(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0149378
(43) 공개일자 2016년12월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/7028 (2006.01) *A23L 1/30* (2006.01)
A61K 31/7034 (2006.01) *A61K 36/575* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/7028 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2015-0086129
(22) 출원일자 2015년06월17일
심사청구일자 2015년06월17일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
백남인
경기도 화성시 동탄중앙로 51 629동 901호 (반송동,동탄나루마을한화꿈에그린아파트)
서경화
경상남도 통영시 산양읍 영운리 이운길 525번지
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
손민

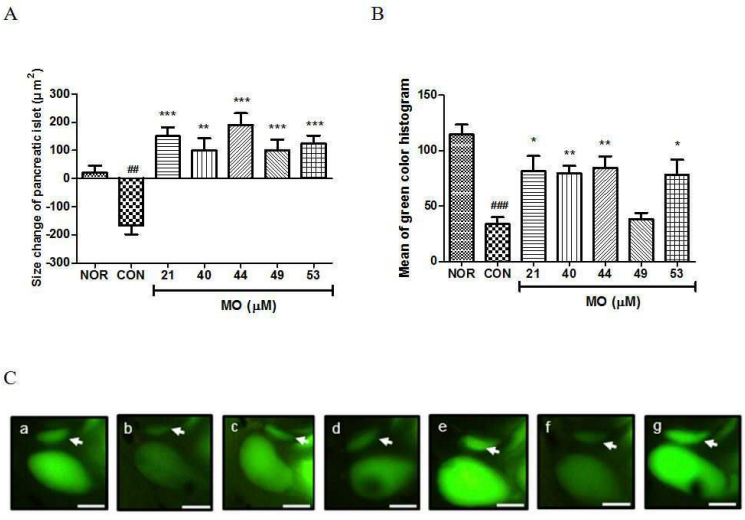
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 **페닐프로파노이드 글루코시드 화합물 및 상기 화합물을 포함하는 당뇨병 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 당뇨병 예방 또는 치료용 조성물, 건강기능식품, 및 화학식 4로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염에 관한 것이다. 본 발명에서 상기 화합물에 의해 손상된 췌장도의 크기 및 손상된 췌장도 세포 내 글루코스 흡수가 증가하는 것을 확인하였으므로, 항당뇨용 조성물 및 건강기능식품의 개발에 널리 활용될 수 있을 것이다.

대 표 도 - 도6



(52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A61K 31/7034 (2013.01)
A61K 36/575 (2013.01)
A23V 2200/328 (2013.01)
A61K 2236/33 (2013.01)
(72) 발명자
남윤희
경기도 수원시 권선구 금호로 55 1동 101호 (금곡동,장미빌라)
강동호
서울특별시 마포구 광성로6길 16 4층 (신수동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 S2091482
부처명 산업통상자원부
연구관리전문기관 중소기업청
연구사업명 중소기업기술혁신개발사업
연구과제명 산가요록 전통발효물의 Microbial Metabolomics를 이용한 기능성 화장품소재개발
기 여 율 1/1
주관기관 서울화장품
연구기간 2014.06.01 ~ 2015.05.31

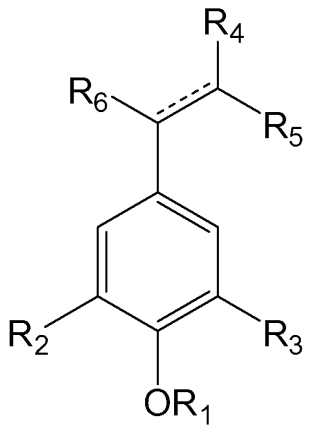
명 세 서

청구범위

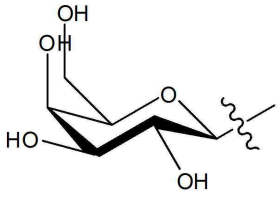
청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 당뇨병 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

[화학식 1]



상기 식에서,



R_1은 -H, -galactopyranoside 또는

R_2는 -H, -galactopyranoside 또는 $-OCH_3$,

R_3는 -H 또는 $-OCH_3$이며,

상기 ------는 단일결합 또는 이중결합이며,

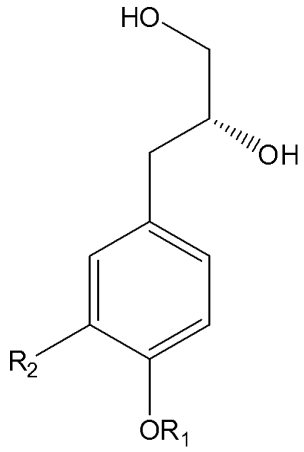
상기 ------가 단일결합일 때, R_4~R_6는 독립적으로 -OH, $-OCH_3$, -H, $-CH_2OH$ 또는 $-CH_3$이며,

상기 ------가 이중결합일 때, R_4~R_6는 독립적으로 -H 또는 $-CH_3$이다.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화학식 2로 표시되는 4-[(2S)-2,3-디히드록시프로필]페닐-1-O-β-D-갈락토피라노시드인 것인, 조성물.

[화학식 2]



상기 식에서,

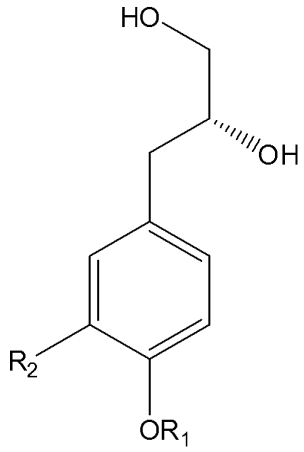
R_1은 -galactopyranoside,

R_2는 -H이다.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화학식 3으로 표시되는 4-[(2S)-2,3-디히드록시프로필]-2-히드록시페닐-2-O-β-D-갈락토피라노시드인 것인, 조성물.

[화학식 3]



상기 식에서,

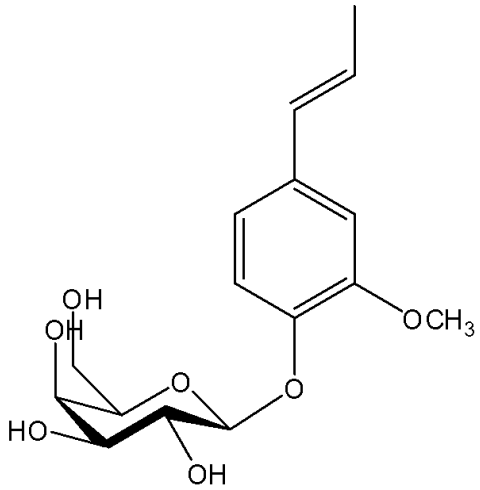
R_1은 -H,

R_2는 -galactopyranoside 이다.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화학식 4로 표시되는 4-(1E-프롭-1-에닐)-2-메톡시페닐-1-O-β-D-갈락토피라노시드인 것인, 조성물.

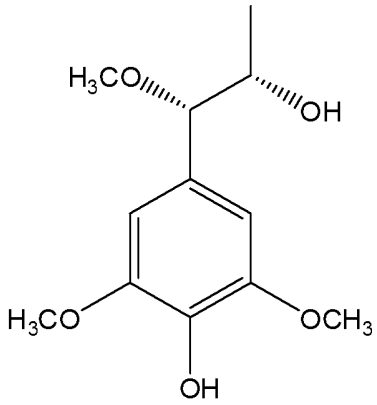
[화학식 4]



청구항 5

제1항에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화학식 5로 표시되는 파보니솔(pavonisol)인 것인, 조성물.

[화학식 5]



청구항 6

제1항에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 황목련의 추출물 또는 분획물로부터 유래된 것인, 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 추출물은 황목련을 물, 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올, 에틸아세테이트, 부탄올 및 이들의 혼합용매로 구성된 군으로부터 선택되는 용매로 추출하여 수득한 것인, 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 조성물은 손상된 췌장도의 크기를 증가시키거나, 글루코스 흡수를 증가시키는 것인, 조성물.

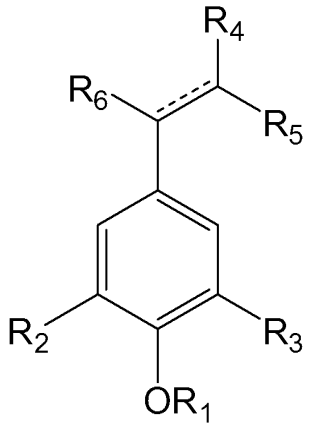
청구항 9

제1항에 있어서, 상기 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함하는 것인, 조성물.

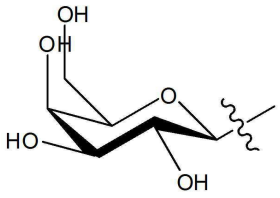
청구항 10

하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 당뇨병 예방 또는 개선용 건강기능식품.

[화학식 1]



상기 식에서,



R_1은 -H, -galactopyranoside 또는

R_2는 -H, -galactopyranoside 또는 $-OCH_3$,

R_3는 -H 또는 $-OCH_3$이며,

상기 ------는 단일결합 또는 이중결합이며,

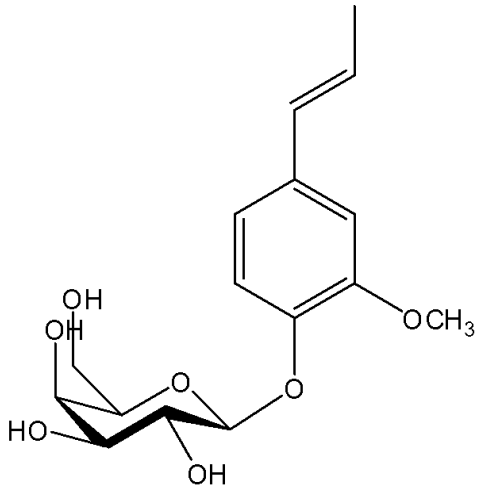
상기 ------가 단일결합일 때, R_4~R_6는 독립적으로 -OH, $-OCH_3$, -H, $-CH_2OH$ 또는 $-CH_3$이며,

상기 ------가 이중결합일 때, R_4~R_6는 독립적으로 -H 또는 $-CH_3$이다.

청구항 11

하기 화학식 4로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

[화학식 4]



발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 황목련으로부터 유래된 페닐프로파노이드 글루코시드 화합물, 상기 화합물을 포함하는 당뇨병 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 건강기능식품에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 당뇨병(糖尿病, diabetes mellitus)은 인슐린이 부족하거나 인슐린에 대한 감수성이 떨어져 탄수화물대사(carbohydrate metabolism)에 이상이 생기는 질환이다. 폴리펩티드성 호르몬인 인슐린은 췌장에 있는 랑게르한스섬의 베타세포에서 만들어지며, 신체 내의 대부분의 세포가 글루코스 즉, 포도당을 사용하는 데 필요한 물질이다. 당뇨병 환자의 경우에는 신체 세포들이 글루코스를 정상적으로 사용할 수 있는 능력에 장애가 생겨 혈당치가 증가하고 글루코스가 혈액 속에 점점 많이 쌓이게 됨에 따라 과량의 당분이 소변으로 배설되게 된다.

[0003] 미국 당뇨병 협회는 당뇨병에 대한 의학적 분류를 두 가지로 인정하고 있다: 제1형 당뇨병(인슐린-의존 당뇨병)과 제2형 당뇨병(비-인슐린-의존 당뇨병).

[0004] 제1형 당뇨병은 췌장의 랑게르한스섬의 거대 β-세포 괴사에 의해 유발되는 인슐린의 완전한 결핍이 특징이다. 상기 거대 β-세포의 괴사는 췌장이 글루코스에 반응할 수 없게 하고, 제1형 당뇨병은 인슐린 결핍의 전형적인 증상을 보여준다. 이러한 이유로 췌장에서 인슐린이 분비되지 않기 때문에 주사를 통해 인슐린을 공급해주어야 한다. 제2형 당뇨병은 상대적인 인슐린의 부족과 인슐린 저항성에 관련한 고혈당증과 관련이 있다. 대부분의 당뇨병은 제2형이다. 치료하지 않고 방치하면 당뇨병성 망막증, 신장병, 유선증, 심장혈관 합병증 및 미세혈관 합병증이 발생할 수 있다. 그러므로 인슐린제제나 저혈당 약물의 조절을 통해서 당뇨에 의한 사망을 예방하고 사망률을 줄일 수 있다.

[0006] 현재까지 당뇨병 치료제에 사용되는 물질은 인슐린 분비를 증가시키거나 인슐린에 대한 감수성을 높이는 약제들이다. 싸이아졸리딘다이온 계열(Thiazolidinedions)의 약제 중 피오글리타존(pioglitazone)과 로지글리타존(rosiglitazone)은 인슐린의 반응을 증강시키는 효과가 있고, 바이구아나이드(biguanide) 계열의 약제인 메트포민(metformin)은 인슐린 저항성을 개선시키고간에서 포도당 생합성을 줄여준다. 또한, 인슐린분비촉진제로는 췌장의 베타세포에서 인슐린분비를 자극하여 강력한 혈당감소 효과를 나타내는 썰폰요소제(sulfonylurea)와 메글리티나이드(meglitinide)계열이 있다. 그러나, 이러한 약물들은 각각의 기작에 기인한 부작용을 보이고 있다. 예를 들어, 간이나 신장, 근육 및 심장에 대한 독성과 함께 체중증가 증상 등이 대표적인 부작용이라 할 수 있

다. 따라서 부작용이 적고 체중증가 등을 유발하지 않으면서, 동시에 효과적으로 당뇨병을 치료 또는 예방할 수 있는 당뇨병 치료제에 대한 개발의 필요성이 절실이 요구되고 있다.

[0008] 현재까지 당뇨병의 완치법은 확립되어 있지 않고, 약물치료의 부작용 때문에 약물사용에 제한점이 많아 천연물로부터 당뇨병치료제를 탐색하려는 연구가 활발히 진행되고 있다. 이러한 연구의 일환으로 약용식물로부터 유래된 리그난(lignin), 플라보노이드(flavonoid), 알카로이드(alkaloid) 및 테르페노이드(terpenoid) 등을 이용하여 당뇨병의 다양한 증세를 경감시킬 수 있는지에 대해 연구가 진행되고 있다.

