



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년02월04일
(11) 등록번호 10-2213189
(24) 등록일자 2021년02월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/7048 (2006.01) A23L 33/10 (2016.01)
A61K 36/49 (2006.01) A61P 31/14 (2006.01)
A61P 31/16 (2006.01) C07H 1/08 (2006.01)
C07H 17/07 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/7048 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2019-0048480
(22) 출원일자 2019년04월25일
심사청구일자 2019년04월25일
(65) 공개번호 10-2020-0124959
(43) 공개일자 2020년11월04일
(56) 선행기술조사문헌
W02017050717 A1*
Planta Med*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
연세대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)
(72) 발명자
김승현
서울특별시 서초구 고무래로 94, 101동 203호(서초동, 서초4차현대아파트)
성중혁
경기도 성남시 분당구 서판교로 73, 1005동 102호(판교동, 판교원마을10단지아파트)
(74) 대리인
특허법인이룸리온

전체 청구항 수 : 총 5 항

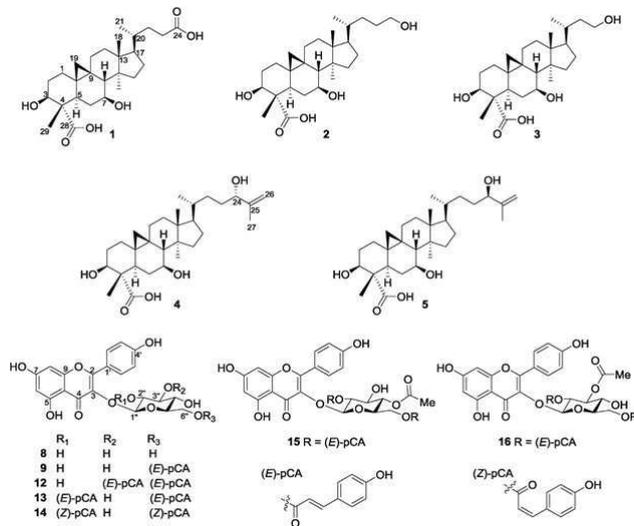
심사관 : 홍성제

(54) 발명의 명칭 **밤송이 유래 화합물을 유효성분으로 하는 항바이러스용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 밤송이 유래 화합물을 유효성분으로 하는 항바이러스용 조성물에 관한 것으로, 상기 조성물은 호흡기 질병을 유발하는 바이러스로서, 피코르나바이러스과(Picornaviridae)(예컨대, HRV1B, CVB3 등) 또는 오르토믹소바이러스과(Orthomyxoviridae)(예컨대, PR8 등)에 효과적으로 대항할 수 있어, 약학 조성물, 건강기능식품, 피부 외용제 및 의약외품으로 유용하게 활용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

- A61K 36/49 (2013.01)
- A61P 31/14 (2018.01)
- A61P 31/16 (2018.01)
- C07H 1/08 (2013.01)
- C07H 17/07 (2013.01)
- A23V 2002/00 (2013.01)
- A23V 2200/324 (2013.01)
- A23V 2250/21 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2016R1A2B4006742
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	중견연구자지원사업
연구과제명	Chemical dereplication과 가상탐색을 이용한 천연물 유래 neuraminidase 활성 억제
소재 개발(3/4)	
기여율	1/1
과제수행기관명	연세대학교
연구기간	2018.04.01 ~ 2019.02.28
공지예외적용	: 있음

명세서

청구범위

청구항 1

캠페롤-3-0-[2",6"-디-0-Z-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-0-[2",6"-di-0-Z-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside)를 포함하는 플라보노이드계 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 항바이러스용 약학 조성물로서,

상기 바이러스는 인간 라이노바이러스 1B(HRV1B), 콕사키바이러스 B3(CVB3) 및 인플루엔자바이러스(PR8)를 모두 포함하는 것을 특징으로 하는, 항바이러스용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 플라보노이드계 화합물은 밤송이 추출물로부터 분리된 것을 특징으로 하는, 항바이러스용 약학 조성물.

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

캠페롤-3-0-[2",6"-디-0-Z-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-0-[2",6"-di-0-Z-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside)를 포함하는 플라보노이드계 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 항바이러스용 건강기능식품으로서,

상기 바이러스는 인간 라이노바이러스 1B(HRV1B), 콕사키바이러스 B3(CVB3) 및 인플루엔자바이러스(PR8)를 모두 포함하는 것을 특징으로 하는, 항바이러스용 건강기능식품.

청구항 7

캠페롤-3-0-[2",6"-디-0-Z-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-0-[2",6"-di-0-Z-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside)를 포함하는 플라보노이드계 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 항바이러스용 피부 외용제로서,

상기 바이러스는 인간 라이노바이러스 1B(HRV1B), 콕사키바이러스 B3(CVB3) 및 인플루엔자바이러스(PR8)를 모두 포함하는 것을 특징으로 하는, 항바이러스용 피부 외용제.

청구항 8

캠페롤-3-0-[2",6"-디-0-Z-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-0-[2",6"-di-0-Z-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside)를 포함하는 플라보노이드계 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을

유효성분으로 함유하는 항바이러스용 의약외품으로서,

상기 바이러스는 인간 라이노바이러스 1B(HRV1B), 콕사키바이러스 B3(CVB3) 및 인플루엔자바이러스(PR8)를 모두 포함하는 것을 특징으로 하는, 항바이러스용 의약외품.

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 밤송이 유래 화합물을 유효성분으로 하는 항바이러스용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 바이러스 감염은 가장 일반적인 질병 중 하나이고, 급성 호흡기 질병의 60% 이상이 바이러스에 의한 것이다. 약 200 여종의 바이러스성 호흡기 질환 중에서, 사람에게 있어서 가장 일반적이고 중요한 감염성 바이러스는 인플루엔자바이러스, 라이노바이러스 및 콕사키바이러스이다. 인간 라이노바이러스 1B(HRV1B)는 피코르나바이러스과의 엔테로바이러스속에 속한다. HRV는 감기의 주요 원인이며 이 바이러스에 의한 감기는 폐렴 및 모세기관지염으로 진행될 수도 있다. 피코르나바이러스과의 콕사키바이러스 B3(CVB3)는 심근염을 일으킬 수 있는 바이러스로 확장성 심근병증을 유발할 수 있다. 이 바이러스에 의한 심근염은 영유아 또는 청소년의 경우 사망에 까지 이르게 할 수 있으며 성인에서는 말기 울혈성 심부전을 유발할 수도 있다. 또한, 인플루엔자바이러스는 오르토믹소 바이러스과의 RNA 바이러스로서 전염성 호흡기 질병을 유발하며, 매년 전세계적으로 독감 유행을 일으켜 높은 비율로 감염 환자를 발생시키며 특히 노인과 영유아, 각종 호흡기 또는 내과 질환이 있는 환자의 사망률을 높인다. 따라서, 이러한 각종 바이러스 감염에 의한 질병의 예방 및 치료를 위해 많은 노력이 기울여지고 있으나 아직은 뚜렷한 해결책이라고 부를 수 있는 방법은 부족한 상황이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명은 하기 i) 및 ii)로부터 선택된 하나 이상의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 항바이러스용 약학 조성물 등을 제공하고자 한다:

[0006] i) 캠퍼롤-3-O-[2",6"-디-O-Z-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-O-[2",6"-di-O-Z-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside), 아스트라가린(astagalgin), 티리로사이드(tiliroside), 시스-티리로사이드(cis-tiliroside), 캠퍼롤-3-O-[2"-O-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-O-[2"-O-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside), 캠퍼롤-3-O-[3",6"-디-O-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-O-[3",6"-di-O-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside), 캠퍼롤-3-O-[2",6"-디-O-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-O-[2",6"-di-O-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside), 캠퍼롤-3-O-[4"-아세틸-2",6"-디-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-O-[4"-acetyl-2",6"-di-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside) 및 캠퍼롤-3-O-[3"-아세틸-2",6"-디-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-O-[3"-acetyl-2",6"-di-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 포함하는 플라보노이드계 화합물; 및

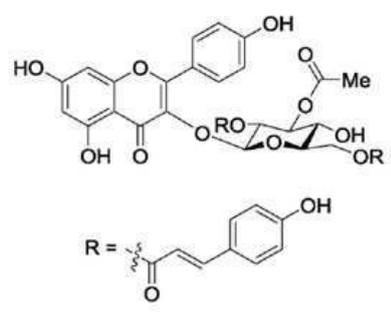
[0007] ii) 카스타아르탄크레노익산 D(castaartancrenoic acid D) 또는 카스타아르탄크레노익산 E(castaartancrenoic acid E)를 포함하는 사이클로아르탄계(cycloartane type) 화합물.

