



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0117053

(43) 공개일자 2015년10월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/05 (2006.01) A61K 31/06 (2006.01)

A61P 39/06 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-0042297

(22) 출원일자 2014년04월09일

심사청구일자 2014년04월09일

(71) 출원인

한림대학교 산학협력단

강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)

(72) 발명자

이정태

서울특별시 송파구 올림픽로 435, 306동 3303호
(잠실4동, 파크리오아파트)

전종갑

강원도 춘천시 서부대성로 327, 104동 1303호 (후
평동, 동아아파트)

(74) 대리인

특허법인 태웅

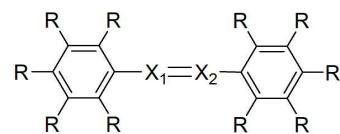
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 레스베라트롤 유사 화합물을 포함하는 항산화제

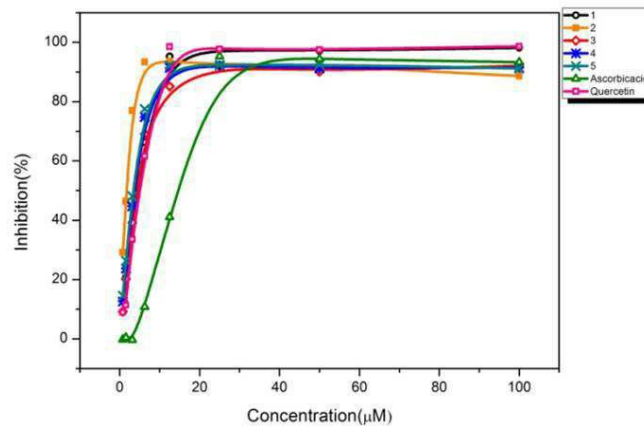
(57) 요약

본 발명은 하기 화학식 1 또는 그 이성질체로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하여 이루어진 항산화제를 제공한다.

<화학식 1>



대표도 - 도1



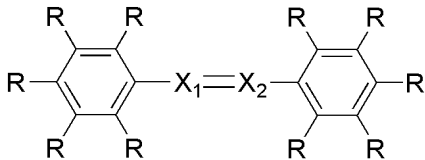
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1 또는 그 이성질체로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하여 이루어진 향산화제.

<화학식 1>



(여기서, X1, X2는 각각 독립적으로 CH, N, C·, 및 C-OH 중에서 선택되며,

X1과 X2는 cis 또는 trans 구조이며(단, X1, X2가 모두 CH인 경우에는 cis임),

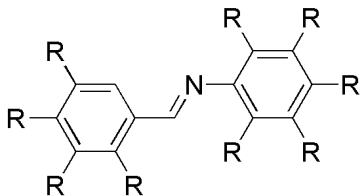
R은 위치에 따라 각각 독립적으로 수소, 하이드록시, 에테르화 하이드록시 또는 에스터화 하이드록시기를 나타내며, 에테르화 또는 에스터화 하이드록시기는 비치환되거나 치환된 1 내지 26개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 알킬기로부터, 또는 비치환되거나 치환된 1 내지 26개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 지방족, 아르지방족 또는 방향족 카복실산으로부터 유도될 수 있다)

청구항 2

제1항에 있어서,

하기 화학식 2 또는 그 이성질체로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하여 이루어진 향산화제.

<화학식 2>



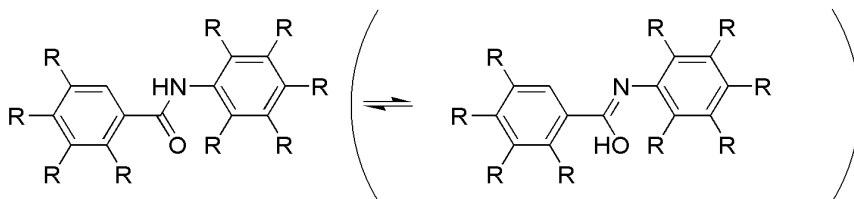
(여기서, R은 위치에 따라 각각 독립적으로 수소, 하이드록시, 에테르화 하이드록시 또는 에스터화 하이드록시기를 나타내며, 에테르화 또는 에스터화 하이드록시기는 비치환되거나 치환된 1 내지 26개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 알킬기로부터, 또는 비치환되거나 치환된 1 내지 26개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 지방족, 아르지방족 또는 방향족 카복실산으로부터 유도될 수 있다)

청구항 3

제1항에 있어서,

하기 화학식 3 또는 그 이성질체로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하여 이루어진 향산화제.