[0010] 이러한 배경하에서, 본 발명자들은 천연물 유래 항당뇨 효과를 가진 물질을 찾고자 예의 노력한 결과, 황목련으로부터 유래된 신규한 페닐프로파노이드 글리코시드를 분리 및 동정하였으며, 이의 항당뇨 효과를 확인하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본 발명의 하나의 목적은 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 당뇨병 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

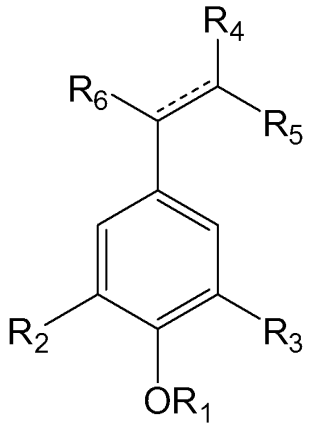
[0012] 본 발명의 다른 목적은 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 당뇨병 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 다른 목적은 화학식 4로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공하는 것이다.

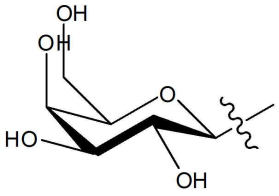
과제의 해결 수단

[0014] 상기 과제를 해결하기 위한 일 실시양태로서, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 당뇨병 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0015] [화학식 1]

[0016] 

[0017] 상기 식에서,



[0018] R_1은 -H, -galactopyranoside 또는

[0019] R_2는 -H, -galactopyranoside 또는 $-OCH_3$,

[0020] R_3는 -H 또는 $-OCH_3$이며,

[0021] 상기 ------는 단일결합 또는 이중결합이며,

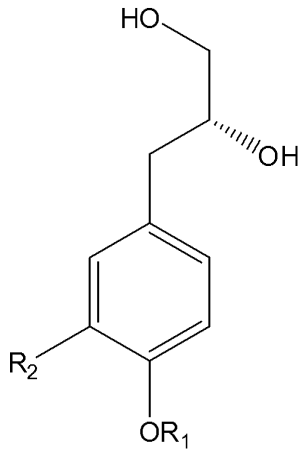
[0022] 상기 ------가 단일결합일 때, R_4~R_6는 독립적으로 -OH, $-OCH_3$, -H, $-CH_2OH$ 또는 $-CH_3$이며,

[0023] 상기 ------가 이중결합일 때, R_4~R_6는 독립적으로 -H 또는 $-CH_3$이다.

[0024] 본 발명에서 상기 "화학식1로 표시되는 화합물"은 황목련으로부터 유래되는 페닐프로파노이드 글루코시드 계열의 화합물을 의미한다.

[0025] 본 발명에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 특별히 이에 제한되지 않으나, 구체적으로 하기 화학식 2로 표시되는 4-[(2S)-2,3-디히드록시프로필]페닐-1-O-β-D-갈락토피라노시드(4-[(2S)-2,3-dihydroxypropyl]phenyl-1-O-β-D-galactopyranoside), 하기 화학식 3으로 표시되는 4-[(2S)-2,3-디히드록시프로필]-2-히드록시페닐-2-O-β-D-갈락토피라노시드(4-[(2S)-2,3-dihydroxypropyl]-2-hydroxyphenyl-2-O-β-D-galactopyranoside), 하기 화학식 4로 표시되는 4-(1E-프롭-1-에닐)-2-메톡시페닐-1-O-β-D-갈락토피라노시드(4-(1E-prop-1-enyl)-2-methoxyphenyl-1-O-β-D-galactopyranoside), 하기 화학식 5로 표시되는 파보니솔(pavonisol)이 될 수 있다.

[0026] [화학식 2]

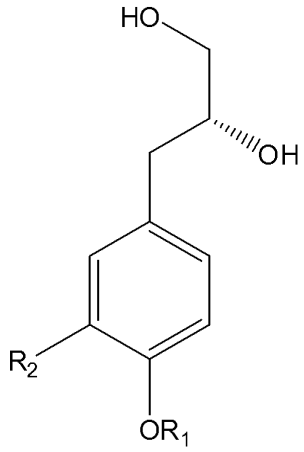
[0027] 

[0028] 상기 식에서,

[0029] R_1은 -galactopyranoside,

[0030] R_2는 -H이다.

[0031] [화학식 3]

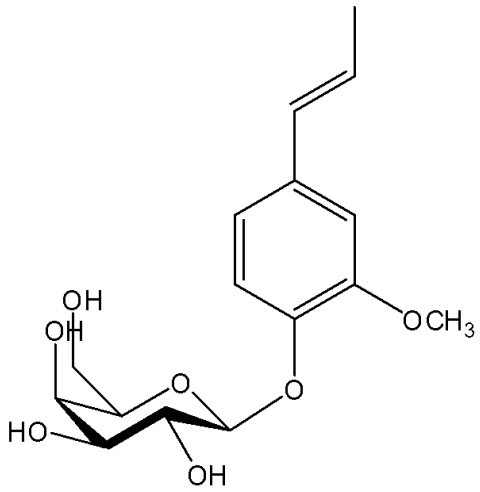
[0032] 

[0033] 상기 식에서,

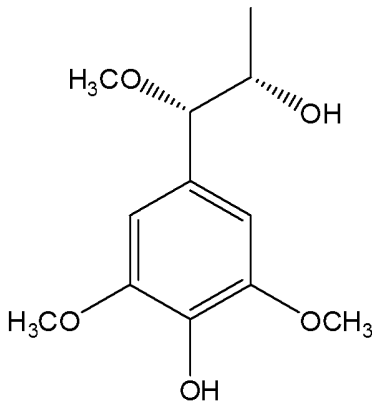
[0034] R_1은 -H,

[0035] R_2는 -galactopyranoside 이다.

[0036] [화학식 4]

[0037] 

[0038] [화학식 5]

[0039] 

[0040] 본 발명의 상기 화합물들은 황목련으로부터 유래된 것 일 수 있으며, 황목련과 같은 천연 공급원으로부터 분리할 수 있으나 이에 한정되지 않고, 당업계에 공지된 방법으로 화학적으로 합성하거나, 시판되는 물질을 사용할 수 있다.

[0041] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 황목련의 추출물 또는 분획물로부터 유래된 것일 수 있다. 이에 제한되지 않지만, 구체적으로 황목련 열매를 대상으로 물, 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올, 에틸아세테이트, 부탄올 및 이들의 혼합용매로 구성된 군으로부터 선택되는 용매, 보다 구체적으로, 메탄올을 용매로 사용하여 추출하여 수득한 결과물이 될 수 있으나, 이에 제한되지는 않고, 상기 결과물은 추출액, 추출액의 희석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 또는 이들 조정제물 또는 정제물 등을 포함한다.

[0042] 본 발명의 용어 "분획물"이란 다양한 구성성분을 포함하는 혼합물로부터 특정성분 또는 특정 그룹을 분리하는 분획방법에 의하여 얻어진 결과물을 의미한다. 본 발명에서는 구체적으로 상기 황목련의 추출물을 용매 분획법, 한외여과 분획법, 크로마토그래피 분획법 등의 다양한 방법으로 분획한 결과물이 될 수 있다.

[0043] 본 발명의 용어 "약학적으로 허용가능한 염"이란, 양이온과 음이온이 정전기적인력에 의해 결합하고 있는 물질인 염 중에서도 약제학적으로 사용될 수 있는 형태의 염을 의미하는데, 통상적으로 금속염, 유기 염기와의 염, 무기산과의 염, 유기산과의 염, 염기성 또는 산성 아미노산과의 염 등이 될 수 있다. 예를 들어, 금속염으로는 알칼리 금속염(나트륨염, 칼륨염 등), 알칼리 토금속염(칼슘염, 마그네슘염, 바륨염 등), 알루미늄염 등이 될 수 있고; 유기 염기와의 염으로는 트리에틸아민, 피리딘, 피콜린, 2,6-루티딘, 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 시클로헥실아민, 디시클로헥실아민, N,N-디벤질에틸렌디아민 등과의 염이 될 수 있으며; 무기산과의 염으로는 염산, 브롬화수소산, 질산, 황산, 인산 등과의 염이 될수 있고; 유기산과의 염으로는 포름산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 프탈산푸마르산, 옥살산, 타르타르산, 말레인산, 시트르산, 숙신산, 메탄술폰산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산 등과의 염이 될 수 있으며; 염기성 아미노산과의 염으로는 아르기닌, 라이신, 오르니틴 등과의 염이 될 수 있고; 산성 아미노산과의 염으로는 아스파르트산, 글루탐산 등과의 염이 될 수 있다.

[0044] 본 발명에서 용어 "당뇨병"이란 인슐린의 분비량이 부족하거나 인슐린의 작용 및 기능이 충분히 이루어지지 않을 때 나타나는 질병을 의미하며, 이 병에 걸릴 경우 글리코겐, 단백질 및 지방질의 과도한 분해로 간 또는 혈액 중 글루코스 농도의 비정상적인 증가를 일으켜 당뇨 및 케톤뇨를 초래하고, 수분 및 전해질 대사의 이상으로 전해질 상실에 의한 혈액 농축 상태와 함께 순환장애, 신장장애 등의 병적 상태를 가져오게 된다. 인슐린은 췌장 내에 존재하는 랑게르한스섬의 베타 세포에서 분비되고, 혈중 글루코스 농도가 증가하면 분비되며, 감소하면 분비가 억제되어 에너지원의 적절한 활동을 조절하게 된다. 이 병은 인슐린 의존형 당뇨병(I형)과 인슐린 비의존성 당뇨병(II형)으로 구분된다. 당뇨병 진단은 일반적으로 혈중 글루코스 농도 측정을 통해서 가능한데, 기준에 따라서 차이를 나타낸다. 인간에게서는 일반적으로 혈중에서 글루코스가 평소 200 mg/dl 이상, 공복시 140 mg/dl 이상일 때 당뇨병으로 진단한다. 따라서, 손상된 췌장 베타 세포를 회복시키거나 췌장도 세포 내 글루코스 흡수를 증가시켜 당뇨병을 치료 또는 예방을 할 수 있다. 본 발명자들은 본 발명의 페닐프로파노이드 글루코시드 화합물을 처리하였을 때, 손상된 췌장도의 크기 및 손상된 췌장도 세포 내 글루코스 흡수가 증가하는 것을 확인하였으므로, 상기 조성물은 인슐린 의존성 당뇨병 예방 또는 치료에 효과적으로 사용될 수 있음을 확인하였다.

[0045] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 황목련의 메탄올 추출물을 수득하고, 이의 n-부탄올 분획물을 수득한 다음, 상기 분획물을 실리카겔 칼럼 크로마토그래피, TLC, ODC 컬럼 크로마토그래피, Sephadex LH-20 컬럼 크로마토그래피 등을 조합한 방법에 적용하여 5개의 활성성분(화합물 1 내지 5)을 수득하였다(실시예 2). 상기 수득한 각 활성성분을 다양한 분석방법에 적용하여 동정한 결과, 화합물 1은 4-[(2S)-2,3-디히드록시프로필]페닐-1-O-β-D-갈락토피라노시드(4-[(2S)-2,3-dihydroxypropyl]phenyl-1-O-β-D-galactopyranoside), 화합물 2는 4-[(2S)-2,3-디히드록시프로필]-2-히드록시페닐-2-O-β-D-갈락토피라노시드(4-[(2S)-2,3-dihydroxypropyl]-2-

hydroxyphenyl-2-O-β-D-galactopyranoside), 화합물 3은 4-(1E-프롭-1-에닐)-2-메톡시페닐-1-O-β-D-갈락토피라노시드(4-(1E-prop-1-enyl)-2-methoxyphenyl-1-O-β-D-galactopyranoside), 화합물 4는 시린진(syringin), 화합물 5는 파보니솔(pavonisol)인 것으로 동정되었다(실시예 3). 상기 화합물 1 내지 5에 의해 제브라피쉬에서 손상된 췌장도 크기 및 세포 내 글루코스 흡수가 증가함을 확인하였다(실시예 4).

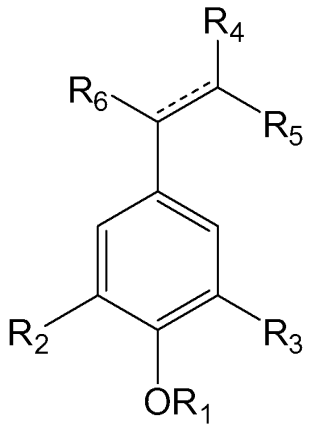
[0046] 이처럼 상기 황목련으로부터 유래된 5가지 화합물에 의해 손상된 췌장도의 크기 및 손상된 췌장도 세포 내 글루코스 흡수가 증가하는 것을 확인하였으므로, 항당뇨용 조성물의 유효성분으로 사용될 수 있음을 알 수 있었다.

[0047] 상기 본 발명의 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함하는 당뇨병의 예방 또는 치료용 약학적 조성물의 형태로 제조될 수 있다. 구체적으로, 상기 약학 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 본 발명에서, 상기 약학적 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화 할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.

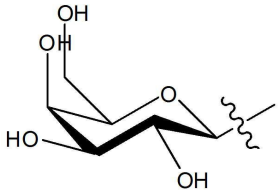
[0048] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 추출물과 이의 분획물들에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는 데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로 제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0049] 다른 양태로서, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 당뇨병 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0050] [화학식 1]

[0051] 

[0052] 상기 식에서,



[0053] R_1은 -H, -galactopyranoside 또는

[0054] R_2는 -H, -galactopyranoside 또는 $-OCH_3$,

[0055] R_3는 -H 또는 $-OCH_3$이며,

[0056] 상기 ------는 단일결합 또는 이중결합이며,

[0057] 상기 ------가 단일결합일 때, R_4~R_6는 독립적으로 -OH, $-OCH_3$, -H, $-CH_2OH$ 또는 $-CH_3$이며,

[0058] 상기 ------가 이중결합일 때, R_4~R_6는 독립적으로 -H 또는 $-CH_3$이다.

[0059] 본 발명의 상기 건강기능식품에서 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 약학적으로 허용가능한 염, 및 당뇨병에 대한 설명은 상기 설명한 바와 같다.

[0060] 상기 건강기능식품 조성물은 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합양은 사용 목적(예방, 건강 또는 위생)에 따라 적합하게 결정될 수 있다.

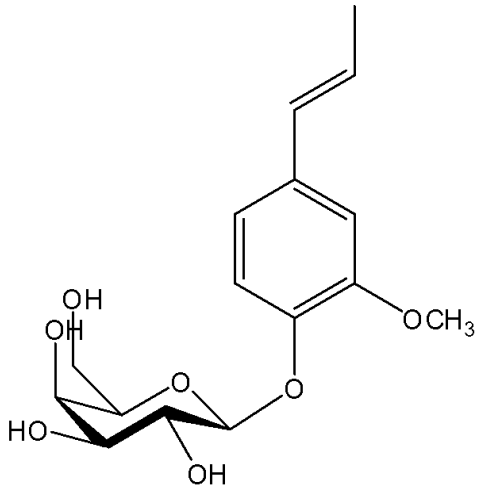
[0061] 또한, 상기 건강기능식품의 형태 및 종류에는 특별한 제한은 없으며, 건강기능식품의 형태는 정제, 캅셀, 분말, 과립, 액상 및 환 등일 수 있고, 건강기능식품의 종류는 버터, 요구르트, 치즈를 포함한 유제품, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 유산균 제제, 발효유, 빵, 쵸코렛, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있다.

