

상백피로부터 α -Glucosidase 저해제의 분리 및 동정

- 연구노트 -

장연정 · 임현희 · 전영희 · 이동희 · 최상원

대구가톨릭대학교 식품영양학과

Isolation and Identification of α -Glucosidase Inhibitors from *Morus* Root Bark

Yeong Jung Jang, Hyun Hee Leem, Yeong Hee Jeon, Dong Hee Lee, and Sang Won Choi

Department of Food Science and Nutrition, Catholic University of Daegu

ABSTRACT Among the four different parts of mulberry (*Morus alba* L.) tree, ethanol extract of *Morus* root bark showed the highest α -glucosidase inhibitory activity (IC_{50} =12.01 μ g/mL). Bioassay-guided fractionation of the ethanolic extract of root bark by Diaion HP-20, silica gel, ODS-A, and Sephadex LH-20 column chromatographies led to the isolation of four compounds, including Compound (Comp.) 1 (IC_{50} =5.22 μ g/mL), Comp. 2 (IC_{50} =1.78 μ g/mL), Comp. 3 (IC_{50} =2.94 μ g/mL), and Comp. 4 (IC_{50} =1.54 μ g/mL) with strong α -glucosidase inhibitory activities. Their chemical structures were elucidated as morusin (Comp. 1), kuwanon H (Comp. 2), chalconoracin A (Comp. 3), and chalconoracin B (Comp. 4) by UV and NMR spectral analyses. These results suggest that prenylflavonoid and mulberrofuran of *Morus* root bark may be useful as potential therapeutic agents for diabetes.

Key words: *Morus* root bark, α -glucosidase inhibitors, morusin, kuwanon H, chalconoracin A & B

서 론

최근 급격한 산업사회의 발전에 따른 국민소득 증가 및 식생활의 서구화로의 변모로 육류 소비가 크게 늘어나면서 암, 고혈압, 심장병, 당뇨 및 치매 등 여러 생활습관병이 크게 증가하고 있으며, 특히 2010~2011년 기준 국내 고혈압·당뇨 인구는 이미 1,073만 명에 달하고 있고(이는 30세 이상 인구 셋 중 한 명꼴) 2040년에는 성인 절반(1,842만 명)이 고혈압·당뇨에 걸릴 것이라는 놀라운 보고가 나오고 있다(1,2). 따라서 이러한 생활습관병을 예방하고 치료할 수 있는 보다 안전하고 효과 있는 식물 유래의 생리활성물질(phytochemicals)을 개발하려는 연구가 활발히 진행되고 있으며(3,4), 특히 당뇨 및 고혈압 치료에 좋은 것으로 잘 알려진 뽕나무 산물로부터 새로운 기능성 소재의 개발 연구가 크게 주목을 받고 있다(5).

상백피는 뽕나무(*Morus alba* L.)의 뿌리껍질로 예로부터 한방에서는 해열, 항경련, 항알레르기, 항염증 작용과 더불어 이뇨 촉진 등의 효과가 있는 것으로 알려져 왔다(6). 동의 보감에 '상백피는 폐장(肺臟)의 기운이 막혀 숨이 차고 가슴이 그득한 천만(喘滿)과 수기(水氣)로 부종(浮腫)이 생긴 것을 치료한다', '담(痰)을 삭이고 갈증을 멎게 하며 폐 속의 수

기를 제거하고 소변을 잘 나오게 한다', '기침과 피가 섞인 침을 뱉는 타혈(唾血)을 치료하고 대·소장을 잘 통하게 하며, 뱃속의 기생충이나 벌레를 죽이고, 쇠붙이에 다친 상처인 금창(金瘡)도 아물게 한다'고 적혀 있다(7).

지금까지 상백피로부터 항암, 항당뇨, 항염증, 항고혈압 및 항균 성분인 1-deoxynojirimycin(DNJ), γ -aminobutyric acid, oxyresveratrol, mulberrofuran 및 prenylflavonoid 유도체가 분리 및 동정된 바가 있으며(8-17), 그 외에도 항고지혈증(18), 항진통(19), 항멜라닌(20) 및 항산화(21) 성분 등이 다수 보고된 바가 있다. 이와 같이 상백피로부터 여러 가지 생리활성물질이 보고된 바가 있으나 아직까지 항당뇨 작용과 관련된 α -glucosidase 저해제의 분리 및 동정에 관한 연구는 거의 없는 실정이다.

α -Glucosidase는 장의 말단에 존재하는 당분해 효소로서 그 저해제는 탄수화물이 포도당으로 소화되는 것을 지연 시킴으로써 결국 식후의 혈당치를 감소시키는 역할을 한다(22). 지금까지 식물로부터 α -glucosidase 저해제의 분리 및 동정에 관한 많은 연구가 보고되어 왔으며(23-25), 특히 누에의 DNJ 성분은 α -glucosidase 저해제로 잘 알려져 있고(26) 그 외에도 acarbose 및 voglibose 등의 합성저해제도 시판되고 있다(27).

최근 본 연구진들은 잠상산물을 이용한 당뇨 예방용 건강 기능식품을 개발하기 위한 연구의 일환으로 먼저 뽕나무의 부위별(오디, 상엽, 상지, 상백피) 에탄올 추출물의 항당뇨 활성을 α -glucosidase를 이용한 *in vitro* assay에서 측정하였으며(28), 그 결과 효소 저해활성이 가장 강한 상백피 에탄

Received 3 March 2015; Accepted 22 April 2015

Corresponding author: Sang Won Choi, Department of Food Science and Nutrition, Catholic University of Daegu, Gyeongsan, Gyeongbuk 712-702, Korea
E-mail: swchoi@cu.ac.kr, Phone: +82-53-850-3525

을 추출물로부터 α -glucosidase 저해제를 분리 및 동정할 바를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에서 사용한 뽕나무 뿌리껍질 상백피는 2013년 경북 울진에서 재배한 '청일뽕'으로부터 봄에 잎이 나기 전에 채취한 것으로 수확 후 일주일간 그늘에서 자연건조시킨 다음 50°C 열풍건조기(JISICO J-300M, Seoul, Korea)에서 48시간 건조한 것을 세절하여 사용하였다.

시약 및 크로마토그래피용 충전제

본 실험에 사용한 α -glucosidase는 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였으며, 상백피로부터 α -glucosidase 분리 및 정제를 위한 column chromatography용 충전물질로 Diaion HP-20(Mitsubishi Chemical Co., Tokyo, Japan), silica gel 60(70~230 mesh, Merck, Darmstadt, Germany), ODS-A gel(12 nm, 150 μ m, YMC Training Inc., Boston, MA, USA) 및 Sephadex LH-20(Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden)을 사용하였으며, 물질 분리 및 분석을 위한 thin layer chromatography(TLC)는 pre-coated silica gel 60 plate (0.25 mm, Merck)를 사용하였다. 그 외 모든 시약은 HPLC 급(Merck) 또는 분석용 특급 시약을 사용하였다.

