



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl.	(45) 공고일자	2007년01월11일
A61K 31/047 (2006.01)	(11) 등록번호	10-0668067
A61K 31/085 (2006.01)	(24) 등록일자	2007년01월05일

(21) 출원번호	10-2005-0067934	(65) 공개번호
(22) 출원일자	2005년07월26일	(43) 공개일자
심사청구일자	2005년07월26일	

(73) 특허권자 이화여자대학교 산학협력단
서울 서대문구 대현동 11-1 이화여자대학교내

(72) 발명자 서은경
서울특별시 성북구 정릉동 674-7

이상국
서울특별시 성동구 행당동 347번지 대림아파트 110-501

한아름
서울 은평구 불광2동 198-4

(74) 대리인 신동인

(56) 선행기술조사문헌
KR1020050047207 A
논문
* 심사관에 의하여 인용된 문헌
KR1020050047208 A

심사관 : 김은희

전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 페닐부테노이드 유도체 화합물을 포함하는 항염증 조성물

(57) 요약

본 발명은 천연 물질로부터 분리 가능한 항염증 조성물에 관한 것으로서, 상세하게는 본 발명의 페닐부테노이드 계열 화합물을 포함하는 조성물은 시클로옥시게나제-2 (cyclooxygenase-2, COX-2)의 과다 발현을 저해하는 활성을 나타내므로 항염증 의약품으로 이용될 수 있다.

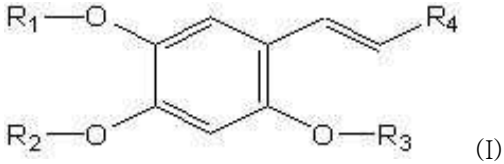
대표도

도 1

특허청구의 범위

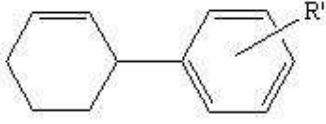
청구항 1.

하기 일반식 (I)의 페닐부테노이드 유도체 화합물 또는 이의 약리학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증 예방 및 치료를 위한 약학 조성물:



상기 식에서,

R_1 , R_2 , R_3 는 각각 독립적으로 수소원자, C_1 - C_3 저급알킬기이고,

R_4 는 C_2 내지 C_6 에틸렌기 또는  (Ia)기이며, 여기에서 R' 는 하나 이상의 히드록시, 또는 C_1 내지 C_4 알콕시기가 임의로 치환가능한 치환기이다.

청구항 2.

제 1항에 있어서, 일반식 (I)의 정의에서 R_1 내지 R_3 가 각각 독립적으로 수소원자 또는 메틸기이며, R_4 가 C_2 에틸렌기 또는 R' 가 히드록시 또는 메톡시기로 치환된 일반식 (Ia)으로 치환된 화합물 군인 약학 조성물.

청구항 3.

제 2항에 있어서, 일반식 (I)의 화합물은 (±)-트랜스-3-(3,4-디메톡시페닐)-4-[(E)-3,4-디메톡시스티릴]시클로헥-1-센 (1), (±)-트랜스-3-(4-하이드록시-3-메톡시페닐)-4-[(E)-3,4-디메톡시스티릴]시클로헥-1-센 (2), (E)-4-(2,4,5-트리메톡시페닐)부트-1,3-디엔 (3), (E)-4-(3,4-디메톡시페닐) 부트-1,3-디엔 (4) 화합물인 약학 조성물.

청구항 4.

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 염증질환은 일반적인 염증질환을 포함하며, 상세하게는 대장염, 위염, 식도염 등 염증성 장질환, 피부염증, 관절염, 류마티스성 관절염, 혈관계 염증으로 인한 질환, 죽상경화증, 치주염, 치은염 등 염증성 잇몸질환, 인후염, 편도염, 비염, 기관지염 등으로부터 선택된 하나 이상의 질환을 포함하는 약학 조성물.

청구항 5.

삭제

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 페닐부테노이드 유도체 화합물을 포함하는 염증의 예방 및 치료를 위한 조성물에 관한 것이다.

아스피린, 이부프로펜, 아세트아미노펜 등으로 대표되는 비-스테로이드성 소염진통제(nonsteroidal anti-inflammatory drugs:이하 NSAIDs)의 항염증 효과는 COX 효소 활성을 억제하는 것에 의해 매개된다(Vane et al., *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **38**, pp97-, 1998). COX는 생체 내에 존재하는 프로스타그란딘 (prostaglandin)의 생합성에 관련하는 효소로서, COX-1 및 COX-2의 두 종류의 이성 효소로 존재한다(Smith et al., *J. Biol. Chem.*, **271**, pp33157-, 1996).

COX-1은 정상 상태에서 발현하여 위장관을 보호하거나 신장 기능을 조절하는 등 체내 항상성 유지에 관여하는 프로스타글란딘 류를 생성하고, COX-2는 염증이나 기타 면역 반응시 세포분열인자(mitogen)나 사이토카인(cytokines) 류에 의해 세포 내에서 일시적이고 빠르게 발현되어 염증 반응을 매개하는 프로스타글란딘 류를 생성하는 것으로 알려져 있다. 기존 NSAIDs가 부작용을 나타내는 것은 COX-2 효소에 대한 선택성이 결여되어 COX-1을 불필요하게 억제하는 데서 기인하는 것으로 보고되고 있다(Masferrer et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, pp3228-, 1994; Seibert et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, pp12013-, 1994). 따라서 현재의 연구는 기존의 NSAIDs의 부작용을 감소시키기 위하여 보다 선택적으로 COX-2를 억제하는 물질을 찾는 데 집중되어 있다.

