(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0139476
(43) 공개일자 2012년12월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 277/68 (2006.01) *C07D 417/12* (2006.01)
A61K 31/428 (2006.01) *A61P 19/10* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-0059302
(22) 출원일자 2011년06월17일
심사청구일자 2011년06월17일

(71) 출원인
이화여자대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)
(72) 발명자
박혜영
서울특별시 강남구 압구정로 201, 현대 아파트 86동 603호 (압구정동)
도경은
서울특별시 서초구 동광로1길 93-6, 1층 (방배동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
안소영

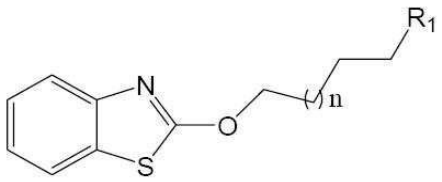
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 **골다공증 완화, 예방 또는 치료효과의 신규한 화합물, 이의 제조방법 및 이를 포함하는 약학 조성물**

(57) 요 약

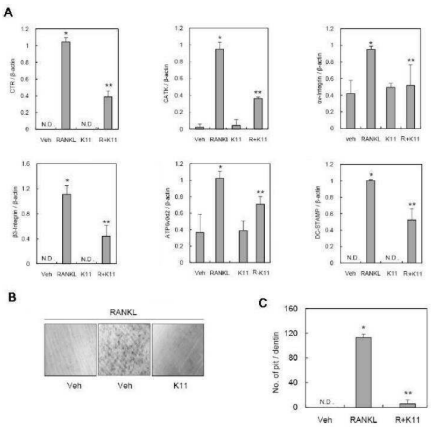
본 발명은 하기의 [화학식 I]의 신규한 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이의 제조방법 및 이를 유효량 함유하는 골다공증 완화, 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[화학식 I]



상기 식에서,n 및 R_1 은 상세한 설명에서 설명한 바와 같다.

대 표 도 - 도3



(72) 발명자

임미정

서울특별시 관악구 낙성대로 22-7, 5층 (봉천동)

이정민

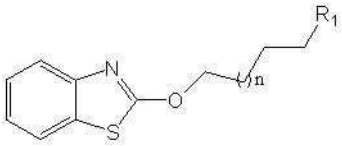
경기도 안산시 단원구 당곡2로 30, 주공9단지아파트 902동 606호 (고잔동)

특허청구의 범위

청구항 1

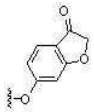
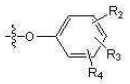
하기의 [화학식 I]의 신규한 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[화학식 I]



상기 식에서,

n은 1 또는 2이며,

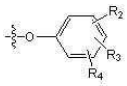
R_1 은 플루오로, 클로로, 브로모, 요오도,  또는  이고, 여기서, R_2, R_3 및 R_4는 각각 독립적으로 페닐기에 붙어있는 산소원자에 대하여, 오르소(ortho)-, 메타(meta)- 또는 파라(para)- 위치에 결합할 수 있고, 이들은 각각 독립하여 수소원자, 플루오로, 클로로, 브로모, 요오도, 시아노, 니트로, C1-4 알킬, C1-4 알콕시, C2-4 알켄일,트리아졸, 피페리딘, 피리딘 또는  이며,

여기서, X는 -NOH, -NH?HCl, O 또는 S 이고, Y는 $-NR_5R_6$ 또는 $-OR_7$이며,

R_5, R_6 및 R_7은 각각 독립하여 수소원자 또는 C1-4 알킬이다.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 [화학식 I]의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이 [화학식 I]에서 n은 1 또는 2이며,

R_1 은 클로로,  또는 이고,  이고,

여기서, R_2, R_3 및 R_4는 각각 독립적으로 페닐기에 붙어있는 산소원자에 대하여, 오르소(ortho)-, 메타(meta)- 또는 파라(para)- 위치에 결합할 수 있고, 이들은 각각 독립하여 수소원자, 플루오로, 클로로, 브로모, 요오도, 시아노, C1-4 알킬, C1-4 알콕시, 트리아졸, 또는  이며,

여기서, X는 -NOH, -NH?HCl 또는 O 이고, Y는 $-NR_5R_6$ 또는 $-OR_7$이며,

R_5, R_6 및 R_7은 각각 독립하여 수소원자 또는 C1-4 알킬인 [화학식 I]의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 3

제2항에 있어서, [화학식 I]의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이

2-(5-클로로펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

2-(5-펜옥시펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)벤조니트릴,

4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*'-히드록시벤즈아미딘,

4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)벤즈아미딘 염산,

메틸 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-3-메톡시벤조에이트,

4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-3-메톡시벤조산,

4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시 벤즈아미드,

4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*,*N*-디에틸-3-메톡시벤즈아미드,

2-(5-(3,5-디메틸펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

2-(5-(4-(1H-1,2,4-티아졸-1-일)펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

2-(5-(4-플루오로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

2-(5-(3-클로로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

6-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)벤조푸란-3(2H)-온,

2-(5-(2-메톡시펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

2-(5-(2-플루오로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

2-(4-클로로부톡시)벤조[*d*]티아졸,

2-(4-펜옥시부톡시)벤조[*d*]티아졸,

4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)벤조니트릴,

4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)-*N*'-히드록시벤즈아미딘,

4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드 및 이들의 약제학적으로 허용되는 염 중에서 선택된 것인[화학식 I]의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 4

제3항에 있어서,[화학식 I]의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이

4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드,

2-(5-(3-클로로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

2-(5-(2-메톡시펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

2-(5-(2-플루오로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

2-(4-펜옥시부톡시)벤조[*d*]티아졸,

4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드 및 이의 약제학적으로 허용되는 염 중에서 선택된 것인 [화학식 I]의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 5

제4항에 있어서,[화학식 I]의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이

4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드,

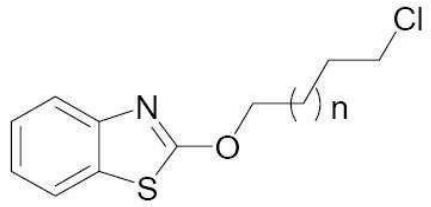
4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드 및 이의 약제학적으로 허용되는 염 중에서 선택된 것인 [화학식 I]의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 6

a) 2-히드록시벤조티아졸을 염기 존재하에 1-브로모-5-클로로펜탄 또는 1-브로모-4-클로로부탄과 반응시켜 하기 [화학식 II] 화합물을 제조하는 단계 및

b) 하기 [화학식 II]화합물을 염기 존재하에 하기 [화학식 III]화합물과 반응시켜 [화학식 I] 화합물을 제조하는 단계를 포함하는 [화학식 I] 화합물의 제조방법.

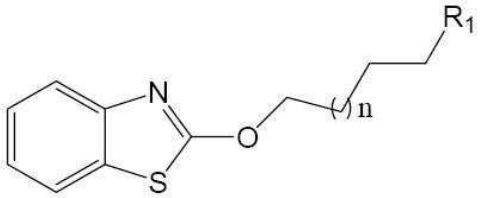
[화학식 II]



[화학식 III]

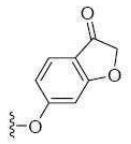
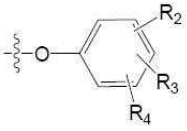
$H-R_1$

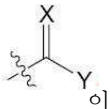
[화학식 I]



상기 식에서,

n은 1 또는 2이며,

R_1 은,  또는  이고,

여기서, R_2, R_3 및 R_4는 각각 독립적으로 페닐기에 붙어있는 산소원자에 대하여, 오르소(ortho)-, 메타(meta)- 또는 파라(para)- 위치에 결합할 수 있고, 이들은 각각 독립하여 수소원자, 플루오로, 클로로, 브로모, 요오도, 시아노, 니트로, C1-4 알킬, C1-4 알콕시, C2-4 알켄일,트리아졸, 피페리딘, 피리딘 또는  이며, 여기서, X는 -NOH, -NH?HCl, O 또는 S 이고, Y는 $-NR_5R_6$ 또는 $-OR_7$이며,

R_5, R_6 및 R_7은 각각 독립하여 수소원자 또는 C1-4 알킬이다.

청구항 7

제6항에 있어서, a) 단계의 염기는 탄산칼륨, 탄산나트륨, 탄산칼슘 및 인산나트륨 중에서 선택된 것인 [화학식 I] 화합물의 제조방법.

청구항 8

제6항에 있어서, b) 단계의 염기는 수산화나트륨, 수산화칼륨, 탄산나트륨, 탄산칼륨, 탄산칼슘 및 인산나트륨 중에서 선택된 것인 [화학식 I] 화합물의 제조방법.

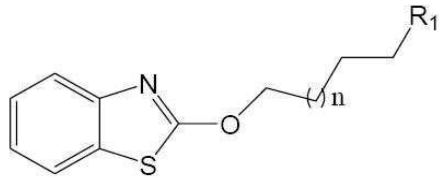
청구항 9

제6항에 있어서, a) 단계 및 b)단계는 반응온도가 50 내지 90℃에서 수행되는 것인 [화학식 I] 화합물의 제조방법.

청구항 10

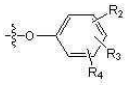
하기의 [화학식 I]의 신규한 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 유효량 함유하는 골다공증의 완화, 예방 또는 치료용 조성물:

[화학식 I]



상기 식에서,

n은 1 또는 2이며,

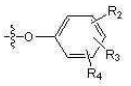
R_1 은 클로로,  또는  이고, 여기서, R_2, R_3 및 R_4는 각각 독립적으로 페닐기에 붙어있는 산소원자에 대하여, 오르소(ortho)-, 메타(meta)- 또는 파라(para)- 위치에 결합할 수 있고, 이들은 각각 독립하여 수소원자, 플루오로, 클로로, 브로모, 요오도, 시아노, 니트로, C1-4 알킬, C1-4 알콕시, C2-4 알켄일,트리아졸, 피페리딘, 피리딘 또는  이며,

여기서, X는 -NOH, -NH?HCl, O 또는 S 이고, Y는 $-NR_5R_6$ 또는 $-OR_7$이며,

R_5, R_6 및 R_7은 각각 독립하여 수소원자 또는 C1-4 알킬이다.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 [화학식 I]의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이 상기 [화학식 I]에서 n은 1 또는 2이며,

R_1 은 플루오로, 클로로, 브로모,  또는  이고, 여기서, R_2, R_3 및 R_4는 각각 독립적으로 페닐기에 붙어있는 산소원자에 대하여, 오르소(ortho)-, 메타(meta)- 또는 파라(para)- 위치에 결합할 수 있고, 이들은 각각 독립하여 수소원자, 플루오로, 클로로, 브로모, 요오도, 시아노, C1-4 알킬, C1-4 알콕시, 트리아졸, 또는  이며,

