

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2016년 8월 4일 (04.08.2016)



(10) 국제공개번호
WO 2016/122288 A2

- (51) 국제특허분류:
A61K 31/122 (2006.01) A61K 31/435 (2006.01)
A61K 31/13 (2006.01) A61K 31/38 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2016/001092
- (22) 국제출원일: 2016년 2월 1일 (01.02.2016)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2015-0015215 2015년 1월 30일 (30.01.2015) KR
- (71) 출원인: 고려대학교산학협력단 (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION) [KR/KR]; 02841 서울시 성북구 안암로 145 고려대학교, Seoul (KR).
- (72) 발명자: 김원기 (KIM, Won Ki); 06007 서울시 강남구 압구정로 321, 31-901, Seoul (KR).

(74) 대리인: 이처영 (LEE, Cheo Young) 등; 06133 서울시 강남구 테헤란로 123 11층, Seoul (KR).

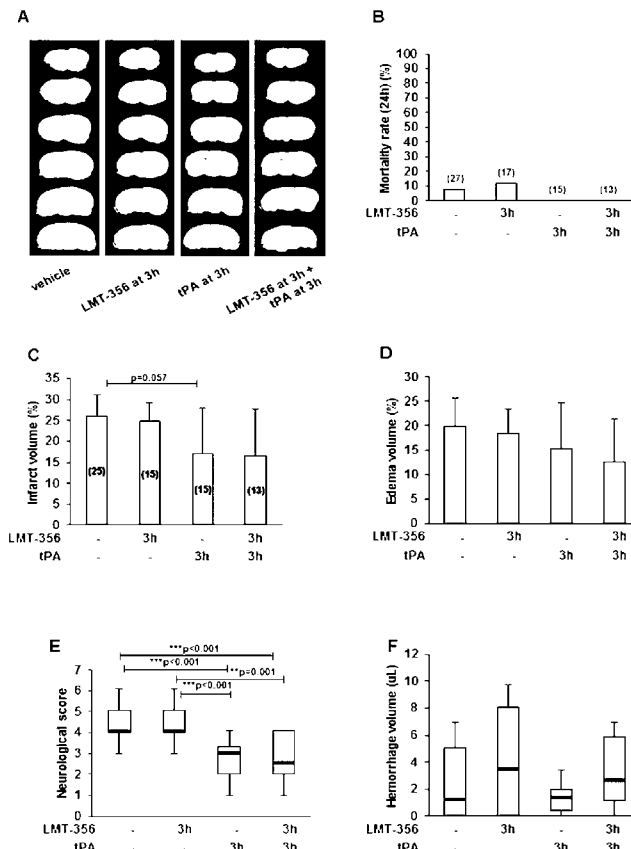
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR),

[다음 쪽 계속]

(54) Title: COMBINED FORMULATION INCLUDING VERBENONE DERIVATIVE AND THERAPEUTIC AGENT FOR REPERFUSION FOR PREVENTING OR TREATING CEREBROVASCULAR DISEASES, ARTERIOSCLEROSIS OR CARDIOVASCULAR DISEASE

(54) 발명의 명칭: 베르베논 유도체 및 재관류 치료제를 포함하는 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환 치료 또는 예방용 병용 제제



(57) Abstract: The present invention relates to a composition and a combined administration therapy for treating cerebrovascular diseases. More specifically, the present invention relates to: a composition including a verbenone derivative or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and a therapeutic agent for reperfusion for treating cerebrovascular diseases, arteriosclerosis or cardiovascular diseases; to a combined formulation for preventing or treating cerebrovascular diseases, arteriosclerosis or cardiovascular diseases, the combined formulation including (i) a composition including a verbenone derivative or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and (ii) a composition including a step of a therapeutic agent for reperfusion; and to a method for treating cerebrovascular diseases, arteriosclerosis or cardiovascular diseases, the method including a step of administering a verbenone derivative or a pharmaceutically acceptable salt thereof to a patient and a step of administering a therapeutic agent for reperfusion to a patient.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]

WO 2016/122288 A2



OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, **공개:**
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를
별도 공개함 (규칙 48.2(g))

본 발명은 뇌혈관 질환 치료용 조성물 및 병용투여 요법에 관한 것으로, 구체적으로는 베르베는 유도체 또는 이의 약
학적으로 허용 가능한 염 및 재관류 치료제를 포함하는, 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료용 조성물;
(i) 베르베는 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물 및 (ii) 재관류 치료제를 포함하는 조성물
을 포함하는, 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환 치료 또는 예방용 병용제제; 및 베르베는 유도체 또는 이의 약
학적으로 허용 가능한 염을 환자에 투여하는 단계 및 재관류 치료제를 환자에 투여하는 단계를 포함하는, 뇌혈관 질
환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료방법에 관한 것이다.

명세서

발명의 명칭: 베르베논 유도체 및 재관류 치료제를 포함하는 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환 치료 또는 예방용 병용 제제

기술분야

- [1] 본 발명은 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료 또는 예방용 조성물 및 병용투여 요법에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 재관류 치료제를 포함하는 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료 또는 예방용 조성물을 제공하며, 또한 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물 및 재관류 치료제를 포함하는 조성물을 포함하는 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료 또는 예방용 병용제제를 제공한다. 뿐만 아니라, 본원발명은 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 재관류 치료제를 포함하는 조성물을 환자에 투여하는 단계를 포함하는, 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료 방법; 및 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물을 환자에 투여하는 단계, 및 재관류 치료제를 포함하는 조성물을 환자에 투여하는 단계를 포함하는, 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료방법에 관한 것이다.

[2]

배경기술

- [3] 뇌혈관 질환(degenerative brain disease)은 뇌신경세포가 제 기능을 하지 못하게 되면서 생기는 노화와 관계되는 질병이며, 노령화 인구의 급속한 증가와 더불어 뇌혈관 질환에 대한 사회적 관심이 커지고 있다. 뇌혈관 질환은 임상적으로 나타나는 주요 증상과 침범되는 뇌부위를 고려하여 구분되며, 뇌졸중, 알츠하이머 증후군(Alzheimer's disease), 파킨슨 증후군(Parkinson's disease), 헌팅턴 증후군(Huntington's disease), 다발성경화증 및 근위축성 측삭 경화증(amyotrophic lateral sclerosis) 등이 포함된다.
- [4] 뇌혈관 질환은 뇌신경계의 정보 전달에 가장 중요한 뇌신경세포의 사멸, 뇌신경세포와 뇌신경세포 사이의 정보를 전달하는 시냅스의 형성이나 기능상의 문제, 뇌신경의 전기적 활동성의 이상적 증상이나 감소로 인한 것으로 알려져 있으나, 아직도 근원적인 치료가 어렵고 발병원인도 명확하지 않은 상태이다.
- [5] 최근 세포분자학적 기술 수준의 향상으로 뇌혈관 질환의 원인 규명 및 치료제 개발이 활발하게 진행 중이며, 뇌혈관 질환 치료제 개발연구는 ① 콜린작용의 억제제, ② NMDA(N-methyl-D-aspartate) 수용체 길항 기전, ③ β -amyloid 또는 타우(Tau) 단백질 대사 과정의 분자·세포생물학적 연구, β -amyloid의 원인 단백질을 항원으로 한 백신개발과 치료항체 개발, ④ 신경영양인자(neurotrophic

factor)의 발현 유도, ⑤ 원인단백질에 의한 신경세포의 산화적 손상을 억제할 수 있는 항산화제 개발 및 ⑥ 염증세포의 과도한 유입 및 활성화로 인한 염증반응을 억제할 수 있는 항염증제 개발 등 다각도의 기전으로 연구되고 있다.

- [6] 뇌혈관 질환 중, 뇌졸중은 우리나라에서 단일 질환으로써 사망원인 제1위를 차지함으로써 미국, 캐나다, 호주 등의 선진국에 비해서 높은 것으로 나타나 있으며 뇌졸중은 운동, 감각기능의 손상 및 기억, 학습, 연산, 추리 등 고차원적 기능의 저해를 야기하여 삶의 질을 파괴하며 환자가 사망에 이를 때까지 본인과 그 가족에게 많은 정신적, 육체적 고통을 야기하고 또한 현대 사회의 노령화 추세로 노인 인구의 급속한 증가가 이루어지고 있는 최근의 경향에 비추어 볼 때 뇌졸중 발생과 발생 후 생존 기간의 증가는 큰 사회적 문제로 대두되고 있다. 따라서 뇌졸중에 대한 증상 경감 및 치료약물의 개발이 필요하다.
- [7] 뇌졸중의 임상적인 중요성과 큰 시장 등에도 불구하고 뇌졸중에 대한 치료제 개발은 여전히 미진한 수준에 불과하며 임상적으로 허용된 뇌졸중의 치료제는 조직 플라스미노겐 활성화제(tissue plasminogen activator: tPA)를 제외하고는 없는 실정이다. 지금까지 많은 연구진들이 흥분성신경전달물질인 글루타민산 수용체에 대한 길항제나 항산화제를 허혈성 뇌졸중 치료제로 개발하고자 하였으나 약효가 미미하거나 약물의 독성으로 인하여 모두 실패로 끝났다.
- [8] tPA를 이용한 재관류 치료가 허혈성 뇌졸중에 대하여 승인된 유일한 치료임에도 불구하고, 치료 범위가 매우 좁아 제한적이고, 뇌출혈 또는 치명적 출혈성 변환을 유발할 위험성이 매우 높다. 환자가 뇌졸중 발생 후 병원 응급실에 도착하기까지 수시간이 지나는 것이 보통이고, 뇌졸중의 발생후 수분에서 수시간 내에 신경세포는 과도한 글루타민산의 유리로 인한 흥분성신경독성에 의하여 일차 손상을 받게 되며 시간이 지나면서 산소 및 질소라디칼의 과도한 생성에 노출되어 이차적 손상을 받게 된다. 수습 시간이 지나면 염증반응으로 인하여 지속적이고 심한 손상을 받게 되고 따라서 흥분성신경독성 차단 물질의 사용은 현실적인 어렵기 때문에 임상적으로 무의미하다. 뇌졸중 발병 초기 3시간까지는 tPA를 이용한 재관류 치료를 통해 경색을 효과적으로 감소시켰으나, 이후 지연되어 뇌졸중 발병 3시간 이후에 tPA 처리시 경색을 감소시키지 않을 뿐 아니라, 뇌출혈 및 사망률을 증가시킬 수 있다. 이러한 증가된 출혈성 변환 및 tPA를 이용한 혈전용해술이 지연되어 발생하는 좋지 못한 결과는 산화 스트레스와 염증 및 이와 관련된 뇌혈관 장벽 파괴 (blood-brain barrier disruption)가 주로 기여하여 발생한다 (도 1).
- [9] 이와 관련하여, 본 출원의 발명자들은 (1S)-(-)-베르베논(verbenone)의 유도체를 개발하여, 이러한 베르베논 유도체가 뇌졸중 치료제가 될 수 있음을 확인하고, 베르베논 유도체들의 신경세포사멸 및 산화적 스트레스의 감소, 뇌허혈성 손상 저해 효과 및 염증성세포의 이주에 대한 저해 효과를 입증하여, 이를 특허출원한 바 있다 (WO2013/183920).
- [10] 한편, 뇌졸중은 단일 원인으로 야기되는 질환이 아니며 다양한 세포사멸의

경로와 기전에 따라 뇌손상을 일으키는 질환이다. 최근 서로 상이한 기전을 가지는 약물의 복합 처방에 의한 뇌졸중 치료 상승작용을 얻고자 하는 시도가 있어 왔다. 아스피린과 디피리다몰(Dipyridamole)을 함께 투여하거나, NMDA 수용체 차단물질인 메만틴(Memantine)과 베타아드레날린 $\beta 2$ 수용체 아고니스트인 클렌부테롤(Clenbuterol)을 병용 투여하거나, 메만틴과 칼슘이온 차단물질인 토피라메이트(Topiramate)의 병용 투여를 시도한 바 있다. 그러나, 이들 병용 투여에 대한 연구 결과는 일시적 증상 완화 목적이 대부분이며 뇌조직 보호기전에 근거한 상승적 효과를 얻지는 못하였다.

- [11] 이러한 기술적 배경하에서, 본 출원의 발명자들은 허혈성 뇌졸중에서 지연된 재관류 치료제, 예를 들어 tPA 처치를 이용한 혈전용해술(허혈 3시간 이후)이 뇌손상(예: 뇌경색 및 뇌부종의 크기 확대, 신경행동학적 손상)과 뇌출혈 및 사망률을 크게 증가시키나, 베르베논 유도체의 병용투여가 재관류 치료제 예를 들어 tPA에 의해 유발되는 부작용인 뇌조직 손상, 뇌출혈 및 사망률 역시 현저하게 감소시킬 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

[12]

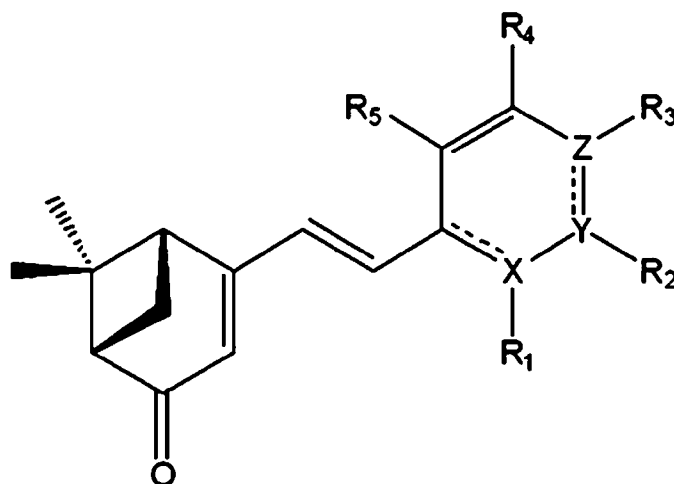
[13] **발명의 요약**

- [14] 본 발명의 목적은 뇌졸중 치료에 사용되는 재관류 치료제에 의한 부작용으로 나타나는 뇌출혈 증가를 방지하여 우수한 뇌혈관 질환 치료 효과를 나타내면서도, 뇌혈관 질환 발병 후 적합한 시간 내 재관류 치료제가 투여하지 못하고, 혈전용해술의 적용이 지연되어 발생하는 사망률 증가를 억제함으로써, 재관류 치료제를 이용한 치료 가능 시간을 연장시킬 수 있는 조성물 또는 치료방법을 제공하는 데 있다.

- [15] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 (i) 하기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 (ii) 재관류 치료제를 포함하는, 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료 또는 예방용 조성물을 제공한다:

[16] 화학식 1

[17]



- [18] 상기 식에서,
- [19] R_1, R_2, R_3, R_4 , 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 또는 I로부터 선택된 할로젠 원자, 히드록시기, C_1 내지 C_3 저급알킬기, C_1 내지 C_3 저급알콕시기, 아미노기, C_1 내지 C_3 저급알킬아민기, C_1 내지 C_3 저급알킬디아민기, 탄소수 5 내지 8의 방향족환, 탄소수 5 내지 8의 지방족환, 및 탄소수 5 내지 8의 헤테로방향족환으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환기이며,
- [20] X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 탄소원자 또는 N, O 또는 S원자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 이종원자이고,
- [21] (-----)은 이중결합 또는 단일결합을 의미한다.
- [22] 본 발명은 또한, (i) 상기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 (ii) 재관류 치료제를 포함하는 조성물을 환자에 투여하는 단계를 포함하는, 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료방법을 제공한다.
- [23] 뿐만 아니라, 본 발명은 (i) 상기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물, 및 (ii) 재관류 치료제를 포함하는 조성물을 포함하는, 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료 또는 예방용 병용제제를 제공한다.
- [24] 또한, 본 발명은 (i) 상기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물을 환자에 투여하는 단계, 및 (ii) 재관류 치료제를 포함하는 조성물을 환자에 투여하는 단계를 포함하는, 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료방법을 제공한다.
- [25] 그리고, 본 발명은 (i) 상기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 (ii) 재관류 치료제를 포함하는 조성물의 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료 또는 예방 용도를 제공할 뿐만 아니라, (i) 상기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물, 및 (ii) 재관류 치료제를 포함하는 조성물을 포함하는 병용제제의 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료 또는 예방 용도를 제공한다.