<화학식 3>



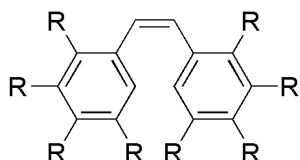
(여기서, R은 위치에 따라 각각 독립적으로 수소, 하이드록시, 에테르화 하이드록시 또는 에스터화 하이드록시기를 나타내며, 에테르화 또는 에스터화 하이드록시기는 비치환되거나 치환된 1 내지 26개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 알킬기로부터, 또는 비치환되거나 치환된 1 내지 26개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 지방족, 아르지지방족 또는 방향족 카복실산으로부터 유도될 수 있다)

청구항 4

제1항에 있어서,

하기 화학식 4로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하여 이루어진 향산화제.

<화학식 4>



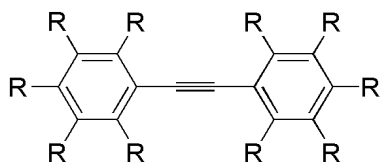
(여기서, R은 위치에 따라 각각 독립적으로 수소, 하이드록시, 에테르화 하이드록시 또는 에스터화 하이드록시기를 나타내며, 에테르화 또는 에스터화 하이드록시기는 비치환되거나 치환된 1 내지 26개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 알킬기로부터, 또는 비치환되거나 치환된 1 내지 26개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 지방족, 아르지지방족 또는 방향족 카복실산으로부터 유도될 수 있다)

청구항 5

제1항에 있어서,

하기 화학식 5로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하여 이루어진 향산화제.

<화학식 5>

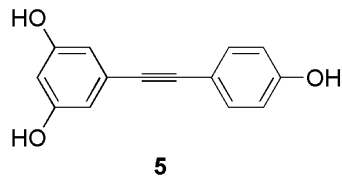
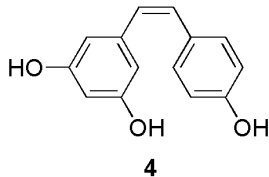
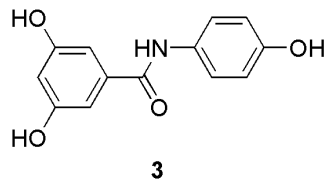
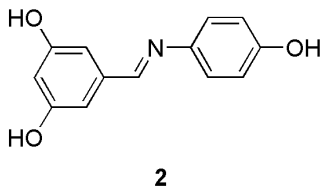


(여기서, R은 위치에 따라 각각 독립적으로 수소, 하이드록시, 에테르화 하이드록시 또는 에스터화 하이드록시기를 나타내며, 에테르화 또는 에스터화 하이드록시기는 비치환되거나 치환된 1 내지 26개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 알킬기로부터, 또는 비치환되거나 치환된 1 내지 26개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 지방족, 아르지지방족 또는 방향족 카복실산으로부터 유도될 수 있다)

청구항 6

제1항에 있어서,

하기 화합물 중 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하여 이루어진 항산화제.



청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

ABTS 시험에 따른 유효성분의 IC_{50} 값이 아스코빅산(Ascorbic acid)의 IC_{50} 값보다 작은 것을 특징으로 하는 항산화제.

청구항 8

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

ABTS 시험에 따른 유효성분의 IC_{50} 값이 레스베라트롤(resveratrol)의 IC_{50} 값보다 작은 것을 특징으로 하는 항산화제.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 레스베라트롤 유사 화합물을 포함하는 항산화제에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 레스베라트롤(trans-3,5,4'-trihydroxystilbene)은 왕호장근(giant knotweed), 포도 및 적색 와인 등 몇몇 식물체에서 발견된 것으로서, 박테리아나 균류와 같은 병원균의 공격에 대항하기 위하여 자연적으로 생합성되는 화합물이다. 레스베라트롤의 생리활성으로는 항산화, 항암, 심혈관보호효과 등이 알려져 있으며 항비만 효과 역시 탁월한 것으로 보고된 바 있다(한국등록특허 제 10-0681439호, 한국공개특허 제 10-2012-0003693호 등 참고). 또한, 신호 전달을 통한 유전적 발현의 조절자, 염증 매개자의 억제제이며, 멜라닌 합성을 감소시킨다고 보고되어 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0003] 기존의 연구들은 레스베라트롤의 히드록시 작용기를 변화시켜 특정 활성을 나타내거나 향상시키는 것에 초점을

맞추어와서 연구에 한계가 있었다.

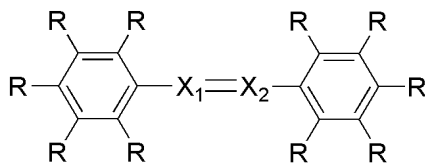
[0004] 본 발명자는 레스베라트롤의 이중결합 부분을 변형시켜 유사체화하여 항산화 활성이 우수한 항산화제를 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0005] 상기의 과제를 해결하기 위한 수단으로서,

[0006] 본 발명은 하기 화학식 1 또는 그 이성질체로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하여 이루어진 항산화제를 제공한다.