여기서, X는 -NOH, -NH?HCl 또는 O 이고, Y는 $-NR_5R_6$ 또는 $-OR_7$이며,

R_5, R_6 및 R_7은 각각 독립하여 수소원자 또는 C1-4 알킬인 [화학식 I]의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염인 골다공증의 완화, 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, [화학식 I]의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이

2-(5-클로로펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

2-(5-펜옥시펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)벤조니트릴,

4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*'-히드록시벤즈아미딘,

4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)벤즈아미딘 염산,

메틸 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-3-메톡시벤조에이트,

4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-3-메톡시벤조산,

4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시 벤즈아미드,

4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*,*N*-디에틸-3-메톡시벤즈아미드,

2-(5-(3,5-디메틸펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

2-(5-(4-(1H-1,2,4-티아졸-1-일)펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

2-(5-(4-플루오로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

2-(5-(3-클로로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

6-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)벤조푸란-3(2H)-온,

2-(5-(2-메톡시펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

2-(5-(2-플루오로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

2-(4-클로로부톡시)벤조[*d*]티아졸,

2-(4-펜옥시부톡시)벤조[*d*]티아졸,

4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)벤조니트릴,

4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)-*N*'-히드록시벤즈아미딘,

4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드 및 이들의 약제학적으로 허용되는 염 중에서 선택된 것인 골다공증의 완화, 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서,[화학식 I]의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이

4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드,

2-(5-(3-클로로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

2-(5-(2-메톡시펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

2-(5-(2-플루오로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

2-(4-펜옥시부톡시)벤조[*d*]티아졸,

4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드 및 이의 약제학적으로 허용되는 염 중에서 선택된 것인 골다공증의 완화, 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 14

제13항에 있어서,[화학식 I]의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이

4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드,

4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드 및 이의 약제학적으로 허용되는 염 중에서 선택된 것인 골다공증의 완화, 예방 또는 치료용 조성물.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 골다공증의 완화, 예방 또는 치료제에 관한 것이다.

배 경 기 술

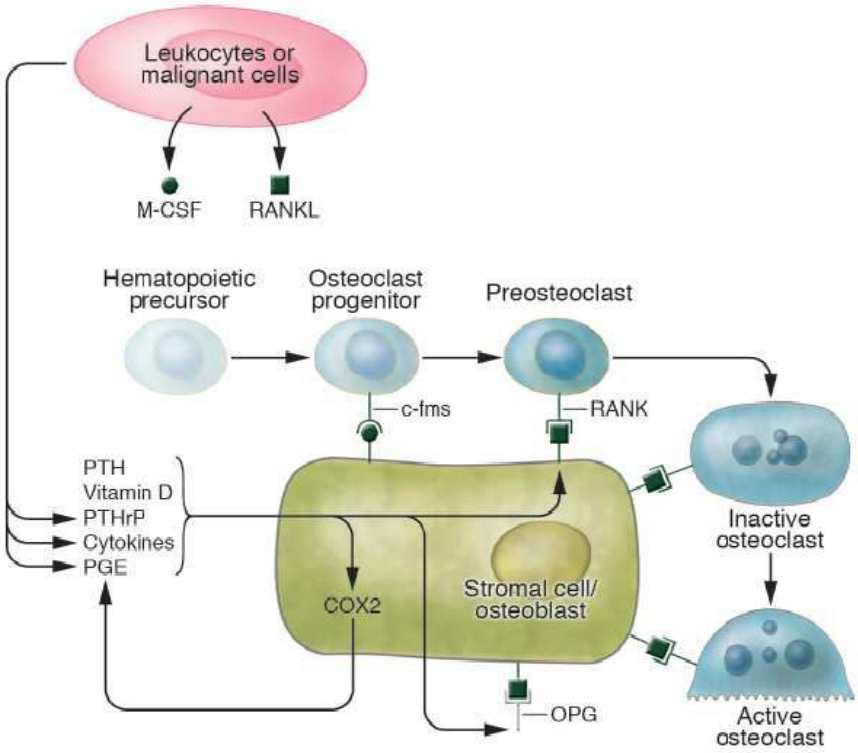
[0002] 골다공증은 매우 빈번한 질병 중 하나로 전세계적으로 약 2억 명의 사람들이 골질량 (bone mass)이 낮거나 골다공증을 앓고 있으며, 뼈의 미세구조가 붕괴되고 골질량이 감소하는 특징이 있으므로 이로 인해 뼈의 강도가 감소하고 골절의 위험, 특히 척추, 엉덩이, 손목, 상완골, 골반 골절의 위험이 증가한다.

[0003] **A. 뼈**

[0004] 뼈는 조골세포 (osteoblast), 골세포 (osteocyte), 파골세포 (osteoclast) 세가지 주요한 세포로 구성되어 있다. 조골세포는 동화 (anabolic) 작용을 하며, 뼈의 유기적인 구성성분 (유골, osteoid)을 생성한 후 골화(mineralization)함으로써 새로운 뼈의 생성을 촉진한다. 조골세포는 골수 줄기 세포에서 유래하며 유골의 형성은 상대적으로 빠르게 6~12시간 안에 끝나지만 그 다음 골화의 과정은 훨씬 길게 1~2개월이 걸린다. 뼈 형성이 끝나면 조골세포는 새로운 골기질 (bone matrix)에 둘러싸여 파골세포로 분화된다.

[0005] 파골세포는 뼈에서 가장 많은 세포로, bone multicellular unit가 국소의 필요에 따라 뼈의 구성성분을 조정할 수 있도록 local strain information을 전달하는 'mechanostat'기능을 한다고 여겨지고 있으며, 커다란 다핵세포로, 골수에서 유래한 단핵 대식세포의 융합으로 형성된다. 파골세포는 특정 부위에서 lysosomal enzyme 작용을 통해 뼈의 구성성분을 파괴하는 이화 (catabolic) 작용을 하며, 파골세포의 분화와 기능에는 receptor activation of nuclear factor κ Bligand (RANKL)와 관련된 경로가 중요한 조절인자로 작용한다.

[0006] 또한, RANKL/RANK/OPG system은 현재 뼈의 재흡수 조절에서 가장 중요한 경로로 알려져 있다. RANKL은 tumor necrosis factor (TNF) family에 속하는 cytokine으로 조골세포에 의해 발현되며, 파골세포의 membrane bound receptor RANK에 결합하여 골수세포가 파골세포로 분화하는 것을 촉진하고, RANKL의 발현 촉진은 Parathyroid hormone (PTH), calcitriol, prostaglandin과 같은 호르몬들에 의한 조골세포에 의해 이루어진다. 한편, 조골세포는 osteoprotegrin (OPG)이라는 soluble receptor도 분비하는데 이는 RANKL에 결합하여 불활성화시키는 파골세포 형성의 강력한 antagonist로써 뼈의 재흡수에서 중요한 조절인자이며, OPG는 estrogen에 의해 촉진된다.



[0007]

[0008] **그림 1.** 파골세포의 형성과 활동의 조절

[0009] **B. 골다공증 유발 원인**

[0010] 골다골증은 골밀도 (bone mineral density)가 2.5 이하이거나 T score (T-score는 젊은 성인의 평균골질량과의 표준편차)가 -2.5 이하일 때로 분류된다. 연령에 따른 뼈의 감소는 40대나 50대에 시작하며, 이때 파골세포 (osteoclast)에 의한 뼈의 파괴는 증가하고 조골세포 (osteoblast)에 의한 뼈의 형성은 감소해서 골다공증이 발생하며, 여성의 경우, 뼈의 감소가 폐경에 의해 가속화된다.

[0011] 최대골량 (peak bone mass)은 30대에 도달하는데 이는 그 후의 골질량에 중요한 결정요인이 된다. 최대골량은 유전적 요인에 크게 영향을 받고 그 외에도 영양, 특히 칼슘과 비타민 D 섭취와 호르몬 상태, 신체 활동, 흡연, 낮은 체질량, 사춘기의 시기 등의 영향을 받는다.

[0012] Estrogen 부족은 골다공증의 결정적인 원인으로 여겨지는데 이는 estrogen level이 자연적으로 줄어드는 폐경기 여성이 골다공증 유발 위험이 가장 높은 데서 기인한다. 폐경기에서의 estrogen 부족은 뼈의 재흡수 증가를 야기하여 빠르고 지속적인 뼈의 감소를 유발한다. Estrogen은 여성 뿐 만 아니라 남성의 뼈 재흡수에서 큰 역할을 하고 최대골량 도달에도 중요한 역할을 한다. 뿐만 아니라 노인층 남성의 골다공증은 낮은 androgen level보다 낮은 estrogen level에 훨씬 밀접한 관련이 있다.

[0013] 칼슘 부족은 골다공증의 원인으로 처음부터 지목됐었다 (특히 노인층). 칼슘 흡수 저하나 칼슘 손실 증가 (hypercalcuria)에 의한 칼슘 부족은 PTH 분비와 뼈 재흡수를 증가시킨다. PTH(Parathyroid hormone)은 84개의 아미노산으로 구성된 peptide로 칼슘 항상성 조절에 필수적이며, 칼슘의 농도와 역-상관관계를 가지는데, 칼슘은 부갑상선 세포의 calcium-sensing receptor에 결합하여 PTH 분비에 영향을 주게 된다. PTH는 신장의 칼슘 재흡수와 장의 칼슘 흡수, 뼈의 remodeling을 증가시킨다. 비타민 D 부족과 이차성 부갑상선 항진증 (hyperparathyroidism)은 노인층에서 일반적으로 발생하는데 이 역시 골다공증에 기여할 수 있다. 이차성 부갑상선 항진증은 비타민 D가 상대적으로 부족하여 circulating form인 25-hydroxy vitamin D의 농도가 30 ng/mL 이하로 떨어졌을 때 발생하고 그러므로 비타민 D 보급은 이 농도나 그 이상으로 되어야 한다. 활성형 호르몬인 1,25-dihydroxy vitamin D (calcitriol)는 장에서의 칼슘과 인의 흡수에 필수적이고 PTH 생성에 대한 tonic inhibitory effect도 있어서 양쪽 모두 이차성 부갑상선 항진증 유발의 원인이 될 수 있다. 비타민 D 부족과 이차성 부갑상선 항진증은 뼈 감소 가속화, 골절 증가, 신경근육 장애를 통한 넘어질 위험 증가를 유발한다.

