



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년09월23일

(11) 등록번호 10-1555033

(24) 등록일자 2015년09월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07D 413/06 (2006.01) A61K 31/5377 (2006.01)

A61P 27/02 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-0095682

(22) 출원일자 2014년07월28일

심사청구일자 2014년07월28일

(56) 선행기술조사문헌

KR1020080071476 A*

WO2010096371 A2*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)

(72) 발명자

김은희

대전광역시 유성구 계룡로 92(봉명동, 유성CJ나인파크) 102동 1403호

유성은

세종특별자치시 장군면 전원마을1길 36-5

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이원희

전체 청구항 수 : 총 8 항

심사관 : 이기철

(54) 발명의 명칭 **신규한 메타는 유도체, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 망막 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물**

(57) 요약

본 발명은 신규한 메타는 유도체, 이의 제조방법, 및 이를 유효성분으로 함유하는 망막 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로, 본 발명에 따른 신규한 메타는 유도체, 이의 광학 이성질체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 RIPK1(Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1)의 억제 효과가 뛰어나므로, 이를 유효성분으로 함유하는 조성물은 색소성 망막염 (RP), 레베르 선천 흑암시 (LCA), 스타가르트병, 어서증후군, 맥락막 결여, 로드-콘 또는 콘-로드 디스트로피, 섬모병증, 미토콘드리아 장애, 진행성 망막 위축증, 퇴행성 망막 질환, 노화-관련된 황반 변성 (AMD), 습성 AMD, 건성 AMD, 지도상 위축증, 가족형 또는 획득 황반병증, 망막 광수용체 질환, 망막 색소 상피-계 질환, 당뇨병성 망막증, 낭포성 황반 부종, 포도막염, 망막박리, 외상성 망막 손상, 의원성 망막 손상, 황반 원공, 황반 모세관확장증, 신경절 세포 질환, 시신경 세포 질환, 녹내장, 시신경병증, 허혈성 망막 질환, 미숙아 망막증, 망막 혈관 폐색, 가족형 마크로아뉴리즘, 망막 혈관 질환, 안혈관 질환, 녹내장으로 인한 망막신경세포 퇴화, 또는 허혈성 시신경병증 등의 망막 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

(72) 발명자

강남숙

대전광역시 유성구 어은로 57 (어은동,
한빛아파트) 101동 201호

구태성

대전광역시 유성구 엑스포로 448 (전민동, 엑스포
아파트) 302동 1404호

박민영

대전광역시 서구 갈마중로 16번길 7 (갈마동, 한국
도로공사조합아파트) 306호

김영훈

경기 군포시 산본로 299, 216동 1302호 (금정동,
충무1차아파트)

배현주

경기 수원시 장안구 하พล로1번길 8, 402호 (천천동, 고성빌)

김진우

경기도 시흥시 능곡동 승지로 88, 현진 에버빌 305동 702호

인태규

충청남도 논산시 연무읍 동산리 907-17번지 기산아파트 101동 1804호

주천기

서울특별시 서초구 방배로 63 (방배동, 방배현대맨피스 2차아파트) 301동 504호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 KDDF-201202-10

부처명 교육과학기술부(현 미래창조과학부), 지식경제부(현 산업통상자원부), 보건복지부

연구관리전문기관 충남대학교 산학협력단

연구사업명 범부처신약개발사업

연구과제명 계획성세포괴사(necroptosis) 타겟 실명질환 글로벌후보물질 개발

기 여 율 1/1

주관기관 충남대학교

연구기간 2012.06.01 ~ 2014.09.30

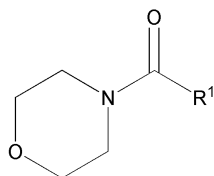
명세서

청구범위

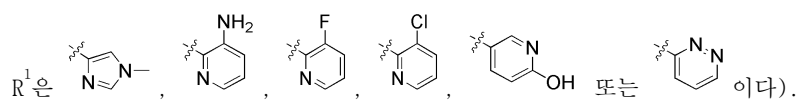
청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 1]



(상기 화학식 1에서,



청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화합물 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

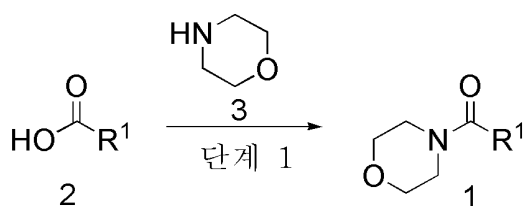
- (5) (1-메틸-1H-이미다졸-4-일)(모폴리노)메타논;
- (8) (3-아미노피리딘-2-일)(모폴리노)메타논;
- (10) (3-플루오로피리딘-2-일)(모폴리노)메타논;
- (11) (3-클로로피리딘-2-일)(모폴리노)메타논;
- (13) (6-히드록시피리딘-3-일)(모폴리노)메타논; 및
- (15) 모폴리노(피리다진-3-일)메타논 하이드로클로라이드.

청구항 5

하기 반응식 1에 나타낸 바와 같이,

화학식 2로 표시되는 화합물과 화학식 3으로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 1);을 포함하는 제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법:

[반응식 1]



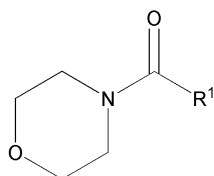
(상기 반응식 1에서,

R^1 은 제1항의 화학식 1에서 정의한 바와 같다).

청구항 6

하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 망막 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물:

[화학식 1]



(상기 화학식 1에서,

R^1 은 비치환 또는 치환된 C_{6-10} 의 아릴, N, O 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 헤테로 원자를 하나 이상 포함하는 비치환 또는 치환된 5-10원자 헤테로아릴, 또는 N, O 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 헤테로 원자를 하나 이상 포함하는 비치환 또는 치환된 5-10원자 헤테로사이클로알킬이고,

여기서, 상기 치환된 C_{6-10} 의 아릴, 치환된 5-10원자 헤테로아릴 및 치환된 5-10원자 헤테로사이클로알킬은 독립적으로 -OH, -NH₂, 할로젠, C_{1-5} 의 직쇄 또는 측쇄 알킬, C_{1-5} 의 직쇄 또는 측쇄 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 치환기가 하나 이상 치환되거나, 페닐이 융합된 C_{6-10} 의 아릴, 5-10원자 헤테로아릴 및 5-10원자 헤테로사이클로알킬이다).

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 화합물은 RIPK1(Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1)을 억제하는 것을 특징으로 하는 망막 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 8

제6항에 있어서,

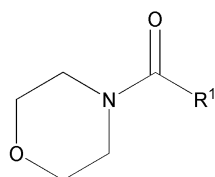
상기 망막 질환은 색소성 망막염 (RP), 레베르 선천 흑암시 (LCA), 스타가르트병, 어서 증후군, 맥락막 결여, 로드-콘 또는 콘-로드 디스트로피, 섬모병증, 미토콘드리아 장애, 진행성 망막 위축증, 퇴행성 망막 질환, 노화-관련된 황반 변성 (AMD), 습성 AMD, 건성 AMD, 지도상 위축증, 가족형 또는 획득 황반병증, 망막 광수용체 질환, 망막 색소 상피-계 질환, 당뇨병성 망막증, 낭포성 황반 부종, 포도막염, 망막박리, 외상성 망막 손상, 의

원성 망막 손상, 황반 원공, 황반 모세관확장증, 신경절 세포 질환, 시신경 세포 질환, 녹내장, 시신경병증, 허혈성 망막 질환, 미숙아 망막증, 망막 혈관 폐색, 가족형 마크로아뉴리즘, 망막 혈관 질환, 안혈관 질환, 녹내장으로 인한 망막신경세포 퇴화 및 허혈성 시신경병증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 망막 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 9

하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 망막 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물:

[화학식 1]



(상기 화학식 1에서,

R¹은 비치환 또는 치환된 C₆₋₁₀의 아릴, N, O 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 헤테로 원자를 하나 이상 포함하는 비치환 또는 치환된 5-10원자 헤테로아릴, 또는 N, O 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 헤테로 원자를 하나 이상 포함하는 비치환 또는 치환된 5-10원자 헤테로사이클로알킬이고,

여기서, 상기 치환된 C₆₋₁₀의 아릴, 치환된 5-10원자 헤테로아릴 및 치환된 5-10원자 헤테로사이클로알킬은 독립적으로 -OH, -NH₂, 할로젠, C₁₋₅의 직쇄 또는 측쇄 알킬, C₁₋₅의 직쇄 또는 측쇄 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 치환기가 하나 이상 치환되거나, 페닐이 융합된 C₆₋₁₀의 아릴, 5-10원자 헤테로아릴 및 5-10원자 헤테로사이클로알킬이다).

