(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0090982
(43) 공개일자 2024년06월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07H 15/18 (2006.01) *A61K 31/7028* (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01) *A61P 25/00* (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07H 15/18 (2013.01)
A61K 31/7028 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7017445
(22) 출원일자(국제) 2022년10월25일
심사청구일자 2024년05월24일
(85) 번역문제출일자 2024년05월24일
(86) 국제출원번호 PCT/CN2022/127414
(87) 국제공개번호 WO 2023/072085
국제공개일자 2023년05월04일
(30) 우선권주장
63/271,411 2021년10월25일 미국(US)

(71) 출원인
천 린이
대만 30013 신주 광 푸 로드 섹션 2 101
(72) 발명자
천 린이
중국 대만 30013 신주 광 푸 로드 섹션 2 101
왕 이
중국 대만 30013 신주 광 푸 로드 섹션 2 101
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
유미특허법인

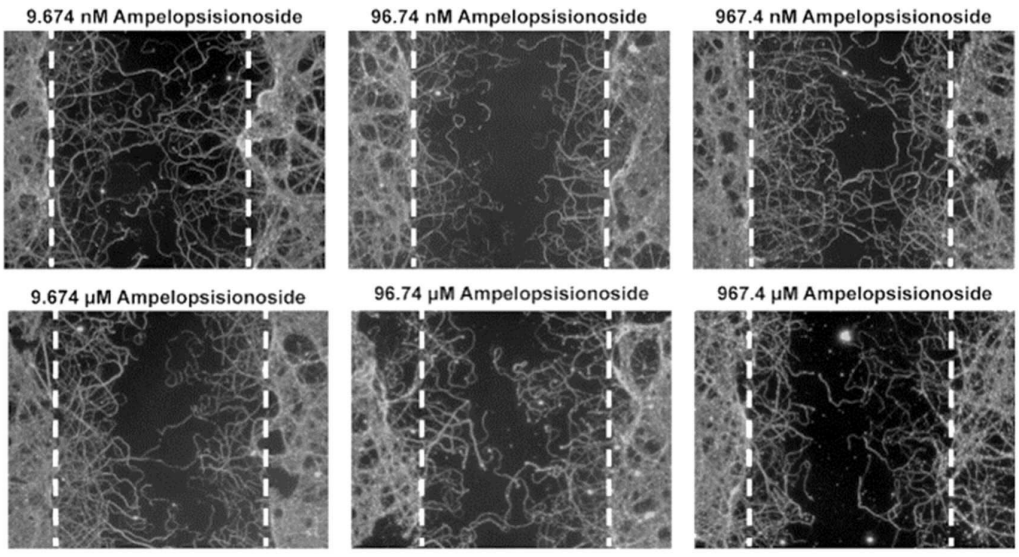
전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 **이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체, 이의 제조방법과 용도**

(57) 요 약

본 발명은 이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체와 이의 합성 방법에 관한 것이며, 당해 유도체는 뇌신경과 눈의 망막신경의 재생을 효과적으로 촉진하고 손상된 뇌신경과 눈의 망막신경을 복원할 수 있다.

대 표 도 - 도4a



(52) CPC특허분류
A61K 9/0085 (2013.01)
A61P 25/00 (2018.01)
A61P 25/28 (2018.01)
(72) 발명자
랴오 원-링
중국 대만 30013 신주 광 푸 로드 섹션 2 101
리 위-탕
중국 대만 30013 신주 광 푸 로드 섹션 2 101
뤼 팅-쉬안
중국 대만 30013 신주 광 푸 로드 섹션 2 101
황 위-원
중국 대만 30013 신주 광 푸 로드 섹션 2 101
리 자-웨이
중국 대만 30013 신주 광 푸 로드 섹션 2 101
왕 전
중국 대만 30013 신주 광 푸 로드 섹션 2 101
천 팡-이
중국 대만 30013 신주 광 푸 로드 섹션 2 101
자오 촨-진
중국 대만 30013 신주 광 푸 로드 섹션 2 101

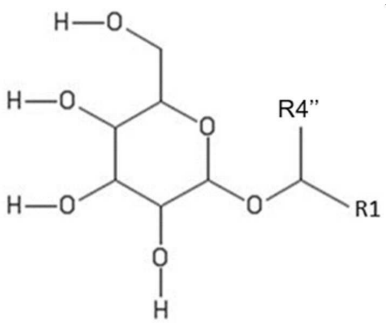
명 세 서

청구범위

청구항 1

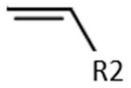
이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체에 있어서,

화학구조식은 화학식(1)과 같으며;

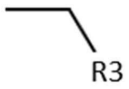


화학식(1)

R1은 치환 가능한 또는 치환되지 않은 화학식(2) 또는 화학식(3)의 구조이며;

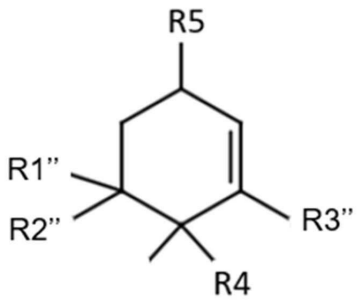


화학식(2)

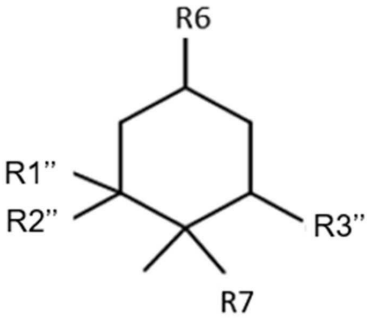


화학식(3)

R2와 R3은 치환 가능한 또는 치환되지 않은 화학식(4) 또는 화학식(5)의 구조이며;



화학식(4)



화학식(5)

R4는 수소, 듀테륨, 트리튬, 히드록실 또는 할로겐이고;

R5는 수소, 듀테륨, 트리튬, 히드록실, 카르보닐 또는 할로겐이며;

R6은 수소, 듀테륨, 트리튬, 히드록실, 카르보닐 또는 할로겐이며;

R7은 수소, 듀테륨, 트리튬, 히드록실, 카르보닐 또는 할로겐이며;

R1''는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

R2''는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

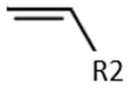
R3''는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며;

R4''는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬인, 이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체.

청구항 2

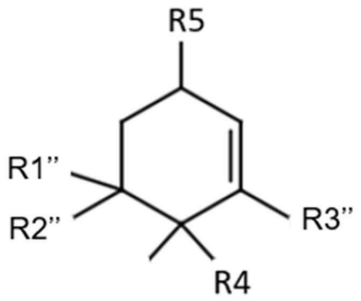
제1항에 있어서,

상기 R1이 화학식(2)일 때,

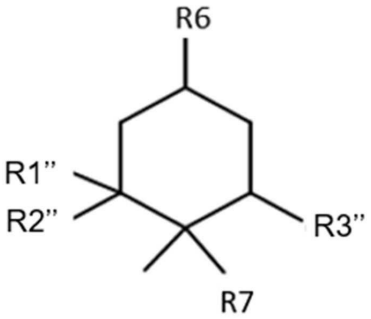


화학식(2)

상기 R2와 R3은 치환 가능한 또는 치환되지 않은 화학식(4) 또는 화학식(5)의 구조이며,



화학식(4)



화학식(5)

상기 R4는 수소, 듀테륨, 트리튬, 히드록실 또는 할로겐이며;

상기 R5는 수소, 듀테륨, 트리튬, 히드록실, 카르보닐 또는 할로겐이며;

상기 R6은 수소, 듀테륨, 트리튬, 히드록실, 카르보닐 또는 할로겐이며;

상기 R7은 수소, 듀테륨, 트리튬, 히드록실 또는 할로겐이며;

상기 R1''는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

상기 R2''는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

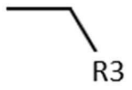
상기 R3''는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며;

상기 R4''는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬인, 이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체.

청구항 3

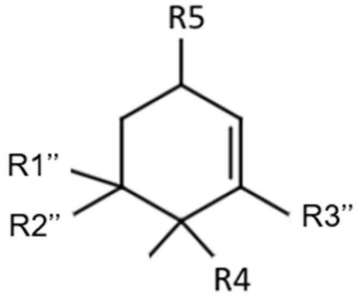
제1항에 있어서,

상기 R1이 화학식(3)일 때,

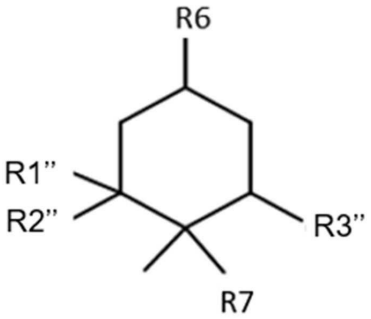


화학식(3)

상기 R2와 R3은 치환 가능한 또는 치환되지 않은 화학식(4) 또는 화학식(5)의 구조이며,



화학식(4)



화학식(5)

상기 R4는 수소, 듀테륨, 트리튬, 히드록실 또는 할로겐이며;

상기 R5는 수소, 듀테륨, 트리튬, 히드록실, 카르보닐 또는 할로겐이며;

상기 R6은 수소, 듀테륨, 트리튬, 히드록실, 카르보닐 또는 할로겐이며;

상기 R7은 수소, 듀테륨, 트리튬, 히드록실 또는 할로겐이며;

상기 R1''는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

상기 R2''는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

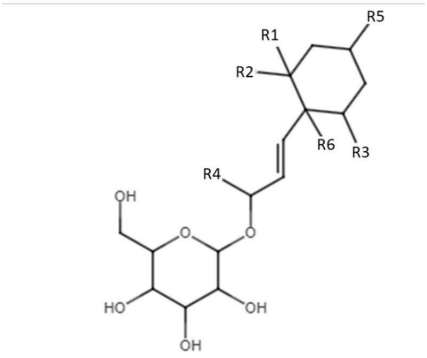
상기 R3''는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며;

상기 R4''는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬인, 이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체.

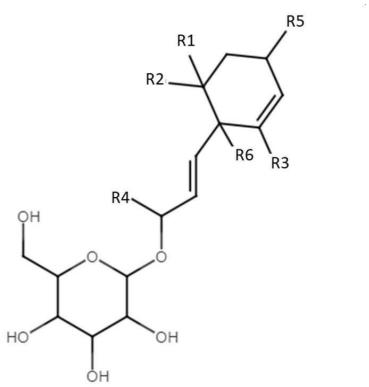
청구항 4

제1항에 있어서,

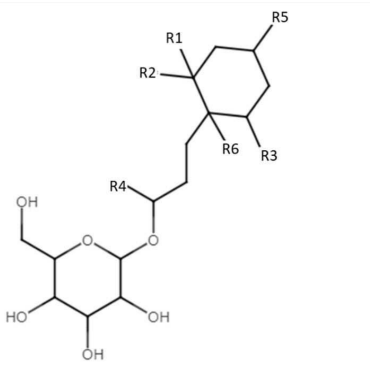
상기 유도체는 아래 화학식으로 표시되는 화합물을 포함하고,



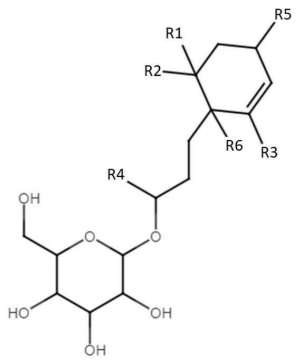
화학식A



화학식B



화학식C



화학식D

상기 R1은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

상기 R2는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

상기 R3은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며;

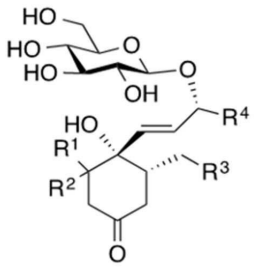
상기 R4는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며;

상기 R5는 수소, 듀테륨, 트리튬, 히드록실, 카르보닐 또는 할로겐이며;

상기 R6은 수소, 듀테륨, 트리튬, 히드록실 또는 할로겐인, 이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체.

청구항 5

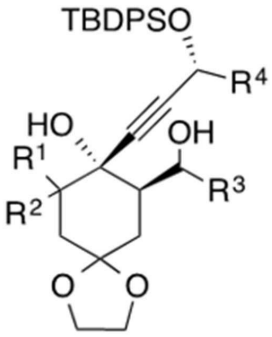
화학식(6)으로 표시되는 이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체의 제조방법에 있어서,



화학식(6)

(A) 화학식(7)로 표시되는 화합물을 이중알킬화 반응과 아실화 반응, 알키닐 친핵성 가성반응을 통해 화학식(8)로 표시되는 화합물로 변환시키는 단계;

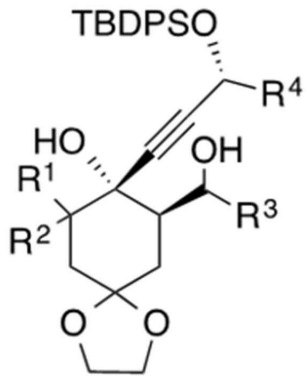


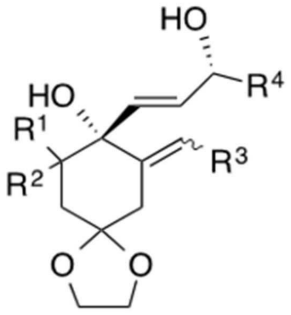


화학식(7) 화학식(8)

(여기서, R1은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며; R2는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며; R3은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며; R4는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며, 상기 이중알킬화 반응은 친전자성 시약 1을 통해 진행되고, 상기 친전자성 시약 1은 메틸 요오드, 에틸 요오드, 프로필 요오드, MeOTf, EtOTf, PrOTf, 프로필 브롬/요오드화 소듐 또는 황산디메틸을 포함하며; 상술한 아실화 반응의 시약에는 포름알데히드, 아세트알데히드 또는 프로피온알데하이드가 포함되며; 이 중간물질은 더 나아가 알킨계 친핵성 가성반응이 진행되어 화합물(8)을 얻으며, 당해 알킨계 친핵성 가성 시약은 R4 관능기를 구비하는 알킨계와. 염기를 포함하고, 당해 염기는 n-부틸리튬(nBuLi), 디이소프로필아미노리튬(LDA), 디(트리메틸실릴)아미노리튬(LHMDS)을 포함하고, 상기 R4의 관능기는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬임);

(B) 화학식(8)로 표시되는 화합물을 올레핀화 반응과 환원 반응, 탈보호 반응을 통해 화학식(9)로 표시되는 화합물로 변환시키는 단계;

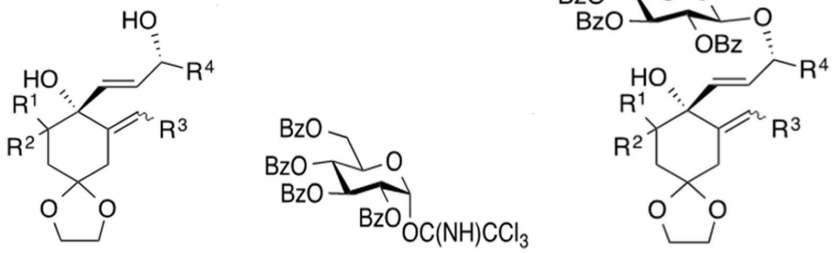




화학식(8) 화학식(9)

(여기서, 상기 화학식(8)로 표시되는 화합물은 상기 올레핀화 반응에서 먼저 친전자성 시약 2와 아민계 시약을 이용하여 저온 조건에서 반응하여 상기 화학식(9)로 표시되는 화합물을 생성하고; 상기 친전자성 시약 2는 메실클로라이드(mesyl chloride), 토실클로라이드(tosyl chloride), 아세트산무수물, 벤조산무수물, 요오드화 메틸 또는 디메틸설페이트로 선택되며; 상기 아민계 시약은 트리에틸아민, 디에틸아민, 피리딘, 피롤리딘(pyrrolidine), 에틸디이소프로필아민(ethyldisiopropyl amine), 2,6-루티딘(2,6-lutidine) 또는 1,4-디아자비사이클로[2,2,2]옥탄(1,4-diazabicyclo[2,2,2]octane)으로 선택되며; 상기 저온 조건은 -30℃ 내지 25℃이며; 완료 후 이어서 다시 제2 염기를 첨가하여 올레핀화를 수행하되, 상기 제2 염기는 3급 포타슘부티레이트, 수산화소듐, 소듐 메톡사이드 또는 1,8-디아자비사이클로[5,4,0]운데크-7-엔(1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-ene)이며; 완료 후 이어서 환원 반응을 진행하되, 상기 환원 반응은 환원제로서 환원제 1을 이용하며, 상기 환원제 1은 리튬 알루미늄하이드라이드, 디이소부틸 알루미늄하이드라이드(diisobutyl aluminum hydride (DIBAL)), 소듐 보로하이드라이드, 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드($NaB(OAc)_3H$), 리튬 트리에틸보로하이드라이드(Lithium triethylborohydride) 또는 소듐 비스(2-메톡시에톡시)알루미늄하이드라이드(sodium bis(2-methoxyethoxy)aluminiumhydride)이며; 상기 환원 반응의 반응 온도는 -50℃ 내지 25℃이며;완료 후 이어서 탈보호 단계를 진행하되, 상기 탈보호 단계는 탈보호 시약 1을 이용하여 탈보호 반응을 진행하여 화학식(9)로 표시되는 화합물을 얻으며, 상기 탈보호 시약 1은 테트라부틸암모늄플로라이드(tetrabutyl ammonium fluoride (TBAF)) , 무수 불산피리딘(HF-py), 염산, 또는 3급 포타슘부티레이트이며; 상기 탈보호 반응의 반응 온도는 -35℃ 내지 25℃임);

(C) 화학식(9)로 표시되는 화합물을 당쇄 연결 반응을 통해 화학식(10)으로 표시되는 화합물과 결합하여 화학식(11)로 표시되는 화합물을 형성하는 단계;



화학식(9) 화학식(10) 화학식(11)

(여기서, 상기 화학식(9)로 표시되는 화합물은 당쇄 연결 시약 1을 이용하여 상술한 당쇄 연결 반응을 진행하여 화학식(11)로 표시되는 화합물을 얻으며, 상기 당쇄 연결 시약 1은 황화 니켈/실버 트리플루오로메탄설포네이트(NIS/AgOTf), 브로모설포프탈레인/트리-t-부틸페놀/트리플루오로메탄설폰산 무수물(BSP/TTBP/Tf2O), 트리메틸실릴 트리플루오로메탄설포네이트/황화 니켈(TMSOTf/NIS), 트리메틸실릴 트리플루오로메탄설포네이트(TMSOTf), 실버 트리플루오로메탄설포네이트(AgOTf) 또는 CuOTf이며, 상기 당쇄 연결 반응의 반응 온도는 -78℃ 내지 0℃임);

(D) 상기 화학식(11)로 표시되는 화합물을 탈케탈화, 구조 이성화, 탈벤조일기와 1,4-환원 반응을 통해, 화학식(6)로 표시되는 화합물로 변환시키는 단계;

(여기서 화학식(11)로 표시되는 화합물은 먼저 탈케탈화, 구조 이성화 반응이 진행되고, 상기 탈케탈화와 구조 이성화 반응은 시약 1을 이용하여 진행되며, 상기 시약 1은 아세트산 수용액, 염산 수용액, 트리플루오로아세트산 수용액, TsOH와 H_2O, HCl이 1,4-dioxane에 용해된 혼합용액(HCL in 1,4-dioxane) 또는 황산 수용액이며; 이어서 탈벤조일기 반응이 진행되고, 상기 탈벤조일기 반응은 탈벤조일기 시약을 이용하여 진행되며, 상기 탈벤조일기 시약은 수산화소듐, 소듐 메톡사이드, 소듐 에톡사이드, 수산화포타슘, 포타슘 메톡사이드, 포타슘 에톡사이드, 염산 메탄올 용액, 염산 수용액, 트리플루오로아세트산(TFA)과 H_2O, 또는 황산 수용액이며; 이어서 1,4-환원 반응을 진행하여 목적물인 화학식(6)의 화합물을 얻되, 상기 1,4-환원 반응은 1,4-환원 반응 시약을 이용하여 진행되며, 상기 1,4-환원 반응 시약은 소듐 보로하이드라이드, 리튬 알루미늄하이드라이드, 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드($NaB(OAc)_3H$), $NaBCNH_3$, L-selectride(L-셀렉트라이드), $[CuH(PPh_3)]_6$, diisobutyl

aluminum hydride (DIBAL, 디이소부틸 알루미늄하이드라이드) 또는 H_2/Pd/C 이며, 상기 1,4-환원 반응의 반응 온도는 -78℃ 내지 25℃임);

의 합성 단계를 포함하며,

R1은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

R2는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

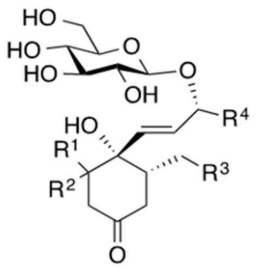
R3은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며;

R4는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬인, 화학식(6)으로 표시되는 이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체의 제조방법.

