

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2013-0139703 (43) 공개일자 2013년12월23일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A61K 8/49 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)	(71) 출원인 경희대학교 산학협력단 경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, 국제캠퍼스 내 (서천동, 경희대학교)	
(21) 출원번호 10-2012-0063400 (22) 출원일자 2012년06월13일 심사청구일자 2012년06월13일	(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	

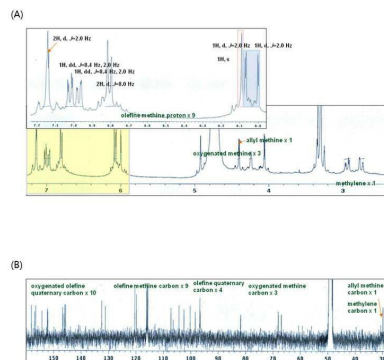
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 플라반-3-올 다함체, 그 유도체 또는 이들의 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 여드름 예방, 개선 및 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 플라반-3-올 다함체, 그 유도체 및 이들의 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 여드름 예방, 개선 및 치료용 조성물에 대한 것이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

박지혜

전라북도 순창군 풍산면 한내리 187

한영희

경기도 수원시 팔달구 세지로 314번길 73(지동)

홍상은

경기도 화성시 병점1로 82 한신아파트 105동 305호

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

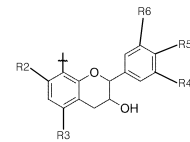
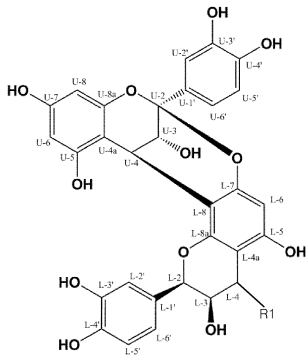
연구기간 2010.06.01 ~ 2011.05.31

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 플라반-3-올 다합체, 그 유도체 또는 이들의 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 여드름 예방 및 개선용 화장품 조성물:

<화학식 1>



상기 R1은 H, OH, 탄소수 3 이하의 알콕시기, 탄소수 3 이하의 알킬기 또는
상기 R2, R3, R4, R5 및 R6은 각각 독립적으로, H 또는 OH임.

이고,

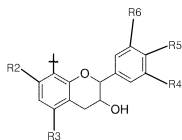
청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 R1은 H인 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서,



상기 R1은 이고,

상기 R2, R3, R5 및 R6은 OH이며, R4는 H인 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서,

스태필로코커스 에피데미디스(*Staphylococcus epidermidis*)에 대하여 항균 활성을 갖는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.

청구항 5

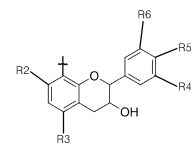
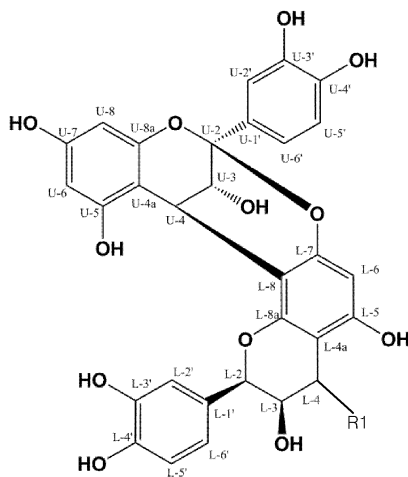
제 1항에 있어서,

상기 플라반-3-올 다합체, 그 유도체 또는 이들의 허용 가능한 염은 감태나무로부터 분리한 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.

청구항 6

하기 화학식 1로 표시되는 플라반-3-올 다합체, 그 유도체 또는 이들의 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 여드름 예방 및 치료용 약학적 조성물:

<화학식 1>



상기 R1은 H, OH, 탄소수 3 이하의 알콕시기, 탄소수 3 이하의 알킬기 또는

이고,

상기 R2, R3, R4, R5 및 R6은 각각 독립적으로, H 또는 OH임.

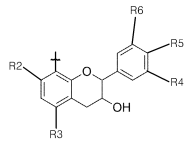
청구항 7

제 6항에 있어서,

상기 R1은 H인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 8

제 6항에 있어서,



상기 R1은 이고,

상기 R2, R3, R5 및 R6은 OH이며, R4는 H인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 9

제 6항에 있어서,

스태필로코커스 에피더미디스(*Staphylococcus epidermidis*)에 대하여 항균 활성을 갖는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 10

제 6항에 있어서,

상기 플라반-3-올 다합체, 그 유도체 또는 이들의 허용 가능한 염은 감태나무로부터 분리한 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 여드름 예방, 개선 및 치료용 조성물에 대한 것이다.

