(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0024953
(43) 공개일자 2020년03월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07C 59/42 (2006.01) *A61K 31/201* (2006.01)
A61K 31/23 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07C 59/42 (2013.01)
A61K 31/201 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-7005917(분할)
(22) 출원일자(국제) 2010년03월15일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2019-7004239
원출원일자(국제) 2010년03월15일
심사청구일자 2019년02월13일
(85) 번역문제출일자 2020년02월28일
(86) 국제출원번호 PCT/ES2010/070153
(87) 국제공개번호 WO 2010/106211
국제공개일자 2010년09월23일
(30) 우선권주장
P200900725 2009년03월16일 스페인(ES)

(71) 출원인
리포파마 쎄라퓨틱스, 에스.엘
스페인 07121 팔마 데 마요르카 피소 모둘로 씨-8 2° 파크 비트 에디피시오 17 4 케이엠 7 씨티알 에이. 데 발데모사
(72) 발명자
에스크리바 루이즈 파블로 빈센트
스페인 07121 팔마 데 마요르카 피소 모둘로 씨-8 2° 파크비트 에디피시오 17 4 케이엠 7 씨티알에이. 데 발데모사
부스케츠 자우벳 자비에르
스페인 07121 팔마 데 마요르카 피소 모둘로 씨-8 2° 파크비트 에디피시오 17 4 케이엠 7 씨티알에이. 데 발데모사
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김영환

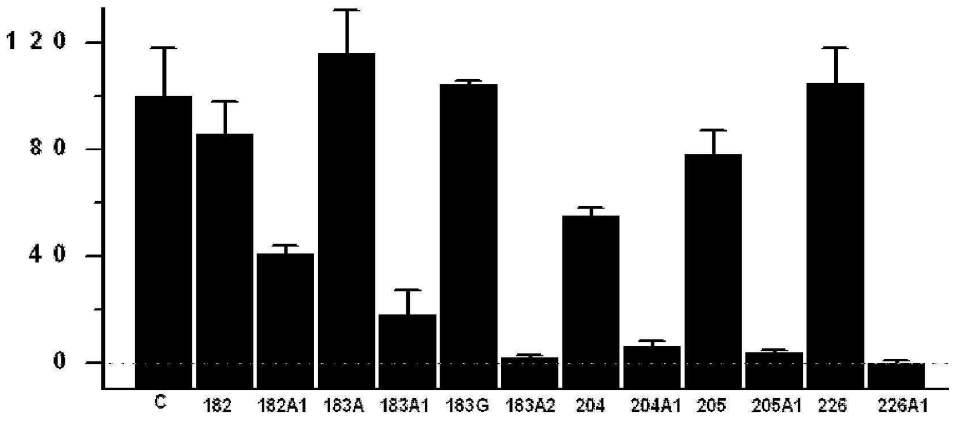
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 **고도불포화 지방산 유도체의 의약으로서 용도**

(57) 요 약

의약 또는 기능성 식품으로서 고도불포화 지방산 유도체의 용도. 본 발명은 그 병인이 (임의의 유형의) 세포막 지질의 변화, 예를 들어, 이러한 지질의 수준, 조성 또는 구조 변화에 근거한 공통적인 질환의 치료 또는 예방에 있어서 1,2-지방산 유도체의 용도에 관련한 것이다. 또한, 막(또는 막과 상호작용하는 단백질)의 지질 조성 및 구조의 조절이 병리학적 상태의 반전을 야기할 수 있는 질환에 대한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 31/23 (2013.01)
(72) 발명자
테레스 지메네즈 실비아
스페인 07121 팔마 데 마요르카 피소 모둘로 씨-8 2° 파크비트 에디피시오 17 4 케이엠 7 씨티알에이. 데 발데모사
바르셀로 코블린 그웬돌린
스페인 07121 팔마 데 마요르카 피소 모둘로 씨-8 2° 파크비트 에디피시오 17 4 케이엠 7 씨티알에이. 데 발데모사
라도 카넬라스 빅토리아
스페인 07121 팔마 데 마요르카 피소 모둘로 씨-8 2° 파크비트 에디피시오 17 4 케이엠 7 씨티알에이. 데 발데모사
마르실라 엑세니케 아마이아
스페인 07121 팔마 데 마요르카 피소 모둘로 씨-8 2° 파크비트 에디피시오 17 4 케이엠 7 씨티알에이. 데 발데모사
마틴 마리아 로라
스페인 07121 팔마 데 마요르카 피소 모둘로 씨-8 2° 파크비트 에디피시오 17 4 케이엠 7 씨티알에이. 데 발데모사
히게라 우르바노 모니카
스페인 07121 팔마 데 마요르카 피소 모둘로 씨-8 2° 파크비트 에디피시오 17 4 케이엠 7 씨티알에이. 데 발데모사
알바레즈 마르티네즈 라파엘
스페인 07121 팔마 데 마요르카 피소 모둘로 씨-8 2° 파크비트 에디피시오 17 4 케이엠 7 씨티알에이. 데 발데모사
로페즈 다니엘 호라시오
스페인 07121 팔마 데 마요르카 피소 모둘로 씨-8 2° 파크비트 에디피시오 17 4 케이엠 7 씨티알에이. 데 발데모사

명 세 서

청구범위

청구항 1

암, 혈관 질환, 염증성 질환, 대사성 질환, 비만 및 과체중, 신경학적 또는 퇴행성 신경 질환으로부터 선택되는, 세포막 지질의 구조적 및/또는 기능적 및/또는 조성 변화에 근거한 질병의 치료 또는 예방에 사용하기 위한, 식 (I)의 화합물 또는 그 약학적으로 허용가능한 염 또는 유도체:

$COOR_1\text{-}CHR_2\text{-}(CH_2)_a\text{-}(CH{=}CH\text{-}CH_2)_b\text{-}(CH_2)_c\text{-}CH_3$ (I)

(상기 식에서, a 및 c 는 0 내지 7의 독립적인 값을 가질 수 있고, b 는 2 내지 7 사이의 독립적인 값을 가질 수 있고, R_1 및 R_2는 이온, 원자 또는 그 분자량이 독립적으로 200 Da 이하인 원자단일 수 있으며, 단 R_2는 H가 아님).

청구항 2

제1항에 있어서,

다음의 a, b 및 c의 여섯 개의 조합 중 하나를 가지며: a = 6, b = 2 및 c = 3; a = 6, b = 3 및 c = 0; a = 3, b = 3 및 c = 3; a = 2, b = 4 및 c = 3; a = 2, b = 5 및 c = 0; 및, a = 2, b = 6 및 c = 0; 상기 식에서, R_1은 다음 라디칼로부터 선택되고: H, Na, K, CH_3O, $CH_3\text{-}CH_2O$ 및 $OPO(O\text{-}CH_2\text{-}CH_3)_2$, R_2는 다음 라디칼로부터 선택되는: OH, OCH_3, $O\text{-}CH_3COOH$, CH_3, Cl, CH_2OH, $OPO(O\text{-}CH_2\text{-}CH_3)_2$, NOH, F, HCOO 및 $N(OCH_2CH_3)_2$

것을 특징으로 하는 식 (I)의 화합물.

청구항 3

제2항에 있어서,

R_1이 H일 때, R_2가 OH, OCH_3, 또는 CH_2OH로부터 선택되고; R_1이 Na일 때, R_2가 OH 또는 CH_3로부터 선택되고; R_1이 K일 때, R_2가 OH이고; R_1이 CH_3O일 때, R_2가 OH, OCH_3, $O\text{-}CH_3COOH$, CH_3 또는 HCOO로부터 선택되고; R_1이 $CH_3\text{-}CH_2O$일 때, R_2가 OH, OCH_3, $O\text{-}CH_3COOH$, CH_3, Cl, CH_2OH, $OPO(O\text{-}CH_2\text{-}CH_3)_2$, NOH, F, HCOO 및 $N(OCH_2CH_3)_2$로부터 선택되고; R_1이 $OPO(O\text{-}CH_2\text{-}CH_3)_2$일 때, R_2가 OH인

것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 4

제3항에 있어서,

R_1이 H이고 R_2가 OH인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 5

암, 혈관 질환, 염증성 질환, 대사성 질환, 비만 및 과체중, 신경학적 또는 퇴행성 신경 질환으로부터 선택되는, 세포막 지질의 구조적 및/또는 기능적 및/또는 조성 변화에 근거한 질병의 치료 또는 예방을 위한 약학적 및/또는 기능 식품 조성물의 제조를 위한, 식 (I)의 화합물, 또는 그 염 또는 그 약학적으로 허용가능한 유도체 중 적어도 하나의 용도 (상기 식에서, a 및 c 는 0 내지 7의 독립적인 값을 가질 수 있고, b 는 2 내지 7 사이의 독립적인 값을 가질 수 있고, R_1 및 R_2 는 이온, 원자 또는 그 분자량이 독립적으로 200 Da 이하인 원자단일 수 있고, 단 R_2는 H가 아님).

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 식 (I)의 화합물은 다음의 *a*, *b* 및 *c*의 여섯 개의 조합 중 하나를 가지며: *a* = 6, *b* = 2 및 *c* = 3; *a* = 6, *b* = 3 및 *c* = 0; *a* = 3, *b* = 3 및 *c* = 3; *a* = 2, *b* = 4 및 *c* = 3; *a* = 2, *b* = 5 및 *c* = 0; 및, *a* = 2, *b* = 6 및 *c* = 0; 상기 식에서, R_1은 다음 라디칼로부터 선택되고: H, Na, K, CH_3O, CH_3-CH_2O 및 $OPO(O-CH_2-CH_3)_2$, R_2는 다음 라디칼로부터 선택되는: OH, OCH_3, $O-CH_3COOH$, CH_3, Cl, CH_2OH, $OPO(O-CH_2-CH_3)_2$, NOH, F, HCOO 및 $N(OCH_2CH_3)_2$

것을 특징으로 하는 용도.

청구항 7

제6항에 있어서,

R_1이 H일 때, R_2가 OH, OCH_3, 또는 CH_2OH로부터 선택되고; R_1이 Na일 때, R_2가 OH 또는 CH_3로부터 선택되고; R_1이 K일 때, R_2가 OH이고; R_1이 CH_3O일 때, R_2가 OH, OCH_3, $O-CH_3COOH$, CH_3 또는 HCOO로부터 선택되고; R_1이 CH_3-CH_2O일 때, R_2가 OH, OCH_3, $O-CH_3COOH$, CH_3, Cl, CH_2OH, $OPO(O-CH_2-CH_3)_2$, NOH, F, HCOO 및 $N(OCH_2CH_3)_2$로부터 선택되고; R_1이 $OPO(O-CH_2-CH_3)_2$일 때, R_2가 OH인

것을 특징으로 하는 용도.

청구항 8

제7항에 있어서,

R_1이 H이고 R_2가 OH인 것을 특징으로 하는 용도.

청구항 9

식 (I)의 화합물 또는 그 염 또는 그 약학적으로 허용가능한 유도체 중 적어도 하나를 포함하는 약학적 또는 기능 식품 조성물 (상기 식에서, *a* 및 *c* 는 0 내지 7의 독립적인 값을 가질 수 있고, *b* 는 2 내지 7 사이의 독립적인 값을 가질 수 있고, R_1 및 R_2는 이온, 원자 또는 그 분자량이 독립적으로 200 Da 이하인 원자단일 수 있고, 단 R_2는 H가 아님).

청구항 10

제 9항에 있어서,

상기 식 (I)의 화합물은 다음의 *a*, *b* 및 *c*의 여섯 개의 조합 중 하나를 가지며: *a* = 6, *b* = 2 및 *c* = 3; *a* = 6, *b* = 3 및 *c* = 0; *a* = 3, *b* = 3 및 *c* = 3; *a* = 2, *b* = 4 및 *c* = 3; *a* = 2, *b* = 5 및 *c* = 0; 및, *a* = 2, *b* = 6 및 *c* = 0; 상기 식에서, R_1은 다음 라디칼로부터 선택되고: H, Na, K, CH_3O, CH_3-CH_2O 및 $OPO(O-CH_2-CH_3)_2$, R_2는 다음 라디칼로부터 선택되는: OH, OCH_3, $O-CH_3COOH$, CH_3, Cl, CH_2OH, $OPO(O-CH_2-CH_3)_2$, NOH, F, HCOO 및 $N(OCH_2CH_3)_2$

것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서,

R_1이 H일 때, R_2가 OH, OCH_3, 또는 CH_2OH로부터 선택되고; R_1이 Na일 때, R_2가 OH 또는 CH_3로부터 선택되고; R_1이 K일 때, R_2가 OH이고; R_1이 CH_3O일 때, R_2가 OH, OCH_3, $O-CH_3COOH$, CH_3 또는 HCOO로부터 선택되고; R_1이 CH_3-CH_2O일 때, R_2가 OH, OCH_3, $O-CH_3COOH$, CH_3, Cl, CH_2OH, $OPO(O-CH_2-CH_3)_2$, NOH, F, HCOO 및 $N(OCH_2CH_3)_2$로부터 선택되고; R_1이 $OPO(O-CH_2-CH_3)_2$일 때, R_2가 OH인

것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서,

R_1이 H이고 R_2가 OH인 것을 특징으로 하는 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 의약으로서, 바람직하게 그 병인이 세포막 지질 및 그들과 상호작용하는 단백질의 수준, 조성 또는 구조 변화와 같은 세포막 지질의 변화에 근거하는 질병의 치료; 및 지질 조성 및 막 구조, 및 상기 막과 상호작용하는 단백질의 조절이 병리학적 상태의 반전을 초래할 수 있는 질병 치료를 위한, 1,2-고도불포화 지방산 유도체의 용도에 관한 것이다.