[26]

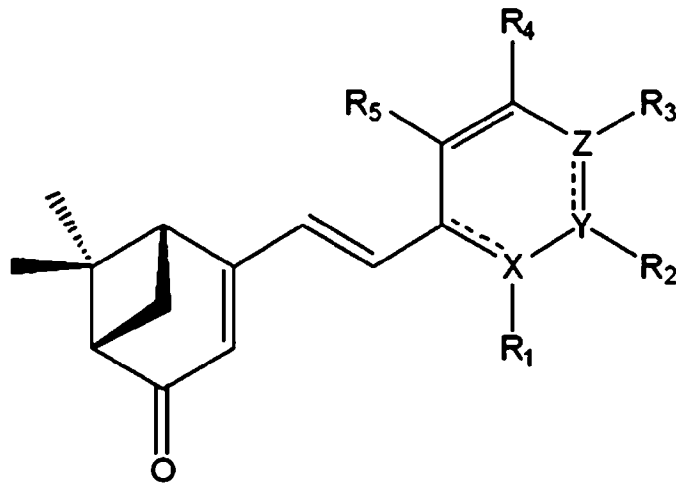
도면의 간단한 설명

- [27] 도 1은 tPA를 이용한 뇌졸중 치료 기전 및 tPA에 의한 부작용을 나타낸 도면이다.
- [28] 도 2는 색전성 허혈 뇌졸중 동물 모델에서 tPA 투여 후 CBF 변화를 나타낸 그래프이다.
- [29] 도 3은 허혈 뇌졸중 동물 모델에서 tPA 단독 투여 후 시간 경과에 따라, 뇌조직 관찰, 사망률, 전체 뇌경색 부피 및 부종 부피 측정, 신경학적 결손 정도 및 출혈의 변화를 확인한 결과를 나타낸 것이다: A: 뇌조직 관찰 결과, B: 사망률, C:

전체 뇌경색 부피 측정 결과, D: 부종 부피 측정 결과, E: 신경학적 결손 정도, F: 사망 동물을 제외한 출혈 부피.

- [30] 도 4는 허혈 뇌졸중 동물 모델에서 LMT356 (3h, i.v. bolus)+ tPA (3h, i.v. infusion) 투여에 따라, 뇌조직 관찰, 사망률, 전체 뇌경색 부피 및 부종 부피 측정, 신경학적 결손 정도 및 출혈의 변화를 확인한 결과를 나타낸 것이다: A: 뇌조직 관찰 결과, B: 사망률, C: 전체 뇌경색 부피 측정 결과, D: 부종 부피 측정 결과, E: 신경학적 결손 정도, F: 사망 동물을 제외한 출혈 부피.
- [31] 도 5a 및 5b는 허혈 뇌졸중 동물 모델에서 LMT356 (3h 또는 4.5h, i.v. bolus) + tPA (4.5h, i.v. infusion) 투여에 따라, 뇌조직 관찰, 사망률, 전체 뇌경색 부피, 부종 부피의 변화, 신경학적 결손 정도, 출혈 부피 및 뇌혈류의 변화를 확인한 결과를 나타낸 것이다: A: 뇌조직 관찰 결과, B: 사망률, C: 전체 뇌경색 부피 측정 결과, D: 부종 부피 측정 결과, E: 신경학적 결손 정도, F: 사망제외 출혈 부피, G: 뇌혈류.
- [32] 도 6a 및 6b는 허혈 뇌졸중 동물 모델에서 LMT356 (3h, 4.5h, 5.15h 또는 6h, i.v. bolus) + tPA (6h, i.v. infusion) 투여에 따라, 뇌조직 관찰, 사망률, 전체 뇌경색 부피, 부종 부피 변화, 신경학적 결손 정도, 출혈 부피 및 뇌혈류를 확인한 결과를 나타낸 것이다: A: 뇌조직 관찰 결과, B: 사망률, C: 전체 뇌경색 부피 측정 결과, D: 부종 부피 측정 결과, E: 신경학적 결손 정도, F: 사망동물을 제외한 출혈 부피, G: 뇌혈류.
- [33] 도 7은 허혈 뇌졸중 동물 모델에서 LMT356 (4.5h 또는 7.5h, i.v. bolus) + tPA (6h, i.v. infusion) 투여에 따라, 사망률, 전체 뇌경색 부피, 부종 부피 측정 및 신경학적 결손 정도를 확인한 결과를 나타낸 것이다: A: 사망률, B: 뇌경색 부피 측정 결과, C: 부종 부피 측정 결과, D: 신경학적 결손 정도.
- [34]
- [35] 발명의 상세한 설명 및 구체적인 구현예
- [36] 일 관점에서, 본 발명은 (i) 하기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 (ii) 재관류 치료제를 포함하는 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료 또는 예방용 조성물에 관한 것이다:
- [37] 화학식 1

[38]



[39] 상기 식에서,

[40] R_1, R_2, R_3, R_4 , 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 또는 I로부터 선택된 할로젠 원자, 히드록시기, C_1 내지 C_3 저급알킬기, C_1 내지 C_3 저급알콕시기, 아미노기, C_1 내지 C_3 저급알킬아민기, C_1 내지 C_3 저급알킬디아민기, 탄소수 5 내지 8의 방향족환, 탄소수 5 내지 8의 지방족환, 및 고리원자수 5 내지 8의 헤테로방향족환으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환기이며,

[41] X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 탄소원자 또는 N, O 또는 S원자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 이종원자이고,

[42] (-----)은 이중결합 또는 단일결합을 의미한다.

[43] 상기 화학식 1의 베르베논 유도체는 국제특허공개공보 제WO 2013/183920호에 개시된 바와 같으며, 본 출원에 참조로 도입된다. 하나의 실시예에서, 상기 R_1, R_2, R_3, R_4 , 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 및 I로부터 선택된 할로젠 원자, 히드록시기, 메틸기, 에틸기, 메톡시기, 에톡시기, 아미노기, 탄소수 5 내지 6의 방향족환, 탄소수 5 내지 6의 지방족환, 고리원자수 5 내지 6의 헤테로방향족환으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다. 예를 들어, 상기 R_1, R_2, R_3, R_4 , 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 및 I로부터 선택된 할로젠 원자, 히드록시기, 메틸기, 메톡시기, 페닐기, 피롤기 및 피리딘기로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.

[44] 하나의 실시예에서, 상기 X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 C 또는 N일 수 있다.

[45] 구체적으로, 상기 베르베논 유도체는

[46] (1*S*,5*R*)-4-(4-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온(3a);

[47] (1*S*,5*R*)-4-(4-히드록시-2-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3b);

[48] (1*S*,5*R*)-4-(3,4-디히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3c);

[49] (1*S*,5*R*)-4-(3-브로모-4-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-

온 (3d);

- [50] (1*S*,5*R*)-4-(4-히드록시-2,6-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3e);
- [51] (1*S*,5*R*)-4-(3,4-디히드록시-5-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온(3f);
- [52] (1*S*,5*R*)-4-(3-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3g);
- [53] (1*S*,5*R*)-4-(2-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3h);
- [54] (1*S*,5*R*)-4-(2-히드록시-4-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3i);
- [55] (1*S*,5*R*)-6,6-디메틸-4-스티릴비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4a);
- [56] (1*S*,5*R*)-4-(4-플루오로스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4b);
- [57] (1*S*,5*R*)-4-(4-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4c);
- [58] (1*S*,5*R*)-4-(2-(비페닐-4-일)비닐)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4d);
- [59] (1*S*,5*R*)-4-(4-(1*H*-피롤-1-일)스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4e);
- [60] (1*S*,5*R*)-4-(3,4-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4f);
- [61] (1*S*,5*R*)-4-(3,5-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4g);
- [62] (1*S*,5*R*)-4-(2,5-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4h);
- [63] (1*S*,5*R*)-4-(5-브로모-2-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4i);
- [64] (1*S*,5*R*)-6,6-디메틸-4-((*E*)-2-(피리딘-2-일)비닐)비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (5a);
- [65] (1*S*,5*R*)-6,6-디메틸-4-((*E*)-2-(피리딘-3-일)비닐)비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온(5b); 및
- [66] (1*S*,5*R*)-6,6-디메틸-4-((*E*)-2-(피리딘-4-일)비닐)비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온(5c)으로부터 선택된 것일 수 있다.
- [67] 상기 재관류 치료제는 관류 손상에 의해 유발되는 비정상적 상태의 치료, 예를 들어 혈관재형성, 혈전의 전파와 혈관 재폐색 방지, 관류를 회복시키고, 동시에 지혈의 약리적 변화와 기계적 조작에 의한 잠재적 출혈 방지에 적합한 제제라면 특별히 제한되지 않으나, 예를 들어 혈전용해제, 항응고제제 및 항혈소판 제제로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있다.
- [68] 상기 혈전용해제는 막힌 혈관에 존재하는 혈전을 녹이는 물질이라면 특별히 제한되지 않으나, 예를 들어 플라스미노겐 활성화제 (plasminogen activator)일 수 있다. 상기 플라스미노겐 활성화제는 예를 들어, SK (Streptokinase), tPA (Alteplase), rPA (Reteplase), TNK (Tenecteplase) 또는 APSAC (anisoylated plasminogen streptokinase activator complex)일 수 있다. 이 중, tPA는 플라스미노젠을 플라스민으로 변환 가능한 프로테아제 도메인 및 피브린 결합을 담당하는 것으로 알려진 N-말단을 포함하는 2개 이상의 기능 도메인을 가지는 외인성

조직형 플라스미노겐 활성화제를 의미할 수 있다. 상기 조직 플라스미노겐 활성화제는 제한없이 사용될 수 있으나, 예를 들어 제조합 조직 플라스미노겐 활성화제 또는 시판된 tPA일 수 있다.

- [69] 상기 항응고제는 혈관이나 심장 내에서의 혈액 응고를 방지하는 물질이라면 특별히 제한되지 않으나, 예를 들어 아스피린, 와르파린, 엔옥사파린, 헤파린, 실로스타졸, 클로피도그렐, 티클로피딘, 티로피반, 아브식시맵, 디피리다몰, 혈장 단백질 분획, 인간 알부민, 덱스트란, 헤타스타치, 레테플라즈, 알테플라즈, 스트렙토키나제, 우로키나제, 달테파린, 필그라스틴, 면역글로블린, 진코리드 B, 히루딘, 포로파판트, 로세파판트, 비발리루딘, 데르마탄 설페이트 메디올라넘, 에프틸리바티드, 티로피반, 트롬보모듈린, 아브스맵, 저분자량 데르마탄 설페이트-오포크린, 에프타코그 알파, 아르가트로반, 폰다파리넥스 나트륨, 티파코진, 레피루딘, 데시루딘, OP2000, 록시피반, 파르나파린 나트륨, 인간 헤모글로빈(Hemosol), 소 헤모글로빈(Biopure), 인간 헤모글로빈(Northfield), 항트롬빈 III, RSR 13, 헤파린-경구(Emisphere) 유전자도입 항트롬빈 III, H37695, 엔옥사파린 나트륨, 메소글리칸, CTC 111, 비발리루딘 또는 이들의 유도체일 수 있다.

- [70] 상기 항혈소판제는 아데노신 디포스페이트 (ADP) 길항제 또는 P2Y₁₂ 길항제, 포스포디에스테라제 (PDE) 억제제, 아데노신 재흡수 억제제, 비타민 K 길항제, 헤파린, 헤파린 유사체, 직접 트롬빈 억제제, 당단백질 IIB/IIIA 억제제, 항응고성 효소일 수 있고, 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, 상기 항혈소판 제제는 설파피라존, 티클로피딘, 클로피도그렐, 프라수그렐, R-99224 (제조사: Sankyo), R-1381727, R-125690 (제조사: Lilly), C-1330-7, C-50547 (제조사: Millennium Pharmaceuticals), INS-48821, INS-48824, INS-446056, INS-46060, INS-49162, INS-49266, INS-50589 (제조사: Inspire Pharmaceuticals), Sch-572423 (제조사: Schering Plough), AZD6140 (제조사: AstraZeneca), 아세노코우마롤, 클로린디온, 디쿠마롤, 디페나디온, 에틸 비스코움아세테이트, 펜프로코우몬, 페닌디온, 티오클로마롤, 와프파린, 헤파린, 항트롬빈 III, 베미파린 (Bemiparin), 달테파린 (Dalteparin), 다나파로이드 (Danaparoid), 에녹사파린 (Enoxaparin), 폰다파리넥스 (Fondaparinux) (피하), 나드로파린 (Nadroparin), 파르나파린 (Parnaparin), 레비파린 (Reviparin), 솔로덱시드 (Sulodexide), 틴자파린 (Tinzaparin), 압식시마브 (abciximab), 엡티피바티드 (eptifibatide), 티로피반 (tirofiban), 알테플라제 (Alteplase), 안크로드 (Ancrod), 아니스트레플라제 (Anistreplase), 브리나제 (Brinase), 드로트레코진 알파 (Drotrecogin alfa), 피브리노리신 (Fibrinolysin), 단백질 C, 레테플라제 (Reteplase), 사루플라제 (Saruplase), 스트렙토키나제 (Streptokinase), 테넥테플라제 (Tenecteplase) 또는 유로키나제 (Urokinase)일 수 있다.

- [71] 상기 뇌혈관 질환은 정보 전달에 가장 중요한 뇌신경세포의 사멸, 뇌신경세포와 뇌신경세포 사이의 정보를 전달하는 시냅스의 형성이나 기능상의

문제, 뇌신경의 전기적 활동성의 이상적 증상이나 감소로 인한 질환을 의미한다. 상기 뇌혈관 질환은 예를 들어, 뇌졸중, 치매, 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환, 또는 헌팅턴 질환을 포함할 수 있으며, 바람직하게 뇌졸중, 더욱 바람직하게 허혈성 뇌졸중일 수 있다.

[72] 상기 심혈관 질환은 심근경색, 협심증 등을 포함하나 이에 한정되는 것은 아니다.

[73] 상기 조성물은 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 제관류 치료제 사이의 안정성을 유지하면서 시너지 효과를 낼 수 있는 것이라면 그 형태는 특별히 제한되지 않는다. 이 때, 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과 제관류 치료제는 예를 들어, 0.02:1~10:1, 바람직하게 0.1:1~10:1의 중량비로 포함될 수 있다. 상기 정의된 범위 내의 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과 제관류 치료제 포함하는 경우, 2가지 유효성분 모두의 효능을 유지하여 목적하는 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 예방 또는 치료 효과를 낼 수 있다.