배경기술

[0002] 여드름은 피지샘과 모낭에 발생하는 흔한 염증성 피부 질환이다. 모낭은 털을 자라게 하는 피부 속 작은 구조이며, 피지샘은 모발과 피부의 보습막을 형성하는 피지를 생산한다. 각각의 털은 피부를 뚫고 올라와 있는데 이 통로를 따라 피지도 분비된다. 여드름은 대개 사춘기 동안 시작되고, 사춘기 청소년의 약 80%에서 발생한다. 여드름은 피지샘이 과도하게 분비자극을 받을 때 발생할 수 있다. 피부세포에서 정상적인 탈모가 진행되지 못해서 피부의 모낭을 막게 되고, 이로 인해 피지가 정체되는 것도 원인 중 하나이다. 이렇게 막혀 있고 피지가 축적된 모낭에는 세균이 증식하게 된다. 이러한 과정이 염증과 홍반, 뾰루지를 만들어낸다. 사춘기에 여드름이 잘 생기는 이유는 안드로젠 호르몬이 이 시기에 자연스럽게 증가하는 것과 관련이 있다. 안드로젠 호르몬이 피지샘을 자극해 과도한 피지분비를 유도하기 때문이다. 유전적인 요소 또한 여드름 발생에 영향을 준다. 여드름을 유발하는 그 밖의 요인으로서는 유분이 많은 화장품의 사용, 습도, 과도한 땀 흘림, 난소나 부신과 연관된 질환 등이 있다. 리튬이나 스테로이드와 같은 약물에 의해 여드름이 발생하기도 하는데, 두 약물은 의사에 의해 처방 받는 약이지만 매우 위험한 보디빌딩용 스테로이드에도 그 성분이 들어있다. 여드름은 음식이나 나쁜 위생 상태와 연관이 없으며 지나치게 잦은 세안은 오히려 여드름을 악화시킬 수 있다.

[0003]

[0004] 감태나무(*Lindera glauca* Blume)는 녹나무과(Lauraceae)에 속하는 낙엽관목으로 중국과 일본, 한국과 대만의 산기슭 양지에서 널리 분포한다. 겨울에도 마른 잎이 떨어지지 않고 봄에 새순이 날 때 잎이 떨어지며 가지에는 털이 없다. 잎은 어긋나며 두껍고 타원형이며 뒷면은 녹색이다. 꽃은 4월에 잎이 필 때 잎겨드랑이에서 나오는 산형화서(傘形花序)에 달리며 황색이고, 열매는 구형이며 9월에 흑색으로 익는다. 감태나무 추출물의 생리활성으로는 항산화활성, 항노화활성(Noh J.S., Lee J.N., Lee G.T., Lee G.G. (2009) Anti-aging cosmetic composition comprising *Lindera glauca*extract. Repub.Korean Kongkae Taeho Kongbo,11)이 보고되었으나, 여드름과 관련하여서는 그 효능이 보고된 바 없다.

[0005]

[0006]

한편, 스타필로코커스 에피데미디스(*Staphylococcus epidermidis*)는 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*)에 의하여 정상적인 모공에서 콜로니화되어 피부 세포에 염증을 일으켜 여드름을 일으킨다. 본 발명자들은 여러 식물 유래 화합물들을 대상으로 paper disk법을 이용하여 *Staphylococcus epidermidis*에 대한 항균활성을 측정하였고, 그 중 감태나무로부터 유래한 화합물들에서 *S. epidermidis*에 대한 항균활성을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007]

본 발명의 목적은 여드름 예방, 개선 및 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0008]

상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 플라반-3-올 다합체, 그 유도체 또는 이들의 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 여드름 예방, 개선 및 치료용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0009]

본 발명의 조성물은 여드름 균인 스타필로코커스 에피데미디스에 대하여 항균 활성을 가지며, 여드름의 예방, 개선 및 치료능을 갖는다.

도면의 간단한 설명

[0010]

도 1은 감태나무로부터 분리한 LG-5의 ^1H -NMR (400 MHz) 및 ^{13}C -NMR (100 MHz) 스펙트럼이다(CD3OD).

도 2는 감태나무로부터 분리한 LG-9의 ^1H -NMR (400 MHz) 및 ^{13}C -NMR (100 MHz) 스펙트럼이다(CD3OD).

도 3은 여러 화합물들의 paper disk 항균 활성 실험 결과를 나타내며, 특히 LG-5(도 3A) 및 LG-9(도 3B)의 항균 활성이 높은 것을 나타낸다.

도 4는 농도에 따른 LG-5의 항균 활성을 나타낸다.

도 5는 농도에 따른 LG-9의 항균 활성을 나타낸다.

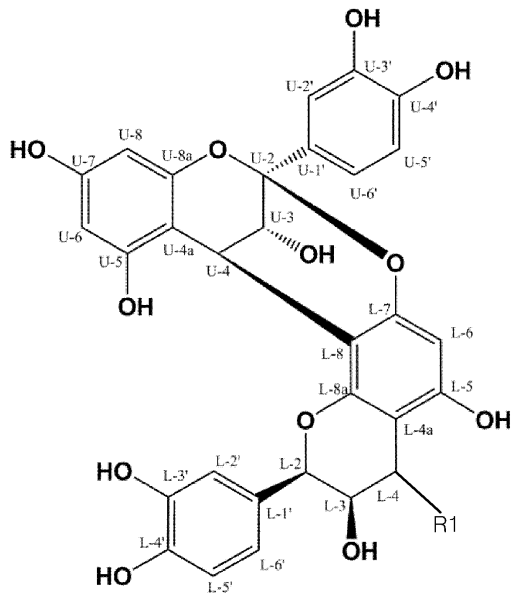
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0011]

본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 플라반-3-올 다합체, 그 유도체 또는 이들의 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 여드름 예방 및 개선용 화장품 조성물에 대한 것이다.

