



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0139702
(43) 공개일자 2013년12월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/54 (2006.01) A61K 8/97 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2012-0063399

(22) 출원일자 2012년06월13일

심사청구일자 2012년06월13일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, 국제캠퍼스 내 (서천동, 경희대학교)

(72) 발명자

백남인

경기도 화성시 메타폴리스로 22 (반송동, 동탄시 범다운마을 롯데대동 다숲캐슬)303동 401호

허규원

경상북도 청도군 각북면 각북금천길 68-10

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인 대아

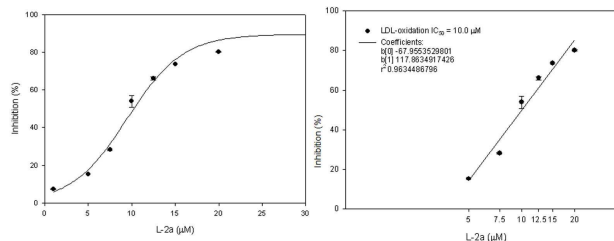
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 감태나무 목부 추출물로부터 분획된 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아릴프로파노이드 화합물을 유효성분으로 함유하는 동맥경화의 예방 및 치료용 약학적 조성물 및 화장품 조성물

(57) 요약

본 발명은 감태나무 목부 추출물로부터 분획된 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아릴프로파노이드 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 동맥경화의 예방 및 치료용 약학적 조성물 및 감태나무 목부 추출물로부터 분획된 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아릴프로파노이드 화합물을 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도1



L-2a	LDL - 산화 억제 (%)							
	1 μM	5 μM	7.5 μM	10 μM	12.5 μM	15 μM	20 μM	40 μM
	7.4 ± 0.3	15.2 ± 0.0	28.2 ± 0.4	53.9 ± 3.1	66.0 ± 0.8	80.1 ± 0.2	73.5 ± 0.0	95.4 ± 0.7
Positive control (BHT 2 μM)	69.2 ± 2.0							

(72) 발명자

박지혜

전라북도 순창군 풍산면 한내리 187

강희철

경기도 수원시 영통구 망포동 중앙하이츠 303동
901호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 00036091

부처명 중소기업청

연구사업명 2009 산학협력 기업부설연구소 지원사업

연구과제명 2010 산학(녹나무과 자생식물의 활성과 지표물질분석을 통한 AD개선용 신소재 및
제품개발)

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교 산학협력단

연구기간 2010.06.01 ~ 2011.05.31

특허청구의 범위

청구항 1

감태나무 목부 추출물로부터 분획된 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아릴프로파노이드 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 동맥경화의 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아릴프로파노이드 화합물은 감태나무 목부를 80% 메틸 알코올 수용액으로 추출하여 얻어진 감태나무 목부 추출물을 물에 현탁시키고, 에틸아세테이트로 분배 추출하여 얻은 에틸아세테이트 분획물을 컬럼크로마토그래피로 분리하여 수득되는 것을 특징으로 하는 동맥경화의 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제 2 항에 있어서,

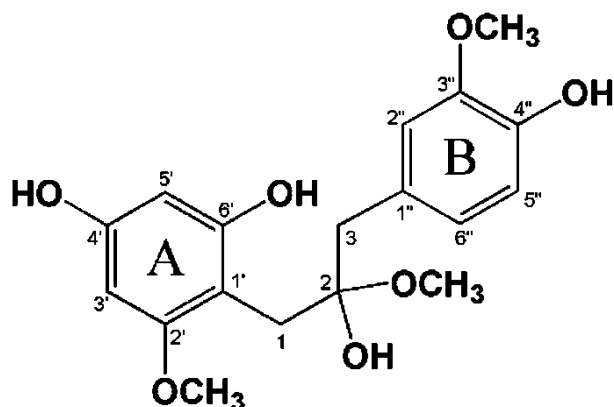
상기 에틸아세테이트 분획물을 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 수행한 후, ODS 컬럼크로마토그래피 또는 Sephadex LH-20 컬럼크로마토그래피를 수행하여 수득되는 것을 특징으로 하는 동맥경화의 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아릴프로파노이드 화합물은 하기 화학식 1로 표시되는 린데글라우콜(lindeglaucol)인 것을 특징으로 하는 동맥경화의 예방 및 치료용 약학적 조성물:

[화학식 1]



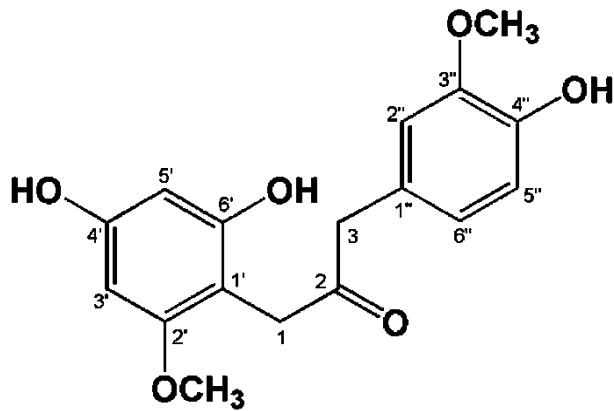
청구항 5

제1항에 있어서,

상기 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아릴프로파노이드 화합물은 하기 화학식 2로 표시되는 린데글라우콘

(lindeglaucone)인 것을 특징으로 하는 동맥경화의 예방 및 치료용 약학적 조성물:

[화학식 2]

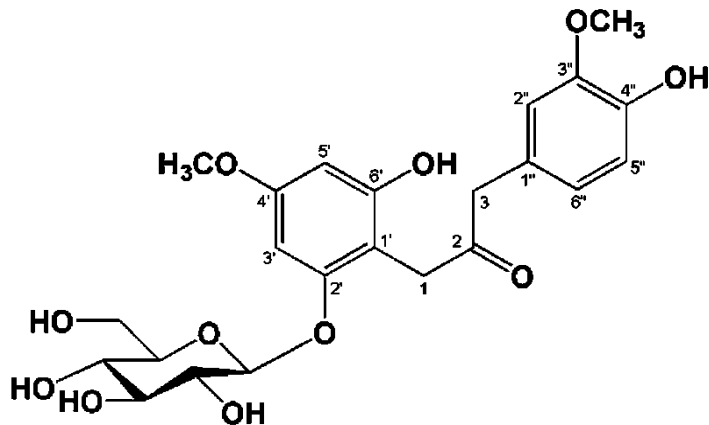


청구항 6

제1항에 있어서,

상기 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아릴프로파노이드 화합물은 하기 화학식 3로 표시되는 린데글라우코사이드 A(lindeglauconside A)인 것을 특징으로 하는 동맥경화의 예방 및 치료용 약학적 조성물:

[화학식 3]



