



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0150712
(43) 공개일자 2023년10월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07D 311/94 (2006.01) A23K 10/30 (2016.01)
A23L 33/10 (2022.01) A61K 31/352 (2006.01)
A61K 8/49 (2006.01) A61P 29/00 (2023.01)
A61Q 19/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07D 311/94 (2022.08)
A23K 10/30 (2016.05)

(21) 출원번호 10-2022-0190377

(22) 출원일자 2022년12월30일

심사청구일자 2022년12월30일

(30) 우선권주장

1020220050399 2022년04월22일 대한민국(KR)

(71) 출원인

세종대학교산학협력단

서울특별시 광진구 능동로 209 (군자동, 세종대학교)

서울대학교산학협력단

서울특별시 관악구 관악로 1 (신림동)

(72) 발명자

양현옥

서울특별시 강남구 삼성로51길 37 109동 3306호
래미안대치팰리스

마치탄

서울특별시 광진구 광나루로24길 57 106호(화양동)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인한얼

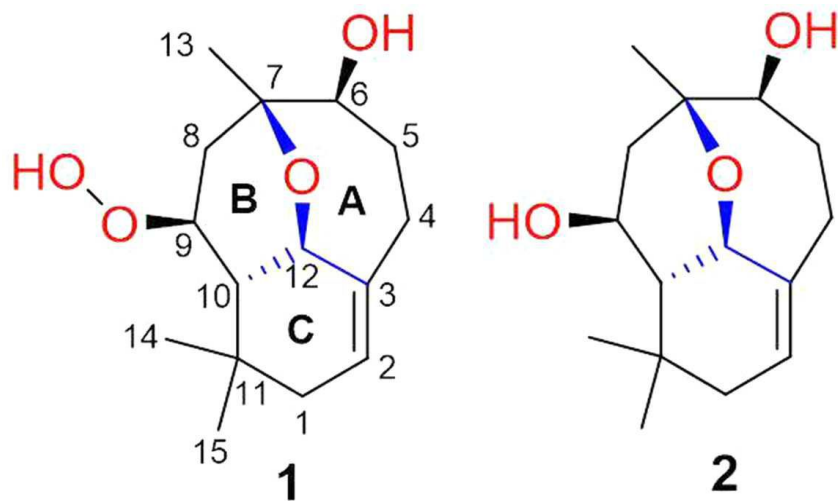
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 아퀼라리아 말렉센시스 추출물 유래의 후몰린-타입 신규 화합물 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 아퀼라리아 말렉센시스(*Aquilaria malaccensis*) 추출물 유래의 후몰린-타입 신규 화합물 아가페녹시놀 A 및 아가페녹시놀 B, 이의 제조방법 및 이의 항염증 용도에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23L 33/10 (2022.01)
A61K 31/352 (2023.05)
A61K 8/498 (2013.01)
A61P 29/00 (2023.02)
A61Q 19/00 (2013.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/324 (2013.01)
A23V 2250/30 (2013.01)

(72) 발명자

권성원

서울특별시 서초구 명달로 33 (방배동, 삼환나띠르빌) 102동 402호

박정일

서울특별시 송파구 올림픽로 135 255동 3301호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711157214
과제번호	2012M3A9C4048794
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	바이오. 의료기술개발(R&D)
연구과제명	전통천연물 MC 특화 iHTac 시스템 기술
기 여 율	70/100
과제수행기관명	세종대학교
연구기간	2022.01.01 ~ 2022.08.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711159014
과제번호	2012M3A9C4048796
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	바이오. 의료기술개발(R&D)
연구과제명	대사체학 기반 전통 천연물 Profiling DB 구축
기 여 율	30/100
과제수행기관명	서울대학교
연구기간	2022.01.01 ~ 2022.08.31

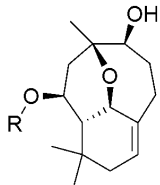
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

R은 H 또는 OH임.

청구항 2

아퀼라리아 말라센시스(*Aquilaria malaccensis*)를 C₁₋₄ 저급 알코올 함유 용액으로 추출하는 제1단계;

이전 단계로부터 수득한 조추출물을 유기 용매로 분획하는 제2단계;

이전 단계로부터 수득한 에테르 분획물을 실리카 젤 컬럼 크로마토그래피로 분획하여 7개 분획물을 수득하는 제3단계;

이전 단계로부터 수득한 7개 분획물 중 3번째 분획물을 실리카 젤 컬럼으로 분리하여 9개 하위 분획물을 수득하는 제4단계;

이전 단계로부터 수득한 9개 하위 분획물 중 2번째 하위 분획물을 반분취(semi-preparative) 역상-고성능 액체 크로마토그래피(reverse phase-high performance liquid chromatography; RP-HPLC)로 분리하여 2개 분획물을 수득하는 제5단계; 및

이전 단계로부터 수득한 2개 분획물을 각각 반분취 RP-HPLC로 정제하는 제6단계를 포함하는,

청구항 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 제조방법.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 C₁₋₄ 저급 알코올 함유 용액은 60 내지 80% 메탄올 용액인 것인, 제조방법.

청구항 4

제2항에 있어서,

상기 유기 용매는 디에틸에테르, 클로로포름, 또는 이들의 혼합물인 것인, 제조방법.

청구항 5

제2항에 있어서,

상기 제3단계는 *n*-헥산 및 에틸아세테이트(ethyl acetate, EtOAc)의 40:1 부피비로부터 1:1 부피비의 혼합 용매를 이용한 구배용리로 수행하는 것인, 제조방법.

청구항 6

제2항에 있어서,

상기 제4단계는 *n*-헥산 및 에틸아세테이트의 95:5 부피비로부터 7:3 부피비의 혼합 용매를 이용한 구배용리로 수행하는 것인, 제조방법.

청구항 7

제1항의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 염증성 질환은 알레르기성 염증질환, 염증성 피부질환, 염증성 안구질환, 염증성 골관절질환, 염증성 근육질환 또는 염증성 장질환인 것인, 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서,

일산화질소 생성; TNF- α , IL-6, 및 IL-1 β 로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 염증성 인자의 발현; 또는 유도성 NO 합성효소(iNOS) 또는 고리형산소화효소-2(COX-2) 또는 둘 모두;를 억제함으로써 항염증 효과를 발휘하는 것인, 조성물.

청구항 10

제1항의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 항염증용 조성물.

청구항 11

제1항의 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 12

제1항의 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 사료 조성물.

청구항 13

제1항의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선

용 의약외품 조성물.

청구항 14

제1항의 화합물 또는 이의 화장품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증 완화 또는 개선용 화장료 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 아퀼라리아 말락센시스(*Aquilaria malaccensis*) 추출물 유래의 후물린-타입 신규 화합물 아가페녹시놀 A 및 아가페녹시놀 B, 이의 제조방법 및 이의 항염증 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 침향나무는 상처에 대한 상처 치유 과정으로 백리향과(Thymelaeaceae) 패밀리 중의 몇몇 아퀼라리아 나무의 심재(heartwood) 내부에서 생성되는 가치있는 방향성 수지이다. 침향나무는 주로 향으로 사용되며, 이의 정유(essential oil)는 에센스, 비누 및 샴푸와 같은 새로운 소비 제품의 최근 확장에서 확인되듯이 향수 산업에서 수요가 높다. 이는 또한 동남아시아에서 동양 민간요법(oriental folk medicine)에서 진정제 및 진통제로 사용되고 있으며, 류마티즘, 관절염 및 천식과 같은 염증-관련 질환의 치료에도 사용되고 있다.

[0004] 미세아교세포는 알츠하이머병, 파킨슨병과 같은 뇌 염증성 면역 및 퇴행성 과정에 있어서 몇몇 심각한 의학적 상태와 관련된 중추신경계(central nervous system; CNS)의 정주면역세포(residence immune cell)로 알려져 있다. 신경-염증은 미세아교세포의 활성화 및 이어지는 신경퇴행성 질환과 관련된 염증 과정에서 일산화질소(nitric oxide; NO), 프로스타글란딘(prostaglandine) E2(PGE2), 종양-괴사-인자- α (tumour-necrosis-factor- α ; TNF- α), 인터루킨(IL-1 β , IL-6), 고리형산소화효소-2(cyclooxygenase-2; COX-2) 및 유도성 일산화질소 합성효소(inducible nitric oxide synthase; iNOS)를 포함한 몇가지 중요한 매개체의 방출에 의해 야기될 수 있다.

[0005] 천연물로부터의 항염증 효과에 대한 많은 연구들은 시험관 내 모델에서 잠재적 억제 효과에 대해 진행되어 왔다. 지질다당류(lipopolysaccharide; LPS)-자극 미세아교세포는 다양한 세포 유형에서 몇몇 염증성 매개체를 방출하는 가장 많이 사용되는 세포 중 하나이다. 이러한 상태의 대부분에 대해 관련된 염증의 만족스러운 치료는 불가능하다. 현재, 일반적인 치료는, 급성 및 만성 염증성 질환의 치료에 사용될 수 있는, 몇 가지 부작용을 갖는 기존의 스테로이드성 및 비-스테로이드성 항염증제에 의존한다. 따라서, 천연물로부터 어떠한 부작용도 없는 안전하고 새로운 항염증제의 개발이 필요하다. 이러한 이유로, 새로운 항염증제에 대한 연구는 여전히 약물 발굴에 있어서 중요한 분야이다.

[0006] 침향나무의 식물화학물질 연구(phytochemical studies)는 1980년대 및 1990년대에 수행되기 시작하였고 최근 그 수가 빠르게 증가하고 있다. 방향성 수지 생산자로 알려진 13종 중, 4개 종, *A. 시넨시스*(*A. sinensis*), *A. 크라스나*(*A. crassna*), *A. 말락센시스*(*A. malaccensis*), *A. 필라리아*(*A. filaria*)가 널리 연구되고 있으며, 182개 이상의 세스퀴테르페노이드 및 240개 이상의 크로몬(chromone) 유도체가 현재까지 침향나무로부터 동정되었다. 이러한 맥락에서 본 발명자들은 선행 연구를 통해 *A. 말락센시스*로부터 수종의 신규 화합물을 분리 및 동정하고 이들의 항염증 효과를 입증한 바 있다.

[0007] 이에 본 발명자들은 침향나무의 일종인 아퀼라리아 말락센시스로부터 현저한 약리 활성을 나타내는 한편 세포독성을 나타내지 않는 신규한 화합물을 발굴하고자 예의 연구 노력한 결과, 이의 메탄올 추출물의 에테르 분획물로부터 분리한 2종의 신규한 3환(tricyclic) 6/6/7 고리를 포함하는 재배열 후물린-타입(rearranged humulene-type) 세스퀴테르페노이드 유도체를 동정하고, 이들 화합물이 우수한 항염증 효과를 나타내는 것을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

비특허문헌

- [0009] (비특허문헌 0001) Chi Thanh Ma et al., J. Nat. Prod., 2017, 80(11): 3043-3048,
(비특허문헌 0002) Chi Thanh Ma et al., Phytochemistry, 2021, 183: 112630.

발명의 내용

해결하려는 과제

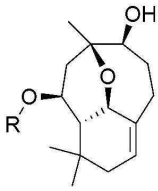
- [0010] 본 발명의 하나의 목적은 신규한 3환 6/6/7 고리를 포함하는 재배열 후물린-타입 신규 화합물 아가페녹시놀 A 및 아가페녹시놀 B 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 제공하는 것이다.
- [0011] 본 발명의 다른 하나의 목적은 아퀼라리아 말라센시스를 추출하는 단계; 및 수득한 추출물을 분획하는 단계를 포함하는, 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 제조방법을 제공하는 것이다.
- [0012] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [0013] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 항염증용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0014] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 염증성 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공하는 것이다.
- [0015] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0016] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 사료 조성물을 제공하는 것이다.
- [0017] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 의약품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0018] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증 완화 또는 개선용 화장품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0020] 본 발명에서 개시되는 각각의 설명 및 실시형태는 각각의 다른 설명 및 실시 형태에도 적용될 수 있다. 즉, 본 발명에서 개시된 다양한 요소들의 모든 조합이 본 발명의 범주에 속한다. 또한, 하기 기술되는 구체적인 서술에 의하여 본 발명의 범주가 제한된다고 할 수 없다.
- [0021] 또한, 당해 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 통상의 실험만을 사용하여 본 발명에 기재된 본 발명의 특정 양태에 대한 다수의 등가물을 인지하거나 확인할 수 있다. 또한, 이러한 등가물은 본 발명에 포함되는 것으로 의도된다.
- [0022] 아울러, 본 발명의 명세서 전체에 있어서, 어떤 부분이 어떤 구성 요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성 요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.
- [0024] 이하, 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

[0026] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 제1양태는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 제공한다:

[0027] [화학식 1]



[0028]

[0029] 상기 화학식 1에서,

[0030] R은 H 또는 OH임.

[0031] 상기 본 발명의 화합물은 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 제공될 수 있다. 염으로는 약학적으로 허용가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산가염이 유용할 수 있다. 본 발명의 용어 "약학적으로 허용가능한 염"이란 환자에게 비교적 비독성이고 무해한 유효작용을 갖는 농도로서 이 염에 기인한 부작용이 화학식 1로 표시되는 화합물의 이로온 효능을 저하시키지 않는 상기 화합물의 임의의 모든 유기 또는 무기 부가염을 의미한다.

[0032] 산부가염은 통상의 방법, 예를 들어 화합물을 과량의 산 수용액에 용해시키고, 이 염을 수산화성 유기 용매, 예를 들어 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조한다. 동 물량의 화합물 및 물 중의 산 또는 알코올(예, 글리콜 모노메틸에테르)을 가열하고, 이어서 상기 혼합물을 증발시켜 건조시키거나, 또는 석출된 염을 흡인 여과시킬 수 있다.

[0033] 이때, 유리산으로는 유기산과 무기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 인산, 황산, 질산, 주석산 등을 사용할 수 있고 유기산으로는 메탄술폰산, p-톨루엔술폰산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 말레인산(maleic acid), 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산(fumaric acid), 만테르산, 프로피온산(propionic acid), 구연산(citric acid), 젖산(lactic acid), 글리콜산(glycollic acid), 글루콘산(gluconic acid), 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산(glutaric acid), 글루쿠론산(glucuronic acid), 아스파르트산, 아스코르브산, 카본산, 바닐릭산, 요오드화수소산(hydroiodic acid) 등을 사용할 수 있으며, 이들에 제한되지 않는다.

[0034] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속염 또는 알칼리 토금속염은, 예를 들어 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해시키고, 비용해 화합물 염을 여과한 후 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로는 특히 나트륨, 칼륨, 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하나 이들에 제한되는 것은 아니다. 또한 이에 대응하는 은염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 은염(예, 질산은)과 반응시켜 얻을 수 있다.

[0035] 본 발명의 화합물의 약학적으로 허용가능한 염은, 달리 지시되지 않는 한, 상기 화학식 1의 화합물에 존재할 수 있는 산성 또는 염기성 기의 염을 포함한다. 예를 들어, 약학적으로 허용가능한 염으로는 히드록시기의 나트륨, 칼슘 및 칼륨염 등이 포함될 수 있고, 아미노기의 기타 약학적으로 허용가능한 염으로는 히드로브롬화물, 황산염, 수소 황산염, 인산염, 수소 인산염, 이수소 인산염, 아세테이트, 숙시네이트, 시트레이트, 타르트레이트, 락테이트, 만델레이트, 메탄술포네이트(메실레이트) 및 p-톨루엔술포네이트(토실레이트) 염 등이 있으며, 당업계 알려진 염의 제조방법을 통하여 제조될 수 있다.

[0036] 본 발명의 화학식 1의 화합물의 염으로는 약학적으로 허용가능한 염으로서, 화학식 1의 화합물과 동등한 약리활성을 나타내는 화합물의 염이면 제한없이 모두 사용 가능하다.

[0038] 또한, 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은, 이의 약학적으로 허용 가능한 염뿐만 아니라 이로부터 제조될 수 있는 가능한 수화물 등의 용매화물을 제한없이 포함한다. 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 용매화물은 당업계에 공지된 방법을 사용하여 화학식 1로 표시되는 화합물로부터 제조할 수 있다.

[0039] 나아가, 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 결정 형태 또는 비결정 형태로 제조될 수 있으며, 결정 형태로 제조될 경우 임의로 수화되거나 용매화될 수 있다. 본 발명에서는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 화학양론적 수화물뿐만 아니라 다양한 양의 물을 함유하는 화합물이 포함될 수 있다. 본 발명에 따른 상기

화학식 1로 표시되는 화합물의 용매화물은 화학양론적 용매화물 및 비화학양론적 용매화물 모두를 포함한다.

- [0041] 본 발명의 제2양태는 아퀼라리아 말라센시스(*Aquilaria malaccensis*)를 C₁₋₄ 저급 알코올 함유 용액으로 추출하는 제1단계; 이전 단계로부터 수득한 초추출물을 유기 용매로 분획하는 제2단계; 이전 단계로부터 수득한 에테르 분획물을 실리카 젤 컬럼 크로마토그래피로 분획하여 7개 분획물을 수득하는 제3단계; 이전 단계로부터 수득한 7개 분획물 중 3번째 분획물을 실리카 젤 컬럼으로 분리하여 9개 하위 분획물을 수득하는 제4단계; 이전 단계로부터 수득한 9개 하위 분획물 중 2번째 하위 분획물을 반분취(semi-preparative) 역상-고성능 액체 크로마토그래피(reverse phase-high performance liquid chromatography; RP-HPLC)로 분리하여 2개 분획물을 수득하는 제5단계; 및 이전 단계로부터 수득한 2개 분획물을 각각 반분취 RP-HPLC로 정제하는 제6단계를 포함하는, 제1양태의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 제조방법을 제공한다.
- [0043] 본 발명의 용어, "아퀼라리아 말라센시스(*Aquilaria malaccensis*)"는 팔꽃나무과(Thymelaeaceae family)의 식물로서, 방글라데시, 부탄, 인도, 인도네시아, 라오스, 말레이시아, 미얀마, 필리핀, 싱가포르, 타이 등에 서식하는 열대나무이다. 이는 향수(perfume) 및 향(incense)에 사용되는 수지성 심재(resinous heartwood)인 침향목(agarwood)의 주요 공급원이며, 상기 수지는 균류에 의한 감염에 대한 반응으로 생성된다.
- [0044] 본 발명의 용어, "추출물"이란, 목적하는 물질을 다양한 용매에 침지한 다음, 상온 또는 가온상태에서 일정시간 동안 추출하여 수득한 액상성분, 상기 액상성분으로부터 용매를 제거하여 수득한 고형분 등의 결과물을 의미한다. 뿐만 아니라, 상기 결과물에 더하여, 상기 결과물의 희석액, 이들의 농축액, 이들의 조정제물, 정제물 등을 모두 포함하는 것으로 포괄적으로 해석될 수 있다.
- [0045] 본 발명의 용어, "분획물"이란, 다양한 구성 성분을 포함하는 혼합물로부터 특정 성분 또는 특정 그룹을 분리하는 분획방법에 의하여 얻어진 결과물을 의미한다.
- [0046] 예컨대, 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 제1단계의 추출을 위한 용매로서 C₁₋₄ 저급 알코올 함유 용액은 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올 등을 함유하는 용매일 수 있다.
- [0047] 구체적으로, 상기 C₁₋₄ 저급 알코올 함유 용액은 메탄올 함유 용액, 예컨대, 60 내지 80% 메탄올 용액일 수 있다. 본 발명의 구체적인 실시예에서는 70% 메탄올 용액을 사용하였으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0049] 예컨대, 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 제2단계의 분획을 위한 유기 용매는 디에틸에테르, 클로로포름, 또는 이들의 혼합물일 수 있다.
- [0051] 예컨대, 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 제3단계는 *n*-헥산 및 에틸아세테이트(ethyl acetate, EtOAc)의 40:1 부피비로부터 1:1 부피비의 혼합 용매를 이용한 구배용리로 수행할 수 있다.
- [0053] 예컨대, 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 제4단계는 *n*-헥산 및 에틸아세테이트의 95:5 부피비로부터 7:3 부피비의 혼합 용매를 이용한 구배용리로 수행할 수 있다.
- [0055] 본 발명의 제3양태는 제1양태의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0056] 본 발명의 용어, "약학적으로 허용 가능한 염"은 앞서 정의한 바와 같다.
- [0058] 본 발명의 조성물은 일산화질소 생성; TNF- α , IL-6, 및 IL-1 β 로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 염증성 인자의 발현; 또는 유도성 NO 합성효소(iNOS) 또는 고리형산소화효소-2(COX-2) 또는 둘 모두;를 억제함으로써 항염증 효과를 발휘할 수 있다.

