 대부분의 cytokine은 표적세포의 세포표면 수용기를 통하여 작용하며 호로몬과 유사하다. 항세포증식 작용, 항미생물 작용, 항종양 작용의 기능을 하기 때문에 감염, 염증, 자기면역질환, 종양치 료제로 사용되고 있다. 이러한 여러 기능을 가진 IL-6의 생산 조절이 잘못되면 류마티 스 관절염, 간경변, 건선 피부병, 다발설 골수종, 심장 점액종, 후천성 면역 결핍증 등의 여러 가지 자가 면역 질환을 유발하는 것으로 알려져 있다. 한편, 다발성 골수 종, 류마티스 관절염, 조기 분만 및 조기 양막파열 산모의 경우, 여러 조직에서 IL-6 가 높은 수준으로 검출 되는 것으로 보고 되었다. 또한 염증성 신경 관절 질환(관절 염, 신경통, 근육통)에 관한 많은 연구가 보고 되어졌다.⁽¹³⁻¹⁵⁾ TNF - α가 인간의 염증 성 피부질환과 관련이 있음은 이미 많이 보고되어 왔다.⁽¹⁶⁻¹⁸⁾ TNF - α는 호중성 백혈구 를 활성화 시켜 과산화수소 생성을 증가시킴으로 내인성 암촉진제로서의 기능도 하고 있다. 따라서 발암촉진 단계와 밀접한 관계가 있는 염증단계에 중추적 역할을 하고 있 는 cytokine인 TNF - α의 발현을 저해를 통하여 병변 과정을 조절할 수 있는 가능성이 높다.

이에 본 연구에서는 상백피로부터 미량 활성성분을 분리하고 각 물질에 대한 성분 분석과 동시에 분리된 화합물에 대해 MG-63 세포주를 이용하여 TNF-α에 의해 유도된 IL-6의 저해활성 측정으로 상백피의 항염증활성을 검색코자 하였다. 상백피를 MeOH로 추출하고 용매 분획한 후 얻어진 EtOAc 및 CH₂Cl₂ 분획에 대하여 여러가지 충전제를 사 용한 컬럼 크로마토그라피를 반복 실시하여 17종의 화합물을 분리하였고, NMR, IR, MS 등의 스펙트럼 데이터를 해석하여 화학구조를 동정하였다. 분리한 17종의 화합물 중 11종의 화합물에 대해 MG-63 세포주를 이용하여 세포 독성이 없는 농도에서 TNF-α에 의해 유도된 IL-6의 억제활성을 검색하였다.



Ⅱ. 실험

1. 실험재료

실험에 이용된 상백피(Mori Radicis Cortex)는 동국대 한의대 이제현 교수님께서 제 공하신 것으로 충분한 감정을 거쳤으며 표본은 조선대학교 약학대학 표본실에 보관 중 이다.

2. 시약 및 기기

2-1. 시약

① 용매

추출 및 분획용 시약은 1급 시약을 사용하였으며, TLC와 chromatography용 시약은 1 급 또는 특급 시약을 사용하였다.

② Packing materials

Column chromatography의 packing material로는 Kieselgel 60(63-200 #m, Art. 7734, Merck)와 Kieselgel 60(40-63 #m, Art. 9385, Merck), Lipophlic Sephadex LH-20(25-100 #m, Lot 81K1092, Sigma), LiChroprep RP-18(40-63 #m, L610400 138, Merck), MCI gel CHP20P(75-150 #m, Mitsubishi Chemical Corporation) 등을 사용하였 다.

3 TLC

Thin layer chromatography용 plate는 precoated silica gel 60 F₂₅₄ plate(layer thickness 0.25 mm, 20 × 20 cm. Art. 5715, Merck)와 precoated RP-18 F_{254s} plate(layer thickness 0.25 mm, 20 × 20 cm. Art. 5423, Merck)를 사용하였다. prepartive thin layer chromatography (PTLC)용은 plate는 precoated silica gel 60 F₂₅₄ plate(layer thickness 0.5 mm, 20 × 20 cm. Art. 5744, Merck)와 precoated RP-18 F₂₅₄s plate(layer thickness 1 mm, 20 × 20 cm. Art. 5434, Merck)를 사용하였다.





2-2. 기기

실험에 사용한 기기는 다음과 같다. IR : JASCO FT/IR-300E (Jasco Co., Japan) UV : JASCO V-550 (Jasco Co., Japan) FAB-MS : JMS 700(JEOL) ¹H-NMR : Varian Unity Inova 600 배호, 500 배호 and 300 배호 ¹³C-NMR : Varian Unity Inova 150 배호, 125 배호 and 75 배호 Polarimeter : AUTOPOL[®] IV automatic polarimeter (Rudolph Research Analytical, NJ 07840, U.S.A) HPLC pump : Waters 600 Multisolvent Delivery System HPLC UV Detector : Waters 2487 λ Absorbance Detector



3. 화합물의 분리

3-1. 상백피의 성분

3-1-1. 추출 및 분획

아래의 Scheme 에 나타내고 있는 것과 같이 상백피 (Mori Radicis Cortex) 12 kg을 MeOH로 3시간 동안 80℃에서 3회에 걸쳐 진탕하면서 추출한 후 여과, 감압 농축하여 1511.63 g의 MeOH extract를 얻었다. 이를 증류수로 현탁하고 Methylene chloride, Ethyl acetate, *n*-Butanol 순서로 분획하여 CH₂Cl₂ frac. 318.25g, EtOAc frac. 192.20g, *n*-BuOH frac. 182.45g, 수층 534.35g을 얻었다.





3-1-2. 상백피 EtOAc 분획으로부터 화합물의 분리

상백피 EtOAc 분획에 대해 실리카젤 컬럼 크로마토그라피를 실시하였다. 용출용매로 Hexane : EtOAc = 2 : 1 -- 1 : 8의 gradient 용매를 사용하여 총 5개 (Fraction 1~5) 의 소분획을 얻었다. 소분획 Fraction 2에 대해 용출용매로 50% MeOH ~ 75% MeOH을 사 용하여 MCI gel 컬럼 크로마토그라피를 실시하여 총 16개의 소분획을 얻었다. 이중 소 분획 Fraction MC-1E-2-1에 대해 용출용매로 H₂O : MeOH = 8 : 3 용매를 사용하여 Lichroprep RP-18 컬럼 크로마토그라피를 실시하여 compound **3** (Oxyresveratrol)을 얻



었다. 소분획 Fraction MC-1E-2-2에 대해 용출용매로 H20 : MeOH = 3 : 2 ~ 1 : 1을 사용하여 Lichroprep RP-18 컬럼 크로마토그라피를 실시하여 compound 4 (Moracin M) 와 compound 8 (Norartocarpanone)을 얻었다. 소분획 Fraction MC-1E-2-3에 대해 용출 용매로 H₂0 : MeOH = 1 : 1을 사용하여 Lichroprep RP-18 컬럼 크로마토그라피를 실시 하여 compound 6 (Moracin R) 와 compound 7 (Moracin 0)을 얻었다. 소분획 Fraction MC-1E-2-4에 대해 용출용매로 CHCl3 : MeOH : H20 = 12 : 1 : 0.1 ~ 8 : 1 : 0.1을 사 용하여 실리카젤 컬럼 크로마토그라피를 실시하여 총 6개의 소분획을 얻었다. 이중 소 분획 Fraction MC-1E-2-4-5에 대해 용출용매로 H20 : MeOH = 3.5 : 5을 사용하여 Lichroprep RP-18 컬럼 크로마토그라피를 실시하여 compound 1 (Kuwanon G)을 얻었다. 소분획 Fraction MC-1E-2-7에 대해 용출용매로 CHCl₃ : MeOH : H₂O = 25 : 1 : 0.1 ~ 10 : 1 : 0.1을 사용하여 실리카젤 컬럼 크로마토그라피를 실시하여 총 8개의 소분획 을 얻었다. 이중 소분획 Fraction MC-1E-2-7-2에 대해 용출용매로 H₂O : MeOH = 1 : 2 을 사용하여 Lichroprep RP-18 컬럼 크로마토그라피를 실시하여 compound 2 (Kuwanon E)을 얻었다. 소분획 Fraction MC-1E-2-7-5에 대해 용출용매로 H₂O : MeOH = 3 : 4을 Lichroprep RP-18 컬럼 크로마토그라피를 사용하여 실시하여 compound 5 (Mulberrofuran G)을 얻었다.



Scheme II. Isolation of compounds 1-8 from EtOAc extract of Mori Cortex Radicis

- 7 -

Collection @ chosun

상백피 EtOAc 분획에 대해 실리카젤 컬럼 크로마토그라피를 실시하였다. 용출용매로 Hexane : EtOAc = 2 : 1 -- 1 : 8의 gradient 용매를 사용하여 총 5개 (Fraction 1~5) 의 소분획을 얻었다. 소분획 Fraction 1에 대해 용출용매로 Hexane : EtOAc = 10 : 1 -- 4 : 1을 사용하여 silica gel 컬럼 크로마토그라피를 실시하여 총 7개의 소분획을 얻었다. 이중 소분획 Fraction E-1-5에 대해 용출용매로 75% MeOH을 사용하여 MCI-gel 컬럼 크로마토그라피를 실시하여 compound 9, 10 (kuwanon T, morusin)을 얻고 나온 소분획 1-7 중 소분획 E-1-5-7에 대해 용출용매로 80% MeOH을 사용하여 Prep-HPLC을 실시하여 compound 11, 12 (mulberrofuran A, B)을 얻었다.





