(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0069018
(43) 공개일자 2020년06월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07H 15/20 (2006.01) *A23L 29/00* (2016.01)
A23L 33/10 (2016.01) *A61P 35/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07H 15/20 (2013.01)
A23L 29/035 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2018-0156093
(22) 출원일자 2018년12월06일
심사청구일자 2018년12월06일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
백남인
경기도 화성시 동탄순환대로21길 53 1306동 403호(청계동, 롯데캐슬 알바트로스)
김형근
경기도 용인시 기흥구 흥덕4로16번길 10 303호(영덕동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인한얼

전체 청구항 수 : 총 7 항

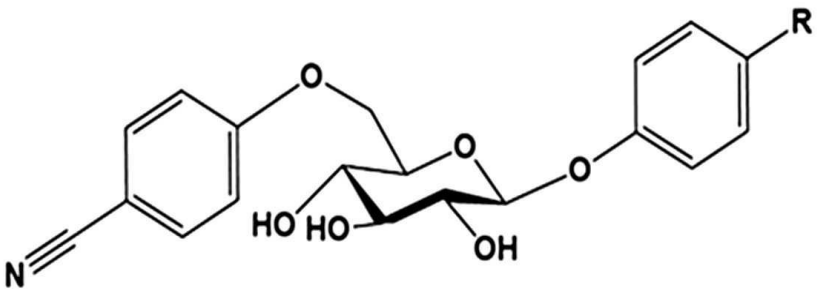
(54) 발명의 명칭 **신규한 벤조니트릴 글리코시드 화합물 및 이를 포함하는 암 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 화학식 1로 표시되는 신규한 벤조니트릴 글리코시드 화합물, 이를 포함하는 암 예방, 개선 또는 치료용 조성물 및 상기 화합물의 제조방법에 관한 것이다.

본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물은 다양한 암 세포에 대해 세포독성을 나타내는바, 암의 예방, 개선 또는 치료용 약학적 조성물, 식품 조성물 등으로 활용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



화합물 1 : R: -CH_2OH
화합물 2 : R: -CH=CH-CH_2OH

(52) CPC특허분류
A23L 33/10 (2016.08)
A61P 35/00 (2018.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/308 (2013.01)
(72) 발명자
강세찬
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 국제경영대학 325호(서천동)
오현지
경기도 수원시 팔달구 고화로9번길 31 베네스트빌 601호(매산로2가)
오은지
경상북도 포항시 남구 청암로 77 포항공과대학 생명과학관 210호

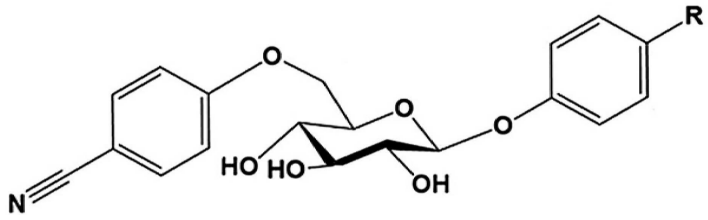
명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

R은 $-CH_2OH$ 또는 $-CH=CH-CH_2OH$ 이다.

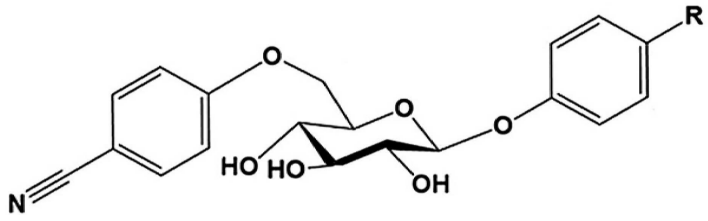
청구항 2

제1항에 있어서, 상기 화합물은 천사의 나팔꽃(*Brugmansia arborea*) 추출물 또는 이의 분획물로부터 분리된 것인, 화합물.

청구항 3

하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 암 예방 또는 치료용 약학 조성물:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

R은 $-CH_2OH$ 또는 $-CH=CH-CH_2OH$ 이다.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 조성물은 암 세포에 대해 세포 독성을 나타내는 것인, 약학 조성물.

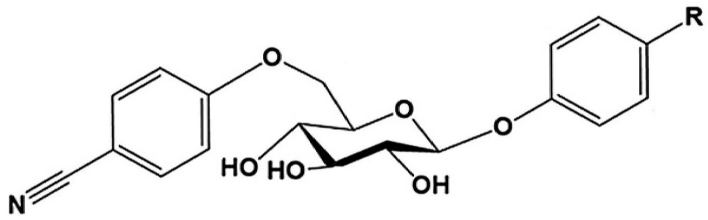
청구항 5

제3항에 있어서, 상기 암은 위암 또는 간암인, 약학 조성물.

청구항 6

하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 암 예방 또는 개선용 식품 조성물:

[화학식 1]



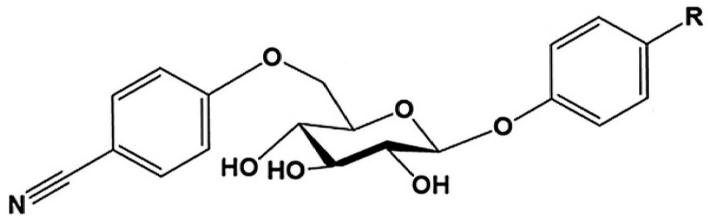
상기 화학식 1에서,

R은 $-CH_2OH$ 또는 $-CH=CH-CH_2OH$이다.

