



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0043101

(43) 공개일자 2015년04월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07C 49/84 (2006.01) *A61K 31/045* (2006.01)

A61K 31/05 (2006.01) *A61K 31/12* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-0122118

(22) 출원일자 2013년10월14일

심사청구일자 2013년10월14일

(71) 출원인

한림대학교 산학협력단

강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)

(72) 발명자

전종갑

강원도 춘천시 한림대학길 1, 화학과 (옥천동, 한림대학교)

김시준

강원도 춘천시 한림대학길 1 한림대학교 화학과

(74) 대리인

강성혜

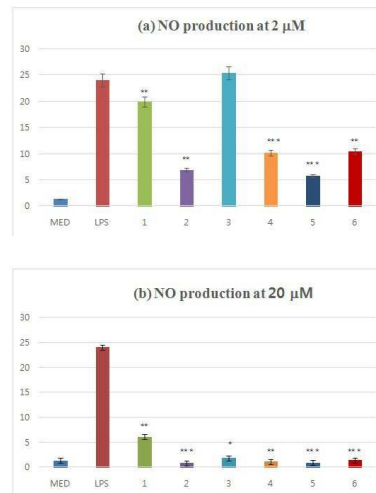
전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 발명의 명칭 **항염증 활성을 나타내는 신규 리코찰콘 유사체 화합물**

(57) 요약

리코찰콘은 다양한 생물학적 활성을 가진다고 알려져 있다. 그러나, 대부분의 리코찰콘은 세포독성을 나타낸다. 방향족 링 B에서 공통적인 치환기를 갖는 리코찰콘 B와 D는 염증 연구에서 방향족 링 A의 구조를 변형하기 위해 타겟이 되었다. 이와 같이 제조된 리코찰콘 유도체 (화합물 1~6)은 NO 생성 억제능을 비교하여 각각 9.94, 4.72, 10.1, 4.85, 2.37 및 4.95 μM 의 IC_{50} 값을 나타내었다.

대표도 - 도3



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2012H1B8A2026036

부처명 교육과학기술부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 지역혁신인력양성사업

연구과제명 천연활성물질의 합성 및 활성검증 인력양성

기 여 율 1/2

주관기관 한림대학교 산학협력단

연구기간 2012.05.01 ~ 2015.03.31이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 B0008864

부처명 지식경제부

연구관리전문기관 한국산업기술평가관리원

연구사업명 지역혁신센터사업(RIC)

연구과제명 천연물 및 합성 유도체를 이용한 HCV Inhibitor 개발

기 여 율 1/2

주관기관 한림대학교 산학협력단

연구기간 2013.03.01 ~ 2014.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-(2,4-다이하이드록시페닐)프로프-2-엔-1-온 또는 3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-[4-하이드록시-3-(1,1-다이메톡시프로프-2-에닐)페닐]프로프-2-엔-1-온 중 선택된 1종의, 항염증 활성을 나타내는 리코찰콘 화합물 유도체.

청구항 2

2,4-다이에톡시메톡시아세토페논 (2,4-diethoxymethoxyacetophenone)과 3,4-다이에톡시메톡시-2-메톡시벤즈알데하이드 (3,4-Diehoxymethoxy-2-methoxybenzaldehyde)를 클라이젠-슈미트 응축시켜 3-(3,4-다이에톡시메톡시-2-메톡시페닐)-1-(2,4-다이에톡시메톡시페닐)프로프-2-엔-1-온을 합성하는 단계;

및 상기 합성된 3-(3,4-다이에톡시메톡시-2-메톡시페닐)-1-(2,4-다이에톡시메톡시페닐)프로프-2-엔-1-온을 탈보호기화 하는 단계;를 포함하는 3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-(2,4-다이하이드록시페닐)프로프-2-엔-1-온 합성방법.

청구항 3

3,4-다이에톡시메톡시-2-메톡시벤즈알데하이드 (3,4-Diehoxymethoxy-2-methoxybenzaldehyde)와 4-(3-메틸부트-2-에닐옥시)아세토페논을 응축시켜 3-(3,4-다이에톡시메톡시-2-메톡시페닐)-1-[4-(3-메틸부트-2-에닐옥시)페닐]프로프-2-엔-1-온을 합성하는 단계;

및 상기 합성된 3-(3,4-다이에톡시메톡시-2-메톡시페닐)-1-[4-(3-메틸부트-2-에닐옥시)페닐]프로프-2-엔-1-온을 클라이젠 재배열시키는 단계;를 포함하는 3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-[4-하이드록시-3-(1,1-다이메톡시프로프-2-에닐)페닐]프로프-2-엔-1-온 합성방법.

청구항 4

3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-(2,4-다이하이드록시페닐)프로프-2-엔-1-온 또는 3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-[4-하이드록시-3-(1,1-다이메톡시프로프-2-에닐)페닐]프로프-2-엔-1-온 중 선택된 1종 이상의, 항염증 활성을 나타내는 리코찰콘 화합물 유도체를 포함하는 항염증 약학 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 항염증 활성을 나타내는 신규 리코찰콘 유사체 화합물에 관한 것으로서, 배양세포에 대해 리코찰콘 유사체 화합물을 처리하고 산화질소 생성 저해효과를 본 결과, 리코찰콘 화합물 2와 화합물 5는 산화질소 생성 저해효과가 우수하였다.

배경 기술

[0002]

리코찰콘 A (LicoA), 리코찰콘 B (LicoB), 리코찰콘 C (LicoC), 리코찰콘 D (LicoD), 에키나틴 (echinatin) 및 아이소리퀴리티제닌 (isoliquiritigenin)은 궤양, 천식, 염증 및 여타 질병의 치료용으로 동북아시아에서 널리 이용되어온 전통약재인 감초의 주요 구성성분들이다 {(1) Wang, J. Y.; Nixon, D. W. *Nutr. Cancer* **2001**, *39*, 1. (2) Asl, M. N.; Hosseinzadeh, H. *Phytother. Res.* **2008**, *22*, 709}. 리코찰콘들은 창과감초 (*Glycyrrhiza*

inflata) 뿌리에서 분리하여 특성을 규명하였고, 항균 {(1) Liu, X. L.; Xu, Y. J.; Go, M. L. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 1681. (2) Kwon, H. S.; Park, J. H.; Kim, D. H.; Kim, Y. H.; Park, J. H.; Shin, H. K.; Kim, J. K. *J. Mol. Med. (Berl)* **2008**, *86*, 1287}, 항암 (Yoon, G.; Jung, Y. D.; Cheon, S. H. *Chem. Pharm. Bull.* **2005**, *53*, 694), 항염증 (Cho, Y.-C.; Lee, S. H.; Yoon, G.; Kim, H.-S.; Na, J. Y.; Choi, H. J.; Cho, C.-W.; Cheon, S. H.; Kang, B. Y. *Int. Immunopharmacol.* **2010**, *10*, 1119) 및 항산화 (Haraguchi, H.; Ishikawa, H.; Mizutani, K.; Tamura, Y.; Kinoshita, T. *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, *6*, 339) 활성성분을 포함하여 다양한 생물학적 특성을 나타내는 것으로 보고되어 왔다. 창과감초는 감초 중 주요 종이며, 지금까지 발견된 일반적인 플라보노이드와는 달리 2' 위치 (또는 6' 위치)에 수산화기가 없는 플라보노이드 약 40종을 포함한다 (Nomura, T.; Fukai, T.; Akiyama, T. *Pure Appl. Chem.* **2002**, *74*, 1199). 이러한 일반적이지 않은 찰콘들은 레트로찰콘 또는 "역으로 구축된 찰콘 (reversely constructed chalcone)"이라 불리며, 링 A는 시키메이트 (shikimate)에서 유래하며, 링 B는 말론산 유래 폴리케타이드에서 유래한다 (Saitoh, T.; Shibata, S. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *50*, 4461).

발명의 내용

해결하려는 과제

[0003] 본 발명은 항염증 활성이 우수한 신규 화합물을 제공하려는 것을 목적으로 한다.

[0004] 또한, 본 발명은 항염증 활성이 우수한 신규 화합물을 포함하는 항염증 약학 조성물을 제공하려는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0005] 본 발명은 3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-(2,4-다이하이드록시페닐)프로프-2-엔-1-온 또는 3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-[4-하이드록시-3-(1,1-다이메톡시프로프-2-에닐)페닐]프로프-2-엔-1-온 중 선택된 1종의, 항염증 활성을 나타내는 리코찰콘 화합물 유도체에 관한 것이다.

[0006] 또한, 본 발명은 2,4-다이에톡시메톡시아세토폰 (2,4-diethoxymethoxyacetophenone)과 3,4-다이에톡시메톡시-2-메톡시벤즈알데하이드 (3,4-Diehoxymethoxy-2-methoxybenzaldehyde)를 클라이젠-슈미트 응축시키는 단계; 및 응축 단계 후 탈보호기화 단계;를 포함하는 3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-(2,4-다이하이드록시페닐)프로프-2-엔-1-온 합성방법에 관한 것이다.

[0007] 뿐만 아니라, 본 발명은 3,4-다이에톡시메톡시-2-메톡시벤즈알데하이드 (3,4-Diehoxymethoxy-2-methoxybenzaldehyde)와 4-(3-메틸부트-2-에닐옥시)아세토폰을 응축시키는 단계; 및 응축 단계 이후 클라이젠 재배열시키는 단계;를 포함하는 3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-[4-하이드록시-3-(1,1-다이메톡시프로프-2-에닐)페닐]프로프-2-엔-1-온 합성방법에 관한 것이다.

