

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2013년 4월 25일 (25.04.2013)



(10) 국제공개번호
WO 2013/058484 A2

- (51) 국제특허분류:
C07C 69/716 (2006.01) A61P 31/12 (2006.01)
C07C 69/013 (2006.01) A61K 31/22 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2012/007897
- (22) 국제출원일: 2012년 9월 28일 (28.09.2012)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2011-0107175 2011년 10월 19일 (19.10.2011) KR
- (71) 출원인: 한국생명공학연구원 (KOREA RESEARCH INSTITUTE OF BIOSCIENCE AND BIOTECHNOLOGY) [KR/KR]; 305-806 대전시 유성구 과학로 125, Daejeon (KR).
- (72) 발명자: 오세량 (OH, Sei Ryang); 305-333 대전시 유성구 어은동 52번지, Daejeon (KR). 김재화 (KIM, Jae Wha); 305-333 대전시 유성구 어은동 52번지, Daejeon (KR). 이형규 (LEE, Hyeong Kyu); 305-333 대전시 유성구 어은동 52번지, Daejeon (KR). 키엠피셋 (KHIEV, Piseth); 305-333 대전시 유성구 어은동 52번지, Daejeon (KR). 김두영 (KIM, Doo Young); 305-333 대전시 유성구 어은동 52번지, Daejeon (KR). 김정희 (KIM, Jung Hee); 305-333 대전시 유성구 어은동 52번지,

Daejeon (KR). 송재성 (SONG, Jae Sung); 305-333 대전시 유성구 어은동 52번지, Daejeon (KR). 안경섭 (AHN, Kyung Seop); 305-333 대전시 유성구 어은동 52번지, Daejeon (KR).

(74) 대리인: 손민 (SON, Min); 135-973 서울시 강남구 테헤란로 87길 36, 6층 한얼국제특허사무소(삼성동, 도심공항타워), Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

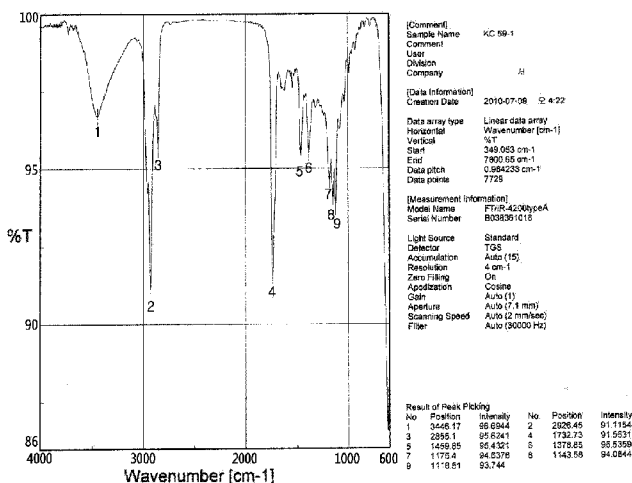
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR),

[다음 쪽 계속]

(54) Title: INGENANE-TYPE DITERPENE COMPOUND, AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR TREATING OR PREVENTING VIRAL INFECTIOUS DISEASES CONTAINING SAME

(54) 발명의 명칭 : 인제난 타입의 디테르펜 화합물 및 이를 포함하는 바이러스 감염 질환의 치료 또는 예방용 약학적 조성물

[Fig. 1]



(57) Abstract: The present invention relates to an ingenane-type diterpene compound derived from *Euphorbia kansui*, and a pharmaceutical composition for treating or preventing viral infectious diseases, a dietary supplement for preventing or improving viral infectious diseases and a composition for enhancing the production of interferon- γ , containing the same. Furthermore, the present invention relates to a method for preventing or treating viral infectious diseases, comprising the step of administering a therapeutically effective amount of the composition to an individual with a viral infectious disease or a risk thereof.

(57) 요약서: 본 발명은 감수 유래 인제난 타입의 디테르펜 화합물 및 이를 포함하는, 바이러스 감염 질환의 치료 또는 예방용 약학적 조성물, 바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 및 인터페론 감마 생산 증강용 조성물에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 상기 조성물을 치료 유효량으로 바이러스 감염질환의 발병 또는 발병가능성이 있는 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 바이러스 감염 질환의 예방 또는 치료 방법에 관한 것이다.



OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— 공개:
국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를
별도 공개함 (규칙 48.2(g))

명세서

발명의 명칭: 인제난 타입의 디테르펜 화합물 및 이를 포함하는 바이러스 감염 질환의 치료 또는 예방용 약학적 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 감수 유래 인제난 타입의 디테르펜 화합물 및 이를 포함하는, 바이러스 감염 질환의 치료 또는 예방용 약학적 조성물, 바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 및 인터페론 감마 생산 증강용 조성물에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 상기 조성물을 치료 유효량으로 바이러스 감염질환의 발병 또는 발병가능성이 있는 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 바이러스 감염 질환의 예방 또는 치료 방법에 관한 것이다.

[2]

배경기술

- [3] 면역 세포에서의 인터페론- γ (IFN- γ) 생산은 바이러스 및 박테리아 감염에 대한 초기 자체 방어 및 종양 제어에 있어 중요한 단계이다(Biron, C. A. et al., *Annu. Rev. Immunol.* 1999, 17, 189-220). IFN- γ 는 일반적으로 면역 반응의 조절시 효과 세포로서 작용하는, 자연 살해(NK) 및 자연 살해 T(NKT) 세포에서 생산된다(Schoenborn, J. R. et al., *Adv. Immunol.* 2007, 96, 41-101). IFN- γ 발현은 전-염증 상태와 특히 관련이 있다. 방어 시스템의 사이토카인 IFN- γ 의 생물학적 역할은 잘 알려져 있으며 바이러스 복제 및 면역자극의 직접적인 억제 모두에 관련이 있다(Gessani, S. et al., *Cytokine & Growth F. R.* 1998, 9, 117-123; Goodbourn, S. et al., *J. Gen. Virol.* 2000, 81, 2341-2364).

[4]

- [5] 소득수준 향상, 인구의 고령화, 만성질환 관련 의약품에 대한 수요증가, 수명증가 등으로 인하여 전 세계적으로 의약품 시장이 성장하고 있는 가운데, 바이오 의약품의 연구 개발이 국내외 제약 산업에서 증대되고 있다. 그 가운데 전 인류의 숙제인 에이즈 치료제 개발 및 간질환 인플루엔자 질환 치료제 개발의 기초가 되는 항바이러스 치료제 관련 연구 및 이를 활용한 치료제 개발, 의료기술 및 삶의 질 향상 기술개발에 대한 요구가 증대되고 있다.

[6]

- [7] 바이러스란 세균보다 작아서 세균여과기(0.22 μ m)로도 걸러질 수 없는 작은 입자(평균 0.1 μ m 이하)로, 생존에 필요한 물질로 핵산(DNA 또는 RNA)과 소수의 단백질을 가지고 있어 숙주에 의존하여 살아가는 생명체이다. 바이러스로 인해 야기되는 질환에 대한 치료제로, 체내에 침입한 바이러스의 작용을 약하게 하거나 소멸하게 하는 약을 항바이러스 치료제라 한다.

[8]

- [9] 현재 바이러스 감염증에 대한 치료법은 백신에 의한 면역요법이 주축을 이루고

있다. 구체적으로, 트라코마, 제4성병(성병)등 클라미디아(대형 바이러스)에 의한 감염증 치료제로 테트라시클린, 클로람페니콜이 있고, 인플루엔자A형 바이러스에 대한 예방제로 아만타딘이 있으며, 헤르페스 각막염에 대한 예방제로 IDU(이독스우리딘) 점안제가 개발되었으며, 단순 헤르페스 뇌염(뇌염)이나 면역억제제로서 피다라빈이/아시클로빌이 주목받고 있으며, 특히 인터페론은 바이러스 감염증에 대해 가장 유망시되는 약제로, 현재 그 유용성이 검토되고 있다.

[10]

[11] 최근에 건강문제를 다루거나 예방하는데 있어, 천연물질을 선호하는 인구가 전 세계적으로 증가하고 있다. 이러한 추세는 제약회사로 하여금 식물에서 추출한 새로운 항미생물제 생산에 영향을 미치고 있다. 이에 따라 세계적으로 수 천여종의 식물자원으로부터 새로운 항바이러스 소재를 탐색하기 위한 연구가 꾸준히 이루어지고 있으며, 또한 항바이러스 활성을 가진 플라보노이드, 테르페노이드, 리그난, 설파이드, 폴리페놀류, 쿠마린, 사포닌, 알카로이드, 폴리인, 티오펜, 단백질과 펩타이드 등 매우 다양한 피토케미칼들이 동정되어 왔다. 일반적인 용도의 식용허브, 향신료 및 허브차의 몇몇 휘발성 정유들 또한 높은 수준의 항바이러스 활성을 나타내고 있다. 그러나 위에 언급한 약간의 화합물군을 제외하고는 대부분의 항바이러스 활성을 지닌 약용식물 활성물질의 연구는 시작단계에 불과한 실정이다.

[12]

[13] 감수(*Euphorbia kansui* Liou)(대극과, *Euphorbiaceae*)는 중국 및 한국 본토에 널리 분포되어 있다. "간수이"로도 알려져 있는, 감수의 건조된 뿌리는 부종, 복수(Wang, L. Y. et al., *J. Nat. Prod.* 2003, 66, 630-633) 및 암(Wang, L. Y. et al., *J. Nat. Prod.* 2002, 65, 1246-1251)을 위한 약초 치료제로서 사용되어 왔다. 감수에 대한 이전 연구들을 통해 이의 추출물 중에 다수의 이우판-타입 트리테르펜(Chang, J. S. et al., *Planta Med.* 2010, 76, 1544-1549), 인제난-타입 디테르펜(Pan, Q. et al., *J. Nat. Prod.* 2004, 67, 1548-1551) 및 자트로판-타입 디테르펜(Zheng, W. F. et al., *Planta Med.* 1998, 64, 754-756)이 존재하는 것으로 확인되었다. 또한, 상기 시료는 항암(Pan, Q. et al., *J. Nat. Prod.* 2004, 67, 1548-1551), 세포 분열 억제(Chang, J. S. et al., *Planta Med.* 2010, 76, 1544-1549) 및 항알러지 효과(Ott, H. H. et al., *Experientia.* 1981, 37, 88-91)를 나타내는 것으로 확인되었다.

[14]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[15] 이러한 배경하에서, 본 발명자는 천연물 유래의 항바이러스 활성을 나타내는 물질을 동정하기 위하여 예의 노력한 결과, 감수로부터 인제난-타입의 디테르펜

화합물을 분리한 후 상기 화합물이 NK92 세포의 인터페론 감마(IFN- γ) 생산을 증가시킴을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

[16]

과제 해결 수단

[17] 본 발명의 목적은 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공하는 것이다.

