(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0085048
(43) 공개일자 2012년07월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/254 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-0006441
(22) 출원일자 2011년01월21일
심사청구일자 2011년01월21일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, 국제캠퍼스 내 (서천동, 경희대학교)
정선군
강원도 정선군 정선읍 봉양3길 21
(72) 발명자
백남인
경기도 수원시 영통구 영통로173번길 37, 쌍용1차 아파트 104동 2001호 (망포동)
이대영
경기도 수원시 영통구 봉영로 1620, 대우월드마크 102동 705호 (영통동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인다울

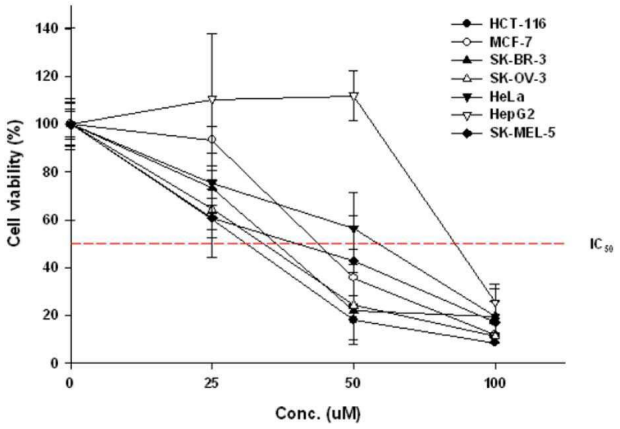
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 **오가피 열매 추출물, 오가피 열매 분획물, 이로부터 분리된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 오가피 열매 추출물, 오가피 열매 분획물, 이로부터 분리된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 상기 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물은 암세포의 증식 억제 활성을 가짐으로써 종래의 암 질환 치료제에 비해 천연물을 사용하여 부작용을 현저히 감소시킬 수 있다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

서경화

경상남도 통영시 산양읍 이운길 48-13

이민호

경기도 용인시 수지구 심곡로 16, 서원마을 금호베스트빌 509동 1701호 (상현동)

정인식

서울특별시 강남구 남부순환로 2803, 도곡삼성래미안 109동 1102호 (도곡동)

김계원

경기도 성남시 분당구 정자동 124 상록마을 109동 1001호

최대성

강원도 정선군 북평면 송석길 146-7

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	20101674
부처명	정선군
연구사업명	오가자의 기능성 신물질 분리동정 연구
연구과제명	오가자의 기능성 신물질 분리동정 연구
주관기관	경희대학교
연구기간	2010.09.03 ~ 2010.12.24

특허청구의 범위

청구항 1

오가피 열매 추출물을 유효성분으로 함유하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 오가피 열매 추출물은 오가피 열매를 알코올 수용액으로 추출하여 얻어진 추출물인 것을 특징으로 하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 오가피 열매 추출물은 70% 에탄올 수용액에 오가피 열매를 침지시켜 추출하고 여과한 후, 여과된 여액을 감압 농축하여 얻어진 메탄올 추출물인 것을 특징으로 하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제2항의 오가피 열매 추출물로부터 분획하여 얻은 오가피 열매 분획물을 유효성분으로 함유하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 오가피 열매 분획물은 오가피 열매 추출물을 에틸 아세테이트로 분배 추출하고, 이후 H_2O층을 *n*-부탄올로 분배 추출하여 수득되는 것을 특징으로 하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 6

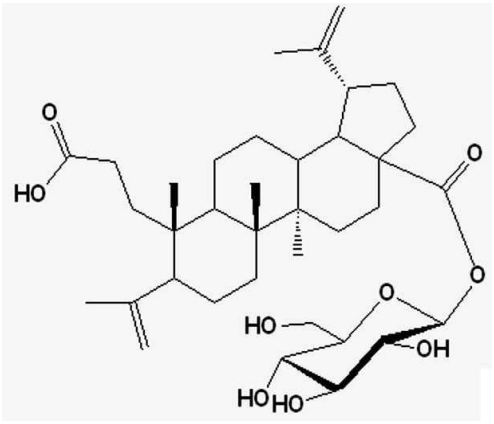
제5항의 오가피 열매 분획물로부터 분리되어 수득되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 화합물은 하기 화학식 1로 표시되는 아칸토세실리오사이드 A(acanthosessilioside A)인 것을 특징으로 하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물:

[화학식 1]



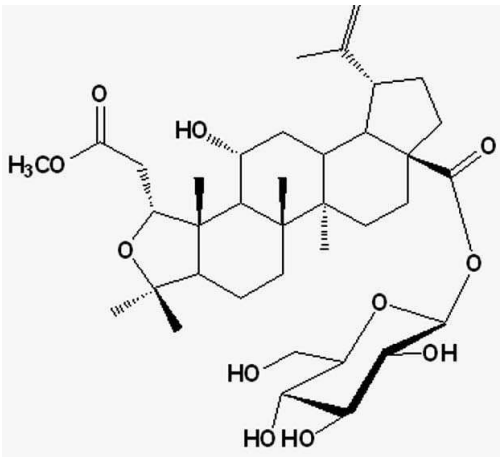
.

청구항 8

제6항에 있어서,

상기 화합물은 하기 화학식 2로 표시되는 아칸토세실리오사이드 Ⅰ(acanthosessilioside Ⅰ)인 것을 특징으로 하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물:

[화학식 2]



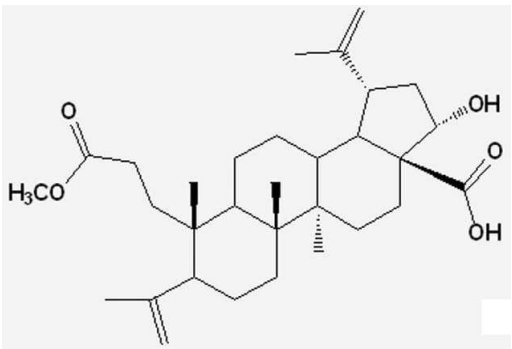
.

청구항 9

제6항에 있어서,

상기 화합물은 하기 화학식 3으로 표시되는 메틸 아칸토세실리게닌(methyl acanthosessiligenin)인 것을 특징으로 하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물:

[화학식 3]



.

청구항 10

제1항, 제4항 및 제6항중 어느 한 항에 있어서,

상기 암 질환은 대장암, 자궁암, 유방암, 피부암, 간암 또는 난소암인 것을 특징으로 하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물.

청구항 11

제1항, 제4항 및 제6항중 어느 한 항에 있어서,

상기 약학적 조성물은 암세포에 대해 세포독성 활성을 가지는 것을 특징으로 하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 오가피 열매 추출물, 오가피 열매 분획물, 이로부터 분리된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 암은 인류가 해결해야 할 난치병 중의 하나로, 전 세계적으로 이를 치유하기 위한 개발에 막대한 자본이 투자되고 있는 실정이며, 우리나라의 경우, 질병 사망원인 중 제 1위의 질병으로서 연간 약 10 만 명 이상이 진단되고, 약 6 만 명 이상이 사망하고 있다. 이러한 암의 유발 인자인 발암물질로는 흡연, 자외선, 화학물질, 음식물, 기타 환경인자들이 있으나, 그 유발 원인이 다양하여 치료제의 개발이 어려울 뿐만 아니라 발생하는 부위에 따라 치료제의 효과 또한 각기 다르다. 현재 치료제로 사용되는 물질들은 상당한 독성을 지니고 있으며, 암 세포만을 선택적으로 제거하지 못하므로, 암의 발생 후 이의 치료뿐만 아니라, 암의 발생을 예방하기 위한 독성이 적고 효과적인 항암제의 개발이 절실히 필요하다.