3-1-3. 상백피 EtOAc 분획으로부터 얻은 화합물

Compound 1





Brown amorphous powder

Molecular formula: C₄₀H₃₆O₁₁

IR (KBr) v_{max} : 3350, 1650, 1595

EI-MS *m/z*: 692

 $[\alpha]_{D}^{25}$: -466 (*c* 0.13, MeOH)

¹H-NMR (Acetone- d_6 , 600MHz) δ :

7.41 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-6' or H-27), 7.29 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-6' or H-27), 6.78 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-33), 6.67 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-3'), 6.55 (1H, dd, J = 2.0, 8.0 Hz, H-5'), 6.21 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-30), 6.08 (1H, dd, J = 2.0, 8.0 Hz, H-32), 6.03 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-24), 5.98 (1H, s, H-6), 5.93 (1H, dd, J = 2.0, 8.0 Hz, H-26), 4.95-5.40 (2H, m, H-10 and H-15), 4.30-4.70 (2H, m, H-14 and H-20), 3.30-3.90 (1H, m, H-19), 3.17 (2H, d, J = 7.0 Hz, H-9), 1.80-2.20 (1H, m, H-18), 1.62 (3H, s, CH₃-12), 1.52 (3H, s, CH₃-17), 1.48 (3H, s, CH₃-13)

¹³C-NMR (Acetone- d_6 , 150MHz)δ:

208.1 (C-21), 181.7 (C-4), 164.2 (C-23), 164.2 (C-25), 161.3 (C-7), 160.8 (C-4'), 160.3 (C-8a), 159.2 (C-2), 156.3 (C-2'), 155.8 (C-29), 155.8 (C-31), 155.2 (C-5), 132.8 (C-16), 132.4 (C-33), 131.2 (C-11), 131.2 (C-6'), 130.8 (C-27), 123.2 (C-15), 121.8 (C-10), 120.7 (C-28), 119.7 (C-3), 114.0 (C-22), 111.4 (C-1'), 107.2 (C-26), 106.7 (C-8), 106.7 (C-32), 106.7 (C-5'), 103.7 (C-4a), 102.6 (C-24), 102.6 (C-3'), 101.9 (C-30), 97.5 (C-6), 45.8 (C-20), 38.3 (C-18), 38.3 (C-19), 25.4 (C-12), 23.5 (C-9), 22.9 (C-14), 22.5 (C-17), 17.3 (C-13)

Compound 2

Yellow amorphous powder Molecular formula: $C_{25}H_{28}O_6$ IR (KBr) v_{max} : 3360, 1650, 1625, 1595 EI-MS m/z: 424 [α]_D²⁵: 0 (c 0.15, MeOH) ¹H-NMR (600 MHz, Acetone- d_6) δ : 7.20 (1H, s, H-6'), 6.50 (1H, s, H-3'), 5.95 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-6),

- 9 -



5.94 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-8), 5.70 (1H, dd, J = 3.0, 13.8 Hz, H-2), 5.35 (1H, dt, J = 1.2, 7.2 Hz, H-2''), 5.11 (1H, tt, J = 1.2, 7.2 Hz, H-7''), 3.27 (2H, d, J = 7.2 Hz, H-1''), 3.20 (1H, dd, J = 13.8, 17.4 Hz, Ha-3), 2.69 (1H, dd, J = 3.0, 17.4 Hz, Hb-3), 2.09 (2H, m, H-6''), 2.02 (2H, t, J = 7.2 Hz, H-5''), 1.71 (3H, s, H-4''), 1.62 (3H, s, H-9''), 1.57 (3H, s, H-10'')

 13 C-NMR (150 MHz, Acetone- d_6) δ :

197.8 (C-4), 167.3 (C-7), 165.4 (C-8a), 164.9 (C-5), 156.7 (C-4'), 154.2 (C-2'), 135.9 (C-3''), 131.7 (C-8''), 129.0 (C-6'), 125.2 (C-7''), 124.1 (C-2''), 120.2 (C-5'), 116.9 (C-1'), 103.4 (C-3'), 103.2 (C-4a), 96.7 (C-8), 95.9 (C-6), 75.5 (C-2), 42.7 (C-3), 40.5 (C-5''), 28.4 (C-1''), 27.5 (C-6''), 25.9 (C-9''), 17.8 (C-10''), 16.3 (C-4'')

Compound 3

Yellow amorphous powder Molecular formula: $C_{14}H_{12}O_4$ IR (KBr) ν_{max} : 3360, 1650, 1625, 1600 EI-MS m/z: 244 ¹H-NMR (300 MHz, Acetone- d_6) δ : 7.40 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-6'), 7.33 (1H, d, J = 16.4 Hz, H-8), 6.88 (1H, d, J = 16.4 Hz, H-7), 6.52 (2H, d, J = 2.2 Hz, H-2.6), 6.44 (1H, d, J = 2.2, H-3'), 6.38 (1H, dd, J = 2.2, 8.4 Hz, H-5'), 6.24 (1H, t, J = 2.2 Hz, H-4) ¹³C-NMR (75 MHz, Acetone- d_6) δ : 159.6 (C-3), 159.6 (C-5), 159.2 (C-4'), 156.9 (C-2'), 141.7 (C-1), 128.3 (C-8), 126.4 (C-7), 124.4 (C-6'), 117.3 (C-1'), 108.5 (C-5'),

105.5 (C-2), 105.5 (C-6), 103.6 (C-3'), 102.3 (C-4)

Compound 4

Yellow amorphous powder Molecular formula: C₁₄H₁₀O₄ IR (KBr) v_{max} : 3360, 1650, 1625, 1600 EI-MS *m/z*: 242



¹H-NMR (600 MHz, CD_3OD) δ :

7.35 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-4), 6.91 (1H, d, J = 0.6 Hz, H-3), 6.90 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-7), 6.76 (2H, d, J = 2.4 Hz, H-2',6'), 6.73 (1H, dd, J = 2.4, 8.4 Hz, H-5), 6.24 (1H, t, J = 2.4 Hz, H-4')

 13 C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ :

160.1 (C-3'), 160.1 (C-5'), 157.3 (C-7a), 156.9 (C-6), 156.2 (C-2), 133.9 (C-1'), 123.1 (C-3a), 122.2 (C-4), 113.4 (C-5), 103.9 (C-2'), 103.9 (C-6'), 103.6 (C-4'), 102.3 (C-3), 98.6 (C-7).

Compound 5

Yellow amorphous powder

Molecular formula: C₃₄H₂₆O₈

IR (KBr) v_{max} : 3360, 1650, 1625, 1600

EI-MS *m/z*: 562

¹H-NMR (600 MHz, Acetone- d_6) δ :

7.41 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-4), 7.24 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-14^{''}), 7.14 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-20^{''}), 7.05 (1H, s, H-3), 6.98 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2'), 6.97 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-7), 6.94 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-6'), 6.81 (1H, dd, J = 2.4, 8.4 Hz, H-5), 6.50 (1H, dd, J = 2.4, 8.4 Hz, H-19^{''}), 6.45 (1H, d, J = 5.4 Hz, H-2^{''}), 6.43 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-17^{''}), 6.38 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-11^{''}), 6.23 (1H, dd, J = 2.4, 8.4 Hz, H-13^{''}), 3.49 (1H, s, H-5^{''}), 3.36 (1H, dd, J = 5.4, 12.0 Hz, H-3^{''}), 2.98 (1H, ddd, J = 5.4, 11.4, 11.4 Hz, H-4^{''}), 2.73 (1H, dd, J = 5.4, 17.4 Hz, Ha-6^{''}), 2.05 (1H, dd, J = 5.4, 17.4 Hz, Hb-6^{''}), 1.77 (3H, s, CH₃-7^{''})

 13 C-NMR (150 MHz, Acetone- d_6) δ :

159.9 (C-12''), 157.9 (C-10''), 157.7 (C-7a), 157.5 (C-3'), 156.7 (C-2), 156.7 (C-5'), 155.0 (C-6), 154.6 (C-18''), 153.4 (C-16''), 133.8 (C-1''), 131.1 (C-1'), 130.4 (C-14''), 127.9 (C-20''), 122.9 (C-2''), 122.5 (C-3a), 122.1 (C-4), 117.6 (C-4'), 116.9 (C-15''), 113.4 (C-5), 113.3 (C-9''), 109.8 (C-19''), 107.1 (C-13''), 105.3 (C-6'), 105.1 (C-2'), 104.5 (C-17''), 103.9 (C-11''), 102.6 (C-8'') 102.3 (C-3), 98.4 (C-7), 37.2 (C-3''), 36.3 (C-6''), 35.2 (C-5''), 28.5 (C-4''), 23.9 (C-7'')





Compound 6 Brown oil Molecular formula: C₁₉H₂₀O₆ IR (KBr) v_{max} : 3390, 1600, 1580, 1460 EI-MS *m/z*: 344 $[\alpha]_{0}^{25}$: -25 (c 0.10, MeOH) ¹H-NMR (600 MHz, Acetone- d_6) δ : 7.25 (1H, s, H-4), 7.00 (1H, d, J = 1.2 Hz, H-3), 6.87 (1H, s, H-7), 6.86 (2H, d, J = 2.4 Hz, H-2', 6'), 6.37 (1H, t, J = 2.4 Hz, H-4'), 3.81 (1H, t)dd, J = 5.4, 8.4 Hz, H-2''), 3.10 (1H, dd, J = 5.4, 16.8 Hz, H-1a''), 2.82 (1H, ddd, J = 1.2, 8.4, 16.8 Hz, H-1b''), 1.37 (3H, s, H-5''). 1.25 (3H. s. H-4'') ¹³C-NMR (150 MHz, Acetone- d_6) δ : 159.8 (C-3'), 159.8 (C-5'), 155.8 (C-2), 155.4 (C-7a), 152.4 (C-6), 133.3 (C-1'), 123.5 (C-3a), 121.7 (C-4), 117.9 (C-5), 103.7 (C-2'), 103.7 (C-6'), 103.5 (C-4'), 101.9 (C-3), 99.4 (C-7), 78.1 (C-3''), 69.9 (C-2''), 32.4 (C-1''), 26.3 (C-4''), 20.6 (C-5'') Compound 7

