

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(10) 국제공개번호

WO 2018/212368 A1

2018 년 11 월 22 일 (22.11.2018) WIPO | PCT

(51) 국제특허분류:

C07C 225/22 (2006.01) A61K 31/136 (2006.01)
C07C 311/21 (2006.01) A61K 31/18 (2006.01)
C07D 211/14 (2006.01) A61K 31/496 (2006.01)
C07D 241/04 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2017/005061

(22) 국제출원일: 2017 년 5 월 16 일 (16.05.2017)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(71) 출원인: 연세대학교 산학협력단 (INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION, YONSEI UNIVERSITY) [KR/KR]; 03722 서울시 서대문구 연세로 50, Seoul (KR). 이화여자대학교 산학협력단 (EWha UNIVERSITY - INDUSTRY COLLABORATION FOUNDATION) [KR/KR]; 03760 서울시 서대문구 이화여대길 52, Seoul (KR).

(72) 발명자: 김어수 (KIM, Eosu); 03722 서울시 서대문구 연세로 50-1 (신촌동, 연세대학교 의과대학 정신과학교실), Seoul (KR). 남궁기 (NAMKOONG, Kee); 03722

서울시 서대문구 연세로 50-1 (신촌동, 연세대학교 의과대학 정신과학교실), Seoul (KR). 정지현 (JEONG, Ji Hyeon); 03722 서울시 서대문구 연세로 50-1 (신촌동, 연세대학교 의과대학 정신과학교실), Seoul (KR). 장수아 (JANG, Soo Ah); 03722 서울시 서대문구 연세로 50-1 (신촌동, 연세대학교 의과대학 정신과학교실), Seoul (KR). 권영주 (KWON, Young Joo); 03760 서울시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교 약학과), Seoul (KR). 전규연 (JUN, Kyu Yeon); 03760 서울시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교 약학과), Seoul (KR). 전경화 (JEON, Kyung Hwa); 03760 서울시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교 약학과), Seoul (KR).

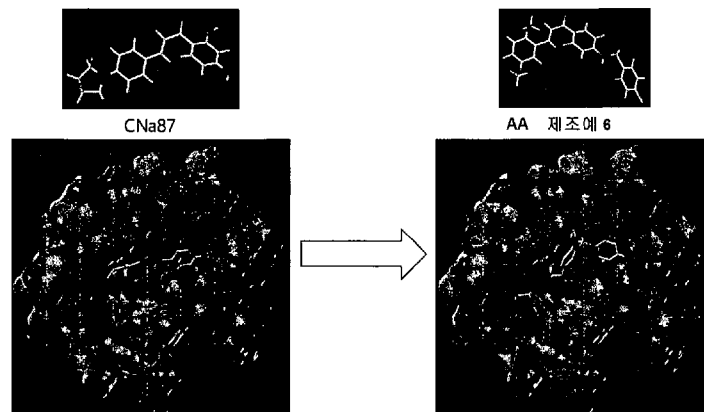
(74) 대리인: 특허법인 정안 (HONESTY & JR PARTNERS INTELLECTUAL PROPERTY LAW GROUP); 06103 서울시 강남구 선릉로 615, 5층, Seoul (KR).

(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,

(54) Title: NOVEL COMPOUND AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION COMPRISING SAME AS ACTIVE INGREDIENT

(54) 발명의 명칭: 신규 화합물 및 그를 유효성분으로 포함하는 약학 조성물

[도1]



AA ... Preparation example 6

(57) Abstract: The present invention relates to a novel compound and a pharmaceutical composition, for preventing or treating degenerative neurological disorders, comprising the compound as an active ingredient. The novel compound, which is obtained by means of carrying out chemical modification in a mother structure showing excellent AMP-activated protein kinase (AMPK) activation and in silico binding capacity, enables effective prevention or treatment of degenerative neurological disorders by means of effectively inducing AMP-activated protein kinase (AMPK) enzyme activation.

(57) 요약서: 본 발명은 신규 화합물 및 상기 화합물을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것으로, 에이엠피-활성 단백질 키나아제 활성 효능 및 인 실리코상 결합능이 좋은 모체 구조에서 화학적 변형(chemical modification)을 진행하여 얻어진 신규 화합물은 에이엠피-활성 단백질 키나아제(AMP-activated protein kinase;AMPK) 효소 활성화를 효과적으로 유도하여 퇴행성 신경질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.

[다음 쪽 계속]

WO 2018/212368 A1



ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, 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 역
내 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), 유
럽 (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).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

명세서

발명의 명칭: 신규 화합물 및 그를 유효성분으로 포함하는 약학 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 신규 화합물 및 그를 유효성분으로 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 세계적으로 인구 고령화가 빠르게 진행되면서 알츠하이머병, 파킨슨병, 뇌졸중 등의 퇴행성 신경질환 환자가 급속하게 증가하고 있는 추세이다. 국내의 경우 2013년 65세 이상의 인구가 전체의 12.2%를 차지해 이미 고령화 국가에 진입하였으며, 2030년에는 초고령 국가가 될 것으로 예상되고 있다. 이와 같이, 고령화 국가가 될수록 상기 퇴행성 신경질환 환자의 유병율이 급격히 증가하므로 급속한 인구의 고령화는 보건의료학적인 문제를 넘어서 심각한 사회, 경제적인 부담을 초래하고 있다.
- [3] 알츠하이머병 (Alzheimer's disease, AD)은 서서히 진행되는 기억장애, 다발성 인지기능 저하 및 행동장애를 임상적 특징으로 하는 퇴행성 질환으로서, 이 질환의 주요한 신경 병리 소견은 해마와 피질에 불용성의 단백 물질이 응집하여 침착 되면서 신경 독성이 나타나는 것인데, 신경세포 밖에는 베타 아밀로이드 (beta- Amyloid; A β)로 구성된 노인반(senile plaque) 및 신경세포 안에는 과 인산화된 타우 단백질(Hyperphosphorylated tau protein)로 이루어진 신경섬유농축제(neurofibrillary tangle)가 대표적인 예이다. 이중, 알츠하이머병의 주 병인으로서 지난 20여년간 주목 받아온 아밀로이드 가설은, 신경세포의 기능 부전과 신경세포 사멸을 유도하는 그 시발점이 베타 아밀로이드의 축적임을 강조하고 있다. 아밀로이드 전구체 단백질(Amyloid precursor protein; APP), 프리센실린(Presenilin 1/2;PS1/2) 또는 아포프로테인 E (Apolipoprotein E; Apo E)가 유전적 또는 환경적 요인으로 인해 베타 아밀로이드를 과 발현시키거나, 베타 아밀로이드의 제거(Clearance)를 감소시켜 축적된 베타 아밀로이드는 신경 독성(Neuronal toxicity)을 일으킨다.
- [4] 한편, 에이엠피-활성 단백질 키나아제(AMP-activated protein kinase; AMPK)는 세포 에너지 대사를 조절하는 중추적 효소이다. 세포 에너지 감소 시 AMP/ATP 비율을 감지하여 활성화되고, 세포의 에너지 생산(Catabolism)을 돕는다. 반대로, 에너지가 충분할 때는 활성이 억제되어 동화 작용을 증가시킨다. 특히 에이엠피-활성 단백질 키나아제의 에너지 항상성 유지 기능은 대사증진뿐만 아니라 세포 보호 효과 및 항염증 효과와 연계되어 왔으며, 최근에는 에이엠피-활성 단백질 키나아제가 자가포식작용(Autophagy)을 증가시킴으로써 베타 아밀로이드의 제거율을 높이며 항치매 효능에 관여한다는 보고들이

있었다. 이와는 별도로 신경세포 에이엠펜-활성 단백질 키나아제 활성화 시 신경 생성(Neurogenesis)이 증가 되어 인지기능 호전 및 신경세포 보호 효과가 발현한다는 것이 밝혀졌다. 이러한 맥락에서 신경세포 에이엠펜-활성 단백질 키나아제의 활성화 물질은 인지기능개선 및 항 치매 역할을 할 수 있는 새로운 개념의 신약 후보 물질이라고 할 수 있다.

- [5] 상기 퇴행성 신경질환에 속하는 알츠하이머병, 파킨슨병 등은 상기 아밀로이드가설에도 불구하고 발병 기전이 완전히 밝혀지지 않아 주로 증상 완화를 위한 신경전달 과정을 타겟하는 의약품이 개발되고 있을 뿐, 완치를 위한 치료약은 존재하지 않는 실정이다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [6] 본 발명의 일 목적은 신규 화합물 및 그의 제조방법을 제공하는 것이다.
 [7] 본 발명의 다른 목적은 상기 화합물을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.
 [8] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

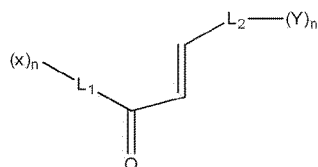
과제 해결 수단

- [9] 본 발명자들은 신규 화합물, 특히 에이엠펜-활성 단백질 키나아제(AMP-activated protein kinase; AMPK) 효소를 활성화 시키는 화합물을 제조하여, 상기 에이엠펜-활성 단백질 키나아제 효소의 활성을 현저하게 증가시킴으로써, 퇴행성 신경질환의 치료 효과가 있음을 발견하여 본 발명을 완성하게 되었다.
 [10] 본 발명의 일 구현 예에는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 제공한다:

[11]

[12] [화학식 1]

[13]



[14]

[15] 상기 화학식 1에서,

- [16] L_1 내지 L_2 는 각각 독립적으로 $C_3 \sim C_{40}$ 의 시클로알킬렌, $C_6 \sim C_{60}$ 의 아릴렌, 핵원자수 5 내지 60의 헤테로아릴렌으로 이루어진 군으로부터 선택되고, X 및 Y는 각각 독립적으로 중수소, 할로젠, 시아노, 니트로, 설포닐, $C_1 \sim C_{10}$ 의 알킬설포닐, 아지드, 하이드록시, $C_1 \sim C_{40}$ 의 알킬, $C_2 \sim C_{40}$ 의 알켄일, $C_1 \sim C_{40}$ 의 알콕시, 비치환되거나 치환된 $C_6 \sim C_{60}$ 의 아릴옥시, 비치환되거나 치환된 $C_3 \sim C_{40}$ 의

시클로알킬, 비치환되거나 치환된 핵원자수 3 내지 20의 헤테로시클로알킬, 비치환되거나 치환된 $C_6 \sim C_{60}$ 의 아릴, 비치환되거나 치환된 핵 원자수 5 내지 60의 헤테로아릴 및 $-NR'R''$ 으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 상기 R' 및 R'' 은 각각 독립적으로 수소, $C_1 \sim C_{10}$ 의 알킬, $C_6 \sim C_{60}$ 의 아릴, $C_3 \sim C_{40}$ 의 시클로알킬, $C_6 \sim C_{60}$ 의 아릴설폰일, 핵 원자수 5 내지 60의 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되며, n 은 0 내지 5의 정수에서 선택되는 화합물일 수 있다.

- [17] 본 발명에서 상기 "아릴"은 단독 고리 또는 2이상의 고리가 조합된 탄소수 6 내지 40의 방향족 탄화수소로부터 유래된 1가의 치환기를 의미한다. 또한, 2이상의 고리가 서로 단순 부착(pendant)되거나 축합된 형태도 포함될 수 있다. 이러한 아릴의 예로는 페닐, 나프틸, 페난트릴, 안트릴 등을 들 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.
- [18] 본 발명에서 상기 "아릴렌"은 방향족 탄화수소로부터 수소 원자 1개를 제외한 원자단이고, 축합환을 갖는 것, 독립한 벤젠환 또는 축합환 2개 이상이 직접 또는 비닐렌 등의 기를 통해 결합한 것도 포함된다. 아릴렌기는 본 발명에 기재되는 임의의 치환체를 가질 수 있으며, 치환기를 제외한 부분의 탄소수는 통상 6 내지 60정도이다. 또한, 아릴렌의 치환기를 포함시킨 전체 탄소수는 통상 6 내지 100정도이다. 이러한 아릴렌기의 예로는 페닐렌기, 나프탈렌디일기, 안트라센-디일기, 비페닐-디일기, 터페닐-디일기, 축합한 화합물기, 플루오렌-디일기, 스틸벤-디일기, 디스티렌 디일기, 벤조플루오렌-디일기, 디벤조플루오렌-디일기 등일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [19] 본 발명에서 상기 "알킬"은 직쇄 또는 분지쇄 포화 1가 탄화수소 라디칼을 의미하며, 상기 알킬은 본 발명에 기재되는 하나 이상의 치환체로 임의로 치환될 수 있다. 알킬의 예는 이에 제한되지 않으나, 메틸, 에틸, 프로필 (모든 이성질체 형태를 포함), n-프로필, 이소프로필, 부틸 (모든 이성질체 형태를 포함), n-부틸, 이소부틸, sec-부틸, t-부틸, 펜틸 (모든 이성질체 형태를 포함), 및 헥실 (모든 이성질체 형태를 포함)을 포함한다.
- [20] 본 발명에서 상기 "헤테로아릴렌"은 적어도 하나의 방향족 고리를 함유하며, 적어도 하나의 방향족 고리가 고리 내에 O, S 및 N으로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의 이종 원자를 함유하는, 2가 모노시클릭 방향족기 또는 2가 폴리 시클릭 방향족기를 의미한다. 헤테로아릴렌기의 각각의 고리는 하나 또는 두 개의 O 원자, 하나 또는 두 개의 S 원자, 및/또는 1 내지 4 개의 N 원자를 함유할 수 있으며, 단 각각의 고리 내 이종 원자의 총 수는 4 이하이고 각각의 고리는 적어도 하나의 탄소 원자를 함유하여야 한다. 헤테로아릴렌의 예는 이에 제한되지 않으나, 벤조푸라닐렌, 벤즈이미다졸릴렌, 벤조이속사졸릴렌, 벤조피라닐렌, 벤조티아디아졸릴렌, 벤조티아졸릴렌, 벤조티에닐렌, 벤조트리아졸릴렌, 벤조사졸릴렌, 푸로피리디닐렌, 이미다조피리디닐렌, 이미다조티아졸릴렌, 인돌리지닐렌, 인돌릴렌, 인다졸릴렌, 이소벤조푸라닐렌, 이소벤조티에닐렌, 이소인돌릴렌, 이소퀴놀리닐렌, 이소티아졸릴렌,

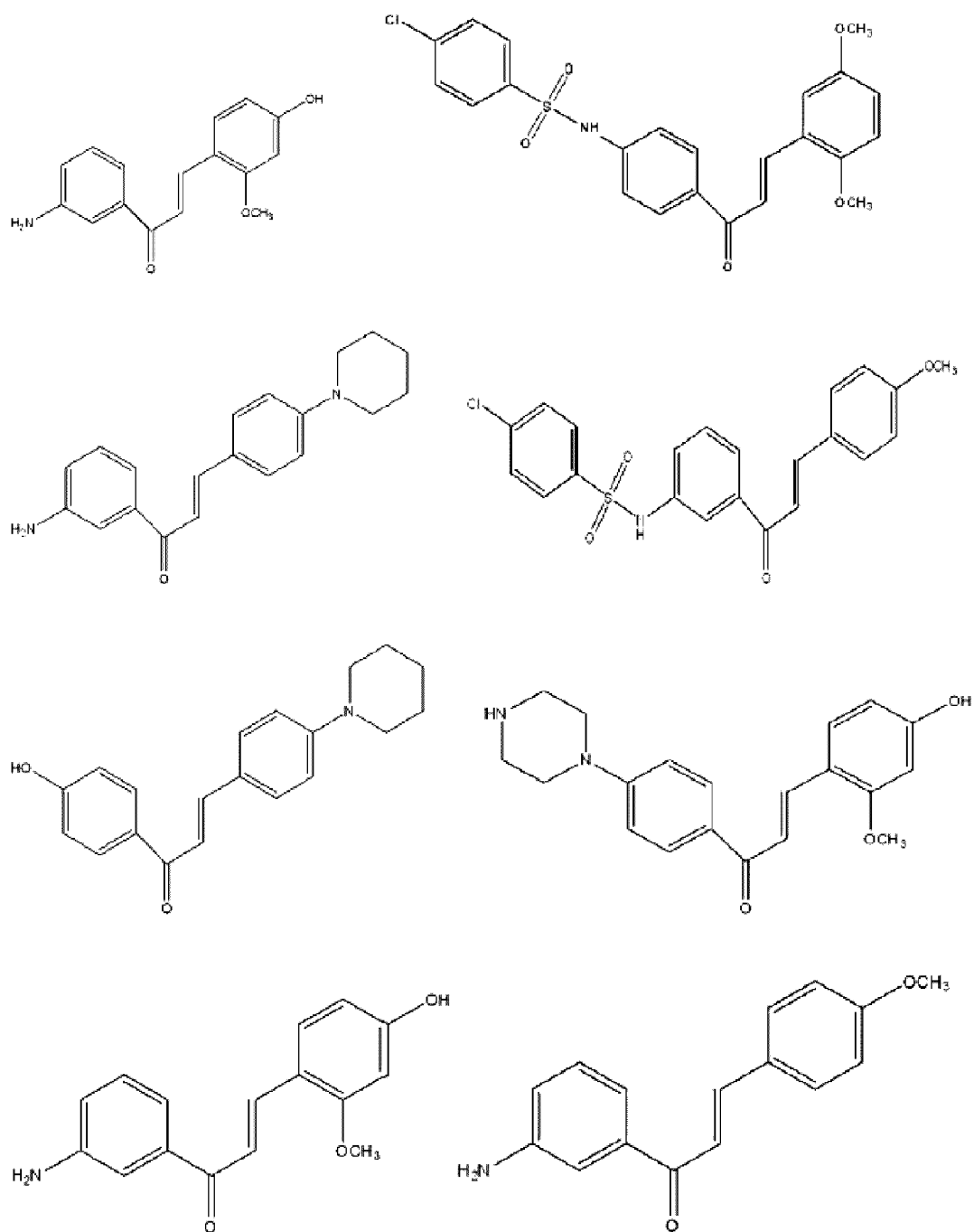
나프티리디닐렌, 옥사졸로피리디닐렌, 프탈라지닐렌, 프테리디닐렌, 푸리닐렌, 피리도피리딜렌, 피롤로피리딜렌, 퀴놀리닐렌, 퀴녹살리닐렌, 퀴나졸리닐렌, 티아디아졸로피리미딜렌, 및 티에노피리딜렌을 포함한다. 트리시클릭 헤테로아릴렌기의 예는 이에 제한되지 않으나, 아크리디닐렌, 벤즈인돌릴렌, 카르바졸릴렌, 디벤조푸라닐렌, 페리미디닐렌, 페난트롤리닐렌, 페난트리디닐렌, 페나르사지닐렌, 페나지닐렌, 페노티아지닐렌, 및 페녹사지닐렌 등일 수 있다.