[0007] <화학식 1>



[0008]

[0009] (여기서, X1, X2는 각각 독립적으로 CH, N, C·, 및 C-OH 중에서 선택되며,

[0010] X1과 X2는 cis 또는 trans 구조이며(단, X1, X2가 모두 CH인 경우에는 cis임),

[0011] R은 위치에 따라 각각 독립적으로 수소, 하이드록시, 에테르화 하이드록시 또는 에스테르화 하이드록시기를 나타내며, 에테르화 또는 에스테르화 하이드록시기는 비치환되거나 치환된 1 내지 26개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 알킬기로부터, 또는 비치환되거나 치환된 1 내지 26개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 지방족, 아르지지방족 또는 방향족 카복실산으로부터 유도될 수 있다)

[0012] 본 발명에 따른 항산화제들은 아스코빅산(Ascorbic acid), 퀘세틴(quercetin) 등의 화합물보다 우수한 항산화 활성을 제공한다.

발명의 효과

[0013] 본 발명에 따른 레스베라트롤 유사 화합물을 포함하는 항산화제는 우수한 항산화 활성을 나타내며, 특히, 항산화제로 알려진 아스코빅산(Ascorbic acid), 퀘세틴(quercetin) 등의 화합물보다 동등하거나 현저히 우수한 항산화 활성을 제공한다.

도면의 간단한 설명

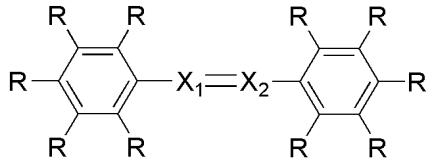
[0014] 도 1은 제조예에 따라 제조된 화합물들의 라디칼 포집률(the radical scavenging rates)을 도시한 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0015] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

[0016] 본 발명의 일실시예에 따른 항산화제는 하기 화학식 1 또는 그 이성질체로 표현되는 화합물을 항산화 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 한다. 후술하는 제조예 및 그 실험예에서 볼 수 있듯이 항산화 효능이 매우 우수한 것을 확인할 수 있다.

<화학식 1>



여기서, X1, X2는 각각 독립적으로 CH, N, C⁺, 및 C-OH 중에서 선택되며,

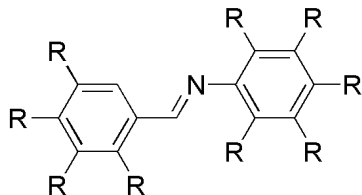
X1과 X2는 cis 또는 trans 구조이며(단, X1, X2가 모두 CH인 경우에는 cis임),

R은 위치에 따라 각각 독립적으로 수소, 하이드록시, 에테르화 하이드록시 또는 에스터화 하이드록시기를 나타낸다. 에테르화 또는 에스터화 하이드록시기는 비치환되거나 치환된 1 내지 26개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 알킬기로부터, 또는 비치환되거나 치환된 1 내지 26개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 지방족, 아르지방족 또는 방향족 카복실산으로부터 유도될 수 있다. 에테르화 하이드록시기는 또한 글리코사이드기일 수 있으며, 에스터화 하이드록시기는 또한 글루쿠로나이드일 수 있다. R의 종류 및 위치에 관한 일례로서, 레스베라트롤, 피세아타놀, 라폰티제닌, 트리스틴 등을 참고할 수 있다. 또한, 이들의 다양한 유도체 및 유사체의 치환기 및 치환 위치가 적용될 수 있다.

상기 화학식 1의 이성질체도 본 발명에 포함된다. 이성질체의 예로서, 구조 이성질체, 입체 이성질체를 들 수 있으며, 구조 이성질체의 예로서 토토머(tautomer)를 들 수 있다.

상기 화학식 1은 구체적으로 하기 화학식 2로 표현될 수 있다.

<화학식 2>

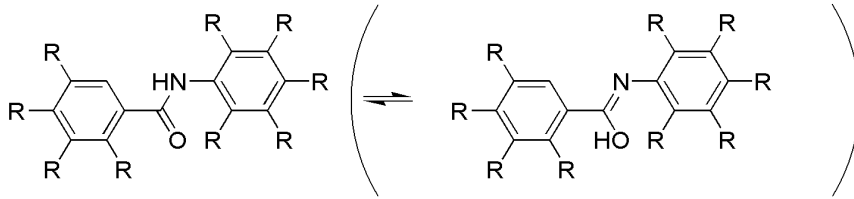


화학식 2는 trans 구조로 표현되었으나 이성질체인 cis 구조도 본 발명에 포함된다.

