

모과나무 줄기의 화학성분

신지은 · 김청룡 · 김홍광¹ · 우은란*

조선대학교 약학대학, ¹조선대학교 약학대학 & 길림의약학원 약학원

Phytochemical Constituents Isolated from the Stems of *Chaenomeles sinensis* Koehne

Ji Eun Shin, Qinglong Jin, Hong-Guang Jin¹ and Eun-Rhan Woo*

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

¹College of Pharmacy, Chosun University, Gwangju 501-759, Republic of Korea, & College of Pharmacy,
Jilin Medical College, Jilin 132013, China

Abstract – *Chaenomeles sinensis* Koehne (Rosaceae) is a deciduous tree and is distributed in China, Korea and Japan. In previous studies on the fruits of *C. sinensis*, some triterpenoid compounds such as oleanolic acid, tormentic acid were reported. In an ongoing investigation into biologically active compounds from natural products, the methanol extract of the stems of *C. sinensis* was investigated. By means of the repeated column chromatography using silica gel, Sephadex LH-20, LiChroprep RP-18, betulin (**1**), tormentic acid (**2**), 1-β-D-glucopyranosyl-3,4,5-trimethoxybenzene (**3**), lyoniresinol-2a-O-α-L-rhamnopyranoside (**4**) were isolated. The chemical structures of compounds **1-4** were determined by the basis of physico-chemical properties and spectroscopic methods such as 1D and 2D NMR. For the isolated compounds (**1-4**), the inhibitory activity of IL-6 production in TNF-α stimulated MG-63 cell was examined. Among the isolates, betulin (**1**), 1-β-D-glucopyranosyl-3,4,5-trimethoxybenzene (**3**), lyoniresinol-2a-O-α-L-rhamnopyranoside (**4**) showed inhibitory effects on IL-6 production in TNF-α stimulated MG-63 cell.

Key words – *Chaenomeles sinensis* Koehne, Rosaceae, IL-6 inhibitory activity

모과나무 (*Chaenomeles sinensis* Koehne)는 장미과 (Rosaceae)에 속하는 낙엽 교목으로서 중국 원산지로 한국, 일본 등지에 분포한다.¹⁾ 모과나무는 전남, 전북, 경북, 충북, 경기도에 야생하고 높이 10 m에 달하며, 나무껍질이 조각으로 벗겨져서 흰무늬 형태로 되며 열매는 이과(梨果)로 타원형 또는 달걀을 거꾸로 세운 모양이고 길이 10~20 cm, 지름 8~15 cm이며 목질이 발달해 있다. 9월에 황색으로 익으며 향기가 좋으나 신맛이 강하다.²⁾ 모과는 술을 빚기도 하고 신진대사와 소화촉진 작용을 도우며 특히 기침의 약제로 유용하고 또한 피로회복과 피부미용효과가 있으며 조혈작용을 한다.³⁾ 지금까지 모과나무에 대한 연구는 열매에 대한 성분 연구가 주로 이루어졌으며 maslinic acid, tormentic acid 등의 triterpenoid 및 flavonoid^{3,5)} 화합물들이 이미 보고되었으나 모과나무 줄기에 대한 연구는 전혀 이

루어지지 않아 줄기부위에 대한 식물화학적 성분 탐색과 동시에 국내 자생식물로부터 생리활성 물질탐색에 대한 연구의 일환으로 본 실험을 진행하였다. 모과나무 줄기의 메탄올 추출물이 IL-6 유리에 영향을 미치는 것이 관찰되어 이들 분획으로부터 활성물질의 정제를 시도하였다. Human interleukin(hIL)-6는 cytokine의 일종으로 일부는 림프구 계통의 세포가 생성하며 면역조절 및 조혈작용을 조절하는 것으로 알려져 있다. 대부분의 cytokine은 표적세포의 세포표면 수용기를 통하여 작용하고 호르몬과 유사하며 항세포증식 작용, 항미생물 작용, 항종양 작용 등이 있어 감염, 염증, 자기면역질환, 중앙치료제로 사용되고 있다.²³⁻²⁶⁾ 세포는 TNF-α에 의해서 damage를 받게 되면 이때 IL-6가 세포 밖으로 방출되게 되는데 본 실험에서는 모과나무 줄기의 메탄올 추출물로부터 분리한 화합물 (**1-4**)에 대해 세포 독성이 없는 농도에서 MG-63 세포주를 이용하여 TNF-α에 의해 유도된 IL-6의 저해활성을 검색하였다.

*교신저자(E-mail): wooer@chosun.ac.kr
(Tel): +82-62-230-6369

재료 및 실험

실험재료 - 본 실험에 사용한 모과나무 (*Chaenomeles sinensis* Koehne.) 줄기는 조선대학교 약초원에서 채집하여 감정한 후 사용하였으며 일부는 표준품으로 조선대학교 약학대학 표본실에 보관하고 있다.

