(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2012년09월14일
(11) 등록번호 10-1183026
(24) 등록일자 2012년09월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07C 33/00 (2006.01) *A61K 31/045* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0038344
(22) 출원일자 2012년04월13일
심사청구일자 2012년04월13일
(56) 선행기술조사문헌
US20110237685 A1
Shen et al. Natural Product Research, Vol.20, 2006.05.20, pp.578-585.
Sepcic et al. Mar.Drugs, vol.8, 2010, pp.1550-1566.
Cantrell et al. J.Am.Chem.Soc., vol.122, 2000, pp.8825-8829.
전체 청구항 수 : 총 4 항

(73) 특허권자
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
나민균
대전광역시 유성구 전민동 엑스포아파트 406-1605
(74) 대리인
백경업

심사관 : 이창남

(54) 발명의 명칭 **신규한 (이)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물 및 이를 함유하는 암 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 해면동물인, 스메노스폰지아 아우레아(*Smenospongia aurea*), 스메노스폰지아 세레브리포르미스(*Smenospongia cerebriformis*), 베론굴라 리지다(*Verongula rigida*) 또는 이들의 혼합물로에서 분리한 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올[(*4R,7S,E*)-10-benzyl-5,7-dimethylundeca-1,5,10-trien-4-ol] 화합물 및 상기 화합물을 함유하는 암 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

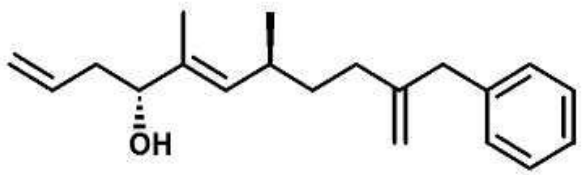
과제고유번호	2010-0020484
부처명	한국연구재단(교육과학기술부)
연구사업명	해양바이오 기초,원천기술개발사업
연구과제명	해양천연물로부터 지방산생합성 저해를 타겟으로 하는 신규 항암 및 항감염 선도물질 발굴
주관기관	충남대학교 산학협력단
연구기간	2010.06.23 ~ 2015.06.22

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1의 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올((*4R,7S,E*)-10-benzyl-5,7-dimethylundeca-1,5,10-trien-4-ol) 화합물.

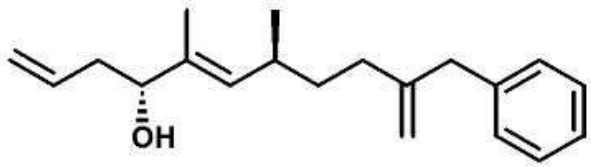
[화학식 1]



청구항 2

하기 화학식 1의 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올[(*4R,7S,E*)-10-benzyl-5,7-dimethylundeca-1,5,10-trien-4-ol] 화합물을 함유하는 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료용 조성물.

[화학식 1]



청구항 3

제 2 항에 있어서,

상기 암은 대장암, 폐암, 자궁경부암, 뇌하수체선종, 뇌종양, 위암, 간암, 유방암, 췌장암, 자궁암, 백혈병, 식도암, 전립선암, 방광암 및 난소암 중에서 선택되는 질환인 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 4

상기 제1항의 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물은 해면동물인, 스메노스폰지아 아우레아(*Smenospongia aurea*), 스메노스폰지아 세레브리포르미스(*Smenospongia cerebriformis*), 베론굴라 리지다(*Verongula rigida*) 또는 이들의 혼합물로부터 분리하여 얻는 것을 특징으로 하는 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물의 제조방법.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 새로운 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올((*4R,7S,E*)-10-benzyl-5,7-dimethylundeca-1,5,10-trien-4-ol) 화합물 및 상기 화합물을 함유하는 암 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 인류 건강을 위협하는 악성종양, 즉, 암은 세계적으로 사망원인의 1, 2위를 차지하고 있으며 심혈관 질환 다음으로 서구사회에서 가장 일반적인 사망원인이다. 현대사회의 인구의 노령화, 흡연인구의 증가 및 대기오염으로

인해 폐암이 증가하고 있으며 식생활의 서구화에 따른 고지방식의 섭취, 환경오염물질의 증가, 음주량의 증가 등으로 백혈병, 대장암, 유방암, 전립선 암 등이 지속적으로 증가 추세에 있다. 따라서 암의 조기예방 및 치료를 가능하게 하여 인류 건강의 증진, 건강한 삶의 질 향상 및 인류 보건 증진에 기여할 수 있는 항암 물질의 창출이 절실히 요구되고 있다.

