(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl.[6]
C07D 491/10

(45) 공고일자 1998년12월01일
(11) 등록번호 특0159643
(24) 등록일자 1998년08월12일

(21) 출원번호 특1995-016152
(22) 출원일자 1995년06월17일
(65) 공개번호 특1997-001359
(43) 공개일자 1997년01월24일

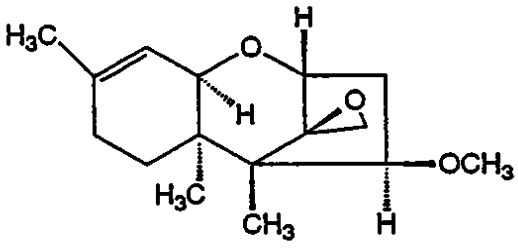
(73) 특허권자 한국과학기술연구원 김은영
서울특별시 성북구 하월곡동 39-1
(72) 발명자 복성해
대전광역시 서구 삼천동 가람아파트 15동 1202호
권병목
대전광역시 유성구 도룡동 380-51 도룡빌라 102호
김성욱
대전광역시 유성구 어은동 한빛아파트 110동 405호
손광희
대전광역시 유성구 어은동 한빛아파트 103동 1702호
김영국
대전광역시 유성구 어은동 한빛아파트 102동 601호
정태숙
대전광역시 유성구 어은동 한빛아파트 127동 1103호
최도일
대전광역시 유성구 도룡동 과기원아파트 2동 305호
(74) 대리인 장성구

심사관 : 신동인

(54) 항암 및 항진균 화합물 및 이를 포함하는 약학적 조성물

요약

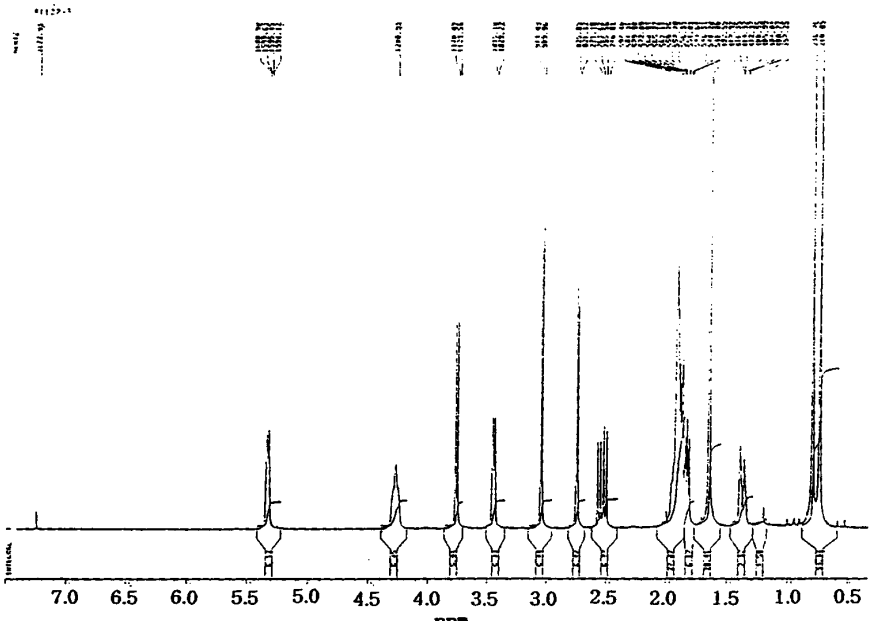
본 발명은 항암 및 항진균 활성을 나타내는 하기 구조식 (I) 의 화합물 KRIBB-BP003 및 이를 활성물질로서 포함하는 항암제및 항진균제 조성물에 관한 것이다:



(I)

대표도

트리코더몰의 ^{1}H-NMR 스펙트럼 (300 MHz, $CDCl_3$)



명세서

[발명의 명칭]

항암 및 항진균 화합물 및 이를 포함하는 약학적 조성물

[도면의 간단한 설명]

제1 도는 트리코더몰(trichodermol)의 300MHz에서의 ^{1}H-NMR 분석 스펙트럼을 나타내고,

제2 도는 KRIBB-BP003 의 자외선-가시광선 흡광도 분석 스펙트럼을 나타내고,

제3 도는 KRIBB-BP003 의 질량분석 스펙트럼을 나타내고,

제4 도는 KRIBB-BP003 의 300MHz 에서의 ^{1}H-NMR 분석 스펙트럼을 나타낸다.

[발명의 상세한 설명]

본 발명은 항암 및 항진균 활성을 나타내는 신규 화합물 및 이를 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다.

더욱 상세하게는 본 발명은 항암 및 항진균 화합물 KRIBB-BP003 및 활성 성분으로서 유효량의 KRIBB-BP003을 함유하는 항암제및 항진균제 조성물에 관한 것이다.

