



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0092038

(43) 공개일자 2015년08월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/7016 (2006.01) A61K 31/336 (2006.01)

A61K 31/353 (2006.01) A61K 31/70 (2006.01)

A61K 36/736 (2006.01) A61K 36/8968 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/7016 (2013.01)

A61K 31/336 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-0088616(분할)

(22) 출원일자 2015년06월22일

심사청구일자 2015년06월22일

(62) 원출원 특허 10-2013-0117813

원출원일자 2013년10월02일

심사청구일자 2013년10월02일

(71) 출원인

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)

한남대학교 산학협력단

대전광역시 유성구 유성대로 1646 (전민동)

주식회사 하임내추릴

대전광역시 유성구 대학로 27, 611(봉명동, 현대리조텔)

(72) 발명자

김영호

대전광역시 유성구 봉명로 48, 801동 302호(신한인스빌)

염희도

대전광역시 유성구 대학로 99, 충남대학교

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인 공간

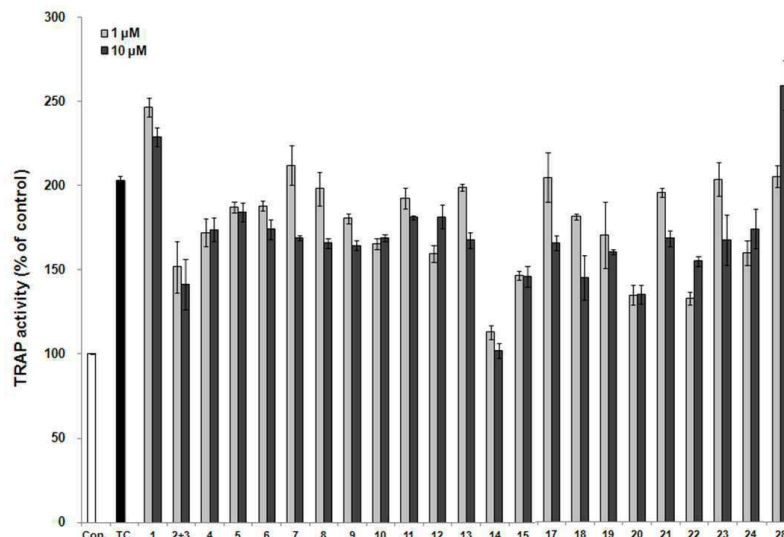
전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 발명의 명칭 매실 추출물 또는 이로부터 분리된 화합물을 함유하는 골다공증 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 매실 추출물로부터 분리된 화합물을 함유하는 골다공증의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로서, 상기 화합물들은 조골세포의 분화를 유도하는 반면, 파골세포는 분화를 억제하는 효과가 우수하여, 골다공증의 치료에 용이하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

A61K 31/353 (2013.01)

A61K 31/70 (2013.01)

A61K 36/736 (2013.01)

A61K 36/8968 (2013.01)

(72) 발명자

장해동

대전광역시 유성구 엑스포로 448, 105동 301호 (전민동, 엑스포 아파트)

이상현

대전광역시 중구 학교개로34번길 16-6 (옥계동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2009-0093815

부처명 교육부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 대학중점연구소 지원사업

연구과제명 심혈관계 질환 치료제 개발 기반 연구

기 여 율 1/1

주관기관 충남대학교 산학협력단

연구기간 2009.09.01 ~ 2018.08.31

명세서

청구범위

청구항 1

매실 추출물로부터 분리된 하기 화합식 1~3의

3,4,5-트리메톡시페닐- β -D-글루코피라노시드 (화합물 4),

벤조일- β -D-글루코피라노시드 (화합물 5),

벤질- β -D-글루코피라노시드 (화합물 6),

벤질- α -L-아라비노피라노실-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노시드 (화합물 7),

벤질- α -L-아라비노푸라노실-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노시드 (화합물 8),

벤질- β -D-자일로피라노실-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노시드 (화합물 9),

프루나신 (화합물 10),

아미그달린 (화합물 11),

클로로제닉 에시드 메틸 에스터 (화합물 12),

크립토클로로제닉 에시드 메틸 에스터 (화합물 13),

네오클로로제닉 에시드 메틸 에스터 (화합물 14),

이소클로로제닉 에시드 (화합물 15),

(+)-피노레시놀 (화합물 17),

(+)-메디오레시놀 (화합물 18),

(+)-시링가레시놀 (화합물 19),

1,5-디메틸 시트레이트 (화합물 20),

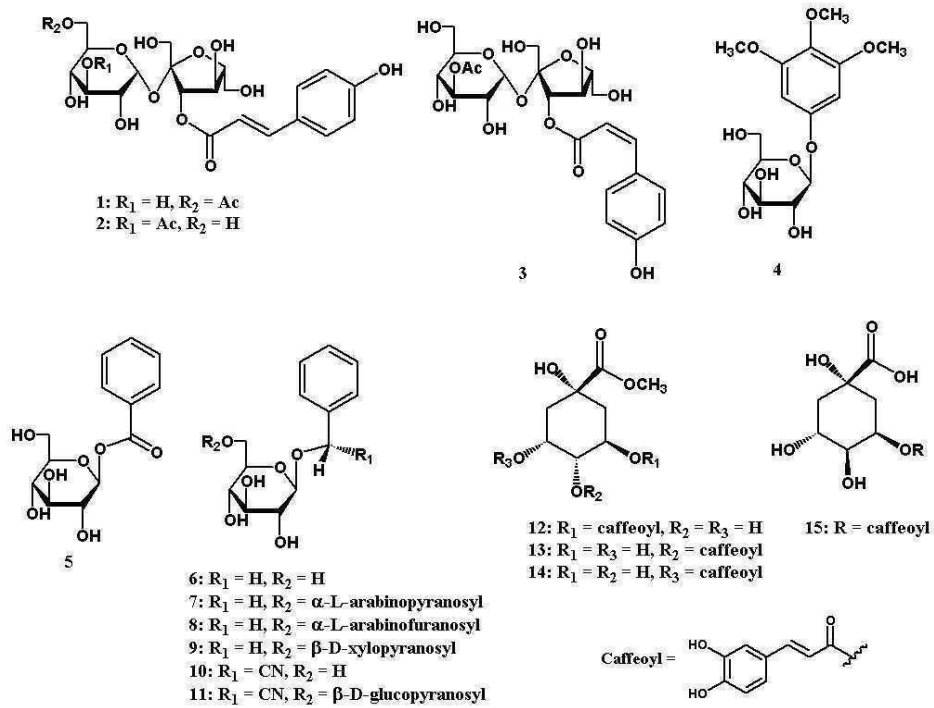
3-히드록시-3-메톡시카르보닐 글루타릭 에시드 (화합물 21),

(2E)-7-하이드록시-3,7-디메틸-2-옥테닐 α -L-아라비노피라노실 (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노시드 (화합물 22),

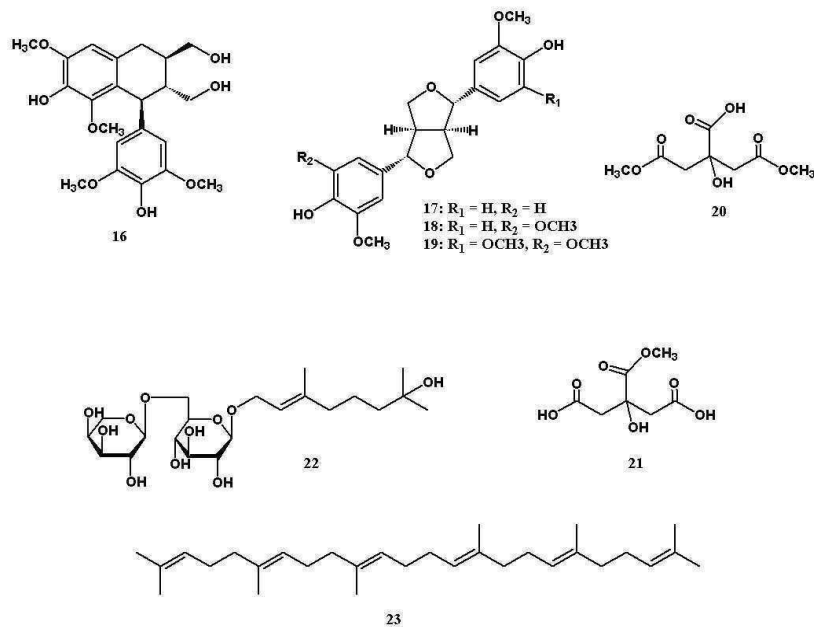
스쿠알렌 (화합물 23), 및

2 β ,3 β -에폭시-5,7,4'-트리히드록시플라반-(4 α $\rightarrow$ 8)-에피카테킨 (화합물 24)로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 화합물을 함유하는 것을 특징으로 하는 골다공증의 예방 또는 치료용 조성물.

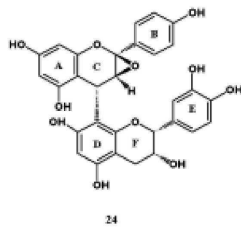
[화학식 1]



[화학식 2]



[화학식 3]



청구항 2

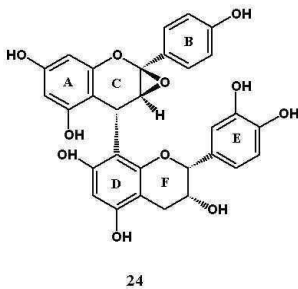
제 1항에 있어서,

상기 화합물들은 조골세포의 분화 유도 촉진 또는 파골세포의 분화 억제 효과가 있는 것을 특징으로 하는 골다공증의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 3

하기 화학식 7의 신규화합물 2 β ,3 β -에폭시-5,7,4'-트리히드록시플라반-(4 α →8)-에피카테킨(화합물 24).

[화학식 7]



발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 매실 추출물로부터 분리된 화합물을 함유하는 골다공증의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

골다공증(osteoporosis)은 대표적인 노인성 골 대사질환으로 조골세포 활성의 감소 혹은 파골세포의 상대적 활성증가로 인해 야기되는 질병으로 노화, 호르몬 이상(여성의 경우 estrogen 감소), 염증성 류마티스 관절염, 대사성 질환, 골 전이성 암(유방암, 전립선암 등)과 같은 다양한 질환으로 발병하며, 이로 인해서 심각한 통증과 보행의 어려움을 준다. 현재 골다공증의 치료방법으로는 호르몬 요법(hormone therapy)과 비스포스포네이트(bisphosphonate) 제제가 주로 사용되고 있으나 호르몬 요법의 경우 유방암, 뇌졸중 등의 부작용이 보고되고 있으며, 비스포스포네이트 제제 역시 과도한 골재형성 억제제로 인해 턱뼈괴사(osteonecrosis of the jaw) 등의 문제점이 있기 때문에 천연 유래 골다공증 치료제 및 예방 목적의 기능성 식품 개발이 절실히 요구된다.

[0003]

뼈는 특수한 형태의 결합조직이며 인산칼슘복합염(hydroxyapatite)과 다른 이온들의 석회화로 이루어져 있으며, 콜라겐 섬유(collagen), 당단백질(glycoprotein) 및 프로테오글리칸(proteoglycan)으로 이루어진 기질(matrix)로 구성된다. 뼈를 구성하는 세포로는 골 흡수작용을 하는 파골세포(osteoclast), 골형성세포인 조골세포(osteoblast), 완성된 골조직 내에 존재하는 골세포(osteocyte)와 뼈의 말단의 관절 기능을 하는 연골세포(chondrocyte) 등이 있다.

