(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년11월11일
(11) 등록번호 10-2466389
(24) 등록일자 2022년11월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*A61K 31/7076* (2006.01) *C07D 473/34* (2006.01)
(52) CPC특허분류
*A61K 31/7076* (2013.01)
*C07D 473/34* (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-7021039(분할)
(22) 출원일자(국제) 2014년03월14일
심사청구일자 2021년08월03일
(85) 번역문제출일자 2021년07월05일
(65) 공개번호 10-2021-0104070
(43) 공개일자 2021년08월24일
(62) 원출원 특허 10-2016-7024957
원출원일자(국제) 2014년03월14일
심사청구일자 2019년03월12일
(86) 국제출원번호 PCT/US2014/029542
(87) 국제공개번호 WO 2015/137983
국제공개일자 2015년09월17일
(56) 선행기술조사문헌
Shona MacSheehy, et al., Analyst, 2002, 127, 223-229. (2002.01.03.)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
**올텍 법인회사**
미국, 40356, 켄터키, 니꼴라스빌, 캐트닙 힐 파이크 3031 올텍, 법인회사
(72) 발명자
**파워, 로난**
미국, 켄터키 40515, 렉싱턴, 아파트 #405, 4390 클리어워터 웨이
**란, 지-지안**
미국, 켄터키 40514, 렉싱턴, 2486 도그우드 트레이스
**야니코우리스, 알렉산드로스**
미국, 켄터키 40513, 렉싱턴, 2176 로스웰 드라이브
(74) 대리인
**특허법인한얼**

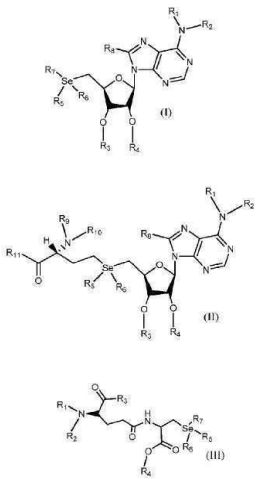
전체 청구항 수 : 총 8 항 심사관 : 나영국

(54) 발명의 명칭 **셀레노유기 화합물의 조성물 및 이의 사용 방법**

## (57) 요 약

본 출원은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (II), 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합과 같은 셀레늄 화합물을 포함하는 조성물, 이를 사용하여 미토콘드리아 기능을 강화시키는 방법, 또는 미토콘드리아 기능장애를 치료하는 방법에 관한 것이다.

## 대 표 도



# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

삭제

### 청구항 2

삭제

### 청구항 3

삭제

### 청구항 4

삭제

### 청구항 5

삭제

### 청구항 6

삭제

### 청구항 7

삭제

### 청구항 8

5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인 및 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인을 포함하고, 알츠하이머병, 비인슐린-의존성(Ⅱ형) 당뇨병 또는 당뇨병성 신장 질환을 치료하기 위해 하나 이상의 간 세포에서 미토콘드리아 기능을 강화하는 방법에 이용하기 위한 조성물로서,

상기 방법은 상기 조성물의 유효량을 상기 하나 이상의 간 세포에 투여하는 것을 포함하고,

상기 유효량은 상기 조성물로 치료되지 않은 세포에 비하여 미토콘드리아 기능을 강화하는 것이고,

단, 5'-셀레노아데노실 메티오닌, 데히드록시 5'-메틸셀레노아데노신, 셀레노(히드록실)-셀레노펜-(3'-데옥시-아데노신), 알릴셀레노아데노실 호모시스테인, 셀레노-히드록시아데노실 호모시스테인, 셀레노아데노신, 셀레노-아데노실-Se(메틸)-셀렌옥사이드, 아데노실-히드록시셀렌옥사이드, 에틸 셀레노아데노신, 셀레노-(히드록시)-셀레노펜-(3'-데스옥시-아데노신), 아데노실-히드록시셀렌옥사이드, 및 셀레노-아데노실-Se(메틸)-셀렌옥사이드는 상기 조성물로부터 제외되고,

단, γ-글루타모일 셀레노시스테인-γ-글루타모일 시스테인, γ-글루타모일시스테인-2,3-DHP-셀레노시스테인, 디-γ-글루타모일셀레노시스테인, 및 셀레노글루타티온-γ-글루타모일시스테인은 상기 조성물로부터 제외되는, 조성물.

### 청구항 9

5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인 및 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인을 포함하고, 비인슐린-의존성 당뇨를 치료하기 위해 하나 이상의 간 세포에서 글루코스 대사를 조절하는 방법에 이용하기 위한 조성물로서,

상기 방법은 상기 조성물의 유효량을 상기 하나 이상의 간 세포에 투여하는 것을 포함하고,

상기 유효량은 상기 조성물로 치료되지 않은 세포에 비하여 하나 이상의 세포에서 글루코스 대사를 조절하는 것

이고,

단, 5'-셀레노아데노실 메티오닌, 데히드록시 5'-메틸셀레노아데노신, 셀레노(히드록실)-셀레노펜-(3'-데옥시-아데노신), 알릴셀레노아데노실 호모시스테인, 셀레노-히드록시아데노실 호모시스테인, 셀레노아데노신, 셀레노-아데노실-Se(메틸)-셀렌옥사이드, 아데노실-히드록시셀렌옥사이드, 에틸 셀레노아데노신, 셀레노-(히드록시)-셀레노펜-(3'-데스옥시-아데노신), 아데노실-히드록시셀렌옥사이드, 및 셀레노-아데노실-Se(메틸)-셀렌옥사이드는 상기 조성물로부터 제외되고,

단, ɣ-글루타모일 셀레노시스테인-ɣ-글루타모일 시스테인, ɣ-글루타모일시스테인-2,3-DHP-셀레노시스테인, 디-ɣ-글루타모일셀레노시스테인, 및 셀레노글루타티온-ɣ-글루타모일시스테인은 상기 조성물로부터 제외되는, 조성물.

**청구항 10**

5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인 및 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인; 및 담체를 포함하고, 알츠하이머병, 비인슐린-의존성(Ⅱ형) 당뇨병 또는 당뇨병성 신장 질환을 치료하기 위해 개체에서 인슐린을 대체하는 방법에 이용하기 위한 조성물로서,

상기 방법은 상기 조성물을 상기 개체에 투여하는 것을 포함하는, 조성물.

**청구항 11**

삭제

**청구항 12**

제8항에 있어서, 상기 방법은 인슐린 또는 이의 유사체 또는 유도체를 투여하는 것을 더 포함하고, '유사체' 및 '유도체'는 상호교환가능한 용어로서, 분자의 하나 이상의 위치의 천연 또는 비-천연 변형을 지칭하는, 조성물.

**청구항 13**

5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인 및 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인; 및 담체를 포함하고, 알츠하이머병, 비인슐린-의존성(Ⅱ형) 당뇨병 또는 당뇨병성 신장 질환을 치료하기 위해 개체에서 글루코스 생산을 억제하는 방법에 이용하기 위한 조성물로서,

상기 방법은 상기 조성물을 상기 개체에 투여하는 것을 포함하는, 조성물.

**청구항 14**

5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인 및 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인; 및 담체를 포함하고, 알츠하이머병, 비인슐린-의존성(Ⅱ형) 당뇨병 또는 당뇨병성 신장 질환을 치료하기 위해 개체에서 글루코스 대사를 조절하는 방법에 이용하기 위한 조성물로서,

상기 방법은 상기 조성물을 상기 개체에 투여하는 것을 포함하는, 조성물.

**청구항 15**

삭제

**청구항 16**

삭제

**청구항 17**

제10항, 제13항 또는 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 인슐린 또는 이의 유사체 또는 유도체를 더 포함하고, '유사체' 및 '유도체'는 상호교환가능한 용어로서, 분자의 하나 이상의 위치의 천연 또는 비-천연 변형을 지칭하는, 조성물.

**청구항 18**

제10항, 제13항 또는 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 5'-메틸티오아데노신, S-아데노실-L-호모

시스테인 또는 감마-글루타밀-메틸-시스테인 중 하나 이상을 제외하는, 조성물.

## 발명의 설명

### 기 술 분 야

[0001] 본 출원은 셀레노유기 조성물 및 화합물의 조성물 및 미토콘드리아 기능의 강화, 질환의 치료, 및 특정 유형의 동물 및 인간 세포에서 특정 과정의 억제 또는 강화를 위한 다양한 생물학적 경로에서 이들의 사용 방법에 관한 것이다.

### 배 경 기 술

[0002] 셀레늄 (Se)은 재생산, 갑상샘 호르몬 대사, DNA 합성, 및 산화적 손상 및 감염으로부터의 보호와 같은, 다수의 생물학적 과정에서 중추적인 역할을 하는 필수 미량 원소이다. 셀레늄은 글루타티온 퍼옥시다제 (GPx), 티오레독신 리덕타제, 및 하나의 메티오닌-설폭사이드 리덕타제와 같은 다양한 셀레늄 의존성 효소의 촉매 부위에 도입된다. 이들 셀레노효소는 대사 활성, 면역 기능, 항산화 방어, 세포내 산화환원 조절, 및 미토콘드리아 기능을 조절하는데 기여한다.

[0003] 미토콘드리아 ("MT")로 알려진 소기관은 고등 동물의 세포에서 주된 에너지 공급원이다. 미토콘드리아는 넓은 범위의 세포 호흡, 산화 및 대사 과정의 직접 및 간접적 생화학적 조절을 제공한다. 이들은 전자 수송 사슬 (electron transport chain: ETC) 활성을 포함하는데, 이는 아데노신 트리포스페이트 (ATP)의 형태로 대사 에너지를 생산하도록 산화적 인산화를 유도하고, 또한 세포내 칼슘 항상성에서 중추적인 미토콘드리아 역할의 근본이 된다. 미토콘드리아 호흡은 내부 미토콘드리아 막 위에서 일어나고 전자 수송 시스템을 통한 전자의 흐름에 의해 달성되는데, 이 시스템은 ATP 합성 (ATP 신타아제)을 위한 부위로 제공되는 추가의 복합체 (복합체 V)와 함께 4종의 복합체 (복합체 I, II, III, 및 IV)를 포함한다. 임의의 복합체의 활성 손상 또는 감소는 전자 흐름을 파괴하고 미토콘드리아 호흡 기능장애를 야기할 수 있다 [예를 들어, 문헌 (Schildgen et al., *Exp Hematol* 2011: 39: 666-67510, 11; Arthur et al., *Mol Neurodegener* 2009: 4: 37)을 참고한다].

[0004] 세포 사멸, 반응성 산소 종 생산, 증가된 산화적 DNA 손상, 증가된 자가포식 (autophagy), 및 미토콘드리아 막 전위의 소실을 초래하는 미토콘드리아 기능장애는 당뇨병, 비만, 알츠하이머병을 비롯한 노화 관련 신경변성, 뇌졸중, 인슐린 내성, 및 죽상경화와 같은 병태와 연관되어 있다. 셀레늄의 무기 형태인, 아셀렌산염 나트륨 (나트륨 셀레나이트)은 특정 상황에서 미토콘드리아 기능에 영향을 미치는 것으로 나타나고 있다. Mehta 등은 미토콘드리아 생합성의 마커인, PGC1a가 허혈성 뇌 조직 내에서 증가하고 아셀렌산염 나트륨이 허혈 및 재순환 후 PGC1a를 더욱 증가시킴을 보여주었다 (Mehta et al., BMC Neuroscience 2012, 13: 79). Tirosh 등은 고용량이지만 중간 용량은 아닌 아셀렌산염 나트륨이 결장 조직에서 합텐 유도된 염증으로 인한 미토콘드리아 기능의 손상을 유도하였음을 보여주었다 (Tirosh et al. Nutrition 2007, 23: 878). 이들 결과는 무기 셀레늄이 손상을 겪은 세포에서 미토콘드리아 기능에 영향을 줄 수 있음을 제안한다. 그러나, 일부 연구는 그의 효능에 대한 의문을 불러 일으키면서 다른 형태의 셀레늄보다 아셀렌산염 나트륨이 덜 생체이용가능하다는 것을 규명하였다 (Rider et al., J Anim Physiol Anim Nutr (Berl) 2010, 94(1): 99-110).

[0005] 또한, 이 문헌의 결과에 따르면 상이한 화학적 형태의 셀레늄이 상이한 생체이용성을 가짐을 나타낸다. 예를 들어, 셀레노졸리딘은 셀레노메티오닌보다 폐 종양의 수를 감소시키는데 더 효과적이었다 (Poerschke et al, J Biochem Molecular Toxicology 2012, 26: 344). Barger 등은 상이한 공급원의 셀레늄, 예를 들어 셀레늄 메티오닌, 아셀렌산염 나트륨, 및 셀렌화된 효모가 공급된 마우스가 유전자 발현 및 미토콘드리아 구조 및 기능의 특정한 기능적 경로에 차등적 효과를 나타내었음을 보여주었다 (Barger et al, Genes and Nutrition 2012, 7: 155).

[0006] 다른 화학적 형태의 셀레늄의 생체활성 및 유용성의 명백한 차이로 인해, 셀레늄의 화학적 형태를 동정하고 생물학적 과정에 대한 이들 효과의 특성을 분석할 필요가 있다. 생물학적 과정에 대한 이들 효과의 특성 분석은 미토콘드리아 기능장애와 관련하는 그러한 질환과 같은, 질환을 예방 또는 퇴치하는데(combat) 유의미한 생물학적 과정의 의학적 조절을 초래할 수 있다. 미토콘드리아 기능장애와 관련된 질환은 하나 이상의 동물 또는 인간 세포 유형에서 미토콘드리아 기능장애를 감소시키거나 미토콘드리아 기능을 상향조절하는 특정 화학적 형태의 셀레늄을 투여함으로써 예방 또는 치료될 수 있다. 생체활성의 다양성에 대한 하나의 설명은 상이한 형태의 셀레늄이 분자 수준에서 생물학적 경로에 상이한 효과를 나타낸다는 점일 수 있다.

## 발명의 내용

[0007] 본 발명은 셀레노-유기 화합물, 조성물, 및 이 화합물 및 조성물을 사용하는 방법에 관한 것이다. 본 화합물에는 5'-메틸셀레노아데노신 ("화합물 C"), Se-아데노실-L-호모시스테인 ("화합물 D"), 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인 ("화합물 E"), 화학식 I의 화합물, 화학식 II의 화합물, 화학식 III의 화합물, 및 이들의 조합이 포함된다. 본원에 기술된 바와 같이, 조성물 및 이들의 조합은 미토콘드리아 기능을 강화시키고, 미토콘드리아 기능장애를 치료하고, 알츠하이머병을 치료하고, 조직-특이적 및 조직-적합성 방식으로 글루코스 대사를 조절하는데 유용하다.

[0008] 본 출원의 일 측면에서, 상이한 화학적 형태의 유기 셀레늄은 생물학적 활성인 것으로 동정된다. 본원에 기술된 바와 같이, 셀레늄 함유 화합물은 셀렌화된 효모로부터 수득될 수 있거나 또는 본원에 기술된 바와 같이 화학적으로 합성될 수 있다. 셀렌화된 효모는 셀레늄 및 황 화합물을 함유하지만 셀렌화된 효모 내 모든 셀레늄 화합물이 생물학적 과정에 영향을 미치는 것은 아니다. 또한, 셀렌화된 효모 내 셀레늄과 황 화합물의 혼합물은 서로에게 억제성인 것으로 나타나거나 또는 생물학적 과정에 부정적인 영향을 미치는 것으로 나타났다.

[0009] 본 출원의 다른 측면은 본원에 기술된 생물학적 활성 셀레늄 화합물의 유사체 또는 유도체를 제공한다. 셀레늄-함유 화합물의 유사체 및/또는 유도체는 합성적으로 제조될 수 있다. 일부 실시양태에서, 유사체는 증가된 안정성, 감소된 산화, 증가된 반감기를 갖고/갖거나 특정 조직으로 화합물을 표적한다.

[0010] 본 출원의 다른 측면에서, 상이한 화학적 형태의 셀레늄은 상이한 조직 특이성 (예를 들어, 일부 화합물은 간세포가 아닌 신경 세포에서만 활성임)을 갖는 것으로 나타났다. 또한, 동일한 셀레늄 함유 조성물은 하나의 세포 유형에서는 전사 활성인자를 활성화시킬 수 있는 반면 다른 유형의 세포에서는 동일한 전사 활성인자를 불활성화시킬 수 있다. 상이한 셀레늄-함유 화합물 및 이들의 조합의 이러한 차등적 활성 및 조직 특이성은 놀랍고 예기치 않은 것이다.

[0011] 본 출원의 일 측면은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 II의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함하는 조성물을 제공한다. 추가의 실시양태에서, 이들 화합물의 하나 이상이 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

[0012] 다른 실시양태에서, 이들 화합물의 하나 이상이 조성물에 불필요하거나 조성물 내 다른 화합물에 억제성일 수 있기 때문에, 조성물은 5'-메틸티오아데노신, S-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸-시스테인, 또는 글루타밀 셀레노시스테인의 하나 이상을 제외할 수 있다.

[0013] 본 출원의 다른 측면은 미토콘드리아 기능을 강화시키고, 미토콘드리아 기능장애를 치료하고, 알츠하이머병을 치료하고/하거나 글루코스 대사를 조절하기 위해 본원에 기술된 조성물을 사용하는 방법을 제공한다.

[0014] 실시양태에서, 알츠하이머병을 치료하는 방법은 개체에 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, 화학식 (I)의 화합물, 또는 이들의 혼합물을 포함한다. 다른 실시양태에서, 이들 화합물의 하나 이상은 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

[0015] 또 다른 실시양태에서, 알츠하이머병을 치료하는 방법은 개체에 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 및 화학식 (III)의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 3종의 상이한 화합물을 포함한다. 본 발명의 실시양태에서, 이들 화합물의 하나 이상은 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

[0016] 다른 실시양태에서, 하나 이상의 신경 세포에서 B 아밀로이드 축적을 억제하는 방법은 하나 이상의 신경 세포에 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, 화학식 (I)의 화합물, 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함하며, 상기 유효량은 상기 조성물로 처리되지 않은 신경 세포에 비해 하나 이상의 신경 세포에서 B 아밀로이드 축적을 억제한다. 추가의 실시양태에서, 이들 화합물의 하나 이상은 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

[0017] 다른 실시양태에서, 하나 이상의 신경 세포에서 B 아밀로이드 축적을 억제하는 방법은 하나 이상의 신경 세포에 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 및 화학식 (III)의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 3종의 상이한 화합물을 포함하며, 상기 유효량은 상기 조성물로 처리되지 않은 신경 세포에 비해 하나 이상의 신경 세포에서 B 아밀로이드 축적을 억제한다. 추가의 실시양태에서, 이들 화합물의 하나 이

상은 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

[0018] 실시양태에서, 하나 이상의 신경 세포에서 타우 인산화 (tau phosphorylation)를 억제하는 방법은 하나 이상의 신경 세포에 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, 화학식 (I)의 화합물, 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함하며, 상기 유효량은 상기 조성물로 처리되지 않은 신경 세포에 비해 하나 이상의 신경 세포에서 타우 인산화를 억제한다. 추가의 실시양태에서, 이들 화합물의 하나 이상은 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

[0019] 다른 실시양태에서, 하나 이상의 신경 세포에서 타우 인산화를 억제하는 방법은 하나 이상의 신경 세포에 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 및 화학식 (III)의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 3종의 상이한 화합물을 포함하며, 상기 유효량은 상기 조성물로 처리되지 않은 신경 세포에 비해 하나 이상의 신경 세포에서 타우 인산화를 억제한다. 추가의 실시양태에서, 하나 이상의 화합물은 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

[0020] 실시양태에서, 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, 또는 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 셀레노글리코시드를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 조성물 내 활성 화합물에 대한 조성물 내 이들의 잠재적 억제 효과 때문에, 조성물은 글루타밀 셀레노시스테인, 메티오닌 또는 셀레노메티오닌을 제외할 수 있다.

[0021] 일부 실시양태에서, 개체에 투여되는 유효량은 하루에 200 마이크로그램 이하이다. 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 개체에 매일 1회 투여된다.

[0022] 다른 측면에서, 골격근 세포, 신경 세포, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 세포에서 미토콘드리아 기능을 강화시키는 방법은 하나 이상의 세포에 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함하며, 상기 유효량은 상기 조성물로 처리되지 않은 세포에 비해 미토콘드리아 기능을 강화시킨다. 추가의 실시양태에서, 하나 이상의 화합물은 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

[0023] 다른 실시양태에서, 하나 이상의 간세포에서 미토콘드리아 기능을 강화시키는 방법은 하나 이상의 간세포에 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 및 화학식 (III)의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 3종의 상이한 화합물을 포함하며, 상기 유효량은 상기 조성물로 처리되지 않은 세포에 비해 미토콘드리아 기능을 강화시킨다. 추가의 실시양태에서, 하나 이상의 화합물은 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

[0024] 다른 측면에서, 간 세포, 골격근 세포, 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 세포에서 글루코스 대사를 조절하는 방법은 하나 이상의 세포에 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 및 화학식 (III)의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 3종의 상이한 화합물을 포함하며, 상기 유효량은 상기 조성물로 처리되지 않은 세포에 비해 글루코스 대사를 조절한다. 추가의 실시양태에서, 하나 이상의 화합물은 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

[0025] 실시양태에서, 하나 이상의 간세포에서 글루코스 6 포스파타제 복합체의 발현을 감소시키는 방법은 하나 이상의 세포에 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 및 화학식 (III)의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 3종의 상이한 화합물을 포함하고, 상기 유효량은 상기 조성물로 처리되지 않은 세포에 비해 글루코스 6 포스파타제 발현을 억제한다. 추가의 실시양태에서, 하나 이상의 화합물은 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

## *도면의 간단한 설명*

[0026] 본 명세서의 일부로서 포함되고 이를 구성하는, 첨부하는 도면은 상세한 설명과 함께 발명의 여러 측면을 설명하고, 발명의 원리를 설명하기 위해 제공된다. 도면의 간단한 설명은 하기와 같다:

**도 1**은 Se-아데노실-L-호모시스테인 ("화합물 D")이 아닌 5'-메틸셀레노아데노신 ("화합물 C")으로의 HEK293T 신장 세포의 처리 시 강화된 미토콘드리아 ("MT") 전위 (형광)를 보여준다. 형광 현미경 하에서 동일한 노출 시간 및 배율에서 이미지를 캡쳐하였다.

**도 2**는 화합물 C (5'-메틸셀레노아데노신) 및 D (Se-아데노실-L-호모시스테인)로의 처리 시 골격근 C2C12 세포에서 강화된 미토콘드리아 ("MT") 전위 (형광)를 보여준다. 황 유사체 H (5'-메틸티오아데노신) 및 I (S-아데노실-L-호모시스테인)는 모든 농도에서 미토콘드리아 전위를 감소시켰다.

**도 3**은 6시간 및 24시간째에 화합물 C (5'-메틸셀레노아데노신), D (Se-아데노실-L-호모시스테인), 및 E (감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인) 또는 이들의 조합으로 처리된 IMR-32 인간 신경 세포에서 미토콘드리아 ("MT") 전위의 일시적 증가를 보여준다. 이들의 황 유사체 H (5'-메틸티오아데노신), I (S-아데노실-L-호모시스테인), J (감마-글루타밀-메틸-시스테인) 및 이들의 조합 역시 미토콘드리아 기능의 일시적 증가를 나타내었다. 데이터를 염색된 세포 핵의 형광 강도로 표준화하였다. *는 $P$ 값 대 대조군을 나타낸다.

**도 4**는 C (5'-메틸셀레노아데노신), D (Se-아데노실-L-호모시스테인), 및 E (감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인) 또는 이들의 황 유사체 H (5'-메틸티오아데노신), I (S-아데노실-L-호모시스테인), J (감마-글루타밀-메틸-시스테인)의 반복된 처리가 IMR-32 신경 세포에서 미토콘드리아 (MT) 전위를 강화시켰음을 보여준다. 세포를 48시간 (hr) 동안 화합물로 1회 처리하거나 (상부 패널) 총 48시간 동안 화합물로 2회 처리하였다 (하부 패널). 데이터를 염색된 세포 핵의 형광 강도로 표준화하였다.

**도 5**는 72시간의 기간에 걸쳐서 인간 IMR-32 신경 세포의 생존력 (OD490 nm에 의해 표시됨)에 대한 화합물 C (5'-메틸셀레노아데노신), D (Se-아데노실-L-호모시스테인), 및 E (감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인) 또는 이들의 조합의 독성 효과의 결여를 보여준다. 반대로, 황 유사체 H (5'-메틸티오아데노신), I (S-아데노실-L-호모시스테인), J (감마-글루타밀-메틸-시스테인) 및 이들의 조합은 72시간의 기간에 걸쳐서 생존력에 약간의 감소를 나타내었다. 결과를 평균 ± 표준편차 (n=8)로 나타내었다.

**도 6**은 10 μM 칼슘으로 스트레스를 준 래트 대뇌피질 세포에서 화합물 D 및 E에 의한 미토콘드리아 기능의 회복을 보여준다. 이 도면은 그래프 선의 끝과 X-축 사이에서 측정된 거리인 최종 OCR과 함께 정상 미토콘드리아의 호흡 차트 (상부 선)를 보여준다. 하부 선은 10 μM 칼슘에 의한 미토콘드리아 호흡의 억제를 보여준다. 중간에 있는 두 선은 화합물 C 또는 D 및 10 μM 칼슘의 존재하에서 미토콘드리아의 호흡을 나타낸다.

**도 7**은 H (5'-메틸티오아데노신), I (S-아데노실-L-호모시스테인), 및 J (감마-글루타밀-메틸-시스테인)의 조합에 비해 셀레늄 화합물 C (5'-메틸셀레노아데노신), D (Se-아데노실-L-호모시스테인), 및 E (감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인)(150 ppb의 각 화합물)의 조합으로 처리된 AML-12 마우스 간세포에서 6시간 및 24시간 째에 미토콘드리아 (MT) 전위의 유의미한 증가를 보여준다. 데이터를 염색된 세포 핵의 형광 강도로 표준화하였다. 막대 그래프로 나타낸 $P$ 값을 대조군 또는 HIJ 그룹에 CDE 그룹을 비교함으로써 결정하였다.

**도 8**은 AML-12 마우스 간세포에서 미토콘드리아 결합해제 단백질 2 (Uncouple Proten 2: Ucp2)의 우세한 발현, 및 화합물 C (5'-메틸셀레노아데노신), D (Se-아데노실-L-호모시스테인), 및 E (감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인)(150 ppb의 각 화합물)의 조합에 의한 이의 발현의 하향조절을 보여준다. **(A)** 정상 AML-12 세포에서 미토콘드리아 결합해제 단백질 1 (Ucp1) 및 Ucp2의 상대적 발현 (6시간 동안 물 비히클로 처리 후). 막대에 표시된 바와 같이 n=4. **(B)** Ucp1 발현에 대한 C (5'-메틸셀레노아데노신), D (Se-아데노실-L-호모시스테인), 및 E (감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인)의 조합의 효과 부재. **(C)** C (5'-메틸셀레노아데노신), D (Se-아데노실-L-호모시스테인), 및 E (감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인)의 조합에 의해 하향 조절된 Ucp2 발현. 데이터를 각 막대에서 시료의 표시된 번호의 평균 ± 표준편차로 나타내었다. 막대 그래프에서 다른 문자 (a vs. b)는 이들 그룹 사이에서 유의미한 차이를 의미한다 ($P < 0.05$).

**도 9**는 AML-12 마우스 간세포의 생존력 (OD490 nm으로 표시됨)에 대한 화합물 C (5'-메틸셀레노아데노신), D (Se-아데노실-L-호모시스테인), E (감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인) 및 이들의 조합, 또는 이들의 황 유사체 H (5'-메틸티오아데노신), I (S-아데노실-L-호모시스테인), J (감마-글루타밀-메틸-시스테인) 및 이들의 조합의 무독성 효과를 보여준다.

**도 10**은 C (5'-메틸셀레노아데노신), D (Se-아데노실-L-호모시스테인), 및 E (감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인)(150 ppb의 각 화합물) 화합물의 조합으로 처리한 후 인간 IMR-32 신경 세포에서 Ucp2, Ucp3 및 프레세닐린 (PSEN) 발현의 하향조절을 보여준다. **(A)** 6 및 24시간째 Ucp2 mRNA 발현. **(B)** 6 및 24시간째 Ucp3 mRNA 발현. **(C)** 6 및 24시간째 비히클 (물)로 처리된 인간 IMR-32 신경 세포에서 상대적 PSEN 및 PSEN2 mRNA 수준. **(D)** C (5'-메틸셀레노아데노신), D (Se-아데노실-L-호모시스테인), E (감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인)(150 ppb의 각 화합물)의 조합 또는 H (5'-메틸티오아데노신), I (S-아데노실-L-호모시스테인), 및 J (감마-글루타밀-메틸-시스테인)(150 ppb의 각 화합물)의 조합으로 처리된 인간 IMR-32 신경 세포에서 6 및 24시간째 액틴 베타

(ACTB) mRNA 수준의 양으로 표준화 후 PSEN mRNA 발현. **(E)** C (5'-메틸셀레노아데노신), D (Se-아데노실-L-호모시스테인), 및 E (감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인)의 조합 또는 H (5'-메틸티오아데노신), I (S-아데노실-L-호모시스테인), 및 J (감마-글루타밀-메틸-시스테인)의 조합으로 처리된 인간 IMR-32 신경 세포에서 6 및 24시간째 (ACTB) mRNA 수준의 양으로 표준화 후 PSEN2 발현. 데이터를 그룹당 3-4 시료의 평균 ± 표준편차로 나타내었다. 막대 그래프에서 다양한 알파벳 문자 (a vs. b) 및 다양한 숫자 (1 vs. 2)는 이들 그룹 사이에서 유의미한 차이를 의미한다 ($P < 0.05$).

**도 11**은 감마 시크리타제 (gamma secretase) 복합체 PSEN 및 니카스트린 (Nicastrin)이 화합물 C (5'-메틸셀레노아데노신)의 표적이었음을 보여주는 웨스턴 블롯 및 실시간 중합효소 연쇄 반응 ("RT-PCR") 분석을 보여준다. **(A)** 각 화합물이 150 ppb인 C (5'-메틸셀레노아데노신), D (Se-아데노실-L-호모시스테인), 또는 E (감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인)으로 6 및 24시간 동안 처리된 인간 IMR-32 신경 세포에서 다양한 단백질 (알츠하이머병 (AD)에서 플라크 형성의 핵심)의 웨스턴 블롯 분석의 사진. **(B-C)** 상기 웨스턴 블롯에서 **(B)** PSEN 및 **(C)** 니카스트린 단백질 수준의 정량적 분석 (24시간 동안 열거된 화합물로의 처리, 우측 패널). 데이터를 3개 시료의 평균 ± 표준편차로 나타내었다. **(D-G)** 6시간 **(D, F)** 및 24시간 **(E, G)** 동안 물 비히클 (대조군) 및 열거된 화합물로 처리된 인간 IMR-32 신경 세포에서 **(D-E)** PSEN 및 **(F-G)** 니카스트린 발현의 정량적 RT-PCR 분석. 데이터를 4개 시료의 평균 ± 표준편차로 나타내었다. 막대 그래프에서 다른 문자 (a vs. b, a vs. c, 또는 b vs. c)는 이들 두 그룹 사이에서의 유의미한 차이를 의미한다 ($P < 0.05$). 문자 "a,b"는 a 또는 b로부터 유의미한 차이가 없음을 표시한다.

**도 12**는 화합물 C (5'-메틸셀레노아데노신)가 타우 인산화의 신규 억제제이고 글리코겐 신타제 키나제 3 베타 ("GSK3b")의 하향조절제임을 보여주는 웨스턴 블롯 및 RT-PCR 분석을 보여준다. **(A)** 각 화합물이 150 ppb인 C (5'-메틸셀레노아데노신), D (Se-아데노실-L-호모시스테인), 또는 E (감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인)로 6 및 24시간 동안 처리된 인간 IMR-32 신경 세포에서 다양한 단백질 (AD에서 매듭 형성의 핵심)의 웨스턴 블롯 분석의 사진. **(B-E)** **(B)** 위치 396의 세린 잔기에서 인산화된 타우 ("pTau S396") 및 **(C)** 위치 400의 세린 잔기, 위치 403의 트레오닌 잔기, 및 위치 404의 세린 잔기에서 인산화된 타우 ("pTau S400/T403/S404")의 정량적 분석. **(D)** 총 타우, 및 **(E)** 상기 웨스턴 블롯에서 총 타우 단백질 수준당 조합된 pTauS396 및 pTau S400/T403/S404 (24시간 처리 후, 우측 패널). 데이터를 3개 시료의 평균 ± 표준편차로 나타내었다. **(F)** 24시간 동안 물 비히클 (대조군) 또는 화합물로 처리된 IMR-32 세포의 상기 웨스턴 블롯에서 GSK3b 단백질의 정량적 분석. 데이터를 3개 시료의 평균 ± 표준편차로 나타내었다. **(G-H)** **(G)** 6시간 및 **(H)** 24시간 동안 물 비히클 (대조군) 및 열거된 화합물로 처리된 인간 IMR-32 신경 세포에서 GSK3b mRNA 발현의 정량적 RT-PCR 분석. 데이터를 4개 시료의 평균 ± 표준편차로 나타내었다. 막대 그래프에서 다른 문자 (a vs. b, a vs. c, 또는 b vs. c)는 이들 두 그룹 사이에서의 유의미한 차이를 의미한다 ($P < 0.05$). 문자 "a,b" 또는 "a,c"는 a 또는 b 또는 c로부터 유의미한 차이가 없음을 표시한다.

**도 13**은 화합물 C (5'-메틸셀레노아데노신), D (Se-아데노실-L-호모시스테인), 및 E (감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인)의 조합 (150 ppb의 각 화합물)에 의해 인간 IMR-32 신경 세포에서 감소한 FOXO 인산화 및 증가된 PGC1a 단백질 발현을 보여준다.

**도 14**는 각 화합물이 150 ppb인 화합물 C (5'-메틸셀레노아데노신), D (Se-아데노실-L-호모시스테인), 또는 E (감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인)로 처리된 IMR-32 신경 세포에서, 트레오닌 28에서 인산화된, 인산화 포크헤드 박스 (forkhead box) 단백질 O4 ("pFOXO4 T28"), 포크헤드 박스 단백질 O4 ("FOXO4"), 트레오닌 308에서 인산화된 뮤린 가슴샘종 바이러스 종양유전자 동족체 1 (murine thymoma viral oncogene homolog: "pAktT308"), 세린 471에서 인산화된 뮤린 가슴샘종 바이러스 종양유전자 동족체 1 ("pAktS471"), Akt, 및 페록시좀 증식체 활성화 수용체 감마 공활성제 1 알파 (peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator 1 alpha: "PGC1a")를 포함하는 다양한 다른 신호전달 분자의 웨스턴 블롯 분석을 보여준다. **(A)** 웨스턴 블롯의 사진. **(B-C)** **(B)** 6시간 및 **(C)** 24시간 동안 열거된 화합물로 처리된 AML-12 세포의 상기 웨스턴 블롯에서 위치 28의 트레오닌에서 인산화된 포크헤드 박스 단백질 O4 (pFoxo4 T28)의 정량적 분석. 데이터를 3개 시료의 평균 ± 표준편차로 나타내었다. 막대 그래프에서 다른 문자 (a vs. b)는 이들 두 그룹 사이에서의 유의미한 차이를 의미한다 ($P < 0.05$). 문자 "a,b"는 a 또는 b로부터 유의미한 차이가 없음을 표시한다.

**도 15**는 C (5'-메틸셀레노아데노신), D (Se-아데노실-L-호모시스테인), 및 E (감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인)의 조합 (150 ppb의 각 화합물)으로 6시간 동안 처리된 마우스 AML-12 간세포에서 FOXO, PDK1, AKT, Gsk3a/b, 4EBP1, E1f2be, 및 PGC1a를 포함하는 다양한 다른 신호전달 분자의 웨스턴 블롯 분석을 보여준다. **(A)** 웨스턴 블롯의 사진. **(B-C)** 상기 웨스턴 블롯에서 나타난 AML-12 세포에서 **(B)** T32에서 인산화된 Foxo3,

및 (C) T28에서 인산화된 Foxo4의 정량적 분석. 데이터를 3개 시료의 평균 ± 표준편차로 나타내었다. 막대 그래프에서 다른 문자 (a vs. b)는 이들 두 그룹 사이에서의 유의미한 차이를 의미한다 ($P < 0.05$).

**도 16**은 비히클 (물, 대조군), 또는 각각이 150 ppb인, 화합물 C (5'-메틸셀레노아데노신), D (Se-아데노실-L-호모시스테인), 또는 E (감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인)로 6 및 24시간 동안 처리 후 마우스 AML-12 간세포에서 다양한 열거된 분자의 웨스턴 블롯 분석을 보여준다.

**도 17**은 개별적 화합물이 아닌, 화합물 C (5'-메틸셀레노아데노신), D (Se-아데노실-L-호모시스테인), 및 E (감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인)의 조합에 의해 마우스 AML-12 간세포에서 글루코스 6 포스파타제 촉매적 아단위 ("G6pc")의 발현이 유의미하게 하향조절되었음을 보여준다. 세포를 비히클 (대조군), 개별적 셀레늄 화합물 (150 ppb (parts per billion)) 또는 CDE의 조합 (150 ppb의 각 화합물), 뿐만 아니라 이들 각각의 황 유사체(들)로 48시간 동안 처리한 후, 정량적 RT-PCR로 분석하였다. 데이터를 막대 그래프로 4개 시료의 평균 ± 표준편차로 나타내었다.

**도 18**은 간세포에서 G6pc의 발현 조절에 있어 화합물 CDE의 조합의 도식적 설명을 보여준다.

**도 19**는 인간 *GSK3B*, PSEN, 및 *NICASTRIN*의 프로모터 영역 내에서 Foxo 결합 모티프의 존재뿐만 아니라, 신경세포의 플라크 및 매듭 형성에 중요한 매개자의 조절에 대한 화합물 C 효과의 도식적 설명을 보여준다. 패널 **(A)**는 인간 *GSK3B* 프로모터 위의 5개 FOXO1/3/4 결합 모티프의 위치를 보여준다. 패널 **(B)**는 인간 *PSEN* 프로모터 위의 2개 FOXO1/3/4 결합 모티프의 위치를 보여준다. 패널 **(C)**는 인간 니카스트린 *(NCSTN)* 프로모터 위의 FOXO1/3/4 결합 모티프의 위치를 보여준다. 패널 **(D)**는 신경 세포에서 플라크 및 매듭 형성에 중요한 매개자의 조절에 대한 화합물 C의 효과의 도식적 설명을 보여준다.

## *발명을 실시하기 위한 구체적인 내용*

[0027] **정의**

[0028] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "투여" 및 "투여하는"은 약물, 전구약물, 또는 기타 작용제 (agent), 또는 치료적 처치 (예를 들어, 본 출원의 조성물)를 개체 (예를 들어, 개체 또는 생체 내 또는 생체 외 세포, 조직 및 장기)에 제공하는 행위를 지칭한다. 인간 신체에의 예시적 투여 경로는 눈 (안구), 입 (경구), 피부 (국소 또는 경피), 코 (비강), 폐 (흡입제), 경구 점막 (볼), 귀, 직장, 질을 통해, 주사에 의해 (예를 들어, 정맥내, 피하, 근육내, 복강내 등) 등일 수 있다.

[0029] 용어 "알킬"은 1 내지 24개 탄소 원자의 분지되거나 분지되지 않은 포화된 탄화수소 기를 지칭한다. 본원에서 바람직한 "알킬" 기는 1 내지 16개 탄소 원자; 즉, $C_{1-16}$ 알킬을 포함한다. 알킬 기의 예시에는, 이로 제한되는 것은 아니지만, 메틸, 에틸, 프로필, 이소-프로필, 부틸, 이소-부틸, 이차-부틸, 삼차-부틸, 펜틸, 이소-펜틸, 네오-펜틸, 헥실, 이소-헥실, 3-메틸펜틸, 2,3-디메틸부틸, 네오-헥실, 헵틸, 옥틸, 노닐, 데실, 운데실, 도데실, 트리데실, 테트라데실, 펜타데실, 및 헥사데실이 포함된다. 1 내지 6개, 더욱 바람직하게는 1 내지 4개 탄소 원자의 알킬 기를 지칭하는 "저급 알킬"이 가장 바람직하다. 알킬 기는 아실, 아미노, 아미도, 아지도, 카르복실, 알킬, 아릴, 할로, 구아니딜, 옥소, 설파닐, 설페닐, 설포닐, 헤테로사이클릴 또는 히드록실 기로 선택적으로 치환될 수 있다.

[0030] 용어 "알칼리 금속"은, 이로 제한되는 것은 아니지만, 적합한 알칼리 금속 (Ia 족) 염, 알칼리 토금속 (IIa 족) 염, 및 기타 생리학적 허용가능한 금속을 포함하는 금속염을 지칭한다. 이러한 염은 알루미늄, 칼슘, 리튬, 마그네슘, 칼륨, 나트륨 및 아연으로 제조될 수 있다.

[0031] 용어 "알케닐"은 적어도 하나의 탄소-탄소 이중 결합을 함유하는 직쇄 또는 분지된 탄소 쇄를 지칭한다. 예시적인 실시양태에서, "알케닐"은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 탄소 원자를 함유하는 탄화수소, 즉 $C_{1-10}$ 알케닐을 지칭한다. 알케닐 기의 예시에는, 이로 제한되는 것은 아니지만, 에텐, 프로펜, 부텐, 펜텐, 헥센, 헵텐, 옥텐, 노넨 및 데센이 포함된다. 알케닐 기는 아미노, 알킬, 할로, 또는 히드록실 기로 선택적으로 치환될 수 있다.

[0032] 용어 "아미도"는 --CONR'R''과 같은 C-아미도 기 또는 --NR'COR''과 같은 N 아미도 기 중 하나를 지칭하고, 여기서 이 정의에 사용되는 R' 및 R''은 독립적으로 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 알콕시, 카르보사이클릭, 헤테로사이클릭, 아릴, 또는 아르알킬이다. "설포아미도" 기는 --NR'--$SO_2$--R''를 포함한다. 가장 바람직하게는, R' 및 R''은 수소, 알킬, 아릴, 또는 아르알킬이다.

[0033] 용어 "알키닐"은 적어도 하나의 탄소-탄소 삼중 결합을 함유하는 직쇄 또는 분지된 탄소 쇄를 지칭한다. 예시적인 실시양태에서, "알키닐"은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 탄소 원자를 함유하는 탄화수소, 즉 $C_{2-10}$ 알키닐을 지칭한다. 알키닐 기의 예시에는, 이로 제한되는 것은 아니지만, 에틴, 프로핀, 부틴, 펜틴, 헥신, 옥틴, 노닌 및 데신이 포함된다. 알키닐 기는 아미노, 알킬, 할로, 또는 히드록실 기로 선택적으로 치환될 수 있다.

[0034] 용어 "아릴"은 이러한 고리가 펜던트 방식으로 함께 부착될 수 있거나 또는 융합될 수 있는 1, 2 또는 3개 고리를 함유하는 카르보사이클릭 방향족 시스템을 지칭한다. 용어 "융합된"은 제2 고리가 제1 고리와 공통으로 (즉, 공유된) 2개의 인접한 원자를 가짐으로써 존재하는 (즉, 부착되거나 형성되는) 것을 의미한다. 용어 "융합된"은 용어 "축합된"과 동등한다. 용어 "아릴"은 페닐, 나프틸, 테트라히드로나프틸, 테트랄린, 인단, 인덴 및 비페닐과 같은 방향족 기를 포함한다. 아릴 기는 아미노, 알킬, 할로, 히드록실, 카르보사이클릭, 헤테로사이클릭, 또는 다른 아릴 기로 선택적으로 치환될 수 있다.