[0062] 본 발명의 건강기능식품은 통상의 건강기능식품과 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스와 같은 디사카라이드, 덱스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다.

[0063] 상기한 것 외에 본 발명의 건강기능식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다.

[0064] 다른 양태로서, 본 발명은 하기 화학식 4로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0065] [화학식 4]

[0066] 

[0067] 본 발명에서 상기 화학식 4로 표시되는 화합물 및 약학적으로 허용가능한 염은 상기 설명한 바와 같다.

발명의 효과

[0068] 본 발명에서 황목련으로부터 유래된 페닐프로파노이드 글루코시드 화합물에 의해 손상된 췌장도의 크기 및 손상된 췌장도 세포 내 글루코스 흡수가 증가하는 것을 확인하였으므로, 본 발명은 항당뇨용 조성물 및 건강기능식품의 개발에 널리 활용될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

[0069] 도 1a은 화합물 1(오보바토시드 A)의 ^{1}H NMR의 분석 결과를 나타낸 그래프이고, 도 1b는 화합물 1(오보바토시드 A)의 ^{13}C NMR의 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

도 2a은 화합물 2(오보바토시드 B)의 ^{1}H NMR의 분석 결과를 나타낸 그래프이고, 도 2b는 화합물 2(오보바토시드 B)의 ^{13}C NMR의 분석 결과를 나타낸 그래프이고, 도 2c는 화합물 2(오보바토시드 B)의 gHMBC의 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

도 3a는 화합물 3(오보바토시드 C)의 ^{1}H NMR의 분석 결과를 나타낸 그래프이고, 도 3b은 화합물 3(오보바토시드 C)의 ^{13}C NMR의 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

도 4a은 화합물 4(시린진)의 ^{1}H NMR의 분석 결과를 나타낸 그래프이고, 도 4b은 화합물 4(시린진)의 ^{13}C NMR의 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

도 5a은 화합물 5(파보니솔)의 ^{1}H NMR의 분석 결과를 나타낸 그래프이고, 도 5b은 화합물 5(파보니솔)의 ^{13}C NMR의 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

도 6은 알록산에 의해 췌장도가 손상된 제브라피쉬에서 페닐프로파노이드 화합물의 항당뇨 효과를 나타낸 도이다.

도 6a는 정상그룹(NOR), 알록산으로만 처리된 그룹(CON), 화합물 1을 처리한 그룹, 화합물 4를 처리한 그룹, 화합물 3을 처리한 그룹, 화합물 2를 처리한 그룹 및 화합물 5 를 처리한 그룹의 췌장도의 크기의 변화를 나타낸 도이고,

도 6b는 정상그룹(NOR), 알록산으로만 처리된 그룹(CON), 화합물 1을 처리한 그룹, 화합물 4를 처리한 그룹, 화

합물 3을 처리한 그룹, 화합물 2를 처리한 그룹 및 화합물 5를 처리한 그룹의 제브라피쉬 췌장도에 대하여 형광 히스토그램 분석에 따른 평균 값을 나타낸 도이고,

도 6c는 (a) 정상그룹(NOR), (b) 알록산으로만 처리된 그룹(CON), (c) 화합물 1을 처리한 그룹, (d) 화합물 4를 처리한 그룹, (e) 화합물 3을 처리한 그룹, (f) 화합물 2를 처리한 그룹 및 (g) 화합물 5를 처리한 그룹의 췌장도 형광 이미지를 나타낸 도이다. ($^{\#\#}p<0.01$, $^{\#\#\#}p<0.001$; 정상그룹(NOR)과 비교됨), ($*p<0.05$, $**p<0.01$, $***p<0.001$; 알록산으로 처리한 그룹(CON)과 비교됨)

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0070] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하기로 한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다.

[0071] **실시예 1. 재료, 기기 및 시약**

[0072] **1-1. 재료**

[0073] 본 실시예에서 사용한 황목련(*Magnolia obovata*)의 열매는 2010년 9월에 한국 용인에 있는 경희대학교에서 수집하였고, 경희대의 원예생명공학과(Department of Horticultural Biotechnology) 이승우 교수를 통해 이를 동정하였다. 표본시료(KHU-NPCL-201009)는 경희대학교 천연물 화학 실험실에 보관되어 있다.

[0074] **1-2. 기기 및 시약**

[0075] 칼럼 크로마토그래피에 사용된 수지는 실리카겔(Kiesel gel 60, Merck, Darmstadt, Germany), 옥타데실 실리카겔(ODS)(LiChroprep RP-18, 40-60 ㎛, Merck) 및 세파덱스 LH-20(Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden)를 사용하였다. 박층 크로마토그래피(TLC) 분석은 Kiesel gel 60F_{254}과 RP-18 F_{254}s 플레이트(Merck)를 사용하여 수행하였고 10 % 황산용액을 뿌리고 열을 가하였고 TLC에서 모든 점(any spot)은 UV lamp Spectrolined Model ENF-240 C/F (Spectronics Corporation, Westbury, NY, USA)을 사용하여 확인하였다. ^{1}H 핵자기 공명(NMR) 스펙트럼(400 MHz)과 ^{13}C 핵자기 공명(NMR) 스펙트럼(100 MHz)은 Varian Unity Inova AS-400 FT-NMR 분광계(Palo Alto, CA, USA)에 기록하였다. ^{1}H 핵자기 공명(NMR) 스펙트럼(600 MHz)과 ^{13}C 핵자기 공명(NMR) 스펙트럼(125 MHz)은 Bruker Avance 600 MHz 분광계(Bruker, Billerica, MA, USA)에 기록하였다. 녹는점은 Fisher-John's Melting Point apparatus (Miami, FL, USA)를 현미경과 함께 사용하여 규명하였다. 선광성(optical rotation)은 JASCO P-1010 digital polarimeter(Jasco, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다. IR 스펙트럼은 Perkin Elmer Spectrum One FT-IR spectrometer(Buckinghamshire, England)를 사용하여 얻었다. HRFAB-MS와 HREI-MS는 JEOL JMSAX-700 mass spectrometer (Tokyo, Japan)에서 수행하였다.

[0076] 알록산 모노하이드레이트(Alloxan monohydrate)와 염(sea salt)은 Sigma Chemical CO.(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 이용하였다.

[0077] 또한, 2-(N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)amino)-2-deoxyglucose (2-NBDG)는 Invitrogen (Carlsbad, Eugene, OR, USA)제품을 사용하였다. 형광현미경은 Olympus 1X70 microscopy (Olympus, Tokyo, Japan)를 사용하였다. 이미지 분석을 위해서 Focus Lite (Focus Co, Daejeon, Korea)와 Image J (National Institutes of Health, Bethesda, USA)를 사용하였다.

[0078] **실시예 2. 황목련 열매의 용매 추출 및 분획**

[0079] 말린 황목련 열매(11 kg)에 80 % 메탄올(40 L x 4)을 이용하여 실온에서 24시간 동안 추출하였고 진공상태에서 여과 및 농축시켰다. 메탄올 추출물(740 g)은 순차적으로 물(3.5 L), 에틸아세테이트(3.5 L x 4), n-부탄올(3 L x 3)을 이용하여 분배 추출하였다. 각 용액층을 순차적으로 농축하여 에틸아세테이트 분획 (MOE, 238 g), *n*-부탄올 분획(MOB, 97 g) 및 물 분획(405 g)을 얻었다.

[0080] **실시예 3. 황목련 열매 분획물로부터 화합물의 분리 및 동정**

[0081] **3-1. 황목련 열매 분획물로부터 화합물의 분리**

[0082] 실시예 2의 *n*-부탄올 분획(MOB, 97 g)으로 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(Φ 8.0 x 12 cm)를 실시하였고 박층 크로마토그래피(TLC)로 모니터링하면서 클로로포름-메탄올-물(12:3:1 → 10:3:1 → 7:3:1 → 6:4:1, 각각 3 L)을 이용하여 녹여서 21개의 분획물(MOB-1에서 MOB-21)을 분리하였다.

[0083] 그 중에서 분획물 MOB-5[1.01 g, elution volume/total volume (Ve/Vt)]를 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(Φ 4.5 x 15 cm)에 적용시켰고 클로로포름-메탄올-물(20:3:1, 3.5 L)에 녹여 분리하였으며, 15개의 분획물(MOB-5-1에서 MOB-5-15)을 수득하였다. 분획물 MOB-5-6(20.8 mg, Ve/Vt 0.180-0.020)은 ODS 칼럼 크로마토그래피(Φ 1 x 8 cm)에 적용시켰고 에탄올-물(1:2, 45 mL)에 녹여 분리하였으며, 정제된 화합물 3 [MOB-5-6-5, 2.5 mg, Ve/Vt 0.410-0.500, TLC (RP-18 F_{254}s) R_f 0.50, MeOH-water (2:1)]과 함께 9개의 분획물(MOB-5-6-1에서 MOB-5-6-9)을 수득하였다.

[0084] 상기 분획물 MOB-10(5.16 g, Ve/Vt 0.151-0.216)은 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(Φ 6.5 x 14 cm)에 적용시켰고 클로로포름-메탄올-물(16:3:1 → 14:3:1 → 12:3:1 → 10:3:1 → 8:3:1 → 6:4:1, 각각 3.8 L)에 녹여 분리하였으며, 정제된 화합물 4 [MOB-10-14, 55 mg, Ve/Vt 0.147-0.155, TLC (Kiesel gel 60 F_{254}) R_f 0.47, $CHCl_3$-MeOH-water (65:35:10)]와 27개의 분획물(MOB-10-1에서 MOB-10-27)을 수득하였다. 상기 분획물 MOB-10-22(659 mg, Ve/Vt 0.612-0.742)은 ODS 칼럼 크로마토그래피(Φ 4.5 x 5 cm)에 적용시켰고 메탄올-물(1:3, 1.1 L)에 녹여 분리하였으며, 14개의 분획물(MOB-10-22-1에서 MOB-10-22-14) 및 정제된 화합물 1 [MOB-10-22-2, 187.5 mg, Ve/Vt 0.038-0.058, TLC (Kiesel gel 60 F_{254})] R_f 0.51, $CHCl_3$-MeOH-water (6:4:1)]를 수득하였다.

[0085] 상기 분획물 MOB-15(7.38 g, Ve/Vt 0.593-0.633)은 ODS 칼럼 크로마토그래피(Φ 6 x 8 cm)에 적용시켰고 메탄올-물(1:2 → 1:1, 각각 3.4 L)에 녹여 분리하였으며, 18개의 분획물(MOB-15-1에서 MOB-15-18)을 수득하였다. 분획물 MOB-15-22(555.6 mg, Ve/Vt 0.042-0.051)은 Sephadex LH-20 칼럼 크로마토그래피 (Φ 3 x 30 cm)에 적용하였고 80% 메탄올(0.7 L)에 녹여 분리하였으며 10개의 분획물(MOB-15-2-1에서 MOB-15-2-10)을 수득하였다. 분획물 MOB-15-2-2(154.8 mg, Ve/Vt 0.245-0.296)은 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(Φ 3 x 19 cm)에 적용하였고 클로로포름-메탄올-물(10:3:1, 7.5 L)에 녹여 분리하였으며, 정제된 화합물 2 [MOB-15-2-2-4, 20.7 mg, Ve/Vt 0.382-0.485, TLC (Kiesel gel 60 F_{254})] R_f 0.35, $CHCl_3$-MeOH-water (65:35:10)]과 10개의 분획물(MOB-15-2-2-1에서 MOB-15-2-2-10)을 수득하였다.

[0086] 에틸아세테이트 분획물(MOE, 238 g)은 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(Φ 12 x 15 cm)에 적용시켰고 박층 크로마토그래피(TLC)로 모니터링하면서 n-핵산-에틸아세테이트(5:1 → 2:1 → 1:2, 각각 2.8 L)에 녹여 분리하였으며, 15개의 분획물(MOE-1에서 MOE-15)을 수득하였다. 분획물 MOE-7[1.56 g, elution volume/total volume (Ve/Vt) 0.451-0.574]은 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(Φ 4.5 x 19 cm)에 적용시켰고 클로로포름-메탄올-물(20:3:1, 1.3 L)에 녹여 분리하였으며, 6개의 분획물(MOE-7-1에서 MOE-7-6)을 수득하였다. 분획물 MOE-7-2(606.8 mg, Ve/Vt 0.101-0.183)은 ODS 칼럼 크로마토그래피 (Φ 3 x 8.5 cm)에 적용하였고 메탄올-물(3:2 → 2:1, 각각 1.8 L)에 녹여 분리하였고 12개의 분획물(MOE-7-2-1에서 MOE-7-2-12)과 함께 정제된 화합물 5 [MOE-7-2-1, 7.1 mg, Ve/Vt 0.000-0.032, TLC (RP-18 F_{254}s) R_f 0.70, MeOH-water (2:1)]을 수득하였다.

[0087] **3-2. 분리된 화합물의 동정**

[0088] 황목련 열매로부터 분리 및 정제된 5종의 화합물(화합물 1 내지 5)중 3종의 신규화합물을 NMR, MS, IR 등을 통해 구조를 동정하였다.