청구항 6

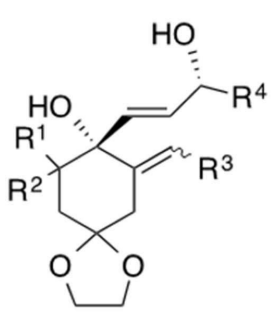
제5항에 있어서,

상기 단계 (B) 이후에,

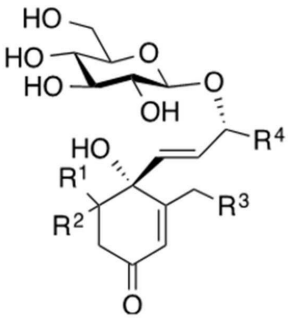


화학식(6)

(B1) 화학식(9)로 표시되는 화합물에 대해 탈케탈화, 구조 이성화, 탈벤조일기 보호 반응을 진행하여 화학식(15)로 표시되는 화합물로 변환시키는 합성 단계를 더 포함하며;



화학식(9)



화학식(15)

(여기서 상기 화학식 (9)로 표시되는 화합물은 먼저 탈케탈화와 구조 이성화 반응이 진행되며, 상기 탈케탈화와 상기 구조 이성화 반응은 탈케탈화와 구조 이성화 반응 시약을 이용하여 진행되며, 상기 탈케탈화와 구조 이성화 반응 시약은 아세트산 수용액, 염산 수용액, 트리플루오로아세트산 수용액, TsOH와 H_2O, HCl이 1,4-dioxane에 용해된 혼합 용액(HCL in 1,4-dioxane) 또는 황산 수용액이며; 상기 탈벤조일기 보호 반응은 탈벤조일기 보호 시약을 이용하여 진행되며, 상기 탈벤조일기 보호 시약은 수산화소듐, 소듐 메톡사이드, 소듐 에톡사이드, 수산화포타슘, 포타슘 메톡사이드, 포타슘 에톡사이드, 염산 메탄올 용액, 염산 수용액, 트리플루오로아세트산(TFA)와 H_2O, 또는 염산 수용액임);

R1은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

R2는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

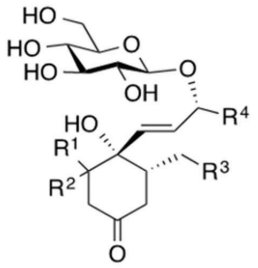
R3은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며;

R4는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬인, 화학식(6)으로 표시되는 이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체의 제조방법.

청구항 7

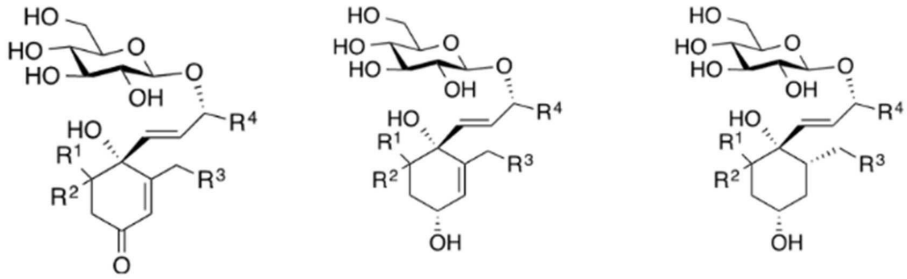
제6항에 있어서,

상기 제조방법은 후속으로,



화학식(6)

(B2) 화학식(15)로 표시되는 화합물을 선택적 환원 반응을 통해 화학식(16)으로 표시되는 화합물, 화학식(17)로 표시되는 화합물로 변환시키는 합성 단계를 더 포함하며;



화학식(15) 화학식(16) 화학식(17)

(여기서 상기 화학식(15)로 표시되는 화합물은 선택적 환원 반응 시약을 이용하여 선택적 환원 반응을 통해 화학식(16)으로 표시되는 화합물, 화학식(17)로 표시되는 화합물을 얻으며, 상기 선택적 환원 반응 시약은 소듐 보로하이드라이드, 리튬 알루미늄하이드라이드, 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드($NaB(OAc)_3H$), $NaBCNH_3$, L-셀렉트라이드(L-selectride), $[CuH(PPh_3)]_6$, 디이소부틸 알루미늄하이드라이드(diisobutyl aluminum hydride (DIBAL)) 또는 H_2/Pd/C이며; 상기 선택적 환원 반응의 반응 온도는 -78℃ 내지 25℃임);

R1은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

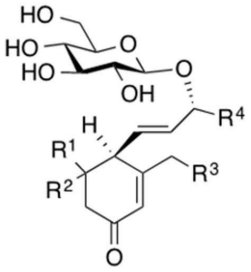
R2는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

R3은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며;

R4는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬인, 화학식(6)으로 표시되는 이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체의 제조방법.

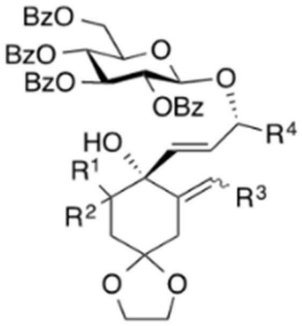
청구항 8

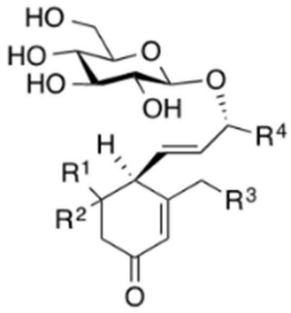
화학식(12)로 표시되는 화합물인 이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체의 제조방법에 있어서,



화학식(12)

화학식(11)로 표시되는 화합물을 변환 반응을 통해 화학식(12)로 표시되는 화합물로 변환시키는 합성 단계를 포함하며,





화학식(11) 화학식(12)

(여기서 상기 변환 반응은 아세탈의 탈보호, 구조 이성화, 입체 선택적 탈산화와 벤조일기의 탈보호 반응을 포함하며, 상기 아세탈의 탈보호와 상기 구조 이성화는 산성 시약을 이용하여 진행되고, 상기 산성 시약은 아세트산 수용액, 염산 수용액, 트리플루오로아세트산(TFA)과 H_2O, TsOH와 H_2O, HCl이 1,4-디옥산(1,4-dioxane)에 용해된 혼합용액(HCL in 1,4-dioxane) 또는 황산 수용액이며, 이어서 제1 저온 조건에서 환원제 2를 이용하여 입체 선택적 탈산화 반응을 진행하되, 상기 환원제 2는 $NaBH_4$, $LiAlH_4$, 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드($NaB(OAc)_3H$), $NaBCNH_3$, Et_3SiH/BF_3-Et_2O, L-셀렉트라이드(L-selectride), $[CuH(PPh_3)]_6$ 또는 디이소부틸알루미늄 하이드라이드(DIBAL)이며; 상기 환원제 2의 양은 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 또는 5.0당량이며, 상기 입체 선택적 탈산화 단계의 제1 저온 조건의 온도는 -78℃ 내지 25℃이며; 이어서 다시 탈보호 시약 2를 이용하여 중간물의 벤조일기를 제거하여 화학식(11)로 표시되는 화합물을 얻되, 상기 탈보호 시약 2는 NaOH, NaOMe, NaOEt, KOH, KOMe, KOEt, 염산 메탄올 용액, HCl 수용액, 트리플루오로아세트산(TFA)과 H_2O, 또는 H_2SO_4 수용액임);

R1은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

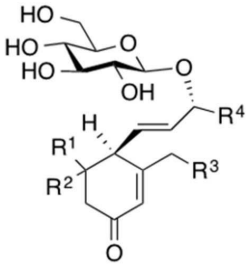
R2는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

R3은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며;

R4는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬인, 화학식(12)로 표시되는 화합물인 이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체의 제조방법.

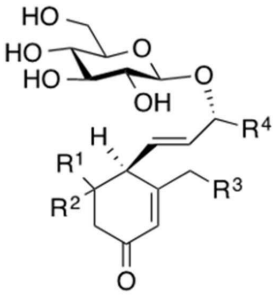
청구항 9

제8항에 있어서,

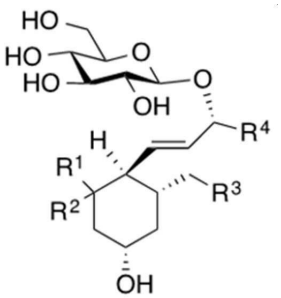


화학식(12)

(B) 화학식(12)로 표시되는 화합물을 변환 반응을 통해 화학식(13)으로 표시되는 화합물로 변환시키는 합성 단계를 더 포함하며;



화학식(12)



화학식(13)

(여기서 상기 변환 반응은 영역 선택적과 입체 선택적 1,4-환원/카르보닐 환원 단계를 포함하고; 상기 영역 선택적과 상기 입체 선택적 1,4-환원/카르보닐 환원 단계는 환원제 3을 이용하여 제2 저온 조건에서 진행되며, 상기 환원제 3은 $NaBH_4$, $LiAlH_4$, 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드($NaB(OAc)_3H$), $NaBCNH_3$, L-셀렉트라이드(L-selectride), $[CuH(PPh_3)]_6$, DIBAL 또는 H_2, Pd/C이며; 상기 환원제 3의 당량은 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 또는 5.0당량이며, 상기 영역 선택적과 상기 입체 선택적 1,4-환원/카르보닐 환원 단계에서 상기 제2 저온 조건의 온도는 -78℃ 내지 25℃임);

R1은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

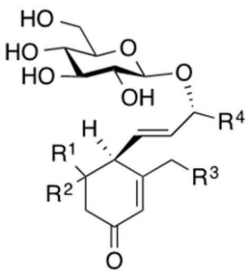
R2는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

R3은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며;

R4는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬인, 화학식(12)로 표시되는 이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체의 제조방법.

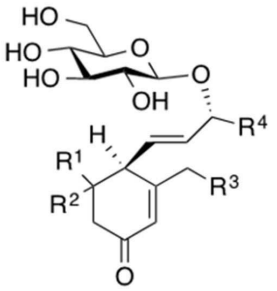
청구항 10

제8항에 있어서,

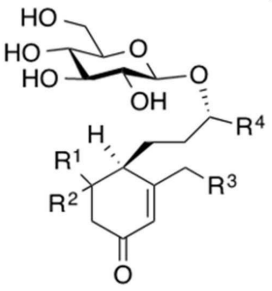


화학식(12)

(A) 화학식(12)로 표시되는 화합물을 선택적 알켄계 환원 반응을 통해 화학식(14)로 표시되는 화합물로 변환시키는 합성 단계를 더 포함하며;



화학식(12)



화학식(14)

(여기서 상기 선택적 알켄계 환원 반응은 환원제 4를 이용하여 진행되고, 상기 환원제 4는 소듐 보로하이드라이드, 리튬 알루미늄하이드라이드, 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드($NaB(OAc)_3H$), $NaBCNH_3$, L-셀렉트라이드(L-selectride), $[CuH(PPh_3)]_6$, 디이소부틸 알루미늄하이드라이드(diisobutyl aluminum hydride (DIBAL)), H_2/Pd/C 또는 $RhCl(PPH_3)_3/H_2$이며, 상기 선택적 알켄계 환원 반응의 반응 온도는 -78℃ 내지 25℃임);

R1은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

R2는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

R3은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며;

R4는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬인, 화학식(12)로 표시되는 이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체의 제조방법.

청구항 11

신경 손상 치료용 의약품을 제조함에 있어서의 제1항에 따른 이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체의 용도.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 신경 손상은 중추신경 또는 말초신경 손상인 것을 특징으로 하는 신경 손상 치료용 의약품을 제조함에 있어서의 이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체의 용도.

청구항 13

제11항에 있어서,

상기 신경 손상은 뉴런 손상인 것을 특징으로 하는 신경 손상 치료용 의약품을 제조함에 있어서의 이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체의 용도.

청구항 14

제11항에 있어서,

상기 신경 손상은 피질 신경(cortical neurons) 또는 해마 신경(hippocampal neurons)의 손상인 것을 특징으로 하는 신경 손상 치료용 의약품을 제조함에 있어서의 이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체의 용도.

청구항 15

제11항에 있어서,

상기 치료는 신경 재생, 신경 수의 증가 또는 신경 복원인 것을 특징으로 하는 신경 손상 치료용 의약품을 제조함에 있어서의 이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체의 용도.

청구항 16

제11항에 있어서,

상기 이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체는 혈뇌장벽(blood-brain barrier)을 통과하여 대뇌로 유입되는 것을 특징으로 하는 신경 손상 치료용 의약품을 제조함에 있어서의 이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체의 용도.

청구항 17

제11항에 있어서,

상기 이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체의 유효 용량은 9.674 nM 내지 1342 μM인 것을 특징으로 하는 신경 손상 치료용 의약품을 제조함에 있어서의 이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체의 용도.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 이소프로필-D-글루코피라노사이드(Isopropyl-D-glucopyranoside) 유도체, 이의 합성방법, 및 신경복원을 촉진함에 있어서의 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체의 용도를 제공한다.

배 경 기 술

[0002] 현재, 외상성 뇌손상(TBI)과 같은 신경 손상은 해마다 세계적으로 약 7천만 명에 달하는 인구가 이 병을 앓고 있다. 통상의 치료 방식은 물리적 치료법, 고압산소 치료법, 경두개골 자기 자극법과 경두개골 직류전류 자극법과 같은 비 침입성 치료법으로, TBI 후의 우울증과 인지 기능을 개선할 수 있으나, 현재는 여전히 뇌손상 이후의 신경 재생을 촉진할 수 있는 효과적인 약물이 없다.

[0003] 외상성 뇌손상은 외력에 의한 뇌의 손상이며, 해마다 세계적으로 약 7000만에 가까운 확진 사례가 있다. 외상성 뇌손상은 뇌신경에 손상을 일으키며 나아가 환자의 행동 또는 인지 상의 기능 결실을 초래한다. 중추신경계는 손상된 후 재생하여 회복되기 어려우며, 현재의 의학으로는 외상성 뇌손상에 대해 신경 재생을 촉진하는 효과적인 치료법이 없으며, 뇌외상 환자는 일정 시간이 지나면 뇌 병변과 추후 뇌신경 퇴화 질환을 앓는 것이 일반적이다. 따라서, 뇌손상 후 조속히 뇌신경 재생 촉진 약물을 사용하는 것이 치료 해결 방법이다.

[0004] 이뿐만 아니라, 치료 약물의 선택에 있어서, 대뇌에 혈뇌장벽이 있어 일반적인 약물은 유효 용량에 도달할 만큼 혈뇌장벽을 쉽게 통과할 수 없다. 따라서, 뇌 질환의 치료 시에는 약물의 효과적인 투여는 심각한 문제이다.

[0005] 이를 감안하여, 현재 신경 손상을 치료할 수 있는 약물을 개발하는 것이 시급히 필요하며, 이 밖에도 혈뇌장벽을 통과할 수 있는 투여 방식도 매우 필요하다.

발명의 내용

[0006] 발명의 내용은 독자들이 본 개시 내용을 기본적으로 이해하도록, 본 개시 내용의 간단한 요약을 제공하는 것을 취지로 한다. 당해 발명의 내용은 본 개시 내용의 완전한 개요가 아니며, 본 발명의 실시예의 중요하거나 핵심적인 구성요소를 지적하거나 또는 본 발명의 범위를 한정하는 의도로 사용되지 않는다.

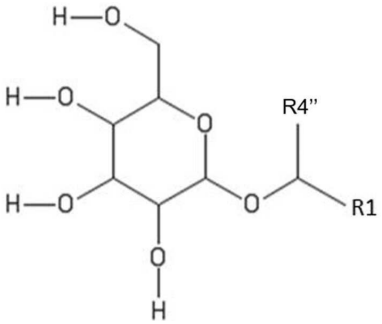
[0007] 인체의 신경계는 중추신경과 말초신경(peripheral nerve)으로 구분되며 양자는 모두 뉴런으로 구성된다. 여기서, 삼차신경은 말초신경 중의 뇌신경이고 교뇌(중추신경)에 연결된다. 따라서, 본 발명에 따른 화합물이 비점막을 통해 후상피세포를 통과하여 후각과 삼차신경 주변의 통로로 유입되어 대뇌로 유입될 경우, 말초신경을 통해 전신 신경을 복원하는 효과도 동시에 구현할 수 있다.