화학식 1과 마찬가지로, R은 위치에 따라 각각 독립적으로 수소, 하이드록시, 에테르화 하이드록시 또는 에스터화 하이드록시기를 나타낸다. 에테르화 또는 에스터화 하이드록시기는 비치환되거나 치환된 1 내지 26개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 알킬기로부터, 또는 비치환되거나 치환된 1 내지 26개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 지방족, 아르지방족 또는 방향족 카복실산으로부터 유도될 수 있다. 에테르화 하이드록시기는 또한 글리코사이드기일 수 있으며, 에스터화 하이드록시기는 또한 글루쿠로나이드일 수 있다. R의 종류 및 위치에 관한 일례로서, 레스베라트롤, 피세아타놀, 라폰티제닌, 트리스틴 등을 참고할 수 있다. 또한, 이들의 다양한 유도체 및 유사체의 치환기 및 치환 위치가 적용될 수 있다.

또한, 상기 화학식 1은 구체적으로 하기 화학식 3로 표현될 수 있다.

[0029] <화학식 3>



[0030]

[0031] 화학식 3은 화학식 1의 토토머 이성질체로 볼 수 있으며, 히드록시이민 구조보다는 안정한 아마이드 구조로 존재한다.

[0032]

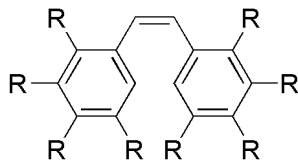
화학식 1과 마찬가지로, R은 위치에 따라 각각 독립적으로 수소, 하이드록시, 에테르화 하이드록시 또는 에스터화 하이드록시기를 나타낸다. 에테르화 또는 에스터화 하이드록시기는 비치환되거나 치환된 1 내지 26개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 알킬기로부터, 또는 비치환되거나 치환된 1 내지 26개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 지방족, 아르지지방족 또는 방향족 카복실산으로부터 유도될 수 있다. 에테르화 하이드록시기는 또한 글리코사이드기일 수 있으며, 에스터화 하이드록시기는 또한 글루쿠로나이드일 수 있다. R의 종류 및 위치에 관한 일례로서, 레스베라트롤, 피세아타놀, 라폰티제닌, 트리스틴 등을 참고할 수 있다. 또한, 이들의 다양한 유도체 및 유사체의 치환기 및 치환 위치가 적용될 수 있다.

[0033]

또한, 상기 화학식 1은 구체적으로 하기 화학식 4로 표현될 수 있다.

[0034]

<화학식 4>



[0035]

[0036]

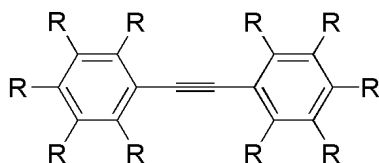
화학식 4는 cis 구조의 레스베라트롤 유도체이다. 화학식 1과 마찬가지로, R은 위치에 따라 각각 독립적으로 수소, 하이드록시, 에테르화 하이드록시 또는 에스터화 하이드록시기를 나타낸다. 에테르화 또는 에스터화 하이드록시기는 비치환되거나 치환된 1 내지 26개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 알킬기로부터, 또는 비치환되거나 치환된 1 내지 26개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 지방족, 아르지지방족 또는 방향족 카복실산으로부터 유도될 수 있다. 에테르화 하이드록시기는 또한 글리코사이드기일 수 있으며, 에스터화 하이드록시기는 또한 글루쿠로나이드일 수 있다. R의 종류 및 위치에 관한 일례로서, 레스베라트롤, 피세아타놀, 라폰티제닌, 트리스틴 등을 참고할 수 있다. 또한, 이들의 다양한 유도체 및 유사체의 치환기 및 치환 위치가 적용될 수 있다.

[0037]

또한, 상기 화학식 1은 구체적으로 하기 화학식 5로 표현될 수 있다.

[0038]

<화학식 5>



[0039]

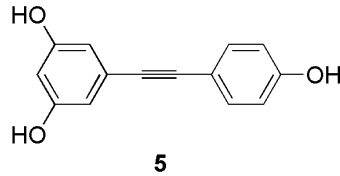
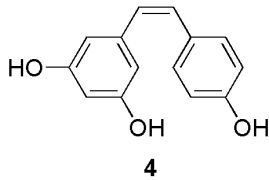
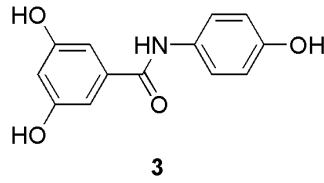
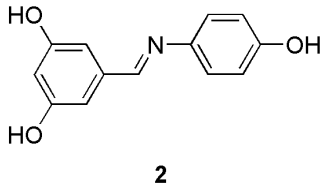
[0040]

