



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0130781
(43) 공개일자 2018년12월10일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 311/30 (2006.01) A61K 31/352 (2006.01)
A61K 36/282 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
C07D 311/30 (2013.01)
A61K 31/352 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2017-0066800</p> <p>(22) 출원일자 2017년05월30일
심사청구일자 2017년05월30일</p> | <p>(71) 출원인
한국과학기술연구원
서울특별시 성북구 화랑로14길 5 (하월곡동)
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
가천대학교 산학협력단
경기도 성남시 수정구 성남대로 1342 (북정동)</p> <p>(72) 발명자
이재욱
서울특별시 성북구 화랑로14길 5
권학철
강원도 강릉시 사임당로 679
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
김영철, 김 순 영</p> |
|---|--|

전체 청구항 수 : 총 22 항

(54) 발명의 명칭 **애엽 유래의 화합물을 포함하는 신장세포 보호용 조성물**

(57) 요약

본 명세서는 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물 및 이의 용매화물, 상기 화합물 등의 효과, 및 상기 화합물 등을 포함하는 애엽 분획물과 애엽 추출물을 포함하는 조성물에 관한 것으로서, 본 발명의 일 측면을 통해 약물에 의한 신독성을 완화시키고 신장세포를 보호하여, 약물에 의한 신장 질환의 예방 또는 치료에 기여할 수 있다.

(52) CPC특허분류

A61K 36/282 (2013.01)

(72) 발명자

배애님

서울특별시 성북구 화랑로14길 5

강기성

경기도 성남시 중원구 시민로 66, 207동 1103호

이동호

서울특별시 강남구 삼성로 212, 23동 1402호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 CRC-15-04-KIST

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 국가과학기술연구회

연구사업명 미래선도형 융합연구단 사업

연구과제명 타우 단백질 응집 조절 치매 치료제 개발

기 여 율 1/1

주관기관 한국과학기술연구원

연구기간 2016.12.01 ~ 2017.11.30

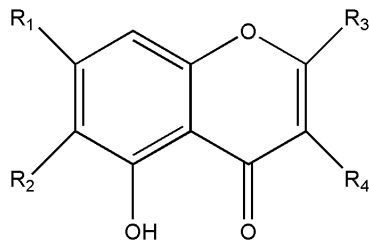
명세서

청구범위

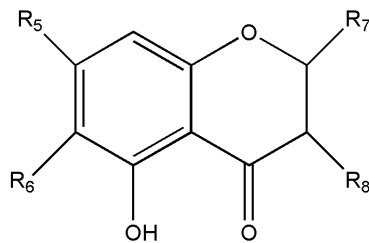
청구항 1

하기 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물

[화학식 1]



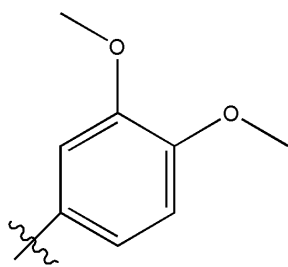
[화학식 2]



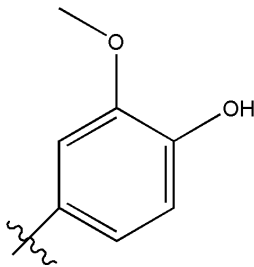
(상기 R₁ 또는 R₅는 , , H, 및 CH₃로 이루어진 군에서 선택된 하나;

상기 R₂ 또는 R₆는 , , H, 및 CH₃로 이루어진 군에서 선택된 하나;

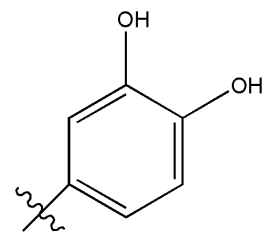
상기 R₃는



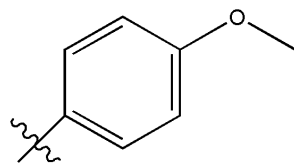
,



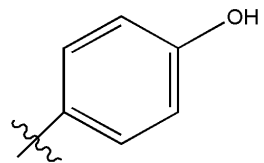
,



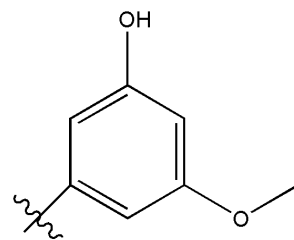
,



,



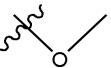
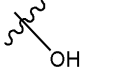
,

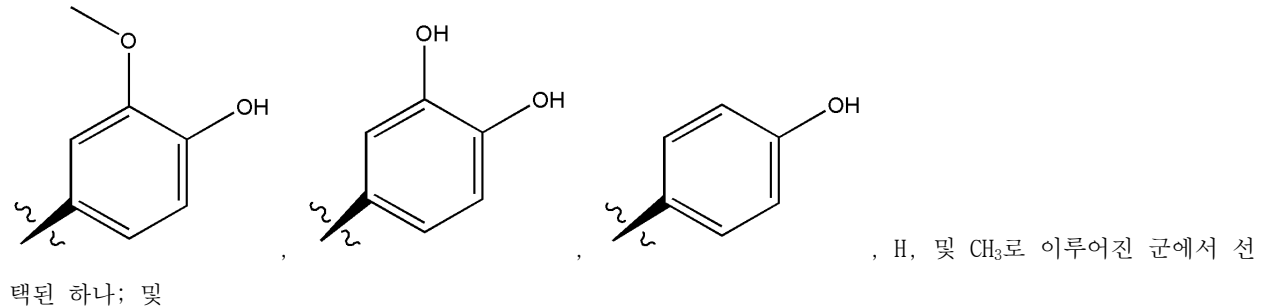
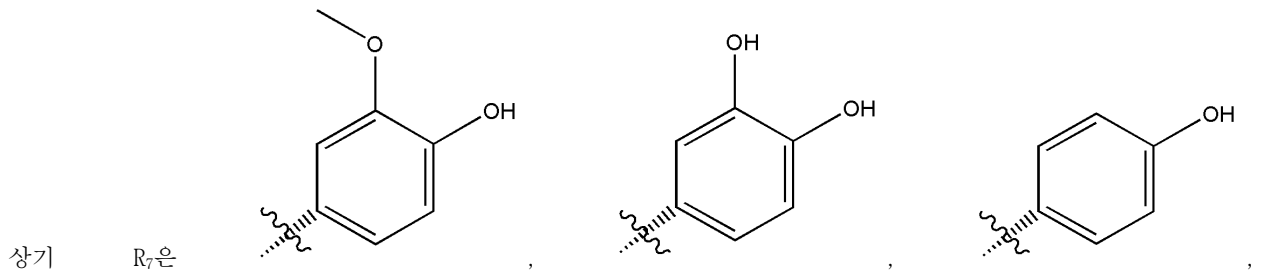


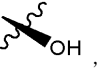
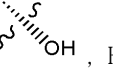
,

H, 및 CH₃로 이루어진 군에

서 선택된 하나;

상기 R_4 는 , , H, 및 CH_3 로 이루어진 군에서 선택된 하나;



상기 R_8 은 , , H, 및 CH_3 로 이루어진 군에서 선택된 하나).

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물은 3'-O-메틸-유파토린(3'-O-Methyl-eupatorin); 아르테메틴(Artemetin); 크리소스플레네틴(Chrysosplenetin); 유파탈린(Eupatilin); 보난진(Bonanzin); 유파폴린(Eupafolin); 3,6,3'-트리메톡시-5,7,4'-트리히드록시플라본(3,6,3'-Trimethoxy-5,7,4'-trihydroxyflavone); 아카세틴(Acacetin); 호모에리오딕티올(Homoeriodictyol); 자세오시딘(Jaceosidin); 3',4'-디메톡시루테올린(3',4'-Dimethoxyluteolin); 3'-메톡시아피게닌(3'-Methoxyapigenin); 나린제닌(Naringenin); 히스피둘린(Hispidulin); 5,7,3',4'-테트라히드록시플라바논(5,7,3',4'-Tetrahydroxyflavanone); 3,4',5,7-테트라히드록시플라본(3,4',5,7-Tetrahydroxyflavone); 5,7,4'-트리히드록시플라본(5,7,4'-Trihydroxyflavone); 2,3-디히드로이소람네틴(2,3-Dihydroisorhamnetin); 및 아피신(Apicin)으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인, 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 따른 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물의 제조방법으로서, 애엽으로부터 상기 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물, 및 이의 용매화물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 분리하는 과정을 포함하는, 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물의 제조방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 제조방법은 애엽에서 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올, 및 이들의 혼합 용매로 구성된 군에서 선택된 용매로 추출하는 과정을 더 포함하는 것인, 제조방법.

청구항 5

제3항에 있어서, 상기 제조방법은 물, 헥산, 클로로포름, 메탄올, 에탄올, 에틸아세테이트, 디클로로메탄, 아세톤, 및 이들의 혼합 용매로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상으로 분획하는 과정을 더 포함하는 것인, 제조방법.

청구항 6

제3항에 있어서, 상기 애엽은 황해썩의 잎 또는 줄기인, 제조방법.

청구항 7

제1항의 상기 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물 및 이의 용매화물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상, 그를 포함하는 애엽 분획물, 또는 그를 포함하는 애엽 추출물을 유효성분으로 포함하는, 약물 독성에 의해 유발되는 신장 질환의 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 약물은 요오드 함유 약물인, 약학 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 약물은 이오딧사놀(iodixanol)인, 약학 조성물.

청구항 10

제7항에 있어서, 상기 신장 질환은 급성신부전, 만성신부전, 급성세뇨관괴사, 및 만성세뇨관괴사로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인, 약학 조성물.

청구항 11

제7항에 있어서, 상기 화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물, 및 이의 용매화물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 함량은 상기 약학 조성물 총중량 대비 0.00001 내지 10중량%인, 약학 조성물.

청구항 12

제7항에 있어서, 상기 화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물, 및 이의 용매화물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 투여량은 0.00001mg/kg/일 내지 10mg/kg/일인, 약학 조성물.

청구항 13

제7항에 있어서, 상기 화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물, 및 이의 용매화물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 투여 농도는 0.1 내지 150 μ M인, 약학 조성물.

청구항 14

제7항에 있어서, 상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올, 및 이들의 혼합 용매로 구성된 군에서 선택된 용매로 추출한 것인, 약학 조성물.

청구항 15

제7항에 있어서, 상기 분획물은 물, 헥산, 클로로포름, 메탄올, 에탄올, 에틸아세테이트, 디클로로메탄, 아세톤, 및 이들의 혼합 용매로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상으로 분획한 것인, 약학 조성물.