[0012]

[0013] <화학식 1>



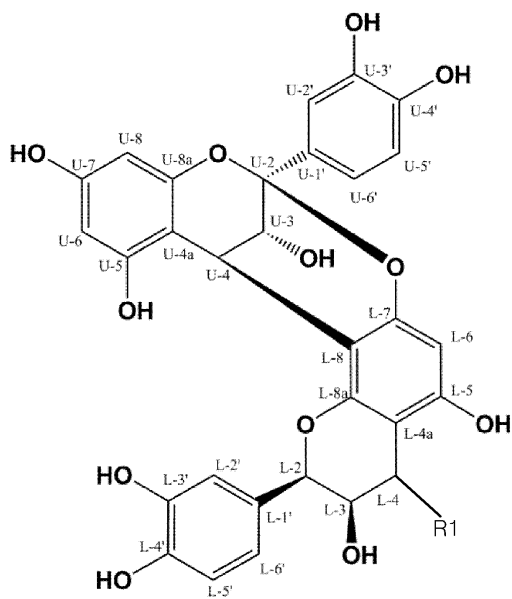
[0014]

[0015] 본 발명은 또한,

[0016] 하기 화학식 1로 표시되는 플라반-3-올 다합체, 그 유도체 또는 이들의 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 여드름 예방 및 치료용 약학적 조성물에 대한 것이다:

[0017]

[0018] <화학식 1>



[0019]

[0020] 이하, 본 발명을 자세히 설명한다.

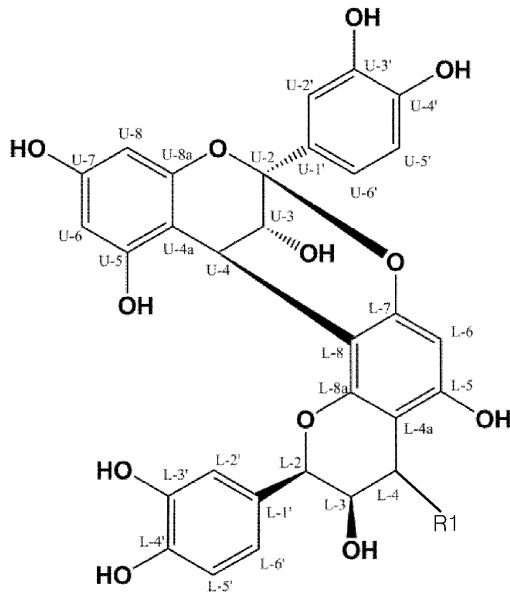
[0021]

[0022] 플라반-3-올 다합체, 그 유도체 또는 이들의 허용 가능한 염

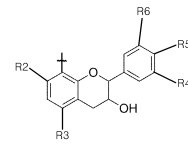
[0023] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 플라반-3-올 다합체, 그 유도체 또는 이들의 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 여드름 예방 및 개선용 화장품 조성물 및 여드름 예방 및 치료용 약학적 조성물에 대한 것이다.

[0024]

[0025] <화학식 1>

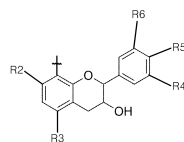


[0026]



[0027] 상기 R1은 H, OH, 탄소수 3 이하의 알콕시기, 탄소수 3 이하의 알킬기 또는 R3, R4, R5 및 R6은 각각 독립적으로, H 또는 OH이다.

이고, 상기



[0028] 바람직하게는, 상기 R1은 H 이거나,

이고, 이때, R2, R3, R5 및 R6은 OH이며, R4는 H이다.

[0029] 상기 플라반-3-올 다합체, 그 유도체 또는 이들의 허용 가능한 염은 유기화학적으로 합성하거나, 천연물로부터 분리하여 제조할 수 있다. 바람직하게는 본 발명의 플라반-3-올 다합체, 그 유도체 또는 이들의 허용 가능한 염은 감태나무로부터 분리하나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0030]

[0031] 상기 플라반-3-올 다합체, 그 유도체 또는 이들의 허용 가능한 염은 스타필로코커스 에피데미디스 (Staphylococcus epidermidis)에 대하여 항균 활성을 가지며, 상기 항균 활성이란 살균, 균의 증식 억제, 균의 활성 억제 등을 의미한다.

[0032]

[0033] 화장료조성물

- [0034] 본 발명의 화장료 조성물은, 당업계의 통상적으로 제조되는 어떠한 제형에도 제조될 수 있으며 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한 본 발명의 화장료 조성물은 유연화장수, 영양화장수, 영양크림, 마사지크림, 에센스, 아이크림, 클렌징크림, 클렌징폼, 클렌징워터, 팩, 스프레이 또는 파우더 제형으로 제조될 수도 있다.
- [0035]
- [0036] 약학적조성물
- [0037] 본 발명의 약학적 조성물은 조성물 100 중량부에 대하여 본 발명의 플라반-3-올 다합체, 그 유도체 또는 이들의 허용 가능한 염을 0.01 내지 99 중량부 포함할 수 있으며, 바람직하게는 0.02 내지 80 중량부 포함할 수 있다. 그러나 이는 투약자의 필요에 따라 증감할 수 있으며, 식생활, 영양 상태, 여드름의 상태, 피부의 염증, 피부 상태 등 상황에 따라 적절히 증감할 수 있다.
- [0038]
- [0039] 본 발명의 약학적 조성물은 경구 또는 비경구로 투여가 가능하며 도포하여 사용할 수 있고, 일반적인 의약품 제제의 형태로 사용될 수 있다. 바람직한 약제학적 제제는 정제, 경질 또는 연질 캡셀제, 액제, 현탁제 등과 같은 경구투여용 제제 또는 연고, 스프레이 등 도포용 제제가 있으며 이들 약제학적 제제는 약제학적으로 허용 가능한 통상의 담체, 예를 들어 경구투여용 제제의 경우에는 부형제, 결합제, 붕해제, 활택제, 가용화제, 현탁화제, 보존제 또는 증량제 등을 사용하여 조제할 수 있다.
- [0040]
- [0041] 본 발명의 약학적 조성물의 투여 용량은, 환자의 연령, 식생활, 영양 상태, 여드름의 상태, 피부의 염증, 피부 상태 등 등의 다양한 요인에 따라 전문가에 의해 결정될 수 있지만 일반적으로는 성인 1kg 당 0.1mg 내지 10g, 바람직하게는 1mg 내지 5g의 용량으로 투여될 수 있다. 또, 단위 제형당 상기 약학적 조성물의 1일 용량 또는 이의 1/2, 1/3 또는 1/4의 용량이 함유되도록 하며, 하루 1 내지 6 회 투여될 수 있다. 그러나 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 유효성분은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.
- [0042]
- [0043] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 첨부되는 도면과 함께 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나, 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하며, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.
- [0044] <재료 및 방법>
- [0045] 약제 동정
- [0046] 본 실험에 사용한 감태나무 목부는 2009년 (주)지에프씨(GFC Co., Ltd., Suwon, Korea)에서 공급받아, 우석대학교 약학대학에서 동정하였다. 본 발명에서는 감태나무 목질부를 가로 1 cm, 세로 1 cm 크기로 분쇄하고, 상기 분쇄물을 표본 시료로 이용하여 실험들을 수행하였다. 상기 표본 시료는 현재 경희대학교 천연물화학 실험실에 보관되어 있다.
- [0047] 기기 및 시약
- [0048] Column chromatography(c.c.)용 silica gel은 Kiesel gel 60(63~200 μm)(Merck, Darmstadt, Germany)을 사용하였다. TLC는 silica gel 60 F₂₅₄(Merck)와 octadecyl silica gel TLC는 DC-Fertigplatten RP-18 F₂₅₄S(Merck)를 사용하였다.
- [0049] NMR은 400 MHz FT-NMR spectrometer(Varian Inova AS-400, CA, USA)로 측정하였고, IR spectrum은 Perkin

