

명세서

발명의 명칭: 신규한 ASM 활성 직접 억제 화합물 2-아미노-2-(1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올 유도체 및 이의 용도

기술분야

- [1] 본 출원은 2018년 4월 30일에 출원된 대한민국 특허출원 제10-2018-0050215호를 우선권으로 주장하고, 상기 명세서 전체는 본 출원의 참고문헌이다.
- [2]
- [3] 본 발명은 신규한 ASM 활성 직접 억제 화합물 2-아미노-2-(1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올 유도체 및 이의 용도에 관한 것으로, 보다 상세하게는 본 명세서에서 화학식 1로 표시되는 화합물과 이의 퇴행성 신경질환 또는 우울증에 대한 예방, 개선 또는 치료 용도에 관한 것이다.

[4]

배경기술

- [5] 스핑고지질 대사는 정상적인 세포 신호전달을 조절하며, 스핑고지질 대사의 비정상적 변화는 알츠하이머병을 포함한 다양한 신경퇴행성 질환에 영향을 미친다. 한편, 스핑고지질 대사를 조절하는 효소인 ASM(acid sphingomyelinase)은 거의 모든 종류의 세포에서 발현되는 단백질로서, 스핑고지질 대사 및 세포막 턴오버(turnover)에 중요한 역할을 한다.
- [6]
- [7] 알츠하이머를 포함한 퇴행성 신경질환 환자의 뇌에서는 ASM의 발현이 정상인에 비해 현저히 증가되어 있으며, 과발현된 ASM의 발현을 저해하거나 ASM의 활성을 저해하면 아밀로이드- β (A β)의 축적이 억제되고 학습 및 기억력이 개선되어 퇴행성 신경질환의 치료효과가 나타날 수 있음이 보고된 바 있다(한국 등록특허 10-1521117). 또한 최근 우울증과 같은 신경 질환에서 ASM의 활성이 증가되어 있으며 이러한 ASM의 억제는 우울증 완화 효과를 보인다는 보고가 있다(Nature medicine. 2013 Jul 19(7):934-938, PLoS One. 2016 Sep 6;11(9):e0162498). 따라서 ASM 억제제, 즉 ASM의 발현 또는 활성을 억제할 수 있는 물질의 개발은, 신경퇴행성 질환 및 우울증을 포함하여 ASM의 증가로 인해 야기되는 다양한 질환들의 유용한 치료방법으로서 유망하다.
- [8]
- [9] 한편, 현재까지 직접적인 ASM 억제제는 개발되지 않았으나 간접적으로 ASM을 억제할 수 있는 몇 가지 억제제가 동정 되었다. 먼저 ASM 간접적 억제제로 가장 널리 사용되는 tricyclic antidepressants (e.g. amitriptyline (AMI), desipramine, imipramine 등)는 항우울제 약물로 실제 임상에 사용되고 있다.

최초에 ASM 억제제로 개발된 것은 아니나 다양한 연구결과들에 의해 본 약물들이 ASM 억제 효과를 나타낸다는 것이 증명되었다. Tricyclic antidepressants의 주된 약리작용 (mode of action)은 신경세포에서 신경전달물질의 재흡수 억제를 통한 신경전달물질의 활성 증가이며, 부수적인 작용으로 ASM 억제 효과를 나타낸다. 그러나 tricyclic antidepressants의 경우 신경계 및 신경세포에 작용하여 몽롱함, 빛 감수성 증가, 구토 등의 부작용을 유발할 수 있으므로 ASM 활성을 직접적으로 억제할 수 있는 새로운 약물 개발이 필요하다.

[10]

발명의 상세한 설명

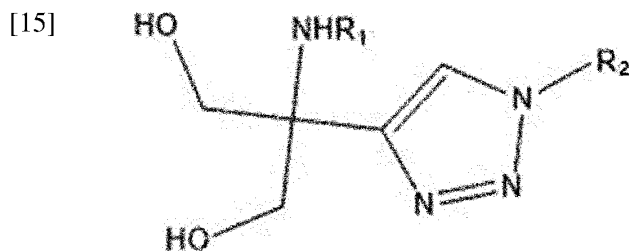
기술적 과제

[11] 이에 본 발명자는 신규 ASM 억제제를 개발하고자 노력하던 중, 화학식 1의 구조를 갖는 2-아미노-2-(1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올 유도체가 직접적으로 ASM 활성 억제효과가 현저하여 퇴행성 신경질환 및 우울증 치료에 있어서 우수한 효과를 보일 수 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

[12]

[13] 따라서, 본 발명의 목적은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 염을 제공하는 것이다:

[14] [화학식 1]



[16] 상기 식에서

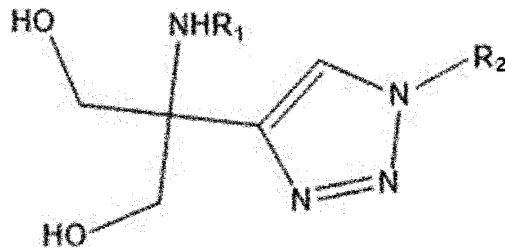
[17] R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 10의 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,

[18] R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 10의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 알케닐 또는 탄소수 2 내지 10의 알키닐이다.

[19]

[20] 본 발명의 다른 목적은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[21] 또한, 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 구성되는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

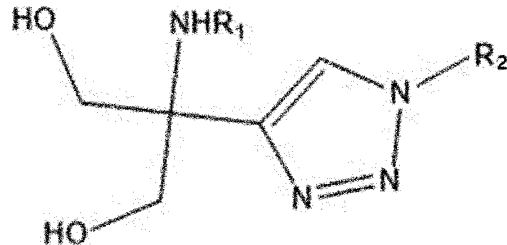
- [22] 또한, 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 필수적으로 구성되는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [23]
- [24] 본 발명의 다른 목적은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [25] 또한, 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 구성되는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [26] 또한, 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 필수적으로 구성되는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [27]
- [28] 본 발명의 다른 목적은 진단제제 또는 검출제제가 결합된 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 진단용 조성물을 제공하는 것이다.
- [29] 또한, 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 구성되는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 진단용 조성물을 제공하는 것이다.
- [30] 또한, 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 필수적으로 구성되는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 진단용 조성물을 제공하는 것이다:
- [31] [화학식 1]
- [32]
- 
- [33] 상기 식에서
- [34] R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 10의 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,
- [35] R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 10의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 알케닐 또는 탄소수 2 내지 10의 알키닐이며,
- [36] 상기 정의된 알킬, 알케닐, 알키닐 또는 알킬카보닐은 각각 방사성 동위원소를 포함하거나 또는 포함하지 않는다.

[37]

[38] 본 발명의 또 다른 목적은 퇴행성 신경질환 또는 우울증 예방 또는 치료용 제제를 제조하기 위한 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 용도를 제공하는 것이다:

[39] [화학식 1]

[40]



[41] 상기 식에서

[42] R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 10의 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,

[43] R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 10의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 알케닐 또는 탄소수 2 내지 10의 알키닐이다.

[44]

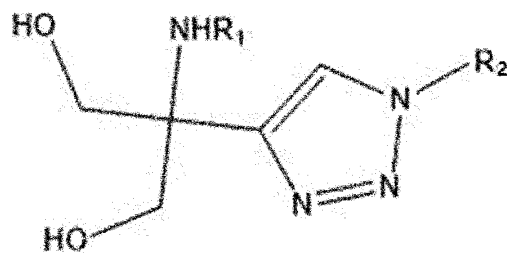
[45] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 개체에 투여하는 것을 특징으로 하는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 예방 또는 치료 방법을 제공하는 것이다.

[46]

[47] 본 발명의 또 다른 목적은 퇴행성 신경질환 또는 우울증 진단용 제제를 제조하기 위한 진단제제 또는 검출제제가 결합된 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 용도를 제공하는 것이다:

[48] [화학식 1]

[49]



[50] 상기 식에서

[51] R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 10의 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,

[52] R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 10의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 알케닐 또는 탄소수 2 내지 10의 알키닐이며,

[53] 상기 정의된 알킬, 알케닐, 알키닐 또는 알킬카보닐은 각각 방사성 동위원소를 포함하거나 또는 포함하지 않는다.

[54]

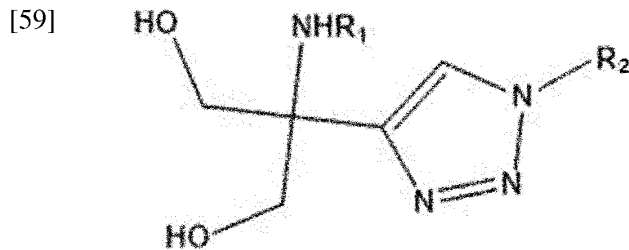
[55] 본 발명의 또 다른 목적은 진단제제 또는 검출제제가 결합된 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 조성물의 유효량을 퇴행성 신경질환 또는 우울증이 의심되는 개체에 투여하는 단계를 포함하는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 진단 방법을 제공하는 것이다.

[56]

과제 해결 수단

[57] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 염을 제공한다:

[58] [화학식 1]



[60] 상기 식에서

[61] R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 10의 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬 카보닐이며,

[62] R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 10의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 알케닐 또는 탄소수 2 내지 10의 알키닐이다.

[63]

[64] 본 발명의 다른 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[65] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 구성되는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

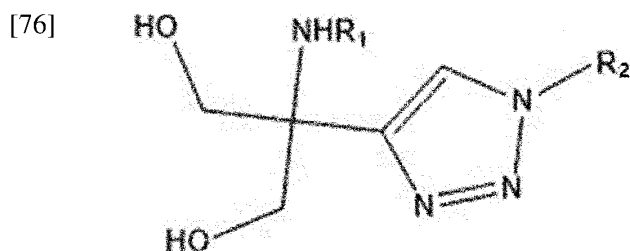
[66] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 필수적으로 구성되는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[67]

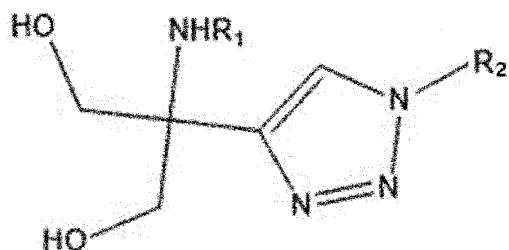
[68] 본 발명의 다른 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 개선용 식품 조성물을 제공한다.

- [69] 또한 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 구성되는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [70] 또한 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 필수적으로 구성되는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [71]
- [72] 본 발명의 다른 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 진단제제 또는 검출제제가 결합된 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 진단용 조성물을 제공한다.
- [73] 또한, 본 발명은 진단제제 또는 검출제제가 결합된 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 구성되는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 진단용 조성물을 제공한다.
- [74] 본 발명은 진단제제 또는 검출제제가 결합된 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 필수적으로 구성되는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 진단용 조성물을 제공한다:

[75] [화학식 1]



- [77] 상기 식에서
- [78] R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 10의 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,
- [79] R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 10의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 알케닐 또는 탄소수 2 내지 10의 알키닐이며,
- [80] 상기 정의된 알킬, 알케닐, 알키닐 또는 알킬카보닐은 각각 방사성 동위원소를 포함하거나 또는 포함하지 않는다.
- [81]
- [82] 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 퇴행성 신경질환 또는 우울증 예방 또는 치료용 제제를 제조하기 위한 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 용도를 제공한다:
- [83] [화학식 1]
- [84]



[85] 상기 식에서

[86] R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 10의 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,

[87] R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 10의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 알케닐 또는 탄소수 2 내지 10의 알키닐이다.

[88]

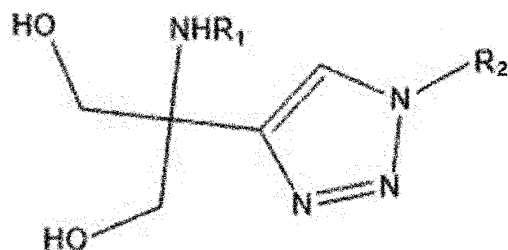
[89] 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 개체에 투여하는 것을 특징으로 하는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[90]

[91] 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 퇴행성 신경질환 또는 우울증 진단용 제제를 제조하기 위한 진단제제 또는 검출제제가 결합된 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 용도를 제공한다:

[92] [화학식 1]

[93]



[94] 상기 식에서

[95] R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 10의 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,

[96] R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 10의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 알케닐 또는 탄소수 2 내지 10의 알키닐이며,

[97] 상기 정의된 알킬, 알케닐, 알키닐 또는 알킬카보닐은 각각 방사성 동위원소를 포함하거나 또는 포함하지 않는다.

