(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl.[6]
C07D 498/22
C07D 519/00

(45) 공고일자 2000년12월15일
(11) 등록번호 10-0276008
(24) 등록일자 2000년09월26일

(21) 출원번호	10-1995-0700251	(65) 공개번호	특1995-0702564
(22) 출원일자	1995년01월23일	(43) 공개일자	1995년07월29일
번역문제출일자	1995년01월23일		
(86) 국제출원번호	PCT/US 93/06974	(87) 국제공개번호	WO 94/02488
(86) 국제출원일자	1993년07월26일	(87) 국제공개일자	1994년02월03일
(81) 지정국	EA EURASIAN특허 : 러시아 EP 유럽특허 : 핀랜드 포르투칼 국내특허 : 오스트레일리아 브라질 캐나다 헝가리 일본 대한민국 노르웨이 뉴질랜드 우크라이나		
(30) 우선권주장	07/920102 1992년07월24일 미국(US)		

(73) 특허권자 세파론, 인코포레이티드 바바라 에스. 쉴버그
미국 19380 펜실바니아주 웨스트 체스터 브랜디와인 파크웨이 145교와 핫꼬고교 가부시끼가이샤 히라타 다다시
일본 도꾜도 찌요다꾸 오떼마찌 1쪼메 6-1

(72) 발명자 루이스,마이클,이.
미합중국 펜실베니아 19350 란덴버그 빌스웨이 23
네프,니콜라
미합중국 펜실베니아 19086 로즈밸리 토드모덴드라이브 59
로버츠-루이스,질
미합중국 펜실베니아 19350 란덴버그 빌스웨이 23
무라카타,지카라
일본국 도쿄 192-03 하치오지시 베쇼 2-11-2-702
사이토,히로미쯔
일본국,시즈오카켄411,미시마시,도쿠라,5-15-23
마쯔다,유즈루
일본국,도쿄184,고가네이시,누쿠이미나미쵸,1-22-7
코어,제임스,씨.
미합중국,펜실베니아19348,케네트스퀘어,윌로우글렌로드605

(74) 대리인 나영환, 이상섭

심사관 : 허수준

(54) 비스-스타우로스포린 및 케이-252에이 유도체

요약

본 발명은 신규한 K-252a의 유도체, 및 신규한 스타우로스포린의 비스-N-치환된 유도체에 관한 것이다. 또한 본 발명은 신규의 스타우로스포린 유도체 또는 K-252a의 특정한 작용성 유도체를 투여하는 것을 포함하여 신경 세포 질병을 치료하는 방법에 관한것 이다.

대표도

도1

명세서

[발명의 명칭]

비스-스타우로스포린 및 케이-252에이(K-252a) 유도체

[도면의 간단한 설명]

제1도는 PC-12 세포에서 기초 오르니틴 디카르복실라제(ODC) 활성에 미치는 K-252a, 1,6-헥사메틸렌-비스-(카르바밀스타우로스포린)(HBCS), 및 스타우로스포린의 영향을 도시한 그래프이다.

제2도는 PC-12 세포에서 NGF-자극된 ODC 활성에 미치는 스타우로스포린, HBCS, 및 K-252a의 영향을 도시

한 그래프이다.

제3도는 PC-12 세포에서 ODC 활성에 미치는 HBCS의 NGF-상승 작용 영향을 도시한 그래프이다.

제4도는 래트 태아 척수 배양물에서 콜린 아세틸트랜스퍼라제(ChAT) 특이 활성에 미치는 K-252a의 영향을 도시한 그래프이다.

제5도는 래트 태아 척수 배양물에서 ChAT 활성에 미치는 K-252a의 영향의 추이를 도시한 그래프이다.

제6도는 병아리 태아의 배근 신경절 신경세포의 생존에 미치는 K-252a의 영향을 도시한 그래프이다.

제7도는 병아리 태아의 배근 신경절 신경세포의 생존에 미치는 K-252a 작용성 유도체의 영향을 도시한 그래프이다.

제8도는 래트 태아 척수 배양물에서 ChAT 활성에 미치는 K-252a 작용성 유도체의 영향을 도시한 그래프이다.

제9도는 래트 해마조직에서 카이네이트-유발 훼손에 미치는 K-252a의 영향을 도시한 그래프이다.

제10도는 래트 해마조직에서 카이네이트-유발 스펙트린 단백분해에 미치는 K-252a의 영향을 도시한 그래프이다.

제11도는 해마조직에 대한 카이네이트-유발 훼손에 미치는 HBCS의 영향을 도시한 그래프이다.

제12도는 래트 해마조직에 대한 카이네이트-유발 스펙트린 단백분해에 미치는 K-252a 유사체의 영향을 도시한 그래프이다.

제13도는 래트 태아 척수 배양물에서 ChAT 활성에 미치는 K-252a 유도체들의 상대적인 활성을 나타낸 표이다.

제14도는 병아리 배근 신경절 배양물에서 신경세포의 생존에 미치는 K-252a 유도체들의 상대적인 활성을 나타낸 표이다.

제15도는 K-252a의 존재하에서 선조체 신경세포의 생존 양상을 도시한 그래프이다.

제16도는 K-252a의 존재하에서 선조체 세포의 생존 양상을 도시한 그래프이다.

제17도는 K-252a의 존재 또는 부재하에서 배양된 선조체 신경세포의 현미경 사진이다.

제18도는 래트 선조체 배양물에서 신경세포의 생존에 미치는 K-252a 유도체들의 상대적인 활성을 나타낸 표이다.

제19도는 출발 화합물(C)로부터의 화합물(H)의 합성 절차를 도시한 것이다.

제20도는 출발 화합물(J)로부터의 화합물(II-45)의 합성 절차를 도시한 것이다.

[발명의 상세한 설명]

[발명의 배경]

단백질 키나제는 아미노산의 포스포릴화에 의해 다수의 세포 단백질을 화학적으로 조절하는 작용을 하는 광범위한 부류의 효소이다.

단백질 키나제의 억제제들은 구조적으로 다양하며, 신경계 및 기타 조직에 대해 다양한(경우에 따라서는 상반된) 효과를 갖는다. 하나의 단백질 키나제의 억제제가 하나 이상의 단백질 키나제에 영향을 미칠 수도 있다. 예를 들면, 노카르디옵시스(Norcardiopsis) sp. 및 악티노마듈라(Actiomadula) sp. 의 배양액으로부터 유리된 알카로이드형 물질인 K-252a 는 원래 단백질 키나제 C 억제제인 것으로 보고된 바 있지만, 차후에 단백질 키나제 A 및 G, 미오신 광-연쇄 키나제, 및 trk(말초, 감각 및 교감 신경세포의 생존을 촉진시키는 신경영양 단백질인 신경 성장인자[NGF]에 의해 활성화된 티로신 키나제)도 억제하는 것으로 밝혀졌다. 이러한 작용과 양립하여, K-252a 는 PC-12 세포(래트 부신수질 종양, 즉, 크롬친화성 세포종으로부터 얻은 크롬친화성 세포)에 대한 NGF 의 신경영양 작용을 차단하며, 배근(dorsal root) 신경절 신경세포 및 해마 신경세포의 생존을 촉진시킨다. 그러나, K-252a 는 광범위한 농도에서 세포독성이 있으므로, 일부 연구진들은 생체내에서 유용성이 제한된다고 결론한 바 있다.

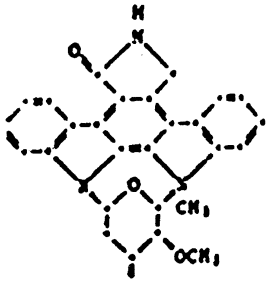
K-252a 와 관련된 미생물의 알카로이드, 즉, 스타우로스포린(staurosporine)은 마찬가지로 각종 단백질 키나제 및 세포에 대해 다양한 작용을 갖는다. 스타우로스포린은 PC-12 세포에 대한 NGF 와 유사한 영향을 미치며, 들쥐의 해마조직을 허혈후 손상으로부터 보호하는 것으로 밝혀졌다. 또한 스타우로스포린은 래트 전뇌의 기부에서 콜린성 신경세포에 대한 훼손을 역전시킬 수 있다.

K-252a 및 스타우로스포린은 종양 억제제로서 제안된 바 있다. 스타우로스포린은 살충제 형태로 상품화된 바 있다. 메틸아민 질소원자 위치에서 치환된 탄화수소 라디칼 또는 아실 라디칼을 가진, 스타우로스포린의 유도체가 제조되어, 종양 억제, 감염증 억제, 면역조절, 및 심장혈관 및 중추신경계 질병 치료 용도에 유용한 것으로 제안된 바 있다.

[발명의 개요]

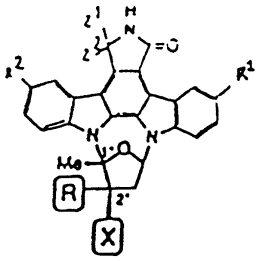
본 발명은 하기 일반식(I)로 표시되는 신규한 스타우로스포린의 비스-N-치환된 유도체에 관한 것이다 :

$[Stau]-N(CH_3)-W-N(CH_3)-[Stau]$ (I)



상기 식중, [Stau]는 일반식 로 표시되는 잔기이고, W는 일반식 -C(=Y)-NH-W'-NH-C(=Y)- 로 표시되는 비스(티오카르바밀) 또는 비스(카르바밀)라디칼이고, W'는 C_2-C_{20}의 히드로카르빌렌 라디칼이며, Y는 O 또는 S이다.

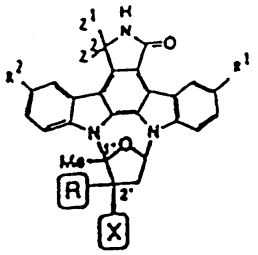
또한, 본 발명은 하기 일반식(II-4)로 표시되는 신규한 K-252a 유도체에 관한 것이다 :



(II-4)

상기 식중, R^1, R^2, Z^1 및 Z^2는 각각 H이고, X는 히드록시메틸(CH_2OH)이며, R는 OCH_3이다.

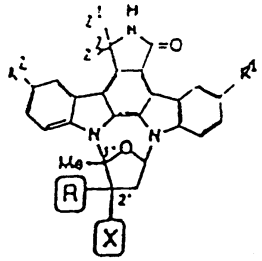
본 발명은 다른 한편으로 하기 일반식(II-14)로 표시되는 신규한 K-252a 유도체에 관한 것이다 :



(II-14)

상기 식중, R^1, R^2, Z^1 및 Z^2는 각각 H이고, X는 CH_2-NH-Ser이며, R은 OH이다.

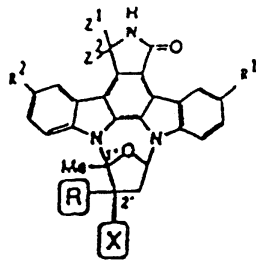
또, 본 발명은 하기 일반식(II-49)로 표시되는 화합물에 관한 것이다 :



(II-49)

상기 식중, R^2, Z^1 및 Z^2는 각각 H이고, R은 OH이고, R^1은 $CH_2SO_2C_2H_5$이며, X는 CO_2CH_3이다.

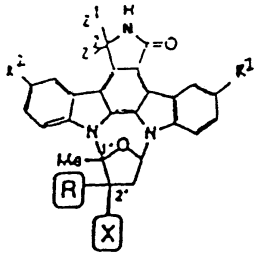
본 발명은 또한 하기 일반식(II-38)로 표시되는 화합물에 관한 것이다 :



(II-38)

상기 식중, R^1, R^2, Z^1 및 Z^2는 각각 H이고, R은 OH이며, X는 $CH_2NHCO_2C_6H_5$이다.

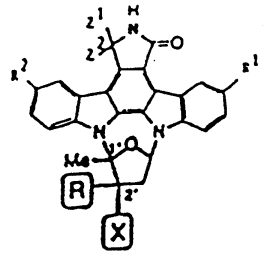
또, 본 발명은 하기 일반식(II-45)로 표시되는 화합물에 관한 것이다 :



(II-45)

상기 식중, R^1과 R^2는 각각 Br이고, R은 OH이며, Z^1과 Z^2는 각각 H이며, X는 $CONHC_6H_5$이다.

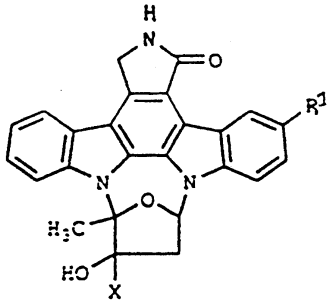
본 발명은 또 한편으로 하기 일반식(II-57)로 표시되는 화합물에 관한 것이다 :



(II-57)

상기 식중, R^1, R^2, Z^1 및 Z^2는 각각 H이고, R은 OH이고, X는 $CH_2NHCO_2CH_3$이다.

본 발명은 또 다른 한편으로 하기 일반식(V)로 표시되는 화합물에 관한 것이다 :



(V)

상기 식중, X는 CO_2R^5(이때, R^5는 저급 알킬임) 또는 $CH_2NHCO_2R^6$(이때, R^6는 저급 알킬 또는 아릴임)이고 : R^1은 수소원자 또는 $CH_2SO_2R^7$(이때, R^7은 저급 알킬임)이되, 단 X=CO_2R^5이고, R^1=수소원자인 조합은 제외한다.

상기 일반식(V)에서의 기의 정의에 있어서, 저급 알킬이라 함은 직쇄 또는 분지쇄의 C_1~C_6 알킬기, 바람직하게는 C_1~C_3 알킬기, 예컨대 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, sec-부틸, t-부틸, 펜틸, 네오펜틸 및 헥실을 의미한다. 아릴은 페닐 및 나프틸과 같은 C_6~C_{10} 아릴기를 의미한다.

상기 일반식(V)의 화합물은 약학적 허용 염의 형태로 존재할 수 있다. 일반식(V) 화합물의 약학적 허용 염으로서는 약학적 허용 산 부가염, 금속염, 암모늄염, 유기 아민 부가염, 및 아미노산 부가염을 들수 있다.

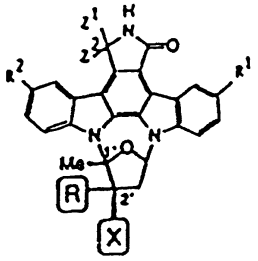
약학적 허용 산 부가염의 예로는 염산염, 황산염 및 인산염과 같은 무기 산 부가염, 및 아세트산염, 말레산염, 푸마르산염, 주석산염 및 시트르산염과 같은 유기 산 부가염을 들수 있다. 약학적 허용 금속염의 예를 들면 나트륨염 및 칼륨염과 같은 알칼리금속 염, 마그네슘 및 칼슘염과 같은 알칼리토류 금속염, 알루미늄염, 및 아연염이다. 약학적 허용 암모늄염의 예로는 암모늄염 및 테트라에틸 암모늄염을 들수 있다. 약학적 허용 유기 부가염의 예를 들자면 모르폴린 및 피페리딘에 의해 형성된 염이다. 약학적 허용 아미노산 부가염의 예로서는 리신, 글리신 및 페닐알라닌에 의해 형성된 염을 들수 있다.

또 다른 한편으로는, 본 발명은 포유 동물, 예컨대 사람에게 치료학적 유효량의 신규한 스타우로스포린의 비스-치환된 유도체를 투여하므로써, 콜린성 신경세포, 선조체 신경세포, 및 감각 신경세포, 예를 들면 배근 신경절 신경세포의 기능을 증강시키는 방법에 관한 것이다. 이 치료방법은 신경영양 인자, 바람직하게는 뉴로트로핀(neurotrophin) 부류의 성분, 가장 바람직하게는 신경 성장 인자(NGF)를 함께 사용하여 수행할 수도 있다. 뉴로트로핀 부류는 NGF에 대해 유의의 상동성을 가진 단백질군을 말하며, NGF 외에도 뇌-유도 신경영양 인자(BDNF ; 문헌[레이브록 등, Nature 341 : 149-152, 1989]) ; 호중구-3(NT-3 ; 문헌

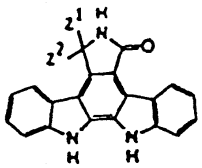
[혼 등, Nature 344 : 339-341, 1990]) ; 및 호중구-5(NT-5 ; 문헌[베르크마이어 등, Neuron 7 : 857-866, 1991]).

또 다른 한편으로, 본 발명은 포유류에게 치료학적 유효량의 신규한 스타우로스포린 비스-치환 유도체를 투여하므로써, 흥분성 아미노산에 의해 유발되는 퇴화로부터 포유류, 예컨대 사람의 신경세포를 보호하는 방법에 관한 것이다. 이와 같은 퇴화가 일어날 수 있는 상태로는 알츠하이머 병 ; 운동성 신경세포 질환, 예를 들면 근위축성 측색경화증 ; 파킨슨 병 ; 뇌혈관성 질병, 예컨대 허혈 증상 ; AIDS 치매 ; 간질 ; 헌팅톤 병 ; 및 뇌 또는 척수에의 진탕 또는 관통 손상을 들 수 있다. 상기 치료방법은 신경영양 인자, 바람직하게는 뉴로트로핀 부류, 가장 바람직하게는 신경 성장 인자(NGF)를 함께 사용하여 수행할 수도 있다.

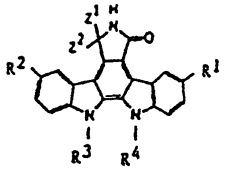
또 한편으로는, 본 발명은 치료학적 유효량의 하기 일반식(II), (III) 또는 (IV) 로 표시되는 K-252a 의 작용성 유도체를 포유류에게 투여하므로써, 포유류, 예컨대 사람에 있어서 콜린성 신경세포, 선조체 신경세포 및 감각 신경세포, 예를 들면 배근 신경절 신경세포의 기능을 향상시키는 방법에 관한 것이다 :



(II)



(III)



(IV)

상기 일반식들로 표시되는 유도체들의 치환기는 하기 표1에 열거된 바와 같다 :

[표 1]

화합물	R^1	R^2	X	R	$Z^{1(1)}$ Z^2
II-1	H	H	CH_2N_3	OH	H
II-2	$NHCONHC_6H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-3	$CH_2SOC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-4	H	H	CH_2OH	OCH_3	H
II-5	H	H	$CONHC_2H_5$	OH	H
II-6	H	H	CH=NNH-	OH	H
II-7(2,7)	H	H	CH_2NH-Gly	OH	H
II-8	H	H	$CON(CH_3)_2$	OH	H
II-9(3)	H	H	$-CH_2NHCO_2-$		H
II-10	Br	H	CO_2CH_3	OH	H
II-11	H	H	$CONH_2$	OH	H
II-12	H	H	CH_2OH	OH	H
III-1	--	H	--	--	H
II-13	H	H	$CONHC_3H_7$	OH	H
II-14(2)	H	H	CH_2NH-Ser	OH	H
II-15	H	H	CH_2SOCH_3	OH	H
II-16	H	H	CH=NOH	OH	H
II-17	H	H	CON O	OH	H
II-18(2,7)	H	H	CH_2NH-Pro	OH	H
II-19	H	H	$CH=NNHC(=NH)NH_2$	OH	H
II-20	Br	Br	CO_2CH_3	OH	O
II-21	H	H	$CONH(CH_2)_2OH$	OH	H
II-22	H	H	CO_2CH_3	OH	O
III-2	--	H	--	--	O
II-23	H	H	H	OH	H
II-24	H	H	$CH=NNHCONH_2$	OH	H
II-25	H	H	CH_2OCOCH_3	OH	H
II-26(3)	H	H	$-CH_2OC(CH_3)_2O-$		H
II-29	$NHCONHC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-30	$CH_2SC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-31	Br	H	CH_2OH	OH	H
II-32	Br	Br	CO_2CH_3	OH	H
II-33	$CH_2SC_6H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-34	Cl	Cl	CO_2CH_3	OH	H
II-36	H	H	$CONHC_6H_5$	OH	H
II-37	H	H	CH_2SO	OH	H
II-38	H	H	$CH_2NHCO_2C_6H_5$	OH	H
II-39	$NHCONHC_2H_5$	$NHCONHC_2H_5$	CO_2CH_3	OH	H
II-40	$N(CH_3)_2$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-41	CH_3	H	CO_2CH_3	OH	H
II-42	$CH_2OCONHC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-43	$NHCO_2CH_3$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-44	Br	Br	CH_2OH	OH	H
II-45	Br	Br	$CONHC_6H_5$	OH	H
II-46	Br	Br	$CONHCH_2CH_2OH$	OH	H
II-47	$CH_2OC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-48	$CH_2N(CH_3)_2$	H	CO_2CH_3	OH	H

II-49	$CH_2SO_2C_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-50	CH_2S	H	CO_2CH_3	OH	H
II-51	$CH_2SC_2H_5$	$CH_2SC_2H_5$	CO_2CH_3	OH	H
II-52	CH=NNH	H	CO_2CH_3	OH	H
II-53	CH_2S	H	CO_2CH_3	OH	H
II-54	$CH_2S(O)$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-55	$CH_2S(O)$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-56	$CH_2SC_2H_5$	CH_2OH	CO_2CH_3	OH	H
II-57	H	H	$CH_2NHCO_2CH_3$	OH	H
II-58	Br	H	$CONH_2$	OH	H
II-59	H	H	$CH_2SC_6H_5$	OH	H
II-60	H	H	CH_2S	OH	H
II-61	H	H	$CH_2SOC_6H_5$	OH	H
IV-1(4,9)	H	H	--	--	H
IV-2(5)	Br	H	--	--	H
IV-3(6)	H	H	--	--	H
IV-4(8,9)	H	H	--	--	H

(1) Z^1 과 Z^2 는 둘다 수소원자이거나, 또는 표시된 바와 같이 Z^1 과 Z^2 는 함께 산소원자를 나타낸다.

