

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl.⁶
C07H 15/20
A61K 31/70

(45) 공고일자 1999년01월 15일
(11) 등록번호 특0169536
(24) 등록일자 1998년 10월 12일

(21) 출원번호 특 1996-004879 (65) 공개번호 특 1997-061910
(22) 출원일자 1996년 02월 27일 (43) 공개일자 1997년 09월 12일

(73) 특허권자 제일제당주식회사 손경식
서울특별시 중구 남대문로 5가 500번지박만기

(72) 발명자 경기도 성남시 분당구 구미동 66 신원아파트 310-1502호 박만기
경기도 성남시 분당구 구미동 66 신원아파트 310-1502 이승기
서울특별시 서초구 반포동 34-13 한신한강아파트 5-803 박정일
서울특별시 강남구 일원본동 한솔마을아파트 301-208호 김중문
서울특별시 송파구 잠실 2동 주공아파트 229-313 이광열
대전광역시 동구 자양동 105-1 한상범
서울특별시 관악구 봉천 4동 1577-24 (17/4) 최규팔, 김석중

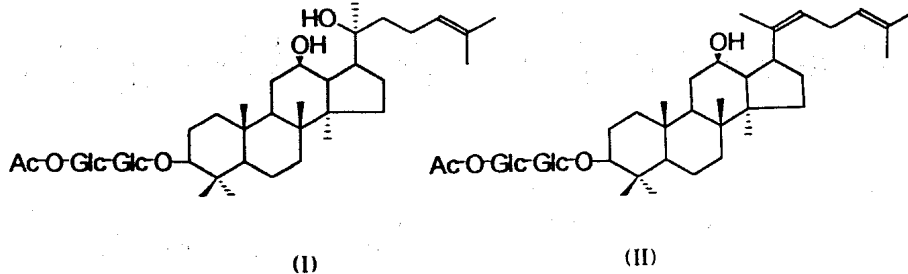
(74) 대리인

심사관 : 안소영

(54) 신규한 인삼 사포닌, 그의 제조방법 및 이를 유효성분으로 하는 항종양제

요약

본 발명은 강력한 항암효과를 나타내는 신규한 인삼 사포닌인 하기 구조식 (I) 및 (II) 의 화합물에 관한



것이다.

상기 화합물 (I) 및 (II)는 신규한 화합물로 인삼속 식물을 110 내지 180℃의 고온에서 0.5 내지 20시간 동안 가열함으로써 생성되거나, 각각 공지의 인삼 사포닌인 진세노사이드 Rg₃ 및 Δ²⁰⁽²²⁾-진세노사이드 Rg₃를 아세틸화시켜 합성할 수도 있다. 본 발명은 또한 이들 화합물 (I) 및 (II)를 활성성분으로서 함유하는 항종양제 조성물에 관한 것이다.

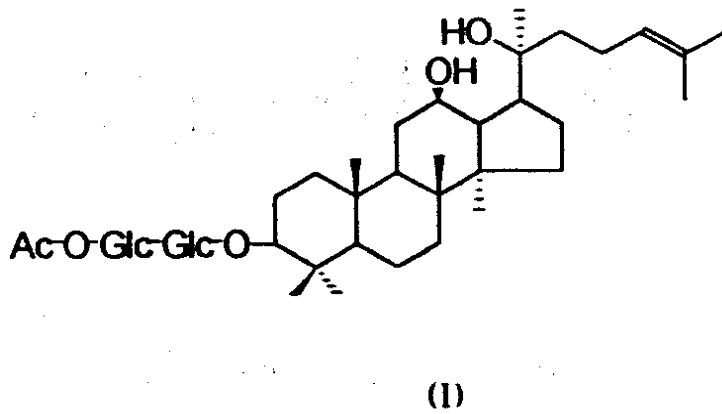
명세서

[발명의 명칭]

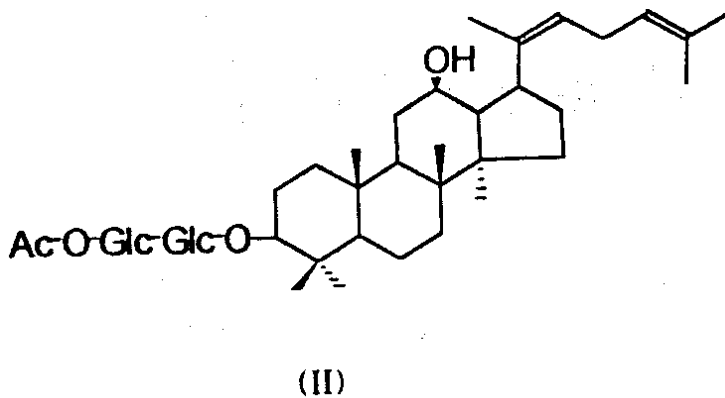
신규한 인삼 사포닌, 그의 제조 방법 및 이를 유효 성분으로 하는 항종양제

본 발명은 항종양 효과를 갖는 신규한 인삼 사포닌에 관한 것이다. 더욱 구체적으로, 본 발명은 강력한 항종양 효과를 갖는 하기 구조식 (I) 및 (II)의 신규한 인삼 사포닌, 그의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 항종양제 조성물에 관한 것이다.