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 망막 질환은 색소성 망막염 (RP), 레베르 선천 흑암시 (LCA), 스타가르트병, 어서 증후군, 맥락막 결여, 로드-콘 또는 콘-로드 디스트로피, 섬모병증, 미토콘드리아 장애, 진행성 망막 위축증, 퇴행성 망막 질환, 노화-관련된 황반 변성 (AMD), 습성 AMD, 건성 AMD, 지도상 위축증, 가족형 또는 획득 황반병증, 망막 광수용체 질환, 망막 색소 상피-계 질환, 당뇨병성 망막증, 낭포성 황반 부종, 포도막염, 망막박리, 외상성 망막 손상, 의원성 망막 손상, 황반 원공, 황반 모세관확장증, 신경절 세포 질환, 시신경 세포 질환, 녹내장, 시신경병증, 허혈성 망막 질환, 미숙아 망막증, 망막 혈관 폐색, 가족형 마크로아뉴리즘, 망막 혈관 질환, 안혈관 질환, 녹내장으로 인한 망막신경세포 퇴화, 및 허혈성 시신경병증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 망막 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 신규한 메타논 유도체, 이의 제조방법, 및 이를 유효성분으로 함유하는 망막 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

눈의 안쪽 망막의 중심부에 위치한 신경조직을 황반이라고 하는데, 빛 자극에 반응하는 시세포의 대부분이 이곳

에 모여 있고 물체의 상이 맺히는 곳도 황반의 중심이므로 시력에 대단히 중요한 역할을 담당하고 있다. 노년황반변성(AMD: Age-related Macular Degeneration)은 황반의 망막색소상피와 부르크막 및 맥락막 모세혈관의 변성을 특징으로 하는 만성 질환이다. 해부학적으로 감각신경망막은 망막색소상피의 앞쪽에 위치하며 영양, 지지, 재순환 및 노폐물의 처리를 망막색소상피에 의존한다. 부르크막은 5층으로 된 구조물로 맥락막과 망막색소상피 사이에 끼어 있다. 가장 안쪽 층은 망막색소상피의 기저막이고 가장 바깥쪽은 맥락막 모세혈관 내피세포의 기저막이다. 즉, 망막색소상피와 부르크막 및 맥락막 모세혈관 복합체에 발생한 변성 질환이다.

[0003]

이 질환은 50세 이상의 연령층에서 주로 발생하는데, 이미 서구에서는 60세 이상의 인구에서 실명의 가장 주된 원인이며 우리나라에서도 점점 증가하는 추세이다. 노년황반변성의 원인에 대해서는 아직 정확히 밝혀지지는 않았으나 위험인자로 알려져 있는 것은 나이(특히 75세 이후 가파른 증가를 보인다), 가장 주목받는 환경적 요인인 흡연 외에도 고혈압, 비만, 유전적 소인, 과도한 자외선 노출, 낮은 혈중 항산화제 농도 등이 있다.

[0004]

황반변성에는 건성(비삼출성) 황반변성과 습성(삼출성) 황반변성의 두 유형이 있다. 건성 황반변성(dry AMD, nonexudative AMD, nonneovascular AMD)은 노폐물이 망막하에 드루젠(drusen)이라는 황색 침전물을 형성하여 쌓이게 되는데 이것이 커지게 되면 망막 특히 황반으로의 혈류를 방해하고 시야를 가리게 되어 시력에 장애가 오기 시작한다. 건성 황반변성은 급격한 시력 상실을 유발하지는 않지만 습성 황반변성으로 진행할 수 있다. 망막의 아래에는 섬유조직 내에 파문힌 혈관 집합성(wet AMD, exudative AMD, neovascular AMD)은 망막 아래 맥락막 부분에서 신생혈관이 자라서 생긴다. 이러한 약한 신생혈관이 터져서 출혈이 발생하고 삼출을 일으켜서 망막의 황반영역에 변성을 일으켜 시력장애가 발생하는 것이다. 습성 황반변성은 진행속도가 매우 빨라서 수주 안에 시력이 급속히 나빠지기도 하고 2개월 ~ 3년 사이에 실명을 초래하기도 하는 것으로 알려져 있다.

[0005]

한편, 현재까지 알려진 황반변성 치료법으로는 광역학치료법(Photodynamic Therapy, PDT)과 신생혈관성장인자 항체(anti-VEGF) 주사법이 사용되고 있다. 광역학치료법은 광민감물질인 비쥬다인(Visudyne)을 혈관을 통해 주입한 후 일정 시간 뒤에 망막의 신생혈관에 광민감물질이 도달했을 때 광민감물질에만 반응하는 특수한 레이저를 눈에 조사함으로써 선택적으로 신생혈관을 파괴하는 방법이다. 하지만 치료 후에도 재발하는 경우가 많아서 반복치료해야 하는 경우가 많고 반복적인 치료시에는 망막자체의 손상도 발생할 수 있는 단점이 있다.

[0006]

항체주사 치료법은 신생혈관의 생성과 진행에 중요한 혈관내피세포 성장인자(VEGF)에 선택적인 결합을 해서 신생혈관의 생성과 증식을 억제하는 항체(anti-VEGF)를 유리체 내에 직접 주사하는 방법(intravitreal injection)이다. 항체주사요법에 사용되는 단백질 항체 약물로는 루센티스(Lucentis)와 아바스틴(Avastin)이 있는데 루센티스는 습성 황반변성 치료제로 FDA의 허가를 받은 약물이고 아바스틴은 암질환에 허가된 약물을 암질환에 사용하고 있다. 그러나, 상기 단백질 항체주사 치료법은 비용이 많이 들고, 점안투여가 불가능하여 눈에 직접 주사해야하고, 약 1개월에 한 번씩 주기적인 투여가 필요하여, 출혈, 고통, 감염, 망막 박리(retinal detachment) 등의 위험성이 있다.

[0007]

이에, 상기 치료법과는 상이한 약리기전을 통해 황반변성을 치료하기 위한 연구개발이 이루어지고 있다. 최근에, 황반변성을 유발하는 망막신경의 죽음을 억제하는 세포보호제(neuroprotectant)를 개발하는 전략이 제시되고 있다(*Retina today* 2012. 64-65). 또한, 망막박리(retinal detachment)에 의한 광수용체 퇴화유도시, 랫트(rat)의 망막 내에서 RIPK1(Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1)의 인산화가 관찰되었으며, RIPK1의 효소활성 저해제(Necrostatin-1, Nec-1) 처리시, RIPK1 인산화가 감소되고, 광수용체 퇴화 또한 보호된 것으로 보고된바 있다(*Am J Pathol* 2012. 181,1634-1641).

[0008]

이 외에도 RIPK1 억제제인 Nec-1에 의해 망막퇴화가 보호되는 논문들이 지속적으로 발표되고 있다(*J Neurosci*, 2013. 33(44), 17458-17468; *Am J Pathol* 2012. 181,1634-1641; *Oncotarget*, 2011. 2(6), 497-509; *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010. 107(50):21695-21700). 이는 RIPK1의 효소활성 저해제가 황반변성 치료제로서 타당함을

의미한다.

[0009] 이에, 본 발명자들은 신규한 인텐 유도체가 점안투여시, RIPK1 효소활성을 억제하여 황반변성 등의 망막질환 치료에 유용함을 알아내고 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 신규한 메타논 유도체, 이의 광학 이성질체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공하는 데 있다.

[0011] 본 발명의 다른 목적은 상기 메타논 유도체의 제조방법을 제공하는 것이다.

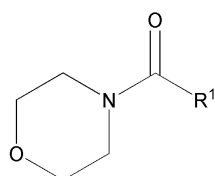
[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 메타논 유도체를 유효성분으로 함유하는 망막 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 다른 목적은 상기 메타논 유도체를 유효성분으로 함유하는 망막 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0015] [화학식 1]



[0016]

[0017] 상기 화학식 1에서,

[0018] R¹은 비치환 또는 치환된 C₆₋₁₀의 아릴, N, O 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 헤테로 원자를 하나 이상 포함하는 비치환 또는 치환된 5-10원자 헤테로아릴, 또는 N, O 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 헤테로 원자를 하나 이상 포함하는 비치환 또는 치환된 5-10원자 헤테로사이클로알킬이고,

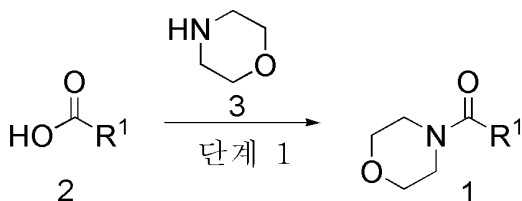
[0019] 여기서, 상기 치환된 C₆₋₁₀의 아릴, 치환된 5-10원자 헤테로아릴 및 치환된 5-10원자 헤테로사이클로알킬은 독립적으로 -OH, -NH₂, 할로젠, C₁₋₅의 직쇄 또는 측쇄 알킬, C₁₋₅의 직쇄 또는 측쇄 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 치환기가 하나 이상 치환되거나, 페닐이 융합된 C₆₋₁₀의 아릴, 5-10원자 헤테로아릴 및 5-10원자 헤테로사이클로알킬이다.