[74] 다른 관점에서, 본 발명은 (i) 상기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 (ii) 제관류 치료제를 포함하는 조성물을 환자에 투여하는 단계를 포함하는, 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료방법에 관한 것이다.

[75] 하나의 실시예에서, 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 제관류 치료제를 포함하는 조성물은 허혈성 뇌졸중과 같은 뇌혈관 질환 발병 후 3시간 이내에 투여될 수 있고, 나아가 뇌혈관 질환 발병 후 3시간 이후에도 투여될 수 있다.

[76] 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 제관류 치료제를 포함하는 조성물은 필요에 따라 수회 반복투여할 수 있다.

[77]

[78] 또한, 본 발명은 (i) 상기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 (ii) 제관류 치료제를 포함하는 조성물의 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료 또는 예방 용도에 관한 것이다.

[79] 또 다른 관점에서, 본 발명은 (i) 상기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물, 및 (ii) 제관류 치료제를 포함하는 조성물을 포함하는, 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료 또는 예방용 병용제제에 관한 것이다.

[80] 상기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물은 상기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 약리활성 성분으로 포함하는 조성물을 의미한다. 상기 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체를 포함할 수 있으며, 그 형태는 특별히 제한되지 않는다.

[81] 상기 제관류 치료제를 포함하는 조성물은 제관류 치료제를 약리활성 성분으로

포함하는 조성물을 의미한다. 상기 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체를 포함할 수 있으며, 그 형태는 특별히 제한되지 않는다.

- [82] 또한, 본 발명은 (i) 상기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물을 환자에 투여하는 단계, 및 (ii) 재관류 치료제를 포함하는 조성물을 환자에 투여하는 단계를 포함하는, 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료방법에 관한 것이다.
- [83] 뿐만 아니라, (i) 상기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물, 및 (ii) 재관류 치료제를 포함하는 조성물을 포함하는 병용제제의 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료 또는 예방 용도에 관한 것이다.
- [84] 본 출원의 발명자들은 상기 베르베논 유도체와 재관류 치료제의 병용을 통해, 재관류 치료제 예를 들어 허혈성 뇌졸중에 대하여 승인된 유일한 치료제인 tPA를 이용한 혈전용해술의 적용이 지연되어 뇌졸중 발병 3시간 이후에 재관류 치료제로 처리시 발생하는 뇌경색 및 뇌경색 이후 출혈, 신경학적 결손 및 재관류 치료제에 의해 유발되는 뇌출혈과 같은 부작용 및 사망률을 현저하게 낮출 수 있음을 확인하였다.
- [85] 이를 토대로, 재관류 치료제(예를 들어 tPA)에 의해 유발되는 부작용을 최소화시키면서도, 뇌졸중 발병 3 시간 이내 처리시에만 유의한 허혈성 뇌졸중 치료 효과를 나타내던 재관류 치료제의 종래 사용방법과는 달리, 베르베논 유도체와 재관류 치료제의 병용을 통해 재관류 치료제를 이용한 치료범위 및 치료 가능시간을 확장할 수 있다.
- [86] 또한, 수술이나 시술을 통하여 뇌혈전을 제거함으로써 직접적인 뇌관류를 유발하기도 하는데, 이 때 뇌출혈과 뇌손상이 일어날 가능성이 있다. 그러나, 본 출원의 발명자들은 베르베논 유도체와 재관류 치료제의 병용을 통해, 수술이나 시술을 통한 뇌혈전 제거시 발생가능한 뇌출혈과 뇌손상을 막을 수 있음을 확인하였다.
- [87] 특히, 재관류 치료제의 일종인 tPA는 임상에서 3시간 이내에 사용되며 경우에 따라 일부 국가들에서는 4.5시간까지 사용이 허가되어 있는데, 혈전유도 뇌졸중 동물모델(embolic stroke animal model)에서 tPA의 3시간내 사용은 각종 지표(예, 뇌경색, 뇌부종, 신경행동학적 지표, 사망률 및 뇌출혈)를 개선시키나 3시간 이후에는 전혀 개선시키지 않고 오히려 뇌출혈과 사망률을 크게 증가시킬 수 있다 (도 3).
- [88] 그러나, 본 발명에 따라 베르베논 유도체와 병용 투여시 허혈 후 3시간 이후 (예를 들어, 4.5 또는 6 시간 후)에 tPA를 처리하더라도, 뇌경색, 뇌부종, 신경행동학적 지표, 사망률 및 뇌출혈을 크게 개선시킴으로써, 허혈 후 3시간에서 4.5 시간 또는 6시간까지 tPA를 안전하게 사용할 수 있도록 치료 시간 윈도우(therapeutic time window)를 연장시키는 효과가 있음을 확인하였다 (도 4, 5, 6 및 7).

- [89] 병용 투여 형태는 베르베논 유도체를 포함하는 조성물과 tPA를 포함하는 조성물을 동시 투여 또는 별도 투여하는 것으로, 별도 투여는 예를 들어 tPA 투여 전 베르베논 유도체를 전처치하는 것으로, 이들의 뇌혈관 질환의 치료 효과는 물론, 베르베논 유도체 전처치의 효과 역시 매우 우수함을 확인하였다. 특히, 수술로 혈전을 제거하여 재관류를 유도하는 것과 동일한 조건의 동물시험에서도 베르베논 유도체의 전처치는 재관류에 의한 뇌손상을 보호할 수 있음을 보여준다. 즉, 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 재관류 치료제는 수술이나 시술을 통하여 뇌혈전을 제거함으로써 뇌관류를 유발하는 경우에도 투여됨으로써 뇌출혈과 뇌손상을 막을 수 있다.
- [90] 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물과 재관류 치료제를 포함하는 조성물은 동시에 투여될 수 있다. 또한, 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물 및 재관류 치료제를 포함하는 조성물은 일정 시간 간격을 두고 별도로 투여할 수도 있다. 예를 들어, 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물은 재관류 치료제를 포함하는 조성물의 투여 전 또는 후 별도로 투여될 수 있다. 특히, 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물은 재관류 치료제를 투여하기 전에 투여하는 것이 바람직하다.
- [91] 상기 재관류 치료제를 포함하는 조성물은 허혈성 뇌졸중과 같은 뇌혈관 질환 발병 후 3시간 이내에 투여될 수 있고, 본 발명의 실시예에 따라, 뇌혈관 질환 발병 후 3시간 이후에도 투여될 수 있다.
- [92] 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물은 예를 들어 재관류 치료제를 포함하는 조성물을 투여하기 0.5-6 시간 전 또는 이후, 0.5-4.5 시간 전 또는 이후, 0.5-3.5 시간 전 또는 이후, 0.5-3 시간 전 또는 이후, 0.5-2.5 시간 전 또는 이후, 0.5-2 시간 전 또는 이후, 0.5-1.5 시간 전 또는 이후, 0.85-3.5 시간 전 또는 이후, 0.85-3 시간 전 또는 이후, 0.85-2.5 시간 전 또는 이후, 0.85-2 시간 전 또는 이후, 또는 0.85-1.5 시간 전 또는 이후, 바람직하게 1.5~3 시간 전 또는 이후, 더욱 바람직하게 2~3시간 전 또는 이후 별도로 투여될 수 있다. 허혈성 뇌졸중과 같은 뇌혈관 질환 발병 후 3시간 이내 또는 3시간이 지난 후에 재관류 치료제를 포함하는 조성물이 투여되고, 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물이 예를 들어 0.5-6 시간 간격, 0.5-4.5 시간 간격, 0.5-3.5 시간 간격, 0.5-3 시간 간격, 0.5-2.5 시간 간격, 0.5-2 시간 간격, 0.5-1.5 시간 간격, 0.85-3.5 시간 간격, 0.85-3 시간 간격, 0.85-2.5 시간 간격, 0.85-2 시간 간격, 0.85-1.5 시간 간격, 바람직하게 1.5~3 시간 간격, 더욱 바람직하게 2~3시간 간격을 두고 재관류 치료제를 포함하는 조성물의 투여 이전 또는 이후에 투여될 수 있다.
- [93] 또한, 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물은 재관류 치료제를 포함하는 조성물을 투여하기 전과 후에 2회 이상

여러 번 투여할 수도 있다. 예를 들어, 재관류 치료제를 포함하는 조성물을 투여하기 0.5-6시간 전, 0.35-4.5시간 전, 0.5-3 시간 전, 1-3 시간 전, 바람직하게는 1.5-3시간 전, 더욱 바람직하게는 2-3시간 전에 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물을 1회 투여한 후, 재관류 치료제를 포함하는 조성물을 투여한 시각으로부터 0.5-3 시간 후, 0.5-2.5 시간 후, 0.5-2 시간 후, 0.5-1.5 시간 후, 1-3 시간 후, 1-2.5 시간 후, 1-2 시간 후, 1-1.5시간, 1.5-3시간 후, 1.5-2시간 후, 바람직하게는 1.5-2시간 후에 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물을 다시 한번 투여할 수도 있다.

- [94] 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물과 재관류 치료제를 포함하는 조성물은 필요에 따라 수회 반복투여할 수 있다.
- [95] 이와 같이, 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물을 사전 투여함으로써, 재관류 치료제, 예를 들어 시판중인 tPA에 의해 유발되는 출혈 및 사망률을 감소시킬 수 있으며, 이는 MMP 발현의 감소를 통해 이루어지는 것으로 판단된다. 또한, 재관류 치료제 처리에 의해 재관류가 증가되면, 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 허혈 부위로 접근하여 신정보호 효과를 나타내도록 한다. 그 결과, 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 재관류 치료제의 병용을 통해, 종래 뇌혈관 질환 발병 후 3시간 이내, 늦어도 4.5시간 이내에 재관류 치료제를 투여하여야 했던 치료시간 범위를 약 6~8시간까지 연장시킬 수 있으며, 이를 통해 재관류 치료제, 예를 들어 tPA의 임상적 적용 범위를 10배 이상 증가시킬 수 있을 것으로 사료된다.
- [96] 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 통상의 기술자에 의해 적절하게 선택되어 투여될 수 있고, 예를 들어 0.01 mg/kg 내지 10 g/kg, 바람직하게 1 mg/kg 내지 1 g/kg의 투여량으로 투여될 수 있다. 상기 조직 플라스미노겐 활성화제 역시 승인된 투여량 또는 권장량에 따라 환자의 상태 등을 고려하여 당업자에 의해 적절하게 선택되어 투여될 수 있으며, 예를 들어 0.1-50 mg/kg, 바람직하게 0.5-10 mg/kg의 투여량으로 투여될 수 있다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수 있다.
- [97] 본 발명에 따른 (i) 상기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 (ii) 재관류 치료제를 포함하는 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료 또는 예방용 조성물; 상기 베르베논 유도체를 포함하는 조성물; 및 재관류 치료제를 포함하는 조성물은 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 이에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈,

수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.

[98] 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 적어도면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테arate 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[99] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제 등이 포함된다. 비수성용제 및 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로콜, 트윈(tween), 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[100]

[101] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[102]

[103] 실시예

[104] 베르베논 유도체

((1S,5R)-4-(3,4-디히드록시-5-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온(3f)[(1S,5R)-4-(3,4-dihydroxy-5-methoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one: 이하 LMT356)와 재조합 tPA의 병용에 의한 약물 상호작용을 확인하기 위하여 문헌에 개시된 방법을 응용하여 하기와 같이 실험을 수행하였다 (Zhang Z, Zhang RL, Jiang Q, Raman SB, Cantwell L, Chopp M. A new 래트model of thrombotic focal cerebral ischemia. J Cereb Blood Flow Metab. 1997 Feb;17(2):123-35).

[105]

[106] 색전성 허혈 뇌졸중 동물 모델

[107] 래트(몸무게 270-300g 사이)을 70% N₂O와 30% O₂ (v/v) 혼합가스에 혼합된 3%

이소플루란(isoflurane) 가스를 사용하여 흡입 마취시킨 후 3% 이소플루란을 이용하여 유지하였다. 직장 온도계를 삽입하고, 이와 연결된 자동 히팅 패드를 사용하여 수술기간 동안 래트의 체온을 37.0-37.9°C로 유지시켰다. 목에 정중선을 절개한 후 우측 온목동맥 (common carotid artery: CCA)과 우측 바깥목동맥 (external carotid artery: ECA) 과 우측 내경동맥 (internal carotid artery: ICA)을 분리하여 바깥목동맥과 온목동맥을 묶었다. 굵은 미세혈관 클립을 사용하여 내경동맥을 일시적으로 조였다. 외경동맥과 내경동맥의 분지가 시작되는 부분을 작게 절개하여 혈관주입이 용이하도록 주입구가 외경 0.3 mm로 줄인 외경 0.58 mm의 PE-50 카테터를 이용하여 생리식염수가 담긴 100 μ l 해밀톤 주사기로 35 mm 색전을 내경동맥내로 주입하였다. 미세혈관 클립을 제거하고, 카테터를 조심스럽게 내경동맥 내로 16-17 mm까지 전진시켜 중뇌대동맥의 시작점에서 약 2 mm까지 이동시켰다. 카테터의 색전을 내경동맥으로 주입하였다 (10 μ l). 색전 주입 5분 후, 카테터를 제거하였다. 내경동맥 분지점에서 묶어주고, 절개부위를 봉합한후 rat이 마취에서 깨도록 두었다. 실험에 사용될 색전은 도너 rat에서 취한 대뇌동맥혈을 신속히 PE-50 튜브에 주입하여 상온에서 2시간, 4°C에서 22시간 방치하여 혈전을 생성시켰다. 실험전에 튜브를 잘라 생리식염수를 담은 23G 주사바늘이 부착된 1ml 주사기를 사용하여 PE-10 튜브를 통해 변형된 PE-50 카테터(단일 클랏: 35 mm×3.14×0.1 mm, 2.8 μ l) 로 옮겼다.

[108]

[109] 뇌조직 면역조직화학적 염색

[110] 니트로타이로신은 과산화 질산염(peroxynitrite) 및 NO와 같은 반응성질소균에 의해 매개되는 질산화 스트레스의 표지자로 인식되고 있다. 래트를 재관류 후 24시간 이후에 희생시켜, 0.1M PB(Phosphate buffer) 중 4% PFA(Paraformaldehyde)로 관류하였다. 뇌 전체를 적출하고, 4% PFA로 하루 동안 고정한 다음, 30% 수크로오스를 사용하여 동결건조하였다. 크라이오스탯 (Leica 1850, Leica, Germany)을 사용하여 연속 8 μ m 관상단면을 제작하였다. 비특이적 결합을 감소시키기 위해, 먼저 단편을 5% 일반 염소 세럼으로 1시간 동안 차단시킨 다음, 항-NeuN (A60; 1:100) 또는 항-니트로타이로신 (1:50) 항체를 가하여, 4°C에서 하룻밤동안 염색하였다. 세척한 후에, 단편을 Alexa 488로 컨쥬게이션된 염소 항-토끼 또는 항-마우스 IgG 항체 (2 μ g/ml) 로 1시간 동안 실온에서 배양한 다음, Hoechst 33258로 20분 동안 염색하였다. 형광 강도 및 면역 반응성 세포의 수를 공초점 형광 현미경 (Zeiss LSM510; Zeiss, Oberkochen, 독일)을 사용하여 측정하였다. 정량을 위해, 피질 및 뇌선조체 주위의 인대 손상 부위로부터 4개의 중첩되지 않은 광학 단편(450×450 μ m², 5.0 μ m 두께)을 시스템적으로 선별하고, 니트로타이로신 양성 세포의 수를 이중 맹검법으로 카운팅하였다.

