

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2018년 2월 15일 (15.02.2018) **WIPO | PCT**



(10) 국제공개번호
WO 2018/030816 A1

(51) 국제특허분류:

C07C 323/52 (2006.01) *A61K 8/44* (2006.01)
C07C 323/25 (2006.01) *A23L 33/10* (2016.01)
A61K 31/18 (2006.01) *A61Q 19/00* (2006.01)
A61K 31/195 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2017/008693

(22) 국제출원일: 2017년 8월 10일 (10.08.2017)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2016-0101899 2016년 8월 10일 (10.08.2016) KR

(71) 출원인: 경희대학교 산학협력단 (**UNIVERSITY-INDUSTRY COOPERATION GROUP OF KYUNG HEE UNIVERSITY**) [KR/KR]; 17104 경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, Gyeonggi-do (KR).

(72) 발명자: 장영표 (**JANG, Young Pyo**); 06063 서울시 강남구 삼성로147길 22, 101동 202호, Seoul (KR). 박상철 (**PARK, Sang Cheol**); 03115 서울시 종로구 종로66길 28, 904호, Seoul (KR).

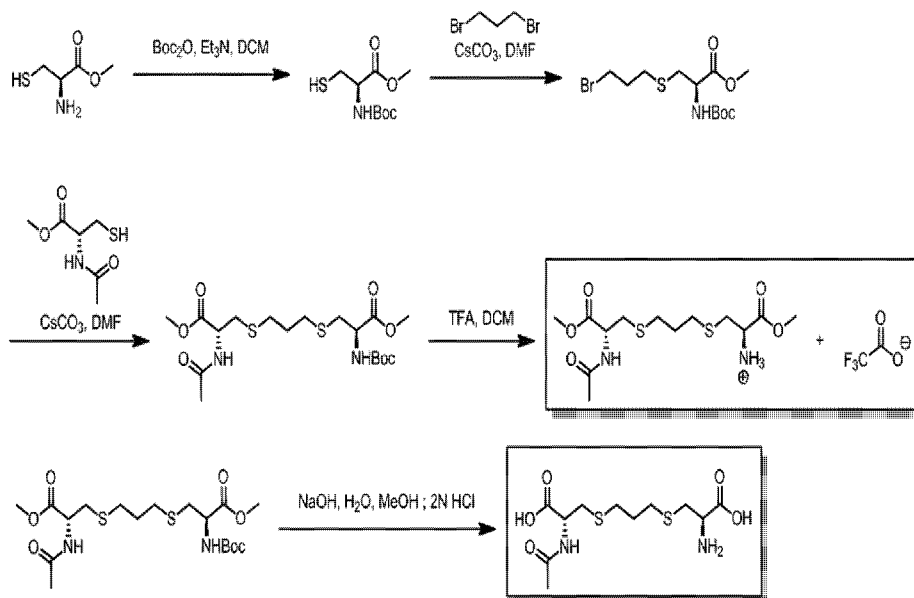
(74) 대리인: 손민 (**SON, Min**); 06302 서울시 강남구 양재천로163 6층 한얼국제특허사무소, Seoul (KR).

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

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(54) Title: NOVEL COMPOUND EXHIBITING ANTI-OXIDATIVE OR ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY

(54) 발명의 명칭: 항산화 또는 항염증 활성을 나타내는 신규 화합물



(57) Abstract: The present invention relates to a novel compound exhibiting anti-oxidative or anti-inflammatory activity and a preparing method therefor, a pharmaceutical composition comprising the compound or a salt thereof as an active ingredient for preventing or treating an inflammatory disease or a disease caused by an oxidative action, and an anti-inflammatory or anti-oxidative cosmetic or food composition.

(57) 요약서: 본 발명은 항산화 또는 항염증 활성을 나타내는 신규 화합물 및 이의 제조방법, 상기 화합물 또는 이의 염을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환 또는 산화 작용에 의해 유발되는 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 및 항염증 또는 항산화용 화장품 또는 식품 조성물에 관한 것이다.

[다음 쪽 계속]



WO 2018/030816 A1

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))
- 청구범위 보정 기한 만료 전의 공개이며, 보정서를 접수하는 경우 그에 관하여 별도 공개함 (규칙 48.2(h))

명세서

발명의 명칭: 항산화 또는 항염증 활성을 나타내는 신규 화합물 기술분야

- [1] 본 발명은 항산화 또는 항염증 활성을 나타내는 신규 화합물 및 이의 제조방법, 상기 화합물 또는 이의 염을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환 또는 산화 작용에 의해 유발되는 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 및 항염증 또는 항산화용 화장품 또는 식품 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 인체는 산화촉진물질과 산화억제물질이 균형을 이루고 있으나, 여러 가지 요인들로 인하여 이러한 균형 상태를 잃고 산화를 촉진하는 방향으로 기울게 되면, 생체 내에 산화적 스트레스(oxidative stress)가 유발되어 세포를 손상시키고, 병리적 질환을 유발하게 된다. 이러한 산화적 스트레스의 직접적 원인이 되는 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)은 화학적으로 불안정하고 반응성이 높아 DNA, 단백질, 지질 및 탄수화물과 같은 여러 생체물질과 쉽게 반응할 수 있으며, 생체 내 고분자들을 공격하여 세포와 조직에 비가역적인 손상을 일으키거나 돌연변이, 세포 독성 및 암 등을 초래하게 된다.
- [3] 한편, 인체 내에서 대식세포는 병원체에 반응하여 종양괴사인자- α (tumor necrotic factor- α , TNF- α), 인터루킨-6(IL-6), 인터루킨-1 β (IL-1 β) 등과 같은 염증유발인자를 생성하고, 유도성 일산화질소 합성효소(inducible nitric oxide synthase, iNOS)와 사이클로옥시게나제-2(cyclooxygenase-2, COX-2)를 합성하여 일산화질소(NO) 및 프로스타글란딘(prostaglandin E2, PGE2)을 생성한다. 생리학적으로 NO는 세균과 종양을 제거하고 혈압을 조절하거나 신경 전달을 매개하는 등 다양한 역할을 한다. 그러나 염증 반응이 일어나게 되면 관련 세포들에서 iNOS의 발현이 증가하여 많은 양의 NO가 생성되고, 과도하게 생성된 NO는 조직의 손상, 유전자 변이, 신경 손상 등을 유발하며, 혈관 투과성을 증가시켜 부종 등의 염증 반응을 촉진시킨다.
- [4] 염증 반응시에는 다양한 염증유발인자와 더불어 다양한 자유기(free radical)가 생성된다. 정상적인 자유기는 세포의 항상성 유지에 관여하며, 세포의 분화, 성장, 생존, 노화에 영향을 준다. 이러한 자유기 중 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)은 세포 내의 미토콘드리아에서 호흡과 면역 반응에 의한 산소의 산화와 환원 과정을 통해 끊임없이 생성된다. 유해한 ROS는 일반적으로 슈퍼옥사이드 디스뮤타제(superoxide dismutase), 카탈라제(catalase), 글루타치온 퍼옥시다제(glutathione peroxidase), 글루타민 리덕타제(glutamine reductase), 비타민 C, 비타민 E, 요산, 빌리루빈(bilirubin)과 같은 항산화 체계의 작용으로 제거된다. 그러나 자유기의 생성과 소거의 균형이 무너지게 되면 산화적 스트레스(oxidative stress)가 발생하게 되어 염증, 노화 또는 암과 같은 다양한

병리학적인 변화를 일으킨다. 실제로 많은 임상 질환에서 산화적 스트레스가 증가되는 것이 확인되었으며, 이러한 산화적 스트레스를 줄이기 위해 새로운 항산화 물질에 대한 다양한 연구가 이루어지고 있다.

[5]

- [6] 이에 본 발명자들은 안전하면서도 유효성을 갖는 천연물 유래 화합물을 이용하여 안전성이 확보되고 향상된 항산화 및 항염증 효과를 나타내는 신규 화합물을 발굴하기 위하여 예의 연구노력한 결과, 반응물로서 S-알릴-L-시스테인과 N-아세틸-L-시스테인을 이용하여 합성한 화합물들이 이들 반응물에 비해 보다 우수한 항산화 및 항염증 활성을 나타낼 뿐만 아니라 안전성을 갖는 것을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [7] 본 발명의 하나의 목적은 항산화 또는 항염증 활성을 나타내는 신규 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한염을 제공하는 것이다.
- [8] 본 발명의 다른 목적은 S-알릴-L-시스테인 및 N-아세틸-L-시스테인을 포함하는 수용액에 자외선을 조사하여 반응시키는 단계를 포함하는 상기 본 발명의 화합물의 제조방법을 제공하는 것이다.
- [9] 본 발명의 다른 목적은 (a) L-시스테인 메틸 에스터의 아민기에 보호기를 도입하는 단계; (b) 상기 (a) 단계의 생성물과 1,3-디할로프로판을 반응시키는 단계; (c) 상기 (b) 단계의 생성물과 N-아세틸-L-시스테인 메틸 에스터를 반응시키는 단계를 포함하는, 상기 본 발명의 화합물의 제조방법을 제공하는 것이다.
- [10] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [11] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한염을 유효성분으로 포함하는 산화 작용에 의해 유발되는 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [12] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 염증성 질환 또는 산화 작용에 의해 유발되는 질환을 예방 또는 치료하는 방법을 제공하는 것이다.
- [13] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 본 발명의 화합물 또는 이의 화장품학적으로 허용 가능한염을 유효성분으로 포함하는 항염증 또는 항산화용 화장품 조성물을 제공하는 것이다.
- [14] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 본 발명의 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한염을 유효성분으로 포함하는 항염증 또는 항산화용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

- [15] 본 발명자들은 안전하면서도 유효성을 갖는 천연물 유래 화합물을 이용하여 안전성이 확보되고 향상된 항산화 및 항염증 효과를 나타내는 신규 화합물을 발굴하기 위해, 반응물로서 S-알릴-L-시스테인과 N-아세틸-L-시스테인을 이용하여 합성한 화합물들이 이들 반응물에 비해 보다 우수한 항산화 및 항염증 활성을 나타낼 뿐만 아니라 안전성을 갖는 것을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

발명의 효과

- [16] 본 발명의 신규한 항염증 또는 항산화 효과를 갖는 화합물들은 천연물 유래 화합물을 기반으로 합성된 것으로 안전성이 확보되었으며, 반응물질에 비해 우수한 약리 활성을 나타내므로 항염증 또는 항산화 용도로 사용될 수 있다. 따라서, 염증성 질환 또는 산화 작용에 의해 유발되는 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물뿐만 아니라 항염증 또는 항산화용 화장품 또는 식품 조성물에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [17] 도 1은 본 발명의 실시예에 따라 합성한 2-아세트아미도-3-(3-(2-아미노-2-카르복시에틸티오)프로필티오)프로판산에 대한 UV-Vis 흡수 스펙트럼을 나타낸 도이다.
- [18] 도 2는 본 발명의 실시예에 따라 합성한 2-아세트아미도-3-(3-(2-아미노-2-카르복시에틸티오)프로필티오)프로판산에 대한 UPCL-ESI-MS 스펙트럼을 나타낸 도이다.
- [19] 도 3은 본 발명의 실시예에 따라 합성한 2-아세트아미도-3-(3-(2-아미노-2-카르복시에틸티오)프로필티오)프로판산에 대한 IR 스펙트럼을 나타낸 도이다.
- [20] 도 4는 본 발명의 실시예에 따라 합성한 2-아세트아미도-3-(3-(2-아미노-2-카르복시에틸티오)프로필티오)프로판산에 대한 D₂O에서 측정한 ¹H-NMR 스펙트럼을 나타낸 도이다.
- [21] 도 5는 본 발명의 실시예에 따라 합성한 2-아세트아미도-3-(3-(2-아미노-2-카르복시에틸티오)프로필티오)프로판산에 대한 D₂O에서 측정한 ¹³C-NMR 스펙트럼을 나타낸 도이다.
- [22] 도 6은 본 발명의 실시예에 따라 합성한 2,14-디옥소-6,10-디티아-3,13-디아자펜타데칸-4,12-디카르복시산에 대한 UV-Vis 흡수 스펙트럼을 나타낸 도이다.
- [23] 도 7은 본 발명의 실시예에 따라 합성한 2,14-디옥소-6,10-디티아-3,13-디아자펜타데칸-4,12-디카르복시산에 대한 UPCL-ESI-MS 스펙트럼을 나타낸 도이다.
- [24] 도 8은 본 발명의 실시예에 따라 합성한 2,14-디옥소-6,10-디티아-3,13-디아자펜타데칸-4,12-디카르복시산에 대한 IR

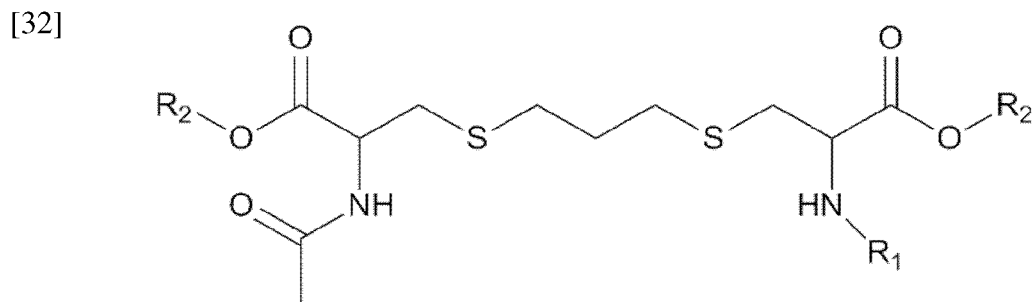
스펙트럼을 나타낸 도이다.

