



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0085443
(43) 공개일자 2019년07월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07D 263/46 (2006.01) A23L 33/10 (2016.01)
A61K 31/421 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)
A61P 25/16 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)
C07D 263/42 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07D 263/46 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2018-0003586

(22) 출원일자 2018년01월10일

심사청구일자 없음

기술이전 희망 : 기술양도

(71) 출원인

경북대학교 산학협력단

대구광역시 북구 대학로 80 (산격동, 경북대학교)

광주과학기술원

광주광역시 북구 첨단과기로 123 (오룡동)

(뒷면에 계속)

(72) 발명자

배재성

대구광역시 수성구 들안로 325, 101동 1702호 (수성동2가, 롬바드아파트)

진희경

대구광역시 남구 효성중앙길 82, 105동 1703호 (봉덕동, 래미안웰리스트 1단지아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이희숙, 김석만

전체 청구항 수 : 총 12 항

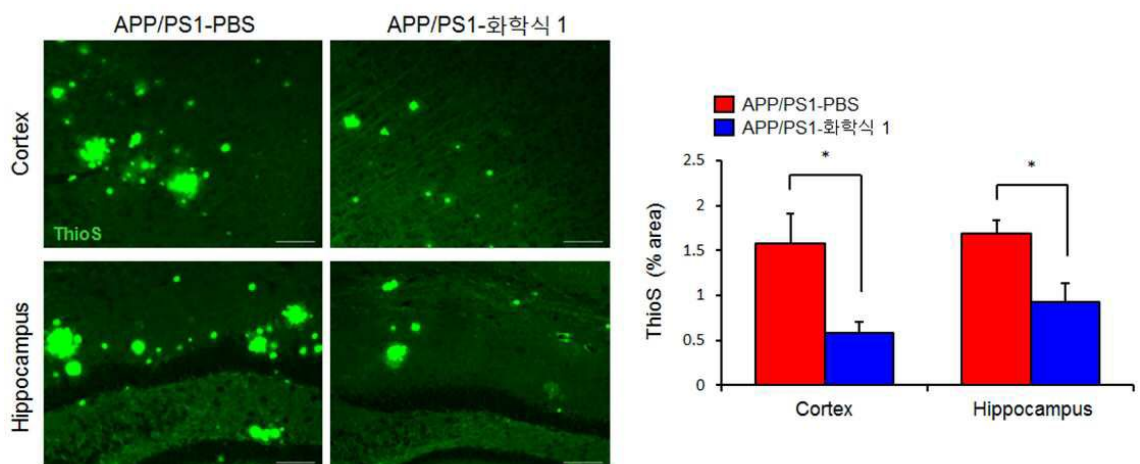
(54) 발명의 명칭 신규한 페닐설폰일 옥사졸 유도체 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 신규한 페닐설폰일 옥사졸 유도체 및 이의 용도에 관한 것으로, 구체적으로 본 명세서에서 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염과, 이의 퇴행성 신경질환에 대한 예방, 치료 또는 개선 용도에 관한 것이다.

본 발명의 화합물은 실제 알츠하이머와 같은 퇴행성 신경질환에 적용하였을 때 비정상적인 자기포식 작용 조절을 통하여 Aβ 플라크 감소, 신경염증 완화, 기억력 및 불안증 개선 등의 치료효과가 현저하다. 이로서 본원의 화합물들은 자가포식 작용 조절을 통해 퇴행성 신경질환 예방 또는 치료제 개발에 매우 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도2



*p<0.05, n=4

(52) CPC특허분류

A61K 31/421 (2013.01)
A61P 25/00 (2018.01)
A61P 25/16 (2018.01)
A61P 25/28 (2018.01)
C07D 263/42 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/322 (2013.01)

(71) 출원인

서울대학교산학협력단

서울특별시 관악구 관악로 1 (신림동)

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

이명식

서울특별시 서대문구 연세로 50-1(신촌동) 연세의대 의생명과학부

임혜진

서울특별시 서대문구 연세로 50-1(신촌동) 연세의대 의생명과학부

안진희

광주광역시 북구 첨단과기로 123(오룡동)

파기례

광주광역시 북구 첨단과기로 123(오룡동)

이민재

서울특별시 종로구 사직로 8길 4, 105동 306호 (사직동, 광화문풍림스페이스본)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 HI16C2131

부처명 보건복지부

연구관리전문기관 한국보건산업진흥원

연구사업명 질환극복기술개발사업/치매극복기술개발사업

연구과제명 한국인 치매환자 맞춤형 스펙고지질 조절 치료제 개발

기 여 율 1/1

주관기관 경북대학교

연구기간 2016.09.07 ~ 2021.03.31

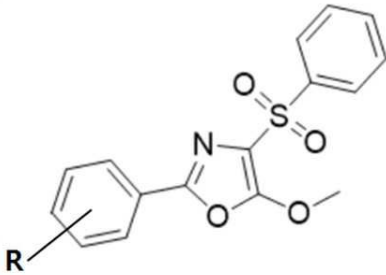
명세서

청구범위

청구항 1

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

<화학식 1>



식 중,

R은 수소, 히드록시, 시아노(CN), 아미노, 니트로, 치환된 또는 비치환된 알킬, 치환된 또는 비치환된 알케닐, 치환된 또는 비치환된 알키닐, 치환된 또는 비치환된 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 하나이다.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 R은

수소, 히드록시, 시아노(CN), 아미노, 니트로, 할로젠으로 치환된 또는 비치환된 C₁-C₄의 알킬, 할로젠으로 치환된 또는 비치환된 C₂-C₄의 알케닐, 할로젠으로 치환된 또는 비치환된 C₂-C₄의 알키닐, 할로젠으로 치환된 또는 비치환된 C₁-C₄의 알콕시로 이루어진 군에서 선택되는 하나인 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 R은

트리플루오로메틸(-CF₃)인 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 화합물은

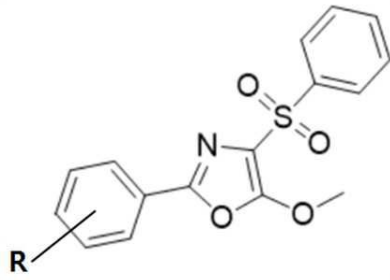
5-메톡시-4-(페닐설폰)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)옥사졸

인 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 5

하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물:

<화학식 1>



식 중,

R은 수소, 히드록시, 시아노(CN), 아미노, 니트로, 치환된 또는 비치환된 알킬, 치환된 또는 비치환된 알케닐, 치환된 또는 비치환된 알키닐, 치환된 또는 비치환된 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 하나이다.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 R은

수소, 히드록시, 시아노(CN), 아미노, 니트로, 할로젠으로 치환된 또는 비치환된 C₁-C₄의 알킬, 할로젠으로 치환된 또는 비치환된 C₂-C₄의 알케닐, 할로젠으로 치환된 또는 비치환된 C₂-C₄의 알키닐, 할로젠으로 치환된 또는 비치환된 C₁-C₄의 알콕시로 이루어진 군에서 선택되는 하나인 것을 특징으로 하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 R은

트리플루오로메틸(-CF₃)인 것을 특징으로 하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

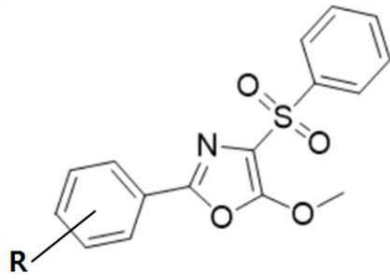
청구항 8

제5항에 있어서, 상기 퇴행성 신경질환은 알츠하이머병, 파킨슨병, 치매, 진행성 핵상마비, 다계통 위축증, 감람핵-뇌교-소뇌 위축증(OPCA), 샤이-드래거 증후군, 선조체-흑질 퇴행증, 헌팅톤병, 근위축성 측색 경화증(ALS), 본태성 진전증, 피질-기저핵 퇴행증, 미만성 루이 소체 질환, 파킨스-ALS-치매 복합증, 픽병, 뇌허혈 및 뇌경색으로 구성된 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 9

하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물:

<화학식 1>



식 중,

R은 수소, 히드록시, 시아노(CN), 아미노, 니트로, 치환된 또는 비치환된 알킬, 치환된 또는 비치환된 알케닐, 치환된 또는 비치환된 알키닐, 치환된 또는 비치환된 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 하나이다.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 R은

수소, 히드록시, 시아노(CN), 아미노, 니트로, 할로젠으로 치환된 또는 비치환된 C₁-C₄의 알킬, 할로젠으로 치환된 또는 비치환된 C₂-C₄의 알케닐, 할로젠으로 치환된 또는 비치환된 C₂-C₄의 알키닐, 할로젠으로 치환된 또는 비치환된 C₁-C₄의 알콕시로 이루어진 군에서 선택되는 하나인 것을 특징으로 하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 11

제9항에 있어서, 상기 R은

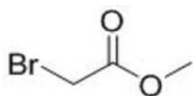
트리플루오로메틸(-CF₃)인 것을 특징으로 하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 12

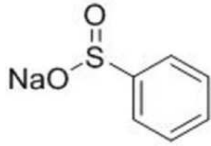
하기 단계들을 포함하는, 제1항의 화합물 제조방법:

- (a) 하기 화학식 2로 표시되는 화합물과 하기 화학식 3으로 표시되는 화합물을 반응시켜 하기 화학식 4로 표시되는 화합물을 제조하는 단계;
- (b) 상기 (a) 단계에서 제조한 하기 화학식 4의 화합물과 하기 화학식 5로 표시되는 화합물을 반응시켜 하기 화학식 6으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계; 및
- (c) 상기 (b) 단계에서 제조한 하기 화학식 6의 화합물과 하기 화학식 7로 표시되는 화합물을 반응시켜 상기 화학식 1로 표시되는 제1항의 화합물을 제조 및 수득하는 단계.