- [0060] 본 발명의 용어, "염증성 질환(inflammatory disease)"은 염증유발인자 또는 방사선소자 등의 유해한 자극으로 인해 인체 면역체계를 과도하게 항진시켜 대식세포와 같은 면역세포에서 분비되는 TNF- α (tumor necrosis factor- α), IL-1(interleukin-1), IL-6, 프로스타글란딘(prostaglandin), 루코트리엔(leucotriene) 또는 (일)산화질소(nitric oxide, NO)와 같은 염증유발물질(염증성 사이토카인)에 의해 유발되는 질환을 의미할 수 있다. 보다 구체적인 질환은 이하 상세히 예시한다.
- [0061] 본 발명의 용어, "예방"은 상기 조성물의 투여로 염증성 질환의 발생, 확산 및/또는 재발을 억제시키거나 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0062] 본 발명의 용어, "치료"는 치료하고자 하는 개개인 또는 세포의 천연 과정을 변경시키기 위해 임상적으로 개입하는 모든 행위를 의미하는데, 임상 병리 상태가 진행되는 동안 또는 이를 예방하기 위해 수행할 수 있다. 목적하는 치료 효과에는 질병의 발생 또는 재발을 예방하고, 증상을 완화시키며, 질병에 따른 모든 직접 또는 간접적인 병리학적 결과를 저하시키며, 전이를 예방하고, 질병 진행 속도를 감소시키며, 질병 상태를 경감 또는 일시적 완화시키며, 차도시키거나 예후를 개선시키는 것이 포함된다. 본 발명의 조성물의 투여로 상기 염증성 질환의 증세가 호전 또는 완치되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 포함하는 것으로 해석될 수 있으나, 특별히 이에 제한되지는 않는다.
- [0063] 본 발명의 용어, "약학적 조성물"은 질병의 예방 또는 치료를 목적으로 제조된 것을 의미하며, 각각 통상의 방법에 따라 다양한 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 이를 위하여, 상기 약학적 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 추가로 포함할 수 있는데, 상기 담체는 비자연적인 담체가 될 수 있다. 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 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.
- [0064] 한편, 본 발명의 약학적 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제제화하여 사용될 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 제1양태의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁액, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는 데 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), 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤 젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0065] 상기 약학적 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제 및 좌제로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 제형을 가질 수 있다.
- [0066] 본 발명의 상기 약학적 조성물에 포함된 본 발명의 제1양태에 따른 화학식 1의 화합물의 함량은 특별히 이에 제한되지 않으나, 최종 조성물 총 중량에 대하여 0.0001 내지 50 중량%로 포함할 수 있고, 바람직하게는 0.001 내지 10 중량%의 함량으로 포함할 수 있다.
- [0068] 본 발명의 제4양태는 제1양태의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 항염증용 조성물을 제공한다.
- [0069] 본 발명의 용어, "약품학적으로 허용 가능한 염"은 앞서 정의한 바와 같다.

- [0070] 본 발명의 용어, "염증"은 앞서 정의한 "염증성 질환"의 다양한 증상을 의미할 수 있다.
- [0072] 본 발명의 제5양태는 제3양태의 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 염증성 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.
- [0073] 본 발명의 용어, "약품학적으로 허용 가능한 염", "예방" 및 "치료"는 앞서 정의한 바와 같다.
- [0075] 본 발명의 용어, "개체"는 상기 염증성 질환이 발병하였거나 발병할 수 있는 인간을 포함한 원숭이, 소, 말, 양, 돼지, 닭, 칠면조, 메추라기, 고양이, 개, 마우스, 쥐, 토끼 또는 기니아 피그를 포함한 모든 동물을 의미하고, 본 발명의 약학적 조성물을 개체에게 투여함으로써 상기 질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 기존의 치료제와 병행하여 투여될 수 있다.
- [0076] 본 발명의 용어, "투여"는 임의의 적절한 방법으로 환자에게 소정의 물질을 제공하는 것을 의미하며, 본 발명의 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 제한되지는 않는다. 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 활성 물질이 표적 세포로 이동할 수 있는 임의의 장치에 의해 투여될 수도 있다. 바람직한 투여방식 및 제제는 정맥 주사제, 피하 주사제, 피내 주사제, 근육 주사제, 점적 주사제 등이다. 주사제는 생리식염액, 링겔액 등의 수성 용제, 식물유, 고급 지방산 에스테르(예, 올레인산에칠 등), 알코올 류(예, 에탄올, 벤질알코올, 프로필렌글리콜, 글리세린 등) 등의 비수성 용제 등을 이용하여 제조할 수 있고, 변질 방지를 위한 안정화제(예, 아스코르빈산, 아황산수소나트륨, 피로아황산나트륨, BHA, 토코페롤, EDTA 등), 유화제, pH 조절을 위한 완충제, 미생물 발육을 저지하기 위한 보존제(예, 질산페닐수은, 치메로살, 염화벤잘코늄, 페놀, 크레솔, 벤질알코올 등) 등의 약학적 담체를 포함할 수 있다.
- [0077] 이때, 상기 투여는 약학적으로 유효한 양으로 이루어질 수 있다. 본 발명의 용어, "약학적으로 유효한 양"은 의학 적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 건강상태, 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 배합 또는 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고, 종래의 치료제와 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0078] 예컨대, 투여 경로, 질병의 중증도, 성별, 체중, 연령 등에 따라서 증감될 수 있으므로 상기 투여량이 어떠한 방법으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0079] 구체적으로, 본 발명의 조성물에서 화합물의 유효량은 환자의 나이, 성별, 체중에 따라 달라질 수 있으며, 일반적으로는 체중 kg 당 1 내지 100 mg, 바람직하게는 5 내지 60 mg을 매일 또는 격일 투여하거나 1일 1 내지 3회로 나누어 투여할 수 있다. 그러나, 투여 경로, 질병의 중증도, 성별, 체중, 연령 등에 따라서 증감될 수 있으므로 상기 투여량이 어떠한 방법으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0081] 본 발명의 제6양태는 제1양태의 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0082] 본 발명의 용어, "식품학적으로 허용 가능한 염"은 앞서 정의한 "약학적으로 허용 가능한 염과 유사하게 정의될 수 있다.
- [0083] 본 발명의 용어, "염증성 질환" 및 "예방"은 앞서 정의한 바와 같다.
- [0085] 본 발명에서의 용어, "개선"은 상기 조성물을 투여하여 염증성 질환의 증상이 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

- [0086] 본 발명의 식품 조성물은 다양한 형태의 식품 첨가제 또는 기능성 식품을 제공한다. 구체적으로, 상기 조성물을 포함하는 침출자, 액상자, 음료, 발효유, 치즈, 요구르트, 주스, 생균제제 또는 건강보조식품 등으로 가공될 수 있으며, 그 외 다양한 식품 첨가제의 형태로 사용될 수 있다.
- [0087] 본 발명의 식품 조성물은 식품학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함할 수 있다.
- [0088] 본 발명의 조성물을 포함할 수 있는 식품의 종류에는 별다른 제한이 없으며, 예를 들어 각종 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강보조식품류 등이 있다. 상기 식품 조성물에는 갱년기 장애 치료 효과에 방해가 되지 않는 다른 성분을 추가할 수 있으며, 그 종류는 특별히 제한되지 않는다. 예를 들어, 통상의 식품과 같이 여러 가지 생약 추출물, 식품학적으로 허용가능한 식품보조첨가제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.
- [0089] 상기 식품보조첨가제는 각 제형의 식품 조성물을 제조하는데 첨가되는 것으로서 당업자가 적절히 선택하여 사용할 수 있다. 예를 들어 여러 가지 영양제, 비타민, 광물 (전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 충전제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등이 포함되지만, 상기 예들에 의해 그 종류가 제한되는 것은 아니다.
- [0090] 이때, 상기 식품에 포함되는 추출물의 함량은 특별히 이에 제한되지 않으나, 식품 조성물의 총 중량에 대하여 0.01 내지 100 중량%, 구체적으로는 1 내지 80 중량%로 포함될 수 있다.
- [0091] 식품이 음료인 경우에는 100ml를 기준으로 1 내지 30g, 구체적으로는 3 내지 20g의 비율로 포함될 수 있다. 또한, 상기 조성물은 식품 조성물에 통상 사용되어 냄새, 맛, 시각 등을 향상시킬 수 있는 추가 성분을 포함할 수 있다. 예를 들어, 비타민 A, C, D, E, B1, B2, B6, B12, 니아신(niacin), 비오틴(biotin), 폴레이트(folate), 판토텐산(panthotenic acid) 등을 포함할 수 있다. 또한, 아연(Zn), 철(Fe), 칼슘(Ca), 크롬(Cr), 마그네슘(Mg), 망간(Mn), 구리(Cu) 등의 미네랄을 포함할 수 있다. 또한, 라이신, 트립토판, 시스테인, 발린 등의 아미노산을 포함할 수 있다. 또한, 방부제(소르빈산 칼륨, 벤조산나트륨, 살리실산, 데히드로초산나트륨 등), 살균제(표백분과 고도 표백분, 차아염소산나트륨 등), 산화방지제(부틸히드록시아니졸(BHA), 부틸히드록시톨루엔(BHT) 등), 착색제(타르색소 등), 발색제(아질산 나트륨, 아조산 나트륨 등), 표백제(아황산나트륨), 조미료(MSG 글루타민산나트륨 등), 감미료(돌신, 사이클레메이트, 사카린, 나트륨 등), 향료(바닐린, 락톤류 등), 팽창제(명반, D-주석산수소칼륨 등), 강화제, 유화제, 증점제(호료), 피막제, 검기초제, 거품억제제, 용제, 개량제 등의 식품 첨가물(food additives)을 첨가할 수 있다. 상기 첨가물은 식품의 종류에 따라 선별되고 적절한 양으로 사용된다.
- [0092] 본 발명의 식품 조성물은 당업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조가능하며, 상기 제조 시에는 당업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고, 휴대성이 뛰어나다.
- [0094] 본 발명의 제7양태는 제1양태의 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 사료 조성물을 제공한다.
- [0095] 본 발명의 용어, "식품학적으로 허용 가능한 염", "염증성 질환", "예방" 및 "개선"은 앞서 정의한 바와 같다.
- [0097] 상기 사료용 조성물은 사료 첨가제를 포함할 수 있다. 본 발명의 사료첨가제는 사료관리법상의 보조사료에 해당한다.
- [0098] 본 발명에서 용어, "사료"는 동물이 먹고, 섭취하며, 소화시키기 위한 또는 이에 적당한 임의의 천연 또는 인공 규정식, 한끼식 등 또는 상기 한끼식의 성분을 의미한다.
- [0099] 상기 사료의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 사료를 사용할 수 있다. 상기 사료의 비제한적인 예로는, 곡물류, 근과류, 식품 가공 부산물류, 조류, 섬유질류, 제약 부산물류, 유지류, 전분류, 박류 또는 곡물 부산물류 등과 같은 식물성 사료; 단백질류, 무기물류, 유지류, 광물성류, 유지류, 단세포 단백질류, 동물성 플랑크톤류 또는 음식물 등과 같은 동물성 사료를 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상을 혼합하여 사용될 수 있다.

- [0101] 본 발명의 제8양태는 제1양태의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 의약외품 조성물을 제공한다.
- [0102] 본 발명의 용어, "약학적으로 허용 가능한 염", "염증성 질환", "예방" 및 "개선"은 앞서 정의한 바와 같다.
- [0104] 본 발명에서의 용어, "의약외품"은 사람이나 동물의 질병을 진단, 치료, 개선, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용되는 물품들 중 의약품보다 작용이 경미한 물품들을 의미한다. 예를 들어, 약사법에 따른 의약외품은 의약품의 용도로 사용되는 물품을 제외한 것으로, 사람/동물의 질병 치료나 예방에 쓰이는 제품, 인체에 대한 작용이 경미하거나 직접 작용하지 않는 제품 등이 포함된다.
- [0105] 구체적으로, 상기 의약외품은 피부외용제 및 개인위생용품을 포함할 수 있다. 보다 구체적으로 소독청결제, 샤워폼, 가그린, 물티슈, 세제비누, 핸드워시, 또는 연고제일 수 있으나 이에 제한되지는 않는다.
- [0106] 본 발명에 따른 상기 조성물을 의약외품 첨가물로 사용할 경우, 상기 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 의약외품 또는 의약외품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효성분의 혼합량은 사용 목적에 따라 적합하게 결정될 수 있다.
- [0107] 본 발명에 따른 상기 조성물을 의약외품 첨가물로 사용할 경우, 상기 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 의약외품 또는 의약외품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효성분의 혼합량은 사용 목적에 따라 적합하게 결정될 수 있다.
- [0109] 본 발명의 제9양태는 제1양태의 화합물 또는 이의 화장품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증 완화 또는 개선용 화장료 조성물을 제공한다.
- [0110] 본 발명의 용어, "화장품학적으로 허용 가능한 염"은 앞서 정의한 "약학적으로 허용 가능한 염과 유사하게 정의될 수 있다.
- [0111] 본 발명의 용어, "개선" 및 "염증"은 앞서 정의한 바와 같다.
- [0113] 본 발명의 용어, "완화"는 본 발명에 따른 조성물의 투여로 염증성 질환이 호전되거나 이롭게 되는 모든 행위를 말한다
- [0115] 본 발명에 있어서, 상기 화장료 조성물은 용액, 외용 연고, 크림, 폼, 영양화장수, 유연 화장수, 팩, 유연수, 유액, 메이크업 베이스, 에센스, 비누, 액체 세정료, 입욕제, 선 스크린 크림, 선 오일, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 로션, 파우더, 비누, 계면 활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션, 패취 및 스프레이로 구성된 군에서 선택되는 제형으로 제조할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0116] 본 발명의 상기 화장료 조성물은 일반 피부 화장료에 배합되는 화장품학적으로 허용 가능한 담체를 1 종 이상 추가로 포함할 수 있으며, 통상의 성분으로 예를 들면 유분, 물, 계면 활성제, 보습제, 저급 알코올, 증점제, 킬레이트제, 색소, 방부제, 향료 등을 적절히 배합할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0117] 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 화장품학적으로 허용 가능한 담체는 화장료 조성물의 제형에 따라 다양하다.
- [0118] 본 발명의 제형이 연고, 페이스트, 크림 또는 젤인 경우에는, 담체 성분으로서 동물성 유, 식물성 유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크, 산화 아연 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.
- [0119] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는, 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록사이드, 칼슘 실케이트, 폴리이미드 파우더 등이 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로하이드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진제를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것

은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.

[0120] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는, 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제 등이 이용될 수 있으며, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일 등이 이용될 수 있고, 특히, 목화씨 오일, 땅콩 오일, 옥수수 배종 오일, 올리브 오일, 피마자 오일 및 참깨 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.

[0121] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는, 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타하이드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.

[0122] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클린징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 리놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.

[0123] 본 발명의 화장료 조성물에는 상기 필수 성분과 더불어 필요에 따라 통상 화장료에 배합되는 다른 성분을 배합해도 된다. 구체적으로, 첨가해도 되는 배합 성분으로서는 유지 성분, 보습제, 에몰리엔트제, 계면 활성제, 유기 및 무기 안료, 유기 분체, 자외선 흡수제, 방부제, 살균제, 산화 방지제, 식물 추출물, pH 조정제, 알콜, 색소, 향료, 혈행 촉진제, 냉감제, 제한(制汗)제, 정제수 등을 들 수 있으나 이에 제한되지 않는다.

[0125] 본 발명의 제3양태의 약학적 조성물, 제6양태의 식품 조성물, 제7양태의 사료 조성물, 제8양태의 의약외품 조성물, 또는 제9양태의 화장료 조성물을 적용하여 예방, 개선 또는 치료할 수 있는 상기 염증성 질환은 알레르기성 염증질환, 염증성 피부질환, 염증성 안구질환, 염증성 골관절질환, 염증성 근육질환 또는 염증성 장질환일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

발명의 효과

[0127] 본 발명의 신규한 2종의 아겔라리아 말렉센시스 추출물 유래 화합물은 우수한 항염증 활성을 나타낼 뿐만 아니라 유효 투여량 이상의 농도에서도 독성을 나타내지 않으므로 염증성 질환의 예방, 개선 및/또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0129] 도 1은 아가페록시놀 A(agarperoxinol A, 화합물 1) 및 아가페록시놀 B(화합물 2)의 화학적 구조식을 나타낸 도이다.

도 2는 아가페록시놀 A 및 아가페록시놀 B의 주요 HMBC, ^1H - ^1H COSY, 및 NOESY 상관관계를 나타낸 도이다.

