



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0106600
(43) 공개일자 2013년09월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/34 (2006.01) A61K 31/045 (2006.01)

A61K 31/01 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2012-0028259

(22) 출원일자 2012년03월20일

심사청구일자 2012년03월20일

기술이전 희망 : 기술양도, 실시권허여, 기술지도

(71) 출원인

제주대학교 산학협력단

제주특별자치도 제주시 제주대학로 102 (아라일동, 제주대학교)

충남대학교 산학협력단

대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)

(72) 발명자

김영호

대전광역시 유성구 계룡로 55, 103동 2403호(봉명동 유성자이)

고영상

제주특별자치도 제주시 신설로 55, 104동 302호(이도이동, 제주이도한일베라체아파트)

(74) 대리인

위병갑

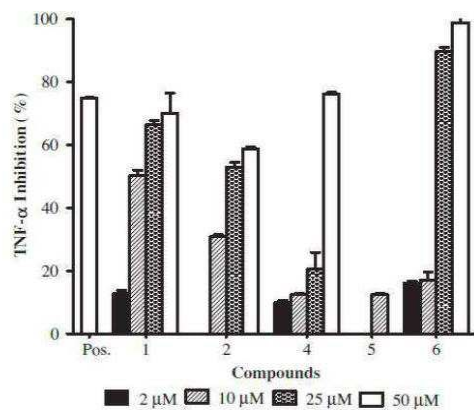
전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 헤디치움 코로나리움 유래 랩단 디터펜 화합물 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 헤디치움 코로나리움(*Hedychium coronarium*) 추출물 및 이들 유래 랩단 디터펜(Labdane-Type Diterpenes) 화합물의 용도에 관한 것으로, 이를 유효성분으로 함유하는 자가면역질환 및 패혈증 예방 및 치료용 조성물 또는 방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로는, 지질다당류(lipopolysaccharide: LPS)에 의하여 자극된 염증성 사이토카인의 생성을 억제하는 헤디치움 코로나리움 추출물 및 이들 유래 랩단 디터펜 화합물의 용도에 관한 것이다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2009-0093815
부처명	교육과학기술부
연구사업명	대학 중점연구소 지원사업
연구과제명	심혈관계 질환 치료제 개발 기반 연구
주관기관	충남대학교 산학협력단
연구기간	2009.09.01 ~ 2018.08.31이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호	C1ABA001-2011-0021037
부처명	교육과학기술부
연구사업명	거대과학기술개발-해양극지기술개발-해양바이오기초원천기술개발
연구과제명	제주 해양생물 기반 피부질환 치료용 소재 개발
주관기관	제주대학교 산학협력단
연구기간	2011.06.23 ~ 2016.06.22

특허청구의 범위

청구항 1

LPS(Lipopolysaccharide)-자극된 염증성 사이토카인(Pro-inflammatory Cytokines) 생성 억제능을 가지는 헤디치움 코로나리움(*Hedychium coronarium*)의 추출물을 함유하는, 자가면역질환 및 패혈증의 치료 또는 예방용 조성물.

청구항 2

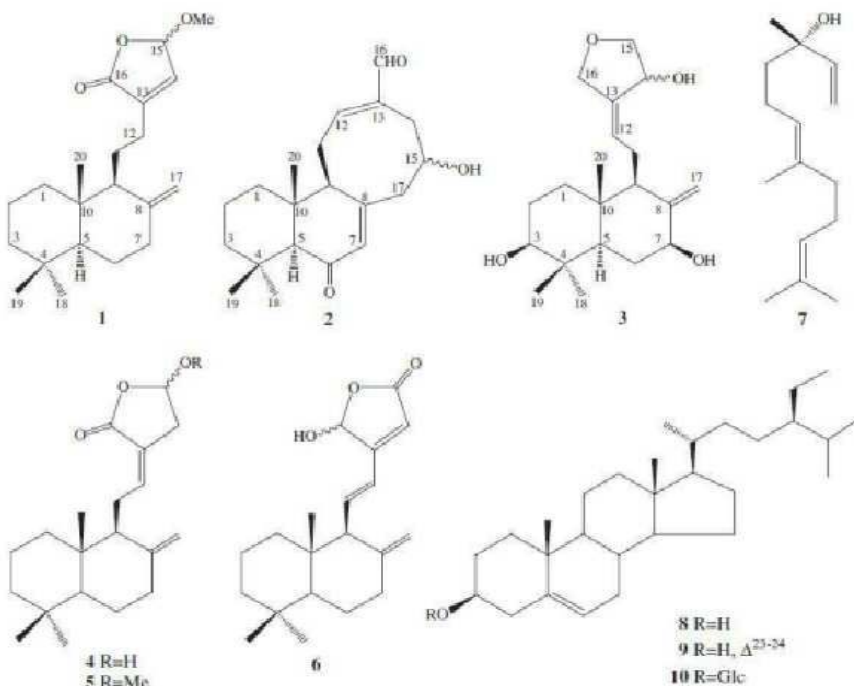
제1항에 있어서,

상기 LPS-자극된 염증성 사이토카인은 TNF- α , IL-6 또는 IL-12인 것을 특징으로 하는 자가면역질환 및 패혈증의 치료 또는 예방용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 헤디치움 코로나리움(*Hedychium coronarium*)의 추출물은 하기 화합물들을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 자가면역질환 및 패혈증의 치료 또는 예방용 조성물:



청구항 4

제1항에 있어서,

상기 자가면역질환은 피부염, 알레르기, 아토피, 천식, 결막염, 치주염, 비염, 중이염, 인후염, 편도염, 폐렴, 위궤양, 위염, 크론병, 대장염, 치질, 통풍, 강직성 척추염, 류마티스 열, 루푸스, 섬유근통 (fibromyalgia), 건선관절염, 골관절염, 류마티스 관절염, 건관절주위염, 건염, 건초염, 건주위염, 근육염, 간염, 방광염, 신장염, 쇼그렌 증후군(sjogren's syndrome), 다발성 경화증, 및 급성 및 만성 염증 질환으로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 질환인 것을 특징으로 하는 자가면역질환 및 패혈증의 치료 또는 예방용 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 패혈증은 미생물의 감염에 의한 전신성 염증 반응 또는 내독소 쇼크 (endotoxic shock) 증상인 것을 특징으로 하는 자가면역질환 및 패혈증의 치료 또는 예방용 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 헤디치움 코로나리움의 추출물은 헤디치움 코로나리움 근경(Rhizome) 유래인 것을 특징으로 하는 자가면역질환 및 패혈증의 치료 또는 예방용 조성물.

청구항 7

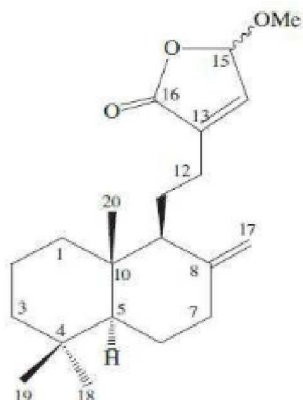
제1항에 있어서,

상기 헤디치움 코로나리움의 추출물은 메탄올 추출물인 것을 특징으로 하는 자가면역질환 및 패혈증의 치료 또는 예방용 조성물.

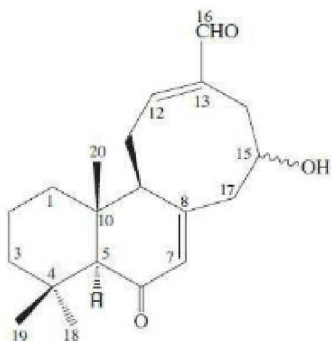
청구항 8

LPS(Lipopolysaccharide)-자극된 염증성 사이토카인 생성 억제능을 가지는, 화학식 1 내지 3의 랩단 디터펜 화합물:

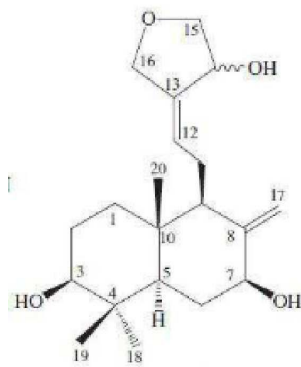
[화학식 1]



[화학식 2]



[화학식 3]



청구항 9

제8항에 있어서,

상기 랩단 디터펜 화합물은 헤디치움 코로나리움(*Hedychium coronarium*) 유래인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 10

제8항에 있어서,

상기 LPS-자극된 염증성 사이토카인은 TNF- α , IL-6 또는 IL-12인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 11

제8항에 있어서,

상기 랩단 디터펜 화합물은

- (a) 헤디치움 코로나리움 근경을 유기용매로 추출하는 단계; 및
- (b) 상기 유기용매 추출물을 분획하여 크로마토그래피로 화합물을 분리하고 정제하는 단계를 포함하는 방법에 의해 수득되는 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 12

제11항에 있어서,

단계 (a)에서 상기 유기 용매는 C1-C4의 저급 알코올인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 13

제11항에 있어서,

단계 (b)에서 상기 크로마토그래피를 수행할 때 클로로포름 및 에틸아세테이트를 용매로 사용하여 용출시키는 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 14

제8항의 랩단 디터펜 화합물을 유효성분으로 함유하는, 자가면역질환 및 패혈증 치료 및 예방용 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서,

상기 자가면역질환은 피부염, 알레르기, 아토피, 천식, 결막염, 치주염, 비염, 중이염, 인후염, 편도염, 폐렴, 위궤양, 위염, 크론병, 대장염, 치질, 통풍, 강직성 척추염, 류마티스 열, 루푸스, 섬유근통 (fibromyalgia), 건선관절염, 골관절염, 류마티스 관절염, 건관절주위염, 건염, 건초염, 건주위염, 근육염, 간염, 방광염, 신장염, 쇼그렌 증후군(sjogren's syndrome), 다발성 경화증, 및 급성 및 만성 염증 질환으로 구성된 군에서 선택된

하나 이상의 질환인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 16

제14항에 있어서,

상기 패혈증은 미생물의 감염에 의한 전신성 염증 반응 또는 내독소 쇼크 (endotoxic shock) 증상인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 17

제8항의 랩단 디터펜 화합물을 이용하여 LPS-자극된 염증성 사이토카인인 TNF- α , IL-6 또는 IL-12 생성을 억제하는 방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 헤디치움 코로나리움(*Hedychium coronarium*) 추출물 및 이들 유래 랩단 디터펜(Labdan-Type Diterpenes) 화합물의 용도에 관한 것으로, 이를 유효성분으로 함유하는 자가면역질환 및 패혈증 예방 및 치료용 조성물 또는 방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로는, 지질다당류(lipopolysaccharide: LPS)에 의하여 자극된 염증성 사이토카인의 생성을 억제하는 헤디치움 코로나리움 추출물 및 이들 유래 랩단 디터펜 화합물의 용도에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 염증성 장애는 전세계에서 가장 중요한 건강 문제 중 하나이다. 염증은 일반적으로 외부 물질 또는 해로운 자극에 의한 숙주 침입에 대해 신체 조직의 국소화된 보호 반응이다. 염증의 원인은 박테리아, 바이러스 및 기생충과 같은 감염성 원인; 화상 또는 방사선 조사와 같은 물리적 원인; 독소, 약물 또는 산업적 제제와 같은 화학약품; 알레르기 및 자가면역 반응과 같은 면역적 반응, 또는 산화성 스트레스와 연관된 상태일 수 있다.

