(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2012 년 1 월 19 일 (19.01.2012)

PCT

(10) 국제공개번호
WO 2012/008785 A2

(51) 국제특허분류:
*C07C 241/04* (2006.01) *C07C 243/22* (2006.01)
*C07C 243/34* (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2011/005206

(22) 국제출원일: 2011 년 7 월 14 일 (14.07.2011)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2010-0067710 2010 년 7 월 14 일 (14.07.2010) KR

(71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): **한국해양연구원 (KOREA OCEAN RESEARCH AND DEVELOPMENT INSITUTE)** [KR/KR]; 인천광역시 연수구 송도동 7-50, 406-804 Incheon (KR).

(72) 발명자; 겸
(75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): **임정한 (YIM, Joung Han)** [KR/KR]; 경기도 성남시 분당구 금곡동 청솔마을대원아파트 802 동 703 호, 463-717 Gyeonggi-do (KR). **김일찬 (KIM, Il Chan)** [KR/KR]; 서울특별시 송파구 가락본동 금호아파트 103 동 2603 호, 138-751 Seoul (KR). **이성구 (LEE, Sung Gu)** [KR/KR]; 인천광역시 연수구 송도동 송도신도시 송도풍림아파트 306 동 1004 호, 406-736 Incheon (KR). **김덕규 (KIM, Dockyu)** [KR/KR]; 인천광역시 연수구 동춘동 무지개마을아파트 3-701, 406-703 Incheon (KR). **한세종 (HAN, Se Jong)** [KR/KR]; 경기도 화성시 서신면 광평리 고래물길 38-18, 445-881 Gyeonggi-do (KR). **이형석 (LEE, Hyoung Seok)** [KR/KR]; 서울특별시 관악구 청림동 관악현대아파트 126-1303, 151-053 Seoul (KR). **김성진 (KIM, Seung Jin)** [KR/KR]; 인천광역시 연수구 송도동 3-10 풍림아이원아파트 202-901, 406-735 Incheon (KR). **김태경 (KIM, Tai Kyoung)** [KR/KR]; 인천광역시 부평구 갈산동 갈산주공 1 단지 106-1007, 403-751 Incheon (KR). **강필성 (KANG, Pil-Sung)** [KR/KR]; 인천광역시 연수구 송도동 풍림아이원아파트 460-1202, 406-735 Incheon (KR). **박희용 (PARK, Heeyong)** [KR/KR]; 경기도 수원시 팔달구 화서동 679-13, 442-150 Gyeonggi-do (KR). **박하주 (PARK, Ha Ju)** [KR/KR]; 경기도 안양시 동안구 평촌동 초원 부영아파트 711-104, 431-070 Gyeonggi-do (KR). **고혜연 (KOH, Hye Yeon)** [KR/KR]; 강원도 고성군 토성면 원암리 3-267, 219-832 Kwangwon-do (KR). **박미라 (PARK, Mi Ra)** [KR/KR]; 인천광역시 남구 용현 2 동 유원아파트 나-1404, 402-763 Incheon (KR). **박유경 (PARK, Yu-Kyeong)** [KR/KR]; 인천광역시 연수구 연수동 521-3 302 호, 406-110 Incheon (KR).

(74) 대리인: **이처영 (LEE, Cheo Young)**; 서울특별시 강남구 역삼동 648-23 여삼빌딩 11 층, 135-080 Seoul (KR).

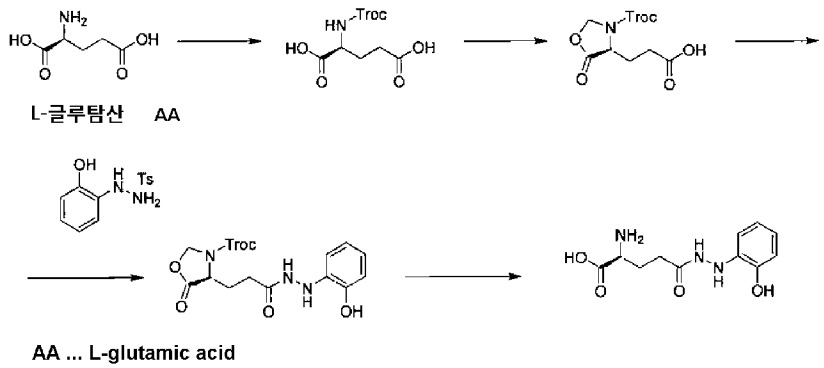
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA,

[다음 쪽 계속]

(54) **Title**: METHOD FOR PREPARING RAMALIN

(54) **발명의 명칭** : 라말린의 합성방법

[Fig. 2]




(57) **Abstract**: The present invention relates to a method for synthesizing Ramalin, and more specifically, to a method for synthesizing Ramalin by reacting 2-hydrazinylphenol and a L-glutamic acid in which a carboxyl group at the C-1 position and an amino group at the C-2 position are protected, and a method for preventing the decomposition of Ramalin. According to the present invention, it is possible to mass produce Ramalin which has excellent antioxidant and anti-inflammatory activities with a stable yield. In addition, it is possible to stably preserve Ramalin for a long period of time, thereby facilitating the industrial use of Ramalin.

(57) **요약서**: 본 발명은 라말린의 합성방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는, 2-하이드라지닐-페놀(2-Hydrazinylphenol)과, 1 번탄소의 카복실기 및 2 번탄소의 아미노기가 보호된 L-글루탐산을 반응시키는 것을 특징으로 하는, 라말린의 합성방법 및 상기 라말린의 분해 방지방법에 관한 것이다. 본 발명에 따르면, 항산화 및 항염증 효과가 뛰어난 라말린을 안정적인 수율로 합성할 수 있어, 라말린의 대량생산이 가능하다. 또한, 라말린을 장기간 안정적으로 유지할 수 있어 라말린을 산업상 이용하기 용이하다.

WO 2012/008785 A2

CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

**(84) 지정국** (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**공개**:

— 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도 공개함 (규칙 48.2(g))

# 명세서

## 발명의 명칭: 라말린의 합성방법

### 기술분야

[1] 본 발명은 라말린의 합성방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는, 2-하이드라지닐페놀(2-Hydrazinylphenol)과, 1번탄소의 카복실기 및 2번탄소의 아미노기가 보호된 L-글루탐산을 반응시키는 것을 특징으로 하는, 라말린의 합성방법 및 상기 라말린의 분해 방지방법에 관한 것이다.

[2]

### 배경기술

[3] 지의류는 비개화식물과 비슷하며, 곰팡이(mycobiant) 및 조류(alga, photobiant) 및/또는 시아노박테리아의 공생연합이다. 지의류에서, 곰팡이는 엽상체 또는 전형적인 이차대사산물을 함유하고 있는 이끼화된 기질을 형성한다(Ahmadjin V., *The lichen symbiosis,* Wiley, New York, pp.1-6, 1993). 지의류는 충분한 양의 천연샘플을 수집하기가 어렵고, 대량재배 기술이 알려져 있지 않기 때문에, 고등식물보다는 연구가 미진하였다.

[4] 지의류의 조직배양법, 대량생산 방법 및 생화학적 분석 방법 등이 개선됨에 따라, 이에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(Behera, *B.C. et al., Lebensm. Wiss. Technol.,* 39:805, 2006). 세포독성, 살곰팡이, 항미생물, 항산화 등의 여러 생물학적 활성을 가지는 지방산, depside 및 depsidones, 디벤조푸란(debenzofurans), diterpenes, 안트라퀴논(anthraquinones), 나프토퀴논(naphtoquinones), 우스닉산(usninic acid), 풀비닉 산(pμlvinic acids), 잔톤(xanthones) 및 에피디티오피퍼라진이온(epidithiopiperazinediones)을 포함하는 화합물들이 지의류로부터 분리된 바 있다(Muller, K., *Appl. Microbiol. Biotechnol.,* 56:9-16, 2001).