Brown amorphous powder Molecular formula: $C_{19}H_{18}O_5$ IR (KBr) v_{max} : 3390, 1600, 1580, 1460 EI-MS m/z: 326 ¹H-NMR (600 MHz, Acetone- d_6) δ : 7.32 (1H, s, H-4), 7.00 (1H, d, J = 0.6 Hz, H-3), 6.85 (1H, s, H-7), 6.84 (2H, d, J = 2.4 Hz, H-2',6'), 6.36 (1H, t, J = 2.4 Hz, H-4'), 4.67 (1H, dd, J = 8.4, 9.6 Hz, H-2''), 3.30 (1H, dd, J = 8.4, 15.6 Hz, H-3a''), 3.20 (1H, dd, J = 9.6, 15.6 Hz, H-3b''), 1.27 (3H, s, H-5''), 1.23 (3H, s, H-6'') ¹³C-NMR (150 MHz, Acetone- d_6) δ :

159.8 (C-3'), 159.8 (C-5'), 159.7 (C-6), 155.8 (C-7a), 155.6 (C-6), 133.5 (C-1'), 125.3 (C-5), 123.4 (C-3a), 117.0 (C-4), 103.7 (C-2'), 103.7 (C-6'), 103.4 (C-4'), 102.5 (C-3), 93.0 (C-7), 91.3 (C-2''), 71.5



(C-4^{''}), 30.7 (C-3^{''}), 26.1 (C-5^{''}), 25.6 (C-6^{''})

Compound 8

Brown amorphous powder Molecular formula: $C_{15}H_{12}O_6$ IR (KBr) v_{max} : 3390, 1600, 1580, 1460 EI-MS m/z: 288 ¹H-NMR (600 MHz, Acetone- d_6) δ : 7.31 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-6'), 6.47 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-3'), 6.43 (1H, dd, J = 1.8, 8.4 Hz, H-5'), 5.96 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-8), 5.94 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-6), 5.70 (1H, dd, J = 3.0, 13.2 Hz, H-2), 3.17 (1H, dd, J = 13.2, 17.4 Hz, H-3), 2.71 (1H, dd, J = 3.0, 17.4 Hz, H-3) ¹³C-NMR (150 MHz, Acetone- d_6) δ :

197.7 (C-4), 167.7 (C-7), 165.4 (C-8a), 164.9 (C-5), 159.6 (C-2'), 156.4 (C-4'), 129.1 (C-6'), 117.5 (C-1'), 107.8 (C-5'), 103.5 (C-3'), 103.1 (C-4a), 96.8 (C-6), 95.9 (C-8), 75.4 (C-2), 42.7 (C-3)

Compound 9

Yellow amorphous powder Molecular formula: C₂₅H₂₆O₆ IR (KBr) v_{max} : 3520, 3330, 1655, 1620 El-MS *m/z*: 422

 $^{1}H-NMR$ (300 MHz, CD₃OD) δ :

6.89 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-6'), 6.44 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.27 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-8), 6.17 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-6), 5.25 (1H, br t, J = 5.9 Hz, H-15), 5.08 (1H, br t, J = 5.9 Hz, H-10), 3.33 (2H, d, J = 6.9 Hz, H-9, 14), 3.08 (2H, d, J = 6.9 Hz, H-9, 14), 1.78 (3H, s, CH₃), 1.67 (3H, s, CH₃), 1.58 (3H, s, CH₃), 1.33 (3H, s, CH₃)

 13 C-NMR (75 MHz, CD₃OD) δ :

183.9 (C-4), 165.7 (C-7), 163.8 (C-2), 163.3 (C-5), 160.1 (C-8a), 159.4 (C-4'), 154.9 (C-2'), 132.9 (C-16), 132.0 (C-11), 128.9 (C-6'), 124.1 (C-15), 122.7 (C-10), 122.2 (C-3), 117.9 (C-3'), 114.0 (C-1'), 108.3 (C-5'), 105.6 (C-4a), 99.6 (C-6), 94.7 (C-8), 26.1 (C-17), 26.0 (C-12),



25.0 (C-9), 23.5 (C-14), 18.2 (C-18), 17.8 (C-13)

Compound 10

Yellow amorphous powder

Molecular formula: $C_{25}H_{24}O_6$

IR (KBr) v_{max} : 3520, 3330, 1655, 1620

EI-MS *m/z*: 420

 1 H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ :

7.11 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-6'), 6.58 (1H, d, J = 10 Hz, H-14), 6.42 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-3'), 6.41 (1H, dd, J = 2.0, 8.3 Hz, H-5'), 6.14 (1H, s, H-6), 5.56 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-15), 5.09 (2H, t, J = 6.7 Hz, H-10), 3.10 (2H, d, J = 6.9 Hz, H-9), 1.58 (3H, s, CH₃), 1.42 (6H, s, CH₃), 1.40 (3H, s, CH₃)

 13 C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ :

184.1 (C-4), 163.7 (C-7), 162.8 (C-4'), 162.1 (C-2), 160.6 (C-8a), 158.1 (C-2'), 154.9 (C-5), 133.0 (C-11), 132.6 (C-6'), 128.3 (C-15), 122.8 (C-10), 122.2 (C-3), 115.9 (C-14), 113.3 (C-1'), 108.2 (C-5'), 106.1 (C-8), 104.0 (C-3'), 102.4 (C-4a), 100.3 (C-6), 79.3 (C-16), 28.6 (C-17), 28.6 (C-18), 26.0 (C-12), 25.0 (C-9), 17.8 (C-13)

Compound 11

Yellow amorphous powder Molecular formula: $C_{25}H_{28}O_4$ IR (KBr) v_{max} : 3520, 3330, 1655, 1620 E1-MS m/z: 392 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.34 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-4), 6.89 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-7), 6.74 (1H, dd, J = 8.4, 2.1 Hz, H-5), 6.72 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-6'), 6.69 (1H, s, H-3), 6.47 (1H, t, J = 2.3 Hz, H-4'), 5.08 (1H, t, J = 7.2 Hz, H-2''), 5.05 (1H, t, J = 7.2 Hz, H-7''), 3.82 (3H, s, -0CH₃), 3.44 (2H, d, J = 6.2Hz, H-1''), 2.03 (2H, m, H-6''), 1.95 (2H, m, H-5''), 1.65 (3H, s, H-4''), 1.61 (3H, s, H-9''), 1.55 (3H, s, H-10'')

 13 C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ :



160.5 (C-3'), 157.5 (C-7a), 157.2 (C-5'), 156.8 (C-6), 156.0 (C-2), 135.3 (C-3''), 133.1 (C-1'), 132.2 (C-8''), 125.8 (C-2''), 125.6 (C-7''), 123.1 (C-3a), 122.1 (C-4), 120.9 (C-2'), 113.2 (C-5), 108.3 (C-6'), 106.0 (C-3), 100.4 (C-4'), 98.6 (C-7), 56.3 (-0CH₃), 40.9 (C-5''), 27.8 (C-6''), 26.6 (C-1''), 26.0 (C-10''), 17.8 (C-9''), 16.6 (C-4'')

Compound 12

Yellow amorphous powder

Molecular formula: C₂₅H₂₈O₄

IR (KBr) v_{max} : 3520, 3330, 1655, 1620

EI-MS *m/z*: 392

¹H-NMR (500 MHz, CD_3OD) δ :

7.32 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-4), 6.93 (1H, s, H-3), 6.92 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5), 6.81 (2H, d, J = 2.2 Hz, H-2', 6'), 6.26 (1H, t, J=2.2 Hz, H-4'), 5.35 (1H, t, J = 7.4 Hz, H-2''), 4.99 (1H, t, J = 7.4 Hz, H-7''), 3.87 (3H, s, -0CH₃), 3.61 (2H, d, J = 7.4 Hz, H-1''), 2.05 (2H, m, H-6''), 1.97 (2H, m, H-5''), 1.87 (3H, s, H-4''), 1.51 (3H, s, H-9''), 1.55 (3H, s, H-10'')

 $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD₃OD) δ :

160.1 (C-3', 5'), 156.8 (C-2), 156.5 (C-6), 155.5 (C-7a), 136.2 (C-3''), 134.0 (C-1'), 132.3 (C-8''), 125.4 (C-7''), 124.4 (C-3a), 123.6 (C-2''), 119.2 (C-4), 114.7 (C-7), 109.2 (C-5), 104.3 (C-2', 6'), 103.8 (C-4'), 102.5 (C-3), 57.2 (-0CH₃), 40.9 (C-5''), 27.7 (C-6''), 25.8 (C-9''), 23.7 (C-1''), 17.8 (C-10''), 16.6 (C-4'')

3-1-4. 상백피 CH2Cl2 분획으로부터 화합물의 분리

상백피 CH₂Cl₂ 분획에 대해 실리카젤 컬럼 크로마토그라피를 실시하였다. 용출용매로 Hexane : EtOAc = 10 : 1 -- 1 : 5의 gradient 용매를 사용하여 총 6개 (Fraction 1~6)의 소분획을 얻었다. 소분획 Fraction D-1에 대해 용출용매로 Hexane : EtOAc = 50 : 1 -- 10 : 1을 사용하여 silica gel 컬럼 크로마토그라피를 실시하여 총 12개의 소분획을 얻었다. 이중 소분획 Fraction D-1-4에 대해 용출용매로 Hexane : EtOAc = 100 : 1을 사용하여 실리카젤 컬럼 크로마토그라피를 실시하여 나온 소분획 6개를 얻 었다. 이 중 소분획 D-1-4-3에 대해 용출용매로 Hexane : EtOAc = 100 : 1을 사용하여





실리카젤 컬럼 크로마토그라피를 실시하여 4개의 소분획을 얻었다. 이 중 소분획 D-1-4-3-4에 대해 용출용매로 100% MeOH을 사용하여 Sephadex LH-20을 이용하여 compound **13** (alpha-amyrin acetate)을 얻었다.