[0003] 염증은 통증, 적화현상, 부기, 열 및 감염된 영역의 국극적인 기능 손실을 그 특징으로 한다. 이들 증상은 면역계의 세포사이에서 일어나는 일련의 복잡한 상호작용의 결과이다. 세포의 반응으로 인해 결과적으로 여러 그룹의 염증 매개자의 상호작용 네트워크가 생성된다: 단백질(예를 들면, 사이토카인, 효소(예를 들면 프로테아제, 퍼옥시다제), 주요 염기성 단백질, 점착 분자(ICAM, VCAM), 지질 매개자(예를 들면, 에이코사노이드, 프로스타글란딘, 류코트라이엔, 혈소판 활성화 인자(PAF)), 반응성 산소 종(예를 들면, 하이드로퍼옥사이드, 슈퍼옥사이드 음이온 O₂⁻, 산화질소(NO) 등). 그러나, 염증의 이들 매개자중 대부분은 또한 정상적인 세포 활성의 조절자이다. 따라서, 염증 반응의 결핍으로 인해 숙주가 제어되지 않으면서 손상(즉, 감염)되고, 따라서 만성 염증으로 인해 부분적으로는 상기 언급된 매개자중 여럿이 과다 생성됨으로써 매개되는 염증성 질환이 야기된다.

[0004] 특히, 염증성 질환 중 하나인 자가면역 질환은 면역 체계가 그 자신의 기관을 공격하여 자발적인 반응을 일으키는 것을 특징으로 한다. 이러한 반응들은 T 림프구에 의한 자가항원(auto-antigen)의 인식에 기인하며, 이로 인하여 체액상(자가항원 생성) 및 세포상(림프구 및 대식세포 세포독성 활성 증가) 면역 반응이 유발된다. 자가면역 질환으로서는 다음과 같은 것들을 들 수 있다: 류마티스성 질환, 건선, 전신성 피부근염, 다발성 경화증, 홍반성 낭창, 또는 항원에 의한 면역반응 악화, 즉, 천식, 약물 또는 음식에 대한 알레르기 등. 이러한 질환들은 모두 제한성이고 만성인 질환들이며, 경우에 따라서는 치명적이고, 현재까지 상기 질환들을 치료할 수 있는 효과적인 치료 방법이 존재하지 않는 실정이다. 그러므로, 당해 질환의 진행중에 질환을 경감시키거나 완화시킬 수 있는 약물, 의약 또는 매체라면 환자의 건강을 위해서 중요한 해결 수단이 된다고 할 것이다.

[0005] 자가면역 질환의 치료방법을 탐색하여 적당한 약물과 방법을 찾고자 집중적인 노력을 해왔다. 오늘날, 자가면역 질환의 치료는 주로 면역억제 약물, 예컨대 글루코코르티코이드(glucocorticoids), 칼시뉴린 억제제(calcineurin inhibitors) 및 증식억제제-대사물 작용 억제제(antiproliferatives-antimetabolites)의 사용에 근거한 것이다. 그러나, 이와 같은 약리 요법은 다양한 표적들에 대하여 작용하므로, 전체적으로는 면역기능을 저하시킬 수 있다. 그렇지 않으면, 이러한 약리 요법을 장기간 사용하였을 경우 여러 가지 세포 독성 작용이 문제가 되어, 면역 체계를 비특이적인 방식으로 억제함으로써, 환자를 감염증 및 암에 걸릴 위험에 노출시킬 수 있다. 칼시뉴린과 글루코코르티코이드는, 그들의 신독성과 당뇨병 유발 특성에 기인하여 또 다른 문제점을 나타

내기 때문에, 몇 가지 임상학적 증상의 경우(예: 신기능 부전, 당뇨병 등)에는 그 사용이 제한된다.

[0006] 이러한 이유로, 자가면역질환 또는 패혈증의 염증성 질환을 가지는 환자는 질병 예방 및 보조 치료로서 사용될 수 있는, 주된 부작용이 없고 약한 소염 효과를 갖는 "천연"으로 간주되는 치료 유형에 특히 관심을 갖는다. 소염 작용을 나타내는 "천연" 제제의 예가 존재하지만, 이러한 "천연" 화합물은 종종 부적절한 생물제제학적 활성 및 그에 따른 억제 활성을 갖는다. 상기와 같은 이유로, 신규한 천연 화합물을 유효성분으로 함유하는 소염제에 대한 필요성이 크다.

[0007] 또한, 종래 연구에서 헤디치움 코로나리움 추출물 및 이들로부터 분리된 몇몇 화합물이 알려져 있지만, LPS(Lipopolysaccharide)-자극된 염증성 사이토카인의 생성능과 관련된 분자적 메카니즘은 규명되지 않았었다.

[0008] 이에 본 발명자들은 헤디치움 코로나리움(*Hedychium coronarium*)부터 추출한 추출물 및 이들로부터 분리한 특정 랩단 디터펜 화합물이 TNF- α , IL-6 또는 IL-12의 생성을 억제하는 것을 확인하고, 즉, LPS(Lipopolysaccharide) 자극된 골수 유래 수지상세포 (DCs)에서의 상기 사이토카인들의 생성 및 활성화를 저해하는 랩단 디터펜 화합물의 영향을 규명하여 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 헤디치움 코로나리움(*Hedychium coronarium*)의 추출물을 함유하는, 자가면역질환 및 패혈증 치료 및 예방적 용도를 제공하는 것을 목적으로 한다.

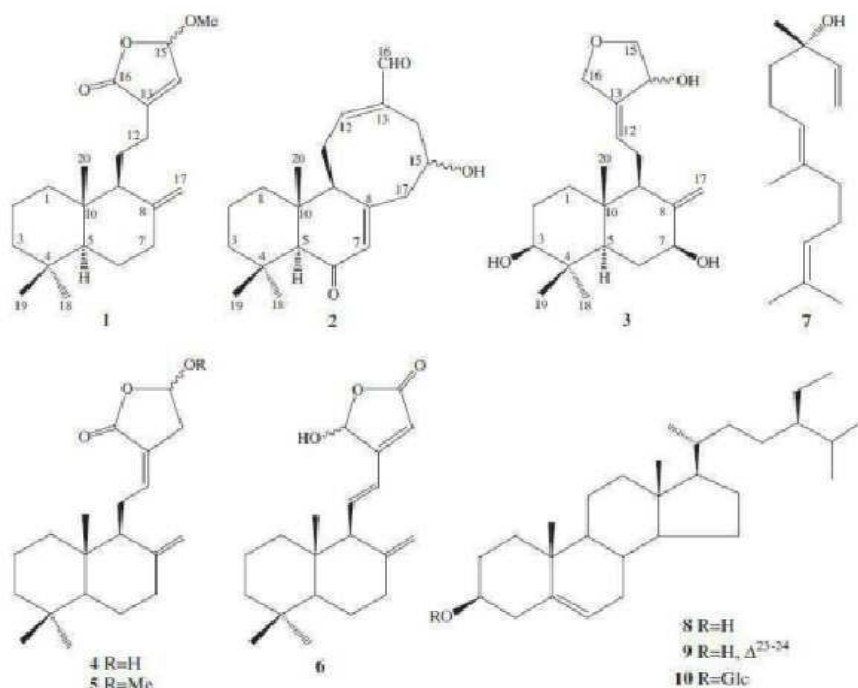
[0010] 본 발명의 다른 목적은 화학식 1 내지 화학식 3의 랩단 디터펜(Labdane-Type Diterpene) 화합물 및 이의 용도를 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 화학식 1 내지 화학식 3의 랩단 디터펜(Labdane-Type Diterpene) 화합물을 이용하여 LPS-자극된 염증성 사이토카인 생성을 억제하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 LPS(Lipopolysaccharide)-자극된 염증성 사이토카인 생성 억제능을 가지는 헤디치움 코로나리움(*Hedychium coronarium*)의 추출물의 용도를 제공한다.

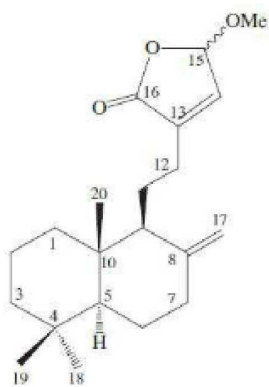
[0013] 특히, 상기 헤디치움 코로나리움(*Hedychium coronarium*)의 추출물은 하기 화합물들을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 한다.



[0014]

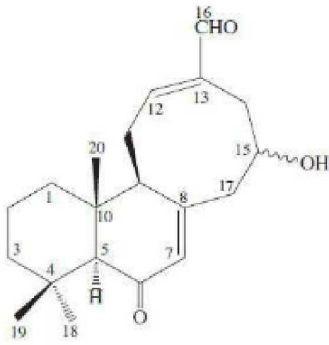
[0015] 또한, 본 발명은 다른 관점에서 상기 헤디치움 코로나리움(*Hedychium coronarium*)의 추출물로부터 분리한, LPS-자극된 염증성 사이토카인 생성 억제능을 가지는, 화학식 1 ~ 3의 신규 랍단 디터펜(Labdane-Type Diterpenes) 화합물 및 이의 용도를 제공한다:

[0016] [화학식 1]



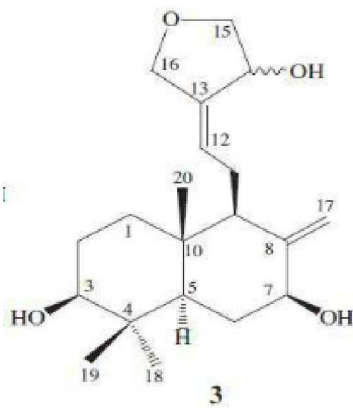
[0017]

[0018] [화학식 2]



[0019]

[0020] [화학식 3]



[0021]

[0022] 즉, 구체적인 예로서, 상기 헤디치움 코로나리움(*Hedychium coronarium*)의 추출물 또는 이들로부터 분리한 화학식 1 내지 3의 랩단 디터펜 화합물을 유효성분으로 함유하는, 자가면역질환 및 패혈증 치료용 조성물 및 이를 이용한 자가면역질환 및 패혈증 치료방법을 제공한다. 바람직하게는 화학식 1 및 2의 랩단 디터펜 화합물을 유효성분으로 함유한다.

[0023] 이 때, 상기 헤디치움 코로나리움(*Hedychium coronarium*)의 추출물은 C1-C4의 유기용매 추출물인 것이 바람직하고, 가장 바람직하게는 메탄올 추출물이다. 또한, 상기 LPS-자극된 염증성 사이토카인은 TNF- α , IL-6 또는 IL-12를 포함하며, 특히 이들 사이토카인의 과량 생성은 자가면역질환 및 패혈증의 원인이 된다.