- [25] 도 9는 본 발명의 실시예에 따라 합성한 2,14-디옥소-6,10-디티아-3,13-디아자펜타데칸-4,12-디카르복시산에 대한 D_2 O에서 측정한 1H -NMR 스펙트럼을 나타낸 도이다.
- [26] 도 10은 본 발명의 실시예에 따라 합성한 2,14-디옥소-6,10-디티아-3,13-디아자펜타데칸-4,12-디카르복시산에 대한 D_2 O에서 측정한 ^{13}C -NMR 스펙트럼을 나타낸 도이다.
- [27] 도 11은 본 발명의 실시예에 따른 화합물의 제조방법의 전체 반응식을 나타낸 도이다.
- [28] 도 12은 본 발명의 실시예에 따른 화합물들의 산화질소 생성 억제효과를 나타낸 도이다. 음성대조군으로는 비처리군을, 양성대조군으로는 LPS(lipopolysaccharide) 처리군을 사용하였으며, 반응물로 사용한 S-알릴-L-시스테인 및 N-아세틸-L-시스테인 처리군을 비교예로 사용하였다.
- [29] 도 13는 본 발명의 실시예에 따른 화합물들의 LDH(lactate dehydrogenase) 방출률 저해효과를 나타낸 도이다. 음성대조군으로는 비처리군을, 양성대조군으로는 산화 저밀도 지질단백질(oxidized low density lipoprotein; Ox-LDL) 처리군을 사용하였으며, 반응물로 사용한 S-알릴-L-시스테인 및 N-아세틸-L-시스테인 처리군을 비교예로 사용하였다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [30] 상기 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 이성질체, 또는 이들의 약학적으로 허용 가능한 염을 제공한다:

[31] [화학식 1]



- [33] 상기 화학식에서,
- [34] R_1 은 수소 또는 아세틸이고,
- [35] R_2 는 수소 또는 메틸임.
- [36]
- [37] 또한, 본 발명은 S-알릴-L-시스테인 및 N-아세틸-L-시스테인을 포함하는 수용액에 자외선을 조사하여 반응시키는 단계를 포함하는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법을 제공한다.
- [38] 상기 반응을 위해 조사되는 자외선은 330 내지 400 nm 범위의 파장대에서

선택되는 파장의 빛일 수 있다.

[39] 상기 반응은 15 내지 35°C에서 수행할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[40] 이때, S-알릴-L-시스테인 및 N-아세틸-L-시스테인은 1:0.7 내지 1:1.3의 몰비율로 반응시킬 수 있다. 예컨대, 본 발명의 구체적인 실시예에서는 상기 2종 반응물을 동일한 당량으로 반응시켜 본 발명의 화합물을 합성하였다.

[41]

[42] 또한, 본 발명은 (a) L-시스테인 메틸 에스터의 아민기에 보호기를 도입하는 단계; (b) 상기 (a) 단계의 생성물과 1,3-디할로프로판을 반응시키는 단계; (c) 상기 (b) 단계의 생성물과 N-아세틸-L-시스테인 메틸 에스터를 반응시키는 단계를 포함하는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법을 제공한다.

[43] 상기 반응에 있어서, N-아세틸-L-시스테인 메틸 에스터는 N-아세틸-L-시스테인의 메틸 에스터화 단계를 통해 생성되는 것일 수 있다.

[44] 상기 반응에 있어서, (d) 상기 (c)단계 이후 아민기를 탈보호하는 단계를 추가로 포함하는 것일 수 있다.

[45] 상기 (d) 단계의 탈보호는 염기, 산과 단계적으로 반응시킴으로써 수행되는 것일 수 있다.

[46]

[47] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 이성질체, 또는 이들의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[48] 본 발명의 화합물을 사용하여 예방 또는 치료 가능한 염증성 질환은 염증을 주병변으로 하는 질병을 총칭하는 의미로서, 이에 제한되지는 않으나, 알러지성 천식, 알러지성 비염, 알러지성 점막염, 두드러기 및 아나필락스(anaphylax)를 포함하는 알러지성 질환, 경피증(systemic sclerosis), 피부근염(dermatomyositis) 및 포함체 근육염(inclusion body myositis)을 포함하는 근병증, 관절염, 아토피성 피부염, 건선, 천식, 다발성 경화증, ssRNA 및 dsRNA 바이러스 감염증, 패혈증, 다발성 연골염, 경피증, 습진, 통풍, 치주질환, 베체트 증후군, 부종, 맥관염, 가와사키병, 당뇨병성 망막염, 자가 면역 췌장염, 혈관염, 사구체 신염, 급성 및 만성 기관지염, 및 인플루엔자 감염증일 수 있다.

[49]

[50] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 이성질체, 또는 이들의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 산화 작용에 의해 유발되는 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[51] 본 발명의 화합물을 사용하여 예방 또는 치료 가능한 산화 작용에 의해 유발되는 질환은 예컨대, 활성산소로 인해 발생하는 질환일 수 있다. 상기 활성산소로 인해 발생하는 질환들은 이에 제한되지는 않으나, 동맥경화증, 루게릭병, 파킨슨병, 알츠하이머, 근위축색경화증 및 헌팅톤병을 포함하는 퇴행성 신경질환, 심근경색, 협심증, 관상동맥질환, 허혈성 심장질환을 포함하는

심혈관 질환, 뇌졸중을 포함하는 허혈성 뇌질환, 당뇨병, 위염 및 위암을 포함하는 소화기계 질환, 암, 백혈병, 노화, 류마티스 관절염, 간염, 아토피성 피부염 등 다양한 질환을 포함할 수 있으며, 구체적으로 활성산소에 의해 발생하는 노화일 수 있다.

- [52] 본 발명의 용어 "예방"은 본 발명의 조성물의 투여로 염증성 질환 또는 산화작용에 의해 유발되는 질환의 발생, 확산 및 재발을 억제시키거나 지연시키는 모든 행위를 의미하고, "치료"는 본 발명의 조성물의 투여로 상기 질환의 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [53] 본 발명의 조성물은 산화 질소의 생성 및/또는 LDH 방출을 저해함으로써 염증성 질환 또는 산화 작용에 의해 유발되는 질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.
- [54] 예컨대, 본 발명의 조성물은 각각의 사용 목적에 맞게 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁제, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구 제형, 멸균 주사 용액의 주사제 등 다양한 형태로 제형화하여 사용할 수 있으며, 경구 투여하거나 정맥내, 복강내, 피하, 직장, 국소 투여 등을 포함한 다양한 경로를 통해 투여될 수 있다. 이러한 조성물에 포함될 수 있는 적합한 담체, 부형제 또는 희석제의 예로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유 등을 들 수 있다. 또한, 본 발명의 조성물은 충전제, 향응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [55] 경구 투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 상기 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면 전분, 탄산칼슘, 수크로스, 락토즈, 젤라틴 등을 혼합하여 제형화한다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크와 같은 윤활제가 사용될 수 있다.
- [56] 경구용 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 예시될 수 있으며, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 액체 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [57]
- [58] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액제, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔, 마크로골, 트윈61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다. 한편, 주사제에는 용해제, 등장화제, 현탁화제, 유화제, 안정화제, 방부제 등과 같은 종래의 첨가제가 포함될 수 있다.

- [59] 상기 제형은 통상적인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 의해 제조될 수 있으며 활성 성분을 약 0.1 내지 75 중량%, 바람직하게는 약 1 내지 50 중량%의 범위에서 함유할 수 있다. 약 50 내지 70 kg의 포유동물에 대한 단위 제형은 약 10 내지 200 mg의 활성성분을 함유한다.
- [60] 본 발명의 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명의 용어 "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 건강상태, 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 배합 또는 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고, 종래의 치료제와 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [61] 본 발명의 화합물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물의 형태, 투여 경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나, 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 화합물을 1일 0.0001 내지 100 mg/kg(체중), 바람직하게는 0.001 내지 100 mg/kg(체중)으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 1일 1회 또는 분할하여 경구 또는 비경구적 경로를 통해 투여될 수 있다.
- [62]
- [63] 나아가, 본 발명은 상기 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 염증성 질환 또는 산화 작용에 의해 유발되는 질환을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.
- [64] 본 발명의 용어 "개체"란, 상기 염증성 질환이나 산화 작용에 의해 유발되는 질환이 발명하였거나 발명할 수 있는 인간을 포함한 원숭이, 소, 말, 양, 돼지, 닭, 칠면조, 메추라기, 고양이, 개, 마우스, 쥐, 토끼 또는 기니아 피그를 포함한 모든 동물을 의미하고, 본 발명의 약학적 조성물을 개체에게 투여함으로써 상기 질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 기존의 치료제와 병행하여 투여될 수 있다.
- [65] 본 발명의 용어 "투여"란, 임의의 적절한 방법으로 환자에게 소정의 물질을 제공하는 것을 의미하며, 본 발명의 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 복강내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경구 투여, 국소 투여, 비내 투여, 폐내투여, 직장내 투여될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 활성 물질이 표적 세포로 이동할 수 있는 임의의 장치에 의해 투여될 수도 있다. 바람직한 투여방식 및 제제는 정맥 주사제, 피하 주사제, 피내

주사제, 근육 주사제, 점적 주사제 등이다. 주사제는 생리식염액, 링겔액 등의 수성 용제, 식물유, 고급 지방산 에스테르(예, 올레인산에칠 등), 알코올 류(예, 에탄올, 벤질알코올, 프로필렌글리콜, 글리세린 등) 등의 비수성 용제 등을 이용하여 제조할 수 있고, 변질 방지를 위한 안정화제(예, 아스코르빈산, 아황산수소나트륨, 피로아황산나트륨, BHA, 토코페롤, EDTA 등), 유화제, pH 조절을 위한 완충제, 미생물 발육을 저지하기 위한 보존제(예, 질산페닐수은, 치메로살, 염화벤잘코늄, 페놀, 크레솔, 벤질알코올 등) 등의 약학적 담체를 포함할 수 있다.

[66]

[67] 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 이성질체, 또는 이들의 화장품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 항염증 또는 항산화용 화장품 조성물을 제공한다.