[0020] 또한, 본 발명은 하기 반응식 1에 나타난 바와 같이,

[0021] 화학식 2로 표시되는 화합물과 화학식 3으로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하

는 단계(단계 1);을 포함하는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법을 제공한다.

[반응식 1]



상기 반응식 1에서,

R¹은 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같다.

나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 망막 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 망막 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

발명의 효과

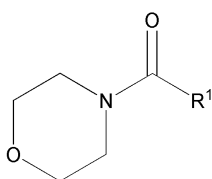
본 발명에 따른 신규한 메타논 유도체, 이의 광학 이성질체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 RIPK1(Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1)의 억제 효과가 뛰어나므로, 이를 유효성분으로 함유하는 조성물은 색소성 망막염 (RP), 레베르 선천 흑암시 (LCA), 스타가르트병, 어서 증후군, 맥락막 결여, 로드-콘 또는 콘-로드 디스트로피, 섬모병증, 미토콘드리아 장애, 진행성 망막 위축증, 퇴행성 망막 질환, 노화-관련된 황반 변성 (AMD), 습성 AMD, 건성 AMD, 지도상 위축증, 가족형 또는 획득 황반병증, 망막 광수용체 질환, 망막 색소 상피-계 질환, 당뇨병성 망막증, 낭포성 황반 부종, 포도막염, 망막박리, 외상성 망막 손상, 의원성 망막 손상, 황반 원공, 황반 모세관확장증, 신경절 세포 질환, 시신경 세포 질환, 녹내장, 시신경병증, 허혈성 망막 질환, 미숙아 망막증, 망막 혈관 폐색, 가족형 마크로아뉴리즘, 망막 혈관 질환, 안혈관 질환, 녹내장으로 인한 망막신경세포 퇴화, 또는 허혈성 시신경병증 등의 망막 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

[0034] R^1 은 비치환 또는 치환된 C_{6-10} 의 아릴, N, O 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 헤테로 원자를 하나 이상 포함하는 비치환 또는 치환된 5-10원자 헤테로아릴, 또는 N, O 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 헤테로 원자를 하나 이상 포함하는 비치환 또는 치환된 5-10원자 헤테로사이클로알킬이고,

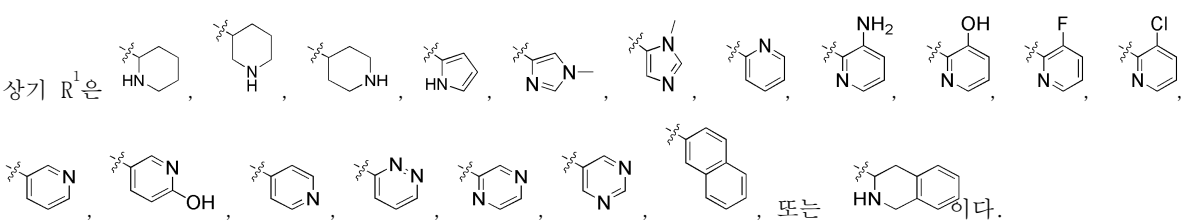
[0035] 여기서, 상기 치환된 C_{6-10} 의 아릴, 치환된 5-10원자 헤테로아릴 및 치환된 5-10원자 헤테로사이클로알킬은 독립적으로 -OH, -NH₂, 할로젠, C_{1-5} 의 직쇄 또는 측쇄 알킬, C_{1-5} 의 직쇄 또는 측쇄 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 치환기가 하나 이상 치환되거나, 페닐이 융합된 C_{6-10} 의 아릴, 5-10원자 헤테로아릴 및 5-10원자 헤테로사이클로알킬이다.

[0036] 바람직하게는,

[0037] 상기 R^1 은 비치환 또는 치환된 C_{6-8} 의 아릴, N, O 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 헤테로 원자를 하나 이상 포함하는 비치환 또는 치환된 5-8원자 헤테로아릴, 또는 N, O 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 헤테로 원자를 하나 이상 포함하는 비치환 또는 치환된 5-8원자 헤테로사이클로알킬이고,

[0038] 여기서, 상기 치환된 C_{6-8} 의 아릴, 치환된 5-8원자 헤테로아릴 및 치환된 5-8원자 헤테로사이클로알킬은 독립적으로 -OH, -NH₂, 할로젠, C_{1-3} 의 직쇄 또는 측쇄 알킬, C_{1-3} 의 직쇄 또는 측쇄 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 치환기가 하나 이상 치환되거나, 페닐이 융합된 C_{6-8} 의 아릴, 5-8원자 헤테로아릴 및 5-8원자 헤테로사이클로알킬이다.

[0039] 더욱 바람직하게는,

[0040] 상기 R^1 은 이다.

[0041] 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 바람직한 예로는 하기의 화합물들을 들 수 있다.

[0042] (1) (R)-모폴리노(피페라딘-2-일)메타논 하이드로클로라이드;

[0043] (2) 모폴리노(피페라딘-3-일)메타논 하이드로클로라이드;

[0044] (3) 모폴리노(피페라딘-4-일)메타논 하이드로클로라이드;

[0045] (4) 모폴리노(1H-피롤-2-일)메타논;

[0046] (5) (1-메틸-1H-이미다졸-4-일)(모폴리노)메타논;

[0047] (6) (1-메틸-1H-이미다졸-5-일)(모폴리노)메타논;

[0048] (7) 모폴리노(피리딘-2-일)메타논;

[0049] (8) (3-아미노피리딘-2-일)(모폴리노)메타논;

[0050] (9) (3-히드록시피리딘-2-일)(모폴리노)메타논;

[0051] (10) (3-플루오로피리딘-2-일)(모폴리노)메타논;

[0052] (11) (3-클로로피리딘-2-일)(모폴리노)메타논;

[0053] (12) 모폴리노(피리딘-3-일)메타논;

- [0054] (13) (6-히드록시피리딘-3-일)(모폴리노)메타논;
- [0055] (14) 모폴리노(피리딘-4-일)메타논
- [0056] (15) 모폴리노(피리다진-3-일)메타논 하이드로클로라이드;
- [0057] (16) 모폴리노(피라진-2-일)메타논;
- [0058] (17) 모폴리노(피리미딘-5-일)메타논;
- [0059] (18) 모폴리노(나프탈렌-2-일)메타논; 및
- [0060] (19) 모폴리노(1,2,3,4-테트라하이드로이소퀴놀린-3-일)메타논 하이드로클로라이드.

[0061] 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물은 약학적으로 허용가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산, 아인산 등과 같은 무기산류, 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설폰산류 등과 같은 무독성 유기산, 아세트산, 안식향산, 구연산, 젖산, 말레인산, 글루콘산, 메탄설폰산, 4-톨루엔설폰산, 주석산, 푸마르산등과 같은 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염의 종류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설페이트, 바이설페이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로젠 포스페이트, 디하이드로젠 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β -하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트, 만델레이트 등을 포함한다.

[0062] 본 발명에 따른 산 부가염은 통상의 방법으로 제조할 수 있으며, 예를 들면 화학식 1의 유도체를 메탄올, 에탄올, 아세톤, 메틸렌클로라이드, 아세토니트릴 등과 같은 유기용매에 녹이고 유기산 또는 무기산을 가하여 생성된 침전물을 여과, 건조시켜 제조하거나, 용매와 과량의 산을 감압 증류한 후 건조시켜 유기용매 하에서 결정화시켜서 제조할 수 있다.

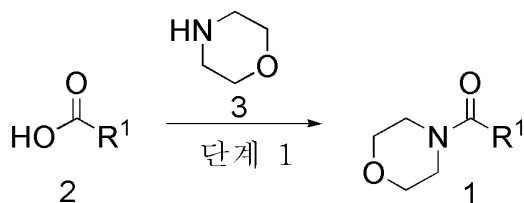
[0063] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다. 또한, 이에 대응하는 염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 음염(예, 질산은)과 반응시켜 얻는다.

[0064] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 및 이의 약학적으로 허용가능한 염뿐만 아니라, 이로부터 제조될 수 있는 용매화물, 광학 이성질체, 수화물 등을 모두 포함한다.

[0065] 또한, 본 발명은 하기 반응식 1에 나타낸 바와 같이,

[0066] 화학식 2로 표시되는 화합물과 화학식 3으로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 1);을 포함하는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법을 제공한다.

[0067] [반응식 1]



[0068]

[0069] 상기 반응식 1에서,

[0070] R^1 은 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같다.

[0071] 이하, 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법을 단계별로 상세히 설명한다.