본 발명의 유도체 화합물들은 생강(*Zingiber cassumunar* Roxb.)으로 분리가 가능한데, 이는 생강과(Zingiberaceae) 식물에 속하는 진지버(Zingiber) 속 식물로서, 동남아시아 등지에 광범위하게 분포되어 있으며 민간요법으로 이용되어 왔다. 진지버속 식물이 민간요법으로 사용되는 예로는, 말레이시아에서 여러 진지버속 식물의 뿌리가 위통, 멀미, 구토, 간질, 인후통, 기침, 타박상, 상처, 해산, 안질환, 간장병, 류머티즘, 근육통, 백선(버짐), 천식, 발열, 악성종양 및 종기 등의 치료제로 사용된다. 또한, 진지버속 식물의 성분으로는 여러 진지버속 식물 뿌리의 주성분으로 커큐미노이드(curcuminoid) (Ruby et al., *Cancer Lett.*, **94**, pp79-83, 1995; Ishida et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **10**, pp3481-3487, 2002; Vimala et al., *Br. J. Cancer*, **80**, pp110-116, 1999), 플라보노이드 글리코사이드(flavonoid glycoside)(Nakatani et al., *Agric. Biol. Chem.*, **55**, pp455-460, 1991; Murakami et al., *Phytochemistry*, **31**, pp2689-2693, 1992), 세스퀴테르페노이드(sesquiterpenoid)(Murakami et al., *Carcino genesis*, **23**, pp795-802, 2002) 및 폴리페놀(polyphenol) (Murakami et al., *Phytochemistry*, **31**, pp2689-2693, 1992) 등이 보고되고 있다.

생강의 뿌리는 인도네시아에서는 복통, 설사, 구충, 통증, 류마티즘, 자궁질환을 치료하는 전통 약재로 사용되어 왔다 (Ozaki et al., *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, pp2353-2356, 1991). 또한, 활성에 관한 연구로서는 항산화 작용(Masuda et al., *Chem. Lett.*, **1**, pp189-192, 1993; Jitoe et al., *Tetrahedron Lett.*, **35**, pp981-984, 1994), 항염증 작용(Ozaki et al., *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, pp2353-2356, 1991; Jeenapongsa et al., *J. Ethnopharmacol.*, **87**, pp143-148, 2003), 살충 작용(Nugroho et al., *Phytochemistry*, **41**, pp129-132, 1996) 및 자궁 이완 작용(Kanjanapothi et al., *Planta Med.*, **53**, pp329-332, 1987)이 보고되었으며, 생강의 뿌리의 성분에 관한 연구에서는 페닐부테노이드(phenylbutenoid) 및 커큐미노이드 (curcuminoid)가 보고되었다(Masuda and Jitoe, *Phytochemistry*, **39**, pp459-461, 1995; Tuntiawachwuttikul et al., *Phytochemistry*, **20**, 1164-1165, 1981; Masuda et al., *Chem. Lett.*, **1**, pp189-192, 1993; Jitoe et al., *Tetrahedron Lett.*, **35**, pp981-984, 1994).

그러나 생강에서 분리된 물질들에 대한 지속적인 연구에도 불구하고, 이 생강과 식물 (*Zingiber cassumunar* Roxb)로부터 분리된 페닐부테노이드 계열의 유도체들이 시클로옥시게나제-2 (cyclooxygenase-2, COX-2)의 과다 발현을 저해하는 활성을 나타냄으로서 항염증으로서의 용도에 대한 어떠한 교시나 시사된 바 없다.

이에 본 발명자들은 민간에서 많이 사용되는 생약제 기원의 염증 치료제를 연구한 결과, 생강으로부터 분리 가능한 본 발명의 페닐부테노이드 유도체들이 우수한 염증억제 효과를 나타냄을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

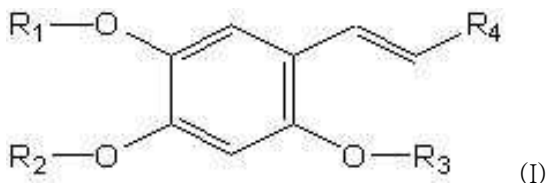
발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명의 목적은 본 발명의 페닐부테노이드 유도체 화합물을 포함하는 염증 치료를 위한 조성물을 제공하는 것이다.

발명의 구성

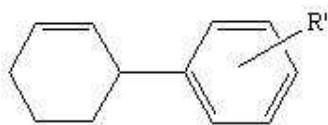
상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 생강으로부터 분리된 하기 일반식 (I)의 페닐부테노이드 유도체 화합물 또는 이의 약리학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증 치료 및 예방용 조성물을 제공한다.

