

## 추황배(*Pyrus pyrifolia* Nakai cv. Chuhwangbae) 과피로부터 1종의 Sterol과 3종의 배당체 화합물의 단리 · 동정

이유진<sup>1</sup> · 조정용<sup>1</sup> · 이현주<sup>1</sup> · 이용현<sup>1</sup> · 이상현<sup>2</sup> · 한태호<sup>3</sup> · 김월수<sup>2,3</sup> · 박근형<sup>1</sup> · 문제학<sup>1,2\*</sup>  
<sup>1</sup>전남대학교 식품공학과 및 기능성식품연구센터, <sup>2</sup>전남대학교 배수출연구사업단, <sup>3</sup>전남대학교 원예학과

### Isolation and Identification of a Sterol and Three Glucosides from the Peel of Pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai cv. Chuhwangbae)

Yu Geon Lee<sup>1</sup>, Jeong-Yong Cho<sup>1</sup>, Hyun Joo Lee<sup>1</sup>, Yong Hyun Lee<sup>1</sup>, Sang-Hyun Lee<sup>2</sup>,  
Tae-Ho Han<sup>3</sup>, Wol-Soo Kim<sup>2,3</sup>, Keun-Hyung Park<sup>1</sup>, and Jae-Hak Moon<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science & Technology, and Functional Food Research Center, Chonnam National University

<sup>2</sup>Korea Pear Research Organization Chonnam National University

<sup>3</sup>Department of Horticulture, Chonnam National University

**Abstract** We isolated and identified antioxidants from acidic and neutral ethyl acetate fractions of the peel of pear (*Pyrus pyrifolia* N. cv. Chuhwangbae). We isolated 4 compounds from the methanol extract, by using 3 different types of column chromatography (Sephadex LH-20, silica gel, and octadecylsilane) and preparative HPLC. We identified the isolated compounds as (*S*)-(+)-2-*cis*-abscisic acid *O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester (compound 1), 1-[4-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl]phenyl ethanone (picroside, compound 2),  $\beta$ -sitosterol (compound 3), and  $\beta$ -sitosteryl 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (compound 4) by nuclear magnetic resonance analysis. We are the first to report the identification of compounds 1, 2, and 4 from pear.

**Keywords:** abscisic acid glucoside, antioxidant,  $\beta$ -sitosterol,  $\beta$ -sitosteryl glucoside, picroside

## 서 론

최근 세계적으로 건강에 대한 관심이 고조되어짐에 따라 일상적으로 섭취하고 있는 과실에 대한 인식이 높아져 과실에 함유된 유용성분 및 생리활성 평가에 대한 연구가 다양하게 행해지고 있다(1,2). 이 연구결과들로부터 과실의 꾸준한 섭취는 동맥경화, 암, 당뇨병 등과 같은 대사성 질환에 대한 예방효과가 있음이 보고되어 왔다(3,4). 이러한 과실의 다양한 생리활성은 ascorbic acid (vitamin C) 및 tocopherol류(vitamin E)와 같은 항산화 vitamin류에 더하여 provitamin A로 작용하는 carotenoid와 phenylpropanoid 및 flavonoid류 등의 페놀성 화합물을 포함한 다중·다량의 유효성분들로부터 기인되는 것으로 보고되고 있다(5-8). 다양한 과실류 중 사과, 포도 및 감귤류와 같이 특징적인 맛이나 색상을 지닌 것들에 대해서는 성분학적 분석 및 생리활성평가에 관한 연구가 비교적 폭넓게 수행되어왔다(9-11). 반면, 우리나라에서 소비되고 있는 주요 과실들 중의 하나인 배의 경우, 그 성분 및 생리활성에 관한 연구가 매우 미흡한 실정이었다. 특히, 배의 성분연구는 주로 서양배를 대상으로 다양하게 수행되어왔던 반

면, 한국배를 포함한 동양배의 특수성분 분석은 부족한 부분이 적지 않았다. 하지만 최근 한국, 중국을 포함한 아시아지역 연구 그룹들의 활발한 참여로 동양배의 성분학적 연구가 체계적으로 이루어져 동양배에 함유된 생리활성 화합물에 대한 성과들이 상당 부분 축적되었다 (12-17).

본 연구그룹의 배 함유성분에 관한 다년간의 연구결과로서, 배 과피로부터 7종의 hydroxycinnamoyl malic acid 및 methyl ester류 (14), 8종의 phenolic 화합물 또는 그 배당체(15), 14종의 coumaroyl quinic acid 유도체 및 flavonoid류(16), 그리고 6종의 triterpenoid계 유도체들(17)을 단리·구조 결정하여 보고한 바 있다. 그러나 본 연구그룹의 배 함유성분 구명에 관한 일련의 연구 과정에 있어 아직도 미확인 성분이 다수 존재해있음이 시사되어 추가적인 단리·정제를 행해 새로운 결과가 얻어졌기에 그 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에서 사용된 추황배(*P. pyrifolia* Nakai cv. Chuhwangbae)는 전라남도 나주시에서 재배한 것으로 2008년 9월에 수확하였다. 채취한 시료는 ice box 내에서 dry ice로 저온을 유지시킨 채로 1시간 이내에 실험실로 운반한 후, 신선한 상태에서 과피를 약 3 mm 두께로 분리한 다음, 곧바로 추출에 이용하였다.

### 추출 및 용매분획물의 조제

신선 추황배 과피의 methanol (MeOH)을 이용한 추출 및 정제

\*Corresponding author: Jae-Hak Moon, Department of Food Science & Technology, and Functional Food Research Center, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea  
Tel: 82-62-530-2141  
Fax: 82-62-530-2149  
E-mail: nutrmoon@jnu.ac.kr  
Received May 1, 2013; revised August 3, 2013;  
accepted August 13, 2013

과정은 본 연구그룹의 선행연구결과(14)에 제시한 바와 같이 실시하였다. 즉, 추황배 과피 신선중량 15 kg을 MeOH (24.3 L)을 이용하여 추출 후, 용매분획함으로써 EtOAc-산성분획과 EtOAc-중성분획을 얻었다.

#### 정제 · 분리 과정에서 항산화 활성 측정

배 과피의 MeOH 추출물의 용매분획 후 얻어진 각 분획의 항산화 활성 검정은 thin layer chromatography (TLC) plate (aluminium sheets, silica gel 60 F<sub>254</sub>, Merck, Darmstadt, Germany)에 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ethanol 용액(200 μM)을 분무하는 방법(18)을 이용하였다. 즉, 용매분획물 일정량을 TLC plate에 spotting하여 배과피 EtOAc-산성 분획은 BuOH/acetic acid/H<sub>2</sub>O (4:1:1, v/v/v) 용액으로, 그리고 EtOAc-중성 분획은 toluene/acetone/acetic acid (8.9:0.9:0.2, v/v/v) 용액으로 각각 전개한 후, 전개된 TLC plate에 DPPH ethanol 용액을 분무하여 보라색이 탈색되어진 분획을 항산화 활성 양성으로 판정하였다. TLC plate에 DPPH 용액을 분무하여 항산화 활성 화합물의 존재를 확인하는 본 방법을 TLC-DPPH법이라 칭하였다.