[0003] 해면동물(海綿動物, *Porifera*)은 후생동물(後生動物) 중 가장 낮은 위치에 있는 동물문이며, 갯솜동물이나 측생동물(側生動物)이라고 하거나, 발생과 형태가 강장동물과 다소 유사하여 강장동물까지 분화하지 않은 형태의 동물이라고도 한다. 해면동물의 화석은 고생대의 캄브리아기부터 알려져 있고, 현생종은 전세계에 약 1만 종이 알려져 있으며 해산종은 간조선 부근에서부터 9,000m까지의 깊은 바다에 산다. 소수의 담수산을 제외하고는 대부분이 해산동물이며, 대부분이 조간대(tidal zone)의 바위?자갈과 내만(內灣)의 모래?진흙바닥에 착생해 있고, 해조, 배밑창, 멍게류?패류?게 등의 갑각(甲殼) 위에 붙어 있는 종류가 있으며, 500~1,000m의 진흙바닥에 꼿꼿이 서서 있는 종류도 있다. 또한, 해면동물은 다른 동물에 부착하여 운동을 하지 않고 그 위에 소화기관과 감각기관도 갖고 있지 않기 때문에 얼핏 보면 식물로 생각하는 수가 많다. C.린네의 "Systema Naturae (1735)"에서도 '해면동물은 바다 또는 흐르는 물속에 사는 꽃과 과실이 알려져 있지 않은 식물이다.' 라고 한 바 있으며, 이것을 은화식물(隱花植物)로 분류하기도 하였다. 그러나, 18세기 초에 체내의 깃세포[襟細胞]가 운동하고 있는 것을 발견한 뒤로는 해면이 동물이라고 생각하게 되었으며, 현재는 각 세포가 한 마리의 원생동물로서, 상기 원생동물이 이루는 군체가 해면동물이라고 여겨지고 있다. 해면동물의 주요 2차 대사산물로는 테르페노이드류(terpenoids)나 아미노산 유도체 등이 알려져 있으며, 이에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

[0004] 해면동물의 일종인 해양 해면(Marine sponges)은, 다양한 화학 구조 및 잠재적인 생물학적 유용성을 갖는 2차 대사산물의 풍부한 근원으로 여겨지고 있으며(Nat. Prod. Rep., 2011, 28, 196~268; Nat. Prod. Rep., 2002, 19, 1~48), '스메노스폰지아' 속(genera *Smenospongia*, order *Dictyoceratida*, family *Thorectidae*)(J. Nat. Prod., 2002, 65, 476~480; J. Nat. Prod., 2008, 71, 1866~1871; J. Nat. Prod., 2005, 68, 1484~1488; J. Nat. Prod., 2004, 67, 1748~1751)과 '베론굴라' 속(genera *Verongula*, order *Verongida*, family Aplysinidae)(J. Nat. Prod., 2000, 63, 263~266; J. Nat. Prod. 1994, 57, 175~177; J. Nat. Prod., 2008, 71, 186~189)에서 가장 많이 분리되는 것으로 확인되고 있다. 상기 해면류에서 분리된 화합물 중 가장 잘 알려져 있는 화합물로는 세스퀴테르펜퀴논류(sesquiterpenequinones)와 하이드로퀴논류(hydroquinones) 화합물이 있는데, 상기 화합물들만 해도 이미 170종 이상이 넘는 것으로 알려져 있다.

[0005] 한편, 본 발명자들은 플로리다키스 제도(Florida Keys)에서 채집된 해양해면의 일종인 스메노스폰지아 아우레아(*Smenospongia aurea*), 스메노스폰지아 세레브리포르미스(*Smenospongia cerebriformis*) 및 베론굴라 리지다(*Verongula rigida*)의 혼합물로부터 테르페노이드류(terpenoids)나 아미노산 유도체(amino acid derivatives)가 아닌 알킬 벤젠 구조를 갖는 신규 화합물을 분리하였으며, 상기 화합물이 뛰어난 항암 효과가 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0006] (비특허문헌 0001) Blunt, J.W., Copp, B.R., Munro, M.H.G., Northcote, P.T., Prinsep, M.R., Marine Natural Products, Nat. Prod. Rep., 2011, 28, 196~268.

(비특허문헌 0002) Faulkner, D.J., Marine natural products, Nat. Prod. Rep., 2002, 19, 1~48.

(비특허문헌 0003) Hu, J.F., Schetz, J.A., Kelly, M., Peng, J.N., Ang, K.K.H., Flotow, H., Leong, C.Y., Ng, S.B., Buss, A.D., Wilkins, S.P., Hamann, M.T., New antiinfective and human 5-HT2 receptor binding natural and semisynthetic compounds from the Jamaican sponge Smenospongia aurea., J. Nat. Prod., 2002, 65, 476~480.