[일반식 I]



상기 식에서,

R₁, R₂, R₃ 는 각각 독립적으로 수소원자, C₁-C₃ 저급알킬기이고,



R₄는 C₂ 내지 C₆ 에틸렌기 또는 (Ia) 기이며, 여기에서 R' 는 하나 이상의 히드록시, 또는 C₁ 내지 C₄ 알콕시기가 임의로 치환가능한 치환기이다.

상기 일반식 (I)의 화합물 중에서 바람직한 화합물은 일반식 (I)의 정의에서 R₁ 내지 R₃가 각각 독립적으로 수소원자 또는 메틸기이며, R₄가 C₂ 에틸렌기 또는 R'가 히드록시기 또는 메톡시기로 치환된 일반식 (Ia)으로 치환된 화합물 군이다.

보다 바람직하게는 (±)-트랜스-3-(3,4-디메톡시페닐)-4-[(E)- 3,4-디메톡시스티릴]시클로헥-1-센 (1), (±)-트랜스-3-(4-하이드록시-3-메톡시페닐)-4-[(E)- 3,4-디메톡시스티릴]시클로헥-1-센 (2), (E)-4-(2,4,5-트리메톡시페닐)부트-1,3-디엔 (3), (E)-4-(3,4-디메톡시페닐) 부트-1,3-디엔 (4) 화합물들이다.

또한, 상기 화합물들은 초두구(*Alpinia katsumadai* Hayata), 고량강(*Alpinia officinarum* Hance), 익지(*Alpinia oxyphylla* Miq), 백두구(*Amomum cardamomum* Linn.), 양춘사(*Amomum villosum* Lour.), 울금(*Curcuma aromatica* Salisb.), 강황(*Curcuma longa* Linn.), 아출(*Curcuma zedoaria* Rosc.), 양하(*Zingiber mioga* (Thunb.) Rosc.) 및 생강(*Zingiber cassumunar* Roxb.) 식물, 바람직하게는 생강으로부터 분리되어 수득될 수 있다.

이하 본 발명을 더욱 상세히 설명한다.

본 발명의 페닐부테노이드 유도체 화합물들은 생강(*Zingiber cassumunar* Roxb.) 비극성용매 추출물로부터 하기와 같이 과정을 통하여 수득될 수 있는데:

예를 들어, 먼저 본 발명의 생강(*Zingiber cassumunar* Roxb.)을 건조하여, 뿌리를 세절한 다음, 시료 무게(g)의 약 1배 내지 20배, 바람직하게는 약 3배 내지 10배의 물, C₁ 내지 C₄의 저급 알콜 또는 이들의 혼합용매, 바람직하게는 메탄올로, 20℃ 내지 100℃, 바람직하게는 50℃ 내지 70℃의 추출온도에서 약 1시간 내지 10일, 바람직하게는 약 2시간 내지 5시간 동안 냉침, 열수 추출, 초음파 추출, 환류 냉각 추출, 더욱 바람직하게는 환류 냉각 추출방법을 이용하여 상층액을 회수한 다음, 상기의 과정을 2 내지 7회 반복 수행하여 상층액을 모으고 감압 농축하여 생강 극성용매 가용추출물을 수득할 수 있다.

또한 본 발명의 비극성 용매 가용추출물은 상기 극성용매 가용추출물을 증류수에 현탁한 후, 이를 현탁액이 약 1 내지 100 배, 바람직하게는 약 1 내지 5배 부피의 헥산, 에틸아세테이트, 메틸렌클로라이드, 클로로포름과 같은 비극성 용매를 가하여 1회 내지 10회, 바람직하게는 2회 내지 5회 비극성 용매 가용층을 추출, 분리하여 비극성 가용 분획물을 수득할 수 있다. 또한 추가로 통상의 분획 공정을 수행할 수도 있다 (Harborne J.B. *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis.*, 3rd Ed., pp 6-7, 1998).

더욱 구체적으로는 상기 공정으로 수득된 생강 비극성 용매 가용추출물 중 활성이 높은 분획들을 취하여 TLC 상에서 비슷한 R_f 수치를 갖는 분획들을 모아 단일 분획을 만들고 건조하여 정제된 형태의 정제 분획물을 얻은 다음, 용출용매로 메틸렌클로라이드, 클로로포름, 헥산, 에틸아세테이트, 메탄올, 증류수 또는 이들의 혼합용매를 사용하여, 바람직하게는 메틸렌클로라이드:메탄올 혼합용매를 사용하여 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 수행한 후, 이를 통하여 얻은 수 개의 분획물을 다시 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 반복 수행함으로써 본 발명의 페닐부테노이드 유도체 화합물들 수득할 수 있으며, 상기 분리공정으로부터 분리된 페닐부테노이드 유도체 화합물 이외의 유도체 화합물들은 기본 모핵에 치환된 치환기들을 당업계에 잘 알려진 알킬화, 아세틸화 등의 제조공정들을 통하여 통상의 치환기들을 부분 합성 또는 전합성에 의하여 제조가 가능하다. (Herbert O. House: *Modern Synthetic Reactions*, 2nd Ed., The Benjamin/Cummings Publishing Co., 1972).