[0003] 암이란 "제어되지 않은 세포성장"으로 특징지어지며, 이러한 비정상적인 세포성장에 의해 종양(tumor)이라고 불리는 세포 덩어리가 형성되어 주위의 조직으로 침투하고 심한 경우에는 신체의 다른 기관으로 전이되기도 한다. 학문적으로는 신생물(neoplasia)이라고도 불린다. 암은 수술, 방사선 및 화학요법으로 치료를 하더라도 많은 경우에 근본적인 치유가 되지 못하고 환자에게 고통을 주며 궁극적으로는 죽음에 이르게 하는 난치성 만성질환이다. 암의 발생요인으로는 여러 가지가 있으나, 내적 요인과 외적 요인으로 구분하기도 한다. 정상세포가 어떠한 기전을 거쳐 암세포로 형질전환이 되는지에 대해서는 정확하게 규명되지는 않았으나, 적어도 80 내지 90%가 환경요인 등 외적인자에 의해 영향을 받아 발생하는 것으로 알려져 있다. 내적 요인으로는 유전 인자, 면역학적 요인 등이 있으며, 외적 요인으로는 화학물질, 방사선, 바이러스 등이 있다. 암의 발생에 관련되는 유전자에는 종양형성유전자와 종양억제유전자가 있는데, 이들 사이의 균형이 위에서 설명한 내적 혹은 외적 요인들에 의해 무너질 때 암이 발생하게 된다.

[0004] 암은 혈액암과 고형암으로 크게 분류되며, 폐암, 위암, 유방암, 구강암, 간암, 자궁암, 식도암, 피부암 등 신체의 거의 모든 부위에서 발생한다. 이들 악성종양을 치료하기 위해 사용하는 방법들 중 수술이나 방사선 요법을 제외한 화학요법제를 총칭하여 항암제라고 하며, 주로 핵산의 합성을 저해하여 항암활성을 나타내는 물질이 대부분이다. 화학요법제는 크게 대사길항제(antimetabolites), 알킬화제(alkylating agents), 유사분열억제제(antimitotic drugs), 호르몬제(hormones) 등으로 분류되며, 암세포의 증식에 필요한 대사과정을 저해하는 대사길항제로는 엽산유도체(methotrexate), 퓨린유도체(6-mercaptopurine, 6-thioguanine), 피리미딘유도체(5-fluorouracil, Cytarabine) 등이 있으며, DNA의 구아닌 등에 알킬기를 도입하여 DNA의 구조를 변형시키고 사슬절단을 시켜 항암효과를 발휘하는 알킬화제로는 니트로겐 머스타드계 화합물(chlorambucil, cyclophosphamide), 에틸렌이민계 화합물(thiotepa), 알킬설포네이트계 화합물(busulfan), 니트로소우레아계 화합물(carmustine), 트리아젠계 화합물(dacarbazine)이 있다. 분열시기 특이성 약물로서 유사분열을 차단하여 세포분열을 억제하는

유사분열억제제에는 악티노마이신 D(actinomycin D), 독소루비신, 블레오마이신, 미토마이신과 같은 항암성 항암제, 빈크리스틴, 빈블라스틴과 같은 식물알칼로이드, 탁산환을 포함하는 유사분열 저해제인 탁소이드 등이 포함된다. 이외에 부신피질호르몬이나 프로게스테론과 같은 호르몬제와 시스플라틴 같은 백금함유 화합물이 항암제로서 사용되고 있다.

[0005] 한편, 오가피(Acanthopanax spp)는 두릅나무과에 속하는 다년생 활엽 관목으로, 학명의 Acantho는 가시가 있는 나무를, panax는 만병을 치료한다는 뜻으로, 높이가 2-3 m에 달하고 10월경에 결실이 되는 내한성 식물로서 우리나라 전역에 17종이 분포한다(Yook, 2000). 오가피는 생김새가 삼을 닮아 러시아 및 유럽에서는 가시오가피(siberian ginseng)이라고도 불린다. 오가피의 유효성분으로는 sesamin, savinin을 비롯하여 lignan 배당체인 acanthoside-A, B, C, D와 Chiisanoside, polyacetylene, β-sitosterol, stigmasterol, campesterol, 비타민, 미네랄 등이 있으며, eleutherosides A, B, C, D, I, K, M 등이 풍부하여 좋은 약재로 주목받고 있다(Hirata et al., 1996; Jeong et al., 2006). 특히, 이들 중 eleutheroside B, E 등이 많은 연구가 이루어졌으며, 오가피 잎과 줄기에서 추출된 오가피 배당체는 기초대사의 생체기능을 보전하고 광범위하게 작용하는 성질이 있으며, 주요효능으로 관절염, 고혈압, 위궤양, 국소빈혈성 심장질병, 간염 등에 효능이 있는 것으로 알려져 있다.

[0006] 최근, 오가피 잎 유래의 sessiloside, chiisanoisde, saponin이 pancreatic lipase의 활성 저해 및 고지방 식이로 유도한 쥐 몸무게 증가를 억제하며, Adenosine diphosphate로 유도되는 혈소판 응고 억제효능이 있음이 보고되었다(Yoshizumi et al., 2006; Yang et al., 2009). 근래에 기능성 식품에 대한 관심 증가로 유익한 식품들이 다양하게 등장하고 있으며, 오가피에 관한 연구는 식품학적 측면에서보다는 약리학적 측면에서 먼저 시작되어 오가피 뿌리에서 분리된 lignan계 배당체의 생리활성을 중심으로 연구되어 왔다(Lee et al., 2004). 뿐만 아니라, 지금까지의 오가피에 관한 연구는 오가피의 잎, 줄기, 뿌리를 주재료로 하여 연구되어 왔다.

[0007] 오가피 열매는 식품으로 이용할 수 있으며 우리나라 전 지역에서 자생 및 재배하여 원료의 확보가 용이하지만, 기능성 식품으로서의 그 기능과 효능에 대한 연구는 미비한 실정이다.

[0008] 이에 본 발명자들은 오가피 열매 추출물, 오가피 열매 분획물, 이로부터 분리된 화합물에 대해 연구하던 중, 오가피 열매 추출물, 오가피 열매 분획물, 이로부터 분리된 화합물들이 암세포에 대해 세포독성 효과를 가짐을 확인하였고, 이들의 암 질환의 예방 및 치료 용도를 밝힘으로써 본 발명을 완성하기에 이르렀다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 오가피 열매 추출물, 오가피 열매 분획물, 이로부터 분리된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공하는데 있다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 오가피 열매 추출물, 오가피 열매 분획물, 이로부터 분리된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염과 같은 천연성분 물질을 함유하여 부작용을 감소시킬 수 있는 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0011] 전술한 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 오가피 열매 추출물, 오가피 열매 분획물, 이로부터 분리된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0012] 본 발명의 일 실시형태에 있어서, 상기 오가피 열매 추출물은 오가피 열매를 알코올 수용액으로 추출하여 수득될 수 있다.

[0013] 본 발명의 일 실시형태에 있어서, 상기 오가피 열매 분획물은 오가피 열매 추출물을 에틸 아세테이트로 분배 추출하고, 이후 H_2O층을 *n*-부탄올로 분배 추출하여 수득될 수 있다.

[0014] 본 발명의 일 실시형태에 있어서, 상기 오가피 열매 분획물로부터 분리된 화합물은 오가피 열매를 알코올 수용

액으로 추출하여 오가피 열매 추출물을 수득하는 단계; 상기 오가피 열매 추출물을 에틸 아세테이트로 분배 추출하고, 이후 H_2O층을 *n*-부탄올로 분배 추출하여 오가피 열매 분획물을 수득하는 단계 및 상기 오가피 열매 분획물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 화합물을 분리하고 정제하는 단계를 수행하여 수득될 수 있다.