화학식 1



화학식 2

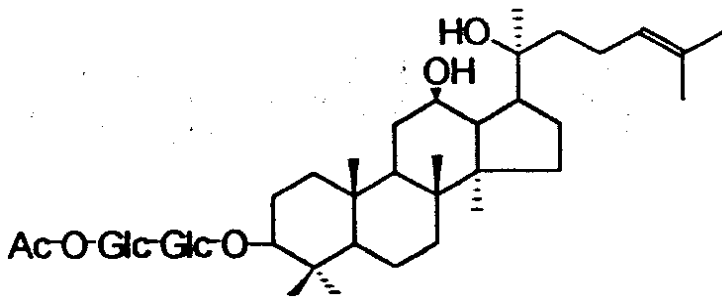


인삼 중에서 고려 홍삼의 효과에 대한 약리학적 및 생화학적 연구는 대부분 인삼의 약효를 주로 나타내는 것으로 알려져 있는 다량의 사포닌을 중심으로 하여 이루어지고 있다. 그러나, 홍삼에 단지 미량으로 함유되어 있는 미량 사포닌 성분에 대한 연구는 성분 자체를 분리하는 것이 매우 어렵기 때문에 지금까지 극히 일부에서만 다루어지고 있다.

이에 본 발명자들은 인삼을 특정의 조건하에서 처리함으로써 그의 특이 성분들의 함량을 증가시켜 인삼의 약효를 강화시키고, 또한 각 성분을 분리하여 그에 대한 약효 등의 연구를 가능하게 할 수 있는 수단을 집중적으로 연구하여 왔으며, 그 결과 인삼을 110 내지 180℃의 고온에서 0.5 내지 20시간 동안 가열하여 처리하게 되면 인삼중에 미량으로 존재하던 유효성분들의 함량이 증가하여 기존의 수삼이나 백삼 또는 홍삼보다는 약효가 훨씬 증강된 가공인삼이 제조되는 것을 확인하였다. 이 가공인삼에 존재하는 각종 성분들을 분리하여 약효를 검증하는 과정에서 본 발명자들은 이제까지 밝혀지지 않은 새로운 성분을 발견하고 그 구조와 약효, 제조 방법에 관한 연구를 수행하여 본 발명을 완성하게 되었다. 따라서, 본 발명은 인삼중에 존재하는 새로운 활성성분으로 밝혀진 사포닌 화합물에 관한 것이다.

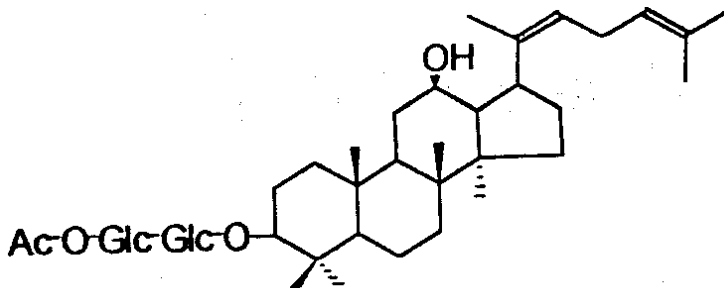
본 발명의 첫 번째 목적은 하기 구조식 (I) 및 (II)로 표시되는 신규한 인삼 사포닌 화합물을 제공하는 것이다.

화학식 3



(I)

화학식 4



(II)

본 발명은 또한 상기 구조식 (I) 및 (II)의 신규한 인삼 사포닌 화합물을 제조하는 방법을 제공한다. 본 발명의 화합물 (I) 및 (II)는 파낙스속 식물을 가공 처리한 것으로부터 추출하는 방법에 의해서 수득하거나, 또는 공지의 진세노사이드 성분으로부터 합성적 방법에 의해 수득할 수 있다.

우선, 추출방법에 따르면 파낙스속 식물, 예를 들면 파낙스 진생(Panax ginseng), 파낙스 노토진생(Panax notoginseng), 파낙스 퀸케폴리움(Panax quinque-folium), 파낙스 야포니쿠스(Panax japonicus) 등의 뿌리나 잎, 이들 식물의 조직배양물, 또는 이들의 물 또는 저급알콜에 의한 추출물을 110 내지 180°C의 온도에서 0.5내지 20 시간 동안 가열 처리하고, 수득된 가공인삼을 물 또는 적절한 유기용매, 예를 들면 메탄올, 에탄올 등의 저급알콜 용매, 또는 이들의 혼합물로 추출한 후에 추출물을 비극성 유기용매, 예를 들면 헥산, 에테르, 디클로로메탄, 클로르포름, 에틸아세테이트 또는 이들의 혼합용매로 추출한 후에 남은 수층을 부탄올과 같은 극성 유기 용매로 추출하고 이 추출물을 크로마토그래피하여 화합물(I) 및 (II)를 함유하는 분획을 수득하고, 이 분획을 적절한 용매계, 즉 물과 저급알콜의 혼합용매, 바람직하게는 물과 메탄올이 1:1의 용량비로 혼합된 용매계로부터 결정화시킴으로써 목적하는 순수한 사포닌 화합물 (I) 및 (II)를 수득할 수 있다.

