(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0054180
(43) 공개일자 2021년05월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/37 (2006.01) *A23L 33/10* (2016.01)
A61P 25/24 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/37 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2019-0139987
(22) 출원일자 2019년11월05일
심사청구일자 2019년11월05일
기술이전 희망 : **기술양도**

(71) 출원인
부경대학교 산학협력단
부산광역시 남구 용소로 45, 부경대학교내 (대연동)
전북대학교산학협력단
전라북도 전주시 덕진구 백제대로 567 (덕진동1가)
(72) 발명자
최재수
부산광역시 남구 오륙도로 85, 101동 204호(용호동, 오륙도 에스케이뷰 아파트)
성수희
부산광역시 남구 전포대로20번길 15, 109동 1001호(문현동, 문현동삼성아파트)
정현아
전라북도 전주시 덕진구 송천3길 55, 101동 1105호(송천동1가, 벽산 e리버파크)
(74) 대리인
위병갑

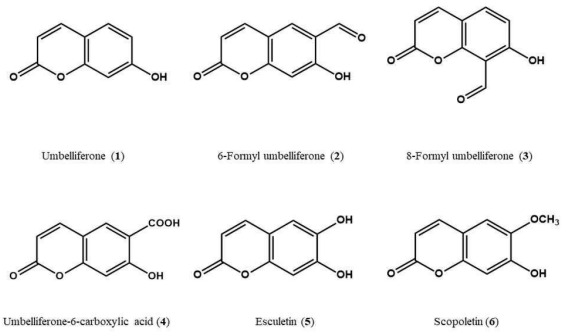
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 **엄벨리페론 유도체를 포함하는 우울증의 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 화학식 1로 표시되는 화합물인 엄벨리페론 유도체를 유효성분으로 포함하는 우울증의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로서, 상기 화합물은 MAO-A에 대한 저해 활성을 가지고 있어, 우울증의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61P 25/24 (2018.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/322 (2013.01)
A23V 2250/30 (2013.01)

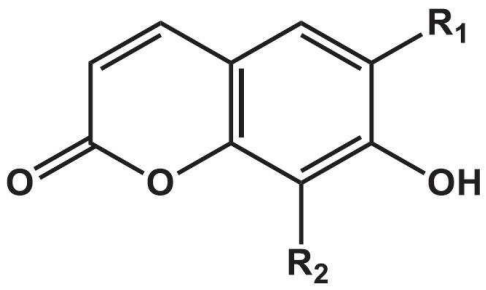
명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표기되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 우울증의 예방 또는 치료용 약학 조성물:

[화학식 1]



상기 식에서,

R_1 및 R_2는 각각 독립적으로 수소원자, 알데히드기(포르밀기) 또는 카르복실기이다.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 화학식 1의 화합물은 엄벨리페론(umbelliferone), 6-포르밀 엄벨리페론(6-formyl umbelliferone), 8-포르밀 엄벨리페론(8-formyl umbelliferone) 및 엄벨리페론-6-카르복실산(umbelliferone-6-carboxylic acid)으로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 화합물은 MAO-A (monoamine oxidase A)에 대한 저해 활성을 가지는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 화합물은 지질 과산화를 억제하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 5

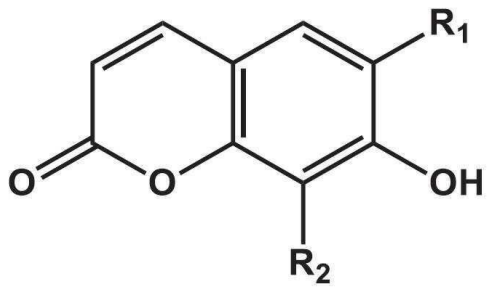
제 1 항에 있어서,

상기 화합물은 아밀로이드 베타 25-35의 자가 응집을 저해하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 6

하기 화학식 1로 표기되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 우울증의 예방 또는 개선용 건강기능식품:

[화학식 1]



상기 식에서,

R_1 및 R_2는 각각 독립적으로 수소원자, 알데히드기(포르밀기) 또는 카르복실기이다.

청구항 7

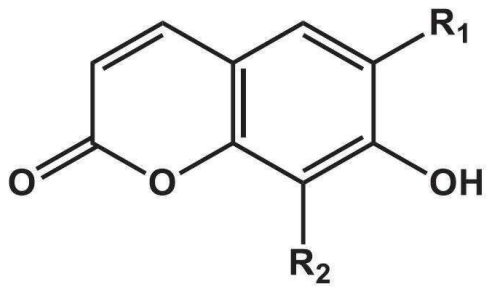
제 6 항에 있어서,

상기 화학식 1의 화합물은 엄벨리페론(umbelliferone), 6-포르밀 엄벨리페론(6-formyl umbelliferone), 8-포르밀 엄벨리페론(8-formyl umbelliferone) 및 엄벨리페론-6-카르복실산(umbelliferone-6-carboxylic acid)으로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 건강기능식품.

청구항 8

시험관 내(*in vitro*)에서 하기 화학식 1로 표기되는 화합물을 시료에 처리하는 단계를 포함하는 MAO-A (monoamine oxidase A)의 활성을 저해하는 방법:

[화학식 1]



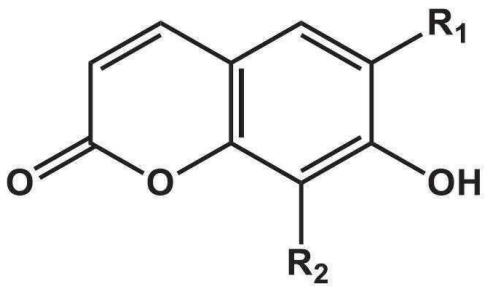
상기 식에서,

R_1 및 R_2는 각각 독립적으로 수소원자, 알데히드기(포르밀기) 또는 카르복실기이다.

청구항 9

시험관 내(*in vitro*)에서 하기 화학식 1로 표기되는 화합물을 시료에 처리하는 단계를 포함하는 지질 과산화를 억제하는 방법:

[화학식 1]



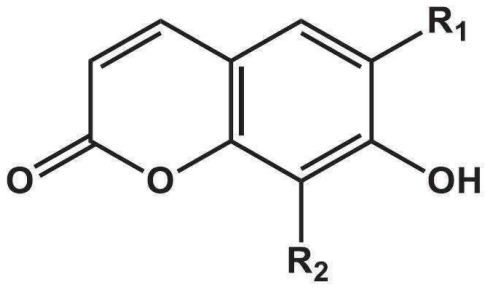
상기 식에서,

R_1 및 R_2는 각각 독립적으로 수소원자, 알데히드기(포르밀기) 또는 카르복실기이다.

청구항 10

시험관 내(*in vitro*)에서 하기 화학식 1로 표기되는 화합물을 시료에 처리하는 단계를 포함하는 아밀로이드 베타 25-35의 자가 응집을 저해하는 방법:

[화학식 1]



상기 식에서,

R_1 및 R_2는 각각 독립적으로 수소원자, 알데히드기(포르밀기) 또는 카르복실기이다.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 엄벨리페론 유도체를 포함하는 우울증의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 파키슨병, 치매(dementia) 등의 신경질환, 정신 분열증, 우울증, 불안장애 등의 신경정신장애(neuropsychiatric disorder)는 고령화, 과도한 빈부격차, 가족해체, 소외감, 치열한 경쟁에서 오는 심리적 스트레스에 의하여 전 세계적으로 증가하고 있는 추세이다. 이러한 신경정신장애의 발병은 생체내의 모노아민(monoamine)류의 대사가 중요한 역할을 하고 있으며, 효소로서는 모노아민산화효소 (monoamine oxidase, MAO, EC 1.4.3.4)가 관련이 있다고 알려져 있다.

[0003] 모노아민산화효소(MAO)는 중추신경계와 말초조직에 다양하게 분포되어 있는 효소로서, 아민 화합물의 산화적 탈아민 반응을 촉매하여 신경전달물질인 모노아민계 화합물과 장내 박테리아에 의해 유래되는 호르몬성 아민(hormonal amines)을 분해한다. 즉, 모노아민산화효소에 의해 신경전달물질이 분해됨으로써 생체내 모노아민계 화합물이 결핍되어 신경정신장애가 발병하는 것이다.