청구항 16

제7항에 있어서, 상기 추출물 또는 상기 분획물의 함량은 상기 약학 조성물 총중량 대비 0.01 내지 50중량%인, 약학 조성물.

청구항 17

제7항에 있어서, 상기 추출물 또는 상기 분획물의 투여량은 0.001mg/kg/일 내지 20mg/kg/일인, 약학 조성물.

청구항 18

제7항에 있어서, 상기 추출물 또는 상기 분획물의 투여 농도는 0.1 μ g/mL 내지 250 μ g/mL 인, 약학 조성물.

청구항 19

제1항의 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물 및 이의 용매화물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상, 그를 포함하는 애엽 분획물, 또는 그를 포함하는 애엽 추출물을 유효성분으로 포함하는, 약물에 의해 유발되는 신독성 완화용 또는 신장세포 보호용 식품 조성물.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 신독성은 세뇨관 독성인, 식품 조성물.

청구항 21

제19항에 있어서, 상기 신독성은 신혈류 감소 또는 산화스트레스에 의한 것인, 식품 조성물.

청구항 22

제19항에 있어서, 상기 신장세포는 신장 상피세포 또는 세뇨관 세포인, 식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 명세서는 애엽으로부터 분리한 화합물 또는 애엽 추출물을 포함하는 신장세포 보호용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 신장은, 혈액 속의 노폐물을 걸러내어 오줌의 형태로 내보내는 척추동물의 배설기관으로서, 크게 세 부분으로 구성된다. 즉, 바깥쪽인 피질 부분, 그 안쪽에 위치한 수질 부분, 수질 안쪽의 신우로 구성된다. 그 중 수질 부분에 세뇨관과 이들을 합쳐 놓은 집합관으로 구성되어 있으며, 집합관의 끝이 신우에 열려 있다. 여기서, 신장의 세뇨관은 구획에 따라 서로 다른 유형의 세포로 구성되는데, 사구체에 가까운 부위부터 이를 근위세뇨관, 가는내림세뇨관, 가는오름세뇨관, 원위세뇨관, 그리고 집합관이라고 부른다. 소변은 사구체에서 걸러진 사구체 여과액이 이러한 세뇨관을 거치면서, 흡수되거나 배출되는 과정을 거쳐 생성되어 방광으로 들어가 보관되었다가 요도를 통해 배출된다. 이러한 세뇨관들은 허혈/재관류 손상과 같은 신장 손상에 대한 서로 다른 민감성을 나타낼 수 있다. 신장은 쉬지 않고 그 역할을 수행하고 있어 잠시라도 방해가 있거나 질환이 발생한 경우에는 치명적인 결과를 가져올 수 있다.

[0003] 특히, 치료나 처치, 예방 및 보호 등을 위한 다양한 약물에 의해서도 신장에 관련된 악영향이 유발된다는 점이 확인되면서, 그러한 약물의 처치가 필요한 개체에서 부작용을 다스리기 위한 방안을 강구할 필요가 있다. 신장 독성을 일으키는 약물은 매우 다양하다. 펜아세틴, 아스피린, 인도메타신 등의 비스테로이드성 해열 진통 소염제, 푸로마이신, 다우노마이신, 시클로포스파미드, 페니실라민, 아드리아마이신, 씨스플라틴 등의 항암제, 면역억제제, 아미카신, 겐타마이신, 카나마이신, 네오마이신, 시소마이신, 스트렙토마이신, 토브라마이신 등의 아미노글라이코사이드계 항생제, 세팔로스포린계 항생제, 이미페넴, 멜로페넴 등 카바페넴계 항생제, 카드뮴, 납, 수은, 크롬 등의 중금속 및 무기·유기중금속 화합물, 클로로포름, D-세린, 설펜아미드, 2-브로모에틸렌, 하이드로브로마이드 등의 화합물, 또는 오키라톡신, 시트리닌과 같은 곰팡이 독소 등이 있으며, 대부분이 화학물질 또는 의약품에 있어서 신장 독성을 일으키는 정확한 기전이 밝혀지지 않은 경우가 많다.

[0004] 신장이 이러한 화학 독성이나 약물 독성의 표적이 되는 이유는, 정상적인 성인의 경우 하루에 약 180L의 혈액을 여과시킬 만큼 많은 혈류량이 흐르기 때문에 혈액에 수반된 독성 물질이 축적될 가능성이 높기 때문이다. 또한 뇨의 생성 과정에 있어서, 뇨가 일시적으로 신장에 저장되기 때문에 독성물질이 농축되어 표적이 되기 때문이다. 이러한 신장 독성에 따른 질환의 예방 또는 치료를 위한 다수의 합성 제제가 개발되어 있으나, 인체에 장기간 적용시 부작용의 발생 가능성 등 안정성에 대한 문제로 인하여 천연물로부터 유래되는 제제의 중요성이 부각되고 있는 현실이다.

[0005] 쑥은 국화과에 속하는 다년생 약초로서 대한약전의 한약(생약)규격집에서는 상기 쑥의 잎 및 어린줄기를 일컬어 애엽(艾葉)이라 칭하고 있다. 쑥 추출물은 몇 가지 효능이 있는 것으로 알려져 있고, 특히 항위염 효과가 있다고 알려져 있다(대한민국 등록특허 특0181751). 그러나, 쑥과 연계된 신장 질환 및 신독성 관련 연구는 아직 미흡한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 특0181751(1998년12월09일)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 명세서는 상기와 같은 문제를 해결하기 위하여 신장 질환 예방, 치료, 신독성 완화, 및 신장세포 보호용 조성물을 제공하기 위한 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 명세서는 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물을 제공한다.

[0009] 또한, 본 명세서는 상기 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물의 제조방법으로서, 애엽으로부터 상기 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물, 및 이의 용매화물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 분리하는 과정을 포함하는, 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물의 제조방법을 제공한다.

[0010] 또한, 본 명세서는 상기 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물 및 이의 용매화물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상, 그를 포함하는 애엽 분획물, 또는 그를 포함하는 애엽 추출물을 유효성분으로 포함하는, 약물 독성에 의해 유발되는 신장 질환의 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0011] 또한, 본 명세서는 상기 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물 및 이의 용매화물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상, 그를 포함하는 애엽 분획물, 또는 그를 포함하는 애엽 추출물을 유효성분으로 포함하는, 약물에 의해 유발되는 신독성 완화용 또는 신장세포 보호용 식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0012] 본 명세서는 약물에 의한 신독성을 완화시키고 신장세포를 보호하여, 약물에 의한 신장 질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다. 아울러, 본 발명은 일 측면에서, 자연으로부터 얻어진 천연물을 유효성분으로 포함하여 인체에 적용시 부작용이 적을 뿐 아니라, 장기간 사용으로 인한 내성이 생길 가능성이 낮으므로, 관련 분야에 광범위하게 응용될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 본 명세서에서 "애엽"은 황해쑥(*Artemisia argyi* 또는 *Artemisia argyi* H.Lev. & Vaniot), 쑥(*A. princeps* Pamp. var. *orientalis* Hara), 산쑥(*A. montana* Pampani), *A. mongolica*, 또는 *A. asiatica*의 잎이나 어린 줄기를 말하고, 바람직하게는 황해쑥의 잎이나 줄기일 수 있다. 아울러, 상기 애엽은 추출물의 형태이거나, 생(生) 애엽, 생약 자체의 분쇄물, 생약의 건조물, 생약의 건조 분쇄물, 애엽의 발효물 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한 본 명세서에서 사용되는 애엽은 그 입수 방법에 제한이 없으며, 재배하여 사용하거나 시판되는 것을 구입하여 사용할 수도 있으며, 초본의 지상부 또는 뿌리부의 일부 또는 전부를 사용할 수 있다. 더 구체적으로 애엽 초본의 잎, 꽃, 줄기, 열매, 뿌리 및 이들의 조합 및 초본 전체로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상이 사용될 수 있다. 본 명세서의 애엽의 경우 반드시 건조를 통해서 제조되는 것은 아니며 애엽의 유효 성분을 추출하기에 적절한 형태의 원료라면 제한되지 않는다.

[0014] 본 명세서에서 "추출물"은 추출 방법, 추출 용매, 추출된 성분 또는 추출물의 형태를 불문하고, 천연물의 성분을 뽑아냄으로써 얻어진 물질을 모두 포함하는 것이며 또한 천연물의 성분을 뽑아내어 얻어진 물질을 추출 후 다른 방법으로 가공 또는 처리하여 얻어질 수 있는 물질을 모두 포함하는 광범위한 개념이며, 구체적으로 상기 가공 또는 처리는 추출물을 추가적으로 발효, 또는 효소처리 하는 것일 수 있다. 따라서 본 명세서에서 추출물은 발효물, 농축물, 건조물을 포함하는 광범위한 개념이다.