[0089] 화합물 1은 오렌지 니들(orange needle)로 분리하였다. IR spectrum (CaF_2, ν, cm)는 히드록실 그룹(3357 cm^{-1}), CH 그룹(2918 cm^{-1}), 올레핀(olefin) 그룹(1610 cm^{-1})에 대하여 흡수 밴드를 보여주었다. 분자식은 HREIMS를 통해 *m/z* 330.1328(calcd. for $C_{15}H_{22}O_8$, 330.1315)에서 이온 피크 $[M]^+$-으로부터 $C_{15}H_{22}O_8$인 것을 규명하였다. ^1H NMR 스펙트럼(400 MHz, CD_3OD, δ)를 통하여, δ 7.15 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-2, 6), 7.01 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3, 5)에서 파라-이치환된(para-disubstituted)된 벤젠 링에 의하여 4개의 올레핀 메틴(methine) 양성자 신호를 확인하였고, δ 3.83 (1H, dddd, *J*=7.2, 6.0, 5.6, 4.4 Hz, H-8)에서 하나의 산화된 메틴 양성자 신호, δ 3.50 (1H, dd, *J*=11.2, 4.4 Hz, H-9a)와 3.43 (1H, dd, *J*=11.2, 6.0 Hz, H-9b)에서 하나의 저미날(germinal) 커플된 산화된 메틸렌 양성자 신호, δ 2.78 (1H, dd, *J*=14.0, 5.6 Hz, H-7a)와 2.65 (1H, dd, *J*=14.0, 7.2 Hz, H-7b)에서 하나의 메틸렌 양성자 신호를 확인하였다. 이들은 페닐프로파노이드(phenylpropanoid)의 일종이었다. 또한, 헤미아세탈 양성자 신호는 δ 5.22 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-1')에서, 4개의 산화된 메틴 양성자 신호는 δ 4.14 (1H, dd, *J*=2.8, 2.8 Hz, H-4'), 3.77 (1H, m, H-5'), 3.61 (1H, dd, *J*=8.8, 8.0 Hz, H-2'), 3.58 (1H, dd, *J*=8.8, 2.8 Hz, H-3')에서 관찰되었고, 하나의 산화된 메틸렌 양성자 신호는 δ 3.87 (1H, dd, *J*=12.4, 2.4 Hz, H-6'a), 3.69 (1H, dd, *J*=12.4, 5.6 Hz, H-6'b)에서 관찰되었고, 헥소스(hexose)에서 기인한 양성자 신호임을 확인하였다.

[0090] 종합하여 생각하면, 상기 데이터는 화합물 1이 페닐프로파노이드 모노글리코시드(phenylpropanoid monoglycoside)임을 알려주었다. ^{13}C-NMR 스펙트럼에서는 헥소스 신호를 포함하는 15개의 탄소 신호를 확인하였다. 각 탄소의 다중도는 DEPT 실험을 사용하여 규명하였다.

[0091] 저자장 영역의 경우, 파라-이치환된(para-disubstitued) 벤젠 링에 의하여 δ 157.7 (C-4)에서 하나의 sp^2 산화된 올레핀 4차 탄소 신호, δ 133.8 (C-1)에서 하나의 sp^2 올레핀 4차 탄소 신호 및 δ 131.2 (C-2, 6)과 117.6 (C-3, 5)에서 4개의 sp^2 올레핀 메틴 탄소 신호를 관찰하였다. 고자장 영역의 경우, δ 74.5 (C-8)에서 산화된 메틴 탄소 신호, δ 66.4 (C-9)에서 하나의 산화된 메틸렌 탄소 신호, δ 40.1 (H-7)에서 하나의 산화된 메틸렌 탄소 신호를 관찰하였다. 당은 δ 100.2 (C-1')에서 헤미아세탈 탄소 신호, δ 75.6 (C-5'), 72.9 (C-3'), 72.0 (C-2'), 68.6 (C-4')에서 4개의 산화된 메틴 탄소 신호 및 δ 62.8 (C-6')에서 하나의 산화된 메틸렌 탄소 신호를 포함한 화학적인 시프트로부터 베타-갈락토피라노스(β-galactopyranose)로 동정하였다.

[0092] 핵심 작용기 사이의 연결을 결정하기 위해서, 이종 복합적 결합 연결성(heteronuclear multiple bonding connectivity, gHMBC) 실험을 수행하였다. gHMBC 스펙트럼에서 갈락토피라노실 일종의 아노머 양성자 신호 (δ_H 5.22, H-1')와 산화된 올레핀 4차 탄소 신호 (δ_C 157.7, C-4) 사이의 교차신호는 갈락토피라노스가 C-4의 히드록실기와 연결되어 있음을 나타내었다.

[0093] 최종적으로 화합물 1의 구조는 새로운 화합물 오보바토시드 A(obovatoside A)로 명명된 4-[(2S)-2,3-dihydroxypropyl]phenyl-1-O-β-D-galactopyranoside로 동정되었다.

[0094] 화합물 1(obovatoside A) orange needles; m.p. 98-100° C; $[\alpha]_D$ -62.0° (*c* 0.11, MeOH); IR ν (KBr, cm^{-1}) 3357, 2918, 1610; HREI-MS *m/z* 330.1328 (calcd. 330.1315) $[M]^+$; ^1H NMR (CD_3OD, δ_H) 7.15 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-2, 6), 7.01 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3, 5), 5.22 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-1'), 4.14 (1H, dd, *J*=2.8, 2.8 Hz, H-4'), δ 3.87 (1H, dd, *J*=12.4, 2.4 Hz, H-6'a), 3.83 (1H, dddd, *J*=7.2, 6.0, 5.6, 4.4 Hz, H-8), 3.77 (1H, m, H-5'), 3.69 (1H, dd, *J*=12.4, 5.6 Hz, H-6'b), 3.61 (1H, dd, *J*=8.8, 8.0 Hz, H-2'), 3.58 (1H, dd, *J*=8.8, 2.8 Hz, H-3'), 3.50 (1H, dd, *J*=11.2, 4.4 Hz, H-9a), 3.43 (1H, dd, *J*=11.2, 6.0 Hz, H-9b), 2.78 (1H, dd, *J*=14.0, 5.6 Hz, H-7a), 2.65 (1H, dd, *J*=14.0, 7.2 Hz, H-7b); ^{13}C NMR (CD_3OD, δ_C) 157.7 (C-4), 133.8 (C-1), 131.2 (C-2, 6), 117.6 (C-3, 5), 100.2 (C-1'), 75.6 (C-5'), 74.5 (C-8), 72.9 (C-3'), 72.0 (C-2'), 68.6 (C-4'), 66.4 (C-9), 62.8 (C-6'), 40.1 (C-7).

[0095] 화합물 2는 엷고 노란 점성이 있는 오일로 분리하였고 히드록실 그룹(3352 cm^{-1}), CH 그룹(2923 cm^{-1}), 올레핀 그룹(1601 cm^{-1})에 대하여 흡수밴드를 확인하였다. HRFABMS를 통해 *m/z* 369.1251(calcd. for $C_{15}H_{22}O_9Na$, 369.1264)에서 유사 분자(pseudo-molecular) 이온 피크 $[M+Na]^+$는 화합물 1 보다 16 유닛(unit)이상이었다. 이는 화합물 2가 하나 이상의 히드록실 그룹을 가짐을 나타내었다. 1D와 2D의 NMR의 배치는 ^1H 및 ^{13}C NMR, DEPT, gHSQC 및 gHMBC 실험을 화합물 1의 것과 비교하여 이를 근거로 하여 만들었다. 화합물 2에서 차이는 각각 대체 아글리콘(aglycone)의 존재로 이루어진 점이다. ^1H NMR 스펙트럼(400 MHz, CD_3OD, δ)은 δ 7.09 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 6.79 (1H, dd, *J*=8.0, 2.0 Hz, H-6), 6.75 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-5)에서 1,2,4-삼치환된(trisubstituted) 벤젠 링에 의하여 세 개의 올레핀 메틴 양성자 신호를 확인하였다. 갈락토피라노실 그룹의 위치는 ^{13}C-NMR 스펙트럼 뿐만 아니라 gHMBC 실험에서 글리코시데이션(glycosidation)에 근거하여 규명하였다. 1.5 ppm 저자장와 1 ppm 고자장으로 시프트된 C-3과 C-4(δ_C 146.6, 146.7)에 대한 산화된 올레핀 4차 탄소 신호는 C-1(δ_C 133.2)에 대한 산화된 올레핀 4차 탄소 신호를 참고 문헌(Ly, T. N. et al, 2002)과 비교해서 3 ppm 고자장까지 시프트시켰다. 이는 gHMBC 스펙트럼에서 산화된 메틴 양성자 신호(δ_C 146.6)과 아노머 양성자 (δ_H 5.12, H-1') 사이의 교차 피크로부터 입증하였다. 최종적으로 화합물 2의 구조는 새로운 화합물 오보바토시드 B(obovatoside B)로 명명된 4-[(2S)-2,3-dihydroxypropyl]-2-hydroxyphenyl-2-O-β-D-galactopyranoside로 동정되었다.

[0096] 화합물 2(obovatoside B) a pale yellow viscous oil; $[\alpha]_D$ -51.8° (*c* 0.12, MeOH); IR ν (KBr, cm^{-1}) 3352, 2923, 1601; positive HRFAB-MS *m/z* 369.1251 (calcd. 369.1264) $[M+Na]^+$; ^1H NMR (CD_3OD, δ_H) 7.09 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2), 6.79 (1H, dd, *J*=8.0, 2.0 Hz, H-6), 6.75 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-5), 5.12 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-1'), 4.16 (1H, dd, *J*=2.8, 2.8 Hz, H-4'), 3.89 (1H, dd, *J*=12.0, 2.4 Hz, H-6'a), 3.84 (1H, m, H-8), 3.77 (1H, m, H-5'), 3.71 (1H, dd, *J*=12.0, 5.6 Hz, H-6'b), 3.63 (1H, dd, *J*=8.8, 8.0 Hz, H-2'), 3.61 (1H, dd, *J*=8.8, 2.8Hz, H-3'), 3.50 (1H, dd, *J*=11.2, 4.4 Hz, H-9a), 3.44 (1H, dd, *J*=11.2, 6.0 Hz, H-9b), 2.73 (1H, dd, *J*=13.6, 5.6 Hz, H-7a), 2.61 (1H, dd, *J*=13.6, 6.8 Hz, H-7b); ^{13}C NMR (CD_3OD, δ_C) 146.7 (C-4), 146.7 (C-3), 131.7 (C-1), 125.4 (C-6), 119.8 (C-2), 116.7 (C-5), 102.1 (C-1'), 75.9 (C-5'), 74.5 (C-2'), 72.8 (C-3'), 72.2 (C-8), 68.5 (C-4'), 66.5 (C-9), 62.8 (C-6'), 40.2 (C-7).

[0097] 화합물 3은 엷은 갈색 점성이 있는 오일로 분리하였다. IR 스펙트럼(CaF_2, ν, cm)은 히드록실 그룹(3383 cm^{-1}), CH 그룹(2919 cm^{-1}), 올레핀 그룹(1586 cm^{-1})에 대하여 흡수밴드를 확인하였다. 분자식은 HREIMS를 통해 *m/z* 326.1299(calcd. for $C_{16}H_{22}O_7$, 326.1365)에서 이온 피크 $[M]^+$으로부터 $C_{16}H_{22}O_7$인 것을 규명하였다. ^1H NMR spectrum(600 MHz, CD_3OD, δ)를 통하여, 1,2,4-삼치환된(trisubstituted) 벤젠 링 양성자 신호(δ_H 7.07, H-5; 6.97, H-2; 6.86, H-6)를 확인하였고, δ_H 6.34(1H, d, *J*=15.6 Hz, H-7; 6.20, 1H, dq, *J*=15.6, 6.6 Hz, H-8)에서 한 쌍의 트랜스-이중 결합 양성자 신호를 관찰하였다. 고자장영역의 경우, δ_H 3.85에서 하나의 메톡시 양성자 신호와 δ_H 1.84(3H, d, *J*=6.6 Hz, H-9)에서 알릴 메틸 양성자 신호가 페닐프로파노이드(phenylpropanoid)의 일종인 것을 확인하였다. 또한, 헤미아세탈 양성자 신호는 δ 5.21 (1H, d, *J*=8.4 Hz, H-1')에서 관찰하였고 δ 4.14 (1H, dd, *J*=3.0, 3.0 Hz, H-4'), 3.82 (1H, m, H-5'), 3.61 (1H, dd, *J*=9.6, 8.4 Hz, H-2'), 3.59 (1H, dd, *J*=9.6, 3.0 Hz, H-3')에서 4개의 산화된 메틴 양성자 신호, 그리고 δ 3.68 (1H, dd, *J*=12.0, 6.0 Hz, H-6a'), 3.61 (1H, dd, *J*=12.0, 3.6 Hz, H-6b')에서 하나의 산화된 메틸렌 양성자 신호를 관찰하였으며, 이에 의해 헥소스(hexose)에서 기인한 양성자 신호임을 확인하였다.

[0098] 종합적으로 생각하면, 상기 데이터는 화합물 3이 페닐프로파노이드 모노글리코시드(phenylpropanoid

monoglycoside)임을 시사하였다. ^{13}C-NMR 스펙트럼은 헥소스 신호를 포함하는 16개의 탄소 신호를 확인하였다. 각 탄소의 다중도는 DEPT 실험을 사용하여 규명하였다. 저자장 영역의 경우, δ_C 151.0 (C-3; 147.4, C-4)에서 두 개의 산화된 올레핀 4차 탄소 신호, δ_C 134.7 (C-1)에서 하나의 올레핀 4차 탄소 신호 및 δ_C 131.9, (C-7); 125.3 (C-8); 120.1, (C-6); 118.0 (C-5); 111.1 (C-2)에서 5개의 올레핀 메틴 탄소 신호를 관찰하였다. 고자장 영역의 경우, δ_C 56.8 (-OCH_3)에서 메톡시 탄소 신호 및 δ_C 18.6 (C-9)에서 하나의 알릴 메틸 탄소 신호를 관찰하였다. 당은 δ 100.9 (C-1')에서 헤미아세탈 탄소 신호, δ 76.0 (C-5'), 73.0 (C-3'), 72.3 (C-2'), 68.8 (C-4')에서 4개의 산화된 메틴 탄소 신호 및 δ 63.0 (C-6')에서 하나의 산화된 메틸렌 탄소 신호를 포함하는 화학적인 시프트로부터 β-갈락토피라노스로 동정하였다. gHMBC 스펙트럼에서 갈락토피라노실 일종 δ_H 5.21 (H-1')의 아노머 양성자 신호와 δ_C 147.4 (C-4)에서 산화된 올레핀 4차 탄소 신호사이의 교차 피크는 갈락토피라노스가 C-4의 히드록실기와 연결되어 있음을 의미하였고, 메톡시 양성자 신호(δ_H 3.85, -OCH_3) 및 산화된 올레핀 4차 탄소 신호(δ_C 151.0, C-3)는 C-3의 히드록실기와 연결되어 있음을 의미하였다. 결과적으로 화합물 3은 새로운 화합물 오보바토시드 C(obovatoside C)로 명명된 4-(1E-prop-1-enyl)-2-methoxyphenyl-1-O-β-D-galactopyranoside로 동정되었다.