[0072] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법에 있어서, 상기 단계 1은 화학식 2로 표시되는 화합물과 화학식 3으로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 단계로서, 보다 구체적으로는 화학식 2로 표시되는 화합물을 유기용매에 용해시키고, 화학식 3으로 표시되는 화합물과 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드(EDC), 1-하이드록시벤조트리아졸(HOBT) 및 트리에틸아민(TEA)를 차례로 적가하고 교반하여 화학식 1로 표시되는 화합물을 얻는 단계이다.

[0073] 이때, 상기 사용 가능한 유기용매는 디메틸포름아미드(DMF); 테트라하이드로퓨란; 다이옥산; 에틸에테르, 1,2-다이메톡시에탄 등을 포함하는 에테르용매; 메탄올, 에탄올, 프로판올 및 부탄올을 포함하는 저급 알코올; 디메틸설폭사이드(DMSO); 아세토나젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시크레이트, 락테이트, β -하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트, 만테레이트 등을 사용할 수 있으며, 디메틸포름아미드(DMF)를 사용하는 것이 바람직하다.

[0074] 또한, 반응온도는 0℃에서 용매의 비등점 사이에서 수행하는 것이 바람직하고, 반응시간은 특별한 제약은 없으나, 0.5-10시간 동안 반응하는 것이 바람직하다.

[0075] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 망막 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다. 이때, 상기 약학적 조성물은 RIPK1(Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1)을 억제하는 것을 특징으로 한다. 보다 구체적으로, 상기 RIPK1은 질환 상황에서 자가인산화(autophosphorylation)되며, 그 이후에 RIPK3과 결합하여 죽음유도복합체(necrosome)를 형성하고 하위신호계를 자극하여 계획성세포괴사(necroptosis)를 일으킨다. 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물은 계획성세포괴사의 핵심단백질인 RIPK1의 자가인산화를 억제하여 하위죽음신호전달을 억제하고, 결론적으로 망막신경세포들의 세포죽음을 보호하는 작용기전을 보유하고 있다.

[0076] 이때, 상기 망막질환으로는 색소성 망막염(RP), 레베르 선천 흑암시(LCA), 스타가르트병, 어서 증후군, 맥락막 결여, 로드-콘 또는 콘-로드 디스트로피, 섬모병증, 미토콘드리아 장애, 진행성 망막 위축증, 퇴행성 망막 질환, 노화-관련된 황반 변성(AMD), 습성 AMD, 건성 AMD, 지도상 위축증, 가족형 또는 획득 황반병증, 망막 광수용체 질환, 망막 색소 상피-계 질환, 당뇨병성 망막증, 낭포성 황반 부종, 포도막염, 망막박리, 외상성 망막 손상, 의원성 망막 손상, 황반 원공, 황반 모세관확장증, 신경절 세포 질환, 시신경 세포 질환, 녹내장, 시신경 병증, 허혈성 망막 질환, 미숙아 망막증, 망막 혈관 폐색, 가족형 마크로아뉴리즘, 망막 혈관 질환, 안혈관 질환, 녹내장으로 인한 망막신경세포 퇴화, 또는 허혈성 시신경병증 등이 있다.

[0077] 또한, 본 발명에 따른 점안제는 방부제 함유 점안액 또는 무방부제 점안액으로 제형화가 가능하며, 방부제를 함유한 점안제의 제형화에 사용되는 방부제로는 염화벤잘코늄, 메필파라벤 및 에틸파라벤 중에서 선택된 1종 또는

2종 이상을 사용하며, 이의 함량은 주성분 100 중량부에 대하여 5 내지 15 중량부가 바람직하다.

[0078] 나아가, 본 발명의 점안제의 제형은 예를 들어 수용액, 현탁액, 유제 등일 수 있으며 수용액이 바람직하다. 보다 구체적으로, 상기 점안제 제형이 수용액일 경우에는 상기 점안제 조성물에 용제를 추가하여 사용하며, 상기 용제로는 멸균 정제수 또는 주사용 증류수가 바람직하다. 이때 사용되는 함량은 제조하고자 하는 점안액의 총 용량에 필요한 양에 맞추어 사용량을 조절할 필요가 있다. 즉, 점안액의 경우에는 전체 점안액 중 상기 점안제 조성물 외에 용제로 사용량을 조절한다.

[0079] 본 발명에 따른 점안제 조성물의 권장되는 사용량 및 사용 횟수는 1회 1적, 1일 5 내지 6회 점안하되 증상에 따라 적절히 증감할 수 있다.

[0080] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학 이성질체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 망막 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다. 이때, 상기 망막질환으로는 색소성 망막염 (RP), 레베르 선천 흑암시 (LCA), 스타가르트병, 어서 증후군, 맥락막 결여, 로드-콘 또는 콘-로드 디스트로피, 섬모병증, 미토콘드리아 장애, 진행성 망막 위축증, 퇴행성 망막 질환, 노화-관련된 황반 변성 (AMD), 습성 AMD, 건성 AMD, 지도상 위축증, 가족형 또는 획득 황반병증, 망막 광수용체 질환, 망막 색소 상피-계 질환, 당뇨병성 망막증, 낭포성 황반 부종, 포도막염, 망막박리, 외상성 망막 손상, 의원성 망막 손상, 황반 원공, 황반 모세관확장증, 신경절 세포 질환, 시신경 세포 질환, 녹내장, 시신경병증, 허혈성 망막 질환, 미숙아 망막증, 망막 혈관 폐색, 가족형 마크로아뉴리즘, 망막 혈관 질환, 안혈관 질환, 녹내장으로 인한 망막신경 세포퇴화, 또는 허혈성 시신경병증 등이 있다.

[0081] 이에, 본 발명에 따른 실시예 화합물의 RIPK1(Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1) 억제 활성을 평가하기 위하여 실험을 수행한 결과, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물은 RIPK1에 대하여 억제 활성을 갖는 것으로 나타났다(실험예 1의 표 2 참조).

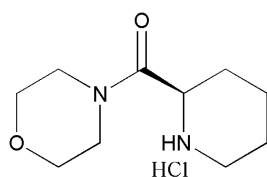
[0082] 또한, 본 발명에 따른 실시예 화합물이 산소-포도당 결핍 조건에서의 망막신경 보호효과를 평가하기 위하여 실험을 수행한 결과, 본 발명에 따른 실시예 화합물들은 20 μ M의 농도에서 대부분이 비교예 1 및 비교예 2보다 우수한 망막신경 보호효과를 갖는 것으로 나타났다(실험예 2의 표 3 참조).

[0083] 나아가, 본 발명에 따른 실시예 화합물의 계획성세포괴사유도 조건에서의 망막신경 보호효과를 평가하기 위하여 실험을 수행한 결과, 본 발명에 따른 실시예 화합물들은 20 μ M의 농도에서 망막신경 보호효과를 갖는 것으로 나타났다(실험예 3의 표 4 참조).

[0084] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의하여 상세히 설명한다.

[0085] 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 이에 한정되는 것은 아니다.

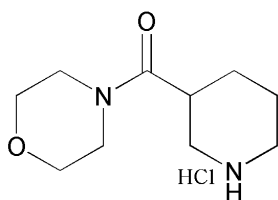
[0086] <실시예 1> (R)-모폴리노(피페라딘-2-일)메탄은 하이드로클로라이드의 제조



[0088] 피페리딘-2-카복실릭 엑시드 하이드로클로라이드(1eq)를 디메틸포름아마이드(DMF)에 용해시키고, 몰폴린 (1.01 eq)과 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드 (EDC, 1.1 eq), 1-하이드록시벤조트리아졸 (HOBT, 1.1 eq) 그리고 트리에틸아민 (TEA, 3 eq)을 차례로 적가하였다. 상온에서 밤새 교반 후, 소량의 물로 반응을 종료시킨 후, 물과 EtOAc로 추출하고 유기층에 있는 소량의 물은 무수 $MgSO_4$ 를 사용하여 제거하였으며, 감압 증류하여 용매를 제거하고 진공 건조하였다. 그 후, 컬럼으로 분리하여 목적화합물을 40% 수율로 얻었다.

[0089] 1H NMR (300MHz, $DMSO-d_6$) δ 9.17 (brs, 1H), 8.56 (brs, 1H), 4.30 (brs, 1H), 3.67-3.24 (m, 8H), 3.20 (d, 1H), 2.84 (brs, 1H), 1.93 (d, 1H), 1.78-1.51 (m, 5H), 1.51-1.31(m, 2H).

