



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0098462
(43) 공개일자 2012년09월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 401/04 (2006.01) C07D 403/04 (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01) A61P 19/10 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0018588
(22) 출원일자 2012년02월23일
심사청구일자 2012년02월24일
(30) 우선권주장
1020110018037 2011년02월28일 대한민국(KR)

(71) 출원인
이화여자대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)
(72) 발명자
배윤수
경기도 고양시 일산동구 장항동 코오롱레이크폴리스 1차 A동 412호
이기인
대전광역시 유성구 어은동 한빛아파트 113동 305호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
안소영

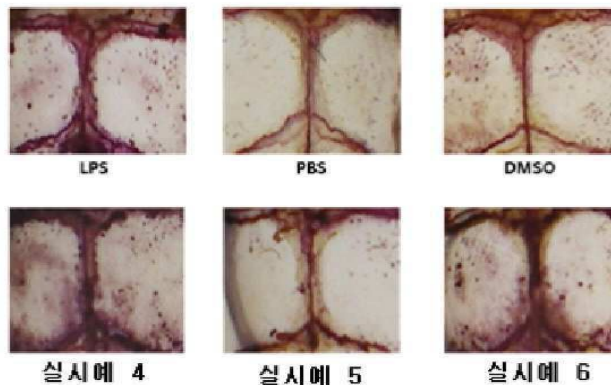
전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 피라졸 유도체, 이의 제조방법 및 이를 포함하는 골다공증 예방 및 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 피라졸 유도체 화합물 및 이의 약제학적으로 허용되는 염을 제공하며, 본 발명의 화합물은 우수한 골다공증 예방 및 치료효과가 있다.

대표도 - 도7



(72) 발명자
이지현
 서울특별시 송파구 신천동 장미아파트 18동 206호
이수영
 서울특별시 강남구 대치2동 은마아파트 5동 1111호

최선
 서울특별시 용산구 효창동 베네스빌아파트 101동 805호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

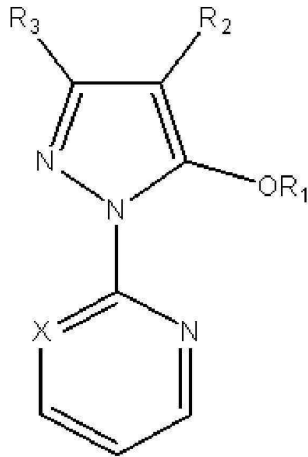
과제고유번호	10527
부처명	서울특별시
연구사업명	기술기반구축사업
연구과제명	신호전달제어를 통한 항암 및 항염증 신약개발
주관기관	이화여자대학교 산학협력단
연구기간	2005.12.01 ~ 2010.11.30

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물.

[화학식 1]



상기 식에서,

X는 -CH- 또는 질소이고;

R₁은 수소원자 또는 이소프로필옥시카보닐옥시메틸이며;

R₂는 수소원자, C1 내지 C4의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬, 치환되거나 비치환된 벤질이고; 및

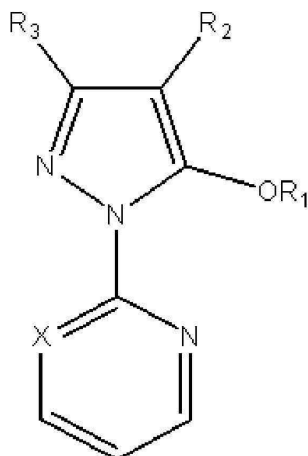
R₃는 페닐, 니트로페닐, 치환되거나 비치환된 페닐에테닐(phenylethenyl) 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)이며;

여기서, X가 -CH-이고 R₁ 및 R₂가 수소원자이면, R₃는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)이거나 또는 X가 질소원자이고 R₁ 및 R₂가 수소원자이면 R₃는 니트로페닐 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)이며, 상기 치환기는 니트로, 하이드록시 또는 메톡시이다.

청구항 2

하기 화학식 1로 표시되는 화합물의 약제학적으로 허용 가능한 염.

[화학식 1]



상기 식에서,

X는 -CH- 또는 질소이고;

R₁은 수소원자 또는 이소프로필옥시카보닐옥시메틸이며;

R₂는 수소원자, C1 내지 C4의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬, 또는 치환되거나 비치환된 벤질이고; 및

R₃는 페닐, 니트로페닐, 치환되거나 비치환된 페닐에테닐(phenylethenyl) 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)이며;

여기서, R₁ 및 R₂가 수소원자이면, R₃가 페닐, 니트로페닐 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)이고, 상기 치환기는 니트로, 하이드록시 또는 메톡시이다.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 약제학적으로 허용 가능한 염은 염산염인 것인 화학식 1로 표시되는 화합물의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 4

하기 열거된 화합물 중에서 선택된 화합물 또는 이들의 약제학적으로 허용가능한 염:

1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1H-피라졸-5-올,

1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-벤질-1H-피라졸-5-올,

1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-(4-니트로벤질)-1H-피라졸-5-올,

1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1H-피라졸-5-올의 염산염,

1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1H-5-(이소프로필옥시카보닐옥시메틸옥시)피라졸,

1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-E-에텐일]-4-벤질-1H-피라졸-5-올의 염산염,

3-(4-니트로페닐)-3-[2-(피리미딘-2-일)하이드라조노] 프로피온산 에틸 에스터,

1-(피리미딘-2-일)-3-(4-니트로페닐)-1H-피라졸-5-올,

1-(피리딘-2-일)-3-(1,2-디페닐-E-에텐일)-1H-피라졸-5-올,

1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-E-에텐일]-4-벤질-1H-피라졸-5-올,

1-(피리딘-2-일)-3-페닐-1H-피라졸-5-올의 염산염,

3-(4-메톡시페닐아미노)-1H-피라졸-5-올, 또는

4-헥실리덴-3-페닐-1-(피리딘-2-일)-1H-피라졸-5-올.

청구항 5

하기 열거된 화합물 중에서 선택된 화합물 또는 이들의 약제학적으로 허용가능한 염:

1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1H-피라졸-5-올의 염산염,

1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1H-5-(이소프로필옥시카보닐옥시메틸옥시)피라졸,

1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-E-에텐일]-4-벤질-1H-피라졸-5-올의 염산염,

1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-E-에텐일]-4-벤질-1H-피라졸-5-올, 또는

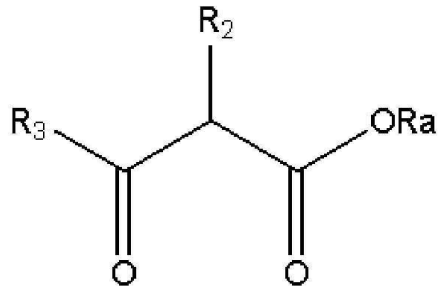
1-(피리딘-2-일)-3-페닐-1H-피라졸-5-올의 염산염.

청구항 6

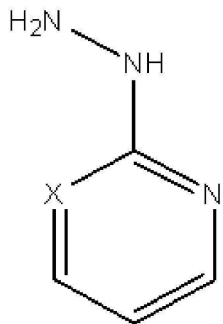
하기 화학식 2로 표시되는 화합물과 하기 화학식 3으로 표시되는 화합물을 극성 유기용매에 적가하는 단계; 및

상기 화학식 2 및 상기 화학식 3으로 표시되는 화합물을 포함하는 상기 극성 유기 용매를 가열하는 단계를 포함하는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 제조 방법:

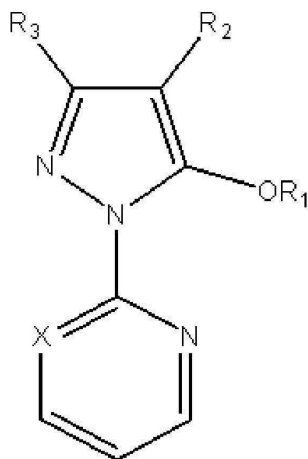
[화학식 2]



[화학식 3]



[화학식 1]



상기식에서,

X는 -CH- 또는 질소이고;

Ra는 C1-C4의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬기이며;

R1은 수소원자 또는 이소프로필옥시카보닐옥시메틸이며;

R2는 수소원자, C1 내지 C4의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬, 또는 치환되거나 비치환된 벤질이고;

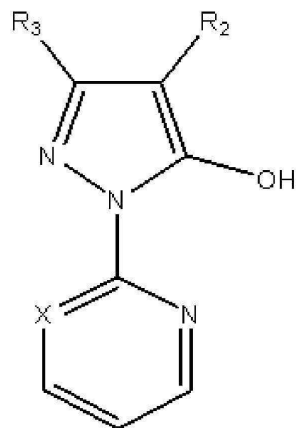
R3는 페닐, 니트로페닐, 치환되거나 비치환된 페닐에테닐(phenylethenyl) 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)이며;

여기서, R1 및 R2가 수소원자이면, R3가 페닐, 니트로페닐 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)이고, 상기 치환기는 니트로, 하이드록시 또는 메톡시이다.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 유기 용매 하에서 상기 화학식 2로 표시되는 화합물과 상기 화학식 3으로 표시되는 화합물이 반응하여 하기의 화학식 4로 표시되는 화합물이 제조되는 것인 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 제조 방법:

[화학식 4]



상기 식에서,

X는 -CH- 또는 질소이고;

R₂는 수소원자, C1 내지 C4의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬, 치환되거나 비치환된 벤질이고;

R₃는 페닐, 니트로페닐, 치환되거나 비치환된 페닐에테닐(phenylethenyl) 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)이며;

여기서 R₂가 수소원자이면 R₃는 페닐, 니트로페닐 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)이고, 상기 치환기는 니트로, 하이드록시 또는 메톡시이다.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 화학식 4로 표시되는 화합물을 염기 존재 하에 이소프로필옥시카보닐옥시메틸아이오다이드, 이소프로필옥시카보닐옥시메틸클로라이드 및 이소프로필옥시카보닐옥시메틸브로마이드로 이루어진 그룹으로부터 선택된 적어도 하나의 할라이드 화합물과 반응시키는 단계를 더 포함하는 것인 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 제조 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 화학식 4로 표시되는 화합물과 상기 할라이드 화합물은 상이동 촉매 하에서 반응하는 것인 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 제조 방법.

청구항 10

제6항에 있어서, 상기 극성유기용매가 C1-C4 알콜, 아세트산 및 이들의 혼합물 중에서 선택된 것인 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 제조 방법.

청구항 11

제6항에 있어서, 상기 적가는 -4℃ 내지 10℃에서 수행되는 것인 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 제조 방법.

청구항 12

제6항에 있어서, 상기 가열이 90℃ 내지 130℃에서 수행되는 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 제조 방법.

청구항 13

제8항에 있어서, 상기 염기는 4-디메틸아미노피리딘(DMAP), 피리딘, 트리에틸아민, 이미다졸 및 카보네이트로 이루어진 그룹으로부터 선택된 적어도 하나인 것인 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 제조 방법.

청구항 14

제6항에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은,

1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1*H*-피라졸-5-올,

1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-벤질-1*H*-피라졸-5-올,

1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-(4-니트로벤질)-1*H*-피라졸-5-올,

1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1*H*-피라졸-5-올의 염산염,

1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1*H*-5-(이소프로필옥시카보닐옥시메틸옥시)피라졸,

1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-*E*-에텐일]-4-벤질-1*H*-피라졸-5-올의 염산염,

3-(4-니트로페닐)-3-[2-(피리미딘-2-일)하이드라조노] 프로피온산 에틸 에스터,

1-(피리미딘-2-일)-3-(4-니트로페닐)-5-1*H*-피라졸-5-올,

1-(피리딘-2-일)-3-(1,2-디페닐-*E*-에텐일)-1*H*-피라졸-5-올,

1-(피리딘-2-일)-3-페닐-1*H*-피라졸-5-올의 염산염,

1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-*E*-에텐일]-4-벤질-1*H*-피라졸-5-올,

3-(4-메톡시페닐아미노)-1*H*-피라졸-5-올, 또는

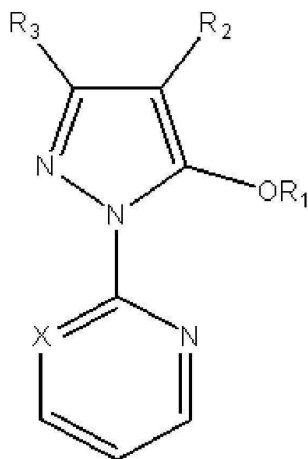
4-헥실리텐-3-페닐-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올

인 것인 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 제조 방법.

청구항 15

하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 포함하는 골다공증 예방 또는 치료용 조성물:

[화학식 1]



상기 식에서,

X는 -CH- 또는 질소이고;

R₁은 수소원자 또는 이소프로필옥시카보닐옥시메틸이며;

R₂는 수소원자, C1 내지 C4의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬, 치환되거나 비치환된 벤질이고; 및

R₃는 페닐, 니트로페닐, 치환되거나 비치환된 페닐에테닐(phenylethenyl) 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)이며;

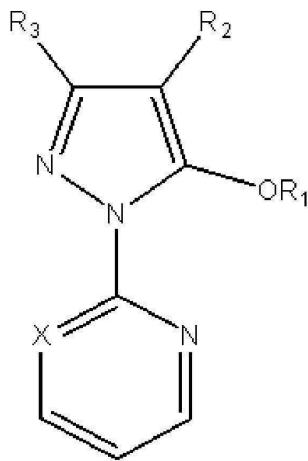
여기서, X가 -CH-이고 R₁ 및 R₂가 수소원자이면, R₃는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐이거나 또는 X가 질소원자이고 R₁ 및 R₂가 수소원자이면, R₃는 니트로페닐 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)이며,

상기 치환기는 니트로, 하이드록시 또는 메톡시이다.