[5] 라말리나 테레브라타(*Ramalina terebrata*)는 남극대륙 킹조지섬에 군락을 이루어 자생하는 지의류로서, 킹조지섬의 곳곳에서 용이하게 채취할 수 있다. 본 발명자들은 상기 남극 지의류 *Ramalina terebrata*를 연구하던 중에 우수한 항산화 활성을 가진 라말린(Ramalin)이라는 신규 화합물을 분리한 바 있다(대한민국 공개특허공보 제10-2010-0052130호). 또한, 라말린은 우수한 항염증 활성을 가진 것이 보고된 바 있다(대한민국 특허출원번호 제10-2010-0052551호).

[6] 그러나 라말린은 우수한 항산화 활성 및 항염증 활성이 확인되어 대량 생산의 필요성이 있으나, 종래 라말리나 테레브라타에서 메탄올을 이용한 분리방법(대한민국 공개특허공보 제10-2010-0052130호)에 의할 경우, 극지 지의류 특유의 느린 성장속도, 자연에서 대량채취가 어려운 점 및 라말리나 테레브라타에서 추출되는 양이 매우 소량인 점 때문에, 그 생산에 비용과 시간이 많이 드는 문제가 있어왔다. 또한, 라말린은 자체의 높은 항산화력으로 인하여

쉽게 분해된다. 상온에서 4일 이내에 절반 이상 사라질 정도로 불안정하여 그 유지가 힘든 문제가 있어왔다.

[7] L-글루탐산(L-Glutamic acid)은 종래 지미료의 일종의 아미노산계 조미료로 사용되어온 아미노산의 일종으로, 시중에서 소금의 대체용, 식이보충제, 영양강화제, 향미증진제 등으로 사용되고 있다. 따라서 가격도 저렴하며 대량 확보도 가능하면서, 라말린과 같은 광학 활성자리를 가지고 있다.

[8] 이에 본 발명자들은 라말린의 화학적 합성방법을 개발하기 위하여 예의 노력한 결과, 라말린과 같은 광학 활성자리를 가지고 있는 L-글루탐산(L-Glutamic acid)을 이용하여, 2-하이드라지닐페놀(2-hydrazinylphenol)과의 합성을 계획하여 수행한 결과, 천연물 유래의 라말린과 같은 효능을 나타내는 라말린이 합성됨을 확인함과 아울러, 이를 비타민 C와 함께 보관할 경우, 라말린의 분해를 방지하여 장기간 유지가 가능함을 확인하고 본 발명을 완성하게 되었다.

[9]

[10] 발명의 요약

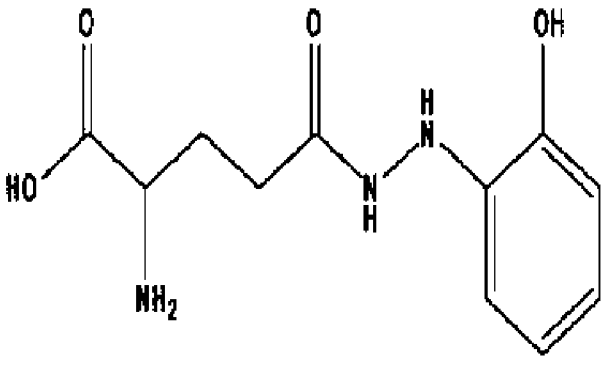
[11] 본 발명의 목적은 우수한 항산화 및 항염증 활성을 갖는 라말린, 그의 염, 그의 용매화물, 또는 그의 염의 용매화물의 합성방법을 제공하는데 있다.

[12] 본 발명의 다른 목적은 합성된 라말린의 분해를 방지하는 방법을 제공하는데 있다.

[13] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 2-하이드라지닐페놀(2-Hydrazinylphenol)과, 1번탄소의 카복실기 및 2번탄소의 아미노기가 보호된 L-글루탐산을 반응시킨 다음, 상기 보호를 제거하는 것을 특징으로 하는, 하기 화학식 1로 표시되는 라말린, 그의 염, 그의 용매화물, 또는 그의 염의 용매화물의 합성방법을 제공한다:

[14]

[15] 화학식 1




[16]

[17] 본 발명은 또한, 라말린을 비타민 C(L-Ascorbic acid)를 함유하는 용매에 용해시켜 유지하는 것을 특징으로 하는 라말린의 분해 방지방법을 제공한다.

[18]

[19] 본 발명의 다른 특징 및 구현예는 다음의 상세한 설명 및 첨부된 특허청구범위로부터 더욱 명백해 질 것이다.

[20]

## 도면의 간단한 설명

[21] 도 1은 출발물질 L-글루탐산과 2-하이드라지닐페놀의 합성 자리를 나타낸 간략도이다.

[22] 도 2는 본 발명에 따른 L-글루탐산에서 라말린을 합성하는 방법을 포함하는 반응의 일실시예를 나타내는 개략도이다.

[23] 도 3은 본 발명의 2-아미노페놀에서 2-하이드라지닐페놀을 합성하는 방법을 포함하는 반응의 일실시예를 나타내는 개략도이다.

[24] 도 4는 합성 라말린의 $^1$H NMR 결과를 찍은 사진이다.

[25] 도 5는 합성 라말린의 유지기간에 따른 보존량을 각 25℃, 38℃에서 실험하여 확인한 그래프이다.

[26] 도 6은 합성 라말린과 천연물 유래 라말린의 항산화활성을 비교한 그래프이다.

[27]

[28] 발명의 상세한 설명 및 바람직한 구현예

[29] 다른 식으로 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 숙련된 전문가에 의해서 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 일반적으로, 본 명세서에서 사용된 명명법은 본 기술 분야에서 잘 알려져 있고 통상적으로 사용되는 것이다.

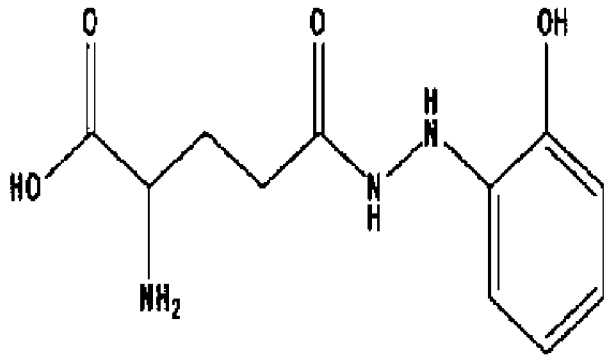
[30]

[31] 본 발명은 일 관점에서, 2-하이드라지닐페놀(2-Hydrazinylphenol)과, 1번탄소의 카복실기 및 2번탄소의 아미노기가 보호된 L-글루탐산을 반응시킨 다음, 상기 보호를 제거하는 것을 특징으로 하는, 하기 화학식 1로 표시되는 라말린, 그의 염, 그의 용매화물, 또는 그의 염의 용매화물의 합성방법에 관한 것이다.

[32]

[33] 화학식 1

[34]



[35]

[36] 본 발명의 라말린은 남극 지의류인 라말리나 테레브라타로부터 분리한 항산화 활성을 갖는 화합물로, 상기 라말린은 고분해능 ES-MS를 이용해 확인한 결과, 분자량이 254.1141이고, 분자식 $C_{11}H_{16}N_3O_4$의 화합물로 화학식 1의 구조를 가지는 것으로 확인하였으며, 라말리나 테레브라타로부터 분리된 화합물이므로 라말린으로 명명되었다.

