

쑥갓 잎에서 터펜노이드계 화합물의 분리 및 동정

이경등^{1,2,*} · 하태정^{1,2} · 이병원² · 이종록² · 이준²
 황선우² · 조동령² · 남삼해³ · 양민석^{1,2}

¹경상대학교 농업생명과학원, ²경상대학교 응용생명과학원
³진주산업대학교 식품가공학과

(2002년 12월 16일 접수, 2003년 1월 4일 수리)

쑥갓(*Chrysanthemum coronarium* L.) 잎으로부터 생리활성 성분을 가진 3종의 화합물을 분리하여 다양한 spectral data를 종합한 결과, 화합물 1, 2, 3은 terpenoid의 일종인 monoterpene lactone, sesquiterpene lactone과 sterol계 화합물인 것으로 밝혀졌으며, 이들은 각각 dihydrotulipinolide, loliolide, 5 α ,8 α -peroxyergosterol로 동정되었다. 이 화합물들은 쑥갓에서 처음으로 분리·보고되는 화합물이다. 분리된 화합물들의 세포독성을 측정 한 결과, 화합물 3은 3종의 인체암 세포주에 대하여 비교적 강한 활성을 나타내었다.

Key words: 쑥갓, terpenoid, 세포독성

서 론

오늘날 물질문명의 발달과 함께 인간의 활동량 감소로 인하여 섭취되는 칼로리의 양보다 소비되는 칼로리의 양이 적어 체지방의 축적율이 높고, 또한 각종 스트레스와 동물성 식품의 섭취가 증가하면서 성인병의 발병율이 날로 증가하는 추세에 있다.¹⁾ 최근에 성인병을 예방하고 치료하려는 노력이 활발하게 진행되면서 채소류와 같은 기능성 식품으로서의 연구가 광범위하게 이루어지고 있다.^{2,3)} 특히 우리가 일상적으로 섭취하고 있는 채소 중에서 쑥갓(*Chrysanthemum coronarium* L.)은 현재 사용량이 급격히 증가하고 있으며, 기능성 식품으로서의 가치가 높을 것으로 예상되었기에 이를 대상으로 성분연구를 수행하였다.

쑥갓은 국화과의 1~2년생 식물로서 독특한 향미와 약리작용으로 인하여 한국인들이 즐겨 먹고 있는 채소류이며,^{4,5)} 병충해가 적고 추위와 더위에 비교적 강하여 우리나라에서 널리 재배되고 있다. 또한 비타민 C와 A, 미네랄, 칼슘 및 카로티노이드가 풍부한 영양 야채로 위장병이나 신경성 질환에 좋다고 일컬어지고 있다.^{5,7)} 최근에 밝혀진 바에 따르면 Kim 등⁸⁾은 암 예방활성성분이 다량 함유되어 있으며 생체방어효능이 우수한 신기능성 식품소재로 부가가치가 높다고 하였고, Goren 등⁹⁾도 암과 관련된 질환에 효과가 있다고 하였다. 그러나 아직까지 쑥갓의 잎에 대한 성분연구가 자세히 되어 있지 않으며, 지금까지 밝혀진 주요성분으로는 camphor(29.2%), α -pinene(14.8%), β -pinene(9.5%) 등이 포함된 15개의 essential oil,¹⁰⁾ glucoside로 quercetin, quercetagenin, luteolin,¹¹⁾ polyacetylene,¹²⁻¹⁵⁾ 그리고 강한 항산화활성을 가지고 있는 chlorogenic acid 유도체들인 3,5-dicaffeoylquinic acid와 4-succinyl-3,5-dicaffeoylquinic acid

같은 것이 밝혀져 있고,¹⁶⁾ 곤충섭식저해 호르몬 활성을 가지는 몇 가지 화합물이 보고되어 있을 뿐이다.¹⁷⁾

따라서 본 연구에서는 쑥갓의 잎에서 주로 성인병을 예방할 수 있는 주요 2차 대사산물을 분리하고 다양한 spectral data를 이용하여 그의 구조를 밝히는 동시에 이들 분리화합물들의 세포독성을 측정하여 쑥갓의 기능성식품으로서의 활용가능성을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료. 본 실험에서 사용한 쑥갓(*Chrysanthemum coronarium* L.)은 홍농종묘사의 중엽쑥갓을 사용하였으며, 경남 진주시 내동면에서 재배하여 5월 초순경에 생육이 40일된 잎을 채취하여 음건하고 분쇄하여 실험재료로 사용하였고, 증거표본은 경상대학교 생물학과 식물표본실(Park, K. H. 109)에 보관되어 있다.

