



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0065636
(43) 공개일자 2018년06월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07C 237/20 (2006.01) A61K 31/165 (2006.01)
C07C 237/08 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07C 237/20 (2013.01)
A61K 31/165 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0166759
(22) 출원일자 2016년12월08일
심사청구일자 2016년12월08일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
한국과학기술연구원
서울특별시 성북구 화랑로14길 5 (하월곡동)
(72) 발명자
서홍석
서울특별시 용산구 한강대로 211, 101동 2804호(한강로1가, 대우 월드마크 용산)
심태보
서울특별시 서초구 서초중앙로24길 43, 103동 607호(서초동, 유원서초아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 다해

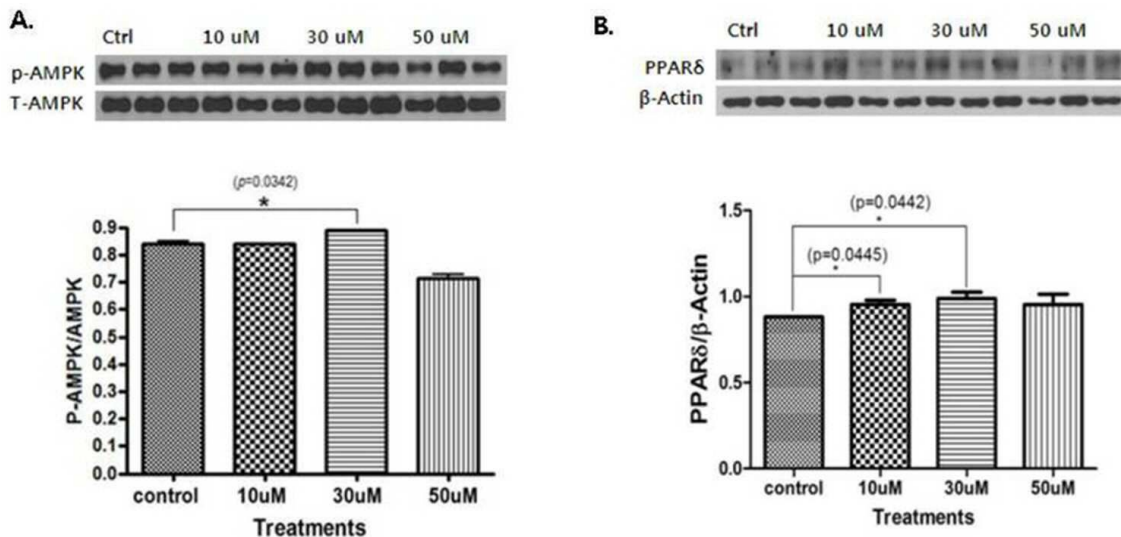
전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 발명의 명칭 신규한 $\alpha 1$ -아드레날린 수용체 효능제

(57) 요약

본 발명은 신규한 $\alpha 1$ -아드레날린 수용체 효능제에 관한 것으로, 보다 상세하게는 $\alpha 1$ -아드레날린 수용체 효능제인 미도드린의 신규한 유사체에 관한 것이다. 본 발명의 미도드린 유사체는 생체내 에너지 대사활성 유지와 조절에 핵심적인 작용을 하는 p-AMPK, PPAR δ , PGC-1 α 의 발현을 증가시킴으로써, AMPK의 활성화가 필요한 질환(대사질환, 심혈관질환, 염증질환 등)의 예방 및 치료에 유용하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류
C07C 237/08 (2013.01)

(72) 발명자

이용직

인천광역시 남동구 구월로 78, 8동 507호(간석동,
극동아파트)

산딕 셴굽타

서울특별시 성북구 화랑로14길 5 (하월곡동)

주은혜

서울특별시 성북구 화랑로15길 22, 305호 (상월곡
동)

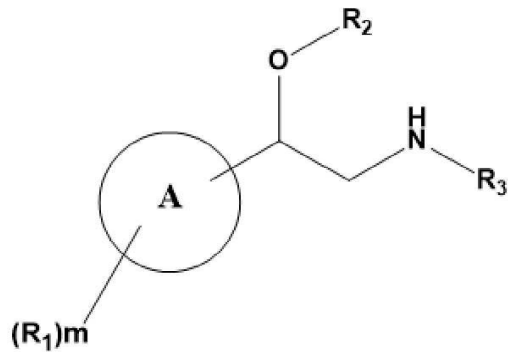
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 미도드린 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서, A는 각각 C6-C15 아릴기, 또는 질소(N), 산소(O) 및 황(S) 원자로부터 선택된 헤테로원자가 1 내지 4개 포함된 5원 내지 14원의 헤테로아릴기를 나타내고,

R₁은 -O-(C1-C6 알킬), 할로젠원자, C1-C6 알킬기, C1-C6 할로알킬기, -O-(C1-C6 할로알킬), -C(O)-(C1-C6 알킬), -C(O)-O-(C1-C6 알킬), -O-C(O)-(C1-C6 알킬), -NR₁R₂, -C(O)-NR₁R₂, 또는 -O-(C1-C6 알킬)-NR₅R₆를 나타내고,

R₂는 수소, -C(O)-(C1-C6 알킬), -C(O)-(C1-C6 할로알킬), -C(O)-O-(C1-C6 알킬), -C(O)-O-(C1-C6 할로알킬)를 나타내고,

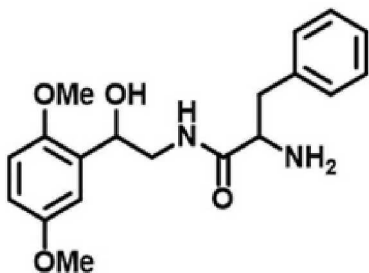
R₃은 수소원자, C1-C6알킬기, -C(O)-(C1-C6 알킬), -C(O)-(C1-C6 할로알킬), -C(O)-(C1-C6 아미노알킬), -C(O)-(아릴 치환된 C1-C6 알킬)를 나타내고,

m은 0 내지 3의 정수를 나타내는, 미도드린 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

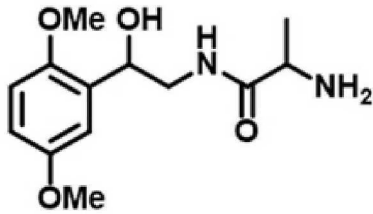
청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 미도드린 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 하기 화학식 2 내지 6으로 표시되는 화합물 중 어느 하나인 미도드린 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 2]



[화학식 3]



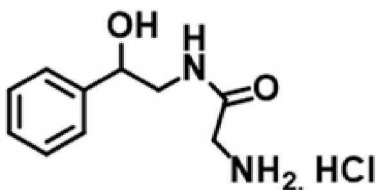
[화학식 4]



[화학식 5]



[화학식 6]



청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 미도르린 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 $\alpha 1$ -아드레날린 수용체 효능제 (agonist)인 것을 특징으로 하는, 미도르린 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신규한 $\alpha 1$ -아드레날린 수용체 효능제에 관한 것으로, 보다 상세하게는 $\alpha 1$ -아드레날린 수용체 효능제인 미도르린의 신규한 유사체에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 운동 훈련은 골격근에서 표현형 변화를 일으키는 리모델링 프로그램을 활성화시킴으로써 운동 내성을 향상시키고, 적당한 운동은 대사성 질환이나 심질환 등의 병리 상태를 호전시키는데 효과적이다.