청구항 7

제1항에 있어서,

상기 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아릴프로파노이드 화합물은 LDL-항산화활성을 가지는 것을 특징으로 하는 동맥경화의 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 8

감태나무 목부 추출물로부터 분획된 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아릴프로파노이드 화합물을 포함하는 화장품 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아틸프로파노이드 화합물은 감태나무 목부를 80% 메틸 알코올 수용액으로 추출하여 얻어진 감태나무 목부 추출물을 물에 현탁시키고, 에틸아세테이트로 분배 추출하여 얻은 에틸아세테이트 분획물을 컬럼크로마토그래피로 분리하여 수득되는 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

청구항 10

제 9 항에 있어서,

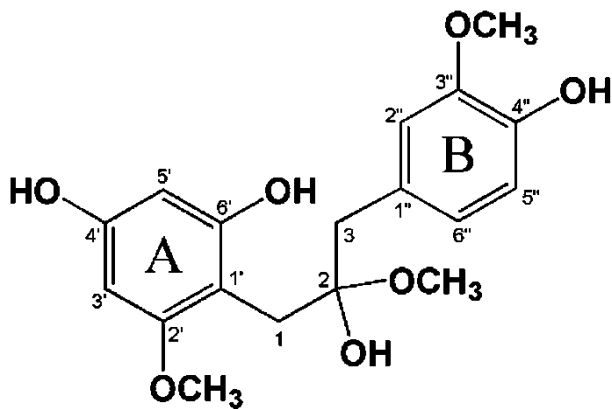
상기 에틸아세테이트 분획물을 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 수행한 후, ODS 컬럼크로마토그래피 또는 Sephadex LH-20 컬럼크로마토그래피를 수행하여 수득되는 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아틸프로파노이드 화합물은 하기 화학식 1로 표시되는 린데글라우콜(lindeglaucol)인 것을 특징으로 하는 화장품 조성물:

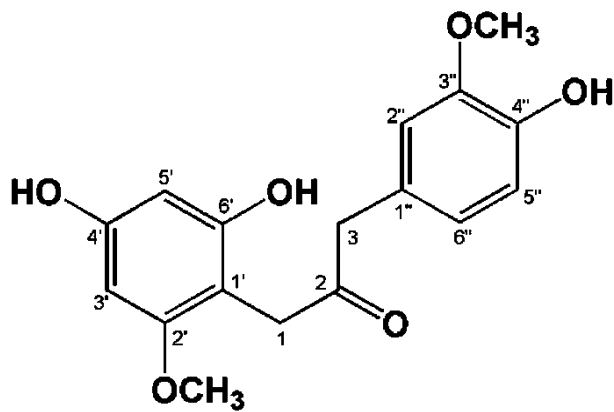
[화학식 1]



청구항 12

상기 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아틸프로파노이드 화합물은 하기 화학식 2로 표시되는 린데글라우콘(lindeglaucone)인 것을 특징으로 하는 화장품 조성물:

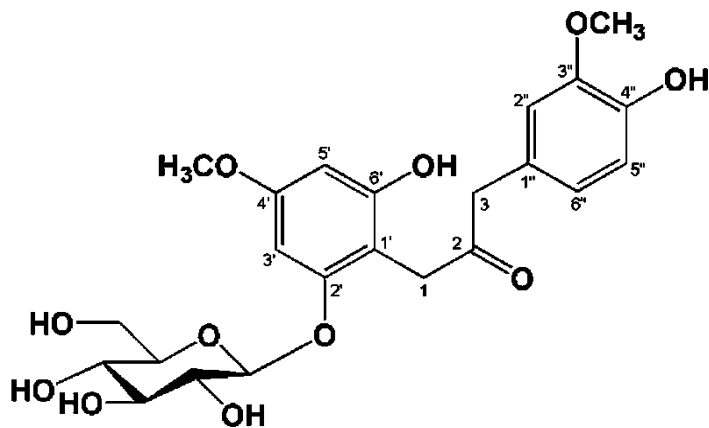
[화학식 2]



청구항 13

상기 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아릴프로파노이드 화합물은 하기 화학식 3로 표시되는 린데글라우코사이드 A(lindeglauconside A)인 것을 특징으로 하는 화장품 조성물:

[화학식 3]



청구항 14

제8항에 있어서,

상기 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아릴프로파노이드 화합물은 LDL-항산화활성을 가지는 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

명세서

기술분야

[0001]

본 발명은 감태나무 목부 추출물로부터 분획된 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아릴프로파노이드 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 동맥경화의 예방 및 치료용 약학적 조성물 및 감태나무 목부 추출물로부터 분획된 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아릴프로파노이드 화합물을 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 디아릴프로파노이드는 플라보노이드 부류에 속한다. Subba Rao et al.(1984) 및 Zao et al.(2003) 에서는 1,3-디아릴프로판-2-올은 플라반-3-올로부터 유도될 수 있음을 제안하였다. 디아릴프로파노이드는 아마존 열대우림 으로부터의 다양한 *Virola* 및 *Iryanthera* 종에서의 성분이다 (Gottlieb 1979). 다양한 디아릴프로파노이드는 녹 나나무과에 속하는 *Lindera* 및 *Litsea* 류로부터 분리된다(Morimoto et al. 1985 ; Zao et al. 2003 ; Ko et al. 2010).
- [0003] 감태나무(*Lindera glauca* Blume)는 녹나나무과이고, 동북 아시아 지역의 산에 넓게 분포되어 있다. 감태나무의 열 매는 복부 통증 및 언어 장애를 포함하는 마비의 증상을 완화시키는 민간요법에 사용된다. 감태나무의 뿌리는 혈관의출혈, 타박상 및 류마티스 관절염의 치료를 위한 약으로서 사용된다. 또한, 감태나무의 잎은 해독 작용 및 지혈에 적용된다(Chung and Shin 1990).
- [0004] 감태나무의 열매, 잎, 뿌리 및 줄기의 이전 피토케미컬은 13 개의 알칼로이드, 11 개의 부타노이드, 9 개의 세 스키테르페노이드, 4 개의 플라보노이드, 7 개의 페놀성 화합물 및 4개의 스테로이드 구조를 나타내었다 (Nii et al. 1983a,b ; Seki et al. 1994, 1995 ; Chang et al. 2000, 2001).
- [0005] 최근 논문에서 입증된 바와 같이, 심재부는 살균제 특성을 갖는 다량의 화합물을 함유한다 (Veninen et al. 2006 ; Lim et al. 2007 ; Mburu et al. 2007 ; Binbuga et al. 2008 ; Gao et al. 2008 ; Little et al. 2010).
- [0006] 한국등록특허 제0909768호에서는 본 발명의 화장료 조성물은 유효성분인 감태나무 추출물을 화장료 조성물 총 건조중량에 대하여 0.0001 내지 30 중량%로 함유하는 감태나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부노화 방지 용 화장료 조성물을 개시한다.
- [0007] 본 발명자들은 한국등록특허 제0909768호와 같이 감태나무의 뿌리, 줄기 및 잎의 미세분말로부터 추출한 추출물 과는 달리 감태나무 목부의 추출물로부터 분획한 신규한 분획물이 LDL-항산화활성을 가지는 것을 알게 되어 이 를 이용한 동맥경화의 예방 및 치료용 약학적 조성물 및 화장품 조성물을 개발하기에 이르렀다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0008] 본 발명의 목적은 감태나무 목부 추출물로부터 분획된 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아릴프로파노이드 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 동맥경화의 예방 및 치료용 약학적 조성 물을 제공하는데 있다.
- [0009] 본 발명의 다른 목적은 감태나무 목부 추출물로부터 분획된 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아릴프로파노 이드 화합물을 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

