(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0171532
(43) 공개일자 2023년12월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 307/93 (2006.01) *A23L 33/10* (2022.01)
A61K 31/365 (2006.01) *A61K 36/282* (2006.01)
A61K 8/49 (2006.01) *A61P 25/00* (2006.01)
A61P 29/00 (2023.01) *A61P 39/06* (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 307/93 (2013.01)
A23L 33/10 (2022.01)
(21) 출원번호 10-2022-0071677
(22) 출원일자 2022년06월13일
심사청구일자 2022년06월13일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
장대식
서울특별시 강남구 광평로10길 50, 109동 104호(일원동, 청솔빌리지)
오명숙
서울특별시 강남구 삼성로 151 1동 305호 (대치동, 선경아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
위병갑

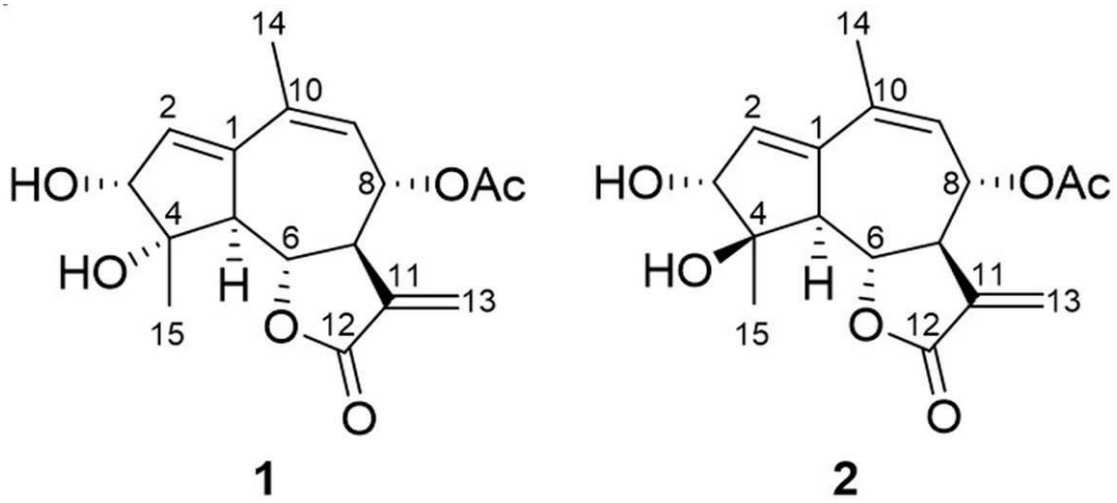
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **한인진 유래 구아이아놀리드계 세스퀴터핀 화합물 및 이의 용도**

(57) 요 약

본 발명은 한인진으로부터 분리된 신규한 구아이아놀리드계 세스퀴터핀(guaianolide-type sesquiterpenes) 화합물 및 이의 용도에 관한 것으로, 본 발명에 따른 이와요모긴 A(iwayomogin A) 및 이와요모긴 B(iwayomogin B)는, 미세아교세포에서 NO 생산 및 전염증성 사이토카인(TNF-α 및 IL-6) 수준을 억제하는 효과가 있으므로, 염증성 질환, 특히, 신경 염증의 예방, 개선 및 치료 용도로 유용하게 활용할 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 31/365 (2013.01)
A61K 36/282 (2013.01)
A61K 8/4973 (2013.01)
A61P 25/00 (2018.01)
A61P 29/00 (2023.02)
A61P 39/06 (2018.01)
A61Q 19/00 (2013.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2250/30 (2013.01)
(72) 발명자
주인경
서울특별시 동대문구 회기로25가길 22-16 401호

손소리
전라북도 전주시 덕진구 벚꽃2길 3-16

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711169323
과제번호	2019R1A2C1083945
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)
연구과제명	국내에서 생산되는 몇 가지 대표적인 약용식물들에 대한 천연물 화학적 측면에서의 종합적인 연구
기 여 율	1/1
과제수행기관명	경희대학교
연구기간	2022.03.01 ~ 2023.02.28

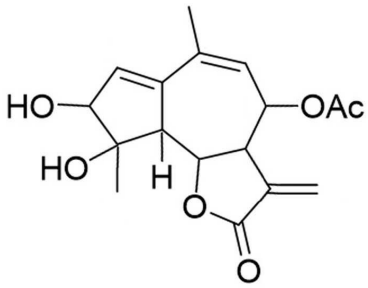
명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀(guaianolide sesquiterpenes) 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 1]



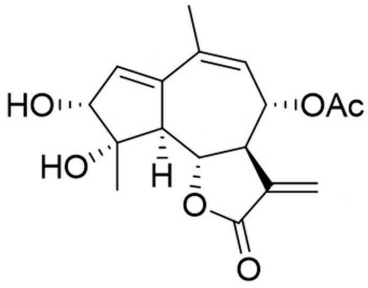
.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 화합물은 하기 화학식 2로 표시되는 입체구조를 갖는 이와요모긴 A(iwayomogin A)인 것인, 구아이아놀리드 세스퀴터핀 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 2]



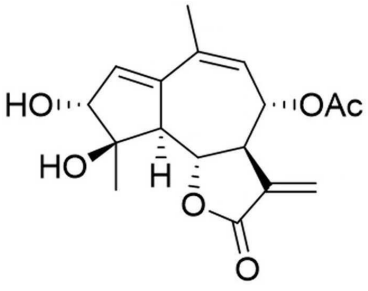
.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 화합물은 하기 화학식 3으로 표시되는 입체구조를 갖는 이와요모긴 B(iwayomogin B)인 것인, 구아이아놀리드 세스퀴터핀 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 3]



.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 화합물은 한인진(Artemisiae Iwayomogii Herba)으로부터 분리된 것인, 구아이아놀리드 세스퀴터핀 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 화합물은 항염증 효과를 갖는 것인, 구아이아놀리드 세스퀴터핀 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 화합물은 산화질소(NO) 생산 또는 분비 및 iNOS 활성을 억제하는 효과를 갖는 것인, 구아이아놀리드 세스퀴터핀 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 7

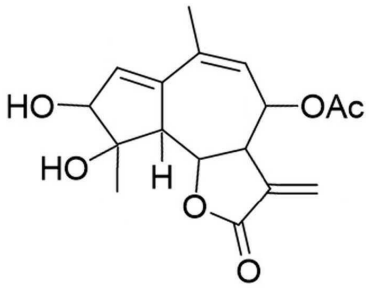
제1항에 있어서,

상기 화합물은 전염증성 사이토카인의 발현 또는 생성을 억제하는 효과를 갖는 것인, 구아이아놀리드 세스퀴터핀 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 8

하기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀(guaianolide sesquiterpenes) 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물:

[화학식 1]



.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 염증성 질환은 신경 염증, 관절염, 비염, 간염, 각막염, 위염, 장염, 신장염, 기관지염, 흉막염, 복막염, 척추염, 췌장염, 요도염, 방광염, 화상 염증, 피부염, 알레르기, 아토피, 치주염, 치은염, 중이염, 인후염, 관절염, 류마티스 관절염, 건염, 건초염 및 급성 내지 만성 염증 질환으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것인, 약학적 조성물.

청구항 10

제8항에 있어서,

상기 염증성 질환은 신경 염증인 것인, 약학적 조성물.

청구항 11

제8항에 있어서,

산화질소(NO) 생산 또는 분비 및 iNOS 활성을 억제하는, 약학적 조성물.

청구항 12

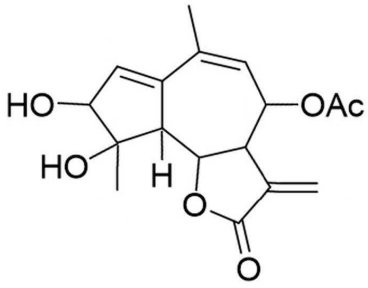
제8항에 있어서,

전염증성 사이토카인의 발현 또는 생성을 억제하는, 약학적 조성물.

청구항 13

하기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀(guaianolide sesquiterpenes) 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물:

[화학식 1]

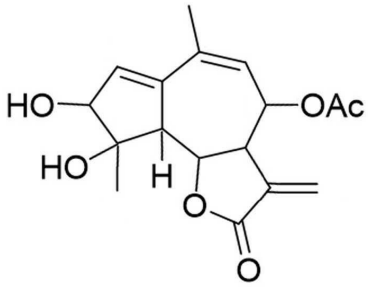


.

청구항 14

하기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀(guaianolide sesquiterpenes) 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 화장품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 화장료 조성물:

[화학식 1]

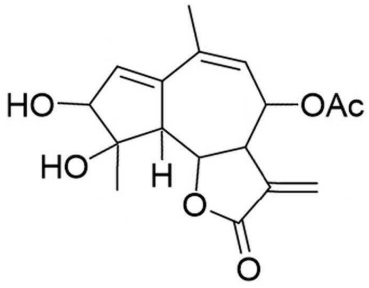


.

청구항 15

하기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀(guaianolide sesquiterpenes) 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 항염증용 조성물:

[화학식 1]



발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 한인진으로부터 분리된 신규한 구아이아놀리드계 세스퀴터핀(guaianolide-type sesquiterpenes) 화합물 및 이를 포함하는 염증성 질환 예방, 개선 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 염증은 면역 세포에 의해 나타나는 해로운 병원체에 대한 복합적 반응이다. 면역 세포가 박테리아, 바이러스 또는 다양한 독성 물질을 포함한 병원체에 노출되면 활성화된 면역 세포는 면역 반응을 일으키는 많은 인자를 분비한다. 중추 신경계(CNS)에서 뇌 상주 면역 세포인 미세아교세포는 신경 손상을 유발하는 신경 염증의 병리학적 반응과 관련하여 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. "휴식" 상태에서 이러한 대식세포 유사 세포는 주변 환경을 모니터링한다. 그러나 미세아교세포가 지질다당류(LPS)와 같은 위협 요인을 감지하면 "활성화"되어 면역 반응을 유도한다. 기존 연구에 따르면, 내독소(endotoxin)로 자극되어 활성화된 미세아교세포는 종양 괴사 인자 알파(tumor necrosis factor alpha, TNF-α), 인터루킨 6(interleukin 6, IL-6), 산화질소(nitric oxide, NO)를 포함한 전-염증성 사이토카인 및 신호전달 분자 등 염증 유발 매개체를 과도하게 생성 및 방출하여, 결과적으로 염증 매개성 퇴행성 신경 질환을 유발하는 부정적인 영향을 미칠 수 있다.