시약 및 기기 - 용점측정기는 Fisher Scientific (Model 307N0043, Canada)를 사용하였고 선광도는 AUTOPOL[®] Automatic Polarimeter (Rudolph Research Flangers, NJ07836)를 사용하였으며 IR 스펙트럼은 JASCO FT/IR-300E (JASCO Co., Japan)를 사용하였다. EIMS는 JMS 700 (JEOL, Japan)을 사용하였고 ¹H-NMR과 ¹³C-NMR은 VARIAN Unity Inova 500 및 JEOL JNM-LA 300을 사용하였다 (한국기초과학연구원 광주센터). 분취용 컬럼 크로마토그래피의 packing material로는 Kieselgel 60 (63-200 μm, Art. 7734, Merck), Kieselgel 60 (40-63 μm, Art. 9385, Merck), Sephadex LH-20 (Beads size 25-100 μm, Sigma), MCI gel CHP20P (75-150 μm, Mitsubishi Chemical Co., Japan)을 사용하였다. 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 F₂₅₄ S plate (layer thickness 0.25 mm, 20×20 cm. Art. 5423, Merck)를 사용하였으며 추출 및 컬럼 크로마토그래피용 용매는 1급 시약을 기타시약은 1급 또는 특급을 각각 사용하였으며 발색시약으로는 10% H₂SO₄를 사용하였다.

추출 및 분리 - 모과나무 (*Chaenomeles sinensis* Koehne) 줄기 2.7 kg을 MeOH 로 3시간, 3회 반복 환류냉각하에 추출하고 여과, 감압 농축하여 76.941g의 MeOH extract 를 얻었다. MeOH extract를 증류수로 현탁하고 methylene chloride(CH₂Cl₂), ethyl acetate(EtOAc), *n*-butanol(BuOH), H₂O 순으로 계통분획하여 각각 11.6 g, 5.6 g, 20.1 g, 184.7 g의 분획물을 얻었다. CH₂Cl₂ 분획 5 g을 silica gel을 이용하여 컬럼 크로마토그래피를 실시하였다. Hexane : Acetone = 10:1 → 1:1 순으로 극성을 높여 주면서 용출시키고 각각의 분획들은 TLC pattern에 따라 유사한 것들을 합쳐 13개의 sub-fraction(D-1, D-2 ... D-13)을 얻었다. Sub-Fraction D-6을 Hexane: Ethyl acetate = 15:1 → 1:1 용매조건으로 Silica gel 60 (40-63 mesh)을 이용하여 컬럼 크로마토그래피를 실시하였고 silica gel 60 F₂₅₄, RP-18 F₂₅₄ TLC pattern으로 확인하여 분리된 정도에 따라 7 개의 분획으로 나누었다. 분획들 중 6번째 분획 D-6-6를 90% MeOH을 용매조건으로 하여 RP-18을 이용한 컬럼 크로마토그래피를 실시하여 화합물 1 (1.98 mg)을 얻었다. Sub-Fraction D-11를 MeOH : Water : Isopropanol = 1 : 6 : 0.1 → 3 : 1 : 0.1 용매조건으로 RP-18을 이용하여 컬럼 크로마토그래피를 실시하였다. 각각의 silica gel 60 F₂₅₄, RP-18 F₂₅₄ TLC pattern

으로 확인하여 분리된 정도에 따라 12개의 분획으로 나누었다. 그 중 10번째 분획 D-11-10 분획을 MeOH : Water : Isopropanol = 2:1:0.1을 용매조건으로 하여 RP-18을 이용한 컬럼 크로마토그래피를 실시하여 화합물 2 (3.91 mg)을 얻었다.

모과나무의 BuOH frac. 10g을 HP-20을 이용하여 컬럼 크로마토그래피를 실시하였다. 처음 사용한 전개용매는 MeOH : Water = 0% ~ 100% MeOH 순으로 극성을 높여 주면서 용출시키고 각각의 분획들은 TLC pattern에 따라 유사한 것들을 합쳐 3개의 sub-frac.을 얻었다. Subfraction B-3 (8.12g)을 MeOH : Water = 4:6 → 6:4 용매조건으로 HP-20을 이용하여 컬럼 크로마토그래피를 실시하였다. 각각의 silica gel 60 F₂₅₄, RP-18 F₂₅₄ TLC pattern으로 확인하여 분리된 정도에 따라 5개의 분획으로 나누었다. 분획들 중 B-3-2 (1.2 g)을 CHCl₃ : MeOH : Water (5:1:0.1 → 1:1:0.1) 용매조건으로 Silica gel을 이용한 컬럼 크로마토그래피를 실시하여 화합물 3 (3 mg)을 얻었다.