[0015] 본 발명에 따른 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물은 암세포에 대해 세포독성 효과를 가지며, 대장암, 자궁암, 유방암, 피부암, 간암 또는 난소암 등의 예방 및 치료에 사용될 수 있다.

발명의 효과

[0016] 본 발명에 따른 오가피 열매 추출물, 오가피 열매 분획물, 이로부터 분리된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물은 암세포에 대해 세포독성활성을 가짐으로써 종래의 암 질환 치료제에 비해 부작용을 현저히 감소시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 본 발명의 실험예 1에서 사람의 각종 암세포에 대해 아칸토세실리오사이드 A를 포함한 여러 농도의 시료용액을 처리한 후 암세포에 대해 세포 생존률을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 2는 본 발명의 실험예 1에서 사람의 각종 암세포에 대해 아칸토세실리오사이드 I를 포함한 여러 농도의 시료용액을 처리한 후 암세포에 대해 세포 생존률을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 3은 본 발명의 실험예 1에서 사람의 각종 암세포에 대해 메틸 아칸토세실리게닌을 포함한 여러 농도의 시료용액을 처리한 후 암세포에 대해 세포 생존률을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.

[0019] 본 발명은 오가피 열매 추출물을 유효성분으로 함유하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0020] 상기 오가피 열매 추출물은 오가피 열매를 70% 에탄올 수용액 등과 같은 알코올 수용액으로 추출하여 수득될 수 있으며, 오가피 열매로는 재배한 것 또는 시판되는 것 등 제한 없이 사용할 수 있다. 상기 오가피 열매 추출물을 제조하는 방법은 초음파 추출법, 여과법, 환류추출법 등 당업계의 통상적인 추출방법을 사용할 수 있다.

[0021] 본 발명의 일 실시형태에 있어서, 오가피 열매 추출물은 70% 에탄올 수용액에 오가피 열매를 침지시켜 추출하고 여과하는 과정을 반복한 후, 여과된 여액을 감압 농축하여 얻어진 메탄올 추출물일 수 있다.

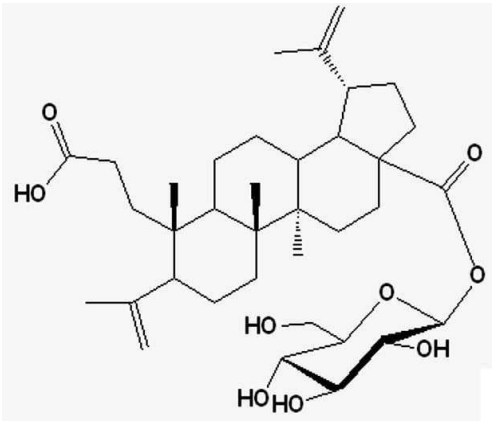
[0022] 또한, 본 발명은 오가피 열매 추출물로부터 분획하여 얻은 오가피 열매 분획물을 유효성분으로 함유하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0023] 상기 오가피 열매 분획물은 상술한 바에 따라 수득한 오가피 열매 추출물을 에틸 아세테이트로 분배 추출하고, 이후 H_2O층을 *n*-부탄올로 분배 추출함으로서 에틸 아세테이트 분획물, *n*-부탄올 분획물 및 H_2O 분획물을 얻을 수 있다.

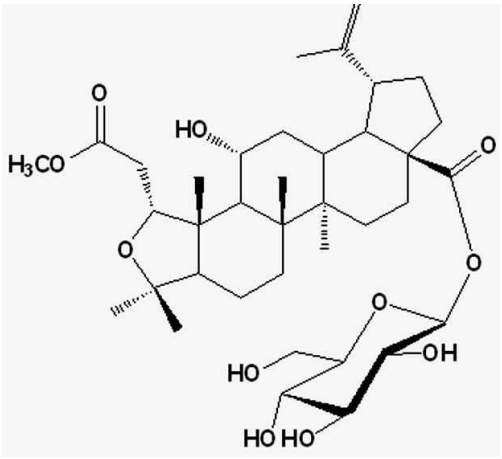
[0024] 또한, 본 발명은 상기 오가피 열매 분획물로부터 분리하여 얻은 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0025] 오가피 열매 분획물로부터 분리하여 얻은 화합물은 하기 화학식 1로 표시되는 아칸토세실리오사이드 A(acanthosessilioside A), 화학식 2로 표시되는 아칸토세실리오사이드 I(acanthosessilioside I) 및 화학식 3으로 표시되는 메틸 아칸토세실리게닌(methyl acanthosessiligenin)일 수 있다.

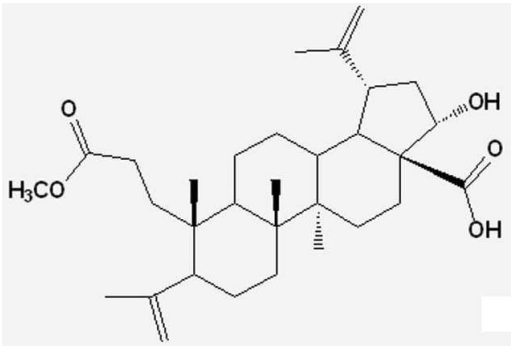
[0026] [화학식 1]

[0027] 

[0028] [화학식 2]

[0029] 

[0030] [화학식 3]

[0031] 

[0032] 본 발명에서 상기 화학식 1 내지 화학식 3으로 표시되는 화합물은 상술한 바에 따라 수득된 에틸 아세테이트 분획물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 분리하고 정제함으로써 수득될 수 있다.

[0033] 상기 에틸 아세테이트 분획물로부터 상기 화학식 1 내지 화학식 3으로 표시되는 화합물을 분리하기 위해 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 수행하는 경우, 이동상으로는 에틸 아세테이트, 메탄올 혼합용매 및 $CHCl_3$·메탄올 혼합용매를 사용할 수 있다. 상기 실리카겔 컬럼 크로마토그래피는 단일 화합물이 정제될 때까지 1회 내지 수회에 걸쳐 수행할 수 있으며, 필요에 따라 농축, 재결정을 실시할 수 있다.

[0034] 상술한 바와 같이 제조되는 본 발명에 따른 오가피 열매 추출물, 오가피 열매 분획물, 이로부터 분리된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물은 암세포에 대해 세포독성활성을 가짐으로써 암 질환의 예방 및 치료용으로 사용될 수 있다.

[0035] 본 발명에서 상기 화학식 1 내지 화학식 3으로 표시되는 오가피 열매 분획물로부터 분리된 화합물은 약학적으로

허용 가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산 또는 아인산과 같은 무기산류와 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설폰산류와 같은 무독성 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로겐 포스페이트, 디하이드로겐 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β-하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 또는 만델레이트를 포함한다.

[0036] 본 발명에 따른 산 부가염은 통상의 방법, 예를 들면, 상기 화학식 1 내지 화학식 3으로 표시되는 오가피 열매 분획물로부터 분리된 화합물을 과량의 산 수용액 중에 용해시키고, 이 염을 수혼화성 유기 용매, 예를 들면 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조할 수 있다.

[0037] 동량의 상기 화학식 1 내지 화학식 3으로 표시되는 오가피 열매 분획물로부터 분리된 화합물에 산 또는 알코올을 가열하고, 이어서 이 혼합물을 증발시켜서 건조시키거나 염을 제조하거나 또는 석출된 염을 흡입 여과시켜 제조할 수도 있다.