[0002] 따라서, 본 발명은 그 광범위한 적용으로 인하여, 일반적으로 의약 및 약학 분야에 포함될 것이다.

배 경 기 술

[0003] 세포막은 세포 및 세포가 함유하는 세포소기관의 구조를 정의하는 구조이다. 대부분의 생물학적 과정은 막 내에서 또는 그 주위에서 일어난다. 지질은 구조적 역할을 가질 뿐 아니라, 중요한 과정들의 활성을 조절한다. 더욱이, 막 지질 조성의 조절은 또한 G 단백질 또는 PKC와 같은 세포 생리학 조절에 수반되는 중요한 단백질의 위치 또는 기능에 영향을 미친다 (Escriba et al., 1995, 1997, Yang et al, 2005, Martinez et al., 2005). 상기 및 기타 연구들은 중요한 세포 기능을 조절함에 있어서 지질의 중요성을 입증한다. 사실상, 무엇보다도 암, 심혈관 질환, 퇴행성 신경 질환, 비만, 대사 장애, 과정 및 염증성 질환, 감염증 또는 자가면역질환과 같은 많은 인간 질병은 생물학적 막 내 지질 수준 또는 조성 변화와 관련되어 왔으며, 나아가 막 지질의 조성 및 구조를 조절하는 본 발명의 유리한 효과 이외에 지방산을 이용한 치료가 이러한 질병들을 반전시키는데에 이용될 수 있는 이로운 효과를 입증한다 (Escriba, 2006).

[0004] 음식에서 섭취되는 지질은 세포막의 지질 조성을 조절한다 (Alemany et al., 2007). 또한, 다양한 생리학적 및 병리학적 상황이 세포막 내 지질을 변화시킬 수 있다 (Buda et al., 1994; Escriba 2006). 막 지질 내 생리학적 변화를 유도하는 상황의 예로서, 온도가 20℃ (여름)로부터 4℃ (겨울)로 내려갈 때 그 지질이 중요한 변화 (막 지질 양 및 유형 변화)를 경험하는, 변화하는 온도의 강에 서식하는 물고기를 언급할 수 있다 (Buda et al. 1994). 이러한 변화는 다양한 성질의 세포 유형 내에서 그들의 기능을 유지하도록 한다. 지질 조성에 영향을 미칠 수 있는 병리학적 과정의 예는 신경 장애 또는 약물 유도 질환이다 (Rapoport, 2008). 따라서, 막 지질은 세포 시그널링의 복수의 메커니즘의 올바른 활성을 결정할 수 있다고 할 수 있다.

[0005] 막 지질 조성 변화는 세포 시그널링에 영향을 미치며, 질병 진전 또는 그 반전을 초래할 수 있다 (Escriba, 2006). 지난 수년에 걸친 다양한 연구는 막 지질이 현재까지 부여된 것보다 더 많은 역할을 함을 나타낸다 (Escriba et al, 2008). 세포막의 전통적인 관점은 막의 단지 기능적 요소로 추정되는 막 단백질에 대한 지지체로서 순순하게 구조적 역할을 지질에 부여한다. 원형질막은 물, 이온 및 기타 분자가 세포 내로 들어가는 것을 방지하는 부가적인 역할을 할 수 있다. 그러나, 막은 건강 유지, 발병 및 치유에 있어서 매우 중요한 다른 기능을 가진다. 세포가 병들어 신체가 병들기 때문에, 막 지질 변화는 세포 변화를 생산하고 발병을 초래할 수 있다. 유사하게, 막 지질 수준 조절을 목표로 하는 치료, 기능식품 또는 화장품 개입은 병리학적 과정을 예방하고 반전(치료)시킬 수 있다. 또한, 많은 연구는 포화 및 트랜스-단일 불포화 지방의 섭취가 건강 악화와 관련이 있음을 나타낸다. 상기한 신경학적 질환 이외에, 혈관 질환, 암 및 기타 질환들이 막 지질과 직접적으로 연관되어 왔다 (Stender and Dyerberg, 2004). 유기체의 악화는 대사성 질환, 염증, 신경 퇴행 등을 포함할 수 있는 상기 및 기타 유형의 질병 출현으로 나타난다.

[0006] 세포막은 이를 통하여 세포가 대사 산물 및 정보를 다른 세포 및 그를 둘러싸는 세포 외 환경으로부터 받는 선택적 장벽이다. 그러나, 막은 세포 내에서 매우 중요한 기타 기능들을 전개한다. 한편, 막은 중요한 기관 기능을 조절하는 메시지를 받거나 개시하는데에 수반되는 단백질에 대한 지지체로서 작용한다. 이러한 메시지는 많은 호르몬, 신경전달물질, 사이토카인, 성장 인자 등에 의하여 중재되며, 받은 시그널을 다른 단백질 (외재성 막 단백질)을 통하여 세포 내로 전파하고 그들 중 일부가 또한 막에 위치하는 막 단백질 (수용체)을 활성화시킨

다. (1) 이러한 시스템은 증폭 연쇄 반응으로서 작동하고, (2) 막 지질은 이러한 외재성 단백질의 부위 및 활성을 조절할 수 있으므로, 막의 지질 조성은 세포의 생리학에 주요한 영향을 미칠 수 있다. 특히, G 단백질, 단백질 카이나아제 C, Ras 단백질 등과 같은 특정 외재성 단백질의 세포막과의 상호작용은 그 지질 조성에 의존한다 (Vogler et al., 2004, Vogler et al., 2008). 나아가, 세포막의 지질 조성은 음식 내 지질의 유형 및 양에 영향을 받는다 (Escriba et al., 2003). 사실상, 기능식품 또는 약학적 지질 개입은 막의 지질 조성을 조절할 수 있으며, 결과적으로 중요한 세포 시그널링 단백질의 상호 작용 (및 따라서 활성)을 조절할 수 있다 (Yang et al., 2005).

[0007] 막 지질이 세포 시그널링을 조절할 수 있다는 사실로부터 이들은 세포의 생리학적 상태 및 따라서 일반적 건강 상태를 조절할 수 있는 것으로 추정된다. 사실상, 지질의 건강에 대한 부정적 및 긍정적 효과 모두 기재되었다 (Escriba et al., 2006; Escriba et al., 2008). 예비 조사는 단일 불포화 지방산인 2-히드록시올레산이 과체중, 고혈압 또는 암과 같은 특정 병리학적 과정을 반전시킬 수 있음을 보였다 (Alemany et al., 2004, Martinez et al., 2005; Vogler et al, 2008).

[0008] 심혈관 질환은 종종 심장 및 혈관 조직을 구성하는 세포의 과도한 증식과 관련된다. 이러한 과증식은 심혈관계의 혈관의 내부 루멘 및 공동 내에 심혈관 침적을 초래하여, 고혈압, 죽상동맥경화증, 허혈, 동맥류, 발작, 경색, 협심증, 뇌졸증 (뇌혈관 장애) 등과 같은 광범위한 질병을 초래한다 (Schwartz et al., 1986). 사실상, 세포 증식을 예방하는 약물의 개발은 심혈관 질환의 예방 및 치료를 위한 좋은 대안일 것으로 제안되어 왔다 (Jackson and Schwartz, 1992).

[0009] 비만은 섭취 및 에너지 소비 간의 변화된 균형에 의하여, 부분적으로 이러한 과정들을 조절하는 메커니즘 변화으로 인하여 야기된다. 한편, 이러한 상태는 지방 세포의 과형성 (세포수 증가) 또는 비대 (크기 증가)를 특징으로 한다. 많은 연구는 자유 또는 기타 분자의 일부로서 지방산이 신체 지방 질량, 지질 대사, 열발생 및 음식물 섭취와 같은 에너지 항상성과 관련된 다수의 파라미터에 영향을 미칠 수 있음을 보인다 (Vogler et al., 2008). 이러한 의미에서, 지방산의 변화는 에너지 항상성, 즉 섭취와 에너지 소비 간의 균형, 및 따라서 식욕 또는 체중과 같은 관련 과정을 조절하기 위한 전략일 수 있다.

[0010] 신경퇴행 과정은 상이한 징후를 가지나 중추 및/또는 말초 신경계 세포의 퇴화 또는 장애에 의하여 야기되는 공통적인 특징을 가지는 다수의 질병을 초래한다. 이러한 신경퇴행 과정 중 일부는 환자의 인지 능력의 현저한 감소 또는 그들의 운동 능력 변화을 수반한다. 신경퇴행성, 신경학적 또는 신경정신 질환은 신경세포 퇴화 또는 지질 (예를 들어, 수초) 또는 막 단백질 (예를 들어, 아드레날린, 세로토닌 수용체 등)과 같은 그 성분의 변화의 공통적인 근거를 가진다. 이러한 중추 신경계 질환은 무엇보다도 알츠하이머병, 파킨슨병, 다발성 경화증, ALS, 해마 경화증 및 기타 유형의 간질, 초점 경화증, 부신백질이영양증 및 기타 백질이영양증, 혈관성 치매, 노인성 치매, 편두통을 포함하는 두통, 중추 신경계 외상, 수면 장애, 어지럼증, 통증, 뇌졸증 (뇌혈관 장애), 우울증, 불안 또는 중독을 포함한다. 나아가, 특정 신경학적 및 퇴행성 신경 질환은 맹증, 청각 문제, 방향 감각 상실, 기분 변화 등을 초래할 수 있다.

[0011] 잘 규명된 퇴행성 신경 질환의 예는 알츠하이머병이며, 이는 잘못된 펩타이드 과정으로부터 생기는 막 단백질 단편들 (예를 들어, β-아밀로이드 펩타이드)로 이루어지는 노인성 반점의 형성에 이은 Tau 단백질의 세포 밖에 축적 및 신경섬유의 다발성 병변을 특징으로 한다. 이러한 과정은 콜레스테롤 대사 변화 및 결과적인 콜레스테롤 및 도코사헥사엔산과 같은 특정 막 지질 수준 변화와 관련이 있다 (Sagin and Sozmen, 2008, Rapoport, 2008). 또한, 파킨슨병, 알츠하이머병, 노인성 치매 (또는 루이바디병)와 같은 몇몇 퇴행성 신경 질환은 트리글리세라이드의 세포 대사에 상당한 변화를 초래하는 α-시누클레인 단백질의 섬유성 응집물의 병리적 축적과 관련되어 왔다 (Coles et al., 2001). 사실상, 상기 및 기타 퇴행성 신경 질환은 콜레스테롤, 트리글리세라이드, 스핑고마이엘린, 포스파티딜에탄올아민 등과 같은 혈청 또는 세포 지질 변화과 관련된다. 이는 다시, 지질이 신경 세포, 신경, 뇌, 소뇌, 척수의 올바른 활성에 있어서 결정적인 역할을 함을 시사하며, 이는 중추신경계 내 지질의 풍부함을 고려할 때 타당하다. 본 발명의 분자는 신경학적, 신경퇴행성 및 신경정신 질환과 관련되는 많은 과정들을 반전시킬 수 있는 높거나 매우 높은 가능성을 가진다.

[0012] 더욱이, 상이한 유형의 경화증 및 기타 퇴행성 신경 질환이 탈수초와 관련이 되며, 그 결과 신경세포 축색돌기의 커버 상에 지질 손실이 초래되고, 결과적으로, 그것이 수반하는 전기 신호의 전파 과정 변화를 초래한다. 수초는 많은 신경세포의 축색돌기를 둘러싸며, 신경교세포의 원형질막의 일련의 나선형 접힘에 의하여 형성되는 지방층이다 (Schwann cells). 따라서, 지질이 신경퇴행성 질환의 전개에 있어서 중요한 역할을 하는 것이 분명하다. 더욱이, 비변형된 천연 PUFAs가 신경퇴행성 과정의 전개에 대하여 적당한 예방 효과를 가지는 것으로 밝

혀졌다 (Lane and Farlow, 2005). 사실상, 중추신경계 내에 가장 중요한 지질은 그 풍부함이 많은 신경퇴행 과정에서 변화되는 천연 PUFA인 도코헥사엔산이다.

[0013] 대사성 질환은 특정 분자 결핍 또는 축적을 특징으로 하는 질병군을 형성한다. 전형적인 예는 글루코오스, 콜레스테롤 및/또는 트리글리세라이드의 정상 수준 이상의 축적이다. 전신 (예를 들어, 증가된 혈장 수준) 및 세포 수준 (예를 들어, 세포막 내에) 모두에서 증가된 수준의 글루코오스, 콜레스테롤 및/또는 트리글리세라이드는 다양한 수준에서 장애를 초래하는 세포 시그널링 변화과 관련되며, 대개 특정 효소 활성 오류 또는 그러한 단백질의 부적절한 조절로 인한 것이다. 가장 중요한 대사성 질환 중에 과콜레스테롤혈증 (높은 콜레스테롤) 및 과트리글리세라이드혈증 (높은 트리글리세라이드)이 있다. 이러한 질병들은 더 높은 발병률, 이환율, 사망율을 가지므로, 그 치료가 우선적으로 요구된다. 기타 중요한 대사성 질환은 글루코오스 수준 조절의 문제를 특징으로 하는 당뇨병 및 인슐린 저항성을 포함한다. 이러한 대사성 질환은 암, 고혈압, 비만, 죽상동맥경화증 등과 같은 기타 질병 발생에 수반된다. 최근, 상기 대사성 질환과 밀접한 관련이 있으며 새로운 유형의 대사증(metabolopathy)을 구성할 수 있는, 그 자체로 대사 증후군인 다른 질병 과정이 정의되었다.