Subfraction B-3(8.12 g)을 MeOH : Water (4:6 → 6:4) 용매조건으로 HP-20을 이용하여 컬럼 크로마토그래피를 실시하였다. 각각의 silica gel 60 F₂₅₄, RP-18 F₂₅₄ TLC pattern으로 확인하여 분리된 정도에 따라 5개의 분획으로 나누었다. 분획들 중 B-3-3 (4.04 g)을 CHCl₃ : MeOH : Water = 5:1:0.1 → 1:1:0.1을 용매조건으로 하여 silica gel을 이용한 컬럼 크로마토그래피를 실시하였다. 각각의 silica gel 60 F₂₅₄, RP-18 F₂₅₄ TLC pattern으로 확인하여 분리된 정도에 따라 7개의 분획으로 나누었다.

그 중 B-3-3-2 (137.7mg)을 MeOH : Water = 1:3, CHCl₃ : MeOH : Water = 3:1:0.1을 용매조건으로 하여 각각 Sephadex LH20, silica gel을 이용한 컬럼 크로마토그래피를 실시하여 화합물 4 (7mg)을 얻었다.

화합물 1 - white powder; EIMS, m/z 442 [M]⁺; [α]_D²⁵: +28° (CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 4.68 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-29b), 4.58 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-29a), 3.78 (1H, d, *J* = 11.0 Hz, H-28b), 3.32 (1H, d, *J* = 10.5 Hz, H-28a), 3.17 (1H, dd, *J* = 11.5, 4.5 Hz, H-3), 1.68 (3H, s, H-30), 1.02 (3H, s, H-26), 0.98 (3H, s, H-27), 0.96 (3H, s, H-23), 0.82 (3H, s, H-25), 0.76 (3H, s, H-24); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 150.4 (C-20), 109.6 (C-29), 78.9 (C-3), 60.5 (C-28), 55.2 (C-5), 50.3 (C-9), 48.7 (C-19), 47.7 (C-17), 47.7 (C-18), 42.6 (C-14), 40.8 (C-8), 38.8 (C-1), 38.6 (C-4), 37.2 (C-13), 37.1 (C-10), 34.2 (C-7), 33.9 (C-22), 29.7 (C-21), 29.1 (C-16), 27.9 (C-23), 27.3 (C-2), 27.0 (C-15), 25.1 (C-12), 20.8 (C-11), 19.0 (C-30), 18.2 (C-6), 16.1 (C-26), 15.9 (C-25), 15.3 (C-24), 14.7 (C-27).

화합물 2 - white powder; EIMS, m/z 489 [M]⁺; [α]_D²⁵:

+30° (CHCl₃-MeOH); ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 5.29 (1H, t, H-12), 4.88 (1H, brs, OH-19), 3.94 (1H, ddd, *J* = 10.2, 7.2, 2.4 Hz, H-2), 3.30 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-3), 3.06 (1H, s, H-18), 1.71 (3H, s, H-27), 1.35 (3H, s, H-29), 1.28 (3H, s, H-23), 1.19 (3H, s, H-26), 0.99 (3H, s, H-24), 0.93 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-30), 0.87 (3H, s, H-25); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆) δ: 182.5 (C-28), 140.2 (C-13), 129.4 (C-12), 80.2 (C-3), 73.7 (C-19), 67.3 (C-2), 55.2 (C-5,18), 48.8 (C-17), 48.7 (C-1), 48.3 (C-9), 43.2 (C-20), 42.8 (C-14), 41.3 (C-8), 39.6 (C-4), 39.5 (C-10), 39.1 (C-22), 34.2 (C-7), 29.7 (C-23), 29.3 (C-15), 27.4 (C-29), 27.2 (C-21), 26.7 (C-16), 25.0 (C-27), 24.8 (C-11), 22.5 (C-30), 19.4 (C-6), 17.6 (C-24), 17.0 (C-26), 16.7 (C-25).

화합물 3 – white powder; EIMS, *m/z* 492 [M]⁺; ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ: 6.31 (2H, s, H-2,6), 4.71(1H, d, *J* = 8.0 Hz, Glu H-1), 3.68 (6H, s, 3,5-OMe), 3.66 (3H, s, 4-OMe), 3.52 (1H, s, Glc H-6), 3.36-3.38 (1H, m, Glc H-5), 3.28 (1H, m, Glc H-3), 3.22 (1H, m, Glc H-2), 3.16 (1H, m, Glc H-4); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆) δ: 153.2 (C-1), 152.4 (C-3,5), 131.7 (C-4), 93.6 (C-2,6), 100.3 (Glc C-1), 76.4 (Glc C-3), 75.9 (Glc C-5), 72.5 (Glc C-2), 69.4 (Glc C-4), 60.2 (Glc C-6), 59.5 (4-OMe), 55.0 (2×3,5-OMe).

