(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년11월18일
(11) 등록번호 10-2731150
(24) 등록일자 2024년11월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 215/233 (2006.01) *A61K 31/045* (2006.01)
A61K 31/215 (2006.01) *A61K 31/352* (2006.01)
A61K 31/47 (2006.01) *A61K 31/4704* (2006.01)
A61K 31/4741 (2006.01) *A61K 36/75* (2006.01)
C07D 215/22 (2006.01) *C07D 311/18* (2006.01)
C07D 497/04 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 215/233 (2013.01)
A61K 31/045 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-0091230
(22) 출원일자 2022년07월22일
심사청구일자 2022년07월22일
(56) 선행기술조사문헌
Journal of Pharmacy and Pharmacology, (1998) Vol. 50(7), pp. 803-807
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
서울대학교 산학협력단
서울특별시 관악구 관악로 1 (신림동)
(72) 발명자
진영원
서울특별시 서초구 방배로37길 26-9 쌍용예가클래식 102동 407호
노민수
서울특별시 서초구 신반포로23길 41 신반포2지구 아파트 110동 606호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인한일

전체 청구항 수 : 총 30 항 심사관 : 성다은

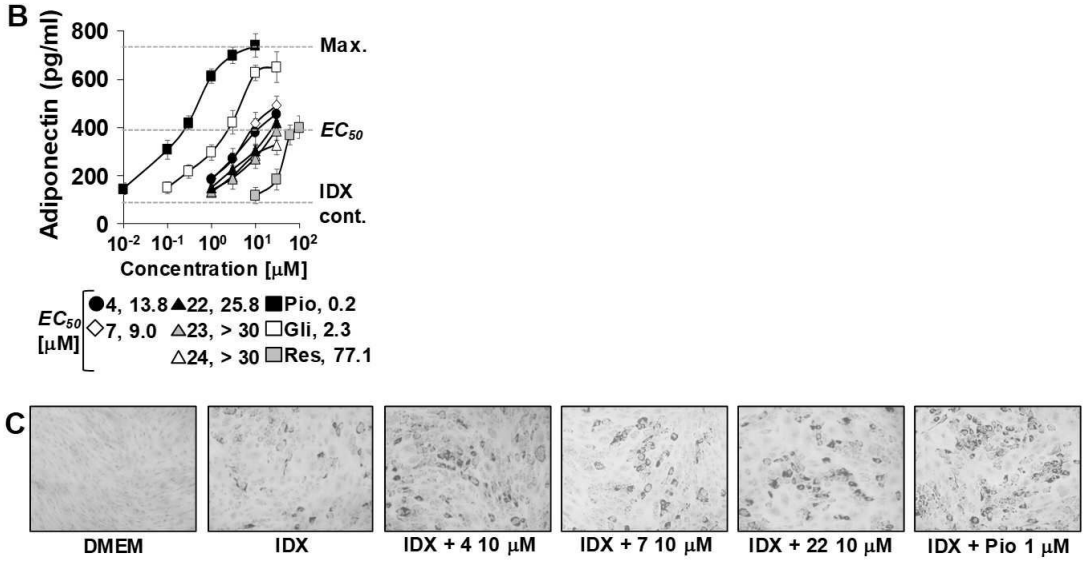
(54) 발명의 명칭 **상산나무 잎 추출물로부터 분리된 신규 화합물 및 이로부터 분리된 화합물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 및 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 상산나무 잎 추출물 또는 이로부터 분리된 화합물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 및 치료용 조성물에 대한 것이다. 본 발명의 상산나무 잎 추출물 및 화합물들을 대상으로 (1) 아디포넥틴 분비 효능 및 지방분화 효능 평가 실험(실험예 1); 핵수용체 타겟 검증 평가실험 (실험예 2); PPAR γ에 대한 공동활성화

(뒷면에 계속)

대 표 도 - 도1



효과 평가실험(실험예 3); PPARg에 대한 결합 모드 분석 실험 (실험예 4); 중간엽 줄기세포를 활용한 대사염증 억제능 확인실험(실험예 5) 등의 실험을 통하여 아디포넥틴 분비 효능 및 지방분화 효능을 증강시킬뿐 아니라, 아디포넥틴 분비 강화 활성 및 항염 활성을 가지며, 이에 대한 약리 기전으로써 PPARg 완전효능작용 및 부분효능작용을 갖는 것을 규명한 바, 이러한 상기 실험 결과는 본 발명의 시료들이 비만, 대사 관련 염증성 질환, 당뇨, 비알코올성 지방간염, 고혈압, 고지혈증, 심혈관 질환 및 죽상동맥경화증 질환 등의 대사 관련 질환 치료제 또는 보조제로 사용 가능함을 확인함으로서, 상기 조성물을 PPARg 완전 효능 및 부분 효능제, 아디포넥틴 분비 촉진제, 대사 관련 염증 조절제, 저아디포넥틴혈증 관련 질환의 치료 및 대사 관련 질환 의 예방 및 치료용 약학 조성물, 건강기능식품 및 건강보조식품 등으로 유용하게 이용될 수 있다.

(52) CPC특허분류
A61K 31/215 (2013.01)
A61K 31/352 (2023.05)
A61K 31/47 (2013.01)
A61K 31/4704 (2013.01)
A61K 31/4741 (2013.01)
A61K 36/75 (2013.01)
C07D 215/22 (2013.01)
C07D 311/18 (2022.08)
C07D 497/04 (2013.01)

(72) 발명자
안성진
서울특별시 중랑구 상봉로12길 31 삼성쉐르빌 103동 301호
니억피셋
서울특별시 관악구 대학길 21, 201호

(56) 선행기술조사문헌
Phytochemistry, (1994) Vol. 36(2), pp.525-8
Journal of Natural Products, (2004) Vol. 67, pp. 1800-1803
Journal of Natural Products, (2012) Vol. 75, pp. 1332-1338*
CN104860953 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711159174
과제번호 NRF-2022R1A2C101008411
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 이공분야기초연구사업/중견연구자지원사업
연구과제명 세포표면 저밀도 지질단백질 수용체 발현조절 천연물 발굴
기 여 율 60/100
과제수행기관명 서울대학교 산학협력단
연구기간 2022.03.01 ~ 2027.02.28
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711157411
과제번호 NRF-2018R1A5A2024425
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 선도연구센터지원사업(기초의과학분야MRC)
연구과제명 생체지질 인터액토믹스 연구센터
기 여 율 40/100
과제수행기관명 서울대학교 산학협력단
연구기간 2018.06.01 ~ 2025.02.28

명 세 서

청구범위

청구항 1

o상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 일반식 (I)로 표기되는 신규 퀴놀론 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물:



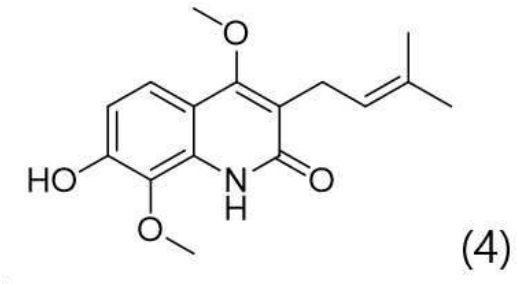
(I)

1 R_1 = H, R_2 = OMe

2 R_1 = OMe, R_2 = OMe

청구항 2

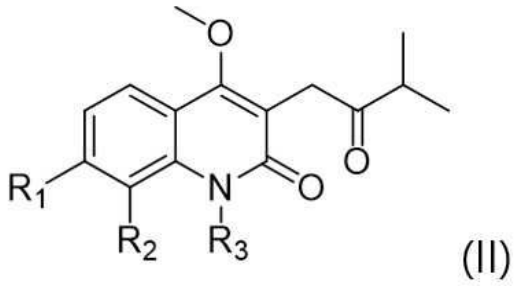
상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 구조식 (4)로 표기되는 신규 5-히드록시-4,8-디메톡시-3-(3'-메톡시-부트-2'-에닐)-2-퀴놀론 [7-hydroxy-4,8-dimethoxy-3-(3'-methyl-but-2'-enyl)-2-quinolone, compound 4] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물:



(4)

청구항 3

상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 일반식 (II)로 표기되는 신규 퀴놀론 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물:



(II)

10 R_1 = H, R_2 = OMe, R_3=H

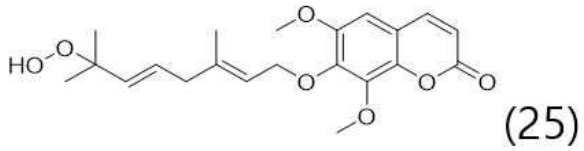
11 R_1 = OH, R_2 = OMe, R_3 = Me

청구항 4

삭제

청구항 5

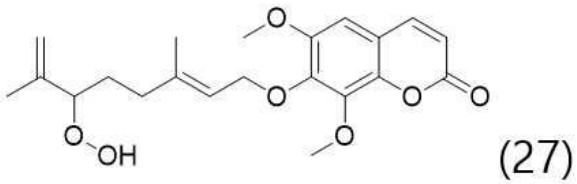
상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 구조식 (25)로 표기되는 신규 7-(7′ 페록시-3′ ′ 디메틸옥타-2′ ′ 디에닐옥시)-6,8-디메톡시쿠마린 [7-(7′ -peroxy-3′ ,7′ -dimethylocta-2′ ,5′ -dienyloxy)-6,8-dimethoxycoumarin, compound 25] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물:



(25)

청구항 6

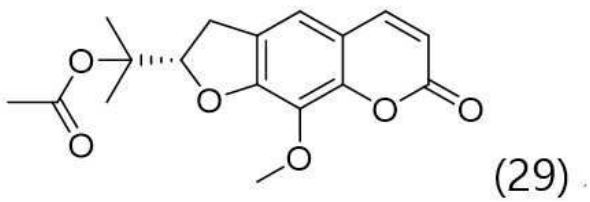
산나무 추출물로부터 분리된 하기 구조식 (27)로 표기되는 신규 6,8-디메톡시-7-(6'-페록시-3',7'-디메틸-2'E,7'-옥타디에닐옥시)쿠마린 [6,8-dimethoxy-7-(6'-peroxy-3',7'-dimethyl-2'E,7'-octadienyloxy)coumarin) compound 27] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물



(27)

청구항 7

상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 구조식 (29)로 표기되는 신규 2'R,3'-아세틸-3',3'-디메틸-8-메톡시-6,7-디히드로피라노[3,2-g]쿠마린 [2'R,3'-acetyl-3',3'-dimethyl-8-methoxy-6,7-dihydropyrano[3,2-g]coumarin) compound 29]] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물:



(29)

청구항 8

상산나무 잎 추출물로부터 분리된 5-히드록시-1-메틸-2-(4'-메톡시페닐)-4-퀴놀론 [5-hydroxy-1-methyl-2-(4'-methoxyphenyl)-4-quinolone, compound 1], 5-히드록시-6-메톡시-1-메틸-2-(4'-메톡시페닐)-4-퀴놀론 [5-hydroxy-6-methoxy-1-methyl-2-(4-methoxyphenyl)-4-quinolone, compound 2], 5-히드록시-1-메틸-2-페닐-4-퀴놀론 [5-hydroxy-1-methyl-2-phenyl-4-quinolone, compound 3] 퀴놀론 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 9

상산나무 잎 추출물로부터 분리된 5-히드록시-4,8-디메톡시-3-(3'-메톡시-부트-2'-에닐)-2-퀴놀론 [7-hydroxy-4,8-dimethoxy-3-(3'-methyl-but-2'-enyl)-2-quinolone, compound 4], N-메틸아타닌 [N-methylatanine, compound 5], 3-(3',3'-디메틸알릴)-4,8-디메톡시-N-메틸-퀴놀린-2-온 [3-(3',3'-dimethylallyl)-4,8-dimethoxy-N-methyl-quinolin-2-one, compound 6] , 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 10

상산나무 잎 추출물로부터 분리된 6-메톡시-7-(3-메틸부트-2-에닐)-1,3-디옥솔로<4,5-h>퀴놀린-8-온[6-methoxy-7-(3-methylbut-2-enyl)-1,3-dioxolo<4,5-h>quinolin-8-one, compound 7], 프텔레프레닌 [pteleprenine. compound 8] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 11

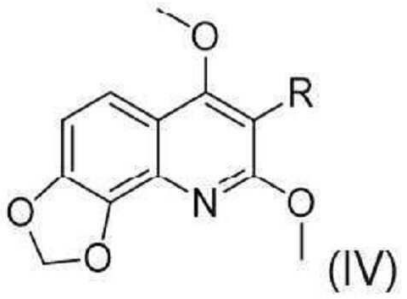
상산나무 잎 추출물로부터 분리된 N-메틸플린데르신 [N-methylflindersine, compound 9] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물.

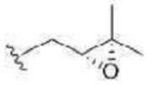
청구항 12

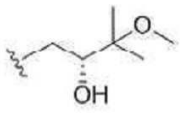
상산나무 잎 추출물로부터 분리된 4,8-디메톡시-3-(3'-메틸-2'-목소부틸)-2-퀴놀론 [4,8-dimethoxy-3-(3'-methyl-2'-oxobutyl)-2-quinolone, compound 10)], 7-히드록시-4,8-디메톡시-3-(3-메틸부트-2-에닐)-N-메틸-2-퀴놀론 [7-hydroxy-4,8-dimethoxy-3-(3-methylbut-2-enyl)-N-methyl-2-quinolone compound 11] 신규 퀴놀론 화합물, 오리자논 [orijanone compound 12], 오릭살론 B [orixalone B, compound 13] 퀴놀론 화합, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물.

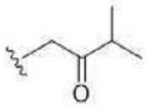
청구항 13

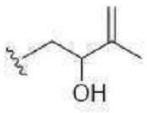
상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 일반식 (IV)로 표기되는 신규 또는 공지 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물:



14. R= 

15. R= 

16. R= 

17. R= 

청구항 14

상산나무 잎 추출물로부터 분리된 코쿠사진 [kokusagine, compound 20] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 15

상산나무 잎 추출물로부터 분리된 (-)-(S)-O-아세틸이소프텔레플로린 [(-)-(S)-O-acetylisopteleflorine compound 21] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 16

삭제

청구항 17

상산나무 잎 추출물로부터 분리된 신규 7-(7′ 페록시-3′ ′ 디메틸옥타-2′ ′ 디에닐옥시)-6,8-디메톡시쿠마린 [7-(7′ -peroxy-3′ ,7′ -dimethylocta-2′ ,5′ -dienyloxy)-6,8-dimethoxycoumarin, compound 25] 화합물, 또

는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 18

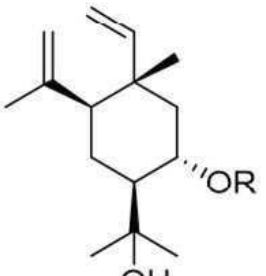
상산나무 잎 추출물로부터 분리된 신규 6,8-디메톡시-7-(6'-페록시-3',7'-디메틸-2'E,7'-옥타디에닐옥시)쿠마린 [6,8-dimethoxy-7-(6'-peroxy-3',7'-dimethyl-2'E,7'-octadienyloxy)coumarin) compound 27] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 19

상산나무 잎 추출물로부터 분리된 신규 2'R,3'-아세틸-3',3'-디메틸-8-메톡시-6,7-디히드로피라노[3,2-g]쿠마린 [2'R,3'-acetyl-3',3'-dimethyl-8-methoxy-6,7-dihydropyrano[3,2-g]coumarin) compound 29] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 20

상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 일반식 (VI)로 표기되는 신규 또는 공지 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물:



(VI)

36 R = H

37 R = 

청구항 21

상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 일반식 (I)로 표기되는 신규 또는 공지 퀴놀론 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품:



(I)

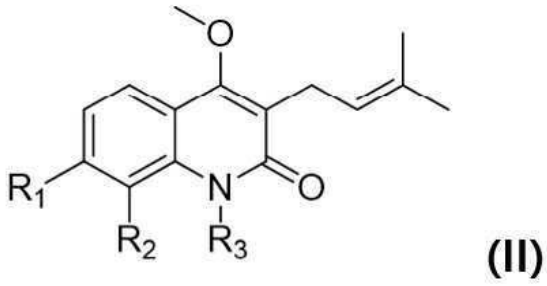
1 R_1 = H, R_2 = OMe

2 R_1 = OMe, R_2 = OMe

3 R_1 = H, R_2 = H

청구항 22

상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 일반식 (II)로 표기되는 신규 또는 공지 퀴놀론 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품:



(II)

4(T) R_1 = OH, R_2 = OMe, R_3=H

5 R_1 = H, R_2 = H, R_3 = Me

6 R_1 = H, R_2 = OMe, R_3 = Me

청구항 23

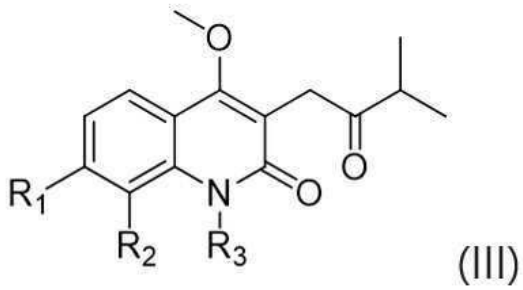
상산나무 잎 추출물로부터 분리된 6-메톡시-7-(3-메틸부트-2-에닐)-1,3-디옥솔로<4,5-h>퀴놀린-8-온[6-methoxy-7-(3-methylbut-2-enyl)-1,3-dioxolo<4,5-h>quinolin-8-one, compound 7], 프텔레프레닌 [pteleprenine. compound 8] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 24

상산나무 잎 추출물로부터 분리된 N-메틸플린데르신 [N-methylflindersine, compound 9] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 25

상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 일반식 (III)로 표기되는 신규 또는 공지 퀴놀론 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품:



(III)

10 R_1 = H, R_2 = OMe, R_3=H

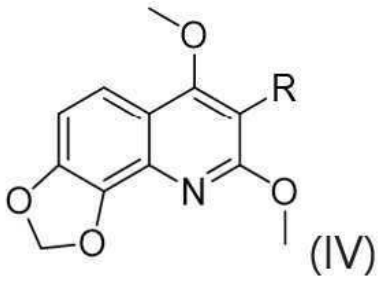
11 R_1 = OH, R_2 = OMe, R_3 = Me

12 R_1 = H, R_2 = H, R_3 = Me

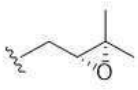
13 R_1 = H, R_2 = OMe, R_3 = Me

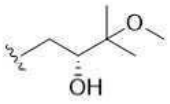
청구항 26

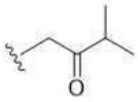
상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 일반식 (IV)로 표기되는 신규 또는 공지 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품:

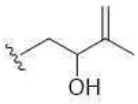


(IV)

14. R= 

15. R= 

16. R= 

17. R= 

청구항 27

상산나무 잎 추출물로부터 분리된 코쿠사진 [kokusagine, compound 20] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 28

상산나무 잎 추출물로부터 분리된 (-)-(S)-O-아세틸이소프텔레플로린 [(-)-(S)-O-acetylisopteleflorine compound 21] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 29

삭제

청구항 30

상산나무 잎 추출물로부터 분리된 신규 7-(7′ 페록시-3′ ′ 디메틸옥타-2′ ′ 디에닐옥시)-6,8-디메톡시쿠마린 [7-(7′ -peroxy-3′ ,7′ -dimethylocta-2′ ,5′ -dienyloxy)-6,8-dimethoxycoumarin, compound 25] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 31

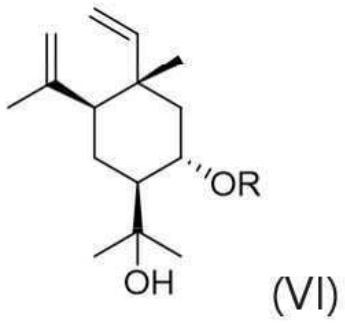
상산나무 잎 추출물로부터 분리된 신규 6,8-디메톡시-7-(6'-페록시-3',7'-디메틸-2'E,7'-옥타디에닐옥시)쿠마린 [6,8-dimethoxy-7-(6'-peroxy-3',7'-dimethyl-2'E,7'-octadienyloxy)coumarin) compound 27] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 32

상산나무 잎 추출물로부터 분리된 신규 2'R,3'-아세틸-3',3'-디메틸-8-메톡시-6,7-디히드로피라노[3,2-g]쿠마린 [2'R,3'-acetyl-3',3'-dimethyl-8-methoxy-6,7-dihydropyrano[3,2-g]coumarin) compound 29] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품,

청구항 33

상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 일반식 (VI)로 표기되는 신규 또는 공지 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 비만, 고지혈증, 심혈관 질환 또는 죽상동맥경화증으로부터 선택되는 대사 관련 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품:



(VI)

36 R = H

37 R = 

청구항 34

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 상산나무 잎 추출물로부터 분리된 신규 화합물 및 이로부터 분리된 화합물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] [문헌 1] Targher, G. et al., *Nat. Rev. Endocrinol.* 2018, 14, 99-114;

[0003] [문헌 2] Gross, B. et al., *Nat. Rev. Endocrinol.* 2017, 13, 36-49;

[0004] [문헌 3] Gu, M.; Zhang, Y. et al., *Br. J. Pharmacol.* 2017, 174, 3032-3044;

[0005] [문헌 4] van der Poorten, D. et al., *Hepatology* 2013, 57, 2180-2188

[0006] [문헌 5] (Heidari, Z. et al., *Nat. Commun.* 2019, 10, 1-14;

[0007] [문헌 6] Lin, J. et al., *Cell Metab.* 2005, 1, 361-370;

[0008] [문헌 7] Kim, M. S. et al., *Metabolism* 2007, 56, 267-279

[0009] [문헌 8] 정보섭 등, 도해향약 대사전, 영림사, 2판, 1998년, p789;

[0010] [문헌 9] Noshita, T. et al., *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2001, 65, 710-713;

[0011] [문헌 10] Ito, C. et al., *J. Nat. Prod.* 2004, 67, 1800-1803;

[0012] [문헌 11] Ono, H. et al., *J. Chem. Ecol.* 2004, 30, 287-301;

[0013] [문헌 12] Kim, S. S. et al., *J. Gen. Appl. Microbiol.* 2008, 54, 101-106;

[0014] [문헌 13] Kang, C. H. et al., *Trop. J. Pharm. Res.* 2011, 10;

[0015] [문헌 14] Sharma, N. et al., *J. Ethnopharmacol.* 2005, 97, 453-456

[0016] [문헌 15] J. Ethnopharmacol. 2005, 97, 453-456

[0017] [문헌 16] *Trop J Pharm Res, April 2011;10 (2):* 161

[0018] [문헌 17] 한국공개특허 10-2009-0105320 호

[0019] [문헌 18] 한국공개특허 10-2014-0029918호

[0020] [문헌 19] 한국공개특허 10-2016-0081358 호

[0021] [문헌 20] 한국공개특허 10-2009-0102136 호

[0022] [문헌 21] 한국공개특허 10-2013-0099755호

[0023] [문헌 22] 한국공개특허 10-2013-0078326호

[0024] [문헌 23] 한국공개특허 10-2010-0023690호

[0025] [문헌 24] 한국공개특허 10-2018-0013384호

[0026] [문헌 25] 한국공개특허 10-2015-0080069호

[0027] [문헌 26] 한국공개특허 10-2019-0074649호

[0028] [문헌 27] 한국공개특허 10-2008-0054564호

[0029] [문헌 28] 대만특허공개 제TW201524504 A호

[0030] [문헌 29] 미국특허공개 제 US2003212100 A1호

[0031] [문헌 30] J Nat Med (2016) 70:276-281)

[0032] [문헌 31] Biochemical and Biophysical Research Communications 366 (2008) 219-225)

[0033] [문헌 32] Biochemical and Biophysical Research Communications 496 (2018) 763e769)

[0034] [문헌 33] BioMed Research International Volume 2014, Article ID 480545, 1-13 pages)

[0035] [문헌 34] *Journal of Ethnopharmacology 238 (2019) 111827)*

[0036] [문헌 35] Huxiao Li1,4,6, Jianrong Scientific Reports | (2021) 11:8754)

[0037] [문헌 36] Inflamm. Res. (2013) 62:367-376

[0038] [문헌 37] Bangladesh J Pharmacol 2009; 4: 65-68)

[0039] [문헌 38] Heliyon 4 (2018) e00577.