- [21] 본 발명에서 상기 "알킬"은 직쇄 또는 분지쇄 포화 1가 탄화수소 라디칼을 의미하며, 상기 알킬은 본 발명에 기재되는 하나 이상의 치환체로 임의로 치환될 수 있다. 알킬의 예는 이에 제한되지 않으나, 메틸, 에틸, 프로필 (모든 이성질체 형태를 포함), n-프로필, 이소프로필, 부틸 (모든 이성질체 형태를 포함), n-부틸, 이소부틸, sec-부틸, t-부틸, 펜틸 (모든 이성질체 형태를 포함), 및 헥실 (모든 이성질체 형태를 포함)이 포함될 수 있다.
- [22] 본 발명에서 상기 "알킬설폰닐기"는 메틸설폰닐기, 에틸설폰닐기, n-프로필설폰닐기, i-프로필설폰닐기, t-부틸설폰닐기 등을 들 수 있다. 알킬설폰닐기를 구성하는 탄소의 수는 1 내지 10 이 바람직하나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [23] 본 발명에서 상기 "알켄일"은 하나 이상, 일 구현예에서, 1 내지 5, 다른 구현예에서, 한 개의, 탄소-탄소 이중 결합(들)을 함유하는 직쇄 또는 분지쇄 1가 탄화수소 라디칼을 의미한다. 알켄일은 본 발명에 기재되는 하나 이상의 치환체로 임의로 치환될 수 있다. 용어 "알켄일"은 당업자에 의하여 이해되는 바와 같이 "cis" 또는 "trans" 구조 또는 이의 혼합물, 또는 대안적으로 "Z" 또는 "E" 구조 또는 이의 혼합물을 가지는 라디칼을 포함한다. 알켄일의 예는 이에 제한되지 않으나, 에테닐, 프로펜-1-일, 프로펜-2-일, 알릴, 부테닐, 및 4-메틸부테닐을 포함한다.
- [24] 본 발명에서 상기 "아릴옥시"는 RO-로 표시되는 1가의 치환기로, 상기 R은 탄소수 5 내지 40의 아릴을 의미한다. 이러한 아릴옥시의 예로는 페닐옥시, 나프틸옥시, 디페닐옥시 등을 들 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다.
- [25] 본 발명에서 상기 "헤테로시클로알킬"은 N, O, P 또는 S 중에서 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 포함하고, 나머지 고리 원자가 C인 고리 원자수 3 내지 20의 1가 모노시클릭 시스템을 의미한다. 상기 헤테로시클로알킬기 중 하나 이상의 수소 원자는 임의로 치환될 수 있다.
- [26] 본 발명에서 상기 "알콕시"는 R'O-로 표시되는 1가의 치환기로, 상기 R'는 탄소수 1 내지 40의 알킬을 의미하며, 직쇄(linear), 측쇄(branched) 또는 사이클릭(cyclic) 구조를 포함할 수 있다. 알콕시의 예로는 메톡시, 에톡시, n-프로폭시, 1-프로폭시, t-부톡시, n-부톡시, 펜톡시 등을 들 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다.
- [27] 본 발명에서 상기 "아릴아민"은 탄소수 6 내지 40의 아릴로 치환된 아민을

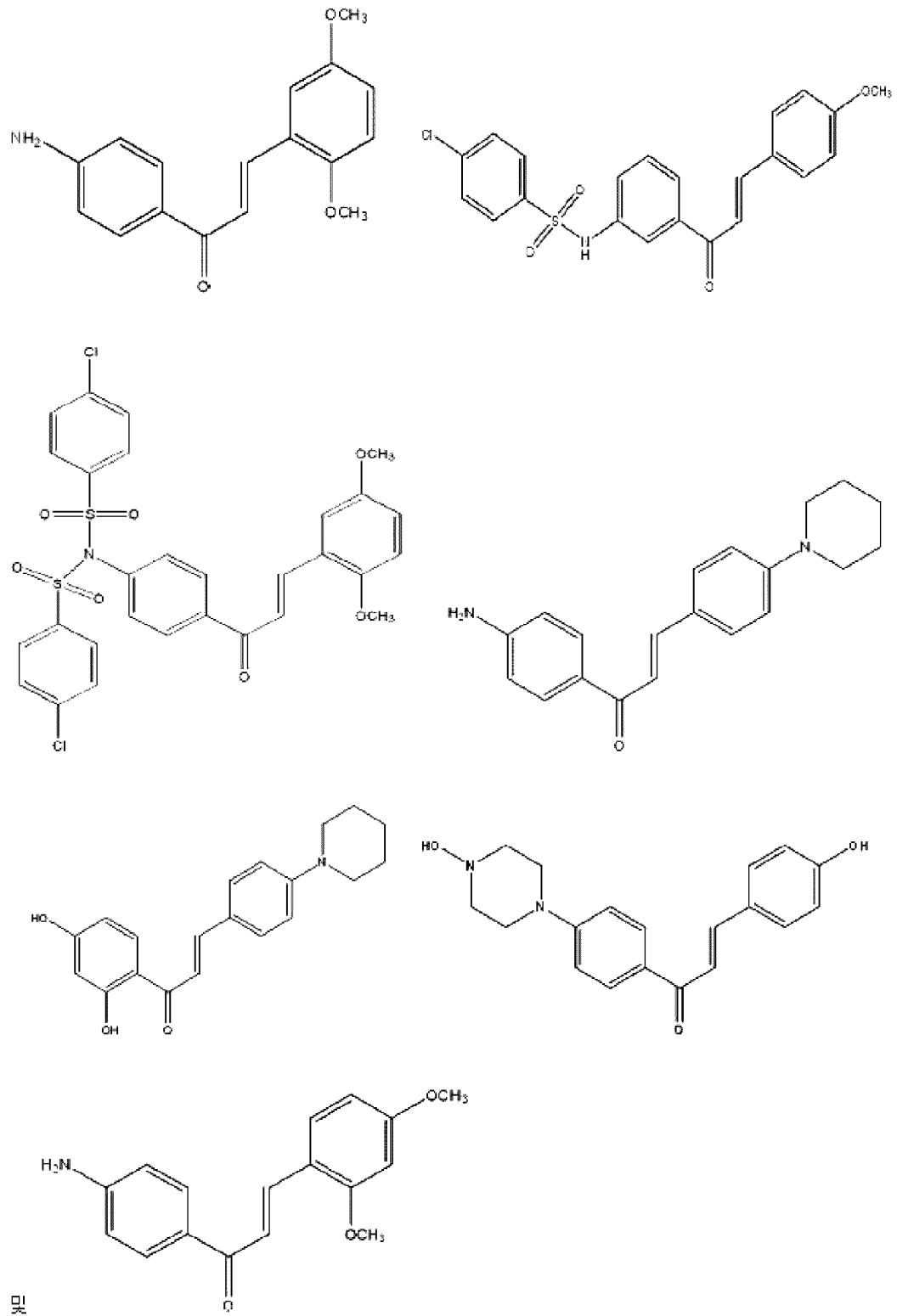
의미한다.

- [28] 본 발명에서 상기 "시클로알킬"은 탄소수 3 내지 40의 모노사이클릭 또는 폴리사이클릭 비-방향족 탄화수소로부터 유래된 1가의 치환기를 의미한다. 이러한 사이클로알킬의 예로는 사이클로프로필, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 노르보닐(norbornyl), 아다만틴(adamantine) 등을 들 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다.
- [29] 본 발명에서 상기 "할로젠"은 불소, 염소, 브롬 및/또는 요오드를 의미한다.
- [30] 본 발명에서 상기 "치환된 알킬", "치환된 알킬렌", "치환된 헤테로알킬렌", "치환된 알케닐", "치환된 알케닐렌", "치환된 헤테로알케닐렌", "치환된 알키닐", "치환된 알키닐렌", "치환된 시클로알킬", "치환된 헤테로시클로알킬", "치환된 시클로알킬렌", "치환된 아릴", "치환된 아릴옥시", "치환된 아릴렌", "치환된 아랄킬", "치환된 헤테로아릴", "치환된 헤테로아릴렌", "치환된 헤테로시클릭", 또는 "치환된 헤테로시클릴렌"이란 상기 치환된알킬, 치환된알키닐, 치환된알키닐렌, 치환된시클로알킬, 치환된헤테로시클로알킬, 치환된시클로알킬렌, 치환된아릴, 치환된아릴옥시, 치환된아릴렌, 치환된아랄킬, 치환된헤테로아릴, 치환된헤테로아릴렌, 치환된헤테로시클릭, 또는 치환된 헤테로시클릴렌 치환체가, 각각 독립적으로, 예를 들어 다음으로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의 치환체로 추가로 치환될 수 있음을 의미한다:
- [31] 본 발명의 다른 구현 예는 하기 화학식으로 표시되는 화합물을 제공한다:

[32]



[33]



[34]

[35]

본 발명의 또 다른 구현 예에서는 하기 단계를 포함하는 본 발명에 따른 상기 화합물의 제조방법을 제공한다. 구체적으로, 1) 아세트페논 유도체 및 벤즈알데하이드 유도체를 유기 용매와 함께 혼합 및 교반 하는 단계, 2) 상기 1)

- 단계의 반응물을 유기용매를 이용하여 추출하는 단계를 포함할 수 있다.
- [36] 본 발명에서 상기 "유기용매"는 알코올계 용매, 케톤계 용매, 셀로솔브계 용매, 카르복시산계 용매, 카비톨계 용매, 아세테이트계 용매, 락테이트계 용매, 아민계 용매, 에테르계 용매, 방향족 탄화수소계 용매, 지방족 탄화수소계 용매, 및 아미드계 용매로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 일 수 있다. 바람직하게는 에틸 아세테이트 일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [37] 본 발명에서 상기 "아세트페논 유도체"는 아세트페논 구조를 모체로 하여 1 또는 2의 치환기를 갖는 화합물을 의미하며, 이에 제한되지 아니하지만 2-히드록시-2-메틸-1-페닐프로판-1-온, 1-(4-이소프로필페닐)-2-히드록시-2-메틸프로판-1-온, 4-(2-히드록시에톡시)-페닐 (2-히드록시)프로필 케톤, 1-히드록시시클로헥실 페닐 케톤, 벤조인메틸 에테르, 벤조인에틸 에테르, 벤조인이소부틸 에테르, 벤조인부틸 에테르, 2,2-디메톡시-2-페닐 아세트페논, 2-메틸-(4-메틸티오페닐)-2-몰폴리노-1-프로판-1-온, 2-벤질-2-디메틸아미노-1-(4-몰폴리노페닐)-1-부타논, 4-아미노아세트페논 또는 3-아미노아세트페논 군 중에서 선택되는 어느 하나 인 것을 의미한다. 바람직하게는 3-아미노아세트페논 또는 4-아미노아세트페논일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [38] 본 발명에서 상기 "벤즈 알데하이드 유도체"는 벤즈 알데하이드 구조를 모체로 하여 1 또는 2의 치환기를 갖는 화합물을 의미하며, 이에 제한되지 아니하지만 유도체는 2,4-다이에톡시벤즈알데하이드, 2,5-다이에톡시벤즈알데하이드, 4-다이에톡시벤즈알데하이드, 2-메톡시-4-((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)벤즈알데하이드, 또는 4-(피페리딘-1-일)벤즈알데하이드 화합물 중 어느 하나로부터 선택되는 것일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [39] 본 발명에서 상기 2) 단계 후, 치환된 알킬설폰닐클로라이드계 화합물 및 염기를 첨가하여 혼합 교반하는 단계를 추가로 더 포함할 수 있다.
- [40] 단, 본 발명에서 상기 치환된 또는 비 치환된 알킬설폰닐클로라이드계는 이에 제한되지 아니하지만 치환된 메틸설폰닐클로라이드, 치환된 에틸설폰닐클로라이드, 치환된 또는 비치환된 n-프로필설폰닐클로라이드, 치환된 또는 비치환된 i-프로필설폰닐클로라이드, 치환된 또는 비치환된 t-부틸설폰닐클로라이드 등을 들 수 있다. 알킬설폰닐클로라이드를 구성하는 탄소의 수는 1 내지 10 이 바람직하나 이에 제한되는 것은 아니다. 여기서 치환체가, 각각 독립적으로, 예를 들어 할로젠으로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의 치환체로 추가로 치환될 수 있음을 의미한다. 보다 바람직하게는, 4-클로로벤젠설폰닐 클로라이드 일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [41] 본 발명의 또 다른 구현 예에서는 본 발명에 따른 상기 화합물을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

- [42] 본 발명에서 상기 퇴행성 신경질환은 나이가 들어감에 따라 발생하는 퇴행성 질환 중에서 뇌에서 발생하는 질환을 의미한다. 구체적으로, 상기 퇴행성 신경질환은 주요 증상과 침범되는 노부위를 고려하여 뇌졸중, 중풍, 치매, 알츠하이머병, 헌팅턴병, 근위축성 측삭 경화증(ALS), 피크병 및 크로이츠펔트-야콥 병으로 구성된 군으로부터 선택되는 1종 이상일 수 있으며, 바람직하게는 상기알츠하이머병일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [43] 본 발명에서 상기 퇴행성 신경질환, 특히 알츠하이머병은 아밀로이드 가설에 의할 때, 아밀로이드 전구체 단백질(Amyloid precursor protein; APP), 프리센실린(Presenilin 1/2;PS1/2) 또는 아포프로테인 E (Apolipoprotein E; Apo E)가 유전적 또는 환경적 요인으로 인해 베타 아밀로이드를 과 발현시키거나, 신경 독성(Neuronal toxicity)이 있는 베타 아밀로이드의 제거(clearance)를 감소시켜 이에 따른 스트레스에 의해 뇌 신경세포 손상이 유발되어 발생하는 것일 수 있다.
- [44] 본 발명에서 상기 약학 조성물은 캡슐, 정제, 과립, 주사제, 연고제, 분말 또는 음료 형태임을 특징으로 할 수 있으며, 상기 약학 조성물은 인간을 대상으로 하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [45] 본 발명에서 상기 약학 조성물은 이들로 한정되는 것은 아니지만, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 캡슐, 정제, 수성 현탁액 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사 용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 약학적으로 허용되는 담체는 경구 투여 시에는 결합제, 활택제, 붕해제, 부형제, 가용화제, 분산제, 안정화제, 현탁화제, 색소, 향료 등을 사용할 수 있으며, 주사제의 경우에는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제 등을 혼합하여 사용할 수 있으며, 국소투여용의 경우에는 기제, 부형제, 유효제, 보존제 등을 사용할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물의 제형은 상술한 바와 같은 약제학적으로 허용되는 담체와 혼합하여 다양하게 제조될 수 있다. 예를 들어, 경구 투여시에는 정제, 트로키, 캡슐, 엘릭서(elixir), 서스펜션, 시럽, 웨이퍼 등의 형태로 제조할 수 있으며, 주사제의 경우에는 단위 투약 앰플 또는 다수회 투약 형태로 제조할 수 있다. 기타, 용액, 현탁액, 정제, 캡슐, 서방형 제제 등으로 제형화할 수 있다.
- [46] 한편, 제제화에 적합한 담체, 부형제 및 희석제의 예로는, 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말디톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유 등이 사용될 수 있다. 또한, 충전제, 항 응집제, 유효제, 습윤제, 향료, 유화제, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [47] 본 발명에 상기 약학 조성물의 투여 경로는 이들로 한정되는 것은 아니지만 구강, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 경막내, 심장내, 경피, 피하, 복강내,

비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장이 포함된다. 경구 또는 비경구 투하가 바람직하다.

[48] 본 발명에서 상기 "비경구"란, 피하, 피내, 정맥내, 근육내, 관절내, 활액낭내, 흉골내, 경막내, 병소내 및 두개골내 주사 또는 주입기술을 포함한다. 본 발명의 약학 조성물은 또한 직장 투여를 위한 좌제의 형태로 투여될 수 있다.

[49] 본 발명의 상기 약학 조성물은 사용된 특정 화합물의 활성, 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별, 정식, 투여 시간, 투여 경로, 배출율, 약물 배합 및 예방 또는 치료될 특정 질환의 중증을 포함한 여러 요인에 따라 다양하게 변할 수 있고, 상기 약학 조성물의 투여량은 환자의 상태, 체중, 질병의 정도, 약물 형태, 투여 경로 및 기간에 따라 다르지만 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있고, 1일 0.0001 내지 50mg/kg 또는 0.001 내지 50mg/kg으로 투여할 수 있다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다. 본 발명에 따른 의약 조성물은 환제, 당의정, 캡슐, 액제, 겔, 시럽, 슬러리, 현탁제로 제형될 수 있다.

[50] 본 발명의 다른 구체 예에서는 본 발명에 따른 상기 화합물은 에이엠피-활성 단백질 키나아제(AMP-activated protein kinase; AMPK) 효소 활성화를 유도하는 것일 수 있다.

[51] 본 발명에서 상기 "에이엠피-활성 단백질 키나아제 효소(AMP-activated protein kinase; AMPK)"란, 세포 내의 에너지 항상성 유지에 센서 역할을 하는 효소로, 대사성 스트레스나 운동에 의해 세포 내의 에너지가 감소하는 경우, 즉 ATP가 고갈되어 AMP/ATP 비율이 증가하는 경우에서 활성화되어 ATP를 소비하는 과정을 촉진하는 효소를 의미한다(Nat Rev Mol Cell Biol 8:774-785, 2007). 본 발명의 목적상 본 발명에 따른 상기 신규 화합물은 그 물질 자체는 효소 반응에 직접 관여하지 않고, 비활성의 효소를 활성화하는 작용하여 에이엠피-활성 단백질 키나아제 효소 활성화 부위에 결합하여 효소의 활성을 증가시켜 퇴행성 신경질환의 증상을 예방 또는 치료할 수 있다. 보다 구체적으로는 에이엠피-활성 단백질 키나아제 효소의 자가포식작용(autophagy)을 증가시킴으로써, 베타 아밀로이드의 축적을 억제 효과를 높여 퇴행성 신경질환 증상을 예방 또는 치료하는 역할을 할 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

발명의 효과

[52] 본 발명에 따른 에이엠피-활성 단백질 키나아제 활성 효능 및 인 실리코상 결합능이 좋은 모체 구조에서 화학적 변형(chemical modification)을 진행하여 얻어진 신규 화합물은 에이엠피-활성 단백질 키나아제(AMP-activated protein kinase; AMPK) 효소 활성화를 유도하여 퇴행성 신경질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[53] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 인 실리코 모식도를 나타낸 것이다.

