



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년07월02일
(11) 등록번호 10-1871166
(24) 등록일자 2018년06월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 405/12 (2006.01) A23L 33/10 (2016.01)
A61K 31/352 (2006.01) A61K 31/496 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 405/12 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2018-0023415
(22) 출원일자 2018년02월27일
심사청구일자 2018년02월27일
(56) 선행기술조사문헌
Current Cancer Drug Targets, 13(9), 963-972
쪽(2013.)

(73) 특허권자
(주)오스티오뉴로젠
경기도 성남시 분당구 미금로 40 (구미동, B101호일부)
(72) 발명자
윤병수
서울특별시 구로구 경인로61길 21, 802호(신도림동)
김준환
인천광역시 서구 봉오재3로 75, 104동 402(가정동, 루원 호반베르디움 더센트럴)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인현문

전체 청구항 수 : 총 9 항

심사관 : 이형준

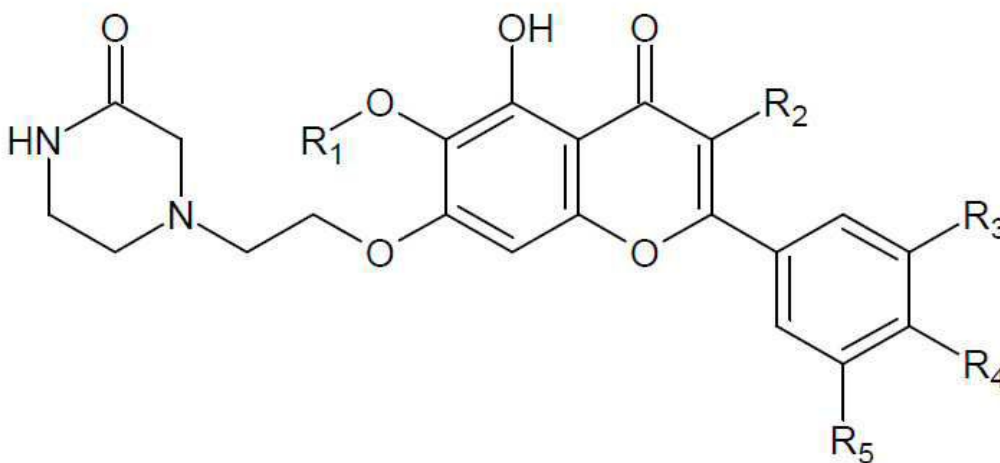
(54) 발명의 명칭 신규 화합물 및 이를 유효성분으로 함유하는 섬유증 또는 비알코올성 지방간염의 예방, 개선 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 신규 화합물 및 이를 유효성분으로 함유하는 섬유증 또는 비알코올성 지방간염의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 구체적으로 섬유증의 예방, 개선 또는 치료 효과가 우수한 화학식 1의 신규 화합물 및 이를 유효성분으로 함유하는 섬유증 또는 비알코올성 지방간염의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이 (뒷면에 계속)

대표도 - 도1

[화학식 1]



다.

본 발명의 신규 화합물은 EMT(Epithelial Mesenchymal Transition, 상피간엽이행)의 조절인자인 snail 및 vimentin의 발현을 효과적으로 조절하여 EMT의 활성화를 조절하고, 이에 따라 섬유증을 효과적으로 예방, 개선 또는 치료할 수 있다. 뿐만 아니라 본 발명의 신규 화합물은 약물동력학적 특성도 매우 우수하여 구강투여로도 체내에 빠른 약물전달이 가능하고, 체내에서 안정적인 효과를 발휘할 수 있으며, 큰 부작용이 없어 안전하게 사용할 수 있다. 또한 본 발명의 신규 화합물은 간세포의 섬유화를 효과적으로 차단할 수 있어 비알코올성 지방간염도 효과적으로 개선 또는 치료할 수 있다.

(52) CPC특허분류

A61K 31/352 (2013.01)

A61K 31/496 (2013.01)

A61P 1/16 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/30 (2013.01)

(72) 발명자

김한수

서울특별시 관악구 관악로30길 12, 103동 206호(봉천동, 봉천우성아파트)

윤호섭

637665 싱가포르 #05-06 난양 크레센트 98

김익환

서울특별시 중구 청구로 64, 109동 403호(신당동, 청구 e편한세상)

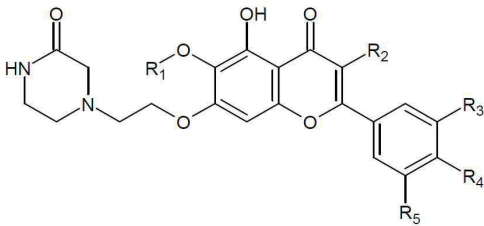
명세서

청구범위

청구항 1

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

[화학식 1]



상기 식에서,

R₁은 메틸, 에틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 페닐 또는 벤질이고,

R₂는 수소, 에틸, 아세틸, 아세톡시, 카르복실, 벤조일옥시 또는 3,4,5-트리하이드록시벤조일옥시이고,

R₃ 내지 R₅는 각각 독립적으로 수소, 하이드록실, 메틸, 메톡시, 아세톡시, 카르복실 또는 벤조일옥시이다.

청구항 2

삭제

청구항 3

제 1항에 있어서,

R₁은 메틸이고,

R₂는 수소이고,

R₄는 하이드록실 또는 메톡시이며,

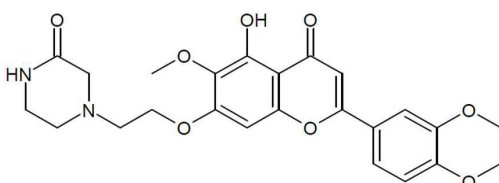
R₃ 및 R₅는 각각 독립적으로 수소, 하이드록실 또는 메톡시인 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 4

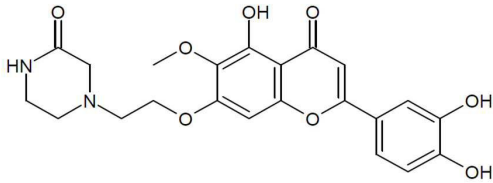
제 1항에 있어서,

상기 화합물은 하기 화학식 2 내지 5 중 어느 하나로 표시되는 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

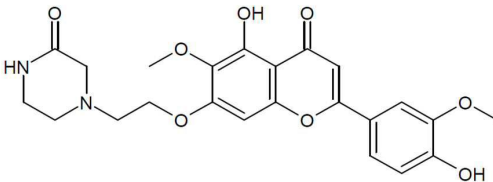
[화학식 2]



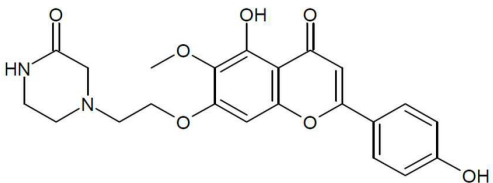
[화학식 3]



[화학식 4]



[화학식 5]



청구항 5

제 1항, 제 3항 및 제 4항 중 어느 한 항의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 섬유증의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 6

제 5항에 있어서,

상기 섬유증은 특발성 폐섬유증(idiopathic pulmonary fibrosis), 골수섬유증(myelofibrosis), 간섬유증(liver fibrosis) 및 신장섬유증(kidney fibrosis)으로 이루어진 군 중에서 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 7

제 1항, 제 3항 및 제 4항 중 어느 한 항의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 섬유증의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 8

제 7항에 있어서,

상기 섬유증은 특발성 폐섬유증(idiopathic pulmonary fibrosis), 골수섬유증(myelofibrosis), 간섬유증(liver fibrosis) 및 신장섬유증(kidney fibrosis)으로 이루어진 군 중에서 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 9

제 1항, 제 3항 및 제 4항 중 어느 한 항의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 비알코올성 지방간염(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)의 치료용 약학 조성물.

청구항 10

제 1항, 제 3항 및 제 4항 중 어느 한 항의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하

는 비알코올성 지방간염(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)의 개선용 식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신규 화합물 및 이를 유효성분으로 함유하는 섬유증 또는 비알코올성 지방간염의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 구체적으로 섬유증의 예방, 개선 또는 치료 효과가 우수한 화학식 1의 신규 화합물 및 이를 유효성분으로 함유하는 섬유증 또는 비알코올성 지방간염의 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 섬유증(fibrosis)은 재생이나 발생과정에서 기관이나 조직에 과도한 섬유성 결합조직이 형성되는 질환으로, 이러한 섬유성 결합조직은 정상적인 섬유조직의 형성과는 대조적이다. 기관이나 조직에 섬유성 결합조직이 과도하게 형성되면 조직이 단단해지고 체액의 유입이 감소되는 등 생체 내에서 본래의 기능을 충분히 수행할 수 없게 된다. 원인으로서는 부상, 염증, 화상, 방사선, 화학요법, 림프수종 등이 알려져 있다. 이러한 섬유증으로 인한 문제는 섬유성 결합조직이 형성되는 위치에 따라 달라지게 되는데, 주로 간, 분비기관, 폐 등이 손상을 받는다. 섬유증에는 대표적으로 특발성 폐섬유증(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF), 골수섬유증(myelo fibrosis), 간섬유증(liver fibrosis) 및 신장섬유증(kidney fibrosis)이 있다.

[0003] 현재 이러한 섬유증에 대한 치료제로 피르페니돈(Pirfenidone, 특발성 폐섬유증 치료제), 닌테다닙(Nintedanib, 특발성 폐섬유증 치료제), 룩소리티닙(Ruxolitinib, 골수섬유증 치료제) 등이 알려져 있으나, 보다 효과적이며 인체에 안전하고 제제화의 용이성이 우수한 새로운 치료제의 개발이 필요하다.

[0004] 이에 본 발명자는 새로운 섬유증의 치료제를 개발하고자 섬유증과 관련된 다양한 연구를 시도하였으며, 특히 상피간엽이행(Epithelial Mesenchymal Transition, EMT)(이하, 'EMT'라 한다.)에 주목하게 되었다.

[0005] EMT는 정상세포가 종양세포로 가면서 중간단계인 세포골격 변화로 인해 세포모양이 이동하기 쉬운 간엽세포(mesenchymal cell)의 형태로 유전적 리프로그래밍(genetic reprogramming)되는 현상을 말한다. 따라서 EMT 관여 단백질의 발현을 억제하면 종양의 전이와 증식을 억제할 수 있다고 생각하여, 다양한 연구자들이 종양 치료제를 개발하기 위하여 이러한 EMT와 관련된 연구를 진행하고 있다. 이 EMT의 조절인자로는 Twist, Snail, Slug, E-cadherin, vimentin, collagen1 a1 등 약 수백여 개가 알려져 있다.

[0006] 이와 같이 EMT 및 이 EMT의 조절인자에 관한 연구는 대부분 암 또는 종양에 관해서만 진행되어 왔다. 하지만 본 발명자는 기존의 일부 연구결과를 바탕으로 EMT와 섬유증의 연관성에 주목하게 되었고 EMT를 조절할 수 있다면 섬유증을 예방 및 치료할 수도 있을 것으로 기대하였다.

[0007] 이에 EMT와 섬유증과의 연관성에 주목하여 섬유증을 효과적으로 예방, 개선 또는 치료할 수 있는 새로운 물질을 개발하기 위해 연구한 결과, 본 발명의 명세서에 기재된 화학식 1로 표시되는 화합물이 EMT를 효과적으로 조절하여 섬유증에 대한 우수한 예방, 개선 또는 치료 효과를 나타내며, 또한 이러한 효과로 인해 비알코올성 지방간염도 효과적으로 개선 또는 치료할 수 있음을 확인하고 본 발명을 완성하게 되었다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0008] (비특허문헌 0001) Wang Y, Shi, Chai K, Ying X, Zhou BP. The Role of Snail in EMT and Tumorigenesis. Curr Cancer Drug Targets. 2013 Nov;13(9):963-972.

(비특허문헌 0002) Liu CY, Lin HH, Tang MJ, Wang YK. Vimentin contributes to epithelial-mesenchymal transition cancer cell mechanics by mediating cytoskeletal organization and focal adhesion maturation. Oncotarget. 2015 Jun 30;6(18):15966-83.

(비특허문헌 0003) Calzadilla Bertot L, Adams LA. The Natural Course of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. Int J Mol Sci. 2016 May 20;17(5).

