(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0049865
(43) 공개일자 2022년04월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/10 (2022.01) *A23L 29/00* (2016.01)
A61K 31/12 (2006.01) *A61K 31/341* (2006.01)
A61K 31/381 (2006.01) *A61K 31/4409* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/10 (2022.01)
A23L 29/03 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2020-0133519
(22) 출원일자 2020년10월15일
심사청구일자 2020년10월15일

(71) 출원인
경상국립대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
(72) 발명자
이근우
경상남도 사천시 사남면 조동길 61, 106동 701호 (사천 푸르지오)
(74) 대리인
위병갑

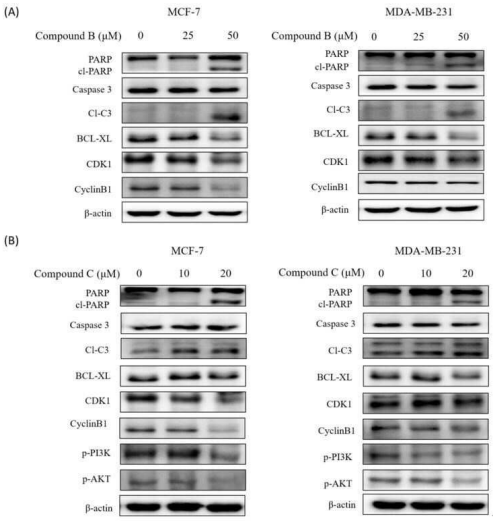
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **부테인 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 유방암의 예방, 개선 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 부테인 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 유방암의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 부테인 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 DDX3 단백질의 활성을 효과적으로 억제하고, 상기 DDX3 단백질 활성이 억제되어 유방암 세포의 사멸을 촉진시키는 효과가 있어, 유방암을 예방, 치료 또는 개선하는데 유용하게 사용할 수 있다.

대 표 도 - 도6



(52) CPC특허분류
A61K 31/12 (2013.01)
A61K 31/341 (2013.01)
A61K 31/381 (2013.01)
A61K 31/4409 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/308 (2013.01)

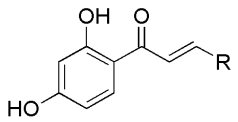
명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 유방암 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물:

[화학식 1]



(상기 화학식 1에서,

R은 C_{6-8}의 아릴, 또는 N, O 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 헤테로 원자를 하나 이상 포함하는 5-8 원자 헤테로아릴이고, 이때 상기 아릴 및 헤테로아릴에는 각각 C_{1-5}의 직쇄 또는 측쇄 알킬 및 할로겐으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 치환기가 하나 이상 치환될 수 있다).

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 R은 C_{6-8}의 아릴 또는 N, O 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 헤테로 원자가 하나 이상 포함된 5-6 원자 헤테로아릴이고, 이때 상기 아릴 및 헤테로아릴에는 각각 C_{1-3}의 직쇄 또는 측쇄 알킬 및 할로겐으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 치환기가 하나 이상 치환될 수 있는 것을 특징으로 하는 유방암 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 R은 페닐, 싸이에닐 또는 퓨릴이고, 이때 상기 페닐, 싸이에닐 또는 퓨릴에는 메틸 또는 -Br이 하나 이상 치환될 수 있는 것을 특징으로 하는 유방암 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물은

(1) (E)-3-(5-브로모-2-싸이에닐)-1-(2,4-다이하이드록시페닐)프로프-2-엔-1-온;

(2) (E)-3-(5-브로모-2-퓨릴)-1-(2,4-다이하이드록시페닐)프로프-2-엔-1-온; 및

(3) (E)-1-(2,4-다이하이드록시페닐)-3-(m-톨릴)프로프-2-엔-1-온; 으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 유방암 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 건강기능식품은 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제 형태의 식품인 것을 특징으로 하는 유방암 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 6

제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 유방암 예방 또는 개선용 건강식품 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 건강식품은 각종 드링크제, 육류, 소세지, 빵, 캔디류, 스넥류, 면류, 아이스크림, 유제품, 스프, 이온음료, 음료수, 알코올 음료, 껌, 차 및 비타민 복합제에서 선택되는 것을 특징으로 하는 유방암 예방 또는 개선용 건강식품 조성물.

청구항 8

제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 유방암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 부테인 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 유방암의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 유방암은 2008년 통계기준으로 미국에서는 여성암 중 1위를, 우리나라에서는 2위를 차지하는 가장 흔한 암 중 하나이다. 우리나라의 경우, 2000년 이후 유방암 발병 증가율이 연 6.8 %로 세계에서 가장 빠른 증가 속도를 보이고 있다(2010년 WHO 보고). 실제 유방암은 2012, 2013년 한국보건산업진흥원 기관의 통계에 의하면, 총 3,232,417 명의 검진 환자 중 약 885,735명이 유방암 판정을 받았고, 전국의 암환자 중 두 번째로 많은 진료비를 내고 있다. 우리나라의 유방암 발병 증가율을 고려할 때 유방암의 치료는 대단히 중요하며 의약 조성물의 개발이 요구된다.

[0003] DEAD-box 단백질은 12개의 보존된 모티브를 갖는 특징적인 아미노산 서열 DEAD(Asp-Glu-Ala-Asp)을 갖는 가장 큰 RNA 헬리카제 그룹이다. 이들은 RNA 대사 및 번역과 관련된 모든 진핵 생물과 대부분의 원핵 생물에서 발현되는 유비쿼터스 단백질인 ATP 의존성 단백질이다. 기능적으로 DDX3 유전자는 염색체 위치에 따라 DDX3X와 DDX3Y의 두가지 유형이 있다. 유전자 DDX3X는 X-염색체에 위치하며 조직의 다발성 생리학적 활동의 조절에 중심적인 역할을 하는 여러 유기체에서 발견된다. 유전자 DDX3Y는 Y-염색체에 위치하며 주로 정자 형성 및 남성 생식력과 관련이 있다. 그러나 DDX3X(이하 DDX3라 함)는 HIV, 신경 퇴행성 질환, 간세포 암종, 뇌 및 유방암과 같은 특정 질병과 관련이 있을 뿐만 아니라 숙주의 암에 관여하여 더 많은 관심을 받고 있다. 구조적으로 DDX3는 2개의 도매인을 가진 662개의 아미노산 잔기로 구성된다 잔기 211-403은 N-말단과 매우 근접한 DEAD 박스 도메인으로 표지되고 잔기 411-575는 C-말단 헬리카제 도메인 2로 불린다. N-말단 도메인은 중앙 5개 가닥 β-sheet에 결합된 것으로 확인된 5개의 α-나선이 있는 RecA-유사접힘으로 구성된다. 게다가, 이 도메인에는 보조 β-sheet와 캡과 같은 구조를 닮은 두 개의 α-나선이 있다. 167-215의 잔기를 포함하는 영역은 뉴클레오티드 결합에 중요한 Q-motif를 수용한다. C-말단 도메인2는 중앙 β-sheet가 α-나선으로 측면에 있는 RecA-유사 fold로 구성된다.

