

갈근으로부터 분리한 암세포 증식저해물질

백목련^{1,2} · 최연희^{1,2} · 유대석¹ · 김미리¹ · 최상운¹ · 홍경식¹ · 김영섭¹ · 김영균³ · 이강로² · 유시용^{1,*}
¹한국화학연구원, ²성균관대학교 약학대학, ³국민대학교 삼림과학대학

Anti-proliferative Components in the Roots Extract from *Pueraria thunbergiana*

Mok Ryeon Baek^{1,2}, Yeon Hee Choi^{1,2}, Dae Seok Yoo¹, Mi Ri Kim¹, Sang Un Choi¹, Kyung Sik Hong¹,
Young Sup Kim¹, Young-Kyoon Kim³, Kang Ro Lee² and Shi Yong Ryu^{1,*}

¹Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 305-606

²College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746

³College of Forest Science, Kookmin University, Seoul 136-702, Korea

Abstract – The antitumor activity of the roots extract of *Pueraria thunbergiana* was investigated on the basis of cytotoxicity upon the cultured human tumor cell lines, *in vitro*. The purification of methylene chloride (MC) soluble part and ethylacetate (EA) soluble part of extract by column chromatography furnished seven isoflavonoids, two triterpenoids, one but-2-enolide. The structures of them were established by chemical and spectroscopic means to be lupeol (1), β -sitosterol (2), biochanin A (3), (-)-tuberosin (4), calycosin (5), daidzein (6), puerarin (7), daidzin (8), (+)-puerol-B 2-O- β -glucopyranoside (9), formononetin-7-O- β -glucopyranoside (10). Each isolates (1~10) were evaluated for inhibitory activities on the proliferation of cultured human tumor cell lines such as A549, SK-OV-3, HCT-15 and SK-MEL-2, respectively.

Key words – *Pueraria thunbergiana*, Leguminosae, Isoflavonoid, Cytotoxic activity.

갈근 (葛根, *Pueraria thunbergiana* Benth)은 콩과(Leguminosae)에 속하는 여러해살이 낙엽덩굴성 식물 칩의 뿌리로서 한방에서는 발한, 해열에 사용되어 왔다. 주요 성분으로는 isoflavonoid 계열의 daidzin, daidzein, puerarin, genistein, formononetin 등이 알려져 있으며 triterpenoid 계열의 soyasapogenol A 및 kudzusapogenol B, 그리고 polysaccharide, coumarin 계열의 물질들이 보고되고 있다.^{1,2} 갈근의 flavonoid 성분은 관상동맥 확장, 심장 근육의 산소 소모량 감소, 혈소판의 응집 억제에 대해 보고되어 있다.³ 갈근의 또 다른 약리활성에 대한 연구로는 *helicobacter pylori*의 저해활성,⁴ 장내세균의 활성화 효과,⁵ 항산화 효과,⁶ 알콜성 간 손상 보호 효과,⁷ allelopathy 작용,⁸ 해독작용, 면역력 증강 등의 효능을 보이는 것으로 알려졌다.

저자 등은 A549 (인체유래 비소세포폐암주) 등 4종의 인체유래 암세포주를 대상으로 하여 시험관 내 (*in vitro*) 세포

증식저해효과를 지표로 300 여종의 생약재 추출물들의 항암효능을 검색하여 본 결과 갈근(*Pueraria thunbergiana*)의 methanol (MeOH) 추출물이 농도 의존적으로 양호한 항암효과를 보여주고 있음을 알 수 있었다. 따라서 갈근의 MeOH 추출물을 상법에 따라 용매분획을 실시하여 얻은 각 분획을 각종 chromatography를 통하여 정제한 결과 최종적으로 10종의 성분들을 분리하였다. 본 보에서는 이들 10종의 성분들의 이화학적 성상 및 기기분석 자료를 통한 화학구조의 규명 및 각 화합물들의 인체유래 암세포주에 대한 세포증식저해효과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 실험에 사용된 생약재 갈근은 2006년 10월 시중 건재상에서 구입하여 국민대학교 김영균 교수의 감정 후 사용하였으며 표품은 한국화학연구원 (KR0035-2006)에 보관되어 있다.