(비특허문헌 0004) Song, J., Jeong, W., Wang, N., Lee, H.S., Sim, C.J., Oh, K.B., Shin, J., Scalarane sesterterpenes from the sponge Smenospongia sp., J. Nat. Prod., 2008, 71, 1866~1871.

(비특허문헌 0005) Segraves, N.L., Crews, P.J., Investigation of brominated tryptophan alkaloids from two thorectidae sponges : Thorectandra and Smenospongia., J. Nat. Prod., 2005, 68, 1484~1488.

(비특허문헌 0006) Rho, J.R., Lee, H.S., Shin, H.J., Ahn, J.W., Kim, J.Y., Sim, C.J., Shin, J., New

sesterterpenes from the sponge Smenospongia sp., J. Nat. Prod., 2004, 67, 1748~1751.

(비특허문헌 0007) Ciminiello, P., Dell'Aversano, C., Fattorusso, E., Magno, S., Pansini, M., J. Nat. Prod., 2000, 63, 263~266.

(비특허문헌 0008) Mierzwa, R., King, A., Conover, M.A., Tozzi, S., Puar, M.S., Patel, M., Coval, S.J., Pomponi, S.A., Verongamine, a novel bromotyrosine-derived histamine H3-antagonist from the marine sponge Verongula gigantea., J. Nat. Prod., 1994, 57, 175~177.

(비특허문헌 0009) Kochanowska, A.J., Rao, K.V., Childress, S., El-Alfy, A., Matsumoto, R. R., Kelly, M., Stewart, G.S., Sufka, K. J., Hamann, M.T., Secondary metabolites from three Florida sponges with antidepressant activity., J. Nat. Prod., 2008, 71, 186~189.

발명의 내용

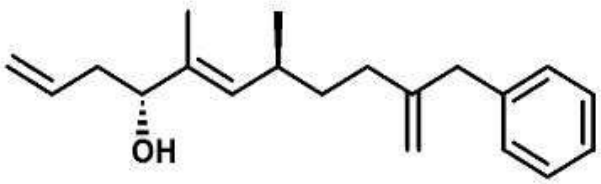
해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올((*4R,7S,E*)-10-benzyl-5,7-dimethylundeca-1,5,10-trien-4-ol) 화합물 및 상기 화합물을 함유하는 암 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명은 하기 화학식 1의 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올((*4R,7S,E*)-10-benzyl-5,7-dimethylundeca-1,5,10-trien-4-ol) 화합물에 관한 것이다.

[0009] [화학식 1]



[0010]

[0011] 상기 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물은 세 종류의 해면동물(플로리다 해면, Florida sponges)인, 스메노스폰지아 아우레아(*Smenospongia aurea*), 스메노스폰지아 세레브리포르미스(*Smenospongia cerebriformis*), 베론굴라 리지다(*Verongula rigida*) 또는 이들의 혼합물로부터 분리하여 얻을 수 있다.

[0012] 또한, 본 발명은 상기 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올((*4R,7S,E*)-10-benzyl-5,7-dimethylundeca-1,5,10-trien-4-ol) 화합물을 함유하는 암 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

[0013] 상기 암은 일반적인 암 질환을 포함하며, 바람직하게는, 대장암, 폐암, 자궁경부암, 뇌하수체선종, 뇌종양, 위암, 간암, 유방암, 췌장암, 자궁암, 백혈병, 식도암, 전립선암, 방광암, 난소암 등으로부터 선택된 질환이며, 보다 바람직하게는, 백혈병 또는 유방암이며, 가장 바람직하게는 백혈병일 수 있다.

[0014] 이하, 본 발명을 더 자세하게 설명한다.

[0015] 본 발명의 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물은 스메노스폰지아 아우레아, 스메노스폰지아 세레브리포르미스 및 베론굴라 리지다의 혼합물을 물, C1 내지 C4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매를 이용하여 추출한 추출물로부터 분리할 수 있다. 상기 C1 내지 C4의 저급 알코올은, 바람직하게는 에탄올, 메탄올, 프로판올, 이소프로판올 및 부탄올 중에서 선택될 수 있다.

[0016] 또한, 상기 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물은 상기 스메노스폰지아 아우레아, 스메노스폰지아 세레브리포르미스 및 베론굴라 리지다의 물, C1 내지 C4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매의 추출물을 크로마토그래피로 분획하여 얻을 수도 있다. 상기 크로마토그래피는 실리카겔 컬럼 크로마토그래피

(silica gel column chromatography), 엘에이취-20 컬럼 크로마토그래피(LH-20 column chromatography), 이온교환수지 크로마토그래피(ion exchange resin chromatography), 중압 액체 크로마토그래피(medium pressure liquid chromatography), 박층 크로마토그래피(TLC; thin layer chromatography), 실리카겔 진공 액체 크로마토그래피(silica gel vacuum liquid chromatography) 및 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 중에서 선택될 수 있다.