[0008] 도 1에 나타난 리코찰콘들의 항염증 활성은 RBL (rat basophilic leukemia)-2H3 세포의 알러지 염증에서 핵심 기능을 수행하는 비만세포 (mast cell) 탈과립 (degranulation) 저해효과로 비교되었다 (Tanifuji, S.; Aizu-Yokota, E.; Funakoshi-Tago, M.; Sonoda, Y.; Inoue, H.; Kasahara, T. *Int. Immunopharmacol.* **2010**, *10*, 769). 또한, 항염증 활성은 염증 부위의 NO 생성 저해효과로 비교되었다 (Furusawa, J.-i.; Funakoshi-Tago, M.; Mashino, T.; Tago, K.; Inoue, H.; Sonoda, Y.; Kasahara, T. *Int. Immunopharmacol.* **2009**, *9*, 499). 탈과립에 대한 50% 저해농도 IC₅₀, 30% 세포독성 농도 CC₃₀ 및 LPS로 유도되는 각 리코찰콘의 NO 생산 50% 저해농도 IC₅₀은 도 1에 나타내었다. LicoA, LicoC 및 LicoD는 탈과립화에 대해 각각 17, 24 및 21 μ M의 IC₅₀ 값을 나타내어 유사한 저해효과를 보여주었다. 또한, LicoB와 LicoD는 각각 2.3과 2.2 μ M에서 LPS에 의해 유도되는 NO 생성의 IC₅₀ 값을 나타내었다. 이러한 저해결과로부터 본 발명자는 방향족 링 B에서 공통적인 치환기를 갖는 LicoB와 LicoD가 다른 것들에 비해 비교적 세포독성은 낮고, 높은 활성을 나타냄을 밝혔다.

[0009] LicoB의 구조는 링 B에서 3-수산화기가 있거나 없다는 점만 제외하고는 에키나틴 (echinatin)과 유사하지만, 항

염증 활성은 전혀 다르며, LicoB만이 NO 생성에 대해 2.3 μ M에서 IC₅₀의 저해활성을 나타내었으며, 그렇지만 양 화합물 모두 세포독성은 낮았다. 또한, LicoB의 구조는 링 B에 3,4-다이하이드록시-2-메톡시기를 갖는 LicoD와 완전히 동일하였고, 양 화합물은 모두 NO 생성에 대한 IC₅₀에서 좀더 높은 저해활성을 나타내었다.

[0010] 낮은 세포독성을 갖고 좀더 높은 항염증 활성을 갖는 리코찰콘 유도체를 얻기 위해 본 발명자는 링 B에서 LicoB 및 LicoD와 같은 구조이며, 3,4-다이하이드록시-2-메톡시기를 갖고, 링 A가 레소르시놀 (resorcinol) 타입 (화합물 2), 카테콜 (catechol) 타입 (화합물 3) 및 재배열 아이소프로페닐 유사화합물 (화합물 5, 화합물 6)로 변형된 구조를 디자인하였다.

[0011] 천연 LicoB (화합물 1)는 광과감초 (*Glycyrrhiza glabra* Linn.) (Sinkiang, China) 뿌리에서 1975년에 처음 확인하였고 (Saitoh, T.; Shibata, S. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *50*, 4461) 많은 생물학적 활성이 보고되어 왔다 (Tanifuji, S. et al., *Int. Immunopharmacol.* **2010**, *10*, 769, Furusawa, J.-i. et al., *Int. Immunopharmacol.* **2009**, *9*, 499, Hatano, T. et al., *Chem. Pharm. Bull.* **1988**, *36*, 2090). 그러나, 합성에 관해서는 단 하나의 보고만 있었다 (Islam, A.; Khan, S. A.; Krishnamurti, M. *Indian J. Chem.* **1982**, *21B*, 965). 최근, 본 발명자들은 LicoD의 최초 총 합성 (Kim, S.-J.; Jun, J.-G. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2013**, *34*, 54)을 보고하였고, 도 6의 반응식과 같이 LicoB 합성과 유사한 루트를 이용하였는데, 이는 LicoB의 링 B가 LicoD의 것과 정확히 동일하기 때문이다. 보호된 링 B의 알데하이드 부분 (화합물 9)은 MeOH 내의 3M NaOH를 이용하여 THP로 보호된 아세토펜 (acetophenone) (화합물 11)과 응축되어 찰콘 (화합물 12)을 생성하였고, 이후 Dowex 50×2 수지를 이용한 탈보호기화로 5 단계로 25% 총 수율의 LicoB가 얻어졌다. LicoB의 스펙트럼 데이터는 보고된 문헌값과 일치하였다 (Saitoh, T.; Shibata, S. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *50*, 4461, Hatano, T. et al., *Chem. Pharm. Bull.* **1988**, *36*, 2090, Islam, A.; Khan, S. A.; Krishnamurti, M. *Indian J. Chem.* **1982**, *21B*, 965).

[0012] 본 발명의 리코찰콘 유도체 화합물인 3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-(2,4-다이하이드록시페닐)프로프-2-엔-1-온 또는 3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-[4-하이드록시-3-(1,1-다이메톡시프로프-2-에닐)페닐]프로프-2-엔-1-온을 유효성분으로 함유하는 약제학적 조성물은 약제학적 분야에서 통상적으로 허용되는 담체와 함께 배합하여 통상적인 방법에 의해 경구 또는 주사 형태로 제형화할 수 있다. 경구용 조성물로는 예를 들면 정제 및 젤라틴 캡슐이 있으며, 이들은 활성 성분 이외에도 희석제(예: 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로스 및/또는 글리신), 활탁제(예: 실리카, 탭크, 스테아르산 및 그의 마그네슘 또는 칼슘염 및/또는 폴리에틸렌 글리콜)을 함유하고, 정제는 또한 결합제(예: 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분 페이스트, 젤라틴, 메틸셀룰로스, 나트륨 카복시메틸셀룰로스 및/또는 폴리비닐피롤리돈)를 함유하며, 경우에 따라서 붕해제(예: 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨염) 또는 비등 혼합물 및/또는 흡수제, 착색제, 향미제 및 감미제를 함유하는 것이 바람직하다. 주사용 조성물은 등장성 수용액 또는 현탁액이 바람직하고, 언급한 조성물은 멸균되고/되거나 보조제(예: 방부제, 안정화제, 습윤제 또는 유화제 용액 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염/또는 완충제)를 함유한다. 또한 이들은 기타 치료적으로 유용한 물질을 함유할 수 있다.

[0013] 이와 같이 제조된 약제학적 제제는 목적하는 바에 따라 경구로 투여하거나, 비경구 방식 즉, 정맥 내, 피하, 복강 내 투여 또는 국소적용할 수 있다. 용량은 일일 투여량 0.0001~100mg/kg을 1 내지 수회에 나누어 투여할 수 있다. 특정 환자에 대한 투여용량 수준은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 투여시간, 투여방법, 배설율, 질환의 중증도 등에 따라 변화될 수 있다.

[0014] 나아가, 본 발명은 본 발명의 리코찰콘 유도체 화합물인 3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-(2,4-다이하이드록시페닐)프로프-2-엔-1-온 또는 3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-[4-하이드록시-3-(1,1-다이메톡시프로프-2-에닐)페닐]프로프-2-엔-1-온을 유효성분으로 하고 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 것을 특징으로 하는, 아토피, 피부소양증과 같은 피부염증을 비롯한 염증질환의 예방과 치료에 유용한 약제학적 조성물을 제공한다.

[0015] 본 발명에서 정의되는 염증질환에 특별한 제한은 없으나, 특히 아토피 피부염을 포함하는 피부염증질환, 신경교종세포 등 신경세포 염증질환, 척추염, 요도염, 방광염, 신염, 신우신염, 혈관염, 비염, 인후염, 편도염, 급성 통증 또는 염증성 장질환 등이며, 바람직하게는 피부염증질환, 요도염, 방광염, 신염, 신우신염, 비염, 인후염, 편도염 또는 염증성 장질환에 이용 가능할 것으로 예상된다.