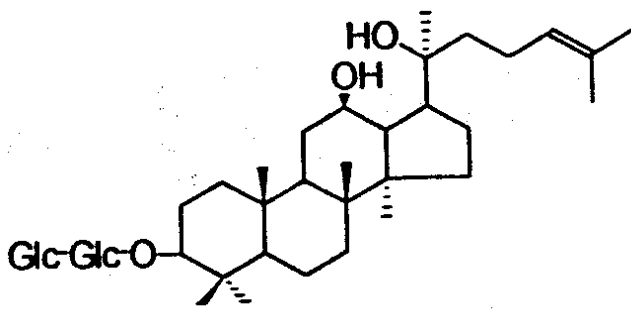
이 방법에서는 인삼을 가열처리하는 과정에서 인삼중에 존재하는 파낙사디올계 사포닌인 진세노사이드 Ra, Rb₁, Rb₂, Rc, Rd 등의 20번 탄소에 결합한 당이 떨어져 나가고 3번 탄소에 결합한 당의 바깥쪽 글루코오스의 6번 위치에 아세틸기가 도입됨으로써 신규한 사포닌 화합물 (I)이 생성되며, 또한 진세노사이드 R_{S1} 및 R_{S2}로부터도 20번 탄소에 결합한 당이 떨어져 나가 사포닌 화합물 (I)이 생성된다. 한편, 사포닌 화합물 (II)는 화합물 (I)의 20번 탄소의 메기와 22번 위치의 수소가 탈수반응을 일으켜 떨어져 나감으로써 생성된다. 이때 20번 위치의 이중결합의 입체구조는 시스(cis) 또는 트랜스(trans)가 생성된다.

상기 본 발명의 추출방법에서는 크로마토그래피를 반복하여 수행함으로써 목적하는 화합물 (I) 및 (I)의 함량을 더욱 증가시킬 수 있다. 또한, 경우에 따라 상기의 과정에서 가열처리하는 단계와 유기용매 추출단계를 바꾸어서 수행하여도 동일한 결과를 얻을 수 있다.

본 발명의 합성방법에 따르면 구조식 (I) 및 (II)의 신규한 사포닌 화합물은 공지의 진세노사이드 화합물을 아세틸화시킴으로써 수득할 수 있다. 즉, 공지의 화합물인 하기 구조식 (III)의 진세노사이드 R_{G3}를 아세틸화시켜 구조식 (I)의 화합물을 수득하거나, 진세노사이드 R_{G3}의 20번 위치에서 탈수반응이 일어나 형성된 공지의 화합물인 하기 구조식 (IV)의 $\Delta^{20(22)}$ -진세노사이드 R_{G3}를 아세틸화시켜 구조식(II)의 화합

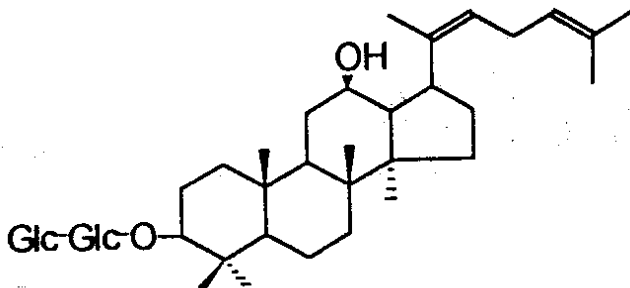
물을 수득할 수 있다.

화학식 5



(III)

화학식 6



(IV)

이러한 아세틸화반응은 무수아세트산(Ac₂O) 또는 아세틸클로라이드를 사용하여 수행할 수 있다. 이 경우에 아세틸화 반응시약은 화합물 (III) 또는 (IV)에 대하여 1:1~4, 바람직하게는 1:1.2~2의 몰비로 사용할 수 있다. 또한 본 반응은 -40℃ 내지 20℃, 바람직하게는 -40℃ 내지 0℃에서 1년 48시간 동안 수행하는 것이 적절하다.

수득된 구조식 (I) 또는 (II)의 신규한 사포닌 화합물은 통상의 후처리 방법, 예를들면, 선택적 결정화, 칼럼크로마토그래피 등의 방법에 의해 더욱 정제할 수 있다.

상기한 바와 같은 본 발명의 방법에 따라 수득된 신규한 사포닌 화합물 (I) 및 (II)는 강력한 항암작용을 가지고 있어 간암, 위암, 백혈병 등의 질환에 대한 예방 및 치료제로서 사용할 수 있다. 따라서, 본 발명은 화합물 (I) 또는 (II) 또는 이들의 혼합물을 활성성분으로서 함유하는 항암제 조성물에 관한 것이다.