[0014] 특정 고도불포화 지방산 (PUFAs)의 특정 질병에 대한 보호 역할이 상이한 연구원에 의하여 기재되었다. 예를 들어, PUFAs는 암 진전을 늦추며, 심혈관 질환, 퇴행성 신경 질환, 대사장애, 비만, 염증 등의 전개에 대한 긍정적 효과를 가진다 (Trombetta et al., 2007, Jung et al., 2008, Florent et al., 2006). 이러한 자극은 다양한 질병의 병인 및 그 치료 모두에 있어서 지질(PUFA)의 중요한 역할을 나타낸다. 그러나, 이러한 화합물(PUFA)의 약리학적 활성은 혈액 내 신속한 대사 및 짧은 반감기로 인하여 매우 제한된다. 따라서, 더 느린 대사를 가져 현재까지 사용되는 PUFAs와 비교하여 세포막 내에 존재가 증가되어, 세포 시그널링 외재성 단백질의 상호작용을 촉진시키는 PUFAs를 개발할 필요가 있는 것으로 보인다. 본 발명의 분자는 PUFAs의 합성 유도체로, 천연 PUFAs와 비교하여 더 느린 대사 및 현저히 우수한 치료 효과를 가진다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0015]

(비특허문헌 0001) Alemany et al. 2004. Hypertension, 43 249

(비특허문헌 0002) Alemany et al. 2007. Biochim Biophys Acta, 1768, 964

(비특허문헌 0003) Buda et al. 1994. Proc Natl Acad Sci U.S. A., 91, 8234

(비특허문헌 0004) Coles et al. 2001. J Biol Chem, 277, 6344

(비특허문헌 0005) Escriba et al. 1995. Proc Natl Acad Sci U.S. A., 92, 7595

(비특허문헌 0006) Mail et al. 1997. Proc. Natl. Acad. Sci USA., 94, 11 375

(비특허문헌 0007) Escriba et al 2003. Hypertension, 41, 176

(비특허문헌 0008) Escriba 2006. Trends Mol Med, 12, 34

(비특허문헌 0009) Escriba et al. in 2008. J Cell Mol Med, 12, 829

(비특허문헌 0010) Florent et al. 2006. J Neurochem., 96, 385

(비특허문헌 0011) Folch et al. 1951. J Biol Chem, 191.83

(비특허문헌 0012) Jackson and Schwartz 1992. Hypertension, 20, 713

(비특허문헌 0013) Jung et al. in 2008. Am J Clin Nutr 87, 2003S

(비특허문헌 0014) Lane and Farlow 2005. J Lipid Res, 46, 949

(비특허문헌 0015) Martinez et al. 2005. Mol Pharmacol., 67, 531

(비특허문헌 0016) Rapoport 2008. Postraglandins Leukot. Essent. Fatty Acids 79, 153-156

(비특허문헌 0017) Sagin and Sozmen 2008. J Lipid Res, 46, 949

(비특허문헌 0018) Schwartz et al. 1986. Circ Res 58, 427

(비특허문헌 0019) Stender and Dyerberg 2004. Ann Nutr Metab., 48, 61

(비특허문헌 0020) Teres et al., 2008. Proc. Natl. Acad. Sci USA, 105, 13 811

(비특허문헌 0021) Trombetta et al. 2007. Chem Biol Interact., 165, 239

(비특허문헌 0022) Vogler et al 2004. J. Biol Chem, 279, 36 540

(비특허문헌 0023) Vogler et al 2008. Biochim Biophys Act, 1778, 1640

(비특허문헌 0024) Yang et al.2005. Mol Pharmacol., 68, 210

발명의 내용

해결하려는 과제

[0016] 세포막 내에 위치하는 지질의 구조적 및 기능적 변화와 암, 심혈관 질환, 비만, 염증, 퇴행성 신경 질환 및 대사성 질환과 같은 상이한 유형학의 그러나 세포막 내 지질의 구조적 및/또는 기능적 변화와 공통으로 관련되는 병인을 가지는 다양한 질병의 진전과의 관계로 인하여, 본 발명은 상기 공지된 지방산과 관련되는 기술적 문제를 해결할 수 있는 신규한 합성 고도불포화 지방산의 용도에 초점을 맞추며, 따라서 이는 상기 질환을 효과적으로 치료하는데에 이용될 수 있다.

과제의 해결 수단

[0017] 발명의 개요

[0018] 본 발명은, 특히 암, 혈관 질환, 퇴행성 신경 질환 및 신경학적 장애, 대사성 질환, 염증성 질환, 비만 및 과체중으로부터 선택되는, 그 병인이 세포막 지질 또는 그들과 상호작용하는 단백질의 구조적 및/또는 기능적 변화와 관련되는 공통적인 질병의 치료에 사용하기 위한, 고도불포화 지방산의 1,2-유도체 (이하 D-PUFAs라 함)에 관한 것이다. D-PUFAs는 탄소 1 및/또는 2에서 수소 (H) 이외의 다른 원자의 존재가 β-산화를 통한 그의 분해를 막으므로, 천연 고도불포화 지방산 (이하 PUFA라 함) 보다 낮은 대사 속도를 가진다. 이는 세포 시그널링 외재성 단백질의 상호작용을 조절하는 막의 조성의 상당한 변화를 야기한다. 이는 예를 들어, 세포 메시지의 전파에 참여하는 외재성 단백질의 고정을 조절하는 막 표면의 패키징 차이를 초래한다. 따라서, 본 발명의 D-PUFA 분자는 PUFAs 보다 훨씬 큰 활성을 가지며, 특정 질병의 약리학적 치료를 위한 현저히 더 높은 효과를 나타낸다.

[0019] 상기한 바와 같이, 본 발명의 D-PUFA 분자를 이용하여 치료되는 질병은 세포막 지질 또는 그들과 상호작용하는 단백질의 구조적 및/또는 기능적 (또는 임의의 기타 기원의) 변화과 관련된 동일한 병인을 공유한다. 다음 질병들이 예로서 열거된다:

[0020] · 암: 간암, 유방암, 백혈병, 뇌암, 폐암 등

[0021] · 혈관 질환: 죽상동맥경화증, 허혈, 동맥류, 발작, 심근증, 혈관생성, 심장 과형성증, 고혈압, 경색, 협심증, 뇌졸증 (뇌혈관 장애) 등.

[0022] · 비만, 과체중, 식욕 조절 및 셀룰라이트.

[0023] · 대사성 질환: 과콜레스테롤혈증, 과트리글리세라이드혈증, 당뇨병, 인슐린 저항성 등.

[0024] · 퇴행성 신경 질환, 신경학적 및 신경정신 장애: 알츠하이머병, 혈관성 치매, 젤웨거 증후군, 파킨슨병, 다발성 경화증, 근위축성 측삭경화증, 해마경화증 기타 유형의 간질, 초점성 경화증, 부신백질이영양증 및 기타 유형의 백질이영양증, 혈관성 치매, 노인성 치매, 루이체 치매, 다신경계위측증, 광우병, 편두통을 포함하는 두통, 중추신경계 손상, 수면 장애, 어지럼증, 통증, 뇌졸증 (뇌혈관 장애), 우울증, 불안, 중독, 기억, 학습 또는 인지 문제 및 본 발명의 화합물을 이용하는 치료에 의하여 유도되는 신경퇴행 중단 또는 신경 재생이 요구되는 일반적 질병.

[0025] · 염증, 심혈관 염증, 종양 유도 염증, 류마티즘 기원의 염증, 감염성 기원의 염증, 호흡기 염증, 급성 및 만성 염증, 염증성 통각과민, 부종, 외상 또는 화상으로부터 초래되는 염증 등을 포함하는 염증성 질환.

[0026] 본 발명의 D-PUFA 화합물은 다음 식 (I)을 특징으로 한다:

[0027] $COOR_1-CHR_2-(CH_2)_a-(CH=CH-CH_2)_b-(CH_2)_c-CH_3$ (I)

[0028] 상기 식에서, ***a***, ***b*** 및 ***c*** 는 0 내지 7의 독립적인 값을 가질 수 있고, R_1 및 R_2는 이온, 원자 또는 독립적으로 그 분자량이 200 Da 이하인 원자단일 수 있다.

[0029] 본 발명의 바람직한 구조에서, ***a***, ***b*** 및 ***c*** 는 0 내지 7의 독립적인 값을 가질 수 있고, R_1은 H이고 R_2는 OH이다.

[0030] 본 발명의 다른 바람직한 구조에서, ***a***, ***b*** 및 ***c*** 는 0 내지 7의 독립적인 값을 가질 수 있고, R_1은 Na이고 R_2는 OH이다.

[0031] 본 발명의 다른 바람직한 구조에서, ***a*** 및 ***c*** 는 0 내지 7의 독립적인 값을 가질 수 있고, ***b*** 는 2 내지 7 사이의 독립적인 값을 가질 수 있고, R_1 및 R_2는 이온, 원자 또는 그 분자량이 독립적으로 200 Da 이하인 원자단일 수 있다.

[0032] 본 발명의 지방산 투여는 임의의 수단에 의하여, 예를 들어, 장 (IP), 경구, 직장, 국소, 흡입 또는 정맥 내, 근육 내 또는 피하 주사에 의하여 수행될 수 있다. 또한, 상기 투여는 상기 식에 따르거나 또는 에스테르, 에테르, 알킬, 아실, 포스페이트, 설페이트, 에틸, 메틸, 프로필, 염, 착물 등과 같은 이로부터의 임의의 약학적으로 허용가능한 유도체일 수 있다.

[0033] 또한, 본 발명의 지방산은 단독으로 투여되거나 또는 서로 및/또는 결합제, 충전제, 붕해제, 윤활제, 코터, 감미료, 향미 부형제, 착색 부형제, 운반체 등 및 이들의 조합과 같은 부형제와 결합되는 약학적 또는 기능 식품 조성물로 제제화될 수 있다. 또한, 본 발명의 지방산은 기타 활성 성분과 결합되는 약학적 또는 기능 식품 조성물의 일부일 수 있다.

[0034] 본 발명의 목적을 위하여, 상기 용어 "기능 식품"은 공급 중 규칙적으로 섭취되고, 본 발명의 경우 세포막 지질의 변화과 관련되는 병인을 가지는 질병을 예방하도록 작용하는 화합물로서 정의된다.

[0035] 본 발명의 목적을 위하여, 상기 용어 "치료적 유효량"은 부작용을 나타내지 않으면서 질병을 예방하거나 반전시키는 양이다.

발명의 효과

[0036] 본 발명의 분자는 PUFAs의 합성 유도체로, 천연 PUFAs와 비교하여 더 느린 대사 및 현저히 우수한 치료 효과를 가진다.

도면의 간단한 설명

[0037] **도 1**. 종양 세포 성장에 대한 표 1의 화합물의 영향. y 축에, 사용되는 화합물에 따른 (x-축) 생존가능한 세포 (% 대조군)의 수를 나타낸다. 인간 폐암(A549) 세포를 본 발명의 화합물 250 μM의 존재 또는 부재(대조군) 하에 48 시간 동안 10% 혈청으로 RPMI-1640 내에서 배양하였다. 그래프는 생존가능한 세포 수를 나타낸다 (3회 실험의 평균 및 평균의 표준 편차). 점선은 세포의 총 제거를 나타낸다 (0% 생존가능성).

도 2. A10 혈관 세포 증식에 대한 특정 PUFAs 및 본 발명의 D-PUFA 분자의 영향. y 축에, 사용되는 지방산에 따른 (수평축) 세포 수(% 대조군)를 나타낸다. 세포를 완전 배지 (대조군 C), 보충물없는 불완전 배지 (CSS), 또는 PUFAs (182, 183A, 183G, 204, 205 및 226) 또는 D-PUFAs (182A1, 183A1, 183A2, 204A1, 205A1 및 226A1) 존재 하에 완전 배지 내에서 인큐베이션하였다. 증식 감소(그러나, 여전히 CSS 값 위)는 상기 분자들이 독성없이 심혈관 세포의 비정상적 증식을 조절할 수 있는 능력을 가짐을 나타낸다.

도 3

a. 상이한 D-PUFAs 및 PUFAs 존재 또는 부재 (대조군 c) 하에 배양된 지방 세포의 증식. y 축에, 사용되는 지방산에 따른 (x 축) 세포수(% 대조군)를 나타낸다. 비-증식 대조군으로서, 혈청 결핍 배지(낮은 혈청 백분율을 가지는 배지, MSB)를 사용하였다.

b. Y-축에, 체중(미처리 대조군의 %)을 나타내고, 수평축에 실험 동물의 처리에 사용되는 화합물을 나타낸다. X 축에, 좌로부터 우로, 베히클(C) 처리, 및 본 발명의 몇몇 화합물로 처리를 나타낸다. SHR 래트를 도면에 도시

되는 24 개 화합물 각각 200 mg/kg으로 한 달 동안 처리하였다. 각각의 실험군은 여섯 마리 동물로 이루어졌으며, 각각의 시리즈에 대하여 베히클(물)로 처리된 동물군을 사용하였고, 결과를 어떠한 처리도 받지 않은 동물의 체중과 비교하였다. 문자 A, B, N 및 P는 표 3에 따른 라디칼 R_1 및 R_2의 조합을 나타낸다.