- [0016] 새로운 화합물인 LicoB의 레소르시놀 (화합물 2) 유사체는 염기성 조건을 이용한 2,4-다이에톡시메톡시아세토페논 (2,4-diethoxymethoxyacetophenone) (화합물 14)과 벤즈알데하이드 (화합물 9)의 전통적인 클라이젠-슈미트 응축 및 뒤이은 탈보호기화에 의해 적당한 수율을 얻었다 (도 7의 반응식).
- [0017] 3,4-다이에톡시메톡시아세토페논 (3,4-Diethoxymethoxyacetophenone) (화합물 19)은 구입 가능한 3,4-다이하이드록시벤즈알데하이드 (화합물 16)를 EOMCl과 함께 다이아이소프로필에틸아민을 이용하여 보호기화하고, 뒤이은 CH_3MgCl 반응 및 PDC 산화반응으로 제조되었다 (도 8의 반응식). 2-하이드록시아세토페논 (2-hydroxyacetophenone) (화합물 13)의 탈양성자화 (deprotonation)는 분자내 수소결합 때문에 3-하이드록시 유사체 (3-hydroxy analogue) (화합물 16)보다 더 강한 염기를 필요로 한다는 것은 주목할 만하다. 아세토페논 (화합물 19)은 응축과 탈보호기화에 의해 테트라하이드록시메톡시찰콘 {(1) Hatano, T.; Takagi, M.; Ito, H.; Yoshida, T. *Chem. Pharm. Bull.* 1997, 45, 1485. (2) Hatano, T.; Shintani, Y.; Aga, Y.; Shiota, S.; Tsuchiya, T.; Yoshida, T. *Chem. Pharm. Bull.* 2000, 48, 1286}으로 알려진 천연 리코찰콘으로서의 카테콜 유사체 (화합물 3)를 제공한다.
- [0018] 새로운 화합물인 화합물 5는 LicoD의 유사체이며, LicoA와 유사한 아이소프로페닐 치환기를 가진다. LicoD 합성에서 [3,3]-시그마결합 자리옮김반응은 이 합성에 응용되었다 [Kim, S.-J.; Jun, J.-G. *Bull. Korean Chem. Soc.* 2013, 34, 54]. 4-하이드록시아세토페논 (4-Hydroxyacetophenone) (화합물 10)은 K_2CO_3 내의 1-브로모-3-메틸-2-부텐을 이용하여 0-프레닐화되어 화합물 21이 98% 수율로 생성되었고, 이것은 이후 알데하이드 화합물 9와 응축되어 찰콘 화합물 22가 수율 86%로 생성되었으며, 이어 물에 의해 촉진되는 클라이젠 재배열반응 (Jeon, J.-H.; Kim, M. R.; Jun, J.-G., *Synthesis* 2011, 370-376)으로 유사체 화합물 5가 52% 수율로 얻어졌다 (도 9의 반응식).
- [0019] 다른 아이소프로페닐 유사체 화합물 6 또한 새로운 화합물인데, 이것은 도 10의 반응식과 같이, 같은 방법론을 이용하여 화합물 10으로부터 0-프레닐화된 아세토페논 화합물 23과 찰콘 화합물 24를 거쳐 제조되었다.
- [0020] 합성된 리코찰콘 화합물 1~6에 대해 항염증 활성을 비교하였다. LPS로 자극한 RAW264.7 대식세포에서 리코찰콘 화합물 1~6에 의한 NO 생성 억제 결과는 표 1에 나타내었다. 아이소프로페닐 유사체 화합물 5와 레소르시놀 유사체 화합물 2는 2 μM 에서 각각 NO 생성을 75.9% 및 71.1% 억제하였다. LicoD (화합물 4)와 그 유사체 화합물 6 또한 동일 농도에서 적당한 저해율을 나타내었다. 그러나, LicoB (화합물 1)와 그의 카테콜 유사체 화합물 3은 매우 낮은 저해활성 또는 저해활성을 나타내지 않았다 (도 3). 또한, 레소르시놀 화합물 2, 아이소프로페닐 화합물 5, LicoD (화합물 4)와 그 유사체 화합물 6은 20 μM 에서 각각 96.5, 96.1, 95.4 및 94.3%의 저해율을 나타내었다. 흥미롭게도, 카테콜 유사체 화합물 3은 92.5%의 저해율을 보였으나, LicoB (화합물 1)는 같은 농도에서 69.6%의 저해율을 보였다. 20 μM 에서의 세포 생존율 분석은 도 2와 같이 세포독성을 나타내지 않는 리코찰콘 1~3에 의해 영향을 받지 않았다. LicoD (화합물 4)와 그의 아이소프로페닐 유사체 (화합물 5~6)은 불행히도 상당한 세포독성을 나타내었고, 화합물 4~6의 저해활성은 세포독성에 의한 것으로 생각된다. 합성한 리코찰콘 화합물 1~6의 NO 생성에 대한 IC_{50} 값은 GraphPad Prism 4.0 소프트웨어를 이용하여 평가하였고, 각각 9.94, 4.72, 10.1, 4.85, 2.37 및 4.95 μM 를 나타내었다 (도 5).
- [0021] 종합하면, 본 발명자들은 염기 조건에서 전통적인 클라이젠-슈미트 응축에 의해 리코찰콘 유사체 화합물 1~6을 제조하였다. 항염증 연구에서 시험대상 모든 화합물들 즉, 화합물 1~6은 20 μM 농도에서 각각 69.6%, 96.5%, 92.5%, 95.4%, 96.1% 및 94.3%의 억제율을 나타내었고, IC_{50} 값은 각각 9.94, 4.72, 10.1, 4.85, 2.37 및 4.95 μM 였다. 그렇지만, LicoD (화합물 4)와 그 유사체 (화합물 5, 6)는 상당한 세포독성을 나타내었고, 레소르시놀 유사체 (화합물 2)는 2 μM 에서도 아무런 세포독성 없이 탁월한 저해활성을 나타내었다.

발명의 효과

[0022] 본 발명의 리코찰콘 유도체 (화합물 1~6)은 NO 생성 억제능을 비교한 결과, 각각 9.94, 4.72, 10.1, 4.85, 2.37 및 4.95 μM 의 IC_{50} 값을 나타내었다. 따라서, 본 발명의 리코찰콘 유도체 중 화합물 2와 화합물 5는 NO 생성 억제능이 우수하여 항염증 약학조성물로 응용 가능하다.

도면의 간단한 설명

[0023] 도 1은 리코찰콘 화합물들의 항염증 활성을 나타낸다.
 도 2는 리코찰콘 B와 리코찰콘 D 유도체들의 디자인된 구조를 나타낸다.
 도 3은 LPS로 유도되는 NO 생성에 대한 리코찰콘 화합물 1~6의 효과를 나타낸다. RAW 264.7 세포를 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 LPS 존재 하에 (a) 2 μM 및 (b) 20 μM 의 리코찰콘으로 처리하였다. 통계학적 유의성은 LPS로 자극한 세포와 비교하였을 때의 차이에 기초하였다 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.005$).
 도 4는 합성한 리코찰콘 화합물 1~6의 세포 생존율 분석결과이다. (a) 2 μM , (b) 20 μM . 통계학적 유의성은 LPS로 자극한 세포와 비교하였을 때의 차이에 기초하였다 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$).
 도 5는 합성한 리코찰콘 화합물 1~6의 NO 생성에 대한 IC_{50} 값이다.
 도 6은 리코찰콘 B (화합물 1)의 합성을 나타내는 도면이다.
 도 7은 리코찰콘 B의 레소르시놀 유사체 (화합물 2)의 합성을 나타내는 도면이다.
 도 8은 리코찰콘 B의 카테콜 유사체 (화합물 3)의 합성을 나타내는 도면이다.
 도 9는 리코찰콘 유사체 (화합물 5)의 합성을 나타낸다.
 도 10은 리코찰콘 유사체 (화합물 6)의 합성을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0024] 아래에서는 구체적인 실시예를 들어 본 발명의 구성을 좀 더 자세히 설명한다. 그러나, 본 발명의 범위가 실시예의 기재에 의하여 한정되는 것이 아님은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 자명하다.

[0025] 모든 화학시약은 Sigma-Aldrich Chemicals에서 구입하였고, 다른 언급이 없는 경우 별도의 정제과정 없이 사용하였다. NMR 스펙트럼은 Varian Mercury에 300 MHz FT-NMR 및 ^{13}C 에 대해서는 75 MHz로 기록하였고, 화학적 이동 (δ)은 TMS에 대하여 ppm (parts per million)로 나타내었고, 커플링 상수 (J)는 Hz로 인용하였다. CDCl_3 는 용매 및 내부 스탠다드로 이용하였다. 질량 스펙트럼은 JMS-700 (JEOL) spectrometer를 이용하여 기록하였다. 녹는점은 MEL-TEMP II 장치에서 측정하고, 보정하지 않았다. TLC (Thin-layer chromatography)는 DC-Plastikfolien 60, F₂₅₄ (Merck, layer thickness 0.2 mm) 플라스틱을 덴 실리카 젤 플레이트 상에서 수행하였고, UV (254 nm)를 조사하거나 또는 *p*-아니스알데하이드 (*p*-anisaldehyde)로 염색하였다. *E. coli* 유래 LPS와 DMSO (dimethylsulfoxide)는 Sigma (St Louis, Mo, USA)에서 구입하였다. DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium), 우태혈청, 페니실린과 스트렙토마이신은 Hyclone (Logan, Utah, USA) 제품이다. DMSO의 최종 농도는 0.1%를 넘지 않도록 하여 분석 시스템에 영향을 미치지 않게 하였다.

세포배양 및 세포생존율 분석

[0027] RAW264.7 쥐 대식세포는 한국세포은행 (서울, 한국)에서 입수하여 10% 우태혈청, 100 U/mL 페니실린, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 스트렙토마이신이 함유된 DMEM에서 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 조건으로 배양하였다. 세포생존율에 미치는 제조된 리코찰콘 화합물 1~6의 효과는 CellTiter 96® Aqueous One Solution Assay of cell proliferation (Promega, Madison, WI, USA)으로 시험하였는데, 이것은 생존세포를 계수하기 위하여 발색반응법을 이용한다. 이 분석법은 배양과정이 완료된 후 남아있는 생존세포 수를 결정하는데 이용하였다. RAW264.7 세포는 96-웰의 평평한 바닥을

가진 플레이트에 2×10^4 세포 밀도가 되도록 놓고 리코찰콘은 각각 0, 2 및 20 μM 농도가 되도록 각 플레이트에 가하였다. 24시간 배양 후 제조자의 지시대로 생존세포 수를 계수하였다. 이 분석방법은 테트라졸리움 화합물 MTS가 포마잔으로 환원되는 것에 기초한 것인데, 포마잔은 490 nm에서 최대 흡광도를 나타낸다. 따라서, 세포 배양액 내의 산물의 양은 490 nm에서 포마잔의 광학적 밀도로 나타내며, 이것은 직접적으로 생존세포 수와 비례한다.

[0028]

NO 측정

[0029]

마우스 대식세포에 의해 생성된 NO의 양은 RAW264.7 세포배양액 상층액에서 측정한 값으로 나타내었다. RAW264.6 세포는 500 mL의 배양배지가 든 24-웰 세포배양 플레이트에서 5×10^5 세포밀도가 되도록 넣고 12시간 동안 배양하였다. 세포는 1 $\mu\text{g/mL}$ 의 LPS 내에서 각 화합물 2 또는 20 μM 으로 18시간 동안 처리하였다. 생성된 NO의 양은 Griess reagent system (Promega)을 이용하여 측정하였다. 값은 GraphPad Prism 4.0 software (GraphPad Software Inc., San Diego, CA)를 이용한 벤페로니 다중비교 포스트 시험으로 일방 ANOVA (one-way analysis of variance)에 의해 평가되었다. IC₅₀ 값은 GraphPad Prism 4.0 software를 이용하여 평가하였다.

[0030]

3, 4-다이에톡시메톡시-2-하이드록시벤즈알데하이드 (3,4-Diethoxy methoxy-2-hydroxybenzaldehyde) (화합물 8)

[0031]

질소 분위기 하에서 CH_2Cl_2 (50 mL) 내에서 2,3,4-트리하이드록시벤즈알데하이드 (2,3,4-trihydroxybenzaldehyde) (화합물 7) (500 mg, 3.24 mmol)에 서서히 $i\text{Pr}_2\text{NEt}$ (1.01 mL, 5.84 mmol)을 가하고 10분간 실온에서 교반하였다. 이 반응 혼합물에 클로로메틸에틸에테르 (0.5 mL, 5.84 mmol)를 서서히 가하고 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물은 CH_2Cl_2 로 추출한 후 무수 Na_2SO_4 로 건조하고 진공농축한 후 실리카젤 플래시 컬럼 크로마토그래피 ($\text{EtOAc}/\text{hexane}=1/7$)로 정제하여 맑은 액체를 얻었다 (508 mg, 58%). R_f 0.48 ($\text{EtOAc}/\text{hexane}=1/3$); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 11.24 (1H, s), 9.74 (1H, s), 7.26 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 6.84 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 5.32 (2H, s), 5.21 (2H, s), 3.92 (2H, q, $J = 6.9$ Hz), 3.74 (2H, q, $J = 6.9$ Hz), 1.23 (3H, t, $J = 6.9$ Hz), 1.22 (3H, t, $J = 6.9$ Hz). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 194.8, 157.3, 156.1, 133.3, 130.0, 116.8, 107.2, 96.4, 93.4, 65.1, 65.0, 15.1, 15.0.

