



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0107618
(43) 공개일자 2020년09월16일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07F 9/54 (2006.01) A61K 31/662 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07F 9/5442 (2013.01)
A61K 31/662 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2019-0027020
(22) 출원일자 2019년03월08일
심사청구일자 없음
- (71) 출원인
울산과학기술원
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
건국대학교 글로벌산학협력단
충청북도 충주시 충원대로 268 (단월동, 건국대학교글로벌캠퍼스)
- (72) 발명자
김채규
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
유자형
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
리엔목특허법인

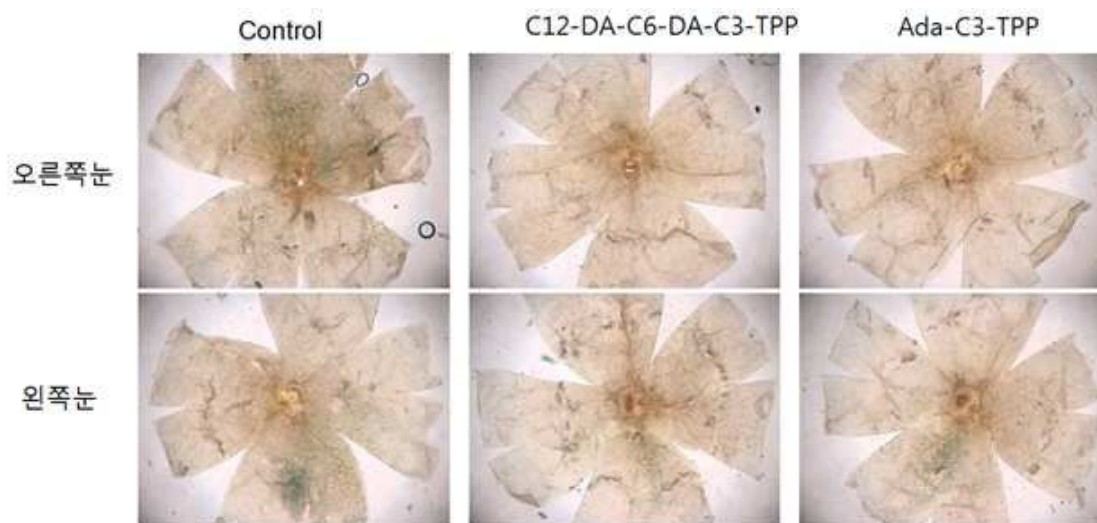
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 TPP 유도체 화합물 및 이를 포함하는 노화 또는 노화 관련 질환의 치료 또는 예방을 위한 약학적 조성물

(57) 요약

노화 세포를 선택적으로 사멸시킴으로써 노화 관련 질환 및 장애를 치료 또는 예방할 수 있는 약학적 조성물 또는 건강기능식품 조성물의 제공에 관한 것이다.

대표도 - 도7a



(52) CPC특허분류

A61P 27/02 (2018.01)

(72) 발명자

김상필

울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50

정혜원

서울특별시 강남구 개포로 303, 103동 1101호 (개포동, 현대1차아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711075964

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 개인기초연구(과기정통부)(R&D)

연구과제명 미토콘드리아 안에서의 펩타이드 자기조립에 의한 선택적 노화세포 제거를 통한 생

체조직의 재생능력 회복

기 여 율 1/2

과제수행기관명 울산과학기술원

연구기간 2018.07.01 ~ 2019.06.30

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711069940

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 개인기초연구(과기정통부)(R&D)

연구과제명 노화망막세포 제거를 통한 노년황반변성 치료제 개발

기 여 율 1/2

과제수행기관명 건국대학교 GLOCAL(글로컬)캠퍼스

연구기간 2018.03.01 ~ 2019.02.28

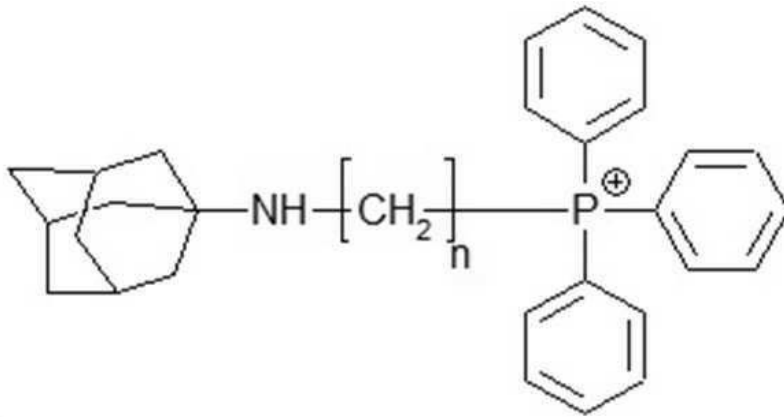
명세서

청구범위

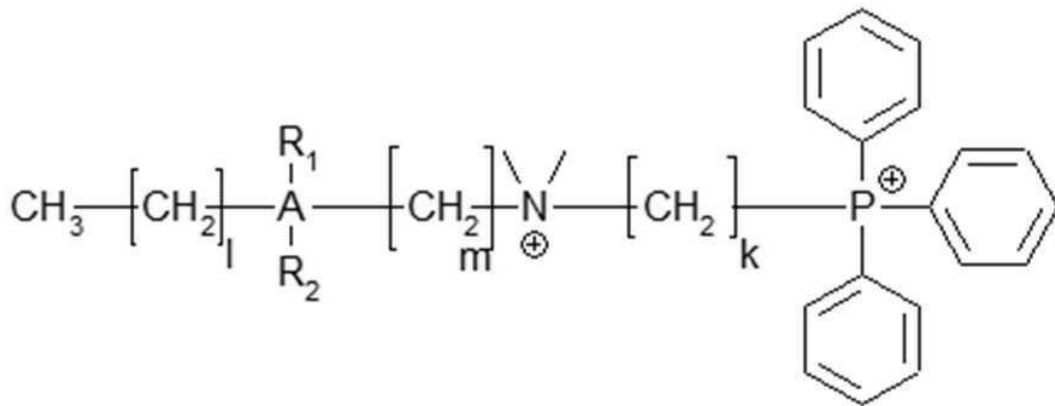
청구항 1

하기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 1]



[화학식 2]



여기에서,

l은 0 내지 15이고,

k, m 및 n은 각각 2 내지 15이고,

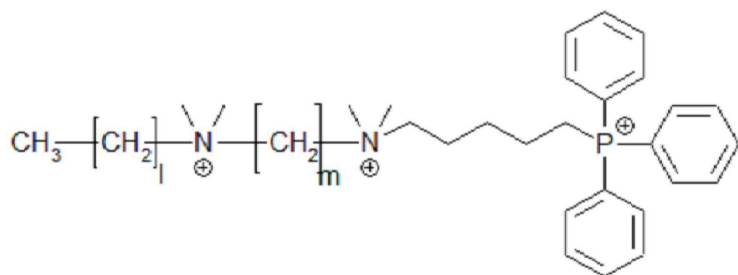
A는 질소(N) 원자 또는 탄소(C)원자이고,

R₁ 및 R₂는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소; 중수소; 할로젠기; -CN; 치환 또는 비치환된 알킬기; 치환 또는 비치환된 알케닐기; 치환 또는 비치환된 알키닐기; 치환 또는 비치환된 알콕시기; 치환 또는 비치환된 시클로알킬기; 치환 또는 비치환된 헤테로시클로알킬기; 치환 또는 비치환된 아릴기; 치환 또는 비치환된 헤테로아릴기; 및 치환 또는 비치환된 알킬기, 치환 또는 비치환된 아릴기 또는 치환 또는 비치환된 헤테로아릴기로 치환 또는 비치환된 아민기로 이루어진 군으로부터 선택된다.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 화학식 2로 표시되는 화합물은 하기 화학식 3으로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 3]

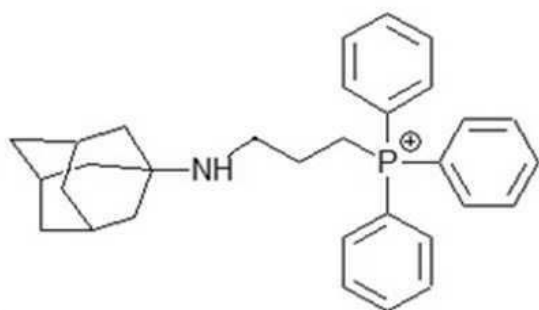


m 및 1은 상기 정의된 바와 같다.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화학식 4로 표시되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

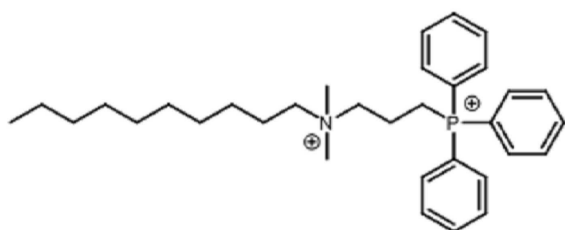
[화학식 4]



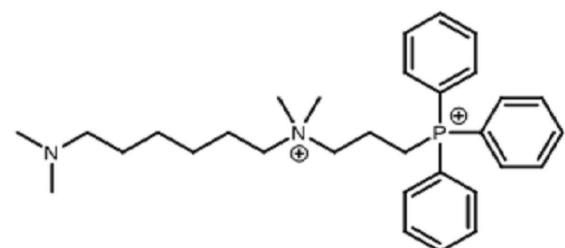
청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 화학식 2로 표시되는 화합물은 하기 화학식 5 내지 12로 표시되는 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나인 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

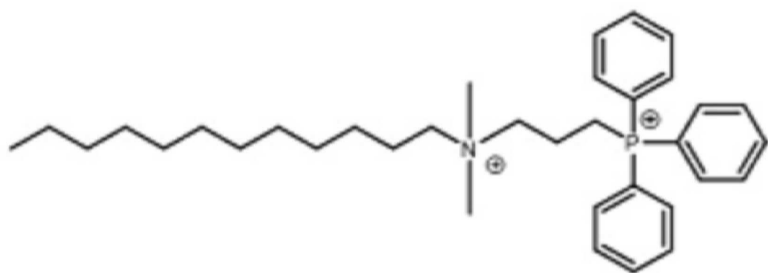
[화학식 5]



