



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2011년07월15일
(11) 등록번호 10-1049100
(24) 등록일자 2011년07월07일

(51) Int. Cl.

C07D 403/06 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2005-7001947
(22) 출원일자(국제출원일자) 2003년08월01일
심사청구일자 2008년07월02일
(85) 번역문제출일자 2005년02월02일
(65) 공개번호 10-2005-0083610
(43) 공개일자 2005년08월26일
(86) 국제출원번호 PCT/US2003/024232
(87) 국제공개번호 WO 2004/054498
국제공개일자 2004년07월01일
(30) 우선권주장
60/401,074 2002년08월02일 미국(US)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
CA2403790 A1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

니리어스 파마슈티컬즈, 인코퍼레이션

미합중국, 캘리포니아 92121, 샌디에고, 워터리워
썬클 10480

(72) 발명자

하야시, 요시오

일본, 시가 520-3031, 리토-시, 헤소 3-9-18-301

그로드버그, 제니퍼

미합중국, 캘리포니아주 92009, 칼스배드, 칼 텔
서 3459

팔라디노, 마이클

미합중국, 캘리포니아주 92024, 올리븐해인, 포튜
나 랜치 로드 3357

(74) 대리인

특허법인 아주양현

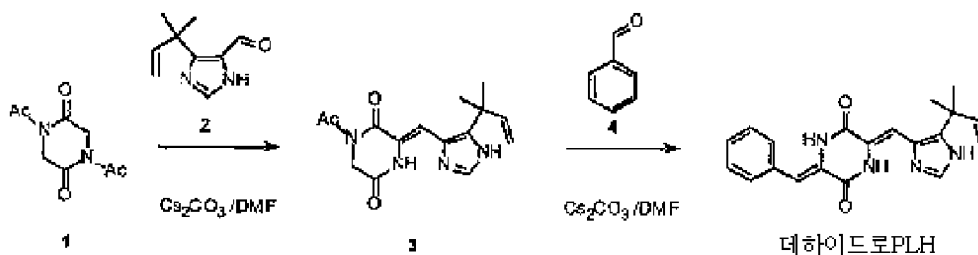
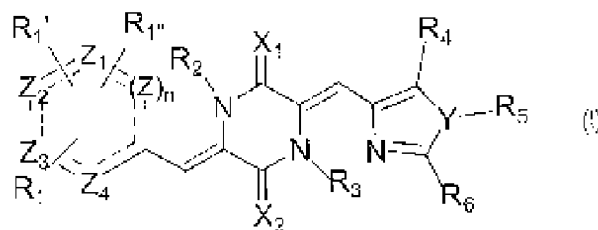
전체 청구항 수 : 총 37 항

심사관 : 신창훈

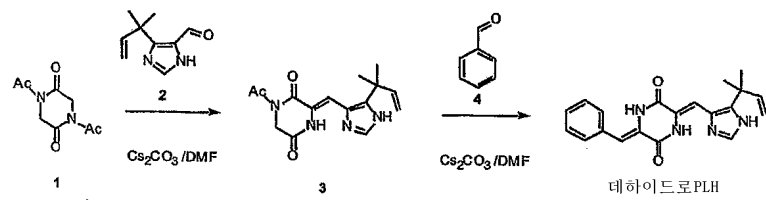
(54) 테하이드로페닐아히스틴 및 그의 동족체, 및 이들의 합성방법

(57) 요약

하기 화학식 I의 화합물, 및 상기 화합물의 제조 방법을 개시하며, 이때 상기 방법은 디아실디케토피페라진을 첫 번째 알데히드와 반응시켜 중간체 화합물을 제조하고; 상기 중간체 화합물을 두 번째 알데히드와 반응시켜 상기 화학식을 갖는 화합물 부류를 제조함을 포함하고, 이때 상기 첫 번째 알데히드 및 두 번째 알데히드는 옥사졸카복스알데히드, 이미다졸카복스알데히드, 벤즈알데히드, 이미다졸카복스알데히드 유도체, 및 벤즈알데히드 유도체로 이루어진 그룹 중에서 선택되며, 상기 방법에 의해 R₁, R₁', R₁'', R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, X₁, X₂, Y, Z, Z₁, Z₂, Z₃ 및 Z₄가 각각 독립적으로 첨부된 설명과 일관되는 방식으로 정의될 수 있는 상기 화합물이 형성된다. 암 및 진균 감염의 치료를 위한 조성물 및 방법을 또한 개시한다.



대표도 - 도1



(30) 우선권주장

60/411,128 2002년09월16일 미국(US)

60/450,063 2003년02월24일 미국(US)

특허청구의 범위

청구항 1

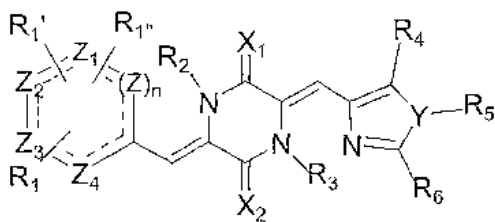
하기 화학식 I의 구조를 가지는 화합물의 합성적 제조 방법으로,

디아실디케토피페라진을 첫 번째 알데히드와 반응시켜 중간체를 제조하는 단계와;

상기 중간체를 두 번째 알데히드와 반응시켜 상기 화학식 I의 화합물을 제조하는 단계;

를 포함하고, 상기 첫 번째 알데히드 및 두 번째 알데히드가 옥사졸카복스알데히드, 이미다졸카복스알데히드, 벤즈알데히드, 이미다졸카복스알데히드 유도체, 및 벤즈알데히드 유도체로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 방법;

화학식 I



상기 식에서,

R_1 , R_4 및 R_6 은 각각 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자 및 포화된 C_1 - C_{24} 알킬, 불포화된 C_1 - C_{24} 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로, 아지도, 치환된 니트로, 페닐 및 치환된 페닐 그룹, 하이드록시, 카복시, $-CO-O-R_7$, 시아노, 알킬티오, 폴리할로겐화된 알킬을 포함한 할로겐화된 알킬, 할로겐화된 카보닐 및 카보닐- $CCO-R_7$ 로 이루어진 그룹 중에서 선택되고, 이때 R_7 은 수소 원자, 할로겐 원자 및 포화된 C_1 - C_{24} 알킬, 불포화된 C_1 - C_{24} 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로, 아지도, 치환된 니트로, 페닐 및 치환된 페닐 그룹 중에서 선택되며;

R_1' 및 R_1'' 는 각각 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자 및 포화된 C_1 - C_{24} 알킬, 불포화된 C_1 - C_{24} 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로, 아지도, 치환된 니트로, 페닐 및 치환된 페닐 그룹, 하이드록시, 옥소, 카복시, $-CO-O-R_7$, 시아노, 알킬티오, 폴리할로겐화된 알킬을 포함한 할로겐화된 알킬, 할로겐화된 카보닐 및 카보닐- $CCO-R_7$ 로 이루어진 그룹 중에서 선택되고, 이때 R_7 은 수소 원자, 할로겐 원자 및 포화된 C_1 - C_{24} 알킬, 불포화된 C_1 - C_{24} 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로, 아지도, 치환된 니트로, 페닐 및 치환된 페닐 그룹 중에서 선택되며;

R_1' 및 R_1'' 는 서로 공유 결합되어 링을 형성하거나 또는 서로 공유 결합되지 않고,

R_2 , R_3 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자 및 포화된 C_1 - C_{12} 알킬, 불포화된 C_1 - C_{12} 알케닐, 아실, 사이클로알킬, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로 및 치환된 니트로 그룹, 설포닐 및 치환된 설포닐 그룹으로 이루어진 그룹 중에서 선택되고;

R_2 는 n 이 0이 아닌 경우 선택적으로 Z 에 결합하여 링을 형성하고;

X_1 및 X_2 는 독립적으로 산소 원자, 질소 원자 및 황 원자로 이루어진 그룹 중에서 선택되고, 각각 상기 정의된 바와 같은 R_5 그룹에 의해 치환되거나 비 치환되며;

Y 는 질소 원자, R_5 로 치환된 질소 원자, 산소 원자, 황 원자, 산화된 황 원자, 메틸렌 그룹 및 치환된 메틸렌

그룹으로 이루어진 그룹 중에서 선택되고;

n 은 0, 1 또는 2의 정수이고;

Z 는 n 이 0이 아닌 경우 각각 별도의 n 에 대해서, Z_1 , Z_2 , Z_3 및 Z_4 가 각각 독립적으로 탄소 원자, 황 원자, 질소 원자 및 산소 원자 중에서 선택되고;

점선 결합은 단일 결합 또는 이중 결합일 수 있다.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

첫 번째 알데히드가 이미다졸카복스알데히드인 방법.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

두 번째 알데히드가 벤즈알데히드인 방법.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

R_2 , R_3 , R_5 및 R_6 이 각각 수소 원자인 방법.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

X_1 및 X_2 가 각각 산소 원자인 방법.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

R_4 가 포화된 C_1-C_{12} 알킬인 방법.

청구항 7

제 6 항에 있어서,

포화된 C_1-C_{12} 알킬이 3 급 부틸 그룹인 방법.

청구항 8

제 1 항에 있어서,

R_1 이 치환된 페닐인 방법.

청구항 9

제 8 항에 있어서,

치환된 페닐 그룹이 메톡시벤젠인 방법.

청구항 10

제 1 항에 있어서,

첫 번째 알데히드가 벤즈알데히드인 방법.

청구항 11

제 1 항에 있어서,
두 번째 알데히드가 이미다졸카복스알데히드인 방법.

청구항 12

제 1 항에 있어서,
 n 이 0 또는 1인 방법.

청구항 13

제 1 항에 있어서,
 n 이 1인 방법.

청구항 14

제 1 항에 있어서,
 n 이 1이고, Z , Z_1 , Z_2 , Z_3 및 Z_4 가 각각 탄소 원자인 방법.

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

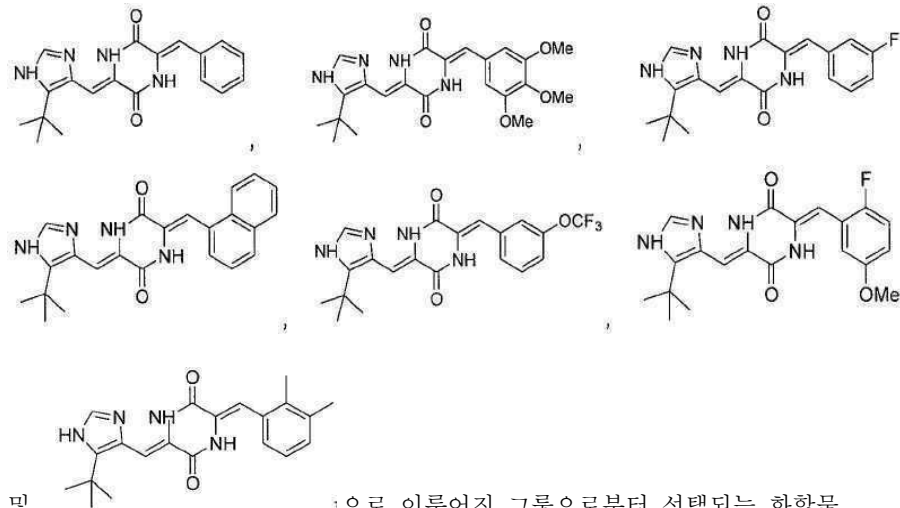
청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25



청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

약학적으로 허용 가능한 담체와 함께 유효 성분으로 항진균 유효량의 제25 항의 화합물을 포함하는 진균 감염 치료 또는 예방용 약학 조성물.

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

약학적으로 허용 가능한 담체와 함께 유효 성분으로 약학적으로 유효한 양의 제25항의 화합물을 포함하는 암 치료 또는 예방용 약학 조성물.

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

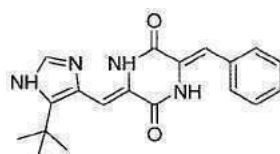
청구항 48

삭제

청구항 49

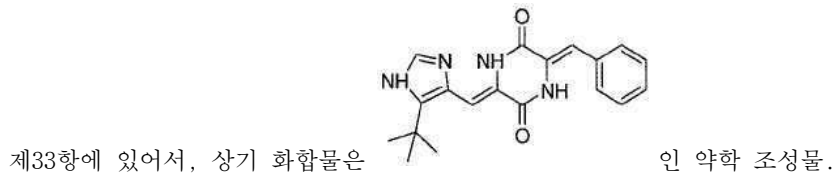
삭제

청구항 50



제25항에 있어서, 상기 화합물은  인 화합물.

청구항 51



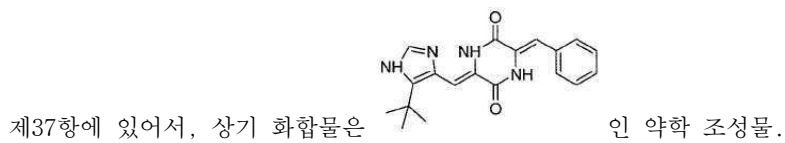
청구항 52

제33항에 있어서, 상기 화합물은 세포독성 활성을 갖는 약학 조성물.

청구항 53

제33항에 있어서, 상기 화합물은 세포 주기 억제제인 약학 조성물.

청구항 54



청구항 55

제37항에 있어서, 상기 화합물은 세포독성 활성을 갖는 약학 조성물.

청구항 56

제37항에 있어서, 상기 화합물은 세포 주기 억제제인 약학 조성물.

청구항 57

제37항에 있어서, 상기 암은 종양을 포함하는 약학 조성물.

청구항 58

제37항에 있어서, 상기 암은 인간 결장직장 선암종인 약학 조성물.

청구항 59

제37항에 있어서, 상기 암은 전립선 선암종인 약학 조성물.

청구항 60

제37항에 있어서, 상기 암은 백혈병인 약학 조성물.

청구항 61

제37항에 있어서, 상기 암은 폐암인 약학 조성물.

청구항 62

제37항에 있어서, 상기 암은 유방암인 약학 조성물.

청구항 63

제37항에 있어서, 상기 암은 난소암인 약학 조성물.

청구항 64

제37항에 있어서, 상기 암은 흑색종인 약학 조성물.

청구항 65

제37항에 있어서, 상기 암은 자궁 육종인 약학 조성물.

청구항 66

제37항에 있어서, 상기 암은 전립선암인 약학 조성물.

청구항 67

제37항에 있어서, 상기 암은 췌장암인 약학 조성물.

청구항 68

제37항에 있어서, 상기 암은 탁술에 대한 내성이 있는 것인 약학 조성물.

청구항 69

제37항에 있어서, 상기 암은 미토잔트론에 대한 내성이 있는 것인 약학 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 화학 및 의료 분야의 화합물 및 그의 합성적 제조 방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 암 치료 및 진균 감염의 치료에 유용한 화합물 및 그의 제조 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 단일의 보편적인 세포 기전은 진핵 세포 주기 과정의 조절을 통제하는 것으로 생각된다. 예를 들어 문헌[Hartwell, L.H. et al., Science(1989), 246:629-34]을 참조하십시오. 또한 상기 세포 주기의 통제 기전에 이상이 발생하는 경우 암이나 면역 질환이 일어날 수 있는 것으로 알려져 있다. 따라서, 알려진 바와 같이, 상기 세포 주기를 조절하는 물질 중에는 종양 억제제 및 면역 억제제가 있을 수 있다. 따라서, 종양 억제제 및 면역 증강제로서 필요하고, 화학요법제, 종양 억제제로서 인간 암의 치료에 유용한 진핵 세포 주기 억제제의 새로운 제조 방법이 필요하다. 예를 들어 문헌[Roberge, M. et al., Cancer Res.(1994), 54, 6115-21]을 참조하십시오.

[0003] 진균, 특히 병원성 진균 및 관련된 감염은 점점 더 임상적으로 도전되고 있다. 기존의 항진균제들은 제한된 효능과 독성을 가지며, 현재 이용할 수 있거나 개발 중인 약물에 내성인 병원성 진균 균주가 발생하고/하거나 발견되고 있다. 예를 들어, 인간에 병원성인 진균으로는 다른 것들 중에서도 칸디다 스페이즈, 예를 들어 씨 알비칸스, 씨 트로피칼리스, 씨 케파이르, 씨 크루세이 및 씨 갈브라타; 아스페질러스 스페이즈, 예를 들어 에이 푸미가투스 및 에이 플라부스; 크립토크커스 네오포르만스; 블라스토마이세스 스페이즈, 예를 들어 블라스토마이세스 더마티티디스; 뉴모사이스티스 카리니; 콕시디오이데스 이미티스; 바시디오볼루스 라나룸; 코니디오볼루스 스페이즈; 히스토플라스마 캡슐라툼; 리조푸스 스페이즈, 예를 들어 알 오리자에 및 알 미크로스포르루스; 커닝하멜라 스페이즈; 리조무코르 스페이즈; 파라콕시디오이데스 브라실리엔시스; 슈달레케리아 보이디; 리노스포리디움 시베리; 및 스포로트릭스 첸키가 있다(Kwon-Chung, K.J. & Bennett, J.E. 1992 Medical Mycology, Lea and Febiger, Malvern, PA).

[0004] 최근에, 트리프로스타틴 A 및 B(프롤린과 이소프레닐화된 트립토판 잔기로 이루어진 디케토피페라진이다), 및 5 개의 다른 구조적으로 관련된 디케토피페라진들이 M 단계에서 세포 주기 진행을 억제하며(Cui, C. et al., 1996 J Antibiotics 49:527-33; Cui, C. et al., 1996 J Antibiotics 49:534-40), 이들 화합물이 또한 미세관 조립체에 영향을 미치는 것으로 보고되었다(Usui, T. et al., 1998 Biochem J 333:543-48; Kondon, M. et al., 1998 J Antibiotics 51:801-04). 더욱 또한, 튜불린(2 개의 50 kDa 서브유닛(000 및 튜불린)으로 이루어진 거대분자이며 미세관의 주성분이다) 상의 콜히친 결합 부위(CLC-부위)에 결합함으로써 유사 분열을 억제하고, 따라서 진핵 세포 주기를 억제하는 천연 및 합성 화합물들이 보고되었다(Iwasaki, S., 1993 Med Res Rev

13:183-198; Hamel, E. 1996 Med Res Rev 16:207-31; Weisenberg, R.C. et al., 1969 Biochemistry 7:4466-79). 미세관은 여러 가지 필수적인 세포 기능, 예를 들어 축삭 운반, 세포 이동성 및 세포 형태의 결정에 관여하는 것으로 생각된다. 따라서, 미세관 기능의 억제제는 광범위한 생물 활성을 가질 수 있으며 의약 및 농약 용도로 적용이 가능하다. 또한 콜히친(CLC)-부위 리간드, 예를 들어 CLC, 스테가나신(Kupchan, S.M. et al., 1973 J Am Chem Soc 95:1335-36 참조), 포도필로톡신(Sackett, D.L., 1993 Pharmacol Ther 59:163-228 참조) 및 콤프레타스타틴(Pettit, G.R. et al., 1995 J Med Chem 38:166-67 참조)이 진행 세포 주기 억제제로서 귀중한 것으로 나타났으며, 따라서 화학요법제로서 유용할 수 있다.

[0005] 디케토피페라진-유형 대사산물이 마이코톡신으로서(Horak R.M. et al., 1981 JCS Chem Comm 1265-67; Ali M. et al., 1898 Toxicology Letters 48:235-41 참조) 또는 2 차 대사산물(Smedsgaard J. et al., 1996 J Microbiol Meth 25:5-17 참조)로서 다양한 진균으로부터 분리되었지만, 상기 디케토피페라진-유형 대사산물 또는 그의 유도체의 특정한 구조, 및 특히 생체 내에서 그의 항종양 활성에 대해서는 거의 공지되지 않았다. 상기 화합물이 마이코톡신으로서 분리된 것만은 아니며, 디케토피페라진 유형 대사산물 중 한 유형인 페닐아히스틴의 화학 합성이 개시되었다(Hayashi et al. in J. Org. Chem. (2000) 65, page 8402). 당해 분야에서, 한 가지 상기와 같은 디케토피페라진 유형 대사산물 유도체인 테하이드로페닐아히스틴이 그의 모 페닐아히스틴의 효소에 의한 탈수소화에 의해 제조되었다. 암 발병률이 상승하고 있는 가운데, 동물 세포 특이적인 증식 억제 활성 및 높은 종양 억제 활성과 선택성을 갖는 실질적으로 정제된 디케토피페라진-유형 대사산물-유도체 부류를 화학적으로 제조해야 할 특별한 필요성이 존재한다. 따라서, 실질적으로 정제되고 구조 및 생물학적으로 특성화된 디케토피페라진-유형 대사산물-유도체의 효율적인 합성적 제조 방법이 특히 필요하다.

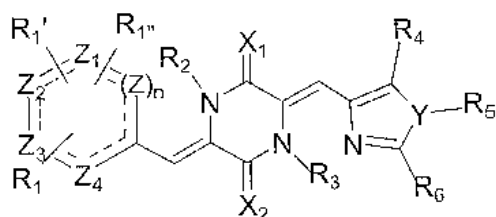
[0006] 또한, PCT 공보 WO/0153290(2001년 7월 26일)에는 페닐아히스틴 또는 특정한 페닐아히스틴 동족체를 스트렙토마이세스 알부루스로부터 수득된 테하이드로게나제에 노출시켜 테하이드로페닐아히스틴을 제조하는 비 합성적 제조 방법이 개시되어 있다.

발명의 상세한 설명

[0007] 발명의 요약

[0008] 하기 화학식 I을 갖는 부류의 화합물들, 및 이들의 합성적 제조 방법을 개시한다:

화학식 I



[0009]

[0010] 상기 식에서,

[0011] R_1 , R_4 및 R_6 은 각각 독립적으로 수소 원자, 할로젠 원자 및 포화된 $C_{1-C_{24}}$ 알킬, 불포화된 $C_{1-C_{24}}$ 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로, 아지도, 치환된 니트로, 페닐 및 치환된 페닐 그룹, 하이드록시, 카복시, $-CO-O-$, R_7 , 시아노, 알킬티오, 폴리할로겐화된 알킬을 포함한 할로겐화된 알킬, 할로겐화된 카보닐 및 카보닐- $CCO-R_7$ 로 이루어진 그룹 중에서 선택되고, 이때 R_7 은 수소 원자, 할로젠 원자 및 포화된 $C_{1-C_{24}}$ 알킬, 불포화된 $C_{1-C_{24}}$ 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로, 아지도, 치환된 니트로, 페닐 및 치환된 페닐 그룹 중에서 선택되며;

[0012] R_1' 및 R_1'' 는 독립적으로 수소 원자, 할로젠 원자 및 포화된 $C_{1-C_{24}}$ 알킬, 불포화된 $C_{1-C_{24}}$ 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로, 아지도, 치환된 니트로, 페닐 및 치환된 페닐 그룹, 하이드록시, 카복시, $-CO-$

O-R₇, 시아노, 알킬티오, 폴리할로겐화된 알킬을 포함한 할로겐화된 알킬, 할로겐화된 카보닐 및 카보닐-CCO-R₇로 이루어진 그룹 중에서 선택되고, 이때 R₇은 수소 원자, 할로겐 원자 및 포화된 C₁-C₂₄ 알킬, 불포화된 C₁-C₂₄ 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로, 아지도, 치환된 니트로, 페닐 및 치환된 페닐 그룹 중에서 선택되며;

[0013] R₂, R₃ 및 R₅는 각각 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자 및 포화된 C₁-C₁₂ 알킬, 불포화된 C₁-C₁₂ 알케닐, 아실, 사이클로알킬, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로 및 치환된 니트로 그룹, 설폰 및 치환된 설폰 그룹으로 이루어진 그룹 중에서 선택되고;

[0014] X₁ 및 X₂는 독립적으로 산소 원자, 질소 원자 및 황 원자로 이루어진 그룹 중에서 선택되고, 각각 상기 정의된 바와 같은 R₅ 그룹에 의해 치환되거나 비 치환되며;

[0015] Y는 질소 원자, 상기로부터의 R₅ 그룹으로 치환된 질소 원자, 산소 원자, 황 원자, 산화된 황 원자, 메틸렌 그룹 및 치환된 메틸렌 그룹으로 이루어진 그룹 중에서 선택되고;

[0016] n은 0, 1 또는 2의 정수이고;

[0017] Z는 n이 0이 아닌 경우 각각 별도의 n에 대해서, Z₁, Z₂, Z₃ 및 Z₄가 각각 독립적으로 탄소 원자, 황 원자, 질소 원자 및 산소 원자 중에서 선택되고;

[0018] 점선 결합은 단일 결합 또는 이중 결합일 수 있으나; 단

[0019] 특정 화합물에서, R₁, R₁', R₂, R₃, R₅ 및 R₆가 각각 수소 원자인 경우 X₁ 및 X₂는 각각 산소 원자가 아니고 R₄은 3,3-디메틸부틸-1-엔도 아니고 수소 원자도 아니다.

[0020] 상기 방법은

[0021] 디아실디케토피페라진을 첫 번째 알데히드와 반응시켜 중간체 화합물을 제조하는 단계; 및

[0022] 상기 중간체 화합물을 두 번째 알데히드와 반응시켜 상기 일반적인 구조를 갖는 상기 부류의 화합물들을 제조하는 단계

[0023] 를 포함하고, 이때 상기 첫 번째 알데히드 및 두 번째 알데히드는 옥사졸카복스알데히드, 이미다졸카복스알데히드, 벤즈알데히드, 이미다졸카복스알데히드 유도체, 및 벤즈알데히드 유도체로 이루어진 그룹 중에서 선택되며, 상기 방법에 의해

[0024] R₁, R₄ 및 R₆이 각각 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자 및 포화된 C₁-C₂₄ 알킬, 불포화된 C₁-C₂₄ 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로, 아지도, 치환된 니트로, 페닐 및 치환된 페닐 그룹, 하이드록시, 카복시, -CO-O-R₇, 시아노, 알킬티오, 폴리할로겐화된 알킬을 포함한 할로겐화된 알킬, 할로겐화된 카보닐 및 카보닐-CCO-R₇로 이루어진 그룹 중에서 선택되고, 이때 R₇이 수소 원자, 할로겐 원자 및 포화된 C₁-C₂₄ 알킬, 불포화된 C₁-C₂₄ 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로, 아지도, 치환된 니트로, 페닐 및 치환된 페닐 그룹 중에서 선택되며;

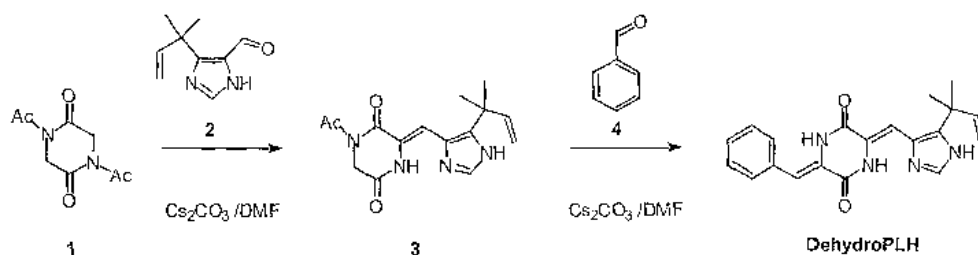
[0025] R₁' 및 R₁"이 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자 및 포화된 C₁-C₂₄ 알킬, 불포화된 C₁-C₂₄ 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로, 아지도, 치환된 니트로, 페닐 및 치환된 페닐 그룹, 하이드록시, 카복시, -CO-O-R₇, 시아노, 알킬티오, 폴리할로겐화된 알킬을 포함한 할로겐화된 알킬, 할로겐화된 카보닐 및 카보닐-CCO-R₇로 이루어진 그룹 중에서 선택되고, 이때 R₇이 수소 원자, 할로겐 원자 및 포화된 C₁-C₂₄ 알킬, 불포화된 C₁-C₂₄ 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로, 아지도, 치환된 니트로, 페닐 및 치환된 페닐 그룹 중에서 선택되며;

[0026] R₂, R₃ 및 R₅가 각각 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자 및 포화된 C₁-C₁₂ 알킬, 불포화된 C₁-C₁₂ 알케닐, 아실, 사이클로알킬, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로 및 치환된 니트로 그룹, 설폰 및 치환된 설폰 그룹으로 이루어진 그룹 중에서 선택되고;

- [0027] X_1 및 X_2 가 독립적으로 산소 원자, 질소 원자 및 황 원자로 이루어진 그룹 중에서 선택되고, 각각 상기 정의된 바와 같은 R_5 그룹에 의해 치환되거나 비 치환되며;
- [0028] Y가 질소 원자, 상기로부터의 R_5 그룹으로 치환된 질소 원자, 산소 원자, 황 원자, 산화된 황 원자, 메틸렌 그룹 및 치환된 메틸렌 그룹으로 이루어진 그룹 중에서 선택되고;
- [0029] n이 0, 1 또는 2의 정수이고;
- [0030] Z가 n이 0이 아닌 경우 각각 별도의 n에 대해서, Z_1 , Z_2 , Z_3 및 Z_4 가 각각 독립적으로 탄소 원자, 황 원자, 질소 원자 및 산소 원자 중에서 선택되고;
- [0031] 점선 결합이 단일 결합 또는 이중 결합일 수 있는
- [0032] 상기 화학식 I의 화합물이 형성된다.
- [0033] 상기 화합물 및 방법의 바람직한 실시태양에서, 이미다졸카복스알데히드는 5-(1,1-디메틸-2-에틸)이미다졸-4-카복스알데히드이고, 벤즈알데히드는 단일 메톡시 그룹을 포함한다. 본원에 개시된 화합물의 추가의 바람직한 실시태양은 t-부틸 그룹, 디메톡시 그룹, 클로로-그룹 및 메틸티오펜 그룹을 갖는 화합물 및 상기와 같은 화합물의 제조 방법뿐만 아니라, 표 2, 3 및 4에 개시된 화합물 및 상기와 같은 화합물의 제조 방법을 포함한다.
- [0034] 또한 종양 조직의 치료 또는 암 또는 병원성 진균에 의한 감염의 예방을 위한 방법 및 물질을 개시한다. 이러한 방법 및 물질은 포유동물 대상자, 보다 특히 인간의 치료에 특히 매우 적합하며, 상기 대상자에게 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 투여함을 포함한다. 상기 방법은 상기 대상자에게 종양 억제 유효량 또는 항진균 유효량의 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 포함하는 조성물을 투여함을 포함한다.
- [0035] 명세서에 포함되고 그의 일부를 형성하는 첨부 도면은 단지 본 발명의 몇몇 바람직한 실시태양들을 예시한다. 명세서의 나머지 부분과 함께, 이들 도면은 당해 분야의 숙련자들에게 본 발명의 몇몇 화합물의 바람직한 제조 방법을 설명하기 위해 의도된 것이다. 도면에서:

실시예

- [0175] 실시예 1
- [0176] A. 데하이드로페닐아히스틴의 합성
- [0177] 데하이드로페닐아히스틴을 도 1에 나타낸 바와 같이, 하기의 기본적인 반응식에 따라 축합에 의해 합성하였다.



- [0178]
- [0179] N,N'-디아세틸-2,5-피페라진디온
- [0180]

아세트산 무수물(Ac_2O) 100 ml 중의 포괄적인 2,5-피페라진디온 1[2,5-피페라진디온(Aldrich G640-6), 25.0 g, 0.218 몰] 25.0 g을 아세트산 나트륨($NaOAc$) (17.96 g, 0.218 몰)과 혼합하였다. 상기 혼합물을 Ar 분위기 하에서 이중 코일로 된 응축기를 사용하여 110 °C에서 가열하였다. Ac_2O 를 증발에 의해 제거한 후에, 잔사를 $AcOEt$ 에 용해시키고, 10% 시트르산, 10% $NaHCO_3$ 및 포화된 $NaCl$ (각각 3 회)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고 진공 하에서 농축시켰다. 잔사를 에테르로 연마하여 고체를 형성시켰다. 상기 고체를 에테르-헥산과 함께 $EtOAc$ 로부터 재결정시켜 26.4 g(61%)의 N,N'-디아세틸-2,5-피페라진디온 1을 수득하였다.

[0181] 1-아세틸-3-{(Z)-1-[5-(1,1-디메틸-2-프로페닐)-1H-4-이미다졸릴]메틸리덴}-2,5-피페라진디온 2

[0182] DMF(2 ml) 중의 5-(1,1-디메틸-2-프로페닐)이미다졸-4-카복살데히드(100 mg, 0.609 밀리몰) 용액에 화합물 1(241 mg, 1.22 밀리몰)을 가하고 상기 용액을 단 시간 내에 반복해서 배기시켜 산소를 제거하고 Ar로 플러싱시킨 다음 Cs_2CO_3 (198 mg, 0.609 밀리몰)을 가하고 상기 배기-플러싱 공정을 다시 반복하였다. 생성 혼합물을 실온에서 5 시간 동안 교반하였다. 용매를 증발에 의해 제거한 후에, 잔사를 EtOAc와 10% Na_2CO_3 의 혼합물에 용해시키고 유기 상을 10% Na_2CO_3 및 포화된 NaCl로 다시 3 회 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 진공 하에서 농축시켰다. 잔류 오일을 용출제로서 CHCl_3 -MeOH(100:0 내지 50:1)를 사용하여 실리카 상에서 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제시켜 60 mg(33%)의 담황색 고체 2를 수득하였다.

데하이드로페닐아히스틴

[0184] DMF(0.8 ml) 중의 2(30 mg, 0.099 밀리몰) 용액에 벤즈알데히드($51 \mu\text{l}$, 0.496 밀리몰, 5 당량)를 가하고 상기 용액을 단 시간 내에 반복해서 배기시켜 산소를 제거하고 Ar로 플러싱시킨 다음 Cs_2CO_3 (53 mg, 0.149 밀리몰, 1.5 당량)을 가하고 상기 배기-플러싱 공정을 다시 반복하였다. 생성 혼합물을 80 °C에서 2.5 시간 동안 가열하였다(온도를 서서히 증가시켜야 한다. 빠른 가열은 벤질리덴 잔기에서 E-이성체의 생성을 증가시킨다). 용매를 증발에 의해 제거한 후에, 잔사를 EtOAc에 용해시키고 물로 2 회 및 포화된 NaCl로 3 회 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 진공 하에서 농축시켰다. CHCl_3 -MeOH(10:1)를 사용하여 TLC 시, 365 nm UV에서 밝은 녹-황색 발광을 갖는 반점을 관찰할 수 있다. 상기 조 생성물의 순도는 HPLC 분석으로부터 75% 이상이었다. 생성 잔사를 90% 수율 MeOH에 용해시키고 역상 HPLC 컬럼(YMC-Pack, ODS-AM, 20 x 250 mm)에 걸고 16 분에 걸쳐 12 ml/분의 유속으로 수 중 70% 내지 74% MeOH의 선형 구배를 사용하여 용출시키고, 목적하는 분획을 수거하고 증발에 의해 농축시켜 황색 데하이드로페닐아히스틴 19.7 mg(60%)을 수득하였다. 상기 합성 조 데하이드로페닐아히스틴의 HPLC 프로파일을 도 2에 나타낸다.

[0185] 데하이드로페닐아히스틴의 정제에서, 도 4에 나타낸 바와 같이, 주요 피크는 데하이드로페닐아히스틴의 목적하는 Z-형태 화합물이었다. E-이성체의 형성이 소량 성분(약 10%)으로서 관찰되었으며, 이는 Z-이성체보다 더 극성 피크로서 용출되었다. 다른 작은 피크들로서, 환원된 Z- 및 E-화합물(데하이드로페닐아히스틴의 디메틸 알릴 부분이 환원되었다)이 또한 관찰되었다. 이러한 환원된 화합물의 형성은 불순물이 감소된 알데히드 2에 기인하며, 이는 DIBAL-H에 의한 환원 도중 생성되었으며 후속 공정에서 분리되지 않았다.

[0186] 상기 소량 화합물들을 예비 HPLC 정제에 의해 제거할 수 있었으며, 벤질리덴 부분에서 Z-배위를 갖는 데하이드로페닐아히스틴을 95% 이상의 순도로 60% 수율(2 단계 수율 20%)로 수득하였다. 디케토피페라진 고리의 이미다졸 부위에서 E-배위를 갖는 화합물은 상기 HPLC 차트에서 관찰되지 않았으며, 이는 도 1의 화합물 1 내지 3으로부터의 첫 번째 반응이 Z-선택성임을 암시한다.

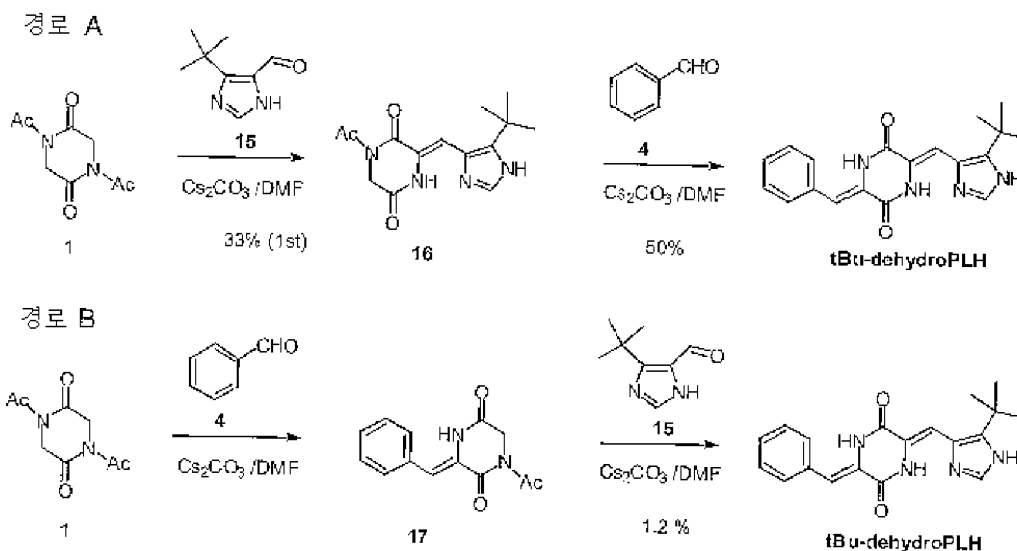
[0187] B. 화학적 특징:

[0188] 상기 데하이드로페닐아히스틴 화합물은 담황색 고체이다. 그의 구조를 표준 NMR 분석에 의해 확인한다.

[0189] 실시예 2

[0190] tBu-데하이드로페닐아히스틴 유도체의 합성 및 물리적 특징

[0191] 데하이드로페닐아히스틴의 구조 유도체를 하기 반응식에 따라 합성하여 tBu-데하이드로페닐아히스틴을 수득하였다. 경로 A(도 1 참조)에 의한 합성은 몇몇 관점에서 실시예 1에서와 같이 합성된 데하이드로페닐아히스틴의 합성과 유사하다.



[0192]

[0193]

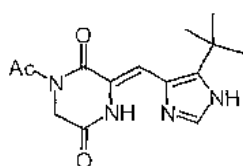
경로 A

[0194]

N,N'-디아세틸-2,5-피페라진디온 1을 실시예 1에서와 같이 제조하였다.

[0195]

1) 1-아세틸-3-((Z)-1-[5-3 급-부틸-1H-4-이미다졸릴]메틸리덴)-2,5-피페라진디온(16)



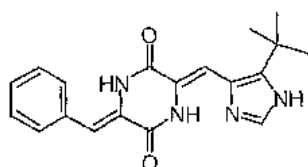
[0196]

[0197]

DMF(30 ml) 중의 5-3 급-부틸이미다졸-4-카복살데히드 15(3.02 g, 19.8 밀리몰) 용액에 화합물 1(5.89 g, 29.72 밀리몰)을 가하고 상기 용액을 단 시간 내에 반복해서 배기시켜 산소를 제거하고 Ar로 플러싱시킨 다음 Cs_2CO_3 (9.7 g, 29.72 밀리몰)을 가하고 상기 배기-플러싱 공정을 다시 반복하였다. 생성 혼합물을 실온에서 5 시간 동안 교반하였다. 용매를 증발에 의해 제거한 후에, 잔사를 EtOAc와 10% Na_2CO_3 의 혼합물에 용해시키고 유기 상을 10% Na_2CO_3 로 다시 및 포화된 NaCl로 3 회 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 진공 하에서 농축시켰다. 잔류 오일을 용출제로서 CHCl_3 -MeOH(100:0 내지 50:1)를 사용하여 실리카 상에서 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제시켜 1.90 g(33%)의 담황색 고체 16을 수득하였다. ^1H NMR(270 MHz, CDCl_3) 12.14 d, br-s, 1H), 9.22(br-s, 1H), 7.57(s, 1H), 7.18(s, 1H), 4.47(s, 2H), 2.65(s, 3H), 1.47(s, 9H).

[0198]

2) t-Bu-테하이드로페닐아히스틴



[0199]

[0200]

DMF(1.0 ml) 중의 1-아세틸-3-((Z)-1-[5-3 급-부틸-1H-4-이미다졸릴]메틸리덴)-2,5-피페라진디온(16)(11 mg, 0.038 밀리몰) 용액에 벤즈알데히드(19 ml, 0.19 밀리몰, 5 당량)를 가하고 상기 용액을 단 시간 내에 반복해서 배기시켜 산소를 제거하고 Ar로 플러싱시킨 다음 Cs_2CO_3 (43 mg, 0.132 밀리몰, 3.5 당량)을 가하고 상기 배기-플러싱 공정을 다시 반복하였다. 생성 혼합물을 80 °C에서 2.5 시간 동안 가열하였다. 용매를 증발에 의해 제거한 후에, 잔사를 EtOAc에 용해시키고 물로 2 회 및 포화된 NaCl로 3 회 세척하고, Na_2SO_4 상에서

건조시키고, 진공 하에서 농축시켰다. 생성 잔사를 90% 수성 MeOH에 용해시키고 역상 HPLC 컬럼(YMC-Pack, ODS-AM, 20 x 250 mm)에 걸고 16 분에 걸쳐 12 ml/분의 유속으로 수 중 70% 내지 74% MeOH의 선형 구배를 사용하여 용출시키고, 목적하는 분획을 수거하고 증발에 의해 농축시켜 황색 3 급-부틸-데하이드로페닐아히스틴 6.4 mg(50%)을 수득하였다. ^1H NMR(270 MHz, CDCl_3) 12.34 br-s, (1H), 9.18 br-s, (1H), 8.09(s, 1H), 7.59(s, 1H), 7.31-7.49(m, 5H), 7.01(s, 2H), 1.46(s, 9H).