[68]

본 발명의 용어 "항염증"은 염증을 억제하는 작용을 의미하는 것으로, 염증 반응의 조절은 대단히 복잡한 것으로 알려져 있는데, 이는 생체 내 복구체계의 증강 및 손상을 감소시키기 위한 것으로 알려져 있다. 그러나 반복되는 조직의 손상이나 재생에 의해 염증반응이 지속되면, 염증관련 세포에서 ROS와 RNS가 과다 생성되고 그 결과로 영구적인 유전자의 변형이 야기된다. 이처럼 ROS와 RNS는 생체 내 여러 가지 세포의 작용을 조절하는 염증 반응과 깊이 관련되어 있다. 염증 과정 중에는 많은 양의 염증유도 사이토카인(proinflammatory cytokines), 아질산(nitric oxide, NO) 그리고 프로스타글란딘(prostaglandin E2, PGE2)이 유도성 일산화질소 합성효소(inducible nitric oxide synthase, iNOS)와 사이클로옥시게나아제(cyclooxygenase-2, COX-2)에 의해 생성된다. 염증은 다양한 염증성 질환을 유발하는 원인으로써, 본 발명의 화합물을 포함하는 조성물은 항염증 작용을 통해 다양한 염증성 질환에 대한 예방 및 개선 효과를 가질 수 있다.

[69]

본 발명의 용어 "항산화"는 산화를 억제하는 작용을 의미하는 것으로, 인체는 산화촉진물질(prooxidant)과 산화억제물질(antioxidant)이 균형을 이루고 있으나 여러 가지 요인들에 의하여 이런 균형상태가 불균형을 이루게 되고 산화촉진 쪽으로 기울게 되면, 산화적 스트레스(oxidative stress)가 유발되어 잠재적인 세포 손상 및 병리적 질환을 일으키게 된다. 이러한 산화적 스트레스의 직접적 원인이 되는 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)은 불안정하고 반응성이 높아 여러 생체물질과 쉽게 반응하고, 체내 고분자들을 공격하여 세포와 조직에 비가역적인 손상을 일으키거나 돌연변이, 세포독성 및 발암 등을 초래하게 된다. NO, HNO₂, ONOO⁻와 같은 활성 질소종(reactive nitrogen species, RNS)은 염증 반응 시 대식세포 호중구 및 다른 면역 세포 들의 면역반응으로 인해 다량 생성되며, 이때 ROS도 같이 생성된다. 상기와 같은 활성산소는 체내에서 세포를 산화시켜 파괴시키며, 그에 따라 각종 질환에 노출되게 된다. 따라서, 본 발명의 화합물을 화장품에 포함시키면 항산화 효과를 달성함으로써, 건강증진에

기여할 수 있다.

- [70] 본 발명의 용어 "화장료 조성물"은 일반적인 유화 제형 및 가용화 제형의 형태로 제조할 수 있다. 상기 유화 제형으로는 영양화장수, 크림, 에센스 등이 있으며, 상기 가용화 제형으로는 유연화장수 등이 있다. 적합한 제형은 이에 제한되지는 않으나, 예를 들어 용액, 겔, 고체 또는 반죽 무수 생성물, 수상에 유상을 분산시켜 얻은 에멀전, 현탁액, 마이크로에멀전, 마이크로캡슐, 미세과립구 또는 이온형(리포솜), 바이온형의 소낭 분산제의 형태, 크림, 스킨, 로션, 파우더, 연고, 스프레이 또는 콘실 스틱의 형태일 수 있다. 또한, 포말(foam)의 형태 또는 압축된 추진제를 더 함유한 에어로졸 조성물의 형태일 수 있다.
- [71] 상기 화장료 조성물은 추가적으로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 향산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제, 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 또는 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제, 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 또는 친유성 활성제, 지질 소낭 또는 화장료 조성물에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다.
- [72]
- [73] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 이성질체, 또는 이들의 식품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 항염증 또는 항산화용 식품 조성물을 제공한다.
- [74] 본 발명의 조성물을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 화합물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상의 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적절하게 결정될 수 있으며, 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물은 천연물 유래 화합물로부터 합성한 화합물을 유효성분으로 하므로 안정성 면에서 문제가 없기 때문에 혼합량에 큰 제한은 없다.
- [75] 본 발명의 식품 조성물은 통상적인 의미의 식품을 모두 포함할 수 있으며, 기능성 식품, 건강기능식품 등 당업계에 알려진 용어와 혼용 가능하다.
- [76] 본 발명의 용어 "기능성 식품"은 건강기능식품에 관한 법률 제672호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, "기능성"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.
- [77] 또한, 본 발명의 용어 "건강기능식품"은 건강보조의 목적으로 특정성분을 원료로 하거나 식품 원료에 들어있는 특정성분을 추출, 농축, 정제, 혼합 등의 방법으로 제조, 가공한 식품을 말하며, 상기 성분에 의해 생체방어, 생체리듬의 조절, 질병의 방지와 회복 등 생체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발휘할 수

있도록 설계되고 가공된 식품을 말하는 것으로서, 상기 건강식품용 조성물은 질병의 예방 및 질병의 회복 등과 관련된 기능을 수행할 수 있다.

- [78] 본 발명의 조성물이 사용될 수 있는 식품의 종류에는 제한이 없다. 아울러 본 발명의 화합물을 활성성분으로 포함하는 조성물은 당업자의 선택에 따라 식품에 함유될 수 있는 적절한 기타 보조 성분과 공지의 첨가제를 혼합하여 제조할 수 있다. 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 본 발명에 따른 화합물을 일성분으로 하여 제조한 즙, 차, 젤리 및 주스 등에 첨가하여 제조할 수 있다.
- [79] 또한, 본 발명에 적용될 수 있는 식품에는 예컨대, 특수영양식품(예: 조제유류, 영, 유아식 등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 묵류, 면류(예: 라면류, 국수류 등), 건강보조식품, 조미식품(예: 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예: 스낵류), 유가공품(예: 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품(각종 김치류, 장아찌 등), 음료(예: 과일, 채소류 음료, 두유류, 발효음료류 등), 천연조미료(예, 라면스프 등) 등 모든 식품을 포함할 수 있다.
- [80] 본 발명의 건강기능식품 조성물이 음료의 형태로 사용될 경우에는 통상의 음료와 같이 여러 가지 감미제, 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 외에 본 발명의 건강기능식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.
- [81] 예컨대, 본 발명의 조성물들은, 산화질소의 생성을 억제함으로써 항염증 효과를 나타낼 수 있다. 또한, 상기 본 발명의 조성물들은 LDH(lactate dehydrogenase) 방출을 억제함으로써 항산화 효과를 나타낼 수 있다.
- [82]
- [83] 한편, 본 발명의 화합물은 염, 특히 약학적으로 허용 가능한염, 화장품학적으로 허용 가능한염 또는 식품학적으로 허용 가능한염의 형태로 존재할 수 있다. 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산부가염과 같이, 당 업계에서 통상적으로 사용되는 염을 제한 없이 사용할 수 있다. 본 발명의 용어 "약학적으로 허용 가능한 염", "화장품학적으로 허용 가능한 염" 또는 "식품학적으로 허용 가능한 염"이란 개체에 대해 비교적 비독성이고 무해한 유효작용을 갖는 농도로서 이 염에 기인한 부작용이 화학식 1로 표시되는 화합물의 이로운 효능을 저하시키지 않는 상기 화합물의 임의의 모든 유기 또는 무기 부가염을 의미한다.
- [84] 산부가염은 통상의 방법, 예를 들어 화합물을 과량의 산 수용액에 용해시키고, 이 염을 수산화성 유기 용매, 예를 들어 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는

아세트니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조한다. 동 몰량의 화합물 및 물 중의 산 또는 알코올(예, 글리콜 모노메틸에테르)을 가열하고, 이어서 상기 혼합물을 증발시켜 건조시키거나, 또는 석출된 염을 흡인 여과시킬 수 있다.

[85] 이때, 유리산으로는 유기산과 무기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 인산, 황산, 질산, 주석산 등을 사용할 수 있고 유기산으로는 메탄술폰산, p-톨루엔술폰산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 말레인산(maleic acid), 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산(fumaric acid), 만데르산, 프로피온산(propionic acid), 구연산(citric acid), 젖산(lactic acid), 글리콜산(glycollic acid), 글루콘산(gluconic acid), 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산(glutaric acid), 글루쿠론산(glucuronic acid), 아스파르트산, 아스코르브산, 카본산, 바닐릭산, 요오드화수소산(hydroiodic acid) 등을 사용할 수 있으며, 이들에 제한되지 않는다.

[86] 또한, 염기를 사용하여 약학적, 화장품학적 또는 식품학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속염 또는 알칼리 토금속 염은, 예를 들어 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해시키고, 비용해 화합물 염을 여과한 후 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로는 특히 나트륨, 칼륨, 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상, 화장품상, 또는 식품상 적합하나 이들에 제한되는 것은 아니다. 또한 이에 대응하는 은염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 은염(예, 질산은)과 반응시켜 얻을 수 있다.

[87] 본 발명의 화합물의 약학적으로 허용 가능한 염은, 달리 지시되지 않는 한, 상기 화학식 1의 화합물에 존재할 수 있는 산성 또는 염기성 기의 염을 포함한다. 예를 들어, 약학적, 화장품학적 또는 식품학적으로 허용 가능한 염으로는 히드록시기의 나트륨, 칼슘 및 칼륨염 등이 포함될 수 있고, 아미노기의 기타 약학적으로 허용 가능한 염으로는 히드로브롬화물, 황산염, 수소 황산염, 인산염, 수소 인산염, 이수소 인산염, 아세테이트, 숙시네이트, 시트레이트, 타르트레이트, 락테이트, 만델레이트, 메탄술포네이트(메실레이트) 및 p-톨루엔술포네이트(토실레이트) 염 등이 있으며, 당 업계에 알려진 염의 제조방법을 통하여 제조될 수 있다.

[88] 또한, 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은, 이의 약학적으로 허용 가능한 염뿐만 아니라 이로부터 제조될 수 있는 가능한 수화물 등의 용매화물 및 가능한 모든 입체 이성질체를 제한없이 포함한다. 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 용매화물 및 입체이성질체는 당업계에 공지된 방법을 사용하여 화학식 1로 표시되는 화합물로부터 제조할 수 있다.

[89] 또한, 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 결정 형태 또는 비결정 형태로 제조될 수 있으며, 결정 형태로 제조될 경우 임의로 수화되거나 용매화될 수 있다. 본 발명에서는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 화학양론적 수화물뿐만 아니라 다양한 양의 물을 함유하는 화합물이 포함될 수

있다. 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 용매화물은 화학양론적 용매화물 및 비화학양론적 용매화물 모두를 포함한다.

발명의 실시를 위한 형태

[90] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[91]

[92] **실시예 1: 화합물의 합성 - 1**

[93] 에펜도르프 튜브에 마그네틱 바를 넣고 S-알릴-L-시스테인(S-allyl-L-cystein; SAC) 및 N-아세틸-L-시스테인(N-acetyl-L-cystein; NAC)을 같은 당량으로 용해시킨 수용액을 첨가하였다. 교반하면서 UV-LED 경화 시스템(curing system)을 이용하여 365 nm의 빛을 조사하여 반응시켰다. 이때, 반응온도는 25°C로 하였다.

[94] 반응시킨 물질에 3차 증류수를 충분히 첨가하여 완전히 용해시킨 후 0.2 μ m PVDF 필터로 여과하고, 50 μ L를 취하여 고성능 액체 크로마토그래피(Alliance 2960, Waters, Milford, MA, USA)로 분석하였다. 상기 분리과정에서는 입자크기 5 μ m의 Inspire C18(Dikma Technologies Inc., Lake Forest, CA, USA)로 충전된 길이 250 mm, 내경 4.6 mm의 컬럼을 사용하였다. 아울러 0.1% 포름산을 함유하는 아세트니트릴 용액을 전개용액으로 사용하였으며, 전개용액의 농도는 4.5%에서 시작하여 8분에 5%, 20분에 50%까지 증가시켰고, 21분에 100%까지 증가시킨 후, 3분 동안 유지하였다. 이후, 25분에 다시 6%까지 감소시켜 6분 동안 유지하였다. 검출 파장은 195 nm, 전개용액의 유속은 1.0 mL/분으로 설정하였고, 컬럼의 온도는 40°C였다. 머무름 시간 6분 및 12.5분에 각각 본 발명에 따른 2종의 화합물을 수득하였다. 상기 과정을 수회 반복 수행하여 재현성 있는 결과를 얻었다.