[0024] 상기 자가면역질환은 피부염, 알레르기, 아토피, 천식, 결막염, 치주염, 비염, 중이염, 인후염, 편도염, 폐렴, 위궤양, 위염, 크론병, 대장염, 치질, 통풍, 강직성 척추염, 류마티스 열, 루푸스, 섬유근통 (fibromyalgia), 건선관절염, 골관절염, 류마티스 관절염, 건관절주위염, 건염, 건초염, 건주위염, 근육염, 간염, 방광염, 신장염, 쇼그렌 증후군(sjogren's syndrome), 다발성 경화증, 및 급성 및 만성 염증 질환 등을 포함하고, 상기 패혈증(sepsis)은 체온이 38도 이상으로 올라가는 발열 증상, 36도 이하로 내려가는 저체온증, 호흡수가 분당 24회 이상으로 증가(빈호흡), 분당90회 이상의 심박수(빈맥), 혈액 검사상 백혈구 수의 증가 혹은 현저한 감소 증상을 보이는, 미생물의 감염에 의한 전신성 염증 반응 증후군(systemic inflammatory response syndrome; SIRS) 및 내독소 쇼크 (endotoxic shock) 등을 포함한다

[0025] 즉, 본 발명의 상기 헤디치움 코로나리움(*Hedychium coronarium*)의 추출물 및 이들로부터 분리한 화학식 1 내지 3의 랩단 디터펜 화합물은 LPS-자극된 염증성 사이토카인 생성을 억제하는 효과를 가진다.

[0026] 따라서, 본 발명은 또 다른 관점에서 상기 헤디치움 코로나리움 추출물, 바람직하게는 화학식 1 내지 화학식 3의 랩단 디터펜 화합물, 바람직하게는 화학식 1 및 2의 화합물을 이용하여, LPS-자극된 염증성 사이토카인 TNF- α , IL-6 또는 IL-12의 생성을 억제하는 방법을 제공한다.

[0027] 이와 같이, 본 발명은 헤디치움 코로나리움(*Hedychium coronarium*)의 추출물; 및 이로부터 분리한 화학식 1 내지 화학식 3의 신규 랩단 디터펜(Labdane-Type Diterpene) 화합물과 이들의 LPS-자극된 염증성 사이토카인 생성 억제 기능의 관련 용도를 제공하는 것이다.

발명의 효과

[0028] 본 발명의 헤디치움 코로나리움(*Hedychium coronarium*)의 추출물 및 헤디치움 코로나리움 유래 화학식 1 내지 화학식 3의 신규 랩단 디터펜(Labdane-Type Diterpene) 화합물은, LPS-자극된 염증성 사이토카인 TNF- α , IL-6 또는 IL-12의 생성 및 활성을 억제하므로, 자가면역질환 및 패혈증의 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0029] 도 1은 LPS에 의해 자극된 DCs에서 TNF- α 생성에 미치는 화합물 1 내지 10의 영향을 분석한 결과이다.

도 2는 LPS에 의해 자극된 DCs에서의 IL-6 생성에 미치는 화합물 1 내지 10의 영향을 분석한 결과이다.

도 3은 LPS에 의해 자극된 DCs에서의 IL-12 p40 생성에 미치는 화합물 1 내지 10의 영향을 분석한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0030] 본 발명에서 사용되는 용어에 대한 정의는 이하와 같다.

[0031] "추출물"은 헤디치움 코로나리움의 조추출물, 극성용매 가용 추출물 또는 비극성용매 가용 추출물임을 특징으로 한다.

[0032] "조추출물"은 정제수를 포함한 물, 메탄올, 에탄올, 부탄올 등의 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매로부터 선택된 용매, 바람직하게는 물 및 에탄올 혼합용매, 보다 바람직하게는 50~100% 메탄올 또는 에탄올에 가용한 추출물을 포함한다.

[0033] "극성용매 가용 추출물"은 물, 메탄올, 에탄올 또는 이들의 혼합용매로부터 선택되어진 용매, 바람직하게는 메탄올에 가용한 추출물을 포함한다.

[0034] "비극성용매 가용 추출물"은 헥산, 클로로포름, 디클로로메탄, 또는 에틸아세테이트, 바람직하게는 헥산, 클로로포름 또는 에틸아세테이트, 보다 바람직하게는, 클로로포름 또는 에틸아세테이트 용매에 가용한 추출물을 포함한다.

[0035] "약학적 조성물(pharmaceutical composition)"은 본 발명의 헤디치움 코로나리움 추출물과 희석제 또는 담체와 같은 다른 화학 성분들의 혼합물을 의미한다.

[0036] "담체(carrier)"는 세포 또는 조직 내로의 화합물의 부가를 용이하게 하는 화합물로 정의된다. 예를 들어, 디메틸설폭사이드(DMSO)는 생물체의 세포 또는 조직 내로의 많은 유기 화합물들의 투입을 용이하게 하는 통상 사용되는 담체이다.

[0037] "희석제(diluent)"는 대상 화합물의 생물학적 활성 형태를 안정화시킬 뿐만 아니라, 화합물을 용해시키게 되는 물에서 희석되는 화합물로 정의된다. 버퍼 용액에 용해되어 있는 염은 당해 분야에서 희석제로 사용된다. 통상 사용되는 버퍼 용액은 포스페이트 버퍼 식염수이며, 이는 인간 용액의 염 상태를 모방하고 있기 때문이다. 버퍼 염은 낮은 농도에서 용액의 pH를 제어할 수 있기 때문에, 버퍼 희석제가 화합물의 생물학적 활성을 변형하는 일은 드물다.

[0038] "대상" 또는 "환자"는 인간, 소, 개, 기니아 피그, 토끼, 닭, 곤충 등을 포함하여 치료가 요구되는 임의의 단일 개체를 의미한다. 또한, 임의의 질병 임상 소견을 보이지 않는 임상 연구 시험에 참여한 임의의 대상 또는 역학 연구에 참여한 대상 또는 대조군으로 사용된 대상이 대상에 포함된다. 본 발명의 일 실시예에서는 인간을 대상으로 하였다.

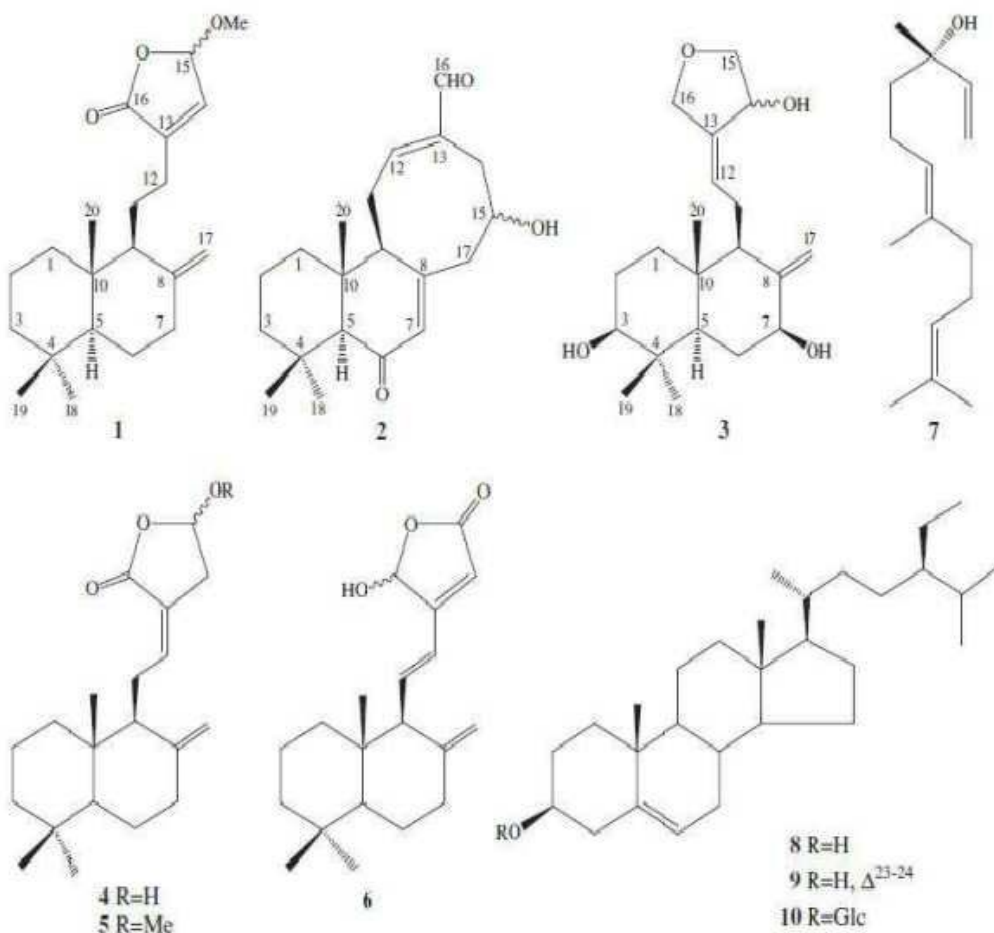
[0039] "조직 또는 세포 샘플"은 대상 또는 환자의 조직으로부터 얻은 유사한 세포의 집합체를 의미한다. 조직 또는 세포 샘플의 공급원은 신선한, 동결된 및/또는 보존된 장기 또는 조직 샘플 또는 생검 또는 흡인물로부터의 고정 조직; 혈액 또는 임의의 혈액 구성분; 대상의 임신 또는 발생의 임의의 시점의 세포일 수 있다. 조직 샘플은 또한 1차 또는 배양 세포 또는 세포주일 수 있다.