[0004] 이러한 모노아민산화효소(MAO)는 내인성 기질로서 도파민(dopamine), 티라민(tyramine), 에피네프린(epinephirne) 또는 노르에피네프린(norepinephirne)을 주로 이용하며, 기질 특이성에 따라 세로토닌(serotonin)을 선택적으로 탈아미노화시키는 A-형(type A, MAO-A)과 페닐에틸아민(phenylethylamine)과 벤질아민(benzylamine)을 선택적으로 탈아미노화시키는 B-형(type B, MAO-B)의 두 가지 형태로 나눌 수 있다(Youdim MB et al., 2006, Nat. Rev. Neurosci., 7:295-309). 이 중 상기 MAO-A는 우울증과 불안증과 같은 신경정신질환의 발병에 연관이 있으며, MAO-B는 알츠하이머병(Alzheimer's diseases) 및 파킨슨병(Parkinson's diseases)과 같은 신경질환의 발병에 연관이 있다.

[0005] 국내·외에서는 신경정신장애를 예방 또는 치료하기 위해 MAO 억제제가 사용되어 왔으며, 상기 MAO 억제제는 MAO-A 선택적 억제제, MAO-B 선택적 억제제, 및 MAO-A/B 비선택적 억제제, 나아가 가역성 및 비가역성 억제제로 분류되어 있다 (Malcomson T et al., 2015, FEBS J.; 및 Mostert S et al., 2015, Chem. Med. Chem.).

[0006] MAO-A 선택적 억제제와 관련하여 모클로베미드(moclobemide), 브로파로민(brofaromine), 톨록사톤(toloxatone), 아미푸라리네(amifuraline) 및 CX157이 MAO-A의 가역적 억제제로 사용할 수 있다고 보고하고 있다 (Berlin I et al., 1990, Br. J. Clin. Pharmacol., 30:805-816; Fowler JS et al., 2010, Neuropsychopharmacology, 35:623-631; Gentili F et al., 2006, J. Med. Chem., 49:5578-5586; 및 Lotufo-Neto F et al., 1999, Neuropsychopharmacology, 20:226-247).

[0007] 그러나, 화학적으로 합성된 MAO-A 가역적 및 선택적 억제제는 간독성, 체위성 저혈압을 일으키며, 과다 복용시 불면증, 흥분, 경련 등의 부작용이 발생하는 문제가 있다. 따라서, 장기적인 복용에도 안전하며, 우울증을 치료 또는 개선할 수 있는 새로운 의약품 또는 건강기능식품의 개발이 요구되고 있는 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

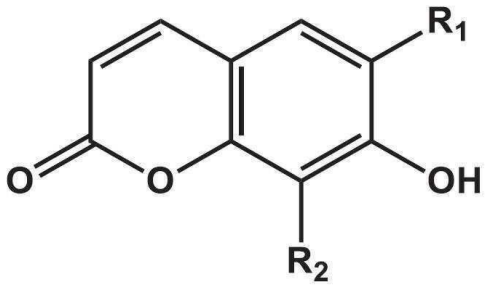
[0009] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-1902837호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 하기 화학식 1로 표기되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 우울증의 예방 또는 치료용 약학조성물을 제공하는 것이다.

[0011] [화학식 1]

[0012] 

[0013] 상기 식에서, R_1 및 R_2는 각각 독립적으로 수소원자, 알데히드기(포르밀기) 또는 카르복실기이다.

[0014] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 화학식 1로 표기되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 우울증의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하는 것이다.

[0015] 본 발명의 또 다른 목적은 시험관 내(*in vitro*)에서 상기 화학식 1로 표기되는 화합물을 시료에 처리하는 단계를 포함하는 MAO-A (monoamine oxidase A)의 활성을 저해하는 방법을 제공하는 것이다.

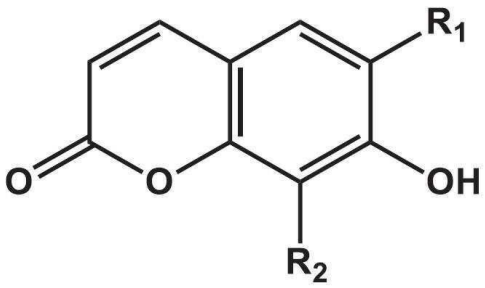
[0016] 본 발명의 또 다른 목적은 시험관 내(*in vitro*)에서 상기 화학식 1로 표기되는 화합물을 시료에 처리하는 단계를 포함하는 지질 과산화를 억제하는 방법을 제공하는 것이다.

[0017] 본 발명의 또 다른 목적은 시험관 내(*in vitro*)에서 상기 화학식 1로 표기되는 화합물을 시료에 처리하는 단계를 포함하는 아밀로이드 베타 25-35의 자가 응집을 저해하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0019] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1로 표기되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 우울증의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0020] [화학식 1]

[0021] 

[0022] 상기 식에서, R_1 및 R_2는 각각 독립적으로 수소원자, 알데히드기(포르밀기) 또는 카르복실기이다.

[0023] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물은 엄벨리페론(umbelliferone) 또는 엄벨리페론 유도체인 것일 수 있고, 상기 엄벨리페론 유도체는 6-포르밀 엄벨리페론(6-formyl umbelliferone), 8-포르밀 엄벨리페론(8-formyl umbelliferone) 및 엄벨리페론-6-카르복실산(umbelliferone-6-carboxylic acid)으로 이루어진 군에서 선택되는 것일 수 있다.

[0024] 상기 화합물은 자화전호(*Angelica decursiva*)에서 분리된 것일 수 있으나, 이에 한정되지 않고, 당업계에 공지된 방법으로 화학적으로 합성하거나 시판되는 물질을 사용할 수 있다.

[0025] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 화합물은 MAO-A (monoamine oxidase A)에 대한 저해 활성을 가지는 것일 수 있다.

[0026] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 화합물은 지질 과산화를 억제하는 것일 수 있다.

[0027] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 화합물은 아밀로이드 베타 25-35의 자가 응집을 저해하는 것일 수 있다.

[0028] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표기되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 우울증의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0029] 또한, 본 발명은 시험관 내(*in vitro*)에서 상기 화학식 1로 표기되는 화합물을 시료에 처리하는 단계를 포함하는 MAO-A (monoamine oxidase A)의 활성을 저해하는 방법을 제공한다.

[0030] 또한, 본 발명은 시험관 내(*in vitro*)에서 상기 화학식 1로 표기되는 화합물을 시료에 처리하는 단계를 포함하는 지질 과산화를 억제하는 방법을 제공한다.

[0031] 또한, 본 발명은 시험관 내(*in vitro*)에서 상기 화학식 1로 표기되는 화합물을 시료에 처리하는 단계를 포함하는 아밀로이드 베타 25-35의 자가 응집을 저해하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0033] 본 발명의 엄벨리페론 유도체는 MAO-A (monoamine oxidase A)에 대한 경쟁적 저해 활성을 가지는 있어 우울증의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0035] 도 1은 엄벨리페론 및 이의 유도체들의 화학 구조식를 나타낸 것이다.

도 2는 6-포르밀 엄벨리페론의 인간 MAO-A에 대한 Lineweaver-Burk plot (A) 및 secondary plot (B) 결과를 나타낸 것이다.

도 3은 6-포르밀 엄벨리페론의 인간 MAO-B에 대한 Lineweaver-Burk plot (A) 및 secondary plot (B) 결과를 나타낸 것이다.

도 4는 인간 MAO-A에 도킹된 엄벨리페론 (A), 6-포르밀 엄벨리페론 (B), 8-포르밀 엄벨리페론 (C) 및 엄벨리페론-6-카르복실산 (D)의 결합 양상을 나타낸 것이다.

