

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 특허공보(B1)

(51) Int. Cl.⁵
C07J 5/00
C07J 9/00
C07J 53/00

(45) 공고일자 1992년08월28일
(11) 공고번호 특1992-0007235

(21) 출원번호	특1985-0003819	(65) 공개번호	특1986-0000236
(22) 출원일자	1985년05월31일	(43) 공개일자	1986년01월27일
(30) 우선권 주장	115306/84 1984년06월04일 일본(JP) 115307/84 1985년04월19일 일본(JP) 85254/85 1985년04월19일 일본(JP) 85255/85 1985년04월19일 일본(JP)		
(71) 출원인	아마노세이야꾸 가부시끼가이샤 아마노 모토히로 일본국 아이찌켄 나고야시 나가꾸 니시끼 1쵸메 2-7		
(72) 발명자	기무라 고오로 일본국 가나가와켄 가마꾸라시 오마찌 4쵸메 14-12 히로세 요시히코 일본국 기후켄 오가끼시 나가마쓰쵸 733 요시다 구미 일본국 아이찌켄 아마군 사야마찌 오하자 오오노 아자야마 1821-20 구즈야 후미오 일본국 아이찌켄 나고야시 쇼와구 모토미야쵸 5-38 후지따 가쓰나리 일본국 아이찌켄 아이찌군 도오고쵸 시라토리 4쵸메 1-1		
(74) 대리인	이준구, 백락신		

심사관 : 송재욱 (책자공보 제2918호)

(54) 유기산의 트리테르페닐 에스테르의 제조방법

요약

내용 없음.

명세서

[발명의 명칭]

유기산의 트리테르페닐 에스테르의 제조방법

[발명의 상세한 설명]

본 발명은 항-과지방혈증작용(anti-hyperlipidemic activity)을 갖는 신규 화합물들의 제조방법, 특히 우수한 항-과지방혈증 작용 및 낮은 독성을 갖는 신규의 유기산의 트리테르페닐 에스테르[페룰산(4-히드록시-3-메톡시신남산)의 트리테르페닐 에스테르, 일염기성 및 이염기성 포화 지방산의 트리테르페닐 에스테르 제외] 및 상기 에스테르의 제조방법에 관한 것이다.

또한 본 발명은 상술한 신규 화합물 및 공지의 화합물(페룰산 또는 일염기성 포화 지방산의 시클로아르테닐-, 시클로브라닐- 및 24-메틸렌시클로아르타닐 에스테르, 및 시클로브라놀)을 함유하는 지방혈증감소제(hypolipidemic agents) 및 항-아테롬성 동맥경화증 약제에 관한 것이다.

보다 상세히는, 본 발명은 과지방혈증(hyperlipidemia) 또는 과지방단백질혈증(hyperlipoproteinemia)의 치료를 위한 우수한 효력 및 낮은 독성을 갖는 약제, 즉, 유기산의 트리테르페닐 에스테르, 바람직하게는 트리테르페닐 알콜 및 페룰산 또는 일염기성 포화 C₄-C₂₀ 지방산의 에스테르를 함유하는 유기산의 시클로 아르테닐-, 시클로브라닐- 및 24-메틸렌시클로아르파닐 에스테르, 및 시클로브라놀 단독을 중요한 활성 성분으로 함유하는 안전하며 신규의 지방혈증억제 및 항아테롬성 동맥경화증 약제에 관한 것이다.

과지방혈증 또는 과지방단백질혈증은 동맥경화증의 일종인 아테롬성동맥경화증, 특히 관상동맥성 심장질환을 유발하는 가장 중요한 요인들중의 하나로 알려져 있다. 밀러 및 밀러(G. J. 밀러 및 N. E. 밀러, Lancet Jan. 4권, 16페이지, 1975년)는 혈장내의 고밀도 지방단백질 콜레스테롤(이하에서는 HDL-C이라 기재함)과 신체내의 콜레스테롤 푸울간의 역상관 관계 및 전체 콜레스테롤(이하에서는 TC라 언급함)의 농도 또는 다른 지방단백질의 농도와 콜레스테롤 푸울과는 관련이 없다는 것을 관찰하고, 그로부터 혈액

내의 HDL-C 농도의 감소에 의해 유발되는 동맥으로 부터의 콜레스테롤 청소율의 감소는 동맥경화를 촉진한다는 이론을 주장했다. 상기 이론이 주장된 이후로, 많은 역학적 연구들(예, T. 고르돈외, Am, J. Med., 62권, 707페이지, 1977년)로부터 허혈성 심장질환의 발병과 HDL-C 농도와 역상관 관계가 존재함이 증명됐고, 항-과지방혈증 약제의 존재 또는 부재와 관계없이 혈액내의 HDL-C 농도의 감소가 허혈성 심장질환을 유발하는 가장 중요한 요인들 중의 하나임이 확인됐다. 피토스테롤이 혈청내의 콜레스테롤 함유량을 감소시킨다는 것은 널리 알려져 있다. 예를들면, β -시토스테롤 및 디히드로-f-시토스테롤의 혼합물[미합중국, 릴리(Lilly)상사가 시텔린(Cytellin)이라는 상표로 판매] 및 소이스테롤, 피토스테롤 및 토코페롤의 혼합물[일본국, 모리시타제약주식회사가 모리스테롤(Moristerol)이라는 상표로 판매]이 항-과지방혈증 약제로 시판되고 있다.

한편으로, 트리테르페닐 알콜에 관하여 하기에 기재한다.

일본국 특허 출원 공개 제 18617/1982에는, 피토스테롤(1부)을 시클로아르테놀 또는 24-메틸렌시클로아르타놀(0.01-0.1부)과 함께 사용하면 상승작용에 의해 피토스테롤을 단독으로 사용할 경우보다 혈청 콜레스테롤을 감소시키는데 있어서 보다 강력한 작용을 나타낸다는 것이 기재되어 있다.

일본국 특허 출원 공개 제 116415/1983에는 또한, 피토스테롤(100부)을 시클로아르테놀, 24-메틸렌시클로아르타놀, 또는 시클로란데놀(1-20부, 특히 약 5부)과 함께 사용할 경우 피토스테롤을 단독으로 사용할 경우보다 상승효과에 기인하여 보다 강력한 혈청 콜레스테롤 감소작용이 관찰된다고 기재되어 있다. 특히, 시클로아르테놀이 피토스테롤의 혈청 콜레스테롤 감소작용에 대한 상승효과를 갖는 반면, 24-메틸렌시클로아르타놀 및 시클로란데놀은 시클로아르테놀 보다 약한 상승효과를 갖는다.

일본국 특허 출원 공개 제 27824/1984에는, 0.5%의 콜레스테롤을 함유하는 음식물에 1%의 시클로아르테놀 또는 24-메틸렌 시클로아르타놀을 가할 경우, 고-콜레스테롤 함유 음식물과 비교할때 TC감소 백분율이 각각 13.7% 및 10.2%임이 기재되어 있다(상기한 특허 공개 공보의 표 2에 기재된 데이터로 부터 본 발명자들이 계산함).

그러나 상기한 3개의 특허 출원에 혈청내의 TC 감소작용에 대해 기재되어 있는 반면, 트리글리세리드(이하에서는 TG로 기재함), 전체 인지질(이하에서는 PL로 기재함), HDL-C, 아테로게닉 지표[atherogenic index, (TC-HDL-C)/(HDL-C), 이하에서는 AI로 기재함, 일부 일본국 의학자들은 AI를 콜레스테롤 비율 또는 동맥경화증 지표라 기재] 및 리퍼드 퍼옥시드(이하에서는 LPO로 기재함)는 기재되어 있지 않다.

시클로아르테놀, 24-메틸렌시클로아르타놀 및 시클로라우데놀은 단독으로, 또는 피토스테롤과 함께 혈청내의 TC를 감소시킨다는 사실로 부터, 상기 트리테르페닐 알콜들이 또한 과지방혈증 증상의 진단 및 치료에 중요한 혈청 지질 TG, PL 및 LPO와 같은 다른 요인들을 감소시키는 작용을 갖는다는 점 및 상기 알콜들이 HDL-C 증가 효력을 갖는다는 점은 확실하지 않으므로, 오늘날 과지방혈증 치료 또한 AI감소작용에 특히 중요하게 간주된다. 유추하여 상기한 전반적인 약학적 작용을 예언하는 것은 불가능하다. 위플라쉬(whiplash) 증상(두부 또는 경부 손상)의 치료제로 오늘날 일본에서 시판되고 있는 γ -오리자놀은 단일 성분이 아닌 각종 페룰산의 피토스테릴 및 트리테르페닐 에스테르의 혼합물로 구성되어 있다. γ -오르가놀의 한 예로는 페룰산의 캄페스테릴(14%), 스티그마스테릴(1%), β -시토스테릴(4%), 시클로아르타닐(2%), 시클로아르테닐(35%) 및 24-메틸렌시클로아르타닐(44%)에스테르가 함유되어 있고 페룰산의 시클로브라닐에스테르는 거의 함유되어 있지 않다.

최근에 과지방혈증 쥐의 콜레스테롤 대사에서의 γ -오리자놀의 영향에 관한 하기 논문이 F. 쿠즈야에 의해 출판되었다. (노인병학 18권, 519~524페이지, 1980년) 상기 논문에 의하면, 0.1, 0.5 및 1%의 γ -오리자놀을 함유하는 고-콜레스테롤 먹이를 먹인 쥐에서의 TC는 γ -오리자놀을 함유하지 않는 동일한 먹이를 먹인 대조용 쥐에서의 TC와 비교할때 보다 명백히 감소되는 반면, 감소도는 투여량에 따라 변경되고; TC 감소도는 PL의 감소도보다 크고, HDL-C 감소도와 유사하며; γ -오리자놀은 AI를 변경시키지는 않고, TG를 증가시키는 경향 및 LPO감소의 뚜렷한 작용을 갖는다.