[0035] 용어 "사이클로알킬"은 모노사이클릭 포화된 또는 부분적으로 포화된 탄소 고리를 지칭하고, 여기서 고리 원자의 개수는 수치 범위로 나타내어 진다. 예시적인 실시양태에서, "사이클로알킬"은 3-12 고리 원자를 함유하는 상기에 정의된 바와 같은 탄소 고리 (즉, $C_{3-12}$ 사이클로알킬)를 지칭한다. 본원에 사용되는 사이클로알킬은 모노사이클로, 가교된, 나선의, 융합된, 바이사이클로 및 트리사이클로 고리 구조를 포함한다. 사이클로알킬 기의 예시에는, 이로 제한되는 것은 아니지만, 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로펜테닐, 사이클로헥실, 사이클로헥세닐, 사이클로헵틸, 사이클로헵테닐, 노르보르닐, 데칼린, 아다만틸, 및 사이클로옥틸이 포함된다. 사이클로알킬 기는 아미노, 알킬, 할로, 또는 히드록실 기로 선택적으로 치환될 수 있다.

[0036] 용어 "아르알킬"은 아릴-치환된 알킬 모이어티를 지칭한다. 바람직한 아르알킬 기는 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 알길 기에 부착된 아릴 기를 갖는 "저급 아르알킬" 기이다. 이러한 기의 예시에는 벤질, 디페닐메틸, 트리페닐메틸, 페닐에틸, 및 디페닐에틸이 포함된다. 용어 벤질 및 페닐메틸은 호환적이다.

[0037] 용어 "아릴옥시"는 산소 원자에 부착된, 상기에 정의된 바와 같은, 아릴 기를 지칭한다. 아릴옥시 기는 선택적으로 할로, 히드록실, 또는 알킬 기로 치환될 수 있다. 이러한 기의 예시에는 페녹시, 4-클로로-3-에틸페녹시, 4-클로로-3-메틸페녹시, 3-클로로-4-에틸페녹시, 3,4-디클로로페녹시, 4-메틸페녹시, 3-트리플루오로메톡시페녹시, 3-트리플루오로메틸페녹시, 4-플루오로페녹시, 3,4-디메틸페녹시, 5-브로모-2-플루오로페녹시, 4-브로모-3-플루오로페녹시, 4-플루오로-3-메틸페녹시, 5,6,7,8-테트라히드로나프틸옥시, 3-이소프로필페녹시, 3-사이클로프로필페녹시, 3-에틸페녹시, 4-tert-부틸페녹시, 3-펜타플루오로에틸페녹시, 및 3-(1,1,2,2-테트라플루오로에톡시)페녹시가 포함된다.

[0038] 용어 "알콕시"는 알킬, 또는 사이클로알킬 기로 치환된 옥시-함유기를 지칭한다. 예시에는, 제한 없이, 메톡시, 에톡시, tert-부톡시, 및 사이클로헥실옥시가 포함된다. 1 내지 6개 탄소 원자를 갖는 "저급 알콕시"가 가장 바람직하다. 이러한 기의 예시에는 메톡시, 에톡시, 프로폭시, 부톡시, 이소프로폭시, 및 tert-부톡시기가 포함된다.

[0039] 용어 "아르알콕시"는 산소 원자를 통해 다른 기에 부착된 옥시-함유 아르알킬 기를 지칭한다. "저급 아르알콕시" 기는 상기에 기술된 바와 같이 저급 알콕시에 부착된 그러한 페닐 기이다. 이러한 기의 예시에는 벤질옥시, 1-페닐에톡시, 3-트리플루오로메톡시벤질옥시, 3-트리플루오로메틸벤질옥시, 3,5-디플루오로베닐옥시, 3-브로모벤질옥시, 4-프로필벤질옥시, 2-플루오로-3-트리플루오로메틸벤질옥시, 및 2-페닐에톡시가 포함된다.

[0040] 용어 "아실"은 -C(=O)R을 지칭하고, 여기서 이 정의에 사용된 R은 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 카르보사이클릭, 헤테로사이클릭, 아릴, 또는 아르알킬이다. 가장 바람직하게는, R은 수소, 알킬, 아릴, 또는 아르알킬이다.

[0041] 용어 "카르복실"은 --R'C(=O)OR''을 지칭하고, 여기서 이 정의에 사용된 R' 및 R''은 독립적으로 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 카르보사이클릭, 헤테로사이클릭, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 에테르, 또는 아르알킬이거나, 또는 R'은 부가적으로 공유 결합일 수 있다. "카르복실"은 카르복실산, 및 카르복실산 에스테르 둘 모두를 포함한다. 용어 "카르복실산"은 R''이 수소, 또는 염인 카르복실 기를 지칭한다. 이러한 산에는 포름산, 아세트산, 프로피온산, 부티르산, 발레르산, 2-메틸 프로피온산, 옥시란-카르복실산, 및 사이클로프로판 카르복실산이 포함된다. 용어 "카르복실산 에스테르" 또는 "에스테르"는 R''이 알킬, 알케닐, 알키닐, 카르보사이클릭, 헤테로사이클릭, 아릴, 또는 아르알킬인 카르복실 기를 지칭한다. 카르복실산의 예시에는, 이로 제한되는 것은 아

니지만, 포름산, 아세트산, 프로피온산, 부타노산, 펜타노산, 헥사노산, 헵타노산, 옥타노산, 노나노산, 데카노산, 사이클로프로판카르복실산, 사이클로부탄카르복실산, 사이클로펜탄카르복실산, 사이클로헥산카르복실산, 사이클로헵탄카르복실산, 사이클로옥탄카르복실산, 또는 사이클로노난카르복실산이 포함된다.

[0042] 용어 "카르보닐"은 "옥소" 기로도 알려진 C=O 모이어티를 지칭한다.

[0043] 용어 "헤테로사이클" 또는 "헤테로사이클릴" 또는 "헤테로사이클릭 고리"는 3 내지 12개, 또는 5 내지 6개, 탄소 원자를 갖는 선택적으로 치환된, 포화 또는 불포화된, 방향족 또는 비-방향족 사이클릭 탄화수소를 지칭하고, 여기서 적어도 하나의 고리 원자는 O, N, S, P 또는 Se이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 헤테로사이클릴로부터의 고리 N 원자는 -C(O)에 결합하여 아마이드, 카바메이트, 또는 우레아를 형성하는 원자이다. 예시적인 실시양태에서, "헤테로사이클릴"은 4, 5, 또는 6개 고리 원자를 함유하는 상기에 기술된 바와 같은 사이클릭 탄화수소 (즉, $C_{4-6}$ 헤테로사이클릴)를 지칭한다. 헤테로사이클릭 기의 예시에는, 이로 제한되는 것은 아니지만, 아지리딘, 옥시란, 티이란, 아제티딘, 옥세탄, 티에탄, 피롤리딘, 이미다졸, 테트라히드로퓨란, 피란, 티오피란, 티오모르폴린, 티오모르폴린 S-옥사이드, 옥사졸린, 테트라히드로티오펜, 피페리딘, 테트라히드로피란, 티안, 이미다졸리딘, 옥소디옥소레닐, 옥사졸리딘, 티아졸리딘, 디옥소란, 디티오란, 피페라진, 옥사진, 디티안, 디옥산, 피리디닐, 퓨라닐, 벤조퓨라닐, 이소벤조퓨라닐, 피롤일, 티에닐, 1,2,3-트리아졸일, 1,2,4-트리아졸일, 인돌일, 이미다졸일, 티아졸일, 티아디아졸일, 피리미디닐, 옥사졸일, 트리아지닐, 및 테트라졸일이 포함된다. 예시적인 헤테로사이클에는 벤즈이미다졸, 디히드로티오펜, 디옥신, 디옥산, 디옥소란, 디티안, 디티아진, 디티아졸, 디티오란, 퓨란, 인돌, 3-H 인다졸, 3-H-인돌, 인돌리진, 이소인돌, 이소티아졸, 이속사졸, 모르폴린, 옥사졸, 옥시디아졸, 옥사티아졸, 옥사티아졸리딘, 옥사진, 옥사디아진, 피페라진, 피페리딘, 퓨린, 피란, 피라진, 피라졸, 피리딘, 피리미딘, 피리미딘, 피리다진, 피롤, 피롤리딘, 테트라히드로퓨란, 테트라진, 티아디아진, 티아디아졸, 티아트리아졸, 티아진, 티아졸, 티오펜, 트리아진, 및 트리아졸이 포함된다. 헤테로사이클은 선택적으로 아미노, 알킬, 알케닐, 알키닐, 할로, 히드록실, 카르보사이클릭, 티오, 다른 헤테로사이클릭, 또는 아릴 기로 치환될 수 있다.

[0044] 용어 "헤테로아릴"은 적어도 하나의 고리 원자가 O, N, S, P 또는 Se이고, 고리가 고리 요소들 사이에 공유된 비국재화 [pi] 전자를 특징으로 하며, 고리 원자의 개수가 수치의 범위로 표시되는, 사이클릭 탄화수소를 지칭한다. 본원에 정의된 바와 같이 헤테로아릴 모이어티는 C, N, S, P 또는 Se 결합 핸드 (bonding hand)를 갖는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 헤테로아릴로부터의 고리 N 원자는 아마이드, 카바메이트, 또는 우레아를 형성하기 위해 -C(O)에 결합하는 원자이다. 예시적인 실시양태에서, "헤테로아릴"은 5 또는 6개 고리 원자를 함유하는 본원에 기술된 바와 같은 사이클릭 탄화수소 (즉, $C_{5-6}$ 헤테로아릴)를 지칭한다. 헤테로아릴 기의 예시에는, 이로 제한되는 것은 아니지만, 피롤, 퓨란, 티엔, 옥사졸, 티아졸, 이속사졸, 이소티아졸, 이미다졸, 피라졸, 옥시디아졸, 티아디아졸, 트리아졸, 테트라졸, 피리딘, 피리미딘, 피라진, 피리다진, 및 트리아진이 포함된다.

[0045] 용어 "히드록시" 또는 "히드록실"은 치환기 -OH를 지칭한다.

[0046] 용어 "옥소"는 치환기 =O를 지칭한다.

[0047] 용어 "니트로"는 $NO_2$를 지칭한다.

[0048] 용어 "아지도"는 $N_3$을 지칭한다.

[0049] 용어 "황 유사체(들)"는 하나 이상의 셀레늄 원자가 각각 하나 이상의 황 원자로 대체되어 있는 목적 화합물의 유사체이다.

[0050] 용어 "설파닐"은 --SR'을 지칭하고, 여기서 이 정의에 사용된 바와 같이 R'은 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 카르보사이클릭, 헤테로사이클릭, 아릴, 또는 아르알킬이다. 용어 "설페닐"은 --SOR'을 지칭하고, 여기서 이 정의에 사용된 바와 같이 R'은 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 카르보사이클릭, 헤테로사이클릭, 아릴, 또는 아르알킬이다.

[0051] 용어 "설포닐"은 --SOR'을 지칭하고, 여기서 이 정의에 사용된 바와 같이 R'은 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 카르보사이클릭, 헤테로사이클릭, 아릴, 또는 아르알킬이다.

[0052] 용어 "케톤"은 카르보닐 탄소가 2개의 다른 탄소 원자에 결합된 적어도 하나의 카르보닐 기를 함유하는 모이어티를 지칭한다. 예시적인 실시양태에서, "케톤"은 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 탄소 원자를 함유하는 상기

에 기술된 바와 같은 카르보닐-함유 모이어티 (즉, $C_{3-10}$ 케톤)을 지칭한다. 케톤 기의 예시에는, 이로 제한되는 것은 아니지만, 아세톤, 부타논, 펜타논, 헥사논, 헵타논, 옥타논, 노나논, 데카논, 사이클로부타논, 사이클로펜타논, 사이클로헥사논, 사이클로헵타논, 사이클로옥타논, 사이클로노나논 및 사이클로데카논이 포함된다.

[0053] 용어 "아미노"는 화학식 --NR'R''의 일차, 이차 또는 삼차 아미노 기를 지칭하고, 여기서 이 정의에 사용된 바와 같이 R' 및 R''은 독립적으로 수소, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 아릴, 카르복실, 사이클로알킬, 헤테로사이클릭, 또는 다른 아미노 (히드라지드의 경우)이거나 또는 R' 및 R''은 이들이 부착된 질소 원자와 함께 4-8개 원자를 갖는 고리를 형성한다. 따라서, 용어 "아미노"는 비치환된, 일치환된 (예컨대, 모노알킬아미노 또는 모노아릴아미노), 및 이치환된 (예컨대, 디알킬아미노 또는 아르알킬아미노) 아미노 기를 포함한다. 아미노 기는 $--NH_2$, 메틸아미노, 에틸아미노, 디메틸아미노, 디에틸아미노, 메틸-에틸아미노, 피롤리딘-1-일 또는 피페리디노, 모르폴리노 등을 포함한다. 고리를 형성하는 다른 예시적인 "아미노" 기에는 피롤일, 이미다졸일, 피라졸일, 이소티아졸일, 이속사졸일, 피리딜, 피라지닐, 피리미디닐, 피리다지닐, 인돌리지닐, 이미다졸일, 이소인돌일, 인돌일, 인다졸일, 퓨리닐, 퀴놀리지닐이 포함된다. 아미노 기를 함유하는 고리는 또 다른 아미노, 알킬, 알케닐, 알키닐, 할로, 또는 히드록실 기로 선택적으로 치환될 수 있다.

[0054] 용어 "아민"은 화학식 --NR'R''의 일차, 이차 또는 삼차 아미노 기를 지칭하고, 여기서 이 정의에 사용된 바와 같이 R' 및 R''은 독립적으로 수소, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 아릴, 카르복실, 사이클로알킬, 헤테로사이클릭, 또는 다른 아미노 (히드라지드의 경우)이거나 또는 R' 및 R''은 이들이 부착되는 질소 원자와 함께 4-8개 원자를 갖는 고리를 형성한다. 따라서, 용어 "아미노"는, 본원에 사용된 바와 같이, 비치환된, 일치환된 (예컨대, 모노알킬아미노 또는 모노아릴아미노), 및 이치환된 (예컨대, 디알킬아미노 또는 아르알킬아미노) 아미노 기를 포함한다. 아미노 기는 $--NH_2$, 메틸아미노, 에틸아미노, 디메틸아미노, 디에틸아미노, 메틸-에틸아미노, 피롤리딘-1-일 또는 피페리디노, 모르폴리노 등을 포함한다. 고리를 형성하는 다른 예시적인 "아미노" 기에는 피롤일, 이미다졸일, 피라졸일, 이소티아졸일, 이속사졸일, 피리딜, 피라지닐, 피리미디닐, 피리다지닐, 인돌리지닐, 이미다졸일, 이소인돌일, 인돌일, 인다졸일, 퓨리닐, 퀴놀리지닐이 포함된다. 아미노 기를 함유하는 고리는 선택적으로 또 다른 아미노, 알킬, 알케닐, 알키닐, 할로, 또는 히드록실 기로 치환될 수 있다.

[0055] 용어 "알코올"은 "히드록시" 또는 "히드록실"을 지칭하거나 치환기 -OH를 지칭한다.

[0056] 용어 "아미노 알코올"은 알코올 및 아민 기 둘 모두를 함유하는 관능기를 지칭한다. 본원에서 사용되는 "아미노 알코올"은 또한 카르복실산 기 대신에 알코올에 결합된 탄소를 갖는 상기에 정의된 바와 같은 아미노산을 지칭한다. 예시적인 실시양태에서, 용어 "아미노 알코올"은 알코올을 갖는 탄소에 인접한 탄소에 결합되는 상기에 정의된 바와 같은 아미노 알코올을 지칭한다 . 예시적인 실시양태에서, "아미노 알코올"은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12개 탄소 원자를 함유하는 상기에 기술된 바와 같은 아민 및 알코올-함유 모이어티 (즉, $C_{1-12}$ 아미노 알코올)를 지칭한다. 아미노 알코올의 예시에는, 이로 제한되는 것은 아니지만, 에탄올아민, 헵트아미놀, 이소에타린, 노르에피네프린, 프로판올아민, 스핑고신, 메탄올아민, 2-아미노-4-머캅토부탄-1-올, 2-아미노-4-(메틸티오)부탄-1-올, 시스테이놀, 페닐글리시놀, 프롤리놀, 2-아미노-3-페닐-1-프로판올, 2-아미노-1-프로판올, 사이클로헥실글리시놀, 4-히드록시-프롤리놀, 류시놀, tert-류시놀, 페닐알라니놀, a-페닐글리시놀, 2-피롤리딘메탄올, 티로시놀, 발리놀, 세리놀, 2-디메틸아미노에탄올, 히스티디놀, 이소류시놀, 류시놀, 메티오니놀, 1-메틸-2-피롤리딘메탄올, 트레오니놀, 트립토파놀, 알라니놀, 아르기니놀, 글리시놀, 글루타미놀, 4-아미노-5-히드록시펜탄아마이드, 4-아미노-5-히드록시펜타노산, 3-아미노-4-히드록시부타노산, 리시놀, 3-아미노-4- 히드록시부탄아마이드, 및 4-히드록시-프롤리놀이 포함된다.

[0057] 용어 "아미노산"은 카르복실레이트 기에 바로 인접한 탄소 원자에 결합된 카르복실산 및 아민을 함유하는 기를 지칭하고, 천연 및 합성 아미노산 둘 모두를 포함한다. 아미노산의 예시에는, 이로 제한되는 것은 아니지만, 아르기닌, 히스티딘, 리신, 아스파르트산, 글루탐산, 세린, 트레오닌, 아스파라긴, 글루타민, 시스테인, 셀레노시스테인, 글리신, 프롤린, 알라닌, 발린, 이소류신, 류신, 메티오닌, 페닐알라닌, 티로신, 트립토판이 포함된다. 카르복실은 H, 염, 에스테르, 알킬, 또는 아르알킬로 치환된다. 아미노 기는 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 카르복실, 사이클로알킬, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴로 치환된다.

[0058] 용어 "에테르"는 기 --R'--O--R''을 지칭하고, 여기서 이 정의에 사용되는 바와 같이 R' 및 R''은 독립적으로 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 카르보사이클릭, 헤테로사이클릭, 아릴, 또는 아르알킬이고, R'은 부가적으로 탄소에 부착된 공유 결합일 수 있다.

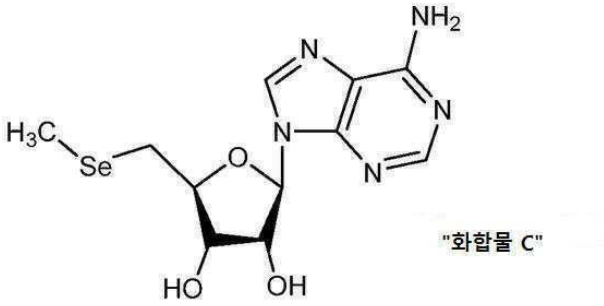
[0059] 용어 "할로겐"은 불소, 염소, 브롬 또는 요오드 원자를 지칭한다.

[0060] 용어 "할라이드"는 불소, 염소, 브롬 또는 요오드 원자에 결합된 원자를 함유하는 관능기를 지칭한다. 본원에 기술된 예시적인 실시양태에는 "알킬 할라이드," "알케닐 할라이드", "알키닐 할라이드," "사이클로알킬 할라이드," "헤테로사이클릴 할라이드," 또는 "헤테로아릴 할라이드" 기가 포함될 수 있다. 예시적인 실시양태에서, "알킬 할라이드"는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 탄소 원자를 함유하는 탄소-할로겐 결합을 함유하는 모이어티 (즉, $C_{1-10}$ 알킬 할라이드)를 지칭한다. 알킬 할라이드 기의 예시에는, 이로 제한되는 것은 아니지만, 플루오로메틸, 플루오로에틸, 클로로메틸, 클로로에틸, 브로모메틸, 브로모에틸, 아이오도메틸 및 아이오도에틸 기가 포함된다. 달리 지시되지 않는 한, 본원에 언급된 임의의 탄소-함유 기는 하나 이상의 탄소-할로겐 결합을 함유할 수 있다. 비제한적인 예시로서, Ci알킬 기는, 이로 제한되는 것은 아니지만, 메틸, 플루오로메틸, 디플루오로메틸, 트리플루오로메틸, 클로로메틸, 디클로로메틸, 트리클로로메틸, 브로모메틸, 디브로모메틸, 트리브로모메틸, 아이오도메틸, 디아이오도메틸, 트리아이오도메틸, 클로로플루오로메틸, 디클로로플루오로메틸, 및 디플루오로클로로메틸일 수 있다.

[0061] 본원에 기술된 화합물에서, 헤테로원자는 다양한 다른 원자가를 가질 수 있다. 비제한적인 예시로서, S, Se 및 N은 중성이거나 또는 양성 전하를 가질 수 있고, O는 중성이거나 또는 양성 또는 음성 전하를 가질 수 있다.

[0062] 일부 실시양태에서, 화학식 (I), (II), 또는 (III)에 따른 화합물은 기술된 화합물의 디아스테레오머 및 에난티오머를 포함한다. 에난티오머는 서로의 거울상이고 비-중첩가능한 한 쌍의 분자 실체의 하나로서 정의된다. 디아스테레오머 또는 디아스테레오이소머는 에난티오머 이외의 스테레오이소머로서 정의된다. 디아스테레오머 또는 디아스테레오이소머는 거울상으로 연관되지 않는 스테레오이소머이다. 디아스테레오이소머는 물리적 특성에서의 차이에 의해 특성화된다.

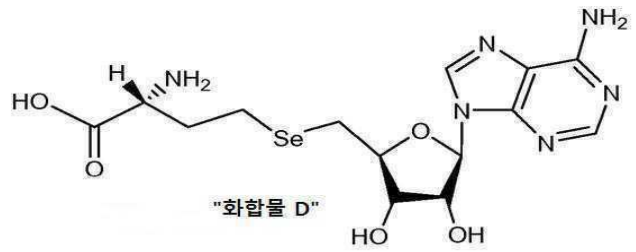
[0063] 본원에 나타낸, 용어 "화합물 C" 또는 "화합물 C"는 5'-메틸셀레노아데노신을 지칭하고; 이는 (2R,4S,5S)-2-(6-아미노-9H-퓨린-9-일)-5-((메틸셀레닐)메틸)테트라히드로퓨란-3,4-디올, CAS 등록 번호 5135-40-0으로도 알려지며, 이의 임의의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함한다.




"화합물 C"

[0064]

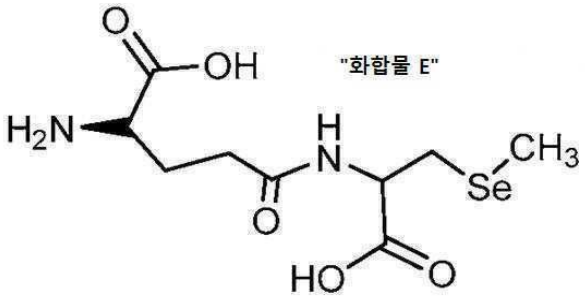
[0065] 본원에 나타낸, 용어 "화합물 D" 또는 "화합물 D"는 5'-셀레노아데노실 호모시스테인; (2R)-2-아미노-4-((((2S,3S,5R)-5-(6-아미노-9H-퓨린-9-일)-3,4-디히드록시테트라히드로퓨란-2-일)메틸)셀레닐)부타노산, CAS 등록 번호 4053-91-2를 지칭하고, 이의 임의의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함한다.




"화합물 D"

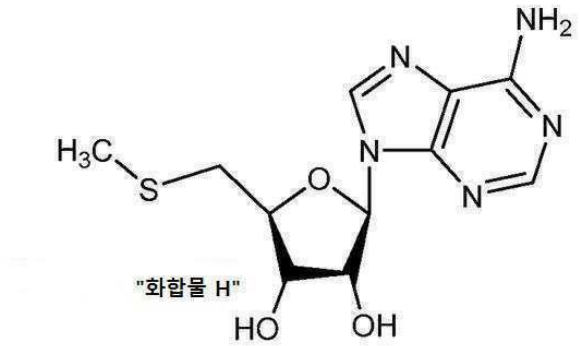
[0066]

[0067] 본원에 나타낸, 용어 "화합물 E" 또는 "화합물 E"는 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인 또는 γ-L-글루타밀-Se-메틸-L-시스테인을 지칭하고; 이는 N5-(1-카르복시-2-(메틸셀레닐)에틸)-L-글루타민 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 임의의 염으로도 알려진다.



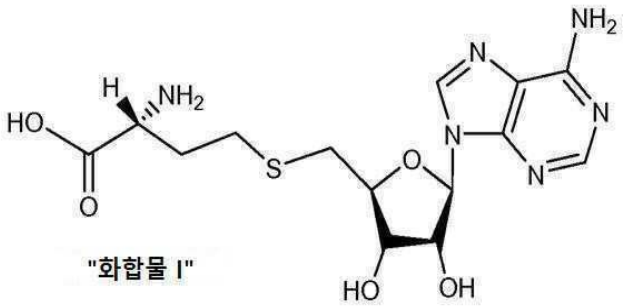

[0068]

[0069] 본원에 나타낸, 용어 "화합물 H" 또는 "화합물 H"는 5'-메틸티오아데노신; 5'-S-메틸-5'-티오아데노신, CAS 등록 번호 2457-80-9, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 지칭한다.




[0070]

[0071] 용어 "화합물 I" 또는 "화합물 I"는 (S)-5'-(S)-(3-아미노-3-카르복시프로필)-5'-티오아데노신, CAS 등록 번호 979-92-0으로도 알려진, S-아데노실-L-호모시스테인 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함한다.




[0072]

[0073] 본원에 나타낸, 용어 "화합물 J" 또는 "화합물 J"는 감마-글루타밀-메틸-시스테인으로도 알려진, γ-L-글루타밀-메틸-L-시스테인, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 지칭한다.




[0074]

[0075] 용어 "화합물 CDE"는 화합물 C, 화합물 D 및 화합물 E, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 혼합물을 지칭한다.

[0076] 용어 "화합물 HIJ"는 화합물 H, 화합물 I 및 화합물 J, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 혼합물을 지칭한다.

[0077] 용어 "유사체" 및 "유도체"는 서로 호환적이고 소정의 분자의 적어도 하나의 위치의 천연 또는 비-천연 변형을 지칭한다. 예를 들어, 소정의 화합물 또는 분자의 유도체는 관능기 또는 원자의 부가, 관능기 또는 원자의 제거 또는 관능기 또는 원자의 다른 관능기 또는 원자로의 변화 (이로 제한되는 것은 아니지만, 동위원소 포함) 중 하나에 의해 변형된다.

[0078] 용어 "포함하는"은 포괄적이고 부가적인 요소 또는 방법 단계를 제외하지 않는 조성물, 화합물, 제형 또는 방법을 지칭한다.

[0079] 용어 "이루어진"은 임의의 부가적인 성분 또는 방법 단계의 존재를 제외하는 화합물, 조성물, 제형, 또는 방법을 지칭한다.

[0080] 용어 "필수적으로 이루어진"은 조성물, 화합물, 제형 또는 방법의 특징(들)에 실질적으로 영향을 미치지 않는 부가적인 요소 또는 방법 단계를 포괄하는 조성물, 화합물, 제형 또는 방법을 지칭한다.

[0081] 용어 "화합물(들)"은 질환, 질병, 병, 또는 신체 기능의 장애를 치료 또는 예방하기 위해 사용될 수 있는 임의의 하나 이상의 화학적 실체, 조제약, 약물 등을 지칭한다. 화합물은 공지되고 잠재적인 둘 모두의 치료적 화합물을 포함한다. 화합물은 본 출원의 스크리닝 방법을 이용하여 치료제인 것으로 결정될 수 있다. "공지의 치료적 화합물"은 (예컨대, 동물 실험 또는 인간에의 투여를 이용한 사전 경험을 통해) 이러한 치료에 효과적인 것으로 나타난 바 있는 치료적 화합물을 지칭한다. 다시 말하면, 공지된 치료적 화합물은 질환 (예컨대, 신경퇴행성 질환)의 치료에 효과적인 화합물로 제한되지 않는다.

[0082] 용어 "조성물(들)"은, 이로 제한되는 것은 아니지만, 담체 작용제와 같은 다른 작용제의 존재 또는 부재를 갖는 하나 이상의 화합물의 조합을 지칭한다. (예컨대, 불활성 또는 활성인, 조성물을 시험관 내, 생체 내 또는 생체 외 진단적 또는 치료적 용도에 특히 적합하게 만드는, 담체와 하나 이상의 셀레늄 함유 화합물).

[0083] 용어 "성분"은 화합물, 또는 조성물의 구성 요소를 지칭한다. 예를 들어, 조성물의 성분은 화합물, 담체, 및 조성물 내에 존재하는 임의의 기타 작용제를 포함할 수 있다.

[0084] 용어 "유효량"은 유익한 또는 바람직한 결과를 초래하기에 충분한 조성물 또는 화합물의 양을 지칭한다. 유효량은 하나 이상의 적용 또는 투약량으로 투여될 수 있고 특정 제형 또는 투여 경로로 제한되는 것으로 의도되지 않는다.

[0085] 용어 "수화물"은 분자 형태로 물과 연관된, 즉 H-OH 결합이 분열되지 않고, 예를 들어, R이 본원에 기술된 화합물인, 화학식 (R x $H_2O$)로 표시될 수 있는 본원에 기술된 화합물을 지칭한다. 소정의 화합물은, 예를 들어, 일수화물 (R×$H_2O$), 이수화물 ($R_2$×$H_2O$), 삼수화물 (R×$H_2O$) 등을 포함하는, 하나 이상의 수화물을 형성할 수 있다.

[0086] 용어 "억제성" 또는 "길항적"은 다른 화합물의 작용 또는 기능을 감소시키고, 제한하거나, 또는 차단하는 화합물의 특성을 지칭한다.

[0087] 용어 "분리된"은 혼합물 내 적어도 하나의 다른 물질로부터 또는 그 물질과 자연적으로 연관된 물질들로부터 그 물질의 분리를 지칭한다. 예를 들어, 합성적으로 합성된 화합물은 출발 물질 또는 중간체로부터 분리된다.

[0088] 용어 "미토콘드리아 전위"는 막을 가로지르는 양성 전하의 순 이동 (net movement)에 의해 유지되는 내부 미토콘드리아 막을 가로지르는 전압 차이를 지칭한다.

[0089] 용어 "조절하다"는 공지되거나 또는 결정된 상태로부터 화합물의 상태 (예컨대, 활성 또는 양)를 변화시키는 것을 지칭한다.

[0090] "선택적" 또는 "선택적으로"는 연속적으로 기술된 사건 또는 상황이 일어나거나 일어나지 않을 수 있고, 그 서술이 상기 사건 또는 상황이 일어나는 경우와, 일어나지 않는 경우를 포함하는 상황을 지칭한다. "선택적으로"는 서술된 조건이 존재하는 실시양태와, 서술된 조건이 존재하지 않는 실시양태를 포함한다. 예를 들어, "선택적으로 치환된 페닐"은 치환되거나 치환되지 않을 수 있고, 그 서술은 비치환된 페닐 및 치환이 존재하는 페닐 둘 모두를 포함하는 것을 의미한다. "선택적으로"는 서술된 조건이 존재하는 실시양태와, 서술된 조건이 존재하지 않는 실시양태를 포괄한다.

[0091] 용어 "유기 셀레늄" 또는 "셀레노-유기 화합물"은 셀레늄이 황으로 대체된 임의의 유기 화합물을 지칭한다. 따라서, 유기 셀레늄은 효모에 의해 생합성된 임의의 이러한 화합물을 지칭할 수 있거나, 또는 이는 화학적으로 합성된 유리 유기 셀레노-화합물을 지칭할 수 있다. 후자의 예시는 유리 셀레노메티오닌이다. 일부의 경우, 셀레노-유기 화합물은 또한 셀레노 대사산물을 포함한다.

[0092] 용어 "환자" 또는 "개체"는 호환적이고 동물계의 임의의 구성원을 지칭한다. 바람직하게는 개체는 포유동물, 예컨대 인간, 길들여진 포유동물 또는 가축 포유동물이다.

[0093] 어구 "약제학적으로 허용가능한"은 적절한 의학적 판단의 범주 내에서, 합리적인 유익/유해 비율에 상응하는, 과도한 독성, 자극, 알러지 반응, 또는 다른 문제 또는 합병증의 유발 없이 인간 및 동물의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합한 그러한 화합물, 재료, 조성물, 및/또는 투약 형태를 지칭한다.

[0094] 어구 "약제학적으로-허용가능한 담체"는 하나의 장기 또는 신체의 일부분으로부터 대상 셀레늄 함유 화합물 또는 유사체 또는 유도체를 다른 장기, 또는 신체의 일부분으로 운반하는데 관여하는, 약제학적으로-허용가능한 재료, 조성물 또는 비히클, 예컨대 액체 또는 고체 충진제, 희석제, 부형제, 용매 또는 캡슐화 재료를 지칭한다. 각각의 담체는 제형의 다른 성분들과 상용성이고 환자에 해롭지 않다는 측면에서 "허용 가능해야만" 한다. 약제학적으로-허용가능한 담체로 제공될 수 있는 재료의 일부 예시에는: (1) 락토스, 글루코스 및 수크로스와 같은 당; (2) 옥수수 전분 및 감자 전분과 같은 전분; (3) 나트륨 카르복시메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스 및 셀룰로스 아세테이트와 같은 셀룰로스, 및 그의 유도체; (4) 분말화 트라가칸트; (5) 맥아; (6) 젤라틴; (7) 탈크; (8) 코코아 버터 및 좌약 왁스와 같은 부형제; (9) 땅콩유, 면실유, 홍화유, 참기름, 올리브유, 옥수수유 및 대두유와 같은 오일; (10) 프로필렌 글리콜과 같은 글리콜; (11) 글리세린, 소르비톨, 만니톨 및 폴리에틸렌 글리콜과 같은 폴리올; (12) 에틸 올리에이트 및 에틸 라우레이트와 같은 에스테르; (13) 아가; (14) 마그네슘 히드록사이드 및 알루미늄 히드록사이드와 같은 완충제; (15) 알긴산; (16) 발열성 물질이 제거된 물; (17) 등장 식염수; (18) 링거 용액; (19) 에틸 알코올; (20) 인산염 완충액; 및 (21) 약제학적 제형에 이용되는 다른 비독성 상용성 성분이 포함된다.

[0095] 용어 "전구약물"은 약제학적 활성인 화합물 또는 더욱 전형적으로는 대사적 전환에 의해 약제학적 활성제로 전환되는 불활성 화합물을 지칭한다. 상기 화학식의 임의의 화합물의 전구약물은 변형이 생체 내에서 절단되어 모체 화합물을 방출하게 하는 방식으로 상기 화학식의 임의의 화합물에 존재하는 관능기를 변형함으로써 제조된다. 생체 내에서, 전구약물은 생리학적 조건에서 (예컨대, 가수분해되거나 자연 발생적인 효소(들)에 의해 작동되는) 용이하게 화학적 변화를 거치며 그로써 약제학적 활성제의 유리를 초래한다. 전구약물은 히드록시, 아미노, 또는 카르복시 기가 각각 유리 히드록실, 아미노 또는 카르복시 기를 재생하기 위해 생체 내에서 절단될 수 있는 임의의 기에 결합되는 상기 화학식의 임의의 화합물을 포함한다. 전구약물의 예시에는, 이로 제한되는 것은 아니지만, 상기 화학식의 임의의 화합물의 에스테르 (예컨대, 아세테이트, 포르메이트 및 벤조에이트 유사체) 또는 생리학적 pH에 접하게 되거나 또는 효소 작용에 의해 활성 모체 약물로 전환되는 임의의 다른 유도체를 포함한다. 적합한 전구약물 유사체의 선별 및 제조를 위한 통상적인 과정이 당해 분야에 기술되어 있다 (예를 들어, Bundgaard. Design of Prodrμgs. Elsevier, 1985 참고).

[0096] 용어 "정제된" 또는 "정제하기 위한" 또는 "실질적으로 정제된"은 조성물의 10% 이하 (예컨대, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%,4%, 3%, 2%, 1% 또는 그 미만)가 활성 화합물 또는 약제학적으로 허용가능한 담체가 아닌 정도로 조성물로부터 불활성, 억제 성분과 같은 성분, 비반응 화합물, 또는 합성 동안 생성된 대체 화합물 (예컨대, 오염물)의 제거를 지칭한다.

[0097] 용어 "염"은 산 부가염 또는 유리 염기의 부가염을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 염은 약제학적으로 허용가능하다. 약제학적으로 허용가능한 산 부가염을 형성하는데 사용될 수 있는 산의 예시에는, 이로 제한되는 것은 아니지만, 질산, 인산, 황산, 또는 브롬화수소산, 염산, 플루오르화수소산, 인과 같은 비독성 무기산으로부터 유래한 염뿐만 아니라, 지방족 모노- 및 디카르복실산, 페닐-치환된 알카노산, 히드록실 알카노산, 알카네디오산, 방향족산, 지방족 및 방향족 설폰산, 및 아세트산, 말산, 석신산, 또는 시트르산과 같은 비독성 유기산으로부터 유래한 염이 포함된다. 이러한 염의 비-제한적인 예시에는 나파디실레이트, 베실레이트, 설페이트, 피로설페이트, 비설페이트, 설파이트, 비설파이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노히드로겐포스페이트, 디히드로겐포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트, 염소, 브롬, 요오드, 아세테이트, 트리플루오로아세테이트, 프로피오네이트, 카프릴레이트, 이소부티레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 만델레이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로벤조에이트, 프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 페닐아세테이트, 시트레이트, 락테이트, 말리에이트, 타르트레이트,

메탄설포네이트 등이 포함된다. 아르기네이트 등과 같은 아미노산의 염 및 글루코네이트, 갈락투로네이트가 또한 고려된다 (예를 들어, Berge, *et al.* "Pharmaceutical Salts," *J. Pharma. Sci.* 1977; 66: 1 참고).

[0098] 용어 "약제학적으로 허용가능한 염"에는, 이로 제한되는 것은 아니지만, 통상의 기술자에게 잘 알려진 본 발명의 화합물의 염, 예를 들어, 본 발명의 화합물의 모노-염 (예컨대, 알칼리 금속 및 암모늄 염) 및 폴리 염 (예컨대, 디- 또는 트리-염)이 포함된다. 본 명세서의 화합물의 약제학적으로 허용가능한 염은 --OH, --NH--, 또는 --P(=O)(OH)-- 중의 수소와 같이, 교환가능 기가 약제학적으로 허용가능한 양이온 (예컨대, 나트륨, 칼륨, 또는 암모늄 이온)으로 대체되고, 예를 들어 적합한 염기와의 반응에 의해 본원에 기술된 상응하는 화합물로부터 통상적으로 제조될 수 있는 경우이다. 화합물이 안정한 비독성 산 또는 염기 염을 형성하기에 충분히 염기성 또는 산성인 경우에, 염으로서 화합물의 투여가 적합할 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 염의 예시는 생리학적으로 허용가능한 음이온, 예를 들어, 토실레이트, 메탄설포네이트, 아세테이트, 시트레이트, 말로네이트, 타르타레이트, 석시네이트, 벤조에이트, 아스코르베이트, 알파-케토글루타레이트, 및 알파-글리세로포스페이트를 형성하는 산을 이용해 형성된 유기산 부가염이다. 히드로클로라이드, 설페이트, 니트레이트, 비카르보네이트, 및 카르보네이트 염을 비롯한 적합한 무기 염이 또한 형성될 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 염은 당해 기술분야에 잘 알려진 표준 과정을 이용하여, 예를 들어 아민과 같이 충분히 염기성인 화합물을 생리학적으로 허용가능한 음이온을 제공하는 적합한 산과 반응시킴으로써 수득될 수 있다. 카르복실산의 알칼리 금속 (예를 들어, 나트륨, 칼륨 또는 리튬) 또는 알칼리 토금속 (예를 들어, 칼슘) 염이 또한 제조될 수 있다.

[0099] 용어 "셀레늄-풍부 효모" 및 "셀렌화된 효모"는 무기 셀레늄 염을 함유하는 배지에서 배양된 임의의 효모 (예컨대, 사카로마이세스 세레비지에)를 지칭한다. 본 출원은 사용된 셀레늄 염으로 제한되지 않는다. 실제로, 이로 제한되는 것은 아니지만, 아셀렌산염 나트륨, 나트륨 셀레네이트, 코발트 셀레나이트 또는 코발트 셀레네이트를 포함하는 다양한 셀레늄 염이 본 출원에 유용한 것으로 고려된다. 이러한 효모 제조물 내 셀레늄-함유 화합물은 폴리펩타이드/단백질 내로 통합된 형태로 존재하게 될 셀레노메티오닌이다. 이러한 제조물 내 셀레노메티오닌의 형태로 존재하는 총 세포 셀레늄의 양은 변할 수 있지만, 10 내지 100% 사이, 20 내지 60%, 50 내지 75% 및 60 내지 75% 사이일 수 있다. 셀렌화된 효모 제조물 내 유기 셀레늄의 나머지는 주로 셀레노메티오닌 생합성의 경로에서 중간체로 구성된다. 이들은, 이로 제한되는 것은 아니지만, 셀레노시스테인, 셀레노시스타티오닌, 셀레노호모시스테인 및 셀레노아데노실셀레노메티오닌을 포함한다. 완성품 내 나머지 무기 셀레늄 염의 양은 일반적으로 매우 낮다 (예컨대, < 2%).

[0100] 모이어티와 관련하여 용어 "치환된"은 그 모이어티 위의 임의의 허용가능한 위치에서 모이어티에 부착된 추가의 치환기를 지칭한다. 달리 지시되지 않는 한, 모이어티는 탄소, 질소, 산소, 황, 또는 임의의 다른 허용가능한 원자를 통해 결합할 수 있다. 치환기의 예시에는, 이로 제한되는 것은 아니지만, 아민, 알코올, 티올, 에테르, 알켄, 알킨, 에폭시드, 아지리딘, 옥시란, 아제티딘, 디히드로퓨란, 피롤리딘, 피란, 피페리딘, 알데히드, 케톤, 에스테르, 카르복실산, 카르복실레이트, 이민, 이미드, 아지드, 아조 기, 엔아민, 알킬 할라이드, 알케닐 할라이드, 알키닐 할라이드, 아릴 할라이드, 포스핀, 포스핀 옥사이드, 포스피나이트, 포스포나이트, 포스파이트, 포스포네이트, 포스페이트, 설페이트, 설폭사이드, 설포닐 기, 설폭실 기, 설포네이트, 니트레이트, 니트라이트, 니트릴, 니트로 기, 니트로소 기, 시아네이트, 티오시아네이트, 이소티오시아네이트, 카르보네이트, 아실 할라이드, 퍼옥사이드, 히드로퍼옥사이드, 헤미아세탈, 헤미케탈, 아세탈, 케탈, 오르토에스테르, 오르토카르보네이트 에스테르, 설파이드, 디설파이드, 설폰산, 설폰산, 티온, 티알, 포스포디에스테르, 보론산, 보론산 에스테르, 보론산 및 보론산 에스테르가 포함된다.

[0101] 용어 "치료하는", "치료하다" 또는 "치료"는 목적이 바람직하지 않은 생리학적 병태, 장애 또는 질환을 지연시키고 (예컨대, 발병의 약화 또는 지연), 또는 비정상이었거나 비정상이 될 것인 파라미터, 값, 기능 또는 결과의 감소의 부분적 또는 전체 회복 또는 억제와 같은 유익하거나 바람직한 결과를 달성하기 위한 것인 치료적 처치를 지칭한다. 유익한 또는 바람직한 결과는, 이로 제한되는 것은 아니지만, 증상의 완화; 병태, 장애 또는 질환 발병의 정도 또는 활력 또는 속도의 감소; 병태, 장애 또는 질환 상태의 안정화 (즉, 악화되지 않음); 병태, 장애 또는 질환의 개시 지연 또는 진행의 둔화; 병태, 장애 또는 질환 상태의 완화; 및 실제 임상적 증상의 즉각적인 감소, 병태, 장애 또는 질환의 증진 또는 개선으로 해석되든 아니든, 회복 (부분적 또는 완전)을 포함한다.

[0102] 용어 "유전자 발현을 특이적으로 검출할 수 있는 시약(들)"은 본원에 상세히 기술된 다양한 유전자의 발현을 검출할 수 있거나 이를 검출하기에 충분한 시약을 지칭한다. 적합한 시약의 예시에는, 이로 제한되는 것은 아니지만, mRNA 또는 cDNA에 특이적으로 혼성화할 수 있는 핵산 프로브, 및 항체 (예컨대, 모노클로날 또는 폴리클

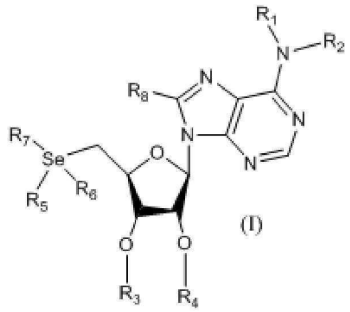
로날 항체)가 포함된다.