[0014] **C. 새로운 골다공증 치료제의 디자인**

[0015] 현재 골다공증 치료제로 사용되고 있는 화합물로는 비스포스포네이트 제제(알렌드로네이트, 에티드로네이트), 호르몬 제제(랄록시펜), 비타민 D 제제, 칼시토닌 제제, 칼슘 제제 등이 있다. 일반적으로 골다공증 치료제에 대해서 환자의 순응도가 낮고 지속적인 복용이 잘 이뤄지지 않는다. 경구용 bisphosphonates는 상부 위장의 부작용이 있을 수 있으며, 물 한잔과 공복에 먹어야 하고 똑바로 앉거나 서서 30~60분 동안 음식물이나 음료를 섭취하면 안 되는 등 복용 시 주의할 점이 많다. 또한 오랫동안 사용하면 뼈의 remodeling을 과도하게 억제하고 골절과 미세 손상을 회복하지 못하게 되어 지나친 골화와 미소 균열 증가를 유발한다는 우려도 있다. 호르몬 대체요법의 경우 치료 효과만큼 그에 따른 부작용이 크다는 문제점이 있으며, PTH는 매일 피하 주사해야 되는 불편함과 비싼 가격의 문제점이 있다. 또한, 칼슘과 비타민 D 보급만으로는 치료효과가 불충분하다. 더욱이, 골다공증은 약물의 단기 투여만으로는 치료할 수 없으며 약물의 장기 투여가 필수적이므로, 약물을 장기 투여할 때에 상기와 같은 부작용이 없고 우수한 약효를 갖는 새로운 화합물의 필요성이 요구되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

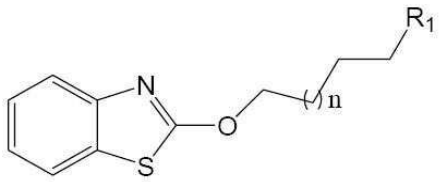
[0016] 이에 따라, 본 발명자들은 골다공증에 대한 효과적인 치료제를 찾고자 기존과 다른 유형의 골다공증 치료제 구조를 변형하여 새로운 골다공증 치료제를 디자인하여 합성하고, 이들 화합물이 파골세포로의 분화(파골세포의 형성)를 억제해 골흡수를 효과적으로 억제함을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

[0017] 따라서 본 발명의 목적은 골다공증 완화, 예방 또는 치료에 유용한 신규한 화합물과, 이의 제조방법, 이를 함유하는 약학 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

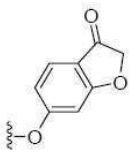
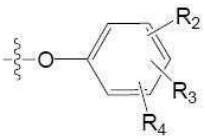
[0018] 본 발명은 하기 [화학식 I]의 신규한 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 제공한다:

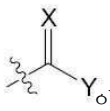
[0019] [화학식 I]

[0020] 

[0021] 상기 식에서,

[0022] n은 1 또는 2이며,

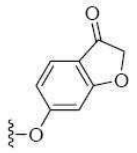
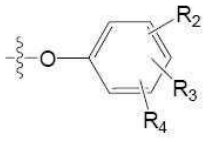
[0023] R_1 은 플루오로, 클로로, 브로모, 요오도,  또는  이고,

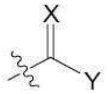
[0024] 여기서, R_2, R_3 및 R_4는 각각 독립적으로 페닐기에 붙어있는 산소원자에 대하여, 오르소(ortho)-, 메타(meta)- 또는 파라(para)- 위치에 결합할 수 있고, 이들은 각각 독립하여 수소원자, 플루오로, 클로로, 브로모, 요오도, 시아노, 니트로, C1-4 알킬, C1-4 알콕시, C2-4 알켄일,트리아졸, 피페리딘, 피리딘 또는 

이며,여기서, X는 -NOH, -NH?HCl, O 또는 S 이고, Y는 $-NR_5R_6$ 또는 $-OR_7$이며,

[0025] R_5, R_6 및 R_7은 각각 독립하여 수소원자 또는 C1-4 알킬이다.

[0026] 본 발명의 [화학식 I]의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 [화학식 I]에서, n은 1 또는 2이며,

R_1 은 클로로,  또는  이고,

[0027] 여기서, R_2, R_3 및 R_4는 각각 독립적으로 페닐기에 붙어있는 산소원자에 대하여, 오르소(ortho)-, 메타(meta)- 또는 파라(para)- 위치에 결합할 수 있고, 이들은 각각 독립하여 수소원자, 플루오로, 클로로, 브로모, 요오도, 시아노, C1-4 알킬, C1-4 알콕시, 트리아졸, 또는  이며, 여기서, X는 -NOH, -NH?HCl 또는 O 이고, Y는 NR_5R_6 또는 $-OR_7$이며, R_5, R_6 및 R_7은 각각 독립하여 수소원자 또는 C1-4 알킬인 [화학식 I]의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이 바람직하다.

[0028] 본 발명의 [화학식 I]의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은

[0029] 2-(5-클로로펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

[0030] 2-(5-펜옥시펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

[0031] 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)벤조니트릴,

[0032] 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*'-히드록시벤즈아미딘,

[0033] 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)벤즈아미딘 염산,

[0034] 메틸 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-3-메톡시벤조에이트,

[0035] 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-3-메톡시벤조산,

[0036] 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시 벤즈아미드,

[0037] 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*,*N*-디에틸-3-메톡시벤즈아미드,

[0038] 2-(5-(3,5-디메틸펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

[0039] 2-(5-(4-(1H-1,2,4-티아졸-1-일)펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

[0040] 2-(5-(4-플루오로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

[0041] 2-(5-(3-클로로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

[0042] 6-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)벤조푸란-3(2H)-온,

[0043] 2-(5-(2-메톡시펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

[0044] 2-(5-(2-플루오로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

[0045] 2-(4-클로로부톡시)벤조[*d*]티아졸,

[0046] 2-(4-펜옥시부톡시)벤조[*d*]티아졸,

[0047] 4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)벤조니트릴,

[0048] 4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)-*N*'-히드록시벤즈아미딘,

[0049] 4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드 및 이들의 약제학적으로 허용되는 염 중에서 선택된 것이 보다 바람직하며,

[0050] 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드,

[0051] 2-(5-(3-클로로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

[0052] 2-(5-(2-메톡시펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

[0053] 2-(5-(2-플루오로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

[0054] 2-(4-펜옥시부톡시)벤조[*d*]티아졸,

[0055] 4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드 및 이의 약제학적으로 허용되는 염 중에서 선택된 것이 보다 더 바람직하고,

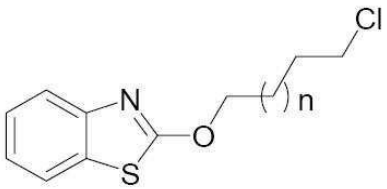
[0056] 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드,

[0057] 4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드 및 이의 약제학적으로 허용되는 염 중에서 선택된 것이 가장 바람직하다.

[0058] 본 발명에서, 약제학적으로 허용 가능한 염은 통상적으로 약제조업자가 의약품을 제조하는데 사용하는 무기산 및 유기산염을 의미하며, 예를 들어, 무기산으로는 염산, 브롬산, 황산, 인산 등이 있고, 유기산으로는 구연산, 초산, 젖산, 주석산, 푸마르산, 포름산, 프로피온산, 옥살산, 트리플루오로아세트산, 메탄술폰산, 벤젠술폰산, 말레인산, 벤조산, 글루콘산, 글리콜산, 숙신산, 4-모폴린에탄술폰산, 캠포술폰산, 4-니트로벤젠술폰산, 히드록시-O-술폰산, 4-톨루엔술폰산, 칼룩투론산, 엠보산, 글루탐산, 아스파르트산 등이 있다.

[0059] 또한, 본 발명은 a) 2-히드록시벤조티아졸을 염기 존재하에 1-브로모-5-클로로펜탄 또는 1-브로모-4-클로로부탄과 반응시켜 하기 [화학식 II] 화합물을 제조하는 단계 및 b) 하기 [화학식 II]화합물을 염기 존재하에 하기 [화학식 III]화합물과 반응시켜 [화학식 I] 화합물을 제조하는 단계를 포함하는 [화학식 I] 화합물의 제조방법을 제공한다:

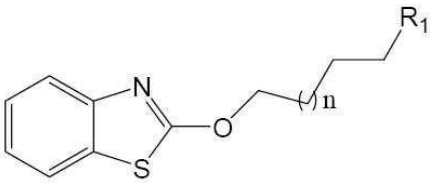
[0060] [화학식 II]

[0061] 

[0062] [화학식 III]

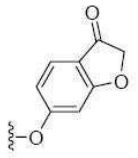
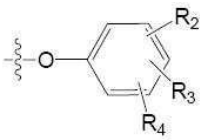
[0063] H-R_1

[0064] [화학식 I]

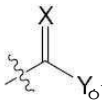
[0065] 

[0066] 상기 식에서,

[0067] n은 1 또는 2이며,

[0068] R_1 은,  또는  이고,

[0069] 여기서, R_2, R_3 및 R_4는 각각 독립적으로 페닐기에 붙어있는 산소원자에 대하여, 오르소(ortho)-, 메타(meta)- 또는 파라(para)- 위치에 결합할 수 있고, 이들은 각각 독립하여 수소원자, 플루오로, 클로로, 브로모, 요오도,

시아노, 니트로, C1-4 알킬, C1-4 알콕시, C2-4 알켄일,트리아졸, 피페리딘, 피리딘 또는 이며,

[0070] 여기서, X는 -NOH, -NH?HCl, O 또는 S 이고, Y는 $-NR_5R_6$ 또는 $-OR_7$이며,

[0071] R_5, R_6 및 R_7은 각각 독립하여 수소원자 또는 C1-4 알킬이다.

[0072] 본 발명의 제조방법에서, a)단계의 출발물질로 사용되는 2-히드록시벤조티아졸, 1-브로모-5-클로로펜탄 또는 1-브로모-4-클로로부탄은 시중에서 판매되는 것을 구입하여 사용할 수 있다. a) 단계에서, 2-히드록시벤조티아졸과 1-브로모-5-클로로펜탄, 2-히드록시벤조티아졸과 1-브로모-5-클로로부탄의 반응몰비는 각각 1: 0.8 내지 1.5가 바람직하며, 1: 1 이 보다 부반응을 막고 및 시료의 경제상 바람직하다.

[0073] 본 발명의 제조방법에서 a) 단계의 염기는 탄산칼륨, 탄산나트륨, 탄산칼슘 및 인산나트륨 중에서 선택된 것이 바람직하다. 염기의 사용량은 2-히드록시벤조티아졸 1몰 대비 1 내지 2몰 사용하는 것이 바람직하다.

[0074] a)단계에서 사용되는 반응용매는 통상의 유기용매가 사용될 수 있으며, 예를 들어, 아세토니트릴, DMF(디메틸포름아미드), DMSO(디메틸설폭시드), 아세톤 등을 사용할 수 있으며, 그 사용량은 출발물질인 2-히드록시벤조티아졸 대비 2 내지 20배의 질량비 또는 부피비를 사용하는 것이 바람직하다.

[0075] a)단계의 반응온도는 실온 내지 반응용매의 환류온도 범위내에서 수행될 수 있으며, 50 내지 90℃가 보다 바람직하고, 용매가 아세토니트릴인 경우 약 75 내지 95℃가 바람직하다.