소분획 Fraction 3에 대해 용출용매로 Hexane : EtOAc = 5 : 1 -- 1 : 1을 사용하여 silica gel 컬럼 크로마토그라피를 실시하여 총 8개의 소분획을 얻었다. 이중 소분획 Fraction D-3-3에 대해 용출용매로 90% MeOH을 사용하여 RP-18 컬럼 크로마토그라피를 실시하여 나온 소분획 1-2 중 소분획 D-3-3-1에 대해 용출용매로 75% MeOH을 사용하여 Prep-HPLC을 실시하여 compound 14, 15 (sanggenon A, M)을 얻었다. 소분획 Fraction D-3-4에 대해 용출용매로 90% MeOH을 사용하여 RP-18 컬럼 크로마토그라피를 실시하여 나온 소분획 1-2 중 소분획 D-3-4-1에 대해 용출용매로 78% MeOH을 사용하여 Prep-HPLC을 실시하여 compound 16, 17 (sanggenon F, sanggenol A)를 얻었다. 소분획 Fraction D-3-5에 대해 용출용매로 80% MeOH을 사용하여 Sephadex LH-20 컬럼 크로마 토그라피를 실시하여 나온 소분획 1-4 중 소분획 D-3-5-2에 대해 용출용매로 78% MeOH 을 사용하여 Prep-HPLC을 실시하여 compound 10 (morusin)을 얻었다.







Scheme V.Isolation of compound 14-17 from CH₂Cl₂ extract of Mori Cortex Radicis

3-1-5. CH₂Cl₂ 분획으로부터 얻은 화합물

Compound 13

White amorphous powder Molecular formula: C₃₂H₅₂O₂ IR (KBr) ν_{max} : 3520, 3330, 1655, 1620 EI-MS *m/z*: 468 ¹H-NMR (300 MHz, CDCI₃)δ:



0.79 (3H, s, CH₃-28), 0.80 (3H, d, J = 3.8 Hz, CH₃-29), 0.86 (3H, s, CH₃-23), 0.86 (3H, s, CH₃-24), 0.91 (3H, d, J = 2.5 Hz, CH₃-28), 0.97 (3H, s, CH₃-25), 1.06 (3H, s, CH₃-27), 2.03 (3H, s, OCO<u>CH₃</u>), 4.50 (1H, m, H-3), 5.11 (1H, m, H-12)

 13 C-NMR (75 MHz, CDCI₃) δ :

38.6 (C-1), 23.8 (C-2), 81.1 (C-3), 37.9 (C-4), 55.4 (C-5), 18.4 (C-6), 33.0 (C-7), 40.2 (C-8), 47.8 (C-9), 37.9 (C-10), 23.5 (C-11), 124.5 (C-12), 139.8 (C-13), 42.2 (C-14), 29.9 (C-15), 26.7 (C-16), 33.9 (C-17), 59.2 (C-18), 39.8 (C-18), 39.8 (C-19), 39.8 (C-20), 31.4 (C-21), 41.7 (C-22), 28.9 (C-23), 17.0 (C-24), 15.9 (C-25), 16.9 (C-26), 23.4 (C-27), 28.2 (C-28), 17.7 (C-29), 21.6 (C-30), 171.2 (OCOCH₃), 21.5 (OCOCH₃)

Compound 14

Amorphous powder Molecular formula: $C_{25}H_{24}O_7$ IR (KBr) v_{max} : 3520, 3330, 1655, 1620 EI-MS m/z: 436 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.25 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-6'), 6.57 (1H, d, J = 10.1 Hz, H-14), 6.46 (1H, dd, J = 2.1, 8.2 Hz, H-5'), 6.34 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-3'), 5.72 (1H, s, H-8), 5.56 (1H, d, J = 10.1 Hz, H-15), 5.18 (1H, t, J = 7.3 Hz, H-10), 3.10 (1H, dd, J = 9.1, 14.4 Hz, H-9a), 2.73 (1H, dd, J = 6.2, 14.4 Hz, H-9b), 1.61 (3H, s, CH₃-12), 1.49 (3H, s, CH₃-13), 1.40 (3H, s, CH₃-17), 1.39 (3H, s, CH₃-18) ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ :

189.7 (C-4), 164.7 (C-7), 163.8 (C-8a), 161.8 (C-2'), 161.8 (C-4'), 161.7 (C-5), 137.5 (C-11), 127.6 (C-15), 125.8 (C-6'), 121.4 (C-1'), 119.1 (C-10), 116.0 (C-14), 110.1 (C-5'), 99.8 (C-3'), 99.8 (C-4a), 96.8 (C-8), 79.8 (C-16), 32.6 (C-9), 28.8 (C-18), 28.7 (C-17) 26.1 (C-12), 18.3 (C-13)

Compound 15





Amorphous powder

Molecular formula: C₂₅H₂₄O₇ IR (KBr) v_{max} : 3520, 3330, 1655, 1620 EI-MS *m/z*: 436

 $^{1}H-NMR$ (500 MHz, CD₃OD) δ :

7.30 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-6'), 6.45 (1H, d, J = 10.1 Hz, H-14), 6.46 (1H, dd, J = 2.1, 8.2 Hz, H-5'), 6.34 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-3'), 5.85 (1H, s, H-6), 5.54 (1H, d, J = 10.1 Hz, H-15), 5.20 (1H, t, J = 7.3 Hz, H-10), 3.12 (1H, dd, J = 9.1, 14.4 Hz, H-9a), 2.75 (1H, dd, J = 6.2, 14.4 Hz, H-9b), 1.58 (3H, s, CH₃-12), 1.52 (3H, s, CH₃-13), 1.42 (3H, s, CH₃-17), 1.38 (3H, s, CH₃-18)

 $^{13}\text{C}-\text{NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ :

189.7 (C-4), 164.9 (C-7), 161.9 (C-4'), 161.9 (C-2'), 161.7 (C-5), 158.0 (C-8a), 137.8 (C-11), 127.6 (C-15), 125.8 (C-6'), 121.5 (C-1'), 118.9 (C-10), 116.5 (C-14), 110.2 (C-5'), 101.4 (C-4a), 99.8 (C-3'), 97.8 (C-8), 79.7 (C-16), 32.7 (C-9), 28.7 (C-18), 28.7 (C-17) 26.2 (C-12), 18.4 (C-13)

Compound 16

Amorphous powder Molecular formula: $C_{20}H_{18}O_6$ IR (KBr) v_{max} : 3520, 3330, 1655, 1620 EI-MS m/z: 354 ¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ : 7.19 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-6'), 6.70 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-9), 6.40 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 5.93 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 5.89 (1H, d, J = 2.0Hz, H-6), 5.68 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-10), 5.66 (1H, dd, J = 2.6, 12.8 Hz, H-2), 3.07 (1H, dd, J = 12.8, 17.2 Hz, H-3a), 2.72 (1H, dd, J = 2.6, 17.2 Hz, H-3b), 1.40 (6H, s, CH₃) ¹³C-NMR (75 MHz, CD₃OD) δ :

198.3 (C-4), 168.7 (C-7), 165.7 (C-5), 165.3 (C-8a), 155.4 (C-4'), 130.6



(C-6'), 128.0 (C-10), 120.5 (C-1'), 117.9 (C-9), 112.0 (C-3'), 109.9 (C-5'), 103.4 (C-4a), 97.3 (C-6), 96.4 (C-8), 76.8 (C-11), 76.2 (C-2), 43.3 (C-3), 28.0 (C-12), 28.0 (C-13)

Compound 17

Amorphous powder

Molecular formula: C₂₅H₂₈O₆

IR (KBr) v_{max} : 3520, 3330, 1655, 1620

EI-MS *m/z*: 424

¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD)δ:

7.08 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-6'), 6.43 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 5.91 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-6), 5.88 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-8), 5.65 (1H, dd, J = 2.6, 12.8 Hz, H-2), 5.21 (1H, t, J = 7.0 Hz, H-2''), 5.07 (1H, t, J = 7.3 Hz, H-7''), 3.35 (2H, d, J = 6.2 Hz, H-1''), 3.10 (1H, dd, J = 17.2, 13.2 Hz, H-3a), 3.10 (1H, dd, J = 17.2, 2.9 Hz, H-3b), 2.03 (2H, m, H-5'', 6''), 1.97 (2H, m, H-5'', 6''), 1.77 (3H, s, H-4''), 1.62 (3H, s, H-9''), 1.56 (3H, s, H-10'')

 $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CD_3OD) δ :

198.5 (C-4), 168.8 (C-7), 165.6 (C-8a), 165.3 (C-5), 157.6 (C-4'), 154.2 (C-2'), 136.2 (C-3''), 132.3 (C-8''), 125.7 (C-6'), 125.5 (C-7''), 124.1 (C-2''), 119.0 (C-3'), 117.6 (C-1'), 108.6 (C-5'), 103.4 (C-4a), 97.3 (C-6), 96.5 (C-8), 76.8 (C-2), 43.3 (C-3), 41.1 (C-5''), 27.8 (C-6''), 26.0 (C-10''), 23.4 (C-1''), 17.9 (C-9''), 16.5 (C-4'')

4. 항염증활성

4-1. MG-63 cell line에서 hlL-6의 유리 확인

세포주는 10% FBS (fetal bovine serum)가 포함된 DMEM (Eulbecco's Modified Eagle Medium) 배지를 사용하여 37℃, 5% CO₂ incubator에서 culture dish에 증식시킨 MG-63 세포를 24-well plate에 적정수의 세포(3×10⁴)를 500 #^Q씩 접종한 후 하루 동 안 incubation하고 배지를 교체하였다. 여기에 TNF(Tumor Necrosis Factor)-α와 SRB assay를 통해 얻은 세포독성이 없는 농도의 sample을 처리한 후 37℃ incubator에서