[0103] 용어 "독성"은 독성제의 투여 전에 동일한 세포 또는 조직과 비교하여 개체, 세포, 또는 조직에 임의의 해롭거나 또는 유해한 효과를 지칭한다.

[0104] **화합물 및 조성물**

[0105] 본 출원의 일 측면은 5'-메틸셀레노아데노신 ("화합물 C"), Se-아데노실-L-호모시스테인 ("화합물 D"), 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인 ("화합물 E") 및 이의 유사체에 관한 것이다. 일부 실시양태는 화학식(I)의 화합물, 화학식(II), 및/또는 화학식(III) 및 이들의 조합을 포함하는 조성물을 포함한다.

[0106] 일부 실시양태에서, 화학식(I)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물을 포함하는 조성물이 제공된다:

[0107] 


[0108] 상기 식에서,

[0109] $R_1$은 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 카르복실, 사이클로알킬, C(O)R', C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴이거나; 또는 $R_1$은 $R_2$와 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0110] $R_2$는 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 카르복실, 사이클로알킬, C(O)R', C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴로부터 선택되거나; 또는 $R_1$는 $R_2$와 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0111] $R_3$은 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 사이클로알킬, 카르복실, 또는 C-아미도이거나; 또는 $R_3$는 $R_4$ 및 이들이 부착되는 원자와 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0112] $R_4$는 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 사이클로알킬, 카르복실, 또는 C-아미도이거나; 또는 $R_3$은 $R_4$ 및 이들이 부착되는 원자와 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0113] $R_5$는 옥소, 히드록시, 알킬, 알케닐, 알키닐, OR'이거나 또는 부재하고; 여기서 R'은 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 아릴 또는 아르알킬로부터 선택되고;

[0114] $R_6$은 옥소, 히드록시, 알킬, 알케닐, 알키닐, OR'이거나 또는 부재하고; 여기서 R'은 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 아릴 또는 아르알킬로부터 선택되고;

[0115] $R_7$은 H, 알킬, 알케닐, 알키닐, 케톤, 아미노알코올, 아미노산, OR', Se-R', S-R'이고, 여기서 R'은 H, 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴로부터 선택되고;

[0116] $R_8$은 수소, 아지도, 알킬, 알케닐, 알키닐이다.

[0117] 추가의 실시양태에서, 화학식 (I)의 이들 화합물의 하나 이상은 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

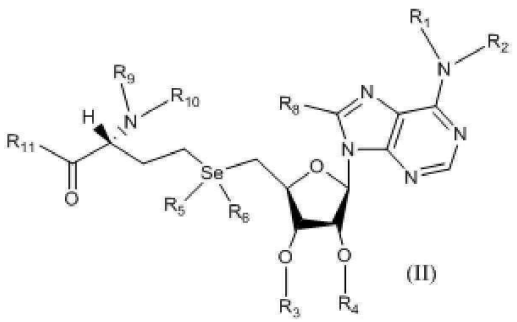
[0118] 일부 실시양태에서, 화학식 (I)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물을 포함하는 조성물이 제공되고, 여기서 $R_1$, $R_3$, $R_4$ 및 $R_8$은 각각 H이고; $R_2$는 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 카르복실, 사이클로알킬, C(O)R', 또는 C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴로부터 선택되고; $R_5$ 및 $R_6$은 각각 부재하고, $R_7$은 알킬, 또는 아미노산이다.

[0119] 일부 실시양태에서, 화학식 (I)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물을 포함하는 조성물이 제공되고, 여기서 $R_1$, $R_3$, $R_4$ 및 $R_8$은 각각 H이고; $R_2$는 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 카르복실, 사이클로알킬, C(O)R', C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴로부터 선택되고; $R_5$ 및 $R_6$은 각각 부재하고; $R_7$은 알킬, 또는 아미노산이고; 단 5'-셀레노아데노실 메티오닌, 데히드록시 5'-메틸셀레노아데노신, 에틸셀레노아데노신, 셀레노(히드록실)-셀레노펜-(3'-데옥시-아데노신), 알릴셀레노아데노실 호모시스테인, 셀레노-아데노실 호모시스테인, 셀레노-히드록시 아데노실 호모시스테인, 셀레노 아데노신, 셀레노아데노실-Se(메틸)-셀렌옥사이드, 아데노실-히드록시 셀렌옥사이드, 에틸 셀레노아데노신, 셀레노-(히드록시)-셀레노펜-(3'-데스옥시-아데노신), 아데노실-히드록시 셀른옥사이드, 및 셀레노아데노실-Se(메틸)-셀렌옥사이드는 각각 조성물로부터 제외될 수 있다.

[0120] 특정 측면에서, 5'-메틸셀레노아데노신 ("화합물 C")인 화학식 (I)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물을 포함하는 조성물이 제공된다.

[0121] 일부 실시양태에서, 조성물은 화학식 (I)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물을 포함하고, 단 5'-셀레노아데노실 메티오닌, 데히드록시 5'-메틸셀레노아데노신, 에틸셀레노아데노신, 셀레노(히드록실)-셀레노펜-(3'-데옥시-아데노신), 알릴셀레노아데노실 호모시스테인, 셀레노아데노실 호모시스테인, 셀레노-히드록시 아데노실 호모시스테인, 셀레노 아데노신, 셀레노아데노실-Se(메틸)-셀렌옥사이드, 아데노실-히드록시 셀렌옥사이드, 에틸 셀레노아데노신, 셀레노-(히드록시)-셀레노펜-(3'-데스옥시-아데노신), 아데노실-히드록시 셀른옥사이드, 및 셀레노아데노실-Se(메틸)-셀렌옥사이드는 각각 조성물로부터 제외될 수 있다.

[0122] 일부 실시양태에서, 하기 화학식(II)의 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물 또는 전구약물을 포함하는 조성물이 제공된다:




(II)

[0123]

[0124] 상기 식에서,

[0125] $R_1$은 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 카르복실, 사이클로알킬, C(O)R', C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴이거나; 또는 $R_1$은 $R_2$와 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0126] $R_2$는 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 카르복실, 사이클로알킬, C(O)R', C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴로부터 선택되거나; 또는 $R_1$는 $R_2$와 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0127] $R_3$은 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 사이클로알킬, 카르복실, 또는 C-아미도이거나; 또는 $R_3$은 $R_4$ 및 이들이 부착되는 원자와 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고

리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0128] $R_4$는 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 사이클로알킬, 카르복실, 또는 C-아미도이거나; 또는 $R_3$은 $R_4$ 및 이들이 부착되는 원자와 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0129] $R_5$는 옥소, 히드록시, 알킬, 알케닐, 알키닐, OR'이거나 또는 부재하고; 여기서 R'은 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 아릴 또는 아르알킬로부터 선택되고,

[0130] $R_6$은 옥소, 히드록시, 알킬, 알케닐, 알키닐, OR'이거나 또는 부재하고; 여기서 R'은 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 아릴 또는 아르알킬로부터 선택되고,

[0131] $R_8$은 수소, 아지도, 알킬, 알케닐, 알키닐이고,

[0132] $R_9$는 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 카르복실, 사이클로알킬, C(O)R', C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴이거나; 또는 $R_9$는 $R_{10}$과 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0133] $R_{10}$은 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 카르복실, 사이클로알킬, C(O)R', C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴로부터 선택되거나; 또는 $R_9$는 $R_{10}$과 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0134] $R_{11}$은 OH, OR, 알콕시, 아르알콕시, 또는 아미노이고, 여기서 R은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로사이클릴, 또는 약제학적으로 허용가능한 염, 또는 분자내 염으로부터 선택된다.

[0135] 추가의 실시양태에서, 화학식 (II)의 이들 화합물의 하나 이상은 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

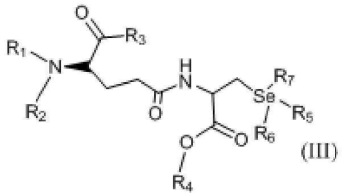
[0136] 일부 실시양태에서, 화학식 (II)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물을 포함하는 조성물이 제공되고, 여기서 $R_1$, $R_3$, $R_4$, $R_8$ 및 $R_9$는 각각 H이고; $R_2$는 H, 아실, 알킬, 카르복실, C(O)R', 또는 C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴로부터 선택되고; $R_5$ 및 $R_6$은 부재하고; $R_{10}$은 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 카르복실, 사이클로알킬, C(O)R', C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴로부터 선택되고; $R_{11}$은 OH, OR, 알콕시, 아르알콕시, 또는 아미노이고, 여기서 R은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로사이클릴, 또는 약제학적으로 허용가능한 염, 또는 분자내 염ㅇ으로부터 선택된다.

[0137] 일부 실시양태에서, 화학식 (II)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물을 포함하는 조성물이 제공되고, 여기서 $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_8$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$은 상기에 정의된 바와 같고, 여기서 $R_{11}$은 OH 또는 OR이고, 여기서 R은 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, sec-부틸, 또는 tert-부틸로부터 선택된다.

[0138] 특정 측면에서, 5'-셀레노아데노실 호모시스테인 (화합물 "D"), 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물인 화학식 (II)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물을 포함하는 조성물이 제공된다.

[0139] 일부 실시양태에서, 조성물은 화학식 (II)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물을 포함하고; 단 5'-셀레노아데노실 메티오닌, 알릴셀레노아데노실 호모시스테인, 셀레노아데노실 호모시스테인, 및 셀레노-히드록시 아데노실 호모시스테인은 각각 이 조성물로부터 제외될 수 있다.

[0140] 일부 실시양태에서, 화학식 (III)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물을 포함하는 조성물이 제공된다:



(III)

[0141]

[0142] 상기 식에서,

[0143] $R_1$은 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 카르복실, 사이클로알킬, C(O)R', C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴이거나; 또는 $R_1$은 $R_2$와 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0144] $R_2$는 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 카르복실, 사이클로알킬, C(O)R', C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴로부터 선택되거나; 또는 $R_1$는 $R_2$와 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0145] $R_3$은 OH, OR, 알콕시, 아르알콕시 또는 아미노이고, 여기서 R은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로사이클릴, 또는 약제학적으로 허용가능한 염, 또는 분자내 염으로부터 선택되고;

[0146] $R_4$는 H, 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로사이클릴, 또는 약제학적으로 허용가능한 염, 또는 분자내 염이고;

[0147] $R_5$는 옥소, 히드록실, 알킬, 알케닐, 알키닐, OR'이거나 또는 부재하고, 여기서 R'은 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 아릴 또는 아르알킬로부터 선택되고;

[0148] $R_6$는 옥소, 히드록시, 알킬, 알케닐, 알키닐, OR'이거나 또는 부재하고; 여기서 R'은 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 아릴 또는 아르알킬로부터 선택되고,

[0149] $R_7$은 H, 알킬, 알케닐, 알키닐, 케톤, OR', Se-R', S-R'이고, 여기서 R'은 H, 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴로부터 선택된다.

[0150] 일부 실시양태에서, 화학식 (III)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물을 포함하는 조성물이 제공되고, 여기서

[0151] $R_1$ 및 $R_2$는 각각 H이고;

[0152] $R_3$은 OH, OR, 알콕시, 아르알콕시, 또는 아미노이고, 여기서 R은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로사이클릴, 또는 약제학적으로 허용가능한 염, 또는 분자내 염으로부터 선택되고;

[0153] $R_4$는 H, 또는 약제학적으로 허용가능한 염, 또는 분자내 염이고;

[0154] $R_5$ 및 $R_6$은 부재하고;

[0155] $R_7$은 알킬, 알케닐 또는 알키닐이다.

[0156] 추가의 실시양태에서, 화학식 (III)의 이들 화합물의 하나 이상은 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

[0157] 일부 실시양태에서, 화학식 (III)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물을 포함하는 조성물이 제공되고, 여기서 $R_1$ 및 $R_2$는 각각 H이고; $R_3$은 OH 또는 OR이고, 여기서 R은 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, sec-부틸, 또는 tert-부틸로부터 선택되고; $R_4$는 H이고; $R_5$ 및 $R_6$은 부재하고; $R_7$은 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소-부틸, sec-부틸, 또는 tert-부틸인 알킬이다.

[0158] 일부 실시양태에서, 화학식(III)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약

물을 포함하는 조성물이 제공되고, 여기서 $R_1$ 및 $R_2$는 각각 H이고; $R_3$은 OH 또는 OR이고, 여기서 R은 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, sec-부틸, 또는 tert-부틸로부터 선택되고; $R_4$는 H이고; $R_5$ 및 $R_6$은 부재하고; $R_7$은 메틸이다.

[0159] 특정 측면에서, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인 ("화합물 E"), 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물인 화학식 (III)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물을 포함하는 조성물이 제공된다.

[0160] 일부 실시양태에서, 조성물은 화학식 (III)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물을 포함하고, 단 ɣ-글루타모일 셀레노시스테인-ɣ-글루타모일 시스테인, ɣ-글루타모일시스테인-2,3-DHP-셀레노시스테인, 디-ɣ-글루타모일셀레노시스테인, 셀레노글루타티온-ɣ-글루타모일시스테인, ɣ-글루타모일 셀레노시스테인-ɣ-글루타모일 시스테인, ɣ-글루타모일시스테인-2,3-DHP-셀레노시스테인, 디-ɣ-글루타모일셀레노시스테인, 및 셀레노글루타티온-ɣ-글루타모일시스테인은 각각 조성물로부터 제외될 수 있다.

[0161] 일부 실시양태에서, 화학식 (I), (II) 및/또는 (III)의 하나 이상에 따른 하나 이상의 화합물을 포함하는 조성물이 제공되고, 하기 화합물의 각각은 셀레늄 독성을 최소화하고, 불활성 또는 억제 화합물을 제거하고/하거나, 조성물의 치료 지수를 최대화하기 위해 조성물로부터 제외되고, 여기서 제외되는 화합물은 ɣ-글루타모일 셀레노시스테인-ɣ-글루타모일 시스테인, ɣ-글루타모일시스테인-2,3-DHP-셀레노시스테인, 디-ɣ-글루타모일셀레노시스테인, 셀레노글루타티온-ɣ-글루타모일시스테인, ɣ-글루타모일 셀레노시스테인-ɣ-글루타모일 시스테인, ɣ-글루타모일시스테인-2,3-DHP-셀레노시스테인, 디-ɣ-글루타모일셀레노시스테인, 셀레노글루타티온-ɣ-글루타모일시스테인, 데히드록시 5'-메틸셀레노아데노신, 에틸셀레노아데노신, 셀레노(히드록실)-셀레노펜-(3'-데옥시-아데노신), 알릴셀레노아데노실 호모시스테인, 셀레노-아데노실 호모시스테인, 셀레노-히드록시 아데노실 호모시스테인, 셀레노 아데노신, 셀레노-아데노실-Se(메틸)-셀렌옥사이드, 아데노실-히드록시 셀렌옥사이드, 에틸셀레노아데노신, 셀레노-(히드록시)-셀레노펜-(3'-데스옥시-아데노신), 아데노실-히드록시 셀렌옥사이드, 및 셀레노아데노실-Se(메틸)-셀렌옥사이드이다.

[0162] 실시양태에서, 본원에 기술된 임의의 화합물은 반감기를 연장하고, 화합물을 산화로부터 보호하고, 화합물을 조직으로 표적하고, 화합물의 혈액 뇌 장벽 통과를 가능케 하기 위해 전구약물을 이용해 변형될 수 있다.

[0163] 실시양태에서, 전구약물은 셀레노글리코시드를 포함한다. 글리코시드에는 단당류, 이당류 및 올리고당류가 포함된다. 당류는 리보스, 글루코스, 갈락토스, 또는 만노스를 포함할 수 있다. 예를 들어, 셀레늄 모이어티에 접합된 갈락토스는 간에 화합물을 표적할 수 있다.

[0164] 다른 실시양태에서, 전구약물은 셀레나졸리딘을 포함한다. 이들 화합물은 화합물에 느린 방출을 제공한다.

[0165] 또 다른 실시양태에서, 전구약물은 본원에 기술된 바와 같이 셀레노유기 화합물의 C 또는 E와 같은 비타민에의 접합을 포함한다. 이들 전구약물 접합체는 향상된 보호 효과를 갖는다.

[0166] 또 다른 실시양태에서, 전구약물은 시토크롬 P450 활성화 전구약물, 예를 들어, 사이클릭 포스페이트 또는 포스포네이트이다. 특히, 뉴클레오시드는 이들 분자를 이용해 변형되어 있고 간으로의 분자 표적화를 제공한다. 예시적인 전구약물에는 HepDirect 전구약물이 포함된다. 시토크롬 P450 활성화 전구약물의 다른 실시양태는 생체이용률을 개선하고 문헌 [Huttunen et al., Current Medicinal Chemistry 2008 15: 2346]에 기술된다.

[0167] 실시양태에서, 화학식 (I), 화학식 (II), 화학식 (III)의 임의의 화합물은 셀레늄의 산화를 감소시키도록 변형될 수 있다. 실시양태에서, 화합물은 셀레늄 원자들 사이에의 결합을 통해 이량체를 형성할 수 있다.

[0168] 실시양태에서, 화학식 (I), 화학식 (II), 화학식 (III)의 임의의 화합물은 화합물의 반감기를 증가시키기 위해 조직 표적화제 또는 기타 작용제에의 결합에 의해 변형될 수 있다. 실시양태에서, 조직 표적화제는 조직 특이적 항체, 트렌스페린 수용체, 또는 본원에 기술된 바와 같은 전구약물에의 결합에 특이적인 항체를 포함한다.

[0169] 다른 실시양태에서, 화합물은 조성물을 뇌로 전달하고 다른 조직 표적화를 제공하기 위해 중합체 담체 또는 나노입자 담체에 결합되거나 이와 조합될 수 있다. 이러한 중합체 담체에는, 이로 제한되는 것은 아니지만, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리락타이드, 폴리글리콜라이드, 폴리오르토에스테르, 폴리비닐 피롤리돈, 및 폴리비닐 알코올이 포함된다. 미립구 및 리포좀은 폴리디락틱 코글리콜산 (PLGA) 미립구를 포함한다. 다른 나노입자는 인지질, 키토산, 락트산, 및 덱스트란을 포함한다.

[0170] 지질 전구약물이 또한 본 발명의 화합물과 함께 사용하기에 적합하다. 비제한적인 예시로서, 특정 지질 전구약

물은 둘 모두가 본원에 참고로 포함되는, 문헌 [Hostetler et al., 1997 Biochem. Pharm. 53: 1815-1822, 및 Hostetler et al., 1996 Antiviral Research 31: 59-67]에 기술되어 있다. 적합한 전구약물 기술의 부가적인 예시가 WO 90/00555; WO 96/39831; WO 03/095665A2; 미국특허 제5,411,947호; 제5,463,092호; 제6,312,662호; 제6,716,825호; 및 미국공개특허출원 제2003/0229225호 및 제2003/0225277호에 기술되어 있고, 이들 각각은 참조로서 본원에 그 전체가 포함된다. 이러한 전구약물은 또한, 이들 각각이 참조로서 본원에 그 전체가 포함되는, 문헌 [Erion et al., 2004 J. Am. Chem. Soc. 126: 5154-5163; Erion et al., Am. Soc. Pharm. & Exper. Ther. DOI:10.1124/jept.104.75903 (2004)]; WO 01/18013 A1; 미국특허 제6,752,981호에 기술된 바와 같이, 환자 내부의 특정 조직, 예를 들어 간에 약물 화합물을 표적하는 능력을 가질 수 있다. 비제한적인 예시로서, 본 발명의 화합물과 사용하기에 적합한 다른 전구약물이 WO 03/090690; 미국특허 제6,903,081호; 미국특허출원 제2005/0171060A1호; 미국특허출원 제2002/0004594A1호; 및 문헌 [Harris et al., (2002 Antiviral Chem & Chemo. 12: 293-300; Knaggs et al., 2000 Bioorganic & Med. Chem. Letters 10: 2075-2078]에 기술되어 있고, 이들 각각은 참조로서 본원에 그 전체가 포함된다.

[0171] 일부 실시양태에서, 화학식 (I)에 따른 하나 이상의 화합물 각각을 포함하는 조성물이 제공된다. 일부 측면에서, 화학식 (I)에 따른 하나 이상의 화합물 각각을 포함하는 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물; 및 5'-셀레노아데노실 호모시스테인, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물을 포함한다.

[0172] 일부 실시양태에서, 화학식 (I) 및 화학식 (III)에 따른 하나 이상의 화합물 각각을 포함하는 조성물이 제공된다. 일부 측면에서, 화학식 (I) 및 화학식 (III)에 따른 하나 이상의 화합물 각각을 포함하는 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물; 5'-셀레노아데노실 호모시스테인, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물; 및 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물을 포함한다.

[0173] 일부 실시양태에서, 화학식 (I) 및 화학식 (III)에 따른 하나 이상의 화합물 각각을 포함하는 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물; 및 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물을 포함한다.

[0174] 일부 실시양태에서, 화학식 (II) 및 화학식 (III)에 따른 하나 이상의 화합물 각각을 포함하는 조성물이 포함된다. 일부 측면에서, 화학식 (II) 및 화학식 (III)에 따른 하나 이상의 화합물 각각을 포함하는 조성물은 5'-셀레노아데노실 호모시스테인, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물; 및 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물을 포함한다.

[0175] 다른 측면에 따르면, 본 발명은 약제학적으로-허용가능한 희석제 또는 담체와 함께, 본 발명의 하나 이상의 화합물 또는 이의 약제학적으로-허용가능한 염, 에스테르 또는 전구약물의 치료학적 유효량을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

[0176] 약제학적으로 허용가능한 담체에는: (1) 락토스, 글루코스 및 수크로스와 같은 당; (2) 옥수수 전분 및 감자 전분과 같은 전분; (3) 나트륨 카르복시메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스 및 셀룰로스 아세테이트와 같은 셀룰로스, 및 그의 유도체; (4) 분말화 트라가칸트; (5) 맥아; (6) 젤라틴; (7) 탈크; (8) 코코아 버터 및 좌약 왁스와 같은 부형제; (9) 땅콩유, 면실유, 홍화유, 참기름, 올리브유, 옥수수유 및 대두유와 같은 오일; (10) 프로필렌 글리콜과 같은 글리콜; (11) 글리세린, 소르비톨, 만니톨 및 폴리에틸렌 글리콜과 같은 폴리올; (12) 에틸 올리에이트 및 에틸 라우레이트와 같은 에스테르; (13) 아가; (14) 마그네슘 히드록사이드 및 알루미늄 히드록사이드와 같은 완충제; (15) 알긴산; (16) 발열성 물질이 제거된 물; (17) 등장 식염수; (18) 링거 용액; (19) 에틸 알코올; (20) 인산염 완충액; 및 (21) 약제학적 제형에 이용되는 다른 비독성 상용성 성분이 포함된다.

[0177] 조성물은 임의의 투여 경로, 특히 경구, 직장, 경피, 피하, 정맥내, 근육내 또는 비강내 투여를 위해 제형화될 수 있다. 조성물은 임의의 통상적인 형태, 예를 들어, 정제, 캡슐, 캐플릿, 용액, 현탁액, 분산액, 시럽, 겔, 좌약, 패치 및 에멀젼으로 제형화될 수 있다.

[0178] 의학 분야에 잘 알려진 바와 같이, 임의의 한 개체에 대한 투약량은 환자의 사이즈, 체표면적, 연령, 투여되는 특정 화합물, 성별, 투여 기간 및 경로, 일반적인 건강상태, 및 동시에 투여되는 다른 약물과의 상호작용을 포함하는, 다수의 요인에 좌우된다. 치료에 의해 변경되고자 하는 표적에 따라서, 약제학적 조성물은 제형화되어 전신적으로 또는 국소적으로 투여될 수 있다. 제형 및 투여 기술은 "Remington's Pharmaceutical Sciences" (Mack Publishing Co, Easton Pa.)의 최신판에서 확인할 수 있다. 적합한 경로는, 예를 들어 경구 또는 경피

투여; 뿐만 아니라 근육내, 피하, 골수내, 척수내, 심실내, 정맥내, 복강내, 또는 비강내 투여를 비롯한 비경구 전달을 포함할 수 있다.

[0179] 본 출원에 사용하기에 적합한 약제학적 조성물은 활성 성분 (예컨대, 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식(I)의 화합물, 화학식(II)의 화합물, 화학식(III)의 화합물, 및 이들의 조합)이 의도된 목적을 달성하기 위한 유효량으로 함유된 조성물을 포함한다. 예를 들어, 바람직한 실시양태에서, 약제학적 조성물의 유효량은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식(I)의 화합물, 화학식(II)의 화합물, 화학식(III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물의 양을 포함한다. 유효량의 결정은 본원에 제공된 설명에 비추어 충분히 통상의 기술자의 능력 범위 내이다.

[0180] 2% 이하의 무기 셀레늄을 포함하는 셀렌화된 효모는 일반적으로 다수의 셀레늄 함유 성분을 함유한다. 셀렌화된 효모의 전형적인 수 추출물의 주요 셀레늄 성분은 셀레노단백질 및 셀레노메티오닌이다. 1000 킬로달톤("Kda") 미만의 분자량을 갖는 다른 소분자량 성분이 동정되고, 분리되고, 정제된다. 셀렌화된 효모 내 또는 이의 수 추출물에 존재하는 성분 및 화합물의 일부는 이러한 셀렌화된 효모로부터 분리되면 더 약한 바람직한 생체활성 또는 심지어 미토콘드리아에 대한 억제 생체활성을 갖는다. 글루타밀 셀레노시스테인, 및 5'-메틸티오아데노신, S-아데노실-L-호모시스테인, 및 감마-글루타밀-메틸-시스테인과 같은 황 함유 화합물은 본원에 기술된 바와 같이 불활성이거나 또는 일부 경우에는 억제성이다.

[0181] 일부 셀레늄-함유 화합물은 또한 합성적으로 제조되고, 정제되고, 생체활성 분석에서 스크리닝되고 있다. 스크리닝을 위한 농도 범위는 약 15 내지 약 500 ppb (parts per billion)를 포함한다. 생체활성은 본원에 기술된 조성물의 경우에 15 ppb에서조차 검출될 수 있다. 실시양태에서, 생체활성 분석은 미토콘드리아 전위 분석이다. 셀렌화된 효모 또는 이의 수 추출물에서 발견된 모든 성분 및 화합물이 이러한 효모로부터 수득되는 경우 생물학적 활성을 갖는 것은 아니며, 일부는 바람직한 생물학적 활성을 억제한다.

[0182] 실시양태에서, 합성적으로 생산된 셀레늄-함유 화합물은 수 추출물 내 존재하는 것들과 다른 비율로 조성물 내에서 만들어진다. 예를 들어, 전형적인 수 추출물은 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인 대 5'-메틸셀레노아데노신 또는 Se-아데노실-L-호모시스테인을 7 대 1의 비율로 포함할 것이다. 실시양태에서, 합성적으로 생산된 화합물을 함유하는 조성물은 동일한 양의 각 셀레늄-함유 성분, 예를 들어 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인 대 5'-메틸셀레노아데노신 대 Se-아데노실-L-호모시스테인의 적어도 1:1:1의 비율을 포함할 수 있다. 다른 실시양태에서, 조성물은 5:1 내지 1:1의 비율로 적어도 2종의 성분을 포함할 수 있다.

[0183] 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (II)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합을 포함하는 하나 이상의 화합물을 포함하는 조성물은 생리학적 식염수와 같은 약제학적으로 허용가능한 담체 중에서 정맥내로 개체 (예컨대, 환자)에 투여될 수 있다. 화합물의 세포내 전달을 위한 표준 방법이 사용될 수 있다 (예컨대, 리포좀을 통한 전달). 이러한 방법은 당해 분야의 통상의 기술자에 잘 알려져 있다.

[0184] 셀레늄을 포함하는 조성물은 정맥내 투여뿐만 아니라 정맥내, 피하, 근육내, 및 복강내와 같은 비경구 투여에 적합하다. 주입을 위해, 본 출원의 셀레늄을 포함하는 조성물 (예컨대, 약제학적 조성물)은 수성 용액, 바람직하게는 행크 용액, 링거 용액, 또는 생리학적 완충 식염수와 같은 생리학적으로 상용성인 완충제 내에서 제형화될 수 있다. 조직 또는 세포 투여를 위해, 침투되는 특정 장벽에 적합한 침투물 (penetrant)이 제형에 사용된다. 이러한 침투물은 일반적으로 당해 분야에 알려져 있다.

[0185] 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (II)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합을 포함하는 조성물은 일상 소비를 위한 영양 음료 또는 식품 (예컨대, ENSURE, POWERBAR, 등), 멀티-비타민, 영양 제품, 식품 제품 등에 첨가될 수 있다.

[0186] 다른 실시양태에서, 본 출원의 조성물은 경구 투여에 적합한 투약량에 당해 분야에 잘 알려진 약제학적으로 허용가능한 담체를 사용하여 제형화될 수 있다. 이러한 담체는 치료되는 환자에 의한 경구 또는 코 섭취를 위해 약제학적 조성물을 정제, 알약, 캡슐, 액체, 겔, 시럽, 슬러리, 현탁액 등과 같이 제형화하는 것을 가능케 할 수 있다.

[0187] 본 출원의 일부 실시양태에서, 셀레늄을 포함하는 조성물 및/또는 제형은 개체에 단독으로, 또는 셀레늄의 다른 형태, 약물, 소분자와 조합하여, 또는 부형제(들) 또는 다른 약제학적으로 허용가능한 담체와 혼합된 약제학적 조성물로서 투여될 수 있다. 실시양태에서, 조성물은 독성을 최소화하기 위하여 하나 이상의 아미노산 또는 셀

레노 아미노산, 예컨대 메티오닌, 시스테인, 또는 셀레노시스테인을 포함할 수 있다. 본 출원의 일 실시양태에서, 약제학적으로 허용가능한 담체는 약제학적으로 불활성이다. 본 출원의 다른 실시양태에서, 셀레늄을 포함하는 조성물은 미토콘드리아 기능장애와 연관된 질환 또는 병태에 걸린 위험에 처하거나 걸린 개별적 개체에 단독으로 투여될 수 있다.

[0188] **화합물 및 조성물의 사용 방법**

[0189] 본원에 기술된 바와 같이, 화합물 및 이들의 조합은 미토콘드리아 기능을 강화시키고, 미토콘드리아 기능장애를 치료하고, 알츠하이머병을 치료하고, 조직-특이적 및 조직-적합적 방식으로 글루코스 대사를 조정하는데 유용하다.

[0190] **A. 미토콘드리아 기능 및 기능장애**

[0191] 미토콘드리아는 고등 유기체의 세포에 있는 주된 에너지-생산 소기관이다. 미토콘드리아는 다양한 세포 호흡, 산화 및 대사 과정의 직접 및 간접적인 생화학적 조절을 제공한다. 이들은 전자전달계 (electron transport chain, ETC) 활성을 포함하는데, 이는 아데노신 트리포스페이트 (ATP)의 형태로 대사 에너지를 생산하기 위해 산화적 인산화를 유도하고, 세포내 칼슘 항상성에 있어 중추적인 미토콘드리아 역할을 또한 담당한다.

[0192] 성장하는 세포에서 에너지 생산에 있어 이들의 역할에 덧붙여, 미토콘드리아 (또는, 적어도, 미토콘드리아 성분)는 아폽토시스로도 알려진, 프로그램된 세포 사멸 (PCD)에 참여한다 (예컨대, Newmeyer et al., Cell 1994, 79: 353-364; Liu et al., Cell 1996, 86: 147-157 참고). 아폽토시스는 신경계의 정상적인 발달 및 면역계의 적절한 기능에 요구된다. 더욱이, 일부 질환 상태는 불충분하거나 과도한 수준 (예컨대, 각각 암 및 자가면역 질환, 및 후자의 경우 알츠하이머병에서의 뇌졸중 손상 및 신경변성)의 아폽토시스 중 하나와 연관되어 있는 것으로 생각된다. 아폽토시스에서 미토콘드리아의 역할은 문헌에 보고되어 있다 (예컨대, Green and Reed, Science, 1998, 281: 1309-1312; Green, Cell, 1998, 94: 695-698; and Kromer, Nature Medicine, 1997, 3: 614-620 참고).

[0193] 미토콘드리아-관련 질환 (예컨대, 기능장애성 미토콘드리아에 의해 야기됨)이 또한 유리 라디칼 산화 이외의 기전에 의한 미토콘드리아 막 전기화학적 전위의 소실과 연관될 수 있고, 투과성 전이가 미토콘드리아 유전자, 유전자 산물 또는 관련 하류 매개체 분자 및/또는 미토콘드리아외 (extramitochondrial) 유전자, 유전자 산물 또는 관련 하류 매개체의 직접 또는 간접적 효과로부터, 또는 다른 공지의 또는 불명의 원인으로부터 초래될 수 있다. 따라서 미토콘드리아 전위의 소실은, 퇴행성 질환뿐만 아니라 노화와 연관된 질환/병태 (예컨대, 암, 심혈관 질환 및 심부전, 2형 당뇨병, 알츠하이머병 및 파킨슨병, 지방간 질환, 백내장, 골다공증, 근육 소모, 수면 장애, 및 건선, 관절염 및 대장염과 같은 염증성 질환)을 포함하는 변경된 미토콘드리아 기능과 연관된 질환의 진행에 결정적인 사건일 수 있다. 본원에 기술된 바와 같이 본 방법은 개체의 세포가 스트레스를 받거나 병이 난 상태이든 아니든 미토콘드리아 기능을 강화시키는데 유용하다.

[0194] 본원에 기술된 바와 같이 화합물 및 조성물은 미토콘드리아 기능에 대한 이들의 효과와 무관하게 조직 특이성을 나타낸다.

[0195] 실시양태는 세포에 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 하나 이상의 신장 세포에서 미토콘드리아 기능을 강화시키는 방법 또는 용도를 포함하고: 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, 화학식(I)의 화합물, 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물을 포함하고, 상기 유효량은 상기 조성물로 처리되지 않은 세포에 비해 미토콘드리아 기능을 강화시킨다. 추가의 실시양태에서, 하나 이상의 화합물은 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

[0196] 실시양태에서, 조성물은 Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 글루타밀 셀레노시스테인, 화학식(III)의 화합물, 5'-메틸티오아데노신, 또는 S-아데노실-L-호모시스테인의 하나 이상을 제외할 수 있다.

[0197] 실시양태에서, 본 출원은 5'-메틸셀레노아데노신, 화학식(I)의 화합물 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함하는 조성물의 용도를 제공하고, 상기 유효량은 신장 세포에서 미토콘드리아 기능을 강화시킨다.

[0198] 실시양태에서, 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신 및/또는 화학식(I)의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함한다. 실시양태에서, 신장 세포에서 미토콘드리아 기능을 강화시키기 위한 조성물은 Se-아데노실-L-호모시스테인, 메틸티오아데노신, 또는 S-아데노실-L-호모시스테인의 하나 이상을 포함하지 않을 수 있다.

[0199] 본 출원의 실시양태는 골격근 세포, 신경 세포, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 세포에서 미토콘드리아 기능을 강화시키는 방법 또는 용도를 포함하고, 상기 방법은: 세포에 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하며, 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식(I)의 화합물, 화학식(II)의 화합물, 화학식(III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함하고, 상기 유효량은 상기 조성물로 처리되지 않은 세포에 비해 미토콘드리아 기능을 강화시킨다. 추가의 실시양태에서, 하나 이상의 화합물은 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

[0200] 실시양태에서, 본 출원은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식(I)의 화합물, 화학식(II)의 화합물, 화학식(III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함하는 조성물의 용도를 제공하고, 상기 유효량은 골격근 세포, 신경 세포, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 세포에서 미토콘드리아 기능을 강화시킨다.

[0201] 실시양태에서, 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 화학식(I)의 화합물, 및/또는 화학식(II)의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함한다. 실시양태에서, 근육 세포에서 미토콘드리아 기능을 강화시키기 위한 조성물은 메틸티오아데노신, 또는 S-아데노실-L-호모시스테인의 하나 이상을 포함하지 않을 수 있다. 본 출원의 범주를 제한하는 것을 의미하지 않으면서, 메틸티오아데노신, 또는 S-아데노실-L-호모시스테인은 골격근 세포에서 미토콘드리아 기능에 독성 효과를 나타낸다.

[0202] 통상적으로 사용되는 셀레늄 보충제, 예컨대 셀레늄-강화 효모에서 특정 황-함유 분자의 존재는, 일부 사례에서, 미토콘드리아 활성을 억제하고, 시간의 경과에 따라서, 전-당뇨병성 상태를 초래할 수 있다. 성인-개시 당뇨병이 여러 해의 기간에 걸친 미토콘드리아 활성의 점진적인 감소와 연결되어 있음이 문헌에 잘 보고되어 있다. 이는 매일 섭취된 글루코스의 75-80%를 사용하는 것으로 추정되는 골격근의 경우에 특히 중요하다. 글루코스를 효과적으로 연소하기 위한 근육 미토콘드리아의 능력에 있어 온건한 감소 (예컨대, 20% 억제)조차도, 시간의 경과에 따라서, 심각한 건강 문제를 초래할 수 있다. 화합물 Se-아데노실-L-호모시스테인에 대한 반응으로 골격근 세포에서 확인된 미토콘드리아 활성의 2-배 자극은, 예를 들어 전-당뇨병 또는 당뇨병 개체의 근육 조직에서 미토콘드리아 감소를 회피하거나 지연시키는 방법을 나타낼 수 있다.

[0203] 실시양태에서, 신경 세포에서 미토콘드리아 기능을 강화시키는 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식(I)의 화합물, 화학식(II)의 화합물, 화학식(III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함한다. 추가의 실시양태에서, 하나 이상의 화합물은 분리되고/되거나 정제될 수 있다. 실시양태에서, 신경 세포에서 미토콘드리아 기능을 강화시키는 조성물은 셀레노메티오닌, 또는 글루타밀셀레노시스테인의 하나 이상을 포함하지 않을 수 있다.

[0204] 실시양태에서, 신경 세포에서 미토콘드리아 기능을 강화시키는 조성물은 Se-아데노실-L-호모시스테인, 및/또는 화학식(II)의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물, 및 5'-메틸셀레노아데노신, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식(I)의 화합물, 화학식(III)의 화합물 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 다른 셀레늄 화합물을 포함한다.

[0205] 실시양태에서, 신경 세포에서 미토콘드리아 기능을 강화시키는 조성물은 5'-메틸티오아데노신, S-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸-시스테인, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물을 포함하는 조성물을 포함한다. 실시양태에서, 신경 세포를 표적하는 조성물은 신경 세포에서 미토콘드리아 활성을 강화시키는 하나 이상의 황 유사체를 포함할 수 있다.

[0206] 다른 실시양태는 세포에 조성물의 유효량을 투여하는 것으로 포함하는, 하나 이상의 간세포에서 미토콘드리아 기능을 강화시키는 방법 또는 용도를 포함하고, 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식(I)의 화합물, 및 화학식(III)의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 3종의 상이한 화합물을 포함하고, 상기 유효량은 상기 조성물로 처리되지 않은 세포에 비해 미토콘드리아 기능을 강화시킨다. 추가의 실시양태에서, 하나 이상의 화합물은 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

[0207] 실시양태에서, 본 출원은 간세포에서 미토콘드리아 기능을 강화시키기 위한, 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식(I)의 화합물, 및 화학식(III)의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 3종의 상이한 화합물을 포함하는 조성물의 용도를 제공한다.

[0208] 실시양태에서, 하나 이상의 간세포에서 미토콘드리아 기능을 강화시키는 조성물은 간세포에서 미토콘드리아 기능을 강화시키기 위해 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테

인, 화학식(I)의 화합물, 화학식 (II)의 화합물, 화학식(III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 3종의 화합물을 포함한다. 실시양태에서, 조성물은 5'-메틸티오아데노신, S-아데노실-L-호모시스테인, 글루타밀-메틸-시스테인, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 화합물을 제외할 수 있다.

[0209] 실시양태에서, 미토콘드리아 기능의 강화는 화합물로 처리되지 않은 동일한 유형의 세포에 비해 대략 50% 증가 내지 500% 증가의 범위이다. 반응의 규모는 세포 유형, 특정 화합물 및 세포와 접촉한 시간에 좌우된다. 실시양태에서, 미토콘드리아 기능에 대한 효과는 셀레늄 화합물의 하나 이상의 황 유사체로 처리된 동일한 유형의 세포에 비해 약 -66% 내지 +200%이다. 일부 세포 유형의 경우에, 황 유사체는 미토콘드리아 활성에 대한 측정 가능한 효과를 나타내지 않았고, 다른 경우에 이들은 억제성이며, 또 다른 경우에 이들은 자극성이다.

[0210] 실시양태에서, 하나 이상의 화합물은 결합해제 (uncoupling) 단백질의 발현에 대해 조직 특이적 효과를 갖는다. 미토콘드리아 (MT)에서 결합해제 단백질 (UCP)은 열발생 (thermogenesis) 및 미토콘드리아 전위 또는 완전성의 유지에 중요하다. UCP2의 소실은 더 짧은 수명 및 MT에서 반응성 산소종 (ROS)의 증가된 생산을 초래하는 것으로 문헌에 보고되어 있다 (예컨대, Andrews et al. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2009. 296(4): p. E6217;, Andrews et al., Curr Aging Sci, 2010. 3(2): p. 10212 참고). 그러나, UCP는 미토콘드리아에서 전자 수송을 결합해제시키기 때문에 이들은 세포에서 글루코스로부터 ATP 생산을 저하시키는 최종 결과를 나타낸다. 미토콘드리아 ATP의 생산이 췌장 베타세포에 의한 글루코스-자극 인슐린 분비 (GSIS)에 결정적임은 잘 알려져 있다. 실제로, 하나의 UCP, 특히 UCP2의 억제는 인슐린 분비 및 작용 둘 모두에 긍정적으로 영향을 미침으로써 식이-유도된 당뇨병을 역전시키는 것으로 나타난 바 있다 (De Souza et al., FASEB J, 2007, 21(4): 1153-1163.

[0211] 실시양태에서, 신경 세포에서 Ucp2 및/또는 Ucp3 유전자 발현을 하향 조절하는 방법 또는 용도는 세포에 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식(I)의 화합물, 화학식(II)의 화합물, 화학식(III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함하고, 상기 유효량은 상기 조성물로 처리되지 않은 세포에 비해 신경 세포에서 Ucp2 및/또는 Ucp3의 발현을 하향 조절한다. 추가의 실시양태에서, 하나 이상의 화합물은 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

[0212] 실시양태에서, 본 출원은 신경 세포에서 Ucp2 및/또는 Ucp3의 발현을 하향 조절하기 위한, 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식(I)의 화합물, 화학식(II)의 화합물, 화학식(III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함하는 조성물의 용도를 제공한다.

[0213] 다른 실시양태에서, 간세포에서 Ucp2 유전자 발현을 하향 조절하는 방법 또는 용도는 세포에 유효량의 조성을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식(I)의 화합물, 화학식(II)의 화합물, 화학식(III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 3종의 화합물을 포함하며, 상기 유효량은 상기 조성물로 처리되지 않은 세포에 비해 간세포에서 Ucp2의 발현을 하향 조절한다. 추가의 실시양태에서, 하나 이상의 화합물은 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

[0214] 실시양태에서, 본 출원은 간세포에서 Ucp2 및/또는 Ucp3 유전자 발현을 하향 조절하기 위한, 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식(I)의 화합물, 및 화학식(III)의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 3종의 화합물을 포함하는 조성물의 용도를 제공한다.

[0215] 세포에서 유전자 발현을 결정하는 방법은 통상의 기술자에게 알려져 있으며 어레이 상에서 또는 PCR에 의한 것과 같이 프로브를 이용한 혼성화를 포함한다. 유전자 발현을 결정하기 위한 어레이 및/또는 프라이머는 상업적으로 이용 가능하다. 프라이머는 Ucp1, Ucp2 및/또는 Ucp3에 대한 예시적인 서열을 사용하여 용이하게 고안될 수 있다. Ucp1에 대한 예시적인 서열은 NM_021833/gI194733736에서 확인되고, Ucp2에 대한 것은 NM_003355/gI13259540에서 확인되며, Ucp3에 대한 것은 NM_003356/gI 215273349에서 확인된다.

