



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0086777
(43) 공개일자 2018년08월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07J 17/00 (2006.01) A61K 31/704 (2006.01)
A61K 8/60 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)
C07J 9/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07J 17/005 (2013.01)
A61K 31/704 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-0010639
(22) 출원일자 2017년01월23일
심사청구일자 2017년01월23일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
김학원
경기도 성남시 분당구 정자일로 1 C동 1001호(금곡동 코오롱트리폴리스)
이태훈
경기도 용인시 기흥구 사은로126번길 10 109동 1403호 (보라동, 민속마을 쌍용아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
손민

전체 청구항 수 : 총 11 항

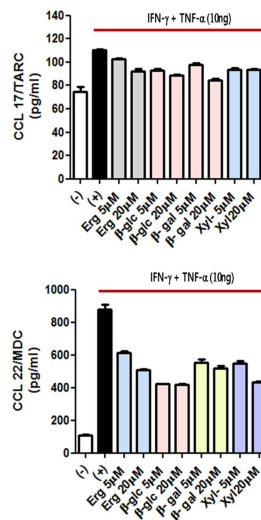
(54) 발명의 명칭 신규한 에르고스텐올 글리코시드 유도체

(57) 요약

본 발명은 신규 에르고스텐올 글리코시드 유도체를 제공한다.

본 발명에 따른 에르고스텐올 또는 이의 글리코시드 유도체는 피부염 예방 및 치료에 있어서, 피부 염증 자극에 따라 증가하는 케모카인의 생성을 억제하고 다양한 염증 매개체의 발현을 조절하는 전사인자들의 활성을 억제하여 피부염 예방 및 치료제 내지 아토피 개선 화장품 소재로 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

A61K 8/602 (2013.01)

A61Q 19/00 (2013.01)

C07J 9/00 (2013.01)

(72) 발명자

박훈규

경기도 수원시 영통구 영일로 20 205호

오현정

서울특별시 광진구 자양로26길 97-21

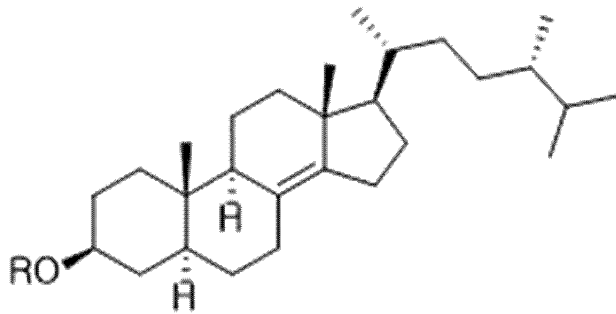
명세서

청구범위

청구항 1

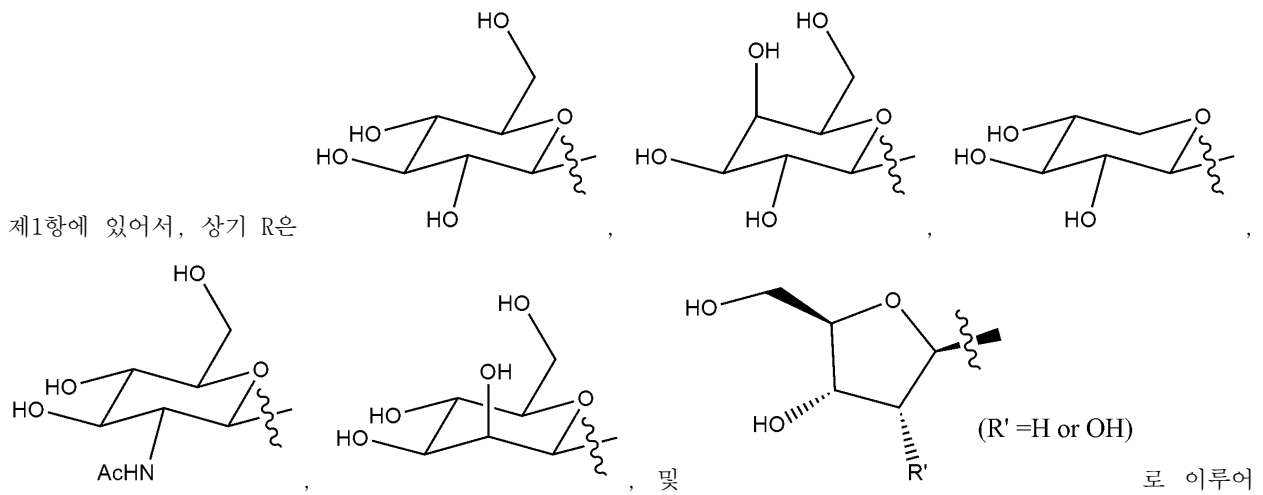
하기의 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

[화학식 1]



상기 식에서, R은 단당류(monosaccharide) 또는 아미노당(amino sugar)이다.

청구항 2

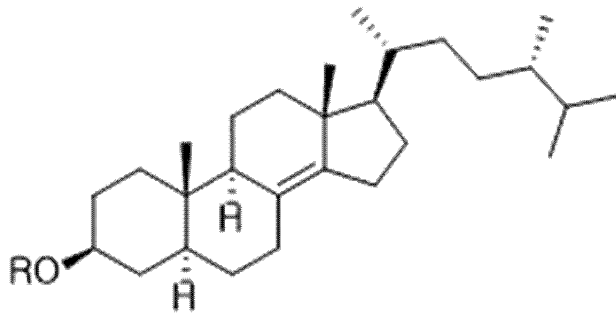


지는 군에서 선택된 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

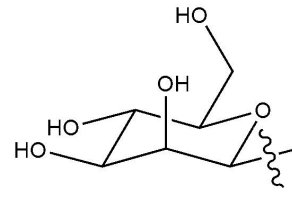
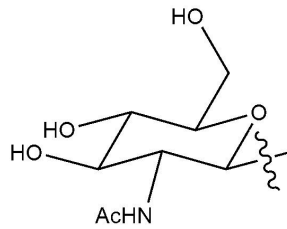
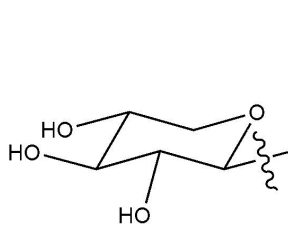
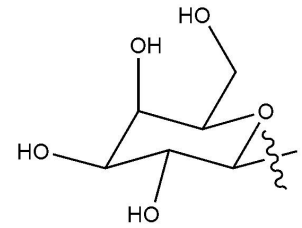
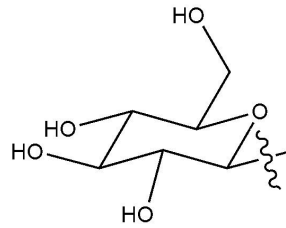
청구항 3

하기의 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 피부염의 예방 또는 치료용 약학 조성물:

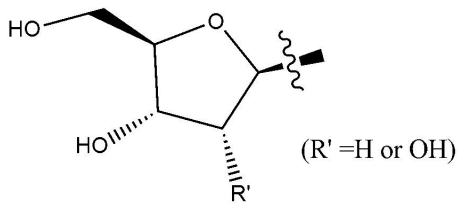
[화학식 1]



상기 식에서, R은 수소, 아세틸(acetyl),



및



로 이루어지는 군에서 선택된 것이다.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 피부염은 아토피 피부염, 접촉성 피부염 또는 지루성 피부염으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나인 것인, 피부염 예방 또는 치료용 약학 조성물.