[0076] 본 발명의 제조방법에서 b) 단계에서, [화학식 2]화합물과 [화학식 3] 화합물의 반응몰비는 1: 0.8 내지 1.3가 바람직하며, 1: 1이 보다 더 바람직하다.

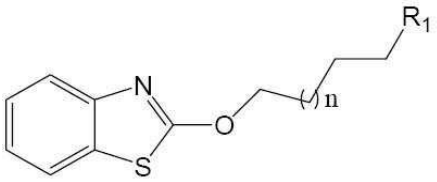
[0077] b) 단계의 염기는 수산화나트륨, 수산화칼륨, 탄산나트륨, 탄산칼륨, 탄산칼슘 및 인산나트륨 중에서 선택된 것이 바람직하다. 염기의 사용량은 [화학식 3]화합물 1몰 대비 1 내지 2몰 사용하는 것이 바람직하다.

[0078] b)단계에서 사용되는 반응용매는 통상의 유기용매가 사용 될 수 있으며, 예를 들어, 디메틸포름아미드, DMSO(디메틸설폭시드), 아세톤 등을 사용할 수 있으며, 그 사용량은 반응물질인 [화학식 2]화합물 대비 2 내지 20배의 질량비 또는 부피비를 사용하는 것이 바람직하다.

[0079] b)단계의 반응온도는 실온내지 반응용매의 환류온도 범위내에서 수행될 수 있으며, 50 내지 90℃가 보다 바람직하며, 용매가 디메틸포름아미드인 경우 약 75 내지 95℃가 바람직하다.

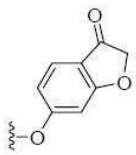
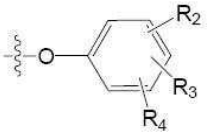
[0080] 또한, 본 발명은 하기의 [화학식 I]의 신규한 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 유효량 함유하는 골다공증의 완화, 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다:

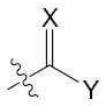
[0081] [화학식 I]

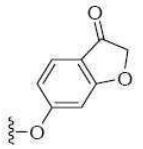
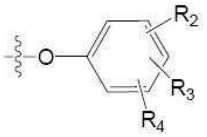
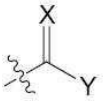
[0082] 

[0083] 상기 식에서,

[0084] n은 1 또는 2이며,

[0085] R_1 은 플루오로, 클로로, 브로모, 요오도,  또는  이고, 여기서, R_2, R_3 및 R_4는 각각 독립적으로 페닐기에 붙어있는 산소원자에 대하여, 오르소(ortho)-, 메타(meta)- 또는 파라(para)- 위치에 결합할 수 있고, 이들은 각각 독립하여 수소원자, 플루오로, 클로로, 브로모, 요오도, 시아노, 니트로, C1-4 알

킬, C1-4 알콕시, C2-4 알켄일,트리아졸, 피페리딘, 피리딘 또는  이며, 여기서, X는 -NOH, -NH?HCl, O 또는 S 이고, Y는 $-NR_5R_6$ 또는 $-OR_7$이며, R_5, R_6 및 R_7은 각각 독립하여 수소원자 또는 C1-4 알킬이다.

[0086] 본 발명의 조성물은 유효성분인 상기 [화학식 I]의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염이[화학식 I]에서 n은 1 또는 2이며, R_1 은 클로로,  또는  이고, 여기서, R_2, R_3 및 R_4는 각각 독립적으로 페닐기에 붙어있는 산소원자에 대하여, 오르소(ortho)-, 메타(meta)- 또는 파라(para)- 위치에 결합할 수 있고, 이들은 각각 독립하여 수소원자, 플루오로, 클로로, 브로모, 요오도, 시아노, C1-4 알킬, C1-4 알콕시, 트리아졸, 또는  이며,

[0087] 여기서, X는 -NOH, -NH?HCl 또는 O 이고, Y는 $-NR_5R_6$ 또는 $-OR_7$이며,

[0088] R_5, R_6 및 R_7은 각각 독립하여 수소원자 또는 C1-4 알킬인 것이 바람직하다.

[0089] 본 발명의 조성물에서, [화학식 I]의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은

[0090] 2-(5-클로로펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

[0091] 2-(5-펜옥시펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

[0092] 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)벤조니트릴,

[0093] 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*'-히드록시벤즈아미딘,

[0094] 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)벤즈아미딘 염산,

[0095] 메틸 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-3-메톡시벤조에이트,

[0096] 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-3-메톡시벤조산,

[0097] 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시 벤즈아미드,

[0098] 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*,*N*-디에틸-3-메톡시벤즈아미드,

[0099] 2-(5-(3,5-디메틸펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

[0100] 2-(5-(4-(1H-1,2,4-티아졸-1-일)펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

[0101] 2-(5-(4-플루오로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

[0102] 2-(5-(3-클로로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

[0103] 6-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)벤조푸란-3(2H)-온,

[0104] 2-(5-(2-메톡시펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

[0105] 2-(5-(2-플루오로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

[0106] 2-(4-클로로부톡시)벤조[*d*]티아졸,

[0107] 2-(4-펜옥시부톡시)벤조[*d*]티아졸,

[0108] 4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)벤조니트릴,

[0109] 4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)-*N*'-히드록시벤즈아미딘,

[0110] 4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드 및 이들의 약제학적으로 허용되는 염 중에서 선택된 것이 보다 바람직하며,

[0111] 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드,

[0112] 2-(5-(3-클로로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

[0113] 2-(5-(2-메톡시펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

[0114] 2-(5-(2-플루오로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸,

[0115] 2-(4-펜옥시부톡시)벤조[*d*]티아졸,

[0116] 4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드 및 이의 약제학적으로 허용되는 염 중에서 선택된 것이 더욱 바람직하고,

[0117] 4-(5(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드,

[0118] 4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드 및 이의 약제학적으로 허용되는 염 중에서 선택된 것이 가장 바람직하다.

[0119] 또한, 본 발명은 앞서 언급한 상기 화학식 1 화합물의 유효량을 골다공증 예방 또는 치료를 요하는 인간을 포함하는 포유류에게 투여함으로서 골다공증을 완화 또는 예방하거나 치료하는 방법을 제공한다.

[0120] 또한, 본 발명은 골다공증 예방 또는 치료위한 약제학적 제제를 제조하는데 앞서 언급한 상기 화학식1 화합물을 사용하는 용도를 제공한다.

[0121] 본 발명에서 용어 "골다공증"은 남아 있는 뼈에는 구조상으로 아무런 이상이 없으면서 뼈를 형성하는 무기질과 기질의 양이 과도하게 감소되어 뼈에 스펀지처럼 작은 구멍이 많이 나서 무르고 쉽게 부러지는 상태를 일컬으며, 골소송증이라고도 한다.

[0122] 본 발명의 조성물은 상기 [화학식 I] 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염에 추가하여 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다.

[0123] 본 발명의 조성물은, 투여를 위해서 상기한 성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 제조할 수 있다. 약제학적으로 허용 가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 덱스트로즈 용액, 말토 덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 제제화 방법은 당 분야의 통상의 제제화 방법 또는 Remington's Pharmaceutical Science(최근판), Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용할 수 있으며, 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 다양한 제제로 제제화 할 수 있다.

[0124] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여(예를 들어 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용) 할 수 있으며, 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다. 본 발명의 화학식 1의 유도체 화합물의 일일 투여량은 약 10 내지 1,000㎎/㎏ 이고, 바람직하게는 50 내지 500㎎/㎏ 이며, 하루 일회 내지 수회에 나누어 투여하는 것이 더욱 바람직하다.

[0125] 본 발명의 조성물은 골다공증의 예방 및 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 호르몬 치료, 약물 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

발명의 효과

[0126] 본 발명 [화학식 I] 화합물은 파골세포의 형성을 억제해 골흡수를 억제시킨다. 따라서 본 발명의 [화학식 I] 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염은 골다공증의 완화제, 예방제 또는 치료제로 사용가능하다.

도면의 간단한 설명

[0127] 도1 은 K11 및 K22 화합물의 MTT assay 결과를 나타낸 그래프이다.

도2는 K14, K17, K18 및 K19 화합물의 MTT assay 결과를 나타낸 그래프이다.

도3은 K11화합물의 칼시토닌 리셉터, 카셉신 K, αv-인테그린, β3-인테크린, ATP6v0d2, DC-STAMP에서 나타내는 효과를 관찰한 도이다.

도4는 K7 화합물의 NFATc1 에서 나타내는 효과를 관찰한 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0128] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예 및 실험예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예 및 실험예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예 및 실험예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0129] 또한, 이하에서 언급된 시약 및 용매는 특별한 언급이 없는 한 Aldrich 사로부터 구입한 것이며, ^{1}H-NMR 데이터는 400 MHz Varian FT-NMR spectrometer 기계로 측정한 값이며, Mass 데이터는 JMS-700 (Jeol, Japan) 기계로 측정한 값이다.

[0130] **실시예 1. 2-(5-클로로펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸[2-(5-Chloropentyloxy)benzo[*d*]thiazole] (K23)의 합성**

[0131] 아세토니트릴(Acetonitrile) 10 mL에 녹인 2-히드록시벤조티아졸(2-hydroxybenzothiazole, 0.2 g, 1.32 mmol)에 K_2CO_3 (0.274 g, 1.98 mmol)를 가한 후 50~55 ℃에서 30분간 교반하였다. 그 후 1-브로모-5-클로로펜탄(1-bromo-5-chloropentane, 0.245 g, 1.32 mmol)을 넣고 80~90 ℃에서 3시간 동안 반응시켰다. 실온으로 냉각시킨 후 EtOAc 10 mL를 가해 희석시키고 증류수와 포화 NaCl 수용액으로 씻었다. $MgSO_4$로 건조시킨 후 용매를 감압 농축시켜 물질 **K23** (0.333 g, 98%)을 얻었다.

[0132] Transparent oil; ^{1}H NMR (400MHz, Acetone-d_6) δ 7.579 (d, *J*=7.8, 1H), 7.393~7.295 (m, 2H), 7.194 (t, *J*=7.5, 1H), 4.015 (t, *J*=7.2, 2H), 3.602 (t, *J*=6.6, 2H), 1.869~1.743 (m, 4H), 1.574~1.496 (m, 2H); HR-FABMS Calcd for $C_{12}H_{15}ClNOS$ (M^++H): 256.0563, Found: 256.0565.

[0133] **실시예 2. 2-(5-펜옥시펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸[2-(5-Phenoxypentyloxy)benzo[*d*]thiazole] (K16)의 합성**

[0134] DMF 3 mL에 녹인 페놀(phenol, (0.018 g, 0.20 mmol)에 NaOH (0.012 g, 0.29 mmol)를 가한 후 50~55 ℃에서 30분간 교반하였다. 여기에 DMF 3 mL에 녹인 물질 **K23** (0.05 g, 0.20 mmol)을 넣고 80~90 ℃에서 3시간 동안 반응시켰다. 실온으로 냉각시킨 후 EtOAc 6 mL를 가해 희석시키고 증류수와 포화 NaCl 수용액으로 씻었다. $MgSO_4$로 건조시킨 후 용매를 감압 농축시키고 에탄올로 재결정하여 물질 **K16** (0.014 g, 24%)를 얻었다.