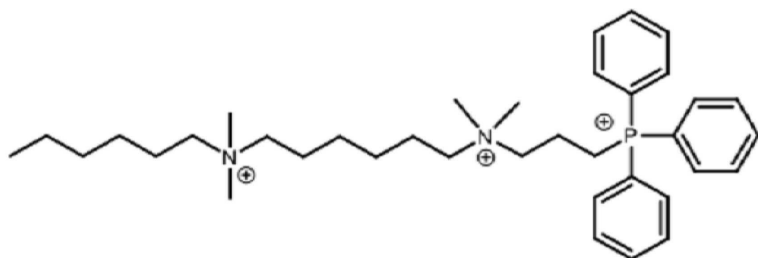
[화학식 6]



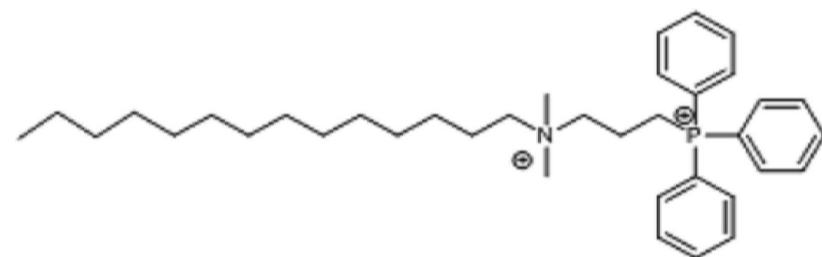
[화학식 7]



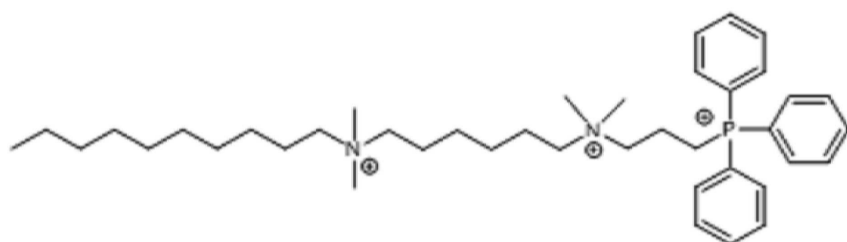
[화학식 8]



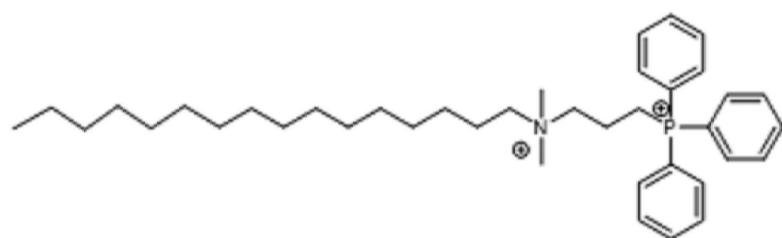
[화학식 9]



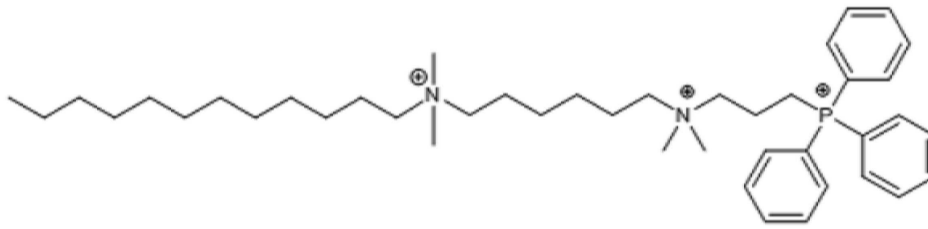
[화학식 10]



[화학식 11]



[화학식 12]



청구항 5

청구항 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 노화 관련 질환의 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물.

청구항 6

청구항 5에 있어서, 상기 노화 관련 질환은 노인성 심혈관 질환 및 장애, 노인성 폐질환, 특발성 폐 섬유증, 만성 폐쇄성 폐질환, 골관절염, 노인 안구 질환 및 피부 노화로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것인, 약학적 조성물.

청구항 7

청구항 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 황반 변성의 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물.

청구항 8

청구항 7에 있어서, 상기 조성물은 황반 세포의 미토콘드리아를 표적으로 하는 것인, 황반 변성의 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물.

청구항 9

청구항 7에 있어서, 상기 조성물은 황반 세포의 미토콘드리아 막의 무결성을 불안정화시키는 것인, 황반 변성의 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물.

청구항 10

청구항 7에 있어서, 상기 조성물은 경구제, 주사제, 점안제 또는 안연고제인 것인, 황반 변성의 예방 또는 치료를 위한 약학 조성물.

청구항 11

청구항 7에 있어서, 상기 황반 변성은 노화로 인해 발생하는 것인, 황반 변성의 예방 또는 치료를 위한 약학 조성물.

청구항 12

청구항 1의 화합물 또는 이의 염을 유효성분으로 포함하는, 안구 건강의 개선을 위한 건강기능성 식품 조성물.

청구항 13

청구항 1의 화합물 또는 이의 염을 유효성분으로 포함하는, 황반 변성의 개선을 위한 건강기능성 식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

TPP 유도체를 포함하는 노화 또는 노화 관련 질환의 치료 또는 예방을 위한 약학적 조성물 또는 건강기능식품 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 노화과정이란 시간이 흐름에 따라 세포의 노화현상과 더불어 다양한 신체의 생화학적 또는 생리적인 기능이 저하되는 것으로써 나이가 들어감에 따라 노화 세포가 생체 내에 축적되고 노화와 관련한 질병들과 밀접한 영향을 미치면서 인간의 수명을 제한할 수 있다. 세포의 노화란 세포가 더 이상 분열하지 않게 되는 것으로, 세포 분열 시 염색체 말단의 염기서열 부위인 텔로미어 길이의 소진으로 인하여 세포가 더 이상 분열하지 않게 되는 복제 노화와 자외선, 바이러스 감염 및 화학물질 등과 같은 외부의 자극이나 스트레스에 의한 암 발생을 억제하는 기작으로써 발생하는 스트레스에 유도된 세포노화가 알려져 있다. 이런 노화세포는 노화세포의 분비 활성(SASP)이라 불리는 특정 성장인자나 생리활성 물질들을 정상세포에 비해 더 많이 분비하여 인접한 세포조직이나 세포외 기질의 미세환경에 영향을 미치면서 염증반응, 생체항상성 및 다양한 생리활성 반응에 관여할 수 있다.
- [0003] 일반적으로 염증반응과 관련된 분비 활성을 분비하는 노화세포들은 다양한 생리화학적 역할을 수행한 후에는 면역 시스템에 의해 제거되어 생체항상성을 유지하도록 하여 생명체가 건강한 생명활동을 수행하면서 안정적인 상태로 활동하게 되지만, 연령이 증가함에 따라서 면역 시스템이 퇴화하고 세포의 자가 치유 능력이 감소하게 됨으로써 노화세포들은 점차 몸에 축적되고 결국 생물체는 만성적으로 염증과 사는 비정상적인 상태에 이르게 되며 암 또는 다양한 노인성 질환에 걸릴 확률이 높아지게 된다.
- [0004] 노인성 질환 중의 하나인 황반 변성은, 65세 이상 노년층에서 약 5-10% 유병률(2014년 기준 국내 121만명)을 보이며, 고령사회의 진입에 따라 이미 급격하게 유병률이 증가하고 있는 심각한 안질환 중의 하나이다. 노년 황반 변성은 건성(dry, 80-90%)과 습성(wet, 10-20%)로 두 가지 종류가 있으며, 이 두 가지 황반 변성의 공통된 병리기전은 망막색소상피(retinal pigment epithelium, RPE) 조직의 퇴화(degeneration)로 망막색소상피에 인접해 있는 광수용체세포 (photoreceptor)가 사멸하는 것이 특징이다. 노년 황반 변성의 병인은, 유전적 요인에 기반한 환경인자의 복잡한 기전에 의해 일어날 수 있는데, 2005년에 GWAS (genome-wide association study)기법을 통하여 complement factor H (CFH) 유전자의 특정 단일염기다형성(single-nucleotide polymorphism : SNP)이 노년 황반 변성과 매우 놀랄만큼 높은 연관성을 보인다는 연구결과가 발표되었다(Klein et al. Science 2005). 그 이래로 현재까지 약 50여개의 위험 allele이 보고되었는데(Fritsche et al. Nat Genet 2016), 이를 5개의 카테고리로 나누었을 때 다수를 차지하는 것은 염증과 면역 반응 관련 유전자였다. 따라서, 노년 황반 변성은, 노화와 외부의 유해한 환경(만성적 산화스트레스 등) 및 이와 동반된 만성 염증에 의해 유발된다고 정리할 수 있다.
- [0005] 따라서 축적된 노화세포들을 선택적으로 제거할 수 있다면 생체항상성 또는 생체조직 재생능력을 향상시켜 생물체의 만성적 염증반응을 회복시켜 노화로 발생하는 황반 변성을 포함한 다양한 질병을 치료하는데 획기적인 방법이 될 수 있다. 최근 노화세포를 제거하는 약물들(senolytics)을 이용하여 퇴행성 관절염, 심혈관질환 등의 퇴행성 질환들을 완화시킬 수 있다는 가능성이 보고되었으나 현재까지 발굴된 senolytic은 5개 안팎 정도이며, 노화세포 클리어런스 분자적 기작이 명확하지 않아 다양한 임상학적 가치를 지닌 노화세포만 제거할 수 있는 의약 후보 물질 발굴연구가 절실하게 필요한 실정이다.