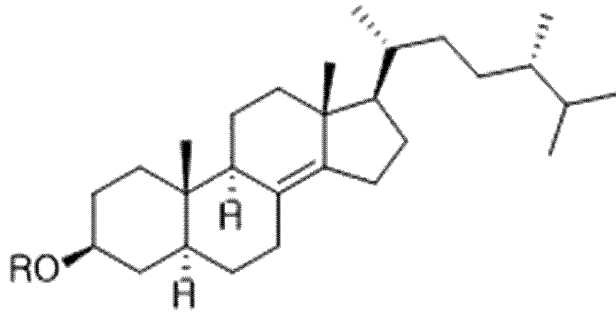
청구항 5

제3항에 있어서, 상기 조성물은 연고, 겔, 크림, 패취 및 분무제로 이루어지는 군으로부터 선택되는 제형인 것인, 약학 조성물.

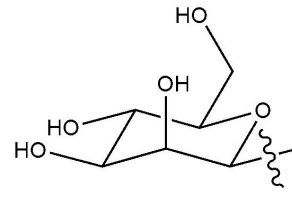
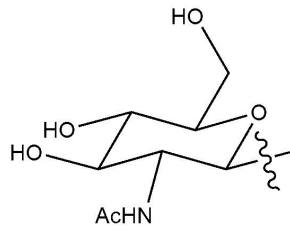
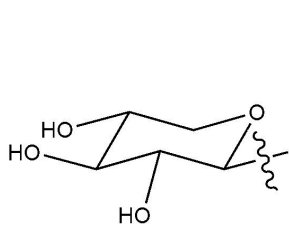
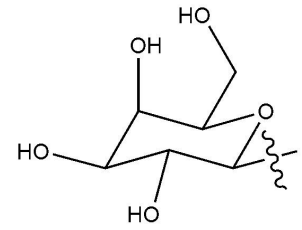
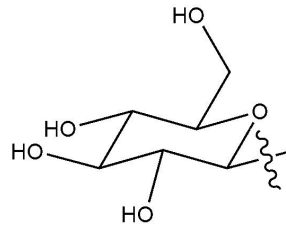
청구항 6

하기의 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 피부염의 개선 또는 완화용 화장품 조성물:

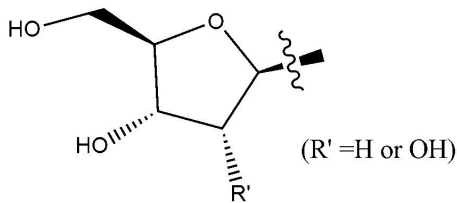
[화학식 1]



상기 식에서, R은 수소, 아세틸(acetyl),



및



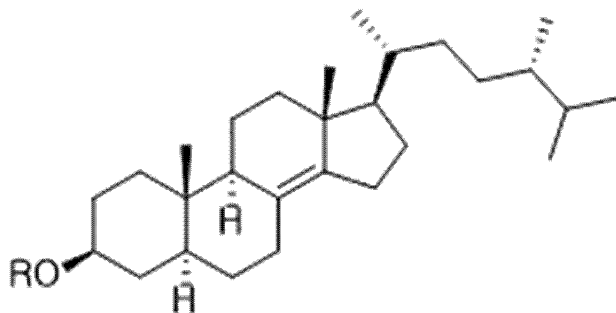
로 이루어지는 군에서 선택된 것이다.

청구항 7

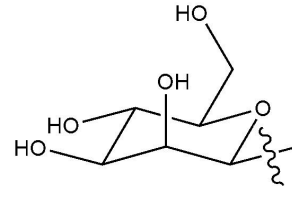
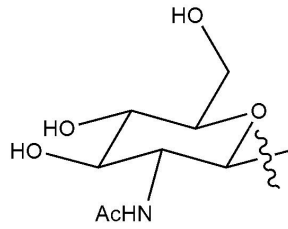
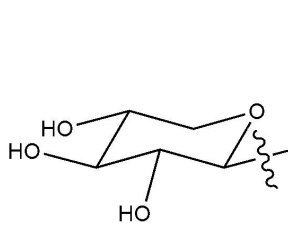
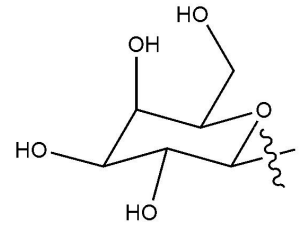
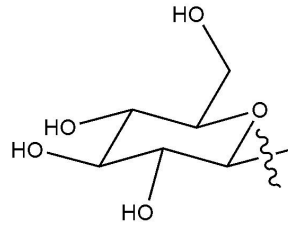
에르고스테롤을 알코올 용매 및 염소계 유기용매하에 Pd/C 촉매와 반응시켜 에르고스텐올을 수득하는 단계를 포함하는,

하기의 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법:

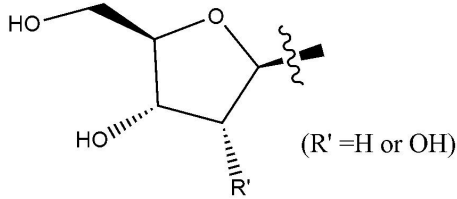
[화학식 1]



상기 식에서, R은 수소, 아세틸(acetyl),



및



로 이루어지는 군에서 선택된 것이다.

청구항 8

제7항에 있어서,

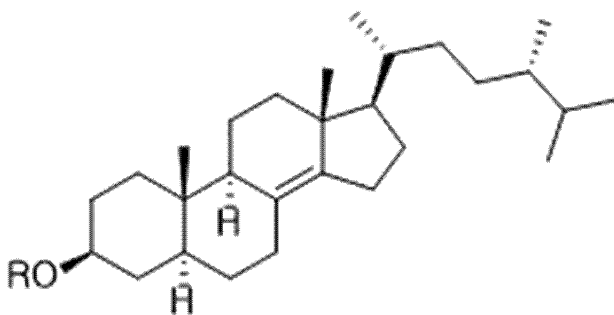
상기 염소계 유기용매는 메틸렌클로라이드, 클로로포름, 1,2-다이클로로에테인으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 제조방법.

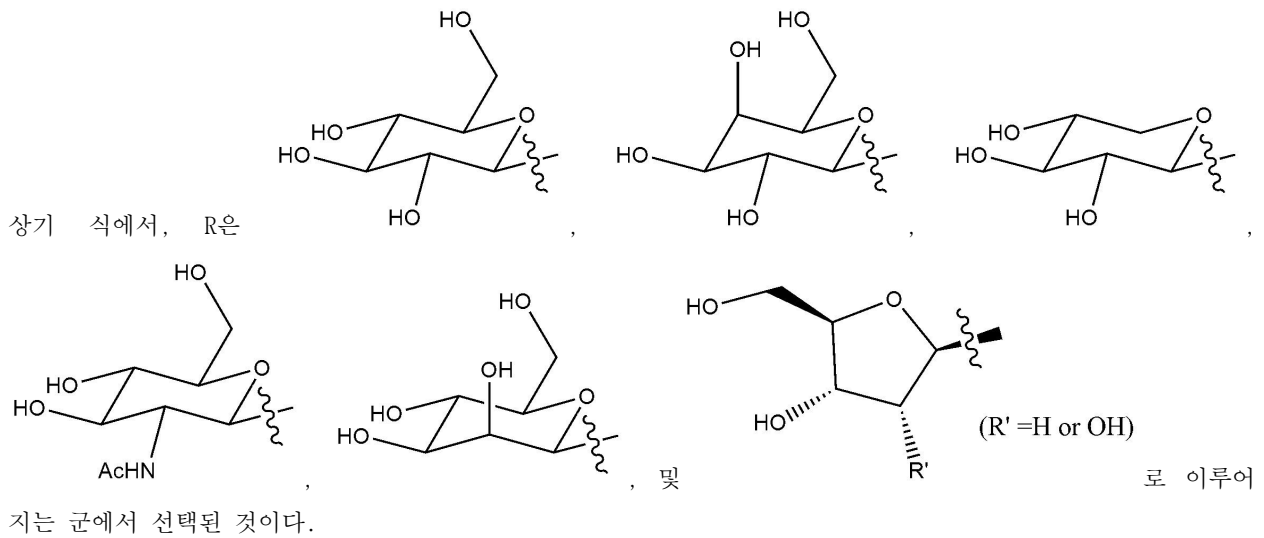
청구항 9

에르고스테롤을 알코올 용매 및 염소계 유기용매하에 Pd/C 촉매와 반응시켜 에르고스텐올을 수득하는 단계; 및 상기 수득한 에르고스텐올을 OH기가 보호된 당과 염소계 유기용매하에 혼합한 후 산 촉매 존재 하에 교반하는 단계를 포함하는,

