(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。Int. Cl.
C07D 493/04 (2006.01)

(11) 공개번호 10-2006-0110968
(43) 공개일자 2006년10월26일

(21) 출원번호 10-2005-0033226
(22) 출원일자 2005년04월21일

(71) 출원인 충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 궁동 220번지 충남대학교

(72) 발명자 김미리
대전 유성구 신성동 대림두레아파트 101-201
석대은
대전 유성구 신성동 대림두레아파트 101-201

(74) 대리인 권오식
박창희

심사청구 : 있음

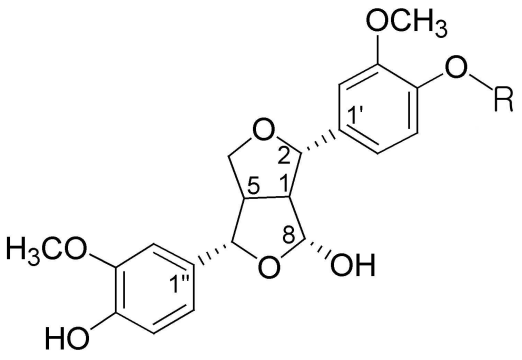
(54) 신규 리그난 화합물, 이를 제조하는 방법 및 이를 함유하는조성물

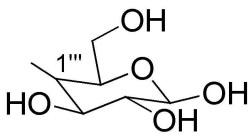
요약

본 발명은 항산화성 뇌보호 활성을 갖는 신규 리그난 화합물에 관한 것이다.

본 발명은 하기 화학식으로 표시되는 리그난 화합물, 이의 염 또는 수화물과 그를 유효량으로 함유하는 건강식품 및 이를 이용한 약제학적 제제를 제공하는 것이다.

[화학식]



상기 화학식에서 R은 수소 또는 

를 나타낸다.

색인어

항산화, 식품, 리그난, 약학적 제제

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 항산화성 뇌보호 활성을 갖는 신규 리그난 화합물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 머위의 부탄올 추출물로부터 분리한 항산화성 뇌보호 활성을 갖는 신규 리그난 화합물 및 이를 함유한 건강식품 및 약제학적 제제에 관한 것이다.

일반적으로 카인산(L-Kainic acid), 글루탐산(L-glutamic acid) 및 도모산(Domoic acid)은 뇌신경에 있어서 중요한 전달물질인 흥분성 아미노산으로서, 이중 카인산은 뇌신경세포의 이온 채널로부터 나트륨이나 칼슘과 같은 양이온의 유입을 유도하여 신경세포막간의 분극현상을 유발하여 신경 세포를 흥분시키는 것으로 공지되어 있다.

또한, 상기 카인산 처리에 의한 흥분성 독성(excitotoxicity)은 뇌의 내인성으로 존재하는 글루타민산이나 다른 흥분성 신경전달물질들을 일시에 과도하게 방출되게 함으로써 신경조직 손상과 신경병 발생(neuropathgenesis)에 연관이 있는 것으로 알려지기 시작하였다(Choi et al. Ann.Rev. Neurosci. 13, 171-182, 1990).

그리고, 전신적으로 투여하면 특징적으로 해마씨(hippocampus)의 CA1과 CA3부위에 존재하는 추체신경세포(pyramidal neurons)를 선택적으로 사멸시켜 변연계의 발작(limbic motor seizure) 또는 경련을 유발시켜 간질중첩증이 뒤따르게 되는 것으로 보고되고 있다(Ben-Ari Y. Limbic seizure and brain damage produced by kainic acid:mechanisms and relevance to human temporal lobe epilepsy. Neuroscience.,14(2), 375-403, 1985).

이와같은 이유로, 카인산은 실험용 동물에서 측두엽 간질을 유도하는 약물로서 사용되고 있으며, 카인산에 의한 해마씨의 선택적 신경독성을 억제하는 약물을 개발하는 데 하나의 모델 시스템으로 사용되고 있는 실정이다.

한편, 국화과에 속하는 페타시테스 속의 추출물은 예전부터 민간 의학에서 치료의 목적으로 수천년동안 사용되어져 왔다.

예를들어 유럽의 여러해살이 풀인 페타시테스 히브리두스(*Petasites hybridus*)는 페타신(petasine) 또는 이소페타신(isopetasine)과 같은 경련과 통증을 완화시켜주는 화합물을 포함하고 있는 것으로 알려져 있다.

그리고, 대만의 자생종인 페타시테스 포모사누스(*Petasites formosanus*)는 고혈압치료에 사용되는 데 이의 활성성분으로 세스퀴테르펜(sesquiterpene) 일종인 S-페타신이 알려져 있다.

또한, 페닐프로페노일 유도체(phenylpropenoyl derivatives)와 같은 페놀 화합물이 잎에서 추출되고 있다.