[37] 본 발명에서는 라말린을 라말리나 테레브라타에서 분리추출하는 대신 화학적으로 합성하는 방법을 개발하기 위해 2-하이드라지닐페놀(2-Hydrazinylphenol)과, 1번탄소의 카복실기 및 2번탄소의 아미노기가 보호된 L-글루탐산을 반응시킨 후 상기 보호를 제거함으로서 라말린이 합성되는 것을 확인하였다.

[38] 본 발명에서 상기 라말린의 염(salt)으로는 약리학적으로 허용되는 염이라면 특별히 제한되지는 않으며, 상기 약리학적으로 허용되는 염은 당해 기술분야에서 통상적인 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들면, 염산, 브롬화수소, 황산, 황산수소나트륨, 인산, 탄산 등의 무기산과의 염 또는 개미산, 초산, 옥살산, 벤조산, 시트르산, 타르타르산, 글루콘산, 게스티스산, 푸마르산, 락토비온산, 살리실릭산, 또는 아세틸살리실릭산 (아스피린)과 같은 유기산과 함께 약리학적으로 허용 가능한 산의 염을 형성하거나, 또는 소듐, 포타슘 등의 알칼리 금속이온과 반응하여 이들의 금속염을 형성하거나, 또는 암모늄 이온과 반응하여 또 다른 형태의 약리학적으로 허용 가능한 염을 형성할 수 있다.

[39] 본 발명에서 '용매화물'은 용매 분자와 배위 결합하여 착물을 형성하는 고체 또는 액체 상태의 본 발명에 따른 라말린 또는 그의 염의 형태를 지칭한다. 수화물은 물과 배위 결합한 용매화물의 특정 형태로서, 본 발명과 관련하여 바람직한 용매화물은 수화물이다.

[40] 본 발명에 있어서, 상기 2-하이드라지닐페놀은 토실(Tosyl)염 형태인 것을 특징으로 할 수 있다. 상기 2-하이드라지닐페놀의 토실염 형태는 다음과 같은 단계로 제조할 수 있다: (a) 2-아미노페놀을 메탄올에 녹이고 염화수소 가스를 흘려주어 2-아미노페놀 염산(HCl)염을 얻는 단계; (b) 상기 2-아미노페놀 염산염을 에탄올에 녹이고, 이소펜틸 니트라이트(Isopentyl nitrite)를 사용하여 니트라미드(Nitramide) 형태의 중간체를 만드는 단계; 및 (c) 상기 중간체 에탄올 용액을, *p*-톨루엔설폰산(para-toluenesulfonic acid;PTSA or TsOH) 및 염화주석($SnCl_2$)이 섞인 에탄올 용액에 첨가하여 2-하이드라지닐페놀의 토실염을 얻는 단계.

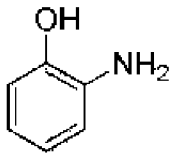
[41] 본 발명의 바람직한 일례로, 상기 (a) 단계에서 염화수소 가스를 흘려주면서 pH를 2 내지 5로 유지시킬 수 있으며, 그 결과, 2-아미노페놀 염산염을 고체형태로 얻을 수 있다. 또한, 상기 (b)단계에서, 에탄올에 녹인 2-아미노페놀 염산염을 낮은 온도, 약 영하 5℃에서 이소펜틸 니트라이트를 사용하여 니트라미드 형태의 중간체를 만들 수 있다. 그 후, 상기 (c)단계에서, 중간체

에탄올 용액을, *p*-톨루엔설폰산(para-toluenesulfonic acid;PTSA or TsOH) 및 염화주석($SnCl_2$)이 섞인 에탄올 용액에 낮은 온도 (영하 5℃)를 유지하면서 천천히 첨가하여 2-하이드라지닐페놀의 토실염을 얻을 수 있다.

[42] 각 화합물은 아래와 같은 화학식으로 나타내어진다:
2-아미노페놀(2-aminophenol)(화학식 2), 2-아미노페놀 염산염(화학식 3), 2-아미노페놀 니트라미드 중간체(화학식 4), 2-하이드라지닐페놀 토실염(화학식 5).

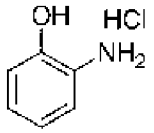
[43]

[44] 화학식 2



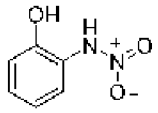

[45]

[46] 화학식 3



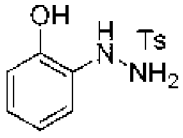

[47]

[48] 화학식 4




[49]

[50] 화학식 5




[51]

[52] 본 발명에 있어서, 상기 1번탄소의 카복실기 및 2번탄소의 아미노기가 보호된 L-글루탐산은 일반적으로 알려진 카복실기 및 아미노기를 보호하는 방법을 이용하여 보호할 수 있다. 예를 들어, 벤질(Benzyl)기를 도입하여 카복실기 및

아미노기를 보호할 수 있다. 단, 벤질기를 사용하여 보호할 경우, 1번탄소와 2번탄소뿐만 아니라, 5번탄소의 카복실기까지 벤질기가 도입될 수 있으므로, 5번탄소의 카복실기의 벤질기를 제거하는 단계가 추가로 필요하며, 그 경우, 1번탄소의 카복실기의 보호 벤질기도 제거되는 경우가 생겨 수율 손실이 일어날 수 있다. 또한 2-하이드라지닐페놀과 반응 후에 보호를 제거하는 단계에서도 속도가 느릴 수 있다.

[53] 따라서 본 발명의 바람직한 일 양태로, 상기 1번탄소의 카복실기 및 2번탄소의 아미노기가 보호된 L-글루탐산은, 상기 카복실기와 상기 아미노기가 고리화 되어 있는 L-글루탐산 락톤인 것을 특징으로 할 수 있다.

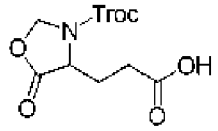
[54] 본 발명의 더욱 바람직한 양태로는, 상기 L-글루탐산 락톤은 L-글루탐산을 2차 아민형태로 만든 다음, 고리화 시키는 것을 특징으로 할 수 있다. 1차 아민형태에서 고리화 시키는 경우, 1번탄소뿐만 아니라 5번탄소까지 함께 7각 링이 만들어지게 되는 경우가 생기므로, 원하는 반응을 진행시키기 어려울 수 있다.

[55] 본 발명의 일 실시예에 따르면, Troc을 이용하여 2차 아민형태로 만드는 반응을 탄산수소나트륨($NaHCO_3$)을 사용하여 24시간동안 진행시킬 경우, 약 85% 수율로 별도 정제과정 없이 얻을 수 있는 것을 확인하였다.

[56] 본 발명의 일 실시예에 따르면, Troc을 이용하여 일차 산 형태로 만든 L-글루탐산은 파라포름알데히드(paraformaldehyde)를 첨가하고 산촉매로 PTSA(para-toluenesulfonic acid)를 사용하여 톨루엔에서 리플럭스(reflux)시키며, 반응 도중 생성되는 물을 제거하고 물이 더 이상 생성되지 않으면 탄산칼륨($K_2CO_3$)을 사용하여 촉매를 제거하고 다이에틸에터(Diethyl ether)와 페트롤리움에터(petroleum ether)로 재결정하면 순수한 하얀색 고체 1차산을 얻을 수 있음을 확인하였다. 상기 1차산은 L-글루탐산 락톤이며, 하기 화학식 6과 같은 구조로 표시할 수 있다.

[57]

[58] 화학식 6




[59]

[60] 따라서 본 발명의 가장 바람직한 양태는, 상기 2차 아민형태는 L-글루탐산에 2,2,2-트라이클로로-에틸-클로로포름산(2,2,2-Trichloro-ethyl-chloroformate;Troc)을 첨가·반응시켜 제조한 것임을 특징으로 할 수 있다.