[0003] NO는 L-아르기닌 및 보조인자와 함께 3가지 유형의 산화질소 합성효소에 의해 합성되며, 유도성 NOS(inducible NOS, iNOS)는 NO 생산 과정에서 중요한 역할을 한다. NOS의 동위효소(isozymes) 중 하나인 iNOS는 다양한 질병과 연관되어 있어, 이러한 질병들의 치료를 위해 iNOS 선택적 억제제를 표적으로 하는 연구가 많이 이루어지고 있다. TNF-α 및 IL-6과 같은 전염증성 사이토카인은 염증 진행 및 악화에 기여하는 것으로 알려져 있으며, TNF-α 및 IL-6의 발현 억제시 iNOS에 대한 상호작용 및 이에 따른 NO 생성의 조절과 관련되어 세포독성 사이토카인의 방출을 비롯한 전반적인 염증 과정의 중단을 유도하는 것으로 여겨지고 있다. 따라서, 현재까지 염증 경로에 관여하는 전염증 매개체를 조절할 수 있는 천연물은 신경염증에 대한 강력한 치료제 후보로 여겨지고 있다.

[0004] 한편, 쑥속(아르테미시아, *Artemisia*)은 약 500종을 포함하는 국화과(Compositae Family)에 속한 가장 큰 속 중 하나이며, 북반구, 특히 아시아, 북미 및 유럽에서 일반적으로 발견된다. 일반적으로 한방에서는 *Artemisia* 종을 박테리아, 진균, 바이러스 감염으로 인한 말라리아, 간염, 염증성 질환 치료에 사용하고 있다. 특히, 더위지기(*Artemisia iwayomogi* Kitamura)는 톱니 모양의 황록색 잎을 가진 다년생 초본으로, 한방에서 약용식물로 널리 사용되어 왔으며, 쿠마린, 페놀 화합물, 지방산, 이오논, 모노테르펜, 세스퀴테르펜, 디테르펜을 포함한 다양한 2차 대사산물이 발견 및 보고된 바 있다. 그러나 염증 매개 중추신경계 장애와 관련된 활성 화합물은 아직까지 *A. iwayomgi*에서 발견된 바 없다.

[0005] 이에, 본 발명자들은 더위지기 지상부로부터 신규한 구아이아놀리드계 세스퀴터핀 화합물을 분리 및 동정하였으며, 상기 화합물에 대하여 염증 유발 매개 인자에 대한 억제 효과가 있음을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 대한민국공개특허 제10-2021-0071678호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 신규한 구아이아놀리드 세스퀴터핀(guaianolide sesquiterpenes) 화합물을 제공하는 것이다.

[0008] 또한, 본 발명의 목적은 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 나아가, 본 발명의 목적은 염증성 질환의 예방 또는 개선용 식품 및 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

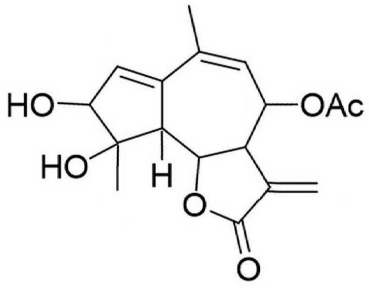
[0010] 더 나아가, 본 발명의 목적은 항염증용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기 과제를 해결하기 위하여,

[0012] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀(guaianolide sesquiterpenes) 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다:

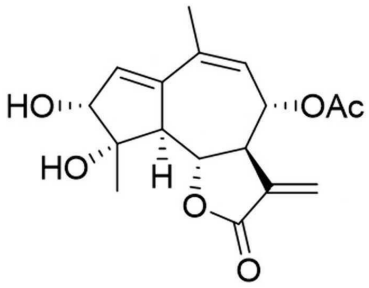
[0013] [화학식 1]

[0014] 

.

[0015] 일 구현예에 있어서, 상기 화합물은 하기 화학식 2로 표시되는 입체구조를 갖는 이와요모긴 A(iwayomogin A)일 수 있다:

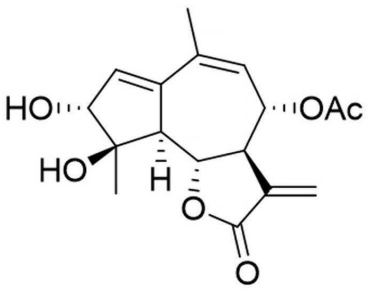
[0016] [화학식 2]

[0017] 

.

[0018] 일 구현예에 있어서, 상기 화합물은 하기 화학식 3으로 표시되는 입체구조를 갖는 이와요모긴 B(iwayomogin B)인 것일 수 있다:

[0019] [화학식 3]

[0020] 

.

[0021] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀 화합물을 유효성분으로 포함하는 염증성

질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0022] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀 화합물을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0023] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀 화합물을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공한다.

[0024] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀 화합물을 유효성분으로 포함하는 항염증용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0025] 본 발명은 한인진으로부터 신규한 구아이아놀리드계 세스퀴터핀(guaianolide-type sesquiterpenes) 화합물로서, 서로 입체이성질체 구조에 해당되는 이와요모긴 A(iwayomogin A) 및 이와요모긴 B(iwayomogin B)를 분리 및 동정하였으며, 본 발명의 상기 화합물은 iNOS 효소와의 직접 결합을 통해 iNOS 활성을 억제함으로써 미세아교세포에서 NO 생산을 억제할뿐만 아니라, 전염증성 사이토카인(TNF-α 및 IL-6) 수준을 억제하는 효과를 나타내므로, 이를 염증성 질환, 특히, 신경 염증의 예방, 개선 및 치료 용도로 유용하게 활용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0026] 도 1은 본 발명의 한인진으로부터 분리된 화합물 1(이와요모긴 A) 및 화합물 2(이와요모긴 B)의 화학구조를 나타낸 도이다.

도 2는 화합물 1 및 화합물 2의 COSY(붉은선 ― 표시) 및 HMBC(화살표 → 표시) NMR 스펙트럼에서 관찰된 주요 상관관계를 나타낸 도이다.

도 3은 화합물 1(compound 1, A) 및 화합물 2(compound 2, B)에 대한 주요 NOESY 상관관계와 실험적(experimental) 및 이론적(calculated) ECD 스펙트럼을 나타낸 그래프이다.

도 4는 화합물 1(A) 및 화합물 2(B)과 iNOS간의 수소 결합 상호작용에 대하여 가장 낮은 에너지 형태(RMSD <1.0)에서 얻은 분자 도킹 시뮬레이션의 3D 및 2D 다이어그램이다(탄소:노란색/녹색, 질소: 파란색, 산소: 빨간색, 수소결합 상호작용: 분홍색 대시로 표기).

도 5는 LPS로 자극된 BV-2 세포에서 본 발명의 화합물 1(compound 1) 및 화합물 2(compound 2)의 염증성 사이토카인 방출에 대한 억제 효과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

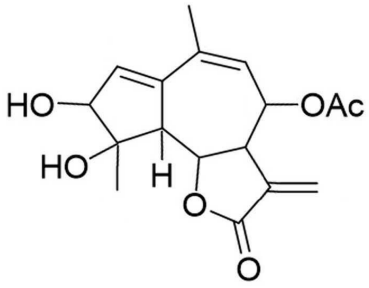
[0027] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0028] 또한, 본 명세서에서 사용되는 용어(terminology)들은 본 발명의 바람직한 실시예를 적절히 표현하기 위해 사용된 용어들로서, 이는 사용자, 운용자의 의도 또는 본 발명이 속하는 분야의 관례 등에 따라 달라질 수 있다. 따라서, 본 용어들에 대한 정의는 본 명세서 전반에 걸친 내용을 토대로 내려져야 할 것이다. 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[0029] 본 명세서 전체에 걸쳐, 특정 물질의 농도를 나타내기 위하여 사용되는 '%'는 별도의 언급이 없는 경우, 고체/고체는 (w/w) %, 고체/액체는 (w/v) %, 그리고 액체/액체는 (v/v) %이다.

[0031] 일 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀(guaianolide sesquiterpenes) 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염에 관한 것이다:

[0032] [화학식 1]

[0033] 

.

[0034] 일 구현예에서, 상기 약학적으로 허용 가능한 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 본 발명에서 사용되는 용어, "약학적으로 허용가능한"이란 상기 화합물 또는 이의 산 부가염에 노출되는 세포나 인간에게 독성이 없는 특성을 나타내는 것을 의미한다. 상기 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, 디아이드로겐 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, 하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 또는 만델레이트를 포함한다.

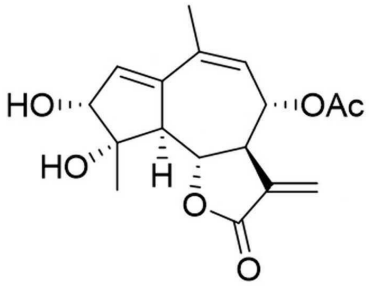
[0035] 본 발명에 따른 산 부가염은 통상의 방법, 예를 들면, 상기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀 화합물을 과량의 산 수용액 중에 용해시키고, 이 염을 수혼화성 유기 용매, 예를 들면 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조할 수 있다. 또한, 이 혼합물에서 용매나 과량의 산을 증발시켜서 건조하거나 또는 석출된 염을 흡입 여과시켜 제조할 수도 있다.