- [54] 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 제조예에 대한 가상의 선택(virtual selection) 진행 결과를 나타낸 것이다.
- [55] 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 카이네이즈 어세이(Kinase assay) 결과를 나타낸 것이다.
- [56] 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 모리스 워터 메이즈 테스트(Morris water maze) 원형풀을 나타낸 것이다.
- [57] 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 모리스 워터 메이즈 테스트 결과를 나타낸 것이다.
- [58] 도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 모리스 워터 메이즈 테스트 결과를 나타낸 것이다.
- [59] 도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 모리스 워터 메이즈 테스트 결과를 나타낸 것이다.
- [60] 도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 프로브 테스트(Probe test) 결과를 나타낸 것이다.
- [61] 도 9는 본 발명의 일 실시예에 따른 프로브 테스트(Probe test) 결과를 나타낸 것이다.
- [62] 도 10은 본 발명의 일 실시예에 따른 수동회피 테스트 결과를 나타낸 것이다.
- [63] 도 11은 본 발명의 일 실시예에 따른 근무명부 막대 실험(Rotarod test)의 결과를 나타낸 것이다.
- [64] 도 12는 본 발명의 일 실시예에 따른 수직막대실험(Vertical pole test) 결과를 나타낸 것이다.
- [65] 도 13은 본 발명의 일 실시예에 따른 아세틸콜린분해효소(Acetylcholinesterase: AchE) 활성도를 측정한 결과를 나타낸 것이다.
- [66] 도 14는 본 발명의 일 실시예에 따른 아세틸콜린(Acetylcholine; Ach) 를 측정한 결과를 나타낸 것이다.
- [67] 도 15는 본 발명의 일 실시예에 따른 터널 어세이(TUNEL assay) 결과를 나타낸 것이다.
- [68] 도 16은 본 발명의 일 실시예에 따른 터널 어세이(TUNEL assay) 결과를 나타낸 것이다.
- [69] 도 17은 제조예 6에 대한 막 투과성 정도 분석을 나타낸 것이다.
- [70] 도 18은 제조예 6에 대한 반감기 분석 결과를 나타낸 것이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [71] 본 발명은 신규 화합물인 (E)-4-클로로-N-(4-(3-(2,5-다이메톡시페닐)아크릴로일)페닐)벤제네설포아마이드(E)-4-Chloro-N-(4-(3-(2,5-dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)benzenesulfonamide)를 제공하고, 상기 화합물을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

발명의 실시를 위한 형태

- [72] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.
- [73]
- [74] [실험예 1] 에이엠피-활성 단백질 키나아제 활성 효능 퇴행성 신경질환 치료 약물 후보물질 선별
- [75] 퇴행성 신경질환 치료 후보물질을 선별하기 위하여, 에이엠피-활성 단백질 키나아제에 결합할 수 있는 약물 후보물질을 선별하였다.
- [76] 상기 후보물질 선별은 케미컬 라이브러리(Chemical library)로부터, 에이엠피-활성 단백질 키나아제 효소의 조절 부위에 결합할 수 있는 후보물질을 인 실리코 및 인 비트로 스크리닝 방법을 통해 수행하였다.
- [77] 도 1에서 보는 바와 같이, 상기 에이엠피-활성 단백질 키나아제 효소에 가장 잘 결합할 수 있는 형태인 CNa87를 최종적으로 선별하였다.
- [78] 상기 CNa87를 모체로 하여, 에이엠피-활성 단백질 키나아제 효소와 더욱 결합력을 높일 수 있도록 하이드록실 군(Hydroxyl group)보다 큰(bulky) 그룹으로 변형(modify)된 후보물질인 제조예 1 내지 15를 하기 방법에 의하여 합성하였다.
- [79]
- [80] [제조예 1 내지 15] 후보물질 합성
- [81] 하기 표 1의 제조예 1 내지 15를 하기 방법 1 또는 방법 2에 의해 제조하였다.

[82] [표1]

제조예	화합물 명칭
제조예 1	(E)-1-(4-아미노페닐)-3-(2,4-다이메톡시페닐)프로프-2-엔-1-온(E)-1-(4-Aminophenyl)-3-(2,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-one)
제조예 2	(E)-1-(4-아미노페닐)-3-(2,5-다이메톡시페닐)프로프-2-엔-1-온(E)-1-(4-Aminophenyl)-3-(2,5-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-one)
제조예 3	(E)-1-(3-아미노페닐)-3-(4-메톡시페닐)프로프-2-엔-1-온(E)-1-(3-aminophenyl)-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one)
제조예 4	(E)-1-(3-아미노페닐)-3-(4-하이드록시-2-메톡시페닐)프로프-2-엔-1-온(E)-1-(3-Aminophenyl)-3-(4-hydroxy-2-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one)
제조예 5	(E)-1-(3-아미노페닐)-3-(2,5-다이메톡시페닐)프로프-2-엔-1-온(E)-1-(3-Aminophenyl)-3-(2,5-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-one)
제조예 6	(E)-4-클로로-N-(4-(3-(2,5-다이메톡시페닐)아크릴로일)페닐)벤제네설포아마이드(E)-4-Chloro-N-(4-(3-(2,5-dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)benzenesulfonamide)
제조예 7	(E)-4-클로로-N-(3-(3-(4-메톡시페닐)아크릴로일)페닐)벤제네설포아마이드(E)-4-Chloro-N-(3-(3-(4-methoxyphenyl)acryloyl)phenyl)benzenesulfonamide)
제조예 8	(E)-4-클로로-N-(3-(3-(2,5-다이메톡시페닐)아크릴로일)페닐)벤제네설포아마이드(E)-4-Chloro-N-(3-(3-(2,5-dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)benzenesulfonamide)
제조예 9	(E)-4-Chloro-N-((4-chlorophenyl)sulfonyl)-N-(3-(3-(2,5-dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)benzenesulfonamide)
제조예 10	(E)-1-(4-아미노페닐)-3-(4-(피페리딘-1-일)페닐)프로프-2-엔-1-온(E)-1-(4-Aminophenyl)-3-(4-(piperidin-1-yl)phenyl)prop-2-en-1-one)
제조예 11	(E)-1-(3-아미노페닐)-3-(4-(피페리딘-1-일)페닐)프로프-2-엔-1-온(E)-1-(3-Aminophenyl)-3-(4-(piperidin-1-yl)phenyl)prop-2-en-1-one)
제조예 12	(E)-1-(4-하이드록시페닐)-3-(4-(피페리딘-1-일)페닐)프로프-2-엔-1-온(E)-1-(4-Hydroxyphenyl)-3-(4-(piperidin-1-yl)phenyl)prop-2-en-1-one)
제조예 13	(E)-1-(2,4-다이하이드록시페닐)-3-(4-(피페리딘-1-일)페닐)프로프-2-엔-1-온(E)-1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-(4-(piperidin-1-yl)phenyl)prop-2-en-1-one)
제조예 14	(E)-3-(4-하이드록시-2-메톡시페닐)-1-(4-(피페리딘-1-일)페닐)프로프

	-2-엔-1-온(E)-3-(4-Hydroxy-2-methoxyphenyl)-1-(4-(piperazin-1-yl)phenyl)prop-2-en-1-one)
제조예 15	(E)-3-(4-하이드록시페닐)-1-(4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)프로프-2-엔-1-온(E)-3-(4-Hydroxyphenyl)-1-(4-(4-methylpiperazin-1-yl)phenyl)prop-2-en-1-one)

[83]

[84] **[방법 1]**

[85] 아세트페논 유도체(1당량), 벤즈알데하이드(benzaldehyde)유도체 (1당량)과 NaOH (1당량)을 에탄올 용매에 넣고 상온에서 교반 하였다. 반응이 끝난 혼합물에 물을 넣고 에틸 아세테이트(ethyl acetate)로 추출하는 단계; 및 유기 용매층을 모아 물로 다시 한번 세척하고 무수 $MgSO_4$ 를 넣고 탈수한 후 용매는 감압 하에서 증류하여 제거하고, 남은 잔사를 실리카겔 크로마토그래피(silica gel chromatography)로 정제하여 제조하였다.

[86]

[87] **[방법 2]**

[88] 아세트페논 유도체(1당량), 4-((테트라하이드로-2H-피란-2-yl)옥시)) 벤즈알데하이드 (4-((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)benzaldehyde) 유도체 (1당량)과 NaOH (1당량)을 에탄올 용매에 넣고 상온에서 교반 하는 단계; 반응이 끝난 혼합물에 4M의 HCl을 가하고 20분 더 교반한 후 물을 넣고 에틸 아세테이트로 추출하는 단계; 및 유기용매층을 모아 물로 다시 한번 세척하고 무수 $MgSO_4$ 를 넣고 탈수한 후 용매는 감압 하에서 증류하여 제거하고, 남은 잔사를 실리카겔 크로마토그래피로 정제하여 제조하였다.

[89]

[90] **[제조예 1] (E)-1-(4-아미노페닐)-3-(2,4-다이메톡시페닐)프로프-2-엔-1-온 ((E)-1-(4-Aminophenyl)-3-(2,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-one))**

[91] 상기 방법 1에 따라 4-아미노아세트페논(4-aminoacetophenone)(0.30 g, 2.22mmol), 2,4-다이메톡시벤즈알데하이드(2,4-dimethoxybenzaldehyde)(0.37 g, 2.22mmol)와 NaOH (0.09 g, 2.22mmol)을 사용하고 실리카 겔 크로마토그래피 (전개용매: 에틸아세테이트/n-헥산 (ethyl acetate/n-hexane) = 1:2 1:1)로 정제하여 노란색 제조예 1(0.15 g, 23.0%)을 얻었다. R_f 0.33 (에틸아세테이트/n-헥산 = 1:1); 1H -NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 3.85 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 6.47 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.52(dd, J = 8.4, 2.4 Hz, 1H), 6.69 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.55 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.56 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 8.02 (d, J = 15.6 Hz, 1H); ^{13}C -NMR(100MHz, $CDCl_3$) 55.6, 55.7, 98.7, 105.5, 114.1, 117.8, 120.7, 129.4, 130.8, 131.1, 139.0, 150.9, 160.4, 162.8, 189.1 ppm.

[92]

[93] **[제조예 2] (E)-1-(4-아미노페닐)-3-(2,5-다이메톡시페닐)프로프-2-엔-1-온**

((E)-1-(4-Aminophenyl)-3-(2,5-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-one))

- [94] 상기 방법 1에 따라 4-아미노아세토펜론 (0.50 g, 3.70 mmol), 2,5-다이메톡시벤즈알데하이드 (2,5-dimethoxybenzaldehyde) (0.62 g, 3.70 mmol)과 NaOH(0.15 g, 3.70 mmol)을 실리카 겔 크로마토그래피(silica gel chromatography) (전개용매: 에틸아세테이트/n-헥산 = 1:2 1:1)로 정제하여 노란색 제조예 2(0.66 g, 62.5%)를 얻었다. R_f 0.36 (에틸아세테이트/n-헥산 = 1:1); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 3.81 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 4.19 (br s, 2H), 6.69 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.86 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.91 (dd, J = 8.8, 2.8 Hz, 1H), 7.16 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 7.58 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 8.04 (d, J = 15.6 Hz, 1H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) 56.0, 56.3, 112.7, 113.9, 114.1, 116.8, 123.3, 125.2, 128.9, 131.3, 138.6, 151.2, 153.4, 153.7, 188.8 ppm.

[95]

- [96] [제조예 3] (E)-1-(3-아미노페닐)-3-(4-메톡시페닐)프로프-2-엔-1-온
((E)-1-(3-aminophenyl)-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one))

- [97] 상기 방법 1에 따라 3-아미노아세토펜론(3-aminoacetophenone) (1.00 g, 7.40 mmol), 4-다이메톡시벤즈알데하이드 (4-methoxybenzaldehyde)(1.00 g, 7.40 mmol)과 NaOH(0.30 g, 7.40 mmol)을 사용하고 실리카 겔 크로마토그래피 (전개용매: (에틸아세테이트/n-헥산 = 1:2 1:1)로 정제하여 오렌지색 제조예 3(0.83g, 62.5%)을 얻었다. R_f 0.40 (에틸아세테이트/n-헥산 = 1:1); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 3.83 (br s, 2H), 3.85(s, 3H), 6.88 (ddd, J = 8.0, 2.4, 0.8Hz, 1H), 6.93 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.27(dd, J = 8.0, 7.6 Hz, 1H), 7.31 (dd, J = 2.0, 1.6 Hz, 1H), 7.36 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.38 (ddd, J = 7.6, 1.6, 0.8 Hz, 1H), 7.59 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.76 (d, J = 15.6 Hz, 1H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) 56.0, 56.3, 112.7, 113.9, 114.1, 116.8, 123.3, 125.2, 128.9, 131.3, 138.6, 151.2, 153.4, 153.7, 188.8 ppm.

[98]

- [99] [제조예 4] (E)-1-(3-아미노페닐)-3-(4-하이드록시-2-메톡시페닐)프로프-2-엔-1-온
((E)-1-(3-Aminophenyl)-3-(4-hydroxy-2-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one))

- [100] 상기 방법 2에 따라 3-아미노아세토펜론 (0.40 g, 2.96 mmol), 2-메톡시-4-((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)벤즈알데하이드(2-methoxy-4-((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)benzaldehyde) (0.70 g, 2.96mmol)과 NaOH(0.12 g, 2.96 mmol)을 사용하고 실리카 겔 크로마토그래피 (전개용매: 에틸아세테이트/n-헥산 = 1:1)로 정제하여 오렌지색 제조예 4(0.28 g, 35.1%)를 얻었다. R_f 0.25 (에틸아세테이트/n-헥산 = 1:1); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 3.71 (s, 3H), 6.30 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.34 (dd, J = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 6.72 (ddd, J = 8.0, 2.4, 0.8 Hz, 1H), 7.08 (dd, J = 8.4, 8.0 Hz, 1H), 7.13 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.16 (ddd, J = 7.6, 7.6, 0.8 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 15.6Hz, 1H), 7.32 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.85 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 9.35(br s, 1H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) 55.3, 99.1, 108.2, 114.1, 115.3, 118.1, 118.7, 119.3, 129.1, 130.6, 139.8, 140.3, 147.0, 60.5, 161.4, 191.1 ppm.

[101]

[102] [제조예 5] (E)-1-(3-아미노페닐)-3-(2,5-다이메톡시페닐)프로프-2-엔-1-온
((E)-1-(3-Aminophenyl)-3-(2,5-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-one))

[103] 상기 방법 1에 따라 4-아미노아세트페논 (0.50 g, 3.70 mmol), 2,5-다이메톡시벤즈알데하이드 (0.62 g, 3.70 mmol)과 NaOH(0.15 g, 3.70 mmol)을 사용하고 실리카 겔 크로마토그래피 (전개용매: 에틸아세테이트/n-헥산 = 1:3)로 정제하여 노란색 제조예 5(0.27 g, 25.4%)를 얻었다. R_f 0.62 (에틸아세테이트/n-헥산 = 1:1); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 3.81 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 6.87 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.88(ddd, $J = 8.4, 2.0, 0.8$ Hz, 1H), 6.94(dd, $J = 8.8, 2.8$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 7.27 (dd, $J = 8.0, 8.0$ Hz, 1H), 7.31 (dd, $J = 2.8, 2.8$ Hz, 1H), 7.38 (ddd, $J = 8.0, 2.0, 1.6$ Hz, 1H), 7.53 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 8.06 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) 56.1, 56.3, 112.7, 113.9, 114.7, 117.4, 119.1, 119.4, 123.6, 124.8, 129.6, 139.8, 140.0, 147.0, 153.5, 153.7, 191.4 ppm.

[104]

[105] [제조예 6]
(E)-4-클로로-N-(4-(3-(2,5-다이메톡시페닐)아크릴로일)페닐)벤제네설포아마이드
((E)-4-Chloro-N-(4-(3-(2,5-dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)benzenesulfonamide))

[106] 상기 제조예 2(0.67 g, 2.36 mmol)와 트리에틸아민(triethylamine) (TEA, 0.26 g, 2.60 mmol)이 녹아 있는 CH_2Cl_2 용액에 4-클로로벤젠설포닐 클로라이드(4-chlorobenzenesulfonyl chloride) (0.75g, 3.54 mmol)을 가하고 상온에서 24시간 동안 교반 하였다. 반응 혼합물에 물을 넣고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기 용매층을 모아 포화 NaHCO_3 로 세척하고 무수 MgSO_4 를 넣고 탈수한 후 용매는 감압 하에서 증류하여 제거하고, 남은 잔사를 실리카 겔 크로마토그래피 (전개용매: 에틸아세테이트/n-헥산 = 1:2) 로 정제하여 노란색 제조예 6(0.55 g, 50.9%)을 얻었다. R_f 0.18 (에틸아세테이트/n-헥산 = 1:1); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ 3.74 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 6.84 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.88 (dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.20 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.40 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.54 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.74 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.85 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.91 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 10.58 (s, 1H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6) 55.2, 55.6, 112.1, 112.7, 117.0, 118.0, 121.6, 123.5, 128.0, 128.1, 128.7, 129.4, 132.9, 137.8, 138.3, 141.5, 152.5, 152.9, 187.9 ppm.

[107]

[108] [제조예 7] (E)-4-클로로-N-(3-(3-(4-메톡시페닐)아크릴로일)페닐)벤제네설포아마이드
((E)-4-Chloro-N-(3-(3-(4-methoxyphenyl)acryloyl)phenyl)benzenesulfonamide)

[109] N-(3-아세틸페닐)-4-클로로벤젠설포아마이드 (N-(3-acetylphenyl)-4-chlorobenzenesulfonamide)(0.10 g, 0.32 mmol), 4-메톡시벤즈알데하이드 (0.04 g, 0.32 mmol)과 NaOH (0.03 g, 0.80 mmol)을

에탄올 용매에 넣고 상온에서 72시간 동안 교반 하였다. 반응 혼합물에 묽은 염산 수용액을 넣고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기 용매층을 모아 물로 세척하고 무수 MgSO_4 를 넣고 탈수한 후 용매는 감압 하에서 증류하여 제거한 후 남은 잔사를 실리카 겔 크로마토그래피 (전개용매: 에틸아세테이트/n-헥산 = 1:3 2:1)로 정제하여 노란색 제조예 7(0.01 g, 6.5%)을 얻었다. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 3.84 (s, 3H), 6.92 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.28 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.33 (dd, J = 8.0, 7.6 Hz, 1H), 7.36 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.41 (ddd, J = 8.0, 2.0, 1.2 Hz, 1H), 7.57 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.68 (ddd, J = 7.6, 1.6, 1.2 Hz, 1H), 7.71 - 7.78(m, 4H), 9.25 (s, 1H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) 55.6, 114.6, 119.5, 121.1, 124.9, 125.0, 127.6, 128.8, 129.4, 129.7, 130.5, 137.

[110]

[111] [제조예 8]

(E)-4-클로로-N-(3-(3-(2,5-다이메톡시페닐)아크릴로일)페닐)벤제네설포아마이드
((E)-4-Chloro-N-(3-(3-(2,5-dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)benzenesulfonamide)

[112] 상기 제조예 5(0.12 g, 0.43 mmol)와 트리에틸아민 (0.03 g, 2.60 mmol)이 녹아있는 CH_2Cl_2 용액에 4-클로로벤젠설포닐 클로라이드 (0.09g, 0.43 mmol)을 가하고 상온에서 24시간동안 교반하였다. 반응 혼합물에 물을 넣고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기 용매층을 모아 포화 NaHCO_3 로 세척하고 무수 MgSO_4 를 넣고 탈수한 후 용매는 감압 하에서 증류하여 제거하고, 남은 잔사를 실리카 겔 크로마토그래피 (전개용매: 에틸아세테이트/n-헥산 = 1:3) 로 정제하여 노란색 제조예 8(0.08 g, 37.3%)을 얻었다. R_f 0.33 (에틸아세테이트/n-헥산 = 1:1); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 3.82 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 6.88 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.96 (dd, J = 8.4, 2.8 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 7.40 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.41 - 7.43 (m, 2H), 7.55 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 7.73 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.71 - 7.72 (m, 1H), 7.76 - 7.79 (m, 1H), 8.08 (d, J = 16.0 Hz, 1H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) 56.1, 56.3, 112.7, 114.5, 117.9, 121.6, 122.8, 124.4, 125.5, 125.8, 128.9, 129.7, 130.0, 137.1, 137.7, 139.9, 140.0, 141.6, 153.7, 153.8, 190.3 ppm.