[98]

[99] 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 진단제제 또는 검출제제가 결합된 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한

염을 유효성분으로 포함하는 조성물의 유효량을 퇴행성 신경질환 또는 우울증이 의심되는 개체에 투여하는 단계를 포함하는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 진단 방법을 제공한다.

[100]

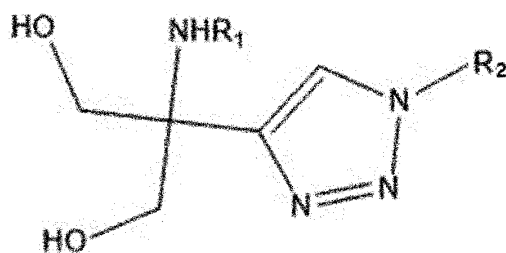
[101] 이하, 본 발명에 대하여 보다 상세히 설명한다.

[102]

[103] 본 발명은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 염을 제공한다:

[104] [화학식 1]

[105]



[106] 상기 식에서

[107] R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 10의 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,

[108] R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 10의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 알케닐 또는 탄소수 2 내지 10의 알키닐이다.

[109]

[110] 본 발명에서 상기 "알킬"은 탄소수 1 내지 10의 직쇄 또는 측쇄 탄화수소를 의미한다. 대표적인 알킬의 예는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소-프로필, n-부틸, 2급-부틸, 이소-부틸, 3급-부틸, n-펜틸, 이소펜틸, 네오펀틸, n-헥실, 3-메틸헥실, 2,2-디메틸펜틸, 2,3-디메틸펜틸, n-헵틸, n-옥틸, n-노닐 및 n-데실을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[111]

[112] 본 발명에서 사용된 용어 "카보닐"은 $-C(O)-$ 그룹을 의미한다.

[113] 본 발명에서 상기 "알킬카보닐"은 상기 정의된 바와 같은 카보닐 그룹을 통해 모분자 잔기에 결합된, 상기 알킬 그룹을 의미한다. 대표적인 알킬카보닐의 예는 아세틸, 1-옥소프로필, 2,2-디메틸-1-옥소프로필, 1-옥소부틸 및 1-옥소펜틸을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[114]

[115] 본 발명에서 상기 알킬카보닐이 "치환된" 알킬카보닐인 경우, 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로 및 아미노로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 치환기로 치환된 것일 수 있다.

[116]

[117] 본 발명에서 상기 "알케닐"은 2개의 수소의 제거로 형성된 하나 이상의

탄소-탄소 이중결합을 함유하는 탄소수 2 내지 10의 직쇄 또는 측쇄 탄화수소를 의미한다. 알케닐의 대표적인 예는 에테닐, 2-프로페닐, 2-메틸-2-프로페닐, 3-부테닐, 4-펜테닐, 5-헥세닐, 2-헵테닐, 2-메틸-1-헵테닐 및 3-데세닐을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[118]

[119] 본 발명에서 상기 "알킬닐"은 하나 이상의 탄소-탄소 삼중결합을 포함하는 탄소수 2 내지 10의 직쇄 또는 측쇄 탄화수소 그룹을 의미한다. 대표적인 알킬닐의 예는 아세틸레닐, 1-프로피닐, 2-프로피닐, 3-부티닐, 2-펜티닐 및 1-부티닐을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[120]

[121] 바람직하게는, 본 발명에서 상기 R_1 은 수소 또는 아세틸이고, 상기 R_2 는 탄소수 1 내지 10의 알킬일 수 있다. 더 바람직하게는, 본 발명에서 상기 R_1 은 수소이고, 상기 R_2 는 탄소수 4 내지 10의 알킬일 수 있다. 보다 더 바람직하게는, 본 발명에서 상기 R_1 은 수소이고, 상기 R_2 는 탄소수 6 내지 9의 알킬일 수 있다. 가장 바람직하게는, 본 발명에서 상기 R_1 은 수소이고, 상기 R_2 는 탄소수 9의 알킬일 수 있다

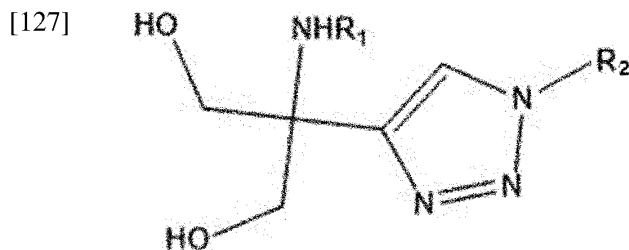
[122]

[123] 본 발명은 또한 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[124] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 구성되는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다

[125] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 필수적으로 구성되는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다:

[126] [화학식 1]



[128] 상기 식에서

[129] R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 10의 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,

[130] R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 10의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 알케닐 또는

탄소수 2 내지 10의 알킬일이다.

[131]

[132] 알츠하이머를 포함한 퇴행성 신경질환 환자의 뇌에서는 ASM의 발현이 정상인에 비해 현저히 증가되어 있으며, 과발현된 ASM의 발현을 저해하거나 ASM의 활성을 저해하면 아밀로이드- β (A β)의 축적이 억제되고 학습 및 기억력이 개선되어 퇴행성 신경질환의 치료효과가 나타날 수 있음이 보고된 바 있다(한국 등록특허 10- 1521117). 또한 최근 우울증과 같은 신경 질환에서 ASM의 활성이 증가되어 있으며 이러한 ASM의 억제는 우울증 완화 효과를 보인다는 보고가 있다(Nature medicine. 2013 Jul 19(7):934-938, PLoS One. 2016 Sep 6;11(9):e0162498). 따라서 ASM의 발현 또는 활성을 억제할 수 있는 물질은 신경퇴행성 질환 및 우울증을 포함한 질환들의 유용한 치료제로 개발될 수 있다.

[133]

[134] 본 발명의 일실시에 따르면, 상기 화학식 1의 화합물은 ASM의 활성을 억제하는 효과가 매우 우수하여, 알츠하이머 뇌 환경에서 A β 플라크를 감소시키고, 신경염증을 완화하는 등의 효과가 있어 알츠하이머를 포함하는 퇴행성 신경질환 또는 우울증의 예방 또는 치료제로 사용될 수 있음을 확인하였다.

[135]

[136] 본 발명의 다른 일실시에 따르면, 상기 화학식 1의 화합물은 알츠하이머 환자 섬유아세포에서 ASM 활성 부위에 결합하여 ASM의 활성을 직접적으로 억제할 수 있음을 확인하였다. 반면에, 상기 화학식 1의 화합물은 S1P(sphingosine-1-phosphate) 및 S1PR1(sphingosine-1-phosphate receptor 1) 억제 효과는 나타내지 않는 것으로 나타나 ASM을 특이적으로 억제시킬 수 있는 직접적 억제제임을 확인하였다.

[137]

[138] 본 발명의 약학적 조성물에 포함되는 상기 화학식 1의 화합물에서 상기 R₁은 바람직하게는 수소 또는 아세틸이고, 상기 R₂는 탄소수 1 내지 10의 알킬일 수 있다. 더 바람직하게는, 본 발명에서 상기 R₁은 수소이고, 상기 R₂는 탄소수 4 내지 10의 알킬일 수 있다. 가장 바람직하게는, 본 발명에서 상기 R₁은 수소이고, 상기 R₂는 탄소수 6 내지 9의 알킬일 수 있다.

[139]

[140] 본 발명의 일실시에 따르면, 상기 화학식 1에서 상기 R₂가 탄소수 10을 초과하는 알킬인 경우에는 탄소수 10 이하의 알킬인 경우와 비교해 화합물의 뇌 분포가 급격하게 저하될 뿐만 아니라, 인간 간 마이크로솜에 의한 대사가 급격하게 증가되는 것으로 확인이 되었다. 퇴행성 신경질환과 같은 뇌 질환 치료제를 개발함에 있어서 약물이 혈액-뇌 장벽(blood-brain barrier)을 통과해 뇌 영역에서 높은 분포를 나타내는 것이 매우 중요하다는 점 및 약물을 경구로 투여할 경우 간 초회 통과효과(first pass effect)를 거쳐야 하기 때문에 간에서의

대사 안정성이 경구투여 약물의 체내 분포를 좌우할 수 있을 정도로 매우 중요한 인자라는 점을 고려했을 때 상기 화학식 1에서 R_2 가 탄소수 10을 초과하는 것은 바람직하지 않다.

[141]

[142] 본 발명의 다른 일실시예에 따르면, 상기 화학식 1에서 상기 R_2 가 탄소수 10을 초과하는 알킬인 경우에는 탄소수 10 이하의 알킬인 경우와 비교해 ASM 활성 억제 효과, 뇌에서의 $A\beta$ 플라크 침착 감소 효과, 알츠하이머 동물 모델에서 기억력, 불안감, 우울증 개선 효과 및 뇌에서의 신경 염증 감소 효과가 저하되는 것으로 확인이 되었다. 따라서, 약리학적 활성 측면에서도 상기 화학식 1에서 R_2 가 탄소수 10을 초과하는 것은 바람직하지 않다.

[143]

[144] 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물뿐만 아니라, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이로부터 제조될 수 있는 가능한 용매화 물, 수화물, 라세미체, 또는 입체 이성질체를 모두 포함한다.

[145]

[146] 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물의 약학적으로 허용 가능한 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산, 아인산 등과 같은 무기산류, 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설포산류 등과 같은 무독성 유기산, 아세트산, 안식향산, 구연산, 젖산, 말레인 산, 글루콘산, 메탄설포산, 4-톨루엔설포산, 주석산, 푸마르산 등과 같은 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염의 종류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로젠 포스페이트, 디하이드로젠 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, 디니트로벤조에이트, 하이드록시 벤조에이트, 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, 만델레이트 등을 포함할 수 있다.

[147]

- [148] 본 발명에 따른 산 부가염은 통상의 방법, 예를 들면, 화학식 1로 표시되는 화합물을 과량의 산 수용액 중에 용해시키고, 이 염을 수산화성 유기 용매, 예를 들면 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조할 수 있다. 또한, 이 혼합물에서 용매나 과량의 산을 증발시켜서 건조하거나 또는 석출된 염을 흡입 여과시켜 제조할 수도 있다.
- [149]
- [150] 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, 비-용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다. 또한, 이에 대응하는 은염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 은염(예, 질산은)과 반응시켜 얻을 수 있다.
- [151]
- [152] 본 발명에서 상기 퇴행성 신경질환은, 당업계에서 스펅고지질 대상 이상 또는/및 ASM의 활성화 또는 발현의 증가가 병인(病因)으로 작용하는 신경질환이라면 그 종류가 특별히 제한되지 않으나, 예를 들어 알츠하이머병, 파킨슨병, 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 루이소체 질환, 파킨스-ALS-치매 복합증, 픽병, 뇌허혈 및 뇌경색으로 이루어진 군에서 선택될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [153]
- [154] 본 발명에서 우울증, 즉 우울 장애는 의욕 저하와 우울감을 주요 증상으로 하여 다양한 인지, 정신 및 신체적 증상을 일으켜 일상 기능의 저하를 가져오는 질환을 의미한다. 본 발명의 우울증은 당업계에 우울장애로 알려진 것이라면 그 세부 종류가 특별히 제한되지 않으나, 예를 들어 상기 우울증은 주요 우울 장애(MDD), 혈관치매성 우울증, 양극성 장애(이극성 장애), 단극성 우울증, 계절성 정동 장애(SAD), 경우울증, 기분부전증 또는 퇴행성 신경질환과 동반되는 우울증 등을 포함한다. 바람직하게 ASM 활성화의 비정상적 증가(활성 과잉)에 의한 우울증 일 수 있다.
- [155]
- [156] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 단독으로 함유하거나 약학적으로 허용되는 담체와 함께 적합한 형태로 제형화될 수 있으며, 부형제 또는 희석제를 추가로 함유할 수 있다. 상기에서 '약학적으로 허용되는'이란 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 통 상적으로 위장 장애, 현기증 등과 같은 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 비독성의 조성물을 말한다.

[157]

[158] 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 당업계에 공지되어 있는 것을 참고로 할 수 있다.

[159]

[160] 본 발명의 조성물은 인간을 비롯한 포유동물에 어떠한 방법으로도 투여할 수 있다. 예를 들면, 경구 또는 비경구적으로 투여할 수 있다. 비경구적인 투여방법으로는 이에 한정되지는 않으나, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 정맥내, 심장내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장내 투여일 수 있다.