상백피로부터 α -glucosidase 저해제의 분리 및 정제

상백피로부터 α -glucosidase 저해제의 추출, 분리 및 정제는 Fig. 1과 같이 실시하였다. 상백피(6 kg)를 95% 에탄올(30 L)로 ultrasonicator(Power Sonic 420, 50/60 Hz, 700 W, Hwashintech, Incheon, Korea)에서 2시간 2회 반복 추출한 후 여과(Whatman No. 2 filter paper, Whatman International Ltd., Maidstone, UK) 및 감압농축 하여(rotary evaporator, EYELA, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan) 에탄올 추출물을 얻었다. 이것을 같은 추출용매(10 L)로 용해하여 일야 실온에서 방랭한 다음 재여과하여 침전물을 제거한 후 다시 감압농축 하여 상백피 조에탄올 추출물(720 g)을 제조하였다. 상백피 조에탄올 추출물 중 50 g을 취하여 20% 에탄올 수용액으로 현탁시킨 다음 미리 20% 에탄올 수용액으로 평형화시켜 놓은 Diaion HP-20 column (16 cm \times 100 cm)에 충전시킨 후 20%, 40%, 60% 및 80% 에탄올 수용액을 순차적으로 용출시켰다. 각각의 용출액을 감압농축 하여 4가지 에탄올 분획물 즉, 20% EtOH fr. (24.86 g), 40% EtOH fr.(2.38 g), 60% EtOH fr.(6.06 g) 및 80% EtOH fr.(2.86 g)을 각각 얻었다. 여기서 앞서 용출된 4개 분획물의 α -glucosidase 저해활성을 측정한 결과 80% 에탄올 분획물의 저해활성이 가장 높았다(Table 1). 80% 에탄올 분획물로 silica gel 60을 이용한 flash column chromatography를 실시하였다. 먼저 silica gel(70~230 mesh)을 클로로포름 : 메탄올(10:1, v/v) 혼합용매로 충분히 slurry를 만든 후 칼럼(2.8 cm \times 58 cm)에 충전하여 용매

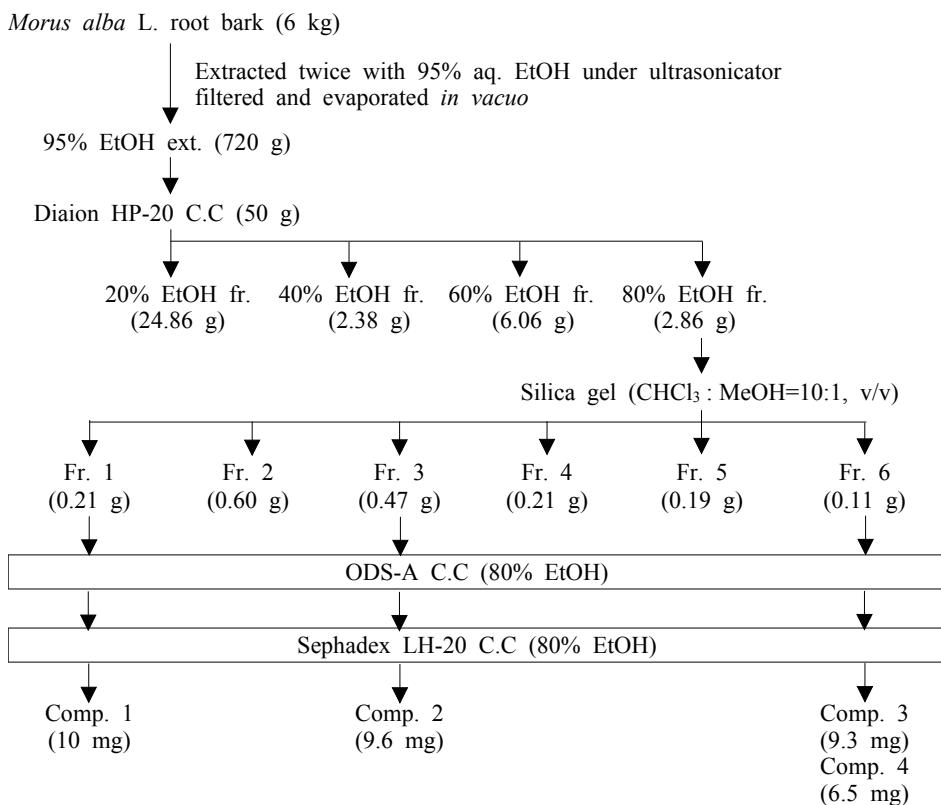


Fig. 1. Schematic procedure for isolation and purification of α -glucosidase inhibitors from *Morus* root bark.

Table 1. α -Glucosidase inhibitory activity of several fractions from the ethanolic extract of *Morus* root bark isolated by Diaion HP-20, silica gel, ODS-A, and Sephadex LH-20 column chromatographies

Sample	Extract & fraction	Inhibition (IC ₅₀ ¹⁾ , μ g/mL)
Mulberry root bark	EtOH ext.	12.01
Four ethanol fractions isolated from the crude ethanol extract of <i>Morus</i> root bark by Diaion HP-20 column chromatography (C.C.)	20% EtOH fr.	96.21
	40% EtOH fr.	153.05
	60% EtOH fr.	45.10
	80% EtOH fr.	5.06
Six fractions isolated from the 80% EtOH fr. of Diaion HP-20 by silica-gel C.C.	Fr. 1	6.52
	Fr. 2	9.98
	Fr. 3	4.38
	Fr. 4	10.54
	Fr. 5	8.35
	Fr. 6	0.34
Four purified compounds isolated by ODS-A or Sephadex LH-20 C.C.	Comp. 1	5.22±0.10 ^(c2)3)
	Comp. 2	1.78±0.26 ^c
	Comp. 3	2.94±0.02 ^d
	Comp. 4	1.54±0.07 ^e
Reference compound	Acarbose	0.03±0.01 ^f
	Quercetin	15.03±0.32 ^b
	<i>trans</i> -Resveratrol	32.90±0.58 ^a

¹⁾IC₅₀ represents the concentration of each compound required for 50% inhibition of α -glucosidase activity.

²⁾Values represent the mean±SD (n=3).

³⁾Values with different letters in a column are significantly different at $P<0.05$.

를 충분히 용출시키면서 평형화시켰다. Diaion 80% 에탄올 분획물(10 g)을 클로로포름 : 메탄올(10: 1, v/v) 혼합용매로 현탁시켜 칼럼에 충전 후 동일한 용매를 이동상으로 하여 10 mL씩 300개 분획으로 나누어 용출시켰다. 분취한 각 분획물을 precoated silica gel 60(클로로포름 : 메탄올 = 10:1, v/v)을 이용하여 TLC를 실시하고 성분이 동일한 분획끼리 모아 6개의 분획 즉, fr. 1(0.21 g), fr. 2(0.60 g), fr. 3(0.47 g), fr. 4(0.21 g), fr. 5(0.19g), fr. 6(0.11 g)을 얻었다. 앞서 용출된 6개의 분획물의 α -glucosidase 저해활성을 측정된 결과 fr. 1, 3 및 6의 저해활성이 높았다 (Table 1). fr. 1을 80% 에탄올 수용액으로 용해한 후 미리 80% 에탄올 수용액으로 평형화시켜 놓은 ODS-A를 칼럼(3 cm×38 cm)에 충전시킨 다음 80% 에탄올 수용액을 이동상으로 하여 튜브당 2 mL씩 200개 분획으로 나누어 용출시킨 후 각 분획을 UV-vis spectrophotometer(S-3100, Sincos Co., Seoul, Korea)를 이용하여 흡수스펙트럼을 측정하고 동일한 분획을 모아 감압농축 하였다. 마지막으로 최종 분리된 분획을 80% 에탄올 수용액으로 평형화한 Sephadex LH-20 칼럼(2.5 cm×48 cm)에 충전시킨 후 같은 용매를 이동상으로 하여 튜브당 1 mL씩 200개의 분획으로 나누어 용출한 다음 자외선 흡수스펙트럼이 동일한 분획을 모아 감압농축 하여 Comp. 1(10 mg)을 얻었다. 이와 유사한 방법으로 fr. 3과 fr. 6을 각각 ODS-A 및 Sephadex LH-20 column chromatography를 순차적으로 실시하여 fr. 3으로부터 Comp. 2(9.6 mg)를, fr. 6으로부터 Comp. 3(9.3 mg) 및 Comp. 4(6.5 mg)를 각각 순수하게 분리 및 정제하였다.