- [0040] 조직 샘플은 특성상 조직과 서로 혼합되지 않는 화합물, 예를 들어 보존제, 항응고제, 버퍼, 고정액, 영양물질, 항생제 등을 포함할 수 있다. 본 발명의 목적을 위해, 조직 샘플의 "절편"은 조직 샘플의 하나의 일부 또는 조각, 예를 들어 조직 샘플로부터 절단한 조직 또는 세포의 얇은 슬라이스를 의미한다. 본 발명이 조직 샘플의 동일한 절편이 형태학적 및 분자적 수준 모두에 분석되거나 단백질 및 핵산 모두에 대해 분석되는 방법을 포함함을 이해한다면, 조직 샘플의 다수의 절편을 취하여 본 발명에 따른 분석에 적용할 수 있음이 이해된다.
- [0041] 본 명세서에서 사용되는 "유효량"은, 이롭거나 바람직한 임상적 또는 생화학적 결과에 영향을 주는 적절한 양이다. 유효량은 한번 또는 그 이상 투여될 수 있다. 본 발명의 목적을 위하여, 유효량은 질병 상태의 진행을 일시적으로 완화, 개선, 안정화, 되돌림, 속도를 늦춤 또는 지연시키는데 적절한 양이다. 만약, 수혜동물이 조성물의 투여에 견딜 수 있거나, 조성물의 그 동물에의 투여가 적합한 경우라면, 조성물은 "약학적으로 또는 생리학적으로 허용가능함"을 나타낸다. 투여된 양이 생리학적으로 중요한 경우에는 상기 제제는 "치료학적으로 유효량"으로 투여되었다고 말할 수 있다. 상기 제제의 존재가 수혜 환자의 생리학적으로 검출가능한 변화를 초래한 경우라면 상기 제제는 생리학적으로 의미가 있다.
- [0042] '치료하는'이란 용어는, 달리 언급되지 않는 한, 상기 용어가 적용되는 질환 또는 질병, 또는 상기 질환 또는 질병의 하나 이상의 증상을 역전시키거나, 완화시키거나, 그 진행을 억제하거나, 또는 예방하는 것을 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같이, '치료'란 용어는 '치료하는'이 상기와 같이 정의될 때 치료 및 예방하는 행위를 의미한다.
- [0043] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0044] 본 발명에서 사용되는 모든 기술용어는, 달리 정의되지 않는 이상, 본 발명의 관련 분야에서 통상의 당업자가 일반적으로 이해하는 바와 같은 의미로 사용된다. 또한 본 명세서에는 바람직한 방법이나 시료가 기재되나, 이와 유사하거나 동등한 것들도 본 발명의 범주에 포함된다. 본 명세서에 참고문헌으로 기재되는 모든 간행물의 내용은 본 발명에 도입된다.
- [0045] 본 발명은 헤디치움 코로나리움(*Hedychium coronarium*) 추출물 및 이로부터 분리한 신규 화합물과 상기 화합물의 용도에 관한 것으로, 구체적으로, 헤디치움 코로나리움 유래 신규 랩단 디터펜 화합물 및 이들의 LPS(Lipopolysaccharide)-자극된 염증성 사이토카인 생성 억제 기능에 관한 것이다.
- [0046] 상기 헤디치움 코로나리움(*Hedychium coronarium*)은 국명으로 '꽃생강'이라고 하는 다년초로서, 인도, 말레이시아, 중국과 히말라야의 더운 지방에서 자라는데, 본 발명에서는 상기 헤디치움 코로나리움의 근경(rhizomes) 부위를 이용할 수 있다.
- [0047] 헤디치움 코로나리움 추출물은 당업계에 알려진 방법, 이의 변형된 방법 또는 본 발명에 의한 방법으로 제조하여 사용할 수 있다.
- [0048] 일 구체예로서, 이하와 같은 방법으로 제조할 수 있다.
- [0049] 본 발명의 헤디치움 코로나리움 추출물 또는 조추출물은 헤디치움 코로나리움 근경 중량의 약 1 내지 30배 부피량, 바람직하게는 5 내지 15배 부피량 (w/v%)의 정제수를 포함한 물, 메탄올, 에탄올, 부탄올 등의 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 이들의 혼합용매로부터 선택된 용매, 바람직하게는 물, 메탄올, 에탄올 혼합용매, 보다 바람직하게는 50~100% 메탄올 또는 에탄올을 가하여, 약 0 내지 100℃, 바람직하게는 실온에서 10 내지 60 시간, 바람직하게는 30 내지 50 시간 동안 열수추출, 초음파 추출, 환류냉각 추출, 또는 가열추출법 등의 추출 방법으로, 바람직하게는 열수추출법으로 추출한 후 여과하고 감압 농축하여 조추출물을 얻을 수 있다.
- [0050] 또한, 본 발명의 극성용매 또는 비극성용매 가용 추출물은 상기에서 얻은 조추출물, 바람직하게는 50~100% 메탄올 또는 에탄올 조추출물 중량의 약 1 내지 150배, 바람직하게는 5 내지 100배 부피(w/v%)의 물을 분산시킨 후, 클로로포름(CHCl_3) 및 에틸아세테이트(EtOAc)로 분획하고 진공에서 용매제거 후 극성 용매 및 비극성용매 가용 추출물을 수득할 수 있다.
- [0051] 본 발명의 일 실시예에서는 극성용매 추출물을 제조하였다.

[0052] 본 발명은 상기 헤디치움 코로나리움 추출물을 제조하는 방법을 포함한다. 상기 제조방법은 그것의 예시적인 방법에 지나지 않으며, 당해 분야의 기술에 근간한 다양한 방법들에 의해 적절히 변형시켜 사용할 수 있다. 예를 들면, 본 발명에 따른 비-예시된 추출방법은 당분야의 숙련가에게 명백한 변형에 의해 성공적으로 수행될 수 있다.

[0053] 본 발명이 속하는 분야에서 통상의 지식을 가진 자라면, 본 발명에 따른 헤디치움 코로나리움 추출물의 제조를 위한 구체적인 반응조건 등을 추후 설명하는 실시예들을 통해 확인할 수 있으므로, 그에 대한 자세한 설명은 생략한다.

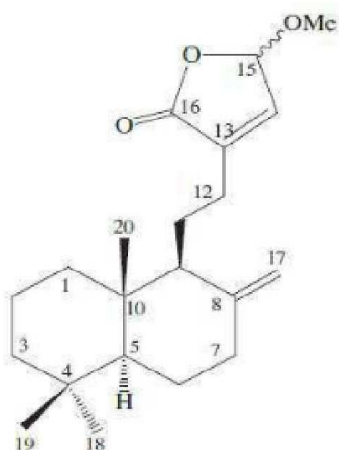
[0054] 본 발명의 상기 헤디치움 코로나리움 추출물은 이하와 같은 랩단 타입 디터펜(Labdane-Type Diterpenes) 화합물을 유효성분으로 포함한다. 각각의 치환기에 대응하는 화합물의 구조식에 대해 화학식(화합물) 1 내지 10으로 명명한다.



[0055]

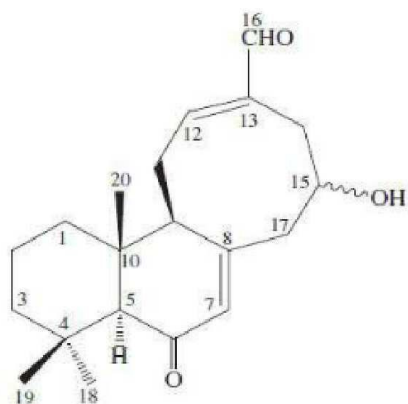
[0056] 특히, 상기 화합물들 중에서 화합물 1 내지 화합물 3은 본 발명자들에 의해 발견된 신규 랩단 디터펜(Labdane-Type Diterpenes) 화합물로서, 본 발명은 다른 관점에서 하기 화학식 1 내지 화학식 3으로 나타내는 랩단 디터펜 화합물에 관한 것이다.

화학식 1



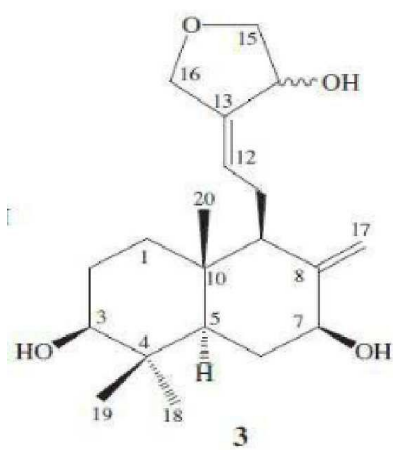
[0057]

화학식 2



[0058]

화학식 3



[0059]

- [0060] 본 발명은 화학식 1~10의 화합물을 포함하는 헤디치움 코로나리움 추출물 및 이들로부터 분리한 화학식 1 내지 3의 랩단 디터펜 화합물, 바람직하게는 화학식 1 및 2의 염증성 사이토카인 생성 억제 기능에 관한 것이다. 특히, TNF- α , IL-6 또는 IL-12의 염증성(proinflammatory) 사이토카인 생성과 활성을 억제하고, 배양세포에서 독성을 나타내지 않으므로, 자가면역질환 및 패혈증의 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다
- [0061] 즉, 본 발명의 화학식 1~10의 화합물을 포함하는 헤디치움 코로나리움 추출물 및 이들로부터 분리한 화학식 1 내지 화학식 3의 랩단 디터펜 화합물은 이하와 같은 기능을 가진다.
- [0062] (1) 본 발명의 상기 화학식 1~10의 화합물을 포함하는 헤디치움 코로나리움 추출물 및 화학식 1 내지 3의 랩단 디터펜 화합물은 지질다당류(lipopolysaccharide: LPS)에 의하여 자극된 골수 유래 수지상세포(Bone Marrow-Derived Dendritic Cells)에서 TNF- α , IL-6 또는 IL-12의 생성을 억제한다.
- [0063] 내독성 물질인 지질다당류(lipopolysaccharide, LPS)는 수지세포에서의 염증유발 물질의 유도물질로서, 염증반응을 일으키는 염증성 사이토카인(Pro-inflammatory Cytokines)들의 생성을 촉진한다. 즉, 염증반응을 일으킬 수 있는 외부자극이 가해지는 경우, TNF- α 등의 염증성 사이토카인들의 발현이 유도되고, 생성된 염증성 사이토카인들은 iNOS 및 COX-2를 코딩하는 유전자의 발현을 자극시켜, 염증반응에 관여하는 NO 및 PGE₂ 물질을 생성하여 염증반응을 일으킨다.
- [0064] 그러므로 이러한 TNF- α , IL-6 또는 IL-12의 염증성 사이토카인의 염증 유발 물질들이 과다하게 분비되거나 세포 자체가 활성화된 상태로 오래 지속될 경우 신경 조직 손상이라는 심각한 부작용을 초래한다.
- [0065] 본 발명에 따른 랩단 디터펜 화합물은 상기와 같은 염증성 사이토카인의 생성을 억제하는 기능을 가진다.
- [0066] 종래 연구에서 헤디치움 코로나리움이 항염증 성질을 가지는 것이 알려져 있지만(Hwang, Chen, Nines, Shin & Stoner, 2006), 염증성 사이토카인 생성 억제능을 가지는 랩단 디터펜 화합물, 특히 본 발명의 화학식 1 내지 3의 랩단 디터펜 화합물은 규명되지 않았었다. 따라서, 본 발명은 헤디치움 코로나리움 유래의 신규 화합물인 화학식 1 내지 3의 랩단 디터펜 화합물을 주요한 특징으로 한다.
- [0067] (2) 본 발명의 상기 화학식 1~10의 화합물을 포함하는 헤디치움 코로나리움 추출물 및 화학식 1 내지 3의 랩단 디터펜 화합물은 지질다당류(lipopolysaccharide: LPS)에 의하여 자극된 수지상세포(DCs)에서, 염증성 매개체의 활성을 억제한다.
- [0068] 인터루킨-12는 항원 자극에 의해 수지상세포, 마크로파지 등의 항원제공세포에서 제조되는 인터루킨의 한 종류로, T세포를 자극하여 1형 헬퍼 T 세포로 분화시키는 역할을 수행하며, NK(natural killer) 세포, T림프사이트의 활성화도에 중요한 역할을 한다. 이는 IL-12A(p35)와 IL-12B(p40)의 헤테로다имер 형태이며, IL-12A(p35)의 발현은 항상적(constitutive)이어서, 인터루킨-12의 생물학적 기능은 주로 IL-12B(p40)의 발현에 좌우되는데, 이러한 인터루킨-12의 억제가 인체 내 세포에 대한 과잉 면역반응인 자가면역 질환, 특히 1형 헬퍼 T 세포가 매개하는 자가면역질환의 치료에 도움이 될 수 있다는 연구결과가 보고되고 있다.
- [0069] 그러므로, 본 발명은 TNF- α , IL-6 또는 IL-12의 생성을 억제하는 활성을 통하여 작용함을 특징으로 하는 염증성 질환의 치료 또는 예방적 용도에 사용될 수 있다.
- [0070] 특히, 본 발명에서의 "염증성 질환"은 지질다당류(lipopolysaccharide, LPS)에 의해 유도되는 염증성 사이토카인 TNF- α , IL-6 또는 IL-12의 과량 생성에 기인하는 질환으로써, 바람직하게는 자가면역질환 또는 패혈증 등을 들 수 있다.
- [0071] 더욱 상세하게는, 상기 자가면역질환은 피부염, 알레르기, 아토피, 천식, 결막염, 치주염, 비염, 중이염, 인후염, 편도염, 폐렴, 위궤양, 위염, 크론병, 대장염, 치질, 통풍, 강직성 척추염, 류마티스 열, 루푸스, 섬유근통(fibromyalgia), 건선관절염, 골관절염, 류마티스 관절염, 건관절주위염, 건염, 건초염, 건주위염, 근육염, 간염, 방광염, 신장염, 쇼그렌 증후군(sjogren's syndrome), 다발성 경화증, 및 급성 및 만성 염증 질환 등을 포함하고, 패혈증(sepsis)은 체온이 38도 이상으로 올라가는 발열 증상, 36도 이하로 내려가는 저체온증, 호흡수가 분당 24회 이상으로 증가(빈호흡), 분당90회 이상의 심박수(빈맥), 혈액 검사상 백혈구 수의 증가 혹은 현저한 감소 증상을 보이는, 미생물의 감염에 의한 전신성 염증 반응 증후군(systemic inflammatory response syndrome; SIRS) 및 내독소 쇼크(endotoxic shock) 등을 포함한다. 더욱 바람직하게는, 자가면역질환으로,