[18] 본 발명의 다른 목적은 화학식 2로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 바이러스 감염 질환의 치료 또는 예방용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[19] 본 발명의 또 다른 목적은 화학식 2로 표시되는 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하는 것이다.

[20] 본 발명의 또 다른 목적은 화학식 2로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 인터페론 감마 생산 증강용 조성물을 제공하는 것이다.

[21]

발명의 효과

[22] 본 발명은 감수(*Euphorbia kansui*)의 뿌리 부위로부터 분리한 인제난 타입의 신규한 디테르펜 화합물을 제공하고, 상기 신규 화합물을 포함하는 감수 유래 인제난 타입의 신규한 디테르펜 화합물들은 NK 세포에서 IFN- γ 생산을 유도하는 활성을 나타내므로 바이러스 감염 질환의 치료 또는 예방을 위하여 사용할 수 있는 효과가 있다.

[23]

도면의 간단한 설명

[24] 도 1은 화합물 1의 IR 스펙트럼을 나타낸다.

[25] 도 2는 화합물 1의 고해상도 FABMS 결과를 나타낸다.

[26] 도 3 및 도 4는 화합물 1의 포지티브 HRFABMS 결과를 나타낸다.

[27] 도 5는 화합물 1의 ^1H -NMR 분광학적 데이터를 나타낸다.

[28] 도 6은 화합물 1의 ^{13}C -NMR 분광학적 데이터를 나타낸다.

[29] 도 7은 화합물 1의 HMQC 분광학적 데이터를 나타낸다.

[30] 도 8은 화합물 1의 HMBC (H $\rightarrow$ C) 상관관계 및 COSY (H-H) 상관관계를 나타낸다.

[31] 도 9는 화합물 1의 절대 배열을 나타낸다. 이때 2개 MPTA 에스테르 1a 및 1b에 대한 $\Delta\delta$ 값($\delta_S - \delta_R$)을 헤르츠 단위로 나타내었다.

[32] 도 10은 화합물 1의 NOESY ($\leftrightarrow$) 상관관계를 나타낸다.

[33] 도 11은 인간 자연 살해세포(NK92)에서의 IFN- γ 생산에 대한 화합물 1-6 및 8의 영향을 나타내는 그래프이다. 이때 포볼 12-미리스테이트 13-아세테이트

(PMA)를 양성 대조군으로 사용하였다. 각각의 값은 3회 배양에 대한 평균 $\pm$ 표준편차값이다.

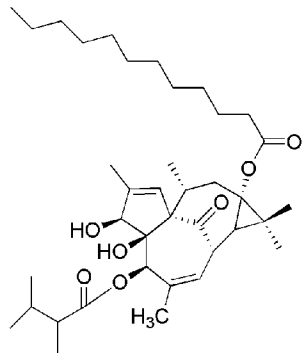
[34]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[35] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[36] [화학식 1]

[37]



[38] 본 발명에서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 화합물 1로 나타내었으며, 이의 명칭은 5-O-(2,3-디메틸부타노일)-13-O-도데카노일-20-O-테옥시인제놀이다.

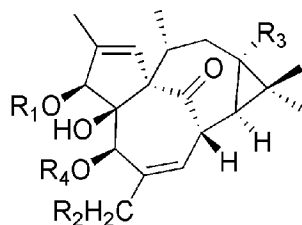
[39] 상기 화합물 1은 인제난 타입의 디테르펜 화합물로서, 본 발명자들이 감수(*Euphorbia kansui*)의 뿌리 부위로부터 분리한 신규 물질이다. 상기 화합물 1은 세포의 인터페론 감마 생산을 촉진 또는 증가시키는 활성을 나타낼 수 있다.

[40]

[41] 또한, 본 발명은 하기 화학식 2로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 바이러스 감염 질환의 치료 또는 예방용 약학적 조성물을 제공한다.

[42] [화학식 2]

[43]



[44] 상기 식에서,

[45] R₁은 H이고, R₂는 H이며, R₃는 OCO-(CH₂)₁₀-CH₃이고, R₄는 CO-CH(CH₃)-CH(CH₃)₂이거나,

[46] R₁은 CO-CH(CH₃)-CH(CH₃)₂이고, R₂는 H이며, R₃는 OCO-(CH₂)₁₀-CH₃이고, R₄는 H이거나,

[47] R₁은 H이고, R₂는 OCO-(CH₂)₈-CH₃이며, R₃는 H이고, R₄는 H이거나,

[48] R₁은 CO(CH=CH)-(CH₂)₄-CH₃이고, R₂는 OAc이며, R₃는 H이고, R₄는 H이거나,

- [49] R_1 은 $\text{CO-CH}(\text{CH}_3)\text{-CH}(\text{CH}_3)_2$ 이고, R_2 는 $\text{OCO}(\text{CH}_2)_{14}\text{-CH}_3$ 이며, R_3 는 $\text{OCO}(\text{CH}_2)_{10}\text{-CH}_3$ 이고, R_4 는 H이거나, 또는
- [50] R_1 은 $\text{CO-CH}(\text{CH}_3)\text{-CH}(\text{CH}_3)_2$ 이고, R_2 는 OH이며, R_3 는 $\text{OCO}(\text{CH}_2)_{10}\text{-CH}_3$ 이고, R_4 는 H이다.
- [51]
- [52] 본 발명에서, 상기 화학식 2로 표시되는 인제난 타입의 디테르펜 화합물은 감수(*Euphorbia kansui*), 바람직하게는 감수의 뿌리 부위로부터 분리될 수 있다.
- [53] 본 발명의 약학적 조성물은 감수(*Euphorbia kansui*)로부터 분리된 상기 화학식 2로 표시되는 화합물뿐만 아니라, 화학적 방법으로 합성한 화학식 2로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함할 수 있다.
- [54] 본 발명은 상기 화학식 2로 표시되는 화합물 및 이의 약학적으로 허용되는 염뿐만 아니라, 이로부터 제조될 수 있는 가능한 용매화물, 수화물 또는 라세미체를 모두 포함한다.
- [55] 본 발명에서 용어, "예방"이란 조성물의 투여에 의해 바이러스 감염 질환을 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [56] 본 발명에서 용어, "치료"란 조성물의 투여에 의해 바이러스 감염에 의한 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.
- [57] 본 발명에서, 상기 바이러스 감염 질환은 인플루엔자바이러스(*influenza virus*), 신종 인플루엔자 A 바이러스(*Influenza A virus subtype H1N1*), 조류인플루엔자바이러스(*avian influenza virus*), 리노바이러스(*rhinovirus*), 아데노바이러스(*adenovirus*), 코로나바이러스(*coronavirus*), 파라인플루엔자바이러스(*parainfluenza virus*), 호흡기 합포체 바이러스(*respiratory syncytial virus*), 포진 바이러스(*Herpesvirus, HSV*), 후천성 면역결핍 증후군 바이러스(*human immunodeficiency virus, HIV*), 로타바이러스(*rotavirus*) 및 간염바이러스로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 바이러스에 의해 감염되는 질환일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [58] 또한, 상기 바이러스 감염 질환은 로타바이러스감염증, 아데노바이러스감염증, 독감, 감기, 인후염, 기관지염, 폐렴, 조류독감, 결막염, 뇌염, 후천성면역결핍증, 간염 및 중증급성호흡기증후군(*SARS*)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 바이러스 감염 질환일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [59]
- [60] 본 발명의 상기 화학식 2로 표시되는 화합물은 약학적으로 허용 가능한 염의 형태일 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(*free acid*)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산 또는 아인산과 같은 무기산류와 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설폰산류와

같은 무독성 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로겐 포스페이트, 디하이드로겐 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β -하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 또는 만델레이트를 포함한다.

[61] 본 발명에 따른 산 부가염은 통상의 방법, 예를 들면, 상기 화학식 2의 화합물을 과량의 산 수용액 중에 용해시키고, 이 염을 수산화성 유기 용매, 예를 들면 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조할 수 있다.

[62] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속 염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다. 또한, 이에 대응하는 은 염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 음염(예, 질산은)과 반응시켜 얻는다.

[63]

[64] 본 발명의 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 상기 조성물은 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형일 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용된다. 경구투여를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액,

비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테로 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[65]

[66] 한편, 본 발명은 본 발명의 조성물을 치료학적 유효량으로 바이러스 감염질환의 발병 또는 발병가능성이 있는 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 바이러스 감염 질환의 예방 또는 치료방법을 제공한다.

[67] 본 발명에서 용어, "개체"란 바이러스에 이미 감염되었거나 감염될 수 있는 인간을 포함한 모든 동물을 의미하고 본 발명의 조성물을 개체에게 투여함으로써, 상기 질환을 효과적으로 예방 및 치료할 수 있다.

[68] 본 발명의 조성물을 기존의 바이러스 감염 질환의 치료제와 병행하여 투여할 수 있다. 상기 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 본 발명의 조성물은 목적하는 바에 따라 복강내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경구 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 직장내 투여될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 또한 상기 조성물은 활성 물질이 표적 세포로 이동할 수 있는 임의의 장치에 의해 투여될 수 있다.

[69] 본 발명의 조성물은 치료학적으로 유효한 양으로 투여한다. 용어 "치료학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 개체 종류 및 중증도, 연령, 성별, 감염된 바이러스 종류, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

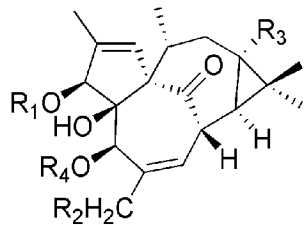
[70] 본 발명의 조성물은 바이러스 감염의 예방 및 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 호르몬 치료, 약물 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

[71]

[72] 본 발명의 실시예에서는 감수로부터 하기 화학식 2로 표시되는 화합물, 하기 화학식 3으로 표시되는 화합물, 하기 화학식 4로 표시되는 화합물 및 하기 화학식 5로 표시되는 화합물을 분리 동정하였다.

