



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년02월25일
 (11) 등록번호 10-1951752
 (24) 등록일자 2019년02월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 C07D 498/04 (2006.01) A61K 31/4188 (2006.01)
 A61K 31/5383 (2006.01) C07D 487/04 (2006.01)
 (52) CPC특허분류
 C07D 498/04 (2013.01)
 A61K 31/4188 (2013.01)
 (21) 출원번호 10-2017-0121193
 (22) 출원일자 2017년09월20일
 심사청구일자 2017년09월20일
 (56) 선행기술조사문헌
 KR1020160035931 A
 J. Org. Chem., vol.80, no.15, pp.7693-7701
 (2015.)
 Glycoconjugate Journal, vol.17, pp.273-282
 (2000.)

(73) 특허권자
명지대학교 산학협력단
 경기도 용인시 처인구 명지로 116 (남동, 명지대학교)
**재단법인 탄소순환형 차세대 바이오매스 생산전환
 기술연구단**
 대전광역시 유성구 대학로 291, 한국과학기술원
 응용공학동 2502호 (구성동)
 (72) 발명자
구상호
 서울특별시 강남구 언주로 30길 13 대림아크로빌
 A동 1105호
오 박
 경기도 용인시 처인구 중부대로1313번길 20-15,
 나동 105호 (역북동, 삼아아파트)
 (뒷면에 계속)
 (74) 대리인
특허법인다울

전체 청구항 수 : 총 24 항

심사관 : 고일영

(54) 발명의 명칭 **유해 산소균에 대한 생세포 내 글루타치온 회복능력을 나타내는 신규의 피롤로-락톤 및 피롤 화합물과 이들의 제조 방법**

(57) 요약

본 발명에서는 환원당으로 글루코스와 라이보스를 이용하고 이를 여러 종류의 천연 및 비천연 아미노산과의 반응을 통하여, 다양한 치환체를 함유하여 개선된 통증 치료제로 사용될 수 있는 신규의 피롤로-락톤 화합물과 이들의 제조 과정에서 생성되는 신규의 피롤 화합물들을 제공한다. 이들 신규의 피롤로-락톤 및 피롤 화합물들은 유해 산소균에 대한 생세포내 글루타치온 회복능력이 증가하여 개선된 통증 치료제로 사용될 수 있는 물질이다.

(52) CPC특허분류
A61K 31/5383 (2013.01)
C07D 487/04 (2013.01)

(72) 발명자
정현욱
 청남도 천안시 동남구 터미널9길 13, 105동 510호
 (신부동, 동아아파트)

인익준
 경기도 의정부시 능곡로 69, 4동 1104호 (신곡동,
 신성·벽산아파트)

장용근

세종특별자치시 금남면 문절사길 43-31

이봉수

대전광역시 유성구 문화원로 13, 106동 102호(장대
 동, 드림월드아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2010-0029728
 부처명 과학기술정보통신부
 연구관리전문기관 한국연구재단
 연구사업명 글로벌프런티어사업
 연구과제명 바이오매스 대량생산 및 저에너지 소모형 오일 추출/전환 공정 개발
 기여율 60/100
 주관기관 재단법인 탄소순환형 차세대바이오매스생산전환기술연구단
 연구기간 2010.10.22 ~ 2019.08.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2015M3A6A2065700
 부처명 과학기술정보통신부
 연구관리전문기관 한국연구재단
 연구사업명 글로벌프런티어사업
 연구과제명 미세조류 유래 당 및 아미노산으로부터 고부가가치 생리활성 물질 생산
 기여율 40/100
 주관기관 명지대학교
 연구기간 2010.10.22 ~ 2019.08.31

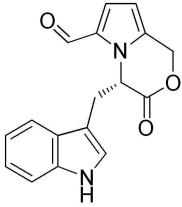
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1-1로 표시되는 피롤로-락톤 화합물.

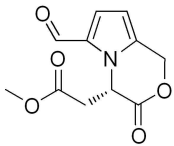
[화학식 1-1]



청구항 2

하기 화학식 1-2로 표시되는 피롤로-락톤 화합물.

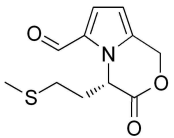
[화학식 1-2]



청구항 3

하기 화학식 1-3으로 표시되는 피롤로-락톤 화합물.

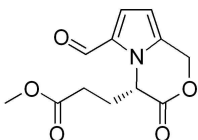
[화학식 1-3]



청구항 4

하기 화학식 1-4로 표시되는 피롤로-락톤 화합물.

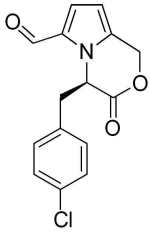
[화학식 1-4]



청구항 5

하기 화학식 1-5로 표시되는 피롤로-락톤 화합물.

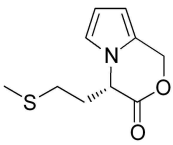
[화학식 1-5]



청구항 6

하기 화학식 2-1로 표시되는 피롤로-락톤 화합물.

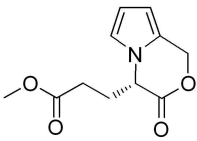
[화학식 2-1]



청구항 7

하기 화학식 2-2로 표시되는 피롤로-락톤 화합물.

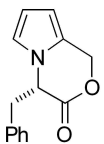
[화학식 2-2]



청구항 8

하기 화학식 2-3로 표시되는 피롤로-락톤 화합물.

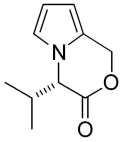
[화학식 2-3]



청구항 9

하기 화학식 2-4로 표시되는 피롤로-락톤 화합물.

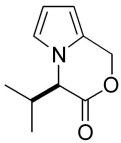
[화학식 2-4]



청구항 10

하기 화학식 2-5로 표시되는 피롤로-락톤 화합물.

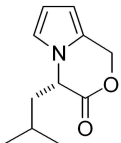
[화학식 2-5]



청구항 11

하기 화학식 2-6로 표시되는 피롤로-락톤 화합물.

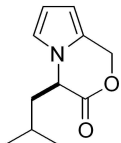
[화학식 2-6]



청구항 12

하기 화학식 2-7로 표시되는 피롤로-락톤 화합물.

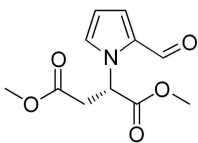
[화학식 2-7]



청구항 13

하기 화학식 3-1로 표시되는 피롤 화합물.

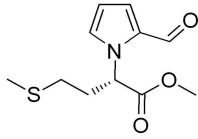
[화학식 3-1]



청구항 14

하기 화학식 3-2로 표시되는 피롤 화합물.

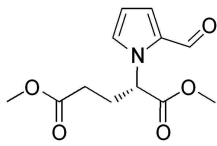
[화학식 3-2]



청구항 15

하기 화학식 3-3로 표시되는 피롤 화합물.

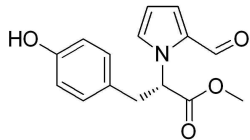
[화학식 3-3]



청구항 16

하기 화학식 3-4로 표시되는 피롤 화합물.

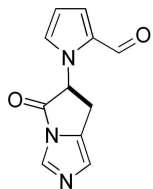
[화학식 3-4]



청구항 17

하기 화학식 3-5로 표시되는 피롤 화합물.

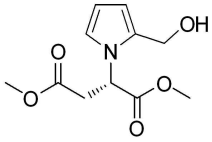
[화학식 3-5]



청구항 18

하기 화학식 4-1로 표시되는 피롤 화합물.

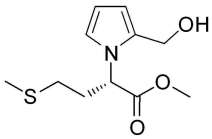
[화학식 4-1]



청구항 19

하기 화학식 4-2로 표시되는 피롤 화합물.

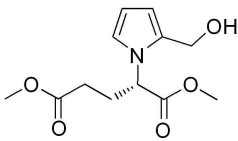
[화학식 4-2]



청구항 20

하기 화학식 4-3로 표시되는 피롤 화합물.

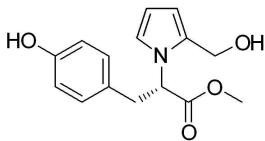
[화학식 4-3]



청구항 21

하기 화학식 4-4로 표시되는 피롤 화합물.

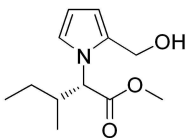
[화학식 4-4]



청구항 22

하기 화학식 4-5로 표시되는 피롤 화합물.

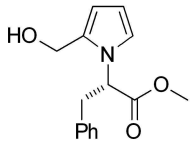
[화학식 4-5]



청구항 23

하기 화학식 4-6로 표시되는 피롤 화합물.

[화학식 4-6]

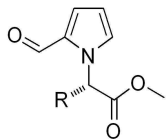


청구항 24

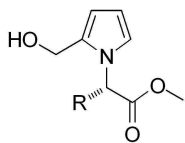
(a) D-라이보스와 천연 및 비천연 아미노산으로부터 제조되는 아미노 메틸 에스테르 화합물을 반응시켜 하기 화학식 3으로 표시되는 알데하이드기를 함유하는 피롤 화합물을 제조하는 단계;

(b) 하기 화학식 3으로 표시되는 피롤 화합물의 알데하이드기를 환원시켜 하기 화학식 4로 표시되는 하이드록시 메틸기를 함유하는 피롤 화합물을 제조하는 단계; 및

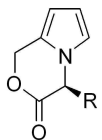
(c) 하기 화학식 4로 표시되는 에스테르기를 함유하는 피롤 화합물의 분자내 락톤화 반응의 단계를 포함하여 구성되는 하기 화학식 2로 표시되는 신규의 피롤로-락톤 화합물을 포함하되,



[화학식 3]

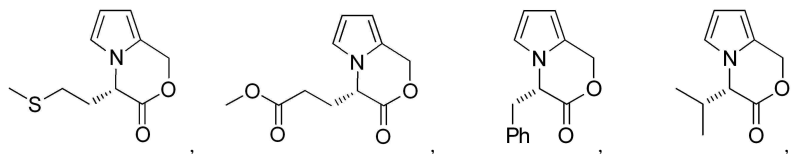


[화학식 4]

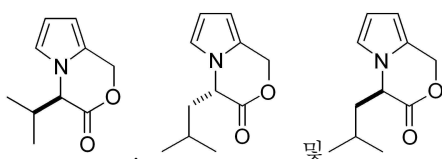


[화학식 2]

(상기 화학식 2 내지 4에서 R은 천연 및 비천연 아미노산의 알파-치환체에 의해 결정되며, 이는 탄소수 1 내지 20사이의 알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로아릴, 헤테로아르알킬, 알킬설파이드, 및 알킬 알카노에이트로 이루어진 군으로부터 선택됨)



상기 화학식 2로 표시되는 화합물은



및 로 이루어진 군에서 선택되는 하나인 것을 특징으로 하는 피롤로-락톤 화합물의 제조 방법.

청구항 25

삭제

발명의 설명

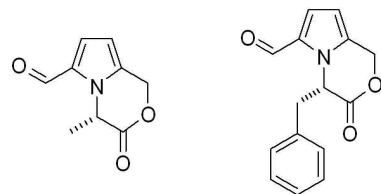
기술 분야

[0001] 본 발명은 유해 산소군(reactive oxygen species)에 대한 생세포내 글루타치온 회복능력을 나타냄으로써 통증 및 기타 질병에 대한 치료제로 사용될 수 있는 신규의 피롤로-락톤 및 피롤 화합물과 이들의 제조 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 하기 구조식 1과 구조식 2의 피롤로-락톤 화합물은 각각 *Celastrus Orbiculatus*와 *Capparis Spinosa*로부터 추출되는 천연물로서, 전통적으로 민방에서는 이들을 통증 치료제로 사용해 오고 있다. 한편, 구조식 1의 피롤로-락톤 화합물의 화학적 합성법은 L-알라닌으로부터 비교적 긴 6단계의 반응으로 진행되는 것으로 보고되어 있다 (*Chem. Nat. Compd.* 2012, 48, 194-197).

[0003] 피롤로-락톤 화합물은 아미노산과 환원당의 N-glycosylation 반응의 최종 산물로서, 본 연구자 등은 선행특허 (대한민국 특허 10-1675938)를 통하여 상기 화합물들을 글루코스와 각각 L-알라닌 및 L-페닐알라닌을 DMSO의 용매에서 옥살산을 첨가하여 가열함으로써 one-pot으로 제조하는 방법을 개발하였다.