그리고, 한국과 일본에서 넓게 자생하고 있는 머위(학명 *Petasites japonicus*(Sieb. et Zucc.) Maxim.)는 식용으로도 사용되고 있으며, 최근에는 잎에서 분리된 페타시노페놀(petasiphenol)과 플라보노이드 글리코시드(flavonoid glycosides)가 각각 진핵세포의 DNA 중합효소 람다(DNA polymerase rhamda)와 DNA 중합효소 알파(DNA polymerase alpha)를 억제하는 것으로 보고되고 있다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

이에, 본 발명자는 머위로부터 신규한 생리활성물질을 추출하고자 하였으며, 머위 잎의 추출물에 대한 항산화 화합물에 대한 연구를 통하여 부탄올 추출물이 항산화 효과가 가장 우수한 사실을 알게 되었으며, 이의 추출물이 뇌신경계를 파괴하거나 악화시키는 카인산의 신경독성을 억제하는 것을 입증하게 되어 본 발명을 완성하게 되었다.

따라서, 본 발명의 목적은 상기 효과를 갖는 신규한 리그난 화합물 및 그의 수화물을 얻는 것이다.

그리고, 본 발명의 다른 목적은 상기 리그난화합물을 유효량으로 함유한 식품을 제공하는 것이다.

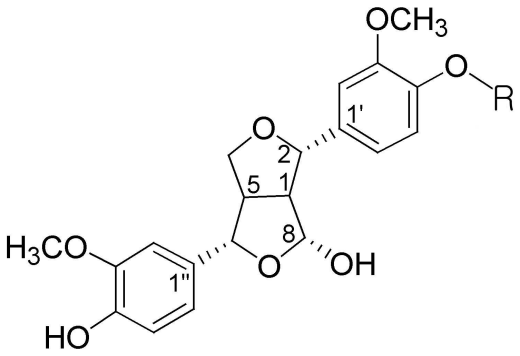
또한, 본 발명의 또 다른 목적은 상기 리그난 화합물 또는 그 유도체를 유효량으로, 약학적으로 허용되는 담체와 함께 포함하는 항산화 뇌보호 활성을 가지는 약학적 제제를 제공하는 것이다.

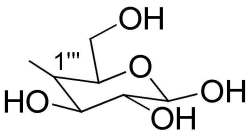
그리고, 본 발명의 또 다른 목적은 머위로부터 상기 리그난 화합물의 분리방법을 제공하는 것이다.

발명의 구성 및 작용

상기와 같은 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 리그난 화합물, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물을 제공한다.

[화학식 1]



상기 화학식에서 R은 수소 또는  를 나타낸다.

또한, 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 상기 리그난 화합물을 유효량으로, 약학적으로 허용되는 담체와 함께 포함하는 뇌보호 활성을 가지는 약학적 조성물을 제공한다.

또한, 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 상기 리그난 화합물을 함유하는 건강식품을 제공한다.

나아가, 본 발명은 머위 잎을 메탄올에서 추출하여 고형 추출물을 얻는 단계; 상기 추출물을 물에 현탁한 후 부탄올에서 추출하는 단계; 상기 부탄올 추출물을 실리카겔 컬럼에서 클로로포름과 메탄올로 순차적으로 용리하여 복수개의 프랙션으로 분리하는 단계; 상기 분리된 프랙션을 메탄올로 다시 용리하여 복수개의 프랙션으로 분리하는 단계; 및 상기 분리된 복수개의 프랙션 중에서 상기 리그난 화합물을 수득하는 단계를 포함하는 리그난 화합물의 분리방법을 제공한다.

이하, 본 발명을 상세히 설명하기로 한다.

이때, 사용되는 기술 용어 및 과학 용어에 있어서 다른 정의가 없다면, 이 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 통상적으로 이해하고 있는 의미를 가진다.

또한, 종래와 동일한 기술적 구성 및 작용에 대한 반복되는 설명은 생략하기로 한다.

본 발명의 신규한 리그난 화합물들은 머위의 추출물로부터 분리한 신규한 푸로푸란 리그난 화합물(Furofuran lignan)로서, 항산화(antioxidant) 및 신경독성억제(neurotoxity inhibition)의 특성으로 인해 뇌신경 세포를 파괴하거나 악화시키는 산화적 신경독성으로부터 뇌를 보호하는 효능을 가진다.