청구항 16

하기 화학식1 로 표시되는 화합물의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 골다공증 예방 또는 치료용 조성물:

[화학식 1]



상기 식에서,

X는 -CH- 또는 질소이고;

R₁은 수소원자 또는 이소프로필옥시카보닐옥시메틸이며;

R₂는 수소원자, C1 내지 C4의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬, 치환되거나 비치환된 벤질이고; 및

R₃는 페닐, 니트로페닐, 치환되거나 비치환된 페닐에테닐(phenylethenyl) 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)이며;

여기서, R₁ 및 R₂가 수소원자이면 R₃가 페닐, 니트로페닐 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐이고,

상기 치환기는 니트로, 하이드록시 또는 메톡시이다.

청구항 17

하기의 열거된 화합물 및 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 적어도 하나의 화합물을 포함하는 골다공증 예방 또는 치료용 조성물.

1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1H-피라졸-5-올;

1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-벤질-1H-피라졸-5-올;

1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-(4-니트로벤질)-1H-피라졸-5-올;

1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1H-피라졸-5-올의 염산염;

1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1H-5-(이소프로필옥시카보닐옥시메틸옥시)피라졸;

1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-E-에텐일]-4-벤질-1H-피라졸-5-올의 염산염;
 1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-E-에텐일]-4-벤질-1H-피라졸-5-올;
 3-(4-니트로페닐)-3-[2-(피리미딘-2-일)하이드라조노] 프로피온산 에틸 에스터;
 1-(피리미딘-2-일)-3-(4-니트로페닐)-5-1H-피라졸-5-올;
 1-(피리딘-2-일)-3-(1,2-디페닐-E-에텐일)-1H-피라졸-5-올;
 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-1H-피라졸-5-올의 염산염;
 3-(4-메톡시페닐아미노)-1H-피라졸-5-올, 및
 4-헥실리덴-3-페닐-1-(피리딘-2-일)-1H-피라졸-5-올.

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 활성산소 억제 활성이 우수한 신규한 피라졸 유도체, 이의 제조방법 및 이를 포함하는 골다공증 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 뼈의 발생, 성장 및 대사과정에는 뼈의 형성(bone modeling)과 재형성(remodeling) 과정이 중요한 역할을 한다. 뼈의 형성은 태생기부터 시작하여 이후 골격이 성숙되어 성장이 끝나는 청장년기까지 지속되어 20대에서 30대 초반까지 최대 골량을 형성하게 된다. 이후 약 3년 동안은 뼈를 제거하고 다시 이를 보충하는 골재형성 과정을 반복하게 되는데 이때는 골형성과 골흡수가 서로 짝을 이루어 균형을 유지하게 된다. 이 시기가 지난 후에는 골흡수에 따른 골소실을 골형성이 충분히 따라갈 수 없어 결국 연 0.3 ~ 0.5% 정도의 골량 감소를 겪게 되며, 특히 여성의 경우에는 폐경 초기에 연 2 ~3%의 상당한 골손실을 겪게 된다.

[0003] 뼈는 크게 조골세포(osteoblast), 파골세포(osteoclast), 라이닝세포(lining cell) 및 골세포(osteocyte)의 네 가지 세포로 구성되어 있다. 이때, 골수내 간질세포(bone marrow stromal cell)로부터 유래되는 조골세포는 골기질을 합성하는 분화된 세포로서 골형성을 주도하며, 조혈모세포로부터 유래되는 파골세포는 골흡수를 주도한다.

[0004] 골다공증(osteoporosis)은 골 조직의 석회화 감소되어 뼈의 치밀질이 떨어지고 그로 인해 골수강(骨髓腔)이 넓어지는 상태로, 증세가 진전됨에 따라 뼈가 약해지기 때문에 작은 충격에도 골절되기 쉽다. 골량은 유전적 요인, 영양 섭취, 호르몬의 변화, 운동 및 생활 습관의 차이 등 여러 가지 요인들에 의해 영향을 받으며, 골다공증의 원인으로는 노령, 운동 부족, 저체중, 흡연, 저칼슘 식이, 폐경, 난소 절제 등이 알려져 있다. 한편, 개인차는 있지만 백인보다는 흑인이 골 재흡수 수준(bone resorption level)이 낮아 골량이 더 높으며, 대개 골량은 14 ~ 18세에 가장 높고 노후에는 1년에 약 1%씩 감소한다. 특히, 여성의 경우 30세 이후부터 골 감소가 지속적으로 진행되며, 폐경기에 이르면 호르몬 변화에 의해 골 감소가 급격히 진행된다. 즉, 폐경기에 이르면 에스트로젠 농도가 급속히 감소하는데, 이때, IL-7(interleukin=7)에 의한 것처럼 B-림파구(B-lymphocyte)가 다량 생성되어 골수(bone marrow)에 B 세포 전구체(pre-B cell)가 축적되고, 이로 인해 IL-6의 양이 증가하여 파골 세포의 활성을 증가시키므로 결국 골량이 감소하게 된다.

[0005] 이와 같이, 골다공증은 정도에 차이는 있으나 노년층, 특히 폐경기 이후의 여성에게 있어서는 피할 수 없는 증상으로, 선진국에는 인구가 노령화됨에 따라 골다공증 및 그 치료제에 대한 관심이 점차 증가하고 있다. 또한, 전 세계적으로 골질환 치료와 관련되어 약 1300억 달러의 시장이 형성되어 있는 것으로 알려져 있으며, 앞으로 더 증가할 것으로 예상되기 때문에 세계적인 각 연구 기관과 제약회사에서는 골질환 치료제 개발에 많은 투자를 하고 있다. 국내에서도 근래에 평균수명이 80세에 육박하면서 골다공증 유병률이 급격하게 증가하고 있는데, 최근 지역 주민을 대상으로 실시된 연구에 의하면 전국 인구로 표준화하였을 경우 남성의 4.5%, 여성의 19.8%가 골다공증을 갖고 있다고 보고된 바 있다. 이는 골다공증이 당뇨병이나 심혈관계 질환보다 더 흔한 질환이며, 골절로 인해 받는 환자들의 고통이나 치료를 위해 들어가는 비용을 추정할 때 골다공증은 매우 중요한 보건 문제임을 시사한다.

[0006] 지금까지 여러 물질이 골다공증 치료제로 개발되었다. 그 중 골다공증 치료제로 가장 많이 사용되는 에스트로

겐은 그 실제적인 효능이 아직 검증되지 않은 상태이며 생애 동안 계속 복용해야하는 단점이 있으며, 장기간 투여하는 경우 유방암이나 자궁암이 증가하는 부작용이 있다. 알렌드로네이트(alendronate)도 그 효능이 명확하지 않고 소화관에서의 흡수가 더디며 위장과 식도점막에 염증을 유발하는 문제가 있다. 칼슘제제는 부작용이 적으면서도 효과가 우수한 것으로 알려져 있지만 치료제라기보다는 예방제에 해당한다. 그 외에 칼시토닌과 같은 비타민 D 제제가 알려져 있으나 아직 효능 및 부작용에 대한 연구가 충분치 되어있지 않은 상태이다. 이에, 부작용이 적고 효과가 우수한 새로운 대사성 골 질환 치료제가 요구되는 실정이다.

[0007]

한편, 최근에는 산화스트레스(oxidative stress)로부터 유발된 ROS(reactive oxygen species)가 뼈의 대사에 연관이 있다는 연구들이 보고되고 있다(Darden, A.G., et al., J. Bone Miner. Res., 11:671-675, 1996; Yang, S., et al., J. Biol. Chem., 276:5452-5458, 2001; Fraser, J.H., et al., Bone 19:223-226, 1996; Yang, S., et al., Clacif. Tissue Int., 63:346-350, 1998). 더구나, 뼈의 재생(bone remodeling)은 뼈를 형성하는(bone forming) 조골세포(osteoblasts)와 뼈를 흡수하는(bone resorbing) 파골세포(osteoclast, OC)의 상대적인 작용을 통하여 이루어진다고 알려져 있다. 다중 핵(multinuclear) 파골세포는 다중 핵화된 거대세포(multi-nucleated giant cell)를 형성하기 위한 세포 부착(cell adhesion), 증식(proliferation), 운동성(motility), 세포간 연결(cell-cell contact) 및 말단 융합(terminal fusion)의 다단계 과정을 통한 조혈전구세포(hematopoietic progenitor cell)의 단핵구 대식세포 계통(monocyte macrophage lineage)으로부터 분화된다. 이 과정은 NF- κ B의 수용체 활성화인자(receptor activator of nuclear factor- κ B, 이하 "RANK"로 약칭)라 불리는 수용체와 NF- κ B의 수용체 활성화인자 리간드(receptor activator of NF- κ B ligand, 이하 "RANKL"로 약칭)라 불리는 RANKL이 결합하면서 시작되고, 이어서, 몇 가지 신호전달계(signaling cascade)의 활성화에 의해 전달된다. 활성화된 신호전달경로(signaling pathway)는 TNF 수용체 연관성인자(tumor necrosis factor receptor-associated factor) 6 (이하 "TRAF6"로 약칭)를 통한 NF- κ B, 세포외 신호조절 키나제(extracellular signal-regulated kinase, 이하 "ERK"로 약칭), c-Jun, N-말단 키나제(N-terminal kinase, 이하 "JNK"로 약칭) 및 p38 MAP 키나제(p38 mitogen-activated protein kinase)를 포함한다. 이러한 신호전달 현상은 파골세포의 분화 및 작용의 조절에 직접적인 영향을 미친다(Boyle, N.J., et al., Nature, 423:337-342, 2003). 일단 파골세포들이 분화되면, 뼈의 흡수는 NADPH 옥시다제(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase)에 의해 발생되어진 ROS에 의해 촉진되어 진다. NADPH 옥시다제의 억제제(inhibitor)는 ROS와 뼈흡수의 감소를 유도한다(Yang, S., et al., Clacif. Tissue Int., 63:346-350, 1998). 이러한 결과는 파골세포에서 ROS의 발생이 NADPH 옥시다제 활성화에 의존적이고 파골세포의 기능에 직접적인 연관이 있다는 이론과 일치한다.

[0008]

이에, 본 발명자들은 활성산소(ROS)의 생성을 억제하는 분자적 기전을 이용하여 골다공증의 치료제를 개발할 수 있다는 점에 착안하여 예의 연구를 거듭한 결과, 본 발명의 피라졸 유도체가 활성산소 생성 억제 활성이 우수함을 발견하였으며 이들이 골다공증의 예방 또는 치료에 사용될 수 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009]

(특허문헌 0001) KR 10-2008-0027414

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010]

본 발명의 목적은 활성 산소 생성 억제 활성이 우수한 신규한 피라졸 유도체,이의 제조방법 및 이들을 포함하는 골다공증 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

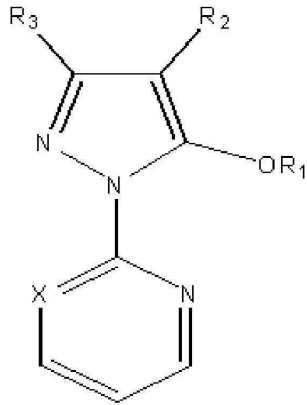
[0011]

또한, 본 발명의 목적은 본 발명의 신규한 피라졸 유도체를 투여하여 골다공증 예방 또는 치료하는 방법 및 골다공증 예방 또는 치료를 위한 약제학적 제제를 제조하기 위한 본 발명의 신규한 피라졸 유도체의 용도를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 및 이의 약제학적으로 허용되는 염을 제공한다.

[0013] [화학식 1]



[0014]

[0015] 상기 식에서,

[0016] X는 -CH- 또는 질소이고;

[0017] R₁은 수소원자 또는 이소프로필옥시카보닐옥시메틸이며;

[0018] R₂는 수소원자, C1 내지 C4의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬, 치환되거나 비치환된 벤질이고;

[0019] R₃는 페닐, 니트로페닐, 치환되거나 비치환된 페닐에테닐(phenylethenyl) 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)이며;

[0020] 여기서, R₁ 및 R₂가 수소원자이면, R₃가 페닐, 니트로페닐 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐이고, 상기 치환기는 니트로, 하이드록시 또는 메톡시이다.

[0021] 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염에 있어서, 바람직하게는 R₂는 수소원자, 프로필 또는 벤질이고; R₃는 페닐, 니트로페닐 또는 1,2-디페닐에테닐일 수 있다.

[0022] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 바람직하게는 X가 -CH-이고 R₁ 및 R₂가 수소원자이면, R₃는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)이거나 또는 X가 질소원자이고 R₁ 및 R₂가 수소원자이면 R₃는 니트로페닐 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)일 수 있으며, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 염은 R₁ 및 R₂가 수소원자이면, R₃가 페닐, 니트로페닐 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)일 수 있다.

[0023] 본 발명의 화합물은 하기 열거된 화합물 중에서 선택된 화합물 및 이들의 약제학적으로 허용되는 염일 수 있다.