도 3은 (A) 아가페록시놀 A의 X-선 결정학적 구조 및 (B) 아가페록시놀 A 및 아가페록시놀 B에 대해 관찰된 ECD 분광학 데이터를 나타낸 도이다.

도 4는 아가페록시놀 A 및 아가페록시놀 B의 실현 가능한 생합성 경로를 나타낸 도이다.

도 5는 CDCl_3 중의 아가페록시놀 A의 ^1H NMR 스펙트럼(500 MHz)을 나타낸 도이다.

도 6은 CDCl_3 중의 아가페록시놀 A의 ^{13}C NMR 스펙트럼(125 MHz)을 나타낸 도이다.

도 7은 CDCl_3 중의 아가페록시놀 A의 HSQC 스펙트럼(500 MHz)을 나타낸 도이다.

도 8은 CDCl_3 중의 아가페록시놀 A의 HMBC 스펙트럼(500 MHz)을 나타낸 도이다.

도 9는 CDCl_3 중의 아가페록시놀 A의 COSY 스펙트럼(500 MHz)을 나타낸 도이다.

도 10은 CDCl_3 중의 아가페록시놀 A의 NOESY 스펙트럼(500 MHz)을 나타낸 도이다.

도 11은 아가페록시놀 A의 MS 스펙트럼을 나타낸 도이다.

도 12는 아가페록시놀 A의 UV 스펙트럼을 나타낸 도이다.

도 13은 아가페록시놀 A의 실험적 ECD 스펙트럼을 나타낸 도이다.

도 14는 아가페록시놀 A의 광학 회전 결과를 나타낸 도이다.

도 15는 CDCl_3 중의 아가페록시놀 B의 ^1H NMR 스펙트럼(800 MHz)을 나타낸 도이다.

도 16은 CDCl_3 중의 아가페록시놀 B의 ^{13}C NMR 스펙트럼(200 MHz)을 나타낸 도이다.

도 17은 CDCl_3 중의 아가페록시놀 B의 HSQC 스펙트럼(800 MHz)을 나타낸 도이다.

도 18은 CDCl_3 중의 아가페록시놀 B의 HMBC 스펙트럼(800 MHz)을 나타낸 도이다.

도 19는 CDCl_3 중의 아가페록시놀 B의 COSY 스펙트럼(800 MHz)을 나타낸 도이다.

도 20은 CDCl_3 중의 아가페록시놀 B의 NOESY 스펙트럼(800 MHz)을 나타낸 도이다.

도 21은 아가페록시놀 B의 MS 스펙트럼을 나타낸 도이다.

도 22는 아가페록시놀 B의 UV 스펙트럼을 나타낸 도이다.

도 23은 아가페록시놀 B의 실험적 ECD 스펙트럼을 나타낸 도이다.

도 24는 아가페록시놀 B의 광학 회전 결과를 나타낸 도이다.

도 25는 아가페록시놀 A의 (A) 세포 생존율, 및 (B) 미세아교세포 BV2 세포에서 LPS-유도된 NO 생성에 대한 효과를 나타낸 도이다.

도 26은 아가페록시놀 B의 (A) 세포 생존율, 및 (B) 미세아교세포 BV2 세포에서 LPS-유도된 NO 생성(n=3)과 LPS-활성화된 미세아교세포에서 (C) COX-2, 및 (D) iNOS 단백질의 발현에 대한 효과를 나타낸 도이다. 세포 생존율은 30분 동안 EZ-Cytox로 염색하여 450 nm에서 측정된 흡광도의 대조군에 대한 백분율로 나타내었다(n=5). 상기 단백질의 수준은 웨스턴 블롯 분석으로 결정하였으며, GAPDH 밴드에 대한 iNOS/COX-2의 상대적인 세기를 농도계(densitometry)로 산출하였다(n=5). 데이터는 평균(mean)±SEM으로 나타내었다($p<0.0001$ was compared with sample of control group. $*p<0.05$, $**p<0.01$, $***p<0.001$, and $****p<0.0001$ were compared with LPS group).

도 27은 아가페록시놀 A의 LPS-자극된 세포의 IL-6 분비에 대한 효과를 나타낸 도이다.

도 28은 아가페록시놀 B의 LPS-자극된 세포의 전염증성 사이토카인 (A) TNF- α , (B) IL-6, 및 (C) IL-1 β 수준에 대한 효과를 나타낸 도이다. 데이터는 3회 독립적인 실험의 평균±SEM으로 나타내었다($p<0.0001$ compared to control group, $***p<0.001$, $****p<0.0001$ compared to LPS group).

도 29는 LPS-활성화된 미세아교세포에서 아가페록시놀 B에 의한 (A) Akt 및 (B) JNK 인산화 단백질의 발현 억제를 나타낸 도이다. 상기 단백질의 수준은 웨스턴 블롯 분석으로 결정하였으며, p-Akt/Akt 및 p-JNK/JNK 밴드의 상대적인 세기를 농도계로 산출하였다. 데이터는 평균±SEM으로 나타내었다(n=5, $p<0.0001$ was compared with sample of control group. $*p<0.05$, $**p<0.01$, $***p<0.001$ and $****p<0.0001$ were compared with LPS group).

도 30은 아가페록시놀 B 및 텍사메타손(3 mg/kg)은 LPS-처리된 마우스에서 COX-2 및 TNF- α 의 발현에 대한 효과를 나타낸 도이다. (A) 및 (B)는 각각 웨스턴 블롯으로 검출한 마우스 피질에서의 COX-2(n=6) 및 TNF- α (n=6)

수준을, (C)는 면역형광 어세이에 의해 검출한 Iba-1(n=3, scale bar=75 μ m)를 나타낸다. 데이터는 평균 $\pm$ SEM으로 나타내었다(***p<0.001 and *p<0.05 compared with the control group; # p < 0.05 compared with the LPS group).

도 31은 (A) Akt(PDB 3096) 및 (B) JNK(PDB 1PMN)의 아가페록시놀 B(노란색)에 대한 분자 도킹 시뮬레이션(molecular docking simulations)을 결과를 나타낸 도이다. 상기 시뮬레이션은 윈도우 및 리눅스를 위한 AMDock 버전 1.5.2를 사용하여 수행하였다. 노란 점선은 각각 아가페록시놀 B와 Akt 또는 JNK 사이의 수소결합을 나타낸다. 청록색(cyan)은 극성 상호작용을 갖는 잔기를, 자홍색(magenta)은 소수성 상호작용을 갖는 잔기를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 본 발명을 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

<식물소재>

2010년 1월 아퀼라리아 말락센시스(*Aquilaria malaccensis*)의 침향나무 조각을 Industrial Plantation Co.(Vientiane, Laos)로부터 구입하였다. 확증표본(voucher specimen)(AM-2010-01)을 서울대학교 천연물연구소 식물표본관(Herbarium of the Natural Product Research Institute)에 기탁하였다.

<물질>

LPS(*Escherichia coli*, 055:B5), 디메틸설폭사이드(dimethyl sulfoxide; DMSO), 술파닐아미드(sulfanilamide), N-(1-나프틸)에틸렌디아민 이염산염(N-(1-naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride), 및 아질산나트륨(sodium nitrite)은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였다. iNOS, COX-2, 탈수소효소(dehydrogenase; GAPDH), 항-라벳 HRP(horseradish peroxidase)-결합된 IgG 항체뿐만 아니라 iNOS, COX-2, 및 탈수소효소(dehydrogenase; GAPDH)에 대한 항체를 포함한 모든 일차 항체를 Cell Signaling Technology(Beverly, MA, USA)로부터 구입하였다.

<실험 방법>

화합물의 분리 및 구조규명

Mitamura Riken 용점측정기(Japan)를 이용하여 용점을 결정하였다. JASCO P-2000 편광계(Japan)로 20℃에서 광학 회전을 측정하였다. IR 스펙트럼은 JASCO FT/IR 4200(Japan)로부터 획득하였다. 자외선(ultraviolet; UV) 및 ECD 스펙트럼은 Chirscan plus(Applied Photophysics Ltd., UK) 상에서 측정하였다. NMR 스펙트럼은 Bruker ASCENE(800 MHz) 및 Bruker ADVANCE 500 MHz FT-NMR 분광계(Germany) 상에서 측정하였으며, NMR 용매는 Sigma-Aldrich(USA)로부터 구입하였다. HR-ESIMS를 Agilent 6350 Q-TOF 질량 분석계(Agilent, USA) 상에서 측정하였다. X-선 결정학 데이터는 Cu-K α 방사선($\lambda=1.54184$ Å)을 이용한 Agilent SuperNova CCD 검출기 시스템 상에서 수행하였다. LC 분석은 자동시료주입기(autosampler), DAD, 및 컬럼 온도조절장치(column thermostat)를 구비하고 Phenomenex Luna 100 RP-C18 컬럼(250 $\times$ 4.6 mm i.d., 5 μ m)을 이용하는 Agilent 1260 인피니티 시스템(USA)을 사용하여 수행하였다. 반분취 HPLC은 Gilson 321 펌프 및 Phenomenex Luna 100 RP-C18 컬럼(250 $\times$ 10 mm i.d., 5 μ m)을 구비한 Gilson UV/VIS-155 검출기 시스템(Gilson, Middleton, USA)을 사용하여 수행하였다. 고정상으로 실리카 젤 60(0.040-0.063 mm; Merck, Germany) 및 세파텍스 LH-20(Amersham Bioscience AB, Uppsala, Sweden)을 이용하여 컬럼 크로마토그래피를 수행하였다. TLC는 실리카 젤 60 F₂₅₄ 플레이트(Merck, Germany) 상에서 수행하였다. 분리에 사용된 모든 용매는 Duksan pure chemical Co.(Gyeonggi-do, Korea)로부터 구입하였고, HPLC를 위한 용매는 J.T.Baker(USA)로부터 제공되었다.

세포 배양 및 생존율

[0143] BV2 세포는 서울대학교의 이성중 교수로부터 제공받았다(Seoul National University, Seoul, Korea). 상기 세포를 배양하고 37℃의 5% CO₂ 인큐베이터에서 5% 열-불활성화 소태아혈청(fetal bovine serum; FBS, ATCC, Manassas, VA, USA) 및 1% 페니실린/스트렙토마이신을 포함하는 DMEM-F12(Dulbecco's Modified Eagle Medium F12, Gibco, Grand Island, NY, USA)에 유지하였다. 세포 생존율 백분율을 평가하기 위하여, 상기 세포를 96-웰 플레이트에 분주(5.0×10^4)하여 37℃에서 24시간 동안 인큐베이션하였다. 이후 상기 세포를 LPS 존재 또는 부재 하에 24시간 동안 다양한 농도의 화합물(25, 50, 100 and 200 nM)로 처리하였다. EZ-Cytox 시약(DAEILLAB Co. Ltd., Seoul, Republic of Korea)을 사용하여 세포 생존율을 검출하였다. 562 nm에서의 흡광도를 마이크로 플레이트 흡광도 리더(Multiskan SkyHigh, Thermo Scientific, USA)를 사용하여 측정하였다.

[0145] 일산화질소 생성 측정

[0146] 상기와 같이 배양한 세포를 6-웰 플레이트에 분주(5.0×10^5)하여 37℃에서 24시간 동안 인큐베이션하고, 연속적으로 희석된 농도의 화합물(25, 50, 100, and 200 nM)로 1시간 동안 전처리한 후, LPS(100 ng/mL)로 24시간 동안 공처리하였다. 배양 배지 중의 아질산염(nitrite) 수준을 그리스 반응(Griess reaction)에 기초한 비색법(colorimetric method)을 이용하여 측정하였다. 간략하게, 50 mL 배양 배지를 동일한 부피의 혼합 그리스 시약(1% 술파닐아미드, 0.1% 나프틸 에틸렌디아민 이염산염, 및 5% 인산)을 첨가하고, 실온에서 15분 동안 인큐베이션하였다. 마이크로플레이트 리더(Multiskan SkyHigh, Thermo Scientific, USA)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선으로부터 아질산염의 농도를 결정하였다.

[0148] 효소-결합 면역흡착 어세이(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; ELISA)

[0149] 상기와 같이 세포를 배양하고, 배양 배지를 회수하여 13,000 rpm에서 5분 동안 원심분리하였다. 배양 배지 중의 IL-1 β , IL-6, 및 TNF- α 수준을 제조업자의 지시에 따라 ELISA 키트(R&D System Inc., Minneapolis, MN, USA)를 사용하여 정량하였다.

[0151] 웨스턴 블롯 분석

[0152] 상기 세포를 6-웰 플레이트에 24시간 동안 분주하고(5×10^5 cells/well), 다양한 농도의 화합물로 1시간 동안 선처리한 후, LPS(100 ng/mL)로 24시간 동안 공처리하였다. 상기 세포를 회수하여 단백질 추출 완충액(protein extraction buffer, PRO-PREP, iNtRON, Gyeonggi-do, Korea) 및 1× 인산가수분해효소 억제제 콕테일 III(phosphatase inhibitor cocktail III; PIC III, Merck, Darmstadt, Germany)으로 용해시켰다. 4℃에서 13000 rpm으로 20분 동안 원심분리 후 상층액을 회수하였다. Pierce BCA 단백질 어세이 키트(Thermo Scientific, Rockford, IL, USA)를 이용하여 총 단백질을 BSA 표준의 기지 농도에 기반하여 정량하고 계산하였다. 전기영동 분리를 위해 상기 단백질 시료를 10% SDS-폴리아크릴아미드 겔에 로딩하고, 폴리비닐리덴디플루오라이드(polyvinylidene difluoride; PVDF, Millipore, USA) 멤브레인에 옮겨, 차단 완충 용액(blocking buffer solution, Double Blocker, T & I, Chuncheon, Korea)을 사용하여 5% BSA로 차단하고 특이적 일차 항체(1:1000)와 4℃에서 밤새도록 인큐베이션하였다. TBST로 세척한 후, 상기 멤브레인을 HRP-결합된 IgG 이차항체(1:5000)와 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 상기 블롯을 증강 화학광(enhanced chemiluminescence; ECL) 시약(Thermo Fisher Scientific Inc., Lafayette, CA, USA)을 이용하여 검출하였다. 밴드의 밀도 분석(densitometry analysis)은 Fusion Solo 시스템(Viber Lourmat, Collegien, France)을 사용하여 수행하였다.

[0154] 통계적 분석

[0155] 데이터는 표시된 독립적 실험의 평균(mean)±평균의 표준 오차(standard error of the mean; SEM)로 나타내었다. IC₅₀ 값은 GraphPad Prism 8(GraphPad software Inc, CA, USA)을 이용한 비선형 회귀(on-linear regression)를 사용하여 계산하였다. 통계적 유의성은 일원분산분석(one-way analysis of variance; ANOVA)에 의해 분석하였다. 통계적 유의성은 *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001 및 ****p < 0.0001로 표현하였다.

[0157] **실시예 1: 침향나무로부터 아가페록시놀 A 및 아가페록시놀 B의 추출 및 분리**

[0159] 아퀼라리아 말라센시스 침향나무 조각(9.0 kg)을 분쇄하고, 환류 하에 MeOH 70%로 추출하였다(20 L×3h, 3회). 추출물을 감압 하에 증발시켜 물에 현탁된 조 추출물(864 g)을 수득하고, 디에틸에테르, EtOAc, 및 *n*-BuOH로 연속적으로 분획하여 각각 225 g, 155 g, 및 289 g의 잔사를 수득하였다.

[0160] 수득한 에테르 분획(30 g)을 실리카 젤 컬럼(230-400 mesh, 300 g)으로 분획하고, *n*-헥산/EtOAc(구배, 40:1→1:1, v/v)로 용출하여 7개 분획물을 수득하였다(Et1-Et7). 분획물 Et3(3.36 g)을 *n*-헥산/EtOAc(구배, 95:5→7:3, v/v)로 용리하는 실리카 젤 컬럼 크로마토그래피(230-400 mesh, 100g)로 분리하여, 9개 하위 분획물(sub-fractions, Et3a-Et3i)을 수득하였다. 하위 분획물 Et3b(250 mg)를 반분취(semi-preparative) RP-HPLC(MeOH:H₂O, 65:35, v/v)로 분리하여 2개 분획 Et3b1 및 Et3b2를 수득하였다. 화합물 1(3.44 mg)을 반분취 RP-HPLC(*t_R* = 11.0 min, CH₃CN:H₂O, 55:45, v/v)에 의해 분획 Et3b1로부터 분리하였고, 분획 Et3b2를 반분취 RP-HPLC로 추가로 정제하여 화합물 2(2.26 mg)를 수득하였다(*t_R*=9.95 min, CH₃CN:H₂O, 50:50, v/v). 이하 상기 수득한 화합물 1을 아가페록시놀 A(agarperoxinol A)로, 화합물 2를 아가페록시놀 B로 명명하였다. 나아가 이의 구조를 규명하여 도 1에 나타내었다.