화합물 4 – yellow oil; EIMS, *m/z* 566 [M]⁺; [α]_D²⁵: -34.7° (CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 6.58 (1H, s, H-2), 1.20* and 1.31 (3H, d, *J* = 6.0 Hz, Rha-Me), 6.34* and 6.36 (2H, s, H-2',6'), 4.65 and 4.72* (1H, brs, Rha H-1), 4.31 (1H, d, *J* = 5.5 Hz, H-7'), 3.85 (3H, s, 3-OMe), 3.73 (6H, s, 3',5'-OMe), 3.34 (3H, s, 5-OMe), 2.56-2.76 (2H, m, H-7), 2.02-2.10 (1H, m, H-8'), 1.62-1.67 (1H, m, H-8); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 149.1 (C-3',5'), 148.8 (C-3), 147.6* and 147.7 (C-5), 139.3 (C-1'), 139.0 (C-4), 134.7 (C-4'), 130.3 (C-1), 126.1* and 126.2 (C-6), 107.8 (C-2), 106.8* and 106.9 (C-2',6'), 102.1* and 102.5 (Rha C-1), 74.0 (Rha C-4), 72.5 (Rha C-3), 72.4 (Rha C-2), 70.4 (Rha C-5), 70.1* and 70.2 (C-9'), 66.4 (C-9), 60.2 (5-OMe), 56.9 (3',5'-OMe), 56.7 (3-OMe), 46.6* and 46.7 (C-8'), 43.1 (C-7'), 40.8 and 41.1* (C-8), 33.7 (C-7), 18.0* and 18.3 (Rha C-6) (Peaks marked with an asterisk were of lesser intensity than their companion peaks of similar resonance).

MG-63 cell 에서 IL-6의 유리 확인 – 세포주는 10% FBS (fetal bovine serum)가 포함된 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 culture dish에 증식시킨 MG-63 세포를 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 anti-body 100 μl(anti-human IL-6 2 μg/ml in 0.1 M NaHCO₃)를 넣은 후 4°C에서 overnight하여 1차 anti-body가 96 well plate에 부착되도록 하였다. 결합되지 않은 1차 anti-body를 씻어내기 위해 washing solution [0.05% Tween 20 in (PBS) phosphate buffered saline] 100 μl로 3번 씻어낸 후 blocking solution (3% bovine serum albumin (BSA) in PBS) 200 μl로 처리하고 실온에서 2시간 동안 방치한 후 washing solution 200 μl로 2번 씻어냈다. 위에서 24시간 후와 48시간 후에 채취한 배양액 50 μl와 blocking solution 50 μl를 넣어 실온에서 4시간 또는 4°C에서 overnight하여 1차 anti-body와 결합하도록 하였다. 100 μl의 washing solution으로 4번 세척한 후 100 μl의 2차 anti-body (biotin conjugated rat anti-human IL-6 1 μg/ml in blocking solution)를 첨가하여 45분 동안 결합시킨 뒤 결합되지 않은 2차 anti-body를 100 μl의 washing solution으로 6번 세척하여 씻어냈다. 100 μl의 Streptavidin HRP (0.1% BSA, 0.05% Tween 20 in tris buffered saline, pH 7.3)를 첨가하여 20분 동안 결합시킨 뒤 washing solution으로 6번 세척했다. TMB (Tetra Methyl Benzidine) 100 μl를 넣어 발색시킨 즉시 micro plate reader를 사용하여 450 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 1% DMSO와 TNF-α(50 ng/ml)가 들어갔을 때 IL-6의 유리정도(%)를 control로 하였으며 실험의 표준물질로는 dexamethasone을 사용하였다. IL-6의 유리 확인은 control에 대한 상대적인 퍼센트 즉, (rate of sample reaction/rate of control reaction)×100으로 표시하였다.^{6,7)}

결과 및 고찰

화합물 1은 백색 분말상태의 화합물로서 10% 황산용액에 의하여 갈색으로 발색된다. ¹H-NMR 스펙트럼에서 δ 0.76 (3H), 0.82 (3H), 0.96 (3H), 0.98 (3H), 1.02 (3H), 1.68 (3H)에서 6개의 angular methyl기가 singlet으로 나타나고, H-3α가 δ 3.17 (1H) 에서 doublet of doublets (*J* = 11.5, 4.5 Hz)로 나타나고 있다. 또한 ¹³C-NMR스펙트럼에서 30개의 carbon signal이 나타나고 있는 것으로 보아 triterpenoid 계열의 화합물임을 예상할 수 있으며, δ 1.68에서 methyl 기 피크와 δ 4.58, 4.68에서 methylene proton이 doublet으로 나타나 lupeol-type triterpene 계열 화합물임을 예상할 수 있었다. C-20, C-29의 이중결합 피크가 δ 150.4, 109.6에서 관찰되었고 C-3과 C-28의 oxygenated 탄소 피크