K. 미따니[도미야구 고까, 11권, 제2호, 6월, 411~416페이지(1983년)]에 의하면, 0.5, 1.0 및 2.0%의 γ -오리자놀을 함유하는 고-콜레스테롤 먹이를 먹인 쥐에서의 혈청 TC 값은 γ -오리자놀을 함유하지 않는 동일한 먹이를 먹인 대조용 쥐에서 보다 각각 8.1, 23.4 및 30.9%가 낮은 반면, 혈청 TG 및 PL값에서는 뚜렷한 감소가 관찰되지 않는다.

S. 이노우에에 의한 시상하부 비대 쥐의 과지방혈증 작용에 관한 연구[도미야구 고까, 11권, 제2호, 6월, 417~428페이지(1983년)]에 의하면, γ -오리자놀은 혈액내의 TG가 아닌 TC 감소작용을 갖고 혈액내의 PL 및 HDL-C에 대하여는 효력을 갖지 않는다.

유기산에 대하여, R.D. 샤르마[아테롬성동맥경화, 37권, 463~468페이지(1980년)]에 의하면, 0.2%의 유기산을 함유하는 고-콜레스테롤 먹이를 먹인 쥐에서는, 하기 유기산을 함유하지 않는 동일한 먹이를 먹인 대조용 쥐에서의 TC레벨을 기준으로 페룰산일 경우 10.8%, p-쿠마르산일 경우 9.4%의 TC레벨이 크게 감소되고; TG레벨 감소도는 페룰산일 경우 18.7%, p-쿠마르산일 경우 19.8%이나, 상기 값들은 중요하지 않으며; 상기한 두가지 산들에서 PL 감소도는 거의 관찰되지 않고; 바닐산, 카페산 또는 신남산에서 TC, TG 또는 PL 감소는 관찰되지 않는다.

유기산이 단독으로 사용되지는 않지만, γ -메틸신남산 유도체의 항-과지방혈증 작용에 관한 하기 논문들을 소개한다. K. 다카시마[생화학적 약학, 27권, 2631페이지 (1978년)]는 α -모노-P-미리스틸옥시 α '-메틸신나모일글리세롤의 항-과지방혈증 작용을 설명한다. T. 와타나베[의화학 잡지, 23권, 50페이지(1980년)]는 알콕시 치환체에서 알킬 분자체가 2-프로페닐, C₈~C₁₈알킬 또는 페닐인 P-알콕시-신남산, P-알콕시- α -메틸신남산; o-, p- 및 m-미리스틸옥시신남산; 알콕시 치환체의 알킬 분자체가 C₁₂ 또는 C₁₄알킬인 m-메톡시-P-알콕시- α -메틸신남산; 알콕시치환체의 알킬 분자체가 2-프로페닐, 메틸, 부틸 또는 C₈~C₁₈알킬이고, 에스테르의 알코올성 잔기가 클로로에틸, 메타릴옥시에틸, 모노글리세리드 잔

기, 디글리세리드 잔기 등인 P-알콕시신나메이트 및 P-알콕시- α -메틸신나메이트의 상세한 합성방법 및 상기 화합물들의 항-과지방혈증 작용을 설명한다. T, 와타나베는 또한, 알콕시 치환체의 알킬분자체가 $C_8 \sim C_{16}$ 알킬인 p-알콕시- α -메틸신나메이트의 제조방법을 설명한다(일본국 특허 공고 제45582/1976). T. 오따(일본국 특허 출원 공개 제80370/1982)는 α -메틸-P-피리딜옥시신나메이트 및 α -메틸-P-피리딜알킬 옥시신나메이트 및 이들의 ($C_1 \sim C_3$ 알킬)에스테르, 상기 화합물들의 제조방법 및 상기 화합물들을 함유하는 항-과지방혈증 조성물을 설명한다.

최근에, 그릴, H[일본국 특허출원 공개 제 25953/1985; 독일연방공화국 출원 제3326164.4(1983년 7월 20일)]는 N-카르복시메틸-4-(2-히드록시-4-페닐부톡시)벤즈아미드 및 4-[4-(4'-t-부틸페닐)-2-옥소부톡시]벤조산과 같은 P-알콕시벤조산 유도체, 상기 유도체의 제조방법 및 상기 유도체를 함유하는 항-과지방혈증 조성물을 설명한다.

또한, 과거에 일반적으로 지방혈증감소약제 또는 저콜레스테롤혈증 보조약으로 알려진 각종 물질들을 경구 투여하여 혈액내의 콜레스테롤, 인지질 및 트리글리세리드의 레벨을 감소시키려는 시도가 행해졌다. 오늘날 클로피브레이트, D-티록신, 콜레스티라민 및 가중 니코틴산-유도체와 같은 각종 합성 지방혈증 감소약제가 시판되고 있다.

상승된 혈액지질의 감소 및 혈액-지방단백질 양상의 변경을 가능케하는 약제의 개발이 의학적인 관점에서 아테롬성동맥경화증의 예방 및 치료를 위해 극히 중요하게 간주된다.

본 발명의 발명자들은 항-과지방혈증작용을 확인하기 위해 공지의 화합물인 시클로아르테놀, 24-메틸렌

시클로아르테놀 및 시클로브라놀을 실험하였다. 상기 실험은 A 방법(처음 몸무게가 $100 \pm 1g$ 인 수컷 위스타르 군주 쥐를 2주일 동안 먹이를 $10g/1$ 일로 제한하고, 물은 무제한으로 공급한다.) 및 B 방법(초기 몸무게가 $100 \pm 1g$ 인 수컷 위스타르 군주 쥐를 4주일 동안 음식물과 물을 무제한으로 공급한다)에 따라 수행되었다. 상기한 실험 방법들의 자세한 설명은 이하에 기재한다. 표 1 및 2(A방법) 및 표 1-1 및 2-1(B방법)에 나타난 상기 실험들의 결과는 하기와 같다: 두방법에 의한 지방혈증감소 효력은 극히 이상적이다. 시클로아르테놀을 함유하는 과지방혈증 먹이 및 시클로브라놀을 함유하는 과지방혈증 먹이를 각각 유지 수준(A 방법에서 $P < 0.05$, B방법에서 $P < 0.01$)제공한 두 그룹에서, 과지방혈증 먹이만을 제공한 대조용 그룹과 비교할 때, 혈청내의 TC의 감소가 관찰된다. 24-메틸렌시클로아르테놀에 의한 TC감소는 적고, A방법에서는 뚜렷하지 않으나 B방법($P < 0.05$)에서는 뚜렷하게 나타난다. HDL-C에 있어서; 시클로아르테놀은 HDL-C를 상당한 수준(A방법에서 $P < 0.05$, B방법에서 $P < 0.01$)으로 감소시키고, 24-메틸렌시클로아르테놀은 2방법에서 조금 감소시키므로 확실하지 않다. 반면에, 시클로브라놀은 2방법에서 HDL-C를 증가시키는 경향을 나타내나 상기 증가량이 많지는 않다. 언급할 필요도 없이, HDL-C 레벨은 전술한 문헌에 나타난 바와같이 상당량 증가하도록 요구된다.

본 발명의 목적들 중의 하나는 혈청내의 TC를 상당량 감소시키고 HDL-C를 상당량 증가시키는 지방혈증감소약제를 개발하는 것이다. 상술한 것과 같이, 예를들어, 시클로아르테놀, 시클로브라놀 또는 24-메틸렌시클로아르테놀과 같은 트리테르페닐알콜들은 단독으로 혈청내의 TC 레벨을 상당량 감소시킨다. 그러나 A 또는 B방법에 의한 지방혈증감소작용에 대한 본 발명자들의 실험에서 HDL-C의 양은 증가되지 않음이 확인됐다.

AI에 있어서, 시클로아르테놀 및 시클로브라놀은 A방법에서 AI를 감소시키는 경향을 나타낸 반면, 24-메틸렌시클로아르테놀은 약간 증가시키는 경향을 나타낸다. B방법에 있어서, 상기한 3가지 트리테르페닐알콜들은 AI를 감소시키는 경향을 나타낸다. TG, PL 및 LP0에 있어서, 2가지 방법 모두에서 상기한 3가지 트리테르페닐알콜들은 뚜렷한 변화를 보이지 않는다.

상기한 3가지 트리테르페닐알콜들을 비교하면, 시클로브라놀은 TC, AI, TG, PL 및 LP0를 감소시키고 HDL-C를 증가시키는 경향이 있으므로, 결과적으로 시클로아르테놀 및 24-메틸렌시클로아르테놀의 작용과 다르다. 즉 지방혈증감소 효력에서 시클로브라놀은 시클로아르테놀 및 24-메틸렌시클로아르테놀 보다 강력함이 입증된다.

따라서, 본 발명의 발명자들은 혈청내의 TC, PL 및 TG 함유량을 감소시키고, 반면 HDL-C 함유량을 증가시키는 지방혈증감소약제, 나아가 AI 및 LP0함유량을 동시에 감소시키는 약제의 생산을 목표로 하여 연구하였다. 따라서 본 연구는 공지의 트리테르페닐알콜 및 γ -오리자놀 보다 상술한 6항목중 최소한 2~3개의 항목에 있어서 뚜렷하게 강력한 효력을 갖는 지방혈증감소약제의 개발에 집중되어 있다. 그 결과, 본 발명자들은 우수한 지방혈증감소 효력을 갖는 각종 신규의 유기산의 트리테르페닐 에스테르를 발견하였다. 나아가 본 발명자들은 각각의 3가지 공지된 페롤산의 트리테르페닐 에스테르, 일염기성 포화지방산의 특정에스테르 및 시클로브라놀에 단독으로 탁월한 지방혈증감소 효력을 가짐을 알아냈다. 각각의 공지된 트리테르페닐알콜, 유기산 및 γ -오리자놀의 특성으로 부터 상기한 사실들을 추론하는 것은 어렵다.