본 발명의 화합물 (I) 및 (II)를 함유하는 조성물을 항암제로서 임상적으로 이용시에 본 발명의 조성물은 약제학적 분야에서 통상적인 담체와 함께 배합하여 약제학적 분야에서 통상적인 제제, 예를 들면 정제, 캡슐제, 트로치제, 액제, 현탁제 등의 경구투여용 제제, 주사용 용액 또는 현탁액, 또는 주사시에 주사용 증류수로 재조제하여 사용할 수 있는 즉시 사용형 주사용 건조분말 등의 형태인 주사용 제제, 연고제, 크림제, 액제 등의 국소적용형 제제 등의 다양한 제제로 제형화시킬 수 있다.

본 발명의 조성물에서 사용될 수 있는 담체는 약제학적 분야에서 통상적인 것으로, 예를들어 경구투여용 제제의 경우에는 결정제, 활탁제, 분해제, 부형제, 가용화제, 분산제, 안정화제, 현탁화제, 색소, 향료 등이 있으며, 주사제의 경우에는 보존제, 무통화제, 가용화제, 안정화제 등이 있고, 국소투여용 제제의 경우에는 기제, 부형제, 윤활제, 보존제 등이 있다. 이렇게 제조된 약제학적 제제는 경구적으로 투여하거나, 비경구적으로 예를 들면 정맥내, 피하, 복강내 투여 또는 국소적용할 수 있다. 또한 경구투여시에 약제가 위산에 의해 분해되는 것을 방지하기 위하여 제산제를 병용하거나, 정제등의 경구투여용 고형제제를 장용피로 피복된 제제로 제형화하여 투여할 수도 있다.

본 발명에 따르는 신규한 사포닌 화합물 (I) 및 (II) 의 인체에 대한 투여량은 체내에서의 활성성분의 흡수도, 불활성화율 및 배설속도, 환자의 연령, 성별 및 상태, 치료할 질병의 중증도 등에 따라 적절히 선택되나, 일반적으로는 성인에게 1일에 5내지 500mg, 바람직하게는 10 내지 200mg의 양이 투여되도록 한다. 따라서, 본 발명의 조성물을 단위투여형으로 제조 시에 각각의 단위투여형은 상기 언급된 유효용량 범위를 고려하여 화합물 (I) 또는 (II), 또는 이들의 혼합물을 5 내지 500mg, 바람직하게는 10 내지 200mg를 함유하도록 제형화시킬 수 있다. 이렇게 제형화된 단위투여형은 필요에 따라 약제의 투여를 감시하거나 관찰하는 전문가의 판단과 개인의 요구에 따라 전문화된 투약법을 사용하거나, 일정 시간 간격으로 수회, 바람직하게는 1 내지 6회 분할 투여할 수 있다.

본 발명은 이하의 실시예 및 실험예에 의해 더욱 상세히 설명되나 본 발명이 이들에 의해 어떤 식으로든 제한되는 것은 아니다.

[실시예 1]

[화합물 (I) 및 (II)를 함유하는 인삼추출물의 제조]

밀폐된 용기에 수삼 100g을 넣고 130℃에서 2시간 동안 가열처리하였다. 이 가공인삼을 메탄올 200ml로 추출하여 메탄올 추출물을 얻고 메탄올을 증발시켜 제거한 후에 남은 잔사를 물 100ml에 현탁시켜 에테르 100ml 씩으로 3회 추출한 다음, 남은 수층을 수포화 부탄올 100ml 씩으로 3회 추출하여 사포닌이 함유된 부탄올 추출액을 얻었다. 이 부탄올 추출물을 건조시키고, 에틸아세테이트/메탄올/물(20:1:1)의 혼합용매를 용출제로 사용하여 실리카겔 칼럼상에서 크로마토그래피시키고, 용출물에 대한 TLC(전개용매: 에틸아세테이트/메탄올/물=10:1:1) 분석결과에 의해 Rf 값이 0.25를 나타내는 목적하는 화합물 (I)을 50% 함유하는 분획 30mg 및 Rf 값이 0.27 인 화합물 (II)를 55% 함유하는 분획 25mg을 분리하여 수득하였다.

[실시예 2]

[화합물 (I) 및 (II)를 함유하는 인삼추출물의 제조]

건조된 미삼 10kg에 메탄올 20ℓ를 가하여 수욕상에서 4시간 동안 환류시켜 추출하고 여과하여 수득한 인삼 추출물을 감압하에서 건조시켰다. 수득한 시럽상의 인삼 추출물을 가압멸균기에 넣고 120℃에서 4시간 동안 가열하였다. 가열처리된 인삼 추출물을 실시예 1에서와 동일한 방법으로 실리카겔 칼럼상에서 크로마토그래피시키고, 용출물에 대한 TLC(전개용매:에틸아세테이트/메탄올/물=10:1:1)분석결과에 의해 Rf 값이 0.25를 나타내는 목적하는 화합물 (I)을 50% 함유하는 분획 3g 및 Rf 값이 0.27인 화합물 (II)를 60% 함유하는 분획 2g을 분리하여 수득하였다.