발명의 내용

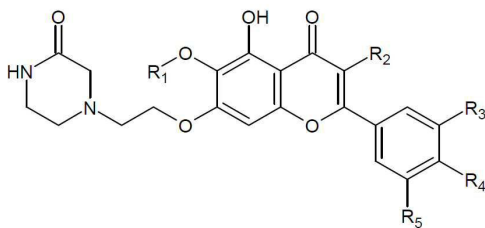
해결하려는 과제

- [0009] 따라서 본 발명의 주된 목적은 섬유증의 예방, 개선 또는 치료 효과가 우수한 신규 화합물을 제공하는데 있다.
- [0010] 본 발명의 다른 목적은 상기 화합물을 유효성분으로 함유하는 섬유증의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하는데 있다.
- [0011] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 화합물을 유효성분으로 함유하는 비알코올성 지방간염의 개선 또는 치료용 조성물을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

- [0012] 본 발명의 한 양태에 따르면, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0013] [화학식 1]



- [0014]
- [0015] 상기 식에서, R₁은 치환 또는 비치환된 C₁₋₅의 선형 또는 분지형 알킬, C₅₋₆의 고리형 알킬, O 또는 N 중 하나 이상의 헤테로원자를 함유하는 C₅₋₆의 고리형 알킬, 치환 또는 비치환된 C₆₋₁₂의 아릴, 또는 O 또는 N 중 하나 이상의 헤테로원자를 함유하는 C₅₋₆의 헤테로아릴이고, R₂는 수소, 에틸, 아세틸, 아세톡시, 카르복실, 벤조일옥시 또는 3,4,5-트리하이드록시벤조일옥시이고, R₃ 내지 R₅는 각각 독립적으로 수소, 하이드록실, 메틸, 메톡시, 아세톡시, 카르복실 또는 벤조일옥시이다.
- [0016] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 섬유증의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0017] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 섬유증의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0018] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 비알코올성 지방간염(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)의 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0019] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 비알코올성 지방간염의 개선용 식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [0020] 본 발명의 신규 화합물은 EMT(Epithelial Mesenchymal Transition, 상피간엽이행)의 조절인자인 snail 및 vimentin의 발현을 효과적으로 조절하여 EMT의 활성화를 조절하고, 이에 따라 섬유증을 효과적으로 예방, 개선 또는 치료할 수 있다. 뿐만 아니라 본 발명의 신규 화합물은 약물동력학적 특성도 매우 우수하여 구강투여로도 체내에 빠른 약물전달이 가능하고, 체내에서 안정적인 효과를 발휘할 수 있으며, 큰 부작용이 없어 안전하게 사용할 수 있다. 또한 본 발명의 신규 화합물은 간세포의 섬유화를 효과적으로 차단할 수 있어 비알코올성 지방간염도 효과적으로 개선 또는 치료할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0021]

도 1은 본 발명의 화합물을 나타낸 것이다.

도 2 및 3은 본 발명의 일실시예에 따른 본 발명 화합물의 합성과정을 나타낸 것이다.

도 4는 본 발명의 일실시예에 따른 본 발명 화합물의 합성과정 중 7-(벤질옥시)-5-하이드록시-2-페닐-4H-크로멘-4-온을 제조하여 LCMS-NMR로 확인한 결과이다.

도 5는 본 발명의 일실시예에 따른 본 발명 화합물의 합성과정 중 7-(벤질옥시)-5-메톡시-2-페닐-4H-크로멘-4-온을 제조하여 LCMS-NMR로 확인한 결과이다.

도 6은 본 발명의 일실시예에 따른 본 발명 화합물의 합성과정 중 1-(4-(벤질옥시)-2-하이드록시-6-메톡시페닐)에탄-1-온을 제조하여 LCMS-NMR로 확인한 결과이다.

도 7은 본 발명의 일실시예에 따른 본 발명 화합물의 합성과정 중 1-(4-(벤질옥시)-3,6-다이하이드록시-2-메톡시페닐)에탄-1-온을 제조하여 LCMS-NMR로 확인한 결과이다.

도 8은 본 발명의 일실시예에 따른 본 발명 화합물의 합성과정 중 1-(4-(벤질옥시)-6-하이드록시-2,3-다이메톡시페닐)에탄-1-온을 제조하여 LCMS-NMR로 확인한 결과이다.

도 9는 본 발명의 일실시예에 따른 본 발명 화합물의 합성과정 중 (E)-1-(4-(벤질옥시)-6-하이드록시-2,3-다이메톡시페닐)-3-(3,4-다이메톡시페닐)프로프-2-엔-1-온을 제조하여 LCMS-NMR로 확인한 결과이다.

도 10은 본 발명의 일실시예에 따른 본 발명 화합물의 합성과정 중 5-(벤질옥시)-2-(3,4-다이메톡시페닐)-6,7-다이메톡시-4H-크로멘-4-온을 제조하여 LCMS-NMR로 확인한 결과이다.

도 11은 본 발명의 일실시예에 따른 본 발명 화합물의 합성과정 중 2-(3,4-다이메톡시페닐)-7-하이드록시-5,6-다이메톡시-4H-크로멘-4-온을 제조하여 LCMS-NMR로 확인한 결과이다.

도 12는 본 발명의 일실시예에 따른 본 발명 화합물의 합성과정 중 2-(3,4-다이메톡시페닐)-5,7-다이하이드록시-6-메톡시-4H-크로멘-4-온을 제조하여 LCMS-NMR로 확인한 결과이다.

도 13은 본 발명의 일실시예에 따른 본 발명 화합물의 합성과정 중 7-(2-브로모메톡시)-2-(3,4-다이메톡시페닐)-5-하이드록시-6-메톡시-4H-크로멘-4-온을 제조하여 LCMS-NMR로 확인한 결과이다.

도 14는 본 발명의 일실시예에 따른 본 발명 화합물의 합성과정 중 4-(2-((2-(3,4-다이메톡시페닐)-5-하이드록시-6-메톡시-4-옥소-4H-크로멘-7-일)옥시)에틸)피페라진-2-온(화학식 2의 화합물)을 제조하여 LCMS-NMR로 확인한 결과이다.

도 15는 간성상세포(Hepatic Stellate Cells, HSC) 유래 간엽줄기세포(mesenchymal stem cell, MSC)인 ONGHEPA1 세포의 섬유화에 대한 본 발명 화합물의 억제 효과를 나타낸 것이다.

도 16은 ONGHEPA1 세포의 섬유화에서 EMT(Epithelial Mesenchymal Transition, 상피간엽이행)의 대표적 마커인 α -SMA(alpha smooth muscle actin)의 발현에 대한 본 발명 화합물의 억제 효과를 나타낸 것이다.

도 17은 폐섬유화 환자에서 분리한 섬유아 세포주(Diseased Human Lung Fibroblasts, DHLF)의 섬유화에 대한 본 발명 화합물의 억제 효과를 나타낸 것이다.

도 18은 인간 폐선암세포주인 A549 세포주의 섬유화에 대한 본 발명 화합물의 억제 효과를 나타낸 것이다.

도 19는 A549 세포주에서 EMT의 대표적 마커인 Snail 및 Vimentin의 발현에 대한 본 발명 화합물의 억제 효과를 나타낸 것이다.

도 20은 간 마이크로솜에 대한 본 발명 화합물의 대사적 안정성을 평가한 결과이다.

도 21은 구강투여에 의한 본 발명 화합물의 약물동력학적 특성을 평가한 결과이다.

도 22 내지 24는 본 발명 화합물에 대한 비교화합물들의 세포 섬유화에서의 효과를 조사한 결과이다.

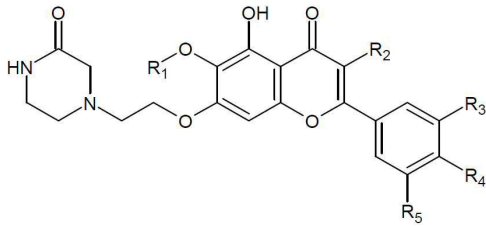
도 25는 본 발명 화합물의 제제화에 따른 약물동력학적 특성을 비교한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0022]

본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 신규 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0023] [화학식 1]



[0024]

[0025]

상기 식에서, R₁은 치환 또는 비치환된 C₁₋₅의 선형 또는 분지형 알킬, C₅₋₆의 고리형 알킬, O 또는 N 중 하나 이상의 헤테로원자를 함유하는 C₅₋₆의 고리형 알킬, 치환 또는 비치환된 C₆₋₁₂의 아릴, 또는 O 또는 N 중 하나 이상의 헤테로원자를 함유하는 C₅₋₆의 헤테로아릴이고, R₂는 수소, 에틸, 아세틸, 아세톡시, 카르복실, 벤조일옥시 또는 3,4,5-트리하이드록시벤조일옥시이고, R₃ 내지 R₅는 각각 독립적으로 수소, 하이드록실, 메틸, 메톡시, 아세톡시, 카르복실 또는 벤조일옥시이다.

[0026]

본 발명의 신규 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 섬유증을 예방, 개선 또는 치료할 수 있다.

[0027]

본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 α-SMA(alpha smooth muscle actin), Snail 및 Vimentin과 같은 EMT(Epithelial Mesenchymal Transition, 상피간엽이행)에 관여하는 중요한 인자들의 발현을 억제하여 세포의 섬유화를 억제할 수 있다.

[0028]

이러한 효과로 본 발명 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 기관 또는 조직의 세포가 어떠한 원인에 의해 섬유화하여 발생하는 질환인 섬유증을 예방, 개선 또는 치료할 수 있는 것이다.

[0029]

또한, 비알코올 지방간염(Nonalcoholic steatohepatitis, NASH)도 간세포의 섬유화가 발생하는 질환이므로, 본 발명 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 이러한 비알코올 지방간염 또한 개선 또는 치료할 수 있다.

[0030]

특히, 본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 이미 섬유화되도록 프로그래밍된 상태의 세포가 성장 및 섬유화하는 것을 강력하게 억제하고 정상세포로 회귀시킬 수 있는데, 이러한 효과는 섬유증이 진행된 상태에서도 정상상태로 되돌릴 수 있다는 것을 의미하는 것으로 본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염이 섬유증 치료에 매우 강력한 효과를 나타낼 수 있다는 것을 뒷받침한다.

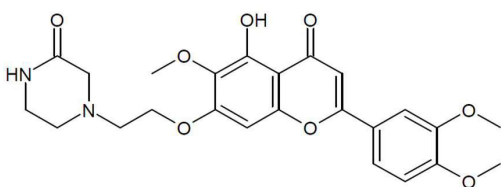
[0031]

본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 간 마이크로솜에 의해 쉽게 분해되거나 다른 물질로 전이되지 않아 체내에서 본연의 구조를 오랫동안 유지하면서 지속적인 효과를 발휘할 수 있다. 또한, 통상적으로 사용되는 인산 완충액에서의 용해성도 낮지 않아 제제화에 유리하며, CYP450에 대한 억제 활성도 낮아 인체에 안전하다. 그리고 구강투여에 의해서도 체내로 빠르게 흡수될 수 있어 투여 용이성도 매우 우수하다.

[0032]

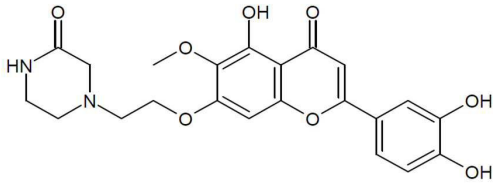
상기와 같은 섬유화 억제 효과, 체내 안정성, 인체에 대한 안전성 등을 위해 본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염에서 상기 R₁은 메틸, 에틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 페닐 또는 벤질인 것이 바람직하며, 보다 바람직하게는 메틸인 것이 좋다. 또한, R₂는 수소이고, R₄는 하이드록실 또는 메톡시이고, R₃ 및 R₅는 각각 독립적으로 수소, 하이드록실 또는 메톡시인 것이 바람직하다. 보다 바람직하게는 하기 화학식 2 내지 5 중 어느 하나로 표시되는 화합물 또는 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염인 것이 좋다.

[0033] [화학식 2]



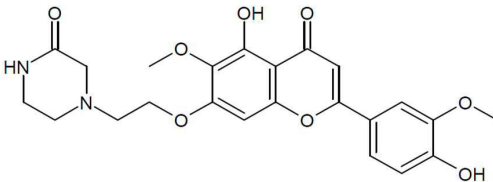
[0034]

[0035] [화학식 3]



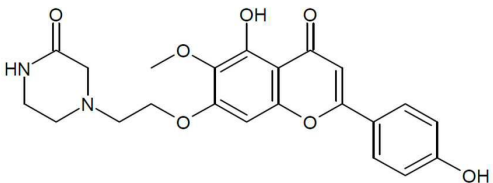
[0036]

[0037] [화학식 4]



[0038]

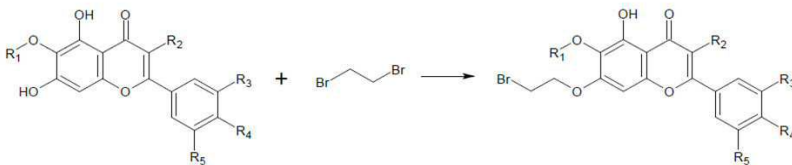
[0039] [화학식 5]



[0040]

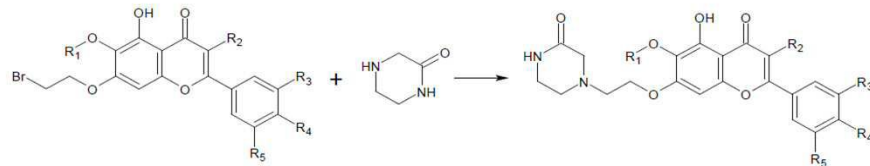
[0041] 상기 본 발명의 화합물은 하기 반응식 1 및 2와 같은 방법으로 제조할 수 있다.

[0042] [반응식 1]



[0043]

[0044] [반응식 2]



[0045]

[0046] 상기 반응식에서, R₁ 내지 R₅는 상기 화학식 1의 R₁ 내지 R₅에 대응한다.