#### EtOAc-산성 분획으로부터 화합물의 단리

배 과피 MeOH 추출물을 용매분획하여 얻어진 EtOAc-산성 분획은 Sephadex LH-20 (70-230 mesh, Pharmacia, Uppsala, Sweden) column chromatography를 행하여 정제하였다. 즉, EtOAc-산성 분획(2.63 g)을 Sephadex LH-20이 충전된 column (3.3×82 cm)에 charge시킨 후, 80% MeOH을 이동상으로 하여 용출·분획(5 mL/fr.)하였다. Sephadex LH-20 column chromatography에서 얻어진 분획 C (48.2 mg)는 Shim-pack prep-ODS (H) KIT column (20×250 mm, Shimadzu, Kyoto, Japan)이 장착된 high performance liquid chromatography (HPLC) system을 이용하여 추가적인 분리를 행하였다. 사용된 이동상은 A 용액[H<sub>2</sub>O/MeOH=100:0, v/v, pH 2.65 by trifluoroacetic acid (TFA)]과 B 용액(H<sub>2</sub>O/MeOH=40:60, v/v)을 이용하였으며, A 용액을 출발 용출용매로 하여 40분 후 B용액이 100%가 되도록 한 다음, 60분까지 B용액이 100%가 유지되도록 하였다. 그리고 280 nm (SPD-M20A, Shimadzu)의 파장과 유속 9.9 mL/min (LC-6AD, Shimadzu)의 조건에서 분취를 행하였다. 이어 Sephadex LH-20 column chromatography에서 얻어진 분획 E (566.7 mg)를 대상으로 octadecylsilane (ODS, YMC Co., Ltd, Kyoto, Japan) column chromatography를 실시하였다. 즉, ODS gel이 충전된 column (2.0×48.5 cm)에 시료를 charge시킨 후, H<sub>2</sub>O/MeOH=100:0, 80:20, 60:40, 40:60, 20:80, 그리고 0:100 (v/v)을 용출용매로 하여 각 250 mL씩 용출하여 분획하였다. 이 중 분획 11 (9.2 mg)을 대상으로 Shim-pack prep-ODS (H) KIT column (20×250 mm, Shimadzu)이 장착된 HPLC system에서 정제를 행하였다. 이동상 용매계는 A 용액(H<sub>2</sub>O/MeOH=10:90, v/v, pH 2.65 by TFA)과 B 용액(H<sub>2</sub>O/MeOH=35:65, v/v)을 이용하여 A 용액을 출발 용출용매로 하여 30분 후 B 용액이 100%가 되게 한 다음, 50분까지 B 용액이 100%를 유지하도록 하였다. 분석에 이용된 파장은 254 nm였으며, 9.9 mL/min의 유속에서 분취를 행하였다.

#### EtOAc-중성 분획으로부터 화합물의 단리

배 과피 MeOH 추출물을 용매분획하여 얻어진 EtOAc-중성 분획은 silica gel (70-230 mesh, Merck) column chromatography를 행하여 정제하였다. EtOAc-중성 분획(4.0 g)을 silica gel이 충전된 column (3.0×80 cm)에 charge시켜 CHCl<sub>3</sub>/EtOAc/MeOH=10:0:0,

8:2:0, 6:4:0, 4:6:0, 2:8:0, 0:10:0, 0:8:2, 0:6:4, 0:4:6, 0:2:8, 그리고 0:0:10 (v/v/v)의 용액을 이동상으로 하여 step-wise법으로 용출시키면서 50 mL씩 분획하였다. Silica gel column chromatography를 행한 후 얻어진 분획들 중 D와 L을 대상으로 Shim-pack prep-ODS (H) KIT column (20×250 mm, Shimadzu)이 장착된 HPLC system에서 100% MeOH을 이동상으로 isocratic 용출법에 의해 추가적인 정제를 행하였다. 이상의 배 과피 MeOH 추출물의 용매분획 과정 및 화합물 1-4의 단리·정제과정을 Fig. 1에 제시하였다.

#### NMR 분석

Nuclear magnetic resonance (NMR) spectra는 <sup>1</sup>H/NOVA spectrometer (500 및 600 MHz, Varian Walnut Creek, CA, USA) 분석에 의해 얻었다. 분석용매는 CD<sub>3</sub>OD, DMSO-*d*<sub>6</sub> 및 CDCl<sub>3</sub>를 사용하였으며, 이들은 내부 표준물질로 tetramethylsilane (TMS, δ=0)을 함유하였다.

## 결과 및 고찰

#### 화합물의 단리 및 정제

본 연구에서는 실험의 효율성을 높이고자 일반적으로 과육보다 화학적 성분이 더 고농도로 함유되어 있는 과피를 이용하여 실험을 행하였다(19). 신선 추황배 과피 15 kg을 대상으로 MeOH 추출물을 조제한 결과, 3708.67 g의 추출물이 얻어졌다. 이 MeOH 추출물을 용매분획하여 EtOAc-산성 분획(5.17 g)과 EtOAc-중성 분획(44.84 g)을 각각 얻었으며, 용매분획하여 얻어진 두 분획을 대상으로 TLC-DPPH법에 의해 각 분획에 존재하는 화합물들의 존재 경향을 확인하였다. 그 결과, EtOAc-산성 분획에 다양한 항산화 활성 화합물들의 존재가 확인되었다(16). 그리고 EtOAc-중성 분획 또한 EtOAc-산성 분획에는 미치지 못하였으나 항산화 활성이 인정되었으며, 다양한 항산화 화합물의 존재 또한 시사되었다. 본 연구그룹은 선행연구를 통해 배 과피 MeOH 추출물의 EtOAc-산성 분획으로부터 7종의 hydroxycinnamoyl malic acid (14) 및 8종의 페놀성 화합물(15)의 구조를 밝혀 이미 보고한 바 있다. 또 EtOAc-페놀성 분획으로부터 6종의 triterpenoid계 유도체 (17)들을 단리·구조해석하여 기 보고한 바 있다. 본 연구에서는 배 함유 성분의 구조해명에 관한 선행연구에 더하여 배 과피 MeOH 추출물의 EtOAc-산성 및 중성 분획으로부터 추가적인 항산화 화합물의 존재가 확인되어 그 화합물들을 단리·동정하였다.