[0090] <실시예 2> 모폴리노(피페라딘-3-일)메타논 하이드로클로라이드의 제조

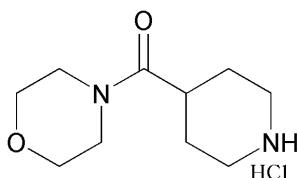


[0091]

[0092] 피페리딘-3-카복실릭 엑시드 하이드로클로라이드(1eq)를 디메틸포름아마이드(DMF)에 용해시키고, 몰폴린 (1.01 eq)과 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드 (EDC, 1.1 eq), 1-하이드록시벤조트리아졸 (HOBT, 1.1 eq) 그리고 트리에틸아민 (TEA, 3 eq)을 차례로 적가하였다. 상온에서 밤새 교반 후, 소량의 물로 반응을 종료시킨 후, 물과 EtOAc로 추출하고 유기층에 있는 소량의 물은 무수 $MgSO_4$ 를 사용하여 제거하였으며, 감압 증류하여 용매를 제거하고 진공 건조하였다. 그 후, 컬럼으로 분리하여 목적화합물을 69% 수율로 얻었다.

[0093] 1H NMR (300MHz, $DMSO-d_6$) δ 8.94 (brs, 2H), 3.70-3.34 (m, 8H), 3.20-3.00 (m, 3H), 2.97-2.73 (m, 2H), 1.88-1.62 (m, 3H), 1.61-1.40 (m, 1H).

[0094] <실시예 3> 모폴리노(피페라딘-4-일)메타논 하이드로클로라이드의 제조

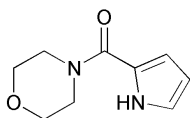


[0095]

[0096] 피페리딘-4-카복실릭 엑시드 하이드로클로라이드(1eq)를 디메틸포름아마이드(DMF)에 용해시키고, 몰폴린 (1.01 eq)과 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드 (EDC, 1.1 eq), 1-하이드록시벤조트리아졸 (HOBT, 1.1 eq) 그리고 트리에틸아민 (TEA, 3 eq)을 차례로 적가하였다. 상온에서 밤새 교반 후, 소량의 물로 반응을 종료시킨 후, 물과 EtOAc로 추출하고 유기층에 있는 소량의 물은 무수 $MgSO_4$ 를 사용하여 제거하였으며, 감압 증류하여 용매를 제거하고 진공 건조하였다. 그 후, 컬럼으로 분리하여 목적화합물을 69% 수율로 얻었다.

[0097] 1H NMR (300MHz, $DMSO-d_6$) δ 8.98 (brs, 1H), 8.63 (brs, 1H), 3.46 (d, 8H), 3.26 (t, 3H), 3.02-2.75 (m, 3H), 1.73 (s, 3H).

[0098] <실시예 4> 모폴리노(1H-피롤-2-일)메타논의 제조

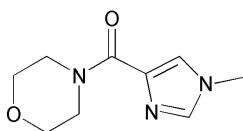


[0099]

[0100] 1H-피롤-2-카복실릭 엑시드(1eq)를 디메틸포름아마이드(DMF)에 용해시키고, 몰폴린 (1.01 eq)과 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드 (EDC, 1.1 eq), 1-하이드록시벤조트리아졸 (HOBT, 1.1 eq) 그리고 트리에틸아민 (TEA, 3 eq)을 차례로 적가하였다. 상온에서 밤새 교반 후, 소량의 물로 반응을 종료시킨 후, 물과 EtOAc로 추출하고 유기층에 있는 소량의 물은 무수 MgSO₄를 사용하여 제거하였으며, 감압 증류하여 용매를 제거하고 진공 건조하였다. 그 후, 컬럼으로 분리하여 목적화합물을 64% 수율로 얻었다.

[0101] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 9.57 (s, 1H), 6.92 (s, 1H), 6.51 (s, 1H), 6.24 (s, 1H), 3.84 (s, 4H), 3.74 (t, 4H).

[0102] <실시예 5> (1-메틸-1H-이미다졸-4-일)(모폴리노)메타논의 제조

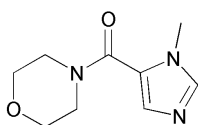


[0103]

[0104] 1-메틸-1H-이미다졸-4-카복실릭 엑시드(1eq)를 디메틸포름아마이드(DMF)에 용해시키고, 몰폴린 (1.01 eq)과 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드 (EDC, 1.1 eq), 1-하이드록시벤조트리아졸 (HOBT, 1.1 eq) 그리고 트리에틸아민 (TEA, 3 eq)을 차례로 적가하였다. 상온에서 밤새 교반 후, 소량의 물로 반응을 종료시킨 후, 물과 EtOAc로 추출하고 유기층에 있는 소량의 물은 무수 MgSO₄를 사용하여 제거하였으며, 감압 증류하여 용매를 제거하고 진공 건조하였다. 그 후, 컬럼으로 분리하여 목적화합물을 45% 수율로 얻었다.

[0105] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 7.56 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 4.28 (brs, 3H), 3.73 (s, 4H), 3.71 (s, 4H).

[0106] <실시예 6> (1-메틸-1H-이미다졸-5-일)(모폴리노)메타논의 제조

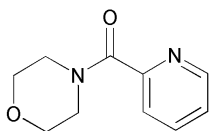


[0107]

[0108] 1-메틸-1H-이미다졸-5-카복실릭 엑시드(1eq)를 디메틸포름아마이드(DMF)에 용해시키고, 몰폴린 (1.01 eq)과 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드 (EDC, 1.1 eq), 1-하이드록시벤조트리아졸 (HOBT, 1.1 eq) 그리고 트리에틸아민 (TEA, 3 eq)을 차례로 적가하였다. 상온에서 밤새 교반 후, 소량의 물로 반응을 종료시킨 후, 물과 EtOAc로 추출하고 유기층에 있는 소량의 물은 무수 MgSO₄를 사용하여 제거하였으며, 감압 증류하여 용매를 제거하고 진공 건조하였다. 그 후, 컬럼으로 분리하여 목적화합물을 63% 수율로 얻었다.

[0109] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 7.49 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.75 (d, 8H).

[0110] <실시예 7> 모폴리노(피리딘-2-일)메타논의 제조

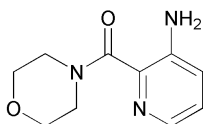


[0111]

[0112] 피콜리닉 엑시드(1eq)을 디메틸포름아마이드(DMF)에 용해시키고, 몰폴린 (1.01 eq)과 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보다이미드 (EDC, 1.1 eq), 1-하이드록시벤조트리아졸 (HOBt, 1.1 eq) 그리고 트리에틸아민 (TEA, 3 eq)을 차례로 적가하였다. 상온에서 밤새 교반 후, 소량의 물로 반응을 종료시킨 후, 물과 EtOAc로 추출하고 유기층에 있는 소량의 물은 무수 $MgSO_4$ 를 사용하여 제거하였으며, 감압 증류하여 용매를 제거하고 진공 건조하였다. 그 후, 컬럼으로 분리하여 목적화합물을 55% 수율로 얻었다.

[0113] 1H NMR (300MHz, CD_3OD) δ 8.60 (d, 1H), 7.97 (t, 1H), 7.63 (d, 1H), 7.51 (t, 1H), 3.79 (s, 4H), 3.66 (s, 2H), 3.49 (s, 2H).

[0114] <실시예 8> (3-아미노피리딘-2-일)(모폴리노)메타논의 제조

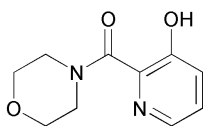


[0115]

[0116] 3-아미노피콜리닉 엑시드(1eq)를 디메틸포름아마이드(DMF)에 용해시키고, 몰폴린 (1.01 eq)과 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보다이미드 (EDC, 1.1 eq), 1-하이드록시벤조트리아졸 (HOBt, 1.1 eq) 그리고 트리에틸아민 (TEA, 3 eq)을 차례로 적가하였다. 상온에서 밤새 교반 후, 소량의 물로 반응을 종료시킨 후, 물과 EtOAc로 추출하고 유기층에 있는 소량의 물은 무수 $MgSO_4$ 를 사용하여 제거하였으며, 감압 증류하여 용매를 제거하고 진공 건조하였다. 그 후, 컬럼으로 분리하여 목적화합물을 29% 수율로 얻었다.

[0117] 1H NMR (300MHz, $CDCl_3$) δ 7.93 (s, 1H), 7.05 (t, 2H), 4.79 (s, 2H), 3.75 (d, 8H).

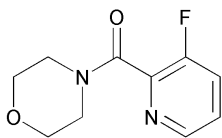
[0118] <실시예 9> (3-히드록시피리딘-2-일)(모폴리노)메타논의 제조



[0119]

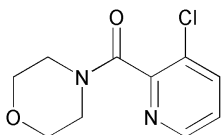
[0120] 3-히드록시피콜리닉 엑시드(1eq)를 디메틸포름아마이드(DMF)에 용해시키고, 몰폴린 (1.01 eq)과 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보다이미드 (EDC, 1.1 eq), 1-하이드록시벤조트리아졸 (HOBt, 1.1 eq) 그리고 트리에틸아민 (TEA, 3 eq)을 차례로 적가하였다. 상온에서 밤새 교반 후, 소량의 물로 반응을 종료시킨 후, 물과 EtOAc로 추출하고 유기층에 있는 소량의 물은 무수 $MgSO_4$ 를 사용하여 제거하였으며, 감압 증류하여 용매를 제거하고 진공 건조하였다. 그 후, 컬럼으로 분리하여 목적화합물을 8% 수율로 얻었다.