상기 일반식 (I)으로 표기되는 본 발명의 화합물들은 당해 기술 분야에서 통상적인 방법에 따라 약학적으로 허용 가능한 염 및 용매화물로 제조될 수 있다.

약학적으로 허용 가능한 염으로는 유리산 (free acid)에 의해 형성된 산부가염이 유용하다. 산부가염은 통상의 방법, 예를 들면 화합물을 과량의 산 수용액에 용해시키고, 이 염을 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴과 같은 수혼화성 유기용매를 사용하여 침전시켜서 제조한다. 동 몰량의 화합물 및 물 중의 산 또는 알코올(예, 글리콜 모노메틸에테르)을 가열하고 이어서 상기 혼합물을 증발시켜서 건조시키거나, 또는 석출된 염을 흡인 여과시킬 수 있다.

이 때, 유리산으로는 유기산과 무기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 인산, 황산, 질산, 주석산 등을 사용할 수 있고 유기산으로는 메탄술폰산, *p*-톨루엔술폰산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 시트르산, 말레인산(maleic acid), 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산, 만데르산, 프로피온산(propionic acid), 구연산(citric acid), 젖산(lactic acid), 글리콜산(glycollic acid), 글루콘산(gluconic acid), 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산(glutaric acid), 글루쿠론산(glucuronic acid), 아스파르트산, 아스코르빈산, 카본산, 바닐릭산, 히드로 아이오딕산 등을 사용할 수 있다.

또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리토 금속염은, 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리토 금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물염을 여과한 후 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로서는 특히 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하며, 또한 이에 대응하는 은염은 알칼리 금속 또는 알칼리토 금속염을 적당한 은염(예, 질산은)과 반응시켜 얻는다.

상기의 일반식 (I)의 약학적으로 허용 가능한 염은, 달리 지시되지 않는 한, 일반식 (I)의 화합물에 존재할 수 있는 산성 또는 염기성기의 염을 포함한다. 예를 들면, 약학적으로 허용 가능한 염으로는 히드록시기의 나트륨, 칼슘 및 칼륨 염이 포함되며, 아미노기의 기타 약학적으로 허용가능한 염으로는 히드로브로마이드, 황산염, 수소 황산염, 인산염, 수소 인산염, 이수소 인산염, 아세테이트, 숙시네이트, 시트레이트, 타르트레이트, 락테이트, 만델레이트, 메탄설포네이트(메실레이트) 및 *p*-톨루엔설포네이트(토실레이트) 염이 있으며, 당업계에서 알려진 염의 제조방법이나 제조과정을 통하여 제조될 수 있다.

상기와 같은 방법으로 얻어진 본 발명의 일반식 (I)의 화합물들의 항염증 효과를 알아보기 위하여, 마우스 대식세포주를 이용한 시험관 내(*in vitro*) 실험에서 COX-2 저해 효능 측정 시 화합물 1-4는 유의성 있는 COX-2 저해 효능을 나타내는 것을 확인하였다.

본 발명은 상기 일반식 (I) 화합물을 유효 성분으로 포함하는 염증 질환의 예방 및 치료용 약학조성물을 제공한다.

상기 염증질환은 일반적인 염증질환을 포함하며, 상세하게는 대장염, 위염, 식도염 등 염증성 장질환, 피부 염증, 관절염, 류마티스성 관절염, 혈관계 염증으로 인한 질환, 죽상경화증, 치주염, 치은염 등 염증성 잇몸질환, 인후염, 편도염, 비염, 기관지염이 있으며 본 발명의 약학조성물을 염증질환의 치료에 사용할 수 있다.

또한, 본 발명은 염증을 치료하기에 충분한 양의 상기 일반식 (I) 화합물을 포함하는 항염증 조성물을 투여하여 염증을 치료하는 방법을 제공한다.

본 발명의 염증 치료용 조성물은, 조성물 총 중량에 대하여 상기 화합물을 0.1 내지 50 중량%로 포함한다.

본 발명의 추출물 또는 화합물과 함께 사용할 수 있는 약학적으로 허용 가능한 담체, 보조제 또는 희석액으로 예를 들면, 본 발명의 추출물 또는 화합물은 주사 용액의 제조에 통상적으로 사용되는 오일, 프로필렌글리콜 또는 다른 용매에 용해시킬 수 있다. 적당한 담체로는 특별히 한정되지 않지만, 예를 들면, 생리식염수, 폴리에틸렌글리콜, 에탄올, 식물성 오일 및 이소프로필미리스테이트 등이 있다. 국소 적용을 위해서는 본 발명의 추출물 또는 화합물을 연고나 크림으로 제형화할 수 있다.

이하, 제형 방법 및 부형제를 설명하지만, 이들 예로만 한정되는 것은 아니다. 또한, 본 발명의 추출물 또는 화합물의 약학적 투여 형태는 이들의 약학적 허용 가능한 염의 형태로도 사용될 수 있고, 또한 단독으로 또는 타 약학적 활성 화합물과 결합뿐만 아니라 적당한 집합으로 사용될 수 있다.