[0216] 실시양태에서, 본원에 기술된 바와 같이 유효량의 화합물 및 조성물은 세포에 독성을 나타내지 않으면서 미토콘드리아 기능을 강화시키는데 효과적인 양이다. 미토콘드리아 기능의 강화는 본원에 기술된 조성물에 따라서 처리된 개체로부터 수집된 시료에 대한 다수의 분석을 이용하여 결정될 수 있다. 선택된 유효량은 신장 세포, 마우스 골격근 세포, 인간 신경 세포, 또는 마우스 간세포를 포함하는 예시된 어느 세포에서도 독성을 나타내지 않는다.

[0217] 의학 분야에 잘 알려진 바와 같이, 임의의 한 개체에 대한 투약량은 환자의 사이즈, 체표면적, 연령, 투여되는 특정 화합물, 성별, 투여 기간 및 경로, 일반적인 건강상태, 및 동시에 투여되는 다른 약물과의 상호작용을 포함하는, 다수의 요인에 좌우된다.

[0218] 실시양태에서, 하나 이상의 신장, 신경, 간, 또는 골격근 세포에서 미토콘드리아 기능을 강화시키기 위해 개체에 투여되는 조성물의 유효량은 단일의 바람직한 생물학적 활성 셀레늄-함유 화합물 또는 다중의 바람직한 생물학적 활성 셀레늄-함유 화합물의 대략 적어도 하루에 5 μg 이상 또는 800 μg 이하이다. 다중의 바람직한 생물학적 활성 셀레늄-함유 화합물이 존재하는 경우, 조성물의 유효량은 조성물 내 모든 바람직한 생물학적 활성 셀레늄-함유 화합물의 총량이다.

[0219] 실시양태에서, 개체에 투여되는 유효량은 약 5 μg 내지 약 800 μg 및 그 사이의 모든 수, 및 5 μg 내지 약 700 μg 및 그 사이의 모든 수, 및 5 μg 내지 약 600 μg 및 그 사이의 모든 수, 및 5 μg 내지 약 500 μg 및 그 사이의 모든 수, 5 μg 내지 약 400 μg 및 그 사이의 모든 수, 5 μg 내지 약 300 μg 및 그 사이의 모든 수, 및 5 μg 내지 약 200 μg 및 그 사이의 모든 수, 및 5 μg 내지 약 100 μg 및 그 사이의 모든 수, 또는 5 μg 내지 50 μg 및 그 사이의 모든 수이다.

[0220] 본원에 기술된 바와 같은 바람직한 생물학적 활성 셀레늄-함유 화합물을 포함하는 조성물의 실시양태에서, 개체에 투여되는 유효량은 바람직하게는 하루에 200 μg 이하 또는 하루에 50 μg 이하이다. 실시양태에서, 용량은 효능에 따라서 또는 마늘 냄새나는 호흡, 탈모, 또는 벗겨지는 손톱과 같은 셀레늄 중독의 임의의 명백한 징후가 개체에서 관찰되는지 여부에 따라서 조정될 수 있다.

[0221] 실시양태에서, 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (II)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합으로부터 선택되는 적어도 2종 이상의 화합물을 포함하는 조성물에서, 화합물은 동일한 비율로 조성물 내에 존재한다. 다른 실시양태에서, 하나의 바람직한 생물학적 활성 셀레늄-함유 화합물 대 다른 하나의 비율은 약 4:1 내지 1:1일 수 있다.

[0222] 실시양태에서, 용량은 혈액 내 원소 셀레늄의 정상 상태를 달성하기 위해 기간 동안에 적어도 매일 1회 투여된다. 실시양태에서, 용량은 적어도 60 또는 90일간 매일 투여된다. 실시양태에서, 용량은 질환 또는 장애의 증상을 경험하는 동안에 투여된다. 실시양태에서, 개체는 미토콘드리아 관련 질환의 위험성이 증가하는 연령에 있는, 예컨대 적어도 40세의 연령이다.

[0223] 본 출원의 방법은 개체 (예컨대, 미토콘드리아 기능장애와 연관된 병태를 갖는 개체)를 (예컨대, 예방적으로 또는 치료적으로) 치료하는 용도를 발견한다. 본 명세서의 범주를 제한하는 것을 의미하지 않으면서, 3종의 합성 유기셀레늄 화합물이, 단일로 또는 다양한 조합으로, 다양한 세포 유형에서, 즉 신장 세포, 골격근 세포, 신경 세포 및 간세포에서 미토콘드리아 활성을 유의미하게 증가시키는 능력을 갖는다는 증거가 제시되고 있다. 기계적으로, UCP의 조정은 이러한 증가에 대해 하나의 설명을 제공할 수 있고, 본 발명자들은 하기에 미토콘드리아 기능 및 생합성에 결정적인, 다른 단백질의 발현이 또한 이들 화합물에 의해 호의적으로 영향을 받을 수 있다는 증거를 제시한다. 그러나, 작용 기전과는 무관하게, 이들 화합물이 교차-조직 (cross-tissue) 방식으로 자극할 수 있다는 사실은 이들이 겉보기에는 다양한 질환; 예를 들어, 알츠하이머병 (AD) 및 2형 당뇨병 (T2DM)의 개시 및 진행을 완화하는데 특히 가치가 있음을 의미한다.

[0224] 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식(I)의 화합물, 화학식(II)의 화합물, 화학식(III)의 화합물, 및 이들의 조합을 포함하는 하나 이상의 화합물을 포함하는 조성물은 본원에 기술된 바와 같은 임의의 다양한 방식으로 개체 (예컨대, 환자)에 투여될 수 있다.

[0225] 골격근으로의 전달을 위한 실시양태에서, 본원에 기술된 바와 같은 조성물은 겔, 패치 또는 크림의 형태로 국소적으로 적용될 수 있다.

[0226] 다른 실시양태에서, 뇌로의 전달은 표적화제로서 항체, 트랜스페린 수용체 또는 전구약물을 포함하는 리포좀 또는 PLGA 구체를 사용함으로써 표적될 수 있다.

[0227] 다른 실시양태에서, 간으로의 전달은 HepDirect 또는 셀레노글리코시드를 포함하는, 본원에 기술된 바와 같은, 표적화 전구약물을 사용함으로써 표적될 수 있다.

[0228] 따라서, 본 출원의 일부 실시양태에서, 셀레늄을 함유하는 조성물 및/또는 제형은 개체에 단독으로, 또는 다른 형태의 셀레늄, 약물, 소분자와의 조합으로, 또는 부형제(들) 또는 다른 약제학적으로 허용가능한 담체와 혼합된 약제학적 조성물로 개체에 투여될 수 있다.

[0229] 본 출원의 다른 실시양태에서, 본원에 기술된 셀레노-유기 화합물을 포함하는 조성물은 미토콘드리아 기능장애와 연관된 질환 또는 병태에 걸릴 위험에 처하거나 이에 걸린 개별적 개체에 단독으로 투여될 수 있다. 이러한 질환에는 당뇨병성 신장 질환, 알츠하이머병, 및 II형 당뇨병이 포함된다.

[0230] **B. 알츠하이머병**

[0231] 알츠하이머병 ("AD")은 미국 ("USA")에서 사망의 6번째 주된 원인이고 치매의 가장 일반적인 형태이다. 현재, 이 질환은 미국에서 65세가 넘는 5.1백만 명의 사람에 영향을 미치는 것으로 추정된다. AD는 조직병리학적으로 2개의 특징적 병소인 Aβ 플라크 (See Kumar et al., 2000) 및 미세관-연관 단백질 타우의 과-인산화 형태로 이루어지는 NFT를 특징으로 한다 (See Dunckley et al., 온라인 공개 2005 October 19, 2005, 및 공개특허출원 201110038889 A1 단락 155-163). Aβ 및 NFT 둘 모두가 알츠하이머병의 발병기전에 결정적인 파트너이고 이들이 영향을 받은 개체에서 인지 장애 및 신경 소실을 최대화하기 위해 개별적으로, 그리고 협력하여 작용한다는 증거가 문헌에 풍부하게 존재한다. 아밀로이드 전구 단백질 (APP)에서의 돌연변이는 100% 침투로 AD를 유발하고, APP의 가족성 AD (FAD)-연관 돌연변이, 프레세닐린-I (presenilin-I, PSEN) 및 프레세닐린-2 (PSEN-2)는 아밀로이드 β 생성 및 Aβ 응집의 증가된 수준을 초래한다.

[0232] 더욱이, APP-과발현 마우스 (APP-Tg)는 NFT의 형성 또는 신경 소실의 고통 없이 Aβ 침착 및 기억 장애를 나타낸다. 아밀로이드 전구체 단백질 (APP)이 β 시크리타제 및 γ-시크리타제로 불리는 2종의 효소에 의해 비정상적으로 처리되어, β 아밀로이드의 39 내지 42개 아미노산 펩티드의 형성을 초래할 때, 플라크가 형성된다. γ-시크리타제 효소는 실제로 2개의 핵심 성분인 프레세닐린-I (PSEN) 및 프레세닐린-2 (PSEN-2)를 통합하는 다중-효소 복합체이다.

[0233] Aβ의 축적은 AD 모델에서 기억의 소실과 연관이 있고 APP 발현의 감소는 이 소실을 역전시킨다 (See Kumar et al., Peptides 21: 1769 2000). 따라서, APP 발현의 감소 (유전자 또는 단백질 수준의 하나에서)는 기억 소실을 포함하는 AD와 같은 연령-의존성 또는 신경퇴행성 장애를 역전시키기 위한 접근법으로서 진료의에 의해 이해된다.

[0234] PSEN, PSEN-2, 니카스트린 (Nicastrin) (γ-시크리타제 복합체에서 통행하는 단백질을 제어함)의 조정 또는 억제가 AD 치료적 연구의 중요한 목표였으며, 일부 주목할 만한 성공이 공개되어 있다. 예를 들어, 인간 신경에서 PSEN 활성을 조정하는 고도의 특이적 억제제는 Aβ 생성에 영향을 미칠 뿐만 아니라 Notch 신호절단 경로에도 영향을 미쳤다 (Seiffert et al., J Biol. Chem. 275: 34086, 2000 참고). 이는 신경돌기 형상의 변화에 의해 달성되었고 γ-시크리타제 PSEN-1 활성의 조절이 AD의 신경염 병리에 임상적으로 유익한 효과를 가짐을 나타내었다 (Figueroa et al., Neurobiology Dis. 9: 49, 2002 참고). 나아가, PSEN의 하향조절은 Aβ 단백질의 분비를 감소시키는 것으로 나타났고 (Luo et al., Acta Pharmacol. Sin. 25: 1613, 2004 참고) SAMP8 마우스에서 PSEN의 억제는 기억을 유의미하게 향상시키는 것으로 나타났다 (Kumar et al., J.Exp. Biol. 212: 494, 2009 참고).

[0235] 따라서, Aβ는 뉴런에 독성이고, 신경 세포 사멸에 기여하며, Aβ 수준은 그의 전구체인, APP, 또는 APP를 프로세싱하는 효소 복합체(들)의 수준/활성을 조절함으로써 뇌에서 변경될 수 있다. APP 발현 및/또는 Aβ로의 APP 프로세싱 (예컨대, B 또는 γ 시크리타제)을 억제할 수 있는 작용제가 AD 요법의 치료적 표적임을 진료의는 즉시 이해하고 인식한다.

[0236] 본원에 기술된 바와 같은 셀레늄-함유 화합물 및 조성물은 B 아밀로이드 프로세싱 및 타우 인산화에 관여하는 유전자의 유전자 발현에 영향을 미친다. 또한, 이러한 화합물 및 조성물은 전사 활성제와 관련된 유전자의 유전자 발현에 대해 조직 특이성을 나타낸다.

[0237] 실시양태에서, 하나 이상의 신경 세포에서 B 아밀로이드 축적을 억제하기 위한 방법 및 용도는 하나 이상의 신경 세포에 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, 화학식 (I)의 화합물, 또는 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함하고, 상기 유효량은 상기 조성물로 처리되지 않은 신경 세포에 비해 신경 세포에서 B 아밀로이드 축적을 억제한다.

[0238] 실시양태에서, 하나 이상의 신경 세포에서 B 아밀로이드 축적을 억제하기 위한 방법 또는 용도는 하나 이상의 신경 세포에 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 및 화학식 (III)의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 3종의 상이한 화합물을 포함하고, 상기 유효량은 조성물로 처리되지 않은 신경 세포에 비해 신경 세포에서 B 아밀로이드 축적을 억제한다. 추가의 실시양태에서, 하나 이상의 화합물은 분리

되고/되거나 정제될 수 있다.

[0239] 실시양태에서, 본 출원은 신경 세포에서 B 아밀로이드 축적을 억제하기 위한, 5'-메틸셀레노아데노신, 화학식 (I)의 화합물, 또는 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 및 화학식 (III)의 화합물, 5'-메틸셀레노아데노신, 화학식 I의 화합물 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 3종의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함하는 조성물의 용도를 제공한다.

[0240] 실시양태에서, 조성물은 신경 세포에서 프레세닐린 1 (PSEN) 및 니카스트린의 발현을 억제하기 위해 5'-메틸셀레노아데노신, 화학식 (I)의 화합물 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함한다. 실시양태에서, 신경 세포는 IMR 32 세포이다. IMR 32 세포는 알츠하이머병의 모델인 인간 신경 세포이다 (Neill et al., J. Neuroscience Res. 1994 39: 482). 실시양태에서, 신경 세포에서 유전자 발현을 억제하기 위한 조성물은 Se-아데노실-L-호모시스테인, 또는 메틸티오아데노신의 하나 이상을 포함하지 않을 수 있다.

[0241] 실시양태에서, 본 출원은 신경 세포에서 프레세닐린 1 및 니카스트린의 발현을 억제하기 위한, 5'-메틸셀레노아데노신, 화학식 (I)의 화합물, 또는 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 및 화학식 (III)의 화합물, 5'-메틸셀레노아데노신, 화학식 I의 화합물 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 3종의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함하는 조성물의 용도를 제공한다.

[0242] 실시양태에서, 조성물은 신경 세포에서 니카스트린 및 프레세닐린 1의 발현을 억제하기 위해 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (II)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함한다. 실시양태에서, 신경 세포에서 유전자 발현을 억제하기 위한 조성물은 셀레노메티오닌 또는 글루타밀 셀레노시스테인의 하나 이상을 포함하지 않을 수 있다.

[0243] 실시양태에서, 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신 및/또는 화학식 (I)의 화합물 및 Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (II)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 다른 셀레늄 화합물을 포함한다. 추가의 실시양태에서, 하나 이상의 화합물은 분리되고/되거나 정제된다.

[0244] 실시양태에서, 조성물은 신경 세포에서 유전자 발현을 억제하기 위해 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (II)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 3종의 화합물을 포함한다.

[0245] 실시양태에서, 하나 이상의 신경 세포에서 타우 인산화를 억제하기 위한 방법 또는 용도는 하나 이상의 신경 세포에 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, 화학식 (I)의 화합물, 및 이의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함하고, 상기 유효량은 상기 조성물로 처리되지 않은 신경 세포에 비해 신경 세포에서 타우 인산화를 억제한다.

[0246] 실시양태에서, 하나 이상의 신경 세포에서 타우 인산화를 억제하기 위한 방법 또는 용도는 하나 이상의 신경 세포에 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 및 화학식 (III)의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 3종의 상이한 화합물을 포함하고, 상기 유효량은 상기 조성물로 처리되지 않은 신경 세포에 비해 신경 세포에서 타우 인산화를 억제한다. 추가의 실시양태에서, 하나 이상의 화합물은 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

[0247] 실시양태에서, 본 출원은 신경 세포에서 타우 인산화를 억제하기 위한, 5'-메틸셀레노아데노신, 화학식 (I)의 화합물, 또는 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 및 화학식 (III)의 화합물, 5'-메틸셀레노아데노신, 화학식 I의 화합물 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 3종의 상이한 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물을 포함하는 조성물의 용도를 제공한다.

[0248] 실시양태에서, 조성물은 신경 세포에서 Gsk3B의 발현을 억제하기 위해 5'-메틸셀레노아데노신 및/또는 화학식 I의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물을 포함한다. 실시양태에서, 신경 세포에서 Gsk3B 유전자의 발현을 억제하기 위한 조성물은 Se-아데노실-L-호모시스테인 또는 메틸티오아데노신의 하나 이상을 포함하지 않

을 수 있다.

[0249] 실시양태에서, 조성물은 신경 세포에서 타우의 인산화를 억제하기 위해 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식(I)의 화합물, 화학식(II)의 화합물, 화학식(III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물을 포함한다. 실시양태에서, 신경 세포에서 타우 인산화를 억제하기 위한 조성물은 메티오닌 또는 다른 황 함유 화합물의 하나 이상을 포함하지 않을 수 있다.

[0250] 실시양태에서, 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신 및/또는 화학식 (I)의 화합물 및 Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (II)의 화합물, 화학식(III)의 화합물 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 다른 셀레늄 화합물을 포함한다.

[0251] 실시양태에서, 조성물은 신경 세포에서 타우 인산화를 억제하기 위해 5'-메틸셀레노아데노신, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식(I)의 화합물, 화학식(III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 2종의 화합물을 포함한다.

[0252] 실시양태에서, 조성물은 신경 세포에서 타우의 인산화를 억제하기 위해 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인 및/또는 화학식 (III)의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물을 포함한다. 실시양태에서, 신경 세포에서 총 타우를 억제하기 위한 조성물은 Se-아데노실-L-호모시스테인 또는 메틸티오아데노신의 하나 이상을 포함하지 않을 수 있다.

[0253] 실시양태에서, 하나 이상의 신경 세포에서 FOXO 인산화를 억제하기 위한 방법 또는 용도는 하나 이상의 신경 세포에 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함하고, 상기 유효량은 상기 조성물로 처리되지 않은 세포에 비해 세포에서 FOXO 인산화를 억제한다. 추가의 실시양태에서, 하나 이상의 화합물은 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

[0254] 실시양태에서, 본 출원은 신경 세포에서 FOXO 인산화를 억제하기 위한, 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물을 포함하는 조성물의 용도를 제공한다.

[0255] 실시양태에서, 하나 이상의 간세포에서 FOXO 인산화를 강화시키면서 하나 이상의 신경 세포에서 FOXO 인산화를 억제하기 위한 방법 또는 용도는 간세포 및 신경 세포에 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 3종의 화합물을 포함하고, 상기 유효량은 상기 조성물로 처리되지 않은 세포에 비해 신경 세포에서 FOXO 인산화를 억제하고 간세포에서 FOXO 인산화를 증가시킨다.

[0256] 실시양태에서, 조성물은 신경 세포에서 FOXO3 및/또는 FOXO4의 인산화를 억제하기 위해 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (II)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물을 포함한다. 실시양태에서, 신경 세포에서 FOXO3 및/또는 FOXO4의 인산화를 억제하기 위한 조성물은 메티오닌 또는 셀레노메티오닌을 포함하지 않을 수 있다. 실시양태에서, 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신 및/또는 화학식 (I)의 화합물 및 Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (II)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 다른 셀레늄 화합물을 포함한다.

[0257] 실시양태에서, 조성물은 신경 세포에서 FOXO3 및/또는 FOXO4의 인산화를 억제하기 위해 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (II)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 3종의 화합물을 포함한다.

[0258] 실시양태에서, 조성물은 신경 세포에서 PGC1a의 발현을 강화시키기 위해 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (II)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물을 포함한다. 실시양태에서, 신경 세포에서 PGC1a의 발현을 강화시키기 위한 조성물은 메티오닌 또는 셀레노 메티오닌을 포함하지 않을 수 있다.

[0259] 실시양태에서, 본 출원은 신경 세포에서 PGC1a의 발현을 강화시키기 위한, 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식(I)의 화합물, 화학식 (II)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물을 포함하는 조성물의 용도를 제공한다.

[0260] 실시양태에서, 하나 이상의 신경 세포에서 PGC1a의 발현을 강화시키기 위한 방법 또는 용도는 하나 이상의 신경 세포에 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 및 화학식 (III)의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 3종의 상이한 화합물을 포함하고, 상기 유효량은 상기 조성물로 처리되지 않은 세포에 비해 PGC1a 발현을 증가시킨다.

[0261] 실시양태에서, 하나 이상의 간세포에서는 PGC1a의 발현에 영향을 미치지 않으면서 하나 이상의 신경 세포에서 PGC1a의 발현을 강화시키기 위한 방법 또는 용도는 간세포 및 신경 세포에 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 3종의 화합물을 포함하고, 상기 유효량은 상기 조성물로 처리되지 않은 세포에 비해 하나 이상의 신경 세포에서 PGC1a 발현을 증가시키고 하나 이상의 간세포에서는 PGC1a의 발현에 영향을 미치지 않는다.

[0262] 실시양태에서, 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신 및/또는 화학식 I의 화합물 및 Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 II의 화합물, 화학식 III의 화합물 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 다른 셀레늄 화합물으로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함한다.

[0263] 실시양태에서, 조성물은 신경 세포에서 PGC1a 발현을 강화시키기 위해 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (II)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 3종의 화합물을 포함한다.

[0264] 실시양태에서, PGC1a 발현의 강화, FOXO 인산화의 감소, PSEN1의 감소, 니카스트린의 감소, Gsk3b의 감소는 화합물로 처리되지 않은 동일한 유형의 세포에 비해 대략 50% 증가 또는 감소 내지 500% 증가 또는 감소 범위이다. 반응의 규모는 세포 유형, 특정 화합물 및 세포와 접촉한 시간에 좌우된다.

[0265] FOXO3 및 FOXO4의 인산화 및 PGC1a의 발현에 대한 본 출원의 화합물 및 조성물의 효과는 조직 특이성을 나타낸다. 본 출원을 제한하는 것을 의미하지 않으면서, 신경 세포에서, FOXO3 및 FOXO4의 인산화의 억제는 FOXO가 핵 내로 유입하고 전사를 활성화시키는 것을 가능케 한다. PGC1a는 또한 글루코스신합성 (gluconeogenesis)을 포함하는 세포 내 에너지 대사를 조절하는 전사 활성제이다. FOXO 및 PGC1a는 글루코스-6-포스파타제 (G6pc)와 같은 유전자의 전사 활성화에 기여한다. 글루코스신합성의 강화는 글루코스를 생성하고 에너지 저장을 유지하는 능력을 갖는 신경 세포를 제공한다.

[0266] 상기에 논의된 바와 같이, Aβ 및 인산화된 타우의 생성은 알츠하이머병의 병리에 유의미하게 기여한다. 본원에 나타난 결과는 본원에 기술된 화합물 및 조성물이 프레세닐린 1 및 니카스트린의 유전자 발현에 영향을 미친다는 증거를 제공한다. 이들 두 효소는 Aβ의 생성에 관여하는 것으로 나타난 바 있다. 또한, 타우의 인산화 및/또는 총 타우의 억제는 본원에 기술된 바와 같은 화합물 및 조성물이 또한 NFT의 생산에 영향을 미친다는 증거이다. 또한, 미토콘드리아 기능의 강화, FOXO 활성화의 강화, PGC1a의 유전자 발현의 증가에 대한 화합물의 효과는 산화적 스트레스를 최소화함으로써 또한 알츠하이머병을 치료하도록 작동할 수 있는 강화된 미토콘드리아 기능을 갖는 신경 세포를 제공한다. 이전 연구는 정상 식이 또는 셀레늄 부족 식이가 아닌 셀레늄 풍부 효모가 공급된 App 형질전환 마우스에서 B 아밀로이드 플라크의 생산이 감소하였음을 보여주었다 (Lovell et al., Free Rad. Biol. Med. 46: 1527, 2009)

[0267] 세포에서 유전자 발현을 결정하는 방법은 통상의 기술자에게 알려져 있으며 어레이 상에서 또는 PCR에 의한 것과 같이 프로브를 이용한 혼상화를 포함한다. 유전자 발현을 결정하기 위한 어레이 및/또는 프라이머는 상업적으로 이용 가능하다. 프라이머는 PSEN1, PSEN2, 니카스트린 및 Gsk3b에 대한 예시적인 서열을 이용하여 용이하게 고안될 수 있다. PSEN1에 대한 예시적인 서열은 NM_000021/NM_007318에서 확인되고, PSEN2는 NM_000447/NM_012486에서 확인되고, 니카스트린은 NM_015331에서 확인되고, Ucp3에 대한 것은 NM_002093에서 확인된다.

[0268] 실시양태에서, 알츠하이머병을 치료하기 위한 방법 또는 용도는 5'-메틸셀레노아데노신, 화학식 (I)의 화합물, 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 포함하는 조성물의 유효량을 개체에 투여하는 것을

포함한다. 실시양태에서, 알츠하이머병을 치료하기 위한 조성물은 메틸티오아데노신, 또는 S-아데노실-L-호모시스테인의 하나 이상을 포함하지 않을 수 있다.

[0269] 실시양태에서, 알츠하이머병을 치료하기 위한 방법 또는 용도는 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식(II)의 화합물, 화학식(III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물을 투여하는 것을 포함한다. 실시양태에서, 알츠하이머병을 치료하기 위한 조성물은 메티오닌 또는 셀레노메티오닌을 포함하지 않을 수 있다.

[0270] 실시양태에서, 본 출원은 알츠하이머병을 치료하기 위한, 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (II)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물을 포함하는 조성물의 용도를 제공한다.

[0271] 실시양태에서, 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신 및/또는 화학식 (I)의 화합물 및 Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (II)의 화합물, 화학식(III)의 화합물 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 다른 셀레늄 화합물을 포함한다. 추가의 실시양태에서, 개체에서 투여되는 하나 이상의 화합물은 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

[0272] 실시양태에서, 알츠하이머병을 치료하기 위한 방법 또는 용도는 간에서 글루코스 대사에 부작용을 유발하지 않으면서 알츠하이머병의 증상을 치료하는 조성물을 선택하는 것을 추가로 포함한다. 실시양태에서, 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신 및/또는 화학식(I)의 화합물을 포함한다. 실시양태에서, 조성물은 Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (II)의 화합물, 또는 화학식 (III)의 화합물의 하나 이상을 제외할 수 있다. 실시양태에서, 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (II)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 3종의 화합물을 포함한다. 실시양태에서, 조성물은 H (5'-메틸티오아데노신), I (S-아데노실-L-호모시스테인), 또는 J (감마-글루타밀-메틸-시스테인)의 하나 이상을 제외한다.

[0273] 실시양태에서, 조성물은 알츠하이머병을 치료하기 위해, 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (II)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 3종의 화합물을 포함한다.

[0274] 실시양태에서, 본원에 기술된 바와 같은 화합물 및 조성물의 유효량은 세포에 독성을 나타내지 않으면서 알츠하이머병을 치료하는데 효과적인 양이다. 선택된 유효량은 신장, 마우스 골격근, 인간 신경, 또는 마우스 간세포를 비롯한 임의의 예시된 세포에 대해 독성을 나타내지 않는다.

[0275] 실시양태에서, 본원에 기술된 바와 같은 화합물 및 조성물의 유효량은 세포에 독성을 나타내지 않으면서 본원에 기술된 바와 같이 알츠하이머병의 증상을 완화하거나 유전자 발현을 조정하는데 효과적인 양이다. 신경 세포에서 유전자 발현의 조정은 본원에 기술된 조성물에 따라서 처리된 개체로부터 수집된 시료에 대한 다수의 분석을 이용하여 본원에 기술된 바와 같이 결정될 수 있다.

[0276] 의학 분야에 잘 알려진 바와 같이, 임의의 한 개체에 대한 투약량은 환자의 사이즈, 체표면적, 연령, 투여되는 특정 화합물, 성별, 투여 기간 및 경로, 일반적인 건강상태, 및 동시에 투여되는 다른 약물과의 상호작용을 포함하는, 다수의 요인에 좌우된다.

[0277] 실시양태에서, 신경 세포에서 알츠하이머병을 치료하고, 신경 세포에서 B 아밀로이드 프로세싱 및/또는 타우 인산화를 억제하기 위한 조성물의 유효량은 단일의 바람직한 생물학적 활성 셀레늄-함유 화합물 또는 다중의 바람직한 생물학적 활성 셀레늄-함유 화합물의 하루에 약 5 μg 이상 또는 800 μg 이하이다. 다중의 바람직한 생물학적 활성 셀레늄-함유 화합물이 존재하는 경우, 조성물의 유효량은 개체에 투여되는 조성물 내 모든 화합물의 총량이다.

[0278] 실시양태에서, 하루에 개체에 투여되는 유효량은 약 5 μg 내지 약 800 μg 및 그 사이의 모든 수, 5 μg 내지 약 700 μg 및 그 사이의 모든 수, 5 μg 내지 약 600 μg 및 그 사이의 모든 수, 5 μg 내지 약 500 μg 및 그 사이의 모든 수, 5 μg 내지 약 400 μg 및 그 사이의 모든 수, 5 μg 내지 약 300 μg 및 그 사이의 모든 수, 5 μg 내지 약 200 μg 및 그 사이의 모든 수, 5 μg 내지 약 100 μg 및 그 사이의 모든 수, 및 5 μg 내지 50 μg 및 그 사이의 모든 수이다.

[0279] 실시양태에서, 본원에 기술된 바와 같은 바람직한 생물학적 활성 셀레늄-함유 화합물을 포함하는 개체에 투여

되는 조성물의 유효량은 바람직하게는 하루에 200 μg 이하 또는 하루에 50 μg 이하이다. 실시양태에서, 용량은 효능에 따라서 또는 마늘 냄새나는 호흡, 탈모, 또는 벗겨지는 손톱과 같은 셀레늄 중독의 임의의 명백한 징후가 개체에서 관찰되는지 여부에 따라서 조정될 수 있다.

[0280] 실시양태에서, 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (II)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 둘 이상의 화합물을 포함하는 조성물에서, 화합물은 동일한 비율로 조성물 내에 존재한다. 다른 실시양태에서, 한 화합물 대 다른 화합물의 비율은 약 4:1 내지 1:1일 수 있다.

[0281] 일 실시양태에서, 혈액 내 원소 셀레늄의 정상 상태 (steady state)를 달성하기 위해 기간 동안에 적어도 매일 1회 투여된다. 실시양태에서, 용량은 적어도 60 또는 90일간 매일 투여된다. 실시양태에서, 용량은 질환 또는 장애의 증상을 경험하는 동안에 투여된다. 실시양태에서, 개체는 미토콘드리아 관련 질환의 위험성이 증가하는 연령에 있는, 예컨대 적어도 40세의 연령이다.

[0282] 본 출원의 방법은 개체 (예컨대, 알츠하이머병, B 아밀로이드 프로세싱, 타우 인산화, 및 프레세닐린 1, 니카스트린, PGC1a의 유전자 발현, 및 타우 및 FOXO3 및 FOXO4의 인산화와 연관된 병태를 갖는 개체)를 (예컨대, 예방적으로 또는 치료적으로) 치료하는 용도를 발견한다. 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-호모시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (II)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합을 포함하는 화합물의 하나 이상을 포함하는 조성물은 생리학적 식염수와 같은 약제학적으로 허용가능한 담체 중에서 정맥내로 개체 (예컨대, 환자)에 투여될 수 있다. 화합물의 세포내 전달 (예컨대, 리포좀을 통한 전달)을 위한 표준 방법이 사용될 수 있다. 이러한 방법은 당해 분야의 통상의 기술자에게 잘 알려져 있다. 셀레늄을 포함하는 조성물은 정맥내 투여뿐만 아니라 정맥내, 피하, 근육내, 및 복강내와 같은 비경구 투여에 유용하다.

[0283] 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 혈액 뇌 장벽을 횡단하도록 제형화된다. 본 발명의 조성물은 에틸렌 공 비닐 아세테이트와 같은 중합체 생분해성 임플란트와 같이 뇌로의 전달에 적합한 임플란트 재료와 조합될 수 있다. 다른 유형의 표적화는 인슐린 수용체 및 트랜스페린 수용체와 같은 수용체 매개 수송을 포함할 수 있다. 이들 수용체는 본원에 기술된 바와 같은 조성물을 포함하는 리포좀 또는 미립구 내로 또한 통합될 수 있다. 다른 실시양태에서, 뇌로의 전달은 표적화제로서 항체, 트랜스페린 수용체 또는 전구약물을 포함하는 리포좀 또는 PLGA 구체를 사용함으로써 표적될 수 있다.

[0284] 따라서, 본 출원의 일부 실시양태에서, 셀레늄을 포함하는 조성물 및/또는 제형은 개체에 단독으로, 또는 다른 형태의 셀레늄, 약물, 소분자와의 조합으로, 또는 부형제(들) 또는 다른 약제학적으로 허용가능한 담체와 혼합된 약제학적 조성물로 개체에 투여될 수 있다. 본 출원의 일 실시양태에서, 약제학적으로 허용가능한 담체는 약제학적으로 불활성이다. 본 출원의 다른 실시양태에서, 셀레늄을 포함하는 조성물은 B 아밀로이드 프로세싱 또는 타우 인산화와 연관된 질환 또는 병태에 걸릴 위험에 처하거나 이에 걸린 개별적 개체에 단독으로 투여될 수 있다. 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-호모시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (II)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합을 포함하는 조성물은 일상 소비를 위한 영양 음료 또는 식품 (예컨대, ENSURE, POWERBAR, 등), 멀티-비타민, 영양 제품, 식품 제품 등에 첨가될 수 있다.

[0285] **글루코스 대사**

[0286] 비인슐린-의존성 (II형) 당뇨병 (DM)은 췌장 β-세포 기능으로 인한 인슐린 분비의 결함과 조합된, 골격근, 간 및 지방에서의 인슐린 내성을 특징으로 한다. 인슐린 내성은 II형 당뇨병의 중추적 특징이다. 예를 들어, 매우 다양한 II형 당뇨병이 인슐린-의존성임이 알려져 있다. 유사하게, II형 당뇨병의 자손에서 인슐린 내성은 질환의 더 늦은 발병에 대한 최선의 예측인자이다 (예컨대, Warram et al., Ann Intern Med. 113: 909, 1990 참고). 인슐린 내성을 감소시키는 중재술 역시 당뇨병 발병을 예방한다. 최적의 미토콘드리아 기능은 췌장 베타 세포로부터 정상적인 글루코스-자극 인슐린 세크레틴에 요구된다.

[0287] 골격근 및 간은 글루코스 항상성의 유지에서 2종의 중요한 인슐린-반응성 장기이다. 인슐린-내성 상태로의 이들 장기의 이행은 II형 당뇨병 환자에서 나타난 글루코스 대사의 변화의 대부분을 설명한다 (예컨대, Lowell and Shulman, Science 21: 307, 2005 참고). 이들 두 장기 중에, 골격근은 인슐린 내성 발생으로부터 야기되는 결과의 측면에서 더욱 중요하다. 이는 골격근이 매일 섭취되는 글루코스의 80 내지 90%를 처분하거나 대사하는 것으로 나타났기 때문이다 (예컨대, DeFronzo et al., 1985 참고).

[0288] 미토콘드리아 산화적 인산화 (OXPHOS) 유전자가 건강한 대조군과 비교할 때 전-당뇨병 및 당뇨병 개인에서 감소된 발현을 나타내고 이들 유전자가 다수의 사례에서 전사 공활성제 증식제-활성화 수용체 감마 공활성제 1-알파 (transcriptional coactivator proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha: PGC1-a) (예컨대, Mootha et al., 2003 참고)의 표적임이 유전체-전체 발현 분석에 의해 문헌에 보고된 바 있다. 이들 연구에서, OXPHOS 유전자에 대한 발현의 전형적인 감소는 온건하지만 (대략 20%) 극히 지속적인데, 이들 유전자의 89%는 정상적인 내당능 (glucose tolerance)을 갖는 개인에 비해서 손상된 내당능 또는 II형 당뇨병 중 하나를 갖는 개인에서 더 낮은 발현을 나타내는 것으로 연구되었다.

[0289] 근육에서 OXPHOS 활성을 증가시키는 약물 또는 작용제가 2형 당뇨병에 대한 유용한 치료제로서 존재함이 당해 분야에서 일반적으로 이해되고 인식된다. 이 가설을 지지하기 위하여, 유산소 운동이 미토콘드리아 활성 및 수를 증가시키고 OXPHOS 유전자 발현을 촉진하기 때문에 당뇨병을 치료하기 위한 최선의 비-약리학적 중재술임이 오래전부터 알려져 있다.

[0290] 간에서, FOXO는 그의 활성화 또는 비인산화 상태로 핵 내에 존재하고 거기에서 글루코스 6-포스파타제의 프로모터 영역에 결합하고, PGC-1a와 같은 다은 요인과 함께, 글루코스-6-포스파타제의 전사를 증가시키고, 그로써 글루코스 생산 속도를 증가시킨다. 글루코스 6-포스파타제는 간으로부터 글루코스의 방출을 야기하는 글루코스신합성 및 글리코겐분해 (glycogenolysis)의 마지막 단계를 촉매한다. 따라서, 이는 특히 당뇨병 개체에서 글루코스 항상성의 제어에 중요하다.

[0291] 보통, FOXO 인산화의 과정은 AKT (단백질 키나제 B)로 불리는 또 다른 키나제 효소에 의해 직접적으로 제어된다. AKT는 FOXO를 인산화하고 핵으로부터 이를 유도하여, 그로써 글루코스 6-포스파타제의 감소된 전사 속도를 통해 글루코스 생산을 감소시킨다. AKT 자체는 세포 표면에서 그의 수용체에 대한 인슐린 결합으로 개시되는, 미니 분자 캐스케이드 반응에 의해 상류에서 제어된다. 이는 2종의 다른 키나제 효소인, 포스파티딜이노시톨 3-키나제 (PI3K) 및 포스포이노시타이드-의존성 단백질 키나제 1 (PDK1)을 포함하는 일련의 사건을 개시한다. 전체 경로는 인슐린/PI3K/PDK1/Akt 경로로 알려져 있고 이는 인슐린 신호전달을 통해 글루코스 항상성을 제어하는 업무를 갖는다. FOXO 제어의 맥락에서, PDK1은 Akt를 인산화시키고 활성화시키며, 이는 교대로 FOXO를 인산화시키고 불활성화시킨다.

[0292] 실시양태에서, 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 I의 화합물, 화학식 II의 화합물, 화학식 III의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 3종의 화합물을 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함하는 하나 이상의 간세포에서 FOXO3 및/또는 FOXO4 인산화를 증가시키기 위한 방법 또는 용도가 제공된다.

[0293] 실시양태에서, 간세포, 골격근 세포, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 세포에서 글루코스 대사를 조정하는 방법은 상기 하나 이상의 세포에 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 및 화학식 (III)의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 3종의 상이한 화합물을 포함하는 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하고, 상기 유효량은 상기 조성물로 처리되지 않은 세포에 비해 간세포 또는 근육 세포에서 글루코스 대사를 변경한다. 실시양태에서, 조성물은 H (5'-메틸티오아데노신), I (S-아데노실-L-호모시스테인), 및/또는 J (감마-글루타밀-메틸-시스테인)의 하나 이상을 제외할 수 있다.

[0294] 본 출원의 실시양태에서, 간세포 또는 근육 세포에서 글루코스 대사를 조정하기 위한, 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 및 화학식 (III)의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 3종의 상이한 화합물을 포함하는 조성물의 용도가 제공된다.

[0295] 실시양태에서, II형 당뇨병을 치료하는 방법은 개체에 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 및 화학식 (III)의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 3종의 상이한 화합물을 포함하고, 상기 유효량은 상기 조성물로 처리되지 않은 세포에 비해 간세포 또는 근육 세포에서 글루코스 대사를 변경한다. 실시양태에서, 조성물은 H (5'-메틸티오아데노신), I (S-아데노실-L-호모시스테인), 및/또는 J (감마-글루타밀-메틸-시스테인)의 하나 이상을 제외할 수 있다.

[0296] 본 출원의 실시양태에서, 개체에서 당뇨병을 치료하기 위한, 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 및 화학식 (III)의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 3종의 상이한 화합물을 포함하는 조성물의 용도가 제공된다.

[0297] 실시양태에서, 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식(I)의 화합물, 화학식(II)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 3종의 화합물을 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 하나 이상의 간세포에서 G6pc의 발현을 억제하기 위한 방법 또는 용도가 제공된다. 실시양태에서, 조성물은 H (5'-메틸티오아데노신), I (S-아데노실-L-호모시스테인), 및/또는 J (감마-글루타밀-메틸-시스테인)의 하나 이상을 제외할 수 있다.

[0298] 본 출원의 실시양태에서, 글루코스-6-포스파타제를 억제하기 위한, 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 및 화학식 (III)의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 3종의 상이한 화합물을 포함하는 조성물의 용도가 제공된다.

[0299] 실시양태에서, FOXO 인산화의 증가, 또는 G6pc의 감소는 화합물로 처리되지 않은 동일한 유형의 세포에 비해 대략 50% 증가 또는 감소 내지 500% 증가 또는 감소 범위이다. 반응의 규모는 세포 유형, 특정 화합물 및 세포와 접촉한 시간에 좌우된다.

[0300] 셀레늄 함유 화합물은 간세포에서 다양하게 유전자 발현에 영향을 미친다. 본원에 기술된 바와 같이 화합물 및 조성물이 간세포에 갖는 효과와 달리, 동일하거나 유사한 조성물이 정반대 방식으로 신경 세포에 영향을 미칠 수 있다. 예를 들어, 본원에 기술된 바와 같이, 조성물은 신경 세포에서 FOXO3 및/또는 FOXO4의 인산화를 감소시킨다. PGC1a의 발현은 증가하여 신경 세포에서 글루코스신합성의 증가를 초래한다. 반대로, 동일한 화합물 또는 조성물은 간세포에서 FOXO3 및/또는 FOXO4의 인산화를 증가키시고 PGC1a이 발현을 변경하지 않는다.

[0301] IMR-32 신경 세포의 맥락에서 기술된 바와 같이, PGC1a는 MT 생합성 (biogenesis) 및 탄수화물 대사에 결정적인 유전자이다. 간세포에서, 이는 또한 글루코스신합성에 관여하는 유전자의 전사를 유도하기 위해 FOXO와 협력하여 작용하지만, FOXO의 핵 부재 시에는 이를 수행할 수 없다. 본 발명자들은 PGC1a 단백질 발현을 조사하였고, 정량적 분석에 의해 CDE 처리의 조합 후 간세포에서 PGC 단백질 수준의 유의미한 변화가 관찰되지 않았다. 그러나, CDE에 대한 반응으로 FOXO 인산화에서 확인된 강력한 효과로 인해, 이것이 핵으로부터 제외될 것이고, 따라서 글루코스신합성 과정을 개시하기 위해 FOXO를 요구하기 때문에 PGC1a의 수준이 덜 중요해질 것임이 거의 확실하다. 종합하면, 이들 결과는 CDE의 조합이 상기에 기술된 그러나 결정적인 FOXO를 제외하고는, PI3k/PDK1/AKT 신호전달 및 여러 다른 AKT 직접 또는 간접 하류 신호전달 분자에 영향을 미치지 않았음을 제안한다. 다시 말하면, CDE의 조합은 선택적으로 FOXO를 불활성화시키고 이 작용은 간세포에서 PI3K/PDK1/AKT 신호전달에 비의존성인 것으로 보인다.

[0302] 실시양태에서, 본원에 기술된 바와 같은, 화합물 및 조성물의 유효량은 세포에 독성을 나타내지 않으면서 G6pc의 발현을 억제하고, 글루코스 대사를 조절하거나, 또는 간세포에서 FOXO 인산화를 증가시키기에 효과적인 양이다. 간세포에서 유전자 발현은 본원에 기술된 조성물에 따라서 처리된 개체로부터 수집된 시료에 대한 다수의 분석을 이용하여 결정될 수 있다. 선택된 유효량은 신장 세포, 근골격 세포, 인간 신경 세포, 또는 마우스 간세포를 포함하는 예시된 어느 세포에서도 독성을 나타내지 않는다.