[0040] [문헌 33] Molecules 2019, 24, 4088

[0041] [문헌 34] *Chem. Biodiversity* 2019, *16*, e1800424

[0042] [문헌 35] Chem. Biodiversity 2017, 14, e1700184

[0043] [문헌 36] *International Immunopharmacology 49 (2017) 21-29*)

[0044] [문헌 37] *J. Nat. Prod.* 2004, *67,* 1800-1803

[0045] [문헌 38] Ito, A. et al., J. Agric. Food Chem. 1998, 46, 3509-3516

[0046] [문헌 39] Moulis, C. et al., Phyrochrmistry 1983, 22, 2095-2096.

[0047] [문헌 40] Neville, Charles F., et al. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1 2 (1991): 259-262.

[0048] [문헌 41] Noshita,T et al., Biosci. Biotechnol. Biochem. 2001, 65, 710-713

[0049] [문헌 42] Funayama, S.; Murata, K.; Nozoe, S. Phytochemistry 1994, 36, 525-528.

[0050] [문헌 43] Ito, C el al., J. Nat. Prod. 2004, 67, 1800-1803

[0051] [문헌 44] FUNAYAMA, Shinji, Kiyoshi MURATA, and Shigeo NozoE. "Absolute stereochemistry of (-)-preorixine and related compounds." Chemical and pharmaceutical bulletin 44.10 (1996): 1885-1889

[0052] [문헌 45] Noshita,T et al., Biosci. Biotechnol. Biochem. 2001, 65, 710-713

[0053] [문헌 46] Funayama, Shinji, Kiyoshi Murata, and Shigeo Nozoe. "Quinoline alkaloids from Orixa japonica." Phytochemistry 36.2 (1994): 525-528

[0054] [문헌 47] Pusset, Jacques, et al. "Isolation and 2D NMR studies of alkaloids from Comptonella sessilifoliola1." Planta medica 57.02 (1991): 153-155

[0055] [문헌 48] Benzies, David WM, et al. "Flash vacuum pyrolysis of 5-(indol-2-and-3-ylmethylene)-2, 2-dimethyl-1, 3-dioxane-4, 6-diones." Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1 (1986): 1651-1654

[0056] [문헌 49] Barr, Stephen A et al., Heterocycles 79.1 (2009): 831-850.

[0057] [문헌 50] Zhao, Y.-L et al., J. Agric. Food Chem. 2019, 67, 88108818

[0058] [문헌 51] Cho, J.-Y. et al., J. Food Chem. 2012, 135, 17-23

[0059] [문헌 52] Masuda, T. et al., Phytochemisrry 1992, 31, 1363-1366

[0060] [문헌 53] Yaseen, A. et al., Nat. Prod. Res. 2021, 35, 5364-5368

[0061] [문헌 54] Liua, K. et al., J. Chromatogr A. 2004, 1055, 71-76

[0062] [문헌 55] Monsefesfahani, H. et al., Pharm. Sci. 2020, 26, 441-447

[0063] [문헌 56] Li, D.; Jiang et al., Phytochemistry 2016, 122, 294-300

[0064] [문헌 57] San Feliciano, A. et al., Phytochemistry 1988, 27, 2241-2248

[0065] [문헌 58] Herz, W.; Watanabe, K. Phytochemitry 1983, 22, 1457-1459.

[0066] [문헌 59] Ahn, S., et al. (2019). Adiponectin-secretion-promoting phenylethylchromones from the agarwood of *Aquilaria malaccensis*. Journal of natural products, 82(2), 259-264

[0067] [문헌 60] Shin, J. H. et al.,. (2009). Interleukin-17A inhibits adipocyte differentiation in human mesenchymal stem cells and regulates pro-inflammatory responses in adipocytes. Biochemical pharmacology, 77(12), 1835-1844

발명의 내용

해결하려는 과제

[0068] 아디포넥틴은 생체 내 지방조직에서 생성되는 아디포카인이며, 대사 항상성 유지 조절에 관여하는 것으로 알려져 있기 때문에 대사질환의 바이오마커로 활용된다. 저아디포넥틴혈증은 생체 내 아디포넥틴 혈중 농도가 감소한 질환으로 이는 비만, 2형 당뇨, 이상지질혈증, 비알콜성 지방간염, 죽상동맥경화증 등의 다양한 대사질환에 주로 나타나는 증상 중 하나이다. 따라서 생체 내 아디포넥틴 분비를 증강시켜줄 수 있는 화합물은 저아디포넥틴혈증과 관련된 대사질환의 치료에 적용가능성이 높음이 제시되었다 (Targher, G. et al., *Nat. Rev. Endocrinol.* 2018, 14, 99-114; Stols-Goncalves, D. et al., *Trends Endocrinol. Metab.* 2019, 30, 891-902.).

[0069] 생체 내 아디포넥틴 분비를 조절하는 주요 타겟으로써 핵수용체가 관여함이 알려져 있으며, 대표적인 예로 퍼옥시좀 증식체 활성화 수용체 (peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR), 간 X 수용체(liver X receptor, LXR), 파네소이드 X 수용체 (farnesoid X receptor, FXR) 등이 알려져 있다. 이들 중 PPAR은 간, 지방, 근육 등에 존재하여 당대사, 지질대사, 에너지 대사 조절에 중추적인 역할을 수행하고 있으며, 대사와 관련된 염증 조절능이 있는 것으로 알려져 있다 (Gross, B. et al., *Nat. Rev. Endocrinol.* 2017, 13, 36-49; Gu, M.; Zhang, Y. et al., *Br. J. Pharmacol.* 2017, 174, 3032-3044; van der Poorten, D. et al., *Hepatology* 2013, 57, 2180-2188.). 세포 내에서 핵수용체의 리간드 결합 부위에 리간드가 결합하면 다양한 공활성자 또는 공억제자 단백질과 상호작용함으로써 단백질의 형태학적 변화가 나타나 생리 활성을 나타낸다. 이때 핵수용체에 결합하는 공활성자로써 작용하는 대표적인 보조 단백질로 PGC1a, SRC, RAP250, DRIP 등이 있으며, 공억제자로 작용하는 보조 단백질로 RIP140, SMRT, NCoR 등이 있다 (Heidari, Z. et al., *Nat. Commun.* 2019, 10, 1-14; Lin, J. et al., *Cell Metab.* 2005, 1, 361-370; Kim, M. S. et al., *Metabolism* 2007, 56, 267-279.).

[0070] 본 발명에 사용된 상산나무 (*Orixa Japonica* Thunb)는 운향과 (Rutaceae)에 속하는 관목으로, 뿌리에는 오릭신(orixine), 코쿠사진(kokusagine), 스킨미아닌(skinmianine), 등의 알칼로이드(alkaloid); 잎에는 베르갑텐(bergapten), 프리델린(friedelin), 쿠마린(coumarine), 임페라토린 (imperatorin)등의 성분이 알려져 있으며, 한국, 일본, 중국 등 동아시아 지역에서 자생한다. 상산나무는 전통적으로 줄기와 잎은 살충제로, 뿌리는 해열제 및 진통제로 사용되었으며, 그 외에도 박테리아 유도성 여드름 치료 및 항염증, 항리파아제 활성 등이 보고되었다 (정보섭 등, 도해향약 대사전, 영림사, 2판, 1998년, p789; Noshita, T. et al., *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2001, 65, 710-713; Ito, C. et al., *J. Nat. Prod.* 2004, 67, 1800-1803; Ono, H. et al., *J. Chem. Ecol.* 2004, 30, 287-301; Kim, S. S. et al., *J. Gen. Appl. Microbiol.* 2008, 54, 101-106; Kang, C. H. et al., *Trop. J. Pharm. Res.* 2011, 10; Sharma, N. et al., *J. Ethnopharmacol.* 2005, 97, 453-456.).

[0071] 상산나무 추출물의 효능에 관한 선행연구 또는 선행발명중, 특히, 선행문헌 1 (J. Ethnopharmacol. 2005, 97, 453-456)에는 건조된 상산나무(*Orixa japonica* Thunb.) 전초를 80% 메탄올 용매로 추출하고 감압농축한 상산나무 조추출물(crude extract)의 항 라파제 활성(anti-lipase activity); 선행문헌 2(*Trop J Pharm Res, April 2011;10 (2):* 161)에는 건조된 상산나무(*Orixa japonica* Thunb.) 전초를 증류수로 100℃에서 2시간 열수추출하고 감압농축한 상산나무 조추출물(crude extract; AEOJ)의 항염증활성; 선행문헌 3(Kim, S. S. et al., *J. Gen. Appl. Microbiol.* 2008, 54, 101-106)에는 건조된 제주산 상산나무 전초(*Orixa japonica* Thunb.)를 70% 에탄올 용매로 추출하고 감압농축한 상산나무 조추출물(crude extract)의 항균 및 항염증활성이 알려져 있다.

[0072] 또한 한국공개특허 10-2009-0105320 호에는 석류풀, 개구릿대, 개면마, 또는 상산의 70% 에탄올 추출물을 함유하는 여드름 및 염증 예방 또는 치료용 조성물 발명; 한국공개특허 10-2014-0029918호에는 상산나무 정유 추출물을 이용한 기능성 천연 향료 조성물 발명; 한국공개특허 10-2016-0081358 호에는 벌깨덩굴 추출물, 속새 추출물, 개회나무 추출물 및 상산 추출물로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상의 추출물을 유효성분으로 포함하는, 주름 개선용 조성물 발명; 한국공개특허 10-2009-0102136 호에는 상산나무(Orixa japonica) 식물로부터 추출된 추출물을 유효성분으로 포함하는 살선충용 조성물 발명 등이 알려져 있다.

[0073] 또한 상산나무 추출물로부터 분리가능한 화합물의 효능과 관련해서는, 한국공개특허 10-2013-0099755호에는 10-히드록시캄토테신(10-Hydroxycamptothecin)을 유효성분으로 함유하는 비만 또는 지질 관련 대사성 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물과 건강기능식품 발명; 한국공개특허 10-2013-0078326호에는 어랩틴(Auraptene)을 유효성분으로 함유하는 신생혈관 촉진용 약학조성물 발명; 한국공개특허 10-2010-0023690호에는 항염증 활성을 갖는 탱자 추출물, 항염증 활성의 잠재성을 갖는 7-제라닐옥시쿠마린을 포함한 쿠마린 유도체들 및 이들을 포함하는 항염증용 약물 발명; 한국공개특허 10-2018-0013384호는 쿠마린계 또는 나프토퀴논계 화합물, 이의 입체이성질체, 유도체, 또는 약학적으로 허용가능한 염은 항-비만 효과 발명; 한국공개특허 10-2015-0080069호는 쿠마린계

물질을 포함하는 비만 또는 당뇨병의 예방 또는 치료용 조성물 발명; 한국공개특허 10-2019-0074649호는 2-옥소-2H-크로멘-4-일 4-메틸벤젠설포네이트(2-oxo-2H-chromen-4-yl 4-methylbenzenesulfonate)를 포함하는 알레르기성 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물 발명; 한국공개특허 10-2008-0054564호는 신규 쿠마린 유도체 및 이를 함유하는 항염증, 항알러지용 조성물 발명; 대만특허공개 제TW201524504 A 호는 여드름, 전립선 비대증, 전립선암 등의 치료에 효과적인 잔토톡신(xanthotoxin), 베르갑텐(bergapten), 이소핌피넬린(isopimpinellin) 화합물이 개시되고; 미국특허공개 제 US2003212100 A1 호에는 PPARalpha억제활성을 갖는 산규 퀴놀린 유도체 화합물이 개시되어 있다.

[0074] 또한, 선행문헌 1 (J Nat Med (2016) 70:276-281)에는 산초(Zanthoxylum schinifolium) 분리 아무렙텐(aurapten) 등의 9개 테르펜계 쿠마린(terpenylated coumarins) 화합물들의 항염 활성, 항 비만 및 항 당뇨효능(abstract, p277-179,result);

[0075] 선행문헌 2 (Biochemical and Biophysical Research Communications 366 (2008) 219-225)에는 시트러스 아우렙텐(Citrus auraptene)의 PPARs 효현제 및 아디포넥틴 (adiponectin) 생성 억제제로서 작용한다는 내용(abstract, result);

[0076] 선행문헌 3 (Biochemical and Biophysical Research Communications 496 (2018) 763e769)에는 무화과(Ficus hirta) 뿌리로부터 분리된 베르갑텐(bergapten)의 항염활성 내용 (abstract, p764-767);

[0077] 선행문헌 4 (BioMed Research International Volume 2014, Article ID 480545, 1-13 pages)에는 선형 푸라노쿠마린(linear furanocoumarins), 소랄렌(psoralen), 5-메톡시소랄렌(methoxypsoralen), 8메톡시소랄렌(methoxypsoralen), 임페라토린(imperatorin) 화합물들의 혈당강하 (hypoglycemic), 혈중지질저하활성(hypolipidemic) 및 항산화효과(antioxidant effect) 내용(abstract, p2-9);

[0078] 선행문헌 5 (*Journal of Ethnopharmacology 238 (2019) 111827)*에는 산유감 (*Acronychia pedunculata*)으로부터 분리된 조추출물, 알칼로이드 분획물 및 에보리트린의 항염 및 피임활성 내용;

[0079] 선행문헌 6 (Huxiao Li1,4,6, Jianrong Scientific Reports | (2021) 11:8754)에는 보골지(*Psoralea corylifolia*)으로부터 분리된 소랄렌(psoralen)의 항염활성 내용:

[0080] 선행문헌 7 (Inflamm. Res. (2013) 62:367-376)에는 운향(Ruta graveolens L)으로부터 분리되는 퀴놀린 알칼로이드인 스킴미아닌 (skimmianine)의 항염 활성 내용;

[0081] 선행문헌 8 (Bangladesh J Pharmacol 2009; 4: 65-68)에는 뱅갈목큘 (*Aegle marmelos*) 뿌리 메탄올 추출물로부터 분리된 6-메틸(methyl)-4-크로마논(chromanone) 및 스킴미아닌(skimmianine)의 항당뇨활성 내용(p66-67);

[0082] 선행문헌 9 (Heliyon 4 (2018) e00577.)에는 구릿대 (Angelica dahurica) 로부터 분리된 베르갑텐(bergapten), 임페라토린(imperatorin), 펠로프테린(phellopterin) 화합물들의 지방세포 분화 활성 내용;

[0083] 선행문헌 10 (Molecules 2019, 24, 4088)에는 유자(Citrus junos Tanaka)로부터 분리된 이소가스페롤(isogosferol, ISO)의 산화질소 생성억제활성 및 항염 활성 내용;

[0084] 선행문헌 11 (*Chem. Biodiversity* 2019, *16*, e1800424)에는 어수리(*Heracleum dissectum*)로부터 분리된 핌피넬린(pimpinellin), 임페라토린(imperatorin), 이소가스페롤(isogosferol)이 지질억제 및 지방세포 억제 활성 내용;

[0085] 선행문헌 12 (Chem. Biodiversity 2017, 14, e1700184)에는 어수리(Heracleum dissectum)로부터 분리된 베르감텐(bergapten), 크산톡솔(xanthotoxol), 이소핌피넬린(isopimpinellin), 이소베르감텐(isobergapten), 압테린(apterin) 등 화합물들의 항염 활성 내용;

[0086] 선행문헌 13 (*International Immunopharmacology 49 (2017) 21-29*)에는 크산톡신(xanthotoxin)의 항염 활성 내용;

[0087] 선행문헌 14 (*J. Nat. Prod.* 2004, *67,* 1800-1803)에는 상산나무(Orixa japonica) 줄기로부터 분리된 오릭살론(orixalone) A (1), B (2), C (3), 및 D (4), 의 항염 활성이 개시된 바 있다.

[0089] 그러나, 상기 문헌의 어디에도 상산나무 잎 추출물 및 이로부터 분리된 신규 또는 공지 화합물들을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 치료 효과에 대하여 개시되거나 교시된 바가 없다.

[0090] 이에 본 발명자들은 대사 관련 질환에 효과적인 예방 및 치료제를 개발하기 위한 연구의 일환으로, 상산나무 잎

추출물 및 이로부터 분리된 신규 또는 공지 화합물들을 대상으로 (1) 아디포넥틴 분비 효능 및 지방분화 효능 평가 실험(실험예 1); 핵수용체 타겟 검증 평가실험 (실험예 2); PPAR γ에 대한 공동활성화 효과 평가실험(실험예 3); PPARg에 대한 결합 모드 분석 실험 (실험예 4); 중간엽 줄기세포를 활용한 대사염증 억제능 확인실험(실험예 5) 등의 실험을 통하여 아디포넥틴 분비 효능 및 지방분화 효능을 증강시킬뿐 아니라, 아디포넥틴 분비 강화 활성 및 항염 활성을 가지며, 이에 대한 약리 기전으로써 PPARg 완전효능작용 및 부분효능작용을 갖는 것을 규명한 바, 이러한 상기 실험 결과는 본 발명의 시료들이 비만, 대사 관련 염증성 질환, 당뇨, 비알코올성 지방간염, 고혈압, 고지혈증, 심혈관 질환 및 죽상동맥경화증 질환 등의 대사 관련 질환 치료제 또는 보조제로 사용 가능함을 확인함으로서, 상기 조성물을 PPARg 완전 효능 및 부분 효능제, 아디포넥틴 분비 촉진제, 대사 관련 염증 조절제, 저아디포넥틴혈증 관련 질환의 치료 및 대사 관련 질환의 예방 및 치료용 약학조성물, 건강기능식품 및 건강보조식품 등으로 유용함을 확인하고 대사 관련 질환 치료제 또는 보조제로 사용 가능함을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0091] 본 발명의 과제는 상산나무(*Orixa Japonica* Thunb) 잎 추출물 또는 이로부터 분리된 신규 또는 공지 화합물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0092] 또한 본 발명은 상산나무(*Orixa Japonica* Thunb) 잎 추출물 또는 이로부터 분리된 신규 또는 공지 화합물을 유효성분으로 함유하는 PPAR γ 조절제, PPAR γ 완전 또는 부분 효능제를 제공한다.

[0093] 또한 본 발명은 상산나무(*Orixa Japonica* Thunb) 잎 추출물로부터 분리된 신규 화합물을 제공한다.