[0024] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1*H*-피라졸-5-올,

[0025] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-벤질-1*H*-피라졸-5-올,

[0026] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-(4-니트로벤질) 1*H*-피라졸-5-올,

[0027] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1*H*-피라졸-5-올의 염산염,

[0028] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1*H*-5-(이소프로필옥시카보닐옥시메틸옥시)피라졸,

[0029] 1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-E-에텐일]-4-벤질-1*H*-피라졸-5-올의 염산염,

[0030] 1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-E-에텐일]-4-벤질-1*H*-피라졸-5-올,

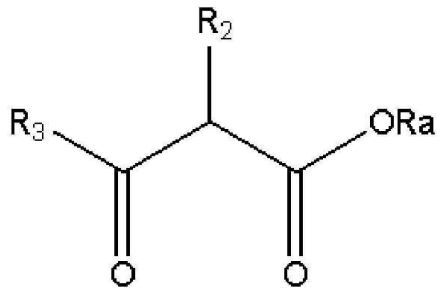
[0031] 3-(4-니트로페닐)-3-[(피리미딘-2-일)하이드라조노] 프로피온산 에틸 에스터,

[0032] 1-(피리미딘-2-일)-3-(4-니트로페닐)-1*H*-피라졸-5-올,

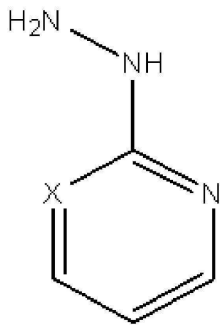
- [0033] 1-(피리딘-2-일)-3-(1,2-디페닐-E-에텐일)-1*H*-피라졸-5-올,
- [0034] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-1*H*-피라졸-5-올의 염산염,
- [0035] 3-(4-메톡시페닐아미노)-1*H*-피라졸-5-올, 또는
- [0036] 4-헥실리텐-3-페닐-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올.
- [0037] 본 발명의 화합물은 바람직하게는 하기 열거된 화합물 및 이들의 약제학적으로 허용되는 염일 수 있다.
- [0038] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1*H*-피라졸-5-올의 염산염,
- [0039] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1*H*-5-(이소프로필옥시카보닐옥시메틸옥시)피라졸,
- [0040] 1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-E-에텐일]-4-벤질-1*H*-피라졸-5-올,
- [0041] 1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-E-에텐일]-4-벤질-1*H*-피라졸-5-올의 염산염,
- [0042] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-1*H*-피라졸-5-올의 염산염.
- [0043] 본 발명에서, 약제학적으로 허용되는 염은 의약품계에서 통상적으로 사용되는 염을 의미하며, 예를 들어 염산, 질산, 인산, 브롬산, 요오드산, 과염소산, 주석산 및 황산 등으로 제조된 무기산염, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 시트르산, 말레인산, 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산, 만데르산, 프로피온산, 구연산, 젖산, 글리콜산, 글루콘산, 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산, 글루쿠론산, 아스파르트산, 아스코르브산, 카본산, 바닐릭산, 하이드로 아이오딕산 등으로 제조된 유기산염, 메탄설폰산, 에탄설폰산, 벤젠설폰산, p-톨루엔설폰산 및 나프탈렌설폰산 등으로 제조된 설폰산염 동일 수 있으며, 열거된 이들 염에 의해 본 발명에서 의미하는 염의 종류가 한정되는 것은 아니다. 바람직하게는 상기 약제학적으로 허용 가능한 염은 염산염일 수 있다.
- [0044] 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 상기에서 열거된 화합물 또는 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염은 활성 산소의 생성을 억제하여 골다공증을 예방 또는 치료할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 화학식 1의 화합물 또는 상기에 열거된 화합물, 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 NADPH 옥시다아제를 억제함으로써 활성 산소의 생성을 억제할 수 있다. 대식세포의 파골세포로의 분화에 중요물질인 NADPH 옥시다아제를 억제함으로써 파골세포의 생성을 억제할 수 있다.
- [0045] 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 상기에서 열거된 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 활성 산소의 생성을 억제하여 골다공증을 예방 또는 치료할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물, 상기에서 열거된 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 NADPH 옥시다아제를 저해함으로써 활성 산소의 생성을 억제할 수 있다.
- [0046] 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 상기에서 열거된 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 식세포의 파골세포로의 분화에 중요물질인 NADPH 옥시다아제를 억제함으로써 파골세포의 생성을 억제할 수 있다.
- [0047] 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 상기에서 열거된 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 뼈의 파괴를 막아 골다공증을 치료 또는 예방할 수 있다.
- [0048] 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 상기에서 열거된 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 독성이 낮으며 또한 안정성이 우수하여 혈액 내에서 장시간 동안 분해되지 않아 높은 체내 혈 중 농도를 장시간 유지할 수 있다. 즉, 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 상기에서 열거된 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 대한민국 등록특허 KR 0942382호에 개시된 화합물보다 독성이 현저히 낮고 안정성은 현저히 높아 골다공증의 치료 또는 예방에 아주 우수한 효과를 나타낼 수 있다.
- [0049] 본 발명은 하기 화학식 2로 표시되는 화합물과 하기 화학식 3으로 표시되는 화합물을 극성 유기용매에 적가하는 단계; 및
- [0050] 상기 화학식 2 및 상기 화학식 3으로 표시되는 화합물을 포함하는 상기 극성 유기 용매를 가열하는 단계를 포

합하는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 제조 방법을 제공한다.

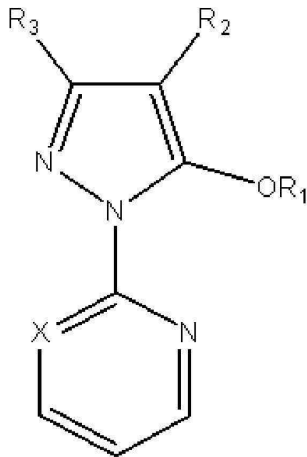
[화학식 2]



[화학식 3]



[화학식 1]



상기식에서,

X는 -CH- 또는 질소이고;

Ra는 C1-C4의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬기이며;

R1은 수소원자 또는 이소프로필옥시카보닐옥시메틸이며;

R2는 수소원자, C1 내지 C4의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬, 치환되거나 비치환된 벤질이고;

R3는 페닐, 니트로페닐, 치환되거나 비치환된 페닐에테닐(phenylethenyl) 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)이며;

여기서, R1 및 R2가 수소원자이면, R3가 페닐, 니트로페닐 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)이고, 상기 치환기는 니트로, 하이드록시 또는 메톡시이다.

본 발명의 상기 제조방법에 따라, 하기의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제조될 수 있다.

- [0065] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1*H*-피라졸-5-올,
- [0066] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-벤질-1*H*-피라졸-5-올,
- [0067] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-(4-니트로벤질)-1*H*-피라졸-5-올,
- [0068] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1*H*-피라졸-5-올의 염산염,
- [0069] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1*H*-5-(이소프로필옥시카보닐옥시메틸옥시)피라졸,
- [0070] 1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-E-에텐일]-4-벤질-1*H*-피라졸-5-올의 염산염,
- [0071] 1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-E-에텐일]-4-벤질-1*H*-피라졸-5-올,
- [0072] 3-(4-니트로페닐)-3-[(피리미딘-2-일)하이드라조노] 프로피온산 에틸 에스터,
- [0073] 1-(피리미딘-2-일)-3-(4-니트로페닐)-1*H*-피라졸-5-올,
- [0074] 1-(피리딘-2-일)-3-(1,2-디페닐-E-에텐일)-1*H*-피라졸-5-올,
- [0075] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-1*H*-피라졸-5-올의 염산염,
- [0076] 3-(4-메톡시페닐아미노)-1*H*-피라졸-5-올 또는
- [0077] 4-헥실리텐-3-페닐-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올.
- [0078] 본 발명의 제조방법에 있어서, 바람직하게는 하기의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제조될 수 있다.
- [0079] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1*H*-피라졸-5-올의 염산염,
- [0080] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1*H*-5-(이소프로필옥시카보닐옥시메틸옥시)피라졸,
- [0081] 1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-E-에텐일]-4-벤질-1*H*-피라졸-5-올의 염산염,
- [0082] 1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-E-에텐일]-4-벤질-1*H*-피라졸-5-올,
- [0083] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-1*H*-피라졸-5-올의 염산염.
- [0084] 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 상기 열거된 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 제조방법에 있어서, 출발물질로 사용되는 화학식 2로 표시되는 화합물인 α -치환된 β -케토 에스테르는 상업적으로 판매되는 것을 사용할 수 있다. 또는 J. Org. Chem., Vol. 43, No.10, 1978, 2087-2088에 기재된 방법에 따라 제조할 수 있으며, 구체적으로 설명하면, 상업적으로 판매되는 아실 클로라이드 유도체를 Meldrum's acid와 반응시켜 생긴 생성물을 메탄올 또는 에탄올과 같은 유기 용매하에 가열 환류시켜 β -케토 에스테르를 제조할 수 있다. α -치환된 β -케토 에스테르는 J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, 1986, 1139-1143에 기재된 방법에 따라 제조할 수 있으며, 구체적으로 설명하면 potassium carbonate 또는 cesium carbonate 존재하에서 β -케토 에스테르와 알킬 할라이드와의 반응으로 용이하게 제조할 수 있다.
- [0085] 본 발명의 제조방법에 있어서, 반응물질인 화학식 3으로 표시되는 화합물은 시중에서 판매되는 것을 사용할 수 있으며, 출발물질인 화학식 2로 표시되는 화합물 1 몰 당량에 대하여 상기 화학식 3으로 표시되는 화합물 약 1 내지 3 몰 당량 사용할 수 있으며, 바람직하게는 약 1 내지 1.3 몰 당량 사용할 수 있다.
- [0086] 본 발명의 제조방법에 있어서, 극성유기용매는 메탄올, 에탄올, n-프로판올, i-이소프로판올, n-부탄올, t-부탄올과 같은 C1-C4 알콜 또는 아세트산 또는 이들의 혼합물 일 수 있으며, 바람직하게는 에탄올 또는 아세트산일 수 있다.
- [0087] 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 산성 물질과 반응시켜, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 염을 제조할 수 있다. 상기 산성물질은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물과 반응하여 염을 형성할 수 있는 물질이면, 그 종류가 특별히 제한되지 않는다. 예를 들면, 상기 산성 물질은 염산, 질산, 인산, 브롬산, 요오드산, 과염소산, 주석산 및 황산 등의 무기산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 시트르산, 말레인산, 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산, 만데르산, 프로피온산, 구연산, 젖산, 글리콜산,

글루콘산, 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산, 글루쿠론산, 아스파르트산, 아스코르브산, 카본산, 바닐릭산, 하이드로 아이오딕산 등의 유기산, 메탄설폰산, 에탄설폰산, 벤젠설폰산, p-톨루엔설폰산 및 나프탈렌설폰산 등으로 제조된 설폰산 등을 들 수 있으며, 바람직하게는 염산을 들 수 있다.

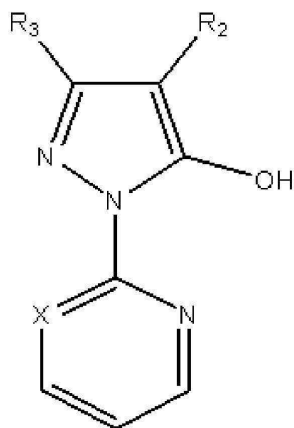
[0088] 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 화학식 2로 표시되는 화합물과 상기 화학식 3으로 표시되는 화합물을 극성 유기용매에 -4℃ 내지 10℃에서 적가될 수 있다.

[0089] 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 화학식 2로 표시되는 화합물과 상기 화학식 3으로 표시되는 화합물을 포함하는 유기 용매는 용매를 환류시킬 수 있는 온도에서 가열하며, 바람직하게는 약 100 내지 약 130℃에서 가열할 수 있다.

[0090] 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 화학식 2로 표시되는 화합물과 상기 화학식 3으로 표시되는 화합물을 포함하는 유기 용매는 약 10분 내지 72시간 동안 가열할 수 있다.

[0091] 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 화학식 2로 표시되는 화합물과 상기 화학식 3으로 표시되는 화합물이 유기 용매 하에서 반응하여 하기의 화학식 4로 표시되는 화합물이 제조될 수 있다.

[0092] [화학식 4]



[0093]

[0094] 상기 식에서,

[0095] X는 -CH- 또는 질소이고;

[0096] R₂는 수소원자, C1 내지 C4의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬, 치환되거나 비치환된 벤질이고;

[0097] R₃는 페닐, 니트로페닐, 치환되거나 비치환된 페닐에테닐(phenylethenyl) 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)이며;

[0098] 여기서, R₂가 수소원자이면 R₃는 페닐, 니트로페닐 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)이고, 상기 치환기는 니트로, 하이드록시 또는 메톡시이다.

[0099] 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법에 있어서, 상기 화학식 4로 표시되는 화합물을 염기 존재 하에 이소프로필옥시카보닐옥시메틸아이오다이드, 이소프로필옥시카보닐옥시메틸클로라이드 또는 이소프로필옥시카보닐옥시메틸브로마이드와 같은 할라이드 화합물과 반응시켜 상기 화학식 1로 표시되는 화합물에서 피라졸의 5번 탄소 위치에 이소프로필옥시카보닐옥시메틸옥시기가 결합된 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조할 수 있다.

[0100] 상기 화학식 4로 표시되는 화합물과 상기 할라이드 화합물의 반응에 있어서, 상기 염기는 4-디메틸아미노피리딘(DMAP), 피리딘, 트리에틸아민, 이미다졸, 칼륨카보네이트, 나트륨카보네이트, 칼슘카보네이트와 같은 카보네이트의 금속염 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 상기 염기는 상기 화학식 2로 표시되는 화합물 1 몰당량에 대하여 약 2 내지 약 3 몰당량 사용할 수 있다.

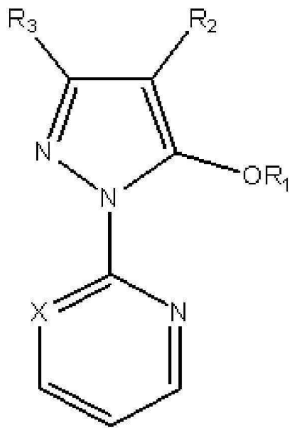
[0101] 상기 화학식 4로 표시되는 화합물과 상기 할라이드 화합물의 반응에 있어서, 상기 반응 용매는 물과 유기용매의 혼합물일 수 있으며, 바람직하게는 물과 메틸렌클로라이드, 에틸에테르, 에틸아세테이트, THF(tetrahydrofuran) 및 DMF(N,N'-Dimethylformamide) 중에서 선택된 적어도 하나의 유기용매의 혼합물일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 물과 메틸렌클로라이드의 혼합물일 수 있다.

[0102] 상기 화학식 4로 표시되는 화합물과 상기 할라이드 화합물의 반응은 상이동축매 하에서 수행될 수 있다. 이와 같은 경우, 피라졸기의 2번 위치의 아민기가 알킬레이션된 불순물의 생성을 억제하여 보다 높은 순도로 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 수득할 수 있다. 상기 상이동축매는 그 종류가 특별히 제한되지는 않으나, 바람직하게는 Bu₄NHSO₄를 사용할 수 있다.