[0303] 의학 분야에 잘 알려진 바와 같이, 임의의 한 개체에 대한 투약량은 환자의 사이즈, 체표면적, 연령, 투여되는 특정 화합물, 성별, 투여 기간 및 경로, 일반적인 건강상태, 및 동시에 투여되는 다른 약물과의 상호작용을 포함하는, 다수의 요인에 좌우된다.

[0304] 실시양태에서, G6pc의 발현을 억제하고, 글루코스 대사를 조정하고, II형 당뇨병을 치료하고, 간세포 또는 골격근 세포에서 FOXO 인산화를 증가시키기 위해 개체에 투여되는 본 발명의 셀레늄-함유 조성물의 유효량은 본 발명의 단일 바람직한 생물학적 활성 셀레늄-함유 화합물 또는 본 발명의 다중의 바람직한 생물학적 활성 셀레늄-함유 화합물의 하루에 약 5 μg 이상 또는 800 μg 이하이다. 다중의 바람직한 생물학적 활성 셀레늄-함유 화합물이 존재하는 경우, 조성물의 유효량은 개체에 투여되는 조성물 내 모든 화합물이 총량이다.

[0305] 실시양태에서, 본 발명의 바람직한 생물학적 활성 셀레늄-함유 화합물의 개체에 투여되는 유효량은 약 5 μg 내지 약 800 μg 및 그 사이의 모든 수, 5 μg 내지 약 700 μg 및 그 사이의 모든 수, 5 μg to 약 600 μg 및 그 사이의 모든 수,5 μg to 약 500 μg 및 그 사이의 모든 수, 5 μg 내지 약 400 μg 및 그 사이의 모든 수, 5 μg 내지 약 300 μg 및 그 사이의 모든 수, 5 μg 내지 약 200 μg 및 그 사이의 모든 수, 5 μg 내지 약 100 μg 및 그 사이의 모든 수, 및 5 μg 내지 50 μg이다.

[0306] 본 발명의 실시양태에서, 본원에 기술된 바와 같은 화합물을 포함하는 조성물은 바람직하게는 하루에 200 μg 이하 또는 50 μg 이하로 투여된다. 본 발명의 실시양태에서, 용량은 효능에 따라서 또는 마늘 냄새나는 호흡, 탈모, 또는 벗겨지는 손톱과 같은 셀레늄 중독의 임의의 명백한 징후가 개체에서 관찰되는지 여부에 따라서 조

정될 수 있다.

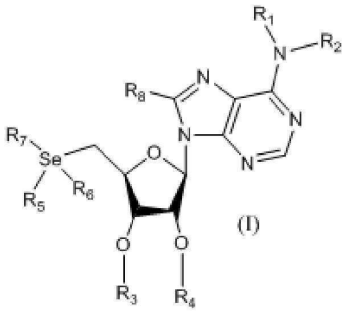
[0307] 실시양태에서, 5'-메틸셀레노아데노신, Se-아데노실-L-호모시스테인, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 화학식 (I)의 화합물, 화학식 (II)의 화합물, 화학식 (III)의 화합물, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 둘 이상의 화합물을 포함하는 조성물에서, 화합물은 동일한 비율로 조성물 내에 존재한다. 다른 실시양태에서, 한 화합물 대 다른 화합물의 비율은 약 4:1 내지 1:1일 수 있다.

[0308] 실시양태에서, 용량은 혈액 내 원소 셀레늄의 정상 상태를 달성하기 위해 기간 동안에 적어도 매일 1회 투여된다. 실시양태에서, 용량은 적어도 60 또는 90일간 매일 투여된다. 실시양태에서, 용량은 질환 또는 장애의 증상을 경험하는 동안에 투여된다. 실시양태에서, 개체는 미토콘드리아 관련 질환의 위험성이 증가하는 연령에 있는, 예컨대 적어도 40세의 연령이다.

[0309] 다른 실시양태에서, 간으로의 전달은 항체를 포함하는 리포좀 또는 PLGA 구체를 사용함으로써 또는 간에 표적되는 셀레노글리코시드, 또는 전구약물을 제조함으로써 표적될 수 있다.

[0310] **본 출원의 다른 실시양태**

[0311] 일부 실시양태에서, 하기 화학식 (I)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어진 조성물이 제공된다:

[0312] 


[0313] 상기 식에서,

[0314] $R_1$은 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 카르복실, 사이클로알킬, C(O)R', C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴이거나; 또는 $R_1$은 $R_2$와 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0315] $R_2$는 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 카르복실, 사이클로알킬, C(O)R', C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴로부터 선택되거나; 또는 $R_1$는 $R_2$와 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0316] $R_3$은 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 사이클로알킬, 카르복실, 또는 C-아미도이거나; 또는 $R_3$은 $R_4$ 및 이들이 부착되는 원자와 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0317] $R_4$는 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 사이클로알킬, 카르복실, 또는 C-아미도이거나; 또는 $R_3$는 $R_4$ 및 이들이 부착되는 원자와 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0318] $R_5$는 옥소, 히드록시, 알킬, 알케닐, 알키닐, OR'이거나 또는 부재하고; 여기서 R'은 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 아릴 또는 아르알킬로부터 선택되고,

[0319] $R_6$은 옥소, 히드록시, 알킬, 알케닐, 알키닐, OR'이거나 또는 부재하고; 여기서 R'은 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 아릴 또는 아르알킬로부터 선택되고,

[0320] $R_7$은 H, 알킬, 알케닐, 알키닐, 케톤, 아미노알코올, 아미노산, OR', Se-R', S-R'이고, 여기서 R'은 H, 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴로부터 선택되고,

[0321] $R_8$은 수소, 아지도, 알킬, 알케닐, 알키닐이다.

[0322] 추가의 실시양태에서, 화학식 (I)의 이들 화합물의 하나 이상은 분리되고/되거나 정제된다.

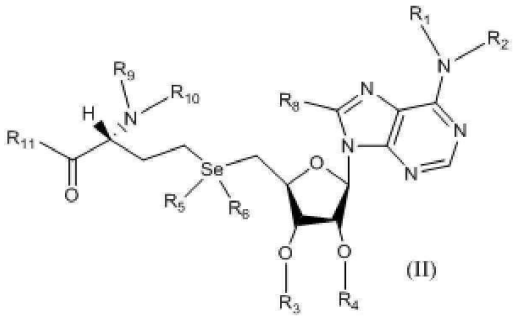
[0323] 일부 실시양태에서, 화학식 (I)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어진 조성물이 제공되고, 여기서 $R_1$, $R_3$, $R_4$ 및 $R_8$은 각각 H이고; $R_2$는 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 카르복실, 사이클로알킬, C(O)R', 또는 C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴로부터 선택되고; $R_5$ 및 $R_6$은 각각 부재하고; $R_7$은 알킬, 또는 아미노산이다.

[0324] 일부 실시양태에서, 화학식 (I)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어진 조성물이 제공되고, 여기서 $R_1$, $R_3$, $R_4$ 및 $R_8$은 각각 H이고; $R_2$는 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 카르복실, 사이클로알킬, C(O)R', C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴로부터 선택되고; $R_5$ 및 $R_6$은 각각 부재하고; $R_7$은 알킬, 또는 아미노산이고; 단 5'-셀레노아데노실 메티오닌, 데히드록시 5'-메틸셀레노아데노신, 에틸셀레노아데노신, 셀레노(히드록실)-셀레노펜-(3'-데옥시-아데노신), 알릴셀레노아데노실 호모시스테인, 셀레노-아데노실 호모시스테인, 셀레노-히드록시 아데노실 호모시스테인, 셀레노 아데노신, 셀레노-아데노실-Se(메틸)-셀렌옥사이드, 아데노실-히드록시 셀렌옥사이드, 에틸 셀레노아데노신, 셀레노-(히드록시)-셀레노펜-(3'-데스옥시-아데노신), 아데노실-히드록시 셀른옥사이드, 및 셀레노아데노실-Se(메틸)-셀렌옥사이드는 각각 조성물로부터 제외될 수 있다.

[0325] 특정 측면에서, 5'-메틸셀레노아데노신 ("화합물 C")인 화학식 (I)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어진 조성물이 제공된다.

[0326] 일부 실시양태에서, 조성물은 화학식 (I)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어지고, 단 5'-셀레노아데노실 메티오닌, 데히드록시 5'-메틸셀레노아데노신, 에틸셀레노아데노신, 셀레노(히드록실)-셀레노펜-(3'-데옥시-아데노신), 알릴셀레노아데노실 호모시스테인, 셀레노-아데노실 호모시스테인, 셀레노-히드록시 아데노실 호모시스테인, 셀레노 아데노신, 셀레노-아데노실-Se(메틸)-셀렌옥사이드, 아데노실-히드록시 셀렌옥사이드, 에틸 셀레노아데노신, 셀레노-(히드록시)-셀레노펜-(3'-데스옥시-아데노신), 아데노실-히드록시 셀른옥사이드, 및 셀레노-아데노실-Se(메틸)-셀렌옥사이드는 조성물로터 제외될 수 있다.

[0327] 일부 실시양태에서, 하기 화학식 (II)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어진 조성물이 제공되고:

[0328] 

(II)

[0329] 상기 식에서,

[0330] $R_1$은 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 카르복실, 사이클로알킬, C(O)R', C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴이거나; 또는 $R_1$은 $R_2$와 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0331] $R_2$는 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 카르복실, 사이클로알킬, C(O)R', C(O)OR'이고, 여기서 R'은

알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴로부터 선택되거나; 또는 $R_1$은 $R_2$와 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0332] $R_3$은 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 사이클로알킬, 카르복실, 또는 C-아미도이거나; 또는 $R_3$은 $R_4$ 및 이들이 부착되는 원자와 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0333] $R_4$는 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 사이클로알킬, 카르복실, 또는 C-아미도이거나; 또는 $R_3$는 $R_4$ 및 이들이 부착되는 원자와 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0334] $R_5$는 옥소, 히드록시, 알킬, 알케닐, 알키닐, OR'이거나 또는 부재하고; 여기서 R'은 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 아릴 또는 아르알킬로부터 선택되고,

[0335] $R_6$은 옥소, 히드록시, 알킬, 알케닐, 알키닐, OR'이거나 또는 부재하고; 여기서 R'은 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 아릴 또는 아르알킬로부터 선택되고,

[0336] $R_8$은 수소, 아지도, 알킬, 알케닐, 알키닐이고,

[0337] $R_9$는 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 카르복실, 사이클로알킬, C(O)R', C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴이거나; 또는 $R_9$는 $R_{10}$과 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0338] $R_{10}$은 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 카르복실, 사이클로알킬, C(O)R', C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴로부터 선택되거나; 또는 $R_9$는 $R_{10}$과 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0339] $R_{11}$은 OH, OR, 알콕시, 아르알콕시, 또는 아미노이고, 여기서 R은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로사이클릴, 또는 약제학적으로 허용가능한 염, 또는 분자내 염으로부터 선택된다.

[0340] 추가의 실시양태에서, 화학식 (II)의 이들 화합물의 하나 이상은 분리되고/되거나 정제된다.

[0341] 일부 실시양태에서, 화학식 (II)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어진 조성물이 제공되고, 여기서 $R_1$, $R_3$, $R_4$, $R_8$ 및 $R_9$는 각각 H이고; $R_2$는 H, 아실, 알킬, 카르복실, C(O)R', 또는 C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴로부터 선택되고; $R_5$ 및 $R_6$은 부재하고; $R_{10}$은 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 카르복실, 사이클로알킬, C(O)R', C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴로부터 선택되고; $R_{11}$은 OH, OR, 알콕시, 아르알콕시, 또는 아미노이고, 여기서 R은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로사이클릴, 또는 약제학적으로 허용가능한 염, 또는 분자내 염으로부터 선택된다.

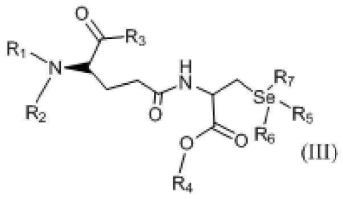
[0342] 일부 실시양태에서, 화학식 (II)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어진 조성물이 제공되고, 여기서 $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$은 상기에 정의된 바와 같고 $R_{11}$은 OH 또는 OR이고, 여기서 R은 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, sec-부틸, 또는 tert-부틸로부터 선택된다.

[0343] 특정 측면에서, 5'-셀레노아데노실 호모시스테인 (화합물 "D"), 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물인, 화학식 (II)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어진 조성물이 제공된다.

[0344] 일부 실시양태에서, 조성물은 화학식 (II)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어지고; 단 5'-셀레노아데노실 메티오닌, 알릴셀레노아데노실 호모시스테인, 셀레-노아데노실 호모시스테인, 및 셀레노-히드록시 아데노실 호모시스테인은 조성물로부터 제외

될 수 있다.

[0345] 일부 실시양태에서, 하기 화학식 (III)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어진 조성물이 제공되고:



(III)

[0346]

[0347] 상기 식에서,

[0348] $R_1$은 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 카르복실, 사이클로알킬, C(O)R', C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴이거나; 또는 $R_1$은 $R_2$와 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0349] $R_2$는 H, 아실, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아르알킬, 카르복실, 사이클로알킬, C(O)R', C(O)OR'이고, 여기서 R'은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴로부터 선택되거나; 또는 $R_1$은 $R_2$와 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖는 4 내지 8개 고리 요소를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성하며;

[0350] $R_3$은 OH, OR, 알콕시, 아르알콕시 또는 아미노이고, 여기서 R은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로사이클릴, 또는 약제학적으로 허용가능한 염, 또는 분자내 염으로부터 선택되고;

[0351] $R_4$는 H, 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로사이클릴, 또는 약제학적으로 허용가능한 염, 또는 분자내 염이고;

[0352] $R_5$는 옥소, 히드록실, 알킬, 알케닐, 알키닐, OR'이거나 또는 부재하고, 여기서 R'은 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 아릴 또는 아르알킬로부터 선택되고;

[0353] $R_6$은 옥소, 히드록시, 알킬, 알케닐, 알키닐, OR'이거나 또는 부재하고; 여기서 R'은 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 아릴 또는 아르알킬로부터 선택되고,

[0354] $R_7$은 H, 알킬, 알케닐, 알키닐, 케톤, OR', Se-R', S-R'이고, 여기서 R'은 H, 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로사이클릴로부터 선택된다.

[0355] 일 실시양태에서, 화학식 (III)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어진 조성물이 제공되고, 여기서

[0356] $R_1$ 및 $R_2$는 각각 H이고;

[0357] $R_3$은 OH, OR, 알콕시, 아르알콕시, 또는 아미노이고, 여기서 R은 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로사이클릴, 또는 약제학적으로 허용가능한 염, 또는 분자내 염이고;

[0358] $R_4$는 H 또는 약제학적으로 허용가능한 염, 또는 분자내 염이고;

[0359] $R_5$ 및 $R_6$은 부재하고;

[0360] $R_7$은 알킬, 알케닐 또는 알키닐이다.

[0361] 추가의 실시양태에서, 화학식 (III)의 이들 화합물의 하나 이상은 분리되고/되거나 정제될 수 있다.

[0362] 일부 실시양태에서, 화학식 (III)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어진 조성물이 제공되고, 여기서 $R_1$ 및 $R_2$는 각각 H이고; $R_3$은 OH 또는

OR이고, 여기서 R은 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, sec-부틸, 또는 tert-부틸로부터 선택되고; $R_4$는 H이고; $R_5$ 및 $R_6$은 부재하고; $R_7$은 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소-부틸, sec-부틸, 또는 tert-부틸인 알킬이다.

[0363] 일부 실시양태에서, 화학식 III에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어진 조성물이 제공되고, 여기서 $R_1$ 및 $R_2$는 각각 H이고; $R_3$은 OH 또는 OR이고, 여기서 R은 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, sec-부틸, 또는 tert-부틸로부터 선택되고; $R_4$는 H이고; $R_5$ 및 $R_6$은 부재하고; $R_7$은 메틸이다.

[0364] 특정 측면에서, 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인 ("화합물 E"), 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물인 화학식 (III)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어진 조성물이 제공된다.

[0365] 일부 실시양태에서, 조성물은 화학식 (III)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어지고, 단 ɣ-글루타모일 셀레노시스테인-ɣ-글루타모일 시스테인, ɣ-글루타모일시스테인-2,3-DHP-셀레노시스테인, 디-ɣ-글루타모일셀레노시스테인, 셀레노글루타티온-ɣ-글루타모일시스테인,ɣ-글루타모일 셀레노시스테인-ɣ-글루타모일 시스테인, ɣ-글루타모일시스테인-2,3-DHP-셀레노시스테인, 디-ɣ-글루타모일셀레노시스테인, 및 셀레노글루타티온-ɣ-글루타모일시스테인은 조성물로부터 제외될 수 있다.

[0366] 일부 실시양태에서, 화학식 (I), (II) 및/또는 (III)의 하나 이상에 따른 하나 이상의 화합물로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어진 조성물이 제공되고, 여기서 하기 화합물의 각각은 셀레늄 독성을 최소화하고, 불활성 또는 억제 화합물을 제거하고/하거나 조성물의 치료 지수를 최대화하기 위하여 조성물로부터 제외되고, 제외되는 화합물은 ɣ-글루타모일 셀레노시스테인-ɣ-글루타모일 시스테인, ɣ-글루타모일시스테인-2,3-DHP-셀레노시스테인, 디-ɣ-글루타모일셀레노시스테인, 셀레노글루타티온-ɣ-글루타모일시스테인, ɣ-글루타모일 셀레노시스테인-ɣ-글루타모일 시스테인, ɣ-글루타모일시스테인-2,3-DHP-셀레노시스테인, 디-ɣ-글루타모일셀레노시스테인, 셀레노글루타티온-ɣ-글루타모일시스테인, 데히드록시 5'-메틸셀레노아데노신, 에틸셀레노아데노신, 셀레노(히드록실)-셀레노펜-(3'-데옥시-아데노신), 알릴셀레노아데노실 호모시스테인, 셀레노-아데노실 호모시스테인, 셀레노-히드록시 아데노실 호모시스테인, 셀레노 아데노신, 셀레노-아데노실-Se(메틸)-셀렌옥사이드, 아데노실-히드록시 셀렌옥사이드, 에틸 셀레노아데노신, 셀레노-(히드록시)-셀레노펜-(3'-데스옥시-아데노신), 아데노실-히드록시 셀렌옥사이드, 및 셀레노-아데노실-Se(메틸)-셀렌옥사이드.

[0367] 실시양태에서, 본원에 기술된 임의의 화합물은 반감기를 연장하고, 화합물을 산화로부터 보호하고, 화합물을 조직에 표적하고, 화합물의 혈액 뇌 장벽 통과를 가능케 하도록 변형될 수 있다.

[0368] 일부 실시양태에서, 화학식 (I)에 따른 각각의 하나 이상의 화합물로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어진 조성물이 제공된다. 일부 측면에서, 화학식 (I)에 따른 각각의 하나 이상의 화합물을 포함하는 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물; 및 5'-셀레노아데노실 호모시스테인, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물을 포함한다.

[0369] 일부 실시양태에서, 화학식 (I) 및 화학식 (III)에 따른 각각의 하나 이상의 화합물로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어진 조성물이 제공된다. 일부 측면에서, 화학식 (I) 및 화학식 (III)에 따른 각각의 하나 이상의 화합물을 포함하는 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물; 5'-셀레노아데노실 호모시스테인, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물; 및 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물을 포함한다.

[0370] 일부 실시양태에서, 화학식 (I) 및 화학식 (III)에 따른 각각의 하나 이상의 화합물로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어진 조성물은 5'-메틸셀레노아데노신, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물; 및 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물을 포함한다.

[0371] 일부 실시양태에서, 화학식 (II) 및 화학식 (III)에 따른 각각의 하나 이상의 화합물로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어진 조성물이 제공된다. 일부 측면에서, 화학식 (II) 및 화학식 (III)에 따른 각각의 하나 이상의 화합물을 포함하는 조성물은 5'-셀레노아데노실 호모시스테인, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화

물, 또는 전구약물; 및 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 또는 전구약물을 포함한다.

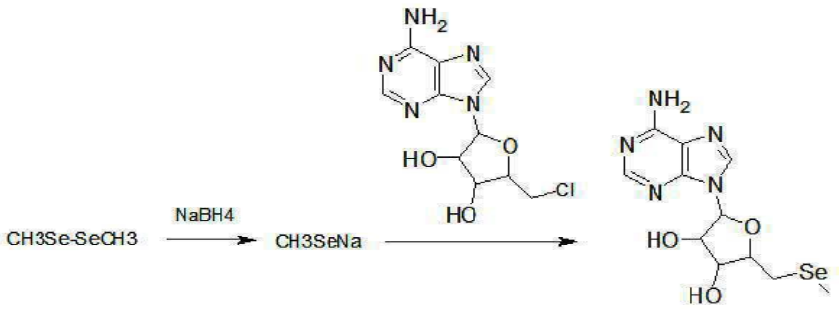
[0372] 다른 측면에 따르면, 본 발명은 약제학적으로-허용가능한 희석제 또는 담체와 함께, 본 발명의 하나 이상의 화합물 또는 이의 약제학적으로-허용가능한 염, 에스테르 또는 전구약물의 치료학적 유효량으로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어진 약제학적 조성물을 제공한다. 약제학적으로 허용가능한 담체에는: (1) 락토스, 글루코스 및 수크로스와 같은 당; (2) 옥수수 전분 및 감자 전분과 같은 전분; (3) 나트륨 카르복시메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스 및 셀룰로스 아세테이트와 같은 셀룰로스, 및 그의 유도체; (4) 분말화 트라가칸트; (5) 말트; (6) 젤라틴; (7) 탈크; (8) 코코아 버터 및 좌약 왁스와 같은 부형제; (9) 땅콩유, 면실유, 홍화유, 참기름, 올리브유, 옥수수유 및 대두유와 같은 오일; (10) 프로필렌 글리콜과 같은 글리콜; (11) 글리세린, 소르비톨, 만니톨 및 폴리에틸렌 글리콜과 같은 폴리올; (12) 에틸 올리에이트 및 에틸 라우레이트와 같은 에스테르; (13) 맥아; (14) 마그네슘 히드록사이드 및 알루미늄 히드록사이드와 같은 완충제; (15) 알긴산; (16) 발열성 물질 제거수; (17) 등장 식염수; (18) 링거 용액; (19) 에틸 알코올; (20) 인산염 완충액; 및 (21) 약제학적 제형에 이용되는 다른 비독성 상용성 성분이 포함된다.

[0373] 조성물은 본원에 기술된 바와 같이 임의의 투여 경로를 위해 제형화될 수 있다.

[0374] **실시예 I**

[0375] 5'-메틸셀레노아데노신 ("C")의 합성 및 특성화

[0376] 합성 모식도 및 방법은 하기와 같다:

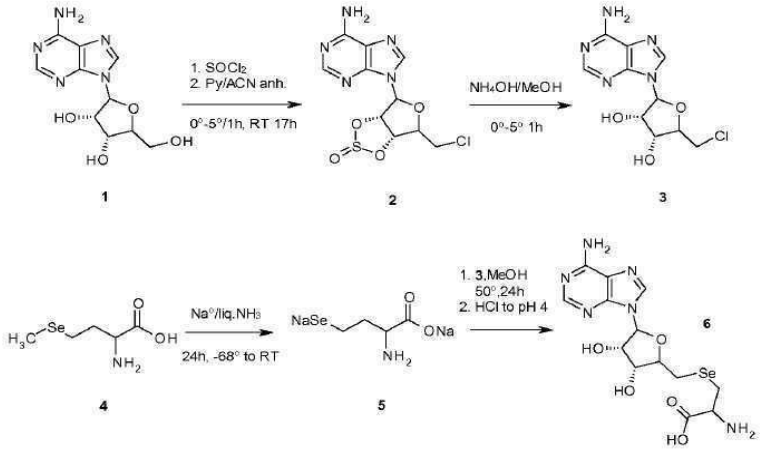
[0377] 


[0378] 자석 교반기 내에 장착되고 얼음 냉각조에 놓여진, 20 mL의 무수 에틸 알코올을 함유하는 200 mL 둥근-바닥 플라스크에 수소화붕소나트륨 (227 mg, 6.0 mM, Ar° 하)을 첨가한다. Ar 흐름 하에서 냉각 및 교반하면서 디메틸 디셀레나이드 (190 uL, 376 mg, 2.0 mM)를 주사기로 넣는다. 노르스름한 용액의 변색 후 고체 5'-클로로-5'-데옥시아데노신 (1,143 g, 4.0 mM)을 첨가한다. 5-Cl-Ade는 에틸 알코올에 대한 용해도가 매우 불량하다. 100 mL 초과의 에틸 알코올을 첨가하여 침전물을 용해시켰다. 상온에서 혼합물의 교반을 이후 4일간 지속하였다. 전환을 모니터링하기 위하여 MS를 사용하였다. ~75% 전환이 5일 후 달성되었다. 용매를 증발시켰고 산물 3.22 g (~ 20%의 SM으로)을 수집하고 역상 (C-8) 분취 크로마토그래피로 정제하여 1.1 g의 순수 산물을 산출하고 이의 분자량을 질량 분광분석법으로 확인하였다.

[0379] **실시예 2**

[0380] Se-아데노실-L-호모시스테인 ("D")의 합성 및 특성화

[0381] 합성 모식도 및 방법은 하기와 같다:




[0382]

[0383] 5'-클로로-5'-데옥시아데노신 (639-62)

[0384] 적하 깔대기, 교반기, 가스 투입구/배출구 및 온도계가 장착된, 오븐 건조된 2 L, 4-목 플라스크에 89 g (0.366 mole, 1 eq.) 아데노신, 59.3 ml (58 g, 1.833 mole, 2 eq.) 무수 피리딘 및 1 L 무수 아세토니트릴을 넣는다. 반응 세트를 얼음/소금 욕조에 넣는다. 교반을 개시하고 용액의 온도가 3℃ 미만으로 떨어지면 염화티오닐 (강력한 발열성!)을 매우 서서히 첨가하기 시작한다. 반응 혼합물의 온도는 염화티오닐 첨가 동안 및 4시간 동안 더 5℃ 미만으로 유지될 필요가 있다 (이때 용액은 바닥에 백색-황색 침전을 갖는 노란색이다). 그 후에 반응을 상온에서 밤새 놔두었다. 다음날 아침에 다량의 침전물을 소결된 유리 필터를 사용하여 여과하고 필터 위에서 100 ml 부피의 건조 아세토니트릴로 3회 세척하였으며, 그동안에 침전물 색깔은 흰색으로 변한다. 습식 침전물을 그 후에 800 ml의 메탄올 및 160 ml의 물의 혼합물을 함유하는 2 L 반응 플라스크 내로 다시 옮기고, 그 안으로 80 ml의 농축 수산화 암모늄 용액을 중탕기에서 기계적 교반 및 냉각 하에 한 방울씩 첨가한다. 혼합물을 주변 온도에서 45분간 교반하고 형성된 백색 침전을 진공 여과에 의해 액체로부터 분리한다. 여과액을 진공 로터리-증발기를 사용하여 건조 상태로 농축하는 반면, 침전물을 ~560 ml 열수로부터 결정화하고, 얼음-중탕기에서 냉각시키고, 결정의 첫 번째 생성물을 여과하고 동결-건조시킨다. 그 후에 이 여과액을 첫 번째 여과액의 로터리 증발로부터 수득된 고체의 결정화를 위한 용매로 사용하여 산물의 두 번째 생성물을 얻고, 이를 역시 동결-건조시킨다 (2일째). 결정의 두 생성물 모두를 진공 건조기 내 오산화인 (phosphorous pentoxide) 상에서 2일간 최종적으로 건조시킨다. 84 g의 백색 결정을 80.5% 수율로 수득한다. MS (286-M+H), mp. 187℃.

[0385] 셀레노아데노실호모시스테인 (655-40)

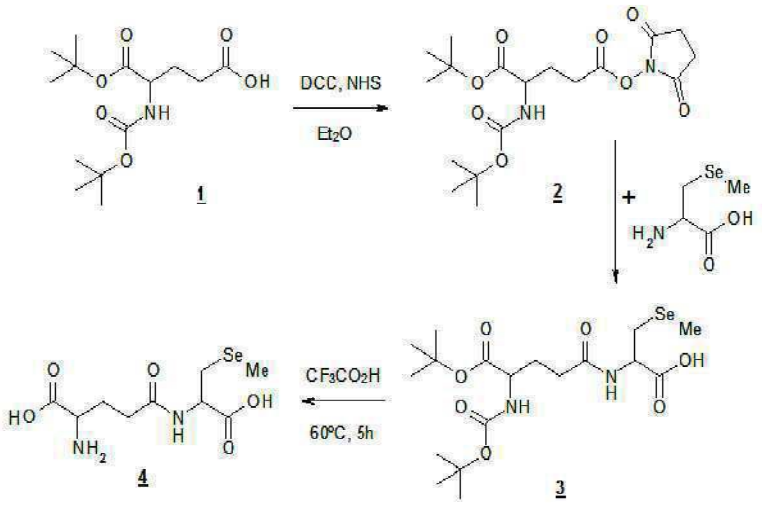
[0386] 9.806 g (50 mM, 1 당량)의 L-셀레노메티오닌을 온도계, 거대 냉각 핑거 (cooling finger)(배출구에 거품-계량기 구비), 암모니아 가스 주입구 (플라스크의 바닥에 닿음) 및 자석 교반 막대를 갖춘 2 L, 3-목 플라스크 내로 충전하고 $CO_2$-아세톤 함유 2.5 L 이중 용기 냉각조 내에 넣는다. $Ar^{\circ}$을 아세톤 중탕 및 냉각 핑거에 고체 $CO_2$를 첨가하기 전에 플라스크를 통과시킨다. 플라스크의 내부 온도가 -35℃ 미만으로 내려가면 무수 암모니아 (가스)의 흐름을 개시하고 액체 암모니아 수준이 800 ml의 부피에 도달하면 가스 흐름을 중단한다. 이때 용액의 청색-보라색 착색이 ~30초 동안 지속될 때까지 작은 금속성 나트륨 조각을 잘 교반된 용액에 첨가한다. 총 2.645 g (115 mM, 2.3 당량)의 나트륨을 45분 이내에 첨가한다. 교반 및 냉각을 30분 이상 유지한다. 이때 모든 성분은 용액 중에 있다. 14.856 g (52 mM, 1.04 당량)의 무수 5'-클로로-5'-데옥시아데노신을 단일 부분으로 첨가하고 반응 혼합물을 교반하면서 매우 낮은 $Ar^{\circ}$ 흐름 하에 밤새 방치하였다. 다음날 아침 (모든 암모니아가 사라지면) 350 ml의 무수 메탄올을 플라스크 내에 존재하는 백색 고체에 첨가한다. 플라스크를 오일조에 놓아두고, 환류 응축기 (reflux condenser)를 장착하고, $Ar^{\circ}$ 가스 흐름을 유지하고, 오일조를 이후 24시간 동안 50℃로 가열한다. 이때 1 ml의 용액을 몇 방울의 0.1 N HCl을 이용해 pH 3.5로 산성화하고 시료를 질량 분광분석법을 이용하여 기질의 존재에 대해 분석한다. 만약 이들이 5% 미만이라면 혼합물을 1 N HCl을 이용해 pH 3.5로 산성화하고, 염으로부터 여과하고, 진공 로터리-증발기를 사용해 건조 상태로 농축할 수 있으며, 조 산물을 물-에탄올 혼합물로부터 결정화에 의해 정제할 수 있다. 15.98 g (74% 수율)의 셀레노아데노실호모시스테인 결

정의 첫 번째 산물은 ~95% 순수하고, 추가의 정제 없이 생물학적 연구에 사용될 수 있다.

[0387] **실시예 3**

[0388] 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인의 합성 및 특성화

[0389] 합성 모식도 및 방법은 하기와 같다:




[0390]

[0391] N-Boc-(O-tBu)-L-Glu-OSu (655-90)의 합성

[0392] N-Boc-(O-tBu)-L-Glu-OH (303 mg, 1.0 Mmol), N-히드록시석시니미드 (121 mg, 1.05 Mmol) 및 디사이클로헥실카르보디이미드 (227 mg, 1.1 Mmol)를 15 mL의 무수 에틸 에테르에 현탁/용해시키고 10 μL의 디메틸에틸벤질아민을 주사기로부터 반응 혼합물 내로 첨가하였다. 주변 온도 (22℃)에서의 교반을 48시간 동안 유지하였다. 혼합물을 여과하고 침전물을 10 × 10 mL의 에틸 에테르로 세척하였다. 여과액을 농축하고 고진공 하에 건조시켜 백색 결정 산물을 수득하였다 (570 mg, ~90% 수율). MS ($M+Na^+$) = 423.17;

[0393] N-Boc-(O-tBu)-L-Glu-MeSe-Cys-OH (655-90)의 합성

[0394] N-Boc-(O-tBu)-L-Glu-OSu (570 mg, 0.9 Mmol), 메틸셀레노시스테인 (175 mg, 0.8 Mmol), 트리에틸아민 (152 mg, 209 μL, 1.5 Mmol)을 6 mL의 1,4-디옥산과 2 mL의 물의 혼합물 내로 첨가하였다. 반응 혼합물의 자석 교반을 100시간 동안 유지하였다. 이 시간 후 1.21 N HCl (1.65 mL)을 첨가하고 반응-후 혼합물을 3× 20 mL의 에틸 에테르로 추출하고 추출물을 진공-로터리 증발기를 사용해 건조 상태로 농축하여 649 mg의 왁스질 산물을 수득하였고 이를 분취 HPLC에 적용하였다. 283 mg의 산물을 수집하였다 (75.6% 수율). 질량 스펙트럼으로 산물의 분자량 및 그 내부의 단일 Se 원자의 존재를 확인하였다. $C_{18}H_{32}N_2O_7Se$에 대해 계산된 Ms = 468.42; 실측치 469.24 m/e ($M+H^+$) 및 491.24 m/e ($M+Na^+$).

[0395] 감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인 (655-92)의 합성

[0396] 283 mg (0.6 Mmol)의 N-Boc-(O-tBu)-L-Glu-MeSe-Cys-OH, 2 mL의 티오아니솔 및 5 mL의 트리플루오로아세트산의 혼합물을 오일조에서 자석 교반하면서 6시간 동안 63℃로 가열하고 상온 (22℃)에서 밤새 방치하였다. 이 시간 이후 반응 혼합물을 격렬하게 교반된 에틸 에테르 (20 mL) 내로 (한방울씩) 첨가하였다. 형성된 침전물을 2× 20 mL의 에틸 에테르로 세척하여 138.3 mg의 크림성 침전물을 수득하였고, 이를 그 후에 분취 HPLC로 정제하였다.

[0397] **실시예 4**

[0398] 3종의 합성 셀레노유기 화합물을 단독 또는 조합하여 미토콘드리아 기능, 세포 생존 및 유전자 발현에 대한 효과에 대해 세포 배양액 중에서 검사하였다. 검사된 세포는 간세포, 신장 세포, 신경 세포 및 골격근 세포를 포함하였다.

[0399] **재료 및 방법**

[0400] **세포주 및 AT 화합물**

[0401] 인간 배아 신장 HEK293T 세포는 Qiutang Li 박사 (루이스빌 대학교)가 친절하게 제공하였다. 마우스 골격근 근육모세포 C2C12 세포주는 Dr. Xiao 박사 (켄터키 대학교)로부터 증여 받았다. 인간 신경모세포 IMR-32 세포 및 마우스 간 세포주 AML-12는 ATCC (American Type Culture Collection, Manassas, Virginia)로부터 구입하였다. 모든 이들 세포를 ATCC 권고 배양 배지에서 증폭시켰다.

[0402] 화합물 C (5'-메틸셀레노아데노신), D (Se-아데노실-L-호모시스테인), 및 E (감마-글루타밀-메틸셀레노-시스테인), 및 이들의 황 유사체 H (5'-메틸티오아데노신), I (S-아데노실-L-호모시스테인), 및 J (감마-글루타밀-메틸-시스테인)를 2% 미만의 무기 셀레늄을 함유하는 셀렌화된 효모의 개별 화합물로서 동정하였고 합성하거나 (이용가능한 경우) 상업적 공급원으로부터 입수하였다. 모든 검사된 화합물의 순도는 질량 분광분석법에 의해 결정되는 바와 같이, ≥ 99%인 것으로 확인되었다.

[0403] **HEK293T 세포에서 미토콘드리아 전위의 형광 분석**

[0404] HEK293T 세포를 8-챔버 유리 슬라이드 ($1\times10^4$ 세포/챔버)에서 24시간 동안 배양한 후, 다양한 농도의 화합물 또는 이들 각각의 황 유사체 (멸균수에 용해됨)로 4.5시간 동안 처리하였다. 이들 화합물-처리된 세포를 PBS로 2회 세정하고, 미토트랙커 (Mitotracker) 오렌지 형광 염료 (Invitrogen)와 함께 37℃에서 30분간 인큐베이션한 후, 제조사의 프로토콜에 따라서 신선한 PBS로 교체하였다. 그 후에 이들 살아있는 세포에서 형광 신호 (미토콘드리아 전위)를 자이스 악시오 (Zeiss Axio) Vert.A1 형광 현미경 (Thornwood, NY)을 사용하여 기록하였다. 각 처리 그룹에서 적어도 3종의 시료를 형광 현미경 하에서 분석하였다.

[0405] **C2C12, IMR-32 및 AML-12 세포에서 미토콘드리아 전위의 정량적 분석**

[0406] C2C12 세포의 경우, 동일한 개수의 세포 ($1\times10^4$)를 코닝 96-웰 투명-바닥 및 암흑-벽 세포 배양 플레이트 (VWR)에 접종하고, 10% FBS DMEM 배지에서 24시간 동안 배양한 후, 비히클 (멸균수), 화합물 C 및 D 및 이들의 황 유사체로 24 및 48시간 동안 처리하였다. 이들 비히클- 또는 화합물-처리된 세포를 PBS로 2회 세정하고, 미토트랙커 오렌지 형광 염료와 함께 37℃에서 30분간 인큐베이션한 후, PBS로 교체하였다. 이들 살아있는 세포에서 미토트랙커 오렌지 형광 강도 (미토콘드리아 전위)를 바이오-텍 시너지 (Bio-TeK Synergy) HT 다중-모드 형광 마이크로플레이트 판독기 (Winooski, VT)로 결정하였다. 각 처리당 8개 시료를 상기 분석에 대해 조사하였고, 데이터를 8개 시료의 평균 ± 표준편차로 나타내었다.

[0407] AML-12 간세포의 경우, 세포를 1× 인슐린/트랜스페린/셀레늄 (ITS, Sigma)이 보충된 10% FBS 둘베코 변형 이글 (Dulbecco's modified Eagle's) 배지 및 Ham's F12 배지 (1:1)(DMEM/F12) 배지에서 증폭시켰다. 그 후에 동일한 개수의 세포 ($1\times10^4$ 세포/웰)를 코닝 96-웰 투명-바닥 및 암흑-벽 세포 배양 플레이트 (VWR, Radnor, PA)에 접종하고, ITS-무함유 10% FBS DMEM/F12 배지에서 24시간 동안 배양한 후, 6, 24, 및 48시간 동안 다양한 화합물 또는 화합물의 조합으로 처리하였다. 살아있는 세포에서 미토콘드리아 전위를 상기에 기술된 바와 같이 미토트랙커 오렌지 염료를 사용하여 형광 강도의 정량적 분석에 의해 결정하였다. 또한, 상기 처리된 세포 역시 제조사의 프로토콜에 따라서 세포 핵을 염색하기 위하여 획스트 (Hoechst) 33342 염료 (Invitrogen, Grand Island, NY)와 함께 인큐베이션하였다. 획스트 33342 염료로 염색된 세포 핵의 형광 강도를 또한 형광 마이크로플레이트 판독기를 사용하여 결정하였다. 살아있는 세포에서 세포당 미토콘드리아 전위를 각 웰에서 획스트 33342 염료의 형광 강도에 대해 미토트랙커 오렌지 염료의 형광 강도를 표준화함으로써 수득하였다. 각 처리당 8개 시료를 상기 분석에 대해 조사하였고, 데이터를 8개 시료의 평균 ± 표준편차로 나타내었다.

[0408] AML-12 세포에 대한 상기 연구와 유사하게, 살아있는 IMR-32 세포에서 세포당 미토콘드리아 전위를 하기 변형과 함께 바이오-텍 시너지 HT 다중-모드 형광 마이크로플레이트 판독기를 사용하여 결정하였다. 배양 접시에 대한 IMR-32 세포의 부착을 향상시키기 위해, 세포 배양 플레이트를 0.1% 젤라틴 (Sigma, St. Louis, MO)으로 사전-코팅하였다. 96-웰당 $2\times10^4$ 세포를 상기 연구를 위해 젤라틴화된 96-웰 플레이트에 접종하였다. 세포 이탈을 감소시키기 위해, 미토트랙커 오렌지 및 획스트 33342 형광 염료 (배양 배지에 희석됨)를 비히클- 또는 화합물-처리 후 각 웰에 직접 첨가하였다. 염료 인큐베이션 후, 마이크로플레이트 판독기 상에서 형광의 정량 분석을 위해 세포 배양 배지를 조심스럽게 1× PBS로 교체하였다. 각 처리당 8개 시료를 상기 분석에 대해 조사하였고, 실험을 적어도 5회 반복하였다. 데이터를 8개 시료의 평균 ± 표준편차로 나타내었다.

[0409] **세포 생존력 분석**

[0410] 배양된 세포의 세포 생존력을 제조사의 프로토콜에 따라서 셀타이터® 아쿠어스 원 용액 세포 증식 분석 키트 (CellTiter96® AQueous One Solution 세포 Proliferation Assay kits, Promega)를 사용해 결정하였다. 간략히, 동일한 개수의 C2C12 ($1\times10^4$ 세포/웰), AML-12 ($1\times10^4$ 세포/웰) 및 IMR-32 ($2\times10^4$ 세포/웰)를 96-웰 투명 플레이트 (VWR)에 접종하고 비히클 또는 화합물로 24, 28 및/또는 72시간 동안 처리하였다. 그 후에, 배양된 세포를 아쿠어스 원 용액 (100 μl/웰당)과 함께 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션하고, 각 시료에서 OD490 nm의 흡광도를 바이오-텍 마이크로플레이트 판독기로 결정하였다. 배양된 세포의 세포 생존력은 배양된 세포에서의 OD490 nm에서 순수한 배양 배지 (세포의 접종 부재)에서의 OD490 nm을 공제함으로써 결정하였다. 각 처리당 8개 시료를 상기 분석에 대해 조사하였다. 데이터를 8개 시료의 평균 ± 표준편차로 나타내었다.

[0411] **RNA 분리 및 실시간 PCR 분석**

[0412] 인간 IMR-32 세포를 젤라틴화된 6-웰 ($6.5\times10^5$ 세포/웰) 또는 24-웰 ($1.3\times10^5$ 세포/웰) 플레이트에 접종하였고, 마우스 AML-12 간세포를 비코팅된 6-웰 ($3.33\times10^5$ 세포/웰) 또는 24-웰 ($6.7\times10^4$ 세포/웰) 플레이트에서 배양하였다. 세포를 비히클 (대조군) 또는 다양한 화합물로 6, 24 또는 48시간 동안 처리하였다. 이들 세포로부터 총 RNA를 제조사의 프로토콜에 따라서 트리졸 (Trizol, Invitrogen)을 사용하여 분리한 후, 임의의 가능한 오염된 게놈 DNA를 제거하기 위하여 DNase I과 함께 인큐베이션하였다. 그 후에 RNA 시료를 이전에 기술된 바와 같이 (Lan et al EMBO J 2003), 어플라이드-바이오사이언스 (Applied-Bioscience's) RT 키트 및 미리 고안된 태크만 (Taqman) 프로브 (Invitrogen)를 사용하여 실시간 PCR에 적용하였다. 3 내지 6개 시료를 각 처리 그룹에서 분석하였다. 데이터를 각 시료 내 액틴 B (Actb) 또는 글리세르알데히드 포스페이트 데히드로게나제 (Gapdh) 수준으로 표준화하였고, 3-6개 시료의 평균 ± 표준편차로 나타내었다.