암의 발생률은 문명의 발달과 더불어 증가하고 있음에도 불구하고 암 발생의 근본 원인을 지적할 수 있을 정도로 그 원인이 규명되어 있지는 않다.

암 환자의 치료법에는 외과적 수술, 방사선 치료, 항암물질 투여에 의한 화학 요법 등이 있지만, 이들 대부분 조기 암환자나 특정암에만 국한되어 있어 암으로 인한 사망은 꾸준히 증가하고 있는 추세이다.

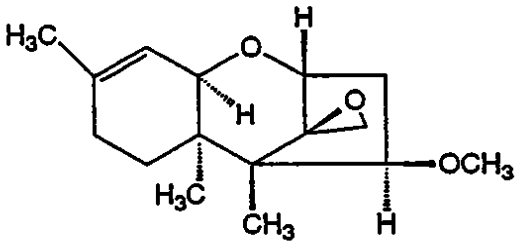
본 발명자들은 미생물 대사산물로부터 활성이 높은 항암 물질을 탐색하고자 노력하는 과정에서 토양으로부터 분리된 곰팡이 글리오클라디움 비렌스 (Gliocladium virens) FM-F-1127(이후 'FM-F-1127'이라 함)의 배양액에서 얻은 트리코더몰 (trichodermol) 로부터 신규 항암 및 항진균 물질 KRIBB-BP003을 제조하는 방법을 개발하여 본 발명을 완성하게 되었다.

본 발명의 목적은 항암 및 항진균 활성을 나타내는 신규 화합물을 제공하는 것이다.

본 발명의 또다른 목적은 상기 항암 및 항진균 물질을 포함하는 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

상기 목적에 따라, 본 발명에서는 항암 및 항진균 활성을 나타내는 하기 구조식 (I)의 화합물 KRIBB-BR003이 제공된다.

화학식 1



(I)

상기 다른 목적에 따라, 본 발명에서는 상기 구조식 (I)의 KRIBB-BP003을 활성 성분으로서 함유하는 항암제또는 항진균제 조성물이 제공된다.

이하 본 발명을 상세히 설명한다.

본 발명의 신규 항암 및 항진균 물질은 상기 구조식 (I)로 표시되는 화합물로서 KRIBB-BP003 으로 명명되었는데, 그의 이화학적 성상을 요약하면 하기 표 1과 같다.

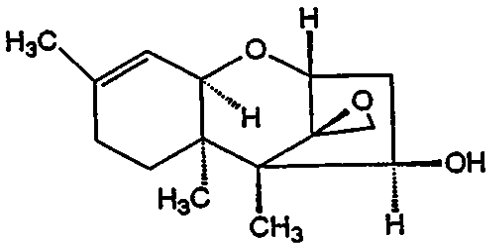
[표 1]

KRIBB-BP003 의 이화학적 성상

외형(appearance)	무색액체
분자식	$C_{16}H_{24}O_3$
분자량(HREI-MS(m/z))	264
측정치:	264.1714
계산치:	264.1706
자외선 흡광(UV)	206nm
용해성	
가용성:	MeOH, $CHCl_3$ 등 대부분의 유기용매
불용성:	H_2O

KRIBB-BP003 은 적당한 출발물질, 바람직하게는, 트리코더마속의 미생물에 의해 생산되는 하기 구조식 (II) 의 트리코더몰로부터 화학적 합성법에 의해 제조할 수 있다.

화학식 2



(II)

FM-F1127을 배양함으로써 트리코더몰을 생산하고자 할 때 바람직한 배지로서는, 종균용 배지는 포도당 2%, 효모추출물 0.2%, 폴리펩톤 0.5%, 제1 인산염 0.1% 및 황산마그네슘 0.05% 로 조성되고 pH 가 5.7인 배지이고, 생산용 배지는 수용성 전분 2%, SE50 0.4%, CN50BT 0.3%, 제2인산염 0.1%, 황산 마그네슘 0.05%, 염화나트륨 0.2%, 탄산칼슘 0.3%, 황산철 20㎎, 염화망간 10㎎, 황산아연 10㎎ 및 염화코발트 5㎎으로 조성되고 pH가 7.0인 배지이다.

본배양은 27℃에서 110시간 동안 진탕하면서 수행하는 것이 바람직하다.

배양이 완료된 후, 배양액을 원심분리하여 균체를 제거하고, 상층액을 흡착 크로마토그래피용 폴리스티렌 비드(bead) 에 흡착시킨 다음 메탄올을 이용하여 활성 물질을 분리한다. 분리된 활성 물질을 농축 시킨 후 농축액을 실리카겔 칼럼 크로마토그래피로 정제함으로써 트리코더몰을 순수분리할 수 있다.

트리코더물을 수소화나트륨 존재하에 요오드화 메틸을 사용하여 메틸화 시키는 것에 의해 본 발명의 KRIBB-BP003을 제조할 수 있다.