[0103] 상기 화학식 4로 표시되는 화합물과 상기 할라이드 화합물의 반응에 있어서, 반응 온도는 약 0 내지 약 40℃가 바람직하며, 15 내지 30℃가 더 바람직하며, 반응시간은 10 내지 12시간 정도가 바람직하나, 반응 속도에 따라 반응 온도를 더 높일 수 있으며 반응시간을 더 증가시킬 수 있다.

[0104] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 골다공증 예방 또는 치료용 약학조성물을 제공한다:

[0105] [화학식 1]



[0106]

[0107] 상기 식에서,

[0108] X는 -CH- 또는 질소이고;

[0109] R₁은 수소원자 또는 이소프로필옥시카보닐옥시메틸이며;

[0110] R₂는 수소원자, C1 내지 C4의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬, 치환되거나 비치환된 벤질이고;

[0111] R₃는 페닐, 니트로페닐, 치환되거나 비치환된 페닐에테닐(phenylethenyl) 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)이며;

[0112] 여기서, R₁ 및 R₂가 수소원자이면, R₃가 페닐, 니트로페닐 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)이고, 상기 치환기는 니트로, 하이드록시 또는 메톡시이다.

[0113] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 바람직하게는 X가 -CH-이고 R₁ 및 R₂가 수소원자이면, R₃는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)이거나 또는 X가 질소원자이고 R₁ 및 R₂가 수소원자이면 R₃는 니트로페닐 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)일 수 있으며, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 염은 R₁ 및 R₂가 수소원자이면, R₃가 페닐, 니트로페닐 또는 치환되거나 비치환된 디페닐에테닐(diphenylethenyl)일 수 있다.

[0114] 본 발명은 또한 하기 열거된 화합물 중에서 선택된 화합물 또는 이들의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 골다공증 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다:

[0115] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1H-피라졸-5-올;

[0116] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-벤질-1H-피라졸-5-올;

[0117] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-(4-니트로벤질)1H-피라졸-5-올;

- [0118] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1*H*-피라졸-5-올의 염산염;
- [0119] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1*H*-5-(이소프로필옥시카보닐옥시메틸옥시)피라졸;
- [0120] 1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-E-에텐일]-4-벤질-1*H*-피라졸-5-올의 염산염;
- [0121] 1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-E-에텐일]-4-벤질-1*H*-피라졸-5-올;
- [0122] 3-(4-니트로페닐)-3-[(피리미딘-2-일)하이드라조노] 프로피온산 에틸 에스터;
- [0123] 1-(피리미딘-2-일)-3-(4-니트로페닐)-1*H*-피라졸-5-올;
- [0124] 1-(피리딘-2-일)-3-(1,2-디페닐-E-에텐일)-1*H*-피라졸-5-올;
- [0125] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-1*H*-피라졸-5-올의 염산염;
- [0126] 3-(4-메톡시페닐아미노)-1*H*-피라졸-5-올 또는
- [0127] 4-헥실리덴-3-페닐-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올.
- [0128] 본 발명은 바람직하게는 하기 열거된 화합물 중에서 선택된 하나 이상의 화합물 또는 이들의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 골다공증 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다:
- [0129] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1*H*-피라졸-5-올의 염산염;
- [0130] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1*H*-5-(이소프로필옥시카보닐옥시메틸옥시)피라졸;
- [0131] 1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-E-에텐일]-4-벤질-1*H*-피라졸-5-올;
- [0132] 1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-E-에텐일]-4-벤질-1*H*-피라졸-5-올의 염산염; 또는
- [0133] 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-1*H*-피라졸-5-올의 염산염.
- [0134] 본 발명에서 “골다공증”은 뼈 전체에서 골수강 등의 빈 부분을 제외한 뼈의 절대량이 감소된 상태로, 노인성 골다공증, 폐경후 골다공증, 내분비성 골다공증, 선천성 골다공증, 부동성 골다공증 또는 외상성 골다공증이 포함될 수 있다.
- [0135] 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 상기에서 열거된 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물은 활성 산소의 생성을 억제하여 골다공증을 예방 또는 치료할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물, 상기에서 열거된 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물은 NADPH 옥시다아제를 저해함으로써 활성 산소의 생성을 억제할 수 있다. 본 발명의 조성물은 대식세포의 파골세포로의 분화에 중요물질인 NADPH 옥시다아제를 억제함으로써 파골세포의 생성을 억제할 수 있다.
- [0136] 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 상기에서 열거된 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물은 뼈의 파괴를 막아 골다공증을 치료 또는 예방할 수 있다.
- [0137] 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 상기에서 열거된 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물은 독성이 낮으며 또한 안정성이 우수하여 혈액 내에서 장시간 동안 분해 없이 유지될 수 있어 높은 체내 혈 중 농도를 나타낼 수 있다. 즉, 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 상기에서 열거된 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물은 대한민국등록특허 KR 0942382호에 개시된 화합물을 포함하는 조성물보다 독성이 현저히 낮고 안정성은 현저히 높아 골다공증의 치료 또는 예방에 탁월한 효과를 나타낼 수 있다.
- [0138] 본 발명의 조성물은 본 발명의 효과를 해치지 않는 범위 안에서 약학적으로 허용 가능한 희석제, 결합제, 분해제, 윤활제, pH 조절제, 산화방지제, 용해보조제 등의 첨가제를 포함할 수 있다.
- [0139] 희석제는 슈가, 전분, 미결정셀룰로오스, 유당(유당수화물), 포도당, 디-만니톨, 알기네이트, 알칼리토금속류염, 클레이, 폴리에틸렌글리콜, 무수인산수소칼슘, 또는 이들의 혼합물 등을 사용할 수 있으며; 결합제는 전분, 미결정셀룰로오스, 고분산성 실리카, 만니톨, 디-만니톨, 자당, 유당수화물, 폴리에틸렌글리콜, 폴리비닐

피롤리돈(포비돈), 폴리비닐피롤리돈 공중합체(코포비돈), 히프로멜로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 천연검, 합성검, 코포비돈, 젤라틴, 또는 이들의 혼합물 등을 사용할 수 있다.

[0140] 봉해제는 전분글리콘산나트륨, 옥수수전분, 감자전분 또는 전호화전분 등의 전분 또는 변성전분; 벤토나이트, 몬모릴로나이트, 또는 비검(veegum) 등의 클레이; 미결정셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스 또는 카르복시메틸셀룰로오스 등의 셀룰로오스류; 알긴산나트륨 또는 알긴산 등의 알긴류; 크로스카멜로스(croscarmellose)나트륨 등의 가교 셀룰로오스류; 구아검, 잔탄검 등의 검류; 가교 폴리비닐피롤리돈(crospovidone) 등의 가교 중합체; 중탄산나트륨, 시트르산 등의 비등성 제제, 또는 이들의 혼합물을 사용할 수 있다.

[0141] 윤활제는 탈크, 스테아린산, 스테아린산 마그네슘, 스테아린산 칼슘, 라우릴설페이트나트륨, 수소화식물성오일, 나트륨벤조에이트, 나트륨스테아릴푸마레이트, 글리세릴 베헤네이트, 글리세릴 모노레이트, 글리세릴모노스테아레이트, 글리세릴 팔미토스테아레이트, 콜로이드성 이산화규소 또는 이들의 혼합물 등을 사용할 수 있다.

[0142] pH 조절제는 초산, 아디프산, 아스코르빈산, 아스코르빈산 나트륨, 에테르산 나트륨, 사과산, 숙신산, 주석산, 푸마르산, 구연산(시트르산)과 같은 산성화제와 침강 탄산 칼슘, 암모니아수, 메글루민, 탄산나트륨, 산화 마그네슘, 탄산 마그네슘, 구연산 나트륨, 삼염기칼슘인산염과 같은 염기성화제 등을 사용할 수 있다.

[0143] 산화방지제는 디부틸 히드록시 톨루엔, 부틸레이티드 히드록시아니솔, 초산 토크페롤, 토크페롤, 프로필 갈레이트, 아황산수소나트륨, 피로아황산나트륨 등을 사용할 수 있다. 본 발명의 선방출성 구획에서, 용해보조제는 라우릴황산나트륨, 폴리소르베이트 등의 폴리옥시에틸렌 소르비탄 지방산 에스테르, 도큐세이트 나트륨, 폴록사머(poloxamer) 등을 사용할 수 있다.

[0144] 또한, 지연방출성 제제를 만들기 위해 장용성 고분자, 수불용성 중합체, 소수성 화합물, 및 친수성 고분자를 포함할 수 있다.

[0145] 상기 장용성 고분자는 pH5 미만의 산성 조건하에서 불용성이거나 또는 안정한 것으로, pH5 이상인 특정 pH 조건하에서 용해되거나 또는 분해되는 고분자를 말하며, 예를 들어, 히프로멜로오스아세테이트숙시네이트, 히프로멜로오스프탈레이트(히드록시프로필메틸셀룰로오스 프탈레이트), 히드록시메틸에틸셀룰로오스프탈레이트, 셀룰로오스아세테이트프탈레이트, 셀룰로오스아세테이트숙시네이트, 셀룰로오스아세테이트말레이트, 셀룰로오스벤조에이트프탈레이트, 셀룰로오스프로피오네이트프탈레이트, 메틸셀룰로오스프탈레이트, 카르복시메틸에틸셀룰로오스 및 에틸히드록시에틸셀룰로오스프탈레이트, 메틸히드록시에틸셀룰로오스와 같은 장용성 셀룰로오스 유도체; 스티렌-아크릴산 공중합체, 아크릴산메틸-아크릴산 공중합체, 아크릴산메틸메타크릴산 공중합체(예컨대, 아크릴-이즈), 아크릴산부틸-스티렌-아크릴산 공중합체, 및 아크릴산메틸-메타크릴산-아크릴산옥틸 공중합체와 같은 상기 장용성 아크릴산계 공중합체; 폴리(메타크릴산 메틸 메타크릴레이트) 공중합체(예컨대, 유드라짓 L, 유드라짓 S, 에보닉, 독일), 폴리(메타크릴산 에틸아크릴레이트) 공중합체(예컨대, 유드라짓 L100-55)와 같은 장용성 폴리메타크릴레이트 공중합체; 아세트산비닐-말레인산 무수물 공중합체, 스티렌-말레인산 무수물 공중합체, 스티렌-말레인산모노에스테르 공중합체, 비닐메틸에테르-말레인산 무수물 공중합체, 에틸렌-말레인산 무수물 공중합체, 비닐부틸에테르-말레인산 무수물 공중합체, 아크릴로니트릴-크릴산메틸·말레인산 무수물 공중합체, 및 아크릴산부틸-스티렌-말레인산 무수물 공중합체와 같은 장용성 말레인산계 공중합체; 및 폴리비닐알콜프탈레이트, 폴리비닐아세탈프탈레이트, 폴리비닐부틸레이트프탈레이트 및 폴리비닐아세탈아세탈프탈레이트와 같은 장용성 폴리비닐 유도체가 있다.

[0146] 상기 수불용성 중합체는 약물의 방출을 제어하는 약제학적으로 허용가능한 물에 용해되지 않는 고분자를 말한다. 예를 들어, 수불용성 중합체는 폴리비닐아세테이트(예컨대, 콜리코트 SR30D), 수불용성 폴리메타크릴레이트 공중합체[예컨대, 폴리(에틸아크릴레이트-메틸 메타크릴레이트) 공중합체(예컨대, 유드라짓 NE30D, 폴리(에틸아크릴레이트-메틸 메타크릴레이트-트리메틸아미노에틸메타크릴레이트)공중합체(예컨대, 유드라짓RSP0) 등], 에틸셀룰로오스, 셀룰로오스 에스테르, 셀룰로오스 에테르, 셀룰로오스 아실레이트, 셀룰로오스 디아실레이트, 셀룰로오스 트리아실레이트, 셀룰로오스 아세테이트, 셀룰로오스 디아세테이트 및 셀룰로오스 트리아세테이트 등이 있다.

[0147] 상기 소수성 화합물은 약물의 방출을 제어하는 약제학적으로 허용가능한 물에 용해되지 않는 물질을 말한다. 예를 들어, 글리세릴 팔미토스테아레이트, 글리세릴 스테아레이트, 글리세릴 비헤네이트, 세틸 팔미테이트, 글리세릴 모노 올레이트 및 스테아린산과 같은 지방산 및 지방산 에스테르류; 세토스테아릴 알코올, 세틸알코

올 및 스테아릴알코올과 같은 지방산 알코올류; 카르나우바왁스, 밀납, 및 미결정왁스와 같은 왁스류; 탈크, 침강탄산칼슘, 인산일수소칼슘, 산화아연, 산화티탄, 카올린, 벤토나이트, 몬모릴로나이트 및 비검과 같은 무기질 물질 등이 있다.

[0148] 상기 친수성 고분자는 약물의 방출을 제어하는 약제학적으로 허용가능한 물에 용해되는 고분자 물질을 말한다. 예를 들어, 텍스트린, 폴리텍스트린, 텍스트란, 펙틴 및 펙틴 유도체, 알긴산염, 폴리갈락투론산, 자일란, 아라비노자일란, 아라비노갈락탄, 전분, 히드록시프로필스타치, 아밀로오스, 및 아밀로펙틴과 같은 당류; 히프로멜로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 히드록시메틸셀룰로오스, 히드록시에틸셀룰로오스, 메틸셀룰로오스 및 카르복시메틸셀룰로오스 나트륨과 같은 셀룰로오스 유도체; 구아검, 로커스트 콩 검, 트라가칸타, 카라기난, 아카시아검, 아라비아검, 젤란검, 및 잔탄검과 같은 검류; 젤라틴, 카제인, 및 제인과 같은 단백질; 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 피롤리돈, 및 폴리비닐아세탈디에틸아미노아세테이트와 같은 폴리비닐유도체; 폴리(부틸 메타크릴레이트-(2-디메틸아미노에틸)메타크릴레이트-메틸메타크릴레이트) 공중합체(예컨대, 유드라짓E100, 에보닉, 독일), 폴리(에틸 아크릴레이트-메틸 메타크릴레이트-트리에틸아미노에틸-메타크릴레이트 클로라이드) 공중합체(예컨대, 유드라짓 RL, RS, 에보닉, 독일)과 같은 친수성 폴리메타크릴레이트 공중합체; 폴리에틸렌 글리콜, 및 폴리에틸렌 옥사이드와 같은 폴리에틸렌 유도체; 카보머 등이 있다.