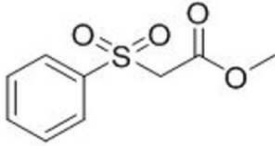
<화학식 2>



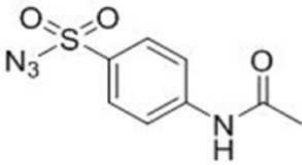
<화학식 3>



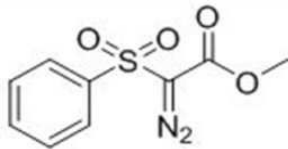
<화학식 4>



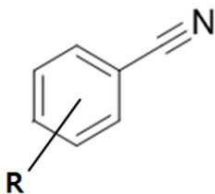
<화학식 5>



<화학식 6>



<화학식 7>



상기 식에서 R은 수소, 히드록시, 시아노(CN), 아미노, 니트로, 치환된 또는 비치환된 알킬, 치환된 또는 비치환된 알케닐, 치환된 또는 비치환된 알킬닐, 치환된 또는 비치환된 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 하나이다.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신규한 페닐설폰닐 옥사졸 유도체 및 이의 용도에 관한 것으로, 구체적으로 본 명세서에서 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염과, 이의 퇴행성 신경질환에 대한 예방, 치료 또는 개선 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 퇴행성 신경질환(Neurodegenerative Disease)의 환자는 신경세포의 기능 감소 또는 소실에 의해 운동조절능력, 인지기능, 지각기능, 감각기능 및 자율신경의 기능에 이상이 생긴다. 이러한 퇴행성 신경질환의 발병 과정 중, 신경세포 내에 비정상 물질이 침착되어 이것이 신경독성을 유발하는 경우가 많다. 따라서 이러한 신경독성 원인 물질을 제거하는 것이 퇴행 신경질환 예방 및 치료에 대한 한가지 접근 방식으로 여겨지고 있다.

[0005] 한편, 세포 내에는 세포내 대사산물과 단백질을 분해하여 제거하는 시스템이 존재하는데, 그 중 하나는 ubiquitin-proteasome경로이다. Ubiquitin은 우리 몸 거의 모든 조직에 존재하며 수명이 다한 단백질에 꼬리표처럼 달라붙어 단백질분해효소인 proteasome으로 이동한 뒤, ubiquitin이 붙은 단백질을 조각조각 파괴해 제거한다. 단백질이 분해되는 것과 동시에 단백질에 붙어 있던 ubiquitin은 떨어져 나와 다시 활동한다. 다른 경로는 자가포식현상(autophagy)이다. 자가포식소체는 라이소좀과 융합하여 자가포식라이소좀을 형성하고 여기에 격리된 물질은 라이소좀의 효소에 의해 분해된다(Klionsky, DJ, and Emr, SD (2000) Autophagy as a regulated pathway of cellular degradation. Science 290, 1717-1721). 최근 파킨슨병 환자 뇌의 부검 연구결과, 흑질에서 자가포식현상의 액포(vacuole)가 증가한다는 것이 알려졌다(Anglade P, Vyas S, Javoy-Agid F, Herrero MT, Michel PP, Marquez J, et al. Apoptosis and autophagy in nigral neurons of patients with Parkinson's disease. Histol Histopathol 1997;12:25-31.). 뿐만아니라 대한민국 등록특허 10-1521117에서도 알츠하이머와 같은 퇴행성 신경질환 상태에서는 자가포식액포(autophagic vacuole; AV)의 턴오버에서 이상적인 변화를 나타내며, 자가포식소체(autophagosome)가 분해되지 못하고 계속 축적되는 이상변화가 일어남이 규명된 바 있다.

[0007] 자가포식은 넓은 스펙트럼의 생물학적 과정과 다양한 질환과 관련성이 있기 때문에 관련된 질환에서 치료효과를 갖는 신규한 화합물을 개발하기 위해 자가포식 조절자를 찾고자 하는 노력이 이어지고 있다. 예를 들면 천연 화합물, 다른 용도로 알려진 화합물, 또는 신규한 화합물 또는 펩타이드를 포함하는 자가포식 조절제가 개발되었다 (Eisenberg, T et al. (2009) Induction of autophagy by spermidine promotes longevity. Nature Cell Biol 11, 1305-1314; Shoji-Kawata, S et al. (2013) Identification of a candidate therapeutic autophagy-inducing peptide. Nature 494, 201-206).

[0008] 현재까지 알츠하이머병과 같은 퇴행성 신경질환에서 비정상적이고 감소된 자가포식 작용 현상에 대해 많은 연구가 되어 왔으며 자가포식 작용 조절제가 알츠하이머 질환의 치료 타겟이 될 수 있다고 보고되어 왔으나, 실제 퇴행성 신경질환을 타겟으로 하는 좀 더 유의하고 안전하게 치료효과를 나타낼 수 있는 자가포식 작용 조절제 개발이 필요하다.

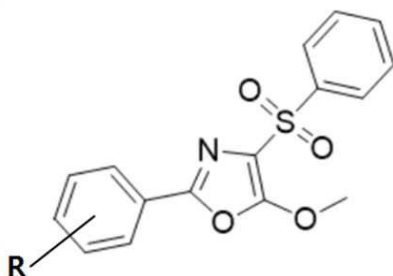
발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 이에 본 발명자들은 화학식 1로 표시되는 화합물을 제작하고 이들 화합물이 실제로 *in vivo* 상에서 퇴행성신경 질환에서 나타나는 비정상적인 자가포식 작용을 조절하여 유의한 치료 효과를 나타냄을 확인하여 본원 발명을 완성하였다.

[0012] 따라서 본 발명의 목적은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공하는 것이다:

[0013] <화학식 1>



[0014]

[0015] 식 중,

[0016] R은 수소, 히드록시, 시아노(CN), 아미노, 니트로, 치환된 또는 비치환된 알킬, 치환된 또는 비치환된 알케닐, 치환된 또는 비치환된 알키닐, 치환된 또는 비치환된 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 하나이다.

[0018] 본 발명의 다른 목적은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0020] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로

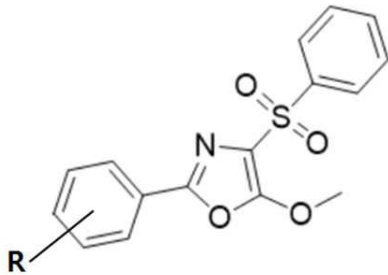
로 포함하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0022] 본 발명의 또 다른 목적은, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0024] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 제공한다:

[0025] <화학식 1>



[0026] 식 중,

[0028] R은 수소, 히드록시, 시아노(CN), 아미노, 니트로, 치환된 또는 비치환된 알킬, 치환된 또는 비치환된 알케닐, 치환된 또는 비치환된 알키닐, 치환된 또는 비치환된 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 하나이다.

[0030] 본 발명의 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0032] 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

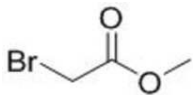
[0034] 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 단계들을 포함하는, 상기 화학식 1의 화합물 제조 방법을 제공한다:

[0035] (a) 하기 화학식 2로 표시되는 화합물과 하기 화학식 3으로 표시되는 화합물을 반응시켜 하기 화학식 4로 표시되는 화합물을 제조하는 단계;

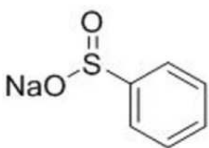
[0036] (b) 상기 (a) 단계에서 제조한 하기 화학식 4의 화합물과 하기 화학식 5로 표시되는 화합물을 반응시켜 하기 화학식 6으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계; 및

[0037] (c) 상기 (b) 단계에서 제조한 하기 화학식 6의 화합물과 하기 화학식 7로 표시되는 화합물을 반응시켜 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조 및 수득하는 단계.

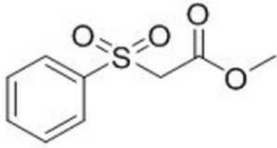
[0038] <화학식 2>



[0040] <화학식 3>

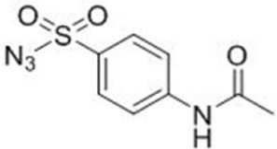


[0042] <화학식 4>



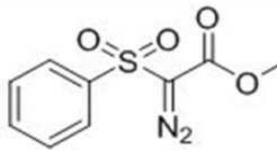
[0043]

[0044] <화학식 5>



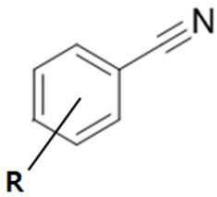
[0045]

[0046] <화학식 6>



[0047]

[0048] <화학식 7>



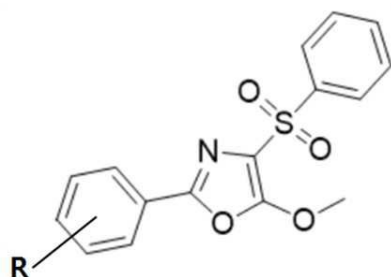
[0049]

[0050] 상기 식에서 R은 수소, 히드록시, 시아노(CN), 아미노, 니트로, 치환된 또는 비치환된 알킬, 치환된 또는 비치환된 알케닐, 치환된 또는 비치환된 알키닐, 치환된 또는 비치환된 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 하나이다.