[0094] 또한 본 발명은 상산나무(*Orixa Japonica* Thunb) 잎 추출물로부터 분리된 신규 또는 공지 화합물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0095] 또한 본 발명은 상산나무(*Orixa Japonica* Thunb) 잎 추출물로부터 분리된 신규 또는 공지 화합물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0096] 또한 본 발명은 상산나무(*Orixa Japonica* Thunb) 잎 추출물로부터 분리된 신규 또는 공지 화합물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 개선용 건강보조식품을 제공한다.

[0097] 본원에서 정의되는 상산나무 잎 추출물은 상산나무 조추출물, 상산나무 조추출물로부터 정제된 극성용매 가용 추출물 또는 비극성용매 가용 추출물을 포함함을 특징으로 한다.

[0098] 본원에서 정의되는 조추출물은 정제수를 포함한 물, 주정, 메탄올, 에탄올, 부탄올 등의 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 이들의 혼합용매로부터 선택된 용매, 바람직하게는 물 또는 주정, 물 및 에탄올 혼합용매, 보다 바람직하게는 주정 또는 에탄올에 가용한 추출물임을 특징으로 한다.

[0099] 본원에서 정의되는 비극성용매 가용 추출 분획물은 본원의 조추출물로부터 헥산, 메틸렌 클로라이드, 클로로포름, 또는 에틸아세테이트 용매에 가용한 추출물만을 정제한 비극성 용매에 가용한 추출 분획물들을 포함한다.

[0100] 본원에서 정의되는 극성용매 가용 추출물은 상기 조추출물로부터 비극성용매 가용분획물들을 제거하고 남은 물, 메탄올, 부탄올 또는 이들의 혼합용매로부터 선택되어진 용매에 가용한 추출 분획물을 포함한다.

[0101] 본원에서 정의되는 상산나무 잎 추출물 및 화합물의 HPLC(High performance liquid chromatography)분석에는 메탄올(Methanol) 또는 아세트나이트릴(Acetenitrile) 등의 비극성 용매와 산성 수용매를 혼합하는 조건에서 분석한다.

[0102] 본원에서 정의되는 “대사 관련 질환”은 바람직하게는, 비만, 대사 관련 염증성 질환, 당뇨, 비알코올성 지방간염, 고혈압, 고지혈증, 심혈관 질환 및 죽상동맥경화증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 질환을 포함한다.

[0103] 본원에서 정의되는 상기 “대사 관련 염증성 질환”은 만성 염증, 비만성 염증, 당뇨성 염증 및 혈관성 염증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.

[0104] 이하, 본 발명을 더욱 상세히 설명한다.

[0105] 본 발명의 추출물들은 하기와 같은 제조방법으로 수득될 수 있다.

[0106] 예를 들어, 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0107] 본 발명의 상산나무 잎 추출물은 하기와 같이 제조될 수 있다. 건조된 상산나무(*Orixa Japonica* Thunb) 잎을 세

척 및 세절 후 정제수를 포함한 물, 주정, 메탄올, 에탄올, 부탄올 등의 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 이들의 혼합용매로부터 선택된 용매, 바람직하게는 물 또는 물 및 메탄올 혼합용매, 보다 바람직하게는 물 또는 30~100% 메탄올을 수회 섞은 다음에 10℃ 내지 150℃, 바람직하게는 20℃ 내지 50℃의 온도에서 30분 내지 48시간, 바람직하게는 6시간 내지 36시간 동안 초음파 추출법, 열수 추출법, 상온 추출법 또는 환류추출법, 바람직하게는 상온추출법을 약 1 내지 20회, 바람직하게는 2 내지 10회 반복 수행하여 얻은 추출액을 여과, 감압농축, 및 건조하여 본 발명의 조추출물을 얻을 수 있다.

[0108] 또한, 본 발명의 극성용매 또는 비극성용매 가용 추출물은 상기에서 얻은 조추출물 중량의 약 0.0005 내지 500배, 바람직하게는 0.05 내지 5배 부피 (v/w%)의 물을 가한 후 현탁하는 제 1단계; 1단계의 현탁된 물 현탁물 부피의 약 0.5 내지 5배, 바람직하게는 0.7 내지 3배 부피 (v/v)의 n-헥산을 가하여 분획하여 n-헥산 분획물 및 남은 잔사 현탁물을 수득하는 제 2단계; 제 2단계의 남은 잔사 현탁물 부피의 약 0.5 내지 5배, 바람직하게는 0.7 내지 3배 부피 (v/v)의 클로로포름을 가하여 분획하여 클로로포름 분획물 및 남은 잔사 현탁물을 수득하는 제 3단계; 제 2단계의 남은 잔사 현탁물 부피의 약 0.5 내지 5배, 바람직하게는 0.7 내지 3배 부피 (v/v)의 에틸아세테이트을 가하여 분획하여 에틸아세테이트 분획물 및 최종 잔사 물 현탁물을 수득하는 제 4단계를 포함하는 분획과정을 수행하여 본 발명의 n-헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 등의 비극성 용매에 가용한 비극성 용매 가용 추출 분획물; 및 부탄올, 물 등의 극성용매에 가용한 극성용매 가용 추출 분획물들을 각각 수득할 수 있다.

[0109] 본 발명은 상기 추출물 및 분획물을 제조하는 제조방법 및 상기 제조방법으로 제조한 상기 추출물 또는 분획물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 치료 및 예방용 약학조성물, 건강기능식품 , 건강보조식품, PPAR γ 조절제, PPAR γ 완전 또는 부분 효능제를 제공한다.

[0110] 본 발명의 신규 또는 공지 화합물은 하기와 같이 제조될 수 있다. 예를 들어, 상기에서 수득한 상산나무 조추출물을 헥산, 클로로포름 또는 에틸에테르 등의 비극성용매로 분획한다. 상기 비극성용매 가용분획물을 예를 들어, n-헥산 100%을 이동상으로 유출을 시작하여 아세톤(Acetone)으로 극성을 높이면서 유출시켜 극성을 증가시키는 방법을 이용하여 실리카겔 오픈 컬럼크로마토그래피, 플래쉬 컬럼크로마토그래피, RP C18 컬럼크로마토그래피 또는 Diaion HP-20 컬럼크로마토그래피 등의 세파덱스 컬럼 크로마토드래피법, HPLC (CH_3CN-H_2O, 50:50, isocratic mode), MPLC 등의 크로마토그래피를 이용한 정제방법을 선택적으로 수회 반복 수행하여 본 발명의 화합물 1-38들을 각각 정제 및 수득할 수 있다.

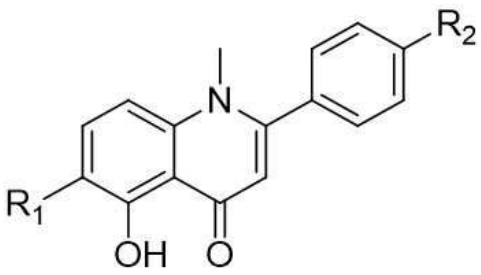
[0111] 본원에서 정의되는 상산나무 잎 추출물로부터 분리된 신규 화합물은 5-히드록시-1-메틸-2-(4'-메톡시페닐)-4-퀴놀론 [5-hydroxy-1-methyl-2-(4'-methoxyphenyl)-4-quinolone, compound 1), 5-히드록시-6-메톡시-1-메틸-2-(4'-메톡시페닐)-4-퀴놀론 [5-hydroxy-6-methoxy-1-methyl-2-(4-methoxyphenyl)-4-quinolone](compound 2), 5-히드록시-4,8-디메톡시-3-(3'-메톡시-부트-2'-에닐)-2-퀴놀론 [7-hydroxy-4,8-dimethoxy-3-(3'-methyl-but-2'-enyl)-2-quinolone, compound 4], 4,8-디메톡시-3-(3'-메틸-2'-목소부틸)-2-퀴놀론 [4,8-dimethoxy-3-(3'-methyl-2'-oxobutyl)-2-quinolone, compound 10)], 7-히드록시-4,8-디메톡시-3-(3-메틸부트-2-에닐)-N-메틸-2-퀴놀론 [7-hydroxy-4,8-dimethoxy-3-(3-methylbut-2-enyl)-N-methyl-2-quinolone compound 11], (2'E)-7-(3',7'-디메틸옥타-2',6'-디에닐옥시)-6-메톡시쿠마린 [(2'E)-7-(3',7'-dimethylocta-2',6'-dienyloxy)-6-methoxycoumarin compound 22], (2'E)-7-(3',7'-디메틸옥타-2',6'-디에닐옥시)-6,8-디메톡시쿠마린 [(6,8-dimethoxy-auraptene)[(2'E)-7-(3',7'-dimethylocta-2',6'-dienyloxy)-6,8-dimethoxycoumarin (6,8-dimethoxy-auraptene) compound 23], 7-(7′ 페록시-3′ ′ 디메틸옥타-2′ ′ 디에닐옥시)-6,8-디메톡시쿠마린 [7-(7′ y-3′ ′ hylocta-2′ ′ compound 25], 6,8-디메톡시-7-(6'-페록시-3',7'-디메틸-2'E,7'-옥타디에닐옥시)쿠마린 [6,8-dimethoxy-7-(6'-peroxy-3',7'-dimethyl-2'E,7'-octadienyloxy)coumarin) compound 27], 2'R,3'-아세틸-3',3'-디메틸-8-메톡시-6,7-디히드로피라노[3,2-g]쿠마린 [2'R,3'-acetyl-3',3'-dimethyl-8-methoxy-6,7-dihydropyrano[3,2-g]coumarin) compound 29]] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 포함한다.

[0112] 본원에서 정의되는 상산나무 잎 추출물로부터 분리된 공지 화합물은 N-메틸아타닌 [N-methylatanine, compound 5], 3-(3',3'-디메틸알릴)-4,8-디메톡시-N-메틸-퀴놀린-2-온 [3-(3',3'-dimethylallyl)-4,8-dimethoxy-N-methyl-quinolin-2-one compound 6], 6-메톡시-7-(3-메틸부트-2-에닐)-1,3-디옥솔로<4,5-h>퀴놀린-8-온 [6-methoxy-7-(3-methylbut-2-enyl)-1,3-dioxolo<4,5-h>quinolin-8-one, compound 7], 프텔레프레닌 [pteleprenine, compound 8], N-메틸플린데르신 [N-methylflindersine, compound 9], 오리자논 [orijanone, compound 12], (-)-프레오릭신 [(-)-preorixine, compound 14], 3'-O-메틸오릭신 [(3'-O-methylorixine,

compound 15), 오릭시논 [(orixinone, compound 16], 이소프텔레폴리딘 [isoptelefolidine, compound 17], 코쿠사진 [kokusagine, compound 20], (-)-(S)-O-아세틸이소프텔레플로린 [(-)-(S)-O-acetylisopteleflorine, compound 21], 7-((2'E,5'E)-7'-메톡시-3',7'-디메틸옥타-2',5'-디에닐옥시)쿠마린 [7-((2'E,5'E)-7'-methoxy-3',7'-dimethylocta-2',5'-dienyloxy)coumarin, compound 26], 7-(6'R-히드록시-3',7'-디메틸-2'E,7'-옥타디에닐옥시)쿠마린 [7-(6'R-hydroxy-3',7'-dimethyl-2'E,7'-octadienyloxy)coumarin, compound 28], 8α,11-엘레모디올 [8α,11-elemodiol, compound 36], 8α-아세톡시엘레몰[8α-acetoxyelemol, compound 37], 오폴로파논 [oplopanone, compound 38] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 포함한다.

[0113] 본 발명은 상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 일반식 (I)로 표기되는 신규 퀴놀론 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 제공한다:

화학식 1



(I)

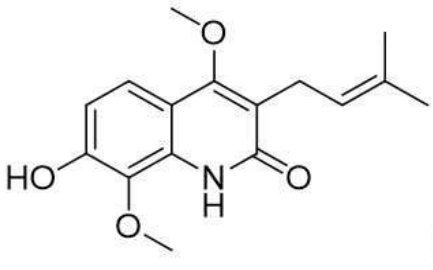
[0114] **1** R_1 = H, R_2 = OMe

2 R_1 = OMe, R_2 = OMe

[0115] 구체적으로는, 본 발명은 5-히드록시-1-메틸-2-(4'-메톡시페닐)-4-퀴놀론 [5-hydroxy-1-methyl-2-(4'-methoxyphenyl)-4-quinolone, compound 1], 5-히드록시-6-메톡시-1-메틸-2-(4'-메톡시페닐)-4-퀴놀론 [5-hydroxy-6-methoxy-1-methyl-2-(4-methoxyphenyl)-4-quinolone. compound 2] 신규 퀴놀론 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 제공한다

[0116] 또한 본 발명은 상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 구조식 (4)로 표기되는 신규 5-히드록시-4,8-디메톡시-3-(3'-메톡시-부트-2'-에닐)-2-퀴놀론 [7-hydroxy-4,8-dimethoxy-3-(3'-methyl-but-2'-enyl)-2-quinolone, compound 4] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 제공한다:

화학식 2

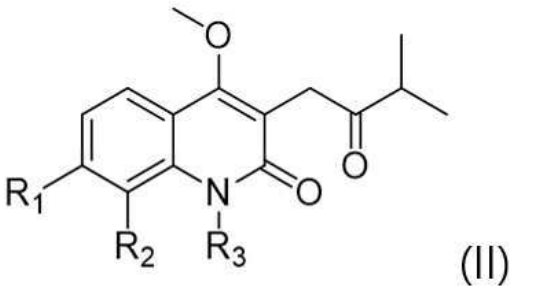


(4)

[0117]

[0118] 또한 본 발명은 상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 일반식 (II)로 표기되는 신규 퀴놀론 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 제공한다:

화학식 3



(II)

10 R_1 = H, R_2 = OMe, R_3=H

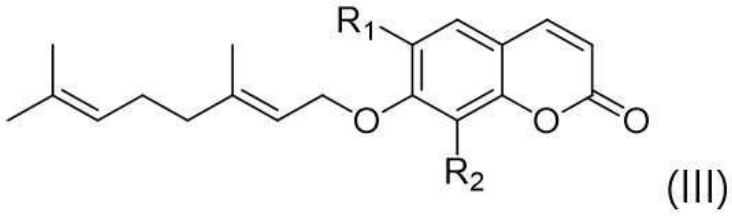
11 R_1 = OH, R_2 = OMe, R_3 = Me

[0119]

[0120] 구체적으로는, 본 발명은 4,8-디메톡시-3-(3'-메틸-2'-목소부틸)-2-퀴놀론 [4,8-dimethoxy-3-(3'-methyl-2'-oxobutyl)-2-quinolone, compound 10)], 7-히드록시-4,8-디메톡시-3-(3-메틸부트-2-에닐)-N-메틸-2-퀴놀론 [7-hydroxy-4,8-dimethoxy-3-(3-methylbut-2-enyl)-N-methyl-2-quinolone, compound 11] 신규 퀴놀론 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 제공한다

[0121] 또한 본 발명은 상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 일반식 (Ⅲ)로 표기되는 신규 퀴놀론 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 제공한다:

화학식 4



(III)

22(T) R_1 = OMe, R_2 = H

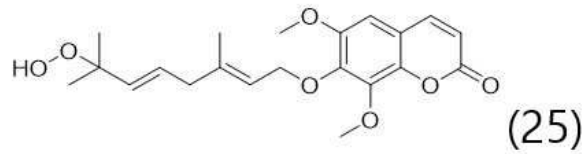
23 R_1 = OMe, R_2 = OMe

[0122]

[0123] 구체적으로는, 본 발명은 (2'E)-7-(3',7'-디메틸옥타-2',6'-디에닐옥시)-6-메톡시쿠마린 [(2'E)-7-(3',7'-dimethylocta-2',6'-dienyloxy)-6-methoxycoumarin compound 22], (2'E)-7-(3',7'-디메틸옥타-2',6'-디에닐옥시)-6,8-디메톡시쿠마린 [(6,8-dimethoxy-auraptene)[(2'E)-7-(3',7'-dimethylocta-2',6'-dienyloxy)-6,8-dimethoxycoumarin (6,8-dimethoxy-auraptene) compound 23] 신규 쿠마린 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 제공한다.

[0124] 또한 본 발명은 상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 구조식 (25)로 표기되는 신규 7-(7′ -페록시-3′ ,7′ -디메틸옥타-2′ ,5′ -디에닐옥시)-6,8-디메톡시쿠마린 [7-(7′ -peroxy-3′ ,7′ -dimethylocta-2′ ,5′ -dienyloxy)-6,8-dimethoxycoumarin, compound 25] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 제공한다:

화학식 5

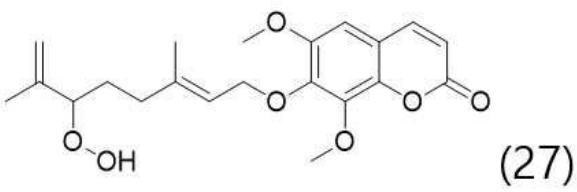


(25)

[0125]

[0126] 또한 본 발명은 상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 구조식 (27)로 표기되는 신규 6,8-디메톡시-7-(6'-페록시-3',7'-디메틸-2'E,7'-옥타디에닐옥시)쿠마린 [6,8-dimethoxy-7-(6'-peroxy-3',7'-dimethyl-2'E,7'-octadienyloxy)coumarin) compound 27] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 제공한다:

화학식 6

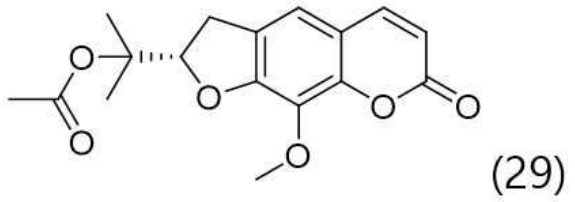


(27)

[0127]

[0128] 또한 본 발명은 상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 구조식 (29)로 표기되는 신규 2'R,3'-아세틸-3',3'-디메틸-8-메톡시-6,7-디히드로피라노[3,2-g]쿠마린 [2'R,3'-acetyl-3',3'-dimethyl-8-methoxy-6,7-dihydropyrano[3,2-g]coumarin) compound 29]] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 제공한다:

화학식 7



(29)

[0129]

[0130] 본 발명자들은 상기 제조방법으로 수득되는 상산나무 잎 추출물 및 이로부터 분리된 신규 또는 공지 화합물들을 대상으로 (1) 아디포넥틴 분비 효능 및 지방분화 효능 평가 실험(실험예 1); 핵수용체 타겟 검증 평가실험 (실험예 2); PPAR γ에 대한 공동활성화 효과 평가실험(실험예 3); PPARg에 대한 결합 모드 분석 실험 (실험예 4); 중간엽 줄기세포를 활용한 대사염증 억제능 확인실험(실험예 5) 등의 실험을 통하여 아디포넥틴 분비 효능 및 지방분화 효능을 증강시킬뿐 아니라, 아디포넥틴 분비 강화 활성 및 항염 활성을 가지며, 이에 대한 약리 기전으로써 PPARg 완전효능작용 및 부분효능작용을 갖는 것을 규명한 바, 이러한 상기 실험 결과는 본 발명의 시료들이 비만, 대사 관련 염증성 질환, 당뇨, 비알코올성 지방간염, 고혈압, 고지혈증, 심혈관 질환 및 죽상동맥경화증 질환 등의 대사 관련 질환 치료제 또는 보조제로 사용 가능함을 확인함으로서, 상기 조성물을 PPARg 완전효능 및 부분 효능제, 아디포넥틴 분비 촉진제, 대사 관련 염증 조절제, 저아디포넥틴혈증 관련 질환의 치료 및 대사 관련 질환 의 예방 및 치료용 약학조성물, 건강기능식품 및 건강보조식품 등으로 유용함을 확인하였다.

[0131] 상기 조성물을 대사 관련 질환의 예방 및 치료용 약학조성물 또는 건강기능식품으로 유용함을 확인하였다

[0132] 본 발명은 상기 추출물 및 분획물을 제조하는 제조방법 및 상기 제조방법으로 제조한 상기 추출물 또는 분획물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 치료 및 예방용 약학조성물, 건강기능식품 , 건강보조식품, PPAR γ 조절제, PPAR γ 완전 또는 부분 효능제를 제공한다.

[0133] 본 발명의 화합물은 당해 기술분야에서 통상적인 방법에 따라 약학적으로 허용 가능한 염 및 용매화물로 제조될 수 있다.

[0134] 약학적으로 허용 가능한 염으로는 유리산(free acid)에 의해 형성된 산부가염이 유용하다. 산부가염은 통상의 방법, 예를 들면 화합물을 과량의 산 수용액에 용해시키고, 이 염을 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴과 같은 수혼화성 유기 용매를 사용하여 침전시켜서 제조한다. 동일한 몰량의 화합물 및 물 중의 산 또는 알코올(예, 글리콜 모노메틸에테르)을 가열하고 이어서 상기 혼합물을 증발시켜서 건조시키거나, 또는 석출된 염을 흡인 여과시킬 수 있다.