하기의 화학식 1을 갖는 화합물의 제조방법:

[화학식 1]





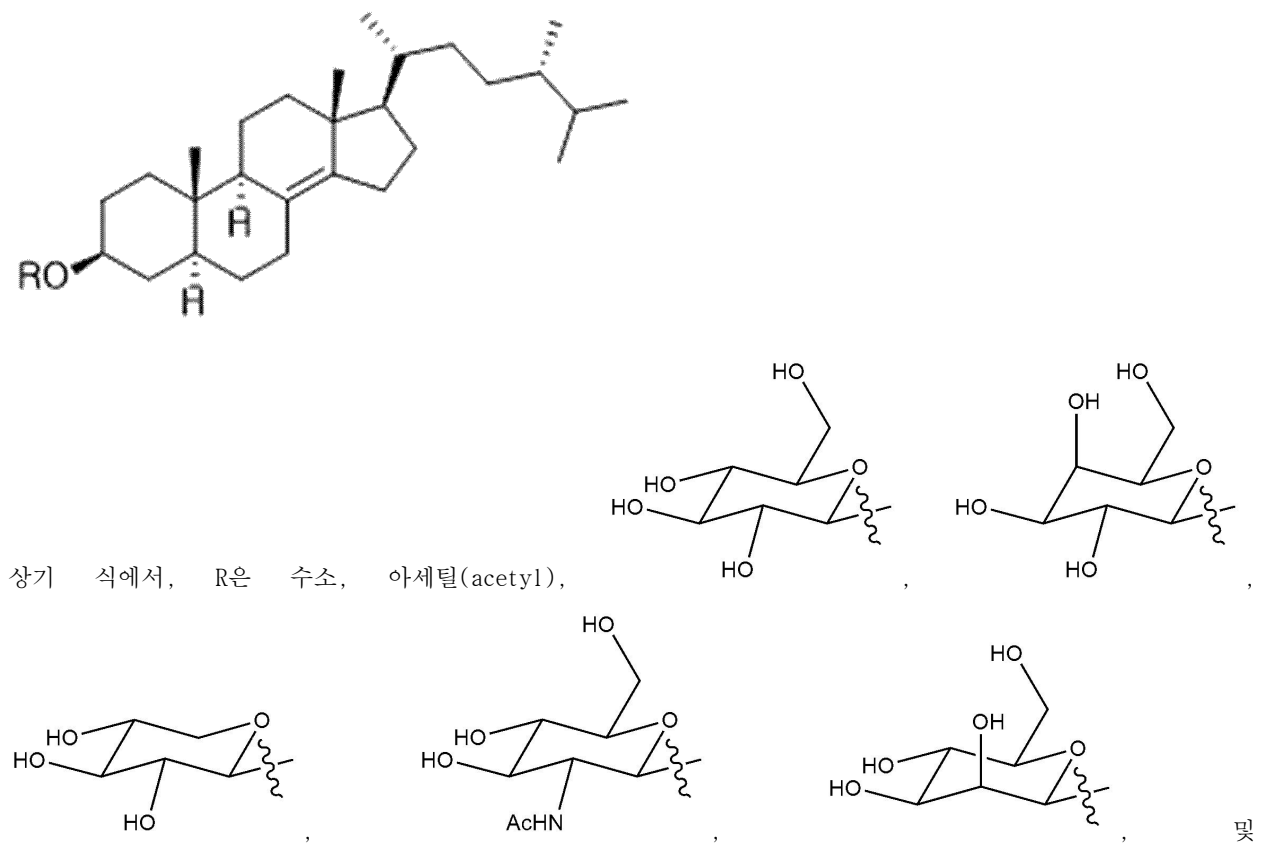
청구항 10

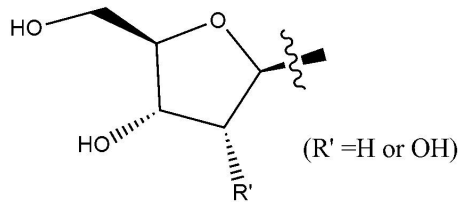
제9항에 있어서, 상기 산 촉매는 TMSOTf, BF_3OEt_2 , $\text{Cu}(\text{OTf})_2$, $\text{Sc}(\text{OTf})_3$, $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$, 및 셀룰로오스- HClO_4 로 이루어진 군에서 선택된 것인, 제조방법.

청구항 11

하기의 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 조성물을 인간을 제외한 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 피부염의 예방 또는 치료 방법:

[화학식 1]





로 이루어지는 군에서 선택된 것이다.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 에르고스텐올 글리코시드 유도체 및 이를 포함하는 피부염 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

- [0003] 아토피(atopy)란 그리스어인 'a-topos'가 어원으로 '특이한', '이상한', '비정상적인 반응' 등의 뜻을 가진다. 말 그대로 다양한 원인이 복잡하게 뒤엉켜 발병하고 완화와 재발을 반복한다.
- [0004] 아토피 질환에는 알레르기 천식, 알레르기 결막염, 알레르기 비염, 아토피 피부염 등이 있으며 이들 질환은 단독 또는 여러 질환이 동시에 나타날 수 있다.
- [0005] 현재까지 알려진 아토피 질환의 발병 원인은 정확히 밝혀져 있지 않지만 보편적으로 유전적, 면역학적 요인이 관여하는 것으로 추정되며, 기타 환경적, 정신적 요인 등이 악화 요인으로 작용한다는 것이 전문가들의 보편적인 견해이다.
- [0006] 아토피 피부염은 영아와 소아에서 가장 흔한 피부 질환 중 하나이며 생후 6 개월 동안에 45%, 생후 12개월 이전에 60%, 5세 이전에 적어도 85%의 비율로 시작된다. 보통 어릴 때 잠시 앓는 병이라고 알려져 있으나 환자의 50%는 두 돌 이내에 그 증상이 없어지지만, 25%는 청소년기까지 지속되며, 나머지 25%는 성인이 되어도 없어지지 않고 계속된다.
- [0007] 아토피 피부염의 주요 증상은 가려움인데, 가려워서 긁게 되면 습진성 병변으로 발전하고 이러한 병변이 진행되면서 다시 더 심한 소양증이 유발되는 일련의 악순환이 반복되게 된다.
- [0008] 현재 피부면역 질환 치료에 사용되는 제제로는 스테로이드제, 항히스타민제, 면역조절제 등이 사용되고 있으며 그 중 스테로이드제 약품이 소염 효과 및 면역 억제 효과가 가장 우수한 것으로 알려져 있다. 그러나 스테로이드제를 장기간 사용하면 바른 부위의 피부에서 털이 나고 피부가 위축되며, 피부 색소가 적어지고 피부가 얇아지는 등의 부작용을 일으키는 것으로 보고되고 있다.
- [0009] 일례로 현재 아토피 피부염에 가장 널리 사용되는 치료제는 스테로이드제로 알려진 덱사메타손(Dexamethasone)이 있으나, 이는 단기 치료에 효과적일 뿐, 1년 이상 장기 치료시에는 안정성과 그 효능이 성립되지 않고 피부가 얇아지거나, 피부위축, 상흔, 피부변색 등의 부작용이 발생하는 사례가 보고되는 등 문제점이 나타나고 있다.
- [0010] 이에 따라 화학 약품의 부작용을 최소화하면서도 급증하고 있는 아토피 피부염을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있는 우수한 효능을 가지는 새로운 약물에 대한 연구가 필요한 실정이다.
- [0011] 이와 관련하여, 코르티코스테로이드는 염증 매개 사이토카인인 IgE를 억제하여 아토피를 완화할 수 있는 것으로 알려져 있다(Peter J. Barnes, Corticosteroids, IgE, and atopy., J Clin Invest. 2001 Feb 1; 107(3): 265-266). 그러나, 스테로이드 물질이 갖는 부작용 때문에 표준적인 치료제로 사용되기 부적합한 면이 있다. 또한, 피메크로리무스(pimecrolimus) 및 타크로리무스(tacrolimus)가 최근 아토피 치료를 위한 면역 조절자로서 주목받고 있다(Cury Martins J et al, Topical tacrolimus for atopic dermatitis., Cochrane Database Syst Rev. 2015 Jul 1). 그러나, 면역을 저하시켜 다른 질병에 감염되기 쉬운 문제점이 있다.
- [0012] 본 발명자는 이러한 배경하에서, 신규 화합물인 본 발명의 신규한 에르고스텐올 글리코시드 유도체를 발견하였고, 이는 아토피 등 피부염 예방, 치료 및 개선에 유용하게 사용될 수 있다는 것을 확인하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