[0008] 이를 감안하여, 본 발명은 쉽게 복원되지 않는 뇌신경을 실험대상으로 한다. 이로써 신경계의 중추신경과 말초신경(peripheral nervous)을 모두 복원할 수 있는 효과를 구현한다.

[0009] “중추신경”은 뇌와 척수로 이루어진다. 본 발명에서 말하는 “중추신경”은 후각 뇌, 편도체, 해마, 신피질, 측면 뇌실, 시상상부, 시상, 시상하부, 시상밑부, 뇌하수체, 송과체, 제3 뇌실, midbrain tectum,, cerebral peduncle, frontal lobe, 대뇌 수도(cerebral aqueduct), 교뇌, 소뇌연수, 척수를 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0010] “말초신경”은 체성 신경계(somatic nervous system)와 자율 신경계로 이루어진다. 본 발명에서 말하는 “말초신경”은 감각신경, 운동신경, 뇌신경 척수신경, 교감신경, 부교감신경, 장 신경계(enteric nervous system)를 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

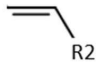
[0011] 본 발명은 화학식(1)으로 표시되는 화학 구조를 갖는 이소프로필-D-글루코피라노사이드(Isopropyl-D-glucopyranoside) 유도체를 제공한다.



[0012]

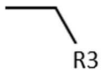
[0013] 화학식(1)

[0014] 여기서, R1은 치환 가능한 또는 치환되지 않은 화학식(2) 또는 화학식(3)으로 표시되는 화학 구조이며;



[0015]

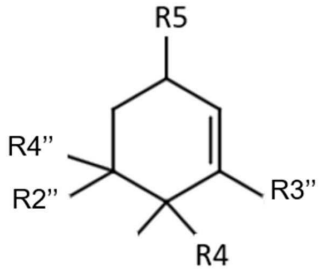
[0016] 화학식(2)

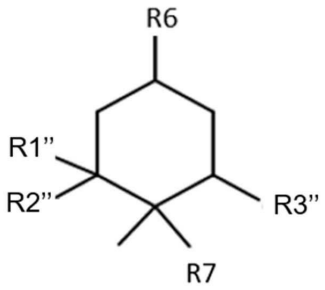


[0017]

[0018] 화학식(3)

[0019] R2와 R3은 치환 가능한 또는 치환되지 않은 화학식(4) 또는 화학식(5)로 표시되는 화학 구조이며;





[0020]

[0021] 화학식(4) 화학식(5)

[0022] R4는 수소, 듀테륨, 트리튬, 히드록실 또는 할로겐이며;

[0023] R5는 수소, 듀테륨, 트리튬, 히드록실, 카르보닐 또는 할로겐이며;

[0024] R6은 수소, 듀테륨, 트리튬, 히드록실, 카르보닐 또는 할로겐이며;

[0025] R7은 수소, 듀테륨, 트리튬, 히드록실 또는 할로겐이며;

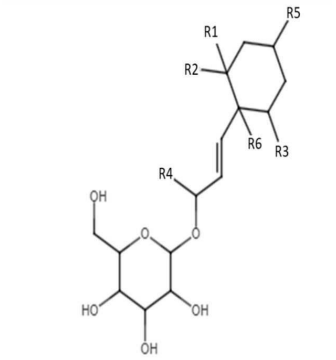
[0026] R1''는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

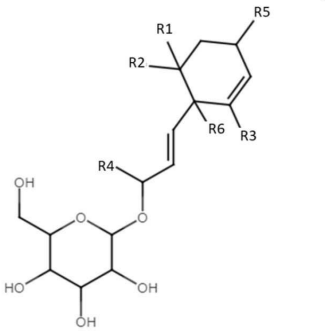
[0027] R2''는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

[0028] R3''는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며;

[0029] R4''는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이다.

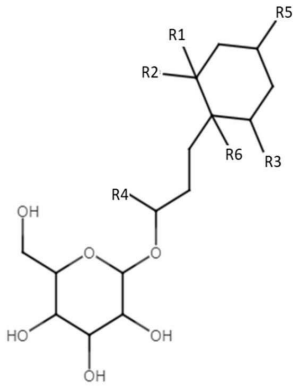
[0030] 일부 실시예에서, 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체는 하기 화합물을 포함한다.

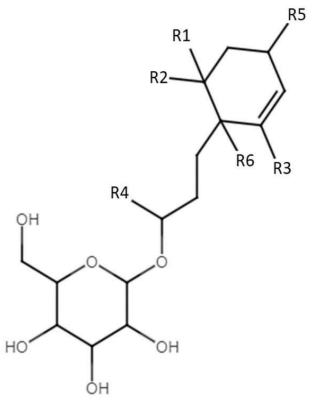




[0031]

[0032] 화학식A 화학식B





[0033]

[0034] 화학식C 화학식D

[0035] 상기 R1은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

[0036] 상기 R2는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

[0037] 상기 R3은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며;

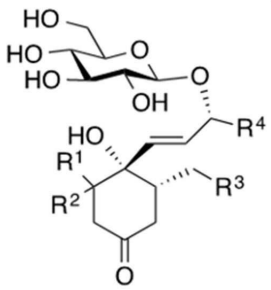
[0038] 상기 R4는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며;

[0039] 상기 R5는 수소, 듀테륨, 트리튬, 히드록실, 카르보닐 또는 할로겐이며;

[0040] 상기 R6은 수소, 듀테륨, 트리튬, 히드록실 또는 할로겐이다.

[0041] 본 발명은 “Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체”를 “신경 손상의 치료”에 이용한다. 본 분야의 통상의 기술자가 출원발명의 내용을 파악할 수 있도록, 본 발명은 “Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체” 중의 “Ampelopsisionoside”, “Byzantionoside B”와 “Roseoside”를 실시예로 이용한다.

[0042] 일부 실시예에서, 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체에서 하기 화학식(6)의 화합물은 하기 화학적 합성 단계를 통해 제조된다.



[0043]

[0044] 화학식(6)

[0045] (A) 하기 절차 1에 나타낸 바와 같이, 화학식(7)로 표시되는 화합물을 이중알킬화 반응, 아실화 반응과 알킨계 친핵성 가성반응(Alkyne nucleophilic addition reaction)을 통해 화학식(8)로 표시되는 화합물로 변환시킨다.



[0046]

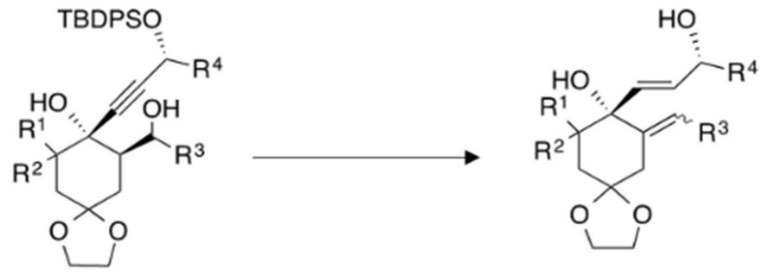
[0047] 화학식(7) 화학식(8)

[0048] 절차 1

[0049] 여기서, 화학식(8)로 표시되는 화합물의 치환기 각각은 하기 가능성이 있다. 즉, R1은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며; R2는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며; R3은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며; R4는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이다.

[0050] 상기 이중알킬화 반응은 친전자성 시약 1을 통해 진행되고, 상기 친전자성 시약 1은 메틸 요오드, 에틸 요오드, 프로필 요오드, MeOTf, EtOTf, PrOTf, 프로필 브롬/요오드화 소듐 또는 황산디메틸이며; 상기 아실화 반응 시약은 포름알데히드, 아세트알데히드 또는 프로피온알데하이드이며; 이 중간물질은 더 나아가 알킨계 친핵성 가성반응이 진행되어 화합물(8)을 얻는다. 당해 알킨계 친핵성 가성 시약은 R4 관능기를 구비하는 알킨계와, 염기를 포함하고, 당해 염기는 n-부틸리튬(nBuLi), 디이소프로필아미노리튬(LDA), 디(트리메틸실릴)아미노리튬(LHMDS)을 포함하고, 상기 R4의 관능기는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이다.

[0051] (B) 하기 절차 2에 나타낸 바와 같이, 화학식(8)로 표시되는 화합물을 올레핀화 반응, 환원 반응과 탈보호 반응을 통해 화학식(9)로 표시되는 화합물로 변환시킨다.



[0052]

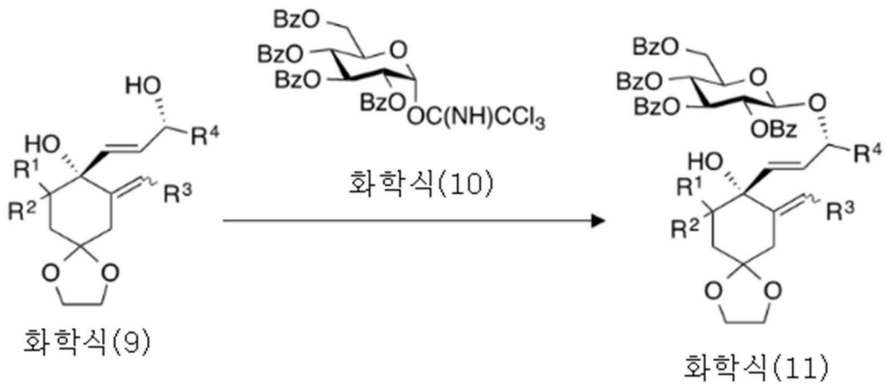
[0053] 화학식(8) 화학식(9)

[0054] 절차 2

[0055] 여기서, 화학식(8)로 표시되는 화합물은 올레핀화 반응에서 먼저 친전자성 시약 2와 아민계 시약을 이용하여 저

온 조건에서 반응하여 화학식(9)로 표시되는 화합물을 얻으며; 상기 친전자성 시약 2는 메실클로라이드(mesyl chloride), 토실클로라이드(tosyl chloride), 아세트산무수물, 벤조산무수물, 요오드화 메틸 또는 디메틸설페이트이며; 상기 아민계 시약은 트리에틸아민, 디에틸아민, 피리딘, 피롤리딘(pyrrolidine), 에틸디이소프로필아민(ethyldisiopropyl amine), 2,6-루티딘(2,6-lutidine) 또는 1,4-디아자비사이클로[2,2,2]옥탄(1,4-diazabicyclo[2,2,2]octane)이며; 상기 저온 조건의 온도는 -30℃ 내지 25℃이며; 완료 후 이어서 다시 제2 염기를 넣어 올레핀화를 수행하되, 상기 제2 염기는 3급 포타슘부티레이트(Potassium tert-butoxide), 수산화소듐, 소듐 메톡사이드 또는 1,8-디아자비사이클로[5,4,0]운데크-7-엔(1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-ene)이며; 완료 후 이어서 환원 반응을 진행하되, 상기 환원 반응은 환원제로서 환원제 1을 이용하며, 상기 환원제 1은 리튬 알루미늄하이드라이드, 디이소부틸 알루미늄하이드라이드(diisobutyl aluminum hydride (DIBAL)), 소듐 보로하이드라이드, 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드($NaB(OAc)_3H$), 리튬 트리에틸보로하이드라이드(Lithium triethylborohydride) 또는 소듐 비스(2-메톡시에톡시)알루미늄하이드라이드(sodium bis(2-methoxyethoxy)aluminiumhydride)이며, 상기 환원 반응의 반응 온도는 -50℃ 내지 25℃이며; 완료 후 이어서 탈보호 단계를 진행하되, 상기 탈보호 단계는 탈보호 시약 1을 이용하여 탈보호 반응을 진행하여 화학식(9)로 표시되는 화합물을 얻으며, 상기 탈보호 시약 1은 테트라부틸암모늄플로라이드(tetrabutyl ammonium fluoride (TBAF)) , 무수 불산피리딘(HF-py), 염산, 또는 3급 포타슘부티레이트(Potassium tert-butoxide)이며; 상기 탈보호 반응의 반응 온도는 -35℃ 내지 25℃이다.

[0056] (C) 하기 절차 3에 나타낸 바와 같이, 화학식(9)로 표시되는 화합물을 당쇄 연결 반응을 통해 화학식(10)로 표시되는 화합물과 결합하여 화학식(11)로 표시되는 화합물을 얻는다.



[0057]

[0058] 절차 3

[0059] 여기서, 화학식(9)로 표시되는 화합물은 상기 당쇄 연결 반응을 통해 당쇄 연결 시약 1을 이용하여 반응하여 화학식(10)로 표시되는 화합물을 얻으며, 상기 당쇄 연결 시약 1은 황화 니켈/실버 트리플루오로메탄설포네이트(NIS/AgOTf), 브로모설포프탈레인(Bromosulfophthalien)/트리-t-부틸페놀/트리플루오로메탄설폰산 무수물(trifluoromethanesulfonic anhydride)(BSP/TTBP/Tf2O), 트리메틸실릴 트리플루오로메탄설포네이트(Trimethylsilyltrifluoromethane sulfonate)/황화 니켈(TMSOTf/NIS), 트리메틸실릴 트리플루오로메탄설포네이트(TMSOTf), 실버 트리플루오로메탄설포네이트(AgOTf) 또는 CuOTf이고, 상기 당쇄 연결 반응의 반응 온도는 -78℃ 내지 0℃이다.

[0060] (D) 화학식(11)로 표시되는 화합물을 탈케탈화, 구조 이성화, 탈벤조일기와 1,4-환원을 통해, 화학식(6)로 표시되는 화합물로 변환시킨다.

[0061] 여기서, 화학식(11)로 표시되는 화합물은 먼저 탈케탈화와 구조 이성화 반응이 진행되고, 상기 탈케탈화와 구조 이성화 반응은 시약 1을 이용하여 진행되며, 상기 시약 1은 아세트산 수용액, 염산 수용액, 트리플루오로아세트산 수용액, TsOH와 H_2O, HCl이 1,4-dioxane에 용해된 혼합용액(HCL in 1,4-dioxane) 또는 황산 수용액이며; 이어서 상술한 탈벤조일기 반응이 진행되고, 상기 탈벤조일기 반응은 탈벤조일기 시약을 이용하여 진행되며, 상기 탈벤조일기 시약은 수산화소듐, 소듐 메톡사이드, 소듐 에톡사이드, 수산화포타슘, 포타슘 메톡사이드, 포타슘 에톡사이드, 염산 메탄올 용액, 염산 수용액, 트리플루오로아세트산(TFA)과 H_2O, 또는 황산 수용액이며; 이어서 상기 1,4-환원 반응을 진행하여 화학식(6)로 표시되는 화합물을 얻되, 상기 1,4-환원 반응은 1,4-환원 반응 시약을 이용하여 진행되며, 상기 1,4-환원 반응 시약은 소듐 보로하이드라이드, 리튬 알루미늄하이드라이드, 소듐

트리아세톡시보로하이드라이드($NaB(OAc)_3H$), $NaBCNH_3$, L-셀렉트라이드(L-selectride), $[CuH(PPh_3)]_6$, 디이소부틸 알루미늄하이드라이드(diisobutyl aluminum hydride (DIBAL)) 또는 H_2/Pd/C 이며; 상기 1,4-환원 반응의 반응 온도는 -78℃ 내지 25℃이며;

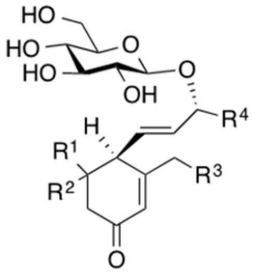
[0062] R1은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

[0063] R2는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

[0064] R3은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며;

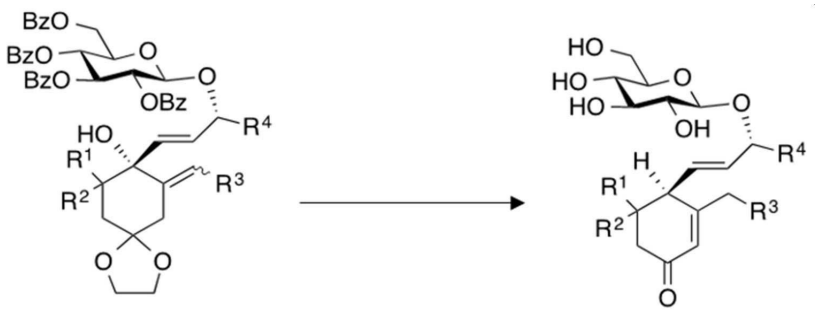
[0065] R4는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이다.

[0066] 일부 실시예에서, 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체에서 하기 화학식(12)로 표시되는 화합물은 하기 화학적 합성 단계를 통해 제조된다.

[0067] 

[0068] 화학식(12)

[0069] (A) 하기 절차 4에 나타낸 바와 같이, 화학식(11)로 표시되는 화합물을 화학식(12)로 표시되는 화합물로 변환시킨다.

[0070] 

[0071] 화학식(11) 화학식(12)

[0072] 절차 4

[0073] 여기서 상기 변환은 아세탈의 탈보호, 구조 이성화, 입체 선택적 탈산화와 벤조일기의 탈보호 반응을 포함하고, 상기 아세탈의 탈보호와 상기 구조 이성화는 산성 시약을 이용하여 진행되며, 상기 산성 시약은 아세트산 수용액, 염산 수용액, 트리플루오로아세트산(TFA)과 H_2O, TsOH와 H_2O, HCl이 1,4-디옥산(1,4-dioxane)에 용해된 혼합용액(HCL in 1,4-dioxane) 또는 황산 수용액이며; 이어서 제1 저온 조건에서 환원제 2를 이용하여 입체 선택적 탈산화 반응을 진행하되, 상기 환원제 2는 $NaBH_4$, $LiAlH_4$, 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드($NaB(OAc)_3H$), $NaBCNH_3$, Et_3SiH/BF_3-Et_2O, L-셀렉트라이드(L-selectride), $[CuH(PPh_3)]_6$ 또는 디이소부틸 알루미늄 하이드라이드(DIBAL)이며; 상기 환원제 2의 양은 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 또는 5.0당량이며; 상기 입체 선택적 탈산화 단계에서 상기 제1 저온 조건의 온도는 -78℃ 내지 25℃이며; 이어서 다시 탈보호 시약 2를 이용하여 중간물의 벤조일기를 제거하여, 화학식(11)로 표시되는 화합물을 생성하되, 상기 탈보호 시약 2는 NaOH, NaOMe, NaOEt, KOH, KOMe, KOEt, 염산 메탄올 용액, HCl 수용액, 트리플루오로아세트산(TFA)과 H_2O, 또는 H_2SO_4 수용액이며;

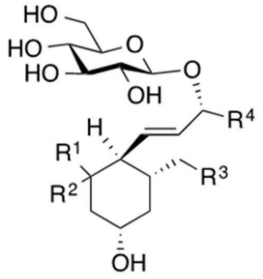
[0074] R1은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

[0075] R2는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

[0076] R3은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며;

[0077] R4는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이다.