[0004] 이에 본 발명자들은 DDX3 유발 암에 특이적인 새로운 항암제를 개발하기 위해 천연 화합물 부테인(butein)의 구조를 바탕으로 컴퓨터를 이용한 분자설계기술을 도입하여 화합물을 선별하고, 상기 화합물이 DDX3의 활성을 억제함에 따라 유방암을 예방, 치료 또는 개선할 수 있는 것을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 한국등록특허 10-1780054호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 목적은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 유방암 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0007] 본 발명의 다른 목적은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 유방암 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공하는 것이다.

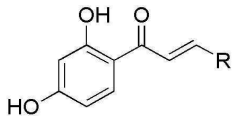
[0008] 본 발명의 또 다른 목적은 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 유방암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기 목적을 달성하기 위하여,

[0010] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 유방암 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0011] [화학식 1]

[0012] 

[0013] (상기 화학식 1에서,

[0014] R은 C_{6-8}의 아릴, 또는 N, O 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 헤테로 원자를 하나 이상 포함하는 5-8 원자 헤테로아릴이고, 이때 상기 아릴 또는 헤테로아릴에는 C_{1-5}의 직쇄 또는 측쇄 알킬 및 할로겐으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 치환기가 하나 이상 치환될 수 있다).

[0015] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 유방암 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

[0016] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 유방암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0017] 본 발명의 부테인 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 DDX3 단백질의 활성을 효과적으로 억제하고, 상기 DDX3 단백질 활성이 억제되어 유방암 세포의 사멸을 촉진시키는 효과가 있어, 유방암을 예방, 치료 또는 개선하는데 유용하게 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0018] 도 1은 본 발명의 화학식 1로 표시되는 부테인 유도체 화합물의 분자구조식을 나타낸 것이다.

도 2는 본 발명의 화학식 1로 표시되는 부테인 유도체 화합물의 DDX3 활성 사이트에서 결합모드를 분석한 결과이다.

도 3은 본 발명의 화학식 1로 표시되는 부테인 유도체 화합물의 표적 단백질 DDX3 (PDB ID: 2I4I)의 주요잔기들과 4가지 기질 사이의 분자 상호 작용을 확인한 결과이다.

도 4는 본 발명의 화학식 1로 표시되는 부테인 유도체 화합물의 24, 48, 72시간에서의 IC50값을 나타낸 결과 (MCF-7 및 MDA-MB-231 세포를 24, 48, 72 시간 동안 다양한 농도 (0-30 μM)로 각 화합물로 처리한 후, MTT 분

석으로 세포 생존력을 측정했다. * p < 0.05 vs. untreated group; ** p < 0.01 vs. untreated group; *** p < 0.001 vs. untreated group)이다.

도 5는 본 발명의 화학식 1로 표시되는 부테인 유도체 화합물의 MCF-7 및 MDA-MB-231 세포주에서 DDX3의 발현을 감소 효과를 확인한 결과이다.

도 6은 본 발명의 화학식 1로 표시되는 부테인 유도체 화합물의 MCF-7 및 MDA-MB-231 세포주에서 세포사멸 단백질 발현률을 분석한 결과이다.

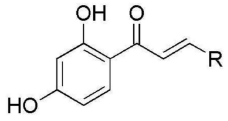
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0021] **유방암 예방 또는 개선용 건강기능식품 또는 건강식품 조성물**

[0022] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 유방암 예방 또는 개선용 건강기능식품 또는 조성물을 제공한다.

[0023] [화학식 1]

[0024] 

[0025] (상기 화학식 1에서,

[0026] R은 C_{6-8}의 아릴, 또는 N, O 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 헤테로 원자를 하나 이상 포함하는 5-8 원자 헤테로아릴이고, 이때 상기 아릴 및 헤테로아릴에는 각각 C_{1-5}의 직쇄 또는 측쇄 알킬 및 할로겐으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 치환기가 하나 이상 치환될 수 있다).

[0028] 바람직하게는, 상기 R은 C_{6-8}의 아릴 또는 N, O 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 헤테로 원자가 하나 이상 포함된 5-6 원자 헤테로아릴이고, 이때 상기 아릴 및 헤테로아릴에는 각각 C_{1-3}의 직쇄 또는 측쇄 알킬 및 할로겐으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 치환기가 하나 이상 치환될 수 있다.

[0030] 더욱 바람직하게는, 상기 R은 페닐, 싸이에닐 또는 퓨릴이고, 이때 상기 페닐, 싸이에닐 또는 퓨릴에는 메틸 또는 -Br이 하나 이상 치환될 수 있다.

[0032] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 바람직한 예로는 하기의 화합물들을 들 수 있다:

[0033] (1) (E)-3-(5-브로모-2-싸이에닐)-1-(2,4-다이하이드록시페닐)프로프-2-엔-1-온;

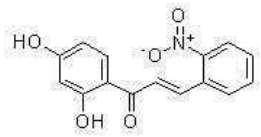
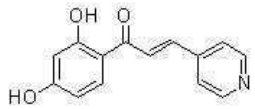
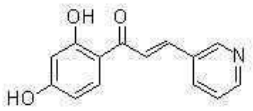
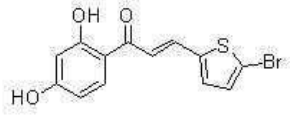
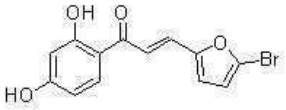
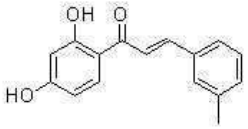
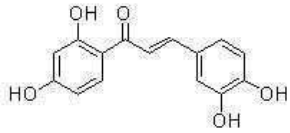
[0034] (2) (E)-3-(5-브로모-2-퓨릴)-1-(2,4-다이하이드록시페닐)프로프-2-엔-1-온; 및

[0035] (3) (E)-1-(2,4-다이하이드록시페닐)-3-(m-톨릴)프로프-2-엔-1-온.