- [0004] 뼈(bone)는 척추동물의 대표적인 특징이며 생체 내에서는 살아있는 조직 중 하나로서, 뼈는 장기를 보호할 뿐 아니라 몸 전체 각 조직에 필요한 영양분과 노폐물을 운반하는 혈액세포를 생성하는 조혈작용을 하며 칼슘 및 미네랄을 축적하는 등 매우 다양한 역할을 한다. 성숙된 파골세포(osteoclast)는 다핵세포이며 조혈로 세포에서 기원되며, 중간엽 간세포에서 분화된 조골세포(osteoblast)는 약 3~4개월간 생존하며 활성화된 파골세포가 낳은 뼈를 분해시킨 자리에 새로운 뼈를 형성한다. 수많은 조골세포가 골 기질을 만들고 점차 기질이 무기질화되면서 골 형성이 완료되면, 이후 조골세포의 약 70% 이상은 사멸(apoptosis)되고 일부는 골세포 및 골표면세포로 분화되어 존재한다.
- [0005] 뼈의 성장은 일차 골화중심(primary ossification center)의 형성으로 시작되어 성장판(growth plate)이 닫히는 사춘기 말쯤 끝나며, 뼈의 성장은 일차 골화중심의 형성 → 연골주형 형성 → 세포의 비대화(비대 연골세포 형성) → 비대 연골세포의 석회화(calcification) → 일부 사멸(apoptosis) → 주위 뼈 고리(bone collar) 형성 → 비대 연골세포 층으로의 혈관 침윤 → 혈관 침윤과 함께 형성되는 골수(bone marrow)의 형성 등의 단계적으로 나눌 수 있다.
- [0006] 뼈 건강에서 골격대사 조절은 뼈가 발달하는 동안 파골세포에 의한 뼈의 흡수와 조골세포에 의한 형성으로 뼈의 형태가 갖춰지며 이런 과정은 평생 동안 계속되며, 건강한 상태에서 뼈의 흡수에 이어 새로운 뼈의 침착이 일어나는데 이런 과정을 뼈 재형성(bone remodeling)이라고 하고 뼈 재형성은 무기질 항상성과 골격의 항상성에 기여하게 된다. 이러한 뼈 재형성은 화학적이고 기계적인 신호에 의해 시작되는데 주된 화학적 신호로는 혈장의 칼슘 수치가 낮을 때 반응하여 분비되는 부갑상선호르몬(parathyroid hormone, PHT)과 여성호르몬(estrogen)이며, 특히 여성 호르몬이 결핍되면 파골세포의 활동은 조골세포의 활동을 증가하게 되고 결과적으로 골격의 양은 감소하게 되어 폐경 전후 골다공증의 원인이 된다.
- [0007] 중간엽 간세포에서 분화된 조골세포(osteoblast)는 약 3~4개월간 생존하며 활성화된 파골세포가 낳은 뼈를 분해시킨 자리에 새로운 뼈를 형성하며, 수많은 조골세포가 골 기질을 만들고 점차 기질이 무기질화되면서 골 형성이 완료된다. 전 조골세포인 MC3T3-E1 subclone4 세포는 β -글리세로인산 및 아스코르브산을 함유한 배지를 첨가해주면 조골세포로의 분화가 유도되는데, 이때 β -글리세로인산은 뼈 형성중 무기질 침착시에 필요한 기질을 제공하며, 아스코르브산은 세포성장 및 콜라겐 형성에 관여한다.
- [0008] 뼈의 무기질화는 세포 혹은 세포외 기질에 칼슘, 무기질이 침착되는 현상을 말한다. 콜라겐 섬유가 구성하는 망사구조에 칼슘과 인이 침착하고 물과 혼합되어 인산칼슘복합염(hydroxyapatite)을 형성하여 뼈를 단단하게 유지하는 역할을 한다(Gkimcher, M.J. et al., 1989).
- [0009] RANK(Receptor-Activator of Nuclear factor Kappa B)는 TNF receptor family의 단백질로서 파골세포 분화 및 활성화에 결정적인 역할을 하며, RANKL(RANK ligand)과 결합하여 파골세포의 신호전달체계에 관여하여 뼈 흡수작용을 한다. RANK/RANKL 신호전달체계에 의한 신호전달체계는 TRAFs(TNF-receptor-associated factor protein)의 모집(recruitment), 전사인자(transcription factor)의 활성화(NF- κ B, AP-1, NFATc1), MAPK 경로(MAPK-pathway: ERK, JNK, p38)의 활성화로 요약될 수 있다(Steven, L. et al., 2003).
- [0010] 파골세포는 분화 중 V-ATPase는 세포 외부로 H^+ 을 펌핑-아웃(pumping-out)함으로써 파골세포가 골기질을 분해하는데 유리한 환경(산성조건)을 조성한다. TRAP(tartrate-resistant acid phosphatase)은 파골세포 분화시 세포에서 분비되는 효소로 tartrate에 억제되는 않는 형으로 골 기질의 인산을 분해하는 역할을 한다(Kim, H.H. et al., 2005).
- [0011] 매실(*Prunus mume*)은 한국, 일본 및 중국 등에 널리 분포하는 장미과에 속하는 매화나무의 열매로 구연산, 사과산, 호박산 및 주석산 등의 유기산을 많이 함유하여 산미가 강하기 때문에 주로 가공에 이용되며, 칼륨, 칼슘, 마그네슘 및 나트륨 등의 무기질이 풍부한 알칼리성 식품이다. 매실은 위액의 분비를 왕성하게 하여 소화 작용을 도와주며 신진대사를 원활히 하여 피로회복에 효과가 있고 해독작용, 간 기능 회복, 체질개선, 당뇨병 및 혈압상승 예방 등의 효능이 있는 것으로 알려져있다. 매실은 칼슘의 흡수를 도와주는 구연산 함량이 다른 과일에 비해 매우 높기 때문에 장내흡수율이 높은 유기산 칼슘 제조에 용이한 원료로 판단된다. 또한, 초여름(6~7월) 수확되며, 대부분 당절임, 초절임, 염장 등의 절임류로 가공되거나 추출액 혹은 농축액 등으로 제조되어 원료형 제품으로 판매되고 있고 전통 한약재인 오매(烏梅) 등의 특수한 수치가 가미된 형태도 있으나, 매실에 당원(糖原)을 첨가하여 장기간 숙성시킨 매실엑스가 가장 일반적인 형태라 할 수 있다.
- [0012] 한편, 본 발명자들은 골다공증 치료용 조성물에 관한 연구를 진행하던 중, 매실 추출물로부터 분리된 화합물들이 조골세포의 분화를 활성화하고, 파골세포의 활성을 억제함을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

- [0013] 일본공개특허 제2009-137929호에는 매실초를 스티렌-디비닐벤젠계 합성 흡수 수지와 접촉시켜 수성 용매로 용출 처리한 것을 농축하여, 시트르산을 포함하지 않으면서도 폴리페놀이 고농도로 포함되는 매실 유래의 폴리페놀 추출물을 제조하고, 이를 골다공증 예방용 조성물로 이용할 수 있음이 개시되어 있고, Kono, R. 등의 문헌에서 이미 매실 추출물이 조골세포의 분화에 효과가 있다는 것이 개시되어 있기는 하지만, 상기 선행문헌들에는 본 발명에서 추출한 매실 유래의 특정 화합물들이 골다공증 치료 효과가 있다고는 언급되어 있지 않다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0014] (특허문헌 0001) 일본공개특허 제2009-137929호 (폴리페놀 추출물 제조 방법, 골다공증 예방제, 당질 소화 효소 저해제, 이것들을 이용한 기능성 조성물 및 이 기능성 조성물을 포함하는 식품 조성물, 특정 보건용 식품 조성물, 의약부외품 조성물, 의약 조성물. 2009.06.25)

비특허문헌

- [0015] (비특허문헌 0001) Kono, R. et al., A Prunus mume extract stimulated the proliferation and differentiation of osteoblastic MC3T3-E1 cells., Biosci. Biotechnol. Biochem., 2011, 75(10), 1907-1911.
- (비특허문헌 0002) Gkimcher, M.J. et al., Mechanism of calcification: role of collagen fibrils and collagen-phosphoprotein complexes in vitro and in vivo., Anat Rec., 1989, 224, 139-153.
- (비특허문헌 0003) Steven, L. et al., Genetic regulation of osteoclast development and function., Nat. Rev. Genet., 2003, 4, 638-649.
- (비특허문헌 0004) Kim, H.H. et al., Proteomic identification of the TRAF6 regulation of V-ATPase for osteoclast function., Proteomics., 2005, 5, 4152-4160.

발명의 내용

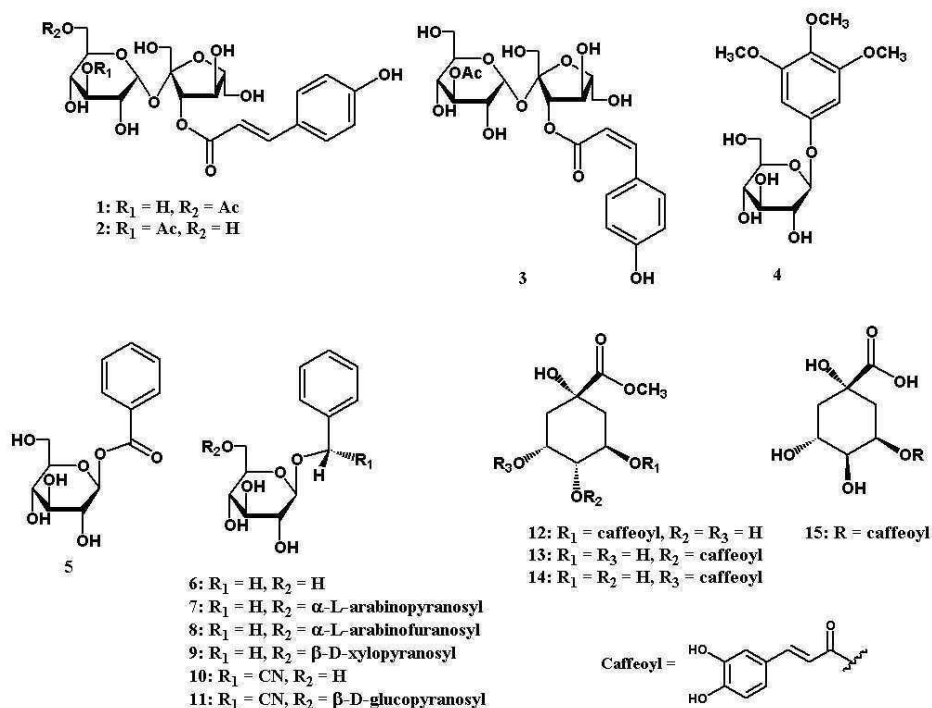
해결하려는 과제

- [0016] 본 발명의 목적은 매실 추출물로부터 분리된 화합물을 함유하는 골다공증의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

- [0017] 본 발명은 매실 추출물로부터 분리된 하기 화학식 1~3의
- [0018] 6'-O-아세틸-3-O-(E)-p-쿠마로일수크로오스 (화합물 1),
- [0019] 3'-O-아세틸-3-O-(E)-p-쿠마로일수크로오스 (화합물 2),
- [0020] 3'-O-아세틸-3-O-(Z)-p-쿠마로일수크로오스 (화합물 3),
- [0021] 3,4,5-트리메톡시페닐-β-D-글루코피라노시드 (화합물 4),
- [0022] 벤조일-β-D-글루코피라노시드 (화합물 5),
- [0023] 벤질-β-D-글루코피라노시드 (화합물 6),
- [0024] 벤질-α-L-아라비노피라노실-(1→6)-β-D-글루코피라노시드 (화합물 7),
- [0025] 벤질-α-L-아라비노푸라노실-(1→6)-β-D-글루코피라노시드 (화합물 8),
- [0026] 벤질-β-D-자일로피라노실-(1→6)-β-D-글루코피라노시드 (화합물 9),
- [0027] 프루나신 (화합물 10),

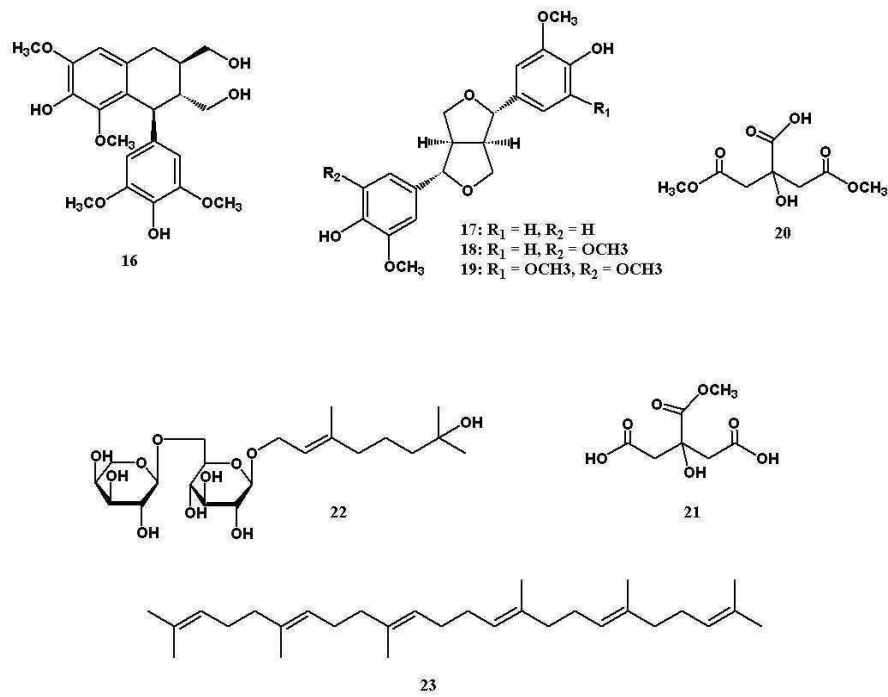
- [0028] 아미그달린 (화합물 11),
- [0029] 클로로제닉 에시드 메틸 에스터 (화합물 12),
- [0030] 크립토크로로제닉 에시드 메틸 에스터 (화합물 13),
- [0031] 네오크로로제닉 에시드 메틸 에스터 (화합물 14),
- [0032] 이소크로로제닉 에시드 (화합물 15),
- [0033] (+)-피노레시놀 (화합물 17),
- [0034] (+)-메디오레시놀 (화합물 18),
- [0035] (+)-시린가레시놀 (화합물 19),
- [0036] 1,5-디메틸 시트레이트 (화합물 20),
- [0037] 3-히드록시-3-메톡시카르보닐 글루타릭 에시드 (화합물 21),
- [0038] (2E)-7-하이드록시-3,7-디메틸-2-옥테닐 α-L-아라비노피라노실 (1→6)-β-D-글루코피라노시드 (화합물 22),
- [0039] 스쿠알렌 (화합물 23),
- [0040] 2β,3β-에폭시-5,7,4'-트리히드록시플라반-(4α→8)-에피카테킨 (화합물 24), 및,
- [0041] 퀘르세틴 3-O-네오헤스페리도시드 (화합물 28)
- [0042] 로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 화합물을 함유하는 골다공증의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.
- [0043] [화학식 1]



[0044]

[0045]

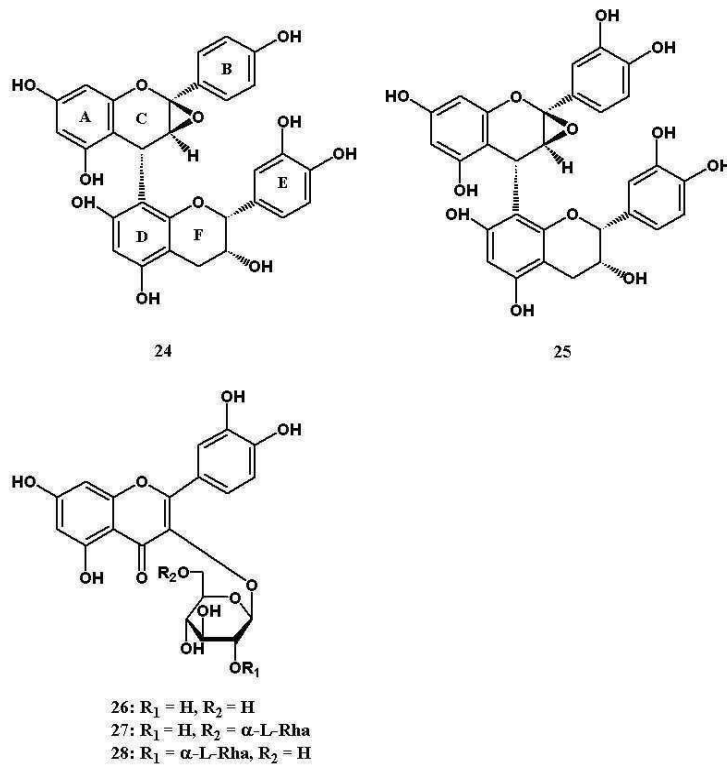
[화학식 2]



[0046]

[0047]

[화학식 3]



[0048]

[0049]

상기 화합물들은 조골세포의 분화 유도 촉진 또는 파골세포의 분화 억제 효과가 있을 수 있다.