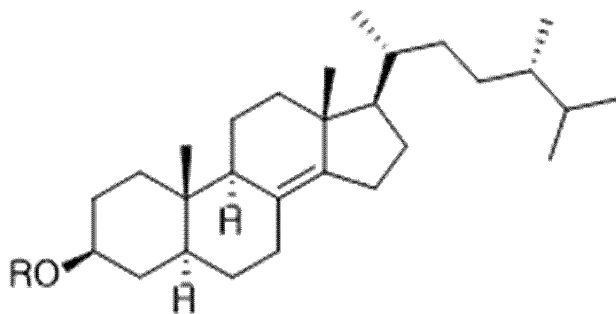
- [0014] 본 발명은 신규 에르고스텐올 글리코시드 유도체를 제공하고자 한다.
- [0015] 본 발명은 에르고스텐올 및 이의 글리코시드 유도체를 포함하는 피부염 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하고자 한다.
- [0016] 본 발명은 에르고스텐올 및 이의 글리코시드 유도체를 포함하는 피부염 개선 또는 완화용 화장품 조성물을 제공하고자 한다.
- [0017] 본 발명은 에르고스텐올 및 이의 글리코시드 유도체를 제조하는 방법을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

- [0019] 본 발명자는 피부염, 특히 아토피 피부염을 치료 또는 개선할 수 있는 물질을 찾기 위해 노력한 결과, 에르고스텐올과 이의 글리코시드 유도체가 피부염 및 아토피 피부염의 증상을 현저히 개선하고 치료하는 효능을 가진다는 것을 확인하였고, 또한 에르고스테롤을 시작물질로 하여 에르고스텐올과 이의 글리코시드 유도체를 제조하는 방법을 최초로 개발하여, 본 발명을 완성하였다.

- [0021] 본 발명의 목적을 달성하기 위한 본 발명의 하나의 양태는 신규 에르고스텐올 글리코시드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다. 본 발명에 따른 신규한 에르고스텐올 글리코시드 유도체는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물일 수 있다.

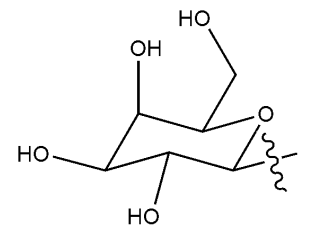
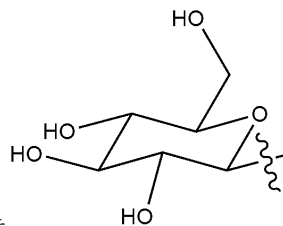
- [0022] [화학식 1]

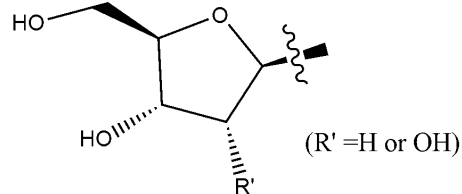
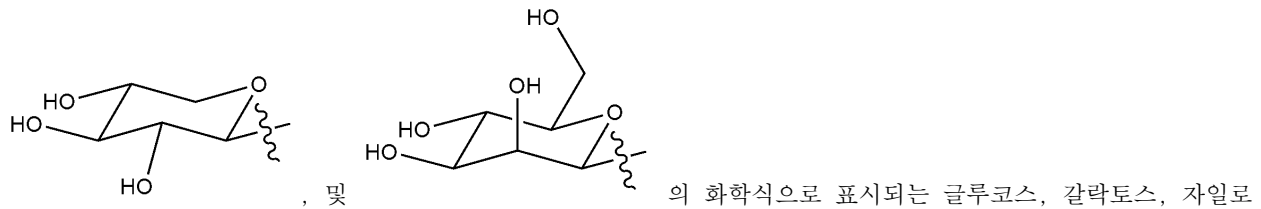


- [0023]
- [0024] 상기 식에서, R은 단당류(monosaccharide) 또는 아미노당(amino sugar)이다.

- [0025] 본 발명에서 단당류(monosaccharide)는 최저 2개의 히드록시기와 이에 인접하는 카르보닐기를 가지며, 일반식 $C_n(H_2O)_n$ 으로 나타낼 수 있는 탄소화물의 단위체이다. 상기 단당류는 6탄당(hexose) 또는 5탄당(pentose)일 수

있다. 예를 들어, 6탄당으로는

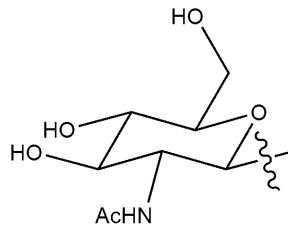




스, 만노스일 수 있다. 또한, 5탄당으로는, 것일 수 있다.

의 화학식으로 표시되는

[0026] 본 발명에서 아미노당(amino sugar)은 단당류 중 히드록시기(OH)의 일부가(예를 들어 1개의 히드록시기)가 아미노기로 치환된 화합물이다. 구체적으로, 상기 아미노당은 글루코사민(glucosamine) 또는 갈락토사민(glactosamine)일 수 있다. 예를 들어 아미노당의 아미노기는 아세틸화된 것일 수 있다. 구체적으로,



의 화학식으로 표시되는 N-아세틸글루코사민(N-acetylglucosamine)일 수 있다.

[0027] 본 발명의 에르고스텐올은 8번 탄소와 14번 탄소 사이에 이중결합의 위치를 가짐으로써 일반적인 스테로이드 화합물과 달리 독특한 입체형태를 가질 수 있다. 구체적으로, 에르고스텐올과 이의 글리코시드 유도체는 도 1로 표시되는 3차원 입체구조를 가질 수 있다.

[0029] 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 약학적으로 허용되는 모든 염 형태를 포함한다.