도 4

a. 외부 요인 부재 하에 (대조군 C:0% 신경세포사) 및 NMDA 존재 하에 (100% 신경세포사) 배양된 P19 세포사. 수직 축에, 사용되는 지방산에 따른 (x-축) 신경세포사 (대조군의 %)를 나타낸다. PUFAs의 존재는 NMDA 존재 하에 P19 세포 생존의 온화한 증가를 유도하였다. D-PUFAs는 226A1의 경우 200%를 초과하는, 세포 생존 값의 유의한 증가를 유도하였다. 처리된 세포 배양액 내 세포 수가 대조 세포보다 많으므로, 상기화합물들은 NMDA (신경퇴행 방지제)에 의하여 유도되는 신경세포사를 예방할 뿐 아니라, 신경재생제라고 할 수 있다.

b. 알츠하이머병의 동물 모델 내에서 방사상 미로 내 운동 성능 개선에 있어서 D-226BA PUFA의 영향. 좌측 도면의 Y 축에, 운동을 완료하는데 걸리는 시간을 나타내고, 우측 도면의 수직 Y축에, 프로그래밍된 운동 실행에 있어서의 총 오류 수를 나타낸다 (평균 ±평균의 표준편차) (런타임). 두 도면 모두에서, 좌로부터 우로, X 축에, 건강한 마우스(대조군)(첫번째 컬럼), 유도된 알츠하이머를 가지고 베히클로서 물로 처리된 마우스 (두번째 컬럼) 또는 화합물 226B1로 처리된 마우스 (세번째 컬럼) 내 결과를 나타낸다. 알츠하이머병을 가지는 동물은 건강한 마우스보다 오래 걸렸고 더 많은 오류를 만들었으며, 그 차이는 통계학적으로 유의하였다 (*, $P < 0.05$). 대조적으로, 화합물 226BA로 처리된 알츠하이머를 가지는 마우스는 건강한 동물과 유의한 차이를 나타내지 않았다.

도 5

a. 상부 패널은 본 발명의 상이한 D-PUFA에 의하여 단핵 세포 U937로부터 유도되는 인간 대식세포 내 박테리아 리포폴리사카라이드 (PLS) (C +, 100%)에 의하여 이전에 유도된, 친 염증성 COX-2 단백질 발현의 저해를 도시하는 면역 블롯이다. 하부 패널에서, 다음 화합물(X-축)에 대한 COX-2/COX-1 관계를 대조군의 %로서 도시한다(Y-축): OOA (2-히드록시 올레산), OLA (182A1), OALA (183A1), OGLA (183A2), OARA (204A1), OEPA (205A1), ODHA (226A1).

b. 염증의 동물 모델 내에서 본 발명의 D-PUFA 상이한 화합물의 항-염증성 효능을 도시한다. 본 발명의 상이한 화합물에 대하여(X 축) 마우스 내 LPS에 의하여 유도되는 TNFα의 혈청 수준(pg/ml)에 대한 저해 효과(y 축)를 도시한다. 이러한 요인의 감소는 항염증성 약물과 직접 관련된다. 상기 화합물들은 좌측 판유리에서와 동일하다.

도 6. 3T3-L1 세포 내 콜레스테롤 수준 (a) 및 총 트리글리세라이드 (b). 수직 축에 사용되는 지방산에 따른 (x-축) 콜레스테롤 (a) 또는 트리글리세라이드 (b) 수준을 나타낸다 (% 총 지질). 나타내는 값은 분광법 (콜레스테롤) 또는 박막 크로마토그래피 후 기체 크로마토그래피 (트리글리세라이드)에 의하여 측정되는, 세포막 내 총 지질과 비교하여 콜레스테롤 및 트리글리세라이드의 평균 ± 평균의 표준 편차이다. 그래프는 상기 열거한 D-PUFAs 또는 PUFAs의 존재 또는 부재 하에 (대조군) 배양된 세포 내 정량된 값을 도시한다.

도 7.

a. D-PUFAs에 의하여 유도되는 세포 효과와 막 구조의 관계. 세로 좌표 축에 H_{II} 전이 온도 (X-축)와 비교하여 세포 효과(% 대조군)를 나타낸다. D-PUFA 분자 각각의 효과의 평균을 결정하고 (연구되는 모든 질병 모델 내에서 각각의 지질의 평균 효과 및 이중 결합 수), 전이 온도에 대하여 그래프로 나타낸다. H_{II} 전이 온도 감소는, 외재성 단백질에 대하여 막 내 고정 부위 존재를 초래하고 세포 시그널링의 더 나은 조절을 초래하여 특정 질병 조절에 대하여 더 효과적인, 막 불연속성의 더 큰 유도를 나타낸다.

b. PUFAs (빈 원) 및 D-PUFAs (속이 찬 원)의 치료 효과 사이의 관계. 각각의 점은 각각의 분자에 의하여 제시되는 이중 결합 수 (수평축)에 따른 연구되는 모든 질병에 대하여 관측되는 효과의 평균이다 (Y축: 대조군 %에 대한 변화). 두 경우 모두, 상관관계가 유의하였다 ($P < 0.05$). 치료 효과는 그 분자가 그 분자가 가지는 이중 결합의 수에 의존하며, 이는 결국 막 구조를 조절하는 능력과 관련되는 것으로 관측되었다. 이러한 의미에서, D-PUFAs 내에 존재하나 PUFAs에 존재하지 않는, 탄소 1 및 2 내에 라디칼의 존재는 상기 분자의 치료 효과를 증진시킴에 있어 필수적이다.

상기 결과는 본 발명에 포함되는 지질의 효과가 통상적인 근거를 가짐을 나타낸다. 이러한 상관 관계는 (D-

PUFAs에 대한 0.77 및 0.9의 r^2 값 및 두 경우 모두 P <0.05) 사용되는 지질의 구조가 그 효과의 근거이며, 이는 각 지질의 구조-기능관계에 의하여 야기되는 막 구조 조절을 통하여 일어남을 분명히 나타낸다. 사실상, 인간 질병이 PUFAs 수준의 상기한 변화과 관련이 있는 많은 연구가 있으며, 이는 세포 생리학에서 지질의 중요한 역할을 입증하는 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0038] 본 발명의 D-PUFA 분자에 의하여 제공되는 광범위한 치료 용도는 이러한 D-PUFA 분자가 세포막에 이들 막 내에서 및 이를 통하여 수행되는 활성의 적절한 과정을 허용하는 특정 구조적 특성을 부여함을 널리 추정하도록 한다. 즉, 상이한 유형의 질병을 일으키는 많은 이상이 세포 기능을 위한 몇몇 중요한 지질 및/또는 막과 상호작용하는 단백질의 수준의 유의한 변화에 의하여 야기되고 및/또는 지질 생산과 관련된다. 상이한 유형의 질병을 초래하는 이러한 병리학적 변화는 본 발명에 기재되는 합성 지방산에 의하여 예방되거나 반전될 수 있으며, 상기 합성 지방산은 그 병인이 생물학적 막 지질의 수준, 조성, 구조 변화, 또는 임의의 기타 변화 또는 생물학적 막 내에 상기 지질의 변화의 결과 세포 시그널링의 조절 완화와 관련되는 임의의 질병을 치료 또는 예방하기 위하여 효율적으로 사용될 수 있다. 또한, 본 발명에 포함되는 지질은 또한, 그 특성 및/또는 막 기능 조절의 결과가 병리학적 과정을 반전시킬 수 있는 한, 질병이 다른 변화의 결과로서 일어날 때 의약으로 사용될 수 있다.

[0039] 본 발명의 지방산의 치료 효과의 연구를 위하여, 배양 세포주 및 다양한 질병의 동물 모델을 사용하였으며, 상이한 질병 치료를 위한 D-PUFAs 및 PUFAs의 활성을 조사하였다.

[0040] 본 발명의 분자 구조를 표 1, 2 및 3에 도시한다. 식 I를 고려할 때, 본 발명의 화합물은 바람직하게 **표 1**에 기재하는 **a, b** 및**c** 값들의 조합을 나타낸다.

[0041] 또한, 본 발명에서, 상기 화합물들은 세 개의 숫자에 이은 기호 X1 또는 X2로 명명된다. 번호 1은 번호 2 하에 나타내는 C18:3 ω-6 (γ리놀렌산)에 근거한 시리즈를 제외하고, 사용되는 모든 D-PUFAs를 나타낸다. 첫번째 두 숫자는 분자의 탄소 수를 나타낸다. 세번째 숫자는 이중 결합의 수를 나타낸다. 문자 X는 식 I의 R_1 및 R_2의 특정 조합을 나타내는 A 내지 W의 문자 중 하나로 대체된다 (표 3).

[0042] 따라서, 본 발명의 특정 바람직한 화합물은 약어: 182X1, 183X1, 183X2, 204X1, 205X1, 226X1 하에 확인되며, 상기 지시에 따라 해석될 것이다.

표 1

[0043]

D-PUFA	*a*	*b*	*c*
182X1 시리즈	6	2	3
183X1 시리즈	6	3	0
183X2 시리즈	3	3	3
204X1 시리즈	2	4	3
205X1 시리즈	2	5	0
226X1 시리즈	2	6	0

[0044] **표 2**는 본 발명의 D-PUFA 분자 중 일부 및 이들이 유도되는 PUFAs의 구조를 보인다. 표는 상이한 조합의 ***a, b,*** 및 ***c*** 값을 가지고 라디칼 R_1 및 R_2가 R_1이 H이고 R_2가 OH임을 의미하는 문자 A로 표시되는 본 발명의 일부 화합물을 예시한다 (표 3 참조).

표 2

[0045]

분자명	구조	Prop	약어
2-히드록시-9.12-옥타데카디엔산	$COOH-CHOH-(CH_2)_6-(CH=CH-CH_2)_2-(CH_2)_3-CH_3$	S, OH	182A1
2-히드록시-9,12,15-옥타데카트리엔산	$COOH-CHOH-(CH_2)_6-(CH=CH-CH_2)_3-CH_3$	S, OH	183A1
2-히드록시-6,9,12-옥타데카트리엔산	$COOH-CHOH-(CH_2)_3-(CH=CH-CH_2)_3-(CH_2)_3-CH_3$	S, OH	183A2
2-히드록시-5,8,11,14-에이코사테트라엔산	$COOH-CHOH-(CH_2)_2-(CH=CH-CH_2)_4-(CH_2)_3-CH_3$	S, OH	204A1

2-히드록시5,8,11,14,17-에이코사펜타엔산	COOH-CHOH-$(CH_2)_2$-$(CH=CH-CH_2)_5$-CH_3	S, OH	205A1
2-히드록시-4,8,11,14,17-도코사헥사엔산	COOH-CHOH-CH_2-$(CH=CH-CH_2)_6$-CH_3	S, OH	226A1
9,12-옥사데카디엔산	COOH- $(CH_2)_7$-$(CH=CH-CH_2)_2$-$(CH_2)_3$-CH_3	N	182
9,12,15-옥타데카트리엔산	COOH-$(CH_2)_7$-$(CH=CH-CH_2)_3$-CH_3	N	183A
6,9,12-옥타데카트리엔산	COOH-$(CH_2)_4$-$(CH=CH-CH_2)_3$-$(CH_2)_3$-CH_3	N	183G
5,8,11,14-에이코사테트라엔산	COOH-$(CH_2)_3$-$(CH=CH-CH_2)_4$-$(CH_2)_3$-CH_3	N	204
5,8,11,14,17-에이코사펜타엔산	COOH-$(CH_2)_3$-$(CH=CH-CH_2)_5$-CH_3	N	205
4,7,10,13,16,19-도코사헥사엔산	COOH-$(CH_2)_2$-$(CH=CH-CH_2)_6$-CH_3	N	226

[0046] Prop: 특성. S: 합성. N: 천연. OH: 탄소 2(α탄소) 상에서 히드록실화

[0047] 표 3은 표 1에 열거되는 ***a***, ***b***, 및 ***c*** 값과 조합될 수 있는 라디칼 R_1 및 R_2의 상이한 조합을 도시한다.

표 3

[0048]

R_1 / R_2	H	Na	K	CH_3O	CH_3-CH_2O	$OPO(O-CH_2-CH_3)_2$
OH	A	B	C	D	E	F
OCH_3	G			H	I	
$O-CH_3COOH$				J	K	
CH_3		L		M	N	
Cl					O	
CH_2OH	P				Q	
$OPO(O-CH_2-CH_3)_2$					R	
NOH					S	
F					T	
HCOO				U	V	
$N(OCH_2CH_3)_2$					W	

[0049] **실시예실시예 1.** D-PUFAs 및 PUFAs로 처리된 세포의 막 내 총 PUFAs의 백분율

[0050] 합성 D-PUFA 분자는 소수성이며, 따라서 이러한 D-PUFAs에 노출되는 세포는 그들 표면에 높은 수준의 지방산을 가진다.

[0051] **표 4**는 100 μM의 상기 지방산으로 8 시간 동안 처리된 3T3 세포 막 내 PUFAs의 총 백분율을 보인다. 이러한 실험을 수행하기 위하여, 막을 추출하고, 총 지방산을 염기성 매질 내 가수분해에 의하여 얻었다. 이들 지방산의 메탄올성 염기를 기체 크로마토그래피에 의하여 정량하였다. 기재하는 데이터는 PUFA 질량의 4회 독립 특정의 평균을 총 지방산으로 나눈 것이며 백분율로 나타낸다. 상기 평균의 표준 편차 또한 기재한다. 세포 배양액 내에, 상기 지방산의 존재 하에 인큐베이션된 3T3 세포는 더 높은 수준의 PUFAs (D-PUFAs 포함) 및 더 낮은 수준의 포화 지방산을 나타냈다.

