

히어리나무의 페놀성 화합물 및 세포독성활성

권오길¹ · 김충섭¹ · 서원세¹ · 박경진¹ · 차준민¹ · 최상운² · 권학철³ · 이강노^{1*}

¹성균관대학교 약학대학 천연물약품화학연구소, ²한국화학연구원, ³한국과학기술연구원 천연물연구소

Phenolic Compounds from the Twigs of *Corylopsis coreana* Uyeki and Their Cytotoxic Activity

Oh Kil Kwon¹, Chung Sub Kim¹, Won Se Suh¹, Kyoung Jin Park¹, Joon Min Cha¹,
Sang Un Choi², Hak Cheol Kwon³, and Kang Ro Lee^{1*}

¹Natural Product Laboratory, School of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 16419, Korea

²Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 34114, Korea

³Natural Product Research Center, Korea Institute of Science and Technology, Gangneung, Gangwon-do 25451, Korea

Abstract – Phytochemical investigation of the twigs of *Corylopsis coreana* afforded 10 phenolic compounds, bergenin (1), 6'-*O*-galloylbergenin (2), 3'-*O*-galloylbergenin (3), (-)-catechin (4), (-)-epicatechin (5), (-)-epicatechin-3-*O*-galloyl ester (6), 4-methoxy-3,5-dihydroxybenzoic acid (7), gallic acid (8), 2,4,6-trimethoxyphenol-1-*O*-β-D-glucopyranoside (9), and 2,4,6-trimethoxyphenol-1-*O*-β-D-(6-*O*-galloyl)-glucopyranoside (10). Their structures were characterized by spectroscopic data and identified by comparing these data with those in the literatures. The compounds 3, 9 and 10 were isolated for the first time from this source. All the isolates (1-10) were tested for their cytotoxic activity against A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, and HCT15 cell lines *in vitro* using the SRB bioassay. The compounds 5, 7 and 8 exhibited selective cytotoxic activity against SK-MEL-2 cell line.

Key words – *Corylopsis coreana*, Hamamelidaceae, Bergenin, Flavonoid, Cytotoxicity

히어리나무(*Corylopsis coreana*)는 조록나무과(Hamamelidaceae)에 속하며 한국에 널리 분포하고 있는 식물이다. 주로 산기슭과 산중턱에 서식하며, 3월에서 4월에 개화하고 9월에 열매가 익는다.¹⁾ 내한성이 강해 영하 30°C 이하에서도 동해를 입지 않고 내건성 또한 우수해 건조한 토양에서도 잘 자란다. 전통적으로 감기, 몸살, 발열에 이 식물의 근피가 처방 되어왔다.²⁾ 기존의 히어리나무(*C. coreana*)의 식물화학적 연구에서는 phenyl propanoid derivatives, tannins, flavonoids, 및 terpenoids 등이 보고 되어있고,^{3,4)} 그 중 일부는 항산화 활성과 항염증 작용을 나타내었다.⁵⁾ 본 연구에서는 국내에 자생하는 천연자원들의 활성성분 연구의 일환으로 히어리나무(*C. coreana*)의 가지 부분에 대한 성분 연구를 진행하였다. 80% MeOH로 추출한 히어리나무(*C. coreana*) 가지 추출액을 극성별로 *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate, *n*-butanol 층으로 분획하였고 이 중 ethyl acetate 층

으로부터 column chromatography 방법을 이용하여 총 10종의 화합물을 분리하였다. 분리된 화합물의 구조는 NMR, MS 데이터를 이용하여 결정하였으며, 기준에 보고된 문헌과 비교하여 확인하였다(Fig. 1). 분리된 화합물은 Sulforhodamine B(SRB)측정법에 의해 네 종류의 암세포에 대한 세포 독성을 측정하였다.