발명의 내용

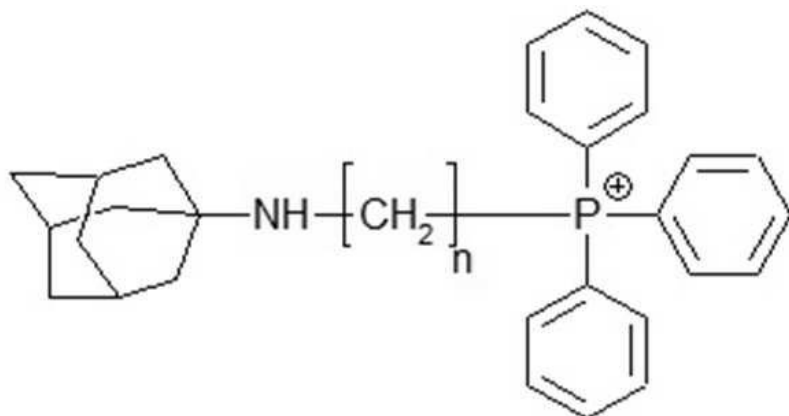
해결하려는 과제

- [0006] 일 양상은 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공하는 것이다.
- [0007] 다른 양상은 일 양상의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 노화 관련 질환의 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [0008] 또 다른 양상은 일 양상의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 황반 변성의 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물을 제공한다.
- [0009] 다른 양상은 일 양상의 화합물 또는 이의 염을 유효성분으로 포함하는, 안구 건강의 개선을 위한 건강기능성 식품 조성물을 제공한다.
- [0010] 또 다른 양상은 일 양상의 따른 화합물 또는 이의 염을 유효성분으로 포함하는, 황반 변성의 개선을 위한 건강기능성 식품 조성물을 제공한다.

과제의 해결 수단

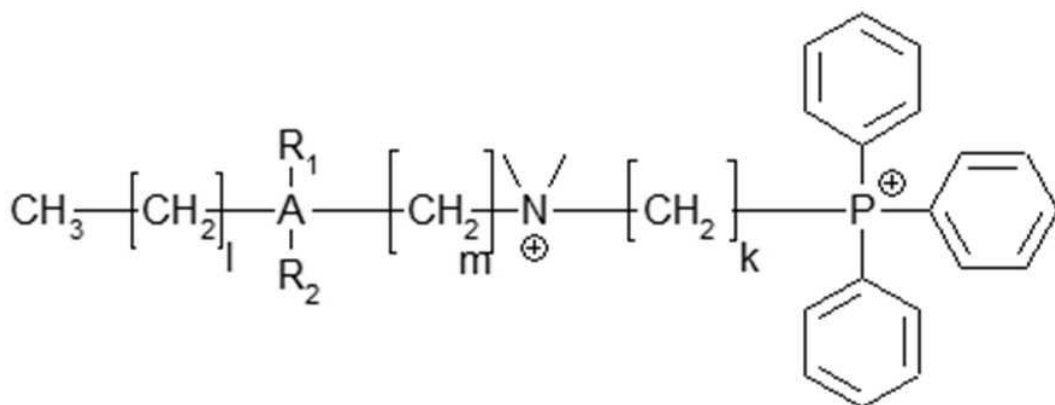
[0011] 일 양상은 하기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0012] [화학식 1]



[0013]

[0014] [화학식 2]



[0015]

[0016] 여기에서, l은 0 내지 15이고,

[0017] k, m 및 n은 각각 2 내지 15이고,

[0018] A는 질소(N) 원자 또는 탄소(C) 원자이고,

[0019] R₁ 및 R₂는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소; 중수소; 할로젠기; -CN; 치환 또는 비치환된 알킬기; 치환 또는 비치환된 알케닐기; 치환 또는 비치환된 알킬닐기; 치환 또는 비치환된 알콕시기; 치환 또는 비치환된 시클로알킬기; 치환 또는 비치환된 헤테로시클로알킬기; 치환 또는 비치환된 아릴기; 치환 또는 비치환된 헤테로아릴기; 및 치환 또는 비치환된 알킬기, 치환 또는 비치환된 아릴기 또는 치환 또는 비치환된 헤테로아릴기로 치환 또는 비치환된 아민기로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0020] 본 명세서에서 "치환"이라는 용어는 화합물의 탄소 원자에 결합된 수소 원자가 다른 치환기로 바뀌는 것을 의미하며, 치환되는 위치는 수소 원자가 치환되는 위치 즉, 치환기가 치환 가능한 위치라면 한정하지 않으며, 2 이상 치환되는 경우, 2 이상의 치환기는 서로 동일하거나 상이할 수 있다.

[0021] 본 명세서에서 용어 "할로젠"은 불소, 염소, 브롬 또는 요오드일 수 있다.

[0022] 본 명세서에서 용어 "알킬기"는 탄소수 1 내지 60의 직쇄 또는 분지쇄를 포함하며, 다른 치환기에 의하여 추가로 치환될 수 있다. 상기 알킬기의 탄소수는 1 내지 60, 구체적으로 1 내지 40, 더욱 구체적으로, 1 내지 20일 수 있다. 구체적인 예로는 메틸기, 에틸기, 프로필기, n-프로필기, 이소프로필기, 부틸기, n-부틸기, 이소부틸기, tert-부틸기, sec-부틸기, 1-메틸-부틸기, 1-에틸-부틸기, 펜틸기, n-펜틸기, 이소펜틸기, 네오펜틸기, tert-펜틸기, 헥실기, n-헥실기, 1-메틸헥실기, 2-메틸헥실기, 4-메틸-2-펜틸기, 3,3-디메틸부틸기, 2-에틸부틸기, 헵틸기, n-헵틸기, 1-메틸헵틸기, 시클로헵틸메틸기, 시클로헥실메틸기, 옥틸기, n-옥틸기, tert-옥틸기, 1-메틸헵틸기, 2-에틸헥실기, 2-프로필펜틸기, n-노닐기, 2,2-디메틸헵틸기, 1-에틸-프로필기, 1,1-디메틸-프로

필기, 이소핵실기, 2-메틸펜틸기, 4-메틸헥실기, 5-메틸헥실기 등이 있으나, 이에만 한정되는 것은 아니다.

[0023] 본 명세서에서 용어 "알케닐기"는 탄소수 2 내지 60의 직쇄 또는 분지쇄를 포함하며, 다른 치환기에 의하여 추가로 치환될 수 있다. 상기 알케닐기의 탄소수는 2 내지 60, 구체적으로 2 내지 40, 더욱 구체적으로, 2 내지 20일 수 있다. 구체적인 예로는 비닐기, 1-프로페닐기, 이소프로페닐기, 1-부테닐기, 2-부테닐기, 3-부테닐기, 1-펜테닐기, 2-펜테닐기, 3-펜테닐기, 3-메틸-1-부테닐기, 1,3-부타디에닐기, 알릴기, 1-페닐비닐-1-일기, 2-페닐비닐-1-일기, 2,2-디페닐비닐-1-일기, 2-페닐-2-(나프틸-1-일)비닐-1-일기, 2,2-비스(디페닐-1-일)비닐-1-일기, 스틸베닐기, 스티레닐기 등이 있으나 이들에 한정되지 않는다.

[0024] 본 명세서에서 용어 "알킬닐기"는 탄소수 2 내지 60의 직쇄 또는 분지쇄를 포함하며, 다른 치환기에 의하여 추가로 치환될 수 있다. 상기 알킬닐기의 탄소수는 2 내지 60, 구체적으로 2 내지 40, 더욱 구체적으로, 2 내지 20일 수 있다.

[0025] 본 명세서에서 용어 "알콕시기"는 직쇄, 분지쇄 또는 고리쇄일 수 있다. 알콕시기의 탄소수는 특별히 한정되지 않으나, 탄소수 1 내지 20인 것이 바람직하다. 구체적으로, 메톡시, 에톡시, n-프로폭시, 이소프로폭시, i-프로필옥시, n-부톡시, 이소부톡시, tert-부톡시, sec-부톡시, n-펜틸옥시, 네오펜틸옥시, 이소펜틸옥시, n-헥실옥시, 3,3-디메틸부틸옥시, 2-에틸부틸옥시, n-옥틸옥시, n-노닐옥시, n-데실옥시, 벤질옥시, p-메틸벤질옥시 등이 될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0026] 본 명세서에서 용어 "시클로알킬기"는 탄소수 3 내지 60의 단환 또는 다환을 포함하며, 다른 치환기에 의하여 추가로 치환될 수 있다. 여기서, 다환이란 시클로알킬기가 다른 고리기와 직접 연결되거나 축합된 기를 의미한다. 여기서, 다른 고리기란 시클로알킬기일 수도 있으나, 다른 종류의 고리기, 예컨대 헤테로시클로알킬기, 아릴기, 헤테로아릴기 등일 수도 있다. 상기 시클로알킬기의 탄소수는 3 내지 60, 구체적으로 3 내지 40, 더욱 구체적으로 5 내지 20일 수 있다. 구체적으로, 시클로프로필기, 시클로부틸기, 시클로펜틸기, 3-메틸시클로펜틸기, 2,3-디메틸시클로펜틸기, 시클로헥실기, 3-메틸시클로헥실기, 4-메틸시클로헥실기, 2,3-디메틸시클로헥실기, 3,4,5-트리메틸시클로헥실기, 4-tert-부틸시클로헥실기, 시클로헵틸기, 시클로옥틸기 등이 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0027] 본 명세서에서 용어 "헤테로시클로알킬기"는 헤테로 원자로서 O, S, Se, N 또는 Si를 포함하고, 탄소수 2 내지 60의 단환 또는 다환을 포함하며, 다른 치환기에 의하여 추가로 치환될 수 있다. 여기서, 다환이란 헤테로 시클로알킬기가 다른 고리기와 직접 연결되거나 축합된 기를 의미한다. 여기서, 다른 고리기란 헤테로시클로알킬기일 수도 있으나, 다른 종류의 고리기, 예컨대 시클로알킬기, 아릴기, 헤테로아릴기 등일 수도 있다. 상기 헤테로시클로알킬기의 탄소수는 2 내지 60, 구체적으로 2 내지 40, 더욱 구체적으로 3 내지 20일 수 있다.