청구항 7

천사의 나팔꽃 추출물 또는 이의 분획물로부터 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 분리하는 단계를 포함하는, 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

R은 $-CH_2OH$ 또는 $-CH=CH-CH_2OH$이다.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 천사의 나팔꽃(*Brugmansia arborea*) 추출물 또는 이의 분획물로부터 분리된 신규한 벤조니트릴 글리코시드 화합물, 이를 포함하는 암 예방, 개선 또는 치료용 조성물 및 상기 화합물의 제조방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 암은 전세계적으로 높은 사망률을 나타내는 질환 중 하나이다. 현재 화학요법, 수술 및 방사선 요법과 같은 암 치료법이 개발되었으나, 그 적용에 있어 수많은 부작용 및 비용에 관한 문제가 관련되어 있다. 역학적 증거에 따르면 특정 식품의 섭취가 잠재적으로 암의 발병을 35%까지 예방할 수 있음이 입증되었다. 이와 관련하여, 자연에 존재하는 생체 활성성분 및 식이 요법은 건강의 유지와 증진뿐만 아니라 암을 포함한 만성 질환에 대한 예방에 대한 필수적인 연결고리를 제공한다. 암의 발병률 및 사망률을 줄이기 위한 가장 실질적인 방법은 화학적 암 예방 제제를 사용하여 발암 과정을 지연시키는 것이다. 이것은 보다 안전한 화합물, 특히 화학적 암 예방을

위한 천연 원료 유래의 화합물을 필요로 한다.

[0004] 천사의 나팔꽃(*Brugmansia arborea*)은 높이 3m에서 11m에 이르는 상록 관목이다. 이 식물은 진통제, 류마티스성 관절염제, 충혈 완화제, 진경제 등으로 사용되고 있고, 항콜린성 활성을 보인다고 보고되었다. 또한, 천사의 나팔꽃 전체부분으로부터 많은 알칼로이드 화합물이 분리되었다. 그러나 천사의 나팔꽃의 꽃의 화학적 성분 및 그의 생물학적 활성에 관한 연구는 거의 없었다.

[0005] 이러한 배경하에, 본 발명자들은 천연 원료 유래의 화학적 암 예방 제제를 찾고자 예의 노력한 결과, 천사의 나팔꽃의 꽃 추출물 또는 이의 분획물로부터 신규한 벤조니트릴 글리코시드 화합물 2종을 분리 및 동정하였으며, 이들이 암 세포에 대한 세포독성을 나타내는 것을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

비특허문헌

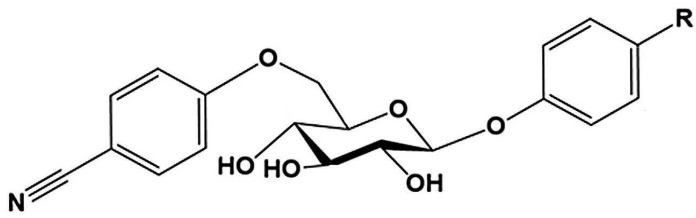
[0007] (비특허문헌 0001) Capasso, A.; De Feo, V.; De Simone, F.; Sorrentino, L. Int J Pharmacogn 1997, 35, 43-48.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 하나의 목적은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물로서,

[0009] [화학식 1]

[0010] 

[0012] 상기 화학식 1에서 R은 $-CH_2OH$ 또는 $-CH=CH-CH_2OH$ 인, 화합물을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 다른 목적은 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 암 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 암 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

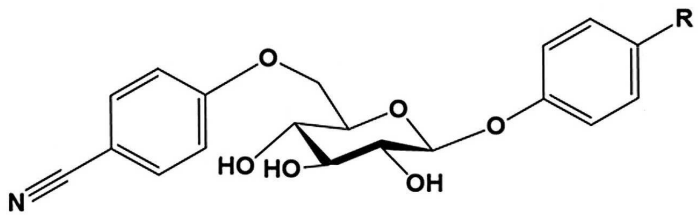
[0015] 본 발명의 또 다른 목적은 천사의 나팔꽃 추출물 또는 이의 분획물로부터 상기 화합물을 분리하는 단계를 포함하는, 상기 화합물의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0017] 이를 구체적으로 설명하면 다음과 같다. 한편, 본 출원에서 개시된 각각의 설명 및 실시형태는 각각의 다른 설명 및 실시 형태에도 적용될 수 있다. 즉, 본 출원에서 개시된 다양한 요소들의 모든 조합이 본 출원의 범주에 속한다. 또한, 하기 기술된 구체적인 서술에 의하여 본 출원의 범주가 제한된다고 볼 수 없다.

[0019] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 하나의 양태는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 제공한다:

[0021] [화학식 1]

[0022] 

[0024] 상기 화학식 1에서,

[0025] R은 $-CH_2OH$ 또는 $-CH=CH-CH_2OH$ 이다.