[0135] 이 때, 유리산으로는 유기산과 무기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 인산, 황산, 질산, 주석산 등을 사용할 수 있고 유기산으로는 메탄술폰산, *p*-톨루엔술폰산, 아세트산, 트리플루오로아 세트산, 시트르산, 말레인산(maleic acid), 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산, 만데르산, 프로피온산(propionic acid), 구연산(citric acid), 젖산(lactic acid), 글리콜산(glycollic acid), 글루콘산(gluconic acid), 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산(glutaric acid), 글루쿠론산(glucuronic acid), 아스파르트산, 아스코르빈산, 카본산, 바닐릭산 및 히드로 아이오딕산 등을 사용할 수 있다.

[0136] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리토 금속염은, 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리토 금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비 용해 화합물염을 여과한 후 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로서는 특히 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하며, 또한 이에 대응하는 은염은 알칼리 금속 또는 알칼리토 금속염을 적당한 은염

(예, 질산은)과 반응시켜 얻는다.

[0137] 본 발명의 화합물의 약학적으로 허용 가능한 염은, 달리 지시되지 않는 한, 본 발명의 화합물에 존재할 수 있는 산성 또는 염기성기의 염을 포함한다. 예를 들면, 약학적으로 허용 가능한 염으로는 히드록시기의 나트륨, 칼슘 및 칼륨염이 포함되며, 아미노기의 기타 약학적으로 허용 가능한 염으로는 하이드로브로마이드, 황산염, 수소 황산염, 인산염, 수소 인산염, 이수소 인산염, 아세테이트, 숙시네이트, 시트레이트, 타르트레이트, 락테이트, 만델레이트, 메탄설포 네이트(메실레이트) 및 *p*-톨루엔설포네이트(토실레이트) 염이 있으며, 당업계에서 알려진 염의 제조 방법이나 제조과정을 통하여 제조될 수 있다.

[0139] 본 발명의 조성물은, 조성물 총 중량에 대하여 상기 추출물 또는 화합물을 0.01 내지 99% 중량으로 포함한다.

[0140] 그러나 상기와 같은 조성은 반드시 이에 한정되는 것은 아니고, 환자의 상태 및 질환의 종류 및 진행 정도에 따라 변할 수 있다.

[0141] 본 발명의 추출물 또는 화합물을 포함하는 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.

[0142] 본 발명에 따른 추출물을 포함하는 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 이에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 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 상기 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 적어도 면, 전분, 칼슘카보네이트 (calcium carbonate), 수크로스 (sucrose) 또는 락토오스 (lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상제제로는 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, 동결건조제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜 (propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔 (witepsol), 마크로골, 트윈 (tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0143] 본 발명의 추출물 또는 화합물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서, 추출물은 1일 0.01mg/kg 내지 10g/kg으로, 바람직하게는 1mg/kg 내지 1g/kg으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수 있다. 그러므로 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

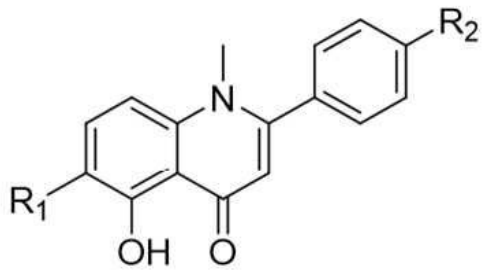
[0144] 본 발명의 조성물은 마우스, 생마우스, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구 및 직장, 또는 정맥 등의 방법을 통하여 투여할 수 있다.

[0145] 따라서, 본 발명은 상산나무 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물, 건강기능식품 또는 건강보조식품을 제공한다.

[0146] 따라서, 본 발명은 상산나무 잎 추출물 또는 이로부터 분리된 신규 또는 공지 화합물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물, 건강기능식품 또는 건강보조식품을 제공한다.

[0147] 구체적으로 본 발명은 상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 일반식 (I)로 표기되는 신규 또는 공지 퀴놀론 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물, 건강기능식품 또는 건강보조식품을 제공한다:

화학식 8



(I)

1 R_1 = H, R_2 = OMe

2 R_1 = OMe, R_2 = OMe

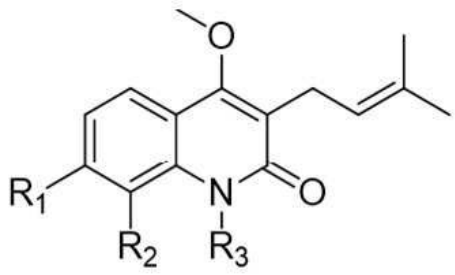
3 R_1 = H, R_2 = H

[0148]

[0149] 본 발명의 하나의 구현예로서는 본 발명은 5-히드록시-1-메틸-2-(4'-메톡시페닐)-4-퀴놀론 [5-hydroxy-1-methyl-2-(4'-methoxyphenyl)-4-quinolone, compound 1], 5-히드록시-6-메톡시-1-메틸-2-(4'-메톡시페닐)-4-퀴놀론 [5-hydroxy-6-methoxy-1-methyl-2-(4-methoxyphenyl)-4-quinolone, compound 2], 5-히드록시-1-메틸-2-페닐-4-퀴놀론 [5-hydroxy-1-methyl-2-phenyl-4-quinolone, compound 3] 퀴놀론 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물, 건강기능식품 또는 건강보조식품을 제공한다.

[0150] 또한 본 발명은 상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 일반식 (II)로 표기되는 신규 또는 공지 퀴놀론 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물, 건강기능식품 또는 건강보조식품을 제공한다:

화학식 9



(II)

4(T) R_1 = OH, R_2 = OMe, R_3=H

5 R_1 = H, R_2 = H, R_3 = Me

6 R_1 = H, R_2 = OMe, R_3 = Me

[0151]

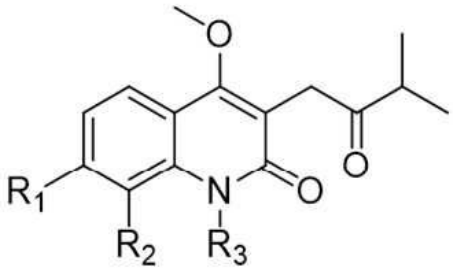
[0152] 본 발명의 하나의 구현예로서는 본 발명은 신규 5-히드록시-4,8-디메톡시-3-(3'-메톡시-부트-2'-에닐)-2-퀴놀론 [7-hydroxy-4,8-dimethoxy-3-(3'-methyl-but-2'-enyl)-2-quinolone, compound 4], N-메틸아타닌 [N-methylatanine, compound 5], 3-(3',3'-디메틸알릴)-4,8-디메톡시-N-메틸-퀴놀린-2-온 [3-(3',3'-dimethylallyl)-4,8-dimethoxy-N-methyl-quinolin-2-one, compound 6] 퀴놀론 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물, 건강기능식품 또는 건강보조식품을 제공한다.

[0154] 또한 본 발명은 상산나무 잎 추출물로부터 분리된 6-메톡시-7-(3-메틸부트-2-에닐)-1,3-디옥솔로<4,5-h>퀴놀린-8-온[6-methoxy-7-(3-methylbut-2-enyl)-1,3-dioxolo<4,5-h>quinolin-8-one, compound 7], 프텔레프레닌 [pteleprenine. compound 8] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물, 건강기능식품 또는 건강보조식품을 제공한다:

[0155] 또한 본 발명은 상산나무 잎 추출물로부터 분리된 N-메틸플린데르신 [N-methylflindersine, compound 9] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물, 건강기능식품 또는 건강보조식품을 제공한다:

[0156] 또한 본 발명은 상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 일반식 (III)로 표기되는 신규 또는 공지 퀴놀론 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물, 건강기능식품 또는 건강보조식품을 제공한다:

화학식 10



(III)

10 R_1 = H, R_2 = OMe, R_3=H

11 R_1 = OH, R_2 = OMe, R_3 = Me

12 R_1 = H, R_2 = H, R_3 = Me

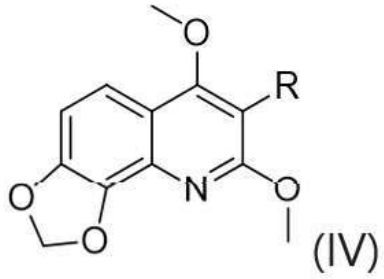
13 R_1 = H, R_2 = OMe, R_3 = Me

[0157]

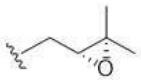
[0158] 본 발명의 하나의 구현예로서는 본 발명은 4,8-디메톡시-3-(3'-메틸-2'-목소부틸)-2-퀴놀론 [4,8-dimethoxy-3-(3'-methyl-2'-oxobutyl)-2-quinolone, compound 10)], 7-히드록시-4,8-디메톡시-3-(3-메틸부트-2-에닐)-N-메틸-2-퀴놀론 [7-hydroxy-4,8-dimethoxy-3-(3-methylbut-2-enyl)-N-methyl-2-quinolone compound 11] 신규 퀴놀론 화합물, 오리자논 [orijanone compound 12], 오릭살론 B [orixalone B, compound 13] 퀴놀론 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물, 건강기능식품 또는 건강보조식품을 제공한다.

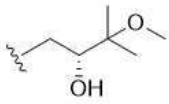
[0159] 또한 본 발명은 상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 일반식 (IV)로 표기되는 신규 또는 공지 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물, 건강기능식품 또는 건강보조식품을 제공한다:

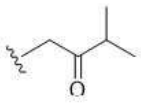
화학식 11

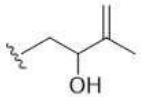


(IV)

14. R= 

15. R= 

16. R= 

17. R= 

[0160]

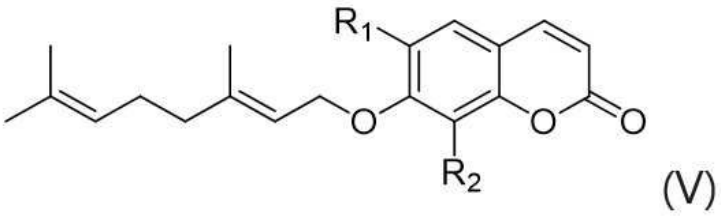
[0161] 본 발명의 하나의 구현예로서는 본 발명은 (-)-프레오릭신 [(-)-preorixine, compound 14], 3'-O-메틸오릭신 [(3'-O-methylorixine compound 15)], 오릭시논 [orixinone, compound 16], 이소프텔레폴리딘 [(isoptelefolidine, compound 17) 퀴놀론 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물, 건강기능식품 또는 건강보조식품을 제공한다.

[0163] 본 발명의 하나의 구현예로서는 본 발명은 코쿠사진 [kokusagine, compound 20] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물, 건강기능식품 또는 건강보조식품을 제공한다.

[0165] 본 발명의 하나의 구현예로서는 본 발명은 (-)-(S)-O-아세틸이소프텔레플로린 [(-)-(S)-O-acetylisopteleflorine compound 21] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물, 건강기능식품 또는 건강보조식품을 제공한다.

[0166] 또한 본 발명은 상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 일반식 (V)로 표기되는 신규 또는 공지 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물, 건강기능식품 또는 건강보조식품을 제공한다:

화학식 12



(V)

22 R_1 = OMe, R_2 = H

23 R_1 = OMe, R_2 = OMe

[0167]

[0168] 본 발명의 하나의 구현예로서는 본 발명은 (2'E)-7-(3',7'-디메틸옥타-2',6'-디에닐옥시)-6-메톡시쿠마린 [(2'E)-7-(3',7'-dimethylocta-2',6'-dienyloxy)-6-methoxycoumarin, compound 22], (2'E)-7-(3',7'-디메틸옥타-2',6'-디에닐옥시)-6,8-디메톡시쿠마린[(2'E)-7-(3',7'-dimethylocta-2',6'-dienyloxy)-6,8-dimethoxycoumarin [(6,8-dimethoxy-auraptene), compound 23] 쿠마린 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물, 건강기능식품 또는 건강보조식품을 제공한다.

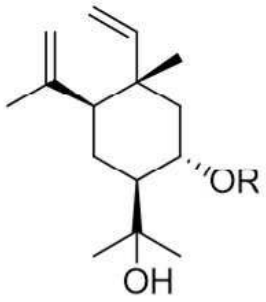
[0169] 본 발명의 하나의 구현예로서는 본 발명은 상산나무 잎 추출물로부터 분리된 신규 7-(7′-페록시-3′,7′-디메틸옥타-2′,5′-디에닐옥시)-6,8-디메톡시쿠마린 [7-(7′-peroxy-3′,7′-dimethylocta-2′,5′-dienyloxy)-6,8-dimethoxycoumarin, compound 25] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물, 건강기능식품 또는 건강보조식품을 제공한다.

[0170] 본 발명의 하나의 구현예로서는 본 발명은_상산나무 잎 추출물로부터 분리된 신규 6,8-디메톡시-7-(6'-페록시-3',7'-디메틸-2'E,7'-옥타디에닐옥시)쿠마린 [6,8-dimethoxy-7-(6'-peroxy-3',7'-dimethyl-2'E,7'-octadienyloxy)coumarin) compound 27] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물, 건강기능식품 또는 건강보조식품을 제공한다.

[0171] 본 발명의 하나의 구현예로서는 본 발명은 상산나무 잎 추출물로부터 분리된 신규 2'R,3'-아세틸-3',3'-디메틸-8-메톡시-6,7-디히드로피라노[3,2-g]쿠마린 [2'R,3'-acetyl-3',3'-dimethyl-8-methoxy-6,7-dihydropyrano[3,2-g]coumarin) compound 29] 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물, 건강기능식품 또는 건강보조식품을 제공한다.

[0172] 또한 본 발명은 상산나무 잎 추출물로부터 분리된 하기 일반식 (VI)로 표기되는 신규 또는 공지 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학조성물, 건강기능식품 또는 건강보조식품을 제공한다:

화학식 13



(VI)

36 R = H

37 R = 

[0173]

[0174] 또한, 본 발명은 상산나무 잎 추출물 또는 이로부터 분리된 신규 또는 공지 화합물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 또는 개선을 위한 건강기능식품을 제공한다.

[0175] 본원에서 정의되는 "건강기능식품"은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, "기능성"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.

[0176] 본 발명의 대사 관련 질환의 예방 및 개선을 위한 건강기능식품은, 조성물 총 중량에 대하여 상기 추출물 또는 화합물을 0.01 내지 95%, 바람직하게는 1 내지 80% 중량백분율로 포함한다.

[0177] 더욱이, 본 발명의 조성물은 대사 관련 질환의 치료 및 개선을 목적으로 한 건강기능식품 또는 건장보조식품일 수 있다.

[0178] 또한, 대사 관련 질환의 예방 및 개선을 위한 목적으로 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 환제, 현탁액, 에멀젼, 시럽 등의 약학 투여형태 또는 티백제, 침출차, 건강 음료 등의 형태인 건강기능식품으로 제조 및 가공이 가능하다.

[0179] 또한, 본 발명은 상산나무 잎 추출물 또는 이로부터 분리된 신규 또는 공지 화합물을 유효성분으로 함유하는 대사 관련 질환의 예방 및 개선용 건강보조식품을 제공한다.

[0180] 본 발명의 건강 기능성 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 추출물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제 (타우마틴, 스테비아 추출물 (예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등)) 및 합성 향미제 (사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100㎖ 당 일반적으로 약 1~20g, 바람직하게는 약 5~12g이다.

[0181] 또한, 본 발명은 상산나무 잎 추출물 또는 이로부터 분리된 신규 또는 공지 화합물을 유효성분으로 함유하는 골격근 대사 관련 질환의 예방 또는 개선용 식품 또는 식품첨가제를 제공한다.

[0182] 본 발명에 따른 추출물 또는 화합물을 식품첨가물로 사용할 경우, 상기 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품

또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 쵸코렛, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.

[0183] 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물 (전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제 (치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 조성물들은 천연 과일 쥬스 및 과일 쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0184] 또한, 본 발명의 추출물 또는 화합물은 목적 질환이 예방 효과를 목적으로 식품 또는 음료에 첨가될 수 있다. 이 때, 식품 또는 음료 중의 상기 추출물 또는 화합물의 양은 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 중량%로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물은 100 ㎖을 기준으로 0.02 내지 5g, 바람직하게는 0.3 내지 1g의 비율로 가할 수 있다.

발명의 효과

[0185] 본 발명의 상산나무 잎 추출물 및 이로부터 분리된 신규 또는 공지 화합물들을 대상으로 (1) 아디포넥틴 분비 효능 및 지방분화 효능 평가 실험(실험예 1); 핵수용체 타겟 검증 평가실험 (실험예 2); PPAR γ에 대한 공동활성화 효과 평가실험(실험예 3); PPARg에 대한 결합 모드 분석 실험 (실험예 4); 중간엽 줄기세포를 활용한 대사염증 억제능 확인실험(실험예 5) 등의 실험을 통하여 아디포넥틴 분비 효능 및 지방분화 효능을 증강시킬뿐 아니라, 아디포넥틴 분비 강화 활성 및 항염 활성을 가지며, 이에 대한 약리 기전으로써 PPARg 완전효능작용 및 부분효능작용을 갖는 것을 규명한 바, 이러한 상기 실험 결과는 본 발명의 시료들이 비만, 대사 관련 염증성 질환, 당뇨, 비알코올성 지방간염, 고혈압, 고지혈증, 심혈관 질환 및 죽상동맥경화증 질환 등의 대사 관련 질환 치료제 또는 보조제로 사용 가능함을 확인함으로서, 상기 조성물을 PPARg 완전 효능 및 부분 효능제, 아디포넥틴 분비 촉진제, 대사 관련 염증 조절제, 저아디포넥틴혈증 관련 질환의 치료 및 대사 관련 질환 의 예방 및 치료용 약학조성물, 건강기능식품 및 건강보조식품 등으로 유용함을 확인하였다.

도면의 간단한 설명

[0186] 도 1은 상산나무 (*Orixa japonica*) 잎에서 분리한 화합물들의 아디포넥틴 분비 효능 및 지방분화 효능을 확인한 결과이며, 도 2C는 중간엽 줄기세포 지방분화 표현형에 대한 화합물 4, 7, 22의 효과를 오일 레드 오 (oil red o, ORO) 및 헤마톡실린 염색으로 확인한 도이며 (값은 평균 ± 표준편차(SD)로 나타내었다 (n=3) (*p ≤ 0.05 및 **p ≤ 0.01);

도 2는 아디포넥틴 분비 강화 활성이 우수한 화합물 4와 22를 대상으로 핵수용체 타겟 검증을 위해 TR-FRET 경쟁적 결합시험 및 공활성화 실험으로 분석한 결과이며, 도 3A는 화합물 4와 22 (10 mM)를 대상으로 PPAR α, PPAR γ, PPAR δ, LXR b, 및 FXR에 대한 결합능 및 공조절능을 평가한 결과이며 이때 양성대조군으로 PPAR α의 경우 GW7647, PPAR γ의 경우 GW1929, PPAR δ의 경우 GW501516, LXR b의 경우 T0901317, FXR의 경우 GW4064를 사용하였으며, 도 2B는 화합물 4 및 22에 대한 농도의존적인 PPAR γ 결합능을 확인한 결과이며 (Cheng-Prusoff equation에 의해 Ki 값을 계산하였고 값은 평균 ± 표준편차(SD)로 나타내었다 (n=3) (*p ≤ 0.05 및 **p ≤ 0.01));

도 3은 화합물 4와 22의 PPAR γ에 대한 공동활성화 효과에 대한 결과이며, 도 3A에서는 공활성자 펩타이드로 C33 (서열 HVEMHPLLMGLLMESQWGA), PGC1 α (서열 EAEEPSLLKKLLLAPANTQ), PRIP/RAP250 (서열 VTLTSPLLVNLLQSDISAG), SRC1 (서열 LTARHKILHRLLQEGSPSD), SRC2 (서열 LKEKHKILHRLLQDSSSPV), SRC3 (서열 ESKGHKKLLQ LLTCSSDDR), TRAP220/DRIP-2 (서열 NTKNHPMLMNLLKDNPAQD)을 사용하였고 도 3B는 공활성자 펩타이드 SRC1을 사용하여 농도의존적인 PPAR γ에 대한 공동활성화 효과를 평가한 결과를 나타낸 것이고, 도3C는 공활성자 펩타이드 SRC3를 사용하여 PPAR γ에 대한 공동활성화를 농도의존적으로 평가한 것이며, 도 3D는 공활성자 펩타이드 PRIP/RAP250을 사용하여 PPAR γ에 대한 공동활성화를 농도의존적으로 평가한 결과이며 (값은 평균 ± 표준편차(SD)로 나타내었다 (n=3) (*p ≤ 0.05 및 **p ≤ 0.01));

도 4는 PPAR γ의 리간드 결합 영역(PDB ID: 5U5L)에서 화합물 4 및 22의 리간드 수용체 상호작용 모델을 분석

한 결과로, 도 4A는 피오글리타존의 가장 낮은 도킹에너지 모델에 대한 결합 모드를 분석한 결과이며, 도 4B는 화합물 4의 가장 낮은 도킹에너지 모델에 대한 결합 모드를 분석하여 가장 우수한 결합 에너지를 가진 결합 모드를 분석한 결과이고, 도 4C는 화합물 22의 가장 낮은 도킹에너지 모델에 대한 결합 모드를 분석하여 최적의 결합에너지를 가진 결합 모드를 분석한 결과이다. 도 4D는 도 4B 및 4C에서 수행한 분자모델링 결과에 따라 실제로 화합물 4가 PPAR γ에 대한 완전 효능제로, 화합물 22가 PPAR γ에 대한 부분 효능제로 작용하는지를 검증하기 위하여 화합물 4 및 22의 존재 유무에 따른 피오글리타존의 PPAR γ 공활성자의 활성에 미치는 영향을 TR-FRET을 기반으로 분석한 결과이며, 이때 공활성자로 PRIP/RAP250을 사용한 결과이며 (값은 평균 ± 표준편차 (SD)로 나타내었다 (n=3) (*p ≤ 0.05 및 **p ≤ 0.01);

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0187] 이하, 본 발명을 하기 참고예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.