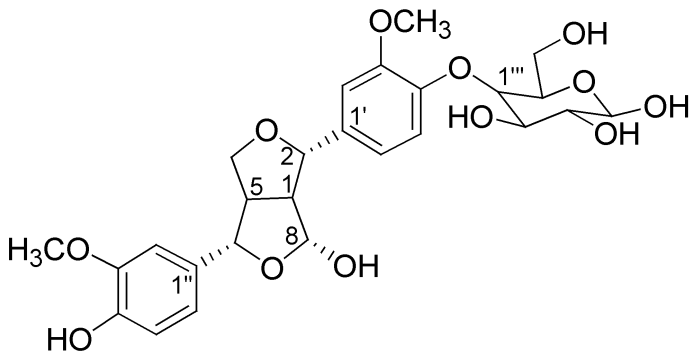
또한, 본 발명의 신규한 리그난 화합물들은 생체내에서 우수한 항산화 기능을 가진 물질로서 뇌신경세포에서 흥분성 전달물질인 산화성의 카인산 활성을 억제함으로써, 흥분성 신경전달물질의 과도한 방출을 중단시켜, 신경조직 손상과 신경병 발생 및 해마씨의 추체신경세포의 사멸을 방지하여 간질 증상 등을 완화시켜주는 역할을 한다.

따라서, 본 발명의 리그난 화합물 파킨슨병, 알츠하이머병, 루게릭병, 허혈성 뇌졸중 또는 퇴행성 척추손상과 같은 뇌질환을 예방 또는 치료하는데 유용하게 사용될 수 있다.

한편, 본 발명에서 머위의 추출방법은 먼저 부탄올로 추출한 머위 잎 추출물을 공지된 방법인 정상과 역상 실리카겔이나 HPLC를 이용한 컬럼 크로마토그래피를 반복 수행하여 프랙션(fraction)을 분리하고, 상기 분리된 프랙션을 고형화한 다음, 선광도가 [α]D-10.0°인 프랙션을 선정하여 항산화성 뇌보호 활성을 갖는 신규 리그난 화합물을 수득하는 것이 바람직하다.

이때, 상기 방법으로 추출하여 분리한 신규한 리그난 화합물은 2D-NMR(핵자기 공명)을 포함하는 분광적인 분석방법(spectroscopic method)에 의해 하기 화학식 2로 표시되며, IUPAC에 의한 명명법에 따라 2-(4'-히드록시-3'-메톡시페닐)-6-(4"-히드록시-3"-메톡시페닐)-8-히드록시-3,7-디옥사비시클로[3.3.0]옥텐-4'-*O*-(-D-글루코피라노시드{2-(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-6-(4"-hydroxy-3"-methoxy phenyl)-8-hydroxy-3,7-dioxabicyclo[3.3.0] octane-4'-*O*-(-D-glu copyranoside}라 명명하였다.

[화학식 2]

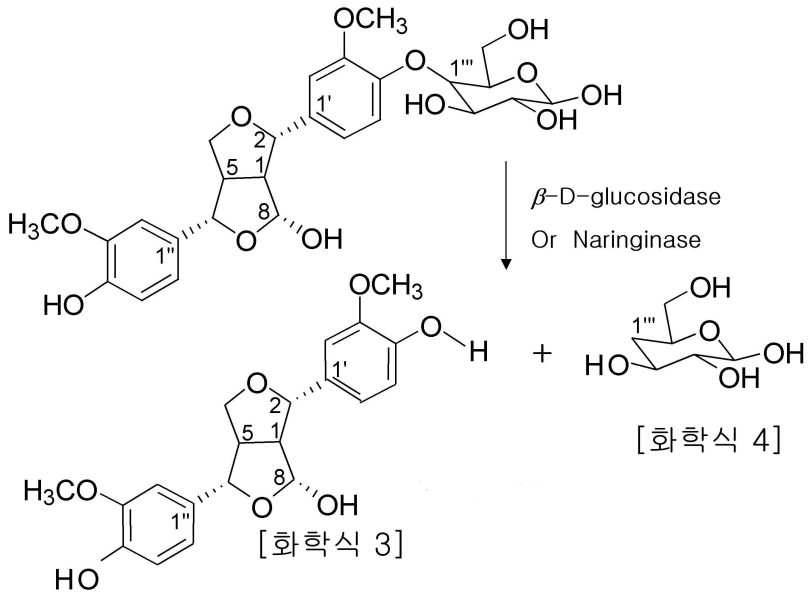


하지만, 본 발명은 상기 화합물을 수득하기 위한 천연물 소재가 머위 잎으로 한정되는 것은 아니며, 상기 화합물을 함유하고 있는 천연물이라면 어느 것이라도 사용할 수 있다.

그리고, 천연물로부터 상기 화합물을 추출하는 방법에 있어서도 본 발명의 화합물을 추출할 수 있는 방법이라면 공지된 방법이외에도 미공지된 방법을 사용해도 무방하다.

또한, 상기 화학식 2를 다음의 반응식을 수행하고, 화학식 2의 화합물로부터 화학식 3의 아글리콘(aglycone)과 화학식 4의 D-포도당(β형 D-glucose)를 분리하여 아글리콘을 획득한다.

[반응식 1]



[화학식 3]

[화학식 4]

그러나, 상기 효소를 이용한 분리방법 이외에, 미공지된 방법이라도 본 발명에 따라 머위에서 분리한 화학식 2의 리그난 화합물로부터 화학식3의 아글리콘을 분리하여 획득할 수 있는 방법이라면 어느 방법을 사용해도 무방하다.

