

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2025-0022384
(43) 공개일자 2025년02월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/522 (2006.01) *A23L 33/10* (2022.01)*A61P 25/02* (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/522 (2013.01)*A23L 33/10* (2022.01)

(21) 출원번호 10-2023-0103356

(22) 출원일자 2023년08월08일

심사청구일자 2023년08월08일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

정준양

서울특별시 동대문구 제기로 131 한신아파트 108-1810

(74) 대리인

특허법인지담

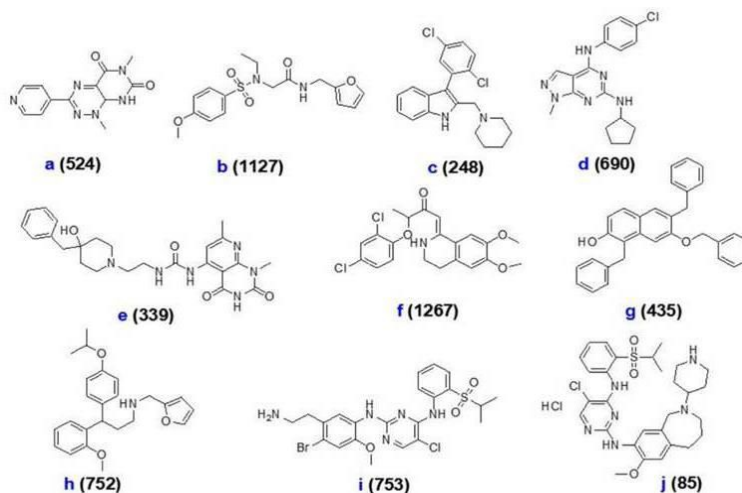
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 말초신경 퇴행성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물

(57) 요약

본 발명은 말초신경 퇴행성 질환의 예방 또는 개선용 약학 조성물 및 건강기능식품에 관한 것으로, 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물은 신경퇴행 과정에서 나타나는 슈반세포의 증식을 억제하는 과정에 관여함으로써, 말초신경 퇴행성 질환을 예방, 치료 또는 개선하는데 유용하게 활용될 수 있다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61P 25/02 (2018.01)

A23V 2200/322 (2013.01)

A23V 2250/30 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711183468
과제번호	2023R1A2C1003763
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)
연구과제명	시스템신경해부학 분석기반 다중표적 말초신경퇴행억제제 개발 연구
기 여 율	1/1
과제수행기관명	경희대학교
연구기간	2023.03.01 ~ 2024.02.29

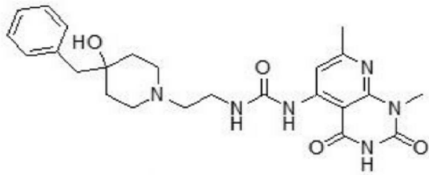
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 말초신경 퇴행성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[화학식 1]



청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 말초신경 퇴행성 질환은 당뇨병성 신경병증, 길리엄-바레 증후군, 샤르코-마리-투스 병, 먼쪽척수근위축증, 안면신경마비, 중증근무력증, 말초신경손상, 영양성 신경병증, 수근관증후군 또는 기타 유전성 신경병증인, 약학 조성물.

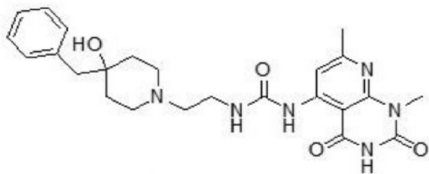
청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 예방 또는 치료는 슈반세포(Schwann cell)의 증식 억제에 의한 것인, 약학 조성물.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용되는 염을 포함하는 말초신경 퇴행성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

[화학식 1]



청구항 5

청구항 4에 있어서, 상기 말초신경 퇴행성 질환은 당뇨병성 신경병증, 길리엄-바레 증후군, 샤르코-마리-투스 병, 먼쪽척수근위축증, 안면신경마비, 중증근무력증, 말초신경손상, 영양성 신경병증, 수근관증후군 또는 기타 유전성 신경병증인, 건강기능식품.

청구항 6

청구항 4에 있어서, 상기 예방 또는 개선은 슈반세포(Schwann cell)의 증식 억제에 의한 것인, 건강기능식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 말초신경 퇴행성 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물 및 건강기능식품에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 중추신경은 손상을 받으면 손상 부위에 낭종이 형성되고, 별아교세포(astrocyte)에 의한 아교세포 흉터(glial scar)에 의해서 손상된 신경세포가 재생이 되지 않는다. 반면, 말초신경에서는 손상된 신경이 재생되는데, 이는 슈반세포(Schwann cell)라고 불리는 한 종류의 아교세포가 중추신경을 구성하는 아교세포인 별아교세포, 희소돌기아교세포(oligodendrocyte) 및 미세아교세포(microglia)의 기능을 대신 수행함으로써 신경손상 시 형성되는 미엘린 덩어리를 제거하며, 세포증식을 통하여 축삭의 재생에 전반적인 영향을 미치기 때문이다.