[0037] 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 부테인 유도체의 바람직한 예로 들 수 있는 화합물들의 화학구조식을 하기 표 1에 정리하여 나타내었다.

표 1

[0038]

구분	화합물 이름	구조
비교예 1 (CBBL1)	(E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(2-nitrophenyl)prop-2-en-1-one	
비교예 2 (CBBL2)	(E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(pyridin-4-yl)prop-2-en-1-one	
비교예 3 (CBBL3)	(E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(pyridin-3-yl)prop-2-en-1-one	
실시예 1 (CBBL11, Compound A)	(E)-3-(5-bromothiophen-2-yl)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)prop-2-en-1-one	
실시예 2 (CBBL10 Compound B)	(E)-3-(5-bromofuran-2-yl)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)prop-2-en-1-one	
실시예 3 (CBBL5, Compound C)	(E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-m-tolylprop-2-en-1-one	
모 화합물 Butein	(E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)prop-2-en-1-one	

[0040] 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 건강기능식품 및 건강식품 조성물로 사용하는 경우, 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 첨가할 수 있는 건강기능식품의 예로는 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제 형태일 수 있으며, 건강식품의 예로는 각종 드링크제, 육류, 소세지, 빵, 캔디류, 스넥류, 면류, 아이스크림, 유제품, 스프, 이온음료, 음료수, 알코올 음료, 껌, 차 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품 및 건강식품 조성물을 모두 포함한다.

[0041] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 함유하는 건강기능식품 및 건강식품 조성물은 식품에 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 혼합량은 그의 사용 목적(예방 또는 개선용)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 건강기능식품 및 건강식품 조성물 중의 상기 조성물의 양은 전체 식품 중량의 0.1 내지 90 중량부로 가할 수 있다. 그러나 건강 유지를 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0042] 본 발명의 건강기능식품 및 건강식품 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 본 발명 화학식 1로 표시되는 화

합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 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, 에리트라이톨 등의 당알코올이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 건강기능식품 및 건강식품 조성물 100 당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다.

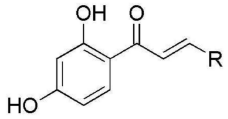
[0044] 상기 외에 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 함유하는 건강기능식품 및 건강식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 건강기능식품 및 건강식품 조성물은 천연 과일쥬스 및 과일쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

[0046] 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 함유하는 건강기능식품 및 건강식품 조성물 100 중량부 당 0.1 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0048] **유방암 예방 또는 치료용 약학적 조성물**

[0049] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 유방암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0050] [화학식 1]

[0051] 

[0052] (상기 화학식 1에서,

[0053] 상기 R은 화학식 1에서 정의한 바와 같다).

[0055] 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 임상 투여시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있으며, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 제조된다.

[0056] 경구투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환자, 산제, 과립제, 캡슐제, 트로키제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 하나 이상의 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스(sucrose), 락토오스(lactose) 또는 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0057] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁용제, 유제, 동결건조제제, 좌제 등이 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜, 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, 글리세롤, 젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0058] 또한, 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 인체에 대한 효과적인 투여량은 환자의 나이, 몸무게, 성별, 투여형태, 건강상태 및 질환 정도에 따라 달라질 수 있으며, 일반적으로 약 0.001-100 mg/kg/일이며, 바람직하게는 0.01-35 mg/kg/일이다. 몸무게가 70kg인 성인 환자를 기준으로 할 때, 일반적으로 0.07-7000 mg/일이며, 바람직하게는 0.7-2500 mg/일이며, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정시간 간격으로 1일 1회 내지 수회로 분할 투여할 수도 있다.

[0060] 이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명한다. 단, 하기의 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기의 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

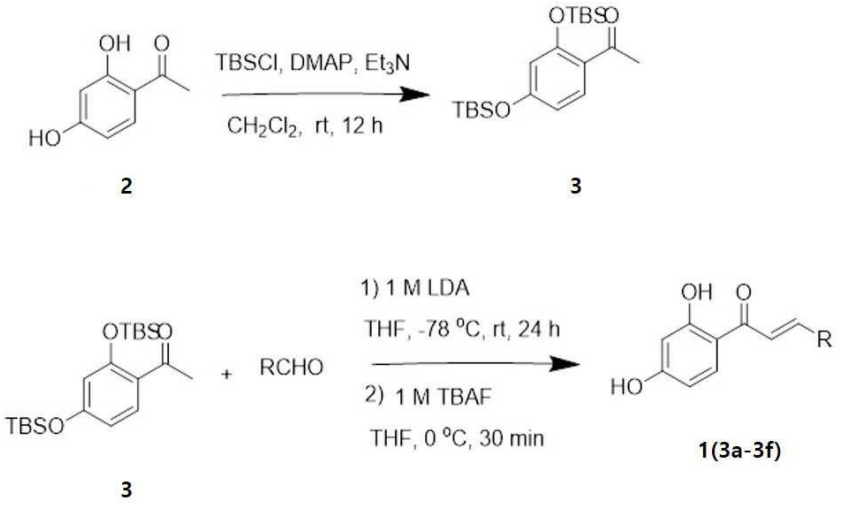
[0062] **<준비예>**

[0063] 하기 반응식 1에 나타낸 바와 같이, 달리 언급하지 않는 한, 모든 반응은 oven-dried flask에서 아르곤 환경에서 수행되었다. 모든 시약과 화학 물질은 Sigma Aldrich Co., TCI 또는 Alfa Aesar Co.에서 구입했다. tetrahydrofuran (THF) 및 methylene chloride와 같은 용매는 표준 정제 절차에 따라 증류한 후 사용되었다. ^{1}H 및 스펙트럼은 Bruker DRX-300에 기록되었으며 ^{1}H NMR 스펙트럼에 대한 화학적 이동 (δ)은 TMS에 대한 ppm 단위로 제공된다. Column chromatography는 Merck silica gel (40-63 mesh)에서 수행되었다.