[0149] 이외에도 착색제, 향료 중에서 선택된 다양한 첨가제로서 약제학적으로 허용 가능한 첨가제를 선택 사용하여 본 발명의 제제를 제제화할 수 있다.

[0150] 본 발명에서 첨가제의 범위가 상기 첨가제를 사용하는 것으로 한정되는 것은 아니며, 상기한 첨가제를 선택에 의하여 통상 범위의 용량을 함유하여 제제화할 수 있다.

[0151] 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽 및 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.

[0152] 본 발명은 또한 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물, 상기에서 열거된 화합물 또는 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물을 포유류를 포함하는 대상체에 투여하여 골다공증 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명에서 용어, “투여”는 어떠한 적절한 방법으로 환자에게 본 발명의 골다공증 예방 및 치료용 조성물을 도입하는 것을 의미하며, 본 발명의 골다공증 예방 및 치료용 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 경구 투여, 복강내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 내피 투여, 비내 투여, 폐내투여, 직장내 투여, 강내 투여, 복강내 투여, 경막내 투여될 수 있으며, 이에 제한되지 않는다.

[0153] 본 발명에 따른 골다공증 예방 또는 치료용 조성물은 일일 1회 또는 일정한 시간 간격을 두고 일일 2회 이상 투여될 수 있다.

[0154] 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물, 상기 열거된 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다. 0.1 내지 100mg/kg/day 이며, 10 내지 40mg/kg/day 가 보다 바람직하나, 이는 환자의 중증, 나이, 성별 등에 따라 변화될 수 있다.

[0155] 본 발명은 또한 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 상기에서 열거된 화합물 또는 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포유류를 포함하는 대상체에 투여하여 활성 산소의 생성을 억제하는 방법을 제공한다.

[0156] 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 상기에서 열거된 화합물 또는 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포유류를 포함하는 대상체에 투여하여 과골세포의 생성을 억제하는 방법을 제공한다.

[0157] 본 발명은 또한 골다공증 치료 또는 예방용 약제학적 제제를 제조하기 위한 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 상기에서 열거된 화합물 또는 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도를 제공한다.

[0158] 또한 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 상기에서 열거된 화합물 또는 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 건강식품을 제공한다. 바람직하게는 뼈 강화를 위한 건강식품이 바람직하다.

[0159] 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 상기에서 열거된 화합물 또는 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염은 활성 산소의 생성을 저해하는 활성 산소 억제제를 제공한다.

발명의 효과

[0160] 본 발명의 화합물은 활성산소 생성 억제 활성이 우수하며 또한 종래의 치료제와 같은 특별한 부작용이 없이

골다공증 치료 또는 예방에 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0161]

도 1 내지 도 6은 본 발명에 따른 화합물의 파골세포 분화 억제 효과를 보여주는 도이다.

도 7 및 도 8은 본 발명에 따른 화합물이 LPS(lipopolysaccharide)에 의해 유도된 뼈 파괴 억제 효과를 보여주는 도이다.

도 9 내지 13은 본 발명에 따른 화합물의 난소 제거에 따른 뼈 손실 억제 효과를 보여주는 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0162]

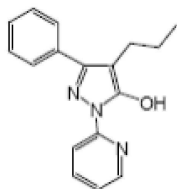
이하 하기 실시예 및 실험예를 통하여 본 발명을 보다 구체적으로 설명하고자 한다. 이들 실시예 및 실험예는 본 발명을 설명하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 하기 실시예 및 실험예로 한정되는 것은 아니다.

[0163]

또한, 이하에서 언급된 시약 및 용매는 특별한 언급이 없는 한 Sigma-Aldrich Korea, Alfa Aesar, 또는 Tokyo Chemical Industry(TCI)로부터 구입한 것이며, ^1H -NMR 데이터는 JEOL사의 Eclipse FT 300 MHz Spectrometer로 측정된 값이고, ^{13}C -NMR 데이터는 JEOL사의 Eclipse FT 300 MHz Spectrometer로 측정된 값이며, Mass 데이터는 JEOL사의 MStation JMS 700 mass Spectrometer로 측정된 값이다.

[0164]

실시예 1: 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1H-피라졸-5-올의 합성



[0165]

...[화학식 1-1]

[0166]

둥근 바닥플라스크에 2-프로필-3-옥소-3-페닐프로피온 산 에틸 에스터(2.52 g, 10.7 mmol)와 에탄올 10ml을 넣고, 2-히드라지노피리딘(1.29 g, 11.8 mmol)을 에탄올 3ml에 희석시켜 0℃에서 천천히 적가하였다. 3일동안 100℃에서 가열 환류시켰다. 감압증류하여 용매를 제거한 다음 생성된 고체를 헥산과 에틸아세테이트로 세척한 후 진공건조시켜 상기 표제의 목적 화합물을 82%의 수율로 수득하였다.

[0167]

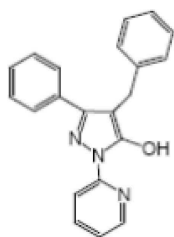
^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ 12.50 (1H, s), 8.27-8.25 (1H, m), 8.01 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.81 (1H, m), 7.69 (2H, m), 7.48-7.34 (3H, m), 7.14-7.10 (1H, m), 2.54 (2H, d, $J = 7.5$ Hz), 1.64 (2H, m), 0.93 (3H, t, $J = 7.3$ Hz);

[0168]

EIMS (70 eV) m/z (rel intensity) 279 (M^+ , 37), 250 (100).

[0169]

실시예 2: 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-벤질-1H-피라졸-5-올의 합성



[0170]

...[화학식 1-2]

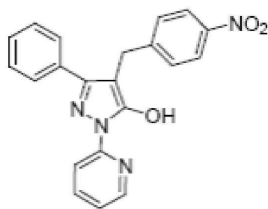
[0171]

둥근 바닥플라스크에 2-벤질-3-옥소-3-페닐프로피온산 에틸 에스터 (530 mg, 1.87 mmol)와 에탄올 7ml을 넣고, 여기에 2-히드라지노피리딘 (204 mg, 1.87 mmol)을 에탄올 3ml에 희석시켜 0℃에서 천천히 적가하였다. 반응용액을 2일 동안 100℃에서 가열환류시켰다. 반응물을 감압증류하여 용매를 제거한 다음, 생성된 고체를 헥산과 에틸아세테이트로 세척한 후 진공건조시켜 표제의 목적 화합물을 92%의 수율로 수득하였다.

[0172] ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ 12.66 (1H, s), 8.27-8.25 (1H, m), 8.01 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.81 (1H, m), 7.63 (2H, m), 7.35-7.12 (9H, m), 3.93 (2H, s);

[0173] EIMS (70 eV) m/z (rel intensity) 327 (M^+ , 100), 250 (75), 222 (32), 206 (20), 195 (15).

[0174] **실시예 3: 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-(4-니트로벤질)-1*H*-피라졸-5-올의 합성**



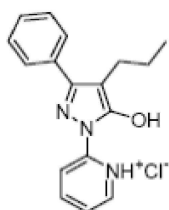
[0175] ...[화학식 1-3]

[0176] 마이크로웨이브 반응기용 바이알에 2-(4-니트로벤질)-3-옥소-3-페닐프로피온산 에틸 에스터(142 mg, 0.43 mmol)와 에탄올 5mL을 넣고, 여기에 2-히드라지노피리딘(47 mg, 0.43 mmol)을 에탄올 3mL에 희석시켜 0°C에서 천천히 적가하였다. 반응용액을 마이크로웨이브 반응기에서 2일 동안 120°C에서 가열하여 표제의 목적 화합물을 29%의 수율로 수득하였다.

[0177] ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ 12.82 (1H, s), 8.30 (1H, d, $J = 4.4$ Hz), 8.12-7.48 (4H, m), 7.71-7.17 (8H, m), 3.01 (2H, s);

[0178] EIMS (70 eV) m/z (rel intensity) 372 (M^+ , 0.01), 250 (15), 222 (12), 189 (11), 147 (20), 121 (78), 105 (89).

[0179] **실시예 4: 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1*H*-피라졸-5-올 · HCl의 합성**

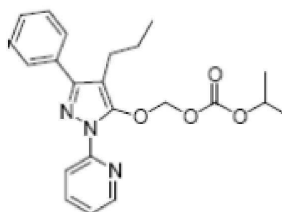


[0180] ...[화학식 1-4]

[0181] 둥근 바닥플라스크에 실시예 1에서 제조한 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1*H*-피라졸-5-올 280mg을 에틸에테르 4mL에 용해시켰다. 여기에 2M의 HCl이 용해된 에틸에테르 0.55mL를 0°C에서 천천히 적가하였다. 상기 반응 용액에서 생성된 고체를 감압여과하여 용매를 제거한 다음, 헥산과 에틸아세테이트로 세척한 후 진공건조시켜 표제의 목적 화합물 270mg을 수득하였다.

[0182] ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.44 (1H, d, $J = 4.2$ Hz), 8.08-8.03 (2H, m), 7.66-7.64 (2H, m), 7.48-7.42 (3H, m), 7.34-7.30 (1H, m), 2.49 (2H, brs), 2.43 (2H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.48 (2H, m), 0.48 (3H, t, $J = 7.3$ Hz).

[0183] **실시예 5: 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1*H*-5-(이소프로필옥시카보닐옥시메틸옥시)피라졸의 합성(18-306)**



[0184] ...[화학식 1-5]

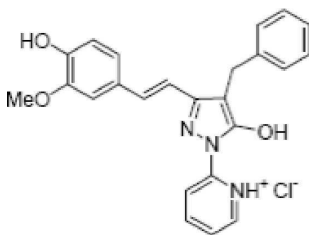
[0185] 물 8 mL와 디클로로메탄 8 mL의 혼합용매에 실시예 1에서 제조한 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-4-프로필-1*H*-피라졸-5-올 438 mg, K_2CO_3 650 mg, Bu_4NHSO_4 532 mg을 첨가한 후, 이소프로필옥시카보닐옥시메틸아이오다이드 497

mg를 2 mL의 디클로로메탄에 녹인 용액을 첨가하였다. 이 후, 상기 용액을 격렬하게 밤새 교반하여 화합물들을 반응시켰다. 반응물을 디클로로메탄으로 추출하여 얻은 유기층을 물과 소금물로 세척하고 농축한 잔유물을 컬럼크로마토그래프 (전개용매: 헥산(hexane)/에틸아세테이트(EtOAc) = 10/1)하여 표제의 목적화합물 (361 mg, 수율 58%)을 수득하였다.

[0186] ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ 8.48-8.46 (1H, m), 7.89 (1H, d, J = 8.2 Hz), 7.80 (1H, m), 7.78-7.68 (2H, m), 7.57-7.34 (3H, m), 7.23-7.16 (1H, m), 5.84 (2H, s), 4.86 (1H, m), 2.55 (2H, d, J = 7.7 Hz), 1.58 (2H, m), 1.25 (6H, d, J = 6.3 Hz), 0.91 (3H, t, J = 7.5 Hz)

[0187] ^{13}C NMR(75 MHz, CDCl_3) δ 153.6, 152.0, 150.8, 149.3, 147.9, 138.3, 134.0, 128.4, 128.0, 127.6, 121.3, 115.9, 110.0, 92.6, 72.7, 24.7, 22.9, 21.6, 14.1.

[0188] **실시예 6: 1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-*E*-에텐일]-4-벤질-1*H*-피라졸-5-올 · HCl의 합성**



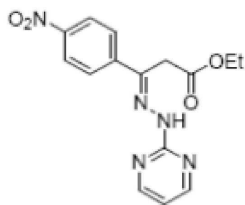
[0189] ...[화학식 1-6]

[0190] 둥근 바닥플라스크에 2-벤질-3-옥소-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-*E*-에텐일]프로피온산 에틸 에스터 (3.55g, 10 mmol)와 초산 10 mL를 넣고, 여기에 2-히드라지노피리딘 (1.1g, 10.1 mmol)을 초산 3 mL에 희석시켜 0℃에서 천천히 적가하였다. 반응용액을 2일 동안 100℃에서 가열환류시켰다. 반응물을 감압증류하여 용매를 제거한 다음, 잔유물을 컬럼크로마토그래프 (전개용매: 헥산(hexane)/에틸아세테이트(EtOAc) = 15/1)하여 1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-*E*-에텐일]-4-벤질-1*H*-피라졸-5-올을 1.32g 수득하였다.

[0191] 둥근 바닥플라스크에 상기에서 수득한 1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-*E*-에텐일]-4-벤질-1*H*-피라졸-5-올 1.10g을 에틸에테르 15mL에 용해시켰다. 여기에 2M의 HCl이 용해된 에틸에테르 1.5 mL를 0℃에서 천천히 적가하였다. 40℃에서 24시간 교반후, 상기 반응 용액에서 생성된 고체를 감압여과하여 용매를 제거한 다음, 헥산과 에틸아세테이트로 세척한 후 진공건조시켜 표제의 목적 화합물 1.1g을 수득하였다.

[0192] ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.47-8.45 (1H, m), 8.30 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.98-7.93 (2H, m), 7.32-6.83 (10H, m), 3.82 (3H, s), 2.72 (2H, s).