[0030] 예를 들어 칼슘, 칼륨, 나트륨 및 마그네슘 등으로 제조된 무기이온염, 염산, 질산, 인산, 브롬산, 요오드산, 과염소산, 주석산 및 황산 등으로 제조된 무기산염, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 시트르산, 말레인산, 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산, 만데르산, 프로피온산, 구연산, 젖산, 글리콜산, 글루콘산, 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산, 글루쿠론산, 아스파르트산, 아스코르브산, 카본산, 바닐릭산, 하이드로 아이오딕산, 만델산, 뮤크산, 질산, 파모산, 판토텐산, 숙신산, 타르타르산 등으로 제조된 유기산염, 메탄설폰산, 에탄설폰산, 벤젠설폰산, p-톨루엔설폰산, 캄포르설폰산, 또는 나프탈렌설폰산 등으로 제조된 설폰산염, 글리신, 아르기닌, 라이신 등으로 제조된 아미노산염 및 트리메틸아민, 트리에틸아민, 암모니아, 피리딘, 피콜린 등으로 제조된 아민 염 등이 있으나, 열거된 이들 염에 의해 본 발명에서 의미하는 염의 종류가 한정되는 것은 아니다.

[0031] 예를 들면, 상기 약학적으로 허용 가능한 염은 무기산으로서 염산, 유기산으로서 메탄설폰산일 수 있다.

[0033] 다른 하나의 양태는 에르고스텐올, 이의 글리코시드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 피부염의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0034] 본 발명의 피부염은 아토피 피부염, 접촉성 피부염, 지루성 피부염을 포함할 수 있고, 구체적으로 아토피 피부염일 수 있다.

[0035] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는 에르고스텐올 및 이의 글리코시드 유도체를 HaCaT 세포에 처리함에 따라 농도 의존적으로 CCL17 및 CCL22의 유전자와 단백질 발현 수준이 감소하는 것을 확인하였다(도 2 및 도 3). 이로부터, 에르고스텐올 및 이의 글리코시드 유도체가 각질형성세포주의 염증 매개 발현을 조절하여, 피부염을 완화하는 활성을 나타냄을 알 수 있었다.

[0036] 본 발명에서, 의약 조성물은 연고, 젤, 크림, 패취 및 분무제로 이루어지는 군으로부터 선택되는 제형일 수 있

다. 또한, 상기 의약 조성물은 경구용 제제 또는 주사용 제제일 수 있다. 상기 경구용 제제는 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸, 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제이고, 상기 주사용 제제는 멸균 주사제 형태의 제형일 수 있다.

[0037] 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 허용되는 담체를 첨가하여 제제화할 수 있으며, 제제화에 관한 내용은 Remington's Pharmaceutical Science(최근판), Mack Publishing Company, Easton PA의 문헌을 참조할 수 있다. 상기 약학적으로 허용 가능한 담체는 의약 발명 부분에 속하는 통상의 기술자에게 의약 조성물 제조시 통상적으로 사용되는 것을 의미한다. 예를 들어, 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유 등이 있다. 또한, 약학적으로 허용되는 담체는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉쇄제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 포함한다. 예를 들어, 경구용 고형 제제는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등은 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트 (calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 포함할 수 있으며, 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제 등을 포함할 수 있다. 경구용 액상 제제는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등을 포함하며, 물, 리퀴드 파라핀 등의 희석제, 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등을 포함할 수 있다. 비경구용 제제는 멸균된 수용액, 비수용성제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제를 포함하며, 비수성 용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르류 등을 포함한다. 그러나, 상기 열거된 약학적으로 허용되는 담체 등으로 본 발명이 한정되는 것은 아니며, 이들은 단지 예시에 불과하다. 상기 담체는 비자연적 담체(non-naturally occurring carrier)를 포함할 수 있다.

[0038] 상기 약학 조성물의 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 경우에 따라 적절하게 선택될 수 있다. 예를 들면, 상기 에르고스텐올 또는 이의 글리코시드 유도체는 1일 0.01 mg/kg 내지 10mg/kg으로, 바람직하게는 2.5 mg/kg 내지 5 mg/kg의 용량으로 투여되거나 피부 등에 도포될 수 있으며, 상기 투여 내지 도포는 하루에 한번 또는 수회 나누어 투여할 수도 있다. 또한, 상기 약학 조성물은 조성물 총 중량에 대하여 상기 에르고스텐올 또는 이의 글리코시드 유도체를 0.0001 내지 80 중량%로 포함할 수 있다. 상기 약학 조성물은 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로, 예를 들면, 경구, 정맥, 근육, 또는 피하 주사에 의해 투여될 수 있다.

[0039] 또한 본 발명의 약학 조성물은 에르고스텐올 및 이의 글리코시드 유도체 이외에 피부염의 개선, 완화, 치료 또는 예방을 나타내는 유효성분을 1종 이상 추가로 함유할 수 있다.

[0040] 또한 본 발명의 약학 조성물은 피부염의 개선, 완화, 치료 또는 예방을 위하여 단독으로, 또는 수술, 호르몬 치료, 약물 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

[0041] 다른 하나의 양태는 에르고스텐올 또는 이의 글리코시드 유도체를 포함하는 피부염의 개선 또는 완화용 화장료 조성물을 제공한다. 상기 피부염은 전술한 바와 같다.

[0042] 본 발명에서, 상기 화장료 조성물은 유연화장수, 수렴화장수, 영양화장수, 영양크림, 마사지크림, 에센스, 아이크림, 아이에센스, 클렌징크림, 클렌징폼, 클렌징워터, 팩, 파우더, 바디로션, 바디크림, 바디오일, 바디에센스, 메이크업 베이스, 파운데이션, 엄모제, 샴푸, 린스 및 바디 세정제로 이루어지는 군으로부터 선택되는 제형일 수 있다.

[0043] 본 발명의 화장료 조성물은 상기 에르고스텐올 또는 이의 글리코시드 유도체를 사용하여 통상의 화장료 제조방법에 따라, 다양한 형태로 제조될 수 있으며, 화장료 조성물 분야에서 통상적으로 사용되는 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료, 및 향료와 같은 통상적인 보조제를 포함할 수 있다.

[0044] 또한, 화장료 조성물이 상기 에르고스텐올 또는 이의 글리코시드 유도체를 함유하는 향장 제품, 샴푸, 헤어로션, 헤어크림, 헤어 젤 등의 형태로 제조될 경우, 통상의 클렌징액, 수렴액 및 보습액으로 희석하여 사용될 수 있다.

[0045] 본 발명의 화장료 조성물은 상기 에르고스텐올 또는 이의 글리코시드 유도체를 조성물 총 중량을 기준으로 0.001% 내지 20 중량% 함유할 수 있다.

[0046] 본 발명은 에르고스텐올 또는 이의 글리코시드 유도체의 치료학적으로 유효한 양의 투여를 포함하는 피부염 예

방 또는 치료 방법을 제공하고자 한다.