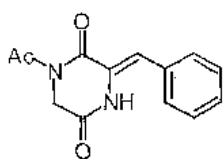
[0201] tBu-데하이드로페닐아히스틴을 제조하기 위한 데하이드로페닐아히스틴 반응은 실시예 1과 동일하다.

[0202] 회수된 tBu-데하이드로페닐아히스틴의 전체 수율은 16.5%였다.

[0203] 경로 B

[0204] N,N'-디아세틸-2,5-피페라지딘디온 1을 실시예 1에서와 같이 제조하였다.

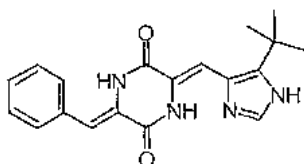
[0205] 1) 1-아세틸-3-[(Z)-벤질리덴]-2,5-피페라지딘디온(17)



[0206]

[0207] DMF(5 ml) 중의 벤즈알데히드 4(0.54 g, 5.05 밀리몰) 용액에 화합물 1(2.0 g, 10.1 밀리몰)을 가하고 상기 용액을 단 시간 내에 반복해서 배기시켜 산소를 제거하고 Ar로 플러싱시킨 다음 Cs_2CO_3 (1.65 g, 5.05 밀리몰)을 가하고 상기 배기-플러싱 공정을 다시 반복하였다. 생성 혼합물을 실온에서 3.5 시간 동안 교반하였다. 용매를 증발에 의해 제거한 후에, 잔사를 EtOAc와 10% Na_2CO_3 의 혼합물에 용해시키고 유기 상을 10% Na_2CO_3 로 다시 및 포화된 NaCl로 3 회 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 진공 하에서 농축시켰다. 잔류 고체를 MeOH-에테르로부터 재결정시켜 회색 고체 17을 수득하였다; 수율 1.95 g(79%).

[0208] 2) t-Bu-데하이드로페닐아히스틴



[0209]

[0210] DMF(1.0 ml) 중의 1-아세틸-3-[(Z)-벤질리덴]-2,5-피페라지딘디온(17)(48 mg, 0.197 밀리몰) 용액에 5-3 급-부틸이미다졸-4-카복살데히드 15(30 mg, 0.197 밀리몰)를 가하고 상기 용액을 단 시간 내에 반복해서 배기시켜 산소를 제거하고 Ar로 플러싱시킨 다음 Cs_2CO_3 (96 mg, 0.296 밀리몰)을 가하고 상기 배기-플러싱 공정을 다시 반복하였다. 생성 혼합물을 80 °C에서 14 시간 동안 가열하였다. 용매를 증발에 의해 제거한 후에, 잔사를 EtOAc에 용해시키고 물로 2 회 및 포화된 NaCl로 3 회 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 진공 하에서 농축시켰다. 생성 잔사를 90% 수성 MeOH에 용해시키고 역상 HPLC 컬럼(YMC-Pack, ODS-AM, 20 x 250 mm)에 걸고 16 분에 걸쳐 12 ml/분의 유속으로 수 중 70% 내지 74% MeOH의 선형 구배를 사용하여 용출시키고, 목적하는 분획을 수거하고 증발에 의해 농축시켜 황색 3 급-부틸-데하이드로페닐아히스틴 0.8 mg(1.2%)을 수득하였다.

[0211] 회수된 tBu-데하이드로페닐아히스틴의 전체 수율은 0.9%였다.

[0212] 경로 A 및 경로 B로부터의 조 합성 tBu-데하이드로페닐아히스틴의 HPLC 프로파일을 도 4에 나타낸다.

[0213] 2 개의 다른 tBu-데하이드로페닐아히스틴 유도체를 경로 A의 방법에 따라 합성하였다. 추가의 tBu-데하이드로페닐아히스틴 유도체의 합성에서, 벤즈알데히드 화합물 4에 대한 변경을 수행하였다.

[0214] 도 4는 실시예 1의 합성된 데하이드로페닐아히스틴(도 2)과 경로 A에 의해 생성된 상기 예시된 tBu-데하이드로

페닐아히스틴 화합물로부터의 HPLC 프로파일(컬럼: YMC-Pack ODS-AM(20 x 250 mm); 구배: 메탄올-수 시스템 중에서 20 분간 65% 내지 75%, 이어서 100% 메탄올 시스템에서 10 분간; 유속: 12 ml/분; O.D. 230 nm)의 유사성을 예시한다.

[0215] 상기 알데히드의 도입 순서는 수율과 관련되며, 따라서 합성의 태양이다. 데하이드로페닐아히스틴의 동족체를 대조군 또는 모델로서 합성하였으며, 이때 디메틸알릴 그룹을 이미다졸 고리의 5 번 위치에서 유사한 입체 장해를 갖는 3 급-부틸 그룹으로 변화시켰다.

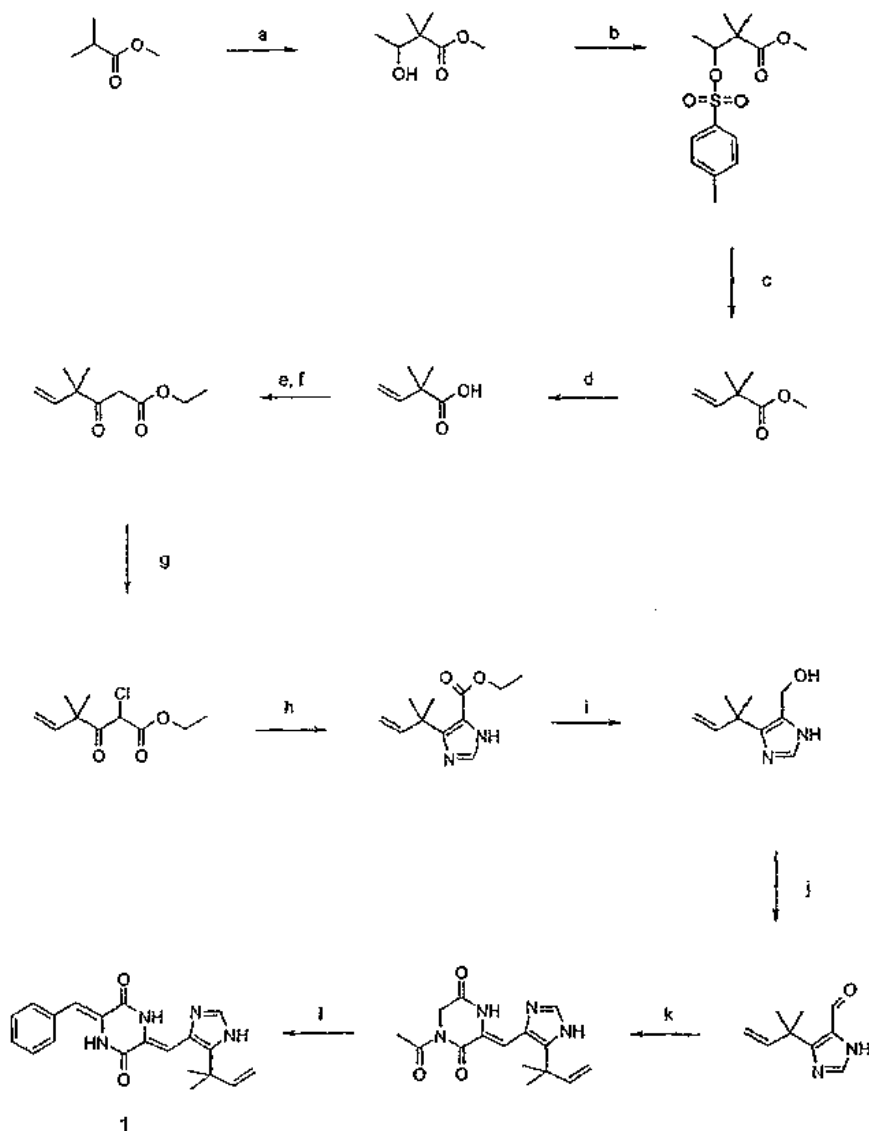
[0216] "경로 A"를 사용한 상기 "3 급-부틸(tBu)-데하이드로페닐아히스틴"의 합성은 상기 나타난 바와 같다: 특히, 알데히드의 도입 순서는 정확하게 데하이드로페닐아히스틴 합성에 따르며, 16.5%의 tBu-데하이드로페닐아히스틴 총 수율을 나타내었다. 상기 수율은 데하이드로페닐아히스틴의 것(20%)과 유사하였다. "경로 B"를 사용하는 경우(이때 알데히드의 도입 순서는 데하이드로페닐아히스틴 합성에 대한 경로 "A"의 것과 상반된다), 단지 미량의 목적하는 tBu-데하이드로PLH만이 총 수율 0.9%로 수득되었지만, 첫 번째 벤즈알데히드 4의 도입에서 76%의 중간체 화합물 17의 수율이 제공되었다. 이러한 결과는 이미다졸 고리의 인접한 5 번 위치 상에 4 급 탄소를 갖는 치환 그룹이 있는 매우 부피가 큰 이미다졸-4-카복스알데히드 15를 도입시키는 것이 어려울 수 있음을 나타내며, 이는 알데히드의 도입 순서가 본 원에 개시된 합성을 사용하여 고 수율의 데하이드로페닐아히스틴 또는 데하이드로페닐아히스틴의 동족체를 수득하는데 중요한 태양임을 시사한다.

[0217] 최종적인 조 생성물에 대한 HPLC 분석으로부터, 도 4에 나타난 바와 같이, 매우 높은 함량의 tBu-데하이드로페닐아히스틴 및 소량의 부산물 형성이 경로 A(좌측)의 조 샘플에서 관찰되었다. 그러나, 비교적 보다 적은 양의 목적하는 tBu-데하이드로페닐아히스틴 및 여러 개의 다른 부산물들이 경로 B(우측)를 사용하여 수득된 샘플에서 관찰되었다.

[0218] 실시예 3

[0219] 또 다른, 보다 큰 규모의 데하이드로페닐아히스틴 및 동족체의 합성

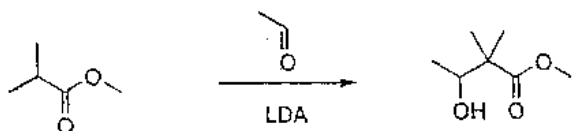
[0220] 3-Z-벤질리덴-6-[5"-(1,1-디메틸알릴)-1H-이미다졸-4"-Z-일메틸렌]-피페라진-2,5-디온[데하이드로페닐아히스틴] (1)의 합성



시약:

a) LDA, CH_3CHO ; b) Tos-Cl, 피리딘; c) DBU; d) NaOH; e) $\text{C}_2\text{Cl}_2\text{O}_2$; f) $\text{KOOCCH}_2\text{COOEt}$, BuLi; g) SO_2Cl_2 ; h) H_2NCHO , H_2O ; i) LiAlH_4 ; j) MnO_2 ; k) 1,4-디아세틸-피페라진-2,5-디온, Cs_2CO_3 ; l) 벤즈알데히드, Cs_2CO_3

3-하이드록시-2,2-디메틸-부티르산 메틸 에스테르



헵탄/THF/에틸벤젠(2 M, 196 ml, 0.39 몰) 중의 LDA 용액을 아르곤 하에 -60°C 에서 THF(270 ml) 중의 메틸 이소부티레이트(45 ml, 0.39 몰) 용액에 가하고 생성 혼합물을 30 분간 교반하였다. -60°C 로 예냉시킨, THF(45 ml) 중의 아세트알데히드(27 ml, 0.48 몰) 용액을 서서히 가하고 생성 용액을 추가로 30 분간 교반하였다. 포화된 염화 암모늄(50 ml)을 가하고 상기 용액을 실온으로 가온시켰다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트로 추출하고, 추출물을 HCl (2 M), 중탄산 나트륨, 이어서 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산 마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하고, 이어서 증발시켜 등명한 오일(52.6 g)을 수득하였다. 증류($76-82^\circ\text{C}/30\text{ mmHg}$)에 의해 순수한 3-하이드록시-2,2-디메틸-부티르산 메틸 에스테르(42.3 g, 74%)를 수득하였다(Burk et al., J. Am. Chem. Soc., 117:4423-4424(1995)).

[0227] ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 1.15(d, J = 6.2 Hz, 3H); 1.17(s, 6H); 2.66(d, J = 6.2 Hz, 1H, -OH); 3.71(s, 3H, -OMe); 3.87(app 오중선, J = 6.4 Hz, 1H, H3).

[0228] 2,2-디메틸-3-(톨루엔-4-설포닐옥시)-부티르산 메틸 에스테르



[0229]

[0230] 피리딘(100 ml) 중의 3-하이드록시-2,2-디메틸-부티르산 메틸 에스테르(52.0 g, 0.36 몰)의 냉각된(0 °C) 용액에 p-톨루엔 설포닐 클로라이드(69.0 g, 0.36 몰)를 점차적으로 가하였다. 상기 혼합물을 실온으로 가온시키고 60 시간 동안 교반하였다. 반응물을 다시 열음 중에서 냉각시키고 HCl(2 M)의 첨가에 의해 산성화시켰다. 생성 용액을 에틸 아세테이트로 추출하고, 추출물을 HCl, 이어서 염수로 세척하고, 건조시키고 증발시켜 정치시 백색 침전물을 형성하는 오일을 수득하였다. 상기 혼합물을 최소량의 에틸 아세테이트에 용해시키고 이어서 경유를 가하여 백색 침전물을 수득하고 이를 수거하여 보다 많은 경유로 세척하였다. 여액을 부분적으로 증발시키고 두 번째 결정 수확물을 수거하고 상기 첫 번째 것에 가하여 2,2-디메틸-3-(톨루엔-4-설포닐옥시)-부티르산 메틸 에스테르(81.2 g, 76%)를 수득하였다.

[0231] ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 1.12(s, 3H); 1.13(s, 3H), 1.24(d, J = 6.4 Hz, 3H); 2.45(s, 3H, -PhMe); 3.58(s, 3H, -OMe); 4.94(4 중선, J = 6.4 Hz, 1H, H3), 7.33(d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.78(d, J = 8.0 Hz, 2H).

[0232] 최종 여액을 증발시켜 조 2,2-디메틸-3-(톨루엔-4-설포닐옥시)-부티르산 메틸 에스테르(19.0 g, 18%)를 수득하였다.

[0233] 2,2-디메틸-부트-3-에노산 메틸 에스테르



[0234]

[0235] DBU(15 ml) 중의 2,2-디메틸-3-(톨루엔-4-설포닐옥시)-부티르산 메틸 에스테르(18.06 g, 0.06 몰) 용액을 140 내지 160 °C에서 3.5 시간 동안 가열하였다. 상기 혼합물을 실온으로 냉각시키고 이어서 에테르로 희석하였다. 상기 혼합물을 HCl(1 M), 중탄산 나트륨, 이어서 염수로 세척하였다. 에테르 층을 건조시키고 부분적으로 증발시켜 2,2-디메틸-부트-3-에노산 메틸 에스테르(10 g)의 농축 용액을 수득하였다(Savu and Katzenellenbogen, J. Org. Chem. 46:239-250(1981)). 추가의 증발은 생성물의 휘발성(bp 102 °C)으로 인해 피하였다(Tsacomas et al., Aust. J. Chem., 53:435-437(2000)).

[0236] ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 1.31(s, 6H); 3.68(s, 3H); 5.06(d, J = 17.1 Hz, 1H, -CH=CH₂); 5.11(d, J = 10.7 Hz, 1H, -CH=CH₂); 6.03(dd, J = 17.1, 10.7 Hz, 1H, -CH=CH₂).

[0237] 2,2-디메틸-부트-3-에노산



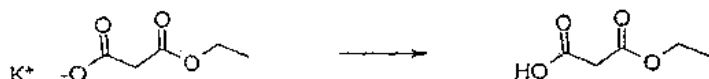
[0238]

[0239] 상기 2,2-디메틸-부트-3-에노산 메틸 에스테르의 에테르 용액(10 g)을 에탄올(25 ml)로 희석하고, 수산화 나트륨(4 M, 22 ml)을 가하고 상기 혼합물을 밤새 교반하였다. 상기 용액을 부분적으로 증발시켜 에탄올을 제거하고 생성된 혼합물을 HCl(1 M, 100 ml)에 가하였다. 생성물을 에틸 아세테이트로 추출하고 추출물을 건조시키고 증발시켜 2,2-디메틸-부트-3-에노산(6.01 g, 88% 2 단계)을 수득하였다. (Hayashi et al., J. Org. Chem. 65:8402-8405(2000)).

[0240] ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 1.33(s, 6H); 5.11(d, J = 10.8 Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 5.15(d, J = 17.2 Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 6.05(dd, J = 17.2, 10.8 Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$).

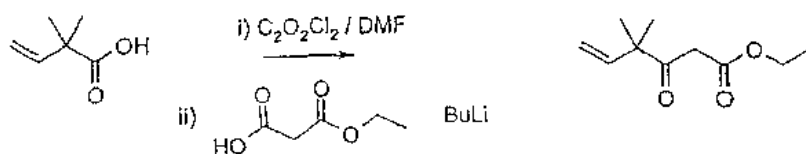
[0241] 모노에틸 수소 말로네이트(Wierenga and Skulnick, "Aliphatic and Aromatic β -keto Esters from Monoethyl Malonate: Ethyl 2-Butyrylacetate(모노에틸 말로네이트로부터 지방족 및 방향족 β -케토 에스테르: 에틸 2-부티릴아세테이트)," Organic Syntheses Collective Volume 7, 213).

[0242]



[0243] 에틸 칼륨 말로네이트(25.0 g, 0.15 몰)를 물(15.6 ml)에 현탁시키고 빙 욕에서 냉각시켰다. 농 HCl(12.5 ml)을 30 분에 걸쳐 적가하고, 이어서 상기 혼합물을 추가로 10 분간 교반시켰다. 침전물을 여과하고, 이어서 에테르로 2 회 세척하였다. 여액을 분리시키고 수성 상을 에테르로 추출하였다. 합한 에테르 용액을 건조(MgSO_4)시키고 증발시켜 오일로서 모노에틸 수소 말로네이트(19.2 g, 99%)를 수득하였으며, 이를 진공 하에서 밤새(또는 1 시간 동안 50 $^\circ\text{C}$ /1 mm) 건조시킨 후에 사용하였다.

[0244] 4,4-디메틸-3-옥소-헥스-5-에노산 에틸 에스테르



[0245]

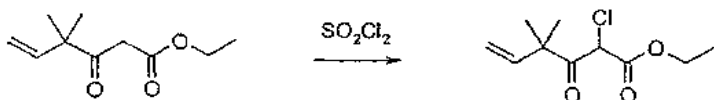
[0246] 옥살릴 클로라이드(3.83 ml, 43.9 밀리몰)를 무수 디클로로메탄(25 ml) 중의 2,2-디메틸-부트-3-에노산(5.0 g, 43.9 밀리몰) 및 DMF(1 방울)의 냉각된(0 $^\circ\text{C}$) 용액에 적가하였다. 상기 혼합물을 0 $^\circ\text{C}$ 에서 1 시간 동안 교반하고, 이어서 실온에서 16 시간 동안 교반하였다. 분별 증류(121 $^\circ\text{C}$ /760 mmHg)시켜 2,2-디메틸-부트-3-에노일 클로라이드(4.1 g, 71%)를 수득하였다.

[0247] 모노에틸 수소 말로네이트(7.2 g, 0.05 몰) 및 비피리딘(수 mg)을 THF(90 ml)에 용해시키고 상기 시스템을 질소로 플라싱시켰다. 상기 용액을 -70 $^\circ\text{C}$ 로 냉각시키고, 이어서 BuLi(헥산 중의 2.5 M, 37 ml, 0.09 몰)를 가하였다. 단지 ~10 ml의 BuLi를 가한 후에, 상기 용액은 분홍색으로 변하였으며 자기 교반을 위해서 추가의 THF(15 ml)가 필요하였다. 냉각 욕을 제거하고 나머지 BuLi를 가하고, 온도가 -10 $^\circ\text{C}$ 에 도달하게 하였으며, 이때 상기 용액은 무색으로 변하였다. 상기 혼합물을 다시 -60 $^\circ\text{C}$ 로 냉각시키고 THF(12 ml) 중의 2,2-디메틸-부트-3-에노일 클로라이드(4.1 g, 0.03 몰) 용액을 적가하였다. 첨가를 완료한 후에, 상기 혼합물을 0 $^\circ\text{C}$ 로 가온시키고 3 시간 동안 교반하고, 이어서 0 $^\circ\text{C}$ 에서 에테르/1 M HCl의 1:1 혼합물(260 ml)에 가하고 추가로 1.5 시간 동안 교반하였다. 유기 층을 제거하고, HCl(1 M), 중탄산 나트륨 용액, 염수로 세척하고, 이어서 건조시키고 증발시켜 4,4-디메틸-3-옥소-헥스-5-에노산 에틸 에스테르(5.6 g, 98%)를 수득하였다(Hayashi et al., J.

Org. Chem., 65:8402-8405(2000)). 쿠겔로어(Kugelrohr) 오븐으로 증류시켜(160 °C/1 mmHg) 순수한 물질을 수득하였다.

[0248] ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 1.26(s, 6H); 1.27(t, $J = 6.9$ Hz, 3H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 3.51(s, 2H); 4.18(q, $J = 6.9$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 5.20(d, $J = 17.7$ Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 5.21(d, $J = 9.6$ Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 5.89(dd, $J = 17.7, 9.6$ Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$).

[0249] 2-클로로-4,4-디메틸-3-옥소-헥스-5-에노산 에틸 에스테르



[0250]

[0251] 염화 셀룰로오(0.84 ml, 10.4 밀리몰)를 클로로포름(7 ml) 중의 4,4-디메틸-3-옥소-헥스-5-에노산 에틸 에스테르(1.83 g, 9.93 밀리몰)의 냉각된(0 °C) 용액에 가하였다. 생성 혼합물을 실온으로 가온시키고 30 분간 교반하고, 그 후에 상기를 2 시간 동안 가열 환류시켰다. 실온으로 냉각시킨 후에 반응 혼합물을 클로로포름으로 희석하고, 이어서 중탄산 나트륨, 물, 이어서 염수로 세척하였다. 유기 상을 건조시키고 증발시켜 갈색 오일로서 2-클로로-4,4-디메틸-3-옥소-헥스-5-에노산 에틸 에스테르(2.01 g, 93%)를 수득하였다(Hayashi et al., J. Org. Chem., 65:8402-8405(2000)).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.28 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 1.33 (s, 3H); 1.34 (s, 3H); 4.24 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 5.19 (s, 1H); 5.28 (d, $J = 16.9$ Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 5.29 (d, $J = 10.9$ Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 5.96 (dd, $J = 16.9, 10.9$ Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$).

[0252]

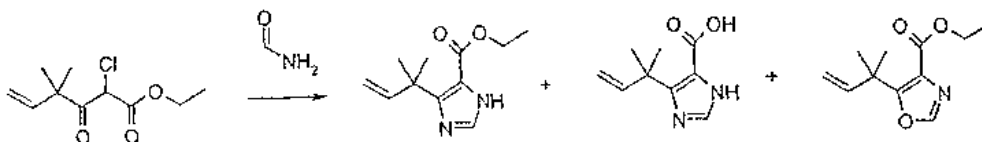
LC/MS $t_R = 8.45$ (219.3 $[\text{M}(\text{Cl}^{37})+\text{H}]^+$ min.

[0253]

상기 물질을 추가의 정제 없이 반응시켰다.

[0254]

5-(1,1-디메틸-알릴)-3H-이미다졸-4-카복실산 에틸 에스테르



[0255]

[0256] 포름아미드(36.8 ml) 중의 2-클로로-4,4-디메틸-3-옥소-헥스-5-에노산 에틸 에스테르(19.4 g, 0.09 몰) 및 물(1.94 ml, 0.11 몰)의 현탁액을 간단히 진탕시키고, 이어서 15 x 18 ml 바이알들에 분배하였다. 상기 바이알들을 밀봉시키고 150 °C로 5 시간 동안 가열하였다. 실온으로 냉각시킨 후에, 상기 바이알의 내용물들을 합하고 클로로포름으로 철저히 추출하였다. 상기 추출물을 건조시키고 증발시켜 농축된 포름아미드 용액(14.7 g)을 수득하였다. 상기를 클로로포름 중의 1% MeOH/1% Et_3N 이 충전된 실리카 컬럼(7 cm 직경, 11 cm 높이)에 가하였다. 상기 컬럼을 상기 혼합물 2 l로 용출시킨 다음 클로로포름 중의 2% MeOH/1% Et_3N 2 l로 용출시켜 초기 분획 중에 5-(1,1-디메틸-알릴)-옥사졸-4-카복실산 에틸 에스테르(1.23 g, 7%)로 의심이 가는 화합물을 수득하였다.

HPLC (214nm) $t_R = 8.68$ (50.4%) min.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.40 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 1.54 (s, 6H); 4.38 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 5.03 (d, $J = 17.4$ Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 5.02 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 6.26 (dd, $J = 17.4, 10.4$ Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 7.83 (s, 1H).

[0257]

LCMS $t_R = 8.00$ (210.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 361.1 $[2\text{M}+\text{H}]^+$) min.

[0258] 나중의 분획으로부터 목적하는 5-(1,1-디메틸-알릴)-3H-이미다졸-4-카복실산 에틸 에스테르(3.13 g, 17%)를 회수하였다(Hayashi et al., J. Org. Chem., 65:8402-8405(2000)).

HPLC (214nm) t_R = 5.52 (96.0%) min.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.38 (t, J = 7.0 Hz, 3H); 1.57 (s, 6H); 4.35 (q, J = 7.0 Hz, 2H); 5.04-5.14

[0259] (m, 2H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 6.28 (dd, J = 18.0, 10.4 Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 7.52 (s, 1H).

[0260] LC/MS t_R = 5.30 (209.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 417.2 $[\text{2M}+\text{H}]^+$) min.

[0261] 추가로 5-(1,1-디메틸-알릴)-3H-이미다졸-4-카복실산 에틸 에스테르를 또한 상기 컬럼으로부터 회수하였으며 (3.59 g, 19%), 이는 보다 낮은 순도를 가졌지만 추가의 반응에 여전히 충분하였다.

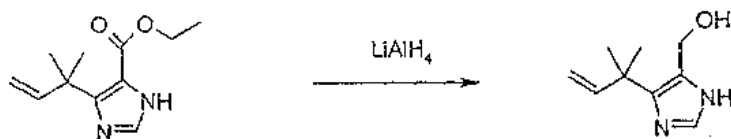
[0262] 클로로포름 중의 5% MeOH/1% Et_3N 을 사용하여 상기 컬럼으로부터 추가로 용출시킴으로써 유사한 반응(보다 작은 규모)으로부터 단리된 또 다른 부산물은 5-(1,1-디메틸-알릴)-3H-이미다졸-4-카복실산(0.27 g, 9%)인 것으로 의심이 가는 화합물이었다.

HPLC (245nm) t_R = 5.14 (68.9%) min.

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1.45 (s, 6H); 4.97 (d, J = 10.6 Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 5.01 (d, J = 17.7 Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 6.28 (dd, J = 17.7, 10.6 Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 7.68 (s, 1H).

[0263] LC/MS t_R = 4.72 (181.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 361.1 $[\text{2M}+\text{H}]^+$) min.

[0264] [5-(1,1-디메틸-알릴)-3H-이미다졸-4-일]-메탄올



[0265]

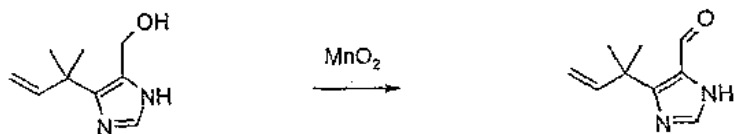
[0266] THF(60 ml) 중의 5-(1,1-디메틸-알릴)-3H-이미다졸-4-카복실산 에틸 에스테르(3.13 g, 15.0 밀리몰) 용액을 THF(40 ml) 중의 리튬 알루미늄 하이드라이드(95% 현탁액, 1.00 g, 25.0 밀리몰)의 현탁액에 적가하고 상기 혼합물을 실온에서 4 시간 동안 교반하였다. 물을 기체 발생이 중단할 때까지 가하고, 상기 혼합물을 10 분간 교반하고, 이어서 소결된 깔때기를 통해 여과시켰다. 침전물을 THF로 세척하고, 이어서 메탄올로 세척하고, 여액 및 세척물을 합하고, 증발시키고, 이어서 동결 건조시켜 [5-(1,1-디메틸-알릴)-3H-이미다졸-4-일]-메탄올(2.56 g, 102%)을 수득하였다. 추가의 반응 전에 잔류 수를 클로로포름과의 공비 증류에 의해 제거하였다(Hayashi et al., J. Org. Chem., 65:8402-8405(2000)).

HPLC (240nm) t_R = 3.94 (56.8%) min.

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1.43 (s, 6H); 4.57 (s, 2H); 5.01 (d, J = 10.5 Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 5.03 (d, J = 17.7 Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 6.10 (dd, J = 17.7, 10.5 Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 7.46 (s, 1H).

[0267] LC/MS t_R = 3.77 (167.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$) min.

[0268] 5-(1,1-디메틸-알릴)-3H-이미다졸-4-카브알데히드



[0269]

[0270] 이산화 망간(20 g, 0.23 몰)을 아세톤(300 ml) 중의 [5-(1,1-디메틸-알릴)-3H-이미다졸-4-일]-메탄올(2.56 g, 0.02 몰) 용액에 가하고 생성 혼합물을 실온에서 5 시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 필터 পে이퍼를 통해 여과시키고 잔사를 아세톤으로 세척하였다. 여액 및 세척물을 합하고 증발시켜 5-(1,1-디메틸-알릴)-3H-이미

다졸-4-카브알데히드(1.82 g, 51%)를 수득하였다(Hayashi et al., J. Org. Chem., 65:8402-8405(2000)).

HPLC (240nm) t_R = 4.08 (91.5%) min.

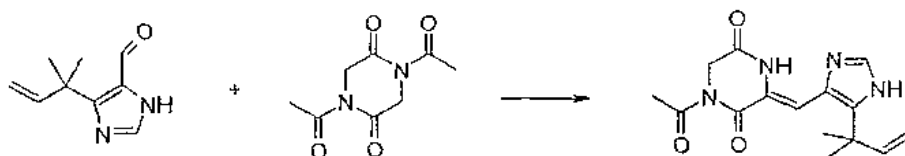
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.56 (s, 6H); 5.16 (d, J = 10.6 Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 5.19 (d, J = 17.3 Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$); 6.22 (dd, J = 17.3, 10.6 Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 7.75 (s, 1H), 10.02 (s, 1H, HCO).

LC/MS t_R = 3.75 (165.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$) min.

[0271]

[0272]

1-아세틸-3-[5'-(1,1-디메틸-알릴)-1H-이미다졸-4'-Z-일메틸렌]-피페라진-2,5-디온



[0273]

[0274]

DMF(35 ml) 중의 5-(1,1-디메틸-알릴)-3H-이미다졸-4-카브알데히드(1.78 g, 0.01 몰)의 용액에 1,4-디아세틸-피페라진-2,5-디온(8.59 g, 0.04 몰)을 가하고 혼합물을 배기시키고, 이어서 아르곤으로 플라싱시켰다. 상기 배기-플라싱 공정을 추가로 2 회 반복하고, 이어서 탄산 세슘(3.53 g, 0.01 몰)을 가하였다. 상기 배기-플라싱 공정을 추가로 3 회 반복하고, 이어서 생성 혼합물을 45 °C에서 5 시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 작은 부피가 남을 때까지 부분적으로 증발시키고(고 진공 하에서 가열) 생성 용액을 빙-수(50 ml)에 적가하였다. 황색 침전물을 수거하고, 물로 세척하고, 이어서 동결 건조시켜 1-아세틸-3-[5'-(1,1-디메틸-알릴)-1H-이미다졸-4'-일메틸렌]-피페라진-2,5-디온(1.18 g, 36%)을 수득하였다(Hayashi et al., Personal Communication(2000)).

HPLC (214nm) t_R = 6.01 (72.6%) min.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.53 (s, 6H); 2.64 (s, 3H); 4.47 (s, 2H); 5.19 (d, J = 17.3 Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 5.23 (d, J = 10.7 Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 6.06 (dd, J = 17.3, 10.7 Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 7.16 (s, 1H), 7.59 (s, 1H), 9.47 (bs, 1H); 12.11 (bs, 1H) [observed ~2% 1,4-diacetyl-piperazine-2,5-dione contamination δ 2.59 (s, 6H); 4.60 (s, 4H).]

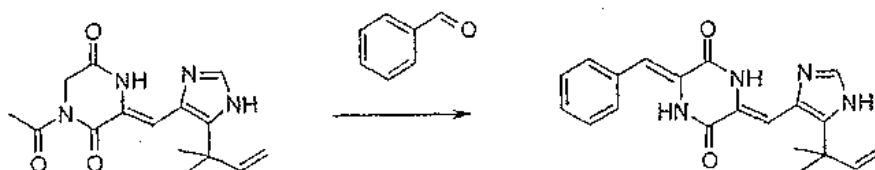
[0275]

[0276]

LC/MS t_R = 6.65 (303.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 605.5 $[\text{2M}+\text{H}]^+$) min. (n.b. 상이한 시스템 사용됨)

[0277]

3-Z-벤질리덴-6-[5'-(1,1-디메틸알릴)-1H-이미다졸-4'-Z-일메틸렌]-피페라진-2,5-디온



[0278]

[0279]

DMF(70 ml) 중의 1-아세틸-3-[5'-(1,1-디메틸-알릴)-1H-이미다졸-4'-일메틸렌]-피페라진-2,5-디온(2.91 g, 9.62 몰)의 용액에 벤즈알데히드(4.89 ml, 48.1 밀리몰)를 가하고 상기 용액을 배기시키고, 이어서 아르곤으로 플라싱시켰다. 상기 배기-플라싱 공정을 추가로 2 회 반복하고, 이어서 탄산 세슘(4.70 g, 14.4 밀리몰)을 가하였다. 상기 배기-플라싱 공정을 추가로 3 회 반복하고, 이어서 생성 혼합물을 하기 나타나낸 바와 같은 온도 구배 하에서 가열하였다.

[0280]

총 5 시간 후에, 반응물을 실온으로 냉각시키고 혼합물을 빙-냉수(500 ml)에 가하였다. 침전물을 수거하고, 물(300 ml)로 세척하고, 이어서 동결 건조시켜 황색 고체(2.80 g)를 수득하였다. 상기 물질을 클로로포름(250 ml)에 용해시키고, 필터 페이퍼를 통해 여과하고 증발시켜 나머지 물을 공비 증류시켰다. 잔류 황색 침전물(2.70 g, HPLC(214 nm) t_R = 7.26(93.6%)min)을 클로로포름(20 ml)에 부분적으로 용해시키고, 상기 현탁액을 5 분간 초음파 처리하고, 이어서 고체를 수거하고 공기 건조시켜 3-벤질리덴-6-[5'-(1,1-디메틸알릴)-1H-이미다졸

-4"-Z-일메틸렌]-피페라진-2,5-디온(1.82 g, 54%)을 수득하였다(Hayashi, Personal Communication(2001)).
m.p. 239-240°C (분해).

HPLC (214nm) t_R = 6.80 (1.92) min, 7.33 (95.01%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.53 (s, 6H); 5.18 (d, J = 17.6 Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 5.21 (d, J = 11.0 Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 6.06 (dd, J = 17.6, 11.0 Hz, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$); 6.99 (s, 1H, $-\text{C}-\text{C}=\text{CH}$); 7.00 (s, 1H, $-\text{C}-\text{C}=\text{CH}$); 7.30-7.50 (m, 5 x ArH); 7.60 (s, H_2^{m}); 8.07 (bs, NH); 9.31 (bs, NH); 12.30 (bs, NH).

LC/MS t_R = 6.22 (349.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, E isomer), 6.73 (349.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 697.4 $[\text{2M}+\text{H}]^+$, Z isomer) min.

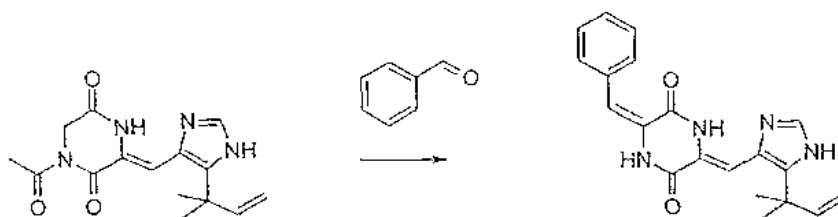
ESMS m/z 349.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 390.3 $[\text{M}+\text{CH}_2\text{CN}]^+$.

[0281]

[0282] 상기 클로로포름 용액을 증발시켜 추가의 3-E-벤질리덴-6-[5"-(1,1-디메틸알릴)-1H-이미다졸-4"-Z-일메틸렌]-피페라진-2,5-디온(0.76 g, 29%)을 수득하였다.

[0283] HPLC(214 nm) t_R = 7.29(84.5%) min.

[0284] 3-E-벤질리덴-6-[5"-(1,1-디메틸알릴)-1H-이미다졸-4"-Z-일메틸렌]-피페라진-2,5-디온



[0285]

[0286] 상기와 같이 합성된 물질의 조 샘플을 예비 HPLC 정제시켜 기하 이성체 3-E-벤질리덴-6-[5"-(1,1-디메틸알릴)-1H-이미다졸-4"-Z-일메틸렌]-피페라진-2,5-디온(1.7 mg)을 수득하였다.

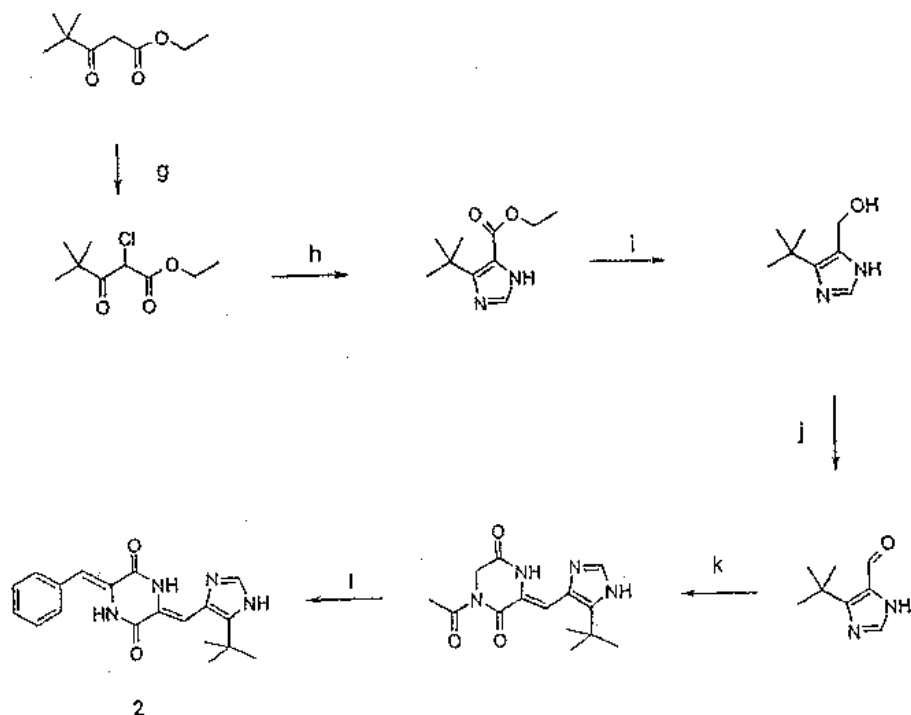
HPLC (214nm) t_R = 6.75 (87.79) min.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.52 (s, 6H); 5.19 (d, J = 20.8 Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$); 5.22 (d, J = 14.0 Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$); 6.05 (dd, J = 18.0, 10.4 Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$); 6.33 (s, 1H, $\text{C}-\text{C}=\text{CH}$); 6.90-7.65 (m, 7H).

ESMS m/z 349.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 390.4 $[\text{M}+\text{CH}_2\text{CN}]^+$.

[0287]

[0288] 3-Z-벤질리텐-6-(5"-3 급-부틸-1H-이미다졸-4"-Z-일메틸렌)피페라진-2,5-디온(2)의 합성

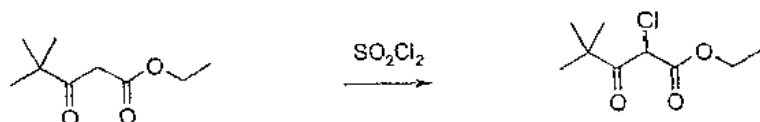


[0289]

[0290] 시약:

[0291] g) SO_2Cl_2 ; h) H_2NCHO , H_2O ; i) LiAlH_4 ; j) MnO_2 ; k) 1,4-디아세틸-피페라진-2,5-디온, Cs_2CO_3 ; l) 벤즈알데히드, Cs_2CO_3

[0292] 2-클로로-4,4-디메틸-3-옥소-펜타노산 에틸 에스테르



[0293]

[0294] 염화 설푸릴(14.0 ml, 0.17 몰)을 클로로포름(100 ml) 중의 에틸 피발로일아세테이트(27.17 g, 0.16 몰)의 냉각된(0 °C) 용액에 가하였다. 생성 혼합물을 실온으로 가온시키고 30 분간 혼합하고, 그 후에 상기를 2.5 시간 동안 가열 환류시켰다. 실온으로 냉각시킨 후에, 반응 혼합물을 클로로포름으로 희석하고, 이어서 중탄산 나트륨, 물, 이어서 염수로 세척하였다.