[0017] 따라서, 바람직하게는 상기 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물은 스메노스폰지아 아우레아(*Smenospongia aurea*), 스메노스폰지아 세레브리포르미스(*Smenospongia cerebriformis*), 베론굴라 리지다(*Verongula rigida*) 또는 이들 혼합물을 동결건조하고 분쇄하여 혼합하는 단계; 상기 스메노스폰지아 아우레아(*Smenospongia aurea*), 스메노스폰지아 세레브리포르미스(*Smenospongia cerebriformis*) 및 베론굴라 리지다(*Verongula rigida*)의 혼합물을 물, C1 내지 C4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출하여 스메노스폰지아 아우레아(*Smenospongia aurea*), 스메노스폰지아 세레브리포르미스(*Smenospongia cerebriformis*) 및 베론굴라 리지다(*Verongula rigida*)의 물, C1 내지 C4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매의 추출물을 제조하는 단계; 및, 상기 스메노스폰지아 아우레아(*Smenospongia aurea*), 스메노스폰지아 세레브리포르미스(*Smenospongia cerebriformis*) 및 베론굴라 리지다(*Verongula rigida*)의 물, C1 내지 C4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매의 추출물을 실리카겔 진공액체크로마토그래피, 중압액체크로마토그래피 및 고성능 액체 크로마토그래피를 이용하여 순차적으로 분획하는 단계;를 통해 얻을 수 있다.

[0018] 또한, 상기 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물은 상기 스메노스폰지아 아우레아, 스메노스폰지아 세레브리포르미스 및 베론굴라 리지다의 물, C1 내지 C4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매의 추출물을 n-헥산, 메틸렌클로라이드, 아세톤, 에틸아세테이트 및 n-부탄올로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상의 용매를 사용하여 추가적으로 분획하여 얻을 수도 있다.

[0019] 한편, 본 발명의 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물은 당해 기술 분야에서 통상적인 방법에 따라 합성될 수 있으며, 약학적으로 허용 가능한 염으로 제조될 수도 있다.

[0020] 또한, 본 발명은 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물을 함유하는 암 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다. 상기 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물을 포함하는 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 상기 약학 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 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 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스 또는 락토오스, 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 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0021] 본 발명의 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물을 함유하는 약학 조성물의 투여량은 치료받을 대상의 연령, 성별, 체중과, 치료할 특정 질환 또는 병리 상태, 질환 또는 병리 상태의 심각도, 투여경로 및 처방자의 판단에 따라 달라질 것이다. 이러한 인자에 기초한 투여량 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 일반적으로 투여량은 0.01㎎/㎏/일 내지 대략 2000㎎/㎏/일의 범위이다. 더 바람직한 투여량은 1㎎/㎏/일 내지 500㎎/㎏/일이다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0022] 본 발명의 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물을 함유하는 약학 조성물은 쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면,

경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내 주사에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 추출물은 독성 및 부작용이 거의 없으므로 예방 목적으로 장기간 복용시에도 안심하고 사용할 수 있는 약제이다.

발명의 효과

[0023] 본 발명은 해면동물인 스메노스폰지아 아우레아(*Smenospongia aurea*), 스메노스폰지아 세레브리포르미스(*Smenospongia cerebriformis*), 베론굴라 리지다(*Verongula rigida*) 또는 이들의 혼합물에서 분리한 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올((*4R,7S,E*)-10-benzyl-5,7-dimethylundeca-1,5,10-trien-4-ol) 화합물 및 상기 화합물을 함유하는 암 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로서, 상기 화합물은 암세포에 대한 세포독성이 뛰어나, 대장암, 폐암, 자궁경부암, 뇌하수체선종, 뇌종양, 위암, 간암, 유방암, 췌장암, 자궁암, 백혈병, 식도암, 전립선암, 방광암, 난소암 등의 치료에 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0024] 도 1은 스메노스폰지아 아우레아(*Smenospongia aurea*), 스메노스폰지아 세레브리포르미스(*Smenospongia cerebriformis*) 및 베론굴라 리지다(*Verongula rigida*)의 사진을 나타낸다.

도 2는 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물의 $^{1}H^{1}H$ COSY 스펙트럼을 나타내는 그림이다($CDCl_3$, 600 MHz).

도 3은 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물의 1D NOE 스펙트럼을 나타내는 그림이다(irradiation at H-3, 500MHz).

도 4는 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물의 $^{1}H^{1}H$ COSY 스펙트럼 결과와 HMBC 스펙트럼 결과를 나타내는 화학구조이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0025] 이하 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 그러나, 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다. 오히려, 여기서 소개되는 내용이 철저하고 완전해질 수 있도록 또한 당업자에게 본 발명의 사상을 충분히 전달하기 위해 제공하는 것이다.