[0026] 구체적으로, 상기 화합물은 4-히드록시메틸페닐 6-(4-시아노페닐)-β-D-글루코피라노사이드(화합물 1: 4-hydroxymethylphenyl 6-(4-cyanophenyl)-β-D-glucopyranoside) 또는 4-(히드록시프롭-2-엔-3-일)-페닐 6-(4-시아노페닐)-β-D-글루코피나로사이드(화합물 2: 4-(hydroxyprop-2-en-3-yl)-phenyl 6-(4-cyanophenyl)-β-D-glucopyranoside)일 수 있다.

[0027] 상기 화합물 1 및 상기 화합물 2는 공지되지 않은 신규한 화합물로, 본 발명에서 최초로 확인하였다.

[0028] 상기 화합물 1 및 상기 화합물 2는 천사의 나팔꽃(*Brugmansia arborea*) 추출물 또는 이의 분획물로부터 분리된 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0029] 상기 "천사의 나팔꽃"은 가지(*Solanaceae*) 과에 속하는 꽃이 피는 식물로, 상업적으로 판매되는 것을 구입하거나, 자연에서 채취 또는 재배된 것을 사용할 수 있다. 구체적으로, 천사의 나팔꽃의 뿌리, 줄기, 잎, 꽃 등을 제한 없이 사용할 수 있고, 바람직하게는 꽃을 사용할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0030] 본 발명에서 "추출물"은 상기 천사의 나팔꽃을 추출 처리하여 얻어지는 추출액, 상기 추출액의 희석액이나 농축액, 상기 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 상기 추출액의 조(crude) 정제물이나 정제물, 또는 이들의 혼합물 등, 추출액 자체 및 추출액을 이용하여 형성 가능한 모든 제형의 추출물을 포함한다.

[0031] 본 발명에서 상기 추출물을 추출하는데 사용되는 추출 용매의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 공지된 임의의 용매를 사용할 수 있다. 상기 추출 용매의 비제한적인 예로는 물; 메탄올, 에탄올, 프로필알코올, 부틸알코올 등의 C_1 내지 C_4의 저급 알코올; 글리세린, 부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 등의 다가 알코올; 및 메틸아세테이트, 에틸아세테이트, 아세톤, 벤젠, 헥산, 디에틸에테르, 디클로로메탄 등의 탄화수소계 용매; 또는 이들의 혼합물을 사용할 수 있으며, 구체적으로 메탄올을 사용할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0032] 본 발명에서 상기 추출물을 추출하는 방법은 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용하는 방법에 따라 추출할 수 있다. 상기 추출 방법의 비제한적인 예로는, 열수 추출법, 초음파 추출법, 여과법, 환류 추출법 등을 들 수 있으며, 이들은 단독으로 수행되거나 2종 이상의 방법을 병용하여 수행될 수 있다.

[0033] 본 발명에서 "분획물"은 다양한 구성성분을 포함하는 혼합물로부터 특정 성분 또는 특정 그룹을 분리하는 분획방법에 의하여 얻어진 결과물을 의미한다. 구체적으로, 본 발명에서는 상기 천사의 나팔꽃 추출물을 용매 분획법, 한외여과(ultrafiltration) 분획법, 크로마토그래피 분획법 등의 다양한 방법으로 분획한 결과물 등을 포함하며, 보다 구체적으로 상기 천사의 나팔꽃 추출물의 에틸아세테이트 분획물일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0034] 본 발명의 일 실시예에서, 천사의 나팔꽃의 말린 꽃을 80% 메탄올로 실온에서 추출하고 농축시켜 추출물을 수득하였으며, 상기 추출물로부터 물, 에틸아세테이트(EtOAc) 및 n-부탄올(n-BuOH) 분획물을 수득하였다. 그 후, 상기 에틸아세테이트 분획물로부터 화합물 1 및 화합물 2를 분리·동정하였으며, 각각의 화합물의 항암 효과를 확인하였다. 특히, 화합물 1 및 화합물 2가 위암세포 및 간암세포에 대해 현저히 우수한 세포독성을 나타내는 것을 확인하였다.

[0035] 이외에도, 화합물 1 및 화합물 2는 그밖에 다른 천연 공급원으로부터 분리된 것일 수 있고, 화학적으로 합성할 수 있으며, 이를 포함하여 입수 경로에 관계없이 본 발명에서 사용할 수 있다.

[0037] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 다른 하나의 양태는, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 암 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0038] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 전술한 바와 같다.

[0039] 본 발명에서 "암"은 정상적인 조직 세포가 각종 물리적·화학적·생물학적인 암원성 물질의 작용 또는 요인에 의해 형성되는 종양을 의미하는 것으로, 상기 암은 암의 종류에 제한 없이 포함되나, 그 예로, 식도암, 위암, 대장암, 직장암, 구강암, 인두암, 후두암, 폐암, 결장암, 유방암, 자궁경부암, 자궁내막암, 난소암, 전립선암, 고환암, 방광암, 신장암, 간암, 췌장암, 골암, 결합 조직암, 피부암, 뇌암, 갑상선암, 백혈병, 호지킨(Hodgkin) 질환, 림프종 또는 다발성 골수종 혈액암일 수 있고, 구체적으로 위암 또는 간암일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0040] 본 발명의 일 실시예에서는 본 발명의 화합물 1 또는 화합물 2를 포함하는 조성물이 AGS, HepG2 등 다양한 암 세포에 대해 세포독성 효과를 보여, 우수한 항암 효과를 나타냄을 확인하였다.