화학식 1과 마찬가지로, R은 위치에 따라 각각 독립적으로 수소, 하이드록시, 에테르화 하이드록시 또는 에스터화 하이드록시기를 나타낸다. 에테르화 또는 에스터화 하이드록시기는 비치환되거나 치환된 1 내지 26개의 탄소

원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 알킬기로부터, 또는 비치환되거나 치환된 1 내지 26개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 지방족, 아르지방족 또는 방향족 카복실산으로부터 유도될 수 있다. 에테르화 하이드록시기는 또한 글리코사이드기일 수 있으며, 에스터화 하이드록시기는 또한 글루쿠로나이드일 수 있다. R의 종류 및 위치에 관한 일례로서, 레스베라트롤, 피세아타놀, 라폰티제닌, 트리스틴 등을 참고할 수 있다. 또한, 이들의 다양한 유도체 및 유사체의 치환기 및 치환 위치가 적용될 수 있다.

[0041]

본 발명의 일 실시 예에 따른 구체적 화합물로는 하기의 화합물 2 내지 5를 예시할 수 있다. 다만, 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.



[0042]

[0043]

한편, 본 발명에 따른 유효성분을 포함하는 향산화제는 유효성분만으로 이루어질 수도 있으며, 조성물 형태로 제형화될 수 있다. 일례로, 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 멸균 주사용액, 사전 충전식 주사(pre-filled syringe)용액제의 형태 또는 동결건조(lyophilized)된 형태로 제형화할 수 있다. 상세하게는, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 유효성분에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose), 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는 데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제 및 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 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween)61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0044]

본 발명의 향산화제를 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합체, 건강보조 식품류 등이 있고, 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료인 형태로 사용할 수 있다.

[0045]

또한, 본 발명의 향산화제는 화장품 조성물에 포함되어 사용될 수 있다.

[0046]

이하, 제조예 및 실험예에 의하여 본 발명을 좀더 상세하게 설명한다. 그러나, 이하의 제조예 및 실험예는 본 발명의 이해를 돕기 위하여 예시하는 것일 뿐 이에 의하여 본 발명의 범위가 한정되는 것은 아니다. 또한, 하기의 실시예는 본 발명의 일부에 대하여 제공되나 본 발명의 기술분야의 통상의 지식을 가진 자라면 제공된 내용으로부터 제시되지 않은 부분까지 쉽게 이해할 수 있을 것이다.

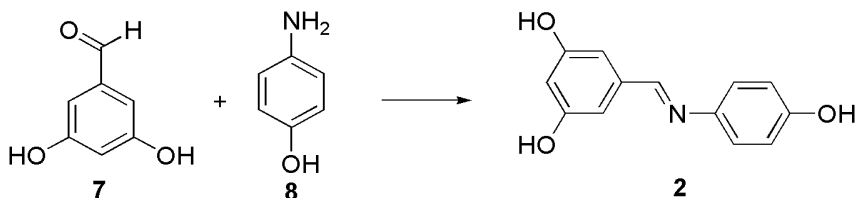
[0047] <화합물과 기기>

[0048] 사용된 모든 화합물은 알드리치 또는 다른 상업회사에서 구매되었고 달리 명시 않는 한 추가의 정제없이 사용하였다. NMR 스펙트라는 Varian Mercury TM FT-NMR을 사용하여 ^1H 에 대해서는 300 MHz에서 와 ^{13}C 에 대해서는 75 MHz에서 TMS를 기준으로하여 parts per million (ppm)으로 기록된 화학적 이동(δ , chemical shifts)과 Hz로 제시된 커플링 상수(J)로 기록하였다. 내부표준인 TMS를 포함하는 CDCl_3 , $\text{acetone-}d_6$ 과 $\text{methanol-}d_4$ 가 용매로써 사용되었다. Vilber Lourmat의 Bio-Sun UV irradiation system (300W)은 *trans* resveratrol 을 *cis* resveratrol 로의 이성질화에 사용되었다. 플래쉬 크로마토그래피(Flash chromatography)는 Silica gel Merck 60 (230-400 mesh)를 사용하여 수행되었다. 박층 크로마토그래피(Thin-layer chromatography(TLC))는 유리판 뒤에 TLC Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck, layer thickness 0.2 mm)이 도포된 플레이트를 사용하였고 UV(254 nm) 또는 *p*-anisaldehyde를 처리하여 눈으로 확인할 수 있도록 하였다. 녹는점은 MEL-TEMP II 기기로 측정되었고 정정되지 않았다. UV 흡광도는 Shimadzu UV-1800 spectrometer로 측정되었고 Origin 8 program을 이용하여 화합물들의 IC₅₀을 계산하였다.