<구조식 1>

<구조식 2>

[0004]

[0005] 상기 피롤로-락톤 구조의 화합물이 통증 치료제로 사용되고 있지만 통증을 완벽하게 제어할 수 있는 치료제의 개발에 대해서는 아직 명확한 해답이 없기 때문에, 상기 구조를 근간으로 하며 다양한 치환체를 함유하는 신규의 피롤로-락톤 및 피롤 화합물들을 제조하고 이들에 대한 통증 치료제로서의 효능 검색을 통하여 개선된 통증 치료제 개발에 대한 필요성이 지속적으로 요구되고 있다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0006] (비특허문헌 0001) *Chem. Nat. Compd.* 2012, 48, 194-197

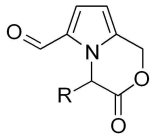
발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명에서는 피롤로-락톤 구조 화합물의 제조에 관한 선행특허의 방법을 확장하여 환원당으로 글루코스와 라이보스 등을 이용하고 이를 다양한 천연 및 비천연 아미노산과의 반응을 통하여, 개선된 통증 치료제로 사용될 수 있는 다양한 치환체를 함유하는 신규의 피롤로-락톤 화합물과 이들의 제조 과정에서 생성되는 신규의 피롤 화합물들을 효율적으로 제공하고자 한다. 이들 신규 피롤로-락톤 및 피롤 화합물들의 개선된 통증 치료제로의 사용 가능성은 유해 산소군에 대한 생세포내 글루타치온 회복능력의 측정을 통하여 예측할 수 있다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명에서 이루고자하는 첫 번째 기술적 과제는 다양한 치환체를 함유하여 개선된 통증치료의 효과를 나타낼 수 있는 [화학식 1]로 표기되는 신규의 피롤로-락톤 화합물을 제공하는 것이다.



[화학식 1]

[0009]

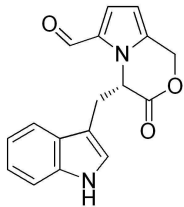
상기의 식 중에서 R은 천연 및 비천연 아미노산의 알파-치환체에 의해 결정된다.

[0010]

더욱 구체적으로, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 하기 화학식 1-1 내지 1-5로 표시되는 화합물일 수 있다.

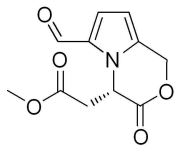
[0011]

[0012] [화학식 1-1]



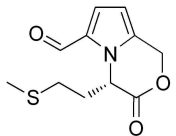
[0013]

[0014] [화학식 1-2]



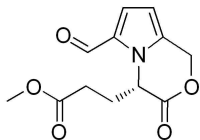
[0015]

[0016] [화학식 1-3]



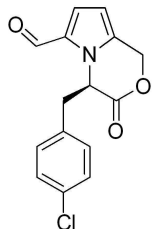
[0017]

[0018] [화학식 1-4]



[0019]

[0020] [화학식 1-5]



[0021]

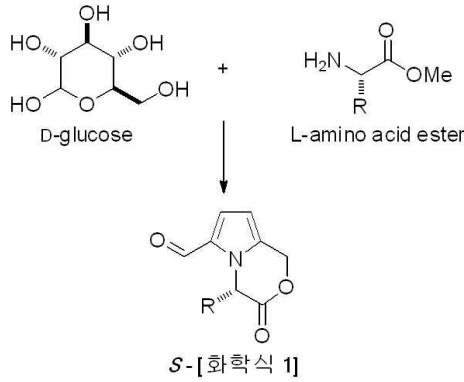
상기 화학식 1의 피롤로-락톤 화합물은, 환원당으로 D-글루코스를 사용하여 다양한 천연 및 비천연 아미노산과 반응시킴으로써 제조할 수 있으며, 이들의 통증 치료제로의 개발 가능성은 유해 산소균에 대한 생세포내 글루타치온 회복능력의 측정을 통해 예측할 수 있다.

[0022]

[0023] 상기 화학식 1의 피롤로-락톤 화합물은 다음과 같은 제조될 수 있다 (반응식 1a, 1b 참조).

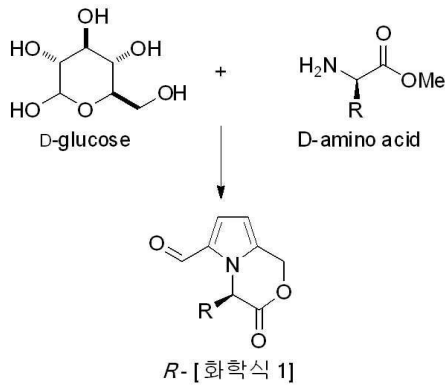
[0024]

[0025] [반응식 1a]



[0026]

[0027] [반응식 1b]



[0028]

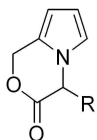
[0029] 상기의 식 중에서 R은 천연 및 비천연 아미노산의 알파-치환체에 의해 결정된다.

[0030] 상기의 반응은 구체적으로, 천연 또는 비천연 아미노산과 티오닐클로라이드(SOCl₂)를 메탄올 용매에서 반응시키고, 이에 트리에틸아민(Et₃N)을 첨가하여 얻어지는 아미노 메틸 에스테르 화합물과 D-글루코스를 DMSO에 녹이고 옥살산을 첨가하여 50~90 °C의 온도에서 가열하여 진행하는 것이 바람직하다.

[0031] 상기 가열은 40 ~ 120 °C의 온도에서 0.5 ~ 2 시간 수행할 수 있다.

[0032] 또한, 상기 반응은 입체 선택적으로 진행되어 L-아미노산을 이용하는 경우에는 *S*-입체구조의 피롤로-락톤 (화학식 1)이, D-아미노산을 이용하는 경우에는 *R*-입체구조의 피롤로-락톤 (화학식 1)이 제조 된다 (반응식 1a, 1b 참조). 상기 화합물들은 키랄 탄소 중심점을 함유하며, 이들의 통증 치료 등에 대한 생리활성은 서로 전혀 다른 경향을 보여줄 수 있다.

[0033] 본 발명에서 이루고자하는 두 번째 기술적 과제는 다양한 치환체를 함유하여 개선된 통증치료의 효과를 나타낼 수 있는 [화학식 2]로 표기되는 신규의 피롤로-락톤 화합물을 제공하는 것이다.

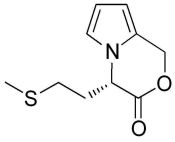


[0034] [화학식 2]

[0035] 상기 화학식 중에서 R은 천연 및 비천연 아미노산의 알파-치환체에 의해 결정되며, 이들의 통증 치료제로의 개발 가능성은 유해 산소균에 대한 생세포내 글루타치온 회복능력의 측정을 통해 예측할 수 있다.

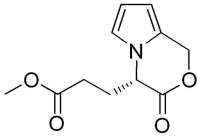
[0036] 더욱 구체적으로 상기 화학식 2로 표시되는 화합물은 하기 화학식 2-1 내지 2-5로 표시되는 화합물일 수 있다.

[0037] [화학식 2-1]



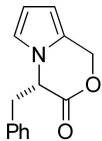
[0038]

[0039] [화학식 2-2]



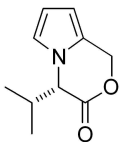
[0040]

[0041] [화학식 2-3]



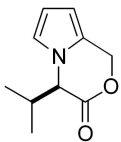
[0042]

[0043] [화학식 2-4]



[0044]

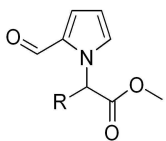
[0045] [화학식 2-5]



[0046]

[0047]

[0048] 본 발명에서 이루고자하는 세 번째 기술적 과제는 상기 [화학식 2]의 피롤로-락톤을 제조하는 과정에서 만들어지는 다양한 치환체를 함유하여 개선된 통증치료의 효과를 나타낼 수 있는 [화학식 3]으로 표기되는 신규의 피롤 화합물을 제공하는 것이다.

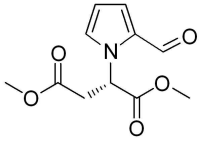


[0049] [화학식 3]

[0050] 상기 화학식 중에서 R은 천연 및 비천연 아미노산의 알파-치환체에 의해 결정되며, 이들의 통증 치료제로의 개발 가능성은 유해 산소균에 대한 생세포내 글루타치온 회복능력의 측정을 통해 예측할 수 있다.

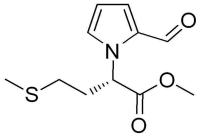
[0051] 더욱 구체적으로 상기 화학식 3으로 표시되는 화합물은 하기 화학식 3-1 내지 3-5와 같이 표시되는 화합물일 수 있다.

[0052] [화학식 3-1]



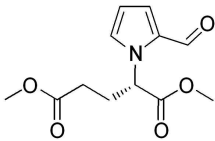
[0053]

[0054] [화학식 3-2]



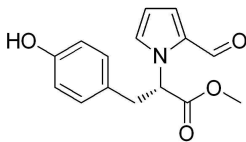
[0055]

[0056] [화학식 3-3]



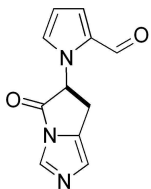
[0057]

[0058] [화학식 3-4]



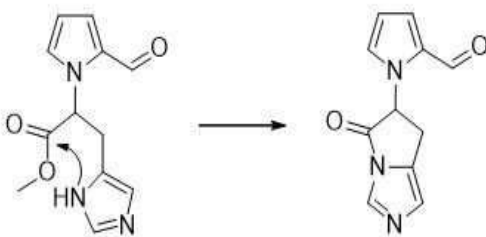
[0059]

[0060] [화학식 3-5]



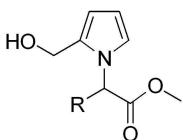
[0061]

[0062] 상기 화학식 3-5 화합물의 구조는 초기 피롤 구조 생성물에서 이미다졸고리의 2급 아민과 메틸에스테르의 추가 고리화에 의해 생성된 것으로 설명된다.



[0063]

[0064] 본 발명에서 이루고자하는 네 번째 기술적 과제는 상기 [화학식 2]의 피롤로-락톤을 제조하는 과정에서 만들어지는 다양한 치환체를 함유하여 개선된 통증치료의 효과를 나타낼 수 있는 [화학식 4]로 표기되는 신규의 피롤 화합물을 제공하는 것이다.

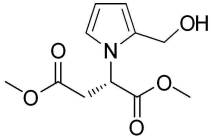


[0065] [화학식 4]

[0066] 상기 화학식 중에서 R은 천연 및 비천연 아미노산의 알파-치환체에 의해 결정되며, 이들의 통증 치료제로의 개발 가능성은 유해 산소균에 대한 생세포내 글루타치온 회복능력의 측정을 통해 예측할 수 있다.

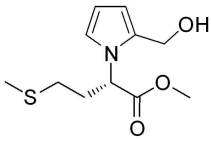
[0067] 더욱 구체적으로, 상기 화학식 4로 표시되는 화합물은 하기 화학식 4-1 내지 4-6과 같이 표시되는 화합물일 수 있다.

[0068] [화학식 4-1]



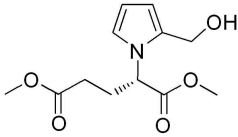
[0069]

[0070] [화학식 4-2]



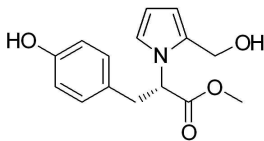
[0071]

[0072] [화학식 4-3]



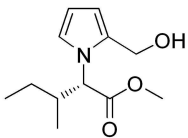
[0073]

[0074] [화학식 4-4]



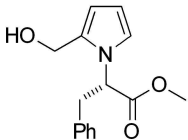
[0075]

[0076] [화학식 4-5]



[0077]

[0078] [화학식 4-6]



[0079]

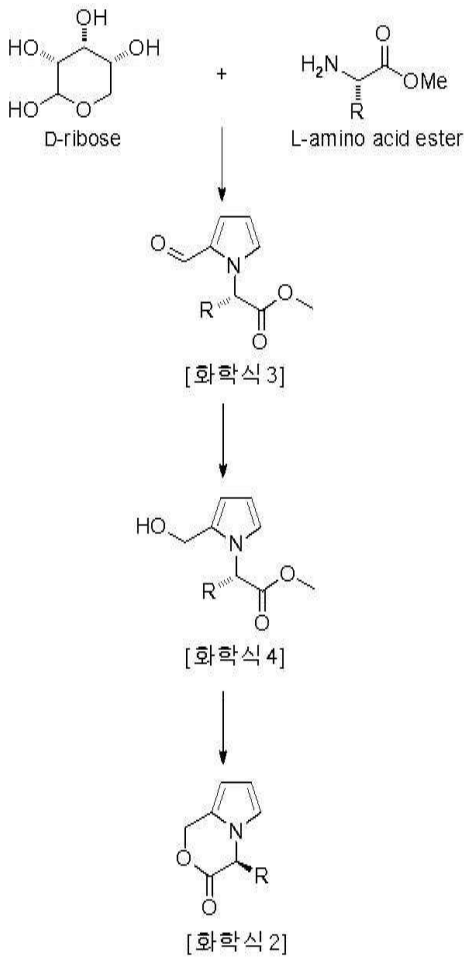
[0080]

[0081] 본 발명에서 이루고자하는 다섯 번째 기술적 과제는 환원당과 천연 및 비천연 아미노산을 반응시켜 [화학식 2]로 나타내는 신규의 피롤로-락톤 화합물의 합성법을 제공하는 것이다. 상기 환원당으로 라이보스를 사용할 수 있다.