[0051] 이하 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

[0053] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다:

[0054] <화학식 1>



[0055]

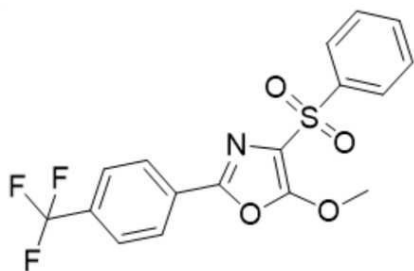
[0056] 식 중,

[0057] R은 수소, 히드록시, 시아노(CN), 아미노, 니트로, 치환된 또는 비치환된 알킬, 치환된 또는 비치환된 알케닐, 치환된 또는 비치환된 알키닐, 치환된 또는 비치환된 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 하나이다.

[0059] 본 발명에서의 하기 용어는, 달리 지시되지 않으면 하기에 정의된 의미를 가진다. 정의되지 않은 임의의 용어는 당해 분야에서 이해되는 의미를 가진다.

[0061] 본 발명에서 "할로젠"은 플루오르(F), 염소(Cl), 브롬(Br), 요오드(I)를 의미한다.

- [0063] 본 발명에서 사용된 용어 시아노는 기 -CN을 의미한다.
- [0065] 본 발명에서 사용한 용어 "아미노"는, 단독으로 또는 조합되어, 질소 원자를 통하여 결합된 일차, 이차 또는 삼차 아미노기를 의미하며(여기서, 이차 아미노기는 알킬 치환기를 가지며, 삼차 아미노기는 두개의 유사하거나 상이한 알킬 치환기를 가지는 것으로 정의함), 예컨대 -NH₂, 메틸아미노, 에틸아미노, 다이메틸아미노, 다이에틸아미노, 메틸-에틸아미노, 피롤리딘-1-일 또는 피페리디노 등이고, 바람직하게는 일차 아미노, C₁-C₁₀의 알킬아미노이다.
- [0067] 본 발명에서 사용된 용어 니트로는 기-NO₂를 의미한다.
- [0069] 본 발명에서 사용한 용어 "치환된"은 다르게 명시되지 않으면, 적어도 하나의 치환체, 예를 들어, 할로젠 원자, 니트로, 히드록시, 시아노, 아미노, 티올, 카복실, 아마이드, 니트릴, 설파이드, 디설파이드, 술폰일, 포르밀, 포르밀옥시, 또는 포르밀아미노를 하나 또는 둘 이상 포함하는 것을 의미한다. 달리 명시하지 않는 한, 또는 이러한 치환에 의해 얻어진 구조가 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물의 성질에 현저하게 악영향을 미치지 않는 경우에, 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물에 대해 기술된 임의의 기(group) 또는 구조가 치환될 수 있다.
- [0071] 본 발명에서 사용한 용어 "알킬"은 달리 나타내지 않는 한, 직쇄 또는 측쇄가 포함된 탄소수 1~10 (C₁-C₁₀), 더 바람직하게는 탄소수 1~6 (C₁-C₆), 한층 더 바람직하게는 탄소수 1~4 (C₁-C₄)의 탄화수소 라디칼을 의미한다. 예를 들어 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, 사이클로프로필, n-부틸, sec-부틸, tert-부틸, 사이클로부틸, 싸이클로프로필메틸, n-펜틸, 이소펜틸, 네오펜틸, tert-펜틸, 싸이클로펜틸, 싸이클로부틸메틸, n-헥실, 이소헥실, 싸이클로헥실, 싸이클로펜틸메틸 등을 들 수 있다. 상기 알킬은 치환되거나 또는 비치환된 알킬일 수 있다. 상기 치환된 알킬은, 이에 제한되지 않으나, 바람직하게 트리플루오로알킬(trifluoroalkyl)일 수 있다.
- [0073] 본 발명에서 사용한 용어 "알케닐" 또는 "알키닐"은 각각 하나 또는 그 이상의 이중 결합 또는 삼중 결합을 함유하는 직쇄 또는 측쇄가 포함된 탄소수 2~10, 더 바람직하게는 탄소수 2~6, 한층 더 바람직하게는 탄소수 2~4의 탄화수소 라디칼을 의미한다. 상기 알케닐 또는 알키닐은 각각 치환되거나 또는 비치환된 알케닐 또는 알키닐일 수 있다.
- [0075] 본 발명에서 사용한 용어 "알콕시"는, -O-알킬기를 의미하며, 알킬은 상기에서 개시한 바와 같다. 예를 들어 메톡시, 트리플루오로메톡시, 에톡시, n-프로폭시, 이소프로폭시, n-부톡시, t-부톡시, sec-부톡시, n-펜톡시 등을 들 수 있다. 상기 알콕시는 치환되거나 또는 비치환된 알콕시일 수 있다.
- [0077] 바람직하게, 본 발명의 <화학식 1>의 화합물은 R이
- [0078] 수소, 히드록시, 시아노(CN), 아미노, 니트로, 할로젠으로 치환된 또는 비치환된 C₁-C₄의 알킬, 할로젠으로 치환된 또는 비치환된 C₂-C₄의 알케닐, 할로젠으로 치환된 또는 비치환된 C₂-C₄의 알키닐, 할로젠으로 치환된 또는 비치환된 C₁-C₄의 알콕시로 이루어진 군에서 선택되는 하나인 것일 수 있다.
- [0080] 더욱 바람직하게, 본 발명의 <화학식 1>의 화합물은 R이 트리플루오로메틸(-CF₃)인 것일 수 있으며, 이의 더욱 구체적인 형태는 하기 <화학식 1-1>로 표시되는 구조를 가지는 것으로서 5-메톡시-4-(페닐설폰일)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)옥사졸 일 수 있다.
- [0082] <화학식 1-1>



- [0083]
- [0085] 본 발명에서 상기 약학적으로 허용가능한 염이란 바람직한 생물학적 활성을 보유한 화학식 1의 염 또는 복합체를 의미한다. 그러한 염의 예는 이에 한정되지 않지만, 무기산 (inorganic acid)[예를 들어, 염산

(hydrochloric acid), 브롬화수소산 (hydrobromic acid), 황산 (sulfuric acid), 인산 (phosphoric acid), 질산 (nitric acid) 등]으로 형성되는 산 부가 염, 및 아세트산 (acetic acid), 옥살산 (oxalic acid), 타르타르산 (tartaric acid), 호박산 (succinic acid), 말산 (malic acid), 푸마르산 (fumaric acid), 말레산 (maleic acid), 아스코르브산 (ascorbic acid), 벤조산 (benzoic acid), 타닌산 (tannic acid), 파모산 (pamoic acid), 알긴산 (alginic acid), 폴리글루타민산 (polyglutamic acid), 나프탈렌 술폰산 (naphthalene sulfonic acid), 나프탈렌 디술폰산 (naphthalene disulfonic acid), 및 폴리-갈락투론산 (poly-galacturonic acid)과 같은 유기산 (organic acid)으로 형성된 염을 포함한다. 상기 화합물은 또한 당업자에게 알려진 약학적으로 허용가능한 사차 염으로 투여될 수 있는데, 특히, 클로라이드, 브로마이드, 요오다이드, -O-알킬, 톨루엔술포네이트, 메틸술포네이트, 술포네이트, 포스페이트, 또는 카르복실레이트 (예를 들어, 벤조에이트, 숙시네이트, 아세테이트, 글리코레이트, 말리에이트 (maleate), 말레이트 (malate), 푸마레이트, 시트레이트, 타르트레이트, 아스코르베이트, 시나모에이트, 만델로에이트 및 디페닐아세테이트)를 포함한다. 본 발명의 화학식 1의 화합물은 약학적으로 허용 가능한 염뿐만 아니라, 통상의 방법에 의해 제조될 수 있는 모든 염, 수화물 및 용매화물을 모두 포함할 수 있다.

[0087] 또한, 본 발명의 화합물은 하나 이상의 비대칭 탄소 원자를 함유할 수 있고, 라세미 형태 및 광학적인 활성 형태로 존재할 수 있다. 이러한 모든 화합물 및 부분입체이성질체는 본 발명의 범위에 포함된다.

[0089] 본 발명 화합물은 실제 알츠하이머와 같은 퇴행성 신경질환에 적용하였을 때 비정상적인 자가포식 작용을 조절하여 Aβ 플라크 감소, 기억력 및 불안증 개선, 신경염증 완화 등의 치료효과가 현저하다. 이로써 본원의 화합물들은 자가포식 작용 조절을 통하여 퇴행성 신경질환 예방 또는 치료제 개발에 매우 유용하게 사용될 수 있다. 이는 본원 발명의 명세서 실시예에 잘 나타나 있다.

[0091] 따라서 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다. 또한 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0093] 상기 퇴행성 신경질환은, 예를 들어 알츠하이머병, 파킨슨병, 치매, 진행성 핵상마비, 다계통 위축증, 감람핵-뇌교-소뇌 위축증(OPCA), 샤이-드래거 증후군, 선조체-흑질 퇴행증, 헌팅턴병, 근위축성 측색 경화증(ALS), 본태성 진전증, 피질-기저핵 퇴행증, 미만성 루이 소체 질환, 파킨스-ALS-치매 복합증, 픽병, 뇌허혈 및 뇌경색으로 구성된 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0095] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 단독으로 함유하거나 약학적으로 허용되는 담체와 함께 적합한 형태로 제형화 될 수 있으며, 부형제 또는 희석제를 추가로 함유할 수 있다. 상기에서 '약학적으로 허용되는'이란 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 통상적으로 위장 장애, 현기증 등과 같은 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 비독성의 조성물을 말한다.

