



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2008년07월16일
(11) 등록번호 10-0846441
(24) 등록일자 2008년07월09일

(51) Int. Cl.
A61K 31/56 (2006.01) A61P 3/10 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2006-0132273
(22) 출원일자 2006년12월22일
심사청구일자 2006년12월22일
(65) 공개번호 10-2008-0058525
(43) 공개일자 2008년06월26일
(56) 선행기술조사문헌
US6579862 B1
US5175154 A
US7138390 B2*
US20040014734 A1
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
재단법인서울대학교산학협력재단
서울특별시 관악구 봉천7동 산4의 2번지
(72) 발명자
강현중
경기도 성남시 분당구 분당동 39 셋별마을
삼부412-305
남상집
경기 광명시 하안4동 하안주공아파트 1012-607
고현실
서울 성동구 금호동2가 654-2번지
(74) 대리인
권오식, 김종관, 박창희

전체 청구항 수 : 총 4 항

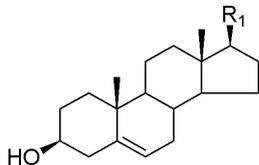
심사관 : 양인수

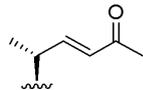
(54) 스테롤 계 유도체를 함유하는 약제학적 조성물, 건강식품조성물, 화장품 조성물 및 파나소이드 엑스 핵수용체 활성억제제 조성물

(57) 요약

본 발명은 하기 화학식 1의 스테롤 계 유도체를 유효성분으로 하는 당뇨병, 비만증, 고콜레스테롤혈증, 고리포단백혈증, 고지혈증, 동맥경화증, 고혈압, 순환기계 질환, 과식증, 허혈성 심질환 예방 또는 치료를 위한 약제학적 조성물, 건강식품 조성물 및 화장품 조성물과 파나소이드 엑스 핵수용체(farnesoid X-activated receptor) 활성 억제제 조성물에 관한 것이다.

[화학식 1]



[R₁은  또는  이다.]

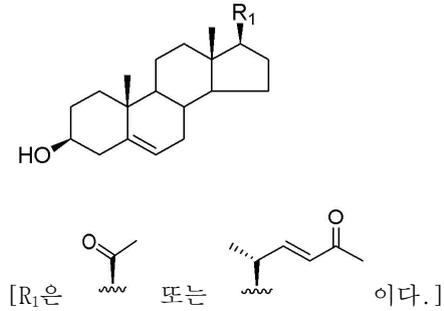
본 발명에 따른 조성물은 파나소이드 엑스 핵수용체(farnesoid X-activated receptor; FXR)의 활성을 억제하여 간에서의 콜레스테롤 수치를 효과적으로 낮춤으로써 콜레스테롤 대사 질환 및 고지혈증 치료 및 예방에 유용하다.

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1의 스테롤 계 유도체를 유효성분으로 하는 당뇨병, 비만증, 고콜레스테롤혈증, 고리포단백혈증, 고지혈증, 동맥경화증, 고혈압, 순환기계 질환, 과식증 또는 허혈성 심질환의 예방 또는 치료를 위한 약제학적 조성물.

[화학식 1]



청구항 2

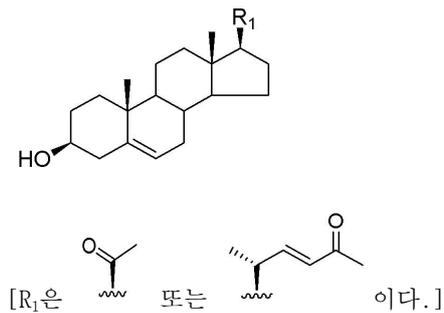
제 1 항에 있어서,

상기 스테롤 계 유도체는 해면동물로부터 추출된 것을 특징으로 하는 당뇨병, 비만증, 고콜레스테롤혈증, 고리포단백혈증, 고지혈증, 동맥경화증, 고혈압, 순환기계 질환, 과식증 또는 허혈성 심질환의 예방 또는 치료를 위한 약제학적 조성물.