[0413] **단백질 제조 및 웨스턴 블롯 분석**

[0414] IMR-32 및 AML12 세포를 6-웰 플레이트에 접종한 후, 상기에 기술된 바와 같이, 비히클 및 다양한 화합물로 6 및 24시간 동안 처리하였다. 처리 후, 세포를 얼음-냉각된 PBS로 세정하고, 얼음 중에서 30분간 완전 프로테이나제 및 포스파타제 억제제를 함유하는 얼음-냉각된 RIPA 완충제 (Themo-Fisher Scientific, Waltham, MA)에 용해하였다. 세포 용해물을 세포 스크레퍼 및 전달 피펫 (transfer pipette)을 사용해 수집한 후, DNA 펠렛을 제거하고 단백질 추출물을 수득하기 위하여 4℃에서 30분간 12000 g로 원심분리하였다. 이들 세포 용해물의 상청액 내 단백질 수준을 제조사의 프로토콜에 따라서 피어스 마이크로-BCA (Pierce Micro-BCA) 단백질 분석 키트 (Themo Scientific-Piece Biotechnology, Rockford, IL)를 사용하여 결정하였다.

[0415] 웨스턴 블롯 분석을 위해, 비히클- 및 화합물(들)-처리된 세포로부터의 5 μg의 총 단백질을 SDS-PAGE 겔 분리에 적용한 후, 이전에 기술된 바와 같이 (Reddy, Liu et al. 2008 Science), PVDF 막으로 옮겼다. 막을 5% (w/v)의 소 혈청 알부민 (Sigma, St. Louis, MO)을 함유하는 인산염-완충 식염수 (PBS) 중에서 차단하고, 특이적 일차 항체와 함께 인큐베이션한 후 HRP-접합 항-마우스 또는 항-토끼 이차 항체 (1:5000 희석, Cell Signaling Inc.)와 함께 인큐베이션하였다. G6PC (Santa Cruz), Actb (Li-COR,Lincoln, Nebraska), Elf2bε 및 pElf2bε (Abcam, Cambridge, MA)를 제외한 모든 일차 항체는 Cell Signaling Inc.로부터 구입하였다. 막 블롯 상의 양성 신호를 Amersham의 강화된 화학발광 웨스턴 블롯팅 프라임 검출 시약 (GE healthcare Lifescience, Pittsburgh, PA)을 사용하여 검출하였다. 막 블롯 상의 이들 발광 신호의 이미지를 LI-COR 오딧세이 Fc 이미지 시스템 (Lincoln, Nebraska)을 사용하여 캡쳐하였다. 동일한 막 블롯을 벗겨내고 GE WB ECL-프라임-검출 프로토콜 (GE healthcare Lifescience, Pittsburgh, PA)에 기술된 바와 같이 또 다른 항체를 이용해 재-블롯팅하였다. 웨스턴 블롯에서의 단백질 밴드 밀도를 Li-COR 이미지 스튜디오 소프트웨어 또는 NIH 이미지 J 소프트웨어를 사용하여 결정한 후, 각 시료에서의 Actb 수준으로 표준화하였다. 데이터를 각 그룹당 3개 시료의 평균 ± 표준편차로 나타내었다.

[0416] **통계학적 분석**

[0417] 적용된다면, 두 그룹 사이의 통계학적 차이를 결정하기 위하여 스튜던츠 t-검정을 수행하였다. 0.05 미만의 P 값을 유의미하다고 간주하였다.

[0418] **결과 및 논의: 미토콘드리아 기능**

[0419] 배양된 인간 신장 세포에서 미토콘드리아 ("MT") 전위를 강화시킬 수 있는지를 검사하기 위하여, HEK293T 세포를 37.5 및 75 ppb의 화합물 C 또는 D로 처리하였다. 이들 양은 유효량이 100-150 ppb로 확인되었던 시호스 (SeaHorse) 분석에서의 결과를 근거로 하였다. 화합물 C뿐만 아니라 그의 황 유사체 H를 4.5시간 동안 HEK293T

세포와 인큐베이션하고, 현미경 하에서 형광 분석을 수행하였다. 도 1에 나타난 바와 같이, 더 낮은 용량(37.5 ppb)에서 화합물 C는 MT 전위를 강화시킨 반면 4.5시간 동안 더 높은 용량 (75 ppb)의 화합물 C로 처리된 신장 세포에서는 MT 전위에 덜 효과적이었다. 반대로, 모든 검사된 용량에서 화합물 D는 MT 전위에 영향을 미치지 않았다 (도 1).

[0420] 본 발명의 결과는, 화합물 C는 신장 세포에서 MT 전위를 강화시키는 반면 화합물 D는 효과가 없었음을 명백히 증명한다. 셀레늄이 화합물 C 및 D 둘 모두에 에 존재하고, 이들의 황 유사체인 H 및 J 각각이 미토콘드리아 활성을 자극하지 못하는 것으로 증명되었음을 고려할 때, 신장 세포에서 화합물 C의 자극 효과는 이 유기셀레늄 화합물 내 셀레늄과 셀레늄을 둘러싸고 있는 분자 구조의 조합 효과에 기인한다는 결론을 내릴 수밖에 없다. 자극 활성은 셀레늄 효과 단독에 기안한 것이 아니다.

[0421] 신장 세포에서 미토콘드리아 활성을 증가시킬 수 있음의 중요성은 특히 당뇨병 개체에서 매우 유의미한 건강적 이익을 가질 수 있다. 최근의 연구 (Sharma et al., J AM Soc Nephrol, 2013: 1901-12)는 당뇨병 집단으로부터의 소변의 대사 분석으로부터 당뇨병성 신장 질환이 미토콘드리아 기능의 감소와 명백히 관련이 있다는 결론을 내렸다. 당뇨병성 신장 질환 (DKD)은 말기 콩팥 질환의 주된 원인이고 저자들은 미토콘드리아 기능을 회복하거나 증가시키는 치료적 접근법이 DKD를 완화하거나 심지어 중단시킬 수 있다는 결론을 내렸다. 저자들이 이들 사례에서 미토콘드리아 기능장애를 PGC1a로 불리는 전사 공-활성제의 발현의 감소와 관련시킨 사실은 더욱 관심을 부가한다. 이후에 논의되는 바와 같이, PGC1a는 본 출원에 기술된 합성 셀레늄 화합물의 표적이다.

[0422] **마우스 C2C12 세포에서 화합물 C 및 D에 의해 강화된 미토콘드리아 전위**

[0423] 화합물 C 및 D가 골격근 세포에서 MT 전위에 영향을 미치는지 여부를 검사하기 위하여, C2C12 세포를 비히클(물, 대조군) 또는 다양한 농도의 셀레늄 및 황 화합물로 처리한 후, MT 전위의 정량적 분석을 수행하였다. 도 2에 나타난 바와 같이, MT 전위는 24시간 동안의 황 유사체로의 처리 후 C2C12 세포에서 감소하였고, 이는 황 화합물이 골격근 세포에서 약간의 MT 독성을 나타내었음을 보여준다. 반대로, 셀레늄 화합물 C 및 D는 MT 전위를 유의미하게 강화시켰다 (도 2).

[0424] 이 결과의 2가지 측면은 특히 놀랍고 예기치 않은 것이다. 첫 번째로, 화합물 D는 신장 세포에서는 불활성이지만 근육 세포에서는 미토콘드리아 활성을 자극하는데 매우 효과적이었다 (그의 가장 효과적인 용량에서 대조군 수준에 비해 대략 2배). 나아가, 이는 신장 세포에서 유일하게 효과적인 검사된 화합물이었던 화합물 C (상기에 나타난 바와 같음)보다 더욱 강력한 것으로 나타났다.

[0425] 두 번째로, C 및 D의 황 유사체는, 단지 효과를 갖지 않는다기 보다는, 비히클-처리된 대조군 세포에 비해, 미토콘드리아 활성에 대해 억제성이었다 (일부 사례에서 2/3로 감소됨). 이 효과는 과거에 보고된 적이 없지만 왜 셀레늄 풍부 효모 제조물을 이용한 일부 연구가 이들 보충제를 투여받은 개체에서 전-당뇨병 효과를 보고하였는지를 설명하는데 도움이 될 것이다. 셀레늄 강화 과정 동안에 일반적으로 효모 내 황-함유 분자인 황을 셀레늄이 대체하더라도, 최종 제조물 내에는 황-함유 분자가 항상 우세할 것이다 (황은 대량 원소이고 임의의 성장 또는 발효 과정으로부터 완전히 제거하는 것이 불가능하다). 따라서, 셀레늄-강화 효모에서 특정 황-함유 분자의 존재는, 일부 사례에서, 미토콘드리아 활성을 억제하고, 시간의 경과에 따라서, 전-당뇨병 상태를 초래할 수 있다. 성인-개시 당뇨병이 여러 해의 기간에 걸친 미토콘드리아 활성의 점진적인 감소와 연결되어 있음이 문헌에 잘 보고되어 있다. 이는 매일 섭취된 글루코스의 75-80%를 사용하는 것으로 추정되는 골격근의 경우에 특히 중요하다. 글루코스를 효과적으로 이용하기 위한 근육 미토콘드리아의 능력에 있어 온건한 감소조차도, 시간의 경과에 따라서는, 심각한 건강 문제를 초래할 수 있다. 화합물 D에 대한 반응으로 C2C12 근육 세포에서 확인된 미토콘드리아 활성의 2-배 자극은, 예를 들어 전-당뇨병 또는 당뇨병 개체의 근육 조직에서 미토콘드리아 감소를 회피하거나 지연시키는 방법을 나타낼 수 있다.

[0426] 화합물 C 및 D에 의한 MT 전위의 관찰된 증가가 단순히 생세포 수의 증가에 의해 야기된 것인지 여부를 조사하기 위하여, 본 발명자들은 세포 생존력 분석을 수행하였다. 동일한 용량으로 24시간 및 48시간 동안의 이들 화합물로의 처리 후 화합물 C 및 D는 C2C12 세포에서 세포 생존력에 아무런 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다 (데이터 미제시). 종합하면, 본 발명의 결과는 화합물 C 및 D가 세포 생존에 부정적인 효과를 미치지 않지만, C2C12 세포에서 MT 전위를 일시적으로 강화시킬 수 있음을 제안한다.

[0427] **IMR-32 세포에서 화합물 C, D, 및 E에 의해 일시적으로 강화된 MT 전위**

[0428] 셀레늄 화합물이 신경 세포에서 MT 기능을 조절할 수 있는지 여부를 조사하기 위하여, 인간 IMR32 세포를 다양한 화합물로 6, 24 및 48시간 동안 처리한 후, 미토콘드리아 전위 분석을 수행하였다. 도 3 (상부 패널)에 나

타난 바와 같이, 6시간 동안 화합물 D 또는 E 또는 둘 모두의 조합의 처리는 대조군 정상 세포 (물 비히클로 처리됨)에 비해 MT 전위를 유의미하게 강화시키는 반면 MT 전위의 증가하는 경향이 또한 화합물 C-처리된 IMR-32 세포에서 관찰되었다. 증가된 MT 전위가 또한 화합물 H 또는 I 및 J로 처리된 세포에서 관찰되었다 (대조군에 비해, 도 3, 상부 패널). 그러나, 강화된 MT 전위는 이들 각각의 황 유사체(들)에 비해 화합물 D 또는 E 또는 DE 조합으로 처리된 세포에서 더욱 두드러졌다 (도 3, 상부 패널).

[0429] 화합물 처리 후 24시간째에, MT 전위에서의 유의미한 증가가 모든 셀레늄 화합물-처리된 세포에서 관찰되었다 (대조군과 비교하는 경우). 일반적으로, 강화된 MT 전위는 이들의 황 유사체 H, I, J, 또는 HIJ의 조합보다 셀레늄 화합물 C, D, E 또는 CDE의 조합으로 처리된 세포에서 더욱 두드러졌다. 24시간째 시점에서 한 경우에 I 및 J의 조합이 가장 높은 미토콘드리아 반응을 유도하였음이 주목되어야 한다. 그러나, 48시간째에는, 모든 검사된 그룹에서 MT 전위에 유의미한 변화가 없었다. 종합하면, 이들 결과는 셀레늄 화합물 C, D, E 또는 이들 화합물의 조합이 IMR-32 세포에서 MT 전위를 일시적으로 강화시킬 수 있고, 이들 셀레늄 화합물의 효과는 이들의 황 유사체보다 더욱 명백함을 제안한다.

[0430] 다시 한번, 이들 특이적 셀레늄 화합물 및 이들의 조합에 대한 세포 유형의 차등적 반응을 강조하는 이 실험에서 분명해진, 현저한 세포-특이적 및 화합물-특이적 반응이 존재한다. 더욱이, 근육 세포의 경우에서와 같이, 미토콘드리아 활성에 대해 억제성이기 보다는, 황 화합물은 - 셀레늄 화합물보다는 일반적으로 덜한 수준이지만, IMR-32 세포에서 미토콘드리아 활성을 자극하였다. 이 경우에 나타난 일시적 또는 한시적 효과는 이들 화합물 또는 이들의 조합이 미토콘드리아 활성에 대한 효과를 유지하기 위하여 처리된 개체에 반복적으로 투여되어야 할 것이고; 본질적으로는, 매일 용량이 요구될 수 있음을 나타낸다.

[0431] **총 48시간 동안 IMR-32 세포에서 반복된 D 또는 E 처리에 의해 강화된 MT 전위**

[0432] MT 전위에 대한 화합물 C, D 및 E의 상기에서 관찰된 일시적인 효과는 본 발명자들이 반복된 처리가 MT 전위를 강화시킬 수 있는지 여부를 검사하도록 촉구하였다. 이에, IMR-32 세포를 먼저 화합물 C, D 또는 E로 24시간 동안 처리한 후, 새롭게 준비된 화합물 C, D 또는 E로 추가 24시간 동안 재-처리하였다. 음성 대조군으로서, IMR-32 세포를 화합물 C, D, 또는 E로 48시간 동안 단 한번 처리하였다. 그 후에, 이들 세포에 대해 MT 전위 분석을 수행하였다. 예상되는 바와 같이, 48시간 동안의 화합물 C, D, 또는 E의 연장된 단일 처리 (연속적인 48시간의 단일 처리)는 IMR-32에서 MT 전위에 아무런 영향을 미치지 않았다 (도 4, 상부 패널). 그러나, 화합물 D (15 및 150 ppb 둘 모두에서) 또는 E (150 ppb의 용량에서)의 반복된 처리는 (대조군 또는 황 유사체 I 또는 J와 비교할 때) MT 전위를 유의미하게 강화시켰다.

[0433] **IMR-32 세포에서 세포 생존력에 대한 화합물 C, D, E의 무독성 효과**

[0434] IMR-32 세포의 생존에 대해 셀레늄 화합물이 임의의 독성 효과가 있는지 여부를 검사하기 위하여, 24, 48 및 72시간 동안 다양한 화합물로의 처리 후 세포 생존력 분석을 세포에 대해 수행하였다. 도 5에 나타난 바와 같이, 검사된 시점에서 모든 화합물의 처리는 IMR-32에서 생세포의 유의미한 감소를 초래하지 않았다. 실제로, 48 및 72시간 동안의 셀레늄 화합물 처리 후 세포에서 세포 생존력의 작지만 유의미한 증가가 있었다 (도 5, 중간 및 하부 패널). 이들 데이터는 IMR-32 세포의 생존력에 독성 효과를 나타내지 않았지만, 그 대신에, 신경 세포 생존에 대해 작지만 유의미한 이익 효과를 나타내었음을 제안한다. 그러나, 이 실험에서 세포 생존력에 있어 관찰된 임의의 증가는 특정 셀레늄 화합물 또는 이들의 유사체에 대한 반응으로 IMR-32 세포주에서 관찰된 MT 전위의 증가를 설명하기에는 너무 빈약하는 점에 주목해야 한다.

[0435] **래트 뇌로부터 분리된 미토콘드리아에 대해 미토콘드리아 활성을 증가 또는 감소시키는 선택된 합성 셀레늄 화합물의 능력을 입증하기 위한 실험적 데이터**

[0436] 수용성 추출물을 셀렌화된 효모로부터 수득하였다. 수용성 추출물은 제조물 내 존재하는 총 셀레늄의 최대 25%에 상당한다. 본 발명자들은 이들 셀레늄 종이 위장관을 통한 이들의 통과 시에 셀렌화된 효모로부터 제일 먼저 유리되고/소화되는 것이라고 생각하였다. 질량 분광분석법으로 추출물 내 셀레늄 함유 화합물의 동정 후에, 본 발명자들은 다수의 셀레늄 함유 화합물 및 펩티드를 합성하였다. 따라서, 이 회차의 합성 및 정제는 추가 검사를 위한 9종의 셀레늄-함유 종의 패널을 생성하였다. 소량 (밀리그램 수준의 소량)의 재료가 그렇게 생성되었다고 가정하면 이는 살아있는 동물에서 급식 연구를 실시하는 것이 실행 불가능한 것으로 생각되었다. 본 발명자들은 미토콘드리아 생물에너지학 (bioenergetics)에 대한 이들 셀레늄 종의 전위 효과에 일차적으로 흥미를 가졌기 때문에, 미토콘드리아를 사용하여 이들 셀레늄 분자를 직접적으로 검사하기로 결정하였다.

[0437] 낮은 (50 ppb), 중간 (500 ppb) 및 높은 (1 ppm) 범위의 셀레늄 농도를 화합물에 대해 가능한 범위로서 초기에

검사하였다. 중간-범위에서 미토콘드리아에 대해 아무런 관찰가능한 독성이 없음을 토대로, 본 발명자들은 일차 결과 척도로서 미토콘드리아 생물에너지학을 사용한 본 발명의 화합물 스크리닝을 수행하기 위하여 500 ppb (5 μM) 농도를 선택하였다. 성체 래트 뇌 피콜 (ficoll) 정제된 미토콘드리아를 3중으로 시호스 바이오사이언스 유동 분석기 (Seahorse Biosciences flux analyzer) 내에 로딩하기 전에 9종의 화합물과 37℃에서 30분간 인큐베이션하였다. 본 발명자들은 ATP 합성 (상태 III), 복합체 I 의존성 (NADH-유도된) 최대호흡량 (상태 $V_{FCCP}$) 및 복합체 II (FADH-유도된) 의존성 최대호흡량 (상태 $V_{succ}$)을 포함하는 3종의 호흡 상태에서 OCR (산소 소비율) 파라미터를 측정하였다.

[0438] 결과는 물 추출물로부터 유래한 상이한 셀레늄 화합물이 미토콘드리아 전위를 증가시킬 수 있는 차등적 활성을 가짐을 보여준다.

[0439] 화합물 5: 발린-셀레노메티오닌-아르기닌

[0440] 화합물 6: 류신-발린-셀레노메티오닌-아르기닌

[0441] 화합물 7: 류신-트레오닌-글리신-셀레노메티오닌-알라닌- 페닐알라닌-아르기닌

[0442] 화합물 8: 셀레노글루타티온 이량체

[0443] 화합물 9: 메틸셀레노아데노신

[0444] 화합물 10:글루타밀셀레노시스테인

[0445] 화합물 25: pH 6.0에서 효모의 총 물 추출물

[0446] 화합물 28: 산화형 글루타티온

[0447] 화합물 30: 글루타밀시스테인

[0448] [표 1]

[0449] 미토콘드리아 생물에너지학에 대한 셀레늄 화합물의 효과 (래트 뇌 정제된 미토콘드리아 5 μg/웰)

| | 상태 III | % 변화 | 상태 V | % 변화 | 상태 Vsucc | % 변화 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| CTRL | 432.6 | | 182.1 | | 350.1 | |
| #5 | 445.9 | 3.0 | 187.8 | 3.2 | 292.5 | -16.4 |
| #6 | 477.5 | 10.3 | 220.6 | 21.2 | 376.4 | 7.6 |
| #7 | 372.5 | -14.0 | 147.1 | -19.2 | 288.0 | -17.7 |
| #8 | 424.0 | -2.1 | 192.3 | 5.7 | 371.0 | 6.0 |
| #9 | 507.8 | 17.3 | 210.3 | 15.6 | 437.1 | 24.9 |
| #10 | 352.1 | -18.7 | 112.7 | -38.1 | 254.4 | -27.3 |
| #25 | 419.0 | -3.2 | 136.2 | -25.2 | 309.3 | -11.6 |
| #28 | 451.6 | 4.3 | 149.6 | -17.8 | 319.3 | -8.8 |
| #30 | 423.2 | -2.3 | 153.8 | -15.5 | 305.4 | -12.7 |

양성적 경향

양성적/음성적 경향

음성적 경향

[0450]

[0451] 특히, 화합물 6 및 9는 미토콘드리아 전위를 증가시키는 반면 화합물 7, 10, 및 25는 미토콘드리아 전위를 억제하였다. 이러한 결과는 셀렌화된 효모의 물 추출물로부터 유래한 화합물이 미토콘드리아 전위에 대한 매우 상이한 효과를 가지고 생물학적 과정에 대한 긍정적 반응을 유발하는 단지 그러한 것들을 선택하는 측면에서 후보 화합물을 분리하고, 스크리닝하고, 합성하도록 본 발명자들을 유도하였음을 보여준다.

[0452] **래트 뇌로부터 분리된 미토콘드리아에서 스트레스를 준 미토콘드리아를 정상 활성으로 회복하는 합성 셀레늄 화합물의 능력을 입증하기 위한 실험적 데이터**

[0453] 하기 실시예는 산소 소비율, 또는 OCR로 표현되는 미토콘드리아의 호흡률을 측정하기 위한 장치인, 시호스 외부 유동 분석기 내에서 수행된 실험을 기술한다. 당해 실험은 임의의 부가적인 셀레늄 공급원으로 보강되지 않은 정상 실험실 식사로 유지된, 정상 래트의 뇌 대뇌피질로부터의 미토콘드리아를 사용하였다. 도 6은 그래프 선

의 끝과 X-축 사이에서 측정된 거리인 최종 OCR과 함께 정상 미토콘드리아의 호흡 차트 (상부 선)를 보여준다.

[0454] 이들을 탈분극시킴으로써 미토콘드리아에 스트레스를 주거나 손상을 주기 위해 칼슘 (10 μM 최종 농도)이 첨가되는 것을 제외하고는, 동일한 미토콘드리아 제조물의 동일한 시료를 대조군 시료와 정확히 동일한 방식으로 처리하였다. 나타난 바와 같이 (하부 선), OCR은 1,677에서 1,066 pMoles/분 $O_2$의 값으로 하락하였다.

[0455] 다시, 이들이 칼슘 (10 μM) 및 150 ppb의 화합물 D 및 E를 각각 함유하는 것을 제외하고는, 래트 뇌 대뇌피질 미토콘드리아의 동일한 시료를 상기와 같이 인큐베이션하였다. C는 검사되지 않았다. 화합물-처리된, 칼슘-스트레스를 받은 미토콘드리아의 OCR이 거의 대조군 수준, 즉 화합물 D의 경우 1,564 pMoles/분 $O_2$로, 화합물 E의 경우 1,531 pMoles/분 $O_2$로 회복되었음이 명백하다.

[0456] 이 결과 및 래트 뇌 미토콘드리아를 사용하는 그러한 반복 실험을 토대로, 본 발명자들은 단독이 아닌 합성 셀레늄 화합물이 정상 미토콘드리아의 미토콘드리아 활성을 증가시키는 능력을 갖지만 (다양한 유형의 스트레스 받지 않은 세포를 사용한 실시예 참고) 스트레스 받거나 손상된 미토콘드리아의 호흡량을 또한 회복시킬 수 있다는 결론을 내렸다.

[0457] **마우스 AML-12 간세포에서 개별적 화합물에 의해서가 아닌, C, D, 및 E의 조합에 의해 강화된 MT 전위**

[0458] 셀레늄 화합물이 간세포에서 MT 기능을 조절할 수 있는지 여부를 조사하기 위하여, 마우스 AML-12 세포를 다양한 화합물로 6 및 24시간 동안 처리한 후, 미토콘드리아 전위 분석을 수행하였다. 도 7에 나타난 바와 같이, 150 ppb에서 화합물 C, D, 또는 E 또는 동일한 농도에서 이들 각각의 황 유사체를 이용한 개별적인 처리는 대조군 세포 (물 비히클 처리됨)와 비교할 때 MT 전위에 유의미하게 영향을 미치지 않았다. 그러나, C, D 및 E의 조합은 비히클- 또는 HIJ-처리된 그룹 둘 모두에 비해 MT 전위의 매우 유의미한 증가를 야기하였다 (도 7). 따라서, 간세포에서, 화합물 C, D 및 E의 특정 조합이 MT 전위의 증가를 유발하는데 요구되는 반면, 개별적 화합물 및 이들의 황 유사체는 효과가 없었다. 이 효과는 신경 세포에서 관찰된 것과 완전히 다르고 이전에 문헌에 보고된 적도 없다.

[0459] **UPC2 발현은 AML-12 세포에서 화합물 C, D 및 E의 조합에 의해 하향조절됨**

[0460] 미토콘드리아 활성을 증가 또는 감소시키는 능력을 갖는 하나의 후보 패밀리 유전자는 소위 결합해제 (Uncoupling) 단백질 유전자 또는 UCP이다. CDE 조합으로의 처리에 대한 반응으로 관찰된 강화된 MT 전위는 비히클-, HIJ- 및 CDE-처리된 AML-12 세포에서 이들 유전자의 차등적 조절이 있는지 여부를 검사하도록 유도하였다. 정상 AML-12 세포에서, Ucp2 mRNA 발현 수준은 Ucp1보다 460-배 더 높았지만, Ucp3 mRNA는 실시간 RT-PCR로 검출되지 않았다 (도 8A, Ucp3 데이터 미제시). CDE 화합물로의 AML-12 세포의 처리는 Ucp1 발현에 영향을 미치지 않았다 (도 8B). 그러나, HIJ가 아닌 CDE로의 처리 후 AML-12 세포에서 Ucp2 mRNA 발현의 유의미한 감소가 있었다 (도 8C). Ucp2가 MT 전위를 억제할 수 있기 때문에, 감소된 Ucp2 발현은 AML-12 세포에서 CDE 화합물에 의해 촉발된 강화된 MT 전위의 부분적인 원인일 수 있다. 비만 환자는 일반적으로 간에서 높은 수준의 Ucp2를 갖기 때문에, CDE에 의한 감소된 Ucp2 발현은 CDE 화합물이 비만의 치료에 유익할 수 있음을 나타낸다.

[0461] **AML-12 세포의 생존에 대한 CDE 화합물의 무독성 효과**

[0462] AML-12 세포의 생존에 대해 셀레늄 화합물이 임의의 독성 효과를 갖는지 여부를 검사하기 위하여, 세포 생존력 분석을 다양한 화합물로 48시간 동안 처리 후 세포에 대해 수행하였다. 본 발명자들은 미처리 (단일 화합물 및 이들의 조합 둘 모두)가 AML-12 세포에서 세포 생존력의 유의미한 감소를 초래하였음 (도 9)을 발견하였고, 이는 셀레늄 화합물이 AML-12 세포의 생존에 독성 효과를 나타내지 않음을 확인한다.

[0463] **IMR-32 세포에서 화합물 C, D 및 E의 조합에 의한 UCP2/3의 하향조절**

[0464] 이전에 기술된 바와 같이, Ucp1, 2 및 3과 같은, UCP는 MT 전위의 조절에 결정적인 유전자이다. CDE에 대한 반응으로 IMR-32 세포에서 관찰된 강화된 MT 전위 (도 3, 상부 2개의 패널)는 조합 처리에 대한 반응으로 이들 3종 유전자의 차등적 발현이 존재하는지 여부를 검사하도록 본 발명자들을 유도하였다. 실시간 RT-PCR 분석에 의해 정상 IMR-32 세포에서 Ucp1 mRNA가 검출가능하지 않았음을 확인하였다 (데이터 미제시). 6시간 동안 HIJ가 아닌 CDE 화합물의 IMR-32 세포의 처리는 Ucp2 및 Ucp3 발현 둘 모두의 유의미한 감소를 초래하였다 (도 10A-B). 24시간 처리에서, Ucp2 발현은 HIJ- 및 CDE-처리된 그룹 모두에서 현저히 감소한 반면 (도 10A), Ucp3 발현의 유의미한 감소가 CDE-처리된 IMR-32 세포에서 관찰되되었다 (도 10B). 이들 결과는 Ucp2/3의 하향조절이 CDE 화합물에 대한 반응으로 IMR-32 세포에서 관찰된 강화된 MT 전위에 대한 적어도 하나의 이유일 수

있음을 제안한다.

[0465] **논의**

[0466] 따라서, 본 발명자들은 3종의 합성 유기셀레늄 화합물이, 단일로 또는 다양한 조합 중 하나로, 다양한 세포 유형, 즉 신장 세포, 골격근 세포, 신경 세포 및 간세포에서 미토콘드리아 활성을 현저히 증가시키는 능력을 가지고 있다는 증거를 제시하고 있다. 역학적으로, 본 발명자들은 UCP의 조정이 이러한 증가에 대해 하나의 설명을 제공할 수 있음에 주목하고, 하기에 미토콘드리아 기능 및 생합성에 결정적인, 다른 단백질의 발현이 또한 이들 화합물에 의해 호의적으로 영향을 받을 수 있다는 증거를 제시한다. 그러나, 작용 기전과는 무관하게, 이들 화합물이 교차-조직 (cross-tissue) 방식으로 미토콘드리아 활성을 자극할 수 있다는 사실은 이들이 겉보기에는 다양한 질환; 예를 들어, 알츠하이머병 (AD) 및 2형 당뇨병 (T2DM)의 개시 및 진행을 완화하는데 특히 유용할 수 있음을 의미한다.

[0467] 알츠하이머병의 경우에, AD가 뇌에서 손상된 글루코스 유입, 불완전한 에너지 대사, 미토콘드리아 기능장애, 만성 산화적 스트레스 및 DNA 손상으로부터 유래한다는 생각을 지지하는 문헌에 급성장이 있어 왔다 (de la Monte and Wands에 의해 리뷰됨, 2008). 예를 들어, 다수의 연구가 인슐린 결핍 및 인슐린 내성이 AD-퇴행에서 확인된 다수의 효과를 매개할 수 있다는 결론을 내렸다. 나아가, T2DM이 뇌 인슐린 내성, 산화적 스트레스 및 인지 손상을 야기하는 것으로 나타났다. 뇌 인슐린 및 인슐린-유사 성장인자 (IGF)-신호전달 기전에서 광범위한 장애가 AD에서 나타난 다수의 분자적, 생물학적 및 조직병리학적 효과를 설명할 수 있다.

[0468] 미국 알츠하이머 협회 (Alzheimer's Association of America)에 의해 발표된, 주지의 통계는 AD 환자의 대략 80%가 또한 T2DM을 가지고 있다고 언급한다. 이들, 및 다른 이유는 AD가 선택적으로 뇌를 포함하고 1형 및 2형 당뇨병 둘 모두와 중복되는 분자적 및 생물학적 특징을 갖는 당뇨병의 형태를 나타낸다는 사실을 반영하기 위해 다수의 연구자들이 용어 "3형 당뇨병"을 사용하도록 유도하였다.

[0469] AD와 2형 당뇨병 사이의 연결은 과학적 문헌에 매우 견고해지고 있지만 이들 질환과 미토콘드리아 기능장애 사이의 연결은 무엇일까? 췌장에 의한 인슐린 분비의 결함 및 말초 조직, 특히 간 및 골격근에서 두드러진 인슐린 내성을 조합하는, T2DM은 연장된 기간에 걸쳐서 미토콘드리아 호흡 기능의 온건하고 점진적인 소실에 의해 야기된다는 것이다 (Lowell and Shulman, 2005). 따라서, 다양한 조직에서 미토콘드리아 기능을 증가시킬 수 있는 임의의 작용제는 이들의 기원이 미토콘드리아 감소로 추적되는 병태에 대한 중재술로서 매우 유용할 수 있다.

[0470] **결과 및 알츠하이머병 발병기전의 논의**

[0471] **IMR-32 세포에서 화합물 C, D 및 E의 조합에 의한 PSEN의 하향조절**

[0472] IMR-32 세포는 알츠하이머병 (AD)의 발병기전 연구에 적합한 시험관 내 모델 시스템인 것으로 보고되고 있다 (Neill et al., J. Neuroscience Res. 1994 39: 482). AD의 핵심 병리학적 특성 중 하나는 뉴런 사이에서 일어나고 뇌 위축 및 세포사에 기여하는 아밀로이드 플라크이다. 아밀로이드 플라크의 생산에 관여하는 기전은 복잡하지만 감마-시크리타제로 불리는 다중-효소 복합체와 협력하여 작용하는 베타-시크리타제 (BACE)라고 불리는 효소의 작용에 주로 의존한다. 종합하면, AD에서, 이들 효소는 아밀로이드 전구체 단백질 (APP)로 불리는 뇌 단백질을 비정상적으로 프로세싱되도록 작용한다. 결과 산물은 플라크를 형성하기 위해 함께 덩어리지는 비정상적 아밀로이드 베타 펩티드이다.

[0473] 진술한 바와 같이, 감마-시크리타제 효소는 실제로 4개의 공지의 멤버들로 이루어진 다량체 복합체이다: 프레세닐린-1 (PSEN1 또는 PSEN), 니카스트린, APH-1 (전방 인두 결손 1, Anterior Pharynx Defective 1) 및 PEN2 (presenilin enhancer 2: 프레세닐린 강화제 2). PSEN의 다른 이원체 (paralog)는 프레세닐린 2 또는 PSEN2이다. 모든 4개 성분이 감마-시크리타제의 정확한 기능에 중요하지만, 특히 2개 성분이 파이프라인 치료적 약물의 대상이 되고 있다. 이들은 프레세닐린 1 및 니카스트린이다. 이는 프레세닐린 1이 감마-시크리타제의 실제 촉매 성분 - 아밀로이드 전구체 단백질을 물리적으로 절단하는 성분이기 때문이다. 나아가, 프레세닐린 1의 유전자는 가족성 AD에서 가장 빈번하게 변이되는 유전자이다. PSEN2에 비해, PSEN1은 훨씬 더 풍부하고 기능적으로 더 잘 정의되어 있다. 니카스트린이 촉매적이기 때문이 아니라 프레세닐린이 이를 절단할 수 있도록 APP에 결합하여 이를 배향시키기 때문에 니카스트린은 관심의 대상이다. 따라서, PSEN1 및 니카스트린은 감마-시크리타제-집중 AD 중재술을 위해 가장 큰 관심을 받는 표적이다.

[0474] 여러 연구자 그룹에 의해 AD가 사람이 노화됨에 따라 미토콘드리아 기능의 점진적인 감소에 그의 원인을 갖는다고 생각된다는 점이 또한 주목되어야 한다. 이와 관련하여, AD 질환 과정에서 측정가능한 첫 번째 생리학적 변

화의 하나가 뇌 세포에 의한 글루코스 섭취 및 이용의 결함이라는 점이 또한 흥미로운데; 명백히, 이 두 현상은 연결될 수 있다. 따라서, 본 발명자들은 이들의 황 유사체 (HIJ)의 조합과 함께, 화합물 C, D, 및 E (CDE)의 조합으로 처리된 IMR32 세포에서 PSENs을 암호화하는 유전자의 발현을 조사하였다.

[0475] 본 발명자들은 PSEN의 발현이 정상 IMR32 세포에서의 PSEN2보다 거의 8-배 더 높다는 것을 발견하였다 (도 10C). 더욱 중요하게는, PSEN1 발현은 대조군 또는 HIJ 그룹에 비해 CDE-처리된 세포에서 유의미하게 감소하였다 (도 10D). 반대로, 대조군, HIJ 및 CDE 그룹 중에서는 PSEN2 발현에 아무런 명백한 변화가 없었다 (도 10E). 이들 결과는 셀레늄 화합물이 IMR-32 세포에서 PSEN2 발현이 아닌 PSEN을 선택적으로 하향-조절할 수 있고 아밀로이드 플라크 형성에 대해 CDE 화합물 중에서 선두 물질이 존재할 수 있음을 제안한다.

[0476] **IMR-32 세포에서 감마-시크리타제 복합체 유전자 PSEN 및 니카스트린을 표적함에 의해 AD에서 플라크 형성을 위한 APP의 절단을 방지하기 위한 선두 화합물인, 화합물 C**

[0477] 상기에 나타난 바와 같이 (도 10D), 화합물 CDE 혼합물은 PSEN 발현을 억제하였는데, 이는 아밀로이드 베타 펩티드의 생산을 위한 감마-시크리타제 성분에 대해 이들 3종의 화합물 중에서 생물학적 선두가 존재함을 나타낸다. 이 연구는 PSEN 발현으로 제한되었지만, 감마 시크리타제가 다중-효소 복합체이기 때문에, 또 다른 중요한 성분 단백질, 니카스트린이 이 특정 실시예에 포함되었다. 선두 화합물을 동정하기 위하여, IMR-32 세포를 개별적 화합물로 처리하고 웨스턴 블롯 및 RT-PCR 분석에 적용하였다.

[0478] 도 11A에 나타난 바와 같이, PEN2 및 베타-시크리타제 BACE 단백질이 아닌 PSEN 및 니카스트린이 화합물 C의 24시간 처리 후 IMR-32 세포에서 약화되었다. 정량적 분석은 오로지 C에 의해서만 PSEN 및 니카스트린 단백질 수준 둘 모두가 유의미하게 감소한 반면, D 및 E 화합물은 또한 니카스트린 단백질 발현을 감소시키려는 경향을 유도하였음을 나타내었다 (도 11B-C). 약화된 PSEN 발현과 일치하는, PSEN mRNA 발현은 처리 6시간뿐만 아니라 24시간에도 화합물 C에 의해 유의미하게 감소하였다 (도 11D-E). 유사하게, 화합물 C 처리는 또한 6시간 처리 후 IMR-32 세포에서 니카스트린 mRNA 발현을 감소시키려는 경향을 야기하였고 (도 11F), 더욱 중요하게는, 24시간 처리 후 IMR-32 세포에서 니카스트린 mRNA 발현의 유의미한 감소를 야기하였다 (도 11G). 반대로, 화합물 D 및 E 처리는 IMR-32 세포에서 PSEN 및 니카스트린 mRNA 발현을 억제하지 않았고, 오히려 반대로 이를 촉진하였다 (도 11E 및 11G).

[0479] 종합하면, 본 발명의 데이터는 화합물 C가 mRNA 및 단백질 수준 둘 모두에서 PSEN 및 니카스트린 발현 둘 모두를 억제할 수 있음을 제안하였다. 이들 결과는 화합물 C가 3종 후보물질의 항-AD 화합물이고 감마-시크리타제 복합체 성분, 더욱 구체적으로는, AD의 플라크 형성을 담당하는 것으로 알려진, PSEN 및 니카스트린을 표적함으로써 이를 달성함을 제안한다.

[0480] **IMR-32 세포에서 타우 단백질의 과인산화에 대한 세포-특이적 GSK3b 하향조절자인, 화합물 C**

[0481] 아밀로이드 플라크 이외에, AD에서 두 번째 주된 병리는 신경원섬유 매듭 (Neurofibrillary tangle), NFT 또는 줄여서 매듭이라고 불린다. AD에서 매듭 형성이 타우 (Tau)라 불리는 단백질의 과인산화에 의해 야기되고 이 인산화가 DYRK1A (이중 특이성 티로신-인산화-조절 키나제 1A) 및 주로 Gsk3b (글리코겐 신타제 키나제 3 베타)와 같은 키나제 효소에 의해 야기된다는 것은 잘 특성화되어 있다. 셀레늄 화합물 C, D 또는 E가 잠재적으로 AD에서 매듭 형성을 감소시키는데 기여할 수 있는지 여부를 탐구하기 위하여, 본 발명자들은 IMR32 세포에서 총 타우 단백질 농도뿐만 아니라 2종의 AD 바이오마커, pTau S396 및 pTauS400/T403/S404의 인산화 상태를 먼저 조사하였다. 지시된 부위에서 타우의 인산화는 타우 단백질의 불안정화 및 매듭의 궁극적인 형성과 연관되어 있다. 이 목적을 위하여, 세포를 6 및 24시간 동안 화합물 C, D, 및 E로 처리한 후, 웨스턴 블롯 분석에 적용하였다.

[0482] 도 12A에 나타난 바와 같이, 모든 검사된 타우 단백질 종의 단백질 수준은 6시간 처리에 영향을 받지 않았다. 그러나 24시간 처리 후, IMR-32 세포에서 pTauS396, pTauS400/T403/S404 및/또는 총 타우의 단백질 수준은 화합물 C 및/또는 E에 의해 유의미하게 하향조절되었다. 정량적 분석은 화합물 C가 총 타우 단백질 수준에는 영향을 미치지 않았지만, S396이 아닌 S400/T403/S404에서의 타우 인산화를 유의미하게 억제하였음을 보여주었다 (도 12B-C). 화합물 D는 모든 검사된 세린/트레오닌 잔기에서의 타우 인산화, 또는 총 타우 단백질 수준에 효과가 없었던 반면, S396 및 S400/T403/S404에서의 타우 인산화 및 총 타우 단백질은 E 화합물에 의해 유의미하게 하향-조절되었다 (도 12B-C).

[0483] 총 pTauS396 및 pTauS400/T403/S404 대 총 타우 단백질의 비율 분석은, 화합물 E에 의해 모든 검사된 세린/트레오닌 잔기에서 타우 인산화의 감소하는 경향이 있었다고 하더라도, D 또는 E가 아닌, 단지 화합물 C만이 IMR-32

에서 타우 단백질의 총 인산화를 유의미하게 약화시켰음을 보여주었다 (도 12E).

[0484] 종합하면, 본 발명의 데이터는 화합물 C가 타우 인산화를 현저히 억제할 수 있지만 IMR32 세포에서 총 타우 단백질에는 영향을 미치지 않는 반면, 화합물 D는 이 과정에 아무런 효과를 나타내지 않았음을 보여주었다. 화합물 E는 또한 타우 인산화의 조절에 역할을 담당할 수 있지만 이 화합물의 효과는 IMR-32 세포에서 총 타우 단백질의 하향-조절을 통해서일 가능성이 있다. 타우의 과인산화가 AD에서 매듭 형성의 원인이라고 하면, 본 발명의 데이터는 C가 AD에서 매듭 형성에 기여하는 타우 과인산화를 억제함을 제안한다.

[0485] 화합물 C에 의한 타우 인산화의 하향조절이 Gsk3 및 DYRK1A (AD에서 타우 인산화를 위한 2종의 핵심 키나제)에 기인한 것인지 여부를 조사하기 위하여, 웨스턴 블롯 분석을 수행하여 이들의 단백질 수준을 조사하였다. 도 12A에 나타난 바와 같이, Gsk3b의 인산화, 총 Gsk3a 및 DYRK1A 단백질은 IMR-32 세포에서 3종의 화합물 중 어느 하나에 의해서도 영향을 받지 않았다. 그러나, Gsk3b 단백질 수준은 6시간이 아닌, 24시간 동안, D 또는 E가 아닌, 화합물 C로의 처리 후 IMR-32 세포에서 가시적으로 감소하였다 (도 12A). 정량적 분석은 D 또는 E가 아닌, 화합물 C 처리된 IMR-32 세포에서 Gsk3b 단백질 수준이 (대조군 세포에 비해) 통계학적으로 유의미하게 감소하였음을 보여주었다 (도 12F).

[0486] Gsk3b 발현이 화합물 C에 의해 억제됨을 추가로 확인하기 위하여, 정량적 RT-PCR을 수행하여 이의 mRNA 수준을 조사하였다. 도 12G에 나타난 바와 같이, Gsk3b mRNA 수준은 6시간 동안 화합물 C의 처리 후 IMR32 세포에서 유의미하게 감소하였다. Gsk3b mRNA 발현이 감소하려는 경향이 또한 24시간 동안 화합물 C로 처리된 후 IMR-32 세포에서 관찰되었다 (도 12H). 반대로, 6시간 동안 화합물 D 및 E 처리는 IMR-32 세포에서 Gsk3b mRNA 발현을 유의미하게 억제하지 않았다 (도 12G). 그 대신에, 24시간 동안 화합물 D 또는 E로의 처리 후 IMR-32 세포에서 Gsk3b mRNA 발현은 유의미하게 증가하였다 (도 12H). 종합하면, 이들 데이터는 화합물 C가 mRNA 및 단백질 수준 둘 모두에서 Gsk3b 발현을 억제할 수 있고 화합물 C에 의한 GSK3b의 하향-조절이 상기에 지시된 감소한 타우 인산화의 원인일 수 있음을 제안한다.