[0097] 약학적으로 허용되는 담체로는 예컨대, 경구 투여용 담체 또는 비경구 투여용 담체를 추가로 포함할 수 있다. 경구 투여용 담체는 락토스, 전분, 셀룰로스 유도체, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 등을 포함할 수 있다. 아울러, 펩티드 제제에 대한 경구투여용으로 사용되는 다양한 약물전달물질을 포함할 수 있다. 또한, 비경구 투여용 담체는 물, 적합한 오일, 식염수, 수성 글루코오스 및 글리콜 등을 포함할 수 있으며, 안정화제 및 보존제를 추가로 포함할 수 있다. 적합한 안정화제로는 아황산수소나트륨, 아황산나트륨 또는 아스코르브산과 같은 항산화제가 있다. 적합한 보존제로는 벤즈알코늄 클로라이드, 메틸-또는 프로필-파라벤 및 클로로부탄올이 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제 등을 추가로 포함할 수 있다. 그 밖의 약학적으로 허용되는 담체 및 제제는 다음의 문헌에 기재되어 있는 것을 참고로 할 수 있다(Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1995).

[0099] 본 발명의 조성물은 인간을 비롯한 포유동물에 어떠한 방법으로도 투여할 수 있다. 예를 들면, 경구 또는 비경구적으로 투여할 수 있다. 비경구적인 투여방법으로는 이에 한정되지는 않으나, 예를 들어 정맥내, 복강내, 뇌내, 피하, 근육내, 안내, 동맥내, 뇌척수내, 골수내, 경막내, 심장내, 경피, 피하, 비강내, 장관, 국소, 설하, 직장내 또는 병변내 경로에 의한 주사 또는 주입, 또는 하기 기재된 서방성 (sustained release) 시스템에 의한 주사 또는 주입일 수 있으며 이에 제한되지 않는다. 일례로 상기 화학식 1의 화합물은 전신으로 또는 국부적으로 투여될 수 있다.

- [0101] 본 발명의 약학적 조성물은 상술한 바와 같은 투여 경로에 따라 경구 투여용 또는 비경구 투여용 제제로 제형화할 수 있다.
- [0103] 경구 투여용 제제의 경우에 본 발명의 조성물은 분말, 과립, 정제, 환제, 당의정제, 캡슐제, 액제, 겔제, 시럽제, 슬러리제, 현탁액 등으로 당업계에 공지된 방법을 이용하여 제형화될 수 있다. 예를 들어, 경구용 제제는 활성성분을 고체 부형제와 배합한 다음 이를 분쇄하고 적합한 보조제를 첨가한 후 과립 혼합물로 가공함으로써 정제 또는 당의정제를 수득할 수 있다. 적합한 부형제의 예로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨 및 말티톨 등을 포함하는 당류와 옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분 및 감자 전분 등을 포함하는 전분류, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스 및 하이드록시프로필메틸셀룰로오스 등을 포함하는 셀룰로즈류, 젤라틴, 폴리비닐피롤리돈 등과 같은 충전제가 포함될 수 있다. 또한, 경우에 따라 가교결합 폴리비닐피롤리돈, 한천, 알긴산 또는 나트륨 알기네이트 등을 봉해제로 첨가할 수 있다. 나아가, 본 발명의 약학적 조성물은 향응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 및 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0105] 비경구 투여용 제제의 경우에는 주사제, 크림제, 로션제, 외용연고제, 오일제, 보습제, 겔제, 에어로졸 및 비강 흡입제의 형태로 당업계에 공지된 방법으로 제형화할 수 있다. 이들 제형은 모든 제약 화학에 일반적으로 공지된 처방서인 문헌(Remington's Pharmaceutical Science, 19th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1995)에 기재되어 있다.
- [0107] 본 발명의 조성물의 총 유효량은 단일 투여량(single dose)으로 환자에게 투여될 수 있으며, 다중 투여량(multiple dose)으로 장기간 투여되는 분할 치료 방법(fractionated treatment protocol)에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 질환의 정도에 따라 유효성분의 함량을 달리할 수 있다. 바람직하게 본 발명의 약학적 조성물의 바람직한 전체 용량은 1일당 환자의 체중이 통상적으로 60kg 일 경우 약 1 ng 내지 10 mg, 가장 바람직하게는 1 μ g 내지 1 mg일 수 있다. 그러나 상기 약학적 조성물의 용량은 제제화 방법, 투여 경로 및 치료 횟수뿐만 아니라 환자의 연령, 체중, 건강 상태, 성별, 질환의 중증도, 식이 및 배설율등 다양한 요인들을 고려하여 환자에 대한 유효 투여량이 결정되는 것이므로, 이러한 점을 고려할 때 당 분야의 통상적인 지식을 가진 자라면 본 발명의 조성물의 적절한 유효 투여량을 결정할 수 있을 것이다. 본 발명에 따른 약학적 조성물은 본 발명의 효과를 보이는 한 그 제형, 투여 경로 및 투여 방법에 특별히 제한되지 아니한다.
- [0109] 한편, 본 발명에 따른 상기 화합물은 목적에 따라 여러 형태로 제제화가 가능하다. 하기에 본 발명의 조성물을 위한 제제예를 예시한다.
- [0111] <제제예 1> 약학적 제제의 제조
- [0112] 1. 산제의 제조
- [0113] 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물 2 g
- [0114] 유당 1 g
- [0115] 상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.
- [0117] 2. 정제의 제조
- [0118] 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물 100 mg
- [0119] 옥수수전분 100 mg
- [0120] 유 당 100 mg
- [0121] 스테아린산 마그네슘 2 [0161] mg
- [0122] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.
- [0124] 3. 캡슐제의 제조
- [0125] 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물 100 mg
- [0126] 옥수수전분 100 mg
- [0127] 유 당 100 mg

- [0128] 스테아린산 마그네슘 2 mg
- [0129] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.
- [0131] 4. 환의 제조
- [0132] 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물 1 g
- [0133] 유당 1.5 g
- [0134] 글리세린 1 g
- [0135] 자일리톨 0.5 g
- [0136] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 방법에 따라 1환 당 4 g이 되도록 제조하였다.
- [0138] 5. 과립의 제조
- [0139] 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물 150 mg
- [0140] 대두추출물 50 mg
- [0141] 포도당 200 mg
- [0142] 전분 600 mg
- [0143] 상기의 성분을 혼합한 후, 30 % 에탄올 100 mg을 첨가하여 섭씨 60 ℃에서 건조하여 과립을 형성한 후 포에 충전하였다.
- [0145] 본 발명에 따른 식품용 조성물은 기능성 식품(functional food), 영양보조제(nutritional supplement), 건강식품(health food) 및 식품첨가제(food additives) 등의 모든 형태를 포함한다. 상기 유형들은 당업계에 공지된 통상적인 방법에 따라 다양한 형태로 제조할 수 있다.
- [0146] 예를 들면, 건강식품으로는 본 발명의 식품용 조성물 자체를 차, 주스 및 드링크의 형태로 제조하여 음용하도록 하거나, 과립화, 캡슐화 및 분말화하여 섭취할 수 있다. 또한 본 발명의 식품용 조성물은 퇴행성 신경질환의 예방, 개선 또는 치료 효과가 있다고 알려진 공지의 물질 또는 활성 성분과 함께 혼합하여 조성물의 형태로 제조할 수 있다.
- [0148] 또한 기능성 식품으로는 음료(알콜성 음료 포함), 과일 및 그의 가공식품(예를 들어 과일 통조림, 병조림, 잼, 마아말레이드 등), 어류, 육류 및 그 가공식품(예를 들어 햄, 소시지콘비이프 등), 빵류 및 면류(예를 들어 우동, 메밀국수, 라면, 스파게티, 마카로니 등), 과즙, 각종 드링크, 쿠키, 엿, 유제품(예를 들어 버터, 치즈 등), 식용식물유지, 마아가린, 식물성 단백질, 레토르트 식품, 냉동식품, 각종 조미료(예를 들어 된장, 간장, 소스 등) 등에 본 발명의 식품용 조성물을 첨가하여 제조할 수 있다.
- [0149] 일례로 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당 및 과당과 같은 모노사카라이드, 말토오스 및 수크로오스와 같은 디사카라이드, 텍스트린 및 시클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드, 및 자일리톨, 소르비톨 및 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르트암과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100당 일반적으로 약 0.01~0.20g, 바람직하게는 약 0.04~0.10g 일 수 있다.
- [0150] 상기 외에 본 발명의 조성물은 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. 그 밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.01~0.20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [0152] 본 발명에 따른 식품용 조성물에서 상기 화합물들의 바람직한 함유량으로는 이에 한정되지 않지만 바람직하게는 최종적으로 제조된 식품 총 중량 중 0.01 내지 50중량% 이다. 본 발명의 식품용 조성물을 식품첨가제의 형태로 사용하기 위해서는 분말 또는 농축액 형태로 제조하여 사용할 수 있다.

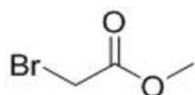
[0154] 또한 본원 발명은 하기 단계들을 포함하는, 상기 화학식 1의 화합물 제조방법을 제공한다:

[0155] (a) 하기 화학식 2로 표시되는 화합물과 하기 화학식 3으로 표시되는 화합물을 반응시켜 하기 화학식 4로 표시되는 화합물을 제조하는 단계;

[0156] (b) 상기 (a) 단계에서 제조한 하기 화학식 4의 화합물과 하기 화학식 5로 표시되는 화합물을 반응시켜 하기 화학식 6으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계; 및

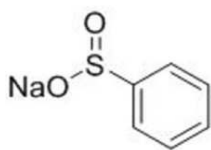
[0157] (c) 상기 (b) 단계에서 제조한 하기 화학식 6의 화합물과 하기 화학식 7로 표시되는 화합물을 반응시켜 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조 및 수득하는 단계.