[0038] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은, 예를 들면, 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다. 또한, 이에 대응하는 염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 음염(예, 질산은)과 반응시켜 얻을 수 있다.

[0039] 상기 조성물은 약학적 조성물로 사용할 수 있으며, 경구의 여러 가지 제형일 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 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용된다.

[0040] 본 발명의 상기 화학식 1 내지 화학식 3으로 표시되는 오가피 열매 분획물로부터 분리된 화합물을 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물은 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등에 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 등을 사용할 경우 잘 혼합되지 않기 때문에 경구투여를 위한 액상제제로는 부적합하다. 그러나, 오가피 열매 추출물 도는 오가피 열매 분획물을 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물은 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등의 액상제제로 조제될 수 있다.

[0041] 이하, 실시예 및 실험예를 통하여 본 발명을 상세히 설명한다. 단, 하기의 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기의 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0042] **실시예 1: 오가피 열매 추출물의 제조**

[0043] 오가피 열매로는 강원도 정선군에서 재배된 것으로 강원도 정선군 농업기술센터에서 제공받아 사용하였다. 상기 오가피 열매 10 kg을 70% 에탄올 수용액에 침지시켜 상온으로 추출하였다. 추출물을 여과하고, 남은 것을 동일한 방법으로 2회 더 추출하였다. 얻어진 여액을 모두 합쳐 감압 농축하여 에탄올 추출물을 얻었다.

[0044] **실시예 2: 오가피 열매 분획물의 제조**

[0045] 상기 메탄올 추출물을 에틸 아세테이트(3 L× 3)와 H_2O(3 L)로 분배 추출하였고, H_2O층을 에틸 아세테이트(EtOAc, 3 L× 3)로 분배 추출하였다. 이후 다시 H_2O층을 *n*-부탄올(2.5 L × 2)로 분배 추출하였다. 각층을 감압 농축하여, 에틸 아세테이트 분획물(ASFE, 218 g)과 *n*-부탄올 분획물(ASFB, 65 g) 및 H_2O 분획물을 얻었다.

[0046] **실시예 3: 오가피 열매 분획물로부터 화합물의 분리**

[0047] 실시예 2에서 얻은 에틸 아세테이트 분획물(100 g)로 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 c.c.)(Kieselgel 60 (70?230 mesh))(Φ 12 × 25 cm, $CHCl_3$-MeOH 15:1→ 13:1 → 12:1 → 11:1 → 10:1 → 7:1 → 5:1 → 3:1 → 1:1, 각각 3 L씩)를 실시하였고, 각 분취액을 TLC로 확인하여 14개의 분획물(ASFE-1~ASFE-14)을 얻었다. 그 중 ASFE-8 분획(8.98 g)에 대하여 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(Φ 4 × 12 cm, $CHCl_3$-MeOH-H_2O=16:3:1 → 12:3:1, 각각 2.5L씩)를 실시하여 9개의 분획(ASFE-8-1~ASFE-8-9)으로 나누었고, ASFE-8-4 분획(1.85 g)에 대해 옥타데실 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(ODS c.c.)(Lichroprep RP-18, 40?63㎛, Merck, Germany)(Φ 4.5 × 11 cm, MeOH-H_2O=3:1)를 실시하여 21개의 분획물(ASFE-8-4-1-ASFE-8-4-21)을 얻었으며, 이 중에서 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 1(ASFE-8-4-18, 50 mg, TLC(ODS F254S) Rf 0.40, MeOH-H_2O =5:1)을 분리하였다.

[0048] 이후, ASFE-9 분획을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(Φ 4 × 12 cm, $CHCl_3$-EtOH:H_2O=16:3:1, 4.2 L)를 실시하여 9개의 분획(ASFE-9-1~ASFE-9-9)으로 나누었고, ASFE-9-1 분획(1.25 g)에 대해 옥타데실 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(Φ 5 × 8 cm, MeOH-H_2O=3:1)를 실시하여 21개의 분획물(ASFE-9-1-1-ASFE-9-1-21)을 얻었으며, 이 중에서 상기 화학식 2로 표시되는 화합물 2(ASFE-9-1-8, 15 mg, TLC(ODS F254S) Rf 0.30, MeOH-H_2O =3:1)를 분리하였다.

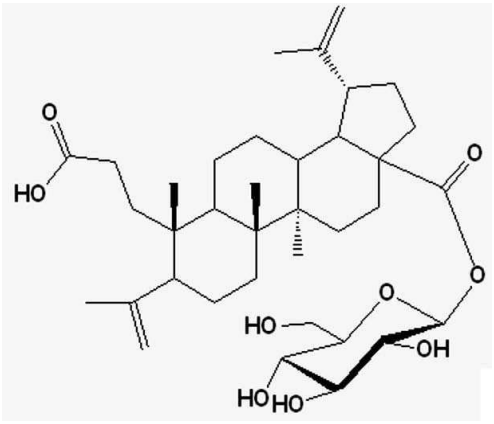
[0049] 이후, ASFE-9-4 분획(2.45 g)에 대하여, 옥타데실 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(ODS c.c.)(Φ 5 × 5.5 cm, MeOH:H_2O=1:1, 2.8 L)를 실시하여 20개의 분획(ASFE-9-4-1~ASFE-9-4-20)으로 나누었고, ASFE-9-4-12 분획(140 mg)을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(Φ 3 × 15 cm, $CHCl_3$:MeOH=30:1, 1.5 L)를 실시하여 11개의 분획(ASFE-9-4-12-1~ASFE-9-4-12-11)으로 나누었고, 이 중에서 화학식 3으로 표시되는 화합물 3(ASFE-9-4-12-2, 21 mg, TLC(SiO_2 F254S) Rf 0.55, $CHCl_3$-EtOH:H_2O=13:3:1)을 분리하였다.

[0050] **시험예 1: 오가피 열매 분획물로부터 분리된 화합물의 구조 분석**

[0051] 상기 실시예 3에서 수득된 화학식 1 내지 화학식 3으로 표시되는 화합물에 대해 구조 분석을 하기 위하여 IR 스펙트럼으로 Perkin model 599B(Buckinghamshire, England)를 사용하여 측정하였고, NMR은 400 MHz FT-NMR 스펙트로미터(Varian Inova AS 400, Palo Alto, CA)를 사용하였고, NMR용 용매로는 피리딘-*ds*(Merck, Germany)의 시약을 사용하였다. HRFAB/MS는 JMS 700(JEOL, Japan)을 사용하여 측정함으로써 화합물의 구조 분석을 하였고 그 결과는 하기와 같다.