[0065] **<실시예 1> (E)-3-(5-bromothiophen-2-yl)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)prop-2-en-1-one (CBBL11, Compound A, 3f)의 합성**

[0066] 하기 반응식 1에 나타낸 바와 같이, 모든 화합물들은 적절한 aldehyde 및 ketone을 사용하여 aldol condensation reaction에 의해 합성되었다. dihydroxy ketone은 TBSCl을 사용하여 보호되었다. LDA 염기의 존재하에 aldehyde와 반응함으로써 Dihydroxy protected compound은 축합 생성물을 생성하였고, TBAF에 의한 desilylation로 원하는 화합물을 수득하였다.

[0067] [반응식 1]



[0068]

[0069] (상기 반응식 1에서,

[0070] 상기 R은 화학식 1에서 정의한 바와 같다).

[0072] **<1-1> 1-(2,4-Bis((tert-butyldimethylsilyl)oxy)phenyl)ethanone (화합물 3)의 합성**

[0073] 건조 CH_2Cl_2 (5mL)에 녹인 2',4'- Dihydroxyacetophenone(화합물 2) (0.76g, 5.0mmol) 용액에 trimethylamine (2.4mL, 17.5mmol) 및 4-dimethylamino pyridine (0.06g, 0.5mmol)을 첨가한 다음 CH_2Cl_2 (9mL)에 용해된 tert-

butyldimethylsilyl chloride (2.11g, 14.0mmol)을 적가했다. 첨가 완료 후, 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. 물을 첨가하여 반응 혼합물을 급냉시켰다. 유기 분획을 수집하고 수층을 CH_2Cl_2로 추출하였다. 합한 유기 분획을 물과 염수로 세척하고 무수 $MgSO_4$로 건조하고 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 용리액으로 n-hexanes을 사용하는 silica gel의 짧은 column chromatography로 정제하여 화합물 3 (1.56 g, 82 % 수율)를 무색 오일로 수득 하였다; 1H NMR (300MHz, 클로로포름 -d) δ 7.62 (d, J = 8.6Hz, 1H), 6.47 (dd, J = 8.6, 2.3Hz, 1H), 6.32 (d, J = 2.3Hz, 1H), 2.57 (s, 3H), 1.00 (s, 9H), 0.97 (s, 9H), 0.28 (s, 6H), 0.21 (s, 6H).

[0075] <1-2>

[0076] 아르곤 환경에서에 건조 THF (3 mL)에 녹인 화합물 3 (1.0 mmol) 용액에 lithium diisopropylamide (LDA, 1.0 M, 1.1 mL, 1.1 mmol)를 -78 ℃에서 적가 하였다. 반응 혼합물을 30 분에 걸쳐 -20℃로 가온한 다음 -78℃로 냉각시켰다. 건조 THF (3 mL)에 녹인 치환된 aldehyde(RCHO) (1.0 mmol) 용액을 -78℃에서 적가하고 생성된 반응 혼합물을 실온으로 가온되도록 하룻밤 동안 교반한 다음 포화 수성 NH_4Cl을 첨가하여 급냉시켰다. 유기 분획을 수집하고 수층을 diethyl ether로 추출 하였다. 합친 유기 분획을 염수로 세척하고 무수 $MgSO_4$로 건조하고 감압하에 증발시켜 monohydroxy protected chalcones 유도체를 얻었다. monohydroxy protected chalcones 유도체은 CH_2Cl_2 / MeOH를 용리액으로 사용하여 정제되었다.

[0078] <1-3>

[0079] monohydroxy protected chalcones 유도체 (0.10g, 0.23mmol)을 THF (8mL)에 용해시키고 tetrabutylammonium fluoride (TBAF, 1.0M, 0.46mL, 0.46mmol)를 첨가했다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하고, 물을 첨가하여 급냉하였다. 유기 분획을 수집하고 수층을 ethyl acetate로 3회 추출하였다. 합한 유기 분획을 염수로 세척하고 무수 $MgSO_4$로 건조하고 감압하에 증발시켰다. 잔류물을 용리액으로 CH_2Cl_2/MeOH(10:1)를 사용하여 정제하였다. Rf. Value = 0.5. Yellow solid (63 mg, 85%); 1H NMR (300 MHz, Chloroform-d) δ 13.28 (s, 1H), 7.87 (dd, J = 15.1, 0.6 Hz, 1H), 7.75 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.23 (d, J = 15.1 Hz, 1H), 7.12 (d, J = 3.9 Hz, 1H), 7.07 (d, J = 3.9 Hz, 1H), 6.46 - 6.40 (m, 2H), 5.53 (s, 1H). HRMS calc. 323.9456, HRMS found.

[0081] **<실시예 2> (E)-3-(5-bromofuran-2-yl)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)prop-2-en-1-one(CBBL10, Compound B, 3e)의 합성**

[0082] 실시예 2(3e)는 monohydroxy protected chalcone (0.10g, 0.24mmol)을 사용하여 일반적인 절차에 따라 합성하고 THF (8mL) 및 tetrabutylammonium fluoride (TBAF, 1.0M, 0.48mL, 0.48mmol)에 용해시켰다. 3e는 silica gel column CH_2Cl_2/MeOH 10:1, v/v를 사용하여 정제하였다. Rf. Value =0.5. Yellow solid (52 mg, 70%); 1H NMR (300 MHz, Chloroform-d) δ 13.34 (s, 1H), 7.84 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.59 - 7.38 (m, 2H), 6.67 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 6.48 - 6.40 (m, 3H), 5.30 (s, 1H), HRMS calc. 307.9684, HRMS found.

[0084] **<실시예 3> (E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-m-tolylprop-2-en-1-one (CBBL5, Compound C, (3d)의 합성**

[0085] 실시예 3(3d)는 monohydroxy protected chalcone (0.03g, 0.08mmol)을 사용하여 일반적인 절차에 따라 합성하고 THF (2mL) 및 tetrabutylammonium fluoride (TBAF, 1.0M, 0.16mL, 0.16mmol)에 용해시켰다. 3d는 silica gel column CH_2Cl_2/MeOH 10:1, v/v를 사용하여 정제하였다. Rf. Value = 0.5. Yellow solid (16 mg, 77%)3; 1H NMR (300 MHz, Chloroform-d) δ 13.36 (s, 1H), 7.90 - 7.83 (m, 2H), 7.56 (d, J = 15.5 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 7.23 - 7.35 (m, 2H), 6.47 - 6.41 (m, 2H), 5.47 (s, 1H), 2.41 (s, 3H); CAS. No. 1385668-91-6.