[0050]

또한, 본 발명은 하기 화학식 4~7의 신규화합물인

[0051]

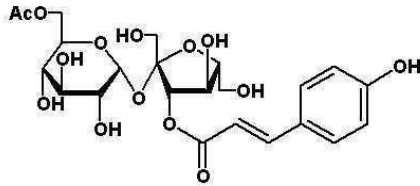
6'-O-아세틸-3-O-(E)-p-쿠마로일수크로오스 (화합물 1),

[0052] 3'-O-아세틸-3-O-(E)-p-쿠마로일수크로오스 (화합물 2),

[0053] 3'-O-아세틸-3-O-(Z)-p-쿠마로일수크로오스 (화합물 3), 및,

[0054] 2β,3β-에폭시-5,7,4'-트리히드록시플라반-(4α→8)-에피카테킨(화합물 24)을 제공한다.

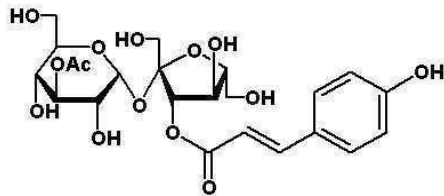
[0055] [화학식 4]



1

[0056]

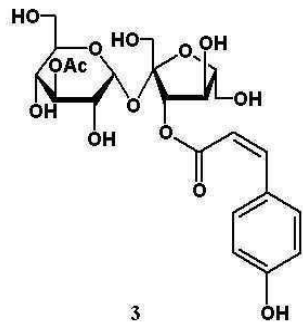
[0057] [화학식 5]



2

[0058]

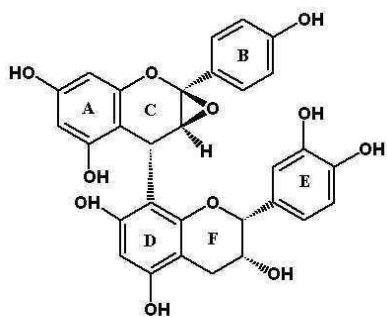
[0059] [화학식 6]



3

[0060]

[0061] [화학식 7]



24

[0062]

- [0063] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.
- [0064] 본 발명의 화합물들은 매실 추출물을 유기용매(알코올, 에테르, 아세톤 등)에 의한 추출, 헥산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트 등의 유기용매와 물의 분배, 컬럼크로마토그래피에 의한 방법 등, 식물체 성분의 분리 추출에 이용되는 공지의 방법을 단독 또는 적합하게 조합한 방법을 이용하여 분획 또는 정제하여 분리할 수 있다.
- [0065] 상기 크로마토그래피는 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), 에이치피-20 컬럼 크로마토그래피(HP-20 column chromatography), 엘에이취-20 컬럼 크로마토그래피(LH-20 column chromatography), 이온교환수지 크로마토그래피(ion exchange resin chromatography), 중압 액체 크로마토그래피(medium pressure liquid chromatography), 박층 크로마토그래피(TLC; thin layer chromatography), 실리카 겔 진공 액체 크로마토그래피(silica gel vacuum liquid chromatography) 및 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 중에서 선택될 수 있다.
- [0066] 또한, 본 발명은 매실 추출물로부터 분리된 상기 화합물 1~28로부터 선택되는 1종 이상의 화합물을 함유하는 골다공증의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0067] 상기 약학 조성물에 화합물 1~28로부터 선택되는 1종 이상의 화합물들은 0.001~99.9%로 함유될 수 있다. 상기 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 상기 약학 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 매실 추출물로부터 분리된 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 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, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0068] 상기 약학 조성물의 투여량은 치료받을 대상의 연령, 성별, 체중과, 치료할 특정 질환 또는 병리 상태, 질환 또는 병리 상태의 심각도, 투여경로 및 처방자의 판단에 따라 달라질 것이다. 이러한 인자에 기초한 투여량 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 일반적으로 투여량은 화합물 함량 기준으로 0.01mg/kg/일 내지 대략 2000mg/kg/일의 범위이다. 더 바람직한 투여량은 1mg/kg/일 내지 500mg/kg/일이다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0069] 본 발명의 약학 조성물은 쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내 주사에 의해 투여될 수 있다.

발명의 효과

- [0070] 본 발명은 매실 추출물로부터 분리된 화합물을 함유하는 골다공증의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로서, 상기 화합물들은 조골세포의 분화를 유도하는 반면, 파골세포는 분화를 억제하는 효과가 우수하여, 골다공증의 치료에 용이하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0071] 도 1은 조골세포 분화시에 매실 추출물로부터 분리된 화합물 1~28이 조골세포의 분화시 유도하는 콜라겐 함량의 변화를 확인한 결과(Sirius Red 이용)를 나타내는 그래프이다. 왼쪽으로부터 오른쪽으로, 조골세포 비분화군(음성대조군, Con), 조골세포 분화군(양성대조군, Di), 다음부터는 조골세포 분화군에 각각 화합물 1~28을 처리한

군이며, 2+3은 화합물 2 및 3의 혼합물 상태를 나타낸다.

도 2는 조골세포 분화시에 매실 추출물로부터 분리된 화합물 1~28이 유도하는 칼슘 함량의 변화(mineralization)를 확인한 결과(Alizarin Red S 이용)를 나타내는 그래프이다. 화합물 처리 조건은 도 1과 같다.

도 3은 파골세포 분화시에 매실 추출물로부터 분리된 화합물 1~28이 유도하는 TRAP의 활성 억제 효과를 확인한 결과이다. 왼쪽으로부터 오른쪽으로, 파골세포 비분화군(음성대조군, Con), 파골세포 분화군(양성대조군, TC), 파골세포 분화군에 각각 화합물 1~28을 처리한 군이며, 2+3은 화합물 2 및 3의 혼합물 상태를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0072] 이하 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 그러나, 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다. 오히려, 여기서 소개되는 내용이 철저하고 완전해지고, 당업자에게 본 발명의 사상을 충분히 전달하기 위해 제공하는 것이다.

[0073] <실시예 1. 매실 추출물로부터 화합물 1~28의 분리>

[0074] 20kg의 신선한 생매실을 잘게 분쇄한 후 30ℓ의 60℃ 메탄올에서 8시간씩 3번 반복 추출하였다. 감압농축하여 용매를 모두 제거한 후, 1150g의 추출물을 얻고, 이를 5ℓ의 물에 현탁한 후, 디클로로메탄 5ℓ씩을 이용하여 3번 반복하여 분획하여 38g의 디클로로메탄 분획물을 얻었다. 상기 디클로로메탄 분획물을 제거한 여액에 에틸아세테이트 5ℓ씩을 이용하여 3번 반복하여 분획하여 170g의 에틸아세테이트 분획물을 얻었다. 마지막 남은 여액(물층)은 HP-20 컬럼 크로마토그래피(adsorptive macroporous resins HP-20 column chromatography)를 이용하여 물, 메탄올, 이의 혼합용매로 각각 용출하여 각 용매 조건에서의 레진 용출물을 얻었다(물 용출물, 25% MeOH 메탄올 용출물, 50% 메탄올 용출물, 75% 메탄올 용출물, 메탄올 용출물).

[0075] 상기 디클로로메탄 분획물은 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(n-hexane/EtOAc, 12:1-1:1, v/v)를 이용하여 10개의 소분획물을 얻었다(Fr. C1 - C10). Fr. C1을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(n-hexane/EtOAc, 60:1-12:1, v/v)를 이용하여 화합물 23(108mg)을 얻었다.

[0076] Fr. C7 분획물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, 50:1 - 6:1, v/v)를 이용하여 11개의 소분획물(Fr. C7-1 - C7-11)을 얻었다. 화합물 17(5mg), 화합물 18(7mg), 화합물 19(44mg)는 Fr. C7-3로부터 YMC RP-C18 컬럼 크로마토그래피($\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, 1:1.3, v/v)와 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(n-hexane/acetone, 2:1, v/v)를 이용하여 얻었다. 화합물 16(27mg)은 YMC RP-C18 컬럼 크로마토그래피($\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, 1:3, v/v) 및 실리카겔 컬럼 크로마토그래피($\text{CHCl}_3/94\% \text{ EtOH}$, 16:1, v/v)를 통해 Fr. C7-9로부터 얻었다.

[0077] 에틸아세테이트 분획물로부터 실리카겔 컬럼 크로마토그래피($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 25:1-4:1, v/v)를 이용하여 5개의 소분획물(Fr. E1- E5)을 얻었다.

[0078] Fr. E3을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피($\text{CHCl}_3/94\% \text{ EtOH}$, 8:1 - 4:1, v/v)로 분획하여 6개의 소분획물로 분리하였다(Fr. E3-1 - E3-6). Fr. E3-1을 폴리프렘 컬럼으로 여과하여 화합물 21(840mg)을 얻었다. Fr. E3-3을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, 10:1:0-6:1:0.1, v/v/v) 및 YMC RP-C18 컬럼 크로마토그래피($\text{acetone}/\text{H}_2\text{O}$, 1:15-1:5, v/v)를 이용하여 화합물 10(25mg)과 화합물 13(18mg)을 얻었다.

[0079] Fr. E3-4를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, 10:1:0.1-4:1:0.1, v/v/v)를 이용하여 6개의 소분획물로 분리하였다(Fr. E3-4-1 - E3-4-6). Fr. E3-4-1을 폴리프렘 컬럼으로 여과하여 화합물 20(85mg)을 얻었다. 화합물 1(47mg), 화합물 2와 3의 혼합물(62mg)은 Fr. E3-4-5을 YMC RP-C18 컬럼 크로마토그래피($\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, 1:6 - 1:4, v/v)를 이용하여 얻었다. Fr. E3-5를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, 6:1:0.1-3:1:0.1, v/v/v) 및 YMC RP-C18 컬럼 크로마토그래피($\text{acetone}/\text{H}_2\text{O}$, 2:5, v/v)로 정제하여 화합물 24(8.6mg)를 얻었다. Fr. E3-6을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, 4:1:0.1-1.8:1:0.1, v/v/v) 및 YMC RP-C18 컬럼 크로마토그래피($\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, 1:10-1:1.3, v/v)를 이용하여 화합물 15(10mg), 화합물 25(4.7mg), 화합물 26(14mg)을 얻었다.