[0008] 그러나, 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0010] 본 발명은 하기 i) 및 ii)로부터 선택된 하나 이상의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 항바이러스용 약학 조성물을 제공한다:
- [0011] i) 캠퍼롤-3-O-[2",6"-디-O-Z-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-O-[2",6"-di-O-Z-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside), 아스트라가린(astagalgin), 티리로사이드(tiliroside), 시스-티리로사이드(cis-tiliroside), 캠퍼롤-3-O-[2"-O-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-O-[2"-O-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside), 캠퍼롤-3-O-[3",6"-디-O-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-O-[3",6"-di-O-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside), 캠퍼롤-3-O-[2",6"-디-O-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-O-[2",6"-di-O-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside), 캠퍼롤-3-O-[4"-아세틸-2",6"-디-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-O-[4"-acetyl-2",6"-di-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside) 및 캠퍼롤-3-O-[3"-아세틸-2",6"-디-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-O-[3"-acetyl-2",6"-di-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 포함하는 플라보노이드계 화합물; 및
- [0012] ii) 카스타아르탄크레노익산 D(castaartancrenoic acid D) 또는 카스타아르탄크레노익산 E(castaartancrenoic acid E)를 포함하는 사이클로아르탄계 화합물.
- [0013] 상기 화합물은 밤송이 추출물로부터 분리될 수 있다.
- [0014] 상기 조성물은 호흡기 질병을 유발하는 바이러스에 대항하기 위한 것일 수 있다.
- [0015] 상기 바이러스는 피코르나바이러스과(Picornaviridae) 또는 오르토믹소바이러스과(Orthomyxoviridae)일 수 있다.
- [0016] 상기 피코르나바이러스과(Picornaviridae)는 인간 라이노바이러스 1B(HRV1B) 또는 콕사키바이러스 B3(CVB3)를 포함하고, 상기 오르토믹소바이러스과(Orthomyxoviridae)는 인플루엔자바이러스(PR8)를 포함할 수 있다.
- [0017] 본 발명의 일 구현예로, 상기 i) 및 ii)로부터 선택된 하나 이상의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 항바이러스용 건강기능식품 을 제공한다.
- [0018] 본 발명의 다른 구현예로, 상기 i) 및 ii)로부터 선택된 하나 이상의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 항바이러스용 피부외용제 를 제공한다.
- [0019] 본 발명의 또 다른 구현예로, 상기 i) 및 ii)로부터 선택된 하나 이상의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 항바이러스용 의약품을 제공한다.
- [0020] 본 발명의 또 다른 구현예로, 하기 화학식 1로 표시되는 신규 화합물을 제공한다:

[0021] [화학식 1]



- [0022]
- [0023] 상기 화합물은 밤송이 추출물로부터 분리될 수 있다.

발명의 효과

- [0025] 본 발명은 밤송이 유래 화합물을 유효성분으로 하는 항바이러스용 조성물에 관한 것으로, 상기 조성물은 호흡기 질병을 유발하는 바이러스로서, 피코르나바이러스과(Picornaviridae)(예컨대, HRV1B, CVB3 등) 또는 오르토믹소바이러스과(Orthomyxoviridae)(예컨대, PR8 등)에 효과적으로 대항할 수 있어, 약학 조성물, 건강기능식품, 피

부 외용제 및 의약외품으로 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0027] 도 1은 화합물 (1)-(5), (8), (9) 및 (12)-(16)의 화학적 구조를 나타낸 것이다.
- 도 2(a)는 화합물 (1)-(3)에 대한 NMR 분광 데이터를 나타낸 것이고, 도 2(b)는 화합물 (4)-(5)에 대한 NMR 분광 데이터를 나타낸 것이며, 도 2(c)는 화합물 (16)에 대한 NMR 분광 데이터를 나타낸 것이다.
- 도 3은 화합물 (1), (3), (4) 및 (16)의 주요 HMBC 및 COSY 상관관계를 나타낸 것이다.
- 도 4는 화합물 (1), (2), (4) 및 (5)의 주요 NOESY 상관관계를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0028] 항바이러스 효과를 나타내는 천연 물질을 발견하기 위한 계속적인 시도에서, 밤나무(*Castanea crenata* Siebold & Zucc.) (참나무과)의 밤송이의 피토케미컬 연구를 수행하였다. 한국 및 일본에서 서식하는 밤나무의 일종인, 밤나무(*C. crenata*)는 위장염, 기관지염 및 역류를 치료하기 위해 전통 의학에서 사용되어 왔다. 밤나무 처리는 밤송이 및 껍질이라는 두 가지 폐기물을 생성한다. 껍질은 벗겨짐 과정에서 분리되어 연료로 사용되는 반면, 밤송이는 일반적으로 삼림 속에 남아 있으며, 애벌레의 번식을 촉진하고 작물에 피해를 준다. 한방 재료로서, 총포(involucre)이라고 불리는 밤나무의 밤송이는 중기, 백일해 및 기관지염의 치료에 사용되어 왔다. 밤나무(*C. crenata*) 밤송이에 대한 이전 피토케미컬 연구는 탄닌, 페놀산, 플라보노이드, 쿠마린, 페닐프로파노이드 및 스테로이드와 같은 다양한 화학 성분을 확인하였다. 또한, 밤나무(*C. crenata*) 추출물이 인간 면역결핍 바이러스(HIV)-1 프로테아제에 대항하는 저해 활성을 보였음이 보고 된바 있다. 따라서, 밤나무의 밤송이의 피토케미컬 연구는 이전에 알려지지 않은 천연 항바이러스 근원의 발견으로서 의미있다.
- [0030] 밤나무(*C. crenata*) 밤송이로부터 총 16종의 사이클로아르탄계 트리테르펜 화합물 및 플라보노이드 글리코사이드를 분리하였다. 1D 및 2D NMR 및 MS 데이터의 분광 분석에 기반하여 구조를 설명하였다. HRV1B-, CVB3- 및 PR8-감염된 Vero 또는 HeLa 세포에 대항하는 그들의 생물학적 활성에 대해 분리된 화합물을 평가하였다. 대부분 캠퍼롤 유도체는 HRV1B-감염된 세포에 대항하는 통계적으로 유의한 항바이러스 활성을 보였다. 테스트된 화합물 중에서, 캠퍼롤-3-O-[2",6"-디-O-Z-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드가 모든 감염에 대항하는 가장 일관되고 효과적인 항바이러스 활성을 나타내었다.
- [0032] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0034] 본 발명은 하기 i) 및 ii)로부터 선택된 하나 이상의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 항바이러스용 조성물을 제공한다:
- [0035] i) 캠퍼롤-3-O-[2",6"-디-O-Z-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-O-[2",6"-di-O-Z-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside), 아스트라가린(astagalgin), 티리로사이드(tiliroside), 시스-티리로사이드(cis-tiliroside), 캠퍼롤-3-O-[2"-O-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-O-[2"-O-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside), 캠퍼롤-3-O-[3",6"-디-O-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-O-[3",6"-di-O-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside), 캠퍼롤-3-O-[2",6"-디-O-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-O-[2",6"-di-O-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside), 캠퍼롤-3-O-[4"-아세틸-2",6"-디-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-O-[4"-acetyl-2",6"-di-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside) 및 캠퍼롤-3-O-[3"-아세틸-2",6"-디-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-O-[3"-acetyl-2",6"-di-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 포함하는 플라보노이드계 화합물; 및
- [0036] ii) 카스타아르탄크레노익산 D(castaartancrenoic acid D) 또는 카스타아르탄크레노익산 E(castaartancrenoic acid E)를 포함하는 사이클로아르탄계 화합물.
- [0038] 즉, 본 발명에 따른 항바이러스용 조성물은 i) 플라보노이드계 화합물 및 ii) 사이클로아르탄계 화합물로부터 선택된 하나 이상의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유할 수 있다.
- [0039] 상기 화합물은 밤송이 추출물로부터 분리된 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 화합물은 밤송이 추출물의 분획물로부터 분리된 것일 수 있는데, 먼저, 상기 밤송이 추출물은 밤송이 잔가지 건조물을 물, C1 내지 C4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물로 추출한 것일 수 있고, 메탄올로 추출한 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않는다. 또

한, 상기 밤송이 추출물의 분획물은 상기 밤송이 추출물을 증류수로 현탁한 후 비극성 용매로부터 디클로로메탄 및 에틸아세테이트를 사용하여 분획함으로써 수득될 수 있다.