[73] [화학식 2]

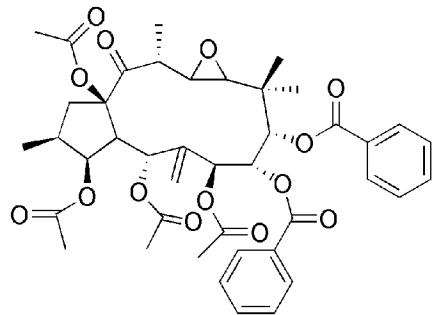
[74]



[75]

[화학식 3]

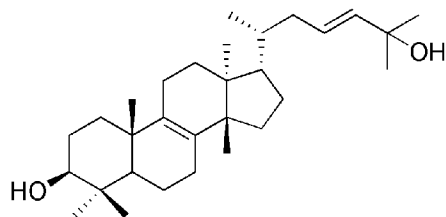
[76]



[77]

[화학식 4]

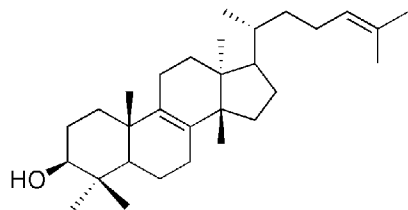
[78]



[79]

[화학식 5]

[80]



[81]

상기 식에서,

[82]

R₁은 H이고, R₂는 H이며, R₃는 OCO-(CH₂)₁₀-CH₃이고, R₄는 CO-CH(CH₃)-CH(CH₃)₂이거나,

[83]

R₁은 CO-CH(CH₃)-CH(CH₃)₂이고, R₂는 H이며, R₃는 OCO-(CH₂)₁₀-CH₃이고, R₄는 H이거나,

[84]

R₁은 H이고, R₂는 OCO-(CH₂)₈-CH₃이며, R₃는 H이고, R₄는 H이거나,

[85]

R₁은 CO(CH=CH)-(CH₂)₄-CH₃이고, R₂는 OAc이며, R₃는 H이고, R₄는 H이거나,

[86]

R₁은 CO-CH(CH₃)-CH(CH₃)₂이고, R₂는 OCO-(CH₂)₁₄-CH₃이며, R₃는 OCO-(CH₂)₁₀-CH₃이고, R₄는 H이거나, 또는

[87]

R₁은 CO-CH(CH₃)-CH(CH₃)₂이고, R₂는 OH이며, R₃는 OCO-(CH₂)₁₀-CH₃이고, R₄는 H이다.

[88]

[89]

본 발명에서는 상기 화학식 2로 표시되는 화합물 중 R₁은 H이고, R₂는 H이며, R

₃는 OCO-(CH₂)₁₀-CH₃이고, R₄는 CO-CH(CH₃)-CH(CH₃)₂인 경우 화합물 1로, R₁은 CO-CH(CH₃)-CH(CH₃)₂이고, R₂는 H이며, R₃는 OCO-(CH₂)₁₀-CH₃이고, R₄는 H인 경우 화합물 2로, R₁은 H이고, R₂는 OCO-(CH₂)₈-CH₃이며, R₃는 H이고, R₄는 H인 경우 화합물 3으로, R₁은 CO(CH=CH)-(CH₂)₄-CH₃이고, R₂는 OAc이며, R₃는 H이고, R₄는 H인 경우 화합물 4로, R₁은 CO-CH(CH₃)-CH(CH₃)₂이고, R₂는 OCO-(CH₂)₁₄-CH₃이며, R₃는 OCO-(CH₂)₁₀-CH₃이고, R₄는 H인 경우 화합물 5로, R₁은 CO-CH(CH₃)-CH(CH₃)₂이고, R₂는 OH이며, R₃는 OCO-(CH₂)₁₀-CH₃이고, R₄는 H인 경우 화합물 6으로 나타내었으며, 화학식 3로 표시되는 화합물은 화합물 7로, 화학식 4로 표시되는 화합물은 화합물 8로, 화학식 5로 표시되는 화합물은 화합물 9로 나타내었다.

[90]

[91] 상기 화합물 1의 명칭은 5-*O*-(2,3-디메틸부타노일)-13-*O*-도데카노일-20-*O*-데옥시인제놀, 화합물 2의 명칭은 3-*O*-(2,3-디메틸부타노일)-13-*O*-도데카노일-20-*O*-데옥시인제놀, 화합물 3의 명칭은 20-*O*-데카노일인제놀, 화합물 4의 명칭은 20-*O*-아세틸인제놀-3-*O*-(2'*E*,4'*Z*) 데카디엔에이트, 화합물 5의 명칭은 간수이포린 A, 화합물 6의 명칭은 3-*O*-(2,3-디메틸부타노일)-13-*O*-도데카노일인제놀, 화합물 7의 명칭은 간수이닌 F, 화합물 8의 명칭은 (20*R*,23*E*)-이우파-8,23-디엔-3b,25-디올, 화합물 9의 명칭은 이우폴이다.

[92] 본 발명의 실시예에서는 NK92 세포에서의 IFN- γ 발현에 대한 상기 화합물들(1-9)의 영향을 ELISA 분석을 이용하여 조사하여 화합물 1-6 및 8이 NK92 세포에서 IFN- γ 생산을 유도할 수 있음을 확인하였다(도 10). 이러한 결과는 본 발명에서 동정한 화합물 1-6이 세포의 IFN- γ 생산을 촉진 또는 증가시킴으로써 유용한 항바이러스제로 사용될 수 있음을 나타낸다.

[93]

[94] 또한, 본 발명은 상기 화학식 2로 표시되는 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다. 즉, 상기 화학식 2의 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 목적으로 식품에 첨가할 수 있다.

[95] 본 발명에서, "예방"이란 건강기능식품의 섭취에 의해 바이러스 감염 질환에 의한 증상을 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미하며, "개선"이란 건강기능식품의 섭취에 의해 바이러스 감염 질환에 의한 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[96] 본 발명의 건강기능식품은 건강 기능성 식품, 영양 보조제, 영양제, 파머푸드(pharmafood), 건강 식품, 뉴트라슈티칼(nutraceutical), 디자이너 푸드, 식품 첨가제, 사료첨가제 등의 모든 형태에 해당한다.

[97] 상기 화학식 2의 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 건강기능식품의 첨가물로 사용할 경우, 상기 화합물 또는 이의 식품학적으로

허용가능한 염을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 사용 목적(예방 또는 개선적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다.

[98] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없으며, 예를 들면 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함한다.

[99] 상기 외에 본 발명의 건강기능식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 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.

[100] 그밖에 본 발명의 건강기능식품은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

[101] 상기 바이러스 감염 질환은 상기에서 설명한 바와 같다.

[102]

[103] 또한, 본 발명은 상기 화학식 2로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 인터페론 감마 생산 증강용 조성물을 제공한다.

[104] 상기 인터페론 감마 생산 증강용 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함할 수 있으며, 약학적으로 허용가능한 담체는 상기에서 설명한 바와 같다.

[105] 본 발명의 실시예에서는 상기 화학식 2로 표시되는 화합물을 NK92 세포에 처리한 결과, 상기 NK92 세포에서의 IFN- γ 발현이 증가하였음을 확인하였다(도 10). 따라서, 상기 화학식 2로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 세포, 바람직하게는 NK 세포의 IFN- γ 생산을 증가시킴으로써, 궁극적으로 바이러스 감염 질환의 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

[106]

발명의 실시를 위한 형태

[107] 이하, 실시예를 통해 본 발명의 구성 및 효과를 보다 더 구체적으로 설명하고자 하나, 이들 실시예는 본 발명의 예시적인 기재일뿐 본 발명의 범위가 이들 실시예에만 한정되는 것은 아니다.

[108]

[109] **실시예 1: 재료 및 방법**

[110] 일반적인 실험 과정

[111] 용융점은 코플러 마이크로-호스테이지(Kofler micro-hostage) 상에서 측정되었다. 광학적 회전은 Jasco P-1020 편광계로 측정하였다. UV 테이터는 UV-VIS 분광기 2400 상에서 얻었으며, FT-IR 스펙트럼은 Jasco FT/IR-4200을

이용하여 얻었다. NMR 스펙트럼은 내부 표준물질로서 테트라메틸실란을 사용하여 Varian UNITY 400 및 Bruker DMX-800 MHz FT-NMR 분광기 상에서 기록하였다. HRESIMS 및 HRFABMS는 Waters Q-Tof Premier 분광기 및 JEOL JMS-HX110 분광기 상에서 각각 수행하였다. HPLC 분리는 UV/VIS-155 검출기를 사용하여 Gilson pump 305 상에서 수행하였다.

[112]

[113] 식물 재료

[114] 감수(*Euphorbia kansui*)의 뿌리는 중국 수입산으로 국내 생약 판매회사인 칠성사로부터 구입하였으며 표준품(PB-3755)는 한국생명공학연구원의 추출물은 행에 보관하고 있다.

[115]

[116] 세포 배양

[117] NK92 세포(인간 NK 림프종)를 American Type Culture Collection으로부터 입수하였다. NK92 세포를 20% 우테아 혈청(Invitrogen), 2 mM L-글루타민, 100 mg/mL 페니실린 및 100 mg/mL 스트렙토마이신(Invitrogen)을 함유하는 α -MEM (Invitrogen, 미국) 중에서 유지시킨 다음, 100 U/mL IL-2 (Peprotech, 미국)로 보충하였다. NK92 세포 배양을 5% CO₂ 습도 대기 37 °C 배양기 내에서 수행하였다. 인간 IFN- γ 의 양을 분석 키트(Endogen, Woburn, 미국)를 이용하여 공급자의 프로토콜에 따라 분석하였다.

[118]

[119] **실시예 2: 추출 및 분리**

[120] 상기 실시예 1의 MeOH 추출물(1 kg)을 H₂O 중에 현탁시키고 CHCl₃, EtOAc, 및 *n*-BuOH로 연속적으로 분배시켜 230.0 g의 CHCl₃-가용성 추출물, 4.5 g의 EtOAc-가용성 추출물, 및 41.0 g의 *n*-BuOH-가용성 추출물을 얻었다. CHCl₃-가용성 분획이 IFN- γ 생산에 가장 활성이 높은 것으로 확인되었다. 상기 CHCl₃-가용성 분획(100 g)을 *n*-헥산:EtOAc (50:1 내지 1:1 v/v)의 단계적인 농도구배 혼합물을 사용하여 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피를 실시한 다음, CHCl₃:MeOH (5:1 내지 1:1 v/v)의 단계적인 농도구배 혼합물을 사용하여 다시 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피를 실시하여 22개 분획물(KC16-1 - KC16-22)을 얻었다. 그 다음 분획 KC16-7 내 물질을 결정화하여 화합물 **9** (10 g)를 얻었다. 분획 KC16-12 (5.7 g)를 MeOH:H₂O (4:1 내지 4.5:1, 그 다음 100% MeOH)로 용리되는 중압액체 크로마토그래피 시스템(MPLC)으로 RP C-18 (3.5 × 40 cm, 40C₁₈-PREP) 컬럼 상에서 크로마토그래피하여 20개의 분획(KC16-12-1 - KC16-12-20)을 얻었다. 분획 KC16-12-18 (485 mg)을 H₂O 중의 90% MeOH로 용리되는 Sephadex LH-20 컬럼 크로마토그래피(2.5 × 170 cm)를 이용하여 분획하여 3개의 분획(KC16-12-18-1 - KC16-12-18-3)을 얻었다. 분획 KC16-12-18-2 (198 mg)를 역상 컬럼을 이용한 예비 HPLC(YMC J'sphere ODS-H80, 250 × 20 mm, 4 μ m, 100% MeOH, 10 mL/min)를 통해 정제하여 화합물 **1** (10.0 mg, *t_R* 13.2 min) 및 **2** (60.0 mg,