[0188] 단, 하기 참고예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 참고예 및 실험예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0190] **실시예 1. 상산나무 조추출물의 제조**

[0191] 건조된 상산나무 (*Orixa japonica* Thunb. 제주산, 서울대학교 약학대학 진영원교수 동정 및 표본실 표본 번호: CYWSNU-KP0022) 잎 2.6kg에 100% 메탄올 6L를 넣고 24시간 동안 3회 상온추출한 후, 여과하고 감압 조건하에서 농축하였다. 농축된 메탄올 추출물은 감압 조건하에서 냉동 건조기 (ScanVac, Labogene)로 동결 건조하여 290.9g의 상산나무 메탄올 조추출물 분말(이하, OJLM라 함)을 얻어 다음 실험에 사용하였다.

[0193] **실시예 2. 상산나무 분획물의 제조예**

[0194] 실시예 1에서 얻은 건조된 상산나무 메탄올 추출물 290.9g에 정제수 1L을 가하여 현탁하고 이 현탁물에 n-헥산 1L 를 가하여 분획하여 n-헥산 가용 분획물로 분획하고, 남은 물 현탁물에 클로로포름 1L, 및 에틸아세테이트 1L 씩을 순차적으로 가하여 분획하고 각각 감압 건조하여 n-헥산 가용분획물(이하, OJLH라 함), 클로로포름 가용분획물 (이하, OJLC라 함), 에틸아세테이트 가용분획물(이하, OJLE라 함) 및 물 가용분획물(이하, OJLW라 함)을 31.6g, 45.0g, 6.9g, 200.0g을 각각 얻어 동결건조하였다.

[0195] **실시예 3. 상산나무 추출물로부터 활성 화합물의 분리**

[0196] 활성물질의 동정을 위하여, 하기 실험에서, 가장 활성이 높은 분획 중 상기 헥산 분획물 (OJLH, 30.0g) 을 대상으로 실리카겔 컬럼크로마토그래피법을 n-헥산/에틸아세테이트 경사법 (100:0 → 1:1), $CHCl_3$-CH_3OH 경사법 (30:1 → 1:1), 및 최종 100% CH_3OH 용매 조건으로 수행하여 TLC분석법으로 14개 소분획물(subfractions, OJLH 1-14)을 얻었다, 이중 소분획물 OJLH7 (2.5g)을 대상으로 추가로 Fraction OJLH7 (2.5g) 실리카겔 컬럼크로마토그래피법을 n-헥산/에틸아세테이트 경사법 (100:0 → 1:1 용매 조건으로 수행하여 TLC분석법으로 7개 소분획물(subfractions, OJLH 7A-7G)을 얻었다. 이중 소분획물(Subfraction OJLH7G, 120.0mg)을 세미프레퍼러티브 (semipreparative HPLC (CH_3CN-H_2O, 45:55, isocratic mode)으로 정제하여 화합물 7(compound 7, t_R = 20.1 min, 9.2mg) 및 화합물 6 (compound 6, t_R = 37.43, 3.0mg)을 수득하였다. 소분획물(Subfraction OJLH8, 1.4g)을 대상으로 하여 세파덱스 컬럼 크로마토그래피법 (Sephadex LH-20 column, 전개용매: *n*-hexane-$CHCl_3$-CH_3OH, 5:1:1)을 수행하여 16개 소분획물(subfractions, OJLH8A-8P)을 수득하였다. 소분획물(Subfraction OJLH8E, 170.8mg) 을 대상으로 하여 세파덱스 컬럼 크로마토그래피법 (Sephadex LH-20 column, CH_3OH) 을 정제 수행하여 3개 소분획물(subfractions, OJLH8E1-8E3)을 수득하였다. 3개 소분획물(Subfraction OJLH8E3, 80.0mg)을 40 분간 HPLC (CH_3CN-H_2O, 40:60, isocratic mode)로 분리하여 화합물 10 (compound 10, t_R = 12.1 min, 5.3mg), 화합물 11 (compound 11, t_R = 14.5 min, 4.5mg), 화합물 15 (compound 15, t_R = 27.5 min, 0.7mg), 화합물 17 (compound 17, t_R = 29.2 min, 0.9mg), 화합물 12 (compound 12, t_R = 32.1 min, 0.5mg) 및 화합물 13 (compound 13 (t_R = 35.2 min, 1.2mg)을 각각 수득하였다.

[0198] 화합물 28 (Compound 28, t_R = 32.1 min, 4.4mg) 은 소분획물 (Subfraction OJLH8E3) 분리에 사용된 동일한 HPLC 방법을 이용하여 소분획물 (subfraction) OJLH8F (18.4mg)으로부터 분리하였다. 소분획물 (Subfraction) OJLH8J (43.3mg)을 대상으로 20 분간 HPLC (CH_3CN-H_2O, 50:50, isocratic mode)을 수행하여 화합물 23

(compound 23, t_R = 14.2 min, 6.9mg) 및 화합물 12 (compound 12 (t_R = 17.1 min, 2.5mg)을 각각 분리하였다. 소분획물 (Fraction) OJLH10 (336.6mg)을 대상으로 하여 MPLC RP C_{18} (30.0 g) column으로 CH_3OH-H_2O (20:80 → 80:20) 경사 용매 혼합물을 이용하여 분리하여 6개 소분획물 (subfractions, OJLH10 A-F)을 수득하였다.

[0199] 소분획물 (subfraction) OJLH10C (45.0mg)을 대상으로 하여 40분간 세미프레퍼레이트브(semipreparative) HPLC method (CH_3CN-H_2O, 35:65, isocratic mode) 을 정제 수행하여 화합물 25 (compound 25, t_R = 18.3 min, 1.5mg) 및 화합물 19 (compound 19, t_R = 32.1 min, 0.5mg)을 각각 수득하였다. 소분획물 (subfraction) OJLH10F (30.0 mg) 을 대상으로 하여 30분간 the HPLC (CH_3CN-H_2O, 40:60, isocratic mode)를 수행하여 화합물 16 (compound 16, t_R = 18.9 min, 1.8mg), 화합물 18 (compound 18, t_R = 21.6 min, 1.3mg), 및 화합물 19 (compound 14 (t_R = 23.6 min, 0.7mg) 을 각각 수득하였다.

[0200] $CHCl_3$ 분획물(fraction, OJLC, 45.0g)를 대상으로 하여 실리카겔 컬럼크로마토그래피법을 n-헥산/에틸아세테이트 경사법 (60:0 → 1:1), $CHCl_3$-CH_3OH 경사법 (30:1 → 1:1), 및 최종 100% CH_3OH 용매 조건으로 수행하여 TLC 분석법으로 13개 소분획물(subfractions, OJLC 1-13)을 얻었다, 소분획물 (Fraction OJLC5, 2.0g)을 CH_3OH-H_2O 용매혼합물(30:70 → 80:20)을 이용한 MPLC RP C_{18} (30. 0 g) 컬럼(column) 크로마토그래피법으로 8개 소분획물 (Subfraction, OJLC 5A-5H)을 수득하였다. 이중 소분획물 (Subfraction OJLC 5C, 130.0mg)을 대상으로 하여 30분간 HPLC (CH_3CN-H_2O, 40:60 → 60:40, gradient elution mode) 을 적용하여 화합물 20 (compound 20, t_R = 16.7 min, 8.3mg), 화합물 21 (compound 21, t_R = 18.5 min, 1.4mg), 및 화합물 24 (compound 24, t_R = 19.4 min, 2.2mg) 을 각각 수득하였다. 화합물 22 (Compound 22, 55.0mg)은 소분획물 (subfraction OJLC5D)을 CH_3OH로 반복 세척하여 수득하였다.

[0201] 소분획물 (Subfraction OJLC5G, 183.0mg) 을 대상으로 하여 CH_3CN-H_2O (45:55) 20분 및 35분간 CH_3CN 50% 용매 (isocratic mode)을 이용한 용매 시스템으로 HPLC로 분리하여 화합물 26 (compound 26, t_R = 45.2 min, 3.0mg), 화합물 5 (compound 5, t_R = 46.5 min, 14.0mg), 및 화합물 27 (compound 27, t_R = 54.1 min, 1.6mg) 을 각각 수득하였다. 소분획물 (Fraction OJLC7, 2.0 g) OJLC5 분리와 동일한 방법을 이용한 MPLC 를 적용하여 16개 소분획물 (16 subfractions, OJLC 7A-7Q)을 수득하였다. 이중 소분획물 (OJLC7G, 120.3mg)을 대상으로 하여 30분간 HPLC (CH_3CN-H_2O, 40:60 → 60:40, gradient mode)을 적용하여 화합물 8 (compound 8) 및 화합물 9 (compounds 9, t_R = 12.5 min, 8.3mg) 혼합물을 수득하였다. 이 혼합물을 다시 20분간 HPLC (CH_3CN-H_2O, 35:65, isocratic mode)로 추가 정제하여 화합물 9 (compounds 9, t_R = 13.2 min, 1.3 mg) 및 화합물 8 (compounds 8, t_R = 14.5 min, 1.7 mg) 을 각각 수득하였다. 소분획물 (Subfraction OJLC7M, 247.0 mg) 를 대상으로 하여 40분간 was isolated on HPLC (CH_3CN-H_2O, 40:60, isocratic mode)을 수행하고 5분간 CH_3CN 100%용매로 컬럼을 유출시켜 화합물 4 (compound 4, t_R = 16.2 min, 0.5 mg), 화합물 1 (compound 1, t_R = 25.4 min, 3.2 mg), 및 화합물 2 (compound 2, t_R = 27.2 min, 2.6 mg) 을 각각 수득하였다.

[0202] 상기한 HPLC 분리법에는 3 mL/min 유속(flow rate) 및 210 nm 파장 기준으로 수행하였다.

[0204] 상기한 분리법을 통하여 수득한 개개 분리 화합물들은 하기와 같은 신규 구조의 신규 화합물들 및 공지화합물들은 기존 물성치관련 문헌들을 통하여 확인 및 동정하였다.

[0206] **화합물 1(compound 1); 5-히드록시-1-메틸-2-(4'-메톡시페닐)-4-퀴놀론 [5-hydroxy-1-methyl-2-(4'-methoxyphenyl)-4-quinolone](신규 화합물)**

화학식 14



(compound 1)

[0207]

[0208] 무색 무정형 고체(colorless amorphous solid);

[0209] $[\alpha]_D^{20}$ -83.7 (*c* 0.46, MeOH);

[0210] UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 234 (3.46), 270 (3.45) nm;

[0211] FT-IR (neat) ν_{max} 3181, 1631, 1600, 1497, 1419, 1290, 1178, 1024, 914, cm^{-1};

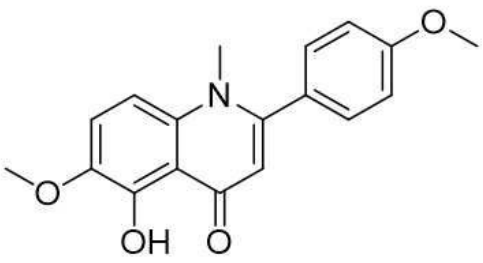
[0212] ^1H (600 MHz, $CDCl_3$): δ_H 14.79 (OH-5), 7.54 (1H, dd, *J* = 8.3, 8.3 Hz, H-7), 7.33 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H2' and H-6'), 7.02 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H3' and H-5'), 6.86 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, H-8), 6.77 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, H-6), 6.20 (1H, s, H-3), 3.89 (3H, s, OCH_3-5), 3.59 (3H, s, N-CH_3);

[0213] ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$): δ_C 181.7 (C-4), 162.8 (C-5), 160.8 (C-4'), 155.5 (C-2), 142.8 (C-8a), 134.2 (C-7), 130.0 (C-2' and C-6'), 127.6 (C-1'), 113.8 (C-4a), 114.3 (C-3' and C-5'), 111.0 (C-3), 109.8 (C-6), 104.6 (C-8), 55.5 (OCH_3-5), 38.0 (N-CH_3);

[0214] HRESIMS *m/z* 326.1031 $[M + HCOO]^-$ (calcd for $C_{18}H_{16}NO_5$, 326.1028).

[0216] **화합물 2(compound 2); 5-히드록시-6-메톡시-1-메틸-2-(4'-메톡시페닐)-4-퀴놀론 [5-hydroxy-6-methoxy-1-methyl-2-(4-methoxyphenyl)-4-quinolone](신규 화합물)**

화학식 15



(compound 2)

[0217]

[0218] 무색 무정형 고체(colorless amorphous solid);

[0219] $[\alpha]_D^{20}$ +68.2 (*c* 0.82, MeOH);

[0220] UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 230 (3.75), 269 (3.65), 344 (3.30) nm;

[0221] FT-IR (neat) ν_{max} 3393, 2923, 1746, 1600, 1493, 1354, 1244, 1175, 1027 cm^{-1};

[0222] ^1H (600 MHz, $CDCl_3$): δ_H 15.07 (OH-5), 7.33 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2' and H-6'), 7.30 (1H, d, *J* = 9.2 Hz, H-7), 7.02 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3' and H-5'), 6.84 (1H, d, *J* = 9.2 Hz, H-8), 6.13 (1H, s, H-3), 3.96 (3H, s, OCH_3-6), 3.89 (3H, s, OCH_3-4'), 3.59 (3H, s, N-CH_3);

[0223] ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$): δ_C 181.9 (C-4), 160.7 (C-4'), 155.4 (C-2), 151.5 (C-5), 142.4 (C-6), 136.9 (C-8a), 130.0 (C-2' and C-6'), 127.7 (C-1'), 118.9 (C-7), 114.3 (C-4a, C-3' and C-5'), 109.5 (C-3), 103.6 (C-8), 57.0 (OCH_3-6), 55.5 (OCH_3-4'), 37.7 (N-CH_3);

[0224] HRESIMS *m/z* 356.1127 $[M + HCOO]^-$ (calcd for $C_{19}H_{18}NO_6$, 356.1134).

[0226] **화합물 3(compound 3); 5-히드록시-1-메틸-2-페닐-4-퀴놀론 [5-hydroxy-1-methyl-2-phenyl-4-quinolone](공지 화합물)**

[0227] 분자식: $C_{16}H_{13}NO_2$ (분자량: 251.29)

[0228] 물성치 동정 관련 참고문헌 (Ito, A. et al., J. Agric. Food Chem. 1998, 46, 3509-3516.)

화학식 16

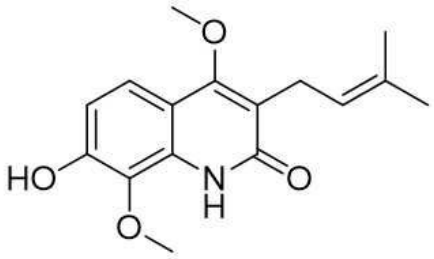


(compound 3)

[0229]

[0230] **화합물 4(compound 4); 5-히드록시-4,8-디메톡시-3-(3'-메톡시-부트-2'-에닐)-2-퀴놀론 [7-hydroxy-4,8-dimethoxy-3-(3'-methyl-but-2'-enyl)-2-quinolone](신규 화합물)**

화학식 17



(compound 4)

[0231]

[0232] 무색 무정형 고체(colorless amorphous solid);

[0233] $[\alpha]_D^{20}$ -95.1 (*c* 0.07, MeOH);

[0234] UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 215 (3.69), 257 (3.28) nm;

[0235] FT-IR (neat) ν_{max} 3308, 2969, 1714, 1641, 1614, 1522, 1453, 1351, 1205, 1113, 1066, 1040 cm^{-1};

[0236] ^1H (800 MHz, $CDCl_3$): δ_H 7.42 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-5), 6.84 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-6), 5.26 (1H, d, *J* = 6.7 Hz, H-2'), 3.91 (3H, s, OCH_3-4), 3.90 (3H, s, OCH_3-8), 3.35 (2H, d, *J* = 6.7 Hz, H-1'), 1.80 (3H, s, H-5'), 1.70 (3H, s, H-4');

[0237] ^{13}C NMR (200 MHz, $CDCl_3$): δ_C 164.3 (C-2), 162.3 (C-4), 149.5 (C-7), 132.3 (C-8), 132.1 (C-3'), 131.3 (C-8a), 121.5 (C-2'), 120.2 (C-3), 119.7 (C-5), 111.9 (4a), 111.5 (C-6), 61.8 (OCH_3-4), 61.3 (OCH_3-8), 25.7 (C-5'), 23.3 (C-1'), 18.0 (C-4').

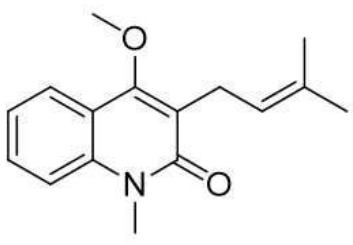
[0238] HRESIMS *m/z* 288.1235 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{16}H_{18}NO_4$, 288.1236).

[0240] **화합물 5(compound 5); N-메틸아타닌 [*N-methylatanine*](공지 화합물)**

[0241] 분자식: $C_{16}H_{19}NO_2$ (분자량: 257.33)

[0242] 물성치 동정 관련 참고문헌: (Moulis, C. et al., Phyrochrmistry 1983, 22, 2095-2096.)

화학식 18



(compound 5)

[0243]

[0244] 무색 무정형 고체(colorless amorphous solid);

[0245] $[\alpha]_D^{20}$ -83.7 (*c* 0.46, MeOH);

[0246] UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 234 (3.46), 270 (3.45) nm;

[0247] FT-IR (neat) ν_{max} 3181, 1631, 1600, 1497, 1419, 1290, 1178, 1024, 914, cm^{-1};

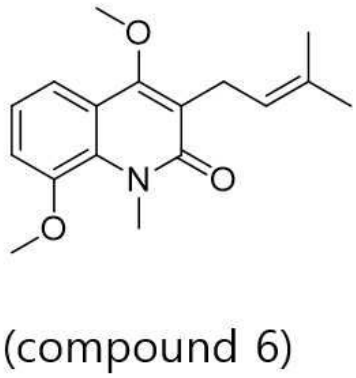
[0248] ^1H (600 MHz, $CDCl_3$): δ_H 14.79 (OH-5),

[0250] **화합물 6(compound 6); 3-(3',3'-디메틸알릴)-4,8-디메톡시-N-메틸-퀴놀린-2-온 [3-(3',3'-dimethylallyl)-4,8-dimethoxy-N-methyl-quinolin-2-one](공지 화합물)**

[0251] 분자식: $C_{17}H_{21}NO_3$(분자량: 287.36)

[0252] 물성치 동정 관련 참고문헌: (Yamashita, M.et al., Tetrahedron Lett. 2020, 61, 151861.)

화학식 19



(compound 6)

[0253]

[0254] 무색 무정형 고체(colorless amorphous solid);

[0255] $[\alpha]_D^{20}$ -83.7 (*c* 0.46, MeOH);

[0256] UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 234 (3.46), 270 (3.45) nm;

[0257] FT-IR (neat) ν_{max} 3181, 1631, 1600, 1497, 1419, 1290, 1178, 1024, 914, cm^{-1};

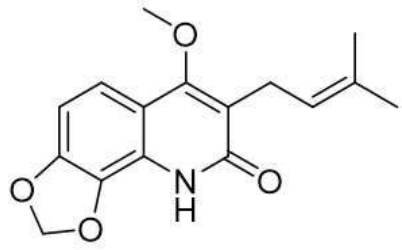
[0258] ^1H (600 MHz, $CDCl_3$): δ_H 14.79 (OH-5),

[0259] **화합물 7(compound 7); 6-메톡시-7-(3-메틸부트-2-에닐)-1,3-디옥솔로<4,5-h>퀴놀린-8-온 [6-methoxy-7-(3-methylbut-2-enyl)-1,3-dioxolo<4,5-h>quinolin-8-one](공지 화합물)**

[0260] 분자식: $C_{16}H_{17}NO_4$(분자량: 287.32)

[0261] 물성치 동정 관련 참고문헌: (Neville, Charles F., et al. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1 2 (1991): 259-262.)

화학식 20



(compound 7)

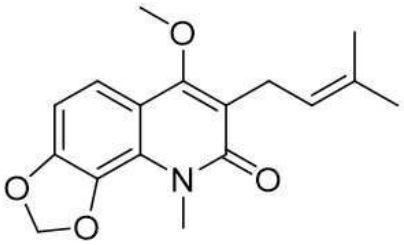
[0262]

[0263] **화합물 8(compound 8); 프텔레프레닌 [*pteleprenine*](공지 화합물)**

[0264] 분자식: $C_{17}H_{19}NO_4$(분자량: 301.3)

[0265] 물성치 동정 관련 참고문헌: (Neville, Charles F., et al. " Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1 2 (1991): 259-262.)