[0121] 1H NMR (300MHz, $CDCl_3$) δ 8.08 (q, 1H), 7.35-7.28 (m, 2H), 4.48 (brs, 1H), 3.80 (brs, 8H).



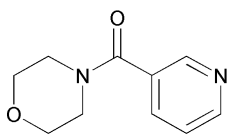
[0125] ¹H NMR (300MHz, CD₃OD) δ 8.45 (d, 1H), 7.75 (t, 1H), 7.60-7.54 (m, 1H), 3.78 (s, 4H), 3.64 (t, 2H), 3.32 (q, 2H).

[0126] <실시예 11> (3-클로로피리딘-2-일)(모폴리노)메타논의 제조



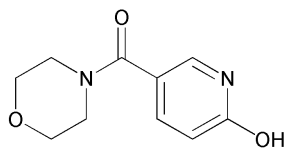
[0129] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 8.51 (d, 1H), 7.75 (d, 1H), 7.30 (q, 1H), 3.81 (t, 4H), 3.65 (t, 2H), 3.22 (t, 2H).

[0130] <실시예 12> 모폴리노(피리딘-3-일)메타논의 제조



[0133] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 8.64 (s, 2H), 7.74 (dd, 1H), 7.35 (q, 1H), 3.56 (d, 8H).

[0134] <실시예 13> (6-히드록시피리딘-3-일)(모폴리노)메타논의 제조

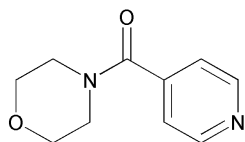


[0135]

[0136] 6-히드록시니코틴릭 엑시드(1eq)를 디메틸포름아마이드(DMF)에 용해시키고, 모폴린 (1.01 eq)과 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드 (EDC, 1.1 eq), 1-하이드록시벤조트리아졸 (HOBT, 1.1 eq) 그리고 트리에틸아민 (TEA, 3 eq)을 차례로 적가하였다. 상온에서 밤새 교반 후, 소량의 물로 반응을 종료시킨 후, 물과 EtOAc로 추출하고 유기층에 있는 소량의 물은 무수 $MgSO_4$ 를 사용하여 제거하였으며, 감압 증류하여 용매를 제거하고 진공 건조하였다. 그 후, 컬럼으로 분리하여 목적화합물을 29% 수율로 얻었다.

[0137] 1H NMR (300MHz, $CDCl_3$) δ 7.43 (t, 1H), 6.65 (d, 1H), 6.35 (d, 1H), 3.72 (s, 4H), 3.67 (s, 4H).

[0138] <실시예 14> 모폴리노(피리딘-4-일)메타논의 제조

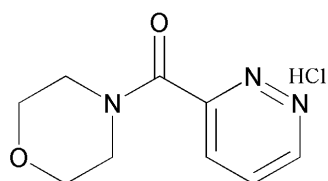


[0139]

[0140] 이소니코틴릭 엑시드(1eq)를 디메틸포름아마이드(DMF)에 용해시키고, 모폴린 (1.01 eq)과 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드 (EDC, 1.1 eq), 1-하이드록시벤조트리아졸 (HOBT, 1.1 eq) 그리고 트리에틸아민 (TEA, 3 eq)을 차례로 적가하였다. 상온에서 밤새 교반 후, 소량의 물로 반응을 종료시킨 후, 물과 EtOAc로 추출하고 유기층에 있는 소량의 물은 무수 $MgSO_4$ 를 사용하여 제거하였으며, 감압 증류하여 용매를 제거하고 진공 건조하였다. 그 후, 컬럼으로 분리하여 목적화합물을 75% 수율로 얻었다.

[0141] 1H NMR (300MHz, CD_3OD) δ 8.66 (d, 2H), 7.46 (d, 2H), 3.76 (s, 4H), 3.62 (s, 2H), 3.38 (s, 2H).

[0142] <실시예 15> 모폴리노(피리다진-3-일)메타논 하이드로클로라이드의 제조

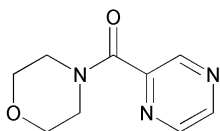


[0143]

[0144] 피리다진-3-카복실릭 엑시드 하이드로클로라이드(1eq)를 디메틸포름아마이드(DMF)에 용해시키고, 모폴린 (1.01 eq)과 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드 (EDC, 1.1 eq), 1-하이드록시벤조트리아졸 (HOBT, 1.1 eq) 그리고 트리에틸아민 (TEA, 3 eq)을 차례로 적가하였다. 상온에서 밤새 교반 후, 소량의 물로 반응을 종료시킨 후, 물과 EtOAc로 추출하고 유기층에 있는 소량의 물은 무수 $MgSO_4$ 를 사용하여 제거하였으며, 감압 증류하여 용매를 제거하고 진공 건조하였다. 그 후, 컬럼으로 분리하여 목적화합물을 26% 수율로 얻었다.

[0145] 1H NMR (300MHz, $DMSO-d_6$) δ 9.33 (d, 2H), 7.77 (s, 1H), 3.65 (s, 4H), 3.56 (s, 4H).

[0146] <실시예 16> 모폴리노(피라진-2-일)메타논의 제조

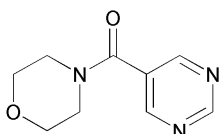


[0147]

[0148] 피라진-2-카복실릭 엑시드(1eq)를 디메틸포름아마이드(DMF)에 용해시키고, 몰폴린 (1.01 eq)과 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보다이미드 (EDC, 1.1 eq), 1-하이드록시벤조트리아졸 (HOBT, 1.1 eq) 그리고 트리에틸아민 (TEA, 3 eq)을 차례로 적가하였다. 상온에서 밤새 교반 후, 소량의 물로 반응을 종료시킨 후, 물과 EtOAc로 추출하고 유기층에 있는 소량의 물은 무수 MgSO_4 를 사용하여 제거하였으며, 감압 증류하여 용매를 제거하고 진공 건조하였다. 그 후, 컬럼으로 분리하여 목적화합물을 43% 수율로 얻었다.

[0149] ^1H NMR (300MHz, CD_3OD) δ 8.86 (s, 1H), 8.66 (d, 2H), 3.79 (s, 4H), 3.68 (t, 2H), 3.56 (t, 2H).

[0150] <실시예 17> 모폴리노(피리미딘-5-일)메타논의 제조

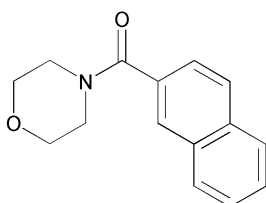


[0151]

[0152] 피리미딘-5-카복실릭 엑시드(1eq)를 디메틸포름아마이드(DMF)에 용해시키고, 몰폴린 (1.01 eq)과 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보다이미드 (EDC, 1.1 eq), 1-하이드록시벤조트리아졸 (HOBT, 1.1 eq) 그리고 트리에틸아민 (TEA, 3 eq)을 차례로 적가하였다. 상온에서 밤새 교반 후, 소량의 물로 반응을 종료시킨 후, 물과 EtOAc로 추출하고 유기층에 있는 소량의 물은 무수 MgSO_4 를 사용하여 제거하였으며, 감압 증류하여 용매를 제거하고 진공 건조하였다. 그 후, 컬럼으로 분리하여 목적화합물을 50% 수율로 얻었다.

[0153] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 9.27 (s, 1H), 8.81 (s, 2H), 3.72 (s, 4H), 3.72 (s, 4H), 3.46 (s, 4H).

[0154] <실시예 18> 모폴리노(나프탈렌-2-일)메타논의 제조

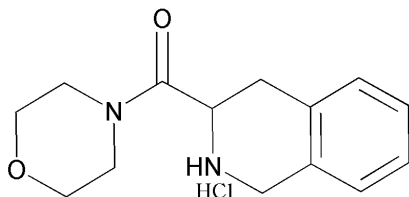


[0155]

[0156] 2-나프토익 엑시드(1eq)를 디메틸포름아마이드(DMF)에 용해시키고, 몰폴린 (1.01 eq)과 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보다이미드 (EDC, 1.1 eq), 1-하이드록시벤조트리아졸 (HOBT, 1.1 eq) 그리고 트리에틸아민 (TEA, 3 eq)을 차례로 적가하였다. 상온에서 밤새 교반 후, 소량의 물로 반응을 종료시킨 후, 물과 EtOAc로 추출하고 유기층에 있는 소량의 물은 무수 MgSO_4 를 사용하여 제거하였으며, 감압 증류하여 용매를 제거하고 진공 건조하였다. 그 후, 컬럼으로 분리하여 목적화합물을 90% 수율로 얻었다.