재료 및 방법

시약 및 기기 – ¹H-NMR과 ¹³C-NMR spectra는 Varian UNITY INOVA 500 NMR spectrometer를 이용하여 측정하였다. IR spectra는 Bruker IFS-66/S FT-IR spectrometer를 이용하였다. FAB, HRFAB mass spectra는 JEOL JMS700 mass spectrometer를 이용하였다. Semi-preparative HPLC는 Gilson 306 pump와 Shodex refractive index detector를 함께 이용하였고, column으로는 J'sphere ODS-M80 column (250×10 mm I.D.)을 이용하였다. Low-pressure liquid chromatography는 Lichroprep Lobar[®]-A RP-C₁₈(240×10 mm

*교신저자(E-mail): krlee@skku.edu
(Tel): +82-31-290-7710

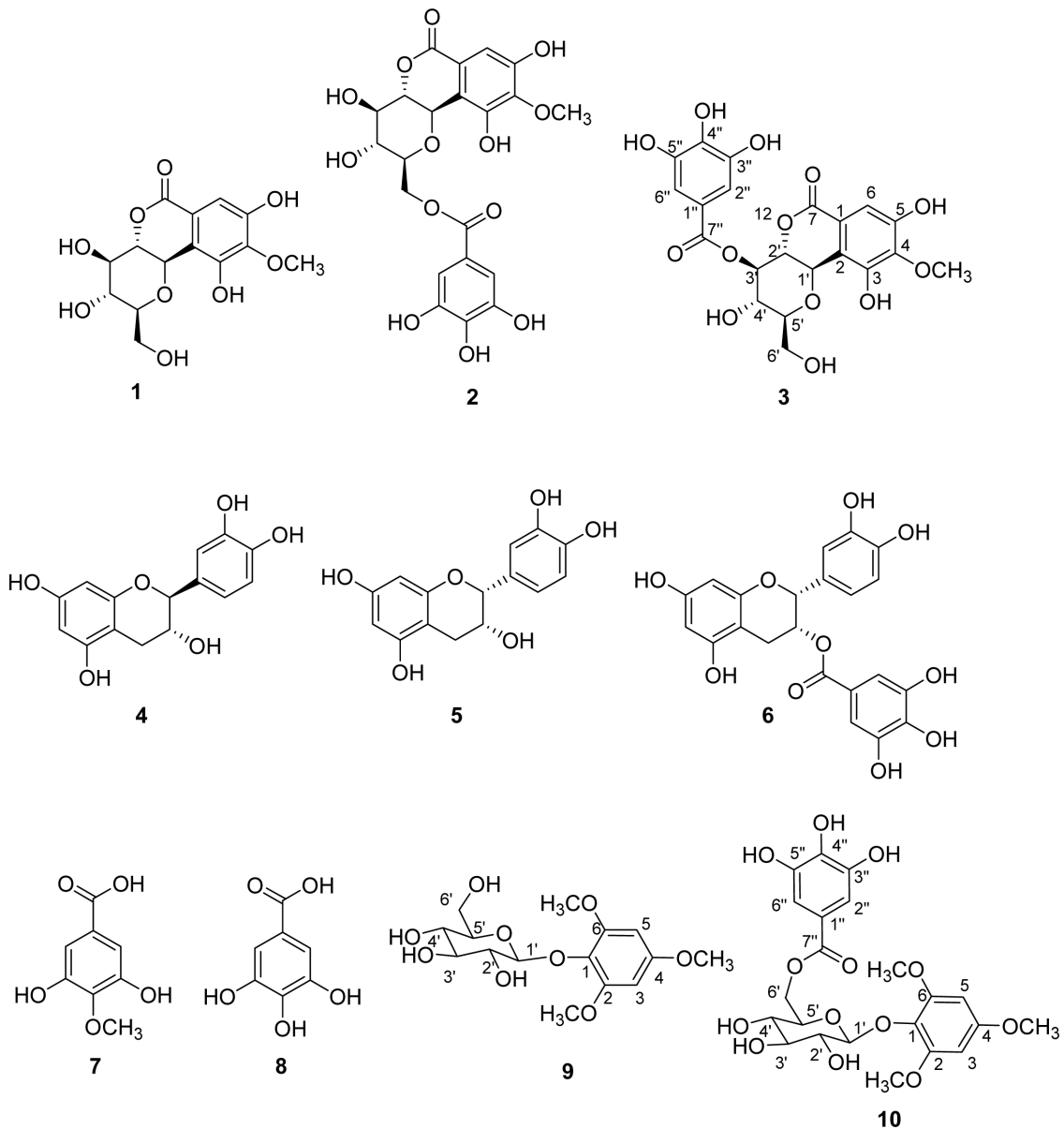


Fig. 1. Chemical structures of compounds (1-10) from *C. coreana*.