- [0041] 먼저, i) 플라보노이드계 화합물은 캠퍼롤-3-0-[2",6"-디-0-Z-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-0-[2",6"-di-0-Z-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside)(화합물 (14)), 아스트라가린(astagalgin)(화합물 (8)), 티리로사이드(tiliroside) (화합물 (9)), 시스-티리로사이드(cis-tiliroside)(화합물 (10)), 캠퍼롤-3-0-[2"-0-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-0-[2"-0-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside)(화합물 (11)), 캠퍼롤-3-0-[3",6"-디-0-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-0-[3",6"-di-0-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside)(화합물 (12)), 캠퍼롤-3-0-[2",6"-디-0-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-0-[2",6"-di-0-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside)(화합물 (13)), 캠퍼롤-3-0-[4"-아세틸-2",6"-디-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-0-[4"-acetyl-2",6"-di-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside)(화합물 (15)) 및 캠퍼롤-3-0-[3"-아세틸-2",6"-디-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-0-[3"-acetyl-2",6"-di-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside)(화합물 (16))로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 포함할 수 있는데, 그 중에서, 캠퍼롤-3-0-[2",6"-디-0-Z-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-0-[2",6"-di-0-Z-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside)(화합물 (14))를 포함하는 것이, 광범위한 바이러스에 효과적으로 대항할 수 있다는 점에서 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0042] 또한, ii) 사이클로아르탄계 화합물은 카스타아르탄크레노익산 D(castaartancrenoic acid D)(화합물 (4)) 또는 카스타아르탄크레노익산 E(castaartancrenoic acid E)(화합물 (5))를 포함할 수 있다.
- [0044] 상기 조성물은 호흡기 질병을 유발하는 바이러스에 대항하기 위한 것일 수 있어, 따라서, 궁극적으로 바이러스로 인한 호흡기 질병 및 이에 수반되는 감염증 등을 예방, 개선 또는 치료할 수 있다. 이때, 호흡기 질병이라 함은 폐기종, 만성기관지염, 기관지선종, 고립성폐결절, 폐결핵, 농흉, 폐농양, 감기, 독감 및 폐의 조직구 증식증을 포함하는 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0045] 상기 바이러스는 피코르나바이러스과(Picornaviridae) 또는 오르토믹소바이러스과(Orthomyxoviridae)일 수 있고, 구체적으로, 상기 피코르나바이러스과(Picornaviridae)는 인간 라이노바이러스 1B(HRV1B) 또는 콕사키바이러스 B3(CVB3)를 포함하고, 상기 오르토믹소바이러스과(Orthomyxoviridae)는 인플루엔자바이러스(PR8)를 포함할 수 있다.
- [0047] 상기 조성물이 약학 조성물인 경우, 상기 약학 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구제 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화되어 사용할 수 있고, 제형화를 위하여 약학 조성물의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 포함할 수 있다.
- [0048] 상기 담체 또는, 부형제 또는 희석제로는 락토즈, 벡스트로즈, 수크로오스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유 등을 포함한 다양한 화합물 혹은 혼합물을 들 수 있다.
- [0049] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 제조할 수 있다.
- [0050] 경구 투여를 위한 고형제제는 상기 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘보네이트, 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 제조할 수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용할 수 있다.
- [0051] 경구를 위한 액상 제제로는 현탁액, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용하는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등을 포함할 수 있다.
- [0052] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수용성제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수용성제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등을 사용할 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤젤라틴 등을 사용할 수 있다.
- [0053] 상기 약학 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태, 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라

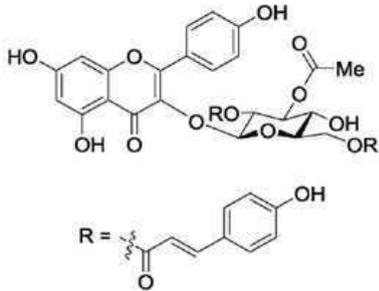
다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나, 바람직한 효과를 위해서는 1일 0.0001 내지 2,000 mg/kg으로, 바람직하게는 0.001 내지 2,000 mg/kg으로 투여할 수 있다. 투여는 하루에 한 번 투여할 수도 있고, 수회 나누어서 투여할 수도 있다. 다만, 상기 투여량에 의해서 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

- [0054] 상기 약학 조성물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유 동물에 다양한 경로로 투여할 수 있다. 투여의 모든 방식은 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁 내 경막 또는 뇌혈관내(intracerebroventricular) 주사에 의해서 투여할 수 있다.
- [0056] 한편, 상기 조성물이 건강기능식품인 경우, 상기 건강기능식품에 있어서, 상기 화합물을 건강기능식품의 첨가물로 사용하는 경우 이를 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효 성분의 혼합양은 예방, 건강 또는 치료 등의 각 사용 목적에 따라 적절하게 결정할 수 있다.
- [0057] 상기 건강기능식품의 제형은 산제, 과립제, 환, 정제, 캡슐제의 형태뿐만 아니라 일반 식품 또는 음료의 형태 어느 것이나 가능하다.
- [0058] 상기 식품의 종류에는 특별히 제한은 없고, 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초콜렛, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함할 수 있다.
- [0059] 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 상기 화합물은 원료 100 중량부에 대하여 15 중량부 이하, 바람직하게는 10 중량부 이하의 양으로 첨가할 수 있다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 또한 본 발명은 천연물질을 이용하는 점에서 안전성 면에서 문제가 없으므로 상기 범위 이상의 양으로도 사용할 수 있다.
- [0060] 상기 건강기능식품 중 음료는 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스 및 같은 디사카라이드 및 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알코올일 수 있다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르트암과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 상기 음료 100 mL당 약 0.01 ~ 0.04 g, 바람직하게는 약 0.02 ~ 0.03 g일 수 있다.
- [0061] 상기 외에 상기 건강기능식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제를 함유할 수 있다. 그 밖에 상기 건강기능식품은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 제한되지 않으나 본 발명의 건강기능식품 100 중량부 대비 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [0063] 한편, 상기 조성물이 피부외용제인 경우, 상기 피부외용제로 사용되는 적합한 제형으로는 예를 들면, 용액, 겔, 고체 또는 반죽 무수 생성물, 수상에 유상을 분산시켜 얻은 에멀전, 현탁액, 마이크로에멀전, 마이크로캡슐, 미세과립구 또는 이온형(리포솜), 비이온형의 소낭 분산제의 형태, 크림, 스킨, 로션, 파우더, 연고 또는 스프레이의 형태로 제공될 수 있다. 또한, 포말(foam)의 형태 또는 압축된 추진제를 더 함유한 에어로졸 조성물의 형태로도 제조될 수 있다.
- [0064] 상기 피부외용제는 화합물에 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 항산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 또는 비이온형 유화제, 충전제, 금속 이온봉쇄제 및 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 또는 친유성 활성제, 지질 소낭 또는 피부용 외용제에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 피부 과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다. 또한, 상기 성분들은 피부 과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입될 수 있다.
- [0066] 한편, 상기 조성물이 의약외품인 경우, 상기 화합물을 그대로 첨가하거나 다른 의약외품 또는 의약외품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효성분의 혼합량은 사용 목적에 따라 적절하게 결정될 수 있다.

[0067] 상기 의약외품은 이에 제한되지는 않으나, 바람직하게는 소독청결제, 샤워폼, 가그린, 물티슈, 세제비누, 핸드워시, 가습기 충전제, 마스크, 연고제, 패치, 또는 필터 충전제일 수 있다.

[0069] 또한, 하기 화학식 1로 표시되는 신규 화합물을 제공한다:

[0070] [화학식 1]



[0071]

[0072] 상기 화합물은 밤송이 유래 화합물 중 항바이러스 활성을 가지는 신규 화합물을 특정한 것으로서, 구체적으로, 상기 화학식 1로 표시되는 신규 화합물은 후술하는 실시예에서 “화합물 (16): kaempferol-3-O-[3''-acetyl-2'',6''-di-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside”을 의미한다.

[0074] 상기 화합물은 밤송이 추출물로부터 분리된 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 화합물은 밤송이 추출물의 분획물로부터 분리된 것일 수 있는데, 먼저, 상기 밤송이 추출물은 밤송이 잔가지 건조물을 물, C1 내지 C4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물로 추출한 것일 수 있고, 메탄올로 추출한 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않는다. 또한, 상기 밤송이 추출물의 분획물은 상기 밤송이 추출물을 증류수로 현탁한 후 비극성 용매로부터 디클로로메탄 및 에틸아세테이트를 사용하여 분획함으로써 수득될 수 있다.