[0158] <화학식 2>



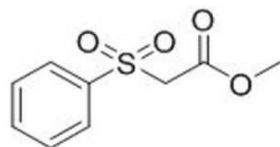
[0159]

[0160] <화학식 3>



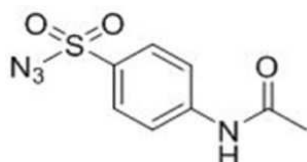
[0161]

[0162] <화학식 4>



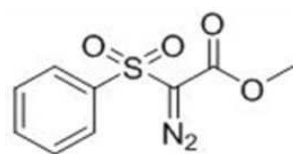
[0163]

[0164] <화학식 5>



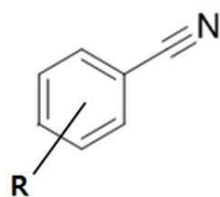
[0165]

[0166] <화학식 6>



[0167]

[0168] <화학식 7>



[0169]

[0170] 상기 식에서 R은 수소, 히드록시, 시아노(CN), 아미노, 니트로, 치환된 또는 비치환된 알킬, 치환된 또는 비치환된 알케닐, 치환된 또는 비치환된 알키닐, 치환된 또는 비치환된 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 하나이다.

[0172] 본 발명의 상기 (a) 내지 (c) 단계에서 사용되는 용매는 출발물질을 용해시키고 반응을 저해하지 않은 용매라면

특별히 제한되지 않으며, 예를 들어 테트라하이드로퓨란, 1,2-디메톡시에탄, 디에틸에테르 또는 디옥산 등의 에테르계 용매; 벤젠, 톨루엔 또는 크실렌 등의 방향족 탄화수소계 용매; 디클로로메탄, 클로로포름, 디클로로에탄, 트리클로로에탄, 테트라클로로에탄, 디클로로에틸렌, 트리클로로에틸렌, 테트라클로로에틸렌 등의 지방족 탄화수소계 용매; N,N-디메틸포름아미드, N,N-디메틸아세트아미드 또는 N-메틸피롤리돈 등의 아미드계 용매; 아세토니트릴, 프로피오니트릴, 부티로니트릴, 발레로니트릴 등의 니트릴계 용매; 디메틸설폭사이드 등의 유기 용매; 메탄올, 에탄올, 프로판올, n-부탄올 또는 t-부탄올 등의 알코올계 용매; 또는 이들의 혼합물이나 상기 용매와 물과의 혼합 용매를 사용할 수 있다. 각 단계의 반응에 사용될 바람직한 용매의 종류는, 당업자가 본 명세서 실시예를 참조하여, 용매의 성질에 따라 적의 선택하여 사용가능하다.

[0174] 상기 각 단계의 반응 온도, 반응 시간 및 반응 원료 양 등의 조건은 특별히 제한되지 않으며, 당업자가 원하는 합성 수율 및 공정 효과에 따라 반응이 충분히 이루어질 수 있는 조건을 적의 선택하여 설정 가능하다.

[0176] 상기 각 단계에서 반응 후에는, 반응에 사용된 용매를 증류한 후 통상의 세척, 건조, 정제 등의 후처리 과정을 거쳐 고순도의 화합물을 얻는다.

발명의 효과

[0178] 본 발명의 화합물은 실제 알츠하이머와 같은 퇴행성 신경질환에 적용하였을 때 비정상적인 자가포식 작용을 조절하여 A β 플라크 감소, 신경염증 완화, 기억력 및 불안증 개선 등의 치료효과가 현저하다. 이로서 본원의 화합물들은 자가포식 작용 조절을 통하여 퇴행성 신경질환 예방 또는 치료제 개발에 매우 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0180] 도 1는 자가포식작용 상승 화합물이 알츠하이머병에 미치는 영향을 알아보기 위하여 수행한 실험의 개요를 나타낸 도이다.

도 2은 PBS 또는 자가포식작용 상승 화합물을 주입받은 APP/PS1 마우스의 뇌 수질 및 해마에서 티오프라빈 S (ThioS, 원섬유성 아밀로이드 베타 플라그)의 면역형광염색 및 원섬유성 아밀로이드 베타 플라그가 차지하고 있는 면적을 정량화한 결과이다 (n=4/그룹)(APP/PS1: 알츠하이머 동물모델).

도 3는 PBS 또는 자가포식작용 상승 화합물을 주입받은 APP/PS1 마우스의 뇌 수질 및 해마에서 A β 40(도 4a) 혹은 A β 42(도 4b)의 축적을 면역형광염색 및 이를 정량화하여 나타낸 결과이다 (n=4/그룹)(APP/PS1: 알츠하이머 동물모델).

도 4는 PBS 또는 자가포식작용 상승 화합물을 주입받은 APP/PS1 마우스의 뇌 수질 및 해마에서 타우 단백질(AT8)의 축적을 면역형광염색 및 이를 정량화하여 나타낸 결과이다 (n=4/그룹)(APP/PS1: 알츠하이머 동물모델).

도 5은 APP/PS1 마우스에서 자가포식작용 상승 화합물 주입이 학습 및 인지기능을 회복시켰음을 나타내는 결과이다(WT: 야생형, APP/PS1: 알츠하이머 동물모델).

도 5a는 야생형 마우스 (n=6), PBS를 주입한 APP/PS1 마우스 (n=6), 자가포식작용 상승 화합물을 주입한 APP/PS1 마우스 (n=10)에서 모리스 워터메이즈 테스트를 통한 학습 및 기억력을 평가한 결과이다.

도 5b는 시험 11일째에 표적 플랫폼에서 머무른 시간을 나타낸 결과이다.

도 5c는 시험 11일째에 표적 플랫폼의 타겟 지역 내로 들어간 횟수를 나타낸다.

도 5d는 fear conditining 시험 동안에 contextual 및 tone task의 결과를 나타낸 것이다.

도 6은 APP/PS1 마우스에서 증가된 신경염증이 자가포식작용 상승 화합물 주입에 의해 감소됨을 확인한 결과이다 (n=3/그룹).

도 6a는 야생형 마우스(WT), PBS를 주입한 APP/PS1 마우스, 자가포식작용 상승 화합물을 주입한 APP/PS1 마우스의 뇌 수질 및 해마에서 별아교세포(GFAP)의 면역형광염색을 통해 면적을 정량화한 결과이다.

도 6b는 야생형 마우스(WT), PBS를 주입한 APP/PS1 마우스, 자가포식작용 상승 화합물을 주입한 APP/PS1 마우스의 뇌 수질 및 해마에서 미세아교세포(Iba-1)의 면역형광염색을 통해 면적을 정량화한 결과이다.

도 6c는 야생형 마우스(WT), PBS를 주입한 APP/PS1 마우스, 자가포식작용 상승 화합물을 주입한 APP/PS1 마우스

의 뇌 수질에서 염증성 마커(TNF- α , IL-1 β , IL-6)의 mRNA 발현수준을 평가한 결과이다.

도 7은 야생형 마우스(WT), PBS를 주입한 APP/PS1 마우스, 자가포식작용 상승 화합물을 주입한 APP/PS1 마우스의 뇌 수질에서 자가포식작용 관련 단백질의 발현을 웨스턴블로팅을 이용하여 분석하고 이를 정량화하여 그래프로 나타낸 결과이다 (n=3/그룹).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하 본 발명을 상세히 설명한다.

단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

<실시예 1>

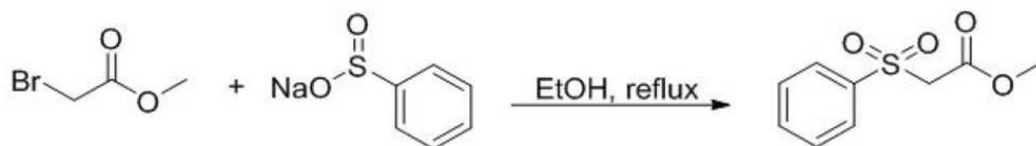
화합물의 제조

본 발명의 화학식 1에 해당하는 화합물들은 하기와 같은 방법으로 수득되었다.

<1-1> 5-메톡시-4-(페닐설폰닐)-2-(4-(트리플루오로메틸)페닐)옥사졸의 제조

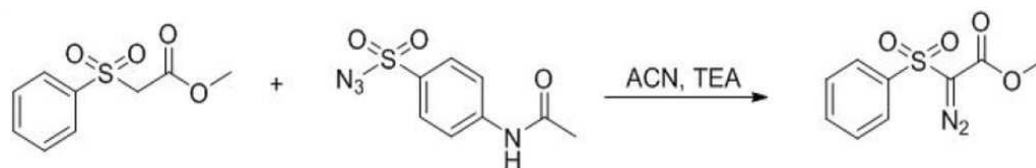
5-methoxy-4-(phenylsulfonyl)-2-(4-(trifluoromethyl)phenyl)oxazole은 하기의 (1) 내지 (3) 단계의 방법으로 제조하였다.

(1) 1 단계 : Methyl 2-(phenylsulfonyl)acetate의 제조



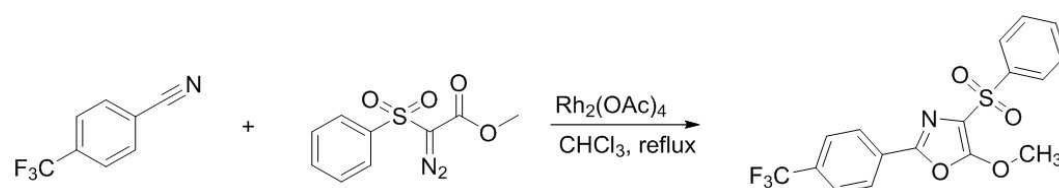
에탄올(200 mL)에 methyl bromoacetate(10 g, 65.38 mmol), benzenesulfinic acid 및 sodium salt(12.9 g, 78.4 mmol)을 혼합한 용액을 24시간동안 환류시켰다. 이어 과량의 용매를 감압하에서 제거하였다. 이어 반응 혼합물을 dichloromethane(400 mL)에 용해시키고 물(2 x 200 mL) 및 브라인(염수, 50 mL)으로 세척하였다. 이어 유기층을 무수 Na_2SO_4 에서 건조하고 감압하에서 농축하여 Methyl 2-(phenylsulfonyl)acetate를 수득하였다(13.5 g, 96%). 수득된 화합물을 별도의 정제과정 없이 다음 단계 화합물 합성에 사용되었다.