상백피로부터 분리된 α -glucosidase 저해제의 화학구조 동정

UV-vis spectroscopy: 상백피로부터 분리된 α -glucosidase 저해활성을 갖는 4가지 화합물의 구조분석을 위해 먼저 자외선 흡수스펙트럼을 조사하였다. 분리한 화합물을 메탄올에 용해한 다음 UV-vis spectrophotometer(SINCO S-3100)를 사용하여 200~600 nm 영역에서 scanning 하여 최대흡수파장(λ max)을 조사하였다.

Nuclear magnetic resonance(NMR) spectroscopy: 상백피로부터 분리된 4가지 화합물의 ¹H-NMR(500 MHz)과 ¹³C-NMR(125 MHz) 분석은 AVANCE III 500(Bruker, Karlsruhe, Germany)을 사용하여 상온에서 측정하였으며, 이때 시료는 acetone-*d*₆(Comp. 1 & 2)와 DMSO-*d*₆(Comp. 1 & 2)를 이용하여 각각 용해하였다. 그리고 tetramethylsilane(TMS)을 내부 표준물질로 첨가하여 시료의 화학적 이동 값을 δ 치(ppm)로 나타내었다.

통계처리

본 연구의 실험 결과들은 3회 반복 측정하여 평균 표준편차로 나타내었으며, 각 실험을 3회 측정 후 얻어진 결과를 이용하여 회귀분석그래프를 작성하고 IC₅₀값(효소활성을 50% 저해하는 농도)을 구하였다. 그리고 각 시험구 간의 유의성은 Duncan's multiple range test를 이용하여 $P<0.05$ 범위에서 측정하였다.

결과 및 고찰

뽕나무 부위별 에탄올 추출물의 항당뇨 활성

사전 연구(28)에서 뽕나무 4가지 부위별(오디, 상엽, 상지, 상백피) 에탄올 추출물의 항당뇨 활성을 α -glucosidase를 이용하여 측정한 결과는 다음과 같다. 4가지 부위 중 상백피 에탄올 추출물(IC_{50} =12.01 μ g/mL)이 가장 높은 효소 저해활성을 나타내었고, 그다음으로 상지(IC_{50} =33.82 μ g/mL) > 상엽(IC_{50} =165.9 μ g/mL) > 오디(IC_{50} =780.5 μ g/mL) 순으로 낮게 나타났다. 따라서 상백피 에탄올 추출물로부터 α -glucosidase 저해제를 분리 및 정제하였다.

Diaion HP-20, silica gel, ODS-A 및 Sephadex LH-20 column chromatography에 의해 분리된 상백피 분획물의 α -glucosidase 저해활성 측정

상백피 에탄올 추출물로부터 α -glucosidase 저해제를 분리 및 정제하기 위해 먼저 Fig. 1과 같이 조에탄올 추출물을 Diaion HP-20, silica gel, ODS-A 및 Sephadex LH-20 column chromatography를 차례로 실시하여 4가지 화합물을 분리·정제하면서 각 분획물의 α -glucosidase 저해활성을 비교한 결과는 Table 1과 같다. 먼저 상백피 에탄올 추출물을 Diaion HP-20 column chromatography를 실시하여 얻어진 4가지 분획물의 α -glucosidase 저해활성을 측정할 결과 80% 에탄올 분획물(IC_{50} =5.06 μ g/mL)이 가장 높은 저해활성을 나타내었고, 그다음으로 60% 에탄올 분획물(IC_{50} =45.10 μ g/mL) > 20% 에탄올 분획물(IC_{50} =96.21 μ g/mL) > 40% 에탄올 분획물(IC_{50} =153.05 μ g/mL) 순으로 낮게 나타났다. 효소 저해활성이 가장 높은 80% 에탄올 분획물을 silica gel column chromatography를 실시하여 6가지 분획을 얻었으며, 그들의 효소 저해활성을 측정한 결과 fr. 1(IC_{50} =6.52 μ g/mL), fr. 3(IC_{50} =4.38 μ g/mL) 및 fr. 6(IC_{50} =0.34 μ g/mL)이 가장 높은 저해활성을 나타내었다. 마지막으로 3가지 활성분획을 ODS-A 및 Sephadex LH-20 column chromatography를 차례로 실시하여 정제한 후 최종 얻어진 Comp. 1(10 mg), Comp. 2(9.6 mg), Comp. 3(9.3 mg) 및 Comp. 4(6.5 mg)의 α -glucosidase 저해활성을 측정한 결과 Comp. 1(IC_{50} =5.22 μ g/mL), Comp. 2(IC_{50} =1.78 μ g/mL), Comp. 3(IC_{50} =2.94 μ g/mL) 및 Comp. 4(IC_{50} =1.54 μ g/mL)로 각각 저해활성을 나타내었다. 이와 같이 상백피로부터 분리된 4가지 화합물은 비록 α -glucosidase의 강력 저해제로 잘 알려진 acarbose(IC_{50} =003 μ g/mL)(29)보다 저해활성이 낮지만 천연물 유래 α -glucosidase 저해제로 보고된 quercetin 및 resveratrol보다 저해활성이 높음을 알 수 있었다(30).

상백피로부터 분리된 α -glucosidase 저해제의 화학구조 동정

상백피로부터 분리된 4가지 α -glucosidase 저해제의 화

학구조를 UV 및 NMR 분석을 통해 다음과 같이 측정하였다. Comp. 1은 268.9 nm에서 최대 흡수파장과 350 nm에서 minor 흡수파장을 각각 나타내었기에 본 화합물은 flavonoid 화합물 중 고리가 연결된 flavone 화합물임을 추정할 수 있었다(31).

Comp. 1의 1 H-NMR spectrum을 측정한 결과 δ 6.35(1H, dd, J=2.0 & 8.0 Hz, H-5'), δ 6.50(1H, d, J=2.5 Hz, H-3') 및 δ 7.13(1H, d, J=8.0 Hz, H-6')에서 flavonoid 화합물 benzene B ring의 4-substituted resorcinol 골격을 나타내는 3가지 aromatic proton과 δ 6.21(1H, s, H-6)에서 benzene A ring의 1개의 proton 그리고 δ 3.00 & 3.33(2H, br d, J=8.0 Hz, H-9), δ 5.03(1H, br t, J=8.0 Hz, H-10), δ 1.38 & 1.55(each 3H, br s, H-12 & H-13)를 보아 pyrone ring의 3번 위치에 isoprenyl group의 존재와 더불어 δ 6.52(1H, d, J=10 Hz, H-14), δ 5.70(1H, d, J=10 Hz, H-15) 및 δ 1.38 & 1.55(each 3H, br s, H-12 & H-13)에서 2,2-dimethylchromene ring을 지니고 있는 전형적인 prenylflavonoid임을 확인할 수 있었다. 이러한 1 H-NMR 결과로부터 Comp. 1 화합물이 prenylflavonoid의 대표적인 화합물인 morusin임을 추정할 수 있었다(32).