[0041] 본 발명에서 "예방"은 본 발명의 조성물 투여에 의해 암의 발병 또는 진행을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[0042] 본 발명에서 "치료"는 본 발명의 조성물 투여에 의해 암의 발병에 따른 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[0043] 본 발명에서 "약학 조성물"은 질병의 예방 또는 치료를 목적으로 제조된 것을 의미하며, 실제 임상 투여 시 경구 및 비경구의 여러가지 제제로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 제조될 수 있다.

[0044] 또한, 각각의 제제에 따라 약학적으로 허용 가능한 첨가제를 더 포함할 수 있으며, 이때 약학적으로 허용 가능한 첨가제로는 전분, 젤라틴화 전분, 미결정셀룰로오스, 유당, 포비돈, 콜로이달실리콘디옥사이드, 인산수소칼슘, 락토스, 만니톨, 엿, 아라비아고무, 전호화전분, 옥수수전분, 분말셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 오파드라이, 전분글리콜산나트륨, 카르나우바 납, 합성규산알루미늄, 스테아린산, 스테아린산마그네슘, 스테아린산알루미늄, 스테아린산칼슘, 백당, 덱스트로스, 소르비톨 및 탈크 등이 사용될 수 있다.

[0045] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면 전분, 칼슘카보네이트(Calcium carbonate), 수크로스(Sucrose), 락토오스(Lactose) 또는 젤라틴 등을 섞어 조제할 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 및 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0046] 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제가 포함될 수 있다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0047] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구투여 하거나 비경구투여 할 수 있으며, 비경구투여 시 피부 외용 또는 복강 내 주사, 직장 내 주사, 피하주사, 정맥주사, 근육 내 주사 또는 흉부 내 주사 주입방식을 선택할 수 있다. 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양할 수 있다.

[0048] 본 발명의 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여할 수 있다. 상기 약학적으로 유효한 양은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자의 건강상태, 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 배합 또는 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 또한, 본 발명의 약학 조성물은 단독으로 또는 암의 예방, 치료,

또는 개선 효과를 나타내는 기타 약학적 활성 화합물과 결합하여 또는 적당한 집합을 이루어 사용될 수 있다.

[0049] 본 발명의 약학 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여할 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용을 유발하지 않으면서 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0051] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 또 다른 하나의 양태는, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 암 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0052] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 암 및 예방은 전술한 바와 같다.

[0053] 본 발명에서 "약학적으로 허용 가능한 염" 및 "식품학적으로 허용 가능한 염"은 양이온과 음이온이 정전기적 인력에 의해 결합하고 있는 물질인 염 중에서도 각각 약학적 및 식품학적으로 사용될 수 있는 형태의 염을 의미하며, 환자에게 비교적 비독성이고 무해한 유효작용을 갖는 농도로서 이 염에서 기인한 부작용이 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물의 이로운 효능을 저하시키지 않는, 상기 화합물의 임의의 모든 유기 또는 무기 부가염을 의미한다. 이러한 염으로는 약학적 또는 식품학적으로 허용되는 유리산(free acid)에 의해 형성되는 산 부가염 또는 염기에 의해 형성되는 금속염이 있다.

[0054] 상기 유리산으로는 무기산과 유기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 인산, 황산, 질산, 주석산 등을 사용할 수 있고 유기산으로는 메탄술폰산, p-톨루엔술폰산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 말레산 (maleic acid), 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산 (fumaric acid), 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, 아스코르브산, 카본산, 바닐릭산, 요오드화수소산 (hydroiodic acid) 등을 사용할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0055] 또한, 염기를 사용하여 약학적 또는 식품학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속염 또는 알칼리 토금속 염은, 예를 들어 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해시키고, 비용해 화합물 염을 여과한 후 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로는 특히 나트륨, 칼륨, 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상, 또는 식품상 적합하나 이들에 제한되는 것은 아니다. 또한 이에 대응하는 은염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 은염(예, 질산은)과 반응시켜 얻을 수 있다.

[0056] 상기 약학적으로 허용 가능한 염 및 상기 식품학적으로 허용 가능한 염은 달리 명시되지 않는 한, 본 발명의 천사의 나팔꽃 추출물 또는 이의 분획물에서 분리된 화합물에 존재할 수 있는 산성 또는 염기성 기의 염을 포함한다. 예를 들어, 약학적 또는 식품학적으로 허용 가능한 염으로는 히드록시기의 나트륨, 칼슘 및 칼륨염 등이 포함될 수 있고, 아미노기의 기타 약학적으로 또는 식품학적으로 허용 가능한 염으로는 히드로브롬화물, 황산염, 수소 황산염, 인산염, 수소 인산염, 이수소 인산염, 아세테이트, 숙시네이트, 시트레이트, 타르트레이트, 락테이트, 만델레이트, 메탄술포네이트 (메실레이트) 및 p-톨루엔술포네이트 (토실레이트) 염 등이 있으며, 당업계에 알려진 염의 제조방법을 통하여 제조될 수 있다.