[111]

[112] 경색 부피의 측정

[113] 브레그마의 +4mm(전방) 및 -6mm(후방) 사이의 경색 절편을 분석 프로그램(OPTIMAS5.1 image analysis program, BioScan Inc. Edmonds, WA)으로 측정하였다. 뇌경색 크기 측정을 위한 경색 영역 외부 둘레는 수동으로 설정하였다. 전체 뇌경색 부피(mm³)는 문헌(J Neurosci Methods (1998) 84:9-16; J Cereb Blood Flow Metab (1990) 10:290-293)에 개시된 바대로 하기 수학적 식 1에 따라 뇌부종으로 보정하여 계산하였다. 뇌부종은 하기 수학적 식 2와 같이 동측/반측성 뇌반구 영역 (ipsilateral(V_I)/contralateral hemisphere area(V_C))의 백분율 증가율로 계산한다. 모두 이중맹검법으로 측정하였다.

[114] [수학적 식 1]

[115] 전체 뇌경색 부피(mm³) = 직접측정법(direct measurement)에 의한 동측성 부피(IVd) × [(반측성 부피(V_C))/반측성 부피(V_C)]

[116]

[117] [수학적 식 2]

[118] 부종 부피(edema volume) (%) = [(동측성 부피(V_I) - 반측성 부피(V_C))/반측성 부피(V_C)] × 100.

[119]

[120] 이후에 조직을 냉동시키고 절단기(Leica 3050; Leica, Nussloch, Germany)로 10 또는 30 mm 경동맥 절편으로 절단하고 -20°C에서 저장하였다.

[121]

[122] 신경학적 결손의 측정

[123] 신경학적 결손은 허혈 후 24시간 후에 측정하며, 4점 스케일로 측정하였다 (0: 신경학적 결손 없음, 1: 앞발을 구부림, 2: 앞발 구부림 및 측면을 미는 힘에 대한 감소된 저항성, 회전하지 않음, 3: 2와 같으나 회전함).

[124]

[125] 장기 생존률 실험

[126] 위 방법대로 국소뇌허혈증을 유발한 래트를 수술 전과 동일한 조건에서 수술 후 24시간 내 생존률을 측정하였다.

[127]

[128] 뇌혈류(CBF: Cerebral Blood Flow) 측정

[129] 중대뇌동맥 폐색 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 시작 3시간 이후까지, LDF (Laser Doppler flowmetry, Transonic Systems Inc., Ithaca, NY; model BLF22)를 통해 CBF를 반연속적으로 모니터링하였다. 래트의 상우측두부의 두개골 대뇌 피질 창에 LDF 프로브 (Type N18, Transonic Systems Inc.)를 위치시켰다.

[130]

[131] 실시예 1: 색전성 허혈 뇌졸중 동물 모델에서 tPA 투여 후 CBF 변화

[132] 색전성 허혈 뇌졸중 동물 모델에서 tPA 투여 후 CBF 변화를 확인하였다. 자가혈액의 색전을 사용하여 중대뇌동맥 폐색에 의해 유도된 색전성 뇌졸중을

유도하였다. 중대뇌동맥 폐색 이후 지정된 시간에 재조합 tPA (10 mg/kg, i.v. infusion)를 래트에 처리하였다. tPA 투여 후 시간 경과에 따라, 색전 유발전의 혈류에 대한 상대적 CBF (%)로 나타내었다.

[133] 그 결과를 도 2에 도시하였으며, 도 2를 참조하면 혈전에 의한 뇌혈류의 현저한 감소와 tPA처치후 혈류가 회복되는 재관류 과정을 확인할 수 있었다.

[134]

[135] 실시에 2: tPA 단독 투여시의 효과

[136] 색전성 허혈 뇌졸중 동물 모델에서 자가혈액의 색전을 사용하여 중대뇌동맥 폐색에 의해 유도된 색전성 뇌졸중을 유도하였다. 색전성 뇌졸중 유도 래트를 각각 중대뇌동맥 폐색후 3시간, 4.5시간, 및 6시간째에 재조합 tPA (10 mg/kg, i.v. infusion)를 처리하였다. tPA 투여 후 시간 경과에 따라, 뇌조직 관찰, 사망률, 전체 뇌경색 부피 및 부종 부피 측정, 신경학적 결손 정도 및 출혈의 변화를 확인하였다.

[137] 뇌조직 관찰 결과를 도 3A에 전체 뇌경색 부피 측정 결과를 도 3C에 나타내었다. 도 3A 및 도 3C를 참조하면, 색전성 허혈 후 뇌손상이 증가하는데 색전성 허혈 후 3시간째 tPA를 처치하면 뇌경색의 크기가 작아지나 4.5시간 혹은 6시간째 투여하는 지연된 tPA 처치로는 뇌경색의 크기가 줄어들지 않는 것을 확인할 수 있었다.

[138] 부종 부피를 측정한 결과를 도 3D에 나타내었다. 도 3D를 참조하면, 색전성 허혈 후 3시간째 tPA를 처치하면 통계적 유의성은 없으나 부종 부피를 억제하는 경향을 보임을 확인할 수 있다. 그러나, 4.5시간 혹은 6시간째 투여하는 지연된 tPA 처치로는 부종 부피를 억제할 수 없음을 확인할 수 있었다.

[139] 신경학적 결손 정도를 확인하여 도 3E에 나타내었으며, 도 3E를 참조하면 색전성 허혈 후 3시간째에 tPA 처치는 신경행동학적 기능을 개선시킴을 확인할 수 있었지만, 4.5시간 및 6시간째에 tPA를 투여한 경우에는 신경행동학적 기능에 대한 개선 효과가 관찰되지 않았다.

[140] 시간 경과에 따른 사망률을 확인하여 하기 표 1 및 도 3B에 나타내었으며, 표 1 및 도 3B를 참조하면 지연된(색전성 허혈 후 4.5시간 혹은 6시간째) tPA의 처치는 사망률을 크게 증가시키는 것을 확인할 수 있다.

[141]

[142] [표1]

	비히클	tPA 3h	tPA 4.5h	tPA 6h
실험동물수	35	15	14	22
사망률(%)	5.714	0.000	28.571	45.455
사망한 동물수	2	0	4	10

[143]

[144] 실험 과정에서 사망한 동물을 제외하고 살아 남은 래트의 출혈 부피를

측정하여 도 3F에 나타내었으며, 도 3F를 참조하면 색전성 허혈 후 3시간째 tPA를 처치하면 출혈 부피에 영향을 주지 않지만 4.5시간 혹은 6시간째 투여하는 지연된 tPA 처치에 의하여 뇌출혈이 크게 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

[145]

[146] 실시에 3: 색전성 허혈 후 3시간째에 LMT-356과 tPA의 병용투여에 따른 효과

[147] 자가혈액의 색전을 사용하여 중대뇌동맥 폐색에 의해 유도된 색전성 뇌졸중을 유도하였다. 중대뇌동맥 폐색 이후 3시간째에 래트를 각각 LMT356 (3h, i.v. bolus), 재조합 tPA (3h, i.v. infusion), 및 LMT356 (3h, i.v. bolus) + 재조합 tPA (3h, i.v. infusion)로 처리하고, 중대뇌동맥 폐색 24시간 이후 뇌조직 관찰 결과, 사망률, 전체 뇌경색 부피, 부종 부피, 신경학적 결손 정도, 및 출혈 (사망 동물로부터 수득한 값을 제외)의 변화를 확인하였다.

[148] 뇌조직 관찰 결과를 도 4A에 전체 뇌경색 부피 측정 결과를 도 4C에 나타내었다. 도 4A 및 도 4C를 참조하면 색전성 허혈 후 3시간째 tPA를 단독으로 투여하면 뇌경색의 크기가 작아지나 베르베논 유도체의 단독 투여는 뇌경색의 크기를 줄이는데 별다른 효과가 없음을 확인할 수 있었다. 색전성 허혈 후 3시간째 베르베논 유도체와 tPA를 동시 투여하는 경우 뇌경색의 크기가 줄어들었으나 tPA 단독투여시와 비교할 때 별다른 차이가 없었다

[149] 부종 부피를 측정하여 도 4D에 나타내었다. 도 4D를 참조하면 색전성 허혈 후 3시간째 tPA를 단독으로 처치하면 통계적 유의성은 없으나 부종 부피를 억제하는 경향을 보임을 확인할 수 있었다. 또한 색전성 허혈 후 3시간째 베르베논 유도체의 단독 투여는 부종 부피를 억제하는 효과를 나타내지 않았다. 색전성 허혈 후 3시간째 베르베논 유도체와 tPA를 동시 처치하는 경우 부종 부피를 억제하는 경향을 보임을 확인할 수 있었으나 tPA 단독투여시 보다 더 좋은 결과를 얻지는 못하였다.

[150] 신경학적 결손 정도를 확인하여 도 4E에 나타내었으며, 도 4E를 참조하면 색전성 허혈 후 3시간째 tPA를 단독으로 투여하면 신경행동학적 기능을 개선시킴을 확인할 수 있었다. 또한 색전성 허혈 후 3시간째 베르베논 유도체 단독 처치는 신경행동학적 기능을 회복할 수 없음을 확인할 수 있었다. 색전성 허혈 후 3시간째 베르베논 유도체와 tPA를 동시 처치하는 경우 신경행동학적 기능을 회복하긴 하였지만 tPA 단독투여시 보다 더 좋은 결과를 얻지는 못하였다.

[151] 시간 경과에 따른 사망률을 확인하여 하기 표 2 및 도 4B에 나타내었으며, 도 4B를 참조하면, 색전성 허혈 후 3시간째에 tPA를 단독 투여하면 사망률을 억제함을 확인할 수 있었다. 또한 색전성 허혈 후 3시간째 베르베논 유도체 단독 처치는 사망률에 별다른 영향을 미치지 않음을 확인할 수 있었다. 색전성 허혈 후 3시간째 베르베논 유도체와 tPA를 동시 처치하는 경우 사망률을 억제함을 확인할 수 있었으나 tPA 단독투여시 보다 더 좋은 결과를 얻지는 못하였다.

[152]

[153] [표2]

	비히클	LMT356 3h	tPA 3h	LMT356 3h+ tPA 3h
실험동물수	27	17	15	13
사망률(%)	7.407	11.765	0.000	0.000
사망한 동물수	2	2	0	0

[154]

[155] 사망한 동물을 제외한 동물의 출혈 부피를 측정하여 도 4F에 나타내었으며, 도 4F를 참조하면, 색전성 허혈 후 3시간째 tPA를 단독으로 처치하면 뇌출혈 부피에 영향을 주지 않음을 확인할 수 있었다. 또한 색전성 허혈 후 3시간째에 베르베논 유도체의 단독 처치는 뇌출혈 부피에 영향을 주지 않음을 확인할 수 있었다. 색전성 허혈 후 3시간째 베르베논 유도체와 tPA를 동시 처치하는 6경우에도 뇌출혈 부피에 영향을 주지 않음을 확인할 수 있었다

[156]

[157] 실시에 4: LMT-356으로 전처치한후 tPA를 투여한 경우와 LMT-356과 tPA를 동시에 투여한 경우의 효과 비교 (1)

[158] 실시예 3과 동일한 방법으로 중대뇌동맥 폐색 이후 래트를 각각 LMT356 (3h, i.v. bolus), LMT356 (4.5h, i.v. bolus), 재조합 tPA (4.5h, i.v. infusion), LMT356 (3h, i.v. bolus) + 재조합 tPA (4.5h, i.v. infusion), 및 LMT356 (4.5h, i.v. bolus) + 재조합 tPA (4.5h, i.v. infusion)로 처리하고, 중대뇌동맥 폐색 24시간 이후 뇌조직 관찰 결과, 사망률, 전체 뇌경색 부피, 부종 부피, 신경학적 결손 정도, 출혈 (사망 동물로부터 수득한 값을 제외), 및 뇌혈류의 변화를 확인하였다.

[159] 뇌조직 관찰 결과를 도 5A에 전체 뇌경색 부피 측정 결과를 도 5C에 나타내었다. 도 5A 및 도 5C를 참조하면 색전성 허혈 후 4.5시간째 tPA를 단독 처치하면 뇌경색의 크기가 작아지지 않았다. 마찬가지로, 색전성 허혈 후 3시간 혹은 4.5시간째 베르베논 유도체를 단독 투여하는 경우에는 뇌경색의 크기를 줄이지 않는 것을 확인할 수 있었다. 그러나, 색전성 허혈 후 3시간 혹은 4.5시간째 베르베논 유도체를 투여하고 4.5시간째 tPA를 처치하는 경우 뇌경색의 크기가 줄어들음을 확인할 수 있었다.

[160] 부종 부피를 측정하여 도 5D에 나타내었다. 도 5D를 참조하면 색전성 허혈 후 4.5시간째 tPA를 단독 처치한 경우 부종 부피 감소효과가 나타나지 않았다. 마찬가지로, 색전성 허혈 후 3시간 혹은 4.5시간째 베르베논 유도체를 단독 투여하는 경우에는 부종 부피가 감소되지 않았다. 그러나 색전성 허혈 후 3시간 혹은 4.5시간째 베르베논 유도체를 투여하고 4.5시간째 tPA를 처치하는 경우 부종 부피가 줄어들음을 확인할 수 있었다.

[161] 시간 경과에 따른 사망률을 확인하여 하기 표 3 및 도 5B에 나타내었으며, 표 3 및 도 5B를 참조하면, 색전성 허혈 후 3시간 혹은 4.5시간째 베르베논 유도체를 투여하면 사망률에 변화가 없었던 반면, 색전성 허혈 후 4.5시간째에 tPA를 단독 처치하면 사망률이 크게 상승하였다. 그런데, 색전성 허혈 후 3시간째 베르베논

유도체를 먼저 투여하고 4.5시간째 tPA를 처치하는 경우 색전성 허혈 후 4.5시간째에 tPA만을 단독 투여한 경우에 비해 사망률이 크게 감소하는 것으로 확인되었다. 그러나, 색전성 허혈 후 4.5시간째 베르베논 유도체와 tPA를 동시 처치하는 경우는 4.5시간째에 tPA만을 단독 투여한 경우에 비해 사망률이 그다지 감소하지 않았다. 이에 비추어 볼 때, 색전성 허혈 후 3시간째(즉, tPA 처치 1.5시간 전)에 베르베논 유도체를 먼저 투여하고 4.5시간째에 tPA를 처치하는 것이, 색전성 허혈 후 4.5시간째에 베르베논 유도체와 tPA를 동시에 투여하는 것보다 사망률을 낮추는데 훨씬 더 효과적임을 알 수 있다. 즉, tPA보다 베르베논 유도체를 전처치하는 것이 사망률 감소에 효과가 좋다고 할 수 있다.

[162]

[163] [표3]

	비히클	LMT356 3h	LMT356 4.5h	tPA 4.5h	LMT356 3h+ tPA 4.5h	LMT356 4.5h+ tPA 4.5h
실험동물수	39	17	18	14	13	13
사망률(%)	7.692	11.765	11.111	28.571	7.692	23.077
사망한 동물수	3	2	2	4	1	3

[164]

[165] 신경학적 결손 정도를 확인하여 도 5E에 나타내었으며, 도 5E를 참조하면 색전성 허혈 후 4.5시간째 tPA를 단독 처치하면 신경행동학적 기능을 회복시키지 않음을 확인할 수 있었다. 마찬가지로, 색전성 허혈 후 3시간 혹은 4.5시간째 베르베논 유도체를 단독 투여하는 경우에는 신경행동학적 기능을 회복시키지 않음을 확인할 수 있었다. 그러나, 색전성 허혈 후 3시간 혹은 4.5시간째 베르베논 유도체를 투여하고 4.5시간째 tPA를 처치하는 경우 신경행동학적 기능을 회복시켰다.