[0076] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0079] [실시예]

[0080] 일반

[0081] 화학적 이동은 TMS로부터 백만분율로 표시된다. 각각 Agilent 800-MR-NMR 분광계로 측정된 800 및 200 MHz에서 ¹H 및 ¹³C NMR 스펙트럼을 작동하였다. MestReNova ver.6.0.2 프로그램으로 데이터 처리를 수행하였다. Agilent 6550 iFunnel QTOF LC/MS 시스템을 사용하여 HRESI-MS 실험을 수행하였다. Jasco DIP-370 자동 편광계 상에서 광학 회전을 측정하였다. Agilent 1260 HPLC 시스템 상에서 분취용 HPLC를 수행하였다. 실리카겔(Kieselgel 60, 70-230 mesh 및 230-400 mesh, Merck) 및 RP-실리카겔(150 μm, Fuji Silysia Chemical)로 컬럼 크로마토그래피(CC)를 수행하였다. 미리-코팅된 실리카겔 60 F254(0.25 mm, Merck) 및 RP-18 F254S 플레이트(0.25 mm, Merck) 플레이트 상에서 박층 크로마토그래피(TLC)를 수행하였다. Nicolet 380 분광계 상에서 FT-IR 스펙트럼(KBr)을 기록하였다.

[0083] 식물 재료

[0084] 2014년 4월의 건기 동안 한국 충청북도 진천군 덕산면 석장 농장으로부터 밤나무(*Castanea crenata* Siebold & Zucc.) (참나무과)의 밤송이를 수집하였고, 증거 표본(L CC201404)은 한국 인천 연세대학교 약학대학의 식물 표본실에 보관하였다.

[0086] 추출 및 분리

[0087] 분쇄된 밤나무(*C. crenata*) 밤송이(9.7 kg)를 15 시간 동안 초음파 처리하여 80% 메탄올(20 L × 3회)로 추출하여 용매의 증발 후에 532 g 추출물을 수득하였다. 추출물을 물에 현탁시켰고, 디클로로메탄 및 에틸아세테이트로 연속적으로 분배시켜 진공 하에 용매의 제거 후에 디클로로메탄 (CB1, 123.21 g), 에틸아세테이트 (CB2, 75.37 g) 및 물 (0.15 g) 분획을 획득하였다. CH₂Cl₂잔류물을 CHCl₃:MeOH(40:1→1:1,v/v)의 구배를 가진 실리카겔 CC에 적용하여 6개 하위-분획(CB1A-CB1F)을 획득하였다. CB1C 분획을 CHCl₃:MeOH(10:1,v/v)용매 시스템으로 용출된 실리카겔 CC에 적용하여 CB1C1-CB1C6 보다 작은 분획을 획득하였다. CB1C3을 3mL/분의 유속에서 43%

MeCN으로 용출된, J'sphere ODS H-80 250 mm × 20 mm 컬럼을 사용하는, HPLC에 적용하여 화합물 (15)(9.6 mg) 및 화합물 (16)(12 mg)을 획득하는 반면, CB1C4는 40% 수성 MeCN으로 용출하는 HPLC에 의해 화합물 (1)-(3)(12.6, 4.3, 및 5.9 mg)을 수득하였다. 추가적으로, CB1C5 분획을 65% 수성 MeCN으로 용출하는 HPLC에 역시 적용하여 화합물 (4)(3.3 mg) 및 화합물 (5)(4.5 mg)를 수득하였다. EtOAc 용해성 분획을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피 상에 CHCl₃:MeOH구배 용출액(40:1 → 1:1, v/v)을 사용하여 6개 하위-분획(CB2A-CB2F) 내로 나누었다. CHCl₃:MeOH(5:1,v/v)로 용출된 실리카겔 CC를 사용하여, CB2C 분획을 4개 보다 작은 분획(CB2C1-CB2C4)과 함께, 화합물 (6)(41.3 mg), 화합물 (17)(24.2 mg)을 획득하기 위해 허용하였다. CB2C1 분획을 MeOH:H₂O(1:1,v/v)로 용출된 RP-실리카겔 CC에 적용하여 화합물 (7)(6.6 mg), 화합물 (8)(81.3 mg), 화합물 (9)(5.8 mg) 및 화합물 (10)(11.6 mg)을 제공하였다. CB2C2 분획을 25% 수성 MeCN을 사용하는 HPLC에 의해 추가적으로 정제하여 화합물 (11)(7.0 mg), 화합물 (12)(8.9 mg), 화합물 (13)(3.2 mg) 및 화합물 (14)(4.8 mg)를 획득하였다.

- [0089] - 카스타아르탄크레노익산 A(castaartancrenoic acid A)(화합물 (1))
- [0090] 노란색 무정형 분말; $[a]_D^{20}$: +10.0 (MeOH, c=2.0); IR (KBr) ν_{max} : 3300, 1653, 1445, 1165, 1017 cm^{-1} ; C₂₇H₄₂O₆, HR-ESI-MSm/z: 461.2903 [M-H]⁻ (C₂₇H₄₁O₆의 계산치, 461.2909); ¹H(CD₃OD, 800MHz) 및 ¹³C NMR(CD₃OD, 200MHz)분광학 데이터 대상, 표 1 참고
- [0092] - 카스타아르탄크레노익산 B(castaartancrenoic acid B)(화합물 (2))
- [0093] 노란색 무정형 분말; $[a]_D^{20}$: +18.0 (MeOH, c=2.0); IR (KBr) ν_{max} : 3340, 1708, 1448, 1114, 1021 cm^{-1} ; C₂₇H₄₄O₅, HR-ESI-MSm/z: 447.3108 [M-H]⁻ (C₂₇H₄₃O₅의 계산치, 447.3116); ¹H(CD₃OD, 800MHz) 및 ¹³C NMR(CD₃OD, 200MHz)분광학 데이터 대상, 표 1 참고
- [0095] - 카스타아르탄크레노익산 C(castaartancrenoic acid C)(화합물 (3))
- [0096] 노란색 무정형 분말; $[a]_D^{20}$: +55.0 (MeOH, c=2.0); IR (KBr) ν_{max} : 3345, 1650, 1420, 1114, 1021 cm^{-1} ; C₂₆H₄₁O₅, HR-ESI-MSm/z: 433.2950 [M-H]⁻ (C₂₆H₄₁O₅의 계산치, 433.2959); ¹H(CD₃OD, 800MHz) 및 ¹³C NMR(CD₃OD, 200MHz)분광학 데이터 대상, 표 1 참고
- [0098] - 카스타아르탄크레노익산 D(castaartancrenoic acid D)(화합물 (4))
- [0099] 노란색 무정형 분말; $[a]_D^{20}$: +24.2 (MeOH, c=2.0); IR (KBr) ν_{max} : 3363, 1707, 1437, 1010, 950 cm^{-1} ; C₃₀H₄₈O₅, HR-ESI-MSm/z: 487.3422 [M-H]⁻ (C₃₀H₄₇O₅의 계산치, 487.3429); ¹H(피리딘, 800 MHz) 및 ¹³C NMR(피리딘, 200 MHz) 분광학 데이터 대상, 표 2 참고
- [0101] - 카스타아르탄크레노익산 E(castaartancrenoic acid E)(화합물 (5))
- [0102] 노란색 무정형 분말; $[a]_D^{20}$: +40.0 (MeOH, c=2.0); IR (KBr) ν_{max} : 3440, 1672, 1437, 1093, 1012 cm^{-1} ; C₃₀H₄₈O₅, HR-ESI-MSm/z: 487.3429 [M-H]⁻ (C₃₀H₄₇O₅의 계산치, 487.3429); ¹H(피리딘, 800 MHz) 및 ¹³C NMR(피리딘, 200 MHz) 분광학 데이터 대상, 표 2 참고
- [0104] - 캄페롤-3-O-[3"-아세틸-2", 6"-디-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(kaempferol-3-O-[3"-acetyl-2", 6"-di-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside)(화합물 (16))
- [0105] 노란색 무정형 분말; $[a]_D^{20}$: +25.0 (MeOH, c=2.0); IR (KBr) ν_{max} : 3320, 1653, 1605, 1411 cm^{-1} ; C₄₁H₃₄O₁₆, HR-ESI-MSm/z: 781.1789 [M-H]⁻ (C₄₁H₃₃O₁₆의 계산치, 781.1769); ¹H(CD₃OD, 800MHz) 및 ¹³C NMR(CD₃OD, 200MHz)분광학 데이터 대상, 표 3 참고

[0107] 세포 배양

[0108] 한국 질병관리본부로부터 HRV1B, CVB3 및 PR8을 획득하였고, HeLa 및 Vero 세포(ATCC, Manassas, VA, USA) 내 37℃에서 증식시켰다. HRV1B 및 PR8은 HeLa 세포에 감염시켰고, CVB3는 Vero 세포에 감염시켰다. 이들 세포를 10% 태아소혈청(FBS) 및 0.01% 항생제-항진균제 용액으로 보충된 최소 필수 배지(MEM)에서 유지시켰다. Gibco BRL (Invitrogen Life Technologies, Karlsruhe, Germany)로부터 항생제-항진균제 용액, 트립신-EDTA, FBS 및 MEM을 구입하였다. Falcon (BD Biosciences, San Jose, CA, USA)로부터 조직 배양 플레이트를 구입하였다. Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)로부터 SRB를 구입하였다. 세포를 37℃에서 5% CO₂의 가습 분위기에서 10% FBS 및 0.01% 항생제-항진균제가 용액으로 보충된 MEM에서 배양하였다. 트립신-EDTA를 사용하여 세포를 탈착하였다. 세포가 분리된 화합물로 배양되기 전에 5회 계대 배양을 수행하였다.