[113]

[114] [제조예 9]

(E)-4-클로로-N-((4-클로로페닐)설포닐)-N-(3-(3-(2,5-다이메톡시페닐)아크릴로일)페닐)벤제네설포아마이드
((E)-4-Chloro-N-((4-chlorophenyl)sulfonyl)-N-(3-(3-(2,5-dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)benzenesulfonamide))

[115] 상기 제조예 5(0.22 g, 0.78 mmol)와 트리에틸아민 (0.22 g, 2.12 mmol)이 녹아있는 CH_2Cl_2 용액에 4-클로로벤젠설포닐 클로라이드 (0.25g, 1.17 mmol)을 가하고 상온에서 24시간 동안 교반 하였다. 반응 혼합물에 물을 넣고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기 용매층을 모아 포화 NaHCO_3 로 세척하고 무수 MgSO_4 를 넣고 탈수한 후 용매는 감압 하에서 증류하여 제거하고, 남은 잔사를 실리카 겔 크로마토그래피 (전개용매: 에틸아세테이트/n-헥산 = 1:4)로 정제하여

노란색 제조예 8(0.20 g, 39.8%)를 얻었다. R_f 0.77 (에틸아세테이트/n-헥산 = 1:1); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 3.83 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 6.89 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 6.97 (dd, J = 9.2, 3.2 Hz, 1H), 7.13 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 7.19 (dd, J = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 7.42 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 7.52 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.54 (d, J = 8.8 Hz, 4H), 7.66 (dd, J = 1.6, 1.6 Hz, 1H), 7.89 (d, J = 8.8 Hz, 4H), 8.05 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 8.09 (d, J = 8.0 Hz, 1H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) 56.1, 56.3, 112.7, 114.3, 117.9, 122.9, 124.3, 129.8, 129.9, 130.3, 130.6, 131.6, 134.6, 135.2, 137.8, 140.2, 141.4, 141.8, 153.7, 153.8, 189.9 ppm.

[116]

[117] [제조예 10] (E)-1-(4-아미노페닐)-3-(4-(피페리딘-1-일)페닐)프로프-2-엔-1-온
((E)-1-(4-Aminophenyl)-3-(4-(piperidin-1-yl)phenyl)prop-2-en-1-one)

[118] 상기 방법 1에 따라 4-아미노아세트페논 (0.40 g, 2.96 mmol), 4-(피페리딘-1-일)벤즈알데하이드 (4-(piperidin-1-yl)benzaldehyde) (0.56 g, 2.96 mmol)과 NaOH (0.12 g, 2.96 mmol)를 사용하고 실리카 겔 크로마토그래피 (전개용매: MeOH: CHCl_3 = 1:19)로 정제하여 오렌지색 제조예 10 (0.28 g, 30.9%)을 얻었다. R_f 0.43 (에틸아세테이트/n-헥산 = 1:1); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 1.62 - 1.71 (m, 6H), 3.29 (t, J = 5.2 Hz, 4H), 4.10 (br s, 2H), 6.69 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.89 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.37 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.53 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.75 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.95 (d, J = 8.8 Hz, 2H).

[119]

[120] [제조예 11] (E)-1-(3-아미노페닐)-3-(4-(피페리딘-1-일)페닐)프로프-2-엔-1-온
((E)-1-(3-Aminophenyl)-3-(4-(piperidin-1-yl)phenyl)prop-2-en-1-one)

[121] 상기 방법 1에 따라 3-아미노아세트페논 (0.40 g, 2.96 mmol), 4-(피페리딘-1-일)벤즈알데하이드 (0.56 g, 2.96 mmol)과 NaOH (0.12 g, 2.96 mmol)를 사용하고 실리카 겔 크로마토그래피 (전개용매: MeOH: CHCl_3 = 1:19)로 정제하여 오렌지색 제조예 11 (0.45 g, 49.6%)을 얻었다. R_f 0.47 (에틸아세테이트/n-헥산 = 1:1); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 1.61 - 1.72 (m, 6H), 3.31 (t, J = 5.6 Hz, 4H), 3.80 (br s, 2H), 6.86 (ddd, J = 8.0, 2.4, 0.8 Hz, 1H), 6.89 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.28 (dd, J = 8.0, 8.0 Hz, 1H), 7.30 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.31 (dd, J = 2.0, 2.0 Hz, 1H), 7.37 (ddd, J = 8.8, 1.2, 1.2 Hz, 1H), 7.53 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.75 (d, J = 15.6 Hz, 1H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) 24.6, 25.7, 49.3, 114.7, 115.0, 118.4, 119.0, 119.1, 124.7, 129.5, 130.4, 140.3, 145.4, 146.9, 153.4, 191.1 ppm.

[122]

[123] [제조예 12] (E)-1-(4-하이드록시페닐)-3-(4-(피페리딘-1-일)페닐)프로프-2-엔-1-온
((E)-1-(4-Hydroxyphenyl)-3-(4-(piperidin-1-yl)phenyl)prop-2-en-1-one)

[124] 상기 방법 2에 따라 1-(4-((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)페닐)에탄-1-온 (1-(4-((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)phenyl)ethan-1-one) (0.50g, 2.27 mmol),

4-(피페리딘-1-일)벤즈알데하이드 (0.43 g, 2.27 mmol)과 NaOH (0.09 g, 2.27 mmol)을 사용하고 실리카 겔 크로마토그래피 (전개용매: 에틸아세테이트/n-헥산 = 1:3 1:1) 로 정제하여 오렌지색 제조예 12(0.24 g, 33.7%)를 얻었다. R_f 0.17 (에틸아세테이트/n-헥산 = 1:3); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 1.58 - 1.65 (m, 6H), 3.25 (t, J = 5.6 Hz, 4H), 6.84 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.87 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.32 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.48 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.68 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.90 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 9.34 (s, 1H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) 24.4, 25.5, 49.2, 114.9, 115.6, 117.8, 124.8, 130.1, 130.6, 130.9, 144.2, 153.1, 161.7, 189.0 ppm.

[125]

[126] [제조예 13]

(E)-1-(2,4-다이하이드록시페닐)-3-(4-(피페리딘-1-일)페닐)프로프-2-엔-1-온((E)-1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-(4-(piperidin-1-yl)phenyl)prop-2-en-1-one)

[127] 상기 방법 2에 따라 1-(4-((테트라하이드로-2H-파이란-2-일)옥시)페닐)에탄-1-온 (0.50 g, 2.12 mmol), 4-(피페리딘-1-일)벤즈알데하이드 (0.40 g, 2.12 mmol)과 $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ (0.73 g, 2.33 mmol)을 사용하고 실리카 겔 크로마토그래피 (전개용매: 에틸아세테이트/n-헥산 = 1:1) 로 정제하여 오렌지색 제조예 13(0.12 g, 16.8%)을 얻었다. R_f 0.66 (에틸아세테이트/n-헥산 = 1:1); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 1.58 - 1.65 (m, 6H), 3.27 (t, J = 5.6 Hz, 4H), 6.37 - 6.40 (m, 2H), 6.84 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.34 (d, J = 15.2 Hz, 1H), 7.49 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.73 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.76 (d, J = 15.2 Hz, 1H), 9.64 (s, 1H), 13.6 (s, 1H).

[128]

[129] [제조예 14]

(E)-3-(4-하이드록시-2-메톡시페닐)-1-(4-(피페리진-1-일)페닐)프로프-2-엔-1-온((E)-3-(4-Hydroxy-2-methoxyphenyl)-1-(4-(piperazin-1-yl)phenyl)prop-2-en-1-one)

[130] 상기 방법 2에 따라

1-(4-((테트라하이드로-2H-파이란-2-일)옥시)페닐)에탄-1-온 (0.50 g, 2.45 mmol), 2-메톡시-4-((테트라하이드로-2H-파이란-2-일)옥시)벤잘데하이드 (0.58 g, 2.45 mmol)과 NaOH (0.20 g, 4.90 mmol)을 사용하고 용매 제거 후 얻어지는 고체를 에틸아세테이트/n-헥산 혼합 용매로 처리하였다. 생성된 고체를 여과하여 진공 건조하여 오렌지색 제조예 14(0.28 g, 33.8%)를 얻었다. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ 2.89 (dd, J = 7.2, 3.2 Hz, 4H), 3.26 (dd, J = 7.2, 4.0 Hz, 4H), 3.82 (s, 3H), 6.40 (dd, J = 8.8, 2.0 Hz, 1H), 6.41 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 6.89 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.51 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.55 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.87 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.90 (d, J = 8.8 Hz, 2H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6) 45.1, 47.5, 55.1, 98.7, 107.9, 112.9, 114.7, 118.0, 127.7, 129.7, 129.8, 137.7, 153.7, 159.7, 161.2, 186.8 ppm.

[131]

[132] [제조예 15] (E)-3-(4-하이드록시페닐)-1-(4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)프로프-2-엔-1-온 ((E)-3-(4-Hydroxyphenyl)-1-(4-(4-methylpiperazin

-1-yl)phenyl)prop-2-en-1-one)

[133] 상기 방법 2에 따라

1-(4-((테트라하이드로-2H-파이란-2-일)옥시)페닐)에탄-1-온 (0.50 g, 2.29 mmol), 4-((테트라하이드로-2H-파이란-2-yl)옥시)벤즈알데하이드 (0.47 g, 2.29 mmol)와 NaOH(0.09 g, 2.29 mmol)를 사용하고 용매 제거 후 얻어지는 고체를 에틸아세테이트/n-헥산 혼합 용매로 처리하였다. 생성된 고체를 여과하여 진공 건조하여 오렌지색 제조예 15 (0.70 g, 94.8%)를 얻었다. ¹H-NMR(400 MHz, , CDCl₃) δ 2.33 (s, 3H), 2.55 (t, J = 5.2 Hz, 4H), 3.37 (t, J = 5.2 Hz, 4H), 6.86 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.89 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.38(d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.49 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.72 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.95 (d, J = 8.8 Hz, 2H); ¹³C-NMR (100MHz, CDCl₃) 46.2, 47.4, 54.8, 113.7, 116.2, 118.8, 126.8, 128.7, 130.3, 130.6, 143.7, 154.0, 159.7, 188.4 ppm.

[134]

[135] **[실험예 2] 인 실리코(in silico) 3D 도킹(docking) 테스트**

[136] 상기 제조예 1 내지 15의 에이엠피-활성 단백질 키나아제(AMP-activated protein kinase; AMPK) 효소와의 결합력을 확인하였다.

[137] 후보물질의 모체인 CNa87의 분자를 대조군으로 하여, 상기 제조예 1 내지 15를 대상으로 3D 도킹(docking)실험을 진행하여, 그 결과를 표 2 및 도 2에 나타내었다.

[138] 표 2 및 도 2에서 보는 바와 같이, 대조군의 도킹 점수가 5.5818인 것과 비교하여, 4-클로로벤젠설포아마이드(4-chlorobenzenesulfoamide) 그룹이 치환된 제조예 6에서 도킹 점수가 8.2507로 가장 높게 나타났고, 제조예 7 및 제조예 8에서도 대조군에 비해 약 1 이상 도킹 점수가 높게 나타났다.

[139]

[140] [표2]

후보물질	도킹 점수	crash	극성
대조군(CNa87)	5.5818	-1.3634	3.4231
제조예 1	5.9517	-0.8384	3.6834
제조예 6	8.2507	-2.1744	3.2779
제조예 7	6.5712	-1.3554	2.847
제조예 8	7.8235	-2.511	4.4773
제조예 10	5.4865	-1.4533	2.798
제조예 11	5.1156	-1.011	2.6492

[141]

[142] 상기 결과를 통해, 대조군인 CNa87에 비하여, 에이엠피-활성 단백질 키나아제

효소와 본 발명의 상기 대부분의 제조예가 결합력이 높고, 이를 통하여 상기 효소를 활성화 시킬 수 있음을 예측할 수 있다.

[143]

[144] **[실험예 2] 에이엠피-활성 단백질 키나아제 활성 측정**

[145] 상기 실험예 1에서 도킹 점수가 가장 높았던 제조예 6의 에이엠피-활성 단백질 키나아제(AMP-activated protein kinase; AMPK) 활성 여부의 영향을 확인하기 위하여 키나아제 어세이(kinase assay)를 수행하였다. 상기 키나아제 어세이는 상기 효소의 활성을 유도하는 것으로 알려진 대조군 AICAR와 상기 제조예 6을 투여한 뒤, 에이엠피-활성 단백질 키나아제 기질(substrate) 펩타이드(peptide)에서 정제된 에이엠피-활성 단백질 키나아제와 ATP를 반응시키고 발광(luminescence) 정도를 EC₅₀로, 하기 표 3 및 도 3에 나타내었다.

[146] 표 3 및 도 3에서 보는 바와 같이, 대조군인 AICAR은 0.299의 EC₅₀을 나타낸 반면, 제조예 6은 상기 대조군에 비해 약 3배 정도 높은 0.637의 EC₅₀을 나타내었다.

[147]

[148] [표3]

후보물질	EC ₅₀ (μ M)
대조군(AICAR)	0.299
제조예 6	0.637

[149]

[150] 상기 결과를 통해 본 발명에 따른 제조예 6은 에이엠피-활성 단백질 키나아제에 결합력이 높을 뿐만 아니라, 매우 효과적으로 상기 효소의 활성을 높이는 것을 알 수 있다.

[151]

[152] **[준비예 1] 실험동물 준비 및 사육**

[153] 6주령의 ICR-쥐 (수컷)을 구입한 후 6일 동안 동물사육실의 환경하에서 검역 및 순화시키면서 일반 건강상태를 관찰한 후, 건강한 개체를 선별하여 실험에 사용하였다. 각 개체의 식별은 유성 매직을 이용하여 각 개체번호 꼬리에 표시하며, 사육상자는 시험 번호, 시험 물질명, 시험 항목, 입수일, 순화 기간, 군 분리일, 시험기간, 성별/동물 번호 및 시험책임자를 기재한 개체식별카드를 부착하여 식별하였다. 순화 기간 중 이상이 발생한 개체와 정상적으로 체중이 증가하지 않은 개체를 제외한 후, 각 군간 평균 체중 및 표준편차가 균일하도록 군 분리를 실시 하였다.

[154] 상기 실험 동물의 사육 환경은 온도 (22 ± 3), 상대습도 (50 ± 20) %, 환기 횟수 (10 ~ 15) 회/시간, 조명 주기 12시간 (8:00 ~ 20:00), 조도 (150 ~ 300) 렉스(Lux)의 사육 환경으로 설정된 동물 사육실에서 사료와 음용수를 급여하여 사육하며,

순화 및 시험기간 동안 격리 사육을 실시 하였다.

[155]

[156] **[준비예 2] 퇴행성 신경질환 유발 실험동물 준비**

[157] 퇴행성 신경질환의 유발을 위하여, 상기 준비예 1의 실험 동물을 아이소플루렌(isoflurane) 2.5% 로 흡입 마취시킨 후 입체 정위 수술 장치 (stereotaxic apparatus)를 이용하여 양쪽 해마 (AP: - 2.3, L: ± 2.0 , H: -1.5) 위치에 퇴행성 신경질환 유발 물질인 아밀로이드 베타 펩타이드₁₋₄₂ 및 대조군은 145mM NaCl, 2.7mM KCl, 1.2mM CaCl₂, 1.0mM MgCl₂ 로 만든 인공 뇌척수액을 1 μ g 투여하였다. 상기 투여를 위하여, 1ml 가스-타이트 글래스 주사기 (gas-tight glass syringe) (Hamilton, Reno, NV, USA)에 관류 펌프(perfusion pump) (Pump 22, Harvard Apparatus, South Natick, MA, USA)를 이용하여, 0.2 μ l/min 유속으로 1 μ l 주입 후에 5분간 방치한 다음 주사기를 제거하였다.

[158]

[159] **[실험예 3] 모리스 워터 메이즈 테스트**

[160] 본 발명에 따른 화합물이 퇴행성 신경질환의 치료 효과가 있는지 확인하기 위하여 행동 테스트를 수행하였다.

[161] 양성 대조군인 퇴행성 신경질환 치료제 도네페질(donepezil) 및 상기 제조예 6을 1mg, 10mg, 및 100mg 전처치(pre-treatment) 후, 상기 제조예 2에서와 같이 퇴행성 신경질환을 유도하였다. 상기 퇴행성 신경질환 유도일로부터 실험 종료일(해부일)까지, 도네페질 및 제조예 6은 7일 동안 지속하여 투여 하였다.

[162] 퇴행성 신경질환 유발 후, 1일의 회복기간 후부터 하기 테스트를 실시하였다.

[163] 도 4에서와 같이 원형풀(지름: 120 cm, 높이: 75 cm)에 물을 25 $\pm$ 1 cm로 채우고, 24cm의 도피대(platform)을 수면 1 cm 아래에 숨겨서 준비하였다. 상실험 동물이 위치를 확인할 수 있게 벽의 네 면에 공간 단서를 설치하고, 탈지 분유에 물을 풀어 도피대를 육안으로 확인할 수 없게 하였다. 실험 하루 전, 상기 모든 실험 동물을 도피대가 없는 수조에서 1분간 자유롭게 수영하도록 하여, 수영하는 상황에 적응할 수 있도록 하였다. 그 후 도피대가 놓인 사분면을 제외한 3곳 중 2곳에서 임의의 순서로 시험군을 출발시켜 60초간 도피대를 찾도록 하였다. 도피대를 찾으면 그로부터 20초간 그 위에 머무르게 하고, 45초 내로 도피대를 찾지 못하는 경우 실험자가 시험군을 도피대까지 유도하여 20초간 머물도록 하였다. 상기 20초간의 머무르는 시간인 위치 학습시간이 끝나면 바로 임의의 분면에서 동물을 다시 출발시켜 도피대까지 찾아가는 시간과 거리를 측정하였다. 상기 과정을 하루에 4번 시행하였고, 모든 과정은 카메라로 촬영한 뒤 비디오 추적 시스템(Panlab, USA)으로 분석 하였다. 총 4일간의 실험을 마친 후 5일째 되는 날 프로브 시도를 시행하였으며, 도피대 없이 90초 동안 자유 수영을 하게 하여 도피대의 위치에 대한 기억을 보유하고 있는지에 대한 평가를 실시하여, 그 결과를 도 5 내지 도 7에 나타내었다.

[164] 도 5 내지 도 7에서 보는 바와 같이, 대조군의 경우 첫째날, 첫번째 시도에서

95.87초 (± 26.88 sec) 수준에서 도피대를 찾았으며, 시도 횟수와 실험일이 지나갈수록 학습이 진행되어 각 실험일 첫 번째 시도는 각각 95.87초 (± 26.88 sec), 71.27초 (± 17.83 sec), 58.93초 (± 22.16 sec) 및 마지막 네 번째 날에는 32.37초 (± 8.90 sec)만에 도피대를 찾아 탈출하였다. 하지만, 베타 아밀로이드 군은 음성대조군은 학습이 정상적으로 진행되지 않아 도피대를 찾는 시간이 1일째, 최장 143.91초 (± 26.88 sec)에서, 4일 째, 최단 60.59초 (± 15.12 sec)로 대조군과 비교하여 도피시간이 정상적으로 감소하지 않은 것을 확인하였다. 도네페질군은 최장 111.99초 (± 22.59 sec)에서, 최단 30.82초 (± 13.96 sec)로 도피대를 찾아 탈출하였다.