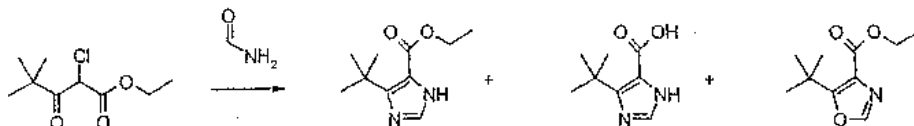
[0295] 유기 상을 건조시키고 증발시켜 등명한 오일로서 2-클로로-4,4-디메틸-3-옥소-펜타노산 에틸 에스테르(33.1 g, 102%)를 수득하였다(Durant et al., "Aminoalkylimidazoles and Process for their Production(아미노알킬이미다졸 및 그의 제조 방법)." 특허 제 GB1341375(Great Britain, 1973)).

HPLC (214nm) $t_R = 8.80$ (92.9%) min.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.27 (s, 9H); 1.29 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); 4.27 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H); 5.22 (s, 1H).

[0296] ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 13.8, 26.3, 45.1, 54.5, 62.9, 165.1, 203.6.

[0297] 5-3 급-부틸-3H-이미다졸-4-카복실산 에틸 에스테르



[0298]

[0299] 포름아미드(47.5 ml) 및 물(2.5 ml) 중의 2-클로로-4,4-디메틸-3-옥소-펜타노산 에틸 에스테르(25.0 g, 0.12 mol) 용액을 진탕시키고, 이어서 15 x 8 ml 바이알들에 분배시켰다. 상기 바이알들을 밀봉시키고 이어서 150 °C에서 3.5 시간 동안 가열하였다. 상기 바이알들을 실온으로 냉각시키고, 이어서 물(20 ml)을 가하고 혼합물을 클로로포름으로 철저히 추출하였다. 클로로포름을 제거하여 농축된 포름아미드 용액(22.2 g)을 수득하고 이를 클로로포름 중의 1% MeOH/1% Et₃N이 충전된 플래시 실리카 컬럼(6 cm 직경, 12 cm 높이)에 가하였다. 상기 컬럼을 상기 혼합물 2.5 l로 용출시킨 다음 클로로포름 중의 2% MeOH/1% Et₃N 1 l로 용출시켜 초기 분획 중에 5-3 급-부틸-옥사졸-4-카복실산 에틸 에스테르(6.3 g, 26%)로 의심이 가는 생성물을 수득하였다.

HPLC (214nm) *t_R* = 8.77 min.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.41 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); 1.43 (s, 9H); 4.40 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H); 7.81 (s, 1H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 14.1, 28.8, 32.5, 61.3, 136.9, 149.9, 156.4, 158.3.

ESMS *m/z* 198.3 [M+H]⁺, 239.3 [M+CH₃CN]⁺.

LC/MS *t_R* = 7.97 (198.1 [M+H]⁺) min.

[0300]

[0301] 나중의 분획으로부터 5-3 급-부틸-3H-이미다졸-4-카복실산 에틸 에스테르(6.20 g, 26%)를 회수하였다(Durant et al., "Aminoalkylimidazoles and Process for their Production(아미노알킬이미다졸 및 그의 제조 방법).", 특허 제 GB1341375(Great Britain, 1973)).

[0302] HPLC (214nm) *t_R* = 5.41 (93.7%) min.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.38 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H); 1.47 (s, 9H); 4.36 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H); 7.54 (s, 1H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 13.7, 28.8, 32.0, 59.8, 124.2, 133.3, 149.2, 162.6.

ESMS *m/z* 197.3 [M+H]⁺, 238.3 [M+CH₃CN]⁺.

[0303]

[0304] 1 l의 5% MeOH/1% Et₃N을 사용하여 상기 컬럼을 추가로 용출시켜 5-3 급-부틸-3H-이미다졸-4-카복실산(0.50 g, 2%)인 것으로 의심이 가는 화합물을 수득하였다.

HPLC (245nm) *t_R* = 4.68 (83.1%) min.

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.36 (s, 9H); 7.69 (s, 1H).

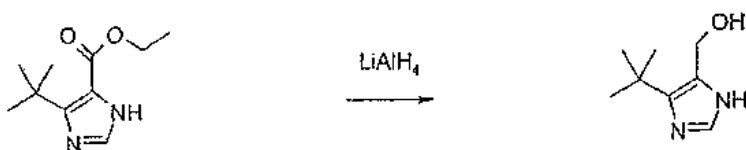
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.37 (s, 9H); 7.74 (s, 1H).

¹H NMR (400 MHz, CD₃SO) δ 1.28 (s, 9H); 7.68 (s, 1H).

ESMS *m/z* 169.2 [M+H]⁺, 210.4 [M+CH₃CN]⁺.

[0305]

[0306] (5-3급-부틸-3H-이미다졸-4-일)-메탄올



[0307]

[0308] THF(60 ml) 중의 5-3 급-부틸-3-이미다졸-4-카복실산 에틸 에스테르(3.30 g, 16.8 밀리몰) 용액을 THF(40 ml)

중의 리튬 알루미늄 하이드라이드(95% 현탁액, 0.89 g, 22.2 밀리몰)의 현탁액에 적가하고 상기 혼합물을 실온에서 3 시간 동안 교반하였다. 물을 기체 발생이 중단할 때까지 가하고, 상기 혼합물을 10 분간 교반하고, 이어서 소결된 깔때기를 통해 여과시켰다. 침전물을 THF로 세척하고, 이어서 메탄올로 세척하고, 여액 및 세척물을 합하고, 증발시켰다. 잔사를 밤새 동결 건조시켜 백색 고체로서 (5-3 급-부틸-3H-이미다졸-4-일)-메탄올(2.71 g, 105%)을 수득하였다(Durant et al., "Aminoalkylimidazoles and Process for their Production(아미노알킬이미다졸 및 그의 제조 방법)." 특허 제 GB1341375(Great Britain, 1973)).

HPLC (240nm) t_R = 3.70 (67.4%) min.

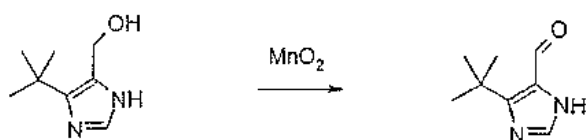
^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1.36 (s, 9H); 4.62 (s, 2H); 7.43 (s, 1H).

^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 31.1, 33.0, 57.9, 131.4, 133.9, 140.8.

LC/MS t_R = 3.41 (155.2 [M+H] $^+$) min.

상기 물질을 추가의 정제 없이 사용하였다.

5-3 급-부틸-3H-이미다졸-4-카브알데히드



이산화 망간(30 g, 0.35 몰)을 아세톤(700 ml) 중의 (5-3 급-부틸-3H-이미다졸-4-일)-메탄올(4.97 g, 0.03 몰)의 이종 용액에 가하고 생성 혼합물을 실온에서 4 시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 셀라이트 패드를 통해 여과시키고 상기 패드를 아세톤으로 세척하였다. 여액 및 세척물을 합하고 증발시켰다. 상기 잔사에 에테르로 연마하여 무색 고체로서 5 급-부틸-3H-이미다졸-4-카브알데히드(2.50 g, 51%)를 수득하였다(Hayashi, Personal Communication(2000)).

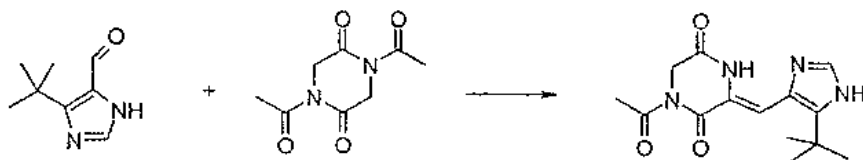
HPLC (240nm) t_R = 3.71 (89.3%) min.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.48 (s, 9H); 7.67 (s, 1H); 10.06 (s, 1H).

LC/MS t_R = 3.38 (153.2 [M+H] $^+$) min.

상기 연마로부터의 여액을 증발시켜 추가의 5-3 급-부틸-3H-이미다졸-4-카브알데히드(1.88 g, 38%)를 수득하였다.

1-아세틸-3-(5'-3 급-부틸-1H-이미다졸-4'-Z-일메틸렌)-피페라진-2,5-디온



DMF(50 ml) 중의 5-3 급-부틸-3H-이미다졸-4-카브알데히드(2.50 g, 16.4 몰)의 용액에 1,4-디아세틸-피페라진-2,5-디온(6.50 g, 32.8 몰)을 가하고 상기 용액을 배기시키고, 이어서 아르곤으로 플라싱시켰다. 상기 배기-플라싱 공정을 추가로 2 회 반복하고, 이어서 탄산 세슘(5.35 g, 16.4 밀리몰)을 가하였다. 상기 배기-플라싱 공정을 추가로 3 회 반복하고, 이어서 생성 혼합물을 실온에서 5 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 작은 부피가 남을 때까지 부분적으로 증발시키고(고 진공 하에서 가열) 생성 용액을 물(100 ml)에 적가하였다. 황색 침전물을 수거하고, 이어서 동결 건조시켜 1-아세틸-3-(5'-3 급-부틸-1H-이미다졸-4'-Z-일메틸렌)-피페라진-2,5-디온(2.24 g, 47%)을 수득하였다(Hayashi, Personal Communication(2000)).

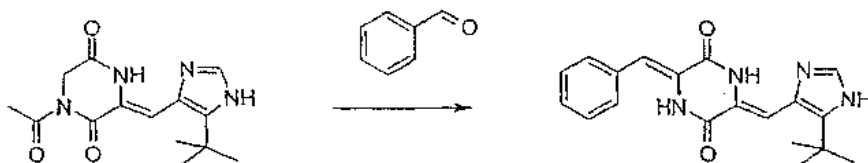
HPLC (214nm) t_R = 5.54 (94.4%) min.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.47 (s, 9H); 2.65 (s, 3H), 4.47 (s, 2H); 7.19 (s, 1H); 7.57 (s, 1H), 9.26 (s, 1H), 12.14 (s, 1H).

^{13}C NMR (100 MHz, $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$) δ 27.3, 30.8, 32.1, 46.5, 110.0, 123.2, 131.4, 133.2, 141.7, 160.7, 162.8, 173.0

LC/MS t_R = 5.16 (291.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 581.6 $[2\text{M}+\text{H}]^+$) min.

3-Z-벤질리덴-6-(5"-3 급-부틸-1H-이미다졸-4"-Z-일메틸렌)-피페라진-2,5-디온



DMF(55 ml) 중의 1-아세틸-3-(5'-3 급-부틸-1H-이미다졸-4'-Z-일메틸렌)-피페라진-2,5-디온(2.43 g, 8.37 밀리몰)의 용액에 벤즈알데히드(4.26 ml, 41.9 밀리몰)를 가하고 상기 용액을 배기시키고, 이어서 질소로 플러싱시켰다. 상기 배기-플러싱 공정을 추가로 2 회 반복하고, 이어서 탄산 세슘(4.09 g, 12.6 밀리몰)을 가하였다. 상기 배기-플러싱 공정을 추가로 3 회 반복하고, 이어서 생성 혼합물을 하기 나타낸 바와 같은 온도 구배 하에서 가열하였다. 총 5 시간 후에, 반응물을 실온으로 냉각시키고 혼합물을 빙-냉수(400 ml)에 가하였다. 침전물을 수거하고, 물로 세척하고, 이어서 동결 건조시켜 황색 고체(2.57 g, HPLC(214 nm) t_R = 6.83(83.1%) min)를 수득하였다. 상기 물질을 클로로포름(100 ml)에 용해시키고, 증발시켜 나머지 물을 공비 증류시키고, 그 결과 갈색 오일이 생성되었다. 상기를 클로로포름(20 ml)에 용해시키고 얼음 중에서 냉각시켰다. 90 분 후에 황색 침전물을 수거하고 공기 건조시켜 3-Z-벤질리덴-6-(5"-3 급-부틸-1H-이미다졸-4"-Z-일메틸렌)-피페라진-2,5-디온(1.59 g, 56%)을 수득하였다(Hayashi, Personal Communication(2001)).

HPLC (214nm) t_R = 6.38 (2.1%), 6.80 (95.2) min.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.46 (s, 9H); 7.01 (s, 1H, -C-C=CH); 7.03 (s, 1H, -C-C=CH); 7.30-7.50 (m, 5H, Ar); 7.60 (s, 1H); 8.09 (bs, NH); 9.51 (bs, NH); 12.40 (bs, NH).

LC/MS t_R = 5.84 (337.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$, E isomer), 6.25 (337.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 673.4 $[2\text{M}+\text{H}]^+$, Z isomer) min.

ESMS m/z 337.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 378.1 $[\text{M}+\text{CH}_4\text{CN}]^+$.

상기 클로로포름 용액을 증발시켜 추가의 3-Z-벤질리덴-6-(5"-3 급-부틸-1H-이미다졸-4"-Z-일메틸렌)-피페라진-2,5-디온(0.82 g, 29%)을 수득하였다.

HPLC(214 nm) t_R = 6.82(70.6%) min.

일반적인 실험

중탄산 나트륨은 5% 용액을 가리킨다.

유기 용매를 달리 나타내지 않는 한 황산 나트륨 상에서 건조시켰다.

분석 조건

NMR 조건

^1H NMR(400 MHz) 분석을 배리안 이노바 유니티(Varian Inova Unity) 400 MHz NMR 기계 상에서 수행하였다. 샘플을 0.1% TMS(달리 나타내지 않는 한)를 함유하는 중수소화된 클로로포름 중에서 실행시켰다. 화학적 이동

(ppm)은 샘플 실행 CD₃OD에 대해서 3.30 ppm에서 TMS(0.00 ppm) 또는 CH₃OH에 비교하여 참조한다. 커플링 상수를 헤르츠(Hz)로 나타낸다.

- [0333] 분석 HPLC 조건
- [0334] 시스템 6 조건:
- [0335] RP-HPLC를 레이닌 마이크로소브(Rainin Microsorb)-MV C18(5 μ m, 100 Å) 50 x 4.6 mm 컬럼 상에서 수행하였다.
- [0336] 완충제 A: 0.1% 수성 TFA
- [0337] 완충제 B: 90% 수성 MeCN 중의 0.1% TFA
- [0338] 구배: 11 분에 걸쳐 0 내지 100%의 완충제 B
- [0339] 유속: 1.5 ml/분
- [0340] LCMS 조건
- [0341] LCMS를 퍼킨-엘머(Perkin-Elmer) Sciex API-100 장치 상에서 실행시켰다.
- [0342] LC 조건:
- [0343] 역상 HPLC 분석
- [0344] 컬럼: 모니터 5 μ m C18 50 x 4.6 mm
- [0345] 용매 A: 수 중 0.1% TFA
- [0346] 용매 B: 90% 수성 MeCN 중 0.085% TFA
- [0347] 구배: 11.0 분에 걸쳐 0 내지 100% B
- [0348] 유속: 1.5 ml/분
- [0349] 파장: 214 nm
- [0350] MS 조건:
- [0351] 이온 공급원: 이온스프레이
- [0352] 검출: 이온 카운팅
- [0353] 질량 분광계의 유속: 컬럼으로부터 분리 후에 300 μ l/분(1.5 ml/분).
- [0354] ESMS 조건
- [0355] ESMS를 전자스프레이 유입구를 사용하여 퍼킨 엘머/Sciex-API III LC/MS/MS 상에서 수행하였다.
- [0356] 용매: 60% 수성 MeCN 중의 0.1% AcOH
- [0357] 유속: 25 μ l/분
- [0358] 이온스프레이: 5000 V
- [0359] 오리피스 플레이트: 55 V
- [0360] 포획 시간: 2.30 min
- [0361] 스캔 범위: 100 - 1000 amu/z
- [0362] 스캔 단계 크기: 0.2 amu/z
- [0363] 예비 RP-HPLC 정제 조건
- [0364] 역상 HPLC 정제를 하기 조건을 사용하여 더 워터스(The Waters) XterraMS 컬럼(19 x 50 mm, 5 μ m, C18)을 갖는 네블라(Nebula)를 사용하여 수행하였다:

[0365] 용매 A: 0.1% 수성 TFA

[0366] 용매 B: 90% 수성 MeCN 중의 0.1% TFA

[0367] 구배: 4 분에 걸쳐 5 내지 95%

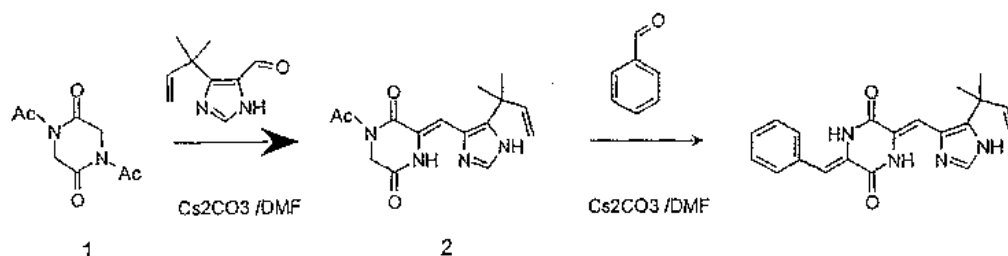
[0368] 유속: 20 ml/분

[0369] 파장: 214 nm

[0370] 약어는 하기와 같다:

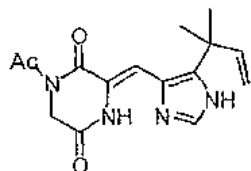
[0371] br s; 넓은 단일선; BuLi: n-부틸 리튬; d: 이중선; DBU: 1,8-디아자비사이클로[5.4.0]운데크-7-엔; ESMS: 전자스프레이 질량 분광측정; HCl: 염산; HPLC: 고 성능 액체 크로마토그래피; LCMS: 액체 크로마토그래피 질량 분광측정; LD: 리튬 디이소프로필아미드; M⁺: 분자 이온; m: 다중선; MeCN: 아세토니트릴; M: 질량 분광측정; MW: 분자량; NMR: 핵 자기 공명; q: 사중선; s: 단일선; 삼중선; t_R: 체류 시간; TFA: 트리플루오로아세트산; THF: 테트라하이드로푸란

[0372] 테하이드로페닐아히스틴의 상세한 합성 과정



[0373]

[0374] 1-아세틸-3-[(Z)-1-[5-(1,1-디메틸-2-프로펜일)-1H-4-이미다졸릴]메틸리덴]-2,5-피페라진디온(2)



[0375]

[0376] DMF(2 ml) 중의 5-(1,1-디메틸-2-프로펜일)이미다졸-4-카복스알데히드(100 mg, 0.609 밀리몰) 용액에 화합물 1(241 mg, 1.22 몰)을 가하고 상기 용액을 단 시간 안에 반복적으로 배기시켜 산소를 제거하고 Ar로 플러싱시킨 다음, Cs₂CO₃(198 mg, 0.609 밀리몰)를 첨가하고 배기 플러싱 공정을 다시 반복하였다. 산소의 제거는 디케토 피페라진 고리의 6 번 위치에서 알파-탄소의 산화를 감소시키는 것으로 여겨지기 때문에 상기과 같은 제거는 바람직하다. 생성 혼합물을 실온에서 5 시간 동안 교반하였다. 용매를 증발에 의해 제거한 후에, 잔사를 EtOAc와 10% Na₂CO₃의 혼합물에 용해시키고 유기 상을 다시 10% Na₂CO₃으로 세척하고 포화된 NaCl로 3 회 세척하고, Na₂CO₃ 상에서 건조시키고 진공 하에서 농축시켰다. 잔류 오일을 용출제로서 CHCl₃-MeOH(100:0 내지 50:1)를 사용하여 실리카 상에서 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제시켜 60 mg(33%)의 담황색 고체 2를 수득하였다.

[0377] 테하이드로페닐아히스틴

[0378] DMF(0.8 ml) 중의 2(30 mg, 0.099 밀리몰) 용액에 벤즈알데히드(51 μl, 0.496 밀리몰, 5 당량)를 가하고 상기 용액을 단 시간 내에 반복해서 배기시켜 산소를 제거하고 Ar로 플러싱시킨 다음 Cs₂CO₃(53 mg, 0.149 밀리몰, 1.5 당량)을 가하고 상기 배기-플러싱 공정을 다시 반복하였다. 생성 혼합물을 80 °C에서 2.5 시간 동안 가열하였다(온도를 서서히 증가시켜야 한다. 빠른 가열은 벤질리덴 잔기에서 E-이성체의 생성을 증가시킨다). 용매를 증발에 의해 제거한 후에, 잔사를 EtOAc에 용해시키고 물로 2 회 및 포화된 NaCl로 3 회 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공 하에서 농축시켰다. CHCl₃-MeOH(10:1)를 사용하여 TLC 시, 365 nm UV에서 밝은

녹-황색 발광을 갖는 반점을 관찰할 수 있다. 상기 조 생성물의 순도는 HPLC 분석으로부터 75% 이상이었다. 생성 잔사를 90% 수성 MeOH에 용해시키고 역상 HPLC 컬럼(YMC-Pack, ODS-AM, 20 x 250 mm)에 걸고 16 분에 걸쳐 12 ml/분의 유속으로 수 중 70% 내지 74 MeOH의 선형 구배를 사용하여 용출시키고, 목적하는 분획을 수거하고 증발에 의해 농축시켜, 비록 수율이 각 단계에 대해 최적은 아니지만, 황색 테하이드로페닐아히스틴 19.7 mg (60%)을 수득하였다.

[0379] 실시예 4

[0380] 테하이드로페닐아히스틴 및 테하이드로페닐아히스틴 동족체의 생물학적 특징

[0381] A. 생물학적 평가

[0382] 합성된 tBu-테하이드로페닐아히스틴 및 테하이드로페닐아히스틴의 생물학적 특징을 HT29 인간 결장 세포 및 PC-3 전립선 선암종 세포 모두에서 평가하였다.

[0383] 인간 결장직장 선암종 세포인 HT-29(ATCC HTB-38)를 맥코이(McCoy)의 완전 배지(L-글루타민이 있는 맥코이의 5A 배지 및 10% FBS, 1 mM Na 피루베이트, 1X NEAA, 2 mM L-글루타민, 및 각각 100 IU/ml 및 100 µl/ml의 Pen/Strep이 보충된 25 mM HEPES)에서 유지시켰다. 인간 전립선 선암종 세포인 PC-3(ATCC CRL-1435)을 F12K 완전 배지(10% FBS; 2 mM 글루타민; 1% HEPES; 및 각각 100 IU/ml 및 100 µl/ml의 Pen/Strep이 보충된 F12K 배지)에서 유지시켰다. 세포 주를 95% 가습 배양기 중에서 37 °C, 5% CO₂에서 배양하였다.

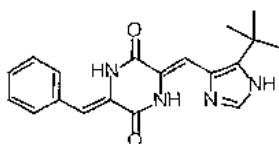
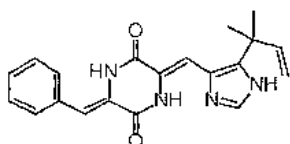
[0384] 종양 세포독성 분석을 위해서, HT-29 또는 PC-3 세포를 90 µl 완전 배지 중의 5,000 세포/웰에서 코닝(Corning) 3904 어두운 벽으로 된, 깨끗한 바닥의 조직 배양 플레이트로 시딩하고 상기 플레이트를 밤새 배양시켜 세포를 확립시키고 대수 증식기를 시작시켰다. 테하이드로페닐아히스틴 및 tBu-테하이드로페닐아히스틴의 20 mM 모액을 100% DMSO 중에서 제조하고 -20 °C에서 보관하였다. 상기 두 화합물의 10 배 농축된 일련의 희석물들을 적합한 배양 배지에서 20 x 10⁻⁵ M 내지 20 x 10⁻¹⁰ M 범위의 최종 농도로 제조하였다. 상기 10 배의 일련의 희석물 10 µl분량을 상기 시험 웰에 3 회 중복하여 가하고 상기 플레이트를 48 시간 동안 상기 배양기에 다시 넣었다. DMSO의 최종 농도는 모든 샘플에서 0.25%였다.

[0385] 48 시간의 약물 노출에 이어서 Mg²⁺, Ca²⁺ 비 함유 PBS 중의 0.2 mg/ml 레사주린(시그마-알드리치 케미칼 캄파니(Sigma-Aldrich Chemical Co.)로부터 수득함) 10 µl를 각 웰에 가하고 상기 플레이트를 3 내지 4 시간 동안 배양기에 다시 넣었다. 상기 플레이트를 회수하여 레사주린 형광을 융합 형광계(패카드 인스트루먼트즈(Packard Instruments))에서 530 nm 여기 및 590 nm 방출 필터를 사용하여 측정하였다. 세포가 없는 레사주린 염료를 사용하여 배경을 측정하였으며, 이를 모든 실험 웰에 대한 데이터에서 감하였다. 상기 데이터를 프리즘 소프트웨어(그래프패드 소프트웨어(GraphPad Software))를 사용하여 분석하였다. 상기 데이터를 배지만으로(100% 세포 생육) 처리한 세포의 평균에 대해 표준화하고 EC₅₀ 값을 표준 S 자 용량 반응 곡선 정합 연산을 사용하여 측정하였다.

[0386] 하기 표 1에 나타난 바와 같이, tBu-테하이드로페닐아히스틴은 테하이드로페닐아히스틴에 비해 약 4 배 더 큰 세포독성 활성을 나타낸다.

[0387] [표 1]

[0388] 테하이드로페닐아히스틴과 유도체의 세포독성 효과



[0389]

[0390] 테하이드로페닐아히스틴

tBu-테하이드로페닐아히스틴

[0391]

	EC ₅₀ (nM)	
세포	△PLH	tBu-△PLH
HT29	48	13

PC-3	5.4	1.0
------	-----	-----

- [0392] B. 데하이드로페닐아히스틴 유도체의 구조 및 활성 연구
- [0393] 페닐아히스틴, 데하이드로페닐아히스틴, 및 데하이드로페닐아히스틴의 다양한 유도체들의 세포독성 효과를 P388 쥐 백혈병 세포, HT-29 인간 결장 세포 및 PC-3 전립선 선암종 세포에서 검사하였다.
- [0394] 상기 설명한 바와 같이, 인간 결장직장 선암종 세포인 HT-29를 맥코이의 완전 배지(L-글루타민이 있는 맥코이의 5A 배지 및 10% FBS, 1 mM Na 피루베이트, 1X NEAA, 2 mM L-글루타민, 및 각각 100 IU/ml 및 100 μ l/ml의 Pen/Strep이 보충된 25 mM HEPES)에서 유지시켰다. 인간 전립선 선암종 세포인 PC-3을 F12K 완전 배지(10% FBS; 2 mM 글루타민; 1% HEPES; 및 각각 100 IU/ml 및 100 μ l/ml의 Pen/Strep이 보충된 F12K 배지)에서 유지시켰다. 세포 주를 95% 가슴 배양기 중에서 37 °C, 5% CO₂에서 배양하였다.
- [0395] 종양 세포독성 분석을 위해서, HT-29 또는 PC-3 세포를 90 μ l 완전 배지 중의 5,000 세포/웰에서 코닝 3904 어두운 벽으로 된, 깨끗한 바닥의 조직 배양 플레이트로 시딩하고 상기 플레이트를 밤새 배양시켜 세포를 확립시키고 대수 증식기를 시작시켰다. 데하이드로페닐아히스틴 및 tBu-데하이드로페닐아히스틴의 20 mM 모액을 100% DMSO 중에서 제조하고 -20 °C에서 보관하였다. 상기 두 화합물의 10 배 농축된 일련의 희석물들을 적합한 배양 배지에서 20 x 10⁻⁵ M 내지 20 x 10⁻¹⁰ M 범위의 최종 농도로 제조하였다. 상기 10 배의 일련의 희석물 10 μ l분량을 상기 시험 웰에 3 회 중복하여 가하고 상기 플레이트를 48 시간 동안 상기 배양기에 다시 넣었다. DMSO의 최종 농도는 모든 샘플에서 0.25%였다.
- [0396] 48 시간의 약물 노출에 이어서 Mg²⁺, Ca²⁺ 비 함유 PBS 중의 0.2 mg/ml 레사주린(시그마-알드리치 케미칼 캠퍼니로부터 수득함) 10 μ l를 각 웰에 가하고 상기 플레이트를 3 내지 4 시간 동안 배양기에 다시 넣었다. 상기 플레이트를 회수하여 레사주린 형광을 융합 형광계(패카드 인스트루먼트)에서 530 nm 여기 및 590 nm 방출 필터를 사용하여 측정하였다. 세포가 없는 레사주린 염료를 사용하여 배경을 측정하였으며, 이를 모든 실험 웰에 대한 데이터에서 감하였다. 상기 데이터를 프리즘 소프트웨어(그래프패드 소프트웨어)를 사용하여 분석하였다. 상기 데이터를 배지만으로(100% 세포 생육) 처리한 세포의 평균에 대해 표준화하고 EC₅₀ 값을 표준 S 자 용량 반응 곡선 정합 연산을 사용하여 측정하였다.
- [0397] 페닐아히스틴, 데하이드로페닐아히스틴 및 데하이드로페닐아히스틴 유도체를 하기 표 2에 요약한다.
- [0398] [표 2]

[0399] 페닐아히스틴 또는 데하이드로페닐아히스틴 및 데하이드로페닐아히스틴 유도체의 EC₅₀ 및 IC₅₀ 값을 SAR 연구

화합물	화학식	EC ₅₀ (nM)		IC ₅₀ (nM)
		HT-29	PC-3	P-388
(-)-페닐아히스틴		1600	n.t.	833 ± 153 (n=5)
KPU-1 iPLH		48	4.7	36 ± 12.8 (n=5)
KPU-2 tBu-iPLH		13	1	31.8 ± 5.0 (n=5)
KPU-6 tBu-iPLH-p-OMe		>2000	n.t.	9333 ± 5457 (n=3)

[0400]

KPU-8 tBu-iPLH-o-OMe		89		315 ± 137 (n=4)
KPU-9 tBu-iPLH-m-OMe		31		20.8 ± 68 (n=4)
콜히친	---			208±68 (n=4)

[0401]

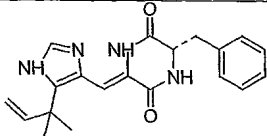
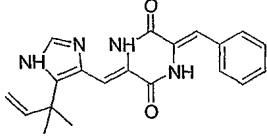
[0402] 페닐 고리에 대한 변경은 세포독성 활성화에 현저한 효과를 갖는다. tBu-데하이드로페닐아히스틴(#6)의 활성화에 비해, 메타-위치에서 메톡시 그룹의 활성화(KPU-9)는 P388 세포에서 다른 유도체들 보다 20.8±3.3 nM의 가장 큰 활성을 나타내었다. 상기 KPU-9 유도체는 또한 HT-29 세포에서 세포독성을 나타내었다(EC₅₀ 31 nM). 데하이드로페닐아히스틴, tBu-데하이드로페닐아히스틴(KPU-2) 및 KPU-9 유도체는 모두 P388 세포에서 세포독성을 나타내었다.

[0403] C. 추가의 데하이드로페닐아히스틴 유도체들에 대한 구조 및 활성화 연구

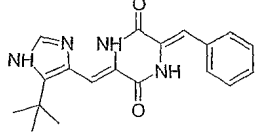
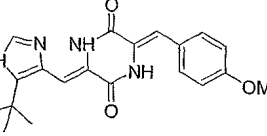
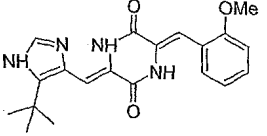
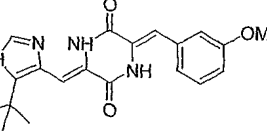
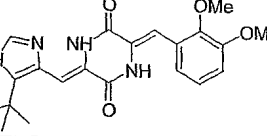
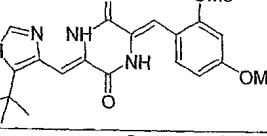
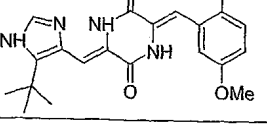
[0404] 페닐아히스틴, 데하이드로페닐아히스틴 및 데하이드로페닐아히스틴의 다양한 추가적인 유도체들의 세포독성 연구를 상술한 방법을 사용하여 HT-29 인간 결장 세포 및 PC-3 전립선 선암종 세포에서 검사하였다.

[0405] [표 3]

[0406] 페닐아히스틴, 데하이드로페닐아히스틴 및 추가적인 데하이드로페닐아히스틴 유도체의 SAR 연구

화합물	화학식	염 형태	M.W.	EC ₅₀ (nM)	
				HT-29	PC-3
(-)-페닐아히스틴		-	350.41	1600	n.t.
KPU-1 [PLH]		-	348.40	48	4.7

[0407]

화합물	화학식	염 형태	M.W.	EC ₅₀ (nM)	
				HT-29	PC-3
KPU-2 tBu-[PLH]		-	336.39	13	1
KPU-6 tBu-[PLH-p-OMe]		-	366.41	>2000	n.t.
KPU-8 tBu-[PLH-o-OMe]		-	366.41	89	
KPU-9 tBu-[PLH-m-OMe]		-	366.41	31	
KPU-14 tBu-[PLH-2,3-diOMe]		TFA	396.44 510.46 (+TFA)	610	96%
KPU-12 tBu-[PLH-2,4-diOMe]		-	396.44	4980	
KPU-10 tBu-[PLH-2,5-diOMe]		-	396.44	1350	

[0408]

화합물	화학식	염 형태	M.W.	EC ₅₀ (nM)	
				HT-29	PC-3
KPU-15 tBu- <i>l</i> PLH-2,6-diOMe		TFA	396.44 510.46 (+TFA)	4430	96%
KPU-13 tBu- <i>l</i> PLH-3,4-diOMe		-	396.44	2130	
KPU-16 tBu- <i>l</i> PLH-3,5-diOMe		-	396.44	42	82%
KPU-11 tBu- <i>l</i> PLH-3,4,5-triOMe		-	426.47	> 20 μM	
KPU-17 tBu- <i>l</i> PLH-2,3,4-triOMe		TFA	426.47 540.49 (+TFA)	4060	94%
KPU-18 tBu- <i>l</i> PLH-o-Cl		TFA	370.83 484.86 (+TFA)	42	100%
KPU-19 tBu- <i>l</i> PLH-m-Cl		TFA	370.83 484.86 (+TFA)	20	98%

화합물	화학식	염 형태	M.W.	EC ₅₀ (nM)	
				HT-29	PC-3
KPU-20 tBu-PLH-p-Cl		TFA	370.83 484.86 (+TFA)	545	
KPU-21 tBu-PLH-2-Cl-5-NO ₂		TFA	415.83 529.85 (+TFA)	51	100%
KPU-22 tBu-PLH-3,4-methylene-dioxy		TFA	380.40 494.42 (+TFA)	82	95%
KPU-23 tBu-PLH-2-OH-3-OMe (o-vanillin)		TFA	382.41 496.44 (+TFA)	5870	86%
KPU-24 tBu-PLH-cyclized-3-MeO		TFA	364.40 487.42 (+TFA)	7040	100%
KPU-25 tBu-PLH-4-pyridyl		TFA	337.38 565.42 (+2TFA)	544	98%
KPU-28 tBu-PLH-2-pyridyl		TFA	337.38 565.42 (+2TFA)	> 20 μM	99%

[0410]

화합물	화학식	염 형태	M.W.	EC ₅₀ (nM)	
				HT-29	PC-3
KPU-26 tBu-PLH-2-furyl		TFA	326.35 440.37 (+TFA)	600	88%
KPU-27 tBu-PLH-5-Me-2-thienyl		TFA	356.44 470.47 (+TFA)	80	97%
KPU-29 tBu-PLH-3-Me-2-thienyl		TFA	356.44 470.47 (+TFA)	44	81%

[0411]

[0412] 실시예 5

[0413] 다른 데하이드로페닐아히시틴 동족체

[0414]

A. 테하이드로페닐아히스틴 유도체의 합성을 위한 변경

[0415]

테하이드로페닐아히스틴의 다른 유도체들을 상기 기법을 단독으로 사용하거나 또는 다른 널리 공지된 유기 합성 기법과 함께 사용하여 합성한다.

[0416]

상기 합성 방법에 관여하는 상기 디아실디케토피페라진 및 첫 번째 및 두 번째 알데히드에 대한 변경은 목적하는 유도체에 따라 변한다.

[0417]

A) 페닐 고리를 변경시키고/시키거나 다른 방향족 고리 시스템을 도입시킨

[0418]

B) 상기 방향족 고리의 위치를 변경시킨,

[0419]

C) 상기 이미다졸 방향족 고리 시스템을 변경시킨, 및/또는

[0420]

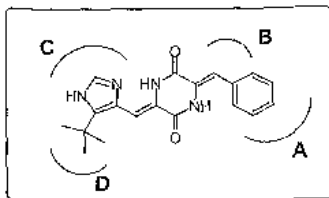
D) 상기 이미다졸 고리 상의 5-번 위치를 변경시킨

[0421]

유도체들을 합성한다.

[0422]

하기 도면은 테하이드로페닐아히스틴의 유도체들을 제조하기 위해서 변경시킨 테하이드로페닐아히스틴 화합물의 부분들을 나타낸다. 비 제한적인 변경 예들을 개시하며, 이들 예는 이러한 내용을 근거로 당해 분야의 숙련가들에게 이해될 것이다.



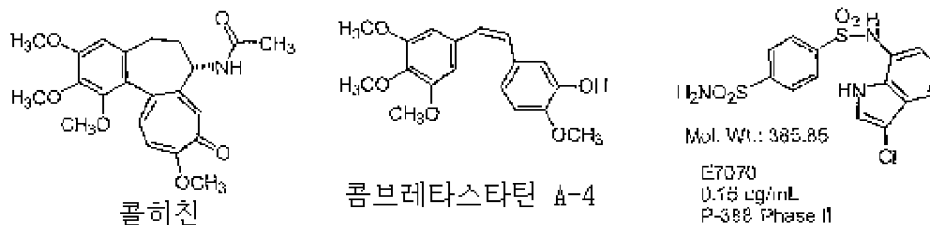
[0423]

A. 1) 공지된 항-튜블린 화합물의 구조를 기본으로 하는 페닐 고리의 변경

[0424]

알킬, 할로젠, 알콕시, 아세틸, 설폰아미드, 아미노, 하이드록실, 니트로 등

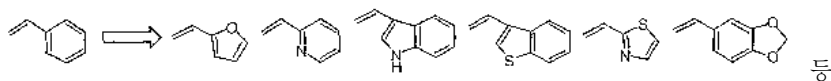
[0425]



[0426]

2) 다른 방향족 고리 시스템의 도입

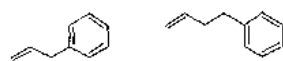
[0427]



[0428]

B. 방향족 고리의 위치

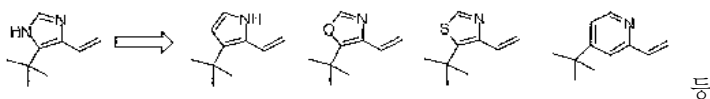
[0429]



[0430]

C. 다른 고리 시스템으로의 변화

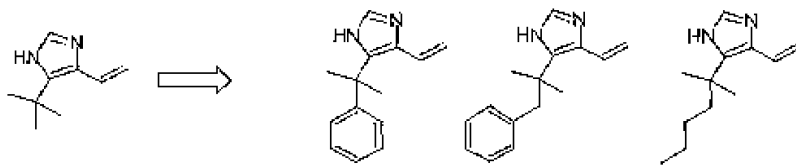
[0431]



[0432]

D. 이미다졸 고리 상의 5번 위치에 대한 추가의 변경

[0433]

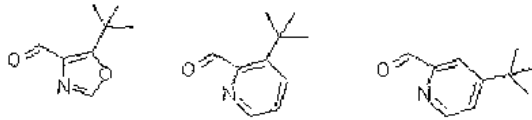


[0434]

등

[0435]

상기 테하이드로페닐아히스틴 화합물에 대한 상기 변경을 확장하여, 상기 화합물의 유도체들은 페닐 고리에서 하기의 치환체들을 포함할 수 있다: (A): $-\text{CF}_3$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2(-\text{SO}_2\text{NR}_1\text{R}_2)$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{CONH}_2(-\text{CONR}_1\text{R}_2)$, $-\text{COOH}$, 등. 다른 고리 시스템 (C)은 또한 하기를 포함할 수 있다:



[0436]

[0437]

B. 합성된 테하이드로페닐아히스틴 유도체들의 예

[0438]

합성된 테하이드로페닐아히스틴 유도체들에 대한 추가의 예들을 표 4에 개시한다.