페롤산(4-히드록시-3-메톡시신나메이트), 및 일염기성 및 이염기성 포화지방산의 트리테르페닐 에스테르를 제외한 신규의 유기산의 트리테르페닐 에스테르의 제조가 본 발명의 목적이다. 보다 상세히는, 신규의 유기산의 트리테르페닐 에스테르는 하기의 알콜들로부터 유도된 유기 에스테르이다: 시클로아르테놀, 시클로브라놀, 24-메틸렌시클로아르테놀, 라노스테놀, 아그노스테롤, 시클로사돌(3 β -히드록시-24-메틸렌-9,19-시클로-9 β -라노스타-23-엔), 디히드로아그노스테롤, 시클로라우데놀, 시클로아르테놀, 시클로 유칼데놀, 유폴, 부티로스페르올, 티루칼롤, 유포르볼 및 담메르라디에놀; 페롤산, 및 일염기성 및 이염기성 포화지방산의 에스테르 제외.

상기 에스테르 중에서, 시클로아르테놀, 24-메틸렌시클로아르테놀 및 시클로브라놀로부터 유도된 것들이 바람직하다. 상기한 에스테르의 바람직한 유기산으로는 벤젠고리의 1개의 치환기가 아미노, 니트로, 히드록실, $C_2 \sim C_5$ 알킬아미노, $C_1 \sim C_4$ 알콕시 및 $C_2 \sim C_6$ 알킬카르복실기로 부터 선택된 신나메이트, 벤조산 및

α -(C₁~C₄알킬)신남산이 있고; 벤젠고리의 2가지 치환기들이 히드록실 및 C₁~C₄ 알콕시쌍, 히드록실 및 C₂~C₆알킬카르복실쌍, C₁~C₄알콕시 및 C₂~C₆알킬카르복실쌍, C₁~C₄알콕시 및 니트로쌍, C₁~C₄알콕시 및 아미노쌍, C₁~C₄알콕시 및 C₂~C₅아실아미노쌍, 2개의 C₁~C₄알콕시, 2개의 C₂~C₆알킬카르복실, 및 2개의 히드록실기로부터 선택된 신남산, 벤조산 및 α -(C₁~C₄알킬) 신남산이 있으며; 니코틴산이 있고; 리놀산, 리놀렌산, 아라키돈산 및 에이코사펜타에노산과 같은 불포화 지방산이 있다.

상술한 유기산의 에스테르들의 제조방법을 제공하는 것이 본 발명의 또 다른 목적이다.

또한 본 발명은 혈청내의 TC를 상당량 감소시키고 HDL-C를 상당량 증가시키는 지방혈증감소약제를 제공한다.

이 염기성 포화지방산이 아닌 유기산의 트리테르페닐 에스테르 또는 시클로브라놀 유효량 및 약학적 당체를 함유하는, 과지방혈증 치료를 위한 약학적 조성을 본 발명은 제공한다.

치료를 필요로 하는 환자에게 시클로브라놀 또는 이염기성 포화 지방산이외의 다른 유기산의 트리테르페닐 에스테르를 치료학적 유효량 투여하여 과지방혈증을 치료하는 방법을 본 발명은 또한 제공한다.

본 발명의 일부분에서, 페룰산 및 일염기성 및 이염기성 포화지방산의 트리테르페닐 에스테르이외의 유기산의 트리테르페닐 에스테르가 제공된다.

본 발명의 다른 부분에서, 트리테르페닐 알코올을 상응하는 유기산의 산 할로겐화물과 반응시킴을 특징으로 하는 페룰산 및 일염기성 또는 이염기성 포화지방산의 에스테르 이외의 유기산의 트리테르페닐 에스테르의 제조방법이 제공된다.

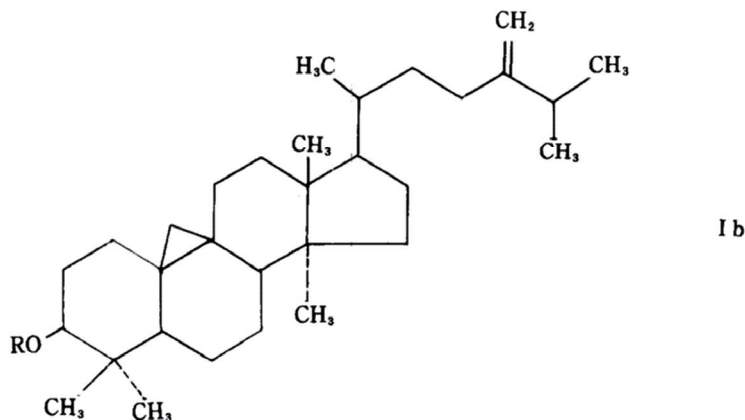
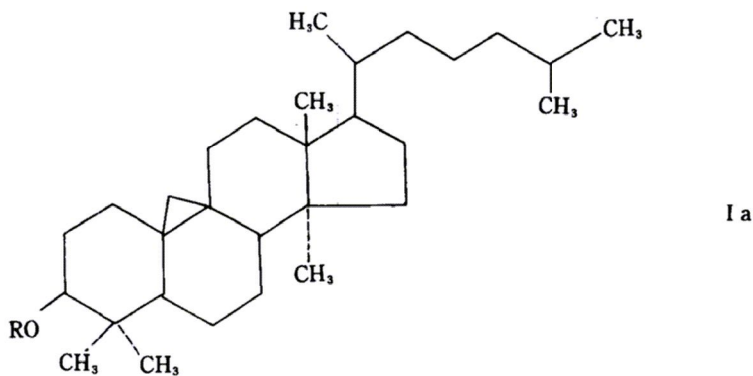
본 발명의 또다른 부분에서, 이염기성 포화지방산의 트리테르페닐 에스테르 이외의 유기산의 트리테르페닐 에스테르의 유효량 및 약학적 당체를 함유하는 과지방혈증 치료를 위한 약학적 조성이 제공된다.

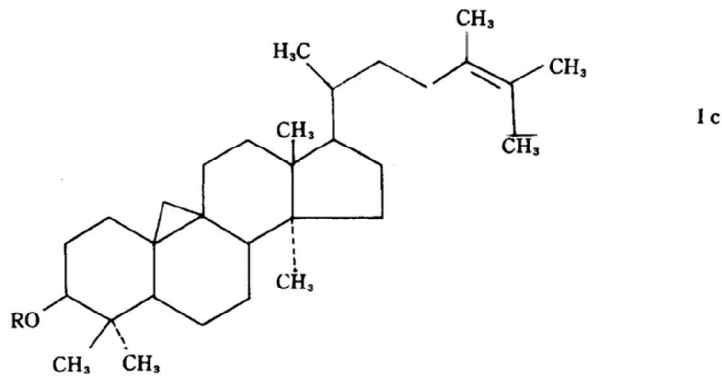
본 발명의 또 다른 부분에서, 약학적 당체 및 활성성분으로 시클로브라놀의 유효량을 함유하는 과지방혈증 치료를 위한 약학적 조성이 제공된다.

또한 본 발명의 또다른 부분에서, 치료를 필요로 하는 환자에게 이염기성 포화 지방산 이외의 유기산의 트리테르페닐 에스테르 또는 시클로브라놀을 치료학적 유효량 투여함을 특징으로 하는 과지방혈증 치료방법이 제공된다.

본 발명의 신규 화합물들은 일반적으로 독특한 용점 및 비선광도를 갖는 흰색 결정성 고체 및 하기의 제제에서 볼 수 있는 안전한 화합물들이므로, 상기 물질들은 pH 0.5~1.5의 강한 산성 수용액에서 교반하여 60~70°C로 3시간동안 가열하여도 전혀 가수분해되지 않는다.

바람직한 3가지 유기산의 트리테르페닐 에스테르들의 구조식을 하기에 나타낸다.

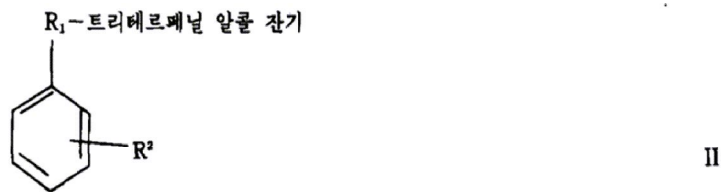




일반식 Ia, Ib 및 Ic에서 R이 H일 경우 일반식 Ia는 시클로아르테놀, 일반식 Ib는 24-메틸렌시클로아르테놀 및 일반식 Ic는 시클로브라놀을 나타낸다. 상기한 3가지 트리테르페닐 알콜들은 공지된 것이다.

본 발명에서, 상기한 일반식 Ia, Ib 및 Ic의 R은 상술한 각종 일염기성 유기산의 잔기를 나타낸다. 하기의 일반식 II 및 IIIa~IIId는 니코틴산, 리놀산, 리놀렌산, 아라키돈산 및 에이코산펜타에노산 잔기를 제외한 유기산 잔기들 중의 하나를 분자내에 갖는 본 발명의 화합물들을 나타낸다.

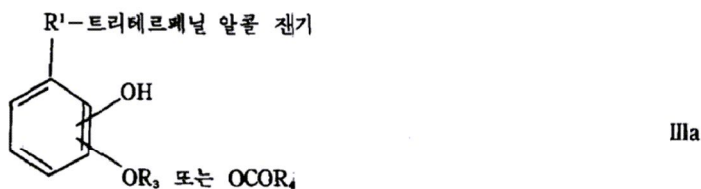
[일반식]



일반식 II에서, R₁은 α , β -불포화 카르보닐기(-CH=CH-CO-), 카르보닐기(-CO-) 또는 α -(C₁~C₄알킬) α , β -불포화카르보닐기(-CH=CR₃-CO-)를 나타내고, R₂는 아미노(-NH₂), 아실아미노(-NHCOR₃), 니트로(-NO₂), 히드록실(-OH), C₁~C₄알콕시(-OR₃) 또는 C₂~C₆알킬카르복실(-OCOR₄)을 나타낸다. R₃는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, sec-부틸 또는 t-부틸과 같은 C₁~C₄알킬이고, R₄는 C₁~C₅알킬이어서 R₃로 나타낸 상기 알킬들 및 펜틸, 이소-펜틸, sec-펜틸, 3-펜틸 및 t-펜틸과 같은 C₅알킬이 있다.