I.D.) column이 FMI QSY-O pump(ISCO)와 함께 이용되었다. Column chromatography에 이용된 충진제는 silica gel 60 (Merk Co., 70-230 mesh), RP-C₁₈ silica gel(YMC GEL ODS-A, 12 nm, S-75 μm)과 sephadex LH-20(Pharmacia Co.)가 이용되었다. TLC는 Merck precoated silica gel F254 plates를 이용하였으며, RP TLC로는 RP-C₁₈ F_{254s} plates가 이용되었다. UV light를 이용하여 254 nm와 365 nm 파장에서 1차적으로 확인하고 anisaldehyde-sulfuric acid를 이용하여 발색 확인하였다.

실험재료 - 연구에 이용된 히어리나무(*C. coreana*)의 가지는 2014년 6월 수원 성균관대학교 근교에서 채집하였고, 저자 중의 한 명인 이강노교수가 동정하였다. 음건 후 세절

하여 사용하였으며, 그 표본(SKKU-NPL-1402)은 성균관대학교 약학대학 표본실에 보관하고 있다.

추출 및 분리 - 히어리나무(*C. coreana*)의 가지(8 kg)는 80% MeOH 용매를 이용하여 추출되었고, 동시에 여과지에 여과되었다. 여과된 추출액은 감압 농축기를 이용하여 농축되었고, MeOH 농축액(570 g)을 얻었다. MeOH 농축액을 증류수 800 ml에 녹인 후에 *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate, *n*-butanol을 이용해 순차적인 용매분획을 시행하여 각각 15, 3, 20, 50 g을 얻었다. Ethyl acetate 분획 15 g을 silica gel column(230-400 mesh, 360 g), chloroform/MeOH/water(5:1:0.1)조건으로 진행하였고, 9개의 소분획(A-I)을 얻었다. 소분획 B(670 mg)은 RP-C₁₈ silica gel column(30%

Table I. Cytotoxic activities of compounds (1-10) from *C. coreana*

Compound	IC ₅₀ (μM) ^a			
	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	HCT-15
1	>30.0	>30.0	>30.0	>30.0
2	18.27	17.74	16.22	18.31
3	23.86	19.44	15.75	17.80
4	>30.0	>30.0	18.29	>30.0
5	14.85	15.17	7.41	18.03
6	18.36	19.54	12.64	20.08
7	12.17	12.04	8.26	11.97
8	13.24	4.03	1.96	14.33
9	>30.0	>30.0	>30.0	>30.0
10	27.05	27.21	16.39	21.58
Cisplatin^b	1.96	2.11	1.17	3.04

^a50% inhibitory concentration; the concentration of compound that caused a 50% inhibition in cell growth.

^bPositive control substance.

CH₃CN)과 RP-C₁₈ semi-prep HPLC(28% CH₃CN)정제과정을 거쳐 화합물 **7**(9 mg)을 얻었다. 소분획 C(300 mg)은 RP-C₁₈ silica gel column(15% CH₃CN)과 RP-C₁₈ semi-prep HPLC(10% CH₃CN)정제과정을 거쳐 화합물 **9**(7 mg)을 얻었다. 소분획 D(3.5 g)은 RP-C₁₈ silica gel column(40% MeOH)을 이용하여 3개의 소분획(D1-D3)으로 분리하였다. 소분획 D1(670 mg)은 RP-C₁₈ silica gel column(20% CH₃CN)을 이용해 3개의 소분획(D11-D13)으로 분리하였고, 소분획 D12(60 mg)은 Lobar[®]-A RP-C₁₈(20% MeOH)과 RP-C₁₈ semi-prep HPLC(29% CH₃CN)정제과정을 거쳐 화합물 **5**(4 mg)를 얻었다. 소분획 D13(100 mg)은 RP-C₁₈ Sep-pak(20% CH₃CN)과정과 RP-C₁₈ semi-prep HPLC(29% CH₃CN) 정제과정을 거쳐 화합물 **10**(16 mg)을 얻었다. 소분획 D2(1.8 g)은 RP-C₁₈ silica gel column(40% MeOH)과 RP-C₁₈ semi-prep HPLC(17% CH₃CN)정제과정을 거쳐 화합물 **1**(20 mg)을 얻었다. 소분획 E(700 mg)는 RP-C₁₈ silica gel column(40% MeOH)을 이용하여 4개의 소분획(E1-E4)으로 분리하였다. 소분획 E2(110 mg)는 Lobar[®]-A RP-C₁₈(20% CH₃CN)을 이용하여 3개의 소분획(E21-E23)으로 분리하였고, 소분획 E22(20 mg)는 RP-C₁₈ semi-prep HPLC(20% CH₃CN)정제과정을 거쳐 화합물 **4**(5 mg)를 얻었다. 소분획 E3(190 mg)은 Lobar[®]-A RP-C₁₈(20% CH₃CN)을 이용하여 3개의 소분획(E31-E33)으로 분리하였다. 소분획 E32(80 mg)는 RP-C₁₈ semi-prep HPLC(20% CH₃CN)정제과정을 거쳐 화합물 **6**(20 mg)을 얻었다. 소분획 E33(20 mg)은 RP-C₁₈ semi-prep HPLC(20% CH₃CN)정제과정을 거쳐 화합물 **2**(7 mg)를 얻었다. 소분획 F(400 mg)는 RP-C₁₈ silica