[0157] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 7.91-7.87 (m, 4H), 7.55-7.48 (m, 3H), 3.71 (s, 8H).

[0158] <실시예 19> 모폴리노(1,2,3,4-테트라하이드로이소퀴놀린-3-일)메타논 하이드로클로라이드의 제조

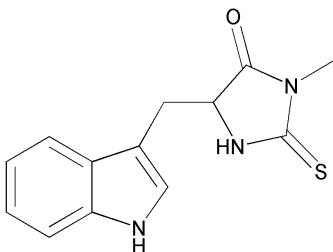


[0159]

[0160] 1,2,3,4-테트라하이드로이소퀴놀린-3-카복실릭 엑시드 하이드로클로라이드(1eq)를 디메틸포름아마이드(DMF)에 용해시키고, 몰폴린 (1.01 eq)과 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드 (EDC, 1.1 eq), 1-하이드록시벤조트리아졸 (HOBT, 1.1 eq) 그리고 트리에틸아민 (TEA, 3 eq)을 차례로 적가하였다. 상온에서 밤새 교반 후, 소량의 물로 반응을 종료시킨 후, 물과 EtOAc로 추출하고 유기층에 있는 소량의 물은 무수 MgSO₄를 사용하여 제거하였으며, 감압 증류하여 용매를 제거하고 진공 건조하였다. 그 후, 컬럼으로 분리하여 목적화합물을 67% 수율로 얻었다.

[0161] ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 9.68-9.40 (m, 1H), 7.24 (s, 4H), 4.75 (brs, 1H), 4.28 (s, 2H), 3.61-3.50 (m, 8H), 3.25-3.19 (m, 1H), 2.97-2.87 (m, 1H).

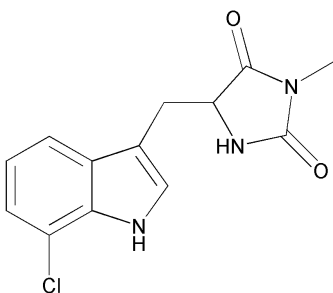
[0162] <비교예 1> 5-((1H-인돌-3-일)메틸)-3-메틸-2-싸이옥소이미다졸리딘-4-온(Nec-1)의 제조



[0163]

[0164] 상기 비교예 1을 KDR Biotech사에서 구입하여 사용하였다.

[0165] <비교예 2> 5-((7-클로로-1H-인돌-3-일)메틸)-3-메틸이미다졸리딘-2,4-디온(Nec-1s)의 제조



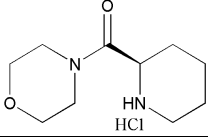
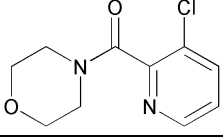
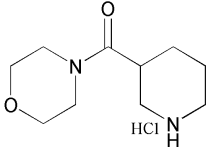
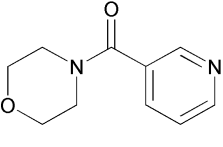
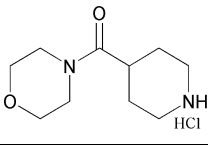
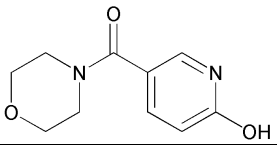
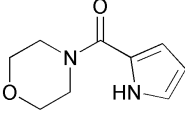
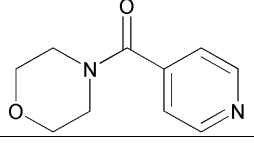
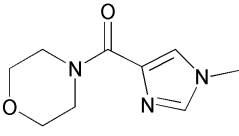
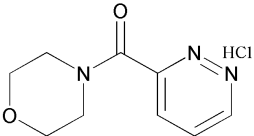
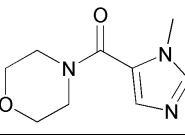
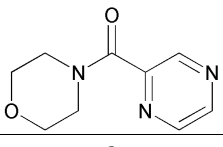
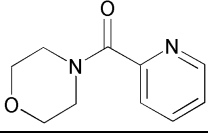
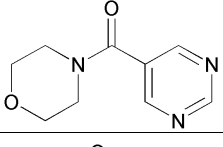
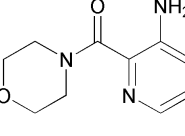
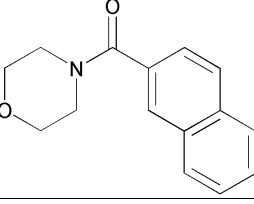
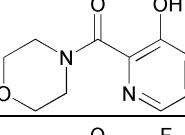
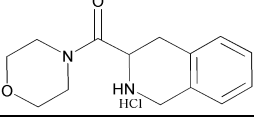
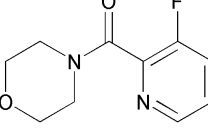
[0166]

[0167] 상기 비교예 2를 Biovision사에서 구입하여 사용하였다.

[0168] 하기 표 1에 실시예 1-19에서 제조한 화합물의 화학구조식을 정리하여 나타내었다.

표 1

[0169]

실시예	화학구조식	실시예	화학구조식
1		11	
2		12	
3		13	
4		14	
5		15	
6		16	
7		17	
8		18	
9		19	
10			

[0170]

<실험예 1> RIPK1(Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1) 억제 활성 평가

[0171]

본 발명에 따른 실시예 화합물의 RIPK1(Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1) 억제 활성을 평가하기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0172] HEK 293(Human Embryonic Kidney 293) 세포 용해물에서 면역침강된 RIPK1 효소를 키나제로 사용하였으며, 실험 방법은 Cell.12:137(6):1112-23(2009)에 기재한 방법으로 수행하였다. HEK293 세포주에 RIPK1 단백질을 과발현시킨 후, 용해 완충액(lysis buffer)(50 mM Tris-Cl [pH 8.0], 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1% NP-40, 0.4 mM 페닐메틸설포닐 플루오라이드(PMSF))를 첨가하여 세포를 파쇄시켰다. 13,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 분리한 후, RIPK1 단일클론항체(610459, BD Bioscience) 및 A/G 아가로오즈 비드(sc-2003, Santa Cruz Biotechnology)를 첨가하여 4 °C 교반기에서 12시간 동안 면역침강시켰다.

[0173] 면역복합체는 용해 완충액으로 2회 세척하고, 키나제 분석(kinase assay) 완충액(20 mM HEPES [pH7.6], 2 mM DTT, 1 mM NaF, 1mM Na₃VO₄, 20 mM β-글리세로포스페이트(β-glycerophosphate), 20 mM PNPP, 20 mM MgCl₂, 20 mM MnCl₂, 1 mM벤자미디에(Benzamidie), 1 mM EDTA)으로 최종 세척하였다. RIPK1 면역침강물에 키나제 분석 완충액과 화합물을 넣고 24°C 항온수조에서 15분간 반응시킨 후, 추가로 100 μM ATP 및 10 μCi[³²P] γ-ATP를 첨가하여 30분 동안 30°C에서 반응시켰다. 키나제 분석 완충액으로 1회 세척하고, 단백질 로딩 버퍼를 첨가하여 3분간 100°C에서 가열한 후, 8% SDS-PAGE 겔에 로딩하였다. 인산화된 RIPK1의 방사능 이미지는 FLA-7000(GE healthcare) 분석 장비로 탐지하였고, 이미지 콰نت(image Quant) TL 프로그램 이용하여 수치화하였다. 그 결과를 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

[0174]

실시예	RIPK1의 활성(%) 100 μM
1	39.5 ± 4.9
2	85.0
3	90.0
4	33.0
5	25.0
6	30.0 ± 2.8
7	77.3 ± 12.5
8	83.0
9	77.0
10	29.0 ± 11.3
11	89.0
12	89.0
13	40.0 ± 2.8
14	60.3 ± 29.9
15	49.8 ± 22.7
16	65.5 ± 7.8
17	31.5 ± 12.0
18	89.5
19	73.0

[0175] 상기 표 2에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 실시예 화합물들은 RIPK1(Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1)에 대하여 억제 활성을 나타내는 것으로 확인되었다.

[0176] 따라서, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물은 RIPK1에 대하여 억제활성을 나타내므로, 이를 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물은 망막 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

[0177] <실험예 2> 산소-포도당 결핍(OGD; oxygen glucose deprivation) 조건에서 망막신경 보호효과 평가

[0178] 본 발명에 따른 실시예 화합물이 산소-포도당 결핍 조건에서의 망막신경을 보호하는지를 평가하기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0179] 망막신경절세포주인 RGC-5(rat ganglion cell) 세포를 10% 소태아혈청(FBS; fetal bovine serum) 및 1% 페니실린/스트렙토마이신(penicillin/streptomycin)이 포함된 DMEM (Dulbeccos modified Eagles medium) 배지에서 배양하였다. 96 웰 플레이트(96-well plate)에 세포수가 웰 당 8×10^3 이 되도록 분주하고, 37°C의 CO₂ 배양기에서 12시간 동안 배양하였다. 세포를 PBS로 1회 세척한 후, 포도당 결핍 배지(glucose free DMEM)로 바꾼 후, DMSO (0.1%)만을 처리하거나(대조군), 하기 표 3의 실시예 화합물들(20 μM)을 처리한 후, 혐기성 배양기(10% H₂, 5% CO₂, 85% N₂, 37°C, 챔버(ThermoForma, USA)에서 15시간 동안 배양하여 세포 죽음을 유도하였다.