- [0047] 본 발명에서 사용되는 "치료학적으로 유효한 양"이라는 용어는 피부염의 예방 또는 치료에 유효한 에르고스텐올 또는 이의 글리코시드 유도체의 양을 나타낸다.
- [0048] 본 발명의 피부염의 예방 또는 치료 방법, 특히 아토피 피부염의 예방 또는 치료 방법은 상기 에르고스텐올 또는 이의 글리코시드 유도체를 투여(피부에 도포를 포함함)함으로써, 징후의 발현 전에 질병 그 자체를 다룰뿐만 아니라, 이의 징후를 저해하거나 피하는 것을 또한 포함한다. 질환의 관리에 있어서, 특정 활성 성분의 예방적 또는 치료학적 용량은 질병 또는 상태의 본성(nature)과 심각도, 그리고 활성 성분이 투여되는 경로에 따라 다양할 것이다. 바람직하게 1일 0.01 mg/kg 내지 10mg/kg으로, 보다 바람직하게는 2.5 mg/kg 내지 5 mg/kg의 용량으로 투여되거나 피부 등에 도포될 수 있으며, 상기 투여 내지 도포는 하루에 한번 또는 수회 나누어 투여할 수도 있다. 그러나, 이의 용량 및 용량의 빈도는 개별 환자의 연령, 체중 및 반응에 따라 다양할 것이며, 적합한 용량 용법은 이러한 인자를 당연히 고려하는 이 분야의 통상의 지식을 가진 자에 의해 쉽게 선택될 수 있다.
- [0049] 또한, 본 발명의 피부염의 예방 또는 치료 방법은 상기 에르고스텐올 또는 이의 글리코시드 유도체와 함께 질환 치료에 도움이 되는 추가적인 활성 제제의 치료학적으로 유효한 양의 투여를 더 포함할 수 있으며, 추가적인 활성 제제는 상기 에르고스텐올 또는 이의 글리코시드 유도체와 함께 시너지 효과 또는 보조적 효과를 나타낼 수 있다.
- [0050] 본 발명은 피부염, 특히 아토피 피부염 예방 또는 치료용 약제 제조를 위한 에르고스텐올 또는 이의 글리코시드 유도체의 용도를 제공하고자 한다. 약제의 제조를 위한 상기 에르고스텐올 또는 이의 글리코시드 유도체는 허용되는 보조제, 희석제, 담체 등을 혼합할 수 있으며, 기타 활성제제와 함께 복합 제제로 제조되어 활성 성분들의 상승 작용을 가질 수 있다.
- [0051] 본 발명의 용도, 조성물, 치료 방법에서 언급된 사항은 서로 모순되지 않는 한 동일하게 적용된다.
- [0053] 다른 하나의 양태는, 상기 에르고스텐올과 이의 글리코시드 유도체를 제조하는 효율적인 방법을 제공한다.
- [0054] 먼저, 에르고스텐올의 제조는 자연계에 흔히 존재하는 에르고스테롤(ergosterol)을 시작물질로 하여 제공할 수 있다. 구체적으로, 에르고스테롤을 알코올 용매 및 염소계 유기용매하에 Pd/C 촉매와 반응시켜 에르고스텐올을 수득하는 단계를 포함한다.
- [0055] 상기 염소계 유기용매는 메틸렌클로라이드, 클로로포름, 1,2-다이클로로에테인으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것일 수 있으며, 상기 알코올 용매는 메탄올, 에탄올 또는 프로판올일 수 있다.
- [0056] 상기 단계에서 수소를 채워준 뒤 상온에서 장시간 교반한 후, Cetlite로 여과시켜 감압농축을 할 수 있으며, 농축된 고체에 메탄올을 사용하여 재결정을 한 뒤 여과하여 에르고스텐올을 수득할 수 있다.
- [0057] 상기 수득한 에르고스텐올을 OH기가 보호된 당과 염소계 유기용매하에 혼합한 후 산 촉매 존재 하에 교반하는 단계를 포함하여, 에르고스텐올의 글리코시드 유도체를 제조할 수 있다.
- [0058] 상기 OH기가 보호된 당의 OH기는 테트라벤조일로 보호된 것일 수 있다. 글루코실화 반응이 일어날 OH기는 파이라노실(pyranosyl)화되어 트라이클로로아세트이미데이트(trichloroacetimidate)와 결합된 형태일 수 있다. 상기 염소계 유기 용매는 메틸렌클로라이드, 클로로포름, 1,2-다이클로로에테인으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것일 수 있다.
- [0059] 상기 산촉매는 TMSOTf, BF₃OEt₂, Cu(OTf)₂, Sc(OTf)₃, SiO₂-H₂SO₄, 및 셀룰로오스-HClO₄ 로 이루어진 군에서 선택된 것일 수 있다. 상기 단계에서 교반은 실온에서 행할 수 있으며, 반응용액에 유기염기(예를 들어, TEA)를 넣고 중화시킨 뒤 여과하여 감압농축할 수 있다.
- [0060] 상기 단계를 통해, 당의 OH기가 보호된 에르고스텐올 글리코시드 유도체를 얻을 수 있으며, 탈보호를 통해 최종적으로 본 발명의 에르고스텐올 글리코시드 유도체를 얻을 수 있다. 구체적으로, 상기 OH기가 보호된 에르고스텐올 글리코시드 유도체를 염소계 유기용매와 알코올 용매 하에 NaOMe 또는 K₂CO₃를 넣고 실온에서 교반하여 얻을 수 있다.

발명의 효과

[0062] 본 발명의 에르고스텐올 및 이의 글리코시드 유도체는 피부염 예방 및 치료에 있어서, 피부 염증 자극에 따라 증가하는 케모카인의 생성을 억제하고 다양한 염증 매개체의 발현을 조절하는 전사인자들의 활성을 억제하여 피부염 예방 및 치료제 내지 아토피 개선 화장품 소재로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0064] 도 1은 본 발명의 에르고스텐올과 이의 글리코시드 유도체의 입체적인 형태를 나타낸 도이다.

도 2는 각질형성세포주인 HaCaT 세포에서 에르고스텐올 및 이의 글리코시드 유도체가 TNF- α , IFN- γ 의 유도에 따른 CCL17 및 CCL22의 유전자 발현을 억제하는 것을 확인한 결과를 나타내는 도이다.

도 3은 각질형성세포주인 HaCaT 세포에서 에르고스텐올 유도체가 TNF- α , IFN- γ 의 유도에 따른 CCL17 및 CCL22의 단백질 발현을 억제하는 것을 확인한 결과를 나타내는 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0065] 이하, 하기 실시예에 의하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명의 범위가 이들만으로 한정되는 것은 아니다.

[0067] 제조예 1. 에르고스텐올의 제조

[0068] 에르고스테롤(ergosterol, 3 g)을 메틸렌클로라이드 (30 ml)와 메탄올 (70 ml)로 녹인 뒤 Palladium carbon (0.3 g)을 넣는다. 수소를 채워준 뒤 상온에서 20시간 동안 교반하였다. 그 후 Celite로 여과시킨 뒤 바로 감압 농축하였다. 농축된 고체에 메탄올을 사용하여 재결정을 한 뒤 여과하여 하얀 고체인 생성물을 99% (3 g) 수율로 얻었다.

[0070] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ (ppm): 3.62 (brs, 1H), 2.39-2.35 (m, 1H), 2.20-2.17 (m, 2H), 1.95-1.91 (m, 1H), 1.83-1.80 (m, 2H), 1.17-1.54 (m, 7H), 1.45-1.30 (m, 7H), 1.27-1.25 (m, 5H), 1.10-1.06 (m, 5H), 1.01-0.97 (m, 1H), 0.97-0.91 (m, 3H) 0.85 (d, 6H, J = 7.9 Hz), 0.78 (d, 6H, J = 6.6 Hz), 0.69 (s, 3H)

[0071] ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 142.7, 126.3, 71.3, 56.7, 49.3, 44.3, 42.7, 39.1, 38.3, 37.3, 36.8, 36.5, 34.8, 33.5, 31.6, 31.5, 30.4, 29.6, 28.9, 27.0, 25.8, 20.5, 20.0, 19.3, 18.2, 17.6, 15.4, 12.8

[0073] 제조예 2. 에르고스텐올-글루코즈의 제조

[0074] 2-1. 2,3,4,6-테트라벤조일 글루코즈-에르고스텐올의 제조

[0075] 에르고스텐올 (0.1 g)과 2,3,4,6-테트라-O-벤조일-a-D-글루코피라노실 트라이클로로아세트이미테이트 (0.37 g)을 메틸렌클로라이드 (2.5 ml)에 녹인 뒤 4A 분자체를 넣고 실온에서 교반하였다. TMSOTf (4.5 μl)를 넣고 실온에서 2.5시간 동안 교반하였다. 반응용액에 TEA (1 ml)를 넣고 중화시킨 뒤 여과하여 여과액을 감압농축시켰다. 농축액을 컬럼크로마토그래피를 통하여 정제하여 90% 수득률로 생성물을 얻을 수 있었다.