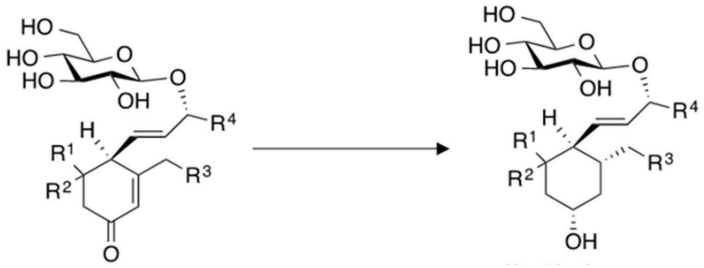
[0078] 일부 실시예에서, 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체에서 하기 화학식(13)로 표시되는 화합물은 하기 화학적 합성 단계를 통해 제조된다.



[0079]

[0080] 화학식(13)

[0081] (A) 하기 절차 5에 나타낸 바와 같이, 화학식(12)로 표시되는 화합물을 변환 반응을 통해 화학식(13)로 표시되는 화합물로 변환시킨다.



[0082]

[0083] 화학식(12) 화학식(13)

[0084] 절차 5

[0085] 여기서 상기 변환 반응은 영역 선택적과 입체 선택적 1,4-환원/카르보닐 환원을 포함하고; 상기 영역 선택적과 입체 선택적 1,4-환원은 환원제 3을 이용하여 제2 저온 조건에서 진행되며, 상기 환원제 3은 $NaBH_4$, $LiAlH_4$, 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드($NaB(OAc)_3H$), $NaBCNH_3$, L-셀렉트라이드(L-selectride), $[CuH(PPh_3)]_6$, DIBAL 또는 H_2, Pd/C이며; 상기 환원제 3의 당량은 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 또는 5.0당량이며; 상기 영역 선택적과 상기 입체 선택적 1,4-환원 단계에서 상기 제2 저온 조건의 온도는 -78℃ 내지 25℃이며;

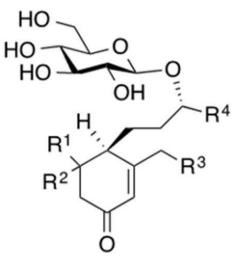
[0086] R1은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

[0087] R2는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

[0088] R3은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며;

[0089] R4는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이다.

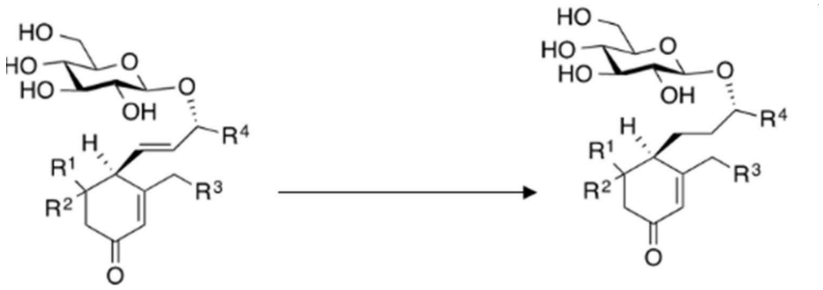
[0090] 일부 실시예에서, 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체에서 하기 화학식(14)로 표시되는 화합물은 하기 화학적 합성 단계를 통해 제조된다.



[0091]

[0092] 화학식(14)

[0093] (A) 하기 절차 6에 나타낸 바와 같이, 화학식(12)로 표시되는 화합물을 선택적 알켄계 환원을 통해, 화학식(14)로 표시되는 화합물로 변환시킨다.



[0094]

[0095] 화학식(12) 화학식(14)

[0096] 절차 6

[0097] 여기서 상기 선택적 알켄계 환원은 환원제 4를 이용하여 진행되고, 상기 환원제 4는 소듐 보로하이드라이드, 리튬 알루미늄하이드라이드, 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드($NaB(OAc)_3H$), $NaBCNH_3$, L-셀렉트라이드(L-selectride), $[CuH(PPh_3)]_6$, 디이소부틸 알루미늄하이드라이드(diisobutyl aluminum hydride (DIBAL)), H_2/Pd/C 또는 $RhCl(PPH_3)_3/H_2$이며, 상기 선택적 알켄계 환원 반응의 반응 온도는 -78℃ 내지 25℃이며;

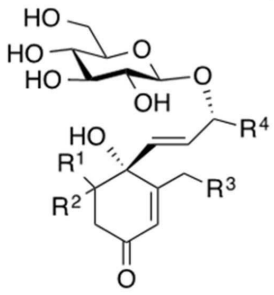
[0098] R1은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

[0099] R2는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

[0100] R3은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며;

[0101] R4는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이다.

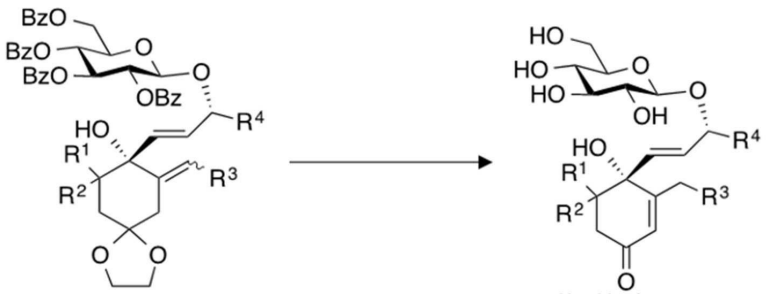
[0102] 일부 실시예에서, 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체에서 하기 화학식(15)로 표시되는 화합물은 하기 화학적 합성 단계를 통해 제조된다.



[0103]

[0104] 화학식(15)

[0105] (A) 하기 절차 7에 나타낸 바와 같이, 화학식(9)로 표시되는 화합물을 탈케탈화, 구조 이성화, 탈벤조일기 보호를 통해, 화학식(15)로 표시되는 화합물로 변환시킨다.



[0106]

[0107] 화학식(9) 화학식(15)

[0108] 절차 7

[0109] 여기서 상기 화학식(9)로 표시되는 화합물은 먼저 상기 탈케탈화와 상기 구조 이성화 반응이 진행되며, 상기 탈케탈화와 상기 구조 이성화 반응은 탈케탈화와 구조 이성화 반응 시약을 이용하여 진행되며, 상기 탈케탈화와 구조 이성화 반응 시약은 아세트산 수용액, 염산 수용액, 트리플루오로아세트산 수용액, TsOH와 H_2O, HCl이 1,4-dioxane에 용해된 혼합용액(HCL in 1,4-dioxane) 또는 황산 수용액이며, 후속되는 상기 탈벤조일기 보호 반응은 탈벤조일기 보호 시약을 이용하여 진행되며, 상기 탈벤조일기 보호 시약은 수산화소듐, 소듐 메톡사이드, 소듐 에톡사이드, 수산화포타슘, 포타슘 메톡사이드, 포타슘 에톡사이드, 염산 메탄올 용액, 염산 수용액, 트리플루오로아세트산(TFA)과 H_2O, 또는 황산 수용액이며;

[0110] R1은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

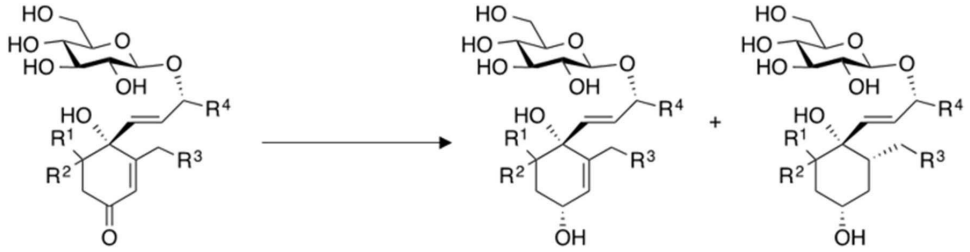
[0111] R2는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

[0112] R3은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며;

[0113] R4는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이다.

[0114] 일부 실시예에서, 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체에서 하기 화학식(16)로 표시되는 화합물과 화학식(17)로 표시되는 화합물은 하기 화학적 합성 단계를 통해 제조된다.

[0115] 하기 절차 8에 나타낸 바와 같이, 화학식(15)로 표시되는 화합물을 선택적 환원 반응을 통해, 화학식(16)로 표시되는 화합물과 화학식(17)로 표시되는 화합물로 변환시킨다.

[0116] 

[0117] 화학식(15) 화학식(16) 화학식(17)

[0118] 절차 8

[0119] 여기서 화학식 (15)로 표시되는 화합물에 대해 상기 선택적 환원 반응을 진행하는 것은 선택적 환원 반응 시약을 통해 화학식(16)로 표시되는 화합물과 화학식(17)로 표시되는 화합물을 얻으며, 상기 선택적 환원 반응 시약은 소듐 보로하이드라이드, 리튬 알루미늄하이드라이드, 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드($NaB(OAc)_3H$), $NaBCNH_3$, L-셀렉트라이드(L-selectride), $[CuH(PPh_3)]_6$, 디이소부틸 알루미늄하이드라이드(diisobutyl aluminum hydride (DIBAL)) 또는 H_2/Pd/C이며; 상기 선택적 환원 반응의 반응 온도는 -78℃ 내지 25℃이며;

[0120] R1은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

[0121] R2는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨, 트리튬 또는 히드록실이며;

[0122] R3은 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이며;

[0123] R4는 메틸, 에틸, 프로필, 수소, 듀테륨 또는 트리튬이다.

[0124] 일부 실시예에서, 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체는 Neuro2a 세포에 대한 독성이 상당히 낮다.

[0125] 본 발명은 또한 신경 복원을 촉진함에 있어서의 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체의 용도를 더 제공한다.

[0126] 일부 실시예에서, Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체는 단독 사용 시, 손상된 해마 뉴런(injured hippocampal neurons)의 재생을 촉진하고 3D 뇌조직 절편의 신경 재생을 촉진할 수 있으며, 이는 당해 화합물이

뉴런의 재생을 효과적으로 촉진할 수 있고 신경 손상을 복원할 수 있음을 증명한다.

[0127] 일부 실시예에서, 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체는 눈의 망막신경의 복원을 촉진할 수 있다.

[0128] 일부 실시예에서, 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체는 비강 투여 시 사용자의 혈뇌장벽(blood-brain barrier)을 통과하여 대뇌로 유입되어 당해 손상된 뉴런의 복원을 촉진할 수 있다.

[0129] 일부 실시예에서, 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체는 혈뇌장벽(blood-brain barrier)을 통과하여 대뇌로 유입되어 뇌신경의 복원, 재생 또는 신경 수의 증가를 촉진할 수 있다.

[0130] 일부 실시예에서, 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체는 뇌외상 후 피질 신경(cortical neurons)의 재생을 촉진할 수 있다.

[0131] 일부 실시예에서, 본 발명에서 사용되는 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체의 유효 용량의 농도는 9.674 nM 내지 1342 μM이다.

[0132] 일부 실시예에서, 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체는 신경 복원에 현저한 효과를 구비하며, 비강 투여된 화합물은 혈뇌장벽(blood-brain barrier)을 통과하여 대뇌로 유입되어, 손상된 뉴런의 복원을 촉진하고, 뇌신경의 복원, 재생 또는 신경 수의 증가를 촉진할 수 있으며, 뇌외상 후 피질 신경(cortical neurons)과 해마 신경(hippocampal neurons)의 신경축(neuraxis)의 재생을 촉진할 수 있다.

[0133] 본 발명이 속한 기술분야의 통상의 기술자는 후술되는 실시형태를 참고한 후 본 발명의 실질적인 사상과 그밖의 다른 발명의 목적, 그리고 본 발명에 이용된 기술적 수단과 실시형태를 쉽게 파악할 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

[0134] 도 1a 내지 도 1c는 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체의 세포 독성 실험결과이다.

도 2는 본 발명의 시험관 내(*in vitro*) 신경복원 시험 흐름도이다.

도 3은 본 발명의 갭 폐합률(gap closure rate)의 계산 개략도로서, 상대적 신경축 재생을 정량화하기 위한 것이다.

도 4a 내지 도 4b는 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Ampelopsisionoside에 의한, 시험관 내(*in vitro*) 해마 신경세포 신경복원 실험결과이다.

도 5는 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Ampelopsisionoside에 의한, 시험관 내(*in vitro*) 피질 신경세포 신경복원 실험결과이다.

도 6은 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Byzantionoside B에 의한, 시험관 내(*in vitro*) 해마 신경세포 신경복원 실험결과이다.

도 7은 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Byzantionoside B에 의한, 시험관 내(*in vitro*) 피질 신경세포 신경복원 실험결과이다.

도 8은 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Roseoside에 의한, 시험관 내(*in vitro*) 해마 신경세포 신경복원 실험결과이다.

도 9는 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Roseoside에 의한, 시험관 내(*in vitro*) 피질 신경세포 신경복원 실험결과이다.

도 10은 본 발명의 생체 외(*ex vivo*) 뇌조직 절편의 실험 흐름도이다.

도 11은 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Ampelopsisionosid에 의한, 생체 외(*ex vivo*) 3차원 뇌조직 절편의 실험결과이다.

도 12는 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Byzantionoside B에 의한, 생체 외(*ex vivo*) 3차원 뇌조직 절편의 실험결과이다.

도 13은 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Roseoside에 의한, 생체 외(*ex vivo*) 3차원 뇌조직 절편의 실험결과이다.

도 14는 본 발명에 따른 제어된 피질 충격 뇌외상 모델 실험 흐름도와 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Ampelopsisionoside에 의한, 뇌외상 후 마우스의 운동능력 회복 촉진 실험결과이다.

도 15는 본 발명에 따른 제어된 피질 충격 뇌외상 모델 실험 흐름도와 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Ampelopsisionoside에 의한, 뇌외상 후 마우스의 환경 탐색능력의 회복(스트레스 테스트) 촉진 실험결과이다.

도 16은 본 발명 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Ampelopsisionoside에 의한, 제어된 피질 충격 뇌외상 모델 실험 흐름도이다.

도 17은 본 발명 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Ampelopsisionoside에 의한, 제어된 피질 충격 뇌외상 모델 실험의 단봉(horizontal bar) 테스트 결과이다.

도 18은 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Byzantionoside B에 의한, 생체 외(*ex vivo*) 눈의 망막신경 복원 촉진 흐름도이다.

도 19는 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Byzantionoside B에 의한, 생체 외(*ex vivo*) 눈의 망막신경 복원 촉진 실험결과이다.

도 20은 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Roseoside에 의한, 생체 외(*ex vivo*) 눈의 망막신경 복원 촉진 흐름도이다.

도 21은 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Roseoside에 의한, 생체 외(*ex vivo*) 눈의 망막신경 복원 촉진 실험결과이다.

도 22는 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside의 각 유도체의 합성 흐름도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0135] 본 개시 내용에 대한 설명이 더 상세하고 완전해지도록, 이하 본 발명의 실시형태와 구체적인 실시예에 대해 설명성 기술을 한다. 다만 이는 본 발명의 구체적인 실시예를 실시 또는 적용하는 유일한 형태가 아니다. 실시형태에는 다수의 구체적인 실시예의 특징과, 이들 구체적인 실시예를 조작하는 방법과 용도가 포함되어 있으나, 다른 구체적인 실시예를 이용하여 동일 또는 균등한 기능효과를 달성할 수도 있다. 이들 실시예는 본 발명을 설명하기 위한 것이며 본 발명의 범위를 한정하기 위한 것은 아님을 이해해야 한다.

[0136] **실시예 1: 이소프로필-D-글루코피라노사이드(Isopropyl-D-glucopyranoside) 유도체의 세포 독성 실험**

[0137] CellTiter-Glo cell viability assay를 이용하여, Neuro2a 세포에 대한 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체인 Ampelopsisionoside, Byzantionoside B와 Roseoside의 독성을 검출했다. CellTiter-Glo cell viability assay는 세포 내의 ATP의 함량을 측정하여, 세포에 화합물을 첨가한 후의 생존율을 정량화할 수 있다.

[0138] 도 1a 내지 도 1c에 나타낸 바와 같이, 실험결과로부터 Neuro2a 세포에 대한 Ampelopsisionoside, Byzantionoside B와 Roseoside의 IC50가 약 4.175 mM 내지 32.658 mM의 범위라는 것을 알 수 있으며, 세포에 대한 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체의 독성이 상당히 낮음을 알 수 있다.

[0139] **실시예 2: Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Ampelopsisionoside에 의한, 시험관 내(*in vitro*) 해마 신경세포에 대한 신경복원 시험**

[0140] 본 실험 절차는 도 2에 나타낸 바와 같이, 임신한지 18일째 되는 쥐(rat)의 태아를 꺼내고, 태아의 대뇌를 대뇌피질(cortex)과 해마(hippocampus)로 분리했다. 이어서 cortex와 hippocampus를 피질 신경세포(cortical neurons)와 해마 신경세포(hippocampal neurons)로 분리하고, 해마 신경세포를 48 웰 플레이트에 이식했으며, 이 날을 Day *In Vitro* 0 (DIV0)으로 칭했다. DIV2일 때 사이토신(Cytosine beta-D-arabinoside, AraC)을 넣어 신경교질세포(glial cell)의 증식을 억제했다. DIV8일 때 마이크로피펫 팁으로 신경세포를 스크래칭하고, Ampelopsisionoside (농도는 9.674 nM 내지 967.4 μM임)을 넣었다. Ampelopsisionoside의 용매는 0.1% 디메틸술폭사이드(DMSO)이다. Ampelopsisionoside를 넣어 72시간 지난 후, 면역형광염색법을 통해, TUJ1 항체를 사용하여 신경세포를 마킹한 후 신경 재생 상황을 관찰했다. 이 실험은 Zeiss Observer Z1 microscope를 이용하여 촬영했다.

[0141] 도 3에 나타낸 바와 같이, 갭 폐합률(gap closure rate)을 이용하여 신경축의 재생 정도를 정량화했다. 백색 점선은 마이크로피펫 팁으로 스크래칭하여 신경세포에 손상이 발생한 경계이고, 중간의 검정색 부분은 마이크로피

펫 팁에 의해 스크래칭된 영역이며, 재생된 신경돌기는 점선의 양측으로부터 중간 방향으로 성장했다. 계산 방법으로는, 손상된 영역에서 50 μm 간격으로 gap 사이에 하나의 선을 그어 Gap의 폭을 계산하고, 총 10개의 선을 그은 후 평균값을 취해, 손상된 경계 사이의 갭의 길이(Length of gap between injured borders, Lg)로 했다. 일정 시간이 지난 후, 동일한 손상된 영역에서 50 μm 간격으로 하나의 선을 그어, 재생되어 연장된 신경축을 연결하고 그 길이를 계산했다. 10개의 선을 그은 후 평균값을 취해, 재생된 신경 사이의 갭의 길이(Length of gap between regenerated neurons, Ln)로 했다. (Lg-Ln)/Lg을 통해 갭 폐합률(gap closure rate)를 계산했으며, 축척은 100μm로 했다. 이 실험은 Zeiss Observer Z1 microscope를 이용하여 촬영했다.