[0135] White powder, mp 73~74 ℃; ^{1}H NMR (400MHz, Acetone-d_6) δ 7.595 (d, *J*=7.9, 1H), 7.398~7.317 (m, 2H), 7.276~7.236 (m, 2H), 7.201 (t, *J*=7.5, 1H), 6.921~6.875 (m, 3H), 4.048 (t, *J*=7.2, 2H), 3.997 (t, *J*=6.4, 2H), 1.882~1.802 (m, 4H), 1.624~1.566 (m, 2H); HR-FABMS Calcd for $C_{18}H_{20}NO_2S$ (M^++H): 314.1215, Found: 314.1219.

[0136] **실시예 3. 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)벤조니트릴{4-(5-(Benzo[*d*]thiazol-2-yloxy)pentyloxy)benzonitrile }(K3)의 합성**

[0137] 4-시아노페놀(4-cyanophenol, 0.047 g, 0.39 mmol), NaOH (0.024 g, 0.59 mmol), 물질 **K23** (0.1 g, 0.39 mmol)을 실시예2와 동일한 방법으로 반응시키고 에탄올로 재결정하여 물질 **K3** (0.070 g, 53%)를 얻었다.

[0138] White powder, mp 98~101 ℃; ^{1}H NMR (400MHz, Acetone-d_6) δ 7.679 (d, *J*=9.2, 2H), 7.596 (d, *J*=7.7, 1H), 7.396~7.310 (m, 2H), 7.203 (t, *J*=7.5, 1H), 7.090 (d, *J*=9.2, 2H), 4.125 (t, *J*=6.6, 2H), 4.048 (t, *J*=7.2, 2H), 1.906~1.826 (m, 4H), 1.627~1.550 (m, 2H); HR-FABMS Calcd for $C_{19}H_{19}N_2O_2S$ (M^++H): 339.1167, Found: 339.1162.

[0139] **실시예 4.4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*'-히드록시벤즈아미딘{4-(5-(Benzo[*d*]thiazol-2-yloxy)pentyloxy)-*N*'-hydroxybenzamidine} (K4)의 합성**

[0140] 물질 **K3** (0.053 g, 0.16 mmol)에 에탄올 10ml를 가하고 교반하면서, 트리에틸아민(0.032 g, 0.31 mmol)을 넣었다. 이 반응용액에, $NH_2OH?HCl$ (0.022 g, 0.31 mmol)을 넣고 밤새 환류하였다. 반응액의 온도를 40 ℃로 냉각시키고 증류수를 서서히 가해서 결정으로 만들었다. 이 결정을 증류수와 에테르로 씻어 표제의 화합물물질 **K4** (0.029 g, 49%)를 얻었다.

[0141] White powder, mp 144~147 ℃; ^{1}H NMR (400MHz, Acetone-d_6) δ 8.695 (s, 1H), 7.629 (d, *J*=8.8, 2H), 7.594 (d, *J*=7.6, 1H), 7.398~7.314 (m, 2H), 7.200 (t, *J*=7.6, 1H), 6.898 (d, *J*=8.8, 2H), 5.343 (s, 2H), 4.066~4.012 (m, 4H), 1.890~1.803 (m, 4H), 1.611~1.566 (m, 2H); HR-FABMS Calcd for $C_{19}H_{22}N_3O_3S$ (M^++H): 372.1382, Found: 372.1377.

[0142] **실시예 5. 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)벤즈아미딘 염산{4-(5-(Benzo[*d*]thiazol-2-yloxy)pentyloxy)benzamidine hydrochloride} (K5)의 합성**

[0143] 먼저 플라스크에 1M $LiN(SiMe_3)_2$ THF 용액 0.2 mL를 넣었다. 질소 충전 하에서 2 mL의 dry THF에 녹인 물질 **K3** (0.05 g, 0.15 mmol)를 가하고 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 여기에 6 N HCl *i*PrOH 용액 0.1 mL를 넣고 밤새 냉동실에서 보관하였다. 생긴 결정을 ether로 씻어주며 감압 여과하여 물질 **K5** (0.008 g; 14%)를 얻었다.

[0144] Pale yellow powder, mp 245~247 ℃; ^{1}H NMR (Free base, 400MHz, DMSO) δ 9.080 (brs, 3H), 7.807 (d, *J*=8.4, 2H), 7.663 (d, *J*=8.0, 1H), 7.380 (d, *J*=4.0, 2H), 7.226~7.196 (m, 1H), 7.121 (d, *J*=8.8, 2H), 4.068 (t, *J*=6.4, 2H), 3.983 (t, *J*=7.2, 2H), 1.799~1.704 (m, 4H), 1.479~1.461 (m, 2H); HR-FABMS Calcd for $C_{19}H_{22}N_3O_2S$ (M^++H): 356.1433, Found: 356.1435.

[0145] **실시예 6. 메틸 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-3-메톡시벤조에이트{Methyl 4-(5-(benzo[*d*]thiazol-2-yloxy)pentyloxy-3-methoxybenzoate} (K9)의 합성**

[0146] **(1) 메틸 4-히드록시-3-메톡시벤조에이트(Methyl 4-hydroxy-3-methoxybenzoate)(9)의 합성**

[0147] 메탄올 10 mL에 녹인 4-히드록시-3-메톡시벤조산(4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid , 0.1 g, 0.59 mmol)에 진한 황산 0.3 mL를 가하여 밤새 환류하였다. $NaHCO_3$ 5% 수용액을 넣어 pH를 염기성으로 맞춰주고 EtOAc로 추출한 후 포화 NaCl 수용액으로 씻었다. $MgSO_4$로 건조시키고 용매를 감압 농축시켜 물질 **9** (0.107 g, 98%)를 얻었다.

[0148] Yellow oil; ^{1}H NMR (400MHz, Acetone-d_6) δ 8.390 (s, 1H), 7.561 (d, *J*=8.0, 1H), 7.538 (s, 1H), 6.911 (d, *J*=8.4, 1H), 6.516 (s, 2H), 3.904 (s, 3H), 3.831 (s, 3H).

[0149] **(2) 메틸 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-3-메톡시벤조에이트{Methyl 4-(5-(benzo[*d*]thiazol-2-yloxy)pentyloxy)-3-methoxybenzoate} (K9)의 합성**

[0150] 물질 **9** (0.043 g, 0.39 mmol)를 아세토니트릴 3 mL에 녹이고 K_2CO_3 (0.027 g, 0.20 mmol)를 가한 후 50~55 ℃에서 30분간 교반하였다. 여기에 아세토니트릴 3 mL에 녹인 물질 **K23** (0.05 g, 0.20 mmol)을 넣고 80 ℃에서 이틀 동안 반응시켰다.

[0151] 실온으로 냉각시킨 후 디에틸에테르 6 mL를 가해 희석시키고 증류수와 포화 NaCl 수용액으로 씻었다. $MgSO_4$로 건조시킨 후 용매를 감압 농축시켰다. 디에틸에테트와 n-헥산을 이용하여 결정화하여 물질 **K9** (0.017 g, 21%)를 얻었다.

[0152] White powder, mp 68~70 ℃; ^{1}H NMR (400MHz, Acetone-d_6) δ 7.598 (d, *J*=8.4, 2H), 7.509 (s, 1H), 7.394~7.315 (m, 2H), 7.199 (t, *J*=7.6, 1H), 7.032 (d, *J*=8.4, 1H), 4.099 (t, *J*=6.4, 2H), 4.051 (t, *J*=7.2, 2H), 3.838 (s, 6H), 1.931~1.818 (m, 4H), 1.643~1.584 (m, 2H); HR-FABMS Calcd for $C_{21}H_{24}NO_5S$ (M^++H): 402.1375, Found: 402.1377.

[0153] **실시예 7. 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-3-메톡시벤조산[4-(5-(Benzo[*d*]thiazol-2-yloxy)pentyloxy)-3-methoxybenzoic acid] (K10)의 합성**

[0154] 이틀 동안 반응시킨 물질 **K9**의 반응액에 2N NaOH 수용액 7 mL 가한 후 실온에서 밤새 교반하였다. 여기에 증류수와 디에틸에테르를 넣고 수층과 유기층을 분리하였다. 수층에 10% HCl 수용액을 가해 pH 2로 산성화시키고 디에틸에테르로 추출하였다. 포화 NaCl 수용액으로 씻고 $MgSO_4$로 건조시킨 후 용매를 감압 농축시켰다. 디에틸에테르로 재결정하여 물질 **K10** (0.037 g, 48%)를 얻었다.

[0155] White powder, mp 130~131 ℃; ^{1}H NMR (400MHz, Acetone-d_6) δ 7.633 (d, *J*=8.4, 1H), 7.596 (d, *J*=7.8, 1H), 7.536 (s, 1H), 7.397~7.319 (m, 2H), 7.200 (t, *J*=7.6, 1H), 7.033 (d, *J*=8.4, 1H), 4.104 (t, *J*=6.4, 2H), 4.055 (t, *J*=7.2, 2H), 3.846 (s, 3H), 1.936~1.822 (m, 4H), 1.648~1.572 (m, 2H); HR-FABMS Calcd for $C_{20}H_{22}NO_5S$ (M^++H): 388.1219, Found: 388.1213.

[0156] **실시예 8. 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시 벤즈아미드{4-(5-(Benzo[*d*]thiazol-2-yloxy)pentyloxy)-*N*,*N*-diisopropyl-3-methoxyBenzamide}(K11)의 합성**

[0157] **(1) 4-히드록시-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드{4-Hydroxy-*N*,*N*-diisopropyl-3-methoxybenzamide }(10)의 합성**

[0158] 디클로로메탄 5 mL에 녹인 4-히드록시-3-메톡시벤조산(0.1 g, 0.59 mmol)에 $SOCl_2$ (0.637 g, 5.35 mmol), DMF 0.025 mL를 차례로 가한 후 1시간 동안 환류하였다. 회전증류(Rotary evaporator)를 이용하여 감압농축하고 다시 디클로로메탄5 mL에 녹인 후 얼음조(ice bath)에서 디이소프로필아민(diisopropylamine, (0.301 g, 2.97 mmol)을 가하였다. 실온에서 2시간 동안 교반시킨 후 EtOAc 5 mL를 넣어 희석하고 1N HCl 수용액, 1N NaOH 수용액, 포화 NaCl 수용액으로 씻어주었다. $MgSO_4$로 건조시킨 후 용매를 감압 농축하여 물질 **10** (0.087 g, 58%)을 얻었다.