먼저, 배 과피 MeOH 추출물의 EtOAc-산성 분획(5.17 g)을 대상으로 Sephadex LH-20 column chromatography를 행한 후, 얻어진 분획 C (Ve/Vt 0.66-0.72, 48.2 mg)의 HPLC chromatogram 상에서 retention time (*t*<sub>R</sub>) 37.4 min에 매우 순도가 높을 것으로 판단되는 피크가 검출되었다. 그래서 그 화합물을 정제대상으로 하여 prep-HPLC (ODS)를 반복적으로 행하여 분취한 결과, 화합물 1 (1.1 mg)을 단리하였다. 이어 배 과피 MeOH 추출물의 EtOAc-산성 분획을 대상으로 Sephadex LH-20 column chromatography를 행한 후에 얻어진 분획 E (Ve/Vt 0.78-0.99, 566.7 mg)를 ODS column chromatography를 이용하여 정제하였다. 용출된 각 분획을 대상으로 TLC-DPPH법에 의해 화합물들의 존재경향 및 항산화 활성을 검정하고, 이 결과를 통해 유사한 존재경향을 나타낸 분획들을 총 14 분획으로 grouping하였다. 특히 분획 11로부터 단일 화합물로 판단되는 spot (*R*<sub>f</sub> 0.6)이 관찰되어 prep-HPLC를 행하였다. HPLC chromatogram 상에서 *t*<sub>R</sub> 22.1 min에 단일 화합물로 판단되는 피크가 관찰되어 이를 반복 분취하여 화합물 2 (3.5 mg)를 단리하였다.

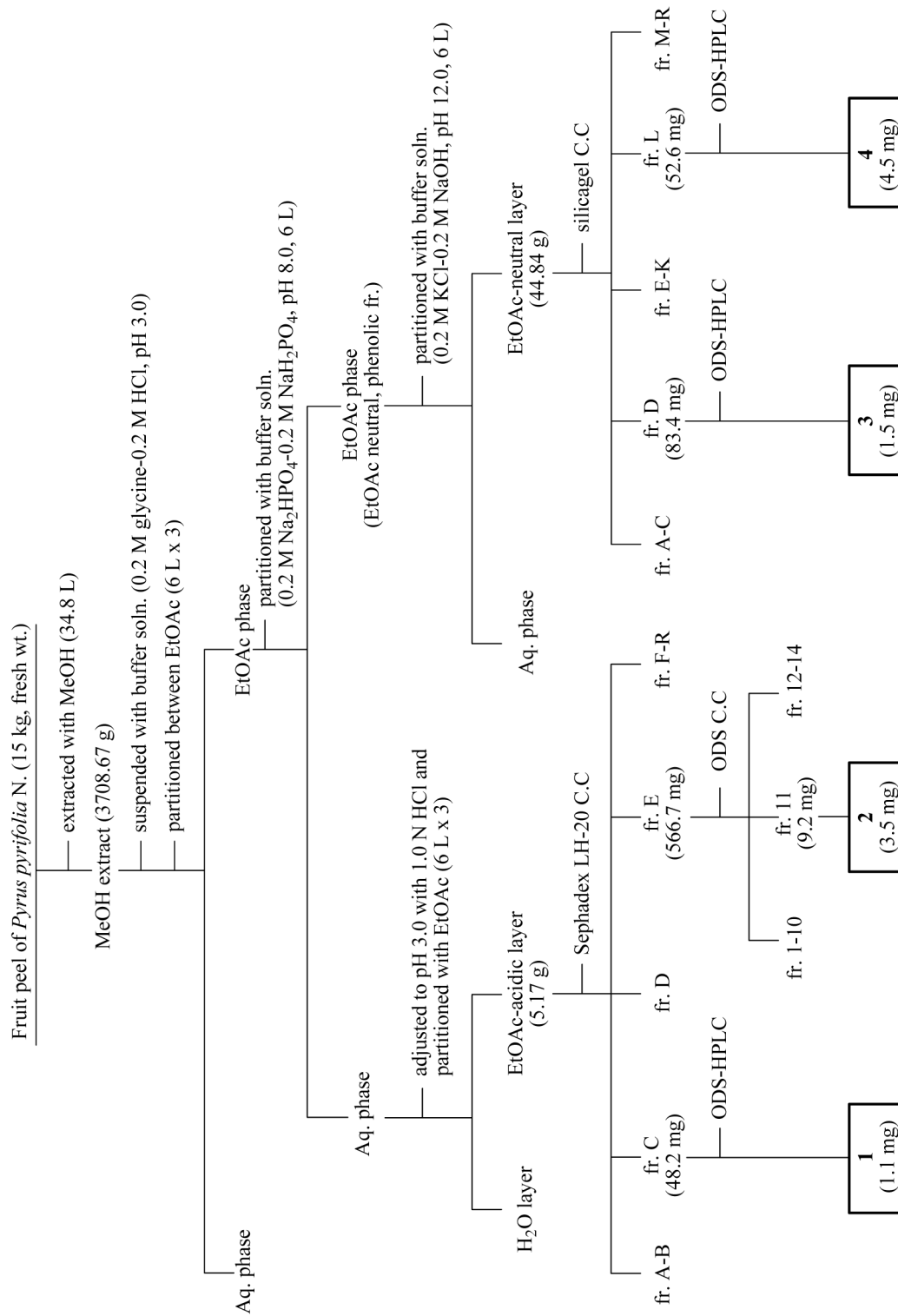


Fig. 1. Isolation procedure of compounds 1-4 from pear (*Pyrus pyrifolia* N.) fruit peels. C.C, Column chromatography; fr., fraction; Aq., aqueous.

그리고 배 과피 MeOH 추출물의 EtOAc-중성 분획(44.84 g)을 silica gel column chromatography를 행한 후, 얻어진 분획들을 대상으로 TLC-DPPH법 및 analytical scale의 HPLC 분석을 행하여 용출된 각 분획들에 함유된 화합물들의 존재경향을 검토하고, 그 결과를 토대로 총 18 분획(fr. A-R)으로 grouping하였다. 그들 중 분획 D (CHCl<sub>3</sub>/EtOAc/MeOH=80:20:0, v/v, 83.4 mg)의 analytical scale의 HPLC chromatogram 상에서 단일 물질로 판단되는 peak ( $t_R$  18.2 min)가 관찰되어 prep-HPLC를 행해 그 peak를 반복 분취하여 화합물 3 (1.5 mg)을 얻었다. 이어 분획 L (CHCl<sub>3</sub>/EtOAc/MeOH=0:80:20, v/v, 52.6 mg)의 경우, TLC plate 상에서 다수의 화합물이 존재함이 확인되어 prep-HPLC를 행하여 정제하였다. 검출된 peak들 중 단일 물질로 판단되는  $t_R$  26.1 min의 peak를 반복 분취하여 화합물 4 (4.5 mg)를 분리하였다.