model 599B(Perkin-Elmer, MA, USA)로 측정하였고, FAB/MS는 JMSAX 700(JEOL, Tokyo, Japan)을 사용하여 측정하였다. UV lamp는 Spectrolone(Model ENF-240 C/F, Spectronics, Corporation, NY, USA)을 사용하여 측정하였다.

[0050]

[0051] <프로시아니딘 A2 및 신남탄닌 B1의 분리 정제>

[0052] 프로시아니딘 A2 및 신남탄닌 B1의 분리

[0053] 건조하여 분쇄한 감태나무 목질부 4.87kg에 대하여 80% MeOH 수용액에 24시간 담가 실온에서 추출하였다. 추출물을 여과하고, 남은 것을 동일한 방법으로 1회 더 추출하였다. 얻어진 여액을 모두 합쳐 감압 농축하여 MeOH 추출물을 얻었다. 얻어진 MeOH 추출물을 EtOAc(2L) / H₂O(2L)로 3회 분배 추출하였고, 다시 H₂O층을 *n*-BuOH(1.8L)로 2회 분배 추출하였다. 각층을 감압 농축하여, EtOAc 분획(LGBE, 35 g)과 *n*-BuOH 분획(LGBB, 42 g) 및 H₂O분획을 얻었다. EtOAc 분획(LGBE, 35g)을 silica gel c.c.(*n*-hexane-EtOAc=1:1→CHCl₃-MeOH=10:1→5:1, Ø8cm×19cm)를 실시하여 13개의 분획물(LGBE-1 ~ LGBE-13)을 얻었다.

[0054] LGBE-10[1.5g, *Ve/Vt*(elution volume/total volume) 0.62-0.68] 분획을 SiO₂ c.c.(CHCl₃-MeOH=15:1, Ø4.0cm×13.5cm)를 실시하여 20개의 분획물(LGBE-10-1 ~ LGBE-10-20)을 얻어 그 중 LGBE-10-16[81mg, *Ve/Vt* 0.39-0.46]분획에 대해 ODS c.c.(MeOH-H₂O=1:2, Ø3.5cm×6.0cm)를 실시하여 LG-5[LGBE-10-16-11, 11mg, *Ve/Vt* 0.17-0.24, TLC(SiO₂F₂₅₄), R_f0.41, CHCl₃-MeOH-H₂O=65:35:10]를 분리하였다. LGBE-12[1.5 g, *Ve/Vt* 0.85-0.96] 분획을 SiO₂ c.c.(CHCl₃-MeOH-H₂O=7:3:1, Ø4.0cm×15.0cm)를 실시하여 16개의 분획물(LGBE-12-1~LGBE-12-16)을 얻었다. LGBE-12-15[350mg, *Ve/Vt* 0.76-0.98]분획에 대해 ODS c.c.(MeOH-H₂O=1:2, Ø3.5cm×6.0cm)를 실시하여 10개의 분획물(LGBE-12-15-1~LGBE-12-15-10)을 얻어 그 중 LGBE-12-15-3[87mg, *Ve/Vt* 0.04-0.31] 분획에 대해 Sephadex LH-20 c.c.(MeOH-H₂O=1:1, Ø2.0cm×45.0cm)를 실시하여 LG-9[LGBE-12-15-3-5, 35mg, *Ve/Vt* 0.83-0.86, TLC(SiO₂F₂₅₄), R_f0.29, CHCl₃-MeOH-H₂O=8:3:1]를 분리하였다.

[0055]

[0056] 프로시아니딘 A2 및 신남탄닌 B1의 구조 결정

[0057] 상기 분리한 프로시아니딘(procyanidin) 화합물 2종(LG-5, LG-9)에 대하여 nuclear magnetic resonance(NMR), infrared spectroscopy(IR), 및 mass spectroscopy(MS)와 같은 분광기기를 이용하여 화학적 구조를 동정하였다.

