



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0021642
(43) 공개일자 2018년03월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/122 (2006.01) A23L 33/10 (2016.01)
A23L 33/105 (2016.01) A61K 36/70 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/122 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2017-0102127
(22) 출원일자 2017년08월11일
심사청구일자 2017년08월11일
(30) 우선권주장
1020160106027 2016년08월22일 대한민국(KR)

(71) 출원인
경상대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
(72) 발명자
안미정
경상남도 진주시 진주대로815번길 11, 116동 120
4호 (주약동, 주약현대아파트)
박우성
경상남도 진주시 진주대로 501 경상대학교
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
최규환

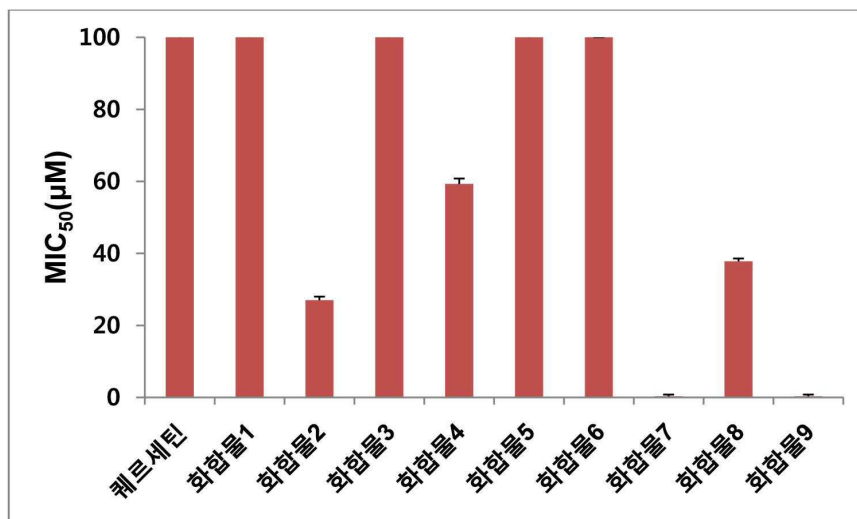
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 2-알콕시-6-아세틸-7-메틸주글론을 유효성분으로 함유하는 항헬리코박터 파이로리 조성물

(57) 요약

본 발명은 화학식 1의 2-알콕시-6-아세틸-7-메틸주글론을 유효성분으로 함유하는 항헬리코박터 파이로리 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 2-알콕시-6-아세틸-7-메틸주글론은 헬리코박터 파이로리에 대한 우수한 항균 활성을 나타냄을 확인함으로써 헬리코박터 파이로리에 의한 감염증의 예방, 개선 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있을 뿐만 아니라 천연물로부터 유래하여 부작용을 발생시키지 않고 항생제 내성의 문제도 발생시키지 아니하므로 기능성 식품 또는 약학 조성물로 효과적으로 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A23L 33/105 (2016.08)

A61K 36/70 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/30 (2013.01)

A23V 2250/21 (2013.01)

(72) 발명자

김혜진

경상남도 진주시 진주대로 501 경상대학교

할릴 아티프 알리 칸

경상남도 진주시 호탄길9번길 7

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 A004500005

부처명 산업통상자원부

연구관리전문기관 한국산업기술진흥원(KIAT)

연구사업명 광역경제권 연계협력사업

연구과제명 한라-지리산 천연물자원 기반 약물성 정보DB구축 및 신약개발

기 여 율 3/10

주관기관 동국대학교 산학협력단

연구기간 2012.08.01 ~ 2015.04.30

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ011064

부처명 농촌진흥청

연구관리전문기관 시스템합성농생명공학사업단

연구사업명 차세대바이오그린21 사업

연구과제명 고구마 유래 기능성 색소항산화물질 대사 관련 유전자 기능 및 대사공학연구

기 여 율 3/10

주관기관 한국생명공학연구원

연구기간 2015.01.15 ~ 2017.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 NRF-2017R1A2B4008859

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 중견연구

연구과제명 들메나무의 천연물의약소재 표준화 기반연구

기 여 율 4/10

주관기관 경상대학교 산학협력단

연구기간 2017.03.01 ~ 2022.02.28

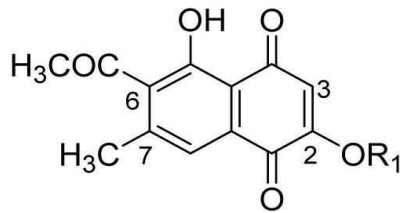
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1의 2-알콕시-6-아세틸-7-메틸주글론 또는 이의 염을 유효성분으로 함유하는 항균 조성물.

[화학식 1]



* $R_1 = CH_3$ 또는 CH_2CH_3

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 2-알콕시-6-아세틸-7-메틸주글론은 헬리코박터 파이로리에 대하여 항균 효과를 가지는 것을 특징으로 하는 항균 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 2-알콕시-6-아세틸-7-메틸주글론은 호장균 추출물로부터 분리한 것을 특징으로 하는 헬리코박터 파이로리 항균 조성물.