### 단리화합물의 구조해석

화합물 1의 <sup>13</sup>C-NMR spectrum (Table 1)으로부터 sugar moiety에 해당되는 6종의 carbon signal들( $\delta$  95.5-62.4)이 관찰되었다. 그에 더하여 총 15종의 carbon signal들이 추가적으로 관찰되었으며, 이 중 2종의 carbonyl carbon signal들( $\delta$  201.0 (C-4'), 165.9 (C-1)), 6종의 olefinic double bond carbon signal들( $\delta$  166.3-127.8), 4종의 methyl carbon signal들( $\delta$  24.8-19.7), 그리고 1종의 oxygenated methine carbon signal ( $\delta$  80.7, C-1)의 존재로부터 sesquiterpene인 abscisic acid의 존재가 시사되었다. 이 결과로부터 화합물 1은 abscisic acid monosaccharide일 가능성이 강하게 시사되었다. 그리고 화합물 1의 <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) spectrum (Table 1)으로부터 4종의 methyl proton signal들( $\delta$  2.07 (3H, d,  $J=1.0$  Hz, H-6), 1.92 (3H, d,  $J=1.5$  Hz, H-7'), 1.06 (3H, s, H-8') 및 1.02 (3H, s, H-9')), 1종의 methylene proton signal [ $\delta$

2.19 (1H, d,  $J=17.3$  Hz, H-5'a), 2.53 (1H, d,  $J=17.3$  Hz, H-5'b)], 그리고 4종의 olefinic double bond proton signal들( $\delta$  5.82 (1H, s, H-2), 7.80 (1H, d,  $J=16.3$  Hz, H-4), 6.32 (1H, d,  $J=16.3$  Hz, H-5) 및 5.93 (1H, s, H-3')]이 관찰되어 이 화합물의 aglycone은 <sup>13</sup>C-NMR 결과로부터 시사된 abscisic acid일 가능성이 더욱 강하게 시사되었다. 특히  $\delta$  7.80 (1H, d, H-4)과 6.32 (1H, d, H-5)의  $sp^2$  carbon proton signal들의 coupling constant 값( $J$ )이 등가의 16.3 Hz로 나타나 1종의 olefinic double bond가 *trans* form을 형성하고 있음을 알 수 있었다. 또, 이 화합물의 aglycone의 정확한 구조는 HSQC, <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY, 그리고 HMBC 등의 2D-NMR 분석을 통해 abscisic acid에 귀속되어지는 proton들과 carbon들 간의 상호관계가 재차 확인되었다(data 생략). 또한 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY spectrum으로부터 당 proton에 귀속되는 signal들이 일련의 상관관계를 보임을 확인할 수 있었으며, 당의 anomeric proton ( $\delta$  5.49)과 그 외의 주요 당 proton들의 coupling constant 값이 8.0-8.8 Hz로 나타나 이 화합물의 sugar moiety는  $\beta$ -D-glucopyranoside임을 알 수 있었다. 특히 HMBC spectrum (Fig. 2)으로부터 anomeric proton signal ( $\delta$  5.49, H-1)과 aglycone 말단의 carbonyl carbon signal ( $\delta$  165.9, C-1) 간에 cross peak가 관찰되어 glucose는 abscisic acid의 C-1위에 ester 결합을 하고 있음이 확인되었다. 그래서 화합물 1의 구조는 abscisic acid O- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester로 해석되었다. 또한 화합물 1의 <sup>1</sup>H- 및 <sup>13</sup>C-NMR spectra는 *Citrus junos* (20)와 *Citrullus lanatus* (21)로부터 분리된 (S)-(+)-2-*cis*-abscisic acid  $\beta$ -D-glucopyranosyl ester의 그것들과 정확하게 일치하였다. 그래서 화합물 1은 (S)-(+)-2-*cis*-abscisic acid O- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester로 동정되었다.

화합물 2의 <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz) spectrum (Table 1)으로부터 2H분에 해당하는 2종의  $sp^2$  carbon proton의 전형적인

Table 1. <sup>1</sup>H (500 MHz) and <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz) data of compounds 1 and 2 in CD<sub>3</sub>OD

Position	1		Position	2	
	$\delta_H$ (int., mult., J in Hz)	$\delta_C$		$\delta_H$ (int., mult., J in Hz)	$\delta_C$
1	-	165.9	1	-	132.8
2	5.82 (1H, s)	118.2	2	7.98 (2H, br. d, 9.0)	131.9
3	-	153.7	3	7.17 (2H, br. d, 9.0)	117.3
4	7.80 (1H, d, 16.3)	129.3	4	-	163.2
5	6.32 (1H, d, 16.3)	139.4	5	-	117.3
6	2.07 (3H, d, 1.0)	21.4	6	-	131.9
1'	-	80.7	7	-	199.6
2'	-	166.3	8	2.57 (3H, s)	26.6
3'	5.93 (1H, s)	127.8	1'	5.03 (1H, d, 7.8)	101.7
4'	-	201.0	2'	3.48 (1H, t, 7.8)	74.9
5'a	2.19 (1H, d, 17.3)	50.7	3'	3.49 (1H, t, 7.8)	78.0
5'b	2.53 (1H, d, 17.3)	50.7	4'	3.51 (1H, t, 7.8)	71.4
6'	-	43.0	5'	3.42 (1H, m)	78.4
7'	1.92 (3H, d, 1.5)	19.7	6'a	3.71 (1H, dd, 11.7, 6.0)	62.6
8'	1.06 (3H, s)	23.7	6'b	3.90 (1H, dd, 11.7, 2.4)	62.6
9'	1.02 (3H, s)	24.8			
1''	5.49 (1H, d, 8.0)	95.5			
2''	3.33 (1H, t, 8.8)	74.1			
3''	3.42 (1H, t, 8.8)	78.1			
4''	3.34 (1H, t, 8.8)	71.2			
5''	3.37 (1H, m)	78.9			
6''a	3.67 (1H, dd, 12.1, 2.5)	62.4			
6''b	3.83 (1H, dd, 12.1, 5.0)	62.4			

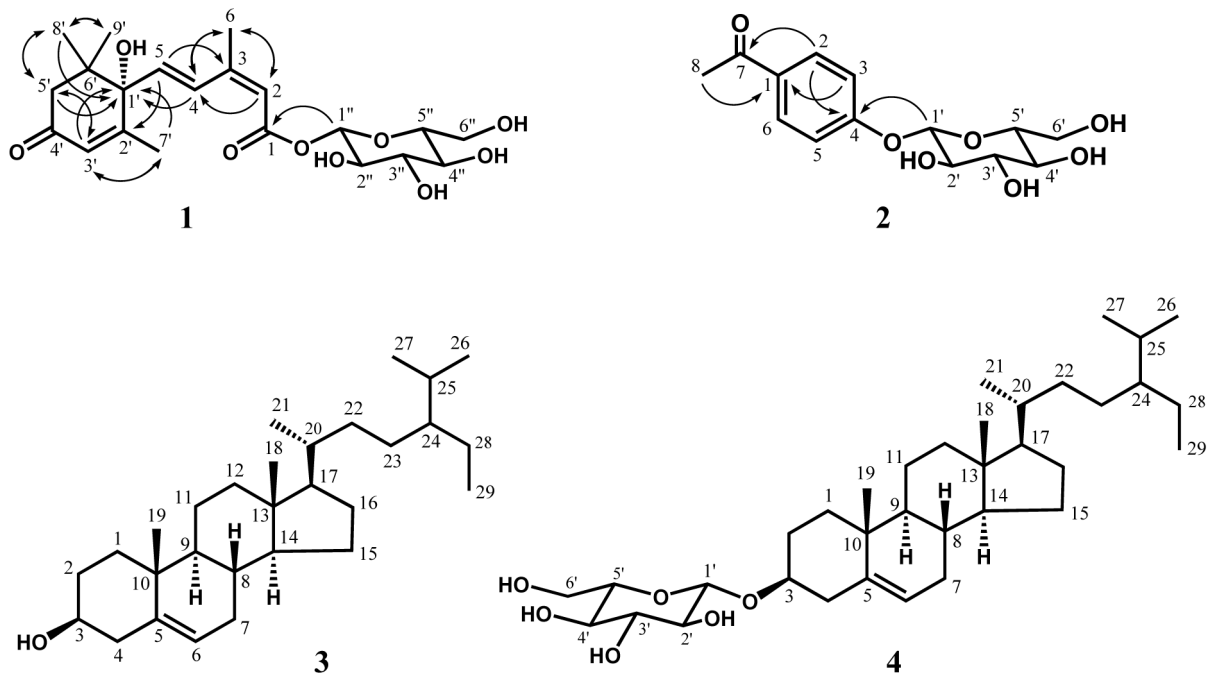


Fig. 2. The chemical structure of compounds 1-4 and important correlations (arrows) observed in the HMBC spectra of compounds 1 and 2.