일반식(II)는 벤젠고리의 오르토-, 메타- 또는 파라-위치에 R₂치환체를 갖는 신남산, 벤조산 및 α -(C₁~C₄알킬)신남산의 트리테르페닐 에스테르를 나타낸다.

[일반식]



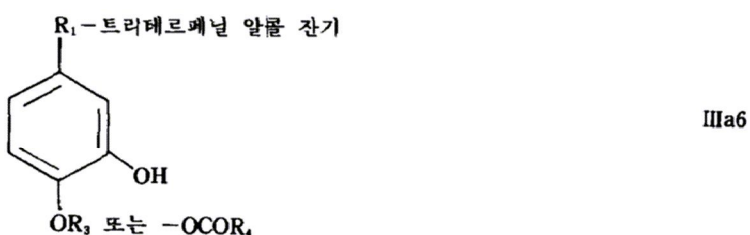
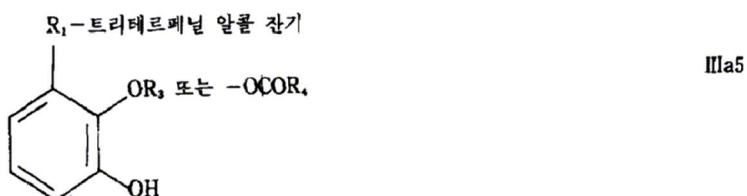
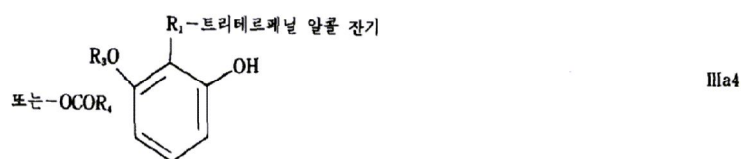
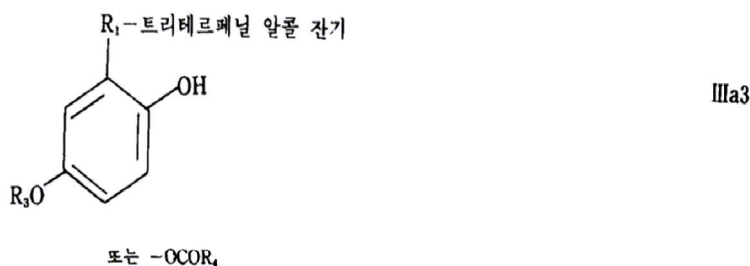
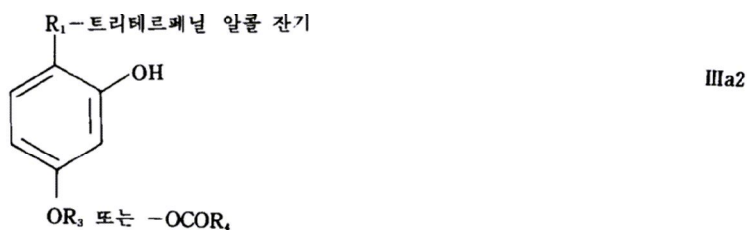
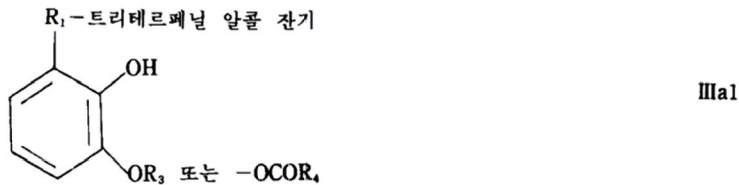
일반식 IIIa~d에서 R_1 , R_3 및 R_4 는 상술한 것과 같다.

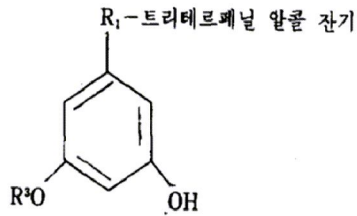
일반식 IIIa의 화합물은 벤젠고리에 2가지 다른 치환체 OH 및 OR_3 기, 또는 OH 및 $OCOR_4$ 기를 갖는 각각의 신남산, 벤조산 또는 α -($C_1 \sim C_4$ 알킬)신남산의 트리테르페닐 에스테르이다. 일반식 IIIb의 화합물은 벤젠고리의 산잔기가 2가지 다른 치환체 OR_3 및 $OCOR_4$ 기, OR_3 및 NO_2 기, OR_3 및 NH_2 기 또는 OR_3 및 $NHCOR_3$ 기를 갖는 것을 제외하고는 동일한 에스테르이다.

일반식 IIIa 또는 IIIb의 화합물에 대한 상세한 설명을 하기에 기재한다.

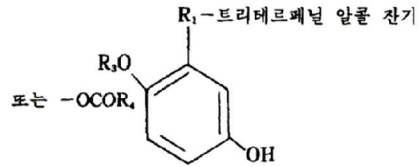
일반식 IIIa의 화합물은, OH기가 벤젠고리의 o-위치(2-위치)에 결합되어 있을 경우, 3-, 4-, 5- 또는 6-위치에 OR_3 또는 $OCOR_4$ 기를 갖는 에스테르이다. OH기가 벤젠고리의 m-위치(3~위치)에 결합되어 있을 경우, 이 화합물은 2-, 4-, 5- 또는 6-위치에 OR_3 또는 $OCOR_4$ 기를 갖는 에스테르이다. OH기가 벤젠고리의 p-위치(4-위치)에 결합되어 있을 경우, 이 화합물은 2- 또는 3-위치에 OR_3 또는 $OCOR_4$ 를 갖는 에스테르이다(이하에서는 상기 화합물들을 일반식 IIIa의 화합물로 기재함) 일반식 IIIa 화합물들의 상기 결합-구조들을 하기 일반식 IIIa1~IIIa10으로 나타낸다.

[일반식]

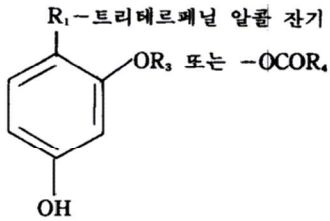




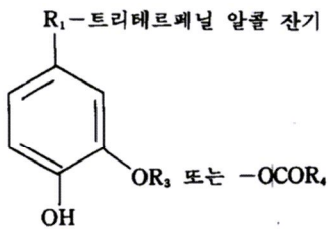
IIIa7

또는 $-\text{OCOR}_4$ 

IIIa8



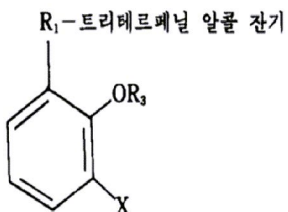
IIIa9



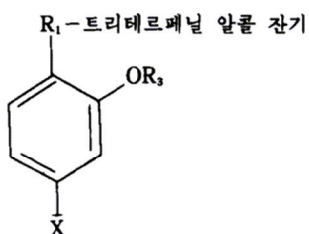
IIIa10

일반식 IIIa1~IIIa10에서, R_1 , R_3 및 R_4 는 상술한 것과 같다.

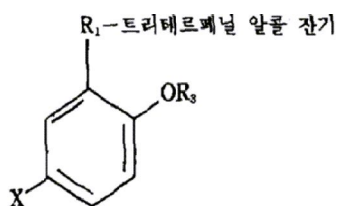
일반식 IIIb의 화합물은 각각의 벤젠고리에 2가지 다른기, 즉 일반식 IIIa 화합물의 OH기 대신에 OR_3 기와 OCOR_4 , NO_2 , NH_2 및 NHCOR_3 기들 중의 한개를 갖는 신남산, 벤조산 또는 α -($\text{C}_1 \sim \text{C}_4$ 알킬) 신남산의 트리테르페닐 에스테르이다. 결과적으로, 하기에 나타난 일반식 IIIb1 화합물은 일반식 IIIa1 화합물의 OH기를 OR_3 기로 치환하고, 일반식 IIIa1 화합물의 OR_3 또는 OCOR_4 기를 OCOR_4 , NO_2 , NH_2 또는 NHCOR_3 기로 치환하여 얻어지는 화합물이다. 하기 일반식 IIIb2~IIIb10 화합물들은 유사한 결합-구조들을 갖는다. 이들 일반식에서, X는 OCOR_4 , NO_2 , NH_2 또는 NHCOR_3 기를 나타낸다.