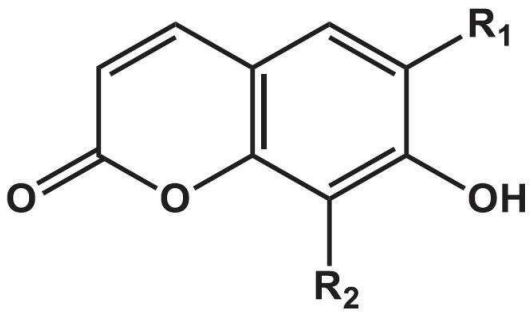
도 5는 인간 MAO-B에 도킹된 엄벨리페론 (A), 6-포르밀 엄벨리페론 (B), 8-포르밀 엄벨리페론 (C) 및 엄벨리페론-6-카르복실산 (D)의 결합 양상을 나타낸 것이다.

도 6은 엄벨리페론(**1**), 6-포르밀 엄벨리페론(**2**), 8-포르밀 엄벨리페론(**3**), 엄벨리페론-6-카르복실산(**4**), 에스쿠레틴(**5**) 및 스코폴레틴(**6**)의 랫(rat) 뇌 균질액에서 지질 과산화에 대한 결과를 나타낸 것이다 (Trolox: 양성 대조군).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0036] 본 발명은 하기 화학식 1로 표기되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 우울증의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0037] [화학식 1]



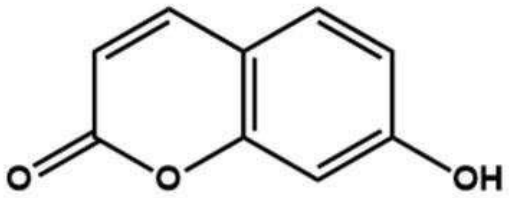
[0038]

[0039] 상기 식에서, R_1 및 R_2는 각각 독립적으로 수소원자, 알데히드기(포르밀기) 또는 카르복실기이다.

[0040] 상기 화학식 1의 화합물은 엄벨리페론(umbelliferone) 또는 엄벨리페론 유도체인 것일 수 있다.

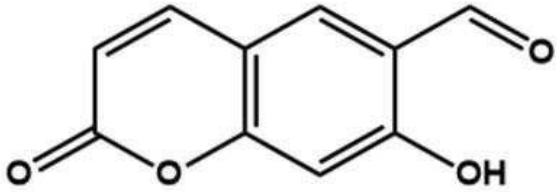
[0041] 상기 화학식 1의 화합물은 하기 화학식 2로 표시되는 R_1 및 R_2가 수소원자인 엄벨리페론(umbelliferone), 하기 화학식 3으로 표시되는 R_1 및 R_2가 각각 알데히드기(CHO) 및 수소원자인 6-포르밀 엄벨리페론(6-formyl umbelliferone), 하기 화학식 4로 표시되는 R_1 및 R_2가 각각 수소원자 및 알데히드기(CHO)인 8-포르밀 엄벨리페론(8-formyl umbelliferone), 및 하기 화학식 5로 표시되는 R_1 및 R_2가 각각 카르복실기(COOH) 및 수소원자인 엄벨리페론-6-카르복실산(umbelliferone-6-carboxylic acid)인 것일 수 있다.

[0043] [화학식 2]



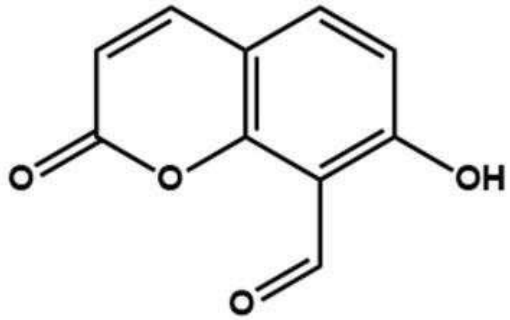
[0044]

[0045] [화학식 3]



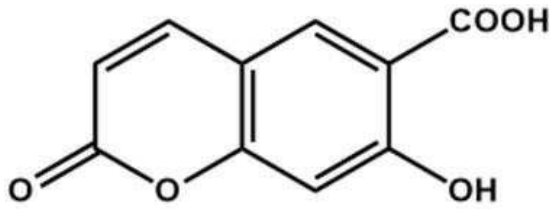
[0046]

[0047] [화학식 4]



[0048]

[0049] [화학식 5]



[0050]

[0052] 상기 화합물은 자화전호(*Angelica decursiva*)의 추출물 또는 분획물에서 유래된 것일 수 있으나, 이에 한정되지 않고, 당업계에 공지된 방법으로 화학적으로 합성하거나 시판되는 물질을 사용할 수 있다.

[0053] 상기 추출물은 당업계에 공지된 추출 및 분리하는 방법을 사용하여 천연으로부터 추출 및 분리하여 수득한 것을 사용할 수 있으며, 본 발명에서 정의된 "추출물"은 적절한 용매를 이용하여 자화전호(*Angelica decursiva*)로부터 추출한 것이며, 예를 들어, 자화전호(*Angelica decursiva*)의 조추출물, 극성용매 가용 추출물 또는 비극성용매 가용 추출물을 모두 포함한다.

[0054] 상기 자화전호(*Angelica decursiva*)로부터 추출물을 추출하기 위한 적절한 용매로는 약학적으로 허용되는 유기

용매라면 어느 것을 사용해도 무방하며, 물 또는 유기용매를 사용할 수 있으며, 이에 제한되지는 않으나, 예를 들어, 정제수, 메탄올(methanol), 에탄올(ethanol), 프로판올(propanol), 이소프로판올(isopropanol), 부탄올(butanol) 등을 포함하는 탄소수 1 내지 4의 알코올, 아세톤(acetone), 에테르(ether), 벤젠(benzene), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 메틸렌클로라이드(methylene chloride), 헥산(hexane) 및 시클로헥산(cyclohexane) 등의 각종 용매를 단독으로 혹은 혼합하여 사용할 수 있다.

[0055] 추출 방법으로는 열수추출법, 냉침추출법, 환류냉각추출법, 용매추출법, 수증기증류법, 초음파추출법, 용출법, 압착법 등의 방법 중 어느 하나를 선택하여 사용할 수 있다. 또한, 목적하는 추출물은 추가로 통상의 분획 공정을 수행할 수도 있으며, 통상의 정제 방법을 이용하여 정제될 수도 있다. 본 발명의 자화전호(*Angelica decursiva*) 추출물의 제조 방법에는 제한이 없으며, 공지되어 있는 어떠한 방법도 이용될 수 있다.

[0056] 본 발명의 화합물은 자화전호(*Angelica decursiva*) 추출물에서 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), 박층 크로마토그래피(thin layer chromatography), 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 등과 같은 다양한 크로마토그래피를 이용하여 추가로 정제된 분획물을 얻을 수도 있으며, 바람직하게는 결명자 메탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물에서 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 분리된 것일 수 있다.

[0058] 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함할 수 있다. 본 발명에서 용어, "약학적으로 허용가능한"이란 상기 조성물에 노출되는 세포나 인간에게 독성이 없는 특성을 나타내는 것을 의미한다. 상기 담체는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제, 기제, 부형제, 윤활제 등 당업계에 공지된 것이라면 제한없이 사용할 수 있다.

[0059] 또한, 본 발명의 약학 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 있다. 나아가, 연고제, 로션제, 스프레이제, 패취제, 크림제, 산제, 현탁제, 겔제 또는 젤의 형태의 피부 외용제의 형태로 사용될 수 있다. 본 발명의 조성물에 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, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.

[0060] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 싸이코트리아 루브라 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 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 액상 제제로는 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, 동결건조 제제, 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.

[0061] 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명의 용어 "투여"란 적절한 방법으로 개체에게 소정의 물질을 도입하는 것을 의미하며 상기 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 복강내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경구 투여, 국소 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 직장내 투여될 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다.

[0062] 상기 용어, "개체"란 인간을 포함한 쥐, 생쥐, 가축 등의 모든 동물을 의미한다. 바람직하게는, 인간을 포함한 포유동물일 수 있다.