t_R 17.1 min)를 얻었다. 분획 KC16-12-20 (777 mg)을 *n*-헥산:EtOAc (5:1 내지 1:1 v/v)로 용리되는 실리카 겔 MPLC 컬럼 상에서 크로마토그래피하여 8개의 분획(KC16-12-20-1 - KC16-12-20-8)을 얻었다. 분획 KC16-12-20-1 (366 mg)을 H₂O 중의 90% MeOH로 용리되는 Sephadex LH-20 컬럼 크로마토그래피(2.5 × 170 cm)를 통해 분획하여 4개의 분획(KC16-12-20-1-1 - KC16-12-20-1-4)을 얻었다. 분획 KC16-12-20-1-2 (100 mg)를 역상 컬럼을 이용한 예비 HPLC(YMC J'sphere ODS-H80, 250 x 20 mm, 4 mm, 100% MeOH, 10 mL/min)를 통해 정제하여 화합물 7 (4 mg, t_R 62.1 min)을 얻었다. 활성 분획 KC16-14 (2.8 g)를 MeOH:H₂O (1:1 내지 4.5:1, 그 다음 100% MeOH)로 용리되는 RP C-18 컬럼 (3.5 × 40 cm, 40C₁₈-PREP) 상에서 MPLC를 통해 크로마토그래피하여 18개의 분획(KC16-14-1 - KC16-14-18)을 얻었다. 분획 KC16-14-10 (153 mg)을 *n*-헥산:EtOAc로 용리되는 MPLC 컬럼 크로마토그래피(3:1 v/v, 3.5 × 40 cm)를 통해 실리카 겔 상에서 크로마토그래피하여 4개의 분획(KC16-14-10-1 - KC16-14-10-4)을 얻었다. 분획 KC16-14-10-1 (36 mg)을 역상 컬럼을 이용하는 예비 HPLC(YMC J'sphere ODS-H80, 250 x 20 mm, 4 mm, 88% MeOH in H₂O, 10 mL/min)를 통해 정제하여 화합물 4 (9 mg, t_R 23.5 min) 및 5 (4 mg, t_R 32.6 min)를 얻었다.

[121] 분획 KC16-14-12 (295 mg)를 H₂O 중의 80% MeOH로 용리되는 Sephadex LH-20 컬럼 크로마토그래피(2.5 × 170 cm)를 이용하여 분획하여 5개의 분획(KC16-14-12-1 - KC16-14-12-5)을 얻었다. 분획 KC16-14-12-2 (150 mg)를 역상 컬럼을 이용하는 예비 HPLC(YMC J'sphere ODS-H80, 250 x 20 mm, 4 mm, 83% MeOH in H₂O, 10 mL/min)를 통해 정제하여 화합물 3 (40 mg, t_R 31.3 min)을 얻었다.

[122] 분획 KC16-14-15 (144 mg)를 H₂O 중의 80% MeOH로 용리되는 Sephadex LH-20 컬럼 크로마토그래피(2.5 × 170 cm)를 이용하여 분획하여 6개의 분획(KC16-14-15-1 - KC16-14-15-6)을 얻었다. 분획 KC16-14-15-6 (55 mg)을 역상 컬럼을 이용하는 예비 HPLC(YMC 250 x 20 mm, 4 mm, 70% MeCN in H₂O, 10 mL/min)를 통해 정제하여 화합물 8 (25 mg, t_R 15.4 min)을 얻었다.

[123] 분획 KC16-21 (1.2 g)을 *n*-헥산:EtOAc (5:1 내지 1:1 v/v, 3.5 × 40 cm)로 용리되는 MPLC 컬럼 크로마토그래피를 통해 실리카 겔 상에서 크로마토그래피하여 18개의 분획(KC16-21-1 - KC16-21-18)을 얻었다. 분획 KC16-21-8 (242 mg)을 *n*-헥산-디메틸 클로라이드-MeOH (10:10:1 v/v, 2.5 × 170 cm)로 용리되는 Sephadex LH-20 컬럼 크로마토그래피(2.5 × 170 cm)를 이용하여 분획하여 6개의 분획(KC16-21-8-1 - KC16-21-8-6)을 얻었다. 하위 분획 KC16-21-8-3 (130 mg)을 H₂O 중의 90% MeOH로 용리되는 Sephadex LH-20 컬럼 크로마토그래피(2.5 × 170 cm)를 이용하여 분획하여 8개의 분획(KC16-21-8-3-1 - KC16-21-8-3-8)을 얻었다. 분획 KC16-21-8-3-8 (40 mg)을 역상 컬럼을 이용한 예비 HPLC(YMC J'sphere ODS-H80, 250 x 20 mm, 4 mm, 100% MeOH, 10 mL/min)를 통해 정제하여 화합물 6 (4.5 mg, t_R 12.6 min)을 얻었다.

[124]

[125] 실시예 3: 화합물 1의 *R* - 및 *S* -MTPA 에스테르 유도체의 제조

[126] 화합물 1 (2.0 mg)을 2 mL 무수 CH_2Cl_2 중에 용해시켰다. (*S*)-(+)- α -메톡시- α -(트리플루오로메틸)페닐아세틸 클로라이드(3 mL) 및 *N,N*-디메틸-4-아미노피리딘을 상기 용액에 첨가하였다. 상기 혼합물을 24 시간 동안 상온에서 교반하였다. 반응이 완결된 후, 상기 잔사물에 대해 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피[1 × 7 cm, *n*-헥산:EtOAc (15:1)]를 수행하여 *R*-MTPA 유도체를 얻었다.

[127] *S*-MTPA 유도체는 다른 입체이성질체로 대체한 것을 제외하고는 상기와 동일한 과정을 이용하여 제조하였다.

[128]

[129] 실시예 4: 화합물 동정

[130] 화합물 1은 무색의 검(colorless gum)으로서 얻어졌다. 이의 IR 스펙트럼은 히드록실 작용기(3446 cm^{-1}) 및 카보닐 작용기(1732 cm^{-1})의 존재로 인한 흡수 밴드를 나타내었다(도 1). 화합물 1의 고해상도 FABMS는 분자식 $\text{C}_{38}\text{H}_{60}\text{O}_7$ 에 해당하는, m/z 651.4271에서의 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 피크를 나타내었다(도 2). 또한, 화합물 1의 HRFABMS(포지티브)는 모분자로부터 각각 2,3-디메틸부타노에이트 및 도데카노에이트 단위의 손실을 나타내는, m/z 513 $[\text{M}+\text{H}-116]^+$ 및 429 $[\text{M}+\text{H}-200]^+$ 에서의 2개의 특징적인 이온 단편 피크를 나타내었다(도 3 및 도 4). 화합물 1의 ^1H -NMR 분광학적 데이터(도 5)는 δ_{H} 2.38 (1H, m), 2.0 (1H, m), 1.14 (3H, d, $J = 7.2\text{ Hz}$), 0.98 (3H, d, $J = 4.8\text{ Hz}$), 및 0.94 (3H, d, $J = 6.5\text{ Hz}$) ppm에서 2,3-디메틸부타노에이트기에 속하는 프로톤 시그널을 나타내었다. 도데카노에이트 스펙트럼은 δ_{H} 2.19 (2H, t, $J = 7.6\text{ Hz}$), 1.57 (2H, m), 1.25 [오버랩 시그널, 16H], 및 0.88 (3H, t, $J = 6.8\text{ Hz}$)에서 시그널을 나타내었다. δ_{H} 1.83, 1.64, 1.24, 1.07, 및 0.99에서의 5개의 메틸기, δ_{H} 2.76 및 2.15에서의 하나의 메틸렌기, δ_{H} 5.88, 5.85, 4.18, 2.52, 및 1.25에서의 7개의 메틴기(2개의 올레핀 포함), 및 δ_{H} 5.24 및 3.81에서의 2개의 산소화된 메틴기로 이루어지는 나머지 프로톤 시그널들은 인제놀-타입 구조 부분인 것으로 분석되었다. 이러한 분석은 ^{13}C -NMR(도 6) 및 HMQC(도 7) 분광학적 데이터의 해석을 통해 추가로 뒷받침되었다. 수집된 데이터에 기초하여, 화합물 1은 3-*O*-(2,3-디메틸부타노일)-13-*O*-도데카노일-20-*O*-데옥시인제놀(2)과 일부 유사성이 있음을 알 수 있었다. 상기 두 화합물의 주요 차이점은 2,3-디메틸부탄산 부분의 위치인 것으로 나타났다. 화합물 1의 2,3-디메틸부타노일기의 위치는 H-5 (δ_{H} 5.24) 및 C-1' (δ_{C} 176.1) 사이의 HMBC 상관관계에 의해 C-5에 존재하는 것으로 확인되었다(도 8).

[131]

[132] 또한, 화합물 1의 구조에서 C-3의 절대 배열을 결정하기 위하여 상기 실시예 3과 같이 모셔(Mosher) 유도체(1*R* 및 1*S*)를 제조하였다. 도 9에서 보여주듯이, 차이($\Delta\delta_{\text{S-R}}$)가 관찰되었으며, H-1 및 H-19의 포지티브 값과 H-5, H-7, 및 H-20의

네거티브 값이 C-3에서의 절대 배열이 *S*인 것으로 명백하게 입증하였다. 따라서, 화합물 **1**의 구조는 (3*S*)-5-*O*-(2,3-디메틸부타노일)-13-*O*-도데카노일-20-*O*-테옥시인제놀인 것으로 확인되었다.

- [133] 화합물 **1**의 절대 입체화학을 확인하기 위한 추가적인 실험을 NOESY를 이용하여 수행하였다. NOE 스펙트럼은 H-5, H-20, H-8, H-17, 및 H-11 사이의 상관관계를 보였으며, 이는 H-5가 β -배향인 것을 나타낸다. 따라서, 5-*O*-(2,3-디메틸부타노일)-13-*O*-도데카노일-20-*O*-테옥시인제놀(**1**)은 (3*S*, 5*R*, 16*R*, 17*S*, 18*R*, 19*S*, 20*R*)인 것으로 확인되었다(도 10).

[134]

- [135] 동일한 클로로포름 추출물로부터 분리된 8개의 추가 화합물들은 이들의 공개된 분광학적 데이터와의 비교에 근거하여, 각각 3-*O*-(2,3-디메틸부타노일)-13-*O*-도데카노일-20-*O*-테옥시인제놀(**2**), 20-*O*-도데카노일인제놀(**3**), 20-*O*-아세틸인제놀-3-*O*-(2'*E*,4'*Z*) 테카디에노에이트(**4**), 간수이포린 A (**5**), 3-*O*-(2,3-디메틸부타노일)-13-*O*-도데카노일인제놀(**6**), 간수이닌 F(**7**), (20*R*,23*E*)-이우파-8,23-디엔-3b,25-디올(**8**), 및 이우폴(**9**)인 것으로 확인되었다.