[0049] <제조예 1> 5-[(4-hydroxyphenylimino)methyl]benzene-1,3-diol (화합물 2)의 제조.

[0050] Methylene chloride (20ml)에 3,5-dihydroxybenzaldehyde **7** (500 mg, 3.62 mmol), 4-hydroxyaniline **8** (395 mg, 3.62 mmol)과 Na_2SO_4 (500 mg)을 혼합한 반응 혼합물을 아르곤 가스, 상온하에 3 시간 동안 교반하여 아래 반응식 1과 같이 화합물 **2**를 합성하였다. 반응 후, 용매를 증발시키고 잔여물은 아세토니트릴에 녹이고 필터로 여과하였다. 여과물을 진공 건조하여 원하는 화합물 **2**를 노란 고체(778 mg, 93%)로 얻었다.

[0051] <반응식 1>



[0052] <제조예 2> (Z)-3,4',5-Trihydroxystilbene (화합물 4)의 제조.

[0054] 페트리 접시에서 $\text{methanol-}d_4$ (5 mL)에 녹인 (*E*)-3,4',5-trihydroxystilbene (100 mg, 0.438 mmol) 용액을 상온의 암실 하에서 0.5시간 동안 365 nm, 11 J(joule)의 조건으로 조사하였다. 반응 후, 반응 혼합물이 *cis* 와 *trans*형의 resveratrol (*cis:trans* = 84:16)로 구성되어 있음을 ^1H NMR로 확인하였다. 이 혼합물이 컬럼 크로마토그래피 또는 재결정과 같은 추가의 정제를 거치는 동안 *trans*형의 resveratrol인 화합물 **4**로 전환되기 때문에, 이 혼합물을 추가의 정제없이 사용하였다. 아래의 표 1은 가해지는 에너지 및 조건에 따른 *trans* 변환량을 테스트한 결과이며 11J의 에너지를 가할 때가 최적 조건으로 파악되었다. ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) *cis* δ 7.08 (2H, d, J = 8.4 Hz), 6.62 (2H, d, J = 8.4 Hz), 6.43 (2H, d, J = 12.3 Hz), 6.31 (2H, d, J = 12.3 Hz), 6.20 (2H, d, J = 2.1 Hz), 6.11 (1H, t, J = 2.1 Hz); *trans* δ 7.35 (2H, d, J = 8.7 Hz), 6.97 (1H, d, J = 16.2 Hz), 6.80 (1H, d, J = 16.2 Hz), 6.76 (2H, d, J = 8.7 Hz), 6.45 (2H, d, J = 2.1 Hz), 6.15 (1H, t, J = 2.1 Hz).

표 1

Energy	Temperature	Time	Ratio (<i>cis:trans</i>)
9 J	room temp.	30 min	78:22
11 J	room temp.	30 min	84:16
13 J	room temp.	30 min	73:27
15 J	room temp.	30 min	57:43
11 J	0° C	30 min	84:16

<제조예 3> 3,5-Bis(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)ethynylbenzene (화합물 10)의 제조.

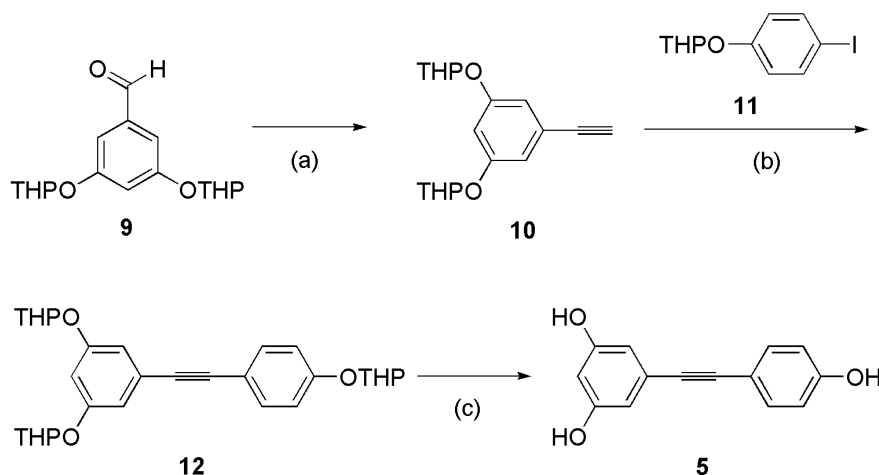
THF (20 mL) 용매에 (trimethylsilyl)diazomethane (2M solution in diethyl ether, 6.21 mL, 12.42 mmol)을 녹인 용액에 질소가스, -78℃ 조건하에 *n*-butyl lithium (2M solution in cyclohexane, 5.59 mL, 11.18 mmol)을 가하였다. 그리고 나서 앞의 혼합물에 THF (40 mL)에 녹인 3,5-bis[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]benzaldehyde **9** (1.905 g, 6.218 mmol) 용액을 적가한 후, -78℃에서 1 시간 동안 교반하였다. 그 후 포화 ammonium chloride 용액 (25 mL)으로 킨칭하였다. 유기층은 diethyl ether로 추출하였고, 포화 sodium bicarbonate 용액과 소금물로 세척 후, Na₂SO₄로 탈수, 여과하고 진공 건조하였다. 결과 잔여물은 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 분리하였다.(EtOAc:Hexane = 1:1). 원하는 결과물인 화합물 **10**을 오렌지 색상의 액체(839 mg, 48 %)로 얻을 수 있었다. R_f 0.62 (EtOAc:Hexane = 1:3); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6.84 (2H, d, *J* = 1.8 Hz), 6.77 (1H, t, *J* = 1.8 Hz), 5.38 (2H, d, *J* = 3.6 Hz), 3.88 (2H, t, *J* = 9.6 Hz), 3.61 (2H, d, *J* = 11.4 Hz), 3.02 (1H, s), 2.00-1.57 (12H, m); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 160.19, 125.46, 114.42, 100.13, 96.50, 79.78, 79.07, 61.73, 30.81, 25.70, 19.32.