[0099] 화합물 3(obovatoside C) a pale brown viscous oil; IR ν(KBr, cm^{-1}) 3383, 2919, 1568; HREI-MS *m/z* 326.1299 (calcd. 326.1365) $[M]^+$; ^{1}H NMR (600 MHz, CD_3OD, δ_H) 7.07 (1H, d, *J*=8.4 Hz, H-5), 6.97 (1H, d, *J*=1.8 Hz, H-2), 6.86 (1H, dd, *J*=8.4, 1.8 Hz, H-6), 6.34 (1H, d, *J*=15.6 Hz, H-7), 6.20 (1H, dq, *J*=15.6, 6.6 Hz, H-8), 5.21 (1H, d, *J*=8.4 Hz, H-1'), 4.14 (1H, dd, *J*=3.0, 3.0 Hz, H-4'), 3.85 (3H, s, -OCH_3), 3.82 (1H, m, H-5'), 3.68 (1H, dd, *J*=12.0, 6.0 Hz, H-6'a), 3.61 (1H, dd, *J*=9.6, 8.4 Hz, H-2'), 3.61 (1H, dd, *J*=12.0, 3.6 Hz, H-6'b), 3.59 (1H, dd, *J*=9.6, 3.0 Hz, H-3'), 1.84 (3H, d, *J*=6.6 Hz, H-9); ^{13}C NMR (125 MHZ, CD_3OD, δ_C) 151.0 (C-3), 147.4 (C-4), 134.7 (C-1), 131.9 (C-7), 125.3 (C-8), 120.1 (C-6), 118.0 (C-5), 111.1 (C-2), 100.9 (C-1'), 76.0 (C-5'), 73.0 (C-3'), 72.3 (C-2'), 68.8 (C-4'), 63.0 (C-6'), 56.8 (-OCH_3), 18.6 (C-9).

[0100] 상기 실시예 3-1에서 분리된 나머지 화합물 4 및 5 는 기존의 알려진 시린진(syringin), 파보니솔(pavonisol)임을 확인하였다.

[0101] **실시예 4. 제브라피쉬 췌장도(pancreatic islet) 변화 측정**

[0102] **4-1. 제브라피쉬(Zebrafish) 사육**

[0103] 성체 제브라피쉬는 제브라피쉬 시스템 S 타입[1500(W)*400(D)*2050(H)* mm](대전, 한국)에서 유지하였고 28.5 ℃에서 14시간 동안 빛, 10시간 동안 암흑상태를 반복하였다. 제브라피쉬 치어(larvae)를 얻기 위해, 성체 제브라피쉬 두 쌍을 밤새도록 산란상자에 두었다. 다음 날, 제브라피쉬는 30분의 빛을 주는 동안 알을 낳기 시작하였다. 이후, 제브라피쉬 치어의 배양을 위해서, 수정 후 3시간째 제브라피쉬 치어를 수집하였고, 14:10의 빛과 암흑의 광주기로 28.5 ℃의 인큐베이터에서 이들을 0.03 % 염(sea salt)을 함유하는 용액에서 유지시켰다.

[0104] **4-2. 제브라피쉬 췌장도 변화 실험 및 측정 방법**

[0105] 제브라피쉬 치어는 7개의 그룹으로 나누었다; 제브라피쉬 치어 정상 그룹, 알록산으로 유도된 그룹(대조군) 및 알록산으로 유도된 제브라피쉬 치어에 화합물 1-5를 처리한 그룹. 수정 후 5일이 된 자연상태(Wild-type) 제브라피쉬 치어를 96-웰 플레이트에 두었다. 치어는 12시간 동안 25 uM 2-NBDG에 노출시켰고 10분 동안 이를 씻어내었다. 췌장도 손상을 유발시키기 위해, 15분 동안 100 uM의 농도로 알록산을 사용하였다. 알록산 처리 후 4시

간 40분 후에, 치어를 25 uM 2-NBDG로 1시간 동안 염색하였고 96-웰 플레이트에 두고 형광 현미경으로 관찰하였다. 화합물의 효용성을 규명하기 위해서, 알록산으로 유도된 치어에 1시간 동안 10 uM 화합물들을 처리하였다. 그리고 나서 치어를 25 uM 2-NBDG을 사용하여 1시간 동안 재염색하였고 광학현미경으로 관찰하였다. 모든 관찰한 이미지에서 Focus Lite 및 Image J software를 사용하여 형광강도에 대한 췌장도의 크기 및 히스토그램을 분석하였다.

[0106] **4-3. 통계분석**

[0107] 통계 분석은 Graphpad Prism(version 5)를 사용하여 수행하였다. 데이터는 평균의 표준 오차(standard error of mean; SEM)를 평균로써 표현하였다. 유효성은 Tukey뭩 test과 one-way ANOVA를 사용하여 확인하였다. 통계적 유효성에 대한 가능성 수준은 $P < 0.05$이었다.

[0108] **4-4. 제브라피쉬 췌장도(pancreatic islet) 크기 변화 측정 결과**

[0109] 화합물 1-5의 항당뇨 효과를 확인하기 위해 도 6에 나타난 제브라피쉬 췌장도의 크기 변화를 측정하여 분석하였다.

[0110] 췌장도가 손상된 제브라피쉬를 만들기 위하여, 알록산을 사용하였다. 알록산을 처리하였을 때, 췌장도의 크기는 알록산을 처리하지 않은 그룹과 비교하여 7.88배(p<0.01)까지 상당히 감소하였다. 화합물 1-5의 효능을 평가하기 위해, 췌장도가 손상된 제브라피쉬에 상기 화합물들을 처리 후 변화를 조사하였다. 화합물 1을 처리한 그룹의 손상받은 췌장도는 알록산으로 췌장도 손상을 유발한 그룹과 비교하여 약 0.90배(p<0.001)까지 증가하였다. 화합물 2-5를 처리한 그룹은 알록산으로 췌장도 손상을 유발한 그룹과 비교하여 췌장도의 크기가 각각 0.60배(p<0.001), 1.14배(p<0.001), 0.60배(p<0.01) 및 0.74배(p<0.001)까지 증가하였다(도 6의 A, C).

[0111] 따라서, 알록산에 의해 감소된 췌장도 크기가 상기 화합물 1-5에 의해 증가됨을 확인하였다.

[0112] **실시예 4-5. 제브라피쉬 췌장도 세포 내 글루코스 흡수능력 분석 결과**

[0113] 다음으로 세포 내 글루코스 흡수능력을 분석하기 위해 형광 염색 강도를 측정하여 형광 염색 강도 변화를 분석하였다. 췌장도의 형광 강도를 조사하기 위하여, 형광이 나타내고 있는 픽셀 강도(초록색) 0에서 255까지에 대하여 Image J 소프트웨어의 히스토그램을 사용하였다.

[0114] 알록산을 처리한 그룹의 형광 강도(픽셀의 평균(mean)=33.70)는 알록산의 처리하지 않은 그룹(픽셀의 평균=114.38)에 비하여 상당히 감소하였다(p<0.001). 하지만, 화합물 1(픽셀의 평균=81.28, p<0.05), 화합물 4(픽셀의 평균=79.71, p<0.01), 화합물 3(픽셀의 평균=84.42, p<0.01) 및 화합물 5(픽셀의 평균 78.09, p<0.05)를 처리한 그룹은 알록산을 처리한 그룹과 비교하여 형광강도가 증가하였다. 그러나 화합물 2를 처리한 그룹(픽셀의 평균=38.48)은 알록산을 처리한 다음 췌장도의 형광 강도가 증가하지 않았다(도 6의 B, C). 이러한 결과를 통해 췌장도 세포 내 글루코스 흡수능력이 상기 화합물 1, 3, 4 및 5에 의해 증가됨을 알 수 있었다.

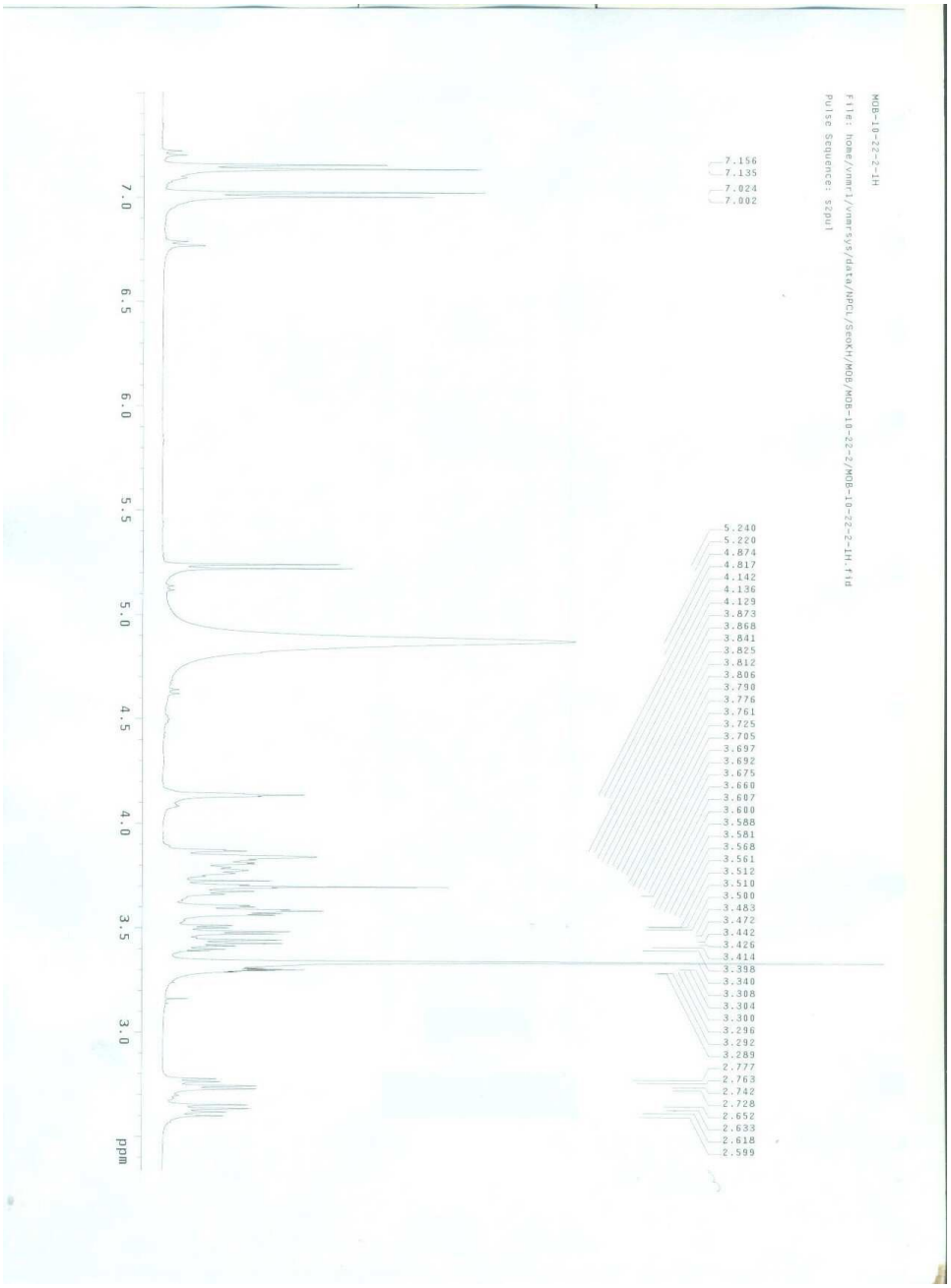
[0115] 따라서, 본 발명에서는 제브라피쉬에서 알록산으로 인한 췌장도 손상에 대한 보호제로써 상기 화합물들이 사용될 수 있음을 확인하였다.

[0116] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시 예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는

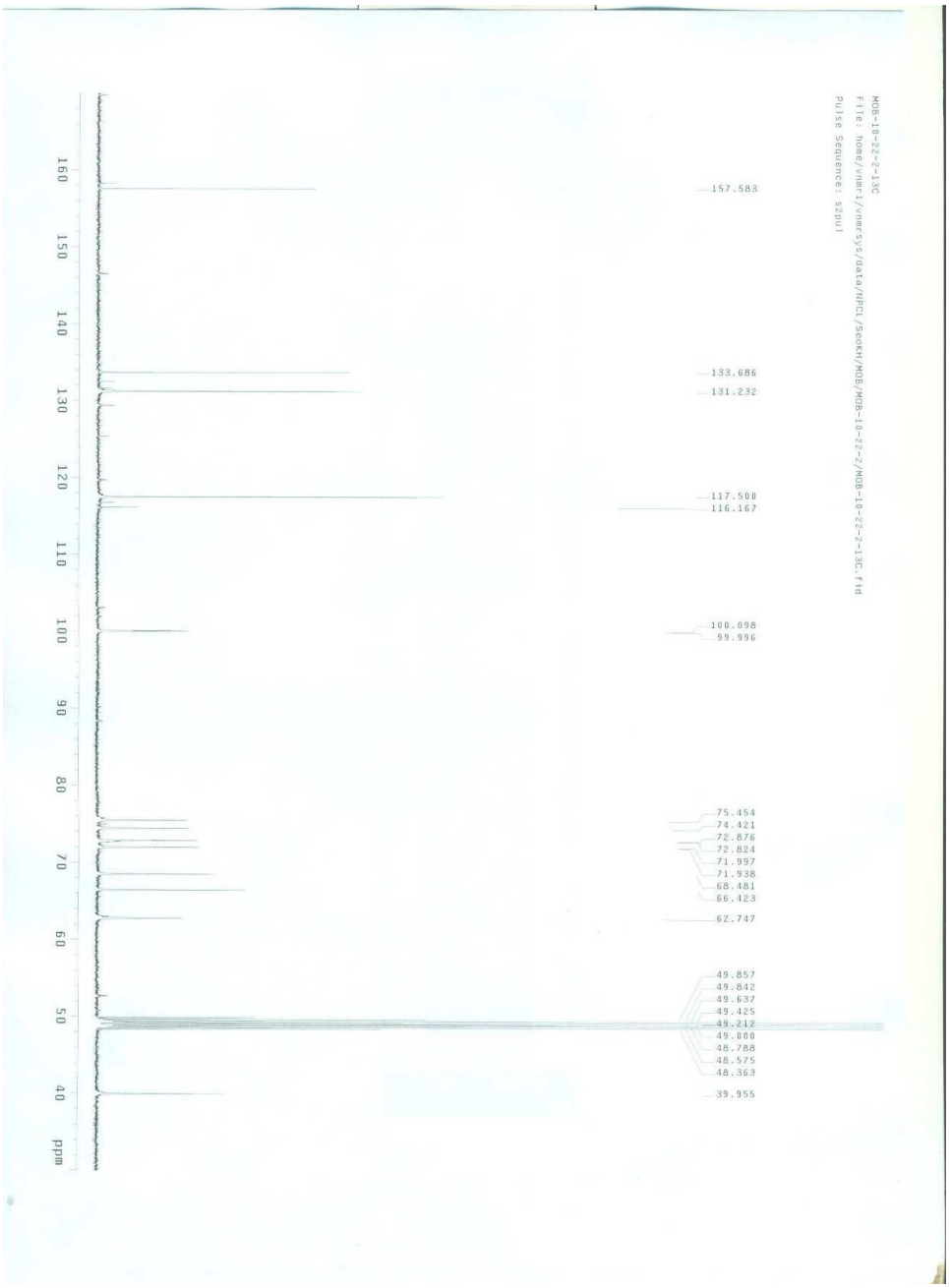
모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