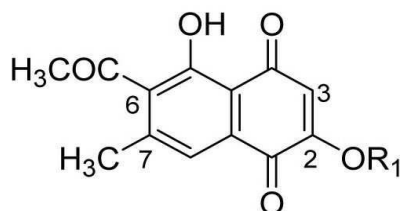
청구항 4

제3항에 있어서, 상기 호장균 추출물은 호장균 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물인 것을 특징으로 하는 헬리코박터 파이로리 항균 조성물.

청구항 5

하기 화학식 1의 2-알콕시-6-아세틸-7-메틸주글론 또는 이의 염을 유효성분으로 함유하는 헬리코박터 파이로리에 의한 감염증의 예방 또는 개선용 건강식품 조성물.

[화학식 1]



* $R_1 = CH_3$ 또는 CH_2CH_3

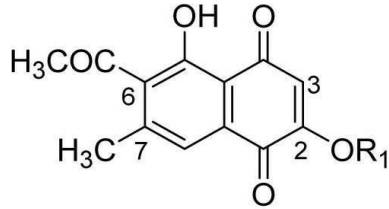
청구항 6

제5항에 있어서, 상기 감염증은 위염, 위궤양, 십이지장궤양, 비궤양소화불량 증후군, 위MALT 임파종, 위 과형성 폴립, 위암, 소화기암, 췌장염 및 염증성 장질환으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 헬리코박터 파이로리에 의한 감염증의 예방 또는 개선용 건강식품 조성물.

청구항 7

하기 화학식 1의 2-알콕시-6-아세틸-7-메틸주글론 또는 이의 염을 유효성분으로 함유하는 헬리코박터 파이로리 에 의한 감염증의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[화학식 1]



* R₁ = CH₃ 또는 CH₂CH₃

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 2-알콕시-6-아세틸-7-메틸주글론을 유효성분으로 함유하는 항헬리코박터 파이로리 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 헬리코박터 파이로리는 그람음성균, 나선형, 미호기성, 편모충으로 사람의 위 점막에 기생하는 병원균이다. 헬리코박터 파이로리는 우레아제(urease)를 생성하여, 위의 우레아(urea)를 분해하여 암모니아와 이산화탄소를 만들고, 이렇게 만들어진 암모니아는 위의 산성 환경을 중화시킨다. 이 박테리아는 VacA(vacuolating toxin) 독소를 생산하며, CagA(cytotoxin-associated gene) 유전자에 의하여 만들어진 생성물들이 독성을 유발하는 역할을 하는 것으로 보고되어있다. 헬리코박터 파이로리는 만성위염 환자의 위 유문 부분에서 1983년 Warren과 Marshall에 의해서 발견되었으며, 위염, 십이지장궤양, 위암 등의 위장관 질환의 원인으로 알려져 있다. 또한, 최근 연구 결과 만성 C형 간염과 파킨슨병과 같은 다른 질병과 헬리코박터 파이로리와 연관성이 있는 것으로 알려졌다.

[0003] 헬리코박터 파이로리의 감염 치료방법으로는 프로톤 펌프 억제제와 아목시실린(amoxicillin)에 클라리스로마이신(clarithromycin) 또는 메트로니다졸(metronidazole)을 처방하는 삼중요법과 이들을 차례로 처방하는 순차적인 치료법(sequential therapy), 그리고 차살리실산 비스무트(bismuth subsalicylate)와 삼중요법을 함께 사용하는 사중요법 또는 차살리실산 비스무트에 기초한 순차적인 치료방법(bismuth subsalicylate-based sequential therapy)이 있지만, 클라리스로마이신의 내성과 재발, 구토나 설사 같은 부작용이 여전히 존재한다. 그러므로, 기존에 보고된 항균물질과 달리 부작용이 없고 내성이나 안정성에 대한 문제가 대두되지 아니하며, 복용이 용이한 헬리코박터 파이로리 항균 조성물에 대한 개발 요구가 커지고 있는 실정이다. 특히, 부작용이 적으면서, 보조제로 사용할 수 있는 천연물을 위주로 헬리코박터 파이로리에 대한 항균활성을 갖는 물질에 대한 연구가 절실하게 요구되고 있다.

[0004] 호장근(*Polygoni cuspidatum*)은 마디풀과(Polygonaceae)에 속하는 키가 큰 다년생 초본이다. 이 식물의 줄기는 곧게 자라고 속이 비어 있으며, 마디는 붉은색 또는 보라색의 반점이 있다. 이 식물은 아시아 또는 북미에 넓게 분포한다. 뿌리는 이차대사산물인 에모딘(emodin), 폴리다틴(polydatin), 레스베라트롤(resveratrol), 피지온(physcion)과 안트라글리코시드 B(anthraglycoside B)를 주로 함유하고 있는 것으로 알려져 있다. 최근까지 퀴논(quinones), 스틸벤(stilbenes), 플라보노이드(flavonoids), 쿠마린(coumarins), 리그난(lignans) 등의 67개가 넘는 화합물이 분리, 보고되어있다. 한편, 호장근을 포함하는 백가지 이상의 처방이 염증, 황달 또는 피부발진 등에 사용되어 왔으며 최근에는 호장근의 항염증, 항산화, 항암, 지방 조절작용과 항세균, 항바이러스, 항진균활성이 보고되었다.