- [0010] 전술한 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 감태나무 목부 추출물로부터 분획된 감태나무 목부 분획물로부터 분 리된 디아릴프로파노이드 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 동맥경화의 예 방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0011] 또한 본 발명은 감태나무 목부 추출물로부터 분획된 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아릴프로파노이드 화 합물을 함유하는 화장품 조성물을 제공한다.
- [0012] 본 발명의 일 실시형태에 있어서, 상기 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아릴프로파노이드 화합물은 감태 나무 목부를 80% 메틸 알코올 수용액으로 추출하여 얻어진 감태나무 목부 추출물을 물에 현탁시키고, 에틸아세 테이트로 분배 추출하여 얻은 에틸아세테이트 분획물을 컬럼크로마토그래피로 분리하여 수득될 수 있다.
- [0013] 본 발명의 일 실시형태에 있어서, 상기 에틸아세테이트 분획물을 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 수행한 후, ODS 컬럼크로마토그래피 또는 Sephadex LH-20 컬럼크로마토그래피를 수행하여 수득될 수 있다.

[0014] 상기 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아틸프로파노이드 화합물은 LDL-항산화활성을 가져 동맥경화의 예방 및 치료와 화장품 조성물에 사용될 수 있다.

발명의 효과

[0015] 본 발명에 따른 감태나무 목부 추출물로부터 분획된 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아틸프로파노이드 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 동맥경화의 예방 및 치료용 약학적 조성물 및 감태나무 목부 추출물로부터 분획된 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아틸프로파노이드 화합물을 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물은 LDL-항산화활성을 가짐으로써 종래의 동맥경화의 치료제에 비해 부작용을 현저히 감소시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 본 발명에 따른 시험예 2에서 감태나무 목부로부터 분리한 디아틸프로파노이드 화합물에 대해 LDL 산화활성 저해도를 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.

[0018] 본 발명은 감태나무 목부 추출물로부터 분획된 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아틸프로파노이드 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 동맥경화의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0019] 또한 본 발명은 감태나무 목부 추출물로부터 분획된 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아틸프로파노이드 화합물을 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물을 제공한다.

[0020] 상기 감태나무 목부 추출물은 감태나무 목부를 80% 메탄올 수용액 등과 같은 알코올 수용액으로 추출하여 수득될 수 있으며, 감태나무 목부는 재배한 것 또는 시판되는 것 등 제한 없이 사용할 수 있다. 상기 감태나무 목부 추출물을 제조하는 방법은 초음파 추출법, 여과법, 환류추출법 등 당업계의 통상적인 추출방법을 사용할 수 있다.

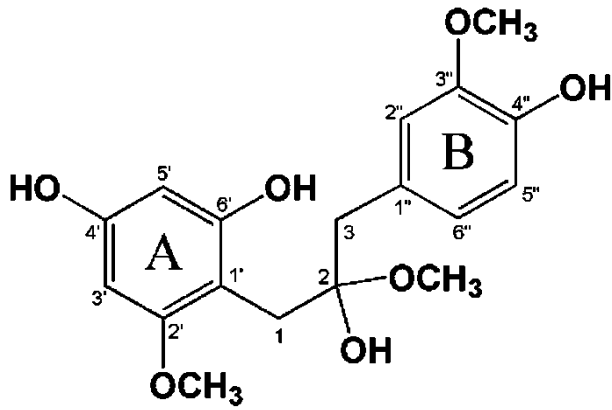
[0021] 본 발명의 일 실시형태에 있어서, 감태나무 목부 추출물은 감태나무 목부를 80% 메탄올 수용액에 넣고 추출물을 추출하고 농축한 후 물에 현탁시킴으로써 얻어진다.

[0022] 상기 감태나무 목부 분획물은 상술한 바에 따라 수득한 80% 메틸 알코올 수용액으로 추출하여 얻어진 감태나무 목부 추출물을 물에 현탁시키고, 에틸아세테이트로 분배 추출하여 얻을 수 있다.

[0023] 본 발명에서 디아틸프로파노이드 화합물은 에틸아세테이트 분획물분획물을 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 수행한 후, ODS 컬럼크로마토그래피 또는 Sephadex LH-20 컬럼크로마토그래피를 수행하여 수득된다.

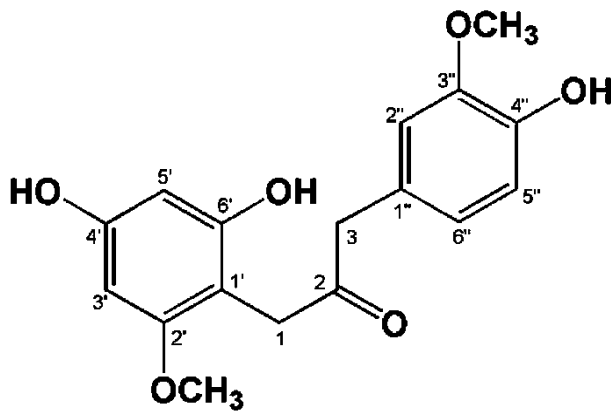
[0024] 상기 디아틸프로파노이드 화합물은 하기 화학식 1 내지 3으로 표시되는 린데글라우콜(lindeglaucol), 린데글라우콘(lindeglaucolone) 및 린데글라우코사이드 A(lindeglaucoside A)이다.