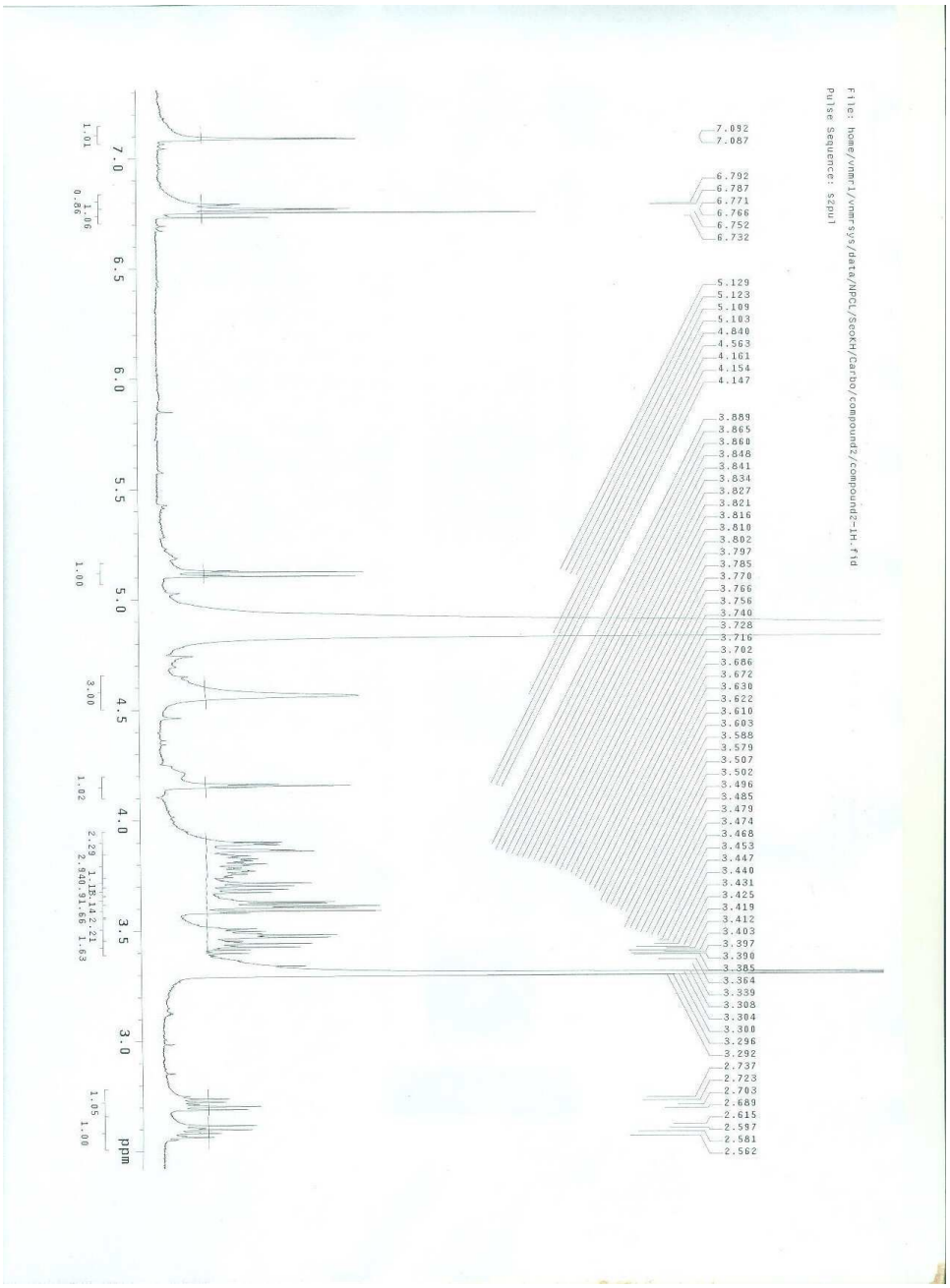
도면1a



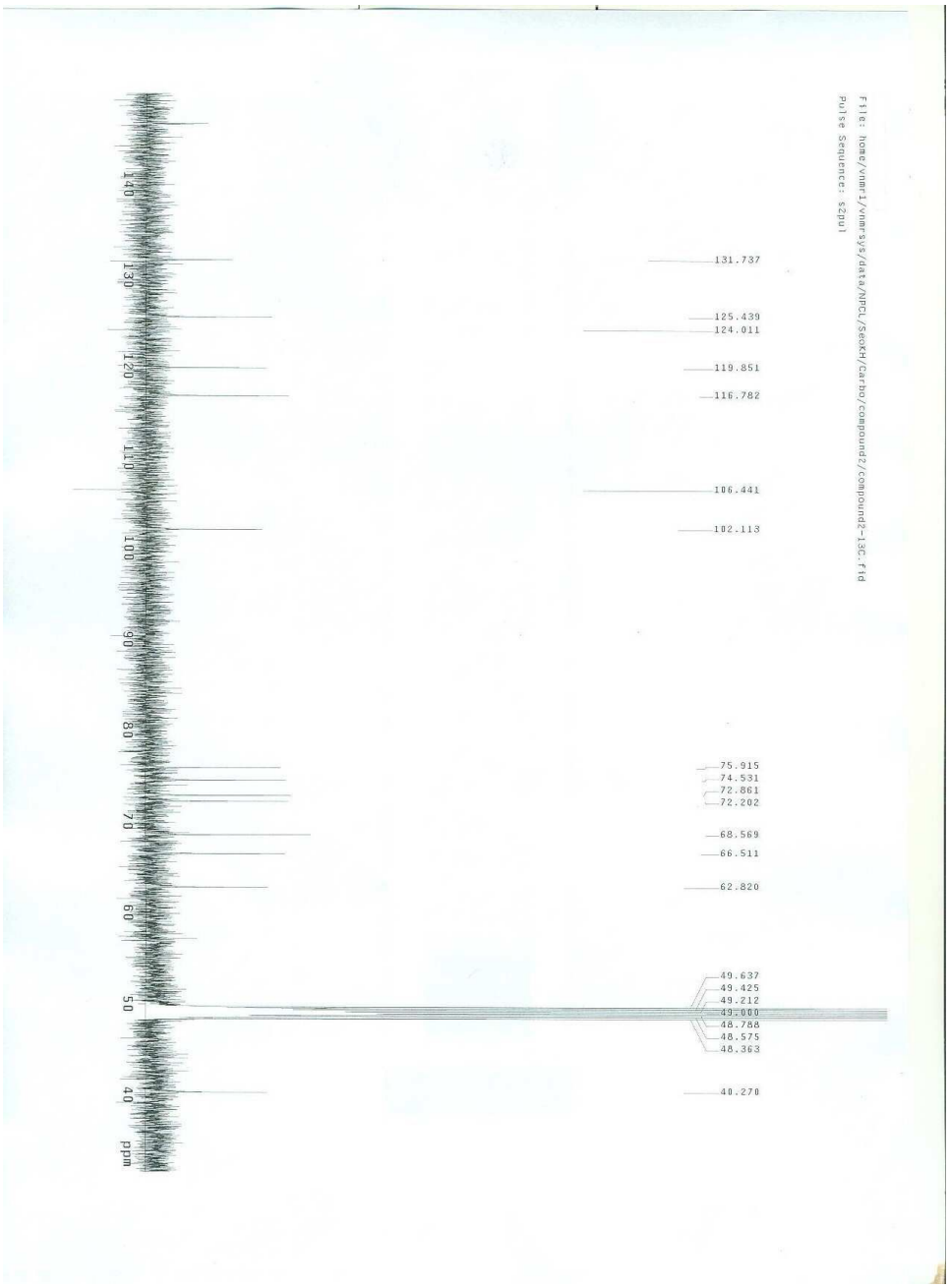
도면1b


MOB-10-22-13C
File: home/vnmrsys/data/NPCL/SeoKH/MOB/MOB-10-22-2/MOB-10-22-2-13C.fid
Pulse Sequence: s2pul
157.583
133.686
131.232
117.500
116.167
100.098
99.996
75.454
74.421
72.876
72.824
71.997
71.938
68.481
66.423
62.747
49.857
49.842
49.637
49.425
49.212
49.000
48.788
48.575
48.363
39.955
160
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
ppm

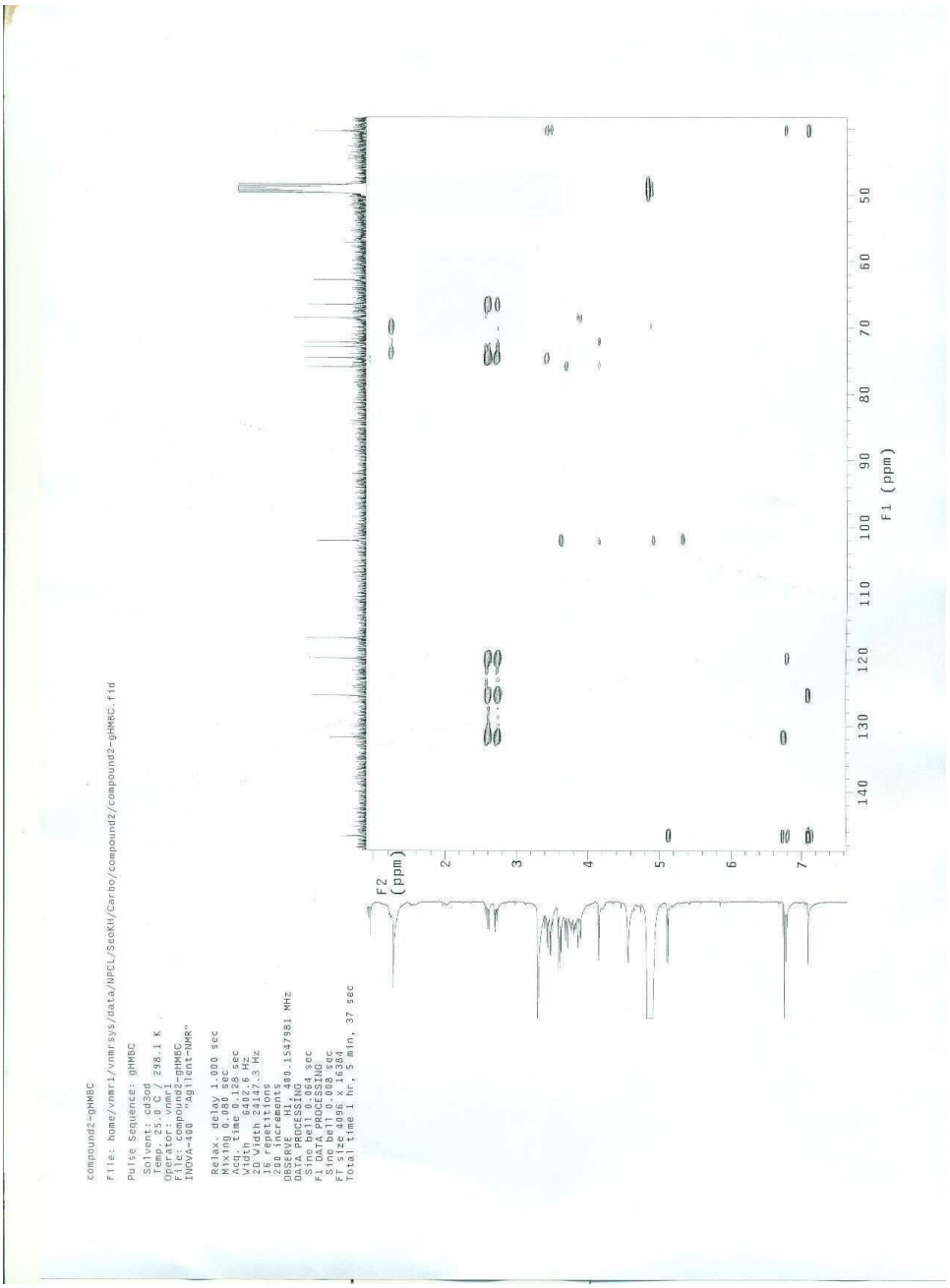
도면2a


File: home/nmr1/vnmrsys/data/NPCL/SeoKH/Carbo/compound2/compound2-1H.fid
Pulse Sequence: s2pul
7.092
7.087
6.792
6.787
6.771
6.766
6.752
6.732
5.129
5.123
5.109
5.103
4.840
4.563
4.161
4.154
4.147
3.889
3.865
3.860
3.848
3.841
3.834
3.827
3.821
3.816
3.810
3.802
3.797
3.785
3.770
3.766
3.756
3.740
3.728
3.716
3.702
3.686
3.672
3.630
3.622
3.610
3.603
3.588
3.579
3.507
3.502
3.496
3.485
3.479
3.474
3.468
3.453
3.447
3.440
3.431
3.425
3.419
3.412
3.403
3.397
3.390
3.385
3.364
3.339
3.308
3.304
3.300
3.296
3.292
2.737
2.723
2.703
2.689
2.615
2.597
2.581
2.562
ppm