뿐만아니라, 상기 효소 이외에 상기와 같은 효과를 가지는 효소라면 어느 것을 사용해도 무방하다.

그리고, 본 발명에서 화학식 3으로 표시되는 리그난 화합물인 아글리콘도 화학식 2의 화합물로 동일한 효과를 가지고 있어 화학식 2의 리그난 화합물을 대체하여 사용할 수 있다.

그리고, 본 발명에 따라서 약학적 제제의 형태로 제조하는 경우, 본 발명의 리그난 화합물, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물을 약학적으로 허용되는 통상적인 담체와 함께 배합하여 투여 목적에 따라, 정제, 경질 또는 연질 캅셀제, 츄잉정, 분말제, 액제나 현탁제와 같은 경구 투여용 제제 또는 주사가능한 액제나 현탁제와 같은 비경구 투여용 제제의 형태로 제형화될 수 있다.

이때, 본 발명의 리그난 화합물을 정제, 캅셀제, 츄잉정, 분말제, 액제, 현탁제 등의 경구 투여용 제제로 제형화하는 경우에 있어서는, 아라비아 고무, 옥수수 전분, 미세 결정질 셀룰로오스 또는 젤라틴과 같은 결합제, 인산 이칼슘 또는 락토오즈와 같은 부형제, 알긴산, 옥수수 전분 또는 감자 전분과 같은 붕해제, 스테아르산 마그네슘과 같은 윤활제, 슈크로오즈 또는 사카린과 같은 감미제 및 페퍼민트, 메틸 살리실산염 또는 과일향과 같은 향미제가 포함될 수 있으며, 투여 단위형이 캅셀제인 경우에는 상기 성분외에도 폴리에틸렌 글리콜 또는 지방유와 같은 액상 담체가 포함될 수도 있다.

또한, 비경구 투여를 위한 용액 또는 현탁액 형태의 주사제는 비경구적으로, 예를 들면 피하, 정맥내, 근육내, 또는 복강내로 투여될 수 있다. 일반적으로, 주사 가능한 용액 또는 현탁액은 물, 염수, 수성 덱스트로스 및 관련된 설탕 용액제, 불휘발성 오일, 에탄올, 글리세린, 폴리에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜과 같은 글리콜류 등의 약학적으로 허용되는 액상 담체중에 유효량의 활성 화합물을 균질하게 혼합시켜 제조할 수 있다. 이외에도 필요에 따라 항세균제, 킬레이트제, 완충제, 보존제와 같은 보조제를 포함시킬 수도 있다.

그리고, 상기 약학적으로 허용되는 담체로는 약학적으로 순수하고, 실질적으로 무독성이며, 활성 성분의 작용을 저해하지 않는 임의의 모든 보조제를 사용할 수 있다.

그리고, 본 발명의 리그난 화합물을 유효량으로 함유하는 약학적 제제는 경구 투여의 경우 1일기준으로 체중 1㎏당 25 내지 100㎎을 1회 내지 수회, 바람직하게는 3회 내지 4회에 나누어 경구투여할 수 있다.

하지만, 상기 리그난 화합물 유효량은 환자가 앓고 있는 질환의 종류 및 질환의 중증도, 투여하고자 하는 환자의 성별, 연령, 체중 및 건강 상태, 투여 방식, 투여 횟수와 시간, 병용 약물의 사용 여부 및 기타 외부 환경요인에 따라 변경될 수 있다.

또한, 본 발명의 신규한 리그난 화합물은 전통적으로 음식으로 사용하던 머위로부터 추출된 것으로서, 인체의 유해성이 없이 섭취가능한 것으로서, 상기의 추출된 신규한 리그난계 화합물을 분리하여 음식 또는 음료 첨가제로 사용하는 경우 건강식품으로 사용할 수 도 있다.

즉, 상기에서 얻은 화학식 1의 추출물을 통상의 감미제, 비타민류, 아미노산류, 미네랄류, 유기산류, 방향제 또는 방부제 등과 함께 용해시켜 수용액, 수현탁액, 또는 통상의 복용 형태의 제형으로 제조하면, 항산화 활성을 유발하여 성인병의 예방과 더불어 부족된 영양소들을 보충할 수 있는 우수한 건강식품이 될 수 있다. 따라서, 본 발명은 상기의 화학식 1의 주성분으로 함유하고, 필요하면, 여기에 기타의 생약엑기스, 비타민류, 아미노산류, 감미제, 미네랄류, 유기산류, 방향제, 과일즙 또는 방부제 등에서 선택된 1종 이상의 보조성분을 첨가하고, 여기에 물을 적당량 가하고 멸균하거나, 또는 통상의 복용 형태의 제형으로 하여 얻어지는 신규의 식품을 제공할 수 있다.