시약 및 기기 – ¹H 및 ¹³C-NMR spectra는 Bruker 의

*교신저자(E-mail): syryu@kriict.re.kr
(Tel): 042-860-7163

AM-300과 AMX 500로 측정하였다. 세포독성 실험은 sulforhodamine B (SRB) bioassay 방법을 응용하여 수행하였다.¹⁷⁾ 실험에 사용한 암세포주들은 A549 (non small cell lung carcinoma), SK-OV-3 (ademoncarcinoma, ovary malignant ascites), SK-MEL-2 (malignant melanoma, metastasis to skin of thigh) 및 HCT-15 (colon adenocarcinoma)이며 모두 human origin tumor cell line들으로써, 미국 국립암연구소 (NCI)로부터 분양받아 한국화학연구원에서 계대배양 증인 것을 사용하였다.

추출 및 분리 - 건조된 갈근 12.0 kg을 MeOH에 7일간 2회 상온냉침하였다. 추출액을 모아 감압, 농축하여 MeOH 추출물 2.0 kg을 얻었으며, 이를 증류수에 현탁시킨 후 methylene chloride (MC)와 ethylacetate (EA), *n*-butanol (BuOH)로 단계적으로 용매 분획하여 MC 분획 93.0 g과 EA 분획 66.0 g, BuOH 분획 723.0 g을 얻었다. MC 분획 77.0 g을 silica gel column chromatography (MC : MeOH = 100 : 1, 20 : 1, 5 : 1, 1 : 1)를 실시하여 4개의 분획 (Fr.1~Fr.4)으로 나누었으며, 이 중 Fr.2 (32.9 g)를 재차 silica gel column chromatography (*n*-hexane : EA = 15 : 1, 7 : 1, 3 : 1)를 이용하여 8개의 분획 (Fr.21~Fr.28)으로 나누었다. 이들 중 Fr.22 및 Fr.23에서 각각 흰색분말 (화합물 **1**) 3.5 g 및 무색무정형결정 (화합물 **2**) 1.7 g을 얻었다. Fr.25 (4.9 g)를 silica gel column chromatography (*n*-hexane : EA = 7 : 1, 5 : 1, 4 : 1)와 RP-18 column chromatography (60~80% MeOH)로 두 차례 더 정제하여 미황색분말 (화합물 **3**) 340.0 mg을 분리하였다. Fr.26 (2.6 g)을 RP-18 column chromatography (20~60% MeOH)로 정제하여 미황색 분말 (화합물 **4**) 924.0 mg을 얻었다. Fr.4 (31.0 g)를 silica gel column chromatography (MC : MeOH = 50 : 1, 40 : 1, 30 : 1, 20 : 1)로 정제하여 황갈색 분말 (화합물 **5**) 340.0 mg을 얻었다. 한편 갈근의 EA 분획으로부터 얻은 황색분말을 여과 후 EA로 수차례 재결정하여 흰색 분말 (화합물 **6**) 13.0 g을 얻었다. 화합물 **6**을 제거한 나머지 여액 25.0 g을 silica gel column chromatography (MC : MeOH = 50 : 1, 40 : 1)로 분리 하여 9개의 분획 (Fr.E1~ Fr.E9)으로 나누었고, Fr.E2에서 황색분말 (화합물 **7**) 1.8 g, Fr.E4에서 흰색분말 (화합물 **8**) 4.4 g, Fr.E6에서 흰색분말 (화합물 **9**) 356.0 mg 및 Fr.E8에서 황갈색 분말 (화합물 **10**) 110.0 mg을 각각 얻었다.

Lupeol (1) - ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 38.7 (C-1), 27.4 (C-2), 79.0 (C-3), 38.8 (C-4), 55.3 (C-5), 18.3 (C-6), 34.2 (C-7), 40.8 (C-8), 50.4 (C-9), 37.1 (C-10), 20.9 (C-11), 25.1 (C-12), 38.0 (C-13), 42.8 (C-14), 27.4 (C-15), 35.5 (C-16), 43.0 (C-17), 48.3 (C-18), 47.9 (C-19), 150.9 (C-20), 29.8 (C-21), 40.0 (C-22), 27.9 (C-23), 15.3 (C-24), 16.1 (C-25), 15.9 (C-26), 14.5 (C-27), 18.0

