



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2013년01월02일
 (11) 등록번호 10-1217427
 (24) 등록일자 2012년12월24일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 231/12 (2006.01)
 - (21) 출원번호 10-2006-7008622
 - (22) 출원일자(국제) 2004년10월04일
 심사청구일자 2009년09월29일
 - (85) 번역문제출일자 2006년05월03일
 - (65) 공개번호 10-2006-0108651
 - (43) 공개일자 2006년10월18일
 - (86) 국제출원번호 PCT/US2004/032723
 - (87) 국제공개번호 WO 2005/044130
 국제공개일자 2005년05월19일
 - (30) 우선권주장
 60/508,619 2003년10월03일 미국(US)
 60/509,814 2003년10월08일 미국(US)
 - (56) 선행기술조사문헌
 US20030203338 A1
 US5954996 A
- 전체 청구항 수 : 총 21 항

- (73) 특허권자
 더 오하이오 스테이트 유니버시티 리서치 파운데이션
 미국 43212 오하이오주 콜럼버스 키니어 로드 1216
- (72) 발명자
 첸 칭-지
 미국 오하이오주 43221 업퍼 알링톤 서폴크 로드 1840
- (74) 대리인
 김성기, 김진희

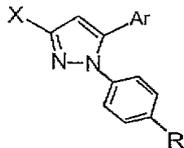
심사관 : 정현아

(54) 발명의 명칭 PDK-1/AKT 신호전달 억제제

(57) 요약

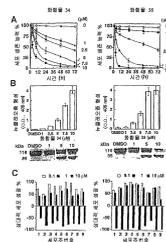
본 발명은 신규한 부류의 하기 화학식(I)의 포스포이노시티드-의존성 키나제-1(PDK-1: phosphoinositide-dependent kinase-1) 억제제를 제공한다. 또한, 본 발명은 인간에서 암의 치료 및 예방하기 위해서 상기 화합물을 이용하는 방법도 제공한다.

화학식 I



상기 식 중, X는 알킬 및 할로알킬로 이루어진 군 중에서 선택되고; Ar은 페닐, 바이페닐, 나프틸, 안트릴, 펜안트릴 및 플루오레닐로 이루어진 군 중에서 선택된 아릴 라디칼이며; Ar은 할로, C₁-C₄ 알킬, C₁-C₄ 할로알킬, 아지도, C₁-C₄ 아지도알킬, 아릴, 알킬아릴, 할로아릴, 할로알킬아릴 및 이들의 조합으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 라디칼에 의해 임의로 치환되고; R은 니트릴, 아세토니트릴, 에틸니트릴, 프로필니트릴, 카르복사미드, 아미딘, 테트라졸, 옥심, 히드라존, 아세트아미딘, 아미노아세트아미드, 구아니딘 및 우레아로 이루어진 군 중에서 선택된다.

대표도 - 도1



청구항 6

삭제

청구항 7

제5항에 있어서, Ar이 2-페난트레닐인 화합물.

청구항 8

제1항에 있어서, R은 아미노아세트아미드 및 구아니딘 중에서 선택되는 것인 화합물.

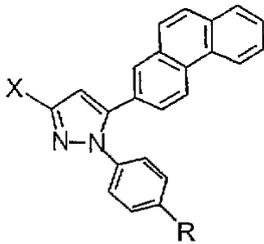
청구항 9

제1항에 있어서, X는 CF₃이고, Ar은 2-페난트레닐이며, R은 아미노아세트아미드 및 구아니딘 중에서 선택되는 것인 화합물.

청구항 10

하기 화학식 II의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

화학식 II

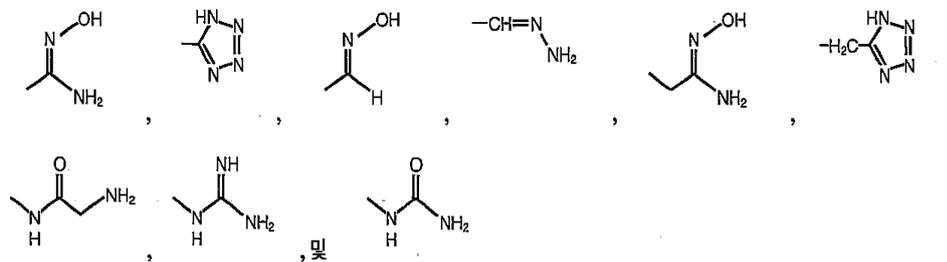


상기 식 중,

X는 C₁-C₄ 알킬 및 C₁-C₄ 할로알킬로 이루어진 군 중에서 선택되고,

R은 하기 화학식의 기들로 이루어진 군 중에서 선택된다.

-CN, -CH₂CN, -CH₂CH₂CN, -CH₂CH₂CH₂CN,



청구항 11

제10항에 있어서, X가 C₁-C₄ 할로알킬인 화합물.

청구항 12

제11항에 있어서, X가 CF₃인 화합물.