[0028] 본 명세서에서 용어 "아릴기"는 탄소수 6 내지 60의 단환 또는 다환을 포함하며, 다른 치환기에 의하여 추가로 치환될 수 있다. 여기서, 다환이란 아릴기가 다른 고리기와 직접 연결되거나 축합된 기를 의미한다. 여기서, 다른 고리기란 아릴기일 수도 있으나, 다른 종류의 고리기, 예컨대 시클로알킬기, 헤테로시클로알킬기, 헤테로아릴기 등일 수도 있다. 상기 아릴기는 스피로기를 포함한다. 상기 아릴기의 탄소수는 6 내지 60, 구체적으로 6 내지 40, 더욱 구체적으로 6 내지 25일 수 있다. 상기 아릴기의 구체적인 예로는 페닐기, 비페닐기, 트리페닐기, 나프틸기, 안트릴기, 크라이세닐기, 페난트레닐기, 페릴레닐기, 플루오란테닐기, 트리페닐레닐기, 페날레닐기, 파이라닐기, 테트라세닐기, 펜타세닐기, 플루오레닐기, 인데닐기, 아세나프틸레닐기, 벤조플루오레닐기, 스피로비플루오레닐기, 2,3-디히드로-1H-인데닐기, 이들의 축합고리기 등을 들 수 있으나, 이에만 한정되는 것은 아니다.

[0029] 본 명세서에서, 용어 "헤테로아릴기"는 헤테로 원자로서 S, O, Se, N 또는 Si를 포함하고, 탄소수 2 내지 60인 단환 또는 다환을 포함하며, 다른 치환기에 의하여 추가로 치환될 수 있다. 여기서, 상기 다환이란 헤테로아릴기가 다른 고리기와 직접 연결되거나 축합된 기를 의미한다. 여기서, 다른 고리기란 헤테로아릴기일 수도 있으나, 다른 종류의 고리기, 예컨대 시클로알킬기, 헤테로시클로알킬기, 아릴기 등일 수도 있다. 상기 헤테로아릴기의 탄소수는 2 내지 60, 구체적으로 2 내지 40, 더욱 구체적으로 3 내지 25일 수 있다. 상기 헤테로아릴기의 구체적인 예로는 피리딜기, 피롤릴기, 피리미딜기, 피리다지닐기, 푸라닐기, 티오펜기, 이미다졸릴기, 피라졸릴기, 옥사졸릴기, 이속사졸릴기, 티아졸릴기, 이소티아졸릴기, 트리아졸릴기, 푸라자닐기, 옥사디아졸릴기, 티아디아졸릴기, 디티아졸릴기, 테트라졸릴기, 파이라닐기, 티오파이라닐기, 디아지닐기, 옥사지닐기, 티아지닐기, 디옥시닐기, 트리아지닐기, 테트라지닐기, 퀴놀릴기, 이소퀴놀릴기, 퀴나졸리닐기, 이소퀴나졸리닐기, 퀴노졸리릴기, 나프티리딜기, 아크리디닐기, 페난트리디닐기, 이미다조피리디닐기, 디아자나프탈레닐기, 트리아자인텐기, 인돌릴기, 인돌리지닐기, 벤조티아졸릴기, 벤즈옥사졸릴기, 벤즈이미다졸릴기, 벤조티오펜기,

벤조푸란기, 디벤조티오펜기, 디벤조푸란기, 카바졸릴기, 벤조카바졸릴기, 디벤조카바졸릴기, 페나지닐기, 디벤조실릴기, 스피로비(디벤조실릴), 디히드로페나지닐기, 페녹사지닐기, 페난트리딜기, 이미다조피리디닐기, 티에닐기, 인돌로[2,3-a]카바졸릴기, 인돌로[2,3-b]카바졸릴기, 인돌리닐기, 10,11-디히드로-디벤조[b,f]아제핀기, 9,10-디히드로아크리디닐기, 페난트라지닐기, 페노티아티아지닐기, 프탈라지닐기, 나프틸리디닐기, 페난트롤리닐기, 벤조[c][1,2,5]티아디아졸릴기, 5,10-디히드로디벤조[b,e][1,4]아자실리닐, 피라졸로[1,5-c]퀴나졸리닐기, 피리도[1,2-b]인다졸릴기, 피리도[1,2-a]이미다조[1,2-e]인돌리닐기, 5,11-디히드로인테노[1,2-b]카바졸릴기 등을 들 수 있으나, 이에만 한정되는 것은 아니다.

[0030] 본 명세서에서, 용어 "아민기"는 모노알킬아민기; 모노아릴아민기; 모노헤테로아릴아민기; -NH₂; 디알킬아민기; 디아릴아민기; 디헤테로아릴아민기; 알킬아릴아민기; 알킬헤테로아릴아민기; 및 아릴헤테로아릴아민기로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있으며, 탄소수는 특별히 한정되지 않으나, 1 내지 30인 것이 바람직하다. 상기 아민기의 구체적인 예로는 메틸아민기, 디메틸아민기, 에틸아민기, 디에틸아민기, 페닐아민기, 나프틸아민기, 비페닐아민기, 디비페닐아민기, 안트라세닐아민기, 9-메틸-안트라세닐아민기, 디페닐아민기, 페닐나프틸아민기, 디톨릴아민기, 페닐톨릴아민기, 트리페닐아민기, 비페닐나프틸아민기, 페닐비페닐아민기, 비페닐플루오레닐아민기, 페닐트리페닐레닐아민기, 비페닐트리페닐레닐아민기 등이 있으나, 이들에만 한정되는 것은 아니다.

[0031] 본 명세서에 있어서, "치환 또는 비치환"이란 C1 내지 C60의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬; C2 내지 C60의 직쇄 또는 분지쇄의 알케닐; C2 내지 C60의 직쇄 또는 분지쇄의 알키닐; C3 내지 C60의 단환 또는 다환의 시클로알킬; C2 내지 C60의 단환 또는 다환의 헤테로시클로알킬; C6 내지 C60의 단환 또는 다환의 아릴; C2 내지 C60의 단환 또는 다환의 헤테로아릴; -SiRR'R"; -P(=O)RR'; C1 내지 C20의 알킬아민; C6 내지 C60의 단환 또는 다환의 아릴아민; 및 C2 내지 C60의 단환 또는 다환의 헤테로아릴아민으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 이상의 치환기로 치환 또는 비치환되거나, 상기 예시된 치환기 중에서 선택된 2 이상의 치환기가 연결된 치환기로 치환 또는 비치환된 것을 의미한다.

[0032] 본 명세서에서 사용된 용어, "약학적으로 허용 가능한"은 과도한 독성, 자극, 알러지 반응 또는 기타 문제점 또는 합병증 없이 이득/위험 비가 합리적이어서 대상체(예: 인간)의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합하며 건전한 의학적 판단의 범주 이내인 조성물을 의미한다.

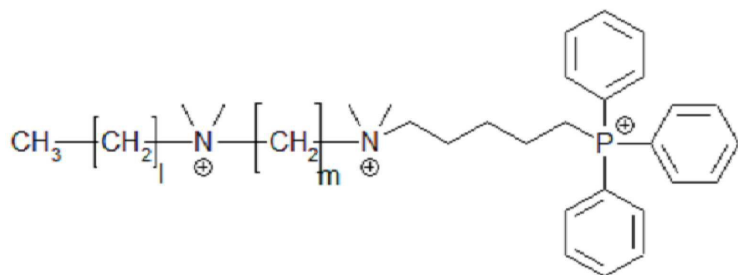
[0033] 본 명세서에서 사용된 용어, "약학적으로 허용 가능한 염"은 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산 또는 아인산과 같은 무기산류와 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설폰산류와 같은 무독성 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로젠 포스페이트, 디하이드로젠 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β-하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 또는 만델레이트를 포함할 수 있다.

[0034] 상기 산 부가염은 통상의 방법, 예를 들면, 상기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물을 과량의 산 수용액 중에 용해시키고, 이 염을 수산화성 유기 용매, 예를 들면 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조할 수 있다. 또한 이 혼합물에서 용매나 과량의 산을 증발시킨 후 건조시키거나 또는 석출된 염을 흡입 여과시켜 제조할 수도 있다.

[0035] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수도 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은 예를 들면, 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻을 수 있다. 이때, 금속염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다. 이에 대응하는 은염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 음염(예, 질산은)과 반응시켜 얻을 수 있다.

[0036] 일 구체예에 있어서, 상기 화학식 2로 표시되는 화합물은 하기 화학식 3으로 표시되는 것일 수 있다.

[0037] [화학식 3]

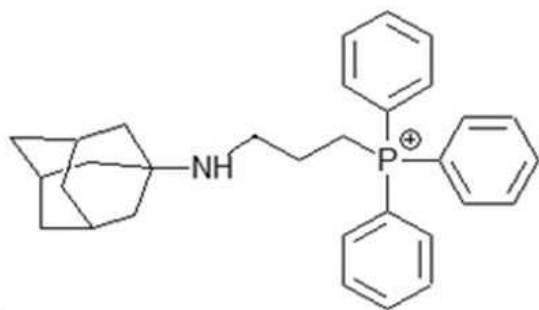


[0038]

[0039] m 및 l은 상기 정의된 바와 같다.

[0040] 일 구체예에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화학식 4로 표시되는 것일 수 있다.

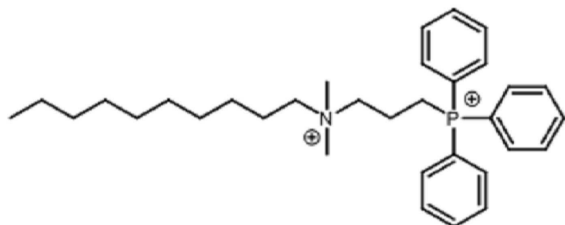
[0041] [화학식 4]



[0042]

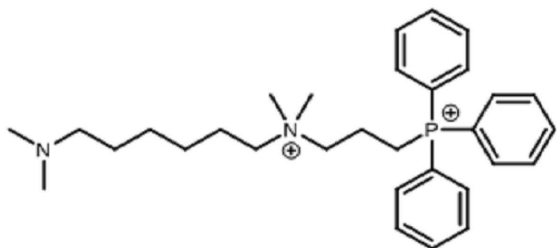
[0043] 또 다른 일 구체예에 있어서, 상기 화학식 2로 표시되는 화합물은 하기 화학식 5 내지 12로 표시되는 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나인 것일 수 있다.