기기 및 시약. 용점 측정은 Tomas Hoover Capillary Apparatus(Electrothermal 9200, Electrothermal Engineering Co., UK)를 사용하여 측정하였으며 온도는 보정하지 않았다. UV spectrum은 Beckman UV/Vis spectrophotometer DU650 (USA), IR spectrum은 Bruker IFS66 FT-IR spectrophotometer (Germany)를 사용하여 KBr disc법으로 측정하였으며, Mass spectrum은 JEOL JMS-700 spectrometer(Japan)를 이용하였다. ¹H-, ¹³C-NMR 그리고 2D-NMR spectrum은 Bruker AM 500 (500 MHz, Germany)으로 측정하였고, 내부표준물질로는 tetramethylsilane(TMS)를 사용하여 측정하였다. Silica gel 칼럼 충전제는 Merck사의 Kieselgel 60(70-230, 230-400 mesh)을 사용하였고, 분리확인용 TLC는 Merck사의 No. 5715를 이용하였다. 그 외 시약은 모두 일급 또는 특급을 사용하였다.

추출 및 분리. 그늘에서 잘 말린 쑥갓 잎 1.0 kg을 MeOH에 담그고 5일 동안 실온에 방치한 다음 3회 반복 추출하였다. 추출액의 부피를 1 l로 되게 한 다음 추출액을 brine과 무수

*연락처
 Phone: 82-55-751-5467; Fax: 82-55-757-0178;
 E-mail: leekd1@korea.com

Na₂SO₄로 건조시킨 후 감압농축시켜 진한 갈색의 추출물을 95 g을 얻었다. 조추출물(95 g)은 silica gel 1.0 kg이 충전된 칼럼으로 분리하였다. 이때 *n*-hexane : EtOAc(49 : 1 → 1 : 2) 혼합용매를 이용하여 용매의 극성을 변화시키면서 용출시키고, TLC pattern에 따라서 16개의 fraction으로 분리하였다. Fraction 10 (2.8 g)을 다시 *n*-hexane : ether = 4 : 1로 silica gel column chromatography로 용출하고 petroleum ether를 이용한 재결정으로 화합물 **1**(62 mg, Rf 0.792, *n*-hexane/EtOAc, 1 : 1)을 얻었다. 또한 fraction 14(1.0 g)에서도 petroleum ether를 이용한 재결정으로 화합물 **2**(26 mg, Rf 0.237, *n*-hexane/EtOAc, 1 : 1), fraction 12(2.7 g)에서는 화합물 **3**(121 mg, Rf 0.450, *n*-hexane/EtOAc, 1 : 1)을 얻었다.