[0036] 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. 이 때, 금속염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다. 또한, 이에 대응하는 은 염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 음염(예, 질산은)과 반응시켜 얻는다.

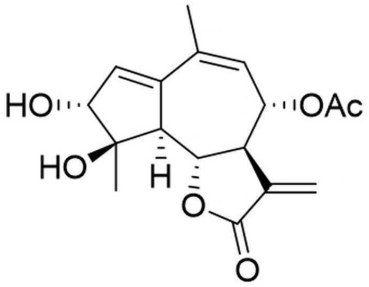
[0037] 일 구현예에서, 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀 화합물은 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 뿐만 아니라, 이로부터 제조될 수 있는 가능한 용매화물, 수화물, 라세미체 또는 프로드러그(prodrug)를 모두 포함하는 것일 수 있다. 특히, 상기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀 화합물은 모든 비대칭탄소에서의 이성질체를 포함할 수 있다. 아울러, 본 발명의 화합물이 그 치환기에 비대칭 탄소중심을 가질 경우 R 또는 S 이성질체, 라세미체, 부분입체, 이성질체 혼합물 및 개개 부분입체 이성질체로서 존재할 수 있으며, 이들 모든 이성질체 및 이들의 혼합물은 본 발명의 범주에 포함된다.

[0038] 일 구현예에서, 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화학식 2 또는 화학식 3으로 표시되는 입체구조를 갖는 것일 수 있으며, 하기 화학식 2로 표시되는 입체구조를 갖는 화합물은 이와요모긴 A(iwayomogin A), 하기 화학식 3으로 표시되는 입체구조를 갖는 화합물은 이와요모긴 B(iwayomogin B)로 각각 명명되는 것일 수 있다:

[0039] [화학식 2]

[0040]  ; 및

[0041] [화학식 3]

[0042]  .

[0043] 본 발명의 일실시예에서는 상기 화학식 2 및 화학식 3으로 각각 표시되는 화합물에 대하여 HR-DART 질량분석기를 사용하여 분석한 결과, 동일한 분자량과 분자식을 갖는 것으로 확인하였다. 또한, 핵자기공명(NMR) 분석을 통하여 1H NMR, 13C NMR, COSY(^{1}H-^{1}H correlation spectroscopy), HSQC(^{1}H-^{13}C heteronuclear single quantum coherence), HMBC(^{1}H-^{13}C heteronuclear multiple bond correlation), NOESY(nuclear overhauser enhancement spectroscopy) 스펙트럼을 얻고, 각 화합물의 분자구조를 결정한 결과, 5-7-5 고리가 차례로 연결된 구조(5/7/5 삼환계)의 구아이아놀리드 세스퀴터핀 골격의 화합물들로 동정하였다. 마지막으로, ECD 스펙트럼 및 TDDFT 방법을 통해 절대 배열을 확인한 결과, 상기 화학식 2로 표시되는 화합물(화합물 1, compound 1)은 (3*R*,4*S*,5*S*,6*S*,7*R*,8*S*)-8α-아세톡시-3α,4α-디히드록시-구아이아-1,9,11(13)-트리엔-12,6α-올라이드 ((3*R*,4*S*,5*S*,6*S*,7*R*,8*S*)-8α-acetoxy-3α,4α-dihydroxy-guaia-1,9,11(13)-trien-12,6α-olide)로 결정 및 이와 요모긴 A(iwayomogin A)로 명명하였고, 상기 화학식 3으로 표시되는 화합물(화합물 2, compound 2)은 (3*R*,4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,8*S*)-8α-아세톡시-3α,4β-디히드록시-구아이아-1,9,11(13)-트리엔-12,6α-올라이드 ((3*R*,4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,8*S*)-8α-acetoxy-3α,4β-dihydroxy-guaia-1,9,11(13)-trien-12,6α-olide)로 결정 및 이와 요모긴 B(iwayomogin B)로 명명하였으며, 상기 두 화합물은 4번 탄소의 입체 배위가 다른 거울상 이성질체임을 확인하였다.

[0044] 일 구현예에서, 본 발명의 상기 화합물은 합성에 의해 제조되는 것일 수도 있으며, 바람직하게는, 한인진으로부터 추출, 분리 및 정제되어 수득되는 것일 수 있다.

[0045] 본 발명에서, "한인진(haninjin, 韓茵蔯)"은 생약명으로 "Artemisiae Iwayomogii Herba"으로 표기되며, 더위지기(deowijigi, *Artemisia iwayomogi* Kitamura)의 지상부(arial part)를 의미한다.

[0046] 일 구현예에서, 한인진으로부터 본 발명의 상기 화합물을 분리하는 방법은 (a) 한인진 추출물을 제조하는 단계; (b) 한인진 추출물을 에틸아세테이트(EtOAc) 및 물로 용매분획하여 EtOAc 분획물을 얻는 단계; 및 (c) 상기 EtOAc 분획물로부터 컬럼 크로마토그래피(column chromatography)를 통해 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 정제하는 단계;를 포함하는 것일 수 있다.

[0047] 상기 (a) 단계에서, "추출물(extract)"은 한인진을 적절한 추출용매로 추출하고 용매를 증발시켜 농축한 제제를 의미하는 것으로, 이에 제한되지는 않으나, 추출처리에 의해 얻어지는 추출액, 추출액의 희석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 이들의 조정제물 또는 정제물일 수 있다. 상기 한인진 추출물은 통상의 기술분야에 공지된 일반적인 추출방법을 이용하여 제조할 수 있다. 상기 추출방법으로는, 이에 제한되지는 않으나, 열수추출법, 냉침추출법, 환류냉각추출법, 용매추출법, 수증기증류법, 초음파추출법, 용출법, 압착법 등의 방법 중 어느 하나를 선택하여 사용할 수 있으나, 가장 바람직하게는 용매추출법일 수 있다. 본 발명의 추출물의 제조방법에는 제한이 없으며, 공지되어 있는 어떠한 방법도 이용될 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 조성

물에 포함되는 추출물은 상기한 용매추출법으로 추출된 1차 추출물을, 감압 증류 및 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말상태로 제조할 수 있다.

[0048] 상기 (a) 단계에서, 상기 한인진으로부터 추출물을 추출하기 위한 적절한 용매로는 약학적으로 허용되는 유기용매라면 어느 것을 사용해도 무방하며, 물 또는 유기용매를 사용할 수 있으며, 이에 제한되지는 않으나, 예를 들어, 정제수, 메탄올(methanol), 에탄올(ethanol), 프로판올(propanol), 이소프로판올(isopropanol), 부탄올(butanol) 등을 포함하는 탄소수 1 내지 4의 알코올, 아세톤(acetone), 에테르(ether), 벤젠(benzene), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 메틸렌클로라이드(methylene chloride), 헥산(hexane) 및 시클로헥산(cyclohexane) 등의 각종 용매를 단독으로 혹은 혼합하여 사용할 수 있다. 바람직하게는, 상기 추출에 사용하는 추출용매는 물 및 에탄올로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 용매를 사용하는 것일 수 있고, 더욱 바람직하게는 70 내지 100%(v/v) 에탄올 수용액, 보다 더 바람직하게는 85 내지 95% 에탄올 수용액을 이용하는 것일 수 있다.

[0049] 상기 (a) 단계에서, 상기 한인진 추출물을 제조하는 단계는, 한인진 건조물 중량 대비 추출용매를 8 내지 15배 부피량 혼합하여 1 내지 35℃에서 20 내지 52시간 동안 1 내지 3회 추출하는 것일 수 있다.

[0050] 상기 (c) 단계에서, 상기 컬럼 크로마토그래피는 오픈 컬럼 크로마토그래피(open column chromatography)를 의미하는 것일 수 있고, 이온교환수지, 세파덱스, 실리카겔 및 ODS로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 충진제를 이용하여 수행하는 것일 수 있고, 바람직하게는, 이온교환수지 컬럼 크로마토그래피, 세파덱스 컬럼 크로마토그래피 및 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 순차적으로 수행하는 것일 수 있다.

[0051] 본 발명에 따른 일 실시예에 있어서, 상기 (c) 단계는, (c-1) 이온교환수지가 충진된 컬럼 및 아세톤 및 물이 혼합된 용출용매를 이용하여 크로파토그래피를 통해 순차적으로 19개의 분획물을 얻는 단계; (c-2) 상기 분획물로부터 3번째 분획물을 세파덱스 겔이 충진된 컬럼 및 아세톤 및 물이 혼합된 용출용매를 이용하여 크로마토그래피를 통해 순차적으로 13개의 분획물을 얻는 단계; 및 (c-3) 실리카겔이 충진된 컬럼 및 n-헥산, 에틸아세테이트 및 메탄올이 혼합된 용출용매를 이용하여 크로마토그래피를 통해 순차적으로 분획하여, 화학식 1로 표시되는 화합물을 얻는 단계;를 포함하는 것일 수 있다.

[0052] 상기 (c-1) 단계에서, 상기 이온교환수지는 합성흡착수지로서 음이온수지, 예를 들어, Diaion HP-20 레진일 수 있고, 상기 용출용매는 아세톤 및 물을 30:70(v/v)에서부터 100:0(v/v)까지 비극성 용매인 아세톤의 혼합비율을 높여주는 용매 농도 구배(gradient)에 의해 용리하는 것일 수 있다.

[0053] 상기 (c-2) 단계에서, 상기 세파덱스 겔은 세파덱스 LH-20 겔일 수 있고, 상기 용출용매는 아세톤 및 물을 45:55(v/v)로 혼합한 용매로 용매농도구배 없이 용리하는 것일 수 있다.

[0054] 상기 (c-3) 단계에서, 상기 실리카겔은 230-400 메쉬(mesh)의 입자를 갖는 것일 수 있고, 상기 용출용매는 n-헥산, 에틸아세테이트 및 메탄올을 60:35:5(v/v)에서부터 0:95:5(v/v)까지 용매 농도 구배(gradient)에 의해 용리하는 것일 수 있다.