- [0015] 본 명세서에서 "분획물"은 다양한 구성성분을 포함하는 추출물 또는 혼합물로부터 특정 성분 또는 특정 그룹을 분리하는 방법에 의하여 얻어진 결과물, 그러한 결과물을 분리하고 남은 것, 이들을 다시 추출하거나 분리한 것을 포함한다. 본 명세서의 애엽 분획물은 애엽 추출물을 다양한 용매나 분리방법을 사용하여 수득할 수 있다. 본 명세서의 분획물은 통상의 분획 공정을 수행하여 수득한 것일 수도 있다(Harborne J.B. Plant Pathology, 1998, 3rd Ed. p6-7). 예컨대, 본 명세서의 애엽 추출물을 일정한 분자량 컷-오프 값을 갖는 한외 여과막을 통과시켜 얻은 분획물, 다양한 크로마토그래피(크기, 전하, 소수성 또는 친화성에 따른 분리를 위해 제작된 것)에 의한 분리 등 다양한 정제 방법을 통해 얻어진 활성 분획물도 본 명세서의 분획물에 포함된다. 상기 활성 분획물은 분획물로부터 보다 높은 생리활성 등을 가지는 분획을 분리한 것으로, 활성분획 또는 유효분획물이라고도 한다. 계통분획과 같은 통상의 분획과정을 통해 수득한 여러 성분이 혼합되어 있는 분획물 가운데 농도구배 컬럼 크로마토그래피 등을 통하여 활성성분의 성질에 따라 분리해냄으로써 보다 강한 활성을 갖는 특정 활성분획물을 제조할 수 있다. 상기 컬럼 크로마토그래피는 실리카겔, 세파텍스 컬럼(예를 들어, 세파텍스 LH-20), ODS 겔, RP-18, 폴리아미드, 도요펄(Toyopearl), XAD 수지 등과 같은 충전제를 이용하는 컬럼 크로마토그래피를 수행하여 활성분획물을 분리 및 정제할 수 있고, 컬럼 크로마토그래피는 필요에 따라 적절한 충전제를 선택하여 수차례 실시할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 크로마토그래피를 사용함에 있어 용출용매, 용출 속도 및 용출시간은 당업계에서 일반적으로 사용하는 용매, 속도 또는 시간을 적용할 수 있다.
- [0016] 본 명세서에서 "이성질체"는 특히 광학 이성질체(optical isomers)(예를 들면, 본래 순수한 거울상 이성질체(essentially pure enantiomers), 본래 순수한 부분 입체 이성질체(essentially pure diastereomers) 또는 이들의 혼합물)뿐만 아니라, 형태 이성질체(conformation isomers)(즉, 하나 이상의 화학 결합의 그 각도만 다른 이성질체), 위치 이성질체(position isomers)(특히, 호변이성체(tautomers)) 또는 기하 이성질체(geometric isomers)(예컨대, 시스-트랜스 이성질체)를 포함한다.
- [0017] 본 명세서에서 "본래 순수(essentially pure)"란, 예컨대 거울상 이성질체 또는 부분 이성질체와 관련하여 사용한 경우, 거울상 이성질체 또는 부분 이성질체를 예로 들 수 있는 구체적인 화합물이 약 90% 이상, 바람직하게는 약 95% 이상, 보다 바람직하게는 약 97% 이상 또는 약 98% 이상, 보다 더 바람직하게는 약 99% 이상, 보다 더욱 더 바람직하게는 약 99.5% 이상(w/w) 존재하는 것을 의미한다.
- [0018] 본 명세서에서 "약학적으로 허용 가능"이란 통상의 의학적 복용량(medicinal dosage)으로 이용할 때 상당한 독성 효과를 피함으로써, 동물, 더 구체적으로는 인간에게 사용할 수 있다는 정부 또는 이에 준하는 규제 기관의 승인을 받을 수 있거나 승인 받거나, 또는 약전에 열거되거나 기타 일반적인 약전에 기재된 것으로 인지되는 것을 의미한다.
- [0019] 본 명세서에서 "약학적으로 허용 가능한 염"은 약학적으로 허용 가능하고 모 화합물(parent compound)의 바람직한 약리 활성을 갖는 본 발명의 일측면에 따른 염을 의미한다. 상기 염은 (1) 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산 등과 같은 무기산으로 형성되거나; 또는 아세트산, 프로파이온산, 헥사노산, 시클로펜테인프로피온산, 글라이콜산, 피루브산, 락트산, 말론산, 숙신산, 말산, 말레산, 푸마르산, 타르타르산, 시트르산, 벤조산, 3-(4-히드록시벤조일)벤조산, 신남산, 만델산, 메테인설폰산, 에테인설폰산, 1,2-에테인-디설폰산, 2-히드록시에테인설폰산, 벤젠설폰산, 4-클로로벤젠설폰산, 2-나프탈렌설폰산, 4-톨루엔설폰산, 캄페르설폰산, 4-메틸바이시클로 [2,2,2]-oct-2-엔-1-카르복실산, 글루코헵톤산, 3-페닐프로파이온산, 트리메틸아세트산, tert-부틸아세트산, 라우릴 황산, 글루콘산, 글루탐산, 히드록시나프토산, 살리실산, 스테아르산, 묶은산과 같은 유기산으로 형성되는 산 부가염(acid addition salt); 또는 (2) 모 화합물에 존재하는 산성 프로톤이 치환될 때 형성되는 염을 포함할 수 있다.
- [0020] 본 명세서에서 "수화물(hydrate)"은 물이 결합되어 있는 화합물을 의미하며, 물과 화합물 사이에 화학적인 결합력이 없는 내포 화합물을 포함하는 광범위한 개념이다.
- [0021] 본 명세서에서 "용매화물"은 용질의 분자나 이온과 용매의 분자나 이온 사이에 생긴 고차의 화합물을 의미한다.
- [0022] 본 명세서에서 "약물"은 "약"이라고도 하며, 다양한 약학적 목적으로 개체에 적용되거나 투여되는 물질 또는 상기 물질의 대사산물 등을 포함한다. 상기 약물은 조영제를 포함하나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0023] 본 명세서에서 "약물 독성"은 약물을 개체에 적용하거나 투여함에 따라 개체에서 직간접적으로 유발되는 독성을 포함한다. 독성이 나타나는 부위는 간, 폐, 신장, 위, 소장, 대장, 뇌, 귀, 눈, 신경, 근육 등 상기 약물에 의해 독성이 나타날 수 있는 부위는 모두 포함한다.
- [0024] 본 명세서에서 "요오드 함유 약물"은 약물 중에서도 요오드를 포함하는 약물을 말하고, 화학구조상 요오드의 개

수나 결합형태 등은 불문한다. 상기 요오드 함유 약물은 요오드가 함유된 치료제, 요오드가 함유된 예방제, 요오드가 함유된 항생제, 요오드가 함유된 조영제 등을 포함하나 이에 한정되지는 않는다. 상기 요오드가 함유된 조영제 또는 요오드 함유 조영제는 디아트리지오에이트(diatrizoate), 이오탄라메이트(iothalamate), 이오딧사놀(iodixanol), 이오헥솔(iohexol), 이오파미돌(iopamidol), 이오프로마이드(iopromide), 이오벨솔(ioversol), 이옥사글레이트(ioxaglate) 등을 들 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

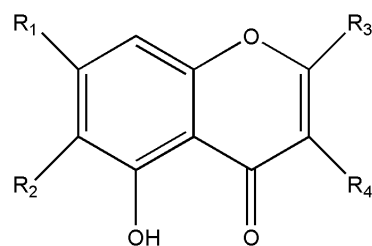
[0025] 본 명세서에서 "약물에 의한 신독성" 또는 "약물에 의해 유발되는 신독성"은 다양한 목적으로 개체에 적용되거나 투여되는 약물 또는 상기 약물의 대사로 인하여 신장, 신장세포 또는 신장 내부 소기관 등에 미치는 독성을 포함한다.

[0026] 본 명세서에서 "약물 독성에 의한 신장 질환" 또는 "약물 독성에 의해 유발되는 신장 질환"은 다양한 목적으로 개체에 적용되거나 투여되는 약물 또는 상기 약물의 대사로 인하여 발생할 수 있는 신장 질환, 신장 세포 질환 또는 신장 내부 소기관의 질환 등을 포함한다.

[0027] 본 발명에서 용어 "신장 질환(renal disease)"이란, 외래적 요인, 내재적 요인, 유전적 요인 등의 다양한 원인에 의하여 신장에 발생하는 질환을 의미한다. 상기 신장 질환의 예로, 초막기저막병(TGBM, Thin glomerular basement membrane), 미세변화콩팥병증(MCD, Minimal change disease), 사구체신염(glomerulonephritis), 초점성 분절성 사구체경화증(FSGS, Focal segmental glomerulosclerosis), 당뇨병성신증(DM nephropathy), IgA 신병증(IgAN, IgA nephropathy), 급성 간질성신염(TIN, Tubulointerstitial nephritis), 헤노흐-셴라인 자반증신염(HSP nephritis, Henoch-Schonlein Purpura(헤노흐-셴라인 자반증) nephritis), 급성세뇨관손상(Acute tubular injury), 만성세뇨관손상, 급성세뇨관괴사, 만성세뇨관괴사, BK 바이러스신증(BK virus nephropathy), 급성세포성거부반응(Acute cellular rejection), 만성 항체매개성 거부반응(Chronic antibody mediated rejection), 만성 활성항체매개성 거부반응(Chronic active antibody mediated rejection), 만성 CIN 독성(Chronic calcineurin inhibitor toxicity), 급성신손상(Acute kidney injury), 신우신염, 신장증후군, 허혈성 신장질환, 사구체 신장염, 루프스신염, 다발성의 우포신, 신맹신염, 신결석, 신결핵, 신종양, 급성신부전, 만성 신부전, 말기신부전, 패혈증, 간 손상 등에 기인한 신장손상 등이 있으나, 이에 제한되지 않으며, 특히 약물에 의해 발생되거나 발생할 수 있는 신장 관련 질병이라면 상기 질환 뿐만 아니라 다양한 신장 질환이 제한 없이 포함된다.

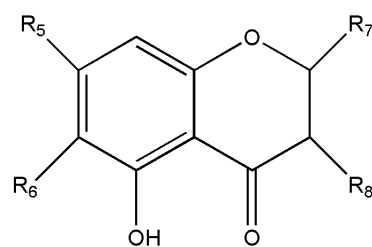
[0028] 본 발명은 일 측면에서, 하기 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물일 수 있다.