[0439]

[표 4]

[0440]

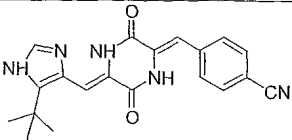
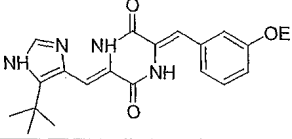
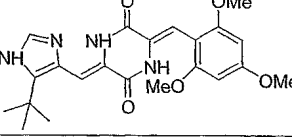
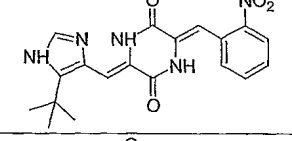
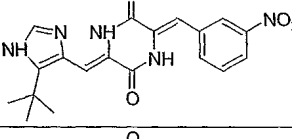
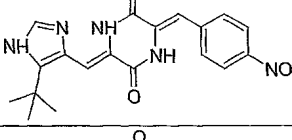
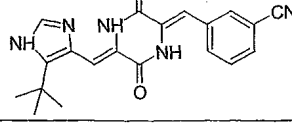
테하이드로페닐아히스틴의 추가 합성된 유도체들

화합물	화합식	염 형태	M.W.
KPU-20 tBu- β PLH-p-Cl		TFA	370.83 484.86 (+TFA)
KPU-30 tBu- β PLH-2,3-methylenedioxy		TFA	380.40 494.42 (+TFA)
KPU-31 tBu- β PLH-3-pyridyl		2TFA	337.38 565.42 (+2TFA)
KPU-32 tBu- β PLH-o-Me		TFA	350.41 464.44 (+TFA)
KPU-33 Tbu- β PLH-3-Me-2-pyridyl		2TFA	351.40 579.45 (+2TFA)
KPU-34 tBu- β PLH-4-F		TFA	354.38 468.40 (+TFA)
KPU-35 tBu- β PLH-m-F		TFA	354.38 468.40 (+TFA)

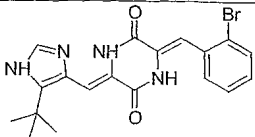
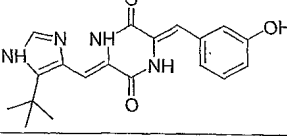
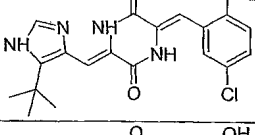
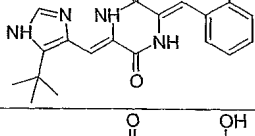
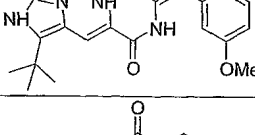
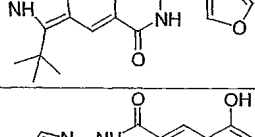
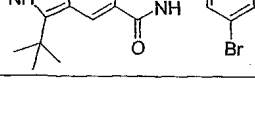
[0441]

화합물	화합식	염 형 태	M.W.
KPU-36 tBu-PLH-5-Me-4-im		2TFA	356.42 584.47 (+2TFA)
KPU-37 tBu-PLH-o-F		TFA	354.38 468.40 (+TFA)
KPU-38 tBu-PLH-m-Me		TFA	350.41 464.44 (+TFA)
KPU-39 tBu-PLH-p-Me		TFA	350.41 464.44 (+TFA)
KPU-40 tBu-PLH-p-Br		TFA	415.28 529.31 (+TFA)
KPU-41 tBu-PLH-m-Br		TFA	415.28 529.31 (+TFA)
KPU-42 tBu-PLH-3-thienyl		TFA	342.42 456.44 (+TFA)

[0442]

화합물	화학식	염 형태	M.W.
KPU-43 tBu- β PLH-p-CN		TFA	361.40 475.42 (+TFA)
KPU-44 tBu- β PLH-m-EO		TFA	380.44 494.46 (+TFA)
KPU-45 TBu- β PLH-2,4,6-TriOMe		TFA	426.47 540.49 (+TFA)
KPU-46 tBu- β PLH-o-NO ₂		TFA	381.39 495.41 (+TFA)
KPU-47 tBu- β PLH-m-NO ₂		TFA	381.39 495.41 (+TFA)
KPU-48 tBu- β PLH-p-NO ₂		TFA	381.39 495.41 (+TFA)
KPU-49 tBu- β PLH-m-CN		TFA	361.40 475.42 (+TFA)

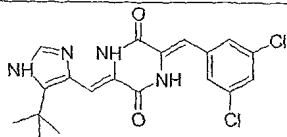
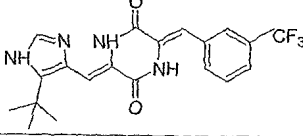
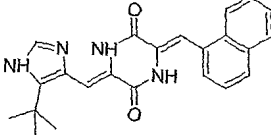
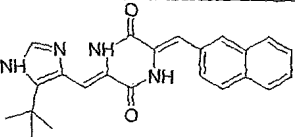
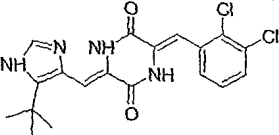
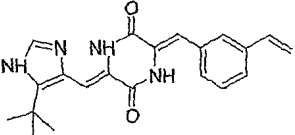
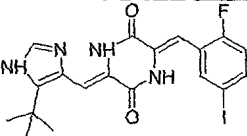
[0443]

화합물	화학식	염 형태	M.W.
LPU-50 tBu-PLH-o-Br		TFA	415.28 529.31 (+TFA)
KPU-51 tBu-PLH-m-OH		TFA	352.39 466.41 (+TFA)
KPU-52 TBu-PLH-2-NO ₂ -5-Cl		TFA	415.83 529.85 (+TFA)
KPU-53 tBu-PLH-o-OH		TFA	352.39 466.41 (+TFA)
KPU-54 TBu-PLH-2-OH-5-OMe		TFA	382.41 496.44 (+TFA)
KPU-55 tBu-PLH-3-furanyl		TFA	326.35 440.37 (+TFA)
KPU-56 tBu-PLH-2-OH-5-Br		TFA	431.28 545.31 (+TFA)

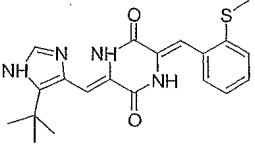
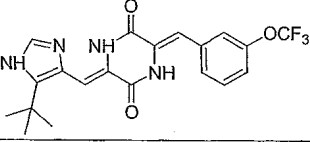
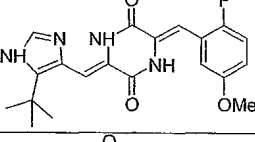
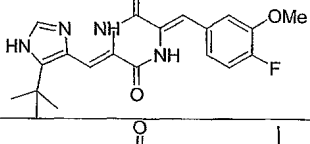
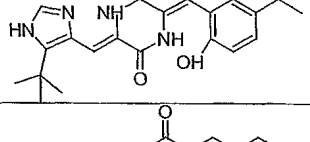
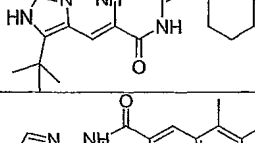
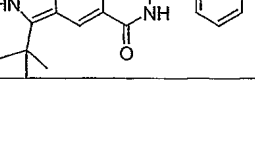
[0444]

화합물	화합식	염 형태	M.W.
KPU-57 tBu-iPLH-2-OH-4-OMe		TFA	382.41 496.44 (+TFA)
KPU-58 tBu-iPLH-2-OH-4-OMe		TFA	382.41 496.44 (+TFA)
KPU-59 tBu-iPLH-2-OH-5-Cl		TFA	386.83 (+TFA) 500.86
KPU-60 tBu-iPLH-5-Me-2-furanyl		TFA	340.38 454.40 (+TFA)
KPU-61 tBu-iPLH-5-Cl-2-thionyl		TFA	376.86 490.88 (+TFA)
KPU-62 tBu-iPLH-2-thionyl		TFA	342.42 456.44 (+TFA)
KPU-63 tBu-iPLH-N-Me-2-pyrrole		TFA	339.39 453.42 (+TFA)

[0445]

화합물	화학식	염 형태	M.W.
KPU-64 tBu-PLH-3,5-diCl		TFA	405.27
KPU-65 tBu-PLH-m-CF ₃		TFA	404.39
KPU-66 TBu-PLH-1-Naphthalene		TFA	386.44
KPU-67 TBu-PLH-2-Naphthalene		TFA	386.44
KPU-68 TBu-PLH-2,3-diCl		TFA	405.27
KPU-69 TBu-PLH-m-Vinyl		TFA	362.42
KPU-77 TBu-PLH-2-F-I		TFA	480.28

[0446]

화합물	화합식	염 형태	M.W.
KPU-79 TBu- β PLH-2-(Methylthio)		TFA	368.45
KPU-80 TBu- β PLH-m-OCF ₃		TFA	420.38
KPU-81 TBu- β PLH-2-F-5-OMe		TFA	384.38
KPU-82 TBu- β PLH-4-F-3-OMe		TFA	384.38
KPU-83 TBu- β PLH-2-OH-5-tBu		TFA	408.39
KPU-84 TBu- β PLH-cyclohexane		TFA	341.39
KPU-86 TBu- β PLH-2-Me-3-F		TFA	368.39

[0447]

화합물	화학식	염 형태	M.W.
KPU-87 TBU-PLH-2-F-5-Me		TFA	368.39
KPU-88 TBU-PLH-2-Cl-6-F		TFA	388.83
KPU-89 TBU-PLH-2,5-di-F		TFA	372.38
KPU-90 TBU-PLH-2,3-di-Me		TFA	364.38
KPU-91 TBU-PLH-2,6-di-Me		TFA	364.38
KPU-92 TBU-PLH-2-NO2-3-OMe		TFA	411.39
KPU-93 TBU-PLH-2,5-diMe		TFA	364.38

[0448]

화합물	화학식	염 형태	M.W.
KPU-94 TBU-PLH-2-NH2-3-OMe		TFA	381.399
KPU-96 TBU-PLH-2-NH2		TFA	351.41
KPU-97 TBU-PLH-m-NH2		TFA	351.41

[0449]

[0450]

C. 데하이드로페닐아히스틴 유도체들에 대한 평가

[0451]

상술한 유도체들에 대한 평가를 실시예 3에 개시된 방법에 따라 평가한다. 상기 유도체들에 대한 추가적인 평가를 특정한 활성들, 예를 들어 세포 증식에 대한 억제 효과, 특정 세포 기전(즉 미세관 기능)에 대한 효과, 세포 주기 진행에 대한 효과를 측정하는 것으로 연장하여, 암 세포 주에 대한 생체 외 중앙 억제 활성 등을 평가한다. 일부 평가 방법 프로토콜을 하기에 나타낸다.

[0452]

1) 데하이드로페닐아히스틴 및 그의 동족체의 세포 증식 억제 효과

[0453] 96-웰 미세적정 플레이트의 각 웰에, 10% 소 태아 혈청을 인간 폐 암으로부터 유도된 A-549 세포에 대해 중앙 억제 효과를 갖는 EMEM 배양 배지(Nissui Seiyaku Co., Ltd.)에 가하여 수득된 배양 배지 중에 10^5 세포/ml로 제조된 인간 폐 암으로부터 유도된 A-549 세포 100 μ l를 넣는다. 상기 목록으로 나타낸 예들에 의해 수득된 유도체의 메탄올 용액을 최상층 열의 웰에 가하고, 시편들을 반-로그 희석법에 의해 희석하여 가하고, 상기 플레이트를 37 °C에서 48 시간 동안 이산화 탄소 기체 배양기에서 배양한다. 결과를 MIT 시약(3-(4,5-디메틸-2-티아졸)-2,5-디페닐-2H-테트라 브로마이드)(1 mg/ml · PBS)을 갖는 다수의 10 μ l에 가한 다음, 37 °C에서 6 시간 동안 이산화 탄소 기체 배양기에서 배양한다. 배양 배지를 버리고 상기 세포 중에 생성된 결정을 디메틸설폭사이드 100 μ l/웰에 용해시킨다. 이어서 595 nm 광의 흡수를 미세 플레이트 판독기로 측정한다. 처리되지 않은 세포의 광 흡수를 공지된 농도의 시편으로 처리된 세포의 것과 비교함으로써, 세포 증식을 50% 억제하는 시편 농도(IC₅₀)를 계산한다.

[0454] 2) 데하이드로페닐아히스틴 및 그의 동족체의 세포 주기 억제 활성

[0455] 세포 주기 A431은 인간 폐암으로부터 유도된다. 10% 소 태아 혈청 및 1% MEM 불 필수 아미노산 용액(SIGMA M2025)을 함유하는 EMEM 배양 배지를 사용하여 5% 이산화탄소 기체 및 수증기로 포화된 배양기 중에서 37 °C에서 A431 세포를 배양한다. 상기 방법에 의해 수득된 데하이드로페닐아히스틴의 정제된 시편을 대수 증식기의 세포에 가하고 상기 세포 주기의 진행을 유식 세포계 및 현미경 관찰에 의해 분석한다.

[0456] 실시예 6

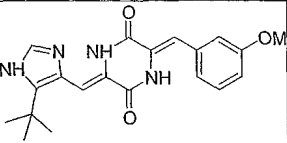
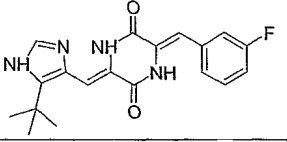
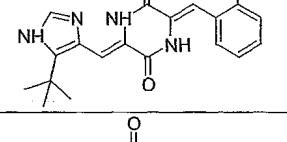
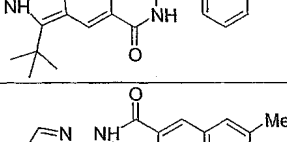
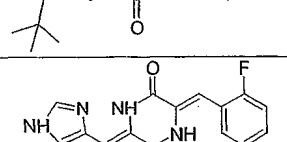
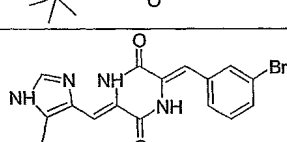
[0457] 합성된 데하이드로페닐아히스틴(데하이드로PLH) 유도체의 구조-활성 관계

[0458] 1) 유도체 합성에 대한 개요

[0459] 본 원에 개시된 데하이드로PLH 유도체의, 전부는 아니지만, 다수는 페닐 고리에 하나, 둘 또는 세 개의 변형을 포함한다(하기 도 5). 상기 유도체들을 상술한 방법에 의해 합성하였다. 표 5에 나타낸 바와 같이, 몇몇 화합물들은 데하이드로PLH 및 tBu-데하이드로PLH보다 더 효능 있는 세포독성 활성을 보였다. 3 nM의 EC50 값을 나타내는 가장 효능 있는 화합물은 KPU-90이었다. 이 값은 데하이드로PLH 및 tBu-데하이드로PLH의 값보다 각각 16 배 및 4 배 이상 더 컸다. 이들 유도체는 페닐 고리의 o- 또는 m-위치에서 할로젠 원자, 예를 들어 불소 및 염소 원자 또는 메틸, 비닐 또는 메톡시 그룹으로 일 치환된다. 나프탈렌, 티오펜 및 푸란 고리와 같은 헤테로아릴 구조에 치환체를 갖는 유도체들이 또한 효능 있는 활성을 도출시켰다. KPU-35, 42, 69, 80 및 81은 또한 tBu-데하이드로PLH보다 더 큰 활성을 나타내었다.

[0460] [표 5]

[0461] 효능 있는 합성 데하이드로PLH 유도체

화합물	화학식	EC ₅₀ (nM)
KPU-9		31
KPU-35		10
KPU-18		42
KPU-19		20
KPU-38		45
KPU-37		21
KPU-41		31

[0462]

화합물	화학식	EC ₅₀ (nM)
KPU-29		44
KPU-16		42
KPU-32		42
KPU-42		54
KPU-46		44
KPU-44		43
tBu-PLH (KPU-2)		13

[0463]

화합물	화학식	EC ₅₀ (nM)
KPU-69		16
KPU-80		13
KPU-81		19
KPU-90		3
데하이드로PLH (KPU-1)		48

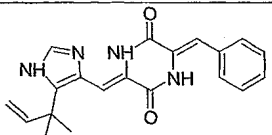
[0464]

[0465] 2) 페닐 고리에의 메톡시 그룹의 도입

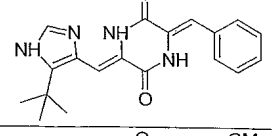
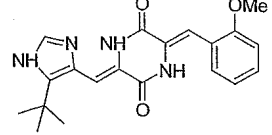
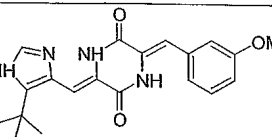
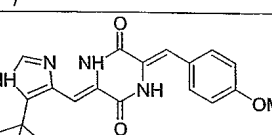
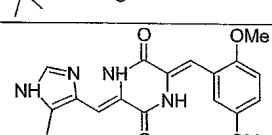
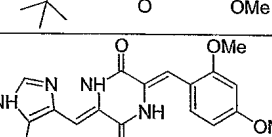
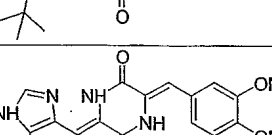
[0466] 콜히친은 β -튜불린 상의 동일한 결합 부위를 PLH로서 인식한다. 콜히친은 그의 A 및 B 고리 상에 4 개의 특징적인 메톡시 그룹을 갖는다. 단일 또는 다수 개의 메톡시 그룹에 의한 일련의 치환을 수행하였으며 세포독성 활성의 결과를 표 6에 나타낸다.

[0467] [표 6]

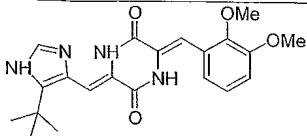
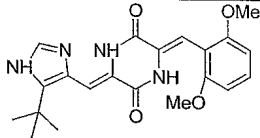
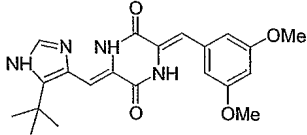
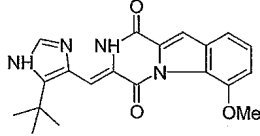
[0468] HT-29 세포의 증식에 대한 메톡시 그룹 치환의 효과

화합물	화학식	EC50 (nM)
테하이프로PLH (KPU-1)		48

[0469]

화합물	화학식	EC50 (nM)
tBuPLH (KPU-2)		13
KPU-8		89
KPU-9		31
KPU-6		6730
KPU-10		1350
KPU-12		4980
KPU-13		2130

[0470]

화합물	화학식	EC50 (nM)
KPU-14		610
KPU-15		4430
KPU-16		42
KPU-24		7040

[0471]

[0472]

결과는 상기 m- 또는 o-위치에서의 치환이 HT-29 세포에 대한 세포독성 활성을 증가시킴을 입증하였다. KPU-9 및 16은 높은 활성을 보였다. 3 중 치환을 갖는 메톡시 유도체(KPU-11, 17 및 45)가 또한 활성을 보였다. KPU-24의 구조를 MASS 분석에 의해 정하였다.

[0473]

3) 전자-회수 그룹에 의한 변경

[0474]

페닐 고리에 대한 보다 확장된 구조-활성 관계를 연구하기 위해서 일련의 상이한 작용기들을 도입시켰으며, 여기에는 전자-회수 그룹과 전자-공여 그룹이 모두 포함된다. HT-29 세포에 대한 세포독성의 결과를 각각 표 7 및 8에 나타낸다.

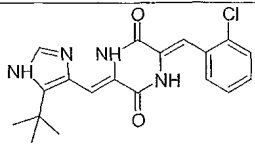
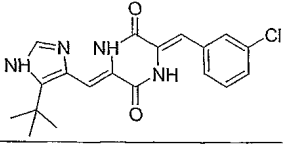
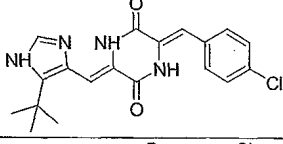
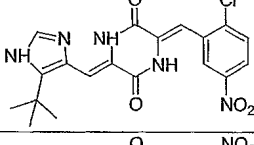
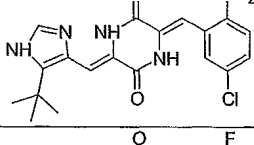
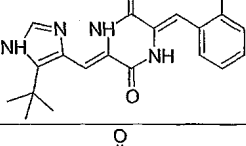
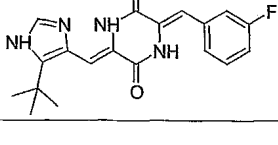
[0475]

상기 o- 또는 m-위치의 치환은 활성을 효과적으로 증가시켰다. 이러한 결과는 메톡시 그룹의 경우와 잘 일치하였다.

[0476]

[표 7]

[0477] HT-29 세포의 증식에 대한 전자-회수 그룹의 효과

화합물	화학식	EC ₅₀ (nM)
KPU-18		42
KPU-19		20
KPU-20		545
KPU-21		51
KPU-52		110
KPU-37		21
KPU-35		10

[0478]

화합물	화학식	EC ₅₀ (nM)
KPU-34		466
KPU-50		38
KPU-41		31
KPU-40		623
KPU-46		44
KPU-47		40
KPU-48		> 20 μM

[0479]

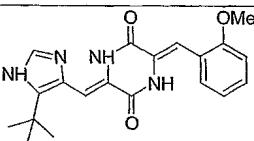
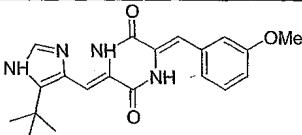
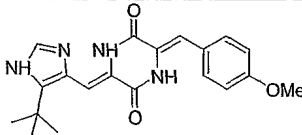
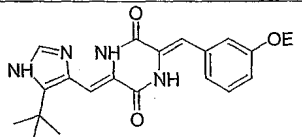
화합물	화학식	EC ₅₀ (nM)
KPU-49		28
KPU-43		> 20 μM

[0480]

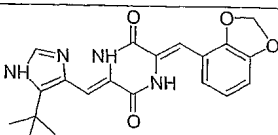
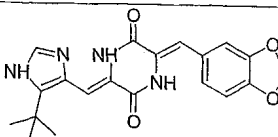
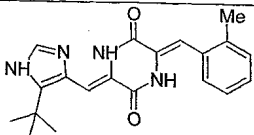
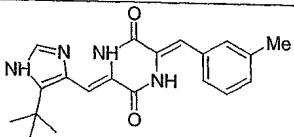
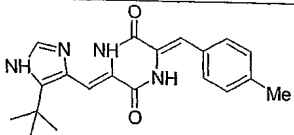
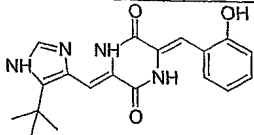
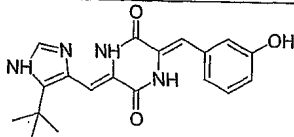
[0481]

[표 8]

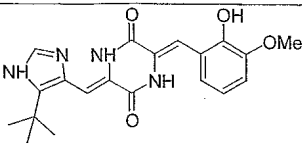
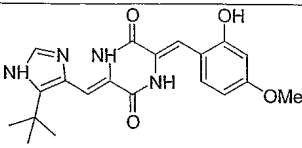
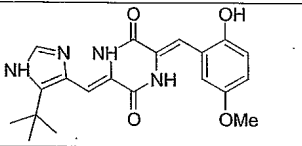
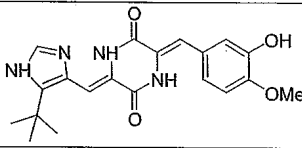
[0482] HT-29 세포의 증식에 대한 전자-공여 그룹의 효과

화합물	화학식	EC ₅₀ (nM)
KPU-8		89
KPU-9		31
KPU-6		6730
KPU-44		43

[0483]

화합물	화학식	EC ₅₀ (nM)
KPU-30		477
KPU-22		82
KPU-32		42
KPU-38		45
KPU-39		460
KPU-53		> 20 μM
KPU-51		617

[0484]

화합물	화학식	EC ₅₀ (nM)
KPU-23		5870
KPU-58		>20 μM
KPU-54		> 20 μM
KPU-57		> 20 μM

[0485]

[0486]

본 내용은 임의의 특정한 과학 이론에 얽매이거나 제한되지 않는다. 그럼에도 불구하고, 당해 분야의 숙련가는 본 발명에 제공된 결과들을, 입체 장애에 적게 작용하는 비교적 보다 작은 작용기가 보다 효능 있는 활성을 유도하는데 바람직하고 에톡시 그룹(메톡시 그룹에 비해) 또는 Br 원자(Cl 원자에 비해)와 같은 약간 큰 그룹은 예를 들어 튜블린 결합 부위와의 상호작용에 불리한 입체 장애 작용을 할 수 있음을 암시하는 것으로 해석할 수 있음을 인식한다. 더욱이, 이들 치환체의 전기적 성질은 상기 활성에 영향을 미치지 않기 때문에, 상기는 상기 비교적 작은 치환체들이 β-튜블린의 결합 부위와 직접 상호 작용하는 것이 아니라 상기 결합에 적합한 데하이드로PLH의 형태를 제한함을 암시한다. 그렇지 않으면, 또 다른 가능한 가설로서, 상기 소수성 성질은 β-튜블린 상의 o- 또는 m-위치의 결합 부위에서 보다 중요한 인자일 수 있으며, 따라서 수소 공여체로서 수소 결합을 형성할 수 있는 친수성 하이드록실 그룹의 도입은 상기 활성을 극적으로 감소시켰다.

[0487]

표 9에 나타난 바와 같이, 상기 o-위치에서 세포독성 활성에 대한 치환체들의 효과를 표 10에 나타낸, m-위치의 경우에서와 같이 정렬시킬 수 있다. tBu-데하이드로PLH보다 더 큰 활성을 나타낸 유효 작용기들을 갖는 화합물들을 또한 추가로 변경시킬 수 있다. 가시광선 조사 하에서 Z에서 E로의 입체 화학의 이동이 관찰되었기 때문에, 공액된 이중 결합에서 전자 밀도를 감소시키는 치환체들은 상기 광선에 의한 Z에서 E로의 환원적 이동에 기여하여 보다 물리화학적으로 안정한 구조를 생성시킨다. 온도가 또한 상기 이동에 영향을 미칠 수 있다.

[0488]

상기 고리의 두 부분에서의 변경은 효능이 있을 뿐만 아니라 생물학적으로 안정한 화합물을 개발하는데 바람직할 수 있다. 상기 페닐아히스틴의 페닐 고리는 시토크롬 P-450에 의해 산화된다. 따라서 상기 페닐 고리의 전자 밀도를 감소시키는 이중 변경은 P-450의 산화를 피하는데 유효할 수 있다. 따라서, 상기 작은 전자 회수 그룹, 예를 들어 불소 원자의, 상기 활성을 증가시킬 수 있는 원소, 예를 들어 -OMe, -Me, -Cl, -F 및 Br에의 결합은 보다 효능 있고 생물학적으로 안정한 약물 화합물을 생성시킬 수 있다.

[0489]

[표 9]

[0490] o-위치에서의 변경에 대한 요약

화합물	화학식	EC ₅₀ (nM)
KPU-2		48
KPU-8		89
KPU-37		21
KPU-18		42
KPU-50		38

[0491]

화합물	화학식	EC ₅₀ (nM)
KPU-46		44
KPU-32		42
KPU-53		> 20 μM

[0492]

[0493] [표 10]

[0494] m-위치에서의 변경에 대한 요약

화합물	화학식	EC ₅₀ (nM)
KPU-2		48
KPU-9		31
KPU-35		10
KPU-19		20

[0495]

화합물	화학식	EC ₅₀ (nM)
KPU-41		31
KPU-47		40
KPU-38		45
KPU-51		617
KPU-49		28
KPU-44		43

[0496]

[0497] 4) 페닐 고리의 아릴-헤테로사이클로의 치환

[0498] 페닐 고리를 또한 헤테로아릴 그룹에 의해 치환시킬 수 있다. 세포독성 활성화에 관한 상기와 같은 치환의 결과를 표 11에 나타낸다. 아릴 질소 원자는 디케토피페라진 고리의 NH 그룹과 수소 결합을 형성할 수 있고 피리딘과 디케토피페라진 고리간의 분자의 형태를 평면상에 있는 구조로 제한할 수 있기 때문에, 테하이드로PLH의 활성 형태는 디케토피페라진 고리의 아미드 수소 원자와 페닐 고리의 o-수소 원자간의 입체 반발에 의해 형성된

특정 수준의 2 면각을 필요로 할 것이다(도 6).

[표 11]

HT-29 세포의 증식에 대한 헤테로아릴 고리에 의한 치환 효과

화합물	화학식	EC ₅₀ (nM)
KPU-28		>20 nM
KPU-31		96
KPU-25		544
KPU-33		>20 nM
KPU-26		600
KPU-60		71
KPU-42		54

화합물	화학식	EC ₅₀ (nM)
KPU-27		80
KPU-29		44
KPU-61		184
KPU-36		2790
KPU-63		105

[0502]

[0503]

페닐 고리의 보다 작은 푸란 또는 티오펜 고리에 의한 치환, 예를 들어 KPU-29 또는 -42는 활성을 나타내었다. 상기 페닐 고리를 상기 효능 활성을 유지시키면서 다른 방향족 구조로 변화시킬 수 있다.

[0504]

5) 페닐아히스틴의 대사

[0505]

최근의 연구에서, (±)-페닐아히스틴을 래트 간 미립체 또는 인간 간 P450으로 처리하였다. 인간의 경우, 7 개 이상의 대사산물을 검출하였으며, 이들 중 2 개, 즉 P1 및 P3이 회수된 대사산물의 60% 이상을 차지하는 주요 대사산물이었다.

[0506]

tBu-데하이드로PLH에는 엑소-올레핀 구조가 존재하지 않기 때문에, 본 발명의 합성된 유도체들은 P1 및 P4 같은 산화를 갖지 않는다. 그러나, P3 및 P5와 같은 산화는 간 대사 중에 형성된다. 상기와 같은 대사를 방지하는 다양한 유도체들이 페닐 고리에서의 P450 산화를 피하는데 유효하다. 상기 이미다졸 고리를 또한 변경시켜 상기 바람직하지 못한 산화를 피할 수 있다.

[0507]

6) 데하이드로PLH의 물리화학적 안정성

[0508]

물리화학적 안정성은 데하이드로PLH의 바람직하지 못한 문제들 중 하나이다. 페닐아히스틴에서, 벤질 부분에 추가의 올레핀 구조가 존재하지 않기 때문에, 상기와 같은 문제는 없다. 그러나, 데하이드로PLH에서는 상기 벤질리덴 잔기가, 추정 상 가시 광선에 의해 쉽게 활성화될 수 있으며, 이중 결합의 보다 긴 연결의 존재로 인해 Z에서 E로의 이동이 빈번히 발생한다. 이러한 이동은 심지어 통상적인 실내 광 하에서도 발생하였다. 세포독성 분석에서, 비록 상기 화합물들 중 일부는 배양 도중 E-형태로 이동하지만, 이러한 이동은 데하이드로PLH의 경우에 추정 상 1:1 비로 평형을 유지한다. 이러한 이동은 조절될 수 있다. Z에서 E로의 이동은 또한 동일한 유형의 튜블린 억제제인 콤프레타스타틴 A4에서도 알려져 있으며, 이러한 문제를 개선시키기 위한 몇몇 연구들이 보고되었다.

[0509]

7) 전구약물 합성

[0510]

E-형태를 또한 데하이드로PLH 또는 본 원에 개시된 동족체들을 포함한, 그의 동족체들 중 하나 이상의 전구약물

로서 사용할 수 있다. 항-튜블린 약물의 바람직하지 못한 성질들 중 하나는, 비록 상기 약물이 분자 표적 요법 중 하나에 속하기는 하지만, 종양과 완전한 조직간의 낮은 선택성이다. 이는 바람직하지 못한 부작용을 일으킨다. 그러나, 상기 화합물이 단지 종양 조직에만 선택적으로 작용하는 경우 항-미세관 약물의 부정적인 부작용들을 감소시킬 수 있다. 테하이드로PLH(Z-형태)를 가시 광선 조사에 의해 그의 E-이성체로부터 생성시킬 수 있기 때문에, 상기 E-형태를 투여하고 오직 종양 조직에만 광 조사를 수행하면, 상기 종양만이 광-생성된 Z-형태에 의해 손상되어 완전한 조직에 대한 부작용이 감소된다.

[0511] 상기 E-형태를 벌키하지만 생분해성인 아실 그룹(이는 전구약물로서 디케토피페라진 고리에 도입된다)의 첨가에 의해 화학적으로 보호할 수 있다. 상기 아실 그룹은 체 내에서 프로테아제에 의해 절단될 수 있다. 따라서, 상기 아실화된 E-화합물을 투여 전에 유지시키고, 이어서 투여 후에 상기 화합물은 진정한 E-형태로 변화되어 국소적인 광 조사에 의해 생물 활성인 Z-형태로 이동할 수 있다.

[0512] tBu-테하이드로PLH의 이러한 아실-E-형태의 합성 반응식을 도 9에 요약한다.

[0513] 실시예 7

[0514] 합성된 테하이드로페닐아히스틴의 약학 제형

[0515] 1) 정맥 내로, 점적 주입, 주사, 주입 등에 의해 투여되는 제형

[0516] 5 g의 분말 글루코스를 함유하는 바이알들에 각각 상기 방법에 의해 합성된 화합물 10 mg을 무균적으로 가하고 밀봉시킨다. 질소, 헬륨 또는 다른 불활성 기체를 충전시킨 후에, 상기 바이알들을 냉각된 암실에서 보관한다. 사용 전에, 상기 내용물을 에탄올에 용해시키고 0.85% 생리 염수 용액 100 ml에 가한다. 생성 용액을 당해 분야의 통상적인 숙련가에 의해 적합한 것으로 간주되는 바와 같이, 정맥 내로, 점적 주입에 의해, 또는 피하 또는 복강 내 주사를 통해 약 10 ml/일 내지 약 1000 ml/일로, 암성 종양이 있다고 진단된 인간에게 상기와 같은 종양의 성장을 억제하는 방법으로서 투여한다.

[0517] 2) 경구 등에 의해 투여되는 제형

[0518] 상기 방법에 의해 합성된 화합물 1 g, 락토오스 98 g 및 하이드록시프로필 셀룰로즈 1 g을 철저히 혼합하여 수득한 혼합물을 임의의 통상적인 방법에 의해 과립으로 제조한다. 상기 과립을 철저히 건조시키고 체질하여 병으로 또는 가열 밀봉에 의해 패키징하기에 적합한 과립 체제를 수득한다. 생성된 과립 체제를 증상에 따라, 인간의 암 종양 치료 분야의 통상적인 숙련가에 의해 적합한 것으로 간주되는 바와 같이, 약 100 ml/일 내지 약 1000 ml/일로 경구 투여한다.

[0519] 3) 국소적으로 투여되는 제형

[0520] 유효량의 화합물을 개인에게 투여하는 것을 또한 상기 개인의 피부의 병에 걸린 영역에 직접 상기 화합물(들)을 투여함으로써 국소적으로 수행할 수 있다. 이를 위해서, 투여되거나 적용되는 화합물은 약리학적으로 허용 가능한 국소 담체, 예를 들어 겔, 연고, 로션 또는 크림, 예를 들어 비 제한적으로 물, 글리세롤, 알콜, 프로필렌, 글리콜, 지방 알콜, 트리글리세라이드, 지방 에스테르 또는 광물성 오일과 같은 담체를 포함하는 조성물의 형태 중에 있다. 다른 국소 담체로는 액체 석유, 이소프로필 팔미테이트, 폴리에틸렌 글리콜, 에탄올 (95%), 수 중 폴리옥시에틸렌 모노라우레이트(5%) 또는 수 중 나트륨 라우릴 설페이트(5%)가 있다. 다른 물질들, 예를 들어 산화 방지제, 보습제, 점도 안정제 및 유사한 작용제들을 경우에 따라 가할 수도 있다. 피부 침투 촉진제, 예를 들어 아존(Azone)을 또한 포함할 수도 있다. 또한, 몇몇 경우에, 상기 화합물을 피부 위, 피부 중 또는 피부 아래 놓이는 장치와 함께 배치할 수도 있음이 예상된다. 상기와 같은 장치로는 패치, 이식편, 및 상기 화합물을 수동 또는 능동 방출 기전에 의해 피부로 방출시키는 주사가 있다.

[0521] 실시예 8

[0522] KPU-2, KPU-35 및 t-부틸 페닐아히스틴의 생체 외 약물학

[0523] KPU-2, KPU-35 및 t-부틸 페닐아히스틴을 사용하여 수행된 상기 생체 외 효능 연구는 A) 6 개의 종양 세포 주

패널; B) 다중약물-내성 종양 세포에 대한 연구 및 C) 작용 기전을 결정하기 위한 연구를 포함하였다.

[0524] A) 6 개의 종양 세포 주 패널에서 KPU-2, KPU-35 및 t-부틸 페닐아히스틴의 연구

[0525] 하기의 세포 주(괄호 안에 출처를 표기함)를 사용하였다: HT29(인간 결장 종양, ATCC; HTB-38), PC3(인간 전립선 종양, ATCC; CRL-1435), MDA-MB-231(인간 유방 종양; ATCC; HTB-26), NCI-H292(인간 비 소 세포 폐 종양; ATCC; CRL-1848), OVCAR-3(인간 난소 종양; ATCC; HTB-161), B16-F10(쥐 흑색종; ATCC; CRL-6475) 및 CCD-27sk(정상적인 인간 섬유아세포; ATCC; CRL-1475). 세포들을 각각의 배양 배지에서 합류점 이하의 밀도로 유지시켰다.

[0526] 세포독성 분석을 세포 생존력의 지표로서 레사주린 형광을 사용하여 실시예 4에 상술한 바와 같이 수행하였다.

[0527] 개시된 화합물은 다양한 상이하고 독특한 종양 세포 주들에 대한 유효 약제들이다. 구체적으로, 예를 들어 KPU-2 및 KPU-35는 유효성(저 나노몰 범위에서 활성임) 및 효능(최대의 세포독성 효과에 대해서 가장 반응성임) 모두에 있어서 HT-29 종양 세포 주에 가장 효과적이었으며; t-부틸-페닐아히스틴은, 비록 가장 큰 효능은 HT-29 세포 주에 대해 나타내었지만, PC-3 종양 세포 주에 대해 가장 큰 유효성을 나타내었고; KPU-2 및 KPU-35는 일반적으로 t-부틸-페닐아히스틴보다 10 내지 40 배 더 큰 유효성을 보인 반면, 효능은 상이한 종양 세포 주들에서 상기 3 개의 모든 화합물들에 대해 유사하였으며; HT-29, PC-3, MDA-MB-231 및 NCI-H292 종양 세포 주는 모두 NPI 화합물에 대해 유사성을 나타낸 반면, B16-F10은 감수성이 다소 적은 것으로 나타났다. t-부틸-페닐아히스틴은 정상적인 섬유아세포와 종양 세포 주간에 현저한 차이를 보였으며, 이때 비율 범위는 OVCAR-3 세포 주를 제외하고 >20->100이었다.

[0528] [표 12]

[0529] 종양 패널 선별에서 KPU-2, KPU-35 및 t-부틸 페닐아히스틴의 활성

세포 주	KPU-2			KPU-35			t-부틸-페닐아히스틴		
	평균	SD	n	평균	SD	n	평균	SD	n
HT-29 결장									
IC50 nM	9.8	2.4	4	8.2	2.0	4	420	473	3
세포독성%	82.5	5.3	4	81.3	4.0	4	88	0.2	3
PC-3 전립선									
IC50 nM	13.4	0.7	4	13.2	2.5	4	174	-	2
세포독성%	60.3	2.1	4	56.8	1.0	4	59.5	-	2
MDA-MB-231 유방									
IC50 nM	13.8	1.9	3	9.7	4.2	4	387	-	2
세포독성%	56.7	7.2	3	59.3	5.6	4	65.5	-	2
NCI-H292 폐									
IC50 nM	17.5	1.1	4	15.9	1.1	4	384	194	3
세포독성%	70.5	2.9	4	68.5	2.9	4	65	5	3
OVCAR-3-난소									
IC50 nM	>20,000	-	4	>20,000	-	4	>20,000	-	2
세포독성%	45.8	3.0	4	39	2.2	4	37	-	2
B16-F10 흑색종									
IC50 nM	37.1	26.3	4	32.3	19.9	4	736	650	3
세포독성%	71.8	2.5	4	72.0	2.2	4	74	2	3
CCD-27sk 섬유아세포									
IC50 nM	9.2	2.9	4	7.4	2.6	4	>20,000	-	2
세포독성%	64.3	2.4	4	60.8	1.9	4	45	-	2

[0530] B) 약물 내성 세포 주에 대한 연구

[0531] 임상 종양학에서 화학요법제의 사용에 있어서 주요 도전 중 하나는 종양 세포에 의한 약물 효과에 대한 내성의 발생이다. 내성의 발생에 대해 다수의 기전들이 존재하는데, 이들은 각각 화학요법 약물에 대해 상이한 효과를 가질 것이다. 이러한 기전은 ATP-의존성 유출 펌프, 예를 들어 MDR1에 의해 암호화된 P-당단백질 또는 MRP1에 의해 암호화된 다중약물-내성 관련된 단백질 1의 증가된 발현을 포함한다. 감소된 약물 흡수, 약물 표

적의 변경, 약물-유도된 DNA 손상의 보수 증가, 세포사멸 경로의 변경 및 시토크롬 P450 효소의 활성화가 암 세포가 항암 약물에 내성으로 되는 기전의 다른 예들이다. 선택된 약물들을 2 개의 상이한 내성 기전, 즉 상기 P-당단백질의 과 발현 및 변경된 국소이성화효소 II 활성을 나타내는 3 개의 상이한 세포 주에서 연구하였다.

[0532] 1) 인간 자궁 육종 종양 세포 주 한 쌍: MES-SA(탁솔 감수성) 및 MES-SA DX(탁솔 내성)

[0533] 상기 세포 주는 상승된 *mdr-1* mRNA 및 P-당단백질(압출 펌프 기전)을 발현한다. 사이클로스포린-A(CsA)에 의한 전 처리는 P-당단백질을 차단하며 내성이 상승된 P-당단백질에 기인하는 화합물들의 경우 내성 세포 주에서 활성을 회복시킨다.