- [0080] 25% 메탄올 수용액 용출물(30g)을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, 9:1:0.1-4:1:0.1, v/v/v)를 이용하여 5개의 소분획물을 얻었다(Fr. W1 - W5).
- [0081] Fr. W1을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(n-hexane/EtOAc/94% EtOH, 4:20:1-0:10:1, v/v/v)를 이용하여 6개의 소분획물을 얻었다(Fr. W1-1 - W1-6). Fr. W1-1를 YMC RP-C18 컬럼 크로마토그래피($\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, 1:3-1:2, v/v)로 정제하여 화합물 27(11mg)을 얻었다. Fr. W1-3, Fr. W1-4, 및 Fr. W1-6를 여과(filter)하여 화합물 5(30mg), 화합물 6(445mg), 화합물 4(79mg)를 얻었다.
- [0082] Fr. W3을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(EtOAc/94% EtOH, 10:1-3:1, v/v)로 분획하여 7개의 소분획물을 얻었다(Fr. W3-1 - W3-7). Fr. W3-2에서 YMC RP-C18 컬럼 크로마토그래피($\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, 1:10-1:3, v/v) 및 실리카겔 컬럼 크로마토그래피($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, 7:1:0.1, v/v/v)를 이용하여 화합물 14(89mg)를 얻었다. Fr. W3-5를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, 6:1, v/v) 및 YMC RP-C18 컬럼 크로마토그래피($\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, 1:3, v/v)로 정제하여 화합물 8(25mg)을 얻었다. Fr. W3-6을 폴리프랩 컬럼으로 여과하여 화합물 9(484mg)를 얻었다. Fr. W3-7를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, 4:1:0.1, v/v/v)로 정제하여 화합물 7을 얻었다(1767 mg). 화합물 11(245mg)은 Fr. W4를 재결정화하고 이를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피($\text{CH}_2\text{Cl}_2/94\% \text{EtOH}$, 3.5:1 - 3:1, v/v)를 이용하여 얻었다.
- [0083] 75% 메탄올 수용액 용출물(16g)에서 실리카겔 컬럼 크로마토그래피($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, 8:1 - 3:1, v/v)를 이용하여 7개의 소분획물을 얻었다(Fr. M1 - M7). Fr. M5에서는 YMC RP-C18 컬럼 크로마토그래피($\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, 1:1.8, v/v)를 이용하여 화합물 12(9mg) 및 화합물 22(17mg)를 얻었다. Fr. M6을 YMC RP-C18 크로마토그래피($\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, 1:2, v/v) 및 실리카겔 컬럼 크로마토그래피($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, 4:1:0.1, v/v/v)로 정제하여 화합물 28(18mg)을 얻었다.
- [0084] <실시예 2. 화합물 1~28의 물리화학적 성질 확인>
- [0085] 실시예 2-1. 6'-O-아세틸-3-O-(E)-p-쿠마로일수크로오스 ; 무메오스 P (화합물 1)
- [0086] 6'-O-acetyl-3-O-(E)-p-coumaroylsucrose ; Mumeose P;
- [0087] 수율 0.00024%;
- [0088] 백색 무정형분말;
- [0089] 분자식 $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$;
- [0090] IR (KBr): 3366, 1709, 1631, 1605, 1515 cm^{-1} ;
- [0091] ^1H -NMR (CD_3OD) δ 2.09 (3H, s), 3.27 - 3.30 (1H, m), 3.44 (1H, dd, $J = 9.6, 3.4 \text{ Hz}$), 3.58 (1H, d, $J = 11.7 \text{ Hz}$), 3.62 - 3.66 (1H, m), 3.64 (1H, d, $J = 11.7 \text{ Hz}$), 3.80 (1H, dd, $J = 11.7, 2.8 \text{ Hz}$), 3.89 (1H, dd, 11.7, 5.5 Hz), 3.94 - 3.97 (1H, m), 4.10 - 4.13 (1H, m), 4.16 (1H, dd, $J = 11.7, 6.2 \text{ Hz}$), 4.34 (1H, t, $J = 7.6 \text{ Hz}$), 4.47 (1H, dd, $J = 11.7, 1.4 \text{ Hz}$), 5.44 (1H, d, $J = 3.4 \text{ Hz}$), 5.47 (1H, d, $J = 7.6 \text{ Hz}$), 6.41 (1H, d, $J = 15.8 \text{ Hz}$), 6.81 (2H, d, $J = 8.2 \text{ Hz}$), 7.52 (2H, d, $J = 8.2 \text{ Hz}$), 7.71 (1H, d, $J = 15.8 \text{ Hz}$);
- [0092] ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 173.0, 168.5, 161.5, 147.6, 131.6, 127.3, 117.0, 114.8, 104.9, 93.1, 84.3, 79.7, 75.0, 74.3, 73.2, 72.3, 71.8, 65.6, 65.4, 63.8, 21.0;
- [0093] HRMS: calculated for $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$: m/z 553.1528 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, Found: 553.1480.
- [0094] 실시예 2-2. 3'-O-아세틸-3-O-(E)-p-쿠마로일수크로오스 ; 무메오스 Q (화합물 2)
- [0095] 3'-O-acetyl-3-O-(E)-p-coumaroylsucrose; Mumeose Q;

- [0096] 수율 0.00021%;
- [0097] 백색 무정형 분말;
- [0098] IR (KBr): 3369, 1710, 1631, 1605, 1514 cm^{-1} ;
- [0099] ^1H NMR (CD_3OD): δ 2.09 (3H, s), 3.58 – 3.61 (3H, m), 3.68 (1H, d, J = 12.4 Hz), 3.77 – 3.81 (2H, m), 3.82 – 3.85 (2H, m), 3.91 – 3.96 (1H, m), 3.94 – 3.98 (1H, m), 4.37 (1H, t, J = 8.2 Hz), 5.22 (1H, t, J = 9.6 Hz), 5.50 (1H, d, J = 3.5 Hz), 5.50 (1H, d, J = 8.2 Hz), 6.44 (1H, d, J = 15.8 Hz), 6.80 (2H, d, J = 8.2 Hz), 7.53 (2H, d, J = 8.2 Hz), 7.72 (1H, d, J = 15.8 Hz);
- [0100] ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 173.0, 168.7, 161.4, 147.7, 131.7, 127.4, 116.9, 114.9, 105.0, 93.4, 84.2, 79.7, 77.2, 74.6, 74.0, 71.5, 69.3, 65.2, 63.2, 62.0, 21.3;
- [0101] HRMS: calculated for $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$: m/z 553.1528 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, Found: 553.1512.
- [0102] **실시예 2-3. 3'-O-아세틸-3-O-(Z)-*p*-쿠마로일수크로오스 ; 무메오스 R (화합물 3)**
- [0103] 3'-O-acetyl-3-O-(Z)-*p*-coumaroylsucrose; Mumeose R;
- [0104] 수율 0.00011%;
- [0105] 백색무정형분말;
- [0106] IR (KBr): 3369, 1710, 1631, 1605, 1514 cm^{-1} ;
- [0107] ^1H NMR (CD_3OD): δ 2.10 (3H, s), 3.56 – 3.59 (3H, m), 3.66 (1H, d, J = 12.4 Hz), 3.77 – 3.81 (2H, m), 3.82 – 3.85 (2H, m), 3.89 – 3.93 (1H, m), 3.91 – 3.96 (1H, m), 4.36 (1H, t, J = 8.2 Hz), 5.16 (1H, t, J = 9.6 Hz), 5.46 (1H, d, J = 8.2 Hz), 5.49 (1H, d, J = 3.5 Hz), 5.92 (1H, d, J = 12.4 Hz), 6.75 (2H, d, J = 8.2 Hz), 6.93 (1H, d, J = 12.4 Hz), 7.72 (2H, d, J = 8.2 Hz);
- [0108] ^{13}C NMR (CD_3OD): δ 173.1, 167.5, 160.3, 146.5, 134.2, 127.7, 116.2, 116.0, 104.9, 93.3, 84.2, 79.3, 77.2, 74.4, 73.7, 71.5, 69.2, 65.3, 63.1, 61.8, 21.3;
- [0109] HRMS: calculated for $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$: m/z 553.1528 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, Found: 553.1512.
- [0110] **실시예 2-4. 3,4,5-트리메톡시페닐- β -D-글루코피라노시드 (화합물 4)**
- [0111] 3,4,5-trimethoxyphenyl- β -D-glucopyranoside;
- [0112] 수율: 0.00040%;
- [0113] *백색결정;
- [0114] 분자식 $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_9$;
- [0115] ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$): δ 3.10 (1H, m), 3.21 (1H, m), 3.26 (1H, m), 3.33 (1H, m), 3.42, 3.71 (2H, m), 3.59 (3H, s), 3.74 (6H, s), 4.78 (1H, d, J = 7.6 Hz), 6.38 (2H, s);
- [0116] ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$): δ 154.00, 153.11, 132.39, 101.02, 94.34, 77.31, 76.84, 73.26, 70.11, 60.90, 60.12, 55.74.

[0117] **실시예 2-5. 벤조일-β-D-글루코피라노시드 (화합물 5)**

[0118] benzoyl-β-D-glucopyranoside;

[0119] 수율 0.00015%;

[0120] 무색 결정;

[0121] 분자식 C₁₃H₁₆O₇;

[0122] ¹H NMR (CD₃OD): δ 3.44 - 3.54 (4H, m), 3.72 (1H, dd, *J* = 4.6, 12.2 Hz), 3.88 (1H, dd, *J* = 2.0, 12.2 Hz), 5.75 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 7.51 (2H, t, *J* = 8.1 Hz), 7.65 (1H, tt, *J* = 1.2, 8.1 Hz), 8.11 (2H, dd, *J* = 1.2, 8.1 Hz);

[0123] ¹³C NMR (CD₃OD): δ 166.83, 134.78, 130.96, 130.84, 129.66, 96.27, 78.88, 78.03, 74.00, 71.01, 62.25.

[0124] **실시예 2-6. 벤질-β-D-글루코피라노시드 (화합물 6)**

[0125] benzyl-β-D-glucopyranoside;

[0126] 수율 0.00223%;

[0127] 백색 결정;

[0128] 분자식 C₁₃H₁₈O₆

[0129] ¹H NMR (DMSO-d₆): δ 3.01 - 3.17 (4H, m), 3.47 (1H, m), 3.71 (1H, dd, *J* = 11.5, 6.3 Hz), 4.23 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 4.58 (1H, d, *J* = 12.2 Hz), 4.84 (1H, d, *J* = 12.2 Hz), 7.28 - 7.41 (5H, m);

[0130] ¹³C NMR (DMSO-d₆): δ 138.21, 128.27, 127.75, 127.48, 102.18, 77.04, 76.81, 73.58, 70.18, 69.52, 61.19.

[0131] **실시예 2-7. 벤질-α-L-아라비노피라노실-(1→6)-β-D-글루코피라노시드 (화합물 7)**

[0132] benzyl-α-L-arabinopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside;

[0133] 수율 0.00884%;

[0134] 무색 액상물질;

[0135] 분자식 C₁₈H₂₆O₁₀;

[0136] ¹H NMR (CD₃OD): δ 3.24 - 3.48 (4H, m), 3.50 - 3.54 (1H, m), 3.50 - 3.54 (1H, m), 3.61 (1H, dd, *J* = 9.04, 6.84 Hz), 3.76 (1H, dd, *J* = 11.44, 5.84 Hz), 3.80 (1H, m), 3.87 (1H, dd, *J* = 12.44, 3.20 Hz), 4.13 (1H, dd, *J* = 11.44, 2.20 Hz), 4.35 (1H, d, *J* = 6.84 Hz), 4.37 (1H, d, *J* = 7.56 Hz), 4.67 (1H, d, *J* = 11.96 Hz), 4.92 (1H, d, *J* = 11.96 Hz), 7.24 - 7.29 (1H, m), 7.31 - 7.35 (2H, m), 7.43 (2H, dd, *J* = 8.32, 1.48 Hz);

[0137] ¹³C NMR (CD₃OD): δ 139.36, 129.52, 129.43, 128.90, 105.42, 103.59, 78.11, 77.14, 75.25, 74.36, 72.56, 72.07, 71.83, 69.68, 69.65, 66.88.

[0138] **실시예 2-8. 벤질-α-L-아라비노푸라노실-(1→6)-β-D-글루코피라노시드 (화합물 8)**

[0139] benzyl-α-L-arabinofuranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside;

- [0140] 수율 0.00013%;
- [0141] 무색 결정;
- [0142] 분자식 $C_{18}H_{26}O_{10}$;
- [0143] 1H NMR (CD_3OD): δ 3.22 - 3.37 (3H, m), 3.44 (1H, m), 3.62 - 3.67 (2H, m), 3.75 (1H, dd, $J = 3.2, 12.0$ Hz), 3.84 (1H, dd, $J = 3.4, 5.8$ Hz), 3.99 (1H, m), 4.03 (1H, m), 4.05 (1H, dd, $J = 2.2, 10.8$ Hz), 4.35 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 4.65 (1H, d, $J = 11.7$ Hz), 4.90 (1H, d, $J = 11.7$ Hz), 5.00 (1H, d, $J = 1.2$ Hz), 7.27 (1H, t, $J = 8.1$ Hz), 7.33 (2H, t, $J = 8.1$ Hz), 7.42 (2H, d, $J = 8.1$ Hz);
- [0144] ^{13}C NMR (CD_3OD): δ 139.17, 129.54, 129.53, 128.98, 110.21, 103.48, 86.04, 83.45, 79.11, 78.17, 77.00, 75.27, 72.15, 72.07, 68.28, 63.23.
- [0145] **실시예 2-9. 벤질- β -D-자일로피라노실-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노시드 (화합물 9)**
- [0146] benzyl- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside;
- [0147] 수율 0.00242%;
- [0148] 백색 분말;
- [0149] 분자식 $C_{18}H_{26}O_{10}$;
- [0150] 1H NMR ($DMSO-d_6$): δ 2.95 - 3.34 (8H, m), 3.56 (1H, dd, $J = 6.8, 11.5$ Hz), 3.70 (1H, dd, $J = 5.4, 11.2$ Hz), 3.97 (1H, d, $J = 11.5$ Hz), 4.21 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 4.25 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 4.58 (1H, d, $J = 12.2$ Hz), 4.80 (1H, d, $J = 12.2$ Hz), 7.26 - 7.41 (5H, m);
- [0151] ^{13}C NMR ($DMSO-d_6$): δ 138.13, 128.27, 127.92, 127.52, 104.22, 102.00, 76.68, 76.65, 75.96, 73.46, 73.41, 70.10, 69.64, 69.58, 68.48, 65.73.
- [0152] **실시예 2-10. 프루나신 (화합물 10)**
- [0153] prunasin;
- [0154] 수율 0.00013%;
- [0155] 백색 분말;
- [0156] 분자식 $C_{14}H_{17}NO_6$;
- [0157] 1H NMR (CD_3OD): δ 3.10-3.20 (4H, m), 3.60 (1H, dd, $J = 11.96, 6.32$ Hz), 3.82 (1H, dd, $J = 11.96, 1.96$ Hz), 4.13 (1H, d, $J = 7.08$ Hz), 5.84 (1H, s), 7.36 -7.39 (3H, m), 7.50 (2H, m);
- [0158] ^{13}C NMR (CD_3OD): δ 135.10, 131.29, 130.42, 129.28, 119.65, 102.01, 78.55, 77.98, 74.89, 71.60, 68.41, 62.92.
- [0159] **실시예 2-11. 아미그달린 (화합물 11)**
- [0160] amygdalin;
- [0161] 수율 0.00123%;
- [0162] 백색 결정 $C_{20}H_{27}NO_{11}$;

[0163] ^1H NMR (DMSO-d_6): δ 2.99-3.36 (8H, m), 3.45 (1H, m), 3.62 (1H, m), 3.68 (1H, m), 4.02 (1H, m), 4.24 (1H, m), 4.42 (1H, d, $J = 7.84$ Hz), 5.99 (1H, s), 7.47-7.49 (1H, m), 7.47-7.49 (2H, m), 7.57-7.59 (2H, m);

[0164] ^{13}C NMR (DMSO-d_6): δ 134.04, 129.78, 129.15, 127.47, 119.01, 103.83, 101.73, 76.86, 76.67, 76.61, 76.56, 73.83, 73.21, 70.15, 70.13, 68.54, 66.85, 61.12.