[0003] 특히, AMPK(AMP-activated protein kinase), PPAR- δ (Peroxisome Proliferator activated Receptor- δ), PGC-1 α (Peroxisome proliferator-activated receptor Gamma Coactivator-1 α)는 운동 내성을 위한 골격근의 표현형 변화에 관여하는 중요 인자들로 알려져 있다.

[0004] 이때, AMPK는 $\alpha/\beta/\gamma$ 서브유닛들로 이루어진 헤테로트라이머성(heterotrimeric) 복합체로서 근육 수축 및 운

동시 AMPK의 상위효소인 LKB1 및 CaMKK(Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase kinase)에 의한 인산화에 의해 활성화되며, 글루코오스 항상성, 식욕, 및 운동 생리에 대한 세포/기관 대사의 주된 조절자이다. PPAR- δ 는 골격근 대사의 전사 조절에 있어서 핵심적인 역할을 수행하며, PGC-1 α 는 미토콘드리아 생합성 및 기능의 조절자로서 에너지 대사에 관여하고, 골격근의 내성 운동에 의해서 활성화되는 유전자들을 조절하는 전사 공동활성화 인자이다.

[0005] AMPK는 동시에 여러 전사 프로그램들을 타겟팅할 수 있는 것으로 알려져 있는데, 이러한 전사 프로그램들은 PPAR- δ , PGC-1 α 와 같은 기질들에 의해서 조절되어 운동과 유사한 유전적 효과를 유발한다. 이와 관련하여, AMPK-PPAR- δ 신호 경로를 타겟팅하는 운동-유사 약물들이 내성 표현형에 대한 근육을 다시 프로그래밍하는 새로운 약제학적 전략이 될 수 있다는 점이 보고된 바 있다(Cell 2008, vol.134, pp405-415).

[0006] 또한, A-769662, 메트포르민(metformin), 5-아미노이미다졸-4-카르복시아미드-1- β -D-리포푸라노사이드(AICAR) 및 레스베라트롤(resveratrol)과 같은 AMPK 활성화를 촉진하는 몇몇 약물들이 심부전증에 대해서 치료 효과를 발휘하는 것으로 보고된 바 있다. 심질환에 대한 AMPK의 보호 기능은 세포질 중 활성산소종 생산의 감소, 안지오텐신 II의 활성억제, 심장 트로포닌 I의 인산화, PGC-1 α 의 활성화, eNOS-NAD(P)H 산화효소 발현의 조절, 에스트로겐-관련 수용체의 조절 및 에너지 균형과 심장 내 신호전달의 조절 등의 중요한 기능들을 통해서 달성될 수 있는 바, AMPK 활성화는 직간접적으로 심근 기능을 향상시킬 수 있다.

[0007] 이와 같이, AMPK 활성화(인산화) 및 이와 관련된 인자들(PPAR- δ , PGC-1 α)은 골격근 내에서의 글루코스 섭취(uptake), 에너지 대사 항상성 유지, 심기능 증대 등의 운동-유사 효과를 유도하기 때문에, 운동-유사 효과에 의해 치료될 수 있는 대사성 질환, 심혈관질환, 염증질환 등의 타겟으로서 AMPK를 활성화시키는 약물에 대한 요구가 꾸준히 있어왔다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0008] (특허문헌 0001) 한국특허공개 제10-2015-0133646호
(특허문헌 0002) 한국특허공개 제10-2015-0095458호
(특허문헌 0003) 한국특허공개 제10-2016-0003968호

발명의 내용

해결하려는 과제

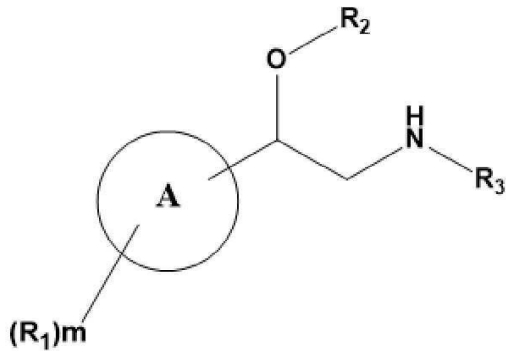
[0009] 본 발명의 목적은 α 1-아드레날린 수용체 효능제(agonist)이며 화학식 1로 표시되는 미도드린 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 α 1-아드레날린 수용체 효능제(agonist)이며 화학식 2 내지 6으로 표시되는 화합물 중 어느 하나인 미도드린 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 미도드린 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0012] [화학식 1]



[0013]

[0014] 상기 화학식 1에서, A는 각각 C6-C15 아릴기, 또는 질소(N), 산소(O) 및 황(S) 원자로부터 선택된 헤테로원자가 1 내지 4개 포함된 5원 내지 14원의 헤테로아릴기를 나타내고,

[0015] R₁은 -O-(C1-C6 알킬), 할로젠원자, C1-C6 알킬기, C1-C6 할로알킬기, -O-(C1-C6 할로알킬), -C(O)-(C1-C6 알킬), -C(O)-O-(C1-C6 알킬), -O-C(O)-(C1-C6 알킬), -NR₁R₂, -C(O)-NR₁R₂, 또는 -O-(C1-C6 알킬)-NR₅R₆ 를 나타내고,

[0016] R₂는 수소, -C(O)-(C1-C6 알킬), -C(O)-(C1-C6 할로알킬), -C(O)-O-(C1-C6 알킬), -C(O)-O-(C1-C6 할로알킬)를 나타내고,

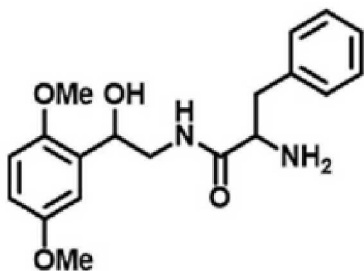
[0017] R₃은 수소원자, C1-C6알킬기, -C(O)-(C1-C6 알킬), -C(O)-(C1-C6 할로알킬), -C(O)-(C1-C6 아미노알킬), -C(O)-(아릴 치환된 C1-C6 알킬)를 나타내고,

[0018] m은 0 내지 3의 정수를 나타내는 것일 수 있다.

[0019] 구체적으로, 본 발명의 미도드린 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 하기 화학식 2 내지 6으로 표시되는 화합물 중 어느 하나일 수 있다.