신규 화합물인 KRIBB-BP003의 생체 독성을 시험한 결과, ICR 생쥐에 KRIBB-BP003을 복강내 주사하였을 때 LD_{50} 은 600㎎/㎏ 체중으로 나타났다.

한편, KRIBB-BP003은 항암활성 및 항진균 활성을 나타내며, 그의 항암활성은 인간 종양 세포주들인 A549 (폐암 세포주), SKOV-3(자궁암 세포주), HCT-15 (결장암 세포주), XF-498(뇌암 세포주), SKMEL-2(피부암 세포주)를 이용하여 측정할 수 있다.

암세포에 대해 50% 의 항암활성을 나타내는 농도, 즉 ED_{50} 은 A549 세포주에서 약 0.8468㎍/㎎, SKOV-3 세포주에서 약 1.1206㎍/㎎, HCT-15 세포주에서 약 0.5672㎍/㎎, XF-498 세포주에서 1.3766㎍/㎎, SKMEL-2 세포주에서 약 0.7887㎍/㎎이다.

KRIBB-BP003은 상기 열거한 세포주들 외의 다른 종양 세포주에 대해서도 유사한 항암 활성을 나타낼 것으로 예상된다.

KRIBB-BP003의 항진균 활성은 2배 희석법을 이용하여 평판 배지 상에서 최소발육저지농도 (MIC)를 측정함으로써 확인할 수 있다.

KRIBB-BP003 은 효모형태의 칸디다속 (Candida) 진균에 대해서는 항진균 활성을 거의 나타내지 않으나, 위상균사형태의 칸디다속 진균, 예를 들어 위상균사 형태의 칸디다 러시타니아(C. lusitania), 칸디다 크루세이(C. krusei) 등에 대해서는 약 25㎍/㎖의 최소발육저지농도(MIC)를 나타낸다.

따라서 본 발명에서는 KRIBB-BP003 또는 그의 유도체를 활성 성분으로서 포함하는 항암제조성물 및 항진균제 조성물이 제공된다.

이러한 약학적 조성물은 KRIBB-BP003 또는 그의 유도체와 함께 약제학적으로 허용되는 부형제, 담체, 희석제등을 포함할 수 있으며, 쉽게 입수할 수 있는 성분들을 이용하여 공지의 방법에 따라 제제화 할 수 있다.

제제의 제조시에는, 활성 성분을 담체와 혼합하거나, 담체로 희석하거나, 캡슐, 사셰, 종이, 또는 다른 용기의 형태인 담체 내에 담을 수 있다.

담체가 희석제의 역할을 할 경우에는, 활성 성분을 위한 비히클, 부형제또는 매질로 작용하는 고체, 반고체 또는 액체 물질일 수 있다.

따라서 제제는 정제, 환제, 분산제, 과립제, 엘릭서, 현탁제, 유화제,용액, 시럽제, 에어로졸제, 연질 및 경질 젤라틴 캅셀제, 멸균 주사용액, 멸균 포장된 분말제및 연고의 형태일 수 있다.

적당한 담체, 부형제및 희석제의 예로는 락토즈, 덱스트로즈, 슈크로즈, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로즈, 물, 설탕시럽, 메틸 셀룰로즈, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록 시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등이 있다.

조성물은 상기 성분들 외에도 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.

본 발명의 조성물은 환자에게 투여된 후 활성 성분을 급속하게, 지속적으로 또는 지연시켜 방출하도록 당

분야의 공지 기술들을 이용하여 제제화할 수 있다.

본 발명의 약학적 조성물은 경구 또는 비경구 투여될 수 있고, 활성 화합물은 광범위한 투여 범위에 대해 유효하다.

예를 들어, 활성 화합물의 1일 투여량은 항암제로서는 통상적으로 체중 1㎏당 약 0.5 내지 1.0㎎ 이고, 항진균제로서는 통상적으로 체중 1㎏당 약 5.0 내지 8.0㎎ 범위이다.

그러나 실제적으로 투여되는 화합물의 양은 치료하려는 질환의 상태, 선택된 투여 경로, 개별적인 환자의 연령, 체중 및 반응, 및 병의 중증도를 비롯한 관련 상황에 비추어 의사가 결정할 것이므로 상기 투여 범위는 본 발명의 범위를 제한하는 것은 아니다.

이하, 본 발명을 하기 실시예에 의하여 보다 상세하게 설명하고자 하지만, 본 발명의 범위가 이에 한정되는 것은 아니다.

[실시예 1]

[미생물의 분리 및 동정]

대한민국 경상남도 지리산에서 채취한 토양 시료를 멸균수에 희석하여 통상적으로 사용되는 포테이토-덱스트로즈 한천 평판배지에 도말한 후 27℃에서 5일간 배양하여 나타난 곰팡이 균총을 순수 분리하였다.