(2) NH-아미노산 결합은 아미노산의 카르복실기를 통한 아미드 결합이다.

(3) X 와 R 은 함께 결합하여 연결기를 형성한다.

(4) R^3 는 $CH_2CH=CH_2$ 이고 ; R^4 는 H 이다.

(5) R^3 와 R^4 는 각각 H 이다.

(6) R^3 와 R^4 는 각각 $CH_2CH=CH_2$ 이다.

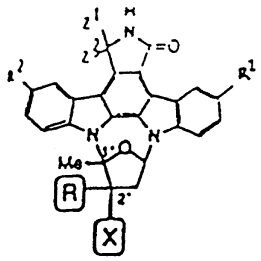
(7) 화합물은 염산염의 형태로 존재한다.

(8) R^3 는 H 이고, R^4 는 $CH_2CH=CH_2$ 이다.

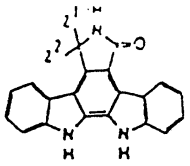
(9) (IV-1) 과 (IV-4) 는 그 두 화합물 성분의 1.5:1.0 혼합물이다.

상기 치료 방법은 신경영양 인자, 바람직하게는 뉴로트로핀 부류, 가장 바람직하게는 신경 성장 인자(NGF)를 함께 사용하여 수행할 수 있다. 이 방법은 헌팅톤 병을 치료하는데 사용할 수 있다.

바람직한 실시 양태에 있어서, 본 발명은 치료학적 유효량의 하기 일반식(II) 또는 (III)으로 표시되는 K-252a의 작용성 유도체를 표유류, 예컨대 사람에게 투여하므로써, 배근 신경절 신경세포의 기능을 향상시키는 방법을 제공한다 :



(II)



(III)

상기 유도체들의 치환기는 하기 표2에 나타낸 바와 같다 :

[표 2]

화합물	R^1	X	R	$Z^{1(2)}$ Z^2
II-1	H	CH_2N_3	OH	H
II-2	$NHCONHC_6H_5$	CO_2CH_3	OH	H
II-3	$CH_2SOC_2H_5$	CO_2CH_3	OH	H
II-4	H	CH_2OH	OCH_3	H
II-5	H	$CONHC_2H_5$	OH	H
II-6	H	CH=NNH-	OH	H
II-8	H	$CON(CH_3)_2$	OH	H
II-9(3)	H	$-CH_2NHCO_2-$		H
II-10	Br	CO_2CH_3	OH	H
II-11	H	$CONH_2$	OH	H
II-12	H	CH_2OH	OH	H
III-1	--	--	--	H
II-13	H	$CONHC_3H_7$	OH	H
II-15	H	CH_2SOCH_3	OH	H
II-17	H	CON O	OH	H
II-19	H	$CH=NNHC(=NH)NH_2$	OH	H
II-20(1)	Br	CO_2CH_3	OH	O
II-21	H	$CONH(CH_2)_2OH$	OH	H
III-2	--	--	--	O
II-23	H	H	OH	H
II-24	H	$CH=NNHCONH_2$	OH	H
II-25	H	CH_2OCOCH_3	OH	H
II-30	$CH_2SC_2H_5$	CO_2CH_3	OH	H
II-32	Br	CO_2CH_3	OH	H

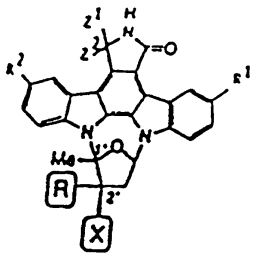
(1) R^2=Br 인 화합물(II-20)과 (II-32)를 제외하고는, R^2 는 수소원자이다.

(2) Z^1 과 Z^2 는 둘다 수소원자이거나, 표시된 바와 같이 Z^1 과 Z^2 가 함께 산소 원자를 나타낸다.

(3) X 와 R 은 함께 결합하여 연결기를 형성한다.

상기 치료 방법은 신경영양 인자, 바람직하게는 뉴로트로핀 부류, 가장 바람직하게는 신경 성장 인자(NGF)를 함께 사용하여 수행할 수 있다.

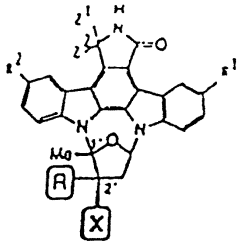
바람직한 실시 양태에 있어서, 본 발명은 치료학적 유효량의 하기 일반식(II)로 표시되는 K-252a를 표유류에게 투여하므로써, 포유류, 예컨대 사람의 콜린성 신경세포의 기능을 향상시키는 방법을 제공한다 :



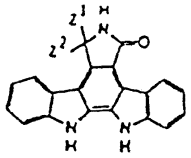
(II)

상기 식중, R^1과 R^2는 각각 H이고, X는 CO_2CH_3이고, R은 OH이며, Z^1과 Z^2는 각각 H이다. 이 치료 방법은 신경영양 인자, 바람직하게는 뉴로트로핀 부류, 가장 바람직하게는 신경 성장 인자(NGF)를 함께 사용하여 수행할 수 있으며, 헌팅톤 병의 치료에 이용할 수 있다.

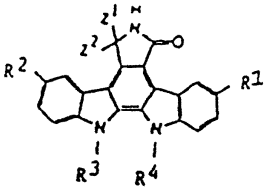
바람직한 실시 양태에 있어서, 본 발명은 하기 일반식(II), (III) 또는 (IV)로 표시되는 치료학적 유효량의 K-252a 또는 K-252a의 작용성 유도체를 포유류, 예를 들면 사람에게 투여하므로써, 선조체 신경세포의 기능 및/또는 생존을 향상시키는 방법을 제공한다 :



(II)



(III)



(IV)

상기 일반식들로 표시되는 화합물의 치환기는 하기 표3에 열거된 바와 같다 :

[표 3]

화합물	R^1	R^2	X	R	$Z^{2(1)}$ Z^1
K-252a	H	H	CO_2CH_3	OH	H
III-1	--	H	--	--	H
II-1	H	H	CH_2N_3	OH	H
II-35	H	H	$CO_2n\text{-}C_6H_{13}$	OH	H
II-20	Br	Br	CO_2CH_3	OH	O
II-10	Br	H	CO_2CH_3	OH	H
II-28	O-n-C_3H_7	H	CO_2CH_3	OH	H
II-5	H	H	$CONHC_2H_5$	OH	H
II-29	$NHCONHC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-2	$NHCONHC_6H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-3	$CH_2SOC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-30	$CH_2SC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-6	H	H	CH=NNH	OH	H
II-31	Br	H	CH_2OH	OH	H
II-32	Br	Br	CO_2CH_3	OH	H
IV-1(2)	--	H	--	--	H
II-33	$CH_2SC_6H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-34	Cl	Cl	CO_2CH_3	OH	H

(1) Z^1 과 Z^2 는 둘다 수소원자이거나, 또는 표시된 바와 같이 Z^1 과 Z^2 가 함께 산소원자를 나타낸다.

(2) R^3는인 CH_2-CH=CH_2이고 ; R^4는 H이다.

상기 치료 방법은 신경영양 인자, 바람직하게는 뉴로트로핀 부류, 가장 바람직하게는 신경 성장 인자를 함께 사용하여 수행할 수 있으며, 헌팅톤 병의 치료에 이용될 수 있다.

본 발명의 다른 특징과 장점들은 이하에 기술하는 바람직한 실시 양태의 설명 및 첨부된 특허 청구의 범위로부터 명백하게 파악될 것이다.

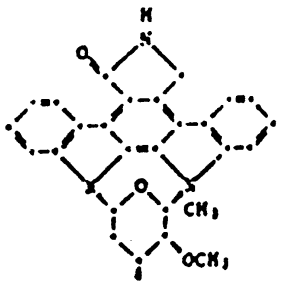
[바람직한 실시 양태의 설명]

먼저 첨부 도면들에 대해 간단히 설명하고자 한다.

[스타우로스포린 유도체]

본 발명은 신규한 스타우로스포린의 비스-N-치환된 유도체 및 이를 신경학적 질병, 특히 손상, 훼손되거나 축삭 퇴화를 일으키거나 사멸 위험성이 큰 신경세포를 특징으로 하거나, 또는 감소된 콜린성 활성을 특징으로 하는 질병에 대한 치료제로서 사용하는 방법에 관한 것이다. 이러한 질병에는 흥분성 아미노산에 의해 유발된 질병이 포함된다. 이와 같은 신규의 유도체의 치료학적인 사용 방법에는 그 유도체를 단독으로 사용하는 방법 및 그 유도체를 외부에서 투여되는 신경영양 인자(바람직하게는 뉴로트로핀 부류, 가장 바람직하게는 신경 성장 인자, NGF)와 함께 사용하는 방법이 포함된다. 본 발명의 범위내의 화합물은 하기 일반식(I)로 표시될 수 있다 :

[Stau]-N(CH_3)-W-N(CH_3)-[Stau] (I)



상기 식중, [Stau]는 일반식 로 표시되는 잔기이고, W는 비스(카르바밀) 또는 비스(티오카르바밀) 라디칼, 즉 -C(=Y)-NH-W'-NH-C(=Y)- 로서, 이때, W'는 C_2-C_{20} 히드로카르빌렌 라디칼이며, Y는 O 또는 S이다. W'는 치환되지 않은 C_2-C_{10} 알킬렌 라디칼 또는 1 내지 3개의 C_1-C_3 알킬기로 치환된 C_2-C_{10} 알킬렌 라디칼 ; 치환되지 않은 C_6-C_{12} 아릴렌 라디칼 또는 1 내지 3개의 C_1-C_3 알킬기, 염소 또는 브롬으로 치환된 C_6-C_{12} 아릴렌 라디칼인 것이 바람직하다. W'는 헥사메틸렌 및 1,4-페닐렌인 것이 특히 바람직하다. Y는 O인 것이 바람직하다.

일반식(I)의 화합물은 카르바메이트 및 티오카르바메이트의 제법으로서 당해 기술 분야에 공지된 절차에 따라 제조할 수 있다. 일반식(I)의 화합물은 비스-디이소시아네이트 또는 비스-디이소시아네이트와 스타우로스포린을 반응시켜, 각각 Y=O 또는 Y=S인 일반식(I)의 화합물을 생성시키므로써 제조하는 것이 바람직하다.

중간체로서 사용하기에 적당한 비스-디이소시아네이트와 비스-디이소티오 시아네이트로는 다음을 들수 있다 :

1,6-디이소시아네이토헥산

톨루엔-2,6-디이소시아네이트

벤젠-1,2-디이소시아네이트

2-메틸-1,5-디이소시아네이토펜탄

나프탈렌-2,6-디이소시아네이트

1,6-디이소티오시아네이토헥산

1,4-디이소티오시아네이토부탄

톨루엔-2,4-디이소시아네이트

벤젠-1,4-디이소시아네이트

1,2-디이소티오시아네이토에탄

나프탈렌-1,5-디이소시아네이트

1,5-디이소티오시아네이토펜탄

벤젠-1,4-디이소티오시아네이트

2-메틸-1,5-디이소티오시아네이토펜탄

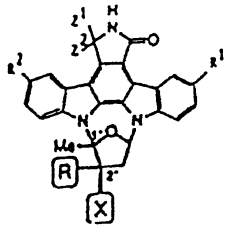
이소시아네이트 및 이소시아네이트의 제법에 관해서는, 문헌 [리히터 및 울리히, pp. 619-818, Patai, "The Chemistry of Cyanates and Their Thio Derivatives", 제2부, 윌리, 뉴욕, 1977]을 참조할 수 있다. 이 화합물들은 포스겐(Y=O) 또는 티오포스겐(Y=S)을 상응하는 디아민과 반응시키므로써 제조되는 것이 바람직하다. 예를 들면, 1,2-디이소아네이토에탄은 에틸렌우레아와 포스겐을 반응시킨 후에 가열하므로써 제조할 수 있다.

[K-252a 유도체]

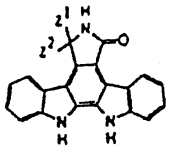
본 발명은 또한 K-252a의 특정한 작용성 유도체를 손상 또는 훼손되어 있거나, 축삭 퇴화를 일으키거나 사멸 위험성이 큰 신경세포를 특징으로 하는 특정의 신경학적 질병 또는 장해에 대한 치료제로서 사용하는 방법에 관한 것이다. 이러한 작용성 유도체는 단독으로, 또는 신경영양 인자(바람직하게는 뉴로트로

핀 부류, 가장 바람직하게는 신경 성장 인자, NGF)와 함께 투여할 수 있다. K-252a의 "작용성 유도체"는 본 명세서에서 신경보호 활성으로서 정의한 소정의 생물학적 활성, 예를 들면 신경세포 생존을 촉진시키는 능력, 신경 섬유(예; 축삭) 성장을 촉진시키는 능력, 콜린성 신경세포 기능을 향상시키는 능력, 감각 세포(예: 배근 신경절 신경세포)의 기능을 향상시키는 능력, 또는 선조체 신경세포의 기능 및/또는 생존을 향상시키는 능력을 가지는, K-252a 분자의 변형된 형태로서 정의된다. 그와 같은 분자의 변형은 분자의 용해도, 흡수성, 이동(예: 혈액-뇌 차단막 및 세포막을 통한 이동), 생물학적 반감기 등을 향상시킬 수 있다. 다른 한편으로, 또는 부가적으로 일부 변형기들은 그 분자의 독성을 저하시키거나, 분자의 바람직하지 못한 부작용을 약화 또는 제거시킬 수 있다.

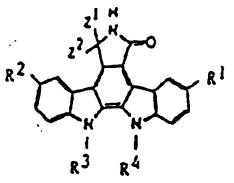
본 발명의 범위내의 화합물들은 하기 일반식(II)[이하, 화합물(II)로서 언급함], 일반식(III)[이하, 화합물(III)로서 언급함], 및 일반식(IV)[이하, 화합물(IV)로서 언급함]으로 표시될 수 있다 :



(II)



(III)



(IV)

본 발명의 범위내에 포함되는 화합물들의 치환기는 하기 표4에 열거된 바와 같다. 본 발명에 의한 K-252a의 작용성 유도체는 당해 기술 분야에 공지된 방법을 이용한 화학적 합성법에 의해 자체적으로 제조될 수 있다. 예컨대, 화합물(II)의 제조에 사용된 절차는 본 명세서에 참고 인용한 무라카타 등의 미합중국 특허 제4,923,986호에 개시되어 있다. 화합물(II)의 제조에 사용된 절차는 문헌 [무디 등, J. Org. Chem. 57 : 2105-2114(1995) ; 스테그리히 등, Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 19 : 459-460(1980) ; 나카니시 등, J. Antibiotics 39 : 1066-1071(1986)] ; 및 일본국 특허원 제60-295172호(1985)에 기술되어 있다. 또 다른 방법으로서, 화합물(II-1), (II-9),(II-12) 및 (II-15)에 대한 제조 절차가 일본국 특허원 제60-295173호(1985)에 ; 화합물(II-2), (II-3),(II-4) 및 (II-24), (II-25) 및 (II-26)에 대한 제조 절차가 일본국 특허원 제62-327858호(1987)에 ; 화합물(II-20)에 대한 제조 절차가 일본국 특허원 제62-327859호에 ; 그리고 화합물(II-10)에 대한 제조 절차는 메이지 세이카 가이샤의 일본국 특허원 제60-257652호(1985)에 기술되어 있다.

[표 4]

K-252a[10] 의 작용성 유도체

화합물	R^1	R^2	X	R	$Z^{1(1)}$ Z^2
II-1	H	H	CH_2N_3	OH	H
II-2	$NHCONHC_6H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-3	$CH_2SOC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-4	H	H	CH_2OH	OCH_3	H
II-5	H	H	$CONHC_2H_5$	OH	H
II-6	H	H	CH=NNH-	OH	H
II-7[2,7]	H	H	CH_2NH-Gly	OH	H
II-8	H	H	$CON(CH_3)_2$	OH	H
II-9[3]	H	H	$-CH_2NHCO_2-$		H
II-10	Br	H	CO_2CH_3	OH	H
II-11	H	H	$CONH_2$	OH	H
II-12	H	H	CH_2OH	OH	H
III-1	--	H	--	--	H
II-13	H	H	$CONHC_3H_7$	OH	H
II-14[2]	H	H	CH_2NH-Ser	OH	H
II-15	H	H	CH_2SOCH_3	OH	H
II-16	H	H	CH=NOH	OH	H
II-17	H	H	CON O	OH	H
II-18[2,7]	H	H	CH_2NH-Pro	OH	H
II-19	H	H	$CH=NNHC(=NH)NH_2$	OH	H
II-20	Br	Br	CO_2CH_3	OH	O
II-21	H	H	$CONH(CH_2)_2OH$	OH	H
II-22	H	H	CO_2CH_3	OH	O
III-2	--	H	--	--	O
II-23	H	H	H	OH	H
II-24	H	H	$CH=NNHCONH_2$	OH	H
II-25	H	H	CH_2OCOCH_3	OH	H
II-26[3]	H	H	$-CH_2OC(CH_3)_2O-$		H
II-29	$NHCONHC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-30	$CH_2SC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-31	Br	H	CH_2OH	OH	H
II-32	Br	Br	CO_2CH_3	OH	H
II-33	$CH_2SC_6H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-34	Cl	Cl	CO_2CH_3	OH	H
II-36	H	H	$CONHC_6H_5$	OH	H
II-37	H	H	CH_2SO	OH	H
II-38	H	H	$CH_2NHCO_2C_6H_5$	OH	H
II-39	$NHCONHC_2H_5$	$NHCONHC_2H_5$	CO_2CH_3	OH	H
II-40	$N(CH_3)_2$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-41	CH_3	H	CO_2CH_3	OH	H
II-42	$CH_2OCONHC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-43	$NHCO_2CH_3$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-44	Br	Br	CH_2OH	OH	H
II-45	Br	Br	$CONHC_6H_5$	OH	H
II-46	Br	Br	$CONHCH_2CH_2OH$	OH	H
II-47	$CH_2OC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-48	$CH_2N(CH_3)_2$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-49	$CH_2SO_2C_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H

II-50	CH_2S	H	CO_2CH_3	OH	H
II-51	$CH_2SC_2H_5$	$CH_2SC_2H_5$	CO_2CH_3	OH	H
II-52	CH=NNH	H	CO_2CH_3	OH	H
II-53	CH_2S	H	CO_2CH_3	OH	H
II-54	$CH_2S(O)$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-55	$CH_2S(O)$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-56	$CH_2SC_2H_5$	CH_2OH	CO_2CH_3	OH	H
II-57	H	H	$CH_2NHCO_2CH_3$	OH	H
II-58	Br	H	$CONH_2$	OH	H
II-59	H	H	$CH_2SC_6H_5$	OH	H
II-60	H	H	CH_2S	OH	H
II-61	H	H	$CH_2SOC_6H_5$	OH	H
IV-1(4,9)	H	H	--	--	H
IV-2(5)	Br	H	--	--	H
IV-3(6)	H	H	--	--	H
IV-4(8,9)	H	H	--	--	H

(1) Z^1 과 Z^2 는 둘다 수소원자이거나, 표시된 바와 같이 Z^1 과 Z^2 가 함께 산소 원자를 나타낸다.