[0165] **실시예 2-12. 클로로제닉 에시드 메틸 에스터 (화합물 12)**

[0166] chlorogenic acid methyl ester;

[0167] 수율 0.00005%;

[0168] 백색 무정형 분말;

[0169] 분자식 $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_9$;

[0170] ^1H NMR (CD_3OD): δ 1.97 - 2.22 (4H, m), 3.68 (3H, s), 3.73 (1H, m), 4.12 (1H, m), 5.26 (1H, m), 6.20 (1H, d, $J = 15.8$ Hz), 6.77 (1H, d, $J = 8.04$ Hz), 6.94 (1H, dd, $J = 1.4, 8.04$ Hz), 7.03 (1H, d, $J = 1.4$ Hz), 7.51 (1H, d, $J = 15.8$ Hz);

[0171] ^{13}C NMR (CD_3OD): δ 175.74, 168.59, 149.99, 147.48, 147.15, 127.86, 123.22, 116.77, 115.33, 115.26, 76.01, 72.70, 72.28, 70.49, 53.12, 38.16, 37.94.

[0172] **실시예 2-13. 크립토클로로제닉 에시드 메틸 에스터 (화합물 13)**

[0173] cryptochlorogenic acid methyl ester;

[0174] 수율 0.00009%;

[0175] 백색 무정형 분말;

[0176] 분자식 $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_9$;

[0177] ^1H NMR (CD_3OD): δ 1.92 - 2.15 (4H, m), 3.67 (3H, s), 4.15 - 4.23 (2H, m), 4.75 (1H, dd, $J = 3.2, 8.8$ Hz), 6.29 (1H, d, $J = 15.9$ Hz), 6.71 (1H, d, $J = 8.3$ Hz), 6.89 (1H, dd, $J = 2.0, 8.3$ Hz), 6.99 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 7.56 (1H, d, $J = 15.9$ Hz);

[0178] ^{13}C NMR (CD_3OD): δ 175.95, 169.21, 149.86, 147.43, 147.08, 128.03, 123.24, 116.67, 115.48, 115.31, 78.64, 76.54, 69.12, 65.88, 53.11, 42.21, 38.52.

[0179] **실시예 2-14. 네오클로로제닉 에시드 메틸 에스터 (화합물 14)**

[0180] neochlorogenic acid methyl ester;

[0181] 수율 0.00045%;

[0182] 백색 무정형 분말;

[0183] 분자식 $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_9$;

[0184] ^1H NMR (CD_3OD): δ 2.00 (1H, dd, $J = 8.6, 14.4$ Hz), 2.08 - 2.14 (2H, m), 2.21 (1H, dd, $J = 3.6, 14.4$ Hz), 3.68 (1H, dd, $J = 3.2, 7.6$ Hz), 3.72 (3H, s), 4.12 (1H, m), 5.35 (1H, m), 6.30 (1H, d, $J = 15.8$ Hz);

Hz), 6.77 (1H, d, $J = 8.3$ Hz), 6.94 (1H, dd, $J = 2.0, 8.3$ Hz), 7.04 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 7.59 (1H, d, $J = 15.8$ Hz);

¹³C NMR (CD₃OD): δ 176.74, 169.23, 149.72, 147.12, 147.05, 128.18, 123.13, 116.70, 115.99, 115.34, 75.50, 74.04, 72.78, 68.78, 53.02, 40.95, 36.50.

실시예 2-15. 이소클로로제닉 에시드 (화합물 15)

isochlorogenic acid;

수율 0.00005%;

황색 분말;

분자식 C₁₆H₁₈O₉;

¹H NMR (CD₃OD): δ 1.89-2.09 (4H, m), 3.81 (1H, m), 3.98 (1H, m), 5.40 (1H, m), 6.31 (1H, d, $J = 15.8$ Hz), 6.77 (1H, d, $J = 8.3$ Hz), 6.94 (1H, dd, $J = 8.3, 1.7$ Hz), 7.05 (1H, d, $J = 1.7$ Hz), 7.58 (1H, d, $J = 15.8$ Hz);

¹³C NMR (CD₃OD): δ 182.45, 168.92, 149.58, 146.90, 146.90, 128.11, 123.02, 116.60, 115.90, 115.24, 75.99, 73.32, 72.53, 70.35, 37.60, 37.60.

실시예 2-16. (+)-라이오니레시놀 (화합물 16)

(+)-lyoniresinol;

수율 0.00014%;

황색 무정형 분말;

분자식 C₂₂H₂₈O₈;

¹H NMR (Pyridine-d₅): δ 2.24 (1H, m), 2.67 (1H, m), 3.12 (2H, m), 3.66 (6H, s), 3.79 (6H, s), 4.08 - 4.18 (4H, m), 5.08 (1H, d, $J = 5.4$ Hz), 6.79 (1H, s), 6.94 (2H, s);

¹³C NMR (Pyridine-d₅): δ 149.24, 148.57, 148.29, 139.76, 139.31, 135.65, 129.90, 127.01, 107.74, 107.58, 66.71, 64.35, 59.98, 56.69, 56.37, 49.70, 42.70, 41.96, 34.18.

실시예 2-17. (+)-피노레시놀 (화합물 17)

(+)-pinoresinol;

수율 0.00003%;

백색 무정형 분말 C₂₀H₂₂O₆

¹H NMR (Acetone-d₆): δ 3.09 (2H, m), 3.80 (2H, dd, $J = 9.3, 3.9$ Hz), 3.84 (6H, s), 4.20 (2H, dd, $J = 9.3, 6.8$ Hz), 4.67 (2H, d, $J = 4.4$ Hz), 6.78 (2H, d, $J = 7.8$ Hz), 6.83 (2H, dd, $J = 7.8, 2.0$ Hz), 6.99 (2H, d, $J = 2.0$ Hz);

¹³C NMR (Acetone-d₆): δ 148.42, 146.95, 134.27, 119.69, 115.62, 110.68, 86.72, 72.30, 56.33, 55.33.

[0206] **실시예 2-18. (+)-메디오레시놀 (화합물 18)**

[0207] (+)-medioresinol;

[0208] 수율 0.00004%;

[0209] 백색 무정형 분말 $C_{21}H_{24}O_7$;

[0210] 1H NMR (Acetone- d_6): δ 3.09 (2H, m), 3.80 - 3.84 (2H, m), 3.82 (6H, s), 3.84 (3H, s), 4.21 (1H, dd, J = 8.8, 6.3 Hz), 4.20 (1H, dd, J = 8.8, 6.3 Hz) 4.67 (2H, d, J = 4.4 Hz), 6.69 (2H, s), 6.78 (1H, d, J = 7.8 Hz), 6.83 (1H, dd, J = 7.8, 2.0 Hz), 6.98 (1H, d, J = 2.0 Hz);

[0211] ^{13}C NMR (Acetone- d_6): δ 148.78, 148.42, 146.95, 136.28, 134.27, 133.30, 119.68, 115.63, 110.67, 104.56, 86.90, 86.73, 72.39, 72.35, 56.73, 56.33, 55.45, 55.29.

[0212] **실시예 2-19. (+)-시린가레시놀 (화합물 19)**

[0213] (+)-syringaresinol;

[0214] 수율 0.00022%;

[0215] 무색 침상 결정;

[0216] 분자식 $C_{22}H_{26}O_8$;

[0217] 1H NMR (Acetone- d_6): δ 3.10 (2H, m), 3.82 (12H, s), 3.84 (2H, dd, J = 9.3, 3.9 Hz), 4.23 (2H, dd, J = 9.3, 6.8 Hz), 4.67 (2H, d, J = 4.4 Hz), 6.69 (4H, s);

[0218] ^{13}C NMR (Acetone- d_6): δ 148.76, 136.26, 133.29, 104.51, 86.88, 72.43, 56.72, 55.39.

[0219] **실시예 2-20. 1,5-디메틸 시트레이트 (화합물 20)**

[0220] 1,5-dimethyl citrate;

[0221] 수율 0.00043%;

[0222] 무색 결정;

[0223] 분자식 $C_8H_{12}O_7$;

[0224] 1H NMR (CD_3OD): δ 2.81 (2H, d, J = 15.4 Hz), 2.95 (2H, d, J = 15.4 Hz), 3.66 (6H, s);

[0225] ^{13}C NMR (CD_3OD): δ 176.72, 172.14, 74.38, 52.34, 44.15.

[0226] **실시예 2-21. 3-히드록시-3-메톡시카르보닐 글루타릭 에시드 (화합물 21)**

[0227] 3-hydroxy-3-methoxycarbonyl glutaric acid;

[0228] 수율 0.00420%;

[0229] 무색 결정;

[0230] 분자식 $C_7H_{10}O_7$;

[0231] 1H NMR (CD_3OD): δ 2.76 (2H, d, J = 15.6 Hz), 2.91 (2H, d, J = 15.6 Hz), 3.75 (3H, s);

- [0232] ^{13}C NMR (CD_3OD): δ 175.80, 173.58, 74.72, 53.21, 44.29.
- [0233] 실시예 2-22. (2E)-7-하이드록시-3,7-디메틸-2-옥테닐 α -L-아라비노피라노실 (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노시드 (화합물 22)
- [0234] (2E)-7-hydroxy-3,7-dimethyl-2-octenyl α -L-arabinopyranosyl (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside;
- [0235] 수율 0.00009%;
- [0236] 무색 액상;
- [0237] 분자식 $\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{O}_{11}$;
- [0238] ^1H NMR (CD_3OD): δ 1.16 (6H, s), 1.41 (2H, m), 1.49 (2H, m), 1.68 (3H, s), 2.03 (2H, t, J = 7.56 Hz), 3.17 (1H, m), 3.32 (1H, m), 3.32 (1H, m), 3.39 (1H, m), 3.51 (1H, m), 3.52 (1H, dd, J = 12.36, 1.38 Hz), 3.58 (1H, m), 3.72 (1H, dd, J = 11.04, 5.52 Hz), 3.79 (1H, m), 3.85 (1H, dd, J = 12.36, 2.70 Hz), 4.08 (1H, dd, J = 11.04, 2.10 Hz), 4.19 (1H, dd, J = 11.70, 7.56 Hz), 4.27 (1H, d, J = 7.56 Hz), 4.30 (1H, d, J = 6.84 Hz), 4.34 (1H, dd, J = 11.70, 6.90 Hz), 5.37 (1H, t, J = 6.87 Hz);
- [0239] ^{13}C NMR (CD_3OD): δ 142.12, 121.74, 105.27, 103.09, 78.09, 76.99, 75.15, 74.32, 72.49, 71.74, 71.49, 69.59, 69.55, 66.81, 66.70, 44.42, 41.20, 29.34, 29.34, 23.56, 16.59.
- [0240] 실시예 2-23. 스쿠알렌 (화합물 23)
- [0241] squalene;
- [0242] 수율 0.00054%;
- [0243] 무색 오일;
- [0244] 분자식 $\text{C}_{30}\text{H}_{50}$;
- [0245] ^1H NMR (CD_3OD): δ 1.62 (18H, s), 1.70 (6H, s), 1.97 - 2.13 (20H, m), 5.09 - 5.17 (6H, m);
- [0246] ^{13}C NMR (CD_3OD): δ 135.30, 135.10, 131.44, 124.63, 124.53, 124.50, 39.98, 39.96, 28.50, 27.00, 26.89, 25.91, 17.89, 16.26, 16.22.
- [0247] 실시예 2-24. 2 β ,3 β -에폭시-5,7,4'-트리히드록시플라반-(4 α $\rightarrow$ 8)-에피카테킨 (화합물 24)
- [0248] 2 β ,3 β -epoxy-5,7,4'-trihydroxyflavan-(4 α $\rightarrow$ 8)-epicatechin;
- [0249] 수율 0.00004%;
- [0250] 황색분말;
- [0251] UV (MeOH) $\lambda_{\text{max}}(\log \epsilon)$: 280 nm;
- [0252] CD (MeOH) $\lambda_{\text{max}}(\Delta \epsilon)$: 204 (+1.23), 215 (-4.06), 229 (-7.60), 235 (+5.62), 246 (-92.31), 270 (+34.42), 284 (-24.84) nm;
- [0253] IR (KBr) ν_{max} : 3382, 1613, 1514, 1451, 1238, 1142, 1115 cm^{-1} ;
- [0254] ^1H NMR (CD_3OD): δ 2.85 (1H, dd, J = 17.2, 2.1 Hz), 2.91 (1H, dd, J = 17.2, 4.1 Hz), 4.17 (1H, d, J = 3.4 Hz), 4.24 (1H, m), 4.41 (1H, d, J = 3.4 Hz), 5.03 (1H, br s), 5.89 (1H, d, J = 2.0 Hz), 6.06 (1H,

d, $J = 2.0$ Hz), 6.09 (1H, s), 6.84 (1H, d, $J = 8.3$ Hz), 6.84 (2H, d, $J = 8.9$ Hz), 6.95 (1H, dd, $J = 8.3, 2.0$ Hz), 7.13 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 7.51 (2H, d, $J = 8.9$ Hz);

[0255] ^{13}C NMR (CD_3OD): δ 159.1, 158.3, 156.9, 156.8, 154.3, 152.3, 151.5, 146.4, 131.9, 131.6, 129.7, 119.6, 116.3, 115.7, 115.4, 107.1, 104.2, 102.1, 100.7, 98.1, 96.7, 96.6, 81.0, 67.9, 67.3, 29.6, 29.5;

[0256] HRMS: calculated for $\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{O}_{11}$: m/z 559.1246, Found: 559.1205.