[166] 출혈 부피를 측정하여 도 5F에 나타내었으며, 도 5F를 살펴보면, 색전성 허혈 후 4.5시간째 tPA를 처치하면 뇌출혈 부피에 영향을 주지 않음을 확인할 수 있었다. 또한, 색전성 허혈 후 3시간 혹은 4.5시간째 베르베논 유도체 처치는 뇌출혈 부피에 별다른 영향을 주지 않음을 확인할 수 있었다. tPA 처치 1.5시간 전에 베르베논 유도체를 전처치하거나 동시 처치하는 경우 tPA 처치 후 관찰되는 뇌출혈의 부피에 영향을 주지 않음을 확인할 수 있었다

[167] 상대적 CBF (%)를 측정하여, 그 결과를 도 5G에 도시하였으며, 도 5G를 살펴보면, 색전성 허혈 후 3시간째 tPA 처치는 혈전에 의한 혈류의 차단을 막아 혈류 흐름을 회복시키는데 반해, 색전성 허혈 후 3시간째에 베르베논 유도체를 단독으로 투여한 경우에는 혈류 흐름에 전혀 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. 또한, 색전성 허혈 후 3시간째에 베르베논 유도체를 먼저 투여하고 나서 4.5시간째에 tPA를 처치하는 경우는 색전성 허혈 후 4.5시간째에 tPA를 단독 투여한 경우와 혈류 흐름에 큰 차이가 없으므로, 베르베논 유도체는 혈류의

흐름을 개선시키는 효과가 없는 것으로 보인다.

[168]

[169] 실시에 5: LMT-356으로 전처치한 후 tPA를 투여한 경우와 LMT-356과 tPA를 동시에 투여한 경우의 효과 비교 (2)

[170] 실시예 3에서와 동일한 방법으로 중대뇌동맥 폐색 이후 래트를 각각 LMT356 (3h, i.v. bolus), LMT356 (4.5h, i.v. bolus), 재조합 tPA (6h, i.v. infusion), LMT356 (3h, i.v. bolus) + 재조합 tPA (6h, i.v. infusion), LMT356 (4.5h, i.v. bolus) + 재조합 tPA (6h, i.v. infusion), LMT356 (5.15h, i.v. bolus) + 재조합 tPA (6h, i.v. infusion), 및 LMT356 (6h, i.v. bolus) + 재조합 tPA (6h, i.v. infusion)로 처리하고, 중대뇌동맥 폐색 24시간 이후 뇌조직 관찰 결과, 사망률, 전체 뇌경색 부피, 부종 부피, 신경학적 결손 정도, 출혈 (사망 동물로부터 수득한 값을 제외), 및 뇌혈류의 변화를 확인하였다.

[171] 뇌조직 관찰 결과를 도 6A에 전체 뇌경색 부피 측정 결과를 도 6C에 나타내었으며, 도 6A 및 도 6C를 살펴보면 색전성 허혈 후 6시간째 tPA를 단독 처치하면 뇌경색의 크기가 작아지지 않았다. 마찬가지로, 색전성 허혈 후 3시간 혹은 4.5시간째 베르베논 유도체를 단독 투여하는 경우에도 뇌경색의 크기를 그다지 줄어들이지 않는 것을 확인할 수 있었다. 그러나, 색전성 허혈 후 3시간 혹은 4.5시간째 베르베논 유도체를 투여하고 6시간째 tPA를 처치하는 경우 뇌경색의 크기가 줄어들음을 확인할 수 있었다. 색전성 허혈 후 5.15시간째 베르베논 유도체를 투여하거나 tPA와 동시에 투여하는 경우에는 tPA 처치 후 관찰되는 뇌출혈의 부피에 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

[172] 부종 부피를 측정하여 도 6D에 나타내었다. 도 6D를 참조하면 색전성 허혈 후 6시간째 tPA를 단독 처치해도 부종 부피가 감소하지 않음을 확인할 수 있었다. 마찬가지로, 색전성 허혈 후 3시간 혹은 4.5시간째 베르베논 유도체를 단독 투여하는 경우에는 부종 부피가 줄어들지 않는 것으로 나타났다. 그러나, 색전성 허혈 후 3시간째 베르베논 유도체를 투여하고 6시간째 tPA를 처치하는 경우 부종 부피가 많이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 색전성 허혈 후 4.5시간 혹은 5.15시간째에 베르베논 유도체를 먼저 투여하고 6시간째 tPA를 투여하거나, 색전성 허혈 후 6시간째에 베르베논 유도체를 tPA와 동시에 투여하는 경우에는 뇌출혈의 부피에 대한 영향이 그다지 크지 않음을 알 수 있었다.

[173] 시간 경과에 따른 사망률을 확인하여 하기 표 4 및 도 6B에 나타내었으며, 표 4 및 도 6B를 살펴보면, 색전성 허혈 후 3시간 혹은 4.5시간째에 베르베논 유도체를 투여하면 사망률에 변화가 없었다. 그러나, 색전성 허혈 후 6시간째 tPA를 단독 처치하면 사망률이 크게 상승하였다. 색전성 허혈 후 3시간, 4.5시간 혹은 5.15시간째에 베르베논 유도체를 먼저 투여하고 6시간째 tPA를 투여하거나, 색전성 허혈 후 6시간째에 베르베논 유도체를 tPA와 동시에 투여하는 경우 사망률이 6시간째 tPA를 단독 처치하는 경우에 비해 많이 낮아짐을 확인할 수 있었다.

[174]

[175] [표4]

	비히클	LMT35 6 3h	LMT35 6 4.5h	tPA 6h	LMT356 3h+ tPA 6h	LMT356 4.5h+ tPA 6h
실험동물수	39	17	20	14	13	13
사망률(%)	7.692	11.765	10.000	28.571	7.692	23.077
사망한 동물수	3	2	2	4	1	3

[176]

[177] 신경학적 결손 정도를 확인하여 도 6E에 나타내었으며, 도 6E를 살펴보면 색전성 허혈 후 6시간째 tPA를 단독 처치하면 신경행동학적 기능을 회복시키지 못함을 확인할 수 있었다. 마찬가지로, 색전성 허혈 후 3시간 혹은 4.5시간째 베르베논 유도체를 단독 투여하는 경우에는 신경행동학적 기능을 회복시키지 않음을 확인할 수 있었다. 그러나, 색전성 허혈 후 3시간, 4.5시간 혹은 5.15시간째에 베르베논 유도체를 먼저 투여하고 6시간째에 tPA를 처치하는 경우 신경행동학적 기능을 많이 개선시켰다. 색전성 허혈 후 6시간째에 베르베논 유도체와 tPA를 동시에 투여하는 경우에도 색전성 허혈 후 6시간째에 tPA를 단독 투여하는 경우에 비해 신경학적 결손 정도이 적게 일어남을 확인하였다.

[178] 출혈 부피를 측정하여 도 6F에 나타내었으며, 도 6F를 살펴보면, 색전성 허혈 후 6시간째 tPA를 처치하면 뇌출혈 부피가 크게 증가됨을 확인할 수 있었다. 그러나, 색전성 허혈 후 3시간 혹은 4.5시간째에 베르베논 유도체를 투여한 경우에는 뇌출혈 부피에 영향을 주지 않음을 확인할 수 있었다. tPA를 투여하기 45분 전, 1.5시간 전 혹은 3시간 전에 베르베논 유도체로 먼저 전처리하고 색전성 허혈 후 6시간째에 tPA를 투여한 경우에는, 색전성 허혈 후 6시간째 tPA를 단독 투여한 경우와 비교해 볼때, 뇌출혈의 부피가 증가가 거의 일어나지 않았다. 이러한 실험 결과는 베르베논 유도체로 미리 전처리를 하고 tPA를 투여하는 것이 뇌출혈을 예방하는데 효과적임을 시사한다. 한편, 색전성 허혈 후 6시간째에 베르베논 유도체와 tPA를 동시에 투여한 경우에는 색전성 허혈 후 6시간째 tPA를 단독 투여한 경우에 비해, 출혈부피가 감소되지 않음을 확인하였다.

[179] 상대적 CBF (%)를 측정하여, 그 결과를 도 6G에 도시하였으며, 도 6G를 살펴보면, 색전성 허혈 후 3시간째 tPA 처치는 혈전에 의한 혈류의 차단을 막아 혈류 흐름을 회복시키는데 반해, 색전성 허혈 후 3시간째에 베르베논 유도체를 단독으로 투여한 경우에는 혈류 흐름에 전혀 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. 또한, 색전성 허혈 후 3시간째에 베르베논 유도체를 먼저 투여하고 나서

6시간째에 tPA를 처치하는 경우는 색전성 허혈 후 6시간째에 tPA를 단독 투여한 경우와 혈류 흐름에 큰 차이가 없으므로, 베르베논 유도체는 혈류의 흐름을 개선시키는 효과가 없는 것으로 보인다.

[180]

[181] 실시에 6: tPA 투여 전 및 후에 LMT-356를 2번 투여한 경우의 효과

[182] 실시예 3에서와 동일한 방법으로 중대뇌동맥 폐색 이후 래트를 각각 LMT356 (4.5h 및 7.5h에 2회 투여, i.v. bolus), 재조합 tPA (6h, i.v. infusion), LMT356 (4.5h 및 7.5h에 2회 투여, i.v. bolus) + 재조합 tPA (6h, i.v. infusion)로 처리하고, 중대뇌동맥 폐색 24시간 이후 사망률, 전체 뇌경색 부피, 부종 부피 및 신경학적 결손 정도의 변화를 확인하였다.

[183] 시간 경과에 따른 사망률을 확인하여 하기 표 5 및 도 7A에 나타내었으며, 표 5 및 도 7A를 살펴보면, 색전성 허혈 후 6시간째에 tPA를 단독 처치하면 사망률이 크게 상승하였다. 반면에 색전성 허혈 후 4.5시간째에 베르베논 유도체를 투여하고, 6시간째 tPA를 처치한 후 7.5시간째에 베르베논 유도체를 한번 더 투여한 경우 사망률을 크게 낮출 수 있음을 확인하였다.

[184]

[185] [표5]

	비히클	LMT356 4.5h/7.5h	tPA 6h	LMT356 4.5h/7.5h+ tPA 6h
실험동물수	3	7	3	7
사망률(%)	0.000	14.286	66.667	14.286
사망한동물수	0	1	2	1

[186]

[187] 전체 뇌경색 부피를 측정한 결과를 도 7B에 나타내었다. 도 7B로부터 확인할 수 있는 바와 같이, 색전성 허혈 후 6시간째 tPA를 단독 처치하면 뇌경색의 크기가 작아지지 않았다. 마찬가지로, 색전성 허혈 후 4.5시간 및 7.5시간째 베르베논 유도체를 단독 투여한 경우나 색전성 허혈 후 4.5시간 및 7.5시간째에 베르베논 유도체를 투여하고 6시간째 tPA를 처치하는 경우에도 뇌경색의 크기에는 유의적인 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

[188] 부종 부피를 측정한 결과를 도 7C에 나타내었다. 도 7C를 살펴보면 색전성 허혈 후 6시간째 tPA를 단독 처치하면 부종 부피를 억제할 수 없음을 확인할 수 있다. 색전성 허혈 후 4.5시간 및 7.5시간째 베르베논 유도체를 단독 투여한 경우나, 색전성 허혈 후 4.5시간 및 7.5시간째 베르베논 유도체를 투여하고 6시간째 tPA를 처치하는 경우에도 부종 부피를 억제하지 못하였다.

[189] 신경학적 결손 정도를 평가한 결과를 도 7D에 나타내었으며, 도 7D로부터 색전성 허혈 후 6시간째 tPA를 단독 처치하면 신경행동학적 기능을 회복시키지 않음을 확인할 수 있다. 그러나, 색전성 허혈 후 4.5시간 및 7.5시간째 베르베논

유도체를 단독투여하거나, 색전성 허혈 후 4.5시간 및 7.5시간째 베르베논 유도체를 투여하고 6시간째 tPA를 처치하는 경우 신경행동학적 기능을 회복시키는 경향을 나타내었다.

[190] 본 발명이 속한 분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 상기 내용을 바탕으로 본 발명의 범주 내에서 다양한 응용 및 변형을 행하는 것이 가능할 것이다.

[191]

산업상 이용가능성

[192] 본 발명에 따른 베르베논 유도체와 재관류 치료제를 포함하는 조성물; (i) 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물, 및 (ii) 재관류 치료제를 포함하는 조성물을 포함하는, 병용제제; 또는 이들의 병용 투여를 포함하는 치료방법을 통해, 허혈에 의한 뇌경색 및 뇌부종을 줄이고, 뇌출혈과 사망률을 억제할 수 있다.

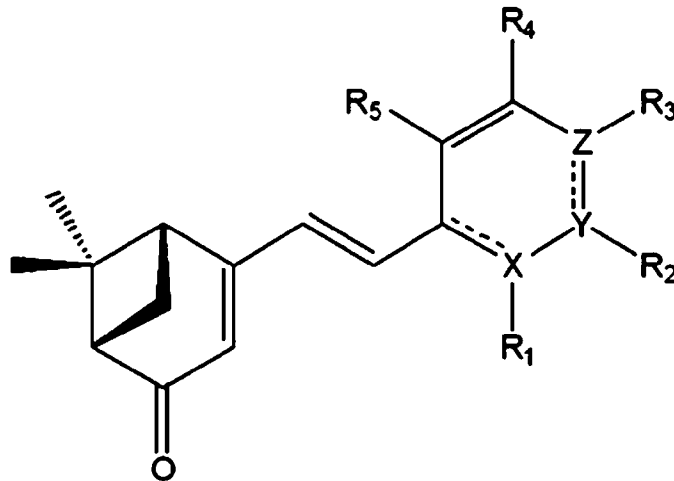
[193] MMP (matrix metalloproteinase, MMP2, MMP3 및 MMP9)는 재관류 치료제 예를 들어, tPA를 이용한 치료시 유발되는 부작용인 뇌출혈 및 사망률 증가와 유의하게 관련된 것으로 알려져 있는데, 베르베논 유도체와의 병용 투여를 통해, 증가된 플라스마 레벨의 MMP를 감소시킬 수 있고, 염증세포의 침투, 뇌혈관장벽 누수 (BBB leakage) 및 주변부에서 밀착결합 (tight junction) 단백질인 ZO-1의 분해를 억제함으로써, 재관류 치료제의 부작용에 의한 뇌출혈 및 사망률 증가를 현저하게 감소시킬 수 있다.

[194] 더욱이, 뇌질환 발병 후 적합한 시간 내 재관류 치료제, 예를 들어, tPA를 투여하지 못하고, 혈전용해술의 적용이 지연됨으로 인해 발생하는 부작용을 베르베논 유도체와 재관류 치료제의 병용 투여에 의해 현저히 낮출 수 있으므로, 허혈성 뇌질환에서 재관류 치료제, 예를 들어, tPA를 이용한 치료범위를 대폭 확장시킬 수 있다.