[0047] 상기와 같은 효과를 바탕으로 본 발명은 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 섬유증의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0048] 이때 상기 섬유증은 특발성 폐섬유증(idiopathic pulmonary fibrosis), 골수섬유증(myelofibrosis), 간섬유증(liver fibrosis) 및 신장섬유증(kidney fibrosis)으로 이루어진 군 중에서 선택된 어느 하나인 것이 바람직하다.

[0049] 또한 본 발명은 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 섬유증의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0050] 이때 상기 섬유증은 특발성 폐섬유증, 골수섬유증, 간섬유증 및 신장섬유증으로 이루어진 군 중에서 선택된 어

는 하나인 것이 바람직하다.

- [0051] 또한 본 발명은 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 비알코올성 지방간염(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)의 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0052] 또한 본 발명은 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 비알코올성 지방간염의 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0053] 본 발명의 약학 조성물은 본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 그 자체, 또는 약학적으로 허용된 담체와 혼합한 조성물일 수 있다.
- [0054] 본 발명의 약학 조성물은 전체 조성물의 중량을 기준으로 본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 0.0001 내지 100중량%로 함유할 수 있을 것으로 판단된다.
- [0055] 본 발명의 약학 조성물은 임상 투여 시에 경구 또는 비경구로 투여가 가능하며, 비경구 투여시 복강내주사, 직장내주사, 피하주사, 정맥주사, 근육내주사, 자궁내 경막주사, 뇌혈관내 주사 또는 흉부내 주사에 의해 투여될 수 있고, 일반적인 의약품 제제의 형태로 사용될 수 있을 것으로 판단된다.
- [0056] 본 발명의 약학 조성물은 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있을 것으로 판단된다.
- [0057] 본 발명 약학 조성물의 일일 투여량은 조성물에 함유된 본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 기준으로 체중 1kg 당 약 0.0001 내지 100mg, 바람직하게는 0.001 내지 10mg일 수 있으며, 하루 1회 내지 수 회 나누어 투여될 수 있으나 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양할 것이다.
- [0058] 임상 투여 시 경구 또는 비경구의 다양한 형태의 제형으로 제제화할 수 있으며, 이때 일반적으로 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제할 수 있을 것이다.
- [0059] 특히 본 발명의 화합물은 경구투여로도 빠른 체내 흡수가 가능하며, 이때 NMP(N-Methyl-2-pyrrolidone), PEG400, Solutol HS 및 물을 사용하여 제제화하는 것이 생체이용률 및 체내 안정성을 위해 바람직하다. 상기 NMP, PEG400, Solutol HS 및 물의 비율은 5 ~ 15 : 10 ~ 30 : 10 ~ 30 : 40 ~ 60(v/v)이 바람직하며, 보다 바람직하게는 8 ~ 12 : 15 ~ 25 : 15 ~ 25 : 45 ~ 55(v/v)가 좋다.
- [0060] 본 발명의 약학 조성물은 본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있을 것이다.
- [0061] 본 발명의 식품 조성물은 본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 그 자체, 또는 식품학적으로 허용된 담체와 혼합한 조성물일 수 있다. 이때 본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 함량은 상기 약학 조성물 중의 함량 및 투여량을 기준으로 통상적인 방법에 따라 적절히 조절될 수 있다. 본 발명의 식품 조성물은 식육가공품, 어육제품, 두부, 묵, 죽, 라면이나 국수 등의 면류, 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등의 조미식품, 소스, 과자, 발효유나 치즈 등의 유가공품, 김치나 장아찌 등의 절임식품, 과실, 채소, 두유, 발효음료 등의 음료수의 식품 형태가 가능할 것으로 판단된다. 또한 식품학적으로 허용된 담체는 상기 약학적으로 허용된 담체도 사용할 수 있을 것이다.
- [0062] 이하, 실시예 및 실험예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예 및 실험예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것이므로, 본 발명의 범위가 이들 실시예 또는 실험예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다.
- [0063] **실시예 1. 본 발명 화합물의 제조**
- [0064] 1-1. 7-(벤질옥시)-5-하이드록시-2-페닐-4H-크로멘-4-온(전구체화합물2)의 제조(Step-1)
- [0065] 본 단계는 도 2의 Step-1을 수행하는 단계로 구체적으로 설명하면 다음과 같다.
- [0066] 아세톤(700ml)에 5,7-다이하이드록시-2-페닐-4H-크로멘-4-온(전구체화합물1)(75g; 0.294mol; 1equiv)을 현탁하고, 탄산칼륨(121.8g; 0.442mol; 3.0equiv) 및 벤질 브로마이드(75.5g; 0.442mol; 1.5equiv)를 0℃에서 한방울씩 떨어뜨렸다. 반응혼합물을 상온으로 데우고 60℃로 5시간 가열하였다. 반응 완료는 TLC(8:2/PE:EtOAc; Rf ~ 0.5)로 확인하였다. 혼합물을 상온으로 식히고 필터로 여과하여 탄산칼륨을 제거한 다음 생성된 케이크를 DCM(dichloromethane)으로 온전한 생성물이 없을 때까지 우려내어 여과한 후, 여과액을 건조하여 농축하고 생성

된 고형물을 다이에틸 에테르(200ml)로 슬러리화한 다음, 여과 및 흡입건조하여 노란색 고형물 상태의 7-(벤질옥시)-5-하이드록시-2-페닐-4H-크로멘-4-온(전구체화합물2)을 수득하였다(수득율 : 90.0g; 88.6%).

[0067] 수득한 7-(벤질옥시)-5-하이드록시-2-페닐-4H-크로멘-4-온(전구체화합물2)을 다음 조건에 따른 LCMS-NMR로 확인한 결과는 도 4와 같다.

[0068] LCMS : Mass found; (345.0; M+1)

[0069] 이동상 : A - 0.1% HCOOH in H₂O, B - ACN; Flow Rate - 1.5ml/분; +ve mode

[0070] 컬럼 : Zorbax extended C18 (50 x 4.6mm, 5 μm)

[0071] Rt(min) : 3.46; Area% - 97.97

[0072] ¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 12.83 (s, 1H), 8.10-8.12 (m, 2H), 7.62-7.65 (m, 3H), 7.51-7.62 (m, 2H), 7.43-7.50 (m, 2H), 7.38-7.41 (m, 3H), 7.06 (s, 1H), 6.93 (s, 1H), 6.51 (d, J = 2.40 Hz, 1H), 5.27 (s, 2H).

[0073] 1-2. 7-(벤질옥시)-5-메톡시-2-페닐-4H-크로멘-4-온(전구체화합물3)의 제조(Step-2)

[0074] 본 단계는 도 2의 Step-2를 수행하는 단계로 구체적으로 설명하면 다음과 같다.

[0075] 아세톤(900ml)에 상기 7-(벤질옥시)-5-하이드록시-2-페닐-4H-크로멘-4-온(전구체화합물2)(90g; 0.261mol; 1equiv)을 현탁하고, KOH(43.9g; 0.784mol; 3equiv)를 상온에서 첨가하였다. 반응혼합물을 60℃로 데우고 다이메틸 설페이트(37.1ml; 0.392mol; 1.5equiv)를 60℃에서 드롭방식으로 첨가한 다음 60℃에서 5시간 교반하였다. 반응 완료는 TLC(1:1/PE:EtOAc; R_f ~ 0.2)로 확인하였다. 혼합물을 상온으로 식히고 10% HCl 용액으로 pH를 ~2 정도로 맞춘 다음 필터로 여과하여 침전물을 수집하고, 물로 세척한 후 12시간 동안 흡입건조하여 노란색 고형물 상태의 7-(벤질옥시)-5-메톡시-2-페닐-4H-크로멘-4-온(전구체화합물3)을 수득하였다(수득율 : 90g; 96%).

[0076] 수득한 7-(벤질옥시)-5-메톡시-2-페닐-4H-크로멘-4-온(전구체화합물3)을 다음 조건에 따른 LCMS-NMR로 확인한 결과는 도 5와 같다.

[0077] LCMS : Mass found; (359.0; M+1)

[0078] 이동상 : A - 0.1% HCOOH in H₂O, B - ACN; Flow Rate - 1.5ml/분; +ve mode

[0079] 컬럼 : Zorbax extended C18 (50 x 4.6mm, 5 μm)

[0080] Rt(min) : 2.94; Area% - 97.85

[0081] ¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 8.04-8.06 (m, 2H), 7.46-7.58 (m, 5H), 7.38-7.44 (m, 3H), 7.00 (d, J = 2.00 Hz, 1H), 6.80 (d, J = 1.60 Hz, 1H), 6.62 (d, J = 2.00 Hz, 1H), 5.27 (s, 2H), 3.83 (s, 3H).

[0082] 1-3. 1-(4-(벤질옥시)-2-하이드록시-6-메톡시페닐)에탄-1-온(전구체화합물4)의 제조(Step-3)

[0083] 본 단계는 도 2의 Step-3을 수행하는 단계로 구체적으로 설명하면 다음과 같다.

[0084] 수산화나트륨 수용액(50%; 686ml; 8.79mol; 35equiv)에 상기 7-(벤질옥시)-5-메톡시-2-페닐-4H-크로멘-4-온(전구체화합물3)(90g; 0.251mol; 1equiv)을 현탁하고, 피리딘(417.1ml; 5.02mol; 20equiv)을 상온에서 첨가하였다. 짙은 갈색의 혼합물을 강하게 교반하고 다이에틸렌 글리콜(475ml, 5.02mol, 20equiv)을 드롭방식으로 첨가한 다음 혼합물을 100℃로 가열하여 2시간 동안 교반하였다. 반응 완료는 TLC(1:1/PE:EtOAc; R_f ~ 0.5)로 확인하였다. 혼합물을 0℃로 식히고 12N 염산 수용액으로 pH를 1로 맞춘 다음 에틸 아세테이트(2 x 500ml)로 추출하였다. 추출된 유기상을 탄산수소나트륨 포화수용액, 물 및 브라인 용액으로 세척하였다. 황산나트륨으로 건조시키고, 감압 하에서 용매를 제거하였다. 생성된 잔여물을 다이에틸 에테르(700ml)에 재용해시키고, 용해되지 않는 암색의 입자를 여과하여 제거하였다. 여과액을 진공농축하여 옅은 노란색 고형물 상태의 1-(4-(벤질옥시)-2-하이드록시-6-메톡시페닐)에탄-1-온(전구체화합물4)을 수득하였다(수득율 : 70g; 97%).

[0085] 수득한 1-(4-(벤질옥시)-2-하이드록시-6-메톡시페닐)에탄-1-온(전구체화합물4)을 다음 조건에 따른 LCMS-NMR로 확인한 결과는 도 6과 같다.