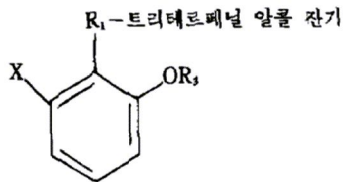
IIIb1



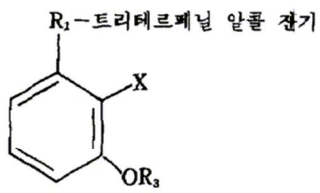
IIIb2



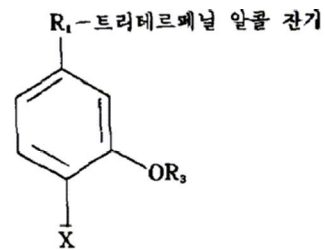
IIIb3



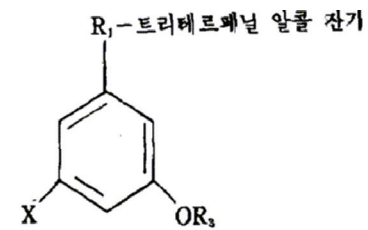
IIIb4



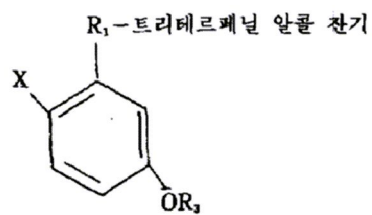
IIIb5



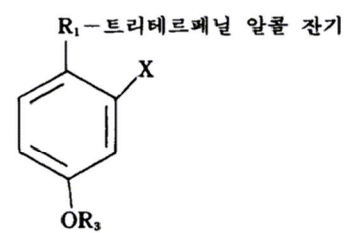
IIIb6



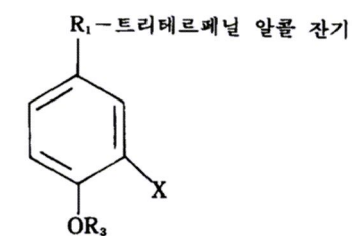
IIIb7



IIIb8



IIIb9

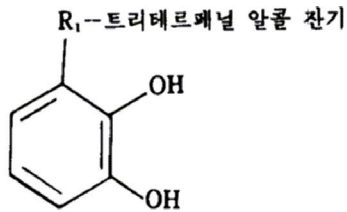


IIIb10

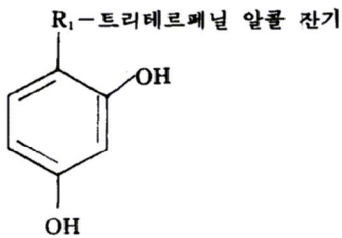
일반식 IIIb1~IIIb10에서, R_1 및 R_3 는 상술한 것과 같다.

일반식 IIIc의 화합물 및 일반식 IIId의 화합물은 벤젠고리에 각각 2개의 OR_3 기 및 2개의 OR_3 기를 갖는 신남산, 벤조산 또는 α -($C_1 \sim C_4$ 알킬)신남산의 트리테르페닐 에스테르이다. 즉, 일반식 IIIc화합물은 2- 및 3-위치, 2- 및 4-위치, 2- 및 5-위치, 2- 및 6-위치, 3- 및 4-위치 또는 3- 및 5-위치에 2개의 OR_3 기를 갖

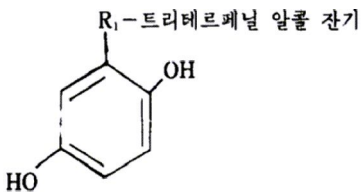
는다. 즉, 하기의 6개 결합-구조들은 일반식 IIIc 화합물들을 나타낸다.



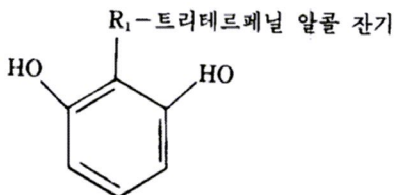
IIIc1



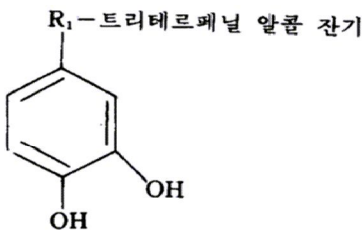
IIIc2



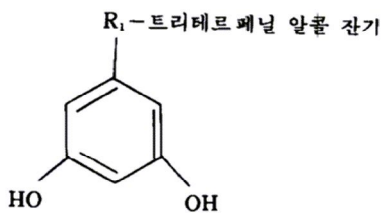
IIIc3



IIIc4



IIIc5



IIIc6

일반식 IIId의 화합물은 일반식 IIIc의 화합물의 2개의 R₁ 대신에 2개의 OR₃기를 갖고, 따라서 일반식 IIIc1-IIIc6와 유사한 6개의 일반식 IIId1-IIId6 화합물들을 갖는다.

이하에서는 본 발명 화합물의 제조방법을 기재한다.

상술한 γ -오리자놀은 시클로아르테놀, 24-메틸렌시클로아르타놀 및 시클로브라놀의 적당한 원료이다. 상술한 바와같이, γ -오리자놀은 단일 화합물이 아닌 각종 페룰산의 스테릴 및 트리테르페닐 에스테르들의 혼합물이다. 상기 혼합물은 예를들어, 페룰산의 캄페스테릴(14%), 스티그마스테릴(1%), β -시토스테릴(4%), 시클로아르타닐(2%), 시클로아르테닐(35%) 및 24-메틸렌시클로아르타닐(44%) 에스테르를 함유한다. 엔도(Endo)의 방법(유카가쿠, ¹⁸권 63-67페이지, 1969년)을 참고하면, γ -오리자놀을 아세톤-메탄올(메탄올 함유량 2~7%), 아세톤 및 에틸 아세테이트를 사용하여 반복해서 재결정하여 페룰산의 시클로아르테닐가 수득되고, 이 물질을 비누화시켜, 융점 101-102°C 및 비선광도 $[\alpha]_D^{21.5} +49.7^\circ$ (c1.01, CHCl₃)인 시클로아르테놀이 분리된다. 상기 시클로아르테놀은 기체 크로마토그래피에서 단일 피크를 나타낸다.

[24 : 메틸렌시클로아르타놀의 분리방법 :]

상기한 엔도의 방법에서, γ -오리자놀에서 시클로아르테놀을 분리한 후 모액으로부터 수득한 결정체를 피리딘-아세트산 무수물을 사용하여 아세틸화시키고, 아세틸화된 생성물을 클로로포름-에틸 아세테이트-

에탄올(4 : 322)을 사용하여 반복해서 재결정하여 탈아세틸화 한 다음, 생성물을 아세톤-메탄올로 재결정하여 페롤산의 24-메틸렌 시클로아르타닐가 수득되고, 이어서 비누화시켜 융점 123~124℃, 비선광도 $[\alpha]_D^{25} +48.1^\circ$ (c1.00, CHCl₃)인 24-메틸렌시클로알르타놀이 분리된다. 상기 물질은 기체 크로마토그래피에서, 단일 피크를 나타낸다.

[시클로브라놀의 분리 방법 :]

γ -오리자놀(1.1kg), 시클로브라놀 함유량(0%)을 아세톤(8ℓ)에 용해시킨다. 상기 용액에 요오드(40g)를 용해시킨 후, 이 혼합물을 환류하에 1.5시간동안 가열한다. 상기 혼합물을 냉각되도록 하고, 10% 티오황산나트륨 수용액(500ml)을 가한다음, 혼합물을 30분동안 교반하고, 이어서 물(550ml)을 가한다. 형성된 결정체를 여과하고, 2% 티오황산나트륨 수용액(700ml)으로 세척한 다음, 이어서 물(4ℓ)로 세척하고, 건조시켜 γ -오리자놀(1kg)을 수득하여 기체 크로마토그래피를 수행하면 23% 시클로브라놀이 함유되어 있는 것이 발견된다. 상기 결정체 생성물(1kg)을 4% 에탄올성 KOH 용액에 현탁시키고, 이 현탁액을 환류하에 3시간동안 가열한다. 생성된 혼합물을 냉각시킨 후, 침전된 γ -오리자놀의 칼륨염을 여과하여 메탄올(8ℓ)에 현탁시키고, 이 현탁액을 2시간동안 환류시킨다. 생성된 혼합물을 냉각시킨후, 침전된 노란색 결정을 여과하고 건조시켜 γ -오리자놀의 칼륨염(260g)이 수득된다. 상기 결정성 생성물을 3% 및 2% 에탄올성 KOH 용액으로 유사하게 처리하여 노란색 결정(130g)이 수득된다. 상기 생성물은 88%의 시클로브라놀을 함유한다. 이어서 상기 노란색 결정성 생성물(130g)을 2N 에탄올성 KOH 용액(2.6ℓ)에서 비누화시키고, 잔류물을 클로로포름(1.2ℓ)으로 추출한다. 추출물을 건조시키고, 감압하에 증발시켜 조 시클로브라놀(80g, 순도 88%)을 수득한 다음, 아세톤(1.6ℓ)으로 3번 재결정하여 융점 165~166℃ 및 비선광도 $[\alpha]_D^{25} +47.0^\circ$ (c1.00, CHCl₃)인 결정성의 시클로브라놀(28g)이 수득된다. 상기 시클로브라놀은 기체 크로마토그래피에서 단일 피크를 나타낸다.