[0004] 상술한 바와 같이, 중추신경계 퇴행과 말초신경계 퇴행은 서로 다른 메커니즘을 가지므로, 중추신경 퇴행성 질환과 말초신경 퇴행성 질환은 서로 다른 질환으로 간주되며, 말초신경 퇴행성 질환의 치료 타겟 또한 중추신경 퇴행성 질환의 치료타겟과 달라, 상술한 두 질환의 치료제 개발은 다른 연구 접근방식이 필요하다.

[0005] 한편, 기존의 말초신경 퇴행을 억제하는 약물들은 축삭의 퇴행만을 억제하여 큰 효과를 얻지 못하였는 바, 본 발명자는 슈반세포의 증식을 억제하여 말초신경 퇴행을 효과적으로 억제하는 약물을 발굴하고 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제2018-0031532호.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 말초신경 퇴행성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

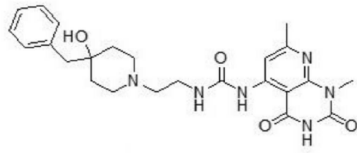
[0009] 또한, 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 말초신경 퇴행성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 기술적 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 기술적 과제들은 아래의 기재로부터 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0013] 상기 기술적 과제를 달성하기 위하여, 본 발명의 일실시예는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 말초신경 퇴행성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0014] [화학식 1]



[0015]

[0016] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 말초신경 퇴행성 질환은 당뇨병성 신경병증, 길리엄-바레 증후군, 샤르코-마리-투스 병, 먼쪽척수근위축증, 안면신경마비, 중증근무력증, 말초신경손상, 영양성 신경병증, 수근관증후군 또는 기타 유전성 신경병증일 수 있다.

[0017] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 예방 또는 치료는 슈반세포(Schwann cell)의 증식 억제에 의한 것일 수 있다.

[0018] 상기 기술적 과제를 달성하기 위하여, 본 발명의 다른 실시예는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용되는 염을 포함하는 말초신경 퇴행성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 을 제공한다.

[0019] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 말초신경 퇴행성 질환은 당뇨병성 신경병증, 길리엄-바레 증후군, 샤르코-마리-투스 병, 먼쪽척수근위축증, 안면신경마비, 중증근무력증, 말초신경손상, 영양성 신경병증, 수근관증후군 또는 기타 유전성 신경병증일 수 있다.

[0020] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 예방 또는 치료는 슈반세포(Schwann cell)의 증식 억제에 의한 것일 수 있다.

발명의 효과

[0022] 본 발명은 말초신경 퇴행성 질환의 예방 또는 개선용 약학 조성물 및 건강기능식품에 관한 것으로, 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물은 신경퇴행 과정에서 나타나는 슈반세포의 증식을 억제하는 데 관여함으로써, 말초신경 퇴행성 질환을 예방, 치료 또는 개선하는데 유용하게 활용될 수 있다.

[0024] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 설명 또는 청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

[0026] 도 1은 KCB-DCL로 Schwann 세포에 대한 in vitro 약물 스크리닝을 한 결과이다. 1A는 한국 화합물 은행 다양성 화합물 라이브러리(KCB-DCL) 내의 화합물 수와 다양한 수준의 항증식 활성에 대한 세포 생존율 간의 상관 관계를 보여주는 그림이고, 1B는 분자량(MW) 대 세포 생존율, 전체 KCB-DCL 내에서 일반적으로 위배되는 매개 변수인 분자량과 세포 생존율 간의 관계를 나타내는 그림이며, 1C는 활성 및 비활성 화합물의 백분율을 보여주는 원형 차트이고, 1D는 KCB-DCL 내의 화합물 중 높은(밝은 빨간색), 중간(열은 노란색), 그리고 낮은(녹색) 항증식 활성을 가진 화합물의 백분율을 나타내는 그림이다.

도 2는 활성 화합물의 물리화학적 특성의 그래프 분석 결과이다. 2A는 활성 화합물(히트)의 Lipinski 규칙과 RoCNS%의 일치도를 보여주는 그래프이고, 2B는 활성 화합물들이 RoCNS 매개변수를 준수하는 빈도(파란색)와 위반(빨간색)을 보여주는 그래프이며, 2C-2F는 활성 화합물의 수와 물리화학적 특성인 cLogP(2C), 분자량(MW)(2D), 수소결합공여체(HBD)(2E), 그리고 수소결합수용체(HBA)(2F)와의 RoCNS 프로파일을 보여주는 그래프이다.

도 3은 히트 중 선택된 선도 화합물의 상위 10개의 효능이 있는 화합물(a-j) 구조이다. 괄호 안의 숫자는 KCB-DCL의 화합물 번호를 나타낸다.