본 발명의 추출물 또는 화합물은 일반적인 식염수, 5% 텍스트로스와 같은 수용성 용매 또는 식물성 오일, 합성 지방산 글리세라이드, 고급 지방산 에스테르 또는 프로필렌글리콜과 같은 비수용성 용매에 화합물을 용해시키거나, 현탁시키거나 또는 유화시켜 주사제로 제형화 될 수 있다. 본 발명의 제형은 용해제, 등장화제(isotonic agents), 현탁화제, 유화제, 안정화제 및 방부제와 같은 종래의 첨가제를 포함할 수 있다.

본 발명의 추출물 또는 화합물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 담당자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 추출물 또는 화합물은 1일 0.0001 내지 100 mg/kg으로, 바람직하게는 0.001 내지 10 mg/kg으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내 주사에 의해 투여될 수 있다.

본 발명은 염증 질환 경감 및 예방효과를 나타내는 생강 조추출물, 생강 비극성용매가용추출물, 상기 일반식(1)의 화합물을 유효성분으로 포함하는 건강기능식품을 제공한다.

또한 생강 추출물, 생강 비극성용매 가용추출물, 상기 일반식(1)의 화합물은 염증 질환 예방을 목적으로 식품 또는 음료에 첨가될 수 있는데, 식품 종류는 특히 한정되는 것은 아니고, 예를 들어, 과자류, 빵류, 면류 등과 같은 각종 식품류, 물, 청량음료, 과일 음료 등의 드링크류, 껌, 차, 비타민 복합제, 조미료류, 건강기능 식품류 등이 있다. 이 때, 식품 또는 음료 중의 상기 추출물 또는 화합물의 양은, 일반적으로 본 발명의 건강기능식품 조성물의 경우는 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 중량%, 바람직하게는 0.1 내지 5 중량%로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물에는 100ml를 기준으로 0.01 ~ 30g, 바람직하게는 0.1 ~ 1g의 비율로 가할 수 있다. 이와 같이 하여 얻어지는 본 발명의 건강기능식품은, 본 발명의 조성물을 함유하고 있기 때문에, 본 발명의 화합물이 지닌 보건예방효과 및 보건 치료 효과를 충분히 활용할 수 있는 식품이다.

또한, 본 발명은 상기 일반식(1)의 화합물 및 식품학적으로 허용 가능한 식품보조첨가제를 함유하는 건강보조식품을 제공한다.

본 발명의 건강 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 추출물 또는 화합물을 함유하는 외에는 액체성분에는 특별한 제한점은 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리스리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등), 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ml 당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다.

본 발명의 식품은 기재로 되는 식품의 제조과정 중에 상술한 본 발명의 조성물을 첨가하는 공정을 가함으로써 혹은 기재로 되는 식품의 제조 후에 상술한 본 발명의 조성물을 첨가하는 공정을 가함으로써 용이하게 얻을 수 있다. 이때 필요에 따라 맛과 냄새 교정제를 첨가하여도 좋다.

상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 조성물들은 천연 과일 주

스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

본 발명은 다음의 참조예, 실시예 및 실험예에 의거하여 더욱 상세히 설명되나, 본 발명이 이에 의해 제한되지는 않는다.

참고예 1. 화합물의 구조 결정

하기 실시예로부터 분리된 화합물에 대하여 분석 TLC (analytical TLC)를 이용하여, 각 성분의 순도를 평가하였다. 단일 활성 성분임이 확인된 상태에서 각종 분광학적 IR(Bio-Rad Laboratories사, USA), Mass (JEOL사, Japan), $^1\text{H-NMR}$ (Varian사, CA), $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, HSQC, HMBC 등을 실시하여 하기와 같이 화합물의 구조를 결정하였다.

실시예 1. 화합물의 분리 및 동정

1-1. 생강(*Zingiber cassumunar* Roxb.) 조추출물의 제조

인도네시아(Indonesia)의 수라바야(Surabaya) 지역에서 생강(*Zingiber cassumunar* Roxb.)를 채집하여 건조시키고 뿌리를 세절하여 얻은 시료 500 g을 100 % 메탄올 10ℓ에 넣고, 추출용기에서 상온에서 2일씩 3회 추출하였다. 이 과정을 2회 반복하여 상층액을 모은 후, 감압 농축하여 생강 조추출물 50.0 g을 수득하였다.

1-2. 생강(*Zingiber cassumunar* Roxb.) 비극성용매 가용분획물의 제조

상기 1-1 단계에서 얻은 생강 조추출물 50.0 g을 증류수 1ℓ에 현탁시킨 후, 헥산 1ℓ를 첨가하여 용해한 다음 이를 분획여두에서 헥산층에 용해되는 성분만 분리하여 진공 건조하였다. 이 과정을 5회 반복 수행하여 헥산 분획물 14.3g을 수득하였다. 남은 수층에 클로로포름 1ℓ를 첨가하여 분획여두에서 클로로포름층에 용해되는 성분만 분리해서 진공건조하였다. 이 과정을 5회 반복 수행하여 클로로포름 가용 분획물 13.0 g을 수득하였다. 상기과 동일한 과정으로 수행하여 n-부탄올 분획물 3.3 g 및 수층 11.4 g을 수득하였다.