[61] 본 발명의 일실시예에 따르면, 상기 화학식 6으로 나타나는 1번탄소의 카복실기 및 2번탄소의 아미노기가 보호된 L-글루탐산(1차산)의 5번탄소의

카복실기를 활성화시켜서 2-하이드라지닐페놀과 결합반응시킬 경우, 수율 50%로 반응이 일어나는 것을 확인하였다.

[62] 따라서 본 발명에 있어서, 바람직하게는 1번탄소의 카복실기 및 2번탄소의 아미노기가 보호된 L-글루탐산은 5번탄소의 카복실기가 추가로 활성화되어 있는 것을 특징으로 할 수 있다. 카복실기의 활성화는 예를 들어, 디사이클로헥실카보다이이미드(Dicyclohexylcarbodiimide;DCC), 1-하이드록시-벤조트라이아졸(1-Hydroxybenxotriazole;HOBt), 싸이오닐 클로라이드(Thionyl chloride) 또는 에틸클로로포름산(Ethylcholoroformate)을 첨가하여 유도할 수 있다.

[63] 본 발명 일실시예에서, 상기 활성화 물질로 디사이클로헥실카보다이이미드(Dicyclohexylcarbodiimide;DCC) 및 1-하이드록시-벤조트라이아졸(1-Hydroxybenxotriazole;HOBt)을 사용하는 경우, 활성화와 동시에 결합반응이 일어나나, 반응시간이 20시간 이상이라 불안정 상태인 하이드라지닐페놀이 분해되는 문제점이 있음을 발견하였으나, 싸이오닐 클로라이드 또는 에틸클로로포름산 등을 사용할 경우 수율이 30%로 나타나므로, DCC와 HOBt(수율 50%)를 사용하여 활성화시키는 것이 보다 우수함을 확인하였다.

[64] 따라서, 본 발명의 가장 바람직한 양태는, 1번탄소의 카복실기 및 2번탄소의 아미노기가 보호된 L-글루탐산은 5번탄소의 카복실기를 활성화 시키기 위하여 디사이클로헥실카보다이이미드(Dicyclohexylcarbodiimide;DCC) 및 1-하이드록시-벤조트라이아졸(1-Hydroxybenxotriazole;HOBt)을 사용하고, 트라이에틸-아민(Triethyl amine;TEA)을 추가로 처리하여 반응시켜 수행되는 것을 특징으로 할 수 있다.

[65] 본 발명은 일실시예에서, 결합된 물질에서 보호를 제거하기 위하여 동시에 아연(Zinc)과 아세트산(Acetic acid)을 사용하여 라말린을 수득하였다.

[66] 따라서, 본 발명에 있어서, 바람직하게는 보호를 제거하기 위하여 아연과 아세트산을 동시에 사용할 수 있다. 그 외 당해 업계에서 이미 공지된 방법으로 보호를 제거하여도 무방하다.

[67] 본 발명은 일실시예에서, 높은 항산화 활성으로 인하여, 상온에서 유지기간이 길지 않은 라말린을 비타민 C가 함유된 용매에 용해시켜 유지시킬 경우, 확연히 오래 유지되는 것을 확인하였다.

[68] 따라서 본 발명은 다른 관점에서, 라말린을 비타민 C(L-Ascorbic acid)를 함유하는 용매에 용해시켜 유지하는 것을 특징으로 하는 라말린의 분해 방지방법에 관한 것이다.

[69] 본 발명에 있어서, 상기 라말린을 용해시키는 농도는 비타민 C의 농도와 같은 것을 특징으로 할 수 있다. 바람직하게는 라말린을 용해시키는 용매를 물로 할 수 있다. 더욱 바람직하게는 물에 비타민 C와 라말린을 1000ppm 농도로 용해시켜 유지하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[70]

[71] 실시예

[72] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[73]

[74] 실시예 1: 1번탄소의 카복실기와 2번탄소의 카보닐기가 보호된 글루탐산의 제조 및 2-하이드라지닐페놀의 준비

[75]

[76] 1-1: Troc-L-글루탐산의 제조

[77] 도 1에 나타난 개략도에서 확인할 수 있는 바와 같이, 라말린의 합성에 필요한 Troc-L-글루탐산을 제조하기 위하여, 아래와 같은 방법으로 실험을 수행하였다. 500ml two neck round flask에 31.5g (0.375mol)의 $NaHCO_3$를 물 125ml에 녹여 수용액(solution)을 만들었다. Reflux condenser와 dropping funnel을 설치하고 14.7g (0.1mol)의 L-글루탐산(L-Glutamic acid)을 상온에서 magnetic bar를 이용하여 교반하면서 천천히 첨가하였다. 반응물의 온도를 35℃로 올리고 2,2,2-Trichloroethylchloroflomate를 천천히 dropping 시켜주었다. 반응 mixture를 40~45℃의 온도로 가열하고 6시간 교반하였다.

[78] 이후 온도를 다시 상온으로 낮춰준 후 약 15시간 정도 계속 교반하였다. 반응이 완료되면 Diethylether(30ml)를 첨가하여 물층을 씻어주고 유기층을 제거하였다. 물층에 5M HCl을 서서히 첨가하여 pH를 2 이하로 낮춰준 후 Ethylacetate(이하, EA)를 3회(50ml x 3)에 걸쳐 extraction하면서 물층에 남아있는 product를 녹여내었다. EA 추출물을 $MgSO_4$로 물을 제거하고 rotary evaporator로 건조시켰다. EA가 모두 제거되고 난 후, 옅은 노란색 액체의 product를 얻어내었다.

[79] 그 결과, 도 2의 첫번째 반응 후 나타낸 화합물과 같이, N-Troc 으로 보호된 Troc-L-글루탐산의 수율은 약 85%정도 이었으며 별도의 정제 과정 없이 높은 순도로 얻을 수 있었다.

[80] 또한, 생성물의 구조를 확인하기 위하여, NMR 스펙트럼 (1D 및 2D)은 $D_2O$ 에 더하여, 아세톤-$d_6$를 사용하여, JEOL JNM ECP-400 spectrometer ($^{13}C$ $^{1}H$ 및 500 MHz에 대한 500 MHz)를 이용하여 기록하였다. 이 때, 케미컬 쉬프트는 잔여 아세톤-$d_6$ (dH/dC = 2.22/21.0)을 참조하였다. HMQC 및 HMBC 실험은 $^{1}JCH$ = 140 Hz, $^{n}JCH$ = 8 Hz 조건에서 최적화 되었다.

[81] 그 결과, $^{1}H$ NMR (δppm, acetone d6) : 1.55-2.75 (m, 4H, $CH_2CH_2$); 4.15-4.55 (m, 1H, CH); 4.70 (s, 2H, $CH_2CCl_3$); 6.65 (d, J 8Hz, 1H, NH); 10.6 (s, 2H, OH)와 같은 결과를 나타냄을 확인하였다.

[82]

[83] 1-2: 고리화 반응

[84] 실시예 1-1에 의해 얻어진 Troc-L-글루탐산의 보호된 카복실기와 아미노기를 서로 고리형태로 엮어 보호하기 위해 아래와 같은 방법으로 고리화 반응을 시켰다. 이를 위하여, 500ml round flask에 N-Troc glutamic acid (0.04mol)를 넣고 toluene 200ml를 첨가하여 녹였다. Flask에 Deak-stark 장치를 연결하고 위에 reflux condenser를 설치한 후, 위 flask에 0.08mol의 paraformaldehyde (2.4g), 0.0024mol의 PTSA (0.46g)를 첨가하였다. 반응온도를 120℃로 높이고 교반하면서 reflux시키고, Dean-stark에 더 이상 물이 생기지 않을 때까지 (약 3시간) 가열하였다.