[0052] 대조군은 첨가되는 천연 또는 합성 지방산이 존재하지 않는 배양액에 해당한다. 세포는 그들 천연 형태 내에서 그들 막 내에 PUFAs를 제시하나, 본 발명의 D-PUFA 분자의 매질 내에 존재는 세포막 내에 PUFAs 수준을 증가시킨다. 따라서, 상기 결과는 본 발명의 화합물의 기능식품 또는 약학적 개입이 세포막 조성을 효과적으로 조절할 수 있음을 나타낸다.

표 4

[0053]

첨가된 지질	총 PUFA의 백분율
없음 (대조군)	32.4±2.1
182A1	42.3±3.1
183A1	42.8±2.2
183A2	44.0±2.6
204A1	45.5±2.9
205A1	46.7±3.4
226A1	48.9±3.7

[0054] **실시예 2. DEPE (디엘라이도일 포스파티딜에탄올아민) 세포막 내 (라멜라)-에서-H_{II} (6각형) 전이** 표 5 및 6은 DEPE 모델 막 내 라멜라에서 6각형 (H_{II}) 전이 온도를 보인다. 상기 전이 온도는 시차주사열량법에 의하여 측정되었다. DEPE:D-PUFA 비율은 모든 경우에 있어서 10:1 (몰:몰)이었다. 라멜라에서 6각형 전이는 세포막의 적절한 시그널링 특성을 반영하는 중요한 파라미터이다. H_{II} 상을 형성하는 경향은 전이 온도가 낮을수록 더 높으며 이는 막 표면 압력이 더 낮음을 나타내고, 이는 포스포리피드의 극성 머리가 라멜라 구조에 의하여 형성되는 것보다 덜 밀집되나 조밀한 네트워크를 형성함을 의미한다 (Escriba et al., 2008). 이러한 것이 일어날 때, 특정 외재성 막단백질 (G 단백질, 단백질 카이나아제 C 또는 Ras 단백질)이 막에 더 쉽게 결합할 수 있는 반면, 다른 것은 상호작용이 저조하여 (예를 들어, Gα-단백질), H_{II} 전이 온도 변화가 건강 및 인간 치료와 관련되는 세포 기능을 조절함에 있어서 중요하다 (Escriba et al., 1995, Vogler et al., 2004; Escriba, 2006).

[0055] 대조군 값은 지방산 부재하의 모델 막에 해당한다. 본 발명의 D-PUFA를 이용함으로써 얻어지는 H_{II} 전이 온도 감소는 막 불연속성 유도 증가를 나타내며, 이는 외재성 단백질에 대한 막 내 고정 부위를 생성하여 세포 시그널링의 더 나은 조절, 및 따라서 특정 질병 조절에 있어서 더 큰 효과를 초래한다.

[0056] 따라서, **표 5**는 200 μM의 시리즈 A의 본 발명의 다양한 화합물 존재 또는 부재 하에 DEPE (4 mM) 막 내 전이 온도 T_H (6각형 라멜라에서 H_{II})를 보인다.

표 5

[0057]

첨가된 지질	전이 온도
없음 (대조군)	64.5
182A1	51.8
183A1	51.6
183A2	50.1
204A1	49.3
205A1	47.9
226A1	44.4

[0058] **표 6**은 몇몇 시리즈의 D-PUFAs 존재 하에 DEPE 막 내 라멜라에서 6각형 전이의 온도를 보인다.

표 6

[0059]

	182	183-1	183-2	204	205	206
B	52.1	51.9	51.0	50.2	48.3	45.1
D	51.0	51.1	49.4	48.7	47.5	43.9
E	50.6	49.8	49.3	48.4	46.7	42.9
G	51.0	50.3	50.1	49.6	47.3	44.1
O	51.7	51.2	51.3	49.7	48.6	44.2
R	52.2	51.8	49.9	50.0	48.4	44.7

[0060] **실시예 3. Gi_1 단백질 (삼량체)의 모델 세포막에의 결합** 시차주사열량법에 의하여 측정시 막 지질 조성 조절은

막 구조 변화를 초래하였으며, 이는 **표 7**에 기재하는 바와 같이 모델 세포막 내에 G 단백질의 위치 변화를 야기한다. 최종적인 결과는 이하 기재하는 바와 같은 다양한 병리학적 과정의 반전을 초래하는 세포 시그널링 조절이다. **표 7**은 원심분리기 분석에 이은 면역블롯팅, 화학발광에 의한 가시화에 의하여 측정되고 이미지 분석에 의하여 정량되는 포스파티딜콜린:포스파티딜에탄올아민 (6:4 몰:몰)모델 막에의 헤테로트라이머 Gi1 단백질의 결합을 기재한다. 상기 실험을 위하여, 2 mM 포스포리피드 및 0.1 μM의 **표 7**에 기재된 상이한 D-PUFAs가 사용되었다. 대조군은 지방산 부재 하의 모델 막의 표본이다.

[0061] 상기 결과는 막의 구조 및 기능적 특성에 유도되는 변화는 불포화 수가 증가할수록 증가함을 나타낸다. 불포화의 존재 및 탄소 1 및 2 내 변화 모두 PUFAs의 대사 속도를 감소시킨다. 이러한 사실은 막 구조에 대한 상기 지질의 특정 영향과 관련하여, 비정상 세포에 대한 작용이 공통적인 기원을 공유함을 나타낸다.

[0062] 사실상, 약리학적 효과와 지질 막 구조에 미치는 영향 간에 큰 상관관계가 있다.

표 7

[0063]

첨가된 지질	G 단백질 결합
없음(대조군)	100±5
182A1	312±12
183A1	328±9
183A2	17±357
204A1	385±22
205A1	406±14
226A1	422±26

[0064] **실시예 4. 암 치료를 위한 1,2-PUFA 유도체의 용도**암은 변형된 세포의 비조절된 증식을 특징으로 한다. 상기한 바와 같이, 특정 유전적 변화 이외에, 암은 세포 시그널링에 영향을 미칠 수 있는 막 지질 수준 변화의 존재를 특징으로 한다. 이러한 의미에서, 천연 PUFAs는 그 대사적 이용이 더 큰 효과를 방지할 것이지만 본 연구에 사용되는 농도에서 인간 암 세포 (A549) 진전에 대항하는 효과를 나타냈다 (**도 1**). 그러나, D-PUFAs는 동일 농도에서 탄소 1 및 2에서 비변형된 분자보다 현저하고 유의하게 더 높은 효과를 나타냈다 (**도 1** 및 **표 8**). 이러한 결과는 천연 고도불포화 지방산 변화는 천연 PUFAs 보다 유의하게 더 큰 강한 항-종양 성능을 가지는 분자를 초래하며, 따라서 인간 및 동물 내에서 약학적 및 기능 식품적 접근을 통하여 종양 질환의 치료 및 예방에서 큰 유용성을 가짐을 나타낸다.

[0065] **도 1**에 도시하는 실험에서, 37℃ 및 5% CO_2에서 10% 소태아혈청 및 항생제로 보충된, RPMI 1640 내 배양된 인간 비소세포 폐암 세포 (A549)를 사용하였다. 세포를 250 μM의 농도에서 **표 2**에 기재하는 D-PUFAs 및 PUFAs의 존재 또는 부재하에 48 시간 동안 배양액 내에 유지하였다. 처리 후, 세포 계수를 수행하고, 화합물의 항종양 활성에 수반되는 메커니즘의 연구를 유세포 분석기에 의하여 평가하였다. **도 1**은 세포 생존의 백분율을 도시한다 (미처리 종양 세포에 대하여 100%로 정함). 이러한 값은 3회 독립 실험의 평균에 해당한다.

[0066] 별개의 시리즈로, **표 3**에 열거된 화합물들을 **표 8A, 8B** 및 **8C**에 기재하는 상이한 종양 유형에 대하여 사용하였다. 이러한 차트는 유방암, 뇌 (신경교종), 및 폐암 세포 성장에 대한 본 발명의 화합물의 항종양 효과를 나타낸다. 효과 데이터는 72 시간의 인큐베이션 후 IC_{50} 값 (종양 세포 50% 내에서 사망을 생산하는 μM 농도 값)으로 나타낸다. 기타 실험 조건은 이전에 기재한 것과 동일하다.

[0067] 결과는 모든 D-PUFAs가 종양 성장에 대하여 매우 효과적임을 분명히 나타낸다. 전반적으로, 화합물 A 및 B 시리즈가 최상임을 알 수 있으며, 이들 시리즈의 백혈병 및 간암 진전에 대한 효과 (**표 9** 및 **10**)를 시험하였다. 또한, 시리즈 204 및 226의 화합물, 즉, 불포화 쌍 숫자가 더 높은 넘버링된 D-PUFAs가 가장 효과적이라고 할 수 있다. 이러한 결과는 본 발명의 약리학적 활성에 있어서 구조-기능 관계의 존재를 나타내며, 이는 또한 각각의 화합물의 구조와 관련된 작용의 공통적인 메커니즘의 정립, 및 따라서 이러한 부분에 있어서 발명의 단일성을 지지한다.

[0068] **표 8a**는 마이크로몰 IC_{50} 값으로 표현되는, 유방암 세포 MDA-MB-231 성장 조절을 위한 본 발명의 화합물의 효과를 보인다.

[0069] [표 8a]

분자 시리즈 서브시리즈	182	183 (1)	183 (2)	204	205	226
A	388	380	347	381	390	187
B	379	267	156	345	208	195
C	386	289	168	389	223	210
D	277	245	175	281	2	224
E	289	319	193	299	284	207
F	311	323	181	326	275	226
G	378	364	159	372	219	213
H	402	308	170	363	282	199
I	411	274	210	315	261	241
J	287	296	221	285	228	235
K	375	381	238	317	240	208
L	343	306	173	332	253	216
M	362	407	164	321	216	267
N	297	278	186	274	289	222
O	286	267	217	298	264	249
P	419	349	214	370	301	250
Q	328	312	205	306	247	263
R	371	305	172	285	245	204
S	388	291	189	293	270	211
T	391	290	216	317	233	199
U	410	344	228	369	272	227
V	442	326	241	352	298	215
W	391	311	203	311	256	246

[0070]

[0072] **표 8b**는 마이크로몰 IC_{50} 값으로 표현되는, 뇌암 (신경교종) 세포 U118 성장 조절을 위한 본 발명의 화합물의 효과를 보인다.

[0073] [표 8b]

분자 시리즈 서브시리즈	182	183 (1)	183 (2)	204	205	226
A	197	397	372	197	400	214
B	198	202	377	396	391	196
C	208	na	379	287	442	237
D	221	na	385	311	467	241
E	213	na	na	224	513	265
F	236	354	401	275	498	261
G	205	329	394	342	426	278
H	267	408	443	263	439	294
I	240	321	432	328	510	327
J	254	296	426	296	487	283
K	221	257	418	380	474	272
L	229	231	460	247	435	269
M	238	349	407	309	462	306
N	247	324	385	315	513	285
O	na	370	na	na	na	277
P	na	285	389	291	432	290
Q	na	282	392	324	419	254
R	255	307	454	501	468	267
S	203	316	416	462	475	315
T	214	368	423	385	427	263
U	212	343	380	263	454	342
V	231	274	402	345	510	269
W	246	na	438	287	443	318

[0074]

[0075] **표 8c**는 마이크로몰 IC_{50} 값으로 표현되는, 폐암 세포 A439 성장에 대한 본 발명의 화합물의 효과를 보인다.

[0076] [표 8c]

분자 시리즈 서브시리즈	182	183 (1)	183 (2)	204	205	226
A	944	200	192	243	394	195
B	196	195	197	413	202	198
C	635	281	241	521	325	214
D	541	326	267	372	364	221
E	387	294	243	475	413	209
F	354	347	259	392	338	286
G	439	273	295	427	407	273
H	462	319	219	398	290	247
I	673	348	276	459	351	298
J	321	281	259	362	416	215
K	274	276	2	414	275	250
L	385	285	283	326	362	221
M	286	322	248	375	293	208
N	329	379	255	420	384	236
O	452	344	318	461	418	264
P	328	317	272	387	339	291
Q	293	273	314	348	365	252
R	317	258	274	364	417	219
S	458	341	246	439	293	265
T	379	367	279	352	322	243
U	265	294	287	270	426	270
V	340	320	291	326	325	298
W	416	352	212	314	420	302

[0077]

[0078] **표 9**는 인간 백혈병(Jurkat 세포) 진전에 대한 본 발명의 화합물의 효과를 나타낸다. 72 시간째에 IC_{50} 마이크로몰의 값.

표 9

[0079]

분자 시리즈 서브시리즈	182	183 (1)	183 (2)	204	205	226
A	713	198	184	62	376	85
B	377	196	184	104	294	175

[0080] **표 10**은 간암(HepG2 세포) 진전에 대한 본 발명의 화합물의 효과를 나타낸다. 72 시간째에 IC_{50} 마이크로몰의 값.

표 10

[0081]

화합물	182	183 (1)	183 (2)	204	205	226
A	212	380	380	192	401	164

[0082] 상기 모든 결과는 D-PUFAs가 인간 및 동물 내에 기능 식품 및 약학적 조성물 내에 포함되는 암의 예방 및 치료에 유용함을 나타낸다. 또한, D-PUFA가 증가된 수의 이중 결합과 관련이 있으며, 탄소 1 및 2 내에 변화의 존재가 치료적 수준으로 적절한 지질의 항종양 성능에 필수적인 것으로 밝혀졌다. 이러한 화합물들은 광범위한 종양 세포에 대한 항-종양 효과를 가지므로, 광범위한 항-종양 스펙트럼을 가진 분자이며 임의의 암의 진전에 대하여 일반적으로 적용될 수 있다고 할 수 있다.**실시예 5. 심혈관 질환 치료를 위한 1,2-PUFA 유도체의 용도**

[0083] 심혈관 질환 치료를 위한 D-PUFA의 유용성을 조사하기 위하여, 몇몇 실험 접근법을 이용하였다. 먼저, 배양액 내 대동맥 세포 (세포주 A-10) 내에 본 발명의 화합물의 효과를 조사하였다. 상기 세포들을 완전 배지(C, 10% 소태아혈청 및 PDGF로 보충됨) 및 불완전 배지 (CSS, PDGF 없이 1% 소태아혈청으로 보충됨)로 배양액 내에 유지시켰다. 상기 기재한 바와 유사한 방식으로 72 시간 동안 배양을 수행하였다. 이러한 기간의 인큐베이션 후, 세포 계수를 유세포분석기에 의하여 수행하였다.