[0020] 본 발명은 하기 화학식 2로 표시되는 미도드린 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

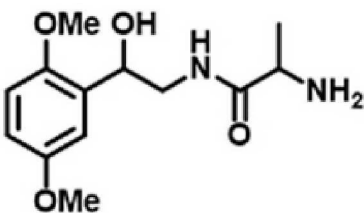
[0021] [화학식 2]



[0022]

[0023] 본 발명은 하기 화학식 3으로 표시되는 미도드린 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

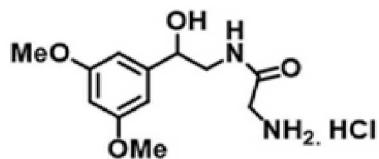
[0024] [화학식 3]



[0025]

[0026] 본 발명은 하기 화학식 4로 표시되는 미도드린 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

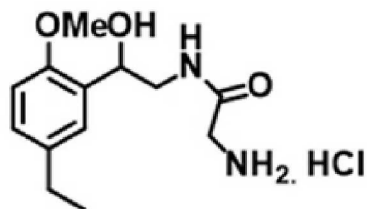
[0027] [화학식 4]



[0028]

[0029] 본 발명은 하기 화학식 5로 표시되는 미도드린 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

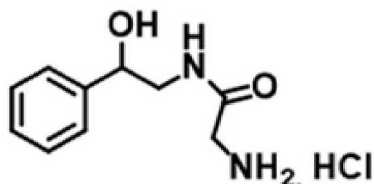
[0030] [화학식 5]



[0031]

[0032] 본 발명은 하기 화학식 6으로 표시되는 미도드린 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0033] [화학식 6]



[0034]

[0035] 상기 미도드린 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 $\alpha 1$ -아드레날린 수용체 효능제(agonist)인 것을 특징으로 하는, 미도드린 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염일 수 있다.

발명의 효과

[0036] 본 발명의 미도드린 유사체는 생체내 에너지 대사활성 유지와 조절에 핵심적인 작용을 하는 p-AMPK, PPAR δ , PGC-1 α 의 발현을 증가시킴으로써, AMPK의 활성화가 필요한 질환(대사질환, 심혈관질환, 염증질환 등)의 예방 및 치료에 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0037] 도 1a 및 1b는 각각 마우스 골격근 세포주(C2C12)와 마우스 심근 세포주(HL1)에서, 미도드린에 의해 $\alpha 1$ -아드레날린 수용체($\alpha 1$ -AR)를 활성화시킬 경우 AMPK 활성형(인산화형)인 p-AMPK 및 PPAR- δ 의 단백질 발현이 증가됨을 보여주는 웨스턴 블랏 결과이다.

도 2는 마우스 골격근 세포주(C2C12)에서, 화합물 5에 의해 $\alpha 1$ -아드레날린 수용체($\alpha 1$ -AR)를 활성화시킬 경우 p-AMPK(A) 및 PPAR- δ (B)의 단백질 발현이 증가됨을 보여주는 웨스턴 블랏 결과이다.

도 3은 마우스 골격근 세포주(C2C12)에서, 화합물 7에 의해 $\alpha 1$ -아드레날린 수용체($\alpha 1$ -AR)를 활성화시킬 경우 p-AMPK(A) 및 PPAR- δ (B)의 단백질 발현이 증가됨을 보여주는 웨스턴 블랏 결과이다.

도 4는 마우스 골격근 세포주(C2C12)에서, 화합물 8에 의해 $\alpha 1$ -아드레날린 수용체($\alpha 1$ -AR)를 활성화시킬 경우 p-AMPK(A), PPAR- δ (B) 및 PGC-1 α (C)의 단백질 발현이 증가됨을 보여주는 웨스턴 블랏 결과이다.

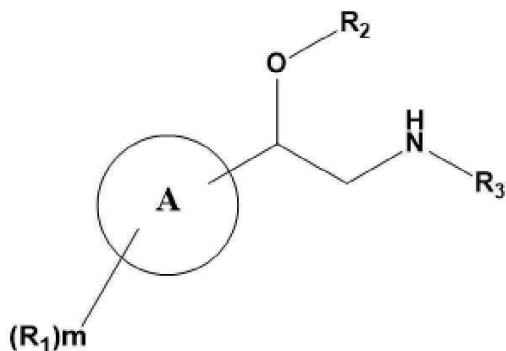
도 5는 마우스 골격근 세포주(C2C12)에서, 화합물 9에 의해 $\alpha 1$ -아드레날린 수용체($\alpha 1$ -AR)를 활성화시킬 경우 p-AMPK(A), PPAR- δ (B) 및 PGC-1 α (C)의 단백질 발현이 증가됨을 보여주는 웨스턴 블랏 결과이다.

도 6은 마우스 골격근 세포주(C2C12)에서, 화합물 10에 의해 $\alpha 1$ -아드레날린 수용체($\alpha 1$ -AR)를 활성화시킬 경우 p-AMPK(A), PPAR- δ (B) 및 PGC-1 α (C)의 단백질 발현이 증가됨을 보여주는 웨스턴 블랏 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0038] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 미도르린 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0039] [화학식 1]



[0040]

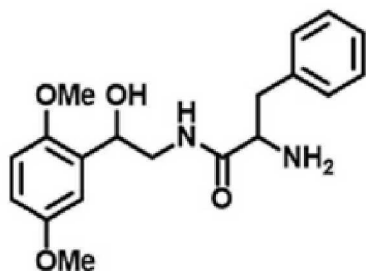
[0041] 상기 화학식 1에서, A는 각각 C6-C15 아릴기, 또는 질소(N), 산소(O) 및 황(S) 원자로부터 선택된 헤테로원자가 1 내지 4개 포함된 5원 내지 14원의 헤테로아릴기를 나타내고, R₁은 -O-(C1-C6 알킬), 할로젠원자, C1-C6 알킬기, C1-C6 할로알킬기, -O-(C1-C6 할로알킬), -C(O)-(C1-C6 알킬), -C(O)-O-(C1-C6 알킬), -O-C(O)-(C1-C6 알킬), -NR₁R₂, -C(O)-NR₁R₂, 또는 -O-(C1-C6 알킬)-NR₅R₆를 나타내고, R₂는 수소, -C(O)-(C1-C6 알킬), -C(O)-(C1-C6 할로알킬), -C(O)-O-(C1-C6 알킬), -C(O)-O-(C1-C6 할로알킬)를 나타내고, R₃는 수소원자, C1-C6 알킬기, -C(O)-(C1-C6 알킬), -C(O)-(C1-C6 할로알킬), -C(O)-(C1-C6 아미노알킬), -C(O)-(아릴 치환된 C1-C6 알킬)를 나타내고, m은 0 내지 3의 정수를 나타내는 것일 수 있다.

[0042] 본 발명에 있어서, 미도르린 "유사체(analogues)"는 미도르린 화합물과 유사한 구조를 가지면서 미도르린과 동등의 효과를 가지는 화합물을 의미한다.

[0043] 본 발명에서 미도르린 화합물과 유사한 구조를 가지면서 미도르린과 동등의 효과를 가지는 화합물은 화학식 2로 표시되는 화합물 5인 2-아미노-N-(2-(2,5-다이메톡시페닐)-2-하이드록시에틸)-3-페닐프로판아마이드, 화학식 3으로 표시되는 화합물 7인 2-아미노-N-(2-(2,5-다이메톡시페닐)-2-하이드록시에틸)프로판아마이드, 화학식 4로 표시되는 화합물 8인 2-아미노-N-(2-(3,5-다이메톡시페닐)-2-하이드록시에틸)아세트아마이드하이드로클로라이드, 화학식 5로 표시되는 화합물 9인 2-아미노-N-(2-(5-에틸-메톡시페닐)-2-하이드록시에틸)아세트아마이드하이드로클로라이드 및 화학식 6으로 표시되는 화합물 10인 2-아미노-N-(2-히드록시-2-페닐에틸)아세트아마이드하이드로클로라이드 중 어느 하나일 수 있다.