gel column(18% CH₃CN)과 RP-C₁₈ semi-prep HPLC(29% CH₃CN)정제과정을 거쳐 화합물 **3**(10 mg)을 얻었다. 소분획 G(520 mg)는 RP-C₁₈ silica gel column(20% MeOH)과 RP-C₁₈ semi-prep HPLC(15% CH₃CN)과정을 거쳐 화합물 **8**(28 mg)을 얻었다.

화합물 1 – Yellow powder; m.p. 277-278°C; ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ: 7.10 (1H, s, H-6), 4.97 (1H, d, *J*=10.5 Hz, H-1'), 4.09 (1H, dd, *J*=10.4 Hz, 9.5 Hz, H-2'), 4.05 (1H, dd, *J*=11.5 Hz, 1.6 Hz, H-6'), 3.93 (3H, s, OCH₃), 3.83 (1H, dd, *J*=14.7 Hz, 5.5 Hz, H-3'), 3.72 (1H, dd, *J*=11.6 Hz, 6.9 Hz, H-6'), 3.68 (1H, m, H-5'), 3.46 (1H, t, *J*=9.1 Hz, H-4'). ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 165.9 (C-7), 149.5 (C-3), 142.4 (C-4), 119.5 (C-1), 117.4 (C-2), 111.1 (C-5, C-6), 83.1 (C-5'), 81.5 (C-2'), 75.7 (C-3'), 74.3 (C-1'), 72.0 (C-4'), 62.8 (C-6'), 61.0 (OCH₃); FABMS, *m/z* 329 [M+H]⁺.

화합물 2 – Yellow gum; ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ: 7.13 (2H, s, H-2'', H-6''), 7.12 (1H, s, H-6), 5.06 (1H, d, *J*=10.5 Hz, H-1'), 4.42 (1H, dd, *J*= 12.2 Hz, 6.6 Hz, H-6'), 4.13 (1H, t, *J*=10.0 Hz, H-4'), 3.98 (1H, m, H-5'), 3.92 (3H, s, OCH₃), 3.87 (2H, m, H-2', H-6'), 3.57 (1H, m, H-3'). ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 165.9 (C-7), 149.4 (C-3), 142.4 (C-4), 119.6 (C-1), 117.8 (C-2), 111.3 (C-5), 81.4 (C-5'), 80.8 (C-2'), 74.5 (C-3'), 74.3 (C-1'), 71.9 (C-4'), 64.8 (C-6'), 61.1 (OCH₃), 168.3 (C-7''), 146.7 (C-3'', C-5''), 140.2 (C-4''), 121.1 (C-1''), 110.4 (C-2'', C-6''); FABMS, *m/z* 481 [M+H]⁺.

화합물 3 – Yellow gum; ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ: 7.16 (2H, s, H-2'', H-6''), 7.11 (1H, s, H-6), 5.58 (1H, t, *J*=8.7 Hz, H-4'), 5.17 (1H, d, *J*= 10.2 Hz, H-1'), 4.44 (1H, t, *J*=9.8 Hz, H-3'), 4.07 (1H, d, *J*=11.7 Hz, H-6'), 3.94 (3H, s, OCH₃), 3.84 (1H, brs, H-5'), 3.79 (2H, m, H-2', H-6'). ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 165.4 (C-7), 152.6 (C-5), 149.6 (C-3), 142.5 (C-4), 119.4 (C-1), 117.1 (C-2), 111.3 (C-6), 83.2 (C-5'), 79.2 (C-2'), 76.2 (C-3'), 74.4 (C-1'), 70.2 (C-4'), 62.4 (C-6'), 61.0 (OCH₃), 167.9 (C-7''), 146.6 (C-3'', C-5''), 140.1 (C-4''), 121.3 (C-1''), 110.5 (C-2'', C-6''); FABMS, *m/z* 481 [M+H]⁺.