[0162] **실험예 1: 신규 화합물 아가페록시놀 A 및 아가페록시놀 B의 구조 분석**

[0164] 상기 실시예 1을 통해 아가페록시놀 A를 비선광회전도(specific optical rotation) $[\alpha]_D^{20} = -28.1(c\ 0.1, \text{MeOH})$ 를 갖는 무색의 침형(needle)으로 분리하였다. 분자식은 $m/z\ 269.1745\ [M+H]^+$ (calcd for C₁₅H₂₅O₄, 269.1753)에서의 양이온 피크에 의해 HRESI/TOF-MS로부터 C₁₅H₂₄O₄로 결정하였으며, 이는 4도(degrees)의 불포화도를 나타낸다. 아가페록시놀 A의 ¹H NMR 및 HSQC 데이터(표 1)는 하나의 올레핀 양성자(olefinic proton, $\delta_H\ 5.33$, quint, $J = 2.5\ \text{Hz}$, H-2), 3개의 옥시메틴(oxy methines, $\delta_H\ 4.25$ (td, $J = 6.5, 3.5\ \text{Hz}$, H-12), $\delta_H\ 4.22$ (dq, $J = 6.5, 4.5, 3.0\ \text{Hz}$, H-9), 및 $\delta_H\ 3.50$, t, $J = 3.5\ \text{Hz}$, H-6), 4개의 메틸렌 그룹($\delta_H\ 2.39$ -1.71), 하나의 메틴(methane, $\delta_H\ 1.56$, dd, $J = 6.5, 3.5\ \text{Hz}$, H-10), 및 3개의 3차 메틸 그룹($\delta_H\ 1.41, 1.02, 0.96$)의 존재를 나타내었다. 아가페록시놀 A의 ¹³C NMR 스펙트럼은 한 쌍의 올레핀 탄소($\delta_C\ 140.6, 122.1$), 4개의 산소화된 탄소($\delta_C\ 79.5, 76.1, 74.3, 70.7$), 및 하나의 4차(quaternary) 탄소($\delta_C\ 33.5$)에 상응하는 15개 탄소 신호를 나타내었다. 분자식의 도움과 함께, C-9($\delta_C\ 79.5$)의 낮은장 화학적 이동(downfield chemical shift) 및 $\delta_H\ 7.73$ 에서 ¹H NMR 신호의 넓은 단일항(broad singlet)로부터 아가페록시놀 A의 구조 중의 유리 과산화수소기(free hydroperoxide group, -OOH)의 존재를 추론하였다. 상기 데이터에 기초하여, 하나의 이중 결합의 존재는 1도의 불포화도를 설명하며 남은 3도의 불포화도는 아가페록시놀 A가 3환 골격임을 나타내었다. 아가페록시놀 A의 ¹H-¹H COSY 데이터는, 도 2에 나타난 바와 같이, 3개 스핀 커플링 시스템 H₂-1/H-2, H₂-4/H₂-5/H-6, 및 H₂-8/H-9/H-10/H-12의 상관관계를 나타내었다. 주요 HMBC 상관관계는 H₂-4로부터 C-3/C-5/C-6/C-12로, H-12로부터 C-3/C-7/C-9로 관찰되었으며, 7-원(membered) 탄소 고리(A 고리, 도 1)의 존재를 나타내는 ¹H-¹H COSY 상관관계와 조합되었다. 또한, 2개 6-원 B 및 C-고리가 H₂-8로부터 C-7/C-10/C-12로 및 H-10으로부터 C-1/C-3/C-4/C-9/C-11/C-12로의 HMBC 교차피크에 의해 확립되었으며, 이는 H₂-8/H-9/H-10/H-12의 ¹H-¹H COSY 상관관계에 의해 뒷받침되었다. 이들 데이터를 고려하여, A-고리는 탄소 C-7에서 C-12로의 에테르 브릿지를 통해 B-고리와 융합되었으며, B-고리는 C-10과 C-12 사이의 탄소 브릿지를 통해 C-ring에 연결되었다. 따라서, 아가페록시놀 A의 평면 구조는 3환 6/6/7 재배열 후물린-타입 세스퀴테르페노이드로 지정되었다(도 2).

[0165] 아가페록시놀 A의 상대적인 배열을 NOESY 스펙트럼을 기초로 해석하였다. H-10/H-12, H-10/H₃-15, H-12/H₃-15, 및 H-12/H-4a 사이의 NOESY 상관관계를 관찰하였으며, 이는 H-4a, H-10, H-12, 및 H₃-15가 *b*-배향(orientation)에 있음을 시사하였다. 반면 H₂-1/H₃-14, H₂-1/H-2, H-2/H-4b, 및 H-9/H₃-14 사이에서 관찰되는 NOESY 표차 피크는 H₂-1, H-2, H-4b, H-9, 및 H₃-14가 분자의 반대편에 존재하며 따라서 *a*-배향임을 나타낸다. 아가페록시놀 A의 절대적인 배열은, 도 3에 나타난 바와 같이, Cu-K α 방사선(radiation)($\lambda=1.54184$)을 이용한 단결정 X-선 회절 분석에 의해 결정하였다. 이에 따라, 아가페록시놀 A의 입체화학은 6*S*,7*R*,9*S*,10*S*,12*S*로 명확하게 지정되었다.

[0167] 이와 마찬가지로, 상기 실시예 1에 따라 아가페록시놀 B를 비선광회전도 $[\alpha]_D^{20} + 108.3(c\ 0.12, \text{MeOH})$ 를 갖는 무색의 침형(석유에테르(petroleum ether)-에틸아세테이트, 8:1, v/v)으로 수득하였다. 이의 분자식은 $m/z\ 253.1808\ [M+H]^+$ (calcd for C₁₅H₂₅O₃, 253.1804)에서의 양성자화된 이온 피크에 기초하여 C₁₅H₂₄O₃로 추론되었으며, 이는 4도의 불포화를 의미한다. 아가페록시놀 A의 분자량과 비교하여 아가페록시놀 B의 16 질량 단위(mass units)의 손실은, 아가페록시놀 B의 구조 중의 하나의 산소 원자의 부재를 나타내었다. 아가페록시놀 B의 1D NMR 데이터는 아가페록시놀 A의 것과 유사하였으며(표 1), 이는 아가페록시놀 B가 아가페록시놀 A와 동일한 6/6/7 3환 중심 골격을 가짐을 나타낸다(도 1). 그러나, 아가페록시놀 B와 아가페록시놀 A의 주된 차이는 아가페록시놀 B에 있는 탄소 C-9에서 히드록시기에 의한 아가페록시놀 A에 있는 유리 히드로과산화물의 치환에 있었다. $\delta_c\ 79.5$ 에서 탄소 C-9의 화학적 이동은 아가페록시놀 B에서 $\delta_c\ 65.5$ 까지 높은장 이동된(upfield-shifted) 반면, 아가페록시놀 A에 있어서 $\delta_c\ 30.4$ 에서 탄소 C-8 및 $\delta_c\ 47.0$ 에서 탄소 C-10의 화학적 이동은 각각 $\delta_c\ 39.1$ 및 $\delta_c\ 52.4$ 로 낮은장 이동되었다. H-9로부터 C-7/C-10/C-11/C-12로, H-10으로부터 C-1/C-3/ C-9/C-11/C-12/C-14/C-15로, H-12로부터 C-2/C-3/C-7/C-9/C-10로의 HMBC 상관관계는 C-7 및 C-12를 경유하는(via) 산소 브릿지, 및 C-10 및 C-12를 통한(through) 탄소 브릿지의 존재를 확인하였다. 아가페록시놀 B의 상대적인 배열은 NOESY 상관관계로 추론하였다. 양성자 H₂-1, H-2, H-9, H-10, H-12, H₃-14, 및 H₃-15의 배향은 주요 NOESY 상관관계에 의해 아가페록시놀 A의 그것과 동일하게 지정하였다(도 2). 시료의 회소성 및 수득된 단결정의 저품질로 인해 화합물 아가페록시놀 B의 절대적인 배열은 실험적 ECD 스펙트럼 분석을 통해 추가로 확인하였다(도 3). 아가페록시놀 B의 관찰된 ECD 스펙트럼 데이터는 아가페록시놀 A와 고도로 동일하였고 이의 절대적인 배열은 6*S*,7*R*,9*S*,10*S*,12*S*로, 즉, 아가페록시놀 B로 명확히 결정되었다.

[0169] 아가페록시놀 A 및 아가페록시놀 B에 대해 측정된 1D 및 2D NMR 스펙트럼과 MS, UV 및 ECD 스펙트럼 및 광학 회전 결과를 각각 도 5 내지 14 및 도 15 내지 24에 나타내었으며, 1D NMR의 주요 피크를 표 1에 요약하고, 아가페록시놀 A에 대한 결정 데이터 및 구조 개선(refinement)을 표 2에 예시적으로 개시하였다.

표 1

[0170]

No.	아가페록시놀 A(1) ^a		아가페록시놀 B(2) ^b	
	$\delta_H(J, \text{Hz})$	δ_C	$\delta_H(J, \text{Hz})$	δ_C
1a	1.84 d (14.5)	36.1	1.91 d (20.0)	36.2
1b	1.71 dt (14.5, 3.5)		1.71 m	
2	5.33 quint (2.5)	122.1	5.30 dt (4.8, 2.4)	122.0
3	-	14.6	-	139.7
4a	2.39 m	27.6	2.40 dddd (11.2, 10.4, 6.4, 3.2)	27.8
4b	2.08 dd (12.5, 4.0)		2.10 ddd (11.2, 6.4, 4.8)	
5a	1.95 ddd (11.0, 8.0, 3.5)	34.6	1.96 dtd (10.4, 6.4, 4.8)	32.7
5b	1.72 ddd (11.0, 7.0, 3.5)		1.66 tdd (10.4, 6.4, 3.2)	
6	3.50 t (3.5)	74.3	3.69 m	73.6
7	-	76.1	-	76.6
8a	2.10 dd (15.5, 3.0)	30.4	2.09 dd (14.4, 4.8)	39.1
8b	1.84 dd (15.5, 4.5)		1.48 dd (14.4, 5.6)	

9	4.22 ddd (6.5, 4.5, 3.0)	79.5	4.02 q (5.6)	65.5
10	1.56 dd (6.5, 3.5)	47.0	1.61 t (5.6)	52.4
11		33.5	-	33.8
12	4.25 td (6.5, 3.5)	70.7	4.30 ddd (5.6, 4.0, 2.4)	71.9
13	1.41 s	27.2	1.35 s	26.1
14	1.02 s	27.2	1.10 s	28.5
15	0.96 s	28.2	0.95 s	28.5
9-00-H	7.73 brs			

[0171] a: 500 MHz(¹H) 및 125 MHz(¹³C)에서 측정된 데이터, b: 800 MHz(¹H) 및 200 MHz(¹³C)에서 측정된 데이터.

표 2

[0172] 실험식	C ₁₅ H ₂₄ O ₄
화학식량	268.34
온도 (K)	291(6)
결정계	단결정성
공간군	P2 ₁ /n
a (Å)	8.9468(3)
b (Å)	16.8211(6)
c (Å)	10.2017(4)
α (°)	90
β (°)	109.839(4)
γ (°)	90
부피 (Å ³)	1444.19(9)
Z	4
ρ _{calc} /g/cm ³	1.234
μ (mm ⁻¹)	0.715
F(000)	584.0
결정 크기 (mm ³)	0.3×0.1×0.02
방사선	CuK α (λ=1.54184)
데이터 수집을 위한 2θ 범위	10.518 to 153.188
색인 범위	-10≤h≤11, -20≤k≤21, -12≤l≤12
수집된 반사	15045
독립적 반사	2999 [R _{int} =0.0527, R _{sigma} =0.0259]
데이터/제한/변수	2999/0/108
F ² 에 대한 적합도	1.056
최종 R 지수 [I>=2σ (I)]	R ₁ =0.0447, wR ₂ =0.1297
최종 R 지수 [all data]	R ₁ =0.0540, wR ₂ =0.1393
최대 회절 피크/홀/e Å ⁻³	0.18/-0.14

[0174] 실험예 2: 후물린 양이온(humulyl cation)을 통한 아가페록시놀 A 및 아가페록시놀 B의 생합성 경로의 제안

[0176] 아가페록시놀 A 및 아가페록시놀 B는 신규한 3환 6/6/7 스캐폴드를 갖는 재배열된 후물린-타입 세스퀴테르페노이드로 표현되는 최초의 화합물이다. 특히, 구조 골격에 유리 과산화수소 작용기를 갖는 아가페록시놀 A는 독특하고(unique), 천연물 대사체(natural product metabolite)에서는 거의 발생하지 않는다. 아가페록시놀 A 및 아가페록시놀 B에 대한 가능한 생합성 경로는 가장 일반적인 전구체인 파르네실 피로포스페이트(farnesyl pyrophosphate; FPP, 도 4)로부터 유래하는 것으로 가정된다. 후물린 양이온은 수소화, 산화를 통해, 동일한 식물로부터 분리된, 중간 전구체(intermediate precursor) 12-히드록시후물라-2Z,6E,9E-트리엔(12-

hydroxyhumula-2Z,6E,9E-triene)을 생성할 수 있었다. 상기 중간체는 산화, 탈수, 및 이후 탄소양이온(carbocation, **a**)을 생성하도록 탈수화될 수 있고, 본 발명자들의 선행 연구에서 보고된 후물린-타입 세스퀴테르페노이드 7/10 고리 시스템인 아퀼라놀(aquilanol) A 및 B를 생성하도록 탈양성자화되었다. 흥미롭게도, 자연적으로 발생하는 아퀼라놀 A 및 B의 최초의 정밀합성이 역고리이성질체화(retrocycloisomerization)에 의해 (-)-카리오펜산화물((-)-caryophyllene oxide)을 통해 달성되었으며, 이는 본 발명의 추정되는 생합성 경로에 의한 아가페록시놀 A 및 아가페록시놀 B의 전합성(total synthesis)의 실현가능성을 나타내는 것이다. 마지막으로, 중간체 전구체 탄소양이온(**a**)의 고리화 및 산화는, 신규한 6/6/7 3환 골격을 제공하기 위한 개질된 6원 고리(B 및 C-고리)의 생성을 유도한다.

[0178] 실험예 3: 세포 생존율에 대한 아가페록시놀 A 및 아가페록시놀 B의 효과

[0180] 지질다당류(lipopolysaccharide; LPS)는 BV-2 미세아교세포가 NO, TNF- α 및 IL-6와 같은 전염증 매개체를 방출하도록 자극하며, 다른 주요 효소인 시클로옥시게나아제 COX-2와 함께 PGE2는 CNS 염증성 질환에서 중요한 매개체이다. 아퀼라리아 나무로부터의 수지나무(resinous woods)는 인도말레이시아 지역의 대부분 국가에서 전통 의학에서 류마티스(rheumatism), 관절염(arthritis), 진통제(analgesic), 진정제(sedative), 및 불안(anxiety)과 같은 염증성 질환을 치료하기 위한 항염증성 한약제(anti-inflammatory herbal drug)로 간주되어 오래 사용되고 있다. 따라서, 염증을 조절하는 방법을 익히는 것은 많은 질환 특히, 알츠하이머병 및 파킨슨병과 같은 신경퇴행성 질환의 치료에 큰 영향을 가질 수 있다. 침향목(agarwood)의 전통의학 치료법에 사용된 증거를 기반으로, 분리된 화합물들의 시험관 내 및 생체 내 항염증 효과를 입증하기 위하여 LPS-자극된 미세아교세포 모델을 이용하여 유효 성분을 평가하고자 하였다.

[0181] LPS의 존재 또는 부재 하에 Ez-Cytox 시약을 이용한 비색분석법(colorimetric assay)에 의해 아가페록시놀 B의 세포독성을 결정하였다. 0, 100, 200, 400, 및 800 nM 농도의 아가페록시놀 B로 처리시 세포 생존율은 각각 $100 \pm 0.0\%$, $99.68 \pm 2.62\%$, $112.19 \pm 5.70\%$, $114.37 \pm 2.55\%$ 및 $103.05 \pm 1.12\%$ 였다. 한편, LPS(200 ng/mL) 존재 하에 100, 500, 및 1000 nM 농도의 아가페록시놀 A로 처리시 세포 생존율은 각각 118.31%, 117.57%, 및 113.24%였다. 또는 LPS(100 ng/mL) 존재 하에 0, 100, 200, 400, 및 800 nM 농도의 아가페록시놀 B로 처리시 세포 생존율은 각각 $107.54 \pm 3.20\%$, $108.28 \pm 4.79\%$, $109.22 \pm 4.34\%$, $100.76 \pm 3.04\%$, 및 $110.54 \pm 4.59\%$ 였다. 아가페록시놀 A 및 아가페록시놀 B 모두는 단독으로 또는 LPS와 함께 처리시 BV2 미세아교세포의 생존율을 감소시키지 않았다. 앞서 개시한 데이터는 아가페록시놀 A 및 아가페록시놀 B가 유효 용량(effective dose)의 4배에서 BV2 미세아교세포에 유효한 세포독성을 나타내지 않음을 나타내었다(도 25A 및 26A).

[0183] 실험예 4: LPS-유도 일산화질소 생성 억제에 대한 아가페록시놀 A 및 아가페록시놀 B의 효과

[0185] NO는, 항상성(homoeostatic) 활성을 갖는 방어 및 조절 분자로 작용할 수 있으나 과도하게 생성될 때 병원성인, 염증의 발생기전(pathogenesis)에서 중요한 역할을 하는 신호전달 분자이다. 최근, 강력한 항염증 효과를 나타내는 다른 약물의 파생물로서 NO-방출 약물이 개발되고 있다. 본 발명의 표적 해독 실험(target deconvolution experiments)에서, 20, 40, 60, 80, 및 100 nM 농도의 아가페록시놀 A의 일련의 희석물로 1시간 동안 세포를 처리한 후, LPS(200 ng/mL)로 공처리하였으며, 배양 배지 중의 NO 생성 수준은 각각 29.31 μ M, 23.88 μ M, 15.84 μ M, 8.14 μ M, 및 4.04 μ M이었다(도 25B). 또는 50, 100, 및 200 nM 농도의 아가페록시놀 B의 일련의 희석물로 1시간 동안 세포를 처리한 후, LPS(100 ng/mL)로 공처리하였으며, 배양 배지 중의 NO 생성 수준은 각각 25.77 ± 0.10 μ M, 14.94 ± 0.10 μ M, 및 8.87 ± 0.05 μ M이었다(도 26B). 본 발명에서, 상기 처리된 세포에서의 NO 생성은 각각 31.14 ± 0.10 μ M 및 8.26 ± 0.04 μ M의 NO 수준을 갖는 음성 대조군 및 양성 대조군(덱사메타손; dexamethasone; Dex 5 μ M)과 비교하여 유의하게 상이하였다($p < 0.0001$). 흥미롭게도, 이러한 결과는 아가페록시놀 B가 110.8 ± 2.0 nM의 IC₅₀ 값의 용량-의존적 방식으로 LPS-자극된 BV2 미세아교세포에서 NO 생성을 현저히 억제함을 나타내었다.

[0187] **실험예 5: COX-2 및 iNOS 효소 발현 억제에 대한 아가페록시놀 B의 효과**

[0189] 본 발명에서는, COX-2 및 iNOS 효소 수준을 추가로 확인하기 위하여, 아가페록시놀 B가 LPS-유도된 미세아교세포 BV2 세포에서 COX-2 및 iNOS의 발현도 조절하는지 여부를 결정하기 위해 웨스턴블롯팅을 사용하였다(도 26C 및 26D). 그 결과는 LPS(100 ng/mL) 존재 하에 24시간 동안 아가페록시놀 B로 처리했을 때 미세아교세포 BV2 세포에서 COX-2 및 iNOS 단백질 발현을 농도-의존적 방식으로 저해함을 나타내었다. 도 26C 및 26D에 나타난 바와 같이, LPS만을 처리한 군은 대조군과 비교하여 COX-2 및 iNOS의 단백질 발현이 눈에 띄게 증가한 반면, 50, 100, 및 200 nM 농도의 아가페록시놀 B의 처리는 COX-2(81.0%, 68.4%, and 41.7%) 및 iNOS(83.9%, 41.9%, and 31.2%) 모두의 단백질 발현을 현저히 억제하였다. 이러한 결과는 아가페록시놀 B가 NO 생성을 억제할 뿐만 아니라, LPS-자극된 BV2 미세아교세포에서 COX-2 및 iNOS 발현 수준을 조절하였음을 나타낸다.