[0487] Gsk3b 발현에 대한 화합물 C의 억제 효과가 신경 세포-특이적인지 여부를 조사하기 위하여, 본 발명자들은 마우스 간세포에서 이의 단백질 수준을 조사하였다. 단백질 추출물을 상기 IMR-32 세포와 동시에 동일한 실험 조건으로 간세포로부터 제조하였다. Gsk3b 단백질 수준은 간세포에서 화합물 C에 의해 영향을 받지 않는 것으로 확인되었다 (도 16). 따라서, Gsk3b 발현의 하향조절은 신경 세포-특이적이다. 간세포에서 화합물 C에 대한 GSK3b 반응의 결여는 치료적 관점에서 유의미한 가치가 있을 수 있다. 이는 화합물 C가 간 탄수화물 대사에 심각한 교란을 초래하는 위험을 무릅쓰지 않으면서 신경 조직에서 치료제로서 사용될 수 있음을 의미한다.

[0488] 종합하면, 본 발명의 결과는 화합물 C가 신경 세포-특이적 Gsk3b 하향-조절자이고 신경 세포에서 타우 인산화를 억제할 수 있음을 제안하고, 이는 AD에서 매듭 형성에 대해 유익할 것이다. 이들 데이터는 화합물 C가 AD 분야에서 소중한 치료제일 수 있다는 시험관 내 증거를 추가로 제공한다.

[0489] **IMR32 세포에서 CDE에 의한 FOXO 인산화의 신경-특이적 하향조절 및 PGC1a 단백질의 상향조절**

[0490] IMR-32 세포에서 미토콘드리아 활성에 대한 CDE 화합물의 관찰된 효과를 토대로, 본 발명자들은 이들 화합물이 세포 성장 및 대사, 미토콘드리아 기능 및 에너지학을 담당하는 핵심 인자를 조절할 수 있는지 여부를 조사하고 싶었다. FOXO (Forkhead box) 단백질은 세포 증식, 분화 및 수명에 다양한 역할을 갖는, 핵심 핵 전사 인자의 패밀리이다. 이들은 글루코스신합성 (비-탄수화물 기질로부터 글루코스 생산)과 같이, 세포 내 중요 기능을 부분적으로 제어한다. 세포 핵 내로의 이들의 유입은 인산화에 의해 제어되는데; 인산화된 FOXO는 핵으로부터 제외되는 반면, 탈인산화된 FOXO는 유입될 수 있다.

[0491] PGC1a (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha)는 에너지 대사에 관여하는 유전자를 조절하는 강력한 전사 활성제이고 또한 미토콘드리아 생합성 및 성장의 주요한 조절자이다. 이는 외부 자극 (예컨대, 운동)과 미토콘드리아 생합성의 조절 사이의 직접적인 관련을 제공한다. 이는 유전자를 동시-활성화하기 위하여 다른 전사 인자들과 함께 협력함으로써 그의 다양한 기능을 수행한다. 신경-특이적 미토콘드리아 활성 및 AD 진행이라는 맥락에서, 치매의 기능과 같은 알츠하이머병 뇌에서 PGC1a 발현이 감소한다는 것이 흥미롭다 (Qin et al., 2009. Arch Neurol; 66: 352-361).

[0492] 이에, 본 발명자들은 CDE 화합물 중 하나가 이들 강력한 신호전달 인자의 발현에 영향을 미칠 수 있는지 여부를 연구하는데 흥미를 가졌다. 도 13에 나타난 바와 같이, FOXO4 및 FOXO3의 인산화는 6 및 24시간 둘 모두 동안 CDE의 처리 후 IMR-32 세포에서 하향조절되었지만, PGC1a 단백질은 24시간 처리 후 IMR-32 세포에서 증가하였다. 다른 검사된 신호전달 분자의 단백질 발현에는 거의 또는 전혀 효과가 없었다. 강화된 PGC1a 단

백질은 왜 MT 전위가 IMR-32 세포에서 CDE의 조합에 의해 강화되었는지에 대한 또 다른 설명을 제공할 수 있는 MT 생합성을 촉진할 수 있다 (도 3, 상부 및 중간 패널). T28 및 S193에서의 FOXO4와 같이, FOXO의 탈인산화가 FOXO 단백질의 핵 국소화를 초래한다는 것은 잘 알려져 있다. 이 결과는 CDE 화합물의 조합이 핵 FOXO 작용을 강화시킬 가능성이 있음을 강력히 제안한다. 종합하면, 본 발명의 데이터는 CDE가 신경 세포에서 하나 이상의 FOXO 활성제(들) 및 양성 PGC1a 조절자(들)를 함유함을 제안한다.

[0493] 이 결과는 뇌와 같은 신경 세포에서 치료적 관점에서 매우 유의미할 수 있다. 핵 내 특정 FOXO 단백질 및 PGC1a의 동시-국소화가 글루코스신합성 (글루코스 생산)의 강력한 활성화를 초래할 수 있음은 잘 확립되어 있다. 이러한 상황이, 예컨대, 당뇨병 개체의 간에서는 바람직하지 않을 수 있지만, 이는 초기 AD 단계에 있는 개체의 상황 - 뉴런으로의 글루코스 유입이 손상되고, 결과적으로, 뇌 세포가 그의 일차 연료 공급원이 부족하게 되는 상황에서는 매우 바람직한 것으로 고려될 수 있을 것이다. 다른 분자의 탄소 골격으로부터 글루코스를 생산하는 강화된 능력은 이러한 상황에서 매우 유익할 것이다.

[0494] FOXO 및 PGC1a의 관찰된 활성화 (상기)가 신경 세포-특이적인지 여부를 조사하기 위하여, 본 발명자들은 또한 마우스 AML-12 간세포에서 이들의 단백질 수준을 조사하였다. 단백질 추출물을 상기 IMR-32 세포와 동시에 동일한 실험 조건으로 간세포로부터 제조하였다. 그러나, 이후 항목에서 기술되는 간세포에서 확인된 효과 (도 15)는 IMR-32 세포에 대해 수득된 것과 정반대였고, CDE에 의한 FOXO의 탈인산화 및 PGC1a의 상향조절이 조직-광범위한 현상이 아니고 신경 세포에 제한적일 수 있음을 분명히 제안한다.

[0495] **신경-특이적 FOXO 활성제 및 PGC1a 상향조절자인, 화합물 C**

[0496] 상기에 기술된 바와 같이, CDE 화합물은 함께 FOXO의 탈인산화를 초래하였고 PGC1a 단백질 발현을 촉진하였다 (도 13). CDE 혼합물 중에서 어느 화합물이 이들 효과를 갖는지를 확인하기 위하여, 본 발명자들은 C-, D- 및 E-처리된 IMR32 세포에서 상기에 언급된 단백질의 발현을 조사하였다. 도 14A에 나타난 바와 같이, pFOXO4 수준은 모든 3종의 화합물로의 6시간 처리 후 IMR32 세포에서 현저히 감소하였다. 24시간 처리 후, 감소된 pFOXO4 T28 수준이 또한 D-가 아닌, C- 및 E-처리된 IMR-32 세포에서 관찰되었다. 정량적 분석은 6시간 처리에서 C, D, 및 E와, 24시간 처리에서 C 및 E에 의한 IMR-32 세포에서 pFOXO4 수준의 감소가 통계학적으로 유의미하였음을 보여주었다 (도 14B-C).

[0497] CDE 조합도 개별적 C, D 또는 E 처리도 총 FOXO 수준에서는 임의의 변화를 초래하지 않았지만 (도 13 및 14), 그보다는 단지 이를 탈인산화시킴으로써 FOXO 작용의 제어를 변화시켰다는 사실이 중요하다. pAKT 단백질 수준이 C-, D- 또는 E-처리된 세포에서 가시적으로 감소되지 않았기 때문에 (도 14A), 감소된 FOXO 인산화는 AKT 인산화의 하향-조절에 기인할 것 같지 않았다. 또한, pEif2beS539 단백질 수준 역시 C, D 또는 E에 의해 영향을 받지 않았는데, 이는 이들 화합물이 신경 세포에서 단백질 번역에 영향을 미치지 않을 가능성이 있음을 나타낸다 (도 14A). 반대로, PGC1a 단백질 수준은 모든 3종의 화합물의 24시간 처리 후 현저히 상승되었는데 (도 14A, 14D), 이는 왜 MT 전위가 IMR-32 세포에서 이들 화합물에 의해 상향조절되었는지를 설명할 수 있다 (도 3, 상부 및 중간 패널). 종합하면, 본 발명의 데이터는 화합물 C 및 E는 FOXO 활성제 및 PGC1a 상향조절자인 반면, 화합물 D는 PGC1a 상향조절자이고 FOXO 인산화의 조절에 혼합 효과를 가짐을 제안한다.

[0498] **논의**

[0499] 이들 전체로 보면, 신경 세포에서의 본 발명의 결과는 화합물 C를 이들 세포에서 유익한 효과를 유발하기 위한 바람직한 작용제로 제안한다. 상기에 직접적으로 기술된 결과가 모든 3종의 화합물이 - 신경 세포의 에너지학 관점에서 매우 바람직한 효과인, FOXO의 탈인산화 및 PGC1a의 상향조절을 유발할 수 있음을 보인다고 하더라도, 화합물 C가 이들 FOXO/PGC1 효과를 유발하고, 동시에, PSEN 및 니카스트린 수준을 유의미하게 감소시키는 유일한 후보물질이라는 점이 상기되어야 한다 (도 11). 나아가, 이는 IMR-32 세포에서 인-타우 (phospho-Tau) 수준 및 GSK3b 수준을 감소시키는 측면에서 유리한 반응을 입증하였던 화합물이었다 (도 12).

[0500] 따라서, 화합물 C는 하기와 같이, 신경 세포에서 3중 전략의 유익한 효과를 유발하기 위한 최선의 화합물인 것으로 보인다; 1) 전체 미토콘드리아 전위를 자극하고, PGC1 수준을 증가시키고 FOXO 인산화를 감소시킴으로써 - 그로써 이것이 핵에 접근하는 것을 가능케 하는, 미토콘드리아 활성 및 기능에 대한 유익한 영향, 2) PSEN1 및 니카스트린의 발현을 감소시킴으로써 아밀로이드 축적의 감소에 대해 암시된 효과, 및 3) 타우 인산화를 담당하는 것으로 생각되는 인산화된 타우 및 효소 (GSK3b)의 수준을 감소시킴으로써 감소된 타우 매듭 형성의 암시된 효과.

[0501] 다시 한번, 이들 효과의 세포-특이성을 검사하기 위하여, CDE-처리된 AML-12 간세포의 조합으로부터의 단백질

추출물을 FOXO 인산화 및 PGC1a 수준의 차이를 검출하기 위해 동일한 항체로 탐침시켰다. 도 15 및 16에 나타난 바와 같이, 그리고 이후 항목에서 상세히 논의되는 바와 같이, 3종의 개별적인 화합물에서 나타난 효과는 IMR-32 세포 효과가 간에서는 명백히 관찰되지 않았음을 확인하였다. 실제로, 정반대의 효과가 확인되었다고 말할 수도 있다; 즉, 증가된 FOXO 인산화 (핵 제외), PGC1a 수준에서 무 변화 및 GSK3b 수준에서의 무 변화. 그러나 분명해질 것인 바와 같이, 이들은 특히 간 글루코스 생산이 제어될 필요가 있는 당뇨병 개체의 경우에, 간에서의 발생을 보고 싶어 하게 될 효과의 유형이다. 가장 중요하게는, 신경 세포와는 전혀 다르게, AML-12 간세포가 개별적인 화합물로의 처리에 반응하지 않았고, 대신에 C, D, E 혼합물에 대해서만 반응했음이 확인되었다. 다시 한번, 이는 이들 화합물의 작용 방식과 관련하여 매우 명백한 세포-특이성 및 뜻밖의 세포 반응을 가리킨다.

[0502] **결과 및 논의: 간세포**

[0503] **개별적 화합물 또는 이들의 황 유사체가 아닌 조합으로서 화합물 CDE에 의한 FOXO 인산화의 간 세포-특이적 및 PDK1/AKT-의존성 상향조절**

[0504] IMR-32 신경 세포를 이용한 경우와 같이, 셀레늄 화합물 (이 경우에, CDE 조합)이 MT 활성을 강화시키고 세포 에너지학에서 제어되는 핵심 유전자 (UCP2)의 발현을 조절하였다는 관찰은 본 발명자들이 셀레늄 화합물의 이 조합이 간 에너지 대사, 인슐린 신호전달 및 세포 증식에 관여하는 다른 결정적인 유전자에 미칠 수 있는 효과를 조사하게 하였다. 이에, CDE-처리된 AML-12 세포에 대해 웨스턴 블롯 분석을 수행하였다.

[0505] 앞서 기술된 바와 같이, FOXO는 간에서 글루코스신합성 및 인슐린 감수성의 주요 신호전달 분자이다. FOXO 단백질의 기능성이 이들의 인산화 상태에 의해 통제된다는 점이 상기될 것이다. FOXO의 인산화는 이들을 핵으로부터 제외하여, 그로써 이들을 본질적으로 불활성화시킨다. 탈인산화는 이들이 에너지 대사와 함께 고려되는 여러 중요 유전자의 전사적 조절에 참여할 수 있는 핵 내로 FOXO 단백질의 유입을 허용한다. 도 15A에 나타난 바와 같이, FOXO3 및 4의 인산화 형태 (pFOXO3 및 pFOXO4 단백질 수준)는 HIJ가 아닌 CDE의 6시간 동안의 처리 후 AML-12 세포에서 유의미하게 강화되는 것으로 나타났다. 정량적 분석은 CDE-처리된 AML-12 세포에서 pFOXO3이 대략 2.5-배 증가하고 pFOXO4가 약 3.2-배 증가하였음을 나타내었다 (도 15B-C). FOXO의 인산화는 핵 내에서 FOXO를 불활성화시키기 위해 핵 제외를 야기하기 때문에, 본 발명의 결과는 간세포에서 FOXO 불활성제로 기능할 것임을 제안하다. 동시에 동일한 실험 조건에서 수행되었던 분석에서 증가된 FOXO 인산화가 CDE-처리된 IMR-32 신경 세포에서는 관찰되지 않았기 때문에 (상기 도 13 참고), 본 발명자들은 CDE에 의한 FOXO의 불활성화가 간-세포 특이적이라고 결론을 내릴 수 있다.

[0506] 종합하면, 본 발명의 결과는 CDE의 조합이 신규한 간세포-특이적 FOXO 불활성제로 기능할 것임을 제안한다. 실제로, IMR-32 신경 세포에서, FOXO 단백질의 현저하고 매우 유의미한 활성화 (탈인산화)가 단일 셀레늄 화합물 C, D 및 E의 하나 또는 조합에 대한 반응으로 야기되었다. 따라서, 이들 특정 화합물의 경우에 본 발명자들이 확인한 것은 신경 세포에서 선택적으로 FOXO 단백질을 활성화하고 간세포에서는 이들을 불활성화하는 능력이다. 이 발견의 전반적인 중요성 및 신규함은 2형 당뇨병 및 알츠하이머병에서 글루코스 취급의 맥락에서 고려할 때 자명해질 것이다.

[0507] 간략한 배경기술로서, 그의 활성화 또는 탈인산화 상태에서 FOXO는 글루코스 6-포스파타제에 대한 프로모터 영역에 결합하고, PGC-1a와 같은 다른 인자와 함께, 글루코스 6-포스파타제의 전사를 증가시키고, 그로써 글루코스 생산 속도를 증가시키는 핵 내에 존재한다. 글루코스 6-포스파타제는 간으로부터 글루코스의 방출을 야기하는 글루코스신합성 및 글리코겐분해의 마지막 단계를 촉매한다. 따라서, 이는 특히 당뇨병 개체에서 글루코스 항상성의 제어에 임상적으로 중요하다. 일반적으로, FOXO 인산화의 과정은 AKT (단백질 키나제 B)라고 불리는 또 다른 키나제 효소에 의해 직접적으로 제어된다. AKT는 FOXO를 인산화시키고 이를 핵으로부터 유도하여, 그로써 글루코스 6-포스파타제의 전사율 감소를 통해 글루코스 생산을 감소시킨다. AKT 자체는 미니 분자적 캐스케이드 반응의 상류 제어를 받는데, 이는 세포 표면에서 그의 수용체에 인슐린이 결합하면서 개시된다. 이는 다른 2종의 키나제 효소, 포스파티딜이노시톨 3-키나제 (PI3K) 및 포스포이노시티드-의존성 단백질 키나제 1 (PDK1)을 포함하는 일련의 사건을 개시한다. 전체 경로는 인슐린/PI3K/PDK1/Akt 경로로 알려져 있으며, 이는 인슐린 신호전달을 통해 글루코스 항상성을 제어하는 임무를 갖는다. FOXO 제어의 맥락에서, PDK1은 Akt를 인산화시키고 활성화시키며, 이는 교대로 FOXO를 인산화시키고 불활성화시킨다.

[0508] PI3K/PDK1/AKT가 간에서 글루코스 생산의 인슐린-매개 제어를 위한 FOXO 상류의 주된 신호전달 경로이기 때문에, 본 발명자들은 CDE에 의해 강화된 FOXO 인산화가 간세포에서 PI3K/Pdk/Akt 신호전달 경로의 활성화에 기인한 것인지 여부를 검토하였다. 이를 검사하기 위해, 본 발명자들은 CDE-처리된 간세포에서 pPDK1, pAKT

T308 및 S473의 단백질 수준 및 총 AKT를 조사하였다. 놀랍게도, CDE는 PDK1, AKT의 인산화, 또는 총 AKT 수준에 영향을 미치지 않았다 (도 15A). 본 발명자들은 또한 AKT에 의해 직접적으로 제어되는 다른 2종의 하류 신호전달 분자 pGSk3a 및 pGSK3b의 수준을 조사하였고, 이들의 단백질 수준에서 어떠한 변화도 관찰되지 않았는데 (도 15A), 이는 CDE-처리된 세포에서 pAKT의 무 변화와 일치한다. 인슐린-유도성 단백질 합성 또는 번역에 핵심적인 p4Ebp (AKT/mTor 신호전달의 하류 분자 표적) 및 pEif2be S539 (Gsk3의 하류 분자 표적)의 수준 역시 영향을 받지 않았다 (도 15A). 이는 CDE가 앞서 기술한 바와 같이 간 세포 증식/생존에 영향을 주는 독성 효과를 나타내지 않는다는 추가의 직접적인 분자적 증거를 제공한다.

[0509] IMR-32 신경 세포의 맥락에서 기술된 바와 같이, PGC1a는 MT 생합성 및 탄수화물 대사에 결정적인 유전자이다. 간세포에서, 이는 또한 글루코스신합성에 관여하는 유전자의 전사를 유도하기 위해 FOXO와 협력하여 작용하지만, FOXO의 핵 부재 시에는 이를 수행할 수 없다. 본 발명자들은 PGC1a 단백질 발현을 조사하였고, CDE 조합 처리 후 간세포에서의 정량적 분석에 의해 PGC 단백질 수준의 유의미한 변화는 관찰되지 않았다 (도 15A 및 D). 그러나, CDE에 대한 반응으로 FOXO 인산화에서 나타난 강력한 효과로 인해, 이것이 핵으로부터 제외될 것이고, 그래서 글루코스신합성 과정을 개시하기 위해 FOXO를 요구하기 때문에 PGC1a의 수준이 덜 중요해질 것임이 거의 확실하다. 종합하면, 이들 결과는 상기에 기술된 그러나 결정적인 FOXO를 제외하고는, CDE가 PI3k/PDK1/AKT 신호전달 및 여러 다른 AKT 직접 또는 간접 하류 신호전달 분자에 영향을 미치지 않았음을 제안한다. 다시 말하면, CDE는 FOXO를 선택적으로 불활성화시킬 수 있고, 이 작용은 간세포에서 PI3K/PDK1/AKT 신호전달에 비의존성인 것으로 보인다.

[0510] 따라서, 본질적으로, 간세포에서 CDE의 작용 모드는 인슐린-유도성 PI3k/PDK1/AKT 신호전달 경로에 완전히 비의존성일 수 있고, 즉, 이는 인슐린-비의존성일 수 있다. 이의 중요성은 간 글루코스 생산의 제어라는 맥락에서, 인슐린-내성이 되는 간세포의 생리학적 결과를 완화시키기 때문에 대사적 신호전달 경로 분야의 통상의 기술자에게 곧 분명해질 것이다. 여전히 FOXO 조절을 통해 글루코스 항상성을 제어할 수 있다고 하더라도, 인슐린 신호전달의 우회 (bypassing)는 일반적으로 당뇨병 치료를 위한 다수의 치료적 가능성을 열어 두며; 외인성 인슐린의 투여에 덜 의존성이게 만든다.

[0511] 또한, 간에서 잠재적인 AKT-비의존성 FOXO 억제제 발견의 중요성은 좀더 폭넓은 건강 관점에서 과소평가되지 않아야 한다. PI3k/PDK1/AKT 경로가 세포 성장을 촉진하는 원형적 경로이고 다수의 암에서 구성적으로 활성임은 잘 알려져 있다. 활성화되면, AKT는 단지 FOXO 불활성화를 통한 글루코스 항상성이 아닌, 다양한 세포 과정에 결정적인 역할을 수행한다. 이들 다른 경로들 중에서 최고는 암 진행이다. 이런 점에서, AKT가 원래는 형질전환 레트로바이러스 AKT8에서 발암유전자로 동정되었다는 사실이 흥미롭다. 따라서, AKT의 핵심적 역할을 수행할 수 있지만, 이를 AKT-비의존성 방식으로 수행할 수 있는 임의의 화합물은 매우 신규하고 또한 유용하다.

[0512] 다시 한번, 본 발명의 조사를 화합물 특이성으로 완결하기 위하여, 본 발명자들은 CDE 내 단일 화합물이 간세포에서 FOXO를 불활성화시키는 능력을 갖는지 여부를 결정하고 싶었고, AML-12 세포를 동일한 실험 조건하에서 개별적 화합물로 처리하였다. 웨스턴 블롯 분석은 FOXO의 불활성화 (증가된 pFOXO로 표시됨)가 6 또는 24시간 처리 후 개별적 화합물-처리된 간세포에서는 관찰되지 않았음을 보여주었다 (도 16). 본 발명자들은 또한 다수의 다른 신호전달 분자를 조사하였고 C, D, 또는 E로의 6 또는 24시간 처리 후 간세포에서 AKT, Gsk3a/b 및 Eif2bε의 증가된 인산화가 관찰되지 않았다 (도 16). 관찰된 유일한 효과는 6시간 처리 후 AML-12 세포에서 pAKT 및 pEif2bε S539의 수준을 약간 감소시키는 것으로 보이는 화합물 E에서 일어났다 (도 16). 그러나 화합물 E에 의한 AKT에 대한 효과는 FOXO의 인산화에서 화합물 E-매개된 감소에 의해 반영되지 않았기 때문에 (AKT의 즉시 하류 표적) 이는 미미한 것이어야 한다. 따라서, 이는 E-처리된 세포에서 글루코스신합성 잠재력의 유의미한 변화를 나타내지 않는다. EIF2bε의 탈인산화는 mRNA/단백질 번역의 증가된 수준을 의미할 수 있지만, 이는 완전히 탐구되지 않았다. 그러나, 이들 웨스턴 블롯에서 검사된 종의 단백질 발현이 이들 3종의 화합물 중 어느 하나에 의해서 변경되지 않았음이 명백하다 (도 16). 그럼에도 불구하고, 본 발명의 결과는 개별적 셀레늄 화합물 C, D 또는 E가 단독으로 간세포에서 FOXO 인산화를 증가시키지 않았음을 제안한다. 따라서, 간세포에서 FOXO를 불활성화시키기 위해 C, D 및 E 화합물 사이에 상승적 효과가 존재한다.

[0513] 종합하면, 본 발명의 결과는 개별적 화합물이 아닌, CDE가 간세포-특이적 및 PI3K/PDK/AKT-비의존성 FOXO 불활성제로서 기능할 것임을 제안한다

[0514] **화합물 CDE 셀레늄 화합물로의 처리 후 AML-12 세포에서, 글루코스 생산의 FOXO 하류 표적인, G6pc 발현의 하향 조절**

[0515] 상기에 언급된 바와 같이, 글루코스 6-포스파타제, 촉매적 아단위 (G6PC)는 특히 간에서 글루코스 생산을 강화

시키는, FOXO의 직접적인 하류 표적이다. CDE-처리된 간세포에서 pFOXO의 강화된 수준 (불활성)은 CDE가 글루코스 생산을 제어하고 간세포에서 인슐린 감수성을 향상시키는데 역할을 담당할 수 있음을 제안한다. 셀레늄 화합물 조합, CDE가 FOXO 인산화를 통해 글루코스신합성 또는 글리코겐분해를 조절할 수 있다는 실제 증거는 간 환경에서 G6PC의 감소된 발현을 확인하는 것일 것이다. 이 가설을 검증하기 위하여, 본 발명자들은 정량적 RT-PCR 분석에 의해 간세포에서 G6pc 발현을 조사하였다.

[0516] 도 17에 나타난 바와 같이, HIJ 황 유사체 조합이 아닌, CDE 조합으로의 AML-12 간세포의 처리는 간세포에서 G6pc 발현의 매우 유의미한 45% 감소를 초래하였다. 나아가, 본 발명자들은 또한 모든 개별적 화합물로의 처리 후 AML-12 세포에서 G6pc 발현을 조사하였고, G6pc 발현에서 임의의 유의미한 변경 (증가 또는 감소)이 관찰되지 않았으며 (도 17); 이 발견은 웨스턴 블롯 분석에서 결정된 바와 같이, 화합물 D- 또는 E-처리된 간세포에서 확인된 불변의 FOXO 인산화 수준과 일치한다 (도 16). CDE 조합에 대한 반응으로 감소된 G6pc 발현의 효과가 상이한 배치의 세포를 사용한 3회 반복 실험에서 관찰되었다 (데이터 미제시).

[0517] 종합하면, 본 발명의 결과는 개별적 화합물이 아닌, CDE가 G6pc 발현을 유의미하게 약화시킬 수 있음을 증명하고, 그로써 간 글루코스 생산을 감소시키는 새로운 방식을 나타낸다. 본 발명의 종합적 발견은 FOXO 인산화에서 AKT-비의존성 증가에 의해 매개되는 이들 화합물의 작용 방식을 추가로 지적한다. 이들 데이터는 CDE가 비만 및 2형 당뇨 개체에서 간 글루코스 생산을 제어하기 위한 치료적 효능의 유의미한 잠재력을 갖는다는 강력한 시험관 내 증거를 제공한다.

[0518] **종합적 요약 및 논의**

[0519] 본 발명자들은 D가 아닌 화합물 C가 신장 세포에서 MT 전위를 강화시켰고, 화합물 C 및 D 둘 모두 마우스 골격근 근육모세포 C2C12 세포에서 MT 전위를 강화시켰음을 확인하였다. 이들 결과는 화합물 C가 진행성 신부전에 대해 유용할 수 있고, C 및 D가 신장 또는 골격근에서 MT 기능의 진행성 소실에 의해 야기되는 근육감소증 (sarcopenia)에 대해 유용할 수 있음을 제안한다. 골격근의 경우에, 본 발명자들은 또한 골격근이 매일 섭취된 글루코스의 75-80%를 이용하고 골격근에서 미토콘드리아 기능장애가 T2DM의 중요 억제제인 것으로 생각된다는 점을 감안하면, C 및 D가 T2DM 연구 및 제어 분야에 잠재적으로 유용할 것으로 기대한다.

[0520] 또한, 인간 IMR-32 신경 세포를 사용하는 본 발명의 실험은 이들 화합물의 하나, 특히 (화합물 C)가 AD 발병기전에 특이적일 수 있음을 나타낸다. 이 결론은 하기의 주요 발견을 토대로 한다:

[0521] (1) C에 의해 일시적으로 강화된 MT 전위 (도 3)

[0522] (2) 화합물 C에 의해 향상된 신경 세포 생존 (도 5)

[0523] (3) FOXO 인산화 (세포 대사의 핵심) 및 PGC1a의 상향조절 (MT 생합성의 핵심)의 신경 세포-특이적 하향조절 (도 14 vs 도 16에서 간세포 데이터);

[0524] (4) APP 절단을 위해 이들의 발현을 억제하기 위한 감마-시크리타제 복합체 유전자 PSEN 및 니카스트린의 선택적 표적 (도 11);

[0525] (5) 아마도 AD에서 매듭 형성에 대한 타우 인산화의 억제 (도 12); 및

[0526] (6) 다시 감소된 타우 인산화 전위 및 감소된 AD 상황에서 매듭 형성을 나타내는, 신경 세포-특이적 GSK3b 하향조절 (도 12 vs 도 16에서 간세포 데이터).

[0527] 본 발명자들은 신규한 간세포-특이적 및 PI3K/PDK1/AKT-비의존성 FOXO 불활성화 화합물 조합 (CDE) (즉, 개별적 화합물이 아닌, CDE의 조합)을 동정하였다. 이 화합물의 조합은 FOXO 단백질의 핵 제외를 통해 간세포에서 G6pc 발현을 현저하게 하향조절한다. 본 발명자들은 이 조합이 대사 증후군, 비만 및 T2DM에서 발생하는 증상 및 병리의 연구 및 개선에 특히 유용할 수 있을 것으로 예상한다. 본 발명의 추론은 하기 발견을 토대로 한다:

[0528] (1) MT 전위는 임의의 다른 화합물 또는 이들의 조합이 아닌, 단지 CDE의 조합에 의해 간세포에서 유의미하게 강화된다 (도 7);

[0529] (2) 간세포 또는 신경 세포의 생존에 대해 무독성 효과가 나타났다 (도 5, 도 9)

[0530] (3) 결합해제 단백질 2 (Ucp2) 유전자는 CDE 단독에 의해 특이적이고 유의미하게 하향 조절되었다 (도 8); 이와 관련하여 UCP2 발현의 억제가 인슐린 분비 및 작용 둘 모두에 영향을 미침으로써 식이-유도성 당뇨병을 역전시킨다는 최근의 연구로부터의 발견이 특히 주목된다.

[0531] (4) 간세포-특이적 FOXO는 CDE에 의해 불활성화되었다 (인산화되었다) (도 15 vs 도 13에서 신경 세포 데이터);

[0532] (5) 개별적 화합물에 의해 FOXO 불활성화에 아무런 효과도 나타나지 않았다 (도 16)

[0533] (6) CDE에 의해 PI3K/PDK/Akt 신호전달의 인산화에 아무런 효과도 나타나지 않았다 (도 15). 이는 CDE가 신규한 AKT-비의존성 FOXO 불활성제를 나타냄을 지시한다.

[0534] (7) 개별적 화합물의 어느 하나에 의해서가 아닌 CDE에 의한 중요한 FOXO 표적 유전자 G6pc의 유의미한 하향조절 (도 17). 간 글루코스 생산이 G6pc 전사의 FOXO-매개된 활성화에 의해 제어된다는 것이 상기될 것이다.

[0535] 상기 실험 데이터를 토대로, 본 발명자들은 CDE 조합이 G6pc 발현 및 더 적은 간 글루코스 생산 둘 모두를 감소시키기 위해 간세포에서 강력한 FOXO 불활성제로서 특이적으로 작용할 수 있다고 생각한다. 나아가, 본 발명자들은 이 작용이 PI3K/PDK/Akt 신호전달에 비의존성임을 보여주었다. 이 과정이 어떻게 작용할 수 있는지에 대한 묘사가 도 18에 나타나 있다. 일반적으로, FOXO 인산화 및 그의 핵으로부터의 후속 유입 또는 제외가 인슐린/PI3K/PDK1/AKT 경로에 의해 통제되는 것임에 비하여, 본 발명자들은 화합물 C, D 및 E의 특정 조합이 아직 확인되지 않은 키나제 효소에 의한 FOXO의 인산화를 초래함을 보여준다. 핵으로부터 제외되는 인산화된 FOXO는 G6PC를 전사적으로 활성화시킬 수 없고, 이는 교대로 간으로부터 감소된 글루코스 생산을 초래한다. 감소된 간 글루코스 생산 및 혈액 글루코스 농도에서의 연관된 감소는 인슐린-보존 (insulin-sparing) 효과를 초래할 것이고, 즉 고 혈액 글루코스에 대한 반응으로 인슐린을 분비하기 위해 췌장에 대한 요구를 감소시킨다.

[0536] 더 낮은 수준의 혈액 글루코스가 말초 조직에서 강화된 인슐린 감수성 및 췌장에 의한 베타-세포에 의한 인슐린의 더욱 제어된 방출 둘 모두를 초래할 수 있음을 기대하는 것이 또한 더욱 합리적이다. 다시 말하면, 췌장에 의한 인슐린 생산은, 전반적으로 더 낮은 순환 글루코스 수준으로 인해, 과하게 부담될 가능성이 더 적을 것이다. 본 출원에서 수행되고 제시된 실험으로부터, 본 발명자들은 검사된 모든 세포 유형의 성장 또는 제어되지 않는 증식 및 성장, 즉 암 유발의 개시를 신호할 수 있는 경로의 활성화 중 어느 하나에 의한 임의의 부정적인 효과도 확인할 수 없었다. 실제로, (적어도 간에서) AKT-신호전달 경로를 우회하는 이들 화합물의 능력은 감소된 독성 가능성 관점으로부터 이들을 특히 흥미롭게 만든다.

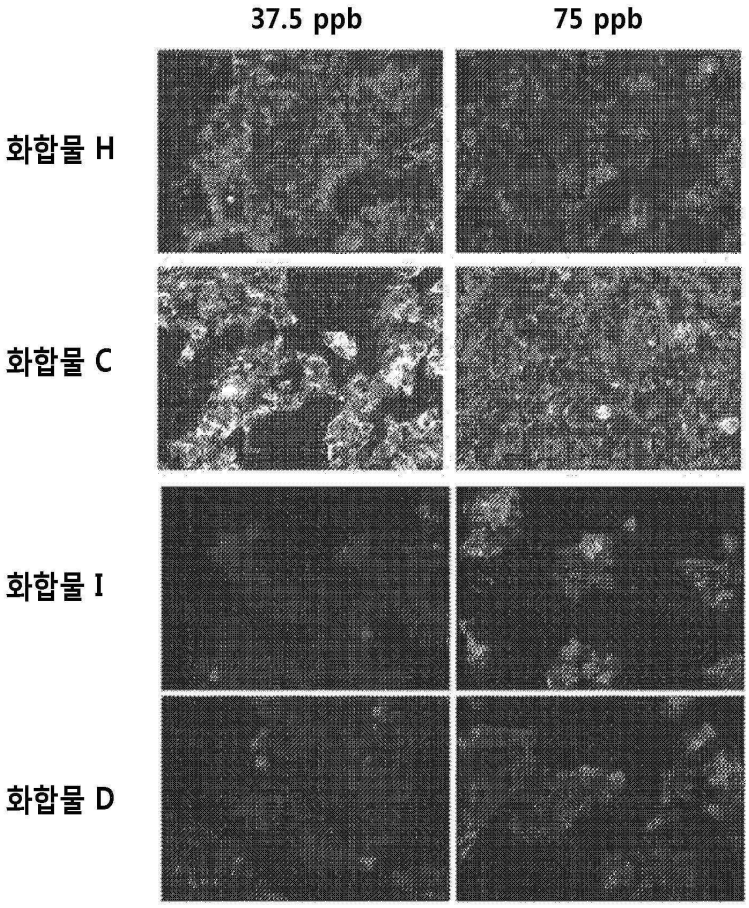
[0537] 상기에 제시된 발견을 토대로, 본 발명자들은 또한 본 발명자들이 특히 AD 병리 (아밀로이드 플라크 및 타우 매듭)의 영향을 개선하는데 화합물 C의 효과에 대한 그럴듯한 모델을 가정할 수 있을 것으로 생각한다. 도 19A-C에 나타난 바와 같이, 이의 발현이 IMR-32 세포에서 감소 또는 변경되는, 핵심 AD-관련 유전자는 이들의 유전자 프로모터 영역 내 FOXO 1, 3 또는 4에 대한 결합 모티프 (부위)를 갖는다. 이는 Gsk3b (도 19A), Psen1 (도 19B) 및 니카스트린 (도 19C)에 적용된다. 이는 핵-국소화 FOXO 단백질이 이들 유전자 프로모터에 결합하여 이들로부터의 전사를 부정적으로 조절할 수 있음을 의미한다. 따라서 이런 지식을 토대로, 화합물 C가 FOXO 단백질을 탈인산화시키고 이들이 핵 내로 들어가게 하는 상황 (도 19D)을 가시화하는 것은 매우 용이하다. 여기서, 활성 FOXO 단백질은 상기에 언급된 유전자의 프로모터 영역에 결합하고 이로부터의 전사를 억제한다. IMR 세포에서 더 낮은 수준의 GSK3b (도 12)는 타우의 인산화를 감소시키고, 이어서 미소관 (microtubule) 안정화를 감소시키고 매듭 형성을 감소시키는 결과를 초래할 것이다.

[0538] 유사하게, PSEN 및 니카스트린의 프로모터 영역에 FOXO 단백질의 결합은 이들 유전자로부터의 전사를 억제하고, 이는 신경 세포에서 생산되는 이들 결정적인 감마-시크리타제 성분의 더 적은 양을 초래한다. 이의 자연스런 영향은 결과로서 더 낮은 수준의 비정상적 APP 프로세싱, 더 낮은 아밀로이드-베타 펩티드 농도 및 감소된 아밀로이드 플라크 부담일 것이다.

[0539] 본 출원에 언급된 모든 문헌 및 특허는 본원에 참고로서 포함된다. 본 출원의 기술된 방법 및 조성물의 다양한 변형 및 변화가 본 출원의 범주 및 요지를 벗어나지 않으면서 통상의 기술자에게 자명할 것이다. 본 출원이 특정의 바람직한 실시양태와 관련되어 기술되었다고 하더라도, 청구된 바와 같은 본 출원이 이러한 특정 실시양태로 부당하게 제한되지 않아야 하는 것으로 이해되어야만 한다. 실제로, 관련 분야의 통상의 기술자에게 자명한 본 출원을 실시하기 위해 기술된 방식의 다양한 변형은 하기 청구범위의 범주 내인 것으로 의도된다.