화학식 1



[0029]

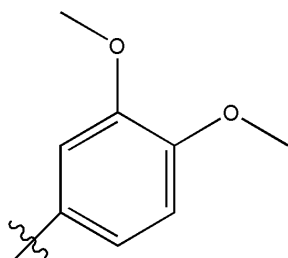
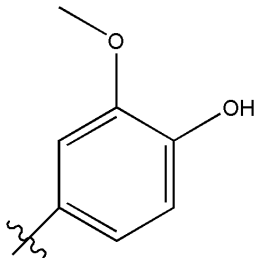
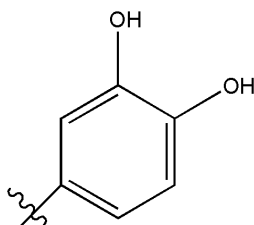
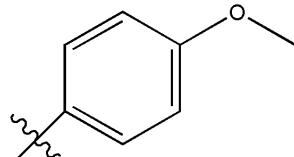
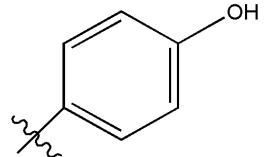
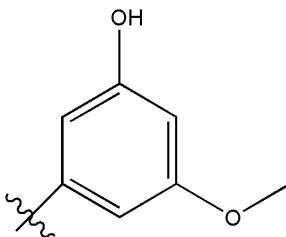
화학식 2

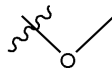
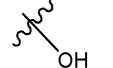


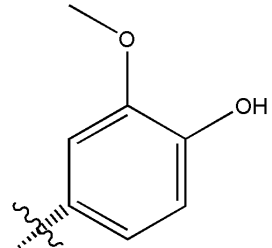
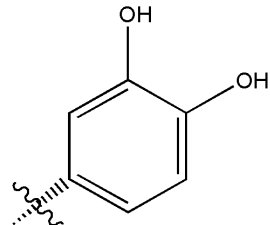
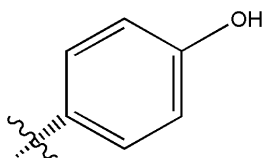
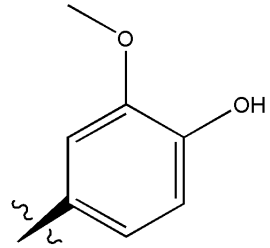
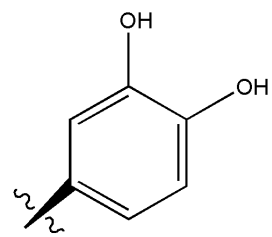
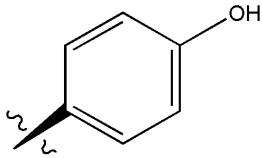
[0030]

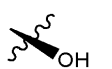
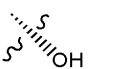
[0031] 일 구현 예에서, 상기 R_1 또는 R_5 는 , , H, 및 CH_3 로 이루어진 군에서 선택된 하나;

[0032] 상기 R_2 또는 R_6 는 , , H, 및 CH_3 로 이루어진 군에서 선택된 하나;

[0033] 상기 R_3 는 , , , , , , H, 및 CH_3 로 이루어진 군에서 선택된 하나;

[0034] 상기 R_4 는 , , H, 및 CH_3 로 이루어진 군에서 선택된 하나;

[0035] 상기 R_7 은 , , , , , , H, 및 CH_3 로 이루어진 군에서 선택된 하나; 및

[0036] 상기 R_8 은 , , H, 및 CH_3 로 이루어진 군에서 선택된 하나일 수 있다.

[0037] 다른 구현 예에서, 상기 화학식 1의 화합물 또는 상기 화학식 2의 화합물은 3'-O-메틸-유파토린(3'-O-Methyl-eupatorin); 아르테메틴(Artemetin); 크리소스플레네티 (Chrysosplenetin); 유파탈린 (Eupatilin); 보난진 (Bonanzin); 유파폴린(Eupafolin); 3,6,3'-트리메톡시-5,7,4'-트리히드록시플라본 (3,6,3'-Trimethoxy-5,7,4'-trihydroxyflavone); 아카세틴(Acacetin); 호모에리오딕티올 (Homoeriodictyol); 자세오시딘 (Jaceosidin); 3',4'-디메톡시루테올린 (3',4'-Dimethoxyluteolin); 3'-메톡시아피게닌 (3'-

Methoxyapigenin); 나린제닌 (Naringenin); 히스피둘린(Hispidulin); 5,7,3',4' -테트라히드록시플라바논 (5,7,3',4' -Tetrahydroxyflavanone); 3,4',5,7-테트라히드록시플라본 (3,4',5,7-Tetrahydroxyflavone); 5,7,4' -트리히드록시플라본 (5,7,4' -Trihydroxyflavone); 2,3-디히드로이소람네티 (2,3-Dihydroisorhamnetin); 및 아피신 (Apicin)으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있다.

[0038] 본 발명은 다른 측면에서, 상기 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물의 제조방법으로서, 애엽으로부터 상기 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물, 및 이의 용매화물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 분리하는 과정을 포함하는, 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물의 제조방법일 수 있다.

[0039] 일 구현 예로서, 상기 제조방법은 애엽에서 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올, 및 이들의 혼합 용매로 구성된 군에서 선택된 용매로 추출하는 과정을 더 포함할 수 있다. 바람직하게는 상기 알코올은 메탄올 또는 에탄올일 수 있다.

[0040] 다른 구현 예로서, 상기 제조방법은 물, 헥산, 클로로포름, 메탄올, 에탄올, 에틸아세테이트, 디클로로메탄, 아세톤, 및 이들의 혼합 용매로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상으로 분획하는 과정을 더 포함하는 것일 수 있다.

[0041] 또 다른 구현 예로서, 상기 애엽은 황해쑥(*Artemisia argyi* 또는 *Artemisia argyi* H.Lev. & Vaniot), 쑥(*A. princeps* Pamp. var. *orientalis* Hara), 산쑥(*A. montana* Pampani), *A. mongolica*, 또는 *A. asiatica*의 잎이나 어린 줄기를 말하고, 바람직하게는 황해쑥의 잎이나 줄기일 수 있다. 상기 애엽을 추출, 분획 및 분리하는 등의 과정을 거쳐 상기 화합물 등을 수득할 수 있으며, 상기 추출, 분획 및 분리는 당업계에 알려진 일반적인 기술을 통해 실시할 수 있는 것일 수 있다.

[0042] 본 발명은 다른 측면에서, 상기 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물 및 이의 용매화물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상, 그를 포함하는 애엽 분획물, 또는 그를 포함하는 애엽 추출물을 유효성분으로 포함하는, 약물 독성에 의해 유발되는 신장 질환의 예방 및 치료용 약학 조성물일 수 있다.

[0043] 일 구현 예로서, 상기 약물은 요오드 함유 약물일 수 있다.

[0044] 다른 구현 예로서, 상기 약물은 요오드 함유 조영제일 수 있고, 디아트리지오에이트(diatrizoate), 이오탈라메이트(iothalamate), 이오딧사놀(iodixanol), 이오헥솔(iohexol), 이오파미돌(iopamidol), 이오프로마이드(iopromide), 이오벨솔(ioversol), 및 이옥사글레이트(ioxaglate)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있으나, 바람직하게는 이오딧사놀(iodixanol)일 수 있다. 조영제는 자유라디칼(free radical) 증가에 의한 산화스트레스나 신혈류 감소에 의해 신장, 신장세포 및 신장 내부 기관에 독성 및 손상을 일으키는 것으로 알려져 있다. 요오드 함유 조영제도 마찬가지이며, 특히 요오드 함유 조영제는 그 종류에 따라 큰 차이가 없이 신독성을 나타내며 이는 상기와 같은 산화스트레스나 신혈류 감소에 의한 것으로 여겨진다. 따라서, 특정 조영제에 의한 신독성 완화 효과 또는 특정 조영제에 의해 유발되는 신장 질환에 대한 개선 효과가 입증되면 다른 조영제에 의한 신독성 완화, 다른 조영제로부터의 신장세포 보호 및 다른 조영제에 의한 신장질환 개선 효과가 자명하다고 할 수 있다. 본 발명자들은 일 측면에서, 요오드 함유 약물, 구체적으로 요오드 함유 조영제인 이오딧사놀(iodixanol)이 유발하는 신독성 완화 효과, 이오딧사놀에 의한 신독성으로부터의 신장세포 보호 및 이오딧사놀에 의한 신장 질환의 개선에 대해 신장세포 실험을 통해 직접 입증하였으므로, 본 발명이 일 측면에서 다른 조영제에 의한 신독성 완화, 신장세포 보호 및 다른 조영제에 의한 신장 질환 개선 효과도 가진다는 것을 알 수 있다.

[0045] 다른 구현 예로서, 상기 신장 질환은 사구체신염(glomerulonephritis), 초점성 분절성 사구체경화증(FSGS, Focal segmental glomerulosclerosis), 급성 간질성신염(TIN, Tubulointerstitial nephritis), 급성세뇨관손상(Acute tubular injury), 만성세뇨관손상, 급성세뇨관괴사, 만성세뇨관괴사, 급성신손상(Acute kidney injury), 신우신염, 신장증후군, 허혈성 신장질환, 사구체 신장염, 루프스신염, 다발성의 우포신, 신맹신염, 신결석, 신종양, 급성신부전, 만성신부전, 및 말기신부전으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있다. 바람직하게는 급성신부전, 만성신부전, 급성세뇨관괴사, 및 만성세뇨관괴사로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있다.

[0046] 또 다른 구현 예로서, 상기 화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물, 및 이

의 용매화물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 함량은 상기 약학 조성물 총중량 대비 0.00001 내지 10중량%일 수 있다. 다른 구현 예에서 상기 함량은 0.00001중량% 이상, 0.00005중량% 이상, 0.0001중량% 이상, 0.0005중량% 이상, 0.001중량% 이상, 0.005중량% 이상, 0.01중량% 이상, 0.05중량% 이상, 0.1중량% 이상, 0.5중량% 이상, 1중량% 이상, 2중량% 이상, 3중량% 이상, 4중량% 이상, 5중량% 이상, 6중량% 이상, 7중량% 이상, 8중량% 이상, 또는 9중량% 이상일 수 있다. 또한, 상기 함량은 10중량% 이하, 9중량% 이하, 8중량% 이하, 7중량% 이하, 6중량% 이하, 5중량% 이하, 4중량% 이하, 3중량% 이하, 2중량% 이하, 1중량% 이하, 0.5중량% 이하, 0.1중량% 이하, 0.05중량% 이하, 0.01중량% 이하, 0.005중량% 이하, 0.001중량% 이하, 0.0005중량% 이하, 0.0001중량% 이하, 0.00005중량% 이하, 또는 0.00002중량% 이하일 수 있다.

[0047] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 상기 화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물, 및 이의 용매화물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 투여량은 0.00001mg/kg/일 내지 10mg/kg/일일 수 있다. 일 구현 예에 따르면, 상기 투여량은 0.00001mg/kg/일 이상, 0.00005mg/kg/일 이상, 0.0001mg/kg/일 이상, 0.0005mg/kg/일 이상, 0.001mg/kg/일 이상, 0.005mg/kg/일 이상, 0.01mg/kg/일 이상, 0.05mg/kg/일 이상, 0.1mg/kg/일 이상, 0.5mg/kg/일 이상, 1mg/kg/일 이상, 2mg/kg/일 이상, 3mg/kg/일 이상, 4mg/kg/일 이상, 5mg/kg/일 이상, 6mg/kg/일 이상, 7mg/kg/일 이상, 8mg/kg/일 이상, 또는 9mg/kg/일 이상일 수 있다. 또한, 상기 투여량은 10mg/kg/일 이하, 9mg/kg/일 이하, 8mg/kg/일 이하, 7mg/kg/일 이하, 6mg/kg/일 이하, 5mg/kg/일 이하, 4mg/kg/일 이하, 3mg/kg/일 이하, 2mg/kg/일 이하, 1mg/kg/일 이하, 0.5mg/kg/일 이하, 0.1mg/kg/일 이하, 0.05mg/kg/일 이하, 0.01mg/kg/일 이하, 0.005mg/kg/일 이하, 0.001mg/kg/일 이하, 0.0005mg/kg/일 이하, 0.0001mg/kg/일 이하, 0.00005mg/kg/일 이하, 또는 0.00003mg/kg/일 이하일 수 있다.