[0032]

3,4-다이에톡시메톡시-2-메톡시벤즈알데하이드 (3,4-Diehoxymethoxy-2-methoxybenzaldehyde) (화합물 9)

[0033]

질소 분위기 하에서 아세톤 (10 mL) 내의 3,4-다이에톡시메톡시-2-하이드록시벤즈알데하이드 (화합물 8) (400 mg, 4.18 mmol)에 서서히 K_2CO_3 (614 mg, 4.44 mmol)를 가하고 실온에서 10분간 교반하였다. 이 반응 혼합물에 MeI (0.10 mL, 1.63 mmol)를 서서히 가하여 실온에서 3.5시간 동안 교반하였다. 반응이 완료된 후 용매는 증발시켰다. 반응 혼합물은 CH_2Cl_2 로 추출하여 무수 Na_2SO_4 로 건조시킨 후 진공농축하고 실리카젤 플래시 컬럼 크로마토그래피 ($\text{EtOAc}/\text{hexane}=1/7$)로 정제하여 황색 액체 (152 mg, 90%)를 얻었다. R_f 0.36 ($\text{EtOAc}/\text{hexane}=1/3$); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 10.22 (1H, s), 7.57 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.02 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 5.30 (2H, s), 5.18 (2H, s), 3.99 (3H, s), 3.88 (2H, q, $J = 6.9$ Hz), 3.74 (2H, q, $J = 6.9$ Hz), 1.24 (3H, t, $J = 6.9$ Hz), 1.23 (3H, t, $J = 6.9$ Hz). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 188.6, 157.3, 156.9, 139.1, 124.4, 124.1, 111.1, 97.1, 93.5, 65.4, 64.9, 62.7, 31.0, 15.1.

[0034]

4-(테트라하이드로-2H-피란-2-일옥시)아세트페논 {4-(Tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)acetophenone} (화합물 11)

[0035]

질소 분위기 하에서 CH_2Cl_2 (10 mL) 내의 4-하이드록시아세트페논 (화합물 10) (100 mg, 0.73 mmole)에 Py- $p\text{TsOH}$ (19 mg, 0.07 mmol)을 가하고 실온에서 30분간 교반하였다. 반응 혼합물은 CH_2Cl_2 로 추출하여 무수 MgSO_4

로 건조하고 진공농축한 후 실리카 젤 플래시 컬럼 크로마토그래피 (EtOAc/hexane=1/3)로 정제하여 백색 고체 (137 mg, 88%)를 얻었다. R_f 0.60 (EtOAc/hexane=1/3); mp 60°C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.08 (2H, d, J = 8.7 Hz), 7.13 (2H, d, J = 8.7 Hz), 5.60 (1H, br t, J = 3.0 Hz), 3.89 (1H, m), 3.67 (1H, m), 2.59 (3H, s), 1.81 (6H, m). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 196.9, 160.81, 130.79, 130.28, 115.82, 95.99, 62.02, 3015, 26.41, 25.12, 18.56.

[0036]

3-[3,4-비스(에톡시메톡시)-2-메톡시페닐]-1-[4-(테트라하이드로-2H-피란-2-일옥시)페닐]프로프-2-엔-1-온 (화합물 12)

[0037]

3,4-다이에톡시메톡시-2-메톡시벤즈알데하이드 (화합물 9) (50 mg, 0.20 mmol)에 에탄올 (5 mL) 에 녹인 4-(테트라하이드로-2H-피란-2-일옥시)아세트페논 (화합물 11) (42 mg, 0.20 mmol)을 가하고 실온에서 6시간 동안 교반하였다. 반응 완료 후 용매는 증발시켰다. 반응 혼합물은 CH_2Cl_2 로 추출하였고, 무수 MgSO_4 로 건조시킨 후 진공농축하고 실리카 젤 플래시 컬럼 크로마토그래피 (EtOAc/hexane=1/4)로 정제하여 황색 액체 (26.4 mg, 63.5%)를 얻었다. R_f 0.26 (EtOAc/hexane=1/3); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.99 (2H, d, J = 8.7 Hz), 7.96 (1H, d, J = 15.6 Hz), 7.53 (1H, d, J = 15.6 Hz), 7.36 (1H, d, J = 9.0 Hz), 7.11 (2H, d, J = 8.7 Hz), 6.98 (1H, d, J = 9.0 Hz), 5.53 (1H, t, 3 Hz), 5.28 (2H, s), 5.19 (2H, s), 3.90 (3H, s), 3.84 (2H, q, 7.2 Hz), 3.76 (2H, q, 7.2 Hz), 1.80 (8H, m), 1.24 (6H, t, 7.5 Hz). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 189.0, 160.6, 153.9, 153.2, 139.9, 138.8, 131.9, 130.4, 123.7, 123.3, 121.6, 116.0, 111.6, 97.1, 96.1, 93.7, 65.2, 64.7, 62.1, 61.4, 30.2, 25.1, 18.6, 15.2, 15.1.

[0038]

(E)-3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-(4-하이드록시페닐)-2-프로펜-1-온, 리코찰콘 B (화합물 1)

[0039]

메탄올 (1 mL) 내의 3-[3,4-비스(에톡시메톡시)-2-메톡시페닐]-1-[4-(테트라하이드로-2H-피란-2-일옥시)페닐]프로프-2-엔-1-온 (화합물 12) (73 mg, 0.16 mmol)에 레진 (15 mg)을 가하고 실온에서 15시간 동안 교반하였다. 반응 완료 후 레진은 걸러내고 용매는 증발시킨 후 실리카 젤 플래시 컬럼 크로마토그래피 (EtOAc/hexane=1/3)로 정제하여 황색 침상 (needle) 화합물 (38 mg, 83.7%)을 얻었다. R_f 0.09 (EtOAc/hexane=1/1); mp 197-198°C; ^1H NMR (300 MHz, acetone- d_6) δ 8.04 (2H, d, J = 8.4 Hz), 7.96 (1H, d, J = 15.9 Hz), 7.70 (1H, d, J = 15.9 Hz), 7.30 (1H, d, J = 8.4 Hz), 6.95 (2H, d, J = 8.4 Hz), 6.69 (1H, d, J = 7.8 Hz), 3.85 (3H, s). ^{13}C NMR (75 MHz, acetone- d_6) δ 183.4, 157.6, 144.9, 144.2, 134.3, 134.2, 126.7, 126.4, 116.3, 115.5, 114.8, 111.2, 107.5, 56.7.

[0040]

2,4-다이에톡시메톡시아세트페논 (화합물 14)

[0041]

DMF (15 mL) 내의 2,4-다이하이드록시아세트페논 (화합물 13) (500 mg, 3.29 mmol)에 질소 분위기 하에서 K_2CO_3 (2.73 g, 19.72 mmol)를 가하고 실온에서 10분간 교반하였다. 클로로메틸에틸에테르 (1.22 mL, 13.14 mmol)를 이 반응 혼합물에 서서히 가하여 70 °C에서 여덟 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물은 Et_2O 로 추출하고 무수 Na_2SO_4 로 건조시켜 진공농축하고, 실리카 젤 플래시 컬럼 크로마토그래피 (EtOAc/hexane=1/7)로 정제하여 맑은 액체 (398 mg, 45%)를 얻었다. R_f 0.45 (EtOAc/hexane=1/4); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.76 (1H, d, J = 8.7 Hz), 6.85 (1H, d, J = 2.1 Hz), 6.70 (1H, dd, J = 8.7, 2.1 Hz), 5.30 (2H, s), 5.24 (2H, s), 3.75 (2H, q, J = 6.9 Hz), 3.72 (2H, q, J = 6.9 Hz), 2.59 (3H, s), 1.23 (6H, q, J = 6.9 Hz). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 197.7, 161.8, 158.4, 132.1, 122.4, 108.8, 102.9, 93.2, 92.9, 64.8, 64.6, 31.8, 15.2.

[0042] (E)-3-(3,4-다이에톡시메톡시-2-메톡시페닐)-1-(2,4-다이에톡시메톡시페닐)프로프-2-엔-1-온 (화합물 15)

[0043] 2,4-다이에톡시메톡시아세트페논 (화합물 14) (168 mg, 0.63 mmol)에 에탄올 (6 mL)에 녹인 3,4-다이하이드록시메톡시-2-메톡시벤즈알데하이드 (화합물 9)와 KOH (73mg, 1.31mmol)를 가하여 실온에서 하루 동안 교반하였다. 반응 완료 후 용매는 증발시켰다. 반응 혼합물은 CH_2Cl_2 로 추출하여 무수 Na_2SO_4 로 건조시키고 진공농축한 후 실리카 젤 플래시 컬럼 크로마토그래피 (EtOAc/hexane=1/7)로 정제하여 맑은 액체 (250 mg, 90%)를 얻었다. R_f 0.19 (EtOAc/hexane=1/4); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.85 (1H, d, J = 15.6 Hz), 7.65 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.43 (1H, d, J = 15.6 Hz), 7.32 (1H, d, J = 8.7 Hz), 6.96 (1H, d, J = 8.7 Hz), 6.87 (1H, d, J = 1.8 Hz), 6.75 (1H, d, J = 8.4, 1.8 Hz), 5.27 (4H, s), 5.25 (2H, s), 5.17 (2H, s), 3.87 (2H, q, J = 7.5 Hz), 3.86 (3H, s), 3.79~3.69 (6H, m), 1.23 (12H, t, J = 7.5 Hz). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 191.1, 161.1, 157.5, 153.8, 153.0, 139.9, 137.2, 132.0, 126.6, 124.1, 123.5, 111.6, 109.1, 103.7, 97.1, 93.7, 93.0, 65.2, 64.7, 64.6, 64.5, 61.5, 15.2, 15.1.