(C-28), 109.3 (C-29), 19.3 (C-30)

Biochanin A (3) - ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.75 (3H, s, -OMe), 6.20 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-6), 6.36 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-8), 6.96 (2H, d, *J* = 6.9 Hz, H-3', 5'), 7.46 (2H, d, *J* = 6.8 Hz, H-2', 6'), 8.32 (1H, s, H-2)

(-)-Tuberosin (4) - ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.30 (3H, s, -CH₃), 1.33 (3H, s, -CH₃), 3.95 (1H, d, *J* = 11.4 Hz, H-6), 3.99 (1H, d, *J* = 11.4 Hz, H-6), 5.19 (1H, s, H-11a) 5.56 (1H, d, *J* = 9.8 Hz, H-3'), 5.98 (1H, s, OH-6a), 6.19 (1H, s, H-10), 6.20 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-4), 6.35 (1H, d, *J* = 9.8 Hz, H-4'), 6.44 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.2 Hz, H-2), 7.07 (1H, s, H-7), 7.22 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-1), 9.66 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-4); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 132.2 (C-1), 111.4 (C-1a), 109.9 (C-2), 158.7 (C-3), 102.6 (C-4), 155.6 (C-4a), 69.3 (C-6), 75.0 (C-6a), 121.7 (C-7), 122.0 (C-7a), 114.4 (C-8), 154.7 (C-9), 98.4 (C-10), 159.8 (C-10a), 84.5 (C-11a), 27.6 (-CH₃)₂-, 27.7 (-CH₃)₂-, 76.3 (C-2'), 127.6 (C-3'), 121.8 (C-4')

Calycosin (5) - ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.84 (3H, s, -OMe), 6.86 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5'), 6.91 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-8), 6.99 (1H, dd, *J* = 8.8, 2.2 Hz, H-6), 7.04 (1H, dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, H-6'), 7.21 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-2'), 8.02 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-5), 8.38 (1H, s, H-2), 9.05 (1H, s, OH-3')

Daidzein (6) - ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.80 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3', 5'), 6.85 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-8), 6.93 (1H, dd, *J* = 8.7, 2.1 Hz, H-6), 7.37 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2', 6'), 7.96 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-5), 8.27 (1H, s, H-2); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 153.5 (C-2), 124.2 (C-3), 175.4 (C-4), 127.9 (C-5), 115.8 (C-6), 163.1 (C-7), 102.7 (C-8), 157.8 (C-9), 117.3 (C-10), 123.2 (C-1'), 130.7 (C-2'), 115.6 (C-3'), 158.1 (C-4'), 115.6 (C-5'), 130.7 (C-6')

Puerarin (7) - ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 4.81 (1H, d, *J* = 9.8 Hz, H-Glc-1), 6.79 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3', 5'), 6.98 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-6), 7.39 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2', 6'), 7.93 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-5), 8.34 (1H, s, H-2)

Daidzin (8) - ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆+D₂O) δ : 5.08 (1H, d, *J* = 7.4 Hz, H-Glc-1), 6.81 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3', 5'), 7.14 (1H, dd, *J* = 8.9, 2.2 Hz, H-6), 7.23 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-8), 7.40 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2', 6'), 8.04 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H-5), 8.39 (1H, s, H-2); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 153.3 (C-2), 123.7 (C-3), 174.7 (C-4), 126.9 (C-5), 115.5 (C-6), 161.4 (C-7), 103.4 (C-8), 157.2 (C-9), 118.4 (C-10), 122.3 (C-1'), 130.0 (C-