[0534] 표 13으로부터 알 수 있는 바와 같이, KPU-2 및 KPU-35는 감수성 주에서와 같이 내성 세포 주에서도 동일한 유효성을 가지며, t-부틸-페닐아히스틴의 유효성은 단지 약간 감소되었다. 사이클로스포린 A(CsA) 전 처리는 상기 선택된 화합물들의 유효성을 변경시키지 않았다. 대조적으로, 탁솔은 MES-SA DX 내성 세포 주에서 실제로 불활성인 반면, 상기 화합물은 감수성 세포 주에서 매우 효능이 있었다. CsA 처리는 MES-SA DX 세포 주의 탁솔에 대한 감수성을 복원시켰다. MES-SA DX 세포 주는 또한 에토포시드(60 배), 독소루비신(34 배) 및 미토잔트론(20 배)에 대해 감소된 감수성을 보였다.

[0535] 이러한 데이터는 KPU-2, KPU-35 및 t-부틸-페닐아히스틴의 효과가 상기 세포 주에서 탁솔-관련 내성 기전(p-당단백질)에 민감하지 않으며, 탁솔로부터의 교차 내성이 상기 모델에서 이들 선택된 화합물들에 대해 발생하지 않음을 가리킨다.

[0536] [표 13]

[0537] MES-SA 탁솔 감수성 MES-SA DX 탁솔 내성 인간 자궁 육종 종양 세포 주에 대한 KPU-2, KPU-35, t-부틸-페닐아히스틴 및 탁솔의 활성

연구 화합물	MES-SA 감수성			MES-SA DX 내성			
	CsA 없음	CsA 전 처리		CsA 없음		CsA 전 처리	
	IC50 nM	IC50 nM	비율 CsA 없음	IC50 nM	비율 MES-SA	IC50 nM	비율 CsA 없음
KPU-2							
연구 I	8.5	-	-	10.5	1.2	-	-
연구 II	19.4	27.4	1.4	21.7	1.1	37.8	1.74
KPU-35							
연구 I	6.6	-		5.2	0.8	-	-
연구 III	3.9	2.0	0.5	2.5	0.6	6.7	2.7
t-부틸-페닐아히스틴							
연구 I	144	-	-	825	5.7	-	-
연구 III	122	162	1.3	694	4.3	622	0.9
탁솔							
연구 I	4.4	-	-	>20,000	>455	-	-
연구 II	13.3	7.6	0.6	>>100	>>8	40	<<0.25
연구 III	7.3	2.8	0.4	>24,000	>3000	2.0	<<0.001

[0538] 2) 인간 급성 전골수구 백혈병 세포 주 한 쌍: HL-60(미토잔트론-감수성) 및 HL-60/MX-2(미토잔트론-내성)

[0539] 상기 세포 주는 P-당단백질의 과 발현 없이 변경된 국소이성화효소 II 촉매 활성을 갖는 비 전형적인 약물 내성을 갖는 것으로 간주된다.

[0540] 표 14에서 알 수 있는 바와 같이, 결과는 선택된 신규 화합물의 유효성이 감수성 및 내성 HL-60 세포 주에서 매우 유사함을 가리킨다. 대조적으로 미토잔트론은 내성 HL-60/MX-2 세포 주에서 24 배의 인자까지 효능을 상실한다.

[0541] 따라서, KPU-2, KPU-35 및 t-부틸-페닐아히스틴은 상기 세포 주에서 미토잔트론과 동일한 내성 기전에 민감하지 않으며 상기 모델에서 이들 선택된 신규 화합물에 대한 미토잔트론으로부터의 교차 내성이 존재하지 않는다.

[0542] [표 14]

HL-60 인간 급성 전골수구 백혈병 종양 감수성 및 내성 세포 주 한 쌍에서 KPU-2, KPU-35, t-부틸-페닐아히스틴 및 탁솔의 활성			
화합물	HL-60 감수성	HL-60 내성	
	IC50 nM	IC50 nM	감수성에 대한 비율
KPU-2	6.4	8.17	1.28
KPU-35	9.2	7.3	0.79
t-부틸-페닐아히스틴	255	175	0.69
미토잔트론	202	4870	24.1

[0544] 3) 인간 유방 암 세포 주 한쌍: MCF-7(탁솔 감수성) 및 MCF-7/ADR(탁솔 내성)

[0545] 본 연구는 탁솔과 비교된 KPU-2를 포함하였다. KPU-2는 상기 세포 주 한 쌍의 감수성 및 내성 일원 모두에서 유사한 유효성을 나타내었다. 대조적으로, 탁솔은 상기 내성 세포 주에서 실제로 불활성인 반면 상기 감수성 세포 주에서는 낮은 나노몰 유효성이 존재하였다(표 15).

[0546] 이러한 연구는 탁솔 내성이 KPU-2로 전달되지 않는 상이한 인간 종양 세포 주에서 입증된다.

[0547] [표 15]

MCF-7 인간 유방 암 감수성 및 내성 세포 주 한쌍에서 KPU-2 및 탁솔의 활성			
화합물	MCF-7 감수성	MCF-7/ADR 내성	
	IC50 nM	IC50 nM	감수성에 대한 비율
KPU-2	39.6	27.4	0.69
탁솔	2.6	>>100	>>38

[0549] C) 작용 기전에 대한 연구

[0550] 1) 미세관 기능에 대한 작용

[0551] 인간 배꼽열 정맥 내피 세포(캄브렉스(Cambrex)로부터 HuVEC)를, α -튜불린을 염색함으로써 튜불린에 대한, 콜히친 및 탁솔과 비교된, KPU-2 및 t-부틸-페닐아히스틴의 영향을 평가하기 위해서 본 연구에 사용하였다.

[0552] KPU-2, t-부틸-페닐아히스틴 또는 콜히친(모두 2 μ M)에 대한 30 분의 노출이 미세관 탈 중합을 유도한 반면 [HuVEC 세포에서 DMSO 대조군 및 세포막 수포 발생(세포사멸의 분명한 표시)에서 관찰된 것과 대조적으로 완전한 미세관 구조의 결여에 의해 지시됨], 탁솔은 이러한 조건 하에서 미세관 탈 중합을 유도하지 않았다. 콜히친은 공지된 미세관 탈 중합제인 반면, 탁솔은 튜블린 안정화제이다. CCD-27sk 세포를 KPU-2 또는 콜히친에 노출시켰을 때에도 유사한 결과를 수득하였다.

[0553] 2) 세포사멸의 유도

[0554] 세포사멸 및 그의 조절장애는 종양학에서 중요한 역할을 하며; 종양 세포에서 프로그램화된 세포사 주기의 선택적인 유도가 다수의 화학요법 약물 발견 프로그램의 목적이다. 이러한 세포사멸의 유도는 특징적인 세포막 수포발생, DNA 단편화, 세포사멸 억제 인자 Bcl-2의 과인산화, 카스파제 연속단계의 활성화 및 폴리(ADP 리보오즈) 폴리머라제(PARP)의 절단을 포함한 상이한 방법들에 의해 입증될 수 있다.

[0555] 세포사멸 세포사의 특징적인 신호는 세포막 수포발생, 핵의 파괴, 세포 수축 및 축합, 및 괴사성 세포사와 매우 구별되는 최종적인 세포사를 포함한다. KPU-2는 인간 전립선 종양 세포에서 초기 세포사멸과 관련된 전형적인 형태적 변화를 유도하였다. 유사한 발견은 KPU-2에 의한 HuVEC 세포의 치료에서 또한 분명하였다.

[0556] 3) DNA 단편화

[0557] 세포사멸의 말기 특징은 겔 전기영동에 의해 가시화될 수 있는 독특한 사다리 패턴을 생성시키는 뉴클레오솜간 DNA 절단이다. 이러한 접근방법을 사용하여, 할미미드 및 데하이드로페닐아히스틴(KPU-1)과 비교된, 주르캣 (JurKat) 세포(인간 T 백혈병 세포 주)에서 DNA 사다리화에 대한 KPU-2의 영향을 연구하였다. KPU-2는 1 nM 농도에서 DNA 사다리화를 유도한 반면 할미미드 및 KPU-1은 유효성이 훨씬 적었다.

[0558] 4) 카스파제 연속단계의 활성화

[0559] 카스파제-3, -8 및 -9를 포함한 카스파제 연속단계의 여러 효소들이 세포사멸 중에 활성화된다. 카스파제-3의 활성을 KPU-2, KPU-35 및 t-부틸-페닐아히스틴으로 처리한 주르캣 세포에서 모니터링하였다.

[0560] 결과는 카스파제-3이 할미미드와 유사한 방식으로 3 개 화합물 모두의 처리에 의해 용량-의존적인 방식으로 활성화되었음을 가리킨다. 상기 카스파제-3 활성화는 주르캣 세포 주에서 세포독성에 대한 IC50에 관한 유사한 농도 범위에 걸쳐 발생하였다(표 16).

[0561] [표 16]

[0562]

주르캣 세포에서 KPU-2, KPU-3, t-부틸-페닐아히스틴의 세포독성		
NPI 화합물	세포 독성	
	유효성 IC50 nM	효능 세포사%
KPU-2	11	94
KPU-35	5	93
t-부틸-페닐아히스틴	165	93
미토잔트론	41	99

[0563] 5) 주르캣 세포에서 폴리(ADP-리보오즈)폴리머라제(PARP)의 절단

[0564] 주르캣 세포에서 세포사멸을 유도하는 이들 화합물의 능력을 평가하기 위해서, 폴리(ADP-리보오즈)폴리머라제 (PARP)의 절단을 모니터링하였다. PARP는 카스파제-3의 주요 세포 내 표적들 중 하나인 116 kDa 핵 단백질이다.

PARP의 절단은 안정한 89 kDa 생성물을 생성시키며, 상기 공정은 웨스턴 블롯팅에 의해 쉽게 모니터링할 수 있다. 카스파제에 의한 PARP의 절단은 세포사멸의 보증 중 하나이며, 그 자체로가 상기 공정에 대한 탁월한 마커로서 작용한다. KPU-2는 100 nM에서 상기 세포를 상기 화합물에 노출시킨 지 10 시간째에 주르캣 세포에서 PARP의 절단을 유도하였다. KPU-2는 할미미드나 KPU-1보다 더 활성이 있는 것으로 나타났다.

[0565] 6) HuVEC 세포에서 향상된 혈관 침투성

[0566] 미소관을 탈 중합시키는 화합물(예를 들어 콤프레타스타틴 A-4-포스페이트, ZD6126)은 생체 내 종양에서 혈관 붕괴를 유도하는 것으로 밝혀졌다. 이러한 혈관 붕괴에는 처음에 전해질 및 바로 후에 큰 분자들에 대한 혈관 세포 침투성의 빠른 유도가 선행된다. 형광-표지된 텍스트란에 대한 HuVEC 세포의 향상된 침투성을 혈관 붕괴에 대한 대리 분석으로서 사용한다.

[0567] KPU-2, KPU-35 및 t-부틸-페닐아히스틴은 모두 콜히친과 유사한 정도로 현저한 HuVEC 단층 침투성을 빠르게(1 시간 이내에) 유도하였다. 미소관 안정화제인 탁솔은 상기 분석에서 불활성이었다(도 12).

[0568] 7) 광범위한 키나제 선별의 프로파일

[0569] KPU-2를 처음에는 60 개의 상이한 키나제들의 패널에서 10 μ M의 농도로 선별하였으며; ATP 농도는 10 μ M이었다. 4 개의 키나제가 1 차 선별에서 50% 이상까지 억제되었으며 2 차 선별에서 측정된 IC50을 표 17에 나타낸다. 상기 IC50 값들은 모두 낮은 마이크로몰 범위에 있으며, 이는 상기 키나제들의 억제가 종양 세포 세포독성의 경우 관찰된 낮은 나노몰 활성들과 관련이 없음을 가리킨다.

[0570] [표 17]

[0571]

선택된 키나제에 대한 KPU-2의 활성	
키나제	IC50(μM)
CDK1/사이클린 B(인간)	10.1
c-RAF(인간)	8.9
JNK3(랫트)	6.8
Lyn(마우스)	11.1

[0572] 실시예 9

[0573] 생체 내 약물학

[0574] KPU-2에 대한 예비 연구를 마우스에서 MX-1(유방) 및 HT-29(결장) 이종이식편 모델 및 P-388 쥐 백혈병 종양 모델을 사용하여 수행하였다. 생체 외 종양 패널에서 활성을 기준으로 선택된 다른 종양 모델들은 DU-145(전립선), MCF-7(유방) 및 A549(폐) 세포 주였다. 인간 췌장 종양(MiaPaCa-2)을 또한 포함시켰다. 신규 화합물들을 단일요법으로서 및 임상적으로 사용된 화학요법제와 함께 연구하였다. 선택된 신규 화합물들의 용량을 급성 허용성 시험(최대로 허용되는 용량, MTD)으로부터 측정하였으며 경우에 따라 각 연구 중에 조절하였다. 상기 임상적으로 사용된 화학요법제의 용량을 병력 연구를 근거로 선택하였다.

[0575] KPU-2는 이들 5 개의 종양 모델에서 연구된 첫 번째 화합물이었다. 상기 연구로부터의 처음 결과에 따라, 3 개 화합물 모두를 HT-29 인간 결장 종양, DU-145 인간 전립선 및 MCF-7 인간 유방 종양 이종이식편 모델에서 비교하였다.

[0576] 상기 모델들은 모두 피하 이종이식편 이식 기법을 사용하며 잠재적으로 피하 혈관에 대한 확대된(또는 명백한) 종양 억제 활성을 생성시키는 화합물의 선택적인 영향을 받을 수 있다. 이러한 가능성을 우회하기 위해서, 2 개의 다른 종양 모델을 상기 조사에 포함시켰다. 이들 중 하나는 B16-F10 마우스 흑색종 종양 세포의 정맥 내 주입에 따른 폐 전이의 관찰이다. 다른 모델은 마우스 유방 지방 덩어리에 MDA-231 인간 유방 종양 세포의 이식이다. 상기 나중의 모델은 이종이식 모델이지만, 피하 맥관구조의 역할은 없다.

[0577] 방법

[0578] 1) 이종이식 모델

[0579] 사용된 동물은(개별적인 연구에 대해 지시된 것을 제외하고) 5 내지 6 주 된(~20 g, Harlan) 암컷 누드 마우스(nu/nu)였으며; 그룹 크기는 달리 나타내지 않는 한 그룹 당 9 내지 10 마리의 마우스였다.

[0580] 종양 이식에 사용된 세포 주는 HT-29 인간 결장 종양; MCF-7 인간 유방 종양; A549 인간 비 소 세포 폐 종양; MiaPaCa-2 인간 췌장 종양; DU-145 인간 전립선 종양이었다.

[0581] 선택된 신규 화합물들을 단일요법으로서 복강 내(i.p.) 경로를 통해 상기 개별적인 연구에 대해 지시된 용량으로 투여하였으며; 병행 연구의 경우 선택된 참조 화학요법제를 상기 화합물보다 15 내지 30 분 전에 주입하였다.

[0582] 이들 연구에 사용된 비히클은 선택된 신규 화합물들에 대해서 12.5% DMSO, 5% 크레마포어(Cremaphor) 및 82.5% 땅콩 오일; (1:3) 폴리소르베이트 80:13% 에탄올(탁스테레의 경우); (1:1) 크레마포어:에탄올(페클리탁셀의 경우); CPT-11에 대해서 용액 각 ml은 20 mg의 이리노테칸 하이드로클로라이드, 45 mg의 소르비톨 NF 분말 및 0.9 mg의 락트산을 함유하였으며, pH를 NaOH 또는 HCl로 7.4로 조절하였다. 염수 희석을 사용하여 참조 화합물에 대해 사용되는 주입 농도를 성취한다.

[0583] HT-29 인간 결장 종양 모델

[0584] 동물들에게 투관침에 의해 누드 마우스 숙주에서 피하 성장하는 종양으로부터 수확한 HT-29 종양 단편들을 피하(s.c.)로 이식하였다. 상기 종양 크기가 5 mm x 5 mm에 도달하면(약 10 내지 17 일), 동물들을 처리 및 대조

그룹으로 경쟁시켰다. 마우스의 종양을 매주 2 회 측정하고 종양을 제 1 일에 출발하여 매주 2 회 캘리퍼스를 사용하여 측정하였다. 종양 측정치를 식 ($W^2 \times L$)/2를 사용하여 전환시켜 종양 중량 mg을 평가하였다. 대조용 그룹의 평가된 종양 중량이 평균 1000 mg에 도달했을 때 상기 마우스의 체중을 측정하고, 죽어 종양을 제거하였다. 상기 종양의 중량을 측정하고 그룹 당 평균 종양 중량을 계산하여 종양 성장 억제(TGI)를 각 그룹에 대해 측정하였다($100\% - \text{평균 처리된 종양 중량 변화} / \text{평균 대조용 종양 중량 변화} \times 100$).

[0585] 상기 모델에서 개별적인 연구에 대해 달리 나타내지 않는다면, 선택된 신규 화합물들을 15 일간 매 3 일마다 (1, 4, 8, 11 및 15 일(q3dx5)) 복강 내로 주입하고; CPT-11을 제 1, 8 및 15 일째(qwx3)에 복강 내로 투여하였다.

[0586] MCF-7 인간 유방 종양 모델

[0587] 암컷 누드 마우스(~20 g)에게 MCF-7 종양 단편(누드 마우스 숙주의 피하 종양으로부터 수확된 것)을 피하 이식하기 전 24 시간째에 21-일 방출 에스트로겐(0.25 mg) 펠릿을 피하 이식하였다. 이어서 상기 연구를 표준 화학요법제로서 탁소테레를 사용하여 HT-29 모델에 대해 개시한 바와 같이 진행시켰다.

[0588] 상기 모델에서 개별적인 연구에 대해 달리 나타내지 않는 한, 신규 화합물을 제 1 내지 5 일째에 매일(qdx5) 복강 내 경로를 통해 주입하였으며; 탁소테레를 제 1, 3 및 5 일째에(qodx3) 정맥 내로 투여하였다.

[0589] A549 인간 폐 종양 모델

[0590] 동물들에게 투관침에 의해 누드 마우스 숙주에서 피하 성장하는 종양으로부터 수확한 A549 종양 단편을 피하로 이식하였다. 상기 종양 크기가 5 mm x 5 mm에 도달하면(약 10 내지 17 일), 동물들을 처리 및 대조 그룹으로 경쟁시켰다. 상기 연구의 나머지를 표준 화학요법제로서 탁소테레 및 CPT-11를 사용하여 HT-29 모델에 대해 개시한 바와 같이 진행시켰다.

[0591] 상기 모델에서 개별적인 연구에 대해 달리 나타내지 않는 한, 상기 시험된 화합물을 CPT-11 병행의 경우 q3dx5 용량 스케줄로 또는 탁소테레 병행의 경우 qdx5 용량 섭생으로 복강 내 경로를 통해 투여하였으며; CPT-11을 qwx3 스케줄로 복강 내 경로를 통해 투여하였고; 탁소테레를 qodx3 용량 섭생으로 정맥 내로 투여하였다.

[0592] MiaPaCa-2 인간 췌장 종양 모델

[0593] 동물들에게 투관침에 의해 누드 마우스 숙주에서 피하 성장하는 종양으로부터 수확한 MiaPaCa-2 종양 단편을 피하로 이식하였다. 상기 종양 크기가 5 mm x 5 mm에 도달하면(약 10 내지 17 일), 동물들을 처리 및 대조 그룹으로 경쟁시켰다. 상기 연구의 나머지를 표준 화학요법제로서 켄시타빈을 사용하여 HT-29 모델에 대해 개시한 바와 같이 진행시켰다.

[0594] 상기 모델에서 개별적인 연구에 대해 달리 나타내지 않는 한, 시험 화합물을 제 1, 4, 7, 10 및 15 일(q3dx5)째에 복강 내 경로를 통해 매 3 일마다 투여하였으며; 켄시타빈을 제 1, 4, 7 및 10 일(q3dx4)째에 복강 내 경로를 통해 투여하였다.

[0595] DU-145 인간 전립선 종양 모델

[0596] 수컷 마우스에게 투관침에 의해 누드 수컷 마우스 숙주에서 피하 성장하는 종양으로부터 수확한 DU-145 종양 단편을 피하로 이식하였다. 상기 종양 크기가 5 mm x 5 mm에 도달하면(약 13 내지 17 일), 동물들을 처리 및 대조 그룹으로 경쟁시켰다. 상기 연구의 나머지를 표준 화학요법제로서 탁소테레를 사용하여 HT-29 모델에 대해 개시한 바와 같이 진행시켰다.

[0597] 상기 모델에서 개별적인 연구에 대해 달리 나타내지 않는 한, 시험 화합물을 제 1, 3, 5, 8 및 11 일(q3dx5)째에 복강 내 경로를 통해 투여하였으며; 탁소테레를 제 1, 3 및 5 일(q2dx3)째에 정맥 내로 투여하였다.

- [0598] 2) 비 피하 이식 종양 모델
- [0599] 사용된 동물은 5 내지 6 주 된(~20 g, Harlan) 암컷 누드 마우스(nu/nu)(MDA-231 연구) 또는 B6D2F1(B16-F10 연구)였으며; 그룹 크기는 달리 나타나지 않는 한 그룹 당 10 마리의 마우스였다.
- [0600] 사용된 세포 주는 MDA-MB-231 인간 유방 종양 및 B16-F10 쥐 흑색종 세포였다.
- [0601] NPI 화합물을 단일요법으로서 복강 내 경로를 통해 상기 개별적인 연구에 대해 지시된 용량으로 투여하였으며; 병행 연구의 경우 선택된 참조 화학요법제를 NPI 화합물보다 15 내지 30 분 전에 주입하였다.
- [0602] MDA-231 인간 유방 종양
- [0603] 암컷 누드 마우스에게 유방 지방 덩어리에 생체 외 세포 배양물로부터 수확한 2×10^6 MDA-231 세포를 주입하였다. 상기 종양 크기가 5 mm x 5 mm에 도달하면(약 14 내지 28 일), 동물들을 처리 및 대조 그룹으로 경쟁시켰다. 이어서 상기 연구를 표준 화학요법제로서 패클리탁셀을 사용하여 HT-29 모델에 대해 개시한 바와 같이 진행시켰다.
- [0604] 상기 모델에서 개별적인 연구에 대해 달리 나타나지 않는 한, 시험 화합물을 제 1, 4, 8, 11 및 15 일(q3dx5) 째에 복강 내 경로를 통해 투여하였으며; 패클리탁셀을 제 1 내지 5 일(qdx5) 째에 복강 내 경로를 통해 투여하였다.
- [0605] B16-F10 전이성 쥐 흑색종 모델
- [0606] 마우스에게 정맥 내 경로에 의해 제 0 일 째에 B16-F10 세포(B16-F10 세포의 생체 외 세포 배양물로부터 준비됨)를 제공하였다. 제 1 일째에, 마우스를 처리 및 대조 그룹으로 랜덤하게 분할하고 처리를 개시하였다. 마우스의 체중을 제 1 일에 시작하여 매주 2 회 측정하였다. 모든 마우스를 제 16 일 째에 죽이고, 폐를 회수하고, 중량을 측정하고, 표면 콜로니들의 수를 세었다. 결과를 처리된 마우스의 평균 콜로니/대조용 마우스의 평균 콜로니(T/C) x 100%로서 표현하였다. 전이 성장 억제(MGI)가 100%로부터 상기 수를 감한 것이다. 패클리탁셀이 본 연구에 사용된 표준 화학요법제였다.
- [0607] 상기 모델에서 개별적인 연구에 대해 달리 나타나지 않는 한, 시험 화합물을 제 1 내지 5 일 째에(qdx5) 복강 내 경로를 통해 투여하였고; 패클리탁셀을 제 1 내지 5 일 째에(qdx5) 정맥 내로 투여하였다.
- [0608] 적합하다면($n \geq 3$), 결과를 평균 $\pm$ SEM으로서 제공한다. 여러 그룹에 대한 연구의 통계 분석을 달리 나타나지 않는 한 노이만-케울스(Neuman-Keuls) 후 시험과 함께 ANOVA를 사용하여 수행하였다. 1-테일드 t-시험을 또한 상기 화합물 또는 약물, 또는 이들의 조합이 종양 성장을 감소시킬 것이라는 가정을 기본으로 하여 사용하였다.
- [0609] 결과
- [0610] HT-29 인간 결장 종양 이종이식 모델에서의 연구
- [0611] 1. HT-29 인간 결장 종양 이종이식 모델에서 KPU-2 +/- CPT-11의 생체 내 평가
- [0612] 상기 연구는 HT-29 모델에서 KPU-2 단독 및 관련 화학요법제인 CPT-11과 병행된 경우의 용량 강도 및 투여 섭생의 변화를 평가하였다.
- [0613] KPU-2를 5 일간(qdx5) 매일 복강 내로 7.5 mg/kg, 5 일간 복강 내로 3.75 mg/kg(bid), 10 일간(qodx5) 매 이틀마다 7.5 mg/kg 및 15 일간(q3dx5) 매 3 일마다 7.5 mg/kg의 용량으로 투여하였다. CPT-11을 NPI-2358과 7.5 mg/kg ip q3dx5의 용량으로 함께 사용하면 어느 한 화합물을 단독으로 사용하는 경우보다 현저하게 더 큰 효과가 생성되었으며, 이는 연구 기간 동안 지속되었다(도 13). 상기 연구의 살아있는 동안의 이러한 관찰은 오직 상기 병행 그룹만이 대조군보다 통계학적 유의수준으로 보다 낮은 종양 중량을 나타낸다는 부검 시의 평균 그룹 종양 중량에 의해 입증되었다. 또한 상기 병행 요법과 CPT-11 단일요법 그룹간의 평균 종양 중량 차이는 통계학적으로 현저하였다(도 14). 상기 부검 시의 개별적인 최종 종양 중량을 검사하는 경우, 상기 병행 요법의 보다 큰 효과는 분명하다(도 14). 상기 병행요법의 TGI는 CPT-11 단독에 대한 38.9%에 비해 78%였다. 상기

병행 요법 그룹의 TGI는 양의 결과에 대한 58%의 NCI 기준을 초과한다.

[0614] 2. KPU-2 +/- 표준 화학요법 대 5 개의 인간 종양 이종이식 모델에 대한 연구

[0615] 상기 연구는 5 개의 상이한 부문으로 이루어지며, 이들 부문은 각각 그 자신의 프로토콜, 타이밍, 투여 섭생 및 참조 화합물을 갖는다. 각 부문은 특정한 종양 모델의 프레젠테이션 내에 있는 것으로 간주될 것이다.

[0616] 상기 연구의 HT-29 부문의 목적은 상기 개시된 연구에 사용된 것과 비교된 HT-29 인간 결장 종양 이종이식 모델에서 약간 더 높은 KPU-2의 용량(10 mg/kg ip q3dx5)을 조사하는 것이었으며, 이때 KPU-2(7.5 mg/kg ip q3dx 5)와 CPT-11(100 mg/kg ip qwx3)간에 현저한 상승작용이 관찰되었다.

[0617] 도 15에서 관찰할 수 있는 바와 같이, 상기 모델에서 KPU-2와 CPT-11의 병행은 종양 성장의 억제에서 현저한 상승작용을 발생시켰으며, 이때 상기 종양 성장은 상기 병행 요법 그룹에서 치료 제 29 일까지 거의 완전히 억제되었다. 상기 병행 요법은 효능을 유지시켰으며 상기 그룹에 대해 평가된 종양 성장은 어느 한 단일요법 그룹의 경우보다 현저하게 더 낮았다. 따라서, KPU-2와 CPT-11의 투여는 종양 성장을 억제시켰으며 이는 유효한 종양 억제 치료이다.

[0618] 상기 연구의 살아있는 부문의 관찰(평가된 종양 성장, 도 15)은 부검 시 절제된 종양 중량의 측정에 의해 지지된다(도 16). 상기 병행 그룹의 종양 중량은, CPT-11 단독에 대한 종양 중량($p < 0.05$)에 비해, 대조군보다 현저하게 더 적었다($p < 0.01$).

[0619] 개별적인 최종 종양 중량을 고려할 때(도 16), 상기 병행 그룹의 종양 크기는 일반적으로 다른 치료된 그룹 또는 대조용 그룹의 경우보다 일반적으로 더 작았다. 상기 병행 그룹의 TGI는 65.8%였으며, 이는 NCI 기준에 따르면 양의 효과를 나타내는 반면, 단일요법은 $TGI > 58\%$ 의 NCI 기준에 도달하지 못했다.

[0620] 3. HT-29 인간 결장 종양 이종이식 연구에서 KPU-2, KPU-35 및 t-부틸-페닐아히스틴의 활성 연구

[0621] 상기 연구의 결과를 도 17 및 표 18에 나타낸다. 상기 병행 요법 그룹들은 모두 신규 화합물과 CPT-11간에 현저한 상승작용을 나타내었다. 개별적인 종양 중량은 병행요법 처리의 유효성을 입증한다(도 18). 각각의 경우에 상기 병행 그룹의 TGI는 양의 효과에 대한 NCI 기준을 능가하는 반면, CPT-11 단일요법에 대한 TGI는 이 수준에 도달하지 못했다.

[0622] [표 18]

[0623] HT-29 인간 결장 종양 모델에서 수행된 연구에 대한 요약

번호	종료점	번호 mg/kg ip	결과 TGI %	명칭, 용량	결과 TGI %	결과 TGI %	초과된 NCI 기준 (TGI ≥ 58 %)	비고
2164	TGI	KPU-2 7.5 qdx5	효과 없음 효과 없음	CPT-11 100 ip qwx3	39*	78 **, #	병행	상승작용
2286	TGI	KPU-2 10 → 7.5 q3dx5	효과 없음	CPT-11 100 ip qwx3	36.5*	65.8 **	병행	상승작용 본문 참조
2139	TGI	KPU-2 7.5 q3dx5	효과 없음	CPT-11 100 ip qwx3	32.7	80.7 **, #	병행	상승작용
2139	TGI	KPU-35 10 → 7.5 q3dx5	효과 없음	CPT-11 100 ip qwx3	32.7	83.3 **, ##	병행	상승작용 1+ Day 13 1+ Day 27
2139	TGI	t-butyl- phenylhistin 30 q3dx5	효과 없음	CPT-11 100 ip qwx3	32.7	77.7 *#	병행	상승작용

*p<0.05 대 대조군; **p<0.01 대 대조군; #p<0.05 대 CPT-11 단독; ##p<0.01 대 CPT-11 단독;
+=사립수

[0624]

[0625] 4. HT-29 인간 결장 종양 이종이식 모델에서 KPU-2, KPU-35 및 t-부틸-페닐아히스틴의 CPT-11과 병행된 효과에 대한 요약

[0626] CPT-11과 병행 시, KPU-2는 표준 화학요법제인 CPT-11의 효과를 양의 효과에 대해 TGI ≥ 58%의 NCI 기준을 상당히 초과하는 수준으로 향상시켰다. 상기 3 개의 연구에서 생성된 이러한 결과는 살아있는 동안의 관찰(도 19)과 부검 시 절제된 종양의 중량(도 20) 모두에 대해 매우 필적할만하다.

[0627] DU-145 인간 전립선 이종이식 모델에 대한 연구

[0628] 2 개의 연구를 상기 모델을 사용하여 완수하였다: 첫 번째 연구는 KPU-2를 단독으로 및 탁소테레와 함께 포함하였으며; 두 번째 연구는 KPU-2, KPU-35 및 t-부틸-페닐아히스틴 단독 및 탁소테레와의 병행을 비교하였다.

[0629] 1. DU-145 인간 전립선 종양 이종이식 모델에서 탁소테레와 병행된 KPU-2의 효과

[0630] 상기 연구의 살아있는 동안에 수득된 데이터로부터 알 수 있는 바와 같이(도 21), 상기 DU-145 인간 전립선 종양의 가장 유효한 치료는 KPU-2 + 탁소테레의 병행 요법이었다. 상기 치료 효과는 상기 연구의 개시 시에 가

장 현저하였으며 연구가 진행됨에 따라 감소하는 것으로 나타났다. 20 내지 27 일의 치료로부터, 상기 병행 요법은 NCI 기준($TGI \geq 58\%$)을 초과하는 명백한 TGI를 제공하였으며, 상기 복합 요법의 평가된 종양 중량은 어느 한 단일요법의 경우보다 현저하게 더 적었다.

[0631] 2. DU-145 인간 전립선 이종이식 모델에서 KPU-2, KPU-35 및 t-부틸-페닐아히스틴 단독 또는 탁소테레와 병행한 경우의 활성

[0632] 상술한 연구에서 KPU-2의 탁소테레와 병행하여 수득된 데이터를 근거로, KPU-2와 KPU-35 및 t-부틸-페닐아히스틴을 단독으로 및 탁소테레와 병행하여 비교하는 두 번째 연구를 개시하였다.

[0633] 상기 연구의 살아있는 동안 수행된 관찰은 KPU-2 또는 KPU-35 어느 한 화합물과 탁소테레와의 병행이 탁소테레 단독의 경우보다 종양 성장에 대해 더 큰 감소를 가짐을 나타낸다(도 22). 상기 종양 성장은 탁소테레와 병행된 KPU-35에 의해 거의 완전히 차단되었다.

[0634] 부검 시 절제된 종양 중량은 상기 연구의 살아있는 동안 수행된 관찰을 입증하였다. KPU-2(도 23) 또는 KPU-35(도 24) 어느 하나와 탁소테레와의 병행은 종양 성장의 차단에서 탁소테레 단독보다는 현저하게 더 유효하였다. KPU-35의 경우에, 10 마리의 마우스 중 3 마리는 종양 수축에 대한 증거를 나타내었다. 상기 종양 성장 억제 지수는 KPU-2의 경우 종양 성장의 현저한 억제(그룹 평균 = 74.1%) 및 KPU-35의 경우 거의 전적인 차단(그룹 평균 = 92.5%)을 나타내었다. 탁소테레는 단독으로 양의 효과에 대한 NCI 확립된 기준($TGA \geq 58\%$)에 도달하지 못했다.

[0635] 5. MCF-7 인간 유방 종양 이종이식 모델에 대한 연구

[0636] 상기 연구는 MCF-7 인간 유방 종양 이종이식 모델에서 KPU-2, KPU-35 및 t-부틸-페닐아히스틴의 효과를 비교하였다. 상기 화합물들의 용량을 제 1, 2, 3, 4 및 7 일째에 투여하였으며; 탁소테레는 제 1, 3 및 7 일째에 투여하였다.

[0637] 상기 선택된 신규 화합물은 상기 모델에서 탁소테레와 병행하여 사용 시 통계학적으로 유의수준의 효과인 조기 개시를 나타내며, 평가된 종양 성장을 명백히 거의 완전히 차단시킨다(도 25). 상기 3 개의 화합물 중에서, KPU-2가 가장 유효한 것으로 나타났으며, t-부틸-페닐아히스틴도 또한 탁소테레의 현저한 약효 증가를 나타내었다.

[0638] 6. A549 인간 비 소 세포 폐 종양 이종이식 모델에 대한 연구

[0639] 상기 연구 중의 살아있는 동안의 관찰(도 26)은 KPU-2(7.5 mg/kg ip, qdx5)를 탁소테레와 함께 사용한 결과 대조용 그룹이나 어느 한 단일요법 그룹에 비해 현저한 종양 성장 억제의 발현을 나타내었다. 이는 부검 시 종양 중량에 의해 입증되었으며, 이때 상기 병행 요법 그룹의 평균은 탁소테레 단독 또는 대조용 그룹의 평균에 비해 현저하게 더 적었다(도 27). 상기 병행요법 그룹 종양 중량은 저 종양 중량 집단을 형성하며, 이는 상기 효과의 일관성을 가리킨다.

[0640] 종양 성장 지수를 계산하는 경우, 상기 병행 요법 그룹은 대조용 그룹에 비해 74.4%의 TGI를 가지며, 이는 양의 효과에 대한 NCI 기준($TGI \geq 58\%$)을 초과한다. 탁소테레는 단독으로 26.1%의 TGI를 가졌다.

[0641] 7. MDA-231 인간 유방 종양 같은자리 이종이식 모델에 대한 연구

[0642] 상기 모델은 인간 종양 조직의, 천연 환경의 대용물인 마우스 유방 지방 덩어리로의 배치를 포함한다. 이와 같은 식으로 피하 혈관 층에 대한 특정 작용에 기인한 실제적인 영향의 가능성을 피한다. 이 연구는 KPU-2(7.5 mg/kg ip, q3dx5) 단독과 페클리탁셀(16 mg/kg ip, qdx5)과 병행한 효과를 비교하였다.

[0643] 상기 연구 3 주 째에 병행 요법 그룹에서 매우 현저한 효과인 종양 성장의 현저한 억제가 있었다. 이러한 효과는 탁소테레 단독의 경우보다 더 현저한 것으로 나타났다(도 28).

- [0644] 8. 쥐 흑색종 B16 F10 전이성 종양 모델에 대한 연구
- [0645] 상기 연구는 B16F10 흑색종 세포를 마우스에 정맥 내 주입한 후 16 일 쯤에 폐 표면 상에 나타나는 전이의 수에 대한 KPU-2, KPU-35 및 t-부틸-페닐아히스틴 단독 및 패클리탁셀과 병행된 효과를 검사하였다. 상기 모델은 이중이식 모델은 아니지만; 종양 덩어리 내로의 고도의 혈관화를 수반하지 않는다.
- [0646] 상기 모델에서, 가장 효과적인 치료는 KPU-2 단독에 의한 것으로(도 29), 패클리탁셀의 경우보다 약 10% 적은 평균 전이 수(각각 41.6% 및 35.0%의 MGI)를 가졌다. 상기 연구는 그 자체가 병행 요법이 단일요법보다 더 유효함을 확립시키지는 않지만, KPU-2, KPU-35 및 t-부틸-페닐아히스틴이 고도로 혈관화된 종양에서 가장 유효함을 가리킨다.
- [0647] 실시예 10
- [0648] 병원성 진균에 대한 활성에 대한 분석
- [0649] 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체의 AF/IS 값을 측정하는데 사용하기 위해서, 상기 인용된 공지된 항진균 화합물에 대한, 병원성 진균에 대한 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체의 활성 비교를 예를 들어 문헌[Diagn Micro and Infect Diseases 21:129-133(1995)]에 개시된 NCCLS 브로쓰 대규모 희석 방법의 미세 적정 플레이트 적용에 의해 진균 미생물에 대해 직접 측정한다. 항진균 활성을 또한 진균 감염의 전체 동물 모델에서 측정할 수 있다. 예를 들어, 폐 뮤코마이코시스의 스테로이드-처리된 마우스 모델을 사용할 수 있다 (Goldaill, L.Z. & Sugar, A.M. 1994 J Antimicrob Chemother 33:369-372). 예시에 의해, 상기와 같은 연구에서 다수의 동물들에게, 진균에 의한 감염의 시작, 감염 전, 감염 시 또는 감염에 이어서 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 제공하지 않거나, 다양한 용량의 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체(및/또는 하나 이상의 다른 항진균제와 함께) 또는 양성 대조군(예를 들어 암포테리신 B)을 각각 제공한다. 동물들을 매 24 시간마다 한 번, 선택된 용량의 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체, 양성 대조군 또는 비히클만으로 처리할 수 있다. 처리를 소정의 일수 동안, 예를 들어 10 일 까지 계속한다. 동물들을 사망물을 매일 평가하면서, 상기 처리 기간 후 일정 시간 동안, 예를 들어 총 3 주 동안 관찰한다. 모델은 다른 처리(예를 들어 스테로이드 처리)와 함께 또는 상기 처리 없이 감염되기 쉬운 인간 대상자를 모방하기 위해 구상된 전신, 폐, 질 및 다른 감염 모델을 포함할 수 있다.
- [0650] 추가로 예시하기 위해서, 생체 내 치료 효능(ED_{50} , 예를 들어 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체 mg/대상자 kg으로 나타냄)을 측정하기 위한 하나의 방법은 설치류 모델 시스템이다. 예를 들어, 마우스를 병원균의 50% 치사 용량(10^6 씨 알비칸스 세포/마우스)의 약 10 배의 정맥 내 감염에 의해서와 같이 진균 병원균에 의해 감염시킨다. 상기 진균 감염 직후에, 데하이드로페닐아히스틴 화합물을 상기 마우스에게 소정 용량의 부피로 제공한다. ED_{50} 을 감염 후 제 20 일 쯤에 기록된 생존율로부터 반 데르 발스(Arch Exp Pathol Pharmacol 195:389-412, 1940)의 방법에 의해 계산한다. 일반적으로, 처리되지 않은 대조용 동물은 감염 후 7 내지 13 일 쯤에 죽는다.
- [0651] 또 다른 예시적인 실시태양에서, 28 °C에서 48 시간 동안 사보우라우드(Sabouraud) 텍스트로즈 아가(SDA) 슬랜트 상에서 생육시킨 씨 알비칸스 위스콘신(C43) 및 씨 트로피칼리스(C112)를 염수에 현탁시키고 분광광도계 상에서 550 nm에서 46% 투과율로 조절한다. 상기 접종물을 혈구계에 의해 추가로 조절하고 플레이트 카운트에 의해 대략 1 또는 5×10^7 CFU/ml임을 확인한다. 항진균제를 감염 후 4 시간 쯤 및 그 후에 3 또는 4 일 이상 동안 매일 한번씩 에탄올:물(10:90) 중에서 정맥 내로 또는 피하로 투여한다. 생존율을 매일 모니터한다. ED_{50} 을 마우스의 50% 생존을 허용하는 용량으로서 정의할 수 있다.
- [0652] 실시예 11
- [0653] 유사분열억제 활성 평가
- [0654] 벤즈이미다졸 및 그리세오폴빈은 진균 미세관에 결합할 수 있는 항튜불린제이다. 이들 화합물은 일단 결합하면 세포 분열을 방해하고 감수성 미생물에서 세포 내 운반되어 세포사를 일으킨다. 상업적으로, 벤즈이미다졸은 수의학적 약품에서 진균제로서 사용되고 식물 질병 억제에 사용된다. 광범위한 진균 종들, 예를 들어 보트

리티스 시네레아, 뷰베리아 바씨아나, 헬민토스포리움 솔라니, 사카로마이세스 세레비지아에 및 아스퍼질러스가 이들 분자에 민감하다. 그러나, 독성 우려 및 증가하는 약물 내성은 이들의 사용에 부정적인 영향을 미쳐왔다. 그리세오폴빈은 트리코파이톤 스페시즈, 마이코스포룸 스페시즈 및 에피데모파이톤 플로코숨에 의해 야기된, 피부, 모발 및 손톱의 백선 감염을 치료하기 위해 임상적으로 사용된다. 그러나, 그의 항진균 범위는 상기 부류의 진균 미생물로 제한된다. 유전독성도 또한 현저한 부작용이다. 테르비나핀은 대안적인 제 일선 치료제이나 보다 값이 비싸다. 더욱이, 최근 임상적인 내성이 트리코파이톤 루브룸(모든 피부병 감염의 주요 원인 인자이다)에서 관찰되었다.