[0025] [화학식 1]



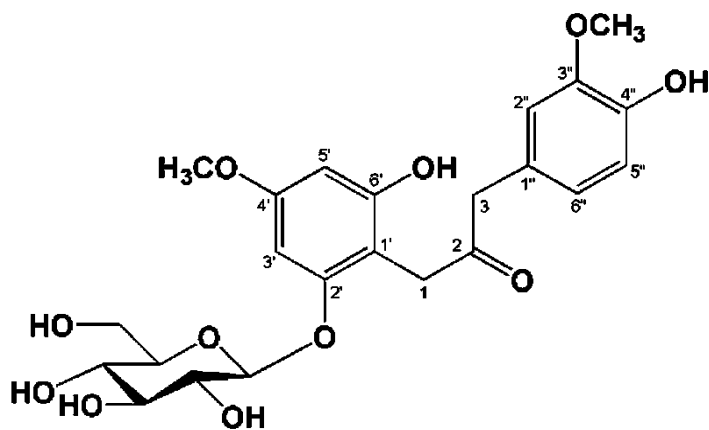
[0026]

[0027] [화학식 2]



[0028]

[0029] [화학식 3]



[0030]

[0031] 에틸 아세테이트 분획물로부터 상기 화학식 1 내지 화학식 3으로 표시되는 리그난 글리코시드 화합물을 분리하기 위해 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 수행하는 경우, 이동상으로는 *n*-헥산-에틸아세테이트 및 CHCl_3 -MeOH를 사용할 수 있다. 상기 실리카겔 컬럼 크로마토그래피는 단일 화합물이 정제될 때까지 1회 내지 수회에 걸쳐 수행할 수 있으며, 필요에 따라 농축, 재결정을 실시할 수 있다.

[0032] 이후 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 ODS 컬럼크로마토그래피 또는 Sephadex LH-20 컬럼크로마토그래피로 수행하는 경우, 이동상으로 MeOH- H_2O 를 사용할 수 있다.

[0033] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 린데글라우콜은 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 수행한 후 Sephadex LH-

20 컬럼크로마토그래피를 수행하여 얻을 수 있다.

- [0034] 본 발명에 따른 화학식 2로 표시되는 린데글라우콘은 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 수행한 후 ODS 컬럼크로마토그래피를 수행하여 얻을 수 있다.
- [0035] 또한 본 발명에 따른 화학식 3으로 표시되는 린데글라우코사이드 A는 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 수행한 후 Sephadex LH-20 컬럼크로마토그래피를 수행하여 얻을 수 있다.
- [0036] 상술한 바와 같이 제조되는 본 발명에 따른 감태나무 목부 추출물로부터 분획된 감태나무 목부 분획물로부터 분리된 디아릴프로파노이드 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 동맥경화의 예방 및 치료용 약학적 조성물은 LDL-항산화 활성을 가짐으로써 동맥경화의 예방 및 치료용으로 사용될 수 있다.
- [0037] 본 발명에서 상기 화학식 1 내지 화학식 3으로 표시되는 디아릴프로파노이드 화합물은 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산 또는 아인산과 같은 무기산류와 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설폰산류와 같은 무독성 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로겐 포스페이트, 디하이드로겐 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 테카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β -하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 또는 만델레이트를 포함한다.
- [0038] 본 발명에 따른 산 부가염은 통상의 방법, 예를 들면, 상기 화학식 1 내지 화학식 3으로 표시되는 디아릴프로파노이드 화합물을 과량의 산 수용액 중에 용해시키고, 이 염을 수산화성 유기 용매, 예를 들면, 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조할 수 있다.
- [0039] 동량의 상기 화학식 1 내지 화학식 3으로 표시되는 디아릴프로파노이드 화합물에 산 또는 알코올을 가열하고, 이어서 이 혼합물을 증발시켜서 건조시키거나 염을 제조하거나 또는 석출된 염을 흡입 여과시켜 제조할 수도 있다.
- [0040] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다. 또한, 이에 대응하는 염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 음염(예, 질산은)과 반응시켜 얻을 수 있다.
- [0041] 상기 조성물은 약학적 조성물로 사용할 수 있으며, 경구의 여러 가지 제형일 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용된다.
- [0042] 본 발명의 상기 화학식 1 내지 화학식 3으로 표시되는 디아릴프로파노이드 화합물을 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물은 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등에 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 등을 사용할 경우 잘 혼합되지 않기 때문에 경구투여를 위한 액상제제로는 부적합하다. 그러나, 화학식 1 내지 화학식 3으로 표시되는 디아릴프로파노이드 화합물을 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물은 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등의 액상제제로 조제될 수 있다.

[0043] 이하, 실시예 및 실험예를 통하여 본 발명을 상세히 설명한다. 단, 하기의 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기의 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0044] **실시예**

[0045] **(1) 감태나무 목부 추출물의 제조**

[0046] 건조된 감태나무 목부를 GFC Co. Ltd로부터 구입하였으며, 상기 감태나무 목부 4.9 kg을 80% MeOH 수용액에서 24시간 동안 3회 반복하여 실온에서 추출하고 농축하여 MeOH 추출물을 얻었다.

[0047] **(2) 감태나무 목부 분획물의 제조**

[0048] 상기 MeOH 추출물 179 g을 에틸아세테이트로 10시간 동안 3회에 걸쳐 분획하여 에틸아세테이트 분획물을 얻었다.

[0049] **(3) 감태나무 목부 분획물로부터 디아릴프로파노이드 화합물의 분리**

[0050] 상술한 바와 같이 얻은 에틸 아세테이트 분획물 35 g에 대해 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(c.c.)(ϕ 8.0 $\times$ 19.0 cm)를 수행하고 n-헥산-EtOAc (1:1, 12.0 l) 및 CHCl₃-MeOH(10:1 $\rightarrow$ 5:1, 21.0 l)로 각각 용리시켰다. 용리된 용액을 TLC 로 관찰하고 13 개의 분획물을 제조하였다 (LGBE-1 내지 LGBE-13). 분획물 LGBE-4[319 mg, 용리액 부피/총 부피 (V_e/V_t)0.11-0.19]에 대해 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 수행하고 CHCl₃-MeOH(50:1 $\rightarrow$ 10:1, 3.5 l)로 용리시켜 23 개의 분획물을 얻었다(LGBE-4-1 내지 LGBE-4-23). LGBE-4-9 (26 mg, V_e/V_t 0.08-0.09)에 대해 Sephadex LH-20 컬럼크로마토그래피 (ϕ 1.0 $\times$ 26.0 cm)를 수행하고 MeOH-H₂O(9:1,0.11)로 용리시켜 상기 화학식 1로 표시되는 린데글라우콜을 수득하였다[LGBE-4-9-7, 19 mg, V_e/V_t 0.60-0.74, TLC(ODS F_{254S}) R_f 0.53, MeOH-H₂O=3:1].

[0051] 분획물 LGBE-4-19 (75 mg, V_e/V_t 0.44-0.59)에 대해 ODS 컬럼 크로마토그래피(ϕ 3.0 $\times$ 3.5 cm)를 수행하고 MeOH-H₂O(1:2,0.61)로 용리시켜 상기 화학식 2로 표시되는 린데글라우콘을 수득하였다[LGBE-4-19-1, 32 mg, V_e/V_t 0.01-0.16, TLC(ODS F_{254S}) R_f 0.78, MeOH-H₂O=3:1].