[0087] **<비교예 1> (E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(2-nitrophenyl)prop-2-en-1-one (CBBL1, 3a)의 합성**

[0088] 비교예 1(3a)는 monohydroxy protected chalcone (0.10g, 0.25mmol)을 사용하여 일반적인 절차에 따라 합성하고 THF (8mL) 및 tetrabutylammonium fluoride (TBAF, 1.0M, 0.5mL, 0.5mmol)에 용해시켰다. 3a는 silica gel column CH_2Cl_2/MeOH 10:1, v/v를 사용하여 정제하였다. Rf Value =0.47. Yellow solid (57 mg, 80%)[1]; ^{1}H NMR (300 MHz, Methanol-d_4) δ 8.14 (d, J = 15.4 Hz, 1H), 8.08 - 7.96 (m, 3H), 7.81 - 7.72 (m, 2H), 7.65 (dd, J = 8.1, 1.4 Hz, 1H), 6.43 (dd, J = 8.9, 2.4 Hz, 1H), 6.31 (d, J = 2.4 Hz, 1H); CAS. No. 182686-51-7.

[0090] **<비교예 2> (E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(pyridin-4-yl)prop-2-en-1-one (CBBL2, 3b)의 합성**

[0091] 비교예 2(3b)는 monohydroxy protected chalcone (0.08g, 0.22mmol)을 사용하여 일반적인 절차에 따라 화합물(3b)을 합성하고 THF (5mL) 및 tetrabutylammonium fluoride (TBAF, 1.0M, 0.44mL, 0.44mmol)에 용해시켰다. 3b는 silica gel column CH_2Cl_2/MeOH 10:1, v/v를 사용하여 정제하였다. Rf. Value =0.44. Yellow solid (28 mg, 53%)2; 1H NMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.16 (s, 1H), 8.71 - 8.64 (m, 2H), 8.26 - 8.13 (m, 2H), 7.87 - 7.81 (m, 2H), 7.72 (d, J = 15.5 Hz, 1H), 6.44 (dd, J = 8.9, 2.4 Hz, 1H), 6.31 (d, J = 2.3 Hz, 1H); CAS. No. 220430-84-2.

[0093] **<비교예 3> (E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(pyridin-3-yl)prop-2-en-1-one (CBBL3, 3c)의 합성**

[0094] 비교예 3(3c)는 monohydroxy protected chalcone (0.035g, 0.10mmol)을 사용하여 일반적인 절차에 따라 합성하고 THF (2mL) 및 tetrabutylammonium fluoride (TBAF, 1.0M, 0.2mL, 0.2mmol)에 용해시켰다. 3c는 silica gel column CH_2Cl_2/MeOH 10:1, v/v를 사용하여 정제하였다. Rf. Value = 0.44. Yellow solid (14 mg, 58%)2; 1H NMR (300 MHz, Methanol-d4) δ 8.88 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 8.56 (dd, J = 4.9, 1.6 Hz, 1H), 8.29 (dd, J = 8.0, 2.0 Hz, 1H), 8.06 - 7.93 (m, 2H), 7.84 (d, J = 15.5 Hz, 1H), 7.52 (dd, J = 8.0, 4.8 Hz, 1H), 6.43 (dd, J = 8.9, 2.4 Hz, 1H), 6.29 (d, J = 2.4 Hz, 1H); CAS. No. 1497410-95-3.

[0096] **<실시예 1> DDX3 활성 사이트에서 결합모드 분석**

[0097] Discovery Studio 소프트웨어를 사용하여 도 1의 부테인 B 고리를 수정하여 도 1 및 표 1에 나타낸 바와 같이 실시예 1 내지 3의 3개의 새로운 구조의 화합물을 얻었다. 표적 단백질 DDX3에 대한 결합 친화성을 설명하기 위해 상기 표 1의 화합물을과 표적 단백질 DDX3의 분자 도킹 계산을 실시하였다. 분자도킹은 DS(Discovery Studio 소프트웨어)에서 사용할 수 있는 CDOCKER 프로그램을 사용하여 수행하였다.

표 2

[0098]

Compound name	-CDOCKER Interaction Energy (kcal/mol)
Butein	33.23
비교예 1(CBBL1)	31.73
비교예 2(CBBL2)	27.80
비교예 3(CBBL3)	27.92
실시예 1(CBBL11, 화합물 A)	34.08
실시예 2(CBBL10, 화합물 B)	34.07
실시예 3(CBBL5, 화합물 C)	35.55

[0100] 그 결과, 상기 표 2에 나타낸 바와 같이, 실시예 1(CBBL11, 화합물 A), 실시예 2(CBBL10, 화합물 B) 및 실시예 3(CBBL5, 화합물 C)은 비교예 1 내지 3의 화합물 및 모 화합물인 부테인보다 더 높은 도킹점수를 보여주었다. 또한, 도 2에 나타낸 바와 같이, 실시예 1 내지 3의 화합물은 DDX3의 ATP 결합 포켓에 위치하는 주요 잔기와의

상효작용을 보여주었다. 이는 상기 실시예1 내지 3의 화합물의 공결정화된(cocrystallized) 리간드와 유사한 결합모드를 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

[0101] 모 화합물인 부테인은 도 3A에 나타낸 바와 같이 잔기(residue) Arg202와 하나의 수소 결합을 형성했다. 또한 핵심 잔기 Tyr200은 π-π stacked 상호작용을 형성했다. 실시예 1의 화합물 A는 도 3B에 나타낸 바와 같이, Tyr200에 의한 π-π stacked 상호작용과 함께 잔기 Thr201 및 Gln207과 두 개의 수소결합 상호작용을 유발했다. 실시예 2의 화합물 B는 도 3C에 나타낸 바와 같이 각각 잔기 Thr231, Ala232, Gln284 및 Glu285와 4개의 수소 결합을 통해 상호작용했다. 핵심 잔기 Tyr200은 결합포켓에서 π-alkyl 상호작용에 관여했다. 실시예 3의 화합물 C는 도 3D에 나타낸 바와 같이, 잔기 Thr231, Ala232 및 Gln281과 4개의 수소결합 상호작용을 형성하였으며, 주요 잔기 Tyr200은 π-π stacked 상호작용 형성하는 것을 확인하였다.