한편 Comp. 1의 13 C-NMR spectrum을 관찰한 결과 δ 181.8(C-4)에서 하나의 케톤기와 δ 161.0(C-4') 및 δ 156.6(C-2')에서 benzene B ring의 2개의 hydroxyl group과 δ 161.9(C-7) 및 δ 151.7(C-5)에서 benzene A ring의 2개의 hydroxyl group 그리고 δ 160.6(C-8a) 및 δ 158.5(C-2)에서 benzene C ring의 2개의 hydroxyl group을 가진 탄소들과 δ 131.2(C-11), δ 121.4(C-10), δ 25.4(C-12), δ 23.6(C-9), δ 17.3(C-13)에서 1개의 isoprenyl group를 나타내는 탄소 signal들 그리고 δ 127.6(C-15), δ 114.1(C-14), δ 78.0(C-16), δ 27.7(C-17 & C-18)에서 2,2-dimethylchromene ring을 확인할 수 있었다. 마지막으로 δ 98.8(C-6)에서 benzene A ring의 비치환 탄소와 δ 131.3(C-6'), δ 110.7(C-1'), δ 106.8(C-5'), δ 102.8(C-3')에서 benzene B ring의 비치환 탄소를 각각 확인할 수 있었으며, 그 외 benzene A ring과 benzene C ring의 공통 결합 부분인 δ 160.6(C-8a) 및 δ 100.4(C-4a)를 각각 확인할 수 있었다. 이러한 결과로부터 본 화합물은 prenylflavonoid의 대표적인 화합물인 morusin임을 확인할 수 있었으며, 지금까지 상백피로부터 morusin을 비롯한 여러 유도체가 분리 및 동정된 바가 있다(32,33).

다음 상백피로부터 분리된 무정형 분말 Comp. 2의 UV 흡수스펙트럼을 측정한 결과 263 nm에서 최대 흡수파장과 285 nm에서 minor 흡수파장 그리고 325 nm에서 shoulder를 나타내었다. 이로써 본 화합물은 flavonoid 화합물 중 prenylflavonoid에 속하는 kuwanon 유도체임을 추정할 수 있었다(32).

Comp. 2의 1 H-NMR spectrum을 관찰한 결과 δ 6.58(1H, dd, J=2.0 & 8.0 Hz, H-5'), δ 6.66(1H, d, J=2.5 Hz,

H-3') 및 δ 7.29(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-6')에서 flavonoid 화합물 benzene B ring의 4-substituted resorcinol 골격을 나타내는 3가지 aromatic proton과 δ 5.99(1H, s, H-6)에서 benzene A ring의 1개의 proton 그리고 δ 3.00 & 3.33(2H, br d, $J=8.0$, H-9), δ 5.09(1H, br t, $J=2.0$ & 8.0 Hz, H-10), δ 1.28 & 1.50(each 3H, br s, H-12 & H-13)을 보아 pyrone ring의 3번 위치에 isoprenyl의 존재와 더불어 δ 4.20(1H, d, $J=1.0$ Hz, H-14), δ 5.00(1H, br t, $J=2.0$ & 8.0 Hz, H-15), δ 1.57(3H, br s, H-17), δ 1.80(2H, br d, H-18), δ 3.30(1H, br d, H-19), δ 4.20(1H, br d, H-20), δ 5.96(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-26), δ 7.16(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-27), δ 6.36(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-30), δ 5.92(1H, dd, $J=2.0$ & 8.0 Hz, H-32), δ 6.95(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-33), δ 3.02(2H, br d, $J=7.0$ Hz, H-34), δ 4.92(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-35), δ 1.32 & 1.62(each 3H, br s, H-37 & H-38)로 보아 H-24번 위치에 isoprenyl group을 가진 chalcone의 존재를 확인할 수 있었다. 이러한 $^1\text{H-NMR}$ 결과로부터 Comp. 2는 kuwanon C핵에 chalcone 핵을 지니고 있는 prenylflavonoid의 대표적인 화합물 kuwanon H임을 추정할 수 있었다(32).

한편 Comp. 2의 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum을 관찰한 결과 δ 208.1(C-21)에서 chalcone 핵의 ketone기와 δ 181.6(C-4)에서 flavone 핵의 케톤기를 각각 확인할 수 있었으며, δ 155.8(C-5), δ 160.2(C-7), δ 156.3(C-2'), δ 160.2(C-4')에서 flavone 핵의 4개의 hydroxyl group과 δ 161.9(C-23 & C-25), δ 155.9(C-29 & C-31)에서 chalcone 핵의 4개의 hydroxyl group이 존재하였다. δ 97.5(C-6) & δ 106.6(C-8)에서 flavone A핵과 δ 102.5(C-3'), δ 106.6(C-5') & δ 131.1(C-6')에서 flavone B핵, δ 159.0(C-2) & δ 119.5(C-3)의 flavone C핵의 탄소와 δ 103.5(C-4a) & δ 160.2(C-8a)에서 flavone A핵과 flavone C핵의 연결 부위를 확인하였으며, 아울러 δ 106.8(C-26) & δ 130.2(C-27)에서 chalcone의 A핵과 δ 102.5(C-30), δ 106.6(C-32) & δ 132.7(C-33)에서 chalcone의 B핵 그리고 δ 37.1(C-14), δ 122.3(C-15), δ 132.7(C-16), δ 22.5(C-17), δ 37.1(C-18 & C-19), δ 45.4(C-20)에서 chalcone C핵의 존재를 각각 확인할 수 있었다. 마지막으로 δ 131.1(C-11), δ 121.8(C-10), δ 25.4(C-12), δ 21.1(C-9), δ 17.4(C-13)에서 flavone 핵에 치환된 isoprenyl group과 δ 130.2(C-36), δ 122.3(C-35), δ 23.4(C-37), δ 21.1(C-34), δ 17.6(C-38)에서 chalcone 핵에 치환된 isoprenyl group을 각각 확인할 수 있었다. 이러한 결과로부터 본 화합물은 kuwanon 계열의 유도체인 kuwanon H임을 확인할 수 있었으며, 여러 연구자들에 의해 이미 상백피로부터 kuwanon H가 분리 및 동정된 바가 있다(32,33).

상백피로부터 분리된 노란색 무정형 분말 Comp. 3의 UV 흡수스펙트럼을 측정된 결과 319 nm에서 최대 흡수파장과 291 및 334 nm에서 minor 흡수파장을 나타내었다. 이로써 본 화합물은 2-arylbenzofuran 유도체임을 추정할 수 있었

다(34).

Comp. 3의 $^1\text{H-NMR}$ spectrum을 측정된 결과 δ 7.35(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-4), δ 6.93(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-7), δ 6.77(1H, dd, $J=8.5$ & 2.0 Hz, H-5), δ 6.92(1H, s, H-3), δ 6.77(2H, s, H-2' & H-6')에서 H-4'에 치환기를 가진 2-arylbenzofuran 핵을 확인할 수 있었으며, δ 4.12(1H, br s, H-3''), δ 5.77(1H, br s, H-2''), δ 1.92(3H, br s, H-7''), δ 2.50 & 2.18(2H, m, H-6''), δ 3.76(1H, t, $J=6.0$, H-5''), δ 4.64(1H, t, $J=6.0$, H-4''), δ 6.36(1H, dd, $J=6.5$ & 2.0 Hz, H-13''), δ 8.53(1H, d, $J=9.0$ Hz, H-14''), δ 6.53(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-17''), δ 6.29(1H, dd, $J=8.5$ & 2.5 Hz, H-19''), δ 6.98(1H, d, $J=8.5$ Hz, H-20'')로 보아 Comp. 3은 2-arylbenzofuran 유도체에 chalcone 핵을 지니고 있는 mulberrofuran 유도체임을 추정할 수 있었다(30). 그러나 Kang 등(33)이 이미 보고한 H-11'번 위치에 isoprenyl group을 가진 chalcone과 달리 isoprenyl group이 없는 chalcone 유도체임을 확인할 수 있었다.