[0005] 본 발명에서는 항헬리코박터 파이로리에 강한 효과를 보이는 호장근의 뿌리 70% 에탄올 추출물로부터 생리활성

성분을 분리하여 그 구조를 동정하였고, 이들 물질에 대해 항헬리코박터 파이로리 활성을 평가하였다.

[0006] 한국등록특허 제1032066호에는 '호장근 추출물, 이의 분획물 또는 스틸벤계 화합물을 포함하는 감기의 예방 및 치료용 약학 조성물'이 개시되어 있고, 한국공개특허 제1077202호에는 '감염으로부터 추출된 헬리코박터 파이로리균에 대한 항균성추출물'이 개시되어 있으나, 본 발명의 2-알콕시-6-아세틸-7-메틸주글론을 유효성분으로 함유하는 항헬리코박터 파이로리 조성물에 대해서는 기재된 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명은 항헬리코박터 파이로리에 강한 효과를 보이는 호장근의 70% 에탄올 추출물로부터 9종의 생리활성성분을 분리하여 그 구조를 동정하였고, 이들 물질 중 2-메톡시-6-아세틸-7-메틸주글론 및 2-에톡시-6-아세틸-7-메틸주글론이 우수한 항헬리코박터 파이로리 활성을 가짐을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 2-알콕시-6-아세틸-7-메틸주글론 또는 이의 염을 유효성분으로 함유하는 항균 조성물을 제공한다.

[0009] 또한, 본 발명은 2-알콕시-6-아세틸-7-메틸주글론 또는 이의 염을 유효성분으로 함유하는 헬리코박터 파이로리에 의한 감염증의 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은 2-알콕시-6-아세틸-7-메틸주글론 또는 이의 염을 유효성분으로 함유하는 헬리코박터 파이로리에 의한 감염증의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0011] 본 발명의 2-알콕시-6-아세틸-7-메틸주글론은 헬리코박터 파이로리에 대한 우수한 항균 활성을 나타냄을 확인함으로써 헬리코박터 파이로리에 의한 감염증의 예방, 개선 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있을 뿐만 아니라 천연물로부터 유래하여 부작용을 발생시키지 않고 항생제 내성의 문제도 발생시키지 아니하므로 기능성 식품 또는 약학 조성물로 효과적으로 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 호장근으로부터 분리한 화합물 1 내지 9의 화학적 구조를 나타낸다.

도 2는 호장근으로부터 분리한 화합물 1 내지 9의 항헬리코박터 활성을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 2-알콕시-6-아세틸-7-메틸주글론 또는 이의 염을 유효성분으로 함유하는 항균 조성물을 제공한다.

[0014] 본 발명의 상기 2-알콕시-6-아세틸-7-메틸주글론은 2-메톡시-6-아세틸-7-메틸주글론 또는 2-에톡시-6-아세틸-7-메틸주글론일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0015] "항균(antimicrobial)"의 의미는 어떤 농도에서 미생물의 성장 또는 생존을 감소, 방지, 억제, 또는 제거하는 능력을 의미하며, 바람직하게는 항세균(anti-bacterial)을 의미할 수 있으며, 바람직하게는 헬리코박터균일 수 있으며, 더 바람직하게는 헬리코박터 파이로리일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0016] 본 발명의 일 구현예에서 2-알콕시-6-아세틸-7-메틸주글론은 헬리코박터 파이로리에 대하여 항균 효과를 가지는 것을 특징으로 한다.

[0017] 본 발명의 2-알콕시-6-아세틸-7-메틸주글론은 호장근 추출물로부터 분리·정제하거나 화학적으로 합성할 수 있으며, 바람직하게는 호장근 추출물로부터 분리할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 화합물의 화학적 합성 방법은 당업계에 공지된 일반적인 방법을 이용할 수 있다.

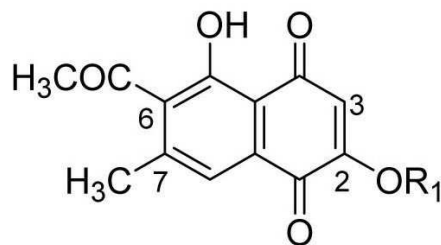
[0018] 본 발명에 따른 호장근 추출물은 다양한 식물 조직을 유기용매로 추출함으로써 제조할 수 있다. 바람직하게는

호장근 뿌리일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 본 발명에서 추출용 유기용매로는 *n*-헥산, 에틸아세테이트, 아세톤, 부탄올, 에탄올과 같은 용매를 단독으로 사용할 수 있다. 본 발명에서는 또한 당분야에서 통상적으로 사용되는 분획 공정을 수행할 수도 있다. 바람직하게는 호장근에 에탄올을 가하여 수득한 에탄올 추출물에 에틸아세테이트를 첨가하여 분획화한 분획물일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0019] 상기 화합물은 호장근 식물 조직의 유기용매 추출물을 컬럼 크로마토그래피로 분획하여 분리·정제하는 단계를 포함하는 방법에 의해 제조될 수 있다. 이때, 사용가능한 컬럼은 실리카겔 컬럼, 역상실리카겔 컬럼 또는 세파텍스 컬럼 등이 있고, 용출액으로는 헥산, 에틸 아세테이트, 클로로포름, 메틸렌클로라이드, 아세톤, 저급알콜 등과 같은 유기용매 및 이들의 혼합액을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 *n*-헥산, 에틸아세테이트, 아세톤, 메탄올일 수 있으나, 가장 바람직하게는 에틸아세테이트이다.