[161]

[162] 본 발명의 일실시예에 따르면, 본 발명의 상기 화학식 1의 화합물은 생체이용률(Bioavailability)이 매우 우수할 뿐만 아니라, 사람 간 마이크로좀에 의한 대사 안정성도 종래 보고된 ASM 저해제와 비교해 극적으로 향상된 것으로 확인되었다. 따라서, 바람직하게는 본 발명의 상기 약학적 조성물은 경구 투여용 약학적 조성물일 수 있다.

[163]

[164] 본 발명의 약학적 조성물은 상술한 바와 같은 투여 경로에 따라 경구 투여용 또는 비경구 투여용 제제로 제형화 할 수 있다. 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 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨 및 말티톨 등을 포함하는 당류와 옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분 및 감자 전분 등을 포함하는 전분류, 셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스 및 하이드록시프로필 메틸-셀룰로스 등을 포함하는 셀룰로스 류, 젤라틴, 폴리비닐피롤리돈 등과 같은 충전제가 포함될 수 있다. 또한, 경우에 따라 가교결합 폴리비닐피롤리돈, 한천, 알긴산 또는 나트륨

알기네이트 등을 붕해제로 첨가할 수 있다. 나아가, 본 발명의 약학적 조성물은 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 및 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[165]

[166] 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 공지되어 있다.

[167]

[168] 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 환자 체중 1kg 당 약 $0.01\mu\text{g}$ 내지 10,000mg, 가장 바람직하게는 $0.1\mu\text{g}$ 내지 100mg일 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 배설율 등 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.

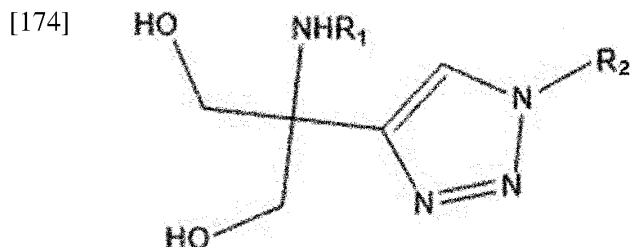
[169]

[170] 본 발명은 또한 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[171] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 구성되는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 개선용 식품 조성물을 제공한다.

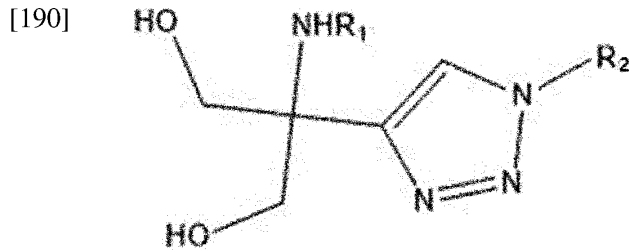
[172] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 필수적으로 구성되는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 개선용 식품 조성물을 제공한다:

[173] [화학식 1]



- [175] 상기 식에서
- [176] R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 10의 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,
- [177] R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 10의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 알케닐 또는 탄소수 2 내지 10의 알키닐이다.
- [178]
- [179] 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.
- [180] 예를 들면, 건강식품으로는 본 발명의 식품용 조성물 자체를 차, 주스 및 드링크의 형태로 제조하여 음용하도록 하거나, 과립 화, 캡슐화 및 분말화하여 섭취할 수 있다. 또한 본 발명의 식품용 조성물은 퇴행성 신경질환 또는 우울증 예방, 개선 또는 치료 효과가 있다고 알려진 공지의 물질 또는 활성 성분과 함께 혼합하여 조성물 의 형태로 제조할 수 있다.
- [181]
- [182] 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, 소시지 콘비이프 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.
- [183]
- [184] 본 발명에 따른 식품용 조성물의 바람직한 함유량으로는 이에 한정되지 않지만 바람직하게는 최종적으로 제조된 식품 총 중량 중 0.01 내지 50 중량% 이다. 본 발명의 식품용 조성물을 식품첨가제의 형태로 사용하기 위해서는 분말 또는 농축액 형태로 제조하여 사용할 수 있다.
- [185]
- [186] 본 발명은 또한 진단제제 또는 검출제제가 결합된 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 진단용 조성물을 제공한다.
- [187] 또한, 본 발명은 진단제제 또는 검출제제가 결합된 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 구성되는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 진단용 조성물을 제공한다.
- [188] 또한, 본 발명은 진단제제 또는 검출제제가 결합된 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 필수적으로 구성되는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 진단용 조성물을 제공한다:

[189] [화학식 1]



[191] 상기 식에서

[192] R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 10의 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,

[193] R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 10의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 알케닐 또는 탄소수 2 내지 10의 알키닐이며,

[194] 상기 정의된 알킬, 알케닐, 알키닐 또는 알킬카보닐은 각각 방사성 동위원소를 포함하거나 또는 포함하지 않는다.

[195]

[196] 의학 영상 검사는 환자의 진단 및 치료에 기여하는 바가 크다. 최근에는 리포터 유전자 기술이 도입되면서 생체 내에서 분자 수준, 세포 수준의 변화를 영상화할 수 있는 분자 영상이 주목받게 되었다. 분자 영상은 살아있는 유기물의 세포 또는 분자 단위에서 생명 현상을 비침습적인 방법으로 영상화하는 것으로서, 질병에 따른 해부학적 변화가 일어나지 않은 초기 상태에 미세한 기능상의 차이를 영상화하여 질병의 진단에 도움을 줄 수 있다. 따라서 분자 영상은 질병 전 상태를 조기에 발견 치료하며, 치료 약제 개발에 있어 새로운 가능성을 제시하고, 치료 후 반응을 조기에 평가하여 치료에 따른 독성을 최소화하면서 각 환자에게 적합한 맞춤 치료가 이루어지도록 한다.

[197]

[198] 이러한 영상을 얻는 검사법으로서 본 발명의 상기 진단용 조성물은 방사성 원소를 이용한 단일 광자 단층 촬영술(single photon emission computed tomography, SPECT)과 양전자 단층 촬영술(positron emission tomography, PET) 등의 영상 촬영에서 탐침자로 활용이 될 수 있다. SPECT, PET와 같은 핵의학 기법을 이용한 분자 영상은 중추신경계의 기능을 평가하기 위하여 매우 빠른 속도로 발전하였고, 실제로 기초 의학 연구와 임상에 있어 유용한 기술이다. 특히 알츠하이머병과 같은 퇴행성 신경질환의 원인 물질을 영상화하기 위한 PET용 방사성 탐침자를 개발하기 위한 연구가 활발하게 진행되고 있다.

[199]

[200] 본 발명의 일실시예에 따르면, 상기 화학식 1의 화합물은 알츠하이머, 다발성 경화증과 같은 퇴행성 신경질환 환자의 뇌에서 발현이 증가되는 것으로 알려진 ASM 단백질(Neurobiology of Aging 31 (2010) 398-408, SCIENTIFIC

REPORT(2018) 8:3071)에 특이적 및 직접적으로 결합하는 활성이 매우 우수함이 확인되었다.

[201]

[202] 따라서, 진단제제 또는 검출제제가 결합된 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 생체 내(in vivo)에 직접 투여하거나 또는 생체 외(in vitro) 생물학적 물질로서 생체조직 샘플, 혈장액 또는 체액에 처리하여 ASM 단백질을 추적, 정량하기 위한 진단 물질로서 유용하게 활용이 될 수 있으며, 더 나아가 ASM의 과다 발현으로 야기되는 퇴행성 신경질환을 진단하기 위한 진단물질로서 유용하게 활용이 될 수 있다.

[203]

[204] 본 발명에서 상기 진단제제/검출제제의 비제한적인 예로는 방사성동위원소, 염료(예를 들어, 비오틴(biotin)-스트렙타비딘(streptavidin) 복합체), 조영제, 형광화합물 또는 형광단백질 및 MRI(magnetic resonance imaging) 조영 증강제(상자성 이온)를 포함한다. 바람직하게, 진단제제는 방사성동위원소, MRI(magnetic resonance imaging) 조영증강제, 및 형광화합물을 포함한다. 본 발명의 상기 화학식 1의 화합물과 방사성 금속 또는 상자성 이온과 부하하기 위해, 이온을 결합하는 킬레이트기의 다수와 부착된 긴 꼬리를 갖는 반응물과 반응하는 것이 필요할 수도 있다. 상기의 꼬리는 폴리리신, 폴라사카라이드와 같은 고분자, 또는 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA), 디에틸렌트리아민펜타아세트산(DTPA; di ethylenetriaminepentaacetic acid), 포르피린(porphyrin), 폴리아민, 크라운 에테르, 비스-티오세미카르바존(thiosemicarbazone), 폴리옥심(polyoximes)과 같은 킬레이트기와 결합될 수 있는 펜던트기를 갖고 상기 목적에 유용하다고 알려진 기를 갖는 유도화되거나 유도될 수 있는 사슬일 수 있다. 킬레이트는 표준화학을 사용하여 상기 화학식 1의 화합물에 결합될 수 있다. 킬레이트는 정상적으로 면역반응성의 최소 손실과 최소 집합체 및/또는 내부 교차연결로 분자에 결합을 형성할 수 있는 기에 의해 상기 화학식 1의 화합물에 연결될 수 있다.

[205]

[206] 상기 진단 및 검출을 위한 형광물질로는 로다민, 알렉사 유도체, 시아닌 유도체, FAM, TAMRA, FITC, PE, PerCP, APC, 쿠마린 또는 이들의 유도체 등의 형광화합물 또는 GFP, eGFP, CFP, eCFP, YFP, RFP 등의 형광단백질일 수 있으나 이에 제한되지 않는다. 바람직하게는 Cy3, Cy3.5, Cy5, Cy5.5 및 Cy7 등의 시아닌 유도체 일 수 있다. 상기 형광물질은 직접 또는 링커를 통해 본 발명의 상기 화학식 1의 화합물에 결합할 수 있다.

[207]

[208] 특히, 유용한 금속-킬레이트 조합은 진단성 동위원소와 60 내지 4,000 keV의 일반적인 에너지 범위에서 사용되는 2-벤질-DTPA 및 이의 모노 메틸 및 시클로헥실 유사체를 포함하고, 예를 들어 영상화제 및/또는 치료제로 사용되는

방사성동위원소로는 ^{125}I , ^{131}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{82}Rb , ^{177}Lu , ^{18}F , ^{153}Sm , ^{213}Bi , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{89}Sr , ^{169}Er , ^{192}Ir , ^{111}In , ^{90}Y , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, $^{94\text{m}}\text{Tc}$, ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{76}Br 등이 있다. 비-방사성 금속 중 망간(Mn), 철(Fe) 및 가돌리늄(Gd)과 같은 대표적인 전이금속 이온은 상자성 물질로서 MRI에 유용하다. 그러나 상기 이온들 및 방사성 동위원소는 자체 독성이 강하므로 킬레이트제 등과 복합화하여 사용할 수 있다. 상기 킬레이트제로는 금속의 종류에 따라, DTPA, NOTA, DOTA, MS325, HPDO3A, EDTA, NTA 및 TETA와 같은 거대고리(macrocyclic) 킬레이트제와 복합화할 수 있으며, 상기 복합체는 본 발명의 상기 화학식 1의 화합물에 결합시켜 사용될 수 있다. 바람직하게는 갈륨, 이트륨(yttrium) 및 구리의 방사성핵종과 각각 사용될 수 있고, 상기 금속-킬레이트 복합체는 대상의 금속에 고리크기를 맞춤으로써 매우 안정하게 제조될 수 있다. RAIT(radiation and imaging technology)에 사용되는 ^{223}Ra 와 같은 핵종과 안정하게 결합하는데 유용한 거대고리 폴리에테르류와 같은 고리형 킬레이트 또한 본 발명의 범주에 포함될 수 있다.

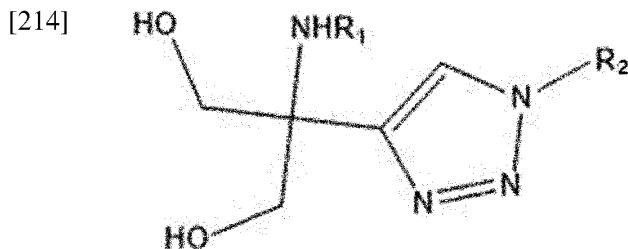
[209]

[210] 한편, 본 발명의 상기 화학식 1의 화합물에 진단제제 또는 검출제제가 결합이 되지 않을 경우에는, 상기 알킬, 알케닐, 알키닐 또는 알킬카보닐의 탄소원자가 방사성 동위원소 [^{14}C]일 수 있다.

[211]

[212] 본 발명은 퇴행성 신경질환 또는 우울증 예방 또는 치료용 제제를 제조하기 위한 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 용도를 제공한다:

[213] [화학식 1]



[215] 상기 식에서

[216] R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 10의 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,

[217] R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 10의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 알케닐 또는 탄소수 2 내지 10의 알키닐이다.