한편 Comp. 3의 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum을 관찰한 결과 δ 206.3(C-8'')에서 chalcone 핵의 ketone기를 확인할 수 있었으며, δ 157.9(C-6), δ 156.6(C-3' & C-5')에서 2-arylbenzofuran 핵의 3개의 hydroxyl group과 δ 164.5(C-10''), δ 163.7(C-12''), δ 157.7(C-18''), δ 156.8(C-16'')에서 chalcone 핵의 4개의 hydroxyl group이 존재하였다. δ 121.9(C-4), δ 113.2(C-5), δ 98.5(C-7)에서 2-arylbenzofuran A핵과 δ 131.0(C-1'), δ 116.8(C-4'), δ 103.8(C-2' & C-6')에서 2-arylbenzofuran B핵, δ 155.6(C-2) & δ 101.9(C-3)의 2-arylbenzofuran C핵의 탄소와 δ 154.5(C-8) & δ 122.7(C-9)에서 2-arylbenzofuran A핵과 C핵의 연결 부위를 확인하였다. δ 133.9(C-14'') & δ 107.5(C-13'')에서 chalcone의 A핵과 δ 128.8(C-20''), δ 105.2(C-19'') & δ 103.6(C-17'')에서 chalcone의 B핵 그리고 δ 135.2(C-1''), δ 124.6(C-2''), δ 33.3(C-3''), δ 47.9(C-4''), δ 36.6(C-5''), δ 32.5(C-6''), δ 23.9(C-7'')에서 chalcone C핵의 존재를 각각 확인할 수 있었다. 이러한 결과로부터 본 화합물은 2-arylbenzofuran 핵에 chalcone 핵이 결합되어 있으나 H-11'번 위치에 isoprenyl group이 없는 chalcone 유도체임을 확인할 수 있었으며(34), 보다 상세한 화학구조 동정을 위해서는 NOESY 및 2D NMR 분석이 필요하다.

마지막으로 상백피로부터 분리된 노란색 무정형 분말 Comp. 4의 UV 흡수스펙트럼을 측정된 결과 319 nm에서 최대 흡수파장과 291 및 334 nm에서 minor 흡수파장을 나타내었다. 이로써 본 화합물은 Comp. 3과 유사한 2-arylbenzofuran 유도체임을 추정할 수 있었다(34).

Comp. 4의 $^1\text{H-NMR}$ spectrum을 측정된 결과 δ 7.35(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-4), δ 6.92(1H, d, $J=1.5$ Hz, H-7), δ 6.77(1H, dd, $J=10.0$ & 2.0 Hz, H-5), δ 6.91(1H, s, H-3), δ 6.77(2H, s, H-2' & H-6')에서 H-4'에 치환기를 가진 2-

Table 2. $^1\text{H-NMR}$ spectral data of four α -glucosidase inhibitors isolated from the ethanolic extract of *Morus* root bark

Position	Comp. 1	Comp. 2	Position	Comp. 3	Comp. 4
$^1\text{H-NMR}$			$^1\text{H-NMR}$		
6	6.21 (1H, s)	5.99 (1H, s)	3	6.92 (1H, s)	6.91 (1H, s)
7			4	7.35 (1H, d, J=8.0 Hz)	7.35 (1H, d, J=8.0 Hz)
9	3.00 & 3.33 (2H, br d, J=8 Hz)	3.00 & 3.33 (2H, br d, J=8 Hz)	5	6.77 (1H, dd, J=8.5 & 2.0 Hz)	6.77 (1H, dd, J=10.0 & 2.0 Hz)
10	5.03 (1H, br t, J=8 Hz)	5.09 (1H, br t, J=8.0 & 2.0 Hz)	7	6.93 (1H, d, J=2.0 Hz)	6.92 (1H, d, J=1.5 Hz)
11			2'	6.77 (2H, s)	6.77 (2H, s)
12	1.38 (each 3H, br s)	1.28 (each 3H, br s)	6'	6.77 (2H, s)	6.77 (2H, s)
13	1.55 (each 3H, br s)	1.50 (each 3H, br s)	2''	5.77 (1H, br s)	5.77 (1H, br s)
14	6.52 (1H, d, J=10 Hz)	4.20 (1H, d, J=1.0 Hz)	3''	4.12 (1H, br s)	4.10 (1H, br s)
15	5.70 (1H, d, J=10 Hz)	5.00 (1H, br t, J=8.0 & 2.0 Hz)	4''	4.64 (1H, t, J=4.50 Hz)	4.64 (1H, t, J=5.0 Hz)
16	1.38 (6H, s)		5''	3.76 (1H, t, J=8.5 Hz)	3.75 (1H, t, J=5.0 Hz)
17		1.57 (3H, br s)	6''	2.50, 2.18 (2H, m)	2.52, 2.21 (2H, m)
18		1.80 (2H, br d)	7''	1.92 (3H, br s)	1.92 (3H, br s)
19		3.30 (1H, br d)	11''	6.20 (1H, d, J=2.5 Hz)	6.45 (1H, d, J=9.0 Hz)
20		4.20 (1H, br d)	13''	6.36 (1H, dd, J=6.5 & 2.0 Hz)	8.44 (1H, d, J=9.0 Hz)
26		5.96 (1H, d, J=8.0 Hz)	14''	8.53 (1H, d, J=9.0 Hz)	6.53 (1H, d, J=2.5 Hz)
27		7.16 (1H, d, J=8.0 Hz)	17''	6.53 (1H, d, J=2.0 Hz)	6.30 (1H, dd, J=10.0 & 2.5 Hz)
30		6.36 (1H, d, J=2.0 Hz)	19''	6.29 (1H, dd, J=8.5 & 2.5 Hz)	6.99 (1H, d, J=8.5 Hz)
32		5.92 (1H, dd, J=8.0 & 2.0 Hz)	20''	6.98 (1H, d, J=8.5 Hz)	3.27 (2H, d, J=7.0 Hz)
33		6.95 (1H, d, J=8.0 Hz)	21''		5.18 (1H, t, J=5.0 Hz)
34		3.02 (2H, br d, J=7.0 Hz)	22''		1.72 (3H, br s)
35		4.92 (1H, d, J=2.0 Hz)	24''		1.57 (3H, br s)
37		1.32 (each 3H, br s)	25''		
38		1.62 (each 3H, br s)			
3'	6.50 (1H, d, J=2.5 Hz)	6.66 (1H, d, J=2.5 Hz)			
5'	6.35 (1H, dd, J=2.0 & 8 Hz)	6.58 (1H, dd, J=8.0 & 2.0 Hz)			
6'	7.13 (1H, d, J=8.0 Hz)	7.29 (1H, d, J=8.0 Hz)			

Chemical shift in δ ppm, coupling constant (J) expressed in Hz in parenthesis and measured in the solvent $\text{DMSO-}d_6$, taking TMS as an internal standard.

arylbenzofuran 핵을 확인할 수 있었으며, δ 4.10(1H, br s, H-3"), δ 5.77(1H, br s, H-2"), δ 1.92(3H, br s, H-7"), δ 2.52 & 2.21(2H, m, H-6"), δ 3.75(1H, t, J=5.0 Hz, H-5"), δ 4.64(1H, t, J=5.0 Hz, H-4"), δ 6.45(1H, d, J=9.0 Hz, H-13"), δ 8.44(1H, d, J=9.0 Hz, H-14"), δ 6.53(1H, d, J=2.5 Hz, H-17"), δ 6.30(1H, dd, J=10.0 & 2.5 Hz, H-19"), δ 6.99(1H, d, J=8.5 Hz, H-20"), δ 3.27(2H, d, J=7.0 Hz, H-21"), δ 5.18(1H, t, J=5.0 Hz, H-22"), δ 1.72(3H, br s, H-24") 및 δ 1.57(3H, br s, H-25")로 보아 H-11"번 위치에 isoprenyl group을 가진 mulberrofuran 유도체를 확인할 수 있었다. 이러한 $^1\text{H-NMR}$ 결과로부터 Comp. 4 화합물은 2-arylbenzofuran 유도체에 chalcone 핵을 지니고 있는 chalomoracin임을 추정할 수 있었다(34).