<제조예 4> 5-[4-(Tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)phenyl]ethynyl-1,3-[bis(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)]benzene (화합물 12)의 제조.

질소 조건하에서 DMF (13 mL)에 3,5-bis(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)ethynyl-benzene **10** (2.569 g, 8.447 mmol)과 PdCl₂(PPh₃)₂ (0.296 g, 0.422 mmol), 4-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]iodo-benzene **11** (2.322 g, 9.29 mmol)과 CuI (0.064 g, 0.42 mmol)를 혼합한 혼합물에 trimethylamine (2.35 mL, 16.89 mmol)을 더했다. 그 혼합물을 질소가스, 상온 안에서 15시간 동안 교반하여 아래 반응식 2와 같이 화합물 12를 합성하였다. 반응은 물로 킨칭하였고, 유기층은 methylene chloride로 추출하였다. 유기층은 물로 씻고, Na₂SO₄로 탈수하고, 여과하고 진공 건조하였다. 잔여물은 컬럼 크로마토그래피로 분리하였다(Methylene chloride:Hexane = 1:1). 원하는 결과물인 화합물 **12**는 갈색 고체(2.304 g, 57 %)로 얻을 수 있었다. R_f 0.55 (EtOAc:Hexane = 1:3); mp 204-206℃; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.43 (2H, d, *J* = 8.7 Hz), 7.01 (2H, d, *J* = 8.7 Hz), 6.87 (2H, d, *J* = 1.8 Hz), 6.73 (1H, t, *J* = 1.8 Hz), 5.43 (3H, t, *J* = 3.9Hz), 3.89 (3H, t, *J* = 9.6 Hz), 3.62 (3H, d, *J* = 11.4 Hz), 2.00-1.57 (18H, m); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 160.35, 158.06, 134.65, 125.09, 117.83, 114.84, 112.82, 99.86, 98.69, 96.50, 94.88, 61.90, 30.81, 25.70, 19.31.

[0060]

<반응식 2>



[0061]

[0062]

(a) TMSiCHN₂ (2.0 eq.), n-BuLi (1.8 eq.), THF, -78°C, 48%; (b) PdCl₂(PPh₃)₂ (0.1 mol %), CuI (0.1 mol %), TEA (2 eq.), DMF, r.t., 57%; (c) Dowex 50X2-100 ion-exchange resin (excess), MeOH, 85%.

[0063]

<제조예 5> 5-[(4-Hydroxyphenyl)ethynyl]-1,3-benzenediol (화합물 5)의 제조.

[0064]

메탄올에 5-[(4-(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)phenyl)ethynyl]-1,3-bis(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)benzene 12 (500 mg, 1.04 mmol)를 녹인 용액에 Dowex 50X2-100 ion-exchange resin (excess)을 가하여 얻어진 혼합물을 3 시간 동안 상온에서 교반하여 반응식 2와 같이 화합물 5를 합성하였다. 반응 혼합물을 Celite 545를 통해 여과하였고, 여과물을 감압 농축하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 정제하였다(EtOAc:Hexane = 1:1). 원하는 결과물인 화합물 5는 갈색 고체(199 mg, 85 %)로 얻을 수 있었다. R_f 0.23 (EtOAc:Hexane = 1:3); mp 235-239°C; ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.30 (2H, d, J = 8.7 Hz), 6.76 (2H, d, J = 8.7 Hz), 6.38 (2H, d, J=1.8Hz), 6.32 (1H, t, J = 1.8 Hz); ¹³C NMR (75 MHz, CD₃OD) δ 161.62, 158.06, 134.65, 124.51, 117.83, 117.61, 113.01, 104.31, 98.69, 94.88.