화학식 21



(compound 8)

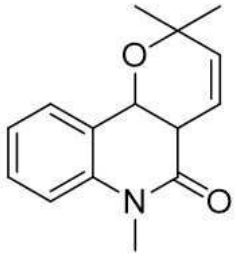
[0266]

[0267] **화합물 9(compound 9); N-메틸플린데르신 [N-methylflindersine](공지 화합물)**

[0268] 분자식: $C_{15}H_{17}NO_2$(분자량: 243.31)

[0269] 물성치 동정 관련 참고문헌:(Funayama, S.; Murata, K.; Nozoe, S. Phytochemistry 1994, 36, 525-528.)

화학식 22

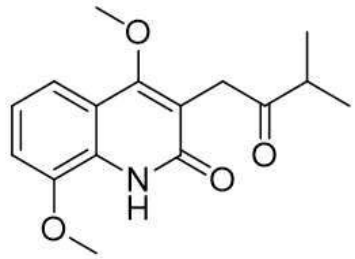


(compound 9)

[0270]

[0271] **화합물 10(compound 10); 4,8-디메톡시-3-(3'-메틸-2'-목소부틸)-2-퀴놀론(N-디메틸옥살론 B) [4,8-dimethoxy-3-(3'-methyl-2'-oxobutyl)-2-quinolone (N-demethylorixalone B)](신규 화합물)**

화학식 23



(compound 10)

[0272]

[0273] 무색 무정형 고체(colorless amorphous solid);

[0274] $[\alpha]_D^{20}$ -123.5 (*c* 0.05, MeOH);

[0275] UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 236 (3.42), 271 (3.45), 366 (3.04) nm;

[0276] FT-IR (neat) ν_{max} 2967, 1741, 1636, 1563, 1508, 1460, 1362, 1329, 1108, 1069, 1029 cm^{-1};

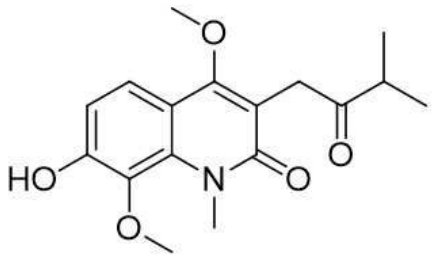
[0277] ^1H (800 MHz, $CDCl_3$): δ_H 9.05 (NH), 7.34 (1H, brd, *J* = 8.0 Hz, H-5), 7.15 (1H, dd, *J* = 8.0, 8.0 Hz, H-6), 6.97 (1H, dd, *J* = 8.0, 0.7 Hz, H-7), 3.97 (3H, s, OCH_3-8), 3.90 (3H, s, OCH_3-4), 3.83 (2H, s, H-1'), 2.87 (1H, sep, *J* = 6.9 Hz, H-3'), 1.21 (6H, d, *J* = 6.9 Hz, H-4' and H-5');

[0278] ^{13}C NMR (200 MHz, $CDCl_3$): δ_C 211.5 (C-2'), 163.4 (C-4), 163.0 (C-2), 145.8 (C-8), 128.0 (C-8a), 121.9 (C-6), 118.4 (C-4), 117.2 (C-4a), 114.9 (C-3), 110.0 (C-7), 62.0 (OCH_3-4), 56.0 (OCH_3-8), 41.0 (C-3'), 36.3 (C-1'), 18.4 (C-4' and C-5').

[0279] HRESIMS *m/z* 290.1398 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{16}H_{20}NO_4$, 290.1392).

[0281] **화합물 11 (compound 11); 7-히드록시-4,8-디메톡시-3-(3-메틸부트-2-에닐)-N-메틸-2-퀴놀론 [7-hydroxy-4,8-dimethoxy-3-(3-methylbut-2-enyl)-N-methyl-2-quinolone)](신규 화합물)**

화학식 24



(compound 11)

[0282]

[0283] 무색 무정형 고체(colorless amorphous solid);

[0284] $[\alpha]_D^{20}$ +58.6 (*c* 0.62, MeOH);

[0285] UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 220 (3.75), 260 (3.38), 323 (3.30) nm;

[0286] FT-IR (neat) ν_{max} 3272, 2960, 1715, 1630, 1508, 1474, 1362, 1265, 1110, 1030 cm^{-1};

[0287] ^1H (600 MHz, $CDCl_3$): δ_H 7.51 (1H, dd, *J* = 8.8 Hz, H-5), 6.92 (1H, dd, *J* = 8.8 Hz, H-6), 3.90 (3H, s, N-CH_3), 3.86 (3H, s, OCH_3-4), 3.79 (2H, s, H-1'), 3.74 (3H, s, OCH_3-8), 2.89 (1H, sep, *J* = 7.0 Hz, H-3'), 1.22 (3H, s, H-4'), 1.23 (3H, s, H-5');

[0288] ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$): δ_C 212 (C-2'), 165.1 (C-2), 162.3 (C-4), 152.0 (C-7), 134.6 (C-8), 134.0 (C-8a), 120.4 (C-5), 114.6 (C-3), 113.1 (C-4a), 111.1 (C-6), 62.3 (OCH_3-8), 62.1 (OCH_3-4), 41.2 (C-3'), 36.8 (C-1'), 33.5 (N-CH_3), 18.4 (C-4' and C-5').

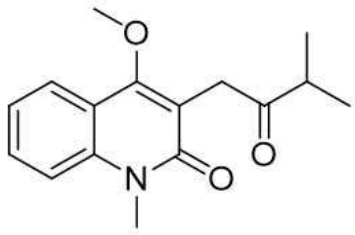
[0289] HRESIMS *m/z* 318.1339 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{17}H_{20}NO_5$, 318.1341).

[0290] **화합물 12(compound 12);오리자논 [orijanone](공지 화합물)**

[0291] 분자식: $C_{16}H_{19}NO_3$(분자량: 273.33)

[0292] 물성치 동정 관련 참고문헌: (Noshita,T et al., Biosci. Biotechnol. Biochem. 2001, 65, 710-713).

화학식 25



(compound 12)

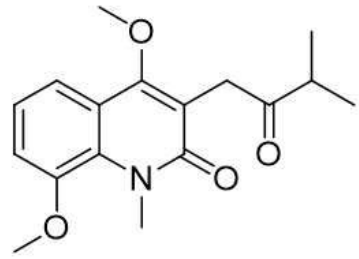
[0293]

[0294] **화합물 13(compound 13); 오릭살론B [orixalone B](공지 화합물)**

[0295] 분자식: $C_{17}H_{21}NO_4$ (분자량: 303.36)

[0296] 물성치 동정 관련 참고문헌: (Ito, C el al., J. Nat. Prod. 2004, 67, 1800-1803).

화학식 26



(compound 13)

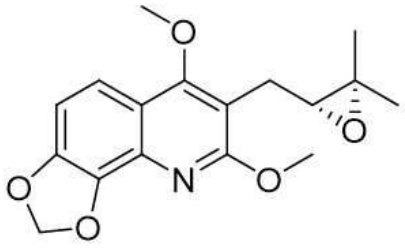
[0297]

[0298] **화합물 14(compound 14); (-)-프레오릭신 [(-)-preorixine](공지 화합물)**

[0299] 분자식: $C_{17}H_{19}NO_5$ (분자량: 317.34)

[0300] 물성치 동정 관련 참고문헌: (FUNAYAMA, Shinji, Kiyoshi MURATA, and Shigeo NozoE. "Absolute stereochemistry of (-)-preorixine and related compounds." Chemical and pharmaceutical bulletin 44.10 (1996): 1885-1889.)

화학식 27



(compound 14)

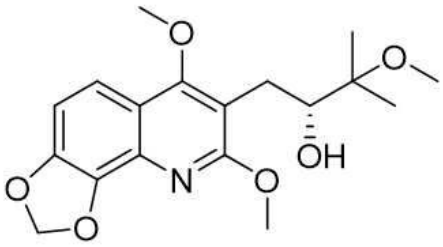
[0301]

[0302] **화합물 15(compound 15); 3'-O-메틸오릭신 [(3'-O-methylorixine](공지 화합물)**

[0303] 분자식: $C_{18}H_{23}NO_6$ (분자량: 349.38)

[0304] 물성치 동정 관련 참고문헌: (Noshita,T et al., Biosci. Biotechnol. Biochem. 2001, 65, 710-713).

화학식 28



(compound 15)

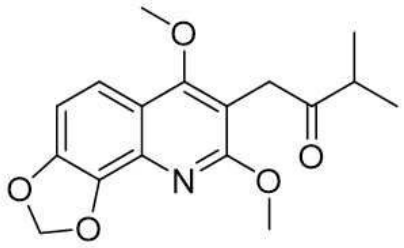
[0305]

[0306] **화합물 16(compound 16); 오릭시논 [(orixinone](공지 화합물)**

[0307] 분자식: $C_{17}H_{19}NO_5$ (분자량: 317.34)

[0308] 물성치 동정 관련 참고문헌: (Funayama, Shinji, Kiyoshi Murata, and Shigeo Nozoe. "Quinoline alkaloids from Orixa japonica." Phytochemistry 36.2 (1994): 525-528).

화학식 29



(compound 16)

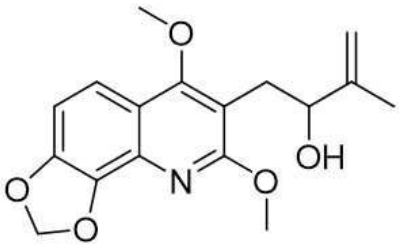
[0309]

[0310] **화합물 17(compound 17);이소프텔레폴리딘 [(isoptelefolidine](공지 화합물)**

[0311] 분자식: $C_{17}H_{19}NO_5$ (분자량: 317.34)

[0312] 물성치 동정 관련 참고문헌: (Funayama, Shinji, Kiyoshi Murata, and Shigeo Nozoe. "Quinoline alkaloids from Orixa japonica." Phytochemistry 36.2 (1994): 525-528).

화학식 30



(compound 17)

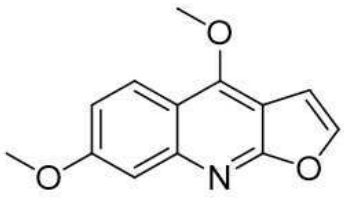
[0313]

[0314] **화합물 18(compound 18); 에볼리트린[evolitrine](공지 화합물)**

[0315] 분자식: $C_{13}H_{11}NO_3$ (분자량: 229.24)

[0316] 물성치 동정 관련 참고문헌: (Pusset, Jacques, et al. "Isolation and 2D NMR studies of alkaloids from Comptonella sessilifoliola1." Planta medica 57.02 (1991): 153-155.)

화학식 31



(compound 18)

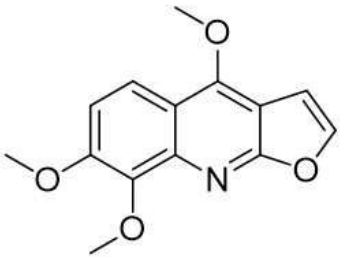
[0317]

[0318] **화합물 19(compound 19); 스킴미아닌 [*skimmianine*](공지 화합물)**

[0319] 분자식: $C_{14}H_{13}NO_4$ (분자량: 259.26)

[0320] 물성치 동정 관련 참고문헌: (Benzies, David WM, et al. "Flash vacuum pyrolysis of 5-(indol-2-and-3-ylmethylene)-2, 2-dimethyl-1, 3-dioxane-4, 6-diones." Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1 (1986): 1651-1654.)

화학식 32



(compound 19)

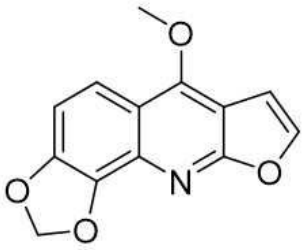
[0321]

[0322] **화합물 20(compound 20); 코쿠사진 [*kokusagine* (공지 화합물)**

[0323] 분자식: $C_{13}H_9NO_4$ (분자량: 243.22)

[0324] 물성치 동정 관련 참고문헌: (Funayama, Shinji, Kiyoshi Murata, and Shigeo Nozoe. "Quinoline alkaloids from Orixa japonica." Phytochemistry 36.2 (1994): 525-528.)

화학식 33



(compound 20)

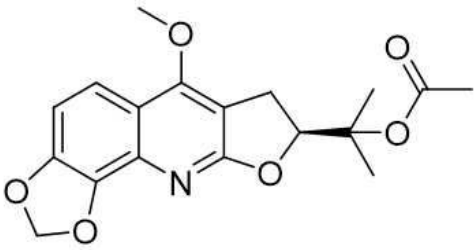
[0325]

[0326] **화합물 21(compound 21); (-)-(S)-O-아세틸이소프텔레플로린 [(-)-(S)-O-acetylisopteleflorine (공지 화합물)**

[0327] 분자식: $C_{18}H_{19}NO_6$ (분자량: 345.35)

[0328] 물성치 동정 관련 참고문헌: (Barr, Stephen A et al., . Heterocycles 79.1 (2009): 831-850.)

화학식 34

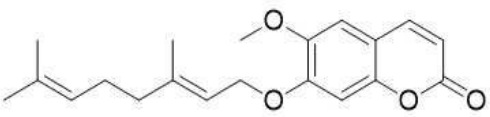


(compound 21)

[0329]

[0330] **화합물 22 (compound 22); (2'E)-7-(3',7'-디메틸옥타-2',6'-디에닐옥시)-6-메톡시쿠마린 [(2'E)-7-(3',7'-dimethylocta-2',6'-dienyloxy)-6-methoxycoumarin)](신규 화합물)**

화학식 35



(compound 22)

[0331]

[0332] 무색 무정형 고체(colorless amorphous solid);

[0333] $[\alpha]_D^{20}$ +113.1 (*c* 0.05, MeOH);

[0334] UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 232 (2.83), 294 (2.45), 346 (2.66) nm;

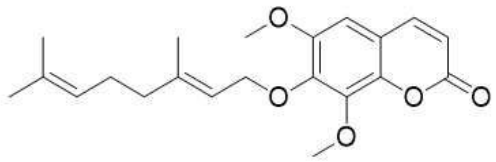
[0335] FT-IR (neat) ν_{max} 2922, 1700, 1611, 1508, 1402, 1348, 1279, 1126, 1014 cm^{-1};

[0336] ^{1}H- and ^{13}C NMR data, (표 1: Table 1);

[0337] HRESIMS *m/z* 357.1698 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{21}H_{25}O_5$, 357.1702).

[0339] **화합물 23 (compound 23); (2'E)-7-(3',7'-디메틸옥타-2',6'-디에닐옥시)-6,8-디메톡시쿠마린 [(6,8-dimethoxy-auraptene)[(2'E)-7-(3',7'-dimethylocta-2',6'-dienyloxy)-6,8-dimethoxycoumarin (6,8-dimethoxy-auraptene))](신규 화합물)**

화학식 36



(compound 23)

[0340]

[0341] 무색 무정형 고체(colorless amorphous solid);

[0342] $[\alpha]_D^{20}$-6.0 (*c* 0.26, MeOH);

[0343] UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 208 (3.55), 232 (3.28), 296 (3.05) nm;

[0344] FT-IR (neat) ν_{max} 2929, 1731, 1604, 1563, 1407, 1291, 1125, 1041 cm^{-1};

[0345] ^{1}H- and ^{13}C NMR, (Table 1);

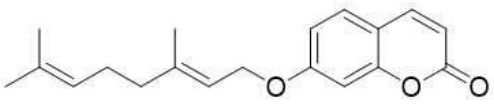
[0346] HRESIMS *m/z* 403.1766 $[M + HCOO]^-$ (calcd for $C_{22}H_{27}O_7$, 403.1757).

[0348] **화합물 24(compound 24); 아우랍텐 [(auraptene) (공지 화합물)**

[0349] 분자식: $C_{19}H_{22}O_3$ (분자량: 298.38)

[0350] 물성치 동정 관련 참고문헌: (Zhao, Y.-L et al., J. Agric. Food Chem. 2019, 67, 88108818).

화학식 37

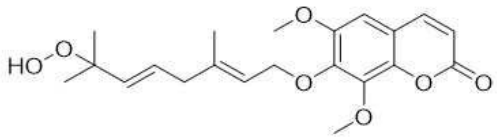


(compound 24)

[0351]

[0352] **화합물 25 (compound 25); 7-(7′-페록시-3′,7′-디메틸옥타-2′,5′-디에닐옥시)-6,8-디메톡시쿠마린 [7-(7′-peroxy-3′,7′-dimethylocta-2′,5′-dienyloxy)-6,8-dimethoxycoumarin)](신규 화합물)**

화학식 38



(compound 25)

[0353]

[0354] 무색 무정형 고체(colorless amorphous solid);

[0355] $[\alpha]_D^{20}$ -32.0 (*c* 0.09, MeOH);

[0356] UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 209 (4.26), 230 (4.09), 295 (3.78) nm;

[0357] FT-IR (neat) ν_{max} 2924, 2853, 1715, 1564, 1460, 1408, 1291, 1038 cm^{-1};

[0358] ^{1}H- and ^{13}C NMR, (표 1, Table 1);

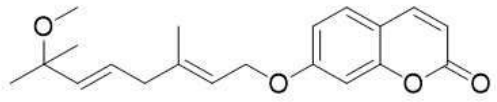
[0359] HRESIMS *m/z* 435.1635 $[M + HCOO]^-$ (calcd for $C_{22}H_{27}O_9$, 435.1655).

[0361] **화합물 26(compound 26); 7-((2'E,5'E)-7'-메톡시-3',7'-디메틸옥타-2',5'-디에닐옥시)쿠마린 [7-((2'E,5'E)-7'-methoxy-3',7'-dimethylocta-2',5'-dienyloxy)coumarin) (공지 화합물)**

[0362] 분자식: : $C_{20}H_{24}O_4$ (분자량 328.41)

[0363] 물성치 동정 관련 참고문헌: (Cho, J.-Y. et al., J. Food Chem. 2012, 135, 17-23.)

화학식 39

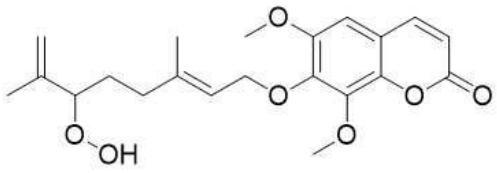


(compound 26)

[0364]

[0365] 화합물 27 (compound 27); 6,8-디메톡시-7-(6'-페록시-3',7'-디메틸-2'E,7'-옥타디에닐옥시)쿠마린 [6,8-dimethoxy-7-(6'-peroxy-3',7'-dimethyl-2'E,7'-octadienyloxy)coumarin)](신규 화합물)

화학식 40



(compound 27)

[0366]

[0367] 무색 무정형 고체(colorless amorphous solid);

[0368] $[\alpha]_D^{20}$ -5.8 (*c* 0.07, MeOH);

[0369] UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 211 (3.80), 233 (3.53), 297 (3.35) nm;

[0370] FT-IR (neat) ν_{max} 2924, 1716, 1564, 1457, 1407, 1291, 1152, 1125, 1039 cm^{-1};

[0371] ^{1}H- and ^{13}C NMR, , (표 1, Table 1);;

[0372] HRESIMS *m/z* 435.1655 $[M + HCOO]^-$ (calcd for $C_{22}H_{27}O_9$, 435.1655).

표 1

[0373] ^{1}H and ^{13}C NMR Spectroscopic Data for Compounds 22, 23, 25, and 27 (δ_H in ppm, *J* in Hz, $CDCl_3$)

compound	22[a]		23[b]		25[a]		27[b]	
Position	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C
1	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	161.5	-	160.5		160.6	-	160.5
3	6.27 d (9.4)	113.3	6.34 d (9.5)	115.1	6.34 d (9.4)	115.2	6.34 d (9.5)	115.2
4	7.61 d (9.4)	143.3	7.60 d (9.5)	143.5	7.60 d (9.4)	143.4	7.60 d (9.5)	143.5

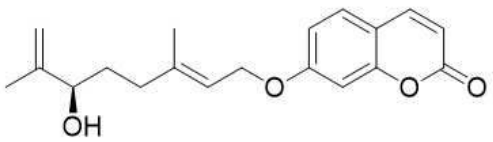
4a	-	111.3	-	114.4	-	114.5	-	114.4
5	6.85 s	108.0	6.65 s	103.5	6.65 s	103.6	6.65 s	103.5
6	-	146.6	-	150.7	-	150.6	-	150.5
7	-	152.1	-	144.9	-	144.7	-	144.7
8	6.83 s	101.2	-	141.8	-	141.8	-	141.7
8a	-	149.9	-	143.0	-	143.0	-	114.4
1'	4.69 d (6.4)	66.3	4.68 d (7.0)	70.3	4.69 d (7.2)	70.1	4.69 d (7.2)	70.4
2'	5.48 t (6.4)	118.4	5.55 td (7.0, 1.0)	119.6	5.57 tq (7.2, 1.3)	120.8	5.57 td (7.2, 1.0)	120.2
3'		142.1		142.6		140.8	-	141.7
4'	2.07 m	39.5	2.05[d]	39.6	2.76 d (6.9)	42.3	2.08 m	35.4
5'	2.12 m	26.2	2.05[d]	26.3	5.63 dt (15.7, 6.9)	128.8	1.55 m	28.6
6'	5.07 t (6.7)	123.6	5.05, brt (6.7)	123.8	5.55dt (15.7, 1.2)	135.5	4.23 t (6.7)	88.8
7'		131.9		131.7		82.1		143.7
8'	1.65 s	25.6	1.59 s	17.6	1.32 s	24.2	1.72 s	17.1
9'	1.77 s	16.8	1.69 s	16.5	1.67 s	16.4	1.68 s	16.2
10'	1.60 s	17.7	1.66 s	25.7	1.32 s	24.2	4.95 brs	114.2
							5.00 dd (1.5, 1.5)	
OCH_3-6	3.91 s	56.4	3.91 s	56.3	3.89 s	56.4	3.89 s	56.3
OCH_3-8			4.03 s	61.7	4.03 s	61.7	4.03 s	61.7
[a]Recorded at 800 MHz for proton and at 200 MHz for carbon. [b]Recorded at 400 MHz for proton and at 100 MHz for carbon.								