상기 곰팡이는 문헌[K.H Domshe, et al., Compendium of Soil Fungi, 1993, IHW-Verlag, Germany]에 기술된 방법에 따라 동정한 결과 글리오클라디움 비렌스(Gliocladium virens)로 확인되었다.

분리된 곰팡이를 글리오클라디움 비렌스 FM-F1127 로 명명하고 1995년 4얼 17일자로 한국과학기술연구원 부설 생명공학연구소 유전자은행(KCTC)에 기탁번호 KCTC 8660P 호로서 기탁하였다.

[실시예 2]

[트리코더몰의 발효생산]

글리오클라디움 비렌스 FM-F1127 균주를 포도당 2%, 효모추출물 0.2%, 플리펩톤 0.5%, 제1 인산염 0.1% 및 황산마그네슘 0.05%로 조성된 멸균된 종균용 배지 (pH 5.8) 50㎖가 들어있는 500㎖ 삼각 플라스크에 접종한 후 26℃에서 3일간 진탕 배양하였다.

상기 종균용 배양액 50㎖를, 121℃에서 30분 동안 멸균한 생산용 배지 1ℓ(수용성 전분 2%, SE50 0.4%, CN50BT 0.3%, 제2 인산염 0.1%, 황산 마그네슘 0.05%, 염화나트륨 0.2%, 탄산칼슘 0.3%, 황산철 20㎎, 염화망간 10㎎, 황산아연 10㎎, 염화코발트 5㎎)가 들어 있는 5ℓ 삼각플라스크에 접종한 후, 27℃에서 5일 동안 진탕배양하였다.

[실시예 3]

[트리코더몰의 분리 및 정제]

상기 실시예 2로부터 얻은 배양액 3ℓ를 7,000 rpm 으로 15분간 원심분리하여 균체를 제거하고, 상층액을 미리 활성화시킨 흡착 크로마토그래피용 폴리스티렌 비드(bead)에 흡착시켰다.

이를 증류수 3ℓ로 세척하고, 활성물질을 70% 메탄올 수용액 (2ℓ)과 100% 메탄올(3ℓ) 분획에서 얻어 감압농축시켰다.

120g의 실리카겔 60(Merk 230-400 메쉬)을 300㎖의 헥산 용액에 현탁시킨 후 칼럼(4.5×30㎝)에 충전하고 상기에서 얻은 농축액을 메틸렌 로라이드에 녹여 칼럼 상단에 로딩하였다.

헥산:에틸 아세테이트(100:0(v/v) 용액으로부터 점차적으로 에틸아세테이트의 비중을 높이면서 단계적으로 용출시켜 30㎖씩의 분획으로 수집하였다.

각 분획을 박층 크로마토그래피(TLC, 전개 용매는 에틸 아세테이트:헥산=6:4)로 분석하여 Rf치가 다른 두 가지 물질을 확인하고 이를 분리 정제하였다.

그중 Rf=0.33에 해당하는 화합물을 분리하여 구조를 확인한 결과, 트리코더몰로 확인되었다.

트리코더몰이 수율은 5.2㎎/ℓ 이었다.

[실시예 4]

[트리코더몰의 구조결정]

트리코더몰의 구조결정을 위해 다음과 같이 여러 가지 기기분석을 실시하였다.

(1) 자외선(UV)-가시광선(Visible) 흡광도 분석

최종 정제된 활성물질 0.1㎎을 100% 메탄올 2㎖에 녹여서 자외선-가시광선 분공기(Shimazu사, UV-265)를 이용하여 흡수파장을 분석하였으며, 206nm에서 흡수피크가 나타남을 확인하였다.

(2) 분자량 분석

VG70-VSEQ 질량분석기 (Vacuum Generator, 영국)를 이용하여 HREI(High-Resolution Electron Impaction)-MS 방법으로 분자량을 측정한 결과, 250.1572에서 [M]+ 이온분자 피크가 나타났다. 상기 측정치와 수학적 계산 방법에 의한 분자량 250.1582에 의해 물질의 분자식이 $C_{15}H_{22}O_3$임을 추정할 수 있었다.

(3) 핵자기공명(NMR) 분석

활성물질을 완전히 건조시켜 $CDCl_3$ 0.5㎖에 녹인 후 직경 5mm 튜브에 넣어 브룩커 (Bruker) AM-300 기종으

로 NMR 분석을 수행하였다.

^{1}H-NMR 은 300.13 MHz 로, ^{13}C-NMR 은 75.47 MHz 로 측정하였으며, ^{1}H-스펙트럼(제1도) 및 ^{13}C-스펙트럼을 해석한 결과, 활성물질의 분자구조가 상기 구조식 (II) 의 트리코더몰과 같음을 확인할 수 있었다.