[0180] 세포죽음정도는 LDH(lactate dehydrogenase, Roche) 평가방법으로 측정하였다. 상기 LDH 평가 방법은 손상된 세포 내에서 배양액으로 방출된 LDH의 활성도를 측정하는 방법으로서, LDH에 의해 NAD⁺가 NADH 및 H⁺로 환원되고, 촉매제(diaphorase)에 의해 테트라졸륨(tetrazolium salt) INT의 고리의 결합이 절단되어 포마잔(formazan)을 형성하게 된다. 상기 포마잔은 빅토르 3(Victor 3, PerkinElmer) 장비를 이용하여 흡광도 490 nm에서 측정되었고, 흡광도 값은 죽은 세포의 양을 반영하였다.

[0181] 산소-포도당 결핍 조건에서 대조군의 LDH 수치를 100%로 하고, 정상배지(10% FBS, DMEM)에서 동일한 시간 동안 배양한 세포군의 LDH 수치를 0%로 하였을 때, 산소-포도당 결핍에서 화합물을 처리한 세포군들의 LDH 수치를 기준으로 하여 상대적 세포죽음정도로 환산하여 나타냈다. 각각 3개의 웰에 동일한 실시예 화합물을 처리하고 측정하였으며, 각 실험을 3회 이상 수행하여 이의 평균값을 표 3에 나타내었다.

표 3

[0182]

실시예	망막신경 세포죽음(%)
1	88.3 ± 4.2
2	48.6 ± 1.7
3	54.0 ± 15.3
4	85.6 ± 4.7
5	72.6 ± 7.2
6	68.4 ± 6.7
7	50.9 ± 0.6
8	49.7 ± 5.3
9	47.1 ± 11.0
10	58.5 ± 17.0
11	52.9 ± 0.6
12	39.8 ± 5.8
13	70.3 ± 4.8
14	53.3 ± 6.4
15	43.8 ± 2.4
16	51.8 ± 5.8
17	89.7 ± 10.2
18	40.5 ± 2.0
19	41.1 ± 7.5
비교예 1	89.5 ± 10.5
비교예 2	73.5 ± 10.3

[0183] 상기 표 3에 나타난 바와 같이, 산소-포도당 결핍(OGD; oxygen glucose deprivation) 조건에서 본 발명에 따른 실시예 화합물들은 20 μM의 농도에서 대부분이 비교예 1 및 비교예 2보다 우수한 망막신경 보호효과를

나타냈다. 특히, 실시예 2, 3, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 18 및 19는 망막신경 세포죽음 비율이 60% 미만으로서, 비교예 1(89.5%) 및 비교예 2(73.5%)보다 세포죽음을 적게 유도함으로써, 우수한 망막신경 보호효과가 있는 것으로 확인되었다.

[0184] 따라서, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물은 산소-포도당 결핍 조건에서의 망막신경 보호효과가 우수하므로 이를 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물은 망막 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

[0185] <실험예 3> 계획성세포괴사유도(TCZ; TNF α +cycloheximide+zVAD) 조건에서의 망막신경 보호효과 평가

[0186] 본 발명에 따른 실시예 화합물의 계획성세포괴사유도 조건에서의 망막신경 보호효과를 평가하기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0187] 망막신경절세포주인 RGC-5(Rat Ganglion Cell-5) 세포를 10% 소태아혈청(FBS; fetal bovine serum), 1% 페니실린/스트렙토마이신이 포함된 DMEM (Dulbeccos Modified Eagles Medium) 배지에서 배양하였다. 96 웰 플레이트에 세포수가 웰당 8×10^3 이 되도록 분주하고, 37°C, CO₂ 배양기에서 12시간 동안 배양하였다. TNF α (10 ng/ml), cycloheximide(10 μ g/ml) 및 zVAD(10 μ M)(TCZ)을 투여한 배지에 DMSO (0.1%)만을 처리하거나(대조군), 화합물들(20 μ M)을 처리한 후, 37°C, CO₂ 배양기에서 추가로 15시간 동안 배양하여 세포죽음을 유도하였다.

[0188] 세포죽음정도를 LDH(lactate dehydrogenase, Roche) 평가방법으로 측정하였으며, TCZ 조건에서의 대조군의 LDH 수치를 100%로 하고, 정상배지(10% FBS, DMEM)에서 동일한 시간 동안 배양한 세포군들의 LDH 수치를 기준으로 하여 상대적 세포죽음정도로 환산하여 나타냈다. 각각 3개의 웰에 동일한 실시예 화합물을 처리하고 측정하였으며, 각 실험을 3회 이상 수행하여 이의 평균값을 표 4에 나타내었다.

표 4

[0189]

실시예	망막신경 세포죽음(%)
1	77.5 $\pm$ 15.4
2	53.2 $\pm$ 12.7
3	51.7 $\pm$ 13.9
4	74.5 $\pm$ 9.1
5	77.3 $\pm$ 13.9
6	80.1 $\pm$ 11.7
7	39.5 $\pm$ 10.3
8	89.3 $\pm$ 3.5
9	58.5 $\pm$ 14.2
10	74.2 $\pm$ 15.7
11	57.2 $\pm$ 11.9
12	66.1 $\pm$ 17.9
13	75.9 $\pm$ 3.9
14	60.2 $\pm$ 1.3
15	71.1 $\pm$ 4.4
16	76.3 $\pm$ 8.1
17	71.1 $\pm$ 13.4
18	48.8 $\pm$ 6.7
19	49.5 $\pm$ 7.5

[0190] 상기 표 4에 나타난 바와 같이, 계획성세포괴사유도(TCZ; TNF α+cycloheximide+zVAD) 조건에서 본 발명에 따른 실시예 화합물들은 20 μM의 농도에서 망막신경 보호효과를 갖는 것으로 나타났다. 특히, 실시예 18 및 19는 망막신경 세포죽음 비율이 50% 미만으로서, 우수한 망막신경 보호효과가 있는 것으로 확인되었다.

[0191] 따라서, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물은 산소-포도당 결핍 조건에서의 망막신경 보호효과가 우수하므로 이를 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물은 망막 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

[0192] <제제예 1> 점안제의 제조

[0193]	화학식 1로 표시되는 유도체	0.1g
[0194]	아미노에틸술폰산	0.2g
[0195]	염화 벤즈알코늄	0.005g
[0196]	티록사폴	0.02g
[0197]	포비돈(K30)	2.0g
[0198]	에테르산 나트륨	0.02g
[0199]	진한 글리세린	2.2g
[0200]	수산화 나트륨	적량
[0201]	정제수	적량
[0202]	총량	100ml
[0203]	통상의 방법에 따라, 상기 성분을 혼합하여 점안제를 제조하였다.	

[0204] <제제예 2> 건강식품의 제조

[0205]	화학식 1로 표시되는 유도체	500ng
[0206]	비타민 혼합물	적량
[0207]	비타민 A 아세테이트	70mg
[0208]	비타민 E	1.0mg
[0209]	비타민	0.13mg
[0210]	비타민 B2	0.15mg
[0211]	비타민 B6	0.5mg
[0212]	비타민 B12	0.2mg
[0213]	비타민 C	10mg
[0214]	비오틴	10mg
[0215]	니코틴산아미드	1.7mg
[0216]	엽산	50mg
[0217]	판토텐산 칼슘	0.5mg
[0218]	무기질 혼합물	적량
[0219]	황산제1철	1.75mg

[0220]	산화아연	0.82mg
[0221]	탄산마그네슘	25.3mg
[0222]	제1인산칼륨	15mg
[0223]	제2인산칼슘	55mg
[0224]	구연산칼륨	90mg
[0225]	탄산칼슘	100mg
[0226]	염화마그네슘	24.8mg
[0227]	상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.	
[0228]	<제제예 3> 건강음료의 제조	
[0229]	화학식 1로 표시되는 유도체	500ng
[0230]	구연산	1000mg
[0231]	올리고당	100g
[0232]	매실농축액	2g
[0233]	타우린	1g
[0234]	정제수를 가하여 전체	900ml
[0235]	통상의 건강 음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 건강 음료 조성물 제조에 사용하였다.	
[0236]	상기 조성비는 비교적 기호 음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만 수요계층이나, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호 도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.	