청구항 3

하기 화학식 1의 스테롤 계 유도체를 유효성분으로 하는 당뇨병, 비만증, 고콜레스테롤혈증, 고리포단백혈증, 고지혈증, 동맥경화증, 고혈압, 순환기계 질환, 과식증 또는 허혈성 심질환의 예방 또는 개선을 위한 건강식품 조성물.

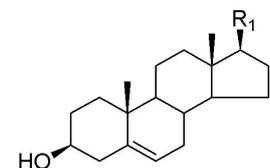
[화학식 1]



청구항 4

하기 화학식 1의 스테롤 계 유도체를 유효성분으로 하는 비만 예방 또는 비만 개선을 위한 화장품 조성물.

[화학식 1]





청구항 5

삭제

명세서

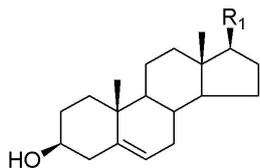
발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

<1> 본 발명은 하기 화학식 1의 스테롤 계 유도체를 유효성분으로 하는 당뇨병, 비만증, 고콜레스테롤혈증, 고리포단백혈증, 고지혈증, 동맥경화증, 고혈압, 순환기계 질환, 과식증, 허혈성 심질환 예방 또는 치료를 위한 약제학적 조성물, 건강식품 조성물 및 화장품 조성물과 파나소이드 엑스 핵수용체(farnesoid X-activated receptor) 활성 억제제 조성물에 관한 것이며, 하기 화학식 1의 스테롤 계 유도체 화합물은 해면동물로부터 분리정제한 해양천연물이다.

<2> [화학식 1]



<3>



<4>

<5> 체내의 과도한 콜레스테롤 축적은 심혈관계 질환뿐만 아니라 퇴행성 신경질환과 같은 치명적인 질병을 가져올 수 있다[PNAS, 1999, 96, 6660]. 따라서 간에서 콜레스테롤로부터 생성된 담즙산은 체내에 과도하게 축적되어 유독한 콜레스테롤을 제거해 줄 뿐만 아니라 지용성 필수 비타민의 흡수를 도와준다. 인간의 지질과 콜레스테롤 대사에 관여하는 핵수용체로 알려진 파나소이드 엑스 핵수용체(farnesoid X-activated receptor; FXR)는 체내 쓸개즙 생성의 항상성을 유지하는 중심 인자이다. 파나소이드 엑스 핵수용체가 활성화 되면 콜레스테롤에서 쓸개즙으로의 이화작용에 가장 중요한 효소인 콜레스테롤 7알파 수산화효소(Cholesterol 7 α -hydroxylase)의 생성을 억제한다[Science, 1999, 284, 1362; Science, 2001, 294, 1866]. 따라서 파나소이드 엑스 핵수용체의 활성을 억제하면 쓸개즙의 생성이 촉진되어 생체내에 과도하게 축적된 콜레스테롤을 제거하는데 유용하다. 그 예로 인도에서 2천년 동안 사용해온 고지혈증치료제인 구굴스테론(guggulsterone)이 파나소이드 엑스 핵수용체의 길항제로 작용하여, 간에서 콜레스테롤 수치를 효과적으로 낮추는 현상이 문헌에 보고된 바 있다[Science, 2002, 296, 1703]. 따라서 파나소이드 엑스 핵수용체에 선택적인 길항제는 콜레스테롤 대사 질환 및 고지혈증 치료제로 개발가능하다.