[실시예 5]

[KRIBB-BP003 의 화학적 합성방법]

잘 건조된 2경 플라스크에 마그네틱 바를 넣고 격막(septum)으로 잘 막은 다음 질소 가스를 불어 넣은 풍선을 그 위에 꽂아 산소와의 접촉을 막았고, 얼음중탕으로 0℃를 계속 유지하였다.

정제한 테트라하이드로푸란(THF) 15㎖에 60㎎의 트리코더몰 (0.24mmol)을 녹여 플라스크에 담고, 미네랄 오일에 산포되어 있는 수소화 나트륨 (sodium hydride)을 반응 물질의 2배 정도 과량 (약 0.5mmol) 으로 첨가하여 7분간 잘 저었다.

상기 반응물에 요오드화메틸(0.5mmol)를 주사기로 조심스럽게 적가하였다.

1시간 후 반응이 완결되면, 염화암모늄과 물을 첨가하여 반응을 중지시키고, 에틸 아세테이트를 첨가하여 물층과 유기층의로 분배한 후, 분액 깔대기를 이용하여 유기층을 모았다.

유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고 진공하에서 유기용매를 제거한 다음, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피로 정제하여 KRIBB-BP003 0.038 g을 얻었다(수율:60%).

[실시예 6]

[KRIBB-BP003의 구조결정]

KRIBB-BP003의 구조결정을 위해 다음과 같이 여러 가지 기기분석을 실시하였다.

(1) 자외선-가시광선 흡광도 분석

최종 정제된 활성물질 0.1㎎을 100% 메탄올 2㎖에 녹여서 자외선-가시광선 분광기(Shimazu 사, UV-265)를 이용하여 흡수파장을 분석하였으며, 206nm에서 흡수피크가 나타남을 확인하였다(제2 도).

(2) 분자량 분석

VG70-VSEQ 질량분석기(Vacuum Generator, 영국)를 이용하여 HREI 방법으로 분자량을 측정한 결과, 264.1714에서 $[M]^{+}$이온분자 피크가 나타났으므로(제3 도), 상기 측정치와 수학적 계산 방법에 의한 분자량 264.1623 에 의해 물질의 분자식이 $C_{16}H_{24}O_3$ 임을 추정할 수 있었다.

(3) 헥자기공명(NMR) 분석

활성물질을 완전히 건조시켜 $CDCl_3$ 0.5㎖에 녹인 후 직경 5mm 튜브에 넣어 브룩커(Bruker) AM-300 기종으로 NMR 분석을 하였다. ^{1}H-NMR 은 300.13MHz로 ^{13}C-NMR은 75.47 MHz로 측정하였으며, 1H-스펙트럼(제4 도) 및 ^{13}C-스펙트럼을 해석한 결과, 활성물질의 분자구조가 상기 구조식(I)와 같음을 알 수 있었다.

[실시예 7]

[KRIBB-BP003 의 항암활성 검정]

항암활성의 검정은 사람의 종양 세포주인 A549(폐암 세포주), SKMEL-2(피부암 세포주), HCT-15(결장암 세포주), SKOV-3(자궁암 세포주), XF-498(뇌암 세포주) 등을 10% 우 혈청 알부민(FBS)이 포함된 RPMI 1640 배지 (L-글루타민은 포함되고 중탄산나트륨은 들어 있지 않음. Gibco Cat. No. 31800)를 사용하여 37℃, 5% CO_2 배양기에서 배양하였으며 계대는 1주일에 2회 실시하였다. 0.25% 트립신 및 3mM CDTA(1,2-cyclohexane diamine tetraacetic acid)를 인산염 완충용액(PBS)에 녹인 용액을 사용하여 세포들을 부착면으로부터 분리하였다.

96 웰(well) 플레이트(Nunc) 의 각 웰에 5×10^{3}내지 2×10^{4}개의 세포를 가하여 37℃, 5% CO_2 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. KRIBB-BP003 은 소량의 디메틸설폭사이드(DMSO)에 녹인 후 원하는 농도까지 실험용 배지로 희석하여 최종 DMSO 농도가 0.5% 이하가 되도록 하였다.

이것을 0.22㎛ 한외여과막으로 여과한 후 각 농도 단계별로 희석하였다.

96 웰 플레이트에서 24시간 동안 배양시킨 각 세포배양액으로부터 배지를 모두 제거한 후, 각 농도로 제조한 KRIBB-BP003을 각 웰에 200㎕씩 가하여 48시간 동안 배양하였다.

KRIBB-BP003을 가한 시점에 Tz(time zero) 플레이트를 수집하였다.

Tz 플레이트 및 배양이 끝난 각 플레이트는 설포로다민(sulforhodamine) B(SRB) 분석방법(Skehan, P., et al., J. Natl. Cancer Inst., 82, 1107-1112(1990))에 준하여, 트리클로로아세트산(TCA)에 의한 세포고정, 0.4% SRB 용액을 이용한 염색, 1% 아세트산 세척 후 10mM 트리스 용액으로 염료를 추출하여 마이크로플레이트 리더(microplate reader, Dynatech Model MR 700)로 520nm에서 OD 값을 측정하였다.