[실시예 3]

[화합물 (I)의 제조]

상기 실시예 2에서 수득한 화합물 (I) 함유 분획 1g을 에틸아세테이트/메탄올/물(20:1:1)의 혼합용매를 용출제로 사용하여 실시예 1에서와 동일한 방법으로 실리카겔 칼럼상에서 크로마토그래피를 3회 반복해서 수행하여 목적하는 화합물 (I)을 92% 함유하는 분획 400mg을 수득하였다. 수득된 분획을 메탄올/물(1:1, v/v)혼합용매로부터 결정화시켜 목적하는 화합물 (I) 200mg을 수득하였다.

수득된 화합물 (I)은 다음과 같은 이화학적 특징을 나타낸다.

화학명 : 3β, 12β, 20β-트리하이드록시-다마르-24-엔-3-O-β-D-글루코피라노실-(1→2)-β-D-6-O-아세틸-글루코피라노사이드

질량스펙트럼(FAB⁺, m/z) : 827([M+H]⁺), 849([M+Na]⁺)

(FAB⁻, M/Z) : 825([M-H]⁻)

탄소핵자기 공명스펙트럼(δ ppm, 피리딘-d5) : 16.1, 16.2, 16.7, 17.1, 17.4, 18.3, 20.9, 22.4, 22.7, 25.5, 26.3, 26.8, 27.7, 30.8, 30.9, 34.8, 35.4, 36.7, 39.1, 39.4, 39.8, 49.2, 50.1, 50.2, 51.6, 56.2, 62.5, 64.5, 70.7, 70.8, 71.1, 75.0, 75.1, 77.6, 77.7, 78.2, 83.9, 88.9, 104.6, 105.8, 125.8, 130.5, 171.0

[실시예 4]

[화합물 (II)의 제조]

상기 실시예 2에서 수득한 화합물 (II) 함유 분획 1g을 에틸아세테이트/메탄올/물(20:1:1)의 혼합용매를 용출제로 사용하여 실시예 1에서와 동일한 방법으로 실리카겔 칼럼상에서 크로마토그래피를 3회 반복해서 수행하여 목적하는 화합물(II)를 95% 함유하는 분획 300mg을 수득하였다. 수득된 분획을 메탄올/물(1:1, v/v) 혼합용매로부터 결정화시켜 목적하는 화합물 (II) 150mg을 수득하였다.

수득한 화합물 (II)는 다음과 같은 이화학적 특징을 나타낸다.

화학명 : 3β, 12β-디하이드록시-다마르-20(22), 24-디엔-3-O-β-D-글루코피라노실-(1→2)-β-D-6-O-아세틸-글루코피라노사이드

질량스펙트럼(FAB⁺, m/z) : 809([M+H]⁺), 831([M+Na]⁺)

탄소핵자기 공명스펙트럼(δ ppm, 피리딘-d5) : 13.1, 15.7, 15.9, 15.9, 17.1, 17.8, 18.5, 20.9, 25.7, 26.8, 27.1, 27.4, 28.1, 32.2, 32.6, 35.4, 37.1, 39.3, 39.8, 40.3, 50.8, 50.9, 51.1, 51.2, 56.5, 62.9, 64.8, 70.9, 71.1, 71.5, 75.4, 77.9, 78.1, 78.1, 78.6, 84.3, 89.2, 104.9, 106.2, 123.5, 125.2, 131.0, 140.8, 171.0

[실시예 5]

[화합물 (I)의 합성]

진세노사이드 Rg₃ 50mg을 감압하에서 건조시킨 후, 여기에 2,4,6-콜리딘 1ml를 가하여 질소치환시키고 -40℃에서 10분동안 교반하였다. 여기에 다시 아세틸클로라이드 10ul를 주입하여 3시간 동안 반응시킨 후, 반응혼합물을 서서히 상온으로 가온하여 1시간 동안 방치하였다. 반응혼합물에 메탄올 1ml를 가하여 반응을 종결시킨 후에, 실시예 1 에서와 동일한 방법으로 실리카겔 칼럼상에서 크로마토그래피를 2회 반복해서 수행하여 목적하는 화합물 (I) 20mg을 수득하였다.

[실시예 6]

[화합물 (II)의 합성]

$\Delta^{20(22)}$ -진세노사이드 Rg₃ 50mg을 취하여 감압하에서 건조시킨 후, 여기에 2,4,6-콜리딘 1ml를 가하여 질소치환시키고, -40℃에서 10분 동안 교반하였다. 여기에 다시 아세틸클로라이드 10ul를 주입하여 3시간 동안 반응시킨 후, 반응혼합물을 서서히 상온으로 가온하여 1시간 동안 방치하였다. 반응혼합물에 메탄올 1ml를 가하여 반응을 종결시킨 후, 실시예 1에서와 동일한 방법으로 실리카겔 칼럼상에서 크로마토그래피를 2회 반복해서 수행하여 목적하는 화합물 (II) 25mg을 수득하였다.