배양한 후 24시간과 48시간 뒤 각각 70 #2씩 배지를 채취하여 냉동 보관한다. 96-well plate에 I차 anti-body 100 #l(anti-human IL-6 2 #g/ml in 0.1 M NaHCO3)를 넣은 후 4℃에서 overnight하여 1차 anti-body가 96 well plate에 부착되도록 하였다. 결합되 지 않은 1차 anti-body를 씻어내기 위해 washing solution [0.05% Tween 20 in (PBS) phosphate buffered saline] 100 #로 3번 씻어낸 후 blocking solution (3% bovine serum albumin (BSA) in PBS) 200 ##를 처리하고 실온에서 2시간 동안 방치한 후 washing solution 200 #l로 2번 씻어낸다. 위에서 24시간 후와 48시간 후에 채취한 배 양액 50 #¹와 blocking solution 50 #¹를 넣어 실온에서 4시간 또는 4℃에서 overnight하여 1차 anti-body와 결합하도록 하였다. 100 #l의 washing solution으로 4 번 세척한 후 100 #l의 2차 anti-body (biotin conjugated rat anti-human IL-6 1 #g/ ™ in blocking solution)를 첨가 하여 45분 동안 결합시킨 뒤 결합되지 않은 2차 anti-body를 100 #l의 washing solution으로 6번 세척하여 씻어낸다. 100 #l의 Streptavidin HRP (0.1% BSA, 0.05% Tween 20 in tris buffered saline, pH 7.3)를 첨 가하여 20분 동안 결합시킨 뒤 washing solution으로 6번 세척한다. TMB (Tetra Methyl Benzidine) 100 #0를 넣어 발색시킨 즉시 micro plate reader를 사용하여 450 ™ 파장에서 흡광도를 측정하였다. 1% DMSO와 TNF-α(15 ng/mℓ)가 들어갔을 때 hll-6 의 유리정도(%)를 control로 하였으며 실험의 표준물질로는 dexamethasone을 사용하였 다. hIL-6의 유리, 확인은 control에 대한 상대적인 퍼센트 즉, (rate of sample reaction/rate of control)× 100으로 표시하였다.^(19,20)





Ⅲ. 결과 및 고찰

1. Compound 1의 구조

화합물 1은 yellow 분말 상태의 pure compound로서 EI-MS에서 분자량이 692, 선 광도 -466로 나타났고 10% H₂SO₄ 발색에서 황색을 나타냈다. IR 스펙트럼으로부터 3350(OH), 1650, 1595(aromatic C=C)때⁻¹의 functional group을 확인할 수 있었다. 3쌍의 ¹H-NMR 스펙트럼에서 벤젠환에 유래하는 ABX-tvpe의 H-3',5',6',H-24,26,27, H-30,32,33의 피크가 각각 & 7.41, 7.29, 6.67, 6.55, 6.21, 6.08, 6.03, 5.93에 나타났으며, 벤젠환의 H-6 피크가 δ 5.98에 나타났다. cyclohexene 환 및 prenyl기에 유래하는 메틸렌 및 메틴 피크가 δ 4.95-5.40, 4.30-4.70, 3.30-3.90, 3.17, 1.80-2.20에 나타났고 3개의 메틸기가 δ1.62, 1.52, 1.48에 나타났다. ¹³C-NMR 스펙트럼에서 δ 208.1, 183.0 에서 C-21, C-4에 유래하는 카르보닐 피크가, 방향환의 수산기를 가진 4급 탄소인 C-5,7,2',4',23,25,29,31이 δ 164.2, 164.2, 161.3, 160.8, 156.3, 155.8,155.2 에 관찰되었다. cyclohexene 환에 유래하는 C-14,15,16,18,19,20 피크가 δ132.8, 123.2, 45.8, 38.3, 22.9에 나타났고 1개의 prenyl기에 유래하는 피크가 δ131.2,121.8,23.5,25.4,17.3에 나타났다. 이상의 분광학적인 결과 및 문헌상의 data와의 비교를 통해 화합물 1은 kuwanon G로 동정하 였다. (21-23)

2. Compound 2의 구조

화합물 2는 yellow 분말 상태의 pure compound로서 10% H₂SO₄ 발색에서 황색을 나타냈다. IR 스펙트럼으로부터 3360(OH), 1650, 1625, 1595(aromatic C=C)cm⁻¹의 functional group을 확인할 수 있었다. ¹H-NMR 스펙트럼에서 벤젠환의 H-3',6',6,8 의 피크가 δ7.20, 6.50, 5.95, 5.94에 나타났다. 또한 oxy 메틴 피크인 H-2가 δ5.70 에, 메틸렌 피크인 H-3a, H-3b의 피크는 δ3.20, 2.69에 나타났고 1개의 geranyl기의 피크가 δ5.35, 5.11, 3.27, 2.09, 2.02, 1.71, 1.62, 1.57에 관찰되었다. ³C-NMR 스펙트럼에서 δ 197.8에 C-4의 카르보닐 피크가, 방향환의 수산기를 가진 4급 탄소인 C-5,7,4'가 δ167.3, 164.9, 156.7에 관찰되었고 geranyl기의 피크는 δ135.9, 131.7, 129.0, 125.2, 124.1, 40.5, 28.4, 27.5, 25.9, 17.8, 16.3에 관찰되었다. 이상의 분 광학적인 결과 및 문헌상의 data와의 비교를 통해 화합물 2는 kuwanon E로 동정하였



다.(24)

3. Compound 3의 구조

화합물 3은 yellow 분말 상태의 pure compound로서 10% H₂SO₄ 발색에서 황색을 나타냈다. IR 스펙트럼으로부터 3360(OH), 1650, 1625, 1600(aromatic C=C)^{om⁻¹}의 functional group을 확인할 수 있었다. ¹H-NMR 스펙트럼에서 벤젠환 ABX-type의 H-3',5',6'의 피크가 δ7.40, 6.44, 6.38에 나타났고 벤젠환 ABC-type의 H-2,4,6의 피크가 δ6.52, 6.24에, trans olefinic H-7,8의 피크가 δ7.33, 6.88에서 관찰되었다. ¹³C-NMR 스펙트럼에서 방향환의 수산기를 가진 4급 탄소인 C-3,5,2',4'가 δ159.6, 159.6, 159.2, 156.9에 관찰되었고 olefinic 메틴 피크가 δ128.3, 126.4에 관찰되었 다. 이상의 분광학적인 결과 및 문헌상의 data와의 비교를 통해 화합물 **3**은 oxyresveratrol로 동정하였다.⁽²⁵⁻²⁶⁾

4. Compound 4의 구조

화합물 4는 yellow 분말 상태의 pure compound로서 10% H₂SO₄ 발색에서 황색을 나타냈다. IR 스펙트럼으로부터 3360(OH), 1650, 1625, 1600(aromatic C=C)cm⁻¹의 functional group을 확인할 수 있었다. ¹H-NMR 스펙트럼에서 벤젠환 ABX-type의 H-4,5,7의 피크가 δ7.35, 6.90, 6.73에서 나타났고 벤젠환 ABC-type의 H-2',4',6' 의 피크가 δ6.76, 6.24에서, furan ring의 H-3의 피크가 δ6.91에서 관찰되었다. ¹³C-NMR 스펙트럼에서 방향환의 수산기를 가진 4급 탄소피크인 C-3',5',6이 δ 160.1,156.9에서 관찰되었고 방향족환의 메틴피크가 관찰되었다. 이상의 분광학적인 결과 및 문헌상의 data와의 비교를 통해 화합물 4는 moracin M으로 동정하였다.⁽²⁷⁾

5. Compound 5의 구조

화합물 5는 yellow 분말 상태의 pure compound로서 EI-MS에서 분자량이 692, 선 광도 -466로 나타났고 10% H₂SO₄ 발색에서 황색을 나타냈다. IR 스펙트럼으로부터 3360(OH), 1650, 1625, 1600(aromatic C=C)cm⁻¹의 functional group을 확인할 수 있었 다. ¹H-NMR 스펙트럼에서 벤젠환에 유래하는 3쌍의 ABX-type의 H-4,5,7, H-11",13",14",H-17",19",20"의 피크가 각각 δ 7.41, 7.24, 7.14, 6.97, 6.81, 6.50, 6.43, 6.38, 6.23에 나타났으며, 벤젠환의 H-3,2',6',2",3",5", 피크가 δ 7.05, 6.98,



6.94, 6.45, 3.49, 3.36에 나타났다. 이중결합에 붙어있는 메틸기 피크가 δ1.77에 나 타났다. ¹³C-NMR 스펙트럼에서 방향환의 수산기를 가진 4급 탄소인 C-6,5',10",12",18"피크가 δ159.9, 157,9, 156.7, 155.0, 154.6에 관찰되었다. 이상 의 분광학적인 결과 및 문헌상의 data와의 비교를 통해 화합물 **5**는 mulberofuran G로 동정하였다.⁽²⁸⁾

6. Compound 6의 구조

화합물 6은 brown oil 상태의 pure compound로서 10% H₂SO₄ 발색에서 황색을 나타냈다. IR 스펙트럼으로부터 3390(OH), 1600, 1580, 1460(aromatic C=C)^{om⁻¹}의 functional group을 확인할 수 있었다. 화합물 6의 ¹H-, ¹³C-NMR 스펙트럼은 화합물 4와 매우 흡사하였고 차이점은 방향족환의 H-5 피크가 관찰되지 않아 이 위치에 측쇄 가 치환된 것으로 추정하였다. ¹H-NMR 스펙트럼에서 화합물 4와 달리 δ1.37, 1.25에 두 개의 메틸피크, δ3.81에 oxy 메틴 피크, δ3.10, 2.82에 메틸렌 피크가 관찰되었 고 ¹³C-NMR 스펙트럼에서 C-5 측쇄의 치환기인 prenyl기를 확인할 수 있었다. 이상 의 분광학적인 결과 및 문헌상의 data와의 비교를 통해 화합물 6은 moracin R로 동정 하였다.⁽²⁹⁾