[85] 반응이 완결된 후, 상온으로 식히고 EA 50ml를 첨가하였다. 그 후, 유기층을 층분리하고 0.3M $K_2CO_3$ 4ml를 첨가하여 층분리 시켰다. 물을 3회에 걸쳐 5ml씩 첨가하여 씻어내었다. 유기층을 $MgSO_4$로 수분을 제거하고 solvent를 evaporation으로 제거하였다. 건조 후 생긴 하얀색 고체를 Ether 5ml, petroleum ether 5ml 첨가하여 씻어주었다.

[86] 그 결과, 도 2의 두번째 반응 후 나타낸 화합물과 같이, Filter후 건조하여 순수한 흰색 고체를 수율 85%로 얻어내었다. 이 흰색고체는 N-트라이클로로에틸옥시카보닐-L-글루탐산 락톤(N-Trichloroethyloxy carbonyl-L-glutamic acid lactone)으로, 고리화 반응이 일어나 1번탄소의 카보닐기와 2번탄소의 아미노기가 고리화 되어 보호된 화합물로 확인하였다.

[87] 또한, 생성물의 구조를 확인하기 위하여, NMR 스펙트럼 (1D 및 2D)은 $D_2O$ 에 더하여, 아세톤-$d_6$를 사용하여, JEOL JNM ECP-400 spectrometer ($^{13}C$ $^{1}H$ 및 500 MHz에 대한 500 MHz)를 이용하여 기록하였다. 이 때, 케미컬 쉬프트는 잔여 아세톤-$d_6$ (dH/dC = 2.22/21.0)을 참조하였다. HMQC 및 HMBC 실험은 $^{1}JCH$ = 140 Hz, $^{n}JCH$ = 8 Hz 조건에서 최적화 되었다.

[88] 그 결과, $^{1}H$ NMR (δppm, acetone d6) : 2.15-2.65 (m, 4H, $CH_2CH_2$) ; 4.51 (m, 1H, CH) ; 4.82-5.00 (m, 2H, $CH_2CCl_3$) ; 5.37-5.59 (m, 2H, $NCH_2O$) ; 10.32 (s, 1H, OH)와 같은 결과를 나타냄을 확인하였다.

[89]

[90] 1-3: 2-하이드라지닐페놀의 준비

[91] 2-하이드라지닐 페놀을 만들기 위하여, 2-아미노페놀을 준비하여, Round flask에 2-Aminophenol 50g (0.46mol)을 넣고 상온에서 메탄올에 완전히 녹였다. 별도의 HCl gas 투입관을 통하여 bubbling시키면서 pH를 2~5정도로 유지시키며 15시간 이상 교반을 진행하였다. (pH는 2~5 계속 유지) 질소가스로 약 30분간 purge한 후 Rotary evaporator로 농축하였더니 갈색 고체가 생성되었다. 이 고체를 EA:Hexane = 3:7 용액으로 씻어준 후 filter 하여 완전 건조시켰다. 생성된 고체(2-아미노페놀 하이드로젠 클로라이드)를 수득하였다.

[92] 그 후 상기 수득된 고체 60g (0.41mol)을 에탄올 300ml에 완전 녹인 후 온도를 -5℃로 낮추었다. Isopentyl nitrite 55.3g (0.41mol)을 에탄올에 희석하여 starting

solution에 천천히 dropping 시켜준 후 30분간 교반하였다(온도는 -5℃ 계속 유지). 다른 round flask에 Tin chloride 156.3g (0.82mol)과 PTSA 78.4g (0.41mol)을 EtOH에 녹인 후 온도를 -5℃로 낮춰놓고 반응중이던 Aminophenol mixture를 서서히 첨가하면서 교반을 1시간 이상 진행하였다. 반응이 완결되면 diethylether 500ml를 투입하여 10분간 교반 진행한 후 석출된 고체를 filter하였다. Filter된 고체를 EA 200ml, Hexane 400ml로 세척한 후 건조하여 2-Hydroxy phenyl hydrazine toluene sulfonic aicd salt를 얻었다. 본 반응의 개략도를 도 3에 나타내었다.

[93] 그 결과, 도 3의 개략도 끝에 나타낸 화합물과 같이, 2-하이드라지닐 페놀을 제조하였으며, 위 반응의 수율은 약 80% 수율임을 확인하였다.

[94] 또한, 생성물의 구조를 확인하기 위하여, NMR 스펙트럼 (1D 및 2D)은 $D_2O$ 에 더하여, 아세톤-$d_6$를 사용하여, JEOL JNM ECP-400 spectrometer ($^{13}C$ $^{1}H$ 및 500 MHz에 대한 500 MHz)를 이용하여 기록하였다. 이 때, 케미컬 쉬프트는 잔여 아세톤-$d_6$ (dH/dC = 2.22/21.0)을 참조하였다. HMQC 및 HMBC 실험은 $^{1}JCH$ = 140 Hz, $^{n}JCH$ = 8 Hz 조건에서 최적화 되었다.

[95] 그 결과, $^{1}H$ NMR (δppm, CD3OD) : 2.37 (s, 3H); 6.85 (m, 2H); 7.00 (m, 2H); 7.24 (d, J=10, 2H); 7.71 (d, J=10, 2H)와 같은 결과를 나타냄을 확인하였다.

[96]

[97] 실시예 2: 라말린의 합성

[98]

[99] 2-1: 2-하이드라지닐 페놀과 L-글루탐산 락톤의 결합반응

[100] 2-1-1: DCC 및 HOBt로 활성화된 L-글루탐산 락톤과의 결합반응

[101] 실시예 1-2의 결과물인 N-트라이클로로에틸옥시카보닐-L-글루탐산 락톤 5g (14.9mmol)을 80ml의 MC(methylene chloride)에 녹인 후 (5ml/mmol) 1.35eq DCC 4.16g, 1.5eq HOBt 3.03g을 첨가하고 magnetic bar를 이용하여 교반하였다. 다른 flask에 1.2eq의 2-Hydrazinylphenol tosyl salt(2-Hydroxyl phenyl hydrazine tosyl salt) 4.9g과 TEA 2.5ml를 MC에 넣어주고 온도를 0℃로 낮추었다. 만들어진 Hydrazine solution을 위의 Starting solution에 0℃에서 천천히 dropping 시켰다. 0℃에서 1시간 반응 후 상온으로 온도를 올려 12시간 이상 반응시켰다. TLC 를 통해 반응 완결여부를 확인하고 반응이 완결되면 반응물을 1N HCl, saturated $NaHCO_3$, brine으로 각각 3회씩 씻어내 주었다. 유기층을 분리하고 $MgSO_4$로 물을 제거하였다.

[102] 그 결과, Solvent가 제거된 crude product를 얻었다. 이는 정제과정 없이 다음 반응에 사용될 수 있다. 정제결과, 반응 수율은 약 50%정도로 확인되었다.

[103]

[104] 2-1-2: 싸이오닐 클로라이드로 활성화된 L-글루탐산 락톤과의 결합반응

[105] 50ml 플라스크에 실시예 1-2의 결과물인 N-트라이클로로에틸옥시카보닐-L-글루탐산 락톤 0.01mol을 순수한 $CCl_4$ 2ml에

녹인 후 교반하면서 0.05mol의 thionyl chloride (3.7ml)를 첨가하였다. Reflux condenser 를 설치하고 수조를 이용하여 온도를 70℃로 가열하였다. 가열이 진행되면 가스가 발생하는데 gas meter기 또는 풍선을 이용하여 가스 발생여부를 확인하였다. 더 이상 gas가 발생하지 않았을 때, 온도를 상온으로 낮추고 용매를 모두 제거하였다. 순수한 무수상태의 $CH_2Cl_2$를 첨가하여 다시 evaporation 시켜 잔존물인 HCl이나 sulfur dioxide를 제거하였다.