[0103] **<세포주 및 배양>**

[0104] Human MCF-7 및 MDA-MB-231 세포주는 한국 세포주 은행 (KCLB, 서울, 한국)에서 구입했다.

[0105] MCF-7 및 MDA-MB-231 세포주는 10% (v/v) fetal bovine serum (FBS, Gibco) 및 1% penicillin-streptomycin (Gibco)를 함유하는 RPMI-1640 배지 (Gibco, Life Technologies, Carlsbad, CA, USA)에서 37° C, 5% CO2의 가습 대기환경에서 배양되었다.

[0107] **<실험예 1> 세포 생존력 분석**

[0108] 실시예 1, 2 및 3(화합물 A, B, C)의 항 증식효과(anti-proliferative effect)를 평가하기 위해, 인간 유방암 세포주를 대표하는 MDA-MB-231 및 MCF-7에 대해 MTT 분석을 수행했다.

[0109] 세포를 48well에 파종하고, well당 500μL 배지에 5 x 10^4 세포의 밀도로 16 시간 동안 플레이팅 하였다. 배양된 세포를 24, 48 및 72시간 동안 다양한 농도로 처리하였다. 배양 후, 55μL의 5mg/mL 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT; Duchefa Biochemie, Haarlem, The Netherlands) 용액을 2시간 동안 첨가했다. 배지를 제거하고 DMSO로 용해시켰다. 570nm에서의 흡광도는 PowerWave HT 마이크로 플레이트 분광 광도계 (BioTek, Winooski, VT, USA)로 측정했다.

[0110] 그 결과, 도 4에 나타낸 바와 같이, MDA-MB-231 및 MCF-7 세포에 대한 세포 생존력은 화합물 B 및 C 처리에 의해 용량 및 시간 의존 방식으로 현저하게 감소하는 것을 확인하였다. 실시예 1의 화합물 A의 IC50 값은 MCF-7 및 MDA-MB-231 세포주에서 각각 48시간에 27.44μM 및 26.06μM인 것을 확인하였으며, 실시예 2의 화합물 B의 IC50 값은 MCF-7 및 MDA-MB-231 세포주에서 각각 48시간에 58.23μM 및 37.74μM인 것을 확인하였다. 또한, 화합물 C의 IC50 값은 MCF-7 및 MDA-MB-231 세포주에서 각각 48시간에 22.72μM 및 20.51μM인 것을 확인하였다.

[0111] 이러한 결과는 실시예 2의 화합물 B 및 실시예 3의 C가 두 인간 세포주 모두에서 항증식 효과가 있음을 보여주었다. 따라서 후속 실험에서 25 및 50 μM의 화합물 B와 10 및 20 μM의 화합물 C를 사용했다.

[0113] **<실험예 2> 웨스턴 블롯 분석**

[0114] 각 화합물을 48시간 처리 후, 세포를 protease/phosphatase inhibitor cocktail (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 함유하는 RIPA 완충액 (50mM Tris-HCl pH 7.5, 0.1 % SDS, 1 % Triton X-100, 150mM NaCl, 0.5 % Sodium deoxycholate 및 2mM EDTA)으로 4℃에서 1시간 동안 용해시켰다. 상청액을 수집하고 제조업체의 지침에 따라 BCA 단백질 분석 키트 (Thermo Fisher Scientific)를 사용하여 정량화했다. 10-20μg 농도의 단백질을 8-12 % sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)한 다음 polyvinylidene difluoride membrane (PVDF, ATTO, Tokyo, Japan)으로 옮겼다. 막을 25℃에서 1시간 동안 5% (w/v) 탈지유 분말을 함유하는 TBS-T 완충액 (Tris-buffered saline containing 0.1% Tween 20)로 차단 한 다음, 4℃에서 16시간 동안 1차 항체와 함께 배양했다. 25℃에서 3시간 동안 2차 항체와 함께 배양 한 후, Clarity 쩨 Western ECL Blotting Substrates (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 사용하여 막을 검출했다. 단백질 발현의 정량화는 Image J (Version 1.50i) 소프트웨어 (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA)로 분석되었다.

[0115] **<2-1> DDX3 단백질 발현 확인**

[0116] 상기 실험예 1의 세포 생존력 결과를 기반으로 DDX3 단백질 발현을 확인하였다. MCF-7 및 MDA-MB-231 세포를 포함하는 2 개의 세포주를 각각 표시된 농도의 실시예 2의 화합물 B 또는 실시예 3의 C로 48시간 동안 처리하고, 대조군 (0 μM)은 동일한 양의 DMSO로 처리하였다.

[0117] 그 결과, 도 5에 나타낸 바와 같이, DDX3 단백질 발현은 MCF-7 및 MDA-MB-231 세포주에서 용량에 따라 감소되었다. 상기 결과는 실시예 2의 화합물 B 및 실시예 3의 C가 MCF-7 및 MDA-MB-231 세포주에서 DDX3 단백질 발현을 억제할 수 있음을 나타낸다. 실시예 1의 화합물 A는 DDX3 발현의 현저한 감소를 나타내지 않았기 때문에 테스트를 더 이상 진행하지 않았다.

[0119] **<2-2> 세포사멸 및 세포주기 관련 단백질 발현 확인**

[0120] 인간 유방암 세포주에서 실시예 2의 화합물 B 및 실시예 3의 화합물 C에 대한 세포 사멸 및 세포주기 정지 효과를 결정하기 위해, 상기 실시예 2의 화합물 B 및 실시예 3의 화합물 C가 처리된 MCF-7 및 MDA-MB-231 세포주에서 세포 사멸 및 세포주기 관련 단백질 발현을 확인했다.

[0121] 그 결과, 도 6에 나타난 바와 같이, 절단된 PARP 및 절단된 caspase 3과 같은 세포 사멸 마커 단백질은 증가하였고, 항-세포 자멸 단백질인 Bcl-xL은 화합물 처리된 두 세포주에서 감소하였다. 또한 CDK1 및 cyclinB1을 포함하는 G2/M 세포주기 정지 관련 단백질은 두 세포주에서 화합물 처리된 화합물에서 억제되었다.