[0063] 상기 용어, "약학적으로 유효한 양"이란 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자의 성별, 연령, 체중, 건강 상태, 질병의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로, 및 배출

비율, 치료 기간, 배합 또는 동시에 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 투여는 상기 권장 투여량을 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다.

[0065] 본 발명의 식품 조성물은 통상적인 의미의 식품을 모두 포함할 수 있으며, 기능성 식품, 건강기능식품 등 당업계에 알려진 용어와 혼용 가능하다.

[0066] 본 발명의 용어, "기능성 식품"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.

[0067] 본 발명의 용어, "건강기능식품"은 건강보조의 목적으로 특정성분을 원료로 하거나 식품 원료에 들어있는 특정성분을 추출, 농축, 정제, 혼합 등의 방법으로 제조, 가공한 식품을 말하며, 상기 성분에 의해 생체방어, 생체리듬의 조절, 질병의 방지와 회복 등 생체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발휘할 수 있도록 설계되고 가공된 식품을 말하는 것으로서, 상기 건강식품용 조성물은 질병의 예방 및 질병의 회복 등과 관련된 기능을 수행할 수 있다.

[0068] 본 발명의 조성물이 사용될 수 있는 식품의 종류에는 제한이 없다. 아울러 본 발명의 조성물은 당업자의 선택에 따라 식품에 포함될 수 있는 적절한 기타 보조 성분과 공지의 첨가제를 혼합하여 제조할 수 있다. 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 쵸코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림 류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 본 발명에 따른 추출물 및 이의 분획물을 주성분으로 하여 제조한 즙, 차, 젤리 및 주스 등에 첨가하여 제조할 수 있다.

[0069] 또한, 본 발명에 적용될 수 있는 식품에는 예컨대, 특수영양식품(예: 조제유류, 영,유아식 등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 묵류, 면류(예: 라면류, 국수류 등), 건강보조식품, 조미식품(예: 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예:스낵류), 유가공품(예: 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품(각종 김치류, 장아찌 등), 음료(예: 과실, 채소류 음료, 두유류, 발효음료류 등), 천연조미료(예, 라면스프 등) 등 모든 식품을 포함할 수 있다.

[0070] 본 발명의 건강기능식품 조성물이 음료의 형태로 사용될 경우에는 통상의 음료와 같이 여러 가지 감미제, 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 외에 본 발명의 건강기능식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 천연 과일쥬스, 과일쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

[0072] 이하, 본 발명을 실시예를 통하여 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0074] **실시예 1. 실험재료 및 방법**

[0075] **1.1. 물질**

[0076] 엄벨리페론(umbelliferone, **1**), 6-포르밀 엄벨리페론(6-formyl umbelliferone, **2**) 및 엄벨리페론-6-카르복실산(umbelliferone-6-carboxylic acid, **4**)은 기존에 보고된 연구를 참조하여 자화전호(*Angelica decursiva*)로부터 분리하였다 (Arch. Pharm. Res. 35 (2012) 179-19; 및 Molecules. 22 (2017) 1604). 또한, 8-포르밀 엄벨리페론(8-formyl umbelliferone, **3**)은 기존의 연구에 따라 엄벨리페론으로부터 합성하였다 (Dalton Trans. 45 (2016) 1310-1314). 에스쿠레틴(esculetin, **5**) 및 스코폴레틴(scopoletin, **6**)은 Sigma-Aldrich 로부터 구입하였다. 상기 각 화합물의 구조는 도 1과 같다.

[0078] **1.2. 인간 MAO-A (human monoamine oxidase A, *h*MAO-A) 및 인간 MAO-B (human monoamine oxidase B, *h*MAO-B)**

활성 저해 실험

[0079] 인간 MAO-A 및 인간 MAO-B에 대한 저해활성은 MAO-Glo™ assay kit (Promega, Madison, WI, USA)에서 제공하는 프로토콜을 수정하여 실험하였다. 간단히, 12.5 μL의 기질과 12.5 μL의 4X 시료 또는 양성 대조군(디프레닐 HCl)을 흰색 불투명 96-well plate에 주입하였다. 이후, 인간 MAO-A 및 MAO-B 효소는 2X reaction buffer (pH 7.4)로 희석한 후, 25 μL을 well에 주입하고 1 시간 동안 배양하였다. 배양이 끝난 후, 50 μL의 RLDR (reconstituted luciferin detection reagent)를 첨가하여 20분 동안 배양하였고, Luminometer (Spectra Max L, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 ALU (arbitrary light unit)를 측정하였다.

[0081] **1.3. 인간 MAO-A에 대한 키네틱 연구**

[0082] 본 발명자들은 6-포르밀 엄벨리페론의 인간 MAO-A에 대한 억제 메커니즘을 결정하기 위한 실험을 수행하였다. 간단히, 여러 농도의 6-포르밀 엄벨리페론(인간 MAO-A: 0, 0.8, 4, 10 μM; 인간 MAO-B: 0, 5, 10, 25 μM)에서 여러 농도의 기질 하에 효소학적 반응을 Lineweaver-Burk plot을 통해 나타내었다. 인간 MAO-A에 대한 키네틱 실험에서는 40, 80, 160 μM 농도 (최종 농도: 10, 20, 40 μM)의 기질을 사용하였다.

[0084] **1.4. 분자 도킹 연구**

[0085] 표적 수용체와 6-포르밀 엄벨리페론의 도킹 시뮬레이션은 AutoDock 4.2 program을 사용하여 수행되었다. 인간 MAO-A-하민(harmine) 복합체(PDB ID: 2Z5X) 및 인간 MAO-B-safinamide 복합체(PDB ID: 2V5Y)의 X-선 결정구조는 RCSB Protein Data Bank (PDB)에서 획득하였다. 6-포르밀 엄벨리페론의 3D 구조는 Marvin Sketch program (v17,1,30, ChemAxon, Budapest, Hungary)을 사용하여 생성하였고, molecular mechanics 2 force field를 이용하여 에너지를 최소화하였다. 수화된 리간드와 W-map은 기존 연구에 따라서 수행하였다 (J. Med. Chem. 55 (2012) 623-638). 자동 도킹 시뮬레이션은 AutoDockTools (ADT)을 사용하여 실행해 적절한 결합 방향을 평가하였다. 도킹 계산을 위해, Gasteiger charges를 디폴트로 추가하고, 회전가능한 결합을 ADT로 설정하고, 모든 torsion은 회전 가능하도록 하였다. 그리드 맵 (grid maps)은 AutoGrid로 생성하였다. 구부러지지 않거나 구부러질 수 있는 리간드 도킹을 위한 도킹 프로토콜은 15개 독립 유전 알고리즘으로 구성되었다. 사용된 다른 파라미터들은 ADT 디폴트이다. 결과는 Discovery Studio (v17.2, Accelrys, San Diego, CA, USA) 및 UCSF Chimera (http://www.cgl.ucsf.edu/chimera/)를 사용하여 시각화하고 분석하였다.

[0087] **1.5. 아밀로이드 베타 25-35 자가 응집 실험**

[0088] 아밀로이드 베타 25-35 용액은 기존에 알려진 방법을 이용하여 준비되었다 (ACS Chem. Neurosci. 3 (2012) 952-962). 간단히, 100 mM NaCl을 함유하는 50 mM phosphate 버퍼 (pH 7.4)로 희석한 다양한 농도의 화합물 2.5 μL와 100 μM 아밀로이드 베타 25-35 용액 72.5 μL를 에펜도르프 튜브에 넣어 고르게 섞은 후 24 시간 동안 4 ℃에서 반응시켰다. 이후, 50 mM glycine-NaOH 버퍼 (pH 8.5)에 희석시킨 25 μM thioflavin-T 675 μL를 넣어 반응을 종결시켰다. 형광감도는 446 nm (여기파장)/490 nm (방출파장)에서 fluorescence microplate reader를 이용하여 측정하였다.