[165] 반면, 제조예 6을 처리한 1, 10, 100 mg 경우, 도피대 탈출 최장 시간으로 각각 136.45초 (± 26.02 sec), 128.59초 (± 23.32 sec), 및 125.66초 (± 19.35 sec)로 측정되었다. 또한, 세 시험군의 도피대를 찾는 최단 시간으로는 44.45초 (± 13.35 sec), 40.64초 (± 10.94 sec), 36.48초 (± 9.54 sec)로 측정 되었다.

[166] 또한, 24시간 후의 장기기억을 나타내는 지표인 각 실험일에서 첫 번째 시도만을 군간 비교하였을 때, 1 일 째에는 베타 아밀로이드 군과 대조군을 제외한 모든 군에서 유의적 차이는 관찰 할 수 없었다. 하지만 2일 및 3일째에서 제조예 6을 처리한 10 mg (2 일: 95.05 ± 18.06 sec, $p < 0.05$, 3 일: 91.66 ± 12.68 sec, $p < 0.05$), 100 mg (2 일: 91.66 ± 12.68 sec, $p < 0.01$, 3 day: 83.41 ± 11.46 sec, $p < 0.05$)군에서 베타 아밀로이드군 (2 일: 123.79 ± 22.85 sec, 3 일: 113.10 ± 28.27 sec)과 비교하여 유의적으로 도피 시간이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 마지막 4 일 에서는 1, 10, 그리고 100 mg군 (1 mg: 73.58 ± 9.14 sec, $p < 0.05$, 10 mg: 65.22 ± 13.65 sec, $p < 0.05$, 100 mg: 64.7 ± 12.63 sec, $p < 0.05$)에서 베타 아밀로이드군 (90.39 ± 19.77 sec)과 비교하여 유의적으로 도피 시간이 감소하였다. 그리고 반복적인 시도로 단기 기억의 지표가 되는 4번째 마지막 시도만을 군간 비교한 결과 1, 2 및 3 일에는 시료군중 10 mg (1 일: 76.14 ± 13.27 sec, $p < 0.05$, 2 일: 59.87 ± 12.56 sec, $p < 0.05$, 3 일: 54.07 ± 14.38 sec, $p < 0.05$) 및 100 mg (1 일: 73.79 ± 12.15 sec, $p < 0.05$, 2 일: 59.62 ± 8.22 sec, $p < 0.05$, 3 일: 47.74 ± 10.81 sec, $p < 0.01$)군의 경우, 베타 아밀로이드 군 (1 일: 100.51 ± 21.51 sec, 2 일: 80.39 ± 18.75 sec, 3 일: 73.82 ± 19.18 sec)과 비교하여 유의적으로 도피 시간이 감소함을 확인할 수 있었다. 그리고 마지막 4 일에서는 모든 시료군 (1 mg: 44.45 ± 13.35 sec, $p < 0.05$, 10 mg: 40.64 ± 10.94 sec, $p < 0.05$, 100 mg: 36.48 ± 9.54 sec, $p < 0.01$) 에서 베타 아밀로이드 군과 비교하여 유의적으로 도피 시간이 감소하였다.

[167] 상기 결과에 의해 제조예 6이 베타 아밀로이드에 의해 유도된 퇴행성 치매에 대한 기억력이 회복하여 도피시간을 감축시킨다는 것을 알 수 있었다.

[168]

[169] [실험예 4] 프로브 테스트

[170] 본 발명에 따른 화합물이 퇴행성 신경질환의 치료효과가 있는지 확인하기

위하여, 종합적인 기억능력을 테스트하였다.

- [171] 상기 실시예 3과 동일하게 제조예 6, 음성 대조군 및 양성 대조군으로 도네페질을 각각 투여하고, 4일 동안의 반복학습을 통한 종합적인 최종 기억능력을 평가하는 프로브 테스트를 실시하여, 그 결과를 도 8 및 도 9에 나타내었다.
- [172] 도 8 및 도 9에서 보는 바와 같이, 상기 프로브 테스트 결과 대조군의 경우 도피대를 제거하고 90초 동안 도피대가 있었던 분면에서 유영한 시간이 47.19초 (± 6.95 sec) 였으며, 베타 아밀로이드 군은 도피대가 있었던 분면에서의 유영시간이 23.90초 (± 6.25 sec) 로서 대조군과 비교하여 유영한 시간이 유의적으로 감소하였음을 확인하였다. 양성 대조군인 도네페질군의 경우 목표 분면에서의 유영시간이 39.04초(± 8.68 sec)로서 베타 아밀로이드 군과 비교하여 유의적으로 증가하였다 ($p < 0.01$). 시험군의 경우 모든 군 (1 mg: 31.08 ± 6.33 sec, 10 mg: 36.73 ± 7.78 sec, 100 mg: 36.51 ± 6.55 sec)에서 목표 분면에서의 유영시간이 베타 아밀로이드군과 비교하여 유의적으로 증가한 것을 확인하였다. (1 mg: $p < 0.05$, 10, 100 mg: $p < 0.01$).

[173]

[174] **[실험예 5] 수동회피반응 시험**

- [175] 상기 실시예 3과 동일하게 제조예 6, 음성 대조군 및 양성 대조군으로 도네페질을 각각 투여하고, 실험 4시간 전, 밝은 불빛이 드는 챔버(chamber)와 암소의 챔버가 작은 통로로 붙어있는 상황에서, 밝은 불빛이 드는 챔버에 실험동물을 놓아두었다. 실험동물은 본능적으로 어두운 챔버로 들어가게 되지만 전자 충격(electric shock)을 이용하여 혐오자극을 주어 공포 학습을 시킨지 4시간 후, 밝은 빛의 챔버에 실험동물을 두었을 때, 어두운 암소의 챔버에 들어갈 때까지의 시간을 측정하여 이를 수치화 하여, 그 결과를 도 10에 나타내었다.

- [176] 도 10에서 보는 바와 같이, 상기 실험결과 대조군의 경우 밝은 빛의 챔버에서 암소의 챔버로 들어가는 시간이 249.84 초 (± 64.84 sec)로 측정되었으며, 베타 아밀로이드군의 경우 98.21초 (± 43.27 sec)로 대조군과 비교하여 밝은 빛의 챔버에서 머무는 시간이 유의적으로 감소하였다. 그리고 실험군 중 10 mg (156.87 ± 50.95 sec)군과 100 mg (153.48 ± 34.71 sec)은 베타 아밀로이드군과 비교하였을 때, 밝은 빛의 챔버에서 머문 시간이 유의적으로 증가하였음을 확인하였다 ($p < 0.05$).

[177]

[178] **[실험예 6] 근무명부 막대 테스트**

- [179] 상기 실시예 3과 동일하게 제조예 6, 음성 대조군 및 양성 대조군으로 도네페질을 각각 투여하고, 퇴행성 신경질환과 동반되는 운동 협응 능력과 운동 감각의 감소에 따른 시료의 효과를 평가하기 위한 실험으로 시험군의 전반적인 모터 기능(motor function)을 알아보는 근무명부 막대 실험을 수행하였다. 실험

방법은 전날 1분간 2회, 회전(20 rpm)하는 원통 위에 강제로 걸게 하여 적응 훈련을 시키고 24시간 후, 동일한 조건의 회전하는 원통 위에서 균형을 잃고 떨어지는 시간을 측정하여, 그 결과를 도 11에 나타내었다.

- [180] 도 11에서 보는 바와 같이, 대조군의 경우 15 rpm으로 회전하는 원통 위에서 균형을 잡는 시간이 평균 53.62초 (± 13.59 sec), 베타 아밀로이드군의 경우는 33.60초 (± 11.95 sec)로 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였다. 그리고 실험군 중, 10 mg (48.62 ± 10.54 sec)군과 100 mg (47.65 ± 8.13 sec)군에서 베타 아밀로이드군과 비교하였을 때 유의적으로 원통 위에서의 시간이 증가한 것을 확인할 수 있었다($p < 0.05$).

[181]

[182] **[실험예 7] 수직 막대 테스트(Vertical Pole test)**

- [183] 상기 실시예 3과 동일하게 제조예 6, 음성 대조군 및 양성 대조군으로 도네페질을 각각 투여하고, 퇴행성 신경질환과 동반되는 운동 협응 능력과 운동 감각의 감소에 따른 시료의 효과 중 균형 감각에 대한 평가를 위해, 45°각도의 막대기 중심부에 실험동물을 올려놓은 후, 균형을 잃고 떨어질 때까지의 소요시간을 측정 하여, 그 결과를 도 12에 나타내었다.

- [184] 도 12에서 보는 바와 같이, 대조군의 경우 45도 각도의 봉 위에서 균형을 잡는 시간이 평균 14.60초 (± 2.28 sec) 였으며, 베타 아밀로이드군의 경우는 10.47초 (± 3.50 sec)로 유의적으로 감소하였다.

[185]

[186] **[실험예 8] 아세틸콜린 가수 분해 효소 활성 측정**

- [187] 상기 실시예 3과 동일하게 제조예 6, 음성 대조군 및 양성 대조군으로 도네페질을 각각 투여한 실험쥐의 뇌조직을 추출한 뒤, 아세틸콜린 가수 분해효소의 활성을 하기 방법으로 측정하였다. 마이크로 플레이트에 0.1 M 트리스 버퍼, pH 8.0(트리즈마(Trizma) HCl+트리즈마염기(Trizmabase))를 300 μ l, 0.01 M 다이싸이오니트로벤조익 산(dithionitrobenzoic acid)(DTNB; Sigma, USA) 20 μ l, 뇌조직 균질물 (enzyme suspension) 10 μ l을 연속적으로 첨가하고, 흡광도 측정 직전에 기질인 0.1 M 아세틸사이오콜린 클로라이드(acetylthiocholine chloride)(Sigma, USA) 10 μ l를 첨가하고, 흡광도 측정기를 이용하여 405 nm 에서 5분동안 흡광도 변화를 관찰하여 아세틸콜린 가수분해 효소의 활성(unit/min/mg 단백질)을 측정하여, 그 결과를 도 13에 나타내었다.

- [188] 도 13에서 보는 바와 같이, 대조군의 경우 0.15 U/mg 단백질 (± 0.02)의 활성 수준을 보였지만, 베타 아밀로이드 군에서는 0.31 U/mg 단백질 (± 0.06)의 활성을 보임으로서, 약 2.2배의 증가율의 유의적 차이를 보였다. 반면, 양성 대조군인 도네페질군은 0.18 U/mg 단백질 (± 0.20)으로 베타 아밀로이드 군과 비교하여 유의적으로 아세틸콜린 가수분해 효소의 활성이 감소한 것을 확인하였다. 시료군중 10 mg (0.25 ± 0.07 U/mg protein)과 100 mg (0.24 ± 0.05 U/mg protein)군에서 효소 활성이 유의적으로 감소하였다.

[189]

[190] **[실험예 9] 아세틸콜린 함량의 측정**

[191] 상기 실시예 3과 동일하게 제조예 6, 음성 대조군 및 양성 대조군으로 도네페질을 각각 투여하고, 뇌조직에서 아세틸콜린의 측정은 알칼라인 하이드록실아민(alkaline hydroxylamine)을 가진 o-아실(o-acyl) 유도물의 반응을 기초로 측정하였다. 구체적으로, 뇌조직 50 μ l를 취하여 1% 하이드록실아민(hydroxylamine) (Sigma, USA) 50 μ l 첨가 및 혼합 후 염산을 이용하여 pH 1.2 $\pm$ 0.2로 조절하였다. 최종적으로 아세틸콜린의 수준(μ mole/mg protein)의 측정을 위해 FeCl₃ (10% in 0.1 N HCl)을 500 μ l 첨가한 후, 530nm에서 흡광도를 측정하여, 그 결과를 도 14에 나타내었다.

[192] 도 14에서 보는 바와 같이, 상기 방법에 의한 측정 결과 대조군의 경우 25.07 μ mole/mg 단백질 ($\pm$ 1.92)의 함량을 보였다. 베타 아밀로이드 군에서는 20.48 μ mole/mg 단백질 ($\pm$ 2.05)의 함량을 보임으로서, 유의적 차이를 보이며 1.25배의 감소를 보였다. 하지만, 양성 대조군인 도네페질군은 23.19 μ mole/mg 단백질 ($\pm$ 1.69)으로 베타 아밀로이드 군과 비교하여 유의적으로 함량이 증가한 것을 확인하였다. 모든 시료군에서 측정값 1 mg: 22.31 $\pm$ 1.80 μ mole/mg 단백질, 10 mg: 23.08 $\pm$ 1.54 μ mole/mg 단백질, 100 mg: 22.79 $\pm$ 1.45 μ mole/mg protein 으로 베타 아밀로이드 군과 비교하여 유의적으로 함량이 증가한 것을 확인하였다 (1 mg: p<0.05, 10, 100 mg: p<0.01).

[193] 상기 결과를 통해 본 발명에 따른 제조예 6은 양성 대조군인 도네페질과 비교하여서도 아세틸콜린의 함량을 현저하게 낮추는 것을 알 수 있다.

[194]

[195] **[실험예 10] 세포 사멸 수준 측정**

[196] 상기 실시예 3과 동일하게 제조예 6, 음성 대조군 및 양성 대조군으로 도네페질을 각각 투여한 실험쥐의 뇌조직을 추출한 뒤, 세포 사멸 수준을 터널 어세이를 통해 확인하였다. 터널 어세이는 세포 사멸에 의해 절단된 DNA 절편들의 말단에 형광물질을 부착하여 세포사멸(apoptosis)이 진행된 세포를 탐색하는 방법으로, 추출된 실험동물의 뇌조직을 4% 포르말데하이드(formaldehyde)로 관류(perfusion) 고정 시킨 후, 파라핀을 포매(embedding) 하여 5 μ m 두께로 섹션 한다. 슬라이드에 고정된 뇌 조직을 터널 어세이키트를 이용하여 세포 사멸이 일어난 DNA가 절편화된 말단 부분을 형광으로 염색하여 형광현미경으로 확인하여, 그 결과를 도 15 및 도 16에 나타내었다.

[197] 도 15 및 도 16에서 보는 바와 같이, 상기 표 3의 실험군 전체에 대해 상기 터널 어세이를 진행한 결과, 대조군의 경우 터널-양성(positive) 세포의 수가 평균 1.1개 ($\pm$ 1.32)개로 관찰되었으며, 베타 아밀로이드 군의 경우 115.6개 ($\pm$ 19.52) 로 유의적으로 증가하였다. 양성 대조군인 도네페질군은 (113.83 $\pm$ 14.77) 유의적인 변화가 없었지만, 모든 시료군(1 mg: 88.83 $\pm$ 18.98, 10 mg: 69.5 $\pm$ 17.87, 100 mg:

67.00 ± 19.54)에서 베타 아밀로이드 군과 비교하여 유의하게 터널-양성 세포가 감소한 것을 확인하였다 (1 mg: $p < 0.05$, 10, 100 mg: $p < 0.01$).

[198] 상기 결과를 통해 본 발명에 따른 제조예 6은 양성 대조군인 도네패질과 비교하여서도 뇌 조직 내의 세포 사멸을 현저하게 낮추는 것을 알 수 있다.

[199]

[200] **[실험예 11] 물성 평가: 막 투과도 측정**

[201] 본 발명에 따른 상기 제조예 6의 막 투과 정도를 측정하기 위하여, 인공지질막을 형성시켜 세포 이외의 방법으로 투과성을 측정하는 PMPA 방법을 통해 측정하여, 그 결과를 도 17에 나타내었다.

[202] 도 17에서 보는 바와 같이, 본 발명에 따른 제조예 6의 막 투과성 측정 값이 -4.4 ± 0.152 로 투과 정도가 중간(medium)값을 나타내는 것을 알 수 있었다.

[203] 상기 결과를 통해 본 발명에 따른 제조예 6이 막 투과성이 있어 실제 임상적으로 유용하게 활용될 수 있을 것을 알 수 있다.

[204]

[205] **[실험예 12] 물성평가: 돌연변이 유발성 측정**

[206] 본 발명에 따른 상기 제조예 6으로 인한 암 유발 가능성에 대하여, 특정 아미노산을 요하는 살모넬라 타이피뮤리움(*Salmonella typhimurium*) 균주를 이용하여 소수의 DNA 염기치환이나 첨가, 손실 등의 돌연변이 반응시험을 통하여 시험물질의 변이원성을 예측하여 독성도를 측정하는 에임스 실험 방법에 의해 측정하였다. 한다.

[207] 상기 에임스 실험 방법은 제조예 6 및 양성 대조군에 해당하는 2-나이트로플로렌, 벤조(a)피렌, 소디움아자이드를 DMSO에 용해 및 희석하여 처리하였다. 살모넬라 타이피뮤리움계 TA98과 TA100을 사용하여 S9 상기 제조예 6을 처리하지 않은 대조군과 처리한 시험군에서 시험 물질의 균 생육 정도를 관찰하였다. 제조예 6은 에임스 시험법의 최고 처리 농도인 5000 μ g/plate부터 1/5 희석하여 6단계 농도까지 예비시험을 통하여 균생육 저해 증상과 독성을 나타내지 않는 적절한 농도 및 처리시 석출되지 않는 농도를 선정하여 각각 200 μ g/plate의 단일 농도 3반복으로 처리하고 돌연변이 여부를 확인하여, 그 결과를 하기 표 4에 나타내었다.

[208]

[209] [표4]

시험계	화합물	농도	복귀돌연변이/접시(평균±SD)[인자]	
			S-9 혼합 없음	S-9 혼합 있음
TA98	대조군	0	19±2	23±2
	제조예 6	200	20±4 [1.1]	35±2 [1.5]
TA100	대조군	0	112±16	111±5
	제조예 6	200	104±12 [0.9]	117±4 [1.0]
TA98	2-나이트로플로렌	2	290±8 [15.0]	측정 값없음
	벤조(a)피렌	2	측정 값없음	184±17 [8.0]
TA100	소디움아자이드	1	618±13 [5.5]	측정 값없음
	벤조(a)피렌	2	측정 값없음	567±23 [5.1]

[210] 상기 표 4에서 보는 바와 같이, 제조예 6을 TA98과 TA100 균주에서 각각 200 μ g/plate 처리한 농도군의 대사 활성 효소계 미적용과 적용 시, 대조군에 비해 유의한 복귀돌연변이의 증가는 보이지 않았다. 모든 양성 대조군에서는 집락수가 대조군에 비해 현저한 증가를 나타내었다. 조제된 시험 물질과 S9 혼합물을 각각 상위 아가(agar)에 혼합하여 48시간 배양한 결과 오염은 관찰되지

않았다.

- [211] 상기 결과를 통해 대조군에 비해 3배 이상의 집락수 증가를 보이면서 현저한 차이를 보이는 것으로 시험의 결과를 신뢰할 수 있는 에임스 실험 결과로, 살모넬라 타이피뮤리움 TA98 및 TA100 균주에서 제조예 6을 처리한 세균의 복귀돌연변이 시험에서 복귀돌연변이 집락수 증가는 보이지 않으므로 음성으로 판단되어, 본 발명에 따른 제조예 6은 암을 유발할 가능성이 매우 낮을 것으로 예상할 수 있다.