세포독성. 본 실험에 사용된 인체암 세포주는 A549(lung carcinoma), PC-3(prostate adenocarcinoma) 및 HCT 116(colon adenocarcinoma) 3종과 대조구로는 adriamycin을 사용하였으며, RPMI 1640 배지(10% fetal calf serum, 1% penicillin/streptomycin, 300 mg/l)를 이용하여 37°C, 5% CO₂배양기에서 배양하였다. 부착된 세포를 배양병의 표면에서 떼어내고 무균 상태하에서 각 well에 희석된 세포를 50 μl씩 가하고 동일조건의 배양기에서 24시간 배양시켜 세포를 well plate에 부착시켰다. 여기에 시료를 주입하고 다시 세포를 well 표면에 부착시키기 위해 48시간 배양시키고, 1% acetic acid로 세척하고 건조시켰다. 건조된 well은 SRB법¹⁸⁾에 따라 0.4% sulforhodamine B를 100 μl/well을 가하여 단백질을 염색시켰다. 30분 방치한 다음 0.1% acetic acid로 세척 후 다시 건조시키고 10 mM Tris base(pH 10.5)를 100 μl/well에 가하여 염색시약을 용해시키고 분광광도계 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 암세포들에 대한 시료의 세포독성효과를 계산하기 위하여 시료를 가하는 시점에서의 암세포수(zero time)와 시료대신 과량의 medium만을 가하여 48시간 배양하였을 때의 세포수(control) 및 각 농도의 시료를 함께 넣고 48시간 배양하였을 때의 세포수를 각각 측정하여 암세포의 성장을 50% 억제하는 농도인 IC₅₀(50% growth inhibitory dose)을 계산하여 각 시료의 세포독성강도를 결정하는 parameter로 사용하였다.

구조동정. Dihydrotulipinolide: Needle crystals(*n*-hexane/diethyl ether); mp. 149.0°C; UV λ_{max}(MeOH): 209 nm; MS *m/z*(EI, 70eV, rel. int.): 292(M⁺, 3), 248(8), 204(87), 133(65), 91(100); IRv(KBr, cm⁻¹): 2931, 1774, 1732, 1375, 1233 cm⁻¹; [α]_D²⁵ = +58.6°(c 1.0 in CHCl₃); ¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃; δ): 5.36(1H, *dd*, *J* = 10.3, 10.3 Hz, H-6), 4.88(1H, *m*, H-1), 4.53(1H, *d*, *J* = 10.0 Hz, H-5), 4.44(1H, *ddd*, *J* = 10.7, 9.9, 9.9 Hz, H-8), 2.90(1H, *d*, *J* = 12.9 Hz, H-9a), 2.84(1H, *m*, H-11), 2.60(1H, *m*, H-7), 2.40(1H, *dd*, *J* = 12.7, 10.9 Hz, H-9b), 2.25(2H, *m*, H-3a, H-2a), 2.15(1H, *m*, H-2b), 2.02(3H, *s*, H-2'), 1.92(1H, *m*, H-3b), 1.73(3H, *d*, *J* = 0.8 Hz, H-15), 1.49(3H, *s*, H-14), 1.22(3H, *d*, *J* = 7.6 Hz, H-13); ¹³C-NMR(125 MHz, CDCl₃) δ: 178.1(C-12), 169.7(C-1'), 138.4(C-4), 131.1(C-10), 130.7(C-1), 128.0(C-5), 79.2(C-8), 69.3(C-6), 52.6(C-7), 46.8(C-9), 39.7(C-11), 39.1(C-3), 25.6(C-2), 21.1(C-2'), 17.0(C-15), 16.6(C-14), 13.5(C-4), 11.3(C-13).

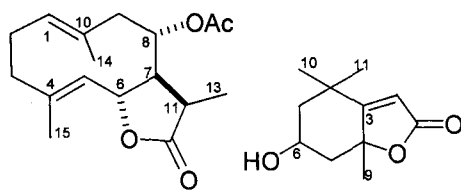
Loliolide: Needle crystals (*n*-hexane/diethyl ether); mp. 150.5°C; UV λ_{max}(MeOH): 217 nm; MS *m/z*(EI, 70eV, rel. int.): 196(M⁺, 16), 178(58), 163(26), 140(47), 111(100), 95(26), 67(32); IRv(KBr, cm⁻¹): 3434, 2948, 2365, 1726, 1271, 1177 cm⁻¹; [α]_D²⁵ = -112.2°(c 1.0 in CHCl₃); ¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃; δ): 5.68(1H, *s*, H-2), 4.33(1H, *m*, H-6), 2.46(1H, *m*, H-5a), 2.00(1H, *m*, H-7a), 1.79(3H, *s*, H-10), 1.77(1H, *m*, H-5b), 1.53(1H, *dd*, *J* = 12.8, 3.7 Hz, H-7b), 1.47(3H, *s*, H-11), 1.27(3H, *s*, H-9); ¹³C-NMR(125 MHz, CDCl₃) δ: 182.6(C-3), 172.0(C-1), 112.8(C-2), 86.8(C-8), 66.7(C-6), 47.3(C-7), 45.6(C-5), 35.9(C-4), 30.6(C-9), 27.0(C-10), 26.5(C-11).