실시예 2. (±)-트랜스-3-(3,4-디메톡시페닐)-4-[(E)-3,4-디메톡시스티릴]시클로 헥-1-센 (화합물 1)의 제조

상기 실시예 1에서 얻은 용매 분획 중 가장 활성이 높은 클로로포름 분획 13.0 g을 메틸렌클로라이드:메탄올 혼합용매(100:1 → 10:1)를 사용하여 실리카겔 컬럼크로마토그래피(실리카 겔 60, 230 내지 400 메쉬, Merck사)를 실시하여 13개의 분획으로 분리하고, 이들 분획 중 1번 분획 1.8 g을 다시 헥산:에틸아세테이트 혼합용매(100:0 → 0:100)를 사용하여 실리카겔 컬럼크로마토그래피(실리카겔 60, 230 내지 400 메쉬, Merck사)를 실시하였다. 이로부터 나온 9번에서 10번까지의 분획을 합친 분획 650 g을 다시 헥산:아세톤 혼합용매(70:1 → 0:100)를 사용하여 실리카겔 컬럼크로마토그래피(실리카겔 60, 230 내지 400 메쉬, Merck사)를 실시하고, 이로부터 나온 3번 분획에서 하기 물성치를 갖는 (±)-트랜스-3-(3,4-디메톡시페닐)-4-[(E)-3,4-디메톡시스티릴]시클로헥-1-센 (화합물 1이라 명명) 186mg을 분리하였다.

성상: 미황색 고체(pale yellow solid)

분자구조식 : $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_4$

TLC 상: $R_f=0.5$ (헥산: 아세톤 = 3:2), 10% (v/v) 황산 발색시약에 보라색으로 발색.

$[\alpha]^{25}_{\text{D}}$ 0.00°(아세톤, c 0.17)

UV (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 272(3.9), 239(3.8)nm

IR (liquid film) ν_{max} 1650, 1541, 1515, 1458, 1262, 1138, 1028 cm^{-1}

EIMS m/z (%) $[\text{M}]^+$ 380 (100), 191 (70), 159 (95), 115 (30)

^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ ppm: 1.66 (^2H , m), 1.93 (^1H , dd, $J = 12.8, 3.2$ Hz), 1.66 (^2H , m), 2.22 (^1H , m), 2.35 (^1H , br d, $J = 8.4$ Hz), 3.18 (^1H , dd, $J = 8.4, 2.6$ Hz), 3.82 (^3H , s), 3.85 (^3H , s), 3.86 (^3H , s), 3.87 (^3H , s), 5.68 (^1H , dd, $J = 10.0, 2.6$ Hz), 5.90 (^1H , br d, $J = 10.0$ Hz), 6.02 (^1H , dd, $J = 16.0, 6.8$ Hz), 6.10 (^1H , d, $J = 16.0$ Hz), 6.70 (^1H , d, $J = 2.0$ Hz), 6.73 (^1H , dd, $J = 9.1, 2.0$ Hz), 6.77 (^2H , d, $J = 9.1$ Hz), 6.78 (^1H , dd, $J = 9.1, 2.4$ Hz), 6.81 (^1H , br s)

^{13}C NMR (100MHz, acetone- d_6) δ ppm: 24.7, 28.0, 45.6, 48.2, 56.0, 56.0, 56.1, 56.1, 108.9, 111.0, 111.3, 111.9, 119.0, 120.6, 127.8, 129.1, 130.5, 131.2, 132.4, 137.8, 147.5, 148.5, 148.8, 149.1

실시예 3. (±)-트랜스-3-(4-하이드록시-3-디메톡시페닐)-4-[(E)-3,4-디메톡시스티릴]시클로 헥-1-엔 (화합물 2)의 제조

상기 실시예 1에서 얻은 용매 분획 중 가장 활성이 높은 클로로포름 분획 13.0g을 메틸렌클로라이드:메탄올 혼합용매 (100:1 → 10:1)를 사용하여 실리카겔 컬럼크로마토그래피(실리카 겔 60, 230 내지 400 메쉬, Merck사)를 실시하여 13개의 분획으로 분리하고, 이들 분획 중 1번 분획 1.8 g을 다시 헥산:에틸아세테이트 혼합용매(100:0 → 0:100)를 사용하여 실리카겔 컬럼크로마토그래피(실리카겔 60, 230 내지 400 메쉬, Merck사)를 실시하였다. 이로부터 나온 9번에서 10번까지의 분획을 합친 분획 650 g을 다시 헥산:아세톤 혼합용매(70:1 → 0:100)를 사용하여 실리카겔 컬럼크로마토그래피(실리카겔 60, 230 내지 400 메쉬, Merck사)를 실시하고, 이로부터 나온 6번 분획에서 활성 성분인 (±)-트랜스-3-(4-하이드록시-3-메톡시페닐)-4-[(E)-3,4-디메톡시스티릴]시클로헥-1-엔(화합물 2라 명명) 11 mg을 분리하였다.

성상: 미황색 고무질(pale yellow gum)

분자구조식 : $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_4$

TLC 상: $R_f = 0.4$ (헥산:아세톤 = 3:2), 10% (v/v) 황산 발색시약에 보라색으로 발색.