[0257] **실시예 2-25. 2 β ,3 β -에폭시-5,7,3',4'-테트라히드록시플라반-(4 $\alpha \rightarrow$ 8)-에피카테킨 (화합물 25)**

[0258] 2 β ,3 β -epoxy-5,7,3',4'-tetrahydroxyflavan-(4 $\alpha \rightarrow$ 8)-epicatechin;

[0259] 수율 0.00002%;

[0260] 황색분말 $\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{O}_{12}$;

[0261] ^1H NMR (CD_3OD): δ 2.85 (1H, dd, $J = 17.2, 2.2$ Hz), 2.92 (1H, dd, $J = 17.2, 3.9$ Hz), 4.15 (1H, d, $J = 3.4$ Hz), 4.24 (1H, m), 4.40 (1H, d, $J = 3.4$ Hz), 5.03 (1H, br s), 5.88 (1H, d, $J = 2.2$ Hz), 6.06 (1H, d, $J = 2.2$ Hz), 6.08 (1H, s), 6.82 (1H, d, $J = 8.3$ Hz), 6.84 (1H, d, $J = 8.3$ Hz), 6.95 (1H, dd, $J = 8.3, 2.0$ Hz), 7.03 (1H, dd, $J = 8.3, 2.0$ Hz), 7.13 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 7.14 (1H, d, $J = 2.0$ Hz);

[0262] ^{13}C NMR (CD_3OD): δ 158.4, 157.0, 154.4, 152.4, 151.6, 147.1, 146.5, 132.6, 131.7, 120.1, 119.6, 116.4, 115.9, 115.8, 115.4, 107.1, 104.2, 102.1, 100.6, 98.1, 96.7, 81.0, 67.9, 67.3, 29.6, 29.4.

[0263] **실시예 2-26. 이소퀘르시트린 (화합물 26)**

[0264] isoquercitrin;

[0265] 수율 0.00007%;

[0266] 황색분말 $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$;

[0267] ^1H NMR (CD_3OD): δ 3.22 (1H, m), 3.36 (1H, m), 3.42 (1H, m), 3.48 (1H, m), 3.58 (1H, dd, $J = 5.5, 12.4$ Hz), 3.71 (1H, dd, $J = 2.8, 12.4$ Hz), 5.13 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 6.07 (1H, s), 6.23 (1H, s), 6.85 (1H, d, $J = 8.3$ Hz), 7.57 (1H, dd, $J = 8.3, 2.0$ Hz), 7.71 (1H, d, $J = 2.0$ Hz);

[0268] ^{13}C NMR (CD_3OD): δ 178.92, 166.76, 162.91, 159.23, 158.40, 150.48, 146.30, 135.63, 123.31, 123.16, 117.51, 116.24, 105.20, 103.89, 102.37, 96.52, 78.50, 78.33, 75.86, 71.24, 62.59.

[0269] **실시예 2-27. 루틴 (화합물 27)**

[0270] rutin;

[0271] 수율 0.00006%;

[0272] 황색분말 $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$;

[0273] ^1H NMR (CD_3OD): δ 1.11 (3H, d, $J = 6.1$ Hz), 3.23 - 3.49 (7H, m), 3.53 (1H, dd, $J = 3.2, 9.6$ Hz), 3.62 (1H, m), 3.79 (1H, dd, $J = 10.7$ Hz), 4.51 (1H, s), 5.10 (1H, d, $J = 7.3$ Hz), 6.20 (1H, s), 6.39 (1H, s), 6.86 (1H, d, $J = 8.3$ Hz), 7.62 (1H, dd, $J = 8.3, 2.1$ Hz), 7.66 (1H, d, $J = 2.1$ Hz);

[0274] ^{13}C NMR (CD_3OD): δ 179.71, 166.48, 163.27, 159.61, 158.81, 150.10, 146.12, 135.88, 123.79, 123.36, 117.92, 116.29, 105.81, 104.95, 102.64, 100.21, 95.11, 78.37, 77.40, 75.91, 74.11, 72.41, 72.28,

71.57, 69.88, 68.73, 17.99○

실시예 2-28. 퀘르세틴 3-O-네오헤스페리도사이드 (화합물 28)

quercetin 3-O-neohesperidoside;

수율 0.00009%;

황색 분말;

분자식 $C_{27}H_{30}O_{16}$

1H NMR (CD_3OD): δ 0.97 (3H, d, J = 6.1 Hz), 3.21 (1H, m), 3.22 - 3.79 (2H, m), 3.50 - 3.79 (5H, m), 3.99 (1H, m), 4.04 (1H, m), 5.21 (1H, s), 5.70 (1H, d, J = 7.6 Hz), 6.08 (1H, d, J = 2.1 Hz), 6.24 (1H, d, J = 2.1 Hz), 6.84 (1H, d, J = 8.7 Hz), 7.59 (1H, d, J = 2.2 Hz), 7.59 (1H, dd, J = 8.7, 2.2 Hz);

^{13}C NMR (CD_3OD): δ 179.21, 166.00, 163.17, 158.99, 158.08, 150.15, 146.42, 134.48, 123.66, 123.41, 117.16, 116.25, 104.82, 102.82, 101.48, 100.57, 95.83, 80.28, 79.12, 78.43, 74.28, 72.57, 72.45, 71.84, 70.14, 62.67, 17.58.

한편, 상기 화합물 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 14, 21, 22, 24 및 25는 매실로부터 처음 분리된 화합물이다.

또한, 신규화합물인 화합물 1, 2 및 3, 및 24의 분석결과는 다음과 같으며, 하기 표 1 및 2에도 나타내었다.

화합물 1(Mumeose P)은 $[\alpha]_D^{30} = 31.3$ ($c = 1.0$, MeOH)의 파지티브 옵티컬 로테이션(positive optical rotation)을 갖는 흰색의 무정형 분말이다. HR-ESI-MS(High resolution electrospray ionization mass spectrum, m/z : 553.1480($[M+Na]^+$)) 분석을 통해 분자식 $C_{23}H_{30}O_{14}$ 를 갖는 것으로 확인된다.

화합물 1의 IR 스펙트럼을 통해 히드록실 그룹($3366cm^{-1}$), 카보닐 그룹($1709cm^{-1}$), 더블 본드($1631cm^{-1}$), 아로마틱 링($1605cm^{-1}$, $1515 cm^{-1}$)을 갖는 것으로 확인된다.

1H -NMR 스펙트럼은 전형적인 (E)-p-쿠마로일 그룹[δ 7.71 및 6.41 (각각 1H, d, J = 15.8 Hz); 7.52 및 6.81 (각각 2H, d, J = 8.2 Hz)]과 아세틸 그룹[δ 2.09 (3H, s)]의 프로톤 시그널을 나타낸다.

^{13}C NMR, DEPT 및 HMQC 스펙트럼 데이터의 분석에서 화합물 1은 2개의 에스터 카보닐 카본, 6개의 아로마틱 카본, 2개의 올레피닉 카본, 12개의 옥시젠-베어링 카본(oxygen-bearing carbon), 1개의 메틸 카본을 갖는 23개의 카본 원자(carbon atom)를 포함하는 것으로 확인된다. 이 카본 시그널은 (E)-p-쿠마로일 그룹, 아세틸 그룹 및 디사카라이드와 일치한다.

화합물 1의 10% KOH-1,4-디옥산(1:1, v/v)혼합물의 수용액을 이용한 알칼리 처리를 통해 수크로오스(화합물 1 a)가 생성되는데(실시예 3 참조), 이 결과는 NMR 스펙트럼 데이터 및 Rf value(0.21, normal-phase TLC, $CH_2Cl_2/MeOH/H_2O$, 2:1:0.1, v/v/v)로 입증된다.

따라서, 화합물 1은 (E)-p-쿠마로일 그룹, 아세틸 그룹 및 수크로오스 모이어티를 갖는 것으로 확인된다. HMBC(heteronuclear multiple bond correlation) 분석을 통해 (E)-p-쿠마로일 그룹은 프럭토오스 모이어티의 3번 탄소에 결합하여 있고 [H-3 (δ 5.47) 및 C-9' (δ 168.5)], 아세틸 그룹은 글루코오스의 6번 탄소에 결합되어 있는 것으로 확인된다 [H-6' (δ 4.16 및 4.47) 및 아세틸 카보닐 카본(δ 173.0)].

따라서, 화합물 1은 6'-O-아세틸-3-O-(E)-p-쿠마로일수크로오스(6'-O-acetyl-3-O-(E)-p-coumaroylsucrose)의 구조를 갖는 것으로 분석된다.

화합물 2 및 3(무메오스 Q 및 무메오스 R)은 무정형의 흰색 분말(white amorphous powder)로서, 시스-트랜스 아

이소머(cis-trans isomers) 상태로 얻어졌으며(대략 2:1, ^1H -NMR 및 ^{13}C NMR으로 분석됨), 분자식은 $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$ 이다 (HR-ESI-MS at m/z : 553.1512 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$)).

[0292] IR 스펙트럼 결과는 상기 화합물 2 및 3이 히드록실 그룹(3369cm^{-1}), 카보닐 그룹(1710cm^{-1}), 더블 본드(1631cm^{-1}), 아로마틱 링(1605 및 1514cm^{-1})을 갖는 것으로 분석된다. 또한 화합물 1과 마찬가지로 수크로오스 모이어티를 갖는 것으로 확인된다.

[0293] 화합물 2의 ^1H NMR 및 ^{13}C NMR 스펙트럼은 p-쿠마로일 그룹[δ 7.72 및 6.44 (각각 1H, d, $J = 15.8$ Hz); 7.53 및 6.80 (각각 2H, d, $J = 8.2$ Hz)], 수크로오스 모이어티[δ 3.58 - 3.61 (3H, m), 3.68 (1H, d, $J = 12.4$ Hz), 3.77 - 3.85 (4H, m), 3.91 - 3.98 (2H, m), 4.37 (1H, t, $J = 8.2$ Hz), 5.22 (1H, t, $J = 9.6$ Hz), 5.50 (1H, d, $J = 3.5$ Hz), 및 5.50 (1H, d, $J = 8.2$ Hz)] 및 아세틸 그룹[δ 2.09 (3H, s)]을 갖는 것으로 분석되며, 이 결과는 DEPT, 2D-NMR 분석(COSY, HMQC, 및 HMBC 스펙트럼)으로 확인된다.

[0294] 더블 본드의 커플링 컨스턴트($J = 15.8$ Hz)는 p-쿠마로일 그룹이 E 형태임을 가리킨다.

[0295] HMBC 분석을 통해서 (E)-p-쿠마로일 그룹은 수크로오스 모이어티의 3번탄소에 결합되어 있으며, 아세틸 그룹은 슈크로스 모이어티의 3' 위치에 결합하고 있는 것으로 확인된다 [H-3 (δ 5.50) 및 C-9'' (δ 168.7), H-3' (δ 5.22) 및 아세틸 카보닐 카본(δ 173.0)].

[0296] 상기 결과들을 토대로, 화합물 2(mumeose Q)는 3'-O-아세틸-3-O-(E)-p-쿠마로일수크로오스(3'-O-acetyl-3-O-(E)-p-coumaroylsucrose)로 확인된다.

[0297] 화합물 3의 ^1H NMR 및 ^{13}C NMR은 화합물 2와 비교하여 p-쿠마로일 그룹의 E 형태(trans) 더블본드 대신 Z 형태(cis) 더블본드가 있다. 화합물 3의 ^1H -NMR 결과는 δ 6.93 및 5.92(각각 1H, d, $J = 12.4$ Hz)의 프로톤 시그널, Z 형태의 더블 본드를 갖는 것을 의미하는 작은 커플링 컨스턴트를 보여준다.