청구항 13

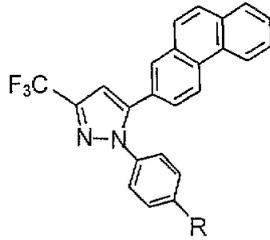
제10항에 있어서, R은 아미노아세트아미드 및 구아니딘 중에서 선택되는 것인 화합물 또는 이것의 약학적으로

허용가능한 염.

청구항 14

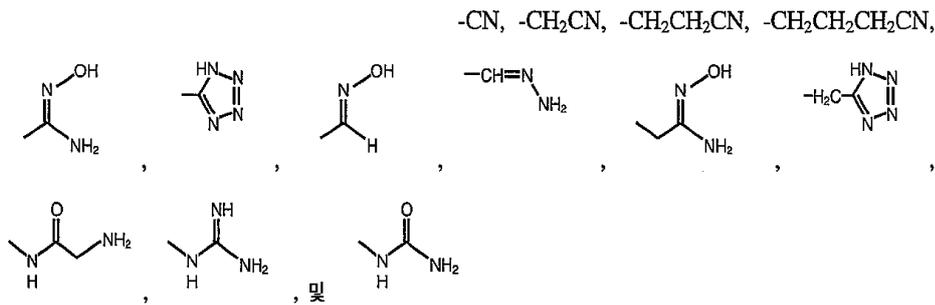
하기 화학식 III의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

화학식 III



상기 식 중,

R은 하기 화학식의 기들로 이루어진 군 중에서 선택된다.



청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

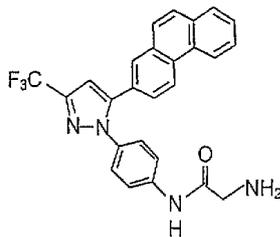
청구항 17

제14항에 있어서, R은 아미노아세트아미드 및 구아니딘 중에서 선택되는 것인 화합물 또는 이것의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 18

하기 화학식 IV의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

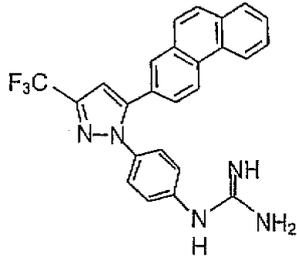
화학식 IV



청구항 19

하기 화학식 V의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

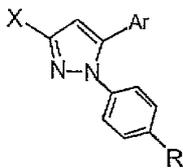
화학식 V



청구항 20

하기 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 원하지 않는 급속한 세포 증식의 치료를 필요로 하는 환자에서 원하지 않는 급속한 세포 증식을 치료하기 위한 약학 조성물:

화학식 I

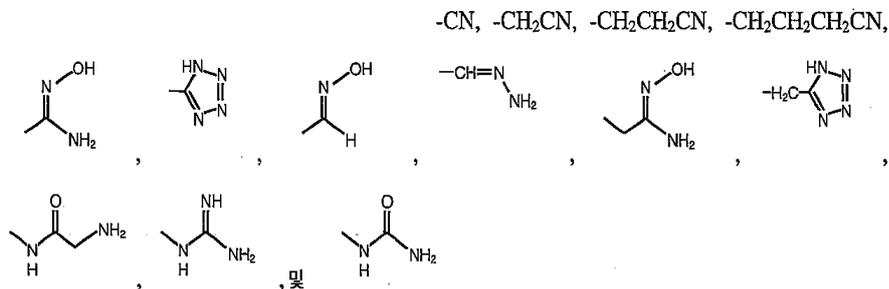


상기 식 중,

X는 C₁-C₄ 알킬 및 C₁-C₄ 할로알킬로 이루어진 군 중에서 선택되고,

Ar은 페닐, 바이페닐, 나프틸, 안트릴, 펜안트레닐 및 플루오레닐로 이루어진 군 중에서 선택되며, 여기서 Ar은 하나 이상의 치환체에 의해 임의로 치환되고, 치환기는 할로, C₁-C₄ 알킬, C₁-C₄ 할로알킬, 아지도, C₁-C₄ 아지도 알킬, C₆ 아릴, C₇-C₁₀ 알카릴, C₆ 할로아릴, 및 C₇-C₁₀ 할로알킬아릴로 구성되는 군으로부터 선택되고,

R은 하기 화학식의 기들로 이루어진 군 중에서 선택된다.



청구항 21

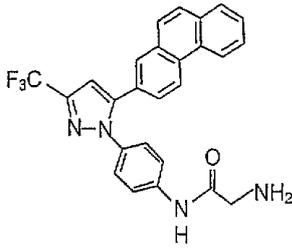
제20항에 있어서, 상기 급속한 증식 세포는 암 세포이고, 여기서 상기 암은 백혈병, 비소세포 폐 암, 결장 암, 중추 신경계 암, 흑색종, 난소 암, 신장 암, 전립선 암 및 유방 암으로 이루어진 군 중에서 선택되는 것인 약학 조성물.