[0193] **실시예 7: 3-(4-니트로페닐)-3-[(피리미딘-2-일)하이드라조노] 프로피온산 에틸 에스터의 합성**

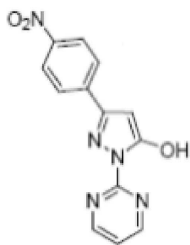


[0194] ...[화학식 1-7]

[0195] 둥근 바닥플라스크에 에틸 4-니트로벤조일아세테이트 356 mg과 2-히드라지노피리미딘 182 mg을 에탄올 15mL에 용해시켰다. 반응혼합물을 3일동안 100℃에서 가열 환류시켰다. 반응물을 에틸 아세테이트로 추출하여 얻은 유기층을 물과 소금물로 세척하고 농축한 잔유물을 컬럼크로마토그래프(전개용매: 헥산(hexane)/에틸아세테이트(EtOAc) = 1/1)하여 상기 표제 화합물 (118 mg, 수율 24%)을 수득하였다.

[0196] ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ 9.79 (1H, s), 8.56 (2H, d, J = 4.8 Hz), 8.26 (2H, d, J = 7.2 Hz), 8.09 (2H, d, J = 7.0 Hz), 6.89 (1H, t, J = 4.9 Hz), 4.28 (2H, q, J = 7.2 Hz), 3.89 (2H, s), 1.28 (3H, t, J = 7.2 Hz).

[0197] **실시예 8: 1-(피리미딘-2-일)-3-(4-니트로페닐)-1*H*-피라졸-5-올의 합성**

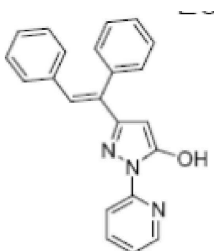


[0198] ...[화학식 1-8]

[0199] 둥근 바닥플라스크에 실시예 7에서 제조된 3-(4-니트로페닐)-3-[2-(피리미딘-2-일)하이드라조노] 프로피온산 에틸 에스터 100 mg을 초산 15 mL에 용해시켰다. 반응혼합물을 2일동안 약 150℃에서 가열환류시켰다. 용매를 제거하여 얻은 농축액에 에틸 아세테이트를 첨가한 후, 유기층을 묽은 NaHCO₃ 수용액과 물로 세척하였다. 농축한 잔유물을 컬럼크로마토그래프 (전개용매: 헥산(hexane)/에틸아세테이트(EtOAc) = 1/1)하여 상기 표제의 화합물 (61 mg, 수율 72%)을 수득하였다.

[0200] ¹H NMR(300 MHz, CDCl₃) 11.9 (1H, s), 8.83 (2H, d, J = 4.8 Hz), 8.27 (2H, d, J = 7.2 Hz), 8.08 (2H, d, J = 7.0 Hz), 7.30 (1H, t, J = 4.7 Hz), 6.09 (1H, s).

[0201] 실시예 9: 1-(피리딘-2-일)-3-[(1,2-디페닐-*E*-에텐일)-1*H*-피라졸-5-올의 합성



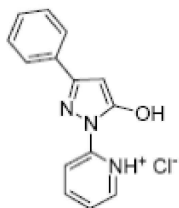
[0202] ...[화학식 1-9]

[0203] 둥근 바닥플라스크에 4,5-디페닐-3-옥소-4-펜테논 산 에틸 에스터 294 mg과 2-히드라지노피리딘 120 mg을 초산 5 mL에 용해시켰다. 반응혼합물을 5시간 동안 약 150℃에서 가열환류시켰다. 용매를 제거한 반응물을 에틸 아세테이트로 추출하여 얻은 유기층을 물과 소금물로 세척하였다. 농축한 잔유물을 컬럼크로마토그래프 (전개용매: 헥산(hexane)/에틸아세테이트(EtOAc) = 10/1)하여 상기 표제 화합물 (130 mg, 수율 38%)을 수득하였다.

[0204] ¹H NMR(300 MHz, CDCl₃) 12.7 (1H, s), 8.26-7.81 (3H, m), 8.43-7.03 (12H, m), 5.46 (1H, s);

[0205] EIMS (70 eV) *m/z* (rel intensity) 339 (M⁺, 100), 310 (6), 262 (23), 217 (21), 202 (24), 178 (18), 121 (48).

[0206] 실시예 10: 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-1*H*-피라졸-5-올 · HCl의 합성의 합성



[0207] ...[화학식 1-10]

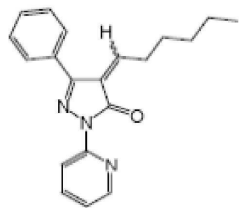
[0208] 둥근 바닥플라스크에 에틸 벤조일아세테이트 (1.92 g, 9.99 mmol)와 에탄올 10mL을 넣고, 여기에 2-히드라지노피리딘 (1.1g, 10.0 mmol 물)을 에탄올 10 mL에 희석시켜 0℃에서 천천히 적가하였다. 반응용액을 8시간동안 100℃에서 가열환류시켰다. 반응물을 감압증류하여 용매를 제거한 다음 생성된 고체를 헥산과 에틸아세테이트로 세척하고 진공건조시켜 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-1*H*-피라졸-5-올을 87%의 수율로 수득하였다.

[0209] 둥근 바닥플라스크에 상기 제조된 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-1*H*-피라졸-5-올 237 mg에 에틸에테르 4mL를 첨가하고 여기에 2M의 HCl이 용해된 에틸에테르 0.55mL를 0℃에서 천천히 적가하였다. 상기 반응 용액에서 생성된 고체를 감압여과하여 용매를 제거한 다음, 헥산과 에틸아세테이트로 세척한 후 진공건조시켜 표제의 목적 화

합물을 87%의 수율로 수득하였다.

[0210] ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.48-8.46 (m, 1H), 8.08 (t, 1H, $J = 8.3$ Hz), 7.96 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 7.87 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz), 7.46-7.35 (m, 4H), 6.64 (br, 4H), 6.14 (s, 1H).

[0211] 실시예 11: 4-헥실리덴-3-페닐-1-(피리딘-2-일)-1*H*-피라졸-5-올의 합성



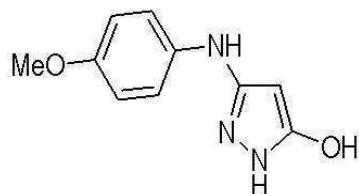
[0212] ...[화학식 1-11]

[0213] 둥근 바닥플라스크에 에틸 벤조일아세테이트 (1.92 g, 9.99 mmol)와 에탄올 10mL을 넣고, 여기에 2-히드라지노피리딘 (1.1g, 10.0 mmol)을 에탄올 10 mL에 희석시켜 0℃에서 천천히 적가하였다. 반응용액을 8시간동안 100℃에서 가열환류시켰다. 반응물을 감압증류하여 용매를 제거한 다음 생성된 고체를 헥산과 에틸아세테이트로 세척하고 진공건조시켜 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-1*H*-피라졸-5-올을 수득하였다.

[0214] 상기 제조된 1-(피리딘-2-일)-3-페닐-1*H*-피라졸-5-올 2.37g을 둥근 바닥 플라스크에 넣고 헥산알 50 mL를 가하였다. 반응용액을 150℃에서 12시간 동안 가열환류시킨 후, 감압증류하여 용매를 제거한 다음, 생성된 적갈색의 고체를 에탄올에서 재결정하여 표제의 목적 화합물을 76%의 수율로 수득하였다.

[0215] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 8.26-7.80 (3H, m), 7.43-7.03 (6H, m), 6.18 (1H, br s), 2.01 (2H, m), 1.34-1.25 (6H, m), 0.97 (3H, t, $J = 7.6\text{Hz}$).

[0216] 실시예 12: 3-(4-메톡시페닐아미노)-1*H*-피라졸-5-올의 합성



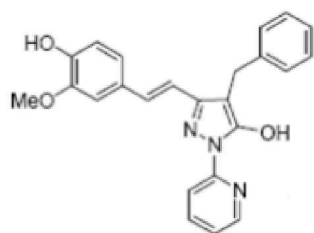
[0217] [화학식 1-12]

[0218] 둥근 바닥플라스크에 3-아미노-5-히드록시피라졸 9.91 g(100 mmol), *p*-아니솔 15.40 g(125 mmol), 초산 200 mL를 넣고 4 시간동안 140℃에서 가열환류시켰다. 감압증류하여 용매를 제거한 다음 얼음물 70 mL을 첨가한 후, 생성된 고체를 여과하여 메탄올로 재결정하여 표제의 목적 화합물을 23%의 수율로 수득하였다.

[0219] ^1H NMR(300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.23 (1H, s), 8.49 (1H, s), 7.40 (2H, d, $J = 9.0$ Hz), 6.82 (2H, d, $J = 9.0$ Hz), 3.67 (3H, s), 3.31 (1H, s);

[0220] EIMS (70 eV) m/z (rel intensity) 205 (M^+ , 100), 190 (53), 174 (42), 148 (50), 121 (50), 104 (6), 92 (9), 77 (15).

[0221] 실시예 13: 1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-*E*-에텐일]-4-벤질-1*H*-피라졸-5-올의 합성



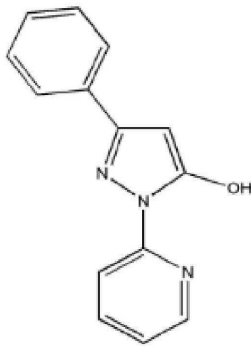
[0222] [화학식 1-13]

[0223] 둥근 바닥플라스크에 2-벤질-3-옥소-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-*E*-에텐일]프로피온산 에틸 에스터 (3.55g,

10 mmol)와 초산 10 mL를 넣고, 여기에 2-히드라지노피리딘 (1.1g, 10.1 mmol)을 초산 3 mL에 희석시켜 0℃에서 천천히 적가하였다. 반응용액을 2일동안 100℃에서 가열환류시켰다. 반응물을 감압증류하여 용매를 제거한 다음, 잔유물을 컬럼크로마토그래프 (전개용매: 헥산(hexane)/에틸아세테이트(EtOAc) = 15/1)하여 1-(피리딘-2-일)-3-[(3-메톡시-4-히드록시페닐)-E-에텐일]-4-벤질-1H-피라졸-5-올을 1.32g 수득하였다.

[0224] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.26 (1H, m), 7.98 (1H, m), 7.83 (1H, m), 7.37-7.13 (8H, m), 7.11 (1H, d, J = 12.1 Hz), 6.91(1H, m), 6.81 (1H, d, J = 12.0 Hz), 3.93 (2H, s), 3.90 (3H, s).

[0225] **비교예 1: 3-페닐-1-(피리딘-2-일)-1H-피라졸-5-올의 합성**



[0226] [화학적식 5]

[0227] 상기 3-페닐-1-(피리딘-2-일)-1H-피라졸-5-올은 대한민국 등록특허 KR 0942382호에 개시된 방법을 사용하여 합성하였다.

[0228] 둥근 바닥플라스크에 에틸 벤조일아세테이트(1당량)와 에탄올 4mL를 넣고, 여기에 2-히드라지노피리딘(1.1당량)을 에탄올 3mL에 희석시켜 0℃에서 천천히 적가하였다. 20분 동안 가열 환류시켰다. 감압증류하여 용매를 제거한 다음 생성된 고체를 헥산과 에틸아세테이트로 세척한 후 진공건조시켜 표제 화합물을 87%의 수율로 얻었다.

[0229] **<실험예 1> 파골세포로의 분화 억제 효과 확인**

[0230] 태어난지 4 내지 5주되는 수컷 쥐(C57BL/6J)로부터 골수세포를 채취하였다. 구체적으로, 쥐를 경추탈골 시켜 죽인 후 뼈 주변에 붙어있는 근육을 가위로 제거하고 대퇴골과 경골을 추출해 phosphate buffered saline(PBS)에 담갔다. α MEM(α -minimal essential medium)을 채운 1mL 용량의 주사기를 상기 대퇴골과 경골의 한쪽 끝에 찢러 상기 대퇴골 또는 경골로부터 골수세포를 채취하였다.

[0231] 상기 골수세포를 배양하여 대식세포를 수득하였다. 구체적으로, 상기에서 수득한 골수세포를 50ml tube에 담아 1500rpm에서 5분간 원심분리 한 후 상등액을 제거하고, Gey's solution과 PBS를 3:1의 비율로 혼합한 혼합액을 첨가하여, 2-3분 정도 상온에 유지하였다. 그 후, 다시 원심분리(1500rpm, 5분)를 한 후 상등액을 제거하고, α MEM을 첨가하여 교반한 후, 10cm 세포배양 접시에서 37℃에서 24시간 동안 배양하였다. 이 후, 세 번째 원심분리(1500rpm, 5분)를 한 후 상등액을 제거하고, 배양액과 대식세포 분화인자인 rhM-CSF(30ng/ml)를 첨가하여, 10cm 세포배양 접시에서 3일 동안 37℃의 온도로 배양하였다. 3일후 접시에 붙어있는 대식세포를 긁어서 튜브에 모은 후, 원심분리(1500rpm, 5분)하였다.

[0232] 상기 대식세포를 배양하여 파골세포로의 세포분화를 유도하였다. 구체적으로, 상기에서 수득한 대식세포를 48well 세포배양접시에 2×10^4 /well로 나누어서 24시간 동안 배양하였다. 배양액에 rhM-CSF(30ng/ml)과 파골세포분화 인자인 RANKL(200ng/ml)를 첨가한 후 배양하여 파골세포로의 세포분화를 유도하였다. 이때, 상기 배양액에 상기 실시예에서 합성한 화합물(실시예 2, 3, 7, 8, 9 및 11)을 각각 다양한 농도로 첨가하였고, 대조군으로는 상기 비교예 1의 화합물을 상기 실시예들의 화합물과 동일 농도로 첨가하여 비교하였다.

[0233] 24시간 후, 48well 세포배양접시에 들어있는 배양액을 제거하고 새로운 배양액으로 교체하였고, 그 후 2일에 한번 씩 배지를 교체하면서 37℃에서 배양하였다.