[0057] 본 발명에서 "개선"은 암의 증상 정도를 감소시키거나, 암 세포의 사멸을 증가시키거나 증식을 억제하는 모든 행위를 의미한다.

[0058] 본 발명에서 "식품"은 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능(성)식품류 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다. 상기 식품은 공지의 제조방법에 따라 정제, 과립, 분말, 캅셀, 액상의 용액 및 환 등의 제형으로 제조할 수 있으며, 본 발명에 따른 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염의 함량은 제형에 따라 식품 조성물 총 중량을 기준으로 0.0001중량% 내지 100중량%로 조절할 수 있다. 본 발명의 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며, 통상의 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 포함할 수 있다.

[0059] 상기 "건강기능(성)식품"은 특정 보건용 식품(food for special health use, FoSHU)와 동일한 용어로, 영양공급 외에도 생체조절기능이 효율적으로 나타나도록 가공된 의학, 의료효과가 높은 식품을 의미한다. 상기 "기능(성)"은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다. 본 발명의 건강기능식품은 당 업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조가능하며, 상기 제조 시에는 당 업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한 상기

건강기능식품의 제형 또한 식품으로 인정되는 제형이면 제한 없이 제조될 수 있다. 본 발명의 건강기능식품 조성물은 다양한 형태의 제형으로 제조될 수 있으며, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없으며, 휴대성이 뛰어난 장점이 있다.

[0060] 구체적으로, 상기 건강기능식품은 본 발명의 조성물을 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품 소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 것을 의미하나, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용이 없는 장점이 있다.

[0061] 상기 건강기능식품 조성물은 생리학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함할 수 있는데, 담체의 종류는 특별히 제한되지 않으며 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 담체 라면 어느 것이든 사용할 수 있다. 또한, 상기 건강기능식품 조성물은 식품 조성물에 통상 사용되어 냄새, 맛, 시각 등을 향상시킬 수 있는 추가 성분을 제한 없이 포함할 수 있으며, 식품의 종류에 따라 선별되고 적절한 양으로 사용될 수 있다.

[0063] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 또 다른 하나의 양태는, 천사의 나팔꽃 추출물 또는 이의 분획물로부터 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 분리하는 단계를 포함하는, 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법을 제공한다.

[0064] 상기 천사의 나팔꽃, 추출물, 분획물 및 화학식 1로 표시되는 화합물은 전술한 바와 같다.

발명의 효과

[0066] 천사의 나팔꽃 추출물 또는 이의 분획물로부터 분리된, 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물은 다양한 암 세포에 대해 세포독성을 나타내는바, 암의 예방, 개선 또는 치료용 약학 조성물, 식품 조성물 등으로 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0068] 도 1은 본 발명에서 천사의 나팔꽃의 꽃 추출물 또는 이의 분획물로부터 분리한 화합물 1 및 화합물 2의 구조를 나타낸 것이다.

도 2는 화합물 1을 AGS(인간 위암 세포) 또는 HepG2(인간 간암 세포)에 다양한 농도로 처리한 후, 각 세포의 세포 생존력(cell viability)을 분석한 결과를 나타낸 것이다.

도 3은 화합물 2를 AGS(인간 위암 세포) 또는 HepG2(인간 간암 세포)에 다양한 농도로 처리한 후, 각 세포의 세포 생존력을 분석한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0069] 이하, 본 발명을 하기 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예만으로 한정되는 것은 아니다.

[0071] **실시예 1: 재료, 시약 및 기기**

[0073] **1-1: 식물 재료**

[0074] 본 실시예에서 사용한 천사의 나팔꽃(*Brugmansia arboreal*)의 말린 꽃은 2014년 6월에 한국 포천시의 허브 아일랜드에서 공급받았고, 표본 시료(KHU2014-0623)는 한국 용인시의 경희대학교 천연물 화학 실험실(Laboratory of Natural Product Chemistry)에 보관되어 있다.

[0076] **1-2: 시약 및 기기**

[0077] 컬럼 크로마토그래피(CC)에 사용된 실리카겔(SiO_2) 및 옥타데실 SiO_2 (ODS) 레진은 각각 Kiesel gel 60(Merck, Darmstadt, Germany) 및 Lichroprep RP-18 (40-60㎛, Merck)이다. 박층 크로마토그래피(TLC) 분석은 Kiesel gel 60 F_{254} 및 RP-18 F_{254S}(Merck) TLC 플레이트를 사용하여 수행하였고, 화합물은 Spectroline Model ENF-240 C/F (Spectronics Corporation, Westbury, NY, USA) UV 램프 및 10% H_2SO_4 용액을 사용하여 검출하였다. 핵 자기공명(NMR) 스펙트럼은 400 MHz FT-NMR 스펙트로미터(Varian Inova AS-400, Palo Alto, CA, USA)를 사용하여 기록하였다. 듀테륨(deuterium) 용매는 Merck Co. Ltd 및 Sigma Aldrich Co. Ltd(St, Louis, MO, USA)로부터 구입하였다. IR 스펙트럼은 Perkin Elmer Spectrum One FT-IR 스펙트로미터(Buckinghamshire, England)부터 얻었다. 팹-질량분석(Fast atom bombardment mass spectrometry, FAB-MS)은 JEOL JMS-700 (Tokyo, Japan)으로 기록하였다.