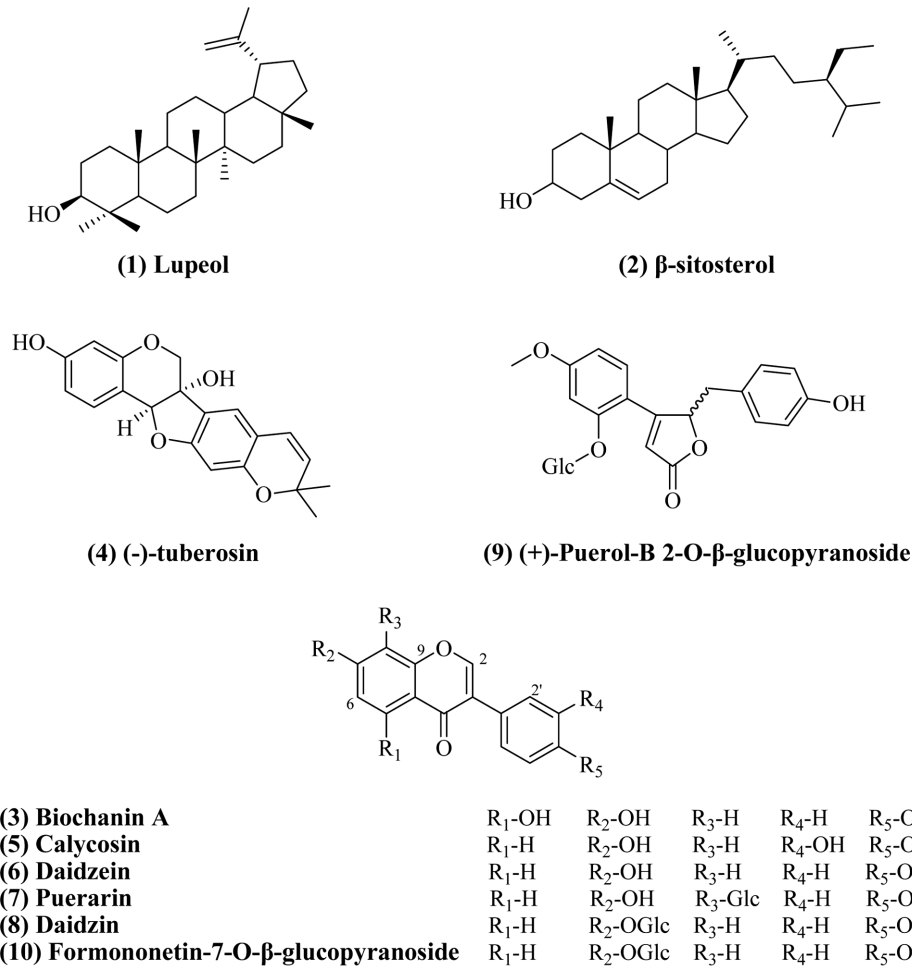


Fig. 1. Structures of compounds 1~10

2'), 114.9 (C-3'), 156.9 (C-4'), 114.9 (C-5'), 130.0 (C-6'), 99.9 (Glc C-1), 73.1 (Glc C-2), 76.5 (Glc C-3), 69.6 (Glc C-4), 77.2 (Glc C-5), 60.6 (Glc C-6)

(+)-Puerol-B 2-O- β -glucopyranoside **(9)** – $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 2.52 (1H, dd, J = 7.8, 14.5 Hz, H-4a), 3.03 (1H, dd, J = 14.5, 2.6 Hz, H'-4a), 3.82 (1H, s, -OMe), 5.10 (1H, d, J = 5.2 Hz, H-Glc-1), 6.00 (1H, m, H-4), 6.33 (1H, d, J = 1.4 Hz, H-2), 6.61 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3', 5'), 6.71 (1H, dd, J = 8.7, 2.4 Hz, H-5''), 6.88 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-3''), 6.94 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2', 6'), 7.56 (1H, d, J = 8.7 Hz, H-6''); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 172.5 (C-1), 113.3 (C-2), 165.9 (C-3), 83.6 (C-4), 38.2 (C-4a), 126.6 (C-1'), 130.3 (C-2'), 114.8 (C-3'), 155.9 (C-4'), 114.8 (C-5'), 130.3 (C-6'), 112.1 (C-1''), 156.3 (C-2''), 101.2 (C-3''), 162.9 (C-4''), 108.5 (C-5''), 131.3 (C-6''), 55.4 (OMe), 100.2 (Glc C-1), 73.1 (Glc C-2), 76.5 (Glc C-3), 69.9 (Glc C-4), 77.4 (Glc C-5), 60.8 (Glc C-6)