(2) NH-아미노산 결합은 아미노산의 카르복실기를 통한 아미드 결합이다.

(3) X 와 R 은 함께 연결기를 형성한다.

(4) R^3 는 $CH_2CH=CH_2$ 이고 ; R^4 는 H 이다.

(5) R^3 와 R^4 는 각각 H 이다.

(6) R^3 와 R^4 는 각각 $CH_2CH=CH_2$ 이다.

(7) 염산염 형태의 화합물.

(8) R^3 는 H 이고, R^4 는 $CH_2CH=CH_2$ 이다.

(9) (IV-1) 과 (IV-4) 는 그 두 화합물 성분의 1.5:1.0 혼합물이다.

(10) K-252a 자체의 경우 $R^1=R^2=H$ 이고, X= CO_2CH_3 이고, R=OH 이고, Z^1 과 Z^2=H 이다.

본 발명은 또한 상기 일반식(II)로 표시되며 상기 표4에 나타낸 바와 같이 치환되는 K-252a(주:(10))의 치료학적 유효량을 투여하므로써, 콜린성 신경세포의 기능을 향상시키는 방법에 관한 것이다. 상기 화합물은 당해 기술 분야에 공지된 절차에 의해 제조된다(참고예 : 마쯔다 등의 미합중국 특허 제4,554,402호 ; [카세 등, J. Antibiotics 37 : 1059-1065[1986]). "콜린성 신경세포 기능의 향상"이란 콜린성 신경세포 생존, 및/또는 신경 섬유(예: 축삭) 성장을 촉진시키고/시키거나 신경세포의 콜린성 활성을 향상시키는 것을 의미한다. K-252a는 단독으로, 또는 신경영양 인자, 바람직하게는 뉴로트로핀 부류, 가장 바람직하게는 신경 성장 인자(NGF)와 함께 투여할 수 있다.

[화합물의 용도]

이하에 상세히 기술된 바와 같이, 본 발명은 K-252a 또는 일반식(I)의 화합물의 작용성 유도체를, 단독으로 또는 NGF와 같은 신경영양 인자와 함께, 신경학적 질병, 특히 손상, 훼손되거나 축삭 퇴화를 일으키거나 사멸 위험성이 큰 신경세포를 특징으로 하거나, 또는 콜린성 활성의 감소를 특징으로 하는 질병에 대한 치료제로서 사용하는 신규의 용도를 제공한다. 이러한 질병으로는 흥분성 아미노산에 의해 유발된 질병을 들수 있다. 본 발명의 화합물의 생물학적 활성(신경영양 인자와 병용하는 경우 포함)은 배양된 PC-12 세포 오르니틴 디카르복실라제 분석, 배양된 척수 콜린 아세틸트랜스퍼라제 분석, 배양된 배근 신경절 신경 세포 생존 분석, 배양된 선조체 신경 세포 생존 분석, 또는 생체내 독소자극 신경 보호 분석 기법에 의해 용이하게 분석할 수 있으며, 이러한 분석 기법들은 이하에 상세히 기술하였다. 따라서, 본 발명의 화합물은 전술한 바와 같은 신경세포 사멸 또는 기능 장애의 위험이 큰 것을 특징으로 하는 신경학적 질병 또는 장해에 걸린 사람 또는 기타 포유류에게 투여하는데 유용하다. 이와 같은 신경학적 질병과 장해의 예로서는 알츠하이머 병 ; 근위축성 측색 경화증을 비롯한 운동성 신경세포 질환 ; 파킨슨 병 ; 발작 또는 기타 허혈성 손상 ; 헌팅톤 병 ; AIDS 치매 ; 간질 ; 뇌 또는 척수에의 진탕또는 관통 손상 ; 및 말

초 신경장애를 들수 있으나, 이들에 한정되는 것은 아니다.

본 발명에 의해 제공되는 화합물은 약학적 허용 비독성 부형제 및 담체와 혼합하여 약학 조성물로 처방할 수 있다. 전술한 바와 같이, 그 조성물은 비경구 투여용으로, 특히 용액 또는 현탁액의 형태로, 경구 투여용으로, 특히 정제 또는 캡슐의 형태로 ; 또는 비내 투여용으로, 특히 분말, 비강내 점적액 또는 에어로졸의 형태로 제조될 수 있다.

상기 조성물은 단위 투여 제형으로 용이하게 투여할 수 있으며, 약제 기술분야에 공지된 임의의 방법에 의해, 예를 들면 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences(맥 퍼블리싱 컴패니, 이스톤, 펜실베니아, 1980)]에 기술된 바와 같이 제조될 수 있다. 비경구 투어용 제제는 통상적인 부형제로서 멸균수 또는 염수, 폴리에틸렌 글리콜과 같은 폴리알킬렌 글리콜, 야채유, 수소첨가된 나프탈렌 등을 함유할 수 있다. 구체적으로, 생체적합성, 생분해성 락티드 중합체, 락티드/글리콜라이드 공중합체, 또는 폴리옥스프로필렌 공중합체가 활성 화합물의 방출을 조절하는데 유용한 부형제일 수 있다. 기타 상기 활성 화합물에 대해 유용한 비경구 전달계로서는 에틸렌-비닐 아세테이트 공중합체 입자, 삼투압 펌프, 삽입성 주입 시스템, 및 리포좀을 들수 있다. 흡입 투여용 제제는 부형제로서, 예를 들면 락토오즈를 함유하거나, 또는 흡입 투여용 제제는 폴리옥시에틸렌-9-라우릴 에테르, 글리콜레이트 및 데옥시콜레이트를 함유한 수용액, 또는 비강 점적액 형태로 투여하기 위한 유성 용액, 또는 비강내 투여용 겔로서 존재할 수 있다. 또한 비경구 투여용 제제는 설하 투여용 글리콜레이트, 직장 투여용 메톡시살리실레이트, 또는 질내 투여용 시트르산을 포함할 수 있다.

본 발명의 화합물은 의약내에 단일의 활성 성분으로서 사용되거나 또는 다른 활성 성분과 함께, 예컨대 말초 신경장애와 같은 신경학적 질병 또는 장애에 있어서 신경세포 생존 또는 축삭 성장을 촉진시킬 수 있는 기타 신경 성장 인자와 함께 사용될 수 있다.

본 명세서에 개시된 치료학적 조성물내의 화합물의 농도는 여러가지 인자, 예를 들면 투여하고자 하는 약물의 용량, 사용된 화학물의 화학적 특성(예: 소수성), 및 투여 경로에 좌우될 것이다. 일반적으로, 본 발명의 화합물은 비경구 투여용으로서 약 0.1 내지 10%(w/v)의 화합물을 함유하는 생리학적 완충 수용액으로 제공될 수 있다. 통상적인 용량 범위는 1일당 약 1㎍/kg(체중) 내지 약 1g/kg(체중)이며 ; 바람직한 용량 범위는 1일당 약 0.01 mg/kg 내지 100mg/kg(체중)이다. 약물의 바람직한 투여 용량은 신경학적 질병의 형태와 진전도, 특정 환자의 전신 건강 상태, 선택된 화합물의 상대적인 생물학적 효능, 화합물 부형제의 처방, 및 그 투여 경로와 같은 변수에 좌우될 것이다.

이하에서는 실시예에 의거하여 본 발명을 설명하고자 한다. 후술되는 실시예는 본 발명의 영역을 제한하지 않으며, 본 발명의 보호 범위는 첨부된 특허 청구 범위에 의해서만 정의된다.

[실시예 1]

1.6-헥사메틸렌-비스(카르바밀스타우로스포린)(HBCS)

1.00ml의 에틸 아세테이트(무수 황산 마그네슘으로 건조시킨 것)중의 1.0mg(2.15 마이크로몰)의 스타우로스포린(카미야 바이오메티컬 컴패니, 캘리포니아 싸우전드 오우크스) 용액을 1.0ml의 건조된 에틸 아세테이트중의 10.75mg의 헥사메틸렌-비스-이소시아네이트 용액 17μl(1.08 마이크로몰)로 처리하였다. 암갈색 유리 반응 용기내 반응 혼합물을 2일 동안 실온에 방치하였다. 600㎍의 결정 석출물을 분리하였다. 그 조성은 고속 원자 충격 질량 분석법 (FAB-MS)으로 입증하였다.

$M+H^+$ 계산치 = 1102 $M+Na^+$ 계산치 = 1124

실측치 = 1102 실측치 = 1124

이 생성물 및 후술하는 모든 스타우로스포린 유도체는 비화학선의 유리병에 보관하였다.

[실시예 2]

p-페닐렌-비스-(카르바밀스타우로스포린) (PBCS)

1.00ml의 건조된 에틸 아세테이트중의 1.0mg의 스타우로스포린(2.15 마이크로몰) 용액을 1.0ml의 건조된 에틸 아세테이트중의 3.83mg의 p-페닐렌 디이소시아네이트(트란스 월드 케미컬즈 P1586-1)로부터 제조된 45 μl(1.08 마이크로몰)의 용액으로 처리하였다. 반응 혼합물을 하루밤 동안 방지하였다. 백색 침전물이 석출되었다. 그 후 0.5 ml의 석유 에테르를 첨가하였다. 그 혼합물을 진공-건조된 소결-유리 깔대기 내로 여과하였다. 총 0.90mg의 결정질 생성물을 수집하여, 고속 원자 충격 질량 분석법에 의해 p-페닐렌-비스-(카르바밀스타우로스포린)임을 확인하였다.

$M+H^+$ 계산치 = 1093

실측치 = 1093

[제조예 A]

N-페닐카르바밀스타우로스포린(PCS)

참조 문헌 : 미합중국 특허 제5,093,330호

1.50ml의 건조된 에틸 아세테이트중의 2.0mg의 스타우로스포린(4.30 마이크로몰) 용액을 0.990ml의 건조된 에틸 아세테이트중의 10μl의 페닐 이소시아네이트 용액 468μl(4.30 마이크로몰)로 처리하였다. 그

용액을 하루밤 동안 방치시키고, 3ml의 헥산을 나누어서 첨가하였다. 2.39mg의 무색 결정을 수득하였다. 1ml의 에틸 아세테이트 및 2ml의 석유 에테르로부터 그 생성물을 재 결정한 후, 1.75mg의 결정질 생성물을 분리하였다. 유사한 제조 절차로부터, FAX-MS에 의해 N-페닐카르바밀 스타우로스포린으로서의 생성물의 조성이 입증되었다.

$M+H^+$ 계산치 = 586

실측치 = 586

[제조예 B]

N-페닐카르바밀스타우로스포린(PCS)

1.00ml의 에틸 아세테이트중의 1.0mg(2.15 마이크로몰)의 스타우로스포린 용액을 1.00ml의 에틸 아세테이트중의 10μl의 페닐 이소시아네이트의 모액 26μl로 처리하였다. 그 분취물은 290㎍(2.15 마이크로몰)의 페닐 이소티오시아네이트를 함유하였다. 그 반응 혼합물을 하루밤 동안 25℃에서 유지한 다음 2.0ml의 헥산을 첨가하였다. 결정질 생성물을 여과 분리하여 헥산으로 세척하고, 아르곤 기류로 건조시켰다.

FAB-MS 계산치 : $M+H^+$ = 602

실측치 = 602

[제조예 C]

N-에틸카르바밀스타우로스포린(ECS)

900μl의 에틸 아세테이트중의 0.9mg(1.93 마이크로몰)의 스타우로스포린 용액을 1.93 마이크로몰의 에틸 이소시아네이트(2.00ml의 건조된 에틸 아세테이트중의 9.05mg의 에틸 이소시아네이트 모액 30.2μl)로 처리하였다. 반응 혼합물을 25℃에서 하루밤 동안 유지시키고, 2.0ml의 헥산을 첨가하였다. 결정성 생성물을 분리하고 건조시켰다.

FAB-MS 계산치 : $M+H^+$ = 538 $M+Na^+$ = 560

실측치 : = 538 = 560

[실시예 3]

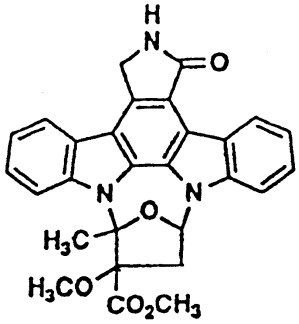
화합물 (II-4)

화합물A(962mg, 2몰)를 30ml의 테트라히드로푸란 및 10ml의 메탄올의 혼합물에 용해시킨 후, 760mg의 나트륨 보로하이드리드(20mmol)을 빙냉하여 첨가하고, 같은 온도에서 4시간, 그후 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 3N 염산을 첨가한 후, 그 용액을 염화나트륨 수용액으로 세척하고, 황산 마그네슘으로 건조시킨 다음, 용매를 증발시켰다. 그 잔류물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(클로로포름/메탄올 = 98/2)로 정제하여 882mg(수율 97%)의 화합물(II-4)를 수득하였다.

융점 : 130-140℃

^1H NMR(DMSO-d_6) δ (ppm): 2.032(1H, dd, J=5.0, 13.9Hz), 2.231(3H, s), 2.967(3H, s), 3.609(1H, dd, J=7.6, 13.4Hz), 3.959(2H, m), 5.000(2H, s), 5.268(1H, t, J=5.3Hz), 7.065(1H, dd, J=4.9, 7.3Hz), 7.254-8.038(7H, m), 8.565(1H, s), 9.206(1H, d, J=7.8Hz)

화합물 (A)



[실시예 4]

화합물 (II-14)

화합물 (B) (393mg, 0.9mmol)를 25ml의 테트라히드로푸란에 용해시킨 후, 309mg의 카르보벤즈옥시-L-세린(1.35mmol), 156mg의 N-옥시숙신이미드(1.35mmol), 0.1ml의 4-메틸모르폴린(0.9mmol)및 279mg의 디시클로헥실카르보디이미드(1.35mmol)을 함유하는 3ml의 테트라히드로푸란을 빙냉하에 첨가한 다음, 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 용매를 증발시켰다. 그 잔류물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(클로로포름/메탄올 = 99/1)로 정제하여 429mg(수율 72%)의 화합물(C)를 수득하였다.

융점 : 188-193℃

SIMS(m/z) : 660 $(M+1)^+$

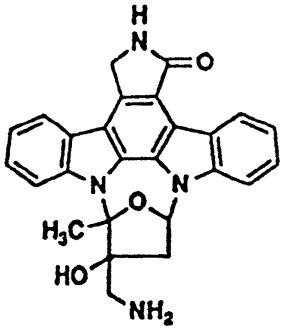
화합물 (C) (399mg)을 10ml의 디메틸포름아미드에 용해시킨 후, 탄소상의 10% 팔라듐 300mg을 첨가한 다음, 수소 기류중에서 7시간 동안 50℃ 하에 교반하였다. 반응 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고, 용매를 증발시켰다. 그 잔류물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(클로로포름/메탄올 = 28% 수산화암모늄 = 90/10/1)로 정제하고, 수득한 생성물을 5ml의 테트라히드로푸란에 용해시킨 후, 5ml의 1.7N 염화수소/에틸 아세테이트 및 10ml의 디에틸 에테르를 첨가하였다. 침전물을 여과시켜 용액으로부터 분리하여 234mg(수율 69%)의 화합물(II-14)를 수득하였다.

융점 : >300℃

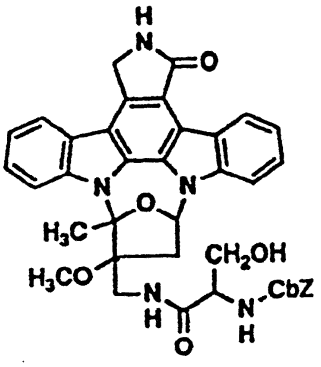
^{1}H-NMR(DMSO-d_6+D_2O) δ (ppm): 1.92-2.28(1H, m), 2.20(3H, s), 2.84-3.12(7H, m), 3.40-4.20(5H, m), 5.04(2H, s), 6.98(1H, m), 7.24-8.20(7H, m), 8.76(1H, brs), 9.22(1H, d, J=8Hz)

SIMS(m/z): 527$(M+2)^+$

화합물(B)



화합물(C)



CbZ : 카르보벤즈옥시

[실시예 5]

PC-12 세포는 쥐의 부신 수질의 종양에서 유래한 클론 군집이며, NGF(거로프, 신경 과학에서의 세포 분양, 플레넘 퍼블리싱 코오포레이션, 1985, 8장, 245-272면)의 활성 연구에 대해 매우 유용하고 널리 연구된 모델임이 입증된 바 있다. 상기 세포에 미치는 NGF의 한가지 구체적으로 확실한 효과는 오르니틴 디카르복실라제(ODC)의 활성을 신속하게 자극한다는 것인데, 그 효과는 200nM K-252a에 의해 차단되는 것으로 보고되었다(코이즈미등, 1988). 본 실시예의 실험에서는 PC-12 세포(지. 거로프 박사로부터 입수함)를 48-웰 평판에 6×10^4 세포/㎠의 밀도로 배양하고, 약제 부형제(0.5% DMSO), 스타우로스포린 또는 HBCS와 함께 항온 배양하였다. K-252a 및 스타우로스포린은 카미야 바이오메디칼에서 상업적으로 입수 가능하다. 약제 첨가 4시간 후, 세포를 채취하여 호프 등의 문헌(J. Cell Biol. 88 : 189-198, 1981)에 기술된 바와 같은 ODC 분석을 실시하였다.

3개의 화합물은 모두 ODC 활성을 유도(즉, 증가)시켰지만, 효력 및 효능에서는 상당한 차이가 있었다(제1도). K-252a는 용량에 따라 다르게 ODC 활성을 유도하였는데, 2nM에서는 상당히 감소하였다. HBCS도 유사하게 2nM에서 유도하였으나, 보다 높은 농도에서는 증가된 효과를 산출하지 못하여 최대 효능은 다른 두 화합물의 효능보다 훨씬 더 적었다(6.5배 유도). 또 다른 실험에서, PC-12 세포 활성에 미치는 PTCS, PCS 및 ECS의 효과를 K-252a의 효과와 비교하였다. 200nM 농도에서는 K-252a의 활성을 100%로 표현할 때, PTCS는 K-252a 활성의 71.4%를 나타낸 반면, PCS 및 ECS는 각각 K-252a 활성의 88.9% 및 61.9%를 나타내었다. 그러나, 단백질 키나제 C 억제제 H-7은 단백질 키나제 C 활성을 억제하는 것으로 알려진(나카다테등, Biochem, Pharmacol. 37: 1541-1545, 1988) 농도인 30μM에서 ODC 활성을 유도하지 못했다.

K-252a, 스타우로스포린 및 HBCS가 NGF 생활성을 증가시키고/또는 억제시키는 능력은 전술한 농도의 상기 화합물들의 존재 또는 부재하에 세포 배양 배지 1ml당 10ng의 NGF를 첨가하여 평가한 다음, 상기와 같이 세포들의 ODC분석을 실시하였다(제2도). 이 농도의 NGF를 선택하여 중간 정도로 유도시켜 화합물의 증가 또는 억제 효과를 검출할 수 있었다. 코이즈미등(1988)에 보고된 바와 같이, 200nM에서 K-252a는 ODC의 NGF 유도를 억제하였으나, 놀랍게도 보다 낮은 농도(2nM 및 20nM)에서 유도를 증가시켰다. 2nM의 스타우로스포린은 또한 NGF에 의한 유도를 증가시켰으나, 이 효과는 보다 높은 농도(20 및 200nM)에서 상실되었다. 대조적으로 HBSS는 시험한 모든 농도에서 NGF의 효과를 증가시켰다. 이 현저한 효과는 제3도에 HBCS만의 중간 ODC-유도 효과와 비교하여 나타내었다.