[0044] (E)-3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-(2,4-다이하이드록시페닐)프로프-2-엔-1-온 (화합물 2)

[0045] 메탄올 (2 mL)에 녹인 (E)-3-(3,4-다이에톡시메톡시-2-메톡시페닐)-1-(2,4-다이에톡시메톡시페닐)프로프-2-엔-1-온 (화합물 15) (50 mg, 0.09 mmol)에 레진 (30 mg)을 가하고 실온에서 세 시간 동안 교반하였다. 반응 완료 후 레진은 걸렸고, 용매는 증발시켰으며, 실리카 젤 플래시 컬럼 크로마토그래피 (EtOAc/hexane=1/2)로 정제하여 황색 침상 화합물을 얻었다 (21 mg, 75%). R_f 0.35 (EtOAc/hexane=1/1); mp 186 °C(dec.); ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.03 (1H, d, J = 15.6 Hz), 7.91 (1H, d, J = 8.7 Hz), 7.66 (1H, d, J = 15.6 Hz), 7.22 (1H, d, J = 8.4 Hz), 6.64 (1H, d, J = 8.4 Hz), 6.40 (1H, dd, J = 8.7, 2.4 Hz), 6.28 (1H, d, J = 2.4 Hz), 3.85 (3H, s). ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 193.5, 167.3, 166.1, 150.8, 149.9, 140.8, 139.5, 133.1, 121.1, 120.5, 119.2, 114.7, 112.7, 109.0, 103.7, 61.8. EIMS m/z 302 (M^+), 271 (Base, $-\text{OCH}_3$), 137 (A-ring-C=O $^+$). HRMS calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6$ M^+ 302.0790, found 302.0790.

[0046] 3,4-다이에톡시메톡시벤즈알데하이드 (화합물 17)

[0047] CH_2Cl_2 (12 mL) 내의 3,4-다이하이드록시벤즈알데하이드 (화합물 16) (300 mg, 2.17 mmol)에 질소 분위기 하에서 $i\text{Pr}_2\text{NEt}$ (0.83 mL, 4.78 mmol)을 서서히 가하고 실온에서 10분간 교반하였다. 반응 혼합물은 CHCl_3 로 추출하여 무수 Na_2SO_4 로 건조시키고 진공농축한 후 실리카 젤 플래시 컬럼 크로마토그래피 (EtOAc/hexane=1/5)로 정제하여 맑은 액체 (459 mg, 83%)를 얻었다. R_f 0.57 (EtOAc/hexane=1/2); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9.85 (1H, s), 7.68 (1H, d, J = 1.5 Hz), 7.50 (1H, dd, J = 8.4, 1.5 Hz), 7.30 (1H, d, J = 8.4 Hz), 5.37 (2H, s), 5.33 (2H, s), 3.78 (2H, q, J = 6.9 Hz), 3.77 (2H, q, J = 6.9 Hz), 1.23 (3H, t, J = 6.9 Hz), 1.22 (2H, t, J = 6.9 Hz). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 190.6, 152.6, 147.3, 130.8, 126.0, 115.7, 115.1, 93.9, 93.8, 93.5, 64.8, 64.6, 15.1.

[0048] 1-(3,4-다이에톡시메톡시페닐)에탄올 (화합물 18)

[0049] THF (10 mL)에 녹인 3,4-다이에톡시메톡시벤즈알데하이드 (화합물 17) (205 mg, 0.79 mmol)에 질소 분위기 하에서 MeMgCl (3.0 M THF 용액) (0.79 mL, 2.36 mmol)을 얼음 용기의 위에서 실온으로 한 시간 동안 교반하였다. 반응 완료 후 NH_4Cl 을 가하였다. 반응 혼합물은 셀라이트 (celite) 여과하였고, 용매는 증발시켰다. 반응 혼합물은 EtOAc로 추출하고 무수 Na_2SO_4 로 건조시킨 후 진공농축하고, 실리카 젤 플래시 컬럼 크로마토그래피 (EtOAc/hexane=1/4)로 정제하여 맑은 액체 (212 mg, 98%)를 얻었다. R_f 0.44 (EtOAc/hexane=1/2); ^1H

NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.18 (1H, d, $J = 1.8$ Hz), 7.13 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.95 (1H, dd, $J = 8.4, 1.8$ Hz), 5.26 (2H, s), 5.24 (2H, s), 4.83 (1H, q, $J = 6.3$ Hz), 3.77 (2H, q, $J = 6.9$ Hz), 3.76 (2H, q, $J = 6.9$ Hz), 1.88 (1H, s), 1.47 (3H, d, $J = 6.3$ Hz), 1.23 (3H, t, $J = 6.9$ Hz), 1.22 (3H, t, $J = 6.9$ Hz). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 147.2, 146.6, 140.1, 119.1, 116.6, 114.1, 94.1, 70.1, 64.3, 25.1, 15.2.

[0050]

3,4-다이에톡시메톡시아세트페논 (화합물 19)

[0051]

CH_2Cl_2 (10 mL)에 녹인 1-(3,4-다이에톡시메톡시페닐)에탄올 (화합물 18) (80 mg, 0.30 mmol)에 PDC (pyridinium dichromate) (334 mg, 0.89 mmol)를 서서히 가하고 인공적인 그늘 아래서 실온으로 9시간 동안 교반하였다. 반응 완료 후 NH_4Cl 을 가하였다. 반응 혼합물은 셀라이트 여과하였고, 용매는 증발시켰다. 반응 혼합물은 CH_2Cl_2 로 추출하여 무수 Na_2SO_4 로 건조시키고, 진공농축한 후 실리카 젤 플래시 컬럼 크로마토그래피 (EtOAc/hexane=1/4)로 정제하여 맑은 액체 (76 mg, 96%)를 얻었다. R_f 0.61 (EtOAc/hexane=1/2); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.77 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 7.59 (1H, dd, $J = 8.7, 2.1$ Hz), 7.21 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 5.34 (2H, s), 5.31 (2H, s), 3.78 (2H, q, $J = 6.9$ Hz), 3.77 (2H, q, $J = 6.9$ Hz), 2.56 (3H, s), 1.23 (3H, t, $J = 6.9$ Hz), 1.22 (3H, t, $J = 6.9$ Hz). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 196.5, 151.5, 146.7, 123.8, 116.1, 114.8, 94.0, 93.5, 64.7, 64.6, 26.5, 15.2.

[0052]

(E)-3-(3,4-다이에톡시메톡시-2-메톡시페닐)-1-(3,4-다이에톡시메톡시페닐)프로프-2-엔-1-온 (화합물 20)

[0053]

에탄올에 녹인 3,4-다이에톡시메톡시아세트페논 (화합물 19) (30 mg, 0.11 mmol), 3,4-다이하이드록시메톡시-2-메톡시벤즈알데하이드 (화합물 9) (41 mg, 0.15 mmol)에 질소 분위기 하에서 KOH (16 mg, 0.28 mmol)를 가하여 실온에서 14시간 동안 교반하였다. 용매를 증발시킨 후 반응 혼합물은 EtOAc로 추출하여 무수 Na_2SO_4 로 건조한 후 진공농축하고, 실리카 젤 플래시 컬럼 크로마토그래피 (EtOAc/hexane=1/7)로 정제하여 맑은 액체 (42 mg, 71%)를 얻었다. R_f 0.18 (EtOAc/hexane=1/4); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.96 (1H, d, $J = 15.9$ Hz), 7.86 (1H, d, $J = 1.8$ Hz), 7.67 (1H, dd, $J = 8.4, 1.8$ Hz), 7.53 (1H, d, $J = 15.9$ Hz), 7.36 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.25 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.99 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 5.35 (2H, s), 5.33 (2H, s), 5.28 (2H, s), 5.19 (2H, s), 3.92~3.72 (8H, m), 3.90 (3H, s), 1.21~1.27 (12H, m, $J = 7.5$ Hz). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 188.8, 153.9, 153.2, 151.3, 146.9, 139.9, 139.1, 132.6, 123.9, 123.7, 123.2, 121.5, 116.7, 115.0, 111.5, 97.1, 94.2, 93.7, 65.2, 64.7, 64.6, 61.4, 61.3, 15.2, 15.1.

[0054]

(E)-3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-(3,4-다이하이드록시페닐)프로프-2-엔-1-온 (화합물 3)

[0055]

MeOH (1 mL)에 녹인 (E)-3-(3,4-다이에톡시메톡시-2-메톡시페닐)-1-(3,4-다이에톡시메톡시페닐)프로프-2-엔-1-온 (화합물 20) (27 mg, 0.05 mmol)에 레진 (20 mg)을 가하고 실온에서 15시간 동안 교반하였다. 반응 완료 후 레진은 여과하고, 용매는 증발시켰으며, 실리카 젤 플래시 컬럼 크로마토그래피 (EtOAc/hexane=1/1)로 정제하여 황색 침상 화합물 (6 mg, 40%)을 얻었다. R_f 0.09 (EtOAc/hexane=1/1); mp 201°C; ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.93 (1H, d, $J = 15.6$ Hz), 7.60 (1H, d, $J = 15.6$ Hz), 7.52 (1H, dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz), 7.49 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 7.19 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 6.85 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.63 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 3.84 (3H, s). ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 191.2, 152.0, 150.6, 149.7, 146.5, 140.7, 139.6, 131.7, 123.3, 121.3, 120.4, 120.2, 116.2, 115.8, 112.6, 61.7. EIMS m/z 302 (M^+), 271 (Base), 137. HRMS calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6$ M^+ 302.0790, found 302.0791.