[0191] **실험예 6: 전염증성 사이토카인 생성 억제에 대한 아가페록시놀 A 및 아가페록시놀 B의 효과**

[0193] 전염증성 사이토카인, TNF- α 는 자체로서 NO, IL-1 β , 및 IL-6를 포함한 다른 전염증성 매개체를 생성하도록 몇몇 기능성 세포를 자극할 수 있다. 이에 따라, 특이적 ELISA 키트를 사용하여 세포 배양 배지 중의 분비 농도를 결정함으로써 TNF- α , IL-6 및 IL-1 β 의 LPS 유도된 상향조절에 대한 아가페록시놀 A 및 아가페록시놀 B의 효과를 확인하였다. 도 27 및 28에 나타난 바와 같이, LPS로의 자극에 의해 TNF- α , IL-6 및 IL-1 β 의 분비는 상당히 상향조절되었다. 그러나, 전염증성 사이토카인은 아가페록시놀 A 또는 아가페록시놀 B로의 처리에 의해 용량-의존적 방식으로 현저히 억제되었다. 200 ng/mL LPS 처리한 세포에 20, 40, 60, 80, 및 100 nM 농도의 아가페록시놀 A로 처리시 IL-6의 생성은 LPS 처리군과 비교하여 감소하였다(75.8, 81.0, 51.0, 38.4, 및 3.6%). 100 ng/mL LPS 처리한 세포에 50, 100, 및 200 nM 농도의 아가페록시놀 B로 처리시 TNF- α (44.0, 27.5, 및 25.1%), IL-6(47.3, 32.1, 및 26.6%) 및 IL-1 β (30.7, 48.8, 및 27.8%)의 생성은 LPS 처리군과 비교하여 현저히 감소되었다.

[0195] **실험예 7: Akt 및 JNK 신호전달 경로에 대한 아가페록시놀 B의 효과**

[0197] 톨-유사 수용체(Toll-like receptors; TLRs) 염증성 면역 반응의 침입하는 병원체의 인식을 담당하는 선천적 면역 시스템(innate immune system)에 관여하는 광범위한 단백질 패밀리에 속한다. TLRs 패밀리 중, 톨-유사 수용체 4(TLR4)는 염증 면역 반응의 개시에 중요한 역할을 하는 LPS에 대한 세포 표면 수용체로 인식한다. TLR4의 활성화는 미토젠-활성화 단백질 키나아제(mitogen-activated protein kinase; MAPKs), 핵 인자-카파 B(nuclear factor-kappa B; NF- κ B), 및 포스파티딜이노시톨 3-키나아제/단백질 키나아제 B(phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B; PI3K-Akt)를 포함한 하류(downstream) 염증성 신호전달 경로의 활성화 및 이후 NO, 전염증성 사이토카인, iNOS, COX-2와 같은 염증성 매개체의 생성을 유도한다. Akt 및 MAPKs 신호전달 경로가 LPS-유도 미세아교세포 활성화에 관여하는지를 확인하기 위하여, Akt, JNK, 및 p38의 인산화 형태의 웨스턴블롯팅을 추가로 수행하고, 그 결과를 도 29 및 30에 나타내었다. Akt 및 JNK의 인산화는 LPS-자극된 미세아교세포에서 강하게 증가하는 반면, Akt 및 JNK의 인산화는 세포를 LPS 활성화 후 아가페록시놀 B로 처리했을 때 용량-의존적 방식으로 유의하게 감소됨을 확인하였다. p38 MAPK 인산화의 웨스턴블롯 분석은 LPS-활성화된 미세아교세포와 비교했을 때 단백질 발현의 어떠한 유의미한 억제도 나타내지 않았다(도 30). 이는 LPS-활성화 미세아교세포에서 아가페록시놀 B의 항염증성이 PI3K-Akt 및 MAPKs의 LPS-자극된 활성화의 억제에 기인할 수 있음을 나타낸다. 따라서, PI3K/Akt 및 MAPKs 신호전달 경로는 항염증 활성 조절에 중요한 기전으로 여겨질 수 있다.

[0199] **실험예 8: LPS-처리한 마우스에서 TNF- α , COX-2, 및 Iba-1의 발현에 대한 아가페록시놀 B의 효과**

[0201] 추가적으로 아가페록시놀 B가 마우스 뇌에서 전염증성 인자를 억제할 수 있는지를 결정하기 위하여, 이전의 연

구에 따라 $2.5 \text{ mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ 의 LPS로 처리한 마우스 모델을 사용하였으며(Phytomedicine, 2021, 85: 153540), LPS를 복강내 주사한 마우스는, 도 31A 및 31B에 나타난 바와 같이, 웨스턴 블롯 분석에서 마우스 피질에서 TNF- α 및 COX-2의 현저한 과발현을 나타냄을 확인하였다. 본 발명에서는, 양성대조군으로, 시험관 내에서 5 mM 농도에서 전염증성 매개체 NO, iNOS, COX-2, TNF- α , IL-1 β , 및 IL-6의 발현을 현저히 억제하는 항-신경염증성 활성을 나타내는 텍사메타손을 사용하였다. 아가페록시놀 B를 경구처리한 마우스 역시 대뇌피질에서 TNF- α 및 COX-2를 포함한 전염증성 인자의 현저히 감소된 발현을 나타내었다. 이러한 결과는 아가페록시놀 B가 TNF- α 및 COX-2와 같은 전염증성 인자를 억제함으로써 신경염증을 예방할 수 있음을 나타내는 것이다.

[0202] 아가페록시놀 B가 신경-염증을 억제하는지 평가하기 위하여, 반응성 미세아교세포에서 상향조절되는 면역세포마커, Iba-1을 사용하였으며, 이들 세포를 가시화하기 위해 사용하였다. 아가페록시놀 B로 처리함으로써 Iba-1이 영향을 받는지를 확인하기 위하여, 마우스 뇌 피질에서 Iba-1 양성세포를 관찰하기 위하여 면역형광 어세이를 수행하였다. 이전의 웨스턴 블롯 데이터와 일치하게, 조직학적 도 31C에 나타난 바와 같이, Iba-1 면역-반응성을 검출하였으며, 이는 LPS가 대조군 처리 보다 더 높은 수준의 Iba-1을 유도함을 나타내는 것이다. LPS-처리군과 대조적으로, 아가페록시놀 B와의 병용은 Iba-1의 발현을 분명히 약화시켰다. 이러한 결과는 아가페록시놀 B가 LPS-처리된 마우스 모델에서 신경염증을 억제할 수 있음을 나타내는 것이다.

[0204] 실험예 9: 분자 도킹 시뮬레이션에 기초한 아가페록시놀 B의 다중 표적 단백질에 대한 항-신경염증 효과

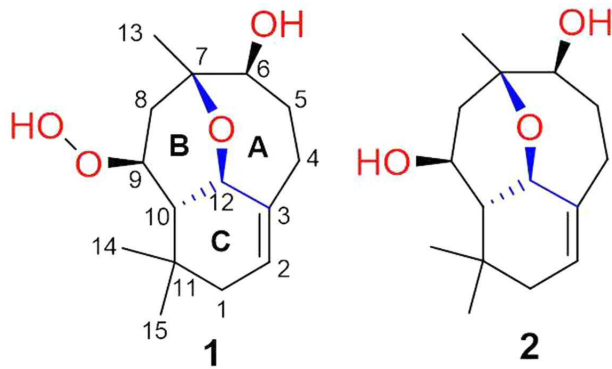
[0206] 표적 단백질에 대한 아가페록시놀 B의 결합 모드를 이해하기 위하여, 아가페록시놀 B와 Akt 및 JNK의 결합 자리 사이의 상호작용을 연구하는 분자 도킹 연구를 수행하였다. 아가페록시놀 B는 소수성 상호작용을 통해 Akt 및 JNK와 수소결합을 형성하였다. Akt에서, Glu 85 잔기의 아미노기 및 Cys 296 잔기의 카르복실기는 각각 아가페록시놀 B의 A-고리의 6-히드록시기 및 아가페록시놀 B의 B-고리의 9-히드록시기와 수소결합을 형성하였다(도 31). 한편, JNK의 Asn 152 잔기의 아미노기 및 Gln 155 잔기의 카르복실기는 아가페록시놀 B의 A-고리의 6-히드록시기와 수소결합을 형성하였다. AutoDock Vina 분석에서 아가페록시놀 B의 Akt 및 JNK와의 결합자유에너지는 각각 -7.0 kcal/mol 및 -7.3 kcal/mol이었다. 이러한 결과는 아가페록시놀 B의 6 및 9 위치의 히드록시기가 Akt 및 JNK와의 상호작용에 결정적임을 나타내었다. 이와 관련하여, 아가페록시놀 B의 처리는 전염증성 활성을 예방하는 Akt 및 JNK 신호전달 경로의 억제에 기여할 수 있다.

[0207] 전염증성 사이토카인은 아가페록시놀 B로의 처리에 의해 용량-의존적 방식으로 억제될 수 있으므로, 4개 다른 매개체인 COX-2, TNF- α , iNOS, 및 IL-6에 대한 아가페록시놀 B의 분자 도킹 시뮬레이션을 추가적으로 수행하였다. iNOS를 제외하고, 다른 3개 매개체는 아가페록시놀 B와 수소결합을 형성하였다. AutoDock Vina 분석에서 COX-2, TNF- α , iNOS, 및 IL-6의 결합 자유 에너지는 각각 -6.0 kcal/mol, -6.1 kcal/mol, -7.8 kcal/mol, 및 -6.7 kcal/mol이었다. 분자 도킹 시뮬레이션을 통해, 아가페록시놀 B의 처리에 의해 전염증성 인자의 억제를 가정할 수 있었으며, 이에 대한 추가적인 연구가 여전히 요구된다.

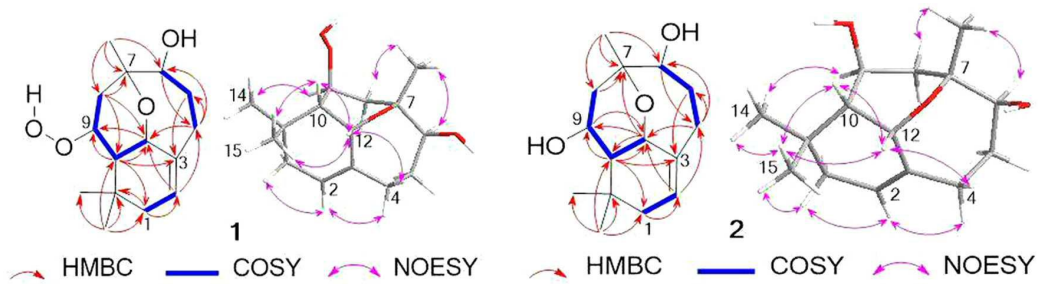
[0209] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시 예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