청구범위

- [청구항 1] (i) 하기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염; 및 (ii) 재관류 치료제(therapeutic agent for recanalization)를 포함하는, 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료 또는 예방용 조성물:

화학식 1



상기 식에서,

R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 또는 I로부터 선택된 할로젠 원자, 히드록시기, C_1 내지 C_3 저급알킬기, C_1 내지 C_3 저급알콕시기, 아미노기, C_1 내지 C_3 저급알킬아민기, C_1 내지 C_3 저급알킬디아민기, 탄소수 5 내지 8의 방향족환, 탄소수 5 내지 8의 지방족환, 및 고리원자수 5 내지 8의 헤테로방향족환으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환기이며,

X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 탄소원자 또는 N, O 또는 S원자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 이중원자이고,

(.....)은 이중결합 또는 단일결합을 의미한다.

- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 및 I로부터 선택된 할로젠 원자, 히드록시기, 메틸기, 에틸기, 메톡시기, 에톡시기, 아미노기, 탄소수 5 내지 6의 방향족환, 탄소수 5 내지 6의 지방족환, 고리원자수 5 내지 6의 헤테로방향족환으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 조성물.

- [청구항 3] 제2항에 있어서, 상기 R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 및 I로부터 선택된 할로젠 원자, 히드록시기, 메틸기, 메톡시기, 페닐기, 피롤기 및 피리딘기로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 조성물.

- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 C 또는 N인 것을

특징으로 하는 조성물.

[청구항 5] 제1항에 있어서,
 상기 베르베논 유도체는
 (1*S*,5*R*)-4-(4-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온(3a);
 (1*S*,5*R*)-4-(4-히드록시-2-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3b);
 (1*S*,5*R*)-4-(3,4-디히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3c);
 (1*S*,5*R*)-4-(3-브로모-4-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3d);
 (1*S*,5*R*)-4-(4-히드록시-2,6-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3e);
 (1*S*,5*R*)-4-(3,4-디히드록시-5-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온(3f);
 (1*S*,5*R*)-4-(3-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3g);
 (1*S*,5*R*)-4-(2-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3h);
 (1*S*,5*R*)-4-(2-히드록시-4-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3i);
 (1*S*,5*R*)-6,6-디메틸-4-스티릴비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4a);
 (1*S*,5*R*)-4-(4-플루오로스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4b);
 (1*S*,5*R*)-4-(4-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4c);
 (1*S*,5*R*)-4-(2-(비페닐-4-일)비닐)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4d);
 (1*S*,5*R*)-4-(4-(1*H*-피롤-1-일)스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4e);
 (1*S*,5*R*)-4-(3,4-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4f);
 (1*S*,5*R*)-4-(3,5-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4g);
 (1*S*,5*R*)-4-(2,5-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4h);
 (1*S*,5*R*)-4-(5-브로모-2-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4i);
 (1*S*,5*R*)-6,6-디메틸-4-((*E*)-2-(피리딘-2-일)비닐)비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-

-온 (5a);

(1*S*,5*R*)-6,6-디메틸-4-((*E*)-2-(피리딘-3-일)비닐)비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2

-온(5b); 및

(1*S*,5*R*)-6,6-디메틸-4-((*E*)-2-(피리딘-4-일)비닐)비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2

-온(5c)으로부터 선택된 것을 특징으로 하는 조성물.

[청구항 6] 제1항에 있어서, 상기 재관류 치료제는 혈전용해제, 항응고제제 및 항혈소판 제제로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 조성물.

[청구항 7] 제6항에 있어서, 상기 혈전용해제는 플라스미노겐 활성화제 (plasminogen activator)인 것을 특징으로 하는 조성물.

[청구항 8] 제7항에 있어서, 상기 플라스미노겐 활성화제는 SK (Streptokinase), tPA (Alteplase), rPA (Retepase), TNK (Tenecteplase) 또는 APSAC (anisoylated plasminogen streptokinase activator complex)인 것을 특징으로 하는 조성물.

[청구항 9] 제6항에 있어서, 상기 항응고제제는 아스피린, 와르파린, 엔옥사파린, 헤파린, 실로스타졸, 클로피도그렐, 티클로피딘, 티로피반, 아브식시맵, 디피리다몰, 혈장 단백질 분획, 인간 알부민, 텍스트란, 헤타스타치, 레테플라즈, 알테플라즈, 스트렙토키나제, 우로키나제, 달테파린, 필그라스틴, 면역글로블린, 진코리드 B, 히루딘, 포로파판트, 로세파판트, 비발리루딘, 데르마탄 설페이트 메디올라넘, 에프틸리바티드, 티로피반, 트롬보모듈린, 아브스맵, 저분자량 데르마탄 설페이트-오포크린, 에프타코그 알파, 아르가트로반, 폰다파리넥스 나트륨, 티파코진, 레피루딘, 데시루딘, OP2000, 록시피반, 파르나파린 나트륨, 인간 헤모글로빈(Hemosol), 소 헤모글로빈(Biopure), 인간 헤모글로빈(Northfield), 항트롬빈 III, RSR 13, 헤파린-경구(Emisphere) 유전자도입 항트롬빈 III, H37695, 엔옥사파린 나트륨, 메소글리칸, CTC 111, 비발리루딘 또는 이들의 유도체인 것을 특징으로 하는 조성물.

[청구항 10] 제6항에 있어서, 상기 항혈소판 제제는 설핀피라존, 티클로피딘, 클로피도그렐, 프라수그렐, R-99224, R-1381727, R-125690, C-1330-7, C-50547, INS-48821, INS-48824, INS-446056, INS-46060, INS-49162, INS-49266, INS-50589, Sch-572423, AZD6140, 아세노코우마를, 클로린디온, 디쿠마를, 디페나디온, 에틸 비스코움아세테이트, 펜프로코우몬, 페닌디온, 티오클로마를, 와프파린, 헤파린, 항트롬빈 III, 베미파린 (Bemiparin), 달테파린 (Dalteparin), 다나파로이드 (Danaparoid), 에녹사파린 (Enoxaparin), 폰다파리녹스 (Fondaparinux) (피하), 나드로파린 (Nadroparin), 파르나파린 (Parnaparin), 레비파린 (Reviparin), 솔로덱시드 (Sulodexide), 틴자파린 (Tinzaparin), 압식시마브 (abciximab), 엠티피바티드 (eptifibatide), 티로피반 (tirofiban), 알테플라제 (Alteplase), 안크로드 (Ancrod), 아니스트레플라제 (Anistreplase), 브리나제 (Brinase),

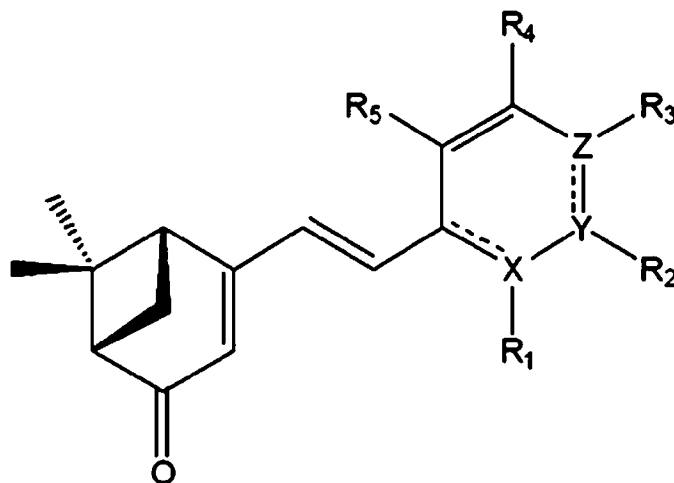
드로트레코긴 알파 (Drotrecogin alfa), 피브리노리신 (Fibrinolysin), 단백질 C, 레테플라제 (Retepase), 사루플라제 (Saruplase), 스트렙토키나제 (Streptokinase), 테넥테플라제 (Tenecteplase) 또는 유로키나제 (Urokinase)인 것을 특징으로 하는 조성물.

[청구항 11] 제1항에 있어서, 상기 뇌혈관 질환은 뇌졸중, 치매, 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환, 또는 헌팅턴 질환인 것을 특징으로 하는 조성물.

[청구항 12] 제1항에 있어서,
상기 (i) 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 (ii) 재관류 치료제는 0.02:1~10:1의 중량비로 포함되는 것을 특징으로 하는 조성물.

[청구항 13] (i) 하기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물, 및 (ii) 재관류 치료제를 포함하는 조성물을 포함하는, 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료 또는 예방용 병용제제:

화학식 1



상기 식에서,

R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 또는 I로부터 선택된 할로젠 원자, 히드록시기, C_1 내지 C_3 저급알킬기, C_1 내지 C_3 저급알콕시기, 아미노기, C_1 내지 C_3 저급알킬아민기, C_1 내지 C_3 저급알킬디아민기, 탄소수 5 내지 8의 방향족환, 탄소수 5 내지 8의 지방족환, 및 고리원자수 5 내지 8의 헤테로방향족환으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환기이며,

X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 탄소원자 또는 N, O 또는 S원자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 이종원자이고,

()은 이중결합 또는 단일결합을 의미한다.

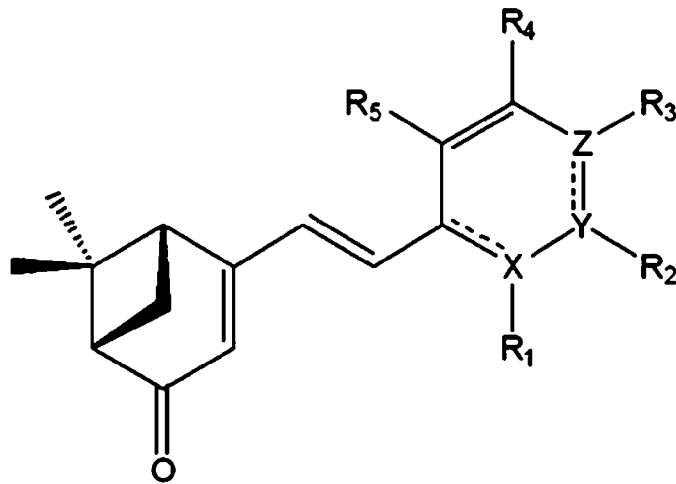
[청구항 14] 제13항에 있어서, 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용

- 가능한 염을 포함하는 조성물은 제관류 치료제를 포함하는 조성물을 투여하기 전에, 동시에 또는 후에 투여되는 것을 특징으로 하는 병용제제.
- [청구항 15] 제14항에 있어서, 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물은 제관류 치료제를 포함하는 조성물을 투여하기 전에 투여되는 것을 특징으로 하는 병용제제.
- [청구항 16] 제15항에 있어서, 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물은 제관류 치료제를 포함하는 조성물을 투여하기 1.5~3 시간 전 에 투여되는 것을 특징으로 하는 병용제제.
- [청구항 17] 제13항에 있어서, 상기 R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 및 I로부터 선택된 할로겐 원자, 히드록시기, 메틸기, 에틸기, 메톡시기, 에톡시기, 아미노기, 탄소수 5 내지 6의 방향족환, 탄소수 5 내지 6의 지방족환, 고리원자수 5 내지 6의 헤테로방향족환으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 18] 제17항에 있어서, 상기 R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 및 I로부터 선택된 할로겐 원자, 히드록시기, 메틸기, 메톡시기, 페닐기, 피롤기 및 피리딘기로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 19] 제13항에 있어서, 상기 X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 C 또는 N인 것을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 20] 제13항에 있어서,
상기 베르베논 유도체는
(1*S*,5*R*)-4-(4-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온(3a);
(1*S*,5*R*)-4-(4-히드록시-2-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3b);
(1*S*,5*R*)-4-(3,4-디히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3c);
(1*S*,5*R*)-4-(3-브로모-4-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3d);
(1*S*,5*R*)-4-(4-히드록시-2,6-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3e);
(1*S*,5*R*)-4-(3,4-디히드록시-5-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온(3f);
(1*S*,5*R*)-4-(3-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3g);
(1*S*,5*R*)-4-(2-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3h);
(1*S*,5*R*)-4-(2-히드록시-4-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-

엔-2-온 (3i);
 (1S,5R)-6,6-디메틸-4-스티릴비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4a);
 (1S,5R)-4-(4-플루오로스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4b);
 (1S,5R)-4-(4-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4c);
 (1S,5R)-4-(2-(비페닐-4-일)비닐)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4d);
 (1S,5R)-4-(4-(1H-피롤-1-일)스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4e);
 (1S,5R)-4-(3,4-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4f);
 (1S,5R)-4-(3,5-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4g);
 (1S,5R)-4-(2,5-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4h);
 (1S,5R)-4-(5-브로모-2-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4i);
 (1S,5R)-6,6-디메틸-4-((E)-2-(피리딘-2-일)비닐)비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (5a);
 (1S,5R)-6,6-디메틸-4-((E)-2-(피리딘-3-일)비닐)비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (5b); 및
 (1S,5R)-6,6-디메틸-4-((E)-2-(피리딘-4-일)비닐)비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (5c)으로부터 선택된 것을 특징으로 하는 병용제제.