[0020] 본 발명의 일 구현예에서는 호장근의 에틸아세테이트 분획물로부터 항헬리코박터 활성을 가지는 9종의 활성 화합물을 동정하였으며, 그 중 하기 화학식 1로 표시되는 2-메톡시-6-아세틸-7-메틸주글론 및 2-에톡시-6-아세틸-7-메틸주글론의 2-알콕시-6-아세틸-7-메틸주글론 화합물이 가장 우수한 항헬리코박터 활성을 가짐을 확인하였다. 이는 본 발명자에 의해 2-알콕시-6-아세틸-7-메틸주글론의 활성이 처음으로 보고되었다.

화학식 1



* $R_1 = CH_3$ 또는 CH_2CH_3

[0022] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1의 2-알콕시-6-아세틸-7-메틸주글론 또는 이의 염을 유효성분으로 함유하는 헬리코박터 파이로리에 의한 감염증의 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

[0023] 본 발명의 화합물은 헬리코박터 파이로리아에 의한 감염증을 예방 또는 개선하기 위해 유효하다. 본 발명에 있어서, 헬리코박터 파이로리아에 의한 감염증은 생체 내에 있어서의 헬리코박터 파이로리의 감염, 생존 또는 증식에 의해 야기 또는 악화되는 질병이며 헬리코박터 파이로리를 제거하는 것에 의해 증상이 개선될 수 있는 질병이다. 이러한 질병으로 예를 들어, 위염, 위궤양, 십이지장궤양, 비궤양소화불량 증후군, 위MALT 임파종, 위 과형성 폴립, 위암, 소화기암, 췌장염, 염증성 장질환 등을 들 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0024] 또한, 헬리코박터 파이로리아에 의한 감염증 예방 또는 개선의 효과를 목적으로 본 발명의 화합물을 식품 또는 음료에 첨가할 수 있다. 식품 또는 음료 중의 상기 화합물의 양은 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 중량%로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물은 100ml를 기준으로 0.02 내지 5g, 바람직하게는 0.3 내지 1g의 비율로 가할 수 있다.

[0025] 본 발명의 건강 기능성 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 화합물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 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, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물, 예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100ml당 일반적으로 약 1 내지 20g, 바람직하게는 약 5 내지 12g이다.

[0026] 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. 그 밖에 본 발명의 상기 조성물은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있으며, 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 상기 화합물은 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

- [0027] 본 발명의 건강식품은 유제품, 발효유, 드링크제, 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 껌류, 아이스크림류, 스프, 음료수, 알코올 음료 및 비타민 복합제로 구성되는 군으로부터 선택되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0028] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1의 2-알콕시-6-아세틸-7-메틸주글론 또는 이의 염을 유효성분으로 함유하는 헬리코박터 파이로리에 의한 감염증의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0029] 본 발명의 약학 조성물에서, 상기 헬리코박터 파이로리에 의한 감염증에는 위염, 위궤양, 십이지장궤양, 비궤양 소화불량 증후군, 위MALT 임파종, 위 과형성 폴립, 위암, 소화기암, 췌장염, 염증성 장질환 등을 들 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0030] 본 발명의 약학 조성물은, 조성물 총 중량에 대하여 상기 화합물을 0.02 내지 80 중량%, 바람직하게는 0.02 내지 50 중량%로 포함할 수 있다.
- [0031] 본 발명의 상기 화합물을 포함하는 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하여 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.
- [0032] 본 발명의 상기 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.
- [0033] 본 발명에 따른 상기 화합물을 포함하는 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 상기 화합물을 포함하는 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 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 등을 포함한 다양한 화합물 혹은 혼합물을 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제에는 상기 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 올리고당, 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수용성제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수용성제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propyleneglycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0034] 본 발명의 상기 화합물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나, 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 상기 화합물은 1일 0.0001 내지 100mg/kg으로, 바람직하게는 0.001 내지 100mg/kg으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0035] 본 발명의 상기 화합물은 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(intracerebroventricular) 주사에 의해 투여될 수 있다.
- [0036] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0037] **재료 및 방법**

[0038] **1. 기기 및 시약**

[0039] 핵자기공명 분광기(Nuclear magnetic resonance(NMR) spectrometer)는 Bruker DRX-300과 DRX-500 spectrometer(독일)를 사용하였다. FAB/MS와 EI/MS는 JEOL JMS-700(Akishima, 일본)으로부터 얻었다. MPLC(Medium pressure liquid chromatography)에는 YMC GEL ODS-A(12 nm, S-150 M)(YMC Co. Ltd., 일본)와 25 g Biotage Isolera One system(미국)을 사용하였다. TLC는 Silica gel 60 F₂₅₄(Merck, 독일)를 사용하였다. 컬럼 크로마토그래피(Column chromatography)는 silica gel 60(0.063-0.43 mm; Merck KGaA, 독일)과 Sephadex LH-20(GE Healthcare, 스웨덴)을 사용하였다. 헬리코박터 파이로리의 배양에는 CO₂ incubator ASTEC SCA-80DS(일본) 모델을 사용하였다. 표준물질로 사용한 퀘르세틴(quercetin)은 Sigma(미국) 제품을 사용하였다. 그 외 시약은 특급제품을 사용하였다.