[실시예 6]

콜린 아세틸트랜스퍼라제(ChAT) 활성에 미치는 K-252a의 효과는 표준 방법(하기 참조)에 의해 태내 쥐로부터 조제한 분리된 척수 배양물에서 분석하였다. ChAT는 신경 전달 물질인 아세틸콜린의 합성을 촉매하는 효소이며, 콜린성 신경 세포에 대한 특이 생화학적 마아커이다. 척수에서, 콜린성 신경세포의 대다수는 운동성 신경세포이다. 따라서 상기 효소의 분석은 콜린성 신경세포의 생존 및/또는 상기 효소의 조절에 미치는 인자(들)의 효과의 지표로서 사용할 수 있다.

세포들을 기질에 부착되도록 평판에 깐 다음 2 내지 3시간 동안 항온 배양한 후 K-252a를 지시된 농도로 첨가하였다. 48시간 배양후 ChAT 활성을 측정하였다. 척수 배양물중 K-252a는 용량에 따라 다르게 ChAT 활성을 증가시켰는데, 최대 효능(2 내지 3배 증가)은 200 내지 300nM에서 나타났다(제4도). 보다 높은 농도는 ChAT 활성을 감소시켰다(제4도). 보다 긴 항온 배양 기간, 즉 7일까지의 기간 동안 ChAT 활성은 4 내지 5배 증가되었는 데, 그것은 ChAT 활성의 기초 수준이 감소되었기 때문이다. 이 배양 시스템에서 많은 수의 운동성 신경세포는 기초(대조)조건하에서 시간에 따라 퇴화되어 사멸한다(맥매너맨 등, Developmental Biol. 125: 311-320, 1988). 제4도 및 제5도에 도시한 결과는 배양 개시일에 K-252a를 1회 첨가한 결과로서 척수의 콜린성 신경세포의 생존 및/또는 효소 자체의 조절에 지속적으로 영향을 미침을 나타낸다. 방법: 태내 쥐 척수 세포의 분리된 배양물을 사용한 실험은 개시된 일반적인 절차로 실시하였다(스미쓰 등, J. Cell Biol. 101: 1608-1621. 1985). 분리된 세포는 당업자에게 공지된 표준 기술에 의해 14일된 상태의 쥐로부터 조직의 트립신 분해를 사용하여 절개한 척수로부터 조제하였다(스미쓰 등, 1985). 무혈청 N2 배지중 폴리-1-오르니틴 피복된 플라스틱 조직 배양 웰에 6×10^5 세포/㎠ 세포를 파종하고(깔고), 5% CO_2/95% 공기(오텐스타인 앤드 사토, PNAS USA 76: 514-517, 1979)로 된 습윤 대기하 37℃에서 48시간 동안 항온 배양하였다. 이시다 및 데구찌의 문헌[J. Neurosci, 3: 1818-1823, 1983) 및 맥매너맨등의 문헌[상기 참조, 1988]에 따른 포넘 방법[J. Neurochem. 24: 407-409, 1975]을 변형시켜 사용해서 ChAT 활성을 측정하였다. 비신코니신산(bicinchonicic acid)/Cu^{++} 반응(BCA 단백질 분석 시약, 일리노이, 로크랜드의 피어스)에 의해 측정된 총 단백질에 대해 활성을 표준화하였다.

[실시예 7]

K-252a 100개 이상의 작용성 유도체를 척수 ChAT 분석에서 시험하여 그 상대 효능을 측정하였다. 제8도에 제시한 데이타는 300 및 30nM에서 시험한 본래의 작용성 유도체중에서 28개가 300nM에서 ChAT 활성을 상당히 증가시켰음을 나타내고 있다. 하나의 작용성 유도체, 즉 화합물(II-21)은 또한 30nM에서 활성이 있었다(기초 수준에 대해 ChAT 활성이 30% 증가). 이 혼합물은 K-252a 또는 나머지 유사체보다 더 강력하였는데, 왜냐하면 이들중 어느 것도 30nM에서 ChAT 활성을 활발히 증가시키지 못했기 때문이다.

제13도는 쥐의 척수 배양물에서 ChAT 활성을 상당히 증가시키는 것으로 나타난 본래의 28개 K-252a 유도체, 뿐만 아니라 30개의 추가 유도체(전체 통틀어서, 화합물 (II-29) 내지 (II-34), (II-36) 내지 (II-56), 및 (IV-1) 내지 (IV-3)의 효과를 나타낸다.

[실시예 8]

500개의 작용성 유도체 뿐만 아니라 K-252a를 그들이 배근 신결절 신경세포 생존을 촉진하는 능력에 대해 평가하였다. 세포 생존율은 잔존성 염료인 플루오레세인 디아세테이트의 유사물인 칼세인 AM을 흡수시켜 측정하였다. 칼세인은 생세포에 의해 흡수되어 세포내에서 형광성 염으로 절단되고, 그것은 생세포의 손상되지 않은 막에 보유된다. 생존하는 신경세포의 현미경에 의한 계수는 형광 측정 생존성 분석으로 수

득한 상대 형광가와 직접적인 상관관계가 있다. 따라서 이 방법은 특징 배양물의 총 세포 군집에서의 세포 생존율의 신뢰성있고 정량적인 측정 방법을 제공한다.

배근 신경질 신경세포 생존율은 농도-의존적 방식으로 K-252a에 의해 증가하였고; 최대 활성은 약 100nM에서 관찰되었다(제6도). 시험한 50개 유사물중 24개가 DRG 신경세포 생존을 촉진하는 데 활성이 있었으며, 그 중 2개를 제7도에 나타내었다. 이들 유사체는 모두 척수 ChAT 활성을 증가시키는데에도 활성이 있었다(실시예 5, 제8도 참조). 2개의 추가 활성 유사체(II-30, II-32) 뿐만 아니라 본래의 22개 유사체는 제14도에 나타내었다. 24개의 활성 작용성 유동체로 자극된 배근 신경절 신경세포의 현미경 검사로부터 신경 섬유의 가지 역시 증가한 것으로 나타났다.

방법: 배근 신경절을 8일령의 병아리 태아로부터 절개하고, 계속하여 디스파제(중성 프로테아제, 콜래버러티브 리서치) 분해에 의해 제조된 세포를 분리하였다. 신경세포를 저밀도(1.8×10^4 세포/㎠로 96 웰 폴리-L-오르니틴 및 라미닌 피복된 평판에 깔았다. 습윤 대기 5% CO_2/95% 공기중에서 37℃하에 무혈청 N2 배지(보텐스타인 앤드 사토, 1979)내에서 세포를 48시간 동안 배양하였다. 상술한 생 형광 분석법을 사용하여 48시간째의 세포 생존율을 평가하였다.

[실시예 9]

자극성 아미노산 카인산(카이네이트)을 설치류의 뇌실내에 주입한 결과 하마의 추체 세포의 신경세포 퇴화가 일어났다. 이 신경세포의 기능 상실은 세포 골격 단백질인 스펙트린의 단백분해를 현저하게 증가시키는 것이 특징이다. 스펙트린 분해 생성물은 카이네이트 투여후 24시간 내에 해마의 균질물에서 측정할 수 있다. 스펙트린 분해의 양은 해마의 추체 세포의 신경세포 기능 상실의 양과 상관 관계가 크고(사이먼등, J. Neurosci. 9: 1579-1590, 1989), 따라서 스펙트린 단백분해가 자극성 아미노산-유발 신경세포 퇴화의 우수한 생화학적 마아커이다. 내인성 자극성 아미노산의 과다 방출은 다수의 신경학적 질병 및 장해, 예를 들면, 발작 및 기타 허혈성 손상; 알츠하이머병; 근위축성 측색 경화증과 같은 운동성 신경세포 질병; 파킨슨병; 헌팅톤병, AIDS 치매; 간질; 및 뇌 또는 척수의 진탕성 또는 관통성 손상에서의 병인으로서 관련되어 있다.

제9도는 해마에서 카이네이트-유발 신경세포 퇴화에 미치는 K-252a의 효과를 나타낸다. 캐눌라를 삽입한 스프라그-돌리 쥐의 암수에게 측 뇌의 뇌실내로 직접 카이네이트(0.6㎍)을 주사(icv)하기 30분전 및 주사 후 약 3 및 24시간째에 0.4㎍dml K-252a 또는 부형제를 투여하였다. 2주후, 뇌를 절제하고, 냉동시키고, 분할하며 하기하는 바와 같이 조직학적 분석을 위해 염색하였다. 제시한 데이타는 각 군에 대해 손상된 하마의 세부 영역의 평균 숫자 ±S.E.M.이다. K-252a는 해마내 손상된 영역의 수를 3.86 ± 0.78(K-252a의 부재시)로부터 1.18 ± 0.4(K-252a의 존재시)까지 크게 감소시켰다.

제10도는 해마내 카이네이트-유발 스펙트린 분해에 미치는 K-252a의 효과를 나타낸다. 스프라그-돌리 쥐 암컷에게 icv 주입에 의해 신경 독성 용량의 카이네이트(0.6㎍)와 함께 0.4㎍의 K-252a 또는 부형제를 투여하였다. 모의 대조 동물에게는 부형제를 주입하였으나, 카이네이트나 K-252a는 주입하지 않았다. 24시간 후, 배측 하마의 균질물을 하기와 같이 스펙트린 분해 생성물에 대해 분석하였다. 스펙트린 단백분해의 양은 대조값에 대해 각 군에 대한 스펙트린 분해 생성물의 증가 %로 표현하였다. 제시한 데이타는 각 군(대조군 = 100%)에 대한 스펙트린 분해 생성물의 평균 증가 % ±S.E.M.이다. HBCS는 해마내 손상된 영역의 수를 2.5 ± 0.6(HBCS 처리하지 않을 경우)으로부터 1.3 ± 0.5(HBCS 처리할 경우)까지 크게 감소시켰다.

[실시예 10]

제11도는 해마내 카이네이트-유발 신경세포 퇴화에 미치는 HBCS의 효과를 나타낸다. 캐눌라를 삽입한 스프라그-돌리쥐의 암컷에게 카이네이트(0.6㎍)를 icv 주입하기 40분전 및 주입후 약 4시간찌에 0.8㎍의 HBCS 또는 부형제를 주입하였다. 2주후, 뇌를 절제하고, 냉동시키고, 분할하고, 하기하는 바와 같이 조직학적 분석을 위해 염색하였다. 제신한 데이타는 각 군에 대해 손상된 해마의 세부-영역의 평균 숫자 ± S.E.M이다. HBCS는 해마내 손상된 영역의 수를 약 2.5±0.6(HBCS 처리하지 않을 경우)으로부터 1.3±0.5*HBCS 처리할 경우)까지 크게 감소하였다.

[실시예 11]

제12도는 해마내 카이네이트-유발 스펙트린 분해에 미치는 3개의 K-252a 작용성 유도체의 효과를 비교한 것이다. 스프라그-돌리 쥐 암컷에게 icv 주입에 의해 신경 독성 용량의 카이네이트(0.6㎍)와 함께 0.4㎍의 K-252a 또는 화합물(III-1) 또는 (II-21) 또는 부형제를 주입하였다. 모의 대조 동물에게는 부형제를 주입하였으나, 카이네이트나 K-252a 유도체는 주입하지 않았다. 24시간 후, 배측 해마의 균질물을 하기하는 바와 같이 스펙트린 분해 생성물에 대해 분석하였다. 단백질 분해의 양은 대조값에 대해 각 군에 대한 스펙트린 분해 생성물의 증가%로 표현하였다. 제시한 데이타는 각 군(대조군 = 100%)에 대한 스펙트린 분해 생성물의 평균 증가 % ±S.E.M.이다. K-252a의 icv 주입은 스펙트린 단백질 분해량을 대조값의 약 128 +9%(부형제 처리)로부터 약 104 ±4%(K-252a의 존재시)까지 감소시켰다. K-252a 유도체(III-1) 및 (II-21)은 카이네이트-유발 스펙트린 단백분해를 방지하지 못했다.

[제9도 내지 제12도의 방법]

카이네이트 주입 체계:

카이네이트-유발 신경세포 손상에 미치는 K-252a 또는 그 유도체의 효과는 다음과 같이 평가하였다: 스프라그-돌리 쥐 암수 성체를 넴부탈(50mg/kg, 복강내 투여)로 마취시키고, 상기 각각의 경우에 대해 나타낸 용량 및 주입 예정표를 사용하여 icv 주입에 의해 카이네이트 처리(5㎕)하기 전후에 약제 또는 부형제를 총 5㎕의 양으로 투여하였다. 대조 동물에게는 카이네이트 및 약제 주입 대신에 부형제를 투여하였다. 해부학적 연구를 위해, 약제 주입 약 1 주전에 다음과 같은 촉주성 좌표에 위치하도록 삽입된 캐눌라(플라스틱 윈, 버지니아 로아노우크)를 통해 icv 주입하였다: 전정에서 전후, 전정에 1.5mm 측방, 및 두개골 상부로부터 복측으로 4.4mm 처리 결과는 하기 해부학적 분석을 이용하여 2주후에 평가하였다.

K-252a 또는 그 유도체가 카이네이트-유발 스펙트린 단백분해에 미치는 효과를 평가하기 위한 연구에서, 마취시킨 쥐에게 상기한 촉주성 좌표에 위치하는 10㎕ 해밀턴 시린지를 통해 카이네이트와 동시에 5㎕의 약제 또는 부형제를 icv 주입 하였다. 이들 쥐를 24시간 뒤에 사망시키고, 하기와 같은 생화학적 분석을 실시하였다.

해부학적 및 생화학적 분석

해부학적 분석은 하기와 같이 실시하였다. 처리 2주후 쥐를 절두시키고, 신속하게 뇌를 꺼내서 드라이아이스로 냉동시켰다. 각 뇌로부터 일련의 슬라이드-착상된 관측 단면을 티오닌으로 염색하고 현미경으로 검사하였다. 추체 세포가 상실된 뇌의 좌우측상에서 해마의 총 4개의 해부학적으로 한정된 영역(쉐퍼드의 문헌 [The Synaptic Organization of the Brain, 옥스포드, 310면, 본원에 참고로 인용함]에 기술된 바와 같이 로렌테 드 노의 분류에 따른 CA1-4)을 합하여 해마에 대한 손상을 정량 분석하였다.

생화학적 분석은 하기와 같이 실시하였다. 뇌 스펙트린(포드린)의 칼파인 I-민감성 단백분해는 사이먼등의 문헌[1988, Neuron, 1:279-287, 본원에 참고로 인용함]에 기술된 면역블롯 분석을 사용하여 해마의 균질물에서 평가하였다. 간단히, 쥐들을 처리 24시간 후 절두시키고, 신속히 배측 해마를 뇌로부터 절제하고, 0.1mM 페닐 설포닐 플루오라이드를 함유하는 20mM 트리스-HCl(pH 7.4)에서 균질화하였다. 각각의 균질물의 분취물로부터 단백질을 SDS-PAGE로 분리하고, 면역블롯 분석을 이용하여 각 샘플내 카이네이트-유발 스펙트린 분해량을 정량 분석하였다.

[실시예 12]

K-252a가 선조체 배양물에서 생존을 촉진하는 능력을 평가하였다. 17일령의 쥐 태아로부터 선조체를 절제하고, 세포를 디스파제(중성 프로테아제, 콜래버러티브 리서치)로 분리하였다. 사전에 폴리-1-오르니틴 및 라미닌으로 피복된 96-웰 평판에 신경세포를 5 × 10^4/웰(1.5 × 10^5/㎠)로 깔았다. 습윤 대기 5% CO_2/95% 공기중 37℃에서 0.05% 소혈청 알부민(보텐스타인 앤드 사토, 1979)을 함유하는 무혈청 N2 배지에서 세포를 배양하였다. 파종 5일후에 실시예 8에 기술한 칼세인 생 형광 분석법을 사용하여 세포 생존을 평가하였다.

선조체 신경세포 생존율은 농도-의존적 방식으로 K-252a에 의해 증가되었다. 최대 활성은 75nM K-252a에서 확인되었고, 대조군에 비해 3 내지 4배의 효능을 나타내었다(제15도). 대조군 배양물에서, 0일째 평판에 깐 신경세포의 90%가 5일내에 사망한 반면, K-252a로 처리한 배양물에서는 50%의 신경세포가 생존하였다(제16도). 선조체 신경세포에서의 생존 효과는 배양 3일후에 나타났고, 배양 7일 이상 동안 지속되었다. 이들 결과는 배양 개시일에 K-252a를 1회 투여하므로써 나타난 것이며, 이것은 특정 신경세포 군집에 미치는 생존의 지속적 효과를 나타내는 것이다.

제17도는 대조 배양물 또는 75nM K-252a로 처리한 배양물에서 찍은 한쌍의 광학 현미경 사진이다. 75nM K-252a의 존재시 이들 배양물에서는 세포 생존율의 증가와 축색의 성장이 일어났다.

[실시예 13]

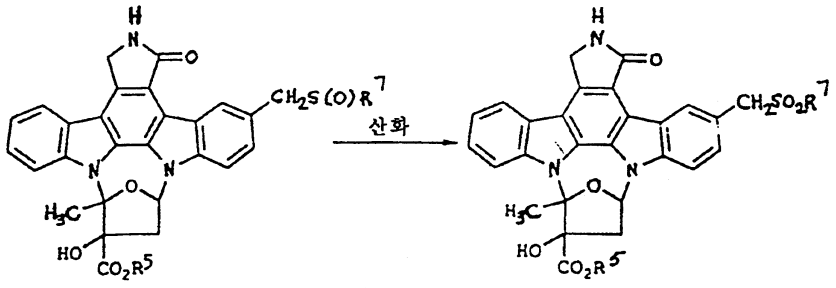
K-252a의 31개 작용성 유도체를 시험하여 실시예 10의 선조체 세포 생존 분석에서 그 효력 및 효능을 측정하였다. 제18도는 선조체 신경세포의 생존을 촉진한 18개의 K-252a 유도체에 관한 데이타를 나타낸 것이다.

[화합물(V)의 제조방법]

화합물(V)의 제조방법을 하기에 기술한다.

[방법 1]

화합물(V-1)[R^1이 $CH_2SO_2R^7$이고, X는 CO_2R^5인 화합물(V)]을 하기 반응 단계에 의해 제조할 수 있다:



(A) (V-1)

(R^5는 저급 알킬 또는 $CH_2NHCO_2R^6$[여기서, R^6는 저급 알킬 또는 아릴을 의미함]을 의미하고 R^7는 저급 알킬을 의미함).

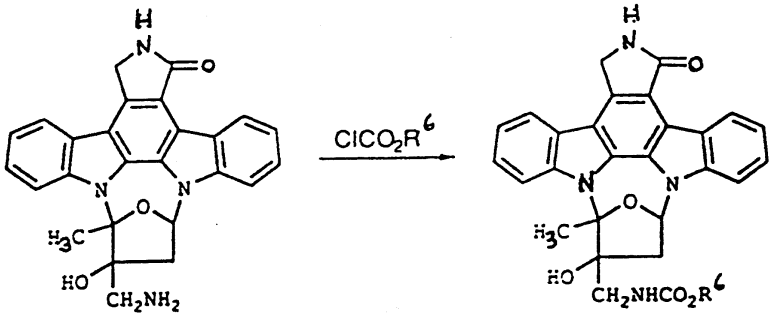
출발 화합물(A)는 일본국 공개 미심사 특허 출헌 제295588/88호(본원에 참고로 인용함)에 개시되어 있다.

화합물(V-1)은 1 내지 1.5당량의 산화제로 화합물(A)를 처리하여 수득할 수 있다. 산화제의 일례는 m-클

로로퍼벤조산이다. 반응 용매로는, 염화 메틸렌, 클로로포름 또는 이염화 에틸렌같은 할로겐화 탄화수소를 사용하였다. 반응은 -20 내지 30℃에서 0.5 내지 1시간내에 완결되었다.

[방법 2]

화합물(V-2)[R^1이 수소이고, X가 $CH_2NHCO_2R^6$인 화합물(V)]는 하기 반응 단계에 의해 제조할 수 있다:



(B) (V-2)

상기 반응도식에서,

R^6는 저급 알킬 또는 아릴을 의미한다.

출발 화합물(B)는 일본국 공개 미심사 특허 출헌 제155285/87호(본원에 참고로 인용함)에 개시되어 있다.