[0298] 화합물 3의 HMBC 스펙트럼은 H-7'' (δ 6.93) 및 C-9'' (δ 167.5), H-3 (δ 5.46) 및 C-9'', H-3' (δ 5.16) 및 아세틸 카본 (δ 173.1) 사이에 상관관계가 있는 것으로 확인된다. 따라서, 화합물 3은 3'-O-아세틸-3-O-(Z)-p-쿠마로일수크로오스로 분석된다.

[0299] 화합물 24는 $[\alpha]_D^{30} = -73.5$ ($c = 1.0$, MeOH)의 네거티브 옵티컬 로테이션(negative optical rotation)을 갖는 황색 분말이며, 분자식 $\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{O}_{11}$ (HR-ESI-MS (m/z : 559.1205, $[\text{M}-\text{H}]^-$))을 갖는다.

[0300] 화합물 24는 IR 스펙트럼을 통해 히드록실 그룹(3382cm^{-1}), 아로마틱 링(1613 및 1514cm^{-1}), 메틸렌 모이어티(1451cm^{-1})를 갖는 것으로 확인된다.

[0301] 화합물 24의 ^1H NMR 분석결과는 10개의 아로마틱 시그널과, 스핀-커플링 패턴(spin-coupling patterns)으로 볼 때 1,4-디서브스티튜드 아로마틱 링(1,4-disubstituted aromatic ring)[δ 7.51 및 6.84 (각각 2H, d, $J = 8.9$ Hz)], 1,3,4-트리서브스티튜드 아로마틱 링[δ 7.13 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 6.95 (1H, dd, $J = 8.3$, 2.0 Hz), 및 6.84 (1H, d, $J = 8.3$ Hz)], 및 1,2,3,5-테트라서브스티튜드 아로마틱 링[δ 6.06 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 5.89 (1H, d, $J = 2.0$ Hz)]을 갖는 것을 확인할 수 있다.

[0302] ^1H NMR 스펙트럼은 4개의 지방족 수소 원자 시그널(aliphatic proton atoms signal)[δ 5.03 (1H, br s), 4.24 (1H, m), 2.91 (1H, dd, $J = 17.2$, 4.1 Hz), 및 2.85 (1H, dd, $J = 17.2$, 2.1 Hz)]을 갖는 것을 나타내는데, 이것은 2,3-시스-컨피그레이션(2,3-cis-configuration)을 갖는 플라반-3-올의 전형적인 시그널을 갖는 것을 의미한다(에피카테킨 타입). 상기 ^1H NMR 스펙트럼 데이터는 화합물 24가 플라반 다이머를 갖는 것을 의미한다. 이 결과에서 1,4-디서브스티튜드 아로마틱 링과 1,3,4-트리서브스티튜드 아로마틱 링은 다이머릭 플라반의 B-ring과 E-ring을 나타내며, 1,2,3,5-테트라서브스티튜드 링은 A-ring에 기인하는 것으로 나타난다. 남아있는 아로마틱 프로톤(δ 6.09 (1H, s))은 D-ring의 H-6로서, 이것은 펜타서브스티튜드 아로마틱 링으로 확인되며, HMBC(표 2) 분석을 통해 D-ring의 H-6 및 C-10(δ 102.1), H-6 및 C-8 (δ 107.1)의 커플링을 관찰할 수 있다. ^1H NMR 스펙트럼으로 확인된 AB-타입 스핀 시스템(AB-type spin system)에 따른 한쌍의 더블렛(doublet)

[δ 4.17 및 4.41 (각각 1H, d, $J = 3.4$ Hz)]은 C-ring의 C-3 및 C-4 사이에 헤테로사이클릭 부분(heterocyclic region)이 있음을 의미하며, 이는 δ 4.17 (H-3) 및 δ 67.9 (C-3), δ 4.41 (H-4) 및 δ 29.5 (C-4) 사이의 HMQC 분석결과로 확인된다. 커플링 컨스턴트($J = 3.4$ Hz)는 화합물 24가 3,4-트랜스-커피그레이션을 갖는 것을 의미한다. 이러한 모든 ^1H -NMR 분석결과와 ^1H - ^1H COSY(표 2) 분석을 통해 확인된다.

[0303]

화합물 24는 ^{13}C NMR, DEPT 및 HMQC 스펙트럼 데이터를 통해 1개의 메틸렌 그룹, 14개의 메틴 그룹, 15개의 4차 카본 원자를 갖는 30개의 카본 원자를 갖는 것으로 확인된다. δ 81.0, 67.3, 및 29.6에서의 케미칼 시프트는 에피카테킨 모이어티가 있음을 의미하며, δ 100.7 및 67.9은 C-2 및 C-3(C-ring) 사이에 에폭시 그룹이 있는 것을 의미한다. 즉, 화합물 24는 2,3-에폭시-5,7,4'-트리히드록시플라반 모이어티와 에피카테킨 모이어티를 가지며, 이것은 HMBC를 통해 확인된다. 또한, HMBC 분석을 통해 C-ring의 H-4 및 D-ring의 C-7, C-8, C-9 사이의 커플링이 확인된다.

[0304]

화합물 24의 CD 스펙트럼은 [$-\alpha$ 4.06 (215nm)]의 파장에서 네거티브 코튼 이펙트(negative Cotton effect)를 갖는 것을 알 수 있으며, 이것은 C-4(C-ring) 및 C-8(D-ring) 사이에 인터플라반 본드의 α -오리엔테이션(α -orientation of the interflavan bond)이 있음을 의미한다. 화합물 25와 비교하여, 화합물 24는 B-링(B-ring)의 케미칼 시프트를 제외하고는 NMR 데이터가 매우 비슷하다. 따라서, 화합물 24의 구조는 2 β , 3 β -에폭시-5,7,4'-트리히드록시플라반-(4 α $\rightarrow$ 8)-에피카테킨(2 β , 3 β -epoxy-5,7,4'-trihydroxyflavan-(4 α $\rightarrow$ 8)-epicatechin)으로 분석되었다.

표 1

^1H and ^{13}C NMR spectral data of 1–3 and sucrose^a (600 and 150 MHz, δ in ppm, J in Hz).

Position	1		2		3		1a (Sucrose)	
	$\delta(\text{H})$	$\delta(\text{C})$	$\delta(\text{H})$	$\delta(\text{C})$	$\delta(\text{H})$	$\delta(\text{C})$	$\delta(\text{H})$	$\delta(\text{C})$
1	3.58 d (11.7) 3.64 d (11.7)	65.6	3.58–3.61 3.68 d (12.4)	65.2	3.56–3.59 3.66 d (12.4)	65.3	3.71, br s	63.5
2		104.9		105.0		104.9		105.3
3	5.47 d (7.6)	79.7	5.50 d (8.2)	79.7	5.46 d (8.2)	79.3	4.21 d (8.1)	78.8
4	4.34 t (7.6)	74.3	4.37 t (8.2)	74.0	4.36 t (8.2)	73.7	4.10 t (8.1)	75.6
5	3.94–3.97	84.3	3.91–3.96	84.2	3.91–3.96	84.2	3.86–3.92	83.4
6	3.80 dd (11.7, 2.8) 3.89 dd (11.7, 5.5)	63.8	3.77–3.81 3.82–3.85	63.2	3.77–3.81 3.82–3.85	63.1	3.83–3.88	63.6
1'	5.44 d (3.4)	93.1	5.50 d (3.5)	93.4	5.49 d (3.5)	93.3	5.47 d (3.2)	93.7
2'	3.44 dd (9.6, 3.4)	73.2	3.58–3.61	71.5	3.56–3.59	71.5	3.54 dd (9.8, 3.2)	73.0
3'	3.62–3.66	75.0	5.22 t (9.6)	77.2	5.16 t (9.6)	77.2	3.81 t (9.8)	74.4
4'	3.27–3.30	71.8	3.58–3.61	69.3	3.56–3.59	69.2	3.48 t (9.8)	71.1
5'	4.10–4.13	72.3	3.94–3.98	74.6	3.89–3.93	74.4	3.86–3.92	74.2
6'	4.16 dd (11.7, 6.2) 4.47 dd (11.7, 1.4)	65.4	3.77–3.81 3.82–3.85	62.0	3.77–3.81 3.82–3.85	61.8	3.83–3.88	62.0
1''		127.3		127.4		127.7		
2''	7.52 d (8.2)	131.6	7.53 d (8.2)	131.7	7.72 d (8.2)	134.2		
3''	6.81 d (8.2)	117.0	6.80 d (8.2)	116.9	6.75 d (8.2)	116.0		
4''		161.5		161.4		160.3		
5''	6.81 d (8.2)	117.0	6.80 d (8.2)	116.9	6.75 d (8.2)	116.0		
6''	7.52 d (8.2)	131.6	7.53 d (8.2)	131.7	7.72 d (8.2)	134.2		
7''	7.71 d (15.8)	147.6	7.72 d (15.8)	147.7	6.93 d (12.4)	146.5		
8''	6.41 d (15.8)	114.8	6.44 d (15.8)	114.9	5.92 d (12.4)	116.2		
9''		168.5		168.7		167.5		
CH ₃ COO-		173.0		173.0		173.1		
CH ₃ COO-	2.09 s	21.0	2.09 s	21.3	2.10 s	21.3		

^a Spectra of 1–3 were measured in CD₃OD, and spectrum of 1a (sucrose) was measured in CD₃OD + D₂O (2:1)

[0305]

표 2

¹ H and ¹³ C NMR spectral data of 24 and 25 in CD ₃ OD (600 and 150 MHz, δ in ppm, J in Hz).						
Position	24				25	
	δ (H)	δ (C)	COSY	HMBC	δ (H)	δ (C)
2C		100.7				100.6
3C	4.17 d (3.4)	67.9	4C	10A	4.15 d (3.4)	67.9
4C	4.41 d (3.4)	29.5	3C	2C, 3C, 5A, 9A, 10A, 7D, 8D, 9D	4.40 d (3.4)	29.4
5A		154.3				154.4
6A	6.06 d (2.0)	96.7		5A, 7A, 8A, 10A	6.06 d (2.2)	96.7
7A		158.3				158.4
8A	5.89 d (2.0)	98.1		6A, 9A, 10A	5.88 d (2.2)	98.1
9A		156.9				157.0
10A		104.2				104.2
1'B		131.9				132.6
2'B	7.51 d (8.9)	129.7	3'B	2C, 3'B, 4'B, 6'B	7.14 d (2.0)	115.8
3'B	6.84 d (8.9)	115.7	2'B	1'B, 2'B, 4'B, 5'B		146.5
4'B		159.1				147.1
5'B	6.84 d (8.9)	115.7	6'B	1'B, 3'B, 4'B, 6'B	6.82 d (8.3)	115.9
6'B	7.51 d (8.9)	129.7	5'B	2C, 2'B, 4'B, 5'B	7.03 dd (8.3, 2.0)	120.1
2F	5.03 br s	81.0	3F	3F, 4F, 1'E, 2'E, 6'E	5.03 br s	81.0
3F	4.24 m	67.3	2F, 4F	10D	4.24 m	67.3
4F	2.91 dd (17.2, 4.1)	29.6	3F	2F, 3F, 5D, 9D, 10D	2.92 dd (17.2, 3.9)	29.6
	2.85 dd (17.2, 2.1)				2.85 dd (17.2, 2.2)	
5D		156.8				157.0
6D	6.09 s	96.6		5D, 7D, 8D, 10D	6.08 s	96.7
7D		152.3				152.4
8D		107.1				107.1
9D		151.5				151.6
10D		102.1				102.1
1'E		131.6				131.7
2'E	7.13 d (2.0)	115.4		2F, 1'E, 4'E, 6'E	7.13 d (2.0)	115.4
3'E		146.4				146.5
4'E		146.4				146.5
5'E	6.84 d (8.3)	116.3	6'E	1'E, 3'E	6.84 d (8.3)	116.4
6'E	6.95 dd (8.3, 2.0)	119.6	5'E	2F, 2'E, 4'E	6.95 dd (8.3, 2.0)	119.6

[0306]

[0307]

<실시예 3. 화합물 1~3의 알칼리분해(alkaline hydrolysis)를 통한 분석>

[0308]

화합물 1(10mg)을 10% KOH-1,4-디옥산 혼합물 수용액(10% aqueous KOH-1,4-dioxane mixture, 1:1, v/v) 5ml에 녹여 24시간 동안 실온에서 교반하여 반응시켰다. 상기 반응액을 Dowex HCR W2 (H⁺ form)으로 중화한 후, 여과하여 레진(resin)을 제거하였다. 이 후, 상기 반응액을 감압증류하여 용매를 증발시켜 조생성물(crude product)을 얻었다. 상기 조생성물에서 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(CH₂Cl₂/MeOH/H₂O, 3:1:0.1, v/v/v)를 이용하여 수크로오스(sucrose, 화합물 1a, 2mg)를 얻었으며, NMR 분석(표 1 참조)과 Rf value(0.21, normal-phase TLC, CH₂Cl₂/MeOH/H₂O, 2:1:0.1, v/v/v)로 상기 화합물 1a가 수크로오스임을 확인하였다. 화합물 2 및 3도 이러한 알칼리분해를 통해 수크로오스를 확인할 수 있었다.