(2) 2 단계 : Methyl 2-diazo-2-(phenylsulfonyl)acetate의 제조



0℃에서 아세트니트릴(500 mL)에 methyl 2-(phenylsulfonyl)acetate(13.5 g, 67.7 mmol) 및 4-acetamidobenzenesulfonyl azide(16.65 g, 69.31mmol)가 교반된 용액에 트리에틸아민(7.0 g, 69.3 mmol)을 추가하였다. 이후에 반응혼합물을 실온에서 24 시간 동안 교반하고, 반응 혼합물을 감압상태에서 농축시키고 생성된 침전물을 에틸 아세테이트와 n-헥산을 1대 1로 희석한 용액에 교반하였다(3 x 600 mL, 1 : 1 ethyl acetate : n-hexane). 혼합된 유기물을 감압상태에서 농축시켰다. 이후 에틸 아세테이트 및 n-헥산을 사용한 컬럼크로마토그래프로 정제하여 Methyl 2-diazo-2-(phenylsulfonyl)acetate 화합물을 담황색 고체로서 15 g 수득하였다(99 %).

(3) 3 단계 : 5-methoxy-4-(phenylsulfonyl)-2-(4-(trifluoromethyl)phenyl) oxazole의 제조



[0199] 클로로포름(20 ml)에 4-(트리 플루오로 메틸)벤조니트릴(1.2 g, 7.013 mmol) 및 로튬(I) 아세테이트 (61.99 mg, 0.14 mmol)를 환류시킨 용액에, Methyl 2-diazo-2-(phenylsulfonyl)acetate(1.85 g, 7.71 mmol)를 첨가 하였다. 첨가 후, 반응 혼합물을 3 시간동안 환류시켰다. 반응 혼합물을 감압상태에서 농축시키고 컬럼 크로마토 그래프를 이용하여 백색 고체로서 5-methoxy-4-(phenylsulfonyl)-2-(4-(trifluoromethyl)phenyl)oxazole을 1.5 g 수득하였다 (56 %).

[0200] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) : δ 8.06 (d, J=8.28Hz, 2H), 7.95 (d, J=7.18Hz, 2H), 7.88 (d, J=8.28Hz, 2H), 7.76-7.61 (m, 3H), 4.30 (s, 3H).

[0202] <실시예 2>

[0203] 퇴행성 신경질환에 대한 예방 및 치료 효과 확인

[0205] [실험방법]

[0206] 1. 마우스 및 실험 개요

[0207] IACUC(Kyungpook National University Institutional Animal Care and Use Committee)에서 마우스 실험에 대한 승인을 받았다. 퇴행성 신경질환(특히, 알츠하이머) 동물모델로서, C57BL/6 마우스(Charles River, UK)를 바탕으로 APP^{swe}(hAPP695^{swe}) 및 PS1(presenilin-1M146V)를 과발현시킨 형질전환 마우스 라인을 이용하였다[이하, APP/PS1 마우스(AD)로 표기], GlaxoSmithKline 社]

[0208] 상기 <실시예 1>에서 수득된 자가포식작용 상승 화합물의 치료효과를 확인하기 위해, 도 1에 나타난 실험 개요(스케줄)에 따라 동물모델에 실험물질을 투여하였다. 구체적으로, 6.5개월령의 마우스에 PBS 혹은 자가포식작용 상승 화합물을 50mg/kg 용량으로 매주 3회씩 복강 주입을 하였다. 자가포식작용 상승 화합물 주입 2개월 후, 행동학적 분석을 실시하였고, 행동학적 분석 후(즉 마우스 9.5 주령 차)에 마우스의 뇌조직을 샘플하였다 (도 1 참조).

[0210] 2. 면역형광법

[0211] 마우스의 대뇌 및 해마를 고정 후, 0.5% thioflavin S (Sigma-Aldrich), A β 42에 대한 항-20G10(마우스, 1:1000) 및 A β 40에 대한 항-G30(토끼, 1:1000), 항-GFAP(토끼, 1:500, DAKO), 항-Iba-1(토끼, 1:500, WAKO)을 함께 배양하였다. 상기 부위를 Fluoview SV1000 이미징 소프트웨어(Olympus FV1000, Japan)를 장착한 레이저 스캐닝 공초점 현미경 또는 Olympus BX51 현미경을 이용하여 분석하였다. Metamorph software(Molecular Devices)를 이용하여 총 조직의 넓이에 대한 염색된 부위의 넓이의 퍼센트를 정량화하고 분석하였다.

[0213] 3. 실시간 정량 PCR(Real-time quantitative PCR)

[0214] 염증반응 관련 사이토카인 (TNF- α , IL-1 β , IL-6)의 발현량을 측정하기 위하여 실시간 정량 PCR법을 사용하였다. 총 RNA를 RNeasy Plus 미니 키트 (Qiagen, Korea, Ltd)를 사용하여 뇌조직으로부터 RNA를 추출하고, Clontech (Mountain View, CA)사의 키트를 사용하여 총 5 μ g의 RNA로부터 cDNA를 합성하였다. 또한, Corbett research RG-6000 real-time PCR 기기를 사용하여, 95 $^{\circ}\text{C}$, 10분; 95 $^{\circ}\text{C}$, 10초; 58 $^{\circ}\text{C}$, 15초; 72 $^{\circ}\text{C}$, 20초를 1 사이클로 하여 40 사이클을 반복하는 실시간 정량 PCR을 수행하였다. 상기 실시간 정량 PCR에 사용한 프라이머쌍은 표 1과 같다.

표 1

[0215]	mTNF- α	5' -GAT TAT GGC TCA GGG TCC AA-3'	5' -GCT CCA GTG AAT TCG GAA AG-3'
	mIL-1 β	5' -CCC AAG CAA TAC CCA AAG AA-3'	5' -GCT TGT GCT CTG CTT GTG AG-3'
	mIL-6	5' -CCG GAG AGG AGA CTT CAC AG-3'	5' -TTG CCA TTG CAC AAC TCT TT-3'
	mGAPDH	5' -TGA ATA CGG CTA CAG CAA CA-3'	5' -AGG CCC CTC CTG TTA TTA TG-3'

[0217] 4. 웨스턴블롯

[0218] 웨스턴 블롯팅을 이용하여 하기 유전자들의 발현을 분석하였다. 우선, LC3, 베클린-1, p62[모두, cell signaling Technologies에서 구입], 카텝신 D(R&D systems) 및 β -액틴(Santa Cruz)에 대한 항체를 이용하였고, 밀도 정량화(densitometric quantification)는 ImageJ 소프트웨어(US National Institutes of Health)를

이용하여 수행하였다.

5. 행동실험

학습 및 기억에 대한 잠재적 효과를 확인하기 위하여, MWM(Morris water maze)와 fear conditioning 실험을 수행하였다. MWM는 마우스에 대하여 10일 동안 하루에 4 번씩 과제를 학습시켰고, 11일째 되는 날에 플랫폼을 제거하고, 탐침시험(probe trial)을 수행하였다. Fear conditioning은 첫째 날은 마우스를 conditioning chamber에 넣고, 소리 자극(10 kHz, 70 dB) 및 전기자극(0.3 mA, 1 s)을 주었다. 둘째 날은 첫째 날과 같은 conditioning chamber에서 자극 없이 공간에 대한 기억력을 확인했고, 셋째 날은 다른 conditioning chamber에서 소리자극만 주었을 때 두려움에 대한 기억력 테스트를 수행하였다.

8. 통계학적 분석

두 그룹의 비교를 위하여 학생의 T-test를 수행하는 반면, 다수의 그룹의 비교를 위해서는 SAS 통계학적 패키지 (release 9.1; SAS Institute Inc., Cary, NC)에 따라서 Tukey's HSD 테스트 및 분산 테스트의 반복측정분석을 수행하였다. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 를 유의적인 것으로 간주하였다.

[실험결과]

<2-1> 자가포식작용 상승 화합물을 주입한 APP/PS1 마우스에서 아밀로이드- β 침착 감소 확인

전술한 자가포식작용 상승 화합물이 퇴행성신경질환에 대한 예방 및 치료효과가 있는지 알아보기 위하여, 대표적으로 알츠하이머 모델에 대하여 상기 화합물의 효과를 평가하였다. 상기 실시예 1에서 수득한 자가포식작용 상승 화합물들 중 대표적으로 5-methoxy-4-(phenylsulfonyl)-2-(4-(trifluoromethyl)phenyl)oxazole(실시예 <1-1>)을 사용하였으며, 도 1에 나타낸 바와 같은 방법으로 자가포식작용 상승 화합물을 알츠하이머 동물모델에 2개월간 복강투여 하고 그 결과를 평가하였다.

첫 번째로 알츠하이머 병변인 아밀로이드- β (A β) 프로파일과 타우 단백질 침착 정도를 확인하였다. 먼저 마우스의 대뇌 피질 및 해마 부위를 공지된 방법에 따라 티오플라빈 S(ThioS)로 염색하여 원섬유성 아밀로이드- β 침착 정도를 확인하였다. 또한, A β 40 및 A β 42, AT8의 면역형광 염색을 실시하여 아밀로이드- β , 타우단백질 침착 정도를 확인하였다.