[0084] 불완전 배지 (CSS, 추가의 대조군 PDGF 없음) 내에서, 세포는 건강한 신체 내에서 생산되는 것과 유사한 증식

양상을 가진다. 완전 배지 내에서 일어나는 증식 양상은 병적 유기체 내에서 일어나는 상황과 유사할 것이다. D-PUFA의 존재는 배지 내에 포함되는 소태아혈청 내에 증식제가 존재하는 완전 배지 내에서 정상적인 대동맥 (A-10) 세포 증식의 유의한 감소를 생산하였다. 증식제 (사이토카인, 성장 인자 등) 존재 하에, A10 세포 계수는 본 발명의 D-PUFA가 존재하는 불완전 배지 (CSS) 내에서 얻어지는 것과 유사하였다 (**도 2**). 이와 대조적으로, PUFA는 항증식 효과를 거의 나타내지 않거나 나타내지 않았으며, 이는 이러한 지방산에 대하여 행하여진 변화가 고혈압, 중삭동맥경화증, 허혈, 심근증, 동맥류, 발작, 혈관생성, 심장 과형성증, 경색, 협심증, 뇌졸증 (뇌혈관 장애) 등과 같은 심혈관 질환 치료를 위한 약리학적 가능성을 상당히 증가시킴을 입증한다.

[0085] 이러한 세포주에 대한 효과는 두 가지 이유로 독성인 것으로 간주될 수 없다: (1) 완전 배지 내에서, D-PUFAs는 불완전 배지 내에서 인큐베이션된 세포 수준 이하로 세포 증식 감소를 유도하지 않았으며, (2) D-PUFAs로 처리된 대동맥 (A10) 세포는 분자 또는 세포 괴사, 세포자살 또는 임의의 기타 유형의 세포사의 어떤 신호도 나타내지 않았다. 혈관 세포 증식이 무수한 심혈관 질환 진전에 수반되므로, D-PUFAs는 인간 및 동물 내에 기능식품 및 약학적 접근을 통하여 이러한 질병의 예방 및 치료에 유용하다.

[0086] 별개의 시리즈로, 래트 심근 세포를 분리하고 24 시간 동안 시험관 내에서 배양한 후, 다수의 파라미터들을 측정하였다. 우선, 배양액 내 세포 수, 길이 및 폭이 측정되었다. 시리즈 A 및 B (182-226)의 모든 화합물은 배양액 내 생존하는 세포 수(12% 내지 33%) 및 그 길이 및 폭 (18% 내지 42%)을 증가시킬 수 있는 것으로 관측되었다. 또한, 이러한 화합물들은 무산소증에 의하여 유도되는 락테이트 디하이드로게나아제 (LDH) 방출 감소 (시리즈 A 및 B의 모든 화합물에 대하여 9% 내지 68% 감소)를 유도하였다. 이러한 결과는 본 발명의 D-PUFA 분자가 심혈관 세포에 대한 보호 효과를 가지며 그들의 탄성을 증가시켜, 고혈압, 죽상동맥경화증, 허혈, 심근증, 동맥류, 발작, 혈관생성, 심장 과형성증, 경색, 협심증, 뇌졸증 (뇌혈관 장애), 불완전 혈액 순환 등과 같은 다양한 유형의 심장 및 혈관 질환을 치료 및 예방하는데에 이용될 수 있다.

[0087] 별도의 실험 시리즈에서, 본 발명의 D-PUFA 분자의 SHR 래트의 혈압에 미치는 영향을 연구하였다. 상기 동물들 내에서, 혈압 및 아포리포단백질 AI (apoA-I) 수준을 특정하였다. 이 실험을 위하여, 자연발생고혈압 쥐 (SHR)를 베히클 (물 대조군) 또는 본 발명의 화합물 (200 mg/kg/일, p.o.)로 30 일 동안 처리하였다. 이 기간 끝에, 동물의 혈압 및 apoA-I의 혈청 수준을 측정하였다. 그 결과는 본 발명의 화합물이 혈압을 낮추고 apoA-I 발현을 유도하는 능력을 입증하며, 이는 이들 분자가 고혈압 및 죽상동맥경화증 치료에 유용함을 나타낸다 (**표 11**). 이 실험을 위하여, 문헌(Teres et al., 2008)에 기재된 혈압 (커프-테일 방법) 및 apoA-I에 대항 유전자 발현 (RT-PCR)을 측정하기 위한 비-침투 검사를 이용하였다. 심혈관 질환 치료를 위한 본 발명의 분자의 유용성은 그의 혈청 콜레스테롤 및 트라이글리세라이드 수준을 감소시키는 능력에 의하여 강화된다 (이하 참조).

[0088] **표 11**은 SHR 래트 내에 혈압 (mmHg) 및 apoA-I 수준(%)을 도시한다. 처리 전 SHR의 평균값은 각각 214 mmHg 및 100%였다.

표 11

[0089]

화합물	182	183 (1)	183 (2)	204	205	226
A	204 146	201 134	189 311	205 131	193 346	194 324
B	201 178	197 151	182 285	202 144	187 264	186 333
F	198 192	203 146	191 279	199 163	195 319	202 357
L	207 131	205 125	194 268	197 188	198 376	200 296
N	187 159	208 189	194 296	201 174	189 293	199 348
P	202 184	201 178	187 347	203 153	194 337	193 382
V	207 166	199 152	198 282	198 161	191 315	195 324

[0090] **실시예 6. 비만 치료를 위한 1,2-PUFA 유도체의 용도도 3a**는 PUFAs (천연 및 합성 모두)가 어떻게 지방 세포의 과형성증 및 비대를 억제할 수 있는지를 보인다. 이러한 연구를 위하여, 3T3-L1 지방 세포를 사용하였다. 이러

한 효과는 이미 알려졌으며, 비변형 천연 PUFAs에 대하여 이전에 기재되었다 (Hill et al., 1993). 그러나, D-PUFAs는 지방 세포 증식을 억제하는 증가된 효능을 가진다 (도 3a). 지방 세포 성장 억제는 불완전 배지 (1% 혈청) 내 배양된 세포 수준 이하로 세포 증식 감소를 생산하지 않았으므로, 이러한 효과는 어떠한 경우에도 독성이지 않다. 사용되는 세포 배지 및 조건은 상기한 것과 유사하였다.

[0091] 이러한 결과는 D-PUFAs가 지방 세포 성장을 억제하는, 따라서, 인간 및 동물 내에서 비만 및 신체 지방 세포 (예를 들어, 셀룰라이트) 축적 또는 기능 식품 또는 약학적 접근을 통한 식욕 변화와 관련되는 기타 과정들의 예방 및 치료를 위한 높은 효능을 가짐을 입증한다. 이러한 관측된 효과는 다시, 사용되는 분자의 이중 결합 수 및 지질 분자 내 탄소 1 및 2에서 변화의 존재와 분명한 상관관계를 보인다.

[0092] 또한, 본 발명과 관련되는 몇몇 화합물을 사용하여 래트의 체중에 대한 그들의 영향을 연구하였다 (**도 3b**). 이와 관련하여, 화합물 182-226 (시리즈 A, B, N 및 P)로 처리된 자연발생고혈압 쥐 (SHR)는, 부분적으로 음식물 섭취 감소에 의하여 및 부분적으로 지방 세포 증식 저해에 의하여 야기되는, 200 mg/kg 처리 1개월 후 체중 감소를 나타냈다 (2.3% 내지 6.9% 감소) (동량의 음식물을 공급받는 미처리 동물에서, 체중 감소는 처리된 동물과 같이 현저하지 않았다). 이러한 결과는 상기 화합물들이 체중 (비만 및 과체중) 조절, 식욕 조절 및 신체 지방 (셀룰라이트) 조절에 사용될 수 있음을 입증한다.

[0093] **실시예 7. 퇴행성 신경 질환 치료를 위한 1,2-PUFA 유도체의 용도**

[0094] 이 연구에서는, 상이한 신경퇴행 모델을 사용하였다. 먼저, 신경세포 분화가 트랜스-레티노산으로 유도되는 P19 세포를 연구하였다. 이를 위하여, P19 세포를 5% CO_2 존재 하에 37℃에서 10% 소태아 혈청 및 2 μM의 트랜스 레티노산으로 보충된 최소 필수 배지 (α-MEM) 내에서 인큐베이션하였다. 세포를 상이한 농도의 D-PUFAs 또는 PUFAs 존재 또는 부재 하에 24 시간 동안 인큐베이션하였다. 신경독성을 1 μM NMDA로 유도하였다. 연이어, 세포 수를 트립판 블루 존재 하에 광학 현미경에 의하여 계수하였다. 이러한 실험은 D-PUFAs에 의하여 중재되는 효과가 훨씬 더 높으나, PUFAs가 신경세포 변성에 보호 효과를 가짐을 보인다 (**도 4a** 및 **표 12**). 이 도면 및 표에서, 본 발명의 D-PUFA 분자가 NMDA-유도 신경세포사를 억제하므로 신경세포사에 대하여 보호하여, 이러한 물질은 알츠하이머병, 경화증, 파킨슨병, 백질이영양증 등과 같은 퇴행성 신경 질환의 예방 및 치료를 위하여 유용할 수 있음이 분명하다. 또한, 처리된 배양액 내 세포 수는 신경변성제가 첨가되지 않으면 배양액 내에서보다 높은 것으로 나타났다. 특히, 세포사 음의 값은 P19 세포 수가 대조군 상황에서보다 더 높음을 나타낸다. 따라서, 본 발명의 D-PUFA 화합물은 외상 과정 (질병) 또는 독성제에 의하여 생산되는 것과 같은 신경재생 과정을 촉진하는데 사용될 수 있다.

[0095] **표 12**는 P19 세포 내 신경세포사에 대한 보호 효과를 보인다: NMDA 처리 (100% 사망) 후 본 발명의 D-PUFA로 신경세포(P19 세포)사 억제. NMDA 없는 대조군 세포는 0% 세포사 수준을 보였다. 100% 아래의 모든 백분율은 신경세포사에 대한 보호를 나타낸다. 음의 값은 신경세포사의 보호 이외에, 신경세포 증식이 또한 있음을 나타낸다. 또한, 본 발명의 화합물은 파킨슨, 알츠하이머, 루이체 치매, 다신경계위축증, 광우병 등과 같은, 퇴행성 신경 과정과 관련되는 단백질인 α-시누클레인 수준을 감소시킨다 (**표 13**). 따라서, 본 발명의 분자는 신경퇴행, 신경재생, 신경학적 및 신경정신 과정의 예방 및 치료에 적용될 수 있다.

표 12

[0096]

	182	183-1	183-2	204	205	226	C (NMDA)
A	-60	-55	-70	-70	-50	-230	100
B	-62	-58	-66	-71	-52	-222	100
F	-45	-35	-36	-46	-44	-189	100
L	-32	-21	-29	-27	-35	-117	100
V	-17	-9	-18	-11	-27	-86	100

[0097] **표 13**은 신경세포 배양액 (세포 P19) 내 α-시누클레인의 발현을 보인다. C (대조군)는 미처리 세포 내 α-시누클레인의 %를 나타낸다 (100%).