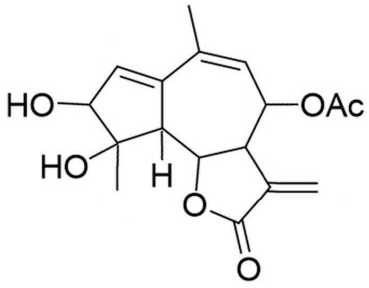
[0055] 일 구현예에서, 본 발명의 상기 화합물은 산화질소(NO) 생산 또는 분비를 억제할 수 있으며, iNOS의 단백질 또는 유전자의 발현, 생성 또는 활성을 억제할 수 있다.

[0056] 일 구현예에서, 본 발명의 상기 화합물은 iNOS 단백질과 직접 결합에 의하여 iNOS 단백질 도는 유전자의 발현, 생성 또는 활성을 억제하는 것일 수 있고, 이를 통해 NO 생산 또는 분비를 억제하는 것일 수 있다.

[0057] 일 구현예에서, 본 발명의 상기 화합물은 전염증성 사이토카인의 발현 또는 생성을 억제할 수 있으며, 특히, TNF-α 및 IL-6의 단백질 또는 유전자의 발현 또는 생성을 억제할 수 있다.

[0059] 일 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀(guaianolide sesquiterpenes) 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다:

[0060] [화학식 1]

[0061] 

.

[0062] 일 구현예에서 본 발명의 조성물은 산화질소(NO) 생산 또는 분비를 억제할 수 있으며, iNOS의 단백질 또는 유전자의 발현, 생성 또는 활성을 억제할 수 있다.

[0063] 일 구현예에서, 본 발명의 조성물은 전염증성 사이토카인의 발현 또는 생성을 억제할 수 있으며, 특히, TNF-α 및 IL-6의 단백질 또는 유전자의 발현 또는 생성을 억제할 수 있다.

[0064] 일 구현예에서, 상기 염증성 질환은 신경 염증, 관절염, 비염, 간염, 각막염, 위염, 장염, 신장염, 기관지염, 흉막염, 복막염, 척추염, 췌장염, 요도염, 방광염, 화상 염증, 피부염, 알레르기, 아토피, 치주염, 치은염, 중이염, 인후염, 관절염, 류마티스 관절염, 건염, 건초염 및 급성 내지 만성 염증 질환으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것일 수 있고, 바람직하게는 신경 염증일 수 있다.

[0065] 일 구현예에서, 상기 신경 염증은 염증 매개성 퇴행성 신경 질환을 포함하는 것일 수 있다. 상기 염증 매개성 퇴행성 신경질환은, 신경계의 염증에 의하여 발생하는 질환이라면 제한 없이 포함될 수 있으며, 퇴행성 뇌질환을 의미하는 것일 수 있고, 예컨대 치매(dementia), 알츠하이머 질환(Alzheimer's disease), 뇌졸중(stroke), 뇌경색(cerebral infarct), 머리외상(head trauma), 뇌동맥 경화증(cerebral arteriosclerosis), 및 파킨슨 질환(Parkinson's disease), 우울(depression) 및 불안(anxiety)으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0066] 일 구현예에서, 본 발명의 조성물은 상기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀 화합물을 0.01 내지 100 μM의 농도로 포함할 수 있으며, 바람직하게는, 0.05 내지 50μM, 보다 바람직하게는 0.1 내지 20μM의 농도로 포함할 수 있고, 5 내지 15μM의 농도로 포함하는 것이 더욱 바람직하다.

[0067] 본 발명에서, 용어 "예방"이란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 염증성 질환의 발생, 확산 및 재발을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미하고, "치료"란 본 발명의 조성물의 투여로 염증성 질환의 증세를 호전시키거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다. 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면, 대한의학협회 등에서 제시된 자료를 참조하여 본원의 조성물이 효과가 있는 질환의 정확한 기준을 알고, 개선, 향상 및 치료된 정도를 판단할 수 있을 것이다.

[0068] 본 발명에서, 용어 "예방"이란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 염증성 질환의 발생, 확산 및 재발을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미하고, "치료"란 본 발명의 조성물의 투여로 염증성 질환의 증세를 호전시키거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다. 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면, 대한의학협회 등에서 제시된 자료를 참조하여 본원의 조성물이 효과가 있는 질환의 정확한 기준을 알고, 개선, 향상 및 치료된 정도를 판단할 수 있을 것이다.

[0069] 본 발명에서 유효성분과 결합하여 사용된 "치료학적으로 유효한 양"이란 용어는 염증성 질환을 예방 또는 치료하는데 유효한 양을 의미하며, 본 발명의 조성물의 치료적으로 유효한 양은 여러 요소, 예를 들면 투여방법, 목적부위, 환자의 상태 등에 따라 달라질 수 있다. 따라서, 인체에 사용 시 투여량은 안전성 및 효율성을 함께 고려하여 적정량으로 결정되어야 한다. 동물실험을 통해 결정한 유효량으로부터 인간에 사용되는 양을 추정하는 것도 가능하다. 유효한 양의 결정시 고려할 이러한 사항은, 예를 들면 Hardman and Limbird, eds., Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th ed.(2001), Pergamon Press; 및 E.W. Martin ed., Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed.(1990), Mack Publishing Co.에 기술되어있다.

[0070] 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에서 사용되는 용어, "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 건강상태, 염증성 질환의 종류, 염증성 질환의 발병 원인, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 배합 또는 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발

명의 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, 부작용없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0071] 본 발명의 약학적 조성물은 생물학적 제제에 통상적으로 사용되는 담체, 희석제, 부형제 또는 둘 이상의 이들의 조합을 포함할 수 있다. 상기 담체는 조성물을 생체 내 전달에 적합한 것이면 특별히 제한되지 않으며, 예를 들면, Merck Index, 13th ed., Merck & Co. Inc. 에 기재된 화합물, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 덱스트로스 용액, 말토 덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 이용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한, 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주이용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 더 나아가 당 분야의 적정한 방법으로 또는 Remington's Pharmaceutical Science(Mack Publishing Company, Easton PA, 18th, 1990)에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수 있다.

[0072] 일 구현예에서, 상기 약학적 조성물은 경구형 제형, 외용제, 좌제, 멸균 주사용액 및 분무제를 포함하는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 제형일 수 있으며, 경구형 또는 주사 제형이 더욱 바람직하다.

[0073] 본 발명에서 사용되는 용어, "투여"란, 임의의 적절한 방법으로 개체 또는 환자에게 소정의 물질을 제공하는 것을 의미하며, 목적하는 방법에 따라 비 경구 투여(예를 들어 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 주사 제형으로 적용)하거나 경구 투여할 수 있으며, 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설률 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다. 본 발명의 조성물의 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데, 통상적으로 사용되는 단순 희석제인 물, 액체 파라핀 이외에 다양한 부형제, 예컨대 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 함께 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제 등이 포함된다. 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, 피내주사제, 근육 주사제, 점적 주사제 등이다. 주사제는 생리식염액, 링겔액 등의 수성 용제, 식물유, 고급 지방산 에스테르(예, 올레인산에칠 등), 알코올류(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.

[0074] 본 발명에서 사용되는 용어, "개체"란, 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 질환들을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 기존의 치료제와 병행하여 투여될 수 있다.

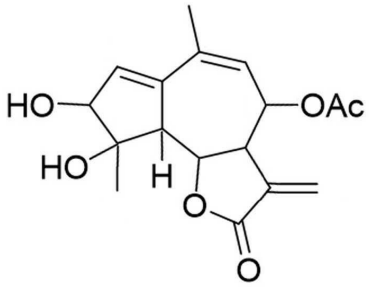
[0075] 본 발명의 약학적 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 첨가제를 더 포함할 수 있으며, 이때 약제학적으로 허용 가능한 첨가제로는 전분, 젤라틴화 전분, 미결정셀룰로오스, 유당, 포비돈, 콜로이달실리콘디옥사이드, 인산수소칼슘, 락토스, 만니톨, 엿, 아라비아고무, 전호화전분, 옥수수전분, 분말셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 오파드라이, 전분글리콜산나트륨, 카르나우바 납, 합성규산알루미늄, 스테아린산, 스테아린산마그네슘, 스테아린산알루미늄, 스테아린산칼슘, 백당, 덱스트로스, 소르비톨 및 탈크 등이 사용될 수 있다. 본 발명에 따른 약제학적으로 허용 가능한 첨가제는 상기 조성물에 대해 0.1 중량부 내지 90 중량부 포함되는 것이 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0076] 본 발명의 약학적 조성물은 또한 상기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀 화합물을 유효성분으로 포함하는 외용제의 제형으로 제공할 수 있다. 본 발명의 염증성 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 피부외용제로 사용하는 경우, 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 항산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제 (foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 유화제, 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제, 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 활성제, 친유성 활성제 또는 지질 소낭 등 피부 외용제에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 피부 과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다. 또한 상기 성분들은 피부 과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입될 수 있다.

[0077] 본 발명의 염증성 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물이 피부 외용제로 제공될 경우, 이에 제한되는 것은 아니나, 연고, 패취, 겔, 크림 또는 분무제 등의 제형일 수 있다.

[0079] 일 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀(guaianolide sesquiterpenes) 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물에 관한 것이다:

[0080] [화학식 1]



[0081] .

[0082] 본 발명의 식품 조성물은 유효성분인 상기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀 화합물을 함유하는 것 외에 통상의 식품 조성물과 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.

[0083] 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨,소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 향미제는 천연 향미제 (타우마틴), 스테비아 추출물 (예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제 (사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 본 발명의 식품 조성물은 상기 약학적 조성물과 동일한 방식으로 제제화되어 기능성 식품으로 이용하거나, 각종 식품에 첨가할 수 있다. 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 음료류, 육류, 초코렛, 식품류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 사탕류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 비타민 복합제 및 건강보조식품류 등이 있다.