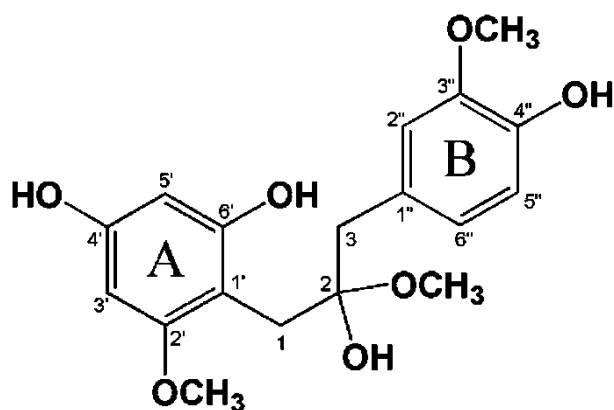
[0052] 분획물 LGBE-8 (3.3 g, V_e/V_t 0.37-0.55)에 대해 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(ϕ 5.5 $\times$ 12.0 cm)를 수행하고 CHCl₃-MeOH-H₂O(15:3:1,하부 상, 6.2 l)로 용리시켜 12 개의 분획물을 얻었다(LGBE-8-1 내지 LGBE-8-12), 분획물 LGBE-8-9 (203 mg, V_e/V_t 0.30-0.36)를 Sephadex LH-20 컬럼크로마토그래피 (ϕ 2.5 $\times$ 54.0 cm)로 정제하고 MeOH-H₂O(1:1 $\rightarrow$ 7:3, 1.0 l)로 용리시켜 상기 화학식 3으로 표시되는 린데글라우코사이드 A를 수득하였다 [LGBE-8-9-6, 55 mg, V_e/V_t 0.16-0.22, TLC(ODS F_{254S}) R_f 0.50, MeOH-H₂O=1:1].

[0053] **실험예 1: 디아릴프로파노이드 화합물의 구조 분석**

[0054] 상기 실시예에서 수득된 화학식 1로 표시되는 린데글라우콜에 대해 IR 스펙트럼은 Perkin model 599B(Buckinghamshire, England)를 사용하여 측정하였고, NMR(Nuclear Magnetic Resonance)은 400 MHz FT-NMR 스펙트로미터(Varian Inova AS 400, Palo Alto, CA)로 측정하였고, 빠른 원자충격법 매스 스펙트럼(Fast atom bombardment mass spectrum)은 JMSAX 700(JEOL)을 사용하여 측정하였다.

[0055] **(1) 린데글라우콜(lindeglaucol)**

[0056] [화합식 1]



[0057]

[0058] 1) 갈색 검(brown gum (CHCl_3)); $[\alpha]_D^{26} +16.5^\circ$ ($c 0.210$, CHCl_3); IR(Caf_2) $V_{\max}$ 3403, 1614, 1512 cm^{-1} ; positive FAB/MS m/z 401.1799 $[\text{M}+\text{CH}_3\text{OH}+\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{O}_9$ 에 대해 산출된 401.1812). $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) 및 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)(하기 표 1 참조).

[0059] 2) 분석 결과

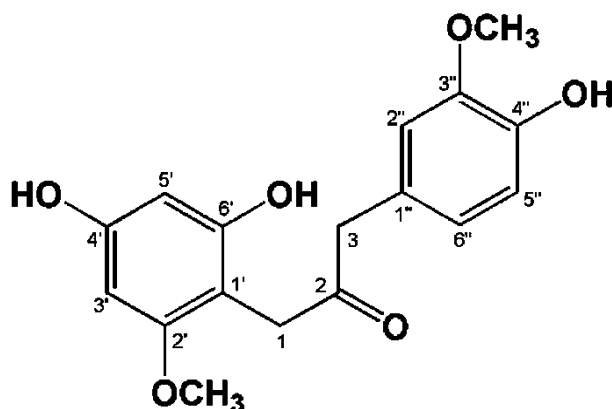
[0060] 상기 화학식 1로 표시되는 린데글라우콜은 254 nm에서 강한 UV 흡수를 가지고, 10% 황산 수용액으로 분무하고 가열하는 경우 TLC에서 짙은 갈색을 나타내었다. positive FAB/MS 의 m/z 401.1799 ($\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{O}_9$ 에 대해 산출된 401.1812)에서 유사분자학 이온 피크 $[\text{M}+\text{CH}_3\text{OH}+\text{H}_2\text{O}+1]^+$ 에 따른 $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_7$ 및 ^1H 및 ^{13}C NMR에 따라 분자 화학식을 결정하였다. 3403 및 1614 cm^{-1} 에서의 IR 흡수 밴드는 각각 히드록시기 및 이중 결합으로 특정되었다. 화학식 1의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼은 하나의 1,2,4-삼치환 벤젠 고리 및 하나의 1,2,3,5-사치환 벤젠 고리로 인해 δ 6.81 (1H, br s, H-2''), 6.78 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5''), 6.74 (1H, br d, $J = 8.4$ Hz, H-6''), 5.99 (1H, br s, H-5') 및 5.90 (1H, br s, H-3')에서 신호를 나타낸다. δ 3.13 (1H, d, $J = 14.0$ Hz, H-3a), 3.08 (1H, d, $J = 14.0$ Hz, H-3b), 2.97 (1H, d, $J = 16.4$ Hz, H-1a) 및 2.90 (1H, d, $J = 16.4$ Hz, H-1b)에서의 신호는 큰 헤미케탈기 및 2 개의 방향족 고리로부터 발생된 체미널 결합(2J)을 갖는 2 개의 메틸렌기로 해석된다. δ 3.79 (3H, s), 3.69 (3H, s) 및 3.29 (3H, s)에서의 나머지 신호가 3 개의 메톡시기로 밝혀졌다. ^{13}C NMR스펙트럼에서 3개의 메톡시 탄소 신호와 함께 15 개의 탄소 신호가 관찰되었고, 이는 디아릴프로판 구조로 예상된다. ^{13}C NMR 스펙트럼에서 δ_c 159.83 (C-2'), 157.17 (C-4'), 156.08 (C-6'), 145.98 (C-3''), 144.18 (C-4'')에서의 5 개의 산화된 올레핀 4차 탄소 신호, δ_c 127.49 (C-1''), 104.69 (C-1')에서의 2 개의 올레핀 4차 탄소 신호, δ_c 123.13 (C-6''), 113.83 (C-5''), 112.78 (C-2''), 91.61 (C-3'), 90.00 (C-5')에서의 5 개의 올레핀 메틴 탄소 신호 및 δ_c 55.82 (3''- OCH_3), 55.28(2'- OCH_3), 49.88(2- OCH_3)에서의 3 개의 산화된 메틸 탄소 신호는 2 개의 방향족 고리 및 3 개의 메톡시기의 존재를 확인한다. δ_c 114.53 (C-2), δ_c 43.75 (C-3), 및 33.15 (C-1)에서의 나머지 신호가 하나의 헤미케탈기 및 2 개의 메틸렌기의 존재를 입증한다. 결과적으로 디아릴프로판 구조가 $^1\text{H-NMR}$ 및 $^{13}\text{C-NMR}$ 데이터를 통해 확인되었다.