[0026] **<실시예 1. (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물의 분리>**

[0027] 스메노스폰지아 아우레아(*Smenospongia aurea*), 스메노스폰지아 세레브리포르미스(*Smenospongia cerebriformis*) 및 베론굴라 리지다(*Verongula rigida*) 세 종류 해면의 동량을 동결건조하여 분쇄하고 혼합한 후, 실온에서 에탄올로 추출하였다. 건조된 에탄올 추출물 3.6kg은 실리카겔 진공액체크로마토그래피를 이용하여 헥산/아세톤/메탄올/물의 순차적 농도구배로 분획함으로써 13개의 소분획물을 얻었다(Fr.1 ~ Fr.13). 이 중, 10번째 소분획물인 Fr.10(39.3g)을 다시 실리카겔 진공액체크로마토그래피 및 동일 용매 조건을 이용하여 9개의 소분획물로 다시 재분획하였다(Fr.10-1 ~ Fr.10-9). 이 중 Fr.10-6 소분획물(2.7g)을 C18 중압액체크로마토그래피(15.5×4㎝) 및 메탄올/물 85:15의 등용매용리(isocratic solvent) 조건을 이용하여 7개의 소분획물을 얻었다(Fr.10-6-1 ~ Fr.10-6-7).

[0028] 본 발명의 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물은 Fr.10-6-1(95.1㎎)을 C18 고성능 액체 크로마토그래피(250×21.2㎜, 10㎛) 및 메탄올/물 78:22의 등용매용리 조건으로 용출시켜 1.9㎎을 얻었고, Fr. 10-6-2(457.8㎎)을 C18 고성능 액체 크로마토그래피(250×4.60㎜, 5㎛) 및 메탄올/물 78:22의 등용매용리 조건으로 용출시켜 4.4㎎을 얻어, 최종적으로 상기 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물 6.3㎎을 얻었다(건조 중량에 대한 최종수율 0.000175%).

[0029] **<실시예 2. (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물의 물리화학적 성질>**

[0030] 상기 실시예 1에서 분리된 화합물에 대해 ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR을 이용하여 그 특성을 분석하였으며, 상기 화합물의 물리화학적 특성은 다음과 같다.

[0031] - 무색의 오일

[0032] - 질량분석 : m/z 285.2215 $[M+H]^+$ (calcd 285.2218)

[0033] - 분자식 : $C_{20}H_{28}O$

[0034] - NMR 데이터 (in $CDCl_3$) : (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물의 COSY, HMBC 및 NOE 스펙트럼 등의 결과를 하기 표 1에 나타내었으며, 도 2에는 상기 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물의 ^1H-^1H COSY 스펙트럼을 나타내었고, 도 3에는 상기 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물의 1D NOE 스펙트럼을 나타내었다.

표 1

No.	δ_H[a], mult. (*J* in Hz)	δ_C[b]	COSY	HMBC (H# → C#)	NOE
1	5.04, d (10.2) 5.08, d (17.4)	117.67	2		
2	5.72, m	135.00	1, 3		
3	2.26, m	40.09	2, 4	1, 2	13
4	3.99, t (6.6)	76.84	3	2	6
5		135.86			
6	5.12, d (9.6)	132.78	7		4
7	2.31, m	32.31	6, 8, 13		14
8	1.24, m 1.39, m	34.76	7, 9	6, 10	
9	2.05, t (8.4)	28.36	8	8, 10	
10		142.46			
11	4.33, s	41.33		9, 10, 12, 1', 2'	
12	5.79, s	113.96		9, 10	
13	0.92, d (6.6)	21.02	7	6, 7, 8	3
14	1.57, d (1.2)	11.87		4, 5, 6	7
1'		138.39			
2'	7.13, d (7.2)	129.09		11	
3'	7.27, t (7.5)	128.60			
4'	7.20, t (7.5)	126.68			