[0375] **화합물 28(compound 28); 7-(6'R-히드록시-3',7'-디메틸-2'E,7'-옥타디에닐옥시)쿠마린 [7-(6'R-hydroxy-3',7'-dimethyl-2'E,7'-octadienyloxy)coumarin) (공지 화합물)**

[0376] 분자식: $C_{19}H_{22}O_4$: (분자량 314.38)

[0377] 물성치 동정 관련 참고문헌은: (Masuda, T. et al., Phytochemisrry 1992, 31, 1363-1366.)

화학식 41

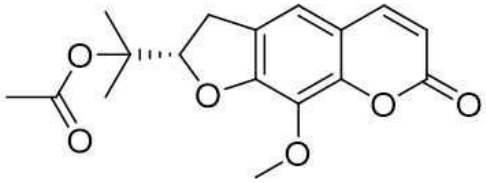


(compound 28)

[0378]

[0379] **화합물 29 (compound 29); 2'R,3'-아세틸-3',3'-디메틸-8-메톡시-6,7-디히드로피라노[3,2-g]쿠마린 [2'R,3'-acetyl-3',3'-dimethyl-8-methoxy-6,7-dihydropyrano[3,2-g]coumarin)](신규 화합물)**

화학식 42



(compound 29)

[0381]

[0382] 무색 무정형 고체(colorless amorphous solid);

[0383] $[\alpha]_D^{20}$ -63.3 (*c* 0.05, MeOH);

[0384] UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 209 (3.05), 331 (2.66) nm;

[0385] ECD (MeOH) λ_{max} 209 (-0.31), 243 (-0.76), 289 (-0.25) nm;

[0386] FT-IR (neat) ν_{max} 3157, 1724, 1634, 1577, 1450, 1286, 1135, 1023 cm^{-1};

[0387] ^1H (800 MHz, $CDCl_3$): δ_H 7.57 (1H, d, *J* = 9.5 Hz, H-4), 6.94 (1H, s, H-5), 6.22 (1H, d, *J* = 9.5 Hz, H-3), 5.12 (1H, dd, *J* = 9.4, 7.5 Hz, H-2'), 4.05 (3H, s, OCH_3-8), 3.29 (1H, ddd, *J* = 16.0, 9.4, 1.0 Hz, H-1'β), 3.21 (1H, ddd, *J* = 16.0, 7.5, 1.0 Hz, H-1'α), 1.99 (3H, s, $OCO\underline{C}H_3$), 1.59 (3H, s, H-5'), 1.52 (3H, s, H-4');

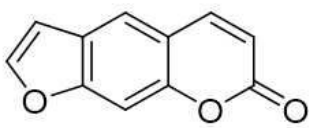
[0388] ^{13}C NMR (200 MHz, $CDCl_3$): δ_C 170.2 ($O\underline{C}OCH_3$), 160.8 (C-2), 154.0 (C-7), 147.5 (C-8a), 143.8 (C-4), 131.4 (C-8), 125.3 (C-6), 117.0 (C-5), 113.7 (C-4a), 112.6 (C-3), 88.8 (C-2'), 82.1 (C-3'), 60.9 (OCH_3-8), 30.0 (C-1'), 22.2 (C-5' and $OCO\underline{C}H_3$), 21.0 (C-4'). HRESIMS *m/z* 363.1074 $[M + HCOO]^-$ (calcd for $C_{18}H_{19}O_8$, 363.1080).

[0389] **화합물 30(compound 30); 소랄렌 [psoralen) (공지 화합물)**

[0390] 분자식: $C_{11}H_6O_3$: (분자량 186.17)

[0391] 물성치 동정 관련 참고문헌: (Yaseen, A. et al., Nat. Prod. Res. 2021, 35, 5364-5368.)

화학식 43



(compound 30)

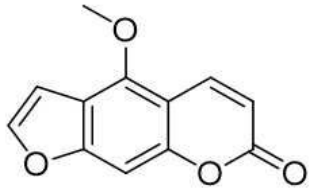
[0392]

[0393] **화합물 31(compound 31); 잔토톡신 [xanthotoxin) (공지 화합물)**

[0394] 분자식: $C_{12}H_8O_4$ (분자량 216.19)

[0395] 물성치 동정 관련 참고문헌: (Liua, K. et al., J. Chromatogr A. 2004, 1055, 71-76.)

화학식 44



(compound 31)

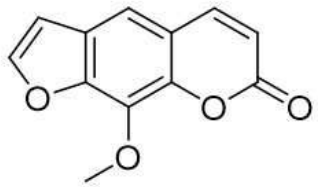
[0396]

[0397] **화합물 32(compound 32); 베르갑텐 [bergapten) (공지 화합물)**

[0398] 분자식: $C_{12}H_8O_4$(분자량 216.19)

[0399] 물성치 동정 관련 참고문헌: (Liua, K. et al., J. Chromatogr A. 2004, 1055, 71-76.)

화학식 45



(compound 32)

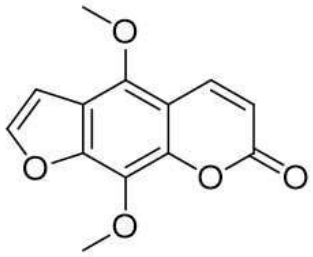
[0400]

[0401] **화합물 33(compound 33); 이소핌피넬린 [isopimpinellin) (공지 화합물)**

[0402] 분자식: $C_{13}H_{10}O_5$ (분자량 246.22)

[0403] 물성치 동정 관련 참고문헌: (Liua, K. et al., J. Chromatogr A. 2004, 1055, 71-76.)

화학식 46



(compound 33)

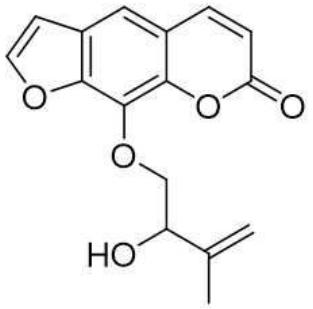
[0404]

[0405] **화합물 34(compound 34); 이소가스페롤 [*isogosferol*] (공지 화합물)**

[0406] 분자식: $C_{16}H_{14}O_5$ (분자량 286.28)

[0407] 물성치 동정 관련 참고문헌: (Liua, K. et al., J. Chromatogr A. 2004, 1055, 71-76.)

화학식 47



(compound 34)

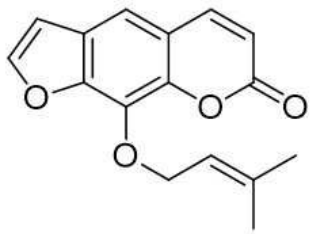
[0408]

[0409] **화합물 35(compound 35); 임페라토린 [imperatorin] (공지 화합물)**

[0410] 분자식: $C_{16}H_{14}O_4$ (분자량 270.28)

[0411] 물성치 동정 관련

화학식 48



(compound 35)

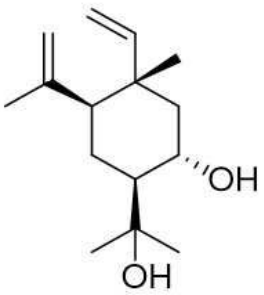
[0412]

[0413] **화합물 36(compound 36); 8α,11-엘레모디올 [8α,11-elemodiol (공지 화합물)**

[0414] 분자식: $C_{15}H_{26}O_2$ (분자량 238.37)

[0415] 물성치 동정 관련 참고문헌: (Li, D.; Jiang et al., Phytochemistry 2016, 122, 294-300.)

화학식 49



(compound 36)

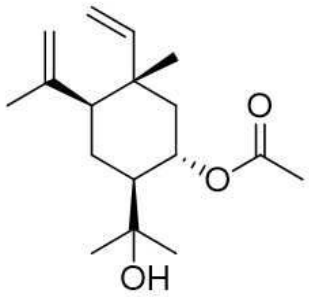
[0416]

[0417] **화합물 37(compound 37); 8α-아세톡시엘레몰[8α-acetoxyelemol (공지 화합물)**

[0418] 분자식: $C_{17}H_{28}O_3$ (분자량 280.41)

[0419] 물성치 동정 관련 참고문헌: (San Feliciano, A. et al., Phytochemistry 1988, 27, 2241-2248.)

화학식 50



(compound 37)

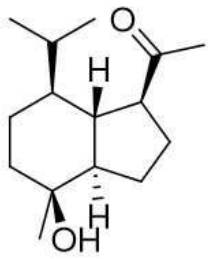
[0420]

[0421] **화합물 38(compound 38); 오폴로파논 [oplopanone] 공지 화합물)**

[0422] 분자식: $C_{15}H_{26}O_2$ (분자량 238.37)

[0423] 물성치 동정 관련 참고문헌: (Herz, W.; Watanabe, K. Phytochemitry 1983, 22, 1457-1459.)

화학식 51



(compound 38)

[0424]

[0425] **실험예 1. 상산나무 잎 추출물의 아디포넥틴 분비 효능 및 지방분화 효능 평가**

[0426] 상기 실시예의 상산나무 추출물 및 이로부터 분리된 화합물들의 아디포넥틴 분비 효능 및 지방분화 효능을 확인하기 위하여 하기와 같이, 기존 문헌에 기재된 방법을 응용하여 실험을 수행하였다. (Ahn, S., el al., (2019). Adiponectin-secretion-promoting phenylethylchromones from the agarwood of *Aquilaria malaccensis*. Journal of natural products, 82(2), 259-264).

[0427] **1-1. 실험 과정**

[0428] 상산나무 잎에서 분리한 화합물의 아디포넥틴 분비 촉진 효능을 분석하기 위하여, 아디포넥틴 ELISA를 수행하였다. 구체적으로 인간 골수에서 유래한 중간엽 줄기세포 (Human bone marrow mesenchymal stem cell, hBM-MSC)에 인슐린, 덱사메타손, 아이소부틸메틸잔틴 (IDX)로 구성된 지방분화 유도 배지에 상산나무 유래 화합물을 10 mM로 1차 처리하고 5일간 배양한 후, 동일한 조건으로 2차처리하여 24시간 후 세포 상층액을 회수하여

Quantikine™ immunoassay kit (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)를 사용하여 제조사의 프로토콜에 따라 아디포넥틴 농도를 정량하였다.

[0429] 추가적으로 활성이 우수한 화합물 4, 7, 22, 23, 24에 대해 농도의존적 아디포넥틴 분비 촉진능을 정량 분석하였다. 양성 대조군으로 레스베라트롤, 아스피린, 글리벤클라마이드, 피오글리타존을 사용하였다. 또한 지방분화가 진행된 중간엽 줄기세포의 지질 방울 형성을 측정하기 위하여 세포를 DPBS로 세척 후 포름알데히드로 30분간 고정한 후 60% 이소프로판올로 세척하였다. 이후 60% 오일 레드 오 (oil re o) 염색약을 이용하여 지질을 염색하고, 물로 세척한 후 헤마톡실린(hepatoxylin) 용액을 이용하여 세포를 염색한 후 현미경을 이용해 관찰하였다.

[0430] **1-2. 실험결과**

[0431] 상산나무 잎에서 유래한 화합물 38종 중 4, 5, 7, 10, 11, 12, 13, 16, 22, 23, 24, 29, 35, 38은 표2 에서 확인되는 바와 같이 hBM-MSC 지방분화 모델에서 아디포넥틴 분비를 유의미하게 촉진시켰다. 표2 에서 이들 중 활성이 우수한 4, 7, 22, 23, 24를 대상으로 농도의존적인 아디포넥틴 분비 촉진능을 검증한 결과,

[0432] EC_{50}값은 화합물 4에서 13.8 mM, 화합물 7에서 9.0 mM, 화합물 22에서 25.8mM인 것으로 나타났으며, 그 외 화합물 23, 24의 경우 EC_{50}값이 30 mM을 초과함을 확인하였다. 또한 이들은 도 1C에서 확인되는 바와 같이 지방 분화 모델에서 지질 방울의 형성을 증가시켰기에 인슐린 감수성을 증가시킴을 확인할 수 있다.

표 2

[0433] **분리 화합물들의 아디포넥틴 분비 효능 및 지방분화 효능결과**

Test sample	Adiponection(pg/ml) at 10μM (IDX =100 pg/ml)	EC_{50} [μM]
Compound 1	164.0 ± 15.4	ND
Compound 2	100.8 ± 3.7	ND
Compound 3	150.3 ± 34.2	ND
Compound 4	309.7 ± 42.6**	13.8
Compound 5	198.4 ± 29.6*	> 30.0
Compound 6	115.1 ± 17.3	ND
Compound 7	272.3 ± 28.4**	9.0
Compound 8	98.5 ± 4.2	ND
Compound 9	150.2 ± 6.8	ND
Compound 10	183.3 ± 33.0*	> 30.0
Compound 11	180.9 ± 16.0*	> 30.0
Compound 12	198.5 ± 3.2*	> 30.0
Compound 14	79.9 ± 15.8	ND
Compound 15	89.2 ± 2.6	ND
Compound 16	173.0 ± 26.3	ND
Compound 17	76.2 ± 1.1	ND
Compound 20	135.4 ± 9.6	ND
Compound 21	71.0 ± 8.5	ND
Compound 22	304.6 ± 41.3**	25.8
Compound 23	251.2 ± 34.0**	> 30.0
Compound 25	149.1 ± 37.9	ND
Compound 26	123.8 ± 15.1	ND
Compound 27	34.9 ± 10.0	ND
Compound 28	141.5 ± 23.7	ND
Compound 29	175.8 ± 53.8*	> 30.0
Compound 36	132.8 ± 19.6	ND
Compound 37	161.0 ± 6.5	ND
Compound 38	202.7 ± 10.0**	> 30.0
**p<0.01, *p<0.05		

[0434] **실험예 2. 상산나무 잎 추출물 분리 화합물의 핵수용체 타겟 검증 평가**

[0435] 상기 실시예의 상산나무 추출물 및 이로부터 분리된 화합물들의 핵수용체 타겟 검증을 위해 TR-FRET 경쟁적 결합시험 및 공활성화 실험으로 분석효능을 확인하기 위하여 하기와 같이, 기존 문헌에 기재된 방법을 응용하여 실험을 수행하였다. (Ahn, S., et al., (2019). Adiponectin-secretion-promoting phenylethylchromones from the agarwood of *Aquilaria malaccensis*. Journal of natural products, 82(2), 259-264).

[0436] **2-1. 실험 과정**

[0437] 상산나무 잎에서 분리한 화합물의 아디포넥틴 분비 촉진 효능과 관련된 직접적 분자 타겟 규명을 위하여 TR-FRET 기반의 핵수용체 경쟁적 결합 시험 및 공활성화 실험을 수행하였다.

[0438] 구체적으로 Lanthascreen™ competitive binding assay kit (Cat. No. PV4892, PV4893, PV4894, Invitrogen)를 이용하여 PPARa, PPARg, 및 PPARd에 대해 리간드 (상산나무 유래 화합물)의 결합능력을 평가하였고, Lanthascreen™ coactivation assay kit (Invitrogen, Cat. No. PV4658, PV4833)를 이용하여 LXRb 및 FXR에 대한 리간드의 공활성화 효능을 평가하였다.

[0439] 이때 양성대조군으로 PPAR α의 경우 GW7647(Cat. No. 1677, Tocris), PPAR γ의 경우 GW1929 (Cat. No. 1664, Tocris), PPAR δ의 경우 GW501516 (Cat. No. 5674, Tocris), LXR b의 경우 T0901317 (Cat. No. 2373, Tocris), FXR의 경우 GW4064 (Cat. No. 2473, Tocris)를 사용하였다.

[0440] **2-2. 실험결과**

[0441] 표 3-4 및 도 2에 기재된 바와 같이, 상산나무 잎에서 화합물 4와 22는 PPARg에 대해 선택적으로 결합하였으며, PPARa, PPARd에 결합하지 않았고, LXRb 및 FXR를 공활성화 시키지 않았다. 이에 PPARg에 대한 농도의존적 결합능을 분석한 결과 화합물 4의 Ki 값은 3.0 mM 이었으며, 화합물 22의 Ki 값은 10.7 mM 이었다. 이에 따라 상산나무 잎 유래 화합물 4와 22는 PPARg에 대한 선택적 조절제로 작용함을 규명하였다.

표 3

[0442] **도 2A의 화합물 4와 22의 TR-FRET 경쟁적 결합시험 및 공활성화 실험으로 분석한 결과**

	PPARa at 10 μM [%]	PPARg at 10 μM [%]	PPARd at 10 μM [%]	LXRb at 10 μM [%]	FXR at 10 μM [%]
Compound 4	11.7 ± 3.1	54.0 ± 2.0**	26.3 ± 9.2	4.1 ± 5.9	8.7 ± 10.7
Compound 22	8.0 ± 3.5	45.8 ± 1.6**	12.1 ± 5.3	13.4 ± 2.4	5.5 ± 8.7
**p<0.01, *p<0.05					

표 4

[0443] **도 2B의 화합물 4와 22의 PPAR γ 결합능을 확인한 결과**

Test sample	PPAR γ binding	
	IC_{50} [μM]	Ki [μM]
Compound 4	8.4	3.0
Compound 22	29.9	10.7

[0444] **실험예 3. 상산나무 잎 추출물 분리 화합물의 PPAR γ에 대한 공동활성화 효과평가**

[0445] 상기 실시예의 상산나무 잎 추출물 및 이로부터 분리된 화합물들의 PPAR γ에 대한 공동활성화 효과을 확인하기 위하여 하기와 같이, 기존 문헌에 기재된 방법을 응용하여 실험을 수행하였다. (Ahn, S., Ma, C. T., Choi, J. M., An, S., Lee, M., Le, T. H. V., et al. (2019). Adiponectin-secretion-promoting phenylethylchromones from the agarwood of *Aquilaria malaccensis*. Journal of natural products, 82(2), 259-264).

[0446] **3-1. 실험과정**

[0447] 상산나무 잎 유래 화합물 (화합물 4, 12)이 PPARg 공활성화에 미치는 영향을 평가하기 위해 TR-FRET 기반 PPARg

공활성화 효능 분석을 수행하였다.

[0448] 구체적으로, C33 (서열번호 1: HVEMHPLLMGLLMESQWGA), PGC1 α (서열번호 2: EAEEPSLLKKLLLAPANTQ), PRIP/RAP250 (서열번호 3: VTLTSPLLVNLLQSDISAG), SRC1 (서열번호 4: LTARHKILHRLLQEGSPSD), SRC2 (서열번호 5: LKEKHKILHRLLQDSSSPV), SRC3 (서열번호 6: ESKGHKKLLQ LLTCSSDDR), TRAP220/DRIP-2 (서열번호 7: NTKNHPMLMNLLKDNPAQD)을 이용하여 화합물 4 및 22를 각 10 mM의 농도로 처리한 후 공활성화 정도를 측정하였다. 또한 공활성화 펩타이드 SRC1, SRC3, PRIP/RAP250에 대해 농도의존적인 공활성화 효능을 측정하였다.

[0449] **3-1. 실험결과**

[0450] 표 5 및 도 3에 기재된 바와 같이, 상산나무 잎에서 유래한 화합물 4와 22는 공활성자 펩타이드 SRC1, SRC3, PRIP/RAP250을 공활성화 시키는 것을 확인하였다. 또한 SRC1 및 SRC3을 공활성자 펩타이드로 사용하였을 때 화합물 4의 공활성화 효능을 정량화한 결과 EC50 값은 각각 9.8 mM, 15.5 mM 인 것으로 확인되었다.

[0451] 화합물 22는 SRC1 및 SRC3에 대해 EC50 값이 30 mM 초과인 것으로 나타났다. PRIP/RAP250을 공활성자 펩타이드로 사용하였을 때 화합물 4, 22의 EC50값은 각각 7.4, 17.3 mM인 것으로 나타났다. 따라서 상산나무 잎 유래 화합물 4와 22는 PPARg에 대한 선택적 효능제로 작용함을 규명하였다.