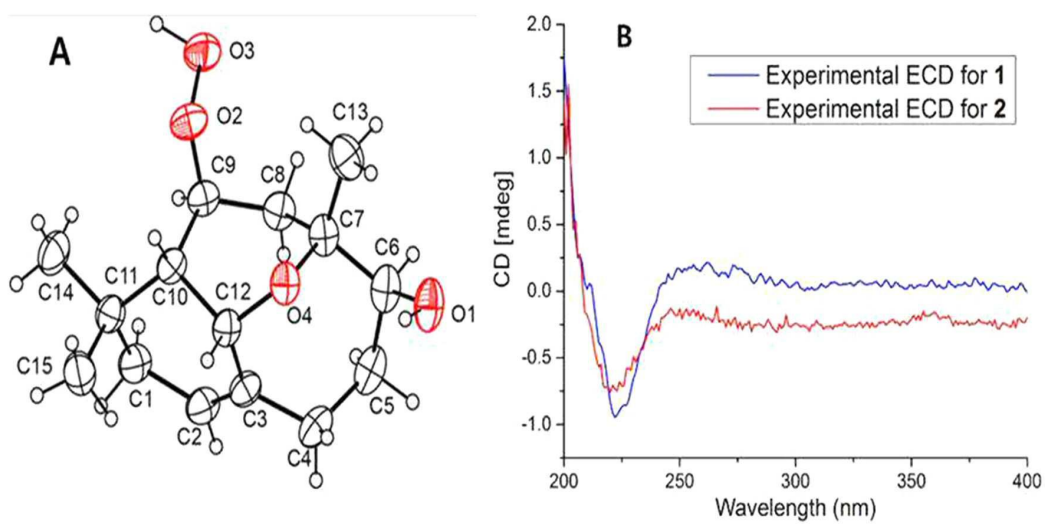
도면1



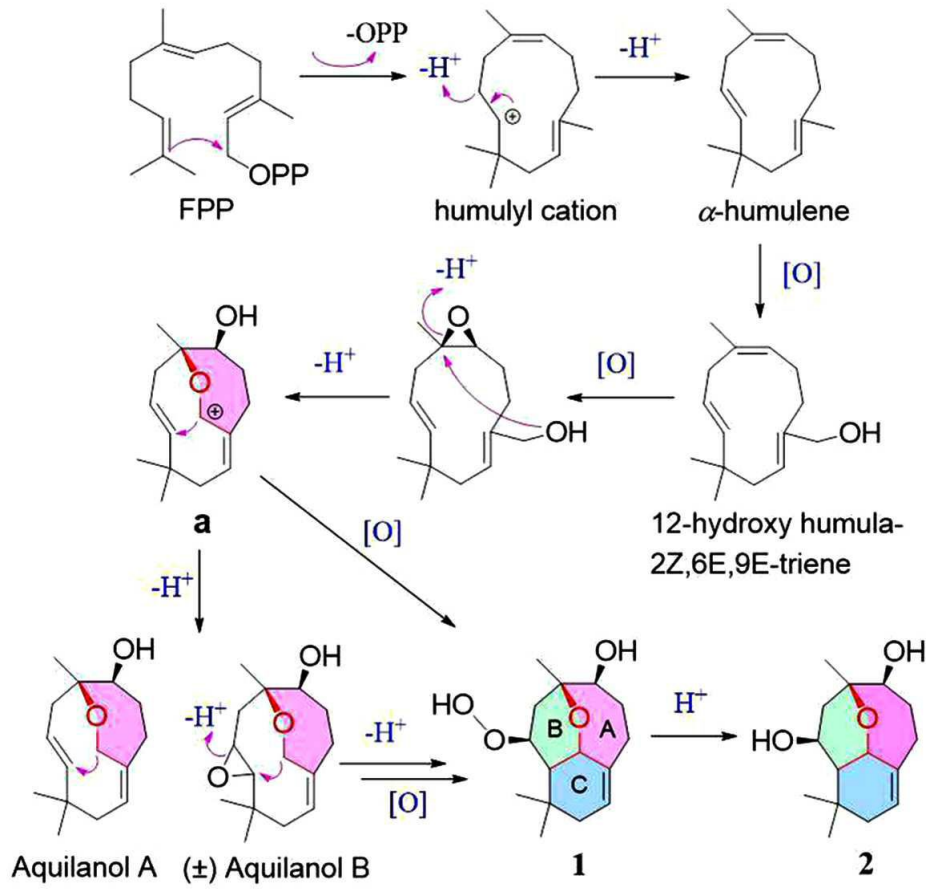
도면2



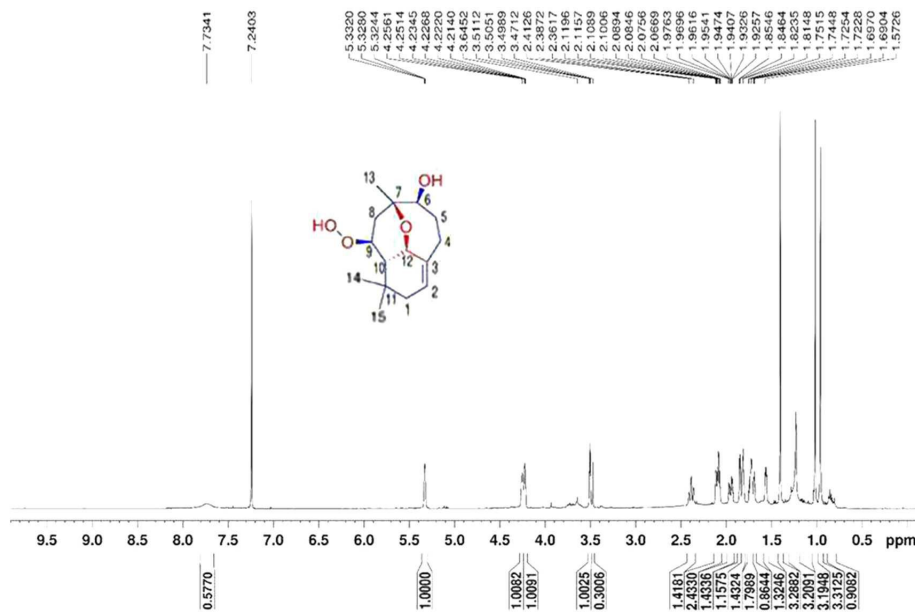
도면3



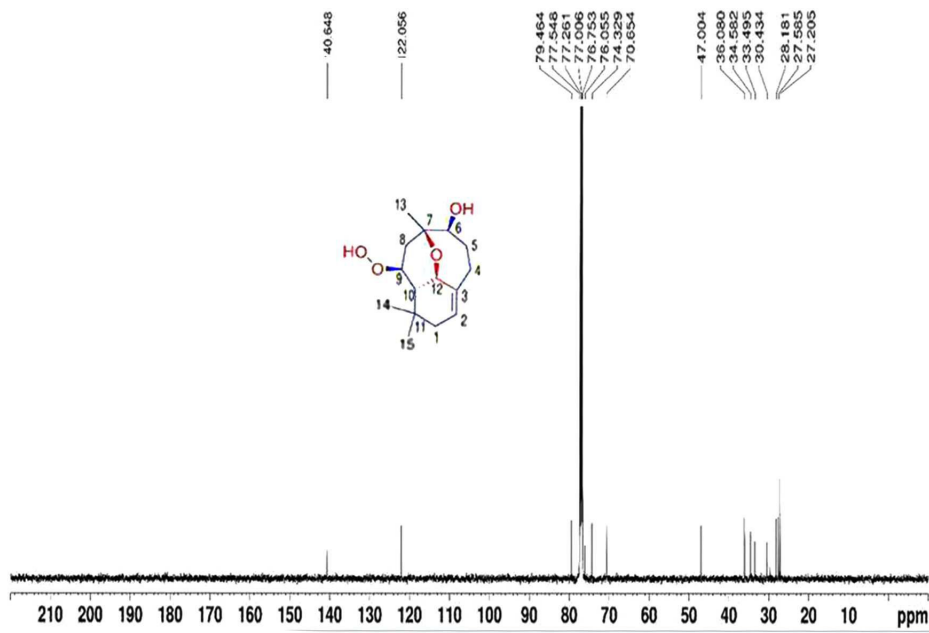
도면4



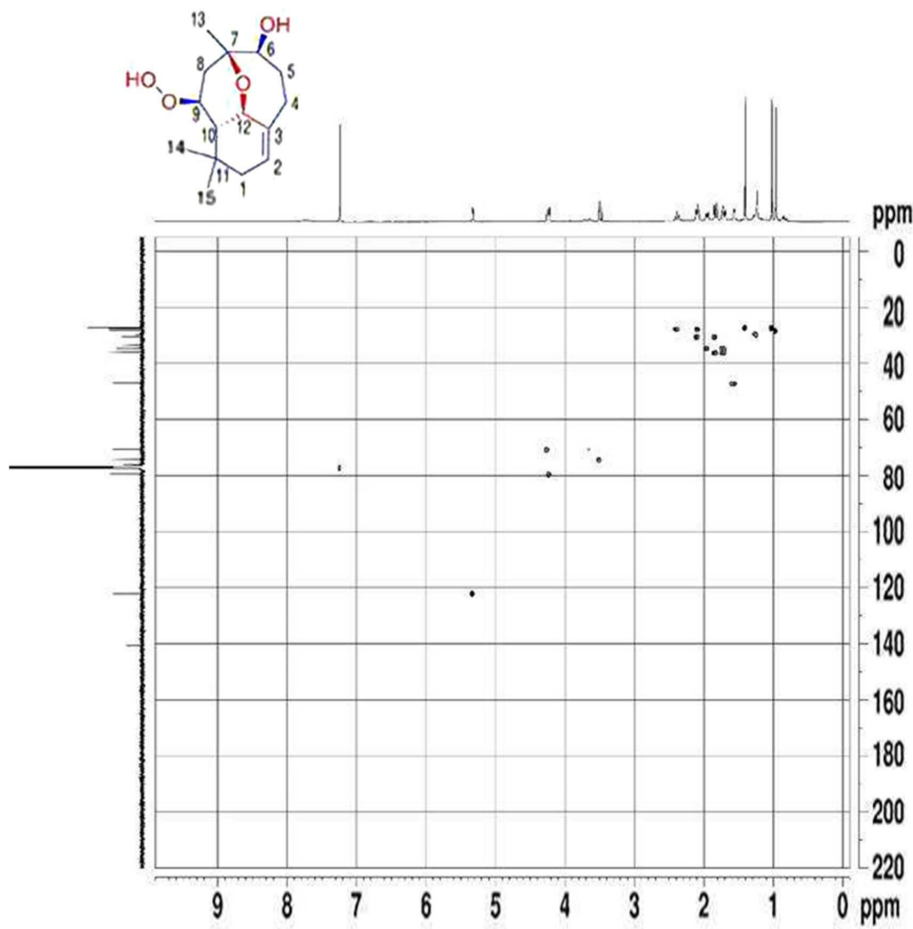
도면5



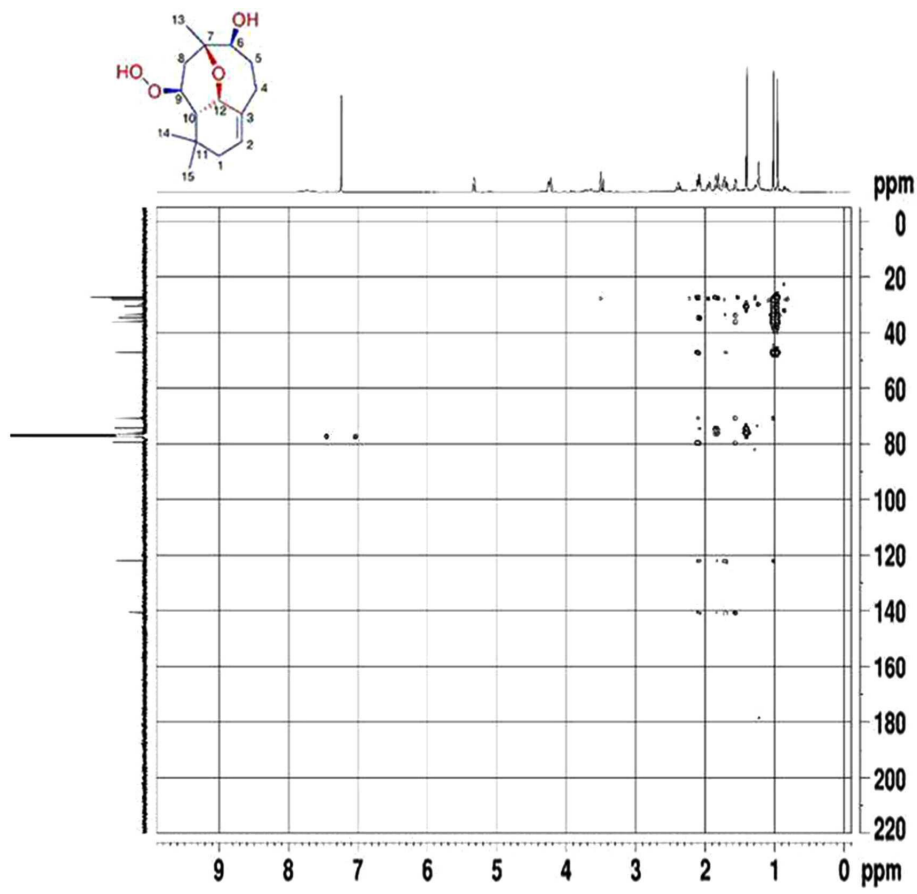
도면6



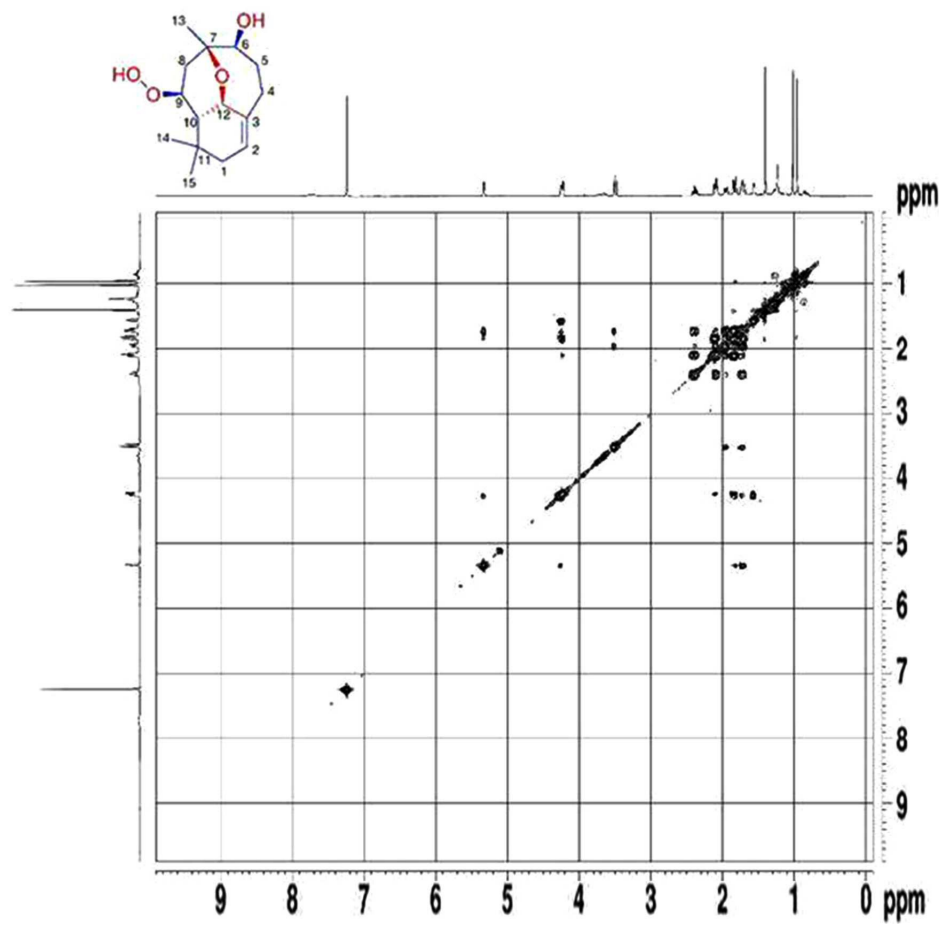
도면7



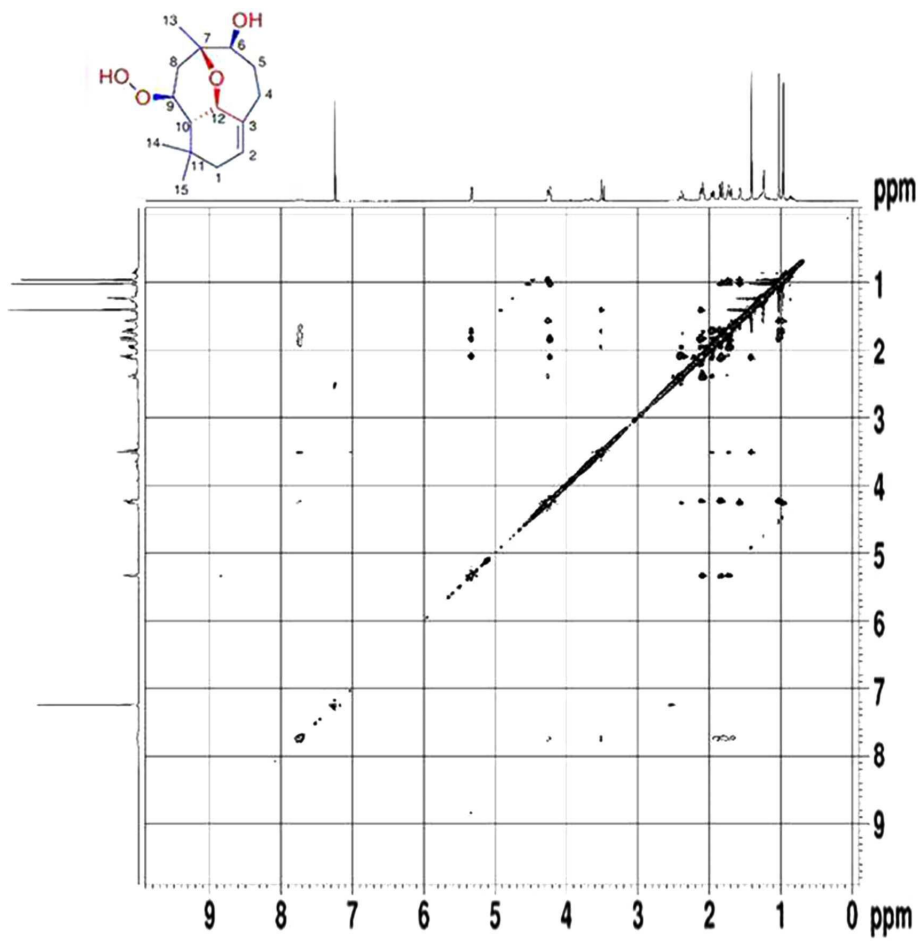
도면8



도면9



도면10



도면11

Qualitative Compound Report

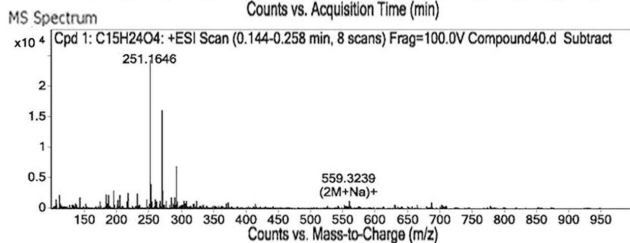
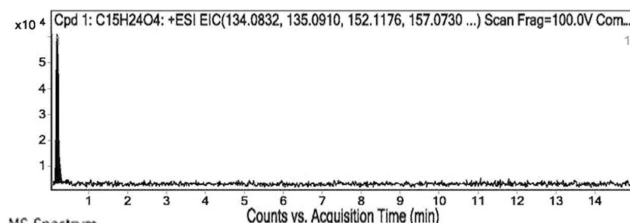
Data File: Compound40.d
Sample Type: Sample
Instrument Name: Instrument 1
Acq Method: DIP method-0.m
IRM Calibration Status: Success
Comment:
Sample Group: Info.
Stream Name: LC 1

Sample Name: Compound40
Position: P1-A7
User Name:
Acquired Time: 4/20/2017 12:55:23 PM
DA Method: Default.m

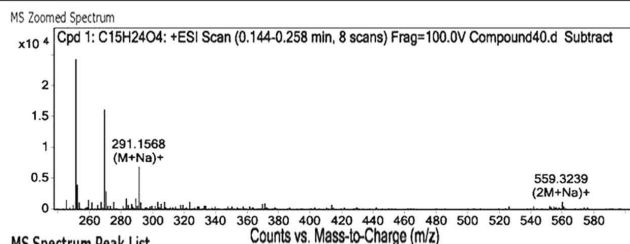
Compound Table

Compound Label	RT	Mass	Abund	Formula	Tgt Mass	Diff (ppm)
Cpd 1: C15H24O4	0.177	268.1673	16175	C15H24O4	268.1675	-0.73

Compound Label	RT	Algorithm	Mass
Cpd 1: C15H24O4	0.177	Find By Formula	268.1673



Qualitative Compound Report

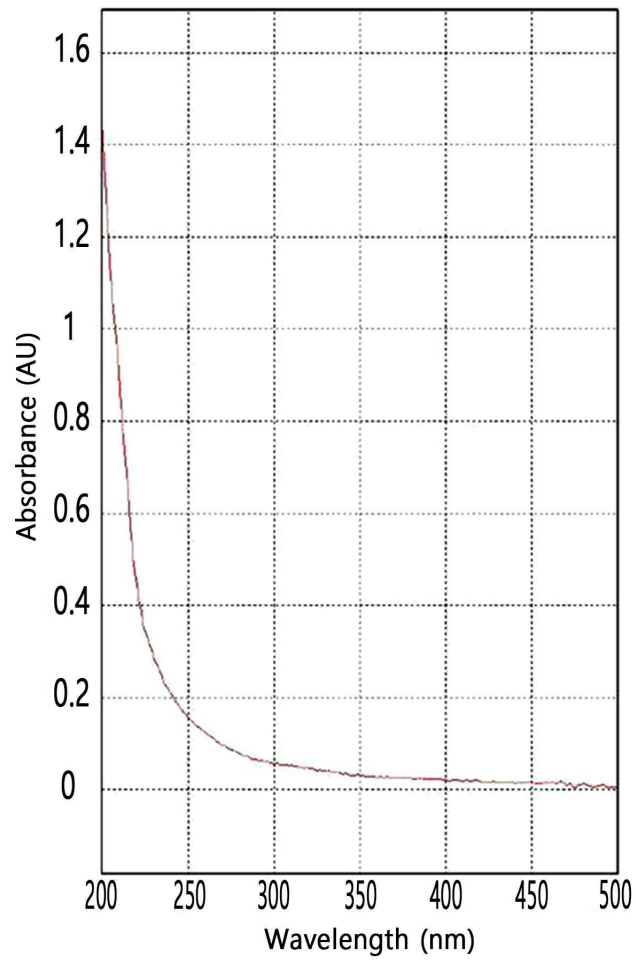


MS Spectrum Peak List

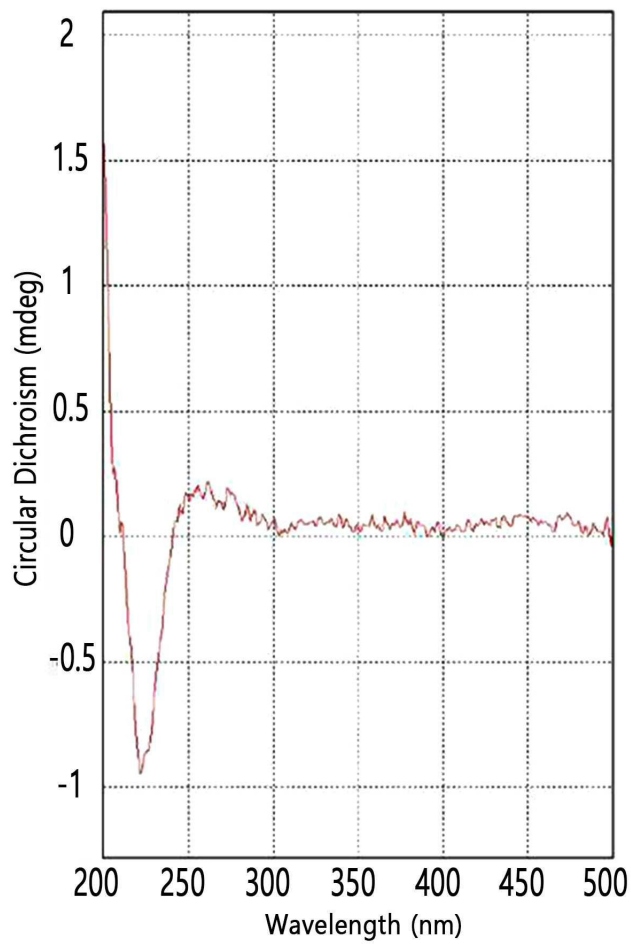
m/z	Calc m/z	Diff(ppm)	z	Abund	Formula	Ion
251.1646				24294		
268.1619	268.1669	-18.77	1		C15 H24 O4	M ⁺
269.1745	269.1747	-0.85	1		C15 H25 O4	(M+H) ⁺
286.2005	286.2013	-2.78	1		C15 H28 N O4	(M+NH4) ⁺
291.1568	291.1567	0.52	1		C15 H24 Na O4	(M+Na) ⁺
307.1347	307.1306	13.29	1		C15 H24 K O4	(M+K) ⁺
537.3259	537.3422	-30.37	1		C30 H49 O8	(2M+H) ⁺
554.3707	554.3687	3.49	1		C30 H52 N O8	(2M+NH4) ⁺
559.3239	559.3241	-0.42	1		C30 H48 Na O8	(2M+Na) ⁺
575.3091	575.2981	19.1	1		C30 H48 K O8	(2M+K) ⁺