[0142] 도 4a 내지 도 4b에 나타낸 바와 같이, 갭 폐합률(gap closure rate)을 이용하여 신경축의 재생 정도를 정량화했으며, 이 실험결과는 Ampelopsisionoside가 해마 신경돌기의 증식을 효과적으로 촉진할 수 있음을 보여준다.

[0143] **실시예 3: Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Ampelopsisionoside에 의한, 시험관 내(*in vitro*) 손상된 피질 신경세포의 신경재생 촉진 실험**

[0144] 본 실험에서는 임신한지 18일째 되는 쥐의 태아를 꺼내고, 태아의 대뇌를 대뇌피질과 해마로 분리했다. 이어서 피질 신경세포를 48 웰 플레이트에 이식했으며, 이 날을 Day In Vitro 0 (DIV0)으로 칭했다. DIV2일 때 Cytosine beta-D-arabinoside(AraC)를 넣어 신경교질세포의 증식을 억제했다. DIV8일 때 마이크로피펫 팁으로 신경세포를 스크래칭하고, 각각 Ampelopsisionoside (9.674 nM 내지 96.74 μM)를 넣었다. 용매 제어군은 0.1% DMSO이다. 도면의 결과는 모두 DMSO군과 표준화했다. Ampelopsisionoside를 넣어 72시간 지난 후, 면역형광염색법을 통해, TUJ1 항체를 사용하여 신경세포를 마킹한 후 신경 재생 상황을 관찰했다. 이 실험은 Zeiss Observer Z1 microscope를 이용하여 촬영했으며, 축척은 100μm이다.

[0145] 도 5에 나타낸 바와 같이, 0.1% DMSO에 대한 갭 폐합률(gap closure rate)을 계산하고, 신경축의 재생 정도를 정량화했으며, 면역형광 도면의 두 점선 사이는 손상된 영역을 나타낸다.이 실험결과는 Ampelopsisionoside가 피질 신경돌기의 증식을 효과적으로 촉진할 수 있음을 보여준다.

[0146] **실시예 4: Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Byzantionoside B에 의한, 시험관 내(*in vitro*) 해마 신경세포의 신경복원 시험**

[0147] 본 실험에서는 임신한지 18일째 되는 쥐의 태아를 꺼내고, 태아의 대뇌를 대뇌피질과 해마로 분리했다. 해마 신경세포를 48 웰 플레이트에 이식했으며, 이 날을 Day In Vitro 0 (DIV0)로 칭했다. DIV2일 때 Cytosine beta-D-arabinoside(AraC)를 넣어 신경교질세포의 증식을 억제했다. DIV8일 때 마이크로피펫 팁으로 신경세포를 스크래칭하고, 각각 Byzantionoside B (0.13 μM 내지 1342 μM)를 넣었다. 용매 제어군은 ddH_2O이다. 도면의 결과는 모두 ddH_2O군과 표준화했다. Byzantionoside B를 넣어 72시간 지난 후, 면역형광염색법을 통해, TUJ1 항체를 사용하여 신경세포를 마킹한 후 신경 재생 상황을 관찰했다. 이 실험은 Zeiss Observer Z1 microscope를 이용하여 촬영했으며, 축척은 100μm이다.

[0148] 도 6에 나타낸 바와 같이, ddH_2O에 대한 갭 폐합률(gap closure rate)을 계산하고, 신경축의 재생 정도를 정량화했으며, 면역형광 도면의 두 점선 사이는 손상된 영역을 나타낸다. 하측의 도면에서 점선은 ddH_2O군을 나타내며, 이 실험결과는 Byzantionoside B가 해마 신경돌기의 증식을 효과적으로 촉진할 수 있음을 보여준다.

[0149] **실시예 5: Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Byzantionoside B에 의한, 시험관 내(in vitro) 피질 신경세포의 신경복원 시험**

[0150] 본 실험에서는 임신한지 18일째 되는 쥐의 태아를 꺼내고, 태아의 대뇌를 대뇌피질(cortex)과 해마(hippocampus)로 분리했다. 이어서 cortex와 hippocampus를 피질 신경세포(cortical neurons)와 해마 신경세포(hippocampal neurons)로 분리하고, 피질 신경세포를 48 웰 플레이트에 이식했으며, 이 날을 Day In Vitro 0 (DIV0)으로 칭했다. DIV2일 때 Cytosine beta-D-arabinoside(AraC)을 넣어 신경교질세포(glial cell)의 증식을 억제했다. DIV8일 때 마이크로피펫 팁으로 신경세포를 스크래칭하고, 각각 Byzantionoside B (1.34 μM 내지 26.84 μM)를 넣었다. Byzantionoside B의 용매는 이중 증류수(ddH_2O)이다. Byzantionoside B를 넣어 72시간 지난 후, 면역형광염색법을 통해, TUJ1 항체를 사용하여 신경세포를 마킹한 후 신경 재생 상황을 관찰했다. 이 실험은 Zeiss Observer Z1 microscope를 이용하여 촬영했다. 두 점선 사이는 손상된 영역을 나타낸다.

[0151] 도 7에 나타낸 바와 같이, 갭 폐합률(gap closure rate)을 이용하여 신경축의 재생 정도를 정량화했으며, 이 실험결과는 Byzantionoside B가 피질 신경돌기의 증식을 효과적으로 촉진할 수 있음을 보여준다.

[0152] **실시예 6: Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Roseoside에 의한, 시험관 내(*in vitro*) 해마 신경세포의 신경 복원 시험**

[0153] 본 실험에서는 임신한지 18일째 되는 쥐의 태아를 꺼내고, 태아의 대뇌를 대뇌피질과 해마로 분리했다. 해마 신경세포를 48 웰 플레이트에 이식했으며, 이 날을 Day In Vitro 0 (DIV0)로 칭했다. DIV2일 때 Cytosine beta-D-arabinoside(AraC)를 넣어 신경교질세포의 증식을 억제했다. DIV8일 때 마이크로피펫 팁으로 신경세포를 스크래칭하고, 각각 Roseoside (0.013 μM 내지 1294 μM)를 넣었다. 용매 제어군은 ddH_2O이다. 도면의 결과는 모두 ddH_2O군과 표준화했다. Roseoside를 넣어 72시간 지난 후, 면역형광염색법을 통해, TUJ1 항체를 사용하여 신경세포를 마킹한 후 신경 재생 상황을 관찰했다.이 실험은 Zeiss Observer Z1 microscope를 이용하여 촬영했으며, 축척은 100μm이다.

[0154] 도 8에 나타낸 바와 같이, ddH_2O에 대한 갭 폐합률(gap closure rate)을 계산하고, 신경축의 재생 정도를 정량화했으며, 면역형광 도면의 두 점선 사이는 손상된 영역을 나타낸다. 하측의 도면은 ddH_2O군을 나타내며, 이 실험결과는 Roseoside가 해마 신경돌기의 증식을 효과적으로 촉진할 수 있음을 보여준다.

[0155] **실시예 7: Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Roseoside에 의한, 시험관 내(in vitro) 피질 신경세포의 신경 복원 시험**

[0156] 본 실험에서는 임신한지 18일째 되는 쥐의 태아를 꺼내고, 태아의 대뇌를 대뇌피질과 해마로 분리했다. 피질 신경세포를 48 웰 플레이트에 이식했으며, 이 날을 Day In Vitro 0 (DIV0)으로 칭했다. DIV2일 때 Cytosine beta-D-arabinoside(AraC)를 넣어 신경교질세포의 증식을 억제했다. DIV8일 때 마이크로피펫 팁으로 신경세포를 스크래칭하고, 각각 Roseoside (1.29 μM 내지 25.88 μM)를 넣었다. Roseoside의 용매는 ddH_2O이다. Roseoside를 넣어 72시간 지난 후, 면역형광염색법을 통해, TUJ1 항체를 사용하여 신경세포를 마킹한 후 신경 재생 상황을 관찰했다. 이 실험은 Zeiss Observer Z1 microscope를 이용하여 촬영했다.

[0157] 도 9에 나타낸 바와 같이, 갭 폐합률(gap closure rate)을 이용하여 신경축의 재생 정도를 정량화했으며, 이 실험결과는 Roseoside가 피질 신경축의 재생을 효과적으로 촉진할 수 있음을 보여준다.

[0158] **실시예 8: Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Ampelopsisionoside에 의한, 생체 외(*ex vivo*) 3차원 뇌조직 절편 실험**

[0159] 본 실험 절차는 도 10에 나타낸 바와 같이, 먼저 쥐 태아의 뇌를 꺼내고, 뇌를 저융점 아가로스 겔에 포매하고, Leica microtome VT100으로 뇌를 350 μm 두께의 절편 조직으로 절단했다. 메스로 뇌 절편을 스크래칭한 후 배양하되, 날마다 ddH_2O를 넣거나 Ampelopsisionside를 넣었다. 96시간 배양한 후 형광면역염색법을 이용하여, TUJ1 항체로 신경세포를 마킹하고, GFAP 항체로 신경교질세포를 마킹하고, DAPI 시약으로 세포핵을 마킹했다. 이 실험의 축척은 100 μm이다. 이 실험은 Zeiss LSM800 confocal microscope를 이용하여 촬영했다.

[0160] 도 11에 나타낸 바와 같이, 백색의 점선은 메스로 스크래칭된 노치이고, 점선의 오른쪽은 신생된 신경축이다.이 실험으로부터 Ampelopsisionside가 신경 재생을 촉진하는 효과를 구비한다는 것을 확인할 수 있다.

[0161] **실시예 9: Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Byzantionoside B에 의한, 생체 외(*ex vivo*) 뇌조직 절편 실험**

[0162] 본 실험 절차는 도 10에 나타낸 바와 같이, 먼저 쥐 태아의 뇌를 꺼내고, 뇌를 저융점 아가로스 겔에 포매하고, Leica microtome VT100으로 뇌를 350 μm 두께의 절편 조직으로 절단했다. 메스로 뇌 절편을 스크래칭한 후 배양하되, 날마다 ddH_2를 넣거나 Byzantionoside B를 넣었다. 96시간 배양한 후 형광면역염색법을 이용하여, TUJ1 항체로 신경세포를 마킹하고, GFAP 항체로 신경교질세포를 마킹하고, DAPI 시약으로 세포핵을 마킹했다. 이 실험의 축척은 100 μm이다. 이 실험은 Zeiss LSM800 confocal microscope를 이용하여 촬영했다.

[0163] 도 12에 나타낸 바와 같이, 백색의 점선은 메스로 스크래칭된 노치이고, 점선의 오른쪽은 신생된 신경돌기이다. 이 실험으로부터 Byzantionoside B가 신경 재생을 촉진하는 효과를 구비한다는 것을 확인할 수 있다.

[0164] **실시예 10: Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Roseoside에 의한, 생체 외(*ex vivo*) 뇌조직 절편 실험**

[0165] 본 실험 절차는 도 10에 나타낸 바와 같이, 먼저 쥐 태아의 뇌를 꺼내고, 뇌를 저융점 아가로스 겔에 포매하고, Leica microtome VT100으로 뇌를 350 μm 두께의 절편 조직으로 절단했다. 메스로 뇌 절편을 스크래칭한 후 배양하되, 날마다 ddH_2O를 넣거나 Roseoside를 넣었다. 96시간 배양한 후 형광면역염색법을 이용하여, TUJ1 항체

로 신경세포를 마킹하고, GFAP 항체로 신경교질세포를 마킹하고, DAPI 시약으로 세포핵을 마킹했다. 이 실험의 축척은 100 μm이다. 이 실험은 Zeiss LSM800 confocal microscope를 이용하여 촬영했다.

[0166] 도 13에 나타낸 바와 같이, 백색의 점선은 메스로 스크래칭된 손상된 노치이고, 점선의 오른쪽은 신생된 신경돌기이다. 이 실험으로부터 Roseoside가 신경 재생을 촉진하는 효과를 구비한다는 것을 확인할 수 있다.

[0167] **실시예 11: Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Ampelopsisionoside에 의한, 뇌손상 후 마우스의 운동능력 회복에 대한 촉진 시험**

[0168] 본 실험은 넓은 공간 실험을 통해 생쥐의 두개골을 열고 뇌손상이 없는 경우의 운동능력, 뇌손상이 있는 경우의 운동능력, 그리고 뇌손상이 있은 후 매일 14 μg/kg의 Ampelopsisionoside를 투여하여 1일 또는 5일 후(1 day post injury, 1dpi; 5 day post injury, 5 dpi)의 운동능력을 측정하여 비교했으며, 본 실험의 실험 모델은 도 14에 나타낸 바와 같으며, 0 dpi에 제어된 피질 충격 뇌외상 모델(controlled cortical impact model)을 이용하여 생쥐에 뇌손상을 가하고, 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 dpi (day post injury)에 비강 투여 방식으로 14 μg/kg의 Ampelopsisionoside를 투여했다.

[0169] 도 14에 나타낸 바와 같이, A부분은 본 테스트는 생쥐를 평균 4개의 격자로 분할된 백색의 큰 아크릴 박스에 넣어 5분간 자유 활동시키는 것으로 진행됨을 나타낸다. 5분동안, 생쥐의 운동 상황을 Microsoft LifeCam Cinema 카메라를 이용하여 기록하고 Anubis track 추적 소프트웨어에 전송하여 분석했다.

[0170] 도 14에 나타낸 바와 같이, B부분은 이 실험을 통해 Ampelopsisionoside군과 무손상군은 동작 경로의 길이가 거의 같으며, 약을 투여하지 않은 뇌손상군은 반 정도의 경로 길이만 가진다는 것을 알 수 있으며, 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Ampelopsisionoside가 뇌손상 후 마우스의 운동능력의 회복을 촉진하는 효과를 구비한다는 것을 확인할 수 있다.

[0171] **실시예 12: Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Ampelopsisionoside에 의한, 뇌손상 후 마우스의 탐색능력 회복에 대한 촉진 시험**

[0172] 본 실험은 넓은 공간 실험을 통해 생쥐의 두개골을 열고 뇌손상이 없는 경우, 뇌손상이 있는 경우, 그리고 뇌손상이 있은 후 매일 14 μg/kg의 Ampelopsisionoside를 투여하여 5일 후(5 day post injury, 5 dpi)의 영역 탐색능력과 중간개방영역에 멈춰있는 시간을 측정했다. 본 실험의 실험 모델은 도 17에 나타낸 바와 같으며, 0 dpi에 제어된 피질 충격 뇌외상 모델(controlled cortical impact model)을 이용하여 생쥐에 뇌손상을 가하고, 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 dpi (day post injury)에 비강 투여 방식으로 14 μg/kg의 Ampelopsisionoside를 투여했다.

[0173] 도 15에 나타낸 바와 같이, A부분은 본 테스트는 생쥐를 평균 4개의 격자로 분할된 백색의 큰 아크릴 박스에 넣어 5분간 자유 활동시키는 것으로 진행됨을 나타낸다. 5분동안, 생쥐의 운동 상황을 Microsoft LifeCam Cinema 카메라를 이용하여 기록하고 Anubis track 추적 소프트웨어에 전송하여 분석했다.

[0174] 도 15에 나타낸 바와 같이, B부분은 이 실험을 통해 Ampelopsisionoside군과 무손상군이 중심영역에 있는 시간이 길고, 약을 투여하지 않은 뇌손상군은 거의 중심에서 활동하지 않았다는 것을 알 수 있다. 도 15를 결합하여, 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Ampelopsisionoside가 뇌손상 후 마우스의 탐색능력의 회복을 촉진하는 효과를 구비한다는 것을 확인할 수 있다.

[0175] **실시예 13: Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Ampelopsisionoside에 의한, 뇌손상 후 생쥐의 운동협동성 회복에 대한 촉진**

[0176] horizontal bar 실험을 이용하여, 생쥐를 지면으로부터 49 cm 높이에 있는 길이 38 cm, 직경 2 mm, 4 mm, 6 mm의 구리 봉에 놓고, 생쥐로 하여금 앞발로 구리 봉을 잡도록 하고, 생쥐가 구리 봉에 머무는 시간을 계산하고 구리 봉 끝단의 플랫폼에 도달하는지를 확인하여, 생쥐의 운동 협동성 능력을 평가했다. 평가 기준으로는, 1-5초는 1점, 5-10초는 2점, 10-20초는 3점, 20-30초는 4점, 30초 이상 또는 플랫폼에 도달하면 5점으로 했다.

[0177] 본 실험의 실험 모델은 도 16에 나타낸 바와 같으며, 각각 -5, -3, -1 dpi (day post injury) (뇌손상 전 5, 3, 1일)에 pre-training을 수행하고, 0 dpi에, 제어된 피질 충격 뇌외상 모델(controlled cortical impact model)을 이용하여 생쥐에 뇌손상을 가하고, 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 dpi에 비강 투여 방식으로 14μg/kg 또는 140μg/kg의 Ampelopsisionoside를 투여하고, 1, 3, 6, 10, 13 dpi에 horizontal bar 실험을 수행했다.

[0178] 도 17에 나타낸 바와 같이, 뇌손상 후 물(ddH_2O)만 투여한 군은 운동 협동성의 상실이 확인된 반면,

Ampelopsisionoside를 투여한 군은 운동 협동성이 Sham군과 유사했으며, 운동 협동성의 회복을 현저하게 촉진한 것을 확인할 수 있었다.

[0179] **실시예 14: Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Byzantionoside B에 의한, 생체 외(ex vivo) 눈의 망막신경 복원에 대한 촉진**

[0180] 실험 설계와 절차는 도 18에 나타낸 바와 같으며, 눈의 망막 조직(retinal explants)은 출생한지 8일 되는 C57BL/6품계 생쥐로부터 취했다. 생쥐를 희생시킨 후 그 눈을 취하고, 이어서 포셉과 미세수술용 가위로 안구와 눈의 망막을 분리하고 유리체를 제거했다. 마지막으로 분리된 눈의 망막을 네 조각으로 베고, 미세수술용 가위로 조직의 가장자리에 대해 트리밍과 스크래칭을 수행하고, 각 조각을 18 mm의 원형 슬라이드 글라스에서 배양하고, 12 웰 플레이트에 놓고 인큐베이터에 넣어, 5% CO_2 와 35℃의 조건에서 5일간 배양했다. 각 조각의 눈의 망막 조직에 대해 날마다 모두 신선한 배양액으로 교체하고 13.5μM 또는 135μM의 Byzantionoside B를 넣었다. 눈의 망막 조직을 배양한지 5일이 될 때, 0.1% Glutaraldehyde solution과 4% paraformaldehyde의 혼합 용액을 이용하여 실온에서 1시간 고정(Fix)시키고, 1차 항체인 axonal marker beta-III-tubulin (TUJ1)과 DAPI를 이용하여 염색하고, 신경세포와 세포핵을 마킹했다. 그리고 초해상도 직립형 공초점 현미경(LSM-800, Carl Zeiss)으로 촬영하고, 이미지 분석 프로그램인 ImageJ를 이용하여, 조직의 경계를 동그라미로 선택하고 둘레의 길이와 조직 외측의 신경섬유 면적을 계산하고, 신경섬유 면적을 조직 경계의 둘레의 길이로 나누어, 단위 둘레의 길이당 신경섬유의 길이를 얻었다.