[0079] **실시예 2: 천사의 나팔꽃 추출물 및 분획물의 제조**

[0081] 천사의 나팔꽃의 말린 꽃(900g)을 80% 메탄올(27 L × 3)로 실온에서 24시간 동안 추출하였다. 농축된 메탄올 추출물(160g)을 물(1L)에 현탁시키고, 에틸아세테이트(EtOAc, 1L × 3) 및 *n*-부탄올(*n*-BuOH, 0.6L × 3)로 연속하여 추출하였다. 추출물을 농축시켜 EtOAc 분획물(BAFE, 12g), *n*-BuOH 분획물(BAFB, 16g) 및 H_2O 분획물(BAFW, 132g)을 각각 생성하였다.

[0083] **실시예 3: 천사의 나팔꽃의 에틸아세테이트 분획물로부터 화합물의 분리 및 동정**

[0085] **3-1: 천사의 나팔꽃의 에틸아세테이트 분획물로부터 화합물의 분리**

[0086] 상기 실시예 2의 EtOAc 분획물(BAFE)을 실리카겔(SiO_2) 크로마토그래피 컬럼 (CC)(7.0 cm × 15.0 cm)에 적용시키고, *n*-헥산-EtOAc (4:1 → 2:1 → 1:1, 각각 2.0L) 및 $CHCl_3$-MeOH-H_2O(50:3:1 → 36:3:1 → 25:3:1 → 18:3:1 → 12:3:1 → 9:3:1 → 7:3:1 → 6:4:1, 각각 1.5L)로 용출시켰다. 용출용액은 TLC로 모니터링 하여 16개의 분획물(BAFE-1 내지 BAFE-16)을 수득하였다. BAFE-13 분획물[924.8 mg, 용출부피 / 총부피 (V_e / V_t) 0.904-0.954]를 옥타데실 SiO_2 (ODS) CC(4.0 cm × 10.0 cm)에 적용하고 아세톤-H_2O(1:3, 3.8 L)로 용출하여 정제된 화합물 2[Brugmananside B, BAFE-13-6, 52.7mg, V_e/V_t 0.144-0.202, TLC (SiO_2 F_{254}) R_f 0.46, $CHCl_3$-MeOH-H_2O=9:3:1]를 10개의 분획물(BAFE-13-1 내지 BAFE-13-10)과 함께 수득하였다. BAFE-15 분획물(2.3 g, V_e/V_t 0.907-0.949)를 SiO_2 CC(4.0 cm × 10.0 cm)에 적용하고 $CHCl_3$-MeOH-H_2O(14:3:1, 10.4 L)로 용출하여 11개의 분획물(BAFE-15-1 내지 BAFE-15-11)을 수득하였다. BAFE-15-7 분획물(297.5 mg, V_e/V_t 0.113-0.173)을 ODS CC(3.4 cm × 7.0 cm)에 적용하고 MeOH-H_2O(1:3 → 1:2 → 1:1, 각각 1.2 L)로 용출하여 화합물 1[brugmansioside A, BAFE-15-7-3, 30.0mg, V_e/V_t 0.289-0.392, TLC (SiO_2 F_{254}) R_f 0.54, $CHCl_3$-MeOH-H_2O=8:3:1]과 함께 13개의 분획물 (BAFE-15-7-1 내지 BAFE-15-7-13)을 수득하였다.

[0088] **3-2: 분리된 화합물 1 및 화합물 2의 동정**

[0089] 상기 실시예 3-1에서 수득한 화합물 1 및 화합물 2를 대상으로 각 화합물을 동정하였다.

[0091] 화합물 1을 분석한 결과는 다음과 같다:

[0092] - 백색 무정형 분말(CH_3OH);

[0093] - 고해상도-음성FAB-MS *m/z* 405.1412 $[M+H_2O]^-$ (calcd. for $C_{20}H_{23}NO_8$, 405.1424);

[0094] - IR (CaF_2 plate, v) 3520, 2230, 1607 cm^{-1};

[0095] - ^{1}H-NMR (400 MHz, CD_3OD, δ_H) 7.90 (2H, d, *J*=8.8 Hz, H-2',6'), 7.15 (2H, d, *J*=8.4 Hz, H-3,5), 7.04 (2H, d, *J*=8.4 Hz, H-2,6), 6.85 (2H, d, *J*=8.8 Hz, H-3′ ,5′), 4.90 (1H, d, *J*=7.6 Hz, H-1″), 4.66 (1H, dd, *J*=12.0, 2.0 Hz, H-6″ a), 4.50 (2H, s, H-7), 4.35 (1H, dd, *J*=12.0, 7.6 Hz, H-6″ b), 3.76 (1H, dd, *J*=7.6, 7.6 Hz, H-5″), 3.51 (1H, overlapped, H-3″), 3.49 (1H, overlapped, H-2″), 3.42 (1H, dd, *J*=7.6, 7.6 Hz, H-4″);