[0084] 또한, 상기 식품 조성물은 유효성분인 화합물 외에 여러 가지 영양제, 비타민, 광물 (전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제 (치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 식품 조성물은 천연 과일 쥬스 및 과일 쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

[0085] 본 발명의 기능성 식품 조성물은, 정제, 캅셀, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공될 수 있다. 본 발명에서 '건강기능성식품 조성물'이라 함은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 말하며, 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다. 본 발명의 건강기능성식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 식품 첨가물로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전청에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다. 상기 '식품 첨가물 공전'에 수재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼슘, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물; 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물; L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료 제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류 등을 들 수 있다. 예를 들어, 정제 형태의 건강기능성식품은 본 발명의 유효성분을 부형제, 결합제, 붕해제 및 다른 첨가제와 혼합한 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형할 수 있다. 또한 상기 정제 형태의 건강기능성식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수도 있다. 캅셀 형태의 건강기능성식품 중 경질 캅셀제는 통상의 경질 캅셀에 본 발명의 유효성분을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 충진하여 제조할 수 있으며, 연질 캅셀제는 본 발명의 유효성분을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 젤라틴과 같은 캅셀기제에 충진하여 제조할 수 있다. 상기 연질 캅셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다. 환 형태의 건강기능성식품은 본 발명의 유효성분과

부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 제피제로 제피할 수 있으며, 또는 전분, 탈크와 같은 물질로 표면을 코팅할 수도 있다. 과립형태의 건강기능성식품은 본 발명의 유효성분의 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.

[0086] 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물은 당업계에 공지된 통상적인 방법에 따라 다양한 형태로 제조할 수 있다. 일반 식품으로는 이에 한정되지 않지만 음료 (알콜성 음료 포함), 과실 및 그의 가공식품 (예: 과일통조림, 병조림, 잼, 마아말레이드 등), 어류, 육류 및 그 가공식품 (예: 햄, 소시지 콘비이프 등), 빵류 및 면류 (예: 우동, 메밀국수, 라면, 스파게이트, 마카로니 등), 과즙, 각종 드링크, 쿠키, 엿, 유제품(예: 버터, 치이즈 등), 식용식물 유지, 마아가린, 식물성 단백질, 레토르트 식품, 냉동식품, 각종 조미료 (예: 된장, 간장, 소스 등) 등에 본 발명의 5-히드록시말톨을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한, 영양보조제로는 이에 한정되지 않지만 캡슐, 타블렛, 환 등에 본 발명의 5-히드록시말톨을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한, 건강기능식품으로는 이에 한정되지 않지만 예를 들면, 본 발명의 5-히드록시말톨 자체를 차, 쥬스 및 드링크의 형태로 제조하여 음용(건강음료)할 수 있도록 액상화, 과립화, 캡슐화 및 분말화하여 섭취할 수 있다. 또한, 본 발명의 5-히드록시말톨을 식품 첨가제의 형태로 사용하기 위해서는 분말 또는 농축액 형태로 제조하여 사용할 수 있다. 또한, 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀 화합물과 염증성 질환 예방 또는 개선 효과가 있다고 알려진 공지의 활성 성분과 함께 혼합하여 조성물의 형태로 제조할 수 있다.

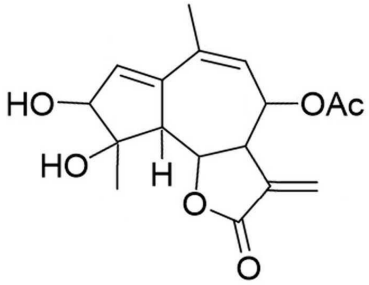
[0087] 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀 화합물을 건강음료로 이용하는 경우, 상기 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드; 말토스, 슈크로스와 같은 디사카라이드; 덱스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드; 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜일 수 있다. 감미제는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제; 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ㎖ 당 일반적으로 약 0.01 ~ 0.04 g, 바람직하게는 약 0.02 ~ 0.03 g 이다.

[0088] 또한, 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀 화합물은 염증성 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물의 유효성분으로 함유될 수 있는데, 그 양은 염증성 질환 예방 또는 개선 작용을 달성하기에 유효한 양으로 특별히 한정되는 것은 아니나, 전체 조성물 총 중량에 대하여 0.01 내지 100 중량%인 것이 바람직하다. 본 발명의 건강기능식품 조성물은 상기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀 화합물과 함께 염증성 질환에 효과가 있는 것으로 알려진 다른 활성 성분과 함께 혼합하여 제조될 수 있다.

[0089] 상기 외에 본 발명의 건강기능식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산, 펙트산의 염, 알긴산, 알긴산의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올 또는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 건강기능식품은 천연 과일주스, 과일주스 음료, 또는 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부당 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0091] 일 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀(guaianolide sesquiterpenes) 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 화장품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 개선용 화장료 조성물에 관한 것이다:

[0092] [화학식 1]

[0093] 

.

[0094] 본 발명의 "화장료 조성물"은 상술한 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀 화합물의 화장품학적 유효량(cosmetically effective amount) 및 화장품학적으로 허용되는 담체를 포함하여 제조할 수 있다.

[0095] 본 발명에서 용어 "화장품학적 유효량"은 상술한 본 발명의 조성물의 염증성 질환 예방 또는 개선 효능을 달성하는 데 충분한 양을 의미한다.

[0096] 화장료 조성물의 외형은 화장품학 또는 피부과학적으로 허용 가능한 매질 또는 기제를 함유한다. 이는 국소적용에 적합한 모든 제형으로, 예를 들면, 용액, 겔, 고체, 반죽 무수 생성물, 수상에 유상을 분산시켜 얻은 에멀젼, 현탁액, 마이크로에멀젼, 마이크로캡슐, 미세과립구 또는, 이온형 (리포좀) 및 비이온형의 소낭 분산제의 형태로, 또는 크림, 스킨, 로션, 파우더, 연고, 스프레이 또는 콘실 스틱의 형태로 제공될 수 있다. 이들 조성물은 당해 분야의 통상적인 방법에 따라 제조될 수 있다. 본 발명에 따른 조성물은 또한 포말 (foam)의 형태로 또는 압축된 추진제를 더 함유한 에어로졸 조성물의 형태로도 사용될 수 있다.

[0097] 본 발명의 일 실시예에 따른 상기 화장료 조성물은 그 제형에 있어서 특별히 한정되는 바가 없으며, 예를 들면, 유연화장수, 수렴화장수, 영양화장수, 영양크림, 마사지크림, 에센스, 아이크림, 아이에센스, 클렌징크림, 클렌징폼, 클렌징워터, 팩, 파우더, 바디로션, 바디크림, 바디오일 및 바디에센스 등의 화장품으로 제형화될 수 있다.

[0098] 본 발명의 화장료 조성물의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물섬유, 식물섬유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.

[0099] 본 발명의 화장료 조성물의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.

[0100] 본 발명의 화장료 조성물의 제형이 용액 또는 유탁액의 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용매화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.

[0101] 본 발명의 화장료 조성물의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.

[0102] 본 발명의 화장료 조성물의 제형이 계면-활성제 함유 클린징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 리놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

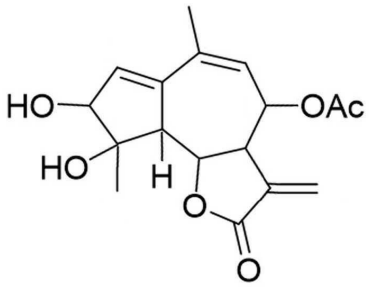
[0103] 본 발명의 화장료 조성물은 스킨, 로션, 크림, 에센스, 팩, 파운데이션, 색조화장품, 선크림, 투웨이케이크, 페이스파우더, 콤팩트, 메이크업베이스, 스킨커버, 아이쉐도우, 립스틱, 립글로스, 립픽스, 아이브로우 펜슬, 화장수 등의 화장품 및 샴푸, 비누 등의 세정제에 적용될 수 있다.

[0104] 본 발명의 일 실시예에 따른 화장료 조성물에는 상기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀 화합물 이외에 기능성 첨가물 및 일반적인 화장료 조성물에 포함되는 성분이 추가로 포함될 수 있다. 상기 기능성 첨가물로는 수용성 비타민, 유용성 비타민, 고분자 펩티드, 고분자 다당, 스핑고 지질 및 해초 엑기스로 이루어진 군에서 선택된 성분을 포함할 수 있다.

[0105] 본 발명의 화장료 조성물에는 또한, 상기 기능성 첨가물과 더불어 필요에 따라 일반적인 화장료 조성물에 포함되는 성분을 배합해도 된다. 이외에 포함되는 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 있다.

[0107] 일 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 구아이아놀리드 세스퀴터핀(guaianolide sesquiterpenes) 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 항염증용 조성물에 관한 것이다:

[0108] [화학식 1]



[0109] .

[0110] 일 구현예에서, 상기 항염증용 조성물은 약학적 조성물, 화장료 조성물 및 식품 조성물로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것일 수 있다.

[0111] 본 발명에서 "항염증"이란, "염증 억제 또는 개선"과 혼용될 수 있으며, 염증 반응이 완화되는 모든 작용을 의미할 수 있다.

[0113] 하기의 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 그러나 하기 실시예는 본 발명의 내용을 구체화하기 위한 것일 뿐 이에 의해 본 발명이 한정되는 것은 아니다.

[0115] **실시예 1. 한인진 유래 화합물의 분리 및 구조 분석**

[0116] 1-1. 한인진으로부터 활성 화합물의 분리

[0117] 더위지기(*Artemisia iwayomogi* Kitamura (국화과 Compositae))의 지상부인 한인진(Artemisiae Iwayomogii Herba)은 (주)광명당제약(대한민국, 울산시)에서 구입하였다.