[0181] 도 19에 나타낸 바와 같이, 눈의 망막 조직이 손상된 후, Byzantionoside B를 투여한 군은 물(ddH_2O)만 투여한 군에 비해 손상 후 회복 효과가 현저했다.

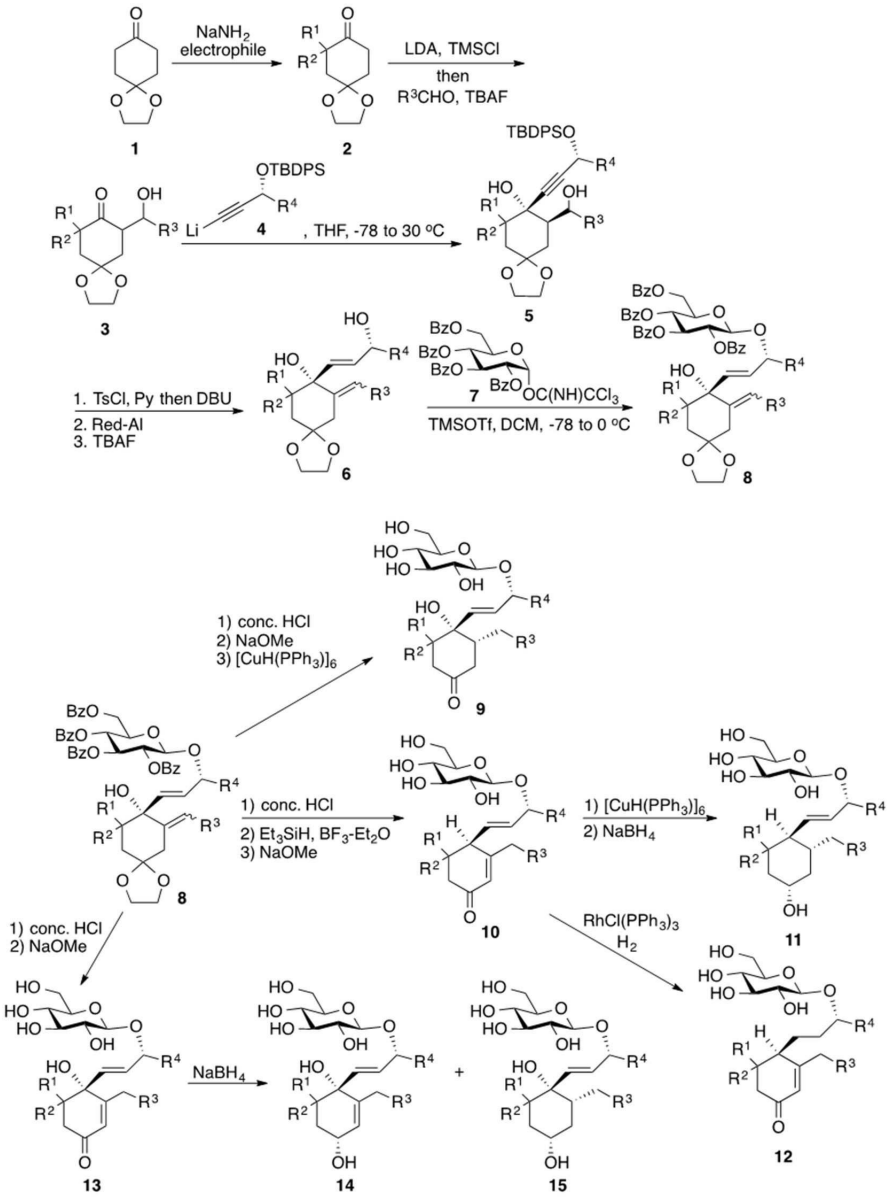
[0182] **실시예 15: Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체 Roseoside에 의한, 생체 외(ex vivo) 눈의 망막신경 복원에 대한 촉진**

[0183] 실험 설계와 절차는 도 20에 나타낸 바와 같으며, 눈의 망막 조직(retinal explants)은 출생한지 8일 되는 C57BL/6품계 생쥐로부터 취했다. 생쥐를 희생시킨 후 그 눈을 취하고, 이어서 포셉과 미세수술용 가위로 안구와 눈의 망막을 분리하고 유리체를 제거했다. 마지막으로 분리된 눈의 망막을 네 조각으로 베고, 미세수술용 가위로 조직의 가장자리에 대해 트리밍과 스크래칭을 수행하고, 각 조각을 18 mm의 원형 슬라이드 글라스에서 배양하고, 12 웰 플레이트에 놓고 인큐베이터에 넣어, 5% CO_2 와 35℃의 조건에서 5일간 배양했다. 각 조각의 눈의 망막 조직에 대해 날마다 모두 신선한 배양액으로 교체하고 13μM 또는 130μM의 Roseoside를 넣었다. 눈의 망막 조직을 배양한지 5일이 될 때, 0.1% Glutaraldehyde solution과 4% paraformaldehyde의 혼합 용액을 이용하여 실온에서 1시간 고정(Fix)시키고, 1차 항체인 axonal marker beta-III-tubulin (TUJ1)과 DAPI를 이용하여 염색하고, 신경세포와 세포핵을 마킹했다. 그리고 초해상도 직립형 공초점 현미경(super-resolution upright confocal microscope)(LSM-800, Carl Zeiss)으로 촬영하고, 이미지 분석 프로그램인 ImageJ를 이용하여, 조직의 경계를 동그라미로 선택하고 둘레의 길이와 조직 외측의 신경섬유 면적을 계산하고, 신경섬유 면적을 조직 경계의 둘레의 길이로 나누어, 단위 둘레의 길이당 신경섬유의 길이를 얻었다.

[0184] 도 21에 나타낸 바와 같이, 눈의 망막 조직이 손상된 후, Roseoside를 투여한 군은 물(ddH_2O)만 투여한 군에 비해 손상 후 회복 효과가 현저했다.

[0185] **실시예 16: Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체의 연속 합성 단계**

[0186] 본 발명에 따른 Isopropyl-D-glucopyranoside 유도체의 연속 합성 단계는 아래와 같다.



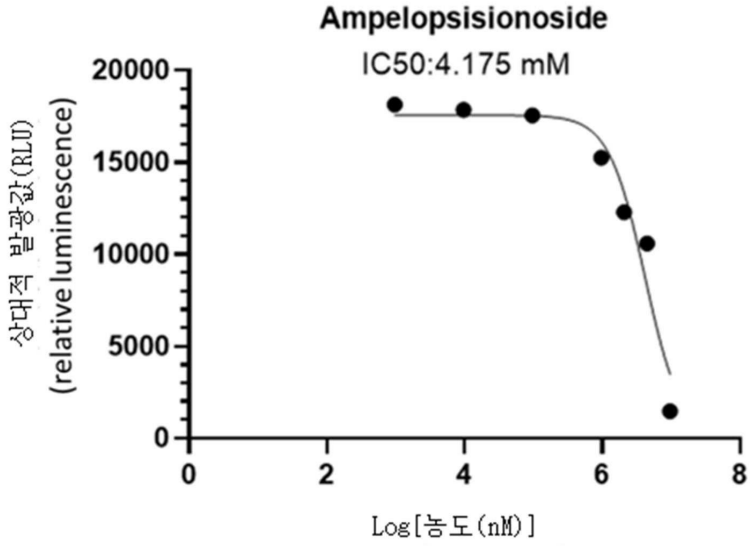
[0187]

[0188] 상기 실험 데이터는 특정 조건에서 얻은 1차 실험결과이며, 이는 본 발명의 기술적 내용을 쉽게 파악하거나 참고하기 위한 것일 뿐이며, 다른 관련 실험을 더 수행해야 한다. 당해 실험 데이터와 그 결과는 본 발명의 권리범위를 한정하기 위한 것은 아니다.

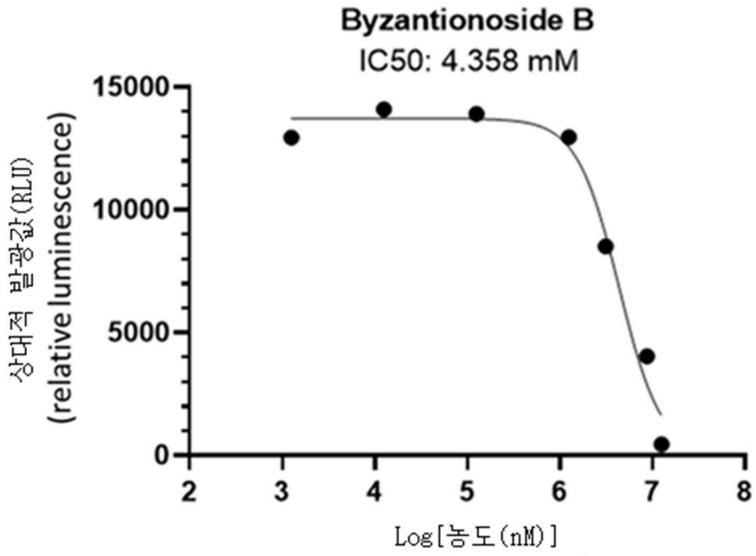
[0189] 전술한 바람직한 실시예는 본 발명과 이의 기술적 특징을 예시를 들어 설명할 뿐이며, 당해 실시예의 기술은 다양한 실질적인 등가 수정과/또는 대체 방식으로 적절하게 실시될 수 있다. 따라서, 본 발명의 권리범위는 특허청구범위에서 한정한 범위를 기준으로 한다.

도면

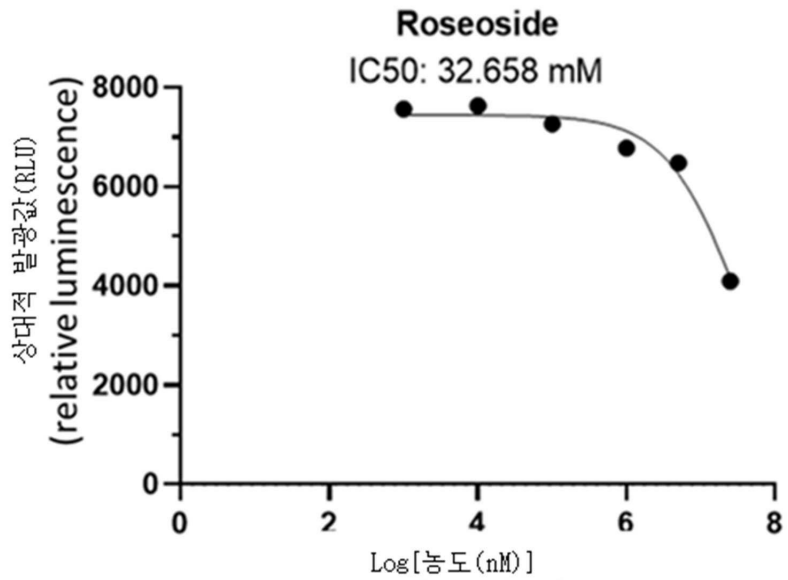
도면1a


Ampelopsisionoside
IC50:4.175 mM
상대적 발광값(RLU)
(relative luminescence)
20000
15000
10000
5000
0
0
2
4
6
8
Log[농도(nM)]

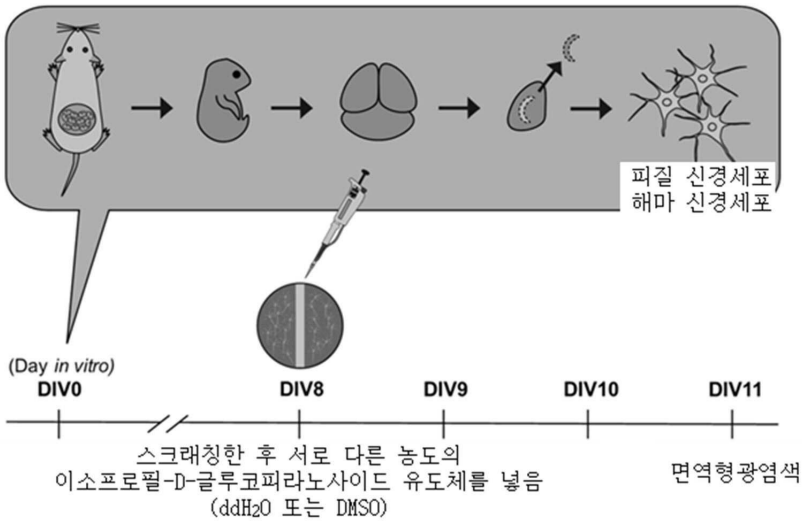
도면1b


Byzantionoside B
IC50: 4.358 mM
상대적 발광값(RLU)
(relative luminescence)
15000
10000
5000
0
2
3
4
5
6
7
8
Log[농도(nM)]

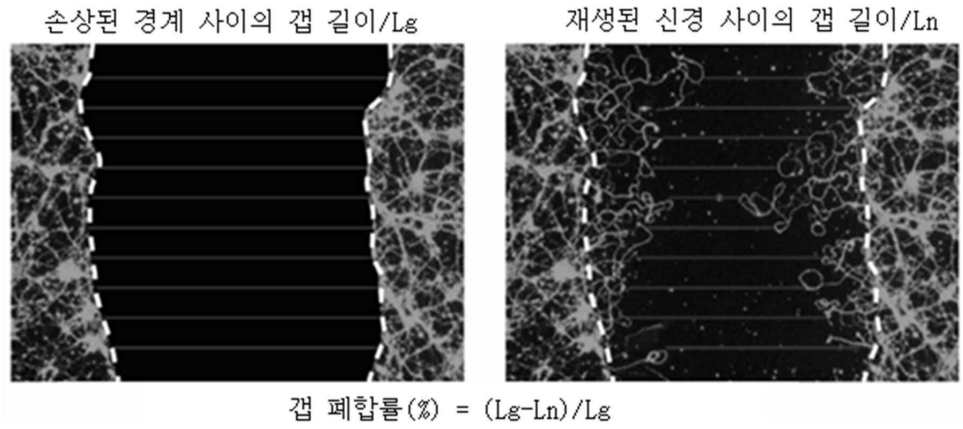
도면1c


Roseoside
IC50: 32.658 mM
상대적 발광값(RLU)
(relative luminescence)
8000
6000
4000
2000
0
0
2
4
6
8
Log[농도(nM)]

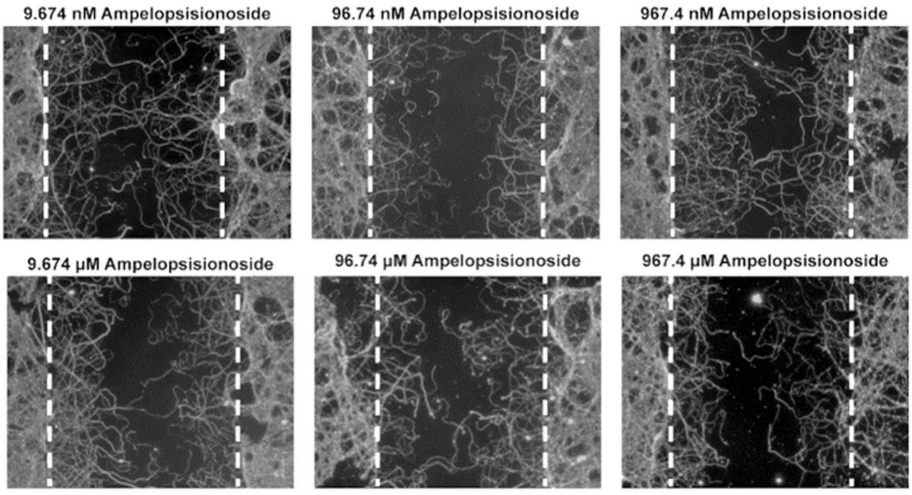
도면2


피질 신경세포
해마 신경세포
(Day in vitro)
DIV0
DIV8
DIV9
DIV10
DIV11
스크래칭한 후 서로 다른 농도의
이소프로필-D-글루코피라노사이드 유도체를 넣음
(ddH2O 또는 DMSO)
면역형광염색