[0040] **2. 식물 재료**

[0041] 호장근의 뿌리는 2013년 10월에 경동시장(서울 제기동)에서 구매하였다. 식물의 감정은 경상대학교 약학대학 안미정 교수가 하였다. 표본(No. GSC-104)은 경상대학교 약학대학 식물표본실에 보관하고 있다.

[0042] **3. 식물의 추출 및 성분분리**

[0043] 건조된 호장근 뿌리(4 kg)를 곱게 분쇄하여, 실온에서 70% 에탄올로 추출하였다. 이 에탄올 추출물을 감압농축하여 조추출물 1.12 kg을 얻었다. 여기에 증류수를 가하여 현탁시킨 후 *n*-헥산, 에틸아세테이트, *n*-부탄올로 차례로 분획하여 *n*-헥산 분획물(14.6 g), 에틸아세테이트 분획물(407 g), *n*-부탄올 분획물(174 g)과 수층(468 g)을 각각 얻었다. 이 중에서 에틸아세테이트 분획물에 대하여 헥산, 메틸렌클로라이드, 메탄올을 혼합전개용매(1:1:0→0:1:0→MeOH)로 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 실시하여 7개의 분획물(fr.1~fr.7)을 얻었다. 그 중 fr.2와 fr.3에 대하여 헥산과 에틸아세테이트를 혼합전개용매(100:0→0:100)로 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 각각 실시하여 소분획물 fr.2a~fr.2c와 fr.3a~fr.3b를 얻었다. Fr. 2b로부터 화합물 1(894 mg)을, fr.2b로부터 화합물 2(18 g)를 재결정을 통하여 분리하였다. 화합물 7(80 mg)은 fr.3a로부터 헥산과 메틸렌클로라이드를 전개용매로 하여 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 실시하여 분리하였다. 화합물 8(7 mg)과 화합물 9(10 mg)는 fr.3a로부터 헥산과 메틸렌클로라이드를 전개용매로 하여 실리카겔 크로마토그래피를 실시한 후 메탄올을 전개용매로 하여 Sephadex LH-20 컬럼크로마토그래피를 실시하여 얻었다. 그 외 다른 두 개의 fr.4와 fr.5에 대하여 메틸렌클로라이드와 메탄올을 전개용매로 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 실시하여 소분획물 fr.4a~fr.4e와 fr.5a~fr.5c로 각각 나누었다. 이 중에서 소분획물 fr.4c, fr.5a, fr.5b로부터 재결정을 통하여 화합물 3(345 mg)과 4(42 mg), 5(120 mg)를 각각 얻었다. 소분획물 fr.5c에 대하여 물과 메탄올을 용출용매로 MPLC를 실시하여 화합물 6(11g)을 얻었다.

[0044] **피지온(Physcion)(1)** - Yellowish powder, C₁₆H₁₂O₅; EI-MS(*m/z*): 284 [M]⁺; ¹H-NMR(CDC₃, 300MHz): 12.34(1H, s, 1-OH), 12.14(1H, s, 8-OH), 7.64(1H, d, *J* = 1.2 Hz, H-4), 7.38(1H, d, *J* = 2.6 Hz, H-5), 7.10(1H, d, *J* = 1.2 Hz, H-2), 6.70(1H, d, *J* = 2.6 Hz, H-7), 3.96(3H, s, 6-OCH₃), 2.47(3H, s, 3-CH₃); ¹³C-NMR(CDC₃, 125MHz): 표 2.

[0045] **에모딘(Emodin)(2)** - Orange needles, C₁₅H₁₀O₅; EI-MS(*m/z*): 270 [M]⁺; ¹H-NMR(DMSO-*d*₆, 300MHz): 12.07(1H, s, 1-OH), 12.01(1H, s, 8-OH), 7.46(1H, brd, H-4), 7.15(1H, brd, H-2), 7.09(1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-5), 6.57(1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-7), 2.47(3H, s, 3-CH₃); ¹³C-NMR(DMSO-*d*₆, 125MHz): 표 2.

[0046] **안트라글리코시드 B(Anthraglycoside B)(3)** - Yellowish powder, C₂₁H₂₀O₁₀; FAB-MS(*m/z*): 433.2 [M+H]⁺; ¹H-NMR(DMSO-*d*₆, 500MHz): 13.23(1H, brs, OH-1), 7.46(1H, brs, H-4), 7.27(1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-5), 7.16(1H, br s, H-2), 6.98(1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-7), 5.05(1H, d, *J* = 7.6 Hz, H-1), 3.72 ~ 3.24(glc-H 2 ~ 6), 2.41(3H, s, 3-CH₃); ¹³C-NMR(DMSO-*d*₆, 125MHz): 표 2.