7. Compound 7의 구조

화합물 7은 brown 분말 상태의 pure compound로서 10% H₂SO₄ 발색에서 황색을 나타냈다. IR 스펙트럼으로부터 3390(OH), 1600, 1580, 1460(aromatic C=C)cm⁻¹의 functional group을 확인할 수 있었다. ¹H-NMR 스펙트럼에서 벤젠환의 H-3,4,7의 피 크가 δ7.32, 7.00, 6.85 에 나타났고 벤젠환 ABC-type의 H-2',4',6'의 피크가 δ 6.84, 6.36에서 관찰되었다. ¹³C-NMR 스펙트럼에서 화합물 6에서 나타난 벤조푸란 피 크 외에 두 개의 메틸그룹 피크가 δ26.1, 25.6에 나타났고 oxy 메틴 피크가 δ91.3 에, 메틸렌 피크가 δ30.7에 관찰되었다. 이상의 분광학적인 결과 및 문헌상의 data와 의 비교를 통해 화합물 7은 moracin O로 동정하였다.⁽³⁰⁾

8. Compound 8의 구조

화합물 **8**은 brown 분말 상태의 pure compound로서 10% H₂SO₄ 발색에서 황색을 나타냈다. IR 스펙트럼으로부터 3390(OH), 1600, 1580, 1460(aromatic C=C)cm⁻¹의




functional group을 확인할 수 있었다. ¹H-NMR 스펙트럼에서 벤젠환 ABX-type의 H-3',5',6'의 피크가 δ7.31, 6.47, 6.43에 나타났고 벤젠환의 H-6,8의 피크가 δ 5.96, 5.94에, oxy 메틴인 H-2의 피크가 δ5.70에 관찰되었다. 또한 메틸렌인 H-3피 크가 δ3.17, 2.71에서 각각 나타나 화합물 6은 flavanone 계열의 화합물로 추정되었 다. ¹³C-NMR 스펙트럼에서 방향환의 수산기를 가진 4급 탄소인 C-5,7,2',4'가 δ 167.7, 164.9, 159.6, 156.4에 관찰되었고 oxy 메틴인 C-2가 δ75.4에 관찰되었다. 이상의 분광학적인 결과 및 문헌상의 data와의 비교를 통해 화합물 8은 norartocarpanone으로 동정하였다.⁽²⁶⁾

9. Compound 9의 구조

화합물 9는 yellow 분말 상태의 pure compound로서 10% H₂SO₄ 발색에서 황색을 나타냈다. IR 스펙트럼으로부터 3520, 3330(OH), 1655, 1620(aromatic C=C)cm⁻¹의 functional group을 확인할 수 있었다. ¹H-NMR 스펙트럼에서 벤젠환의 H-6,8,5',6'의 피크가 δ6.89, 6.44, 6.27, 6.17에 나타났다. 또한 4개의 메틸기 피크가 δ1.78, 1.67, 1.58, 1.33에 나타났고 두 개의 메틸렌 피크 및 이중결합의 수소피크가 δ5.25, 5.08, 3.33, 3.08에 나타나 화합물 9는 flavonoid 골격에 두 개의 prenyl기가 치환된 화합물로 추정되었다. ¹³C-NMR 스펙트럼에서 방향환의 수산기를 가진 4급 탄소 피 크인 C-5,7,2',4'가 δ165.7,163.3,159.4,154.9에 관찰되었고 두 개의 prenyl기 피크가 δ132.9, 132.0, 124.1, 122.7, 26.1, 26.0, 25.0, 23.5, 18.2, 17.8에 관찰되었다. 이상의 분광학적인 결과 및 문헌상의 data와의 비교를 통해 화합물 9는 kuwanon T로 동정하였다.⁽³⁰⁾

10. Compound 10의 구조

화합물 10은 yellow 분말 상태의 pure compound로서 10% H₂SO₄ 발색에서 황색 을 나타냈다. IR 스펙트럼으로부터 3520, 3330(OH), 1655, 1620(aromatic C=C)cm⁻¹의 functional group을 확인할 수 있었다. ¹H-NMR 스펙트럼에서 벤젠환 ABX-type의 H-3',5',6'의 피크가 δ7.11, 6.42, 6.41에 나타났고 벤젠환의 H-6,9,10의 피크가 δ 6.14, 5.09, 3.10에 나타났다. 또한 δ 1.42에 2개의 메틸기 피크가 관찰되었고 1개 의 prenyl기 피크가 관찰되어 화합물 **9**는 flavonoid 골격의 C-3에 한 개의 prenyl기 가 치환된 화합물로 추정되었다. ¹³C-NMR 스펙트럼에서 방향환의 수산기를 가진 4



급 탄소인 C-5,2',4'가 δ162.8, 158.1, 154.9에 관찰되었고 한 개의 prenyl기 피크가 δ128.3,115.9, 79.3, 28.6에 관찰되었다. 이상의 분광학적인 결과 및 문헌상의 data 와의 비교를 통해 화합물 **10**은 morusin으로 동정하였다.⁽³¹⁻³²⁾

11. Compound 11의 구조

화합물 11은 yellow 분말 상태의 pure compound로서 10% H₂SO₄ 발색에서 황색 을 나타냈다. IR 스펙트럼으로부터 3520, 3330(OH), 1655, 1620(aromatic C=C)cm⁻¹의 functional group을 확인할 수 있었다. ¹H-NMR 스펙트럼에서 벤젠환 ABX-type의 H-4,5,7의 피크가 δ7.34, 6.89, 6.74에 나타났고 벤젠환의 H-4',6'의 피크가 δ 6.72, 6.47에 나타났다. 또한 δ 3.82에 1개의 메톡시 피크가 관찰되었고 1개의 geranyl기 피크가 관찰되어 화합물 11은 benzofuran 골격에 1개의 메톡시기와 geranyl 기가 치환된 화합물로 추정하였다. ¹³C-NMR 스펙트럼에서 방향환의 수산기를 가진 4급 탄소인 C-6,5'가 δ 156.8, 157.2에 관찰되었고 한 개의 geranyl기 피크가 δ 135.3, 132.2, 125.8, 125.6, 40.9, 27.8, 26.6, 26.0, 17.8, 16.6에 관찰되었다. 이 상의 분광학적인 결과 및 문헌상의 data와의 비교를 통해 화합물 11은 mulberofuran A로 동정하였다.⁽²⁸⁾

12. Compound 12의 구조

화합물 12는 yellow 분말 상태의 pure compound로서 10% H₂SO₄ 발색에서 황색 을 나타냈다. IR 스펙트럼으로부터 3520, 3330(OH), 1655, 1620(aromatic C=C)cm⁻¹의 functional group을 확인할 수 있었다. 화합물 12의 ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR 스펙트럼 은 화합물 11과 매우 흡사하여 1개의 메톡시 피크와 1개의 geranyl기 피크가 관찰되었 다. 화합물 11과의 차이점은 geranyl기와 메톡시기의 위치가 화합물 11의 경우 C-2'와 C-3'에 위치한 반면에 화합물 12의 경우 C-7, C-6에 각각 위치하는 것으로 나타났 다. Geranyl기 및 메톡시기의 위치는 HMBC 분석을 통하여 결정하였다. 이상의 분광학 적인 결과 및 문헌상의 data와의 비교를 통해 화합물 12는 mulberofuran B로 동정하 였다.⁽³³⁾

13. Compound 13의 구조

화합물 13은 백색의 분말로서 10% 황산용액에 의하여 빨간색으로 발색되었다.



¹H-NMR 스펙트럼에서 δ4.50에 H-3의 피크가 저자장 shift되어 acetyl기가 연결되어 있음을 추정할 수 있었다. 또한 이중결합의 H-12가 δ5.11에 나타났고 8개의 angular 메틸기의 피크로 화합물 **13**은 triterpenoid 계열 화합물로 추정할 수 있었다. ¹³C-NMR 스펙트럼에서 1 개의 acetate의 탄소를 제외하고 30개의 탄소피크가 관찰되었다. 특히 δ 171.2, 21.5에서 acetyl group의 존재가 확인되었고 δ 124.5, 139.8의 피크로부터 C-12와 C-13사이 이중결합의 존재를 확인하였다.