[0090] **1.6. 지질 과산화 실험**

[0091] 랫(Rat)의 뇌(brain) 균질액은 Aging Tissue Bank (부산대학교, 부산, 대한민국)로부터 제공받은 갓 희생된 6개월된 수컷 Spraque Dawley rat의 전뇌로부터 준비되었다. 전뇌는 차가운 140 mM KCl(potassium chloride)를 함유하는 20 mM sodium phosphate 버퍼 (pH 7.4)에 10% 비율로 균질화되었다. 이후, 1,300 x g 회전율로 10 분간 원심분리된 후 상등액을 지질 과산화 실험에 사용하였다. 지질 과산화 실험은 TBARS(thiobarbituric acid reactive species) 방법을 통해 측정하였다. 랫의 뇌(brain) 균질액 상등액 100 μL, 250 μM 황산제이철 (ferric sulfate) 30 μL 및 증류수 120 μL를 섞은 후 1 시간 동안 37 ℃에서 반응시켰다. 이후, 0.8% TBA 0.6 mL, 8.1% SDS 0.3 mL 및 acetic acid-NaOH solution (pH 3.4) 0.6 mL를 첨가하여 반응을 종결시켰다. 식힌 후, 반응물은 n-butanol로 추출하여 1300 x g 회전율로 5 분간 원심분리시켰다. 유기층의 흡광도는 532 nm에서 측정하엿다. TBARS 형성은 1,1,3,3-tetramethoxypropane을 이용한 검량선으로부터 계산하였고,

MDA(malondialdehyde) nmol/mg protein으로 표현하였다. Trolox를 양성 대조군으로 사용하였다.

[0093] **1.7. ADMET 예측 실험**

[0094] 흡수(absorption), 분포(distribution), 대사(metabolism), 분비(excretion) 및 독성(toxicity)과 같은 화합물의 약동학적 파라미터들을 약물 유사 특징을 특성화하기 위하여 웹-기반 소프트웨어인 PreADMET (v2.0, YONSEI University, Seoul, Korea)을 사용하여 실행하였다.

[0096] **실시예 2. 인간 MAO-A 및 인간 MAO-B 활성 저해 효과**

[0097] 본 발명자들은 R-(-)-디프레닐 HCl를 양성 대조군으로 하여 엄벨리페론 유도체들의 MAO-A 및 MAO-B에 대한 저해 효과를 측정하는 실험을 수행하였다. 그 결과, 표 1에 나타낸 바와 같이, 엄벨리페론의 MAO-A 및 MAO-B에 대한 IC_{50} 값은 39.16 μM 및 147.37 μM 로 확인되었다. 놀랍게도, 엄벨리페론의 6번 및 8번 위치에 포르밀 작용기를 더해졌을 경우 MAO 저해 활성이 상당히 높게 나타났다. 6-포르밀 엄벨리페론의 MAO-A 및 MAO-B에 대한 IC_{50} 값은 3.23 μM 및 15.31 μM 로 확인되었고, 8-포르밀 엄벨리페론의 MAO-A 및 MAO-B에 대한 IC_{50} 값은 10.46 μM 및 81.35 μM 로 확인되었다. 반면, 엄벨리페론의 6번 위치에 카르복실산, 수산기 또는 메톡실기로 치환된 경우에는 MAO-A 및 MAO-B에 대한 저해 활성에 차이가 없거나 오히려 활성이 감소되는 것으로 확인되었다.

표 1

Samples	IC_{50} (μM) [a]		SI [b]	Inhibition type	K_i value (μM)
	*h*MAO-A	*h*MAO-B			
Umbelliferone **(1)**	39.16 ± 0.85	147.37 ± 3.65	0.27	–	–
6-Formyl umbelliferone **(2)**	3.23 ± 0.42	15.31 ± 0.68	0.21	Competitive [c], Competitive [d]	3.05 [e], 6.81 [f]
8-Formyl umbelliferone **(3)**	10.46 ± 0.94	81.35 ± 2.59	0.13	Competitive [c], Competitive [d]	11.04 [e], 20.42 [f]
Umbelliferone-6-carboxylic acid **(4)**	100.24 ± 6.40	144.27 ± 5.52	0.69	–	–
Esculetin **(5)**	122.53 ± 0.58	> 300	< 0.41	–	–
Scopoletin **(6)**	207.65 ± 1.91	> 300	< 0.69	–	–
R-(–)-Deprenyl HCl [g]	8.85 ± 0.07	0.10± 0.01	88.5	–	–

(–) Not tested.
[a] Values were expressed as mean ± SEM, $n = 3$
[b] The selective index (SI) was determined by the ratio of *h*MAO-A IC_{50}/*h*MAO-B IC_{50}.
[c, e] *h*MAO-A inhibition type was determined by Lineweaver Burk plot and inhibition constant was determined by secondary plot.
[d, f] *h*MAO-B inhibition type and inhibition constant.
[g] Positive control.

[0099]

[0101] **실시예 3. 인간 MAO-A 에 대한 키네틱 분석 결과**

[0102] 본 발명자들은 인간 MAO의 저해 메커니즘을 이해하기 위해서 Lineweaver-Burk plot 및 이의 secondary plot을 통해서 효소 키네틱 실험을 수행하였다. 그 결과, 6-포르밀 엄벨리페론을 처리한 경우 인간 MAO-A 의 활성에 대한 Lineweaver-Burk plot은 직선 형태로 그려졌고, y축에서 교차하였다 (도 2A). 또한, 6-포르밀 엄벨리페론의 농도가 높아져도 y축 교차점 (1/Vmax)의 위치는 일정하게 유지되는 것이 확인되었다 (도 2B). 이로써, 6-포르밀 엄벨리페론은 MAO-A에 대한 경쟁적 저해제인 것으로 확인되었고, 6-포르밀 엄벨리페론의 인간 MAO-A에 대한 저해 상수(K*ic*)는 Secondary plot에 의해서 3.05 μM로 확인되었다.

[0103] 유사하게, 6-포르밀 엄벨리페론은 MAO-B에도 경쟁적 저해 양상을 보였다. 6-포르밀 엄벨리페론을 처리한 경우 인간 MAO-B의 활성에 대한 Lineweaver-Burk plot은 직선 형태로 그려졌고, y축에서 교차하였다 (도 3A). 또한, secondary plot에서 6-포르밀 엄벨리페론의 농도가 높아져도 y축 교차점의 위치는 일정하게 유지되는 것이 확인되었다 (도 3B). 이로써, 6-포르밀 엄벨리페론은 MAO-B에 대한 경쟁적 저해제인 것으로 확인되었고, 6-포르밀 엄벨리페론의 인간 MAO-B에 대한 저해 상수(K*ic*)는 6.81 μM로 확인되었다.

[0105] **실시예 4. 인간 MAO-A 에 대한 도킹 시뮬레이션 결과**

[0106] 본 발명자들은 엄벨리페론 유도체들에 의한 인간 MAO-A의 저해 메커니즘을 증명하기 위하여 도킹 시뮬레이션을 수행하였다. 그 결과, 도 4 및 표 2에 나타낸 바와 같이, 6-포르밀 엄벨리페론(**2**)의 포르밀기는 하나의 물분자를 매개로 하여 MAO-A의 Tyr444 및 Tyr197 잔기와 수소 결합을 형성하였다 (도 4B). 또한, 6-포르밀 엄벨리페론은 MAO-A의 Phe352와 Tyr407 잔기와 pi-pi T-shaped 및 pi-pi stacked 결합을 통하여 소수성 상호작용을 형성하였다. 또한, 6-포르밀 엄벨리페론은 반데르발스 상호작용을 통하여 FAD와 결합하였다.