[0234] 상기 배지에서 본 발명의 실시예에서 합성한 화합물을 첨가한 날로부터 5일 동안 더 배양한 후, 본 발명의 실시예에서 합성한 화합물을 첨가한 배지 및 대조군의 배지를 3.7% 포르말린(formalin)용액으로 고정된 후에 TRAP(tartrater resistant acid phosphatase) 염색하고 광학현미경으로 관찰하였다. 구체적으로, 상기 TRAP 염색은 세포를 3.7% 포르말데히드로 15분 동안 실온에서 고정시키고 증류수로 2회 세척한 후 Acid Phosphatase,

Leukocyte(TRAP) kit™(Sigma Co.)의 사용설명서에 기재된 비율로 아세테이트, 패스트 가르넷 GBC 염기(Fast Gargnet GBC base), 나프톨 AS-BI 인산, 소듐 니트라이트, 타르트레이트를 섞어 만든 염색액을 200 μ l/웰을 넣고 37℃에서 20분 동안 반응시켜 이루어졌다.

[0235] 상기 실험 결과를 도 1 내지 도 6에 도시하였다. 상기 도 1 내지 도 6에서 알 수 있는 바와 같이, 비교예 1의 화합물을 첨가한 대조군의 경우, 대식세포가 파골세포로 많이 분화된 반면, 본 발명의 실시예에서 합성한 화합물(실시예 2, 3, 7, 8, 9 및 11)을 첨가한 배지의 대식세포는 파골세포로의 정상적인 분화가 이루어지지 않거나 또는 파골세포로의 분화가 적게 진행되었다. 따라서 본 발명의 화합물이 파골세포로의 분화를 억제함을 알 수 있었다.

[0236] 또한 본 발명의 실시예에서 합성한 화합물의 농도가 0.1 μ M 또는 0.11 μ M, 0.33 μ M, 1 μ M 및 3 μ M로 증가할수록 파골세포로의 분화가 억제되었다. 따라서, 본 발명의 화합물은 대식세포의 파골세포로의 분화를 농도 의존적으로 억제함을 알 수 있었다.

[0237] <실험예 2> 염증유발인자에 의한 뼈 파괴 작용 억제 효과 확인

[0238] 골손실 생쥐모델에서 LPS(lipopolysaccharide)에 의해 유도되는 뼈 파괴작용의 억제 효능을 살펴보기 위하여 생후 6주된 C57BL/6J 수컷 쥐들을 모두 3마리의 쥐를 포함하도록 대조군 1 내지 3 및 실험군 1 내지 3으로 구분하였다.

[0239] 쥐를 마취하여 두개골 정중앙부분 피부를 1cm 정도 절개하고 가로세로 각 0.5mm의 콜라겐 스폰지를 넣어주었다.

[0240] 상기 스폰지에 대조군 1 및 2에는 PBS와 DMSO만을 각각 주입하였고 대조군 3에는 LPS 12.5mg/Kg을 주입하였으며, 실험군 1에는 LPS 12.5mg/Kg 및 실시예 4의 화합물 20mg/Kg, 실험군 2에는 LPS 12.5mg/Kg 및 실시예 5의 화합물 20mg/Kg, 실험군 3에는 LPS 12.5mg/Kg 및 실시예 6의 화합물 20mg/Kg을 주입하였다.

[0241] 이후 절개된 피부를 봉합하고 5일 후에 생쥐의 두개골을 적출하여 4% 포르말데히드가 첨가된 PBS에 넣어 24시간 동안 고정하고 0.5M EDTA가 첨가된 PBS를 이용하여 칼슘을 제거한 후, TRAP 염색을 수행하여 두개골 표면을 현미경으로 관찰하고 그 결과를 도 7에 도시하였다.

[0242] 상기 TRAP 염색은 Acid Phosphatase, Leukocyte(TRAP) kit™(Sigma Co.)의 사용설명서에 기재된 비율로 아세테이트, 패스트 가르넷 GBC 염기(Fast Gargnet GBC base), 나프톨 AS-BI 인산, 소듐 니트라이트, 타르트레이트를 섞어 만든 염색액을 200/웰을 넣고 37에서 20분 동안 반응시켜 수행되어졌다.

[0243] 또한, 칼슘이 제거된 두개골을 파라핀(paraffin)에 넣어 블록을 제작하고 박편절단기(microtome)를 이용하여 0.4 μ m 두께로 상기 블록을 절단한 후, 파라핀을 제거하고 수화하였다. 상기 절단된 블록을 Hematoxylin 및 TRAP 염색하여 현미경으로 관찰하고 그 결과를 도 8에 도시하였다.

[0244] 상기 도 7 및 도 8에서 확인할 수 있는 바와 같이, 실험군 1 내지 3은 LPS만을 투여한 대조군 3에 비하여 TRAP에 의한 염색의 정도가 적었다. 따라서, 본 발명의 화합물들은 LPS에 의한 염증의 정도를 감소시켜 파골세포의 형성을 억제함으로써 뼈 파괴를 효과적으로 막을 수 있음을 알 수 있었다.

[0245] <실험예 3> 난소제거에 의한 뼈 손실 억제 효과 확인

[0246] 난소제거 생쥐모델에서 난소제거에 의해 유도되는 뼈 손실 억제 효능을 살펴보기 위하여 생후 8주된 암컷 쥐들을 5마리의 쥐를 포함하도록 대조군 1, 2 및 실험군 1로 구분하였다.

[0247] 상기 대조군 1 및 실험군 1의 쥐들은 개복수술을 통해 난소를 절제하였으며, 대조군 2는 대조군 1 및 실험군 1의 쥐들과 동일하게 개복수술을 진행하였으나 난소는 제거하지 않음으로써 sham 대조군으로 이용하였다.

[0248] 상기 수술 후 7일간의 회복기간을 거친 후 2일 간격으로 3주 동안 상기 실시예 13의 화합물을 실험군 1의 쥐들에게 복강투여하였다. 생쥐의 난소절제를 확인하고, 실험군 1, 대조군 1 및 2로부터 양쪽의 경골을 채취한 후, μ -CT(skyscan 1076, SKYSCAN N. V.) 및 V-works program (Cybermed 제품)을 이용하여 각 단면의 이미지를 연속촬영하여 3차원 이미지로 재구성하였으며 분석 프로그램을 이용하여 골부피, 골밀도, 및 해면골(trabecular)의 수를 정량화하고 그 결과를 하기 도 9 내지 11에 도시하였다. 상기 실험결과는 ANOVA (one way analysis of variance)를 이용하여 통계처리하였고 유의성이 인정될 경우, Student-Newman-Keuls Test를 사용하여 p<0.1(*) 또는 p<0.15(**) 수준 이하에서 유의성 검정을 실시하였다.

[0249] 상기 도 9에서 골부피(%)는 조직의 총 부피(total bone volume, TV)에 대한 채취한 경골의 부피(bone volume,

BV)의 백분율(BV/TV(%))로 나타냈으며, 도 11에서 해면골의 수는 1mm 당 해면골의 수로 표시하였다.

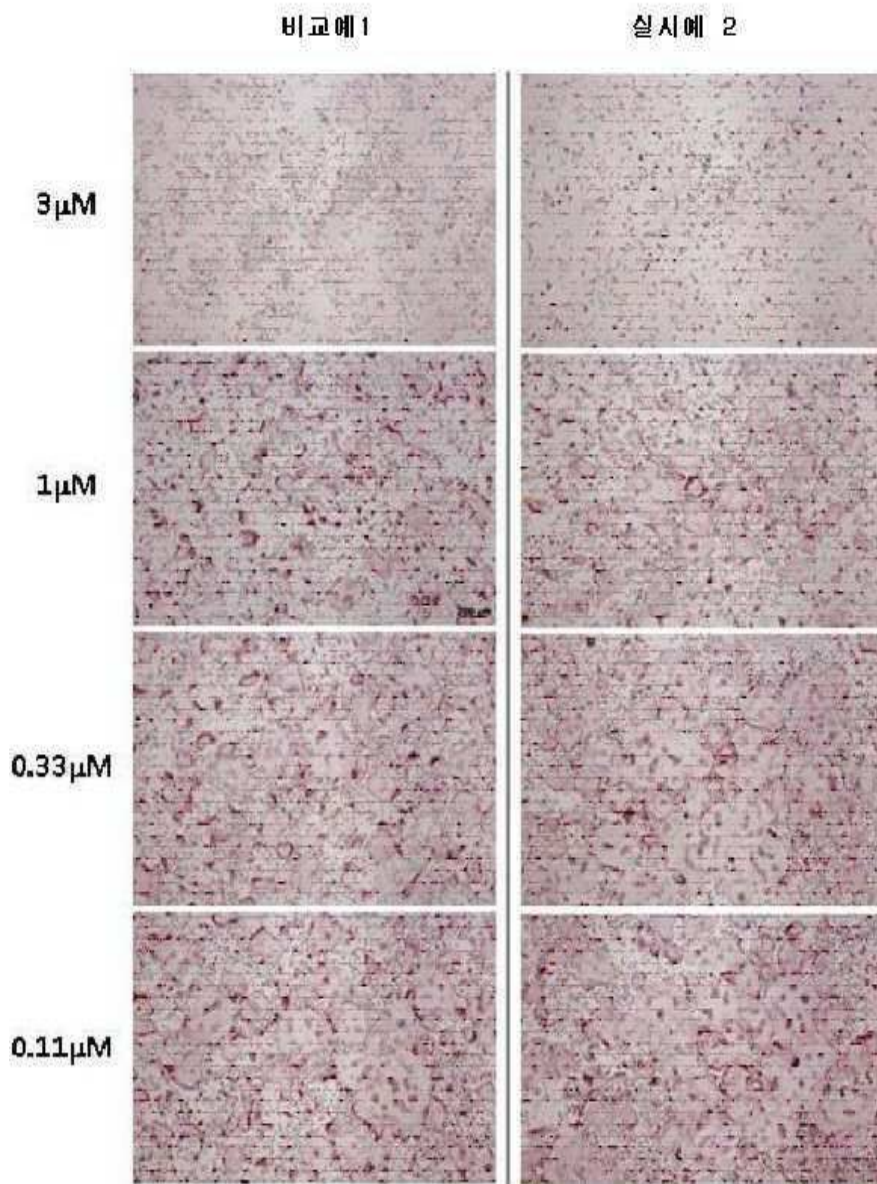
[0250] 또한 상기 채취한 경골을 포름알데히드가 첨가된 PBS에 넣어 24시간 동안 고정하고 0.5M EDTA가 첨가된 PBS를 이용하여 칼슘을 제거하였다. 이 후, 상기 경골을 파라핀(paraffin)에 넣어 블록을 제작하고 박편절단기(microtome)를 이용하여 0.4 μ m 두께로 상기 블록을 절단한 후, 파라핀을 제거하고 수화하였다. 상기 절단된 블록을 Hematoxylin 및 TRAP 염색하여 현미경으로 관찰하여 그 결과를 도 12에 도시하였다. 또한, 파골세포의 수를 Osteomeasure 소프트웨어 프로그램(Osteometrics Inc., 미국)을 이용하여 현미경 하에서 분석하였으며, 그 결과를 도 13에 도시하였다. 상기 파골세포의 정량은 뼈 표면(bone surface) 1mm 당 파골세포의 수로 표시되었으며, ANOVA (one way analysis of variance)를 이용하여 통계처리하였고 유의성이 인정될 경우, Student-Newman-Keuls Test를 사용하여 $p < 0.1(*)$ 수준 이하에서 유의성 검정을 실시하였다.

[0251] 상기 도 9 내지 11에서 알 수 있는 바와 같이, 본 발명의 실시예 13의 화합물을 주입한 실험군 1의 경우 동일하게 난소가 제거된 대조군 1에 비하여 경골의 부피 감소가 더 적었고, 더 높은 골밀도를 나타냈으며, 또한 해면골(trabecular bone)의 수도 더 높은 값을 나타내었다. 따라서, 본 발명의 화합물이 뼈 손실을 억제하여 골다공증을 효과적으로 치료할 수 있음을 확인할 수 있었다.

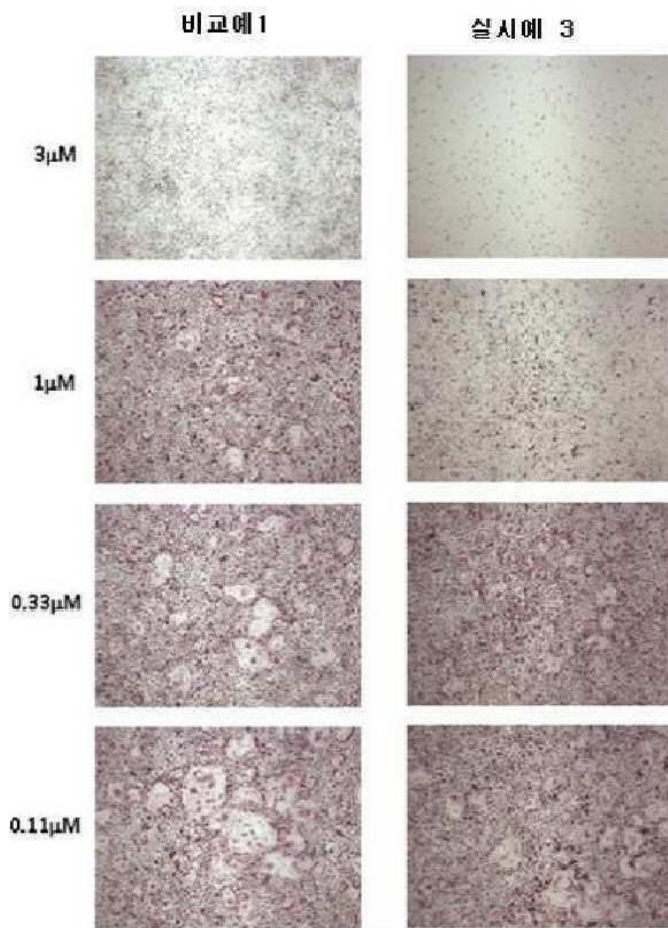
[0252] 또한, 도 12에서 알 수 있는 바와 같이, 실험군 1은 대조군 1에 비하여 TRAP에 의한 염색의 정도가 더 적었으며, 이로부터 파골세포가 적게 형성되었음을 알 수 있었다. 도 13에서 알 수 있는 바와 같이, 실험군 1은 난소를 제거하지 않은 대조군 2와 비교 시, 파골세포의 수가 비슷한 수치를 나타내었으며, 난소가 제거된 대조군 1보다 약 60% 정도 파골세포의 생성이 억제되었음을 알 수 있었다. 따라서, 본 발명의 화합물이 파골세포의 생성을 억제하여 골다공증을 효과적으로 예방 및 치료할 수 있음을 알 수 있었다.