[0082] 상기 방법은, (a) D-라이보스와 천연 및 비천연 아미노산으로부터 제조되는 아미노 메틸 에스테르 화합물을 반응시켜 [화학식 3]으로 표시되는 알데하이드기를 함유하는 피롤 화합물을 제조하는 단계; (b) 하기 [화학식 3]으로 표시되는 피롤 화합물의 알데하이드기를 환원시켜 [화학식 4]로 표시되는 하이드록시메틸기를 함유하는 피롤 화합물을 제조하는 단계; 및 (c) 하기 [화학식 4]로 표시되는 에스테르기를 함유하는 피롤 화합물의 분자내 락톤화 반응의 단계를 포함하여 구성되는, 상기 [화학식 2]로 나타내는 신규의 피롤로-락톤 화합물의

합성법을 제공하는 것이다.

[0083] [반응식 2]



[0084]

[0085] 상기 화학식 중에서 R은 천연 및 비천연 아미노산의 알파-치환체에 의해 결정되며, 이는 탄소수 1 내지 20사이의 알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로아릴, 헤테로아르알킬, 알킬설페이드, 및 알킬 알카노에이트 등으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0086]

[0087] 상기 반응도 입체 선택적으로 진행되어 L-아미노산을 이용하는 경우에는 S-입체구조의 피롤 및 피롤로-락톤이, D-아미노산을 이용하는 경우에는 R-입체구조의 피롤 및 피롤로-락톤이 제조된다. 상기 화합물들은 키랄 탄소 중심점을 함유하며, 이들의 통증 치료 등에 대한 생리활성은 서로 전혀 다른 경향을 보여줄 수 있다.

[0088] 상기 (a)단계의 반응은 D-글루코스와 아미노 메틸 에스테르 화합물을 DMSO에 녹이고, 트리에틸아민(Et₃N)과 옥살산을 가하여 50~90 °C의 온도에서 가열하여 진행하는 것이 바람직하다. 반응시간은 0.5 ~ 2 시간 정도가 적절할 수 있다.

[0089] 상기 (a)단계에서, 아미노 메틸 에스테르 화합물은 천연 및 비천연 아미노산을 메탄올 용매에 녹이고 티오닐클로라이드(SOCl₂)를 가하여 제조하는 것이 바람직하다.

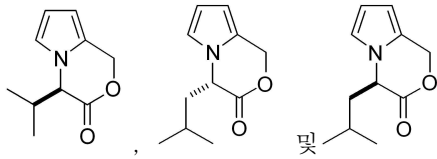
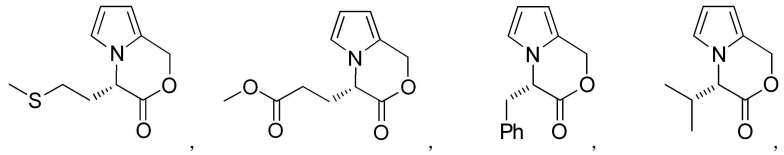
[0090] 상기 (b)단계의 환원반응은 알코올 용매에서 NaBH₄를 이용하여 진행하는 것이 바람직하다.

[0091] 상기 (c)단계의 분자내 락톤화 반응은 염기인 DBU(1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene)를 가하여 진행하는 것이 바람직하다.

[0092] 상기 천연 및 비천연 아미노산은 글루타민, 글루탐산, 글리신, 리신, 류신, 메티오닌, 발린, 세린, 시스테인, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 알라닌, 이소류신, 트레오닌, 트립토판, 타이로신, 페닐알라닌, 히스티딘 등의 천연 아미노산과 다양한 비천연 알파-아미노산으로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.

[0093]

상기 화학식 2로 표시되는 화합물은



및 로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.

발명의 효과

[0094]

본 발명에 따라 환원당인 글루코스 또는 라이보스를 다양한 구조의 천연 및 비천연 아미노산과의 반응을 통해 다양한 치환체를 함유하는 신규의 피롤로-락톤 및 피롤 구조의 화합물을 효율적으로 제공할 수 있다. 이들 신규의 피롤 및 피롤로-락톤 화합물들은 유해 산소균에 대한 생세포내 글루타치온 회복능력을 보이는 것으로 이들을 이용하여 통증 등의 치료제 개발에 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0095]

도 1a 내지 도 1f는 실시예에 따른 화합물을 세포에 처리한 후 세포 내의 글루타치온의 양을 측정된 결과를 나타내는 것이다.

도 2a 내지 도 2g는 세포에서의 글루타치온 회복능을 분석한 결과를 나타내는 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0096]

상기 발명의 내용에 의해 개발된 신규 피롤로-락톤 및 피롤 화합물들의 개선된 통증 치료제로의 사용 가능성은 유해 산소균에 대한 생세포내 글루타치온 (GSH)의 레벨과 GSH의 회복능력의 측정을 통하여 예측할 수 있는데, 이는 다음과 같은 논리로 설명될 수 있다.

[0097]

Glutathione (GSH)은 간에서 만들어지는 3개의 아미노산 (glutamate, cysteine, glycine)이 결합된 펩타이드로 산화적 손상으로부터의 보호에 중추적인 역할을 하는 매우 강력한 항산화 물질이다. GSH는 친전자성 물질, 활성 산소 및 과산화지질을 무독화하는 과정에 이용되는데, 건강한 세포와 조직 내에 존재하는 GSH의 90%는 환원형이며 10% 미만은 이황화물형 GSSG으로 존재한다. FreSHtracer (Fluorescent real-time thiol tracer)를 이용하여 세포내의 GSH의 양을 확인할 수 있는데, 산화적 스트레스 시에 세포 내의 GSH 수준도 중요하지만 GSH가 GSSG로 산화된 후, 다시 환원되는 능력(항산화능: Glutathione Recovery Capacity, GRC%)이 세포 내 Redox homeostasis를 반영하는 중요한 지표이다.

[0098]

세포 배양액에 본 발명에 따른 화합물을 처리한 후 GSH 양의 변화를 실시간으로 관찰하며, 화합물 농도의 증가에 따라 세포 내 GSH의 양의 감소폭과 다시 회복하는데 걸리는 시간을 FreSHtracer를 이용하여 관찰한다. 산화제 처리에 대한 세포의 이러한 반응은 세포 내 항산화계가 충분히 작동하여 나타나는 결과이므로 FreSHtracer를 이용해 측정할 수 있는 세포의 항산화도 회복력 (GRC%)은 GSH 양 그 자체보다 실제 세포의 항산화능을 대변할 것으로 판단된다.

[0099]

그리하여 살아있는 세포 (HeLa cell)에 화합물을 일정시간 처리한 다음, 산화제를 처리하여 oxidative stress를 준 뒤, 세포 내 GSH level과 GSH level이 얼마나 빨리 회복하는 지(GRC%)를 측정함으로써 화합물의 항산화능을 측정하고자한다. 이는 통증 치료를 비롯한 각종 질병의 치료에 사용될 수 있는 가능성을 말해주는 지표라고 볼 수 있다.

[0100]

이하, 실시예를 통하여 본 발명에 대하여 더욱 구체적으로 설명한다. 이는 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 기술자에게 본 발명이 충분히 전달될 수 있도록 하기 위하여 제공되는 것이므로 이하의 실시예에 의하여 본 발명이 제한되어서는 안 된다.

[0101]

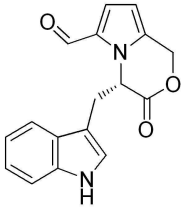
글루코스와 아미노산의 반응을 통한 피롤로-락톤(화학식 1)의 합성

[0102]

실시예 1.

[0103] (S)-4-((1*H*-Indol-3-yl)methyl)-3-oxo-3,4-dihydro-1*H*-pyrrolo[2,1-*c*][1,4]oxazine-6-carbaldehyde.

[0104] [화학식 1-1]



[0105]

[0106] L-tryptophane(4.0 g, 19.6 mmol)을 메탄올(5 mL)에 녹이고 0 °C에서 thionyl chloride(1.7 mL, 23.5 mmol)를 천천히 가한다. 반응 혼합물을 65 °C에서 8시간 동안 가열한 뒤, 실온으로 식혀서 디에틸 에테르로 씻어 L-tryptophane의 메틸 에스테르(3.9 g, 15.2 mmol)를 흰색 결정으로 얻는다.

[0107] L-tryptophane의 메틸 에스테르(1.0 g, 4.6 mmol)를 DMSO(5 mL)에 녹인 후 트리에틸아민(0.63 mL, 4.6 mmol)과 Glucose(0.83 g, 4.6 mmol)를 더한다. 옥살산(0.41 g, 4.6 mmol)을 넣은 뒤 90 °C에서 30분 동안 가열한 다음, 실온으로 식히고 실리카 패드에 에틸 아세테이트를 이용하여 통과시켜 불용분을 제거한다. 거른 용액을 농축하여 갈색의 액체를 얻고, 이를 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 1-1의 피롤로-락톤 화합물(114 mg, 0.39 mmol)을 노란색 액체로 얻을 수 있다.

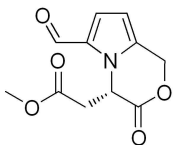
[0108] Data: $R_f = 0.41$ (4:6 EtOAc/hexane); $^1\text{H NMR } \delta = 3.57$ (d, $J = 14.8$ Hz, 1H), 3.64 (d of A of ABq, $J_{AB} = 15.2$, $J_d = 4.4$ Hz, 1H), 3.77 (d of B of ABq, $J_{AB} = 15.2$, $J_d = 3.6$ Hz, 1H), 4.74 (d, $J = 14.8$ Hz, 1H), 5.88 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 6.04 (dd, $J = 4.4$, 3.6 Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.94-6.99 (m, 2H), 7.05 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 7.14 (ddd, $J = 8.0$, 4.8, 2.8 Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 9.66 (s, 1H) ppm.

[0109] 실시예 2.

[0110] (S)-Methyl

[0111] 2-(6-formyl-3-oxo-3,4-dihydro-1*H*-pyrrolo[2,1-*c*][1,4]oxazin-4-yl)acetate

[0112] [화학식 1-2]



[0113]

[0114] 실시예 1의 방법에 따라, L-aspartic acid(13.0 g, 100 mmol)와 thionyl chloride(17.3 mL, 240 mmol)을 0 °C 메탄올(100 mL)에서 섞은 뒤, 65 °C에서 8시간 동안 반응시켜 L-aspartic acid methyl ester(22.0 g, 111.7 mmol)를 흰색 결정으로 얻는다.

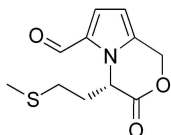
[0115] 다음으로, L-aspartic acid methyl ester(2.47 g, 12.5 mmol)와 트리에틸아민(3.5 mL, 25 mmol), Glucose(2.27 g, 12.5 mmol) 및 옥살산(2.3 g, 25 mmol)을 DMSO(5 mL)에 녹이고, 90 °C에서 30분 동안 반응시킨 뒤, 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 1-2의 피롤로-락톤 화합물(0.18 g, 0.76 mmol)을 노란색 액체로 얻을 수 있었다.

[0116] Data: $R_f = 0.40$ (4:6 EtOAc/hexane); $^1\text{H NMR } \delta = 3.46$ (d of A of ABq, $J_{AB} = 18.0$, $J_d = 4.0$ Hz, 1H), 3.52 (d of B of ABq, $J_{AB} = 18.0$, $J_d = 4.0$ Hz, 1H), 3.63 (s, 3H), 5.42 (d, $J = 14.8$ Hz, 1H), 5.60 (t, $J = 4.0$ Hz, 1H), 5.89 (d, $J = 14.8$ Hz, 1H), 6.17 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 7.05 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 9.48 (s, 1H) ppm; HRMS (EI) calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{NO}_5$ 237.0637, found 237.0641.

[0117] 실시예 3.

[0118] (S)-4-(2-(Methylthio)ethyl)-3-oxo-3,4-dihydro-1*H*-pyrrolo[2,1-*c*][1,4]oxazine-6-carbaldehyde.

[0119] [화학식 1-3]



[0120]

[0121] 실시예 1의 방법에 따라, L-Methionine(10.0 g, 67.0 mmol)과 thionyl chloride(5.87 mL, 80.4 mmol)을 0 °C 메탄올 (110 mL)에서 섞은 뒤, 65 °C에서 8 시간 동안 반응시켜 L-Methionine methyl ester(8.51 g, 42.7 mmol)를 흰색 결정으로 얻는다.

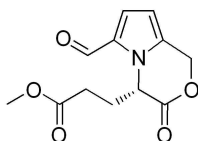
[0122] 다음으로, L-Methionine methyl ester(2.0 g, 10 mmol)와 트리에틸아민 (2.8 mL, 20 mmol), Glucose(1.82 g, 10 mmol) 및 옥살산(1.84 g, 20 mmol)을 DMSO(10 mL)에 녹이고, 90 °C에서 30분 동안 반응시킨 뒤, 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 1-3의 피롤로-락톤 화합물(0.17 g, 0.68 mmol)을 노란색 액체로 얻을 수 있었다.