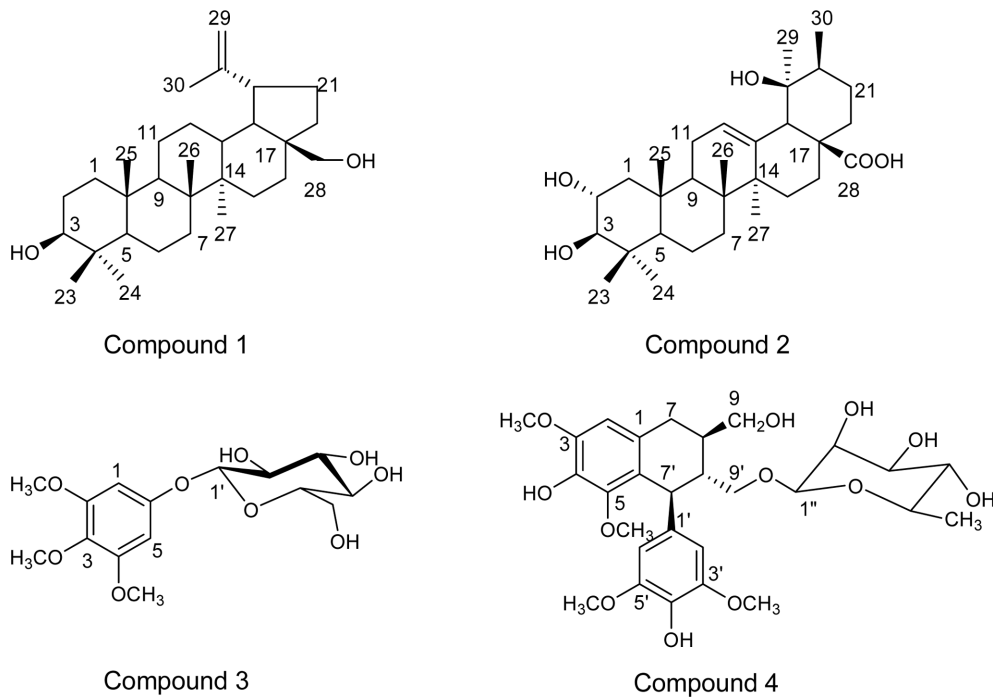


Fig. 1. Chemical structures of compounds 1-4 isolated from *Chaenomeles sinensis* K.