[0110] 항바이러스 분석

[0111] 항바이러스 활성을 세포변성 효과(CPE)를 사용한 SRB 방법을 채용함으로써 분석하였다. 간략하게, 96-웰 배양 플레이트 상에 10% FBS 및 0.01% 항생제-항진균제 용액으로 보충된 MEM을 사용하여 Vero 및 HeLa 세포를 도포하였고, 24시간 동안 배양하였다. 다음날, 배지를 제거하였고, 100 µL의 PBS(Invitrogen Life Technologies)로 세포를 세척하였다. 그 다음, 바이러스의 50% 세포 배양 감염 선량(CCID₅₀)을 함유하는 희석된 바이러스 현탁액(0.09 mL)을 Vero 세포에 첨가하여 감염 후 48 시간 이내에 50% CPE를 생성시켰다. 다음, 10 µM의 화합물을 함유하는 MEM(0.1 mL)을 첨가하였다. 50% CPE가 달성될 때까지 2일 동안 5% CO₂ 및 37℃에서 배양 플레이트를 배양하였다. 그 다음, 200 mL의 PBS로 96-웰 플레이트를 1회 세척하였다. 차가운 70% 아세톤(100 µL)을 각 웰에 첨가하였고, 상온에서 30분 동안 방치하였다. 그 다음, SRB 용액을 제거하고, 55℃에서 오븐-건조 전에 물 내 1% 아세트산으로 플레이트를 5회 세척하였다. 그 다음, 10 mM 언버퍼드 Tris-base(Sigma) 용액(100 µL)으로 SRB를 용해시켰다. 30분 후, 620 nm에서 기준 흡광도를 가지는 VERSAmax 마이크로 플레이트 판독기(Molecular Devices, Palo Alto, CA, USA)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다 HRV1B-, CVB3- 및 PR8- 감염된 세포에서 각 시험 화합물의 항바이러스 활성을 대응하는 미처리된 대조군의 세포생존률에 대한 퍼센트로서 계산하였다.

[0113] 결과 및 토의

[0114] 밤나무(*C. crenata*) 밤송이의 메탄올 추출물을 물에 현탁시켰고, 디클로로메탄 및 에틸아세테이트로 연속적으로 분배시켜 3개 층을 획득하였다. 다양한 크로마토그래피 및 분리 기술을 사용하여, 6개 신규 화합물 및 11개 알려진 화합물을 분리하였다(도 1). 이러한 구조는 1D 및 2D NMR 실험을 포함하는 광범위 분광학 방법에 의해 및 HR-ESI-MS 분석에 의해 설명되었다. 남은 11개 알려진 화합물은 이전에 보고된 문헌 데이터의 것과 비교하였고, 스타치안쑤사이드(stachyanthuside B)(화합물 (6)), 3,3'-디-메틸엘라지산4'-O-β-D-자일로피로노사이드(3,3'-di-methylellagic acid 4'-O-β-D-xylopyranoside)(화합물 (7)), 아스트라가린(astragalol)(화합물 (8)), 티리로사이드(tiliroside)(화합물 (9)), 캠퍼롤-3-O-[2"-O-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(Kaempferol-3-O-[2"-O-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside)(화합물 (11)), 캠퍼롤-3-O-[2",6"-디-O- E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(Kaempferol-3-O-[2",6"-di-O-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside)(화합물 (13)), 캠퍼롤-3-O-[2",6"-디-O-Z-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(Kaempferol-3-O-[2",6"-di-O-Z-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside)(화합물 (14)), 캠퍼롤-3-O-[4"-아세틸-2",6"-디-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(Kaempferol-3-O-[4"-acetyl-2",6"-di-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside)(화합물 (15)), 시스-티리로사이드(cis-tiliroside)(화합물 (10)), 캠퍼롤-3-O-[3",6"-디-O- E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(Kaempferol-3-O-[3",6"-di-O-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside)(화합물 (12)) 및 헬리크리소사이드(helichryoside)(화합물 (17))로서 분리하였다.

[0116] 화합물 (1)을 노란색 무정형 분말로서 획득하였고, 그 분자식은 m/z 461.2903 (C₂₇H₄₁O₆에 대한 계산치, 461.2909)에서 HR-ESI-MS [M-H]⁻ 이온에 의해 C₂₇H₄₂O₆으로 결정되었다. 화합물 (1)의 ¹H NMR 스펙트럼은 δ_H 0.21(d, J = 4.4 Hz) 및 0.70 (d, J = 4.4 Hz)에서 2개 사이클로프로판 메틸렌 양성자, δ_H 3.91(dd, J = 4.2, 11.6) 및 3.43(ddd, J = 6.4, 10.2, 12.0 Hz)에서 2개 옥시메틴 양성자, δ_H 0.81(d, J=6.2 Hz)에서 1개 2차 메틸기 및 δ_H 0.86(s), 0.91(s), 및 1.00(s)에서 3개 3차 메틸기의 신호를 나타내었다. 이들은 다른 사이클로 아르탄계 트리테르펜의 것과 유사하였다. 화합물 (1)의 ¹³C NMR 및 DEPT 스펙트럼은 4개 메틸, 10개 메틸렌, 6개

메틴 및 7개 4차 탄소를 포함하는 27개 탄소의 신호를 나타내었고(도 2(a)), 이는 트리노르사이클로아르탄계 트리테르펜으로서 할당되었다. 화합물 (1)의 NMR 분광학 데이터는 C-7에서 하이드록시기의 존재 및 C-1에서 하이드록시기의 소실을 제외하고는 노르쿠아드란구라릭산 A(norquadrangularic acid A)의 것과 유사하였다. H-29(δ_H 1.00) 및 C-3(δ_C 76.2)/C-4(δ_C 55.4)/C-5(δ_C 43.6)/C-28(δ_C 180.6)사이의 HMBC 상관관계는 C-3에서 하이드록시기 및 C-28에서 카르복실기의 위치를 제안하였다. H-7(δ_H 3.43)/H-6(δ_H 1.28) 및 C-7(δ_C 70.6)사이의 및 H-22(δ_H 1.74)/H-23(δ_H 2.12) 및 C-24(δ_C 178.4)사이의 HMBC 상관관계는 각각 C-7에서 하이드록시기 및 C-24에서 카르복실기의 위치를 확인하였다(도 3). $H_{\alpha-2/H-3}$ ($J_{H_{\alpha-2}/H-3}$ =11.6Hz)에 대한 큰 인접한 커플링 상수는 그의 트랜스 이축 배향을 나타내었다. 또한, H-7 및 H-8의 축 방향은 그들의 큰 커플링 상수 값($J_{H-7/H-8}$ =7.6Hz)에 의해 추론되었다. 더욱이, H-3(δ_H 3.91) 및 H-5(δ_H 2.03); H-29(δ_H 1.00) 및 $H_{\beta-19}$ (δ_H 0.70); H-7(δ_H 3.43) 및 H-30(δ_H 0.86)사이의 NOESY 상관관계의 관찰은 β 로서 C-3 및 C-7에서 하이드록시기 및 α 로서 C-4에서 카르복실기의 배열을 제안하였다(도 4). 상기 데이터에 근거하여, 화합물 (1)의 구조는 3 β , 7 β -디하이드록시-24-노르사이클로아르탄-24, 28-디오익산(3 β , 7 β -dihydroxy-24-norcycloartane-24, 28-dioic acid) 및 카스타아르탄크레노익산 A(castaartancrenoic acid A)로 명명되었다.