[0048] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 상기 화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물, 및 이의 용매화물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 투여 농도는 0.1 내지 150 μ M일 수 있다. 일 구현 예에서 상기 투여 농도는 0 μ M 이상, 0.5 μ M 이상, 1 μ M 이상, 1.5 μ M 이상, 2 μ M 이상, 2.5 μ M 이상, 3 μ M 이상, 3.5 μ M 이상, 4 μ M 이상, 4.5 μ M 이상, 5 μ M 이상, 6 μ M 이상, 8 μ M 이상, 9 μ M 이상, 10 μ M 이상, 11 μ M 이상, 12 μ M 이상, 15 μ M 이상, 18 μ M 이상, 20 μ M 이상, 23 μ M 이상, 25 μ M 이상, 28 μ M 이상, 30 μ M 이상, 35 μ M 이상, 40 μ M 이상, 45 μ M 이상, 48 μ M 이상, 50 μ M 이상, 52 μ M 이상, 55 μ M 이상, 60 μ M 이상, 70 μ M 이상, 80 μ M 이상, 90 μ M 이상, 100 μ M 이상, 110 μ M 이상, 150 μ M 이상, 180 μ M 이상, 200 μ M 이상, 220 μ M 이상, 또는 240 μ M 이상일 수 있다. 또한, 상기 투여 농도는 250 μ M 이하, 240 μ M 이하, 220 μ M 이하, 200 μ M 이하, 180 μ M 이하, 150 μ M 이하, 110 μ M 이하, 100 μ M 이하, 90 μ M 이하, 80 μ M 이하, 70 μ M 이하, 60 μ M 이하, 55 μ M 이하, 52 μ M 이하, 50 μ M 이하, 48 μ M 이하, 45 μ M 이하, 40 μ M 이하, 35 μ M 이하, 30 μ M 이하, 28 μ M 이하, 25 μ M 이하, 23 μ M 이하, 20 μ M 이하, 18 μ M 이하, 15 μ M 이하, 12 μ M 이하, 11 μ M 이하, 10 μ M 이하, 9 μ M 이하, 8 μ M 이하, 6 μ M 이하, 5 μ M 이하, 4.5 μ M 이하, 4 μ M 이하, 3.5 μ M 이하, 3 μ M 이하, 2.5 μ M 이하, 2 μ M 이하, 1.5 μ M 이하, 1 μ M 이하, 0.5 μ M 이하, 또는 0.2 μ M 이하일 수 있다.

[0049] 본 발명의 다른 측면에 의하면, 상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올, 및 이들의 혼합 용매로 구성된 군에서 선택된 용매로 추출한 것일 수 있다. 일 구현 예에 의하면, 상기 알코올은 메탄올 또는 에탄올일 수 있다.

[0050] 본 발명의 다른 측면에 의하면, 상기 분획물은 물, 헥산, 클로로포름, 메탄올, 에탄올, 에틸아세테이트, 디클로로메탄, 아세톤, 및 이들의 혼합 용매로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상으로 분획한 것일 수 있다.

[0051] 본 발명의 또 다른 측면에 의하면, 상기 추출물 또는 상기 분획물의 함량은 상기 약학 조성물 총중량 대비 0.01 내지 50중량%일 수 있다. 일 구현 예에서, 상기 추출물 또는 상기 분획물의 함량은 상기 약학 조성물 총중량 대비 0.01 내지 50중량%일 수 있다. 다른 구현 예에서, 상기 함량은 0.01중량% 이상, 0.05중량% 이상, 0.1중량% 이상, 0.5중량% 이상, 1중량% 이상, 5중량% 이상, 10중량% 이상, 15중량% 이상, 20중량% 이상, 25중량% 이상, 30중량% 이상, 35중량% 이상, 40중량% 이상, 45중량% 이상, 또는 48중량% 이상일 수 있다. 또한, 상기 함량은 50중량% 이하, 45중량% 이하, 40중량% 이하, 35중량% 이하, 30중량% 이하, 25중량% 이하, 20중량% 이하, 15중량% 이하, 10중량% 이하, 5중량% 이하, 1중량% 이하, 0.5중량% 이하, 0.1중량% 이하, 0.05중량% 이하, 또는 0.03중량% 이하일 수 있다.

[0052] 본 발명의 일 측면에 의하면, 상기 추출물 또는 상기 분획물의 투여량은 0.001mg/kg/일 내지 20mg/kg/일일 수 있다. 일 구현 예에 따르면, 상기 투여량은 0.001mg/kg/일 이상, 0.005mg/kg/일 이상, 0.01mg/kg/일 이상, 0.05mg/kg/일 이상, 0.1mg/kg/일 이상, 0.5mg/kg/일 이상, 1mg/kg/일 이상, 2mg/kg/일 이상, 3mg/kg/일 이상,

4mg/kg/일 이상, 5mg/kg/일 이상, 8mg/kg/일 이상, 10mg/kg/일 이상, 12mg/kg/일 이상, 14mg/kg/일 이상, 16mg/kg/일 이상, 또는 18mg/kg/일 이상일 수 있다. 또한, 상기 투여량은 20mg/kg/일 이하, 18mg/kg/일 이하, 16mg/kg/일 이하, 14mg/kg/일 이하, 12mg/kg/일 이하, 10mg/kg/일 이하, 8mg/kg/일 이하, 5mg/kg/일 이하, 4mg/kg/일 이하, 3mg/kg/일 이하, 2mg/kg/일 이하, 1mg/kg/일 이하, 0.5mg/kg/일 이하, 0.1mg/kg/일 이하, 0.05mg/kg/일 이하, 0.01mg/kg/일 이하, 0.005mg/kg/일 이하, 또는 0.003 mg/kg/일 이하일 수 있다.

- [0053] 본 발명의 또 다른 측면에 의하면, 상기 추출물 또는 상기 분획물의 투여 농도는 0.1 μ g/mL 내지 250 μ g/mL 일 수 있다. 일 구현 예로서, 상기 투여 농도는 0.1 μ g/mL 이상, 0.5 μ g/mL 이상, 1 μ g/mL 이상, 2.2 μ g/mL 이상, 2.5 μ g/mL 이상, 2.8 μ g/mL 이상, 5 μ g/mL 이상, 10 μ g/mL 이상, 15 μ g/mL 이상, 20 μ g/mL 이상, 25 μ g/mL 이상, 30 μ g/mL 이상, 35 μ g/mL 이상, 40 μ g/mL 이상, 45 μ g/mL 이상, 50 μ g/mL 이상, 55 μ g/mL 이상, 65 μ g/mL 이상, 70 μ g/mL 이상, 75 μ g/mL 이상, 80 μ g/mL 이상, 85 μ g/mL 이상, 90 μ g/mL 이상, 95 μ g/mL 이상, 100 μ g/mL 이상, 110 μ g/mL 이상, 120 μ g/mL 이상, 140 μ g/mL 이상, 160 μ g/mL 이상, 180 μ g/mL 이상, 200 μ g/mL 이상, 220 μ g/mL 이상, 또는 240 μ g/mL 이상일 수 있다. 또한, 상기 투여 농도는 250 μ g/mL 이하, 220 μ g/mL 이하, 200 μ g/mL 이하, 180 μ g/mL 이하, 160 μ g/mL 이하, 140 μ g/mL 이하, 120 μ g/mL 이하, 110 μ g/mL 이하, 100 μ g/mL 이하, 95 μ g/mL 이하, 90 μ g/mL 이하, 85 μ g/mL 이하, 80 μ g/mL 이하, 75 μ g/mL 이하, 70 μ g/mL 이하, 65 μ g/mL 이하, 60 μ g/mL 이하, 55 μ g/mL 이하, 50 μ g/mL 이하, 45 μ g/mL 이하, 40 μ g/mL 이하, 35 μ g/mL 이하, 30 μ g/mL 이하, 25 μ g/mL 이하, 20 μ g/mL 이하, 15 μ g/mL 이하, 10 μ g/mL 이하, 5 μ g/mL 이하, 2.8 μ g/mL 이하, 2.5 μ g/mL 이하, 2.2 μ g/mL 이하, 1 μ g/mL 이하, 0.5 μ g/mL 이하, 또는 0.1 μ g/mL 이하일 수 있다.
- [0054] 본 발명은 또 다른 측면에서, 상기 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 수화물 및 이의 용매화물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상, 그를 포함하는 애엽 분획물, 또는 그를 포함하는 애엽 추출물을 유효성분으로 포함하는, 약물에 의해 유발되는 신독성 완화용 또는 신장세포 보호용 식품 조성물일 수 있다.
- [0055] 일 구현 예에서, 상기 신독성은 세뇨관 독성일 수 있다.
- [0056] 다른 구현 예에서, 상기 신독성은 신혈류 감소 또는 산화스트레스에 의한 것일 수 있다.
- [0057] 또다른 구현 예에서, 상기 신장세포는 신장 상피세포 또는 세뇨관 세포일 수 있다. 약물 독성에 의해 영향을 받는 주요 신장세포는 신장 상피세포 또는 세뇨관 세포를 포함하는데, 본 발명의 일 구현 예는, 약물 독성에 의해 영향을 받는 모든 신장세포에 대하여 보호효과를 나타내며, 본 명세서의 대상 세포가 신장 상피세포 또는 세뇨관 세포로 한정되는 것은 아니다.
- [0058] 상기 약학 조성물은 보존제, 방부제, 안정화제, 수화제 또는 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염 및/또는 완충제 등의 약제학적 보조제, 및 기타 치료적으로 유용한 물질을 추가로 함유할 수 있으며, 통상적인 방법에 따라 다양한 경구 투여제 또는 비경구 투여제 형태로 제형화할 수 있다.
- [0059] 상기 경구 투여제는 예를 들면, 정제, 환제, 경질 및 연질 캡셀제, 액제, 현탁제, 유화제, 시럽제, 분제, 산제, 세립제, 과립제, 펠렛제 등이 있으며, 이들 제형은 유효성분 이외에 계면 활성제, 희석제(예: 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로오스 및 글리신), 활택제(예: 실리카, 탈크, 스테아르산 및 그의 마그네슘 또는 칼슘염 및 폴리에틸렌 글리콜)를 함유할 수 있다. 정제는 또한 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분페이스트, 젤라틴, 트라가칸스, 메틸셀룰로오스, 나트륨 카복시메틸셀룰로오스 및 폴리비닐피롤리딘과 같은 결합제를 함유할 수 있으며, 경우에 따라 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨 염과 같은 붕해제, 흡수제, 착색제, 향미제, 및 감미제 등의 약제학적 첨가제를 함유할 수 있다. 상기 정제는 통상적인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 의해 제조될 수 있다.
- [0060] 또한, 상기 비경구 투여 형태로는 경피 투여형 제형일 수 있으며, 예를 들어 주사제, 점적제, 연고, 로션, 젤, 크림, 스프레이, 현탁제, 유제, 좌제(坐劑), 패취 등의 제형일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0061] 상기 약학 조성물은 비경구, 직장, 국소, 경피, 피하 등으로 투여될 수 있다.
- [0062] 상기 유효성분의 투여량 결정은 통상의 기술자의 수준 내에 있으며, 약물의 1일 투여 용량은 투여하고자 하는 대상의 진행 정도, 발병 시기, 연령, 건강상태, 합병증 등의 다양한 요인에 따라 달라질 수 있다.
- [0063] 상기 약학 조성물은 피부 외용제일 수 있으며, 상기 피부 외용제는 피부 외부에서 도포되는 어떠한 것이라도 포함될 수 있는 총칭으로서 다양한 제형의 의약품 또는 의약외품이 여기에 포함될 수 있다.