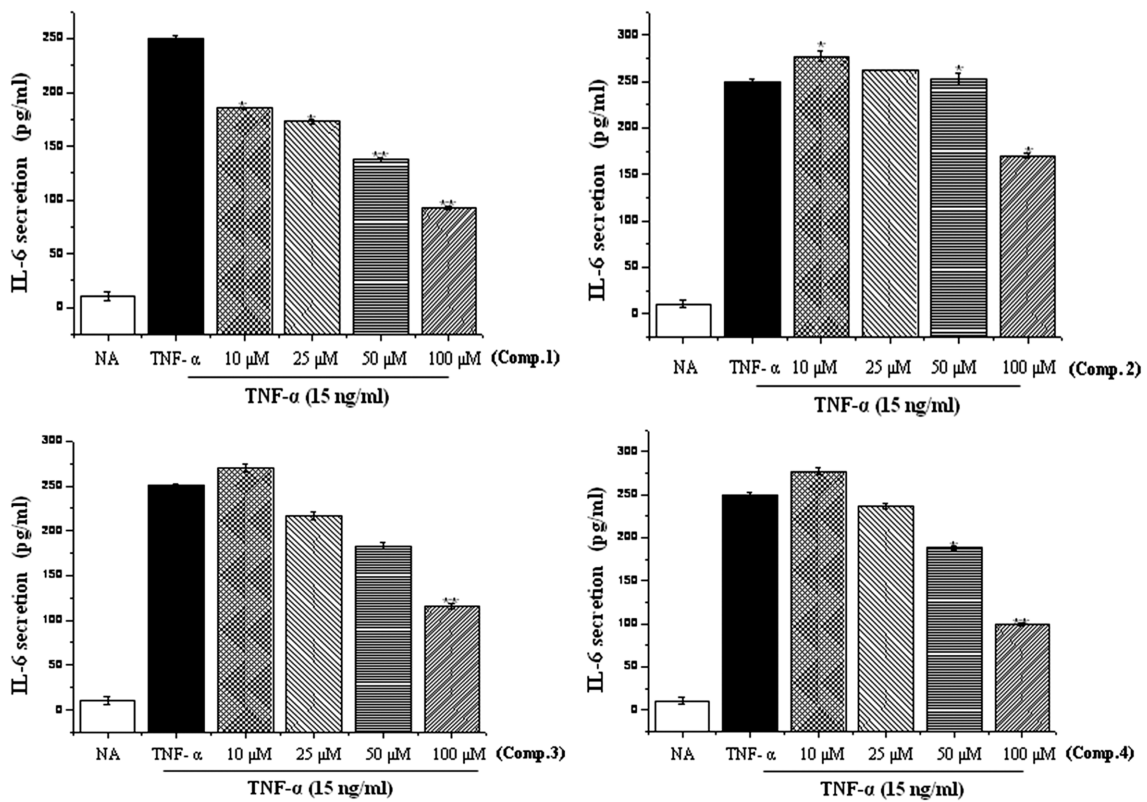


Fig. 2. Inhibitory activity of compounds 1-4 on IL-6 secretion from TNF- α stimulated MG-63 cell. MG-63 cells (3×10^4) were incubated for 24 h. Cultures were incubated with or without compounds for 30 min and then stimulated with TNF- α (15 ng/ml) for 24 h. IL-6 in the supernatant was measured by ELISA as described in Materials and Methods. Results are expressed as the mean \pm S.E. from three different experiments. *P<0.05 or *P<0.01 compared with TNF- α treated value.

는 δ 78.9와 δ 60.5에서 관찰되었다. 이와 같은 모든 spectral data 및 기준에 보고된 문헌치^{5,8-10}와 비교하여 화합물 1은 20(29)-lupene-3,28-diol로 동정하였다.

화합물 2는 백색 분말상태의 화합물로서 10% 황산용액에 의하여 황색으로 발색된다. ¹H-NMR 스펙트럼에서 δ 0.87, 0.99, 1.19, 1.28, 1.35, 1.71에 6개의 angular methyl기가 singlet으로 나타나고 δ 0.93에 H-30의 methyl기가 $J = 6.6$ Hz의 doublet로 나타나 ursane type의 triterpenoid로 예상하였다. Olefinic proton이 5.29 (1H, t, H-12)에서 triplet으로 나타났으며 ¹³C-NMR 스펙트럼에서 oxygenated 탄소 피크는 δ 80.2 (C-3), 73.7 (C-19), 67.2 (C-2)에 나타났고 δ 182.5에 COOH기의 카르보닐기 피크가 나타났다. 이와 같은 모든 spectral data 및 기준에 보고된 문헌치¹¹⁻¹⁴와 비교하여 화합물 2는 tormentic acid로 확인 동정하였다.

화합물 3은 백색 분말상태의 화합물로서 10% 황산용액에 의하여 황색으로 발색된다. ¹H-NMR 스펙트럼에서 δ 6.31(2H, s, H-2,6)에 나타난 피크로 2,3,4,6위가 치환된 방향족환이 존재함을 알 수 있었다. 또한 당의 anomeric proton peak로 예상되는 δ 4.71 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, Glc, H-1) 및 ¹³C-NMR 스펙트럼에서 δ 60 ~ δ 76부근에 나타난 피크로 1개의 당이 존재함을 추정하였고 δ 3.68 (6H, s, 3,5-OMe) 및 δ 3.66 (3H, s, 4-OMe)의 피크로 3개의 methoxy가 존재함을 알 수 있었다. ¹³C-NMR에서 aromatic carbon은 δ 153.2 (C-1), 152.4 (C-3,5), 131.7 (C-4), 93.6 (C-2,6)에서 관찰되었고, δ 100.3 (Glc C-1), 76.3 (Glc C-3), 75.9 (Glc C-5), 72.5 (Glc C-2), 69.4 (Glc C-4), 60.2 (Glc C-6)로 glucose가 존재함을 알 수 있었다. 이와 같은 모든 spectral data 및 기준에 보고된 문헌치¹⁵⁻¹⁸와 비교하여 화합물 3은 1- β -D-glucopyranosyloxy-3,4,5-trimethoxybenzen으로 확인 동정하였다.