도 4는 상위 10개의 효능이 있는 화합물들에 대한 도킹 분석결과이다. 4A는 다사테닙(DAS)의 구조이다. 4B는 화합물 a-j와 SRC 간의 결합 친화도(kcal/mol)를 나타내고, 4C 및 4D는 각각 최상의 선도 화합물 e의 2D- 및 3D-구조이며, 일반적인 수소 결합, Val281과 Gln275; $\pi-\sigma$ 상호작용, Leu393과 Gly276; $\pi-\pi$ 상호작용, Tyr340;

알킬 상호작용, Leu407; π -알킬 상호작용, Ala293과 Leu273을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0027]

이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0029]

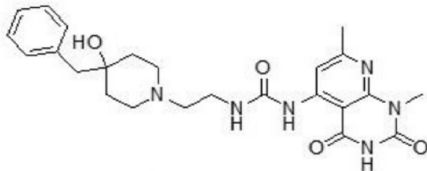
본 발명은 말초신경 퇴행성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

[0030]

본 발명의 약학 조성물은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함한다.

[0031]

[화학식 1]



[0032]

[0033]

본원에서 사용된 “약학적으로 허용되는”이라는 용어는 건강한 의학적 판단의 범위 내에서 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응, 또는 다른 문제 또는 합병증이 없으며, 합리적인 이득/위험 비율에 상응하는, 인간의 조직과의 접촉에 사용하기에 적합한 화합물, 물질, 조성물 및/또는 투여형을 지칭하기 위한 것이다.

[0034]

상기 “약학적으로 허용되는 염”은 모 화합물이 그의 산 또는 염기 염을 제조함으로써 변형된, 개시된 화합물의 유도체를 의미한다. 예를 들어, 아민과 같은 염기성 잔기의 무기 또는 유기산 염; 카복실산과 같은 산성 잔기의 알칼리 또는 유기 염; 등을 포함할 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다. 예를 들어 무독성 무기 또는 유기산으로부터 형성된 모 화합물의 통상적인 무독성 염 또는 4 차 암모늄염을 포함할 수 있다. 예를 들어, 그러한 통상적인 무독성 염은 염산, 브롬산, 황산, 설파산, 인산, 질산 등과 같은 무기산으로부터 유도된 염; 아세트산, 프로피오닉산, 석시닉산, 글리콜릭산, 스테아릭산, 락틱산, 말산, 타르타르산, 시트릭산, 아스코빅산, 파도믹산, 말레익산, 하이드록시말레익산, 페닐아세틱산, 글루탐산, 벤조익산, 살리실산, 설파닐릭산, 2-아세톡시벤조익산, 푸마릭산, 톨루엔설포닉산, 메탄설포닉산, 에탄 디설포닉산, 옥살릭산, 이세티오닉산, 등과 같은 유기산으로부터 얻어진 염을 포함할 수 있다.

[0035]

화합물의 약학적으로 허용되는 염은 통상적인 화학적 방법에 의해 염기성 또는 산성 잔기를 함유하는 모 화합물로부터 합성될 수 있다. 일반적으로, 이러한 염은 화합물의 유리산 또는 염기 형태를 물 또는 유기 용매 중 또는 이들의 혼합물 중 화학양론적 양의 적절한 염기 또는 산과 반응시킴으로써 제조될 수 있다. 일반적으로 에테르, 에틸 아세테이트, 에탄올, 이소프로판올 또는 아세토니트릴과 같은 비수성 매질이 바람직하다. 적합한 염 목록은 Remington 's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1985, p. 1418에 개시되어 있으며, 그 개시 내용은 그 전체가 본원에 참고로 인용되어 있다.

[0036]

또한, 본 발명의 조성물은 화학식 1로 표시되는 화합물의 약학적으로 허용되는 염 뿐만 아니라 이로부터 제조될 수 있는 가능한 용매화물 및 수화물을 모두 포함하고, 가능한 모든 입체이성질체도 포함할 수 있다.

[0037]

상기 말초신경 퇴행성 질환은 말초신경계의 신경세포가 퇴화하고, 기능을 잃는 경우 나타나는 증상들과 관련된 질환을 의미한다. 상기 질환을 가진 환자들은 인지 또는 운동 능력에 있어서 극심한 퇴화를 겪을 수 있다.

[0038]

상기 말초신경 퇴행성 질환은 예를 들어 당뇨병성 신경병증, 길리엄-바레 증후군, 샤르코-마리-투스 병, 먼쪽척수근위축증, 안면신경마비, 중증근무력증, 말초신경손상, 영양성 신경병증, 수근관증후군 또는 기타 유전성 신경병증일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0039]

상기 예방 또는 치료는 슈반세포(Schwann cell)의 증식 억제에 의한 것일 수 있다. 본 발명의 화합물은 슈반세포의 증식과 관련된 분자 타겟인 proto-oncogene tyrosine-protein kinase(SRC)와 강하게 결합하여 SRC 활성을 억제함으로써, 슈반세포의 증식을 효과적으로 억제할 수 있다.