[0123] Data: $R_f = 0.46$ (4:6 EtOAc/hexane); $^1\text{H NMR } \delta = 2.09$ (s, 3H), 2.37-2.48 (m, 4H), 5.39 (A of ABq, $J_{AB} = 15.2$ Hz, 1H), 5.56 (B of ABq, $J_{AB} = 15.2$ Hz, 1H), 5.82 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 6.23 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 7.02 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 9.53 (s, 1H) ppm; $^{13}\text{C NMR } \delta = 15.1, 29.1, 32.7, 56.8, 63.6, 106.6, 125.1, 130.9, 131.2, 167.0, 179.1$ ppm; HRMS (EI) calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{NO}_3\text{S}$ 239.0616, found 239.0617.

[0124] 실시예 4.

[0125] (S)-Methyl 3-(6-formyl-3-oxo-3,4-dihydro-1H-pyrrolo[2,1-c][1,4]oxazin-4-yl)propanoate.

[0126] [화학식 1-4]



[0127]

[0128] 실시예1의 방법에 따라, L-Glutamic acid(14.7 g, 100 mmol)과 thionyl chloride(17.3 mL, 240 mmol)을 0 °C 메탄올(100 mL)에서 섞은 뒤, 65 °C에서 8시간 동안 반응시켜 L-Glutamic acid dimethyl ester(24.2 g, 114.7 mmol)를 흰색 결정으로 얻는다.

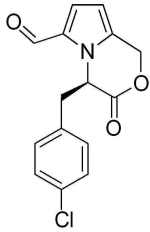
[0129] 다음으로, L-Glutamic acid dimethyl ester (2.59 g, 12.2 mmol)와 트리에틸아민(3.4 mL, 24.5 mmol), Glucose(2.23 g, 12.2 mmol) 및 옥살산(2.3 g, 25.0 mmol)을 DMSO(5 mL)에 녹이고, 90 °C에서 30분 동안 반응시킨 뒤, 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 1-4의 피롤로-락톤 화합물(0.14 g, 0.58 mmol)을 노란색 액체로 얻을 수 있었다.

[0130] Data: $R_f = 0.27$ (4:6 EtOAc/hexane); $^1\text{H NMR } \delta = 2.29$ -2.44 (m, 2H), 2.50-2.67 (m, 2H), 3.64 (s, 3H), 5.38 (A of ABq, $J_{AB} = 14.8$ Hz, 1H), 5.55 (B of ABq, $J_{AB} = 14.8$ Hz, 1H), 5.79 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.24 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 6.99 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 9.53 (s, 1H) ppm; $^{13}\text{C NMR } \delta = 27.8, 29.4, 51.9, 57.1, 63.3, 106.9, 124.8, 131.0, 131.1, 166.9, 172.5, 179.3$ ppm; HRMS (EI) calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{NO}_5$ 251.0794, found 251.0795.

[0131] 실시예 5.

[0132] (R)-4-(4-Chlorobenzyl)-3-oxo-3,4-dihydro-1H-pyrrolo[2,1-c][1,4]oxazine-6-carbaldehyde.

[0133] [화학식 1-5]



[0134]

[0135] 실시예 1의 방법에 따라, D-chlorophenylalanine(3.7 g, 18.5 mmol)과 thionyl chloride(1.62 mL, 22.2 mmol)을 0 °C 메탄올(7 mL)에서 섞은 뒤, 65 °C에서 8시간 동안 반응시켜 D-chlorophenylalanine methyl ester(4.12 g, 16.5 mmol)를 흰색 결정으로 얻는다.

[0136] 다음으로, D-chlorophenylalanine methyl ester(0.7 g, 2.8 mmol)와 트리에틸아민(0.77 mL, 5.6 mmol), Glucose(0.5 g, 2.8 mmol) 및 옥살산(0.5 g, 5.6 mmol)을 DMSO(3 mL)에 녹이고, 90 °C에서 30분 동안 반응시킨 뒤, 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 1-5의 피롤로-락톤 화합물(0.18 g, 0.63 mmol)을 노란색 액체로 얻을 수 있었다.

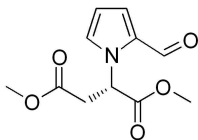
[0137] Data: R_f = 0.43 (4:6 EtOAc/hexane); ¹H NMR δ = 3.43 (d of A of ABq, J_{AB} = 14.0, J_d = 5.2 Hz, 1H), 3.51 (d of B of ABq, J_{AB} = 14.0, J_d = 3.6 Hz, 1H), 3.74 (d, J = 15.2 Hz, 1H), 4.95 (d, J = 15.2 Hz, 1H), 6.02 (dd = 5.2, 3.6 Hz, 1H), 6.03 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 6.74 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.07 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 7.19 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 9.61 (s, 1H) ppm; ¹³C NMR δ = 39.6, 58.9, 63.6, 105.8, 125.6, 129.1, 130.4, 130.9, 132.9, 134.2, 135.3, 167.0, 179.1 ppm.

[0138] 라이보스와 아미노산의 반응을 통한 피롤-알데하이드 (화학식 3)의 합성

[0139] 실시예 6.

[0140] (S)-Dimethyl 2-(2-formyl-1H-pyrrol-1-yl)succinate.

[0141] [화학식 3-1]



[0142]

[0143] L-aspartic acid(13.3 g, 100 mmol)를 메탄올(7 mL)에 녹이고 0 °C에서 thionyl chloride(17.3 mL, 240 mmol)를 천천히 가한다. 반응 혼합물을 65 °C에서 8시간 동안 가열한 뒤, 실온으로 식혀서 디에틸 에테르로 씻어 L-aspartic acid의 메틸 에스테르(22.0 g, 111.8 mmol)를 흰색 결정으로 얻는다.

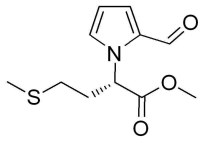
[0144] L-aspartic acid의 메틸 에스테르(4.94 g, 25 mmol)를 DMSO(10 mL)에 녹인 후 트리에틸아민(6.93 mL, 50 mmol)과 Ribose(3.75 g, 25 mmol)를 더한다. 옥살산(4.59 g, 50 mmol)을 넣은 뒤 60 °C에서 30분 동안 가열한 다음, 실온으로 식히고 실리카 패드에 에틸 아세테이트를 이용하여 통과시켜 불용분을 제거한다. 거른 용액을 농축하여 갈색의 액체를 얻고, 이를 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 3-1의 피롤 화합물(0.97 g, 4.33 mmol)을 노란색 액체로 얻을 수 있다

[0145] Data: R_f = 0.45 (4:6 EtOAc/hexane); ¹H NMR δ = 3.06 (d of A of ABq, J_{AB} = 17.2, J_d = 8.4 Hz, 1H), 3.39 (d of B of ABq, J_{AB} = 17.2, J_d = 4.8 Hz, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 5.87 (dd, J = 8.4, 4.8 Hz, 1H), 6.29 (dd, J = 4.0, 2.8 Hz, 1H), 7.01 (dd, J = 4.0, 1.6 Hz, 1H), 7.13 (ddd, J = 2.8, 1.6, 1.2 Hz, 1H), 9.48 (d, J = 1.2 Hz, 1H) ppm; ¹³C NMR δ = 37.1, 52.1, 52.9, 57.5, 110.2, 125.9, 131.0, 131.9, 169.2, 170.7, 179.3 ppm; HRMS (EI) calcd for C₁₁H₁₃NO₅ 239.0794, found 239.0797.

[0146] 실시예 7.

[0147] (S)-Methyl 2-(2-formyl-1*H*-pyrrol-1-yl)-4-(methylthio)butanoate.

[0148] [화학식 3-2]



[0149]

[0150] 실시예 6의 방법에 따라, L-Methionine(10 g, 67.0 mmol)과 thionyl chloride(5.87 mL, 80.4 mmol)를 0 °C 메탄올 (110 mL)에서 섞은 뒤, 65 °C에서 8시간 동안 반응시켜 L-Methionine methyl ester(8.51 g, 42.7 mmol)를 흰색 결정으로 얻는다.

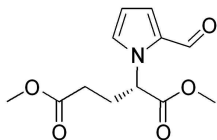
[0151] 다음으로, L-Methionine methyl ester(3.0 g, 15.0 mmol)와 트리에틸아민 (4.2 mL, 30.0 mmol), Ribose(2.30 g, 15.0 mmol) 및 옥살산(2.76 g, 30.0 mmol)을 DMSO(10 mL)에 녹이고, 60 °C에서 30분 동안 반응시킨 뒤, 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 3-2의 피롤 화합물(0.80 g, 3.35 mmol)을 노란색 액체로 얻을 수 있었다.

[0152] Data: $R_f = 0.59$ (4:6 EtOAc/hexane); $^1\text{H NMR } \delta = 2.07$ (s, 3H), 2.21-2.36 (m, 2H), 2.36-2.44 (m, 1H), 2.47-2.58 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 5.91 (br s, 1H), 6.33 (dd, $J = 4.0, 2.8$ Hz, 1H), 7.00 (dd, $J = 4.0, 1.6$ Hz, 1H), 7.16 (ddd, $J = 2.8, 1.6, 1.2$ Hz, 1H), 9.50 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H) ppm; $^{13}\text{C NMR } \delta = 15.2, 30.1, 31.4, 52.7, 58.7, 110.5, 125.7, 130.5, 131.5, 170.5, 179.5$ ppm; HRMS (EI) calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NO}_3\text{S}$ 241.0773, found 241.0771.

[0153] 실시예 8.

[0154] (S)-Dimethyl 2-(2-formyl-1*H*-pyrrol-1-yl)pentanedioate.

[0155] [화학식 3-3]



[0156]

[0157] 실시예 6의 방법에 따라, L-Glutamic acid(14.71 g, 100 mmol)와 thionyl chloride(17.31 mL, 240 mmol)를 0 °C 메탄올(100 mL)에서 섞은 뒤, 65 °C에서 8시간 동안 반응시켜 L-Glutamic acid methyl ester(24.21 g, 114.7 mmol)를 흰색 결정으로 얻는다.

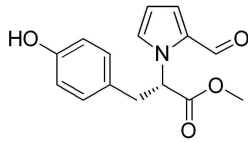
[0158] 다음으로, L-Glutamic acid methyl ester(3.74 g, 17.7 mmol)와 트리에틸아민(4.9 mL, 35.4 mmol), Ribose(2.71 g, 17.7 mmol) 및 옥살산(3.25 g, 35.4 mmol)을 DMSO(10 mL)에 녹이고, 60 °C에서 30분 동안 반응시킨 뒤, 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 3-3의 피롤 화합물(0.68 g, 2.68 mmol)을 노란색 액체로 얻을 수 있었다.

[0159] Data: $R_f = 0.46$ (4:6 EtOAc/hexane); $^1\text{H NMR } \delta = 2.25$ (dt, $J_d = 7.6, J_t = 6.4$ Hz, 2H), 2.28-2.37 (m, 1H), 2.55-2.65 (m, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 5.95 (br s, 1H), 6.33 (dd, $J = 4.0, 2.8$ Hz, 1H), 6.99 (dd, $J = 4.0, 1.6$ Hz, 1H), 7.15 (ddd, $J = 2.8, 1.6, 1.2$ Hz, 1H), 9.51 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H) ppm; $^{13}\text{C NMR } \delta = 27.8, 30.0, 51.8, 52.7, 58.6, 110.7, 125.6, 130.1, 131.6, 170.4, 172.6, 179.7$ ppm; HRMS (EI) calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_5$ 253.0950, found 253.0948.

[0160] 실시예 9.

[0161] (S)-Methyl 2-(2-formyl-1*H*-pyrrol-1-yl)-3-(4-hydroxyphenyl)propanoate.

[0162] [화학식 3-4]



[0163]

[0164] 실시예 6의 방법에 따라, L-Tyrosine(3.0 g, 16.6 mmol)과 thionyl chloride(1.5 mL, 19.9 mmol)를 0 °C 메탄올(7 mL)에서 섞은 뒤, 65 °C에서 8시간 동안 반응시켜 L-Tyrosine의 메틸 에스테르(2.67 g, 11.5 mmol)를 흰색 결정으로 얻는다.

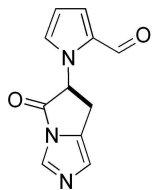
[0165] 다음으로, L-Tyrosine의 메틸 에스테르(2.67 g, 11.5 mmol)와 트리에틸아민(3.2 mL, 23.1 mmol), Ribose(1.84 g, 11.5 mmol) 및 옥살산(2.07 g, 23.1 mmol)을 DMSO(7 mL)에 녹이고, 60 °C에서 30분 동안 반응시킨 뒤, 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 3-4의 피롤 화합물(0.42 g, 1.54 mmol)을 노란색 액체로 얻을 수 있다

[0166] Data: $R_f = 0.21$ (4:6 EtOAc/hexane); $^1\text{H NMR } \delta = 3.16$ (d of A of ABq, $J_{AB} = 14.0$, $J_d = 9.6$ Hz, 1H), 3.44 (d of B of ABq, $J_{AB} = 14.0$, $J_d = 5.6$ Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 6.08 (dd, $J = 9.6$, 5.6 Hz, 1H), 6.23 (br s, 1H), 6.67 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.84 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.91 (dd, $J = 4.0$, 1.6 Hz, 1H), 7.12 (br s, 1H), 9.34 (s, 1H) ppm; $^{13}\text{C NMR } \delta = 38.4$, 52.7, 61.1, 110.6, 115.4, 126.5, 127.3, 129.9, 131.0, 131.1, 155.1, 170.5, 179.9 ppm; HRMS (EI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{NO}_4$ 273.1001, found 273.1000.