[0044] [화학식 5]



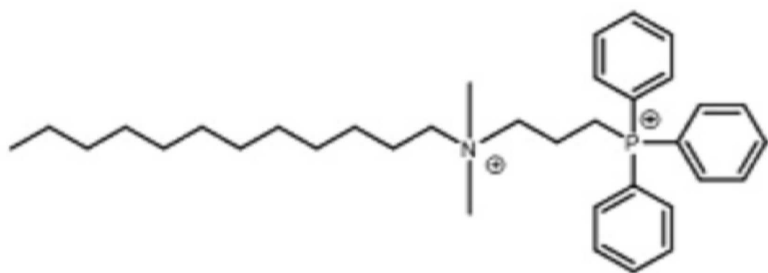
[0045]

[0046] [화학식 6]



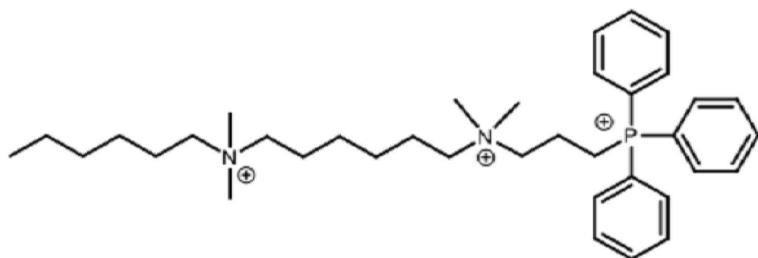
[0047]

[0048] [화학식 7]



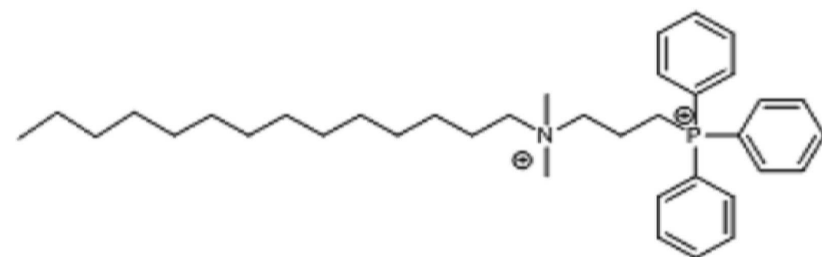
[0049]

[0050] [화학식 8]



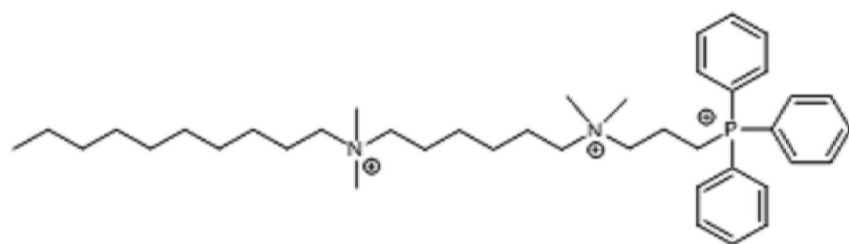
[0051]

[0052] [화학식 9]



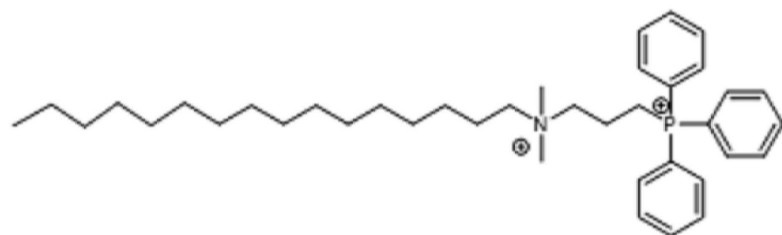
[0053]

[0054] [화학식 10]



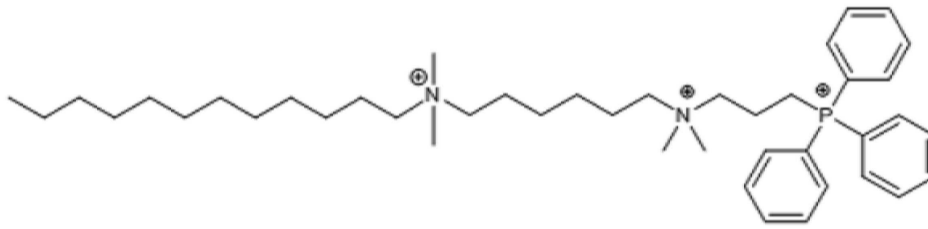
[0055]

[0056] [화학식 11]



[0057]

[0058] [화학식 12]



[0059]

[0060] 다른 양상은 일 양상의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 노화 관련 질환의 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물을 제공한다.

[0061] 본 명세서에서 사용된 용어, "예방"은 본 발명에 따른 약학 조성물의 투여에 의해 노화 관련 질환을 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[0062] 본 명세서에서 사용된 용어, "치료"는 본 발명에 따른 약학 조성물의 투여에 의해 노화 관련 질환에 대한 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[0063] 상기 약학 조성물은 유효성분 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 이때, 약학적으로 허용 가능한 담체는 제제시 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아, 고무, 인산칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세 결정성 셀룰로스, 폴리비닐 피로리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필 히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0064] 상기 노화 관련 질환은 노인성 심혈관 질환 및 장애, 노인성 폐질환, 특발성 폐 섬유증, 만성 폐쇄성 폐질환, 골관절염, 노인 안구 질환 및 피부 노화로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것일 수 있다. 일반적으로 염증반응과 관련된 분비 활성을 분비하는 노화세포들은 다양한 생리화학적 역할을 수행한 후에는 면역 시스템에 의해 제거되어 생체항상성을 유지하도록 하여 생명체가 건강한 생명활동을 수행하면서 안정적인 상태로 활동하게 되지만, 연령이 증가함에 따라서 면역 시스템이 퇴화하고 세포의 자가 치유 능력이 감소하게 됨으로써 노화 세포들은 점차 몸에 축적되고 결국 생물체는 만성적으로 염증과 사는 비정상적인 상태에 이르게 되며 암 또는 다양한 노인성 질환에 걸릴 확률이 높아지게 된다. 이에 따라 약학조성물 내지 화합물에 의하여 축적된 노화세포들을 선택적으로 제거할 수 있다면 생체항상성 또는 생체조직 재생능력을 향상시켜 생물체의 만성적 염증반응을 회복시켜 상기 노화 관련 질환을 치료하는 유효한 물질이 될 수 있다. 일 실시예에 따르면, 상기 약학 조성물은 노화세포의 미토콘드리아에 축적되어 미토콘드리아의 막의 무결성(integrity)을 불안정화, 미토콘드리아에서 superoxide의 생성 및 세포사멸(apoptosis)을 유도할 수 있어, 노화세포를 선택적으로 제거할 수 있다. 따라서, 상기 약학 조성물은 노화 관련 질환의 예방 또는 치료를 위한 유효물질로 사용될 수 있다.

[0065] 상기 약학 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여(경구제)하거나 비경구투여(예를 들어, 주사제로서 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있으며, 예를 들어, 피하(즉, 피부 외용제) 또는 경구(즉, 경구제) 투여될 수 있다. 또한, 점안제일 수 있다. 상기 용어 "점안제"는 점안액, 안환류액, 안연고제 또는 동결건조제의 제형, 즉 눈의 치료에 관한 모든 제형을 포함한다. 상기 점안제는 임의 제형으로 각결막 상피세포 장애의 치료 또는 예방약으로서 사용되나 특히 점안액, 안환류액, 크림, 안연고제 또는 동결건조제의 제형으로 하는 것이 바람직할 수 있으나 이것으로 한정되는 것은 아니다. 점안액, 안연고제, 크림으로 하는 경우, 첨가제로서 데히드로초산나트륨, 파라옥시안식향산메틸 등의 보존제, 염화나트륨, 글리세린 등의 등장화제(等張化劑), 카르복시메틸셀룰로스, 폴리비닐알콜 등의 증점제, EDTA, 다당류 등의 안정화제의 일반적인 것을 사용하는 것이 가능하나, 이들로 한정하는 것은 아니며, 생리적으로 허용되는 것이면 된다. 상기 각종 제형에 첨가되는 완충액으로는, 등장(isotonic)으로 pH 4-9, pH 5-9의 무자극인 것을 사용하는 것이 바람직하다. 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 시간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다.

[0066] 상기 약학 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여할 수 있다. 용어 "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사

용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명에 다른 약학 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0067] 상기 약학 조성물의 유효량은 환자의 연령, 성별, 상태, 체중, 체내에 활성 성분의 흡수도, 불활성을 및 배설속도, 질병종류, 병용되는 약물에 따라 달라질 수 있으며, 일반적으로는 하루에 체중 1 kg 당 0.1 내지 500 mg의 범위 내일 수 있고, 매일 또는 격일로 투여되거나, 1일 1 내지 5회의 범위 내로 나누어 투여될 수 있다. 그러나 투여 경로, 비만의 중증도, 성별, 체중, 연령 등에 따라서 증감 될 수 있으므로 상기 투여량이 어떠한 방법으로든 그 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0068] 또 다른 양상은 일 양상의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 황반 변성의 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물을 제공한다.