[212]

[213] [실험예 13] 물성 테스트: 세포 독성 테스트

- [214] 본 발명에 따른 제조예 6이 세포에 독성이 있는지 확인하기 위하여, Cyto X™ 세포 생존 어세이 키트(cell viability assay kit_ (LPS solution)를 이용하여, 한국 화학연구원에서 세포 독성 테스트를 수행하고, 그 결과를 하기 표 5에 나타내었다.

- [215] 하기 표 5에서 보는 바와 같이, 일반적으로 화합물에 의한 IC₅₀가 10μM 이상이면 세포 독성이 없는 것으로 예측될 수 있으므로, 제조예 6은 세포 독성이 없는 것으로 판단할 수 있다.

[216]

[217] [표5]

화합물	IC ₅₀ (μ M)				
	VERO	HFL-1	L929	NIH 3T3	CHO-K1
제조예 6	83.6	>100	>100	>100	>100

[218]

[219] 상기 결과를 통해 본 발명에 따른 제조예 6은 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물로 사용되었을 때에 세포 독성이 나타나지 않을 것을 예상할 수 있다.

[220]

[221] **[실험예 14] 물성 테스트: 심장 안정성 테스트**

[222] 본 발명에 따른 제조예 6의 심장 안정성을 리간드 바인딩 어세이(ligand binding assay)를 이용하여 확인하여, 그 결과를 하기 표 6에 나타내었다.

[223] 하기 표 6에서 보는 바와 같이, 리간드 바인딩 어세이에서는 10 μ M 화합물에 의한 저해율이 50이상이면 hERG 채널(channel) 결합에 주의를 요하는 물질로 판단되는데, 제조예 6은 10 μ M 당 저해율이 1 이하로 hERG 채널의 단백질

결합에 대하여 안전할 것으로 확인되었다.

[224]

[225] [표6]

처리	농도(μ M)	저해율(%)
대조군	10	69.4 $\pm$ 4.78
제조예	10	< 1

[226]

[227] 상기 결과를 통해 본 발명에 따른 제조예 6은 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물로 사용되었을 때 심장 안정성이 있을 것을 예상할 수 있다.

[228]

[229] **[실험예 15] 유기 물성 테스트**

[230] 제조예 6의 임상 적용 여부에 대한 사전 조사를 위하여 친 지질도 및 용해도에 대한 평가를 실시하여, 그 결과를 하기 표 7에 나타내었다.

[231] 하기 표 7에서 보는 바와 같이, 제조예 6은 친 지질도 4.75, 용해도 206.2 및 94.4로 측정되었다.

[232]

[233] [표7]

측정 항목	방법	측정값	참고
pKa, LogP, 친지질도	ACD/Labs T3(pH-metrior)	4.75	
용해도	네펠로메트리(Nephelometry)	206.2 $\pm$ 1.7 μ M/94.4 $\pm$ 0.8 μ g/ml	DMSO 5%/물 용매

[234]

[235] 상기 결과를 통해 본 발명에 따른 제조예 6은 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물로 사용되기 용이한 유기 물성을 갖고 있는 것을 알 수 있다.

[236]

[237] **[실험예 16] 물성 테스트: 반감기**

[238] 본 발명에 따른 제조예 6의 경구 투여 가능성 여부를 확인하기 위하여, 화합물의 반감기를 확인하였다. 반감기의 테스트는 한국화학연구원에 의뢰하였고, 대조군으로 레스베라트롤(Resveratrol)의 반감기와 비교하여, 그 결과를 도 18에 나타내었다.

[239] 도 18에서 보는 바와 같이, 대조군으로 레스베라트롤은 반감기가 8분 내지 10분으로 매우 짧은 반면, 본 발명에 따른 제조예 6은 반감기가 3시간 이상에 해당하였다.

[240] 상기 결과를 통해 본 발명에 따른 제조예 6은 생체 내에서도 반감기가 비교적

길어 경구 투여를 통해 퇴행성 신경질환의 치료가 가능할 수 있다.

- [241] 이 상에서 본 발명에 대하여 상세하게 설명하였지만 본 발명의 권리범위는 이에 한정되는 것은 아니고, 청구범위에 기재된 본 발명의 기술적 사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 다양한 수정 및 변형이 가능하다는 것은 당 기술분야의 통상의 지식을 가진 자에게는 자명할 것이다.

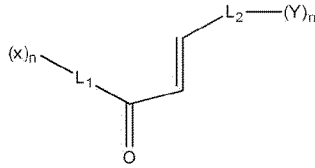
산업상 이용가능성

- [242] 본 발명은 신규 화합물 및 그를 유효성분으로 포함하는 약학 조성물은 에이엠피-활성 단백질 키나아제(AMP-activated protein kinase;AMPK) 효소 활성화를 유도하여 퇴행성 신경질환 등의 분야에 유용하게 활용될 수 있을 것이다.

청구범위

[청구항 1] 하기 화학식 1로 표시되는 화합물:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

L_1 내지 L_2 는 각각 독립적으로 $C_3 \sim C_{40}$ 의 시클로알킬렌, $C_6 \sim C_{60}$ 의 아릴렌, 핵원자수 5 내지 60의 헤테로아릴렌으로 이루어진 군으로부터 선택되고; X 및 Y 는 각각 독립적으로 중수소, 할로젠, 시아노, 니트로, 설펜일, $C_1 \sim C_{10}$ 의 알킬설펜일, 아지드, 하이드록시, $C_1 \sim C_{40}$ 의 알킬, $C_2 \sim C_{40}$ 의 알켄일, $C_1 \sim C_{40}$ 의 알콕시, 비치환되거나 치환된 $C_6 \sim C_{60}$ 의 아릴옥시, 비치환되거나 치환된 $C_3 \sim C_{40}$ 의 시클로알킬, 비치환되거나 치환된 핵원자수 3 내지 20의 헤테로시클로알킬, 비치환되거나 치환된 $C_6 \sim C_{60}$ 의 아릴, 비치환되거나 치환된 핵원자수 5 내지 60의 헤테로아릴 및 $-NR'R''$ 으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R' 및 R'' 은 각각 독립적으로 수소, $C_1 \sim C_{10}$ 의 알킬, $C_6 \sim C_{60}$ 의 아릴, $C_3 \sim C_{40}$ 의 시클로알킬, $C_6 \sim C_{60}$ 의 아릴설펜일, 핵원자수 5 내지 60의 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되며;

n 은 0 내지 5의 정수에서 선택된다.

[청구항 2] 제 1항에 있어서,

상기 L_1 및 L_2 는 $C_6 \sim C_{60}$ 의 아릴렌인 화합물.

[청구항 3] 제 1항에 있어서,

상기 L_1 및 L_2 는 페닐렌이고;

상기 n 은 1 또는 2의 정수이며;

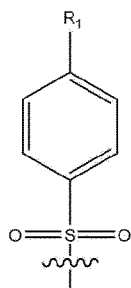
상기 X 및 Y 는 서로 동일하거나 상이하며, 각각 독립적으로 설펜일, $C_1 \sim C_{10}$ 의 알킬설펜일, $C_1 \sim C_{40}$ 의 알콕시, $-NR'R''$, 하이드록시, $C_6 \sim C_{60}$ 의 아릴옥시 및 비치환되거나 치환된 핵원자수 3 내지 20의 헤테로시클로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물.

[청구항 4] 제 3항에 있어서,

상기 X 는 $-NR'R''$ 이며;

상기 R' 및 R'' 은 동일하거나 상이하며, 각각 독립적으로 수소 또는 아래 화학식 2의 치환기인 것을 특징으로 하는 화합물:

[화학식 2]



여기서, 상기 R_1 는 수소, 중수소 할로젠, 및 니트로로 이루어진 군으로부터 선택된다.

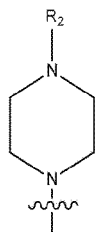
[청구항 5]

제 3항에 있어서,
상기 Y는 $C_1 \sim C_6$ 의 알콕시인 화합물.

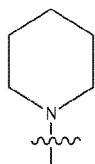
[청구항 6]

제 3항에 있어서,
상기 Y는 하기 화학식 3 또는 화학식 4로부터 선택되는 것인 화합물:

[화학식 3]



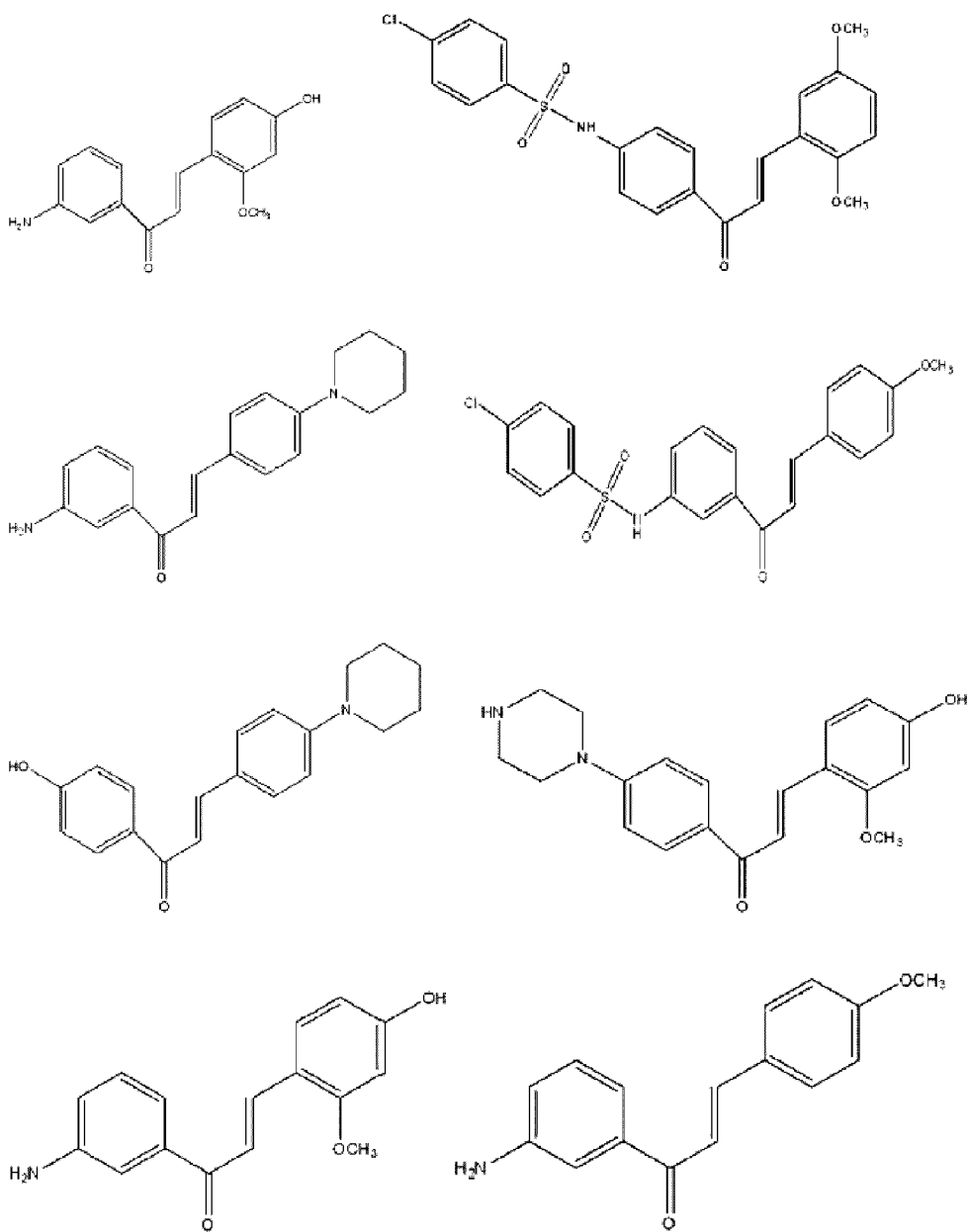
[화학식 4]

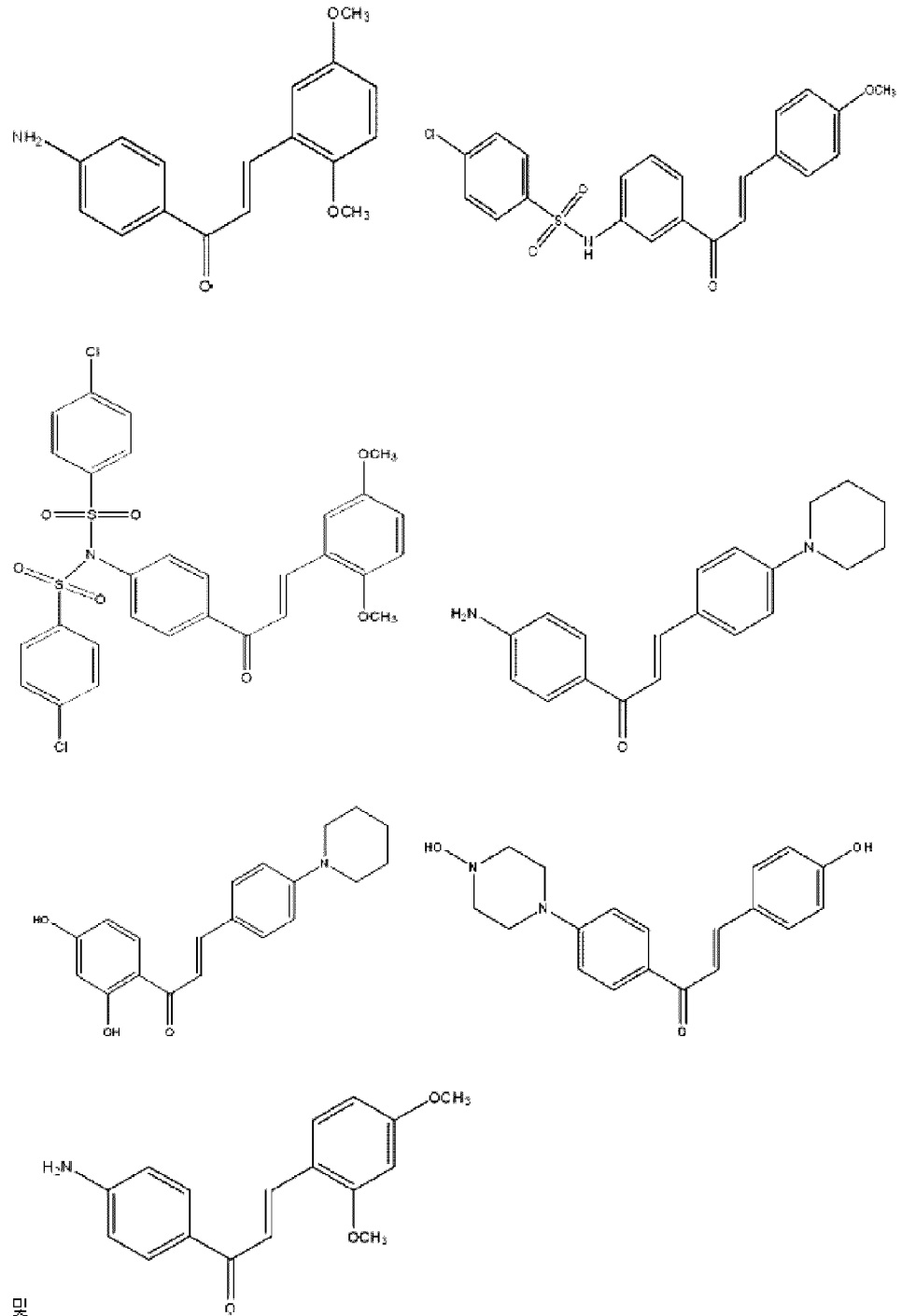


여기서, 상기 R_2 는 수소, 중수소, 할로젠, $C_1 \sim C_{40}$ 의 알킬, 및 $C_2 \sim C_{40}$ 의 알켄일로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[청구항 7]

제 1항에 있어서,
상기 화합물은 아래의 화합물로 이루어진 군에서 선택되는 것인 화합물:

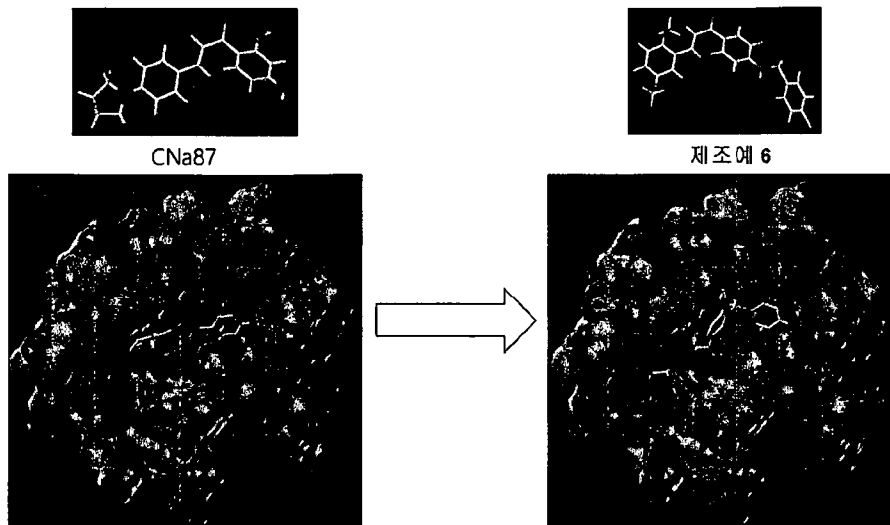




- [청구항 8] 1) 아세트페논 유도체 및 벤즈알데하이드 유도체를 유기용매와 함께 혼합 및 교반하는 단계; 및
- 2) 상기 1) 단계의 반응물을 유기용매를 이용하여 추출하는 단계를 포함하는 제 1 항에 따른 화합물의 제조방법.
- [청구항 9] 제 8항에 있어서,
- 상기 아세트페논 유도체는 3-아미노아세트페논 또는 4-아미노아세트페논인 것을 특징으로 하는 화합물의 제조방법.

- [청구항 10] 제 8항에 있어서,
상기 벤즈 알데하이드 유도체는 2,4-다이메톡시벤즈알데하이드,
2,5-다이메톡시벤즈알데하이드, 4-다이메톡시벤즈알데하이드,
2-메톡시-4-((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)벤즈알데하이드, 또는
4-(피페리딘-1-일)벤즈알데하이드 화합물 중 어느 하나로부터 선택되는
것을 특징으로 하는 화합물의 제조방법.
- [청구항 11] 제 8항에 있어서,
상기 2) 단계 후, 치환된 알킬설폰닐클로라이드계 화합물 및 염기를
첨가하여 혼합 교반하는 단계를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는
화합물의 제조방법.
- [청구항 12] 제 1항 내지 7항 중 어느 한 항의 화합물을 유효성분으로 포함하는 퇴행성
신경질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 13] 제 12항에 있어서,
상기 퇴행성 신경질환은 뇌졸중, 중풍, 치매, 알츠하이머병, 헌팅턴병,
근위축성 측삭 경화증(ALS), 파킨슨병 및 크로이츠펔트-야콥 병으로 구성된
군으로부터 선택되는 1종 이상인 것인, 약학 조성물.
- [청구항 14] 제 12항에 있어서,
상기 퇴행성 신경질환은 아밀로이드 베타 펩티드 유도 스트레스에 의한
뇌 신경세포 손상이 유발되는 질환인 것인, 약학 조성물.
- [청구항 15] 제 12항에 있어서,
상기 조성물은 에이엠피-활성 단백질 키나아제(AMP-activated protein
kinase; AMPK)효소 활성화를 유도하는 것인, 약학 조성물.