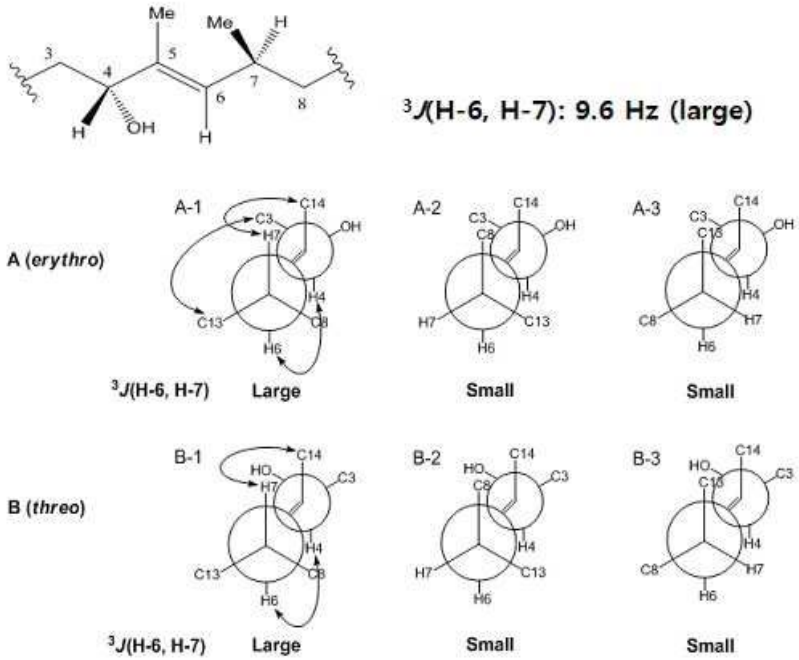
[a] Assignment based on COSY and HMBC NMR data (600 MHz)
[b] Assignment based on HSQC and HMBC NMR data (150 MHz)

[0035]

[0036] ^1H NMR 자료에 나타난 δ_H 7.27 (2H, t, *J* = 7.5 Hz), 7.20 (1H, t, *J* = 7.5 Hz), 7.13 (2H, d, *J* = 7.2 Hz) 및 13C NMR 자료에 나타난 δ_C 138.39 (C-1'), 129.09 (C-2′), 128.60 (C-3′), 126.68(C-4′)로부터 이 화합물은 단일 치환된 벤젠환을 갖는 것으로 확인하였다. 그 외에 δ_H 5.79 (2H, s), 5.72 (1H, m), 5.12 (1H, d, *J* = 9.6 Hz), 5.08 (1H, br d, *J* = 17.4 Hz), 5.04 (1H, d, *J* = 10.2 Hz) 및 δ_C 142.46 (C-10), 135.86 (C-5), 135.00 (C-2), 132.78 (C-6), 117.67 (C-1), 113.96 (C-12)의 NMR 자료로부터 세 개의 이중결합 부분구조를 확인하였다. 그밖에 δ_H 3.99 (1H, t, *J* = 6.6 Hz)과 δ_C 76.84 (C-4)으로부터 하나의 산소 치환 메틴(oxygenated methine), δ_H 3.33 (2H, s)과 δ_C 41.33 (C-11)으로부터 하나의 벤질 메틸렌, δ_H 2.05 (2H, t, *J* = 8.4 Hz)과 δ_C 28.36 (C-9)으로부터 알릴 메틸렌, δ_H 1.57 (3H, d, *J* = 1.2 Hz)과 δ_C 11.87 (C-14), δ_H 0.92 (3H, d, *J* = 6.6 Hz)과 δ_C 21.02 (C-13)로부터 메틸기의 존재를 확인하였다. ^1H-^1H COSY, HSQC, HMBC, NOESY 및 ROESY 등 각종 2D-NMR 자료의 분석을 통해 이 화합물의 구조를 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올로 결정하였다. 이 화합물의 4번과 7번 위치의 상대구조는 1D 및 2D NOE 자료 분석을 통해 결정하였는데, 여기

에서 ^{3}J(H-6, H-7) = 9.6 Hz 값과 NOE 상관관계를 분석하여 상대구조를 아래 <참고도-1>의 A-1과 같이 결정하였다.

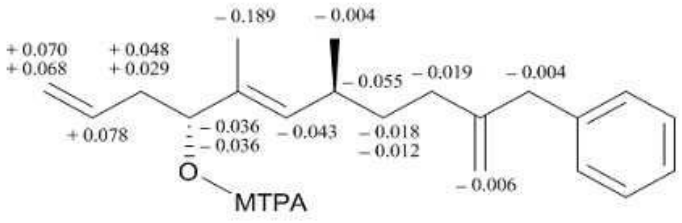
<참고도-1>



[0037]

[0038] 따라서, 본 발명 화합물의 4번과 7번 위치의 절대구조는 (*R*)- 및 (*S*)-MTPA-에스터를 각각 합성한 후 ^{1}H NMR의 chemical shift 차를 계산하여 아래 <참고도-2>와 같이 분석하여 각각 4*R*과 7*S*로 결정하였으며, 이와 같은 결과를 통해 확인된 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올의 화학구조를 도 4에 나타내었다.