[0117] 화합물 (2)의 HR-ESI-MS는 m/z 447.3108($C_{27}H_{43}O_5$ 에 대한 계산치, 447.3116)에서 $[M-H]^-$ 이온을 나타내면서, $C_{27}H_{43}O_5$ 의 분자식을 제안하였다. 화합물 (2)의 1H NMR 스펙트럼은 사이클로아르탄계 트리테르펜의 신호를 나타내었다. NMR 데이터는 C-24에서 카르보닐기가 없는 것을 제외하고는, 화합물 (2)의 구조는 화합물 (1)의 것과 유사하였다. COSY 실험은 $-CH_2-CH_2-CH-CH(CH_3)-CH_2-CH_2-CH_2-$ 의 스핀 시스템을 확립함으로써 C-23에서 하이드록시메틸렌기의 위치를 확립하였다. 상기 데이터를 기반으로, 화합물 (2)의 구조는 3 β , 7 β , 24-트리하이드록시-24-노르사이클로아르탄-28-오익산(3 β , 7 β , 24-trihydroxy-24-norcycloartane-28-oic acid) 및 카스타아르탄크레노익산 B(castaartancrenoic acid B)로 명명되었다.

[0118] 화합물 (3)의 분자식은 m/z 433.2905($C_{26}H_{41}O_5$ 에 대한 계산치, 433.2959)에서 HR-ESI-MS $[M-H]^-$ 이온에 의해 $C_{26}H_{41}O_5$ 로 확인되었다. 또한, 화합물 (3)의 1H NMR 및 ^{13}C NMR 스펙트럼은 사이클로아르탄계 트리테르펜의 전형적인 신호를 보였다: 사이클로프로판 고리의 메틸렌, 2개 옥시메틴, 1개 옥시메틸렌, 3개 3차 메틸기, 및 1개 2차 메틸기. 추가적으로, NMR 데이터의 분석은 C-20에서 펜탄올기를 부탄올기로 교체한 것을 제외하고는 화합물 (3)의 구조가 화합물 (2)의 것과 유사함을 나타내었다. H-22(δ_H 1.66)에서 C-23(δ_C 60.1)까지의 HMBC 상관관계는 C-23에서 하이드록시기의 위치를 입증하였다(도 3). 상기 증거에 근거하여, 화합물 (3)의 구조는 23-노르사이클로아르탄-28-오익산(23-norcycloartane-28-oic acid) 및 카스타아르탄크레노익산 C(castaartancrenoic acid C)로 명명되었다.

[0119] 화합물 (4)는 노란색 무정형 분말로서 분리하였고, 그 분자식은 m/z 487.3422 ($C_{30}H_{48}O_5$ 에 대한 계산치, 487.3429)에서 HR-ESI-MS $[M-H]^-$ 이온에 의해 $C_{30}H_{48}O_5$ 로 확인되었다. 1H NMR 스펙트럼은 화합물 (4)가 사이클로아르탄계 트리테르펜임을 제안하였다: δ_H 0.36(d, J = 4.2 Hz) 및 1.03(m)에서 사이클로프로판 고리의 메틸렌 양성자, δ_H 3.99(d, J =10.2Hz), 4.43(m) 및 4.78(dd, J = 3.8, 11.8Hz)에서 3개 옥시메틴 양성자. 추가적으로, δ_H 1.06(d, J =6.0 Hz)에서 1개 2차 메틸기와 함께, δ_H 5.05(s) 및 5.28(s)에서 엑소-올레핀 양성자, δ_H 1.12(s), 1.14(s), 1.71(s) 및 2.00(s)에서 4개 3차 메틸기가 보여졌다. 화합물 (4)의 ^{13}C NMR 및 DEPT 스펙트럼은 5개 메틸, 11개 메틸렌, 8개 메틴 및 6개 4차 탄소를 포함하는 30개 탄소의 존재를 나타내었다(도 2(b)). 화합물 (4)의 NMR 데이터는 아세틸기 대신에 C-7에서 하이드록시기로 치환된 것을 제외하고는 콤브레틱산 B(combretic acid B)의 것과 유사하였다. HMBC 상관관계는 화합물 (1)-(3)의 것과 유사하였다(도 3). 추가적으로, H-23(δ_H 2.00) 및 C-22(δ_C 32.5)/C-24(δ_C 76.1)/C-25(δ_C 148.8)사이와 마찬가지로, H-24(δ_H 4.43) 및 C-26(δ_C 110.9)/C-27(δ_C 17.5) 사이의 HMBC 상관관계는 C-24에서 하이드록시기 및 C-26에서 엑소-올레핀기의 위치를 증명하였다(도 3). α 로서 C-24에서 하이드록시기의 배열은 NOESY 상관관계 H-21(δ_H 1.06) 및 H-22(δ_H 1.22); $H_{\beta-23}$ (δ_H 2.00) 및 H-24(δ_H 4.43)로부터 추론되었다(도 4). 결과적으로, 화합물 (4)의 구조는 3 β , 7 β , 24 α -트리

하이드록시사이클로아르트-25,26-엔-28-오익산 (3β,7β,24α-trihydroxycycloart-25,26-ene-28-oic acid) 및 카스타아르탄크레노익산 D(castaartancrenoic acid D)로 명명되었다.

[0120] 화합물 (5)의 분자식은 m/z 487.3429(C₃₀H₄₇O₅)에 대한 계산치, 487.3429)에서 HR-ESI-MS [M-H]⁻이온에 의해 C₃₀H₄₈O₅로 확인되었다. 화합물 (5)의 ¹H 및 ¹³C NMR 분광학 데이터는 C-24에서 하이드록시기의 배열을 제외하고는 화합물 (4)의 것과 유사하였다. C-24에서 하이드록시기의 β 배열은 H-21(δ_H 1.05) 및 H_α-22(δ_H 1.74); H_α-22(δ_H 1.74) 및 H-24(δ_H 4.44)사이의 NOESY 상관관계에 근거하여 결정되었다. 추가적으로, C-24의 배열은 C-24 내지 C-27의 ¹³C NMR 신호를 비교함으로써 결정될 수 있다. 24β 하이드록시기를 가지는 쿼드랑구라릭산 M(quadrangularic acid M)이 δ_C 75.6(C-24), 149.6(C-25), 110.0(C-26) 및 18.2(C-27)를 보이는 반면, 24α 하이드록시기를 가지는 24-에피쿼드랑구라릭산 M(24-Epiquadrangularic acid M)은 δ_C 76.1(C-24), 149.6(C-25), 110.4(C-26), 및 17.7(C-27)을 보였다. 화합물 (4) 및 (5)에서 C-24에서 C-27로의 ¹³C-NMR 화학적인 이동은 δ_C 76.1(C-24), 148.8(C-25), 110.9(C-26) 및 17.5(C-27); 75.6(C-24), 149.0(C-25), 110.4(C-26) 및 17.8(C-27)였고, C-24에서 배열은 각각 24α 및 24β가 되기 위해 결정되었다. 상기 데이터에 근거하여, 화합물 (5)의 구조는 3β,7β,24β-트리하이드록시사이클로아르트-25,26-엔-28-익산(3β,7β,24β-trihydroxycycloart-25,26-ene-28-oic acid) 및 카스타아르탄크레노익산 E(castaartancrenoic acid E)로 명명되었다.

[0121] 화합물 (16)은 노란색 무정형 분말로서 분리하였고, 그 분자식은 m/z 781.1799(C₄₁H₃₃O₁₆)에 대한 계산치, 781.1769)에서 HR-ESI-MS [M-H]⁻이온에 의해 C₄₁H₃₄O₁₆로 결정되었다. 화합물 (16)의 ¹H NMR 스펙트럼은 δ_H 6.21(d, J=16.0 Hz) 및 7.30(d, J=16.0 Hz); 6.00(d, J=16.0 Hz) 및 7.58(d, J=16.0 Hz)에서 2개 트랜스-쿠마로일 부분의 신호를 보였다. 6.71(d, J=7.2 Hz) 및 7.82(d, J=7.2 Hz)과 함께 δ_H 5.98(s) 및 6.17(s)에서 2개 방향족 양성자 신호는 캠퍼롤 아글리콘을 확인하였다. 추가적으로, 글루코실 부분의 β-결합은 δ_H 5.61에서 아노머성 양성자 신호의 커플링 상수(J = 7.8 Hz)로부터 추론되었다(도 2(c)). 화합물 (16)의 ¹³C NMR 스펙트럼은 16개 4차, 23개 메틴, 1개 메틸렌 및 1개 메틸기를 포함하는 41개 탄소 신호를 나타내었다(도 2(c)).