[218]

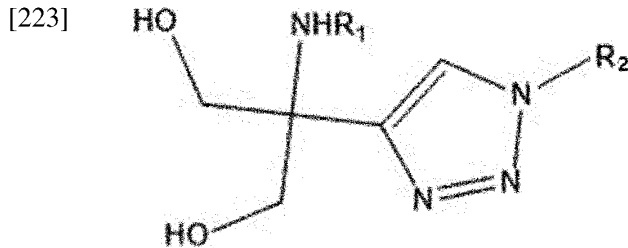
[219] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 개체에

투여하는 단계를 포함하는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[220]

[221] 본 발명은 퇴행성 신경질환 또는 우울증 진단용 제제를 제조하기 위한 진단제제 또는 검출제제가 결합된 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 용도를 제공한다:

[222] [화학식 1]



[224] 상기 식에서

[225] R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 10의 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,

[226] R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 10의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 알케닐 또는 탄소수 2 내지 10의 알키닐이며,

[227] 상기 정의된 알킬, 알케닐, 알키닐 또는 알킬카보닐은 각각 방사성 동위원소를 포함하거나 또는 포함하지 않는다.

[228]

[229] 또한, 본 발명은 진단제제 또는 검출제제가 결합된 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 조성물의 유효량을 퇴행성 신경질환 또는 우울증이 의심되는 개체에 투여하는 단계를 포함하는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 진단 방법을 제공한다.

[230]

[231] 본 발명의 상기 ‘유효량’이란 개체에게 투여하였을 때, 퇴행성 신경질환 또는 우울증의 개선, 치료, 예방, 검출, 진단 또는 퇴행성 신경질환 또는 우울증의 억제 또는 감소 효과를 나타내는 양을 말하며, 상기 ‘개체’란 동물, 바람직하게는 포유동물, 특히 인간을 포함하는 동물일 수 있으며, 동물에서 유래한 세포, 조직, 기관 등일 수도 있다. 상기 개체는 상기 효과가 필요한 환자(patient)일 수 있다.

[232] 본 발명의 상기 ‘치료’는 퇴행성 신경질환 또는 우울증, 또는 퇴행성 신경질환 또는 우울증의 증상을 개선시키는 것을 포괄적으로 지칭하고, 이는 퇴행성 신경질환 또는 우울증을 치유하거나, 실질적으로 예방하거나, 또는 상태를 개선시키는 것을 포함할 수 있으며, 퇴행성 신경질환 또는 우울증으로부터 비롯된 한 가지 증상 또는 대부분의 증상을 완화시키거나, 치유하거나 예방하는 것을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[233]

[234] 본 발명의 용어 ‘~을 포함하는(comprising)’이란 ‘함유하는’ 또는 ‘특징으로 하는’과 동일하게 사용되며, 조성물 또는 방법에 있어서, 언급되지 않은 추가적인 성분 요소 또는 방법 단계 등을 배제하지 않는다. 용어 ‘~로 구성되는(consisting of)’이란 별도로 기재되지 않은 추가적인 요소, 단계 또는 성분 등을 제외하는 것을 의미한다. 용어 ‘필수적으로 구성되는(consisting essentially of)’이란 조성물 또는 방법의 범위에 있어서, 기재된 성분 요소 또는 단계와 더불어 이의 기본적인 특성에 실질적으로 영향을 미치지 않는 성분 요소 또는 단계 등을 포함하는 것을 의미한다.

[235]

발명의 효과

[236] 본 발명의 화학식 1의 ASM 억제 화합물은 ASM 단백질에 직접 결합하여 ASM을 억제하는 효과가 탁월하고, 알츠하이머 뇌환경에서 A β 플라크 감소, 신경염증 완화, 기억력 및 불안증 개선 등의 치료효과가 있으며, 뇌에서의 분포가 매우 높고, 간 마이크로좀에 의한 대사 안정성이 매우 뛰어나 알츠하이머병을 포함하는 퇴행성 신경질환 예방 또는 치료제, 및 퇴행성 신경질환 진단용 조성물 개발에 매우 유용하게 사용될 수 있다. 또한, ASM의 억제는 우울증 완화에 효과적이라는 종래 보고와 같이, 본 발명의 화학식 1의 ASM 신규 억제화합물은 우울증을 포함하는 신경 질환의 예방 또는 치료제로서도 유용하게 사용될 수 있다.

[237]

도면의 간단한 설명

[238] 도 1은 ASM 억제 화합물의 구조식으로서 각 물질명과 화합물은 다음과 같다:

[239] 물질명 SCNPA501, 화합물명

2-아미노-2-(1-헥실-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올,

[240] 물질명 SCNPA401, 화합물명

2-아미노-2-(1-헵틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올,

[241] 물질명 SCNPA301, 화합물명

2-아미노-2-(1-옥틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올,

[242] 물질명 SCNPA201, 화합물명

2-아미노-2-(1-노나닐-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올,

[243] 물질명 SCNPA101, 화합물명

2-아미노-2-(1-도데실-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올이다.

[244]

[245] 도 2a 및 도 2b는 알츠하이머 환자 섬유아세포(PS1 fibroblast)에 ASM 억제 화합물 및 FTY720을 처리한 후 나타나는 ASM 활성 변화(도 2a)와 ASM에 의해 생성되는 생성물인 Ceramide(도 2b)의 양을 나타낸 도이다 (n=6/그룹).

- [246]
- [247] 도 3a 및 도 3b는 ASM 억제 화합물이 ASM의 활성을 50% 억제할 수 있는 농도(도 3a)와 ASM 활성부분에 직접적으로 결합하는 그림 및 이에 대한 결합에너지(도 3b)를 수치화한 도이다.
- [248]
- [249] 도 4a 내지 도 4c는 ASM 억제 화합물이 Sphk 활성 억제(도 4a) 및 S1P 억제 여부(도 4b)와 S1P 리셉터 1(S1PR1)의 발현 감소(도 4c)를 유도하는지 확인하는 도이다 (n=3-5/그룹).
- [250]
- [251] 도 5a 및 도 5b는 ASM 억제 화합물인 SCNPA501, SCNPA201, SCNPA101의 약물동태시험 분석에 대한 도이다.
- [252] 도 5a는 정상 마우스에 ASM 억제 화합물인 SCNPA501, SCNPA201, SCNPA101를 구강(p.o. 10 mg/kg) 또는 정맥 투여(i.v. 1 mg/kg) 후 시간대 별로 혈중 남아있는 농도를 나타낸 그래프이다(n=3/그룹).
- [253] 도 5b는 정상 마우스에 ASM 억제 화합물인 SCNPA501, SCNPA201, SCNPA101를 구강(p.o. 10 mg/kg) 또는 정맥 투여(i.v. 1 mg/kg) 후 혈중 내 약물 동태시험 분석 결과이다(n=3/그룹).
- [254]
- [255] 도 6a 및 도 6b는 ASM 억제 화합물인 SCNPA501, SCNPA201, SCNPA101의 in vivo 주입 후 뇌 분포에 대한 약물동태시험 분석에 대한 도이다 (n=3/그룹).
- [256] 도 6a는 정상 마우스에 ASM 억제 화합물인 SCNPA501, SCNPA201, SCNPA101를 구강(p.o. 10 mg/kg) 투여 후 시간대 별로 뇌에 남아있는 농도를 나타낸 결과(좌)와 24시간 후 뇌, 간, 신장, 심장에 남아있는 농도를 나타낸 결과(우)이다(n=3/그룹).
- [257] 도 6b는 ASM 억제 화합물인 SCNPA501, SCNPA201, SCNPA101의 in vivo 주입 후 뇌 분포에 대한 약물동태시험 분석 결과이다(n=3/그룹).
- [258]
- [259] 도 7a 및 도 7b는 ASM 억제 화합물인 SCNPA501, SCNPA201, SCNPA101의 사람 또는 마우스 간 마이크로솜에서 안전성을 나타낸 도이다.
- [260] 도 7a는 사람 또는 마우스의 간 마이크로솜에 ASM 억제 화합물인 SCNPA501, SCNPA201, SCNPA101 처리한 후 시간대별로 남아있는 양의 퍼센트를 나타낸 도이다(n=3/그룹).
- [261] 도 7b는 사람 또는 마우스의 간 마이크로솜에 ASM 억제 화합물인 SCNPA501, SCNPA201, SCNPA101 처리한 후 30분 뒤에 남아있는 양의 퍼센트 및 반감기를 나타낸 결과이다(n=3/그룹).
- [262]
- [263] 도 8은 ASM 억제 화합물인 SCNPA201, SCNPA101 또는 FTY720의 주입에 의한 ASM 억제가 알츠하이머병에 미치는 영향을 알아보기 위하여 수행한 실험의

개요를 나타낸 도이다.

[264]

[265] 도 9a 및 도 9b는 알츠하이머 동물 모델에 ASM 억제 화합물인 SCNPA201, SCNPA101 또는 FTY720 투여 후 마우스의 혈청(도 9a) 및 뇌조직(도 9b)에서 ASM 농도 변화를 나타낸 도이다 (n=4~6/그룹) (WT: 야생형, APP/PS1: 알츠하이머 동물모델).

[266]

[267] 도 10은 ASM 억제 화합물인 SCNPA201, SCNPA101 또는 FTY720를 투여한 알츠하이머 동물 모델의 뇌 수질 및 해마에서 티오플라빈 S(ThioS, 원섬유성 아밀로이드 베타 플라그)의 면역형광염색 및 원섬유성 아밀로이드 베타 플라그가 차지하고 있는 면적을 정량화한 결과이다 (n=3-4/그룹)(WT: 야생형, APP/PS1: 알츠하이머 동물모델).

[268]

[269] 도 11a 및 도 11b는 ASM 억제 화합물인 SCNPA201, SCNPA101 또는 FTY720를 투여한 알츠하이머 동물 모델의 뇌 수질 또는 해마에서 A β 40(도 11a) 혹은 A β 42(도 11b)의 축적을 면역형광염색 및 이를 정량화하여 나타낸 결과이다 (n=3-4/그룹)(WT: 야생형, APP/PS1: 알츠하이머 동물모델).

[270]

[271] 도 12a 내지 도 12c는 ASM 억제 화합물인 SCNPA201, SCNPA101 또는 FTY720를 투여 한 알츠하이머 동물 모델에서 학습 및 인지기능의 회복 정도를 나타내는 결과이다 (야생형 마우스 (n=8), ASM 억제 화합물인 SCNPA201 음수공급한 APP/PS1 마우스 (n=7), ASM 억제 화합물인 SCNPA101 음수공급한 APP/PS1 마우스 (n=8), FTY720를 음수공급한 APP/PS1 마우스 (n=7) 혹은 공급하지 않은 APP/PS1 마우스 (n=8)).

[272]

도 12a는 야생형 마우스, ASM 억제 신규 화합물인 SCNPA201 음수공급한 APP/PS1 마우스, ASM 억제 신규 화합물인 SCNPA101 음수공급한 APP/PS1 마우스, FTY720를 음수공급한 APP/PS1 마우스 혹은 공급하지 않은 APP/PS1 마우스에서 모리스 워터메이즈 테스트를 통한 학습 및 기억력을 평가한 결과이다.

[273]

도 12b는 시험 11일째에 표적 플랫폼에서 머무른 시간을 나타낸 결과이다.

[274]

도 12c는 시험 11일째에 표적 플랫폼의 타겟 지역 내로 들어간 횟수를 나타낸다.

[275]

[276] 도 13a 및 도 13b는 ASM 억제 화합물인 SCNPA201, SCNPA101 또는 FTY720를 투여한 알츠하이머 동물 모델에서 활동성 및 불안감을 호전시켰음을 나타내는 결과이다(야생형 마우스 (n=8), ASM 억제 화합물인 SCNPA201 음수공급한 APP/PS1 마우스 (n=7), ASM 억제 화합물인 SCNPA101 음수공급한 APP/PS1 마우스 (n=8), FTY720를 음수공급한 APP/PS1 마우스 (n=7) 혹은 공급하지 않은

APP/PS1 마우스 (n=8)).