[0047] **트랜스-레스베라트롤(trans-resveratrol)(4)** - Pale white powder, C₁₄H₁₂O₃; EI-MS(*m/z*): 228 [M]⁺; ¹H-

NMR(DMSO- d_6 , 500MHz): 9.54(4-OH), 9.18(3,5-OH), 7.39(2H, d, J = 8.6 Hz, H-2, 6), 6.93(1H, d, J = 16.5 Hz, H-b), 6.81(1H, d, J = 16.5 Hz, H-a), 6.75(2H, d, J = 8.6 Hz, H-3, 5), 6.38(2H, d, J = 2.0 Hz, H-2, 6), 6.12(1H, t, J = 2.0 Hz, H-4); ^{13}C -NMR(DMSO- d_6 , 125MHz): 표 2.

[0048] **안트라글리코시드 A(Anthraglycoside A)(5)** - Yellowish powder, $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$; ESI-MS(m/z): 445.1 [MH] $^+$; ^1H -NMR(DMSO- d_6 , 500MHz): 13.10(1-OH), 7.50(1H, brs, H-4), 7.37(1H, brd, H-5), 7.19(2H, brd, H-2,7), 5.18(1H, d, J = 7.7 Hz, H-1), 3.51 ~ 3.19(glc-H 2 ~ 6), 3.97(3H, s, 6-OCH $_3$), 2.41(3H, s, 3-CH $_3$); ^{13}C -NMR(DMSO- d_6 , 125MHz): 표 2.

[0049] **폴리다틴(Polydatin)(6)** - White powder, $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_8$; FAB-MS(m/z): 390.1 [M] $^+$; ^1H -NMR(DMSO- d_6 , 500MHz): 7.40(2H, d, J = 8.6 Hz, H-2, 6), 7.03(1H, d, J = 16.3 Hz, H-b), 6.87(1H, d, J = 16.3 Hz, H-a), 6.76(2H, d, J = 8.6 Hz, H-3, 5), 6.74(1H, br t, H-2), 6.57(1H, br t, H-6), 6.34(1H, br t, H-4), 4.81(1H, d, J = 7.6 Hz, glc H-1), 3.18 ~ 3.49(glc H-2 ~ 6); ^{13}C -NMR(DMSO- d_6 , 125MHz): 표 2.

[0050] **2-메톡시-6-아세틸-7-메틸주글론(2-Methoxy-6-acetyl-7-methyljuglone)(7)** Red needles, $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_5$; EI-MS(m/z): 260 [M] $^+$; ^1H -NMR(CDC Cl_3 , 300MHz): 12.53(1H, s, 5-OH), 6.13(1H, s, H-3), 7.54(1H, s, H-8), 3.95(3H, s, 2-OCH $_3$), 2.61(3H, s, 6-COCH $_3$), 2.37(3H, s, 7-CH $_3$); ^{13}C -NMR(CDC Cl_3 , 125 MHz): 표 2.

[0051] **시트레오로세인(Citreorsein)(8)** Yellow powder, $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$; EI-MS(m/z): 286 [M] $^+$; ^1H -NMR(DMSO- d_6 , 300MHz): 12.10(2H, s, 1,8-OH), 7.65(1H, brs, H-4), 7.26(1H, brs, H-2), 7.13(1H, d, J = 2.4 Hz, H-5), 6.59(1H, d, J = 2.4 Hz, H-7), 4.61(2H, s, 3-CH $_2$); ^{13}C -NMR(DMSO- d_6 , 125MHz): 표 2.

[0052] **2-에톡시-6-아세틸-7-메틸주글론(2-Ethoxy-6-acetyl-7-methyljuglone)(9)**

[0053] Yellow powder $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_5$; EI-MS(m/z): 274 [M] $^+$; ^1H -NMR(CDC Cl_3 , 300MHz): 12.56(1H, s, 5-OH), 7.53(1H, s, H-8), 6.10(1H, s, H-3), 4.14(1H, q, J = 7.0 Hz, 2-OCH $_2$ CH $_3$), 2.61(3H, s, 6-COCH $_3$), 2.38(3H, s, 7-CH $_3$), 1.56(3H, t, J = 7.0 Hz, 2-OCH $_2$ CH $_3$); ^{13}C -NMR(CDC Cl_3 , 125MHz): 표 2.

[0054] 4. 헬리코박터 파이로리의 배양

[0055] 본 연구에 사용한 헬리코박터 파이로리 43504 균주는 헬리코박터 분리균주은행(*H. pylori* Korean Type Culture Collection, 경상대학교 의과대학, 한국)으로부터 분양받아 사용하였다. 헬리코박터 파이로리는 horse serum(Gibco, 미국)이 10% 포함된 브루셀라(Brucella) 한천 배지(BD Co., 미국)에 배양하였으며, 37°C, 습도 100%와 10% CO $_2$ 조건의 배양기에서 2~3일간 계대배양하였다.