[0044] 본 발명은 하기 화학식 2로 표시되는 미도르린 유사체인 2-아미노-N-(2-(2,5-다이메톡시페닐)-2-하이드록시에틸)-3-페닐프로판아마이드 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

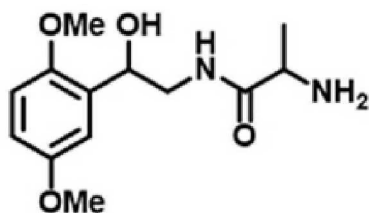
[0045] [화학식 2]



[0046]

[0047] 본 발명은 하기 화학식 3으로 표시되는 미도르린 유사체인 2-아미노-N-(2-(2,5-다이메톡시페닐)-2-하이드록시에틸)프로판아마이드 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

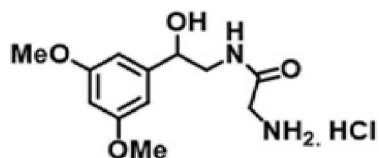
[0048] [화학식 3]



[0049]

[0050] 본 발명은 하기 화학식 4로 표시되는 미도르린 유사체인 2-아미노-N-(2-(3,5-다이메톡시페닐)-2-하이드록시에틸)아세트아마이드하이드로클로라이드 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

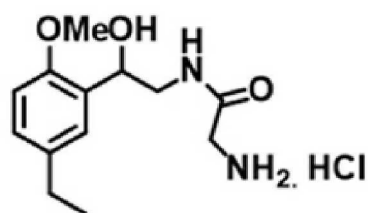
[0051] [화학식 4]



[0052]

[0053] 본 발명은 하기 화학식 5로 표시되는 미도르린 유사체인 2-아미노-N-(2-(5-에틸-2-메톡시페닐)-2-하이드록시에틸)아세트아마이드하이드로클로라이드 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

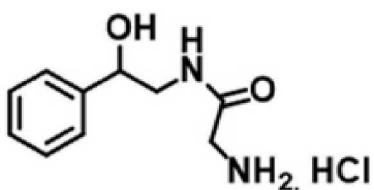
[0054] [화학식 5]



[0055]

[0056] 본 발명은 하기 화학식 6으로 표시되는 미도르린 유사체인 2-아미노-N-(2-히드록시-2-페닐에틸)아세트아마이드하이드로클로라이드 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0057] [화학식 6]



[0058]

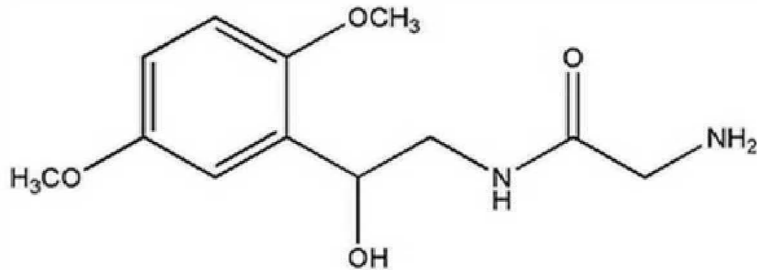
[0060] 상기 화학식 1 내지 화학식 6으로 표시되는 화합물은 "약학적으로 허용가능한 염"을 형성할 수 있다. 적합한 약학적으로 허용 가능한 염은 산 부가 염과 같이, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상적으로 사용되는 것으로 특별히 제한되는 것은 아니다. 바람직한 약학적으로 허용 가능한 산 부가 염으로는, 예를 들어 염산, 황산, 질산, 인산, 과염소산, 또는 브롬산과 같은 무기산; 초산, 메탄설폰산, 에탄설폰산, p-톨루엔설폰산, 푸마린산, 말레산, 말론산, 프탈산, 숙신산, 젖산, 구연산, 시트르산, 글루콘산, 타타르산, 살리실산, 말산, 옥살산, 벤조산, 엠본산, 아스파르트산, 또는 글루탐산과 같은 유기산을 들 수 있다. 유기염기 부가염 제조에 사용될 수 있는 유기염기로는 트리스(히드록시메틸)메틸아민, 디시클로헥실아민 등을 예로 들 수 있다. 아미노산 부가염 제조에 사용될 수 있는 아미노산으로는 알라닌, 글라이신 등의 천연아미노산을 예로 들 수 있다.

[0062] 상기 미도드린 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 $\alpha 1$ -아드레날린 수용체 효능제(agonist)인 것을 특징으로 하는, 미도드린 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염일 수 있다.

[0063] 본 발명에 있어서, $\alpha 1$ -아드레날린 수용체 효능제는 $\alpha 1$ -아드레날린 수용체에 작용하여 활성화시키는 물질을 의미한다. 아드레날린 수용체는 $\alpha 1$, $\alpha 2$, β 라는 3가지 타입이 있으며, 본 발명에서 $\alpha 1$ 타입의 수용체를 활성화시키는 화합물은 미도드린(midodrine) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염일 수 있다.

[0064] 미도드린 화합물은 아마틴(amatine), 프로아마틴(proamatine), 구트론(gutron) 등의 상표명으로 판매되고, 그 IUPAC 명은 (RS)- N-[2-(2,5-디메톡시페닐)-2-히드록시에틸]글리신아미드 ((RS)- N-[2-(2,5-dimethoxyphenyl)-2-hydroxyethyl]glycinamide)으로서, 하기 화학식 7로 표시된다.

[0065] [화학식 7]



[0066]

[0067] 미도드린은 투여 후 생체 내에서 목적 화합물로 변화되는 약물 전구체(prodrug)이며, 생체 내 투여 후 활성대사 산물인 데스글리미도드린(desglymidodrine)으로 변화되어 $\alpha 1$ -아드레날린 수용체를 활성화시키고, 이어서 AMPK 활성화, PPAR- δ , 또는 PGC-1 α 의 발현을 유도를 통하여 최종적으로 운동-유사 효과를 유도할 수 있다.

[0069] 상기 $\alpha 1$ -아드레날린 수용체 효능제는 AMPK 활성화를 유도하는 것일 수 있다.

[0070] AMPK는 생체 내 에너지 상태를 감지하여 이를 일정한 수준으로 유지시키는 에너지 센서(energy sensor) 역할을 하며, 예를 들어 대사성 스트레스나 운동에 의해 세포 내의 에너지가 감소하는 경우 즉 ATP가 고갈되어 AMP/ATP 비율이 증가하는 경우에 활성화되어 ATP를 소비하는 과정(예를 들어, 지방산 산화와 해당과정)을 촉진한다. AMPK의 활성화는 주요 표적 장기(간, 근육, 지방, 췌장)에 대사적으로 중요한 결과를 유도하는데, 간(肝)에서는 지방산과 콜레스테롤의 합성이 억제되는 반면 지방산의 산화는 촉진되고, 골격근에서는 지방산의 산화와 당 흡수를 촉진하며, 지방세포에서는 지방 합성을 억제하고, 췌장 β 세포에서는 인슐린 분비를 촉진하는 것으로 알려져 있다.

[0071] 상기 $\alpha 1$ -아드레날린 수용체 효능제는 PPAR- δ 또는 PGC-1 α 의 발현을 유도하는 것일 수 있다.