- [청구항 21] 제13항에 있어서, 상기 재관류 치료제는 혈전용해제, 항응고제제 및 항혈소판 제제로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 22] 제21항에 있어서, 상기 혈전용해제는 플라스미노겐 활성화제 (plasminogen activator)인 것을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 23] 제22항에 있어서, 상기 플라스미노겐 활성화제는 SK (Streptokinase), tPA (Alteplase), rPA (Reteplase), TNK (Tenecteplase) 또는 APSAC (anisoylated plasminogen streptokinase activator complex)인 것을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 24] 제21항에 있어서, 상기 항응고제제는 아스피린, 와르파린, 엔옥사파린, 헤파린, 실로스타졸, 클로피도그렐, 티클로피딘, 티로피반, 아브식시맵, 디피리다몰, 혈장 단백질 분획, 인간 알부민, 텍스트란, 헤타스타치, 레테플라즈, 알테플라즈, 스트렙토키나제, 우로키나제, 달테파린, 필그라스틴, 면역글로블린, 진코리드 B, 히루딘, 포로파판트, 로세파판트, 비발리루딘, 데르마탄 설페이트 메디올라넘, 에프틸리바티드, 티로피반, 트롬보모듈린, 아브스맵, 저분자량 데르마탄 설페이트-오포크린,

- 에프타코그 알파, 아르가트로반, 폰다파리넥스 나트륨, 티파코진, 레피루딘, 데시루딘, OP2000, 록시피반, 파르나파린 나트륨, 인간 헤모글로빈(Hemosol), 소 헤모글로빈(Biopure), 인간 헤모글로빈(Northfield), 항트롬빈 III, RSR 13, 헤파린-경구(Emisphere) 유전자도입 항트롬빈 III, H37695, 엔옥사파린 나트륨, 메소글리칸, CTC 111, 비발리루딘 또는 이들의 유도체인 것을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 25] 제21항에 있어서, 상기 항혈소판 제제는 설핀피라존, 티클로피딘, 클로피도그렐, 프라수그렐, R-99224, R-1381727, R-125690, C-1330-7, C-50547, INS-48821, INS-48824, INS-446056, INS-46060, INS-49162, INS-49266, INS-50589, Sch-572423, AZD6140, 아세노코우마롤, 클로린디온, 디쿠마롤, 디페나디온, 에틸 비스코움아세테이트, 펜프로코우몬, 페닌디온, 티오클로마롤, 와프파린, 헤파린, 항트롬빈 III, 베미파린 (Bemiparin), 달테파린 (Dalteparin), 다나파로이드 (Danaparoid), 에녹사파린 (Enoxaparin), 폰다파리넥스 (Fondaparinux) (피하), 나드로파린 (Nadroparin), 파르나파린 (Parnaparin), 레비파린 (Reviparin), 솔로덱시드 (Sulodexide), 틴자파린 (Tinzaparin), 압식시마브 (abciximab), 엡티피바티드 (eptifibatide), 티로피반 (tirofiban), 알테플라제 (Alteplase), 안크로드 (Ancrod), 아니스트레플라제 (Anistreplase), 브리나제 (Brinase), 드로트레코긴 알파 (Drotrecogin alfa), 피브리노리신 (Fibrinolysin), 단백질 C, 레테플라제 (Reteplase), 사루플라제 (Saruplase), 스트렙토키나제 (Streptokinase), 테넥테플라제 (Tenecteplase) 또는 유로키나제 (Urokinase)인 것을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 26] 제13항에 있어서, 상기 뇌혈관 질환은 뇌졸중, 치매, 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환, 또는 헌팅턴 질환인 것을 특징으로 하는 병용제제.
- [청구항 27] 하기 화학식 I의 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 제관류 치료제를 포함하는 조성물을 환자에 투여하는 단계를 포함하는, 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료 방법:
- 화학식 1



상기 식에서,

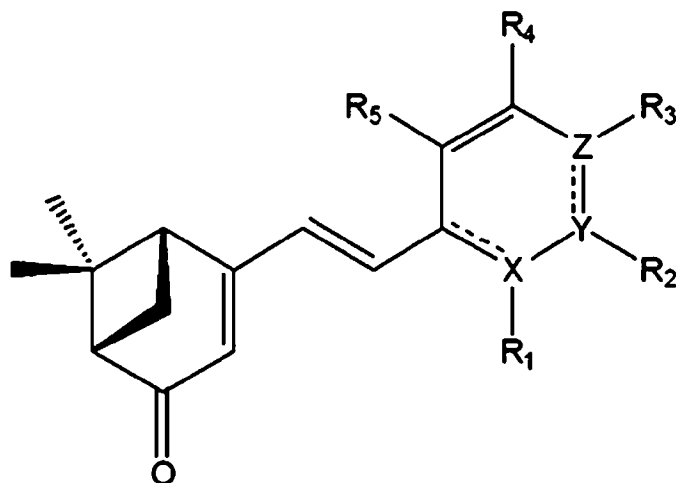
R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 또는 I로부터 선택된 할로젠 원자, 히드록시기, C_1 내지 C_3 저급알킬기, C_1 내지 C_3 저급알콕시기, 아미노기, C_1 내지 C_3 저급알킬아민기, C_1 내지 C_3 저급알킬디아민기, 탄소수 5 내지 8의 방향족환, 탄소수 5 내지 8의 지방족환, 및 고리원자수 5 내지 8의 헤테로방향족환으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환기이며,

X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 탄소원자 또는 N, O 또는 S원자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 이종원자이고,

($\cdots$)은 이중결합 또는 단일결합을 의미한다.

[청구항 28] 하기 화학식 I의 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물을 환자에 투여하는 단계, 및 재관류 치료제를 포함하는 조성물을 환자에 투여하는 단계를 포함하는, 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료방법:

화학식 1



상기 식에서,

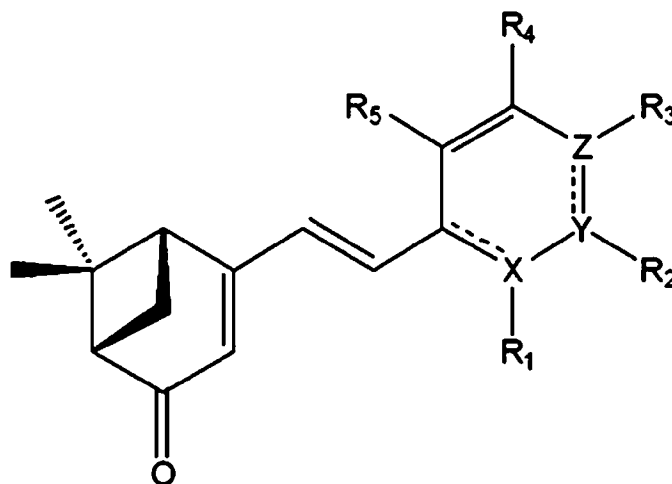
R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 또는 I로부터 선택된 할로젠 원자, 히드록시기, C_1 내지 C_3 저급알킬기, C_1 내지 C_3 저급알콕시기, 아미노기, C_1 내지 C_3 저급알킬아민기, C_1 내지 C_3 저급알킬디아민기, 탄소수 5 내지 8의 방향족환, 탄소수 5 내지 8의 지방족환, 및 고리원자수 5 내지 8의 헤테로방향족환으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환기이며,

X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 탄소원자 또는 N, O 또는 S 원자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 이종원자이고,

()은 이중결합 또는 단일결합을 의미한다.

- [청구항 29] (i) 하기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 (ii) 재관류 치료제를 포함하는 조성물의 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료 또는 예방 용도:

화학식 1



상기 식에서,

R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 또는 I로부터 선택된 할로젠 원자, 히드록시기, C_1 내지 C_3 저급알킬기, C_1 내지 C_3 저급알콕시기, 아미노기, C_1 내지 C_3 저급알킬아민기, C_1 내지 C_3 저급알킬디아민기, 탄소수 5 내지 8의 방향족환, 탄소수 5 내지 8의 지방족환, 및 고리원자수 5 내지 8의 헤테로방향족환으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환기이며,

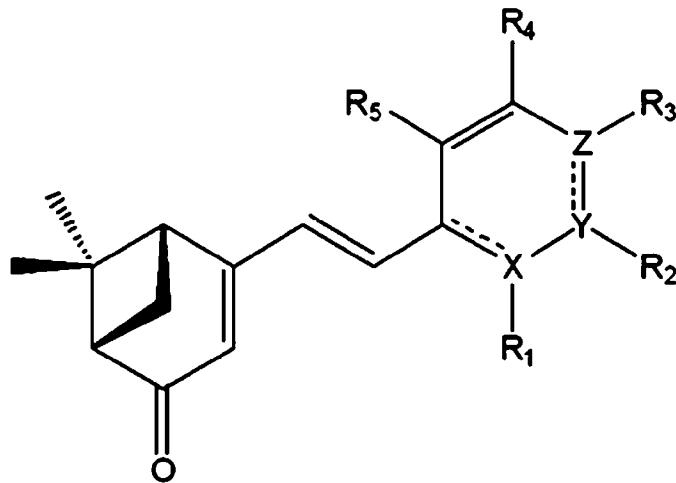
X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 탄소원자 또는 N, O 또는 S 원자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 이종원자이고,

()은 이중결합 또는 단일결합을 의미한다.

- [청구항 30] (i) 하기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물, 및 (ii) 재관류 치료제를 포함하는

조성물을 포함하는 병용제제의 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료 또는 예방 용도:

화학식 1



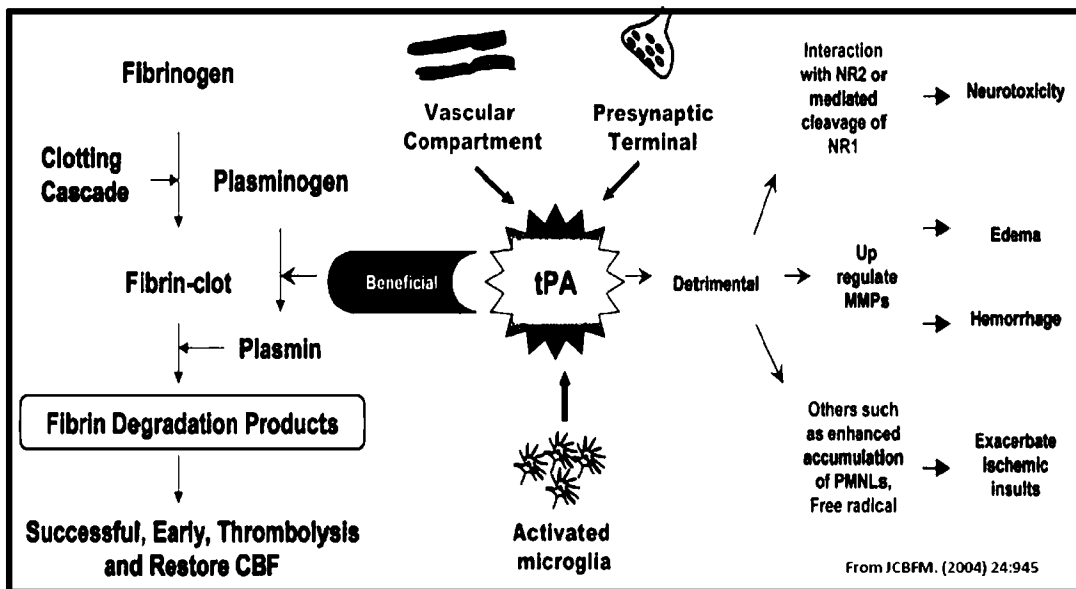
상기 식에서,

R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 또는 I로부터 선택된 할로젠 원자, 히드록시기, C_1 내지 C_3 저급알킬기, C_1 내지 C_3 저급알콕시기, 아미노기, C_1 내지 C_3 저급알킬아민기, C_1 내지 C_3 저급알킬디아민기, 탄소수 5 내지 8의 방향족환, 탄소수 5 내지 8의 지방족환, 및 고리원자수 5 내지 8의 헤테로방향족환으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환기이며,

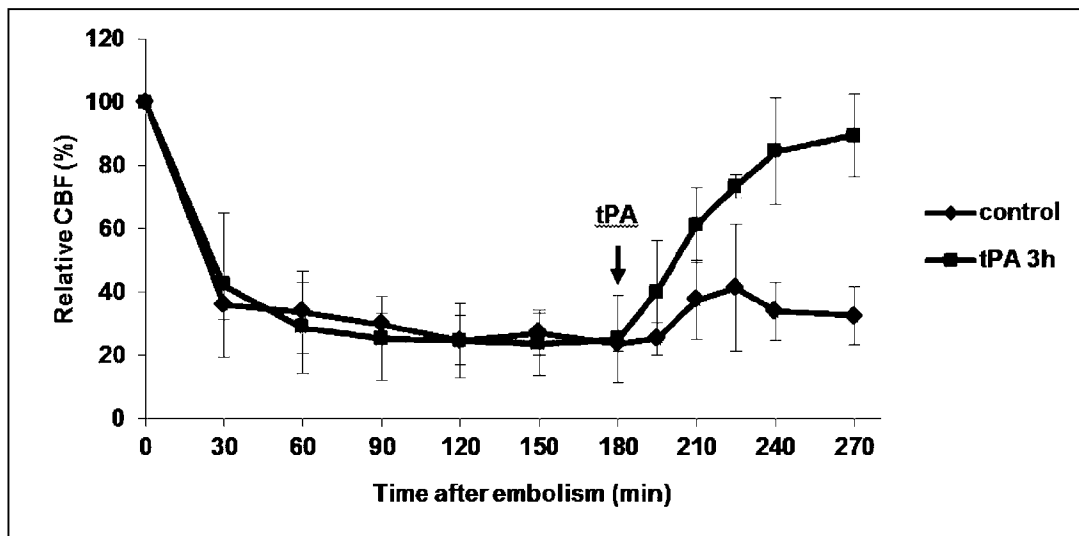
X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 탄소원자 또는 N, O 또는 S원자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 이종원자이고,

()은 이중결합 또는 단일결합을 의미한다.

[도1]

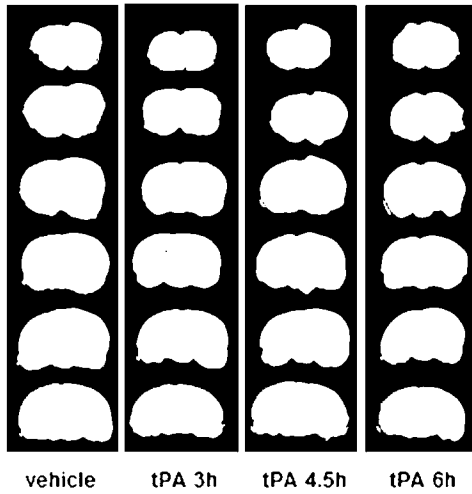


[도2]

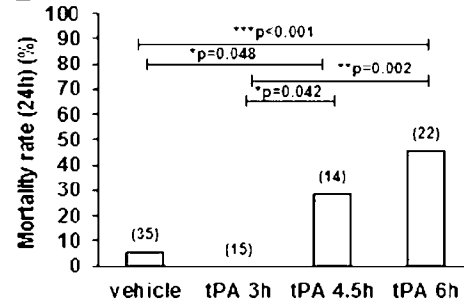


[도3]