화합물 4는 노란색 oil상태의 화합물로서 10% 황산용액에 의하여 녹색으로 발색된다. 이 화합물의 ¹H-NMR, ¹³C-NMR 스펙트럼을 보면 δ 6.58 (1H, s, H-2), δ 6.34* and 6.36 (2H, s, H-2',6'), 4.31 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, H-7), 2.56-2.76 (2H, m, H-7), 2.02-2.10 (1H, m, H-8'), 1.62-1.67 (1H, m, H-8)의 피크로 화합물 4는 두개의 lignan rhamnoside의 거울상이성체가 혼합되어 있음을 예상할 수 있었다. 당의 anomeric proton peak로 예상되는 δ 4.72, 4.65 (1H, brs, Rha H-1), aliphatic proton 영역에서 나타나는 δ 1.20, 1.31(3H, d, $J = 6.0$ Hz, Rha-Me)이 관찰되었고 δ 3.34 (3H, s, 5-OMe), δ 3.73 (6H, s, 3',5'-OMe), δ 3.85 (3H, s, 3-OMe)의 peaks로 4개의 methoxy 그룹이 존재함을 알 수 있었다. 이와 같은 모든 spectral data 및 기준에 보고된 문헌치^{5,19-22}와 비교하여 화합물 4는 \pm lyoniresinol-2a-O- α -L-rhamnopyranoside로 확인 동정하였다 (Fig. 1).

분리된 화합물 1-4에 대해 MG-63 세포에서 IL-6의 유리

Table I. Inhibitory activity of compounds 1-4 on IL-6 secretion from TNF- α stimulated MG-63 cell.

MG-63 cells (3×10^4) were incubated for 24 h. Cultures were incubated with or without compounds for 30min and then stimulated with TNF- α (15 ng/ml) 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 different experiments. *P<0.05 or **P<0.01 compared with TNF- α treated value.

Treatment	IL-6 (pg/ml)	Inhibition (%)
None	10.6 \pm 4.0	-
TNF- α	250.3 \pm 2.2	-
Compound 1 (μ M)		
10	185.2 \pm 0.8*	26
25	172.9 \pm 2.0*	30.9
50	137.3 \pm 1.7**	45.2
100	92.2 \pm 1.3**	63.2
Compound 2 (μ M)		
10	277.5 \pm 5.6*	-
25	262.5 \pm 0.5	-
50	252.5 \pm 6.8*	-
100	170.0 \pm 2.3*	31.6
Compound 3 (μ M)		
10	269.6 \pm 4.4	-
25	216.5 \pm 4.4	13.5
50	182.8 \pm 3.7	26.9
100	115.9 \pm 3.2**	53.7
Compound 4 (μ M)		
10	277.45 \pm 3.8	-
25	236.7 \pm 3.2	5.5
50	188.1 \pm 2.3*	24.9
100	99.1 \pm 1.8**	60.4

에 미치는 영향을 검토한 결과 화합물 1,3,4에 대한 IL-6 유리억제는 45.2%, 26.9%, 24.9%로 다소 미약한 것으로 나타났으며 화합물 2는 IL-6 유리억제 활성이 거의 없는 것으로 나타났다 (Table I, Fig. 2).

결론

모과나무 (*Chaenomeles sinensis* Koehne) CH₂Cl₂ 분획과 n-BuOH 분획으로부터 betulin (1), tormentic acid (2), 1- β -D-glucopyranosyloxy-3,4,5-trimethoxybenzene (3), \pm lyoniresinol-2a-O- α -L-rhamnopyranoside (4)를 분리 동정하였다. 분리된 화합물 1-4에 대해 MG-63 세포에서 IL-6의 유리에 미치는 영향을 검토한 결과 화합물 1,3,4에 대한 IL-6의 유리억제

는 다소 미약한 것으로 나타났으며 화합물 2는 IL-6 유리억제 활성이 거의 없는 것으로 나타났다.