Formononetin-7-O- β -glucopyranoside **(10)** – $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 3.77 (3H, s, -OMe), 5.08 (1H, d, J = 4.7 Hz, H-Glc-1), 6.98 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-3', 5'), 7.14 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-6), 7.23 (1H, s, H-8), 7.52 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2', 6'), 8.04 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-5), 8.43 (1H, s, H-2); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 153.6 (C-2), 123.3 (C-3), 174.6 (C-4), 126.9 (C-5), 115.6 (C-6), 161.4 (C-7), 103.4 (C-8), 157.0 (C-9), 118.4 (C-10), 123.9 (C-1'), 130.0 (C-2'), 113.6 (C-3'), 158.9 (C-4'), 113.6 (C-5'), 130.0 (C-6'), 55.1 (OMe), 99.9 (Glc C-1), 73.1 (Glc C-2), 77.2 (Glc C-3), 69.6 (Glc C-4), 76.4 (Glc C-5), 60.6 (Glc C-6)

암세포 증식 저해활성 (*in vitro* cytotoxicity)의 측정 – 실험에 사용한 암세포주들은 A-549 (non small cell lung carcinoma), SK-OV-3 (adenocarcinoma, ovary malignant ascites), SK-MEL-2 (malignant melanoma, metastasis to skin of thigh), HCT 15 (colon adenocarcinoma) 이며 암세포들은

모두 human origin tumor cell line들로서, 미국의 국립암연구소 (NCI)로부터 분양받아 한국화학연구원에서 계대배양 중인 것을 사용하였으며 암세포 증식저해활성은 NCI protocol에 따라 측정하였다.⁹⁾

결과 및 고찰

화합물 1은 흰색분말로 ¹H-NMR spectrum 및 ¹³C-NMR spectrum을 검토하고 표품과 비교한 결과 lupeol로 동정하였다.¹⁰⁾ 화합물 2는 무색 무정형결정으로 ¹H-NMR 등 분광학적 data를 문헌¹¹⁾과 비교한 결과 β-sitosterol로 확인되었다. 화합물 3은 미황색 분말로서 ¹H-NMR과 ¹³C-NMR data를 문헌¹²⁾과 비교하여 본 결과 biochanin A로 동정할 수 있었다. 화합물 4 역시 미황색 분말로서 ¹H-NMR spectrum 및 ¹³C-NMR spectrum을 검토하고 표품과 비교한 결과 (-)-tuberosin으로 동정하였다.¹³⁾ 한편 화합물 5는 황갈색 분말로서 문헌¹⁴⁾과 비교하여 본 결과 calycosin과 일치함을 알 수 있었다. 흰색 분말인 화합물 6은 ¹H-NMR과 ¹³C-NMR data를 표품과 비교한 결과 같은 주성분의 일종인 daidzein으로 확인할 수 있었다.^{12,15)} 화합물 7의 spectral data를 문헌¹⁶⁾치와 정밀 비교분석하여 본 결과, daidzein (화합물 6)의 8번 carbon에 glucose가 결합된 C-배당체인 puerarin으로 확인할 수 있었다. 화합물 8은 흰색분말로서 ¹H-NMR과 ¹³C-NMR data를 표품과 비교하여 본 결과 daidzein (화합물 6)의 7번 hydroxy기에 glucose가 결합된 daidzin으로 확인하였다.¹³⁾ 화합물 9는 ¹H-NMR spectrum에서 isoflavonoid의 ¹H-NMR spectrum과 비슷한 양상을 보였으나, isoflavonoid의 ¹H-NMR spectrum에서 특징적으로 관찰되는 2번 proton signal (8.32 ppm)이 보이지 않았다. 반면에 ¹³C-NMR data를 면밀히 조사하여본 결과 두 개의 aromatic ring과 한 개의 furan ring, 한 개의 glucoside가 결합된 부분구조를 추측할 수 있었으며, 최종적으로 문헌¹⁷⁾과 비교하여 화합물 9는 (+)-puerol-B 2-O-β-glucopyranoside로 확인하였다. 화합물 10은 ¹H-NMR과 ¹³C-NMR data를 통해 daidzin (화합물 8)의 4' 위치의 hydroxy기가 methoxy기로 치환된 구조라는 것을 알 수 있었고, 표품과 비교하여 formononetin-7-O-β-glucopyranoside으로 확인하였다.^{18,19)}