화합물(V-2)는 1 내지 3당량의 염기 존재하에 화합물(B)를 1 내지 3당량의 $ClCO_2R^6$와 반응시켜 수득할 수 있다. 상기 염기의 일례는 트리에틸아민이다. 반응 용매로는 염화 메틸렌, 클로로포름 또는 이염화 에틸렌등과 같은 할로겐화 탄화수소를 사용하였다. 반응은 -10 내지 30℃에서 0.5 내지 3시간내에 완결되었다.

[실시예 14]

화합물(II-49)

화합물(A-1; R^5=CH_3 및 R^7=(C_2H_5)) (27mg, 0.05mmol)을 1ml의 클로로포름에 용해시킨 후, 10mg(0.06mmol)의 m-클로로퍼벤조산을 빙냉하게 첨가한 다음, 동일한 온도에서 45분 동안 교반하였다. 클로로포름으로 희석한 후, 혼합물을 티오황산나트륨의 8% 수용액, 중탄산 나트륨의 포화 수용액, 물 및 염수 용액으로 연속하여 세척하고, 황산 나트륨으로 건조시켰다. 용매를 증발시킨 후, 그 잔류물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(클로로포름/메탄올=95/5)로 정제하여 17.7mg(수율 62%)의 화합물(II-49)를 수득하였다.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ (ppm): 1.298(3H, t, J=7.5Hz), 2.037(1H, dd, J=5.0, 14.1Hz), 2.153(3H, s), 3.096(2H, q, J=7.5Hz), 3.266(2H, s), 3.929(3H, s), 4.985(1H, d, J=17.0Hz), 5.043(1H, d, J=17.0Hz), 6.348(1H, s), 7.147(1H, dd, J=4.9, 7.1Hz), 7.345-8.070(6H, m), 8.612(1H, s), 9.232(1H, d, J=1.5Hz)

FAB-MS(m/z): 574$(M+1)^+$

[실시예 15]

화합물(II-57)

화합물(B)(43.8mg, 0.1mmol)를 1ml의 테트라히드로푸란에 용해시킨 후, 9.3㎕(0.12mmol)의 메틸 클로로포르메이트 및 28㎕(0.2mmol)의 트리에틸아민을 첨가한 다음, 빙냉하에 50분 동안 교반하였다. 테트라히드로푸란으로 희석시킨 후, 혼합물을 염수 용액으로 세정하고, 황산나트륨으로 건조시켰다. 용매를 제거한 후, 잔류물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(클로로포름/ 메탄올=99/1)로 정제하여 32.6mg의 화합물(II-

57)을 수득하였다.

^{1}H-NMR($CDCl_3$) δ(ppm): 2.099(3H, s), 2.679(1H, m), 3.204(1H, dd, J=6.7m, 13.8Hz), 3.837(3H, s), 4.446(1H, d, J=17.3Hz), 4.634(1H, d, J=17.6Hz), 5.497(1H, brs), 6.591(1H, brs), 7.010-8.037(7H, m), 8.592(1H, d, J=6.6Hz)

FAB-MS(m/z): 497$(M+1)^+$

[실시예 16]

화합물(II-38)

43.8mg(0.1mmol)의 화합물(B) 및 15ml의 페닐 클로로포르메이트를 사용하여 실시예 15에서와 거의 동일한 절차를 반복하여 27.8mg(수율 50%)의 화합물(II-38)을 수득하였다.

^{1}H-NMR($CDCl_3$) δ (ppm): 2.111(3H, s), 2.890(1H, brd, J=13.7Hz), 3.262(1H, dd, J=7.5, 13.9Hz), 3.742(1H, d, J=13.4Hz), 3.967(1H, d, J=12.9Hz), 4.582(1H, d, J=16.3Hz), 5.342(1H, brs), 5.906(1H, brs), 6.550(1H, brs), 7.005-8.042(12H, m), 8.596(1H, d, J=7.6Hz)

FAB-MS(m/z): 559$(M+1)^+$

[실시예 17]

(화합물 C로부터 화합물 H를 합성하는 과정을 제19도에 나타내었다).

화합물(II-39)

화합물(C)(일본국 공개 미심사 특허 출헌 제295588/88호; 본원에 참고로 인용함)(20mg, 0.035mmol)를 1ml의 클로로포름에 용해시킨 후, 14.6㎕(0.105mmol)의 트리에틸아민 및 13.9㎕(0.175mmol)의 에틸 이소시아네이트를 첨가한 다음, 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 그 용액에 1ml의 메탄올을 첨가한 다음 클로로포름으로 희석하였다. 혼합물을 계속하여 물 및 염수용액으로 세척하고, 황산 나트륨으로 건조시켰다. 용매를 증발시킨 후, 그 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(클로로포름/메탄올=98/2)로 정제하여 21mg(수율 84%)의 화합물(D)을 수득하였다.

^{1}H-NMR($CDCl_3$) δ (ppm): 1.195(3H, t, J=7.2Hz), 1.222(3H, t, J=7.2Hz), 1.664(3H, s), 2.194(3H, s), 2.555(3H, s), 3.346(4H, q, J=7.2Hz), 3.820(1H, dd, J=7.5, 14.6Hz), 3.938(3H, s), 5.036(1H, d, J=17.7Hz), 5.125(1H, d, J=17.2Hz), 6.746(1H, dd, J=4.8, 7.4Hz), 7.260-7.898(5H, m), 8.690(1H, d, J=1.9Hz)

FAB-MS(m/z): 724$(M+1)^+$

화합물(D)(9mg, 0.012mmol)를 0.2ml의 테트라히드로푸란과 0.2ml의 메탄올의 혼합물에 용해시킨 후, 2㎕의 나트륨 메톡사이드/메탄올을 첨가한 다음, 실온에서 10분 동안 교반하였다. 그 용액에 0.1ml의 시트르산의 5% 수용액을 첨가한 다음 클로로포름으로 희석하였다. 혼합물을 계속해서 물 및 염수 용액으로 세척하고, 황산 나트륨으로 건조시켰다. 용매를 증발시킨 후, 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피(클로로포름/메탄올=9/1)로 정제하여 8mg의 화합물(II-39)를 수득하였다.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ (ppm): 1.086(3H, t, J=7.1Hz), 1.099(3H, t, J=7.1Hz), 1.948(1H, dd, J=4.8, 14.1Hz), 2.107(3H, s), 3.158(4H, m), 3.910(3H, s), 4.880(1H, d, J=17.7Hz), 4.931(1H, d, J=16.9Hz), 7.028(1H, dd, J=5.0, 7.1Hz), 7.332-8.287(5H, m), 8.838(1H, d, J=2.1Hz)

FAB-MS(m/z): 640$(M+1)^+$

[실시예 18]

화합물(II-51) 및 (II-56)

화합물(E)(일본국 공개 미심사 특허 출헌 제295588/88호; 상기 참조)(60mg, 0.1mmol)를 5ml의 클로로포름과 1ml의 메탄올의 혼합물에 용해시킨 후, 11mg(0.3mmol)의 나트륨 보로하이드리드를 빙냉하에 첨가한 다음, 동일한 온도에서 15분 동안 교반하였다. 클로로포름으로 희석한 다음 혼합물을 계속하여 물 및 염수 용액으로 세척하고, 황산 나트륨으로 건조시켰다. 용매를 증발시킨 후, 그 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토피(클로로포름/메탄올/트리에틸아민=98/2/0.5)로 정제하여 36mg(수율 59%)의 화합물(F)을 수득하였다.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ (ppm): 1.650(3H, s), 2.027(1H, dd, J=4.9, 14.5Hz), 2.126(3H, s), 3.843(1H, dd, J=7.4, 14.5Hz), 3.891(3H, s), 4.607(2H, s), 4.673(2H, s), 5.125(2H, s), 7.099(1H, dd, J=5.0, 7.3Hz), 7.437-7.907(5H, m), 8.812(1H, d, J=0.8Hz)

FAB-MS(m/z): 612$(M+1)^+$

화합물(F)(159mg, 0.26mmol)를 15ml의 클로로포름에 용해시킨 후, 0.8ml(10.4mmol)의 에탄티올 및 24mg(0.104mmol)의 캄포설폰산을 첨가한 다음, 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 용액을 계속하여 중탄산 나트륨의 포화 수용액, 물 및 염수용액으로 세척하고, 황산 나트륨으로 건조시켰다. 용매를 증발시킨 후, 그 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(에틸 아세테이트/톨루엔=1/9-클로로포름/메탄올=99/1)로 정제하여 43mg의 화합물(G) 및 75mg의 화합물(H)을 수득하였다.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ (ppm): 1.650(3H, s), 2.027(1H, dd, J=4.9, 14.5Hz), 2.126(3H, s), 3.843(1H, dd, J=7.4, 14.5Hz), 3.891(3H, s), 4.607(2H, s), 4.673(2H, s), 5.125(2H, s), 7.099(1H, dd, J=5.0, 7.3Hz), 7.437-7.907(5H, m), 8.812(1H, d, J=0.8Hz)

FAB-MS(m/z): 612$(M+1)^+$

화합물(G)

^{1}H-NMR($CDCl_3$) δ (ppm): 1.292(3H, t, J=7.4Hz), 1.297(3H, t, J=7.4Hz), 1.799(3H, s), 2.141(1H, dd, J=5.0, 14.5Hz), 2.256(3H, s), 2.532(2H, q, J=7.4Hz), 2.553(2H, q, J=7.4Hz), 2.869(3H, s), 3.971(1H, dd, J=7.5, 14.5Hz), 3.992(2H, s), 4.005(3H, s), 4.021(2H, s), 5.416(1H, dd, J=17.5Hz), 5.459(1H, d, J=17.4Hz), 6.989(1H, dd, J=5.1, 7.4Hz), 7.509-7.963(5H, m), 9.134(1H, d, J=1.2Hz)

FAB-MS(m/z): 700$(M+1)^+$

화합물(H)

^{1}H-NMR($CDCl_3$) δ (ppm): 1.294(3H, t, J=7.4Hz), 1.799(3H, s), 2.149(1H, dd, J=5.0, 14.6Hz), 2.273(3H, s), 2.533(2H, q, J=7.4Hz), 2.813(3H, s) 3.972(1H, dd, J=7.4, 14.6Hz), 4.008(3H, s), 4.015(2H, s), 4.951(2H, s), 5.377(1H, d, J=17.4Hz), 5.418(1H, d, J=17.4Hz), 6.973(1H, dd, J=5.0, 7.5Hz), 7.481-8.037(5H, m), 9.093(1H, d, J=1.2Hz)

FAB-MS(m/z): 656$(M+1)^+$

34㎎의 화합물(G)을 사용하여 실시예 17에서와 거의 동일한 절차를 반복하여 18.7㎎의 화합물(II-51)을 수득하였다.

^{1}H-NMR($CDCl_3$) δ (ppm): 1.300(3H, t, J=7.4Hz), 1.325(3H, t, J=7.4Hz), 2.185(3H, s), 2.514(1H, dd, J=4.8, 14.5Hz), 2.540(2H, q, J=7.4Hz), 2.555(2H, q, J=7.4Hz), 3.384(1H, dd, J=7.5, 14.5Hz), 3.941(2H, s), 3.976(2H, s), 4.094(3H, s), 4.836(1H, d, J=16.3Hz), 5.781(1H, s), 6.845(1H, dd, J=4.8, 7.5Hz), 7.371-7.843(5H, m), 8.998(1H, s)

FAB-MS(m/z): $616(M+1)^+$

30mg의 화합물(H)을 사용하여 실시예 17에서와 거의 동일한 절차를 반복하여 20.4mg의 화합물(II-56)을 수득하였다.

^{1}H-NMR($CDCl_3$) δ (ppm): 1.280(3H, t, J=7.4Hz), 2.144(3H, s), 2.391(1H, dd, J=4.9, 14.5Hz), 2.517(2H, q, J=7.4Hz), 3.320(1H, dd, J=7.4, 14.5Hz), 3.885(2H, s), 4.069(3H, s), 4.521(1H, d, J=16.3Hz), 4.631(1H, d, J=16.7Hz), 4.804(2H, s), 5.769(1H, s), 6.830(1H, dd, J=4.8, 7.4Hz), 7.375-7.771(5H, m), 8.934(1H, s)

FAB-MS(m/z): $572(M+1)^+$

[실시예 19]

화합물(IV-2)

화합물(J)(일본국 공개 미심사 특허 출헌 제120388/87호; 본원에 참고로 인용함)(50mg, 0.09mmol)를 0.5ml의 트리플루오로아세트산과 50㎕의 3N HCl의 혼합물에 용해시키고, 그 용액을 실온에서 2일 동안 교반하였다. 침전물을 여과에 의해 수집하고, 고성능 액체 크로마토그래피(유니실 $_5C_{18}$: 메탄올/물=8/2)로 정제하여 8.4mg의 화합물(IV-2)을 수득하였다.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ (ppm): 4.947(2H, s), 7.300-8.010(6H, m), 8.249(1H, s), 9.266(1H, d, J=2.0Hz)

FAB-MS(m/z): $390(M+1)^+$

[실시예 20]

화합물(II-45)는 제20도에 나타낸 반응 단계에 의해 제조할 수 있다. 출발 화합물(J)은 일본국 공개 미심사 특허 출원 제 120388/87호(본원에 참고로 인용함)에 개시되어 있다.

화합물(II-45)

화합물(J)(200mg)을 1ml의 디메틸포름아미드에 용해시킨 후, 23.5mg의 수산화 나트륨 수용액 0.25ml를 첨가한 다음, 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 1N염산을 첨가하여 용액의 pH를 1 내지 2로 조정한 후, 여과에 의해 침전물을 수집하여 178mg(수율 91%)의 화합물(K)을 수득하였다.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ (ppm): 1.965(1H, dd, J=4.8, 14.0Hz), 2.184(3H, s), 3.364(1H, dd, J=7.5, 14.0Hz), 5.029(1H, d, J=18.1Hz), 5.071(1H, d, J=18.0Hz), 7.133(1H, dd, J=4.9, 7.5Hz), 7.595-8.189(5H, m), 8.733(1H, s), 9.398(1H, d, J=2.1Hz)

화합물(K)(168mg)을 3ml의 피리딘에 용해시킨 후, 0.44ml의 아세트산 무수물을 첨가한 다음, 실온에서 4일 동안 교반하였다. 용매를 증발시킨 후, 4ml의 1N 염산을 그 잔류물에 첨가하고, 여과에 의해 침전물을 수집하여 182mg(정량 수율)의 화합물(L)을 수득하였다.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ (ppm): 1.684(3H, s), 2.135(1H, dd, J=4.9, 14.4Hz), 2.252(3H, s), 3.865(1H, dd, J=7.6, 14.5Hz), 5.063(2H, s), 7.255(1H, dd, J=4.9, 7.5Hz0, 7.612-8.582(5H, m), 8.760(1H, s), 9.389(1H, d, J=2.1Hz)

화합물(L)(172mg)을 티오닐 클로라이드에 현탁시킨 다음, 90℃에서 4.5시간 동안 교반하였다. 용매를 증발시킨 후, 디에틸 에테르를 잔류물에 첨가하고, 여과에 의해 침전물을 수집하여 180mg의 화합물(M)을 수득하였다.

화합물(M)(67mg, 0.1mmol)을 2ml의 이염화 에틸렌에 용해시킨 후, 테트라히드로푸란중 180㎕의 아닐린을 빙냉하에 첨가한 다음, 동일한 온도에서 1시간 동안 교반하였다. 용매를 증발시킨 후, 그 잔류물을 2ml의 테트라히드로푸란과 0.5ml의 메탄올의 혼합물에 용해시킨 다음, 1ml의 1N NaOH를 첨가하고, 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 그 용액에 중화를 위해 1N 염산(1.2ml)을 첨가한 다음, 테트라히드로푸란으로 희석하였다. 그 혼합물을 염수 용액으로 세척하고 황산 나트륨으로 건조시켰다. 용매를 증발시킨 후, 그 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피 (클로로포름/메탄올=98/2)로 정제하여 화합물(II-45)(56mg의 분리된 화합물 (N)으로부터 13mg)을 수득하였다.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ (ppm): 2.110(1H, dd, J=4.9, 13.9Hz), 2.175(3H, s), 5.019(1H, d, J=18.1Hz), 5.088(1H, d, J=18.0Hz), 6.887(1H, s), 7.119-8.201(11H, m), 8.711(1H, s), 9.391(1H, d, J=2.2Hz), 10.071(1H, s)

FAB-MS(m/z): 687$(M+1)^+$

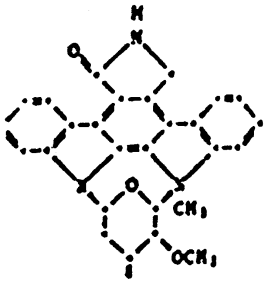
기타 실시 양태는 하기 특허 청구의 범위내에 포함된다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

하기 일반식(I)로 표시되는 화합물 :

[Stau]-N(CH_3)-W-N(CH_3)-[Stau] (I)



상기 식에서, [Stau]는 일반식 로 표시되는 잔기를 나타내고, W는 일반식 -C(=Y)-NH-W'-NH-C(=Y)- 로 표시되는 라디칼을 나타내고, W'는 C_2-C_{20}의 히드로카르빌렌 라디칼이며, Y는 O 또는 S이다.

청구항 2

치료학적 유효량의 제1항에서 정의한 화합물을 포유류에게 투여하는 것을 포함하여 포유류에서 감각 신경세포의 기능을 향상시키는 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 감각 신경세포가 콜린성 신경세포, 선조체 신경세포, 또는 배근 신경절 신경세포인 방법.

청구항 4

치료학적 유효량의 제1항에서 정의한 화합물을 포유류에게 투여하는 것을 포함하여, 흥분성 아미노산에 의해 유발된 신경 세포 퇴화를 치료하는 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 신경 세포 퇴화가 알츠하이머 병과 관련된 것인 방법.

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 신경 세포 퇴화가 운동성 신경세포 질병과 관련된 것인 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 운동성 신경세포 질병이 근위축성 측색 경화증인 방법.

청구항 8

제4항에 있어서, 상기 신경 세포 퇴화가 파킨슨 병과 관련된 것인 방법.

청구항 9

제4항에 있어서, 상기 신경 세포 퇴화가 뇌혈관성 질병과 관련된 것인 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 뇌혈관성 질병이 허혈성 질병인 방법.

청구항 11

제4항에 있어서, 상기 신경 세포 퇴화가 AIDS 치매증과 관련된 것인 방법.

청구항 12

제4항에 있어서, 상기 신경 세포 퇴화가 간질과 관련된 것인 방법.

청구항 13

제4항에 있어서, 상기 신경 세포 퇴화가 뇌에의 진탕 손상과 관련된 것인 방법.

청구항 14

제4항에 있어서, 상기 신경 세포 퇴화가 뇌에의 진탕 손상과 관련된 것인 방법.

청구항 15

제4항에 있어서, 상기 신경 세포 퇴화가 뇌에의 관통 손상과 관련된 것인 방법.

청구항 16

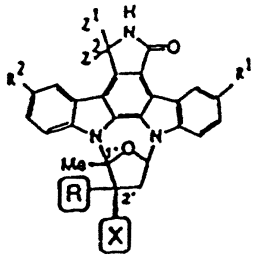
제4항에 있어서, 상기 신경 세포 퇴화가 척수에의 관통 손상과 관련된 것인 방법.

청구항 17

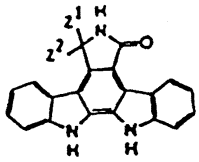
제4항에 있어서, 상기 신경 세포 퇴화가 헌팅톤 병과 관련된 것인 방법.