표 5

[0452] **도 3A의 화합물 4와 22의 PPAR γ에 대한 공동활성화 효과 결과**

	PPARg coactivation [%]						
	PGC1a	SRC1	SRC2	SRC3	PRIP/ RAP250	TRAP220/ DRIP2	C33
Compound 4	4.6 ± 8.6	51.1 ± 14.7**	16.4 ± 10.1	48.2 ± 7.6**	49.3 ± 6.6**	7.1 ± 9.5	5.3 ± 11.3
Compound 22	2.4 ± 5.7	28.1 ± 2.8	19.4 ± 9.6	29.2 ± 6.1	41.2 ± 5.3**	5.5 ± 7.9	18.7 ± 1.5
**p<0.01, *p<0.05							

표 6

[0453] **도 3B의 화합물 4와 22의 PPAR γ에 대한 공동활성화 효과에 결과**

Test sample	EC50 of PPARγ coactivation [μM]		
	SRC1	SRC3	PRIP/RAP250
Compound 4	9.8	15.5	7.4
Compound 22	>30.0	>30.0	17.3

[0454] **실험예 4. 상산나무 잎 추출물 분리 화합물의 PPARg에 대한 결합 모드 분석평가**

[0455] 상기 실시예의 상산나무 추출물 및 이로부터 분리된 화합물들의 PPARg에 대한 결합 모드 분석을 확인하기 위하여 하기와 같이, 기존 문헌에 기재된 방법을 응용하여 실험을 수행하였다. (Ahn, S., et al. (2019). Adiponectin-secretion-promoting phenylethylchromones from the agarwood of *Aquilaria malaccensis*. Journal of natural products, 82(2), 259-264).

[0456] **4-1. 실험과정**

[0457] 상산나무 잎 유래 화합물의 PPARg에 대한 결합 모드 분석을 확인하기 위해 분자 모델링 연구를 Discovery Studio 소프트웨어(Dassault Systemes, BIOVIA Corporation, San Diego, CA, USA)를 이용하여 수행하였다. RCSB Protein data bank에서 PPARg 결정구조(PDB ID: 5U5L)를 다운로드 하였다. 양성 대조군으로 피오글리타존을 사용하였다. 분자모델링 결과에 따라 화합물 4 및 22의 특성을 실험적으로 규명하기 위하여, TR-FRET 기반 PPARg 공활성 분석기법을 활용해 피오글리타존과 상산나무 잎에서 유래한 화합물을 동시에 처리하였을 때 공활성화 효능에 미치는 영향을 분석하였다. 이 때 사용된 공활성자 펩티드는 PRIP/RAP250 이었다.

[0458] **4-2. 실험결과**

[0459] 표 7 및 도 4에 기재된 바와 같이, 분자모델링 결과 상산나무 잎 유래 화합물 4는 피오글리타존과 유사하게 PPARg의 사슬 3을 감싸는 C자 형태의 결합 형태를 나타났으며, 친수성 영역 및 소수성 영역에 모두 위치하여 Tyr473과 상호작용함을 확인하였다. 화합물 22는 PPARg의 소수성 영역에 존재하며, Tyr473과 상호작용하지 않음을 확인하였다. 이에 따라 화합물 4는 PPARg에 대한 완전 효능제로 작용하는 반면, 화합물 22는 PPARg에 대한 부분 효능제로 작용할 수 있음을 제시하였다. 이후 실험적 검증을 위해 TR-FRET 기반 PPARg 공활성화 분석을 진행하였다. 하기 표 7에 기재된 바와 같이 화합물 4 및 22를 PPARg 완전 효능제인 피오글리타존과 함께 처리하였을 때, 화합물 4는 피오글리타존에 의한 공활성화 효능에 대한 상승작용을 나타내는 반면, 화합물 22는 피오글리타존에 의한 공활성화 효능을 억제함을 확인하였다. 따라서 화합물 4는 PPARg에 대한 완전 효능제로, 화합물 22는 PPARg에 대한 부분 효능제로 기능함을 확인하여 대사질환 치료제로 활용가능한 새로운 약리단을 제시하였다.

표 7

[0460] **도 4D의 PPAR γ 공활성자의 활성에 미치는 영향을 TR-FRET을 기반으로 분석 실험 결과**

PPARg coactivation [%]					
	피오글리타존 농도 [μM]				
	30 μM	10 μM	3 μM	1 μM	0.3 μM
피오글리타존 단독처리	83.5 ± 9.2	64.5 ± 12.9	49.6 ± 9.8	41.7 ± 16.3	29.6 ± 9.8
피오글리타존 + Compound 4	102.9 ±17.0**	106.9±11.9**	95.0 ±6.6**	83.7 ± 3.2**	68.5±12.1**
피오글리타존 + Compound 22	62.1 ± 7.8#	49.9 ± 8.7#	46.2 ± 6.8	30.7 ± 0.4	33.8 ± 8.7
**p<0.01, *p<0.05					

[0461] **실험예 5. 상산나무 잎 추출물 분리 화합물의 중간엽 줄기세포를 활용한 대사염증 억제능 확인실험**

[0462] 상기 실시예의 상산나무 추출물 및 이로부터 분리된 화합물들의 중간엽 줄기세포를 활용한 대사염증 억제능을 확인하기 위하여 하기와 같이, 기존 문헌에 기재된 방법을 응용하여 실험을 수행하였다. (Shin, J. H. et al.,. (2009). Interleukin-17A inhibits adipocyte differentiation in human mesenchymal stem cells and regulates pro-inflammatory responses in adipocytes. Biochemical pharmacology, 77(12), 1835-1844.)

[0463] **5-1. 실험방법**

[0464] 상산나무 잎 추출물 및 분획물의 대사염증 억제능을 평가하기 위하여 중간엽 줄기세포를 활용하여 ELISA를 수행하였다.

[0465] 먼저 중간엽 줄기세포에 aspirin 전처리(300 mM)를 수행한 후 상산나무 잎 추출물 및 분획물을 각각 30 mg/ml, 10 mg/ml의 농도로 처리하고 24시간 후에 상층액을 회수하여 ELISA를 이용해 프로스타글란딘 E2 생합성 억제능을 평가하였다. 이와 동일하게 상산나무 잎 유래 화합물의 대사염증 억제능을 평가하기 위하여 동일한 방법으로 프로스타글란딘 E2 생합성 억제능을 평가하였다.

[0467] **5-2. 실험결과**

[0468] 하기 표 8-9에 기재된 바와 같이, 상산나무 잎 추출물 및 헥산 분획물, 클로로포름 분획물, 에틸아세테이트 분획물은 프로스타글란딘 E2 생합성을 억제함을 확인하였다.

[0469] 또한 상산나무 유래 화합물 38종 중 화합물 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 11, 13, 18, 19, 20, 21, 27, 35에서 프로스타글란딘 E2 생합성 억제효능을 나타냈다. 이에 따라 상산나무 잎 추출물 및 분획물, 단일 화합물이 대사염증 억제능을 가짐을 규명하였다.

표 8

[0470] **도 5A의 상산나무 잎 유래 추출물 및 분획물 (n-hexane, chloroform, ethyl acetate, water)의 프로스타글란딘 E2 생성 억제능 실험 결과**

Test sample	프로스타글란딘 E2 생성 양 [pg/ml] (DMEM = 100 pg/ml)	
Concentration of extract or fractions	30㎍/ml	10㎍/ml
Total ext	39.3 ± 6.8**	50.7 ± 6.4**
Hexane fraction	63.3 ± 6.0*	83.6 ± 7.6
Chloroform fraction	54.7 ± 4.3*	77.6 ± 1.5
EthylacetateFraction	39.1 ± 4.3**	62.3 ± 8.0*
Water fraction	100.0 ± 7.9	123.5 ± 9.0
**p<0.01, *p<0.05		

표 9

[0471] **도 5B의 상산나무 잎 유래 화합물 38종의 프로스타글란딘 E2 생성 억제능 실험 결과**

Test sample	프로스타글란딘 E2 생성 양 [pg/ml] at 10μM (DMEM = 100 pg/ml)
Compound 1	65.5 ± 1.9*
Compound 2	24.9 ± 2.9**
Compound 3	65.1 ± 12.3*
Compound 4	23.7 ± 3.1**
Compound 5	53.0 ± 3.7*
Compound 6	19.5 ± 1.3**
Compound 7	89.4 ± 1.4
Compound 8	39.4 ± 1.3**
Compound 9	44.2 ± 3.8**
Compound 10	74.5 ± 10.8
Compound 11	55.0 ± 2.4*
Compound 12	82.7 ± 2.6
Compound 14	76.8 ± 10.9
Compound 15	114.2 ± 21.6
Compound 16	96.1 ± 24.1
Compound 17	82.7 ± 5.2
Compound 20	30.8 ± 1.0**
Compound 21	42.4 ± 1.2**
Compound 22	108.7 ± 4.8
Compound 23	129.5 ± 3.8
Compound 25	107.5 ± 3.1
Compound 26	109.2 ± 1.7
Compound 27	64.6 ± 11.3*
Compound 28	79.0 ± 2.5
Compound 29	95.0 ± 2.8
Compound 36	94.0 ± 4.9
Compound 37	110.2 ± 3.8
Compound 38	91.9 ± 7.9
**p<0.01, *p<0.05	

[0473] 하기에 본 발명의 시료 추출물/화합물을 포함하는 조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[0474] **제제예 1. 산제의 제조**

[0475] 추출물 (OJLM)) ---------- 20 mg

[0476] 유당 ---------- 100 mg

[0477] 탈크 ---------- 10 mg

[0478] 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충진하여 산제를 제조한다.

[0480] **제제예 2. 정제의 제조**

[0481] 화합물 2---------- 10 mg

[0482] 옥수수전분 ---------- 100 mg

[0483] 유당 ---------- 100 mg

[0484] 스테아린산 마그네슘 ---------- 2 mg

[0485] 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

[0487] **제제예 3. 캅셀제의 제조**

[0488] 화합물 4---------- 10 mg

[0489] 결정성 셀룰로오스 ---------- 3 mg

[0490] 락토오스 ---------- 14.8 mg

[0491] 마그네슘 스테아레이트 ---------- 0.2 mg

[0492] 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.

[0494] **제제예 4. 주사제의 제조**

[0495] 화합물 22 ---------- 10 mg

[0496] 만니톨 ---------- 180 mg

[0497] 주사용 멸균 증류수 ---------- 2974 mg

[0498] $Na_2HPO_4,12H2O$ ---------- 26 mg

[0499] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당(2 ㎖) 상기의 성분 함량으로 제조한다.

[0501] **제제예 5. 액제의 제조**

[0502] 추출물 (OJLM)) ---------- 20 mg

[0503] 이성화당 ---------- 10 g

[0504] 만니톨 ---------- 5 g

[0505] 정제수 ---------- 적량

[0506] 통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100 ㎖으로 조절한 후 갈색병에 충진하여 멸균시켜 액제를 제조한다.

[0508] **제제예 6. 건강 식품의 제조**

[0509] 추출물 (OJLW) ---------- 1000 mg

[0510] 비타민 혼합물 ---------- 적량

[0511] 비타민 A 아세테이트 ---------- 70 ㎍

[0512] 비타민 E ---------- 1.0 mg

[0513] 비타민 B1 ---------- 0.13 mg

[0514] 비타민 B2 ---------- 0.15 mg

[0515] 비타민 B6 ---------- 0.5 mg

[0516] 비타민 B12 ---------- 0.2 ㎍

[0517] 비타민 C ---------- 10 ㎎

[0518] 비오틴 ---------- 10 ㎍

[0519] 니코틴산아미드 ---------- 1.7 ㎎

[0520] 엽산 ---------- 50 ㎍

[0521] 판토텐산 칼슘 ---------- 0.5 ㎎

[0522] 무기질 혼합물 ---------- 적량

[0523] 황산제1철 ---------- 1.75 ㎎

[0524] 산화아연 ---------- 0.82 ㎎

[0525] 탄산마그네슘 ---------- 25.3 ㎎

[0526] 제1인산칼륨 ---------- 15 ㎎

[0527] 제2인산칼슘 ---------- 55 ㎎

[0528] 구연산칼륨 ---------- 90 ㎎

[0529] 탄산칼슘 ---------- 100 ㎎

[0530] 염화마그네슘 ---------- 24.8 ㎎

[0531] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

[0533] **제제예 7. 건강 음료의 제조**

[0534] 화합물 4---------- 1000㎎

[0535] 구연산 ---------- 1000 ㎎

[0536] 올리고당 ---------- 100 g

[0537] 매실농축액 ---------- 2 g

[0538] 타우린 ---------- 1 g

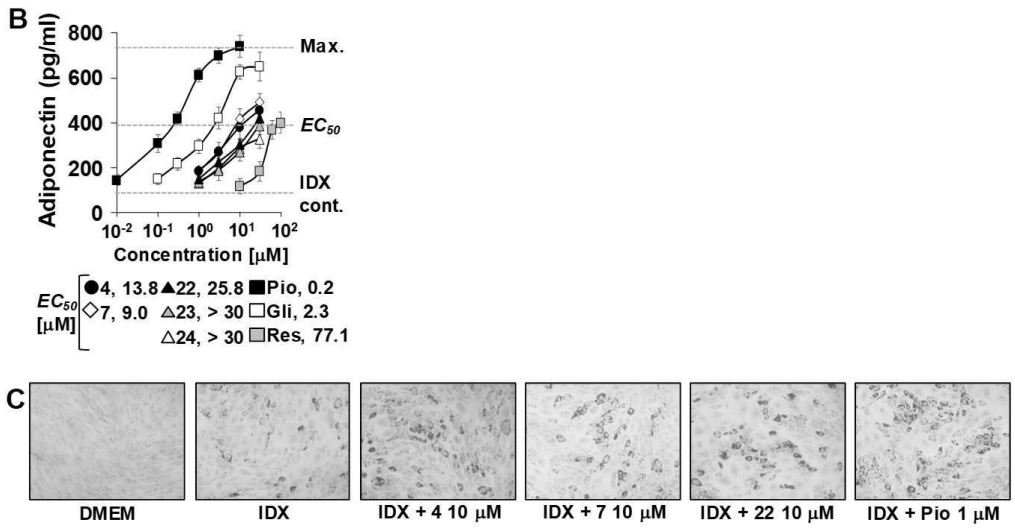
[0539] 정제수를 가하여 ---------- 전체 900 ㎖

[0540] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2ℓ 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.

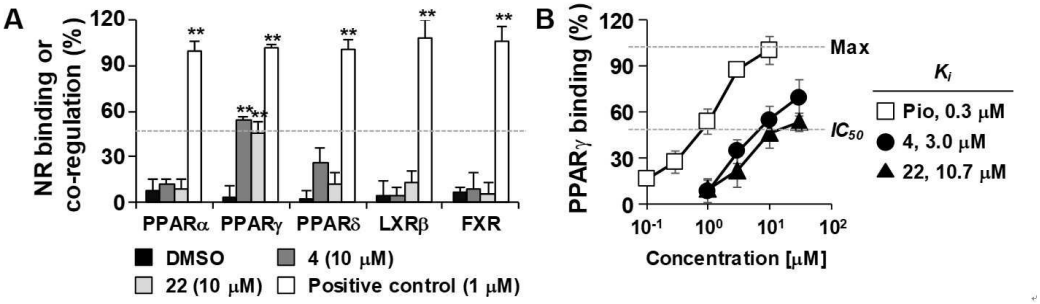
[0541] 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

도면

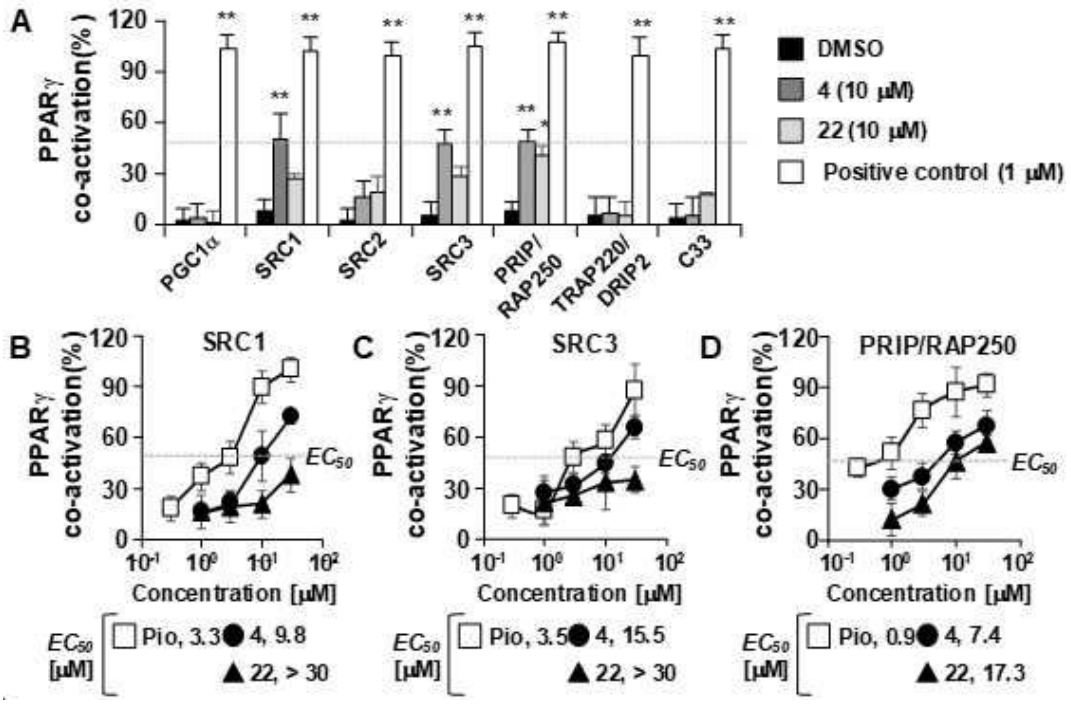
도면1


B
Adiponectin (pg/ml)
800
600
400
200
0
Max.
EC50
IDX
cont.
10-2 10-1 100 101 102
Concentration [μM]
EC50 [μM]
●4, 13.8 ▲22, 25.8 ■Pio, 0.2
◇7, 9.0 △23, > 30 □Gli, 2.3
△24, > 30 ▩Res, 77.1
C
DMEM
IDX
IDX + 4 10 μM
IDX + 7 10 μM
IDX + 22 10 μM
IDX + Pio 1 μM

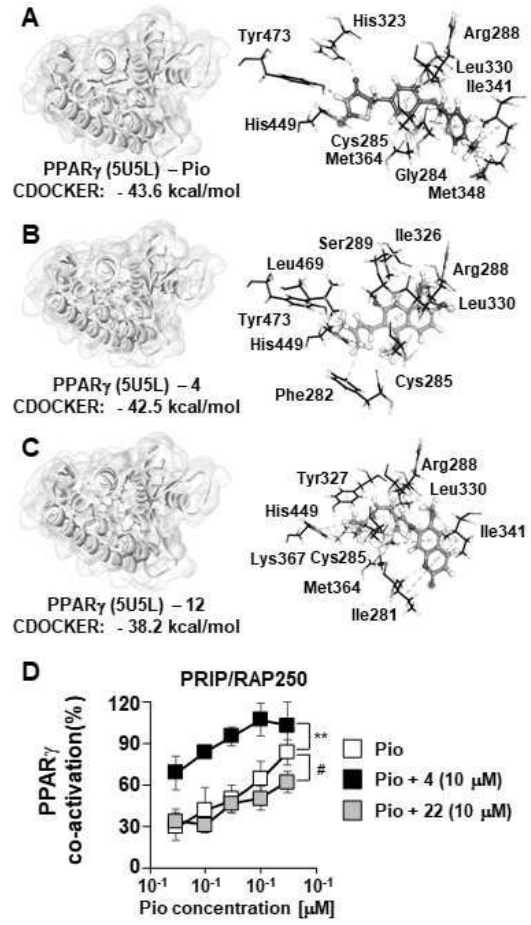
도면2


A
NR binding or co-regulation (%)
120
90
60
30
0
**
PPARα PPARγ PPARδ LXRβ FXR
DMSO
4 (10 μM)
22 (10 μM)
Positive control (1 μM)
B
PPARγ binding (%)
Max
IC50
Ki
Pio, 0.3 μM
4, 3.0 μM
22, 10.7 μM
10-1 100 101 102
Concentration [μM]

도면3


A
PPARγ co-activation(%)
DMSO
4 (10 μM)
22 (10 μM)
Positive control (1 μM)
PGC1α
SRC1
SRC2
SRC3
PRIP/RAP250
TRAP220/DRIP2
C33
B
SRC1
C
SRC3
D
PRIP/RAP250
EC50
Concentration [μM]
EC50 [μM]
Pio, 3.3 4, 9.8 22, > 30
Pio, 3.5 4, 15.5 22, > 30
Pio, 0.9 4, 7.4 22, 17.3

도면4


A
PPARγ (5U5L) – Pio
CDOCKER: - 43.6 kcal/mol
Tyr473
His323
Arg288
Leu330
Ile341
His449
Cys285
Met364
Gly284
Met348
B
PPARγ (5U5L) – 4
CDOCKER: - 42.5 kcal/mol
Ser289
Ile326
Leu469
Arg288
Leu330
Tyr473
His449
Phe282
Cys285
C
PPARγ (5U5L) – 12
CDOCKER: - 38.2 kcal/mol
Tyr327
Arg288
Leu330
His449
Ile341
Lys367
Cys285
Met364
Ile281
D
PRIP/RAP250
PPARγ co-activation(%)
Pio
Pio + 4 (10 μM)
Pio + 22 (10 μM)
Pio concentration [μM]

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.