[0058] 프로시아니딘 A2

[0059] LG-5는 TLC 확인 시, UV(254/365 nm)에서 강한흡수를 보였으며, 10% 황산을 분무하고 가열했을 때 붉은색으로 발색되었다. Positive FAB/MS 측정 결과를 통해 분자이온피크[M+H]⁺가 m/z 577.3으로 관측되어 분자량이 576임을 확인하였다. ¹H-NMRspectrum에서는 저자장에서 olefine methine proton signal이 δ_H 7.15(d, *J*=1.8Hz, U-H-2'), 7.02(dd, *J*=1.8,8.4Hz, U-H-6'), 6.81(d, *J*=8.4Hz, U-H-5'), 7.13(d, *J*=2.2Hz, L-H-2'), 6.99(dd, *J*=2.2,8.2Hz, L-H-5'), 6.81(d, *J*=8.2Hz, L-H-6'), 6.09(s, L-H-6), 6.07(d, *J*=2.0Hz, U-H-8), 그리고 6.00(d, *J*=2.0Hz, U-H-6)에서 관측되어 두 개의 1,2,4-3치환 벤젠고리, 한 개의 1,2,3,5-4치환 벤젠고리, 및 한 개의 1,2,3,4,5-5치환 벤젠고리가 존재함을 예상하였다. δ_H 4.92(1H, brs, L-H-2), 4.40(1H, d, *J*=3.4Hz, U-H-4), 4.24(1H, m, L-H-3), 4.06(1H, d, *J*=3.4Hz, U-H-3)에서 관측된 methine proton signal로부터 세 개의 oxygenated methine group과 한 개의 allyl methine group이 존재함을 예상하였다. 고자장 영역에서는 δ_H 2.94(dd, *J*=2.2, 17.4Hz, L-H-4a)와 2.75 (dd, *J*=4.8, 17.4Hz, L-H-4b)에서 관측된 signal로부터 한 개의 geminal (²*J*)coupling을 보이는 methylene group 이 존재함을 예상하였다. ¹³C-NMRspectrum에서는 30개의 carbon signal이 관측되어 biflavonoid 구조임을 예상하였다. 10개의 oxygenated olefin quaternary carbon signal이 δ_C 158.2(U-C-7), 157.0(U-C-5), 156.6(L-C-5), 154.3(U-C-8a), 152.3(L-C-7), 152.1(L-C-8a), 146.8(L-C-3'), 146.3(U-C-8'), δ_C 146.0(L-C-4'), 145.7(U-C-4')에서 관측되었고, 5개의 olefin

quaternary carbon signal이 δ_c 132.5(U-C-1'), 131.2(L-C-1'), 107.3(L-C-8), 104.3(U-C-4a), 102.5(L-C-4a)에서 관측되었으며, 9개의 olefin methine carbon signal이 δ_c 120.4(U-C-6'), 119.8(L-C-6'), 116.1(U-C-5'), 116.0(L-C-5'), 115.7(L-C-2', U-C-2'), δ_c 98.4(U-C-6), 96.7(L-C-6, U-C-8)에서 관측되었다. 이를 통하여 LG-5에 4개의 방향고리가 존재함을 예상하였다. 그 외에도 δ_c 100.2(U-C-2), 81.8(L-C-2), 68.1(U-C-3), 29.9(L-C-4), and 29.3(U-C-4)에서 관측된 signal을 통하여 한 개의 hemiketal group과, 두 개의 oxygenated methine group, 한 개의 allyl methine group, 그리고 한 개의 methylene group이 존재함을 예상하였다(표 1, 도 1). 결론적으로, $^1\text{H-NMR}$ 과 $^{13}\text{C-NMR}$ data를 종합하여 LG-5는 dimeric flavan-3-ol 화합물인 프로시아니딘 A2(procyanidin A2)로 하기 화학식 2의 화학 구조를 동정하였으며, 감태나무 목부에서는 처음으로 분리되었다.

표 1

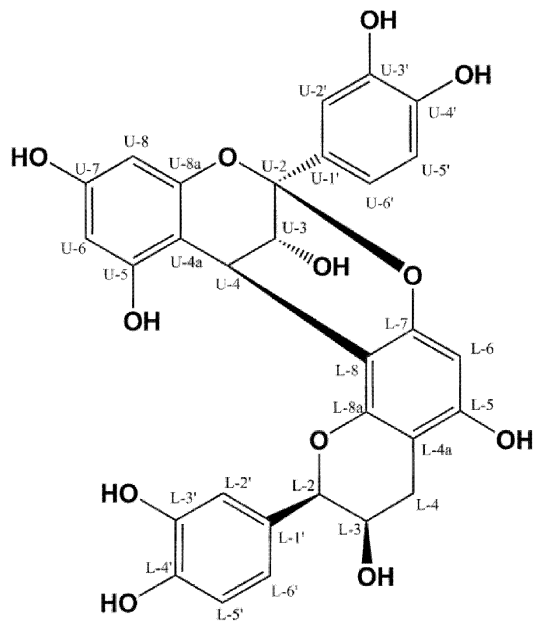
No.	δ_c (multiplicity)	δ_H (integration, coupling pattern, J Hz)
U-2	100.2 (C)	-
U-3	68.1 (CH)	4.06 (1H, d, 3.4)
U-4	29.3 (CH)	4.40 (1H, d, 3.4)
U-4a	104.3 (C)	-
U-5	157.0 (C)	-
U-6	98.4 (CH)	6.00 (1H, d, 2.0)
U-7	158.2 (C)	-
U-8	96.7 (CH)	6.07 (1H, d, 2.0)
U-8a	154.3 (C)	-
U-1'	132.5 (C)	-
U-2'	115.7 (CH)	7.15 (1H, d, 1.8)
U-3'	146.3 (C)	-
U-4'	145.7 (C)	-
U-5'	116.1 (CH)	6.81 (1H, d, 8.4)
U-6'	120.4 (CH)	7.02 (1H, dd, 8.4, 1.8)
L-2	81.8 (CH)	4.92 (1H, br s)
L-3	67.0 (CH)	4.24 (1H, m)
L-4	29.9 (CH ₂)	2.75 (1H, dd, 17.4, 2.2) 2.94 (1H, dd, 17.4, 4.8)
L-4a	102.5 (C)	-
L-5	156.6 (C)	-
L-6	96.7 (CH)	6.09 (1H, s)
L-7	152.3 (C)	-
L-8	107.3 (C)	-
L-8a	152.1 (C)	-
L-1'	131.2 (C)	-
L-2'	115.7 (CH)	7.13 (1H, d, 2.2)
L-3'	146.8 (C)	-
L-4'	146.0 (C)	-
L-5'	116.0 (CH)	6.81 (1H, d, 8.2)
L-6'	119.8 (CH)	6.99 (1H, dd, 8.2, 2.2)