- [277] 도 13a는 오픈필드 테스트 동안에 마우스가 벽면 및 중심부에서 소요한 시간과 중심부의 비율을 나타낸 결과이다.
- [278] 도 13b는 dark & light 테스트 동안에 마우스가 어두운 곳 및 밝은 곳에서 소요한 시간을 측정한 결과와 테스트 동안에 마우스가 어두운 곳과 밝은 곳을 왕복한 횟수, 마우스가 최초로 어두운 곳에서 밝은 곳으로 옮겨간 시간을 측정한 결과이다.
- [279]
- [280] 도 14a 및 도 14b는 알츠하이머 동물 모델에서 증가된 신경염증이 ASM 억제 화합물인 SCNPA201 주입에 의해 감소됨을 확인한 결과이다 (WT: 야생형, AD: 알츠하이머 동물모델(APP/PS1 마우스)).
- [281] 도 14a는 야생형 마우스, ASM 억제 화합물인 SCNPA201, SCNPA101 또는 FTY720를 투여한 알츠하이머 동물 모델의 뇌 수질에서 별아교세포(GFAP)의 퍼센트를 정량화한 결과이다 (n=3-4/그룹).
- [282] 도 14b는 ASM 억제 화합물인 SCNPA201, SCNPA101 또는 FTY720를 투여한 알츠하이머 동물 모델의 뇌 수질에서 염증성 마커(TNF- α , IL-1 β , IL-6)의 mRNA 발현수준을 평가한 결과이다 (n=3-4/그룹).
- [283]

발명의 실시를 위한 형태

- [284] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.
- [285] 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[286]

실험재료 및 실험방법

[288] 0. 화합물의 합성

[289] 물질명 SCNPA501, 화합물명

2-아미노-2-(1-헥실-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올,

[290] 물질명 SCNPA401, 화합물명

2-아미노-2-(1-헵틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올,

[291] 물질명 SCNPA301, 화합물명

2-아미노-2-(1-옥틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올,

[292] 물질명 SCNPA201, 화합물명

2-아미노-2-(1-노나닐-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올, 및

[293] 물질명 SCNPA101, 화합물명

2-아미노-2-(1-도데실-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올은 하기 일련의

공정을 통해 제작하였으며, 그 예로, 물질명 SCNPA201, 화합물명

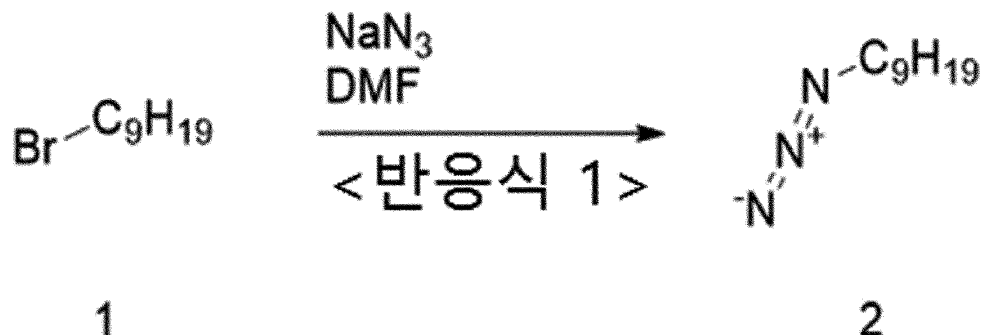
2-아미노-2-(1-노나닐-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올의 상세한 제작

과정은 아래와 같다.

[294]

[295] **0-1. 반응식 1, 1-아지도노난(1-azidononane) 합성**

[296]



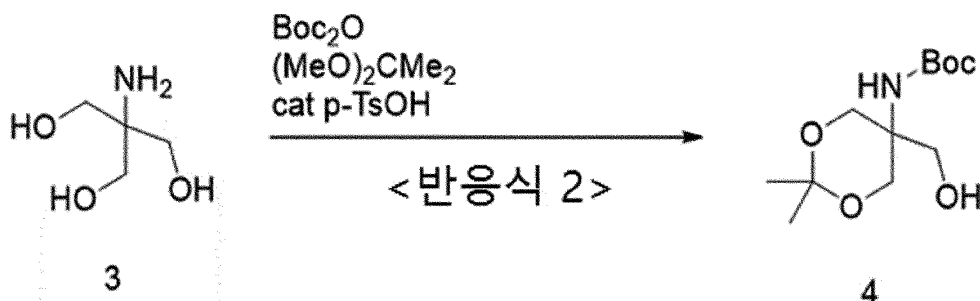
[297] 반응식 1의 1-아지도노난을 합성하기 위해, DMF(200 ml) 중 화학식 1의 1-브로모노난(20g, 96mmole)의 용액에 소듐아자이드(12.6g, 190mmol, 2eq)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 3일 동안 교반하고 EA(30ml)/n-헥산(100ml)으로 희석시켰다. 혼합물을 H₂O(600ml x 2)로 세척하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고, 농축시켜 화학식 2의 1-아지도노난(16g, 98 %)을 수득하였다.

[298] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 3.25 (t, 2H), 1.59 (pentet, 2H,), 1.37-1.24 (m, 15H), 0.88 (t, 3H)

[299]

[300] **0-2. 반응식 2, 2-아미노-2-(하이드록시메틸)프로판-1,3-디올(2-amino-2-(hydroxymethyl)propane-1,3-diol) 합성**

[301]



[302] 반응식 2의 2-아미노-2-(하이드록시메틸)프로판-1,3-디올을 합성하기 위해, DMF(500ml) 중 화학식 3의 트리스(하이드록시메틸)아미노-메탄(25.0g, 0.206mol)의 현탁액에 Boc₂O(49.5g, 1.1eq)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반한 후, 2,2-다이메톡시프로판 (30.4ml, 1.2eq) 및 p-TsOH, H₂O (2.0g, 0.05eq)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 시간 동안 교반하고 Et₂O (500ml)로 희석시켰다. 유기층을 포화된 NaHCO₃ 용액 (300ml) 및 염수 (200ml)로 세척하였다. 유기층을 MgSO₄상에서 건조시키고 농축시켰다. 잔류물을 n-헥산으로 결정화하여 화학식 4인 *tert*-부틸 5-(하이드록시메틸)-2,2-디메틸-1,3-디옥산-5-일카르바메이트를 백색 고체로서

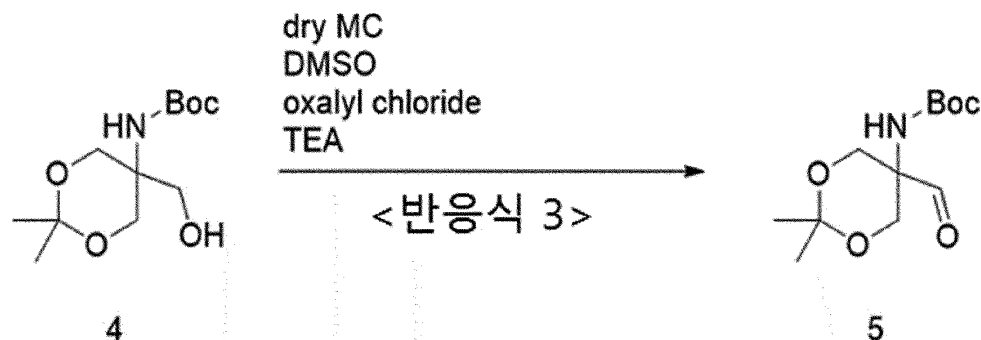
수득하였다 (32.0g, 59.4%).

[303] ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 5.32 (s, 1H), 3.86-3.80 (m, 4H), 3.73 (s, 2H), 3.68 (s, 1H), 1.46-1.44 (m, 15H)

[304]

[305] **0-3. 반응식 3, *tert*-부틸 5-포르밀-2,2-디메틸-1,3-디옥산-5-일카르바메이트(*tert*-butyl 5-formyl-2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-ylcarbamate) 합성**

[306]



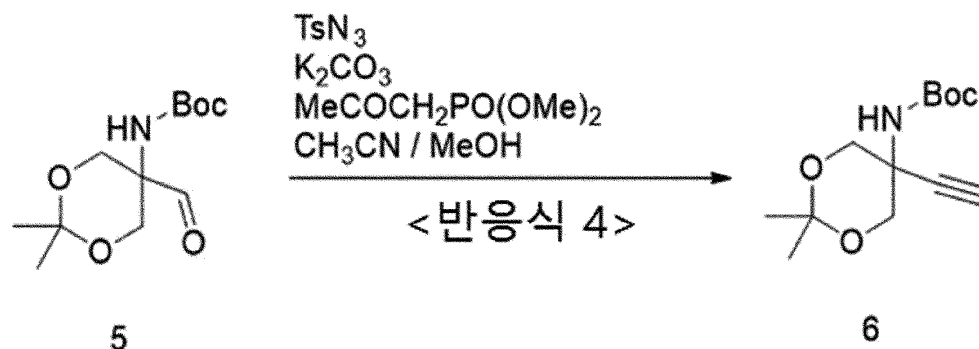
[307] 반응식 3의 *tert*-부틸 5-포르밀-2,2-디메틸-1,3-디옥산-5-일카르바메이트를 합성하기 위해, 먼저 -78°C에서 건조 MC(340ml) 중 옥살릴클로라이드(33.4 ml, 3.17eq)의 용액에 DMSO(43.7ml, 5 eq)를 혼합하였다. 혼합물을 15분 동안 교반한 다음, 무수 MC(340ml) 중 화학식 4의 *tert*-부틸 5-(히드록시메틸)-2,2-디메틸-1,3-디옥산-5-일카르바메이트(32.0g, 0.123mol)를 혼합하였다. 혼합물을 2 시간 동안 교반한 후, Et₃N(171 ml, 10 eq)을 첨가하였다. 혼합물을 10 분 동안 교반한 다음, 냉각 조를 제거하고, 혼합물을 실온으로 두었다. 담갈색 현탁액을 EA(300ml)로 희석하고 10% NH₄OH(1,500 ml)로 세척하였다. 유기층을 농축시키고, 잔류물을 EA/n-헥산 = 1/10으로 용출시키는 SiO₂ 칼럼 크로마토그래피에 적용하여 화학식 5의 *tert*-부틸 5-포르밀-2,2-디메틸-1,3-디옥산-5-일카르바메이트(15.0g, 47.2%)를 백색 고체로서 수득하였다

[308] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 9.64 (s, 1H), 5.56 (s, 1H), 4.07 (d, 2H, J=12.0 Hz), 3.95 (d, 2H, J=12.0 Hz), 1.47 (s, 15H)

[309]

[310] **0-4. 반응식 4, *tert*-부틸 5-에티닐-2,2-디메틸-1,3-디옥산-5-일카르바메이트(*tert*-butyl 5-ethynyl-2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-ylcarbamate) 합성**

[311]



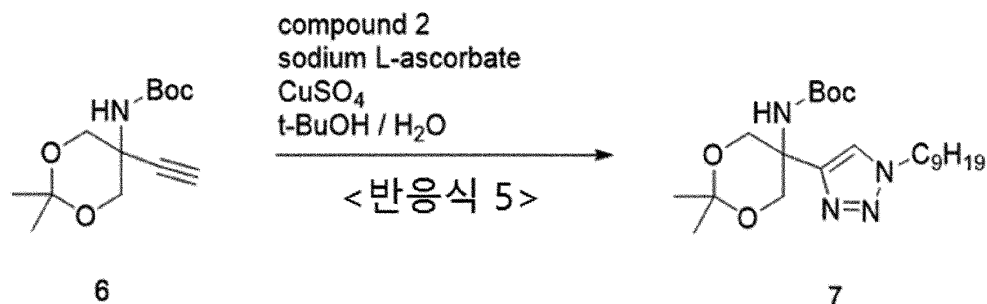
[312] 반응식 4의 *tert*-부틸 5-에티닐-2,2-디메틸-1,3-디옥산-5-일카르바메이트를 합성하기 위해, K_2CO_3 (3.0g, 2.25eq) 및 *p*-톨루엔술포닐아지드(톨루엔 중 14 % 용액, 15.8ml, 1.05eq)이 포함된 아세트니트릴 (50ml) 현탁액에 디메틸-2-옥소프로필-포스포네이트(1.6g, 1.02eq) *mℓ*을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2.5 시간 동안 격렬하게 교반 하였다. 메탄올(40ml)에 포함된 화학식 5의 *tert*-부틸 5-포르밀-2,2-디메틸-1,3-디옥산-5-일카르바메이트(2.5g, 9.64mmol)의 용액을 첫 반응 혼합물에 첨가하였다. K_2CO_3 (2.7g, 2.06eq) 첨가 후, 혼합물을 1.5시간 동안 교반하고, 감압 하에 농축시키고, 잔류물을 MC(200ml) 및 H_2O (200ml)로 희석시켰다. 유기층을 H_2O (200ml)로 세척하고, MgSO_4 상에서 건조시키고 감압하에 농축시켰다. 잔류물을 EA/*n*-헥산 = 1/9로 용리하면서 SiO_2 칼럼 크로마토그래피에 적용하여 화학식 6의 *tert*-부틸 5-에티닐-2,2-디메틸-1,3-디옥산-5-일카르바메이트(2.3g, 93.4 %)를 백색 고체로서 수득하였다.