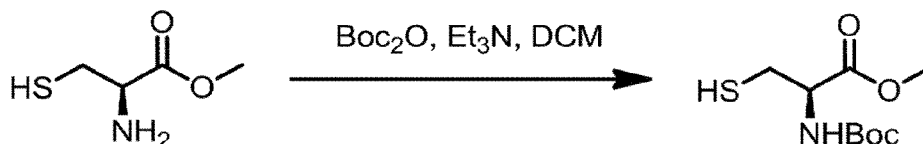
[95] 상기 수득한 화합물을 UV-Vis 흡수 스펙트럼, UPCL-ESI-MS 스펙트럼, IR 스펙트럼 및 ^1H -NMR과 ^{13}C -NMR 스펙트럼을 측정하여 동정하고, 그 결과를 도 1 내지 10에 나타내었다. 그 결과, 상기 고성능 액체 크로마토그래피를 이용한 분리과정에서 머무름 시간 6분에 회수된 화합물은 2-아세트아미도-3-(3-(2-아미노-2-카르복시에틸티오)프로필티오)프로판산(New compound-1로 표기), 12.5분에 회수된 화합물은 2,14-디옥소-6,10-디티아-3,13-디아자펜타데칸-4,12-디카르복시산(New compound-2로 표기)임을 동정하였다.

[96]

[97] **실시예 2: 화합물의 합성 - 2**

[98] **(1) L-시스테인 메틸 에스터의 Boc 보호(Protection)**

[99]



[100] Rbf에 출발 물질인 DCM 14ml, Et₃N(1 eq, 2.913 mmol, 0.4mL, 0.726 density)를 차례로 넣고 니들을 꽂아둔 채로 10분 동안 교반하였다. 교반한 용액에, DCM에 Boc₂O를 용해시킨 것을 적가하였다. 반응을 아니스(anis) 발색으로 확인하여(EA:Hex=1:2) 출발 물질이 모두 사라지면 용매를 증발시켰다. 컬럼 크로마토그래피(용매 MC:MeOH)로 분리하여 수득한 화합물을 NMR을 통해 확인하였다.

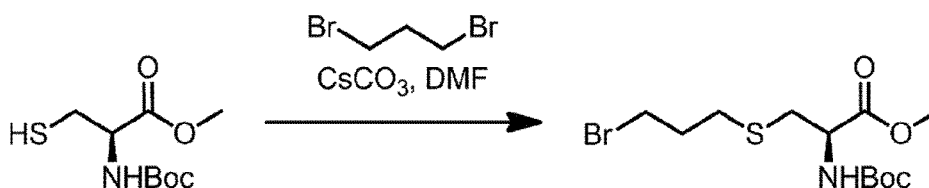
[101] 생성물 563.3mg을 수득하였고(수득률 82%), NMR 분석 결과 목적으로 한 화합물이 생성됨을 확인하였다.

[102] ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 5.46 (m, 1H), 4.61 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.07-2.88(m, 2H), 1.58-1.34(m, 10H)

[103]

[104] (2) N-Boc L-시스테인 메틸 에스터와 1,3-디브로모프로판 반응

[105]



[106] Rbf에 출발 물질, CsCO₃(2 eq, 4.786 mmol, 1559mg), DMF 15ml, 1,3-디브로모프로판(6 eq, 14.36 mmol, 1.5 mL, 밀도 1.977)을 차례로 넣고 아르곤 가스와 함께 교반하였다. 반응을 아니스(anis) 발색으로 확인하여(EA:Hex=1:4), 출발 물질이 모두 사라지면 물로 킨칭하고, 에테르로 추출, MgSO₄ 처리, 여과 및 증발시켰다. 컬럼 크로마토그래피(용매 EA:Hex)로 분리하여 수득한 화합물을 NMR을 통해 확인하였다.

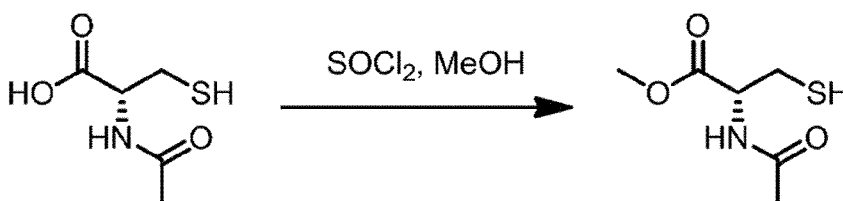
[107] 생성물 635mg을 수득하였고(수득률 74%), NMR 분석 결과 목적으로 한 화합물이 생성됨을 확인하였다.

[108] ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 5.37 (m, 1H), 4.55 (m, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.50 (t, 2H, J = 6.4 Hz), 3.05-2.90 (m, 2H), 2.69 (t, 2H, J = 6.9 Hz), 2.10 (p, 2H, J = 6.6 Hz), 1.46(s, 9H)

[109]

[110] (3) N-아세틸-L-시스테인의 메틸 에스터화 과정

[111]



[112] Rbf에 출발 물질인 *N*-아세틸-L-시스테인 (1 eq, 6.13 mmol, 1000 mg), MeOH 20 mL를 넣고 니들을 꽂은 후 교반하고, SOCl₂을 적가하였다. 반응을 아니스(anis) 발색으로 확인하여(MC:MeOH=1:20), 출발 물질이 모두 사라지면 용매를 증발시키고 염수로 EA 추출, MgSO₄, 여과 및 증발시켰다. 컬럼 크로마토그래피(용매 MC:MeOH)로 분리하여 수득한 화합물을 NMR을 통해 확인하였다.

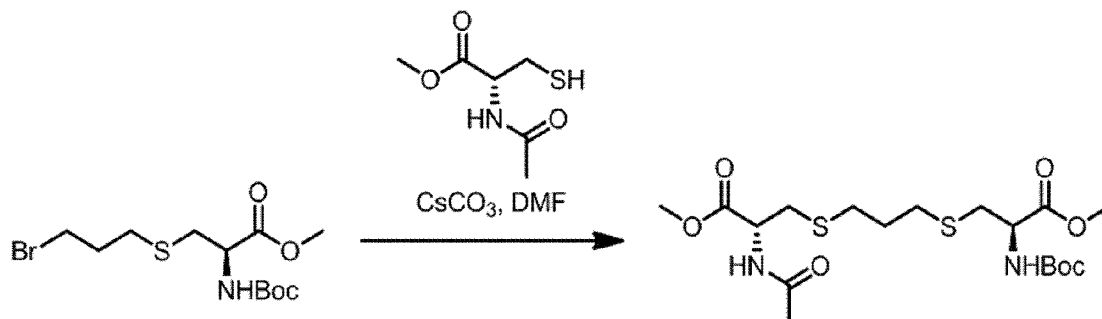
[113] 생성물 748mg을 수득하였고(수득률 69%), NMR 분석 결과 목적으로 한 화합물이 생성됨을 확인하였다.

[114] ¹H-NMR (MeOD, 400 MHz) δ 4.41 (m, 1H), 3.53 (s, 3H), 2.68 (qd, 2H, *J* = 4.9, 14.1 Hz), 1.80 (s, 3H)

[115]

[116] (4) *N*-Boc 시스테인 골격과 *N*-아세틸-L-시스테인 메틸 에스터의 반응

[117]



[118] Rbf에 *N*-아세틸-L-시스테인 메틸 에스터(1 eq, 0.255 mmol, 45 mg), CsCO₃(1.2 eq, 0.306 mmol, 100mg), DMF를 차례로 넣고 아르곤 가스와 함께 10분 동안 교반하였다. 교반한 용액에, 출발 물질인 *N*-Boc 시스테인 골격(1 eq, 0.255 mmol, 91mg)을 DMF에 용해하여 적가하였다. 반응을 아니스(anis) 발색으로 확인하여(MC:MeOH=20:1) 출발 물질이 모두 사라지면 물로 켄칭하고, Et₂O 추출, MgSO₄, 여과 및 증발시켰다. 컬럼 크로마토그래피(용매 EA:Hex)로 분리하여 수득한 화합물을 NMR을 통해 확인하였다.

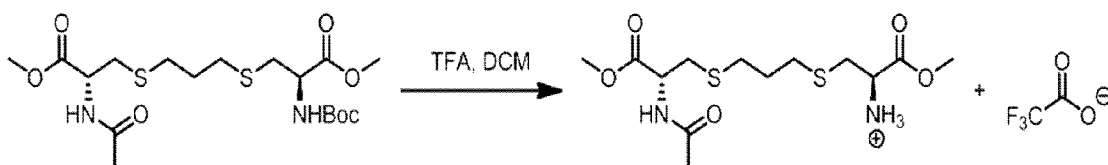
[119] 생성물 47.5mg을 수득하였고(수득률 41%), NMR 분석 결과 목적으로 한 화합물이 생성됨을 확인하였다.

[120] ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 6.47 (m, 1H), 5.44 (m, 1H), 4.83 (m, 1H), 4.53 (m, 1H), 3.77 (s, 6H), 3.05-2.90 (m, 4H), 2.65-2.57 (m, 4H), 2.06 (s, 3H), 1.82 (p, 2H, *J* = 7.0 Hz), 1.45 (s, 9H)

[121]

[122] (5) TFA를 이용한 Boc 탈보호(deprotection)

[123]



[124] Rbf에 출발 물질(1 eq, 0.102 mmol, 46 mg), DCM 0.5mL, TFA (0.5 mL, 밀도 1.489)를 넣은 후, 니들을 쫓은 채로 교반하였다. 반응을 닌하이드린 발색으로 확인하여(MC:MeOH:AcOH=10:1:0.1) 출발 물질이 모두 사라지면 용매를 증발시키고 진공처리 하였다. 분리한 화합물을 NMR을 통해 확인하였다.

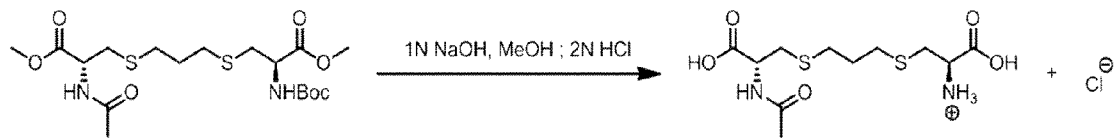
[125] 생성물 41.3mg을 수득하였고(수득률 87%), NMR 분석 결과 목적으로 한 화합물이 생성됨을 확인하였다.

[126] ¹H-NMR (MeOD, 400 MHz) δ 4.54 (m, 1H), 4.22 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.65 (s, 3H), 3.07 (m, 1H), 2.99-2.87 (m, 2H), 2.73 (m, 1H), 2.64-2.56 (m, 4H), 1.92 (s, 3H), 1.78 (p, 2H, *J* = 8.0 Hz)

[127]

[128] (6) 2N-HCl를 이용한 탈보호(deprotection)

[129]



[130] Rbf에 출발 물질(1 eq, 0.124 mmol, 56.1 mg), MeOH 1 mL를 넣고 얼음조 상태에서 1N MeOH 1 mL를 적가하였다. 반응을 아니스 발색으로 확인하여(MC:MeOH:AcOH=10:1:0.1), 출발 물질이 모두 사라지면 2N-HCl로 켄칭하였다. pH2로 조정하고 EA 추출하여 역반응을 방지하였다.

[131]

[132] 실험예 1: 항염증 효과

[133] Raw 264.7 세포를 12웰 플레이트에 1×10^4 세포/웰의 세포밀도로 분주하고, 시험하고자 하는 약물을 정해진 농도로 처리하여 1시간 동안 유지한 후, LPS(100 ng/mL)을 처리하여 CO₂ 인큐베이터에서 24시간 배양하고, Griess 시약을 사용하여 생성된 NO 농도를 측정하였다. 시험 약물로는 본 발명에 따른 2종의 화합물(도면에서 각각 Newcompound-1 및 Newcompound-2로 표기)과 비교군으로는 본 발명의 화합물들의 원료가 되는 물질인 SAC와 NAC를 각각 사용하였으며, 음성대조군으로서 아무것도 처리하지 않은 비처리군(negative control) 및 양성대조군으로서 LPS만을 처리하여 NO 발생을 유발한 LPS 처리군(LPS)을 사용하였다. SAC, NAC 및 2종의 화합물은 각각 1 μM 및 10 μM 농도로 처리하여 농도 의존적 효과를 확인하고, 그 결과를 도 11에 나타내었다.