[0655] 칸디다 알비칸스에서, 세포가 미세관 억제제 노코다졸 및 클로로프로팜에 노출 시 미세관/미세섬유 형성에 영향을 받는다. 이러한 결과는 유효 유사분열 억제제로서 세포골격 억제제의 탐구를 더욱 타당하게 한다. 따라서, 본 원에 개시된 다수의 화합물들을 유사분열 억제 활성화에 대해 평가하였다.

[0656] 구체적으로, 개시된 화합물들을 상업적으로 입수할 수 있는 미세튜블린 억제제뿐만 아니라 승인된 항진균제들과 나란히 평가하였다. 상기 화합물에 사용된 시험 화합물 및 대조군: (-)-페닐아히스틴, KPU-1, KPU-2, KPU-11 및 KPU-17, KPU-35, t-부틸 페닐아히스틴, 콜히친(3 개의 칸디다 단리물에 대해 시험된 상업적인 미세튜블린 억제제), 베노밀(3 개의 칸디다 단리물에 대해 시험된 상업적인 미세튜블린 억제제), 그리세오폴빈(6 개의 더마토파이트 단리물에 대해 시험하기 위한 상업적인 미세튜블린 억제제 및 항생제 대조군), 암포테리신 B(3 개의 칸디다 단리물에 대해 시험하기 위한 항생제 대조군), 이트라코나졸(2 개의 아스퍼질러스 단리물에 대해 시험하기 위한 항생제 대조군).

[0657] 이들 화합물이 시험되는 미생물로는 칸디다 알비칸스, 칸디다 글라브라타, 아스퍼질러스 푸미가투스, 트리코파이톤 루브룸, 트리코파이톤 멘타그로파이테스, 에피데모파이톤 플로코숨이 있다. 칸디다 글라브라타(하나의 단리물)를 제외하고, 각각의 종들에 대해 2 개의 단리물을 시험하였다.

[0658] 항진균 감수성 시험을 문헌[the National Committee for Clinical Laboratory Standards, M38-A "Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Conidium-Forming Filamentous Fungi; Approved Standard."]에 개략된 방법에 따라 수행하였다. 상기는 글루타민이 있고 비카보네이트는 없는 RPMI-1640에서 $0.4 - 5 \times 10^4$ 의 접종물 크기로, 30 또는 35 °C에서 48 시간 동안 배양시켜 시험함을 포함한다. 최소 억제 농도(MIC)를 약물 비 함유 대조용 튜브에 비해 혼탁도를 80% 감소시키는 최저 농도로서 정의하였다. 약물 농도는 조사 화합물에 대해 0.03 내지 16 µg/ml이었고, 이트라코나졸 및 그리세오폴빈의 경우 0.015 내지 8 µg/ml이었다.

[0659] 화합물이 표적 미생물의 성장을 방지한 최소 억제 농도(MIC)를 NCCLS 프로토콜의 변경된 버전에 따라 평가하였다. 최소 억제 농도(MIC)를 먼저 약물 비 함유 대조용 튜브에서 성장을 측정할 수 있는 처음 24 시간 간격에서 측정하였다. 상기 정의된 MIC는 상기 성장 대조군에 비해 80%의 혼탁도 감소를 나타내는 최저 농도였다. 최소 치사 농도(MLC)는 상기 MIC 농도 및 상기 MIC 이상의 각 농도로부터 0.1 µl를 도말함으로써 측정하였다. 상기 MLC는 99.95%의 사멸을 나타내는 5 개 이하 콜로니의 진균 성장을 나타내는 처음 농도를 지칭하였다. MIC가 얻어진 경우, 최소 살진균 농도(MFC)를 측정하여 상기 화합물의 정진균/살진균 성질을 평가하였다. 상기 과정은 약물 처리된 세포 샘플(MIC 및 그 위에 화합물을 함유하는 시험 웰로부터 제거함)을 상기 억제 농도보다 현저하게 아래의 화합물 농도로 희석하고 이를 아가 플레이트에 침착시킴을 수반한다. 상기 화합물을 세포가 성장을 다시 시작할 수 있는 경우 정진균으로 기록하고 상기 화합물이 상기 미생물을 죽였기 때문에 다시 성장할 수 없는 경우 살진균으로 기록한다.

[0660] 본 원에 개시된 화합물들은 2 개의 트리코파이톤 종들에 대해 유효한 것으로 나타났다. 티 루브룸은 인간 피부진균 감염의 주요 원인 인자이며, 임상 약제의 개발에서 표적이 되는 주요 미생물 일 것이다.

[0661] 화합물 KPU-2, KPU-11 및 KPU-17, KPU-35 & t-부틸페닐아히스틴은 피부진균 감염의 치료에 사용되는 현재의 표준 약제인 그리세오폴빈과 동등하게 유효하거나 또는 일부의 경우 보다 유효하였다.

[0662] 화합물 (-)-페닐아히스틴 및 KPU-1은 티 루브룸에 대해 시험 시 다른 화합물들보다 현저하게 덜 유효하고 약하였으나, 감수성 티 멘타그로파이테스 단리물에 대해서는 다른 것들에 보다 필적할만하였다.

[0663] MFC를 측정할 수 있는 경우에, 그 결과는 이들 화합물이 사실상 정진균성임을 가리킨다(표 19 및 20 참조)

[0664] [표 19]

[0665] 테하이드로페닐아히스틴 및 그의 동족체의 항진균 활성

화합물	MICs and MFCs, lg/ml									
	썬 알비칸스 90028		썬 알비칸스 10231		썬 클라브라타		에이 푸미가투스 단리물#1		에이 푸미가투스 단리물#2	
	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
(-) 페닐아히스틴	>70	ND**	>70*	ND	>70	ND	>16	ND	>16	ND
KPU-1	>68*	ND	>68	ND	>68	ND	>16	ND	>16	ND
KPU-2	>32	ND	>32	ND	>32	ND	>16	ND	>16	ND
KPU-11 and KPU-17	>32	ND	>32	ND	>32	ND	>16	ND	>16	>16
KPU-35	>32	ND	>32	ND	>32	ND	>16	ND	<0.03	0.125
t-부틸 페닐아히스틴	>32	ND	>32	ND	>32	ND	>16	ND	<0.03	0.125
암포테리신 B	0.5	0.5	0.5	0.5	1	1	ND	ND	ND	ND
그리세오향민	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.5	ND
이트라코나졸	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1	ND	ND	ND
물허친	>128	ND	>128	ND	>128	ND	ND	ND	ND	ND
베노밀	64	>512	64	>512	64	>512	ND	ND	ND	ND

[0666]

[0667] [표 20]

[0668] 데하이드로페닐아히스틴 및 그의 동족체의 항진균 활성

화합물	MICs and MFCs, $\mu\text{g/ml}$											
	테루브로움 단리물#1		테루브로움 단리물#2		테루브로움 단리물#1		테루브로움 단리물#2		테루브로움 단리물#1		테루브로움 단리물#2	
	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
	>16	ND	>16	ND	>16	ND	>16	ND	>16	ND	>16	ND
NP12350	>16	ND	>16	ND	>16	ND	>16	ND	>16	ND	>16	ND
NP12352	>16	ND	>16	ND	>16	ND	>16	ND	>16	ND	>16	ND
NP12358	>16	ND	>16	ND	>16	ND	>16	ND	>16	ND	>16	ND
NP12362	0.06	>16	<0.03	<0.03	1	<0.03	<0.03	<0.03	>16	ND	>16	ND
NP12386	<0.03	0.125	<0.03	0.06	1	<0.03	<0.03	<0.03	>16	ND	>16	ND
NP12460	<0.03	0.125	<0.03	<0.03	4	<0.03	<0.03	<0.03	>16	ND	>16	ND
암포테리신 B	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
그리세오향진	0.5	ND	<0.015	ND	1	ND	2	ND	2	ND	4	ND
이트라코나졸	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
플루진	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
베노릴	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

[0669]

[0670] 상기 개시된 실시예들을 오직 본 발명의 이해를 돕기 위해 나타낸다. 따라서, 당해 분야의 숙련가는 개시된 방법 및 화합물이 데하이드로페닐아히스틴의 추가의 유도체를 포함하고 달리 제공할 수도 있음을 알 것이다.

[0671] 당해 분야의 숙련가는 본 발명이 예를 들어 언급된 목적 및 이점들뿐만 아니라 다른 고유의 것들을 얻는데 매우 적합함을 쉽게 알 수 있을 것이다. 본 원에 개시된 방법 및 과정들은 현재 바람직한 실시태양들을 나타내며 예시적인 것이다. 이에 대한 변경 및 다른 사용이 본 발명의 범위 내에서 당업자에게 자명하게 이루어질 수 있다.

[0672] 다양한 치환 및 변경들이 본 발명의 범위 및 진의로부터 이탈됨 없이 본 원에 개시된 발명에 대해 수행될 수 있음은 당해 분야의 숙련가들에게 쉽게 자명할 것이다.

[0673] 상기 나타낸 바와 같이, 상기 명세서의 모든 특허 및 공보들은 본 발명이 속하는 분야의 숙련가들의 수준을 암시한다.

[0674] 본 원에 적합하게 예시적으로 개시된 본 발명을 본 원에서 구체적으로 개시하지 않은 임의의 요소 또는 요소들, 제한 또는 제한들이 없이 실행할 수 있다. 사용된 용어 및 표현들은 설명하기 위한 것이지 제한으로서 사용되는 것은 아니며, 상기와 같은 용어 및 표현의 사용에서 도시되고 개시된 특징들의 등가물 또는 그의 일부를 제외시킬 의도는 없다. 다양한 변경들이 본 발명의 범위 내에서 가능함을 알 것이다. 따라서, 본 발명을 바람

직한 실시태양 및 임의의 특징에 의해 구체적으로 개시하였지만, 본 원에 개시된 변경 및 개념의 변화를 당해 분야의 숙련가들이 복원시킬 수 있으며 상기와 같은 변경 및 변화를 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 간주함은 물론이다. 이러한 본 발명의 범위는 단지 다음의 청구항에 의해 정의된다.

도면의 간단한 설명

- [0036] 도 1은 디아실디케토피페라진 1을 이미다졸카복스알데히드 2와 반응시켜 중간체 화합물 3을 수득하고 이를 벤즈알데히드 4와 반응시켜 테하이드로페닐아히스틴을 제조함에 의한 테하이드로페닐아히스틴의 제조를 위한 반응 도식을 예시한다.
- [0037] 도 2는 합성 조 테하이드로페닐아히스틴의 HPLC 프로파일을 나타낸다.
- [0038] 도 3은 디아실디케토피페라진 1을 벤즈알데히드 4와 반응시켜 중간체 화합물 17을 수득하고 이를 이미다졸카복스알데히드 15와 반응시켜 테하이드로페닐아히스틴을 제조함에 의한 테하이드로페닐아히스틴의 제조를 위한 반응 도식을 예시한다.
- [0039] 도 4는 경로 A 및 경로 B로부터 제조된 합성 조 tBu-테하이드로페닐아히스틴의 HPLC 프로파일을 나타낸다.
- [0040] 도 5는 효능 있는 세포독성 활성을 위한 테하이드로PLH의 2 개의 변경 전략을 예시한다.
- [0041] 도 6은 페닐 잔기에서 테하이드로PLH의 추정적인 활성 형태를 나타낸다.
- [0042] 도 7은 페닐아히스틴의 시토크롬 P450 대사를 나타낸다.
- [0043] 도 8은 tBu-테하이드로PLH의 Z-E 이동을 예시한다.
- [0044] 도 9는 아실-E-tBu-테하이드로PLH의 합성 및 전구약물 상을 나타낸다.
- [0045] 도 10은 3-Z-벤질리덴-6-[5"-(1,1-디메틸알릴)-1H-이미다졸-4"-Z-일메틸렌]-피페라진-2,5-디온의 온도 구배를 나타낸다.
- [0046] 도 11은 3-Z-벤질리덴-6-(5"-3 급-부틸-1H-이미다졸-4"-Z-일메틸렌)-피페라진-2,5-디온의 온도 구배를 나타낸다.
- [0047] 도 12는 콜히친 및 탁솔과 비교된, FITC-텍스트란에 대한 HuVEC 단층 투과성에 대한 KPU-2, KPU-35 및 t-부틸-페닐아히스틴의 효과를 나타낸다.
- [0048] 도 13은 HT-29 인간 결장 종양 이종 이식 모델에서 평가된 종양 성장에 대한 KPU-2의 단독 및 CPT-11과 병행된 효과를 나타낸다.
- [0049] 도 14는 HT-29 인간 결장 종양 이종 이식 모델에서 개별적인 마우스의 부검시 절제된 종양 중량에 대한 KPU-2의 단독 및 CPT-11과 병행된 효과를 나타낸다.
- [0050] 도 15는 HT-29 인간 결장 종양 이종 이식 모델에서 평가된 종양 성장에 대한 KPU-2의 단독 및 CPT-11과 병행된 효과를 나타낸다.
- [0051] 도 16은 HT-29 인간 결장 종양 이종 이식 모델에서 개별적인 마우스의 부검 시 절제된 종양 중량에 대한 KPU-2의 단독 및 CPT-11과 병행된 효과를 나타낸다.
- [0052] 도 17은 HT-29 인간 결장 종양 이종 이식 모델에서 평가된 종양 성장에 대한 A. KPU-2, B. KPU-35 및 C. t-부틸-페닐아히스틴의 단독 및 CPT-11과 병행된 효과를 나타낸다.
- [0053] 도 18은 HT-29 인간 결장 종양 이종 이식 모델에서 개별적인 마우스의 부검 시 절제된 종양 중량에 대한 A. KPU-2, B. KPU-35 및 C. t-부틸-페닐아히스틴의 단독 및 CPT-11과 병행된 효과를 나타낸다.
- [0054] 도 19는 HT-29 인간 결장 종양 이종 이식 모델에서 종양 성장에 대한 KPU-2의 단독 및 CPT-11과 병행된 효과를 나타낸다: 3 개의 연구에 대한 비교.
- [0055] 도 20은 HT-29 인간 결장 종양 이종 이식 모델에서 최종 종양 중량에 대한 KPU-2의 단독 및 CPT-11과 병행된 효과를 나타낸다: 3 개의 연구에 대한 비교.
- [0056] 도 21은 DU-145 인간 전립선 종양 이종 이식 모델에서 평가된 종양 성장에 대한 KPU-2의 단독 및 탁소테레와 병행된 효과를 나타낸다.

- [0057] 도 22는 DU-145 인간 전립선 종양 이종 이식 모델의 생명 활동 중에 수행된 관찰을 근거로 평가된 종양 성장에 대한 A. KPU-2, B. KPU-35 및 C. t-부틸-페닐알히스틴의 단독 및 탁소테레와 병행된 효과를 나타낸다.
- [0058] 도 23은 DU-145 인간 전립선 종양 이종 이식 모델에서 부검 시에 개별적으로 절제된 종양 중량에 대한 KPU-2의 단독 및 탁소테레와 병행된 효과를 나타낸다.
- [0059] 도 24는 DU-145 인간 전립선 종양 이종 이식 모델에서 부검 시에 개별적으로 절제된 종양 중량에 대한 KPU-35의 단독 및 탁소테레와 병행된 효과를 나타낸다.
- [0060] 도 25는 MCF-7 인간 유방 종양 이종 이식 모델에서 A. KPU-2, B. KPU-35 및 C. t-부틸-페닐알히스틴의 단독 및 탁소테레와 병행된 효과를 나타낸다.
- [0061] 도 26은 A549 인간 폐 종양 이종 이식 모델에서 평가된 종양 성장에 대한 KPU-2의 단독 및 탁소테레와 병행된 효과를 나타낸다.
- [0062] 도 27은 A549 인간 폐 종양 이종 이식 모델에서 부검 시에 절제된 종양 중량에 대한 KPU-2의 단독 및 탁소테레와 병행된 효과를 나타낸다.
- [0063] 도 28은 쥐 유방 지방 덩어리 이식된 MDA-231 인간 유방 종양 모델에서 평가된 종양 중량에 대한 KPU-2의 단독 및 페클리탁셀과 병행된 효과를 나타낸다.
- [0064] 도 29는 쥐 흑색종 B16 F10 전이성 종양 모델에서 A. KPU-2, B. KPU-35 및 C. t-부틸-페닐알히스틴의 단독 및 페클리탁셀과 병행된 효과를 나타낸다.
- [0065] 일부 도면에서, 대안적인 명칭을 사용하여 화합물들을 나타낸다. 이러한 대안적인 명칭의 전환을 위해 완성된 차트는 하기와 같다:

대안적인 명칭	본 발명에 사용된 명칭
NPI-2350	(-)-페닐알히스틴
NPI-2352	KPU-01
NPI-2353	KPU-03
NPI-2354	KPU-04
NPI-2355	KPU-05
NPI-2356	KPU-06
NPI-2357	KPU-07
NPI-2358	KPU-02
NPI-2359	KPU-08

[0066]

NPI-2360	KPU-09
NPI-2361	KPU-10
NPI-2362	KPU-11
NPI-2363	KPU-12
NPI-2364	KPU-13
NPI-2365	KPU-14
NPI-2366	KPU-15
NPI-2367	KPU-16
NPI-2368	KPU-17
NPI-2369	KPU-18
NPI-2370	KPU-19
NPI-2371	KPU-21
NPI-2372	KPU-22
NPI-2373	KPU-23
NPI-2374	KPU-24
NPI-2375	KPU-25
NPI-2376	KPU-28
NPI-2377	KPU-26
NPI-2378	KPU-27
NPI-2379	KPU-29
NPI-2380	KPU-20
NPI-2381	KPU-30
NPI-2382	KPU-31
NPI-2383	KPU-32
NPI-2384	KPU-33
NPI-2385	KPU-34
NPI-2386	KPU-35
NPI-2387	KPU-36
NPI-2388	KPU-37
NPI-2389	KPU-38
NPI-2390	KPU-39
NPI-2391	KPU-40
NPI-2392	KPU-41
NPI-2393	KPU-42
NPI-2394	KPU-43
NPI-2395	KPU-44
NPI-2396	KPU-45
NPI-2397	KPU-46
NPI-2398	KPU-47
NPI-2399	KPU-48
NPI-2400	KPU-49
NPI-2401	KPU-50
NPI-2402	KPU-51
NPI-2403	KPU-52
NPI-2404	KPU-53
NPI-2405	KPU-54
NPI-2406	KPU-55

[0067]

NPI-2407	KPU-56
NPI-2408	KPU-57
NPI-2409	KPU-58
NPI-2410	KPU-59
NPI-2411	KPU-60
NPI-2412	KPU-61
NPI-2413	KPU-62
NPI-2414	KPU-63
NPI-2415	KPU-64
NPI-2416	KPU-65
NPI-2417	KPU-66
NPI-2418	KPU-67
NPI-2419	KPU-68
NPI-2420	KPU-69
NPI-2421	KPU-70
NPI-2422	KPU-71
NPI-2423	KPU-72
NPI-2424	KPU-73
NPI-2425	KPU-74
NPI-2426	KPU-75
NPI-2427	KPU-76
NPI-2428	KPU-77
NPI-2429	KPU-79
NPI-2430	KPU-80
NPI-2431	KPU-81
NPI-2432	KPU-82
NPI-2433	KPU-83
NPI-2434	KPU-84
NPI-2435	KPU-86
NPI-2436	KPU-87
NPI-2437	KPU-88
NPI-2438	KPU-89
NPI-2439	KPU-90
NPI-2440	KPU-91
NPI-2441	KPU-92
NPI-2442	KPU-80
NPI-2455	KPU-94
NPI-2456	KPU-95
NPI-2457	KPU-96
NPI-2458	KPU-97
NPI-2459	KPU-98
NPI-2460	t-부틸 페닐아히스틴

[0068]

[0069]

[바람직한 실시예의 상세한 설명]

[0070]

삭제

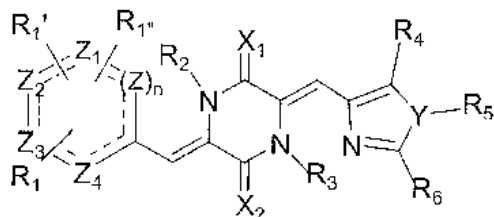
[0071]

데하이드로페닐아히스틴 및 데하이드로페닐아히스틴 동족체를 포함한 신규 화합물의 합성적 제조 방법, 및 약학적으로 허용 가능한 세포 주기 억제제, 종양 억제제 및 항진균제를 비교적 높은 수율로 제조하기 위한 방법을 제공하며, 여기에서 상기 화합물 및/또는 그의 동족체는 유효 성분들 중에서 상기 세포 주기 억제제, 종양 억제제 및 항진균제 중에 있다. 본 발명의 다른 목적은 현재 이용할 수 있는 비 합성적 방법에 의해 수득할 수 없는 신규 화합물을 제공함을 포함한다. 또한, 본 발명의 목적은 종양 성장 억제 유효량의 신규 종양 억제 화합물 부류의 일원을 투여하는 단계를 포함하는, 암, 특히 인간 암의 치료 방법을 제공하는 것이다. 본 발명은 또한 대상자에게 항진균 유효량의 신규 항진균 화합물 부류의 일원을 투여함, 예를 들어 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 목적하는 항진균 효과를 제공하는 양 및 방식으로 투여함을 포함하는, 상기 대상자에서 병원성 진균을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다. 본원에 개시된 상기 화합물, 및 상기와 같은 화합물의 제조 및 사용 방법에 대한 바람직한 실시태양에서, 반드시 본 발명의 모든 실시태양들에는 아니지만, 이러한 목적들이 만족된다.

[0072]

본 발명은 또한 하기 화학식 I의 화합물, 및 상기 화합물 부류의 제조 방법을 개시한다:

[0073] 화학식 I



[0074]

[0075] 상기 식에서,

[0076] R_1 , R_4 및 R_6 은 각각 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자 및 포화된 $C_{1-C_{24}}$ 알킬, 불포화된 $C_{1-C_{24}}$ 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로, 아지도, 치환된 니트로, 페닐 및 치환된 페닐 그룹, 하이드록시, 카복시, $-CO-O-R_7$, 시아노, 알킬티오, 폴리할로겐화된 알킬을 포함한 할로겐화된 알킬, 할로겐화된 카보닐 및 카보닐- $CCO-R_7$ 로 이루어진 그룹 중에서 선택되고, 이때 R_7 은 수소 원자, 할로겐 원자 및 포화된 $C_{1-C_{24}}$ 알킬, 불포화된 $C_{1-C_{24}}$ 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로, 아지도, 치환된 니트로, 페닐 및 치환된 페닐 그룹 중에서 선택되며;

[0077] R_1' 및 R_1'' 은 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자 및 포화된 $C_{1-C_{24}}$ 알킬, 불포화된 $C_{1-C_{24}}$ 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로, 아지도, 치환된 니트로, 페닐 및 치환된 페닐 그룹, 하이드록시, 카복시, $-CO-O-R_7$, 시아노, 알킬티오, 폴리할로겐화된 알킬을 포함한 할로겐화된 알킬, 할로겐화된 카보닐 및 카보닐- $CCO-R_7$ 로 이루어진 그룹 중에서 선택되고, 이때 R_7 은 수소 원자, 할로겐 원자 및 포화된 $C_{1-C_{24}}$ 알킬, 불포화된 $C_{1-C_{24}}$ 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로, 아지도, 치환된 니트로, 페닐 및 치환된 페닐 그룹 중에서 선택되며;

[0078] R , R_1' 및 R_1'' 은 서로 공유 결합되거나 또는 서로 공유 결합되지 않고;

[0079] R_2 , R_3 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자 및 포화된 $C_{1-C_{12}}$ 알킬, 불포화된 $C_{1-C_{12}}$ 알케닐, 아실, 사이클로알킬, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로 및 치환된 니트로 그룹, 설포닐 및 치환된 설포닐 그룹으로 이루어진 그룹 중에서 선택되고;

[0080] X_1 및 X_2 는 독립적으로 산소 원자, 질소 원자 및 황 원자로 이루어진 그룹 중에서 선택되고, 각각 상기 정의된 바와 같은 R_5 그룹에 의해 치환되거나 비 치환되며;

[0081] Y 는 질소 원자, 상기로부터의 R_5 그룹으로 치환된 질소 원자, 산소 원자, 황 원자, 산화된 황 원자, 메틸렌 그룹 및 치환된 메틸렌 그룹으로 이루어진 그룹 중에서 선택되고;

[0082] n 은 0, 1 또는 2의 정수이고;

[0083] Z 는 n 이 0이 아닌 경우 각각 별도의 n 에 대해서, Z_1 , Z_2 , Z_3 및 Z_4 가 각각 독립적으로 탄소 원자, 황 원자, 질소 원자 및 산소 원자 중에서 선택되고;

[0084] 점선 결합은 단일 결합 또는 이중 결합일 수 있다.

[0085] 상기 방법은

[0086] 디아실디케토피페라진을 첫 번째 알데히드와 반응시켜 중간체 화합물을 제조하는 단계; 및

[0087] 상기 중간체 화합물을 두 번째 알데히드와 반응시켜 상기 일반적인 구조를 갖는 상기 부류의 화합물들을 제조하는 단계

[0088] 에 의해 상기 화학식 I의 화합물을 제조하는 방법을 포함하고, 이때 상기 첫 번째 알데히드 및 두 번째 알데히드는 옥사졸카복스알데히드, 이미다졸카복스알데히드, 벤즈알데히드, 이미다졸카복스알데히드 유도체, 및 벤즈

알데히드 유도체로 이루어진 그룹 중에서 선택되며, 상기 방법에 의해

- [0089] R_1 , R_4 및 R_6 이 각각 독립적으로 수소 원자, 할로젠 원자 및 포화된 $C_{1-C_{24}}$ 알킬, 불포화된 $C_{1-C_{24}}$ 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로, 아지도, 치환된 니트로, 페닐 및 치환된 페닐 그룹, 하이드록시, 카복시, $-CO-O-R_7$, 시아노, 알킬티오, 폴리할로젠화된 알킬을 포함한 할로젠화된 알킬, 할로젠화된 카보닐 및 카보닐- $CCO-R_7$ 로 이루어진 그룹 중에서 선택되고, 이때 R_7 이 수소 원자, 할로젠 원자 및 포화된 $C_{1-C_{24}}$ 알킬, 불포화된 $C_{1-C_{24}}$ 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로, 아지도, 치환된 니트로, 페닐 및 치환된 페닐 그룹 중에서 선택되며;
- [0090] R_1' 및 R_1'' 이 독립적으로 수소 원자, 할로젠 원자 및 포화된 $C_{1-C_{24}}$ 알킬, 불포화된 $C_{1-C_{24}}$ 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로, 아지도, 치환된 니트로, 페닐 및 치환된 페닐 그룹, 하이드록시, 카복시, $-CO-O-R_7$, 시아노, 알킬티오, 폴리할로젠화된 알킬을 포함한 할로젠화된 알킬, 할로젠화된 카보닐 및 카보닐- $CCO-R_7$ 로 이루어진 그룹 중에서 선택되고, 이때 R_7 이 수소 원자, 할로젠 원자 및 포화된 $C_{1-C_{24}}$ 알킬, 불포화된 $C_{1-C_{24}}$ 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로, 아지도, 치환된 니트로, 페닐 및 치환된 페닐 그룹 중에서 선택되며;
- [0091] R_2 , R_3 및 R_5 가 각각 독립적으로 수소 원자, 할로젠 원자 및 포화된 $C_{1-C_{12}}$ 알킬, 불포화된 $C_{1-C_{12}}$ 알케닐, 아실, 사이클로알킬, 알콕시, 사이클로알콕시, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 아미노, 치환된 아미노, 니트로 및 치환된 니트로 그룹, 설포닐 및 치환된 설포닐 그룹으로 이루어진 그룹 중에서 선택되고;
- [0092] X_1 및 X_2 가 독립적으로 산소 원자, 질소 원자 및 황 원자로 이루어진 그룹 중에서 선택되고, 각각 상기 정의된 바와 같은 R_5 그룹에 의해 치환되거나 비 치환되며;
- [0093] Y 가 질소 원자, 상기로부터의 R_5 그룹으로 치환된 질소 원자, 산소 원자, 황 원자, 산화된 황 원자, 메틸렌 그룹 및 치환된 메틸렌 그룹으로 이루어진 그룹 중에서 선택되고;
- [0094] Z 가 n 이 0이 아닌 경우 각각 별도의 n 에 대해서, Z_1 , Z_2 , Z_3 및 Z_4 가 각각 독립적으로 탄소 원자, 황 원자, 질소 원자 및 산소 원자 중에서 선택되고;
- [0095] 점선 결합이 단일 결합 또는 이중 결합일 수 있는
- [0096] 상기 화학식 I의 화합물이 형성된다.
- [0097] 또한, 화학식 I 및 II 화합물의 약학적으로 허용 가능한 염 및 전구약물 에스테르를 제공하고 본원에 개시된 방법에 의해 상기과 같은 화합물을 합성하는 방법을 제공한다.
- [0098] "전구 약물 에스테르"란 용어는, 특히 본원에 개시된 방법에 의해 합성된 화학식 I 화합물의 전구 약물 에스테르를 지칭하는 경우, 혈액 또는 조직 내에서의 가수분해에 의해 생체 내에서 신속하게 전환되어 상기 화합물을 생성시키는 상기 화합물의 화학적 유도체를 지칭한다. "전구 약물 에스테르"란 용어는 생리 조건 하에서 가수분해되는 여러 에스테르 형성 그룹들 중 임의의 그룹의 첨가에 의해 형성되는 본원에 개시된 화합물의 유도체를 지칭한다. 전구 약물 에스테르 그룹의 예로는 피보일옥시메틸, 아세톡시메틸, 프탈리딜, 인다닐 및 메톡시메틸뿐만 아니라 당해 분야에 공지된 다른 상기과 같은 그룹들, 예를 들어 (5-R-2-옥소-1,3-디옥솔렌-4-일)메틸 그룹이 있다. 전구 약물 에스테르 그룹의 다른 예들을 예를 들어 문헌[T. Higuchi and V. Stella, in "Pro-drugs as Novel Delivery Systems", Vol. 14, A.C.S. Symposium Series, American Chemical Society(1975); and "Bioreversible Carriers in Drug Design: Theory and Application", edited by E.B. Roche, Pergamon Press: New York, 14-21(1987)]에서 찾을 수 있다(카복실 그룹을 함유하는 화합물에 대한 전구약물로서 유용한 에스테르들의 예가 제공되어 있다).
- [0099] 본 발명에 사용된 "전구 약물 에스테르"란 용어는 예를 들어 혈 중 가수분해에 의해 생체 내에서 신속하게 전환되어 화합물을 생성시키는 화합물의 화학적 유도체를 지칭한다. "전구 약물 에스테르"란 용어는 생리 조건 하에서 가수분해되는 여러 에스테르 형성 그룹들 중 임의의 그룹의 첨가에 의해 형성되는 본원에 개시된 화합물의 유도체를 지칭한다. 전구 약물 에스테르 그룹의 예로는 피보일옥시메틸, 아세톡시메틸, 프탈리딜, 인다닐

및 메톡시메틸뿐만 아니라 당해 분야에 공지된 다른 상기와 같은 그룹들, 예를 들어 (5-R-2-옥소-1,3-디옥솔렌-4-일)메틸 그룹이 있다. 전구 약물 에스테르 그룹의 다른 예들을 예를 들어 문헌[T. Higuchi and V. Stella, in "Pro-drugs as Novel Delivery Systems", Vol. 14, A.C.S. Symposium Series, American Chemical Society(1975); and "Bioreversible Carriers in Drug Design: Theory and Application", edited by E.B. Roche, Pergamon Press: New York, 14-21(1987)]에서 찾을 수 있다(카복실 그룹을 함유하는 화합물에 대한 전구약물로서 유용한 에스테르들의 예가 제공되어 있다).

[0100] "약학적으로 허용 가능한 염"이란 용어는, 특히 본 원에 개시된 방법에 의해 합성된 화학식 I 화합물의 약학적으로 허용 가능한 염을 지칭하는 경우, 화합물의 임의의 약학적으로 허용 가능한 염을 지칭하며, 바람직하게는 화합물의 산 부가염을 지칭한다. 약학적으로 허용 가능한 염의 바람직한 예는 알칼리 금속 염(나트륨 또는 칼륨), 알칼리성 토 금속 염(칼슘 또는 마그네슘), 또는 암모니아 또는 약학적으로 허용 가능한 유기 아민으로부터 유도된 암모늄 염, 예를 들어 C₁-C₇ 알킬아민, 사이클로헥실아민, 트리에탄올아민, 에틸렌디아민 또는 트리스-(하이드록시메틸)-아미노메탄이다. 상기 방법에 의해 합성되는 염기성 아민 화합물에 대해서, 약학적으로 허용 가능한 염의 바람직한 예는 약학적으로 허용 가능한 무기 또는 유기 산, 예를 들어 할로젠화 수소산, 황산, 인산 또는 지방족 또는 방향족 카복실산 또는 설폰산, 예를 들어 아세트산, 숙신산, 락트산, 말산, 타르타르산, 시트르산, 아스코르브산, 니코틴산, 메탄설폰산, p-톨루엔설폰산 또는 나프탈렌설폰산의 산 부가염이다.

[0101] 본 발명에 사용된 "약학적으로 허용 가능한 염"이란 용어는 화합물의 임의의 약학적으로 허용 가능한 염을 지칭하며, 바람직하게는 화합물의 산 부가염을 지칭한다. 약학적으로 허용 가능한 염의 바람직한 예는 알칼리 금속 염(나트륨 또는 칼륨), 알칼리성 토 금속 염(칼슘 또는 마그네슘), 또는 암모니아 또는 약학적으로 허용 가능한 유기 아민으로부터 유도된 암모늄 염, 예를 들어 C₁-C₇ 알킬아민, 사이클로헥실아민, 트리에탄올아민, 에틸렌디아민 또는 트리스-(하이드록시메틸)-아미노메탄이다. 염기성 아민 화합물에 대해서, 약학적으로 허용 가능한 염의 바람직한 예는 약학적으로 허용 가능한 무기 또는 유기 산, 예를 들어 할로젠화 수소산, 황산, 인산 또는 지방족 또는 방향족 카복실산 또는 설폰산, 예를 들어 아세트산, 숙신산, 락트산, 말산, 타르타르산, 시트르산, 아스코르브산, 니코틴산, 메탄설폰산, p-톨루엔설폰산 또는 나프탈렌설폰산의 산 부가염이다.

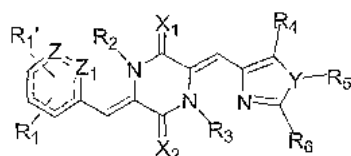
[0102] 본 원에 개시된 바람직한 약학 조성물은 본 원에 개시된 방법에 의해 합성된 화학식 I 화합물의 약학적으로 허용 가능한 염 및 전구약물 에스테르를 포함한다. 따라서, 약학 제형의 제조가 약학 부형제들과 유효 성분을 염 형태로 긴밀히 혼합함을 포함하는 경우, 비 염기성, 즉 산성이거나 중성인 약학 부형제를 사용하는 것이 바람직하다.

[0103] 본 원에 개시된 화합물의 제조 방법의 바람직한 실시태양에서, 비교적 엄격한 평면상 의사(pseudo) 3-환 구조가 형성될 수 있다. 상기와 같은 비교적 엄격한 평면상 의사 3-환 구조를 안정화시키기 위해서 R₃을 수소로 선택하는 것이 바람직할 수 있다.

[0104] 본 원에 개시된 화합물 및 방법의 다른 바람직한 실시태양에서, n은 0 이상, 보다 바람직하게는 1 이상이고, Z₂, Z₃ 및 Z₄는 각각 독립적으로 산소 원자, 질소 원자 및 탄소 원자 중에서 선택되고, 보다 바람직하게는 Z₂, Z₃ 및 Z₄ 중 하나 이상이 탄소 원자이며, 가장 바람직하게는 Z₂, Z₃ 및 Z₄ 중 2 개 이상이 탄소 원자이다. 모든 Z들이 동시에 탄소 원자일 수도 있다.

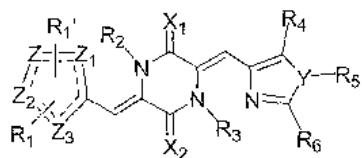
[0105] 본 원에 개시된 방법 및 조성물의 더욱 다른 바람직한 실시태양은 하기 화학식 Ia 및 Ib의 구조를 갖는 화합물을 포함한다:

화학식 Ia



[0106]

화학식 Ib



[0107]

[0108]

상기 식들에서,

[0109]

가변 그룹들은 본 원에 정의된 바와 같다.

[0110]

본 발명에 사용된 "할로겐 원자"란 용어는 원소 주기율표 7 족의 방사-안정성 원자들 중 임의의 원자, 예를 들어 불소, 염소, 브롬 또는 요오드, 바람직하게는 불소 및 요오드를 의미한다.

[0111]

본 발명에 사용된 "알킬"이란 용어는 임의의 비 분지 또는 분지된, 치환 또는 비 치환된, 포화된 탄화수소, 바람직하게는 C₁-C₆ 비 분지된, 포화된, 비 치환된 탄화수소, 가장 바람직하게는 메틸, 에틸, 이소부틸 및 3-급-부틸을 의미한다. 상기 치환된, 포화된 탄화수소 중에서, C₁-C₆ 일- 및 이- 및 과-할로겐 치환된 포화된 탄화수소 및 아미노 치환된 탄화수소가 바람직하며, 퍼플루오로메틸, 퍼클로로메틸, 퍼플루오로-3-급-부틸 및 퍼클로로-3-급-부틸이 가장 바람직하다. "치환된"이란 용어는 관련 기술의 다수의 최신 특허들에서 발견되는 그의 통상적인 의미를 갖는다. 예를 들어 미국 특허 제 6,583,143; 6,509,331; 6,506,787; 6,500,825; 5,922,683; 5,886,210; 5,874,443; 및 6,350,759 호를 참조하시오. 구체적으로, 치환된의 정의는 미국 특허 제 6,583,143 호에 제공된 것만큼 광범위하며, 상기 특허는 상기 용어 치환된을 알킬, 아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴, 헤테로아릴알킬, 헤테로사이클 및 헤테로사이클알킬과 같은 임의의 그룹으로서 한정하고, 이때 하나 이상의 수소 원자가 치환체에 의해 치환된다. "치환된"이란 용어는 또한 미국 특허 제 6,509,331 호에 제공된 정의만큼 광범위하며, 상기 특허는 "치환된 알킬"이란 용어를 상기가 바람직하게는 알콕시, 치환된 알콕시, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아실아미노, 시아노, 할로겐, 하이드록실, 카복실, 카복실알킬, 케토, 티오케토, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릭, 헤테로사이클로옥시, 하이드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO₂-알킬, -SO₂-치환된 알킬, -SO₂-아릴 및 -SO₂-헤테로아릴로 이루어진 그룹 중에서 선택된 하나 내지 5 개의 치환체, 바람직하게는 하나 내지 3 개의 치환체를 갖는, 탄소수 1 내지 10의 알킬 그룹을 지칭하도록 한정한다. 다른 상기 열거된 특허들은 또한 당해 분야의 숙련가들에 의해 잘 이해되는 "치환된"이란 용어에 대한 표준 정의를 제공한다. "사이클로알킬"이란 용어는 바람직하게는 고리를 포함하여 5 내지 12 개의 원자를 갖는, 임의의 비-방향족 탄화수소 고리를 지칭한다. "아실"이란 용어는 옥소산으로부터 유도된 알킬 또는 아릴 그룹을 지칭하며, 아세틸 그룹이 바람직하다.

[0112]

본 발명에 사용된 "알케닐"이란 용어는 임의의 비 분지 또는 분지된, 치환 또는 비 치환된, 다중 불포화된 탄화수소를 포함한 불포화된 탄화수소를 의미하며, C₁-C₆ 비 분지된, 일- 및 이-불포화된, 비 치환된 탄화수소가 바람직하고, 일-불포화된, 이-할로겐 치환된 탄화수소가 가장 바람직하다. 화학식 I 화합물의 R₁ 및 R₄ 위치에서, z-이소프레닐 잔기가 특히 바람직하다. "사이클로알케닐"이란 용어는 바람직하게는 고리를 포함하여 5 내지 12 개의 원자를 갖는 임의의 비-방향족 탄화수소 고리를 지칭한다.

[0113]

본 발명에 사용된 "아릴", "치환된 아릴", "헤테로아릴" 및 "치환된 헤테로아릴"이란 용어는 바람직하게는 고리를 포함하여 5, 6 또는 7 개의 원자, 가장 바람직하게는 6 개의 원자를 갖는 방향족 탄화수소 고리를 지칭한다. "헤테로아릴" 및 "치환된 헤테로아릴"은 하나 이상의 헤테로원자, 예를 들어 산소, 황 또는 질소 원자가 하나 이상의 탄소 원자와 함께 고리 중에 존재하는 방향족 탄화수소 고리를 지칭한다.