본 발명에서 유기산의 트리테르페닐은 상술한 알콜들 및 유기산들로부터 공지의 에스테르화 방법을 수행하여 쉽게 수득된다. 즉, 유기산 및 트리테르페닐 알콜을 황산, p-톨루엔술폰산 또는 삼플루오르화붕소(BF₃)와 같은 촉매의 존재하에 탈수시키는 에스테르화 반응, 황산 또는 염화아연과 같은 촉매의 존재하에 유기산의 무수물과 트리테르페닐 알콜의 반응, 또는 유기산의 할로겐화물(대응산 할로겐화물 : 이하에서 유기산 할로겐화물로 기재)과 트리테르페닐 알콜의 반응에 의해서 제조된다. 상기 방법들 중에서, 유기산 할로겐화물을 트리테르페닐 알콜과 반응시키는 방법이 가장 바람직하다. 즉, 출발 유기산이 니코틴산, 리놀산, 리놀렌산, 아라키돈산, 에이코산펜타데노산, C₆~C₁₄포화 지방산과 같은 일염기성산, 또는 벤젠고리 예; NO₂, OR₃OCOR₄ 및 NHCOR₃기들로부터 선택된 1개의 치환체(일반식 II); OR₃기와 OCOR₄, NO₂, NH₂ 및 NHCOR₃기들중의 하나인 2개의 다른 치환체(일반식 IIIb); 2개의 OR₃기(일반식 IIId)를 갖는 모노- 또는 디- 치환된 신남산, 벤조산 또는 α -(C₁~C₄알킬) 신남산, 즉 일반식 II, IIIb 또는 IIId의 에스테르와 상응하는 유기산일 경우에, 출발 유기산의 COOH기를 할로겐화 시약을 사용하여 CO- 할로겐기로 전환시킨 다음, 생성된 산 할로겐화물을 용매내에서 데히드로할로겐화 제제의 존재하에 트리테르페닐 알콜로 10~100℃의 온도에서 에스테르화를 수행하여, 목적하는 유기산의 트리테르페닐 에스테르가 용이하게, 고수득율로 수득된다. 상기 목적을 위한 바람직한 할로겐화 시약으로는 염화티오닐, 염화설풀릴, 염화아연, 옥시염화인, 염화벤조일, 염화프라탈로일, 염화수소 및 브롬화수소가 있다. 에스테르화 반응에 사용하기 알맞은 데히드로할로겐화 제제로는 피리딘, 퀴놀린, 트리메틸아민, 트리에틸아민, 트리프로필아민, 트리부틸아민, 마그네슘 및 디메틸아닐린이 있다.

출발 유기산이 일반식 II, IIIa 또는 IIIc의 상응하는 에스테르[즉 벤젠고리에 1개의 치환체 OH 또는 NH₂기(일반식 II), 2개의 다른 치환체 OH 및 OR₃기 또는 OH 및 OCOR₄기(일반식 IIIa) 또는 2개의 OH기(일반식 IIIc)를 갖는 모노 또는 디- 치환된 신남산, 벤조산 또는 α -(C₁~C₄알킬) 신남산]중에 하나일 경우, 유기산의 OH 또는 NH₂기를 먼저 아실화시킨 후, 생성된 산을 상술한 것과 같이 할로겐화 및 에스테르화를 수행하여 유기산의 트리테르페닐 에스테르의 아실화된 유도체가 용이하게 고수득율로 수득된다. 이어서 상술한 아실화된 유도체를 암모니아, 가성알카리(NaOH 또는 KOH) 또는 무기산(HCl, H₂SO₄ 또는 H₃PO₄)의 농축수용액 내에서 가열함으로써 탈아실화하여, 벤젠고리 OH 또는 NH₂기를 갖는 일반식 II, IIIa 또는 IIIc의 에스테르 각각이 제조된다. 상기한 아실화하는 아세트산, 프로피온산, 부티르산 또는 칼프론산과 같은 저급 지방산의 산 무수물 또는 산 할로겐화물과 같은 아실화 제제를 사용함으로써 용이하게 수행된다.

또한 산부분의 벤젠고리에 1개의 NO₂기, NO₂ 및 OR₃기 또는 NO₂ 및 OCOR₄기를 갖는 치환된 신남산, 벤조산 또는 α -(C₁~C₄알킬) 신남산의 상응하는 트리테르페닐들을 철(또는 아연)과 산(HCl, H₂SO₄ 또는 아세트산) 또는 주석(또는 염화주석)과 진탄 H₂SO₄를 사용하여 NO₂기가 NH₂기로 전환되도록 환원시킴으로서 벤젠고리에 1개의 치환체 NH₂기 또는 2개의 다른 치환체 NH₂ 및 OR₃기 또는 NH₂ 및, OCOR₄기를 갖는 일반식 II 또는 IIIb의 에스테르가 제조된다. 트리테르페닐 알콜부분에 존재하는 불포화기가 환원되지 않으므로, 금속 및 산을 사용한 상기 환원방법이 가장 적당하다.

상술한 아미노 유도체를 통상적인 방법으로 아실화시키면, 산부분의 벤젠고리에 1개의 NHCOR₃기 또는 NHCOR₃기 2개 및 OR₃ 또는 OCOR₄기를 갖는 본 발명의 상응하는가 쉽게 수득된다.

[약학적인 작용]

이하에서는, 본 발명 화합물들의 독성 및 항-과지 방혈증 작용에 대한 약학적인 실험 결과를 상세히 설명한다.

[강한 독성실험]

5마리의 수컷 ddy 군주 쥐($30 \pm 2g$) 및 5마리의 위스타르 군주 쥐($100 \pm 2g$)에서 각 화합물을 경구 투여하여 강한 독성실험을 수행한다.

강한 독성실험에서 사용하는, 본 발명 화합물의 예는 다음과 같다. 실시예 29, 4-히드록시-3-메톡시벤조산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 37, 4-히드록시-3-메톡시벤조산의 시클로브라닐 에스테르, 실시예 86, 4-히드록시-3-메톡시벤조산의 24-메틸렌 시클로아르타닐, 실시예 60, 3-에톡시-4-히드록시벤조산의 시클로아르테닐, 실시예 62, 3-에톡시-4-히드록시벤조산의 시크리브라닐 에스테르, 실시예 74, 4-히드록시-3-프로폭시신남산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 71, 3-에톡시-4-히드록시신남산의 시클로브라닐 에스테르, 실시예 27, 3,4-디히드록시벤조산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 39, 3,4-디히드록시벤조산의 시클로브라닐 에스테르, 실시예 83, p-아세톡시신남산의 24-메틸렌 시클로아르타닐 에스테르, 실시예 2, 3,4-디히드록시신남산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 32, 3,4-디히드록시신남산의 시클로브라닐 에스테르, 실시예 82, 3,4-디히드록시신남산의 24-메틸렌 시클로아르타닐 에스테르, 실시예 8, 0-히드록시벤조산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 41, 0-히드록시벤조산의 시클로브라닐 에스테르, 실시예 72, 4-아세톡시-3-에톡시신남산의 24-메틸렌 시클로아르타닐 에스테르, 실시예 10, p-히드록시벤조산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 58, p-히드록시벤조산의 시클로브라닐 에스테르, 실시예 13, 0-메톡시벤조산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 14, p-메톡시벤조산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 24, 니코틴산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 50, 니코틴산의 시클로브라닐 에스테르, 실시예 20, p-아세트아미도벤조산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 19, p-아미노벤조산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 43, p-아미노벤조산의 시클로브라닐 에스테르, 실시예 100, m-아미노벤조산의 24-메틸렌시클로아르타닐 에스테르, 실시예 25, 리놀산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 51, 리놀산의 시클로브라닐, 실시예 93, 리놀산의 24-메틸렌시클로아르타닐 에스테르, 실시예 12, m-히드록시벤조산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 54, m-히드록시벤조산의 시클로브라닐 에스테르, 실시예 16, 0-니트로벤조산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 47, 0-아미노벤조산의 시클로브라닐 에스테르, 실시예 23, m-아미노벤조산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 49, m-아미노벤조산의 시클로브라닐 에스테르, 실시예 100-1, 4-히드록시-3-메톡시신남산의 시클로아르테닐 에스테르(다른이름 : 페롤산의 시클로아르테닐 에스테르), 실시예 100-2, 4-히드록시-3-메톡시신남산의 시클로브라닐 에스테르, 실시예 100-3, 4-히드록시-3-메톡시신남산의 24-메틸렌 시클로아르타닐 에스테르, 실시예 101, p-니트로신남산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 102, p-아미노신남산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 104, p-아미노신남산의 시클로브라닐 에스테르, 실시예 108, m-아미노신남산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 112, m-아미노신남산의 24-메틸렌 시클로아르타닐 에스테르, 실시예 114, 4-히드록시-3-메톡시- α -메틸신남산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 116, 4-히드록시-3-메톡시- α -메틸신남산의 시클로브라닐 에스테르, 실시예 118, 4-히드록시-3-메톡시- α -메틸신남산의 24-메틸렌 시클로아르타닐 에스테르, 실시예 120, 4-히드록시-3-메톡시- α -메틸신남산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 140, 3-에톡시-4-히드록시- α -메틸신남산의 시클로브라닐 에스테르, 실시예 130, 4-히드록시- α -메틸신남산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 146, 4-히드록시-3-프로폭시- α -메틸신남산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 167, 4-아미노-3-메톡시벤조산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 173, 5-아미노-2-메톡시벤조산의 시클로브라닐 에스테르, 실시예 189, 4-아미노-3-메톡시- α -메틸신남산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 177, 4-아미노-3-메톡시신남산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 205, p-아미노- α -메틸신남산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 183, 5-아미노-2-에톡시신남산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 212, m-아미노- α -메틸신남산의 시클로브라닐 에스테르, 실시예 191, 4-아미노-3-메톡시- α -메틸신남산의 24-메틸렌 시클로아르타닐 에스테르, 실시예 197, 5-아미노-2-프로폭시- α -메틸신남산의 24-메틸렌 시클로아르타닐 에스테르, 실시예 171, 5-아미노-2-메톡시벤조산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 170, 2-메톡시-5-니트로벤조산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 178, 4-아미노-3-메톡시신남산의 시클로브라닐 에스테르, 실시예 195, 5-아미노-2-프로폭시- α -메틸신남산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 213, m-아미노- α -메틸신남산의 24-메틸렌 시클로아르타닐 에스테르, 실시예 113, 3-메톡시-4-프로피오닐옥시- α -메틸신남산의 시클로아르테닐 에스테르, 실시예 117, 3-메톡시-4-프로피오닐옥시- α -메틸신남산의 24-메틸렌 시클로아르타닐 에스테르, 상기한 66개의 에스테르화합물 및 대조용 약제로서의 시클로아르테놀, 시클로브라놀 및 γ -오리자놀을 인후 탐침 막대(throat explorer rod)를 사용하여, ddy 군주 쥐에게 $0.1 \sim 5g/kg$, 위스타르군주 쥐에게 $2 \sim 6g/kg$ 을 강제로 투여한다.