[0040]

본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 허용되는 담체를 더 포함하며, 이는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스,

메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0041] 본 발명의 약학 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다. 적합한 약학적으로 허용되는 담체 및 제제는 Remington's Pharmaceutical Sciences (19th ed., 1995)에 상세히 기재되어 있다. 본 발명의 약학 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 질병 증상의 정도, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하며, 보통으로 숙련된 의사는 목적하는 치료에 효과적인 투여량을 용이하게 결정 및 처방할 수 있다. 한편, 본 발명의 약학 조성물의 투여량은 이에 한정되는 것이 아니며 1일 당 0.01-2000 mg/kg(체중)일 수 있다.

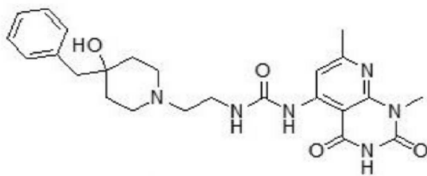
[0042] 본 발명의 약학 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있고, 비경구로 투여되는 경우, 정맥내 주입, 피하주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여 등으로 투여할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 적용되는 질환의 종류에 따라, 투여경로가 결정되는 것이 바람직하다.

[0043] 본 발명의 약학 조성물은 당해 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캡슐제 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.

[0045] 본 발명은 말초신경 퇴행성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품에 관한 것이다.

[0046] 본 발명의 건강기능식품은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용되는 염을 포함한다.

[0047] [화학식 1]



[0048]

[0049] 본 발명의 건강기능식품에 포함되는 화합물, 이의 작용기전 및 말초신경 퇴행성 질환의 종류 또는 증상에 관하여는 전술한 바와 같다.

[0050] 본 발명의 건강기능식품은 말초신경 퇴행성 질환의 예방 또는 개선을 목적으로, 정제, 캡셀, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공할 수 있다.

[0051] 본 발명의 건강기능식품이라 함은 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 말하며, 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻는 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.

[0052] 본 발명의 건강기능식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 식품 첨가물로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전청에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.

[0053] 상기 식품 첨가물 공전에 수재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼슘, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물; 감색소, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물; L-글루타민산나트륨 제제, 면류 첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류 등을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0054] 예를 들어, 정제 형태의 건강기능식품은 상기 화합물을 부형제, 결합제, 붕해제 및 다른 첨가제와 혼합한 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형할 수 있다. 또한 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 코미제 등을 함유할 수도 있다.

[0055] 캡셀 형태의 건강기능식품 중 경질 캡셀제는 통상의 경질 캡셀에 상기 화합물을 부형제 등의 첨가제와 혼합한

혼합물을 증진하여 제조할 수 있으며, 연질 캡셀제는 상기 화합물을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 젤라틴과 같은 캡셀기체에 증진하여 제조할 수 있다. 상기 연질 캡셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.

[0056] 환 형태의 건강기능식품은 상기 화합물과 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 제피제로 제피할 수 있으며, 또는 전분, 탈크와 같은 물질로 표면을 코팅할 수도 있다.

[0057] 과립 형태의 건강기능식품은 상기 화합물과 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.

[0058] 상기 건강기능식품은 음료류, 육류, 초코렛, 식품류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 사탕류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 비타민 복합제 및 건강보조식품류 등일 수 있다.

[0059] 상기 건강기능식품은 영양제의 용도로 경구 적용될 수 있으며, 적용 형태는 특별히 제한되지 않는다.

[0061] 이하, 본 발명을 구체적으로 설명하기 위해 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다.

[0063] 재료 및 방법

[0064] 1. 화학물질

[0065] 항증식 활성을 갖는 모든 신규 화합물(6,000개 화합물)은 한국 화합물은행(<https://chembank.org/en/home-4/>)에서 입수하였다.

[0067] 2. 세포 배양

[0068] SW10(CRL-2766) 마우스 신경 Schwann 세포주는 American Type Culture Collection(ATCC, Manassas, VA, USA)에서 구입하였다. SW10 세포는 5% CO₂의 가습 분위기 하에서 33° C 인큐베이터에서 1%(v/v) 페니실린/스트렙토마이신(30-022-CI, Corning, NY, USA) 및 9%(v/v) 소 태아 혈청(FBS, SH30919.03, Cytiva, Marlborough, MA, USA)이 첨가된 Dulbecco Modified Eagle's Medium (DMEM, SH30243.01, Cytiva, Marlborough, MA, USA)에서 밀도가 낮은 상태로 유지되었다.

[0070] 3. 세포 생존율 분석

[0071] 화합물들이 SW10 세포에 미치는 항증식 효과를 평가하기 위해 Cell Titer 96 Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay kit (Promega, G3580, Madison, WI, USA)을 사용하여 MTS assay로 세포 생존율을 평가하였다. 이는 제조업체의 지침에 따라 진행되었다. 간단히 설명하자면, 5 x 10³ 개의 SW10 세포를 포함하는 100 μL 배지를 각각의 96 웰 플레이트의 각 채널에 분배하고, 화합물들(30 μM)이 함유되도록 48시간 동안 배양하였다. 배양 후, 각 웰에 20 μL의 MTS 용액 시약을 첨가하고 1시간 동안 반응시켰다. 반응 후, 미세판독장치를 사용하여 492 nm 파장에서 광학 밀도를 측정하여 세포 생존율 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA, 51119000)을 결정하였다. 각 약물에 대해 세 번 반복하여 세포 생존율을 계산하였다.