[0077] 2-2. 에르고스텐올-글루코즈의 제조

[0078] 상기 제조예 2-1에서 수득한 2,3,4,6-테트라벤조일 글루코즈-에르고스텐올 (0.46 g)을 메틸렌클로라이드 (5 ml)와 메탄올 (5 ml)에 녹인 뒤 0.5M NaOMe (5.6 ml)를 넣고 실온에서 1.5시간 동안 교반하였다. Dowex Mac-3를 넣어서 중화시킨 뒤 여과하여 여과액을 감압농축 하였다. 컬럼크로마토그래피로 정제하여 생성물을 71%의 수율로 얻었다.

[0080] ^1H NMR (300MHz, Pyridine- d^5) δ (ppm): 5.11 (d, 1H, J = 7.7 Hz), 4.65-4.68 (m, 1H), 4.44-4.50 (m, 1H), 4.28-4.39 (m, 2H), 4.03-4.12 (m, 3H), 2.36 (d, 1H, J = 14.5 Hz), 2.25-2.28 (m, 2H), 2.06 (m, 1H), 1.83-1.96 (m, 4H), 1.32-1.61 (m, 11H), 1.06-1.21 (m, 8H), 0.99-1.01 (m, 4H), 0.88-0.90 (m, 6H), 0.81-0.85 (m, 6H), 0.63 (s, 3H)

[0081] ^{13}C NMR (75 MHz, Pyridine- d^5) δ (ppm): 142.61, 126.85, 102.10, 78.69, 78.62, 76.94, 75.41, 71.84, 62.99, 57.01, 49.56, 44.06, 42.97, 39.37, 37.57, 37.15, 36.75, 35.08, 34.87, 33.81, 31.77, 30.72, 30.09, 29.91, 29.26, 27.37, 26.13, 20.68, 20.23, 19.50, 18.51, 17.77, 15.63, 12.83

[0083] 제조예 3. 에르고스텐올-갈락토즈의 제조

[0084] 3-1. 2,3,4,6-테트라벤조일 갈락토즈-에르고스텐올의 제조

[0085] 에르고스텐올 (0.136 g)과 2,3,4,6-테트라-O-벤조일-a-D-갈락토피라노실 트라이클로로아세트이미데이트 (0.5 g)을 메틸렌클로라이드 (10 ml)에 녹인 뒤 4A 분자체를 넣고 실온에서 교반하였다. 셀룰로오스- HClO_4 (0.17 mmol/g, 60 mg)를 넣고 실온에서 하루 동안 교반하였다. 반응용액을 여과하여 여과액을 감압농축시켰다. 농축액을 컬럼크로마토그래피를 통하여 정제하여 79% 수득물로 생성물을 얻을 수 있었다.

[0087] 3-2. 에르고스텐올-갈락토즈의 제조

[0088] 상기 제조예 3-1에서 수득한 2,3,4,6-테트라벤조일 갈락토즈-에르고스텐올 (0.39 g)을 메틸렌클로라이드 (4 ml)와 메탄올 (4 ml)에 녹인 뒤 0.5M NaOMe (4.8 ml)를 넣고 실온에서 2시간 동안 교반하였다. Dowex Mac-3를 넣어서 중화시킨 뒤 여과하여 여과액을 감압농축 하였다. 컬럼크로마토그래피로 정제하여 생성물을 80%의 수율로 얻었다.

[0089] ^1H NMR (300MHz, Pyridine- d^5) δ (ppm): 5.02 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 4.63 (s, 1H), 4.48-4.54 (m, 3H), 4.20-4.28 (m, 2H), 4.04 (m, 1H), 2.37 (d, 1H, J = 14.5 Hz), 2.25 (m, 2H), 2.09 (m, 1H), 1.83-1.93 (m, 4H), 1.34-1.61 (m, 11H), 1.06-1.19 (m, 8H), 0.99-1.01 (m, 4H), 0.88-0.90 (m, 6H), 0.82-0.85 (m, 6H), 0.62 (s, 3H)

[0090] ^{13}C NMR (75 MHz, Pyridine- d^5) δ (ppm): 142.60, 126.86, 102.69, 77.11, 76.80, 75.48, 72.76, 70.45, 62.70, 57.01, 49.56, 44.08, 42.97, 39.37, 37.57, 37.14, 36.77, 35.08, 34.89, 33.81, 31.76, 30.72, 30.11, 29.92, 29.27, 27.36, 26.12, 20.67, 20.22, 19.49, 18.50, 17.76, 15.63, 12.81

[0092] 제조예 4. 에르고스텐올-자일로즈의 제조

[0093] 4-1. 2,3,4-트라이벤조일 자일로즈-에르고스텐올의 제조

[0094] 에르고스텐올 (0.5 g)과 2,3,4-트라이-O-벤조일-a-D-자일로피라노실 트라이클로로아세트이미데이트 (1.5 g)을 메틸렌클로라이드 (30 ml)에 녹인 뒤 4A 분자체를 넣고 실온에서 교반하였다. 셀룰로오스- HClO_4 (0.17 mmol/g, 0.22 g)를 넣고 실온에서 하루 동안 교반하였다. 반응용액을 여과하여 여과액을 감압농축시켰다. 농축액을 컬럼크로마토그래피를 통하여 정제하여 82% 수득물로 생성물을 얻을 수 있었다

[0096] 4-2. 에르고스텐올-자일로즈의 제조

[0097] 상기 제조예 4-1에서 수득한 2,3,4-트라이벤조일 자일로즈-에르고스텐올 (0.86 g)을 메틸렌클로라이드 (10 ml)와 메탄올 (10 ml)에 녹인 뒤 0.5M NaOMe (12 ml)를 넣고 실온에서 2시간 동안 교반하였다. Dowex Mac-3를 넣어서 중화시킨 뒤 여과하여 여과액을 감압농축 하였다. 컬럼크로마토그래피로 정제하여 생성물을 70%의 수율로 얻었다.

[0098] ^1H NMR (300MHz, Pyridine- d^5) δ (ppm): 4.95 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 4.42-4.48 (m, 1H), 4.22-4.35 (2H, m), 4.05 (t, 1H, J = 8.0 Hz), 3.96 (m, 1H), 3.83 (t, 1H, J = 10.3 Hz), 2.37 (d, 1H, J = 12.6 Hz), 2.25-2.28 (m, 2H), 2.11 (m, 1H), 1.84-1.97 (m, 4H), 1.36-1.65 (m, 11H), 1.04-1.32 (m, 9H), 1.00 (d, 3H, J = 6.4 Hz), 0.88-0.90 (m, 6H), 0.81-0.85 (m, 6H), 0.64 (s, 3H)

[0099] ^{13}C NMR (75 MHz, Pyridine- d^5) δ (ppm): 142.65, 126.84, 103.04, 78.59, 77.31, 75.16, 71.28, 67.23, 57.03, 49.57, 44.23, 42.99, 39.38, 37.58, 37.17, 36.85, 35.09, 34.94, 33.81, 31.76, 30.73, 30.22, 29.92, 29.27, 27.38, 26.13, 20.68, 20.25, 19.51, 18.51, 17.77, 15.63, 12.84

[0101] **실시예 1. 에르고스텐올 및 이의 글리코시드 유도체의 CCL17 및 CCL22 발현 증가 억제 효과 확인**

[0102] HaCaT 세포에 에르고스텐올 및 이의 글리코시드 유도체를 처리함에 따라 염증 유도 분자로 알려져 있는 TNF- α 및/또는 IFN- γ 에 의해 유도되는 CCL17 및 CCL22의 발현 감소 효과를 확인하였다.

[0103] 1×10^6 개의 HaCaT 세포를 6-웰 마이크로 플레이트에 옮기고 10%(v/v)의 FBS가 포함된 DMEM에서 12시간 동안 배양하고 PBS로 세척한 후 serum free media 2 ml 에 에르고스텐올 각각 2.5, 5, 10, 20 $\mu\text{g/ml}$ 농도로 1시간 처리하였다. 그 후, 염증 유도 분자인 TNF- α , IFN- γ , 또는 TNF- α 및 IFN- γ 를 처리한 다음 18시간 동안 더 배양하였다.