i) 면역계가 각종 관절의 조직을 공격하는 류마티스관절염(Rheumatoid Arthritis), ii) T 세포에 의하여 유도되는 중추신경계의 자가면역증으로 대부분은 비교적 정상적인 생활이 가능하나, 심한 경우 실명, 마비, 조기사망(premature death)으로 이어질 수 있는 다발성 경화증(MS, Multiple Sclerosis), iii) 췌장의 인슐린 생산 세포를 면역세포가 파괴하여 생기며 MHC 유전자가 중요한 역할을 수행하는 면역매개, 또는 제 I 형 당뇨병(Immune-Mediated or Type I Diabetes Mellitus), iv) 면역계가 장을 공격하여 나타나는 질환인 염증성 장질환(Inflammatory Bowel Diseases), v) 피부나 혈관의 경화(thickening)를 유도하는 피부경화증(Scleroderma), vi) 전신성 자가면역증으로 깊은 피로감, 발진, 관절통 등의 증세를 수반하며, 심한 경우 면역계가 신장, 뇌, 폐 등에 손상을 끼칠 수 있는 전신성 루프스(Systemic Lupus Erythematosus, SLE)를 들 수 있다. 또한, 패혈증은 미생물에 감염되어 전신에 심각한 염증 반응이 나타나는 전신성 염증 반응 증후군(systemic inflammatory response syndrome; SIRS) 및 패혈증(내독소) 쇼크를 들 수 있다. 특히, 상기 내독소 쇼크(패혈증 쇼크)는 과량 생성된 인터루킨-6와 TNF- α 가 주된 원인이 된다.

- [0072] 따라서, 본 발명의 구체적인 태양으로, 헤디치움 코로나리움 추출물 또는 상기 화학식 1 내지 3의 화합물을 이용한, 자가면역질환 또는 패혈증의 예방·치료방법; 및 이들 추출물 또는 화합물을 유효성분으로 함유하는 자가면역질환 또는 패혈증 예방·치료용 약학적 조성물을 들 수 있다.
- [0073] 본 발명의 자가면역질환 또는 패혈증 예방 및 치료를 위한 약학조성물은, 조성물 총 중량에 대하여 상기 추출물을 0.1 내지 50 중량%로 포함하는 것이 바람직하다.
- [0074] 상기 약학조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 또한, 본 발명의 조성물은 이미 사용되고 있는 스테로이드성 약물, 항히스타민제, 소염진통제 및 항생제 등의 약제와 함께 제제화하거나 병용하여 사용될 수 있다.
- [0075] 본 발명에 따른 약학조성물은, 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.
- [0076] 본 발명의 조성물에 함유될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스(lactose), 텍스트로즈, 수크로스(sucrose), 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.
- [0077] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.
- [0078] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 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.
- [0079] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로콜, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0080] 본 발명의 조성물 사용량은 환자의 나이, 성별, 체중에 따라 달라질 수 있으나, 0.0001 내지 100mg/kg으로, 바람직하게는 0.001 내지 10mg/kg을 일일 1회 내지 수회 투여할 수 있다. 또한 그 투여량은 투여경로, 질병의 정도, 성별, 체중, 나이 등에 따라서 증감될 수 있다. 따라서 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0081] 상기 약학조성물은 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, 자궁 내 경막 또는 뇌혈관 내 주사에 의해 투여될 수 있다.
- [0082] 본 발명의 조성물의 약학적 투여 형태는 이들의 약학적 허용 가능한 염의 형태로도 사용될 수 있고, 또한 단독

으로 또는 타 약학적 활성 화합물과 결합뿐만 아니라 적당한 집합으로 사용될 수 있다.

- [0083] 또한, 본 발명의 다른 구체적인 태양으로, 화학식 1 내지 화학식 3의 랩단 디터펜 화합물, 바람직하게는 화학식 1 및 2를 이용하여 염증성 사이토카인 생성 및 활성을 억제하는 방법을 들 수 있다. 상기 염증성 사이토카인은 TNF- α , IL-6 또는 IL-12을 들 수 있다.
- [0084] 별도의 설명이 없는 한, 용어 "본 발명에 따른 랩단 디터펜 화합물" 또는 "화학식 1, 화학식 2, 화학식 3의 화합물"은, 화합물 그 자체, 약제학적으로 허용되는 그것의 염, 수화물, 용매화물, 이성질체 및 프로드럭을 모두 포함하는 개념으로 사용되고 있다.
- [0085] 용어 "약제학적으로 허용되는 염"은, 화합물이 투여되는 유기체에 심각한 자극을 유발하지 않고 화합물의 생물학적 활성과 물성들을 손상시키지 않는, 화합물의 제형을 의미한다. 상기 약제학적 염은, 본 발명의 화합물을, 염산, 브롬산, 황산, 질산, 인산 등의 무기산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, p-톨루엔술폰산 등의 술폰산, 타타르산, 포름산, 시트르산, 아세트산, 트리클로로아세트산, 트리플루오로아세트산, 카프릭산, 이소부탄산, 말론산, 석신산, 프탈산, 글루콘산, 벤조산, 락트산, 푸마르산, 말레인산, 살리실산 등과 같은 유기 카본산과 반응시켜 얻어질 수 있다. 또한, 본 발명의 화합물을 염기와 반응시켜, 암모니움 염, 나트륨 또는 칼륨 염 등의 알칼리 금속염, 칼슘 또는 마그네슘 염 등의 알칼리 토금속염 등의 염, 디시클로헥실아민, N-메틸-D-글루카민, 트리스(히드록시메틸) 메틸아민 등의 유기염기들의 염, 및 아르기닌, 리신 등의 아미노산 염을 형성함으로써 얻어질 수도 있다.
- [0086] 용어 "수화물(hydrate)"은 비공유적 분자간력(non-covalent intermolecular force)에 의해 결합된 화학양론적(stoichiometric) 또는 비화학양론적(non-stoichiometric) 량의 물을 포함하고 있는 본 발명의 화합물 또는 그것의 염을 의미한다.
- [0087] 용어 "용매화물(solvate)"은 비공유적 분자간력에 의해 결합된 화학양론적 또는 비화학양론적 량의 용매를 포함하고 있는 본 발명의 화합물 또는 그것의 염을 의미한다. 그에 관한 바람직한 용매들로는 휘발성, 비독성, 및/또는 인간에게 투여되기에 적합한 용매들이다.
- [0088] 용어 "이성질체(isomer)"는, 동일한 화학식 또는 분자식을 가지지만 광학적 또는 입체적으로 다른 본 발명의 화합물 또는 그것의 염을 의미한다. 예를 들어, 본 발명의 화학식 1에 따른 화합물은 치환기들의 종류에 따라서는 입체생성 중심(asymmetric center, 비대칭 탄소 원자)을 가질 수 있는 바, 이 경우 화학식 1의 화합물은 거울상 이성질체 및 부분 입체 이성질체와 같은 광학 이성질체로서 존재할 수 있다.
- [0089] 용어 "프로드럭(prodrug)"은 생체내에서 모 약제(parent drug)로 변형되는 물질을 의미한다. 프로드럭은, 몇몇 경우에 있어서, 모 약제보다 투여하기 쉽기 때문에 종종 사용된다. 예를 들어, 이들은 구강 투여에 의해 생합성을 얻을 수 있음에 반하여, 모 약제는 그렇지 못할 수 있다. 프로드럭은 또한 모 약제보다 제약 조성물에서 향상된 용해도를 가질 수도 있다. 예를 들어, 프로드럭은, 수용해도가 이동성에 해가 되지만, 일단 수용해도가 이로운 세포에서는, 물질대사에 의해 활성체인 카르복실산으로 가수분해되는, 세포막의 통과를 용이하게 하는 에스테르("프로드럭")로서 투여되는 화합물일 것이다. 프로드럭의 또 다른 예는 펩티드가 활성 부위를 드러내도록 물질대사에 의해 변환되는 산기에 결합되어 있는 짧은 펩티드(폴리아미노 산)일 수 있다.
- [0090] 이상에서 설명한 바와 같이, 본 발명의 헤디치움 코로나리움(*Hedychium coronarium*) 추출물 및 이들 유래 화합물들은 우수한 염증성 사이토카인 생성 억제능을 가지고 있을 뿐만 아니라, 독성 및 부작용이 거의 없는 천연 성분이기 때문에 장기간 복용 또는 사용시에도 안심하고 사용할 수 있다.
- [0091] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다
- [0092] 이하 실시예에서 수득한 값은 평균 $\pm$ S.D.로 표시하였다.

[0093] 사용한 실험도구

[0094] 선광도(Optical rotations)는 Jasco DIP-370 automatic polarimeter로 측정하였고, FT-IR 스펙트럼은 Jasco Report-100 infrared spectrometer로부터 취득하였다. NMR 스펙트럼은 Bruker DRX 500 spectrometer (^1H , 500 MHz; ^{13}C , 125 MHz)을 이용하여 기록하였다. ESI-MS는 AGILENT 1200 SERIES LC-MSD Trap spectrometer로 취득하였고, HR-ESI-MS는 JEOL JMS-T100LC spectrometer를 이용하여 취득하였다. 컬럼 크로마토그래피는 실리카겔 (Kieselgel 60, 70-230 mesh 및 230-400 mesh, Merck) 또는 YMC RP-18 수지(30-50 μm , Fujisilisa Chemical Ltd., Japan)를 이용하여 수행하고, TLC(thin layer chromatography)는 전-코팅된(pre-coated) 실리카겔 60 F₂₅₄ (0.25 mm, Merck) 및 RP-18 F₂₅₄ S 플레이트(0.25 mm, Merck)를 이용하여 수행하였다.