청구항 18

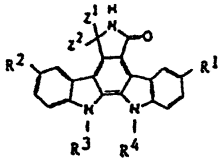
(정정) 포유류에서 감각 신경세포, 콜린성 신경세포 및 선조체 신경세포로 이루어진 군으로부터 선택된 신경세포의 기능을 향상시키는 방법으로서, 상기 포유류에게 하기 일반식(II), (III) 또는 (IV)로 표시되는 치료학적 유효량의 K-252a의 작용성 유도체를 투여하는 것을 포함하는 방법 :



(II)



(III)



(IV)

상기 식들중 치환기들은 다음과 같다 :

화합물	R^1	R^1	X	R	$Z^{1(1)}$ Z^2
II-1	H	H	CH_2N_3	OH	H
II-2	$NHCONHC_6H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-3	$CH_2SOC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-4	H	H	CH_2OH	OCH_3	H
II-5	H	H	$CONHC_2H_5$	OH	H
II-7[2,7]	H	H	CH_2NH-Gly	OH	H
II-8	H	H	$CON(CH_3)_2$	OH	H
II-9[3]	H	H	$-CH_2NHCO_2-$		H

II-10	Br	H	CO_2CH_3	OH	H
II-11	H	H	$CONH_2$	OH	H
II-12	H	H	CH_2OH	OH	H
III-1	--	H	--	--	H
II-13	H	H	$CONHC_3H_7$	OH	H
II-14[(2)]	H	H	CH_2NH-Ser	OH	H
II-15	H	H	CH_2SOCH3	OH	H
II-16	H	H	CH=NOH	OH	H
II-18[(2,7)]	H	H	CH_2NH-Pro	OH	H
II-19	H	H	$CH=NNHC(=NH)NH_2$	OH	H
II-20	Br	Br	CO_2CH_3	OH	O
II-21	H	H	$CONH(CH_2)_2OH$	OH	H
II-22	H	H	CO_2CH_3	OH	O
III-2	--	H	--	--	O
II-23	H	H	H	OH	H
II-24	H	H	$CH=NNHCONH_2$	OH	H
II-25	H	H	CH_2OCOCH_3	OH	H
II-26[(3)]	H	H	$-CH_2OC(CH_3)_2O-$		H
II-29	$NHCONHC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-30	$CH_2SC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-31	Br	H	CH_2OH	OH	H
II-32	Br	Br	CO_2CH_3	OH	H
II-33	$CH_2SC_6H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-34	Cl	Cl	CO_2CH_3	OH	H
II-36	H	H	$CONHC_6H_5$	OH	H
II-38	H	H	$CH_2NHCO_2C_6H_5$	OH	H
II-39	$NHCONHC_2H_5$	$NHCONHC_2H_5$	CO_2CH_3	OH	H
II-40	$N(CH_3)_2$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-41	CH_3	H	CO_2CH_3	OH	H

II-42	$CH_2OCONHC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-43	$NHCO_2CH_3$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-44	Br	Br	CH_2OH	OH	H
II-45	Br	Br	$CONHC_6H_5$	OH	H
II-46	Br	Br	$CONHCH_2CH_2OH$	OH	H
II-47	$CH_2OC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-48	$CH_2N(CH_3)_2$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-49	$CH_2SO_2C_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-51	$CH_2SC_2H_5$	$CH_2SC_2H_5$	CO_2CH_3	OH	H
II-56	$CH_2SC_2H_5$	CH_2OH	CO_2CH_3	OH	H
II-57	H	H	$CH_2NHCO_2CH_3$	OH	H
II-58	Br	H	$CONH_2$	OH	H
II-59	H	H	$CH_2SC_6H_5$	OH	H
II-61	H	H	$CH_2SOC_6H_5$	OH	H
IV-1[4,9]	H	H	--	--	H
IV-2[5]	Br	H	--	--	H
IV-3[6]	H	H	--	--	H
IV-4[8,9]	H	H	--	--	H

(1) Z^1 과 Z^2 는 둘다 수소원자이거나, 표시된 바와 같이 Z^1 과 Z^2 가 함께 산소원자를 나타낸다.

(2) NH-아미노산 결합은 아미노산의 카르복실기를 통한 아미드 결합이다.

(3) X 와 R 은 함께 결합하여 연결기를 형성한다.

(4) R^3 는 $CH_2CH=CH_2$ 이고 ; R^4 는 H 이다.

(5) R^3 와 R^4 는 각각 H 이다.

(6) R^3 와 R^4 는 각각 $CH_2CH=CH_2$ 이다.

(7) 염산염 형태의 화합물.

(8) R^3 는 H 이고 R^4 는 $CH_2CH=CH_2$ 이다.

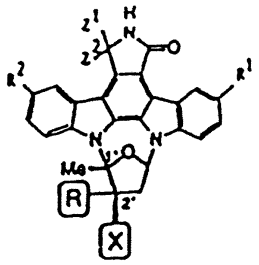
(9) (IV-1)과 (IV-4)는 이들 2 가지 성분의 1.5 : 1.0 혼합물이다.

청구항 19

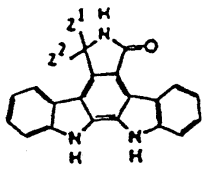
제18항에 있어서, 상기 신경세포가 콜린성 신경세포인 방법.

청구항 20

(정정) 제18항에 있어서, 상기 감각 신경세포가 배근 신경절 신경세포이고, 상기 작용성 유도체는 하기 일반식(II) 또는 (III)으로 표시되는 방법 :



(II)



(III)

상기 식들중, 치환기들은 다음과 같다 :

화합물[1]	R^1	X	R	$Z^{1(2)}$ Z^2
II-1	H	CH_2N_3	OH	H
II-2	$NHCONHC_6H_5$	CO_2CH_3	OH	H
II-3	$CH_2SOC_2H_5$	CO_2CH_3	OH	H
II-4	H	CH_2OH	OCH_3	H
II-5	H	$CONHC_2H_5$	OH	H
II-8	H	$CON(CH_3)_2$	OH	H
II-9[3]	H	$-CH_2NHCO_2-$		H
II-10	Br	CO_2CH_3	OH	H
II-11	H	$CONH_2$	OH	H
II-12	H	CH_2OH	OH	H
III-1	--	--	--	H
II-13	H	$CONHC_3H_7$	OH	H
II-15	H	CH_2SOCH_3	OH	H
II-19	H	$CH=NNHC(=NH)NH_2$	OH	H
II-20[1]	Br	CO_2CH_3	OH	O
II-21	H	$CONH(CH_2)_2OH$	OH	H
III-2	--	--	--	O
II-23	H	H	OH	H
II-24	H	$CH=NNHCONH_2$	OH	H
II-25	H	CH_2OCOCH_3	OH	H
II-30	$CH_2SC_2H_5$	CO_2CH_3	OH	H
II-32	Br	CO_2CH_3	OH	H

[1] R^2 = Br 인 화합물 (II-20)과 (II-32)를 제외하고는, R^2 는 수소원자이다.

[2] Z^1 과 Z^2 는 둘다 수소원자이거나, 표시된 바와 같이 Z^1 과 Z^2 가 함께 산소원자를 나타낸다.

[3] X 와 R 은 함께 결합하여 연결기를 형성한다.

청구항 21

제2항에 있어서, 상기 화합물을 신경영양 인자와 함께 투여하는 방법.

청구항 22

제4항에 있어서, 상기 화합물을 신경영양 인자와 함께 투여하는 방법.

청구항 23

제18항에 있어서, 상기 작용성 유도체를 신경영양 인자와 함께 투여하는 방법.

청구항 24

제20항에 있어서, 상기 작용성 유도체를 신경영양 인자와 함께 투여하는 방법.

청구항 25

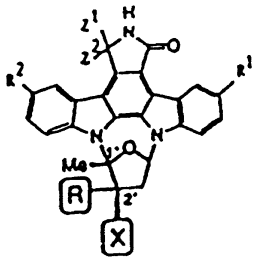
제21항, 제22항, 제23항, 또는 24항에 있어서, 상기 신경영양 인자가 뉴로트로핀 부류의 성분인 방법.

청구항 26

제25항에 있어서, 상기 뉴로트로핀 부류의 성분이 신경 성장 인자(NGF)인 방법.

청구항 27

제18항에 있어서, 상기 신경세포가 콜린성 신경세포이고, 상기 작용성 유도체는 하기 일반식(II)로 표시되는 방법 :

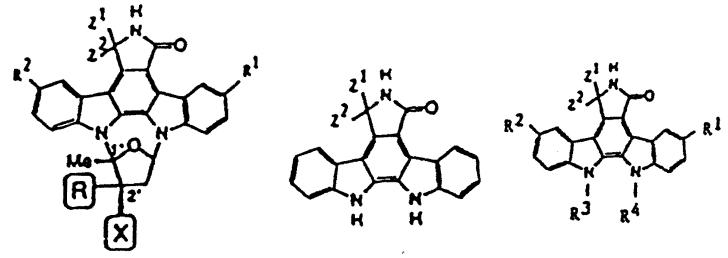


(II)

상기 식에서, R^1과 R^2는 H이고, X는 CO_2CH_3이고, R은 OH이며, Z^1과 Z^2는 각각 H이다.

청구항 28

(정정) 제18항에 있어서, 상기 신경세포가 선조체 신경세포이고, 상기 작용성 유도체는 하기 일반식(II), (III) 또는 (IV)로 표시되는 방법 :



(II) (III) (IV)

상기 식들중, 치환기들은 다음과 같다 :

화합물	R^1	R^2	X	R	$Z^{2(1)}$ Z^1
K-252a	H	H	CO_2CH_3	OH	H
III-1	--	H	--	--	H
II-1	H	H	CH_2N_3	OH	H
II-35	H	H	$CO_2n\text{-}C_6H_{13}$	OH	H
II-20	Br	Br	CO_2CH_3	OH	O
II-10	Br	H	CO_2CH_3	OH	H
II-28	O-n-C_3H_7	H	CO_2CH_3	OH	H
II-5	H	H	$CONHC_2H_5$	OH	H
II-29	$NHCONHC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-2	$NHCONHC_6H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-3	$CH_2SOC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-30	$CH_2SC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-31	Br	H	CH_2OH	OH	H
II-32	Br	Br	CO_2CH_3	OH	H
IV-1	--	H	--	--	H
II-33[2]	$CH_2SC_6H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-34	Cl	Cl	CO_2CH_3	OH	H

(1) Z^1 과 Z^2 는 둘다 수소원자이거나, 표시된 바와 같이 Z^1 과 Z^2 가 함께 산소원자를 나타낸다.

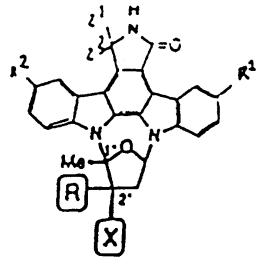
(2) R^3 는 $CH_2\text{-}CH=CH_2$ 이고 ; R^4 는 H 이다.

청구항 29

제19항, 제27항 또는 제28항에 있어서, 헌팅톤 병의 치료에 사용되는 방법.

청구항 30

하기 일반식(II-4)로 표시되는 화합물 :

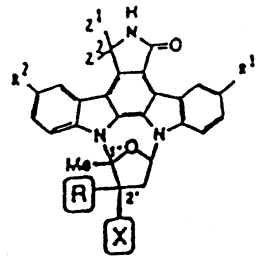


(II-4)

상기 식에서, R^1, R^2, Z^1 및 Z^2는 각각 H이고, X는 CH_2OH이며, R은 OCH_3이다.

청구항 31

하기 일반식(II-4)로 표시되는 화합물 :

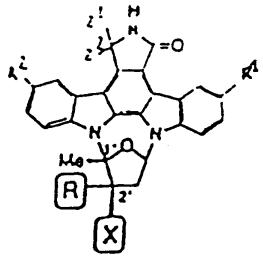


(II-4)

상기 식에서, R^1, R^2, Z^1 및 Z^2는 각각 H이고, X는 CH_2-NH-Ser이며, R은 OH이다.

청구항 32

하기 일반식(II-49)로 표시되는 화합물 :

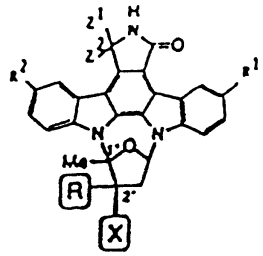


(II-49)

상기 식에서, R^2, Z^1 및 Z^2는 각각 H이고, R은 OH이고, R^1은 $CH_2SO_2C_2H_5$이며, X는 CO_2CH_3이다.

청구항 33

하기 일반식(II-38)로 표시되는 화합물 :

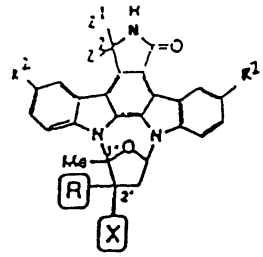


(II-38)

상기 식에서, R^1, R^2, Z^1 및 Z^2는 각각 H이고, R은 OH이며, X는 $CH_2NHCO_2C_6H_5$이다.

청구항 34

하기 일반식(II-45)로 표시되는 화합물 :

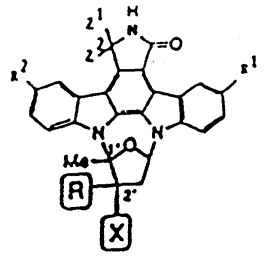


(II-45)

상기 식에서, R^1 과 R^2는 각각 Br이고, R은 OH이고, Z^1과 Z^2는 각각 H이며, X는 $CONHC_6H_5$이다.

청구항 35

하기 일반식(II-57)로 표시되는 화합물 :

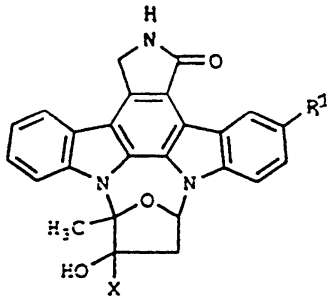


(II-57)

상기 식에서, R^1, R^2, Z^1 및 Z^2는 각각 H이고, R은 OH이며, X는 $CH_2NHCO_2CH_3$이다.

청구항 36

하기 일반식(V)로 표시되는 화합물 :



(V)

상기 식에서, X는 CO_2R^5 또는 CH_2NH이고 ;

R^1은 수소원자 또는 $CH_2SO_2R^7$ 이고 ;

R^1은 저급 알킬이고 ;

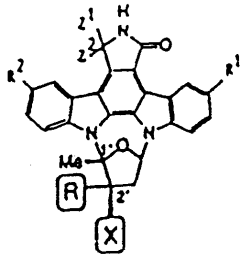
R^6는 저급 알킬 또는 아릴이며 ;

R^7은 저급 알킬이되 ;

단, X = CO_2R^5일때 R^1은 수소원자가 아님을 조건으로 한다.

청구항 37

(신설) 하기 일반식(II)로 표시되는 화합물 :



(II)

상기 식들중, 치환기들은 다음과 같다 :

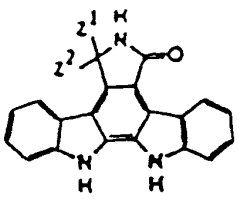
화합물	R^1	R^2	X	R	$Z^{1(1)}$ Z^2
II-1	H	H	CH_2N_3	OH	H
II-2	$NHCONHC_6H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-3	$CH_2SOC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-5	H	H	$CONHC_2H_5$	OH	H
II-7[2,7]	H	H	CH_2NH-Gly	OH	H
II-8	H	H	$CON(CH_3)_2$	OH	H
II-9[3]	H	H	$-CH_2NHCO_2-$		H
II-10	Br	H	CO_2CH_3	OH	H
II-11	H	H	$CONH_2$	OH	H
II-12	H	H	CH_2OH	OH	H
II-13	H	H	$CONHC_3H_7$	OH	H
II-15	H	H	CH2SOCH3	OH	H
II-16	H	H	CH=NOH	OH	H
II-18[2,7]	H	H	CH_2NH-Pro	OH	H
II-19	H	H	$CH=NNHC(=NH)NH_2$	OH	H
II-20	Br	Br	CO_2CH_3	OH	O
II-21	H	H	$CONH(CH_2)_2OH$	OH	H
II-22	H	H	CO_2CH_3	OH	O
II-23	H	H	H	OH	H
II-24	H	H	$CH=NNHCONH_2$	OH	H
II-25	H	H	CH_2OCOCH_3	OH	H
II-26[3]	H	H	$-CH_2OC(CH_3)_2O-$		H
II-29	$NHCONHC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-30	$CH_2SC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-31	Br	H	CH_2OH	OH	H
II-32	Br	Br	CO_2CH_3	OH	H

II-33	$CH_2SC_6H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-34	Cl	Cl	CO_2CH_3	OH	H
II-36	H	H	$CONHC_6H_5$	OH	H
II-39	$NHCONHC_2H_5$	$NHCONHC_2H_5$	CO_2CH_3	OH	H
II-40	$N(CH_3)_2$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-41	CH_3	H	CO_2CH_3	OH	H
II-42	$CH_2OCONHC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-43	$NHCO_2CH_3$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-44	Br	Br	CH_2OH	OH	H
II-46	Br	Br	$CONHCH_2CH_2OH$	OH	H
II-47	$CH_2OC_2H_5$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-48	$CH_2N(CH_3)_2$	H	CO_2CH_3	OH	H
II-51	$CH_2SC_2H_5$	$CH_2SC_2H_5$	CO_2CH_3	OH	H
II-56	$CH_2SC_2H_5$	CH_2OH	CO_2CH_3	OH	H
II-58	Br	H	$CONH_2$	OH	H
II-59	H	H	$CH_2SC_6H_5$	OH	H
II-61	H	H	$CH_2SOC_6H_5$	OH	H

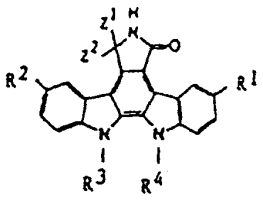
(1) Z^1 과 Z^2 는 둘다 수소원자이거나, 표시된 바와 같이 Z^1 과 Z^2 가 함께 산소원자를 나타낸다.
(2) NH-아미노산 결합은 아미노산의 카르복실기를 통한 아미드 결합이다.
(3) X 와 R 은 함께 결합하여 연결기를 형성한다.
(7) 염산염 형태의 화합물.