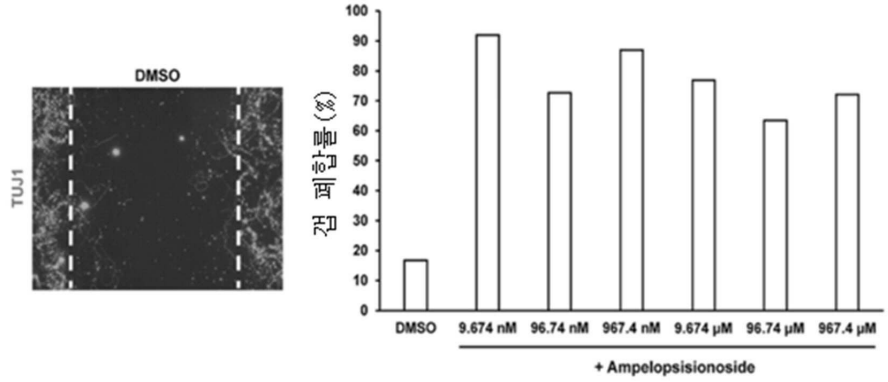
도면3



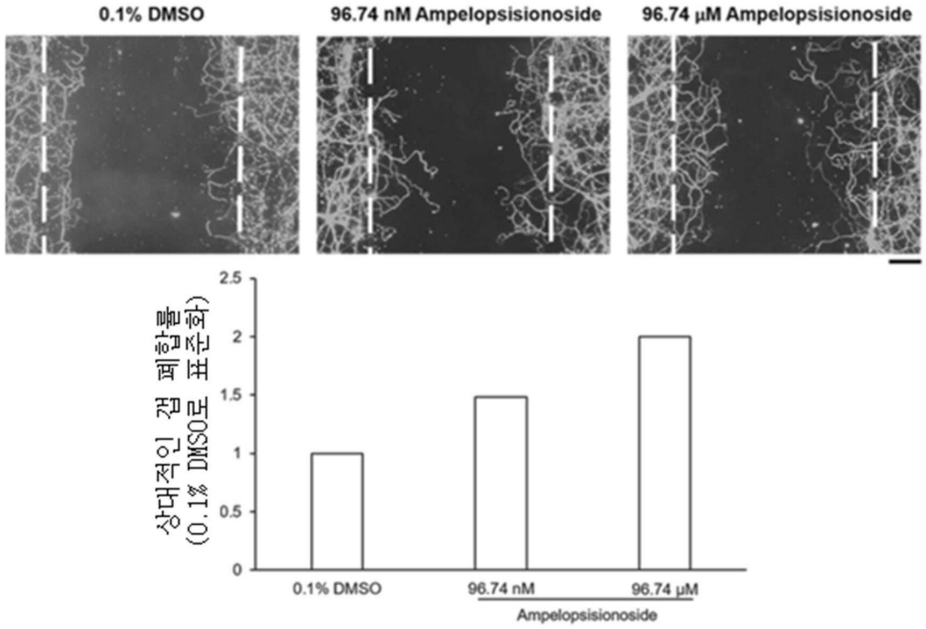
도면4a



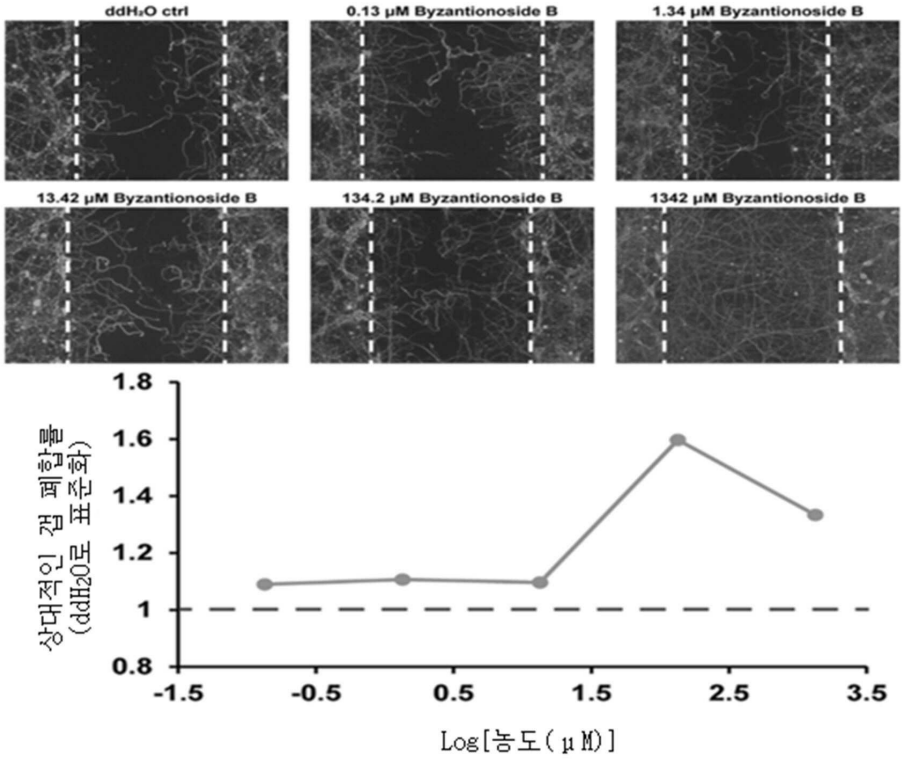
도면4b



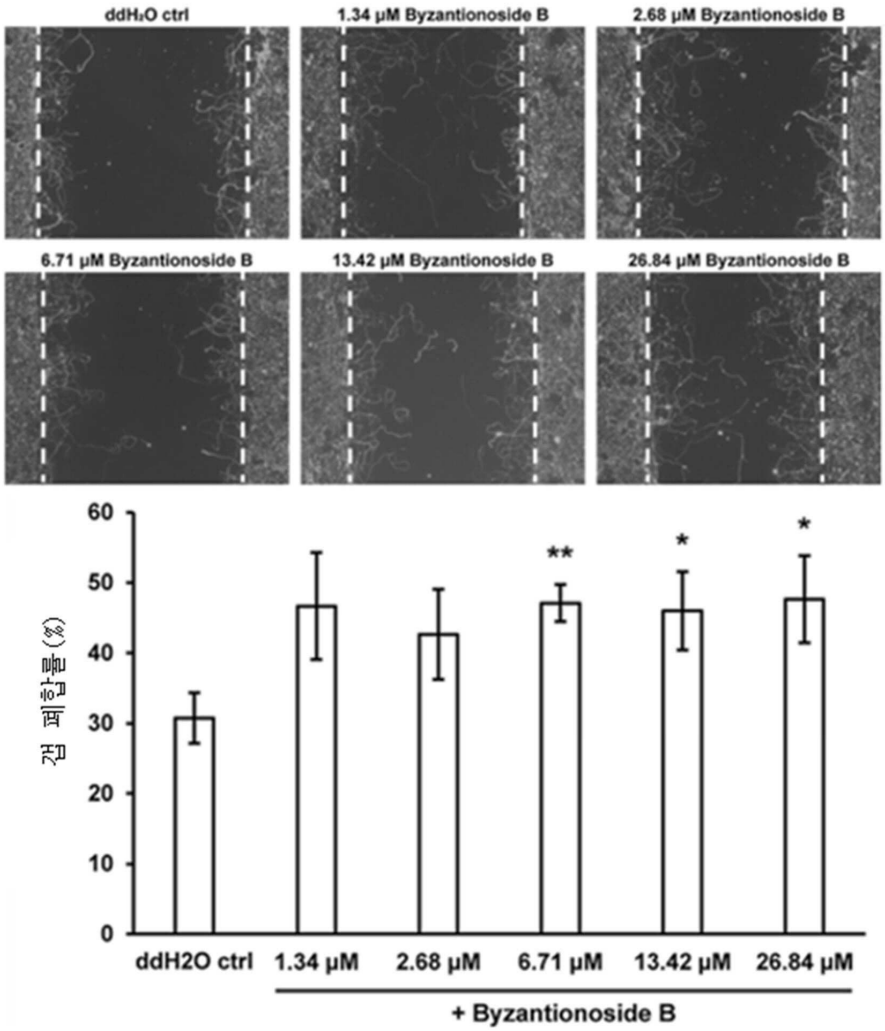
도면5


0.1% DMSO
96.74 nM Ampelopsisionoside
96.74 μM Ampelopsisionoside
상대적인 갭 폐합률
(0.1% DMSO로 표준화)
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0.1% DMSO
96.74 nM
96.74 μM
Ampelopsisionoside

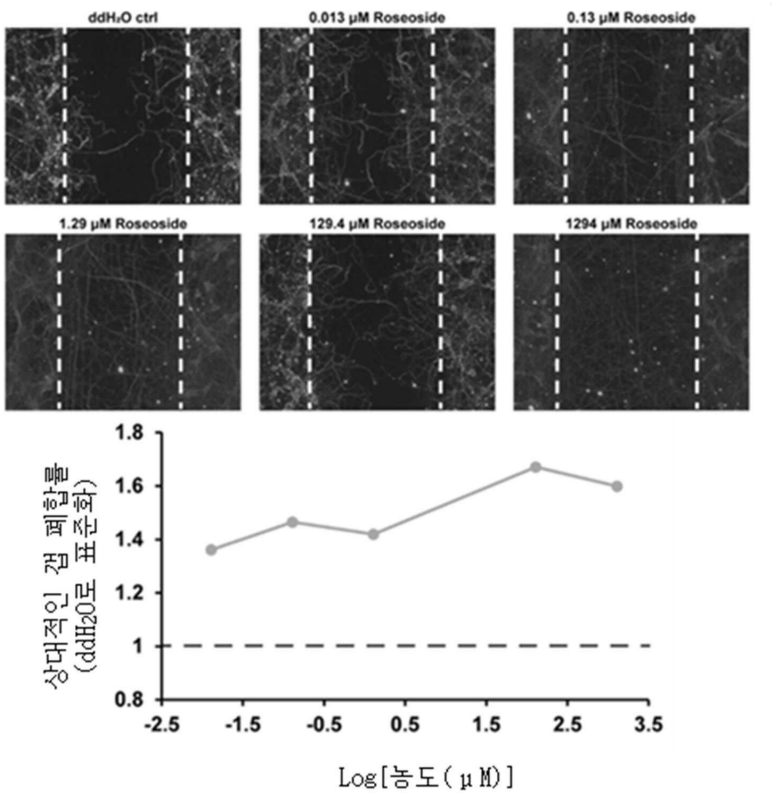
도면6


ddH₂O ctrl
0.13 μM Byzantionoside B
1.34 μM Byzantionoside B
13.42 μM Byzantionoside B
134.2 μM Byzantionoside B
1342 μM Byzantionoside B
상대적인 갭 폐합률
(ddH2O로 표준화)
1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
-1.5
-0.5
0.5
1.5
2.5
3.5
Log[농도(μM)]

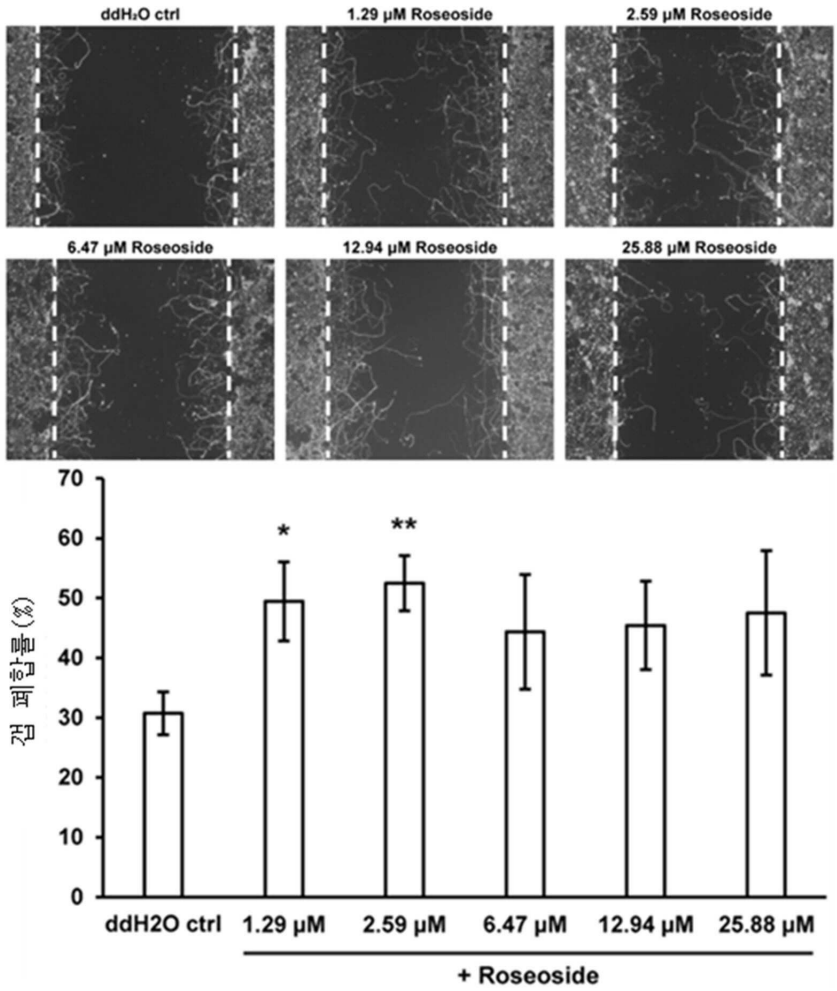
도면7


ddH₂O ctrl
1.34 μM Byzantionoside B
2.68 μM Byzantionoside B
6.71 μM Byzantionoside B
13.42 μM Byzantionoside B
26.84 μM Byzantionoside B
겁 폐합률(%)
60
50
40
30
20
10
0
**
*
*
ddH2O ctrl
1.34 μM
2.68 μM
6.71 μM
13.42 μM
26.84 μM
+ Byzantionoside B

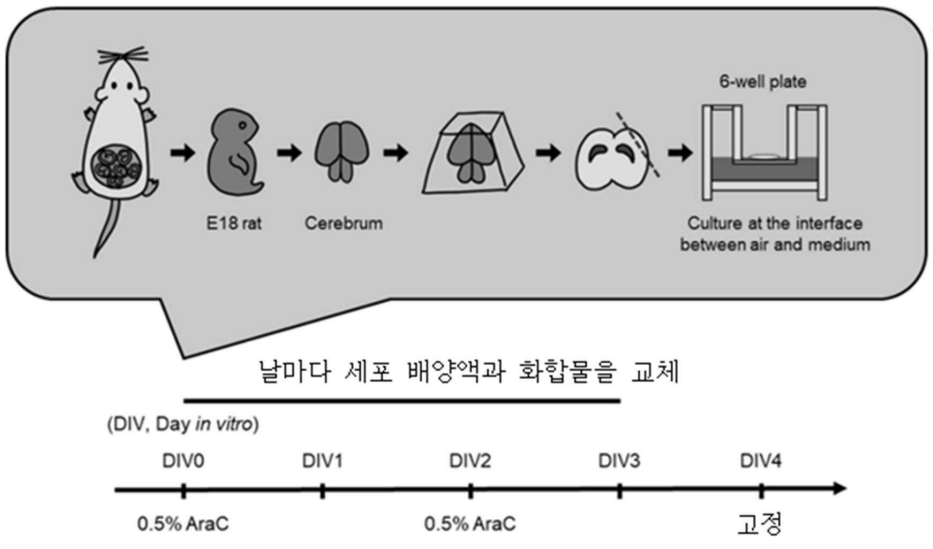
도면8


ddH₂O ctrl
0.013 μM Roseoside
0.13 μM Roseoside
1.29 μM Roseoside
129.4 μM Roseoside
1294 μM Roseoside
상대적인 갭 폐합률 (ddH2O로 표준화)
1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
-2.5
-1.5
-0.5
0.5
1.5
2.5
3.5
Log[농도(μM)]

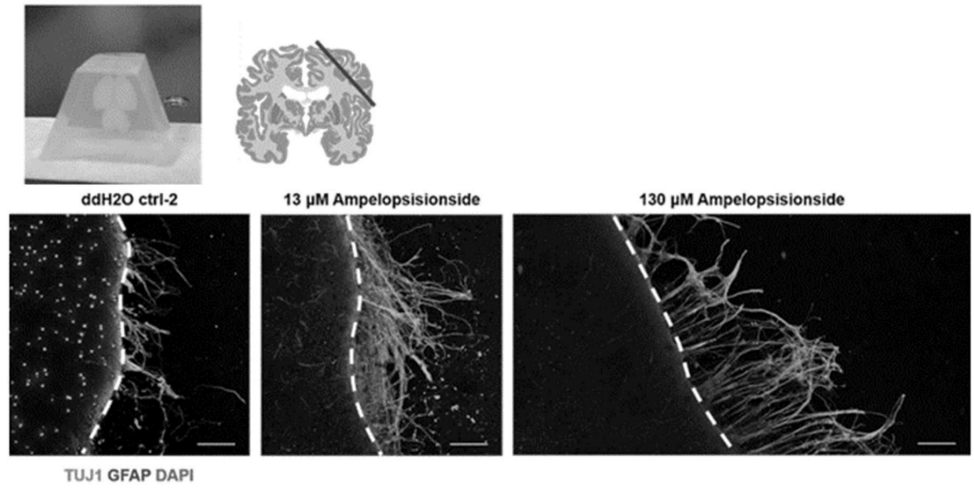
도면9


ddH₂O ctrl
1.29 μM Roseoside
2.59 μM Roseoside
6.47 μM Roseoside
12.94 μM Roseoside
25.88 μM Roseoside
겹 폐합률 (%)
70
60
50
40
30
20
10
0
*
**
ddH2O ctrl
1.29 μM
2.59 μM
6.47 μM
12.94 μM
25.88 μM
+ Roseoside

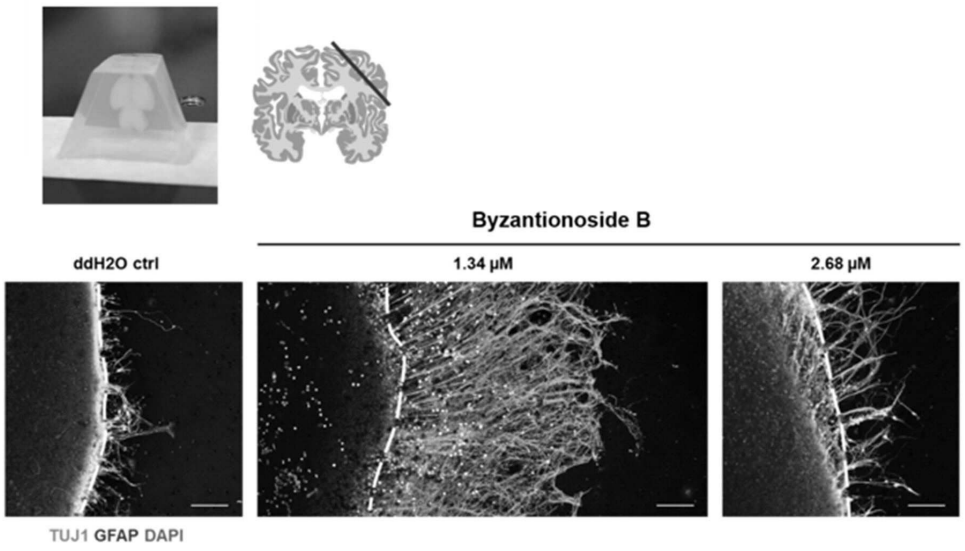
도면10


6-well plate
E18 rat
Cerebrum
Culture at the interface
between air and medium
날마다 세포 배양액과 화합물을 교체
(DIV, Day in vitro)
DIV0
DIV1
DIV2
DIV3
DIV4
0.5% AraC
0.5% AraC
고정