- [0064] 본 발명의 일 측면에 의한 제형이 용액 또는 유탁액의 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용매화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.
- [0065] 본 발명의 일 측면에 의한 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.
- [0066] 상기 식품 조성물은 건강식품 조성물을 포함할 수 있고, 액상 또는 고체 상태의 제형일 수 있다. 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능식품류, 건강보조 식품류 등이 있고, 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료인 형태로 사용될 수 있다. 각 제형의 식품 조성물은 유효성분 이외에 해당 분야에서 통상적으로 사용되는 성분들을 제형 또는 사용 목적에 따라 당업자가 어려움 없이 적의 선정하여 배합할 수 있으며, 다른 원료와 동시에 적용할 경우 상승 효과가 일어날 수 있다.
- [0067] 본 명세서에 개시된 유효성분 외에 함유할 수 있는 액체 성분에는 특별한 제한점이 없으며, 통상의 음료와 같이 여러가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가성분으로 포함할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 예로는 모노사카라이드, 포도당, 과당 등의 디사카라이드, 말토스, 슈크로스 등의 폴리사카라이드, 텍스트린, 시클로텍스트린 등의 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당 알코올 등이 있다. 상기의 향미제로는 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시리히진 등) 및 합성 향미제(예를 들어 사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 명세서에 개시된 조성물 100ml 당 일반적으로 약 1 내지 20g, 일측면에서 약 5 내지 12g일 수 있다.
- [0068] 상기 식품 조성물은 일 측면에서 여러가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그 염, 알긴산 및 그 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 포함할 수 있다. 다른 측면에서 천연 과일 주스 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 포함할 수 있다. 상기 성분들은 독립적으로 또는 조합하여 사용될 수 있다. 상기 첨가제의 비율은 다양할 수 있으나, 본 명세서에 개시된 조성물 100 중량부당 0.001 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [0070] 이하, 실시예 및 실험예를 들어 본 발명의 방법을 구체적으로 설명한다. 그러나 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 이들 실시예 및 실험예만으로 한정되는 것은 아니다.
- [0072] [실시예] 애엽 추출물, 분획물 제조 및 화합물의 분리
- [0074] (1) 실험 재료
- [0075] 본 발명의 일 측면에 사용된 황해쑥(*Artemisia argyi* H.Lev. & Vaniot)의 잎은 2013년 4월에 서울에 있는 경동약재시장에서 구입하였고, 표본은 고려대학교 바이오시스템 공학과 표본실에 보관 중(accession number: AA1-103-130429)이다.
- [0076]
- [0077] (2) 황해쑥으로부터 추출물, 분획물 제조, 및 화합물 분리
- [0078] 황해쑥의 말린 잎 3 kg은 메탄올(MeOH, 18 L, 9 L, 9 L)에 의해 3회 추출하여 MeOH 추출물 (420 g)을 얻었다. 또한, 추출물을 분획하기 위하여 증류수 (3.9 L) 에 현탁한 후, 물에 용해된 추출물은 헥산(hexane)과 에틸아세테이트(Ethyl Acetate, EtOAc)에 각각 1.3 L씩 순차적으로 3회 반복 분획하여, hexane 분획물 (K01-103-1, 50 g)과 EtOAc 분획물 (K01-103-2, 78 g) 을 얻었다.
- [0079] 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 CHCl_3 -MeOH (1:1) 로 전개하여 EtOAc 분획물 (70 g)로부터 9개의 분획 (K01-107-1 내지 K01-107-9) 을 얻었다. 이들 분획물 중 K01-107-5 (25 g) 를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래

피를 이용하여 CHCl_3 -acetone (1:1) 로 전개하여 8개의 분획물 (K01-120-1 내지 K01-120-8)을 얻었다.

[0080]

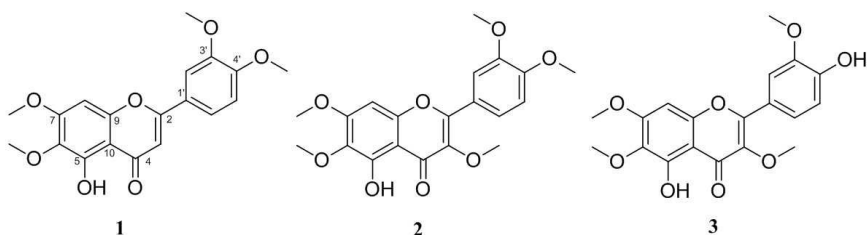
분획물 K01-120-3 으로부터 eupatilin(**4**)(559.8 mg)이 분리 및 정제되었으며, 나머지 분획물(4.14 g)로부터 세파덱스(Sephadex) LH-20 를 이용한 컬럼 크로마토그래피를 통해 CHCl_3 -MeOH(1:1)을 시작으로 분획물 11개 (K01-122-1 내지 K01-122-11)를 얻었다. 이 중 분획물 K01-122-5 (1.18 g)로부터 medium pressure liquid chromatography(MPLC) 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 용매조건 CHCl_3 -MeOH(97:3)으로 분획물 8개 (K01-123-1 내지 K01-123-8)를 얻었다. 분획물 3개(K01-123-1 내지 K01-123-3)(375 mg)을 합쳐서 MPLC 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 *n*-hexane-EtOAc(1:1)로 전개하여 분획물 7개 (K01-126-1 내지 K01-126-7)를 얻었다. 분획물 K01-126-6(30.5 mg)로부터 preparative HPLC(70% MeOH in H_2O)에 의해서 artemetin(**2**)(5.0 mg)이 분리 정제 되었고, 분획물 K01-126-7(16.0 mg)로부터 3'-*O*-methyl-eupatorin(**1**)(3.2 mg)이 정제되었다. 분획물 K01-123-4(26 mg)로부터 preparative HPLC(60 내지 100 % MeOH in H_2O)를 이용하여 bonanzin(**5**) (2.5 mg)을 분리 정제 하였다. K01-122-6(570 mg)는 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피를 통해서 *n*-hexane-EtOAc(1:0)로 시작하고 EtOAc 100% 로 전개하여 TH5-67-1 내지 TH5-67-5의 5개를 분획하였다. 분획물 TH5-67-5 (49.2 mg)로부터 preparative HPLC (65% MeOH in H_2O)를 통해서 chrysosplenetin (**3**) (7.5 mg)을 분리 정제하였다. preparative HPLC (50 내지 75% MeOH in H_2O) 에 의해 분획물 K01-122-8 (86 mg)로부터 3,6,3'-trimethoxy-5,7,4'-trihydroxyflavone (**7**) (12.0 mg)을 분리 정제하였다. preparative HPLC (35-100% MeOH in H_2O) 를 통해서 분획물 K01-122-10 (40.5 mg)로부터 acacetin (**8**) (2.2 mg)을 분리 정제하였다. Sephadex LH-20 컬럼을 이용하여 분획물 K01-120-4 (5.26 g)를 CHCl_3 -MeOH (1:1) 로 전개하고 8개의 분획물 (K01-124-1 내지 K01-124-8)을 얻었다. 분획물 K01-124-7으로부터 jaceosidin(**10**) (339 mg) 이 정제되었다. preparative HPLC (35 내지 75% MeOH in H_2O)를 실행하여 분획물 K01-124-8 (186 mg)로부터 homoeriodictyol (**9**) (10.1 mg)과 3',4'-dimethoxyluteolin (**11**) (3.3 mg) 이 분리 정제되었다. Sephadex LH-20 컬럼을 이용하여 CHCl_3 -MeOH (1:1)로 전개하여 분획물 K01-107-6 (6.1 g)로부터 7개의 분획물 (TH5-47-1 내지 TH5-47-7)을 얻었다. 분획물 TH5-47-4 (314.2 mg)는 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 *n*-hexane-EtOAc (0:1 to 1:0)로 전개하고 그 결과 10개의 분획물 (TH5-51-1-TH5-51-10)을 얻었다. 분획물 TH5-51-8 (11.0 mg)는 실리카겔 컬럼을 이용하여 CHCl_3 -MeOH (99:1) 로 전개하였고 이로부터 apicin (**19**) (2.8 mg) 을 분리하였다. 분획물 TH5-51-5(61.0 mg)는 preparative HPLC (40-70% MeOH in H_2O) 에 의해 정제되었고 이로부터 3'-methoxyapigenin (**12**) (2.7 mg)이 결정화되어 분리 정제되었다. 분획물 TH5-51-6 (125.9 mg)은 preparative HPLC (40-70% MeOH in H_2O) 에 의해 분리되었고, naringenin (**13**) (20.6 mg), hispidulin (**14**) (12.0 mg), 그리고 2,3-dihydroisorhamnetin (**18**) (6.1 mg)이 얻어졌다. 분획물 K01-107-7 (7.1 g) 은 Sephadex LH-20 을 이용하여 CHCl_3 -MeOH (2:1) 로 전개하였고, 이를 통해 5개(TH5-57-1 내지 TH5-57-5) 분획물로 분획하였다. 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 *n*-hexane-EtOAc (0:1 to 1:0) 로 분획물 TH5-57-4 (377.8 mg)를 전개하여 7개의 분획물 TH5-61-1 내지 TH5-61-7 을 얻었다. 분획물 TH5-61-3 (92.3 mg) 은 preparative HPLC (50-75 % MeOH in H_2O) 에 의해 정제하였고, eupafolin (**6**) (36.5 mg) 과 5,7,4'-trihydroxyflavone (**17**) (9.8 mg) 을 얻었다. 분획물 TH5-57-5 (50.9 mg) 는 preparative HPLC (25-85 % MeOH in H_2O)로 분리 정제하여, 5,7,3',4'-tetrahydroxyflavone (**15**) (31.2 mg) 과 3,4',5,7-tetrahydroxyflavone (**16**) (3.2 mg)을 얻었다.