표 13

[0098]

	182	183-1	183-2	204	205	226	C
A	50	45	40	41	35	23	100
B	61	43	38	36	41	31	

F	71	61	52	52	57	41	
L	80	76	73	69	67	64	
V	83	87	89	82	81	77	

[0099] 본 발명의 화합물이 신경재생을 유도하거나 신경퇴행을 억제하는 효과를 시험하기 위하여, 알츠하이머병의 동물 모델을 사용하였다. 이 모델에서, 마우스는 뇌 손상 (Alzh 마우스)을 초래하는 돌연변이 단백질 시리즈를 발현하므로 신경퇴행을 진전시킨다. B6 마우스를 건강한 동물 대조군으로 사용하였다. 동물군은 3 개월의 연령이었으므로, 이들 모두를 베히클 (물)로 또는 다양한 D-PUFA로 (20 mg/kg, 매일 po) 3 개월 동안 처리하였다. 처리 후 인지 향상이 일어났는지 여부를 결정하기 위하여, 동물 행동을 방사상 미로 내에서 모니터링하였다. 동물을 제한된 식이로 유지하여 식욕을 가지도록 하였다. 대칭적 8-암 방사상 미로 내에서, 시각적 마크를 놓아 동물의 배향을 촉진시키고 음식물 (15 mg 정제)을 암 중 네 개에 놓았다. 각각의 동물이 운동을 완료하는데 걸리는 시간 및 오류 수를 컴퓨터 시스템에 부착된 카메라를 이용하여 측정하였다. 알츠하이머 동물은 운동을 수행하는데 걸리는 시간 및 만들어진 오류 수 모두에 있어서 건강한 동물보다 약 50% 높은 값을 가진다 (**도 4b**). 이와 대조적으로, 226B1 (Alzh + LP226)으로 처리된 알츠하이머 마우스는 대조군 동물과 유사하고 베히클 처리된 동물 (Alzh) 보다 유의하게 ($P<0.05$) 낮은 행동 파라미터를 나타냈다. 이와 관련하여, 화합물 183B1, 205A1, 205B1, 226A1, 226 V1의 효과를 또한 시험하였으며, 이는 알츠하이머병을 가진 동물 내 개선을 나타냈다 (각각 98, 92, 93, 86 및 89 초의 시간). 한편, 상기와 동일 화합물들(183B1, 205A1, 205B1, 226A1, 226B1 및 226V1)은 또한 대조군 동물 (B6 건강한 마우스) 내에서 각각 8, 11, 12, 18, 16 및 14 초의 실험을 완료하는데 걸리는 시간 감소를 나타냈다는 것 또한 흥미롭다. 따라서, 상기 화합물들은 신경변성에 대항하여 및 신경재생을 위하여 유의한 활성을 가진다고 할 수 있다. 본 발명의 D-PUFA 분자로 예방 및 치료될 수 있는 신경퇴행 과정 중에, 알츠하이머병, 파킨슨병, 젤웨거 증후군, 다발성경화증, 근위축성 측삭경화증, 해마 경화증 및 기타 유형의 간질, 초점성 경화증, 부신백질이영양증 및 기타 유형의 백질이영양증, 혈관성 치매, 노인성 치매, 루이체 치매, 다신경계 위축증, 광우병 등이 있다. 또한, 신경재생 활성이 알츠하이머 및 건강한 B6 마우스 모두에서의 효과에 의하여 입증되며, 상이한 성질 또는 특정 독소로 인한 사고, 수술, 외상의 결과 신경세포 손실이 일어나는 과정에 치료를 적용할 수 있다. 본 발명의 D-PUFA 분자는 또한 편두통을 포함하는 두통, 중추신경계 손상, 수면 장애, 어지럼증, 통증, 뇌졸증 (뇌혈관 장애), 우울증, 불안, 중독, 기억, 학습 또는 인지 문제와 같은 상이한 신경학적 및/또는 신경정신 문제의 예방 또는 치료를 위하여, 및 인간의 기억 및 인식 능력 증진을 위하여 사용될 수 있다.

[0100] **실시예 8. 염증성 질환의 치료를 위한 1,2-PUFA 유도체의 용도**

[0101] 시클로옥시게나아제 (COX)는 막에 결합하여 그로부터 특정 지질을 취하여 염증 활성을 가질 수 있는 분자로 전환을 촉매 작용할 수 있는 효소이다. 상기 효소의 막 지질에의 결합은 부분적으로 막 지질 구조로 인한 것이다. COX 1 및 2 이소폼의 증가된 활성은 아라키돈산 대사를 억제하여 친염증성 지질 매개인자를 생산함으로써 다수의 염증성 질환의 병인 병리학과 관련된다. 본 발명의 D-PUFA 화합물은 아라키돈산의 대사를 변화시키는 일련의 세포 시그널을 생산하였으며, 그 결과, 배양액 내 단핵구 내 COX의 활성 및 발현을 억제한다 (**표 14** 및 **도 5**). 또한, 본 발명의 D-PUFA는 생체 내 친염증성 사이토카인의 생산을 억제하였다 (**표 15** 및 **도 5**). 이를 위하여, C57BL6/J 마우스를 20 ㎍의 박테리아 리포폴리사카라이드 (PLS) 복강내 주사에 의하여 그들 내에 염증성 반응을 유도한 후 다양한 유도체로 (200 mg/kg, p.o.,) 처리하였다. 이러한 결과는 본 발명의 D-PUFA의 염증 과정 및 병리를 예방 및 반전시키는 효과를 분명히 나타낸다.

[0102] **표 14**는 배양액 내 단핵구 내 COX-2의 발현을 보인다. 단핵구 내 COX-2 발현 억제. 다양한 지방산 유도체에 의한 COX-2 단백질 수준 (발현)의 억제 백분율 (PL2 존재 하에 양성 대조군과 비교하여, 100%).

표 14

[0103]

	182	183-1	183-2	204	205	226	C (LPS)
A	24	20	23	17	31	23	100
B	39	33	29	28	39	37	
F	56	46	36	41	47	49	
L	67	65	48	47	53	69	
V	81	79	68	43	76	83	

[0104] **표 15**는 마우스 내 TNF-α의 생산을 보인다 (%): C57BL6/J 마우스 (100%) 내 복강 내 LPS (20 ㎍) 주사 후 혈청 내 TNF-α의 백분율

표 15

[0105]

	182	183-1	183-2	204	205	226	C (LPS)
A	64	70	71	24	56	73	100
B	79	81	78	26	69	83	
F	86	91	86	46	80	91	
L	85	86	91	49	76	88	
V	81	84	87	42	84	85	

[0106] 상기 결과는 본 발명의 분자가 염증, 심혈관 염증, 종양에 의하여 야기되는 염증, 류머티즘 기원의 염증, 감염에 의하여 야기되는 염증, 호흡기 염증, 급성 및 만성 염증, 염증성 과형성증, 부종, 외상 또는 화상으로부터 초래되는 염증 등을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료에 유용할 수 있음을 보인다.**실시예 9. 대사성 질환의 치료를 위한 1,2-PUFA 유도체의 용도**

[0107] 지질은 대사 기능을 유지함에 있어서 결정적인 분자이다. PUFA 처리는 3T3-1 세포 내에서 콜레스테롤 및 트리글리세라이드의 일부 적당한 감소를 생산하였다. 그러나, D-PUFA 처리는 상기 세포 내에서 콜레스테롤 및 트리글리세라이드의 현저하고 유의한 감소를 초래하였다 이러한 실험을 위하여, 상기 세포를 상이한 PUFA 또는 D-PUFA의 존재 또는 부재하에 37℃에서 5% CO_2로 10% 소태아 혈청 존재 하에 RPMI 1640 배지 내에서 인큐베이션하였다. 상기 세포를 24 시간 동안 인큐베이션 한 다음, 지질 추출하고, 콜레스테롤 및 트리글리세라이드 수준을 이전에 기재한 절차를 따라 측정하였다 (Folch et al., 1951).

[0108] 별개의 실험 시리즈에서, SHR 래트를 본 발명의 다양한 화합물로 처리하고 (200 mg/kg 매일 , 28일, p.o.), 혈청 내 콜레스테롤, 트리글리세라이드 및 글루코오스 수준을 비색 분석에 의하여 측정하였다. 상기 화합물들은 대사산물 수준의 유의한 (및 많은 경우 현저한) 감소를 유도하는 것으로 관측되었다 (**표 16**).

[0109] **도 6** 및 **표 16**에 기재하는 결과는 D-PUFAs가 약학적 및 기능 식품적 접근을 통하여 인간 및 동물 내 과콜레스테롤혈증, 과트리글리세라이드혈증, 당뇨병 및 인슐린 저항성과 같은 대사성 질환의 치료 또는 예방을 위한 약물로서 사용될 수 있음을 분명히 나타낸다. 높은 수준의 콜레스테롤과 트리글리세라이드, 높은 글루코오스와 심혈관 및/또는 체중 변화의 조합은 서구 사회에서 증가하기 시작하고 있는 "대사 증후군"을 초래한다. 본 발명의 화합물은 대사 증후군을 치료하기 위한 큰 치료적 성능을 가진다.

[0110] **표 16**은 SHR 래트 내 콜레스테롤, 트리글리세라이드 및 글루코오스 수준을 보인다. 상기한 분자로 (200 mg/kg 매일, p.o., 28일) 처리된 SHR의 혈청 내 콜레스테롤 (위 숫자), 트리글리세라이드 (중간 숫자) 및 글루코오스 (아래 숫자) 값을 보인다. 값은 퍼센트로 표현하며, 미처리 (대조군) 래트 내에서 항상 100%로 간주되었다.

표 16

[0111]

화합물	182	183-1	183-2	204	205	226
A	78	76	79	72	69	64
	91	81	78	77	74	71
	84	87	82	85	82	79
B	89	75	77	71	58	59
	72	66	76	69	65	62
	87	84	86	89	87	81
F	92	78	84	76	71	67
	88	71	87	81	83	78
	89	76	85	84	82	86
L	89	82	83	83	79	71
	93	77	79	82	78	74
	94	85	92	91	85	87
N	92	72	89	82	80	75
	93	69	85	81	73	72
	90	84	92	82	86	83

V	94	75	84	84	85	81
	93	70	92	81	79	84
	93	79	88	87	84	89

[0112] **실시예 10. PUFAs의 1,2-유도체의 치료적 효과의 구조적 근거**많은 연구가 지질 섭취 또는 처리가 세포막의 지질 조성 변화를 초래함을 보였다. 또한, 그러한 조성은 막 지질 구조에 직접적인 영향을 미치며, 이는 결국 세포 시그널링을 조절하고 많은 질병의 발병과 관련된다. **도 7**은 (H_{II} 전이 온도에 의하여 측정되는) 상이한 D-PUFAs에 의하여 생산되는 막 구조 변화와 본 연구에서 관측되는 세포 효과 간의 상관관계를 도시한다. 이를 위하여, D-PUFAs 각각의 평균적 효과를 결정하였고 (이중 결합 수에 대한 모든 질병에 대한 각각의 지질의 평균을 연구), 그 결과를 전이 온도에 대하여 그래프로 나타냈다. H_{II} 전이 온도 감소는 세포 시그널링의 더 나은 조절을 초래하는 외재성 막 단백질에 대한 고정 부위를 창출하는 막의 불연속성의 더 큰 유도, 및 따라서 특정 질병의 더 효과적인 조절을 나타낸다. 어느 정도, 복잡한 유기체가 약물을 대사할 수 있고 일부 추가적인 메커니즘이 일부 유형(서브타입)의 질병에서 작동할 수 있다는 사실은 더 적은 이중 결합을 가지는 분자 중 일부가 더 큰 약리학적 활성을 가질 수 있음을 제안한다 그러나, 일반적으로, 치료 효과는 그 자체가 막 구조를 조절하는 능력과 관련되는 분자의 이중 결합 수에 의존하는 것으로 보인다. 이러한 의미에서, 천연 PUFAs가 아니라 본 발명의 D-PUFA 화합물 내에서 발견되는 탄소 1 및/또는 2 내 라디칼의 존재가 상기 분자의 치료 효과 증진을 위하여 필수적이다.

[0113] 상기 결과는 본 발명에 포함되는 지질의 효과가 공통적인 근거를 가짐을 나타낸다. 이러한 상관관계는 (D-PUFAs에 대하여 0.77 및 0.9의 r^2 값 및 두 경우 모두 $P < 0.05$) 사용되는 지질의 구조가 그 효과의 근거이며, 이는 각각의 지질의 구조-기능 관계에 의하여 야기되는 막 구조의 조절을 통하여 일어남을 분명히 나타낸다

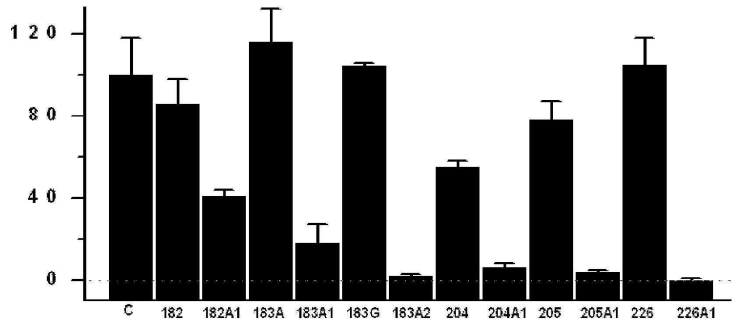
[0114] 따라서, 본 발명은 제1 측면에서, 암, 혈관 질환, 염증, 대사성 질환, 비만, 퇴행성 신경 질환 및 신경 장애로부터 선택되는, 세포막 지질의 구조적 변화 및/또는 기능적 특성에 근거한 질병의 치료에 사용하기 위한, 식 (I)의 화합물 또는 그 약학적으로 허용가능한 염 또는 유도체 (상기 식에서, ***a***, ***b*** 및 ***c*** 는 독립적으로 0 내지 7의 값을 가질 수 있고, R_1 및 R_2는 이온, 원자 또는 그 분자량이 독립적으로 200 Da 이하인 원자단일 수 있음)에 관한 것이다.

[0115] 본 발명의 제2 측면은 암, 혈관 질환, 염증, 대사성 질환, 비만, 퇴행성 신경 질환 및 신경 장애로부터 선택되는, 세포막 지질의 구조적 변화 및/또는 기능적 특성에 근거한 질병 치료용 약학적 및/또는 기능 식품 조성물의 제조를 위한, 식 (I)의 화합물 또는 그 약학적으로 허용가능한 염 또는 유도체 (상기 식에서, ***a***, ***b*** 및 ***c*** 는 독립적으로 0 내지 7의 값을 가질 수 있고, R_1 및 R_2는 이온, 원자 또는 그 분자량이 독립적으로 200 Da 이하인 원자단일 수 있음) 중 적어도 하나의 용도에 관한 것이다.