[0060]

[0061] 감태나무 목부에서 분리한 LG-5의 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) 및 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz) 데이터(in CD3OD)

[0062] U는 화합물의 upper unit을 가리키고, L은 lower unit을 가리킴

[0063] <화학식 2>



[0064]

[0065] 신남탄닌 B1

[0066] LG-9는 TLC 확인시, UV(254/365 nm)에서 강한 흡수를 보였으며, 10% 황산을 분무하고 가열했을 때 붉은색으로 발색되었다. Positive FAB/MS 측정 결과를 통해 분자이온피크[M+H]⁺가 m/z 865.4로 관측되어 분자량이 864임을 확인하였다. ¹H-NMR spectrum에서는 저자장에서 13개의 olefin methine signal이 δ_H 5.80-7.31에서 관측되어 3개의 1,2,4-3치환 벤젠고리, 한 개의 1,2,3,5-4치환 벤젠고리, 및 두 개의 1,2,3,4,5-5치환 벤젠고리가 존재함을 예상하였다. 두 개의 methine proton signal이 δ_H 4.55(1H, brs, M-H-4), 4.15(1H, d, $J=3.4$ Hz, U-H-4)에서 관측되어 두 개의 allyl methine group이 존재하는 것으로 해석하였다. 그 외에도 δ_H 5.70(1H, brs, M-H-2), 4.38(1H, s, L-H-2), 4.12(1H, d, $J=1.2$ Hz, M-H-3), 3.86(1H, m, L-H-3), 3.28(1H, d, $J=3.4$ Hz, U-H-3), 2.83(2H, m, L-H-4)에서 관측된 proton signal을 통하여 다섯 개의 oxygenated methine group과 한 개의 methylene group이 존재함을 예상하였다. ¹³C-NMR spectrum에서는 45개의 carbon signal이 관측되어 trimeric flavonoid 구조를 예상하였다. 15개의 oxygenated olefin quaternary carbon signal (δ_C 157.8-145.3), 여덟 개의 olefin quaternary carbon signal (δ_C 133.2-100.0), 13개의 olefin methine carbon signal (δ_C 121.3-96.1)이 관측되어 여섯 개의 방향고리가 존재함을 예상하였다. 그 외에도 한 개의 hemiketal group (δ_C 99.9), 다섯 개의 oxygenated methine group (δ_C 80.3, 78.9, 72.6, 67.5, 및 67.2), 두 개의 allyl methine group (δ_C 38.3 and 28.8), 그리고 한 개의 methylene group (δ_C 29.8)이 존재하는 것을 예상하였다(표 2, 도 2). 결론적으로, ¹H과 ¹³C NMR spectrum을 중합하여 LG-9를 화학식 3의 trimeric flavan-3-ol 인 cinnamtannin B1으로 구조 동정하였으며, 이는 *C. cassia*와 *zeylanicum*에서 분리된 것으로 보고되었다.

표 2

No.	δ C (multiplicity)	δ H (integration, coupling pattern, Δ nHz)
U-2	99.9 (C)	-
U-3	67.2 (C)	3.28 (1H, d, 3.4)
U-4	28.8 (CH)	4.15 (1H, d, 3.4)
U-4a	104.9 (C)	-
U-5	156.7 (C)	-
U-6	98.3 (CH)	6.01 (1H, d, 2.4)
U-7	157.8 (C)	-
U-8	96.5 (CH)	5.96 (1H, d, 2.4)
U-8a	154.1 (C)	-
U-1'	132.4 (C)	-
U-2'	115.7 (CH)	7.03 (1H, d, 1.4)
U-3'	145.4 (C)	-
U-4'	146.6 (C)	-
U-5'	116.1 (CH)	6.82 (1H, d, 8.0)
U-6'	119.9 (CH)	6.84 (1H, dd, 8.0, 1.4)
M-2	78.9 (CH)	5.70 (1H, br s)
M-3	72.6 (CH)	4.12 (1H, d, 1.2)
M-4	38.3 (CH)	4.55 (1H, br s)
M-4a	106.7 (C)	-
M-5	156 (C)	-
M-6	96.1 (CH)	5.80 (1H, s)
M-7	151.1 (C)	-
M-8	106.4 (C)	-
M-8a	151.8 (C)	-
M-1'	131.8 (C)	-
M-2'	116.7 (CH)	7.31 (1H, d, 2.0)
M-3'	145.9 (C)	-
M-4'	146.3 (C)	-
M-5'	115.7 (CH)	6.83 (1H, d, 8.4)
M-6'	121.3 (CH)	7.19 (1H, dd, 8.4, 2.0)
L-2	80.3 (CH)	4.38 (1H, s)
L-3	67.5 (CH)	3.86 (1H, m)
L-4	29.8 (CH ₂)	2.83 (2H, m)
L-4a	100 (C)	-
L-5	155.5 (C)	-
L-6	96.5 (CH)	6.10 s
L-7	155.8 (C)	-
L-8	108.8 (C)	-
L-8a	155.8 (C)	-
L-1'	133.2 (C)	-
L-2'	115.5 (CH)	6.82 d (1.8)
L-3'	145.3 (C)	-
L-4'	145.7 (C)	-
L-5'	116 (CH)	6.75 d (8.0)
L-6'	119.4 (CH)	6.71 dd (8.0, 1.8)