<참고도-2>



[0039]

[0040] **<실시예 3. 암세포에 대한 세포 독성 확인>**

[0041] 혈액암 세포주인 HL-60(leukemia cancer cells)을 이용해 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물의 암세포에 대한 세포독성 효과를 MTT[3-(4,5-dimetylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] 어세이를 이용하여 확인하였다. HL-60 세포주는 L-글루타민(L-glutamine), 10% FBS(fetal bovine serum), 2% 페니실린-스트렙토마이신(penicillinstreptomycin)이 포함된 RPMI 1640 배지를 이용하여 37℃의 5% CO_2 배양기에서 배양하였다. MTT 어세이를 위해, 상기 세포들은 96웰 플레이트에 각 웰당 1×10^{4}개의 농도로 분주하였고, 세포 부착을 위해 2시간 동안 37℃의 5% CO_2 배양기에 두었다. (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물의 농도는 5~100㎛M의 농도가 되도록 세포 배양배지에 녹였고, 이 때 화합물의 용매로 사용된 DMSO(dimethyl sulfoxide)의 최종농도는 0.1%가 넘지 않도록 하였다. 세포 분주 2시간 후, 세포가 모두 바닥에 부착된 것을 확인하고, 상기 화합물이 포함된 20㎕의 배지를 각 웰에 넣었으며 대조군에는 DMSO만 처리하였다. (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물 처리 48시간 후에는, 20㎕의 MTT

용액(최종 농도 5㎍/㎖)을 각 웰에 처리하였다. 2시간 후, 플레이트를 원심분리(5분, 1500rpm)하고, 세포 배양 배지를 제거한 뒤, 각 웰에 DMSO를 150㎕씩 넣어 세포 내에 형성된 포마잔을 용해시킨 후, 570㎚에서 Titertek microplate reader(Multiskan MCC/340, Flow)로 흡광도를 측정하여 세포사멸 결과를 IC_{50}값(the half maximal inhibitory concentration value)으로 나타내었으며, 이를 하기 표 2에 기재하였다.

표 2

[0042]

조 건	HL-60, IC_{50} (μM)
(*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올	8.1

[0043] 상기 표 2의 결과를 확인하면, 본 발명의 화합물이 암세포에 대한 세포독성이 뛰어나 항암효과가 우수한 것으로 나타났다.

[0044] **<실험예 4. 독성실험>**

[0045] **실험예 4-1. 급성독성**

[0046] 본 발명의 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물을 단기간에 과량을 섭취하였을 때 급성적(24시간 이내)으로 동물체내에 미치는 독성을 조사하고, 치사율을 결정하기 위하여 본 실험을 수행하였다. 일반적인 마우스인 ICR 마우스 계통 20마리를 대조군과 실험군에 각각 10마리씩 배정하였다. 대조군에는 PEG-400/tween-80/에탄올(8/1/1, v/v/v) 만을 투여하고, 실험군은 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물을 상기 PEG-400/tween-80/에탄올(8/1/1, v/v/v)에 녹여 2g/kg/day의 농도로 각각 경구투여하였다. 투여 24시간 후에 각각의 치사율을 조사한 결과, 대조군과 2g/kg/day 농도의 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물을 투여한 실험군에서 마우스가 모두 생존하는 것으로 확인되었다.

[0047] **실험예 4-2. 실험군 및 대조군의 장기 및 조직 독성 실험**

[0048] 장기 독성 실험은 본 발명의 본 발명의 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물을 최종 농도를 2g/kg/day로 하여 C57BL/6J 마우스(각 군당 10마리)에 투여하여 실험하였다. 동물의 각 장기(조직)에 미치는 영향을 조사하기 위하여 본 발명의 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물을 투여한 실험군과 PEG-400/tween-80/에탄올(8/1/1, v/v/v)만을 투여한 대조군의 동물들로부터 8주 후 혈액을 채취하여 GPT(glutamate-pyruvate transferase) 및 BUN(blood urea nitrogen)의 혈액 내 농도를 Select E(Vital Scientific NV, Netherland) 기기를 이용하여 측정하였다. 그 결과, 간독성과 관계있는 것으로 알려진 GPT와 신장독성과 관계있는 것으로 알려진 BUN의 경우, 대조군과 비교하여 실험군은 별다른 차이를 보이지 않았다. 또한, 각 동물로부터 간과 신장을 절취하여 통상적인 조직절편 제작과정을 거쳐 광학현미경으로 조직학적 관찰을 시행하였으며 모든 조직에서 특이한 이상이 관찰되지 않았다.

[0049] **<제제예 1 : 약학적 제제>**

[0050] **제제예 1-1. 정제의 제조**

[0051] 본 발명의 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물 10g을 락토오스 175.9g, 감자전분 180g 및 콜로이드성 규산 32g과 혼합하였다. 이 혼합물에 10% 젤라틴 용액을 첨가시킨 후, 분쇄해서 14 메쉬체를 통과시켰다. 이것을 건조시키고 여기에 감자전분 160g, 활석 50g 및 스테아린산 마그네슘 5g을 첨가해서 얻은 혼합물을 정제로 만들었다.