- [0086] LCMS : Mass found; (273.0; M+1)
- [0087] 이동상 : A - 0.1% HCOOH in H₂O, B - ACN; Flow Rate - 1.5ml/분; +ve mode
- [0088] 컬럼 : Zorbax extended C18 (50 x 4.6mm, 5 μm)
- [0089] Rt(min) : 3.15; Area% - 93.79
- [0090] ¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 13.77 (s, 1H), 7.35-7.47 (m, 5H), 6.18-6.21 (d, 2H), 5.18 (s, 2H), 3.86 (s, 3H), 2.51 (s, 3H).
- [0091] 1-4. 1-(4-(벤질옥시)-3,6-다이하이드록시-2-메톡시페닐)에탄-1-온(전구체화합물5)의 제조(Step-4)
- [0092] 본 단계는 도 2의 Step-4를 수행하는 단계로 구체적으로 설명하면 다음과 같다.
- [0093] 테트라에틸 암모늄 하이드록사이드 수용액(35%; 632ml; 1.43mol; 13equiv)에 상기 1-(4-(벤질옥시)-2-하이드록시-6-메톡시페닐)에탄-1-온(전구체화합물4)(30g; 0.110mol; 1equiv)을 현탁하고, 피리딘(69.4ml; 0.836mol; 7.6equiv)을 상온에서 드롭방식으로 첨가하였다. 이때 반응혼합물은 선명한 암색 용액이 된다. 별도의 플라스크에서 물(1ℓ)에 포타슘 퍼실페이트(50.49g; 0.187mol; 1.7equiv)를 첨가하고, 이 용액을 상기 반응혼합물에 상온에서 드롭방식으로 첨가한 다음 24시간 동안 교반하였다. TLC로 출발물질의 소멸을 확인한 후, 0℃에서 상기 반응혼합물에 HCl을 첨가하여 pH를 1 ~ 2로 맞추었다. 생성된 갈색 점착성 잔여물을 필터에 통과시키고, 여과액을 다이에틸 에테르(1 x 100ml)로 세척하였다.
- [0094] 분리된 수상을 아황산나트륨(11.09g; 0.0.088mol; 0.8equiv), HCl(110ml) 및 벤젠(220ml)으로 처리하고, 이 반응혼합물을 95℃로 1시간 가열하였다. 반응 완료는 TLC(8:2/PE:EtOAc; Rf ~ 0.3)로 확인하였다. 반응혼합물을 0℃로 식히고 에틸 아세테이트(2 x 300ml)로 추출하였다. 유기상을 브라인 용액으로 세척하고 황산나트륨으로 건조시킨 다음 감압 하에서 용매를 제거하였다. 잔여물을 실리카겔(60~120mesh) 컬럼 크로마토그래피에 적용하고 에틸 아세테이트(10~12%) 첨가 석유에테르로 용출시켜 용출물로 노란색 고형물 상태의 1-(4-(벤질옥시)-3,6-다이하이드록시-2-메톡시페닐)에탄-1-온(전구체화합물5)을 수득하였다(수득율 : 10g; 31%).
- [0095] 수득한 1-(4-(벤질옥시)-3,6-다이하이드록시-2-메톡시페닐)에탄-1-온(전구체화합물5)을 다음 조건에 따른 LCMS-NMR로 확인한 결과는 도 7과 같다.
- [0096] LCMS : Mass found; (289.0; M+1)
- [0097] 이동상 : A - 0.1% HCOOH in H₂O, B - ACN; Flow Rate - 1.5ml/분; +ve mode
- [0098] 컬럼 : Zorbax extended C18 (50 x 4.6mm, 5 μm)
- [0099] Rt(min) : 2.68; Area% - 91.01
- [0100] ¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 12.76 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 7.41-7.51 (m, 2H), 7.31-7.38 (m, 3H), 6.38 (s, 1H), 5.21 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 2.51 (s, 3H).
- [0101] 1-5. 1-(4-(벤질옥시)-6-하이드록시-2,3-다이메톡시페닐)에탄-1-온(전구체화합물6)의 제조(Step-5)
- [0102] 본 단계는 도 2의 Step-5를 수행하는 단계로 구체적으로 설명하면 다음과 같다.
- [0103] 아세톤(300ml)에 상기 1-(4-(벤질옥시)-3,6-다이하이드록시-2-메톡시페닐)에탄-1-온(전구체화합물5)(28g; 0.097mol; 1equiv)을 현탁하고, K₂CO₃(20g; 0.145mol; 1.5equiv)를 상온에서 첨가하였다. 반응혼합물을 60℃로 데우고 다이메틸 설페이트(18.2ml; 0.145mol; 2equiv)를 60℃에서 드롭방식으로 첨가한 다음 60℃로 5시간 동안 교반하였다. 반응 완료를 TLC로 확인한 후 혼합물을 상온으로 식히고 여과하여 K₂CO₃를 제거한 다음 케이크를 DCM으로 우려내어 여과한 후, 여과액을 건조시켜 농축한 다음 생성된 잔여물을 실리카겔(60~120mesh) 컬럼 크로마토그래피에 적용하고 에틸 아세테이트(8~10%) 첨가 석유에테르로 용출시켜 용출물로 백색 고형물 상태의 1-(4-(벤질옥시)-6-하이드록시-2,3-다이메톡시페닐)에탄-1-온(전구체화합물6)을 수득하였다(수득율 : 25g; 85%).
- [0104] 수득한 1-(4-(벤질옥시)-6-하이드록시-2,3-다이메톡시페닐)에탄-1-온(전구체화합물6)을 다음 조건에 따른 LCMS-NMR로 확인한 결과는 도 8과 같다.

- [0105] LCMS : Mass found; (303.0; M+1)
- [0106] 이동상 : A - 0.1% HCOOH in H₂O, B - ACN; Flow Rate - 1.5ml/분; +ve mode
- [0107] 컬럼 : Zorbax extended C18 (50 x 4.6mm, 5 μm)
- [0108] Rt(min) : 3.11; Area% - 99.85
- [0109] ¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 12.95 (s, 1H), 7.36-7.48 (m, 5H), 6.45 (s, 1H), 5.20 (s, 2H), 3.96 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 2.51 (s, 3H).
- [0110] 1-6. (E)-1-(4-(벤질옥시)-6-하이드록시-2,3-다이메톡시페닐)-3-(3,4-다이메톡시페닐)프로프-2-엔-1-온(전구체 화합물7)의 제조(Step-6)
- [0111] 본 단계는 도 2의 Step-6을 수행하는 단계로 구체적으로 설명하면 다음과 같다.
- [0112] 3,4-다이메톡시벤즈알데하이드(16.4g; 0.099mol; 1.2equiv) 첨가 에탄올(200ml)에 상기 1-(4-(벤질옥시)-6-하이드록시-2,3-다이메톡시페닐)에탄-1-온(전구체화합물6)(25g; 0.082mol; 1equiv)을 현탁하고, KOH(46g; 0.082mol; 1equiv) 수용액을 상온에서 첨가한 다음, 반응혼합물을 상온에서 24시간 교반하였다. TLC(6:4/PE:EtOAc; R_f ~ 0.4)로 70~75%의 산물 형성을 확인하였고, 비반응 출발물질은 24시간 후에도 온전히 남아있었다. 혼합물을 진공농축하고 잔여물을 황산수소나트륨 수용액 및 DCM으로 분획하였다. 분리된 유기상을 물 및 브라인 용액으로 세척하고 황산나트륨으로 건조시켰다. 진공농축하여 생성된 잔여물을 다이에틸 에테르(100ml)로 슬러리화하고 여과 및 흡입 건조하여 노란색 고형물 상태의 (E)-1-(4-(벤질옥시)-6-하이드록시-2,3-다이메톡시페닐)-3-(3,4-다이메톡시페닐)프로프-2-엔-1-온(전구체화합물7)을 수득하였다(수득율 : 23.0g; 39%).
- [0113] 수득한 (E)-1-(4-(벤질옥시)-6-하이드록시-2,3-다이메톡시페닐)-3-(3,4-다이메톡시페닐)프로프-2-엔-1-온(전구체화합물7)을 다음 조건에 따른 LCMS-NMR로 확인한 결과는 도 9와 같다.
- [0114] LCMS : Mass found; (450.9; M+1)
- [0115] 이동상 : A - 0.1% HCOOH in H₂O, B - ACN; Flow Rate ?? 1.5ml/분; +ve mode
- [0116] 컬럼 : Zorbax extended C18 (50 x 4.6mm, 5 μm)
- [0117] Rt(min) : 3.34; Area% - 98.16
- [0118] ¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 11.96 (s, 1H), 7.49-7.57 (m, 3H), 7.49-7.57 (m, 4H), 7.29-7.39 (m, 2H), 7.03 (d, J = 8.40 Hz, 1H), 6.47 (s, 1H), 5.19 (s, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.74 (s, 3H).
- [0119] 1-7. 5-(벤질옥시)-2-(3,4-다이메톡시페닐)-6,7-다이메톡시-4H-크로멘-4-온(전구체화합물8)의 제조(Step-7)
- [0120] 본 단계는 도 3의 Step-7을 수행하는 단계로 구체적으로 설명하면 다음과 같다.
- [0121] 이소아밀 알코올(300ml)에 상기 (E)-1-(4-(벤질옥시)-6-하이드록시-2,3-다이메톡시페닐)-3-(3,4-다이메톡시페닐)프로프-2-엔-1-온(전구체화합물7)(21g; 0.0466mol; 1equiv)을 현탁하고, 이산화셀레늄(21g; 0.466mol; 10equiv)을 상온에서 첨가한 다음, 140 °C로 가열하여 7시간 동안 교반하였다. TLC(4:6/PE:EtOAc; R_f ~ 0.2)로 반응 완료를 확인한 후, 혼합물을 상온으로 식히고 생성된 암색 입자를 셀라이트 패드 상에서 여과하여 제거하였다. 패드를 DCM으로 우려낸 여과액을 진공 하에서 농축하였다. 생성된 잔여물을 DCM(500ml)에 녹이고 NaHCO₃ 수용액, 물 및 브라인 용액으로 세척한 다음 황산나트륨으로 건조시키고 감압 하에서 용매를 제거하였다. 잔여물을 실리카겔(60~120mesh) 컬럼 크로마토그래피에 적용하고 에틸 아세테이트(50~60%) 첨가 석유에테르로 용출시켜 용출물로 노란색 고형물 상태의 5-(벤질옥시)-2-(3,4-다이메톡시페닐)-6,7-다이메톡시-4H-크로멘-4-온(전구체화합물8)을 수득하였다(수득율 : 16g; 76%).
- [0122] 수득한 5-(벤질옥시)-2-(3,4-다이메톡시페닐)-6,7-다이메톡시-4H-크로멘-4-온(전구체화합물8)을 다음 조건에 따른 LCMS-NMR로 확인한 결과는 도 10과 같다.

- [0123] LCMS : Mass found; (449.0; M+1)
- [0124] 이동상 : A - 0.1% HCOOH in H₂O, B - ACN; Flow Rate - 1.5ml/분; +ve mode
- [0125] 컬럼 : Zorbax extended C18 (50 x 4.6mm, 5 μm)
- [0126] Rt(min) : 2.83; Area% - 98.62
- [0127] ¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 7.54 (d, J = 8.40 Hz, 1H), 7.45 (t, J = 7.60 Hz, 2H), 7.37 (d, J = 8.40 Hz, 2H), 7.13 (d, J = 8.80 Hz, 2H), 6.82 (s, 1H), 5.30 (s, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.77 (s, 3H).
- [0128] 1-8. 2-(3,4-다이메톡시페닐)-7-하이드록시-5,6-다이메톡시-4H-크로멘-4-온(전구체화합물9)의 제조(Step-8)
- [0129] 본 단계는 도 3의 Step-8을 수행하는 단계로 구체적으로 설명하면 다음과 같다.
- [0130] 클로로포름(200ml)에 상기 5-(벤질옥시)-2-(3,4-다이메톡시페닐)-6,7-다이메톡시-4H-크로멘-4-온(전구체화합물 8)(19g; 0.0424mol; 1 equiv)을 현탁하고, 10% Pd/C(palladium on carbon)(3.8g)을 첨가한 다음 반응물을 balloon 대기 하에서 상온으로 6~7시간 수소화하였다. TLC로 반응 완료를 확인한 후, 셀라이트 패드를 통해 촉매를 여과하였다. 패드를 20% MeOH 첨가 DCM으로 우려내고 여과액을 진공 하에서 농축하여 암갈색의 고형물을 수득하였다. 고형물을 에틸 아세테이트(80ml)로 분말화하고, 여과 및 흡입 건조하여 노란색 고형물 상태의 2-(3,4-다이메톡시페닐)-7-하이드록시-5,6-다이메톡시-4H-크로멘-4-온(전구체화합물9)을 수득하였다(수득율 : 11.0g; 72%).
- [0131] 수득한 2-(3,4-다이메톡시페닐)-7-하이드록시-5,6-다이메톡시-4H-크로멘-4-온(전구체화합물9)을 다음 조건에 따른 LCMS-NMR로 확인한 결과는 도 11과 같다.
- [0132] LCMS : Mass found; (359.0; M+1)
- [0133] 이동상 : A - 0.1% HCOOH in H₂O, B - ACN; Flow Rate - 1.5ml/min; +ve mode
- [0134] 컬럼 : Zorbax extended C18 (50 x 4.6mm, 5 μm)
- [0135] Rt(min) : 2.07; Area% - 99.63
- [0136] ¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 10.69 (s, 1H), 7.61 (d, J = 8.40 Hz, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.11 (d, J = 8.40 Hz, 1H), 6.90 (s, 1H), 6.74 (s, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.77 (s, 3H).
- [0137] 1-9. 2-(3,4-다이메톡시페닐)-5,7-다이하이드록시-6-메톡시-4H-크로멘-4-온(전구체화합물10)의 제조(Step-9)
- [0138] 본 단계는 도 3의 Step-9를 수행하는 단계로 구체적으로 설명하면 다음과 같다.
- [0139] 아세트니트릴(100ml)에 상기 2-(3,4-다이메톡시페닐)-7-하이드록시-5,6-다이메톡시-4H-크로멘-4-온(전구체화합물9)(11g; 0.0307mol; 1 equiv)을 현탁하고, AlCl₃(20.3g; 0.153mol; 5equiv)을 상온에서 조금씩 첨가한 다음 혼합물을 90℃에서 2시간 동안 환류시켰다. TLC로 반응 완료를 확인하고 용매를 증발 건조시켰다. 생성된 잔여물을 HCL 수용액(10%; 200ml) 및 클로로포름(200ml)으로 처리하고, 반응혼합물이 맑아질 때까지 환류시켰다. TLC(7:3/PE:EtOAc; Rf ~ 0.4)로 반응 완료를 확인한 후 반응혼합물을 상온으로 식히고 유기상을 분리하였다. 수상을 다시 DCM으로 추출하고 유기상을 물 및 브라인 용액으로 세척한 다음 황산나트륨으로 건조시키고 농축하였다. 잔여물을 실리카겔(60~120mesh) 컬럼 크로마토그래피에 적용하고 DCM으로 용출시켜 용출물로 노란색 고형물 상태의 2-(3,4-다이메톡시페닐)-5,7-다이하이드록시-6-메톡시-4H-크로멘-4-온(전구체화합물10)을 수득하였다(수득율 : 7.0g; 66%).
- [0140] 수득한 2-(3,4-다이메톡시페닐)-5,7-다이하이드록시-6-메톡시-4H-크로멘-4-온(전구체화합물10)을 다음 조건에 따른 LCMS-NMR로 확인한 결과는 도 12와 같다.
- [0141] LCMS : Mass found; (344.9; M+1)
- [0142] 이동상 : A - 0.1% HCOOH in H₂O, B - ACN; Flow Rate - 1.5ml/분; +ve mode
- [0143] 컬럼 : Zorbax extended C18 (50 x 4.6mm, 5 μm)