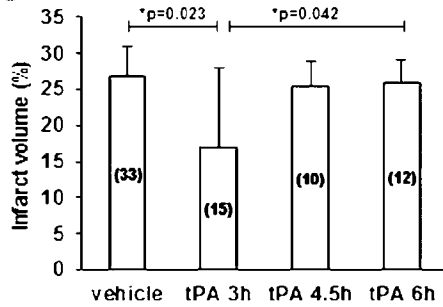
A



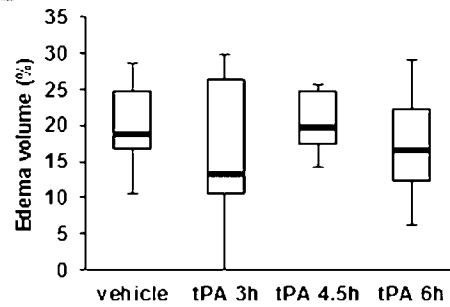
B



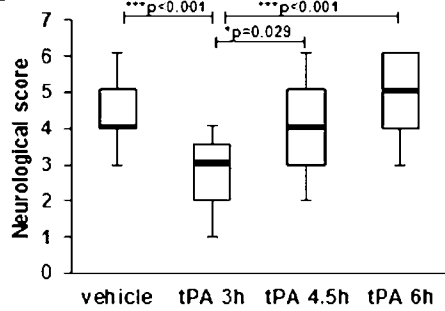
C



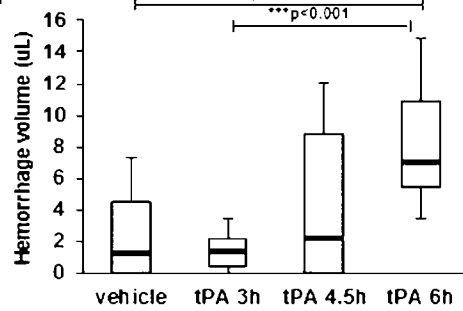
D



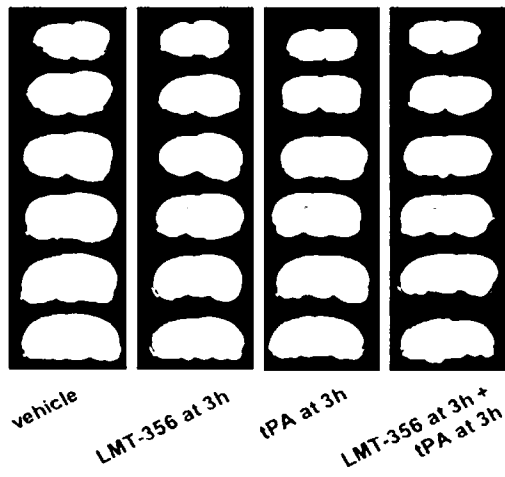
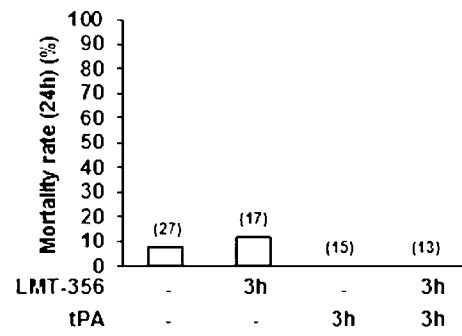
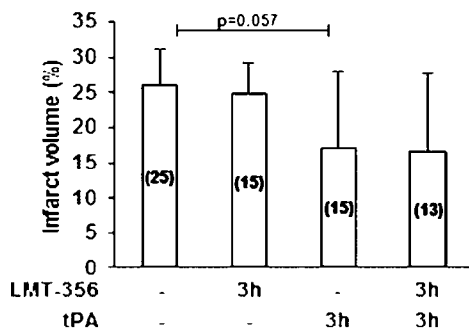
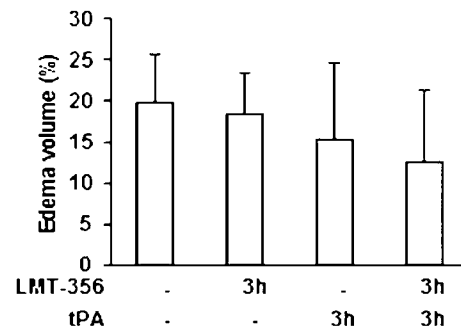
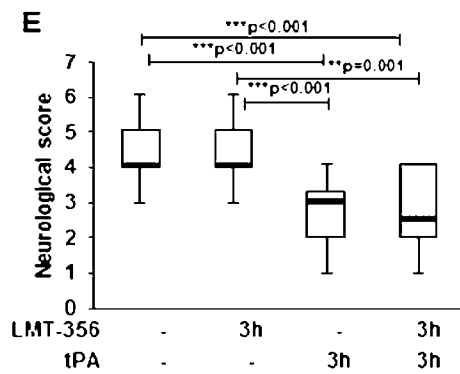
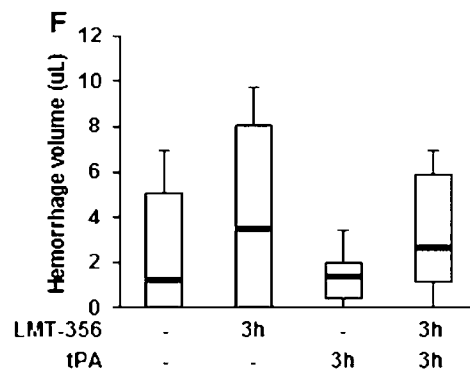
E



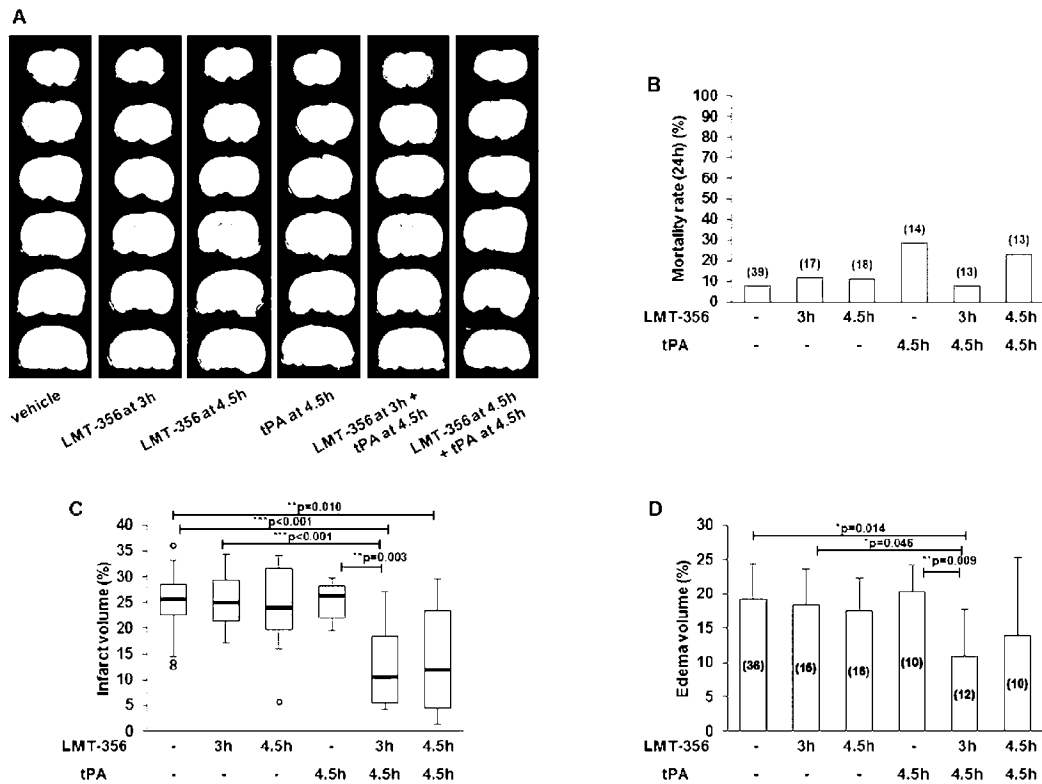
F



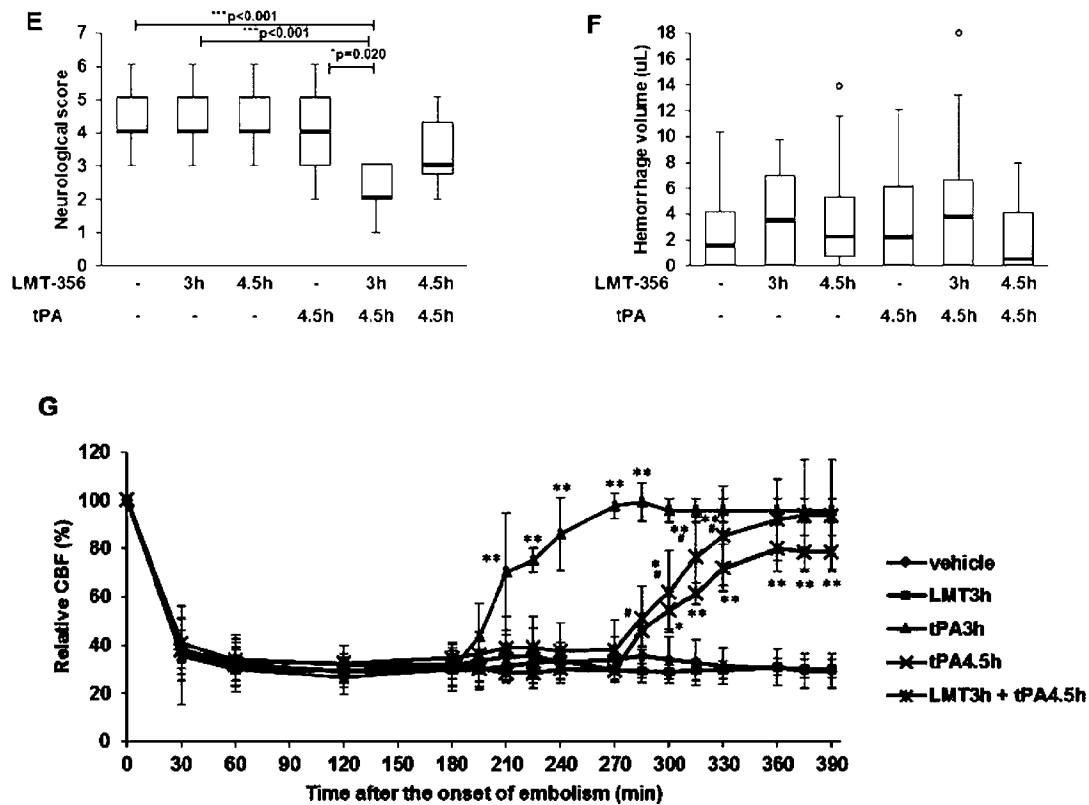
[도4]

A**B****C****D****E****F**

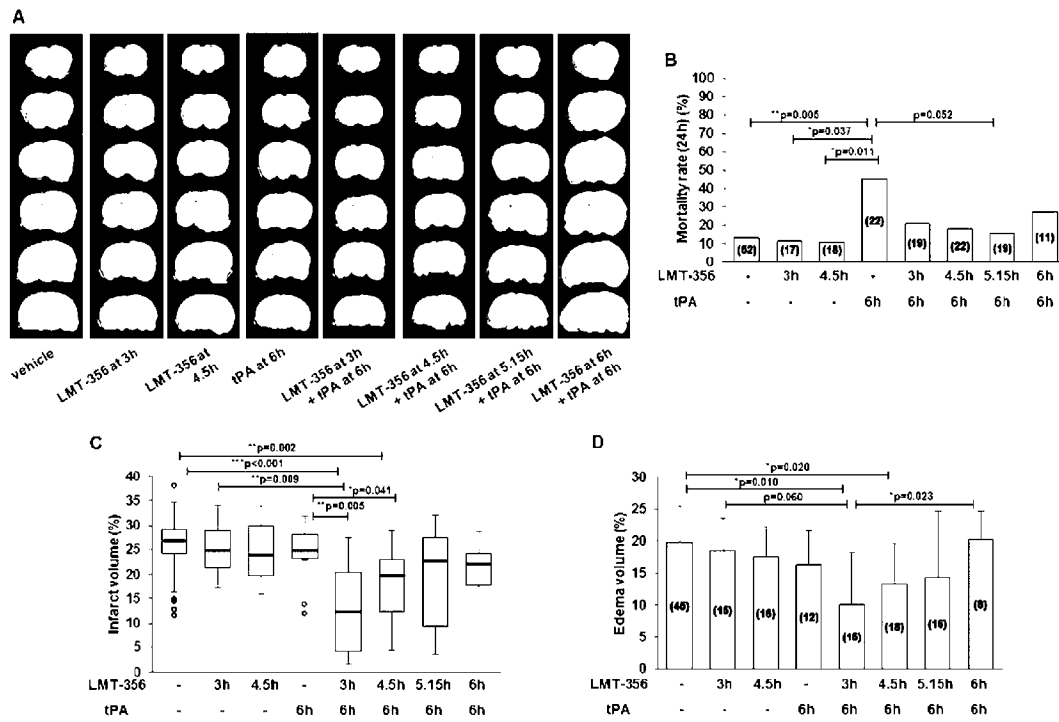
[도5a]



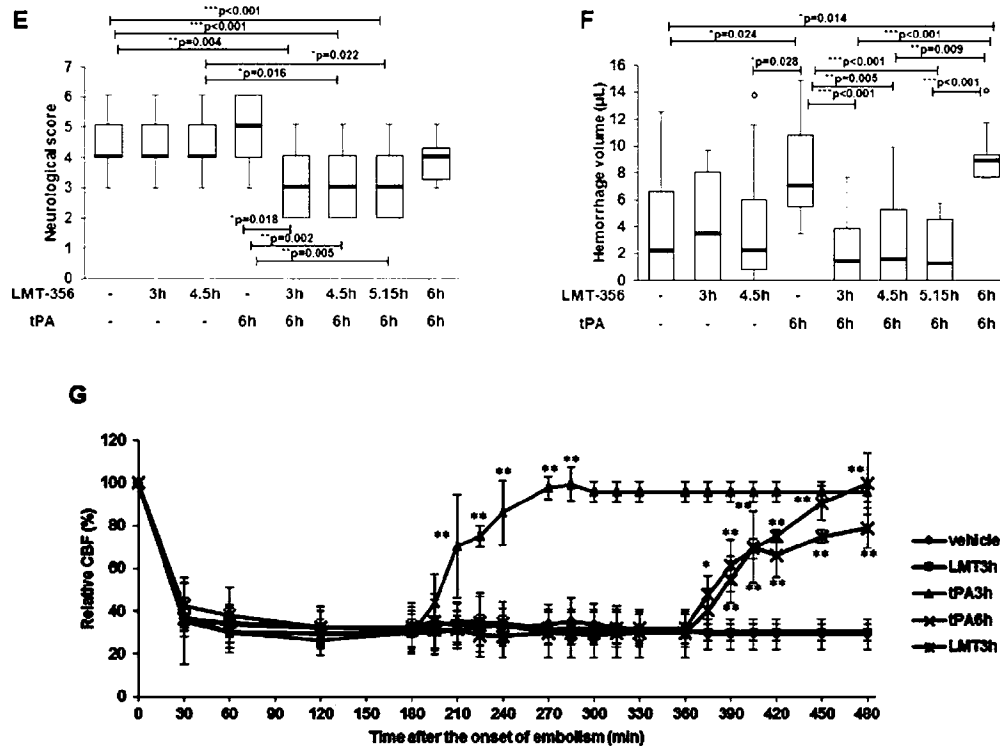
[도5b]



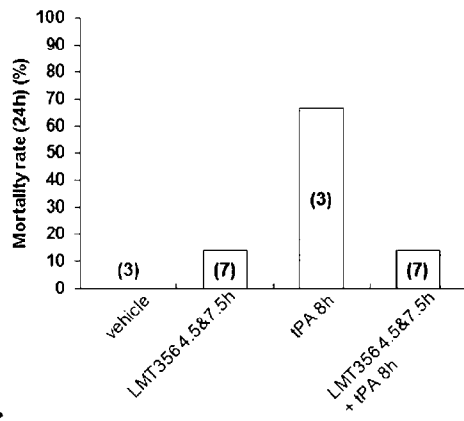
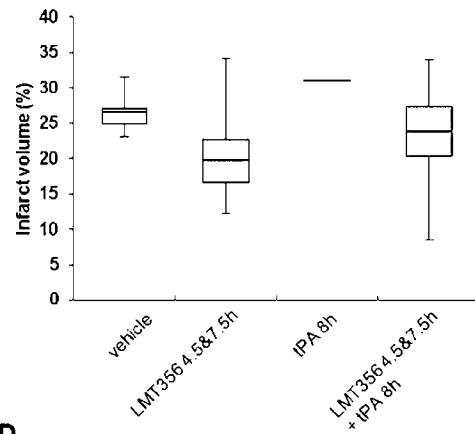
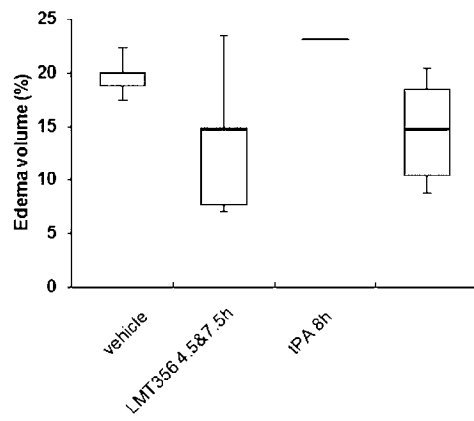
[도6a]



[도6b]



[도7]

A**B****C****D**