실험하는 동안에, 실험동물실의 온도는 $22 \sim 23^\circ C$ 로 유지시킨다. 투여후, 상기 동물들을 2주일 동안 관찰한다. 상기한 투여량으로 인해, 치사하는 동물은 없다. 관찰하는 동안에 중독증 증상이 나타나지 않았고, 화합물을 투여한 실험용 쥐와 투여하지 않은 정상적인 쥐 사이에서 몸무게 뿐만아니라 행동의 변화도 발견되지 않았다. 2주일간의 관찰후에 행한 검진에서, 주요기관의 어느 부분에서도 심각한 장애가 발견되지 않았다. 즉 본 발명 화합물들은 매우 낮은 독성을 가지므로, LD₅₀값은 측정되지 않는다.

[항-과지방혈증 작용에 대한 약학적인 실험방법A("A방법"용어로 본 명세서에 기재됨)]

수컷 위스타르 군주 쥐($100 \pm 1g$, 각각 10마리의 쥐를 1그룹으로 구성한다)를 실험동물로 사용한다. 대조용 그룹을 위한 먹이로는 20%카제인, 62.5%포도당, 10%수소첨가된 코코넛유, 2%한천분말, 4%비타민-함유영혼합물, 1%콜레스테롤 및 0.5%콜산(이 조성은 후쿠시마에 의한 "야구 가꾸 자씨" 89권, 6호, 857-826 페이지, 1962년도 판에 기재되어 있다)을 충분히 혼합하여 제조한다. 실험그룹을 위한 먹이로는 대조용 그룹의 먹이에 각각 1%의 시클로아르테놀, 24-메틸렌 시클로아르타닐 및 시클로브라놀을 잘 혼합하여 제조한다. 각각의 쥐를 $23 \pm 1^\circ C$ 의 일정한 온도 및 $55 \pm 5\%$ 의 일정한 R.H.의 우리에서 2주일동안 보호하고, 상술한 먹이를 10g/일 공급한다. 마지막으로, 16시간동안(실험 14일째날의 오후 4시부터 실험 15일째날의 오전 8시까지)물을 제외한 먹이를 공급하지 않고, 각각의 쥐를 펜트바르비탈 소독(상표 : 뎀부탈)을 사용한 마취하에 하향 복동맥으로부터 혈액을 채취한다. 이어서 혈청내의 TC, HDL-C, TG, PL 및 LP0를 하기와 같은 방법으로 측정한다.

[항-과지방혈증 작용에 대한 약학적인 실험방법B("B방법"용어로 본 명세서에 기재함)]

수컷 위스타르 군주 쥐($100 \pm 1g$, 각각 8마리를 1그룹으로 조직하고, 과지방혈증 먹이를 먹인 대조용그룹

은 16마리로 조직한다)를 실험동물로 사용한다. 분말형먹이(CE-2, 일본국 끌레시아사 제조)을 평상먹이로 사용한다. 과지방혈증 먹이는 평상먹이에 콜레스테롤(1%) 및 콜산(0.5%)을 강화하여 제조한다. 투여할 각 실험화합물(1%)을 과지방혈증 먹이에 혼합한다. 각각 2마리의 쥐를 우리속에 넣고 상술한 먹이 및 물을 제한없이 공급한다. $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 일정한 온도 및 $55 \pm 25\%$ 의 일정한 R.H.에서 4주일동안 쥐에게 먹이를 공급한다. 마지막으로, 쥐에게 16시간동안(실험 28일째날의 오후 4시부터 실험 29일째날의 오전 8시까지)물을 제외한 먹이를 공급하지 않고, 펜트바르비탈 소독(상표 : 넘부탈)을 사용한 마취하에 각 쥐의 하향 복동맥으로부터 혈액을 채취한다. 이어서 혈청내의 TC, HDL-C, TG, PL 및 LP0를 하기와 같은 방법으로 측정한다.

[혈청 TC의 측정방법]

TC키트-K(닛뽀 쇼오지 가이샤사 제조)를 사용한다. 측정의 원리는 다음과 같다 : 혈청내 콜레스테롤의 에스테르를 콜레스테롤-에스테르 가수분해 효소로 가수분해하면 유리 콜레스테롤과 지방산이 된다. 유리 콜레스테롤 전부를 콜레스테롤 산화효소로 산화시키면, Δ^4 -콜레스테논과 과산화수소가 형성된다. 형성된 과산화수소 및 과산화 효소를 사용하여 페놀 및 4-아미노안티피린을 함께 산화적으로 축합시킨다. 생성된 붉은 퀴논색 물질을 분광광도계를 사용하여 500nm에서의 흡광도를 비색정량으로 측정하여, TC를 결정한다.

발색용액의 제조 : 발색시약 : 1개의 바이알(성분 : 콜레스테롤 에스테라제 25,000u, 콜레스테롤 옥시다제 25u, 과산화효소 3,554u, 4-아미노안티피린 20mg) 완충용액 : 페놀(33.3mg), 포타슘 디히드로겐 포스페이트(489.9mg) 및 무수디소듐 히드로겐포스페이트(908.5mg)을 정제수에 용해시킨 용액 100ml 표준액 : 콜레스테롤(300mg)을 함유하는 용액 100ml

상술한 160ml의 완충용액에 발색시약을 함유하는 1바이알의 용액을 발색용액이라 한다.

발색용액(3.0ml)을 시료혈청(0.02ml)과 잘 혼합한다. 37°C 에서 15분동안 가열한 상기 혼합물을 분광광도계를 사용하여 500nm에서의 흡광도를 측정한다. 측정된 흡광도를 EA로 나타낸다. 한편, 발색시약(3.0ml)을 표준액과 잘 혼합한다. 상술한 것과 동일한 방법으로 상기 혼합물을 처리하고 500nm에서의 흡광도를 측정한다. 측정된 흡광도를 ES라 한다. 발색 용액(3.0ml)만을 사용하여 수행한 바탕실험 값을 참고하여 EA 및 ES를 결정한다.

$$\text{TC값(mg/dl)} = \frac{\text{EA}}{\text{ES}} \times 300\text{mg/dl}$$

[혈청 HDL-C의 측정방법]

HDL-C 키트-N(닛뽀 쇼오지 가이샤사 제조)를 사용한다. 혈청내의 초-고밀도 지방단백질(VLDL) 및 저밀도 지방단백질(LDL)이 헤파린의 작용에 의해 침전된다. 원심분리하여 침전물을 분리한다. 고밀도 지방단백질(HDL)이 분리된 상층액에 용해되어 있다. 이 분획안의 콜레스테롤의 에스테르를 콜레스테롤-에스테르 가수분해 효소로 가수분해시켜 유리 콜레스테롤과 지방산을 수득한다. 모든 유리 콜레스테롤을 콜레스테롤 산화효소로 산화시켜 Δ^4 -콜레스테논 및 과산화수소를 수득한다. 형성된 과산화수소 및 과산화효소를 사용하여 페놀 및 4-아미노안티피린을 함께 산화적으로 축합시킨다. 생성된 붉은 퀴논색의 물질을 분광광도계를 사용하여 500nm에서의 흡광도를 비색정량으로 측정하여 HDL-C를 결정한다.

혈청 PL의 측정방법 : PL키트-K(닛뽀 쇼오지 가이샤사 제조)를 측정을 위해 사용한다. 레시틴, 스핀고미엘린 및 리졸레시틴이 포스포리파제 D에 의해 각각 콜린 및 포스파티드산, N-아실스핀고실 포스페이트 또는 리조포스파티드산으로 분해된다. 생성된 콜린을 콜린 산화효소를 사용하여 과산화수소 및 베타인으로 정량적으로 분해시킨다. 상기 과산화수소를 과산화효소와 함께 사용하여, 페놀 및 4-아미노안티피린을 축합시켜 붉은 퀴논 색소를 형성시킨 다음, 분광광도계를 사용하여 500nm에서의 흡광도를 측정하여 PL을 결정한다.

혈청 TG의 측정방법 : 하기 방법에 따라, 아세틸아세톤을 시약으로 사용하는 트리글리세리드실험 키트(와코 순수화학 공업사 제조)에 의해 혈청 TG레벨을 측정한다. 시료혈청과 이소프로필 알코올을 혼합하여 혈청 단백질을 침전시킨다. 이어서 혈청 지방 및 사카리드가 이소프로필 알코올 층으로 추출된다. 이소프로필 알코올 용액에 흡착제를 가하여 착색 방해물질을 흡착시킨다. 상기 혼합물을 원심분리한 후, 상층액에 수산화 칼륨을 가하여, 트리글리세리드를 비누화시켜 글리세롤을 유리시킨다. 이어서 완충용액을 가하여 혼합물의 pH를 6으로 조절하고, 소듐 메타페리오데이트 용액을 가하여 글리세롤을 포름산(글리세롤 1몰로부터 1몰 생성) 및 포름알데히드(글리세롤 1몰로부터 2몰생성)로 산화시킨다. 생성된 포름 알데히드를 완충용액 내에서 아세틸아세톤 및 암모니아와 반응시키면 고리화합물 3,5-디아세틸-1,4-디히드로부티딘이 형성된다. 상기 물질의 노란색 색소를 분광광도계를 사용하여 410nm에서의 흡광도를 측정하여 TG 함유량이 결정된다.