한편, 분리 정제된 각 화합물 (1~10)을 각각 SRB (Sulphorhodamine B) bioassay에 준하여 A549 (비소세포폐암주), SK-OV-3 (난소암주), SK-MEL-2 (피부종양주) 및 HCT-15 (직장종양주) 등 4종의 human tumor cells에 대한 시험관내 암세포 증식저해 효과를 검색하여 본 결과 이 중 화합물 1, 3~6 등이 각각의 암세포주에 대하여 IC₅₀ (50% 세포증식저해 효과를 나타내는 농도)치는 대조약물 doxorubicin에 비하여 현저하게 낮지만 농도 의존적으로 우수한 세포증식저해효과를 보여주었다 (Table I).

Table I. Inhibition of tumor cell proliferation by components isolated from *Pueraria thunbergiana*.

Compound	IC ₅₀ (μg/ml) ^a			
	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	HCT15
1	17.14	15.89	13.80	14.00
2	>30	>30	>30	>30
3	8.32	6.55	7.68	7.81
4	12.99	3.74	6.61	2.10
5	21.20	12.66	14.76	15.92
6	23.50	12.08	13.58	17.33
7	>30	>30	>30	>30
8	>30	>30	>30	>30
9	>30	>30	>30	>30
10	>30	>30	>30	>30
doxorubicin	0.0013	0.0280	0.0009	0.0195

^aIC₅₀ value of compounds against each cancer cell line, which was defined as a concentration (μg/ml) that caused 50 % inhibition of cell proliferation *in vitro*.

결 론

생약재 갈근(葛根, *Pueraria thunbergiana* Benth)의 MeOH 추출물을 극성에 따라 용매분획 후 chromatography를 이용하여 7종의 isoflavonoid 화합물, 2종의 triterpenoid 화합물, 1종의 but-2-enolide 화합물을 분리 정제하였다. 분리된 화합물들은 각각 물리화학적 성상과 기기 분석 (¹H-NMR, ¹³C-NMR) data로 lupeol (1), β-sitosterol (2), biochanin A (3), (-)-tuberosin (4), calycosin (5), daidzein (6), puerarin (7), daidzin (8), (+)-puerol-B 2-O-β-glucopyranoside (9), formononetin-7-O-β-glucopyranoside (10)로 확인 동정하였다. 분리된 화합물들은 SRB bioassay를 통해 human tumor cell에 대한 세포증식저해 검색결과 화합물 1, 3~6 등이 농도의존적으로 우수한 암세포 증식저해 효과를 나타냈다.

사 사

이 연구는 산업기술연구회 소관기관 협동연구사업 및 산림청 '산림과학기술개발사업'(과제번호 : S120808L1101104)의 연구비 지원을 받아 수행한 연구결과로 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. Jun, M., Fu, H. Y., Hong, J., Wan, X., Yang, C. S. and Ho, C. T. (2003) Comparison of antioxidant activities of isoflavones from kudzu root (*Pueraria lobata* Ohwi). *Journal of Food*