[134] 도 11에 나타난 바와 같이, 비교군으로 사용한 SAC 및 NAC 처리군의 경우 양성대조군에 비해 NO 생성을 각각 15 내지 18% 및 4 내지 20% 억제하는 것으로 나타났으며, 본 발명의 화합물들은 각각 24 내지 38% 및 24 내지 35%로 비교군에 비해 향상된 NO 생성 억제 효과를 나타내었다.

[135]

[136] 실험예 2: 항산화 효과

[137] 본 발명에 따른 화합물들의 항산화 효과를 확인하기 위하여, 산화에 의해

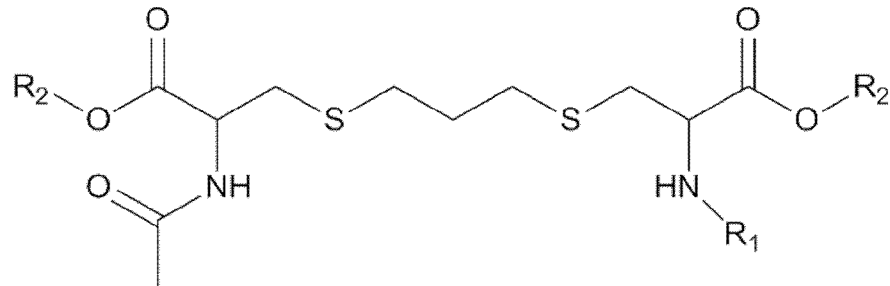
죽거나 손상된 세포에서 방출되는 물질인 LDH(lactate dehydrogenase) 양을 수가용성 테트라졸리움염(water soluble tetrazolium salt; WST)을 이용하여 흡광도를 확인하여 세포독성(cytotoxicity)을 측정하였다. 구체적으로, 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 산화된 저밀도 지질단백질(oxidized low-density lipoprotein; Ox-LDL)로 산화를 유도한 Raw 264.7 세포에 상기 실험예 1에서와 마찬가지로 4종의 시험하고자 하는 물질(2종 비교군 및 2종 실험군)을 각각 1 μM 및 10 μM 농도로 처리하여 항산화 효과에 대한 기본적인 지표인 LDH 방출 억제능을 확인하였다. 참고로 아무것도 처리하지 않은 음성대조군에서 LDH 방출율은 7%, Ox-LDL만을 처리한 양성대조군에서는 30%였다. 측정한 결과는 도 12에 나타내었다.

- [138] 도 12에 나타난 바와 같이, 2종의 비교군과 2종의 실험군 모두 양성대조군에 비해 감소된 LDH 방출율을 나타내었으며, 그 정도는 처리한 화합물의 농도에 의존적으로 감소율이 증가하였다. 구체적으로, SAC의 경우, 1 μM 과 10 μM 농도로 처리하였을 때, 각각 양성대조군에 비해 7% 및 16%만큼 LDH 방출율이 감소하였으며, NAC의 경우, 같은 농도로 처리시 각각 6% 및 13%만큼 감소된 LDH 방출율을 나타내었다. 한편, 본 발명에 따른 화합물인 Newcompound-1과 Newcompound-2는 동일한 농도에서 각각 12%와 21% 및 11%와 20% 감소된 LDH 방출율을 나타내었으며, 이는 본 발명에 따른 화합물들이 비교군에 비해 우수한 항산화 효과를 가짐을 나타내는 것이다.

청구범위

[청구항 1] 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 이성질체, 또는 이들의 약학적으로 허용 가능한 염:

[화학식 1]



상기 화학식에서,

R_1 은 수소 또는 아세틸이고,

R_2 는 수소 또는 메틸임.

[청구항 2] S-알릴-L-시스테인 및 N-아세틸-L-시스테인을 포함하는 수용액에 자외선을 조사하여 반응시키는 단계를 포함하는 제1항의 화합물의 제조방법.

[청구항 3] 제2항에 있어서, 상기 자외선은 330 내지 400 nm 범위의 파장대의 빛인 것인 제조방법.

[청구항 4] 제2항에 있어서, 15 내지 35°C에서 수행하는 것인 제조방법.

[청구항 5] (a) L-시스테인 메틸 에스터의 아민기에 보호기를 도입하는 단계; (b) 상기 (a) 단계의 생성물과 1,3-디할로프로판을 반응시키는 단계; (c) 상기 (b) 단계의 생성물과 N-아세틸-L-시스테인 메틸 에스터를 반응시키는 단계를 포함하는, 제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법.

[청구항 6] 제5항에 있어서, 상기 N-아세틸-L-시스테인 메틸 에스터는 N-아세틸-L-시스테인의 메틸 에스터화 단계를 통해 생성되는 것인, 제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법.

[청구항 7] 제5항에 있어서, (d) 상기 (c)단계 이후 아민기를 탈보호하는 단계를 추가로 포함하는, 제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법.

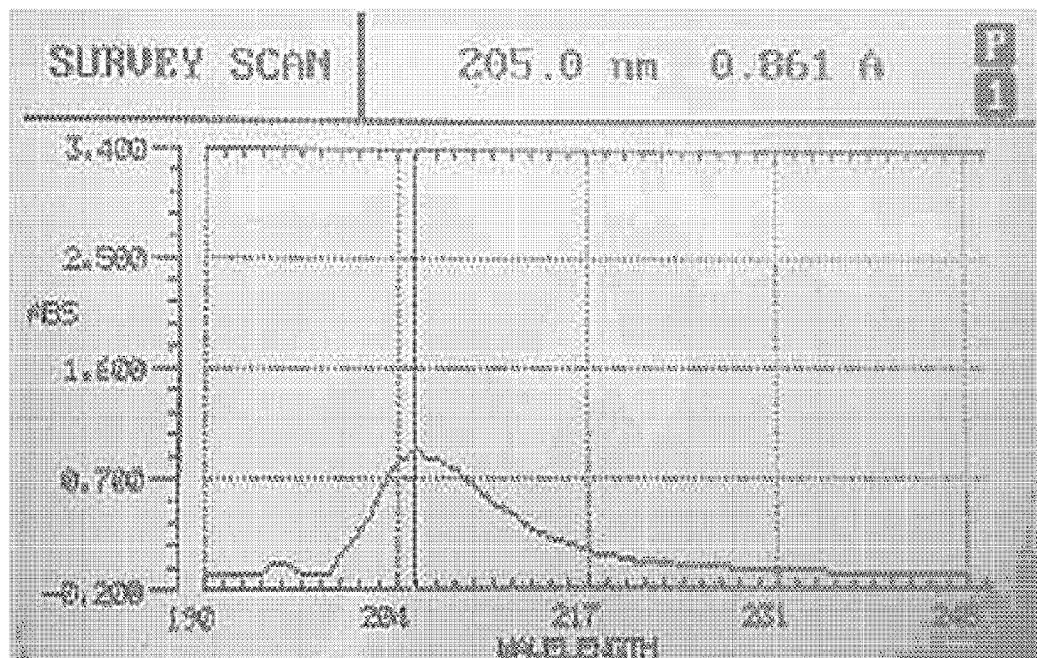
[청구항 8] 제7항에 있어서, 상기 탈보호는 염기, 산과 단계적으로 반응시킴으로써 수행되는 것인, 제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법.

[청구항 9] 제1항의 화합물, 이의 이성질체, 또는 이들의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 항염증 또는 항산화용 약학적 조성물.

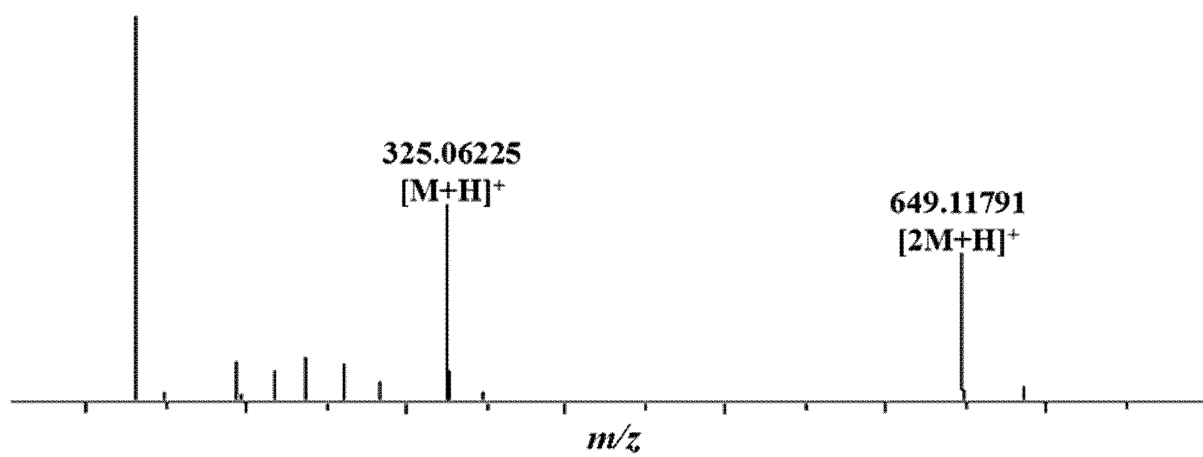
[청구항 10] 제9항에 있어서, 상기 조성물은 알러지성 천식, 알러지성 비염, 알러지성 점막염, 두드러기 및 아나필락스(anaphylax)를 포함하는 알러지성 질환, 경피증(systemic sclerosis), 피부근염(dermatomyositis) 및 포함체 근육염(inclusion body myositis)을 포함하는 근병증, 관절염, 아토피성

- 피부염, 건선, 천식, 다발성 경화증, ssRNA 및 dsRNA 바이러스 감염증, 패혈증, 다발성 연골염, 경피증, 습진, 통풍, 치주질환, 베체트 증후군, 부종, 맥관염, 가와사키병, 당뇨병성 망막염, 자가 면역 췌장염, 혈관염, 사구체 신염, 급성 및 만성 기관지염, 및 인플루엔자 감염증으로 구성된 군으로부터 선택되는 염증성 질환을 예방 또는 치료하는 것인 조성물.
- [청구항 11] 제9항에 있어서, 상기 조성물은 동맥경화증, 루게릭병, 파킨슨병, 알츠하이머, 근위축색경화증 및 헌팅톤병을 포함하는 퇴행성 신경질환, 심근경색, 협심증, 관상동맥질환, 허혈성 심장질환을 포함하는 심혈관 질환, 뇌졸중을 포함하는 허혈성 뇌질환, 당뇨병, 위염 및 위암을 포함하는 소화기계 질환, 암, 백혈병, 노화, 류마티스 관절염, 간염, 아토피성 피부염으로 구성된 군으로부터 선택되는 산화 작용에 의해 유발되는 질환을 예방 또는 치료하는 것인 조성물.
- [청구항 12] 제1항의 화합물, 이의 이성질체, 또는 이들의 화장품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 항염증 또는 항산화용 화장품 조성물.
- [청구항 13] 제1항의 화합물, 이의 이성질체, 또는 이들의 식품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 항염증 또는 항산화용 건강기능식품 조성물.
- [청구항 14] 제9항에 있어서, 상기 항염증 효과는 산화질소의 생성을 억제함으로써 달성되는 것인 조성물.
- [청구항 15] 제9항에 있어서, 상기 항산화 효과는 LDH(lactate dehydrogenase) 방출을 억제함으로써 달성되는 것인 조성물.