[0081]

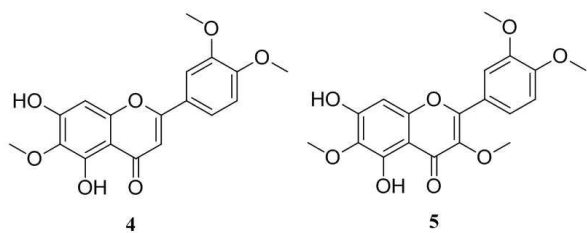
상기 (1) 내지 (19) 화합물의 화학구조식과 핵자기공명(nuclear magnetic resonance, NMR) 분석 데이터는 아래와 같다. 하기 "1" 내지 "19"는 각각 (1) 내지 (19)에 대응된다.

[0082]

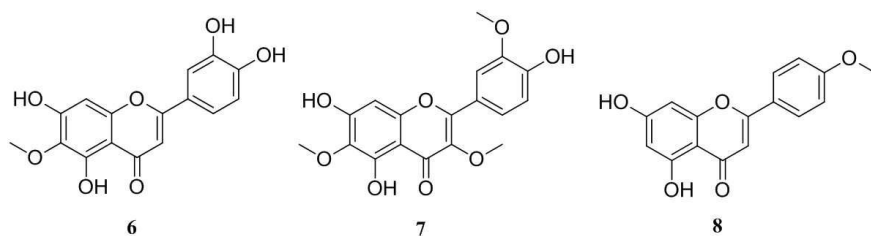
[화학구조식]



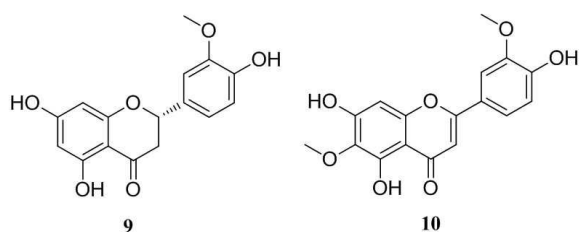
[0083]



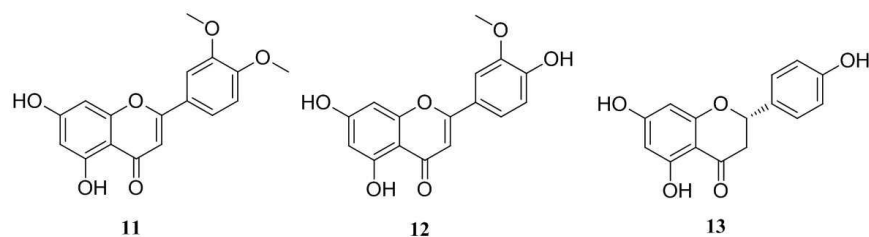
[0084]



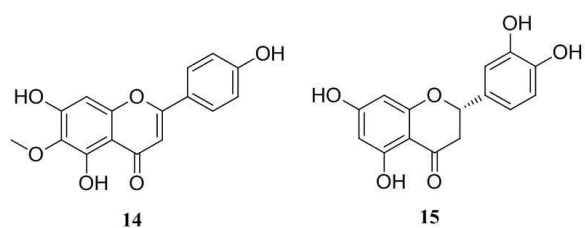
[0085]



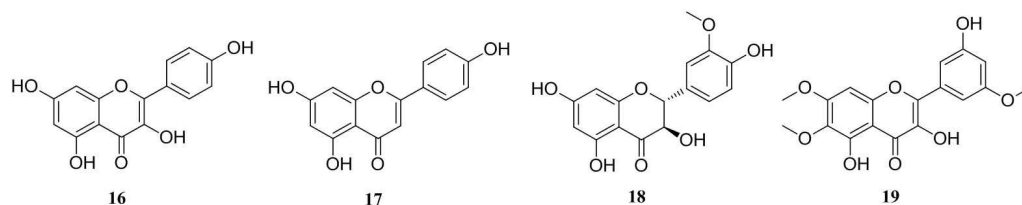
[0086]



[0087]



[0088]



[0089]

[0091] ^1H NMR spectroscopic data of compounds **1-19** in $\text{DMSO}-d_6$.

[0092] **3'-O-Methyl-eupatorin (1):** ^1H -NMR δ 12.91 (1H, s, 5-OH), 7.75 (1H, dd, $J = 8.5, 2$ Hz, H-6'), 7.61

(1H, *d*, H-2'), 7.15 (1H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-5'), 7.06 (1H, *s*, H-3), 6.99 (1H, *s*, H-8), 3.95 (3H, *s*, OMe-7), 3.90 (3H, *s*, OMe-3'), 3.87 (3H, *s*, OMe-4'), 3.74 (3H, *s*, OMe-6).

[0093] **Artemetin (2)**: $^1\text{H-NMR}$ δ 12.60 (1H, *s*, 5-OH), 7.75 (1H, *d*, *J* = 8 Hz, H-6'), 7.67 (1H, *s*, H-2'), 7.18 (1H, *d*, *J* = 8 Hz, H-5'), 6.96 (1H, *s*, H-8), 3.94 (3H, *s*, OMe-7), 3.87 (6H, *s*, OMe-3', 4'), 3.83 (3H, *s*, OMe-3), 3.74 (3H, *s*, OMe-6).

[0094] **Chrysosplenetin (3)**: $^1\text{H-NMR}$ δ 12.64 (1H, *s*, 5-OH), 7.68 (1H, *d*, *J* = 2 Hz, H-2'), 7.65 (1H, *dd*, *J* = 8.5, 2 Hz, H-6'), 6.98 (1H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-5'), 6.94 (1H, *s*, H-8), 3.93 (3H, *s*, OMe-7), 3.87 (6H, *s*, OMe-3'), 3.82 (3H, *s*, OMe-3), 3.73 (3H, *s*, OMe-6).

[0095] **Eupatilin (4)**: $^1\text{H-NMR}$ δ 13.04 (1H, *s*, 5-OH), 10.66 (1H, *s*, 7-OH), 7.68 (1H, *dd*, *J* = 8.5, 1.5 Hz, H-6'), 7.56 (1H, *d*, *J* = 1.5 Hz, H-2'), 7.13 (1H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-5'), 6.95 (1H, *s*, H-3), 6.63 (1H, *s*, H-8), 3.89 (6H, *s*, OMe-3'), 3.86 (6H, *s*, OMe-4'), 3.77 (3H, *s*, OMe-6).

[0096] **Bonanzin (5)**: $^1\text{H-NMR}$ δ 12.70 (1H, *s*, 5-OH), 10.70 (1H, *s*, 7-OH), 7.67 (1H, *dd*, *J* = 8.5, 2 Hz, H-6'), 7.61 (1H, *d*, *J* = 2 Hz, H-2'), 7.15 (1H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-5'), 6.58 (1H, *s*, H-8), 3.84 (6H, *s*, OMe-4'), 3.83 (6H, *s*, OMe-3'), 3.79 (3H, *s*, OMe-6), 3.74 (3H, *s*, OMe-3).

[0097] **Eupafolin (6)**: $^1\text{H-NMR}$ δ 13.09 (1H, *s*, 5-OH), 7.41 (1H, *dd*, *J* = 8.5, 2.5 Hz, H-2'), 7.39 (1H, *d*, *J* = 2.5 Hz, H-6'), 6.88 (1H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-3'), 6.67 (1H, *s*, H-3), 6.54 (1H, *s*, H-8), 3.74 (3H, *s*, OMe-6).

[0098] **3,6,3'-Trimethoxy-5,7,4'-trihydroxyflavone (7)**: $^1\text{H-NMR}$ δ 12.76 (1H, *s*, 5-OH), 7.63 (1H, *d*, *J* = 1 Hz, H-2'), 7.57 (1H, *dd*, *J* = 8.5, 1 Hz, H-6'), 6.96 (1H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-5'), 6.58 (1H, *s*, H-8), 3.85 (3H, *s*, OMe-3'), 3.79 (3H, *s*, OMe-3), 3.74 (3H, *s*, OMe-6).

[0099] **Acacetin (8)**: $^1\text{H-NMR}$ δ 12.93 (1H, *s*, 5-OH), 10.87 (1H, *s*, 7-OH), 8.06 (2H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-2', 6'), 7.13 (2H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-3', 5'), 6.89 (1H, *s*, H-3), 6.51 (1H, *s*, H-8), 6.21 (1H, *s*, H-6), 3.86 (3H, *s*, OMe-4').

[0100] **Homoeriodictyol (9)**: $^1\text{H-NMR}$ δ 12.15 (1H, *s*, 5-OH), 9.15 (1H, *s*, 4'-OH), 7.08 (1H, *dd*, *J* = 2 Hz, H-2'), 6.90 (1H, *d*, *J* = 8, 2 Hz, H-6'), 6.79 (1H, *d*, *J* = 8 Hz, H-5'), 5.89 (2H, *m*, H-6, 8), 5.43 (1H, *dd*, *J* = 13, 2.5 Hz, H-2), 3.32 (1H, *m*, H-3), 2.68 (1H, *dd*, *J* = 17, 2.5 Hz, H-3), 3.78 (3H, *s*, OMe-3').

[0101] **Jaceosidin (10)**: $^1\text{H-NMR}$ δ 13.10 (1H, *s*, 5-OH), 10.70 (1H, *s*, 7-OH), 7.58 (1H, *m*, H-6'), 7.56 (1H, *m*, H-2'), 6.95 (1H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-5'), 6.92 (1H, *s*, H-3), 6.63 (1H, *s*, H-8), 3.90 (3H, *s*, OMe-3'), 3.76 (3H, *s*, OMe-6).