[0056]

4-(3-메틸부트-2-에닐옥시)아세토페논 (화합물 21)

[0057]

아세톤 (35 mL)에 녹인 4-하이드록시아세토페논 (화합물 10) (1 g, 9.35 mmol)에 질소 분위기 하에서 K_2CO_3 (270 mg, 1.98 mmol)를 서서히 가하였다. 1-브로모-3-메틸-2-부텐 (0.93 mL, 8.08 mmol)을 이 반응 혼합물에 서서히 가하고 1.5 시간 동안 재환류하였다. 반응 혼합물은 셀라이트 545로 여과하고 용매는 증발시켰다. 반응 혼합물은 CH_2Cl_2 로 추출하고 무수 Na_2SO_4 로 건조한 후 진공농축하고 실리카 젤 플래시 컬럼 크로마토그래피 (EtOAc/hexane=1/6)로 정제하여 황색 액체 (1.84 g, 81%)를 얻었다. R_f 0.61 (EtOAc/hexane=1/4); 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.91 (2H, d, J = 9.3 Hz), 6.92 (2H, d, J = 9.3 Hz), 5.48 (1H, br t, J = 6.9 Hz), 4.57 (2H, d, J = 6.9 Hz), 2.56 (3H, s), 1.81 (3H, s), 1.76 (3H, s). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 196.5, 162.7, 138.7, 130.4, 130.1, 118.9, 114.3, 65.0, 26.4, 25.9, 18.3.

[0058]

(E)-3-(3,4-다이에톡시메톡시-2-메톡시페닐)-1-[4-(3-메톡시부트-2-에닐옥시)페닐]프로프-2-엔-1-온 (화합물 22)

[0059]

에탄올 (5 mL)에 녹인 4-(3-메톡시부트-2-에닐옥시)아세토페논 (화합물 21) (125 mg, 0.61 mmol), 3,4-다이에톡시메톡시-2-메톡시벤즈알데하이드 (화합물 9) (135 mg, 0.47 mmol)에 질소 분위기 하에서 KOH (66 mg, 1.18 mmol)를 가하고 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 반응 완료 후, 용매는 증발시켰다. 반응 혼합물은 CH_2Cl_2 로 추출하고, 무수 Na_2SO_4 로 건조시켜 진공농축한 후 실리카 젤 플래시 컬럼 크로마토그래피 (EtOAc/hexane=1/7)로 정제하여 황색 액체 (176 mg, 86%)를 얻었다. R_f 0.40 (EtOAc/hexane=1/4); 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.00 (2H, d, J = 8.4 Hz), 7.97 (1H, d, J = 15.6 Hz), 7.54 (1H, d, J = 15.6 Hz), 7.36 (1H, d, J = 8.7 Hz), 6.98 (1H, d, J = 8.7 Hz), 6.96 (2H, d, J = 8.4 Hz), 5.49 (1H, br t, J = 6.6 Hz), 5.28 (2H, s), 5.19 (2H, s), 4.58 (2H, d, J = 6.6 Hz), 3.90 (3H, s), 3.88 (2H, q, J = 6.9 Hz), 3.75 (2H, q, J = 6.9 Hz), 1.80 (3H, s), 1.76 (3H, s), 1.24 (6H, t, J = 6.9 Hz). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 188.7, 162.4, 153.8, 153.2, 139.9, 138.7, 138.6, 131.1, 130.5, 123.6, 123.2, 121.5, 118.9, 114.3, 111.5, 97.1, 93.7, 65.2, 65.0, 64.6, 61.4, 25.8, 18.3, 15.1, 15.0.

[0060]

(E)-3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-[4-하이드록시-3-(1,1-다이에톡시프로프-2-에닐)페닐]프로프-2-엔-1-온 (화합물 5)

[0061]

폭발 반응기 내에서 (E)-3-(3,4-다이에톡시메톡시-2-메톡시페닐)-1-[4-(3-메틸부트-2-에닐옥시)페닐]프로프-2-엔-1-온 (화합물 22) (155 mg, 0.33 mmol)에 EtOH/ H_2O 혼합용매 (EtOH/ H_2O =4/1) (13 mL)를 가하고 150°C에서 20시간 동안 반응시켰다. 용매는 증발시키고, 반응 혼합물은 EtOAc로 추출한 후 무수 Na_2SO_4 로 건조시키고 진공농축한 다음, 실리카 젤 플래시 컬럼 크로마토그래피 (EtOAc/hexane=1/2)로 정제하여 황색 침상 화합물 (176 mg, 86%)을 얻었다. R_f 0.30 (EtOAc/hexane=1/1); mp 203 °C (dec.); 1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.98 (1H, d, J = 2.4 Hz), 7.92 (1H, d, J = 15.9 Hz), 7.83 (1H, dd, J = 8.1, 2.4 Hz), 7.61 (1H, d, J = 15.9 Hz), 7.17 (1H, d, J = 8.1 Hz), 6.84 (1H, d, J = 8.7 Hz), 6.63 (1H, d, J = 8.7 Hz), 6.28 (1H, dd, J = 17.7, 10.4 Hz), 4.99 (1H, dd, J = 10.4, 0.9 Hz), 4.98 (1H, dd, J = 17.7, 0.9 Hz), 3.84 (3H, s), 1.52 (6H, s). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 191.6, 162.1, 150.6, 149.7, 148.4, 140.9, 139.6, 135.6, 130.6, 130.0, 129.6, 121.3, 120.7, 120.4, 116.9, 112.6, 110.9, 61.6, 41.7, 30.7, 27.3. EIMS m/z 354 (M^+), 337 (-OH), 323 (Base, -OCH₃). HRMS calcd for $C_{21}H_{22}O_5$ M^+ 354.1467, found 354.1467.

[0062]

4-(2-메틸부트-2-에닐옥시)아세토페논 (화합물 23)

[0063]

아세톤 (25 mL)에 녹인 4-하이드록시아세토페논 (화합물 10) (500 mg, 3.67 mmol)에 질소 분위기 하에서 K_2CO_3

(1.52 g, 11.02 mmol)를 서서히 가하였다. 이 반응 혼합물에 1-브로모-2-메틸-2-부텐 (657 mg, 4.4 mmol)을 서서히 가하고 5시간 동안 재환류하였다. 반응 혼합물은 여과하고, 용매는 증발시켰다. 반응 혼합물은 CH_2Cl_2 로 추출하고, 무수 Na_2SO_4 로 건조시킨 후 진공농축하고 실리카 젤 플래시 컬럼 크로마토그래피 (EtOAc/hexane=1/6)로 정제하여 황색 액체 (741 mg, 99%)를 얻었다. R_f 0.63 (EtOAc/hexane=1/4); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.90 (2H, br d, $J = 9.0$ Hz), 6.92 (2H, br d, $J = 9.0$ Hz), 5.63 (1H, br q, $J = 6.6$ Hz), 4.44 (2H, s), 2.55 (3H, s), 1.74 (3H, br s), 1.67 (3H, br d, $J = 6.6$ Hz). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 196.5, 162.7, 130.9, 130.4, 130.1, 124.0, 114.3, 74.1, 26.4, 13.6, 13.4.

[0064]

(E)-3-(3,4-다이에톡시메톡시-2-메톡시페닐)-1-[4-(2-메틸부트-2-에닐옥시)페닐]프로프-2-엔-1-온 (화합물 24)

[0065]

에탄올 (5 mL)에 용해시킨 4-(2-메틸부트-2-에닐옥시)아세트페논 (화합물 23) (105 mg, 0.51 mmol), 3,4-다이에톡시메톡시-2-메톡시벤즈알데하이드 (화합물 9) (122 mg, 0.43 mmol)에 질소 분위기 하에서 KOH (60 mg, 1.07 mmol)를 가하고 실온에서 36시간 동안 교반하였다. 반응 완료 후 용매는 증발시켰다. 반응 혼합물은 CH_2Cl_2 로 추출하고, 무수 Na_2SO_4 로 건조시켰다. 진공농축한 후 실리카 젤 플래시 컬럼 크로마토그래피 (EtOAc/hexane=1/7)로 정제하여 황색 액체 (174 mg, 87%)를 얻었다. R_f 0.49 (EtOAc/hexane=1/4); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.99 (2H, d, $J = 9.0$ Hz), 7.97 (1H, d, $J = 15.6$ Hz), 7.53 (1H, d, $J = 15.6$ Hz), 7.37 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 6.99 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 6.97 (2H, d, $J = 9.0$ Hz), 5.65 (1H, q, $J = 6.9$ Hz), 5.28 (2H, s), 5.19 (2H, s), 4.46 (2H, s), 3.90 (3H, s), 3.88 (2H, q, $J = 6.9$ Hz), 3.76 (2H, q, $J = 6.9$ Hz), 1.75 (3H, s), 1.68 (3H, d, $J = 6.9$ Hz), 1.24 (6H, t, $J = 6.9$ Hz). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 188.8, 162.5, 153.9, 153.2, 139.8, 138.7, 131.1, 131.0, 130.6, 124.0, 123.7, 123.2, 121.5, 114.4, 111.5, 97.1, 93.6, 74.2, 65.2, 64.7, 61.5, 31.0, 15.1, 13.7, 13.4.

[0066]

(E)-3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-[4-하이드록시-3-(1,2-다이에틸프로프-2-에닐)페닐]프로프-2-엔-1-온 (화합물 6)

[0067]

폭발 반응기 내에서 (E)-3-(3,4-다이에톡시메톡시-2-메톡시페닐)-1-[4-(2-메틸부트-2-에닐옥시)페닐]프로프-2-엔-1-온 (화합물 24) (50 mg, 0.11 mmol)에 EtOH/ H_2O 혼합용매 (EtOH/ H_2O =4/1) (13 mL)를 가하고 150°C에서 24시간 반응시켰다. 용매를 증발시키고, 반응 혼합물은 EtOAc로 추출하여 무수 Na_2SO_4 로 건조시킨 후 진공농축하였다. 이후 실리카 젤 플래시 컬럼 크로마토그래피 (EtOAc/hexane=1/2)로 정제하여 황색 중간상 (19 mg, 51%)을 얻었다. R_f 0.22 (EtOAc/hexane=1/1); ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.90 (1H, d, $J = 15.6$ Hz), 7.82 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 7.81 (1H, dd, $J = 9.0, 2.1$ Hz), 7.60 (1H, d, $J = 15.6$ Hz), 7.15 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 6.87 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 6.63 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 4.91 (2H, s), 3.86 (1H, d, $J = 6.6$ Hz), 3.84 (3H, s), 1.66 (3H, s), 1.34 (3H, d, $J = 6.6$ Hz). ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 191.4, 161.2, 150.6, 149.8, 149.7, 141.0, 139.6, 133.2, 131.1, 129.7, 129.6, 121.3, 120.5, 115.7, 112.6, 112.5, 110.5, 61.6, 39.4, 22.7, 19.8. EIMS m/z 354 (M^+), 337, 323 (Base). HRMS calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_5$ M^+ 354.1467, found 354.1467.