본 발명에서 사용될 수 있는 비타민류로는 비타민 A, 비타민 B_1, B_2, B_6, B_{12}, 비타민 C, 비타민 D, 비타민 E, 비타민 F, 비타민 G, 비타민 H, 비타민 K 및 인체에 필요한 통상의 비타민류를 함유할 수 있다. 비타민류 중에서 지용성의 비타민인 경우에는 적당량의 유화제를 가하여 유탁시킨 후에 첨가하는 것도 좋다.

본 발명에서 사용될 수 있는 아미노산류로서는 글리아신, 알라닌, 발틴, 글루타민산, 라이신, 아르기닌, 히스티딘, 페닐알라닌, 타이로신, 트립토판, 프롤린, 옥시프롤린 등이 있다.

본 발명에서 사용될 수 있는 감미제로는 포도당, 과당, 이성화당, 서당, 맥아당, 올리고당, 만니톨, 아스파탐, 스테비오사이드 및 기타 통상의 감미제를 사용할 수 있다.

본 발명에서 사용될 수 있는 유기산으로는 구연산, 주석산, 사과산, 식초산 및 기타 식용이 가능한 유기산이다.

본 발명에서 사용될 수 있는 방향제로는 박하뇌, 박하유, 오렌지오일, 딸기에센스 및 기타 통상의 과일향 및 식물의 에센스가 사용될 수 있다. 과일즙으로서는 사과즙, 딸기즙, 오렌지즙, 레몬즙, 복숭아즙, 파인애플즙, 바나나즙, 파라야즙, 앙고즙, 자두즙 및 기타 통상의 과일즙을 사용할 수 있다.

기타 비타민류, 아미노산류, 감미제, 방부제, 유기산, 과일즙 및 방향제들은 식품공업에서 통상으로 사용되는 통상의 사용량을 가할 수 있다.

이하, 본 발명을 구체적인 실시예에 의해 보다 더 상세히 설명하고자 한다.

하지만, 본 발명은 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 사상과 범위 내에서 여러가지 변형 또는 수정할 수 있음은 이 분야에서 당업자에게 명백한 것이다.

[실시예 1] 재료 공시

본 발명에서 사용한 머위는 2004년 5월 대한민국 공주의 농지에서 채집한 것을 시료로 사용하였다.

[실시예 2] 본 발명의 리그난 화합물의 제조

(1) 본 발명의 리그난 화합물의 제조{2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-8-hydroxy-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane-4-*O*-(-D-glu copyranoside}

먼저, 머위 잎 1.5㎏을 메탄올에서 상온 추출하여 220g의 고형 추출물을 얻었다.

상기 추출물을 다시 물에 현탁하고, 각각 용기용매인 헥산(hexane, 3L), 클로로포름($CHCl_3$,3L), 에틸아세테이트(EtOAc, 3 L) 및 부탄올(BuOH,3 L)에서 추출하여 각각 헥산 8.1g, 클로로포름 7.6g, 에틸아세테이트 8.9g 및 부탄올 26.6g을 얻었다.

이때, 상기와 같은 추출을 세번씩 수행하였다.

그런 다음, 부탄올에서 추출한 고형 추출물 78g은 실리카 겔 컬럼상 (5 x 60 cm) 에서 클로로포름과 메탄올로 순차적으로 구배하여 용리(elution)하고, 4개의 프랙션(fraction), 즉 10% 메탄올 3000 ml (A), 30% 메탄올 2,500 ml (B), 50% 메탄올 4000 ml (C), 100% 메탄올 3000 ml (D)씩을 획득하였는 데, 건조한 후에 건조량은 각각 2.2g(A), 5.3g(B), 7.0g (C), 3.3g (D)씩 이었다. 이어서, 상기 B 프랙션을 RP C-18 컬럼(3.5 cm x 60 cm)에 메탄올-물(1:4)의 용매를 사용하여 4개의 프랙션을 또 다시 각각 5000 ml (1), 1000 ml (2), 1000 ml (3), 1000 ml (4)씩 용리하였다(B-1: 70mg, B-2:291.8mg, B-3:220.7mg, B-4:238.5mg).

그리고, 상기 B-2 프랙션을 4℃에서 결정화하여 88mg의 무정형 분말을 수득하였다.

(2) 아글리콘(Aglicone)의 제조

50mM 아세테이트 완충용액(pH5.5)에 재현탁한 상기 실시예 1-(1) 의 리그난 화합물 8mg을 나리지나제(Nariginase of *Penicillium decumbens*) 100 mg과 혼합하고 37℃에서 5시간동안 균일하게 교반하여 반응을 수행하였다.

그리고, 반응 혼합물은 에틸아세테이트(10ml)의 추출용매에서 추출하였다. 이때 상기 방법을 세 번 반복하여 얻은 추출액을 시료로 사용하였다.

그리고, 상기 추출액은 실리카 겔 TLC에 점적(spot)하여 이동상용매인에서 분리하고, 분리물은 아닌알데히드-H_2SO_4 시약에 의해 육안으로 확인하였다.