5α,8α-Peroxyergosterol: White powder (*n*-hexane/diethyl ether); mp. 181-182°C; UV λ_{max}(MeOH): 209 nm; MS *m/z*(EI, 70eV, rel. int.): 428(M⁺, 14), 410(13), 376(39), 251(46), 161(23), 69(100); IRv(KBr, cm⁻¹): 3519, 3358, 3203, 2950, 2863, 1646, 1452, 1374 cm⁻¹; [α]_D²⁵ = -28.0°(c 1.5 in CHCl₃); ¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃; δ): 6.49(1H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-6), 6.23(1H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-7), 5.23(1H, *dd*, *J* = 15.3, 15.3 Hz, H-22), 5.13(1H, *dd*, *J* = 15.3, 15.3 Hz, H-23), 3.96(1H, *m*, H-3), 2.09(1H, *m*, H-4a), 2.03(1H, *m*, H-20), 1.95(1H, *m*, H-12a), 1.94(1H, *m*, H-1a), 1.90(1H, *m*, H-4b), 1.85(1H, *m*, H-24), 1.84(1H, *m*, H-2a), 1.75(1H, *m*, H-16a), 1.67(1H, *m*, H-1b), 1.59(1H, *m*, H-15a), 1.55(1H, *m*, H-14), 1.53(1H, *m*, H-2b), 1.50(1H, *m*, H-11a), 1.48(1H, *m*, H-9), 1.47(1H, *m*, H-25), 1.40(1H, *m*, H-16b), 1.38(1H, *m*, H-15b), 1.24(1H, *m*, H-12b), 1.22(1H, *m*, H-17), 1.22(1H, *m*, H-11b), 1.00(3H, *d*, *J* = 6.6 Hz, H-21), 0.91(3H, *d*, *J* = 6.8 Hz, H-28), 0.88(3H, *s*, H-19), 0.82(3H, *s*, H-18), 0.81(3H, *d*, *J* = 4.7 Hz, H-26), 0.79(3H, *d*, *J* = 5.9 Hz, H-27); ¹³C-NMR(125 MHz, CDCl₃) δ: 135.4(C-7), 135.2(C-23), 132.3(C-22), 130.7(C-6), 82.2(C-5), 79.4(C-8), 66.4(C-3), 56.1(C-17), 51.7(C-14), 51.2(C-9), 44.6(C-13), 42.8(C-24), 39.7(C-20), 39.4(C-12), 37.0(C-10), 37.0(C-4), 34.7(C-1), 33.1(C-25), 30.1(C-2), 28.6(C-16), 23.4(C-11), 20.9(C-21), 20.6(C-15), 20.0(C-26), 19.6(C-27), 18.2(C-19), 17.6(C-28), 12.9(C-18).

결과 및 고찰

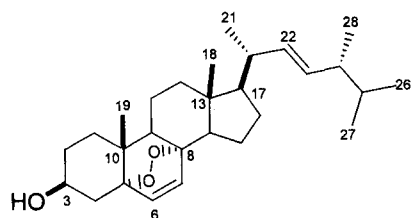
썩갓 잎의 methanol 추출물에 대해 극성에 따른 이동상으로 *n*-hexane/EtOAc gradient을 사용하여 silica gel column chromatography를 실시한 후 16개의 fraction(자료 미제시)으로 나누고 순수 분리된 화합물 3개를 1차로 얻었다.