[0159] Pale yellow powder; ^{1}H NMR (400MHz, Acetone-d_6) δ 7.267 (d, *J*=8.0, 1H), 7.071 (s, 1H), 6.919 (d, *J*=8.2, 1H), 3.878 (s, 3H), 3.726 (brs, 2H), 1.320 (brs, 12H).

[0160] **(2) 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드[4-(5-(Benzo[*d*]thiazol-2-yloxy)pentyloxy)-*N*,*N*-diisopropyl-3-methoxy**

[0161] **benzamide](K11)의 합성**

[0162] DMF 6 mL에 녹인 물질 **10** (0.041 g, 0.16 mmol)에 , NaOH (0.010 g, 0.24 mmol)를 가한 후, 50~55 ℃에서 30분간 교반하였다. 여기에 DMF 3 mL에 녹인 물질 **K23** (0.041 g, 0.16 mmol)을 넣고 80~90 ℃에서 4시간 동안 반응시켰다. 실온으로 냉각시킨 후 EtOAc 6 mL를 가해 희석시키고 증류수와 포화 NaCl 수용액으로 씻었다. $MgSO_4$로 건조시킨 후 용매를 감압 농축시키고 에탄올로 재결정하여 물질 **K11** (0.069 g, 91%)를 얻었다.

[0163] Yellow oil; ^{1}H NMR (400MHz, Acetone-d_6) δ 7.595 (d, *J*=7.9, 1H), 7.399~7.305 (m, 2H), 7.201 (t, *J*=7.4, 1H), 6.939 (d, *J*=8.0, 1H), 6.882 (s, 1H), 6.823 (d, *J*=8.0, 1H), 4.071~4.013 (m, 4H), 3.802 (s, 3H), 3.742 (brs, 2H), 1.888~1.834 (m, 4H), 1.625~1.585 (m, 2H), 1.320 (brs, 12H); HR-FABMS Calcd for $C_{26}H_{35}N_2O_4S$ (M^++H): 471.2318, Found: 471.2321.

[0164] **실시예 9. 4-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)-*N*,*N*-디에틸-3-메톡시벤즈아미드 [4-(5-(Benzo[*d*]thiazol-2-yloxy)pentyloxy)-*N*,*N*-diethyl-3-methoxybenzamide] (K26)의 합성**

[0165] 바닐린산 디에틸아미드(Vanillic acid diethylamide, 0.044 g, 0.20 mmol), NaOH (0.012 g, 0.29 mmol), 물질 **K23** (0.05 g, 0.20 mmol)을 실시예 2의 방법으로 반응시켜물질 **K26** (0.083 g, 95%)를 얻었다.

[0166] Yellow oil; ^{1}H NMR (400MHz, Acetone-d_6) 7.596 (d, *J*=7.7, 1H), 7.399~7.320 (m, 2H), 7.200 (t, *J*=7.5, 1H), 6.970~6.945 (m, 2H), 6.901 (d, *J*=8.0, 1H), 4.071~4.023 (m, 4H), 3.811 (s, 3H), 3.401~3.385 (m, 4H), 1.892~1.837 (m, 4H), 1.626~1.607 (m, 2H), 1.150 (t, *J*=7.2, 6H); HR-FABMS Calcd for $C_{24}H_{31}N_2O_4S$ (M^++H): 443.2005, Found: 443.2008.

[0167] **실시예 10. 2-(5-(3,5-디메틸펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸[2-(5-(3,5-**

Dimethylphenoxy)pentyloxy)benzo[*d*]thiazole] (K8)의 합성

[0168] 3,5-디메틸펜올(3,5-dimethylphenol, 0.40 g, 0.33 mmol), NaOH (0.020 g, 0.50 mmol), 물질 **K23** (0.085 g, 0.33 mmol)을 실시예 2의 방법으로 4시간 반응시키고, 하고 에탄올로 재결정하여 물질 **K8** (0.108 g, 96%)를 얻었다.

[0169] White powder, mp 61~63 ℃; ^{1}H NMR (400MHz, Acetone-d_6) δ 7.588 (d, *J*=7.7, 1H), 7.391~7.307 (m, 2H), 7.195 (t, *J*=7.5, 1H), 6.542 (s, 1H), 6.516 (s, 2H), 4.037 (t, *J*=7.4, 2H), 3.942 (t, *J*=6.4, 2H), 2.222 (s,6H), 1.843~1.777 (m, 4H), 1.588~1.542 (m, 2H); HR-FABMS Calcd for $C_{20}H_{24}NO_2S$ (M^++H): 342.1528, Found: 342.1530.

[0170] **실시예 11. 2-(5-(4-(1H-1,2,4-티아졸-1-일)펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸[2-(5-(4-(1H-1,2,4-Triazol-1-yl)phenoxy)pentyloxy)benzo[*d*]thiazole] (K12)의 합성**

[0171] 4-(1,2,4-트리아졸-1-일)페놀(4-(1,2,4-triazol-1-yl)phenol, 0.032 g, 0.20 mmol), NaOH (0.012 g, 0.29 mmol), 물질 **K23** (0.05 g, 0.20 mmol)을 실시예2의 방법으로 반응시키고 에탄올로 재결정하여 물질 **K12** (0.055 g, 74%)를 얻었다.

[0172] White powder, mp 103~104 ℃; ^{1}H NMR (400MHz, Acetone-d_6) δ 8.885 (s, 1H), 8.047 (s, 1H), 7.739 (d, *J*=9.2, 2H), 7.598 (d, *J*=7.8, 1H), 7.402~7.321 (m, 2H), 7.202 (t, *J*=7.5, 1H), 7.086 (d, *J*=8.8, 2H), 4.086 (t, *J*=6.4, 2H), 4.059 (t, *J*=7.4, 2H), 1.904~1.837 (m, 4H), 1.624~1.605 (m, 2H); HR-FABMS Calcd for $C_{20}H_{21}N_4O_2S$ (M^++H): 381.1385, Found: 381.1386.

[0173] **실시예 12. 2-(5-(4-플루오로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸[2-(5-(4-Fluorophenoxy)pentyloxy)benzo[*d*]thiazole] (K13)의 합성**

[0174] 4-플루오로페놀(4-fluorophenol, 0.022 g, 0.20 mmol), NaOH (0.012 g, 0.29 mmol), 물질 **K23** (0.05 g, 0.20 mmol)을 실시예2의 방법으로 반응시키고 에탄올로 재결정하여 물질 **K13** (0.019 g, 30%)를 얻었다.

[0175] White powder, mp 69~70 ℃; ^{1}H NMR (400MHz, Acetone-d_6) δ 7.596 (d, *J*=7.8, 1H), 7.398~7.312 (m, 2H), 7.202 (t, *J*=7.5, 1H), 7.045~7.000 (m, 2H), 6.929~6.894 (m, 2H), 4.045 (t, *J*=7.4, 2H), 3.980 (t, *J*=6.4, 2H), 1.871~1.817 (m, 4H), 1.594~1.576 (m, 2H); HR-FABMS Calcd for $C_{18}H_{19}FNO_2S$ (M^++H): 332.1121, Found: 332.1115.

[0176] **실시예 13. 2-(5-(3-클로로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸 [2-(5-(3-Chlorophenoxy)pentyloxy)benzo[*d*]thiazole] (K14)의 합성**

[0177] 3-클로로페놀(3-chlorophenol, 0.025 g, 0.20 mmol), NaOH (0.012 g, 0.29 mmol), 물질 **K23** (0.05 g, 0.20 mmol)을 실시예2의 방법으로 반응시켜 **K14** (0.041 g, 60%)을 얻었다.

[0178] Yellow oil; ^{1}H NMR (400MHz, Acetone-d_6) δ 7.586 (d, *J*=7.8, 1H), 7.392~7.243 (m, 3H), 7.196 (t, *J*=7.5, 1H), 6.945~6.920 (m, 2H), 6.871 (d, *J*=8.4, 1H), 4.058~4.008 (m, 4H),

[0179] 1.883~1.796 (m, 4H), 1.616~1.555 (m, 2H); HR-FABMS Calcd for $C_{18}H_{19}ClNO_2S$ (M^++H):

[0180] 348.0825, Found: 348.0824.

[0181] **실시예 14. 6-(5-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)펜틸옥시)벤조푸란-3(2H)-온[6-(5-(Benzo[*d*]thiazol-2-yloxy)pentyloxy)benzofuran-3(2H)-one] (K15)의 합성**

[0182] 6-히드록시-3-쿠마라논(6-hydroxy-3-coumaranone, 0.029 g, 0.20 mmol), NaOH (0.012 g, 0.29 mmol), 물질 **K23** (0.05 g, 0.20 mmol)을 실시예2의 방법으로 반응시키고 EtOAc와 디에틸에테르로 재결정하여 물질 **K15** (0.013 g, 18%)을 얻었다.

[0183] Brown powder, mp 75~78 ℃; ^{1}H NMR (400MHz, Acetone-d_6) δ 7.591 (d, *J*=7.9, 1H), 7.487 (d, *J*=9.2, 1H), 7.392~7.311 (m, 2H), 7.199 (t, *J*=7.5, 1H), 6.693~6.665 (m, 2H), 4.637 (s, 2H), 4.147 (t, *J*=6.4, 2H), 3.053 (t, *J*=7.2, 2H), 1.942~1.809 (m, 4H), 1.636~1.558 (m, 2H); HR-FABMS Calcd for $C_{20}H_{20}NO_4S$ (M^++H): 370.1113, Found: 370.1111.

[0184] **실시예 15. 2-(5-(2-메톡시펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸[2-(5-(2-Methoxyphenoxy)pentyloxy)benzo[*d*]thiazole](K17)의 합성**

[0185] 구아야콜 (Guaiacol, 0.024 g, 0.20 mmol), NaOH (0.012 g, 0.29 mmol), 물질 **K23** (0.05 g, 0.20 mmol)을 실시예 2의 방법으로 반응시켜 디에틸에테르로 재결정하여 물질 **K17** (0.064 g, 96%)을 얻었다.

[0186] Yellow oil; ^{1}H NMR (400MHz, Acetone-d_6) δ 7.588 (d, *J*=8.0, 1H), 7.392~7.312 (m, 2H), 7.195 (t, *J*=7.4, 1H), 6.946~6.917 (m, 2H), 6.894~6.822 (m, 2H), 4.046 (t, *J*=7.2, 2H), 3.991 (t, *J*=6.4, 2H), 3.771 (s, 3H), 1.883~1.809 (m, 4H), 1.627~1.580 (m, 2H); HR-FABMS Calcd for $C_{19}H_{22}NO_3S$ (M^++H): 344.1320, Found: 344.1317.

[0187] **실시예 16. 2-(5-(2-플루오로펜옥시)펜틸옥시)벤조[*d*]티아졸[2-(5-(2-Fluorophenoxy)pentyloxy)benzo[*d*]thiazole](K18)의 합성**

[0188] 2-플루오로펜올(2-fluorophenol, 0.022 g, 0.20 mmol), NaOH (0.012 g, 0.29 mmol), 물질 **K23** (0.05 g, 0.20 mmol)을 실시예2의 방법으로 반응시켜 물질 **K18** (0.057 g, 88%)를 얻었다.