[실시예 2] 본 발명의 화합물의 물리적 특성

본 실험예는 화합물의 물리적 특성을 분석하기 위해서, 선광도(Optical rotation)는 메탄올에서 JASCO DIP-370 선광도 측정기(JASCO DIP-370 digital polarimeter)를 사용하여 측정하였고, UV 스펙트럼은 메탄올 용액에서 UV-2450 분광도계(UV-2450 spectrophotometer)를 사용하였으며, ^{1}H and ^{13}C 의 핵자기공명(NMR) 분석은 표준용액으로 테트라메틸살린(tetramethylsilane)을 사용하여 바리안 유니트 이노바 400 분도계(Varian Unity Inova 400 spectrometer)로 측정하였으며, 분자질량 분석은 퍼킨-엘머 SCIEX API III 분자량 분석기(Perkin-Elmer SCIEX API III Biomolecular Mass Analyzer)를 사용하여 측정하였다.

이의 결과는 다음과 같다.

(1) 본 발명의 리그난 화합물

분자식: $C_{26}H_{32}O_{12}$API-MS *m/z*: 535 $[M - H]^-$, 373 $[M - Glc - H]^-$

선광도: $[\alpha]_D$: -10.0°(*c* 0.23, MeOH);

UV (MeOH) λ_{max} (log ε): 204 (4.73), 229 (4.19), 279 (3.75) nm

^{1}H-NMR (400 MHz, pyridine-d_5) δ: 7.10 (1H, d, *J*= 2 Hz, H-2", 7.06 (1H, d, *J*= 8.4 Hz, H-5', 6.95 (1H, d, *J*= 2 Hz, H-2', 6.84 (2H, d, *J*= 2 Hz, H6'6", 6.71 (1H, d, *J*= 8.4 Hz, H-5", 5.41 (1H, d, *J*= 4 Hz, H-8), 4.89 (1H, d, *J*= 7.2 Hz, H-1'"), 4.76 (2H, d, *J*= 7.2 Hz, H-2,6), 4.12 (1H, dd, *J*= 8.8, 5.6 Hz, H_{ax}-4), 3.91 (1H, dd, *J*= 8.8, 2.6 Hz, H_{equa}-4), 3.77 (3H, s, OCH_3-3', 3.76 (3H, s, OCH_3-3"), 3.67 (1H, dd, *J*= 11.6, 4.8 Hz, H-6'"), 3.44 (1H, dd, *J* = 11.6, 5.6 Hz, H-6'"), 3.30 (1H, m, H-5'"), 3.26 (2H, m, H-2'",3'"), 3.16 (1H, m, H-4'"), 3.03 (1H, m, H-5), 2.73 (1H, d, *J*= 7.2 Hz, H-1). ^{13}C-NMR (100 MHz, pyridine-d_5) δ: 149.0 (C-3', 147.4 (C-3", 145.9 (C-4', 145.7 (C-4"), 135.9 (C-1'), 134.0 (C-1", 118.8 (C-6'), 118.0 (C-6"), 115.3 (C-5'), 114.9 (C-5"), 110.7 (C-2"), 110.3 (C-2'), 100.9 (C-8), 100.1 (C-1'"), 86.1 (C-6), 82.5 (C-2), 77.0 (C-3'"), 76.8 (C-5'"), 73.2 (C-2'"), 71.4 (C-4), 69.6 (C-4'"), 62.0 (C-1), 60.6 (C-6'"), 55.7 (OCH_3-3'), 55.5 (OCH_3-3"), 53.3 (C-5).

(2)아글리콘(Aglycone)

상기 실시예 2(2)에서 분리한 물질을 가스크로마토그래피(GC)로 측정한 결과 분해된 부분이 D-포도당(D-glucose)임을 알 수 있었으며, 핵자기 공명 결과, 4.89 (1H, d, *J*= 7.2 Hz, H-1), 145.9 (C-4)에서 β형태의 구조로 이루어짐을 알 수 있었다.

뿐만아니라 아글루콘과 분리된 당 유도체는 컬럼의 통과 시간(retention time)이 21.3분으로서 D-포도당임을 재확인할 수 있었다.

따라서, 효소는 머위로부터 분리한 신규한 리그난 화합물에서 배위체로 결합한 단당류인 D-포도당을 분해하는 것을 물리적으로 확인하였다.

[실시예 3] 본 발명의 카인산 억제 효과

본 실시예는 뇌조직에서 산화 스트레스 발생인자인 카인산의 신경독성의 억제효과를 측정하고자, 실험동물을 이용하여 카인산에 의한 치사율에 대하여 본 발명의 화합물의 투여에 따른 생존 효과를 비교분석하였다.