[0069] 일 구체예에서 상기 조성물은 황반 세포의 미토콘드리아를 표적으로 하는 것일 수 있다. 더 나아가 상기 조성물은 황반 세포의 미토콘드리아 막의 무결성을 불안정화시키는 것일 수 있다. 상기 조성물이 포함하는 일 양상의 화합물은 미토콘드리아를 지향하는 TPP(triphenylphosphate)기에 소수성 알킬 그룹과 양전하 모이어티(cationic moiety)가 결합되어 있는 구조이며, 이는 미토콘드리아에 축적되어 미토콘드리아 막(membrane)의 무결성(integrity)을 불안정하게 만들 수 있다. 또한, 일 실시예에 따르면 상기 조성물은 정상세포에 비해 노화세포의 미토콘드리아 막의 무결성을 보다 더 방해하여, 노화세포의 산화스트레스를 주게 되고, 이에 선택적으로 노화세포의 세포사멸을 유도할 수 있다. 따라서, 일 실시예에 따르면, 상기 조성물은 노화된 안구 세포를 선택적으로 제거할 수 있다

[0070] 상기 황반 변성은, 65세 이상 노년층에서 약 5-10% 유병률(2014년 기준 국내 121만명)을 보이며, 고령사회의 진입에 따라 이미 급격하게 유병률이 증가하고 있는 심각한 안질환 중의 하나이다. 황반 변성, 특히 노년 황반 변성의 병인은 유전적 요인에 기반한 환경인자의 복잡한 기전에 의해 일어날 수 있는데, 주로 염증과 면역 반응 관련 유전자였다. 따라서, 노년 황반 변성은, 노화와 외부의 유해한 환경(만성적 산화스트레스 등) 및 이와 동반된 만성 염증에 의해 유발될 수 있다. 즉, 일 구체예에서 상기 황반 변성은 노화로 인해 발생하는 것일 수 있다.

[0071] 따라서 일 실시예에 따른 상기 조성물은 황반 변성 세포의 미토콘드리아 특이적으로 축적되어 미토콘드리아 막의 무결성을 불안정화 시키고, 미토콘드리아 내에 superoxide의 발생 또는 세포사멸을 유도함에 따라, 황반 변성의 예방 또는 치료에 유효물질이 될 수 있다.

[0072] 일 구체예에서 상기 조성물은 경구제, 주사제, 점안제 또는 안연고제인 것일 수 있다.

[0073] 상기 약학적 조성물들에서 언급된 용어 또는 요소 중 청구된 화합물에 대한 설명에서 언급된 것과 같은 것은, 앞에서 청구된 화합물에 대한 설명에서 언급된 바와 같은 것으로 이해된다.

[0074] 다른 양상은 일 양상의 화합물 또는 이의 염을 유효성분으로 포함하는, 안구 건강의 개선을 위한 건강기능성 식품 조성물을 제공한다.

[0075] 본 명세서에서 사용된 용어, "개선"은 비정상적인 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미한다. 이때 상기 건강 기능성 식품 조성물은 노화의 예방 또는 개선을 위하여 해당 질환의 발병 단계 이전 또는 발병 후, 치료를 위한 약제와 동시에 또는 별개로서 사용될 수 있다.

[0076] 본 명세서에서 사용된 용어, "염"은 식품학적으로 허용 가능한 염을 의미하며, 이들 염은 당해 분야의 통상적인 방법에 따라 제조될 수 있다.

[0077] 상기 식품 조성물은 유효성분을 식품에 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방 또는 개선용)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 본 발명의 조성물은 원료에 대하여 60 중량% 이하, 바람직하게는 40 중량% 이하의 양으로 첨가된다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있다.

[0078] 상기 식품 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 유효성분을 함유하는 것외에 추가되는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어

말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알코올이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등)) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 당업자의 선택에 의해 적절하게 결정될 수 있다.

[0079] 상기 외에도, 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 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. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율 또한 당업자에 의해 적절히 선택될 수 있다.

[0080] 일 실시예에 따른 상기 식품 조성물은 노화된 안구세포의 미토콘드리아에서 superoxide의 생성시키고, 세포사멸(apoptosis)을 유도함에 따라, 노화된 안구세포를 선택적으로 제거할 수 있다. 따라서, 일 실시예에 따른 상기 식품 조성물은 안구 건강의 개선을 위한 유효물질로 사용될 수 있다.

[0081] 상기 식품 조성물에서 언급된 용어 또는 요소 중 청구된 화합물 또는 약학 조성물에 대한 설명에서 언급된 것과 같은 것은, 앞에서 청구된 화합물 또는 약학조성물에 대한 설명에서 언급된 바와 같은 것으로 이해된다.

[0082] 또 다른 양상은 일 양상의 화합물 또는 이의 염을 유효성분으로 포함하는, 황반 변성의 개선을 위한 건강기능성 식품 조성물을 제공한다. 일 구체예에서 상기 황반 변성은 노화로 인해 발생하는 것일 수 있다.

[0083] 상기 황반 변성의 개선을 위한 식품 조성물에서 언급된 용어 또는 요소 중 청구된 화합물, 약학 조성물 및 식품 조성물에 대한 설명에서 언급된 것과 같은 것은, 앞에서 청구된 것에 대한 설명에서 언급된 바와 같은 것으로 이해된다.

[0084] 출원에서 개시된 각각의 설명 및 실시형태는 각각의 다른 설명 및 실시 형태에도 적용될 수 있다. 즉, 본 출원에서 개시된 다양한 요소들의 모든 조합이 본 출원의 범주에 속한다. 또한, 하기 기술된 구체적인 서술에 의하여 본 출원의 범주가 제한된다고 볼 수 없다.

발명의 효과

[0085] 일 양상에 따른 화합물 및 이를 포함하는 약학 조성물 내지 건강기능식품 조성물은, 노화 세포의 미토콘드리아 선택적으로 축적되어, 세포 독성 효과를 발생시켜 이를 제거할 수 있어 황반 변성을 포함하는 노화와 관련한 질환의 증상을 예방, 개선 또는 치료할 수 있는 바, 기존의 치료제를 대체할 수 있는 유효 물질로 활용될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

[0086] 도 1a는 일 구체예의 화합물 Ada-C3-TPP의 화학반응 모식도와 NMR 결과를 나타낸 도면이다.
 도 1b는 일 구체예의 화합물 C12-DA-C6-DA-C3-TPP의 화학반응 모식도와 NMR 결과를 나타낸 도면이다.
 도 2는 IMR90 비노화세포(정상세포) 및 이로부터 유도된 노화세포를 나타낸 이미지이다.
 도 3a는 노화세포와 비노화세포에 일 구체예의 화합물을 처리한 후 세포독성 효과를 나타낸 그래프이다.
 도 4는 일 구체예의 화합물을 처리한 노화세포와 비노화세포에 TRMR 실험을 한 후 결과를 나타낸 이미지이다.
 도 5a 및 5b는 일 구체예의 화합물을 처리한 노화세포와 비노화세포의 미토콘드리아의 superoxide 생성 여부를 나타낸 이미지이다.
 도 6은 일 구체예의 화합물을 처리한 노화세포와 비노화세포의 세포사멸 효과를 나타낸 그래프이다.
 도 7a 및 7b는 일 구체예의 화합물을 마우스 노화 안구세포에 처리한 후, 그 제거 효과를 나타낸 이미지이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0087] 이하 본 발명을 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

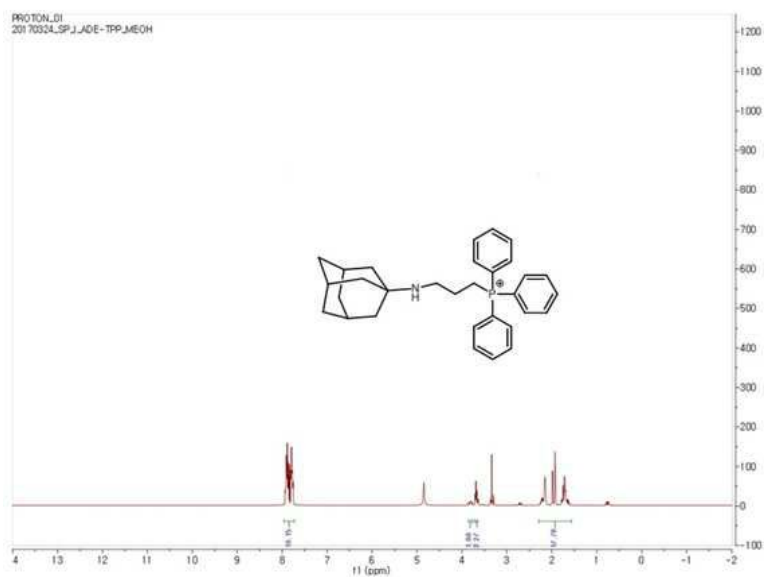
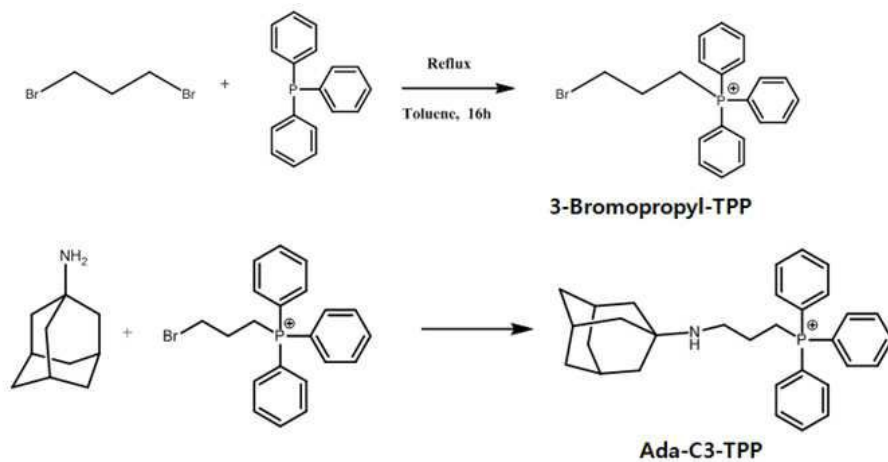
[0088] 실시예 1. 화합물 합성