[0095] <실시에 1>

[0096] 헤디치움 코로나리움(*Hedychium coronarium*) 추출물 제조 및 화합물의 분리

[0097] H. coronarium의 근경을 2010년 1월, 베트남 사파(Sapa)에서 수집하여 Dr. Ninh Khac Ban(Institute of Marine Biochemistry, VAST, Vietnam)에게 확인받았다. 샘플(IMBC-HC10)을 Institute of Marine Biochemistry(VAST, Vietnam)의 식물표본실에 보관하였다.

[0098] H. coronarium의 근경(1.0 kg)을 15시간동안 환류하에 메탄올로 3회 추출하여 어두운 고체 추출물 90.0g을 취득하였는데, 이를 물에 현탁하고 이어서 클로로포름(CHCl_3) 및 에틸아세테이트(EtOAc)로 분획하여 진공에서 용매 제거 후, CHCl_3 (HC1, 50.1 g), EtOAc (HC2, 25.3 g), 및 수 추출물(HC3, 14.6 g)을 취득하였다.

[0099] HC1을 실리카겔 컬럼 상에서 크로마토그래피하고 n-헥산-아세톤 그래디언트 (100 : 1 ~ 1 : 1, v/v)로 용출하여 4개의 서브분획물, HC1A (15.0 g), HC1B (10.4 g), HC1C (18.7 g), 및 HC1D (6.0 g)를 취득하였다.

[0100] HC1A 분획을 실리카겔 컬럼 상에서 크로마토그래피하고 n-헥산-에틸아세테이트(EtOAc) 그래디언트 (40 : 1 ~ 1 : 1, v/v)로 용출하여 화합물 8 (100.0 mg) 및 화합물 9 (120.0 mg)을 취득하였다. 상기 HC1C 분획을 실리카겔 컬럼 상에서 크로마토그래피하고 CHCl_3 -MeOH (40 : 1, v/v)로 용출하여 화합물 10 (150.0 mg)을 취득하였다.

[0101] HC1D 분획을 추가로 실리카겔 컬럼 상에서 크로마토그래피하고 CH_2Cl_2 -MeOH (30 : 1, v/v)로 용출하여 3개의 작은 분획물(HC1D1 ~ HC1D3)을 얻었다.

[0102] 상기 HC1D1 분획을 YMC RP-18 컬럼 상에서 크로마토그래피하고 아세톤-물(3 : 1, v/v)로 용출하여 화합물 4 (5.6 mg) 및 화합물 5 (5.0 mg)를 취득하였다. 분획 HC1D2를 YMC RP-18 컬럼 상에서 크로마토그래피하고 MeOH-물 (6 : 1, v/v)로 용출하여 화합물 1 (7.0 mg) 및 화합물 3 (2.5 mg)을 얻었다. 분획 HC1D3를 YMC RP-18 컬럼 상에서 크로마토그래피하고 MeOH-아세톤-물 (2 : 2 : 1, v/v)로 용출하여 화합물 2 (2.5 mg) 및 화합물 6 (8.5 mg)을 얻었다.

[0103] 그 결과 신규 화합물 1 내지 3의 화합물과 공지된 화합물 4 내지 10의 총 10개의 화합물을 분리, 정제하였다.

[0104] 특히, 상기 신규 화합물 1 내지 3의 화합물의 NMR 데이터를 이하 표에 기재하였다.

표 1

C	1		2		3	
	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{c}}$ (J in Hz)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{c}}$ (J in Hz)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{c}}$ (J in Hz)
1	39.2	0.99 (dt, 3.5, 12.5) 1.72*	39.5	1.41 (d, 12.5) 1.90 (dt, 3.5, 12.5)	38.2	1.27 (dd, 12.5, 5.0) 1.82*
2	19.4	1.50 (m) 1.65 (m)	18.3	1.60 (m)	28.6	1.69 (m)
3	42.1	1.17 (dt, 4.5, 13.0) 1.39 (dd, 1.0, 13.0)	42.9	1.40 (d, 13.5)	79.4	3.23 (dd, 5.5, 10.0)
4	33.4	—	32.5	—	40.1	—
5	55.5	1.08 (dd, 3.5, 13.0)	64.8	2.19 (s)	53.5	1.21 (dd, 2.5, 12.5)
6	24.4	1.32 (dd, 4.0, 13.0) 1.74*	199.2	—	34.2	1.36 (dd, 5.5, 12.5) 2.06 (dd, 2.5, 12.5)
7	38.3	1.97 (dt, 5.0, 13.0) 2.40 (ddd, 2.0, 4.0, 13.0)	133.2	5.92 (br s)	74.4	3.91 (dd, 5.5, 11.5)
8	148.0	—	154.7	—	151.1	—
9	56.5	1.54*	53.5	3.00 (d, 12.0)	56.5	1.70 (m)
10	39.7	—	43.9	—	40.0	—
11	24.5	2.13 (m) 2.46 (m)	30.1	2.44 (m) 2.90 (m)	23.2	2.30 (dd, 7.0, 11.5) 2.38 (d, 12.5)
12	21.6	2.15 (m) 1.74 (m)	155.5	6.82 (br s)	131.8	5.51 (t, 6.0)
13	139.4	—	139.0	—	138.8	—
14	141.4	6.76 (d, 1.5)	29.3	2.28 (t, 12.5) 2.93 (dd, 6.0, 12.5)	72.0	4.70*
15	102.4	5.73 (d, 1.5)	69.1	3.90 (m)	66.2	3.57 (dt, 5.5, 11.0) 3.66 (dt, 5.5, 11.0)
16	171.4	—	41.5	2.57 (dd, 3.5, 13.5) 2.38 (dd, 3.5, 13.5)	64.3	4.00 (dd, 5.5, 12.5) 4.13 (d, 12.5)
17	106.6	4.85 (br s) 4.54 (br s)	194.3	9.37 (s)	105.4	4.72*
18	33.6	0.87 (s)	33.4	1.16 (s)	28.8	5.25 (d, 8.0)
19	21.7	0.80 (s)	21.5	1.18 (s)	16.2	1.03 (s)
20	14.4	0.88 (s)	14.4	0.91 (s)	14.9	0.76 (s)
13-OMe	56.3	3.56 (s)				

^a Recorded in CDCl₃.

^b 125 MHz.

^c 500 MHz.

* Overlapped signals, assignments were done by HSQC, HMQC, ¹H-¹H COSY, and NOESY experiments.

[0105]

[0106] <실시예 2>

[0107] 분리한 화합물의 특성평가

[0108] (1) 화합물 1의 특성평가

[0109] 화합물1을 무색의 점성 오일형태로 수득하였다. 양이온 ESI-MS (electrospray ionization mass spectrometry) 상 기본 이온 피크(basic ion peak)는 m/z 333 [M+H]⁺에서 관찰되었고, 클러스터 이온 피크 m/z 333.2409 [M+H]⁺ (Calcd for C₂₁H₃₃O₃:333.2430)로 HR-ESI-MS(high-resolution electrospray ionization mass spectroscopy) 분석 결과, 분자식이 C₂₁H₃₂O₃임을 밝혔다.

[0110] 화합물1(클로로포름-d₁ 중)의 ¹H-NMR 스펙트럼이 다음의 신호들을 나타내었다:

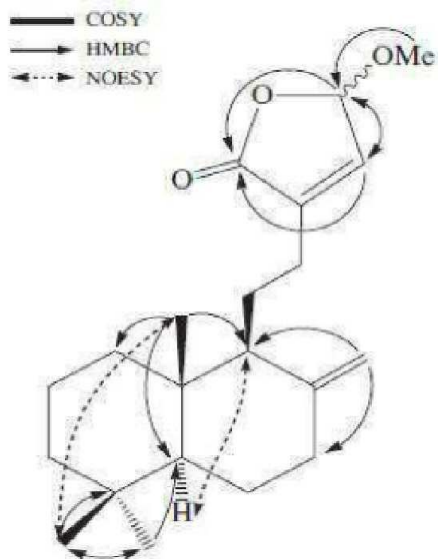
[0111] three tertiary methyl groups at δ_{H} 0.68, 0.80, and 0.87 (each 3H, s);

[0112] one methoxy group at δ_{H} 3.56 (s); 및

[0113] three olefinic protons at δ_{H} 4.54, 4.85, and 6.76 (표 1 참조).

[0114] ¹³C-NMR 및 DEPT(distortionless enhancement by polarization transfer) 스펙트럼으로 4개의 메틸기, 8개의 메틸렌, 4개의 메틴(methine) 및 5개의 4급탄소(quaternary carbons)를 포함하는 21 탄소 신호들을 확인하였다. 화합물 1의 ¹H- 및 ¹³C-NMR 분석으로 이것이 랩단 타입의 디터펜(diterpene) 화합물임을 알아내었다.

[0115] 반면, 화합물1의 NMR 데이터는 coronarin C와 유사하였으나, C-15에서 메톡시 그룹의 부가 부분이 상이하였다. 화합물1의 C 고리에서 γ -carbon (C-15)에 메톡시 그룹을 가지는 α, β -불포화된 γ -락톤이, 15-methoxypinusolidic acid와의 ^1H 및 ^{13}C 데이터와 비교함으로써 확인되었다. 또한, olefinic proton H-14 (δ_{H} 6.76)과 carbons C-13 (δ_{C} 139.4), C-15 (δ_{C} 102.4), 및 C-16 (δ_{C} 171.4) 사이에서; proton H-15 (δ_{H} 5.73)과 C-14 (δ_{C} 141.4), C-16 (δ_{C} 171.4), 및 methoxy carbon (δ_{C} 56.8)사이에서 HMBC(heteronuclear multiple bond correlations)에 의해서도 확인되었다.



[0116]

[0117] 게다가, 화합물1의 HMBC 스펙트럼에서 C-7 (δ_{C} 38.3), C-8 (δ_{C} 148.0) 및 C-9 (δ_{C} 56.5)와 결합되어 있는 2개의 양성자 H-17 (δ_{H} 4.54 and 4.85)는, C-8 및 C-17에 이중결합이 위치하고 있음을 의미한다. H-19 (δ_{H} 0.80)와 H-20 (δ_{H} 0.68) 사이; H-5 (δ_{H} 1.08)와 H-9 (δ_{H} 1.54)사이의 NOESY(nuclear Overhauser enhancement and exchange spectroscopy) 상관관계는 C-10 및 C-9에서 메틸기 및 C 고리의 β 배열들을 확인시켜 주었다.

[0118] 결과적으로, 화합물1은 15-methoxylabda-8(17), 13-dien-16,15-olide로 결정되었고, coronarin G로 명명하였다.