화합물 **1**은 무색의 침상결정으로 10% H₂SO₄에 의하여 진한 갈색으로 발색된다. Mass spectrum에서는 분자이온 peak가 *m/z* 292임을 확인할 수 있었으며, IR spectrum에서는 2931 cm⁻¹(aliphatic C-H), 1774 cm⁻¹(C=O), 1732 cm⁻¹(C=O), 1233 cm⁻¹(C-O)에서 강한 흡수대를 보였으나 3505 cm⁻¹의 OH group은 보이지 않았다. 정확한 화합물 **1**의 구조는 ¹H- 및 ¹³C-NMR, 2D-NMR(¹H-¹H COSY, HMQC, HMBC)로 분석하였다.



Compound 1

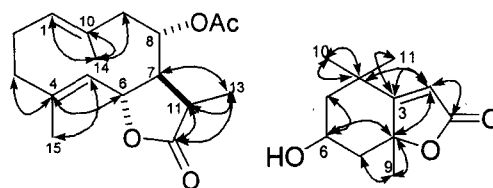
Compound 2



Compound 3

Fig. 1. Chemical structures of isolated compounds.

¹H-NMR spectrum에서는 3H분의 doublet δ 1.22(J =7.6Hz)과 1.73(J =0.8Hz), 3H분의 singlet인 δ 1.49과 2.02은 각각 13번과 15번, 14번과 2'번의 methyl proton으로 관측되었다. 그리고 sesquiterpene lactone의 특징적인 peak인 2H분의 doublet(δ 5.41과 6.07)은 보이지 않는 것으로 보아 lactone group의 exo-methylene signal은 없음을 알 수 있었다. ¹³C-NMR은 모두 17개의 carbon signal이 관측되었으며, δ 170.1과 169.7에서는 두 개의 carbonyl group, δ 138.4과 131.1에서는 quaternary group, δ 46.8, 39.1, 25.6의 sp³ methylene group, δ 130.7, 128.0의 sp² methine, δ 79.2, 69.3, 52.6, 39.7의 methine carbon group, δ 21.1, 17.0, 16.6, 11.3에서는 methyl group이 4개가 존재함을 알 수 있었다. 이와 같은 결과들을 바탕으로 compound 1은 1개의 에스테르기와 2개의 이중결합을 갖고 있는 것을 감안한다면 총 불포화도(degrees of unsaturation)가 5개이며, C₁₇H₂₄O₄인 2고리를 가진 화합물임을 추정할 수 있었다. ¹³C-¹H COSY spectrum에서는 sp³ methylene이 3개가 있음을 알 수 있었다. 그리고 ¹H-¹H COSY spectrum에서는 H-11 (δ 6.07, 5.41) methine을 시작으로 하여 인접한 위치의 H-7 (δ 2.60)과 H-13(δ 1.22)의 peak가 관찰되었다. H-7은 H-6(δ 5.36)과 H-8(δ 4.44)이 서로 교차peak(cross peak)를 보였고, H-6은 sp² methine인 H-5(δ 4.53)번과 peak가 관찰되었으며, allylic 위치의 양성자인 H-15(δ 1.73)와 상관관계를 보였다. H-8은 H-9a/b(δ 2.40, 2.90), H-9a/b는 H-14(δ 1.49)와 상관관계를 보였다. 또 다른 시작점인 H-3a/b(δ 1.92, 2.25)는 H-2a/b(δ 2.15, 2.25), 그리고 H-2ab는 sp² methine인 H-1과 peak를 보였으며 H-14와는 allylic 관계에 있었다. 4차탄소에 의해 연결이 이루어지지 않는 부분의 정보를 얻기 위해 HMBC로 long range coupling을 결정하였으며, 그 결과는 Fig. 1과 Fig. 2에 나타나있다. 이상의 결과를 바탕으로 문헌 값과 비교한 결과, 화합물 1은 8-acetoxy-1(10),4-germacradien-12,6-olide로 최종 동정되었으며, 이는 *Wiesnerella denudata* 식물에서 분리된 dihydrotulipinolide와 같은 것이며,¹⁹⁾ 쑥갓에서는 처음으로 분리 보고된 것이다.



Compound 1

Compound 2

Fig. 2. Important HMBC correlations of compounds 1 and 2.