화합물 4 – Yellow gum; ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ: 6.86 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2'), 6.78 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-6'), 6.74 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-5'), 5.95 (1H, s, H-8), 5.87 (1H, s, H-6), 4.58 (1H, d, *J*=7.4 Hz, H-2), 3.99 (1H, m, H-3), 2.87 (1H, dd, *J*=16.0 Hz, 5.1 Hz, H-4), 2.52 (1H, dd, *J*=16.1 Hz, 8.2 Hz, H-4). ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 157.8 (C-9), 157.5 (C-7), 156.8 (C-5), 146.2 (C-3'), 132.2 (C-1'), 120.0 (C-6'), 116.1 (C-5'), 115.2 (C-

2'), 100.8 (C-10), 96.3 (C-6), 82.8 (C-2, C-8), 68.8 (C-3), 28.4 (C-4); FABMS, m/z 291 [M+H]⁺.

화합물 5 – Colorless gum; ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ: 7.0 (1H, s, H-2'), 6.82 (1H, dd, $J=8.2$ Hz, 1.9 Hz, H-6'), 6.78 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-5'), 5.96 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-8), 5.94 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-6), 4.84 (1H, s, H-2), 4.20 (1H, ddd, $J=4.5$ Hz, 3.0 Hz, 1.4 Hz, H-3), 2.89 (1H, dd, $J=16.6$ Hz, 4.6 Hz, H-4β), 2.76 (1H, dd, $J=16.7$ Hz, 2.8 Hz, H-4α). ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 156.6 (C-8a), 156.2 (C-7), 155.9 (C-5), 144.5 (C-4'), 144.3 (C-3'), 130.9 (C-1'), 117.9 (C-6'), 114.4 (C-5'), 113.9 (C-2'), 98.6 (C-4a), 94.9 (C-6), 94.4 (C-8), 78.4 (C-2), 66.1 (C-3), 27.8 (C-4); FABMS, m/z 291 [M+H]⁺.

화합물 6 – Yellow gum; ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ: 6.97 (2H, s, H-2'', H-6''), 6.95 (1H, d, $J=1.7$ Hz, H-2'), 6.83 (1H, dd, $J=8.2$ Hz, 1.6 Hz, H-6'), 6.72 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-5'), 5.99 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-8), 5.98 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-6), 5.55 (1H, brs, H-3), 5.05 (1H, s, H-2), 3.02 (1H, dd, $J=17.3$ Hz; 4.6 Hz, H-4β), 2.87 (1H, dd, $J=17.3$ Hz, 1.6 Hz, H-4α). ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 167.6 (C-7''), 157.8 (C-9), 157.7 (C-7), 157.3 (C-5), 146.3 (C-5''), 146.2 (C-3''), 145.9 (C-4'), 145.8 (C-3'), 139.8 (C-4''), 131.5 (C-1'), 121.4 (C-1''), 119.4 (C-6'), 116.0 (C-5'), 115.1 (C-2'), 110.2 (C-2'', C-6''), 99.4 (C-10), 96.7 (C-6), 95.9 (C-8), 78.6 (C-2), 70.0 (C-3), 26.9 (C-4); FABMS, m/z 443 [M+H]⁺.

화합물 7 – White powder; m.p. 242-244°C; ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ: 7.06 (2H, s, H-2, H-6), 3.84 (3H, s, OCH₃). ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 169.1 (COOH), 146.6 (C-5), 146.6 (C-3), 139.9 (C-4), 121.5 (C-1), 110.1 (C-2, C-6), 52.4 (OCH₃); FABMS, m/z 185 [M+H]⁺.

화합물 8 – Yellow gum; ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ: 7.05 (2H, s, H-2, H-6). ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 170.4 (COOH), 121.9 (C-1), 110.3 (C-2, C-6), 146.3 (C-3, C-5), 139.6 (C-4); FABMS, m/z 171 [M+H]⁺.