[136]

- [137] 화합물 **1**의 물리화학적 특징 및 분광학적 데이터를 하기에 나타내었다: 무색 검 (CHCl₃); [α]_D²⁶-30° (*c* 0.1, CHCl₃); UV (EtOH) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ) 210 (3.91), 282 (3.08); IR (박막) cm⁻¹: 3346, 1732. FABMS *m/z* 651 [M+Na]⁺, 629 [M+H]⁺, 513 [M+H-116]⁺, 429 [M+H-200]⁺, HRFABMS *m/z* 651.4271 [M+Na] (calcd for C₃₈H₆₀O₇ Na, 651.4237).

- [138] 아울러, ¹H-NMR (CDCl₃) 및 ¹³C-NMR (CDCl₃) 데이터를 하기 표 1에 나타내었다.

[139]

[140] [표 1]

[141]

Position	¹ H-NMR	¹³ C-NMR	Position	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
1	5.88 (1H, s)	128.7	13-R		
2		139.7	1''		174.2
3	3.81 (1H, d, J = 5.2)	80.0	2''	2.19 (2H, t, J = 7.6)	34.5
4		85.3	3''	1.57 (2H, m)	24.9
5	5.24 (1H, s)	77.4	4''	1.25 (2H, brs)	29.7
6		135.4	5''	1.25 (2H, brs)	29.7
7	5.85 (1H, d, J = 5.2)	125.9	6''	1.25 (2H, brs)	29.6
8	4.18 (1H, dd, J = 4.8, 11.6)	43.2	7''	1.25(2H, brs)	29.5
9		206.1	8''	1.25 (2H, brs)	29.4
10		73.6	9''	1.25 (2H, brs)	29.3
11	2.52 (1H, m)	38.4	10''	1.25 (2H, brs)	32.1
12a	2.76 (1H, dd, J = 3.2, 16.8)	35.9	11''	1.25 (2H, brs)	22.8
12b	(1H, m)		12''	0.88 (3H, t, J = 6.8)	14.3
13		69.1			
14	1.25 (1H, m)	28.7			
15		30.3			
16	1.07 (3H, s)	22.7			
17	1.24 (3H, brs)	16.9			
18	0.99 (3H, d, J = 5.2)	18.9			
19	1.83 (3H, s)	15.2			
20	1.64 (3H, s)	22.2			
3-OH	3.63, s				
4-OH	3.49, s				
5-R					
1'		176.1			
2'	2.38 (1H, m)	46.2			
3'	2.00 (1H, m)	30.8			
4'	0.94 (3H, d, J = 6.5)	19.0			
5'	0.98 (3H, d, J = 4.8)	21.1			
6'	1.14 (3H, d, J = 7.2)	13.7			

[142]

[143] 실시예 5: 본 발명 화합물들의 IFN- γ 생산 능력 및 세포 독성 조사

[144] IFN- γ 의 검출을 위하여, 2×10^5 NK92 세포/mL를 48-웰 배양 플레이트에 접종하고, 20% FBS 및 IL-2를 함유하는 α -MEM 배지 중에서 상기 각각의 분리된 화합물과 함께 12 시간 동안 배양시켰다. 배양 상등액 중에 분비된 IFN- γ 를 ELISA 방법으로 분석하였다. 흡광도를 마이크로플레이트 리더 상에서 측정하고 모든 화합물 처리 분석은 2회 반복으로 수행하였다. 화합물-처리된 NK92 세포의 세포 독성은 MTT 분석을 통해 평가하였다.

[145] 그 결과를 도 11에 나타내었다.

[146] 도 11에서 보여주듯이, 화합물 1-6 및 8만이 NK92 세포에서 IFN- γ 생산을 유도하는 것으로 나타났다. 또한, IFN- γ 생산에 대한 각 화합물의 유효 투여량은 매우 다양하였다. 10 nM의 화합물 4 및 6이 동일한 투여량의 포볼 12-미리스테이트 13-아세테이트(PMA)와 유사하게 IFN- γ 생산에 대한 유의적인 효과를 가지는 것으로 나타났다. 화합물 3 (100 nM), 1 (1.25 μ M), 5 및 8 (각각 5 μ M) 역시 NK92 세포 상에 처리되었을 때 IFN- γ 생산활성을 나타내었다. 이러한 결과를 통해 본 발명에서 감수(*Euphorbia kansui*)의 뿌리로부터 분리한 인제난

타입의 디테르펜 화합물들이 IFN- γ 유도제로써 유용하게 사용될 수 있음을 확인할 수 있었다.

[147]

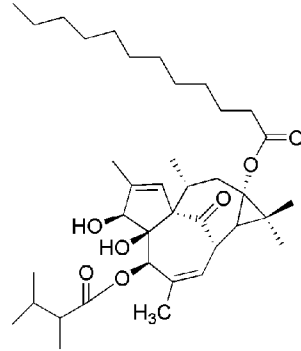
[148]

청구범위

[청구항 1]

하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

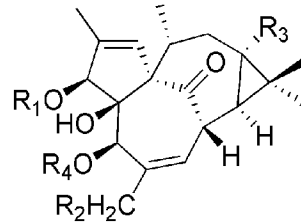
[화학식 1]



[청구항 2]

하기 화학식 2로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 바이러스 감염 질환의 치료 또는 예방용 약학적 조성물:

[화학식 2]



상기 식에서,

R_1 은 H이고, R_2 는 H이며, R_3 는 $\text{OCO}-(\text{CH}_2)_{10}-\text{CH}_3$ 이고, R_4 는 $\text{CO}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 이거나,

R_1 은 $\text{CO}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 이고, R_2 는 H이며, R_3 는 $\text{OCO}-(\text{CH}_2)_{10}-\text{CH}_3$ 이고, R_4 는 H이거나,

R_1 은 H이고, R_2 는 $\text{OCO}-(\text{CH}_2)_8-\text{CH}_3$ 이며, R_3 는 H이고, R_4 는 H이거나, R_1 은 $\text{CO}(\text{CH}=\text{CH})-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}_3$ 이고, R_2 는 OAc이며, R_3 는 H이고, R_4 는 H이거나,

R_1 은 $\text{CO}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 이고, R_2 는 $\text{OCO}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_3$ 이며, R_3 는 $\text{OCO}-(\text{CH}_2)_{10}-\text{CH}_3$ 이고, R_4 는 H이거나, 또는

R_1 은 $\text{CO}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 이고, R_2 는 OH이며, R_3 는 $\text{OCO}-(\text{CH}_2)_{10}-\text{CH}_3$ 이고, R_4 는 H이다.

[청구항 3]

제2항에 있어서, 상기 화학식 2로 표시되는 화합물은 세포의 인터페론 감마 생산 증강활성을 갖는 것인 조성물.

[청구항 4]

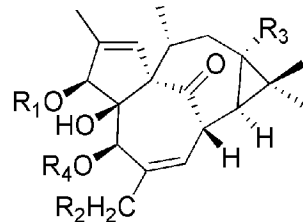
제2항에 있어서, 상기 바이러스 감염 질환은 인플루엔자바이러스(influenza virus), 신종 인플루엔자A

바이러스(Influenza A virus subtype H1N1),
조류인플루엔자바이러스(avian influenza virus),
리노바이러스(rhinovirus), 아데노바이러스(adenovirus),
코로나바이러스(coronavirus),
파라인플루엔자바이러스(parainfluenza virus), 호흡기 합포체
바이러스(respiratory syncytial virus), 포진 바이러스(Herpessvirus,
HSV), 후천성 면역결핍 증후군 바이러스(human immunodeficiency
virus, HIV), 로타바이러스(rotavirus) 및 간염바이러스로 이루어진
군으로부터 선택된 하나 이상의 바이러스에 의해 감염되는 질환인
것인 조성물.

[청구항 5]

하기 화학식 2로 표시되는 화합물 또는 이의 식품학적으로
허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 바이러스 감염 질환의
예방 또는 개선용 건강기능식품:

[화학식 2]



상기 식에서,

R_1 은 H이고, R_2 는 H이며, R_3 는 $\text{OCO}-(\text{CH}_2)_{10}-\text{CH}_3$ 이고, R_4 는
 $\text{CO}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 이거나,

R_1 은 $\text{CO}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 이고, R_2 는 H이며, R_3 는 $\text{OCO}-(\text{CH}_2)_{10}-\text{CH}_3$ 이고, R_4 는 H이거나,

R_1 은 H이고, R_2 는 $\text{OCO}-(\text{CH}_2)_8-\text{CH}_3$ 이며, R_3 는 H이고, R_4 는 H이거나,
 R_1 은 $\text{CO}(\text{CH}=\text{CH})-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}_3$ 이고, R_2 는 OAc이며, R_3 는 H이고, R_4
는 H이거나,

R_1 은 $\text{CO}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 이고, R_2 는 $\text{OCO}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_3$ 이며, R_3 는
 $\text{OCO}-(\text{CH}_2)_{10}-\text{CH}_3$ 이고, R_4 는 H이거나, 또는

R_1 은 $\text{CO}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 이고, R_2 는 OH이며, R_3 는 $\text{OCO}-(\text{CH}_2)_{10}-\text{CH}_3$ 이고, R_4 는 H이다.

[청구항 6]

제5항에 있어서, 상기 화학식 2로 표시되는 화합물은 인터페론
감마 생산 증강활성을 갖는 것인 건강기능식품.

[청구항 7]

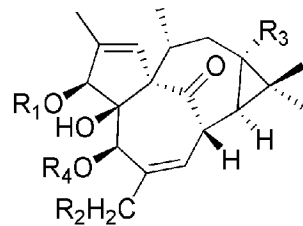
제5항에 있어서, 상기 바이러스 감염 질환은
인플루엔자바이러스(influenza virus), 신종 인플루엔자A
바이러스(Influenza A virus subtype H1N1),
조류인플루엔자바이러스(avian influenza virus),
리노바이러스(rhinovirus), 아데노바이러스(adenovirus),

코로나바이러스(coronavirus),
파라인플루엔자바이러스(parainfluenza virus), 호흡기 합포체
바이러스(respiratory syncytial virus), 포진 바이러스(Herpessvirus,
HSV), 후천성 면역결핍 증후군 바이러스(human immunodeficiency
virus, HIV), 로타바이러스(rotavirus) 및 간염바이러스로 이루어진
군으로부터 선택된 하나 이상의 바이러스에 의해 감염되는 질환인
것인 건강기능식품.