화합물 2는 무색의 침상결정으로 10% H₂SO₄에 의하여 연한 적갈색으로 발색된다. Mass spectrum에서는 분자이온 peak가 m/z 196임을 확인할 수 있었으며, IR spectrum에서는 3434 cm⁻¹(OH), 2948 cm⁻¹(aliphatic C-H), 1726 cm⁻¹(C=O), 1177 cm⁻¹(C-O)에서 강한 흡수대가 관찰되었다. ¹H-NMR spectrum에서는 δ 1.79, 1.47, 0.81의 3H분의 singlet은 각각 10번, 11번, 9번의 methyl proton으로서 3개가 관측되었고, δ 5.68의 저자장으로 shift되어 나타나는 1H분의 singlet은 sp² methine signal임을 추정할 수 있었다. ¹³C-NMR과 DEPT 자료에서 모두 11개의 carbon signal이 관측되었으며, δ 172.0에서는 carbonyl group 1개, δ 182.6, 86.8과 35.9에서는 quaternary group이 관찰되었다. δ 47.3과 45.6은 sp³ methylene group, δ 112.8과 66.7은 methine carbon group, δ 30.6, 27.0과 26.5은 methyl group이 3개가 존재함을 확인할 수 있었다. 따라서 이와 같은 결과들을 바탕으로 화합물 2는 1개의 에스테르기와 1개의 이중결합을 갖고 있는 것을 감안한다면 총 불포화도는 4개이며 이것들 중에서 δ 172.0의 carbonyl group 1개와 sp² methylene group이 1개가 있다는 것을 감안한다면 C₁₁H₁₆O₃인 2고리를 가진 화합물임을 추정할 수 있었다. ¹³C-¹H COSY spectrum에서 sp² methylene group가 1개와 sp³ methylene 2개가 존재함을 알았다. ¹H-¹H COSY spectrum에서 H-5a/b(δ 2.46, 1.77)의 sp³ methylene을 시작점으로 하여 H-6(δ 4.33)의 peak가 관찰되었고, H-6은 또 다른 sp² methylene group인 H-7(δ 2.00, 1.53)과 상관관계를 보였으나 더 이상의 정보를 얻지 못하였다. 4차탄소에 의해 연결이 이루어지지 않는 부분의 정보를 얻기 위해 HMBC로 long range coupling을 결정하였다. 그 결과는 Fig. 1과 Fig. 2에 나타나있다. 이상의 결과를 바탕으로 문헌값과 비교한 결과, 화합물 2는 5,6,7,8-tetrahydro-6-hydroxy-4,4,8-trimethyl-2(4H)-benzofuranone으로 *Lolium perenne*와 *Viburnum dilatatum* 등의 식물에서 분리된 loliolide와 같은 것으로 동정되었으며,^{20,21)} 이 화합물 역시 쑥갓에서 처음으로 분리되었다.

화합물 3은 연한 백색의 분말로 10% H₂SO₄에 의하여 진한 남색으로 발색된다. Mass spectrum에서는 분자이온 peak가 m/z 428임을 확인할 수 있었으며, IR spectrum에서는 3519 cm⁻¹(OH), 3203 cm⁻¹(=C-H), 2950 cm⁻¹(aliphatic C-H)에서 강한 흡수대가 관찰되었다. ¹H-NMR spectrum에서는 δ 0.82, 0.88에서 3H분의 singlet, δ 0.91, 1.0에서 3H분의 doublet, 그리고 δ 2.00에서 6H분의 doublet이 관찰되었다. δ 5.23과 5.13에서는 endo-methylene의 doublet of doublet(dd)가 관찰되었고, δ 6.49, 6.23에서 endo-methylene의 doublet이 관찰되었다. ¹³C-NMR과

Table 1. In vitro cytotoxicity of the compounds and adriamycin on human cancer cell lines

Compound	Cell lines IC ₅₀ (µg/ml)		
	A549	PC-3	HCT-15
1	>10±0.5	>10±0.4	>10±0.2
2	>10±0.3	>10±0.6	>10±0.5
3	5.2±0.3	3.9±0.6	3.1±0.5
Adriamycin	0.3±0.1	0.4±0.1	0.7±0.1