한편 Comp. 4의 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum을 관찰한 결과 δ 206.2(C-8")에서 chalcone 핵의 ketone기를 확인할 수 있었으며, δ 158.0(C-6), δ 156.6(C-3' & C-5')에서 2-arylbenzofuran 핵의 3개의 hydroxyl group과 δ 164.6(C-10"), δ 163.4(C-12"), δ 158.0(C-18"), δ 156.8(C-16")에서 chalcone 핵의 4개의 hydroxyl group이 존재하였다. δ 121.9(C-4), δ 113.2(C-5), δ 98.5(C-7)에서 2-arylbenzofuran A핵과 δ 131.0(C-1'), δ 115.8(C-4'), δ 104.8(C-2' & C-6')에서 2-arylbenzofuran B핵, δ 156.6(C-2) & δ 101.9(C-3)의 2-arylbenzofuran C핵의 탄소와 δ 155.6(C-8) & δ 122.7(C-9)에서 2-arylbenzofuran A핵과 C핵의 연결 부위를 확인하였다. δ 132.3(C-14") & δ 108.1(C-13")에서 chalcone의 A핵과 δ 128.8(C-20"), δ 107.5(C-19") & δ 103.6(C-17")에서 chalcone의 B핵 그리고 δ 133.9(C-1"), δ 124.6(C-2"), δ 33.2(C-3"), δ 47.8(C-4"), δ 36.7(C-5"), δ 32.3(C-6"), δ 23.9(C-7")에서 chalcone C핵의 존재를 각각 확인할 수 있었다. 마지막으로 δ 22.3(C-21"), δ 123.5(C-22"), δ 131.5(C-23"), δ 25.9(C-24"), δ 17.9(C-25")에서 chalcone A핵에 치환된 isoprenyl group을 확인할 수 있었다. 이러한 결과로부터 본 화합물은 2-arylbenzofuran 핵에 chalcone 핵이 결합된 chalomoracin (mulberrofuran C)임을 확인할 수 있었으며, 보다 상세한 4가지 화합물의 NMR spectra 데이터는 Table 2 및 Table 3과 같다. 지금까지 뽕나무(*Morus mongolica*) 뿌리 및 잎으로부터 4가지 유도체가 분리 및 동정한 바가 있으나(34, 35), 국내에서 생산되고 있는 뽕나무 뿌리로부터 확인된 바는 본 연구가 처음이다. 이와 같이 상백피로부터 4가지 α -glucosidase 저해제를 분리 및 동정하였으며(Fig. 2), 특히 α -glucosidase 저해활성이 강한 kuwanon H 및 chalomoracin 성분들은 prenylflavone 및 2-arylbenzofuran 골격에 isoprenyl group과 chalcone 핵을 지니고 있는 공통된 특징을 가지고 있었다. 지금까지 보고된 잠상산물 추출물의 항당뇨 작용과 그로부터 분리된 생리활성물질의 항당뇨 효과에 관한 연구를 살펴보면 먼저 Singab 등(36)은 streptozotocin 유발 당뇨쥐 모델 실험에서 상백피 70% 에탄올 추

Table 3. $^{13}\text{C-NMR}$ spectral data of four α -glucosidase inhibitors isolated from the ethanolic extract of *Morus* root bark

Position	Comp. 1	Comp. 2	Position	Comp. 3	Comp. 4
$^{13}\text{C-NMR}$			$^{13}\text{C-NMR}$		
2	158.5	159.0	2	155.6	156.6
3		119.5	3	101.9	101.9
4	181.8	181.6	4	121.9	121.9
5	151.7	155.8	5	113.2	113.2
6	98.8	97.5	6	157.9	158.0
7	161.9	160.2	7	98.5	98.5
8		106.6	8	154.5	155.6
9	23.6	21.1	9	122.7	122.7
10	121.4	121.8	1'	131.0	131.0
11	131.2	131.1	2'	103.8	104.8
12	25.4	25.4	3'	156.6	156.6
13	17.3	17.4	4'	116.8	115.8
14	114.1	37.1	5'	156.6	156.6
15	127.6	122.3	6'	103.8	104.8
16	78.0	132.7	1"	135.2	133.9
17	27.7	22.5	2"	124.6	124.6
18	27.7	37.1	3"	33.3	33.2
19		37.1	4"	47.9	47.8
20		45.4	5"	36.6	36.7
21		208.1	6"	32.5	32.3
23		161.9	7"	23.9	23.9
25		161.9	8"	206.3	206.2
26		106.8	9"	113.2	113.2
27		130.2	10"	164.5	164.6
29		155.9	11"	128.1	116.7
30		102.5	12"	163.7	163.4
31		155.9	13"	107.5	108.1
32		106.6	14"	133.9	132.3
33		132.7	15"	122.0	122.0
34		21.1	16"	156.8	156.8
35		122.3	17"	103.6	103.6
36		130.2	18"	157.7	158.0
37		23.4	19"	105.2	107.5
38		17.6	20"	128.8	128.8
1'	110.7		21"		22.3
2'	156.6	156.3	22"		123.5
3'	102.8	102.5	23"		131.5
4'	161.0	160.2	24"		25.9
5'	106.8	106.6	25"		17.9
6'	131.3	131.1			
C-4a	100.4	103.5			
C-8a	160.6	160.2			

Chemical shift in δ ppm, coupling constant (J) expressed in Hz in parenthesis and measured in the solvent $\text{DMSO-}d_6$, taking TMS as an internal standard.