$[\alpha]^{25}_{\text{D}}$ 0.00° (아세톤, c 0.17)

UV (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 272(4.0), 239(3.9)nm

IR (liquid film) ν_{max} 3443, 1650, 1541, 1507, 1255, 1027 cm^{-1}

EIMS m/z (%) $[\text{M}]^+$ 366 (100), 284 (10), 266 (10), 98 (15)

HREIMS m/z (%) $[\text{M}]^+$ 366.1836 (calcd. 366.4570 for $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_4$)

^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ ppm: 1.66 (^1H , m), 1.92 (^1H , br d, $J = 12.8, 2.8$ Hz), 2.21 (^2H , m), 2.33 (^1H , br d, $J = 8.2$ Hz), 3.16 (^1H , dd, $J = 8.2, 2.4$ Hz), 3.82 (^3H , s), 3.86 (^3H , s), 3.87 (^3H , s), 5.67 (^1H , dd, $J = 10.1, 2.4$ Hz), 5.89 (^1H , br dd, $J = 10.1, 2.6$ Hz), 6.02 (^1H , dd, $J = 16.2, 7.2$ Hz), 6.10 (^1H , d, $J = 16.2$ Hz), 6.67 (^1H , d, $J = 1.8$ Hz), 6.69 (^1H , dd, $J = 8.0, 1.8$ Hz), 6.77 (^1H , d, $J = 9.4$ Hz), 6.78 (^1H , dd, $J = 9.4, 1.4$ Hz), 6.81 (^1H , d, $J = 1.4$ Hz), 6.83 (^1H , br s)

^{13}C NMR (100MHz, acetone- d_6) δ ppm: 24.7, 28.0, 45.6, 48.3, 56.0, 56.1, 108.9, 111.1, 111.3, 114.1, 118.9, 121.3, 127.7, 129.0, 130.5, 131.1, 132.4, 137.1, 144.0, 146.3, 148.4, 149.1

실시예 4. (E)-4-(2,4,5-트리메톡시페닐)부트-1,3-디엔 (화합물 3)의 제조

상기 실시예 2에서 얻은 용매 분획 중 가장 활성이 높은 클로로포름 분획 12.0 g을 메틸렌클로라이드:메탄올 혼합용매 (100:1 → 10:1)를 사용하여 실리카겔 컬럼크로마토그래피(실리카 겔 60, 230 내지 400 메쉬, Merck사)를 실시하여 13개의 분획으로 분리하고, 이들 분획 중 1번 분획 1.8 g을 다시 헥산:에틸아세테이트 혼합용매(100:0 → 0:100)를 사용하여 실리카겔 컬럼크로마토그래피(실리카겔 60, 230 내지 400 메쉬, Merck사)를 실시하였다. 이로부터 나온 2번 분획에서 하기 물성치를 갖는 (*E*)-4-(2,4,5-트리메톡시페닐)부트-1,3-디엔(화합물 3이라 명명) 60 mg을 분리하였다.

성상: 미황색 고체(pale yellow solid)

분자구조식 : $C_{13}H_{16}O_3$

TLC 상: R_f = 0.4 (헥산:에틸아세테이트 = 2:1), 10% (v/v) 황산발색시약에 갈색으로 발색.

UV ($CHCl_3$) λ_{max} (log ϵ) 281.5(4.28), 238.5(4.26) nm

IR (liquid film) ν_{max} 2926, 2853, 1607, 1510, 1463, 1401, 1317, 1208, 1034 cm^{-1}

EIMS m/z (%) $[M]^+$ 220 (100), 189 (90), 174 (25), 145 (30), 115 (10), 91 (15)

1H NMR (200MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 3.84 (3H , s), 3.88 (3H , s), 3.90 (3H , s), 5.11 (1H , dd, J = 9.8, 1.1 Hz), 5.27 (1H , dd, J = 16.5, 1.1 Hz), 6.50 (1H , s), 6.52 (1H , dt, J = 16.5, 9.8 Hz), 6.68 (1H , dd, J = 16.0, 9.8 Hz), 6.86 (1H , d, J = 16.0 Hz), 7.01 (1H , s)

^{13}C NMR (50MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 56.3, 56.7, 56.9, 97.9, 109.6, 116.2, 118.2, 127.4, 128.3, 138.2, 143.6, 149.8, 151.9.

실시예 5. (*E*)-4-(3,4-디메톡시페닐)부트-1,3-디엔(화합물 4)의 제조

상기 실시예 1에서 얻은 용매 분획 중 가장 활성이 높은 클로로포름 분획 13.0 g을 메틸렌클로라이드:메탄올 혼합용매 (100:1 → 10:1)를 사용하여 실리카겔 컬럼크로마토그래피(실리카 겔 60, 230 내지 400 메쉬, Merck사)를 실시하여 13개의 분획으로 분리하고, 이들 분획 중 1번 분획 1.8 g을 다시 헥산:에틸아세테이트 혼합용매(100:0 → 0:100)를 사용하여 실리카겔 컬럼크로마토그래피(실리카겔 60, 230 내지 400 메쉬, Merck사)를 실시하였다. 이로부터 나온 1번 분획물에서 하기 물성치를 갖는 활성 성분인 (*E*)-4-(3,4-디메톡시페닐)부트-1,3-디엔 (화합물 4라 명명) 143 mg을 분리하였다.