<6> 상기 화학식 1의 스테롤 계 유도체 화합물은 해면동물인 *Stelodoryx chlorophylla*에서 분리되어 보고된 적은 있으나[J. Nat. Prod. 1993, 56, 282], 핵수용체 FXR의 길항 효과에 대한 생리활성은 공지된 바 없다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

<7> 본 발명의 목적은 스테롤 계 유도체 화합물을 유효성분으로 하는 유효성분으로 하는 당뇨병, 비만증, 고콜레스테롤혈증, 고리포단백혈증, 고지혈증, 동맥경화증, 고혈압, 순환기계 질환, 과식증, 허혈성 심질환 예방 또는 치료를 위한 약제학적 조성물, 건강식품 조성물 및 화장품 조성물을 제공하는 것이며, 본 발명의 또 다른 목적은 스테롤 계 유도체 화합물을 유효성분으로 하는 파나소이드 엑스 핵수용체(farnesoid X-activated receptor)

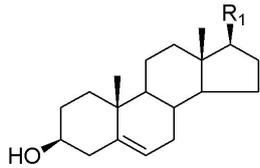
활성 억제제 조성물을 제공하는 것이다.

발명의 구성 및 작용

<8> 본 발명은 하기 화학식 1의 스테롤 계 유도체를 유효성분으로 하는 당뇨병, 비만증, 고콜레스테롤혈증, 고리포 단백질증, 고지혈증, 동맥경화증, 고혈압, 순환기계 질환, 과식증, 허혈성 심질환 예방 또는 치료를 위한 억제학적 조성물, 건강식품 조성물 및 화장품 조성물에 관한 것이다.

<9> 또한 본 발명은 인간의 콜레스테롤 대사에 관여하는 주요 인자로서, 활성이 억제되었을 경우 콜레스테롤에서 쓸개즙으로의 이화를 촉진시켜 간에서의 콜레스테롤 수치를 효과적으로 낮추는 파나소이드 엑스 핵수용체(farnesoid X-activated receptor; FXR)의 활성 억제제 조성물에 관한 것이다.

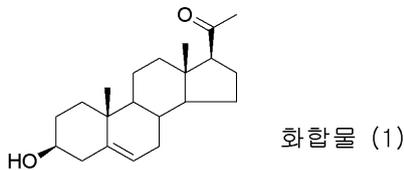
<10> [화학식 1]



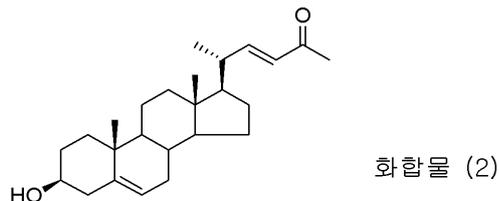
<11>



<13> 상기 화학식 1의 스테롤 계 유도체 화합물은 해면동물로부터 분리정제한 해양천연물로, 상기 화학식 1의 스테롤 계 유도체는 3β-히드록시-17β-프레그-5-엔-20-온(3β-Hydroxy-17β-pregn-5-en-20-one) 및 (22E)-3β-히드록시-26,27-비스놀콜레스타-5,22-디엔-24-온((22E)-3β-Hydroxy-26,27-bisnorcholesta-5,22-dien-24-one)으로 명명되어지며, 하기 화합물 (1)과 화합물 (2)를 각각 지칭한다.



<14>



<15>

<16> 본 발명에 따른 치료학적 효과를 달성하는데 사용되는 의약조성물 및 파나소이드 엑스 핵수용체(farnesoid X-activated receptor) 활성 억제제 조성물의 투여량은 물론 특정 화합물, 투여 방법, 치료할 대상, 및 치료할 질환에 따라 달라지나, 본 발명에 따른 활성화합물인 상기 화학식 1의 스테롤 계 유도체 화합물 기준으로 통상 0.001 mg/Kg 내지 400 mg/Kg 정도이며, 하루 일회 내지 수회에 나누어 투여될 수 있으며, 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 다양하게 조절될 수 있으며, 투여방법은 알약, 캡슐, 가루형태, 용액 및 향분투여가 가능한 좌약 형태로서 경구 또는 비경구투여(예를 들어 정맥내 피하, 복강내, 국소 또는 시각 경로)로 투여할 수 있으나 경구투여가 더 바람직하다.