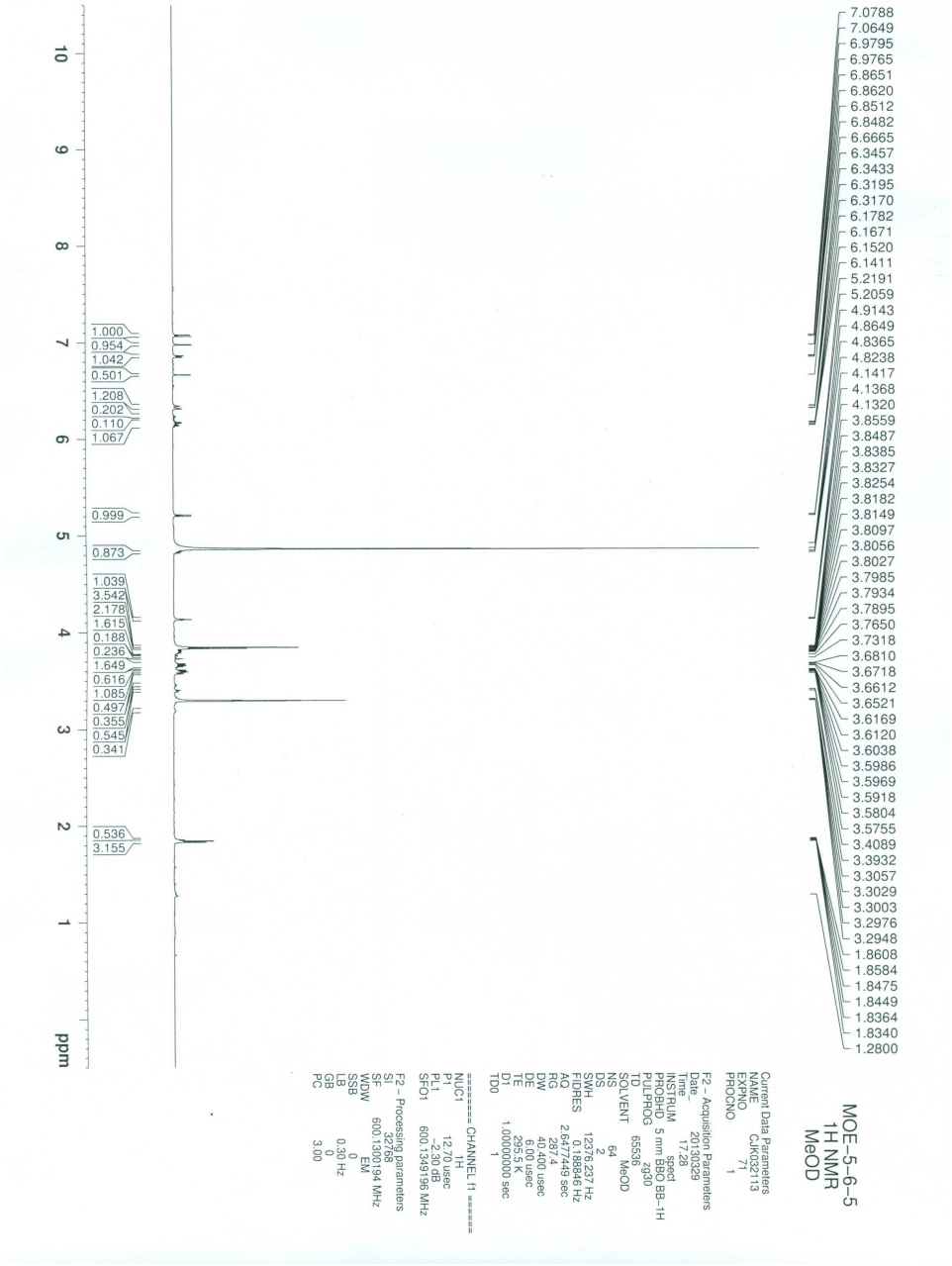
도면2b


File: home/vnmr1/vnmrsys/data/NPCL/SeoKH/Carbo/compound2/compound2-13C.fid
Pulse Sequence: s2pul
131.737
125.439
124.011
119.851
116.782
106.441
102.113
75.915
74.531
72.861
72.202
68.569
66.511
62.820
49.637
49.425
49.212
49.000
48.788
48.575
48.363
40.270
ppm

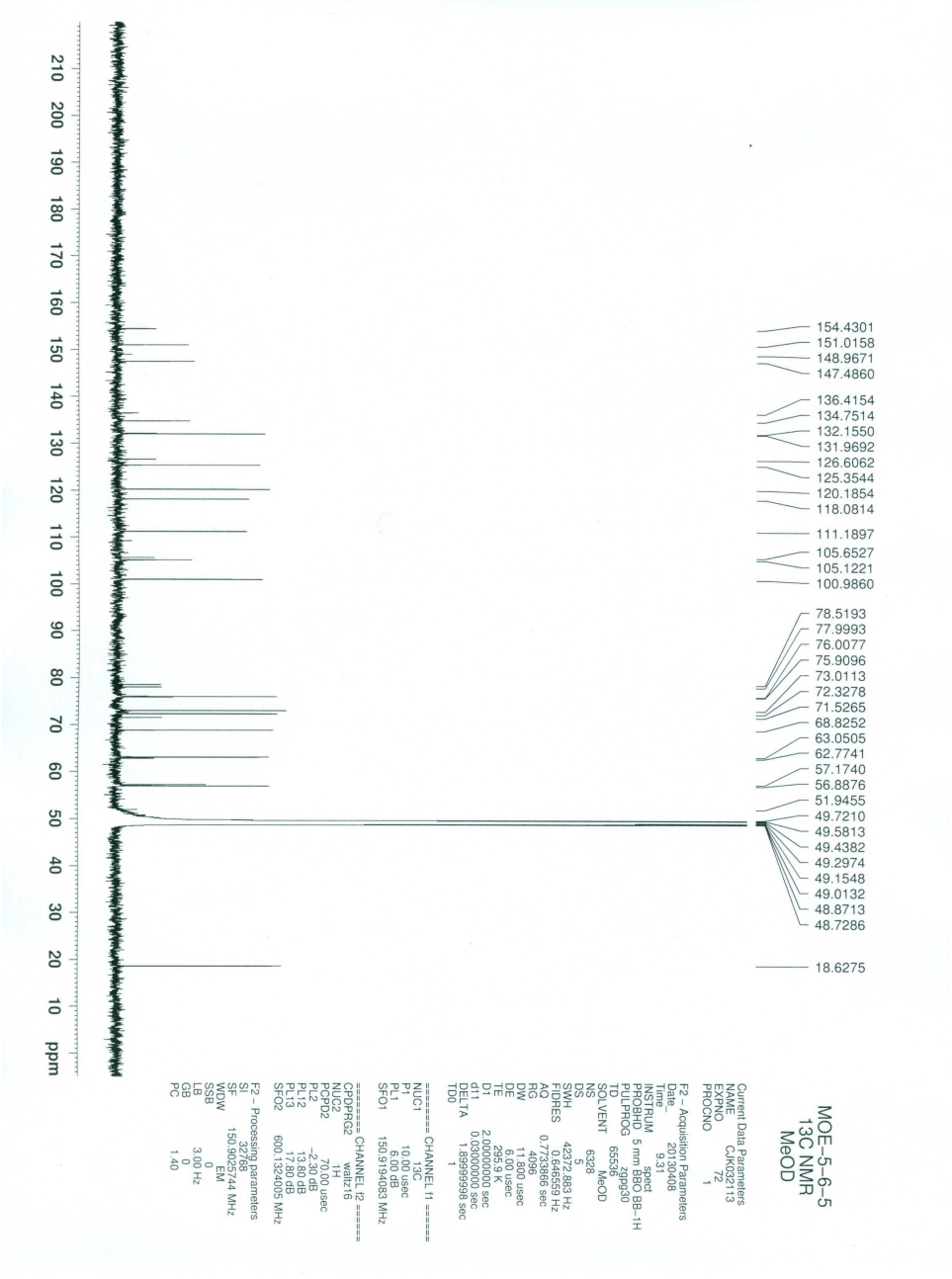
도면2c


compound2-gHMBC
File: home/vnmrs1/vnmrsys/data/NPCL/SeokHy/Carbo/Compound2/compound2-gHMBC.fid
Pulse Sequence: gHMBC
Solvent: cd3od
Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: vnmr1
File: compound2-gHMBC
INOVA-400 "agilent-NMR"
Relax. delay 1.000 sec
Mixing 0.080 sec
Acq. time 0.128 sec
Width 4412.5 Hz
2D Width 24147.3 Hz
16 repetitions
256 increments
OBSERVE H1, 400.1547981 MHz
DATA PROCESSING
Sine Bell 0.064 sec
F1 DATA PROCESSING
Sine Bell 0.064 sec
FT size 4096 x 16384
Total time 1 hr, 5 min, 37 sec
F2 (ppm)
F1 (ppm)

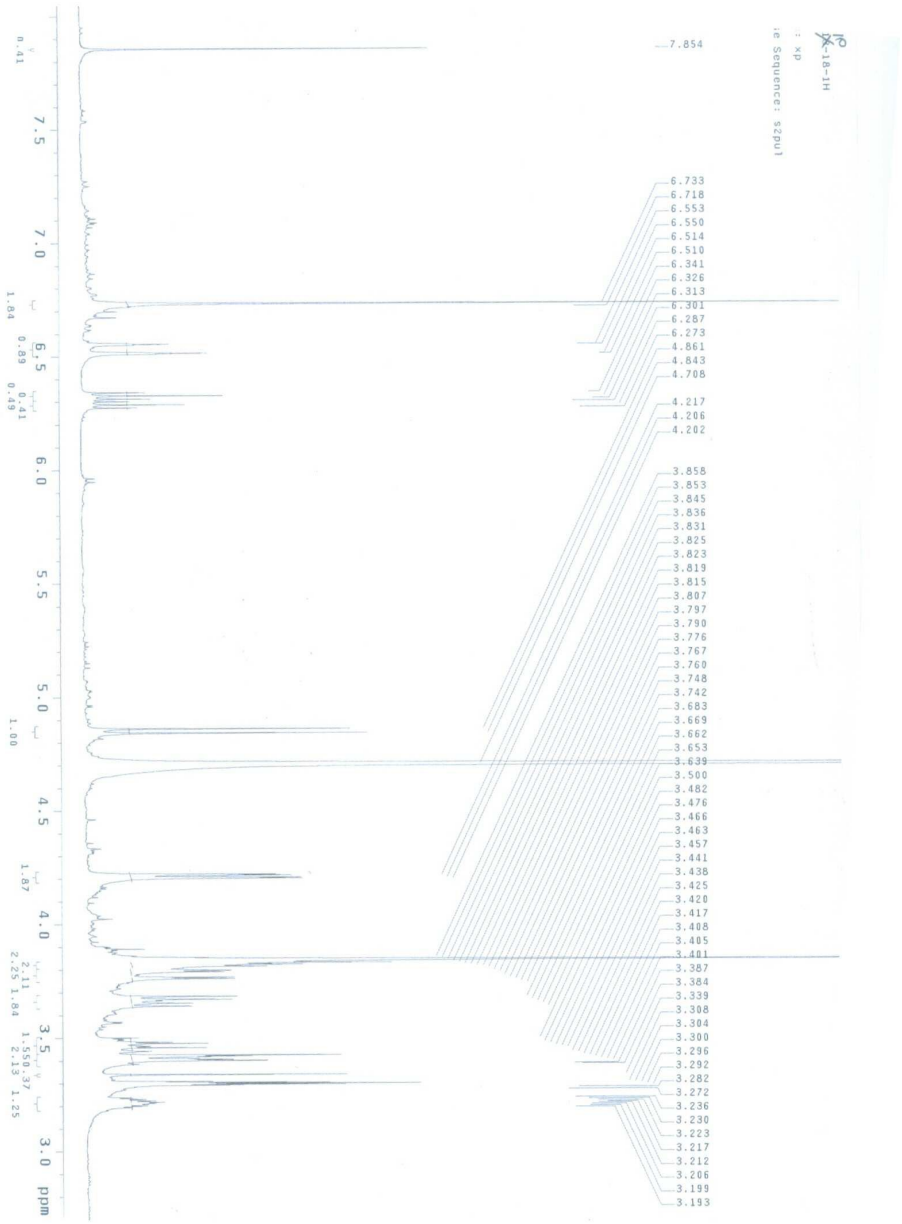
도면3a


MOE-5-6-5
1H NMR
MeOD
Current Data Parameters
NAME CJK032113
EXPNO 71
PROCNO 1
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20130329
Time 17.28
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBO BB-1H
PULPROG zg30
TD 65536
SOLVENT MeOD
NS 64
DS 2
SWH 12376.237 Hz
FIDRES 0.188846 Hz
AQ 2.6477449 sec
RG 40.400
DW 40.400 usec
DE 6.00 usec
TE 295.5 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1
======== CHANNEL f1 ========
NUC1 1H
P1 12.70 usec
PL1 -2.30 dB
SFO1 600.1349196 MHz
F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 600.1300194 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 3.00
7.0788
7.0649
6.9795
6.9765
6.8651
6.8620
6.8512
6.8482
6.6665
6.3457
6.3433
6.3195
6.3170
6.1782
6.1671
6.1520
6.1411
5.2191
5.2059
4.9143
4.8649
4.8365
4.8238
4.1417
4.1368
4.1320
3.8559
3.8487
3.8385
3.8327
3.8254
3.8182
3.8149
3.8097
3.8056
3.8027
3.7985
3.7934
3.7895
3.7650
3.7318
3.6810
3.6718
3.6612
3.6521
3.6169
3.6120
3.6038
3.5986
3.5969
3.5918
3.5804
3.5755
3.4089
3.3932
3.3057
3.3029
3.3003
3.2976
3.2948
1.8608
1.8584
1.8475
1.8449
1.8364
1.8340
1.2800
1.000
0.954
1.042
0.501
1.208
0.202
0.110
1.067
0.999
0.873
1.039
3.542
2.178
1.615
0.188
0.236
1.649
0.616
1.085
0.497
0.355
0.545
0.341
0.536
3.155
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
ppm