화합물 9 – Yellow gum; ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ: 6.48 (2H, s, H-3, H-5), 4.81 (1H, d, $J=7.4$ Hz, anomeric proton), 3.80 (6H, s, OCH₃-2, OCH₃-6), 3.70 (3H, s, OCH₃-4). ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 156.2 (C-4), 154.9 (C-2, C-6), 134.5 (C-1), 103.3 (C-1'), 96.2 (C-3, C-5), 78.5 (C-3'), 78.2 (C-5'), 75.0 (C-2'), 71.8 (C-4'), 62.8 (C-6'), 61.3 (OCH₃-4), 56.6 (OCH₃-2, OCH₃-6); FABMS, m/z 347 [M+H]⁺.

화합물 10 – Yellow gum; ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ: 7.08 (2H, s, H-3, H-5), 6.41 (2H, s, H-2'', H-6''), 4.85

(1H, d, $J=7.6$ Hz, anomeric proton), 4.65 (1H, dd, $J=11.9$ Hz, 1.8 Hz, H-6'), 4.45 (1H, dd, $J=11.9$ Hz, 6.7 Hz, H-6'), 3.69 (3H, s, OCH₃-4), 3.69 (6H, s, OCH₃-2, OCH₃-6). ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 166.8 (COO), 154.4 (C-4), 153.3 (C-2), 153.3 (C-6), 145.1 (C-3'', C-5''), 138.5 (C-4''), 133.2 (C-1), 119.9 (C-1''), 108.7 (C-2''), 108.7 (C-6''), 101.8 (C-1'), 94.9 (C-3, C-5), 76.2 (C-3'), 74.4 (C-5'), 73.5 (C-2'), 70.3 (C-4'), 63.7 (C-6'), 59.8 (OCH₃-4), 55.1 (OCH₃-2, OCH₃-6); FABMS, m/z 499 [M+H]⁺.

세포독성측정⁶⁾ – 분리된 화합물에 대한 세포독성측정을 위해 SRB 방법이 적용되었고, 한국화학연구원에서 수행되었다. 네 종류의 인간 암세포인 A549(폐암세포), SK-OV-3(난소암세포), SK-MEL-2(피부암세포), HCT15(대장암세포)에 대해 sulforhodamine B dye로 염색하여 흡광도를 측정하였고, 이 흡광도는 생존세포들의 수에 비례하게 나타난다. 대조군으로는 cisplatin이 사용되었다. A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, HCT15 세포에 대한 cisplatin의 세포독성은 각각 IC₅₀ 1.96, 2.11, 1.17, 3.04로 확인되었다.

결과 및 고찰

히어리나무(*C. coreana*) 80% MeOH 추출물의 ethyl acetate 분획으로부터 분리된 10 종의 화합물은 3 종의 bergenin계 화합물, 3 종의 flavonoids, 그리고 4 종의 phenolic 화합물로 확인되었다. 분리된 화합물은 ¹H-NMR과 ¹³C-NMR 데이터를 기존에 보고된 문헌과 비교하여 구조 동정 하였으며, SRB 측정법을 통해 화합물 각각의 세포독성을 측정하였다. 이 중에서 화합물 **3**, **9**, **10**은 히어리나무(*C. coreana*)에서 처음 분리된 화합물로 확인되었고, 이에 대해 고찰하고자 한다.

화합물 **3**의 ¹H NMR spectrum에서 bergenin계 화합물에서 특징적으로 나타나는 δ 7.11의 singlet(1H, H-6)과 δ 5.17에서 나타나는 doublet(1H, $J=10.2$ Hz, H-1') 그리고 δ 3.94에서 나타나는 singlet(3H, OCH₃-4)peak을 확인할 수 있었다.^{7,9)} 화합물 **1**과의 다른 점은 화합물 **3**의 ¹H NMR spectrum에서 δ 7.16의 singlet(2H, H-2'', H-6'')으로 나타나는 gallic acid moiety의 phenolic proton이 추가된 것이고, ¹³C NMR spectrum에서는 gallic acid moiety의 특징적인 peak인 δ 167.9(C-7''), 146.6(C-3''), C-5''), 140.1(C-4''), 121.3(C-1''), 110.5(C-2'', C-6'')가 추가된 것이다. 이로부터 화합물 **3**에 gallic acid moiety가 존재한다는 것을 추정할 수 있었다. 화합물 **1**의 ¹H NMR data와의 비교를 통해 화합물 **3**의 H-3' 위치에서 δ 3.83이 δ 4.44로 downfield shift하는 것을 확인하였고, 기존 문헌¹⁰⁾과의 비교를 통해 최종적으로 gallic acid moiety가 C-3' 위치에 결합된 3'-O-galloylbergenin으로 확인하였다.