[0167] 실시예 10.

[0168] 1-(5-Oxo-6,7-dihydro-5H-pyrrolo[1,2-c]imidazol-6-yl)-1H-pyrrole-2-carbaldehyde

[0169] [화학식 3-5]



[0170]

[0171] 실시예 6의 방법에 따라, L-Histidine(10.0 g, 64.45 mmol)과 thionyl chloride(5.64 mL, 77.34 mmol)를 0 °C 메탄올(50 mL)에서 섞은 뒤, 65 °C에서 8시간 동안 반응시켜 L-Histidine의 메틸 에스테르(15.7 g, 76.56 mmol)를 흰색 결정으로 얻는다.

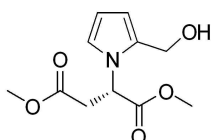
[0172] 다음으로, L-Histidine의 메틸 에스테르(0.51 g, 2.66 mmol)와 트리에틸아민(0.37 mL, 2.66 mmol), Ribose(0.40 g, 2.66 mmol) 및 옥살산(0.24 g, 2.66 mmol)을 DMSO(4 mL)에 녹이고, 60 °C에서 30분, 90 °C에서 30분, 120 °C에서 30분씩 반응시킨 뒤, 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 3-5의 피롤 화합물(3 mg, 0.014 mmol)을 노란색 액체로 얻을 수 있다.

[0173] Data: $^1\text{H NMR } \delta = 5.54$ (s, 2H), 6.22-6.27 (m, 1H), 6.32 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 6.36 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.92-6.96 (m, 1H), 7.02 (br s, 1H), 7.35 (s, 1H), 9.56 (s, 1H) ppm; $^{13}\text{C NMR } \delta = 40.4$, 44.4, 108.7, 110.0, 110.3, 124.8, 131.1, 142.5, 149.9, 160.3, 179.4 ppm.

[0174] 피롤-알데하이드 (화학식 3)의 환원으로 하이드록시메틸-피롤(화학식 4)의 합성

[0175] 실시예 11. (S)-Dimethyl 2-(2-(hydroxymethyl)-1H-pyrrol-1-yl)succinate.

[0176] [화학식 4-1]



[0177]

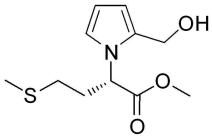
[0178] 화학식 3-1의 2-pyrraldehyde(0.48 g, 2.0 mmol)를 MeOH(5 mL)에 녹이고, 0 °C에서 NaBH₄(0.077g, 2 mmol)를 천천히 더한다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 3시간 반응 시키고 NaHCO₃ 용액을 더하여 반응을 종결시킨다. CH₂Cl₂로 유기물을 추출하고 무수 NaSO₄로 수분을 제거하여 종이필터로 거른 다음, 여액을 감압 증류한다. 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 4-1의 2-hydroxymethylpyrrole 화합물(0.18 g, 0.82 mmol)을 노란색 액체로 얻을 수 있었다.

[0179] Data: R_f = 0.25 (4:6 EtOAc/hexane); ¹H NMR δ = 3.05 (d of A of ABq, J_{AB} = 17.2, J_d = 8.4 Hz, 1H), 3.28 (d of B of ABq, J_{AB} = 17.2, J_d = 6.8 Hz, 1H), 3.67 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 4.61 (A of ABq, J_{AB} = 13.2 Hz, 1H), 4.65 (B of ABq, J_{AB} = 13.2 Hz, 1H), 5.44 (dd, J = 8.4, 6.8 Hz, 1H), 6.12 (dd, J = 3.6, 1.6 Hz, 1H), 6.13 (dd, J = 3.6, 2.8 Hz, 1H), 6.69 (dd, J = 2.8, 1.6 Hz, 1H) ppm; ¹³C NMR δ = 37.0, 52.2, 53.0, 54.3, 56.3, 108.7, 109.4, 119.6, 132.2, 170.2, 170.6 ppm; HRMS (EI) calcd for C₁₁H₁₅NO₅ 241.0950, found 241.0948.

[0180] 실시예 12.

[0181] (S)-Methyl 2-(2-(hydroxymethyl)-1H-pyrrol-1-yl)-4-(methylthio)butanoate.

[0182] [화학식 4-2]



[0183]

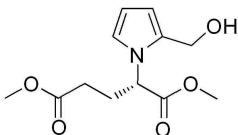
[0184] 실시예 11의 방법에 따라, 화학식 3-2의 pyrraldehyde (0.62 g, 2.57 mmol)를 MeOH(10 mL) 용매 하에서 NaBH₄ (0.10 g, 2.57 mmol)와 실온에서 5시간 30분 동안 반응시킨 뒤, 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 4-2의 2-hydroxymethylpyrrole 화합물(0.25 g, 1.04 mmol)을 노란색 액체로 얻을 수 있었다.

[0185] Data: R_f = 0.23 (4:6 EtOAc/hexane); ¹H NMR δ = 2.06 (s, 1H), 2.08 (s, 3H), 2.29-2.40 (m, 2H), 2.40-2.54 (m, 2H), 3.73 (s, 3H), 4.59 (A of ABq, J_{AB} = 13.2 Hz, 1H), 4.64 (B of ABq, J_{AB} = 13.2 Hz, 1H), 5.18 (dd, J = 9.6, 4.8 Hz, 1H), 6.12 (dd, J = 3.2, 1.6 Hz, 1H), 6.16 (dd, J = 3.2, 2.8 Hz, 1H), 6.78 (dd, J = 2.8, 1.6 Hz, 1H) ppm; ¹³C NMR δ = 15.1, 30.1, 31.1, 52.7, 56.4, 56.5, 108.4, 109.2, 119.7, 132.4, 171.4 ppm; HRMS (EI) calcd for C₁₁H₁₇NO₃S 243.0929, found 243.0927.

[0186] 실시예 13.

[0187] (S)-Dimethyl 2-(2-(hydroxymethyl)-1H-pyrrol-1-yl)pentanedioate.

[0188] [화학식 4-3]



[0189]

[0190] 실시예 11의 방법에 따라, 화학식 3-3의 pyrraldehyde (0.52 g, 2.06 mmol)를 MeOH(5 mL) 용매 하에서 NaBH₄ (0.040 g, 1.03 mmol)와 실온에서 5시간 30분 동안 반응시킨 뒤, 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 4-3의 2-hydroxymethylpyrrole 화합물(0.33 g, 1.27 mmol)을 노란색 액체로 얻을 수 있었다.

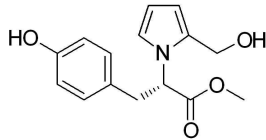
[0191] Data: R_f = 0.28 (4:6 EtOAc/hexane); ¹H NMR δ = 1.86 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 2.28-2.40 (m, 3H), 2.46-2.57 (m, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 4.56 (d of A of ABq, J_{AB} = 14.4, J_d = 4.8 Hz, 1H), 4.59 (d of B of ABq, J_{AB} = 14.4, J_d = 4.8 Hz, 1H), 5.07 (dd, J = 10.0, 5.6 Hz, 1H), 6.11 (dd, J = 3.6, 1.6 Hz, 1H),

6.15 (dd, $J = 3.6, 3.2$ Hz, 1H), 6.77 (dd, $J = 3.2, 1.6$ Hz, 1H) ppm; ^{13}C NMR $\delta = 27.5, 30.0, 51.8, 52.7, 56.4, 57.0, 108.5, 109.3, 119.7, 132.3, 171.0, 173.1$ ppm; HRMS (EI) calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{NO}_5$ 255.1107, found 255.1108.

[0192] 실시예 14.

[0193] (S)-Methyl 2-(2-(hydroxymethyl)-1H-pyrrol-1-yl)-3-(4-hydroxyphenyl)propanoate.

[0194] [화학식 4-4]



[0195]

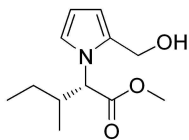
[0196] 실시예 11의 방법에 따라, 화학식 3-4의 2-pyrraldehyde(1.08 g, 3.97 mmol)를 MeOH(10 mL) 용매 하에서 NaBH_4 (0.15 g, 3.97 mL)와 실온에서 5시간 30분 동안 반응시킨 뒤, 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 4-4의 2-hydroxymethylpyrrole 화합물(0.63 g, 2.29 mmol)을 노란색 액체로 얻을 수 있었다.

[0197] Data: $R_f = 0.24$ (4:6 EtOAc/hexane); ^1H NMR $\delta = 3.16$ (d of A of ABq, $J_{AB} = 14.0, J_d = 9.6$ Hz, 1H), 3.36 (d of B of ABq, $J_{AB} = 14.0, J_d = 5.6$ Hz, 1H), 3.70 (s, 3H), 4.23 (A of ABq, $J_{AB} = 13.6$ Hz, 1H), 4.40 (B of ABq, $J_{AB} = 13.6$ Hz, 1H), 5.05 (dd, $J = 9.6, 5.6$ Hz, 1H), 6.02 (dd, $J = 3.6, 1.6$ Hz, 1H), 6.07 (br s, 1H), 6.15 (dd, $J = 3.6, 2.8$ Hz, 1H), 6.62 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.83 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.96 (dd, $J = 2.8, 1.6$ Hz, 1H) ppm; HRMS (EI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{NO}_4$ 275.1158, found 275.1156.

[0198] 실시예 15.

[0199] (2S,3S)-Methyl 2-(2-(hydroxymethyl)-1H-pyrrol-1-yl)-3-methylpentanoate

[0200] [화학식 4-5]



[0201]

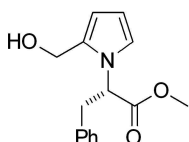
[0202] 실시예 6의 방법에 따라 ribose와 iso-leucine으로부터 제조되는 2-pyrraldehyde(2.50 g, 11.25 mmol)를, 실시예 11의 방법으로 MeOH(30 mL) 용매 하에서 NaBH_4 (0.21 g, 5.62 mmol)와 실온에서 5시간 30분 동안 반응시킨 뒤, 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 4-5의 2-hydroxymethylpyrrole 화합물(2.08 g, 9.22 mmol)을 노란색 액체로 얻을 수 있었다.

[0203] Data: $R_f = 0.55$ (4:6 EtOAc/hexane); ^1H NMR $\delta = 0.84$ (t, $J = 7.6$ Hz, 3H), 1.01 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 0.95-1.08 (m, 1H), 1.12-1.23 (m, 1H), 1.52 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 2.18-2.30 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 4.59 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 4.60 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 6.10 (dd, $J = 3.6, 1.6$ Hz, 1H), 6.13 (dd, $J = 3.6, 2.8$ Hz, 1H), 6.94 (dd, $J = 2.8, 1.6$ Hz, 1H) ppm.

[0204] 실시예 16.

[0205] (S)-Methyl 2-(2-(hydroxymethyl)-1H-pyrrol-1-yl)-3-phenylpropanoate

[0206] [화학식 4-6]



[0207]

[0208] 실시예 6의 방법에 따라 ribose와 phenylalanine으로부터 제조되는 2-pyrraldehyde(3.28 g, 12.76 mmol)를, 실시예11의 방법으로 MeOH(40mL) 용매 하에서 NaBH₄(0.24g, 6.38mmol)와 실온에서 1.5시간 동안 반응시킨 뒤, 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 4-6의 2-hydroxymethylpyrrole 화합물(2.11g, 8.14mmol)을 노란색 액체로 얻을 수 있었다.

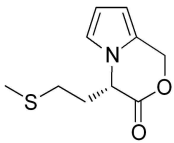
[0209] Data: ¹H NMR δ = 3.26 (d of A of ABq, J_{AB} = 13.6, J_d = 9.2 Hz, 1H), 3.45 (d of B of ABq, J_{AB} = 13.6, J_d = 6.0 Hz 1H), 3.71 (s, 3H), 4.21 (d, J = 13.2 Hz, 1H), 4.39 (d, J = 13.2 Hz, 1H), 5.14 (dd, J = 9.2, 6.0 Hz, 1H), 6.01 (dd, J = 3.6, 1.6 Hz, 1H), 6.15 (dd, J = 3.6, 2.8 Hz, 1H), 6.96 (dd, J = 2.8, 1.6, 1H), 7.00-7.04 (m, 2H), 7.16-7.25 (m, 3H) ppm; ¹³C NMR δ = 39.4, 52.6, 56.4, 59.8, 108.3, 108.9, 120.1, 127.0, 128.5, 128.9, 132.2, 136.5, 170.9 ppm.