[0052] **(1) 아칸토세실리오사이드 A(acanthosessilioside A)**

[0053] [화학식 1]

[0054] 

[0055] 1) 흰색 분말

[0056] 2) HRFAB-MS *m/z* 633.6101 $[M+H]^+$; ^{1}H-NMR (400 MHz, pyridine-d_5, δ) 6.32 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-1'), 4.93 (1H, br.s, H-23a), 4.79 (1H, br.s, H-29a), 4.75 (1H, br.s, H-23b), 4.70 (1H, br.s, H-29b), 4.41 (1H, dd, *J*=12.0, 2.0 Hz, H-6'a), 4.32 (1H, dd, *J*=12.0, 4.4 Hz, H-6'b), 4.27 (2H, overlap, H-3', 4'), 4.11 (1H, dd, *J*=8.0, 8.0, H-2'), 4.00 (1H, m, H-5'), 3.47 (1H, ddd, J=9.6, 9.6, 4.4 Hz, H-19), 1.77 (3H, s, H-30), 1.62 (3H, s, H-24), 1.06 (3H, s, H-26), 1.00 (3H, s, H-25), 0.66 (3H, s, H-27). ^{13}C-NMR (100 MHz, pyridine-d_5, δ) 178.68 (C-3), 173.06 (C-28), 151.16 (C-4), 147.48 (C-20), 114.01 (C-29), 109.93 (C-23), 96.02 (C-1'), 79.35 (C-5'), 78.45 (C-3'), 74.13 (C-2'), 71.05 (C-4'), 62.26 (C-6') 56.68 (C-17), 50.09 (C-5), 49.71 (C-18), 47.72 (C-19), 43.23 (C-10), 41.07 (C-9), 40.72 (C-14), 39.55 (C-8), 38.59 (C-13), 37.53 (C-1), 34.36 (C-22), 33.11 (C-7), 32.78 (C-21), 31.32 (C-16), 30.31 (C-2), 29.17 (C-15), 26.04 (C-6), 24.95 (C-12), 23.63 (C-24), 21.78 (C-11), 20.29 (C-25), 19.67 (C-30), 16.35 (C-26), 14.90 (C-27).

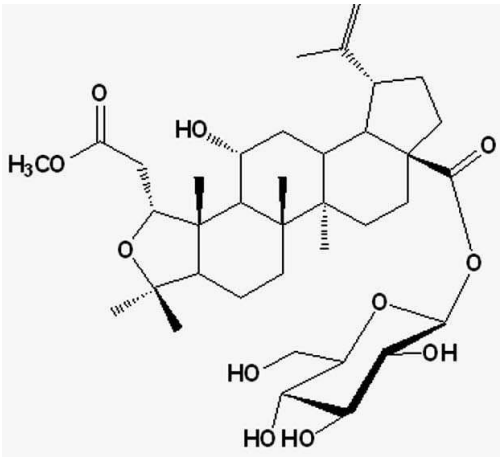
[0057] 3) 분석 결과

[0058] 실시예 3에서 분리된 아칸토세실리오사이드 A에 대해 positive HRFAB-MS 측정 시 *m/z* 633.6101 $[M+H]^+$가 관측됨에 따라 분자량은 632$[M]^+$로 결정하였다. ^{1}H-NMR 스펙트럼에서 δ 6.32 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-1')에서 β-결합을 하고 있는 당의 아노머(anomer) 수소 시그널이 관측되었고, 두 쌍의 엑소메틸렌 올레핀 프로톤(exomethylene olefinic proton)[δ 4.93 (1H, br.s, H-23a), 4.79 (1H, br.s, H-29a), 4.75 (1H, br.s, H-23b), 4.70 (1H, br.s, H-29b)], 1개의 메틴(methine)[δ 3.47 (1H, ddd, J=9.6, 9.6, 4.4 Hz, H-19)], 5개의 터트-메틸기(tert-methyl group)[δ 1.77 (3H, s, H-30), 1.62 (3H, s, H-24), 1.06 (3H, s, H-26), 1.00 (3H, s, H-25), 0.66 (3H, s, H-27)]가 관측되었다. 또한, 산화 메틸렌(oxygenated methylene)[δ 4.41 (1H, dd, *J*=12.0, 2.0 Hz, H-6'a), 4.32 (1H, dd, *J*=12.0, 4.4 Hz, H-6'b)] 및 산화 메틴 시그널[δ 4.27 (2H, overlap, H-3', 4'), 4.11 (1H, dd, *J*=8.0, 8.0, H-2'), 4.00 (1H, m, H-5')]로부터 당 한분자로부터 유래하는 산소가 치환된 프로톤 시그널(proton signal)이 관측되었다. ^{13}C-NMR (DEPT) 스펙트럼에서 총 36개의 시그널이 관측됨에 따라, 트리테르펜(triterpene) 구조의 당 한 분자가 결합되어 있음을 확인하였다. 저자장 영역에서 2개의 카르복시기[δ 178.68 (C-3), 173.06 (C-28)] 및 2개의 이소프로페닐기[151.16 (C-4), 147.48 (C-20), 114.01 (C-29), 109.93 (C-23), 23.63 (C-24), 19.67 (C-30)]가 관측됨에 따라, 2개의 이소프로페닐기가 결합된 루판-트리레트펜(lupane-triterpene)의 골격을 확인하였다. 고자장 영역에서 5개의 메틴 카본(methine carbon), 10개의 메틸렌 카본(methylene carbon) 및 3개의 터트-메틸기(tert-methyl group)가 관측되었다. 당의 아노머 카본(anomer carbon)[δ 96.02 (C-1')]과 산화 메틴(oxygenated methine) 및 메틸렌 카본[δ 79.35 (C-5'), 78.45 (C-3'), 74.13 (C-2'), 71.05 (C-4'), 62.26 (C-6')]이 관측됨에 따라, 결합된 당은 글루코피라노오스(glucopyranose)로 확인되었다. 글루코피라노오스 및 각 이소프로페닐기의 결합 부위를 확인하기 위하여 gHMBC 스펙트럼을 토대로, 각각의 메틸 시그널[δ 1.77 (H-30), 1.62 (H-24)]이 메틴 카본[50.09 (C-5), 47.72 (C-19)]에 연결고리를 보여줌으로써 결합부위를 확인하였다. 당의 아노머 프로톤 시그널[δ 6.32, d, *J*=8.0 Hz (H-1')]이 카르보닐 카본[δ 173.06 (C-28)]에 연결됨에 따라, C-28번에 β-결합되었음을 확인하였고, 더욱이 아노머 카본[δ 96.02 (C-1')]이 고자장으로 약 5 ppm 정도 이동함을 확인할 수 있었다. 또한, 카르보닐 카본[δ 178.68 (C-3)]이 메

틸렌 프로톤 시그널들과의 연결고리가 확인됨에 따라 트리테르펜의 A-링(A-ring)이 개환되어 있는 것을 확인하였다. 위 결과를 종합하여 구조 동정한 결과, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 1은 세코-루판 트리테르펜(seco-lupane triterpene)인, 3,4-seco-lup-4(23), 20(29)-diene-3,28-dioic acid 28-*O*-*β*-*D*-glucopyranoside로 결정하였고, 아칸토세실리오사이드 A로 명명하였으며, 신규 화합물임을 확인하였다.

[0059] **(2) 아칸토세실리오사이드 Ⅰ(acanthosessilioside Ⅰ)**

[0060] [화학식 2]

[0061] 