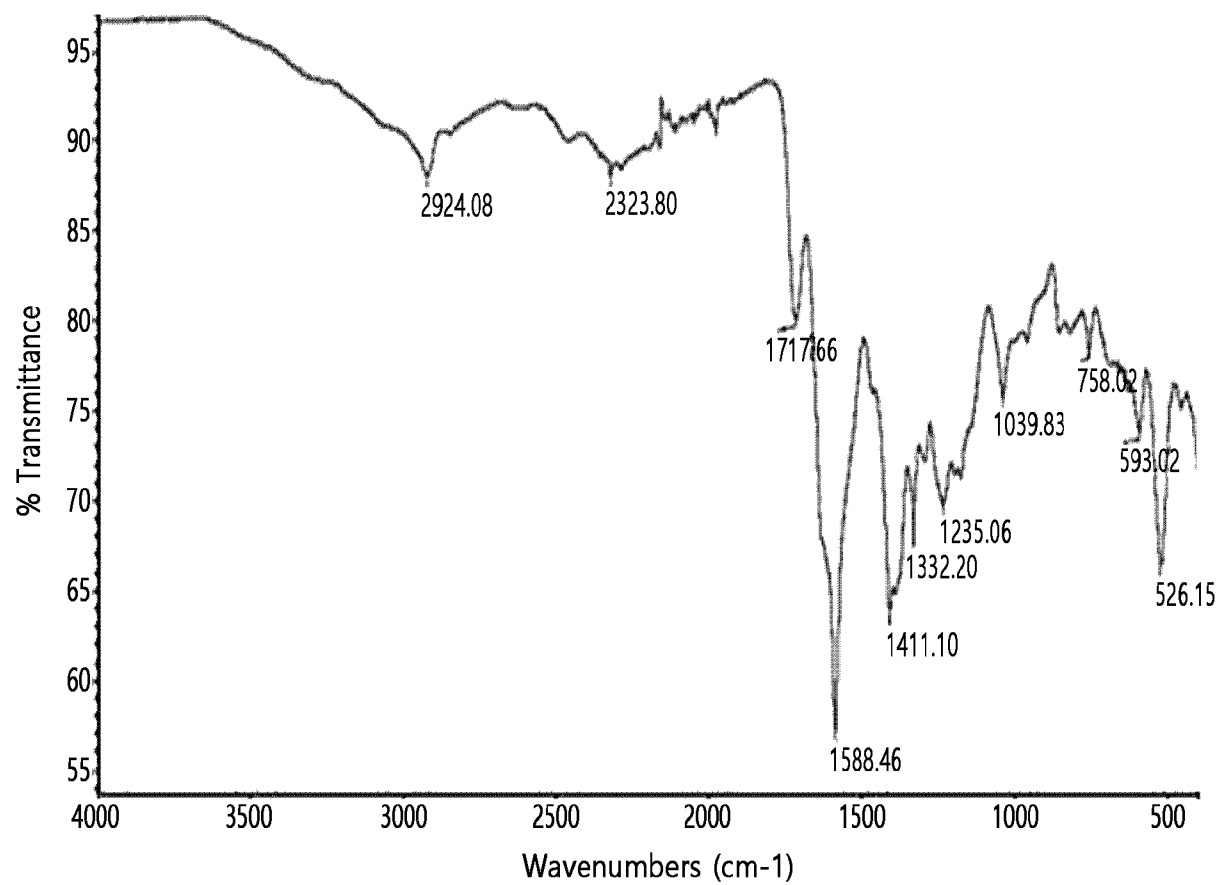
[도1]

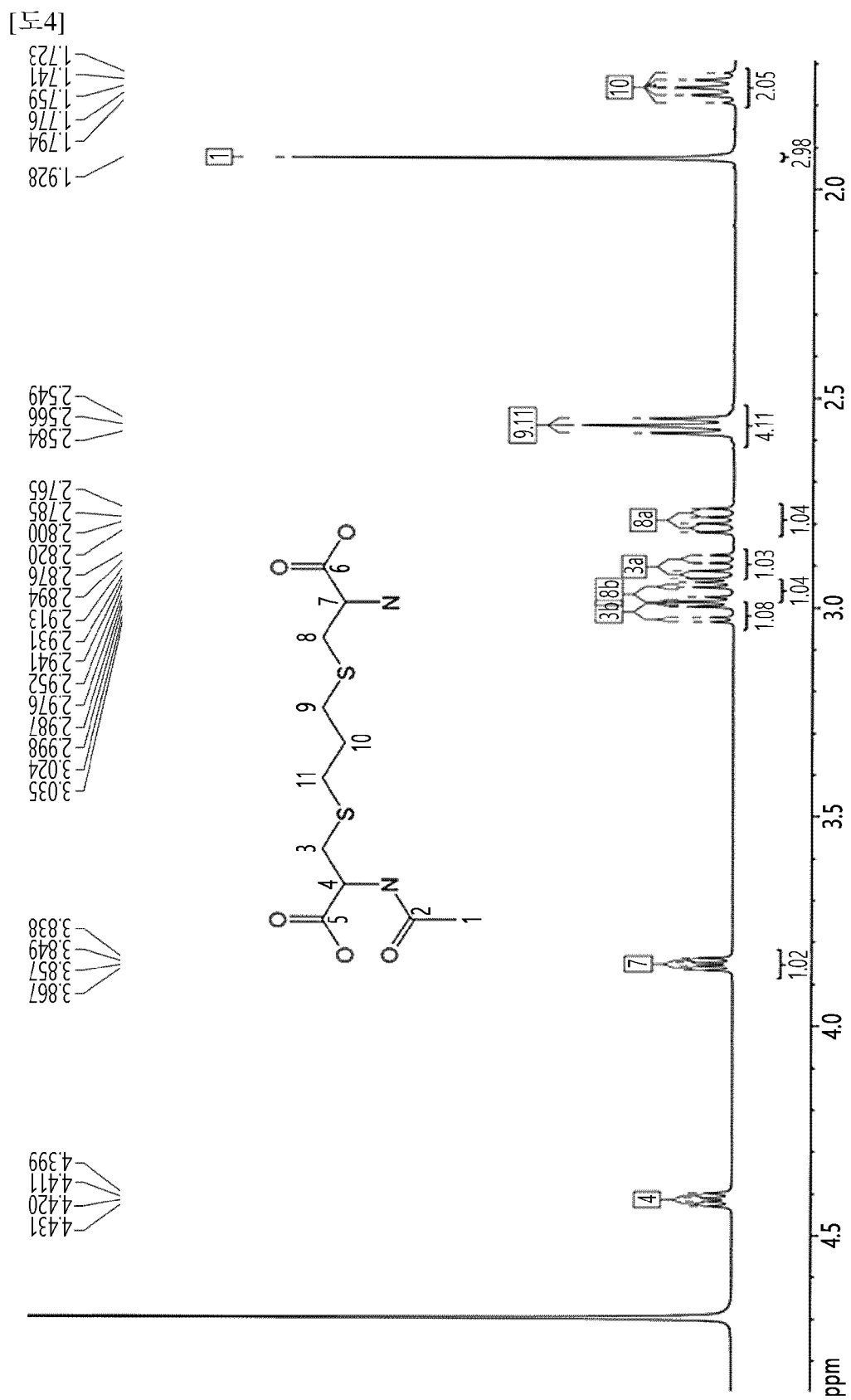


[도2]

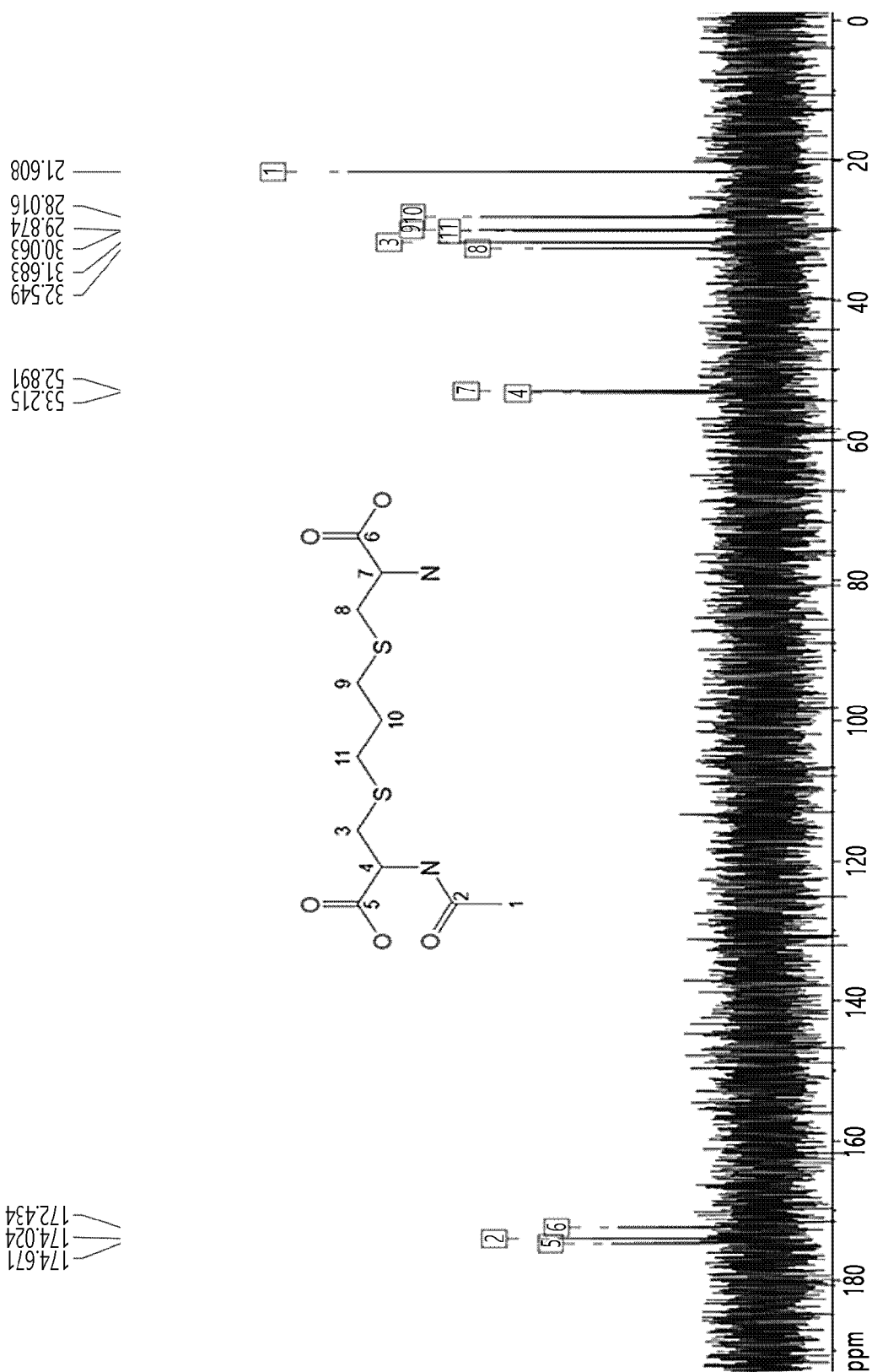


[도3]