[0096] - ^{13}C-NMR (100 MHz, CD_3OD, δ_C) 167.86 (C-1′), 163.59 (C-4′),158.19 (C-1), 136.60 (C-4), 132.92 (C-2′ ,6′), 129.30 (C-3,5), 122.12 (C-7'), 117.65 (C-2,6), 116.19 (C-3′ ,5′), 102.19 (C-1″), 77.92 (C-3″), 75.56 (C-5″), 74.86 (C-2″), 71.99 (C-4″), 64.99 (C-6″), 64.78 (C-7).

[0097] 분석결과, 화합물 1은 4-히드록시메틸페닐 6-(4-시아노페닐)-β-D-글루코피라노사이드임을 확인하였다. 화합물 1은 천연 원료로부터 처음 분리, 동정된 신규한 화합물이다.

[0099] 화합물 2를 분석한 결과는 다음과 같다:

[0100] - 황색 무정형 분말(CH_3OH);

[0101] - 고해상도-음성 FAB-MS *m/z* 431.1587 $[M+H_2O]^-$ (calcd. for $C_{22}H_{25}NO_8$, 431.1580);

[0102] - IR (CaF_2 plate, v) 3521, 2223, 1670, 1612 cm^{-1};

[0103] - ^{1}H-NMR (400 MHz, CD_3OD, δ_H) 7.89 (2H, d, *J*=8.8 Hz, H-2′ ,6′), 7.16 (2H, d, *J*=8.4 Hz, H-3,5), 6.96 (2H, d, *J*=8.4 Hz, H-2,6), 6.84 (2H, d, *J*=8.8 Hz, H-3′ ,5′), 6.51 (1H, br. d, *J*=16.0 Hz, H-7), 6.18 (1H, dt, *J*=16.0, 5.6 Hz, H-8), 4.88 (1H, d, *J*=8.4 Hz, H-1″), 4.65 (1H, dd, *J*=11.6, 2.0 Hz, H-6″ a), 4.37 (1H, dd, *J*=11.6, 8.0 Hz, H-6″ b), 4.19 (1H, dd, *J*=5.6, 1.6 Hz, H-9), 3.78 (1H, dd, *J*=8.4, 8.4 Hz, H-5″), 3.50 (1H, overlapped, H-3″), 3.49 (1H, overlapped, H-2″), 3.41 (1H, dd, *J*=8.4, 8.4 Hz, H-4″);

[0104] - ^{13}C-NMR (100 MHz, CD_3OD, δ_C) 167.81 (C-1′), 163.59 (C-4′), 158.27 (C-1), 132.97 (C-2′ ,6′), 132.73 (C-4), 131.08 (C-7), 128.37 (C-8), 128.36 (C-3,5), 122.16 (C-7′), 117.84 (C-2,6), 116.19 (C-3′ ,5′), 102.03 (C-1″), 77.97 (C-3″), 75.57 (C-5″), 74.85 (C-2″), 72.09 (C-4″), 64.97 (C-6″), 63.75 (C-9).

[0105] 분석결과, 화합물 2는 4-(히드록시프롶-2-엔-3-일)-페닐 6-(4-시아노페닐)-β-D-글루코피나로사이드임을 확인하였다. 화합물 2는 천연 원료로부터 처음 분리, 동정된 신규한 화합물이다.

[0107] **실시예 4: 화합물 1 및 화합물 2의 항암효과 분석**

[0109] **4-1: 세포배양**

[0110] AGS 세포(인간 위암 세포) 및 HepG2 세포(인간 간암 세포)는 ATCC(Manassas, VA, USA)에서 구매하였고, 5 % CO_2와 37 ℃의 습식 인큐베이터에서 10 % 태아 소 혈청(FBS)과 1% 페니실린-스트렙토마이신을 포함하는 최소 필수 배지(Eagle; MEM)에 배양하였다.

[0112] **4-2: 세포 생존 분석- 암세포에 대한 세포독성 효과 확인**

[0113] 화합물 1 또는 2의 세포 생존에 대한 효과는 MTT(3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)2,5-디페닐테트라졸륨 브로마이드) 비색법에 의해 확인하였다. 세포를 1 × 10^4 세포/웰의 농도로 96-웰 플레이트에 플레이팅하고 화합물 1 또는 2로 24 시간 또는 48 시간 동안 처리하였다. 처리 종료 시, 100 mL의 MTT 용액(5 mg/mL)을 첨가하고 추가로 4 시간 동안 배양하였다. 배지를 제거하고, 100 mL DMSO(디메틸 술폭사이드)를 첨가하여 불용성 포르마잔(formazan)을 용해시켰다. Infinite-M200 분광광도계(Tecan, Männedorf, Switzerland)를 사용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과는 도 2 및 도 3에 나타내었고, 각 막대는 세 번의 독립실험의 평균±표준편차를 나타낸다. *p <0.05 는 대조군과의 95 %의 현저한 차이를 나타낸다.