--- End Of Report ---

도면12



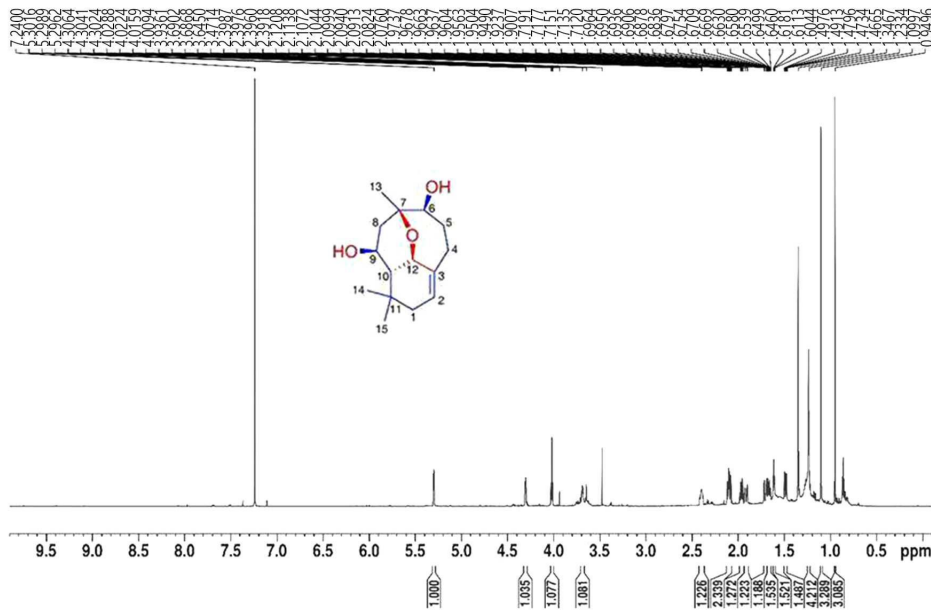
도면13



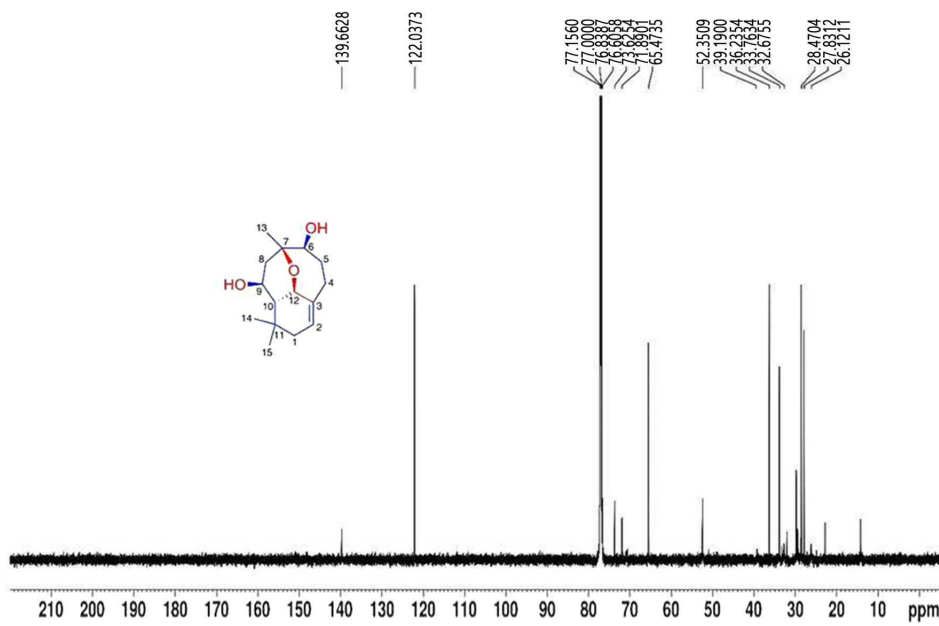
도면14

No	Sample Name	Optical Rotation Monitor	Specific O.R	Path Length[mm]	Concentration[w/v%]	Water content[%]	S.D	C.V	Comment
1	compound 40	-0.0041	-28.0690	10	0.1450	0	3.3480	11.9276	
2	compound 40-1	-0.0039	-26.8966						
3	compound 40-2	-0.0046	-31.7241						
4	compound 40-3	-0.0037	-25.5172						
5	compound 40-4	-0.0048	-33.1034						
6	compound 40-5	-0.0038	-26.2069						
7	compound 40-6	-0.0031	-21.3793						
8	compound 40-7	-0.0042	-28.9655						
9	compound 40-8	-0.0040	-27.5862						
10	compound 40-9	-0.0043	-29.6552						
11	compound 40-10	-0.0043	-29.6552						

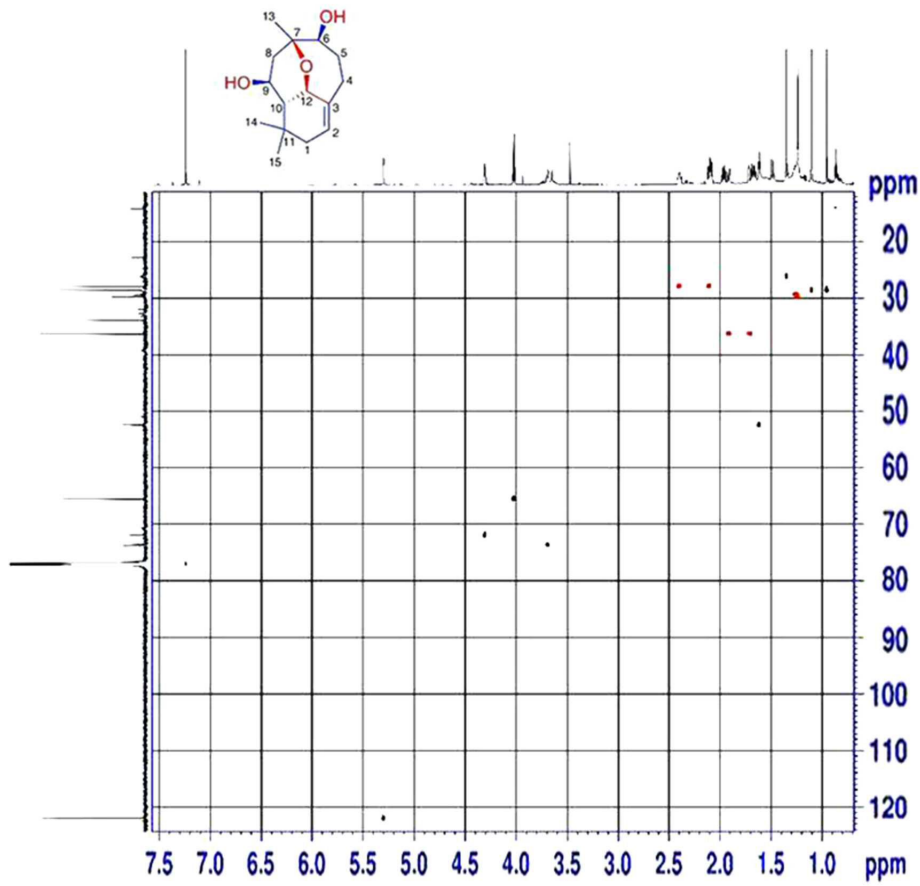
도면15



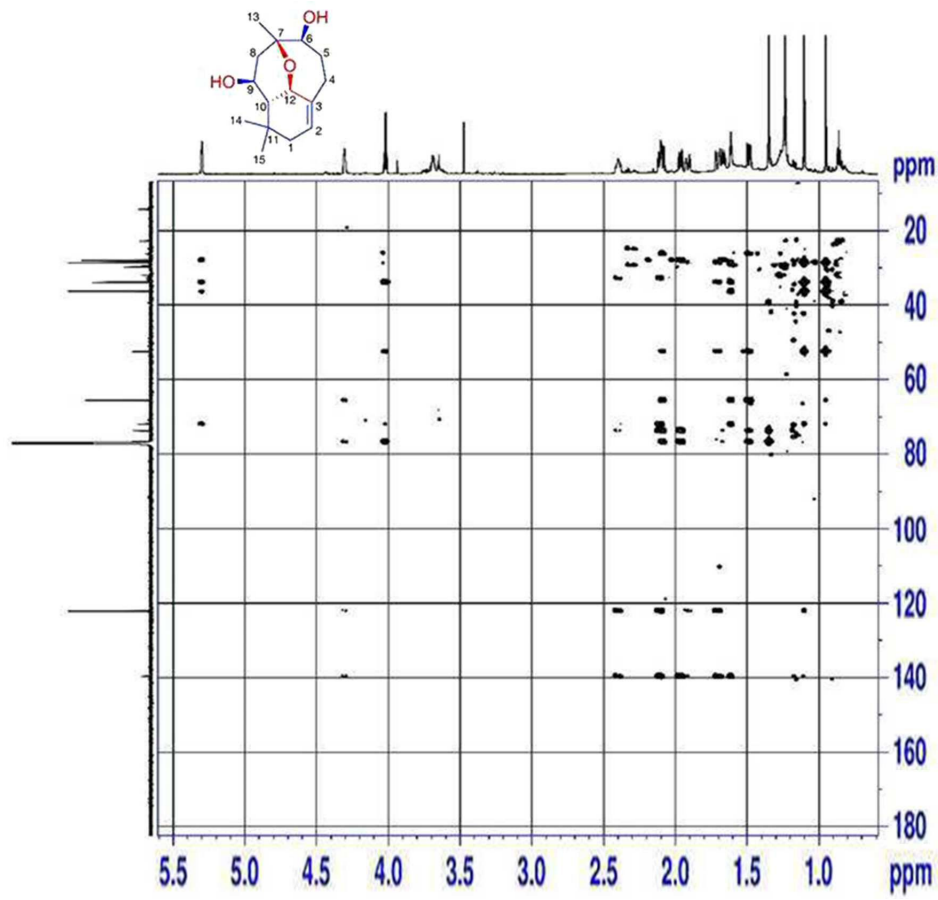
도면16



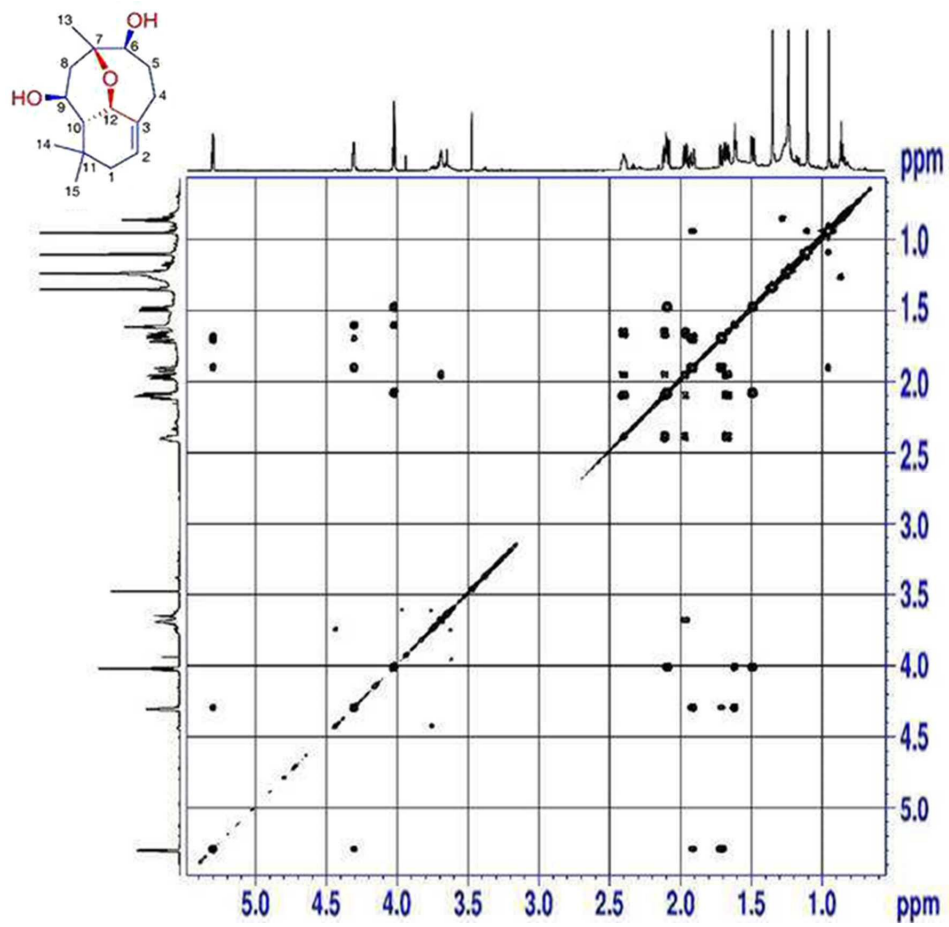
도면17



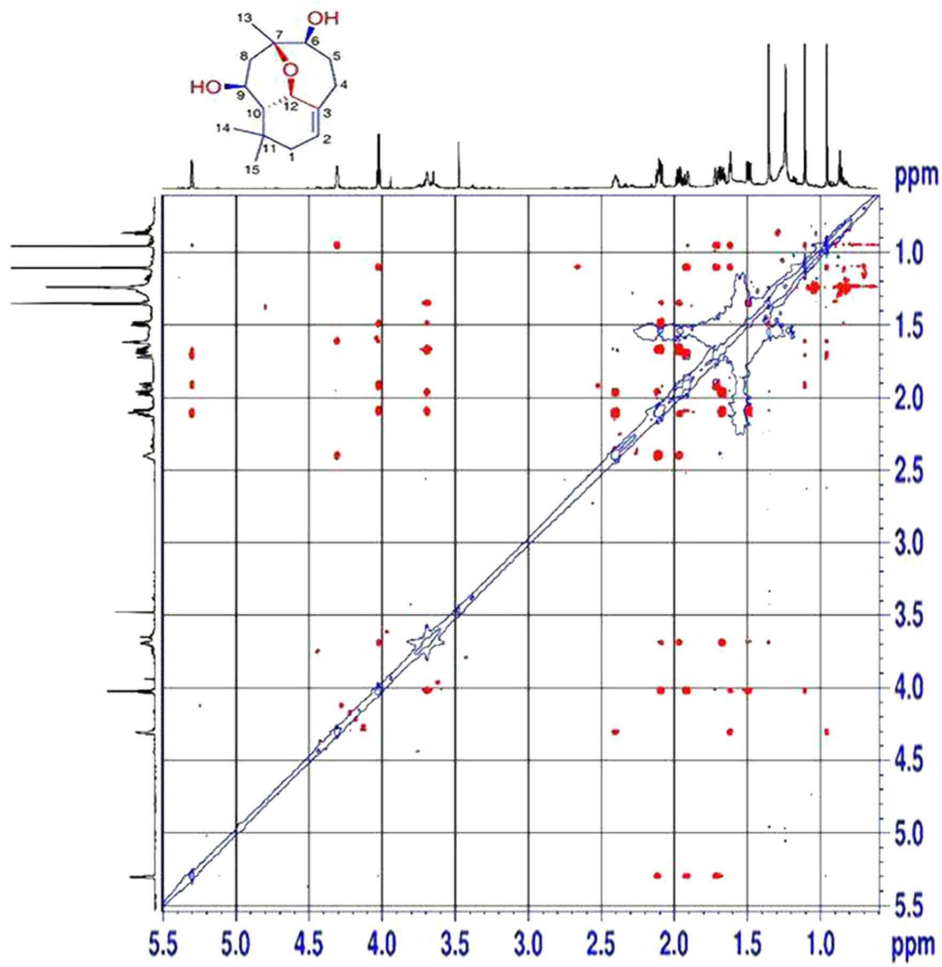
도면18



도면19



도면20



도면21

Qualitative Compound Report

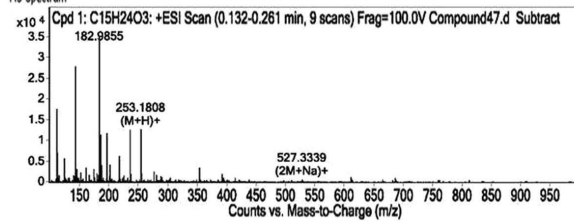
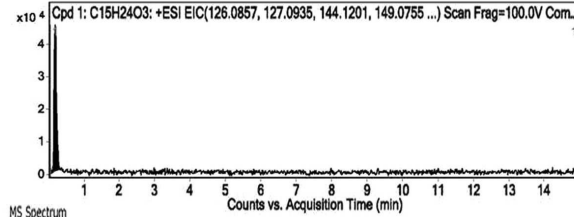
Data File: Compound47.d
Sample Type: Sample
Instrument Name: Instrument 1
Acq Method: DIP method-0.m
IRM Calibration Status: SUCCESS
Comment:
Sample Group: Info.
Stream Name: LC 1

Sample Name: Compound47
Position: P1-B4
User Name:
Acquired Time: 4/20/2017 2:29:41 PM
DA Method: Default.m

Compound Table

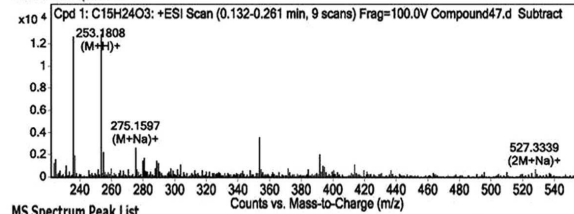
Compound Label	RT	Mass	Abund	Formula	Tgt Mass	Diff (ppm)
Cpd 1: C15H24O3	0.18	252.1735	12909	C15H24O3	252.1725	3.68