혈청 LP0의 측정방법 : 야기의 티오바르비투르산 방법[K. Yagi, 생화학약품 15권, 212페이지(1976년), 비타민 49권, 403페이지(1975년)]에 따라 리포퍼 옥시드 실험 키트(와코 순수화학 공업사 제조)를 사용한다. 시료혈청(0.05ml) 생리식염수(1.0ml)를 가하고, 이 혼합물을 부드럽게 교반한다. 상기 혼합물을 원심분리(3,000 r.p.m., 10분)한 후, 상층액(0.5ml)에 1/12 N-H₂SO₄(4.0ml)를 가하고, 잘 혼합한다. 10%인팅스텐산 수용액(0.5ml)을 가하고, 혼합물을 잘 교반하여 5분동안 방치한 다음, 3,000 r.p.m.에서 10분동안 원심분리한다. 생성된 침전물을 1/12 N-H₂SO₄(2.0ml) 및 10%인팅스텐산 수용액의 혼합물에 믹서를 사용하여 충분히 현탁시킨다. 상기 현탁액을 3,000r.p.m.에서 10분동안 원심분리하고, 수득된 침전물을 믹서를 사용하여 증류수(4.0ml)에 현탁시킨다. 이어서 상기 현탁액과 TBA시약(1.0ml : 티오바르비투르산을 함유하는 50%아세트산 용액)을 잘 혼합한다. 상기 혼합물을 원심분리 튜브에 넣고 튜브 상부에 유리구슬을 넣은후 열수 욕기에서 60분동안 가열한다. 상기 튜브를 수도물에서 5분동안 냉각시킨 후, 혼합 물에 부

탄올(5.0ml)을 가하고, 튜브에 마개를 한 다음 믹서를 사용하여 20초동안 잘 혼합하여 부탄올에 용해된 반응 생성물을 추출한다. 상기 혼합물을 3,000r.p.m.에서 10분동안 원심분리한다. 부탄올층의 형광을 측정한다. 바탕실험에 의해 0점을 조절한 후, 0.1ml의 표준액(1,1,3,3-테트라에톡시 프로판 5n mole/ml)의 형광 강도(F) 및 시료의 형광강도(f)를 515nm의 여자파장과 함께 553nm에서 측정한다. 즉, 이 방법에서 LP0와 티오바르 비투르산과의 반응 생성물은 말론디알데히드와 티오바르비투르산의 반응 생성물과 동일하다. 따라서, LP0농도는 1ml의 혈청내에 존재하는 말론디알데히드의 양으로 측정된다. 표준 용액은 5n mole/ml의 1,1,3,3-테트라에톡시프로판 수용액으로서 정량적으로 말론디알데히드로 전환된다. 0.1ml의 표준액을 이 방법에서 사용하므로, 사용된 1,1,3,3-테트라에톡시프로판의 양은 0.5n mole이다. 결과적으로 LP0함유량은 하기의 식으로부터 계산된다.

$$\text{LPO 함유량(n mole/ml 혈청)} = 0.5 \times \frac{f}{F} \times \frac{1.0}{0.05} \times \frac{1.05}{0.5} = \frac{f}{F} \times 21$$

지방혈증 감소 작용에 대한 약학적 실험결과 : 혈청 지방 및 혈청 지방 히드로퍼옥시드에 대한 대표적인 본 발명 화합물들의 지방혈증 감소 작용을 하기에 기재한다. 사용하는 화합물들은 강한 독성의 설명에서 사용한 것들과 동일하다. 쥐에게 고-콜레스테롤 먹이를 제공하여 상술한 방법에 따라 실험을 수행한다.

대조용 약제로 사용되는 시클로아르테놀, 시클로브라놀 및 24-메틸렌시클로아르테놀의 지방혈증 감소 작용에 대한 실험결과를 표 1 및 2(A 방법) 및 표 1-1 및 2-1(B 방법)에 나타낸다.

상기 화합물들의 효력은 이미 기재하였다.

A 방법에 따라 실험한 본 발명 화합물의 지방혈증 감소 효과는 표 3~14, 14-1 및 14~2에 나타낸다. B 방법으로 측정한, 본 발명 화합물의 효력 및 대조용 약제로서의 시클로아르테놀, 시클로브라놀, 24-메틸렌시클로아르테놀 및 γ -오리자놀의 효력을 표 3-1~8-1에 나타낸다. 표 3-1~8-1에 의하면, 과지방혈증 먹이를 먹인 대조용 그룹(C라 표시)과 비교할때 정상적인 먹이를 먹인 그룹(N으로 표시)의 TC, PL 및 LP0는 예외없이 상당한 유위수준($P < 0.001$, * * *로 표시)에서 감소됐고 반면 HDL-C는 상당한 유위수준($P < 0.001$)에서 증가됐다. N에서 TG가 감소되는 경향이 C에서도 나타났으나, N 및 C에서 TG값의 차이는 크지 않았다. 과지방혈증 먹이만을 제공한 그룹과 비교할때, 본 발명 화합물들 각각 또는 대조용 약제들 각각을 함유하는 과지방혈증 먹이를 먹인 그룹들에서 혈청 지질류 성분들의 지방혈증 감소 효력이 뚜렷하게 관찰되었다. 특히 본 발명 화합물들은 TC, HDL-C, PL 및 LP0의 2 또는 그 이상의 혈청 지질류 성분들에 대해서 대조용 화합물들 보다 뚜렷하게 우수한 효력을 나타낸다.

A방법에서, TC레벨은 본 발명 화합물에 의해 하기와 같이 변화된다. 실시예 49의 화합물은 TC레벨을 상당한 유위수준($P < 0.001$)에서 감소시킨다. 실시예 37, 62, 71, 27, 39, 8, 41, 10, 58, 13, 14, 19, 43, 100, 25, 51, 93, 100-1, 100-2, 101, 105 및 109의 화합물은 TC레벨을 중간정도의 유위수준에서 감소시킨다. 실시예 29, 86, 60, 74, 83, 32, 72, 24, 50, 20, 12, 16 및 23의 화합물들은 TC레벨을 낮은 유위수준($P < 0.05$)에서 감소시킨다. 실시예 2, 82 및 47의 화합물들은 TC를 상당량 감소시키지는 못하나, 뚜렷하게 감소시키는 경향은 나타난다.

B 방법에서, 대조용 약제인 3가지 트리테르페닐 알콜 및 γ -오리자놀에 의해 TC레벨이 감소되는데, 과지방혈증 먹이만을 제공한 대조용 그룹의 TC레벨과 비교할때 중간 정도의 유위수준($P < 0.01$)에서 감소된다. 이에 비해 실시예 114, 116, 115, 189, 205, 212, 191, 197, 171, 178, 195 및 213의 화합물들은 TC레벨을 상당한 유위수준($P < 0.001$)에서 감소시킨다. 실시예 120, 140, 130, 146, 167, 173, 177, 183, 170, 113 및 117의 화합물들은 TC레벨을 중간정도의 유위수준($P < 0.01$)에서 감소시킨다.

A 방법을 수행할때 HDL-C의 함유량은 본 발명 화합물들에 의해 하기와 같이 영향을 받는다. 실시예 8의 화합물은 HDL-C함유량을 상당한 유위수준($P < 0.001$)에서 증가시키고, 실시예 37, 62 및 39의 화합물들은 중간정도의 유위수준($P < 0.01$) 및 실시예 71, 27, 83, 41, 51, 100-1, 105 및 109의 화합물들은 낮은 유위수준($P < 0.05$)에서 증가시킨다. 실시예 86, 74, 10, 12, 47 및 49의 화합물들은 HDL-C함유량을 거의 변화시키지 않거나 또는 약간 감소시키는 반면에, 그외 실시예들의 화합물들은 뚜렷하지는 않으나 증가시키는 경향을 나타낸다.

B 방법을 수행할때 HDL-C에 대한 실험 화합물들의 작용은 하기와 같다 : 대조용 약제인 시클로아르테놀은 HDL-C 함유량을 유위수준($P < 0.01$)에서 감소시키는 반면, 다른 대조용 약제인 시클로브라놀, 24-메틸렌시클로아르테놀 및 γ -오리자놀은 뚜렷하지는 않게 증가 또는 감소시키는 경향을 나타낸다. 이에비해, 실시예 114, 116, 118, 140, 140, 167, 173, 189, 177, 205, 212 및 213의 화합물들은 HDL-C레벨을 상당한 유위수준($P < 0.001$)에서 증가시키고, 실시예 120, 130, 183, 191, 197, 171, 178, 195, 113 및 117의 화합물들은 유위수준($P < 0.01$)에서 증가시킨다. 실시예 170의 화합물은 낮은 유위수준($P < 0.05$)에서 증가시킨다. 특히, 실시예 116, 118, 140, 167, 173, 170, 178, 195 및 213의 화합물들은 정상적인 먹이를 제공한 그룹과 비교할때, 월등한 증가를 나타낸다.

AI에 있어서, A 방법 또는 B 방법에 관계없이 모든 화합물들이 예외없이 뚜렷하게 AI레벨을 감소시키는 경향을 나타낸다.

A 방법을 수행할때 TG는 거의 모든 실험 화합물들에 의해 유위수준에서 감소되지 않고 약간 감소되거나 또는 변화를 나타내지 않는 반면, 실시예 49의 화합물에 의해 중간정도의 유위수준($P < 0.01$), 실시예 100-1, 100-2 및 101의 화합물들에 의해 낮은 유위수준($P < 0.05$)에서 감소된다. B방법을 수행할때 대조용 약제뿐만 아니라 본 발명 화합물들도 뚜렷하지는 않으나 약간 TG를 감소시키는 경향을 나타낸다.

PL에 있어서, A방법을 수행할때, 실시예 62, 71, 27, 39, 8, 41, 72, 24, 50, 20, 19, 43, 25, 51, 93, 49 및 100-2의 화합물들은 PL의 레벨을 상당한 유위수준($P < 0.001$)에서 감소시키고 실시예 29, 37, 60, 74, 83, 58, 13, 14, 100 및 101의 화합물들은 중간 정도의 유위수준($P < 0.01$)에서 감소시키며, 및 실시예 86, 32, 10, 23, 100-1, 105 및 109의 화합물들은 낮은 유위수준($P < 0.05$)에서 감소시킨다. 실시예