[106] 그 다음, 완전 건조된 100ml round flask에 활성화된 L-글루탐산 락톤(약 0.01mol)을 첨가하고 50ml $CH_2Cl_2$로 녹였다. 다른 flask에 2-Hydrazinylphenol tosyl salt (0.0095mol)과 Triethylamine (0.0095mol)을 MC에 넣어주어 완전히 녹였다. 만들어진 Hydrazine solution을 위의 starting solution에 천천히 넣어주고 pyridine (0.8mL)을 첨가하였다. 반응물을 40℃로 약 3시간 가열하고 온도를 상온으로 낮춰 약 15시간 교반을 진행하였다. 이후 증류수 15ml와 $NaHCO_3$ 포화용액 15ml로 씻어주고 다시 증류수 15ml로 2회 씻어내었다. 유기층을 $MgSO_4$로 처리하여 물을 제거하고 여과한 후 농축하여 crude product를 얻어내었다.

[107] 그 결과, crude product의 수율은 약 30%정도로 확인되었다.

[108]

[109] 2-2: 보호를 제거하여 라말린을 수득하는 반응

[110] 실시예 2-1의 생산물, 즉 Coupling 되어진 N-Benzyloxycarbonyl-L-glutamic acid lactone phenyl hydrazine 에서 보호기를 제거하여 순수한 라말린을 얻기 위하여, 790mg의(0.0018) 생산물을 100ml round flaks에 넣고 acetic acid 6ml에 녹였다. Magnetic bar로 교반하면서 물 7ml를 서서히 첨가하고 Zinc powder 1g을 첨가하였다. Zinc powder를 첨가한 시점부터 약 2분정도 반응물의 색이 투명해짐을 관측하였다. 이때 물 5ml를 천천히 첨가한 후 5분간 더 교반하였다. 5분 후 filter하여 zinc를 제거하고 MC 10ml로 2회 씻어주었다. 물층을 농축하고 reverse phase column chromatography로 정제하여 라말린(Ramalin)을 얻는다. 이상 1-1 내지 2-2에 대한 반응 방법의 개략도를 도 1 내지 도 3에 나타내었다.

[111] 이 반응에 의하여 라말린을 얻을 수 있었으며, 정제 후 수율 약 40%임을 확인하였으며, 순도는 99%정도로 확인되었다. 합성한 라말린은 고체상태에서 저온 (-24℃) 보관하였다.

[112] 생성물의 구조를 확인하기 위하여, NMR 스펙트럼 (1D 및 2D)은 $D_2O$ 에 더하여, 아세톤-$d_6$를 사용하여, JEOL JNM ECP-400 spectrometer ($^{13}C$ $^{1}H$ 및 500 MHz에 대한 500 MHz)를 이용하여 기록하였다. 이 때, 케미컬 쉬프트는 잔여 아세톤-$d_6$(dH/dC = 2.22/21.0)을 참조하였다. HMQC 및 HMBC 실험은 $^{1}JCH$ = 140 Hz, $^{n}JCH$ = 8 Hz 조건에서 최적화 되었다.

[113] 그 결과, 도 4에 나타난 바와 같이, 상기 합성된 라말린의 NMR 결과를 $^{1}H$ NMR (δppm, $CD_3OD$ d6) : 2.18 (m, 2H); 2.50 (m, 2H); 3.77 (t, J=6, 1H); 6.85 (m, 4H) 와 같이 얻었으며, 그 구조가 천연물에서 분리된 라말린과 같음을 확인하였다.

[114]

[115] 실시예 3: HPLC를 통한 라말린 안정성 증진 확인

[116]

[117] 라말린은 자체의 높은 항산화력으로 인하여 쉽게 분해되며, 상온에서 4일이내에 절반이상 사라질 정도로 불안정하므로, 본 실시예에서는 라말린을 오래 유지하기 위한 방법을 얻기 위하여, 비타민 C(L-Ascobic acid)를 1:1 (각 1000 ppm) 첨가하여 각 25℃, 38℃의 물에서 보관하여 안정성을 확인하였다.

[118] 시간 별로 10㎕ sample을 Agilent Eclipse XDB-C18 칼럼(4.6 x 150mm)을 사용하여 준 분취 역상 HPLC(semi-preparative reverse phase HPLC)로 분석하였다. 사용한 용매 시스템은 0.1% 포름산이 섞인 물(A Line)과 0.1% 포름산이 섞인 메탄올(B line)을 사용하였다. 시작은 메탄올 0%에서 5%까지 15분, 5% 에서 90% 까지 5분, 90%에서 다시 0%까지 5분, 마지막 0%에서 5분 유지하여 총 30분 분석을 진행한다. 유속은 0.7ml/분으로 하였다. 그 후, HPLC의 area값(mAU x S)으로 라말린의 양의 변화를 확인하였다.

[119] 그 결과, 도 5에 나타난 바와 같이, 아무것도 첨가하지 않은 경우, 시간에 따라 라말린이 빠른 속도로 분해됨을 확인할 수 있었다. 반면 라말린과 비타민 C(L-Ascobic acid)를 1:1 (각 1000 ppm) 첨가하여 물에서 보관한 경우, 라말린의 안정성이 유지됨을 확인할 수 있었다. 한편, 4일 이전에 모든 라말린이 사라지는, 가혹조건인 38℃에서도 어느 정도의 안정성을 확인할 수 있었다. 38℃ 조건의 경우, 비타민 C가 먼저 깨져 나가고 이후 라말린이 사라지기 시작하는데, 약 200시간 이후, 즉 비타민 C가 거의 사라진 후에도 어느 정도 안정성을 유지시켜주는 효과를 보임을 확인하였다.

[120]

[121] 실시예 4: 천연물 유래 라말린과 합성 라말린의 항산화 활성 비교

[122]

[123] 천연물에서 추출한 천연물 유래 라말린과, 합성 라말린의 항산화 활성을 비교하기 위하여, 2,2-Di(4-tert-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl(DPPH) 자유 라디컬에 대한 활성을 측정하였다. Butylated hydroxyl anisole(BHA)을 대조군으로 사용하였다. 또한 실험에 사용한 화합물의 순도는 모두 98% 이상의 상태에서 측정하였다.

[124] 구체적으로, 1.5ml 여러 농도 (0.1~ 3.0ug/ml)의 메탄올에 녹인 천연물 유래 라말린, 합성 라말린과 대조군인 BHA를 동일 용매에 녹인 0.1mM DPPH 0.5ml를 혼합하였다. 빛을 차단 시킨 상온에서 30분 동안 반응시킨 후, 흡광도 측정은 UV-visible spectrophotometer(SCINCO, 대한민국)를 이용하여 517nm에서 측정하였다. Blank는 1.5ml 메탄올에 0.1mM DPPH 0.5ml와 반응 시킨 것이다. 전자공여능력은 다음 식으로 계산하였다.

[125] electron donating abilities(DEA) % = {1-(S/B)} × 100

[126] S는 DPPH와 시료를 반응 시킨 후 흡광도 517nm에서 측정한 값, B는 DPPH와 메탄올을 반응 시킨 후 흡광도 517nm에서 측정한 값이다.

[127] 그 결과, 도 6 및 표 1에 나타난 바와 같이, 천연물 유래 라말린의 $IC_{50}$ 값이 1.22 μg/ml였고 합성한 라말린의 경우 0.96 μg/ml로 천연물에서 추출한 라말린과 합성한 라말린이 거의 동등한 뛰어난 항산화력을 보임을 확인하였다.