[0118] 건조된 한인진(3.0kg)을 실온에서 90% EtOH(에탄올 수용액, 30L)로 48시간 동안 2회 추출한 다음 용매를 45℃ 온도의 진공 상태에서 제거하여 90% EtOH 추출물(300g)을 얻었다. 추출물(300.0g)을 증류수(0.6L)에 현탁하고, EtOAc(0.6L)로 3회 분배하였다. EtOAc 분획물(EtOAc층에 용해된 분획, 130.0g)을 Diaion HP-20 레진(Mitsubishi Chemical Industries, Ltd., Tokyo, JP)이 충진된 컬럼(11.3×55.6cm)에 로딩하고, 용출용매로 아세톤-물 구배(gradient) 시스템(acetone:H_2O=30:70에서 100:0까지, v/v)을 사용하여 컬럼 크로마토그래피(CC)를 통해 19개의 분획(F1~F19)을 얻었다. 19개의 분획 중 F3 분획물을 차가운 아세톤중에 재결정화한 다음, F3의 상등액(18.10g)을 세파덱스 LH-20 겔(GE Healthecare, Sweden)이 충진된 컬럼(5.5×61.0 cm)에 로딩 및 용출용매로 아세톤-물(acetone:H_2O=45:55, v/v)로 용출하여 CC를 통해 13개의 분획물(F3-1 ~ F3-13)을 생성하였다. 상기 13개의 분획 중 F3-3 분획물을 실리카겔(230-400 mesh, Merck, Germany)이 충진된 컬럼(5.3×34.0 cm)에 로딩하고, 용출용매로 n-헥산-에틸아세테이트-메탄올(n-hexane:EtOAc:MeOH=60:35:5~0:95:5, v/v/v)를 사용하여 CC를 통해 추가 분획하여 화합물 1(2.2mg) 및 화합물 2(5.6mg)를 정제하였다.

[0120] 1-2. 화합물 1 및 2의 구조 분석을 위한 데이터 측정

[0121] 상기 한인진으로부터 추출, 분리 및 정제된 화합물 1 및 화합물 2의 구조 및 특성을 분석하기 위한 데이터를 측정하였다. 먼저, UV 및 FT-IR 스펙트럼은 각각 OPTIZEN UV-Vis 분광 광도계 및 Agilent Cary 630 FT-IR(Agilent Technologies, CA, USA)을 사용하여 기록되었다. 광학 회전은 JASCO P-2000 편광계를 사용하여 측정되었다. NMR 스펙트럼은 JEOL(JEOL, Tokyo, Japan) 500MHz에 의해 획득되었고, HR-DART-MS 스펙트럼은 AccuTOF-TLC(JEOL)에 결합된 DART 이온 소스(Ionsense, Tokyo, Japan)에 의해 측정되었다. 원형 이색성 스펙트럼은 Chirascan-plus(Applied Photophysics Ltd., UK)에 의해 측정되었다. 화합물 1과 화합물 2의 분석 결과를

요약하면 하기와 같으며, 구체적인 구조 분석 과정은 하기 실시예 1-3 및 1-4에 나타내었다.

[0122] 화합물 1: 무색 고체(Colorless solid); HR-DART-MS (positive mode) *m/z* = 338.1601 $[M+NH_4]^+$ (calcd for $C_{17}H_{24}NO_6$, 338.1604) $[\alpha]_D^{20}$: +173° (c 0.01, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} nm (log ε) : 241 (3.85); IR (ATR) υ_{max} 3313, 2929, 1741, 1661 cm^{-1}; ^1H 및 ^{13}C NMR 데이터, 표 1 참조.

[0123] 화합물 2: 무색 고체(Colorless solid); HR-DART-MS (positive mode) *m/z* = 338.1601 $[M+NH_4]^+$ (calcd for $C_{17}H_{24}NO_6$, 338.1604) $[\alpha]_D^{20}$: +41° (c 0.01, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} nm (log ε) : 242 (3.86); IR (ATR) υ_{max} 3391, 2928, 1737cm^{-1}; ^1H 및 ^{13}C NMR 데이터, 표 1 참조.

표 1

[0124]

탄소 번호 (Position)[a]	화합물 1[c]		화합물 2[c]	
	δ_H[b]	δ_C	δ_H[b]	δ_C
1	-	143.4	-	143.5
2	6.21 t (2.5)	134.2	6.19 t (2.5)	134.9
3	3.95 d (3.0)	80.4	4.09 d (3.0)	83.4
4	-	80.2	-	82.2
5	3.20 dd (11.5, 2.5)	56.3	3.05 dd (11.0, 2.5)	59.6
6	4.35 dd (11.5, 9.0)	78.7	4.41 (11.0, 9.5)	79.2
7	3.27 m	50.0	3.34m	49.5
8	5.50 dd (11.5, 2.0)	74.0	5.47 dd (11.0, 2.0)	74.0
9	5.52 br d	128.1	5.50 d (2.0)	129.8
10	-	132.5	-	132.3
11	-	138.6	-	138.6
12	-	171.6	-	171.7
13	5.76 d (3.0) 6.22 d (3.0)	123.5	5.78 d (3.0) 6.22 d (3.0)	123.6
14	2.00 s	25.4	2.03 s	26.0
15	1.32 s	21.8	1.54 s	23.1
$COCH_3$	2.17 s	21.2	2.17 s	21.2
OC=O	-	172.0	-	172.0

[a] All assignments were based on ^1H-^1H correlation spectroscopy (COSY), ^1H-^{13}C heteronuclear single quantum coherence spectroscopy (HSQC), ^1H-^{13}C heteronuclear multiple bond correlation (HMBC) results. [b] δ_H Multi (*J* in Hz) [c] Measured in methanol-d_4

[0126] 1-3. 화합물 1의 구조 분석

[0127] 화합물 1은 무색 고체로 분리되었으며, HR-DART-MS(high-resolution direct analysis in real time mass spectroscopy, *m/z* 338.1601 $[M+NH_4]^+$; calcd for $C_{17}H_{24}O_6$, 338.1604)에서 유사분자이온 피크에 의해 분자식은 $C_{17}H_{20}O_6$으로 결정되었다. 적외선(IR) 스펙트럼은 1737 및 1660 cm^{-1}에서 강한 흡수 밴드를 보여 γ-불포화 락톤(γ-unsaturated lactone) 모이어티(moiety)가 존재함을 확인하였다.

[0128] 화합물 1의 ^1H NMR 스펙트럼은 표 1에 나타내었으며, δ_H 3.27(1H, m), 4.35(1H, dd, *J*= 11.5, 9.0 Hz), 5.76(1H, d, *J*= 3.0Hz) 및 6.22(1H, d, *J*= 3.0Hz)의 시그널로부터 α-메틸렌-γ-락톤(α-methylene-γ-

lactone) 그룹의 존재를 확인하였다. 또한 ^{1}H NMR 스펙트럼에서 2개의 올레핀 프로톤[δ_H 5.52(1H, br d), 6.21(1H, t, *J*= 2.5Hz)], 2개의 옥시메틴 프로톤[δ_H 3.95(1H, d, *J*= 2.5Hz), 5.50(1H, dd, *J*= 11.5, 2.0Hz)], 1개의 메틴 프로톤[δ_H 3.20(1H, dd, *J*= 11.5, 2.5Hz)], 1개의 아세틸 프로톤[δ_H 2.17(3H, s)], 및 2개의 메틸 프로톤[δ_H 1.32(3H, s), 2.00(3H, s)] 시그널이 확인되었다.

[0129] 표 1에 나타난 바와 같이, ^{13}C NMR 스펙트럼은 15개의 골격(skeletal) 탄소 시그널 및 아세틸기의 2개의 특징적인 탄소 시그널[δc 21.2($COCH_3$), 172.0(OC=O)]를 포함하는 총 17개의 탄소 공명을 나타내었으며, ^{1}H-^{13}C HSQC(heteronuclear single quantum coherence) 분석을 통해 4개의 sp2 4차 탄소(δ_c 132.5, 138.6, 143.4, 171.6), 2개의 올레핀계 탄소(δ_c 134.1), 메틸렌 탄소(δ_c 123.5), 3개의 옥시메틴 탄소(δ_c 74.0, 78.7, 80.2), 옥시제네이티드(oxygenated) 4차 탄소(δ_c 80.4), 2개의 메틴 탄소(δ_c 50.0, 59.3) 및 2개의 메틸 탄소(δ_c 251)로 동정되었다. ^{1}H-^{1}H COSY(correlation spectroscopy) 스펙트럼은 H-2와 H-3 사이의 상관 관계와 H-5에서 H-9까지의 연속적인 상관 관계를 나타냈다(도 2). 상기의 결과 및 ^{1}H-^{13}C HMBC(heteronuclear multiple bond correlation) 시그널(H-2/C-1; H-5/C-1, C-3, C-4; H-9/C-1, C-10; H-14/C-1, C-10, C-9; H-15/C-4, C-5)을 종합하여, 화합물 1은 5/7/5 삼환계의 구아이아놀리드(guaianolide) 골격을 갖는 세스퀴터핀(sesquiterpene)인 것으로 결정되었다(도 1). 한편, H-8과 아세틸기의 카르보닐 탄소 사이의 롱-레인지 코릴레이션(long-range correlation)이 관찰되어, *O*-아세틸기가 C-8에 위치함을 나타내었다.

[0130] 화합물 1의 입체 구조를 규명하기 위해 NOESY(nuclear overhauser enhancement spectroscopy) 스펙트럼 분석을 실시한 결과, 큰 결합 상수(large coupling constants)($J_{5,6}$ = 11.5Hz, $J_{6,7}$ = 9.0Hz 및 $J_{7,8}$ = 11.5Hz)를 통해 H-5, H-6, H-7 및 H-8이 트랜스-이축 배향(*trans*-diaxial configured)인 것으로 확인되었다. 또한 화합물 1의 NOESY 스펙트럼에서 β-지향(oriented) H-6로부터 시작되는 H-6/H-8, H-6/H-15 및 H-3/H-15의 상관관계는 H-3, H-6, H-8 및 H-15가 환(ring)의 β-측에 연결됨을 보여주며, H-5와 H-7 사이의 교차 피크(cross-peak)가 관찰되어 H-5 및 H-7이 환의 α-측에 위치함을 나타내었다(도 3).