[0122] 상기 결과는 실시예 2의 화합물 B 및 실시예 3의 화합물 C가 MCF-7 및 MDA-MB-231 세포주에서 apoptotic cell death 및 G2/M 단계 세포주기 정지를 유도하여 항암 효과를 나타낼 수 있음을 의미한다. 또한, PI3K / AKT 신호 전달 경로는 세포 사멸 및 세포주기 정지와 관련된 중요한 세포 간 신호이다.

[0123] 따라서, 우리는 실시예 2의 화합물 B 및 실시예 3의 화합물 C를 처리한 인간 유방암 세포에서 인산화 된 PI3K 및 Akt 단백질 발현을 조사하였다. 결과는 PI3K 및 AKT 활성화의 억제가 두 세포주를 처리한 화합물 C에서 유도되었음을 보여주었다 (도 6). 이러한 데이터는 실시예 3의 화합물 C 처리 모두 MCF-7 및 MDA-MB-231 세포주에서 PI3K / Akt 경로의 억제를 통해 세포 자멸사 및 세포주기 정지를 유도할 수 있음을 나타낸다.

[0125] **<통계처리>**

[0126] 데이터는 평균 ± 평균 표준 오차 (SEM)로 표현되고 GraphPad Prism 버전 4.0b (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA)에서 one-way analysis of variance (ANOVA)을 사용한 통계적 유의성을 분석했다. $p<0.05$는 통계적으로 유의한 것으로 간주되었으며, 모든 실험은 세 번 수행했다.

[0128] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특히 청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

[0130] 한편, 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 목적에 따라 여러 형태로 제제화가 가능하다. 하기는 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 활성성분으로 함유시킨 몇몇 제제화 방법을 예시한 것으로 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0132] **<제제예 1> 산제의 제조**

[0133] 화학식 1의 화합물 2 g

[0134] 유당 1 g

[0135] 상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충진하여 산제를 제조하였다.

[0137] **<제제예 2> 정제의 제조**

[0138] 화학식 1의 화합물 100 mg

[0139] 옥수수전분 100 mg

[0140] 유당 100 mg

[0141] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0142] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

[0144] **<제제예 3> 캡슐제의 제조**

[0145] 화학식 1의 화합물 100 mg

[0146] 옥수수전분 100 mg

[0147] 유당 100 mg

[0148] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0149] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0151] **<제제예 4> 주사제의 제조**

[0152] 화학식 1의 화합물 100 mg

[0153] 만니톨 180 mg

[0154] $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ 26 mg

[0155] 증류수 2974 mg

[0156] 통상적인 주사제의 제조방법에 따라, 상기 성분들을 제시된 함량으로 함유시켜 주사제를 제조하였다.

[0158] **건강식품의 제조예**

[0159] 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은 목적에 따라 여러 형태의 건강식품으로 제조 가능하다. 하기는 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물을 활성성분으로 함유시킨 몇몇 건강식품의 제조방법을 예시한 것으로 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0161] **<건강식품 제조예 1> 유제품(dairy products)의 제조**

[0162] 본 발명의 화학식 1의 화합물 0.01-1 중량부를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.

[0164] **<건강식품 제조예 2> 선식의 제조**

[0165] 현미, 보리, 찹쌀, 율무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다. 검정콩, 검정깨, 들깨도 공지의 방법으로 쪄서 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다. 본 발명의 화학식 1의 화합물을 진공 농축기에서 감압농축하고 건조분말을 얻었다. 상기에서 제조한 곡물류, 종실류 및 화학식 1의 화합물의 건조분말을 다음의 비율로 배합하여 제조하였다.

[0166] 곡물류(현미 34 중량부, 율무 19 중량부, 보리 20 중량부),

[0167] 종실류(들깨 7 중량부, 검정콩 8 중량부, 검정깨 7 중량부),

[0168] 화학식 1의 화합물 (2 중량부),

[0169] 영지(1.5 중량부), 및

[0170] 지황(1.5 중량부).

[0172] **건강기능식품의 제조예**

[0173] 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은 목적에 따라 여러 형태의 건강기능식품으로 제조 가능하다. 하기는 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물을 활성성분으로 함유시킨 몇몇 건강기능식품의 제조방법을 예시한 것으로 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0175] **<건강기능식품 제조예 1> 건강기능식품의 제조**

[0176] 화학식 1의 화합물 100 mg

[0177] 비타민 혼합물 적량

[0178] 비타민 A 아세테이트 70 μg

[0179] 비타민 E 1.0 mg

[0180] 비타민 B1 0.13 mg

[0181] 비타민 B2 0.15 mg

[0182] 비타민 B6 0.5 mg

[0183] 비타민 B12 0.2 μg

[0184] 비타민 C 10 mg

[0185] 비오틴 10 μg

[0186] 니코틴산아미드 1.7 mg

[0187] 엽산 50 μg

[0188] 판토텐산 칼슘 0.5 mg

[0189] 무기질 혼합물 적량

[0190] 황산제1철 1.75 mg

[0191] 산화아연 0.82 mg

[0192] 탄산마그네슘 25.3 mg

[0193] 제1인산칼륨 15 mg

[0194] 제2인산칼슘 55 mg

[0195] 구연산칼륨 90 mg

[0196] 탄산칼슘 100 mg

[0197] 염화마그네슘 24.8 mg

[0198] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강기능성 식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강기능성 식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강기능성 식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