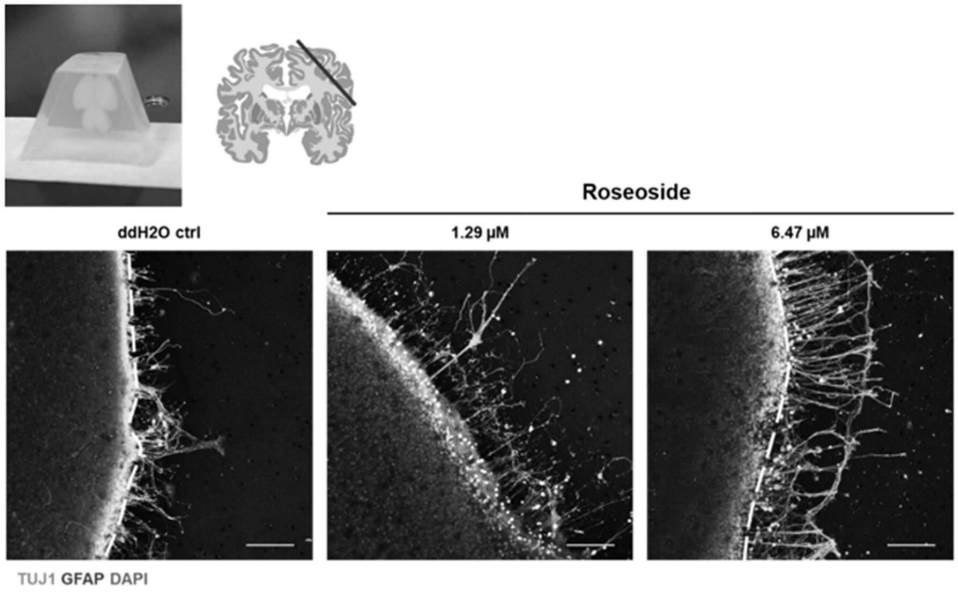
도면11


ddH2O ctrl-2
13 μM Ampelopsisionside
130 μM Ampelopsisionside
TUJ1 GFAP DAPI

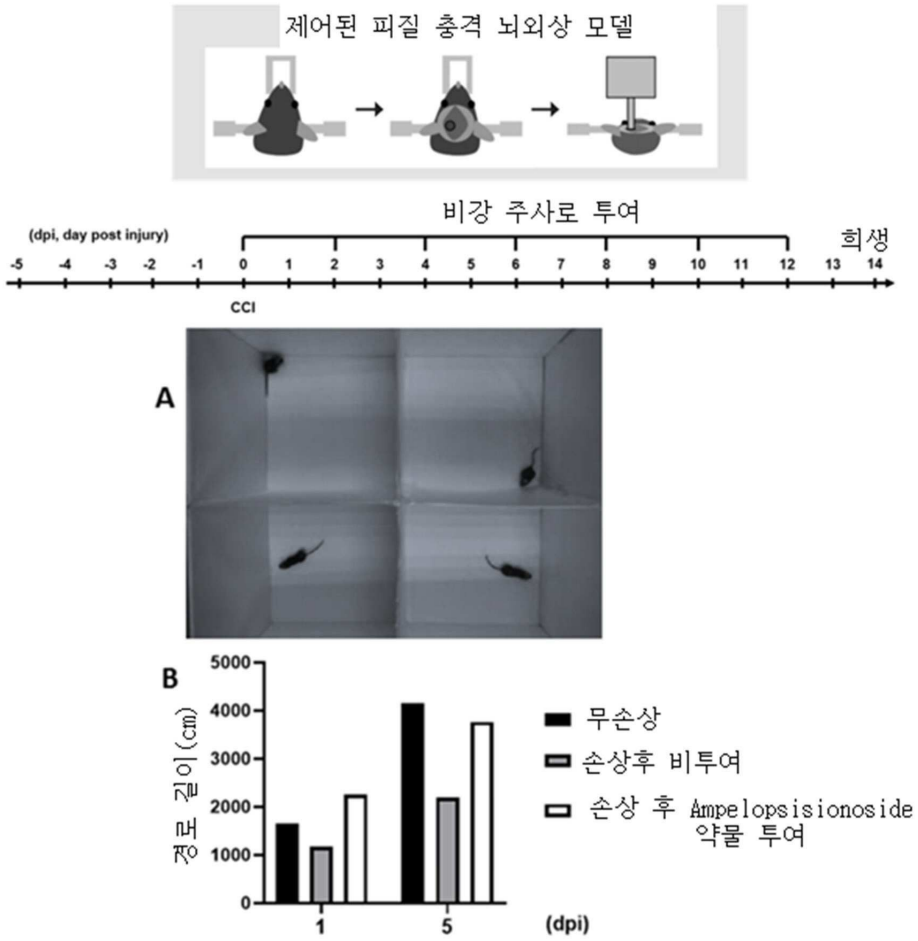
도면12


Byzantionoside B
ddH2O ctrl
1.34 μM
2.68 μM
TUJ1 GFAP DAPI

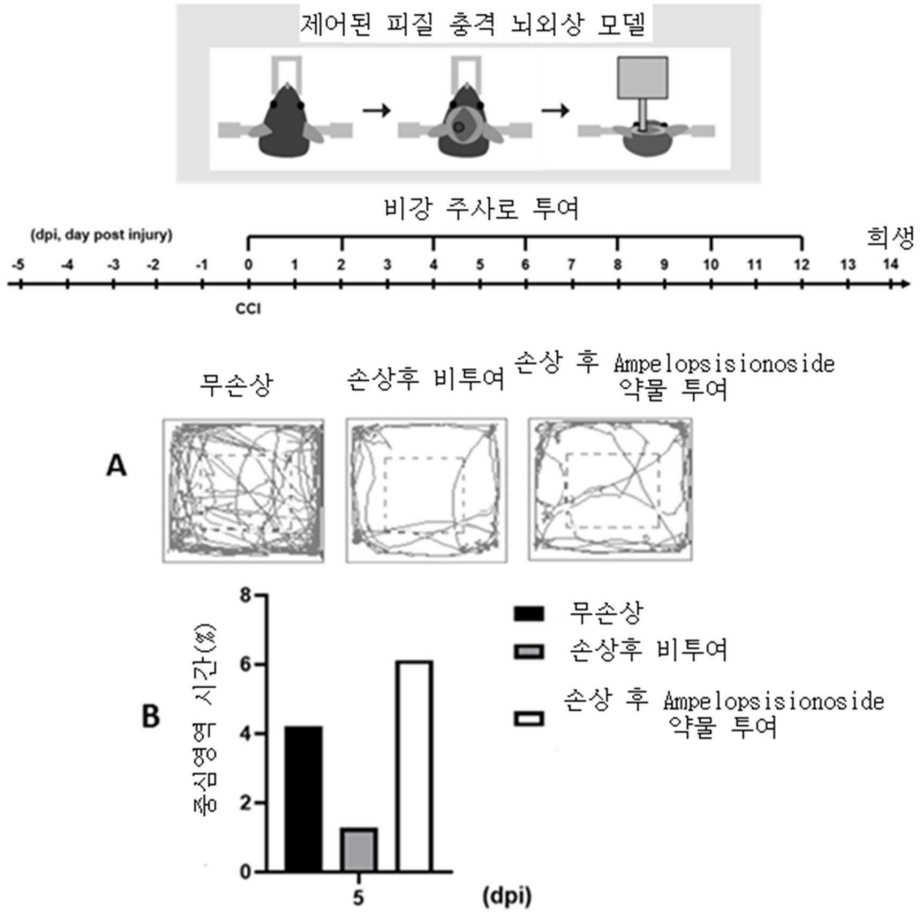
도면13


Roseoside
ddH2O ctrl
1.29 μM
6.47 μM
TUJ1 GFAP DAPI

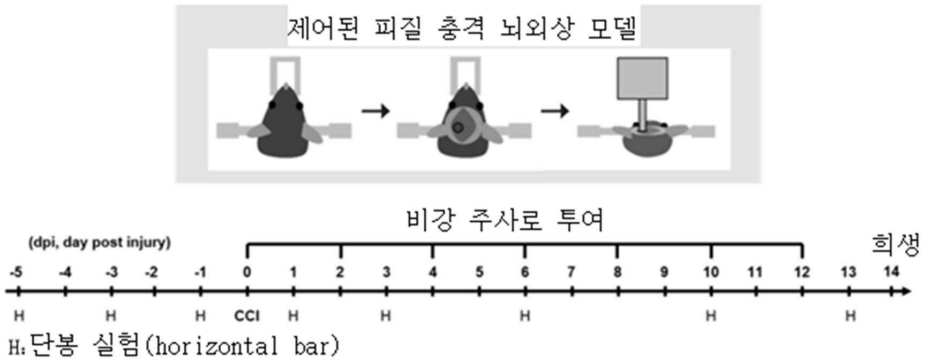
도면14


제어된 피질 충격 뇌외상 모델
비강 주사로 투여
(dpi, day post injury)
희생
-5 -4 -3 -2 -1 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
CCI
A
B
정로 길이 (cm)
5000
4000
3000
2000
1000
0
1
5
(dpi)
무손상
손상후 비투여
손상 후 Ampelopsisionoside 약물 투여

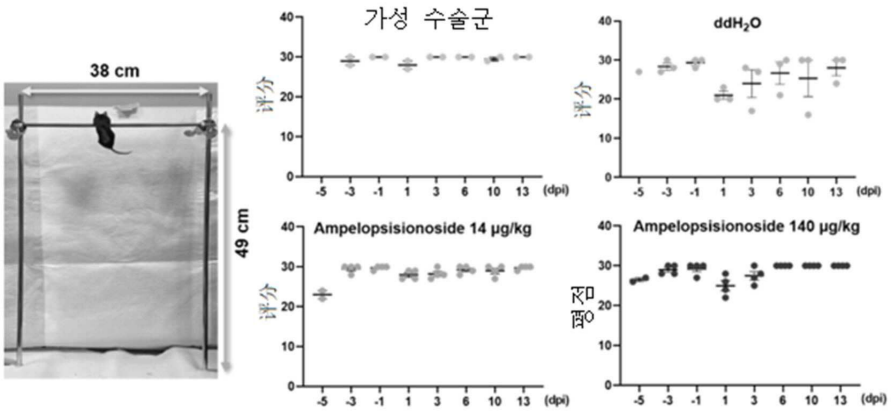
도면15


제어된 피질 충격 뇌외상 모델
비강 주사로 투여
(dpi, day post injury)
희생
-5 -4 -3 -2 -1 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
CCI
무손상
손상후 비투여
손상 후 Ampelopsisionoside 약물 투여
A
B
중심영역 시간(%)
8
6
4
2
0
5
(dpi)
무손상
손상후 비투여
손상 후 Ampelopsisionoside 약물 투여

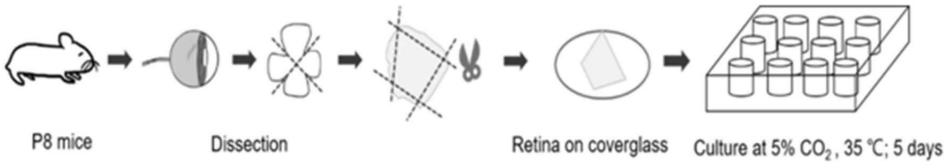
도면16


제어된 피질 충격 뇌외상 모델
비강 주사로 투여
(dpi, day post injury)
희생
-5 -4 -3 -2 -1 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
H H H CCI H H H H H
H: 단봉 실험(horizontal bar)

도면17



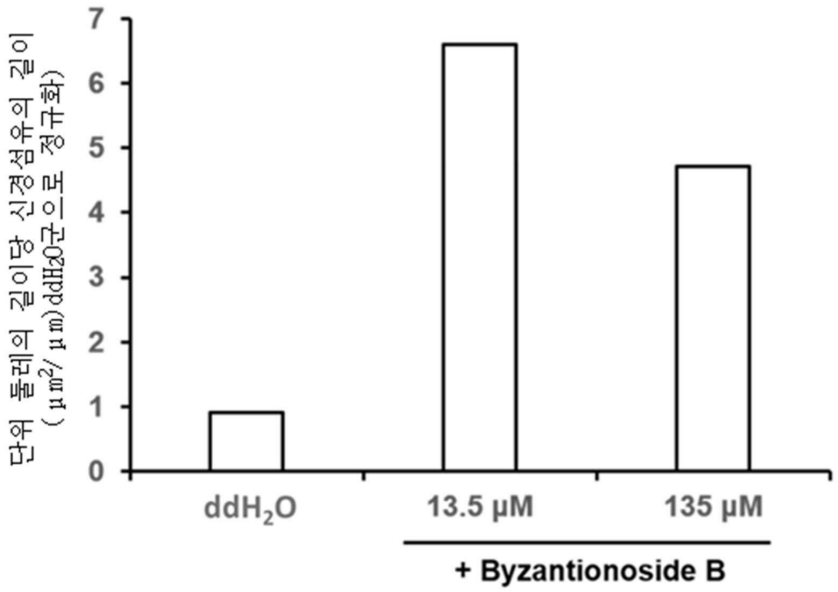
도면18



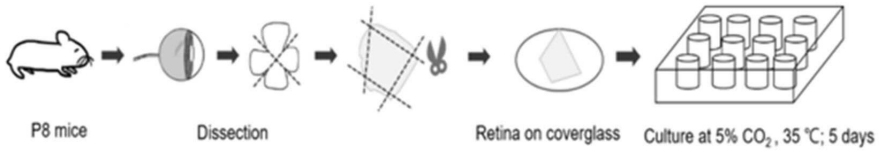


날마다 배양기질을 교체하고 테스트 약품을 넣음

도면19



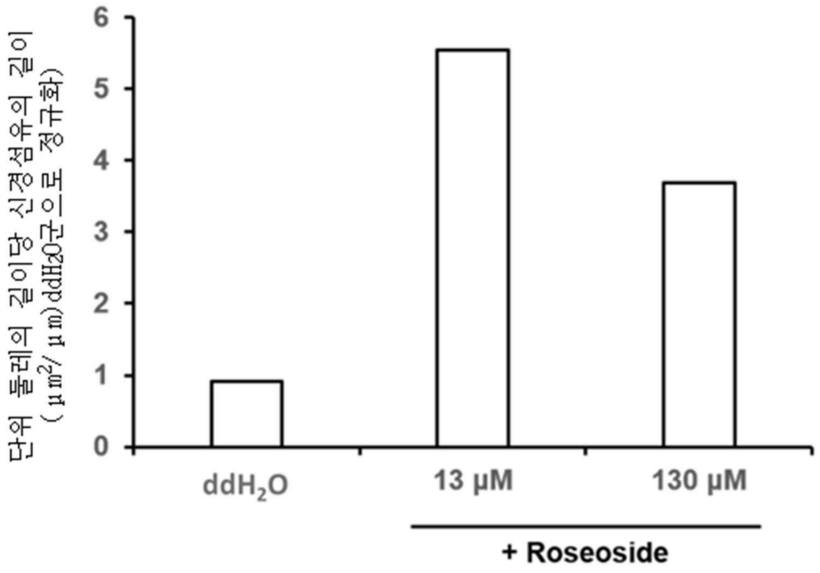
도면20



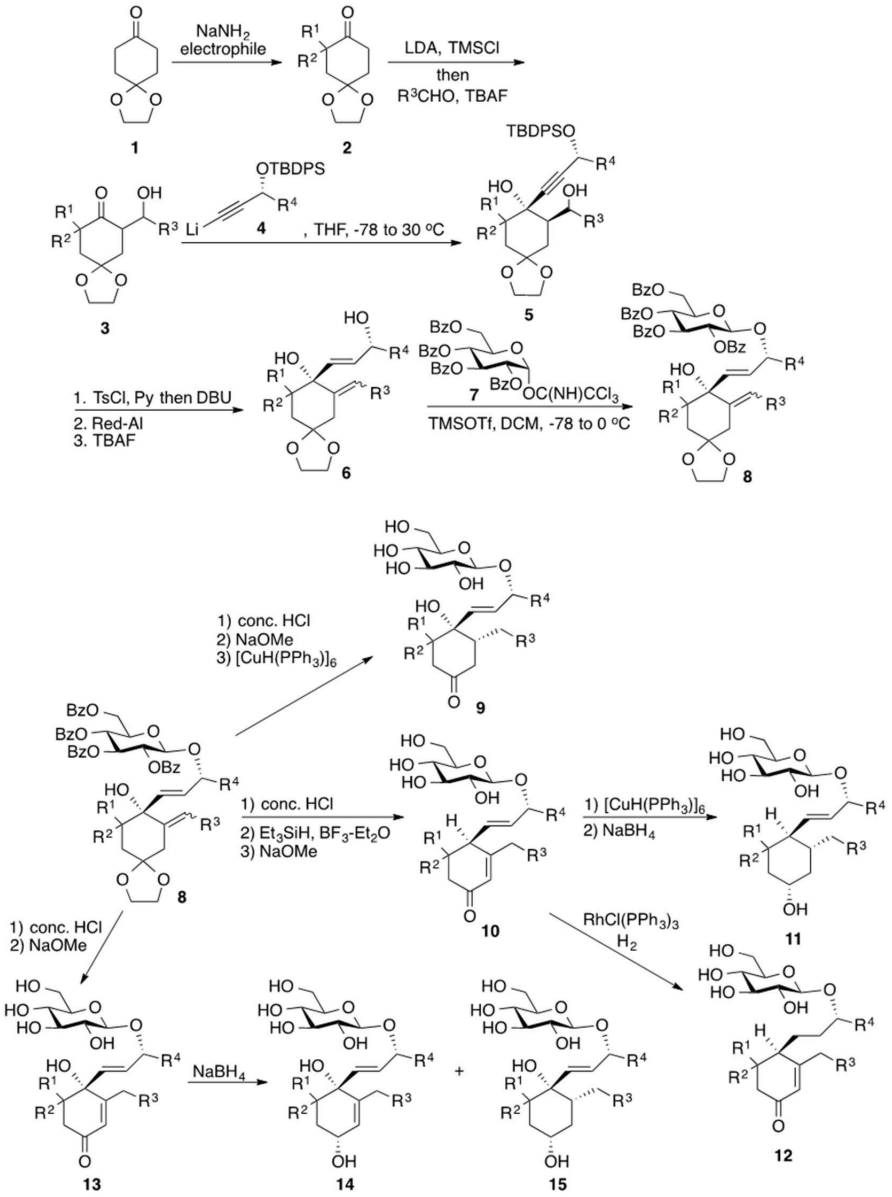


날마다 배양기질을 교체하고 테스트 약품을 넣음

도면21


단위 돌레의 길이당 신경섬유의 길이
(μm²/μm)ddH2O군으로 정규화)
6
5
4
3
2
1
0
ddH2O
13 μM
130 μM
+ Roseoside

도면22


NaNH2
electrophile
LDA, TMSCl
then
R3CHO, TBAF
1
2
OTBDPS
Li
4
, THF, -78 to 30 °C
TBDPSO
3
5
1. TsCl, Py then DBU
2. Red-Al
3. TBAF
6
7
OC(NH)CCl3
TMSOTf, DCM, -78 to 0 °C
8
1) conc. HCl
2) NaOMe
3) [CuH(PPh3)]6
9
1) conc. HCl
2) Et3SiH, BF3-Et2O
3) NaOMe
10
1) [CuH(PPh3)]6
2) NaBH4
11
RhCl(PPh3)3
H2
12
1) conc. HCl
2) NaOMe
13
NaBH4
14
15