Compound Label	RT	Algorithm	Mass
Cpd 1: C15H24O3	0.18	Find By Formula	252.1735



Qualitative Compound Report

MS Zoomed Spectrum

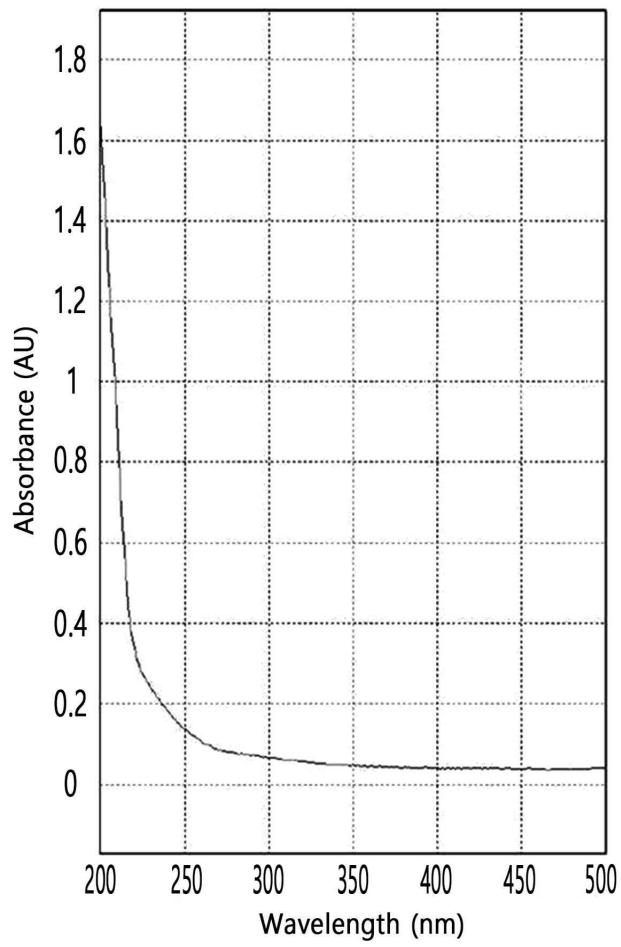


MS Spectrum Peak List

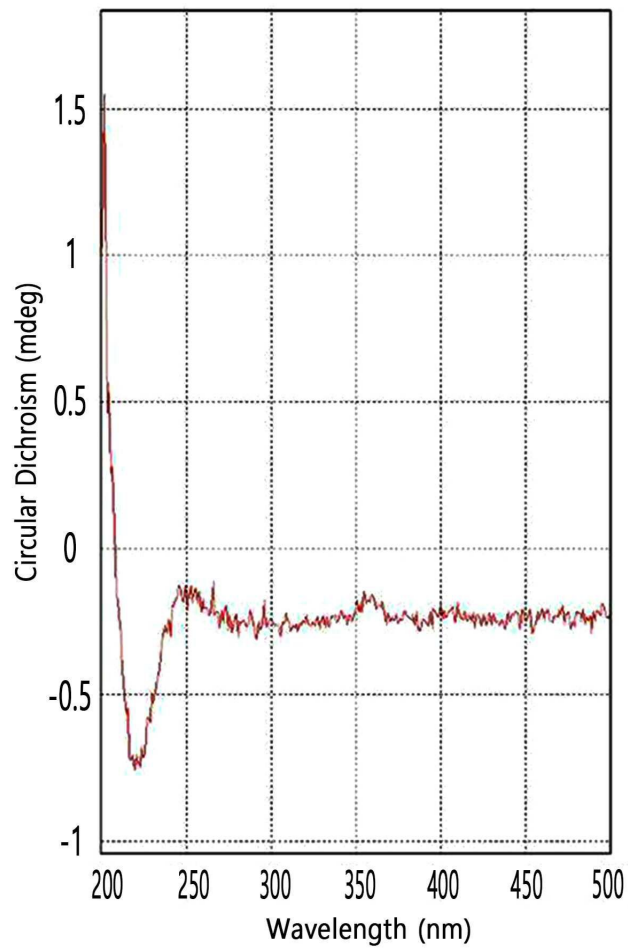
m/z	Calc m/z	Diff(ppm)	z	Abund	Formula	Ion
182.9855				34867		
184.9862				11442		
252.1733	252.172	5.28	1	292	C15 H24 O3	M ⁺
253.1808	253.1798	3.8	1	12909	C15 H25 O3	(M+H) ⁺
270.2055	270.2064	-3.17	1	778	C15 H28 N O3	(M+NH4) ⁺
275.1597	275.1618	-7.64	1	2727	C15 H24 Na O3	(M+Na) ⁺
291.1356	291.1357	-0.23	1	411	C15 H24 K O3	(M+K) ⁺
504.3426	504.3445	-3.94	1	158	C30 H48 O6	2M ⁺
522.3749	522.3789	-7.63	1	89	C30 H52 N O6	(2M+NH4) ⁺
527.3339	527.3343	-0.74	1	774	C30 H48 Na O6	(2M+Na) ⁺

--- End Of Report ---

도면22



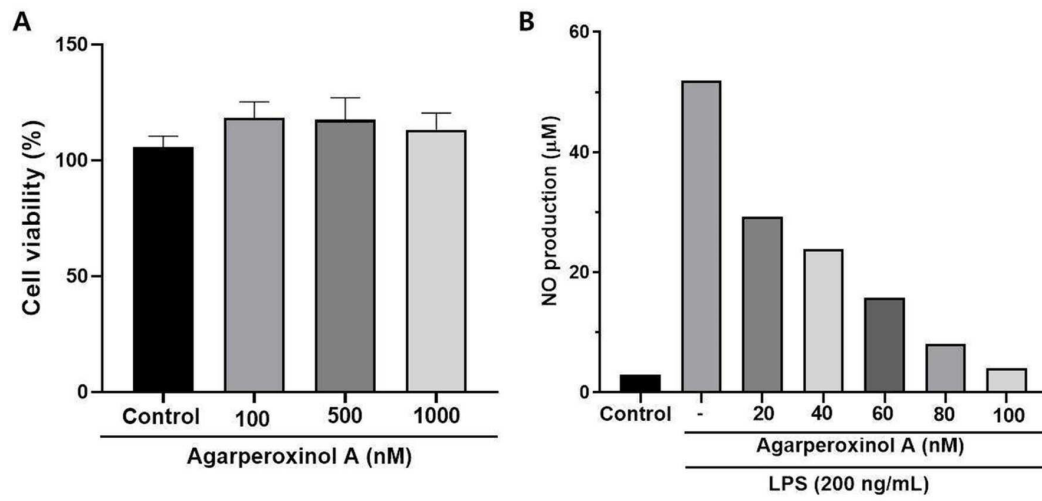
도면23



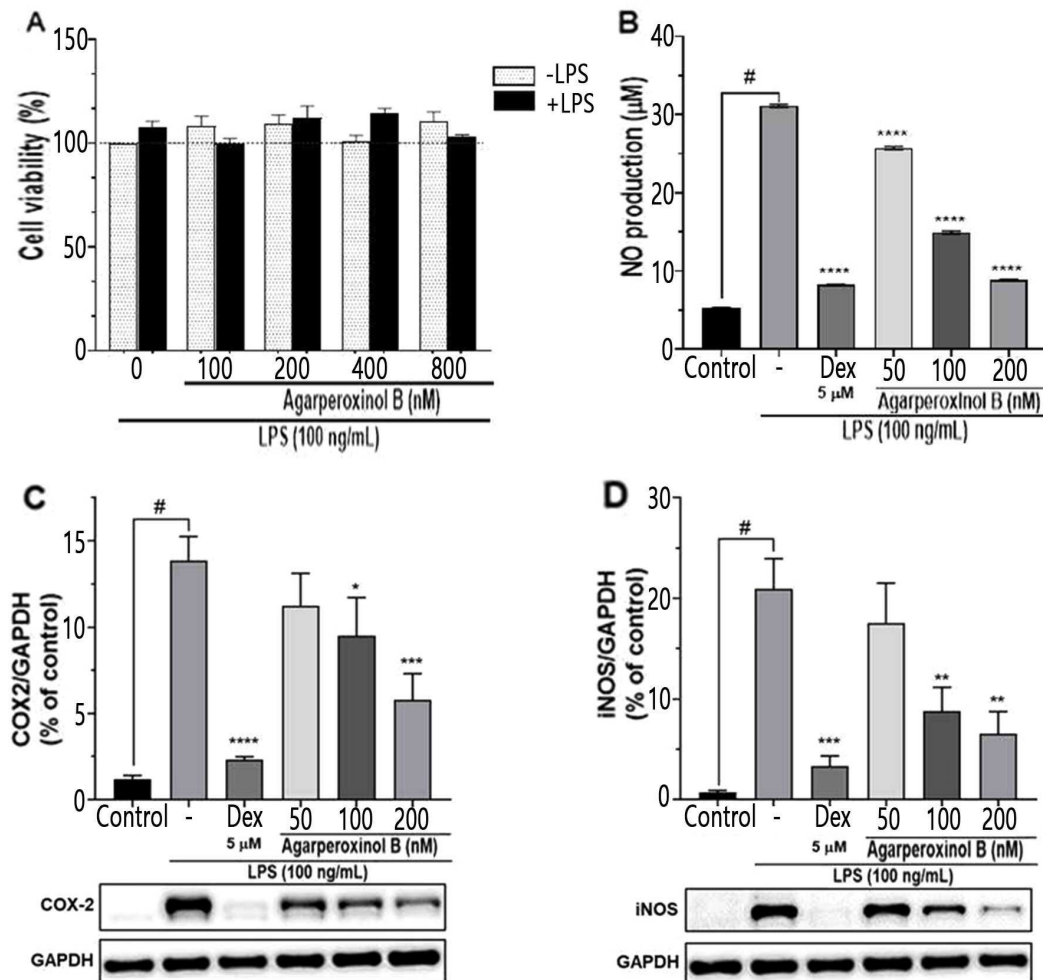
도면24

No.	Sample Name	Optical Rotation Monitor	Specific O.R.	Path Length[mm]	Concentration[w/v%]	Water content[%]	S.D.	C.V.	Comment
1	compound 47	0.0129	108.2744	10	0.1200	1.1	10.8725	10.0416	
2	compound 47-1	0.0138	116.2791						
3	compound 47-2	0.0129	108.6957						
4	compound 47-3	0.0106	89.3158						
5	compound 47-4	0.0132	111.2235						
6	compound 47-5	0.0137	115.4365						
7	compound 47-6	0.0140	117.9643						
8	compound 47-7	0.0131	110.3809						
9	compound 47-8	0.0104	87.6306						
10	compound 47-9	0.0137	115.4365						
11	compound 47-10	0.0131	110.3809						

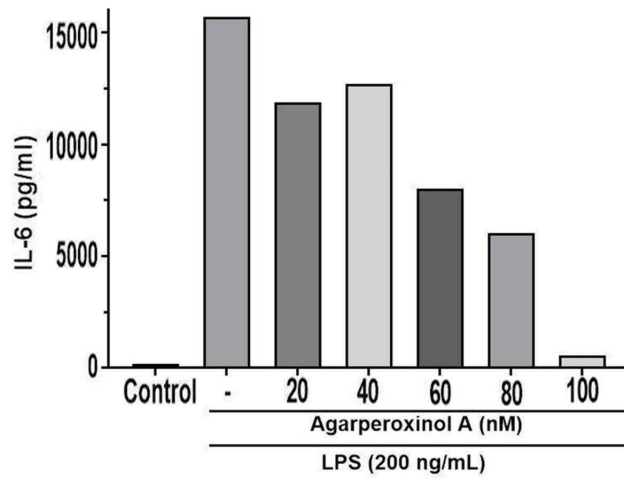
도면25



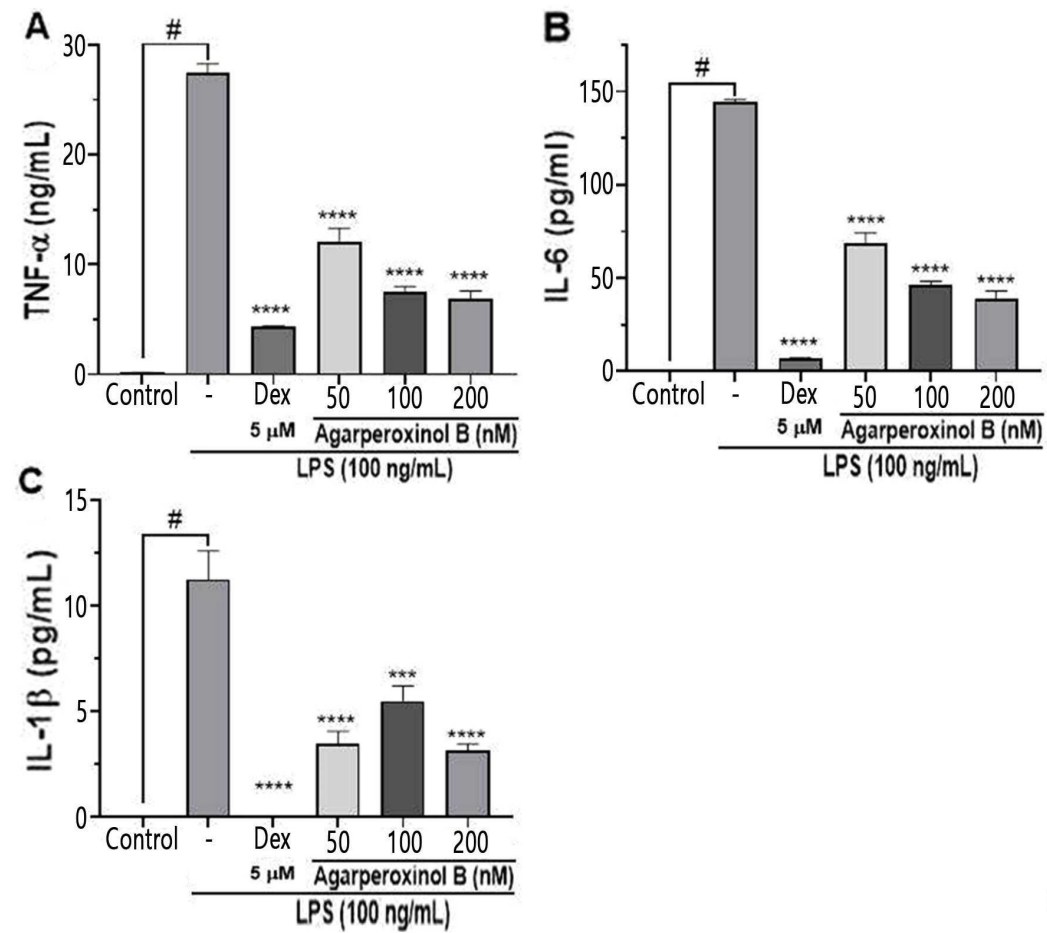
도면26



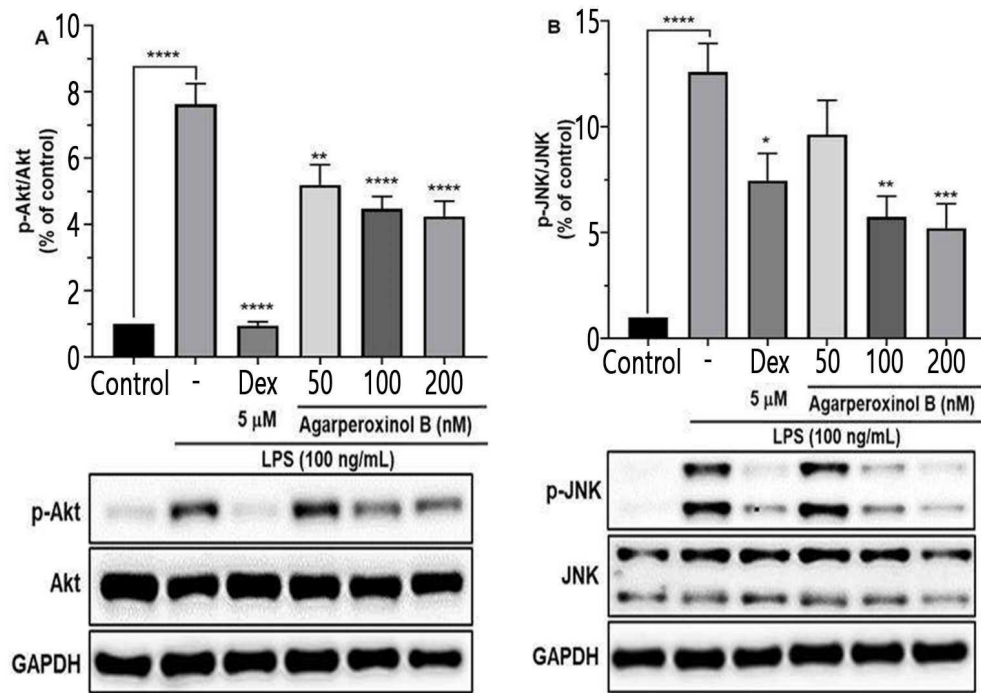
도면27



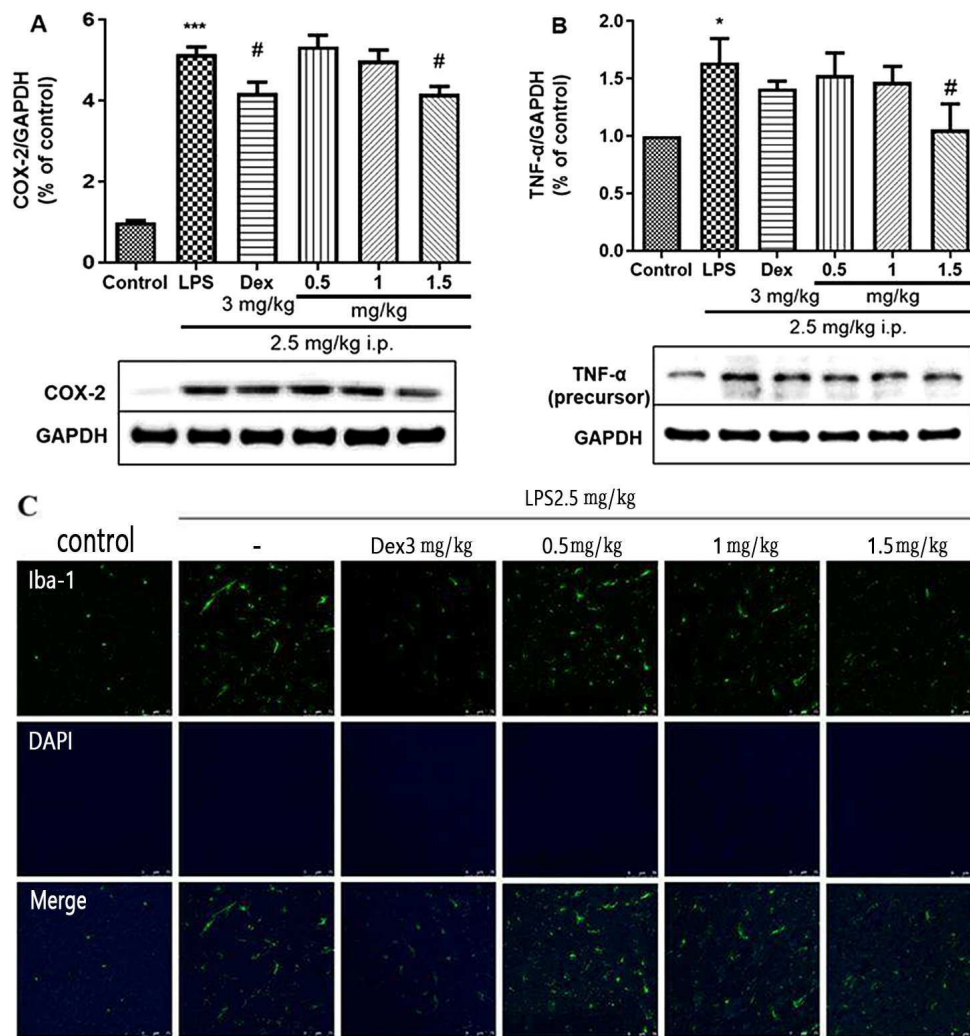
도면28



도면29



도면30



도면31