[0061] 디아릴프로판 구조 및 화학식 1의 화합물의 히드록시기 및 메톡시기의 위치가 HMBC 실험에 의해 결정되었다. 프로판 구조는 δ_H 2.97 및 2.90에서의 H-1으로부터 δ_c 43.75에서의 C-3까지 및 δ_H 3.13 및 3.08에서의 H-3으로부터 δ_c 33.15에서의 C-1까지의 크로스 피크에 의해 결정된다. 2개의 결합(2J) 관계가 추가적으로 H-1으로부터 δ_c 114.53(C-2)에서의 헤미케탈 탄소 신호까지에서 관찰되었다. 2 개의 벤젠 고리 및 프로판 사이의 주요 관계가 방향족 메틴 탄소 신호와 함께 메틸렌 프로톤 신호의 크로스 피크에 의해 밝혀졌다: δ_H 2.97 (H-1a), 2.90 (H-1b) 및 δ_c 159.83 (C-2'), 156.08 (C-6'); δ_H 3.13 (H-3a), 3.08 (H-3b) 및 δ_c 112.78 (C-2''),

123.13 (C-6''). C-2, C-2' 및 C-3' 에서의 메톡시기의 결합이 각각 δ_H 3.29 에서 메톡시 프로톤으로부터 δ_C 114.53 (C-2)에서의 헤미케탈 탄소까지, δ_H 3.69 에서 메톡시 프로톤으로부터 δ_C 159.83 (C-2')에서의 방향족 4차 탄소까지 및 δ_H 3.79 에서 메톡시 프로톤으로부터 δ_C 145.98 (C-3'')로부터 방향족 4차 탄소까지에서 3 개의 결합(3J) 관계에 의해 결정되었다. 따라서, 화학식 1의 신규한 디아릴프로파노이드의 화학 구조가 2,4',4'',6'-테트라히드록시-2,2',3'-트리메톡시-1,3-디아릴프로판-2-올로 동정되었고, 린데글라우콜로 명명하였다.

[0062] (2) 린데글라우콘(lindeglaucone)

[0063] [화학식 2]



[0065] 1) 갈색 검(brown gum); $[\alpha]_{26}^{25} +59.7^\circ$ (c 0.695, CH_3OH); IR(Caf₂) V_{max} 3366, 1717, 1612, 1514 cm^{-1} ; positive FAB/MS m/z 341.11017 $[M+Na]^+$ ($C_{17}H_{18}O_6Na$ 에 대해 산출된 341.1001). 1H -NMR(400MHz, CD_3OD) 및 ^{13}C -NMR(100 MHz, CD_3OD)(하기 표 1 참조).

[0066] 2) 분석 결과

[0067] 화학식 2의 린데글라우콘은 254 nm에서 강한 UV 흡수를 가지고, 10% 황산 수용액으로 분무하고 가열하는 경우 TLC에서 짙은 갈색을 나타내었다. positive FAB/MS 의 m/z 341.1017 ($C_{17}H_{18}O_6Na$ 에 대해 산출된 341.1001)에서 유사분자학 이온 피크 $[M+Na]^+$ 에 따른 $C_{17}H_{18}O_6$ 및 1H 및 ^{13}C -NMR에 따라 분자 화학식을 결정하였다. 3378, 1696 및 1608 cm^{-1} 에서의 IR 흡수 밴드는 각각 히드록실, 케톤기 및 이중 결합으로 특징되었다. 화학식 2의 린데글라우콘의 1H -NMR 스펙트럼은 2 개의 단일 메틸렌 프로톤 신호(δ_H 3.58 및 3.57) 및 2 개의 메톡시(δ_H 3.78 및 3.62)의 존재를 제외하고 화학식 1의 린데글라우콜의 신호 패턴과 유사하였다. δ_H 3.58 (2H 및 H-1) 및 3.57 (2H 및 H-3)에서의 메틸렌 프로톤 신호가 분리되지 않았고, 이는 C-1 및 C-3 주변의 σ -결합이 린데글라우콜의 헤미케탈기 대신에 C-2 에서의 케톤기에 주변에서 자유롭게 회전하기 때문이다. 화학식 2의 린데글라우콘의 ^{13}C NMR 스펙트럼의 공명은 하나의 케톤 탄소 신호(δ_C 211.71, C-2) 및 2 개의 메톡시 탄소 신호(δ_C 56.17 및 55.78)의 존재를 제외하고 린데글라우콜의 것과 유사하였다.

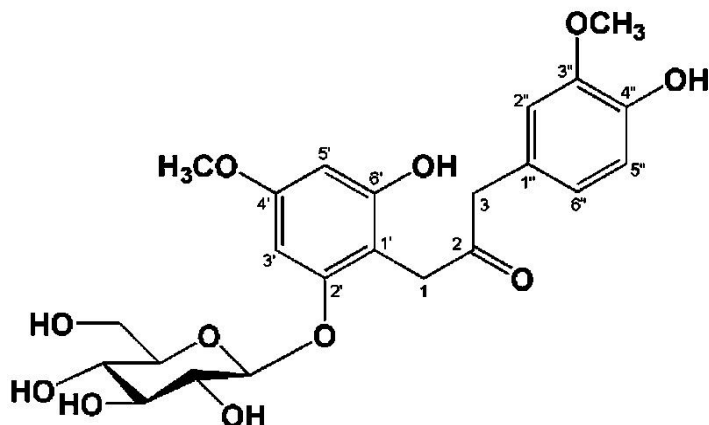
[0068] 화학식 2의 린데글라우콘의 메톡시 및 케톤기의 위치가 HMBC 실험에 의해 결정되었다. 2개의 결합(2J) 관계가 δ_H 3.58 (H-1) 및 3.57 (H-3)으로부터 δ_C 211.71 (C-2)에서의 케톤 신호까지에서 관찰되었다. C-2' 및 C-3''에서의 메톡시기의 결합이 δ_H 3.62 (OCH_3)에서의 메톡시 프로톤로부터 δ_C 160.51 (C-2')에서의 산화된 방향족 4차 탄소까지 및 δ_H 3.78 (OCH_3)에서의 메톡시 프로톤으로부터 δ_C 148.58 (C-3'')에서의 산화된 방향족 4차 탄소까지에서의 주요 인접(3J) 관계에 의해 결정되었다.