[0072] PPAR- δ 는 AMPK를 조절하여 세포 내 이화적 에너지 대사를 촉진하고, 항염증 작용, 인슐린 저항성 억제 등 생체 대사의 균형(항상성) 유지에 필수적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

[0073] PGC-1 α 는 미토콘드리아 증식의 주요한 조절물질로서 운동, 굶주림, 추위 등과 같은 심한 대사적 변화에 반응하여 발현이 유도되며, AMPK, PPAR- δ , NAD-dependent deacetylase sirtuin-1(SIRT1) 등의 조절을 받는 것으로 알려져 있다.

[0075] 본 발명에 따른 화학식 1 내지 화학식 6으로 표시되는 미도드린 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 운동-유사 효과를 유도할 수 있으며, 상기 운동-유사 효과는 AMPK 활성화가 필요한 질환의 예방 또는 치료 효과일 수 있다.

[0076] 본 발명에 있어서, 운동-유사 효과란 심장 기능 개선(수축력 증가), 근육의 인슐린 예민도 증가 및 산화인산화 기능 증진, 콜레스테롤 감소, 지방축적 및 체중 감소, 혈중 염증감소 등 운동 시 발휘되는 생리효과를 의미하며 특별한 제한은 없다.

[0077] 본 발명에 있어서, AMPK 활성화가 필요한 질환이란 AMPK의 비활성화에 의해 생길 수 있는 다양한 질환으로서 특별한 제한은 없으며, 예를 들면 대사성 질환, 심혈관질환, 염증질환 등일 수 있다.

[0078] 본 발명에 있어서, 대사성 질환(Metabolic Disease)이란 포도당, 지방, 단백질 등의 대사 이상에서 기원하는 질병을 의미하며, 예를 들면 비만, 당뇨병, 고지혈증, 고콜레스테롤증, 동맥경화증 및 지방간 등을 들 수 있으며, 바람직하게는 비만, 당뇨병, 고지혈증, 고콜레스테롤증, 동맥경화증 및 지방간으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것일 수 있다.

[0079] 본 발명에 있어서, 심혈관질환(cardiovascular disease)이란 심장과 주요 동맥에 발생하는 질환을 의미하며, 예를 들면, 허혈성 심장 질환, 관상동맥질환, 협심증, 심근경색증, 죽상경화증(동맥경화증), 뇌혈관 질환, 뇌졸중, 부정맥 등을 들 수 있다.

[0080] 본 발명에 있어서, 염증질환(inflammatory disease)이란 세균 또는 세균 유래 소포체, 독소, 바이러스, 또는 곰팡이 등의 감염성 인자에 의해 유도되는 감염성 염증질환, 알레르겐 노출에 의해 유도되는 알레르기성 염증질환, 자가 항원에 대한 자가면역성 염증질환 등을 특징으로 하는 질환을 의미하며, 예를 들면, 아토피피부염, 건선, 류마티스 관절염, 척추염, 요도염, 방광염, 신염, 혈관염, 동맥경화증, 심근염, 알러지 질환, 피부근염, 비염, 천식, 편도염, 급성통증, 만성통증, 패혈증, 치주염, 치은염, 염증성 장질환, 위궤양, 궤장염 등을 들 수 있다.

[0082] 본 발명에서는, $\alpha 1$ -아드레날린 수용체 효능제(agonist)로서 화학식 1 내지 화학식 6으로 표시되는 미도드린 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 신규 합성하여, 골격근 세포에서 $\alpha 1$ -AR 자극에 의한 AMPK 활성화, PPAR- δ 및 PGC-1 α 발현 유도를 확인하였다.

[0084] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

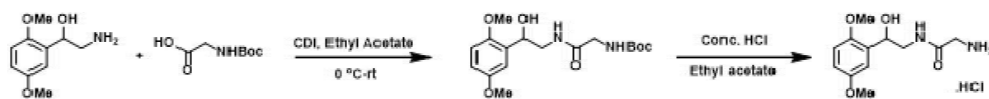
[0086] 실시예 1: 세포배양

[0087] 마우스 심근 세포주(HL1), 마우스 골격근 세포주(C2C12)는 37°C CO₂ 배양기 안에서 6 혹은 24 웰 플레이트(well plate)에 각 세포를 분주하여 10% FBS(fetal bovine serum), 1% 항생제를 포함하는 배지(DMEM)에서 80% 정도 포화될 때까지 자라게 하였다. 이후, HL1, C2C12 세포들은 배지를 1% FBS를 포함하는 배지로 교체하여 4일간 분화시켰으며 분화 3일째에 약물을 처리하였다. 모든 *in vitro* 실험은 약물 처리 후 24시간 뒤에 수행하였다.

[0089] 실시예 2: 다양한 미도드린 유사체 합성

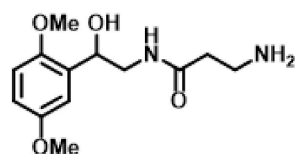
[0090] 하기 반응식 1에 기초하여 미도드린 유사체인 화합물 5 및 화합물 7을 합성하였다.

[0091] [반응식 1]



[0093] 2-1. 화합물 4(3-아미노-N-(2-(2,5-다이메톡시페닐)-2-하이드록시에틸)프로판아마이드(sanmido-44)) 합성

[0094] [화학식 8]



[0095] 단계 1: 틸트-부틸(3-((2-(2,5-다이메톡시페닐)-2-하이드록시에틸)아미노)-3-옥소프로필)카바메이트 합성

[0096] 0 °C의 둥근바닥 플라스크에 1,1 '-카보닐다이이미다졸(CDI) 50 mg(0.31 mmol)과 에틸아세테이트 2 mL를 넣고

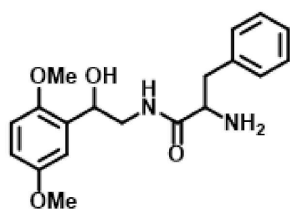
N-박-에시드 107 mg(0.61 mmol)을 천천히 첨가하였다. 1시간 동안 상온에서 교반한 후, 에틸아세테이트 2 mL에 녹인 2-아미노-1-(2,5-다이메톡시페닐)에탄-1-올 51 mg(0.26 mmol)을 첨가하여 1시간 동안 교반한 후 반응을 종결시켰다. 반응액을 에틸아세테이트와 물을 이용해 추출하였다. 모아진 유기층을 무수 황산 마그네슘으로 건조하고 농축하였다. 잔사를 컬럼크로마토그래피로 정제하여 목적화합물을 90~95%의 수율로 수득하였다.

[0098] 단계 2: 3-아미노-N-(2-(2,5-다이메톡시페닐)-2-하이드록시에틸)프로판아마이드(sanmido-44) 합성

[0099] 둥근바닥 플라스크에 틸트-부틸(3-((2-(2,5-다이메톡시페닐)-2-하이드록시에틸)아미노)-3-옥소프로필)카바메이트(0.28 mmol)와 에틸아세테이트 2 mL를 넣고 conc. HCl 0.1 mL를 천천히 첨가하여 상온에서 1시간 교반하였다. 반응을 종결한 후, 반응액을 농축시켜 화합물 4를 70~75% 수율의 하얀 고체 형태로 수득하였다. LCMS (ESI): 269.1 (M+H).