실험방법은 먼저 4일동안 ICR 마우스에게 상기 실시예 1(1)과 (2)의 화합물을 식염수에 용해시킨 후, 마우스에세 하루에 50 과 100mg/kg을 강제 섭취하도록 경구투여 하였다. 이때 대조군에는 동량의 식염수를 주사하였다.

그런다음, 식염수에 용해시킨 카인산을 마우스에 50mg/kg용량으로 주사하여 이의 생존률을 측정하였다.

이의 결과, 대조군의 생존율이 약 30%로 나타난 반면, 본 발명의 화합물은 70%까지 증가시키는 것을 알 수 있었다.

따라서, 본 발명의 화합물은 카인산의 독성을 크게 억제하는 것을 알 수 있었다.

[실시예 4]

본 실시예는 본 발명의 화합물에 대한 항산화 효과를 측정하고자, 자유 라디칼인 1,1-디페닐-2-피크릴히드라질(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl;이하 DPPH)으로부터 O_2^- 를 포착(scavenging)하여 DPPH의 소거력을 IC_{50} 값(DPPH를 50 % 소거하는 물질의 양)으로 나타내었다(Sok D.-E., Oh S. H., Kim, Y.-B., Kim M. R., *J. Agri. Food Chem.*, 51, 4570-4575, 2003; Blois M. S., *Nature*, 181, 1199-2000, 1958).

실험방법으로는 0.15mM DPPH 용액(메탄올에 용해시킴) 0.135ml과 다양한 농도로 상기 실시예 1(1)과 (2)의 화합물 용액(DMSO에 용해시킴) 0.015ml을 각각 마이크로플레이트 리더 웰에 혼합하고, 상기 혼합물을 30분간 상온에서 정치 반응을 시킨 다음, 535nm에서 검출기 측정하였다.

이의 결과, 본 발명의 화합물은 농도에 따라 DPPH의 소거능이 비례하였으며, 모두 IC_{50}은 108.8mg/ml로 측정되었다.

[실시예 5] 본 발명의 리그난 화합물을 포함한 제제의 제조

1. 시럽제의 제조

본 발명의 화합물 및 이의 아글리콘 또는 이들의 약학적으로 허용되는 그의 염을 유효성분 2%(중량/부피)로 함유하는 시럽은 다음과 같은 방법으로 제조하였다.

그리고 본 발명의 화합물 산부가염, 사카린, 당을 온수 80 g 에 용해시켰다. 이용액을 냉각시킨후, 여기에 글리세린, 사카린, 향미료, 에탄올, 소르빈산, 및 증류수로 이루어진 용액을 제조하여 혼합하였다. 이혼합물에 물을 첨가하여 100 ml이 되게 하였다. 상기 부가염은 실시예에 의한 다른 염으로 대체할 수 있다.

상기 시럽제의 구성성분은 다음과 같다.

본 발명의 화합물 염산염.....2 g

사카린.....0.8 g

글리세린.....8.0 g

향미료 .....0.04 g

에탄올.....4.0 g

소르빈산..... 0.4 g

증류수.....정량

2. 정제의 제조

유효성분 15 mg 이 함유된 정제는 다음과 같은 방법으로 제조하였다.

본 발명의 화합물 염산염 250 g 을, 락토오즈 175.9 g, 감자전분 180 g 및 콜로이드성 규산 32 g 과 혼합하였다. 이 혼합물에 10% 젤라틴 용액을 첨가한 후, 분쇄해서 14 메쉬체를 통과시켰다. 그리고, 이것을 건조시키고 여기에 감자전분 160 g, 활성 50 g 및 스테아린산 마그네슘 5 g을 첨가해서 얻은 혼합물을 정제로 만들었다.

상기 시럽제의 구성성분은 다음과 같다.

본 발명의 화합물 염산염.....250 g

락토오즈.....175.9 g

감자전분.....180 g

콜로이드성 규산.....32 g

10% 젤라틴 용액

감자전분.....160 g

활석..... 50 g

스테아린산 마그네슘 .....5 g

3. 주사액제의 제조

유효성분 10 mg을 함유하는 주사액제는 다음과 같은 방법으로 제조하였다.

본 발명의 화합물 염산염 1 g, 염화나트륨 0.6 g 및 아스코르빈산 0.1 g을 증류수에 용해시켜서 100 mL를 만들었다. 이용액을 병에 넣고 200℃에서 30분 간 가열하여 멸균시켰다.

상기 주사액제의 구성성분은 다음과 같다.