[0052] **제제예 1-2. 주사액제의 제조**

[0053] 본 발명의 (*4R,7S,E*)-10-벤질-5,7-디메틸운데카-1,5,10-트리엔-4-올 화합물 1g, 염화나트륨 0.6g 및 아스코르브산 0.1g을 증류수에 용해시켜서 100㎖를 만들었다. 이 용액을 병에 넣고 20℃에서 30분간 가열하여 멸균시켰다.

도면

도면1



스메노스폰지아 아우레아(*Smenospongia aurea*)

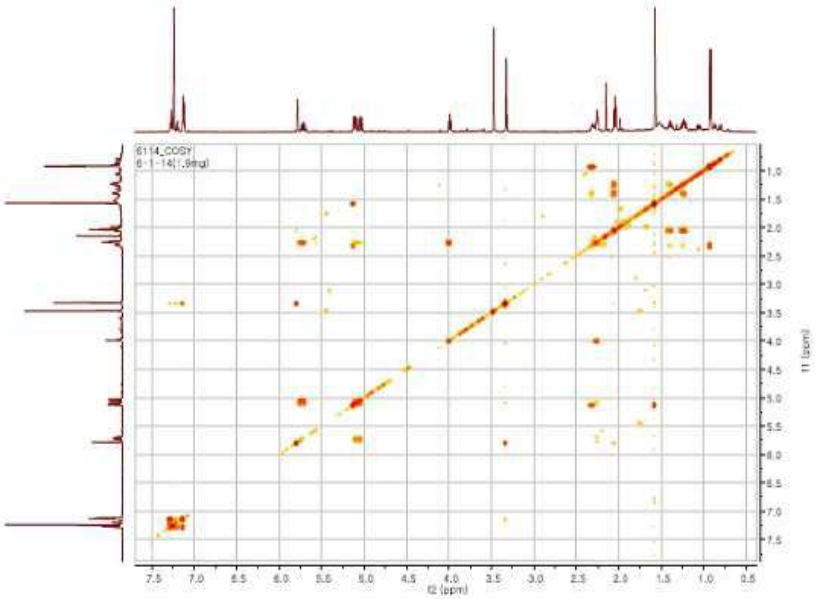


베론굴라 리지다(*Verongula rigida*)

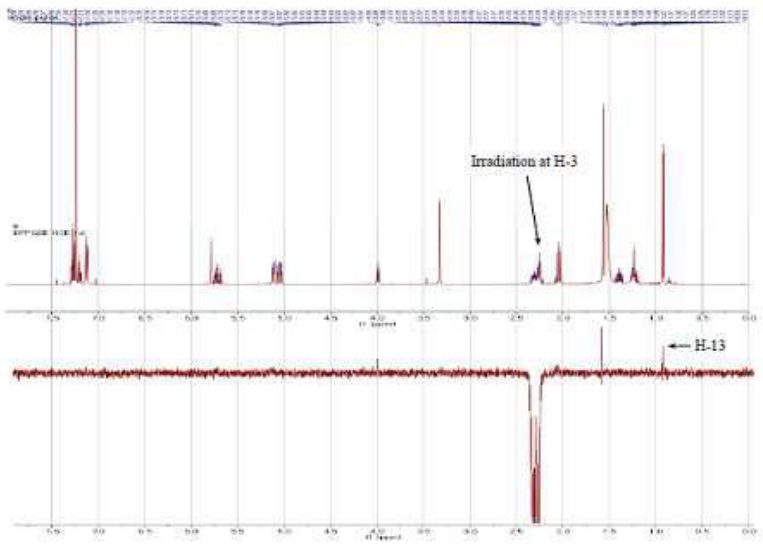


스메노스폰지아 세레브리포르미스
(*Smenospongia cerebriformis*)

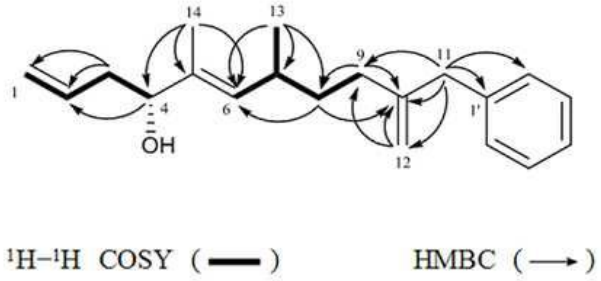
도면2



도면3



도면4



^1H–^1H COSY (▬) HMBC (⟶)