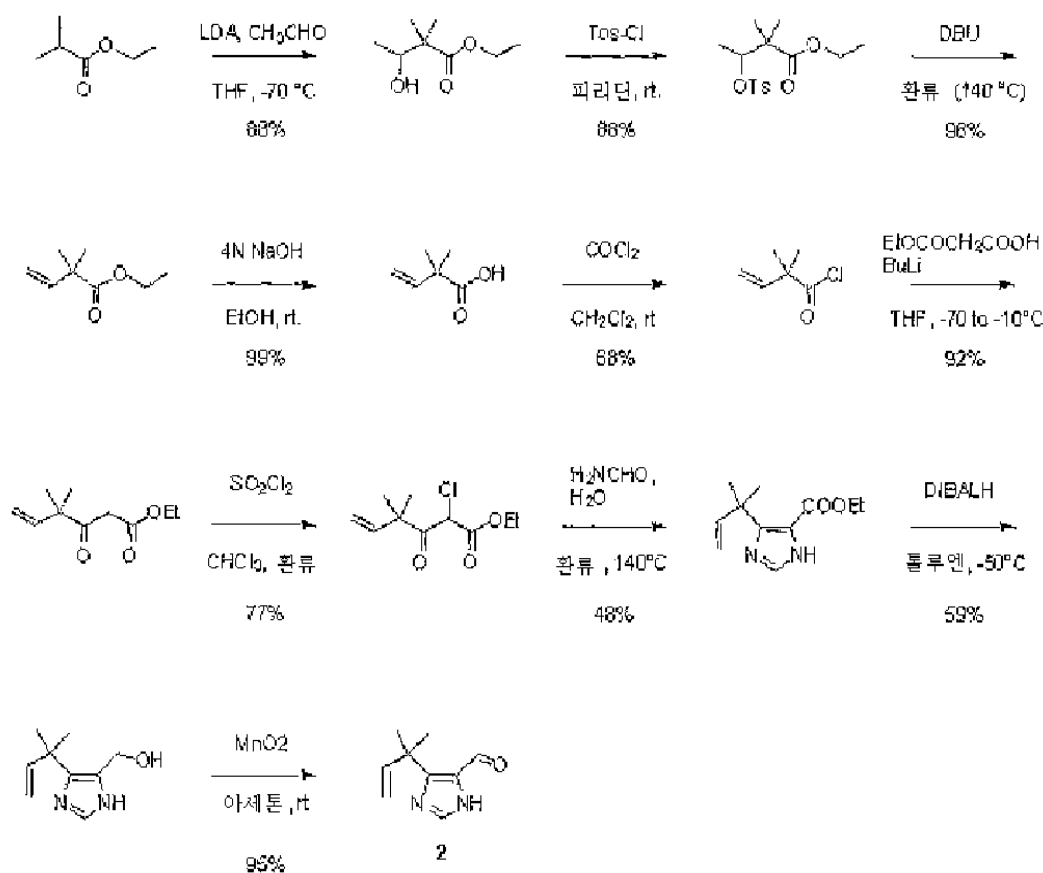
[0114]

"알콕시"란 용어는 임의의 비 분지 또는 분지된, 치환 또는 비 치환된, 포화 또는 불포화된 에테르를 지칭하며, C₁-C₆ 비 분지된, 포화된, 비 치환된 에테르가 바람직하고, 메톡시가 바람직하며, 또한 디메틸, 디에틸, 메틸-이소부틸 및 메틸-3-급-부틸 에테르가 또한 바람직하다. "사이클로알콕시"란 용어는 바람직하게는 고리를 포함하여 5 내지 12 개의 원자를 갖는 임의의 비-방향족 탄화수소 고리를 지칭한다.

[0115] 본 발명에 사용된 "정제된", "실질적으로 정제된" 및 "단리된"이란 용어는 천연 상태에서 통상적으로 회합되는 다른 유사하지 않은 화합물이 존재하지 않는 화합물을 지칭하며, 따라서 본 발명의 화합물은 소정의 샘플 중에 중량을 기준으로 0.5%, 1%, 5%, 10% 또는 20%, 가장 바람직하게는 50% 또는 75% 이상으로 존재한다.

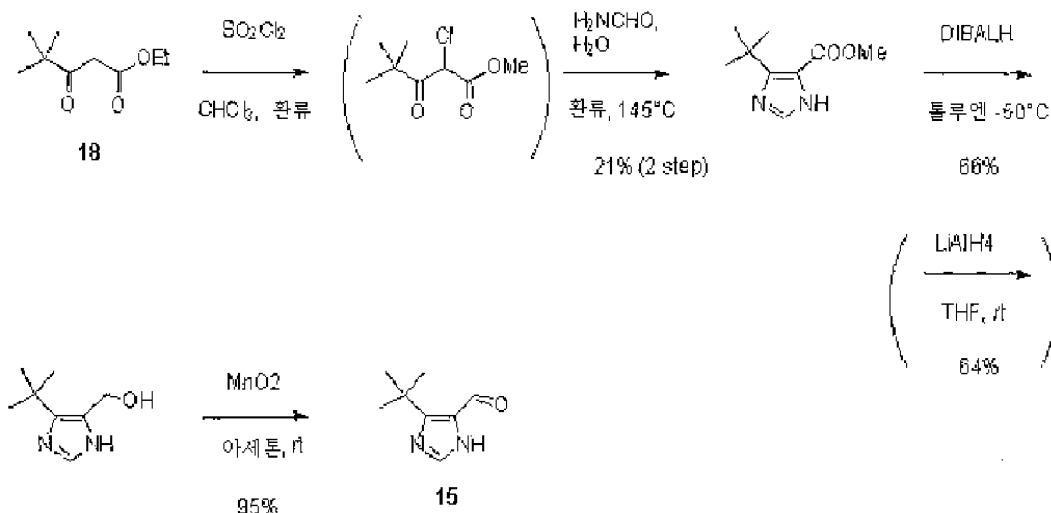
[0116] 화학식 I의 화합물을 당해 분야에 공지되어 있고 입수할 수 있는 시약으로부터 화학적으로 합성하거나 제조할 수 있다. 예를 들어 문헌[Loughlin et al., 2000 Bioorg Med Chem Lett 10:91 또는 Brocchini et al. WO 95/21832]에 디아실디케토피페라진(디아세틸디케토피페라진)의 변형이 개시되어 있다. 상기 디아실디케토피페라진(디아세틸디케토피페라진)을 예를 들어 저렴한 2,5-피페라진디온(TCI 목록 번호 G0100, 25 g)을 나트륨 아세테이트 및 나트륨 무수물에 의해 디아세틸화시킴으로써 제조할 수 있다. 상기 활성화된 디케토피페라진의 디아세틸 구조를 Boc(t-부톡시카보닐), Z(벤조일옥시카보닐)과 같은 카바메이트를 포함하도록 다른 아실 그룹으로 치환시킬 수 있다.

[0117] 이미다졸카복스알데히드를 예를 들어 하기 나타낸 바와 같이 문헌[Hayashi et al., 2000 J Organic Chem 65: 8402]에 개시된 과정에 따라 제조할 수 있다:



[0118]

[0119] 이미다졸카복스알데히드 유도체의 또 다른 예는 이미다졸-4-카복스알데히드 15 유도체이며, 이는 예를 들어 하기 경로에 의해, 상업적으로 입수할 수 있는 베타-케토에스테르 18(TCI 목록 번호 P1031, 25 ml)로부터 제조할 수 있다:



[0120]

[0121]

본 원에 개시된 합성 방법을 바람직하게는 산소 제거된 분위기에서 DMF 중의 염기로서 탄산 세슘의 존재 하에서 수행할 수 있다. 예를 들어 문헌[Watanabe et al., 18th International Congress of Heterocyclic Chemistry in Yokohama, Japan(30 July 2001), Abstract, page 225]에 보고된 바와 같이, 탄산 세슘으로 처리하는 동안 불활성 분위기가 디케토피페라진 고리의 활성화된 α-탄소 원자의 있음직한 산화를 둘러싼다(하기 참조).

[0122]

[0123]

(세슘 염에 의한 활성화된 카보닐 화합물의 공기 산화)

[0124]

상기 합성 방법의 다른 실시태양들은 화학식 I 화합물의 합성에 사용되거나 또는 달리 관여하는 화합물에 대한 변경을 포함한다. 상기와 같은 유도체는 페닐 고리에 대한 변경, 다른 방향족 고리 시스템의 도입, 상기 방향족 고리의 위치, 이미다졸 고리 시스템에 대한 변경 및/또는 상기 이미다졸 고리 상의 5 번 위치에 대한 추가의 변경을 포함할 수 있다. 상기와 같은 변경들의 예가 예를 들어 실시예 4에 논의되어 있다. 상기와 같은 변경의 결과는 페닐 고리의 증가된 질소 함량 및/또는 화합물 용해도를 증가시킬 수 있는 화합물을 포함한다. 다른 변경은 공지된 튜블린 억제제의 유도체를 통합시킬 수 있으며, 이에 의해 상기 튜블린 억제제의 활성을 모방할 수 있다. 다른 변경은 본 원에 개시된 방법에 사용되는 이미다졸카복스알데히드의 제조에 관여하는 β-케토에스테르의 합성을 단순화할 수 있다.

[0125]

약학 조성물

[0126]

본 발명은 또한 보관 및 후속 투여를 위해 제조된 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물 중의, 임의로 및 바람직하게는 본 원에 개시된 방법에 의해 제조된 본 원에 개시된 화합물을 포함하며, 상기 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제 중에 약학적으로 유효한 양의 상기 개시된 생성물을 갖는다. 치료용으로 허용 가능한 담체 또는 희석제는 약학 분야에 널리 공지되어 있으며, 예를 들어 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., A.R. Gennaro edit. 1985]에 개시되어 있다. 보존제, 안정화제, 염료 및 심지어 풍미제가 상기 약학 조성물에 제공될 수 있다. 예를 들어, 벤조산 나트륨, 아스코르브산 및 p-하이드록시벤조산의 에스테르가 보존제로서 첨가될 수 있다. 또한, 산화방지제 및 현탁제를 사용할 수도 있다.

[0127]

데하이드로페닐아히스틴 또는 데하이드로페닐아히스틴 동족체 조성물을 제형화하여 경구 투여용 정제, 캡슐, 또는 엘릭시르; 직장 투여용 좌약; 주사용 투여를 위한 멸균 용액, 현탁액; 경피 투여용 패치; 및 피하 침착제 등으로서 사용할 수 있다. 주사 가능 물질을 액체 용액 또는 현탁액으로서, 주사 또는 주입 전 액체 중의 용액 또는 현탁액에 적합한 고체 형태로서, 또는 유화액으로서 통상적인 형태로 제조할 수 있다. 적합한 부형제는 예를 들어 물, 염수, 텍스트로즈, 만니톨, 락토오즈, 레시틴, 알부민, 글루탐산 나트륨, 시스테인 하이드로클로라이드, 인간 혈청 알부민 등이다. 또한, 경우에 따라 주사용 약학 조성물은 소량의 무독성 보조 물질, 예를 들어 습윤제, pH 완충제 등을 함유할 수 있다. 경우에 따라, 흡수 촉진제(예를 들어 리포솜)를 사용할 수도

있다.

[0128] 비 경구 투여용 약학 제형은 수용성 형태의 유효 화합물의 수용액을 포함한다. 또한, 상기 유효 화합물의 현탁액을 경우에 따라 유질 주입 현탁액으로서 제조할 수도 있다. 적합한 친지성 용매 또는 비히클은 지방 오일, 예를 들어 호마유, 또는 다른 유기 오일, 예를 들어 대두 오일, 그레이프프루트 오일 또는 아몬드 오일, 또는 합성 지방산 에스테르, 예를 들어 에틸 올리에이트 또는 트리글리세라이드, 또는 리포솜을 포함한다. 수성 주입 현탁액은 상기 현탁액의 점도를 증가시키는 물질, 예를 들어 나트륨 카복시메틸 셀룰로즈, 솔비톨 또는 텍스트란을 함유할 수 있다. 임의로, 상기 현탁액은 또한 적합한 안정화제, 또는 화합물의 용해도를 증가시켜 매우 농축된 용액의 제조를 허용하는 작용제를 함유할 수 있다.

[0129] 경구용 약학 제제를 유효 화합물들을 고체 부형제와 함께 배합하고, 임의로 생성 혼합물을 분쇄하고, 과립 혼합물을 가공하고, 그 후에 경우에 따라 적합한 보조제를 가하여 정제 또는 당의정 코어를 수득함으로써 수득할 수 있다. 적합한 부형제는 특히 충전제, 예를 들어 당, 예를 들어 락토오즈, 슈크로즈, 만니톨 또는 솔비톨; 셀룰로즈 제제, 예를 들어 옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분, 감자 전분, 젤라틴, 트라가칸트 검, 메틸 셀룰로즈, 하이드록시프로필메틸-셀룰로즈, 나트륨 카복시메틸셀룰로즈, 및/또는 폴리비닐피롤리돈(PVP)이다. 경우에 따라, 봉해제, 예를 들어 가교결합된 폴리비닐 피롤리돈, 아가 또는 알긴산 또는 그의 염, 예를 들어 나트륨 알기네이트를 첨가할 수 있다. 적합하게 코팅된 당의정 코어를 제공한다. 이를 위해서, 아라비아 검, 활석, 폴리비닐 피롤리돈, 카르보폴 겔, 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 이산화 티탄, 락커 용액, 및 적합한 유기 용매 또는 용매 혼합물을 임의로 함유할 수 있는 농축된 당 용액을 사용할 수 있다. 유효 화합물 용량을 확인하거나 또는 상기 화합물 용량들의 상이한 조합을 특성화하기 위해서 염료 또는 안료를 상기 정제나 당의정에 첨가할 수도 있다. 이를 위해서 아라비아 검, 활석, 폴리비닐 피롤리돈, 카르보폴 겔, 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 이산화 티탄, 락커 용액, 및 적합한 유기 용매 또는 용매 혼합물을 임의로 함유할 수 있는 농축된 당 용액을 사용할 수 있다. 유효 화합물 용량을 확인하거나 또는 상기 화합물 용량들의 상이한 조합을 특성화하기 위해서 염료 또는 안료를 상기 정제나 당의정에 첨가할 수도 있다. 상기과 같은 제형들을 당해 분야에 공지된 방법을 사용하여 제조할 수 있다(예를 들어 미국 특허 제 5,733,888(주사용 조성물); 5,726,181(불충분하게 수용성인 화합물); 5,707,641(치료학적으로 활성인 단백질 또는 펩티드); 5,667,809(친지성 작용제); 5,576,012(가용성 중합체성 작용제); 5,707,615(항바이러스성 제형); 5,683,676(미립자 약제); 5,654,286(국소 제형); 5,688,529(경구 현탁액); 5,445,829(연장된 방출 제형); 5,653,987(액체 제형); 5,641,515(조절된 방출 제형); 및 5,601,845 호(장구 제형)를 참조하시오).

[0130] 안 내, 비 내, 및 귀 내 전달을 포함하는 용도로 약학 분야에 널리 공지된 다양한 약학 조성물들을 또한 본원에 개시한다. 약학 제형은 수용성 형태의 상기 유효 화합물들의 수성 안 용액, 예를 들어 점안제, 또는 겔란 검(Shedden et al., 2001 Clin Ther 23(3):440-50) 또는 하이드로겔(Mayer et al., 1996 Ophthalmologica 210:101-3); 안 연고; 안 현탁액, 예를 들어 미세입자, 액체 담체 매질 중에 현탁되는 약물 함유 중합체성 소립자(Joshi, A., 1994 J Ocul Pharmacol 10:29-45), 액체-용해성 제형(Alm et al., 1989 Prog Clin Biol Res 312:447-58), 및 미소구(Mordenti, 1999 Toxicol Sci 52:101-6); 및 안구 삽입물을 포함한다. 상기과 같은 적합한 약학 제형들은 종종, 바람직하게는 안정성과 편안함을 위해 멸균되고, 등장성이고, 완충되도록 제형화된다. 약학 조성물은 또한 종종 정상적인 섬모 운동이 유지되도록 여러 면에서 코 분비물을 흉내내도록 제조되는 점적제 및 스프레이를 포함한다. 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing, 18th Edition]에 개시되고 당해 분야의 숙련가들에게 널리 공지된 바와 같이, 적합한 제형은 종종 바람직하게는 등장성으로, 5.5 내지 6.5의 pH를 유지하도록 가볍게 완충되며, 종종 바람직하게는 항균성 보존제 및 적합한 약물 안정화제를 포함한다. 귀 내 전달을 위한 약학 제형은 귀에 국소 적용하기 위한 현탁액 및 연고를 포함한다. 상기과 같은 귀 제형에 통상적인 용매로 글리세린 및 물이 있다.

[0131] 화학식 I의 화합물은 세포 주기 억제제, 종양 성장 억제 화합물 또는 진균 성장 억제 화합물로서 사용되는 경우 경구 또는 비 경구 경로에 의해 투여될 수 있다. 경구로 투여되는 경우, 상기 화합물을 캡슐, 정제, 과립, 스프레이, 시럽 또는 다른 상기과 같은 형태로 투여할 수 있다. 비 경구로 투여되는 경우, 상기 화합물은 수성 현탁액, 유성 제제 등으로서 투여될 수 있으며, 주사 또는 주입을 통해, 피하, 복강 내, 정맥 내, 피 내 등으로 투여되는 경우, 점적 주입, 좌약, 고약, 연고 등으로서 투여될 수 있다. 유사하게 상기 화합물을 종양과 최적으로 접촉되게 하기 위해 당해 분야의 숙련가들에 의해 적합하다고 생각되는 대로 상기를 국소, 직장 또는 질을 통해 투여하여 상기 종양의 성장을 억제시킬 수 있다. 또한 종양 절제 전 또는 후에 종양 부위의 국소 투여를 조절된 방출 제형, 데포 제형 및 주입 펌프 전달로서 고려한다.

[0132] 투여 방법

[0133] 본 발명은 또한 개시된 화학 화합물 및 개시된 약학 조성물의 제조 방법 및 투여 방법을 포함한다. 상기와 같이 개시된 방법은 다른 것들 중에서도 (a) 경구 경로를 통한 투여(상기 투여는 캡슐, 정제, 과립, 스프레이, 시럽 또는 다른 상기와 같은 형태를 포함한다); (b) 비 경구 경로를 통한 투여(상기 투여는 수성 현탁액, 유성 제제 등으로서 또는 점적 주입, 좌약, 고약, 연고 등으로서의 투여를 포함한다); 주사 또는 주입, 피하, 복강 내, 정맥 내, 근육 내, 피 내 등을 통한 투여; 및 (c) 국소 투여, (d) 직장 투여; 또는 (e) 질을 통한 투여를 살아 있는 조직과 화합물을 접촉시키기 위해 당해 분야의 숙련가들이 적합하다고 생각하는 대로; 및 (f) 조절된 방출 제형, 데포 제형 및 주입 펌프 전달을 통한 투여를 포함한다. 상기와 같은 투여 방식에 대한 추가의 예 및 투여 방식에 대한 추가의 개시로서, 상기 개시된 화학 화합물 및 약학 조성물의 다양한 투여 방식, 예를 들어 안 내, 비 내 및 귀 내 경로를 통한 투여 방식을 본 원에 개시한다.

[0134] 용량으로서 필요한 데하이드로페닐아히스틴 또는 데하이드로페닐아히스틴 동족체 조성물의 약학적으로 유효한 양은 투여 경로, 인간을 포함한 치료되는 동물의 유형, 및 고려 중인 특정 동물의 신체적 특징에 따라 변할 것이다. 상기 용량을 목적하는 효과를 성취하기 위해 맞출 수 있지만, 이는 체중, 식이요법, 동반되는 약물 치료, 및 의학 분야의 숙련가들이 인식하는 다른 인자들에 따라 변할 것이다.

[0135] 상기 방법의 실시에서, 생성물 또는 조성물을 단독으로 또는 서로 함께, 또는 다른 치료제 또는 진단제와 함께 사용할 수 있다. 예를 들어 본 원에 개시된 바와 같이 본 원에 개시된 화합물은 다른 유효 물질, 특히 다른 화학요법제, 예를 들어 생물 제제 및 특정한 화학요법제 CPT-11, 탁소텐(도카탁셀) 및 페클리탁셀과 함께 사용 시 암 치료에 효과적이다. 본 원에 개시된 화합물은 또한 다른 유효 물질, 예를 들어 혈관 억제제, 혈관형성 억제제, 예를 들어 에르부이투스(Erbuitux)(임클론/브리스톨-마이어스(Imclone/bristol-Myers)) 및 이레사(아스트라제네카(AstraZeneca)), 다른 VEGF 억제제 및 생물 제제, 보다 구체적으로 하나 이상의 항-VEGF 항체, 특히 VEGF 수용체에 대한 단클론 항체, 예를 들어 DC101, 래트 단클론 항체(마우스 VEGF 수용체 2(flkl-1)를 차단한다)와 함께 사용 시 암 치료에 효과적이다. 상기와 같은 조합을 생체 내에서, 통상적으로는 포유동물에서, 바람직하게는 인간에서, 또는 생체 외에서 사용할 수 있다. 이들을 생체 내에서 사용하는 경우, 개시된 화합물을 단독으로 또는 다른 화학요법제 또는 다른 생물 제제 산물과 함께 포유동물에게 다양한 투여 형태를 사용하여 다양한 방식으로, 예를 들어 비 경구, 정맥 내, 주입 또는 주사, 피하, 근육 내, 결장을 통해, 직장을 통해, 질을 통해, 코를 통해, 복강 내로 투여할 수 있다. 상기와 같은 방법을 또한 생체 내에서 화학 활성을 시험하는데 적용시킬 수도 있다.

[0136] 당해 분야의 숙련가들에게 쉽게 자명해지는 바와 같이, 투여되는 유용한 생체 내 용량 및 특정 투여 방식은 연령, 체중 및 치료되는 포유동물 중, 사용되는 특정 화합물, 및 상기 화합물이 사용되는 특정한 용도에 따라 변할 것이다. 목적하는 결과를 성취하는데 필요한 용량 수준인 유효 용량 수준의 결정은 통상적인 약물학적 방법을 사용하여 당해 분야의 숙련가에 의해 수행될 수 있다. 전형적으로는, 생성물의 인간 임상 적용을 보다 적은 용량 수준에서 개시하여, 상기 용량 수준을 목적하는 효과가 성취될 때까지 증가시킨다. 한편으로, 허용 가능한 생체 외 연구를 사용하여, 확립된 약물학적 방법을 사용하는 본 발명의 방법에 의해 동정된 조성물의 유용한 용량 및 투여 경로를 확립시킬 수 있다.

[0137] 비 인간 동물 연구에서, 가능성 있는 생성물의 적용을 보다 높은 용량 수준에서 개시하여, 목적하는 효과가 더 이상 성취되지 않거나 또는 부작용이 사라질 때까지 용량을 감소시킨다. 상기 용량의 범위는 목적하는 영향 및 치료 징후에 따라 광범위할 수 있다. 전형적으로는, 상기 용량은 약 10 μ g/체중 kg 내지 100 mg/체중 kg, 바람직하게는 약 100 μ g/체중 kg 내지 10 mg/체중 kg일 수 있다. 한편으로 상기 용량은 당해 분야의 숙련가들에 의해 이해되는 바와 같이, 환자의 표면적을 기준으로 하며 이를 근거로 계산될 수 있다. 투여는 3 일마다, 이틀마다, 매일, 하루에 2 회, 또는 하루에 3 회 경구로 수행될 수 있다.

[0138] 정확한 제형, 투여 경로 및 용량을 환자의 조건에 비추어 의사 개인이 선택할 수 있다. 예를 들어 문헌(Fingl et al., in The Pharmacological Basis of Therapeutics, 1975)을 참조하시오. 주치의는 독성이나 기관 기능 장애로 인하여 투여를 종료, 중단 또는 조절하는 방법 및 시기를 알 것임을 유념해야 한다. 환원하면, 주치의는 임상 반응이 적합하지 않은 경우(독성 제외) 치료를 보다 높은 수준으로 조절해야 할 것임을 알 것이다. 관심 질환의 관리에서 투여되는 용량의 크기는 치료되는 증상의 중증도 및 투여 경로에 따라 변할 것이다. 상기 증상의 중증도는 예를 들어 부분적으로 표준 예후 평가 방법에 의해 평가될 수 있다. 또한, 용량 및 추정 상 투여 회수가 또한 환자 개인의 연령, 체중 및 반응에 따라 변할 것이다. 상기 논의된 것에 필적하는 프로그램은 수의학적 약제에 사용할 수 있다.

- [0139] 치료되는 특정 조건에 따라, 상기와 같은 약제를 제형화하고 전신 또는 국소 투여할 수 있다. 다양한 제형화 및 투여 기법을 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA(1990)]에서 찾을 수 있다. 적합한 투여 경로는 경구, 직장, 경피, 질, 점막통과 또는 장 투여; 비 경구 전달, 예를 들어 근육 내, 피하, 척추 내 주사뿐만 아니라, 포막 내, 직접적인 심실 내, 정맥 내, 주입을 통해, 복강 내, 비 내 또는 안내 주입이 있을 수 있다.
- [0140] 주사 또는 주입을 위해, 상기 약제를 수용액, 예를 들어 생리 적합성 완충액, 예를 들어 헵크 용액, 링거 액, 또는 생리 염수 완충액 중에서 제형화할 수 있다. 상기와 같은 점막 통과 투여를 위해서, 투과시킬 차단층에 적합한 침투제를 제형에 사용한다. 상기와 같은 침투제는 당해 분야에 일반적으로 공지되어 있다. 본 발명의 실시를 위해 본원에 개시된 화합물을 전신 투여에 적합한 투여형으로 제형화하기 위해서 약학적으로 허용 가능한 담체를 사용하는 것은 본 발명의 범위 내에 있다. 담체 및 적합한 제조 실행을 적합하게 선택하여, 본원에 개시된 조성물, 특히 용액으로서 제형화된 약제들을 비 경구적으로, 예를 들어 정맥 내 주사 또는 주입에 의해 투여할 수 있다. 상기 화합물을 당해 분야에 널리 공지된 약학적으로 허용 가능한 담체를 사용하여 경구 투여에 적합한 투여형으로 쉽게 제형화할 수 있다. 상기와 같은 담체는 상기 화합물을 치료할 환자가 경구 섭취할 수 있도록 정제, 환제, 캡슐, 액체, 겔, 시럽, 슬러리, 현탁액 등으로서 제형화될 수 있게 한다.
- [0141] 세포 내로 투여하게 되어 있는 약제를 당해 분야의 숙련가들에게 널리 공지된 기법을 사용하여 투여할 수 있다. 예를 들어, 상기와 같은 약제를 리포솜으로 캡슐화하고, 이어서 상술한 바와 같이 투여할 수 있다. 리포솜 형성 시에 수용액 중에 존재하는 모든 분자는 수성 환경 내로 통합된다. 상기 리포솜 내용물은 외부의 미세 환경으로부터 보호되며, 리포솜이 세포막과 융합되기 때문에 세포질 내로 효율적으로 전달된다. 또한, 그의 소수성에 기인하여, 작은 유기 분자들이 세포 내로 직접 투여될 수 있다.
- [0142] 유효량의 결정은, 특히 본원에 제공된 상세한 내용에 비추어, 당해 분야의 숙련가들의 능력 내에 있다. 유효 성분들 이외에, 상기 약학 조성물은 유효 화합물이 약학적으로 사용될 수 있는 제제로 가공되는 것을 촉진시키는 부형제 및 보조제를 포함하는 적합한 약학적으로 허용 가능한 담체를 함유할 수 있다. 경구 투여용으로 제형화된 제제는 정제, 당의정, 캡슐 또는 용액의 형태일 수 있다. 상기 약학 조성물을 그 자체가 공지된 방법으로, 예를 들어 통상적인 혼합, 용해, 과립화, 당의정 제조, 부양, 유화, 캡슐화, 포집 또는 동결 건조 방법들을 사용하여 제조할 수 있다.
- [0143] 본원에 개시된 화합물을 공지된 방법을 사용하여 효능 및 독성에 대해 평가할 수 있다. 예를 들어, 특정 화합물, 또는 몇몇 화학 잔기들을 공유하는 상기 화합물의 서브셋의 독물학을 세포 주, 예를 들어 포유동물, 및 바람직하게는 인간, 세포주에 대한 생체 외 독성을 측정함으로써 확립시킬 수 있다. 상기와 같은 연구의 결과는 종종 동물, 예를 들어 포유동물, 또는 보다 구체적으로 인간에서 독성을 예견한다. 한편으로, 동물 모델, 예를 들어 마우스, 래트, 토끼 또는 원숭이에 대한 특정 화합물의 독성을 공지된 방법을 사용하여 측정할 수 있다. 특정 화합물의 효능을 여러 가지 기술 인식된 방법, 예를 들어 생체 외 방법, 동물 모델, 또는 인간 임상 시험을 사용하여 확립시킬 수 있다. 기술 인식된 생체 외 모델은 거의 모든 부류의 증상, 예를 들어 본원에 개시된 화합물에 의해 약화되는 증상, 예를 들어 암, 심혈관 질환 및 다양한 진균 감염에 대해 존재한다. 유사하게, 허용 가능한 동물 모델을 사용하여 상기와 같은 증상의 치료를 위한 화학물질의 효능을 확립시킬 수 있다. 효능을 측정할 모델을 선택할 때, 숙건가는 적합한 모델, 용량, 및 투여 경로, 및 섭생을 선택하기 위해 당시의 기술적 시점을 지침으로 할 수 있다. 물론, 인간 임상 시험도 또한 인간에서의 화합물의 효능을 측정하는데 사용될 수 있다.
- [0144] 항암제, 또는 종양 성장 억제 화합물로서 사용 시 본원에 개시된 화합물을 경구 또는 비 경구 경로로 투여할 수 있다. 경구로 투여하는 경우 상기를 캡슐, 정제, 과립, 스프레이, 시럽 또는 다른 상기와 같은 형태로 투여할 수 있다. 비 경구로 투여하는 경우, 상기 화합물을 수성 현탁액, 유성 제제 등으로서 투여할 수 있으며, 주사 또는 주입을 통해, 피하, 복강 내, 정맥 내, 피 내 등으로 투여하는 경우, 점적 주입, 좌약, 고약, 연고 등으로서 투여할 수 있다. 유사하게 상기 화합물을 종양과 최적으로 접촉되게 하기 위해 당해 분야의 숙련가들에 의해 적합하다고 생각되는 대로 상기를 국소, 직장 또는 질을 통해 투여하여 상기 종양의 성장을 억제시킬 수 있다. 종양 또는 다른 질병 증상 부위의 국소 투여가 또한 종양 절제 전 또는 후에, 또는 상기 질환 증상의 기술 인식된 치료의 일부로서 고려된다. 조절된 방출 제형, 데포 제형 및 주입 펌프 전달이 유사하게 고려된다.
- [0145] 항암제 또는 종양 억제제로서 사용되는 경우 인간 환자에게 약 0.0007 mg/일 내지 약 7,000 mg/일의 유효 성분, 보다 바람직하게는 약 0.07 mg/일 내지 약 70 mg/일의 유효 성분의 양을, 바람직하게는 하루에 한 번, 또는 일

바람직하게는 하루에 2 회 내지 10 회 경구 또는 비 경구 투여할 수 있다. 한편으로 및 또한 바람직하게는, 상기 화합물을 예를 들어 정맥 내 점적 주입에 의해 연속적으로, 지정된 양으로 투여하는 것이 바람직할 수 있다. 따라서, 체중이 70 kg인 환자의 경우, 유효 종양 억제 성분의 바람직한 1 일 용량은 약 0.0007 mg/kg/일 내지 약 35 mg/kg/일, 예를 들어 1.0 mg/kg/일 및 0.5 mg/kg/일, 보다 바람직하게는 0.007 mg/kg/일 내지 약 0.050 mg/kg/일, 예를 들어 0.035 mg/kg/일일 것이다. 그럼에도 불구하고, 당해 분야의 숙련가들에 의해 이해되는 바와 같이, 몇몇 상황에서 상기 종양 억제 화합물을 과잉 또는 심지어 훨씬 과잉으로, 상기 지정된, 특별히 진행되거나 치명적인 종양을 효율적이고 공격적으로 치료하는데 바람직한 용량 범위의 양으로 투여하는 것이 필요할 수도 있다.

[0146] 항진균제로서 사용 시 특정 진균 병원균의 치료 또는 예방에 유효한 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체의 바람직한 양은 부분적으로 진균의 특징 및 감염 정도에 따라 변할 것이며 표준적인 임상 기법에 의해 결정될 수 있다. 생체 외 또는 생체 내 분석을 최적 용량 범위의 확인을 돕는데 임의로 사용할 수도 있다. 유효 용량을 생체 외 분석 또는 바람직하게는 동물 모델로부터 유도된 용량-반응 곡선으로부터 외삽법에 의해 추정할 수 있다. 정확한 용량 수준을 주치의나 다른 헬스 케어 준비자가 결정해야 하며, 상기 수준은 잘 알려진 인자들, 예를 들어 투여 경로, 및 개인의 연령, 체중, 성별 및 일반적인 건강; 감염 성질, 중증도 및 임상 단계; 동반되는 요법의 사용 여부에 따라 변할 것이다.

[0147] 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체의 유효 용량은 전형적으로는 단일 또는 수회 용량으로 투여 시, 하루에 포유동물 체중을 기준으로 약 0.01 내지 약 50 mg/kg, 바람직하게는 0.1 내지 10 mg/kg의 범위일 것이다. 일반적으로, 상기 화합물을 상기와 같은 치료가 필요한 환자에게 환자 당 약 1 내지 약 2000 mg의 1 일 용량 범위로 투여할 수 있다.

[0148] 본 원에 개시된 화합물을 포함하는 투여형을 종양 성장 억제 화합물로서 제형화하기 위해서, 공지된 표면 활성제, 부형제, 평활제, 현탁제, 및 약학적으로 허용 가능한 필름 형성 물질 및 코팅 보조제 등을 사용할 수 있다. 바람직하게는 알콜, 에스테르, 황산화된 지방족 알콜 등을 표면 활성제로서; 슈크로즈, 글루코즈, 락토오즈, 전분, 결정화된 셀룰로즈, 만니톨, 라이트 무수 실리케이트, 마그네슘 알루미늄네이트, 마그네슘 메타실리케이트 알루미늄네이트, 합성 알루미늄 실리케이트, 탄산 칼슘, 나트륨 산 카보네이트, 인산 수소 칼슘, 칼슘 카복시메틸 셀룰로즈 등을 부형제로서; 마그네슘 스테아레이트, 활석, 경화유 등을 평활제로서; 코코넛 오일, 올리브 오일, 호마유, 땅콩 오일, 대두 오일을 현탁제 또는 윤활제로서; 셀룰로즈 또는 당과 같은 탄수화물의 유도체로서 셀룰로즈 아세테이트 프탈레이트, 또는 폴리비닐의 유도체로서 메틸아세테이트-메타크릴레이트 공중합체를 현탁제로서; 및 가소화제, 예를 들어 에스테르 프탈레이트 등을 현탁제로서 사용할 수 있다. 상기 바람직한 성분들 이외에, 감미제, 향료, 착색제, 보존제 등을 바람직하게는 화합물을 경구 투여하는 경우 상기 화합물의 투여 제형에 첨가할 수도 있다.

[0149] 약학 조성물 중의 본 원에 개시된 화합물은 또한 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 상기와 같은 조성물을 보관 또는 후속 투여를 위해 제조할 수 있다. 치료용으로 허용 가능한 담체 또는 희석제는 약학 분야에 널리 공지되어 있으며 예를 들어 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co.(A.R. Gennaro edit. 1985)]에 개시되어 있다. 예를 들어, 상기와 같은 조성물을 제형화하고 경구 투여를 위해 정제, 캡슐 또는 용액으로서; 직장 또는 질 투여를 위해 좌약으로서; 주사 가능 물질의 투여를 위해 멸균 용액 또는 현탁액으로서 사용할 수 있다. 주사 가능 물질을 액체 용액 또는 현탁액, 주사 또는 주입 전에 액체 중의 용액 또는 현탁액에 적합한 고체 형태, 또는 유화액으로서 통상적인 형태로 제조할 수 있다. 적합한 부형제로는 비 제한적으로 염수, 텍스트로즈, 만니톨, 락토오즈, 레시틴, 알부민, 나트륨 글루타메이트, 시스테인 하이드로클로라이드 등이 있다. 또한, 경우에 따라, 상기 주사 가능한 약학 조성물은 소량의 무독성 보조 물질, 예를 들어 습윤제, pH 완충제 등을 함유할 수 있다. 경우에 따라, 흡수 촉진 제제(예를 들어 리포솜)를 사용할 수도 있다.

[0150] 용량으로서 필요한 화합물의 약학적으로 유효한 양은 투여 경로, 치료하려는 동물의 유형 및 고려 중인 특정 동물의 신체 특징에 따라 변할 것이다. 상기 용량을 목적하는 효과를 성취하기 위해 맞출 수 있지만, 이는 체중, 식이요법, 동반되는 약물 치료, 및 의학 분야의 숙련가들이 인식하는 다른 인자들에 따라 변할 것이다.

[0151] 상술한 바와 같이 상기 생성물 또는 조성물을 단독으로 또는 서로 함께, 또는 다른 치료제 또는 진단제와 함께 사용할 수 있다. 구체적으로, 상기 개시된 화합물 생성물을 단독으로 또는 암 치료를 위한 다른 화학요법제 또는 생물 제제, 예를 들어 항체와 함께, 또는 진균 감염의 치료를 위한 다른 감염 억제제와 함께 사용할 수 있다. 이러한 생성물 또는 조성물을 생체 내 또는 생체 외에서 사용할 수 있다. 유용한 용량 및 가장 유용한

투여 방식은 연령, 체중 및 치료되는 동물, 사용되는 특정 화합물, 및 상기 조성물 또는 조성물들을 사용하는 특정한 용도에 따라 변할 것이다. 특정 질환의 관리 또는 치료에서 용량의 크기는 치료하려는 증상의 중증도 및 투여 경로에 따라 변할 것이며, 질환 증상 및 그의 중증도에 따라, 상기 조성물을 제형화하고 전신 또는 국소 투여할 수 있다. 다양한 제형화 및 투여 기법을 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA(1990)]에서 찾을 수 있다.

[0152] 바람직하게는 본 원에 개시된 방법에 따라 합성적으로 제조된 화학식 I의 화합물을 세포 주기 억제제, 종양 성장 억제제 또는 항진균 화합물로서 제형화하기 위해서, 공지된 표면 활성제, 부형제, 평활제, 현탁제, 및 약학적으로 허용 가능한 필름 형성 물질 및 코팅 보조제 등을 사용할 수 있다. 바람직하게는 알콜, 에스테르, 황산화된 지방족 알콜 등을 표면 활성제로서; 슈크로즈, 글루코즈, 락토오즈, 전분, 결정화된 셀룰로즈, 만니톨, 라이트 무수 실리케이트, 마그네슘 알루미늄에이트, 마그네슘 메타실리케이트 알루미늄에이트, 합성 알루미늄 실리케이트, 탄산 칼슘, 나트륨 산 카보네이트, 인산 수소 칼슘, 칼슘 카복시메틸 셀룰로즈 등을 부형제로서; 마그네슘 스테아레이트, 활석, 경화유 등을 평활제로서; 코코넛 오일, 올리브 오일, 호마유, 땅콩 오일, 대두 오일을 현탁제 또는 윤활제로서; 셀룰로즈 또는 당과 같은 탄수화물의 유도체로서 셀룰로즈 아세테이트 프탈레이트, 또는 폴리비닐의 유도체로서 메틸아세테이트-메타크릴레이트 공중합체를 현탁제로서; 및 가소화제, 예를 들어 에스테르 프탈레이트 등을 현탁제로서 사용할 수 있다. 상기 바람직한 성분들 이외에, 감미제, 향료, 착색제, 보존제 등을 특히 화합물을 경구 투여하는 경우 상기 방법에 의해 제조된 상기 화합물의 투여 제형에 첨가할 수도 있다.

[0153] 상기 방법에 의해 제조될 수 있는 세포 주기 억제제, 종양 억제제 및 항진균제를 인간 환자에게 약 0.001 mg/kg/일 내지 약 10,000 mg/kg/일의 유효 성분, 보다 바람직하게는 약 0.1 mg/kg/일 내지 약 100 mg/kg/일의 유효 성분의 양으로, 바람직하게는 주기 기준으로 매 3 일에 한 번, 이틀에 한 번, 하루에 한 번, 하루에 두 번, 또는 덜 바람직하게는 하루에 2 회 내지 10 회 경구 또는 비 경구 투여할 수 있다. 한편으로 및 또한 바람직하게는, 상기 화합물을 예를 들어 정맥 내 점적 주입에 의해 연속적으로, 지정된 양으로 투여하는 것이 바람직할 수 있다. 따라서, 체중이 70 kg인 환자의 경우, 유효 종양 억제 성분의 바람직한 1 일 용량은 약 0.07 mg/일 내지 약 700 mg/일, 보다 바람직하게는 7 mg/일 내지 약 7 mg/일일 것이다. 그럼에도 불구하고, 당해 분야의 숙련가들에 의해 이해되는 바와 같이, 몇몇 상황에서 상기 종양 억제 화합물을 과잉 또는 심지어 훨씬 과잉으로, 상기 지정된, 특별히 진행되거나 치명적인 종양을 효율적이고 공격적으로 치료하는데 바람직한 용량 범위의 양으로 투여하는 것이 필요할 수도 있다.