[0119] (2) 화합물 2의 특성평가

[0120] 화합물2를 무색의 점성 오일형태로 수득하였다.

[0121] 양이온 ESI-MS 상 m/z 317 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 에서 기본 이온 피크(basic ion peak)가 관찰되었고, HR-ESI-MS 분석을 통해 m/z 317.2116 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{O}_3$: 317.2117)에서의 클러스터 이온 피크로 분자식이 $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_3$ 임을 밝혔다.

[0122] 화합물2(클로로포름- d_1 중)의 ^1H -NMR 스펙트럼이 다음의 신호들을 나타내었다:

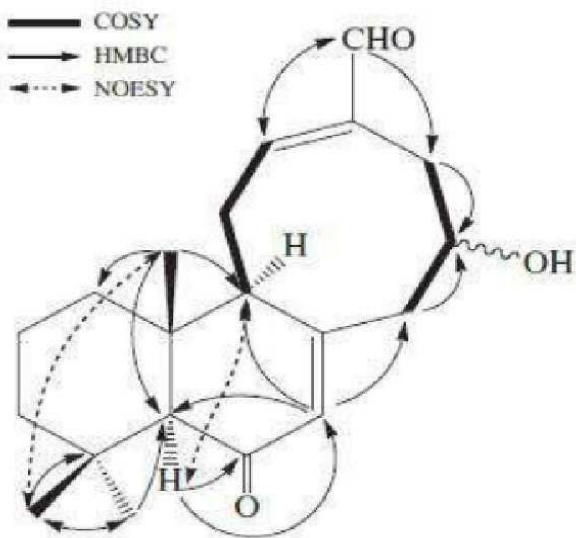
[0123] three tertiary methyl groups at δ_{H} 0.91, 1.16, and 1.18 (each 3H, s);

[0124] one aldehydic group at δ_{H} 9.37 (s); and

[0125] two olefinic protons at δ_{H} 5.92 and 6.82 (표 1 참조).

[0126] ^{13}C -NMR 및 DEPT 스펙트럼으로 3개의 메틸기, 6개의 메틸렌, 6개의 메틴 및 5개의 4급탄소(quaternary carbon s)를 포함하는 20 탄소 신호들을 확인하였다. 화합물3의 ^1H - 및 ^{13}C -NMR 분석에 기초하여, 이것이 랩단 타입의 디터펜 화합물임을 밝혔고, 이의 NMR 데이터는 curcuminol D와 유사하였으나, C-6에서 메틸렌그룹으로 대체된 카보닐 그룹의 출현이 상이하였다.

[0127] H-5 (δ_{H} 2.19)와 C-6 (δ_{C} 199.2), C-7 (δ_{C} 133.2), C-19 (δ_{C} 21.5), 및 C-20 (δ_{C} 14.4)사이에; H-7 (δ_{H} 5.92)와 C-5 (δ_{C} 64.0), C-6 (δ_{C} 199.2), C-8 (δ_{C} 154.7), C-9 (δ_{C} 53.6), 및 C-17 (δ_{C} 41.5)사이에 HMBC correlations은 각각 C-6 및 C-7/C-8에 위치하는 케톤 그룹 및 이중 결합을 확인시켜주었다. 또한, 7개의 고리가 H-9/H-11, H-11/H-12, H-14/H-15 및 H-15/H-16의 COSY correlations에 의해 확인되었다.



[0128]

[0129] 화합물2의 HMBC 스펙트럼에서, C-12 (δ_{C} 155.5), C-13 (δ_{C} 139.0), 및 C-14 (δ_{C} 29.3)와 연관된 δ_{H} 9.37 (H-17) 알데하이드 양성자 신호; C-15 (δ_{C} 69.8)와 연관된 δ_{H} 2.28 및 2.93 (H-14), 2.38 및 2.57 (H-16)에서의 양성자 신호는 알데하이드 및 하이드록시기 및 이중결합이 각각 C-13, C-15, 및 C12/C13에 위치하고 있음을 시사한다.

[0130] H-19 (δ_{H} 1.18) 및 H-20 (δ_{H} 0.91)사이, H-5 (δ_{H} 2.19) 및 H-9 (δ_{H} 3.00) 사이의 NOESY correlations은 C-9에서의 양성자, C-10에서의 메틸기가 각각 α 및 β 배열임을 확인시켜주었다. 이러한 사실에 기초하여, 화합물 2의 구조가 입증되었고, coronarin H로 명명하였다.

[0131] (3) 화합물 3의 특성평가

[0132] 화합물3을 무색의 점성 오일형태로 수득하였다. 양이온 ESI-MS (electrospray ionization mass spectrometry) 상 기본 이온 피크(basic ion peak)는 m/z 337.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 에서 관찰되었고, 클러스터 이온 피크 m/z 337.2378 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{O}_4$: 337.2379)로 HR-ESI-MS(high-resolution electrospray ionization mass spectroscopy) 분석 결과, 분자식이 $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{O}_4$ 임을 밝혔다.

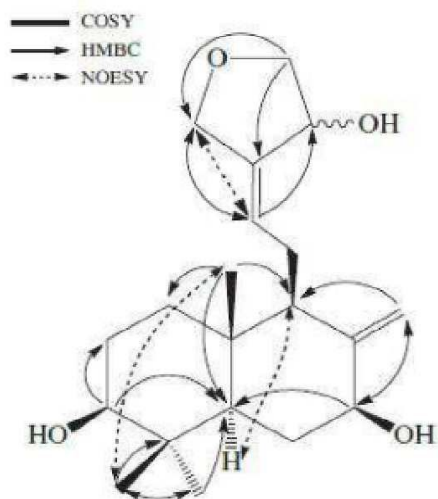
[0133] 화합물3(클로로포름- d_1 중)의 ^1H -NMR 스펙트럼이 다음의 신호들을 나타내었다:

[0134] three tertiary methyl groups at δ_{H} 0.76, 0.80, and 1.03 (each 3H, s);

[0135] three olefinic protons at δ_{H} 4.72, 5.25, and 5.51 (표1 참조).

[0136] ^{13}C -NMR 및 DEPT(distortionless enhancement by polarization transfer) 스펙트럼으로 3개의 메틸기, 7개의 메틸렌(2개는 산소 원자 함유), 6개의 메틴(3개는 산소원자 함유) 및 4개의 4급탄소(quaternary carbons)를 포함하는 20 탄소 신호들을 확인하였다. 화합물 1 및 2와 유사하게, 화합물 3도 H- 및 ^{13}C -NMR 분석에 의해 랩단타입의 디터펜 화합물로 규명되었다. 화합물 3의 NMR 데이터는 pacovatinin B와 유사하였으나, 락톤 고리의 차이점이 존재하였다.

[0137] H-12 (δ_{H} 5.51)에서 C-11 (δ_{C} 23.2), C-14 (δ_{C} 72.0), 및 C-16 (δ_{C} 64.3)까지; H-15 (δ_{H} 3.57 및 3.66)에서 C-13 (δ_{C} 138.8) 및 C-14 (δ_{C} 72.0)까지; H-16 (δ_{H} 4.00 및 4.13)에서 C-12 (δ_{C} 131.8) 및 C-13 (δ_{C} 138.8)까지의 HMBC correlations는 이중결합, 에폭시기 및 하이드록시가 각각 C-12/C-13, C-15/C-16, 및 C-14에 있음을 시사하였다. 또한, C-12/C-13에서 3-치환된 올레핀의 기하학 구조는, H-12 (δ_{H} 5.51) 및 Ha-16 (δ_{H} 4.00) 사이의 NOESY correlation으로부터 Z 형으로 규명되었다.



[0138]

[0139] 화합물 3의 HMBC 스펙트럼은 H-3 (δ_{H} 3.23)와 C-2 (δ_{C} 28.6), C-5 (δ_{C} 53.5), C-18 (δ_{C} 28.8), 및 C-19 (δ_{C} 16.2)사이; H-7 (δ_{H} 3.91)와 C-5 (δ_{C} 53.5), C-6 (δ_{C} 34.2), 및 C-17 (δ_{C} 105.4); 그리고 H-17 (δ_{H} 4.72 및 5.25)와 C-7 (δ_{C} 74.4), C-8 (δ_{C} 151.1), 및 C-9 (δ_{C} 56.5)사이의 상호관계를 보여주며, C-8/C17, C-3, 및 C-7에서 각각 하나의 이중결합 및 2개의 하이드록시기가 있음을 확인하였다.

[0140] 또한, 큰 결합상수(coupling constant)($J_{11,12}=16.0$ Hz)로 C-11/C-12 이중결합의 E 기하 이성질체(geometry isomerism)를 확인하였다. 3 α -hydroxycativic acid [H-3: δ_{H} 3.46 (t, 3.0) 및 δ_{C} 값 for C-1 (39.3), C-3 (76.3), 및 C-4 (37.3)] 및 pacovatinin B [H-3: δ_{H} 3.28 (dd, 4.3, 12.0) 및 δ_{C} 값 for C-1 (36.8), C-3 (78.4), 및 C-4 (38.8)]에 상응하는 데이터와 비교하여, 양성자 H-3 [δ_{H} 3.23 (dd, J = 5.5, 10.0)]의 큰 결합상수(coupling constant) 및 C-1 (δ_{C} 38.2), C-3 (δ_{C} 79.4), 및 C-4 (δ_{C} 40.1)의 화학적 시프트는 3-하이드록시기의 β -equatorial orientation를 확인하였다.

[0141] 이는 H-3 (δ_{H} 3.23) with H-18 (δ_{H} 1.03) 및 H-5 (δ_{H} 1.21)와 결합한 H-3 (δ_{H} 3.23)의 NOE correlations에 의해 추가로 확인되었다. H-7 (J_{6-7} = 5.5, 11.5)의 결합 상수 및 C-7 에서 H-5 (δ_{H} 1.21)와 H-7 (δ_{H} 3.91), 하이드록시기 사이의 NOE correlation에 기초하여, β -equatorial orientation이 확인되었다.

[0142] H-19 (δ_{H} 0.80) 및 H-20 (δ_{H} 0.76)사이; H-5 (δ_{H} 1.21) 및 H-9 (δ_{H} 1.70)사이의 NOE correlation로 C-9에서의 C 고리 및 C-10에서의 메틸기가 β 배열(configuration)임을 확인하였다. 결과적으로 화합물3은 3 β ,7 β ,14-trihydroxy-15,16-epoxylabda-8(17),12Z-dien로 결정되었고, conorarin I로 명명하였다.

[0143] (4) 그 밖의 분리된 화합물

[0144] 상기 신규 화합물 1 내지 화합물 3 이외에도, 공지의 화합물이 본 발명의 메탄을 추출물로부터 분리되었다.

[0145] 문헌상의 물리적 및 분광학적 데이터들을 비교하여 각각의 화합물들을 이하와 같이 규명하였다.

[0146] 화합물 4-10은 각각 이하와 같았다.