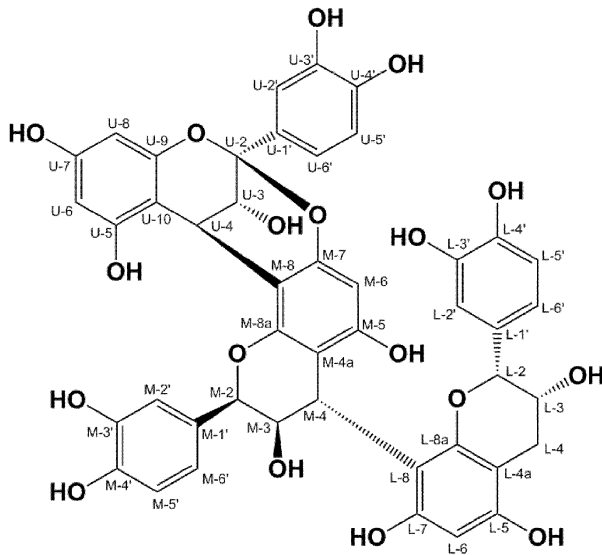
[0067]

[0068] 감태나무 목부에서 분리한 LG-9의 ¹H-NMR (400 MHz) 및 ¹³C-NMR (100 MHz) 데이터(in CD3OD)

[0069] U는 화합물의 upper unit을 가리키고, M은 middle unit을 가리키며, L은 lower unit을 가리킴

[0070]

[0071] <화학식 3>



[0072]

[0073] <실험예 1>

[0074] 시험재료는 310종의 식물 유래 화합물을 사용하였으며 여드름 균주는 스타필로코커스 에피더미디스 (*Staphylococcusepidermidis*)KSC3709를 경희대학교 피부생명공학센터로부터 분양 받았으며, 배지는 Muller Hunton Broth(MHB)에 Agar 7g/L넣은 배지를 사용하였다. 항균활성평가는 paper disk diffusion 법으로 *S. epidermidis*균을 620nm에서 탁도를 0.5로 조절한 후 멸균된 MHB배지에 균주를 접종하고 말린다(Paper disc : ϕ 6mm). 균액이 포함된 배지가 굳은 후 식물화합물 0.2%와 대조군으로 항생제인 Ampicillin 50 μ g/ml를 20 μ l씩 점적하여 흡습시킨 paper disk(ϕ 6mm, Adventec, USA)를 건조된 균주배지에 놓고 37 $^{\circ}$ C에 24시간 배양한 후 Clear Zone을 측정하였고, 단반복으로 하였다.

[0075]

[0076] 그 결과, LG-5의 항균 활성이 가장 높았으며(98.2%), 그 다음은 LG-9였다(표 3, 도 3).

표 3

항균효과	20%>	21%~40%	41%~60%	61%~80%	81%~100%
화합물수	6	28	20	3	1

[0077]

[0078] 그 후 항균 활성이 있는 다른 화합물들까지 총 62종의 화합물들을 사용하여 실험예와 같은 방법으로 clear zone 을 측정하는 방법으로 항균 활성을 반복실험하였다. 또한 여기서 선별된 4종의 화합물들을 사용하여 실험예와 같은 방법으로 clear zone을 측정하는 방법으로 항균 활성을 반복실험하여, LG-5 및 LG-9의 항균 활성이 가장 높은 것을 확인하였다(실험 결과 도시하지 않음).

[0079]

[0080] <실험예 2>

[0081] 반복 실험 결과, 최종 선별된 LG5와 LG9 식물화합물을 시험 재료로 사용하였다. 전술한 바와 같이, 이들은 LG-5의 경우, 프로시아니딘 A2으로 확인되었으며, LG-9의 경우, 신남탄닌 B1으로 확인되었다. 이들 화합물들의 농도를 0.2%, 0.1%, 0.05%, 0.025%, 0.01, 0.005, 0.0025, 0.00125%로 실험예 1과 같은 균주, 접종 방법, 배양 조

건을 동일하게 하여 Clear Zone을 측정하였고, 3반복으로 하였다. 저지율은 하기 식 1과 같이 계산하였다.

[0082]

[0083] <식 1>

[0084]
$$\text{저지율}(\%) = ((\text{저지환}-6\text{mm})/(\text{항생제저지환}-6\text{mm}) \times 100)$$

[0085] 그 결과, 프로시아니딘 A2 및 신남탄닌 B는 0.05%농도이상에서 각각 50%이상의 항균 효과가 있는 것으로 확인되었다(표 4, 도 4 및 도 5).