[0210] **하이드록시메틸-피롤(화학식 4)의 분자내 락톤화 반응에 의한 피롤록-락톤(화학식 2)의 합성**

[0211] 실시예 17.

[0212] (S)-4-(2-(Methylthio)ethyl)-1H-pyrrolo[2,1-c][1,4]oxazin-3(4H)-one.

[0213] [화학식 2-1]



[0214]

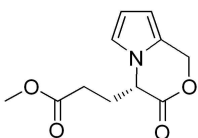
[0215] 화학식 4-2의 2-hydroxymethylpyrrole(0.21 g, 0.86 mmol)과 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene(0.67 g, 4.40 mmol)을 톨루엔(5m L) 용매 하의 상온에서 3시간 동안 반응시킨 다음, H₂O를 가하여 반응을 종결시킨다. CH₂Cl₂로 유기물을 추출하고 무수 Na₂SO₄로 수분을 제거한 뒤 종이필터로 거르고 여액을 감압 증류한다. 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 2-1의 피롤로-락톤 화합물(0.017 g, 0.078 mmol)을 투명한 액체로 얻을 수 있었다.

[0216] Data: R_f = 0.62 (4:6 EtOAc/hexane); ¹H NMR δ = 2.12 (s, 3H), 2.22-2.38 (m, 2H), 2.52-2.66 (m, 2H), 5.00 (dd, J = 8.0, 5.6 Hz, 1H), 5.36 (A of ABq, J_{AB} = 13.6 Hz, 1H), 5.45 (B of ABq, J_{AB} = 13.6 Hz, 1H), 6.09 (dd, J = 3.6, 1.6 Hz, 1H), 6.23 (dd, J = 3.6, 2.8 Hz, 1H), 6.71 (dd, J = 2.8, 1.6 Hz, 1H) ppm; ¹³C NMR δ = 15.0, 29.3, 31.4, 56.6, 64.7, 104.7, 109.9, 119.1, 121.4, 168.5 ppm; HRMS (EI) calcd for C₁₀H₁₃NO₂S 211.0667, found 211.0666.

[0217] 실시예 18.

[0218] (S)-Methyl 3-(3-oxo-3,4-dihydro-1H-pyrrolo[2,1-c][1,4]oxazin-4-yl)propanoate.

[0219] [화학식 2-2]



[0220]

[0221] 실시예 17의 방법에 따라, 화학식 4-3의 2-hydroxymethylpyrrole(0.16 g, 0.61 mmol)과 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene(0.47 g, 3.09 mmol)을 톨루엔(5m L) 용매 하의 상온에서 4시간 동안 반응시킨 다음, 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 2-2의 피롤로-락톤 화합물(0.016 g, 0.072 mmol)을 투명한 액체로 얻을 수 있었다.

[0222] Data: R_f = 0.60 (4:6 EtOAc/hexane); ¹H NMR δ = 2.27-2.42 (m, 2H), 2.45-2.60 (m, 2H), 3.68 (s, 3H), 4.83 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 5.34 (A of ABq, J_{AB} = 14.0 Hz, 1H), 5.45 (B of ABq, J_{AB} = 14.0, 1H), 6.09

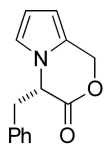
(dd, $J = 3.6, 1.6$ Hz, 1H), 6.22 (dd, $J = 3.6, 2.4$ Hz, 1H), 6.93 (dd, $J = 2.4, 1.6$ Hz, 1H) ppm; ^{13}C NMR $\delta = 27.8, 29.4, 52.0, 57.5, 64.6, 104.9, 110.0, 119.0, 121.4, 167.9, 172.3$ ppm; HRMS (EI) calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{NO}_4$ 223.0845, found 223.0846.

[0223]

[0224] 실시예 19.

[0225] (S)-4-Benzyl-1*H*-pyrrolo[2,1-*c*][1,4]oxazin-3(4*H*)-one

[0226] [화학식 2-3]



[0227]

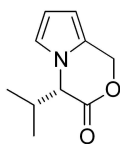
[0228] 실시예 17의 방법에 따라, 화학식 4-6의 2-hydroxymethylpyrrole(2.12 g, 8.13 mmol)과 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene(6.18 g, 40.63 mmol)을 톨루엔 (30 mL)용매에 녹이고 40°C에서 3시간 동안 반응시킨 다음, 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 2-3의 피롤로-락톤 화합물(0.53 g, 1.60 mmol)을 투명한 액체로 얻을 수 있었다.

[0229] Data: ^1H NMR $\delta = 3.31$ (d of A of ABq, $J_{AB} = 13.6, J_d = 4.8$ Hz, 1H), 3.39 (d of B of ABq, $J_{AB} = 13.6, J_d = 5.2$ Hz 1H), 4.10 (d, $J = 14.0$ Hz, 1H), 4.98 (d, $J = 14.0$ Hz, 1H), 5.09 (dd, $J = 5.2, 4.8$ Hz, 1H), 5.88-5.91 (m, 1H), 6.21 (dd, $J = 3.6, 2.8$ Hz, 1H), 6.53-6.56 (m, 1H), 6.85-6.89 (m, 2H), 7.18-7.25 (m, 3H) ppm; ^{13}C NMR $\delta = 40.8, 59.7, 64.8, 103.4, 110.2, 118.3, 121.6, 127.8, 128.7, 129.5, 134.5, 168.2$ ppm.

[0230] 실시예 20.

[0231] (S)-4-Isopropyl-1*H*-pyrrolo[2,1-*c*][1,4]oxazin-3(4*H*)-one

[0232] [화학식 2-4]



[0233]

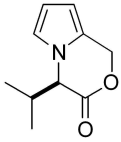
[0234] 실시예 6의 방법에 따라 Ribose와 L-valine으로부터 제조되는 피랄린 화합물을, 실시예11의 방법에 따라 NaBH_4 로 환원시켜2-hydroxymethylpyrrole(0.29 g, 1.37 mmol)을 얻는다. 이를 실시예17의 방법에 따라, 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene(1.21 g, 7.95 mmol)과 톨루엔 (30 mL) 용매에 녹이고 40°C에서 3시간 동안 반응시킨 다음, 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 2-4의 피롤로-락톤 화합물(0.07 g, 0.39 mmol)을 투명한 액체로 얻을 수 있었다.

[0235] Data: ^1H NMR $\delta = 1.02$ (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 1.14 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 2.31 (octet, $J = 6.8$ Hz, 1H), 4.48 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 5.30 (A of ABq, $J_{AB} = 14.0$ Hz, 1H), 5.46 (B of ABq, $J_{AB} = 14.0, 1H$), 6.06-6.09 (m, 1H), 6.21 (dd, $J = 3.6, 2.4$ Hz, 1H), 6.63-6.66 (m, 1H) ppm;

[0236] 실시예 21.

[0237] (R)-4-Isopropyl-1*H*-pyrrolo[2,1-*c*][1,4]oxazin-3(4*H*)-one

[0238] [화학식 2-5]



[0239]

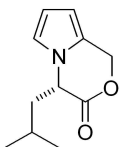
[0240] 실시예 6의 방법에 따라 Ribose와 D-valine으로부터 제조되는 피랄린 화합물을, 실시예11의 방법에 따라 NaBH₄로 환원시켜 2-hydroxymethylpyrrole(0.40 g, 1.89 mmol)을 얻는다. 이를 실시예17의 방법에 따라, 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene(1.38 g, 9.06 mmol)과 톨루엔(20 mL) 용매에 녹이고 40℃에서 3시간 동안 반응시킨 다음, 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 2-5의 피롤로-락톤 화합물(0.09 g, 0.50 mmol)을 투명한 액체로 얻을 수 있었다.

[0241] Data: ¹H NMR δ = 1.02 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.14 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 2.31 (octet, J = 6.8 Hz, 1H), 4.48 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 5.30 (A of ABq, J_{AB} = 14.0 Hz, 1H), 5.46 (B of ABq, J_{AB} = 14.0, 1H), 6.06-6.09 (m, 1H), 6.21 (dd, J = 3.6, 2.4 Hz, 1H), 6.63-6.66 (m, 1H) ppm;

[0242] 실시예 22.

[0243] (S)-4-Isobutyl-1H-pyrrolo[2,1-c][1,4]oxazin-3(4H)-one

[0244] [화학식 2-6]



[0245]

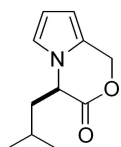
[0246] 실시예 6의 방법에 따라 Ribose와 L-leucine으로부터 제조되는 피랄린 화합물을, 실시예11의 방법에 따라 NaBH₄로 환원시켜 2-hydroxymethylpyrrole(0.10 g, 0.44 mmol)을 얻는다. 이를 실시예 17의 방법에 따라, 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene(0.34 g, 2.22 mmol)과 톨루엔(20 mL) 용매에 녹이고 40℃에서 3시간 동안 반응시킨 다음, 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 2-6의 피롤로-락톤 화합물(0.05 g, 0.26 mmol)을 투명한 액체로 얻을 수 있었다.

[0247] Data: ¹H NMR δ = 0.98 (d, J = 6.4 Hz, 3H), 1.04 (d, J = 6.4 Hz, 3H), 1.72-1.85 (m, 3H), 4.79 (dd, J = 8.0, 6.4 Hz, 1H), 5.32 (A of ABq, J_{AB} = 14.0 Hz, 1H), 5.43 (B of ABq, J_{AB} = 14.0, 1H), 6.09 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 6.20 (dd, J = 3.6, 2.8 Hz, 1H), 6.66 (dd, J = 2.8, 1.6 Hz, 1H) ppm.

[0248] 실시예 23.

[0249] (R)-4-Isobutyl-1H-pyrrolo[2,1-c][1,4]oxazin-3(4H)-one

[0250] [화학식 2-7]



[0251]

[0252] 실시예 6의 방법에 따라 Ribose와 D-leucine으로부터 제조되는 피랄린 화합물을, 실시예 11의 방법에 따라 NaBH₄로 환원시켜 2-hydroxymethylpyrrole(0.15 g, 0.66 mmol)을 얻는다. 이를 실시예 17의 방법에 따라, 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene(0.50 g, 3.30 mmol)과 톨루엔(30 mL) 용매에 녹이고 40℃에서 3시간 동안 반응시킨 다음, 실리카겔 컬럼크로마토그래피의 방법으로 정제하여 화학식 2-7의 피롤로-락톤 화합물(0.09 g, 0.47 mmol)을 투명한 액체로 얻을 수 있었다.

[0253] Data: ¹H NMR δ = 0.98 (d, J = 6.4 Hz, 3H), 1.04 (d, J = 6.4 Hz, 3H), 1.72-1.85 (m, 3H), 4.79 (dd, J =

8.0, 6.4 Hz, 1H), 5.32 (A of ABq, $J_{AB} = 14.0$ Hz, 1H), 5.43 (B of ABq, $J_{AB} = 14.0$, 1H), 6.09 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 6.20 (dd, $J = 3.6, 2.8$ Hz, 1H), 6.66 (dd, $J = 2.8, 1.6$ Hz, 1H) ppm.

[0254] 실험예 1.

[0255] 실시예의 화합물 처리 시 세포 내 글루타치온 (GSH) 양(레벨) 측정

[0256]



[0257] 다음의 순서대로 실험을 진행하여 세포내 글루타치온의 양을 측정한다.

[0258] (1) HeLa 세포주를 96well plate에 5×10^3 /well로 분주한 다음 16~18 시간 배양함.

[0259] (2) 배지 교체 및 시험물질(실시예 화합물)을 처리한 후 24시간 배양함.

[0260] (3) HBSS (Hank's Balanced Salt Solution)로 두 번 washing 한 뒤 $5 \mu\text{M}$ FreSHtracer 1시간 반응

[0261] (4) Operetta로 F510, F580 (kinetics) 형광 값 측정 (한 plate 당 10분 정도 소요)

[0262] (5) (F510: Ex 410-430nm, Em 460-540nm / F580: Ex 490-510nm, Em 560-630nm)

[0263]

[0264] GSH level 측정 결과

[0265] Control(DMSO)의 비율 F510/580 값을 1로 표준화 한 뒤, 각 화합물의 농도에 따른 상대적인 비율 값을 표시하였다. 도 1a ~ 1f에서 나타내는 바와 같이, 실시예의 각 화합물을 여러 농도로 처리하였을 경우, 표준물질인 DMSO 보다 글루타치온(GSH)의 농도가 대부분의 경우에서 높게 나타나는 것으로 보아 실시예의 모든 화합물을 약으로 개발할 수 있는 가능성이 매우 높다고 예상된다.

[0266] 실험예 2.

[0267] HeLa cell에서의 실시간 글루타치온 형광리포터를 이용한 항산화 효능(GSH 회복능) 측정.

[0268] 독성이 없는 농도의 화합물(실시예에 따른 화합물)을 미리 처리한 후, 산화제로 Diamide(3 mM)를 단독 처리하였을 때 감소한 GSH level이 다시 증가하는지 여부를 확인하고 이를 Operetta (Confocal mode)로 kinetics를 측정하는 방법으로 수행하였다.