[0122] 화합물 (16)의 NMR 데이터 분석은 아세틸기의 첨가를 제외하고, 캠퍼롤-3-O-[2",6"-디-O-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(Kaempferol-3-O-[2",6"-di-O-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside)의 것과 유사한 것으로 나타났다. C-3에 연결된 당 부분은 H-1"(δ_H 5.61) 및 C-3(δ_C 134.6)사이의 HMBC 상관관계에 의해 확인되었다. H-3"(δ_H 5.12) 및 카르보닐기(δ_C 172.2)사이의 HMBC 상관관계는 C-3"에 연결된 아세틸기의 위치를 제안하였다. 더욱이, E-p-쿠마로일기의 결합은 H-2"(δ_H 5.05) 및 C-γ"(δ_C 168.1)사이의, H-6"(δ_H 4.15 및 4.27) 및 C-γ"(δ_C 168.8)사이의 HMBC 상관관계에 의해 결정되었다(도 3). 따라서 화합물 (16)의 구조는 캠퍼롤-3-O-[3"-아세틸-2",6"-디-O-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드(Kaempferol-3-O-[3"-acetyl-2",6"-di-O-E-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside)로 확인되었다.

표 1

[0123]

바이러스	화합물	CC50 ^a	IC50 ^b	TI ^c
HRV1B	화합물 (4)	>50	6.32±0.46	>7.91
	화합물 (5)	>50	5.58±0.24	>8.96
	화합물 (8)	>50	19.4±3.63	>2.57
	화합물 (9)	>50	34.1±3.34	>1.46
	화합물 (12)	28.37	6.14±0.06	4.62
	화합물 (13)	>50	1.22±0.01	>40.9
	화합물 (14)	28.19	5.89±0.21	4.78
	화합물 (15)	>50	7.46±0.52	>6.70
	화합물 (16)	>50	5.51±0.31	>9.07
	Rupintrivir	>50	<0.04	ND
CVB3	화합물 (14)	>50	43.6±1.97	>1.14

	Rupintrivir	>50	7.88±0.94	>6.34
PR8	화합물 (13)	>50	37.1±3.62	>7.91
	화합물 (14)	>50	28.2±0.69	>8.96
	Oseltamivir	>50	2.19±0.55	>22.8

[0124] * 결과는 3회 수행된 독립적인 실험으로부터 얻은 평균 IC₅₀값 ± SD로서 나타내었다.

[0125] ^a 세포 성장을 50%(μM) 감소시키기 위해 요구되는 농도.

[0126] ^b 바이러스-유도된 CPE를 50%(μM) 저해시키기 위해 요구되는 농도.

[0127] ^c 치료 지수 = CC₅₀/IC₅₀.

[0129] 효과적인 항바이러스 피토케미컬을 조사하기 위해, HeLa 또는 Vero 세포에서 세포변성 효과(CPE)를 사용한 SRB 방법을 채용함으로써 항바이러스 활성에 대해 모든 분리된 화합물을 평가하였다. HRV1B 및 CVB3 모두에 대항하는 Rupintrivir 및 PR8에 대항하는 Oseltamivir가 양성 대조군으로 사용되었다. 분리된 화합물 중에서, 대부분 캠퍼롤 유도체는 HRV1B-감염된 세포에 대항하는 통계적으로 유의한 항바이러스 활성을 보였다(표 1). 테스트된 화합물 중에서, 캠퍼롤-3-O-[2",6"-디-O-Z-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드가 HRV1B-, CVB3- 및 PR8-감염된 세포에 대항하는 가장 일관되고 효과적인 항바이러스 활성을 나타내었다.

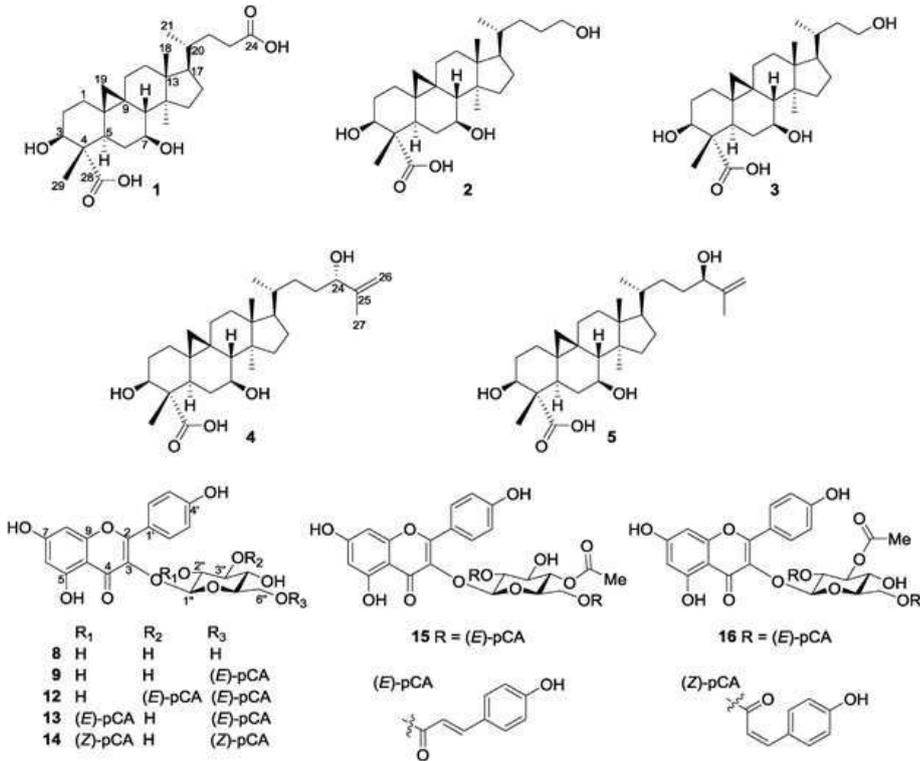
[0131] 결론

[0132] 밤나무(*C. crenata*) 밤송이의 피토케미컬 연구는 카스타아르탄크레노익산 A-E의 5개 사이클로아르탄계 트리테르펜 화합물과, 캠퍼롤-3-O-[3"-아세틸-2",6"-디-E-p-쿠마로일]-β-D-글루코피라노사이드의 1개 플라보노이드 화합물과, 11개 추가 화합물의 분리를 도출하였다. 항바이러스 피토케미컬을 확인하기 위해, HRV1B-, CVB3- 및 PR8-감염된 Vero 또는 HeLa 세포에 대항하는 그들의 생물학적 활성에 대해 분리된 화합물을 평가하였다. 항바이러스 분석은 밤나무(*C. crenata*)로부터 유래된 화합물이 HRV1B, CVB3 및 PR8에 의해 유발된 바이러스 감염을 치료하기 위해 효과적인 항바이러스제일 수 있음을 증명하였다.

[0134] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

도면

도면1



도면2a

Pos	1		2		3	
	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (J in Hz)	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (J in Hz)	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (J in Hz)
1	32.1	1.29 (m, α) 1.55 (m, β)	32.1	1.32 (m, α) 1.59 (m, β)	32.1	1.28 (m, α) 1.56 (m, β)
2	30.4	1.53 (m, β) 1.66 (m, α)	30.4	1.52 (m, β) 1.67 (m, α)	30.4	1.53 (m, β) 1.65 (m, α)
3	76.2	3.91 (dd, 4.2, 11.6, α)	76.3	3.92 (dd, 4.2, 11.6, α)	76.3	3.90 (d, 11.2, α)
4	55.4	-	55.4	-	55.4	-
5	43.6	2.03 (dd, 6.6, 13.0, α)	43.6	2.05 (dd, 3.8, 13.0, α)	43.6	2.02 (d, 10.0, α)
6	33.7	1.05 (m, β) 1.28 (m, α)	33.7	1.06 (m, β) 1.30 (m, α)	33.8	1.05 (m, β) 1.30 (m, α)
7	70.6	3.43 (ddd, 6.4, 10.2, 12.0, α)	70.7	3.45 (m, α)	70.7	3.42 (d, 7.6, α)
8	54.7	1.64 (d, 7.6, β)	54.7	1.66 (d, 7.6, β)	54.7	1.63 (d, 7.6, β)
9	21.5	-	21.6	-	21.5	-
10	26.9	-	27.0	-	27.0	-
11	28.2	1.34 (m, α) 1.70 (m, β)	28.2	1.35 (m, α) 1.71 (m, β)	28.2	1.33 (m, α) 1.70 (m, β)
12	34.0	1.52 (m)	34.1	1.53 (m)	34.1	1.52 (m)
13	46.9	-	46.8	-	46.9	-
14	50.0	-	50.0	-	50.0	-
15	37.1	1.39 (m) 1.50 (m)	37.1	1.39 (m) 1.52 (m)	37.1	1.38 (m) 1.49 (m)
16	29.3	1.26 (m) 1.84 (m)	29.4	1.24 (m) 1.84 (m)	29.5	1.24 (m) 1.85 (m)
17	53.0	1.48 (m, α)	53.1	1.50 (d, 9.2, α)	53.4	1.47 (m, α)
18	17.5	0.91 (s, β)	17.4	0.90 (s, β)	17.4	0.91 (s, β)
19	27.7	0.21 (d, 4.4, α) 0.70 (d, 4.4, β)	27.7	0.22 (d, 4.4, α) 0.72 (d, 4.4, β)	27.7	0.19 (d, 4.4, α) 0.69 (d, 4.4, β)
20	37.2	1.35 (m)	37.5	1.35 (m)	34.5	1.46 (m)
21	18.7	0.81 (d, 6.2, α)	19.2	0.83 (d, 5.6, α)	19.3	0.81 (d, 5.4, α)
22	32.8	1.20 (m) 1.74 (m)	33.6	0.99 (m) 1.43 (m)	40.3	1.10 (m) 1.66 (m)
23	32.4	2.12 (m) 2.25 (m)	30.6	1.34 (m) 1.54 (m)	60.1	3.46 (m) 3.52 (m)
24	178.4	-	63.7	3.43, d (7.4)		
28	180.6	-	180.7	-	180.2	-
29	9.8	1.00 (s, β)	9.8	0.98 (s, β)	9.9	0.99 (s, β)
30	19.4	0.86 (s, α)	19.4	0.84 (s, α)	19.4	0.84 (s, α)