[128]

[129] 표 1

[Table 1]

| 화합물 | $IC_{50}$ value (μg/mL) |
|---|---|
| 합성 라말린 | 0.96 |
| 대조군 BHA(Butylated hydroxyl anisole) | 1.43 |
| 천연물 유래 라말린 | 1.22 |

[130]

[131] 이상으로 본 발명의 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

[132]

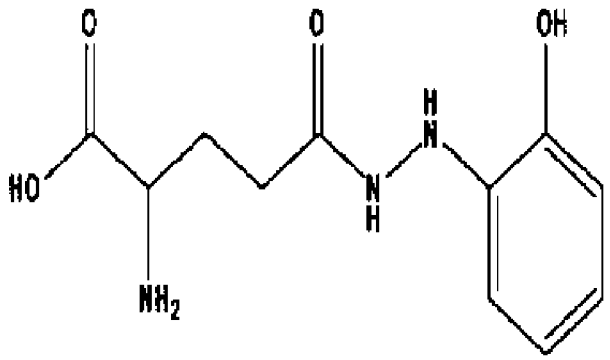
## 산업상 이용가능성

[133] 이상 설명한 바와 같이, 본 발명에 따르면, 항산화 및 항염증 효과가 뛰어난 라말린을 안정적인 수율로 합성할 수 있어, 라말린의 대량생산이 가능하다. 또한, 라말린을 장기간 안정적으로 유지할 수 있어 라말린을 산업상 이용하기 용이하다.

# 청구범위

[청구항 1] 2-하이드라지닐페놀(2-Hydrazinylphenol)과, 1번탄소의 카복실기 및 2번탄소의 아미노기가 보호된 L-글루탐산을 반응시킨 다음, 상기 보호를 제거하는 것을 특징으로 하는, 하기 화학식 1로 표시되는 라말린, 그의 염, 그의 용매화물, 또는 그의 염의 용매화물의 합성방법:

화학식 1




[청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 2-하이드라지닐페놀은 토실(Tosyl)염 형태인 것을 특징으로 하는 라말린, 그의 염, 그의 용매화물, 또는 그의 염의 용매화물의 합성방법.

[청구항 3] 제2항에 있어서, 상기 2-하이드라지닐페놀의 토실염은 다음과 같은 단계로 제조된 것임을 특징으로 하는 라말린, 그의 염, 그의 용매화물, 또는 그의 염의 용매화물의 합성방법:

(a) 2-아미노페놀을 메탄올에 녹이고 염화수소 가스를 흘려주어 2-아미노페놀 염산(HCl)염을 얻는 단계;

(b) 상기 2-아미노페놀 염산염을 에탄올에 녹이고, 이소펜틸 니트라이트(Isopentyl nitrite)를 사용하여 니트라미드(Nitramide) 형태의 중간체를 만드는 단계; 및

(c) 상기 중간체 에탄올 용액을, *p*-톨루엔설폰산(para-toluenesulfonic acid;PTSA or TsOH) 및 염화주석($SnCl_2$)이 섞인 에탄올 용액에 첨가하여 2-하이드라지닐페놀의 토실염을 얻는 단계.

[청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 1번탄소의 카복실기 및 2번탄소의 아미노기가 보호된 L-글루탐산은, 상기 카복실기와 상기 아미노기가 고리화 되어 있는 L-글루탐산 락톤인 것을 특징으로 하는, 라말린, 그의 염, 그의 용매화물, 또는 그의 염의 용매화물의 합성방법.

[청구항 5] 제4항에 있어서, 상기 L-글루탐산 락톤은 L-글루탐산을 2차

아민형태로 만든 다음, 고리화 시키는 것을 특징으로 하는, 라말린, 그의 염, 그의 용매화물, 또는 그의 염의 용매화물의 합성방법.

[청구항 6] 제5항에 있어서, 상기 2차 아민형태는 L-글루탐산에 2,2,2-트·라이클로로-에틸-클로로포름산(2,2,2-Trichloro-ethyl-chloroformate;Troc)을 첨가·반응시켜 제조한 것임을 특징으로 하는, 라말린, 그의 염, 그의 용매화물, 또는 그의 염의 용매화물의 합성방법.

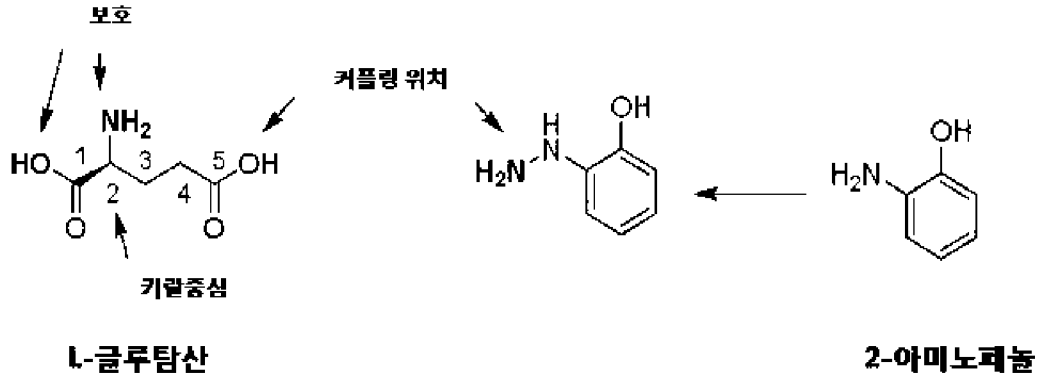
[청구항 7] 제1항 또는 제4항에 있어서, 상기 1번탄소의 카복실기 및 2번탄소의 아미노기가 보호된 L-글루탐산은 5번탄소의 카복실기가 추가로 활성화되어 있는 것임을 특징으로 하는, 라말린, 그의 염, 그의 용매화물, 또는 그의 염의 용매화물의 합성방법.

[청구항 8] 제7항에 있어서, 상기 5번탄소의 카복실기 활성화는 L-글루탐산에 디사이클로헥실카보다이이미드(Dicyclohexylcarbodiimide;DCC) 또는 1-하이드록시-벤조트라이아졸(1-Hydroxybenxotriazole;HOBt)을 반응시켜 수행되는 것을 특징으로 하는, 라말린, 그의 염, 그의 용매화물, 또는 그의 염의 용매화물의 합성방법.

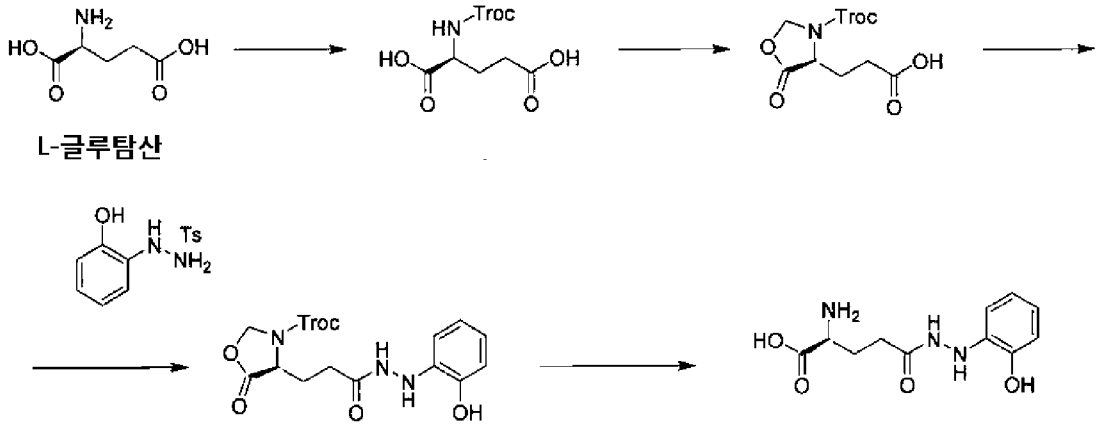
[청구항 9] 제8항에 있어서, 트라이에틸-아민(Triethyl amine;TEA)을 추가로 처리하고 반응시켜 수행되는 것을 특징으로 하는, 라말린, 그의 염, 그의 용매화물, 또는 그의 염의 용매화물의 합성방법.