[313] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 5.15 (s, 1H), 4.05-3.95 (m, 4H), 2.43 (s, 1H), 1.48-1.38 (m, 15H)

[314]

[315] **0-5. 반응식 5, *tert*-부틸 5-(1-노나닐-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)-2,2-디메틸-1,3-디옥산-5-일카르바메이트(*tert*-butyl 5-(1-nonanyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-ylcarbamate) 합성**

[316]



[317] 반응식 5의 *tert*-부틸 5-(1-노나닐-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)-2,2-디메틸-1,3-디옥산-5-일카르바메이트를

합성하기 위해, 화학식 6의 *tert*-부틸

5-에티닐-2,2-디메틸-1,3-디옥산-5-일카르바메이트(6.7g, 26mmol), 반응식 1의 1-아지도노난(4.89g, 29 mmol), 나트륨 L (6.76g, 34mmol), t-BuOH(100ml) 및 H₂O(214ml)의 용액에 CuSO₄·5H₂O (2.62g, 10mmol)를 첨가하였다. 2상 용액을 실온에서 18시간 동안 공기 중에서 교반하고, H₂O(300ml) 및 MC(100ml)로 희석시켰다. 유기층을 MgSO₄ 상에서 건조시키고 감압하에 농축시켰다.

잔류물을 n-헥산으로 결정화하여 화학식 7의 *tert*-부틸

5-(1-노나닐-1H-1,2,3-트리아졸

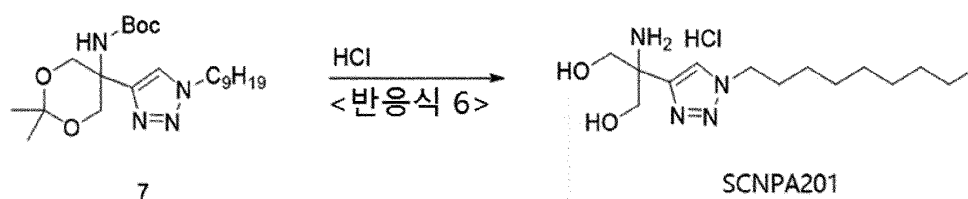
-4-일)-2,2-디메틸-1,3-디옥산-5-일카르바메이트(9.7g, 87.8%)을 백색 고체로서 수득하였다

[318] ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 7.64 (s, 1H), 5.64 (s, 1H), 4.37 (br, 2H), 4.32 (t, 2H), 4.13 (d, 2H), 1.9 (m, 2H), 1.55 (s, 3H), 1.51 (s, 3H), 1.43 (s, 9H), 1.32-1.25 (m, 12H), 0.88 (t, 3H)

[319]

[320] **0-6. 반응식 6, 2-아미노-2-(1-노나닐-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올 (2-amino-2-(1-nonanyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)propane-1,3-diol hydrochloride) 합성**

[321]



[322] 반응식 6의 SCNPA201인 2-아미노-2-(1-노나닐-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올을 합성하기 위해, 화학식 7의 *tert*-부틸 5-(1-노나닐-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)-2,2-디메틸-1,3-디옥산-5-일카르바메이트(9.7g, 20mmol)을 진한 HCL(37.9ml)과 에탄올(380ml)과 혼합하고, 40°C에서 6시간 동안 교반한 후 감압하에 농축시켰다. 잔류물을 아세톤에서 재결정화하여 2-아미노-2-(1-노나닐-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올을 백색 고체로서 수득하였다 (5g, 71.2%). 상기 수득된 SCNPA201은 도 1에서 보는 바와 같은 구조식을 지니며, 분자량 284.4이다.

[323] ¹H NMR (400 MHz, methanol-d₄): δ 8.05 (s, 1H), 4.41 (t, 2H), 3.95 (s, 4H), 1.91 (m, 2H), 1.33-1.21 (m, 12H), 0.91 (t, 3H)

[324]

[325] **0-7. 물질명 SCNPA501, 화합물명 2-아미노-2-(1-헥실-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올, 물질명 SCNPA401, 화합물명 2-아미노-2-(1-헵틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올, 물질명 SCNPA301, 화합물명 2-아미노-2-(1-옥틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올, 물질명 SCNPA101, 화합물명 2-아미노-2-(1-도데실-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올의 합성**

[326] 상기 반응식 1에서 1-브로모헥산, 1-브로모헵탄, 1-브로모옥탄,

1-브로모도데칸을 출발물질로 하여 그 후 상기 반응식 2 내지 6과 동일한 방법으로 도 1에서 보는 바와 같은 구조식을 지니며 분자량이 각각 SCNPA501=242.32, S CNPA401=257.35, SCNPA301=270.38, SCNPA101=362.94인 화합물을 수득하였다.

[327]

[328] **1. 세포배양**

[329] 인간의 섬유아세포 주(normal 및 PS1)를 Coriell Institute에서 얻어 15% FBS를 포함하는 DMEM에서 37°C 및 5%의 CO₂에서 배양하여 사용하였다. 이후, 상기 세포주에 상기 합성된 각 ASM 억제 화합물 및 FTY720(Cayman)을 10μM 처리한 후 ASM 활성도, Ceramide, S1P, S1PR1의 변화를 측정하였다.

[330]

[331] **2. 마우스**

[332] IACUC(Kyungpook National University Institutional Animal Care and Use Committee)에서 마우스 실험에 대한 승인을 받았다. C57BL/6 마우스(Charles River, UK)를 바탕으로 APPswe(hAPP695swe) 또는 PS1(presenilin-1M146V)를 과발현시킨 형질전환 마우스 라인을 이용하였다[이하, APP 마우스: APPswe를 과발현하는 마우스, PS1 마우스: presenilin-1M146V를 과발현하는 마우스; GlaxoSmithKline]

[333] ASM 억제의 치료효과를 확인하기 위해 7개월령의 마우스에 상기 합성된 ASM 억제 화합물인 SCNPA201(100mg/kg/day), SCNPA101(100mg/kg/day) 또는 FTY720(1mg/kg/day)를 음수를 통해 공급하였다. 음수 공급 1개월 후, 행동학적 분석을 실시하였고, 행동학적 분석 후에 마우스의 뇌조직을 샘플링 하였다(도 8).

[334]

[335] **3. ASM, Sphk 활성, Ceramide, S1P 측정**

[336] ASM의 농도 수준을 아래와 같이 측정하였다. 구체적으로 마이크로리터의 마우스의 혈청, 뇌조직 및 섬유아세포 시료 3μl를 ASM 활성 완충액과 혼합하여 37°C에서 보관하였다. 114μl의 에탄올을 가하여 가수분해 반응을 종료시킨 후, 원심분리 하였다. 30μl의 상층액을 유리 바이알에 옮긴 후, 5μl를 UPLC 시스템에 적용시켰다. 상기 ASM 농도 수준을 스펙고미엘린 및 세라마이드와 결합된 Bodipy(aminoacetaldehyde)와 비교함으로써 정량화하였다. Sphk의 농도 수준을 측정하기 위해 섬유아세포 시료 3μl를 Sphk 활성 완충액과 혼합하여 37°C에서 보관하였다. 이어서, 54μl의 에탄올을 가하여 가수분해 반응을 종료시킨 후 원심분리하였다. 30μl의 상층액을 유리 바이알에 옮긴 후 5μl를 UPLC 시스템에 적용시켰다. 상기 Sphk 농도 수준을 스펙고신 및 S1P와 결합된 NBD와 비교함으로써 각각의 Sphk 농도 수준을 UPLC 시스템을 이용하여 정량화하였다. Ceramide 및 S1P의 추출 및 정량화는 공지된 방법 시료에서 지질을 추출하고, 상기 건조된 지질 추출물을 25μl의 0.2% Igepal CA-630(Sigma-Aldrich)에 재부유시키고, 각각의 Ceramide 및 S1P의 농도 수준을

UPLC 시스템을 이용하여 정량화하였다.

[337]

[338] **4. ASM 직접 억제 실험**

[339] 상기 합성된 ASM 억제 화합물들의 ASM IC₅₀를 구하기 위해, 각각의 ASM 억제 화합물들을 다양한 농도 (0~200 μ M)로 희석한 후 ASM 및 ASM의 기질인 Bodipy-Sphingomyelin을 첨가하여 37°C에서 10분간 반응시켰다. 10분 후 에탄올을 가하여 가수분해 반응을 종료시킨 후, 원심분리하였다. 30 μ l의 상층액을 유리 바이알에 옮긴 후, 5 μ l를 UPLC 시스템에 적용시켰다. 상기 ASM 농도 수준을 스펅고미엘린 및 세라마이드와 결합된 Bodipy와 비교함으로써 정량화하였다. 각각의 ASM 억제 화합물들과 ASM과의 직접적 결합 에너지를 비교하기 위해 Discovery studio 프로그램을 이용하여 정량화하였다.

[340]

[341] **5. 면역형광법**

[342] 마우스의 대뇌 및 해마를 고정한 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)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.

[343]

[344] **6. 웨스턴블롯**

[345] 웨스턴 블롯팅을 이용하여 S1PR1의 단백질 발현을 분석하였다. 우선, S1PR1(abcam) 및 β -액틴(Santa Cruz)에 대한 항체를 이용하였고, 밀도 정량화(densitometric quantification)는 ImageJ 소프트웨어(US National Institutes of Health)를 이용하여 수행 하였다.

[346]

[347] **7. 실시간 정량 PCR(Real-time quantitative PCR)**

[348] 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 5 μ g 총 RNA로부터 cDNA를 합성하였다. 또한, Corbett research RG-6000 real-time PCR 기기를 사용하여, 95°C, 10분; 95°C, 10초; 58°C, 15초; 72°C, 20초를 1 사이클로 하여 40 사이클을 반복하는 실시간 정량 PCR을 수행하였다.

[349] 상기 실시간 정량 PCR에 사용한 프라이머는 표 1과 같다.

[350]

[351]

[표1]

mTNF-a	5'-GAT TAT GGC TCA GGG TCC AA-3'(서열번호 1)	5'-GCT CCA GTG AAT TCG GAA AG-3'(서열번호 2)
mIL-1b	5'-CCC AAG CAA TAC CCA AAG AA-3'(서열번호 3)	5'-GCT TGT GCT CTG CTT GTG AG-3'(서열번호 4)
mIL-6	5'-CCG GAG AGG AGA CTT CAC AG-3'(서열번호 5)	5'-TTG CCA TTG CAC AAC TCT TT-3'(서열번호 6)
mGAPD H	5'-TGA ATA CGG CTA CAG CAA CA-3'(서열번호 7)	5'-AGG CCC CTC CTG TTA TTA TG-3'(서열번호 8)

[352]

[353] **8. 행동실험**

[354] 학습 및 기억에 대한 잠재적 효과를 확인하기 위하여, MWM(Morris water maze)실험을 수행하였다. MWM는 마우스에 대하여 10일 동안 하루에 4 번씩 과제를 학습시켰고, 11일째 되는 날에 플랫폼을 제거하고, 탐침시험(probe trial)을 수행하였다. 활동성과 불안감을 평가하기 위해 오픈필드 테스트와 dark and light 테스트를 수행하였다. 오픈필드 테스트는 마우스를 10분 동안 사각형의 박스에 넣어 전반적인 활동성과 벽면 및 가운데를 돌아다닌 시간을 측정하였다. Dark and light 테스트는 마우스를 10분 동안 어두운 박스와 밝은 박스로 구성된 사각형의 박스에 넣어 각각의 박스 내에 머무른 시간, 박스 왕복 횟수 및 최초로 밝은 박스내로 들어간 시간을 측정하였다.

[355]

[356] **9. 통계학적 분석**

[357] 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. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ 를 유의적인 것으로 간주하였다.

[358]

[359] **실험결과**

[360] **1. 알츠하이머 환자 섬유아세포에서 ASM 억제 화합물을 처리한 후 ASM 활성 및 Ceramide 변화 확인**

[361] ASM 억제에 의한 알츠하이머 병변 완화 효과를 in vitro 상에서 확인하기 위해 ASM 억제 화합물(SCNPA501, SCNPA401, SCNPA301, SCNPA 201) 및 FTY720을 알츠하이머 환자 유래 섬유아세포에 10 μ M 농도로 처리한 후 ASM 활성 변화를 먼저 측정하였다.