[0131] 화합물 1의 절대 배열(absolute configuration) 구조를 결정하기 위하여, TDDFT(time-dependent density functional theory) 방법을 이용하여 두 거울상 이성질체 모델인 (3*R*,4*S*,5*S*,6*S*,7*R*,8*S*) 및 (3*S*,4*R*,5*R*,6*R*,7*S*,8*R*)의 이론적(calculated) ECD(experimental electronic circular dichroism) 데이터와 상기 화합물 1의 실험적(experimental) ECD 스펙트럼을 비교한 결과, 화합물 1의 실험적 ECD 데이터가 3*R*,4*S*,5*S*,6*S*,7*R*,8*S*-거울상 이성질체의 이론적 ECD 데이터와 일치하는 것으로 나타났다(도 3).

[0132] 따라서, 화합물 1은 (3*R*,4*S*,5*S*,6*S*,7*R*,8*S*)-8α-아세톡시-3α,4α-디히드록시-구아이아-1,9,11(13)-트리엔-12,6α-올라이드 ((3*R*,4*S*,5*S*,6*S*,7*R*,8*S*)-8α-acetoxy-3α,4α-dihydroxy-guaia-1,9,11(13)-trien-12,6α-olide)로 결정되었으며, 이와요모긴 A(iwayomogin A)로 명명하였고, 그 구조는 도 1에 나타난 바와 같다.

[0134] 1-4. 화합물 2의 구조 분석

[0135] 화합물 2는 HR-DART-MS에서 상기 화합물 1과 동일한 유사분자이온 피크(*m/z* 338.1601 $[M+NH_4]^+$; calcd for $C_{17}H_{24}O_6$, 338.1604)를 나타내어, 분자식은 화합물 1과 동일하게 $C_{17}H_{20}O_6$으로 결정되었다. IR 스펙트럼에서도 1741 및 1661 cm^{-1}에서 강한 흡수 밴드를 보여 γ-불포화 락톤 그룹의 존재를 확인하였다.

[0136] 화합물 2의 ^{1}H 및 ^{13}C NMR 스펙트럼은 화합물 1과 거의 유사하게 나타났으나, 화합물 1의 ^{1}H NMR 스펙트럼과 비교하여 한개의 메틸 프로톤 시그널[δ_H 1.54 (3H, s)] 및 2개의 옥시제네이티드 메틴 시그널[δ_H 4.09 (1H, d, *J*= 3.0 Hz), 및 4.41 (1H, d, *J*= 11.0, 9.0)]은 다운필드(downfield) 영역으로 이동하였고, 하나의 메틴 시그널[δ_H 3.05 (1H, dd, *J*= 11.0, 2.5)] 은 업필드(upfield) 영역으로 이동(shifted)되었다. 화합물 2의 ^{13}C NMR 및 HSQC 데이터를 화합물 1의 데이터와 비교 분석한 결과(표 1 및 도 2), 화합물 1에 비하여 화합물 2의 C-5 메틴 시그널(δ_c 59.6)은 덜 가려진(deshielded) 반면에 H-5 메틴 시그널은 가려진(shielded) 것을 확인하였다.

화합물 2의 C-3, C-4, C-6 및 C-15의 탄소 시그널은 다운필드 영역으로 이동되었다.

[0137] H-5/H-15, H-5/H-17 및 H-6/H-8의 주요한 NOESY 상관 관계는 화합물 2가 화합물 1의 4-에피머(epimer)임을 나타내었다(도 3).

[0138] 화합물 2의 절대 배열은 (3*R*,4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,8*S*) 및 (3*R*,4*S*,5*R*,6*R*,7*S*,8*R*)의 이론적 ECD 스펙트럼과 비교하여 확인하였고, 화합물 1의 실험적 ECD 데이터가 3*R*,4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,8*S*-거울상 이성질체의 이론적 ECD 데이터와 일치하는 것으로 나타났다(도 3).

[0139] 따라서, 화합물 2는 (3*R*,4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,8*S*)-8α-아세톡시-3α,4β-디히드록시-구아이아-1,9,11(13)-트리엔-12,6α-올라이드 ((3*R*,4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,8*S*)-8α-acetoxy-3α,4β-dihydroxy-guaia-1,9,11(13)-trien-12,6α-olide)로 결정되었으며, 이와요모긴 B(iwayomogin B)로 명명하였고, 그 구조는 도 1에 나타난 바와 같다.

[0141] **실시예 2. 한인진 유래 화합물의 NO 생산 억제 효과**

[0142] NO는 염증 과정을 매개하는 주요 신호 분자 중 하나이다. 실시예 1의 이와요모긴 A 및 이와요모긴 B(화합물 1 및 화합물 2)가 NO 생산에 대한 조절 활성을 발휘하는지 확인하기 위해 BV-2 미세아교세포(microglial cells)에 LPS를 처리하고 처리된 세포의 상청액에서 NO 농도를 측정하였다.

[0143] BV-2 미세아교세포는 10% 소태아혈청(Hyclone Laboratories) 및 1% 페니실린-스트렙토마이신(Hyclone Laboratories)이 보충된 Dulbecco's modified Eagle's medium(Hyclone Laboratories, Inc., Logan, UT, USA)에서 유지되었으며, 37℃ 온도 조건의 5% CO_2를 포함하는 가습된 대기에서 배양되었다. 96-웰 플레이트에 3.0×10^5 세포/mL의 밀도로 접종한 후 24시간 동안 배양하였다. 다음날, 세포를 1시간 동안 무혈청 배지에서 이와요모긴 A 및 이와요모긴 B를 각각 0.1 내지 20 μM의 다양한 농도로 전처리하고, 그 다음 추가 23시간 동안 100ng/ml의 LPS(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)로 자극하였다. 동일한 부피의 비히클(vehicle)을 대조군 및 LPS 처리군 각각에 처리하였다. 96-웰에 파종된 BV-2 세포의 상층액을 수집하고 동일한 부피의 Griess 시약(1% 설파닐아미드, 0.1% 나프틸에틸렌디아민 디히드로클로라이드, 2% 인산)과 혼합하였다. 10분 후, 마이크로플레이트 리더(Versamax™, Molecular Devices, LLC., San Jose, CA, USA)를 사용하여 540 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 아질산나트륨은 NO^{2-} 농도를 계산하기 위한 표준으로 사용되었으며, 퀘르세틴(quercetin)을 양성대조군으로 사용하였다. 흡광도 측정 결과로부터 BV-2 세포에서 NO 생성을 억제하는 IC_{50} 값을 계산하여 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

[0144]

화합물	IC_{50} (μM)
이와요모긴 A	10.59
이와요모긴 B	12.85
퀘르세틴	8.14

[0145] 그 결과, 이와요모긴 A 및 이와요모긴 B 모두 유의한 세포독성을 나타내지 않았으며, 각각 10.59 및 12.85 μM의 IC_{50} 값으로 양성대조군인 퀘르세틴과 거의 유사한 수준의 우수한 NO 억제 활성을 나타냈다. 이러한 결과로부터, 본 발명의 구아이아놀리드계 세스퀴터핀 화합물인 이와요모긴 A 및 이와요모긴 B가 항신경염증 효과에 대한 활성 화합물이 될 수 있음을 확인하였다.

[0147] **실시예 3. 한인진 유래 화합물의 분자 도킹 분석**

[0148] iNOS 단백질을 억제하여 NO 농도를 억제하는 치료제의 효능을 더욱 연구하기 위해 이와요모긴 A 및 이와요모긴 B에 대하여 in silico 분자 도킹 연구를 수행하였다(도 4).

[0149] iNOS의 결정 구조는 RCSB PDB 데이터베이스(PDB 코드: 3E6T, 분해능: 2.5 Å)에서 얻었다. Autodock 4.2 소프트웨어(The Scripps Research Institute, La Jolla, CA, USA) 및 30Å×30Å×30Å with 0.175Å 크기의 그리드 상자를 사용하여, 모든 물 분자를 제거하고 극성 수소 원자를 추가하여 단백질을 준비하였다. NOESY 및 ECD

계산 데이터를 통해 이와요모긴 A 및 이와요모긴 B(화합물 1과 2)의 절대 배열을 확인한 후, Chem3D Pro 14.0 소프트웨어를 통해 리간드의 3차원 구조를 최소화하였다. iNOS 단백질과 이와요모긴 A 및 이와요모긴 B 각각의 리간드를 준비한 후, hybrid Lamarckian Genetic Algorithm(LGA)를 사용하여 AutoDock Tools 1.5.6.(The Scripps Research Institute, La Jolla, CA, USA) 및 AutoDock Vina 소프트웨어를 통해 분자 도킹 계산을 수행하였다. 단백질-리간드 복합체의 2D 및 3D 다이어그램과 단백질-리간드 상호작용의 2D 다이어그램은 Maestro 12.9 소프트웨어(Schrodinger, LLC, New York, NY, USA)를 사용하여 생성되었다.

[0150] 그 결과, 도 4에 나타난 바와 같이, 이와요모긴 A 및 이와요모긴 B는 수소결합에 관여하는 ALA-345 및 HEM-901과 상호작용하는 iNOS 단백질간에 강한 결합 친화도 값(-8.0 kcal/mol)을 나타내었고, 이와요모긴 A는 GLN-257과 수소 상호작용을 나타냈다. 이러한 결과는 이와요모긴 A 및 이와요모긴 B가 iNOS 효소와의 직접 결합에 의한 iNOS 활성의 억제를 통해 BV-2 미세아교 세포에서 NO 생산을 감소시킬 수 있음을 시사한다.