[청구항 8]

하기 화학식 2로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로
허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 인터페론 감마 생산
증강용 조성물:

[화학식 2]



상기 식에서,

R_1 은 H이고, R_2 는 H이며, R_3 는 $\text{OCO}-(\text{CH}_2)_{10}-\text{CH}_3$ 이고, R_4 는
 $\text{CO}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 이거나,

R_1 은 $\text{CO}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 이고, R_2 는 H이며, R_3 는 $\text{OCO}-(\text{CH}_2)_{10}-\text{CH}_3$ 이고, R_4 는 H이거나,

R_1 은 H이고, R_2 는 $\text{OCO}-(\text{CH}_2)_8-\text{CH}_3$ 이며, R_3 는 H이고, R_4 는 H이거나,

R_1 은 $\text{CO}(\text{CH}=\text{CH})-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}_3$ 이고, R_2 는 OAc이며, R_3 는 H이고, R_4
는 H이거나,

R_1 은 $\text{CO}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 이고, R_2 는 $\text{OCO}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_3$ 이며, R_3 는
 $\text{OCO}-(\text{CH}_2)_{10}-\text{CH}_3$ 이고, R_4 는 H이거나, 또는

R_1 은 $\text{CO}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 이고, R_2 는 OH이며, R_3 는 $\text{OCO}-(\text{CH}_2)_{10}-\text{CH}_3$ 이고, R_4 는 H이다.

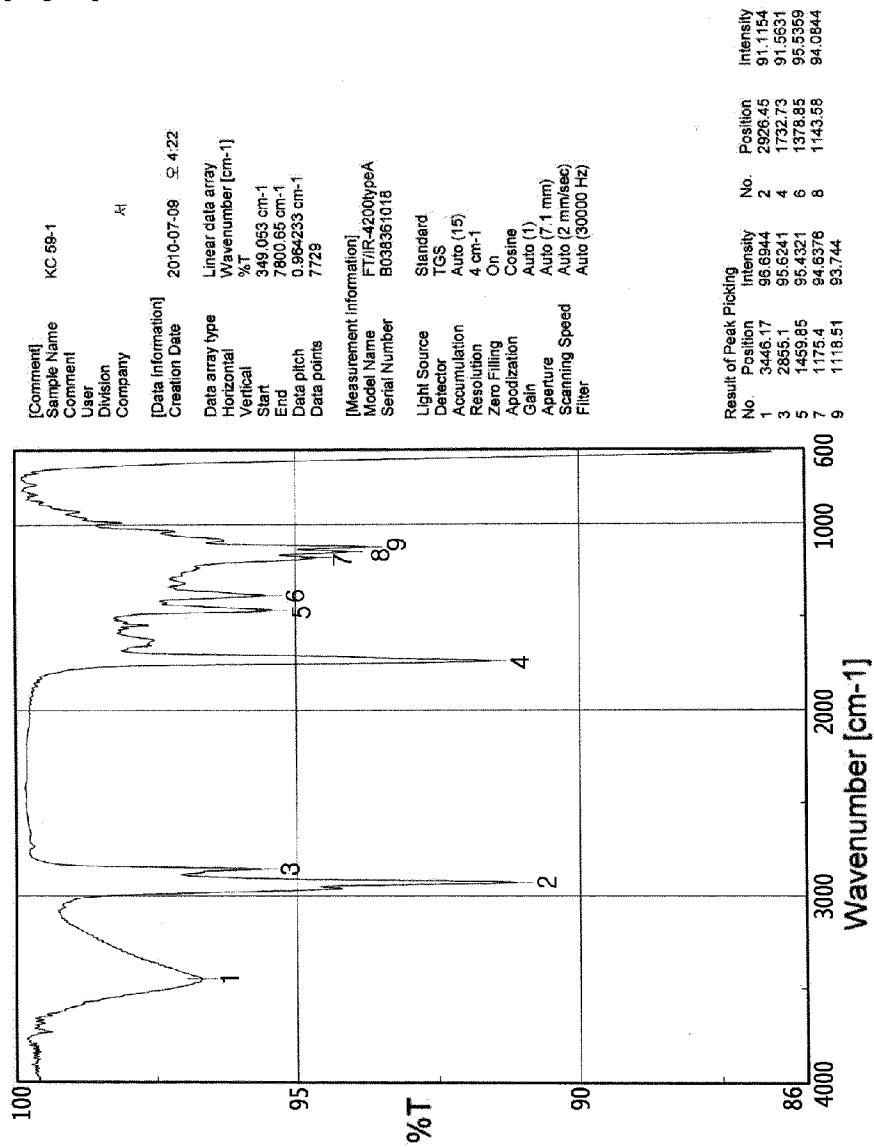
[청구항 9]

제8항에 있어서, 상기 조성물은 자연살해세포(Natural killer cell)의
인터페론 감마 생산을 증가시키는 것인 조성물.

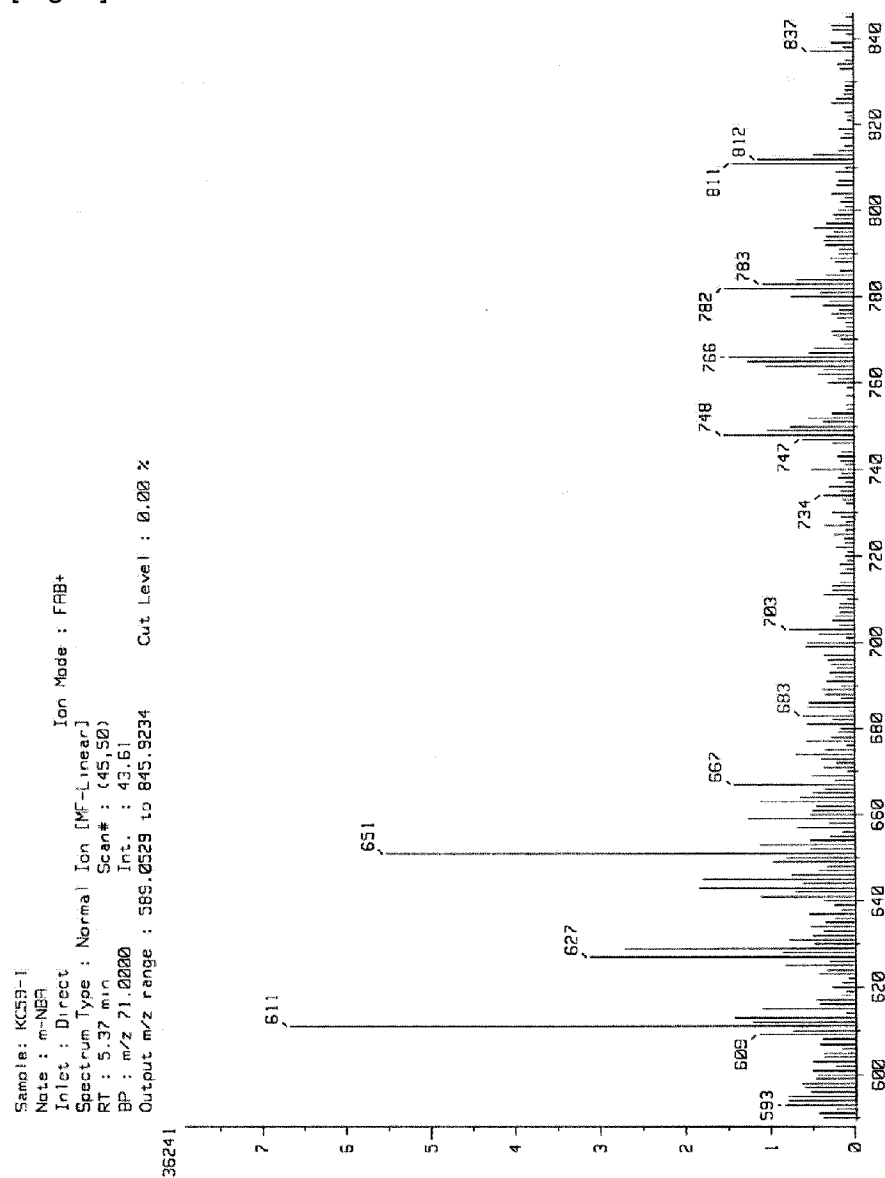
[청구항 10]

제2항 내지 제4항 중 어느 한 항에 기재된 조성물을 치료
유효량으로 바이러스 감염질환의 발병 또는 발병가능성이 있는
개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 바이러스 감염 질환의 예방
또는 치료방법.

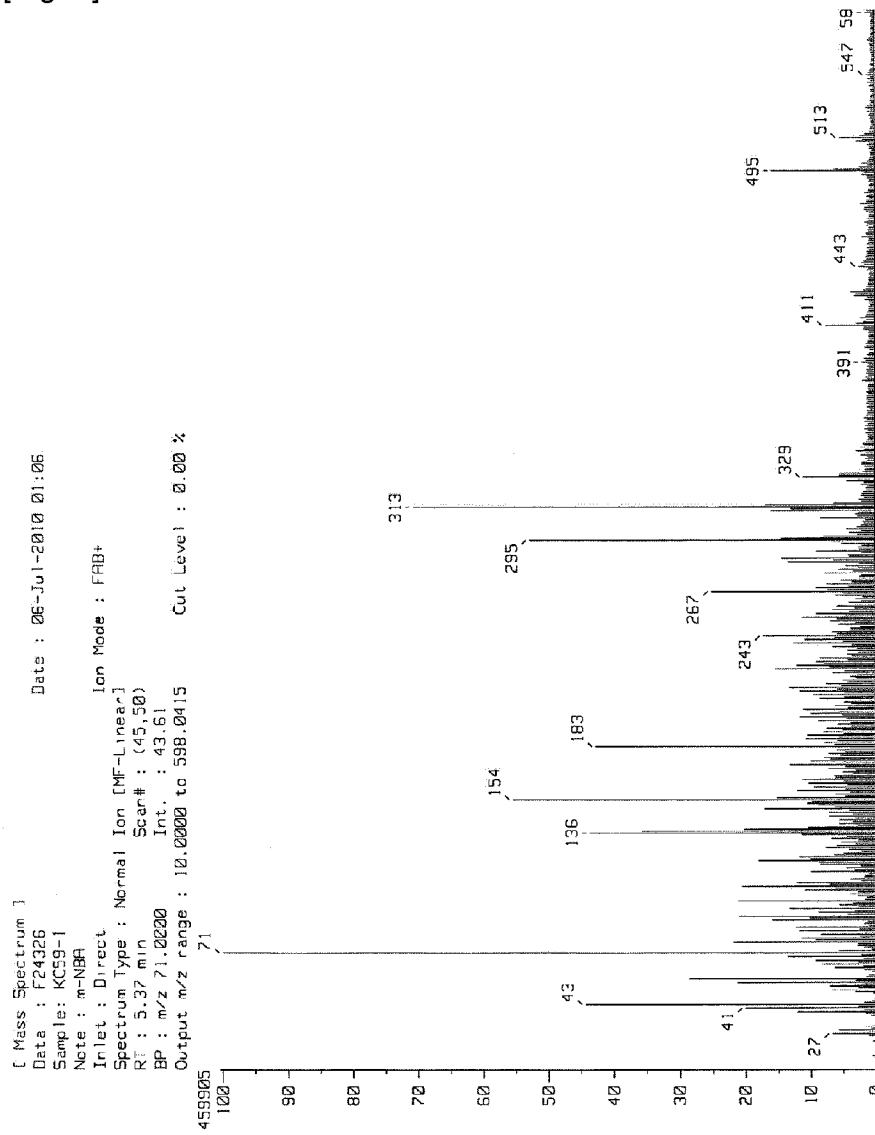
[Fig. 1]