[실험예 1]

[화합물 (I) 및 (II)의 항암작용]

본 발명에 따르는 구조식 (I) 및 (II)의 신규한 사포닌 화합물의 항암작용을 후술하는 바와 같은 티미딘 도입량 측정방법에 의해 평가하였다.

DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium, Gibco 사 제품) 배지 13.8g을 탈이온수 1ℓ에 용해시키고 탄산나트륨과 염산 용액을 사용하여 pH를 7.4로 조정한다. 다음, 10% 송아지 혈청, 1×10^{-7} M 인슐린 및 겐타마이신 50mg/ℓ를 가하고 밀리포어 여과기로 멸균하여 배양액을 제조하였다. 이 배양액에 서울대학교 양연구소로부터 분양받은 인체 간암세포주 sk-Hep-1를 T 플라스크의 면적 25cm²당, 1×10^6 세포의 비율로 접종하여 탄산가스 5%를 유지하는 37℃의 배양기내에서 48시간동안 배양하였다. 배양물을 24 웰(well) 배양용기에 옮겨 1일 동안 계대배양한 후, 화합물 (I) 및 (II)를 70% 에탄올에 용해시켜 각각 0.01 내지 10 μM의 농도가 되도록 가하였다. 대조군에는 화합물 (I) 및 (II) 대신에 용매인 70% 에탄올을 동량 가하였다. 화합물 (I) 및 (II)로 처리한지 12시간 후에 ³H-표지된 티미딘을 1 μCi/ml이 농도가 되도록 가하고 12시간이 경과한 후에, 각 웰로부터 배지를 제거하고, 메탄올을 사용하여 세포를 고정시키고 PBS로 세척하였다. 10% 트리클로로아세트산으로 2회 세척하여 미반응 방사선 티미딘을 제거하였다. 세포를 1N 수산화나트륨으로 용해시키고 1N 염산으로 중화시킨 후, DNA에 도입된 방사능을 섬광 계수기(Pharmacia 1024)로 측정하였다. 측정된 결과를 다음 표 1에 기재하였다.

[표 1]

화합물 (I) 및 (II) 의 농도에 따른 간암세포주 sk-Hep-1 DNA 내로의 방사성 티미딘의 도입량

농도 (μM)	화합물 (I)		화합물 (II)	
	dpm/웰 (평균 표준오차)	대조군에 대한 백분율	dpm/웰 (평균 표준오차)	대조군에 대한 백분율
대조군	17812 \pm 819	100.0	25828 \pm 1918	100.0
0.01	23281 \pm 1256	130.7	19242 \pm 570	74.5
0.1	15016 \pm 1231	84.3	15658 \pm 1873	60.6
0.5	15665 \pm 921	87.9	15137 \pm 1467	58.6
1	15729 \pm 302	88.3	13646 \pm 2127	52.8
2.5	13155 \pm 563	73.9	6421 \pm 1527	24.9
5	733 \pm 145	4.1	430 \pm 105	1.7
10	728 \pm 254	4.1	457 \pm 115	1.8

상기 표 1에 기재된 결과로부터 알 수 있는 바와 같이, 화합물 (I) 및 (II)는 모두 0.1 μM 이상, 특히는 5 μM 이상의 농도에서 방사성 티미딘 도입량을 현저하게 감소시키는 것으로 나타났다. 따라서, 화합물 (I) 및 (II)는 간암세포주 sk-Hep-1의 세포성장을 현저히 억제하는 것을 알 수 있다.

[실험예 2]

[화합물 (I) 및 (II)의 인체 간암세포에 대한 세포성장 억제 효과(MTT 실험)]

DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium, Gibco 사 제품) 배지 13.8g을 탈이온수 1ℓ에 용해시키고 탄산나트륨과 염산 용액을 사용하여 pH를 7.4로 조정한다. 다음, 10% 송아지 혈청, 1 \times 10M 인슐린 및 겐타마이신 50mg/ℓ를 가하고 밀리포어 여과기로 멸균하여 배양액을 제조하였다. 이 배양액에 서울대학교 암연구소로부터 분양받은 인체 간암세포주 sk-Hep-1를 T 플라스크의 면적 25cm²당, 1 \times 10⁶ 세포의 비율로 접종하여 탄산가스 5%를 유지하는 37 $^{\circ}\text{C}$ 의 배양기내에서 48시간동안 배양하였다. 배양물을 96 웰(well) 배양 용기에 각 웰당 10 세포의 농도로 옮겨 1일 동안 계대배양한 후, 70% 에탄올에 용해시킨 화합물 (I) 및 (II)를 각각 0.1내지 50 μM 의 농도로 가하였다. 화합물 (I) 및 (II)를 처리한지 24 및 48시간 후에 PBS(phosphate buffered saline)에 용해된 3-[4,5-디메틸티아졸-2-일]-2,5-디페닐테트라졸륨브로마이드(MTT) 용액(5mg/ml) 20 μl 를 가하고 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 4시간 동안 처리하여 불용성 포르마잔을 생성시켰다. 반응혼합물을 원심분리하여 상등액을 제거하고 DMSO(디메틸설폭사이드) 100 μl 를 가해 형성된 포르마잔 침전을 용해시키고, 형성된 포르마잔의 양에 대한 지표로 570nm에서의 흡광도를 자동평판독기(automatic plate reader)로 측정하였다. 측정된 결과는 다음 표 2(24시간 후) 및 표3(48시간 후)에 기재하였다.