이상의 분광학적인 결과 및 문헌상의 data와의 비교를 통해 화합물 **13**은 α -amyrin acetate로 동정하였다.⁽⁵⁾

14. Compound 14의 구조

화합물 14는 백색 분말 상태의 pure compound로서 10% H₂SO₄ 발색에서 황색을 나타냈다. IR 스펙트럼으로부터 3520, 3330(OH), 1655, 1620(aromatic C=C)^{om⁻¹}의 functional group을 확인할 수 있었다. ¹H-NMR 스펙트럼에서 벤젠환 ABX-type의 H-3',5',6'의 피크가 δ7.25, 6.46, 6.34에 나타났고 벤젠환의 H-8 피크가 δ5.72에 나타났다. 또한 이중결합의 H-14,15 피크가 δ 6.57, 5.56에, 벤젠환의 H-8 피크가 δ 5.72에, 또한 한 개의 prenyl기의 피크가 관찰되었다. ³C-NMR 스펙트럼에서 δ 189.7에 C-4의 카르보닐피크가, 방향환의 수산기를 가진 4급 탄소인 C-5,4'가 δ 161.7, 161.8에 관찰되었고 한 개의 prenyl기 피크가 δ137.5,119.1,32.6, 26.1,18.3 에 관찰되었다. 이상의 분광학적인 결과 및 문헌상의 data와의 비교를 통해 화합물 14 는 sanggenon A로 동정하였다.⁽³⁴⁾

15. Compound 15의 구조

화합물 15는 백색 분말 상태의 pure compound로서 10% H₂SO₄ 발색에서 황색을 나타냈다. IR 스펙트럼으로부터 3520, 3330(OH), 1655, 1620(aromatic C=C)om⁻¹의 functional group을 확인할 수 있었다. ¹H-NMR 스펙트럼에서 벤젠환 ABX-type의 H-3',5',6'의 피크가 δ7.30, 6.46, 6.34에 나타났고 벤젠환의 H-6 피크가 δ5.85에 나타났다. 또한 이중결합의 H-14,15 피크가 δ 6.45, 5.54에,이밖에 한 개의 prenyl기 의 피크가 관찰되었다. ³C-NMR 스펙트럼에서 δ 189.7에 C-4의 카르보닐피크가, 방 향환의 수산기를 가진 4급 탄소인 C-5,4'가 δ161.7, 161.9에 관찰되었고 한 개의 prenyl기 피크가 δ137.8,118.9,32.7, 26.2,18.4에 관찰되었다. 이상의 분광학적인 결



과 및 문헌상의 data와의 비교를 통해 화합물 15는 sanggenon M으로 동정하였다.⁽³⁴⁾

16. Compound 16의 구조

화합물 16은 백색 분말 상태의 pure compound로서 10% H₂SO₄ 발색에서 황색을 나타냈다. IR 스펙트럼으로부터 3520, 3330(OH), 1655, 1620(aromatic C=C)cm⁻¹의 functional group을 확인할 수 있었다. ¹H-NMR 스펙트럼에서 벤젠환의 H-5',6',6,8, 9,10의 피크가 δ7.19, 6.70, 6.40, 5.93, 5.89, 5.68에 나타났다. 또한 oxy 메틴 피 크인 H-2가 δ5.66에, 메틸렌 피크인 H-3a, H-3b는 δ3.07, 2.72에 각각 나타났고 2개 의 메틸기가 δ1.40에 관찰되었다. ³C-NMR 스펙트럼에서 δ 198.3에 C-4의 카르보닐 피크가, 방향환의 수산기를 가진 4급 탄소인 C-5,7이 δ168.7, 165.7에 관찰되었고 두 개의 메틸기가 δ28.0에 관찰되었다. 이상의 분광학적인 결과 및 문헌상의 data와 의 비교를 통해 화합물 16은 sanggenon F로 동정하였다.⁽³⁵⁾

17. Compound 17의 구조

화합물 17은 백색 분말 상태의 pure compound로서 10% H₂SO₄ 발색에서 황색을 나타냈다. IR 스펙트럼으로부터 3520, 3330(OH), 1655, 1620(aromatic C=C)cm⁻¹의 functional group을 확인할 수 있었다. ¹H-NMR 스펙트럼에서 벤젠환의 H-5',6',6,8의 피크가 δ7.08,6.43,5.91,5.88에 나타났다. 또한 oxy 메틴 피크인 H-2가 δ5.65에, 메 틸렌 피크인 H-3a, H-3b는 δ3.10에 각각 나타났고 한 개의 geranyl기가 δ5.21, 5.07, 3.35, 2.03, 1.97, 1.77, 1.62, 1.56에 관찰되었다. ³C-NMR 스펙트럼에서 δ 198.5에 C-4의 카르보닐피크가, 방향환의 수산기를 가진 4급 탄소인 C-5,7,2',4'가 δ 168.8, 165.3, 157.6, 154.2에 관찰되었다. 이상의 분광학적인 결과 및 문헌상의 data 와의 비교를 통해 화합물 **17**은 sanggenol A로 동정하였다.⁽³⁶⁻³⁷⁾

18. 항염증활성

18-1.MG-63에서 hIL-6의 유리 확인

상백피에서 분리한 화합물 17개중 수량이 확보된 11개의 화합물에 대해 MG-63 세 포에서 hIL-6의 유리정도(%)를 검토하였다. 양성대조군으로 BAY 11-7085를 사용하였 다. 상백피에서 분리된 화합물은 화합물 10을 제외하고 양성대조군으로 사용된 BAY 11-7085보다 우수한 항염증활성을 나타냈다. 상백피에서 분리된 화합물들의 항염증활





성에 대한 기전연구가 필요한 것으로 사료된다.













Fig. 1. Chemical structures of compounds 1-17 isolated from Mori Radicis Cortex





Fig. 2. Inhibitory effect of compounds 1-11 against IL-6 production in TNF- α sitimulated MG-63cells.



TNF-a (10ng/ml)

MG-63 cells (3×10⁴) were incubated for 24 h. Cultures were incubated with or without compounds (100 μ g /mL) for 30 min and then stimulated with TNF- α (10 ng/mL) for 24 h. IL-6 in the supernatant was measured by ELAISA as described in Materials and Methods. Results are expressed as the mean ± S.E. from three different experiments. BAY 11-7085 was used as a positive control. **P*< 0.05 or ***P* <0.01 compared with TNF- α treated value.





Table 1. Inhibitory effect of compounds 1-11 against IL-6 production in TNF- α sitimulated MG-63cells.

Treatment	IL-6 (pg/mL)	Inhibition (%)
None	37.6±0.8	_
TNF-a	250.6±5.1	-
BAY 11-7085	30.2±2.1**	87.9**
kuwanon G (1)	3.5±3.0**	98.6**
kuwanon E (2)	5.0±2.8**	98.1**
kuwanon T (3)	7.5±1.0**	96.7**
morusin (4)	22.5±3.0**	90.9**
sanggenon A (5)	4.6±2.94**	98.2**
sanggenon M (6)	4.6±2.94**	98.2**
sanggenol A (7)	2.2±3.6**	99.1**
moracin R (8)	21.3±0.4**	91.4**
mulberofuran G (9)	2.5±1.5**	99.0**
mulberofuran A (10)	49.2±3.55**	80.4**
mulberofuran B (11)	16.9±1.54**	93.3**







MG-63 cells (3×10^4) were incubated for 24 h. Cultures were incubated with or without compounds (100 µg /mL) for 30 min and then stimulated with TNF- α (10 ng/mL) for 24 h. IL-6 in the supernatant was measured by ELAISA as described in Materials and Methods. Results are expressed as the mean \pm S.E. from three different experiments. BAY 11-7085 was used as a positive control. **P*< 0.05 or ***P* <0.01 compared with TNF- α treated value.





Ⅳ. 결 론

상백피(Mori Radicis Cortex)는 뽕나무과(Moraceae)의 뽕나무속 식물의 뿌리 껍질 로, 예로부터 해열, 항알러지, 혈압강하, 소염, 이뇨, 진해, 진통 등의 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 동의보감에는 폐기의 숨이 찬 천만[喘滿, 숨이 차서 가슴이 몹시 헐떡거리는 증세]과 수기부종[水氣浮腫]을 다스리고 폐의 수기를 없애주며, 수도[水 道]를 이롭게 하며, 해수와 침에 섞여 나오는 피를 다스린다고 알려져 있다. 지금까지 상백피로부터 분리 보고된 성분으로는 isoprenylated-flavonoid 화합물인 sanggenol A, sanggenon N, sanggenol P와 Diels-Alder 축합 화합물인 kuwanol A와 mulberrofuran G가 있으며, triterpenoid 화합물인 ursolic acid와 benzofuran 화합물 인 moracin 0와 moracin M 등이 있다.

L-6는 cytokine 일종의 단백질 그룹으로 일부는 림프구 계통의 세포가 생성하여 면역조정 역할을 하며 조혈작용을 조절한다. 대부분의 cytokine은 표적세포의 세포표 면 수용기를 통하여 작용하며 호로몬과 유사하다. 항세포증식 작용, 항미생물 작용, 항종양 작용의 기능을 하기 때문에 감염, 염증, 자기면역질환, 종양치료제로 사용되고 있다. 이러한 여러 기능을 가진 IL-6의 생산 조절이 잘못되면 류마티스 관절염, 간경 변, 건선 피부병, 다발설 골수종, 심장 점액종, 후천성 면역 결핍증 등의 여러 가지 자가 면역 질환을 유발하는 것으로 알려져 있다. 또한 염증성 신경 관절 질환(관절염, 신경통, 근육통)에 관한 많은 연구가 보고 되어졌다. TNF - α가 인간의 염증성 피부질 환과 관련이 있음은 이미 많이 보고되어 왔다.⁵⁻⁷⁾ TNF - α는 호중성 백혈구를 활성화 시켜 과산화수소 생성을 증가시킴으로 내인성 암촉진제로서의 기능도 하고 있다. 따라 서 발암촉진 단계와 밀접한 관계가 있는 염증단계에 중추적 역할을 하고 있는 cytokine인 TNF - α의 발현을 저해를 통하여 병변 과정을 조절할 수 있는 가능성이 높 다.

이에 본 연구에서는 상백피로부터 미량활성성분을 분리하고 각 물질에 대한 성분 분석과 동시에 분리된 화합물에 대해 MG-63 세포주를 이용하여 TNF-α에 의해 유도된 IL-6의 저해활성 측정으로 상백피의 항염증 활성을 검색코자 하였다. 상백피를 MeOH로 추출하고 용매분획한 후 얻어진 EtOAc 및 CH₂Cl₂ 분획에 대하여 여러가지 충진제를 사 용한 컬럼 크로마토그라피를 반복 실시하여 17종의 화합물을 분리하였고, NMR, IR, MS 등의 스펙트럼 데이터를 해석하여 화학구조를 동정하여 각각 kuwanon G (1), kuwanon





E (2), oxyresveratrol (3), moracin M (4), mulberrofuran G (5), moracin R (6), maracin 0 (7), noratocarpanone (8), kuwanon T (9), morusin (10), mulberofuran A (11), mulberofuran B (12), α-amyrin acetate(13), sanggenon A (14), sanggenon M (15), sanggenon F (16), and sanggenol A (17)로 동정하였다. 분리한 17종의 화합물 중 11종의 화합물에 대해 MG-63 세포를 이용하여 세포 독성이 없는 농도에서 TNF-α에 의해 유도된 IL-6의 억제작용을 검색한 결과 화합물 10을 제외한 나머지 화합물들은 양성대조군으로 사용한 BAY 11-7085보다 우수한 저해활성을 나타내 상백피의 항염증제 개발에 관한 후속연구가 필요한 것으로 사료된다.