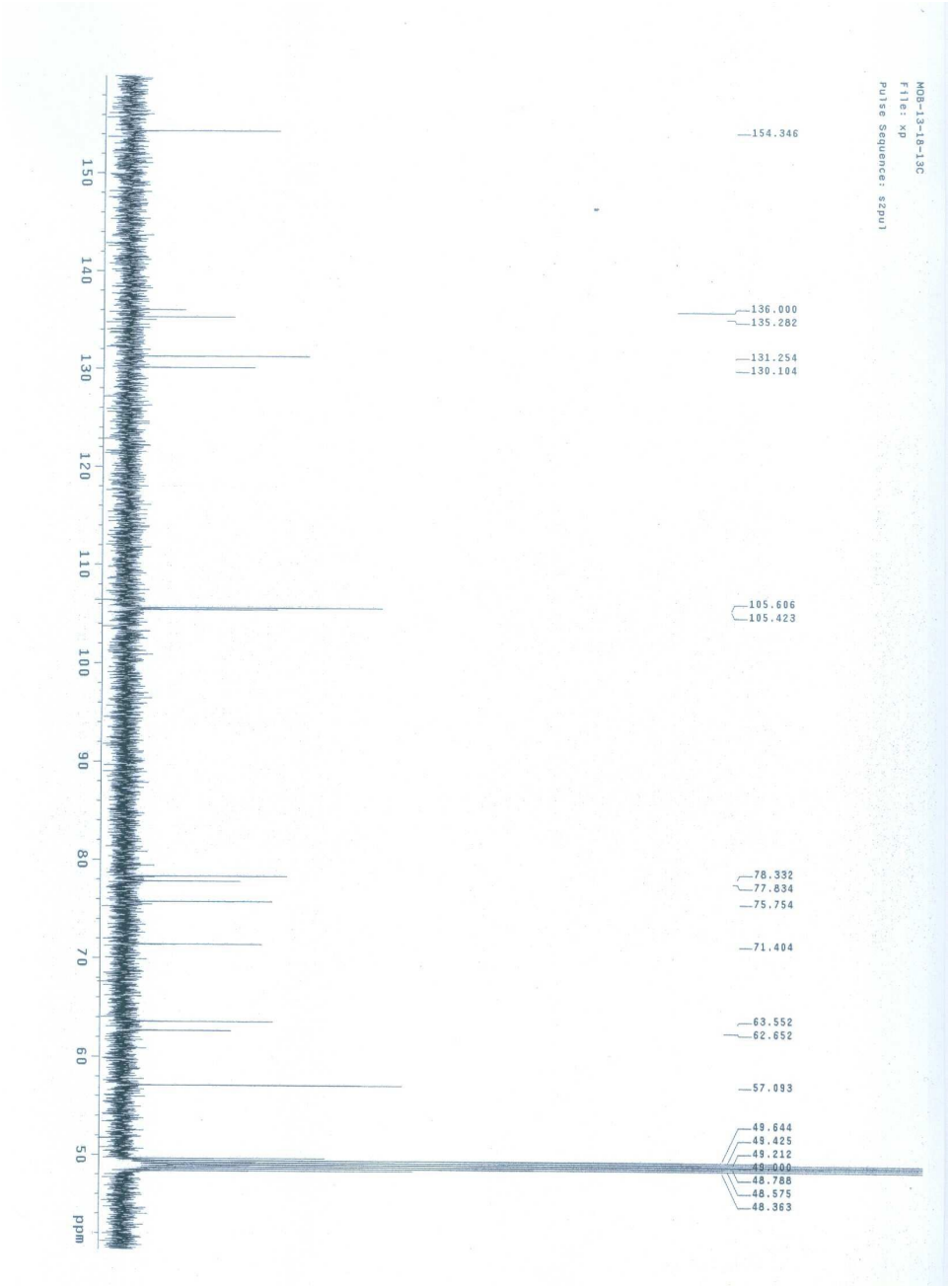
도면3b


MOE-5-6-5
13C NMR
MeOD
154.4301
151.0158
148.9671
147.4860
136.4154
134.7514
132.1550
131.9692
126.6062
125.3544
120.1854
118.0814
111.1897
105.6527
105.1221
100.9860
78.5193
77.9993
76.0077
75.9096
73.0113
72.3278
71.5265
68.8252
63.0505
62.7741
57.1740
56.8876
51.9455
49.7210
49.5813
49.4382
49.2974
49.1548
49.0132
48.8713
48.7286
18.6275
210 200 190 180 170 160 150 140 130 120 110 100 90 80 70 60 50 40 30 20 10 ppm

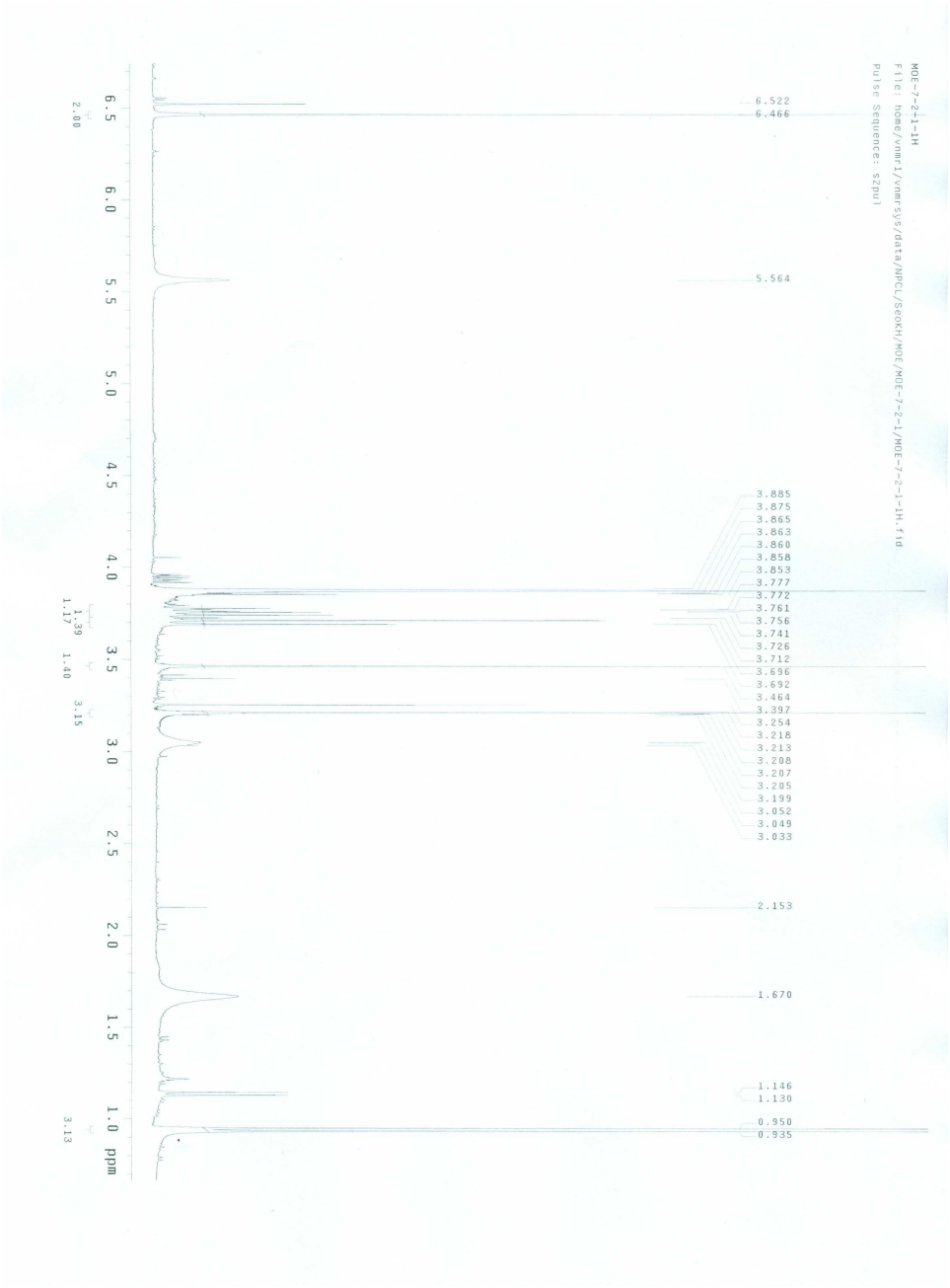
도면4a


7.854
6.733
6.718
6.553
6.550
6.514
6.510
6.341
6.326
6.313
6.301
6.287
6.273
4.861
4.843
4.708
4.217
4.206
4.202
3.858
3.853
3.845
3.836
3.831
3.825
3.823
3.819
3.815
3.807
3.797
3.790
3.776
3.767
3.760
3.748
3.742
3.683
3.669
3.662
3.653
3.639
3.500
3.482
3.476
3.466
3.463
3.457
3.441
3.438
3.425
3.420
3.417
3.408
3.405
3.401
3.387
3.384
3.339
3.308
3.304
3.300
3.296
3.292
3.282
3.272
3.236
3.230
3.223
3.217
3.212
3.206
3.199
3.193
ppm

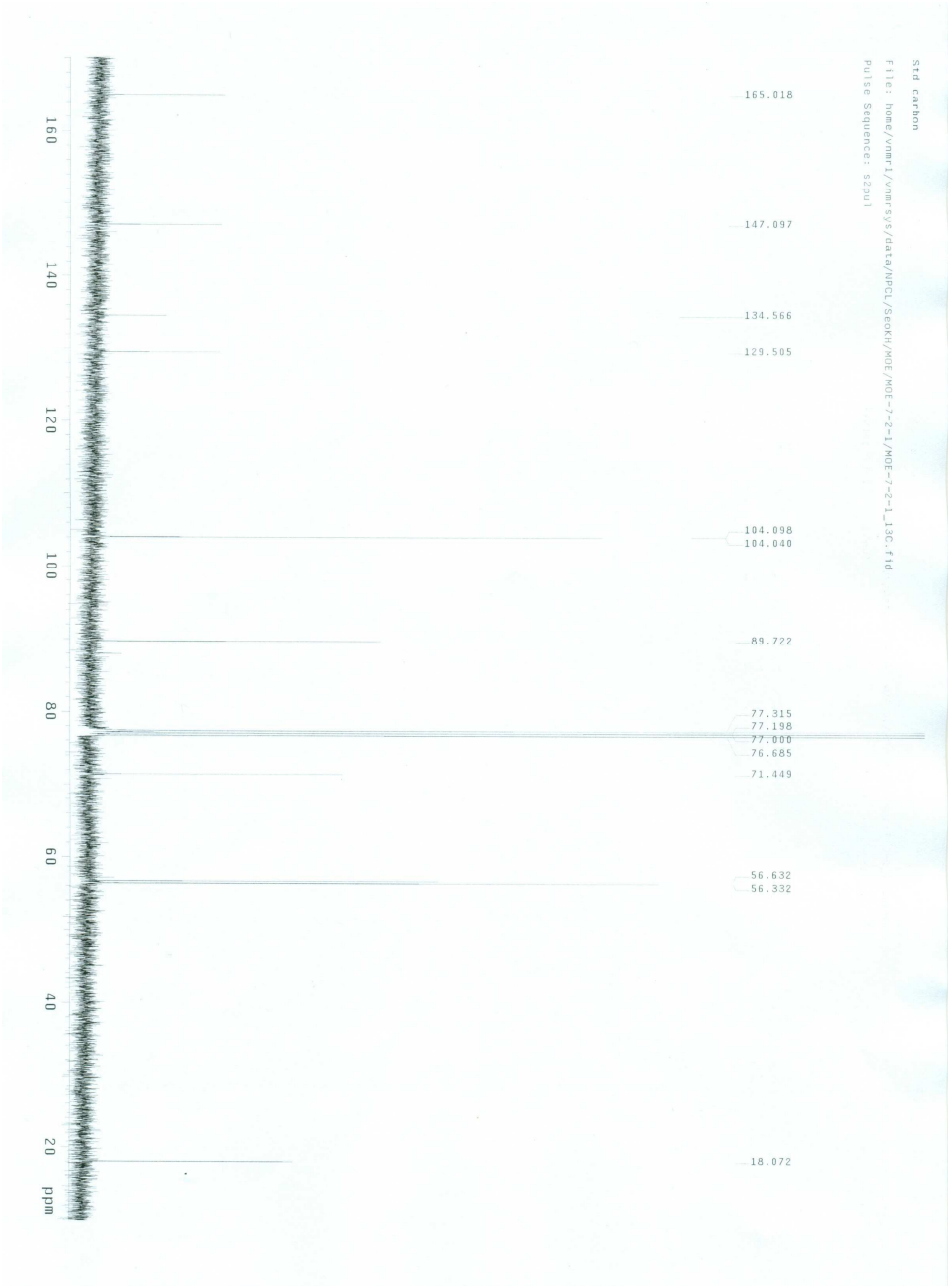
도면4b


MOB-13-18-13C
File: xp
Pulse Sequence: s2pul
154.346
136.000
135.282
131.254
130.104
105.606
105.423
78.332
77.834
75.754
71.404
63.552
62.652
57.093
49.644
49.425
49.212
49.000
48.788
48.575
48.363
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
ppm

도면5a

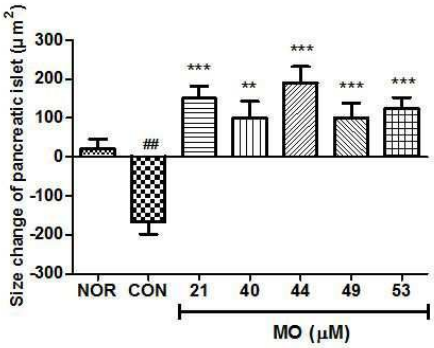

MOE-7-2-1-1H
File: home/vnmrl/vnmrsys/data/NPCL/SeoKH/MOE/MOE-7-2-1/MOE-7-2-1-1H.fid
Pulse Sequence: s2pul
6.522
6.466
5.564
3.885
3.875
3.865
3.863
3.860
3.858
3.853
3.777
3.772
3.761
3.756
3.741
3.726
3.712
3.696
3.692
3.464
3.397
3.254
3.218
3.213
3.208
3.207
3.205
3.199
3.052
3.049
3.033
2.153
1.670
1.146
1.130
0.950
0.935
2.00
1.17
1.39
1.40
3.15
3.13
ppm

도면5b

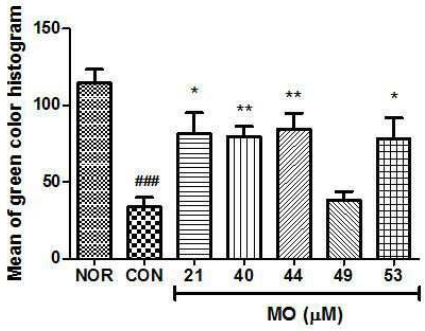

Std carbon
File: home/vnmrj/vnmrsys/data/NPCL/SeokH/MOE/MOE-7-2-1/MOE-7-2-1_13C.fid
Pulse Sequence: s2pul
165.018
147.097
134.566
129.505
104.098
104.040
89.722
77.315
77.198
77.000
76.685
71.449
56.632
56.332
18.072
160
140
120
100
80
60
40
20
ppm

도면6

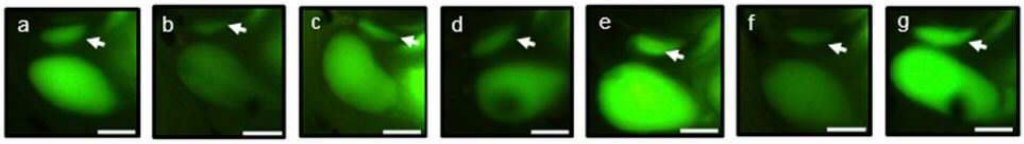
A


Size change of pancreatic islet (μm²)
300
200
100
0
-100
-200
-300
##
***
**
***
***
***
NOR
CON
21
40
44
49
53
MO (μM)

B


Mean of green color histogram
150
100
50
0
###
*
**
**
*
NOR
CON
21
40
44
49
53
MO (μM)

C


a
b
c
d
e
f
g