실험 결과, APP/PS1 마우스와 비교해 자가포식작용 상승 화합물을 주입한 APP/PS1 마우스에서 원섬유성 A β 침착(도 2 참조) 및 A β 40과 A β 42 (도 3a 및 도 3b 참조), 타우단백질 (도 4 참조)의 침착이 현저히 낮은 것을 확인하였다.

<2-2> 자가포식작용 상승 화합물을 주입한 APP/PS1 마우스에서 학습, 인지력의 호전 확인

알츠하이머 동물에서 자가포식작용 상승 화합물의 학습 및 인지력에 대한 잠재적 효과를 확인하기 위하여, MWM (Morris water maze) 및 fear conditioning 테스트를 수행하였다.

도 5a 내지 도 5c에 나타낸 바와 같이, APP/PS1 마우스는 공간기억, 인지력 및 기억력 형성에 심각한 장애를 보였으나, 자가포식작용 상승 화합물을 주입한 APP/PS1 마우스는 이러한 장애가 현저히 개선됨을 확인하였다 (도 5a 내지 도 5c). 또한 자가포식작용 상승 화합물은 fear conditioning test에서도 현저한 기억력 개선 효과를 나타냄을 확인하였다 (도 5d).

<2-3> 자가포식작용 상승 화합물을 주입한 APP/PS1 마우스에서 신경염증 변화 확인

알츠하이머 동물에서 자가포식작용 상승 화합물 주입이 신경염증 변화에 미치는 영향을 확인하기 위해서, 본 발명자들은 뇌에서 별아교세포(GFAP를 마커로 사용) 및 미아교세포(Iba-1를 마커로 사용)의 변화를 관찰하였다.

실험결과, APP/PS1 마우스와 비교해, 자가포식작용 상승 화합물을 주입한 APP/PS1 마우스에서 별아교세포와 미세아교세포의 활성이 현저히 저하됨을 확인하였다(도 6a, 도 6b). 또한 APP/PS1 마우스에서는 야생 마우스에 비해 염증성 사이토카인인 TNF- α , IL-1 β 및 IL-6의 유전자 발현이 현저히 증가되어 있었으나, 자가포식작용 상승 화합물을 주입한 APP/PS1 마우스에서는 염증성 사이토카인의 발현이 정상수준으로 회복됨을 확인하였다(도 6c). 이러한 결과들을 통해 자가포식작용 상승 화합물의 주입은 알츠하이머 뇌환경에서 신경 염증 반응을 조절한다는 것을 확인할 수 있었다.

<2-4> 자가포식작용 상승 화합물을 주입한 APP/PS1 마우스에서 자가포식작용 관련 유전자에 대한 효과 확인

전술한 자가포식작용 상승 화합물(특히, 5-methoxy-4-(phenylsulfonyl)-2-(4-

(trifluoromethyl)phenyl)oxazole)이 실제 *in vivo* 상에서 자가포식작용 관련 경로에서 어떻게 작용하는지 확인하기 위하여, 9.5개월령의 WT, APP/PS1(비처리군) 및 자가포식작용 상승 화합물을 주입한 APP/PS1 마우스의 뇌조직 시료에서 LC3-I에서 LC3-II로 전환, 베클린-1(Beclin-1), 카텡신 D(cathepsin D) 및 p62의 발현 수준을 웨스턴 블롯팅 실험을 통해 확인하였다.

[0246] 자가포식작용(autophagy)은 자가포식소체(autophagosome)와 리소좀(lysosome)의 융합 과정을 통해 일어난다. 본 발명자들은 이전 연구(대한민국 등록특허 10-1521117)에서, 알츠하이머와 같은 퇴행성 신경질환 상태에서는 자가포식액포(autophagic vacuole; AV)의 턴오버에서 이상적인 변화를 나타내며, 자가포식소체(autophagosome)가 분해되지 못하고 계속 축적되는 이상변화가 일어난다. 도 7에 나타난 바와 같이, 야생형(WT) 마우스와 비교하여, APP/PS1 마우스(비처리)에서 LC3-II의 수준이 증가되어 있는 이상변화를 확인하였다. 이에 대하여, 자가포식작용 상승 화합물을 주입한 APP/PS1 마우스에서 LC3-II의 수준은 wt와 유사한 수준으로 감소함을 확인하였으며, 이는 상기 화합물에 의하여 자가포식소포의 분해가 잘 일어났음을 의미한다. 베클린-1의 발현은 상기 세 그룹에서 큰 차이가 없음을 확인하였다.

[0248] 또한, 자가포식작용 턴오버(turnover)의 지표인 카텡신 D(lysosomal hydrolase) 및 p62의 발현은 알츠하이머 환자에서 증가하여, 알츠하이머와 병리학적으로 관련이 있는데, WT 마우스와 비교하여, APP/PS1 마우스에서 카텡신 D 및 p62의 발현 수준이 증가함을 확인하였고, 상기 증가된 카텡신 D 및 p62의 발현 수준은 자가포식작용 상승 화합물을 주입한 APP/PS1 마우스에서 감소되는 것을 확인하였다.

[0250] 상기의 결과들을 종합하면, APP/PS1 마우스에서 자가포식작용 상승 화합물의 주입은 A β 플라크 침착과 염증반응을 감소시키고, 손상된 자가포식작용을 회복시킴을 알 수 있었다. 또한 자가포식작용 상승 화합물은 알츠하이머 동물에서 학습, 기억능력을 향상시킴으로써, 알츠하이머를 포함하여 퇴행성 뇌질환 치료제로서 활용이 가능하다는 사실을 알 수 있었다.

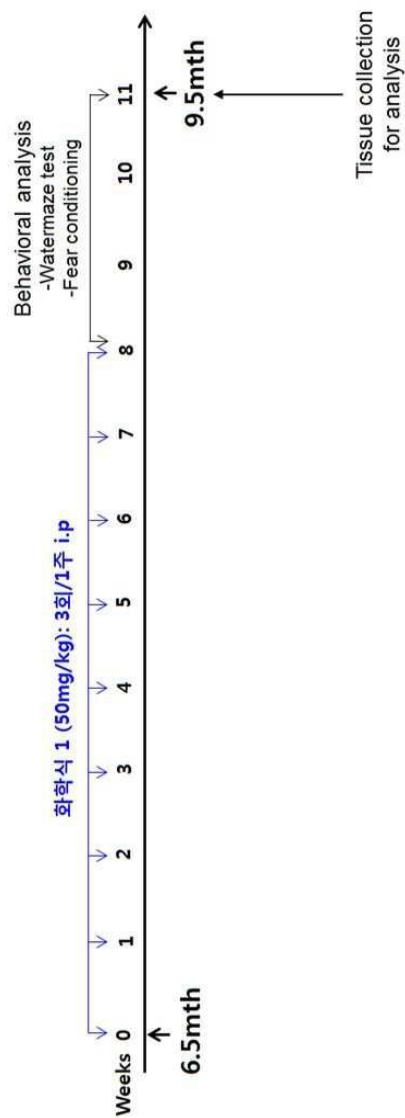
산업상 이용가능성

[0252] 이상 살펴본 바와 같이, 본 발명은 신규한 페닐설폰옥사졸 유도체 및 이의 용도에 관한 것으로, 구체적으로 본 명세서에서 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염과, 이의 퇴행성 신경질환에 대한 예방, 치료 또는 개선 용도에 관한 것이다.

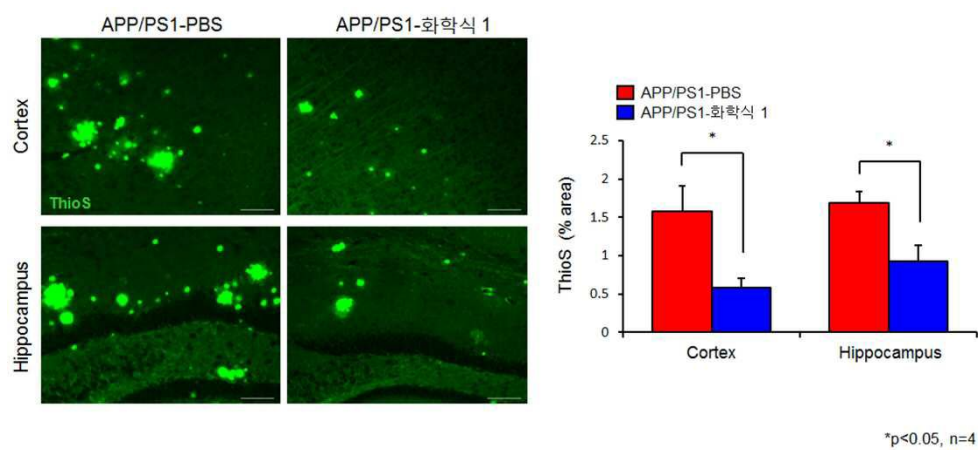
[0253] 본 발명의 화합물은 실제 알츠하이머와 같은 퇴행성 신경질환에 적용하였을 때 A β 플라크 감소, 신경염증 완화, 기억력 및 불안증 개선 등의 치료효과가 현저하다. 이로서 본원의 화합물들은 퇴행성 신경질환 예방 또는 치료제 개발에 매우 유용하게 사용될 수 있으므로, 산업상 이용가능성이 매우 크다.