[0100] 2-2. 화합물 5(2-아미노-N-(2-(2,5-다이메톡시페닐)-2-하이드록시에틸)-3-페닐프로판아마이드(sanmido-45)) 합성

[0101] [화학식 2]

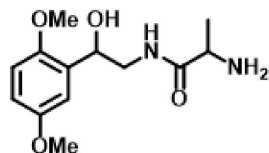


[0102]

[0103] 상기 실시예 2-1에서 기술한 방법과 적절한 출발물질을 이용하여 목적화합물을 수득하였다. LCMS (ESI): 345.2 (M+H).

[0104] 2-3. 화합물 7(2-아미노-N-(2-(2,5-다이메톡시페닐)-2-하이드록시에틸)프로판아마이드(sanmido-48)) 합성

[0105] [화학식 3]

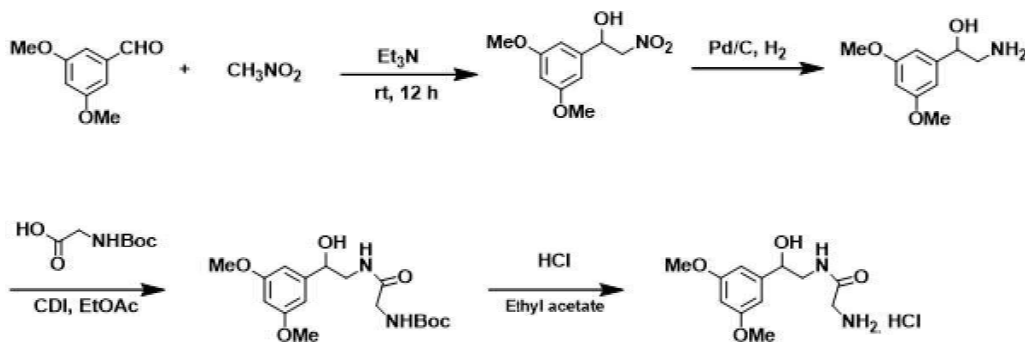


[0106]

[0107] 상기 실시예 2-1에서 기술한 방법과 적절한 출발물질을 이용하여 목적화합물을 수득하였다. LCMS (ESI): 269.1 (M+H).

[0109] 하기 반응식 2에 기초하여 미도드린 유사체인 화합물 8, 화합물 9 및 화합물 10을 합성하였다.

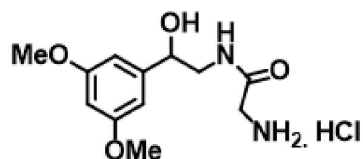
[0110] [반응식 4]



[0111]

[0112] 2-4. 화합물 8(2-아미노-N-(2-(3,5-다이메톡시페닐)-2-하이드록시에틸)아세트아마이드하이드로클로라이드(sanmido 53)) 합성

[0113] [화학식 4]



[0114]

[0115] 단계 1: 1-(3,5-다이메톡시페닐)-2-니트로에탄-1-올 합성

[0116] 둥근바닥 플라스크에 알데히드(1.2 mmol)와 니트로메탄 5 ml 및 트라이에틸아민 0.5 mL(3.6 mmol)을 넣고 상온에서 12시간 교반하였다. 반응이 종결되면 에틸아세테이트와 물로 추출하고, 유기층을 무수 황산마그네슘으로 건조시켜 농축하여 목적화합물을 ~83% 수율로 수득하였다.

[0117] 단계 2: 2-아미노-1-(3,5-다이메톡시페닐)에탄-1-올 합성

[0118] 1-(3,5-다이메톡시페닐)-2-니트로에탄-1-올(1.0 mmol)과 메탄올 2 mL을 2구 둥근바닥 플라스크에 넣고 Pd/C 10 mg(10 mol%)을 천천히 첨가하였다. 상온에서 수소기체로 포집하여 12시간 동안 교반하였다. 반응이 종결되면 셀라이트 패드를 이용해 여과하고 농축하여 목적화합물을 얻었다.

[0119] 단계 3: 틸트-부틸(2-((2-(3,5-다이메톡시페닐)-2-하이드록시에틸)아미노)-2-옥소에틸)카바메이트 합성

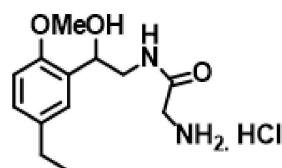
[0120] 0 °C의 둥근바닥 플라스크에 1,1 '-카보닐다이이미다졸(CDI) 194 mg(1.2 mmol)과 에틸아세테이트 2 mL를 넣고 N-박-글리신 107 mg(0.61 mmol)을 천천히 첨가하였다. 1시간 상온에서 교반한 후, 에틸아세테이트 2 mL에 녹인 2-아미노-1-(3,5-다이메톡시페닐)에탄-1-올 1 mmol을 첨가하여 1시간 동안 교반하고 반응을 종결시켰다. 반응액을 에틸아세테이트와 물을 이용해 추출하였다. 모아진 유기층을 무수 황산 마그네슘으로 건조하고 농축하였다. 잔사를 컬럼크로마토그래피로 정제하여 깨끗한 목적화합물을 90~95%의 수율로 수득하였다.

[0121] 단계 4: 2-아미노-N-(2-(3,5-다이메톡시페닐)-2-하이드록시에틸)아세트아마이드하이드로클로라이드(sanmido 53) 합성

[0122] 둥근바닥 플라스크에 틸트-부틸(2-((2-(3,5-다이메톡시페닐)-2-하이드록시에틸)아미노)-2-옥소에틸)카바메이트 (0.9 mmol)와 에틸아세테이트 2 mL를 넣고 conc. HCl 0.1 mL를 천천히 첨가하여 상온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응이 종결되면, 반응액을 농축시켜 목적화합물을 70~75% 수율의 고체 형태로 수득하였다. LCMS (ESI): 255.1 (M+H).

[0123] 2-5. 화합물 9(2-아미노-N-(2-(5-에틸-메톡시페닐)-2-하이드록시에틸)아세트아마이드하이드로클로라이드 (sanmido 56)) 합성

[0124] [화학식 5]

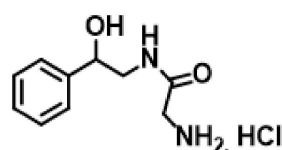


[0125]

[0126] 상기 실시예 2-4에서 기술한 방법과 적절한 출발물질을 이용하여 목적화합물을 수득하였다. LCMS (ESI): 195.1 (M+H).

[0127] 2-6. 화합물 10(2-아미노-N-(2-히드록시-2-페닐에틸)아세트아마이드하이드로클로라이드(sanmido 57)) 합성

[0128] [화학식 6]



[0129]

[0130] 상기 실시예 2-4에서 기술한 방법과 적절한 출발물질을 이용하여 목적화합물을 수득하였다. LCMS (ESI): 253.2

(M+H).