[0309]

<실시예 4. 조골세포 또는 파골세포의 분화 유도>

[0310]

MC3T3-E1 세포(preosteoblasts from C57BL/6 mouse)는 37℃, 5% CO₂ 상태에서 α -MEM(α -modified minimum essential medium, 10% heat-inactivated fetal bovine serum, 100 U/ml penicillin and 100 μ g/ml streptomycin.)을 이용하여 배양되었다. 상기 MC3T3-E1 세포가 배양접시에 90%가 차게 되면, 세포 배지에 10mM β -글리세로포스페이트(β -glycerophosphate) 및 50 μ g/ml 아스코르브산(ascorbic acid)을 첨가하여 조골세포로의 분화를 유도하였다. β -글리세로포스페이트와 아스코르브산이 포함된 분화배지는 3일에 한번씩 교체하였다.

[0311]

RAW 264.7 세포(macrophages[preosteoclasts] from BALB/c mouse)는 96웰 플레이트에서 DMEM(Dulbeco's Modified Eagle's Medium, 10% (v/v) FBS)을 이용하여 1 $\times$ 10⁴ cells/ml 농도로 2일간 배양하였다. 이 후, 50ng/ml RANKL을 함유하는 배지로 교체하여 파골세포로의 분화를 유도하였다. 상기 RANKL이 첨가된 분화배지는

2일에 한번씩 교체하였다.

<실시예 5. 콜라겐 함량 확인>

콜라겐 함량은 Sirius Red-based colorimetric assay를 이용하여 확인하였다.

MC3T3-E1 세포를 조골세포(osteoblasts)로 8일간 분화유도한 후, 0.3% BSA(bovine serum albumin)를 포함하는 배지에서 각각 화합물 1~28 5 μ M을 처리한 후 2일간 배양하였다. 이 후, 상기 배지를 제거하고, PBS로 세포를 세척하고, Bouin's fluid로 1시간 동안 고정하였다. 세포 고정 후, 세포배양접시를 흐르는 수돗물에 15분간 담궈 세척한 뒤, 세포배양접시를 말리고, Sirius Red solution으로 1시간 동안 염색하였다. 이 후, 상기 용액을 제거한 후, 산성수(acetic acid/distilled water, 1:200, v/v)로 두 번 세척하였고, 염색된 세포들을 0.1 N NaOH로 녹여 이를 ELISA reader의 540nm에서 흡광도를 측정하였으며, 이에 대한 결과는 도 1에 나타내었다.

도 1은 조골세포 분화시에 매실 추출물로부터 분리된 화합물 1~28이 조골세포 분화시 유도하는 콜라겐 함량의 변화를 확인한 결과(Sirius Red 이용)를 나타내는 그래프이다. 왼쪽으로부터 오른쪽으로, 조골세포 비분화군(음성대조군, Con), 조골세포 분화군(양성대조군, Di), 다음부터는 조골세포 분화군에 각각 화합물 1~28을 처리한 군이며, 2+3은 화합물 2 및 3의 혼합물 상태를 나타낸다.

도 1을 참고하면, 5 μ M의 화합물 1, 2, 3, 5, 7, 8, 10, 12, 13, 15, 19에서 콜라겐 함량이 증가하는 것이 확인되어 상기 화합물들이 조골세포 분화능을 갖는 것을 알 수 있다.

<실시예 6. 칼슘 함량 확인>

Alizarin Red S를 이용하여 화합물 1~28을 처리한 조골세포에서의 칼슘 축적 상태(calcium deposition, mineralization)를 확인하였다.

MC3T3-E1 세포를 15일간 분화유도한 후, 0.3% BSA(bovine serum albumin)를 포함하는 배지에서 각각 화합물 1~28 5 μ M을 처리한 후 2일간 배양하였다. 이 후, 세포를 PBS로 세척한 후, 세포를 70% 에탄올 수용액에 1시간 동안 고정한 후, 40mM Alizarin Red S를 10분간 반응시켰다.

염색된 것의 정량을 위해, 빛을 차단한 상태에서 1mL의 10%(w/v) 염화세틸피리디늄(cetylpyridinium chloride) 용액을 넣어 15분간 반응시키고, 562nm에서 ELISA reader를 이용하여 흡광도를 측정하였으며, 이에 대한 결과는 도 2에 나타내었다.

도 2는 조골세포 분화시에 매실 추출물로부터 분리된 화합물 1~28이 유도하는 칼슘 함량의 변화(mineralization)를 확인한 결과(Alizarin Red S 이용)를 나타내는 그래프이다. 왼쪽으로부터 오른쪽으로, 조골세포 비분화군(음성대조군, Con), 조골세포 분화군(양성대조군, Di), 다음부터는 조골세포 분화군에 각각 화합물 1~28을 처리한 군이며, 2+3은 화합물 2 및 3의 혼합물 상태를 나타낸다.

도 2를 참고하면, 5 μ M의 화합물 2, 3, 5, 7, 8, 12, 21, 28에서 칼슘 함량이 증가하여, 상기 화합물들이 조골세포의 분화능을 갖는 것을 알 수 있으며, 이는 실시예 5의 결과와 유사한 것으로 나타난다.

<실시예 7. TRAP(Tartrate-resistant acid phosphatase) 활성 확인>

RAW 264.7 세포를 파골세포로 5일간 분화유도한 후 1 및 10 μ M의 화합물 1~28(0.3% BSA 포함)을 첨가하여 2일간 배양한 후, 배지를 제거하고 세포를 차가운 PBS(phosphate buffer saline)로 세척하였다. 이 후, 세포를 3.5% 포름알데히드 용액(3.5% formaldehyde)으로 10분간 및 에탄올-아세톤(1:1) 용액으로 1분간 고정하였다. 다음으로는 고정된 세포를 PBS로 세척한 후, 건조하고, 10mM sodium tartrate 및 6mM PNPP(para-Nitrophenylphosphate)를 함유하는 50mM citrate buffer(pH 4.5)에 1시간 동안 반응시켰다. 이 후 상기 반응물을 0.1N NaOH가 담겨있는 새로운 웰 플레이트로 옮긴 후, 405nm에서 ELISA reader를 이용하여 흡광도를 확인하였다. TRAP 활성은 무처리군과 비교하여 백분율로 나타내었으며, 이에 대한 결과는 도 3에 나타내었다.

도 3은 파골세포 분화시에 매실 추출물로부터 분리된 화합물 1~28이 유도하는 TRAP의 활성을 확인한 결과이다. 왼쪽으로부터 오른쪽으로, 파골세포 비분화군(음성대조군, Con), 파골세포 분화군(양성대조군, TC), 파골세포 분화군에 각각 화합물 1~28을 처리한 군이며, 2+3은 화합물 2 및 3의 혼합물 상태를 나타낸다.

도 3을 참고하면, 화합물 1 및 28을 제외한 모든 화합물이 10 μ M의 농도에서 TRAP의 활성을 억제하는 효과가 아주 우수한 것으로 확인되며, 이로 인해 상기 화합물들이 파골세포 분화 억제 효과가 뛰어난 것을 알 수 있다.

따라서, 상기 실시예 5~7의 결과를 통해, 본 발명의 화합물들이 골다공증에 우수한 치료 효과가 있음을 확인할

수 있으며, 이를 하기 표 3의 결과로 정리하였다.

표 3

조건	화합물 번호
조골세포 분화능이 있는 화합물	1, 2, 3, 5, 7, 8, 10, 12, 13, 15, 19, 21, 28
파골세포 분화억제능이 있는 화합물	2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24
조골세포 분화능 및 파골세포 분화억제능이 모두 있는 화합물	2, 3, 5, 7, 8, 10, 12, 13, 15, 19, 21

<실시에 8. 독성실험>

실시에 8-1. 급성독성

본 발명의 화합물 14(네오클로로제닉 에시드 메틸 에스터)를 단기간에 과량을 섭취하였을 때 급성적(24시간 이내)으로 동물체내에 미치는 독성을 조사하고, 치사율을 결정하기 위하여 본 실험을 수행하였다. 일반적인 마우스인 ICR 마우스 계통 20마리를 대조군과 실험군에 각각 10마리씩 배정하였다. 대조군에는 PEG-400/tween-80/EtOH(8/1/1, v/v/v) 만을 투여하고, 실험군은 상기 화합물 14를 상기 PEG-400/tween-80/EtOH(8/1/1, v/v/v)에 녹여 각각 경구투여하였다. 투여 24시간 후에 각각의 치사율을 조사한 결과, 대조군과 2g/kg/day 농도의 본 발명의 화합물 14를 투여한 실험군에서 마우스가 모두 생존하는 것으로 확인되었다.

실시에 8-2. 실험군 및 대조군의 장기 및 조직 독성 실험

장기 독성 실험은 본 발명의 화합물 14를 각 농도로 8주 동안 C57BL/6J 마우스(각 군당 10마리)에 투여하여 실험하였다. 동물의 각 장기(조직)에 미치는 영향을 조사하기 위하여 본 발명의 화합물 14를 투여한 실험군과 PEG-400/tween-80/EtOH(8/1/1, v/v/v)만을 투여한 대조군의 동물들로부터 8주 후 혈액을 채취하여 GPT(glutamate-pyruvate transferase) 및 BUN(blood urea nitrogen)의 혈액 내 농도를 Select E(Vital Scientific NV, Netherland) 기기를 이용하여 측정하였다. 그 결과, 간독성과 관계있는 것으로 알려진 GPT와 신장독성과 관계있는 것으로 알려진 BUN의 경우, 대조군과 비교하여 실험군은 별다른 차이를 보이지 않았다. 또한, 각 동물로부터 간과 신장을 절취하여 통상적인 조직절편 제작과정을 거쳐 광학현미경으로 조직학적 관찰을 시행하였으며 모든 조직에서 특이한 이상이 관찰되지 않았다.

<제제예 1. 약학적 제제>

제제예 1-1. 정제의 제조

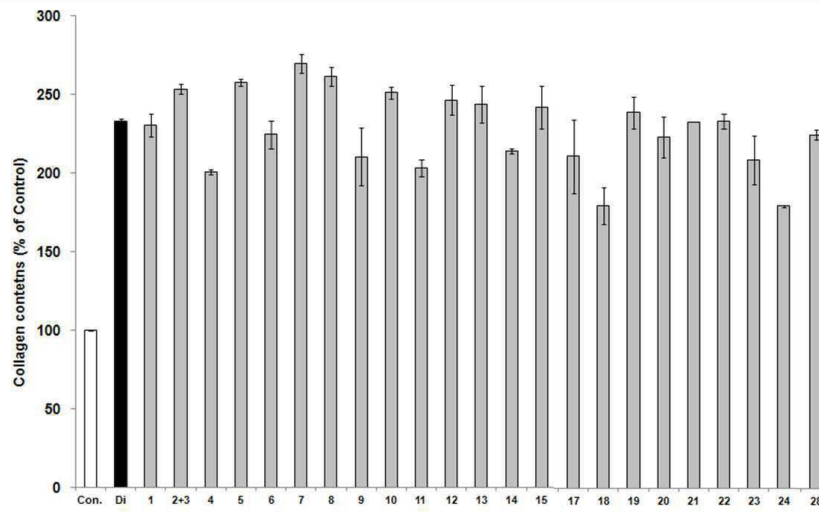
본 발명의 화합물 14(네오클로로제닉 에시드 메틸 에스터) 200g을 락토오스 175.9g, 감자전분 180g 및 콜로이드성 규산 32g과 혼합하였다. 이 혼합물에 10% 젤라틴 용액을 첨가시킨 후, 분쇄해서 14 메쉬체를 통과시켰다. 이것을 건조시키고 여기에 감자전분 160g, 활석 50g 및 스테아린산 마그네슘 5g을 첨가해서 얻은 혼합물을 정제로 만들었다.

제제예 1-2. 주사액제의 제조

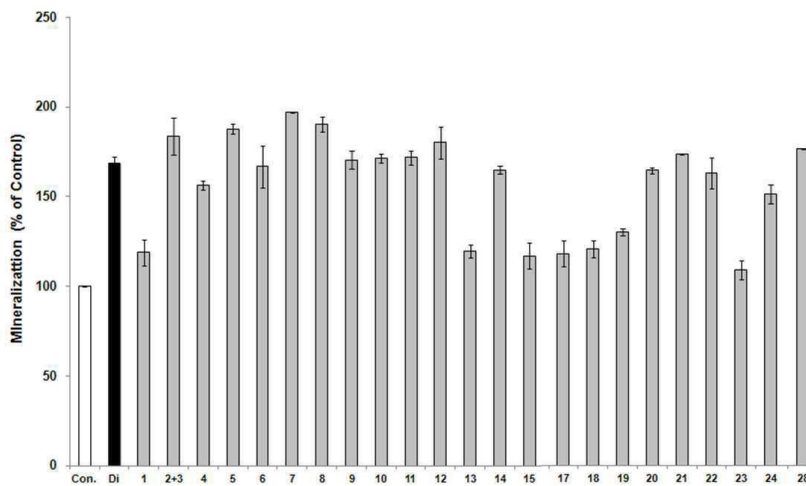
본 발명의 화합물 14(네오클로로제닉 에시드 메틸 에스터) 1g, 염화나트륨 0.6g 및 아스코르브산 0.1g을 증류수에 용해시켜서 100mℓ를 만들었다. 이 용액을 병에 넣고 20℃에서 30분간 가열하여 멸균시켰다.

도면

도면1



도면2



도면3