[0069] 따라서, 화학식 2의 신규한 디아릴프로파노이드의 화학 구조가 4',4'',6'-트리히드록시-2,3''-디메톡시-

1,3-디아릴프로판-2-온으로 동정되었고, 린데글라우콘으로 명명하였다.

[0070] (3) 린데글라우코사이드 A(lindeglaucoside A)

[0071] [화학식 3]



[0072]

[0073] 1) 갈색 검(brown gum); $[\alpha]_D^{27} +42.3^\circ$ (c 0.730, CHCl_3 및 CH_3OH); IR(CaF_2) $V_{\max}$ 3365, 1700, 1602, 1507cm^{-1} ; positive FAB/MS m/z 503.1538 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}\text{Na}$ 에 대해 산출된 503.1529). $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) 및 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)(하기 표 1 참조).

[0074] 2) 분석 결과

[0075] 화학식 3의 린데글라우코사이드는 254 nm에서 강한 UV 흡수를 가지고, 10% 황산 수용액으로 분무하고 가열하는 경우 TLC에서 짙은 갈색을 나타내었다. positive FAB/MS 의 m/z 503.1538 ($\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}\text{Na}$ 에 대해 산출된 503.1529)에서 유사분자학 이온 피크 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 에 따른 $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$ 및 ^1H 및 ^{13}C NMR에 따라 분자 화학식을 결정하였다. 3365, 1700 및 1602cm^{-1} 에서의 IR 흡수 밴드는 각각 히드록실, 케톤기 및 이중 결합으로 특징되었다. 화학식 3의 린데글라우코사이드의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼은 δ_{H} 5.44에서의 하나의 헤미아세탈 프로톤 신호 및 δ_{H} 3.85-4.28에서의 다수의 산화된 메틸렌 프로톤 신호 및 산화된 메틸렌 프로톤 신호의 존재를 제외하고 화학식 2의 린데글라우콘의 신호 패턴과 유사하였다. 헤미아세탈 프로톤 신호(d, $J=6.8\text{ Hz}$, glc-H-1)의 결합 상수는 아노머 탄소의 히드록실기의 β -구조를 나타내었다. δ_{H} 4.23(1H, d, $J=16.0\text{ Hz}$, H-1a) 및 4.13(1H, d, $J=16.0\text{ Hz}$, H-1b)에서의 메틸렌 양성자 신호는 큰 당 잔기의 근접성으로 인해 제미널 결합(2J) 결합을 나타내었다. 당 성분의 나머지 오버랩된 프로톤 신호는 HSQC 상관관계의 자세한 확인으로 밝혀졌다. 화학식 3의 린데글라우코사이드의 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼의 공명은 δ_{C} 102.99 (glc-C-1), 78.12 (glc-C-4), 77.98 (glc-C-5), 74.44 (glc-C-2), 70.56 (glc-C-3) 및 61.74 (glc-C-6)에서의 공명을 제외하고 화학식 2의 린데글라우콘의 것과 유사하였고, 이는 O - β -D-글루코피라노실 성분으로서 확인되었다. δ_{C} 207.18 (C-2), 55.29 (3'- OCH_3) 및 55.04 (4'- OCH_3)에서의 나머지 신호는 1개의 케톤 및 2 개의 메톡시의 존재를 입증한다.

[0076] 화학식 3의 린데글라우코사이드의 2 개의 메톡시기 및 글루코피라노실 성분의 위치는 HMBC 실험에 의해 결정되었다. 2개의 결합(2J) 관계가 δ_{H} 6.56 (H-5')에서의 방향족 메틴 프로톤 신호로부터 δ_{C} 159.20 (C-4') 및 159.17 (C-6')에서의 산화된 방향족 4차 탄소 신호까지, δ_{H} 7.09 (H-3')에서의 방향족 메틴 프로톤 신호로부터 δ_{C} 157.87 (C-2') 및 159.20 (C-4')에서의 산화된 방향족 4차 탄소 신호까지, δ_{H} 4.24 및 4.13 (H-1)에서의 메틸렌 프로톤 신호로부터 δ_{C} 207.18 (C-2)에서의 케톤 신호 및 δ_{C} 104.76 (C-1')에서의 방향족 4차 탄소 신호까지, δ_{H} 3.93 (H-3)에서의 메틸렌 프로톤 신호로부터 δ_{C} 207.18 (C-2)에서의 케톤 신호 및 δ_{C} 126.20

(C-1'')에서의 방향족 4차 탄소 신호까지, δ_H 6.95 (H-2'')에서의 방향족 메틸 프로톤 신호로부터 δ_C 126.18 (C-1'')에서의 방향족 4차 탄소 신호 및 δ_C 147.93 (C-3'')에서의 산화된 방향족 4차 탄소 신호까지 및 δ_H 7.10 (H-5'')에서의 방향족 메틸 프로톤 신호로부터 δ_C 122.56 (C-6'')에서의 방향족 메틸 탄소 신호 및 δ_C 146.36 (C-4'')에서의 산화된 방향족 4차 탄소 신호까지의 범위에서 관찰되었다. C-4' 및 C-3'에서의 메톡시기의 결합이 δ_H 3.61 (OCH₃)에서의 메톡시 프로톤 신호로부터 δ_C 159.20 (C-4')에서의 산화된 방향족 4차 탄소 신호까지 및 δ_H 3.66 (OCH₃)에서의 메톡시 프로톤 신호로부터 δ_C 147.93 (C-3')에서의 산화된 방향족 4차 탄소 신호까지에서의 주요 인접(³J) 관계에 의해 결정되었다. δ_H 5.44에서의 헤미아세탈 프로톤 신호는 당의 C-2'에서의 결합을 나타내는 δ_C 157.87 (C-2')에서의 산화된 방향족 4차 탄소 신호와 함께 ³J 관계를 나타낸다. HMBC 상관관계의 조사에 의해 C-2' 대신 C-4'에 대해 방향족 고리 A에서 메톡시기의 위치가 변화된 것을 알 수 있었고, 화학식 3의 린데글라우코사이드의 아글리콘은 화학식 1 및 화학식 2의 상기 화합물과 상이하였다.

따라서, 화학식 3의 신규한 디아릴프로파노이드의 화학 구조가 2', 4', 6'-트리히드록시-3'', 4'-디메톡시-2'-O-β-D-글루코피라노실 -1,3-디아릴프로판-2-온으로 동정되었고, 린데글라우코사이드 A로 명명하였다.