[0062] 1) 흰색 분말

[0063] 2) HRFAB-MS *m/z* 679.3857 $[M+H]^+$; ^{1}H-NMR (400 MHz, pyridine-d_5, δ); 6.39 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-1'), 4.84 (1H, dd, *J*=11.6, 2.4, H-1), 4.78 (1H, br.s, H-29a), 4.62 (1H, br.s, H-29b), 4.43 (1H, dd, *J*=12.0, 2.0 Hz, H-6'a), 4.39 (1H, dd, *J*=12.0, 4.4 Hz, H-6'b), 4.34 (1H, d, *J*=9.2, 9.2 H-4'), 4.27 (1H, dd, *J*=9.2, 9.2, H-3'), 4.16 (1H, dd, *J*=9.2, 9.2, H-2'), 4.11 (1H, overlapped, H-11), 4.11 (1H, m, H-5'), 3.61 (3H, OCH_3), 3.36 (1H, ddd, *J*=5.2, 10.8, 11.2 Hz, H-19), 2.97 (1H, ddd, *J*=3.6, 12.2, 12.2 Hz, H-13), 1.69 (3H, s, H-29), 1.37 (3H, s, H-24), 1.29 (3H, s, H-25), 1.16 (3H, s, H-23), 1.42 (3H, s, H-27), 1.13 (3H, s, H-26). ^{13}C-NMR (100 MHz, pyridine-d_5, δ) 174.85 (C-28), 173.32 (C-3), 150.51 (C-20), 110.18 (C-29), 95.54 (C-1'), 87.25 (C-1), 79.50 (C-5'), 79.33 (C-4), 78.95 (C-3') 74.41 (C-2'), 71.24 (C-4'), 67.72 (C-11), 62.32 (C-6') 57.09 (C-17), 56.18 (C-5), 51.21 (OCH_3), 49.59 (C-9), 48.98 (C-18), 47.46, (C-19), 47.05 (C-10), 42.97 (C-8), 42.91 (C-14), 38.70 (C-2), 37.70 (C-13), 37.08 (C-12), 36.89 (C-22), 35.50 (C-7), 32.43 (C-24), 31.07 (C-16), 30.50 (C-21), 29.72 (C-15), 26.36 (C-23), 19.66 (C-30), 19.30 (C-25), 18.89 (C-6), 18.02 (C-26), 15.35 (C-27).

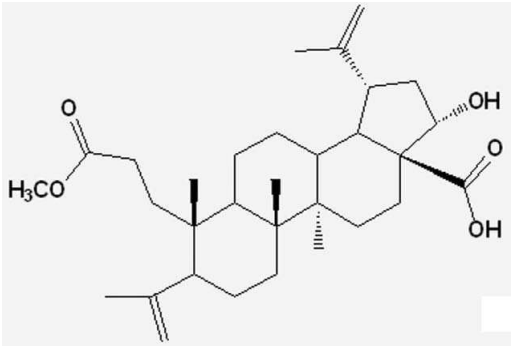
[0064] 3) 분석 결과

[0065] 실시예 3에서 분리된 아칸토세실리오사이드 I에 대해 positive HRFAB-MS 측정 시 *m/z* 679.3857 $[M+H]^+$가 관측됨에 따라 분자량은 678$[M]^+$로 결정하였다. ^{1}H-NMR 스펙트럼에서 δ 6.39 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-1')에서 *β*-결합을 하고 있는 당의 아노머(anomer) 수소 시그널이 관측되었고, 한 쌍의 엑소메틸렌 올레핀 프로톤[δ 4.78 (1H, br.s, H-29a), 4.62 (1H, br.s, H-29b)], 2개의 산화 메틴[δ 4.84 (1H, dd, *J*=11.6, 2.4 Hz, H-1), 4.11 (1H, overlapped, H-11)]이 관측되었다. 또한, 당으로부터 관측되는 산화 메틴[δ 4.34 (1H, dd, *J*=9.2, 9.2 H-4'), 4.27 (1H, dd, *J*=9.2, 9.2, H-3'), 4.16 (1H, dd, *J*=9.2, 9.2, H-2', 4.11 (1H, m, H-5')] 및 메틸렌[δ 4.43 (1H, dd, *J*=12.0, 2.0 Hz, H-6'a), 4.39 (1H, dd, *J*=12.0, 4.4 Hz, H-6'b),] 프로톤 시그널의 결합 상수(coupling constant)로부터 b-glucoside임을 확인하였다. 고자장 영역에서 메톡시 프로톤(δ 3.61) 및 메틴 프로톤[δ 3.36 (1H, ddd, *J*=5.2, 10.8, 11.2 Hz, H-19), 2.97 (1H, ddd, *J*=3.6, 12.2, 12.2 Hz, H-13)]들이 관측되었다. 각 시그널의 결합 상수로부터 19*α*-H, 13*β*-H로 배향(configuration)을 결정하였다. 또한, 6개의 터트-메틸기[δ 1.69 (3H, s, H-29), 1.37 (3H, s, H-24), 1.29 (3H, s, H-25), 1.16 (3H, s, H-23), 1.42

(3H, s, H-27), 1.13 (3H, s, H-26).]가 관측되었다. ^{13}C-NMR (DEPT) 스펙트럼에서 총 36개의 시그널이 관측됨에 따라, 트리테르펜 구조의 당 한 분자가 결합되어 있음을 확인하였다. 저자장 영역에서 2개의 카르복시기[δ 174.85 (C-28), 173.32 (C-3)], 1개의 이소프로페닐기[δ 150.51 (C-20), 110.18 (C-29), 19.66 (C-30)]가 관측됨에 따라, 1개의 이소프로페닐기가 결합된 루판-트리테트펜의 골격을 확인하였다. DEPT 스펙트럼에서, 아글리콘(aglycone)으로부터 관측되는 5개의 메틴 카본, 7개의 메틸렌 카본 및 5개의 터트-메틸기가 관측되었다. 당의 아노머 카본[δ 95.54 (C-1')]과 당 모이어티(sugar moiety) 영역에서 관측되는 산화 메틴 및 메틸렌 카본[δ 79.50 (C-5'), 78.95 (C-3') 74.41 (C-2'), 71.24 (C-4'), 62.32 (C-6')]이 관측됨에 따라, 결합된 당은 글루코피라노오스로 확인되었다. 글루코피라노오스 및 이소프로페닐기의 결합 부위를 확인하기 위하여 gHMBC 스펙트럼을 토대로, 메틸 시그널[δ 19.66 (C-30)]이 메틴 카본[δ 47.46 (C-19)]에 연결고리를 보여줌으로써 결합부위를 확인하였다. 당의 아노머 프로톤 시그널[δ 6.39 (H-1')]이 카르보닐 카본[δ 174.85 (C-28)]과 연결됨에 따라, C-28번에 *β*-결합되었음을 확인하였고, 더욱이 아노머 카본[δ 95.54 (C-1')]이 고자장으로 이동함을 확인할 수 있었다. 또한, 카르보닐 카본[δ 178.68 (C-3)]이 메틸렌 프로톤 시그널들과의 연결고리가 확인됨에 따라 트리테르펜의 A-링(A-ring)이 개환되어 있는 것을 확인하였으며, 메톡시 카본 시그널(51.21)이 카르보닐 카본(C-3)과의 연결고리를 보여줌에 따라, 메틸 에스테르 결합을 확인하였다. 위 결과를 종합하여 구조 동정한 결과, 상기 화학식 2로 표시되는 화합물 2는 세코-루판 트리테르펜(seco-lupane triterpene)인, 11a-hydroxy-3,4-seco-lup-20(29)-en-3-oic acid methyl ester 28-oic acid 28-*O*-*β*-*D*-glucopyranoside로 결정하였고, 아칸토세실리오사이드 Ⅰ로 명명하였으며, 신규 화합물임을 확인하였다.

[0066] **(3) 메틸 아칸토세실리게닌(methyl acanthosessiligenin)**

[0067] [화학식 3]

[0068] 

[0069] 1) 흰색 분말

[0070] 2) HRFAB-MS *m/z* 501.3180 $[M+H]^+$; ^{1}H-NMR (400 MHz, pyridine-d_5, δ) 5.07 (1H, br.s, H-23a), 4.90 (1H, br.s, H-29a), 4.83 (1H, br.s, H-23b), 4.79 (1H, br.s, H-29b), 4.80 (1H, d, *J*=4.4 Hz, H-22), 3.65 (4H, overlap, H-19, OCH_3), 2.97 (1H, ddd, *J*=3.2, 12.0, 10.6 Hz, H-13), 2.03 (3H, s, H-30), 1.72 (3H, s, H-24), 1.21 (3H, s, H-26), 1.12 (3H, s, H-25), 0.80 (3H, s, H-27). ^{13}C-NMR (100 MHz, pyridine-d_5, δ) 178.89 (C-3), 174.28 (C-28), 151.76 (C-4), 147.99 (C-20), 113.76 (C-23), 110.44 (C-29), 75.67 (C-22) 62.96 (C-17), 51.51 (OCH3), 50.50 (C-5), 47.99 (C-19), 47.32 (C-18), 43.48 (C-10), 42.34 (C-21), 41.37 (C-9), 40.96 (C-14), 39.72 (C-8), 38.62 (C-13), 34.99 (C-1), 33.35 (C-7), 29.95 (C-16), 28.85 (C-2), 27.18 (C-15), 26.22 (C-6), 25.16 (C-12), 23.62 (C-24), 22.11 (C-11), 20.56 (C-25), 19.54 (C-30), 16.59 (C-26), 15.05 (C-27).