[0154] 생화학 시험 시약으로서 상기 방법에 의해 제조된 세포 주기 억제제를 사용하는 경우에, 본 발명의 방법에 의해 제조된 화합물은 유기 용매 또는 함수 유기 용매에 용해되고 임의의 다양한 배양 세포 시스템에 직접 적용 시 세포 주기의 진행을 억제한다. 유용한 유기 용매로는 예를 들어 메탄올, 메틸설폭사이드 등이 있다. 상기 제형은 예를 들어 분말, 과립 또는 다른 고체 억제제, 또는 유기 용매 또는 함수 유기 용매를 사용하여 제조된 액체 억제제일 수 있다. 세포 주기 억제제로서 사용하기 위한 본 발명의 방법에 의해 제조된 화합물의 바람직한 농도는 일반적으로 약 1 내지 약 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 범위이지만, 가장 바람직한 사용량은 당해 분야의 숙련가에 의해 인식되는 바와 같이 배양된 세포 시스템의 유형 및 사용 목적에 따라 변한다. 또한, 몇몇 적용에서 당해 분야의 숙련가에게 상기 범위 밖의 양을 사용하는 것이 필요하거나 바람직할 수도 있다.

[0155] 약학적 예견으로부터, 일부 실시태양은 대상자에게 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 포함하는 조성물을 투여함, 예를 들어 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 목적하는 항진균 효과를 제공하는 양 및 방식으로 투여함을 포함하는, 상기 대상자에서 진균 감염 및/또는 병원성 진균을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.

[0156] 다른 실시태양은 상기 나타내거나 하기에 언급하는 것들과 같은 병원성 진균에 의한 환자의 감염을 치료 또는 예방함을 포함한다.

[0157] 또 다른 실시태양은 하나 이상의 다른 항진균제, 특히 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체 이외의 약제, 예를 들어 암포테리신 B 또는 그의 동족체 또는 유도체(14(s)-하이드록시암포테리신 B 메틸 에스테르, 1-아미노-4-메틸피페라진을 갖는 암포테리신 B의 하이드라지드 및 다른 유도체 포함) 또는 다른 폴리엔 마크로리드 항생제, 예를 들어 나이스타틴, 칸디시딘, 피마리신 및 나타마이신; 플루시토신; 그리세오폴빈; 에치노칸딘스 또는 아우레오바시딘스, 예를 들어 천연 및 반 합성 동족체; 디하이드로벤조[a]나프타센퀴논; 뉴클레오시드 펩티드 항진균제, 예를 들어 폴리옥신 및 니코마이신; 알릴아민, 예를 들어 나프티핀 및 다른 스쿠알렌 에폭시데아제 억제제; 및 아졸, 이미다졸 및 트리아졸, 예를 들어 클로트리마졸, 미코나졸, 케토코나졸, 에코나졸, 부토코나

졸, 옥시코나졸, 터코나졸, 이트라코나졸 또는 플루코나졸 등에 내성인 병원성 진균에 의한 환자 감염의 치료 또는 예방에 관한 것이다. 추가의 통상적인 항진균제 또는 개발중인 신규 약제에 대해서, 예를 들어 문헌 [Turner and Rodriguez, 1996 Current Pharmaceutical Design, 2:209-224]을 참조하시오. 또 다른 실시태양은 환자가 하나 이상의 다른 항진균제에 대해 알리지성이거나, 달리 내성이거나 또는 비 반응성인 경우, 또는 다른 항진균제의 사용이 달리 금기를 나타내는 경우 병원성 진균에 의한 환자 감염의 치료 또는 예방을 포함한다. 상기 다른 항진균제에는 특히 상기 및 본 원의 다른 부분에 개시된 항진균제들이 포함된다.

[0158] 상기 치료 또는 예방 방법에서, 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 대상자에게 항진균 유효량으로 투여한다.

[0159] 다른 실시태양은 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 하나 이상의 다른 항진균제, 예를 들어 임의의 앞서 언급한 약제 또는 앞서 언급한 유형의 약제의 투여와 함께(예를 들어 바람직하게는 액체 또는 리포솜 제형 중의 암포테리신 B; 아졸 또는 트리아졸, 예를 들어 플루코나졸; 아우레오바시딘; 디하이드로벤조[a]나프타센퀴논; 또는 에키노카르딘에 의한 치료와 함께)뿐만 아니라 상이한 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체와 함께 투여함으로써 환자의 병원성 진균에 의한 감염을 치료 또는 예방하는 것에 관한 것이다.

[0160] 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 다른 항진균제의 투여 전, 후 또는 상기와 동시에 투여할 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 병행 치료는 단독으로 사용되는 경우 사용되는 양에 비해 감소된 양의 항진균 성분 하나 또는 둘 모두의 사용을 허용할 것이다.

[0161] 더욱 다른 실시태양은 병원성 진균에 의한 감염의 치료 또는 예방을 위해 대상자에게 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 투여하는 것에 관한 것이며, 이때 상기 대상자는 예를 들어 유전 질환, 당뇨병 또는 HIV 또는 다른 감염과 같은 질환, 암 또는 다른 질환에 대한 방사선 치료, 또는 약물-또는 달리 조직이나 기관 이식 또는 자가면역 질환의 치료와 관련하여 유발된 면역억제의 결과로서 면역 억제되거나 면역 손상되어 있다. 상기 환자가 예를 들어 조직 또는 기관 이식과 관련하여 면역억제제로 치료받는 중이거나 또는 치료받을 것이라면, 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 면역 억제제(들)와 함께 동시에 투여하여 병원성 진균 감염을 치료 또는 예방할 수 있다.

[0162] 본 발명의 또 다른 태양은 항균성 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 하나 이상의 항-HIV 치료제(예를 들어 HIV 프로테아제 억제제, 역 전사 억제제 또는 항바이러스제를 포함한다)와 함께 투여함으로써 HIV로 감염되거나 감염이 의심되는 환자에서 병원성 진균에 의한 감염을 치료 또는 예방하는 것이다. 상기 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 상기 항-HIV제(들)의 투여 전, 후 또는 투여와 동시에 투여할 수 있다.

[0163] 본 발명의 또 다른 태양은 항진균성 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 하나 이상의 다른 항생제 화합물, 특히 하나 이상의 항균제와 함께, 바람직하게는 세균 감염의 치료 또는 예방에 유효한 양 및 섭생으로 투여함으로써 환자에서 병원성 진균에 의한 감염을 치료 또는 예방하는 것이다. 다시, 상기 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 상기 다른 약제(들)의 투여 전, 후 또는 투여와 동시에 투여할 수 있다.

[0164] 본 원에 개시된 방법에 의해 치료되거나 예방될 수 있는 병원성 진균 감염에는 특히 침습성 폐 아스페질러스증을 포함한 아스페질러스증; 심하거나 급속한 진행성 감염 및 중추 신경계에서의 블라스토마이세스증을 포함한 블라스토마이세스증; 예를 들어 신장 결석, 요로 폐쇄, 신장 이식 또는 불량하게 조절된 당뇨병 환자에서 요로의 역행성 칸디다증을 포함한 칸디다증; 다른 화학요법에 잘 반응하지 않는 만성 질환을 포함한 콕시디오이도마이세스증; 크립토코커스증; 히스토플라스모스증; 예를 들어 머리얼굴 뭍코마이세스증 및 폐 뭍코마이세스증을 포함한 뭍코마이세스증; 파라콕시디오이도마이세스증; 및 스포로트리코스증이 있다. 항진균량의 하나 이상의 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 포함하는 조성물의 투여가 포유동물 대상자(예를 들어 상기 언급한 바와 같이 진균이 하나 이상의 다른 항진균 치료제에 내성이거나 또는 하나 이상의 다른 항진균 치료제의 사용이 금기를 나타내는 경우)에서 병원성 진균 감염을 치료 또는 예방하는데 특히 유용할 수 있음을 유념해야 한다.

[0165] 하나 이상의 항진균성 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 함유하는 항진균성 약학 조성물이 또한 개시된 방법의 실시예에 사용하기 위해 제공된다. 상기 약학 조성물을 특히 상기 조성물의 항진균 용도와 관련된 설명이나 정보를 포함하는 적합한 패키지 삽입물과 함께 포장할 수 있다. 하나 이상의 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 제 2의 항진균제와 함께 함유하는 약학 조성물을 또한 제공한다.

[0166] 진균 감염의 치료 방법

[0167] 본 원에 개시된 몇몇 실시태양들은 병원성 진균 감염, 예를 들어 침습성 폐 아스페질러스증을 포함한 아스페질

러스증; 심하거나 급속한 진행성 감염 및 중추 신경계에서의 블라스토마이세스증을 포함한 블라스토마이세스증; 예를 들어 신장 결석, 요로 폐쇄, 신장 이식 또는 불량하게 조절된 당뇨병 환자에서 요로의 역행성 칸디다증을 포함한 칸디다증; 다른 화학요법에 잘 반응하지 않는 만성 질환을 포함한 콕시디오이도마이세스증; 크립토코커스증; 히스토플라스모스증; 예를 들어 머리얼굴 뮈코마이세스증 및 폐 뮈코마이세스증을 포함한 뮈코마이세스증; 파라콕시디오이도마이세스증; 및 스포로트리코스증의 치료 또는 예방 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 상술한 바와 같은 하나 이상의 항진균성 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 진균 감염이 치료 또는 예방되도록 인간 대상자에게 투여함을 포함한다. 몇몇 실시태양에서, 상기 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 하나 이상의 비-데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체 항진균제, 예를 들어 앞서 언급한 것들과 같은 암포테리신 B, 또는 이미다졸 또는 트리아졸제와 함께 투여할 수 있다.

[0168] 병원성 진균 감염은 예를 들어 다른 미생물들 중에서도 칸디다, 트리코파이톤, 미크로스포룸 또는 에피데리노파이톤 종에 의해 야기된 국소적인 것이거나, 또는 예를 들어 칸디다 알비칸스(예를 들어 질염 및 질 칸디다증)에 의해 야기된 점막성인 것일 수 있다. 상기 감염은 예를 들어 칸디다 알비칸스, 크립토코커스 네오포르만스, 아스퍼질러스 푸마가투스, 콕시디오테스, 파라콕시시오테스, 히스토플라스마 또는 블라스토마이세스 스페시즈에 의해 야기된 전신적인 것일 수 있다. 상기 감염은 또한 진균종, 크로모블라스토마이세스증, 크립토코커스 뇌막염 또는 파이크마이세스증을 포함할 수 있다.

[0169] 추가의 실시태양은 칸디다 스페시즈, 예를 들어 씨 알비칸스, 씨 트로피칼리스, 씨 케파이크, 씨 크루세이 및 씨 갈브라타; 아스퍼질러스 스페시즈, 예를 들어 에이 푸미가투스 및 에이 플라부스; 크립토코커스 네오포르만스; 블라스토마이세스 스페시즈, 예를 들어 블라스토마이세스 더마티티디스; 뉴모사이스티스 카리니; 콕시디오이테스 이미티스; 바시디오볼루스 라나룸; 코니디오볼루스 스페시즈; 히스토플라스마 캡슐라툼; 리조푸스 스페시즈, 예를 들어 알 오리자에 및 알 미크로스포루스; 커닝하멜라 스페시즈; 리조무코르 스페시즈; 파라콕시디오이테스 브라질리엔시스; 슈달레케리아 보이디; 리노스포리디움 시베리; 및 스포로트릭스 첸키로 이루어진 그룹 중에서 선택된 병원성 진균 감염을 치료 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다. 다시, 상기 방법은 비-면역억제성 항진균성 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 상기의 투여가 필요한 환자에게 상기 진균 감염이 부적합한 면역 억제 효과를 유도하지 않으면서 치료되거나 예방되도록 투여함을 포함할 수 있다.

[0170] 추가의 실시태양은 다른 항진균 요법에 내성인 병원성 진균 감염, 예를 들어 본 원의 다른 부분에서 언급한 하나 이상의 항진균제, 예를 들어 암포테리신 B, 플루사이토신, 이미다졸 또는 트리아졸 중 하나(예를 들어 플루코나졸, 케토코나졸, 이트라코나졸 및 앞서 언급한 다른 예들을 포함한다)에 내성인 병원성 진균 감염을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 환자에게 하나 이상의 항진균성 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 상기 대상자에서 또 다른 항진균 요법에 내성인 진균 감염이 치료되거나 예방되도록 하는 양 및 투여 섭생으로 투여함을 포함할 수 있다.

[0171] 추가의 실시태양은 또 다른 항진균 요법에 대해 알려지성이거나, 달리 내성이거나 또는 비 반응성인 경우, 또는 다른 항진균제[본 원의 다른 부분에서 언급한 하나 이상의 항진균제, 예를 들어 암포테리신 B, 플루사이토신, 이미다졸 또는 트리아졸 중 하나(예를 들어 플루코나졸, 케토코나졸, 이트라코나졸 및 앞서 언급한 다른 예들을 포함한다)]를 포함한다]의 사용이 달리 금기를 나타내는 환자에서, 병원성 진균 감염을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 상기와 같은 환자에게 하나 이상의 항진균성 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 진균 감염이 치료되거나 예방되도록 하는 양으로 투여함을 포함할 수 있다.

[0172] 패키징된 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체

[0173] 몇몇 실시태양은 패키징된 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체, 바람직하게는 패키징된 비 면역 억제성 항진균성 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체에 관한 것으로, 상기 용어는 상술한 바와 같이 하나 이상의 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를, 인간 대상자 내에서 부적합한 면역 억제 효과를 일으키지 않으면서 상기 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체(들)를 항진균제로서 투여하기 위한 설명서와 함께 패키징하여 포함함을 의미한다. 일부 실시태양에서, 상기 비 면역 억제성 항진균성 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체는 상술한 화합물들의 바람직한 서브셋들 중 하나의 일원이다. 상기 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체를 단독으로 설명서와 함께 패키징하거나, 또는 또 다른 데하이드로페닐아히스틴 또는 그의 동족체, 라파마이신 또는 또 다른 성분 또는 첨가제, 예를 들어 약학 조성물의 성분들 중 하나 이상과 함께 패키징할 수 있다. 상기 패키지는 상기 약학 조성물의 성분들 중 하나 이상으로 충전된 하나 이상의 용기를 함유할 수 있다.

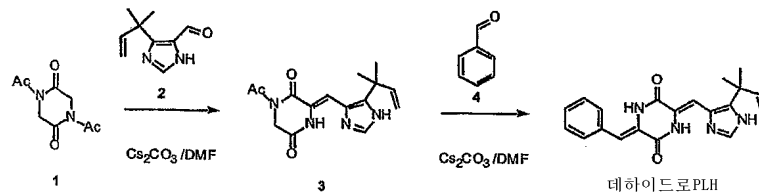
임의로 상기와 같은 용기(들)와 관련하여, 약품 또는 생물 제품의 제조, 사용 또는 판매를 규제하는 정부 당국에 의해 규정된 형태의 고시가 있을 수 있으며, 상기 고시는 상기 당국에 의한 인간 투여용 제조, 사용 또는 판

매의 승인을 반영한다.

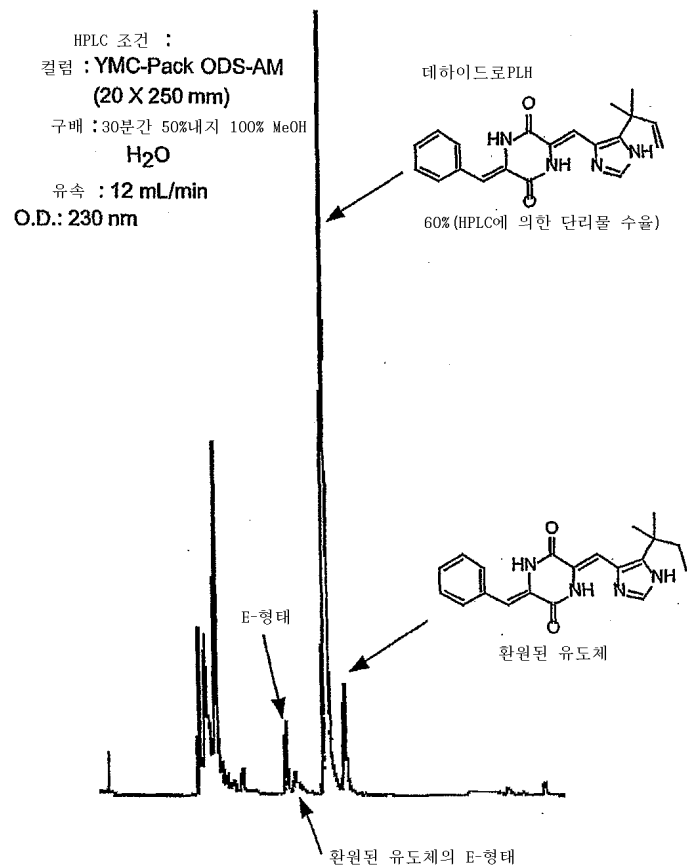
[0174] 하기의 비 제한적인 실시예는 몇몇 바람직한 실시태양들을 사용하여 바람직한 방법을 개시하고자 한다. 사용된 특정 방법의 세부 사항 및 수득된 정확한 화학 조성물에서의 변화는 당해 분야의 숙련가들에 의해 확실히 이해될 것이다.

도면

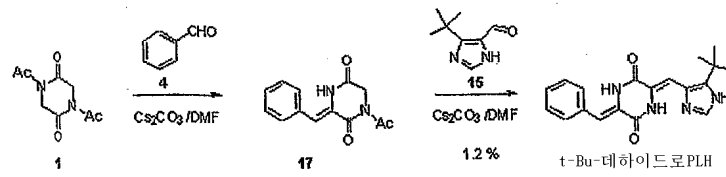
도면1



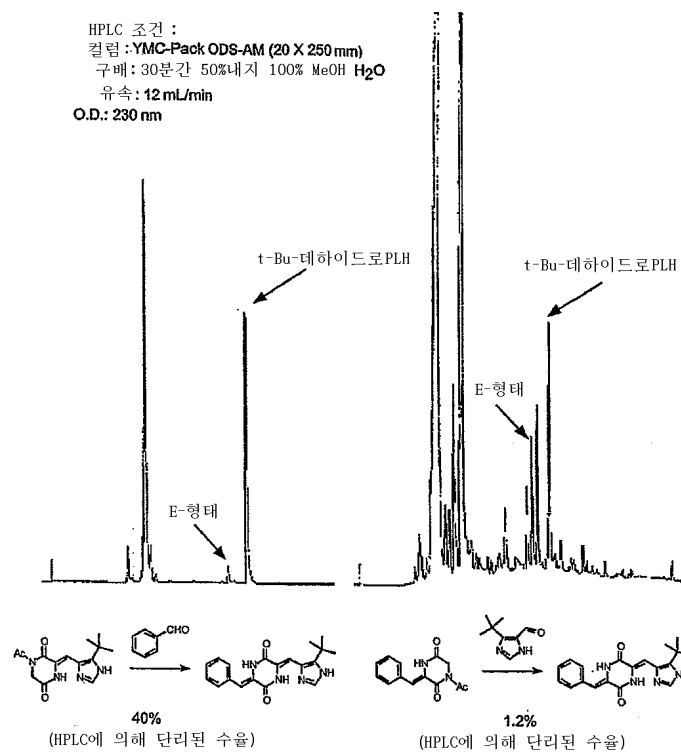
도면2



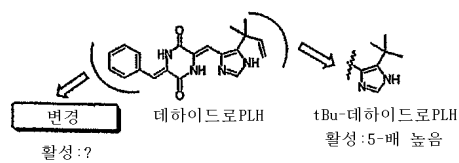
도면3



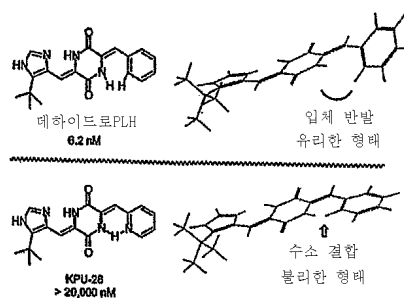
도면4



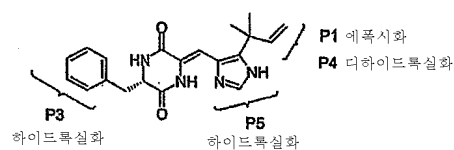
도면5



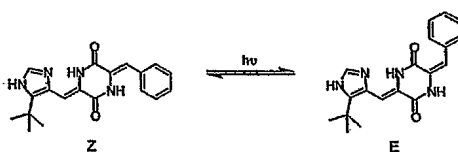
도면6



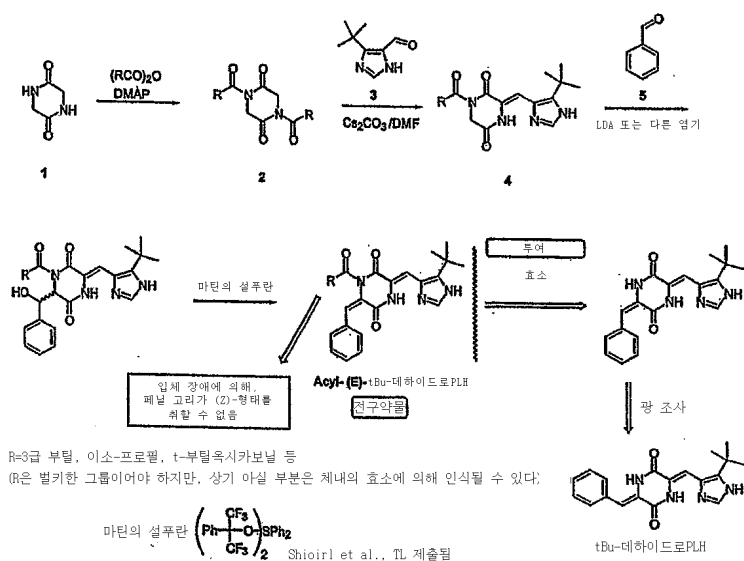
도면7



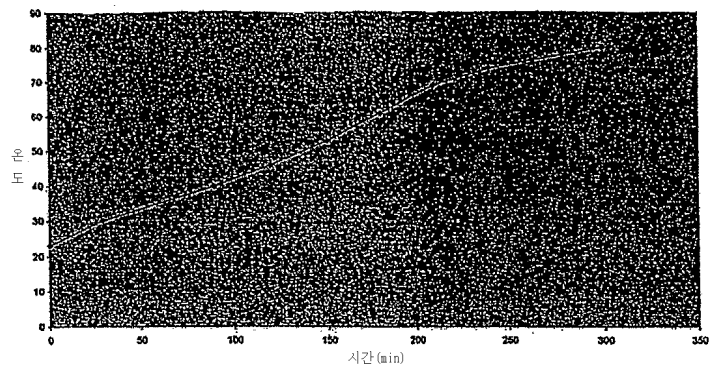
도면8



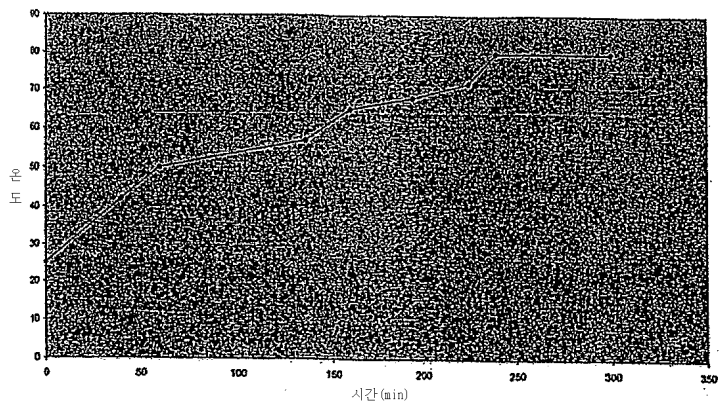
도면9



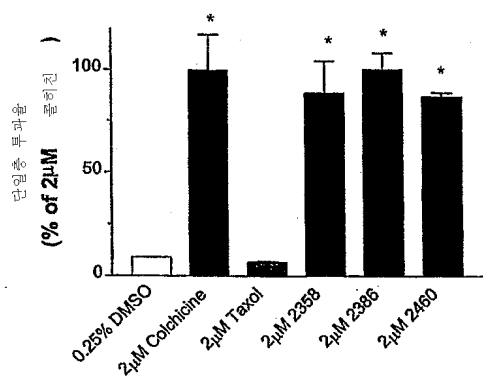
도면10



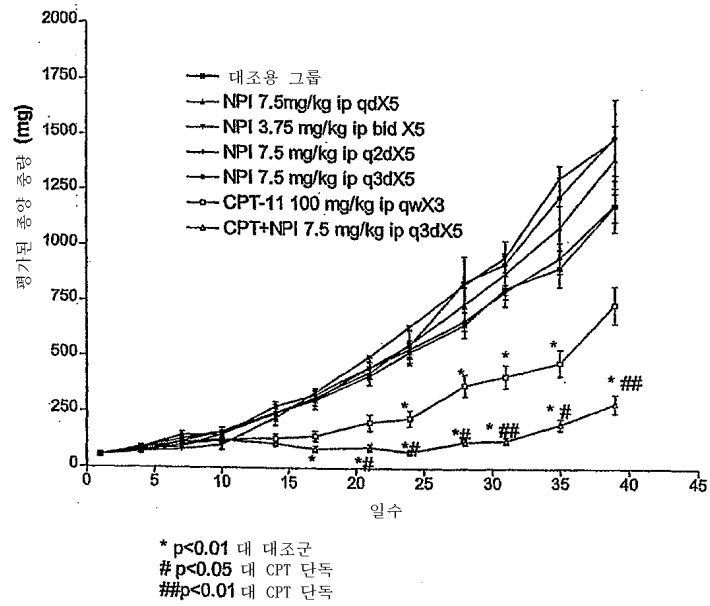
도면11



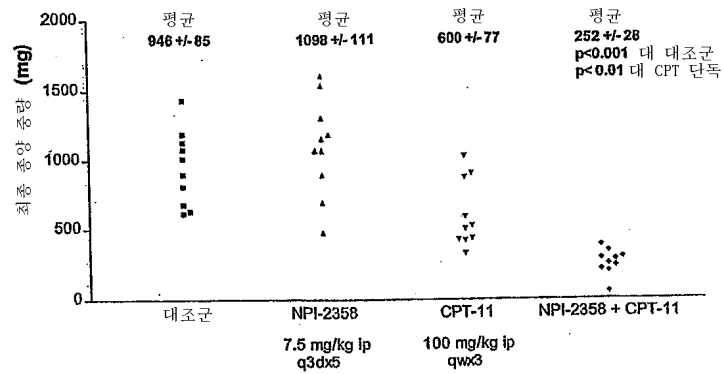
도면12



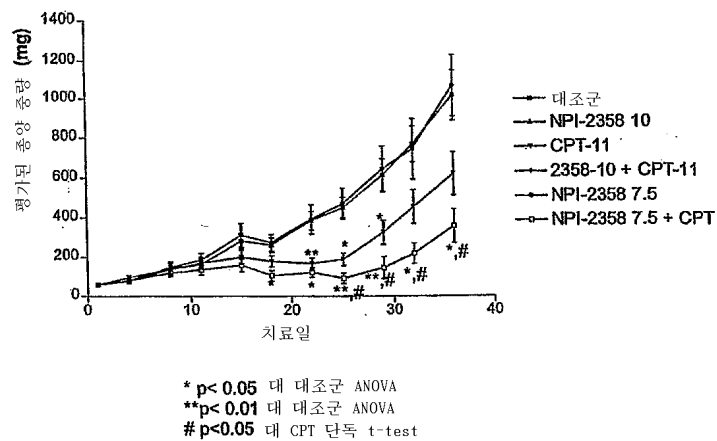
도면13



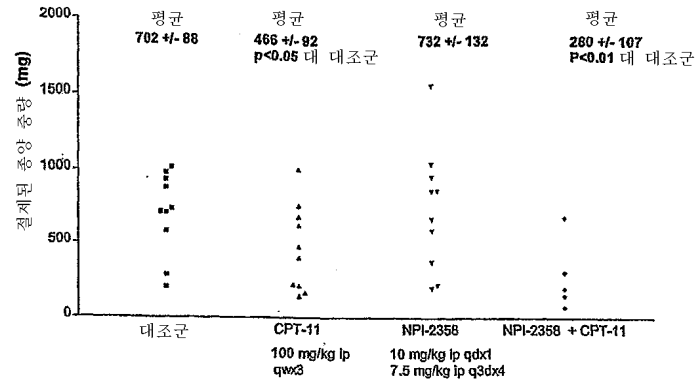
도면14



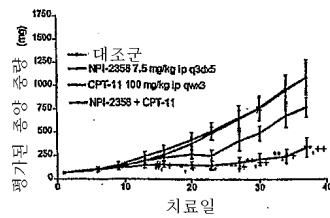
도면15



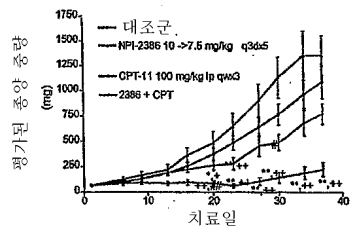
도면16



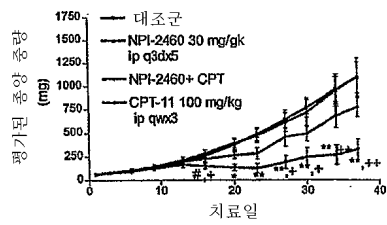
도면17



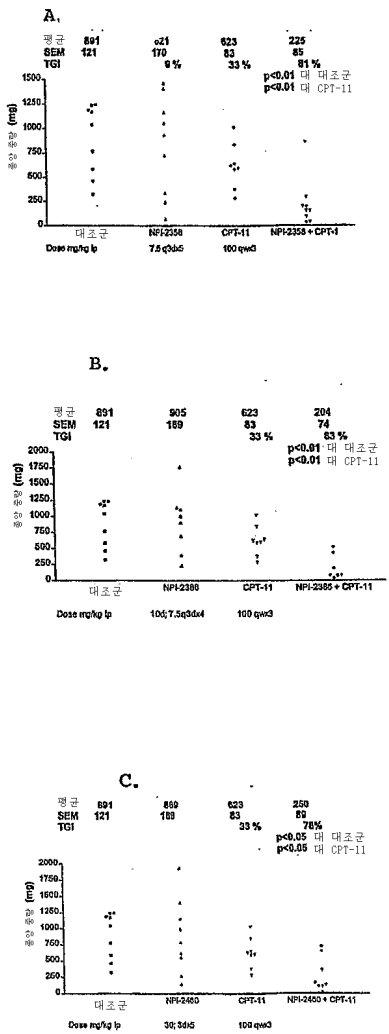
B.1.



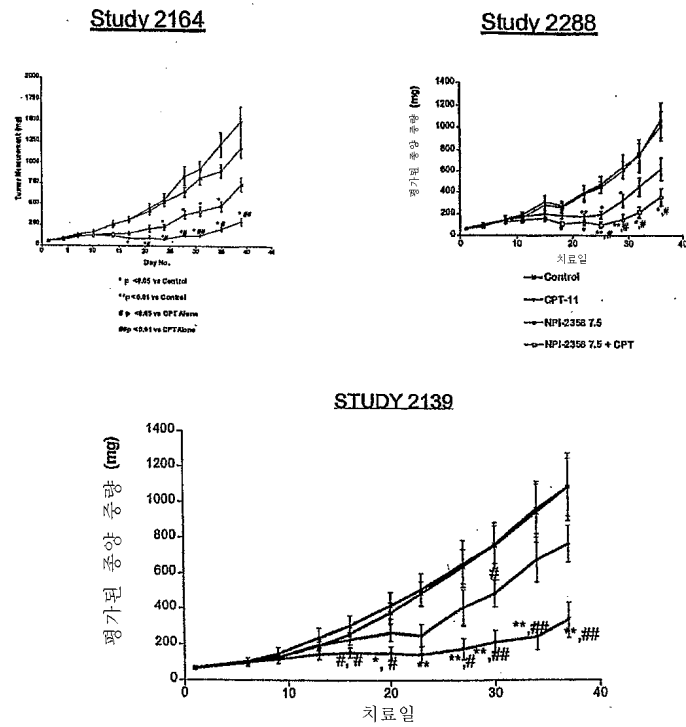
C.



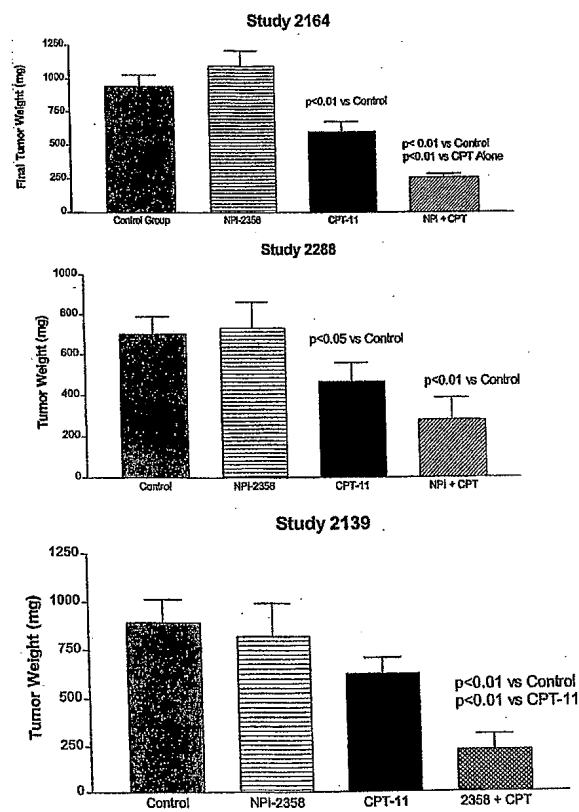
도면18



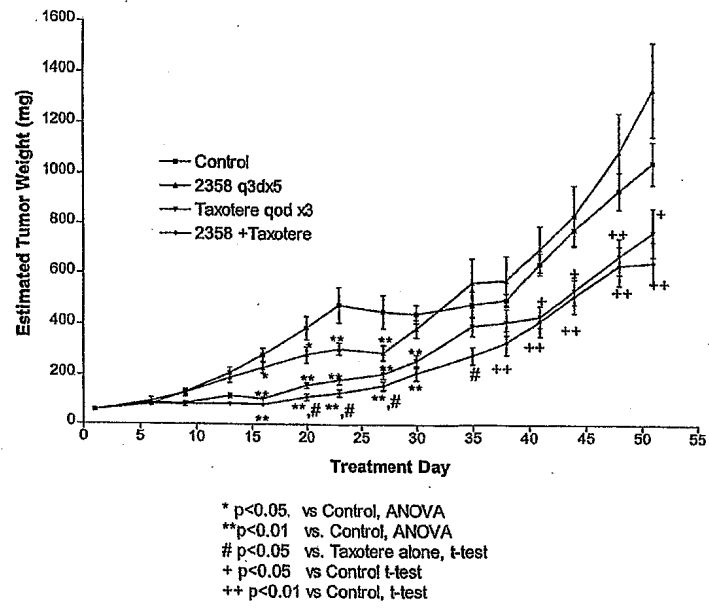
도면19



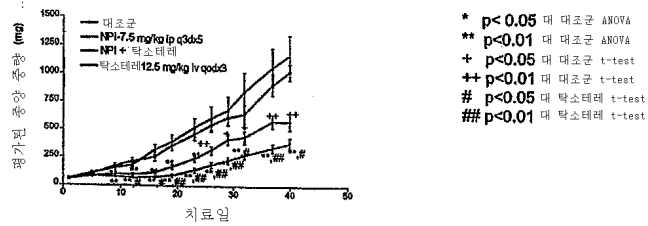
도면20



도면21

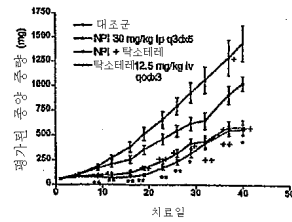
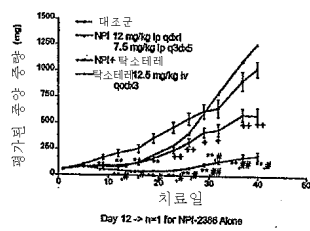


도면22

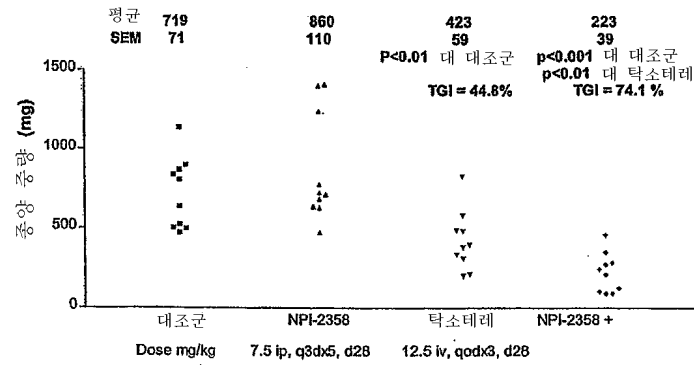


B.1

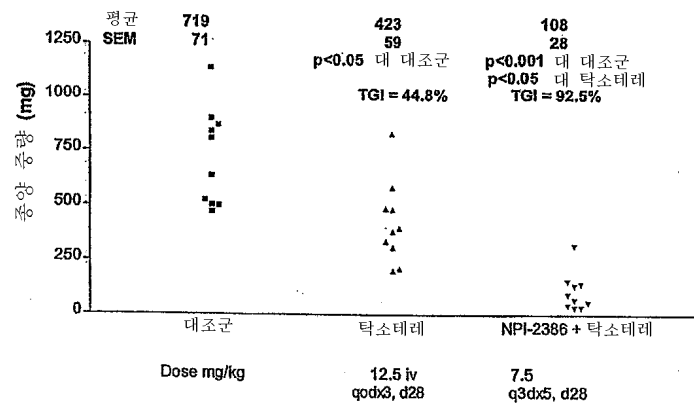
C.



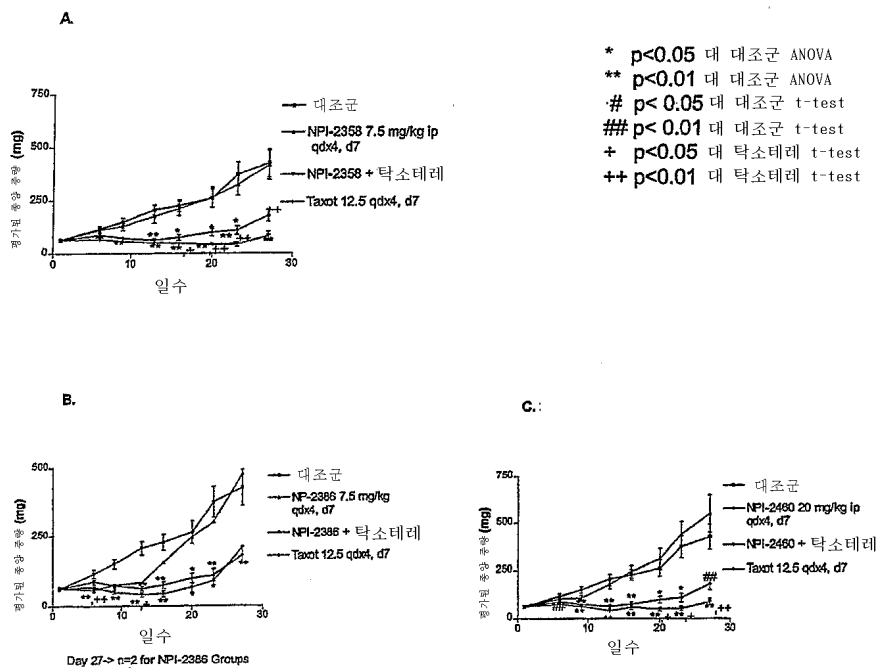
도면23



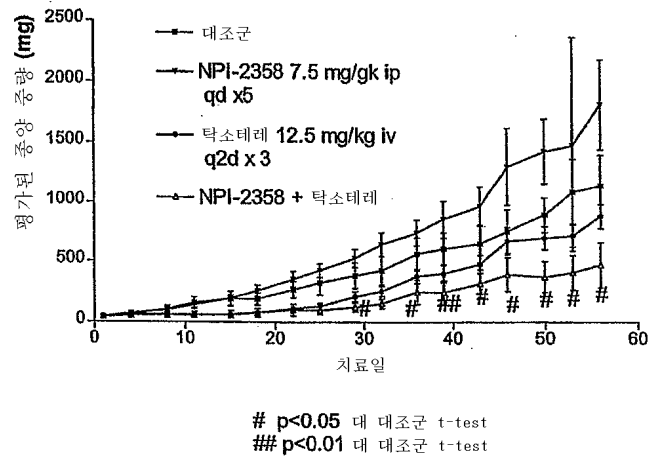
도면24



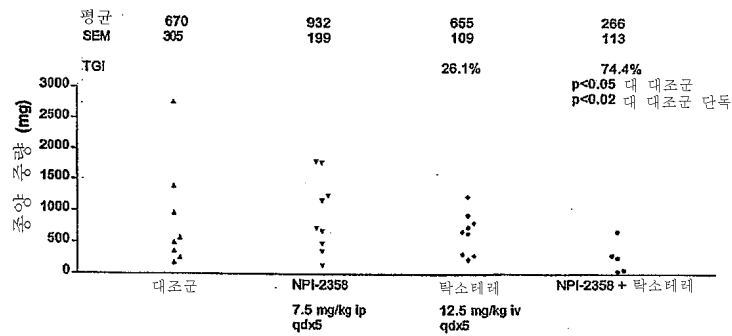
도면25



도면26



도면27



도면28