도면

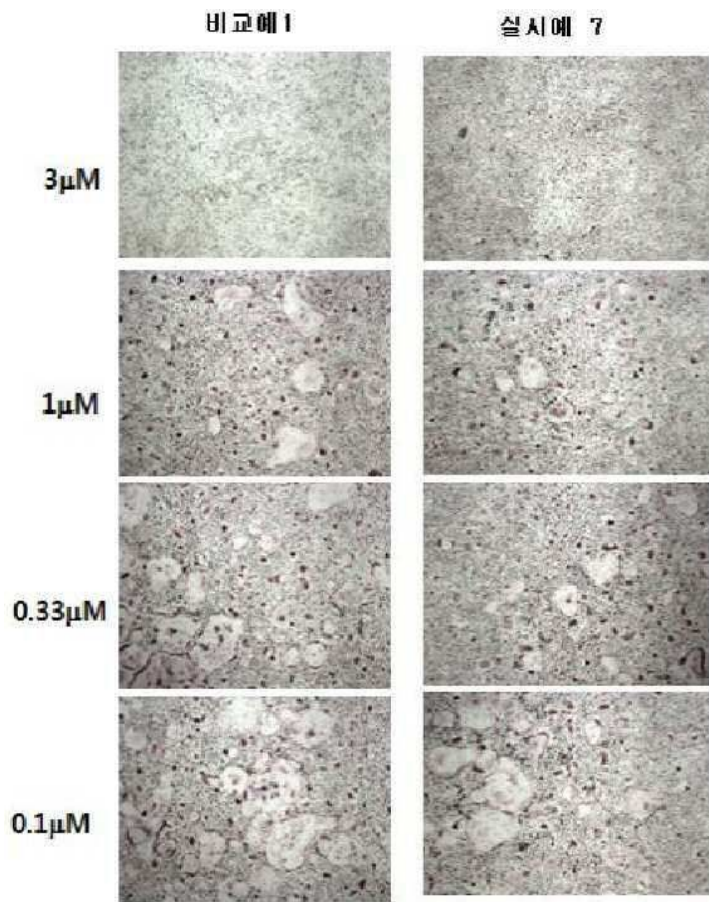
도면1



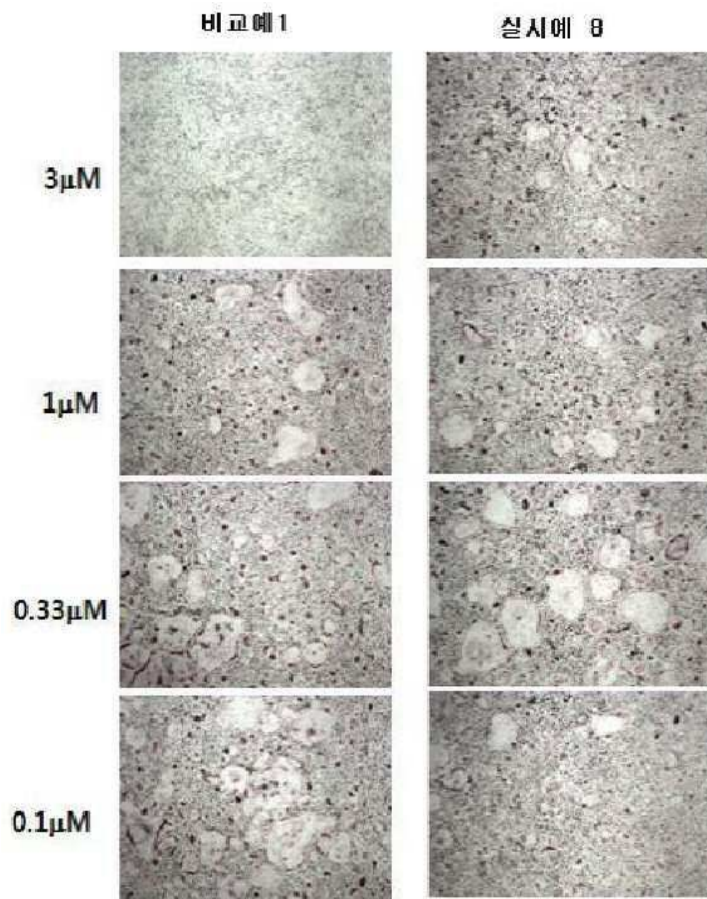
도면2



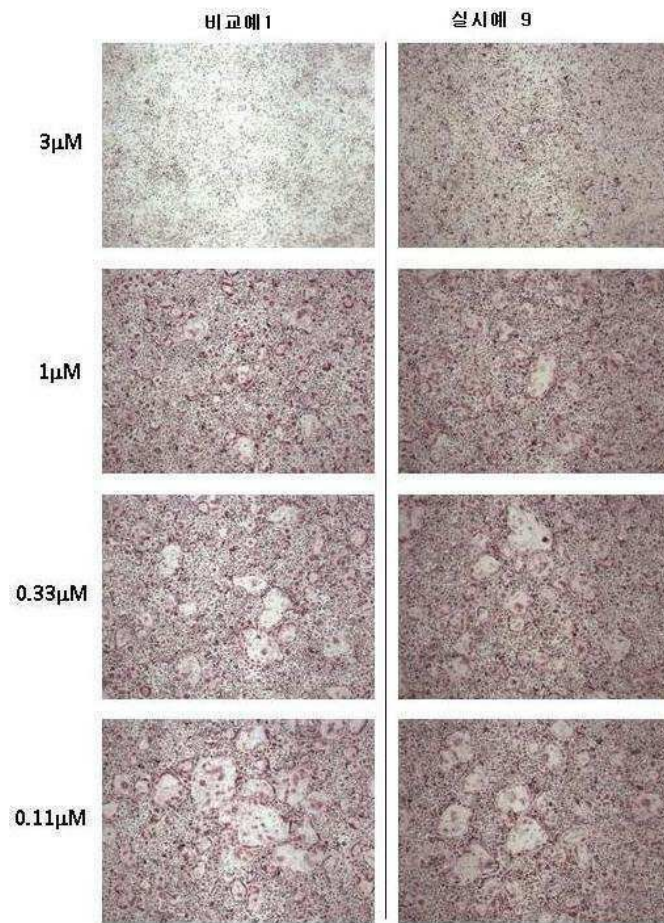
도면3



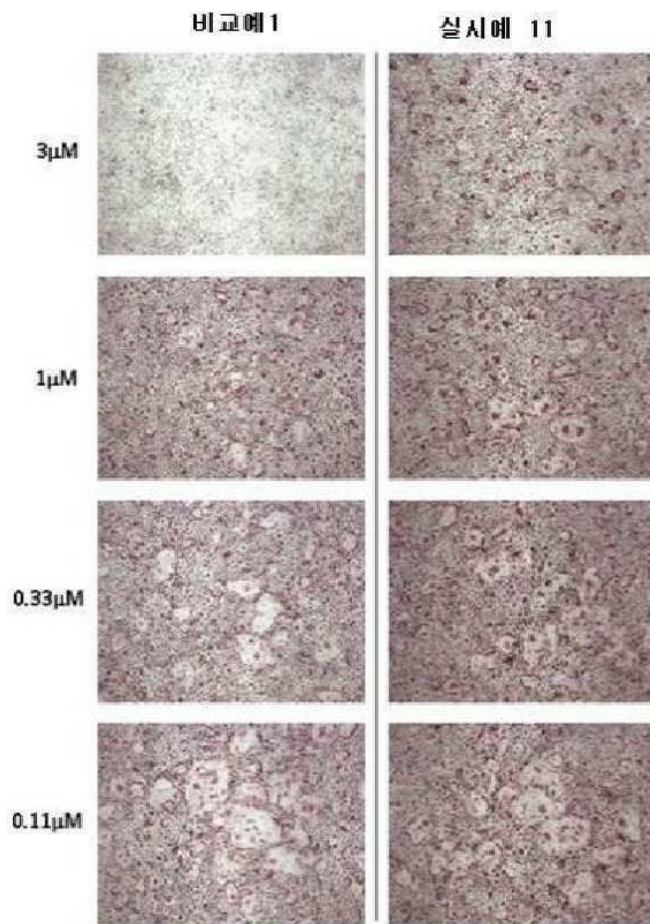
도면4



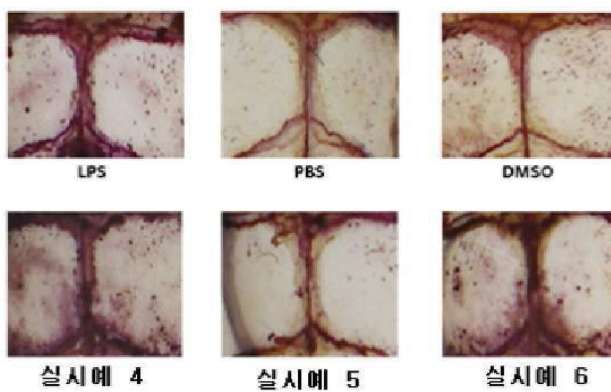
도면5



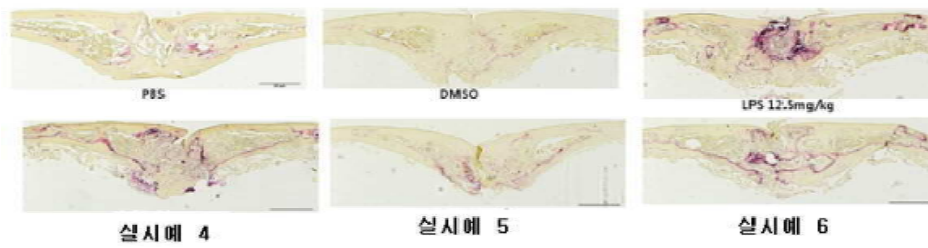
도면6



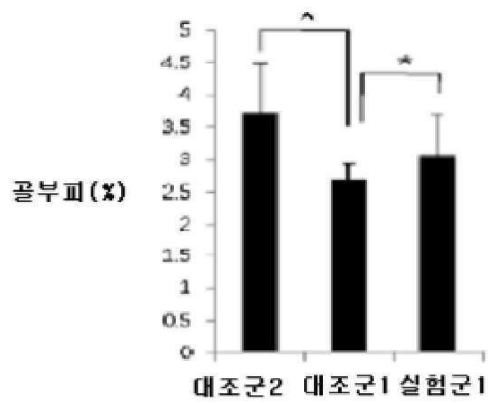
도면7



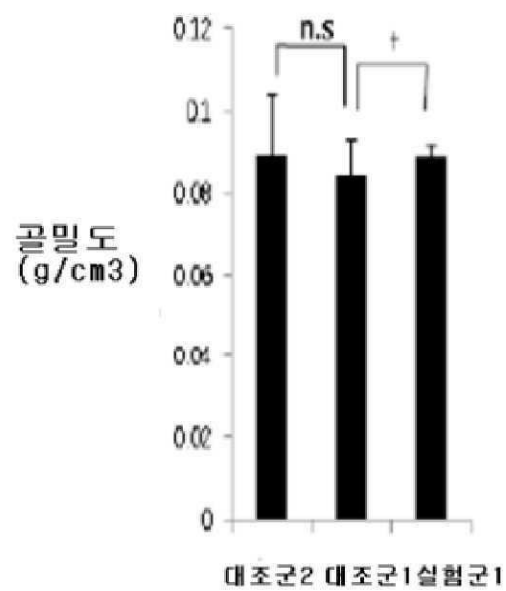
도면8



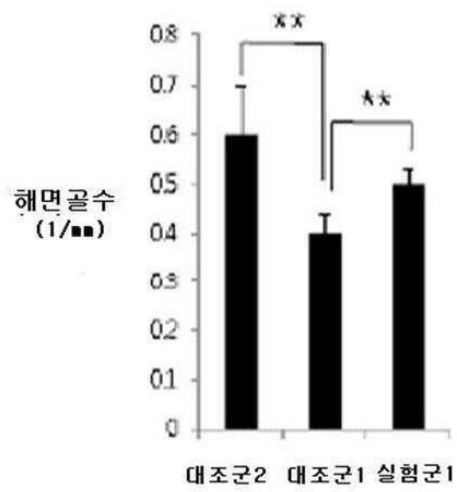
도면9



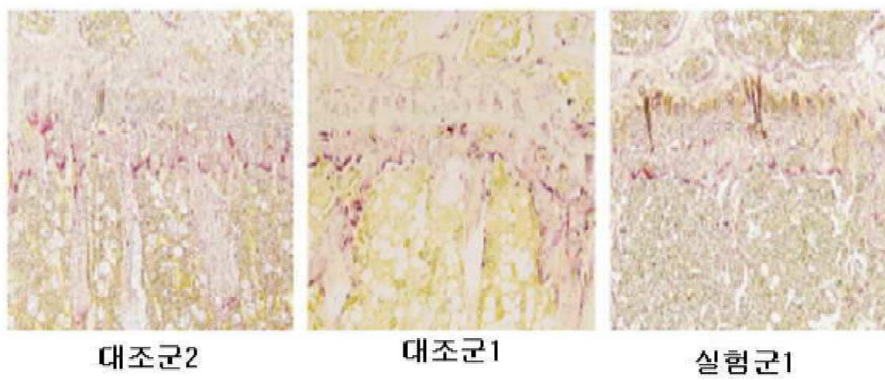
도면10



도면11



도면12



도면13