AABB계 signal들[ $\delta$  7.98 (2H, br. d,  $J=9.0$  Hz, H-2, 6), 7.17 (2H, br. d,  $J=9.0$  Hz, H-3, 5)]이 관찰되어 1종의 *para*-substituted benzene ring의 존재가 시사되었다. 그리고 1종의 당 유래 proton으로 추정되는 anomeric proton signal [ $\delta$  5.03 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-1)]과 그 외 6H분의 proton signal들( $\delta$  3.90-3.42)이 관찰되었다. 특히 anomeric proton signal ( $\delta$  5.03)의 coupling constant 값이 7.8 Hz로 검출되었으며, 그 외의 당 proton들 간의 분열패턴 및 coupling constant 값으로부터 이 화합물의 부분구조인 당은  $\beta$ -D-glucopyranose로 해석되었다. 또한 1종의 methyl proton signal [ $\delta$  2.57 (3H, s, H-8)]이 추가로 관찰되었다. 이에 이 화합물은 1종의 glucose가 결합된 phenolic 배당체 화합물로 시사되었다. 그리고 화합물 2의  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) spectrum (Table 1)으로부터 benzene ring에 해당하는 6종의  $sp^2$  carbon signal들( $\delta$  163.2-117.3), 당 유래의 6종의 carbon signal들( $\delta$  101.7-62.6), 그리고 1종의 methyl carbon signal ( $\delta$  26.6, C-8)이 관찰되어  $^1\text{H-NMR}$ 의 결과를 지지하였다. 또한  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum으로부터 1종의 carbonyl carbon signal ( $\delta$  199.6, C-7)의 존재가 관찰되었으며, 1종의 methyl carbon signal ( $\delta$  26.6, C-8)이 검출되었던 것으로부터 1종의 acetyl group의 존재가 시사되었다. 이 결과들로부터 화합물 2는 aglycone인 hydroxyphenyl ethanone에 glucose가 결합된 배당체 화합물로 시사되었다. 이어 보다 더 정확한 구조해석을 위해 HMBC 분석을 실시한 결과, proton과 carbon signal들 간의 상관관계(Fig. 2)로부터 화합물 2는 4-hydroxyphenyl ethanone과 glucose로 구성되어 있음이 재차 확인되었다. 특히 HMBC spectrum (Fig. 2)으로부터 anomeric proton signal ( $\delta$  5.03, H-1)과 oxygenated  $sp^2$  carbon signal ( $\delta$  163.2, C-4) 간에 cross peak가 관찰되어 glucose는 4-hydroxyphenyl ethanone의 4 위에 ether 결합되어 있음을 알 수 있었다. 이상의 결과들로부터 화합물 2의 구조는 1-[4-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl]phenyl ethanone으로 해석되었다. 또한 화합물 2의  $^1\text{H}$ -과  $^{13}\text{C-NMR}$  spectra는 *Thymus vulgaris* L.로부터 단리된 1-[4-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl]phenyl etha-

none의 그것들(22)과 일치하였다. 그래서 화합물 2는 1-[4-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl]phenyl ethanone (piceoside)으로 동정되었다.

화합물 3의  $^1\text{H-NMR}$  spectrum ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz, Table 2)으로부터 관찰된 1종의 olefinic double bond proton signal [ $\delta$  5.36 (1H, br. d,  $J=5.0$  Hz, H-6)], 1종의 oxygenated methine proton signal [ $\delta$  3.53 (1H, m, H-3)], 그리고 6종의 methyl proton signal들 [ $\delta$  1.01 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d,  $J=6.5$  Hz, H-21), 0.85 (3H, m, H-29), 0.83 (3H, d,  $J=7.3$  Hz, H-26), 0.81 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-27), 0.68 (3H, s, H-18)]로부터 이 화합물은 전형적인 sterol계 화합물인 것으로 시사되었다. 그리고 화합물 3의  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) spectrum (Table 2)으로부터 1종의 oxygenated methine carbon signal ( $\delta$  71.8, C-3)과 2종의 olefinic double bond carbon signal들 [ $\delta$  140.7 (C-5), 121.7 (C-6)]을 포함한 총 29종의 carbon signal들이 관찰되어  $^1\text{H-NMR}$  분석결과들과 일치성을 보였다. 이상의  $^1\text{H}$ -과  $^{13}\text{C-NMR}$  spectra로부터 화합물 3은 sitosterol일 가능성이 강하게 시사되었다. 특히 화합물 3의  $^1\text{H}$ -과  $^{13}\text{C-NMR}$  spectra는 *Artemisia apiacea*로 동정된  $\beta$ -sitosterol의 그것들(23)과 비교한 결과 서로 일치하였다. 그래서 화합물 3은 틀림없는  $\beta$ -sitosterol로 동정되었다.

화합물 4의  $^1\text{H}$ -과  $^{13}\text{C-NMR}$  spectra (Table 2)는 1종의 당에 해당하는 proton ( $\delta$  5.08-3.98)과 carbon ( $\delta$  102.9-63.2) signal들을 제외하고, 화합물 3의 그것들과 매우 유사한 경향을 보였다. 이에 화합물 4는  $\beta$ -sitosterol의 배당체 화합물일 가능성이 강하게 시사되었다. 특히 당에 귀속되는 일련의 proton signal들 간의 분열 pattern 및 coupling constant 값, 특히 anomeric proton ( $\delta$  5.08, H-1)의 coupling constant 값이 7.5 Hz로 나타나 이 화합물의 당은  $\beta$ -D-glucopyranoside로 해석되었다. 그리고 화합물 4의  $^1\text{H}$ - 및  $^{13}\text{C-NMR}$  spectra (Table 2)를 *Dioscorea zingiberensis*로부터 동정된  $\beta$ -sitosteryl 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside의 그것들(24)과 비교한 결과 정확히 일치함이 확인되었다. 따라서 화합물 4는 틀림없는  $\beta$ -sitosteryl 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside로 동정되었다.