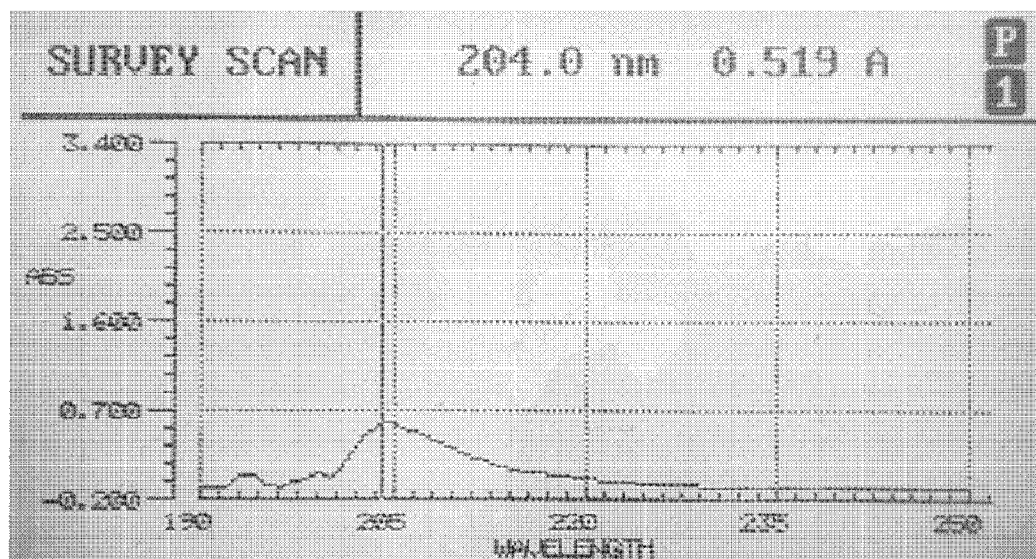




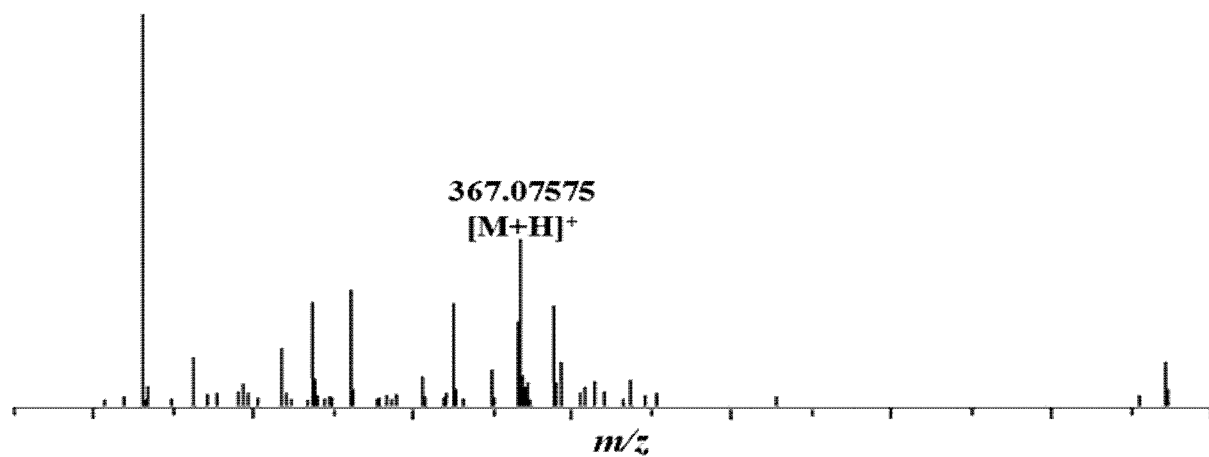
[도5]



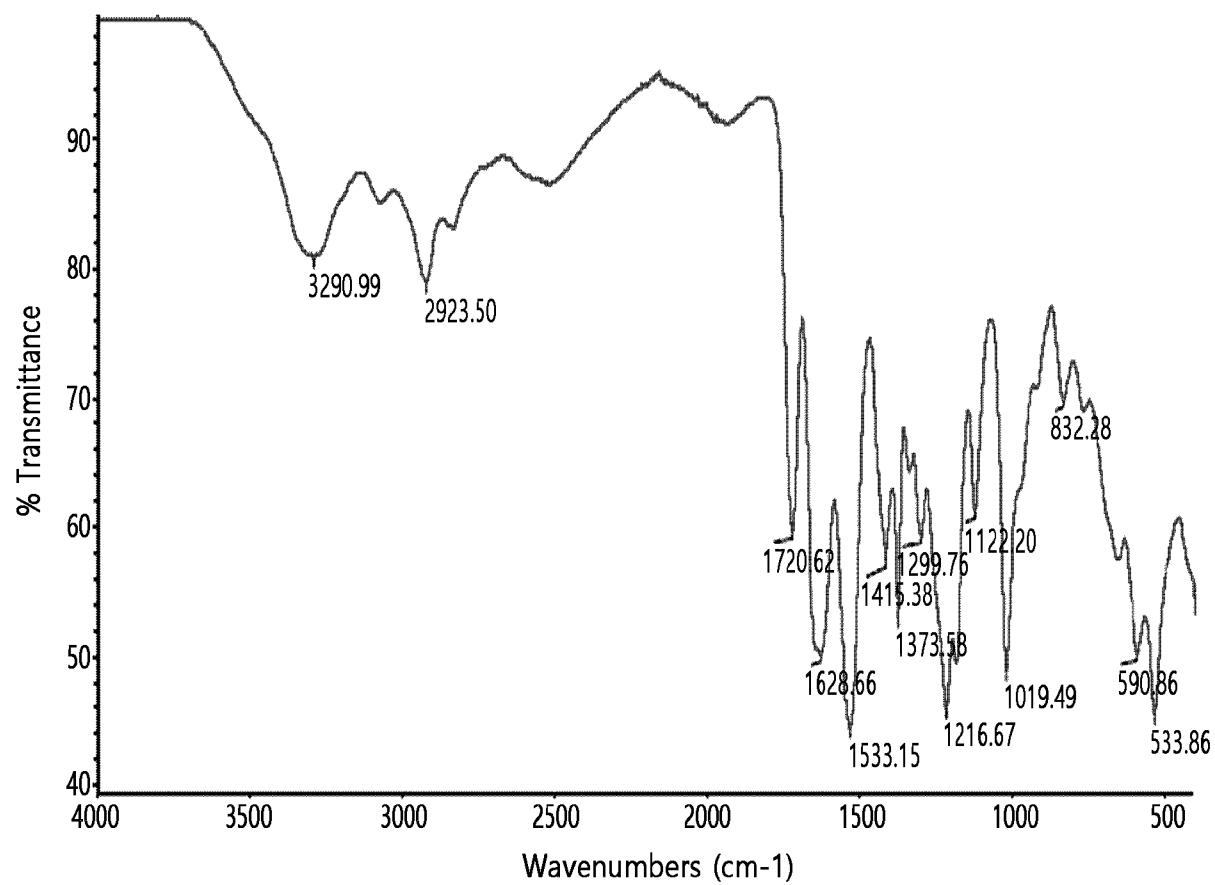
[도6]



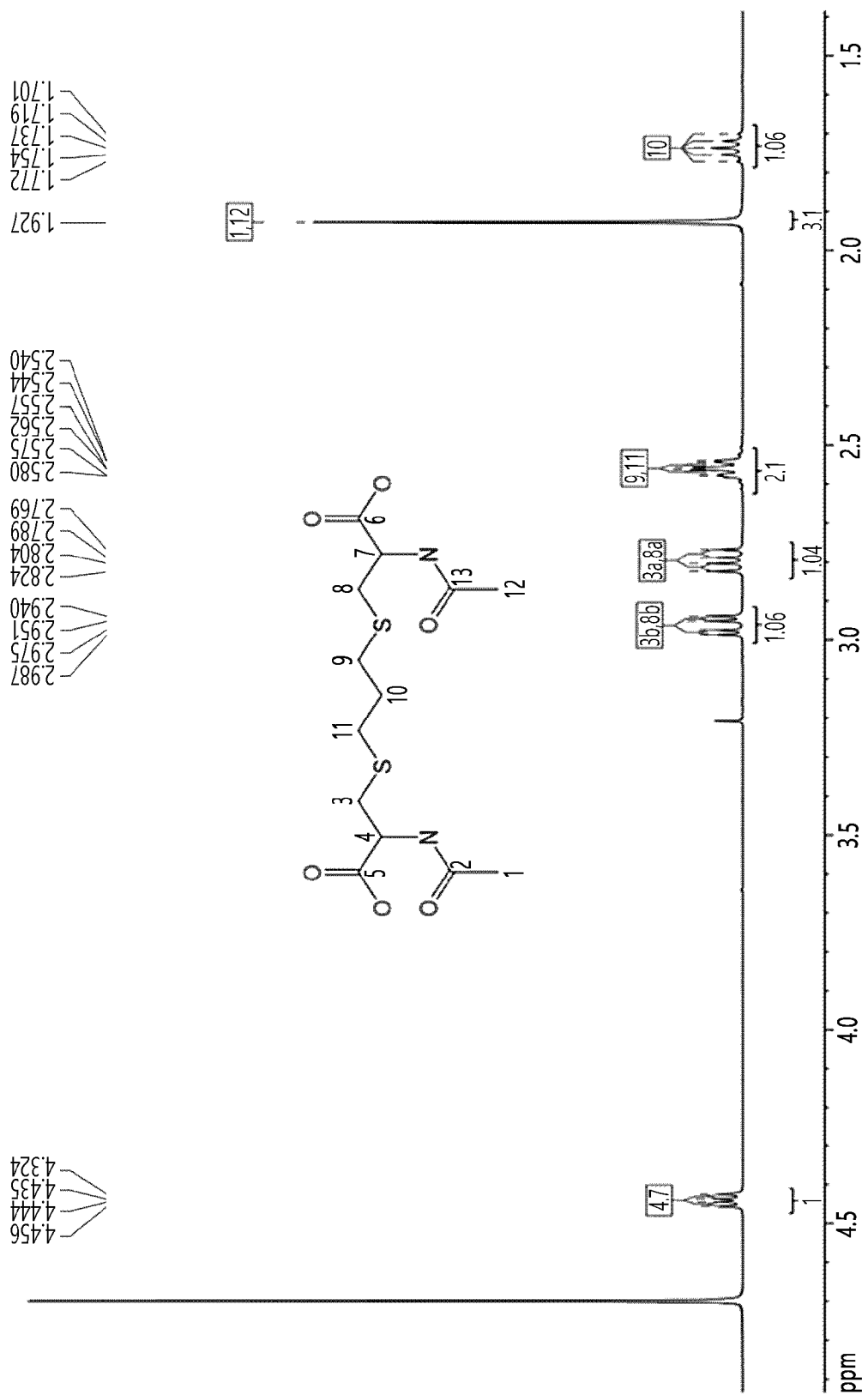
[도7]



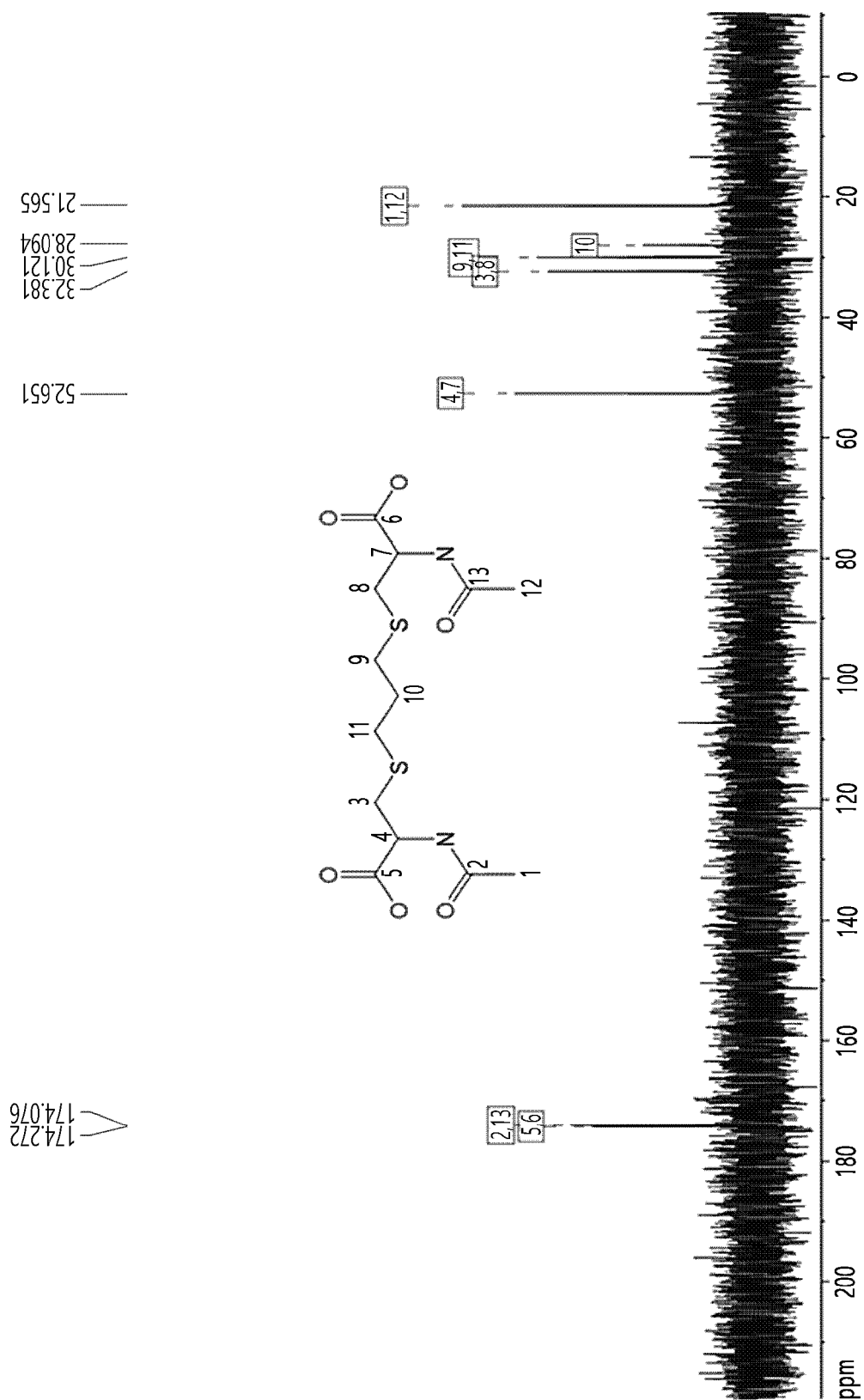
[도8]