[도 1]



[도2a]

Name	Total_Score	Crash	Polar	Similarity	D_SCORE	PMF_SCORE	G_SCORE	CHEMSCORE	CSCORE	GLOBAL_CSCORE
AMP_000	14.1982	-1.648	11.9918	0.648	-131.429	-56.3977	-292.127	-5.5494	5	3
CNa_AMPK6_000	8.4463	-2.3977	3.0542	0.387	-146.8	-31.0925	-246.238	-18.4492	4	3
CNa_AMPK11_000	6.438	-2.0383	1.8822	0.396	-111.44	4.572	-191.574	-18.074	4	2
CNa87_000	6.3642	-1.9562	2.7888	0.466	-109.338	26.057	-160.603	-14.3094	3	1
CNa_AMPK7_000	6.3616	-1.7257	3.7672	0.331	-105.585	-18.0958	-178.536	-19.6392	4	2
CNa_AMPK12_000	5.8118	-1.356	3.3761	0.36	-97.4727	3.6856	-149.479	-21.0087	4	1

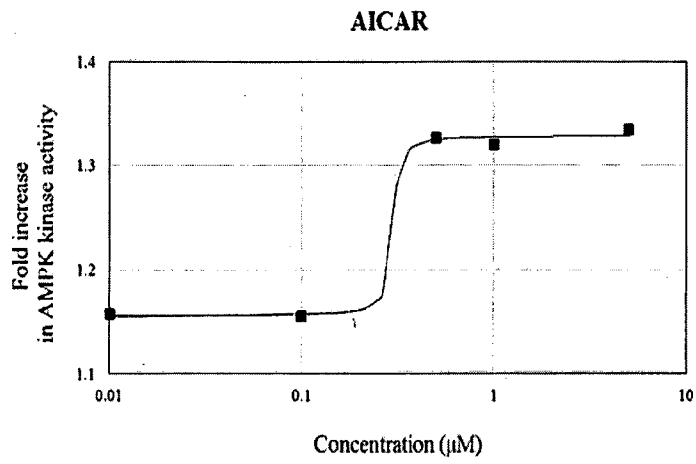
[도2b]

Name	Total_Score	Crash	Polar		D_SCORE	PMF_SCORE	G_SCORE	CHEMSCORE	CSCORE	GLOBAL_CSCORE
AMP_000	13.8208	-1.8013	12.0002		-133.188	-56.783	-293.856	-5.7118	5	4
CNa_AMPK6_000	8.2507	-2.1744	3.2779		-144.217	-7.8266	-218.753	-28.0811	4	3
CNa_AMPK7_000	6.5712	-1.3554	2.847		-122.129	-3.2125	-172.478	-19.6888	4	2
CNa_AMPK12_000	5.9517	-0.8384	3.6834		-83.7824	1.7265	-171.947	-16.5945	4	1
CNa87_000	5.5818	-1.3634	3.4231		-88.0171	-2.4962	-141.188	-16.8097	3	1
CNa_AMPK11_000	5.1156	-1.011	2.6492		-81.5641	1.5134	-122.483	-15.5033	2	1

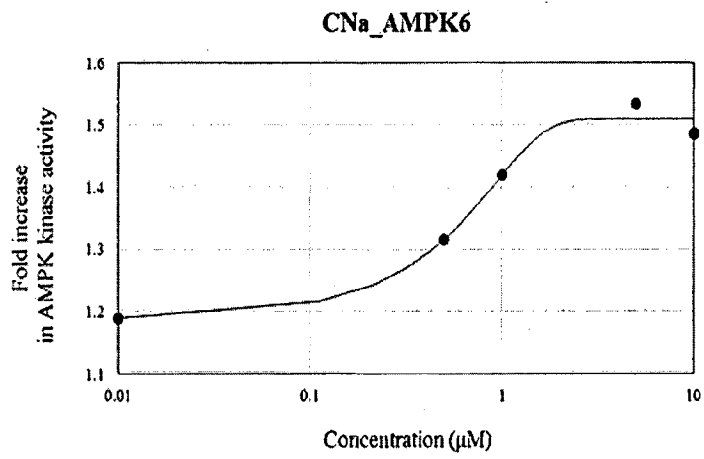
[도2c]

Name	Total_Score	Crash	Polar	Similarity	D_SCORE	PMF_SCORE	G_SCORE	CHEMSCORE	CSCORE	GLOBAL_CSCORE
AMP_000	13.7617	-1.8801	11.9741	0.648	-133.751	-57.6384	-292.443	-5.7151	4	4
CNa_AMPK6_000	8.0356	-1.8462	2.7489	0.495	-145.793	10.3009	-233.979	-27.407	4	4
CNa_AMPK7_000	7.728	-2.2053	3.8445	0.39	-125.996	-17.8683	-192.675	-18.6624	4	3
CNa_AMPK12_000	6.0417	-1.041	3.4251	0.361	-87.4712	1.761	-135.841	-18.3536	2	1
CNa_AMPK11_000	5.9789	-1.4555	1.7191	0.397	-96.8552	10.8013	-170.786	-16.5639	4	1
CNa87_000	5.4345	-1.183	3.4824	0.357	-87.4901	-3.3446	-170.731	-15.0449	4	0

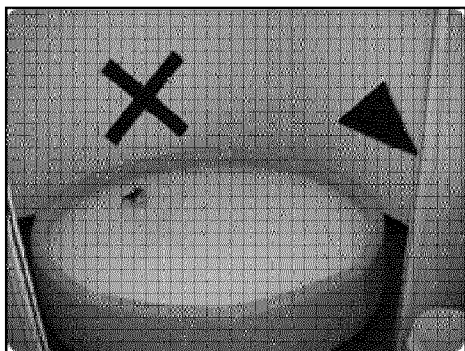
[도3a]



[도3b]

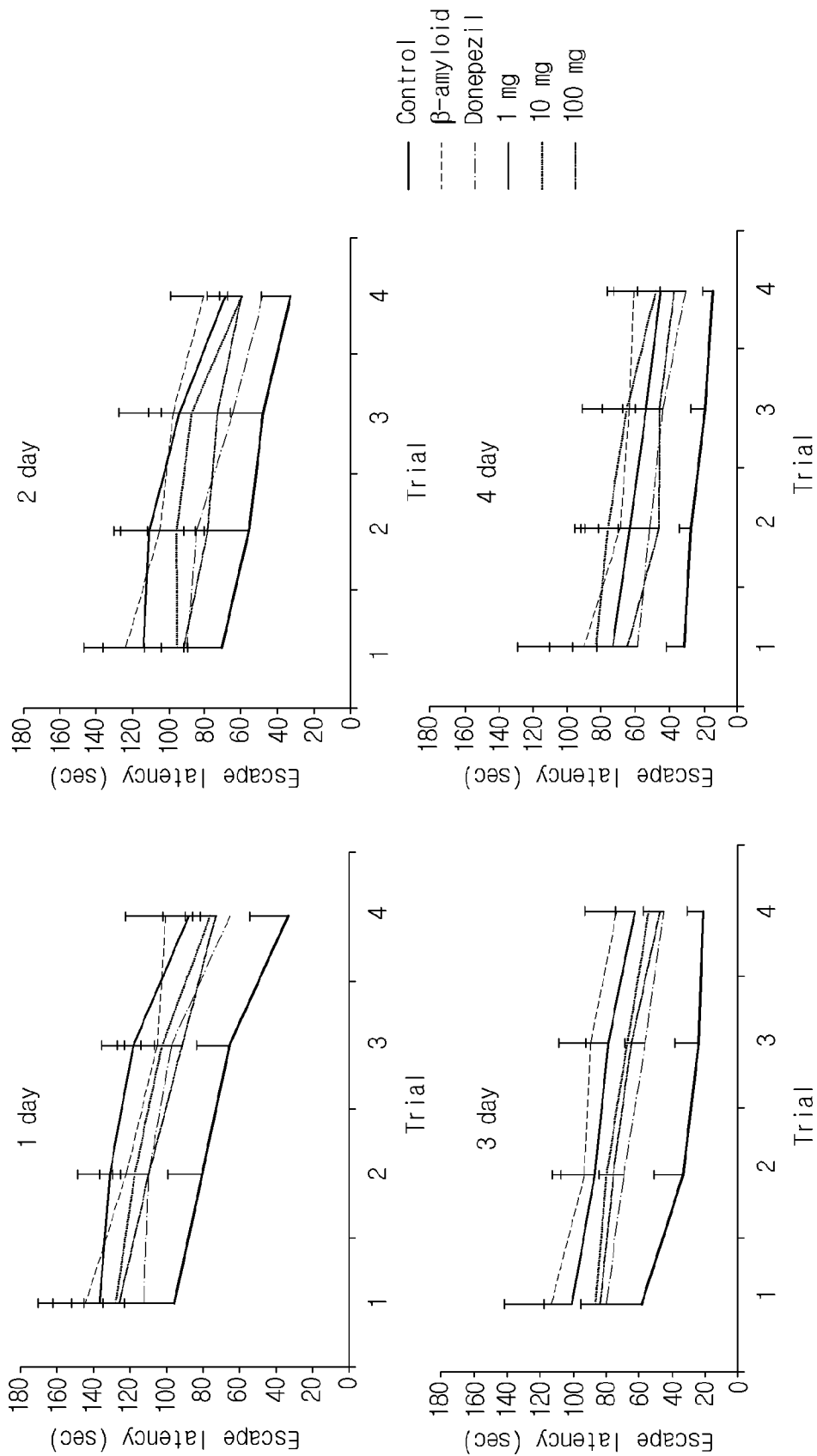


[도4]



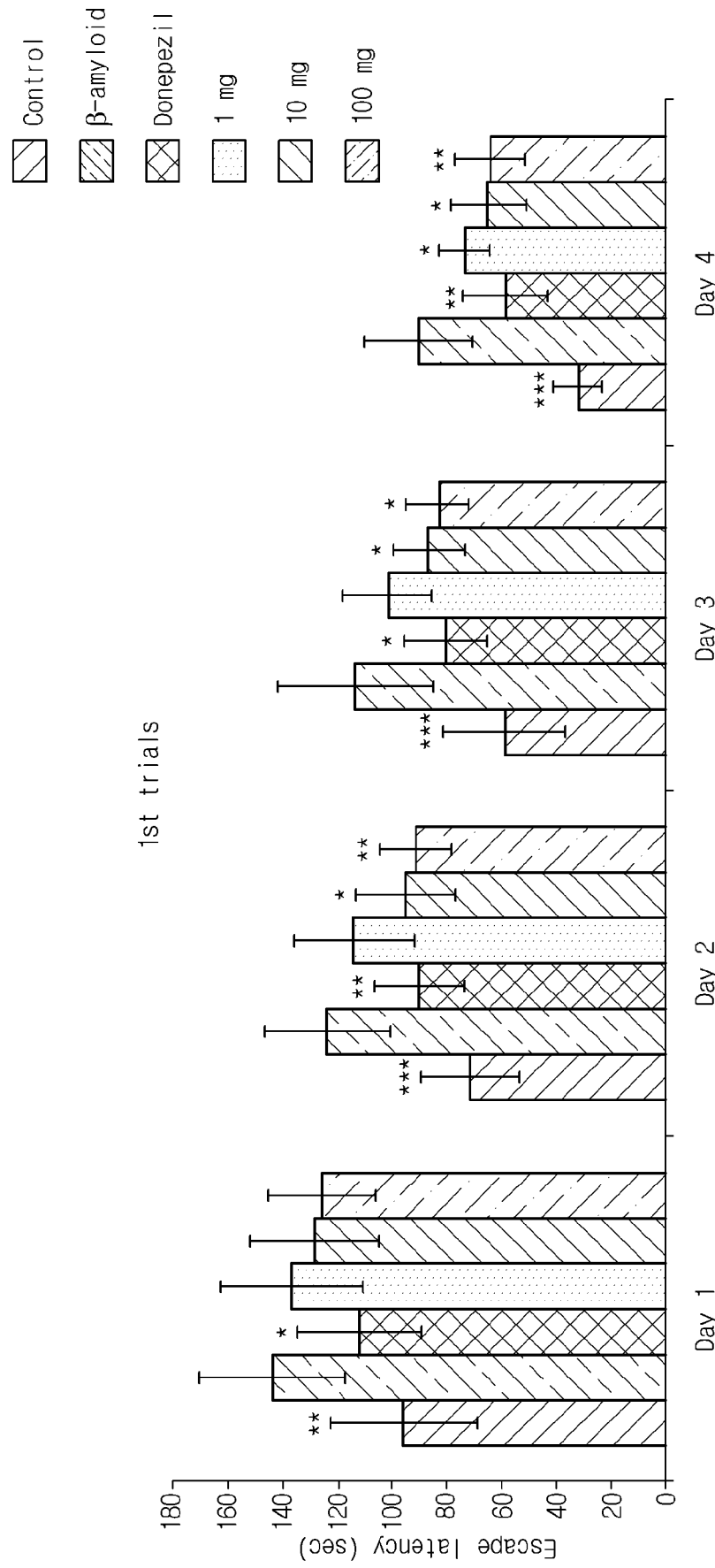
Morris water maze test

[도5]

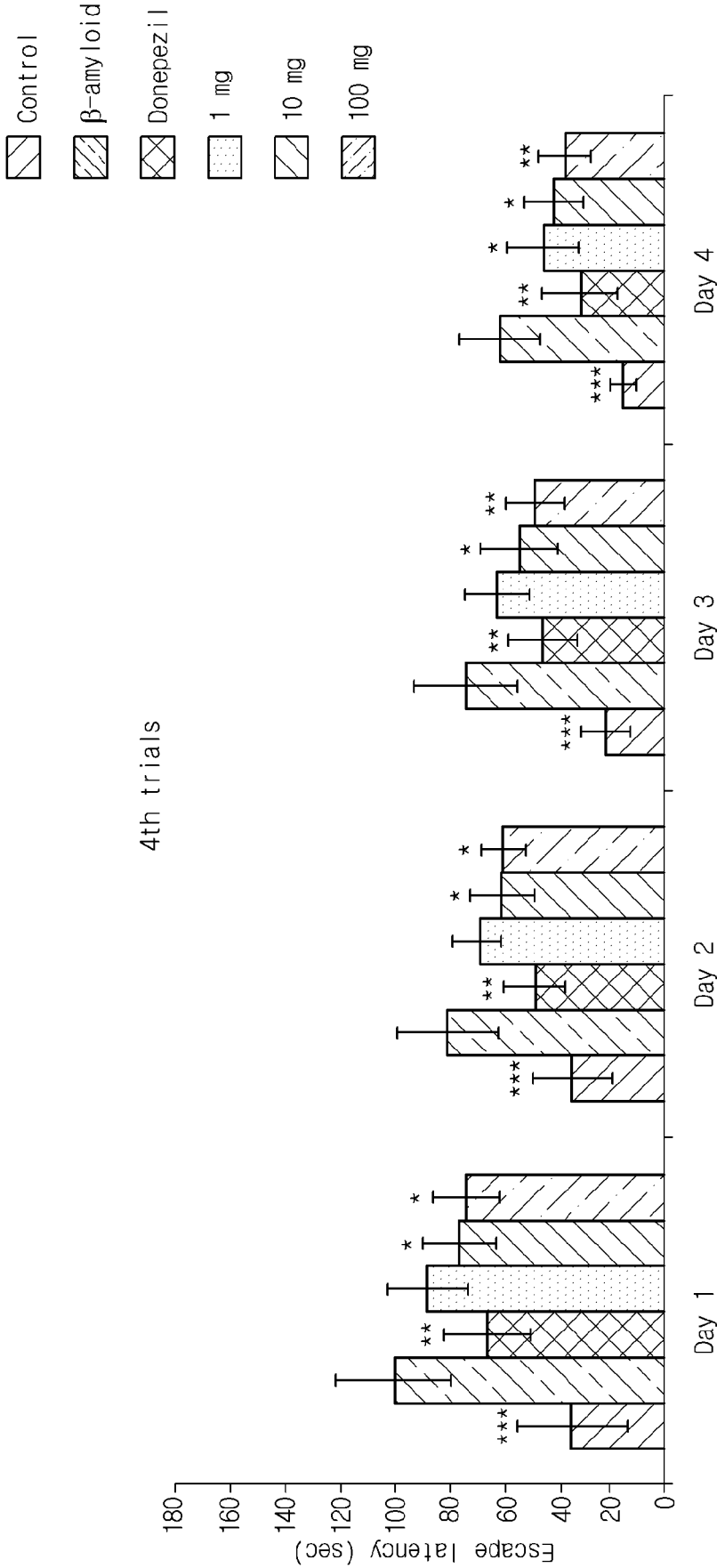


5/12

[도6]

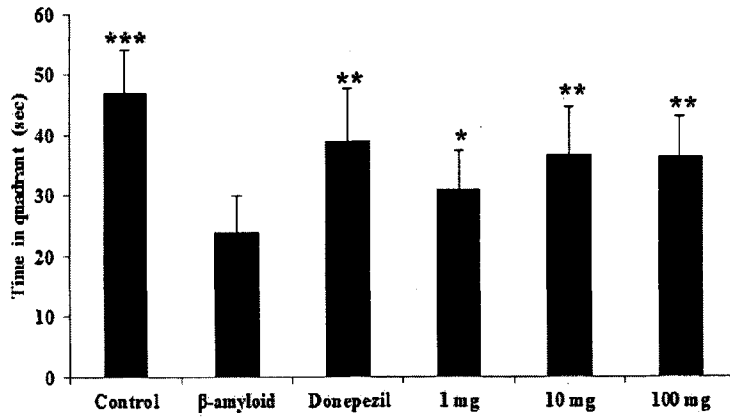


[도7]

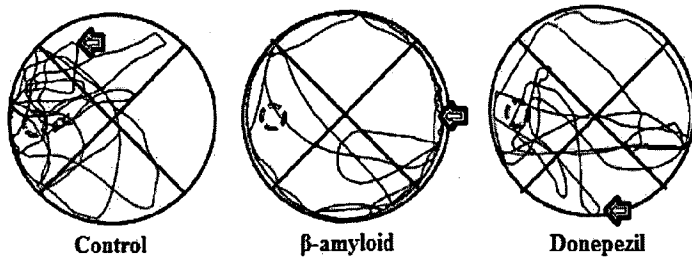


7/12

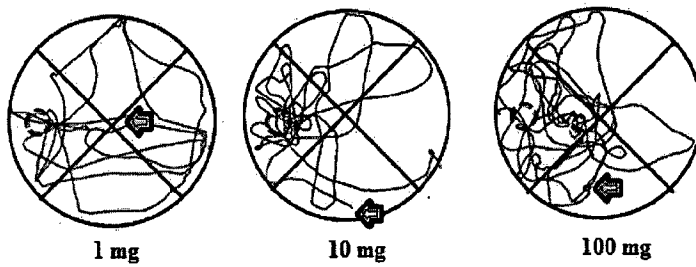
[도8]