**Table 2.** <sup>1</sup>H- (500 MHz) and <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz) data of **3** and **4** in pyridine-*d*<sub>6</sub>

Position	<b>3</b>		<b>4</b>	
	$\delta_C$	$\delta_H$ (int., mult., J in Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (int., mult., J in Hz)
1	37.2		37.9	
2	31.6		30.3	
3	71.8	3.53 (1H, m)	79.0	4.01 (1H, m)
4	42.2		39.7	
5	140.7		141.3	
6	121.7	5.36 (1H, br. d, 5.0)	122.3	5.37 (1H, t, 3.0)
7	31.8		32.4	
8	31.8		32.5	
9	50.0		50.7	
10	36.4		37.3	
11	21.0		21.7	
12	39.7		40.3	
13	42.2		42.9	
14	56.8		57.2	
15	24.2		24.9	
16	28.2		28.9	
17	56.1		56.6	
18	11.8	0.68 (3H, s)	12.5	0.67 (3H, s)
19	19.3	1.01 (3H, s)	19.8	0.95 (3H, s)
20	36.1		36.8	
21	18.7	0.92 (3H, d, 6.5)	19.4	1.01 (3H, d, 6.5)
22	33.8		34.6	
23	25.9		26.8	
24	45.7		46.4	
25	29.0		29.8	
26	19.8	0.83 (3H, d, 7.3)	19.6	0.87 (3H, d, 7.0)
27	18.9	0.81 (3H, d, 6.8)	20.4	0.90 (3H, d, 7.0)
28	23.0		23.8	
29	11.9	0.85 (3H, m)	12.3	0.91 (3H, m)
1'			102.9	5.08 (1H, d, 7.5)
2'			75.7	4.09 (1H, t, 8.0)
3'			78.9	4.31 (1H, m) <sup>a</sup>
4'			72.1	4.31 (1H, m) <sup>a</sup>
5'			78.5	3.98 (1H, m)
6'a			63.2	4.44 (1H, dd, 12.0, 5.5)
6'b				4.59 (1H, dd, 12.0, 2.5)

<sup>a</sup>The chemical shifts of protons in the same letters were overlapped.

본 연구를 통해 한국 배 품종인 추황배 과피로부터 선행연구들에 이어 추가적으로 단리된 4종의 화합물은 (*S*)-(+)-2-*cis*-abscisic acid *O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester (화합물 **1**), 1-[4-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl]phenyl ethanone (piceoside, 화합물 **2**),  $\beta$ -sitosterol (화합물 **3**), 그리고  $\beta$ -sitosteryl 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (화합물 **4**)로 각각 동정되었다(Fig. 2).

단리된 화합물 **1**의 aglycone인 abscisic acid는 기공, 탈엽, 씨앗 휴면 등을 조절하는 식물호르몬으로 잘 알려져 있다. 또한 식물의 성장기간 동안 건조(가뭄) 등의 외부 스트레스에 대응하는 물질이다(25). 이 화합물 **1**의 aglycone인 abscisic acid는 최근 본 연구그룹의 선행연구(16)에 의해 배 미숙과로부터 단리·동정된 바 있다. 식물은 일반적으로 외부 스트레스 대응 물질을 배당체 형태로 미리 생합성하여 저장해 둔 다음, 외부로부터 스트레스를

받게 될 경우, 배당체 화합물을 가수분해함으로써 스트레스 대응 물질을 빠르게 생성하여 스트레스에 대처한다고 알려져 있다(26). 그러나 abscisic acid *O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester는 수분부족 등 외부로부터 스트레스를 받을 경우, 식물체 내에 그 함량이 증가하지만 수분을 재공급하여도 그 함량이 크게 증가하지 않으므로, 실제 이 배당체 화합물은 그 aglycone인 abscisic acid와는 달리 스트레스 대응에 직간접적으로 영향을 주지 않는 것으로 보고된 바 있다(25). 또 *Melipona subnitida*로부터 동정(27)된 abscisic acid는 식물체 내에서 호르몬으로써의 작용뿐만 아니라 DPPH 및 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical-scavenging 활성과 linoleic acid 산화에 대한 항산화활성 또한 발현함이 보고된 바 있다.

화합물 **2**는 *Picrorhiza scrophulariiflora* (28)와 *Salix matxudana* (29)로부터 단리·동정된 바 있는 화합물로, 특히 *Picrorhiza scrophulariiflora*로부터 단리된 화합물 **2**는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe<sup>2+</sup>에 의한 hydroxyl radical-scavenging 효과와 xanthine/xanthine oxidase system에서의 superoxide anion scavenging 효과가 있음이 보고된 바 있다(28).

화합물 **3**은 다양한 식물체로부터 자주 발견되는 대표적인 sterol 들 중 하나로써 자연계에 널리 분포되어있는 triterpenoid계 화합물로 cruciferae plant (30)와 *Viburnum lancifolium* (31)으로부터 단리되어 보고된 바 있다. 그리고 화합물 **3**은 항균 및 항염증 활성이 있음이 보고된 바 있으며(32), *Morus alba* var. *multicaulis*로부터 단리된 화합물 **3**은 glycerol-3-phosphate dehydrogenase의 활성을 억제하여 지방세포(3T3-L1)의 분화를 억제하는 것으로 보고된 바 있다(33). 그리고, 매우 흥미롭게도 화합물 **3**은 동양인들이 주식으로 하고 있는 쌀에도 함유되어 있는 성분이며, 쌀에 함유된 주요 sterol계 화합물들 중 하나이다(34,35). 특히, 이 화합물 **3**은 콜레스테롤의 체내 흡수를 억제하여 혈중 콜레스테롤 함량을 경감시키는 효과가 있음이 보고된 바 있다(36).

화합물 **4**는 화합물 **3**의 C-3위에 glucose가 결합된 배당체 화합물이다. 이 화합물 **4**는 *Chrysplenium flagelliferum*으로부터도 단리(37)된 바 있으며, *Brillantaisia lamium*으로부터는 본 연구에서와 마찬가지로 그 aglycone(화합물 **3**)과 배당체(화합물 **4**)가 함께 단리되어 보고된 바 있다(33). 또한 화합물 **4**는 그 aglycone과 마찬가지로 항균활성을 나타내는 것으로도 보고된 바 있다(33). 본 연구에서 배 과피 중성분획으로부터  $\beta$ -sitosterol과 그 배당체가 동시에 단리된 점을 고려하였을 때, aglycone (화합물 **3**)과 배당체(화합물 **4**)가 동시에 배에 함유되어 있을 가능성에 더하여 추출 및 정제과정에서 화합물 **4**로부터 화합물 **3**이 유리되었을 가능성 또한 염두에 둘 필요도 있다고 판단된다. 그러나 어느 쪽이 되었건  $\beta$ -sitosteryl 배당체의 배에 있어서의 존재는 의문의 여지가 없는 것으로 해석된다. 그리고 상기 화합물 **3**에 더하여  $\beta$ -sitosteryl glucoside 또한 쌀에 함유되어 있다(34,35). 최근, 이  $\beta$ -sitosteryl 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside를 대상으로 동물섭취실험을 행한 결과에 의하면,  $\beta$ -sitosteryl 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside를 섭취한 군의 쥐가 비섭취 군의 쥐에 비해 유의한 체중 감소효과가 있다는 매우 흥미로운 결과가 보고되기도 하였다(38).