표 4

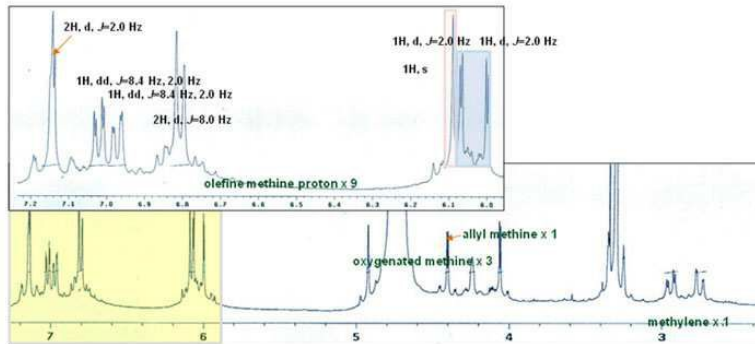
화합물 농도 (%)	프로시아니딘 A2		신남탄닌 B1	
	균생육저지환(mm)	저지율(%)	균생육저지환(mm)	저지율(%)
Ampicillin	11.4	100.0	12.3	100.0
0.2	10.9	90.7	12.4	101.6
0.1	10.0	90.4	10.3	67.7
0.05	8.5	62.9	9.1	49.7
0.025	7.7	37.2	8.1	33.3
0.01	0.0	0.0	0.0	0.0
0.005	0.0	0.0	0.0	0.0
0.0025	0.0	0.0	0.0	0.0
0.00125	0.0	0.0	0.0	0.0

[0086]

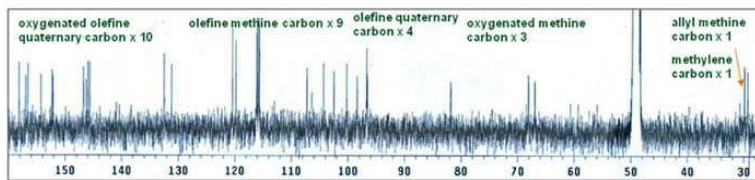
도면

도면1

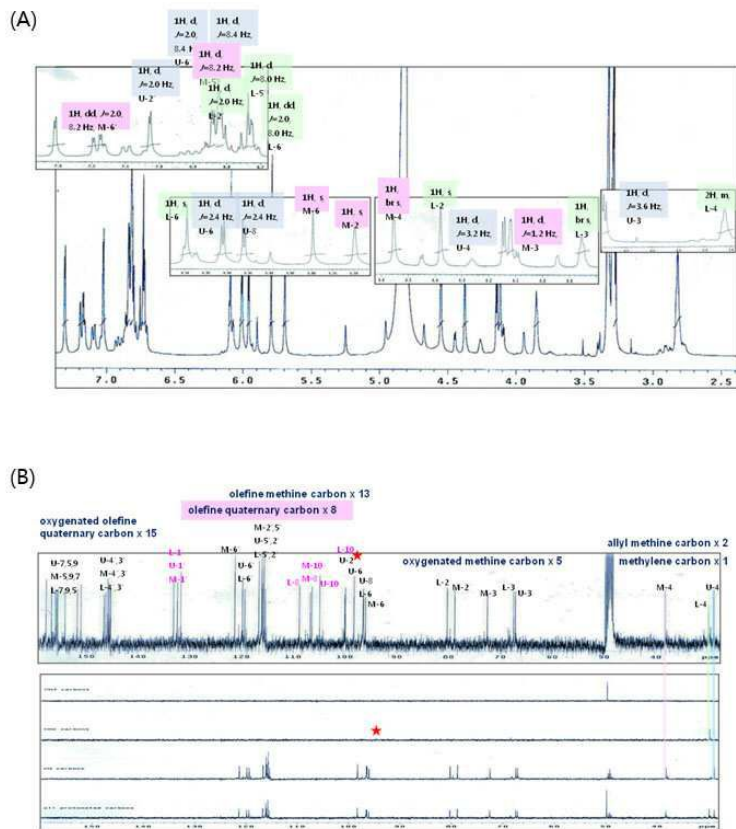
(A)



(B)

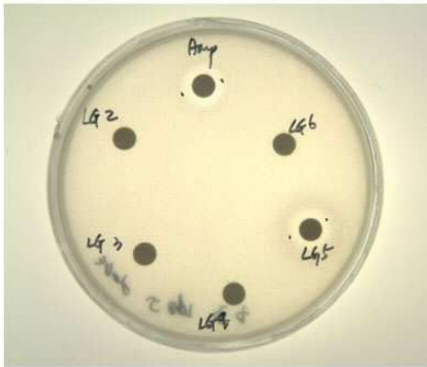


도면2

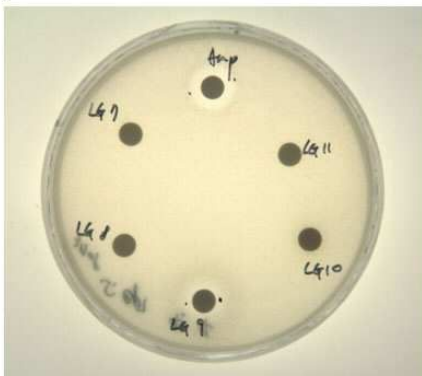


도면3

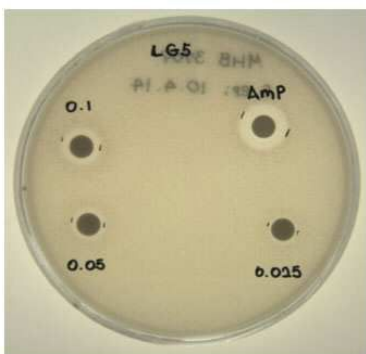
(A)



(B)



도면4



도면5