[0056] 5. 종이 디스크 확산 분석(Paper disc diffusion assay)

[0057] 총 추출물과 각 분획물에 대한 항헬리코박터 파이로리 활성은 종이 디스크에 추출물을 침윤시켜 측정하는 방법을 사용하였다. 즉, 각 시료를 DMSO에 녹여 20 μl 씩 종이 디스크(8 mm 지름, 0.7 mm 두께; Advantec, 일본)에 흡습시켰다. 시료의 농도는 10 mg/ml이었고, 24시간 배양하면서 생장억제 영역(inhibition zone, clear zone)을 측정하였다. 양성대조군과 음성대조군으로 퀘르세틴과 DMSO를 각각 사용하였다.

[0058] 6. 최소생장억제 농도의 측정

[0059] 액체배지 확산(broth dilution) 방법을 사용하여 최소생장억제농도(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)를 측정하였다. 박테리아의 성장이 억제되는 최소 농도를 24시간에서 48시간동안 배양하면서 600 nm에서 흡광도(Optical density)를 측정하여 MIC값을 측정하였다. MIC $_{50}$ 과 MIC $_{90}$ 은 각각 50%, 90% 성장을 억제시키는 최소농도를 의미하고, 각각의 값은 GraphPad Version 5.01(GraphPad Software, Inc., 미국)로 구하였다. 모든 실험은 2번의 독립적인 실험을 하였고, 3반복 측정하여 값을 구하였다.

[0060] 실시예 1. 호장근 추출물 및 분획물의 항헬리코박터 파이로리 활성 확인

[0061] 호장근의 추출물과 분획물의 항헬리코박터 파이로리 활성평가는 종이디스크 방법을 이용하였다. 그 결과, 총 추출물, 헥산 분획물과 에틸아세테이트 분획물이 대조군인 퀘르세틴보다 더 큰 생장억제영역을 보였고, 부탄올 분획물과 수층은 퀘르세틴과 비슷한 억제활성을 보였다(표 1).

표 1

호장근 추출물 및 분획물의 항헬리코박터 파이로리 활성 측정

시료	DMSO	퀘르세틴	총 추출물	헥산 분획물	에틸아세테이트 분획물	부탄올 분획물	수층
Clear zone(mm)	-	11	16	19	21	12	10

[0062]

[0063] 실시예 2. 호장근 에틸아세테이트 분획물의 항헬리코박터 파이로리 활성성분 분리

[0064] 호장근의 추출물과 분획물 중에서 가장 큰 억제영역을 보인 에틸아세테이트 분획물에 대하여 실리카겔 컬럼크로마토그래피, 세파덱스(sephadex), MPLC와 재결정 방법으로 활성성분 분리를 수행하였다. 그 결과, 5가지 안트라퀴논(anthraquinone) 화합물과 2가지 스틸벤 화합물, 1가지 나프토퀴논(naphthoquinone) 화합물을 순수분리하였고, UV, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, MS 데이터를 기반으로 하여 각 화합물의 화학구조를 피지온(1), 에모딘(2), 안트라글리코시드 B(에모딘-8-O-D-글루코시드)(3), 트랜스-레스베라트롤(4), 안트라글리코시드 A(피지온-8-O-D-글루코시드)(5), 폴리다틴(트랜스-레스베라트롤-3-O-D-glucoside)(6), 2-메톡시-6-아세틸-7-메틸주글론(7)과 시트레오로세인(8)과 2-에톡시-6-아세틸-7-메틸주글론(9)으로 동정하였다(도 1 및 표 2).

표 2

화합물 1~9의 ¹³C-NMR chemical shifts

C	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	165.2	164.9	162.2	139.7	161.2	139.8	179.1	161.9	179.2
2	121.3	120.9	124.6	104.7	124.7	103.2	161.0	121.2	160.3
3	148.5	148.7	147.3	159.0	147.6	159.4	109.6	153.2	109.9
4	124.5	124.6	119.7	102.2	119.8	105.2	190.3	117.5	190.5
5	108.2	109.4	109.1	159.0	107.0	158.8	158.1	109.3	158.1
6	162.5	161.9	165.5	104.7	165.2	107.7	130.5	165.0	130.6
7	106.8	108.4	108.9		108.7		143.5	108.4	143.4
8	166.6	166.3	161.7		162.2		121.6	166.3	121.6
9	190.8	190.6	186.7		187.0		136.7	190.0	130.6
10	182.1	181.8	182.7		182.4		112.4	181.9	112.4
4a	133.2	133.3	132.6		132.6			133.4	
8a	110.3	109.3	113.4		115.0			109.5	
9a	113.7	113.8	115.0		114.9			114.6	
10a	135.3	135.5	136.9		136.8			135.6	
a				126.1		125.7			
b				128.3		128.5			
1'				128.5		129.0			
2'				128.3		128.4			
3'				116.0		116.0			
4'				157.7		157.8			
5'				116.0		116.0			
6'				128.3		128.4			
1''			101.3		101.1	101.2			
2''			73.8		73.7	73.8			
3''			76.9		77.1	77.2			
4''			69.9		70.3	70.2			
5''			77.8		77.9	77.6			
6''			61.0		61.2	61.2			
6-OCH ₃	56.1				56.6				
3-CH ₃	22.2	22.0	21.9		21.9				
2-OCH ₃							56.8		
7-CH ₃							20.0		20.0
6-COCH ₃							31.9		13.9
6-COCH ₃							202.9		203.0
3-CH ₂ OH								62.5	
2-OCH ₂ CH ₃									65.8
2-OCH ₂ CH ₃									31.9