[0073] 4. 분자 도킹

[0074] KCB-DCL에서 전체적으로 항증식 활성이 높은 10가지 선도 화합물 (a-j)를 선택하고, 모든 선도 화합물들과의 타겟 결합 기전을 평가하려고 시도하였다. AutoDock Vina 프로그램을 사용하여 타겟 단백질과 리간드 간의 도킹을 시뮬레이션하였다. 도킹 결과 데이터를 단백질 데이터 뱅크(PDB) 형식으로 변환하기 위해 Open Babel 도구를 사용하였다. 데이터를 시각화하기 위해 BIOVIA Discovery Studio Visualizer 소프트웨어를 사용하였다. 대상 단백질의 3D 구조는 PDB(<http://www.rcsb.org/>)에서 얻었다. SRC와 a-j 간의 분자 도킹을 수행하여 최상의 선도 화합물을 평가하고, 다른 옵션을 배제하며, 결합 친화도를 평가하였다. KCB로부터 스마일 폼으로 제공받은 6,000

개의 화합물 (리간드)을 Open Babel 프로그램을 이용하여 PDB 형식으로 변환하였다. 데이터는 이후 도킹 분석을 위해 PDBQT 형식으로 저장되었다. 도킹 점수는 양성 대조군으로 사용되는 잘 알려진 SRC 억제제인 다사티닙 (DAS)의 점수와 비교되었다.

[0076] 결과

[0077] 1. MTS assay를 사용한 히트 선별

[0078] SW10 세포에 대한 KCB-DCL에서 선택된 화합물들의 항증식 효과를 평가하기 위해 MTS assay를 통해 세포 생존율을 측정하였다. 총 6,000개의 화합물이 30 μ M의 단일 농도로 시험되었으며, 생존 가능한 세포의 백분율(%)은 (처리된 세포의 흡광도 - 배경 흡광도) / (일치하는 대조군의 흡광도 - 배경 대조군의 흡광도) $\times$ 100 (%)로 계산되었다. 다양한 화합물들로 SW10 세포주를 처리한 결과, 항증식 효과가 다양하게 나타났으며, 이는 도 1A, B에 표시되어있다. MTS 결과의 세 가지 범주로부터 6,000개의 화합물을 나누었다(높은 항증식 화합물은 최대 반응이 8%에서 $\leq$ 30% 사이이고, 중간 항증식 화합물은 최대 반응이 $\leq$ 50%이며, 낮은 항증식 화합물은 최대 반응이 $\leq$ 80%, 도 1a, b 참조). SW10 세포주에 대해 활성을 나타내는 총 1,420개의 화합물이 확인되었다. 이는 전체 KCB-DCL 세트에 대한 히트의 비율이 26%임을 나타낸다. KCB-DCL은 합리적인 항증식 효과(26%)를 나타내었으며, 이는 대다수 화합물의 독성과 부합되며 반응했던 카운터페어 효과를 지지한다(도 1C). 프로파일링 데이터는 SW10 세포주와 화합물의 유형 관련 활성에 특징하게 작용하는 히트 화합물을 식별할 수 있다. 높은 항증식 프로파일로 확인된 히트 중에서($\leq$ 8%, 도 1D), 높은 항증식 값으로 특징지어진 다양한 10가지 화합물이 도킹 분석을 위해 선택되었다.

[0080] 2. 활성 화합물들의 물리화학적 특성

[0081] 항증식 평가를 받은 화합물들의 분자량(MW), 위상극성 표면적(TPSA), CLogP, 수소 결합 기부체/수용체 (HBDs/HBAs)와 같은 단순한 설명자들은 KCB-DCL에의 현재 프레임워크에서 모두 쉽게 결정할 수 있다. 이러한 매개변수들은 다양한 화합물 라이브러리를 설계하는 맥락에서 특히 중요하다. 1999년, Lipinski는 중추 신경계 (CNS) 침투와 위장 흡수에 좋은 약물을 식별하기 위해 사용될 수 있는 규칙 세트를 설계하였다(RoCNS). 이에 따라 물리화학적 매개변수의 백분율 분석을 통해 선별한 KCB-DCL에 Lipinski의 CNS에 대한 규칙의 적용 가능성을 평가하였다. 결과는 도 2에 표시하였다.