[표 2]

화합물 (I) 및 (II)의 농도에 따른 인체의 간암세포주 sk-Hep-1에 대한 MTT 분석
(24시간후)

농도 (μM)	화합물 (I)		화합물 (II)	
	흡광도 (O.D.) 평균 표준편차	대조군에 대한 백분율	흡광도 (O.D.) 평균 표준편차	대조군에 대한 백분율
대조군	0.98 \pm 0.03	100.0	0.94 \pm 0.16	100.0
0.01	0.88 \pm 0.05	89.7	0.70 \pm 0.02	74.6
0.1	0.74 \pm 0.01	76.0	0.65 \pm 0.00	69.5
0.5	0.68 \pm 0.05	69.6	0.59 \pm 0.04	62.7
1	0.61 \pm 0.03	61.9	0.52 \pm 0.03	55.9
5	0.50 \pm 0.01	50.7	0.46 \pm 0.04	48.7
10	0.42 \pm 0.04	43.1	0.36 \pm 0.01	38.2
25	0.17 \pm 0.03	17.3	0.24 \pm 0.03	26.0

[표 3]

화합물 (I) 및 (II)의 농도에 따른 인체의 간암세포주 sk-Hep-1에 대한 MTT 분석
(48시간후)

농도 (μM)	화합물 (I)		화합물 (II)	
	흡광도 (O.D.) 평균 표준편차	대조군에 대한 백분율	흡광도 (O.D.) 평균 표준편차	대조군에 대한 백분율
대조군	1.02 \pm 0.02	100.0	1.07 \pm 0.04	100.0
0.01	0.89 \pm 0.04	87.8	0.90 \pm 0.04	83.8
0.1	0.70 \pm 0.03	69.0	0.69 \pm 0.03	64.1
0.5	0.42 \pm 0.02	41.6	0.42 \pm 0.01	38.7
1	0.34 \pm 0.02	33.0	0.36 \pm 0.01	33.8
5	0.18 \pm 0.01	18.1	0.28 \pm 0.04	26.0
10	0.14 \pm 0.01	13.7	0.14 \pm 0.01	12.7
25	0.12 \pm 0.01	11.6	0.12 \pm 0.01	11.0

상기 표 2 및 3에 기재된 결과로부터, 화합물 (I) 및 (II)의 농도가 증가함에 따라 흡광도(O.D.)는 감소하므로, 본 발명의 화합물은 간암세포주 sk-Hep-1의 세포성장을 유의적으로 억제하는 것을 알 수 있다.

[실험예 3]

[화합물 (I) 및 (II)의 급성독성실험]

체중 20 내지 40g의 마우스 40 마리를 실험동물로 사용하여 본 발명에 따르는 구조식 (I) 및 (II)의 화합물 투여군의 총 2개의 군으로 나누어 각군에 20 마리씩의 실험동물을 사용하였다. 각군의 마우스에 구조식 (I) 및 (II)의 화합물을 생리식염수 1ml에 현탁시켜 경구투여하고, 투여 14일 후에 생존동물수를 관찰하였다. 대조군에는 따로 생리식염수 1ml를 경구투여하였다. 측정된 결과는 다음 표 4에 나타내었다.

[표 4]

마우스에 대한 화합물 (I) 및 (II)의 급성독성

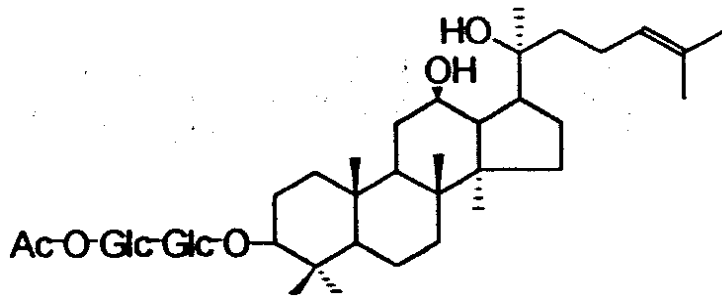
시험군	투여량 (mg/kg, 경구)	시험동물수	생존동물수
화합물 (I) 투여군	1000	20	20
화합물 (II) 투여군	1000	20	20

상기 표 4에 기재된 결과로부터, 본 발명에 따르는 구조식 (I) 및 (II)의 신규한 인삼 사포닌 화합물은 실질적으로 독성을 나타내지 않음을 알 수 있었다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