[0107] 8-포르밀 엄벨리페론(**3**)의 경우 화합물의 케톤기가 FAD와 물분자를 매개로 수소 결합을 형성하였다 (도 4C). 또한, 8-포르밀 엄벨리페론은 MAO-A의 Tyr407, Ile180, Ile335 잔기와 pi-pi stacked, pi-alkyl, pi-alkyl 결합을 통하여 소수성 상호작용을 형성하였다. 엄벨리페론(**1**)은 MAO-A의 Tyr407 및 Tyr444 잔기와 pi-pi stacked aromatic 샌드위치 결합을 통하여 상호작용하는 것이 확인되었다 (도 4A). 또한, 엄벨리페론의 수산기 및 케톤기는 FAD와 Tyr197과 각각 수소 결합을 형성하였다. 반면, 엄벨리페론-6-카르복실산(**4**)은 MAO-A와 제한된 소수성 및 친수성 상호작용이 관찰되었다 (도 4D). 이러한 컴퓨터 시뮬레이션 예측 결과는 엄벨리페론 유도체들의 *in vitro* MAO-A 저해 활성 결과와 일관되게 나타났다.

표 2

Compounds	Total binding energy (kcal/mol)[a]	Direct H-bond interaction	Water mediated H-bond interaction	Other interaction residues
1	−7.67	FAD, Tyr197	Gly443	Tyr407, Tyr444 (Pi-Pi Stacked)
2	−8.45	–	Tyr444, Tyr197	Tyr407 (Pi-Pi Stacked), Phe352 (Pi-Pi T-shaped), Ile335 (Pi-Alkyl), FAD (van der Waals)
3	−9.23	–	FAD	Ile180 and Ile335 (Pi-Alkyl), Tyr407 (Pi-Pi Stacked), Phe208 (C-O bond)
4	−8.51	–	Gly443, FAD	Tyr407 (Pi-Pi Stacked)
Harmine[b]	−8.43	–	FAD,Gly443, Tyr197	Ile335, Tyr407, Tyr444, and FAD (Pi-Alkyl), Tyr407 (Pi-Pi Stacked), Asn181 (C-O bond)

[a] Total binding energy of a hydrated inhibitor is calculated from the sum of normal ligand and W atoms potentials.
[b] Reported inhibitors.

[0109]

[0111] **실시예 5. 인간 MAO-B 에 대한 도킹 시뮬레이션 결과**

[0112] 본 발명자들은 엄벨리페론 유도체들의 인간 MAO-B에 대한 도킹 시뮬레이션을 수행하였다. 그 결과, 도 5 및 표 3에 나타낸 바와 같이, 엄벨리페론(**1**), 6-포르밀 엄벨리페론(**2**) 및 8-포르밀 엄벨리페론(**3**)은 MAO-B의 Tyr398 및 Tyr435를 포함하는 기질-결합 부위의 잔기들과 aromatic 샌드위치 결합을 형성하였다. 또한, 6-포르밀 엄벨리페론의 포르밀 작용기는 FAD의 isoalloxazine 고리와 C-O 결합 및 소수성 결합을 통하여 상호작용하였다 (도 5B). 그러나, 8-포르밀 엄벨리페론의 포르밀 작용기는 MAO-B의 촉매 활성 자리가 아닌 Thr399 잔기와 물분자-매개 수소 결합을 형성하였다 (도 5C). 이의 결과와 일관되게, 6-포르밀 엄벨리페론과 8-포르밀 엄벨리페론은 *in vitro* MAO-B의 저해 활성에서 차이가 있었다.

[0113] 반면, 엄벨리페론은 FAD와 상호작용이 결여된 것으로 나타났고 (도 5A). 엄벨리페론-6-카르복실산은 기질-결합 부위의 잔기들과 aromatic 샌드위치 결합을 하지 않는 것으로 나타났다 (도 5D).

표 3

Compounds	Total binding energy (kcal/mol)[a]	Direct H-bond interaction	Water mediated H-bond interaction	Hydrophobic interaction residues
1	−7.81	Cys172	Cys172	Tyr398 and Tyr435 (Pi-Pi Stacked), FAD (Pi-Pi T-shaped)
2	−8.88	Cys172	Tyr188, Cys172	Tyr398 and Tyr435 (Pi-Pi Stacked), FAD (Pi-Pi T-shaped, C-O bond), Leu171 and Ile198 (Pi-Alkyl), Cys172 (Pi-Sulfur), FAD (Pi-Lone pair)
3	−9.04	–	FAD, Thr399, Cys172, Tyr188	Tyr398 and Tyr435 (Pi-Pi Stacked), Leu171 (Pi-Alkyl), Cys172 (Pi-Sulfur)
4	−8.74	FAD	–	Tyr398 (Pi-Pi Stacked), Leu171 (Pi-Alkyl), Cys172 (Pi-Sulfur)
Deprenyl[b]	−6.69	–	Ile198	Ile199 (Pi-Sigma), Tyr326 (Pi-Pi T-shaped), Tyr398 (Pi-Sigma), Ile171, Ile199, Tyr435, and FAD (Pi-Alkyl), Cys172 (Pi-Sulfur)
Safinamide[b]	−10.72	FAD, Gln206	–	Ile199 and Tyr326 (Pi-Pi T-shaped), Ile199, Ile316, Leu171, and Cys172 (Pi-Alkyl), Leu164 (Halogen, F)

[a] Total binding energy of a hydrated inhibitor is calculated from the sum of normal ligand and W atoms potentials..
[b] Reported inhibitors.

[0115]

[0117] **실시예 6. 지질 과산화에 대한 억제 효과**

[0118] 뇌(brain)에서 MAO 효소 및 아밀로이드 베타 플라크는 과산화수소의 주요 공급원으로 작용하며, 과산화수소와 철 이온(Fe^{2+})이 만나서 Fenton 반응을 통하여 지질 과산화가 개시되는 것으로 알려져 있다. 이에 본 발명자들은 엄벨리페론 유도체들이 랫(rat)의 뇌(brain) 균질액에서 지질 과산화에 대한 저해 효과가 있는지 확인하기 위하여 TBARS 방법을 수행하였다.

[0119] 그 결과, 표 4에 나타낸 바와 같이, 6-포르밀 엄벨리페론(**2**), 8-포르밀 엄벨리페론(**3**) 및 에스쿠레틴(**5**)은 농도 의존적으로 지질 과산화를 억제하였으며, EC_{50} 값이 각각 8.98 μM, 7.22 μM 및 22.78 μM 로 확인되었다. 특히, 6-포르밀 엄벨리페론 및 8-포르밀 엄벨리페론은 양성 대조군인 Trolox 보다 더 현저하게 지질 과산화를 억제하는 것으로 확인되었다 (도 6). 다만, 엄벨리페론(**1**), 엄벨리페론-6-카르복실산(**4**) 및 스코폴레틴(**6**)은 테스트한 농도에서 TBAR level에 어떠한 영향을 주지 못하는 것으로 확인되었다 (표 4 및 도 6).

표 4

Compounds	Lipid peroxidation		Self-Aβ25-35 aggregation	
	TBARS formation (nmol/mg protein) [a]	EC_{50} (μM) [b]	ThF fluorescence [c]	IC_{50} (μM) [b]
Blank [d]	14.57 ± 1.06	–	–	–
Control	56.24 ± 2.27 #	–	521.97 ± 10.12	–
1	55.21 ± 0.54	> 30	544.55 ± 12.57	> 100
2	14.73 ± 4.77 *	8.98 ± 1.03	386.38 ± 10.41 *	> 100
3	11.07 ± 0.41 *	7.22 ± 1.67	183.87 ± 12.11 *	75.57 ± 1.62
4	56.95 ± 2.45	> 30	475.7 ± 22.02	> 100
5	30.33 ± 2.86 *	22.78 ± 4.42	495.04 ± 15.16	> 100
6	53.19 ± 4.77	> 30	524.57 ± 2.73	> 100
Trolox [e]	24.84 ± 0.27 *	12.19 ± 0.11	–	–
Curcumin [e]	–	–	177.44 ± 2.03 *	6.59 ± 0.27

[a] Mean ± SD ($n = 3$) at a concentration of 12.5 μM for tested coumarins and trolox.
[b] The 50% effective concentrations (EC_{50}) and 50% inhibition concentration (IC_{50}) were expressed as mean ± SD, $n = 3$.
[c] Mean ± SD ($n = 3$) at a concentration of 100 μM for tested coumarins and 10 μM for curcumin.
[d] Group without Fe^{2+} and TBA was used as a blank for lipid peroxidation assay.
[e] Positive control.
# $p < 0.001$ indicate significance differences from blank.
* $p < 0.001$ indicate significance differences from control.