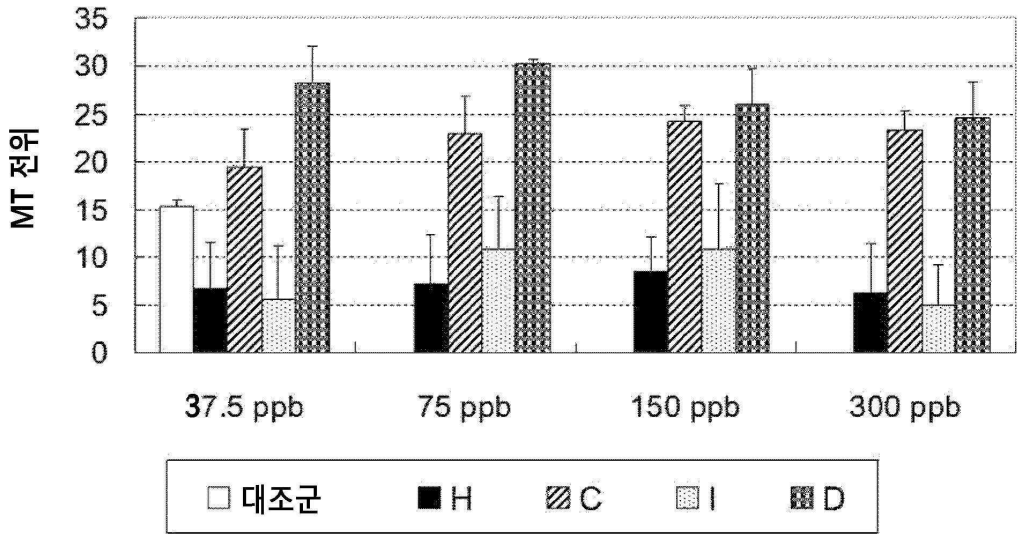
도면

도면1



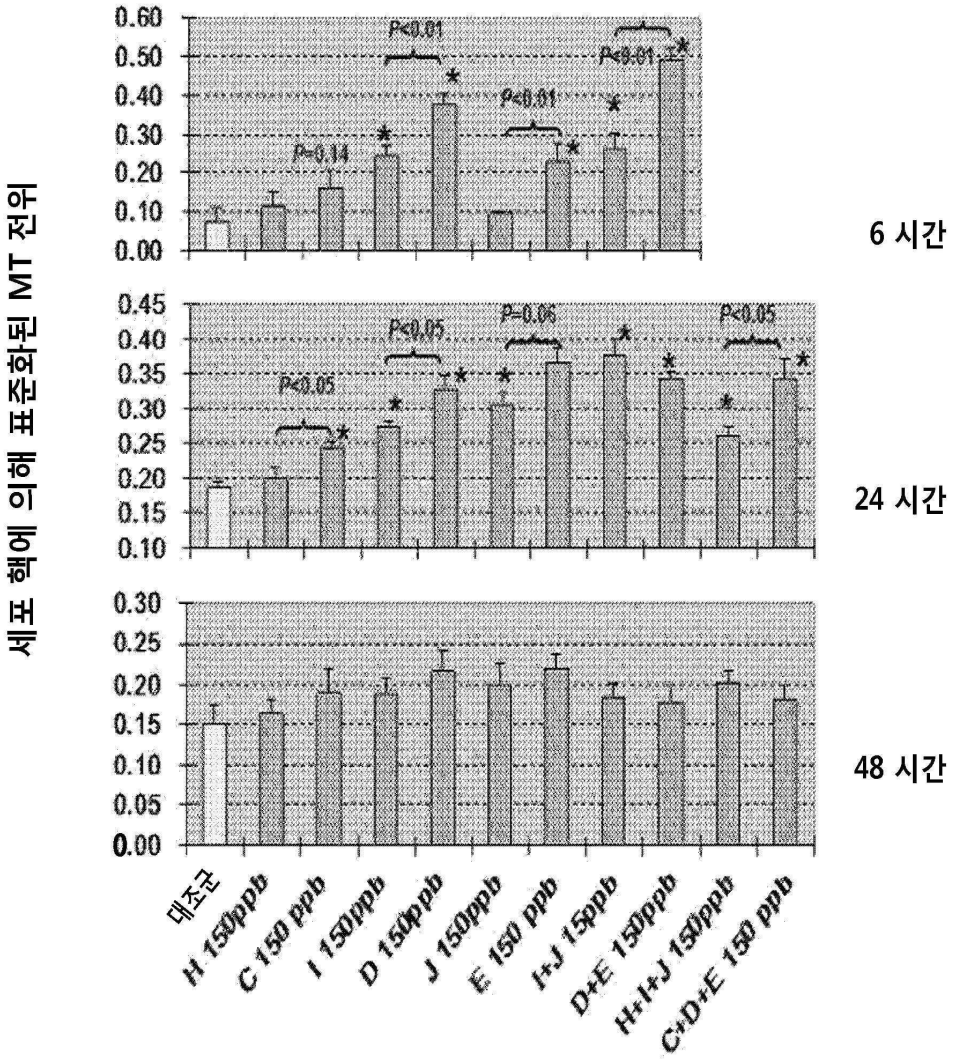

HEK293T 신장 세포

도면2



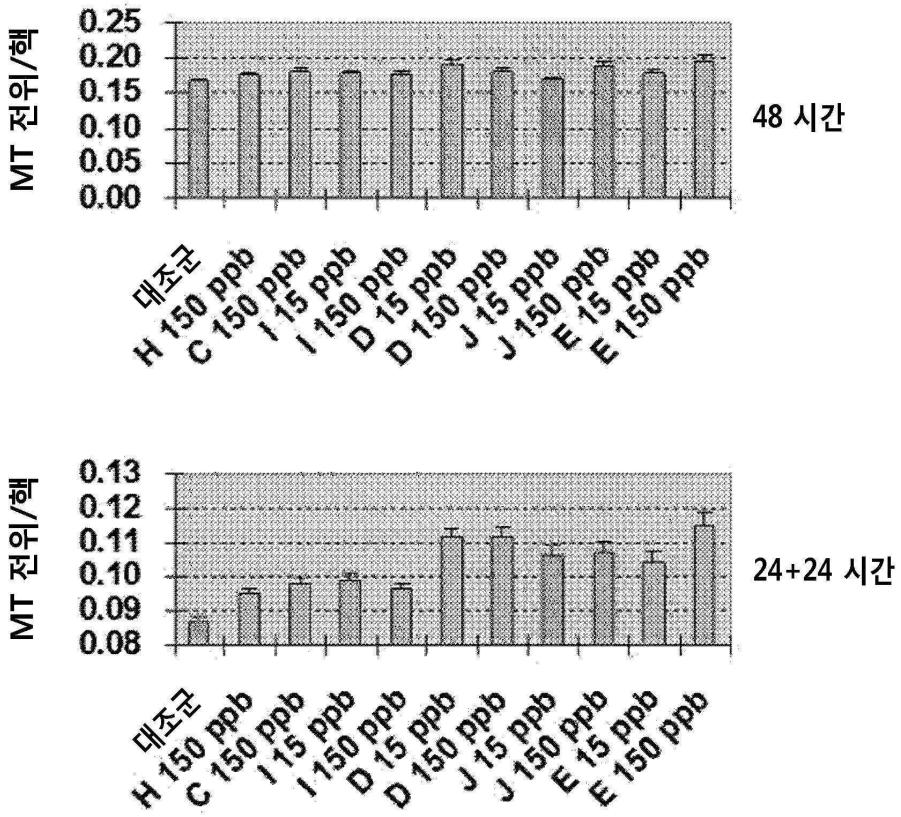

C2C12 골격근 세포

도면3



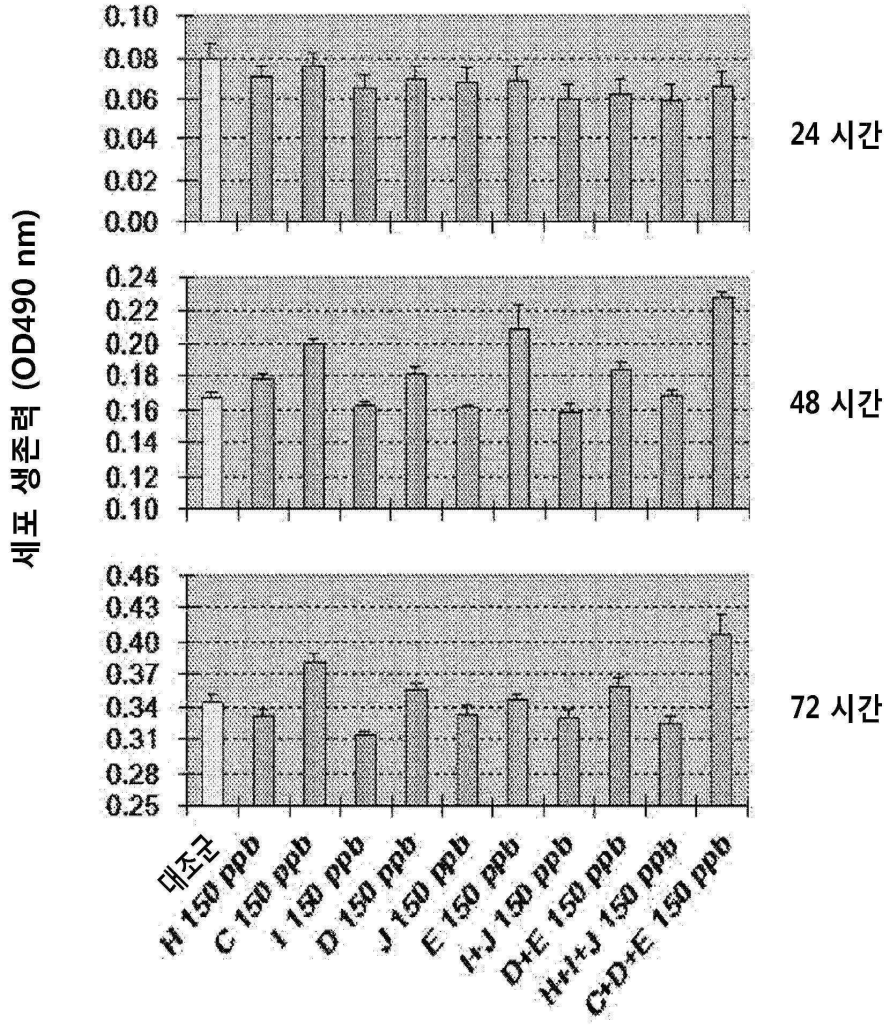

IMR-32 신경 세포

도면4



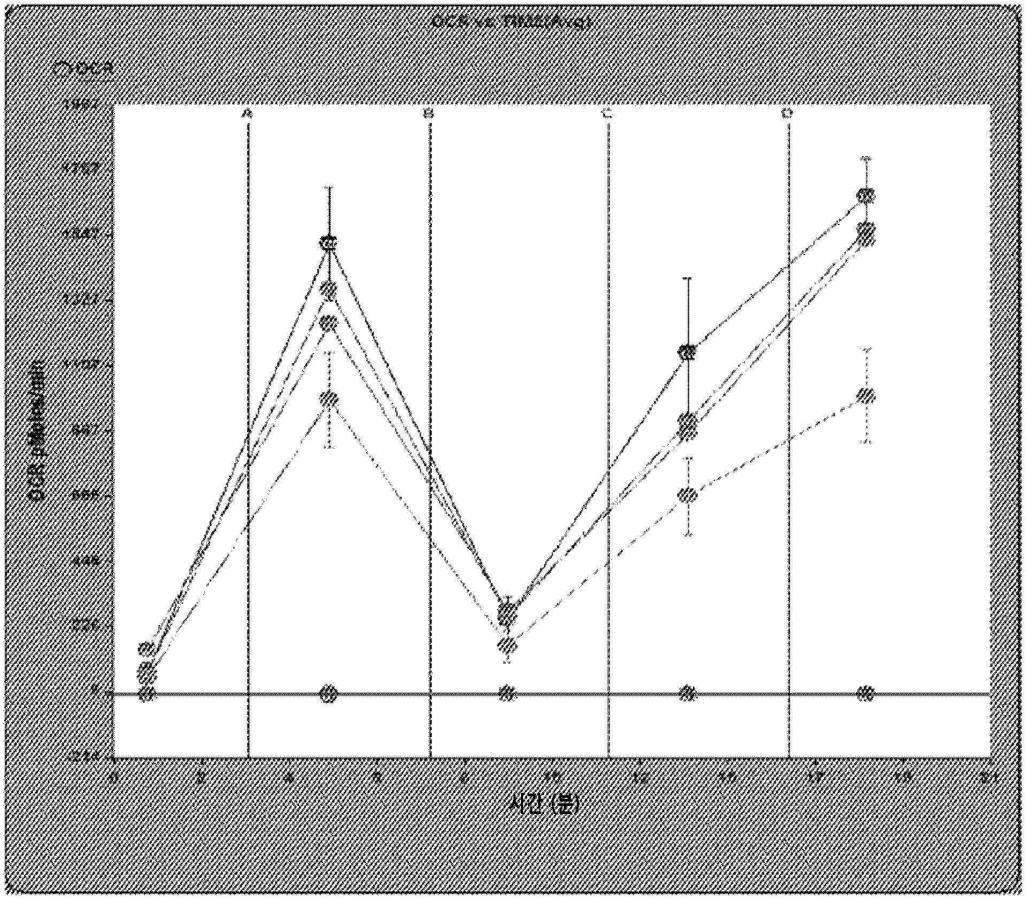

IMR-32 신경 세포

도면5



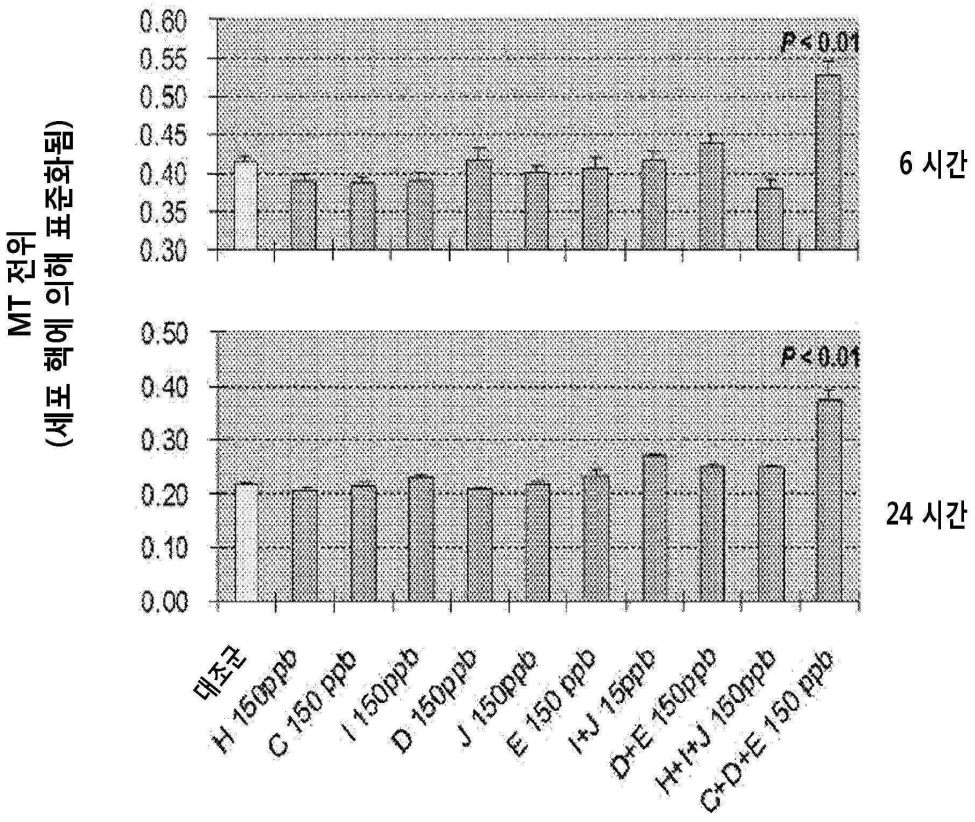

IMR-32 신경 세포

도면6



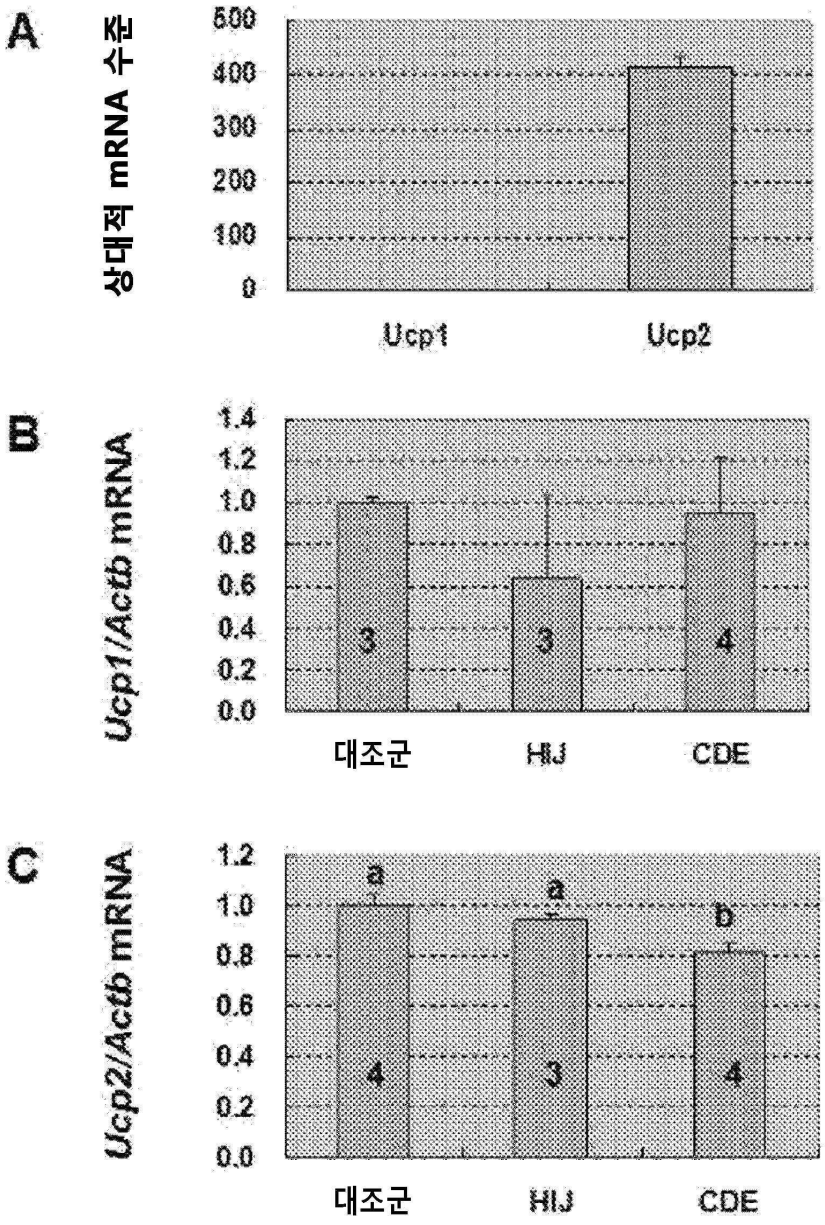

스트레스를 받은 래트 뇌에서의 MT 기능

도면7



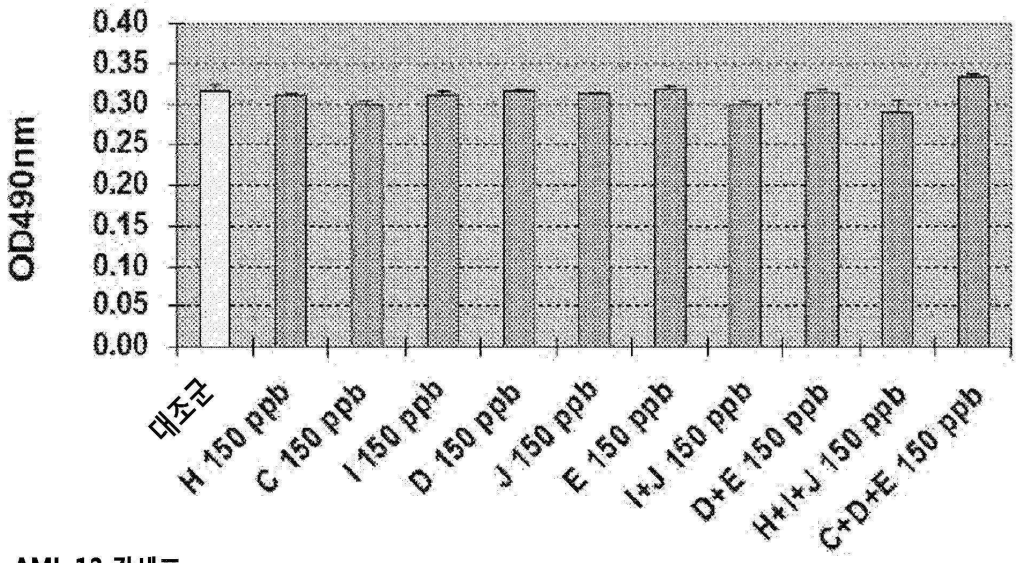

AML-12 간세포

도면8



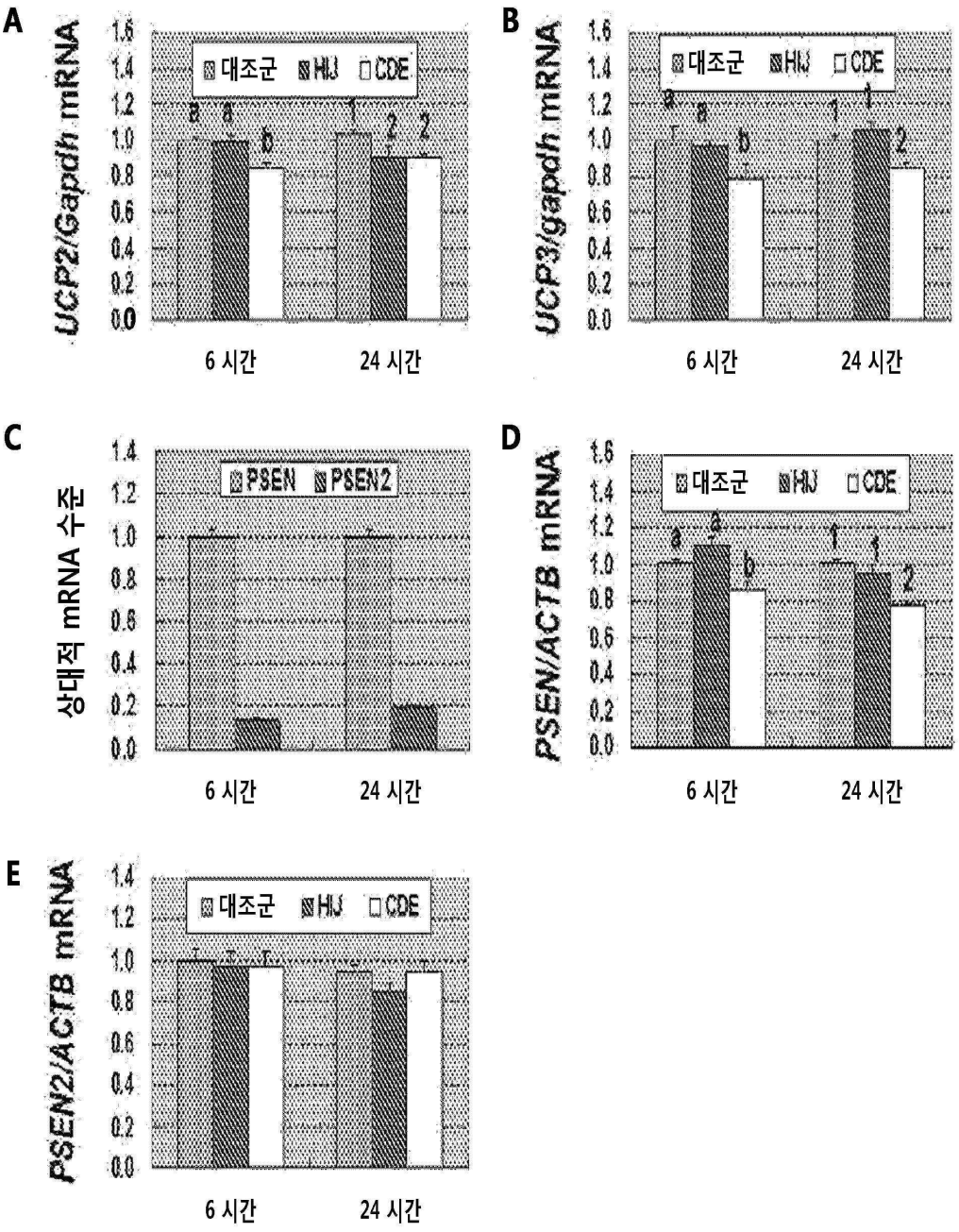

AML-12 간세포

도면9



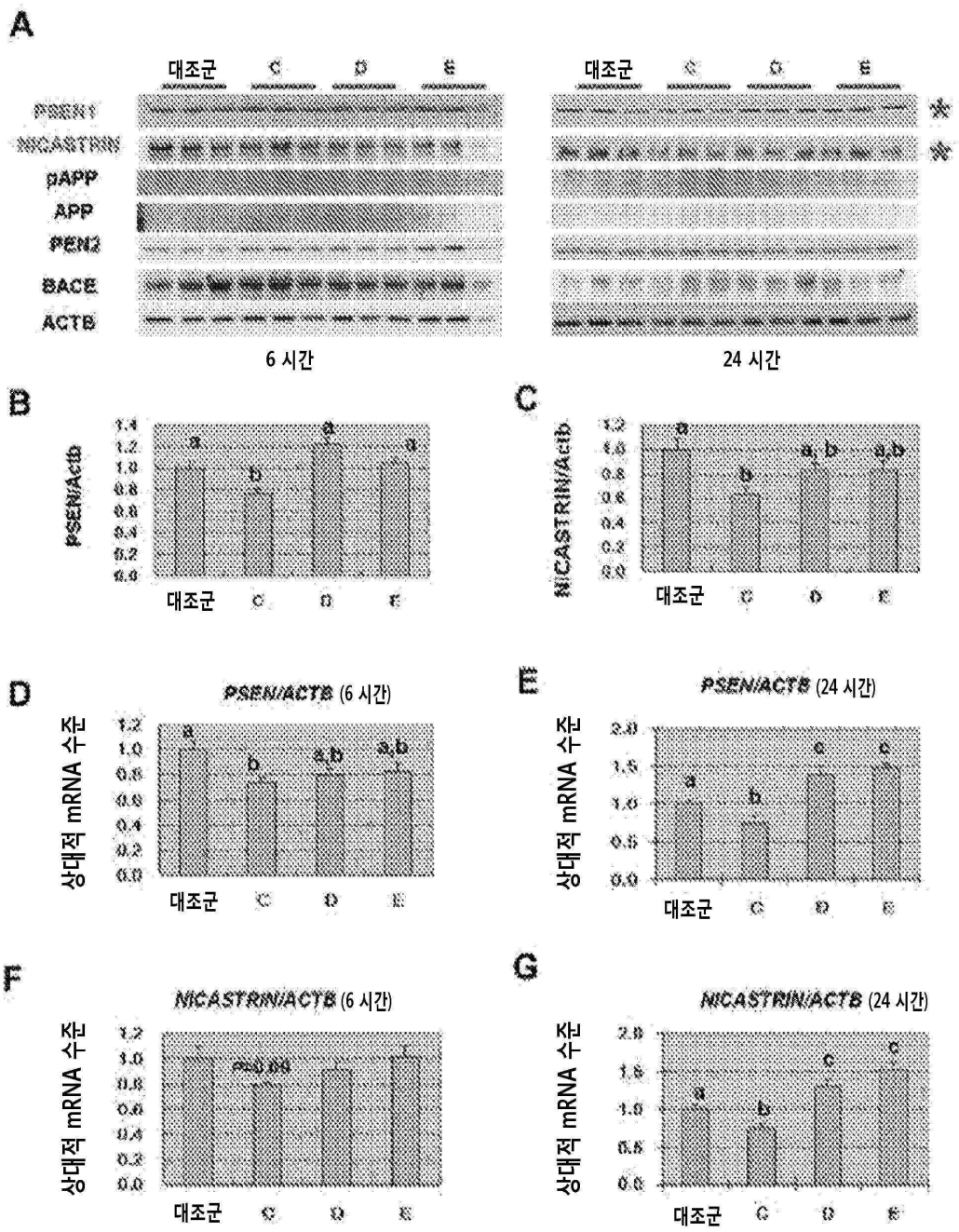

AML-12 간세포

도면10



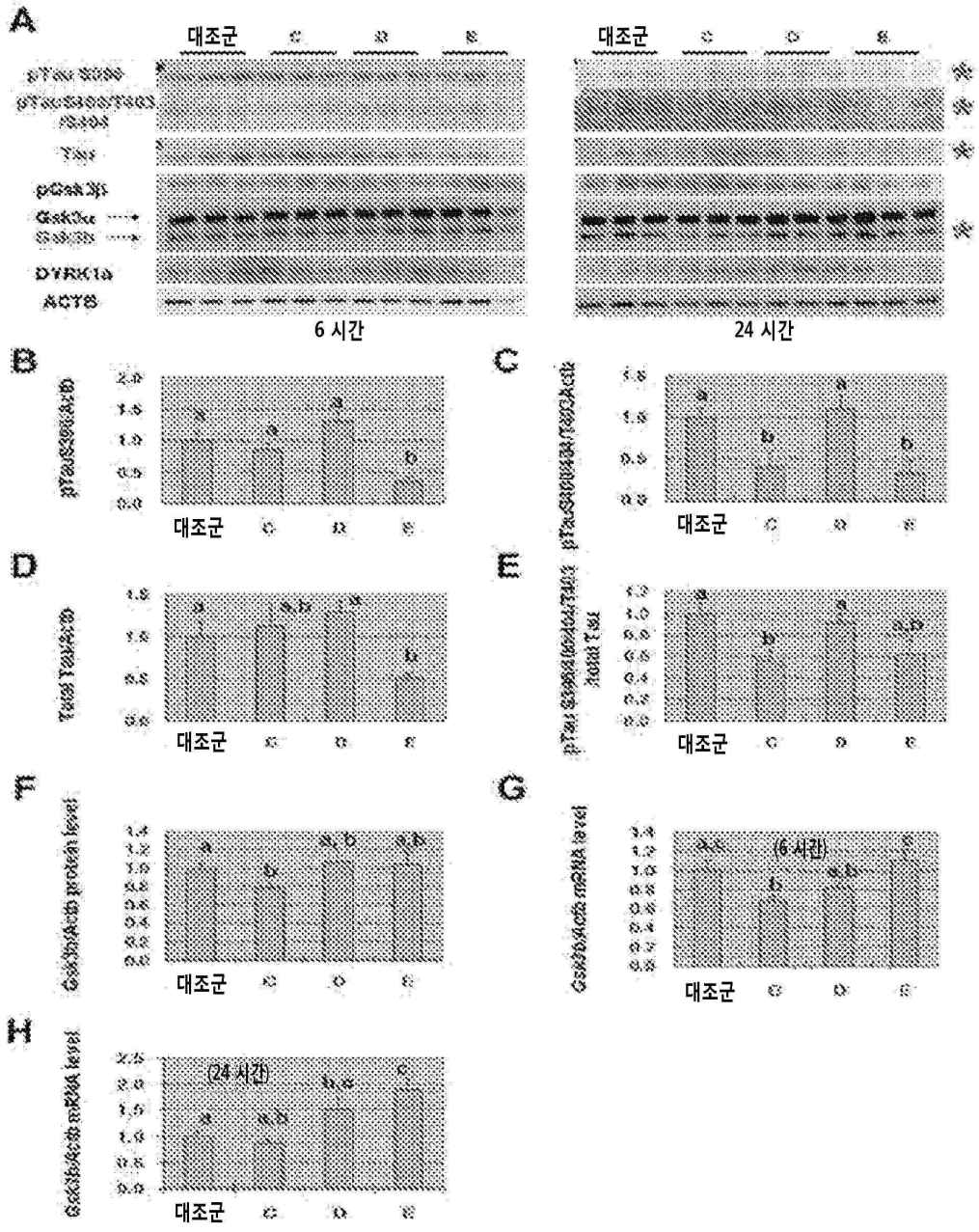

IMR-32 신경 세포

도면11



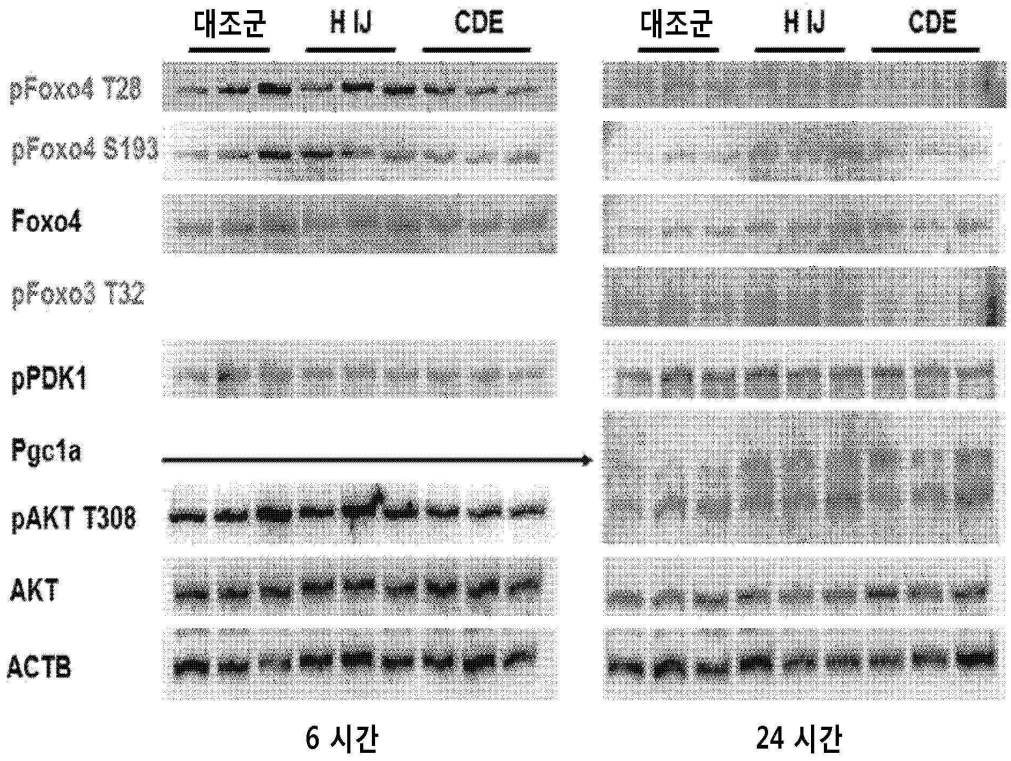

IMR-32 신경 세포

도면12



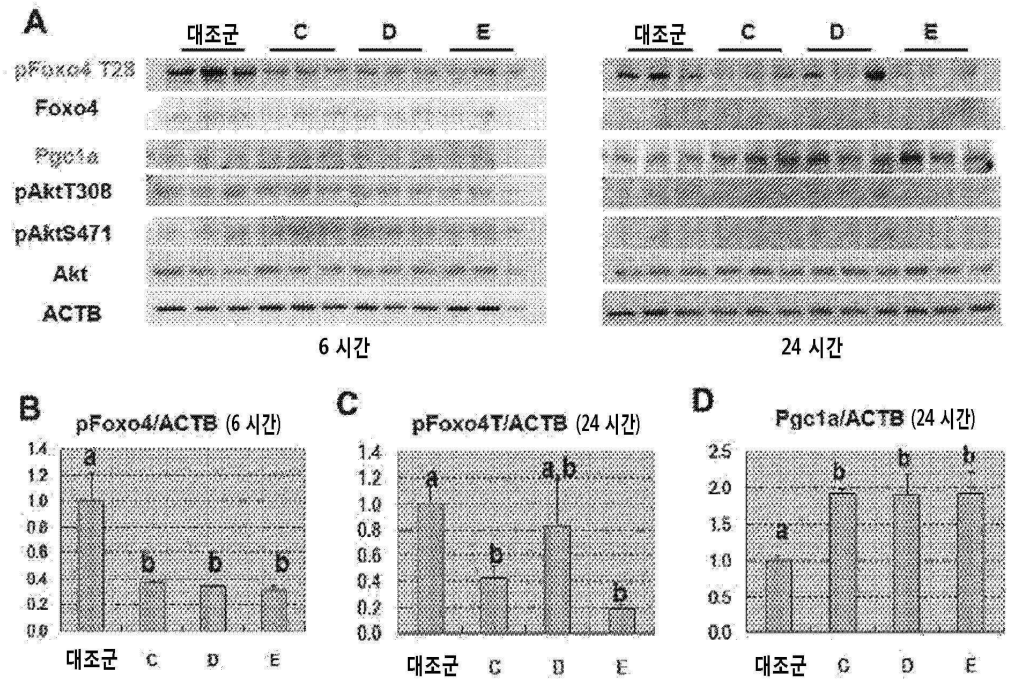

IMR-32 신경 세포

도면13



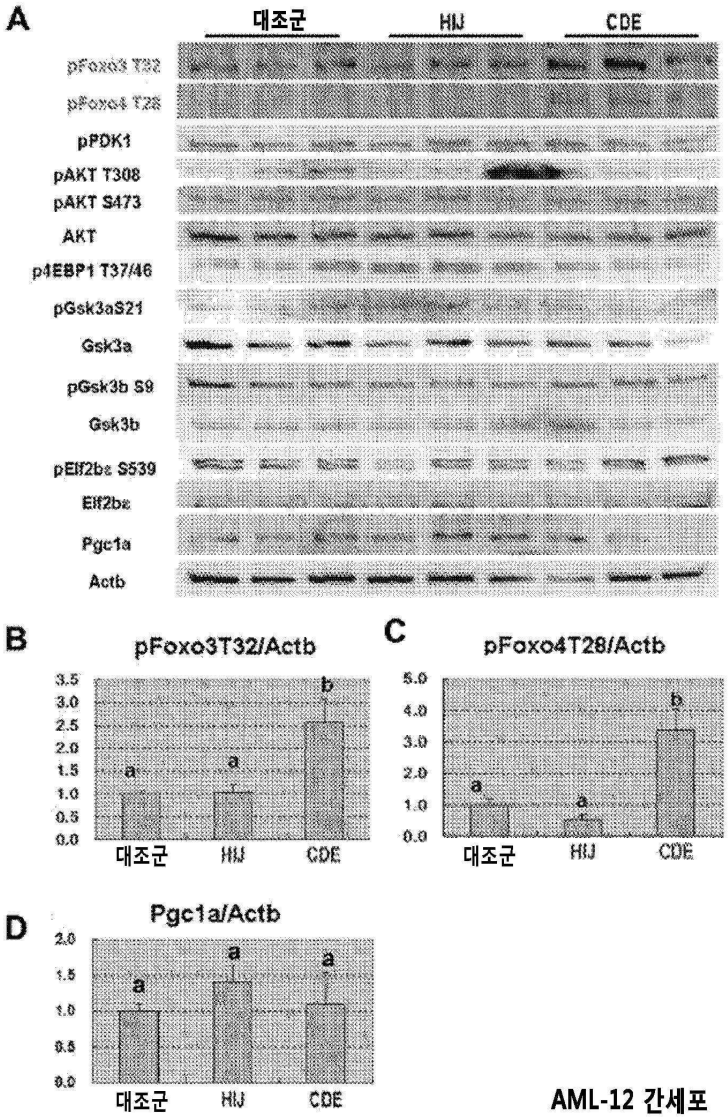

IMR-32 신경 세포

도면14

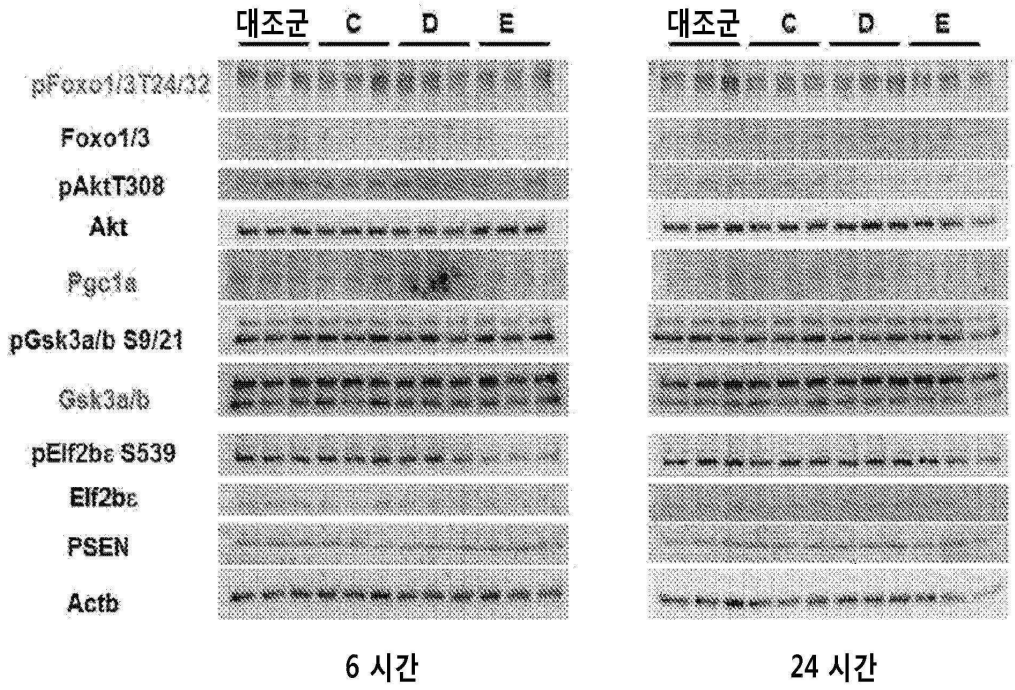



IMR-32 신경 세포

도면15

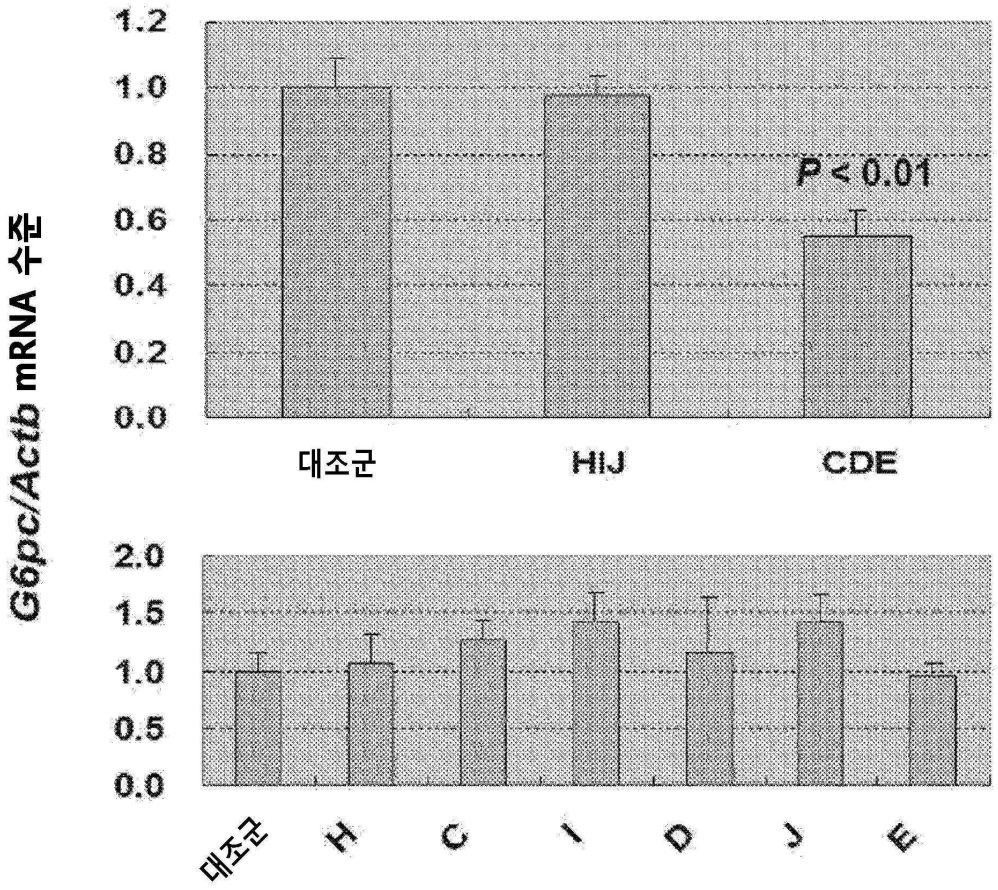

A
대조군
HIJ
CDE
pFoxo3 T32
pFoxo4 T28
pPDK1
pAKT T308
pAKT S473
AKT
p4EBP1 T37/46
pGsk3aS21
Gsk3a
pGsk3b S9
Gsk3b
pEif2bε S539
Eif2bε
Pgc1a
Actb
B
pFoxo3T32/Actb
C
pFoxo4T28/Actb
D
Pgc1a/Actb
대조군
HIJ
CDE
AML-12 간세포

도면16

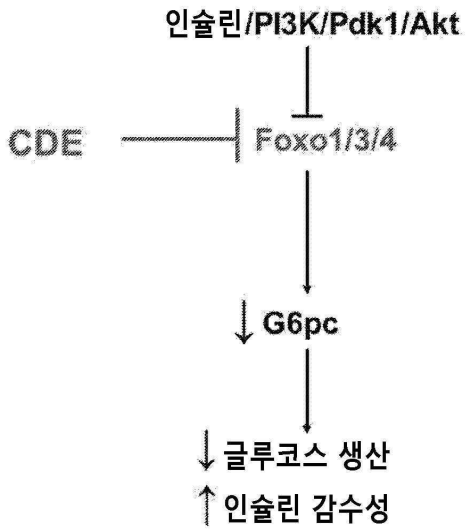



AML-12 간세포

도면17



도면18




도면19a

**인간 GSK3B 프로모터 상의 5종의 FOXO1/3/4 결합 모티프의 존재**



범례:

GSK3B의 전사 개시 부위 | FOXO1 결합 부위 Chip-qPCR 분석

척도: 600 bp



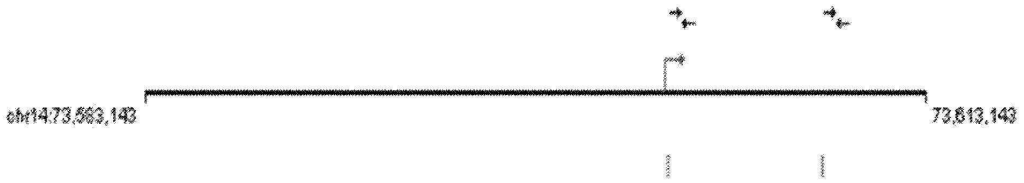
범례:

GSK3B의 전사 개시 부위 | FOXO4 결합 부위 Chip-qPCR 분석

척도: 600 bp

도면19b

**인간 PSEN 프로모터 상의 2종의 FOXO1/3/4 결합 모티프의 존재**



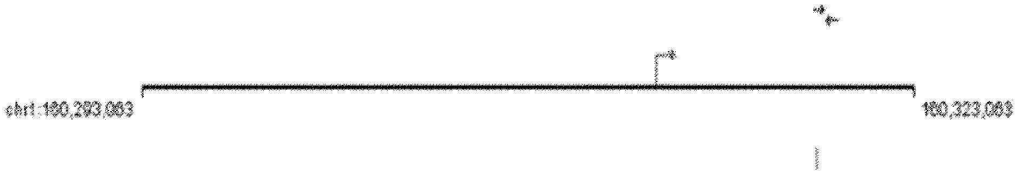

**범례:**

PSEN1의 전사 개시 부위 | FOXO4 결합 부위 Chip-qPCR 분석

**척도:** 600 bp

도면19c

**인간 니카스트린 (NSCTN) 프로모터 상의 FOXO1/3/4 결합 모티프의 존재**

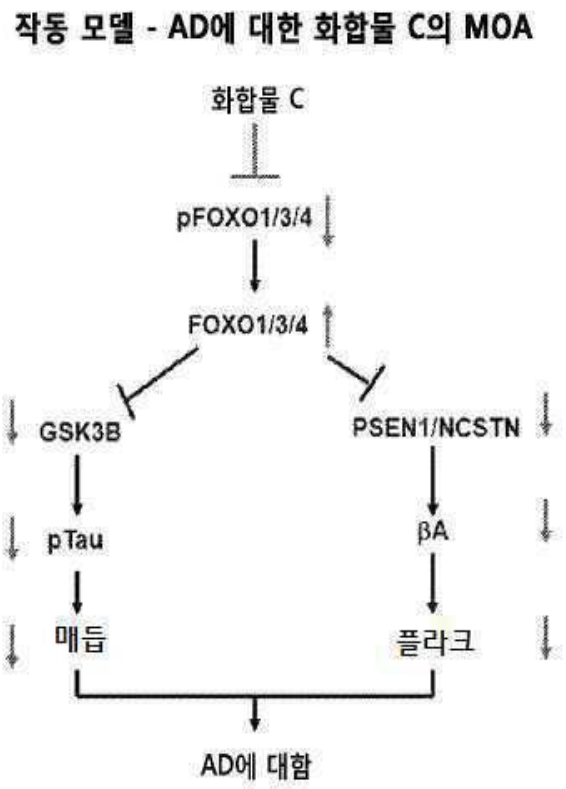



**범례:**

NSCTN의 전사 개시 부위 | FOXO3 결합 부위 Chip-qPCR 분석

**척도:** 600 bp

도면19d


작동 모델 - AD에 대한 화합물 C의 MOA
화합물 C
pFOXO1/3/4
FOXO1/3/4
GSK3B
PSEN1/NCSTN
pTau
βA
매듭
플라크
AD에 대함