- [0089] **1.1. Ada-C3-TPP의 합성**
- [0090] 1,3-디브로모 프로판(1,3-Dibromopropane) 3.8mmol(0.769g) 및 트리페닐 포스핀(Triphenylphosphine) 3.8 mmol(1.0g)을 10 mL의 톨루엔에 용해시켰다. 반응을 110 °C에서 3일간 가열한 후, 침전된 백색을 여과하고 추가로 50mL의 톨루엔 및 에테르로 세척하였다. 그리고 생성된 3-브로모프로필-트리페닐포스페이트 (3-Bromopropyl-TPP)를 건조시켰다. 생성물은 백색 고체였다.
- [0091] 상기 3-브로모프로필-TPP 1.30mmol(0.5g) 및 아다만틸 아민 1.5mmol을 12mL의 ACN에 용해시켰다. 반응을 110°C에서 24시간 동안 가열한 후, 혼합물을 HPLC로 정제하여 최종 생성물인 Ada-C3-TPP를 생성하였다. 생성물은 황색의 오일이었다. 상기 Ada-C3-TPP를 NMR을 통하여 확인하였다. 상기 화학 반응에 대한 대략적인 모식도와 상기 NMR 결과는 도 1a에 나타내었다.
- [0092] **1.2. C12-DA-C6-DA-C3-TPP 합성**
- [0093] 3-브로모프로필-TPP 1.30mmol(0.5g) 및 N,N',N'-테트라메틸-1,6-디아 미노헥산 6.5mmol(1.2g)을 12mL의 아세 토니트릴(acetonitrile : ACN)에 용해시켰다. 110 °C에서 24시간 동안 가열한 후, 혼합물을 HPLC로 정제하여 (6-디메틸아미노헥실)-3-디메틸아미노-프로필-트리페닐포스페이트((6-dimethylaminohexyl)-3-dimethylammonio-propyl-TPP)를 생성하였다. 상기 생성물은 황색 오일이었다.
- [0094] 1-브로모도데칸 0.63mmol(187 μL) 및 상기 (6-디메틸아미노헥실)-3-디메틸아미노-프로필-트리페닐포스페이트 0.21mmol(0.1g)를 5mL의 ACN에 용해시켰다. 110 °C에서 24 시간 동안 가열한 후, 혼합물을 HPLC로 정제하여, 최종으로 C12-DA-C6-DA-C3-TPP를 생성하였다. 상기 생성물은 백색 고체였다. 상기 C12-DA-C6-DA-C3-TPP를 NMR 을 통하여 확인하였다. 상기 화학 반응에 대한 대략적인 모식도와 상기 NMR 결과는 도 1b에 나타내었다.
- [0095] **참고예 1. 노화세포의 유도**
- [0096] 우선, 정상 IMR90세포에 독소루비신(doxorubicin) 250nM를 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 7일 동안 신선한 DMEM 배지에서 배양한 후, 노화세포를 확인하였다. 그 결과 정상 IMR90 세포의 90% 이상이 노화세포화 되었음을 확인하였다. 해당 결과는 도 2에 나타내었다.
- [0097] **실험예 1. 세포 생존률 실험**
- [0098] 본 실험예에서는 상기 실시예 1에서 제조된 두 화합물이 참고예 1에서 배양된 노화세포의 세포생존률(cell viability)에 끼치는 영향을 알아보고자 하였다.
- [0099] 실시예 1에서 생성된 각 화합물을 참고예 1에서 배양한 노화세포와 비노화세포 각각에 처리하였고, 24, 48, 및 72시간에 걸쳐 세포수를 각 계수하였다. 해당 결과는 도 3a 및 3b에 각 나타내었다.
- [0100] 도 3a 및 3b에 나타낸 바와 같이, 두 화합물 모두, 비노화세포 보다 노화세포에서의 세포 생존률이 낮아졌음을 확인할 수 있었다. 이는 상기 두 화합물이 비노화세포보다 노화세포에 선택적으로 작용하여 사멸시킬 수 있음을 나타낸다.
- [0101] **실험예 2. TRMR 실험**
- [0102] 본 실험예에서는 상기 실시예 1에서 제조된 두 화합물이 참고예 1에서 배양된 노화세포의 미토콘드리아 막 전위 차에 끼치는 영향을 확인하고자 하였다. 그러기 위하여 미토콘드리아의 막 전위차 변화를 나타내게 하는 Tetramethylrhodamine, methyl ester (TMRM) 염색과 세포핵으로서의 투과성을 확인하기 위해 4',6-diamidino-2-phenylindole(DAPI) 염색을 수행하였다. 정상 세포와 노화 세포에 아무것도 처리하지 않은 대조군과, 상기 두 화합물 각각을 처리한 후, 염색을 통해 미토콘드리아 막을 확인하였다. 해당 결과는 도 4에 나타내었다.
- [0103] 도 4에 나타낸 바와 같이, 두 화합물은 선택적으로 노화세포의 미토콘드리아 막(membrane)의 전위차를 낮추어 주고 있음을 확인하였다. 이것은 미토콘드리아를 지향하는 두 가지 화합물이 비노화세포 보다 노화세포의 미토 콘드리아 막의 무결성(integrity)을 더 방해할 수 있음을 나타낸다.
- [0104] **실험예 3. Superoxide 생성 실험**
- [0105] 본 실험예에서는 상기 두 화합물이 노화세포의 미토콘드리아 내 Superoxide의 생성에 끼치는 영향을 확인하고자 하였다. 실험은 상기 실험예 2에서와 같이 진행하였고, MitoSOX Red reagent를 사용해 형광 현미경으로 가시 화하였다. 또한, 별도로 세포의 DNA에 삽입되면 핵을 밝은 적색으로 염색하는 DHE 실험을 수행하였다. 해당 결 과는 도 5a 및 5b에 각 나타내었다.

- [0106] 도 5a 및 5b에 나타난 바와 같이, Superoxide의 생성량이 많을수록, MitoSOX와 DHE의 붉은색이 더 강하게 나타나는데, 두 화합물은 모두 비노화세포에 비해 노화세포에서 Superoxide의 생성을 강화시켰다. 이를 통해, 두 화합물은 노화세포에 선택적으로 세포독성의 효과를 나타내는 것을 알 수 있다.
- [0107] **실험예 4. 세포 사멸 효과 실험**
- [0108] 본 실험예에서는 세포 독성을 일으키는 다른 방법중의 하나인 세포사멸(apoptosis) 유도 효과를 두 화합물이 발생시키는지 여부를 확인하고자 하였다. Annexin V 실험을 통해 이를 확인하였고, 해당 결과는 도 6에 나타내었다.
- [0109] 도 6에 나타난 바와 같이, 두 화합물 모두 비노화 정상 세포보다 노화세포에서 세포사멸을 더 유도하는 것으로 나타났다. 이는 상기 실시예들에서 설명한 바와 같이, 두 화합물이 비노화세포보다 노화세포에서 선택적으로 세포독성을 일으킬 수 있음을 의미한다.
- [0110] **실험예 5. 동물 모델**
- [0111] 본 실험예에서는 상기 화합물이 동물의 노화세포에서도 세포독성을 발생시키는지, 그리고 화합물의 농도에 의존적인지 여부를 확인하고자 하였다. 이에, 8주령의 C57BL/6 마우스의 안구에 100ng/ul의 독소루비신을 투여하고, 동시에 90.9 ng/ml의 Ada-C3-TPP와 129.0 ng/ml의 C12-DA-C6-DA-C3-TPP를 투여하였다. 3일 후 다시 같은 농도의 독소루비신과 두 화합물을 투여하였다. 같은 방법으로, 화합물의 농도를 각 363.6ng/ml(Ada-C3-TPP), 516.0ng/ml(C12-DA-C6-DA-C3-TPP)로 증량하여, 각 투여하였다. 그리고 7일째 날에 β -galactosidase 염색법을 통해 그 화합물의 효과를 확인하였다. 그 결과는 도 7a 및 7b에 각 나타내었다.
- [0112] 도 7a는 상대적으로 낮은 농도의 화합물을 투여하였을 때의 결과를 나타낸다. 도 7a가 나타내는 바와 같이, 대조군에서 β -galactosidase 녹색염색 발현은 안구세포의 노화가 유도되어 있음을 나타내고, 두 화합물을 투여하였을 때 β -galactosidase 녹색염색 발현이 현저하게 줄어들었는데, 이것은 두 화합물이 안구내 노화세포에 세포독성 효과를 보였음을 의미한다.
- [0113] 도 7b는 상대적으로 높은 농도의 화합물을 투여하였을 때의 결과를 나타내는데, 이 또한, 두 화합물을 투여하였을 때 β -galactosidase 녹색염색 발현이 현저하게 줄어들어 두 화합물이 노화된 안구세포에 세포독성 효과를 보였음을 나타내고 있다. 따라서, 상기 결과들은 두 화합물이 노화된 안구세포에서 성공적으로 세포 독성 효과를 발생시켰음을 의미한다.

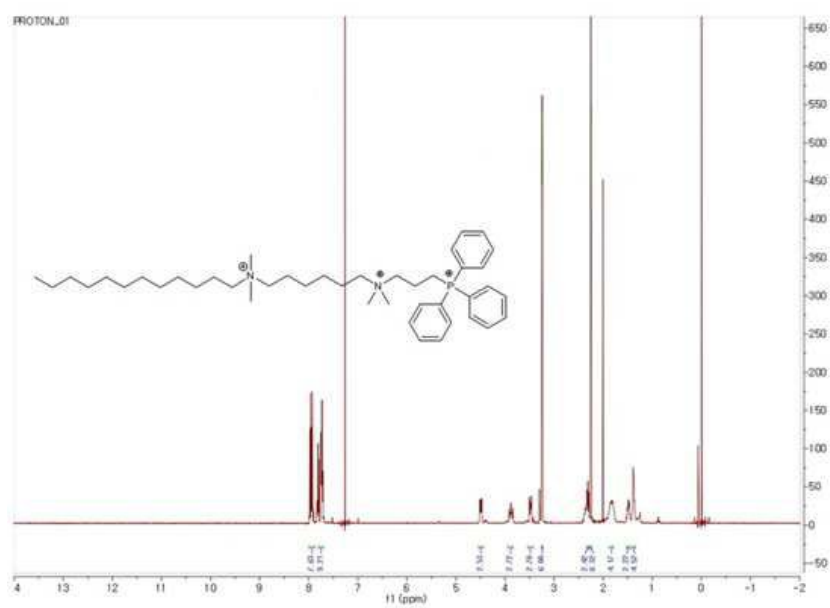
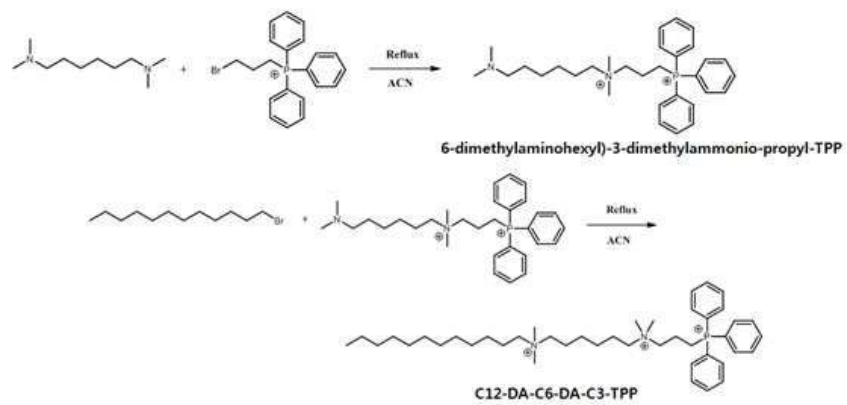
도면