<17> 본 발명에 따른 약제학적 조성물의 경구투여 경우 기존의 모든 다양한 형태로 제조가능하며 예를 들어 정제, 분말제, 건조시럽, 씹을 수 있는 정제, 과립제, 츄잉정, 캡슐제, 연질캡슐제, 환제, 드링크제, 설하정 등의 여러 가지 형태로 존재할 수 있다. 분말제인 경우는 유효성분의 양이 0.01 내지 99.9중량% 등으로 본 조성물의 제형에 따라 합리적인 방법으로 함량을 적용하는 것이 바람직하다. 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 각각의 제형에 따라 스테롤 계 유도체 화합물의 약제학적으로 허용되는 염의 양이 최대의 총중량을 초과하면 물리적 특성을 유지하기 힘들 수 있고 최소중량보다 적으면 활성성분에 의한 약리효과가 충분히 나타나지 않을 수 도 있다.

- <18> 본 발명에 따른 정제는 유효량으로 생체이용성이 있는 임의의 형태 또는 방식, 즉, 경구경로로 환자에게 투여될 수 있으며, 치료하려는 질병 상태의 특성, 질병의 단계, 및 그 밖의 관련 사정에 따라 적합한 투여 형태 또는 방식을 용이하게 선택할 수 있으며, 본 발명에 따른 조성물이 정제인 경우 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함 할 수 있으며, 이러한 부형제의 비율 및 성질은 선택된 정제의 용해도 및 화학적 특성, 선택된 투여경로 및 표준 약제 실무에 의해 결정된다.
- <19> 더욱 상세하게는, 본 발명에 따른 조성물은 치료적 유효량의 상기 기술된 활성성분을 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제와 함께 필수 성분으로 포함할 수 있다. 부형제 물질은 활성성분의 비히클 또는 매체로서 기능할 수 있는 고형 또는 반고형 물질일 수 있으며, 적합한 부형제는 당 분야에 널리 공지되어 있다. 부형제 물질은 의도된 투여 형태와 관련하여 선택될 수 있으며, 구체적으로는 정제, 분말제, 씹을 수 있는 정제, 과립제, 츄잉정, 캡슐제, 연질캡슐제, 환제, 설하정 또는 시럽형태의 경우, 치료학적 활성 약물 성분은 락토오스 또는 전분과 같은 임의의 경구 비독성의 약제학적으로 허용되는 비활성 부형제와 배합될 수 있다. 임의로, 본 발명의 약제학적 정제는 비정질 셀룰로오즈, 검 트라가칸트 또는 젤라틴과 같은 결합제, 알긴산과 같은 붕해제, 마그네슘 스테아레이트와 같은 윤활제, 콜로이드성 실리콘 디옥사이드와 같은 글라이던트(glidant), 수크로오즈 또는 사카린과 같은 감미제, 페퍼민트 또는 메틸 살리실레이트와 같은 착색제 또는 착향제를 또한 함유할 수 있다.
- <20> 투여가 용이하기 때문에 정제는 가장 유리한 경구용 단위 제형이 될 수 있으며, 필요에 따라 정제는 표준 수성 또는 비수성 기술에 의해 당, 셸락(shellac) 또는 그 밖의 장용 코팅제로 코팅될 수 있으며, 각각의 정제 또는 캡슐은 약 10 mg 내지 200 mg의 유효성분을 함유하는 것이 바람직하다.
- <21> 본 발명에 따른 상기 화학식 1의 스테롤 계 유도체 화합물을 유효성분으로 하는 당뇨병, 비만, 고콜레스테롤혈증, 고리포단백혈증 등의 대사 이상 질환, 고지혈증, 동맥경화증, 고혈압, 순환기계 질환, 과식증, 허혈성 심질환의 예방을 위한 건강식품 조성물로서 유용하다. 스테롤 계 유도체 화합물을 유효성분으로 하는 본 발명의 건강식품보조제는 뇌졸중의 예방에 유용하며, 관련 질환의 치료를 보조할 수 있다.
- <22> 한 양태로서, 상기 건강식품 조성물의 필수 성분으로서 본 발명의 스테롤 계 유도체 화합물 이외에 첨가되는 성분으로는 특별히 한정되지는 않으나 본 발명의 조성물을 식품 또는 음료 첨가물로 사용할 경우, 상기 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용하거나, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다.
- <23> 이 때, 식품 또는 음료 중의 상기 추출물, 즉 일반적으로 본 발명의 건강식품 조성물은 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 % 중량으로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물은 100 ml를 기준으로 0.001 내지 10 g, 바람직하게는 0.3 내지 1 g의 비율로 가할 수 있다. 본 발명의 건강 음료 조성물은 지시된 비율로, 필수 성분으로서 상기 추출물을 함유하는 외에는 액체성분에는 특별한 제한점은 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로 텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다.
- <24> 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물, 예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ml당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다. 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 조성물들은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있으며, 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- <25> 이하 본 발명을 상세히 설명한다.
- <26> [실시에 1] 스테롤 계 유도체 화합물 (1) 및 화합물 (2)의 분리 및 정제
- <27> 본 발명에 따른 스테롤 계 유도체 화합물 (1) 및 화합물 (2)의 추출방법은 다음과 같다. 해양에서 채취한 후 냉동보관된 해면동물을 해동시킨 후 이 해면동물을 잘게 썰어 시료를 준비한 후, 상기 시료를 3번에 걸쳐 각각 1:1 비율 메탄올: 디클로로메탄(CH₂Cl₂)의 혼합 유기 용매로 상온에서 추출하였다. 이어서 상기의 추출물을 감압하에서 증기화하여 잔류물을 얻고, 그 잔류물을 메탄올과 노말-헥산으로 1차 분배 추출하였다. 그 다음 용매가 메