각종 암세포에 대한 ED_{50}은 다음과 같이 계산하였다.

약물을 가하여 배양을 시작하는 시간에 세포를 수집하여 SRB 단백질의 양을 측정함으로써 살아 있는 세포의 수를 측정하여 Tz로 하였고, KRIBB-BP003을 처리하지 않고 배양한 웰의 OD 값을 대조값 (C)이라 하였다.

KRIBB-BP003을 처리하고 배양한 웰의 OD 값을 약물 처리된 시험값 (T)라 하였다.

Tz, C 및 T로부터 성장 자극 (growth stimulation), 순 성장 억제(net growth inhibition) 및 순 살상 (net killing) 등의 KRIBB-BP003 의 효과를 판단하였다.

T≥Tz 인 경우 그 세포 반응 함수 (cellular response function) 는 100×(T-Tz)/(C-Tz) 이며, T≤Tz 일 경우에는 100×(T-TZ)/Tz 로 계산하였다.

대조용 시료로는 시스-백금(cis-platinum)을 사용하였으며, KRIBB-BP003 의 ED_{50}은 하기 표 2에 나타낸 바와 같다.

[표 2]

KRIBB-BP003의 항암 활성도(대조군에 대한 순성장 %)

농도(㎍/㎖)	A549	SKOV-3	SKMEL-2	XF498	HCT15
0.313	94.0627	88.5052	77.7193	94.6458	79.1017
0.625	63.3230	69.7000	61.9379	75.1442	40.3496
1.25	30.3807	46.0550	33.6234	56.1214	13.3246
2.5	0.8858	23.2670	7.0496	29.4809	6.2582
5.0	-24.0598	9.8059	-15.9527	5.0169	-23.9201
10.0	-36.2184	5.9743	-28.6006	-17.5633	-43.1335
ED_{50}	0.8469	1.1206	0.7887	1.3766	0.5672

*** 상기에서 "-"는 시료에 의해 암세포의 숫자가 대조군보다 더 줄어든 상태를 의미한다.**

[실시예 8]

[KRIBB-BP003 의 항진균 활성 검정]

KRIBB-BP003의 항진균 활성은 효모형태와 위상균사형태의 효모류 6종을 대상으로 2배 희석법을 이용하여 확인하였다.

먼저, 각종 효모류들을 YEPD 배지 (효모 추출물 0.3%, 맥아 추출물 0.3%, 펩톤 0.5%, 포도당 1%)를 이용하여 30℃에서 24시간 동안 액체배양하고 5㎖의 증류수를 첨가하여 10 CFU/㎖ 농도로 조절한 후 접종균액으로 사용하였다.

일정 농도로 조절한 접종균액을 최종농도 100 내지 0.195㎎/㎖ 의 KRIBB-BP003을 포함하는 사보로드 한천 배지 (Sabouraud's agar medium; 네오펩톤(Neopeptone, Difco) 1%, 포도당 2%, 한천 1.5%, pH 6.8~7.0) 및 이글 최소 필수 배지 (Eagle's minimal esssential medium; EMEM 배지 17.5㎖ 송아지 혈청 5㎖, 탄산나트륨 10㎖, 한천 17.5㎖)에 일정량 접종하고 30℃에서 18 내지 20 시간 동안 배양한 후, 육안으로 관찰하여 균의 생육이 억제된 농도를 최소 발육 저지 농도 (MIC) 로 결정하였다.

상기 실험에서, 사보로드 한천 배지는 6종의 시험 균주들을 효모 형태로 배양하기 위해 사용된 것이고, 이글 최소 필수 배지는 칸디다 균주를 이상균사 형태로 배양하기 위해 사용된 것이다.

KRIBB-BP003 의 효모류에 대한 최소 발육 저지 농도 (MIC) 측정 결과는 하기 표 3과 같다.

[표 3]

KRIBB-BP003의 최소 발육 저지 농도(㎍/㎖)

균 주 명	균의 형태	
	효모형태	위상균사형태
칸디다 알비칸스 ATCC 10231 (*Candida albicans*)	100>	100
칸디다 루시타니애 ATCC 42720 (*Candida lusitaniae*)	100>	25
칸디다 크루세이 ATCC 6258 (*Candida krusei*)	100>	25
칸디다 트로피칼리스 ATCC 13803 (*Candida tropicalis*)	100>	100
크립토코커스 네오포만스 ATCC 36556 (*Cryptococcus neoformans*)	100>	ND
사카로마이세스 세레비지애 NRRL Y-139 (*Sacharomyces cerevisiae*)	100>	ND

* ND: 측정하지 않음

상기 표 3에서 볼 수 있는 바와 같이 KRIBB-BP003 은 효모 형태의 균주에 대해서는 항진균 활성을 나타내지 않았고, 위상균사 형태의 균주에 대해서만 항진균 활성을 나타내었다.