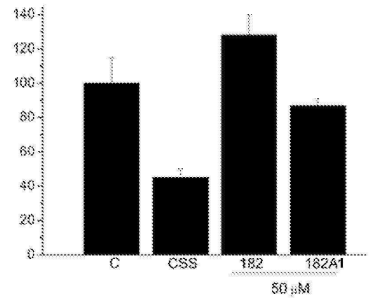
[0116] 본 발명의 마지막 측면은, 식 (I)의 화합물 또는 그 약학적으로 허용가능한 염 또는 유도체 (상기 식에서, ***a***, ***b*** 및 ***c*** 는 독립적으로 0 내지 7의 값을 가질 수 있고, R_1 및 R_2는 이온, 원자 또는 그 분자량이 독립적으로 200 Da 이하인 원자단일 수 있음) 중 적어도 하나를 치료적 유효량으로 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 암, 혈관 질환, 염증, 대사성 질환, 비만, 퇴행성 신경 질환 및 신경 장애로부터 선택되는, 그 공통적인 병인이 세포막 내 위치하는 지질의 구조적 및/또는 기능적 변화와 관련되는 인간 및 동물 내 질병의 치료적 처리 방법에 관한 것이다.

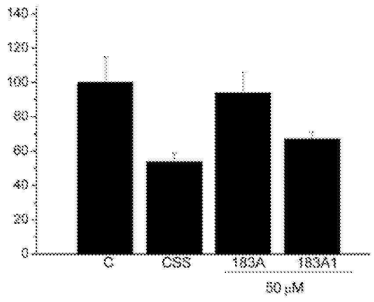
도면

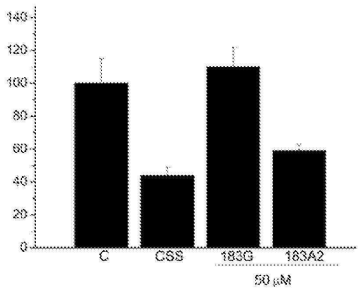
도면1

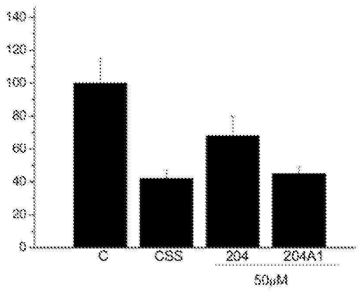

120
80
40
0
C
182
182A1
183A
183A1
183G
183A2
204
204A1
205
205A1
226
226A1

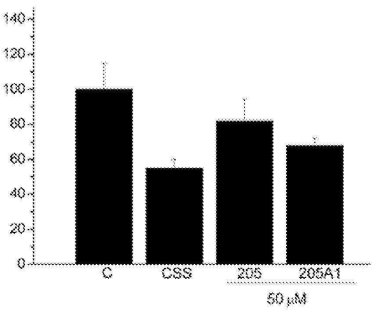
도면2

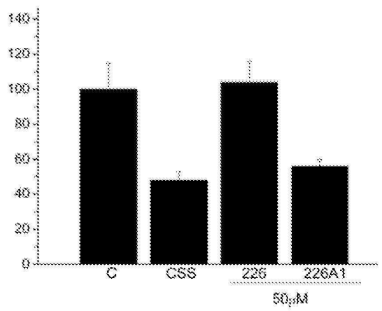

C
CSS
182
182A1
50 μM


C
CSS
183A
183A1
50 μM


C
CSS
183G
183A2
50 μM

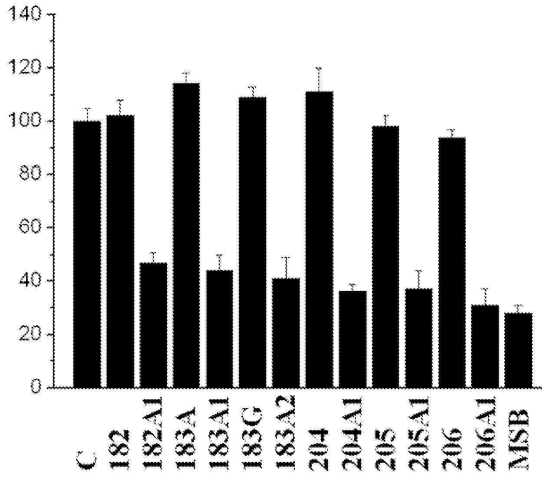

C
CSS
204
204A1
50μM


C
CSS
205
205A1
50 μM

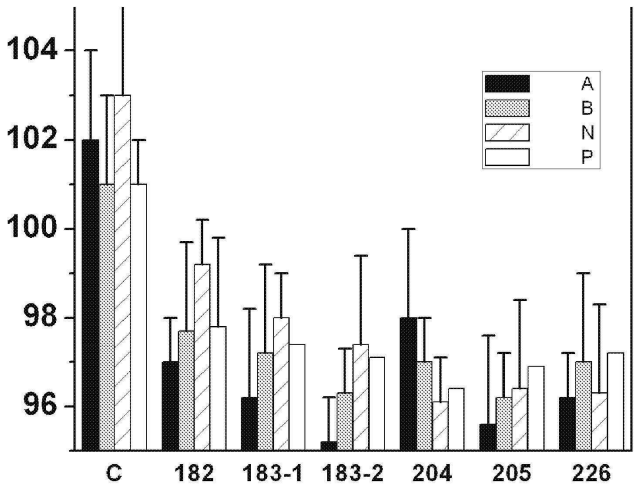

C
CSS
226
226A1
50μM

도면3

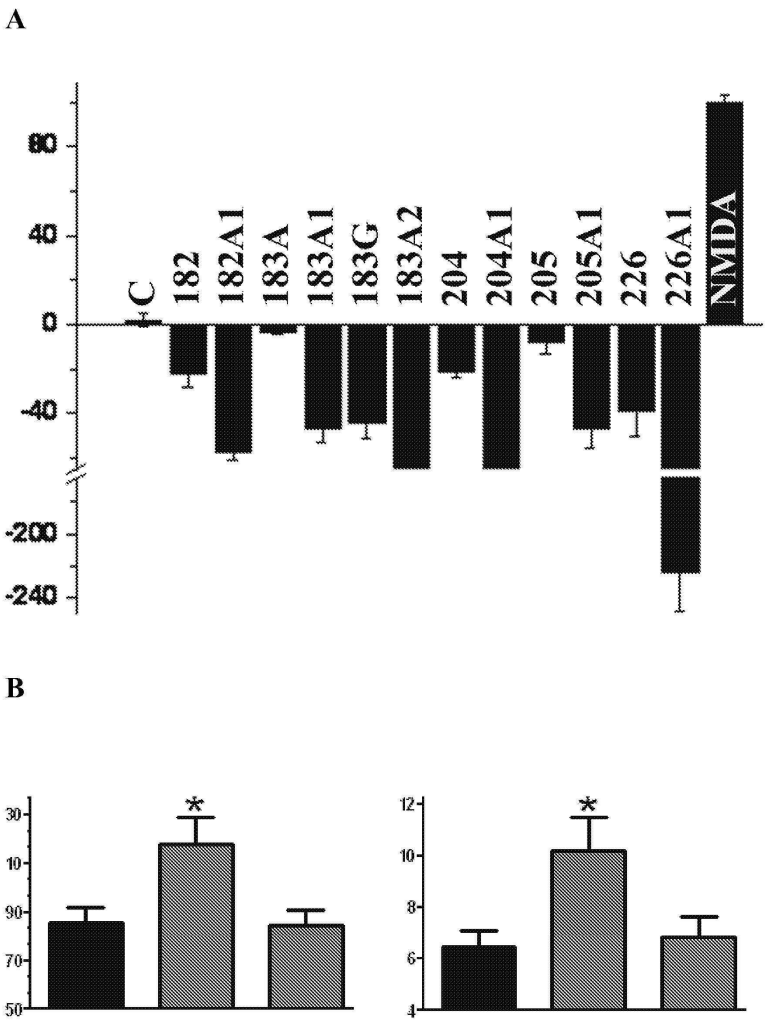
A


140
120
100
80
60
40
20
0
C
182
182A1
183A
183A1
183G
183A2
204
204A1
205
205A1
206
206A1
MSB

B

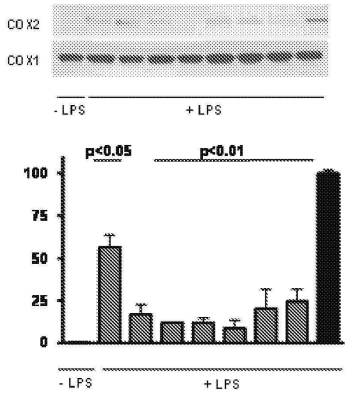

104
102
100
98
96
A
B
N
P
C
182
183-1
183-2
204
205
226

도면4

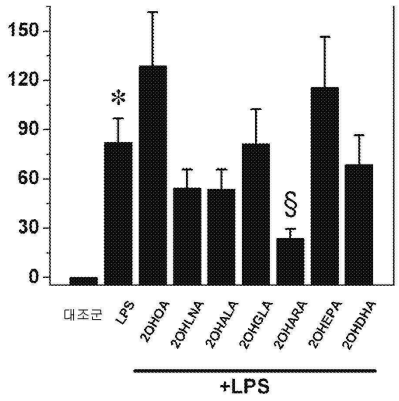

A
80
40
0
-40
-200
-240
C
182
182A1
183A
183A1
183G
183A2
204
204A1
205
205A1
226
226A1
NMDA
B
30
10
90
70
50
*
12
10
8
6
4
*

도면5

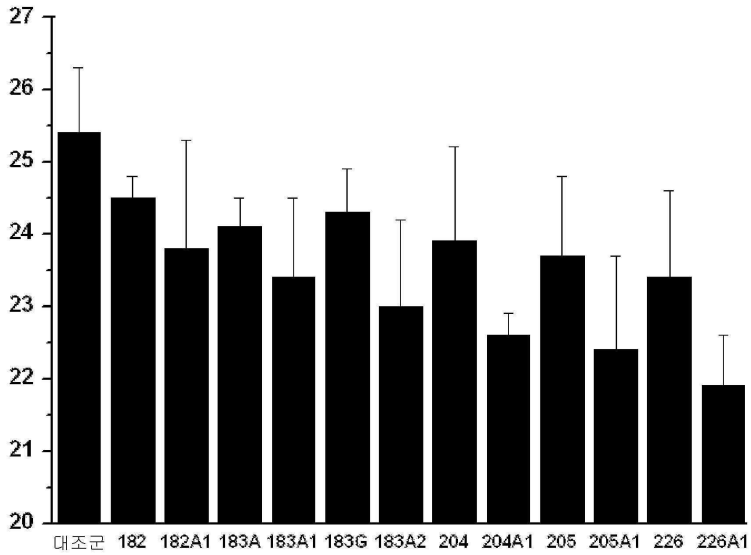
A


COX2
COX1
- LPS
+ LPS
p<0.05
p<0.01
100
75
50
25
0
- LPS
+ LPS

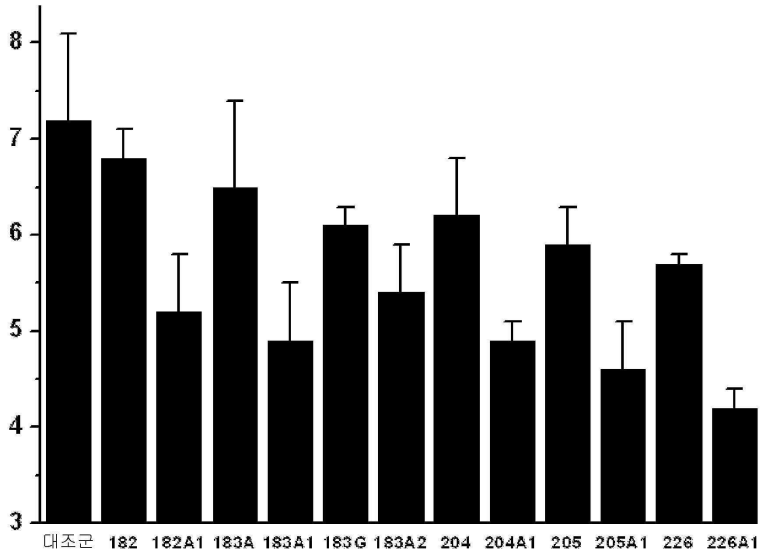
B


150
120
90
60
30
0
*
§
대조군
LPS
2OHDA
2OHLNA
2OHALA
2OHGLA
2OHARA
2OHEPA
2OHDHA
+LPS

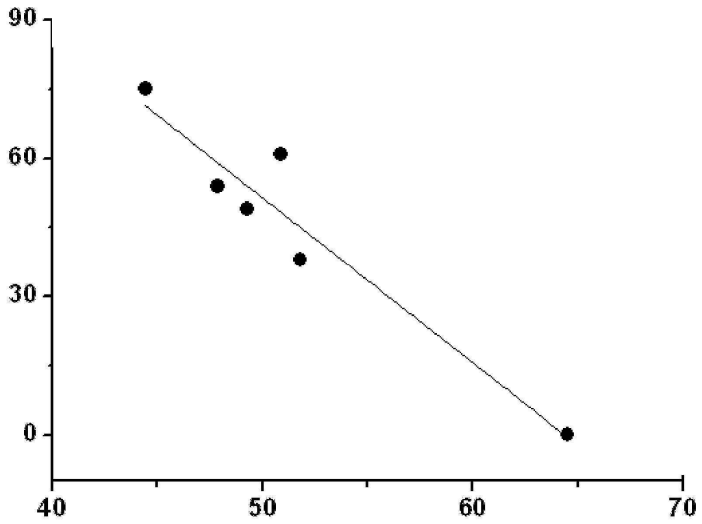
도면6a


27
26
25
24
23
22
21
20
대조군
182
182A1
183A
183A1
183G
183A2
204
204A1
205
205A1
226
226A1

도면6b


8
7
6
5
4
3
대조군
182
182A1
183A
183A1
183G
183A2
204
204A1
205
205A1
226
226A1

도면7a


90
60
30
0
40
50
60
70

도면7b