[0200] **<건강기능식품 제조예 2> 건강 기능 음료의 제조**

[0201] 화학식 1의 화합물 100 mg

[0202] 구연산 100 mg

[0203] 올리고당 100 mg

[0204] 매실농축액 2 mg

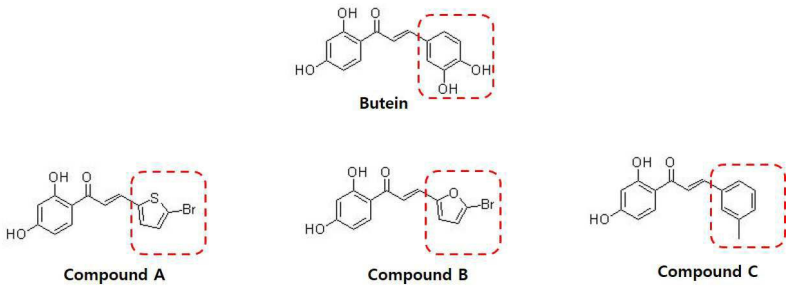
[0205] 타우린 100 mg

[0206] 정제수를 가하여 전체 500 mL

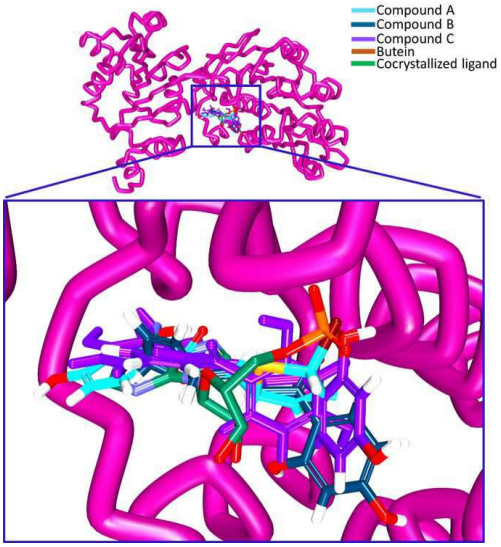
[0207] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 1 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다. 상기 조성비는 비교적 기호 음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용 용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

도면

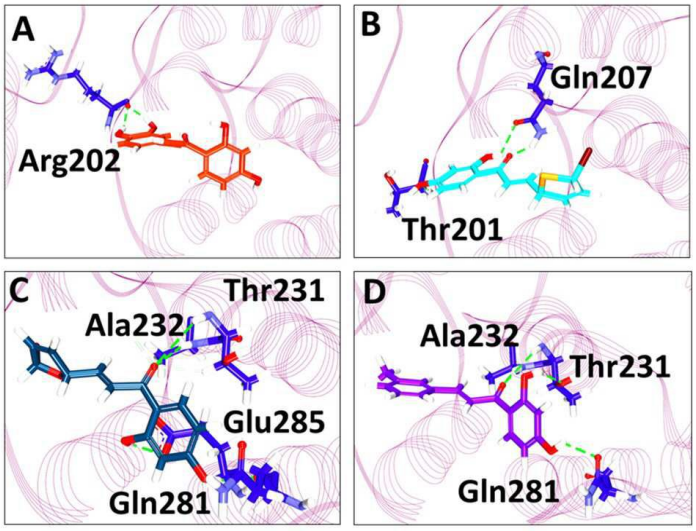
도면1



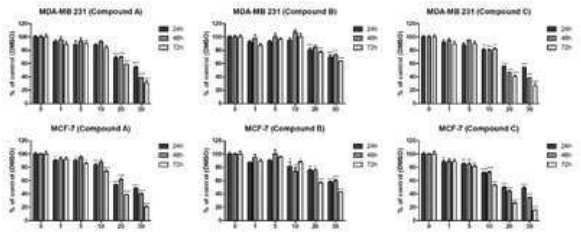
도면2



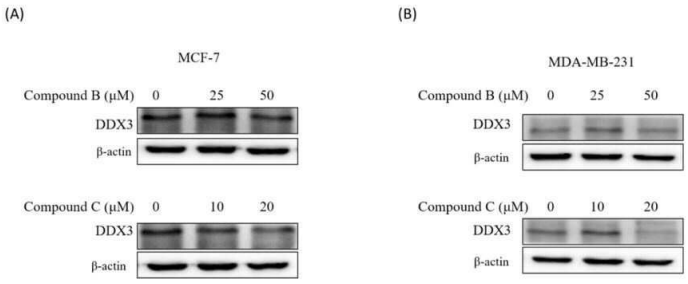
도면3


A
Arg202
B
Gln207
Thr201
C
Thr231
Ala232
Glu285
Gln281
D
Ala232
Thr231
Gln281

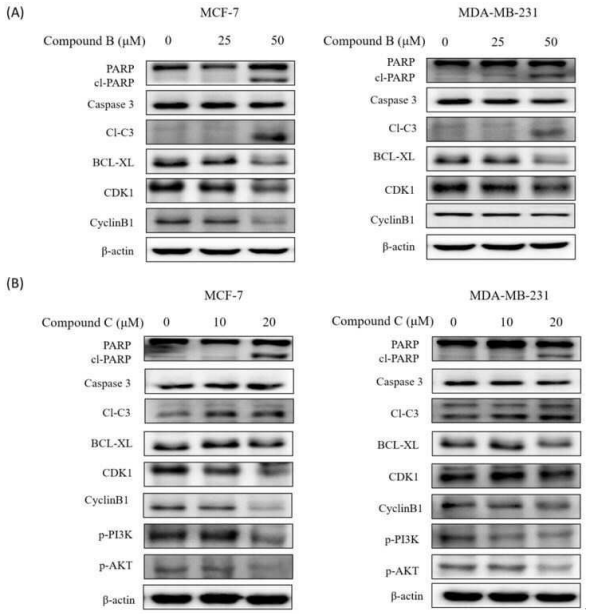
도면4



도면5


(A)
MCF-7
Compound B (μM) 0 25 50
DDX3
β-actin
Compound C (μM) 0 10 20
DDX3
β-actin
(B)
MDA-MB-231
Compound B (μM) 0 25 50
DDX3
β-actin
Compound C (μM) 0 10 20
DDX3
β-actin

도면6


(A)
MCF-7
Compound B (μM) 0 25 50
PARP
cl-PARP
Caspase 3
Cl-C3
BCL-XL
CDK1
CyclinB1
β-actin
MDA-MB-231
Compound B (μM) 0 25 50
PARP
cl-PARP
Caspase 3
Cl-C3
BCL-XL
CDK1
CyclinB1
β-actin
(B)
MCF-7
Compound C (μM) 0 10 20
PARP
cl-PARP
Caspase 3
Cl-C3
BCL-XL
CDK1
CyclinB1
p-PI3K
p-AKT
β-actin
MDA-MB-231
Compound C (μM) 0 10 20
PARP
cl-PARP
Caspase 3
Cl-C3
BCL-XL
CDK1
CyclinB1
p-PI3K
p-AKT
β-actin