[조제예]

[KRIBB-BP003을 포함하는 약학적 제제의 제조]

(1) 캅셀제의 제조

하기 성분들을 포함하는 약학적 조성물을 이용하여 경질 젤라틴 캅셀을 제조하였다.

	양(㎎/캅셀)
활성 성분(KRIBB-BP003)	10
건조 전분	490
총량	500

상기 성분들을 완전히 혼합하여 총 500㎎의 양으로 경질 젤라틴 캅셀에 충전시켰다.

(2) 정제의 제조

활성성분 10㎎을 각각 함유하는 정제를 하기와 같이 제조하였다:

	양(㎎/정)
활성 성분(KRIBB-BP003)	10
건조 전분	190
미세결정성 셀룰로즈	150
폴리비닐피롤리돈	5
나트륨 카복시 메틸 전분	135
스테아르산 마그네슘	5
활석	5
총량	500

활성성분, 전분 및 셀롤로즈를 45호 메쉬 시이브를 통과시키고 완전히 혼합한다. 폴리비닐피롤리돈을 함유하는 수성용액을 수득된 분말과 혼합하여 14호 메쉬 시이브를 통과시켜 과립으로 제조하였다. 수득된 과립을 50℃에서 건조시키고, 18호 메쉬 시이브를 통과시켜 정립하였다. 미리 60호 메쉬 시이브를 통과시킨 나트륨 카복시메틸 전분, 스테아르산 마그네슘 및 활석을 과립에 첨가하고 혼합한 후, 통상의 방법으로 타정하여 중량 500㎎인 정제를 수득하였다.

(3) 에어로졸의 제조

하기의 성분을 포함하는 에어로졸 용액을 제조하였다:

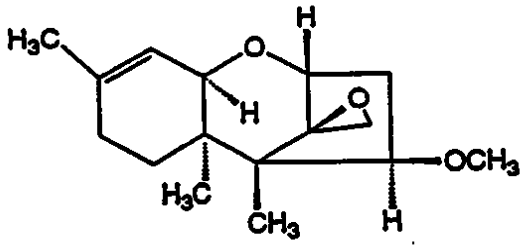
	1관(100㎖중)
활성 성분(KRIBB-BP003)	300 ㎎
에탄올	적량(약 30g)
프로펠란트 22(클로로디플루오로메탄)	70 ㎖
향료	적량
총량	100.00 g

활성 화합물을 에탄올 및 향료와 혼합하고 혼합물을 일부의 프로펠란트 22에 가한 다음, -30℃ 로 냉각시켜 충진 용기로 옮겼다. 이이서, 필요량을 스테인레스강 용기로 옮기고, 프로펠란트의 나머지량으로 희석한 다음 밸브부를 용기에 장착하였다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

하기 구조식 (I)의 화합물 KRIBB-BP003:



(I)

청구항 2

제1항에 있어서, 트리코더몰(trichodermol)을 수소화나트륨 존재하에 요오드화 메틸과 반응시켜 제조된 것임을 특징으로 하는 화합물.

청구항 3

글리오클라디움 비렌스(Gliocladium virens) FM-F-1127(KCTC 86609)의 배양액을 원심분리하여 상층액을 얻고, 이 상층액을 흡착 크로마토그래피 및 실리카 겔 칼럼 트로마토그래피에 의해 정제하는 단계를 포함하는, 트리코더몰의 제조 방법.

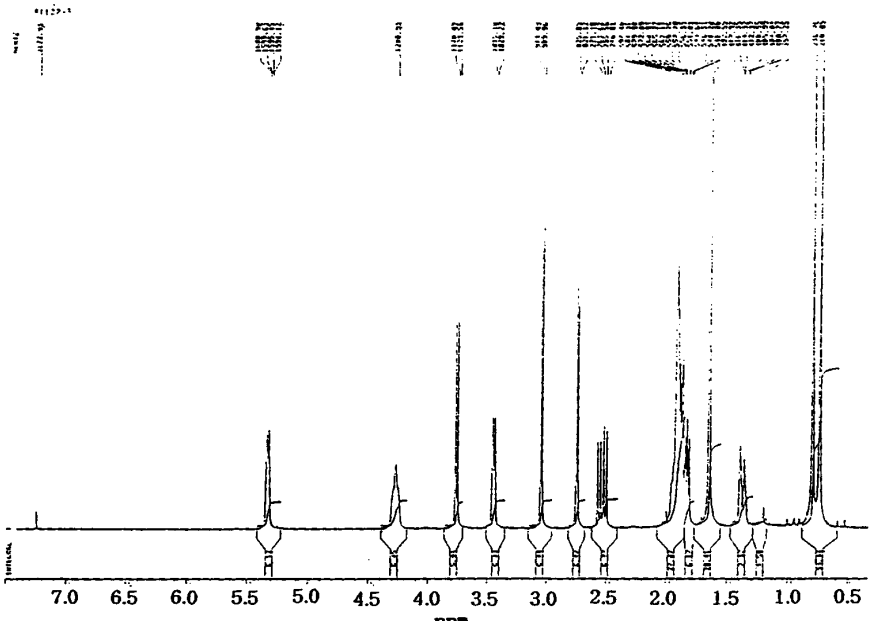
청구항 4

제1항의 KRIBB-BP003를 활성성분으로서 함유하는 항암제조성물.