출물의 투여는 혈당 감소 및 인슐린 증가로 항당뇨 효능이 있음을 확인하였으며, 그 주된 성분으로서 morusin, cyclo-morusin 및 moracin 성분을 분리 및 동정한 바가 있다. 또한 상백피에 함유된 DNJ 및 GABA 성분이 주된 항당뇨 성분으로 보고(9)된 바가 있다. 한편 상업으로부터 분리된 chalomoracin 등은 STZ-유발 당뇨쥐의 항당뇨 모델실험에서 항당뇨의 주된 물질로 작용할 수 있음을 이미 보고(35)한 바가 있으며, Abd El-Mawla 등(37)은 streptozotocin 유발

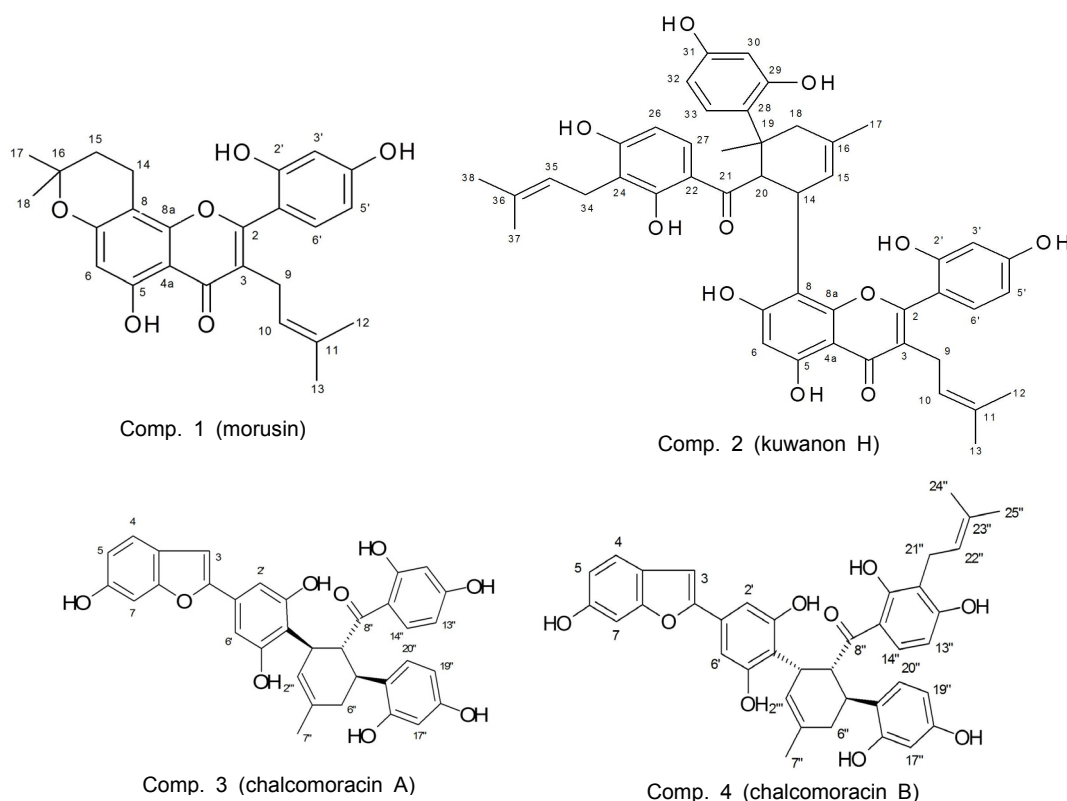


Fig. 2. Chemical structures of four α -glucosidase inhibitors isolated from *Morus* root barks.

당뇨쥐 모델 실험에서 뽕잎의 70% 에탄올 추출물은 혈당 감소 및 인슐린 증가를 나타내어 항당뇨 효능이 있음을 확인하였고 그 주된 성분으로 morusin 및 cyclomorusin 성분을 확인한 바가 있다. 또한 Ye 등(38)은 상지 물 추출물은 alloxan 유발 당뇨쥐 모델 실험에서 혈당 감소와 혈액 fructosamine 농도를 감소시킴으로써 항당뇨 효능이 있음을 확인한 바가 있으며, Yang 등(39)은 뽕잎으로부터 15개의 생리활성물질을 분리 및 동정한 바가 있고 그중 chalcomoracin 및 moracin C, D, N 등의 moracin 유도체가 α -glucosidase 저해작용이 있음을 확인한 바가 있다. 이와 같이 상백피를 비롯하여 상엽 및 상지 추출물의 항당뇨 작용과 그 주된 생리활성물질의 분석에 관한 연구는 보고된 바가 있으나 상백피로부터 α -glucosidase 저해제의 분리 및 동정에 관한 연구는 본 연구가 처음이다.

이상의 결과를 종합해 보면 상백피 에탄올 추출물의 강한 α -glucosidase 저해작용은 뿌리에 존재하는 prenylflavonoid 및 mulberrofuran 유도체에 기인된 것으로 생각되며, 향후 세포실험 및 동물실험을 통해 상백피 에탄올 추출물 및 분리된 저해제들의 항당뇨 효능을 측정할 예정이다.