[0071] 3) 분석 결과

[0072] 실시예 3에서 분리된 메틸 아칸토세실리게닌에 대해 positive HRFAB-MS 측정 시 *m/z* 501.3180 $[M+H]^+$가 관측됨에 따라 분자량은 500$[M]^+$로 결정하였다. ^{1}H-NMR 스펙트럼에서 두 쌍의 엑소메틸렌 올레핀 프로톤[δ 5.07 (1H, br.s, H-23a), 4.90 (1H, br.s, H-29a), 4.83 (1H, br.s, H-23b), 4.79 (1H, br.s, H-29b)], 산화 메틴 및 메톡시 프로톤 시그널[δ (4H, overlap, H-19, OCH_3)]을 적분 값으로부터 겹쳐 존재함을 알 수 있었고, 고자장 영

역에서 5개의 터트-메틸기[δ 2.03 (3H, s, H-30), 1.72 (3H, s, H-24), 1.21 (3H, s, H-26), 1.12 (3H, s, H-25), 0.80 (3H, s, H-27)]가 관측되어 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 1의 어글리콘(aglycone)과 매우 유사한 구조임을 확인되었다. 또한, 산화 메틴 시그널[δ 4.80 (1H, d, *J*=4.4 Hz, H-22)]로부터 산소가 치환된 프로톤 시그널이 관측되었으며, 결합 상수값으로부터 (4.4 Hz), 22-OH는 *α*-배향임을 결정하였다. ^{13}C-NMR (DEPT) 스펙트럼에서 총 31개의 시그널이 관측됨에 따라, 트리테르펜 구조임을 확인하였다. 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 1과 유사하게, 저자장 영역에서 2개의 카르복시기[δ 178.89 (C-3), 174.28 (C-28)] 및 2개의 이소프로페닐기[δ 151.76 (C-4), 147.99 (C-20), 113.76 (C-23), 110.44 (C-29), 23.62 (C-24), 19.54 (C-30)]가 관측됨에 따라, 2개의 이소프로페닐기가 결합된 루판-트리테르펜(lupane-triterpene)의 골격을 확인하였다. 산소가 치환된 영역에서, 산화 메틴 카본 시그널[δ 75.67 (C-22)]이 관측되었으며, 고자장 영역에서 5개의 메틴 카본, 9개의 메틸렌 카본 및 3개의 터트-메틸기가 관측되었다. 각 이소프로페닐기의 결합 부위를 확인하기 위하여 gHMBC 스펙트럼을 토대로, 각각의 메틸 시그널[δ 2.03 (H-30), 1.72 (H-24)]이 메틴 카본[δ 50.50 (C-5), 47.99 (C-19)]에 연결고리를 보여줌으로써 결합부위를 확인하였다. 또한, 카르보닐 카본[δ 178.89 (C-3)]이 메틸렌 프로톤 시그널들과의 연결고리가 확인됨에 따라 트리테르펜의 A-링이 개환되어 있는 것을 확인하였다. 메톡시 카본 시그널(δ 51.51)이 카르보닐 카본(C-3)과의 연결고리를 보여줌에 따라, 메틸 에스테르 결합을 확인하였다. 위 결과를 종합하여 구조 동정한 결과, 상기 화학식 3으로 표시되는 화합물 3은 세코-루판 트리테르펜인, 22a-hydroxy-3,4-seco-lup-4(23),20(30)-diene-3-oic acid methyl ester 28-oic acid 로 결정하였고, 메틸 아칸토세실리게닌으로 명명하였으며, 신규 화합물임을 확인하였다.

[0073] **실험예 1: 화학식 1 내지 3으로 표시되는 화합물의 암세포에 대한 세포독성 활성 측정**

[0074] **(1) 암세포에 대한 세포독성활성 측정**

[0075] 한국 세포 주 은행에서 분양 받은 사람 대장암 세포인 HCT-116, 사람 간암 세포인 Hep G2, 사람 자궁암 세포인 HeLa, 사람 유방암세포인 MCF-7 및 SK-BR-3, 사람 피부암 세포인 SK-MEL-5 및 사람 난소암 세포인 SK-OV-3에 상기 화학식 1 내지 화학식 3으로 표시되는 화합물이 포함된 여러 농도의 시료용액(25, 50, 100, 200 μM) 또는 양성 대조군을 1시간 전처리한 후 LPS(1 μg/mL)를 처리하고 24시간 동안 세포독성 활성을 측정하였다.

[0076] 암세포의 생존률은 하기 수학식 1에 따라 상기 화학식 1 내지 화학식 3으로 표시되는 화합물을 처리한 그룹과 대조군 그룹 내에 있는 생존세포의 비율로써 측정하였고, 그 결과를 각각 도 1 내지 도 3에 나타내었다.

[0077] [수학식 1]

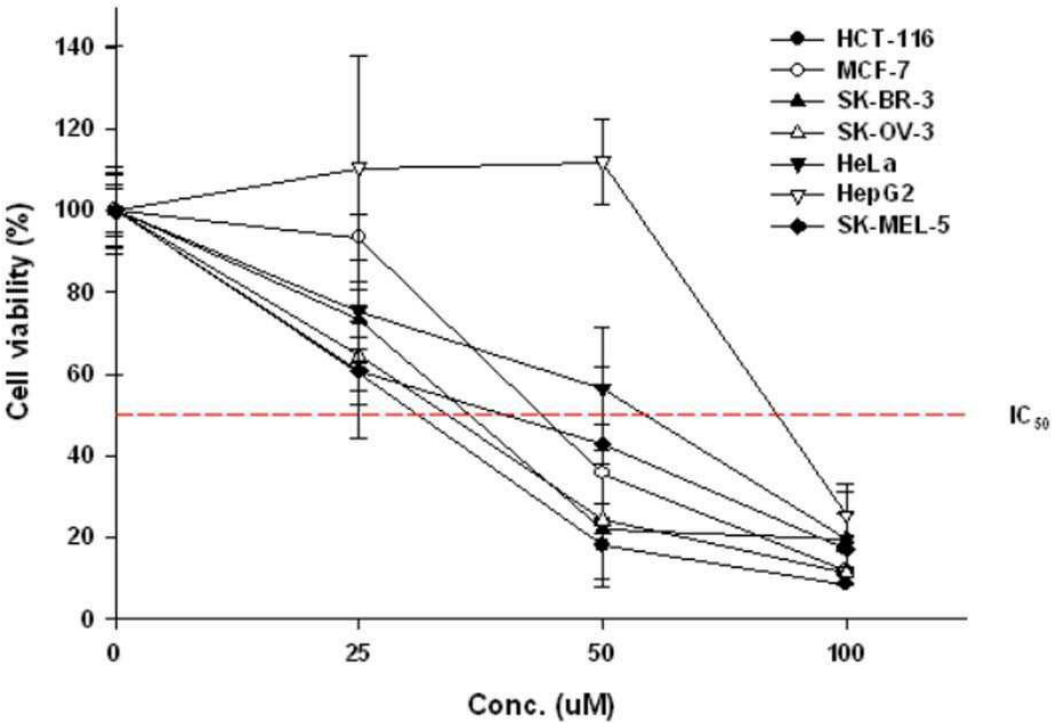
[0078] 세포 생존률(%) = [OD (화합물처리 세포수) OD (백지세포수) / OD (대조군 세포수) OD (백지세포수)] × 100