[0082] 항증식 평가를 위해 선택된 KCB-DCL 화합물의 약 88%가 RoCNS 기준을 준수하였으며, 22%가 RoCNS에서 정립된 기준 중 적어도 하나를 위반하였다. 도 2A에서는 RoCNS를 준수한 활성 화합물의 백분율을 테이블 형태로 보여준다. 위반된 매개변수들의 기여는 2%의 HBAs, 4%의 HBDs, 9%의 CLogP, 그리고 14%의 MW이다(도 2B). CLogP 값에 대해 가장 높은 수(1,049개; 74%)의 활성 화합물(hits)(도 2C)은 3-6 범위 내에 있으며, 두 개의 화합물이 9를 초과하는 값을 가지고 있다. 활성 화합물들 중 1,292개(91%)(도 2A)가 CLogP의 RoCNS 기준을 준수하였다. 이 매개변수는 생체가용성과 밀접한 관련이 있다. RoCNS 기준에서 벗어나는 활성 화합물의 14%에서 MW가 가장 자주 위반된 기준이었다. 활성 화합물의 대다수(1,038개; 73%)는 300-400 MW 범위 내에 포함되어 있었다(도 2D). 흡수 감소와 뇌혈장 장벽 침투도는 MW의 차이와 관련이 있다. 적절한 CLogP와 MW 값은 수동적인 과정의 흡수 잠재력을 가장 잘 나타내는 물리화학적 특성으로 보인다. 활성 화합물의 대다수는 HBA 부위 (98%)와 HBD 부위 (96%)를 가지고 있었다(도 2E, F). 이 두 매개변수는 리간드 결합 특이성에 큰 영향을 미친다.

[0084] 3. 항증식을 위한 활성 구조

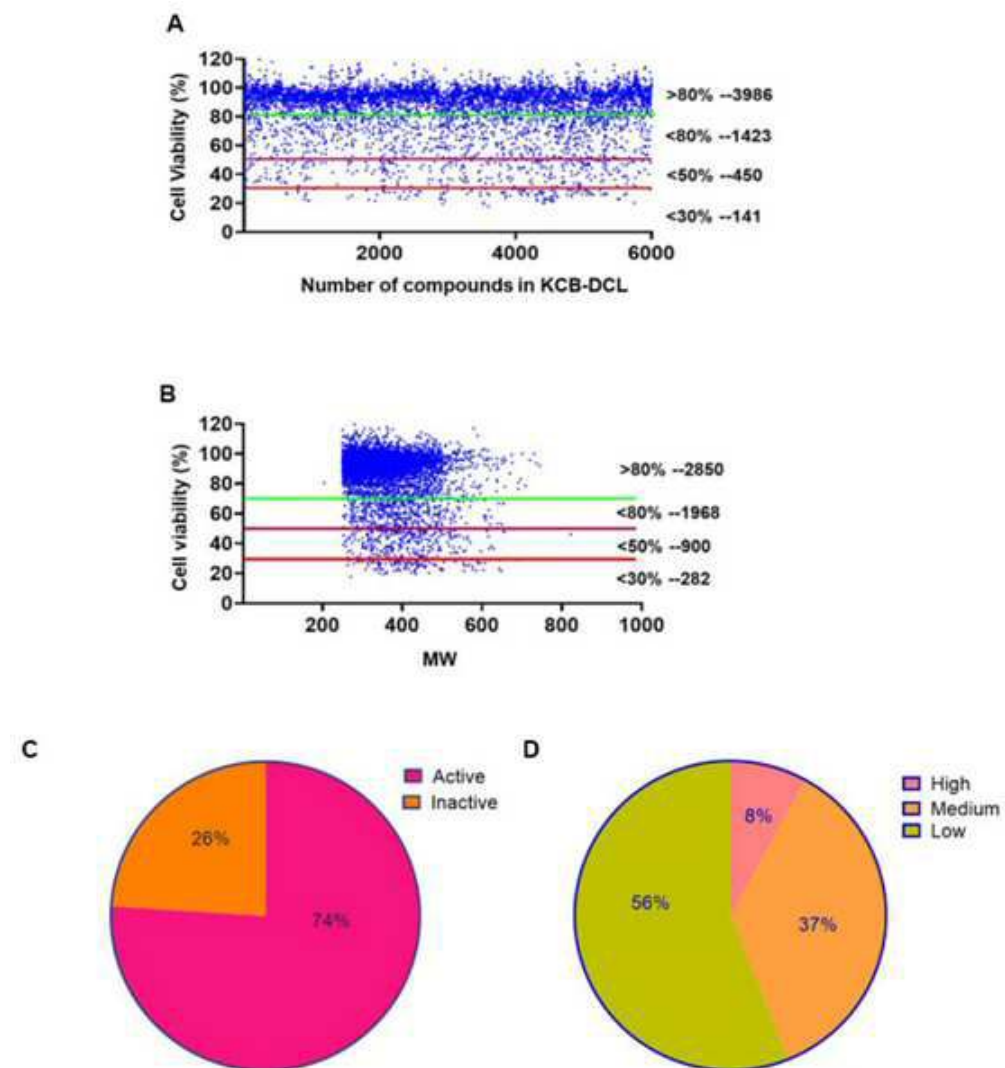
[0085] 이전에 언급한 바와 같이, KCB-DCL에 있는 화합물들은 최상의 생리화학적 특성과 다양한 구조 변이를 가지고 있다. KCB-DCL에서 확인된 다양한 세포증식 억제 작용을 보이는 상위 10개의 화합물이 계산상 분석을 위해 선택되었다.