V. 참 고 문 헌

- 1) 보건복지부(2012) OECD, Health data.
- 2) 이민석 (2014) 천연물의약품의 글로벌 진출 동향 및 전략. 경기바이오 인사이트 3, 13-19.
- 3) 안 덕균(1998) 한국본초도감, p 602. 교학사, 서울.
- 4) Kim, S. Y., Lee, H. S., Ryu, K. S., Lee, E. J., and Kim, Y. C. (1999) Protective effects of extracts of Mori cortex radicis on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *Yahkak Hoeji* 43, 391-396.
- 5) Jung, J.-W., Park, J.-H., Jung, Y.-J., Lee, C.-H., Han, D., and Baek, N.-I. (2014) Isolation and identification of triterpenoids from the mulberry (*Morus alba*) root bark. *J. Appl. Biol. Chem.* 57, 295-299.
- 6) Geng, C. A., Yao, S. Y., Xue, D. Q., Zuo, A. X., Zhang, X. M., and Jiang, Z. Y. (2010) New isoprenylated flavonoid from Morus alba. *Zhongguo Zhongyao Zazhi* 35, 1560-1565.
- 7) Hano, Y., Suzuki, S., Kohno, H., and Nomura, T. (1988) Absolute configuration of natural diels-alder type adducts from the Morus root bark. *Heterocycles* 27, 2315-2325.
- Lee, H. J., Lyu, D. H., Nam, K. W., Hong, S. S., Kim, K. O., and Kim, K. H. (2012) Protection of prenylated flavonoids from Mori cortex radicis (Moraceae) against nitric oxide-induced cell death in neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Arch. Pharm. Res.* 35, 163–170.
- 9) Jee, S. O. (2009) Antioxidant activities and whitening effect of the mulberry (*Morus alba* L.) root bark extracts. *Kor. J. Plant Res.* 22, 145-151.
- 10) Yang, Z. G., Matsuzaki, K., Takamatsu, S., and Kitanaka, S. (2011) Inhibitory effects of constituents from Morus alba var. multicaulis on differentiation of 3T3-L1 cells and nitric oxide production in RAW 264.7 cells. *Molecules* 16, 6010-6022.
- 11) Park, S. W., and Kim, S. H. (1996) Cell growth inhibition of Mori cortex on HTB 176 lymphoblastoma. *J. Basic Sci.* 9, 105–115.



- 12) Zhang, M., Chen, M., Zhang, H. Q., Sun, S., Xia, B., and Wu, F. H. (2009) In vivo hypoglycemic effects of phenolics from the root bark of *Morus alba*. *Fitoterapia* 80, 475-477.
- 13) Chang, S. W., Beak, S. H., Kim, C. H., and Lim, S. S. (2002) Interleukin-6 and Interleukin-10 in experimentally induced rat pulpal inflammation. *Amer. J. Dent.* 27, 232-238.
- 14) Ragab, A. A., Nalepka, J. L., Bi, Y., and Greenfield, E. M. (2002) Cytokine synergistically induce osteoclast differentiation: Support by immortalized or normal calvbarial cells. *Amer. J. Physiol. Cell Physiol.* 283, 679-687.
- 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.
- 16) Grovs, R. W., Alen, M. H., Ross, E. L., and Baker, J. N. (1994) Tumor necrosis factor alphais pro-inflammatory in normal human skin and modulates cutaneous adhesion molecule expression. *Br. J. Dematol.* 32, 345-350.
- 17) Wakefield, P. E., James, W. D., Samlaska, C. P., and Mettzes, M. S. (1991) Tumor necrosis factor. *J. Amer. Acad, Dermatol.* 24, 675-680.
- 18) Piguet, P. E., Grau, G., Houer, C., and Vassalli, P. (1991) Tumor necrosis factor is critical mediators in hepten-induced irritant and contact hyper sensitivity reaction. J. Exp. Med. 173, 673-679.
- 19) Joo, S. S., Kang, H. C., Lee, M. W., Choi, Y. W., and Lee, D. I. (2003) Inhi bition of IL-6 in osteoblast-like cell by isoflavones extracted from Sophora e fructus. Arch. Pharm. Res. 26, 1029-1035.
- 20) Kim J. H., Cho Y. H., Park, S. M., Lee, K. E., Lee, J. J., Lee, B. C., Pyo, H. B., Song, K. S., Park, H. D., and Yun Y. P. (2004) Antioxidants and inhib itor of matrix metalloproteinase-1 expression from leaves of *Zostera marina* L. *Arch. Pharm. Res.* 27, 177-183.
- Oshima, Y., Konno, C., Hikino, H., and Matsushita, K. (1980) Structure of m oracenin B, a hypotensive principle of Morus root barks. *Tetrahedron Letters* 21, 3381-3384
- 22) Nomura, T., Fukai, T., Narita, T., Terada, S., Uzawa, J., and litaka, Y. (1



981) Confirmation of the structures of kuwanons G and H (albanins F and G) b y partial synthesis. *Tetrahedron Letters*. 22, 2195-2198.

- 23) Nomura, T., Fukai, T., and Narita, T. (1980) Hypotensive constituents, kuwa non H, a new flavone derivative from the cultivated mulberry tree (*Morus alb* a L.). *Heterocycles* 14, 1943–1951.
- 24) Nomura, T., and Fukai, T. (1981) Constituents of the cultivated mulberry tr ee. *Planta Med.* 42, 79-88.
- 25) Hanawa, F., Tahara, S., and Mizutani, J. (1992) Antifungal stress compounds from *Veratrum grandiflorum* leaves treated with cupric chloride. *Phytochemist* ry 31, 3005-3007.
- Gerber, N. N. (1986) Phenolics from osage orange wood. Cleavage of oxyresve ratrol. *Phytochemistry* 25, 1697-1699.
- 27) Zhang, M., Chen, M., Zhang, H.-Q., Sun, S., Xia, B., and Wu, F.-H. (2009) I n vivo hypoglycemic effects of phenolics from the root bark of *Morus alba. F itoterapia* 80, 475-477.
- 28) Hano, Y., Fukai, T., Nomura, T., Uzawa, J., and Fukushima, K. (1984) Struct ure of Mulberrofuran I, A Novel 2-arylbenzofura derivative from the cultivat ed mulberry tree (*Morus bombycis* Koidz.) *Chem. Pharm. Bull.* 32, 1260-1263.
- 29) Kapche, G. D., Fozing, C. D., Donfack, J. H., Fotso, G. W., Amadou, D., Tch ana, A. N., Bezabih, M., Moundipa, P. F., Ngadjui, B. T., and Abegaz, B. M. (2009) Prenylated Arylbenzofuran Derivatives from *Morus mesozygia* with Antio xidant Activity. *Phytochemistry* 70, 216-221.
- 30) Chung, M.-I., Lu, C.-M., Huang, P.-L., and Lin, C.-N. (1995) Prenylflavonoid s of *Artocarpus heterophyllus. Phytochemistry* 40, 1279-1282.
- 31) Du, J., He, Z.-D., Jiang, R.-W., Ye, W.-C., Xu, H.-X., and But, P. P. (2003) Antiviral flavonoids from the root bark of *Morus alba* L. *Phytochemistry* 62, 1235-1238.
- 32) Dat, N. T., Binh, P. T. X., Quynh, L. T. P., Minh, C. V., Huong, H. T., and Lee, J. J. (2010) Cytotoxic prenylated flavonoids from Morus alba. *Fitoterap ia* 81,1224-1227.
- 33) Nomura, T., and Fukai, T. (1981) Mulberrofuran B, a new isoprenoid 2-arylben





zofuran from the root bark of the cultivated mulberry tree. *Planta Med.* 42, 197-199.

- 34) Shen, R.-C., and Lin, M. (2001) Diels-Alder type adducts from *Morus cathayan a. Phytochemistry* 57, 1231-1235.
- 35) Basnet, P., Kadota, S., Terashima, S., Shimizu, M., and Namba, T. (1993) Tw o new 2-arylbenzofuran derivatives from hypoglycemic activity-bearing fracti ons of *Morus insignis. Chem. Pharm. Bull.* 41, 1238-1243.
- 36) Tan, Y.-X., Liu, C., Zhang, T., Chen, R.-Y., and Yu, D.-Q. (2010) Bioactive constituents of *Morus wittiorum*. *Phytochem*. *Lett*. 3, 57-61.
- 37) Hirakura, K., Fukai, T., Yoshio, H., and Nomura, T. (1985) Kuwanon W, A natu ral Diels-Alder type adduct from the root bark of *Morus Ihou. Phytochemistry* 24, 159-161.















Fig. 4. 13 C-NMR spectrum of compound 1 (CD₃OD)













Fig. 7. ^{1}H -NMR spectrum of compound 3 (Acetone-d₆)















조



















Fig. 15. ¹H-NMR spectrum of compound 7 (Acetone- d_6)









Fig. 17. ¹H-NMR spectrum of compound 8 (Acetone- d_6)



















Fig. 20. 13 C-NMR spectrum of compound 9 (CD₃OD)







Fig. 21. 1 H-NMR spectrum of compound 10 (CD₃OD)








Fig. 22. 13 C-NMR spectrum of compound 10 (CD₃OD)











- 63 -













Fig. 26. 13 C-NMR spectrum of compound 12 (CD₃OD)























