[362] FTY720은 최초에 ASM 억제제로 개발된 것은 아니나 다양한 연구결과들에 의해 ASM 억제 효과를 나타낸다는 것이 증명되었기에 본 발명에서 효과 비교를

위한 양성대조군으로 사용하였다(Biochem Biophys Res Commun. 2011 Jan 7;404(1):321-323).

- [363] 실험결과, PS1 섬유아세포에서는 정상인 유래 섬유아세포에 비해 ASM 활성이 현저하게 증가되어 있었으나, 이는 상기 ASM 억제 화합물(SCNPA501, SCNPA201, SCNPA301, SCNPA 201) 처리에 의해 확연히 감소되었으며(도 2a), ASM 활성에 의해 생성되는 생성물인 Ceramide 또한 상기 ASM 억제 화합물 처리에 의해 확연히 감소되었다(도 2b).

[364]

[365] **2. ASM 억제 화합물에 의한 ASM 활성 직접적 억제 효과 확인**

- [366] 본 발명의 ASM 억제 화합물들이 ASM 활성을 직접적으로 억제할 수 있는지 확인하기 위해 다양한 농도의 ASM 억제 화합물들과 ASM 효소 및 ASM 효소의 기질인 sphingomyelin을 반응시켜 ASM 활성을 50퍼센트 억제시킬 수 있는 농도를 확인한 결과, 모든 화합물들이 낮은 농도 (SCNPA501=1.86 μ M, SCNPA401=1.82 μ M, SCNPA301=1.75 μ M, SCNPA 201=1.14 μ M)에서 ASM 활성을 억제시킬 수 있음을 확인하였다(도 3a).

- [367] 또한 ASM 억제 화합물들이 ASM에 직접적으로 결합하여 활성을 억제 시키는지 확인하기 위해 Docking 시뮬레이션을 실시하였으며, ASM 억제 화합물들이 ASM의 활성 부위에 결합하는지 확인하기 위해 기질인 Sphingomyelin의 Phosphocholine과 ASM의 결합부위를 비교하였다. 그 결과 ASM과 Sphingomyelin의 Phosphocholine 결합에 관여하는 주위 아미노산(D206, D278, H319, N318 등)들이 본 발명의 ASM 활성 억제 화합물들이 ASM과 결합하는데 관여하는 아미노산들과 대부분 비슷하다는 것을 확인하였다(도 3b).

- [368] 즉, 본 발명의 ASM 억제 화합물들은 ASM 활성 부위, 즉 기질인 Sphingomyelin의 Phosphocholine이 결합하는 부위에 직접적으로 결합하여 ASM 활성을 억제시켜줄 수 있음을 알 수 있었다.

[369]

- [370] 한편, 종래 연구에 따르면 알츠하이머 환자의 뇌에서 ASM 단백질의 발현량이 증가되어 있으며(Neurobiology of Aging 31 (2010) 398-408), 퇴행성 신경질환 중 하나인 다발성 경화증 환자의 뇌에서도 ASM 단백질의 발현량이 증가되어 있음이 보고된 바 있다(SCIENTIFIC REPORT(2018) 8:3071).

[371]

- [372] 그런데, 상기 도 3b의 결과를 참고하면 본 발명에 따른 ASM 억제 화합물들은 ASM 단백질에 직접 결합하는 활성을 나타내기 때문에, 형광물질과 같은 진단물질을 표지한다면 개체 또는 개체로부터 수득한 생물학적 시료에서 ASM 단백질의 발현량을 정량화할 수 있다.

- [373] 따라서, 본 발명에 따른 ASM 억제 화합물들은 개체 또는 개체로부터 수득한 생물학적 시료로부터 ASM 단백질의 발현량을 정량화함으로써 퇴행성 신경질환의 진단 또는 예후 예측에 활용이 될 수 있을 것으로 판단해 볼 수 있다.

[374]

[375] **3. ASM 억제 화합물에 의한 S1P 및 S1PR1 변화 확인**

[376] FTY720의 경우 Sphingosine을 대신하여 Sphk 효소와 반응하여 Sphk의 활성을 억제시키고 인산화된 phospho-FTY720로 변환되어 Sphingosine 생성물인 S1P의 발현을 감소시킨다고 알려져 있다. 또한 인산화가 된 phospho-FTY720는 S1P1 수용체 (S1PR1)에 결합하여 S1P1 수용체 발현을 감소시킨다고 알려져 있다(AIMS Molecular Science. DOI: 10.3934/molsci.2014.4.162; Front Cell Neurosci. 2014 Sep 12;8:283).

[377] 본 발명의 ASM 억제 화합물이 이러한 효과를 나타내는지 확인하기 위해 정상 또는 알츠하이머 환자 유래 섬유아세포에 ASM 억제 화합물(SCNPA501, SCNPA401, SCNPA301, SCNPA 201) 및 FTY720을 알츠하이머 환자 유래 섬유아세포에 10 μ M 농도로 처리한 후 Sphk 활성, S1P 및 S1PR1 변화를 먼저 측정하였다.

[378] 그 결과, FTY720의 경우 Sphk 활성 및 S1P와 S1PR1의 발현을 감소시키는 반면 ASM 억제 화합물들은 이러한 효과를 나타내지 않는 것을 확인하였다(도 4a와 b). 이러한 결과는 본 발명의 ASM 억제 화합물들이 ASM의 활성만을 특이적으로 억제시킬 수 있음을 알 수 있었으며, FTY720과는 다른 약리학적 기전을 나타냄을 확인할 수 있었다.

[379]

[380] **4. ASM 억제 화합물의 약물동태학 평가**

[381] ASM 억제 화합물의 약물동태학적인 물성을 비교하기 위해 SCNPA501, SCNPA201과 SCNPA101의 약물동태시험을 비교 분석하였다.

[382] 상기 SCNPA101은 종래 본 발명자가 ASM 억제 활성이 있음을 확인한 바 있는 화합물로서 본 발명에 따른 상기 ASM 억제 화합물들(SCNPA201 및 SCNPA501)과의 비교를 위해 실험에 사용하였다.

[383] 정상 마우스에 SCNPA501, SCNPA201과 SCNPA101를 각각 구강(10mg/kg) 또는 꼬리정맥(1mg/kg)을 통해 주입한 후 5분, 15분, 30분, 1시간, 2시간, 4시간, 8시간 및 24시간째에 각각 혈액을 채취하여 각 화합물의 혈중 농도를 측정하였다(도 5a). 약물동태학적 파라미터를 분석한 결과 생체이용률(BA, Bioavailability) 퍼센트가 SCNPA501(72.26%)과 SCNPA201(50.33%)이 SCNPA101(19.64%)보다 높은 것으로 보아 구강투여제제로서 더 효과적임을 알 수 있었다(도 5b).

[384]

[385] **5. ASM 억제 화합물의 뇌 분포 확인**

[386] 본 발명의 ASM 억제 화합물의 퇴행성 뇌질환 적용을 위해서는 ASM 억제 화합물 주입 후 ASM이 증가되어 있는 뇌로 잘 분포하는 것이 중요하다. 이를 확인하기 위해 SCNPA501, SCNPA201과 SCNPA101를 구강(10mg/kg)으로 투여한 후 시간대별로 뇌를 적출하여 농도를 측정하고, 24시간 후에는 뇌, 간,

신장, 심장을 적출하여 농도를 측정하였다. 그 결과, SCNPA201이 뇌에서의 농도가 월등히 높은 것을 확인할 수 있었다(도 6a).

[387] 한편, 뇌에서 약물 동태학적인 파라미터를 확인한 결과 Brain distribution 값이 SCNPA501 (1.41), SCNPA201 (3.64), SCNPA101 (3.61)로 확인하였다(도 6b).

[388] 상기 결과를 통해, 약물 동력학적인 측면에서 SCNPA201은 SNCNA101보다 더 이상적인 뇌 분포를 나타내어 퇴행성 신경질환과 같은 뇌 질환 치료제 개발에 더 유용하게 활용이 될 수 있을 것임을 알 수 있었다.

[389]

[390] 6. ASM 억제 화합물의 간 마이크로솜 안정성 확인

[391] ASM 억제 화합물들의 대사 안정성을 확인하기 위해, 사람 또는 마우스 간 마이크로솜에 SCNPA501, SCNPA201 또는 SCNPA101를 처리한 후 30분 뒤에 각 화합물의 남아있는 양을 확인하였다.

[392] 그 결과, 마우스 간 마이크로솜에서는 SCNPA501(98.21%), SCNPA201(95.66%), SCNPA101(86.36%) 순으로 안정성이 높은 것을 확인하였으며, 사람 간 마이크로솜에서도 같은 경향을 나타내었다. 특히 사람 간 마이크로솜에서는 SCNPA201 및 SCNPA501과 비교해 SCNPA101이 7.8%로 안전성이 매우 낮음을 확인하였다(도 7a 및 도 7b).

[393] 이러한 결과는 SCNPA101이 사람 간 마이크로솜에서 대사안전성이 매우 낮으며 그에 비해 본 발명의 상기 ASM 억제 화합물인 SCNPA501, SCNPA201은 대사안전성이 높은 것을 알 수 있었다.

[394] 특히, SCNPA101의 경우 마우스 간 마이크로솜에 의한 대사 안정성은 크게 불량하지 않았으나, 사람의 간 마이크로솜에 의한 대사 안정성은 매우 불량한 것으로 보아, 마우스를 이용한 실험 결과와 실제 사람에게 적용하였을 때의 임상 결과가 전혀 상이할 수 있으며, 이와 같은 대사 특성은 특히 간 초회 통과효과(first pass effect)를 거쳐야 하는 경구투여제제를 개발함에 있어서 큰 한계점으로 나타날 수 있다는 것을 확인할 수 있었다. 즉, 상기 “약물동태학 평가” 실험결과에서 SCNPA101의 마우스 생체이용률은 19.64%인 것으로 나타나 있으나, 사람에게 적용할 경우 SCNPA101은 경구투여 후 간에 의한 대사가 현저하여 생체이용률이 마우스에서보다 더 낮게 나타날 것이라고 예상해 볼 수 있다.

[395] 이에 반해, 본 발명에서의 상기 ASM 억제 화합물들은 SCNPA101과 비교해 사람의 간 마이크로솜에 의한 대사 안정성이 월등히 우수한 것으로 보아, 실제 사람에게 투여하였을 때의 약리효과 및 약효 지속성이 SCNPA101보다 현저히 우수할 것임을 예상해 볼 수 있다.

[396]

[397] 7. ASM 억제 화합물을 투여한 알츠하이머 동물 모델에서 ASM 활성 변화 확인

[398] ASM 활성 억제에 의한 알츠하이머 병변 완화 효과를 in vivo 상에서 검증하기 위해 알츠하이머 실험동물 모델 (AD: APP/PS1 마우스)을 이용하여 ASM 억제

화합물인 SCNPA201의 치료 효과를 SCNPA101, FTY720과 비교하였다.
알츠하이머 치료 효과를 비교하기 위해, 7개월령의 알츠하이머 동물 모델에 SCNPA201(100mg/kg/day), SCNPA101(100mg/kg/day) 또는 FTY720(1mg/kg/day)를 음수를 통해 공급하였다(도 8).

[399] 첫 번째로 ASM 활성 억제 여부를 확인하기 위해 각각의 알츠하이머 동물 모델의 혈장 및 뇌조직을 추출하여 ASM 활성도를 확인하였다. 그 결과, SCNPA201를 투여한 알츠하이머 동물 모델의 혈장 (도 9a)과 뇌조직 (도 9b)에서 ASM 농도의 수준이 가장 낮음을 확인하였다.

[400]

[401] **8. ASM 억제 화합물을 투여한 알츠하이머 동물 모델에서 아밀로이드- β 침착 확인**

[402] ASM 억제 화합물 투여에 의한 ASM 활성 억제가 알츠하이머 병변에 효과를 나타내는지 확인하기 위해 먼저 마우스의 대뇌 수질 및 해마 부위를 공지된 방법에 따라 티오플라빈 S(ThioS)로 염색하여 원섬유성 아밀로이드- β 침착을 확인하였다. 또한, A β 40 및 A β 42의 면역형광 염색을 실시하여 아밀로이드- β 침착을 확인하였다.

[403] 실험 결과, APP/PS1 마우스와 비교해 SCNPA201를 투여한 APP/PS1 마우스에서 원섬유성 A β 침착 (도 10) 및 A β 40과 A β 42의 침착이 가장 낮은 것을 확인하였다(도 11a와 도 11b). 이러한 효과는 SCNPA101 또는 FTY720을 주입한 APP/PS1 마우스보다 더 우수한 효과를 나타내었다.