[0065]

<화합물 1 및 화합물 3의 준비>

[0066]

화합물 1(레스베라트롤)과 아미드 타입의 화합물 3은 문헌 1(Lee, H. S.; Lee, B. W.; Kim, M. R.; Jun, J. G. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2010**, *31*, 971.) 및 문헌 2(Rho, H. S.; Baek, H. S.; You, J. W.; Kim, S. J.; Kim, M.-K.; Kim, D. H.; Chang, I. S. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2007**, *28*, 837.)에 제시된 방법에 따라 합성하였으며, 본 명세서에서는 설명을 생략한다.

[0067]

<실험예> ABTS를 이용한 항산화 평가

[0068]

라디칼 양이온은 7mM ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) 저장 용액(stock solution)과 2.45 mM potassium persulfate 저장 용액(stock solution)을 각각 같은 양을 섞어서 준비했다. 혼합물은 0°C, 암실에서 12 시간 동안 보관했다(암실에서는 화합물 4의 cis/trans 비율에 변화가 거의 없으므로 보관이나 테스트를 암실에서 진행함). 앞의 ABTS 용액은 methanol로 희석하여 734 nm에서 대략 UV 흡광도 값이 1이 되도록 하였다. 앞서 설명된 방법으로 얻어진 1번부터 5번까지의 화합물을 메탄올에 녹여 1000 μM의 저장 용액을 만들었다. 그리고 나서 이 용액들을 메탄올에 500 μM, 250 μM, 125 μM, 62.5 μM, 31.25 μM, 15.63 μM, 7.81 μM, 3.90 μM, 1.95 μM, 와 0.93 μM의 농도로 희석하였다. 테스트 튜브의 다른 3개 세트에 0.9 mL ABTS 용액과 0.1 mL 화합물을 암실 하에서 섞었다. 10 분 인큐베이션한 후에 734 nm에서 UV 흡광도를 측정하였다. 컨트롤은 0.9 mL ABTS 용액과 0.1 mL methanol의 혼합물을 사용하였다. 참고 화합물로 ascorbic acid

(Vitamin C)와 quercetin을 사용하였다. 라디칼 포집률(the radical scavenging rates)은 UV 흡광도 데이터로부터 얻었으며 그 결과를 도 1에 나타내었다. 도 1은 화합물 2 내지 화합물 5 모두가 비교예로 제시된 ascorbic acid, quercetin 등과 비교하여 우수한 항산화 활성을 갖는다는 것을 보여준다.

한편, IC₅₀ 값들의 결과는 Origin 8을 이용하여 계산하였으며, 그 결과를 표 2에 나타내었다.

표 2

Compound	IC ₅₀ (μ M)	Compound	IC ₅₀ (μ M)
1	4.5 ±0.61	2	1.6 ±0.10
3	4.0 ±0.10	4	3.4 ±0.19
5	3.1 ±0.17	Quercetin	4.7 ±0.26
Ascorbic acid	14.0 ±1.03	-	-

표 2는 2번부터 5번까지의 신규화합물들 항산화 효능이 ascorbic acid나 quercetin의 항산화 효능 대비 현저히 우수하거나 적어도 동등하다는 것을 보여준다. 특히, 화합물 4의 경우 화합물 1(레스베라트롤) 대비 항산화 효능이 우수한 것으로 나타났으며, 이는 cis 구조의 입체적 스트레인(strain)의 영향으로 항산화 효능이 더 우수하다고 해석될 수 있다. 화합물 5는 3중 결합의 약한 π-결합으로부터 라디칼이 쉽게 제공될 수 있기 때문에 항산화 효과가 좋은 것으로 해석된다. 특히, 화합물 2는 화합물 1(레스베라트롤) 대비 항산화 효과가 3배 이상으로 현저히 우수한 것으로 나타났다.

상술한 실시예에 설명된 특징, 구조, 효과 등은 본 발명의 적어도 하나의 실시예에 포함되며, 반드시 하나의 실시예에만 한정되는 것은 아니다. 나아가, 각 실시예에서 예시된 특징, 구조, 효과 등은 실시예들이 속하는 분야의 통상의 지식을 가지는 자에 의하여 다른 실시예들에 대해서도 조합 또는 변형되어 실시 가능하다. 따라서 이러한 조합과 변형에 관계된 내용들은 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

도면1