- [0144] Rt(min) : 2.44; Area% - 98.32
- [0145] HPLC : 97.64%
- [0146] 이동상 : A - 0.1 % TFA in H₂O, B - ACN; Flow Rate - 1.0ml/분
- [0147] 컬럼 : Atlantis dC-18 (4.6 x 250)mm; 5u;
- [0148] Rt(min) : 12.68; Area% - 97.64.
- [0149] ¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 13.05 (s, 1H), 10.73 (s, 1H), 7.68-7.71 (m, 1H), 7.58 (d, J = 2.04 Hz, 1H), 7.14 (d, J = 8.64 Hz, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.65 (s, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.76 (s, 3H).
- [0150] ¹³C-NMR (100MHz, DMSO-d₆) : δ 182.6, 163.8, 157.8, 153.1, 152.8, 152.5, 149.4, 131.8, 123.4, 120.4, 112.1, 109.9, 104.5, 103.8, 94.8, 60.4, 56.3, 56.2.
- [0151] 1-10. 7-(2-브로모에톡시)-2-(3,4-다이메톡시페닐)-5-하이드록시-6-메톡시-4H-크로멘-4-온(전구체화합물11)의 제조(Step-10)
- [0152] 본 단계는 도 3의 Step-10을 수행하는 단계로 구체적으로 설명하면 다음과 같다.
- [0153] THF(tetrahydrofuran)(400ml, 40vol.)에 상기 2-(3,4-다이메톡시페닐)-5,7-다이하이드록시-6-메톡시-4H-크로멘-4-온(전구체화합물10)(10g, 29mmol, 1equiv.) 및 탄산칼륨(12.04g, 87.1mmol, 3.0equiv.)을 혼합 교반하고, 1,2-다이브로모 에탄(27.28g, 145.2mol, 5equiv.) 및 TBAI(tetrabutylammonium iodide)(1.05g, 0.0029mol, 0.1equiv.)를 첨가한 다음 생성된 혼합물을 60℃에서 16시간 동안 환류시켰다. TLC로 반응 완료를 확인한 후 감압 하에서 THF를 제거하여 고형물을 수득하였다. 고형물을 과량의 THF 및 메탄올로 세척하여 고형물 상태의 7-(2-브로모에톡시)-2-(3,4-다이메톡시페닐)-5-하이드록시-6-메톡시-4H-크로멘-4-온(전구체화합물11)을 수득하였다(수득율 : 8g; 61%). 이후 별도의 추가 정제과정 없이 다음 단계에서 사용하였다.
- [0154] 수득한 7-(2-브로모에톡시)-2-(3,4-다이메톡시페닐)-5-하이드록시-6-메톡시-4H-크로멘-4-온(전구체화합물11)을 다음 조건에 따른 LCMS-NMR로 확인한 결과는 도 13과 같다.
- [0155] LCMS : Mass found; (451.0; M+1)
- [0156] 이동상 : A - 0.1% HCOOH in H₂O, B - ACN; Flow Rate - 1.5ml/분; +ve mode
- [0157] 컬럼 : Atlantis dC18 (50 x 4.6mm, 5 μm)
- [0158] Rt(min) : 3.14; Area% - 80.41
- [0159] ¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 12.91 (s, 1H), 7.73 (dd, J = 5.6, 2.0 Hz, 1H), 7.60 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.06 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 4.51 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.79 (s, 3H).
- [0160] 1-11. 4-(2-((2-(3,4-다이메톡시페닐)-5-하이드록시-6-메톡시-4-옥소-4H-크로멘-7-일)옥시)에틸)피페라진-2-온(화합물1)의 제조(Step-11)
- [0161] 본 단계는 도 3의 Step-11을 수행하는 단계로 구체적으로 설명하면 다음과 같다.
- [0162] 아세트니트릴(80ml)에 상기 7-(2-브로모에톡시)-2-(3,4-다이메톡시페닐)-5-하이드록시-6-메톡시-4H-크로멘-4-온(전구체화합물11)(8g, 17.7mmol, 1.0equiv.) 및 피페라진-2-온(5.33g, 53.3mmol, 3.0equiv.)을 첨가하고, 질소 대기 하에서 12시간 동안 환류시켰다. TLC로 반응 완료를 확인한 후 감압 하에서 아세트니트릴을 제거하였다. 생성된 점성물질을 DCM 및 석유에테르로 분말화하여 고형물을 얻고, 메탄올, DCM 및 THF로 연속 세척하고 건조하여 얇은 노란색 고형물 상태의
4-(2-((2-(3,4-다이메톡시페닐)-5-하이드록시-6-메톡시-4-옥소-4H-크로멘-7-일)옥시)에틸)피페라진-2-온(화합물 1)(화합식 2)을 수득하였다(수득율 : 3.2g; 41%).
- [0163] 수득한 4-(2-((2-(3,4-다이메톡시페닐)-5-하이드록시-6-메톡시-4-옥소-4H-크로멘-7-일)옥시)에틸)피페라진-2-온(화합물1)을 다음 조건에 따른 LCMS-NMR로 확인한 결과는 도 14와 같다.

- [0164] LCMS : Mass found (471.2; M+1)
- [0165] 이동상 : A - 0.1% Formic Acid in H₂O; B - ACN
- [0166] 컬럼 : Atlantis dC18 (50 x 4.6mm, 5 μm)
- [0167] Rt(min) : 1.515; Area% - 95.488
- [0168] HPLC : 97.03%
- [0169] 이동상 : A - 0.1% TFA in H₂O; B - Acetonitrile
- [0170] 컬럼 : Atlantis dC18 (50 x 4.6mm, 5 μm)
- [0171] Rt (min): 9.74; Area% - 97.03
- [0172] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 12.89 (s, 1H), 7.75 (br s, 1H), 7.70 (dd, J = 8.0, 1.6 Hz, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.13 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 10.4 Hz, 2H), 4.28 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.17 (br s, 2H), 3.11 (s, 2H), 2.87 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 2.73 (t, J = 5.2 Hz, 2H).
- [0173] ¹³C-NMR (100MHz, CDCl₃): 182.4, 169.2, 163.9, 157.5, 153.1, 152.9, 152.2, 149.1, 132.7, 123.4, 119.9, 111.0, 108.6, 106.1, 104.1, 91.4, 67.1, 60.7, 57.0, 56.0, 55.9, 55.5, 49.4, 41.1
- [0174] **실험예 1. 본 발명 화합물의 섬유증에 대한 효과 조사**
- [0175] 1-1. 간엽줄기세포를 대상으로 한 효과 실험
- [0176] 본 발명 화합물의 섬유증에 대한 효과를 조사하기 위해, 먼저 쥐의 간성상세포(Hepatic Stellate Cells, HSC)로부터 유래되어 무한 증식할 수 있는 간엽줄기세포(mesenchymal stem cell, MSC)인 ONGHEPA1(KCTC13086BP) 세포주를 이용하였다. 이 세포주는 TGF-β(Transforming growth factor beta) 또는 PDGF(Platelet-derived growth factor)를 처리하는 간단한 방법으로 섬유화가 유도될 수 있다.
- [0177] ONGHEPA1 세포를 배지에 접종(seeding)하고 24시간 배양한 다음 TGF-β를 처리(5ng/ml)하여 섬유화를 유도하거나 또는 TGF-β와 본 발명의 화합물(50 μM)을 동시에 처리하고 24시간 동안 배양한 후, 세포의 섬유화 정도, 즉 근섬유아세포(myofibroblast)로의 분화 정도를 위상차 현미경(200 배율)으로 조사하였다.
- [0178] 이때 구체적인 실험방법은 Kim 등의 논문(Han-Soo Kim, Jun-Hwan Kim, Ji Yong Lee, Young-Min Yoon, Ik-Hwan Kim, Ho-Sup Yoon, Byung-Soo Youn. Small molecule-mediated reprogramming of epithelial-mesenchymal transition thereby blocking fibrosis. bioRxiv preprint first posted online Feb. 16, 2017; doi: <http://dx.doi.org/10.1101/106591>.)에 따랐다.
- [0179] 이의 결과, 도 15와 같이 TGF-β를 처리한 대조군은 길쭉한 형태의 근섬유아세포로 분화하여 전형적인 섬유화 증상을 나타낸 반면, 본 발명의 화합물을 함께 처리한 실험군은 정상대조군과 차이가 없을 정도로 섬유화 증상이 없는 것으로 나타났다.
- [0180] 또한, 상기와 같은 효과가 상피간엽이행(Epithelial Mesenchymal Transition, EMT)(이하 'EMT'로 약기)에 대한 영향으로 인한 것인지 확인하기 위하여, 각 실험군의 세포를 대상으로 EMT의 대표적인 마커인 α-SMA(alpha smooth muscle actin)의 발현을 면역형광염색 및 핵염색(DAPI 염색)을 비교하여 조사하였다.
- [0181] 이의 결과, 도 16과 같이 TGF-β를 처리한 대조군은 α-SMA의 발현이 상당히 높게 이루어지는 반면, 본 발명의 화합물을 함께 처리한 실험군은 정상대조군과 차이가 없을 정도로 α-SMA의 발현이 저해되는 것으로 나타났다.
- [0182] 이러한 결과는 본 발명의 화합물이 세포의 EMT에 영향을 미쳐 근섬유화세포로의 분화를 강력하게 억제하며, 이에 따라 섬유증, 특히 간에 발생하는 섬유증 또는 비알코올성 지방간염(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다는 것을 뒷받침한다.
- [0183] 1-2. 폐섬유화 환자의 섬유아 세포주를 대상으로 한 효과 실험
- [0184] 폐섬유화 환자에서 분리한 섬유아 세포주(Diseased Human Lung Fibroblasts, DHLF)(Lonza 사, Swiss)를 배지에

접종하고 24시간 배양한 다음 TGF-β를 처리(5ng/ml)하여 섬유화를 유도하거나 또는 TGF-β와 본 발명의 화합물(50 μM)을 동시에 처리하고 24, 48 또는 72시간 동안 배양한 후, 근섬유화세포로의 분화 정도를 위상차 현미경(200배율)으로 조사하였다.

[0185] 이의 결과, 도 17과 같이 비처리군 및 TGF-β를 처리한 대조군은 길쭉한 형태의 근섬유아세포로 분화하여 전형적인 섬유화 증상을 나타낸 반면, 본 발명의 화합물을 함께 처리한 실험군은 섬유화 증상이 거의 없을 뿐만 아니라 세포의 성장 또한 억제되는 것으로 나타났다.

[0186] 이러한 결과는 본 발명의 화합물이 이미 섬유화되도록 프로그래밍된 상태의 섬유아 세포의 성장 및 섬유화를 강력하게 억제하고 정상세포로 회귀시켜, 섬유증, 특히 특발성 폐섬유증 등의 폐에 발생하는 섬유증을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다는 것을 뒷받침한다.

[0187] 1-3. 폐선암세포주를 대상으로 한 효과 실험

[0188] 폐의 EMT 관련 연구모델로 사용되는 인간 폐선암세포주인 A549 세포주를 배지에 접종하고 24시간 배양한 다음 TGF-β를 처리(5ng/ml)하거나 또는 TGF-β와 본 발명의 화합물(25 또는 50 μM)을 동시에 처리하고 24 또는 48시간 동안 배양한 후, 세포를 위상차 현미경(200배율)으로 조사하였다.

[0189] 이의 결과, 도 18과 같이 TGF-β를 처리하였을 때 길쭉한 형태의 근섬유아세포로 분화된 반면, 본 발명의 화합물을 함께 처리한 실험군은 이러한 현상이 억제되는 것으로 나타났다.

[0190] 또한, 상기와 같은 효과가 EMT에 대한 영향으로 인한 것인지 확인하기 위하여, 각 실험군의 세포를 대상으로 EMT의 대표적인 마커인 Snail 및 Vimentin의 발현양상을 Real-Time PCR로 확인하였다.

[0191] 이의 결과, 도 19와 같이 TGF-β를 처리한 대조군은 이들 마커의 발현이 크게 증가한 반면, 본 발명의 화합물을 함께 처리한 실험군은 이들 마커의 발현이 현저하게 억제되는 것으로 나타났다.

[0192] 이러한 결과는 본 발명의 화합물이 세포의 EMT에 영향을 미쳐 근섬유화세포로의 분화를 강력하게 억제하며, 이에 따라 섬유증, 특히 특발성 폐섬유증 등의 폐에 발생하는 섬유증을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다는 것을 뒷받침한다.

[0193] **실험예 2. 본 발명 화합물의 약물동력학적 특성 조사**

[0194] 2-1. 대사적 안정성

[0195] 본 발명의 화합물을 쥐의 간 마이크로솜(microsome) 및 NADPH와 함께 배양한 다음 화합물이 소실되는 비율을 측정하여 화합물의 내재성 청소율(intrinsic clearance value, CL_{int} value)을 계산하였다. 이때 대조군으로 베라파밀(verapamil) 및 아테놀올(atenolol)을 사용하였다.