하기 구조식 (I)로 표시되는 신규한 인삼 사포닌 화합

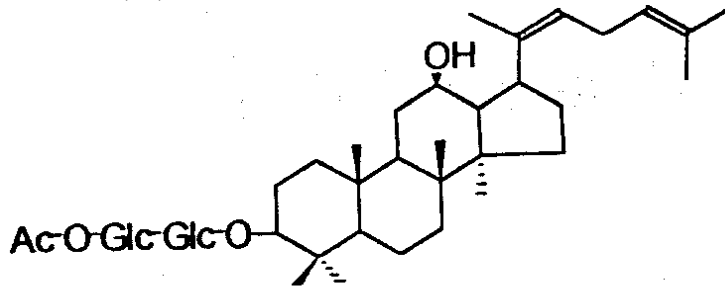


(I)

물:

청구항 2

하기 구조식 (II)로 표시되는 신규한 인삼 사포닌 화합

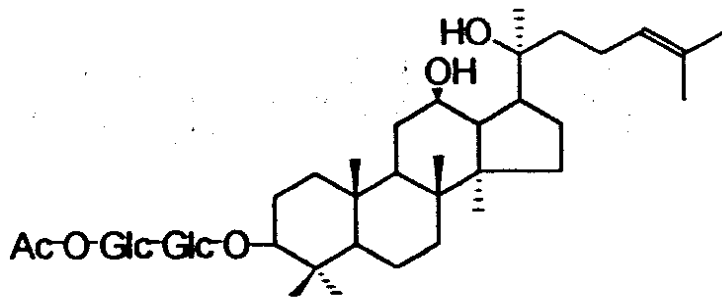


(II)

물:

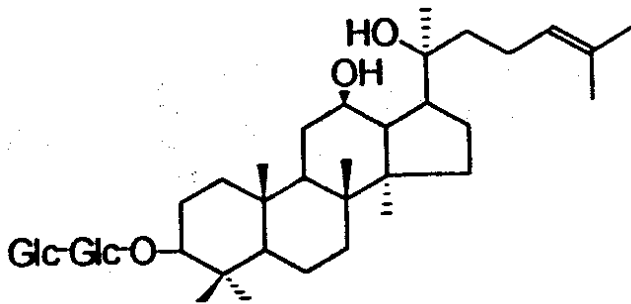
청구항 3

하기 구조식 (III)의 진세노사이드 Rg₃를 아세틸화시켜 구조식 (I)의 화합물을 제조하는 방



(I)

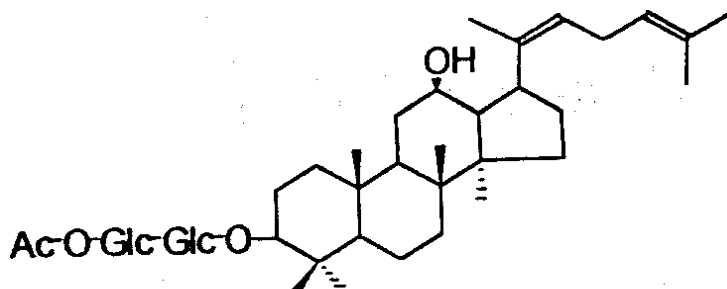
법:



(III)

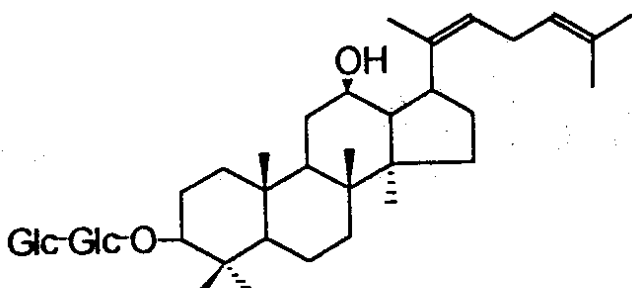
청구항 4

하기 구조식 (IV)의 $\Delta^{20(22)}$ -진세노사이드 Rg₃ 를 아세틸화시켜 구조식 (II)의 화합물을 제조하는 방



(II)

법:



(IV)

청구항 5

파낙스속 식물의 물 또는 저급알콜에 의한 추출물을 110내지 180℃의 온도에서 0.5 내지 20시간 동안 가열 처리하고, 수득된 가공인삼을 물, 유기용매 또는 이들의 혼합물로 추출한 후에 추출물을 비극성 유기용매로 추출하고, 수층을 분리하여 극성 유기용매로 추출하고, 이 추출물을 크로마토그래피하여 화합물 (I) 및 (II)를 함유하는 분획을 수득하고, 이 분획을 물 및 저급알콜의 혼합용매로 부터 결정화시킴을 특징으로하여 구조식 (I) 및 (II)의 화합물을 제조하는 방법.

청구항 6

구조식 (I) 또는 (II)의 화합물 또는 이들의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 향종양제 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 추가로 약제학적으로 허용되는 담체를 사용하여 약제학적 단위제형으로 제형화시킨 향종양제 조성물.