[0104] RNA 수준에서 CCL17 및 CCL22의 발현 변화를 확인하기 위하여 Trizol reagent kit(Invitrogen, Gaithersburg, MD)를 이용하여 제조사의 매뉴얼에 따라 RNA를 분리하였다. 분리된 RNA를 주형으로 역전사를 수행하여 cDNA를 획득하였다.

[0105] cDNA 2 μg 에 역전사 완충용액(5 mM MgCl_2 , 1 mM dNTP, 2.5 U/ μl reverse transcriptase, 및 2.5 μM oligo(dT) 15 asa primer(omniscrypt RTkit, Qiagen), 0.5 U의 RNase 억제제, 2.5 μM 올리고(dT)(oligo(dT)) 및 2.5 U의 역전사 효소를 첨가하여 37°C에서 반응하여 cDNA를 획득 하였다.

[0106] 획득한 cDNA를 정량하기 위하여, 하기 표 1의 프라이머를 이용하여 PCR을 수행하고 증폭된 DNA는 1% 아가로스 겔에 의해 확인하였다.

표 1

프라이머	프라이머 서열
Forward CCL-17 (서열번호 1)	5'-ctt ctc tgc agc aca tcc-3'
Reverse CCL-17(서열번호 2)	5'-aag acc tct caa ggc ttt g-3'
Forward CCL-22 (서열번호 3)	5'-agg aca gag cat ggc tcg cct aca ga-3'
Reverse CCL-22(서열번호 4)	5'-taa tgg cag gga ggt agg gct cct ga-3'
Forward β -actin(서열번호 5)	5'-gcg gga aat cgt gcg tga cat t-3'
Reverse β -actin(서열번호 6)	5'-gat gga gtt gaa ggt agt ttc gtg-3'

[0109] 또한 단백질 수준에서 에르고스텐올의 효과를 알아보기 위하여, 에르고스텐올 2.5, 5, 10, 20 $\mu\text{g/ml}$ 농도로 1시간 처리한 다음, 염증 유도 관련 분자인 TNF- α , IFN- γ , 또는 TNF- α 및 IFN- γ 를 처리한 후 18시간 동안 배양하였다. 배지에 존재하는 CCL17, CCL22에 대한 단백질 양은 ELISA 키트(R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 확인하였다. 96-웰 플레이트에 2 $\mu\text{g/ml}$ 포획 항체 (항-CCL17 항체, 항-CCL22 항체) 50 μl 씩을 넣어 2시간 동안 코팅한 후, 1% BSA가 포함된 PBS로 1시간 동안 블로킹(blocking) 하였다. 이어서, 회수된 시료를 각각의 웰에 100 μl 씩 넣어준 후 2시간 동안 반응시켰다. PBS-T로 3회 세척하고 각 웰에 100 ng/well 의 detector 항체 (항-CCL17 항체, 항-CCL22 항체) 50 μl 를 넣고 2시간 동안 반응시켰다. PBS-T로 3회 세척하고 HRP가 접합된 항 체를 1:200으로 희석하여 50 μl 씩 넣은 다음 30분 동안 반응시켰다. PBS-T로 충분히 세척한 후에 기질액(TMB)을 첨가하고 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0110] 상기 실험 결과를 도 2 및 도 3에 나타내었다. 도 2에 나타낸 바와 같이, 에르고스텐올 및 이의 글리코시드 유도체를 HaCaT 세포에 처리함에 따라 농도 의존적으로 CCL17 및 CCL22의 유전자와 단백질 발현 수준이 감소하는

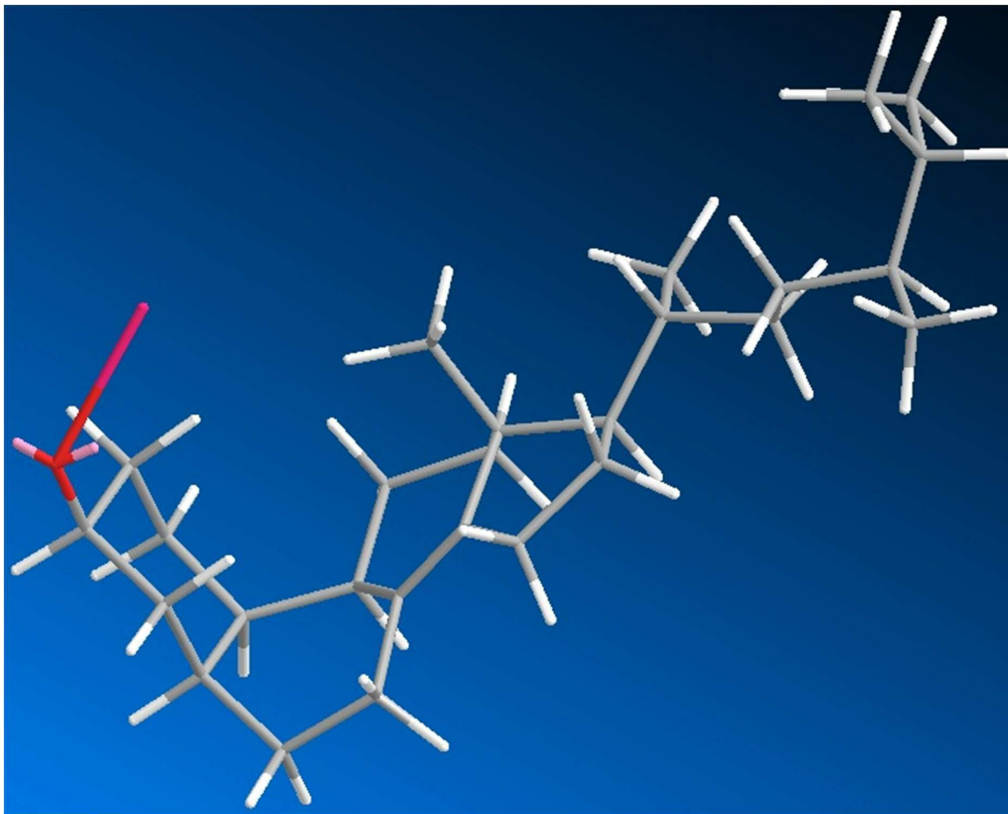
것을 확인하였다.

[0111] 상기의 결과로부터 에르고스텐을 및 이의 글리코시드 유도체가 각질형성세포주의 염증 매개 발현을 조절하여, 피부염을 완화하는 활성을 나타냄을 알 수 있었다.

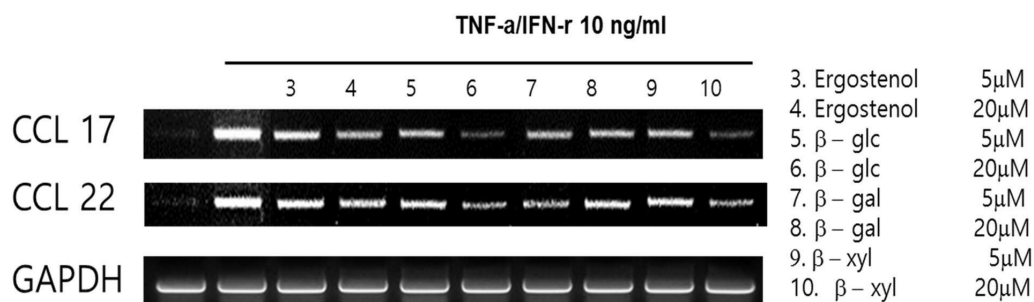
[0113] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

도면1



도면2



도면3