[표 1]

No.	Lindeglaucol (1)		Lindeglaucone (2)		Lindeglaucoside A (3)	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
1	33.15	2.97 (1H, d, J=16.4 Hz) 2.90 (1H, d, J=16.4 Hz)	48.48	3.58 (2H, s)	37.38	4.24 (1H, d, J=16.0 Hz) 4.13 (1H, d, J=16.0 Hz)
2	114.53		211.71		207.18	
3	43.75	3.13 (1H, d, J=14.0 Hz) 3.08 (1H, d, J=14.0 Hz)	38.06	3.57 (2H, s)	47.89	3.93 (2H, s)
1'	104.69		127.40		104.76	
2'	159.83		160.51		157.87	
3'	91.61	5.90 (1H, br s)	91.60	5.94 (1H, d, J=2.4 Hz)	96.92	7.09 (1H, d, J=2.0 Hz)
4'	157.17		158.87		159.20	
5'	90.00	5.99 (1H, br s)	96.05	5.99 (1H, d, J=2.4 Hz)	94.24	6.56 (1H, d, J=2.0 Hz)
6'	156.08		157.83		159.17	
1''	127.49		102.43		126.20	
2''	112.78	6.81 (1H, br s)	113.92	6.59 (1H, d, J=1.6 Hz)	113.78	6.95 (1H, d, J=1.4 Hz)
3''	145.98		148.58		147.93	
4''	144.18		146.07		146.36	
5''	113.83	6.78 (1H, d, J=8.4 Hz)	115.86	6.68 (1H, d, J=8.0 Hz)	115.76	7.10 (1H, d, J=8.0 Hz)
6''	123.13	6.74 (1H, br d, J=8.4 Hz)	122.93	6.53 (1H, dd, J=1.6 Hz, 8.0 Hz)	122.56	6.88 (1H, dd, J=8.0 Hz, 1.4 Hz)
2-OCH ₃	49.88	3.29 (3H, s)				
2'-OCH ₃	55.28	3.69 (3H, s)	55.78	3.62 (3H, s)		
3'-OCH ₃	55.82	3.79 (3H, s)	56.17	3.78 (3H, s)	55.29	3.66 (3H, s)
4'-OCH ₃					55.04	3.61 (3H, s)
glc1					102.99	5.44 (1H, d, J=6.8 Hz)
glc2					74.44	4.21 (1H, m)
glc3					70.56	4.24 (1H, m)
glc4					78.12	3.85 (1H, m)
glc5					77.98	4.20 (1H, m)
glc6					61.74	4.28 (1H, m)

시험예 2: 본 발명에 따른 디아릴프로파노이드 화합물의 LDL-산화 억제 활성 측정

사람의 혈장으로부터 초원심분리기(Beckman LB-70M Ultracentrifuge)를 이용하여 LDL을 분리하였다. 혈액원에서 가져 온 혈장에 0.04% EDTA, 0.05% Na₂S₂O₈, 0.015% 페닐메틸설포닐 플루오라이드(PMSF)를 첨가하여, 100,000×g(55.2 Ti, 45,000 rpm), 4 °C에서 20시간 동안 초원심분리하였다. 상층에 떠있는 chylomicron과 VLDL을 걷어내고 나머지 하층은 NaBr(heavy density solution)을 이용해서 밀도를 1.063 g/ml로 맞추었다. 이를 다시 100,000×g, 4 °C에서 24시간 동안 초원심분리한 후, 상층에 떠있는 노란색의 LDL을 분리했다. 이 LDL을 PBS(10 mM, pH 7.4)로 투석하여 고농도의 NaBr을 제거하고, 4 °C에서 보관 하면서 1개월 이내에 사용하였다. Cu²⁺는 LDL의 산화를 유도하는 것으로 알려져 있다. 이때 생성된 불포화 지방산의 산화물인 malondialdehyde를 thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) 방법으로 측정하여 시료의 항산화 활성을 조사하였다. 양성 대조군으로는 기존의 알려진 LDL-항산화제인 probucol을 Sigma Co.로부터 구입하여 사용하였다. 감태나무 목부로부터 분리한 화합물에 대한 LDL 산화 활성 저해도는 다음과 같은 방법으로 계산하여 도 1 및 표 2에 나타내었다.

활성저해도(%) = 100 × [1 (sample value Background value/ Control value Background value)].

[0083] [표 2]

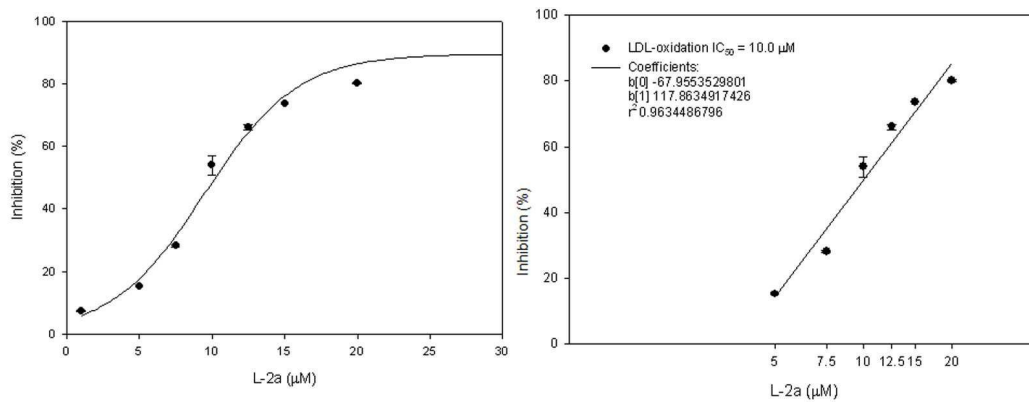
		LDL-산화 억제 (%)	
		80 μ M	IC ₅₀ (μ M)
L-1a	린데글라우콜	72.9 $\pm$ 0.1	32.2
L-2a	린데글라우콘	89.9 $\pm$ 0.3	10.0
L-3a	린데글라우코사이드 A	-16.3 $\pm$ 0.2	
Positive control (BHT 2 μ M)		53.2 $\pm$ 0.3	

[0084]

[0085] 표 2를 참조하면, LDL 항산화 활성 측정 결과 80 μ M에서 린데글라우콜은 73%, 린데글라우콘은 90%의 산화 억제 효과를 나타내었다.

도면

도면1



	LDL - 산화 억제 (%)							
	1 μ M	5 μ M	7.5 μ M	10 μ M	12.5 μ M	15 μ M	20 μ M	40 μ M
L-2a	7.4 $\pm$ 0.3	15.2 $\pm$ 0.0	28.2 $\pm$ 0.4	53.9 $\pm$ 3.1	66.0 $\pm$ 0.8	80.1 $\pm$ 0.2	73.5 $\pm$ 0.0	95.4 $\pm$ 0.7
Positive control (BHT 2 μ M)	69.2 $\pm$ 2.0							