화학식의 화합물의 염산염.....1 g

염화나트륨.....0.6 g

아스코르빈산.....0.1 g

증류수.....정량

10% 젤라틴 용액

감자전분.....160 g

활석..... 50 g

스테아린산 마그네슘 .....5 g

발명의 효과

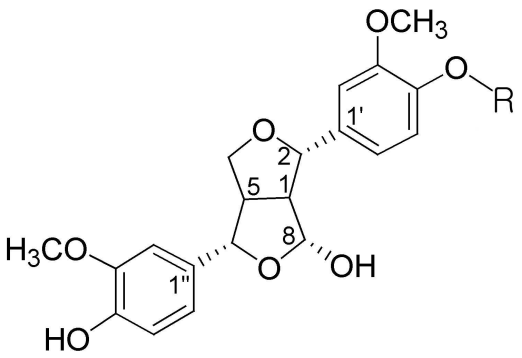
이상과 같이, 본 발명의 머위 추출물로부터 분리한 신규한 리그난 화합물, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물은 항산화 활성이 뛰어나고, 신경독성 완화 및 뇌신경세포 보호작용이 뛰어나 파킨슨병, 알츠하이머병, 루게릭병, 허혈성 뇌졸중 또는 퇴행성 척추손상과 같은 뇌질환을 예방 또는 치료하는데 유용하게 사용될 수 있다.

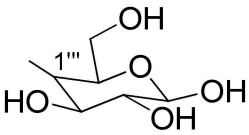
(57) 청구의 범위

청구항 1.

하기 화학식 1로 표시되는 리그난 화합물, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물.

[화학식]



상기 화학식에서 R은 수소 또는  를 나타낸다.

청구항 2.

제 1 항 기재의 화합물을 함유하는 건강식품.

청구항 3.

제 2 항에 있어서,

상기 화합물을 함유하고, 생약엑기스, 비타민류, 아미노산류, 감미제, 미네랄유, 유기산유, 방향제 및 과일즙에서 선택되는 1종이상의 보조식품 및 부형제, 희석제, 항산화제 등에서 선택되는 1종이상의 보조제를 투입하여 액제, 연질캅셀제, 정제, 과립제 또는 캅셀제로 제형화하여 제조된 건강식품.

청구항 4.

제 1 항 기재의 화합물을 유효량으로, 약학적으로 허용되는 담체와 함께 포함하는 뇌보호 활성을 가지는 약학적 제제.

청구항 5.

제 4 항에 있어서,

상기 뇌보호 활성은 신경세포 내 흥분성 전달물질의 활성을 억제하는 것을 특징으로 하는 뇌보호 활성을 가지는 약학적 제제.

청구항 6.

제 5 항에 있어서,

상기 흥분성 전달물질은 카인산인 것을 특징으로 하는 뇌보호 활성을 가지는 약학적 제제.

청구항 7.

머위 잎을 메탄올에서 추출하여 고형 추출물을 얻는 단계;

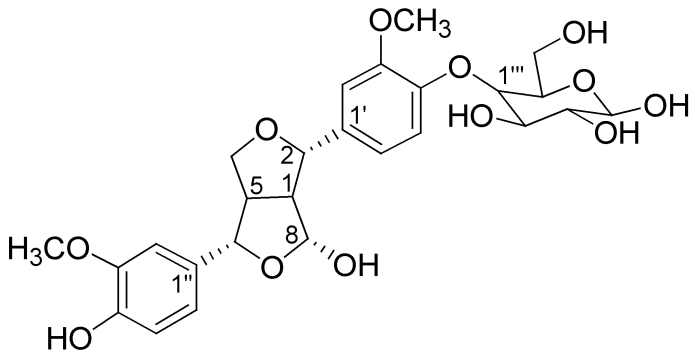
상기 추출물을 물에 현탁한 후 부탄올에서 추출하는 단계;

상기 부탄올 추출물을 실리카겔 컬럼에서 클로로포름과 메탄올로 순차적으로 용리하여 복수개의 프랙션으로 분리하는 단계;

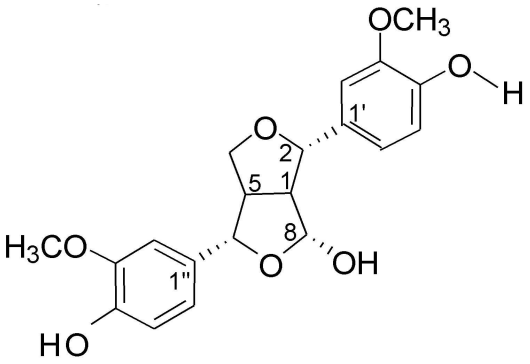
상기 분리된 프랙션을 메탄올로 다시 용리하여 복수개의 프랙션으로 분리하는 단계; 및

상기 분리된 복수개의 프랙션 중에서 하기 화학식 2로 표시되는 리그난 화합물을 수득하는 단계를 포함하는 리그난 화합물의 분리방법.

[화학식 2]



청구항 8.

제 7항에 있어서, 상기 화학식 2의 리그난 화합물을 나리지나제 또는 β-D-글루코시다제의 효소에 의해 β-D-글루코스를 탈리시키는 단계를 더 포함하여 하기 화학식 3으로 표시되는 리그난 화합물을 수득하는 것을 특징으로 하는 리그난 화합물의 분리방법.

[화학식 3]