도면

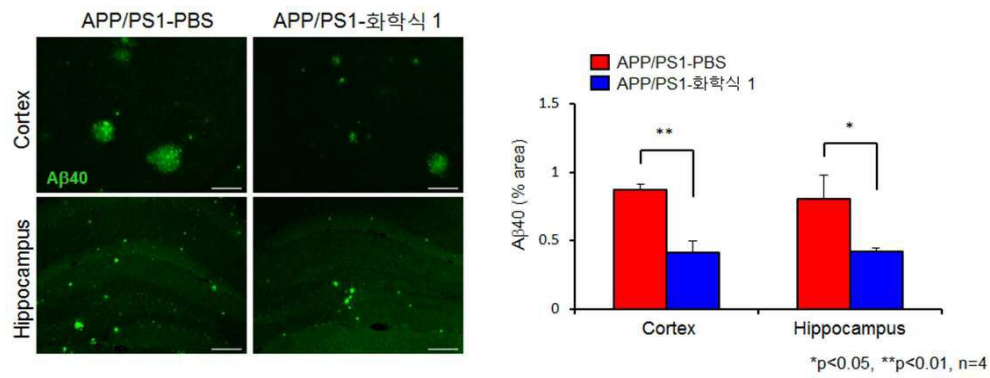
도면1



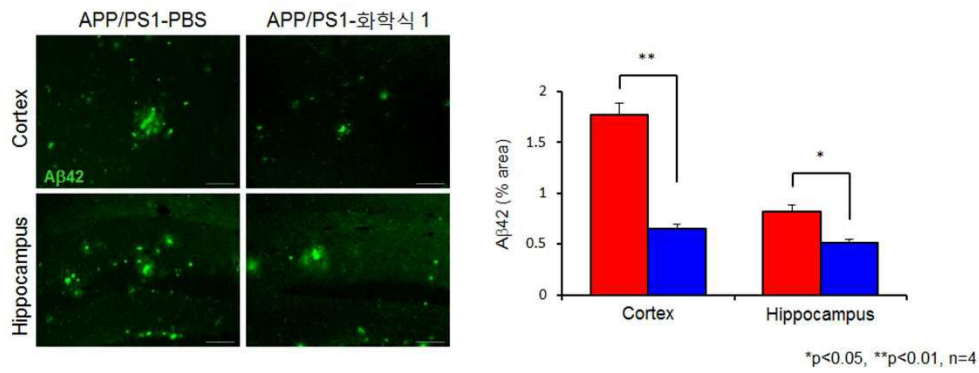
도면2



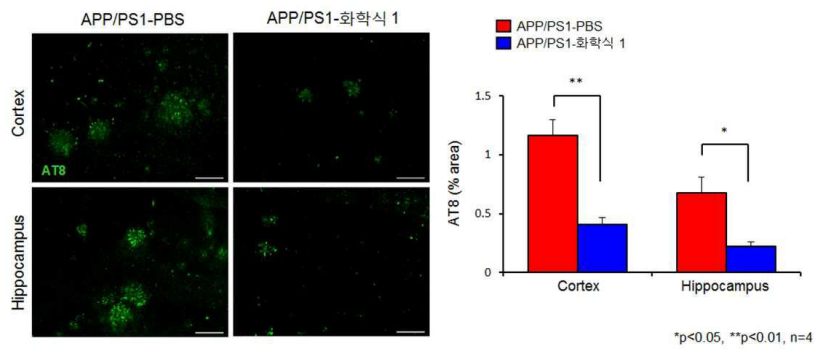
도면3a



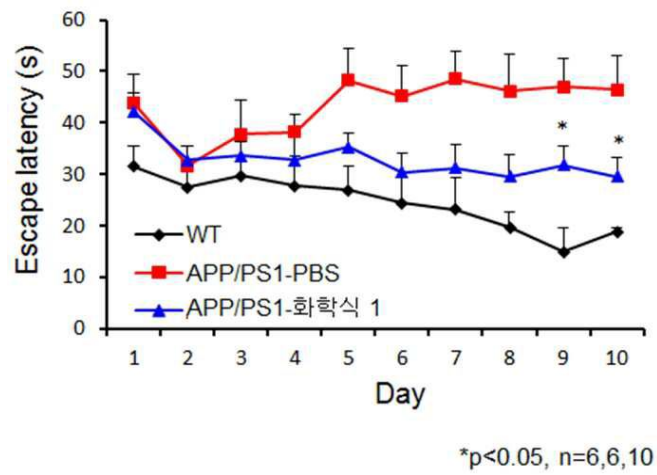
도면3b



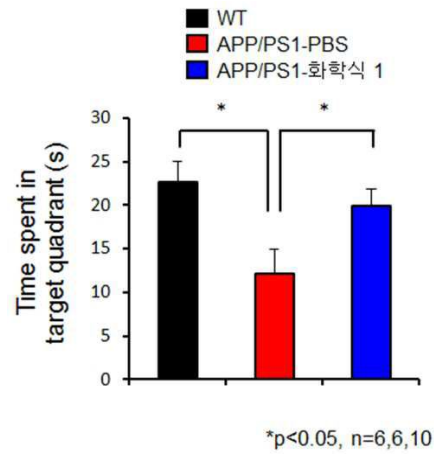
도면4



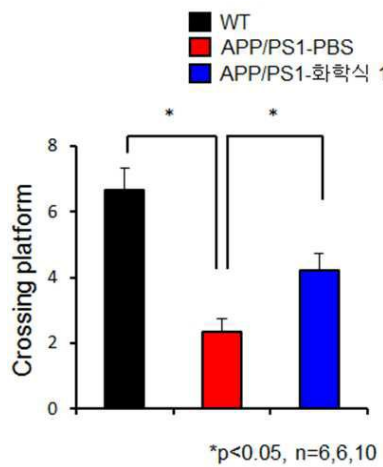
도면5a



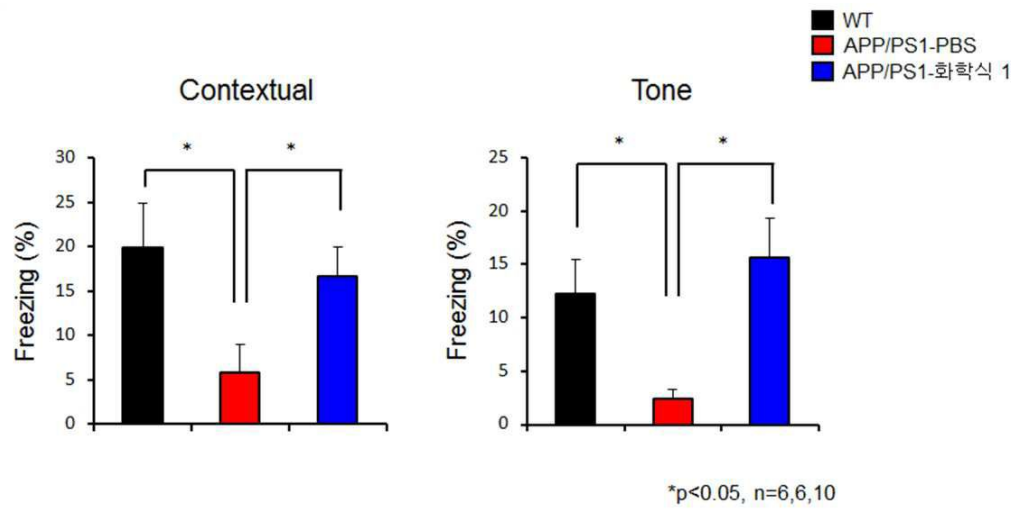
도면5b



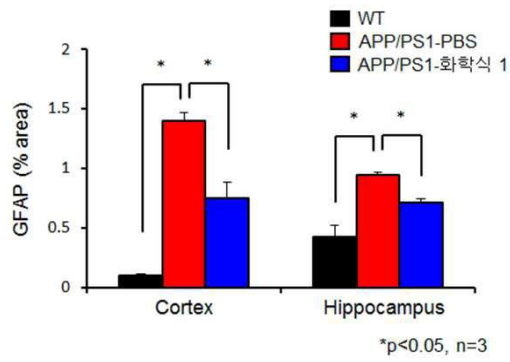
도면5c



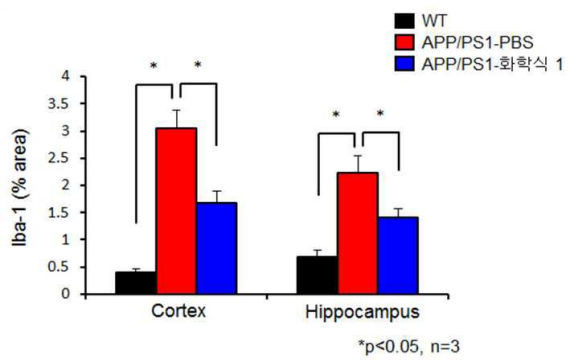
도면5d



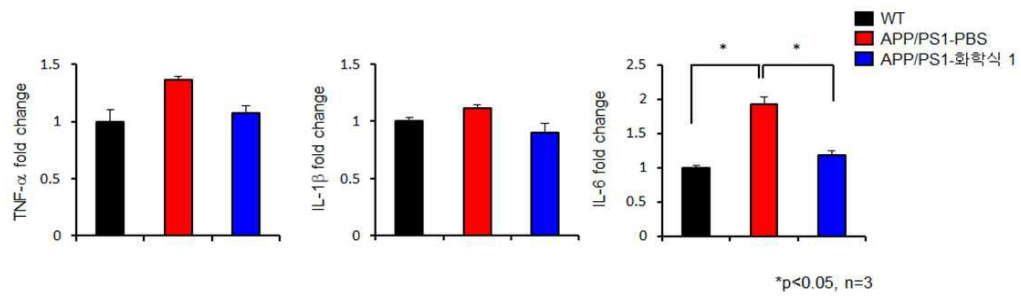
도면6a



도면6b



도면6c



도면7