인용문헌

- 박종희 (2002) 한약백과 도감(상), 245, 신일상사, 서울.
- 김태정 (1996) 한국의 자원식물 II, 179, 서울대학교 출판부, 서울.
- 노승배, 장은하, 임광식 (1995) 모과로부터 산성 트리테르펜의 분리 및 동정. 약학회지. **39**: 610-615.
- Lee, S. H., Paek, S. H., Kim, S., Kim, B.-K. and Shin, K. H. (2004) Triterpenoids from *Orostachys japonicus*. *Nat. Prod. Sci.* **10**: 306-309.
- Gao, H., Wu, L., Kuroyanagi, M., Harada, K., Kawahara, N., Nakane, T., Umehara, K., Hirasawa, A. and Nakamura, Y. (2003) Antitumor-promoting constituents from *Chaenomeles sinensis* Koehne and their activities in JB6 mouse epidermal cells. *Chem. Pharm. Bull.* **51**: 1318-1321.
- Akihisa, T., Ghosh, P., Thakur, S., Oshikiri, S., Tamura, T. and Matsumoto, T. (1988) 24 β -methylcholesta-5, 22E, 25-trien-3 β -ol and 24 α -ethyl-5 α -cholest-22E-en-3 β -ol from *Clerodendrum fragrans*. *Phytochemistry* **27**: 241-244.
- Khan, R. A., Singh, A. K. and Agrawal, P. K. (1997) Sitosterol sucroside from the suckers of *Mentha arvensis*. *Phytochemistry* **46**: 1295-1296.
- Hui, W.-H. and Li, M.-M. (1976) Triterpenoids of the stems of six *Castanopsis* species of Hong Kong. *Phytochemistry* **15**: 427-429.
- Hwang, B. Y., Chai, H.-B., Leonardus, B. S., Kardono, S. R., Farnsworth, N. R., Cordell, G. A., Pezzuto, J. M. and Kinghorn, A. D. (2003) Cytotoxic triterpenes from the twigs of *Celtis philippinensis*. *Phytochemistry* **62**: 197-201.
- Mohamed, I. E., Nur, B. E., Choudhary, M. I. and Khan, S. N. (2009) Bioactive natural products from two Sudanese medicinal plants *Diospyros mespiliformis* and *Croton zambesicus*. *Rec. Nat. Prod.* **3**: 198-203.
- Jang, D. S., Kim, J. M., Lee, G. Y., Kim, J.-H. and Kim, J. S. (2006) Ursane-type triterpenoids from the aerial parts of *Potentilla discolor*. *Agric. Chem. Biotechnol.* **49**: 48-50.
- Rocha, G. G., Simoes, M., Lucio, K. A., Oliveira, R. R., Kaplan, M. A. C. and Gattass, C. R. (2007) Natural triterpenoids from *Cecropia lyratiloba* are cytotoxic to both sensitive and multidrug resistant leukemia cell lines. *Bioorg. Med. Chem.* **15**: 7355-7360.
- Taniguchi, S., Imayoshi, Y., Kobayashi, E., Takamatsu, Y., Ito, H., Hatano, T., Sakagami, H., Tokuda, H., Nishino, H., Sugita, D., Shimura, S. and Yoshida, T. (2002) Production of bioactive triterpenes by *Eriobotrya japonica*. *Phytochemistry* **59**: 315-323.
- 도재철, 채주영, 손종근(1991) 쑥싸리 전초의 성분 연구(II). 생약학회지. **22**: 166-170.
- 김도훈, 양민철, 이규하, 김기현, 이강노(2007) 접시꽃뿌리의 페놀성 성분. 생약학회지. **38**: 222-226.
- Andrianaivoravelona, J. O., Terreaux, C., Sahpaz, S., Rasolondrananitra, J. and Hostettmann, K. (1999) A phenolic glycoside and N-(*p*-coumaroyl)-tryptamine from *Ravensara anisata*. *Phytochemistry* **52**: 1145-1148.
- Graikou, K., Aligiannis, N., Chinou, I., Skaltsounis, A.-L., Tillequin, F. and Litaudon M. (2005) Chemical constituents from *Croton insularis*. *Helvetica Chimica Acta* **88**: 2654-2660.
- Hiroko, S., Yutaka, S., Motomu, O. and Hiroko, T. (1988) Phenolic glucosides from *Parabenzoin praecox*. *Phytochemistry* **27**: 644-646.
- Hostettler, F. D. and Seikel, M. K. (1969) Lignans of *Ulmus thomasi* heartwood-II: Lignans related to thomasic acid. *Tetrahedron* **25**: 2325-2337.
- Yahagi, T., Yamashita, Y., Daikonnya, A., Wu, J.-b. and Kitanaka, S. (2010) New Feruloyl tyramine glycoside from *Stephania hispidula*. *Chem. Pharm. Bull.* **58**: 415-417.
- Siddiqui, S., Hafeez, F., Begum, S. and Siddiqui, B. S. (1998) A New Pentacyclic triterpene from the leaves of *Nerium oleander*. *J. Nat. Prod.* **51**: 229-233.
- Kaneda, N., Kinghorn, A. D., Farnsworth, N. R., Tuchinda, P., Udchachon, J., Santisuk, T. and Reutrakul, V. (1990) Two diarylheptanoids and a lignan from *Casuarina Junghuhniana*. *Phytochemistry* **29**: 3366-3368.
- Mysliwice, 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.
- Ragab, A. A., Nalepka, J. L., Bi, Y. and Breenfield, E. M. (2002) Cytokine synergistically induce osteoblast differentiation support by immortalized or normal calvarial cells. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* **283**: 679-687.
- 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.
- 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 inhibitor of matrix metalloproteinase-1 expression from leaves of *Zostera marina* L. *Arch. Pharm. Res.* **27**: 177-183.

(2011. 6. 21 접수; 2011. 8. 11 심사; 2011. 8. 11 게재확정)