[0132] **실시예 3: *in vitro*에서 미도드린 투여에 따른 AMPK의 인산화에 대한 효과 검증**

[0133] AMPK 및 AMPK 인산화(활성화)에 대한 미도드린의 $\alpha 1$ -AR 자극 효과를 *in vitro*에서 확인하기 위하여, 실시예 1에서 배양한 마우스 골격근 세포주(C2C12)와 마우스 심근 세포주(HL1)에 $\alpha 1$ -AR 효능제인 미도드린 $30 \mu\text{M}$ 을 처리한 후 웨스턴 블랏을 수행하였다. 구체적으로, 웨스턴 블랏은 세포로부터 PRO-PREP™ 단백질 추출 용액(iNTRON Biotechnology, Seongnam-si, Gyeonggi-do, Korea)을 이용하여 단백질을 수득한 후, 단백질 $20 \sim 30 \mu\text{g}$ 을 10% SDS-PAGE(SDS-polyacrylamide gel electrophoresis) 겔 상에 로딩하여 분리하고 니트로셀룰로오스 페이퍼(GE Healthcare, 영국)에 트랜스퍼(transfer)하였다. 멤브레인은 5% (w/v) 스킵 밀크, 0.05 % (v/v) tween-20을 포함하는 TBS (Tris-buffered saline)에서 4°C 에서 하룻밤 또는 실온에서 2 시간 동안 블로킹(blocking)한 후 AMPK α (전체 형태의 α 서브유닛), 인산화된 AMPK α (Thr172에서 인산화), PPAR- δ 및 PGC-1 α 에 대한 1차 항체(Cell Signaling Technology, Inc., Danvers, MA, USA)를 투입하고 실온에서 2 시간 또는 4°C 에서 하룻밤 배양한 뒤, 겨자무과산화효소(horseradish peroxidase)가 결합된 항-토끼 2차 항체(Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)로 반응시켰다. 검출 시약(detection reagent)으로 Clarity Western ECL Substrate 키트(Bio-rad, Hercules, CA, USA)를 이용하였다. 영상들은 Kodak GBX 현상 및 고정 시약(Kodak, Rochester, NY, USA)을 사용하여 수동으로 수득하였다. X-선 필름은 Agfa(Mortsel, Belgium)로부터 구입하였다. 세포 유래 각 단백질의 함량은 브래드포드 방법을 사용하여 측정하였다.

[0134] 그 결과, 도 1a 및 1b에 나타난 바와 같이, 골격근 세포의 AMPK가 $\alpha 1$ -AR 자극에 의하여 발현되었으며, 인산화된 AMPK 발현이 미도드린의 농도에 따라 증가되었는 바, $\alpha 1$ -AR 자극이 AMPK의 활성화에 관여함을 알 수 있었다. 또한, 미도드린 투여로 인한 $\alpha 1$ -AR 자극은 골격근 이외에 심근 세포에서도 같은 양상으로 AMPK의 발현 및 인산화 반응이 나타났다.

[0136] **실시예 4: 다양한 미도드린 유사체의 투여에 따른 AMPK의 인산화에 대한 효과 검증**

[0137] $\alpha 1$ -AR 효능제인 미도드린과 유사한 화합물들을 신규 합성하여, 골격근 세포에서 $\alpha 1$ -AR 자극에 의한 AMPK 활성화, PPAR- δ 및 PGC-1 α 발현 유도를 확인하였다. 구체적으로, 분화중인 C2C12 세포에 화합물 5, 화합물 7, 화합물 8, 화합물 9 및 화합물 10 각각을 농도별로($10 \mu\text{M}$, $30 \mu\text{M}$, $50 \mu\text{M}$) 처리한 후, AMPK의 활성형(인산화형)인 p-AMPK, PPAR- δ , PGC-1 α 의 발현 정도를 실시예 3의 방법으로 웨스턴 블랏을 수행하여 확인하였다.

[0138] 그 결과, 화합물 5의 경우, 도 2에 나타난 바와 같이, 중간농도인 $30 \mu\text{M}$ 에서 AMPK의 활성형(인산화형)인 p-AMPK 및 PPAR- δ 의 발현이 대조군(미처리군)에 비해 유의하게 증가함을 확인하였다.

[0139] 화합물 7의 경우, 도 3에 나타난 바와 같이, p-AMPK와 PPAR- δ 의 단백질 발현이 농도 의존적으로 증가하는 경향을 보였고, 특히 p-AMPK의 경우 $10 \mu\text{M}$ 처리군과 $50 \mu\text{M}$ 처리군에서 대조군과 비교하여 유의하게 증가하였으며, PPAR- δ 는 $30 \mu\text{M}$ 처리 군에서 대조군과 비교하여 유의하게 증가함을 확인하였다.

[0140] 화합물 8의 경우, 도 4에 나타난 바와 같이, p-AMPK, PPAR- δ , PGC-1 α 가 전체적으로 증가하였는데 특히 $50 \mu\text{M}$ 농도에서 p-AMPK와 PGC-1 α 의 발현량이 유의하게 증가함을 확인하였다.

[0141] 화합물 9의 경우, 도 5에 나타난 바와 같이, p-AMPK, PPAR- δ , PGC-1 α 가 전체적으로 증가하였는데 특히 $30 \mu\text{M}$ 및 $50 \mu\text{M}$ 농도에서 p-AMPK와 PPAR- δ 의 발현량이 유의하게 증가함을 확인하였다.

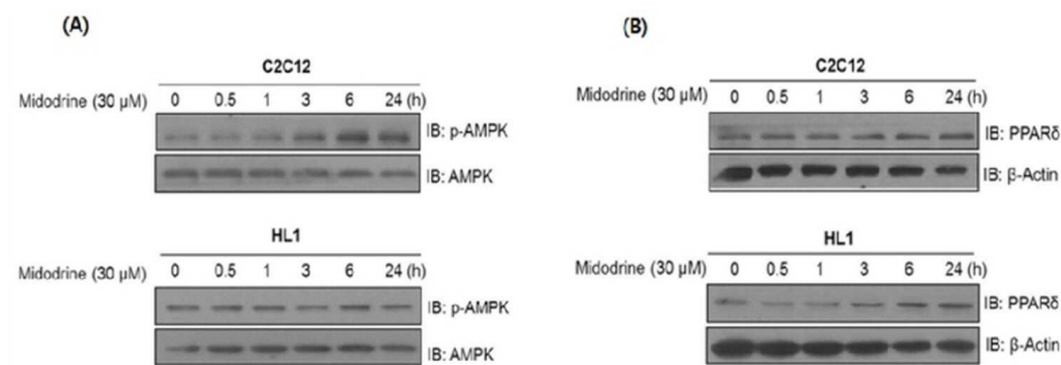
[0142] 화합물 10의 경우, 도 6에 나타난 바와 같이, p-AMPK는 $30 \mu\text{M}$ 및 $50 \mu\text{M}$ 농도에서, 그리고 PPAR- δ 는 $10 \mu\text{M}$ 및 $50 \mu\text{M}$ 농도에서, 각각 유의하게 단백질 발현이 증가함을 확인하였다.

[0144] 이와 같이, 골격 근육에서 미도드린이 작용하여 나타나는 변화(AMPK 활성화)가 심근에서도 기존에 알려진 심근 수축기능 향상과 동시에 나타나므로(AMPK 활성화 + 심근 수축 증가), $\alpha 1$ -AR 자극으로 추가적인 심근 운동 효과가 나타나고 있다는 것을 알 수 있었다. 즉, *in vitro* 실험에서 이제까지는 단순히 심근 세포의 수축력만 증가할 가능성만 알려진 바 있으나, 본 실시예에 따른 결과에서는 미도드린 유사체가 미도드린과 동일하게 골격근 및 심근 세포에서 AMPK 증가 및 인산화가 증가되어 운동효과 관련 작용을 나타낼 것으로 예상되었다.