DEPT 자료에서 모두 28개의 carbon signal이 관찰되었는데 이들 중에서 quaternary group이 4개, endo-methylene group이 4개, methine group이 7개, methylene group이 7개, methyl carbon group이 6개가 존재함을 확인할 수 있었다. 화합물 3은 이중결합이 2개가 있는 것을 감안한다면 총 불포화도는 7개이며 이것들 중에서 2개는 endo-methylene group을 가지고 있었다. 따라서 이 분자식은 C₂₈H₄₄O₃인 5고리 화합물임을 추정할 수 있었다. 이상의 결과를 바탕으로 문헌값과 비교한 결과, 화합물 3은 5,8-epidioxy-5 α ,8 β -ergosta-6,22E-dien-3 β -ol로 *Acremonium luzulae*, *Lasiosphaera nipponica* 등의 식물에서 분리된 5 α ,8 α -peroxyergosterol과 같은 것으로 동정되었으며,^{22,23} 썩갯에서는 처음으로 분리 보고된 것이다. 이와같이 분리된 3개의 화합물들은 모두 mevalonate pathway를 경유하며 isoprene 단위의 탄소가 연속적으로 중합된 terpenoid계 화합물인 것으로 밝혀졌다(Fig. 1).

분리된 화합물 1, 2, 3을 대상으로 인체암 세포주인 A549, PC-3 및 HCT-15 3종에 대하여 in vitro에서의 SRB 방법으로 세포독성을 측정된 결과, Table 1에 나타난바와 같이 화합물 3은 3종의 암세포주에 대하여 IC₅₀값이 3~5 µg/ml 이하의 비교적 강한 암세포 성장 억제활성을 가지는 것으로 확인되었다. 따라서 Kim 등⁸이 제안한 썩갯에서 암예방활성 성분이 다량 함유되어 있다는 보고와 본 연구의 암세포 성장억제활성과 밀접한 관계가 있는 것으로 사료되며, 기능성채소로서의 가치가 충분히 있을 것으로 판단된다. 앞으로 썩갯의 성분연구와 더불어 재배생리화학적 연구가 병행하여 실시되어야 할 것이다.

참고문헌

- Jung, H. H. (1984) Sterol compositions in *Chrysanthemum coronarium* L. MS thesis, Korea University, Seoul, Korea.
- Duke, J. (1990) In *Advances in New Crops: Promising phytomedicinals*, Timber Press, Portland, OR., pp. 491-498.
- Kutchan, T. (1995) Alkaloid biosynthesis-The basis for metabolic engineering of medicinal plants. *Plant Cell* **7**, 1059-1070.
- Larkcom, J. (1991) In *Oriental Vegetables: Chrysanthemum greens*, John Murray Ltd., London, pp. 76-78.
- Wills, R. B. H., Wog, A. W. K., Scriven, F. M. and Greenfield, H. (1984) Nutrient composition of Chinese vegetables. *J. Agric. Food Chem.* **32**, 413-416.
- Gins, V. K., Kolesnikov, M. P., Kononkov, P. F., Trishin, M. E. and Gins, M. S. (2000) Oxyanthraquinones and flavonoids