탄올인 추출물을 감압하에서 증기화하여 잔류물을 얻고, 그 잔류물을 물과 에틸아세테이트로 2차 분배추출하였다.

<28> 상기의 에틸아세테이트 추출물을 감압하에서 증기화하여 잔류물을 얻었다. 이 잔류물은 실리카 컬럼상에서 크로마토그래피하였는데, 용리유체는 헥산과 에틸아세테이트를 사용하였다. 상기와 같이 수집된 분획들(fractions)을 C-18 역상 반-분취 HPLC 컬럼(C-18 reversed phase semi-preparative HPLC column, 10 μm, 250×10 mm, 자외선검출기= 210 nm, 용출 속도 2.5 ml/min)상에서 용리유체로 아세토나이트릴:물(60:40)을 사용하여 크로마토그래피하여 용출물을 얻은 다음, 그 용출물을 감압하에서 증기화하여 무결정 형태의 스테롤 계 화합물인 화합물 (1)과 화합물 (2)을 각각 수득하였다. 화합물 (1)과 화합물 (2)의 크로마토그래피 상의 머무름 시간은 각각 30 분과 50분이었다.

<29> [실시에 2] 스테롤 계 유도체 화합물 (1) 및 화합물 (2)의 화학구조 결정

<30> 실시예 1에서 수득한 상기 무결정 순수물질 화합물 (1) 및 화합물 (2)의 동정(identification)과정은 ¹H-nmr(nuclear magnetic resonance; 핵자기공명), ¹³C-nmr, LRMS 및 HRMS 실험결과 및 이차원 NMR 자료를 분석함으로써 이루어졌다. 즉, 상기 화합물 (1) 및 화합물 (2)에 대해서 nmr 실험을 하였으며, 이로부터 화합물 (1) 및 화합물 (2)의 구조를 결정하였는 바, 상기의 화합물 (1) 및 화합물 (2)은 스테롤계 유도체로서, 이미 문헌에 보고된 해양천연물이다[J. Nat. Prod. 1993, 56, 282].