[청구항 10] 라말린을 비타민 C(L-Ascorbic acid)를 함유하는 용매에 용해시켜 유지하는 것을 특징으로 하는 라말린의 분해 방지방법.

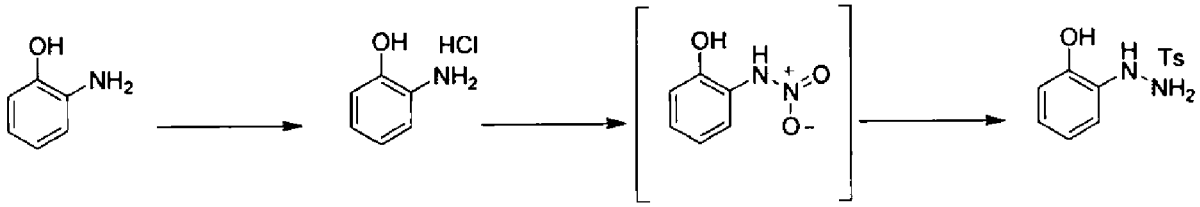
[Fig. 1]



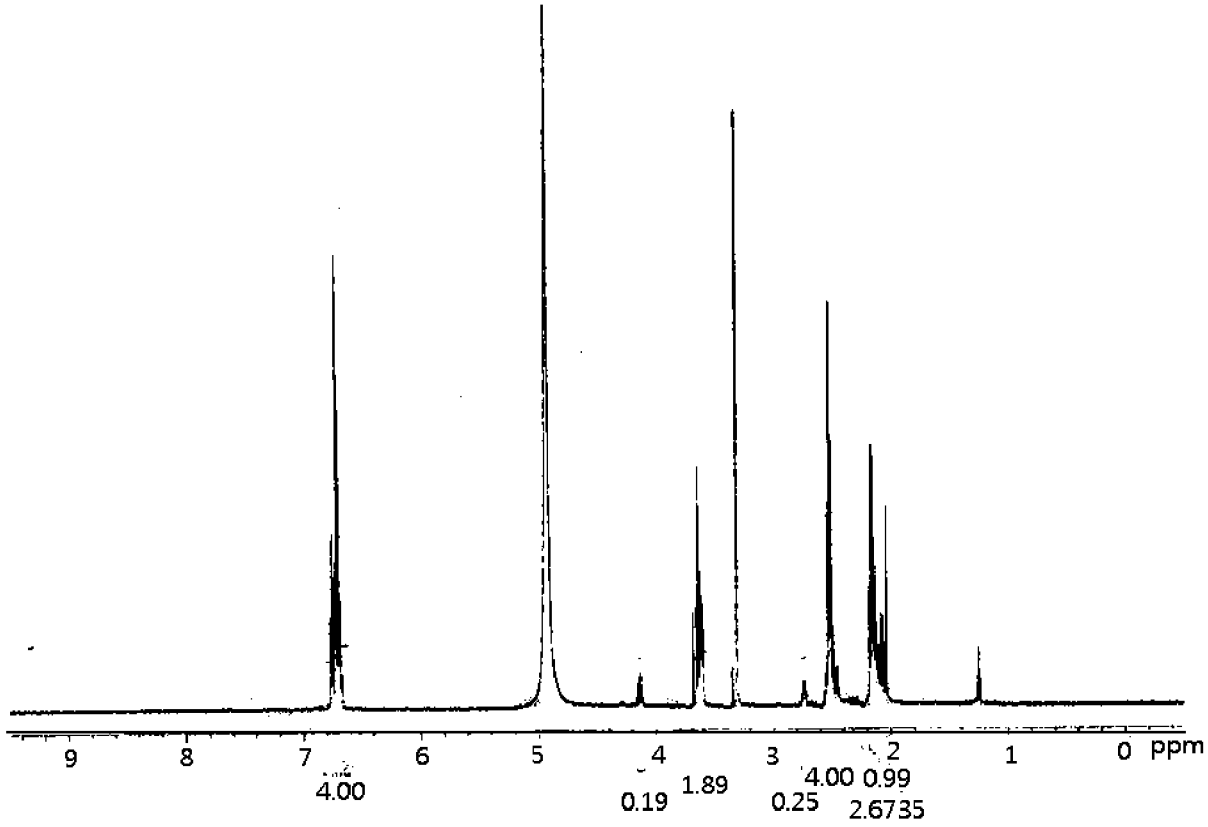

[Fig. 2]



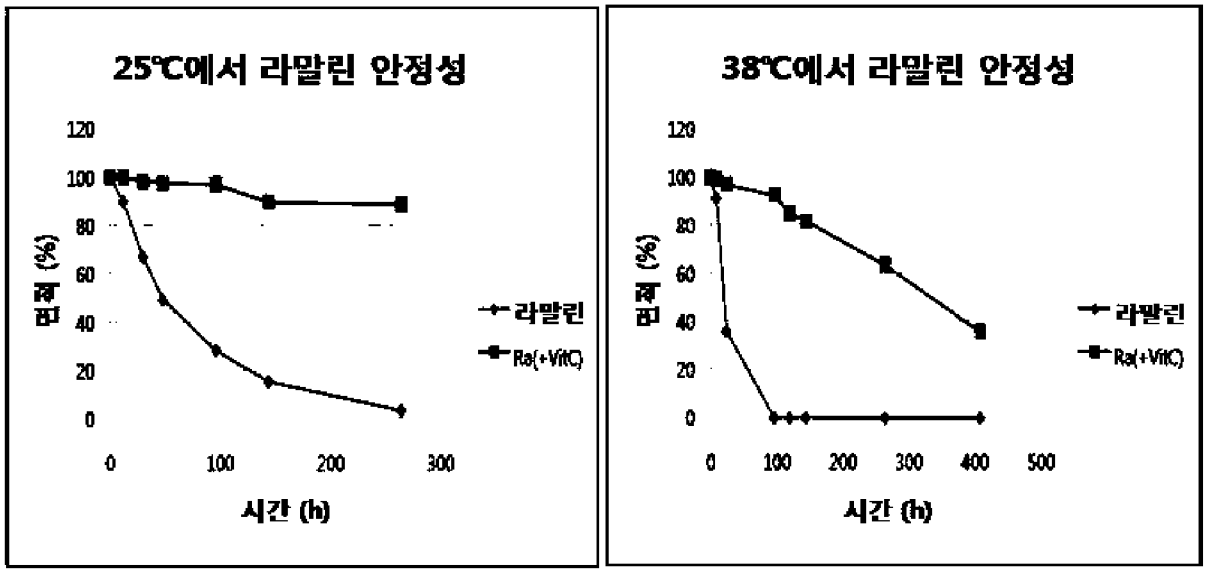

[Fig. 3]



[Fig. 4]


9
8
7
6
5
4
3
2
1
0 ppm
4.00
0.19
1.89
0.25
4.00 0.99
2.6735

[Fig. 5]


25℃에서 라말린 안정성
120
100
80
60
40
20
0
잔존율 (%)
0
100
200
300
시간 (h)
라말린
Ra(+VitC)
38℃에서 라말린 안정성
120
100
80
60
40
20
0
잔존율 (%)
0
100
200
300
400
500
시간 (h)
라말린
Ra(+VitC)