[0121]

[0123] **실시예 7. 아밀로이드 베타 25-35의 자가 응집에 대한 저해 효과**

[0124] 본 발명자들은 엄벨리페론 유도체들의 아밀로이드 베타 25-35의 자가 응집에 대한 저해 효과를 확인하기 위하여 thioflavin-T 형광 측정 방법을 수행하였다. 그 결과, 표 4에 나타낸 바와 같이, 8-포르밀 엄벨리페론(**3**) 및 양성 대조군인 커큐민(Curcumin)은 아밀로이드 베타 25-35의 자가 응집을 저해하였으며, IC_{50} 값이 각각 75.57 μM 및 6.59 μM 로 확인되었다. 또한, 100 μM 농도의 6-포르밀 엄벨리페론 및 8-포르밀 엄벨리페론은 각각 25.98 % 및 64.77 %의 저해율을 보였다. 다만, 다른 엄벨리페론 유도체들은 유의적인 효과를 보이지 않았다.

[0126] **실시예 8. ADME 예측 결과**

[0127] 본 발명자들은 엄벨리페론 유도체들에 대하여 log Po/w, HIA(human intestinal absorption), PPB(plasma protein binding rate) 및 BBB 투과율(blood brain barrier permeability)의 ADME 예측 실험을 수행하였다. 그 결과, 표 5에 나타낸 바와 같이, 엄벨리페론(**1**), 6-포르밀 엄벨리페론(**2**), 8-포르밀 엄벨리페론(**3**), 엄벨리페론-6-카르복실산(**4**), 에스쿠레틴(**5**) 및 스코폴레틴(**6**)의 logP 값은 각각 1.44, 1.44, 1.19, 1.60, 1.54 및 1.68 으로 예측되었다.

[0128] HIA 값은 오줌, 담즙, 대변을 통한 누적된 분비 비율로부터 측정된 생체이용률과 흡수율의 합을 나타내는데, 엄벨리페론(**1**), 6-포르밀 엄벨리페론(**2**), 8-포르밀 엄벨리페론(**3**) 및 스코폴레틴(**6**)은 흡수가 잘 이루어져 구강 섭취로 적합할 것으로 예측되었고, 엄벨리페론-6-카르복실산(**4**) 및 에스쿠레틴(**5**)는 보통의 값으로 흡수가 될 것으로 예측되었다.

[0129] 또한, PPB 값은 약물의 혈장 단백질로의 결합율을 나타내며, 이는 약물의 생체 반감기에 영향을 줄 수 있는데, 엄벨리페론(**1**), 6-포르밀 엄벨리페론(**2**), 8-포르밀 엄벨리페론(**3**), 엄벨리페론-6-카르복실산(**4**), 에스쿠레틴(**5**) 및 스코폴레틴(**6**)의 PPB 값은 각각 42.39 %, 81.58 %, 54.96 %, 83.93 %, 11.47 % 및 29.42 %로 예측되었다.

[0130] 또한, BBB 투과율은 중추신경계에서 약물의 치료적 잠재력에 관한 중요한 척도로 사용되는데, 엄벨리페론(**1**), 6-포르밀 엄벨리페론(**2**) 및 8-포르밀 엄벨리페론(**3**)의 BBB 투과율 값은 각각 0.59, 0.69 및 0.69 로 예측되었고, 이는 보통의 값으로 투과할 것으로 예측되었다.

[0131] CMC-like rule 및 Lipinski's rule을 통하여 drug-likeness를 예측한 결과에서는 6-포르밀 엄벨리페론(**2**) 및 8-포르밀 엄벨리페론(**3**)이 약물개발에 적합한 구조인 것으로 예측되었다.

표 5

Pharmacokinetic properties		Compounds					
		1	2	3	4	5	6
ADME	Log $P_{o/w}$[a]	1.44	1.44	1.19	1.60	1.54	1.68
	PPB[b]	42.39	81.58	54.96	83.93	11.47	29.42
	HIA[c]	94.17	93.11	93.11	83.64	88.20	93.92
	BBB penetration[d]	0.59	0.69	0.69	0.49	0.57	0.64
Drug-likeness	CMC like rule	Not qualified	Qualified	Qualified	Qualified	Not qualified	Qualified
	Lipinski's rule	Suitable	Suitable	Suitable	Suitable	Suitable	Suitable

[a] The log of the coefficient for solvent partitioning between 1-octanol and water.
[b] <90% indicates chemicals weakly bound and >90% indicates chemicals strongly bound.
[c] 0–20% is poorly absorbed, 20–70% is moderately absorbed, and 70–100% is well absorbed.
[d] <0.1 is low absorption to the central nervous system, 0.1–2.0 is middle absorption, and >2.0 is high absorption.

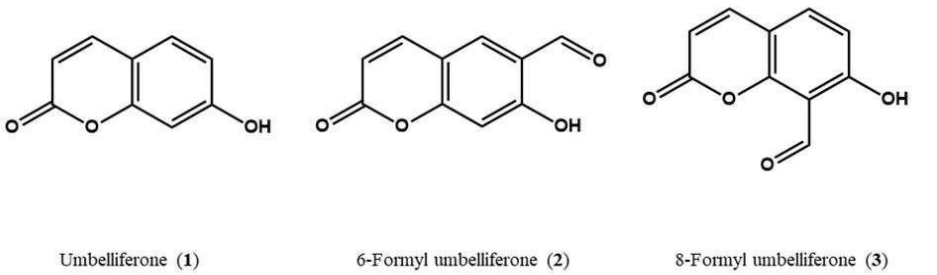
[0133]

[0135] 상기와 같이, 엄벨리페론 유도체들은 인간 MAO-A 에 대한 저해 활성을 가지고 있음을 확인하였다. MAO-A는 노르에피네프린(norepinephrine), 세로토닌(serotonin) 및 티라민(tyramine)의 대사와 관련이 있어, MAO-A의 저해제는 우울증의 치료 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다.

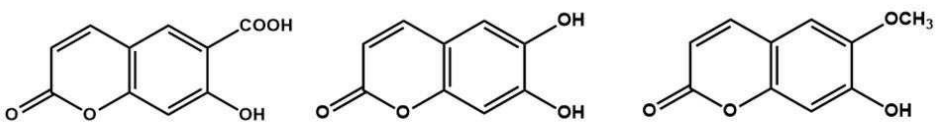
[0136] 따라서, 본 발명의 엄벨리페론 유도체들은 MAO-A의 저해제로써 우울증의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

도면

도면1

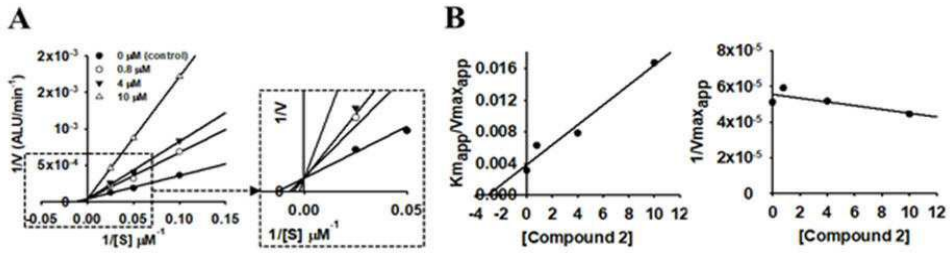


Umbelliferone (**1**) 6-Formyl umbelliferone (**2**) 8-Formyl umbelliferone (**3**)