[0065]

[0066] 실시예 3. 호장근 유래 화합물의 항헬리코박터 파이로리 활성 확인

[0067] 실시예 2에서 동정한 각 화합물에 대한 항헬리코박터 파이로리 활성을 나타내는 MIC 값은 broth dilution 방법으로 측정하였다. 그 결과, 분리한 모든 화합물의 항헬리코박터 파이로리 활성이 양성대조군인인 퀘르세틴의 MIC 값보다 낮았다(도 2 및 표 3). 그 중에서 화합물 2와 7은 강한 억제활성을 보였다. 특히 2-메톡시-6-아세틸-7-메틸주글론(7)이 가장 강한 억제능을 보였는데, MIC₅₀ 값은 0.30 μM이었으며, MIC₉₀ 값은 0.39 μM이었다. 화합물 9번의 경우 MIC₅₀의 값이 0.30 μM으로 7번 화합물과 비슷한 억제활성을 보였으나 MIC₉₀는 0.67 μM로 확인되었다. 화합물 4와 8은 MIC₅₀ 값이 각각 59.3과 37.8 μM로 화합물 2와 7 다음의 억제활성을 보였다.

표 3

화합물 1~9의 항헬리코박터 파이로리 활성

Sample	Quercetin	1	2	3	4	5	6	7	8	9
MIC (μM)	50.0	12.5	3.13	12.5	6.25	12.5	12.5	0.25	6.25	0.22
MIC ₅₀ (μM)	> 100	> 100	27.0	> 100	59.3	> 100	> 100	0.30	37.8	0.30
MIC ₉₀ (μM)	-	-	48.8	-	> 100	-	-	0.39	100	0.67

[0068]

[0069]

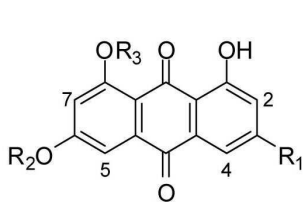
에모딘(2)과 안트라글리코시드 B(3)의 항헬리코박터 파이로리활성에 있어서의 차이점으로 보아 안트라퀴논 구조에서 α-위치가 글리코실화(glycosylation)되면 활성이 감소하는 것으로 추정하였다. 스틸벤 화합물인 트랜스-레스베라트롤(4)과 폴리다틴(6)에서도 C-3번 위치에 글리코실화가 일어나면 억제활성이 감소되는 것으로 추정할 수 있다. 피지온(1)의 경우, 에모딘(2)의 C-6 위치의 히드록실기가 메톡시기로 대체되어 지용성이 증가한 결과, 수용성 배지에서 낮은 용해성으로 인해 활성이 약한 것으로 보인다. 에모딘(2)과 시트레오로세인(8)을 비교하면, α-히드록시 안트라퀴논의 C-3 위치에 히드록시메틸(hydroxymethyl)기가 치환되면 억제활성에 낮아지는 것으로 추정할 수 있으며, 1,4-나프토퀴논의 경우 C-2 위치의 메톡시기와 C-5위치의 히드록실기가 항헬리코박터 파이로리 활성을 증가시킨다는 기존의 연구결과가 있다. 최근의 연구결과에 따르면 세포독성과 mitotoxic 작용이 없는 몇 종류의 2-hydroxy-1,4-나프토퀴논 성분들이 헬리코박터 파이로리의 성장에 필수적이고 특징적인 효소인 티미딜산 합성효소(thymidylate synthase)에 대하여 억제활성을 보였다.

[0070]

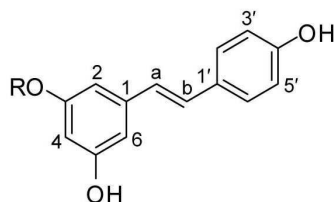
비록 호장근과 화합물 2와 4의 항헬리코박터 파이로리활성은 이전에 보고되었지만, 이 식물의 활성성분과 분리한 다른 화합물에 대한 항헬리코박터 파이로리활성은 처음 보고되는 것이다. 이상의 연구결과를 바탕으로 호장근의 뿌리 혹은 분리한 활성성분들이 헬리코박터 파이로리 감염에 유용하게 사용될 것으로 생각되며, 추후 이 활성에 대한 기전 연구가 필요할 것이다.

도면

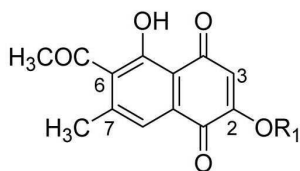
도면1



- 1 R₁=CH₃, R₂=CH₃, R₃=H
 2 R₁=CH₃, R₂=H, R₃=H
 3 R₁=CH₃, R₂=H, R₃=β-D-glc
 5 R₁=CH₃, R₂=CH₃, R₃=β-D-glc
 8 R₁=CH₂OH, R₂=H, R₃=H



- 4 R=H
 6 R=β-D-glc



- 7 R₁=CH₃
 9 R₁=CH₂CH₃

도면2