[0196] 이의 결과 본 발명의 화합물은 아테놀올과 비교될 수 있을 정도로 대사적으로 안정한 것으로 나타났다(표 1 및 도 20 참조).

표 1

[0197]

화합물 명칭	쥐의 간 마이크로솜		
	t _{1/2} (min)	CL _{int} (μl/min/mg protein)	청소율 등급
화합물 1	71.43	19.40	중간
베라파밀	6.37	217.68	높음
아테놀올	9415.85	0.15	낮음

[0198] 2-2. 완충액 용해성

[0199] 본 발명의 화합물을 인산 완충액(phosphate buffer, pH 7.4)에 1mg/ml의 농도로 첨가하여 휘저은 다음 16시간 이후 시료를 필터로 여과하고 상등액을 HPLC-UV로 분석하여 용해된 화합물의 함량을 결정하였다. 이때 대조군으로 카페인(caffeine) 및 다이에틸 스틸베스테롤(diethyl stilbesterol)을 사용하였다.

[0200] 이의 결과 본 발명 화합물의 완충액 용해성은 카페인에 비해 낮지만 다이에틸 스틸베스테롤에 비해 높은 것으로 나타났다(표 2 참조).

표 2

[0201]

화합물 명칭	용해도($\mu\text{g/ml}$)
카페인	972.68
다이에틸 스틸베스테롤	4.50
화합물 1	9.59

[0202]

2-3. CYP450 억제 여부

[0203]

본 발명의 화합물의 CYP3A4, CYP2D6 및 CYP2C9에 대한 억제 여부를 조사하였다. 이때 대조군으로 케토코나졸(ketoconazole), 퀴니딘(quinidine) 및 설파페나졸(sulfaphenazole)을 사용하였다.

[0204]

이의 결과 본 발명의 화합물은 CYP2C9에 대해 약간의 억제 활성은 있는 것으로 나타났지만 대조군인 설파페나졸에 비해 상대적으로 억제 활성이 낮고, CYP3A4 및 CYP2D6에 대한 억제 활성이 거의 없거나 매우 낮은 것으로 나타났다(표 3 참조).

표 3

[0205]

	3A4-midazolam	3A4-testosterone	2D6	2C9
화합물 명칭	IC50(μM)	IC50(μM)	IC50(μM)	IC50(μM)
화합물 1	>50	49.72	>50	5.54
케토코나졸	0.027	0.023	na	na
퀴니딘	na	na	0.047	na
설파페나졸	na	na	na	0.40

[0206]

* na : not activity

[0207]

2-4. 구강투여에 의한 약물동력학적 특성

[0208]

구강투여에 의한 화합물의 약물동력학적 특성을 확인하기 위해 쥐 모델을 이용하였다.

[0209]

체중 250 ~ 300g의 수컷 SD 쥐를 그룹당 3마리씩 배치하고, 본 발명의 화합물을 200mg/kg(체중)으로 구강투여한 다음, 경과한 시간에 따라 플라즈마(plasma)에 존재하는 화합물의 양을 측정하는 방법을 이용하였다. 이때 구강투여를 위해 0.5% CMC 및 1% Tween-80 상태로 제형화하여 사용하였다.

[0210]

이의 결과 본 발명의 화합물은 구강투여에 의해 체내로 빠르게 흡수될 수 있는 것으로 나타났다(표 4 및 도 21 참조).

표 4

[0211]

PK 파라미터	화합물 1 (200mpk, po)
Cmax (ng/ml)	260.8 \pm 41.4
Tmax (h)	1 \pm 0
AUC(inf) (h*ng/ml)	426.5 \pm 67.7
AUC(0-24) (h*ng/ml)	420.1 \pm 69.3
AUC_%Extrap (obs)	1.6 \pm 0.7
MRT(inf) (h)	1.7 \pm 0.2
t1/2 (h)	1.5 \pm 0.4

[0212]

* 평균 \pm SD(n=3 쥐/그룹)

[0213]

비교실험예 1. 비교화합물의 섬유증에 대한 효과 조사

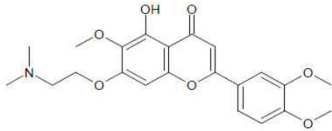
[0214]

상기 실험예 1-1과 동일한 방법으로 다음 비교화합물들의 섬유증에 대한 효과를 조사하였다.

[0215]

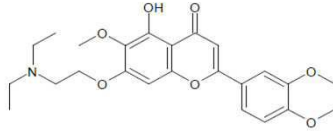
이의 결과, 도 22 내지 24와 같이 본 발명의 화합물과는 달리 비교화합물들은 세포독성을 나타내어 세포를 사멸시키거나 세포의 섬유화가 진행되는 것을 차단하지 못하는 것으로 나타났다.

비교화합물 1

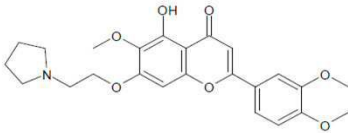


[0216]

비교화합물 2

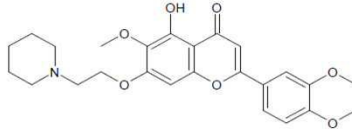


비교화합물 3

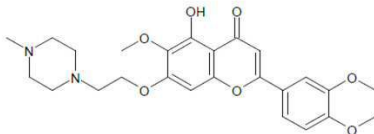


[0217]

비교화합물 4

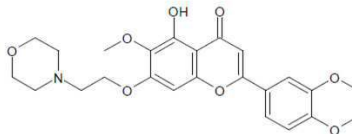


비교화합물 5

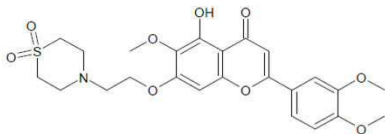


[0218]

비교화합물 6

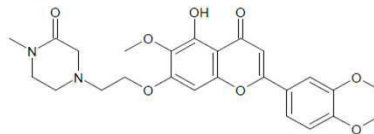


비교화합물 7

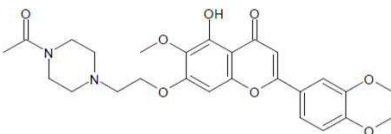


[0219]

비교화합물 8



비교화합물 9



[0220]

실험예 3. 제제화에 따른 약물동력학적 특성

[0221]

[0222]

본 발명 화합물의 효과적인 제제화를 위해 다양한 제제화 방법에 따른 구강투여 약물동력학적 특성을 상기 실험예 2-4와 같은 방법에 따라 조사하였다.

[0223]

이의 결과 표 5와 같이, Tween80 : 0.5% CMC 수용액(1 : 99 v/v)을 사용하여 제제화할 경우(제제예 2) 화합물의 생체이용률이 1.4%로 낮았고, NMP : Ethanol : PEG200 : Normal saline(5 : 10 : 30 : 55 v/v)으로 제제화할 경우(제제예 4) 생체이용률이 약 3%로 나타났다. 반면, NMP : PEG400 : SOLUTOL HS : 물(10 : 20 : 20 : 50 v/v)로 제제화할 경우(제제예 3) 생체이용률이 10% 전후로 크게 개선되는 것으로 나타났다.

표 5

[0224]

PK 파라미터	화합물 1 (1mpk, i.v) 제제예 1	화합물 1 (10mpk, po) 제제예 2	화합물 1 (200mpk, po) 제제예 2	화합물 1 (10mpk, po) 제제예 3	화합물 1 (10mpk, po) 제제예 3	화합물 1 (10mpk, po) 제제예 4
C ₀ (ng/ml)	506.4±129.7	--	--	--	--	--
C _{max} (ng/ml)	--	22.3±8.9	260.8±41.4	107.8	62.2±37.5	46.7±8.8
T _{max} (h)	--	0.4±0.1	1±0	0.25	0.25±0.1	0.25±0.0
AUC _(inf) (h*ng/ml)	149.3±3.0		426.5±67.7	225.3	155.2±7.5	46.4±14.1
AUC _(0-t) (h*ng/ml)	146.6±2.2	20.4±6.2	420.1±69.3	187.9	126.2±19.1	42.5±16.0
AUC _{%Extrap} (obs)	1.8±0.5	--	1.6±0.7	16.6	--	--
V _d (L/kg)	3.6±0.25	--	--	--	--	--
CL _p (L/hr/kg)	6.7±0.4	--	--	--	--	--

MRT _(inf) (h)	0.4±0.0	--	1.7±0.2	--	--	--
t _{1/2} (h)	0.38±0.03	--	1.5±0.4	--	--	--
생체이용률(%)	--	1.4	1.4	13	9	3

[0225]

* 제제에 1 - i.v. 비히클로 100% DMSO 사용

[0226]

* 제제에 2 - Tween80 : 0.5% CMC 수용액(1 : 99 v/v) 사용

[0227]

* 제제에 3 - NMP : PEG400 : SOLUTOL HS : 물(10 : 20 : 20 : 50 v/v) 사용

[0228]

* 제제에 4 - NMP : Ethanol : PEG200 : Normal saline(5 : 10 : 30 : 55 v/v) 사용

[0229]

또한, 도 25와 같이 제제에 3의 경우 제제에 2와 비교하였을 때, 구강투여에 의해 화합물이 체내로 빠르게 흡수 될 뿐만 아니라 플라즈마 상에서 오랫동안 소멸하지 않고 유지되어 지속적인 효과를 기대할 수 있는 것으로 나타났다.

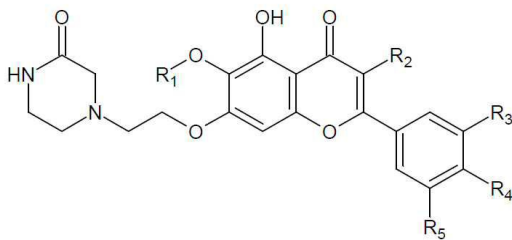
[0230]

이 밖에 다른 방법으로도 제제화를 시도하였으나, 대부분 화합물이 완전히 용해되지 않아 용액이 탁해지는 문제가 있어 추가 약물동력학적 연구에서 제외하였다.

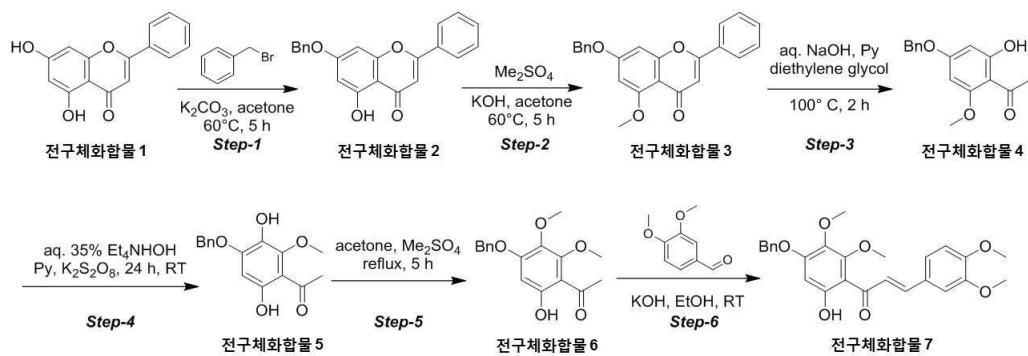
도면

도면1

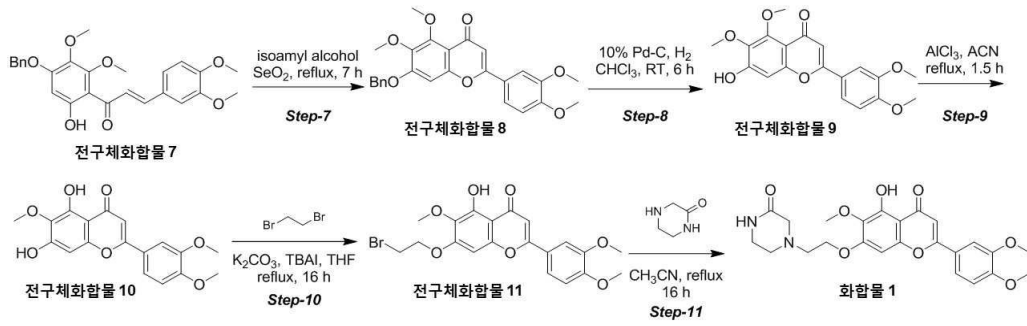
[화학식 1]