[0147] coronarin D (화합물 4)

[0148] coronarin D methyl ether (화합물 5)

[0149] hedyforrestin C (화합물 6)

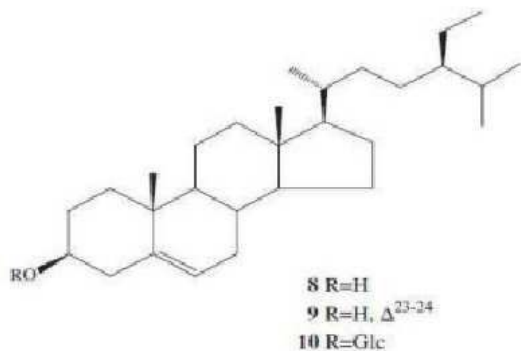
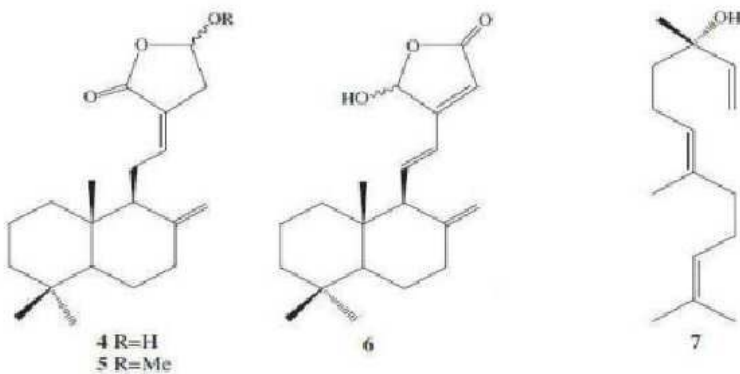
[0150] (E)-nerolidol (화합물 7)

[0151] β -sitosterol (화합물 8)

[0152] daucoesterol (화합물 9) 및

[0153] stigmasterol (화합물 10)

[0154] 이들은 스펙트럼 데이터 및 화학적 증거를 기초로 규명되었고, 이미 공지된 문헌에 보고되어 있다. 화합물 4는 문헌[Itokawa, H.; Morita, H.; Katou, I.; Takeya, K.; Cavaleiro, A. J.; Oliveira, R. C. B.; Ishige, M.; Motidome, M. *Planta Med.* 1988, 54, 311]에, 화합물 5, 6은 문헌[Zhao, Q.; Hong, X.; Wang, Y. S.; Zou, C.; Hao, X. J. *Chin. Chem. Lett.* 2003, 14, 1141]에, 화합물 7은 문헌 [Blanc, M. C.; Bradesi, P.; Casanova, J. *Magn. Res. Chem.* 2005, 43, 176] 에, 화합물 8~10은 문헌 [Kiem, P. V.; Cuong, N. X.; Nhiem, N. X.; Thu, V. K.; Ban, N. K.; Minh, C. V.; Tai, B.H.; Hai, T. N.; Lee, S. H.; Jang, H. D.; Kim, Y. H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2011, 21, 633]에 보고되어 있다.



[0155]

[0156] <실시예 3>

[0157] 분리된 화합물의 생물학적 기능 평가

[0158] (1) 세포 배양

[0159] 골수 유래 수지상세포(Bone marrow-derived DCs)을 와일드 타입 C57BL/6 마우스(Taconic Farm, NY, U.S.A.)로부터 수득하였다. 간략히 말하면, 마우스 정강이뼈 및 대퇴골을 DMEM(Dulbecco's modified Eagles medium) 배지에서 플러싱(flushing)함으로써 골수 세포를 수득하였다. 상기 세포들을, 그래놀로사이트-마크로파지 콜로니-자극인자(GM-CSF)를 함유하는 3% J558L 하이브리도마 세포 배양 상청액으로 보충되어 있는, 10%의 열-비활성화된 FBS(Gibco, NY, U.S.A.), 50 μ M β -머캅토에탄올, 2 mM 글루타민을 함유하는 RPMI 1640 배지에서 배양하였다.

[0160] 상기 배양 배지를 격일로 신선한 배지로 교체해주고, 배양 6일째, 비-부착성 세포 및 느슨하게 부착되어 있는 DC 응집체들을 수확하여 세척하고, 5% FBS가 보충된 RPMI 1640 배지에 재현탁하였다. 상기 DC들을 웰 당 1×10^5 cells를 함유하는 0.5 mL의 48-웰 플레이트에서 배양한 후, 1시간 동안 분리한 화합물들을 2.0, 10, 25, 및 50 μ M 농도로 처리한 후 Salmonella minnesota LPS (10 ng/mL, Alexis, NY, U.S.A.)로 자극하였다. 자극 후 16시간째 상청액을 수득하였다.

[0161] 배양 상청액 분획에서의 마우스 TNF- α , IL-6, IL-12 p40 농도를 ELISA 분석(Pharmingen, CA, U.S.A.)에 의해 측정하였다. 최소 3회의 트리플리케이트에서 수행한 독립적 실험으로부터 평균 $\pm$ 표준편차로 나타낸 데이터를 수득하였다.

[0162] (2) 골수-유래 수지상세포(dendritic cells, DCs)에서의 염증반응 평가

[0163] 상기 실시예 1에서 수득한 10개의 랩단-타입 디터펜 화합물의 생물학적 기능을 평가하기 위하여, 앞서 수득한 골수-유래 수지상세포(dendritic cells, DCs)에서의 염증반응을 관찰하였다.

[0164] 우선, 비색(colorimetric)의 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) 분석(Sigma, MO, U.S.A.)을 이용하여 상기 화합물들이 세포 생존능에서는 거의 영향이 없음을 확인하였다(데이터 도시 없음). 다만, 화합물 5는 세포독성(cytotoxicity)때문에 추가로 실험은 진행하지 않기로 하였다.

[0165] LPS 처리에 있어서, DCs은 염증성 사이토카인, 예를 들어, TNF- α , IL-6, 및 IL-12를 분비함은 이미 공지되어 있었고, 염증성 반응은 이러한 사이토카인 분비, 활성화 및 호중구(neutro-phils)의 빠른 축적 및 이후의 단핵구 보충 등을 포함한다.

[0166] 이러한 사실에 기초하여, 본 실험에서는 2×10^5 cells/mL의 밀도로 48-웰 플레이트에서 배양한 DCs들에게 2, 10, 25, 및 50 μ M 농도로 상기 화합물들을 1시간동안 처리하고 LPS (10 ng/mL)로 자극하였다. 자극 후 16시간째 상청액을 수득하였다.

[0167] p38 kinase 억제제인 SB203580을 양성 대조군으로 사용하였고, 상기 SB203580은 TNF- α , IL-6, 및 IL-12 생성을 억제하였다: 각각 IC₅₀가 7.24 ± 0.10 , 3.53 ± 0.11 , 및 5.02 ± 0.24 μ M 이었다.

표 2

Compound	IC ₅₀ (μ M)		
	TNF- α	IL-6	IL-12p40
1	12.61 ± 2.53	7.57 ± 2.02	6.60 ± 1.88
2	26.83 ± 3.28	8.93 ± 2.17	8.02 ± 1.27
4	41.72 ± 2.84	ND	ND
6	10.38 ± 2.34	3.38 ± 1.25	0.19 ± 0.11
SB203580	7.24 ± 0.10	3.53 ± 0.11	5.02 ± 0.24

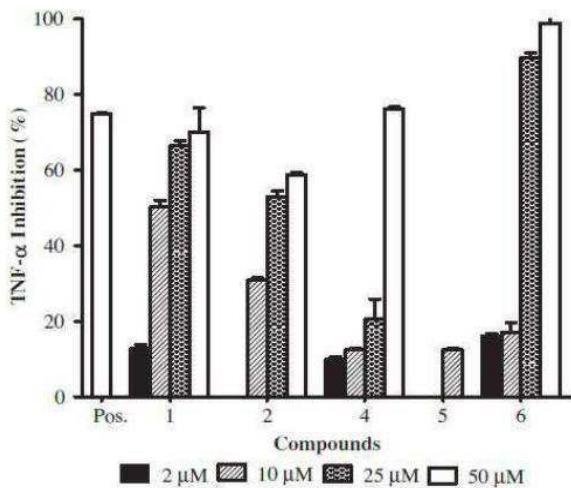
Values <100 μ M are considered to be active. SB203580 was used as positive control. Data are presented as the mean $\pm$ SD and all experiments measured in triplicate.

[0168]

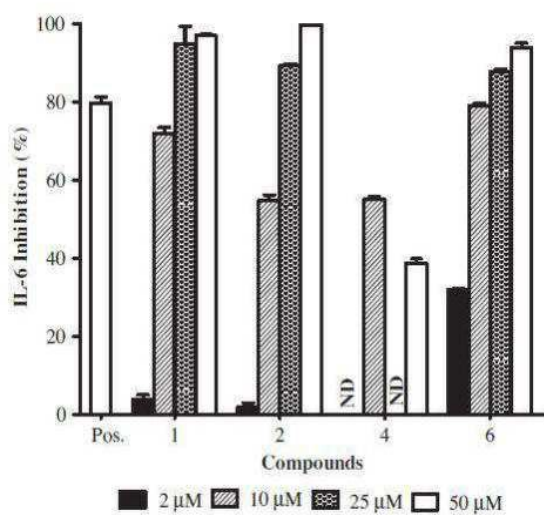
- [0169] 이러한 결과들은 상기 표 2 및 도 1 내지 3에 도시하였다.
- [0170] 상기 화합물들 중에, 화합물 6이 LPS-자극된 IL-6 및 IL-12 생성능을 감소시키는 우수한 억제제로 확인되었다. 이는 상기 사이토카인의 수준을 각각 3.38 ± 1.25 및 $0.19 \pm 0.11 \mu\text{M}$ 범위의 IC_{50} 로 감소시켰다.
- [0171] 특히, 화합물 1 및 2은 $\text{TNF-}\alpha$, IL-6, IL-12의 자극을 현저히 억제시켰지만, 다른 화합물 7 내지 10은 염증성 사이토카인의 생성을 현저히 억제시키지 않았다.
- [0172] 이러한 결과로부터, 본 발명의 헤디치움 코로나리움(*Hedychium coronarium*) 추출물 유래 화합물들은 우수한 염증성 사이토카인 생성 억제능을 가지고 있음을 알 수 있다.
- [0173] $\text{TNF-}\alpha$ 억제능을 보이는 많은 의약들이 존재하고, 일반적으로 cyclosporin A, dexamethasone과 같은 면역억제제로서 사용되고 있다. 그러나, 그 효과의 범위가 다소 광범위하고 상당한 독성이 나타나는 문제점이 있으므로, 최소한의 부작용 프로파일을 가지고 $\text{TNF-}\alpha$ 에 대해서는 더욱 강한 억제활성을 가지는 의약이 필요한 실정이다.
- [0174] 이에, 식물 유래의 항염증성 자연(천연) 억제제인 본 발명은 상기 요구에 부응하는 유용한 염증성 사이토카인 생성 억제제가 될 수 있을 것이고, 특히, IL-6, IL-12, $\text{TNF-}\alpha$ 의 활성화와 관련된 자가면역 질환 및 패혈증 질환의 효과적인 치료에 사용될 수 있을 것이다.

도면

도면1



도면2



도면3