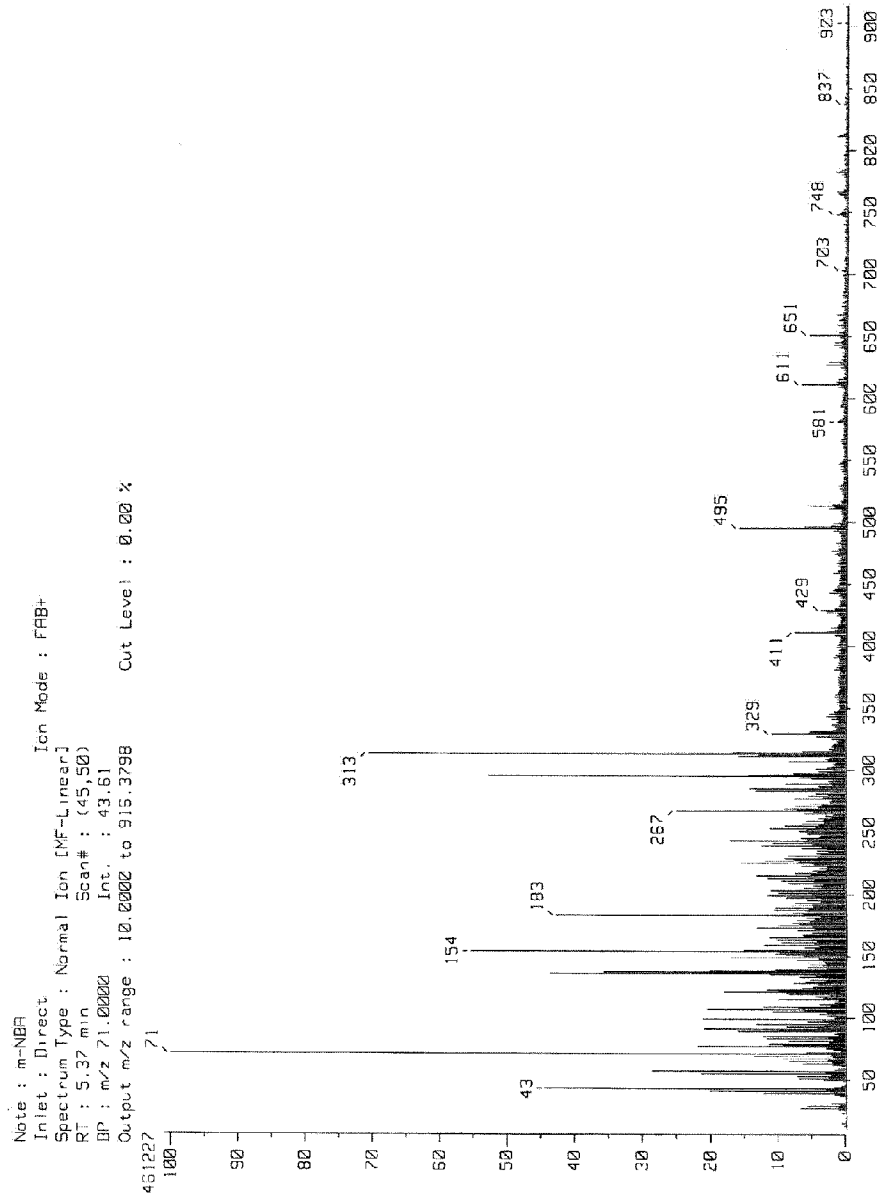
[Fig. 2]



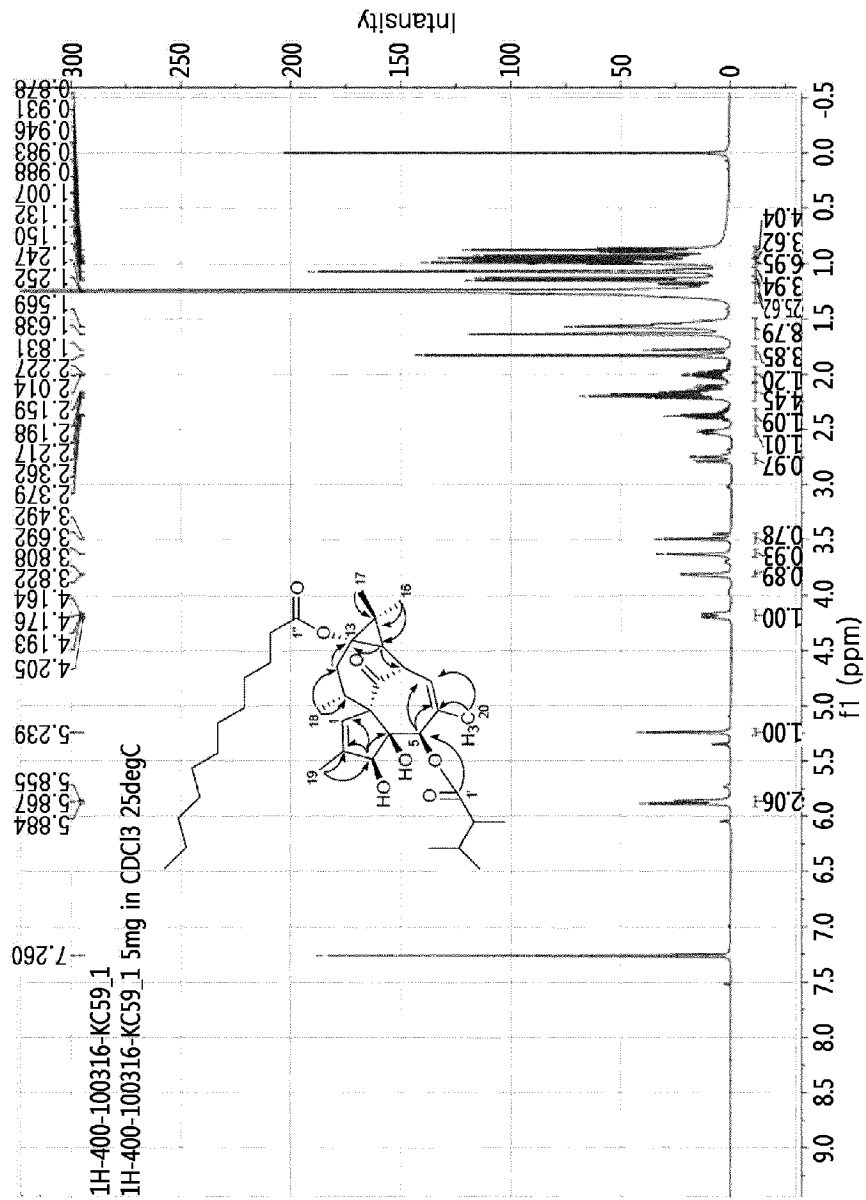
[Fig. 3]



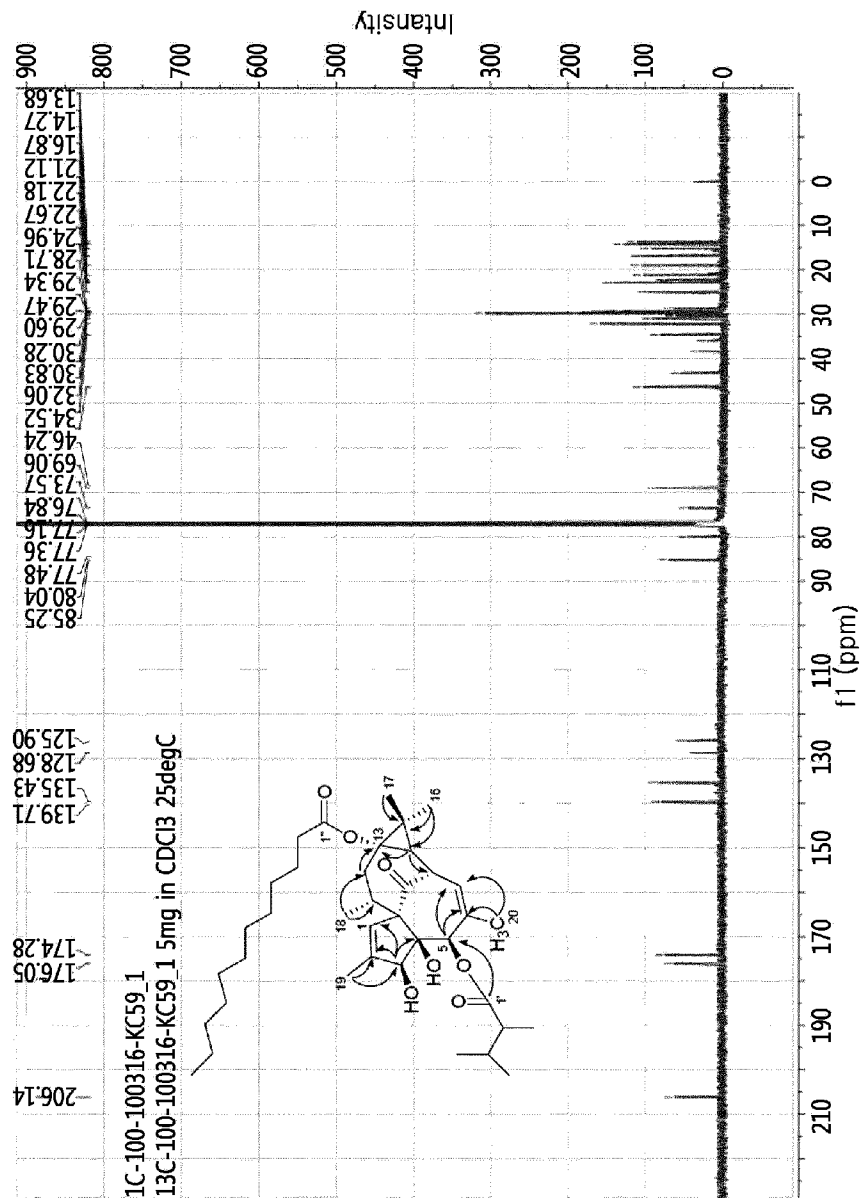
[Fig. 4]