- from garland chrysanthemum. *Prikl Biokhim Mikrobiol.* **36**, 344-353.
- Yang, S. B. (1988) The effect of fertilization level, sowing distance and sowing date on the growth and quality of *Chrysanthemum coronarium* L. MS thesis, Korea University, Seoul, Korea.
- Kim, S., Ryu, S., Choi, H., Kim, S., Kim, J. and Kim, J. (1998) Screening for Korean vegetables with anticarcinogenic enzyme inducing activity using cell culture system. *J. Food Sci. Nutr.* **3**, 277-281.
- Goren, N., Woerdenbag, H. J. and Bozok-Johansson C. (1996) Cytotoxic and antibacterial activities of sesquiterpene lactones isolated from *Tanacetum praeteritum*. *Planta Med.* **62**, 419-422.
- Kameoka, H., Kitagawa, C. and Husebe, Y. (1975) The constituents of the steam volatile oil from *Chrysanthemum coronarium* L. var *spatiosum*. *J. Agri. Chem. Soc. Japan* **49**, 652-627.
- Anyos, T. and Steelink, C. (1960) Fluorescent petal constituents of *Chrysanthemum coronarium*. L. *Arch. Biochem. Biophys.* **90**, 63-67.
- Bohlmann, F., Burkhardt, T. and Zdero, C. (1973) In *Naturally Occurring Acetylenes* Academic Press, London.
- Wrang, P. A. and Jorgm, L. (1974) Polyacetylenes from *Chrysanthemum leucanthemum*. *Phytochemistry* **14**, 1027-1035.
- Marshall, P. S., Harborne, J. B. and King, G. S. (1987) A spiroketalenol ether phytoalexin from stems of *Coleostephus myconis*. *Phytochemistry* **26**, 2493-2494.
- Chuda, Y., Ono, H., O-Kameyama, M., Nagata, T. and Tsushida, T. (1996) Structural identification of two antioxidant quinic acid derivatives from garland (*Chrysanthemum coronarium* L.). *J. Agric. Food Chem.* **44**, 2037-2039.
- Bowers, W. S. and Aregullin, M. (1987) In *Discovery and identification of an antijuvenile hormone from Chrysanthemum coronarium*, Mem. Inst. Oswaldo Cruz (Intern. Symp. on Insects) Rio de Janeiro 82 (Suppl. III), pp. 51-54.
- Sanz, J. F., Falco, E. and Marco, J. A. (1990) New acetylenes from *Chrysanthemum coronarium* L. *Liebigs Ann. Chem.* 303-305.
- Skehan, P., Storeng, 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.
- Yoshinori, A., Reiko, M. and Tsunematsu, T. (1980) Mono- and sesquiterpenoids from *Wiesnerella denudata*. *Phytochemistry* **19**, 567-569.
- Hodges, R. and Porte, A. L. (1964) A terpene from *Lolium perenne* *Tetrahedron* **20**, 1463-1467.
- Koichi, M. and Masao, K. (1996) Norisoprenoids from *Viburnum dilatatum*. *Phytochemistry* **41**, 1333-1336.
- Ceccherelli, P., Fringuelli, R., Madruzzo, G. F. and Ribaldi, M. (1975) Cerevisterol and ergosterol peroxide from *Acremonium luzulae*. *Phytochemistry* **14**, 1434-1436.
- Takaishi, Y., Adachi, R., Murakami, Y., Ohachi, T., Nakano, K. and Tomimatsu, T. (1991) A polyoxygenated steroid from *Lasiosphaera nipponica*. *Phytochemistry* **31**, 243-246.

Isolation and Identification of Terpenoids from the Leaf of *Chrysanthemum coronarium* L.

Kyung-Dong Lee^{1,2,*}, Tae-Joung Ha^{1,2}, Byong-Won Lee², Jong-Rok Lee², Jun Lee², Sun-Woo Hwang², Dong-Young Cho², Sang-Hae Nam³, Min-Suk Yang^{1,2} (¹*Institute of Agriculture and Life Sciences and* ²*Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University;* ³*Department of Food Processing, Jinju National University*)

Abstract: Three terpenoids were isolated from the leaves of *Chrysanthemum coronarium* L. by silica gel chromatography and recrystallization. The structure of compounds 1, 2, and 3, using various spectroscopic data, were identified as to be terpenoid derivatives of dihydrotulipinolide, loliolide, and 5 α ,8 α -peroxyergosterol, respectively. The presence of these 3 is the first time reported in this plant. The cytotoxic activity of 5 α ,8 α -peroxyergosterol showed strong activities against human cancer cell lines such as A549, PC-3, and HCT 116.

Key words: *Chrysanthemum coronarium* L., terpenoid, cytotoxicity

*Corresponding author