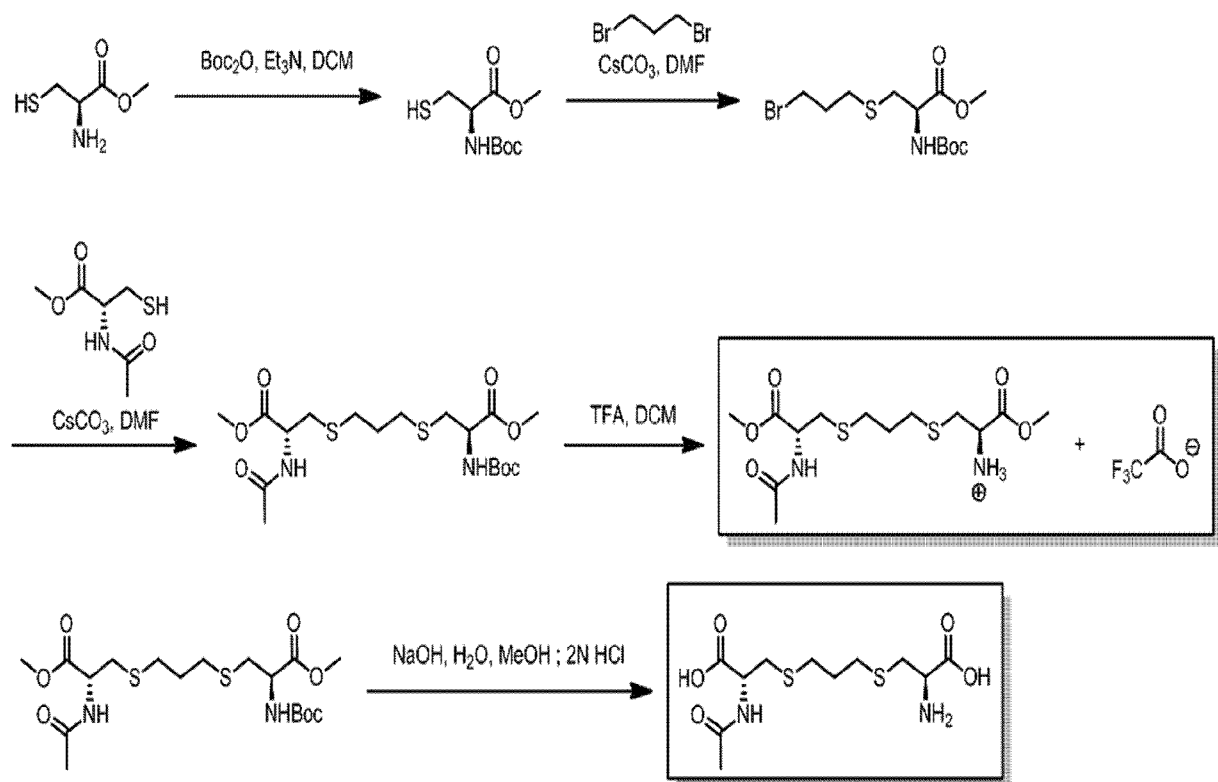
[도6]



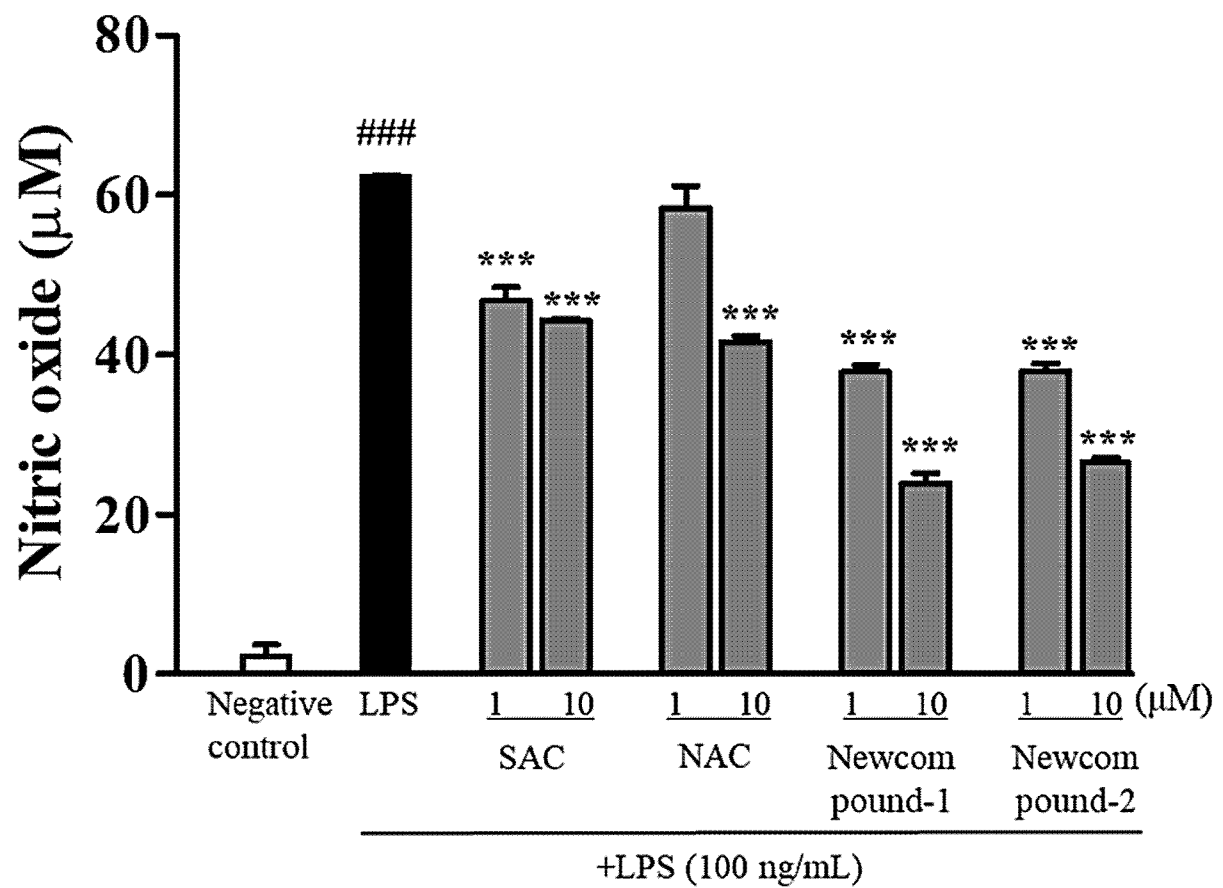
[도10]



[도 11]



[도 12]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2017/008693

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07C 323/52(2006.01)i, C07C 323/25(2006.01)i, A61K 31/18(2006.01)i, A61K 31/195(2006.01)i, A61K 8/44(2006.01)i, A23L 33/10(2016.01)i, A61Q 19/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07C 323/52; A61K 7/00; A61K 7/06; C07C 323/25; A61K 31/18; A61K 31/195; A61K 8/44; A23L 33/10; A61Q 19/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal), STN(Registry, CAplus, CASreact), Google & Keywords: antioxidation, anti-inflammatory, S-allyl-L-cystein, N-acetyl-L-cystein

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	GALVEZ-LLOMPART, M. et al., "Modeling Natural Anti-Inflammatory Compounds by Molecular Topology", International Journal of Molecular Sciences, 2011, vol. 12, pages 9481-9503 See table 4.	1-15
A	KIRECHE, M. et al., "Preservatives in Cosmetics: Reactivity of Allergenic Formaldehyde-releasers towards Amino Acids through Breakdown Products Other than Formaldehyde", Contact Dermatitis, 2010, vol. 63, pages 192-202 See abstract; figure 3.	1-15
A	WANG, Y. et al., "A Thiol-Ene Coupling Approach to Native Peptide Stapling and Macrocyclization", Angewandte Chemie, 2015, vol. 54, pages 10931-10934 See figure 1.	1-15
A	US 3448141 A (MARINIER, B.) 03 June 1969 See the entire document.	1-15
A	US 4331656 A (BOUILLON, C. et al.) 25 May 1982 See the entire document.	1-15



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

04 DECEMBER 2017 (04.12.2017)

Date of mailing of the international search report

04 DECEMBER 2017 (04.12.2017)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Sconsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2017/008693

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
US 3448141 A1	03/06/1969	NONE	
US 4331656 A	25/05/1982	BE 881370 A1	28/07/1980
		CA 1138336 A	28/12/1982
		CH 642253 A5	13/04/1984
		DE 3002878 A1	07/08/1980
		FR 2447189 A1	22/08/1980
		FR 2447189 B1	13/02/1981
		GB 2040683 A	03/09/1980
		GB 2040683 B	16/02/1983
		IT 1129981 B	11/06/1986
		JP 55-102509 A	05/08/1980
		NL 8000521 A	31/07/1980

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

C07C 323/52(2006.01)i, C07C 323/25(2006.01)i, A61K 31/18(2006.01)i, A61K 31/195(2006.01)i, A61K 8/44(2006.01)i, A23L 33/10(2016.01)i, A61Q 19/00(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

C07C 323/52; A61K 7/00; A61K 7/06; C07C 323/25; A61K 31/18; A61K 31/195; A61K 8/44; A23L 33/10; A61Q 19/00

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템), STN(Registry, Cplus, CASreact), Google & 키워드: 항산화, 항염증, S-알릴-L-시스테인, N-아세틸-L-시스테인

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	GALVEZ-LLOMPART, M. 등, 'Modeling Natural Anti-Inflammatory Compounds by Molecular Topology', International Journal of Molecular Sciences, 2011, 12권 페이지 9481-9503 표 4 참조.	1-15
A	KIRECHE, M. 등, 'Preservatives in cosmetics: reactivity of allergenic formaldehyde-releasers towards amino acids through breakdown products other than formaldehyde', Contact Dermatitis, 2010, 63권, 페이지 192-202 초록; 도면 3 참조.	1-15
A	WANG, Y. 등, 'A Thiol-Ene Coupling Approach to Native Peptide Stapling and Macrocyclization', Angewandte Chemie, 2015, 54권, 페이지 10931-10934 도면 1 참조.	1-15
A	US 3448141 A (MARINIER, B.) 1969.06.03 전체 문헌 참조.	1-15
A	US 4331656 A (BOUILLON, C. 등) 1982.05.25 전체 문헌 참조.	1-15

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2017년 12월 04일 (04.12.2017)

국제조사보고서 발송일

2017년 12월 04일 (04.12.2017)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



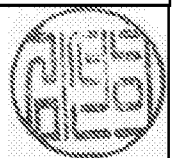
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

김선희

전화번호 +82-42-481-5405



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 3448141 A1	1969/06/03	없음	
US 4331656 A	1982/05/25	BE 881370 A1	1980/07/28
		CA 1138336 A	1982/12/28
		CH 642253 A5	1984/04/13
		DE 3002878 A1	1980/08/07
		FR 2447189 A1	1980/08/22
		FR 2447189 B1	1981/02/13
		GB 2040683 A	1980/09/03
		GB 2040683 B	1983/02/16
		IT 1129981 B	1986/06/11
		JP 55-102509 A	1980/08/05
		NL 8000521 A	1980/07/31