성상: 미황색 고무질(pale yellow gum)

분자구조식 : $C_{12}H_{14}O_2$

TLC 상: R_f = 0.5 (헥산:에틸아세테이트 = 2:1), 10% (v/v) 황산발색시약에 갈색으로 발색.

UV ($CHCl_3$) λ_{max} (log ϵ) 293(4.3), 238.5(4.1) nm

IR (liquid film) ν_{max} 2925, 2853, 1597, 1514, 1463, 1419, 1266, 1233, 1138, 1026 cm^{-1}

EIMS m/z (%) $[M]^+$ 190 (100), 159 (75), 144 (40), 115 (60), 103 (20), 51 (15)

^1H NMR (200MHz, CDCl_3) δ ppm: 3.88 (^3H , s), 3.91 (^3H , s), 5.12 (^1H , br d, $J = 9.8$ Hz), 5.29 (^1H , dd, $J = 16.0, 2.0$ Hz), 6.45 (^1H , d, $J = 16.0$ Hz), 6.50 (^1H , dt, $J = 16.0, 9.8$ Hz), 6.67 (^1H , dd, $J = 16.0, 9.8$ Hz), 6.82 (^1H , d, $J = 8.0$ Hz), 6.94 (^1H , dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz), 6.96 (^1H , d, $J = 1.6$ Hz)

^{13}C NMR (50MHz, CDCl_3) δ ppm: 56.0, 56.1, 108.9, 111.4, 116.9, 120.1, 128.1, 130.5, 132.8, 137.5, 149.1, 149.3.

실험예 1. 시험관 내에서 COX-2 저해 활성 측정

본 발명의 상기 일반식 (I) 화합물의 COX 효소 저해활성을 측정하여, 항염증효과 여부를 확인하기 위하여 본 실험을 수행하였다.

마우스 대식 세포인 RAW 264.7 세포를 10% FBS-DMEM에 현탁하여 5×10^5 세포/ml로 희석한 뒤, 세포 현탁액을 96-웰 세포 배양판의 각 웰에 200 μl 씩 가하고, 37°C, 5% CO_2 에서 24시간 동안 배양하였다. 이 때 이 현탁액에 최종농도가 250 mM이 되도록 아스피린을 첨가하여 세포에 잔존하는 COX 효소의 활성을 비가역적으로 억제한 뒤 2시간 후에 제거하였다. 부착된 세포를 PBS로 2회 세척한 후 세포가 부착되어 있는 각 웰에 새로운 배지를 넣고 검색 시료와 1 $\mu\text{g/ml}$ 의 LPS를 동시에 처리하여 37°C, 5% CO_2 에서 24시간 동안 배양한 후 그 상층액을 회수하였고, 이후 효소면역분석법 (Prostaglandin E_2 EIA kit, Cayman Chemical Co, Ann Arbor, MI, USA)을 이용하여 유리된 프로스타그란딘- E_2 의 양을 정량하였고, LPS를 처리한 군과 처리하지 않은 군에서 생성된 프로스타그란딘- E_2 의 차이를 100% 활성 기준으로 하여 각 시료의 % 억제율을 구하였다.

그 결과를 도 1에 나타내었고, 상기 일반식 (I) 화합물 처리농도에 비례하여, 프로스타그란딘- E_2 의 양이 감소함을 확인하였다.

화합물 (1)에서 화합물 (4)은 COX-2 저해효능에 대해 IC_{50} 가 차례대로 1.03, 1.33, 3.29, 3.93 $\mu\text{g/ml}$ 로 나타나, 물질 모두 유의성 있게 COX-2 억제효능을 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

제제예 1. 산제의 제조

화합물 1 20 mg

유당 100 mg

탈크 10 mg

상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.

제제예 2. 정제의 제조

화합물 2 10 mg

옥수수전분 100 mg

유당 100 mg

스테아린산 마그네슘 2 mg

상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

제제예 3. 캡셀제의 제조

화합물 3 10 mg

결정성 셀룰로오스 3 mg

락토오스 14.8 mg

마그네슘 스테아레이트 0.2 mg

통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.

제제예 4. 주사제의 제조

화합물 3 10 mg

도노마이신 10 mg

만니톨 180 mg

주사용 멸균 증류수 2974 mg

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 26 mg

통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당(2 ml) 상기의 성분 함량으로 제조한다.

제제예 5. 액제의 제조

화합물 1 20 mg

이성화당 10 g

만니톨 5 g

정제수 적량

통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100 ml로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조한다.

발명의 효과

상술한 바와 같이, 본 발명의 생강 추출물로부터 분리된 일반식 (I)의 화합물들은 COX-2 활성을 저해한다. 그러므로 본 발명의 생강 추출물로부터 분리된 본 발명의 화합물을 포함하는 조성물은 염증 예방 및 치료를 위한 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

도 1은 본 발명의 실시예 화합물들의 시클로옥시게나제-2(COX-2) 저해능을 나타낸 도이다.

도면

도면1