[0152] **실시예 4. 한인진 유래 화합물의 사이토카인에 대한 억제 효과**

[0153] 상기 실시예 2 및 3에서 신경염증 반응에 대한 활성 후보 화합물로 확인된 이와요모긴 A 및 이와요모긴 B(화합물 1 및 2)의 분자 메커니즘을 조사하기 위하여, LPS로 자극된 BV-2 미세아교세포의 상청액에서 화합물 전처리 여부에 따른 전염증성 사이토카인의 농도를 측정하였다.

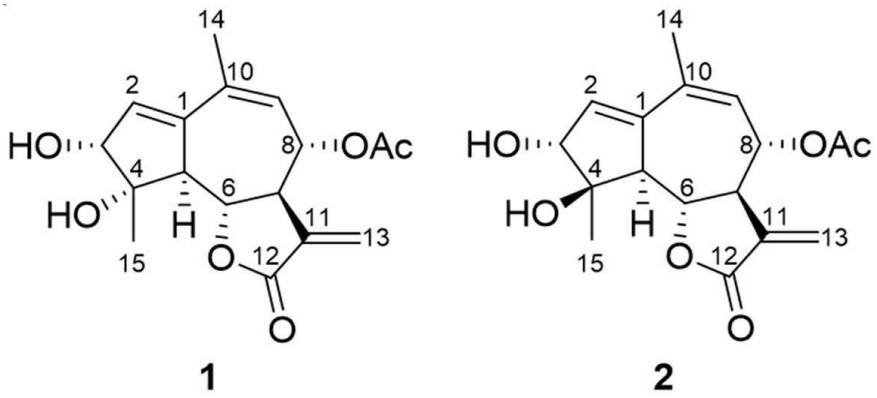
[0154] 구체적으로, 12-웰 플레이트에 3.0×10^5 세포/mL의 밀도로 접종한 후 24시간 동안 배양하였다. 다음날, LPS를 처리하기 전에 이와요모긴 A 또는 이와요모긴 B를 각각 0.1, 1 또는 10 μM의 농도로 1시간 동안 전처리한 다음, LPS로 23시간 동안 자극하였다. LPS 자극 23시간 후, 세포의 상층액을 수집한 다음, 효소-결합 면역흡착 분석 키트(enzyme-linked immunosorbent assay kits, ELISA kits)를 이용하여 제조업체의 프로토콜에 따라 TNF-α(BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA) 및 IL-6(R&D systems, Minneapolis, MN, USA)의 단백질 농도를 평가하였으며, 그 결과를 도 5에 나타내었다. 이 때, 데이터는 일원 분산 분석(one-way ANOVA)에 의해 분석된 후 Tukey's post hoc test로 분석되었으며, 대조군과 비교하여 ###p<0.001; LPS 단독 처리군과 비교하여 *p<0.05, **p<0.01 및 ***p<0.001로 유의성을 표기하였다.

[0155] 그 결과, LPS 단독 처리군이 대조군에 비해 TNF-α 및 IL-6의 수준이 현저히 상승하였으나, 이와요모긴 A 및 이와요모긴 B의 처리에 의해 농도 의존적으로 증가된 TNF-α 및 IL-6의 수준이 효과적으로 감소되었다(도 5). 이러한 결과는 본 발명의 이와요모긴 A 및 이와요모긴 B가 전염증 매개체의 동시 조절을 통해 신경염증을 제어하는 데 효과적임을 의미한다.

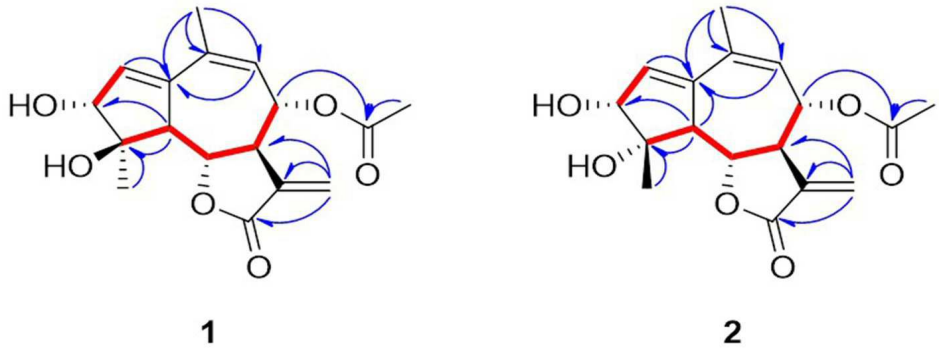
[0157] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특히 청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

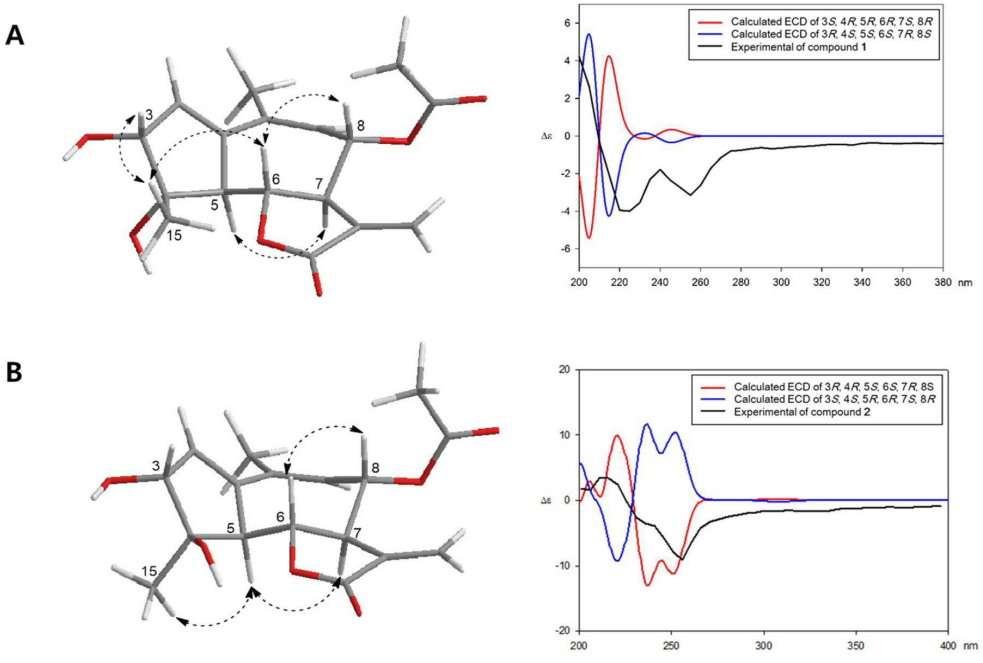
도면1



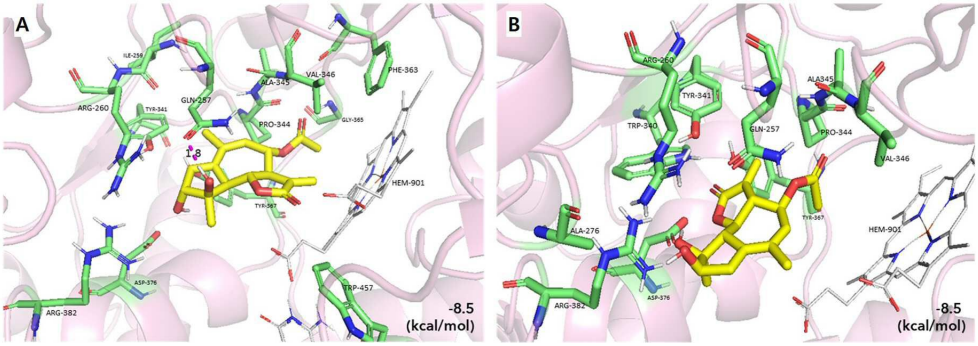
도면2



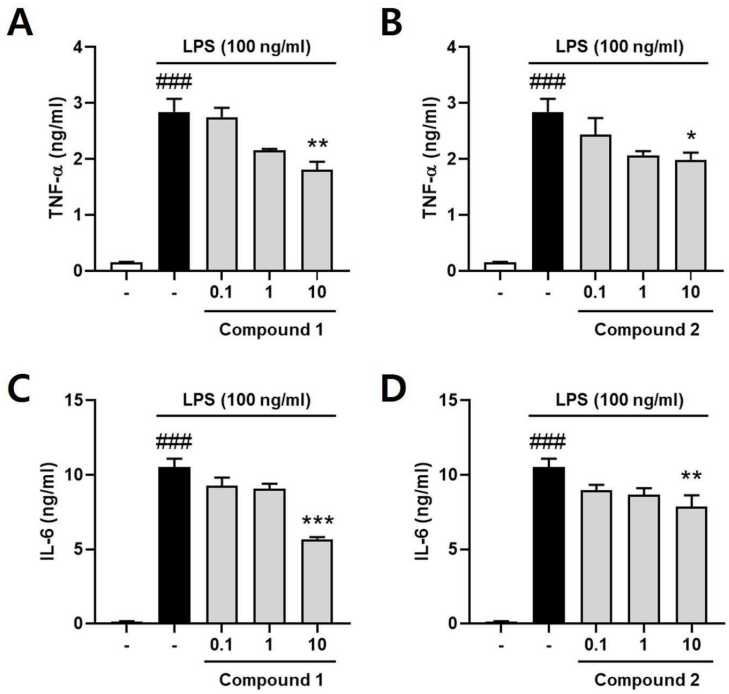
도면3



도면4


A
B
-8.5
(kcal/mol)
-8.5
(kcal/mol)

도면5


A
B
C
D
LPS (100 ng/ml)
TNF-α (ng/ml)
IL-6 (ng/ml)
Compound 1
Compound 2
0.1
1
10
###
*
**
***