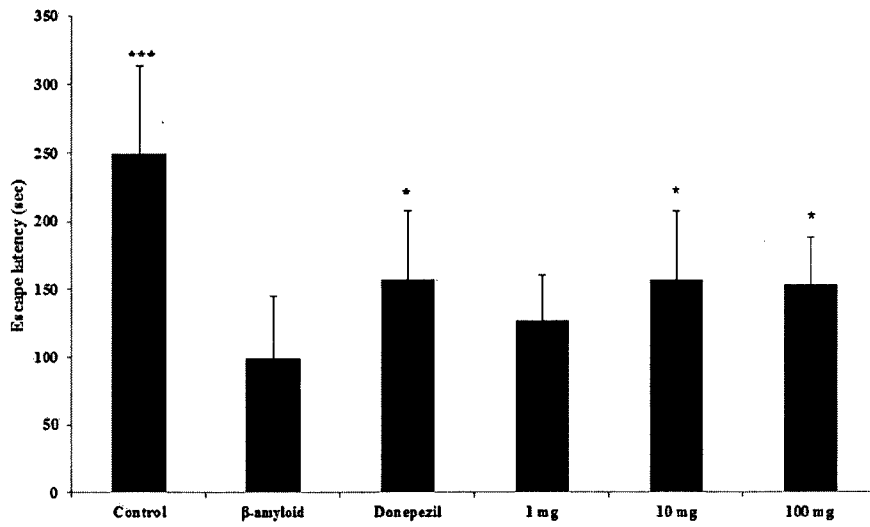
[도9a]



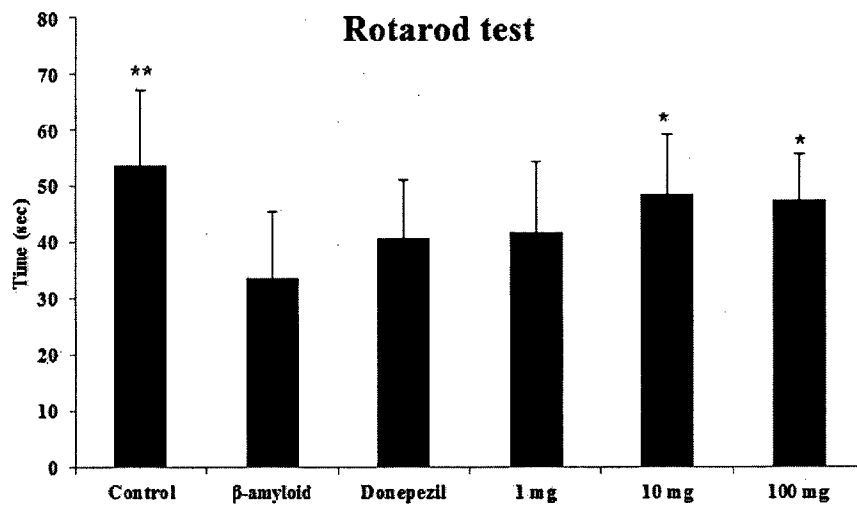
[도9b]



[도10]

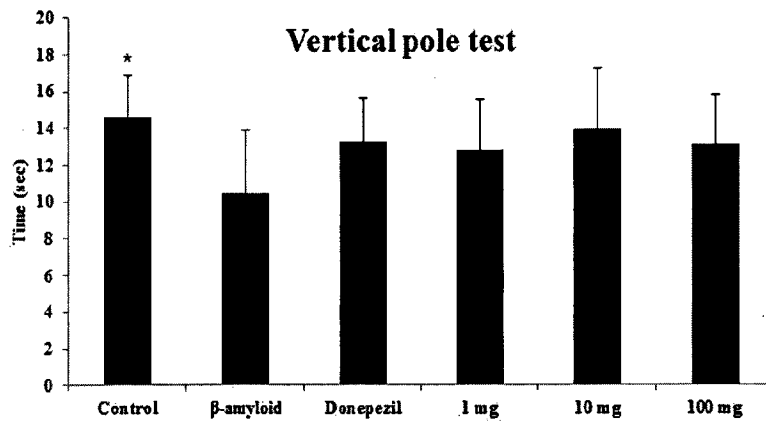


[도11]

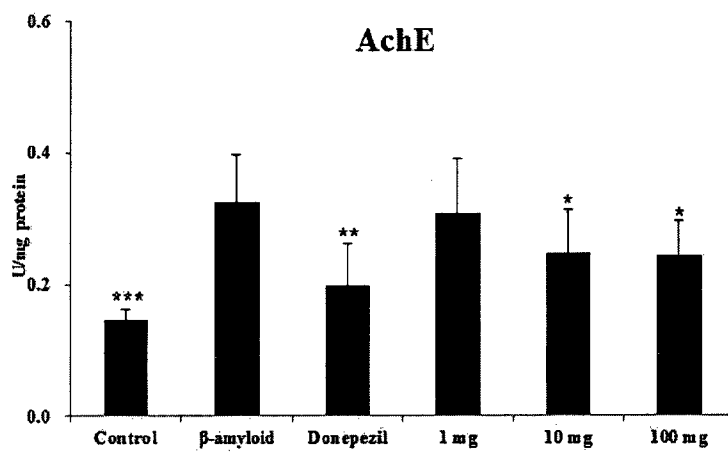


9/12

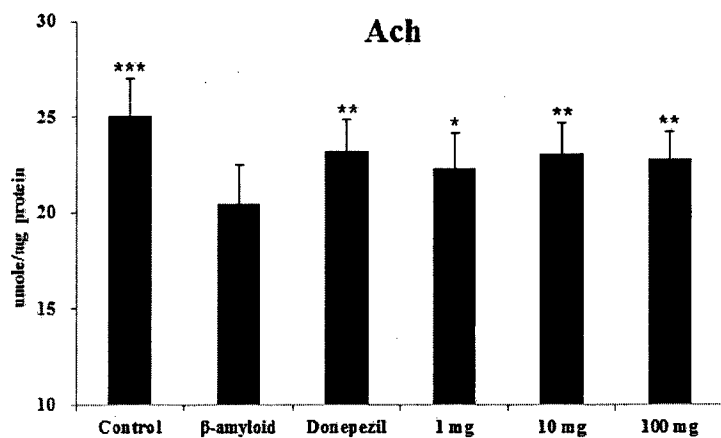
[도 12]



[도 13]

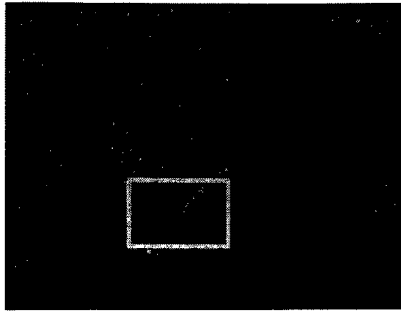


[도 14]

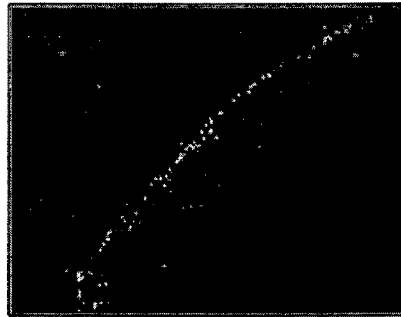


10/12

[도15a]



β -amyloid (40x)

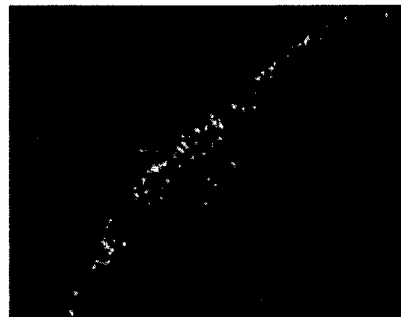


β -amyloid (100x)

[도15b]

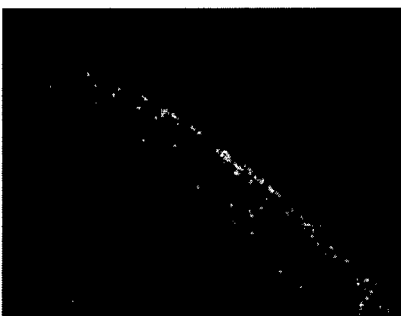


Control

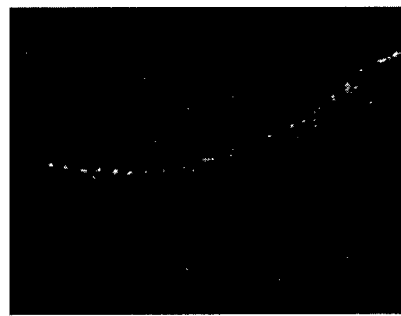


Donepezil

[도15c]



1 mg



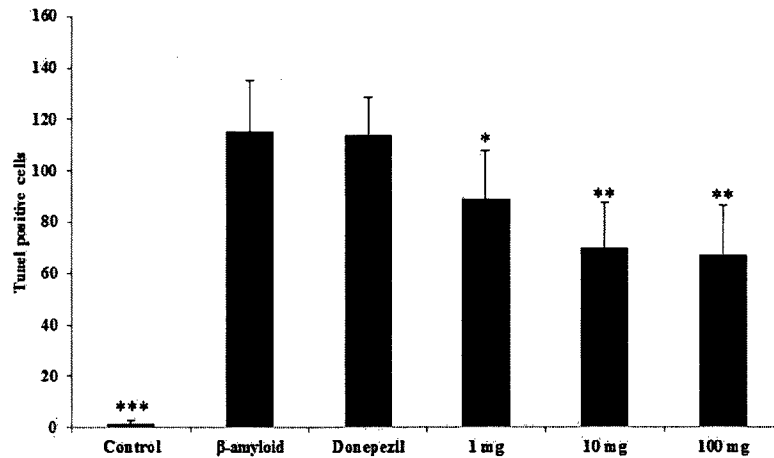
10 mg

[도15d]



100 mg

[도16]

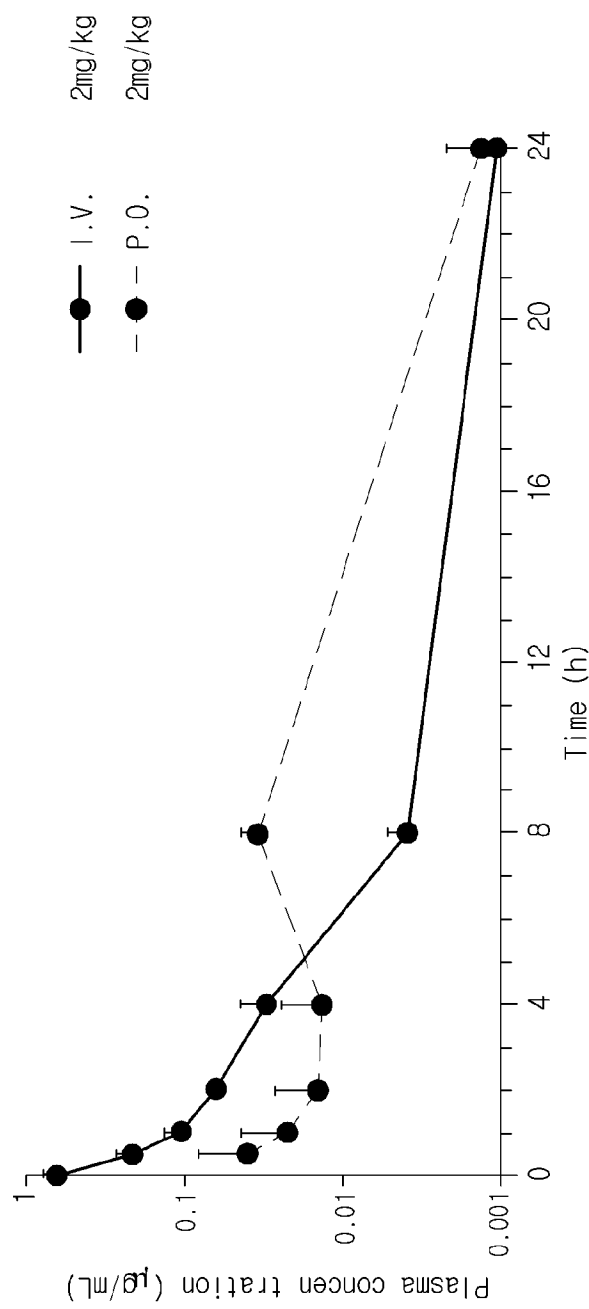


[도17]

물성분석결과요약서

수신	이화여자대학교 산학협력단 권규원 선생님(02-3277-4319)		2016. 03. 07	
발신	대전시 유성구 가창로 141(장동) 한국화학연구원 신약물및표지기술연구그룹 정영훈 (042-860-7410)			
측정항목	측정방법	sample name	측정값	comment
Permeability (막투과도)	PAMPA	AMPK6 (MW 457.93)	- 4.4 ± 0.152 (grade : medium)	
				high: > -4.07
				medium: -4.07 ~ -4.87
				low: < -4.87

[도18]



Pharmacokinetic parameters in male mice

Paraneters	I.V., 2 mg/kg	P.O., 2 mg/kg
T_{max} (h)	NA	5.5 ± 4.33
C_{max} (µg/mL)	NA	0.049 ± 0.033
$T_{1/2}$ (h)	3.48 ± 0.14	3.73 ± 0.54
AUC_t (µg·h/mL)	0.605 ± 0.096	0.461 ± 0.155
AUC_{∞} (µg·h/mL)	0.611 ± 0.096	0.468 ± 0.152
CL (L/H/kg)	3.32 ± 0.48	NA
V_{ss} (L/kg)	7.41 ± 1.68	NA
F_t (%)	NA	76.06

NA, not applicable; ND, not detected; NC, not calculated

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2017/005061

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07C 225/22(2006.01)i, C07C 311/21(2006.01)i, C07D 211/14(2006.01)i, C07D 241/04(2006.01)i, A61K 31/136(2006.01)i, A61K 31/18(2006.01)i, A61K 31/496(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 225/22; C07D 295/205; C07C 271/44; A61K 51/00; A61K 31/4439; C07C 311/21; C07D 211/14; C07D 241/04; A61K 31/136; A61K 31/18; A61K 31/496

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), Google & Keywords: acetophenone derivative, benzaldehyde derivative, neurodegenerative disease, amyloid beta peptide induced stress, activated protein kinase

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ONO, M. et al., "Structure-activity Relationship of Chalcones and Related Derivatives as Ligands for Detecting of Beta-amyloid Plaques in the Brain", Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2007, vol. 15, pages 6388-6396 See page 6393, left, lines 1-2; formulas 1-2; and table 1.	1-2
X	CN 105481796 A (SICHUAN UNIVERSITY) 13 April 2016 See claims 1, 10; and paragraphs [0003], [0007], [0008], [0024]-[0027].	1-15
X	KR 10-2009-0048400 A (NAGASAKI UNIVERSITY) 13 May 2009 See claims 1, 12; and figure 3, compounds 7, 10.	1-2
A	SIMONS, L. J. et al., "The Synthesis and Structure-activity Relationship of Substituted N-phenyl Anthranilic Acid Analogs as Amyloid Aggregation Inhibitors", Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2009, vol. 19, pages 654-657 See formula 2; and table 1.	1-15
A	TRAN, T.-D. et al., "Synthesis of Novel Chalcones as Acetylcholinesterase Inhibitors", Appl. Sci., 2016, vol. 6, no. 198, inner pages 1-11 See formula 1; and table 2.	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

09 FEBRUARY 2018 (09.02.2018)

Date of mailing of the international search report

09 FEBRUARY 2018 (09.02.2018)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office
Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsu-ro, Seo-gu,
Daejeon, 35208, 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/KR2017/005061

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
CN 105481796 A	13/04/2016	CN 105481796 B	07/11/2017
KR 10-2009-0048400 A	13/05/2009	AU 2007-252463 A1	29/11/2007
		BR P10712268 A2	17/01/2012
		CA 2652440 A1	29/11/2007
		CN 101505803 A	12/08/2009
		CN 101505803 B	20/07/2011
		EP 2030635 A1	04/03/2009
		MX 2008014898 A	22/04/2009
		RU 2008150631 A	27/06/2010
		US 2010-0278733 A1	04/11/2010
		WO 2007-136059 A1	29/11/2007
		ZA 200809833 B	30/09/2009

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

C07C 225/22(2006.01)i, C07C 311/21(2006.01)i, C07D 211/14(2006.01)i, C07D 241/04(2006.01)i, A61K 31/136(2006.01)i, A61K 31/18(2006.01)i, A61K 31/496(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

C07C 225/22; C07D 295/205; C07C 271/44; A61K 51/00; A61K 31/4439; C07C 311/21; C07D 211/14; C07D 241/04; A61K 31/136; A61K 31/18; A61K 31/496

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, Caplus), Google & 키워드: 아세토페논 유도체, 벤즈알데하이드 유도체, 퇴행성 신경질환, 아밀로이드 베타 펩티드 유도 스트레스, 활성 단백질 키나아제

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	ONO, M. 등, 'Structure-activity relationship of chalcones and related derivatives as ligands for detecting of beta-amyloid plaques in the brain', Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2007, 15권, 페이지 6388-6396 페이지 6393, 좌측, 라인 1-2; 도식 1-2; 및 테이블 1 참조.	1-2
X	CN 105481796 A (SICHUAN UNIVERSITY) 2016.04.13 청구항 1, 10; 및 단락 [0003], [0007], [0008], [0024]-[0027] 참조.	1-15
X	KR 10-2009-0048400 A (고쿠리츠다이가쿠호진 나가사키다이가쿠) 2009.05.13 청구항 1, 12; 및 도면 3, 화합물 7, 10 참조.	1-2
A	SIMONS, L. J. 등, 'The synthesis and structure-activity relationship of substituted N-phenyl anthranilic acid analogs as amyloid aggregation inhibitors', Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2009, 19권, 페이지 654-657 도식 2; 및 테이블 1 참조.	1-15
A	TRAN, T.-D. 등, 'Synthesis of Novel Chalcones as Acetylcholinesterase Inhibitors', Appl. Sci., 2016, 6권, 198호, 내부페이지 1-11 도식 1; 및 테이블 2 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

2018년 02월 09일 (09.02.2018)

국제조사보고서 발송일

2018년 02월 09일 (09.02.2018)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



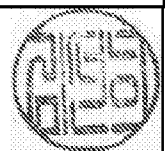
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

김선희

전화번호 +82-42-481-5405



국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호

PCT/KR2017/005061

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
CN 105481796 A	2016/04/13	CN 105481796 B	2017/11/07
KR 10-2009-0048400 A	2009/05/13	AU 2007-252463 A1	2007/11/29
		BR PI0712268 A2	2012/01/17
		CA 2652440 A1	2007/11/29
		CN 101505803 A	2009/08/12
		CN 101505803 B	2011/07/20
		EP 2030635 A1	2009/03/04
		MX 2008014898 A	2009/04/22
		RU 2008150631 A	2010/06/27
		US 2010-0278733 A1	2010/11/04
		WO 2007-136059 A1	2007/11/29
		ZA 200809833 B	2009/09/30