[0114] 분석결과, 화합물 1 및 화합물 2는 모두 AGS 세포주에 대해 세포독성을 나타내어 세포를 사멸시켰다. 특히, 화합물 1과 2는 각각 25 ㎍/㎖, 100 ㎍/㎖ 이상의 농도에서 용량 의존적 세포독성을 나타냈다(도 2 및 도 3).

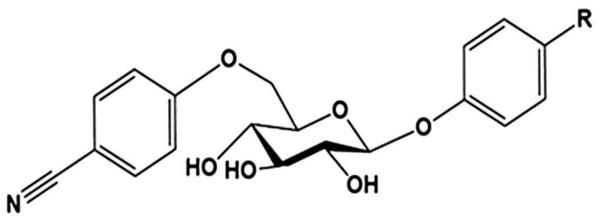
[0115] 또한, 화합물 1 및 화합물 2는 HepG2 세포주에 대해서도 세포독성을 나타내었으며, 각각 12.5㎍/㎖, 25㎍/㎖ 이상의 농도에서 용량 의존적 세포독성을 보였다(도 2 및 도 3).

[0116] 이 결과는 2종의 신규한 벤조니트릴 글리코시드 화합물의 인간 암 세포에 대한 세포 독성효과를 처음으로 보고한 것이다. 이를 통해, 상기 화합물 1과 화합물 2를 항암 용도로 사용할 수 있으며, 특히 위암이나 간암의 치료에 유용하게 사용될 수 있음을 확인하였다.

[0118] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

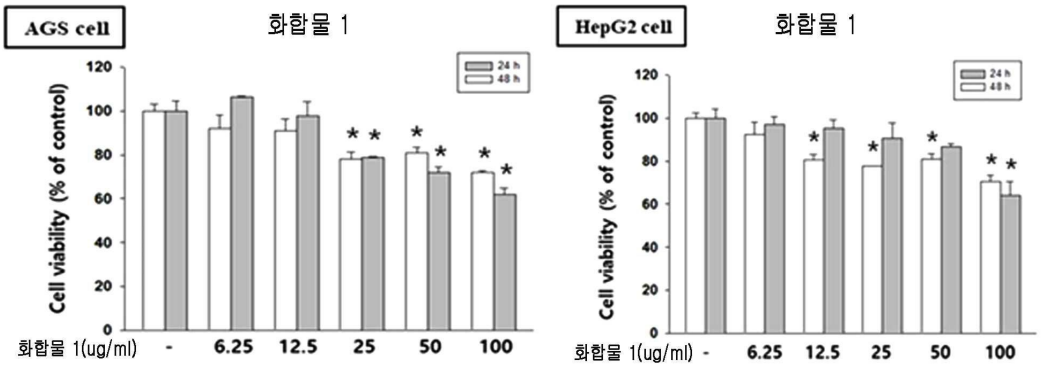
도면

도면1

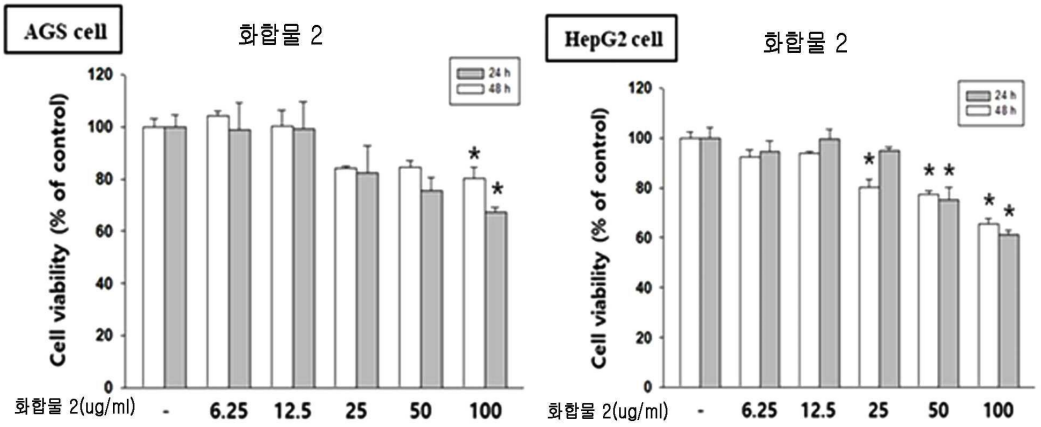


화합물 1 : R: -CH_2OH
화합물 2 : R: -CH=CH-CH_2OH

도면2


AGS cell
화합물 1
Cell viability (% of control)
24 h
48 h
화합물 1(ug/ml) - 6.25 12.5 25 50 100
HepG2 cell
화합물 1
Cell viability (% of control)
24 h
48 h
화합물 1(ug/ml) - 6.25 12.5 25 50 100

도면3


AGS cell
화합물 2
Cell viability (% of control)
24 h
48 h
화합물 2(ug/ml) - 6.25 12.5 25 50 100
HepG2 cell
화합물 2
Cell viability (% of control)
24 h
48 h
화합물 2(ug/ml) - 6.25 12.5 25 50 100