[0189] Yellow oil; ^{1}H NMR (400MHz, Acetone-d_6) δ 7.592 (d, *J*=7.6, 1H), 7.396~7.317 (m, 2H), 7.198 (t, *J*=7.5, 1H), 7.139~7.061 (m, 3H), 6.938~6.895 (m, 1H), 4.099~4.031 (m, 4H), 1.897~1.807 (m, 4H), 1.625~1.579 (m, 2H); HR-FABMS Calcd for $C_{18}H_{19}FNO_2S$ (M^++H): 332.1121, Found: 332.1125.

[0190] **실시예 17. 2-(4-클로로부톡시)벤조[*d*]티아졸[2-(4-Chlorobutoxy)benzo[*d*]thiazole](K24)의 합성**

[0191] 2-히드록시벤조티아졸(2-hydroxybenzothiazole, 0.2 g, 1.32 mmol), 1-브로모-4-클로로부탄(1-bromo-4-chlorobutane, 0.227 g, 1.32 mmol)을 실시예1의 방법으로 반응시켜 물질 **K24** (0.302 g, 94%)을 얻었다.

[0192] Transparent oil; ^{1}H NMR (400MHz, Acetone-d_6) δ 7.602 (d, *J*=7.6, 1H), 7.410~7.325 (m, 2H), 7.210 (t, *J*=7.5, 1H), 4.065 (t, *J*=7.0, 2H), 3.685 (t, *J*=6.4, 2H), 1.920~1.857 (m, 4H); HR-FABMS Calcd for $C_{11}H_{13}ClNOS$ (M^++H): 242.0406, Found: 242.0408.

[0193] **실시예 18. 2-(4-펜옥시부톡시)벤조[*d*]티아졸[2-(4-Phenoxybutoxy)benzo[*d*]thiazole] (K19)의 합성**

[0194] 페놀(0.020 g, 0.21 mmol), NaOH (0.012 g, 0.31 mmol), 물질 **K24** (0.05 g, 0.21 mmol)을 실시예 2의 방법으로 반응시켜 물질 **K19** (0.056 g, 90%)를 얻었다.

[0195] Brown oil; ^{1}H NMR (400MHz, Acetone-d_6) δ 7.599 (d, *J*=7.9, 1H), 7.400~7.327 (m, 2H), 7.287~7.161 (m, 3H), 6.917 (d, *J*=8.4, 2H), 6.839~6.806 (m, 1H), 4.104 (t, *J*=7.0, 2H), 4.063 (t, *J*=6.2, 2H), 1.976~1.857 (m, 4H); HR-FABMS Calcd for $C_{17}H_{18}NO_2S$ (M^++H): 300.1058, Found: 300.1061.

[0196] **실시예 19. 4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)벤조니트릴 [4-(4-(Benzo[*d*]thiazol-2-yloxy)butoxy)benzonitrile] (K20)의 합성**

[0197] 4-시아노페놀(4-cyanophenol, 0.025 g, 0.21 mmol), NaOH (0.012 g, 0.31 mmol), 물질 **K24** (0.05 g, 0.21 mmol)을 실시예2의 방법으로 반응시켜 물질 **K20** (0.059 g, 88%)를 얻었다.

[0198] Transparent oil; ^{1}H NMR (400MHz, Acetone-d_6) δ 7.683 (d, *J*=9.2, 2H), 7.601 (d, *J*=7.8, 1H), 7.401~7.326 (m, 2H), 7.209 (t, *J*=7.7, 1H), 7.100 (d, *J*=9.2, 2H), 4.192 (t, *J*=6.0, 2H), 4.109 (t, *J*=6.8, 2H),

1.966~1.862 (m, 4H); HR-FABMS Calcd for $C_{18}H_{17}N_2O_2S$ (M^++H): 325.1011, Found: 325.1015.

[0199] **실시예 20. 4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)-*N*'-히드록시벤즈아미딘[4-(4-(Benzo[*d*]thiazol-2-yloxy)butoxy)-*N*'-hydroxybenzamidine](K21)의 합성**

[0200] 물질 **K20** (0.04 g, 0.12 mmol), 트리에틸아민(0.025 g, 0.25 mmol), $NH_2OH?Cl$ (0.0172 g, 0.25 mmol)을 실시예 2의 방법으로 반응시켜 물질 **K21** (0.018 g, 41%)를 얻었다.

[0201] White powder, mp 170~171 ℃; ^{1}H NMR (400MHz, Acetone-d_6) δ 8.699 (s, 1H), 7.634 (d, *J*=9.2, 2H), 7.600 (d, *J*=7.9, 1H), 7.401~7.331 (m, 2H), 7.206 (t, *J*=7.6, 1H), 6.913 (d, *J*=9.2, 2H), 5.370 (s, 2H), 4.123~4.082 (m, 4H), 1.948~1.871 (m, 4H); HR-FABMS Calcd for $C_{18}H_{20}N_3O_3S$ (M^++H): 358.1225, Found: 358.1228.

[0202] **실시예 21. 4-(4-(벤조[*d*]티아졸-2-일옥시)부톡시)-*N*,*N*-디이소프로필-3-메톡시벤즈아미드[4-(4-(Benzo[*d*]thiazol-2-yloxy)butoxy)-*N*,*N*-diisopropyl-3-methoxy Benzamide] (K22)의 합성**

[0203] 물질 **10** (0.053 g, 0.21 mmol), NaOH (0.013 g, 0.32 mmol), 물질 **K24** (0.051 g, 0.21 mmol)을 실시예 2의 방법으로 반응시켜 물질 **K22** (0.096 g, 99%)를 얻었다.

[0204] Yellow oil; ^{1}H NMR (400MHz, Acetone-d_6) δ 7.599 (d, *J*=7.7, 1H), 7.387~7.349 (m, 2H), 7.227~7.174 (m, 1H), 6.959 (d, *J*=8.0, 1H), 6.894 (s, 1H), 6.832 (d, *J*=8.0, 1H), 4.148~4.090 (m, 4H), 3.813 (s, 3H), 3.746 (brs, 2H), 1.979~1.861 (m, 4H), 1.320 (brs, 12H); HR-FABMS Calcd for $C_{25}H_{33}N_2O_4S$ (M^++H): 457.2161, Found: 457.2158.

[0205] **<실험예 1>**

[0206] **1) 마우스 골수세포의 배양**

[0207] ICR mouse (6-9주, 수컷)를 경추 탈골한 후 70 % 에탄올로 소독하였다. 경골 부분의 피부를 절개하여 부착 근육을 떼어냈다. 경골 원심부를 절단하고 슬개골을 탈골시켜 경골을 적출하였다. 뼈 양끝을 조금 잘라 한 쪽 끝에 25G의 주사바늘을 꽂고 α-MEM (Minimum Essential Medium)을 흘려보내 골수세포를 시험관에 모았다.

[0208] 원심 분리한 후 a-MEM에 현탁하고 2배의 Gey's solution을 가해 적혈구를 제거했다. 원심 분리한 후 10 % FBS(fetal bovine serum)가 함유된 a-MEM으로 재현탁했다.

[0209] **2) 파골세포의 분화유도**

[0210] 초기 배양한 골수세포를 M-CSF(Macrophage colony-stimulating factor) 10 ng/ml로 하룻밤 배양한 후 부유세포를 M-CSF 30 ng/ml로 3일간 추가 배양했다. 접착 세포 (BMM)를 회수 후 1 x 10^5 cells/well에 RANKL 50 ng/ml, M-CSF 30 ng/ml ± **K11**, **K14**, **K17**, **K18**, **K19**, **K22** 화합물 존재하에서 4일간 배양했다. 배양이 끝난 세포는 10 % formalin으로 10분간 고정한 후 에탄올/아세톤(1:1(v/v)) 로 1분간 재고정하여 TRAP (tartrate-resistant acid phosphatase) 을 염색하였다. 현미경하에서 관찰하여 3개 이상의 핵을 가진 TRAP+ 세포를 다핵 파골세포로 판정하였으며, 이들의 IC_{50} 값은 다음과 같다.

Compound	IC_{50} (μM)
K11	1.56
K14	7.77
K17	23.35
K18	18.40
K19	17.68
K22	2.20

[0211]

[0212] 3) RNA 분리 및 RT-PCR 분석

[0213] Total RNA 추출은 Easy-blue (Intron, Biochemistry. INC.)를 이용하였다. cDNA 합성은 1 mg의 total RNA를 oligodT primer, 10 mM dNTP, 1 unit RNase inhibitor 그리고 4 unit Scrip reverse transcriptase (Fermentas, Life science)로 42 ℃에서 60분, 70 ℃에서 10분 가열함으로써 반응을 중지 시켰다. Polymerase chain reaction (PCR)의 조건과 사용한 primer (5 '→3')의 서열은 다음과 같다.

	Primer 서열	PCR 조건	Cycle
CTR	F: tttcaagaaccttagctgccagag R: caaggcacggacaatgttgagaag	94 ℃ 30 초, 58 ℃ 30 초, 72 ℃ 30 초	28 cycle
cath K	F: cttccaatacgtgcagcaga R: acgcaccaatatcttgcacc	94 ℃ 30 초, 58 ℃ 30 초, 72 ℃ 30 초	22 cycle
ATP6v0d2	F: tcagatctcttcaaggctgtgctg R:gtgccaaatgagttcagagtgatg	94 ℃ 30 초, 59 ℃ 30 초, 72 ℃ 30 초	30
DC-STAMP	F:tggaagttcacttgaaactacgtg R:ctcggtttcccgtcagcctctctc	94 ℃ 30 초, 58 ℃ 30 초, 72 ℃ 30 초	30
αv-Integrin	F: cctcagagagggagatgttcacac R: aactgccaagatgatcacccacac	94 ℃ 30 초, 60 ℃ 30 초, 72 ℃ 30 초	28
β3-Integrin	F: gatgacatcgagcaggtgaaagag R: ccggtcatgaatggtgatgagtag	94 ℃ 30 초, 55 ℃ 30 초, 72 ℃ 30 초	32
β-actin	F: TGTGATGGTGGGAATGGGTCAG R: TTTGATGTCACGCACGATTTCC	94 ℃ 30 초, 58 ℃ 30 초, 72 ℃ 30 초	22 cycle

[0214]

[0215] 4) 세포증식 측정

[0216] 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetazolium bromide (MTT) 정량은 Mosmann의 방법을 변형하여 실시하였다. $1x10^4$ cells/well 농도로 96 well plate에 분주한 BMM 세포에 시료(**K11, K14, K17, K18, K19, K22**) 를 처리하고 일정 시간 동안 배양하였다. 배양액을 버리고 PBS로 wash한 후, MTT 용액 (0.5 mg/ml)을 100 ㎕/well 첨가하여 호일로 싼 상태에서 5시간 동안 배양하고, Solubilization buffer (10 % SDS in 0.01M HCl)를 100 ㎕/well 첨가하고 다시 호일로 쌌다. 16~17시간 동안 배양한 후, 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0217] 파골세포 분화 억제 효과가 단순히 화합물 노출에 의한 세포 수의 차이가 아님을 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetazolium bromide (MTT) assay로써 확인하였다 (도 1 및 도 2). MTT assay 결과에서 나타나는 흡광도는 세포의 수와 직선적인 상관관계를 나타내게 되는데, 도 1 및 도 2에 의하면 시료 처리 후의 흡광도가 시료 처리 전과 비교하여 감소하지 않았다. 이는 시료 처리 후 전체 세포의 수가 감소하지 않았음을 의미하

며, 그러므로 위의 실험 결과가 세포사 (cell death)에 의한 파골세포 감소가 아닌 파골세포 분화 억제에 의한 것임을 알 수 있다.