[0269]



[0270] 다음의 순서대로 실험을 진행하여 세포내 글루타치온의 양을 측정한다.

[0271] (1) HeLa 세포주를 96well plate에 5×10^3 /well로 분주한 다음 16~18시간 배양함.

[0272] (2) 배지 교체 및 시험물질(실시예 화합물)을 처리한 후 24시간 배양함.

[0273] (3) HBSS (Hank's Balanced Salt Solution)로 두 번 washing 한 뒤 $5 \mu\text{M}$ FreSHtracer 1시간 반응

[0274] (4) Diamide 5분간 처리한 뒤 media change로 남아있는 diamide 제거해 줌

[0275] (5) Operetta로 F510, F580 (kinetics) 형광 값 측정 (한 cycle 당 2분정도 소요) (F510: Ex 410-430nm, Em 460-540nm / F580: Ex 490-510nm, Em 560-630nm)

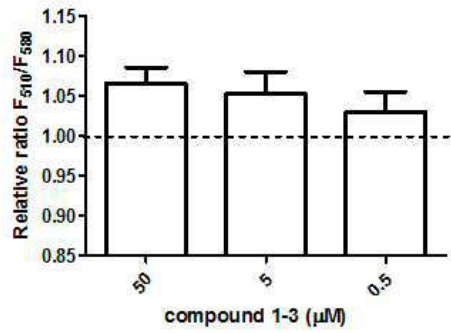
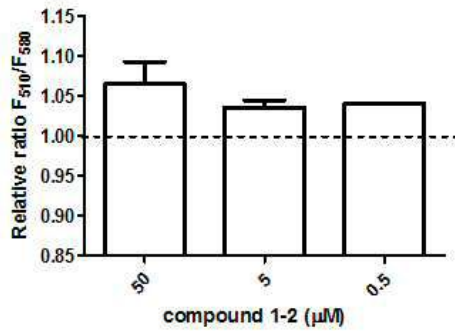
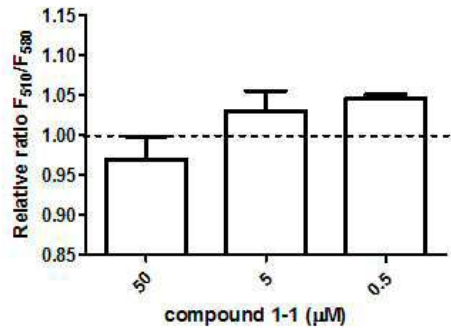
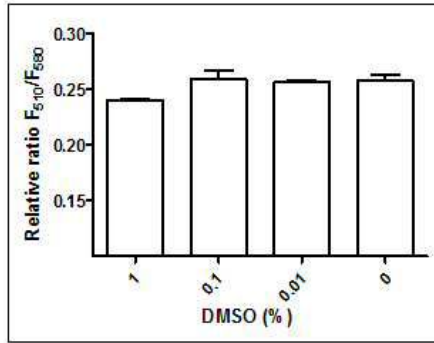
[0276] 글루타치온 회복 능력 (GRC%) 측정결과 (산화제 Diamide-3 mM)

[0277] DMSO와의 상대적 비교 또는 표준물질 Quercetin의 GRC(%) 값과 절대치 비교하고 그 결과를 도 2에 나타내었다. 도 2a 내지 도 2g에서 나타내는 바와 같이, 실시예의 모든 화합물이 표준물질인 DMSO (기준값 1) 또는 각 농

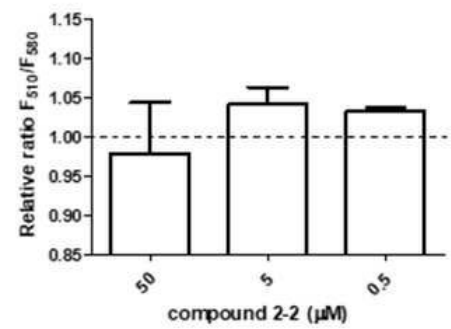
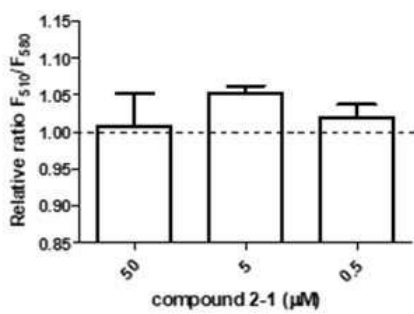
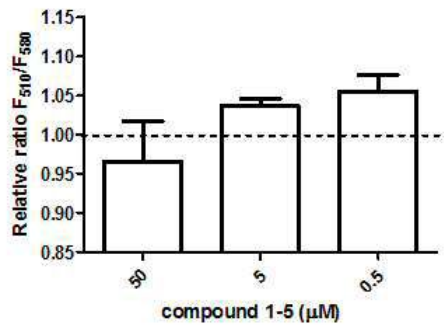
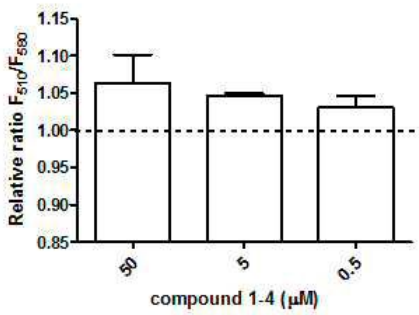
도별 Quercetin의 절대 값보다 GRC(%) 값이 높게 나타나는 바, 실시예의 모든 화합물을 약으로의 개발 가능성이 매우 높을 것으로 예상된다.

도면

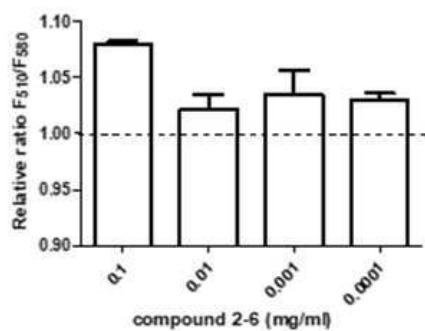
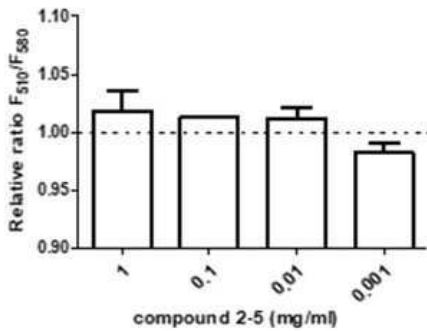
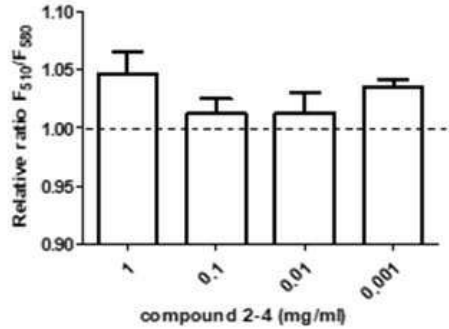
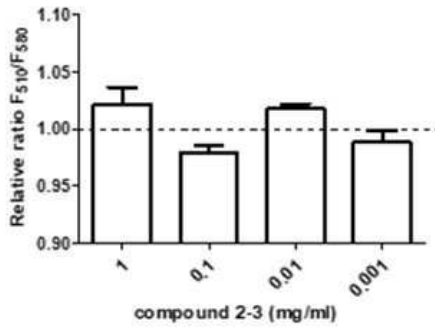
도면1a



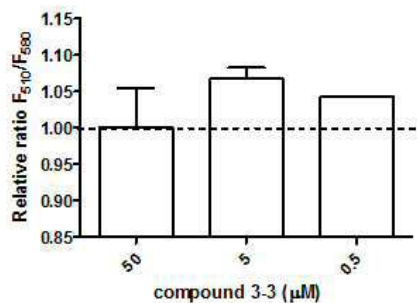
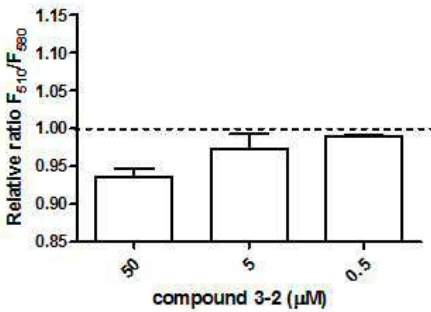
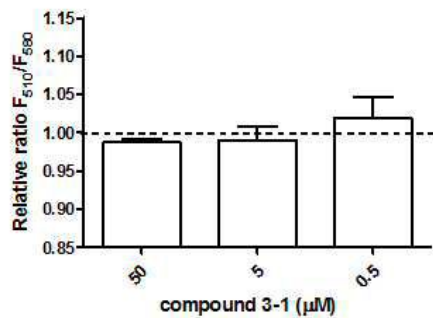
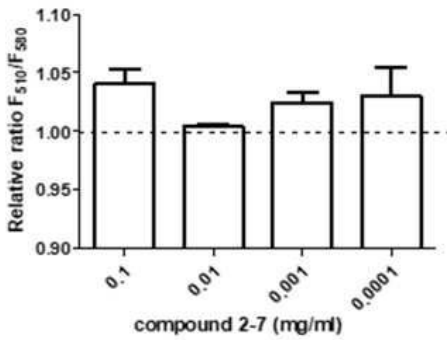
도면1b