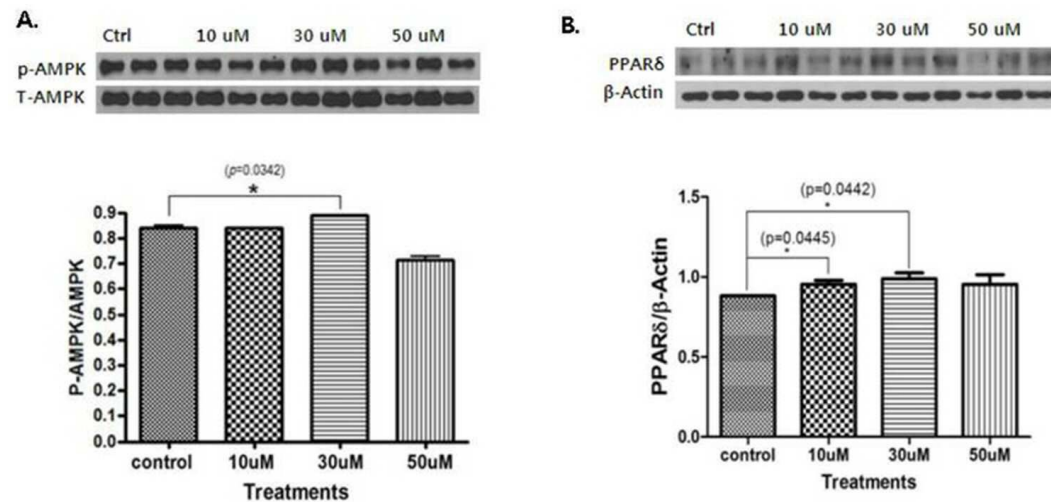
[0146] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해되어야 한다.

도면

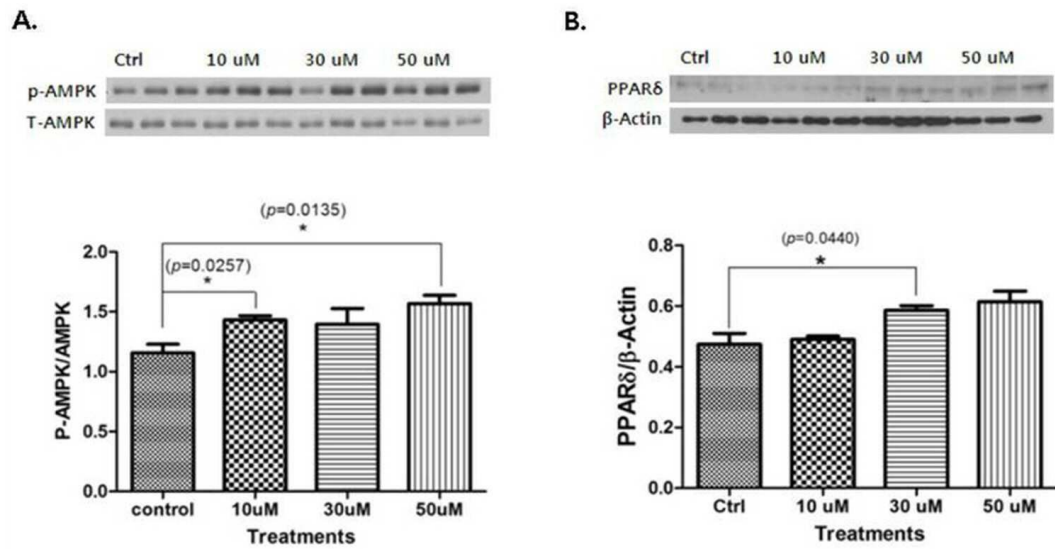
도면1



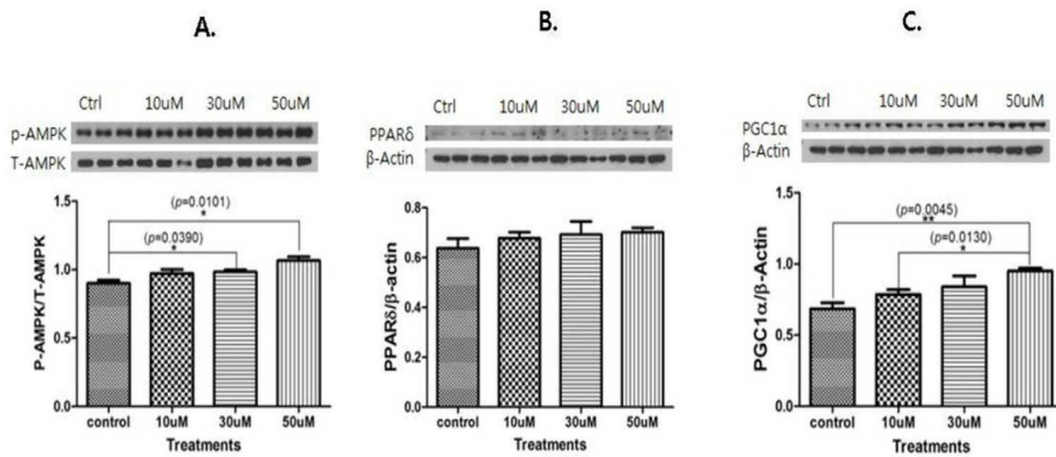
도면2



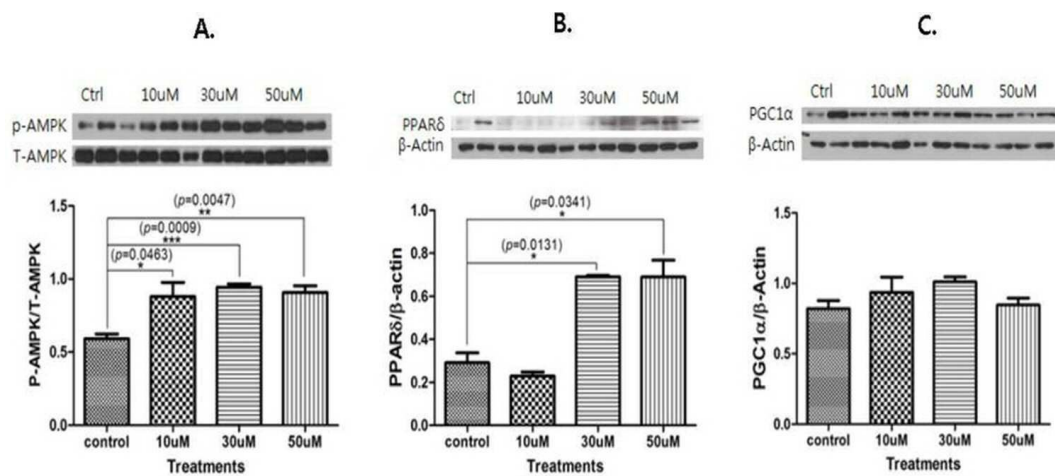
도면3



도면4



도면5



도면6