^a Measured in pyridine-*d*₅.

^b 200 MHz.

^c 800 MHz, assignments were done by HSQC, HMBC, COSY and ROESY experiments.

도면2b

Pos	4		5	
	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (J in Hz)	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (J in Hz)
1	31.2	1.46 (m, α) 1.81 (m, β)	31.1	1.45 (m, α) 1.80 (m, β)
2	30.1	2.08 (m, β) 2.25 (m, α)	30.0	2.07 (m, β) 2.24 (m, α)
3	75.2	4.78 (dd, 3.8, 11.8, α)	75.1	4.78 (dd, 3.8, 11.8, α)
4	54.8	-	54.7	-
5	42.7	2.68 (d, 12.8, α)	42.6	2.68 (d, 12.8, α)
6	33.5	1.77 (m, α) 2.21 (m, β)	33.4	1.74 (m, α) 2.20 (m, β)
7	69.3	3.99 (d, 10.2, α)	69.2	3.97 (m, α)
8	53.8	2.16 (d, 7.6, β)	53.7	2.15 (d, 8.2, β)
9	20.3	-	20.2	-
10	25.9	-	25.8	-
11	27.1	1.48 (m) 1.86 (m)	27.0	1.47 (m) 1.85 (m)
12	32.9	1.66 (m)	32.8	1.65 (m)
13	45.7	-	45.5	-
14	49.0	-	48.8	-
15	36.3	1.85 (m) 1.99 (m)	36.2	1.85 (m) 1.98 (m)
16	28.4	1.41 (m) 2.00 (m)	28.4	1.41 (m) 2.01 (m)
17	51.8	1.67 (m, α)	51.7	1.67 (m, α)
18	17.0	1.14 (s)	16.8	1.12 (s)
19	26.9	0.36 (d, 4.2, α) 1.03 (m, β)	26.7	0.36 (d, 4.2, α) 1.02 (d, 4.2, β)
20	36.3	1.53 (m)	36.2	1.53 (m)
21	18.7	1.06 (d, 6.0)	18.6	1.05 (d, 6.0)
22	32.5	1.83 (m, α) 2.17 (m, β)	32.2	1.74 (m, α) 2.03 (m, β)
23	32.1	1.84 (m, α) 2.00 (m, β)	32.4	1.43 (m, β) 1.74 (m, α)
24	76.1	4.43 (m, β)	75.6	4.44 (t, 6.1, α)
25	148.8	-	149.0	-
26	110.9	5.05 (s) 5.28 (s)	110.4	5.05 (s) 5.32 (s)
27	17.5	2.00 (s)	17.8	1.99 (s)
28	180.4	-	180.1	-
29	10.1	1.71 (s, β)	10.0	1.71 (s, β)
30	18.9	1.12 (s)	18.8	1.11 (s)

^a Measured in pyridine-*d*₅.

^b 200 MHz.

^c 800 MHz, assignments were done by HSQC, HMBC, COSY and ROESY experiments.

도면2c

Pos	16		Pos	$\delta_C^{a,b}$		$\delta_H^{a,c}$ (J in Hz)	
	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (J in Hz)		$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (J in Hz)		
Agly			3"-OAc				
2	159.0	-	COCH ₃	172.2	-		
3	134.6	-	COCH ₃	21.0	1.93 (s)		
4	179.2	-	2"-coumaroyl				
5	163.2	-	α''	146.8	7.30 (d, 16.0)		
6	100.1	5.98 (s)	β''	114.5	6.21 (d, 16.0)		
7	165.8	-	γ''	168.1	-		
8	94.8	6.17 (s)	$1''$	127.2	-		
9	158.4	-	2'', 6''	131.4	7.22 (d, 8.2)		
10	105.9	-	3'', 5''	116.9	6.71 (d, 8.2)		
1'	122.8	-	4''	161.4	-		
2', 6'	132.2	7.82 (d, 7.2)	6"-coumaroyl				
3', 5'	116.3	6.76 (d, 7.2)	α''	147.9	7.58 (d, 16.0)		
4'	161.6	-	β''	114.7	6.00 (d, 16.0)		
Glc			γ''	168.8	-		
1*	100.4	5.61 (d, 7.8)	$1''$	127.2	-		
2*	73.8	5.05 ^d	2'', 6''	131.6	7.37 (d, 8.2)		
3*	76.9	5.12 ^d	3'', 5''	116.9	6.71 (d, 8.2)		
4*	70.1	3.53 ^d	4''	161.6	-		
5*	75.9	3.56 ^d					
6*	63.9	4.15 (d, 11.8) 4.27 (d, 11.8)					

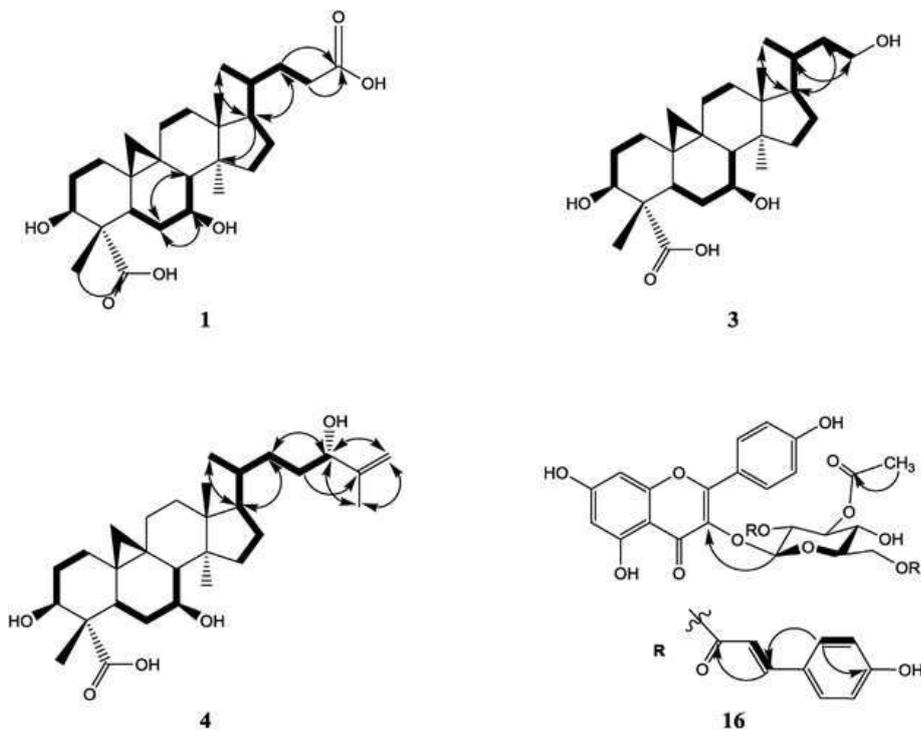
^a Measured in methanol-*d*₄.

^b 100 MHz.

^c 400 MHz.

^d Overlapped signals, assignments were done by HSQC, HMBC and COSY experiments.

도면3



도면4