[0086] 이러한 선택된 분자들의 주요 구조적 특징에는 디설포닐(disulfonyl)(b, h, j), 피리미딘 고리(a, d), 아미드 우레아 그룹(b, e), naphtha 고리(g) 그리고 3번 및 4번 위치에 피페라진과 이산화클로로페닐 고리의 치환이 있는 인돌 코어가 포함되어 있다(c). 화합물(f)는 이산화클로로페녹시 치환을 가진 디메톡시아이소퀴놀린 코어를 보여준다. 대부분의 구조들은 다양성이 있지만 여러 가지 치환기 패턴을 나타냈다.

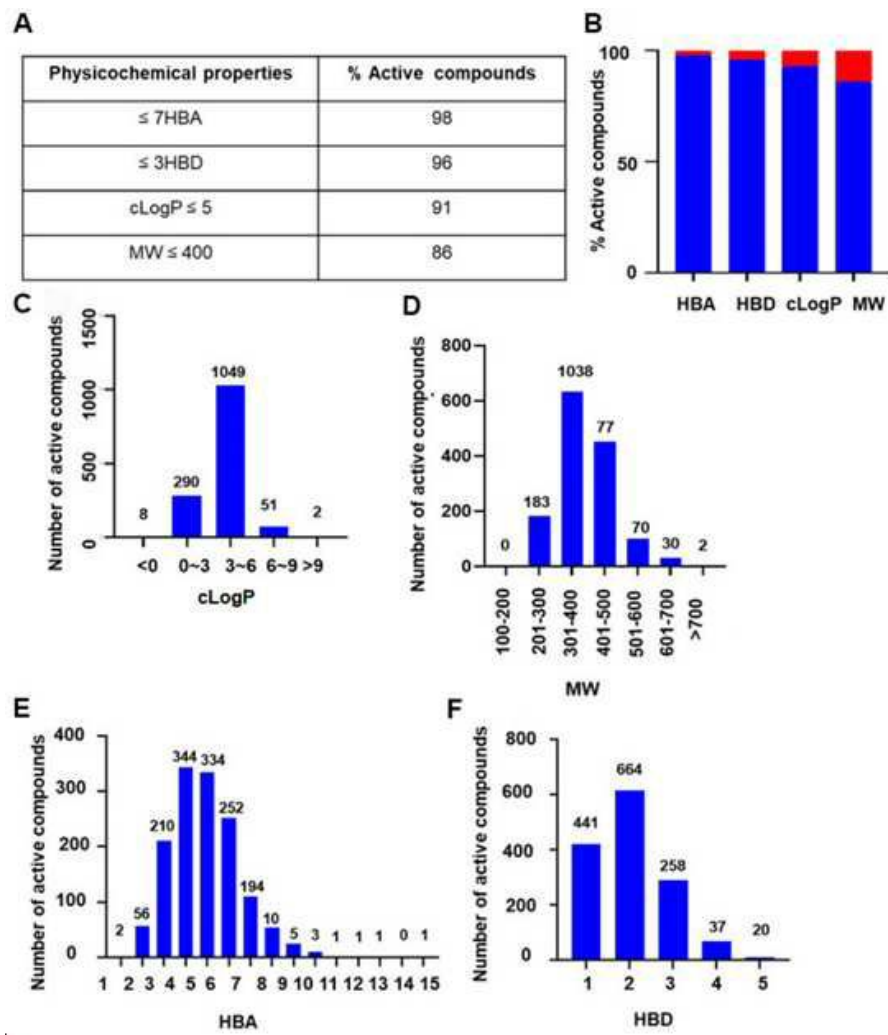
- [0087] 가장 효과적인 활성 화합물(a, 17.77% 세포 억제 효과)은 다섯 번째 위치에 피리딘이 치환된 피리미딘 고리를 보여준다. 흥미롭게도, 일부 잘 알려진 SRC 억제제 약물들과 구조적 유사성을 가지고 있다. 도 3은 선택된 효능이 있는 선도 화합물들(a-j)의 분자 구조를 보여준다.
- [0089] . SRC에 대한 분자 도킹
- [0090] 비수용체형 티로신 키나제인 SRC는 세포 성장, 이동 및 분화에 관여하는 신호전달 경로를 포함하여 다양한 신호 전달 경로에서 필요하다. 이전에 SRC가 말초 신경계(PNS) 발달에서 상당한 수준으로 발현되었으며 성숙 과정에서 낮은 수준으로 감소하는 것이 보고되었다. 선도 화합물들이 보여준 최상의 세포 성장 억제 작용은 해당 선도 화합물들과 SRC(PDB ID: 7WF5) 간의 결합 모드를 분자 도킹 기술을 사용하여 조사하여 세포 억제 활성의 원인을 설명하고자 하는 동기를 부여하였다. 선택된 선도 화합물들(a-j)은 Schwann 세포에서 세포주기 조절에 SRC 단백질의 역할을 가능한 치료 타겟으로 고려하여 a-j와 SRC 간의 분자 도킹을 통해 조사되었다. DAS는 양성 대조약으로 사용되었으며 이 약물은 이러한 단백질의 기능을 억제하는 잠재력을 가지고 있다(도 4A). 도킹 프로그램으로 Auto Dock Vina 를 사용하였다. 도 4B는 SRC와 선택된 10 개의 선도 화합물 간의 자유 결합 에너지를 보여준다. SRC에 대한 가장 큰 친화성은 선도 화합물 e(본 발명의 화학식 1의 화합물/ -10.7 kcal/mol)에서 나타났으며, DAS(-7.5 kcal/mol)는 화합물 e보다 낮은 친화성을 보였다.
- [0091] SRC 단백질은 이전에 Schwann 세포의 증식, 이동 및 분화에 필수적인 것으로 보고되었다. Schwann 세포에서의 세포억제 효과는 SRC의 억제로 인한 것으로 예상된다. e의 도킹 결과는 가능한 $\pi-\pi$, $\pi-\sigma$ 상호작용(Leu393, Tyr340, Gly276) 및 π 알킬 상호작용(π -a)(Ala293와 Leu273)을 보여주었다(도 4C, D). 이 화학적 모이어트에서는 단백질과 두 개의 강력한 수소 결합도 관찰되었다. 하나는 우레아 그룹의 수소 원자($O\cdots$ 와 수소결합한 것이며(Gln275와 함께), 다른 하나는 화학적 모이어티에서 이산화피리돌 고리의 하나의 전기 음성 산소 원자($O\cdots$ 와 수소결합한 것이다(Val281와 함께))(도 4C, D). 이러한 분자 상호작용들은 화합물 e를 단백질의 활성 구역에 고정시켜 더 이상의 효소 작용을 억제한다.