화합물 9의 ^1H NMR spectrum에서 δ 6.49 위치에 singlet (2H, H-3, H-5)으로 나타나는 phenolic proton과, δ 3.80 위치에 나타나는 singlet(6H, OCH_3 -2, OCH_3 -6)peak을 통해 화학적 환경이 같은 각각 2개의 phenolic proton과 methoxy group이 존재하고 있음을 확인할 수 있었다. 또한 δ 3.70의 singlet(3H, OCH_3 -4)을 통해 앞선 두 개의 methoxy group과 화학적 환경이 다른 하나의 methoxy group을 확인하였다. δ 4.81에 위치하고 있는 당의 anomeric proton을 확인할 수 있었고, ^{13}C NMR spectrum에서 δ 103.3에 나타나는 anomeric carbon과 δ 78.5(C-3'), 78.2(C-5'), 75.0(C-2'), 71.8(C-4'), 62.8(C-6')을 확인함으로써 glucose의 존재를 추정할 수 있었다. 이상의 spectroscopic data를 문헌¹¹⁾과 비교하여 이 화합물이 2,4,6-trimethoxyphenol-1- β -D-glucopyranoside임을 확인할 수 있었다.

화합물 10의 ^1H NMR 및 ^{13}C NMR spectrum은 화합물 9와 매우 유사하였다. 차이점으로는 화합물 10의 ^1H NMR spectrum에서 δ 6.41에 singlet(2H, H-2'', H-6'')으로 나타나는 gallic acid moiety의 phenolic proton이 추가된 것이고, ^{13}C NMR spectrum에서는 gallic acid moiety의 특징적인 peak인 δ 166.8(C-7''), 145.1(C-3'', C-5''), 138.5(C-4''), 119.9(C-1''), 108.7(C-2'', C-6'')이 추가된 것이다. 또한 화합물 9에서 δ 62.8에 존재하던 glucose의 C-6' peak이 화합물 10에서는 δ 63.7로 downfield shift 하는 것을 확인할 수 있었고, 이로부터 gallic acid moiety가 C-6'에 결합된 것을 추정할 수 있었다. 이상의 spectroscopic data를 문헌¹²⁾과 비교하여 화합물 10의 구조를 2,4,6-trimethoxyphenol-1- β -D-(6-O-galloyl)-glucopyranoside로 확인하였다.

분리된 화합물 1-10의 세포독성은 A549(폐암세포), SK-OV-3(난소암세포), SK-MEL-2(피부암세포), HCT15(대장암세포)에 대해 SRB 측정법을 적용하여 확인하였으며, 이때의 대조군은 cisplatin이 사용되었다. 그 결과 화합물 2-8, 10이 4종류의 암세포에 대해 독성을 나타내었으며(IC_{50} 1.96-27.21 μM , Table I), 그 중 화합물 5, 7, 8이 SK-MEL-2 세포에 대해 각각 IC_{50} 7.41, 8.26, 1.96 μM 의 강한 세포독성을 나타내었고, 화합물 8이 SK-OV-3 세포에 대해 강한 세포독성을 나타내었다(IC_{50} 4.03 μM).

결론

히어리나무(*C. coreana*) 80% MeOH 추출물을 용매 분획하여 얻어진 ethyl acetate 층을 각종 chromatography 분리 기법으로 총 10종의 화합물을 분리하였고, 이들의 ^1H NMR, ^{13}C NMR, MS 데이터를 기존에 보고된 논문과 비교하여 동정하였으며, 각각 bergenin(1),⁷⁻⁹⁾ 6'-O-galloylbergenin(2),³⁾ 3'-O-galloylbergenin(3),¹⁰⁾ (-)-catechin(4),¹³⁾ (-)-epicatechin(5),¹⁴⁾ (-)-epicatechin-3-O-galloylester(6),¹⁵⁾ 4-methoxy-3,5-

dihydroxybenzoic acid(7),¹⁶⁾ gallic acid(8),¹⁷⁾ 2,4,6-trimethoxyphenol-1- β -D-glucopyranoside(9),¹¹⁾ 2,4,6-trimethoxyphenol-1- β -D-(6-O-galloyl)-glucopyranoside(10)¹²⁾로 확인되었다. 그 중 화합물 3, 9, 10은 히어리나무(*C. coreana*)에서 처음으로 분리된 것으로 확인하였다. 분리된 화합물(1-10)에 대해 세포독성활성을 측정하였으며, 화합물 5, 7, 8이 강한 세포독성을 나타내었다(IC_{50} 1.96-8.26 μM).