본 연구에 의해 국내 배 품종인 추황배 과피로부터 4종의 화합물이 동정되었다. 앞에서 설명하였듯이 4종의 화합물들 모두 다른 식물군에서도 단리된 바 있는 화합물이다. 특히 화합물 **3**은 최근 중국배(*P. bretschneideri* Rehd.)로부터 기 동정된 바 있다(12). 그러나 추황배로부터 화합물 **3**의 존재가 확인된 것은 본 연구가 처음이다. 그에 더하여 화합물 **1**, **2**, **4**는 동양배와 서양배를 막론하고 본 연구를 통해 배로부터 처음 동정되었다. 이 4종 화합물들은 단리 최종단계에 있어 TLC-DPPH법에 의한 활성검정에

있어 항산화 활성이 발현됨을 확인하였다. 그리고 기존의 연구에서 화합물 1-4를 대상으로 다양한 생리활성평가가 이미 실시되어 보고된 바 있어 본 연구에서는 단리된 4종의 화합물을 대상으로 추가적인 활성 평가는 행하지 않았다. 하지만 기존의 연구 내용들을 참고하여 볼 때, 본 연구를 통해 배 과피로부터 단리된 4종의 화합물들은 배의 생리적 측면 및 기능성 측면에 매우 중요한 영향을 미칠 가능성이 높을 것으로 판단된다.

종래의 분석학적 연구들로부터도 배에 다양한 성분들이 함유되어 있음은 오래 전부터 충분히 인식되어 왔다. 그럼에도 불구하고 배 함유성분에 대한 체계적이고 계통적인 연구가 수행되지 못해 배의 유용성을 알리는데 있어 다른 과일류보다 적극적이지 못했던 부분이 있었다. 본 연구그룹은 다년간에 걸쳐 배 함유성분들을 단리하여 구조결정을 행함으로써 지금까지 약 50여 종의 화합물이 추황배에 함유되어 있음을 밝혀왔다. 서론에서도 서술하였듯이 서양배에 비해 동양배의 성분연구는 미흡한 점이 적지 않았다. 그러나 본 연구를 포함한 우리의 배 함유성분에 관한 최근의 연구 결과들을 통해 동양배와 서양배를 막론하고 지금까지 배의 함유성분들을 가장 폭넓게, 그리고 가장 체계적으로 밝힌 성과를 거두게 되었다. 이와 같은 선행연구 및 본 연구의 결과들은 향후 배 함유성분 연구를 행함에 있어 중요 자료로 사용될 것으로 판단된다. 즉, 단리된 화합물들을 표준품으로 이용하여 배 품종간의 함유성분 비교, 재배지역에 따른 성분 비교, 그리고 재배방법에 따른 우수성 평가 등의 다양한 접근이 가능할 것으로 생각된다. 이와 더불어 본 연구결과가 배의 기능성 해명 연구에도 중요한 기초자료를 제공함으로써 한국 배의 우수성을 제시하여 배의 내수는 물론 수출증대를 위한 홍보자료 제공에도 활용되길 기대한다.

요 약

본 연구에서는 배의 유용성 증명을 위한 일환으로 배의 화학성분을 분자수준에서 밝히고자 하였다. 이에 배 과피 MeOH 추출물을 용매분획하여 얻은 EtOAc-산성 분획과 EtOAc-중성분획을 대상으로 Sephadex LH-20, silica gel, 그리고 ODS column chromatography와 HPLC를 이용하여 정제 및 단리하였다. 그 결과, EtOAc-산성 분획과 EtOAc-중성 분획으로부터 각각 2종씩의 화합물을 단리하였다. 단리된 화합물 1-4는 <sup>1</sup>H- 및 <sup>13</sup>C-NMR 분석을 통하여 각각 (S)-(+)-2-cis-abscisic acid O-β-D-glucopyranosyl ester (화합물 1), 1-[4-O-β-D-glucopyranosyl]phenyl ethanone (piceoside, 화합물 2), β-sitosterol (화합물 3), 그리고 β-sitosteryl 3-O-β-D-glucopyranoside (화합물 4)로 동정되었다. 단리된 3종의 배당체 화합물(화합물 1, 2, 4)들은 본 연구에 의해 배로부터 처음 동정되었으며, 화합물 3은 추황배로부터 처음 동정되었다. 본 연구결과가 배 함유 성분연구는 물론 배의 기능성 해명 연구에도 추후 중요한 기초자료로 활용되길 기대한다.

감사의 글

이 논문은 농림수산식품부의 지원에 의해 수행된 결과의 일부이며, 이에 감사드립니다. MS 및 NMR은 한국기초과학지원 연구원(KBSI) 광주센터에서 분석하였다.

References

1. Saruwatari A, Okamura S, Nakajima Y, Narukawa Y, Takeda T, Tamura H. Pomegranate juice inhibits sulfoconjugation in Caco-2

human colon carcinoma cells. *J. Med. Food* 11: 623-628 (2008)

2. Bonarska-Kujawa D, Sarapuk J, Bielecki K, Oszmianski J, Kleszczynska H. Antioxidant activity of extracts from apple, chokeberry and strawberry. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 62: 229-234 (2012)

3. Bagchi D, Bagch M, Stohs SJ, Das DK, Ray SD, Kuszynski CA, Joshi SS, Pruess HG. Free radical and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicol.* 143: 187-197 (2000)

4. Giugliano D. Dietary antioxidants for cardiovascular prevention. *Nutr. Metab. Cardiovas.* 10: 38-44 (2000)

5. Amiot M, Tacchini M, Aubert S, Nicolas J. Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity. *J. Food Sci.* 57: 958-962 (1992)

6. Ham AJ, Liebler DC. Antioxidant reactions of vitamin E in the perfused rat liver: product distribution and effect of dietary vitamin E supplementation. *Arch. Biochem. Biophys.* 339: 157-164 (1997)

7. Martin A, Frei B. Both intracellular and extracellular vitamin C inhibit atherogenic modification of LDL by human vascular endothelial cells. *Arterioscl. Throm. Vas.* 17: 1583-1590 (1997)

8. Shiba Y, Kinoshita T, Chuman H, Taketani Y, Takeda E, Kato Y, Naito M, Kawabata K, Ishisaka A, Terao J, Kawai Y. Flavonoids as substrates and inhibitors of myeloperoxidase: molecular actions of aglycone and metabolites. *Chem. Res. Toxicol.* 21: 1600-1609 (2008)

9. Iacopini P, Baldi M, Storchi P, Sebastiani L. Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions. *J. Food Comp. Anal.* 21: 589-598 (2008)

10. Karaman S, Tütem E, Baskan KS, Apak R. Comparison of total antioxidant capacity and phenolic composition of some apple juices with combined HPLC-CUPRAC assay. *Food Chem.* 120: 1201-1209 (2010)