[0218] **5) Pit 형성 분석**

[0219] BMM 세포를 상아절편상에서 RANKL 50 ng/ml, M-CSF 30 ng/ml± K11 화합물 10μM존재하에서 6일간 배양하였다. 상아절편 표면의 세포를 닦아낸 후 toluidin blue (J.T. Baker, UK, 1㎍/ml)로 염색하였다. 상아절편상에서 골흡수로 형성된 pit을 현미경하에서 관찰하여 분석하였다.

[0220] 그 결과는 도 3과 같다. 도3에서, veh는 DMSO로 처리한 대조군을 나타내고, RANKL은 50ng/ml RANKL로 처리한 군을 나타내며, K11은 10μM K11로 처리한 군을 나타내며, R+K11은 10μM K11로 30분간 전처리 후 50ng/ml RANKL로 처리한 군을 나타내고, *은 $p<0.05$ compared to Veh.을 나타내며, **은 *: $p<0.05$ compared to RANKL을 나타낸다. N.D.=Not Detectable.

[0221] 또한, 도3A: K 11화합물의 처리에 따른 파골세포 특이적 마커 유전자(칼시토닌 리셉터, 카셉신 K, αv-인테그린, β3-인테크린, ATP6v0d2, DC-STAMP)의 발현량을 측정하기 위하여 역전사-중합효소연쇄반응법(RT-PCR)을 수행한 결과를 분석하여 나타낸 그래프이고, 도3B: K11 화합물의 처리에 따른 상아질 절편 상에서 골흡수로 형성된 피트(pit)의 결과 그림이며, 도3C: 도3B에서 수행한 실험결과를 분석하여 나타낸 그래프이다.

[0222] 도 3A에서 RANKL 처리에 의해 파골세포 특이적 마커 유전자들의 발현이 증가하는 것을 볼 수 있으며, 이는 R+K11 처리군에서 유의하게 감소하였음이 확인된다. 도 3B 및 도3C에서 RANKL처리로 상아질 절편상에 형성된 pit 수가 증가하는 것을 볼 수 있으며, 이는 R+K11 처리군에서 유의하게 감소하였음이 확인된다. 이는 K11 화합물의 파골세포 분화 억제효과와 일치하는 것으로, K11 화합물은 파골세포 분화를 억제하고 이에 따라 파골세포의 골흡수 기능도 억제하는 것으로 추정된다.

[0223] **6) Western blot 분석**

[0224] BMM 세포를 시약 처리하여 일정시간 배양 후, lysate buffer로 용해하고 원심분리 하였다. 단백질 농도는 BSA (bovine serum albumin)을 표준화하여 protein assay kit (Bio-Rad)를 사용하여 정량하였다. 20 μg의 단백질을 SDS-PAGE (poly acrylamide gel electrophoresis)로 변성 분리하고, 이를 80 v 에서 1시간 45분 처리하여 PVDF membrane에 이전시켰다. 이를 5 % skim milk가 함유된 PBST (Phosphate Buffered Saline Tween-20) 용액으로 blocking하고, 1차 항체로서 anti-NFATc1 (Nuclear factor of activated T-cells cytoplasmic 1, 1:200, Santa cruiz), 항체와 각각 반응시켰다.(여기서 나타낸 숫자의 비 1:200은 200배로 희석하여 사용하였다는 뜻이다.) PBST로 5회 세정하고 HRP (Horseradish peroxidase)가 결합된 2차 항체와 반응시킨 후 ECL Advance (Amersham. CO.)로 발색시켜 분석하였다.

[0225] 그 결과는 도 4와 같다. 도4에서, veh는 DMSO로 처리한 대조군을 나타내고, RANKL은 200ng/ml RANKL로 처리한 군을 나타내며, R+K11은 10μM K11로 30분간 전처리 후 200ng/ml RANKL로 처리한 군을 나타내고, *은 $p<0.05$ compared to Veh.을 나타내며, **은 *: $p<0.05$ compared to RANKL을 나타낸다.

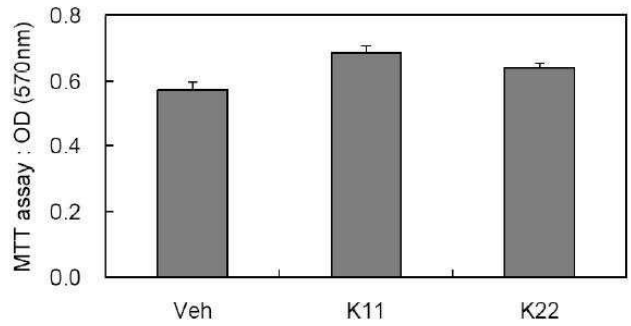
[0226] 도 4에서 RANKL을 처리한 군에서는 파골세포 분화에 수반하는 NFATc1의 발현 증가를 관찰할 수 있으며, 이런 RANKL의 효과는 R+ K11 처리군에서 감소하는 것으로 나타났다. 이는 K11 화합물이 RANKL 자극에 의한 파골세포 분화 신호를 차단함을 시사하는 결과이다.

[0227] **7) 통계처리**

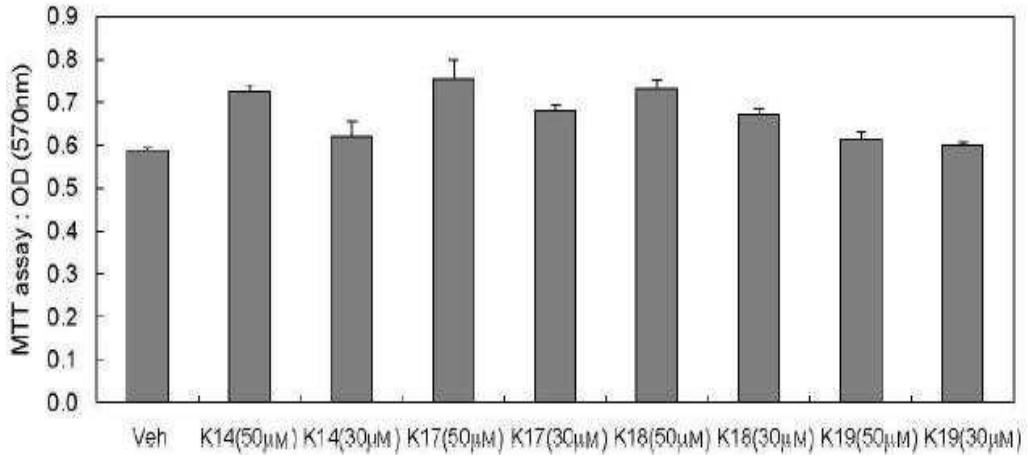
[0228] 실험결과는 평균+표준편차로 표기하였고, Student's t-test로 분석하여 p 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

도면

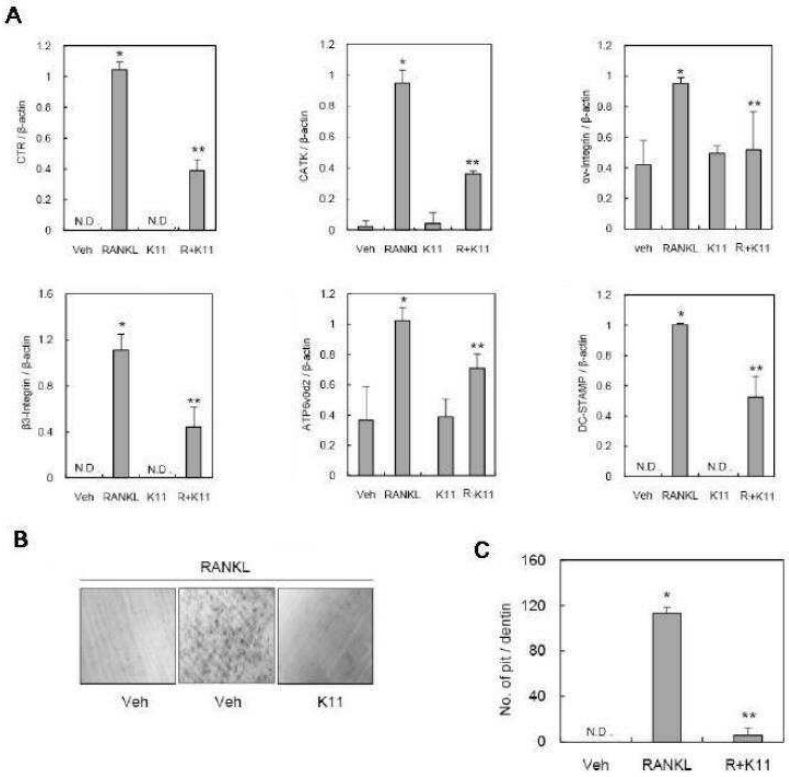
도면1


MTT assay : OD (570nm)
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
Veh
K11
K22

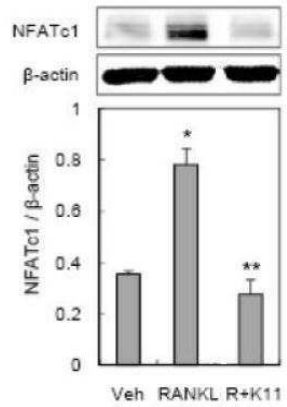
도면2


MTT assay : OD (570nm)
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
Veh
K14(50μM)
K14(30μM)
K17(50μM)
K17(30μM)
K18(50μM)
K18(30μM)
K19(50μM)
K19(30μM)

도면3


A
CTR / β-actin
CATK / β-actin
αv-Integrin / β-actin
β3-Integrin / β-actin
ATP6v0d2 / β-actin
DC-STAMP / β-actin
N.D
Veh
RANKL
K11
R+K11
B
RANKL
Veh
Veh
K11
C
No. of pit / dentin
160
120
80
40
0
N.D
Veh
RANKL
R+K11

도면4


NFATc1
β-actin
NFATc1 / β-actin
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
Veh
RANKL
R+K11