[0079] **(2) 결과**

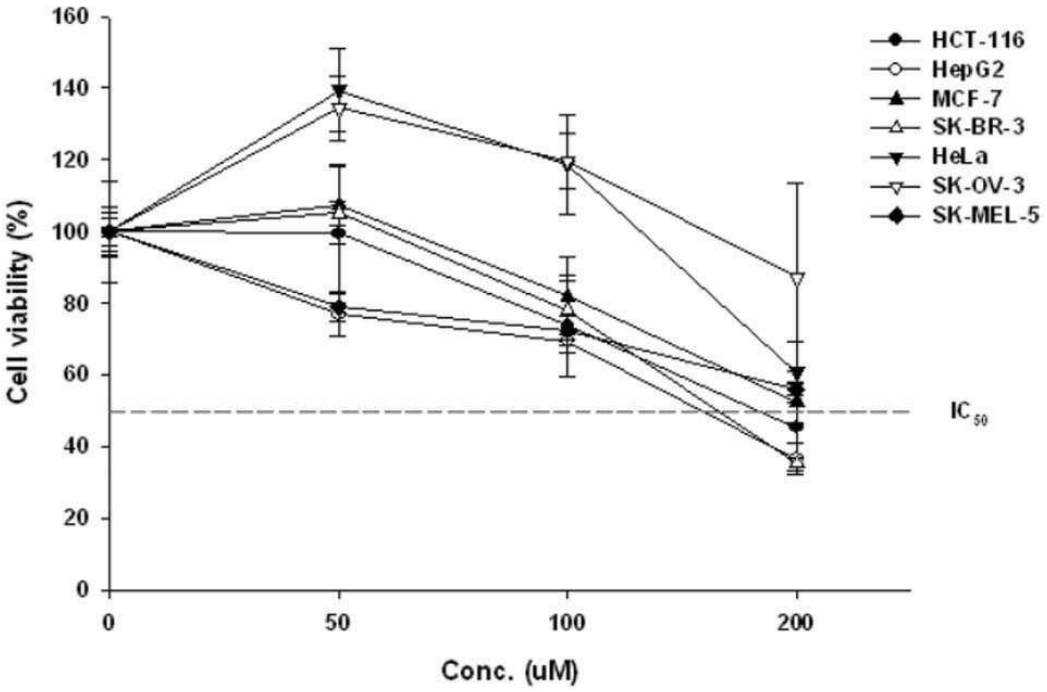
[0080] 도 1 내지 도 3을 참조하면, 사람 대장암 세포인 HCT-116, 사람 간암 세포인 Hep G2, 사람 자궁암 세포인 HeLa, 사람 유방암세포인 MCF-7 및 SK-BR-3, 사람 피부암 세포인 SK-MEL-5 및 사람 난소암 세포인 SK-OV-3에 대해 상기 화학식 1 내지 화학식 3으로 표시되는 화합물을 처리한 결과, 화학식 1로 표시되는 화합물 1(acanthosessilioside A)은 HepG2를 제외한 실험에 사용된 모든 세포주에서 25 uM에서 50 uM 정도의 농도에서 IC_{50} 값을 나타내었으며, 화학식 2로 표시되는 화합물 2(acanthosessilioside Ⅰ)는 HCT-116, Hep G2 및 SK-BR-3 암세포 주에서만, 약 200 uM농도에서 암세포 생존율 50% 저해 효과를 나타냈다. 또한 화학식 3으로 표시되는 화합물 3(methyl acanthosessiligenin)은 HepG2를 제외한 실험에 사용된 모든 세포주에서 25 uM에서 50 uM 정도의 농도에서 IC_{50} 값을 나타내었다. 이로부터 상기 화학식 1 내지 화학식 3으로 표시되는 화합물은 암세포에 대한 세포독성 효과가 있음을 알 수 있다.

도면

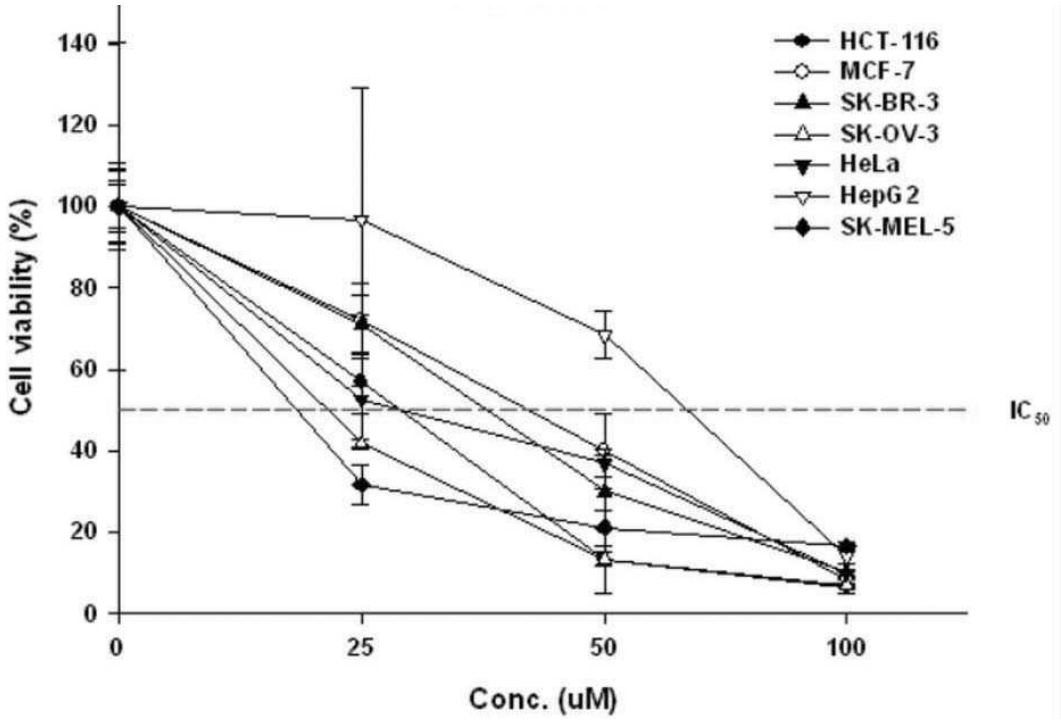
도면1


HCT-116
MCF-7
SK-BR-3
SK-OV-3
HeLa
HepG2
SK-MEL-5
Cell viability (%)
Conc. (uM)
IC50
0
20
40
60
80
100
120
140
0
25
50
100

도면2


HCT-116
HepG2
MCF-7
SK-BR-3
HeLa
SK-OV-3
SK-MEL-5
Cell viability (%)
Conc. (uM)
IC50
0
20
40
60
80
100
120
140
160
0
50
100
200

도면3


HCT-116
MCF-7
SK-BR-3
SK-OV-3
HeLa
HepG2
SK-MEL-5
Cell viability (%)
140
120
100
80
60
40
20
0
0
25
50
100
Conc. (uM)
IC50