청구항 38

(신설) 하기 일반식(III) 또는 (IV)로 표시되는 화합물 :



(III)



(IV)

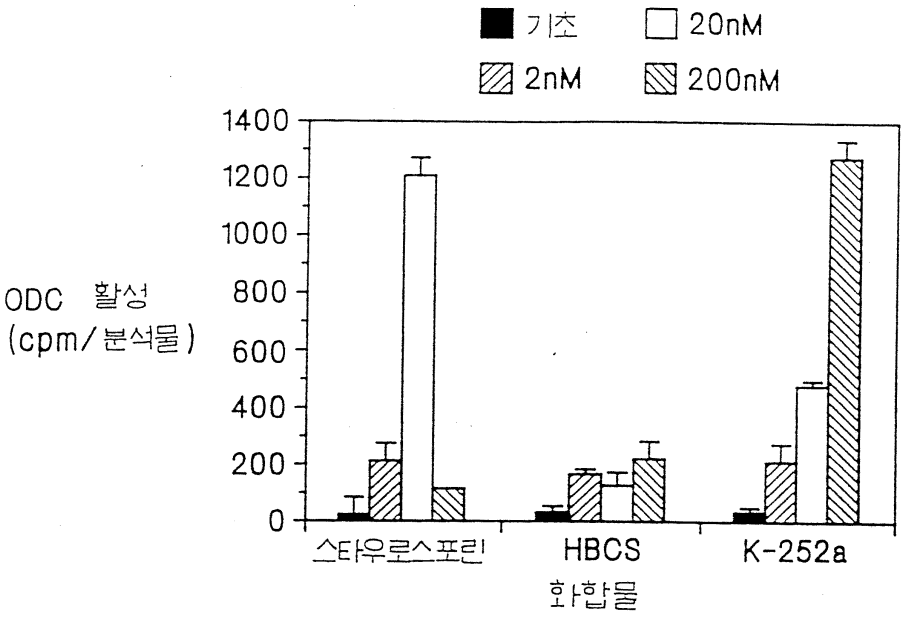
상기 식물중, 치환기들은 다음과 같다 :

화합물	R^1	R^2	X	R	$Z^{1(1)}$ Z^2
III-1	--	H	--	--	H
III-2	--	H	--	--	O
IV-1[4,9]	H	H	--	--	H
IV-2[5]	Br	H	--	--	H
IV-3[6]	H	H	--	--	H
IV-4[8,9]	H	H	--	--	H

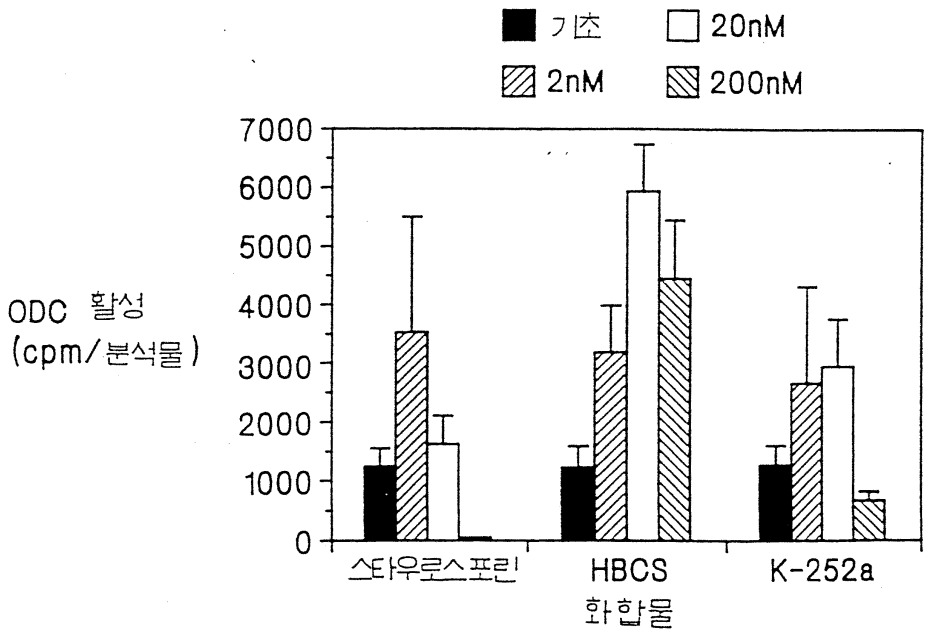
(1) Z^1 과 Z^2 는 둘다 수소원자이거나, 표시된 바와 같이 Z^1 과 Z^2 가 함께 산소원자를 나타낸다.
(4) R^3 는 $CH_2CH=CH_2$ 이고 ; R^4 는 H 이다.
(5) R^3 와 R^4 는 각각 H 이다.
(6) R^3 와 R^4 는 각각 $CH_2CH=CH_2$ 이다.
(8) R^3 는 H 이고 R^4 는 $CH_2CH=CH_2$ 이다.
(9) (IV-1)과 (IV-4)는 이들 2 가지 성분의 1.5 : 1.0 혼합물이다.

도면

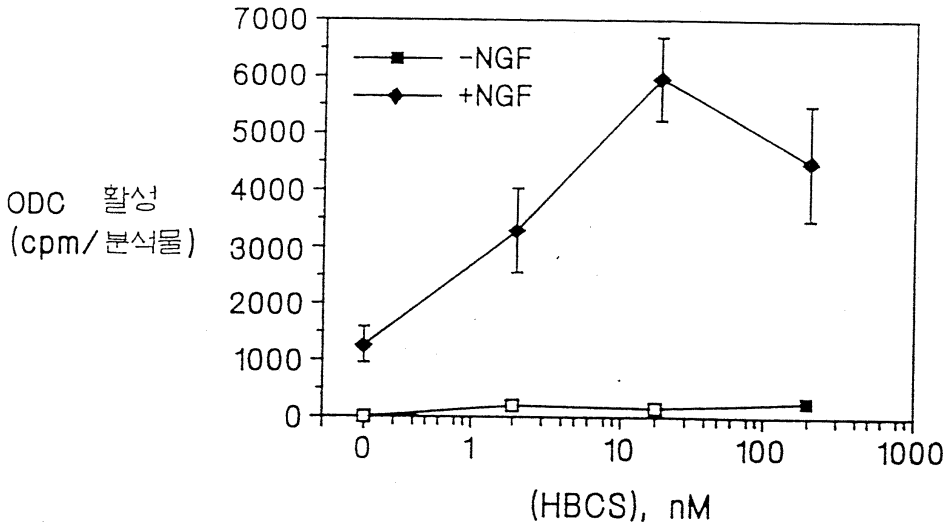
도면1



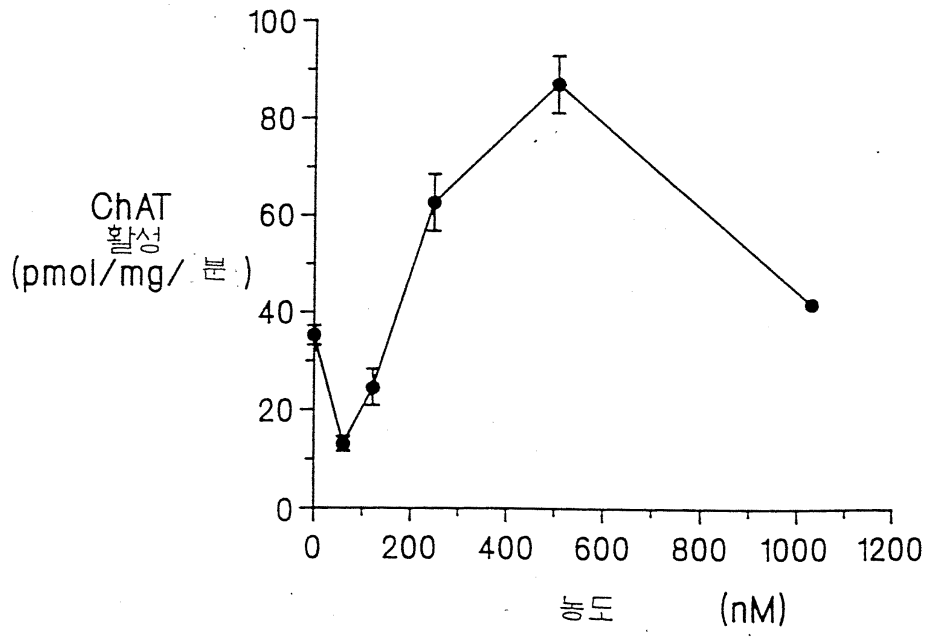
도면2


기초
20nM
2nM
200nM
ODC 활성
(cpm/분석물)
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
스타우로스포린
HBCS
K-252a
화합물

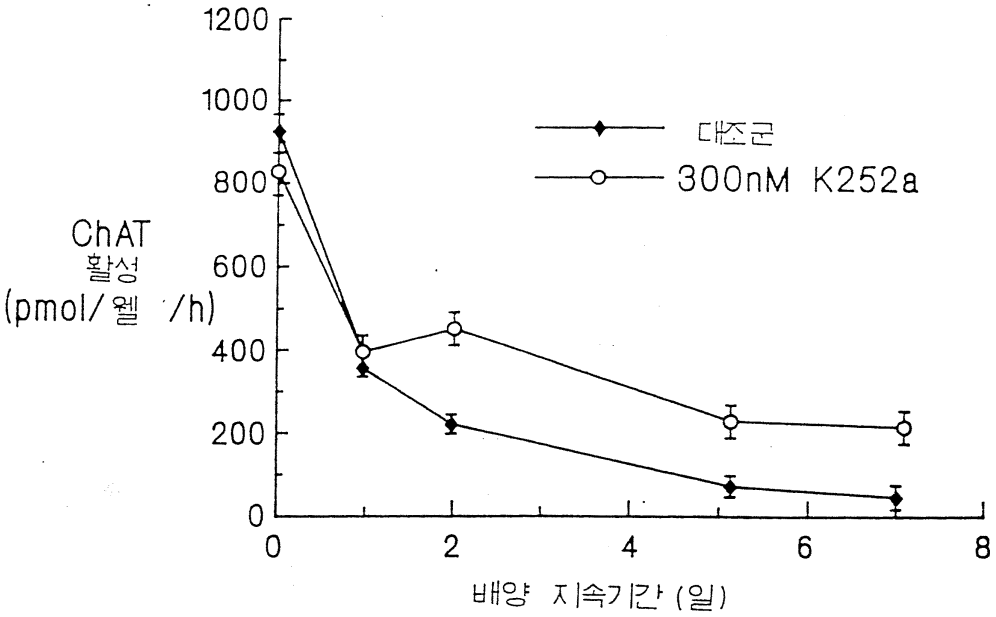
도면3


ODC 활성
(cpm/분석물)
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
-NGF
+NGF
0
1
10
100
1000
(HBCS), nM

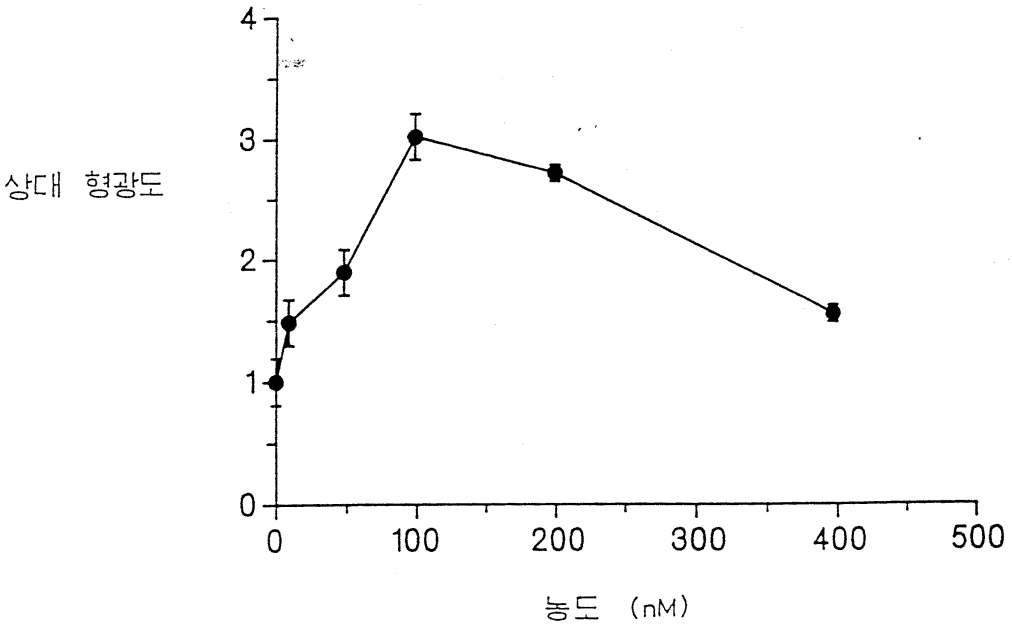
도면4


ChAT
활성
(pmol/mg/분)
100
80
60
40
20
0
0
200
400
600
800
1000
1200
농도 (nM)

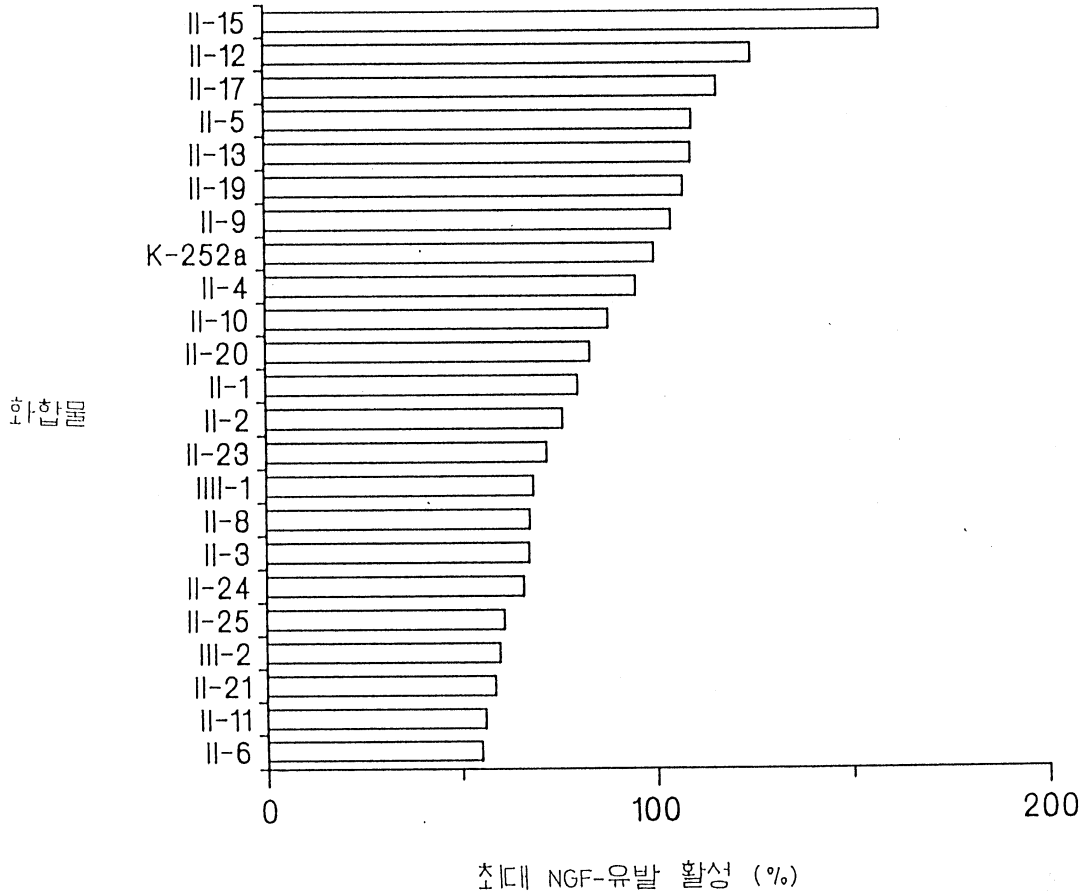
도면5


ChAT
활성
(pmol/웰 /h)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
2
4
6
8
대조군
300nM K252a
배양 지속기간 (일)

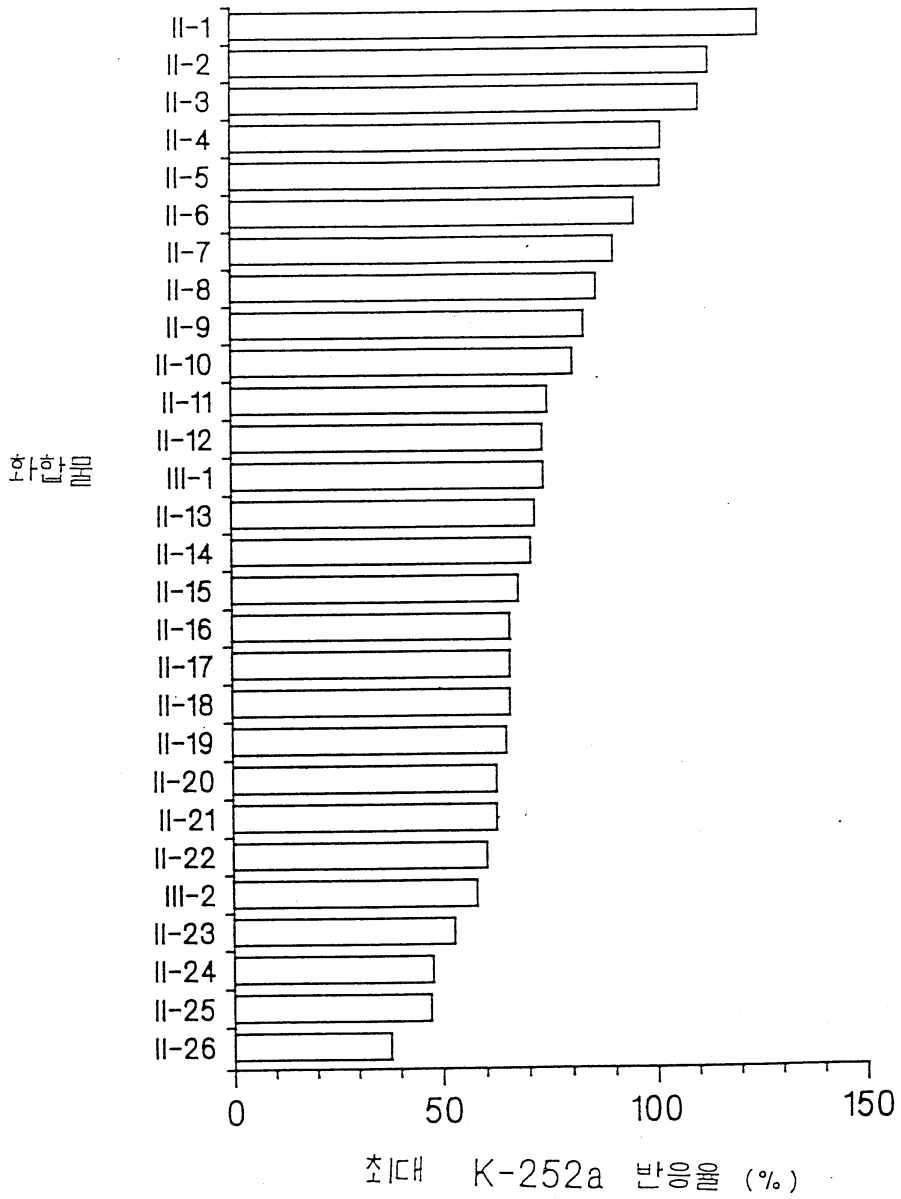
도면6


상대 형광도
4
3
2
1
0
0
100
200
300
400
500
농도 (nM)

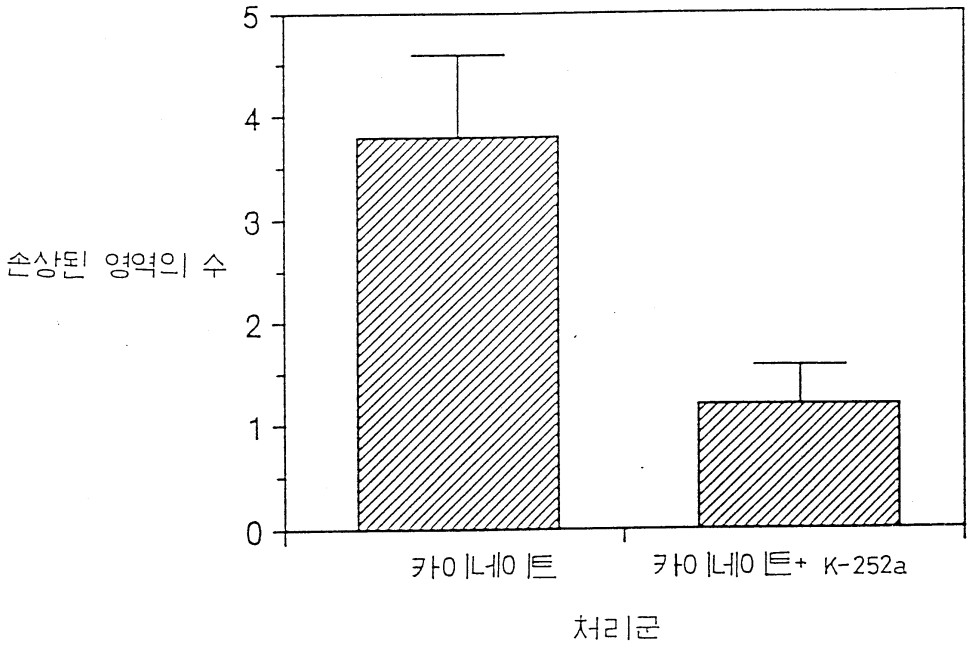
도면7


화합물
II-15
II-12
II-17
II-5
II-13
II-19
II-9
K-252a
II-4
II-10
II-20
II-1
II-2
II-23
IIII-1
II-8
II-3
II-24
II-25
III-2
II-21
II-11
II-6
0
100
200
최대 NGF-유발 활성 (%)