<31> 화합물(1) ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 5.35 (m, 1H), 3.53 (m, 1H), 2.53 (t, 1H, J = 11.2 Hz), 2.30-2.23 (m, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.06-2.04 (m, 2H), 1.87-1.84 (m, 2H), 1.68-1.44 (m, 8H), 1.24-1.09 (m, 3H), 1.01 (s, 3H), 0.99 (m, 1H), 0.88 (m 1H), 0.63 (s, 3H)

<32> 화합물(2) ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 6.64 (dd, 1H, J = 15.8, 8.8 Hz), δ 5.99 (d, 1H, J = 15.8 Hz), 5.34 (m, 1H), 3.52 (m, 1H), 2.30-2.25 (m, 2H), 2.23 (s, 3H), 2.01-1.95 (m, 2H), 1.85-1.83 (m, 2H). 1.66-1.53 (m, 12H), 1.28-1.27 (m, 2H), 1.10 (d, 3H, J = 6.5 Hz), 1.08 (m, 1H), 1.01 (s, 3H), 0.96 (dt, 1H, J = 11.8, 4.6 Hz), 0.73 (s, 3H)

<33> [실시에3] 스테롤 계 유도체 화합물 (1) 및 화합물 (2)의 파나소이드 엑스 핵수용체 (FXR)에 대한 길항 효과

<34> 상기 무결정 순수물질 스테롤 계 유도체 화합물 (1) 및 화합물 (2)의 FXR 길항효과는 Cotransfection assay를 통해 검정하였다. 여기서 Cotransfection assay란, 동물세포를 5% 이산화탄소 환경 하에서 10%의 소혈청과 1%의 항생제를 첨가한 DMEM 배지에 하루 동안 배양하고, 배양된 세포에 인간의 핵수용체인 FXR 단백질 발현 유전자와 FXR에 의해서 조절되는 발광유전자를 포함하는 벡터를 세포 내에 주입하여 발현시킨 후에 FXR의 활성물질인 CDCA(chenodeoxycholic acid)와 추출물이나 천연물을 넣어 하루를 더 배양하고, 발광유전자의 발현 정도를 확인하여 핵수용체 FXR의 억제정도를 대조군(Z-guggulsterone)과 비교 확인하는 보편적인 방법으로, 베타갈락토시데이즈 유전자를 이용하여 시료 첨가 시 나타나는 파이펫팅의 오류를 보정하였다.

<35> 스테롤 계 유도체 화합물 (1) 및 화합물 (2)에 대해서 FXR 길항 효과를 실시한 결과는 표 1로 나타내었다. 스테롤 계 유도체 화합물 (1) 및 화합물 (2)는 세포독성이 없으며, 우수한 FXR 길항 효과를 보였다.

<36> [표 1] 스테롤 계 유도체 화합물 (1) 및 화합물 (2)의 FXR 길항효과 및 세포독성

Compd.	FXR(IC ₅₀ , μM)	cytotoxicity (CV-1, μM)
화합물 (1)	37.0	>100
화합물 (2)	69.7	>100
Z-guggulsterone	10.0	not determined

<37>

<38> 상기의 결과들로부터 스테롤 계 유도체 화합물 (1) 및 화합물 (2)은 새로운 FXR 길항체로서 대사성질환 및 고지혈증치료제로 유용한 화합물임을 확인할 수 있다.

발명의 효과

<39> 본 발명에 따른 스테롤 계 유도체 화합물은 파나소이드 엑스 핵수용체(farnesoid X-activated receptor; FXR)의 활성을 억제하여 콜레스테롤에서 쓸개즙으로의 이화를 촉진시켜 간에서의 콜레스테롤 수치를 효과적으로

낮춤으로써 대사성질환 및 고지혈증 치료 및 예방에 유용하다.