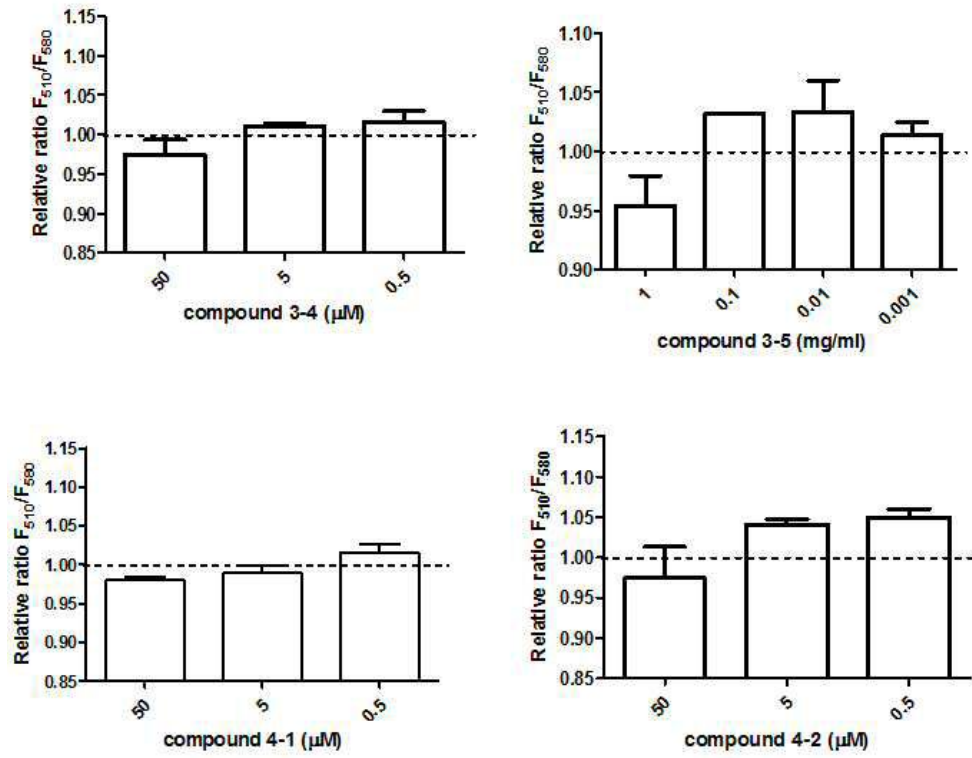
도면1c



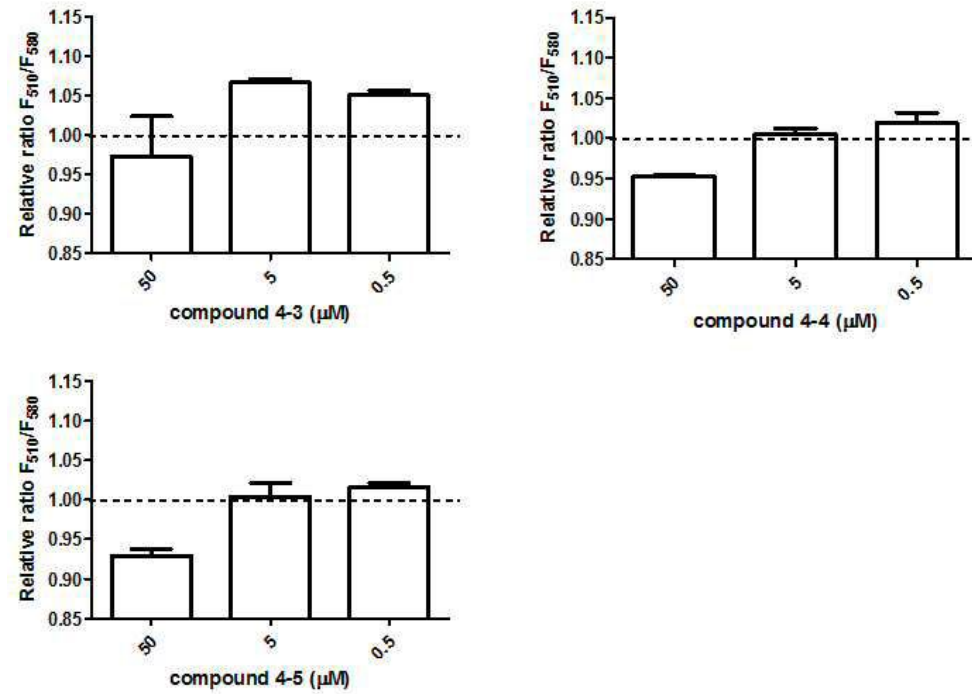
도면1d



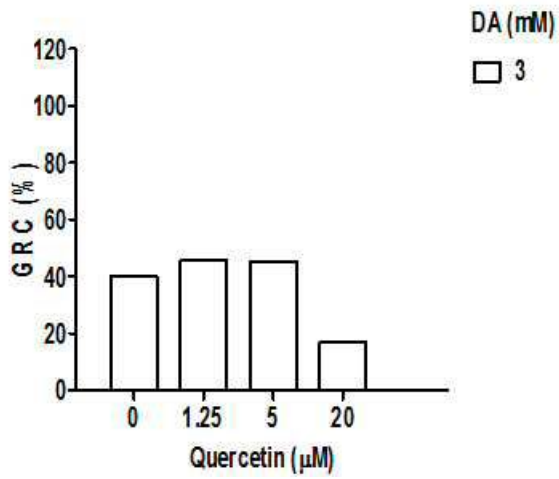
도면1e



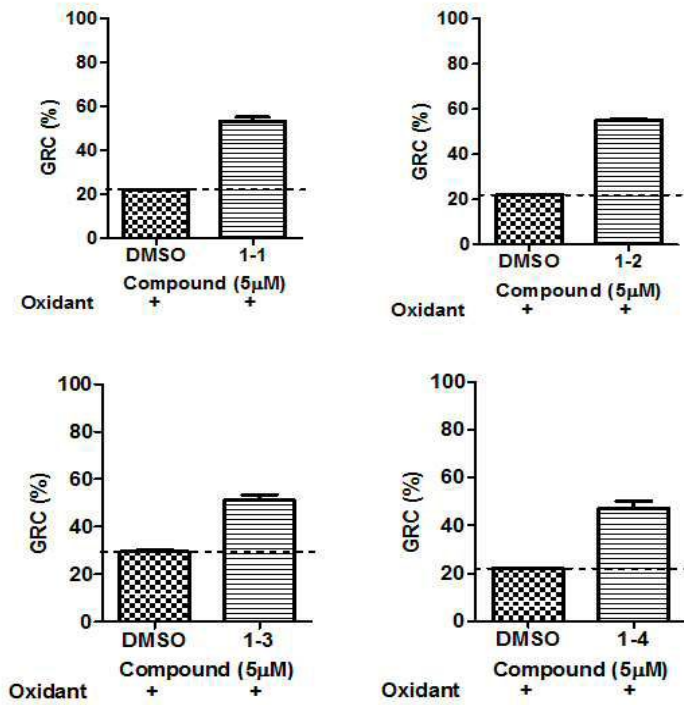
도면1f



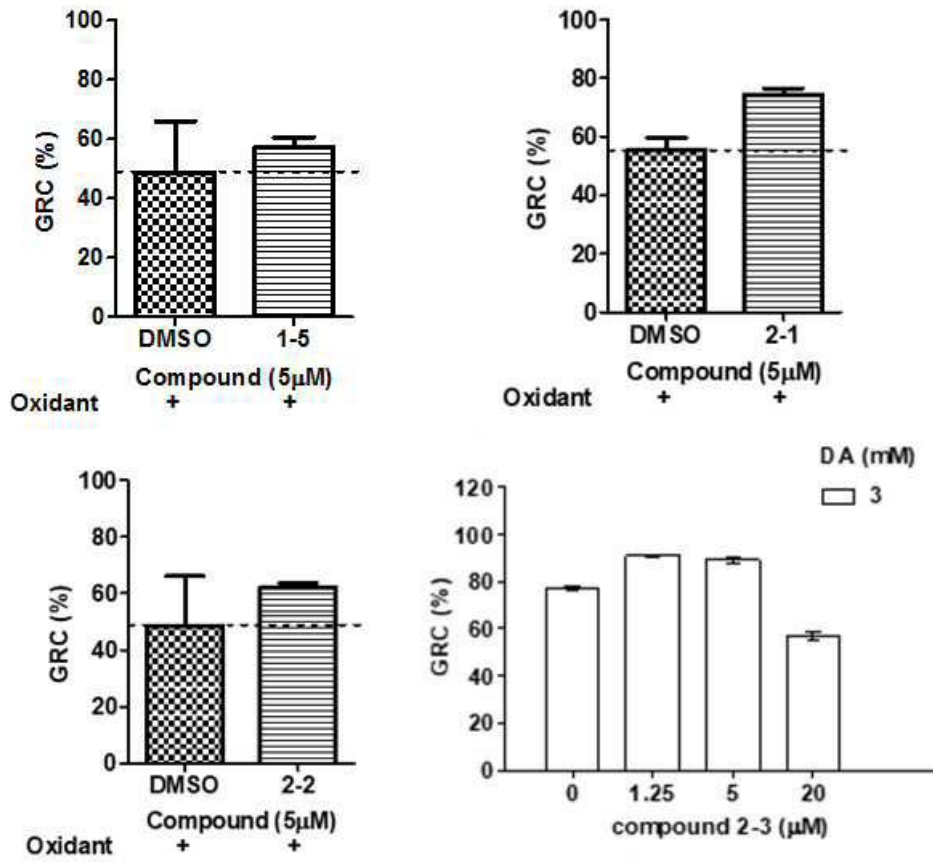
도면2a



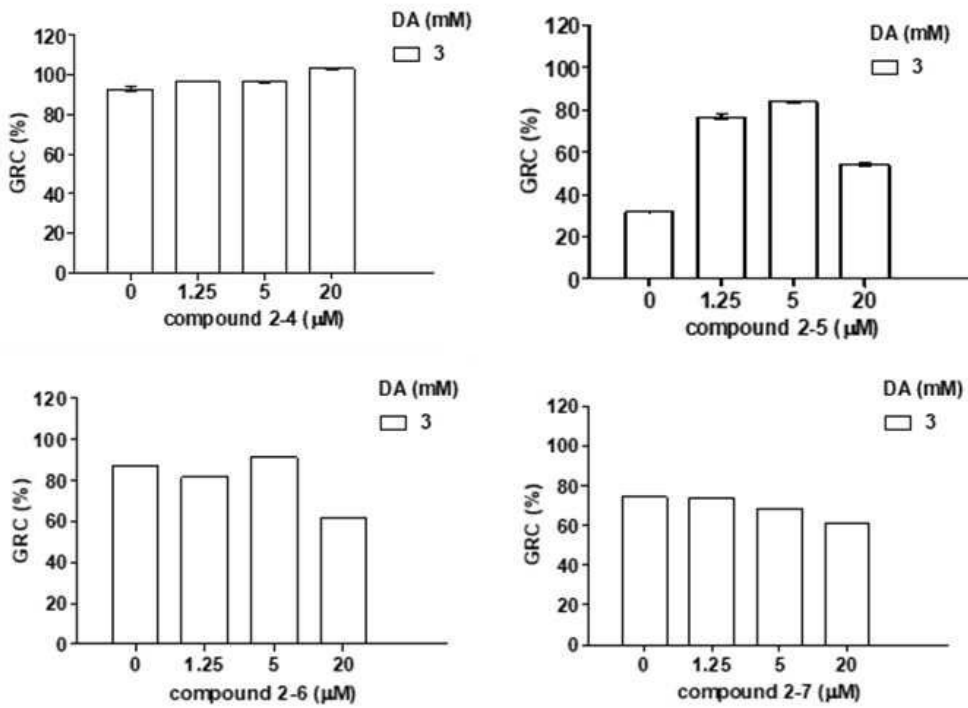
도면2b



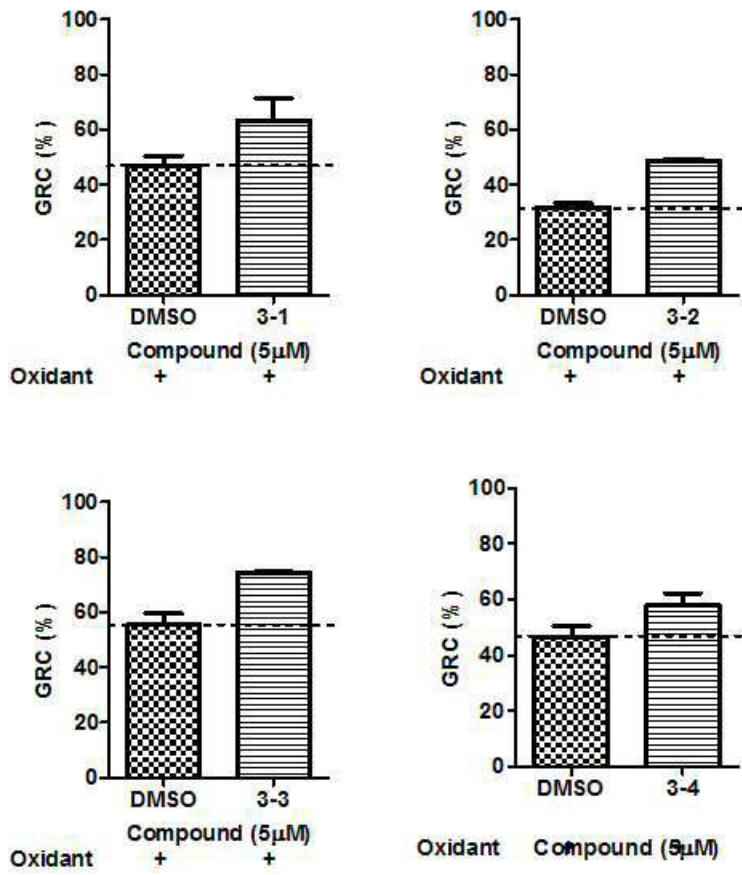
도면2c



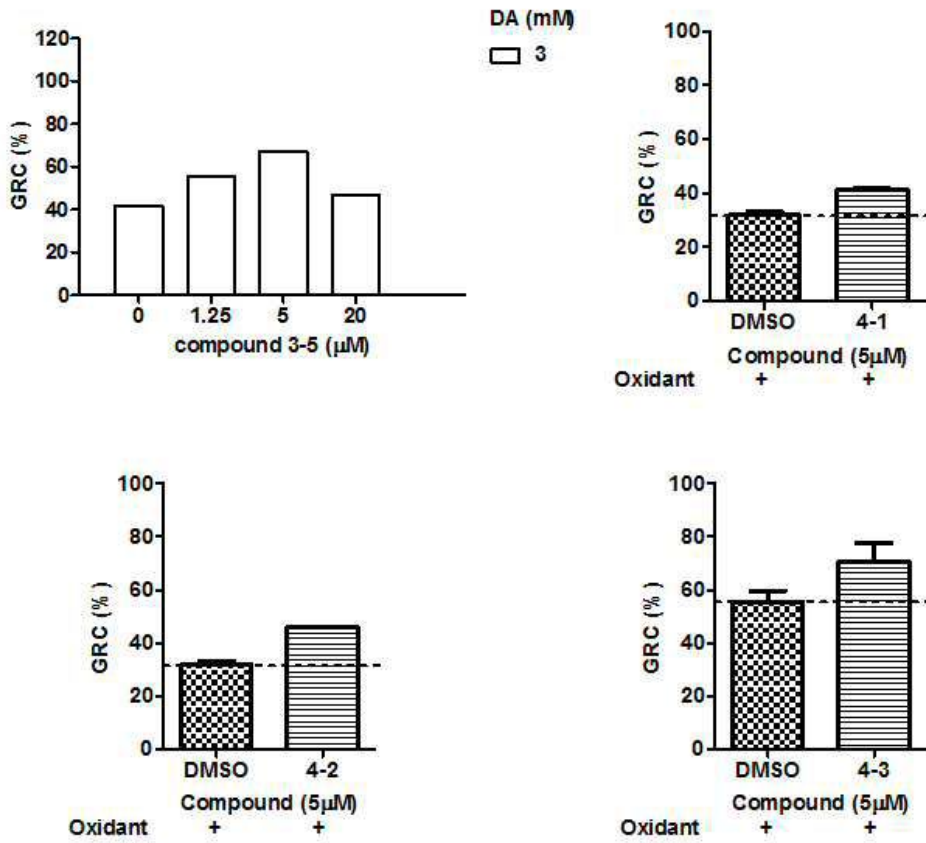
도면2d



도면2e



도면2f



도면2g