[0068]

<제형예 1-1: 정제의 제조>

[0069]

3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-(2,4-다이하이드록시페닐)프로프-2-엔-1-온 20 mg

[0070]

옥수수전분 100 mg

[0071]

유당 100 mg

[0072]

스테아린산 마그네슘 2 mg

- [0073] 상기 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.
- [0074] <제형예 1-2: 정제의 제조>
- [0075] 3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-[4-하이드록시-3-(1,1-다이메톡시프로프-2-에닐)페닐]프로프-2-엔-1-온 20 mg
- [0076] 옥수수전분 100 mg
- [0077] 유당 100 mg
- [0078] 스테아린산 마그네슘 2 mg
- [0079] 상기 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.
- [0080] <제형예 2-1: 캡슐제의 제조>
- [0081] 3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-(2,4-다이하이드록시페닐)프로프-2-엔-1-온 20 mg
- [0082] 옥수수전분 100 mg
- [0083] 유당 100 mg
- [0084] 스테아린산 마그네슘 2 mg
- [0085] 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.
- [0086] <제형예 2-2: 캡슐제의 제조>
- [0087] 3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-[4-하이드록시-3-(1,1-다이메톡시프로프-2-에닐)페닐]프로프-2-엔-1-온 20 mg
- [0088] 옥수수전분 100 mg
- [0089] 유당 100 mg
- [0090] 스테아린산 마그네슘 2 mg
- [0091] 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.
- [0092] <제형예 3-1: 주사제의 제조>
- [0093] 3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-(2,4-다이하이드록시페닐)프로프-2-엔-1-온 0.2 mg
- [0094] 주사용 멸균 증류수 적량
- [0095] pH 조절제 적량
- [0096] 통상의 주사제 제조방법에 따라 1 앰플당(2mℓ) 상기의 성분 함량으로 제조한다.
- [0097] <제형예 3-2: 주사제의 제조>
- [0098] 3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-[4-하이드록시-3-(1,1-다이메톡시프로프-2-에닐)페닐]프로프-2-엔-1-온 0.2 mg
- [0099] 주사용 멸균 증류수 적량
- [0100] pH 조절제 적량

- [0101] 통상의 주사제 제조방법에 따라 1 앰플당(2mℓ) 상기의 성분 함량으로 제조한다.
- [0102] <제형예 4-1: 액제의 제조>
- [0103] 3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-(2,4-다이하이드록시페닐)프로프-2-엔-1-온 10 mg
- [0104] 이성화당 10 g
- [0105] 만니톨 5 g
- [0106] 정제수 적량
- [0107] 통상의 액제 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 100mℓ로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조한다.
- [0108] <제형예 4-2: 액제의 제조>
- [0109] 3-(3,4-다이하이드록시-2-메톡시페닐)-1-[4-하이드록시-3-(1,1-다이메톡시프로프-2-에닐)페닐]프로프-2-엔-1-온 10 mg
- [0110] 이성화당 10 g
- [0111] 만니톨 5 g
- [0112] 정제수 적량
- [0113] 통상의 액제 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 100mℓ로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조한다.

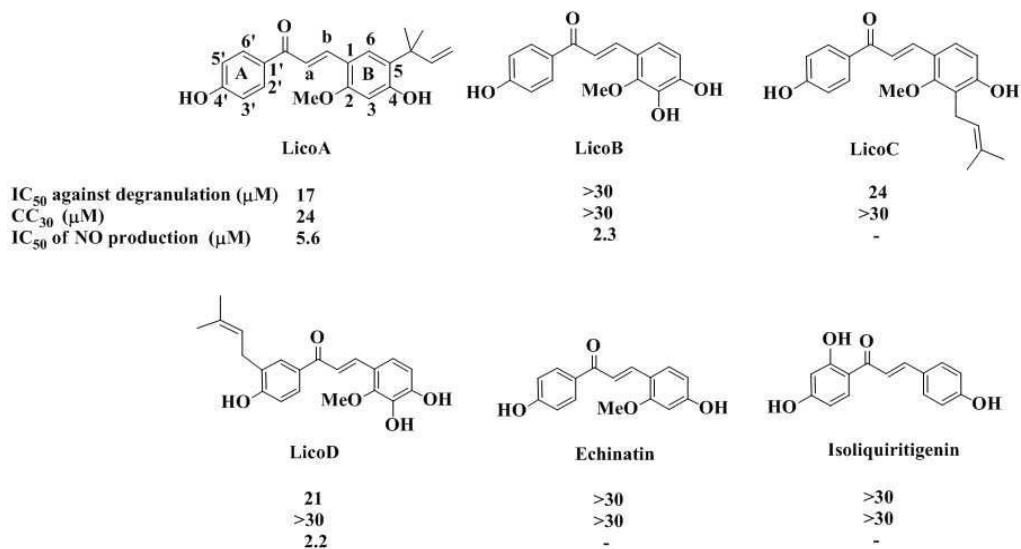
표 1

Compound	NO Production (% Inhibition)	
	2 μ M	20 μ M
MED	5.4 $\pm$ 0.3 (94.6)	5.4 $\pm$ 0.3 (94.6)
1	82.8 $\pm$ 0.3 (17.2)	30.4 $\pm$ 0.3 (69.6)
2	28.9 $\pm$ 0.3 (71.1)	3.5 $\pm$ 0.3 (96.5)
3	106.0 $\pm$ 6.0 (-6.0)	7.5 $\pm$ 0.8 (92.5)
4	42.2 $\pm$ 0.6 (57.8)	4.6 $\pm$ 0.2 (95.4)
5	24.1 $\pm$ 1.0 (75.9)	3.9 $\pm$ 0.1 (96.1)
6	43.5 $\pm$ 0.6 (56.5)	5.7 $\pm$ 0.3 (94.3)
LPS	100.0 $\pm$ 0.8 (0.0)	100.0 $\pm$ 0.8 (0.0)

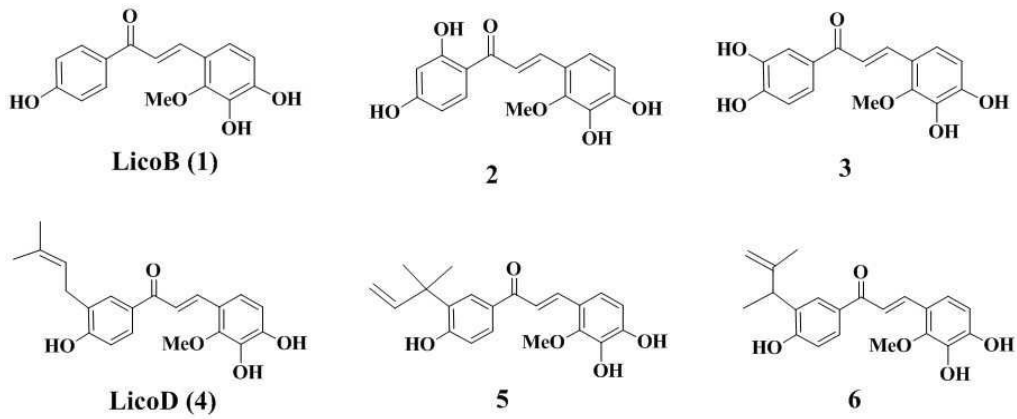
The results are reported as mean value $\pm$ SEM for n=3.
% Inhibition is based on LPS as shown in parenthesis.