요 약

본 연구는 잠삼산물로부터 고부가가치 항당뇨 기능성 소재를 개발하기 위한 연구의 일환으로, 먼저 뽕나무 부위별 4가

지(오디, 뽕잎, 상지, 상백피) 에탄올 추출물의 α -glucosidase 저해활성을 측정한 결과 상백피가 가장 높은 저해활성을 나타내었으며, 그로부터 여러 column chromatography 및 NMR 기기분석을 통해 4가지 α -glucosidase 저해제를 분리, 정제 및 동정한 결과는 다음과 같다. 상백피 에탄올 추출물을 Diaion HP-20, silica gel, ODS-A 및 Sephadex LH-20 column chromatography를 실시하여 4가지 화합물[Comp. 1(10 mg), Comp. 2(9.6 mg), Comp. 3(9.3 mg), 및 Comp. 4(6.5 mg)]을 분리 및 정제하였으며, 그들의 효소 저해활성을 측정된 결과 Comp. 1(IC_{50} =5.22 μ g/mL), Comp. 2(IC_{50} =1.78 μ g/mL), Comp. 3(IC_{50} =2.94 μ g/mL) 및 Comp. 4(IC_{50} =1.54 μ g/mL)로 나타났다. 그리고 그들 화합물의 동정을 위해 UV 및 NMR spectroscopy를 이용하여 구조를 분석한 결과 Comp. 1(morusin), Comp. 2(kuwanon H), Comp. 3(chalcomoracin A), Comp. 4(chalcomoracin B)로 각각 동정하였다. 이상의 연구 결과로 미루어 보아 상백피로부터 분리된 α -glucosidase 저해제는 향후 당뇨 치료용 기능성 소재로 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 산업통상자원부의 지역연고산업육성사업(RIS)의 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Korea National Statistical Office. 2013. *Statistic of death cause*. Korea National Statistical Office, Seoul, Korea.
2. JoongAng Daily Newspaper. http://article.joins.com/news/article/article.asp?total_id=10575987&ctg= (accessed Feb 2013).
3. Hasler CM. 1998. Functional foods: Their role in disease prevention and health promotion. *Food Technol* 52: 63-70.
4. Kim HK. 2004. Current status and prospect of nutraceuticals. *Food Industry and Nutrition* 9(1): 1-14.
5. Yang Y, Tan YX, Chen RY, Kang J. 2014. The latest review on the polyphenols and their bioactivities of Chinese *Morus* plants. *J Asian Nat Prod Res* 16: 690-702.
6. Lee SJ. 1999. Mulberry tree. In *Korean Folk Medicine*. Seoul Nat'l Univ Press, Seoul, Korea. p 90-92.
7. Hur J. 1994. *Dongueubogam*. Dongeuhak Institute, Ryogang Pub, Seoul, Korea. p 2803-2805.
8. Cui L, Na M, Oh H, Bae EY, Jeong DG, Ryu SE, Kim S, Kim BY, Oh WK, Ahn JS. 2006. Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors from *Morus* root bark. *Bioorg Med Chem Lett* 16: 1426-1429.
9. Kikuchi T, Nihei M, Nagai H, Fukushi H, Tabata K, Suzuki T, Akihisa T. 2010. Albanol A from the root bark of *Morus alba* L. induces apoptotic cell death in HL60 human leukemia cell line. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 58: 568-571.
10. Hikino H, Mizuno T, Oshima Y, Konno C. 1985. Isolation and hypoglycemic activity of moran A, a glycoprotein of *Morus alba* root barks. *Planta Med* 51: 159-160.
11. Zhang M, Chen M, Zhang HQ, Sun S, Xia B, Wu FH. 2009. In vivo hypoglycemic effects of phenolics from the root bark of *Morus alba*. *Fitoterapia* 80: 475-477.
12. Lee JJ, Yang H, Yoo YM, Hong SS, Lee DH, Lee HJ, Lee HJ, Myung CS, Choi KC, Jeung EB. 2011. Morusinol extracted from *Morus alba* inhibits arterial thrombosis and modulates platelet activation for the treatment of cardiovascular disease. *J Atheroscler Thr* 19: 516-522.
13. Rollinger JM, Bodensieck A, Seger C, Ellmerer EP, Bauer R, Langer T, Stuppner H. 2005. Discovering COX-inhibiting constituents of *Morus* root bark: activity-guided versus computer-aided methods. *Planta Med* 71: 399-405.
14. Lim HJ, Jin HG, Woo ER, Lee SK, Kim HP. 2013. The root barks of *Morus alba* and the flavonoid constituents inhibit airway inflammation. *J Ethnopharmacol* 149: 169-175.
15. Kuete V, Fozing DC, Kapche WF, Mbaveng AT, Kuate JR, Ngadjui BT, Abegaz BM. 2009. Antimicrobial activity of the methanolic extract and compounds from *Morus mesozygia* stem bark. *J Ethnopharmacol* 124: 551-555.
16. Rollinger JM, Spitaler R, Menz M, Marschall K, Zelger R, Ellmerer EP, Schneider P, Stuppner H. 2006. Venturia inaequalis-inhibiting Diels-Alder adducts from *Morus* root bark. *J Agric Food Chem* 54: 8432-8436.
17. Sohn HY, Son KH, Kwon CS, Kwon GS, Kang SS. 2004. Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medicinal plants: *Morus alba* L., *Morus mongolica* Schneider, *Broussonetia papyrifera* (L.) Vent, *Sophora flavescens* Ait and *Echinosophora koreensis* Nakai. *Phytomedicine* 11: 666-672.
18. El-Beshbishy HA, Singab AN, Sinkkonen J, Pihlaja K. 2006. Hypolipidemic and antioxidant effects of *Morus alba* L. (Egyptian mulberry) root bark fractions supplementation in cholesterol-fed rats. *Life Sci* 78: 2724-2733.
19. de Souza MM, Bittar M, Cechinel-Filho V, Yunes RA, Mesana I, Delle Monache F, Ferrari F. 2000. Antinociceptive properties of morusin, a prenylflavonoid isolated from *Morus nigra* root bark. *Z Naturforsch* 55c: 256-260.
20. Hu X, Wu JW, Wang M, Yu MH, Zhao QS, Wang HY, Hou AJ. 2012. 2-Arylbenzofuran, flavonoid, and tyrosinase inhibitory constituents of *Morus yunnanensis*. *J Nat Prod* 75: 82-87.
21. Kapche GD, Fozing CD, Donfack JH, Fotso GW, Amadou D, Tchana AN, Bezabih M, Moundipa PF, Ngadjui BT, Abegaz BM. 2009. Prenylated arylbenzofuran derivatives from *Morus mesozygia* with antioxidant activity. *Phytochemistry* 70: 216-221.
22. Derosa G, Maffioli P. 2012. α -Glucosidase inhibitors and their use in clinical practice. *Arch Med Sci* 8: 899-906.
23. Zhang A, Ye F, Lu J, Zhao S. 2013. Screening α -glucosidase inhibitor from natural products by capillary electrophoresis with immobilised enzyme onto polymer monolith modified by gold nanoparticles. *Food Chem* 141: 1854-1859.
24. Park JH, Baek MR, Lee BH, Yon GH, Ryu SY, Kim YS, Park SU, Hong KS. 2009. α -Glucosidase and α -amylase inhibition activity of compounds from roots extract of *Pueraria thunbergiana*. *Korean J Medicinal Crop Sci* 17: 357-362.
25. Watanabe J, Kawabata J, Kurihara H, Niki R. 1997. Isolation and identification of α -glucosidase inhibitors from tochucha (*Eucommia ulmoides*). *Biosci Biotechnol Biochem* 61: 177-178.
26. Asano N, Yamashita T, Yasuda K, Ikeda K, Kizu H, Kameda Y, Kato A, Nash RJ, Lee HS, Ryu KS. 2001. Polyhydroxylated alkaloids isolated from mulberry trees (*Morus alba* L.) and silkworms (*Bombyx mori* L.). *J Agric Food Chem* 49: 4208-4213.
27. Fujisawa T, Ikegami H, Inoue K, Kawabata Y, Ogihara T. 2005. Effect of two α -glucosidase inhibitors, voglibose and acarbose, on postprandial hyperglycemia correlates with subjective abdominal symptoms. *Metabolism* 54: 387-390.
28. Choi SW, Lee YJ, Ha SB, Jeon YH, Lee DH. 2015. Evaluation of biological activity and analysis of functional constituents of different parts of mulberry (*Morus alba* L.) tree. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44: 823-831.
29. Martin AE, Montgomery PA. 1996. Acarbose: an α -glucosidase inhibitor. *Am J Health Syst Pharm* 53: 2277-2290.
30. Lam SH, Chen JM, Kang CJ, Chen CH, Lee SS. 2008. α -Glucosidase inhibitors from the seeds of *Syagrus romanzoffiana*. *Phytochemistry* 69: 1173-1178.
31. Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB. 1970. The ultraviolet spectra of flavones and flavonols. In *The Systematic Identification of Flavonoids*. Springer-Verlag, New York, NY, USA. p 41-44.
32. Nomura T, Fukai T. 1981. Prenylflavonoids from the root bark of the cultivated mulberry tree. *Heterocycl* 15: 1531-1567.
33. Kang J, Chen RY, Yu DQ. 2006. Five new diels-alder type adducts from the stem and root bark of *Morus mongolica*. *Planta Med* 72: 52-59.
34. Kim JY, Lee WS, Kim YS, Curtis-Long MJ, Lee BW, Ryu YB, Park KH. 2011. Isolation of cholinesterase-inhibiting flavonoids from *Morus lhou*. *J Agric Food Chem* 59: 4589-4596.
35. Basnet P, Kadota S, Terashima S, Shimizu M, Namba T. 1993. Two new 2-arylbenzofuran derivatives from hypoglycemic activity-bearing fractions of *Morus insignis*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 41: 1238-1243.
36. Singab AN, El-Beshbishy HA, Yonekawa M, Nomura T, Fukai T. 2005. Hypoglycemic effect of Egyptian *Morus al-*

- ba* root bark extract: effect on diabetes and lipid peroxidation of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 100: 333-338.
37. Abd El-Mawla AM, Mohamed KM, Mostafa AM. 2011. Induction of biologically active flavonoids in cell cultures of *Morus nigra* and testing their hypoglycemic efficacy. *Sci Pharm* 79: 951-961.
38. Ye F, Shen Z, Xie M. 2002. Alpha-glucosidase inhibition from a Chinese medical herb (*Ramulus mori*) in normal and diabetic rats and mice. *Phytomedicine* 9: 161-166.
39. Yang ZZ, Wang Y, Wang Y, Zhang Y. 2012. Bioassay-guided screening and isolation of α -glucosidase and tyrosinase inhibitors from leaves of *Morus alba*. *Food Chem* 131: 617-625.