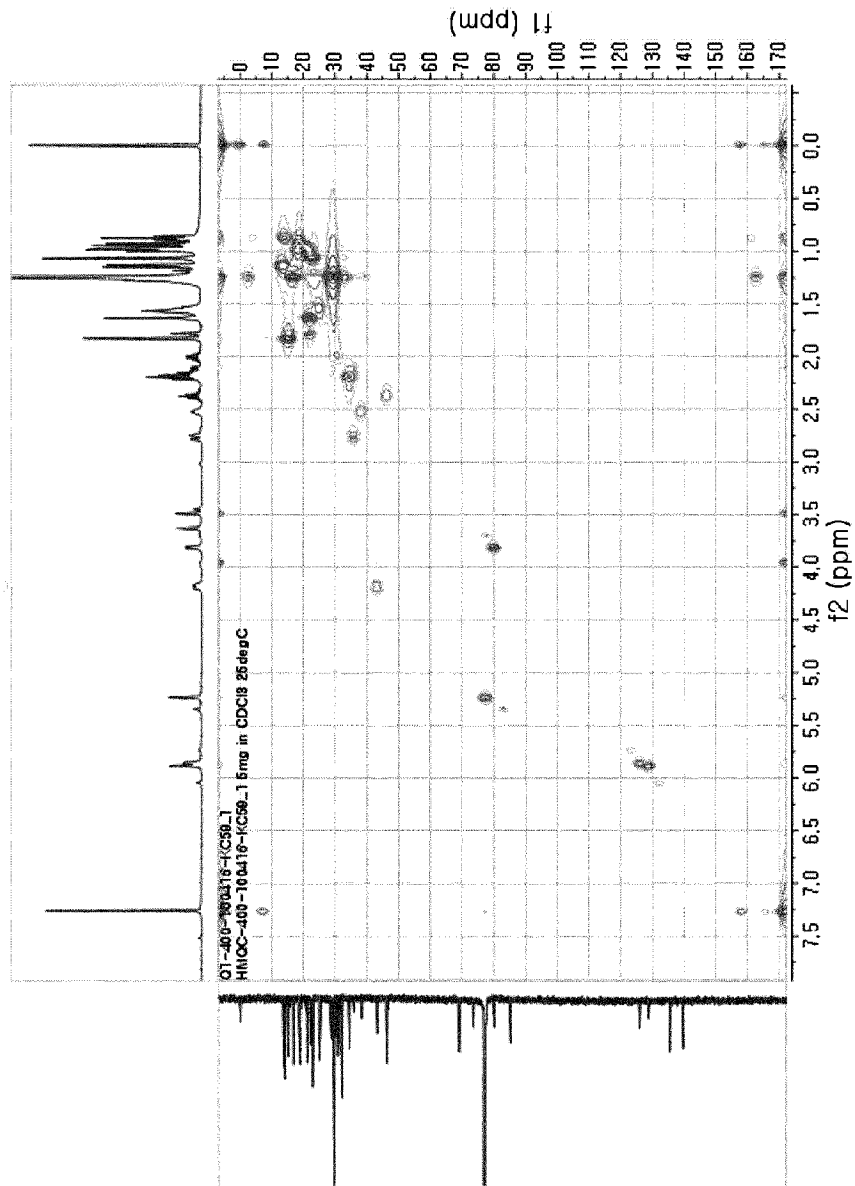
[Fig. 5]



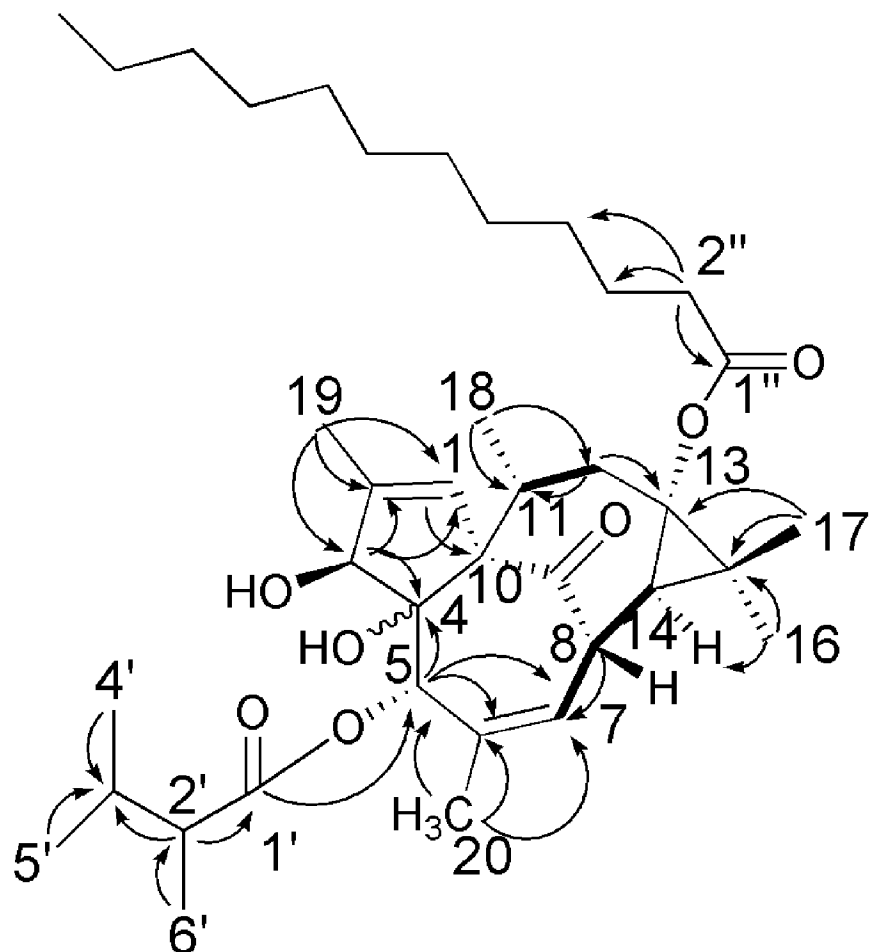
[Fig. 6]



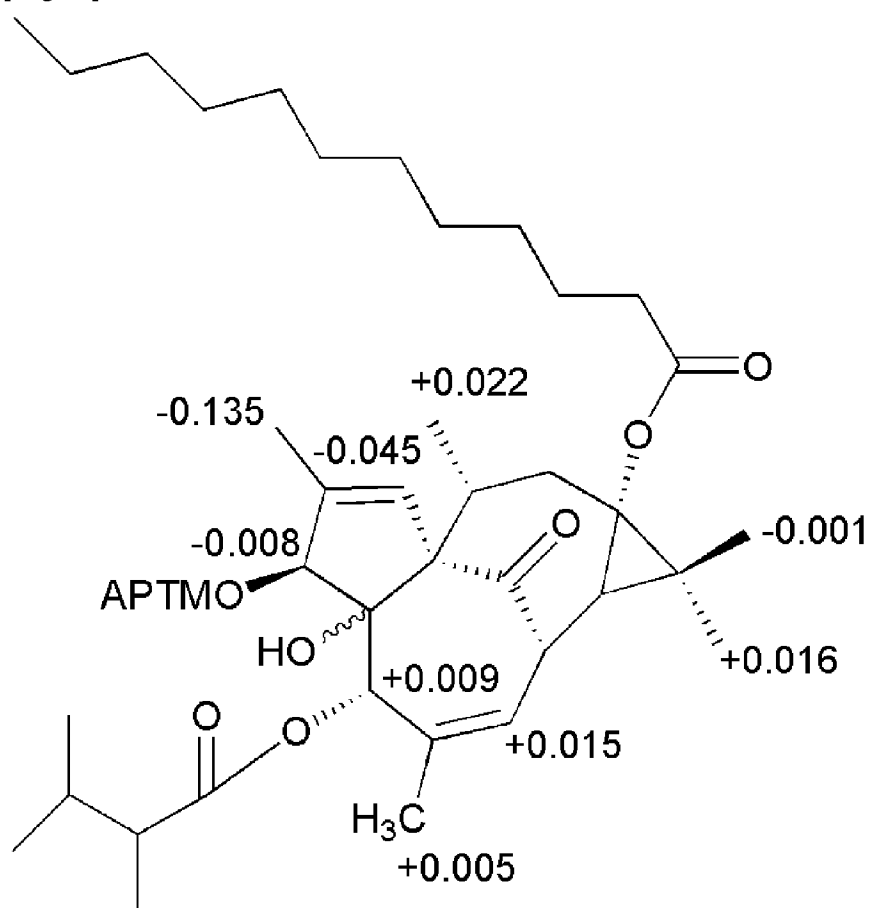
[Fig. 7]



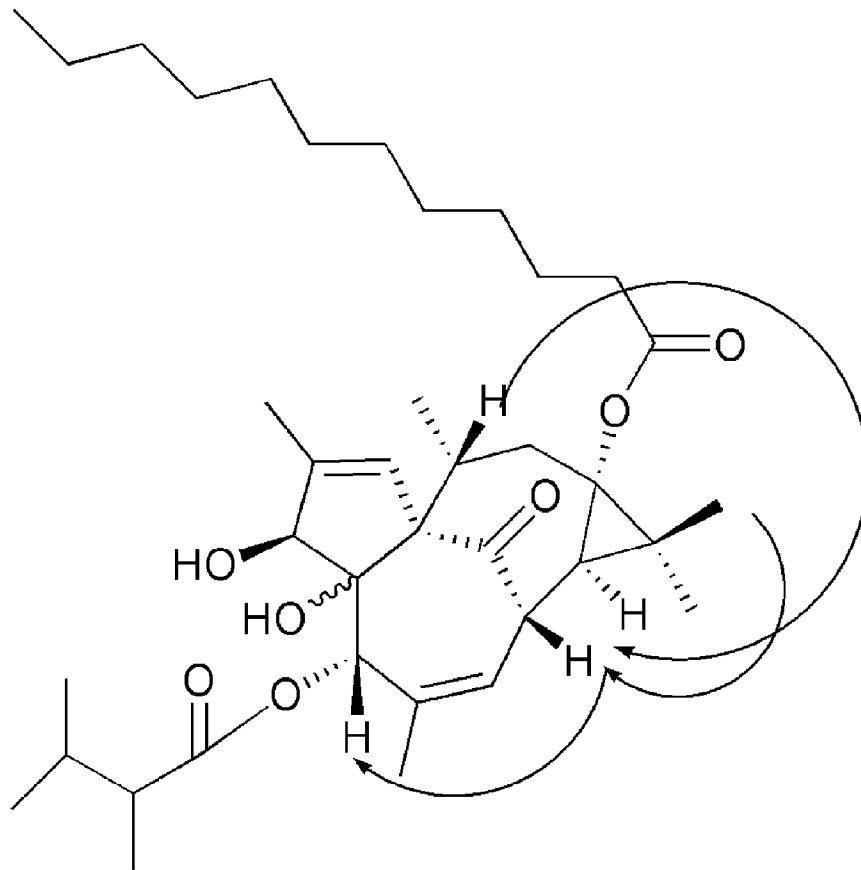
[Fig. 8]



[Fig. 9]



[Fig. 10]



[Fig. 11]