도면

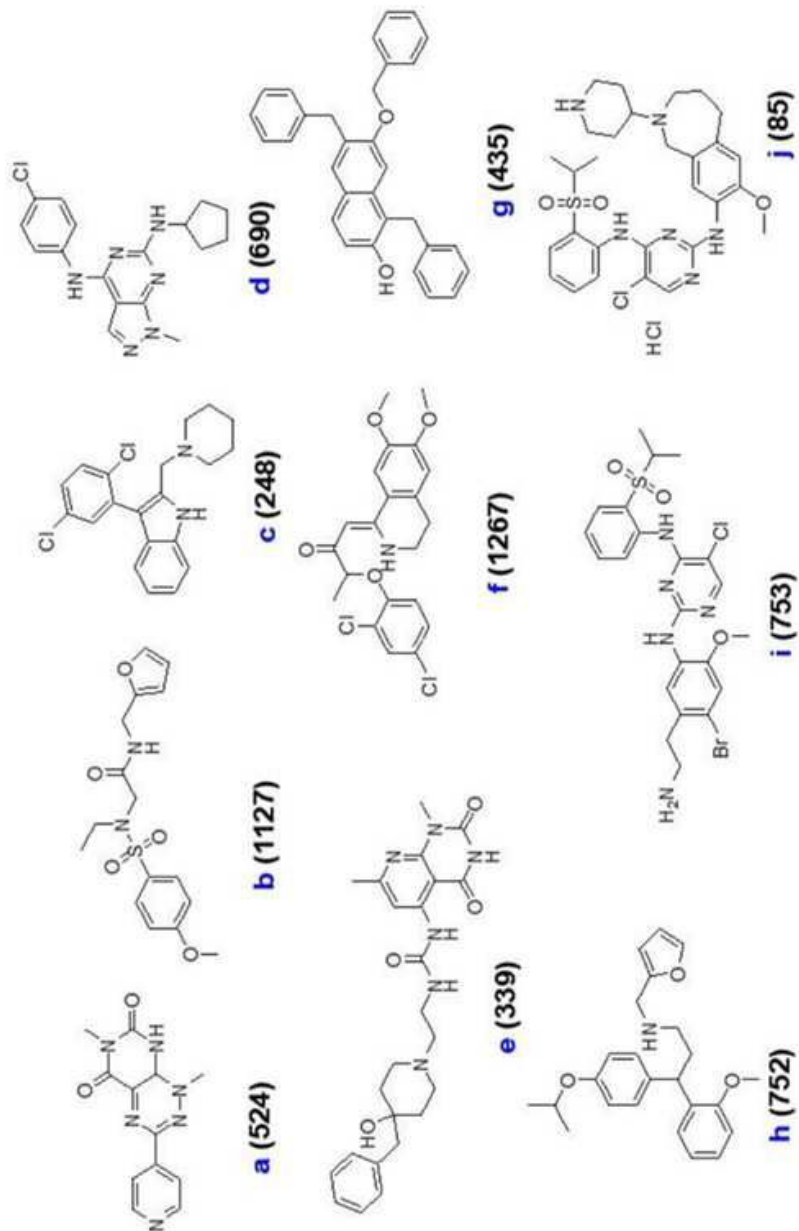
도면1



도면2



도면3



도면4