도면1a



Ada-C3-TPP

도면 1b



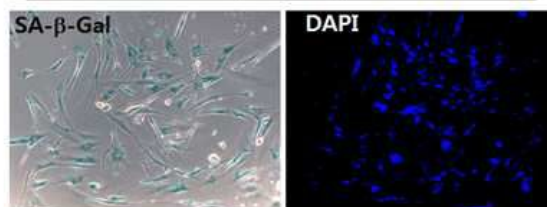
C12-DA-C6-DA-C3-TPP

도면2

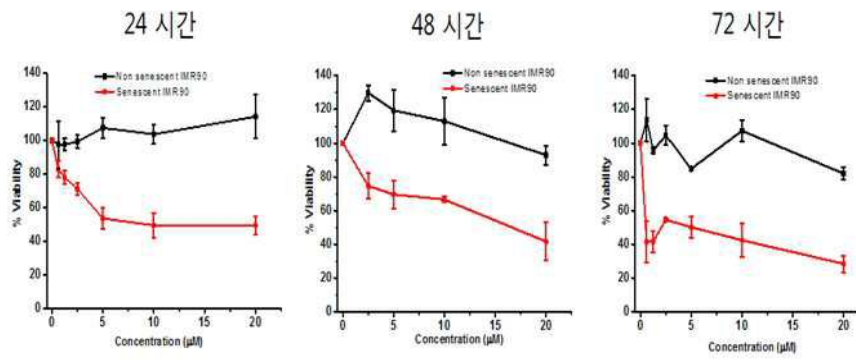
정상 IMR90 세포



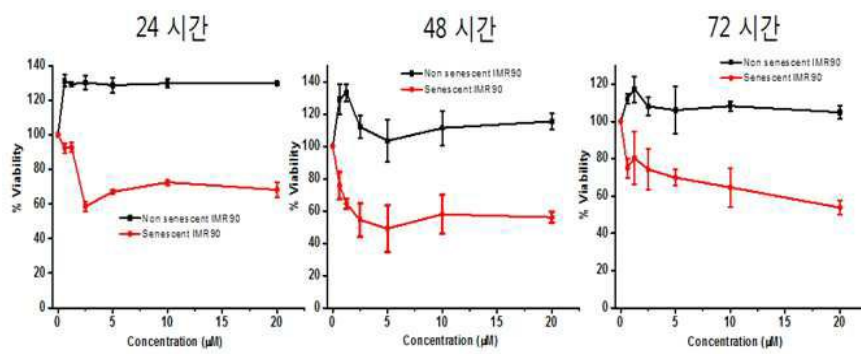
노화 IMR90 세포



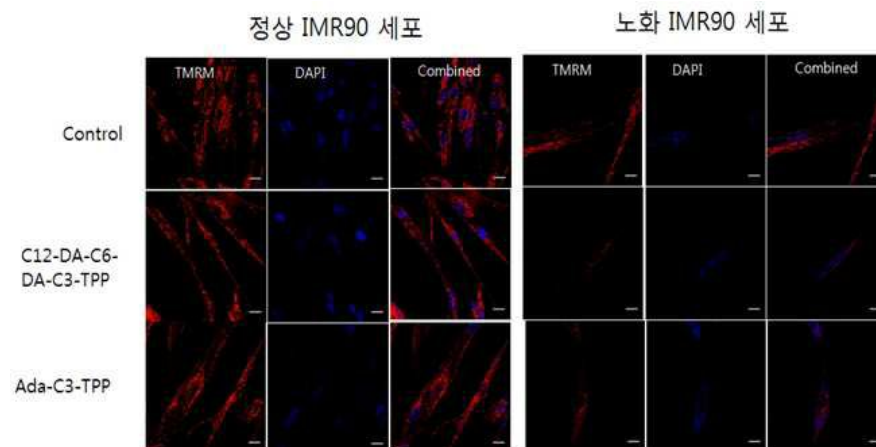
도면3a



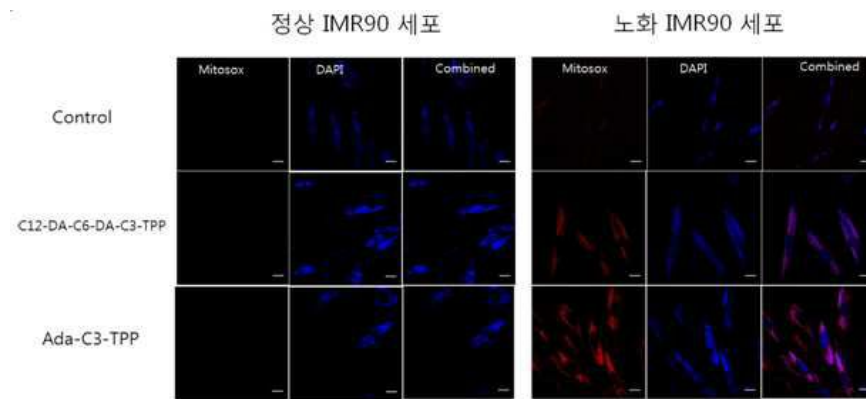
도면3b



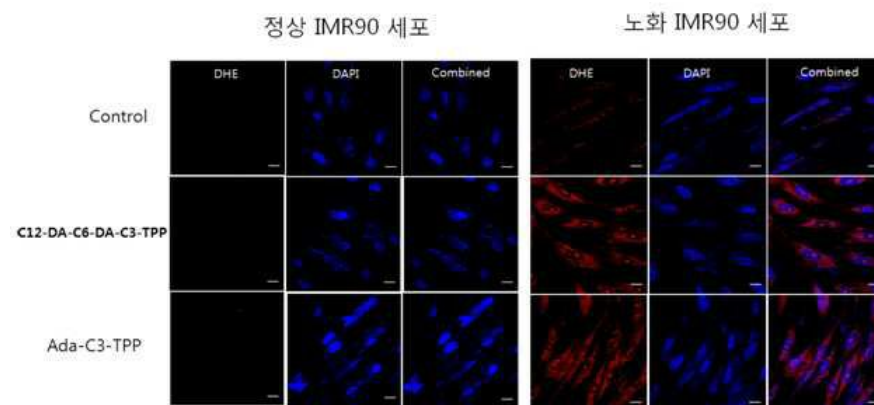
도면4



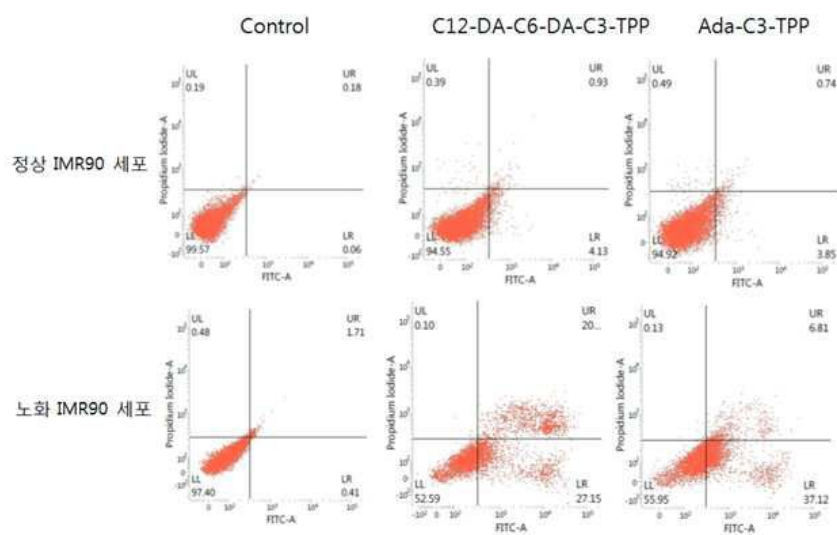
도면5a



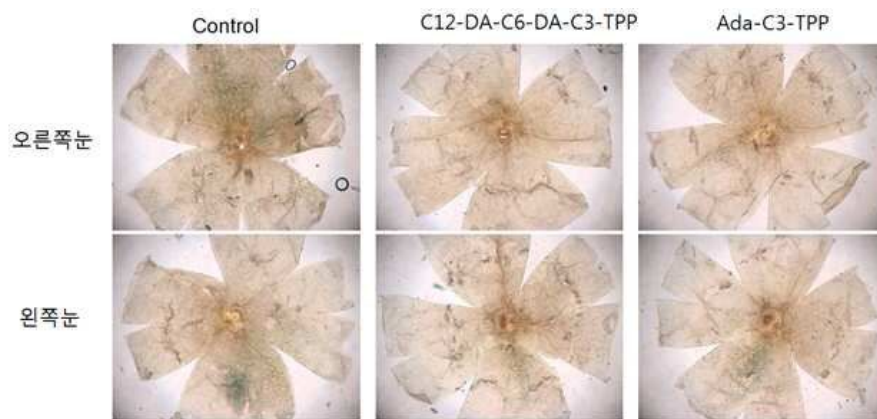
도면5b



도면6



도면7a



도면7b