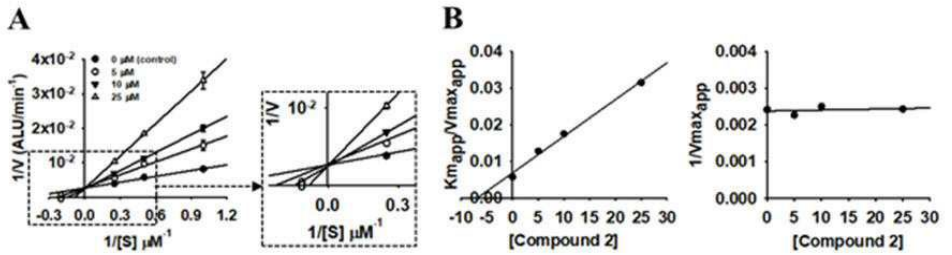


Umbelliferone-6-carboxylic acid (**4**) Esculetin (**5**) Scopoletin (**6**)

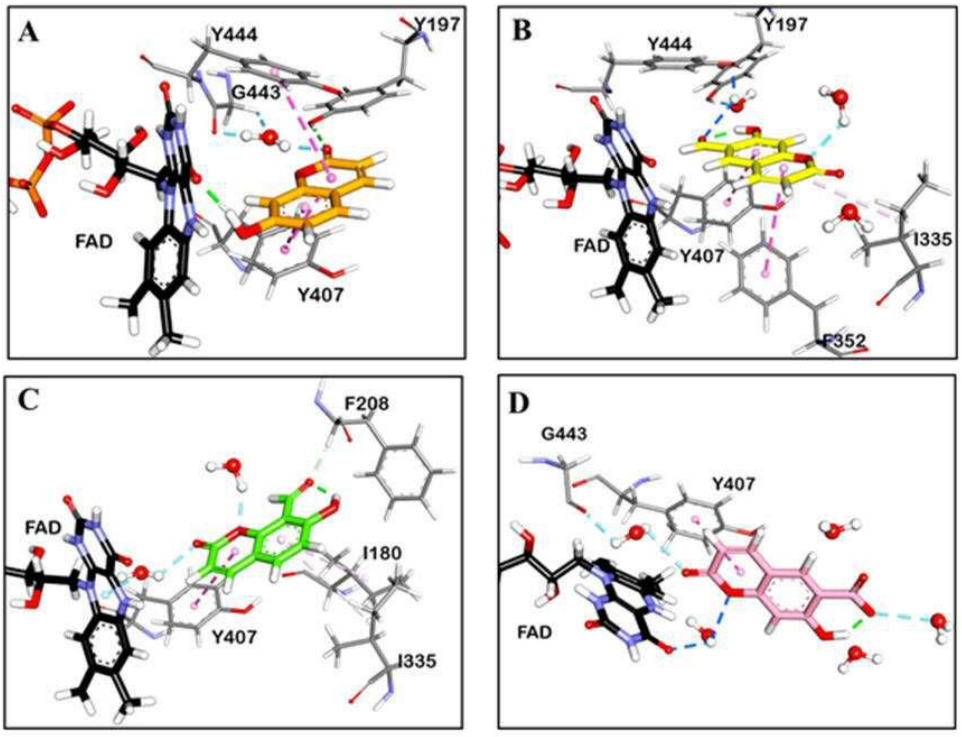
도면2


A
B
1/V (ALU/min-1)
1/[S] μM-1
0 μM (control)
0.8 μM
4 μM
10 μM
Kmapp/Vmaxapp
1/Vmaxapp
[Compound 2]

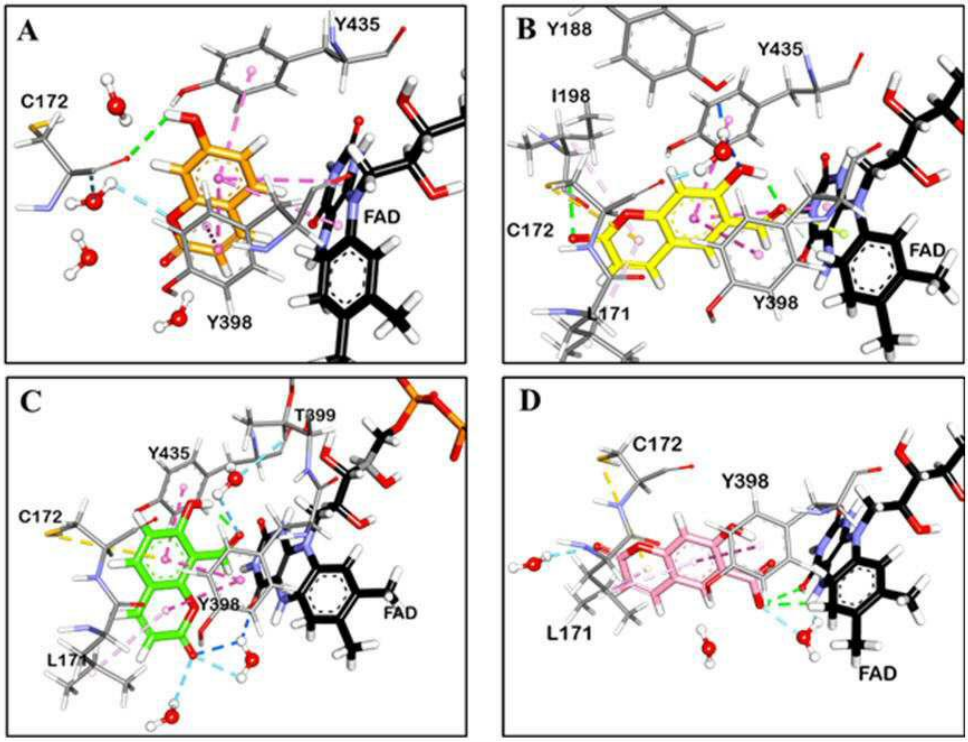
도면3


A
B
1/V (ALU/min-1)
1/[S] μM-1
0 μM (control)
5 μM
10 μM
25 μM
Kmapp/Vmaxapp
1/Vmaxapp
[Compound 2]

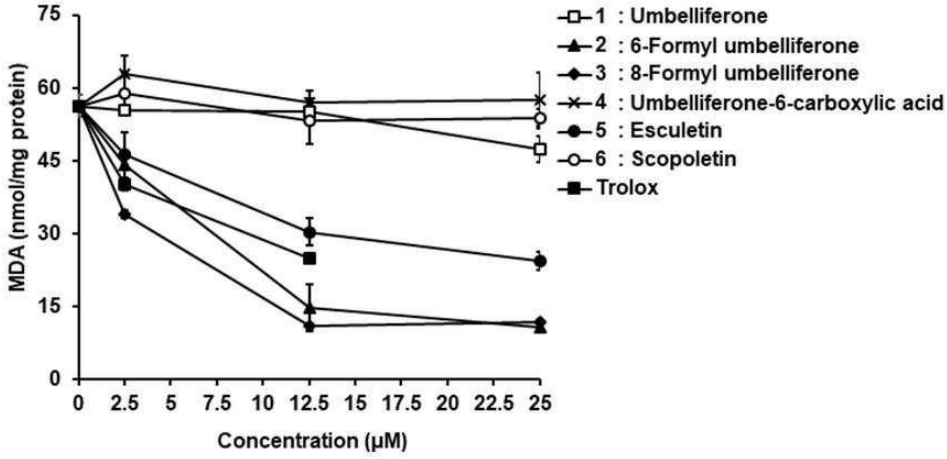
도면4


A
Y444
Y197
G443
FAD
Y407
B
Y444
Y197
FAD
Y407
I335
F352
C
F208
FAD
I180
Y407
I335
D
G443
Y407
FAD

도면5


A
Y435
C172
FAD
Y398
B
Y188
Y435
I198
C172
FAD
L171
Y398
C
T399
Y435
C172
Y398
FAD
L171
D
C172
Y398
L171
FAD

도면6


MDA (nmol/mg protein)
75
60
45
30
15
0
0
2.5
5
7.5
10
12.5
15
17.5
20
22.5
25
Concentration (μM)
1 : Umbelliferone
2 : 6-Formyl umbelliferone
3 : 8-Formyl umbelliferone
4 : Umbelliferone-6-carboxylic acid
5 : Esculetin
6 : Scopoletin
Trolox