사사

이 논문은 2016년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(NRF-2012R1A5A2A28671860).

인용문헌

1. 이창복 (2003) 원색대한식물도감, 500. 향문사, 서울.
2. 박종희 (2004) 한국약초도감, 636. 신일상사, 서울.
3. Kim, M. H., Ha, S. Y., Oh, M. H., Kim, H. H., Kim, S. R. and Lee, M. W. (2013) Anti-oxidative and anti-proliferative activity on human prostate cancer cells lines of the phenolic compounds from *Corylopsis coreana* Uyeki. *Molecules* **18**: 4876-4886.
4. Iwashina, T., Kitajima, J. and Takemura, T. (2012) Flavonoids from the leaves of six *Corylopsis* species (Hamamelidaceae). *Biochem. Syst. Ecol.* **44**: 361-363.
5. Patel, D. K., Patel, K., Kumar, R., Gadewar, M. and Tahilyani, V. (2012) Pharmacological and analytical aspects of bergenin: a concise report. *Asian Pac. J. Tro. Dis.* 163-167
6. Skehan, P., Strohreng, 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 anti-cancer-drug screening. *J. Natl. Cancer Inst.* **82**: 1107-1112.
7. Nunomura, R. C. S., Oliveira, V. G., Da Silva, S. L. and Nunomura, S. M. (2009) Characterization of bergenin in *Endopleura uchi* bark and its anti-inflammatory activity. *J. Braz. Chem. Soc.* **20**: 1060-1064.
8. Sariga, C. D., Shakila, R. and Kothai, S. (2015) Isolation, characterization and quantification of bergenin from *Syzygium cumini* stem bark. *Int. Res. J. Pharm.* **6**: 108-110.
9. Taneyama, M., Yoshida, S., Kobayashi, M. and Hasegawa, M. (1983) Isolation of norbergenin from *Saxifraga stolonifera*. *Phytochemistry* **22**: 1053-1054.
10. Yoshida, T., Takama, T. and Okuda, T. (1982) Bergenin derivatives from *Mallotus japonicus*. *Phytochemistry* **20**: 1180-1182.
11. Hongmei, P., Bin, C., Fu, L. and Mingkui, W. (2013) Chemical constituents from the stems of *Dendrobium denmeianum* (II). *Chin. J. Appl. Environ Biol.* **19**: 952-955.

12. Nonaka, G., Nishimura, H. and Nishioka, I. (1982) Tannins and related compounds. IV. seven new phenol glucoside galates from *Quercus tenphylla* MAKINO (1). *Chem. Pharm. Bull.* **30**: 2061-2067.
 13. Lin, H. Y., Kuo, Y. H., Lin, Y. L. and Chiang, W. C. (2009) Antioxidative Effect and active components from leaves of Lotus (*Nelumbo nucifera*). *J. Agric. Food Chem.* **57**: 6623-6629.
 14. Foo, L. Y., Lu, Y., Howell, A. B. and Vorsa, N. (2000) The structure of cranberry proanthocyanidins which inhibit adherence of uropathogenic P-fimbriated *Escherichia coli* in vitro. *Phytochemistry* **54**: 173-181.
 15. Braca, A., Politi, M., Sanogo, R., Sanou, H., Morelli, I., Pizza, C. and De Tommasi, N. (2003) Chemical composition and antioxidant activity of phenolic compounds from wild and cultivated *Sclerocarya birrea* (Anacardiaceae) leaves. *J. Agric. Food Chem.* **51**: 6689-6695.
 16. Saxena, G., McCutcheon, A. R., Farmer, S. Towers, G. H. N. and Hancock, R. E. W. (1994) Antimicrobial constituents of *Rhus glabra*. *J. Ethnopharmacol.* **42**: 95-99.
 17. Ning, D. S., Yan, X. X., Huang, S. S., Cheng, L., Li, J. and Pan, Z. H. (2015) Studies on chemical constituents of zhuang medicine *Excoecaria venenata* and their cytotoxic activity. *Chn. J. Chin. Mat. Med.* **40**: 686-690.
- (2016. 2. 4 접수; 2016. 3. 10 심사; 2016. 3. 18 게재확정)