[404]

[405] **9. ASM 억제 화합물을 투여한 알츠하이머 동물 모델에서 기억력 호전 확인**

[406] 알츠하이머 동물 모델에서 ASM 억제 화합물 투여에 의한 ASM 억제가 기억력에 대한 잠재적 효과를 나타내는지 확인하기 위하여, MWM (Morris water maze) 테스트를 수행하였다.

[407] 도 12a 내지 도 12c에 나타난 바와 같이, APP/PS1 마우스는 인지력 형성에 심각한 장애를 보였으나, SCNPA201를 투여한 마우스의 경우 SCNPA101 또는 FTY720에 비해 인지력 개선 효과가 더욱 현저함을 확인하였다.

[408] 또한, ASM 억제 화합물이 활동성 및 불안감에 미치는 영향을 확인하기 위해 오픈필드 테스트와 Dark & Light 테스트를 실시하였다.

[409] 도 13a와 도 13b에 나타난 바와 같이, APP/PS1 마우스에 비해 SCNPA201 또는 SCNPA101를 투여한 APP/PS1 마우스에서 활동성 및 불안감이 호전되는 현상을 확인하였다. 특히, SCNPA201의 경우 SCNPA101에 비해 활동성 및 불안감 개선 효과가 더욱 현저함을 확인하였다. 반면 FTY720을 투여한 APP/PS1 마우스에서는 이러한 효과가 나타나지 않음을 확인하였다.

[410]

[411] **10. ASM 억제 화합물을 투여한 알츠하이머 동물 모델에서 신경염증 변화 확인**

[412] 알츠하이머 동물 모델에서 ASM 억제 화합물 주입에 의한 ASM 억제가

신경염증 변화에 미치는 영향을 확인하기 위해서, 뇌에서 별아교세포의 변화를 관찰하였다. APP/PS1 마우스와 비교해, SCNPA201 또는 SCNPA101를 투여한 APP/PS1 마우스에서 별아교세포의 활성이 현저히 저하됨을 확인하였다 (도 14a). 특히, SCNPA101를 투여한 APP/PS1 마우스보다 SCNPA201 투여한 APP/PS1 마우스의 뇌에서 별아교세포의 활성이 가장 많이 저하되었다. 반면 FTY720을 투여한 APP/PS1 마우스에서는 이러한 효과가 나타나지 않음을 확인하였다.

[413] APP/PS1 마우스에서는 야생 마우스에 비해 염증성 사이토카인인 TNF- α , IL-1 β 및 IL-6의 유전자 발현이 현저히 증가되어 있었으나, SCNPA201 또는 SCNPA101를 투여한 APP/PS1 마우스에서는 염증성 사이토카인의 발현이 정상수준으로 회복됨을 확인하였다 (도 14b). 특히, SCNPA101를 투여한 APP/PS1 마우스보다 SCNPA201 투여한 APP/PS1 마우스의 뇌에서 이러한 염증성 사이토카인의 발현이 월등히 감소되었으며, FTY720을 투여한 APP/PS1 마우스에서는 이러한 효과가 나타나지 않음을 확인하였다.

[414]

[415] 상기의 결과들을 종합하면, ASM 억제 화합물인 SCNPA501, SCNPA401, SCNPA301, SCNPA201은 알츠하이머 환자 섬유아세포에서 ASM의 활성을 유의성 있게 억제할 수 있으며, 또한 ASM 활성 부위에 결합하여 ASM의 활성을 직접적으로 억제할 수 있음을 알 수 있었다. 반면 Sphk 활성, S1P 및 S1PR1 억제 효과는 나타내지 않으므로 ASM을 특이적으로 억제 시킬 수 있는 직접적 억제제임을 알 수 있었다. 더불어 본 발명의 ASM 억제 화합물들은 ASM 활성 부위에 직접 결합 가능하므로 ASM이 증가되어 있는 뇌질환의 진단용으로도 사용이 될 수 있음을 다시 한 번 확인할 수 있었다.

[416]

[417] 뿐만 아니라 약물 동태학적시험 및 뇌 분포 결과에 따르면, 본 발명의 ASM 억제 화합물들은 본 발명자가 개발한 기존의 ASM 활성 억제제인 SCNPA101보다 더 우수한 효과를 보이며, 특히 사람 간 마이크로솜에서 대사안정성이 SCNPA101의 경우 매우 낮은 반면 본 발명의 ASM 억제 화합물들은 이러한 대사 안전성이 높으므로 약물제제로서 개발 가능성이 현저히 우수함을 알 수 있었다.

[418] 마찬가지로 알츠하이머 동물 모델에서의 치료 효과 또한 본 발명의 ASM 억제 화합물이 SCNPA101 또는 FTY720보다 뇌에서 ASM 활성 억제, A β 플라크 감소, 기억력 및 우울증 개선, 신경염증 완화 등에 있어 더 우수한 치료 효과를 보이고 있으므로 본 발명의 ASM 억제 화합물은 알츠하이머 질환과 같은 퇴행성 신경질환 및 우울증 예방 또는 치료제로서 활용이 가능하다는 것을 알 수 있었다.

[419]

산업상 이용가능성

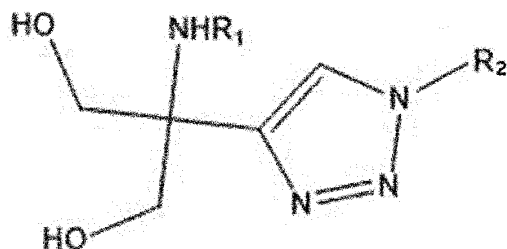
[420] 본 발명의 화학식 1의 ASM 억제 화합물은 ASM 단백질에 직접 결합하여 ASM을 억제하는 효과가 탁월하고, 알츠하이머 뇌환경에서 A β 플라크 감소, 기억력 및 불안증 개선, 신경염증 완화 등의 치료효과가 있으며, 뇌에서의 분포가 매우 높고, 간 마이크로좀에 의한 대사 안정성이 매우 뛰어나 알츠하이머병을 포함하는 퇴행성 신경질환 예방 또는 치료제, 및 퇴행성 신경질환 진단용 조성물 개발에 매우 유용하게 사용될 수 있다. 또한, ASM의 억제는 우울증 완화에 효과적이라는 종래 보고와 같이, 본 발명의 화학식 1의 ASM 신규 억제화합물은 우울증을 포함하는 신경 질환의 예방 또는 치료제로서도 유용하게 사용될 수 있어 산업상 이용가능성이 매우 우수하다.

[421]

청구범위

[청구항 1] 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 염:

[화학식 1]



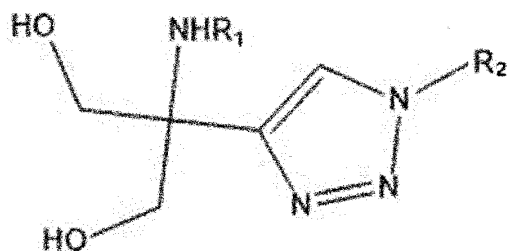
상기 식에서

R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 10의 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,

R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 10의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 알케닐 또는 탄소수 2 내지 10의 알키닐이다.

[청구항 2] 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 예방 또는 치료용 약학적 조성물:

[화학식 1]



상기 식에서

R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 10의 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,

R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 10의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 알케닐 또는 탄소수 2 내지 10의 알키닐이다.

[청구항 3] 제2항에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물은

2-아미노-2-(1-헥실-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올,

2-아미노-2-(1-헵틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올,

2-아미노-2-(1-옥틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올 또는 2-

아미노-2-(1-노닐-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올인 것을

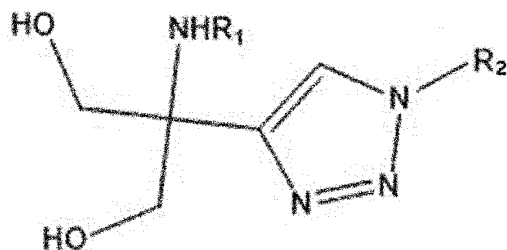
특징으로 하는 약학적 조성물.

[청구항 4] 제2항에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물은 ASM(acid sphingomyelinase)

활성 억제 효과를 나타내는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

- [청구항 5] 제2항에 있어서, 상기 퇴행성 신경질환은 알츠하이머병, 파킨슨병, 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 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.
- [청구항 6] 제2항에 있어서, 상기 조성물은 경구 투여용인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.
- [청구항 7] 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 개선용 식품 조성물:

[화학식 1]



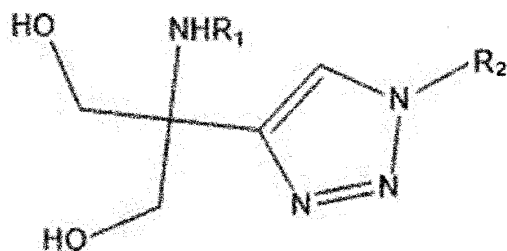
상기 식에서

R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 10의 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,

R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 10의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 알케닐 또는 탄소수 2 내지 10의 알킬닐이다.

- [청구항 8] 진단제제 또는 검출제제가 결합된 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 진단용 조성물:

[화학식 1]



상기 식에서

R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 10의 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,

R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 10의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 알케닐

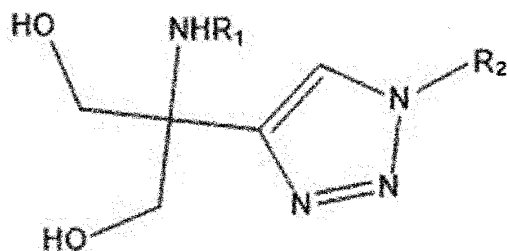
또는 탄소수 2 내지 10의 알킬닐이며,

상기 정의된 알킬, 알케닐, 알킬닐 또는 알킬카보닐은 각각 방사성 동위원소를 포함하거나 또는 포함하지 않는다.

[청구항 9]

퇴행성 신경질환 또는 우울증 예방 또는 치료용 제제를 제조하기 위한 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 용도:

[화학식 1]



상기 식에서

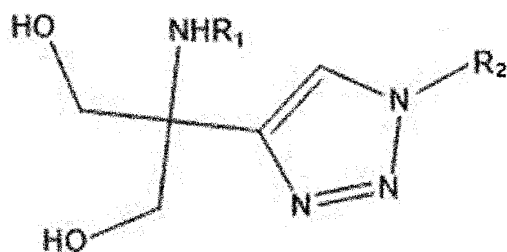
R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 10의 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,

R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 10의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 알케닐 또는 탄소수 2 내지 10의 알킬닐이다.

[청구항 10]

하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 조성물의 유효량을 이룰 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 예방 또는 치료 방법:

[화학식 1]



상기 식에서

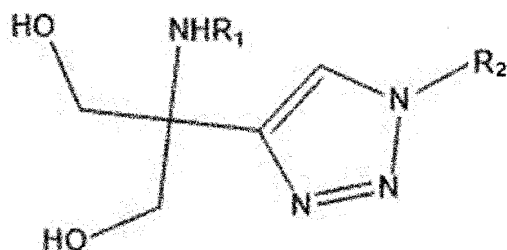
R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 10의 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,

R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 10의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 알케닐 또는 탄소수 2 내지 10의 알킬닐이다.

[청구항 11]

퇴행성 신경질환 또는 우울증 진단용 제제를 제조하기 위한 진단제제 또는 검출제제가 결합된 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 용도:

[화학식 1]



상기 식에서

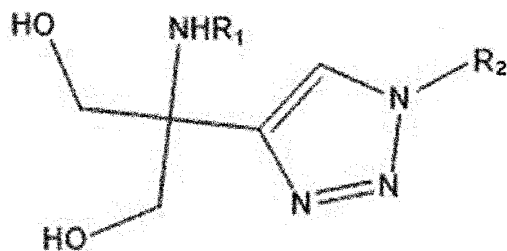
R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 10의 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,

R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 10의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 알케닐 또는 탄소수 2 내지 10의 알키닐이며,

상기 정의된 알킬, 알케닐, 알키닐 또는 알킬카보닐은 각각 방사성 동위원소를 포함하거나 또는 포함하지 않는다.

[청구항 12] 진단제제 또는 검출제제가 결합된 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 조성물의 유효량을 퇴행성 신경질환 또는 우울증이 의심되는 개체에 투여하는 단계를 포함하는 퇴행성 신경질환 또는 우울증 진단 방법:

[화학식 1]



상기 식에서

R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 10의 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,

R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 10의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 알케닐 또는 탄소수 2 내지 10의 알키닐이며,

상기 정의된 알킬, 알케닐, 알키닐 또는 알킬카보닐은 각각 방사성 동위원소를 포함하거나 또는 포함하지 않는다.