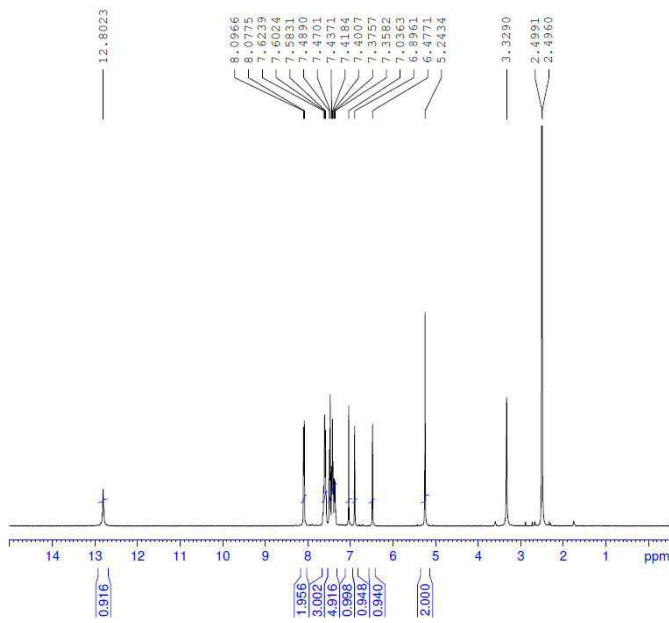
도면2



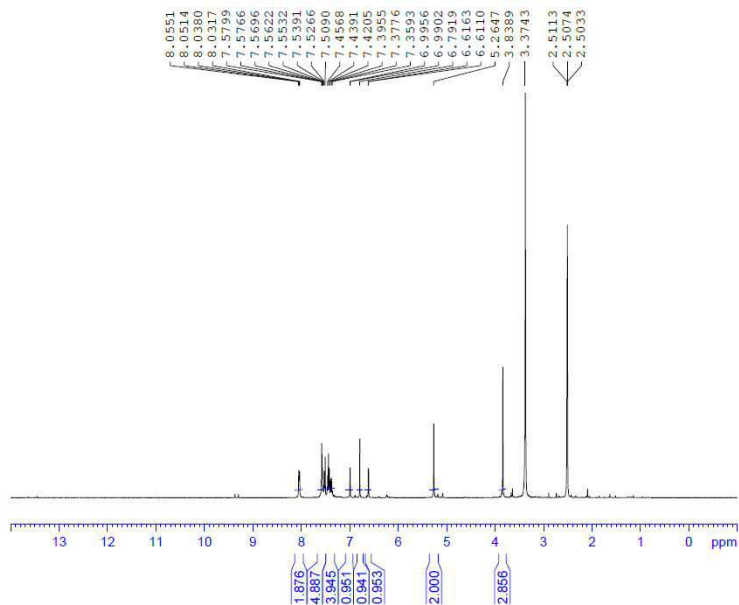
도면3



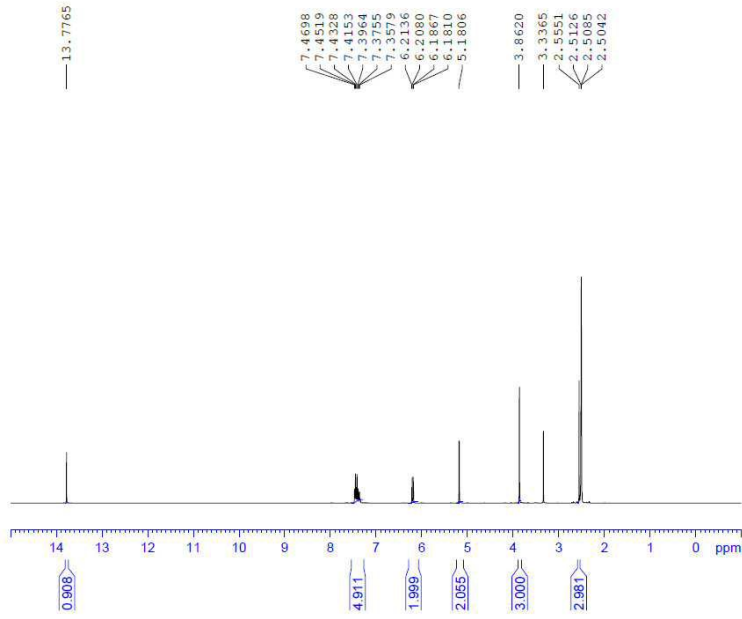
도면4



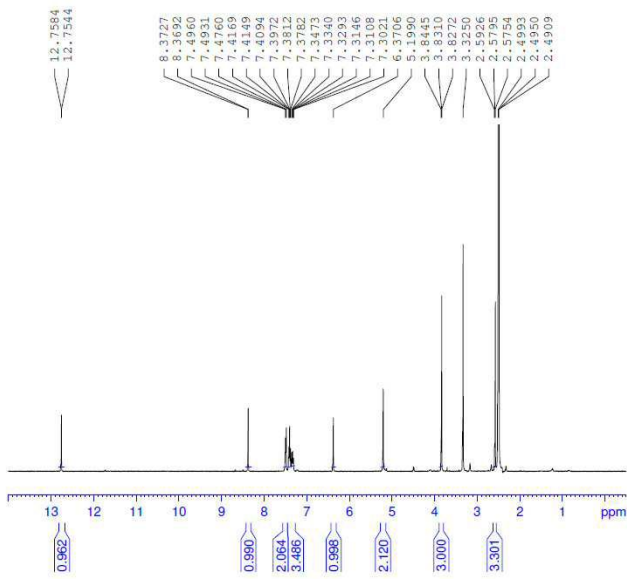
도면5



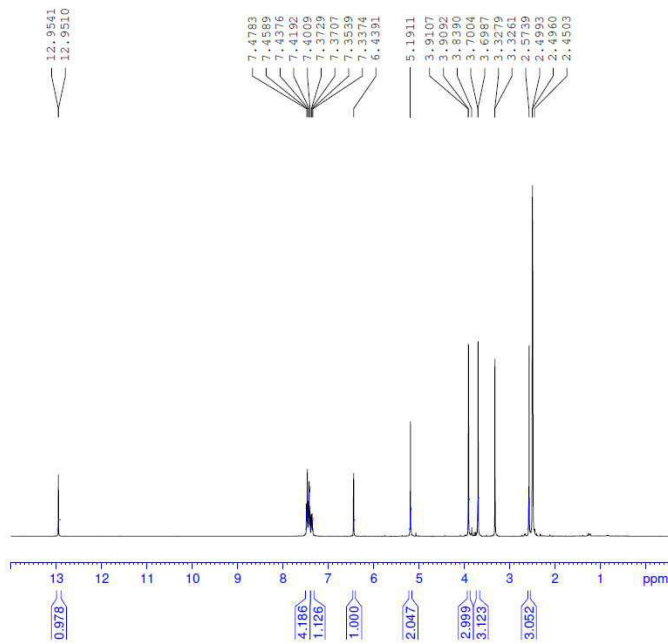
도면6



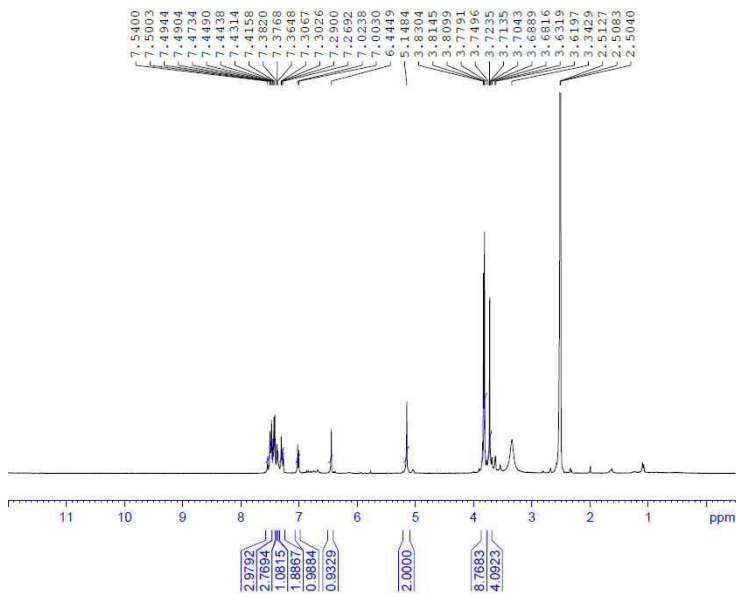
도면7



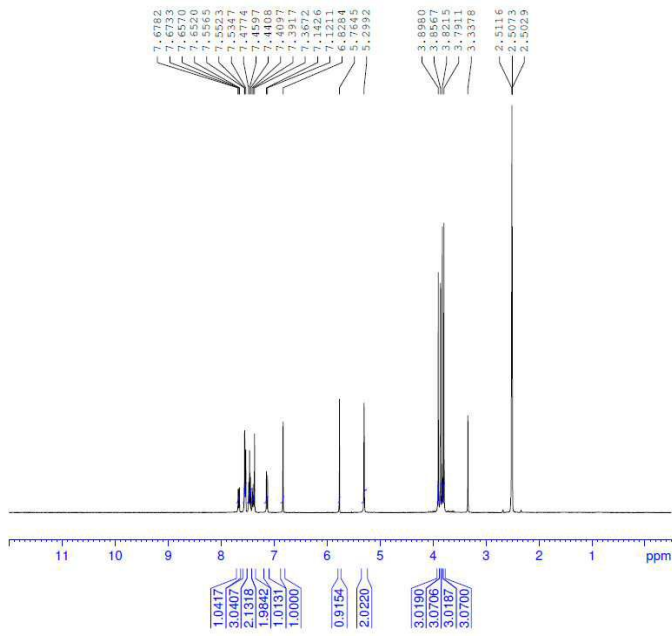
도면8



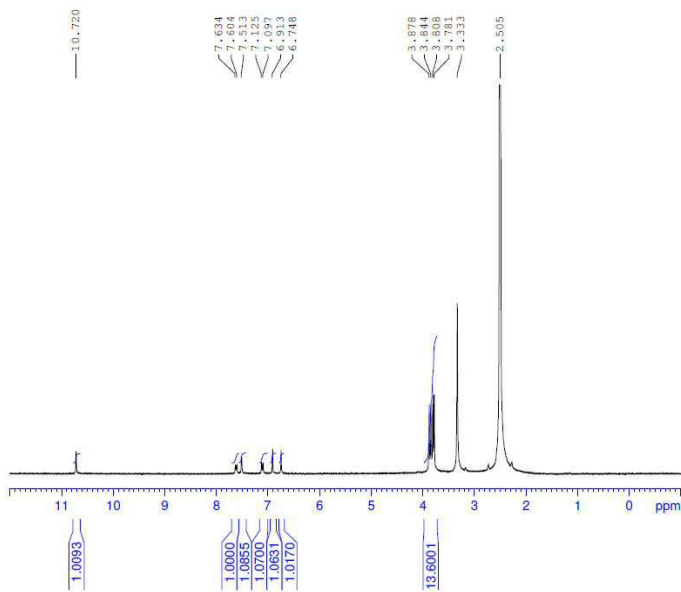
도면9



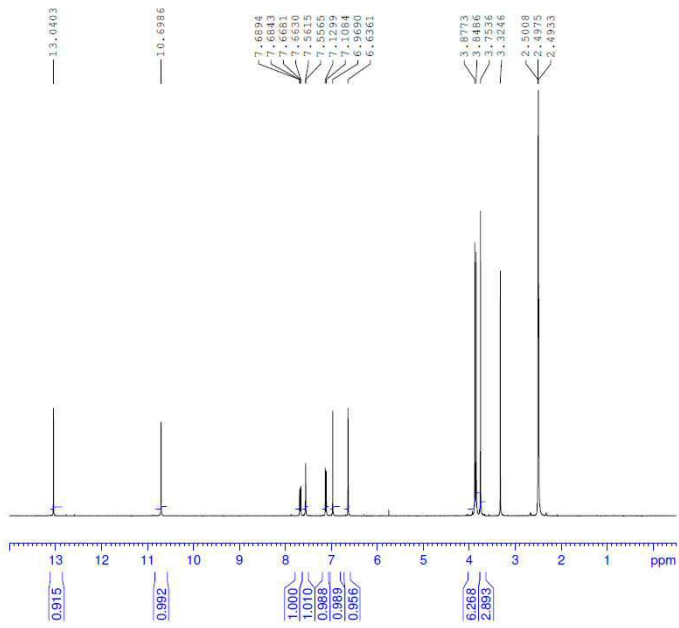
도면10



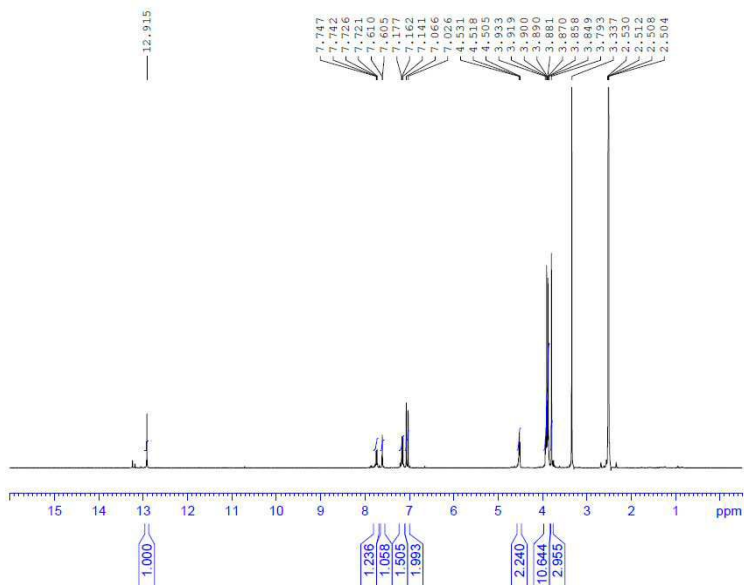
도면11



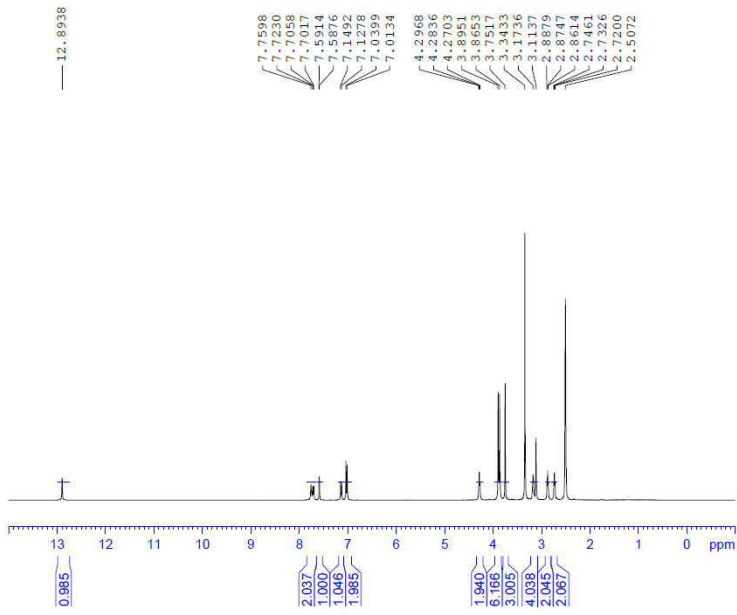
도면12



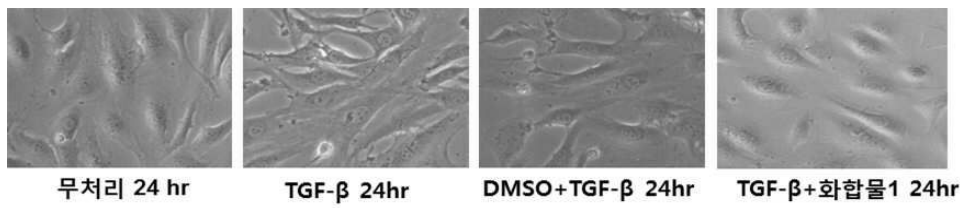
도면13



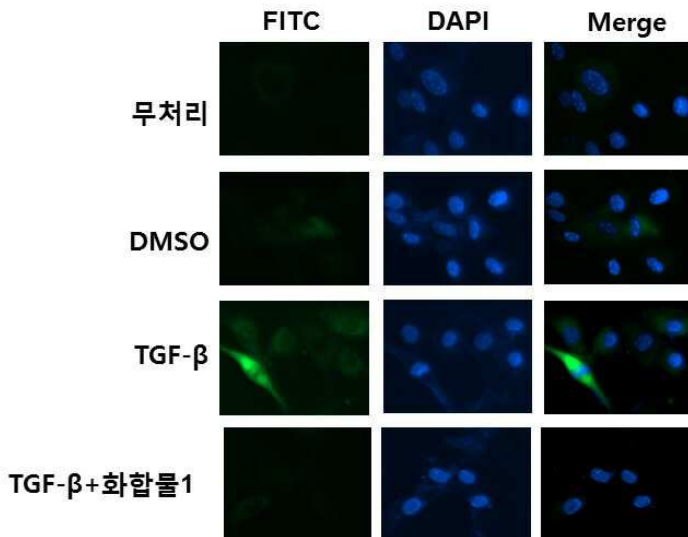
도면14



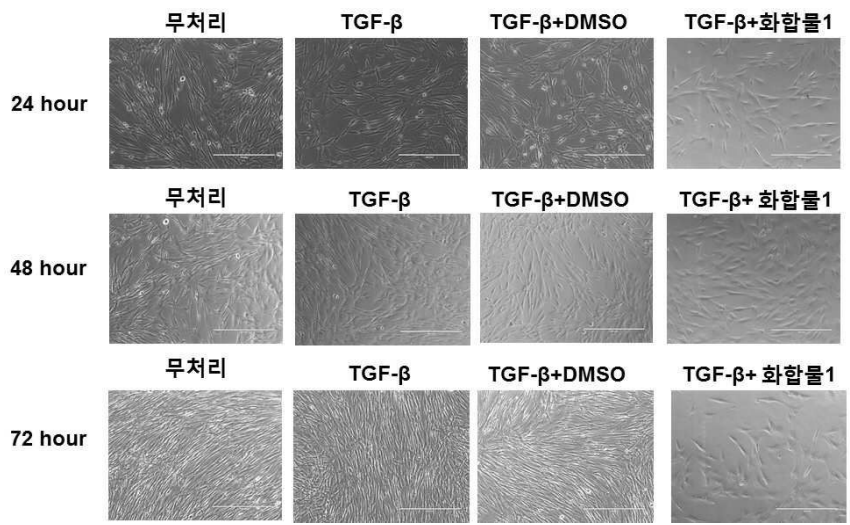
도면15



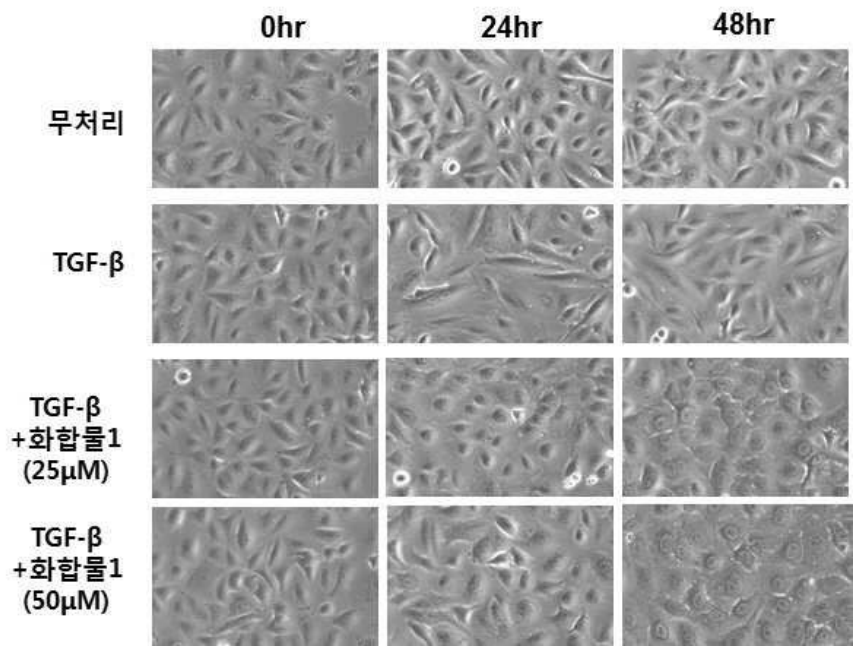