11. Mulvihill EE, Huff MW. Citrus flavonoids and the prevention of atherosclerosis. *Cardiovasc. Hematol. Disord. Drug Targets* 12: 84-91 (2012)

12. Li X, Zhang J, Gao W, Wang H. Study on chemical composition, anti-inflammatory and anti-microbial activities of extracts from Chinese pear fruit (*Pyrus bretschneideri* Rehd.). *Food Chem. Toxicol.* 50: 3673-3679 (2012)

13. Huang LJ, Gao WY, Li X, Zhao WS. Evaluation of the *in vivo* anti-inflammatory effects of extracts from *Pyrus bretschneideri* Rehd. *J. Agr. Food Chem.* 58: 8983-8987 (2010)

14. Lee KH, Cho JY, Lee HJ, Ma YK, Kwon J, Park SH, Lee SH, Cho JA, Kim WS, Park KH, Moon JH. Hydroxycinnamoylmalic acids and their methyl esters from pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) fruit peel. *J. Agr. Food Chem.* 59: 10124-10128 (2011)

15. Lee KH, Cho JY, Lee HJ, Park KY, Ma YK, Lee SH, Cho JA, Kim WS, Park KH, Moon JH. Isolation and identification of phenolic compounds from an Asian pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) fruit peel. *Food Sci. Biotechnol.* 20: 1539-1545 (2011)

16. Lee YG, Cho JY, Kim CM, Lee SH, Kim WS, Jeon TI, Park KH, Moon JH. Coumaroyl quinic acid derivatives and flavonoids from immature pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) fruit. *Food Sci. Biotechnol.* 22: 803-810 (2013)

17. Cho JY, Kim CM, Lee HJ, Lee SH, Cho JA, Kim WS, Park KH, Moon JH. Caffeoyl triterpenes from pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) fruit peels and their antioxidative activities against oxidation of rat blood plasma. *J. Agr. Food Chem.* 15: 4563-4569 (2013)

18. Takao T, Kitatani F, Watanabe N, Yagi A, Sakata K. A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58: 1780-1783 (1994)

19. Cui T, Nakamura K, Ma L, Li JZ, Kayahara H. Analyses of arbutin and chlorogenic acid, the major phenolic constituents in oriental pear. *J. Agr. Food Chem.* 53: 3882-3887 (2005)

20. Kato-Noguchi H, Tanaka Y, Murakami T, Yamamura S, Fujihara S. Isolation and identification of an allelopathic substance from peel of *Citrus junos*. *Phytochem.* 61: 849-853 (2002)

21. Kobayashi Y, Nabeta K, Matsuura H. Chemical inhibitors of viviparous germination in the fruit of watermelon. *Plant Cell*

- Physiol. 51: 1594-1598 (2010)
22. Wang, M, Kikuzaki H, Lin CC, Kahyaoglu A, Huang MT, Nakatani N, Ho CT. Acetophenone glycosides from Thyme (*Thymus vulgaris* L.) J. Agr. Food Chem. 47: 1911-1914 (1999)
  23. Lee SH, Kim KS, Shim SH, Park YM, Kim BK. Constituents from the non-polar fraction of *Artemisia apiacea*. Arch. Pharm. Res. 26: 902-905 (2003)
  24. Wang Y, Lai D, Zhang Y, Kang A, Cao Y, Sun W. Study of steroidal saponins in *Dioscorea zingiberensis* C.H. Wright. J. Nat. Prod. 2: 123-132 (2009)
  25. Saito S, Hirai N, Matsumoto C, Ohigashi H, Ohta D, Sakata K, Mizutani M. Arabidopsis *CYP707As* encode (+)-abscisic acid 8-hydroxylase, a key enzyme in the oxidative catabolism of abscisic acid. Plant Physiol. 134: 1439-1449 (2004)
  26. Tanabe K, Tani H, Nakajima H, Mori M, Sakuno E. Biologically active gibberellins and abscisic acid in fruit of two late-maturing Japanese pear cultivars with contrasting fruit size. J. Am. Soc. Hort. Sci. 132: 452-458 (2007)
  27. Silva TMS, Santos FPS, Evangelista-Todrigues A, Silva EMS, Silva GS, Novais JS, Santos FAR, Camara CA. Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (*Melipona subnitida*) honey. J. Food Comp. Anal. 29: 10-18 (2013)
  28. Wang H, Sun Y, Ye WC, Xiong F, Wu JJ, Yang CH, Zhao SX. Antioxidative phenylethanoid and phenolic glycosides from *Picrorhiza scrophulariiflora*. Chem. Pharm. Bull. 52: 615-617 (2004)
  29. Li X, Liu Z, Zhang XF, Wang LJ, Zheng YN, Yuan CC, Sun GZ. Isolation and characterization of phenolic compounds from the leaves of *Salix matsudana*. Molecules 13: 1530-1537 (2008)
  30. Hashem FA, Saleh MM. Antimicrobial components of some cruciferae plants (*Diplotaxis harra* Forsk. and *Erucaria microcarpa* Boiss.). Phytother. Res. 13: 329-332 (1999)
  31. Mo J, Wu B. A phytochemical and chemotaxonomic study on *Viburnum lancifolium*. Biochem. Syst. Ecol. 39: 857-860 (2011)
  32. Tamokou JDD, Kuate JR, Tene M, Kenla Nwemegueta TJ, Tane P. The antimicrobial activities of extract and compounds isolated from *Brillantaisia lamium*. Iran. J. Med. Sci. 36: 24-31 (2011)
  33. Yang ZG, Matsuzaki K, Takamatsu S, Kitanaka S. Inhibitory effects of constituents from *Morus alba* var *multicaulis* on differentiation of 3T3-L1 cells and nitric oxide production in RAW264.7 cells. Molecules 16: 6010-6022 (2011)
  34. Park MH, Chung IM, Ahmad A, Kim BH, Hwang SJ. Growth inhibition of unicellular and colonial *Microsistis* strains (*Cyanophyceae*) by compounds isolated from rice (*Oryza sativa*) hulls. Aqua. Bot. 90: 309-314 (2009)
  35. Chung IM, Hahn SJ, Ahmad A. Confirmation of potential herbicidal agents in hulls of rice, *Oryza sativa*. J. Chem. Ecol. 31: 1339-1352 (2005)
  36. Zubair M, Anwar F, Ashraf M, Uddin MK. Characterization of high-value bioactives in some selected varieties of Pakistani rice (*Oryza sativa* L.). Int. J. Mol. Sci. 13: 4608-4622 (2012)
  37. Arisawa M, Hatashita T, Numata Y, Tanaka M, Sasaki T. Cytotoxic principles from *Chrysosplenium flagelliferum*. Int. J. Pharm. 35: 141-143 (1997)
  38. Chidrawar VR, Patel KN, Bothra SB, Shiromwar SS, Koli AR, Kalyankar GG. Anti-obesity effect of *Stellaria media* methanolic extract in the murine model of cafeteria diet induced obesity. Int. J. Nutr. Pharm. Neur. Dis. 2: 121-131 (2013)