도면

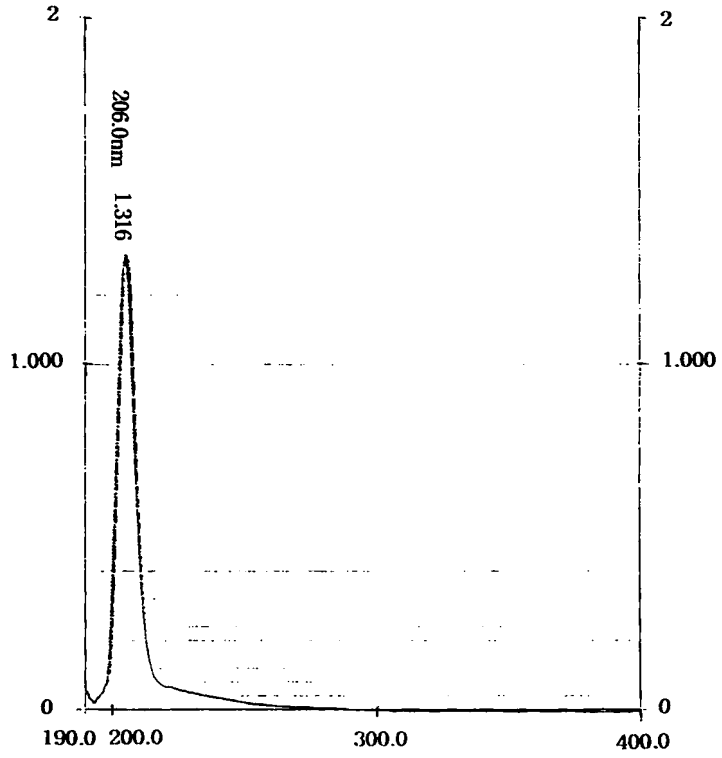
도면1

트리코더몰의 ^{1}H-NMR 스펙트럼 (300 MHz, $CDCl_3$)



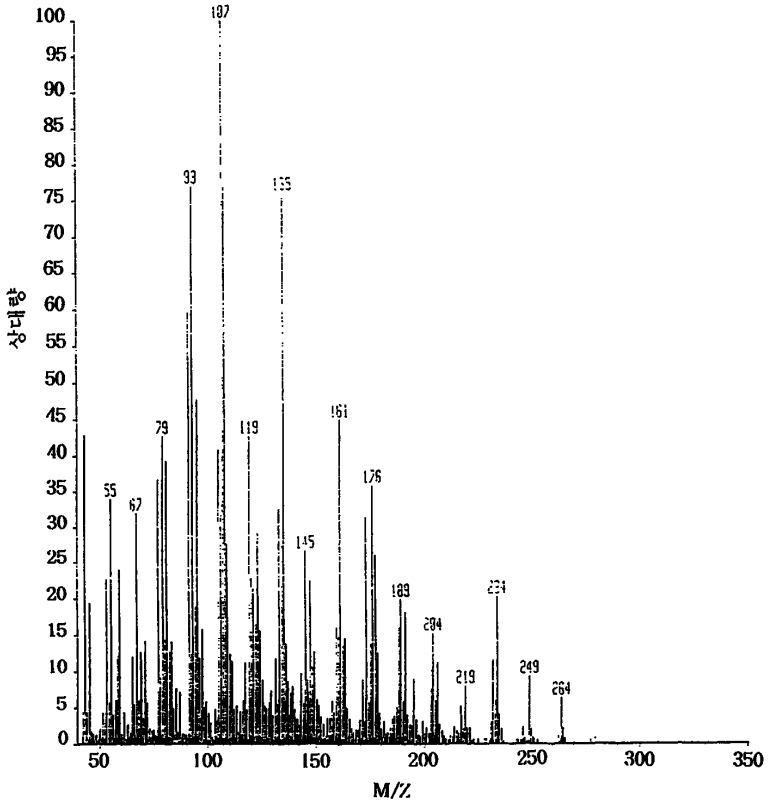
도면2

KRIBB-BP003 의 UV VIS 흡광 스펙트럼



도면3

KRIBB-BP003 의 질량분석 스펙트럼



도면4

KRIBB-BP003 의 ^{1}H-NMR 스펙트럼(300 MHz, $CDCl_3$)