도면16



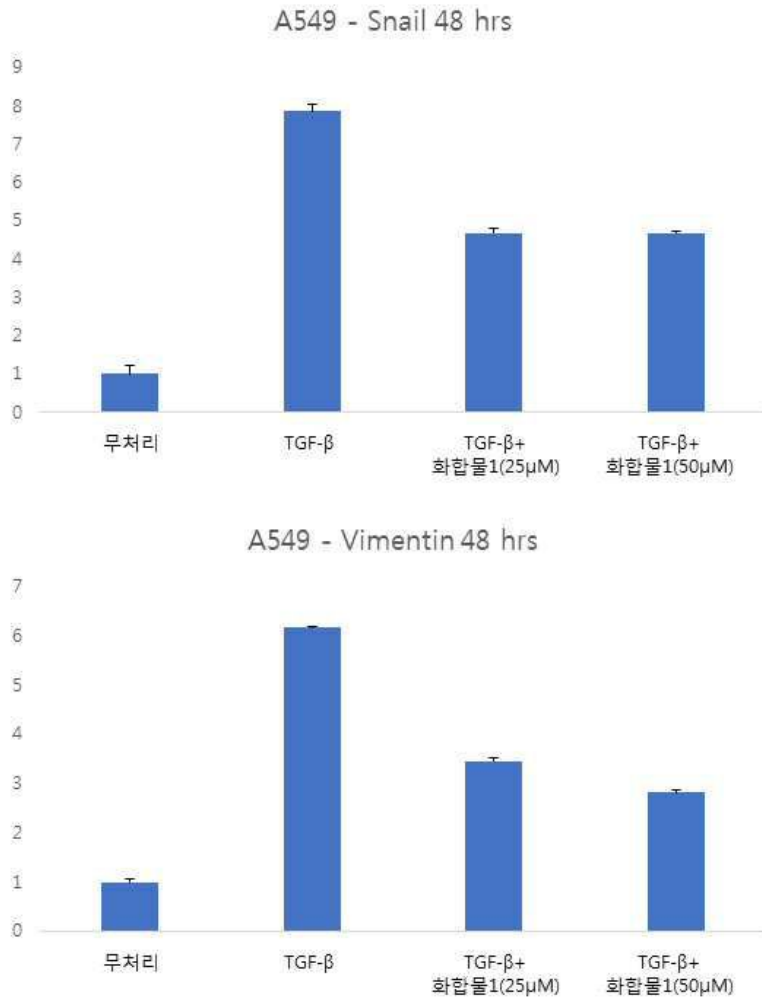
도면17



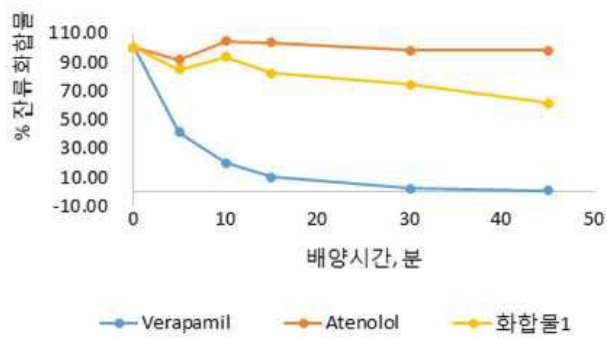
도면18



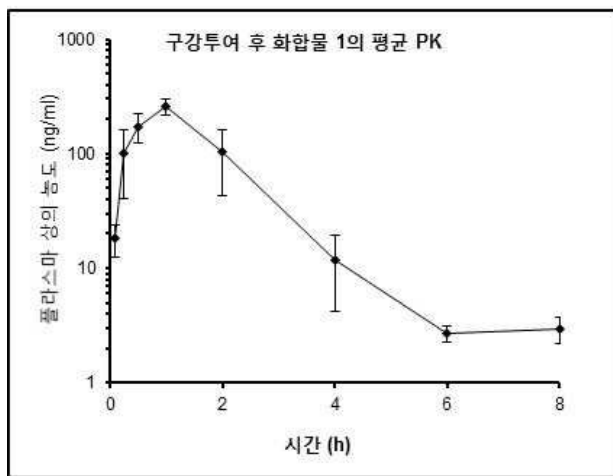
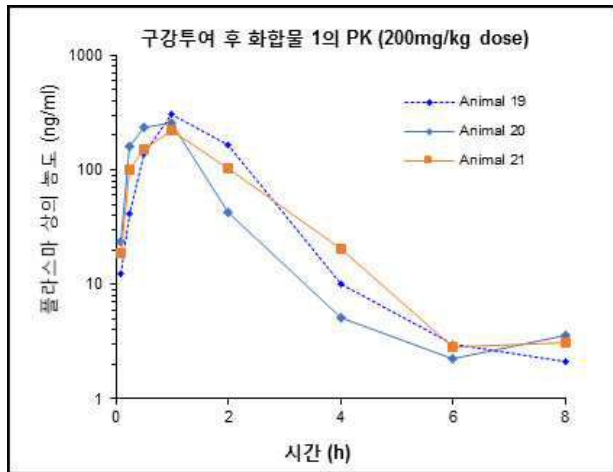
도면19



도면20



도면21



도면22

화합물	구조	TGF-b 처리 전	TGF-b & 화합물 처리 24 hr	TGF-b & 화합물 처리 48 hr
비교 화합물 1	<chem>CN(C)CCOC1=CC(=C(O)C(=O)C1=CO)C2=CC=CC=C2OC</chem>			
비교 화합물 2	<chem>CN(C)CCOC1=CC(=C(O)C(=O)C1=CO)C2=CC=CC=C2OC</chem>			
비교 화합물 3	<chem>C1CCNCC1COC2=CC(=C(O)C(=O)C2=CO)C3=CC=CC=C3OC</chem>			

도면23

화합물	구조	TGF-b 처리 전	TGF-b & 화합물 처리 24 hr	TGF-b & 화합물 처리 48 hr
비교 화합물 4				
비교 화합물 5				
비교 화합물 6				

도면24

화합물	구조	TGF-b 처리 전	TGF-b & 화합물 처리 24 hr	TGF-b & 화합물 처리 48 hr
비교 화합물 7				
비교 화합물 8				
비교 화합물 9				

도면25