- Science*. **68**: 2117-2122.
2. Arao, T., Kinjo, J., Nohara, T. and Isobe, R. (1997) Oleanene-type triterpene glycosides from *Pueraria radix*. IV. six new saponins from *Pueraria Lobata*. *Chem. pharm. bull.* **45**: 362-366.
 3. Yeung, D. K. Y., Leung, S. W. S., Xu, Y. C., Vanhoutte, P. M. and Man, R. Y. K. (2006) Puerarin, an isoflavonoid derived from *Radix Pueraria*, potentiates endothelium-independent relaxation via the cyclic AMP pathway in porcine coronary artery. *Euro. J. Pharmacol.* **552**: 105-111.
 4. Bae, E. A., Han, M. J. and Kim, D. H. (2001) *In vitro* anti-helicobacter pylori activity of irisolidone isolated from the flowers and rhizomes of *Pueraria thunbergiana*. *Planta Med.* **67**: 161-163.
 5. Park, E. K., Shin, J., Bae, E. A., Lee, Y. C. and Kim, D. H. (2006) Intestinal bacteria activate estrogenic effect of main constituents puerarin and daidzin of *Pueraria thunbergiana*. *Biol. Pharm. Bull.* **29**: 2432-2435.
 6. Park, C. H., Lim, S. S. and Lee, D. U. (2007) Structure-activity relationships of components from the roots of *Pueraria thunbergiana* having aldose reductase inhibitory and anti-oxidative activity. *Bull. Korean Chem. Soc.* **28**: 493-495.
 7. Kim, M. J., Lee, J. S., Ha, O. M., Jang, J. Y. and Cho, S. Y. (2002) Effects of *Pueraria thunbergiana* bentham water extracts on hepatic alcohol metabolic enzyme system in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **31**: 92-97.
 8. Hisashi, K. N. (2003) Allelopathic substances in *Pueraria thunbergiana*. *Phytochemistry* **63**: 577-580.
 9. Skehan, P., Streng, R., Scudiero, D., Monks, A., McMahon, J., Vistica, D., Warren, J. T., Bokesch, H., Kenney, S. and Boyd, M. R. (1990) New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J. Natl. Cancer. Inst.* **82**: 1107-1112.
 10. Reynolds, W. F. Mclean, S., Poplawski, J., Enriquez, R. G., Laura I. and Leon, I. (1986) Total assignment of ^{13}C and ^1H spectra of three isomeric triterpenol derivatives by 2D NMR: an investigation of the potential utility of ^1H chemical shifts in structural investigations of complex natural products. *Tetrahedron* **42**: 3419-3428.
 11. Herberlt L. Holland, Peter R. P. Diakow and Gregg J. Taylor, (1978) ^{13}C nuclear magnetic resonance spectra of some C-19-hydroxy, C-5,6 epoxy, C-24 ethyl, and C-19-norsteroids. *Can. J. Chem.* **56**: 3121-3127.
 12. Chang, Y. C., Nair, M. G., Santell, R. C. and Helferich, W. G. (1994) Microwave-mediated synthesis of anticarcinogenic isoflavones from soybeans. *J. Agric. Food Chem.* **42**: 1869-1871.
 13. Shirataki, Y., Tsuzuku, T., Yokoe, I., Hirano, R. T. and Komatsu, M. (1990) Studies on the constituents of *Sophora* species. XXIII. constituents of the root of *Sophora chrysophylla* seem. *Chem. Pharm. Bull.* **38**: 1712-1716.
 14. Du, X., Bai, Y., Liang, H., Wang, Z., Zhao, Y., Zhang, Q and Huang, L. (2006) Solvent effect in ^1H NMR spectra of 3'-hydroxy-4'-methoxy isoflavonoids from *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*. *Magn. Reson. Chem.* **44**: 708-712.
 15. Kanakubo, A., Koga, K., Isobe, M., Fushimi, T., Saitoh, T., Ohshima, Y. and Tsukamoto, Y. (2001) First finding of daidzein 7-O-phosphate and genistein 7-O-phosphate that are hydrolyzed by sulfatase. *Tetrahedron* **57**: 8801-8805.
 16. Hirakura, K., Morita, M., Nakajima, K., Sugama, K., Takagi, K., Nitsu, K., Ikeya, Y., Maruno, M. and Okada, M. (1997) Phenolic glucosides from the root of *Pueraria Lobata*. *Phytochemistry* **46**: 921-928.
 17. Nohara, T., Kinjo, J., Furusawa, J., Sakai, Y., Inoue, M., Shirataki, Y., Ishibashi, Y., Yokoe, I. and Komatsu, M. (1993) But-2-enolides from *Pueraria Lobata* and revised structures of puerosides A, B and sophoroside A. *Phytochemistry* **33**: 1207-1210.
 18. Han, T., Li, H., Zhang, Q., Zheng, H. and Qin, L. (2006) New thiazinediones and other components from *Xanthium Strumarium*. *Chemistry of Natural Compounds* **42**: 567-570.
 19. Lee, H. J., Lee, O. K., Kwon, Y. H., Choi, D. H., Kang, H. Y., Kee, H. Y., Paik, K. H. and Lee, H. J. (2006) Isoflavone glycosides from the bark of *Amorpha Fruticosa*. *Chemistry of Natural Compounds* **42**: 415-418.

(2009년 2월 6일)