도면

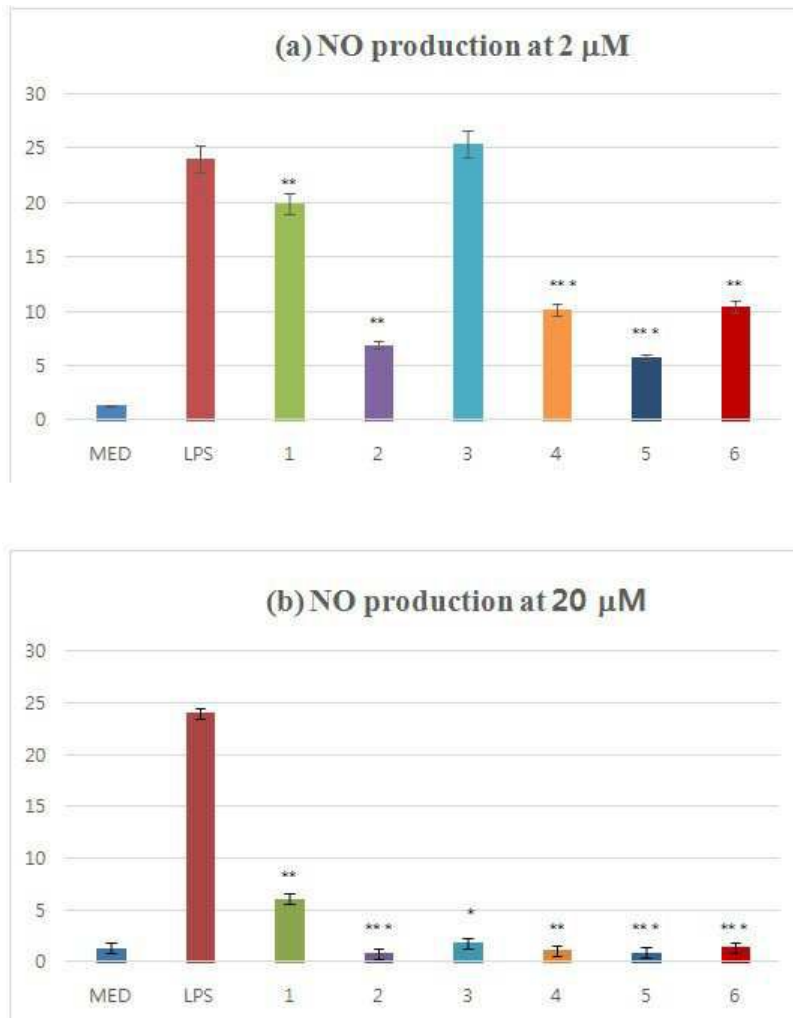
도면1



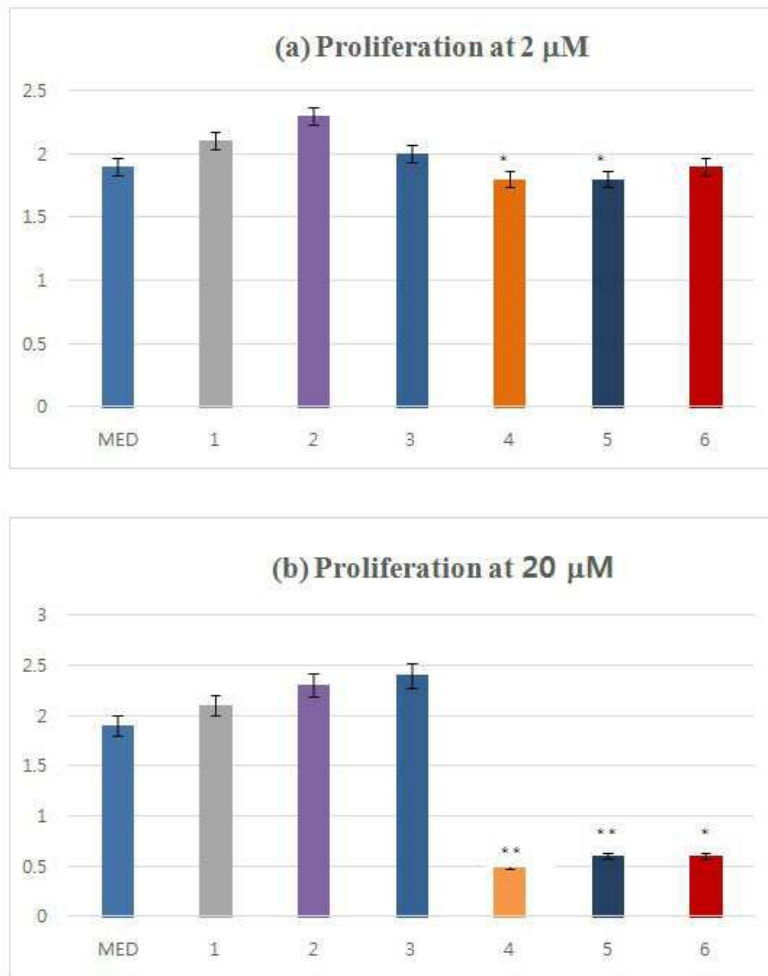
도면2



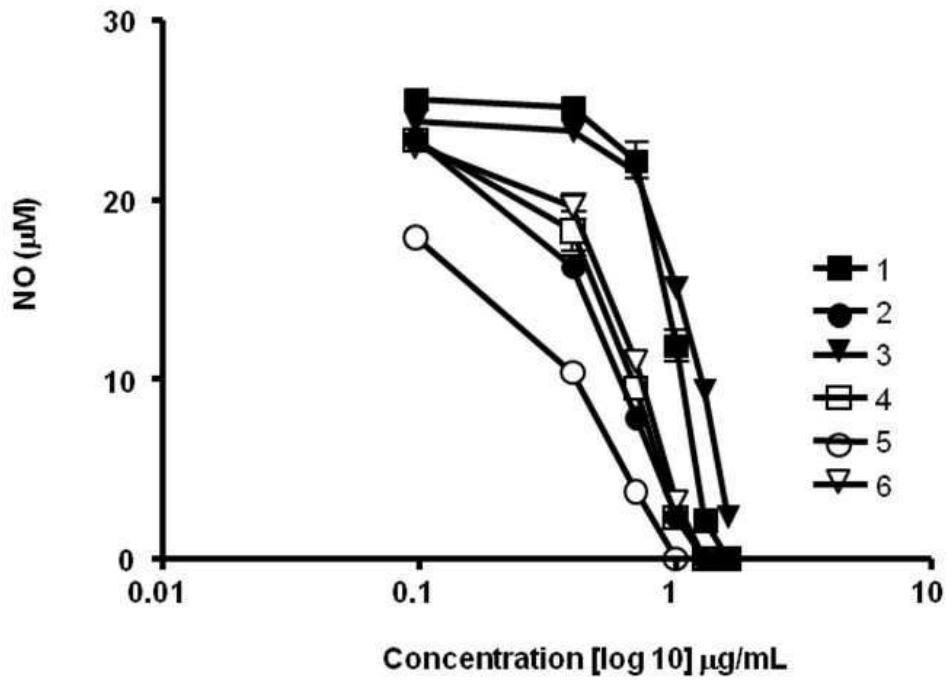
도면3



도면4

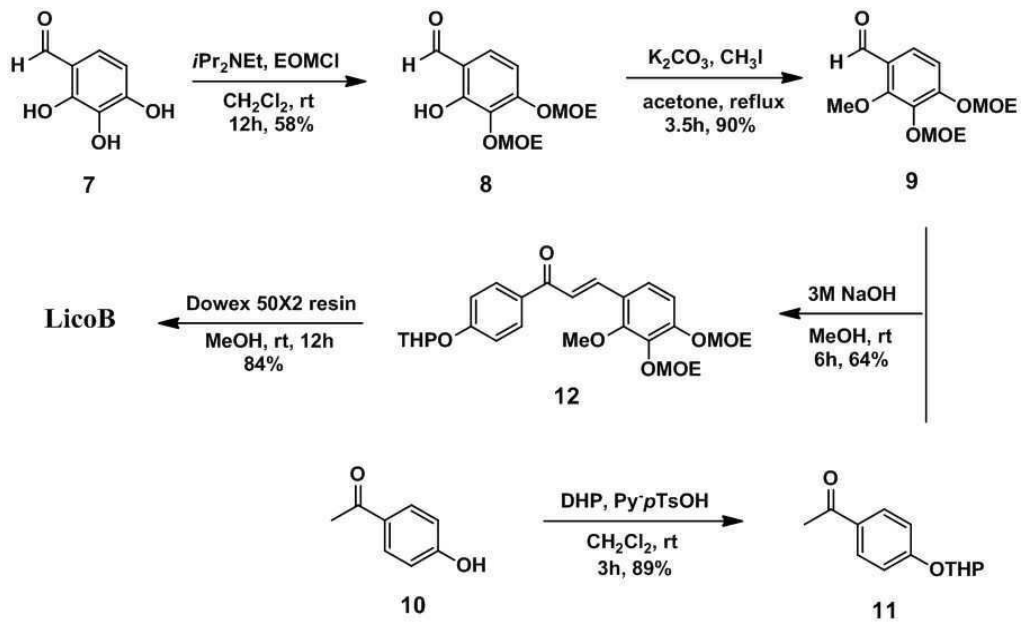


도면5

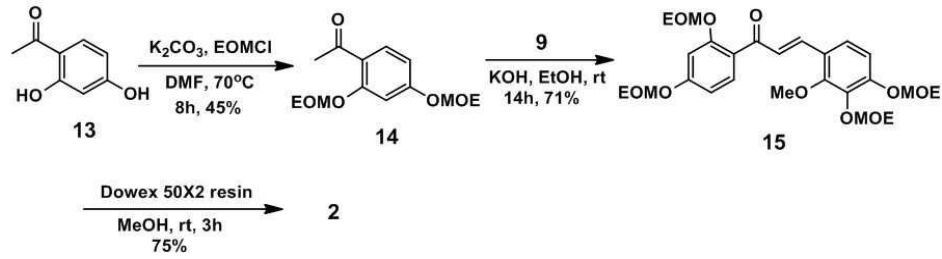


IC₅₀ values 1 : 9.94 μM, 2 : 4.72 μM, 3 : 10.1 μM, 4 : 4.85 μM,
5 : 2.37 μM, 6 : 4.95 μM

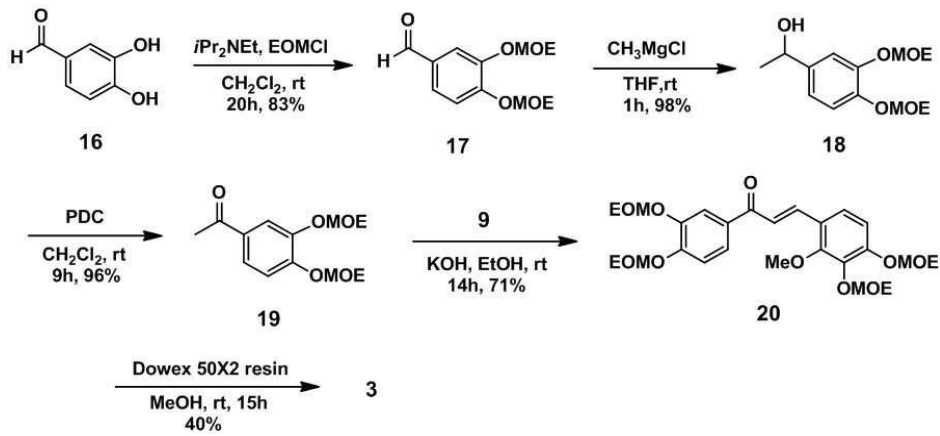
도면6



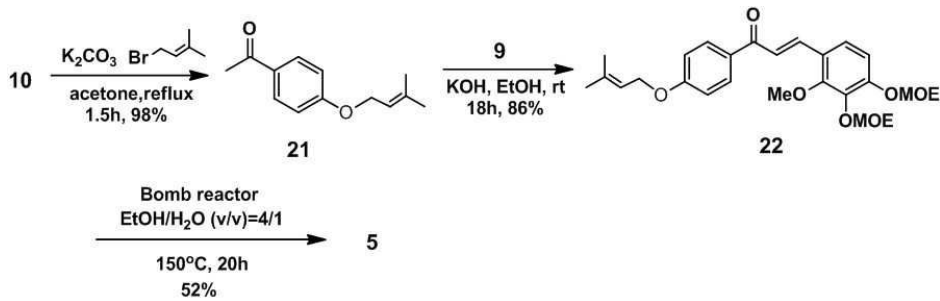
도면7



도면8



도면9



도면10