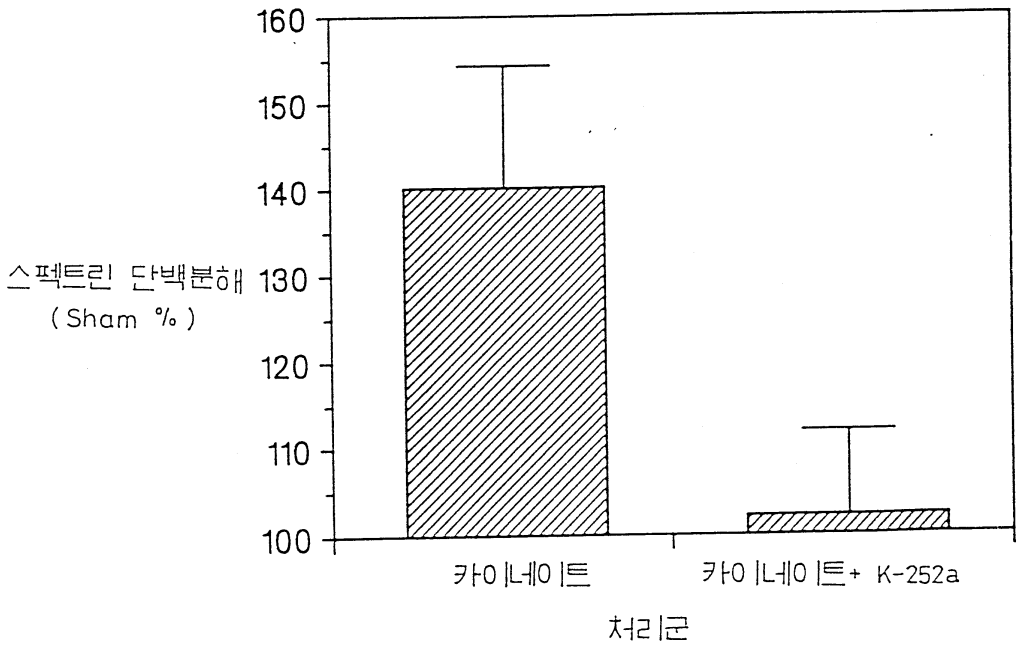
도면8


화합물
II-1
II-2
II-3
II-4
II-5
II-6
II-7
II-8
II-9
II-10
II-11
II-12
III-1
II-13
II-14
II-15
II-16
II-17
II-18
II-19
II-20
II-21
II-22
III-2
II-23
II-24
II-25
II-26
0
50
100
150
최대 K-252a 반응율 (%)

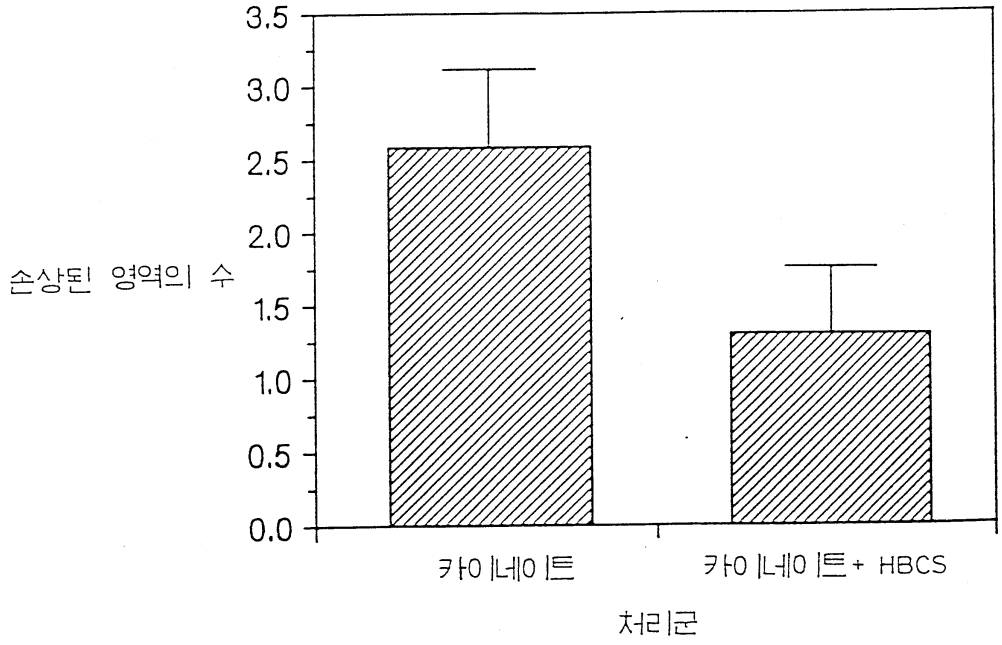
도면9


손상된 영역의 수
5
4
3
2
1
0
카이네이트
카이네이트+ K-252a
처리군

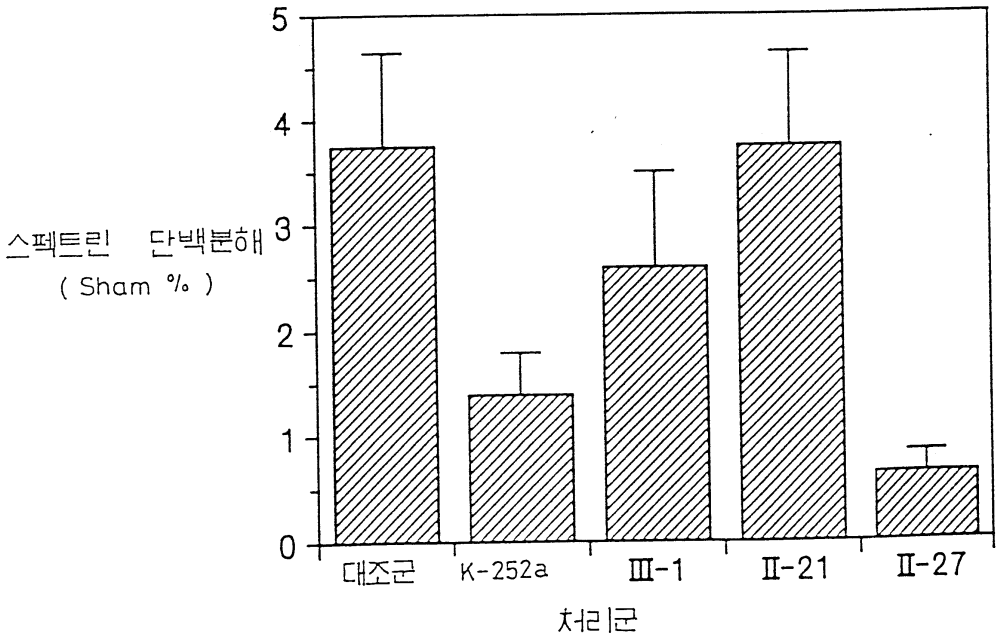
도면10


스펙트린 단백분해
(Sham %)
160
150
140
130
120
110
100
카이네이트
카이네이트+ K-252a
처리군

도면11


손상된 영역의 수
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
카이네이트
카이네이트+ HBCS
처리군

도면12


스펙트린 단백분해
(Sham %)
5
4
3
2
1
0
대조군
K-252a
Ⅲ-1
Ⅱ-21
Ⅱ-27
처리군

도면13

화합물	적수 ChAT 활성	
	300nM	30nM
K-252a	100	-
II-44	146	80
II-34	133	66
II-47	126	-
II-1	122	-
II-31	120	-
II-29	118	65
II-32	118	70
II-38	118	-
II-2	111	NT
II-3	109	NT
II-46	109	84
II-5	104	NT
II-41	103	-
II-42	102	64
II-4	100	-
II-30	94	71
II-6	94	-
II-7	90	NT
II-39	90	-
II-36	86	-
II-8	85	-
II-9	83	64
II-10	81	143
IV-3	77	-
II-11	76	NT
II-21	76	63
III-1	75	-
II-12	75	-
IV-1	74	72
II-13	73	-
II-14	71	-

화합물	적수 ChAT 활성	
	300nM	30nM
II-15	69	-
II-18	68	-
II-16	68	-
II-17	68	NT
II-40	66	-
II-19	66	-
II-20	65	65
II-45	65	-
II-22	62	-
IV-2	62	NT
III-2	60	NT
II-25	58	-
II-37	56	-
II-23	55	-
II-24	50	-
II-26	39	-
II-33	-	77
II-43	-	125
II-49	-	62
II-50	84	56
II-51	130	53
II-52	103	-
II-53	98	67
II-54	51	-
II-55	64	-
II-56	88	53
II-48	70	-

NT = 당해 농도에서 테스트하지 않음
- = 당해 농도에서 활성 없음

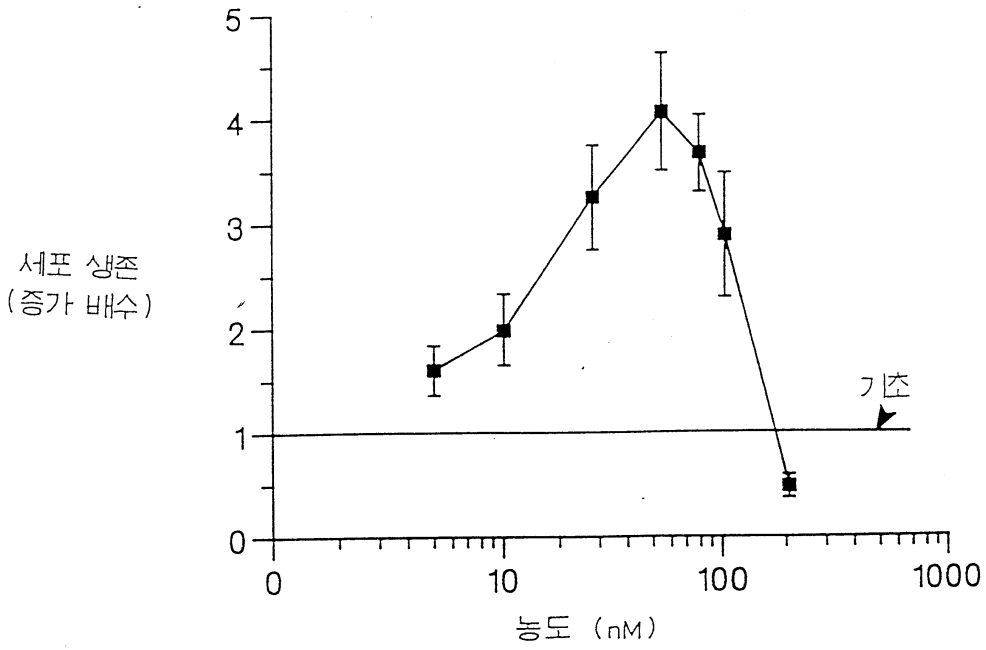
도면14

화합물	DRG 생존	
300nM	%K-252a	%NGF
III-1	NT	69
III-2	NT	61
II-21	95*	NT
II-10	143	88
II-19	NT	107
II-15	105	158
II-12	83	125
II-17	77	116
II-5	100	110
II-13	73	110
II-9	92	105
II-4	83	95
II-20	55	84
II-1	NT	81
II-2	NT	77
II-23	83	73
II-8	NT	68
II-3	NT	84
II-24	74	67
II-25	68	62
II-11	90	57
II-6	NT	56
II-32	106	NT
II-30	75	NT

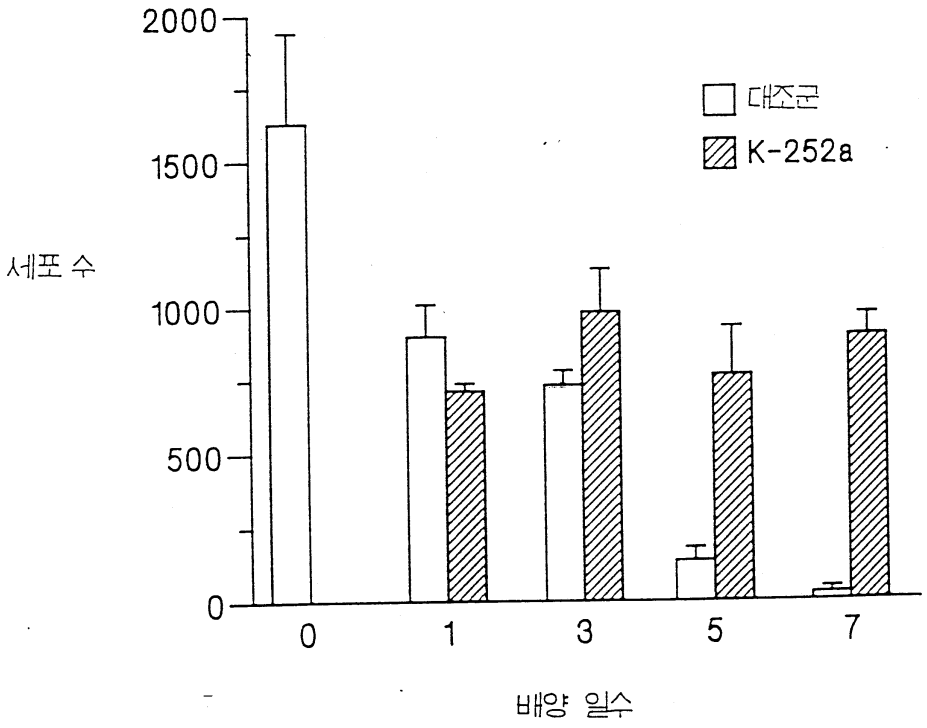
NT = 테스트하지 않음

* = 30nM 에서만 활성

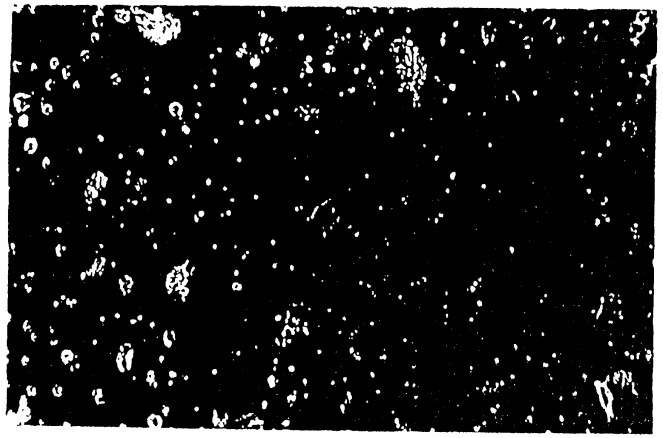
도면15


세포 생존
(증가 배수)
5
4
3
2
1
0
기초
0
10
100
1000
농도 (nM)

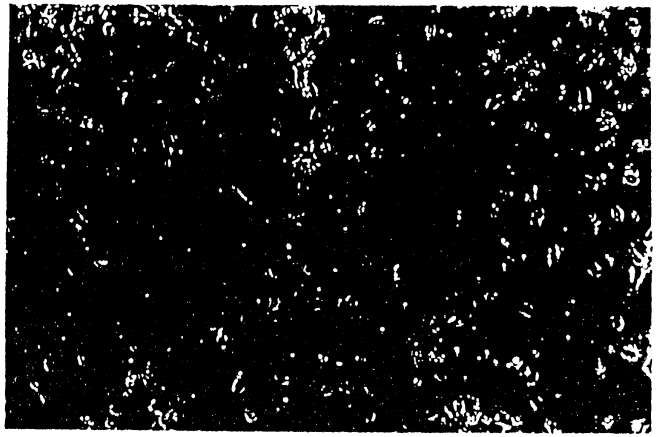
도면16


세포 수
2000
1500
1000
500
0
대조군
K-252a
0
1
3
5
7
배양 일수

선조체 신경세포의 생존에 미치는 K-252a의 영향, 시험관 내



대조군



75nM K-252a

도면17

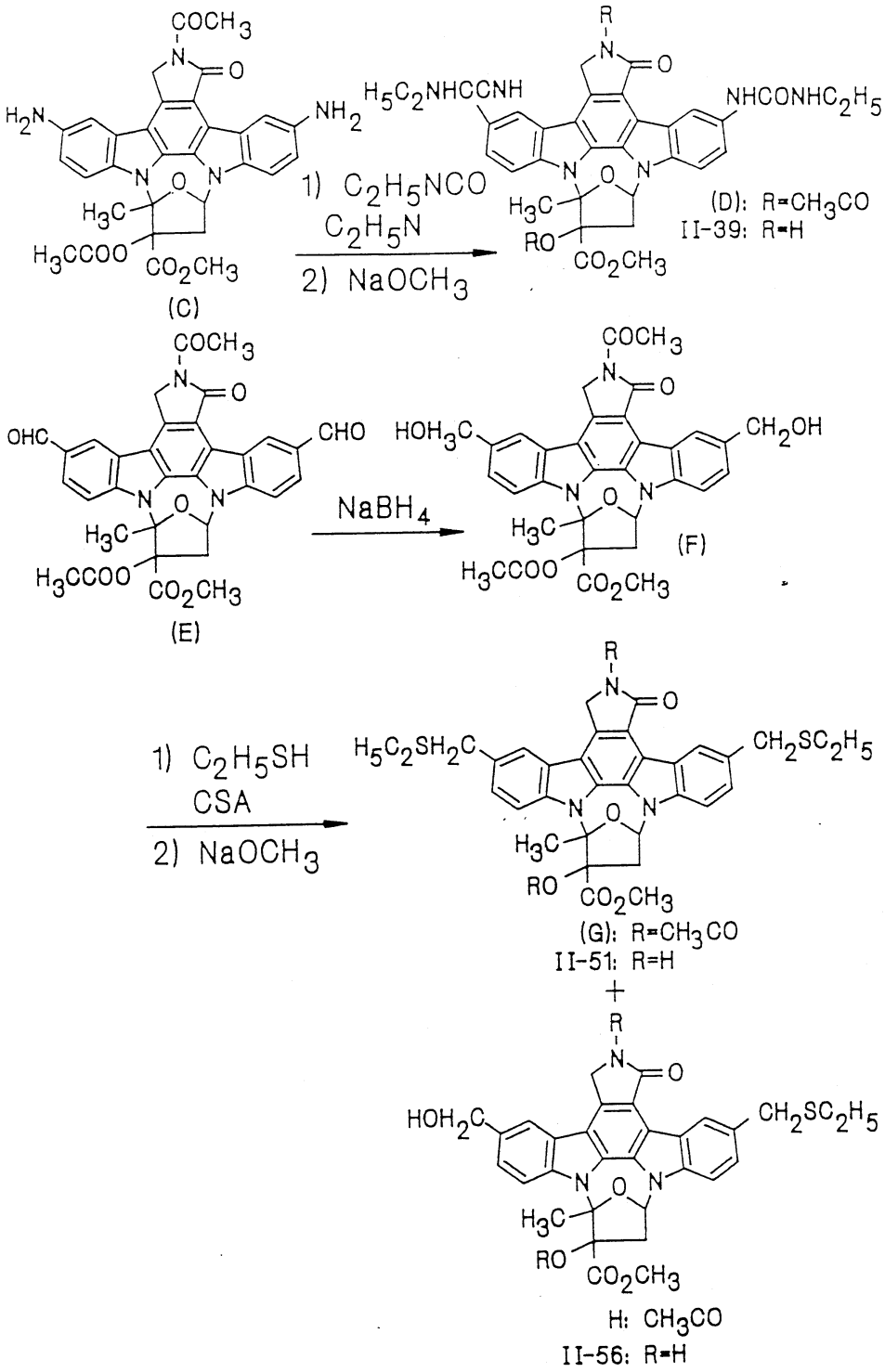
도면18

화합물	K-252a 선조체 생존율(%)		
	25nM	75nM	100nM
K-252a	-	100	-
III-1	69	NT	-
II-1	61	NT	104
II-35	52	81	-
II-20	58	-	NT
II-10	91	-	NT
II-28	-	90	-
II-5	104	NT	-
II-29	64	NT	-
II-2	65	-	NT
II-3	50	104	-
II-30	-	114	NT
II-6	81	NT	-
II-31	92	-	NT
II-32	69	NT	-
IV-3	-	NT	47
IV-1	-	NT	66
II-33	-	82	NT
II-34	118	NT	-

NT = 당해 농도에서 테스트하지 않음

- = 해당 농도에서 활성 없음

도면19


COCH3
H2N
NH2
H3C
H3CCOO
CO2CH3
(C)
1) C2H5NCO
C2H5N
2) NaOCH3
H5C2NHCCNH
NHCONHC2H5
R
RO
(D): R=CH3CO
II-39: R=H
OHC
CHO
NaBH4
HOH3C
CH2OH
(F)
(E)
1) C2H5SH
CSA
2) NaOCH3
H5C2SH2C
CH2SC2H5
(G): R=CH3CO
II-51: R=H
HOH2C
H: CH3CO
II-56: R=H