[0102] **3',4'-Dimethoxyluteolin (11)**: $^1\text{H-NMR}$ δ 12.94 (1H, *s*, 5-OH), 10.88 (1H, *br s*, 7-OH), 7.70 (1H, *dd*, *J* = 8.5, 2 Hz, H-6'), 7.57 (1H, *d*, *J* = 2 Hz, H-2'), 7.14 (1H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-5'), 6.99 (1H, *s*, H-3), 6.54 (1H, *d*, *J* = 2 Hz, H-8), 6.21 (1H, *d*, *J* = 2 Hz, H-6), 3.88 (3H, *s*, OMe-3'), 3.86 (3H, *s*, OMe-4').

[0103] **3'-Methoxyapigenin (12)**: $^1\text{H-NMR}$ δ 12.96 (1H, *s*, 5-OH), 7.56 (1H, *dd*, *J* = 9, 2 Hz, H-6'), 7.54 (1H, *m*, H-2'), 6.93 (1H, *d*, *J* = 9 Hz, H-5'), 6.88 (1H, *s*, H-3), 6.47 (1H, *d*, *J* = 2 Hz, H-8), 6.16 (1H, *d*, *J* = 1.5 Hz, H-6), 3.88 (3H, *s*, OMe-3').

[0104] **Naringenin (13)**: $^1\text{H-NMR}$ δ 12.15 (1H, *s*, 5-OH), 9.61 (1H, *s*, 4'-OH), 7.31 (2H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-2', 6'), 6.79 (2H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-3', 5'), 5.88 (2H, *m*, H-6, H-8), 5.44 (1H, *dd*, *J* = 13, 3 Hz, H-2), 3.29 (1H, *dd*, *J* = 17, 12.5 Hz, H-3), 2.68 (1H, *dd*, *J* = 17, 3 Hz, H-3).

[0105] **Hispidulin (14)**: $^1\text{H-NMR}$ δ 13.09 (1H, *s*, 5-OH), 7.94 (2H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-2', 6'), 6.94 (2H, *d*, *J* = 9 Hz, H-3', 5'), 6.79 (1H, *s*, H-3), 6.60 (1H, *s*, H-8), 3.75 (3H, *s*, OMe-6).

- [0106] **5,7,3',4'-Tetrahydroxyflavanone (15):** $^1\text{H-NMR}$ δ 12.15 (1H, s, 5-OH), 10.80 (1H, s, 7-OH), 9.10 (1H, s, 3'-OH), 9.04 (1H, s, 4'-OH), 6.87 (1H, s, H-5'), 6.74 (2H, s, H-2', 6'), 5.88 (2H, s, H-6, 8), 5.39 (1H, dd, $J = 12.5, 3$ Hz, H-2), 3.22 (1H, dd, $J = 17, 12.5$ Hz, H-3), 2.69 (1H, dd, $J = 17, 3$ Hz, H-3).
- [0107] **3,4',5,7-Tetrahydroxyflavone (16):** $^1\text{H-NMR}$ δ 12.49 (1H, s, 5-OH), 10.82 (1H, s, 7-OH), 9.42 (1H, s, 4'-OH), 8.05 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', 6'), 6.94 (2H, d, $J = 9$ Hz, H-3', 5'), 6.44 (1H, d, $J = 1$ Hz, H-8), 6.19 (1H, d, $J = 1$ Hz, H-6).
- [0108] **5,7,4'-Trihydroxyflavone (17):** $^1\text{H-NMR}$ δ 12.97 (1H, s, 5-OH), 10.86 (1H, s, 7-OH), 7.94 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', H-6'), 6.94 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', H-5'), 6.80 (1H, s, H-3), 6.49 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-8), 6.20 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-6).
- [0109] **2,3-Dihydroisorhamnetin (18):** $^1\text{H-NMR}$ δ 11.93 (1H, s, 5-OH), 9.14 (1H, s, 4'-OH), 7.11 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-2'), 6.91 (1H, dd, $J = 8.5, 1.5$ Hz, H-6'), 6.79 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 5.92 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-6), 5.87 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-8), 5.77 (1H, d, 3-OH), 5.05 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, H-2), 4.66 (1H, dd, $J = 11.5, 6$ Hz, H-3), 3.78 (3H, s, OMe-3').
- [0110] **Apicin (19):** $^1\text{H-NMR}$ δ 13.07 (1H, s, 5-OH), 7.46 (1H, s, H-6'), 7.12 (1H, s, H-2'), 6.98 (1H, s, H-8), 6.57 (1H, s, H-4'), 3.94 (3H, s, OMe-7), 3.82 (3H, s, OMe-5'), 3.73 (3H, s, OMe-6).
- [0112] [실험예] 애엽 추출물, 분획물, 및 화합물의 신독성 개선 효과
- [0114] 문헌에 보고된 방법 (Yokozawa et al., J. Pharm. Pharmacol., 51, pp1325-1331, 1999)을 참조하여 신장세포 LLC-PK1 (ATCC CL-101TM, American Type Culture Collection, USA)를 사용하여 신장 독성에 대한 보호 효과를 다음과 같이 평가하였다.
- [0115] 구체적으로, LLC-PK1 세포를 10% 소태아 혈청 (fetal bovine serum; Gibco BRL Life Technologies), 페니실린 G 100 유닛/ml (Gibco BRL Life Technologies) 및 스트렙토마이신 (streptomycin; Gibco BRL Life Technologies) 100 $\mu\text{g/ml}$ 를 가진 DMEM (Cellgro, Manassas, VA, USA) 배지를 사용하여 37°C로 유지된 95% 공기/5% 이산화탄소 배양기에서 배양하였다. 배양된 LLC-PK1 세포를 96-웰 배양 플레이트의 100 μl 를 포함한 각 웰에 10^4 개씩 도입하고 22 시간 동안 세포가 안정되도록 하였다. 그 후, 상기 실시예의 애엽 추출물 및 각 화합물을 지정된 농도가 되도록 첨가하고, 2시간 뒤, 배지에 녹인 250mg/ml 조영제(Iodixanol)를 0.1ml씩 첨가하여 24 시간 배양한 후 10 μl 의 CCK-8 (CCK-8, Dojindo Laboratories, Japan) 시약을 각 웰에 첨가 후, 37°C에서 배양하였다. 1 시간 후 BIO-TEK (Winooski, VT, USA) 마이크로플레이트 리더 (microplate reader)에서 450 nm 검출 파장을 이용하여 흡광도를 측정하여 세포의 생존율을 측정하였다.
- [0116] 하기 표 1, 2는 조영제 처리한 신장 상피세포인 LLC-PK1 세포에 대한 각 애엽 추출물 및 각 화합물의 보호 효과를 나타낸다. LLC-PK1 세포수는 25mg/ml 조영제 처리로 조영제 비처리군의 65% 이하로 감소하였다. 각 애엽 추출물 및 화합물들은 이런 세포 손상을 억제하는 것으로 나타났다.
- [0117] 구체적으로, 각 애엽 추출물 및 화합물들은 25mg/ml 조영제 처리로 감소된 세포 생존율을 농도 의존적으로 유의적으로 증가시켰으며, 애엽 추출물은 200 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 효과적으로 95.8%까지 유의적으로 세포의 생존율을 증가시켰다. 특히, 애엽 성분 중 16번 성분은 5 μM 의 저농도에서 세포의 생존율을 77.3%까지 증가시켜 가장 우수한 효과를 보이며 탁월한 신장세포보호 효과를 나타냄을 확인하였다. 이러한 효과를 통해 각 화합물 및 이를 포함하는 애엽 분획물, 및 애엽 추출물은, 요오드 함유 약물이 유발하는 신독성에 의해 발생할 수 있는 신장질환을 예방, 개선, 및 치료할 수 있음을 알 수 있다. 요오드 함유 약물(특히, 조영제)는 신혈류 감소 또는 자유피라디칼에 의한 산화스트레스 등을 통해 신장 세포에 독성을 일으키며 이를 통해 신장 질환을 유발하는 공통점이 있고, 상기 실험을 통해 신장 세포 보호 효과를 확인하였으므로, 같은 기전으로 독성을 일으키는 요오드 함유 약물에 대해서도 같은 효과를 발휘할 것임은 자명하다 할 것이다.

표 1

[0118]

구분	농도 (μg / 배지 1mL당)	세포생존율 (%)
애엽 추출물	0	53.9 ± 1.8
	1	54.8 ± 1.7
	2.5	57.7 ± 1.2
	5	62.2 ± 3.1
	10	69.2 ± 2.7
	25	74.2 ± 0.4
	50	77.8 ± 0.4
	100	85.2 ± 2.4
	200	95.8 ± 2.3

표 2

[0119]

화합물	농도 (μM) (배지 내에서의 농도)	세포생존율 (%)
1	0	59.1 ± 1.2
	5	63.3 ± 0.7
	10	75.2 ± 2.4
	25	76.9 ± 2.9
	50	80.2 ± 2.6
	100	77.5 ± 3.1
2	0	59.1 ± 1.2
	5	63.4 ± 3.1
	10	75.0 ± 3.9
	25	72.9 ± 4.3
	50	78.8 ± 3.7
	100	97.9 ± 1.6
3	0	59.1 ± 1.2
	5	60.0 ± 2.4
	10	66.7 ± 3.4
	25	76.1 ± 1.4
	50	92.9 ± 0.4
	100	93.8 ± 3.8
15	0	61.3 ± 0.8
	5	77.0 ± 0.9
	10	79.6 ± 3.0
	25	79.3 ± 1.1
	50	86.3 ± 3.2
	100	80.3 ± 1.3
16	0	61.3 ± 0.8
	5	77.3 ± 4.6
	10	76.5 ± 2.7
	25	75.5 ± 1.0
	50	79.5 ± 2.3
	100	82.4 ± 0.4
18	0	64.2 ± 1.4
	5	66.3 ± 4.6
	10	65.1 ± 2.8
	25	77.1 ± 1.0
	50	77.6 ± 2.9
	100	82.4 ± 4.7

19	0	64.2 ± 1.4
	5	75.8 ± 4.2
	10	78.6 ± 4.7
	25	76.7 ± 4.5
	50	79.6 ± 4.2
	100	89.0 ± 1.0
NAC(N-acetyl cysteine)	0	62.1 ± 2.0
	10	86.5 ± 2.0
	25	89.6 ± 0.4
	50	94.4 ± 1.2