청구항 22

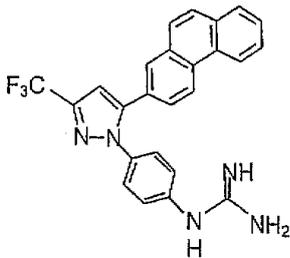
제20항에 있어서, 상기 화합물은 하기 화학식 IV 또는 V의 화합물 또는 이들의 조합물, 또는 이들의 약학적으로 허용가능한 염인 것인 약학 조성물:

제23항에 있어서, 상기 화합물은 하기 화학식 IV 또는 V의 화합물 또는 이들의 조합물, 또는 이들의 약학적으로 허용가능한 염인 것인 약학 조성물:

화학식 IV



화학식 V



청구항 25

제23항에 있어서, 상기 환자가 인간인 약학 조성물.

청구항 26

삭제

명세서

기술분야

[0001] **관련 출원에 대한 상호참조**

[0002] 본 출원은 2003년 10월 3일자로 출원된, 발명의 명칭이 "PDK-1/Akt 신호전달 억제제"인 미국 가특허 출원 제 60/508,619호 및 2003년 10월 8일자로 출원된, 발명의 명칭이 "PDK-1/Akt 신호전달 억제제"인 미국 가특허 출원 제60/509,814호를 우선권 주장의 기초 출원으로 한 것으로, 상기 각각의 미국 가 특허 출원은 그 전체 내용이 본 명세서에 참고 인용되어 있다.

[0003] **연방 정부 출연된 연구에 관한 진술**

[0004] 본 발명은 적어도 부분적으로 국립 보건원(National Institutes of Health) 승인 CA94829 및 육군(Army) 승인 DAMD 17-02-1-0177 하에 정부 지원에 의해 이루어진 것이다.

배경기술

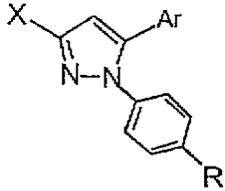
[0005] 포스포이노시티드(PI) 3-키나제/PDK-1/Akt 신호전달 캐스케이드는 다양한 수용체 티로신 키나제에 대한 수렴 점 (convergence point) 및 세포 증식 및 생존을 조절하는 시토킨 매개된 경로를 나타내고, 세포 생존을 유지할 수 있는 수 많은 세포의 트로픽 인자의 성능을 설명하는 틀(framework)을 제공한다. 구성적인 성장 인자-수용체 활성화 및/또는 PTEN 모방으로 인한 이러한 신호전달 캐스케이드의 조절이상은 결과적으로 Akt 상향-조절을 야기 하고, 이어서 종양 침윤, 혈관형성 및 진행을 촉진한다. 따라서, PDK-1/Akt 신호전달 억제제는 유용한 화학치료 제 또는 화학예방제로 개발하는 데 번역 관련성(translational relevance)을 지니고 있다. 유효한 PDK-1/Akt 신호전달 억제제인 신규한 화합물의 개발에 대한 수요가 존재한다. 또한, PDK-1/Akt 신호전달 억제에 기초한 화학치료제 및 화학예방제의 개발에 대한 수요가 존재한다.

발명의 상세한 설명

[0006] 발명의 개요

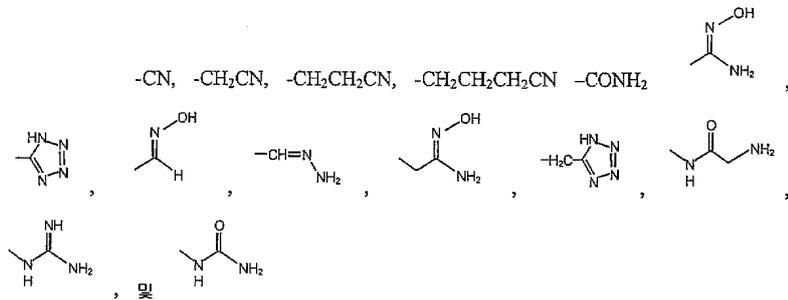
[0007] 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물을 제공한다. 화학식 I의 화합물은 또한 이것의 약학적으로 허용가능한 염, 대사 생성물 및 이들의 프로드러그를 포함한다.

[0008] 화학식 I



[0009] 상기 식 중,
 [0010]

[0011] X는 알킬 및 할로알킬 중에서 선택되고; Ar은 페닐, 바이페닐, 나프틸, 안트릴, 펜안트릴 및 플루오레닐로 이루어진 군 중에서 선택되며; R은 하기 화학식의 기들로 이루어진 군 중에서 선택된다.



[0012] , 및

도면의 간단한 설명

[0014] 도 1은 9가지의 대표적인 사람 종양 세포주에서 PC-3 세포의 세포 생존 능력 및 세포 성장에 영향을 미치는 화합물 70(좌측 페닐) 및 화합물 71(우측 페닐)의 용량-의존성 효과(dosage-dependent effect)를 도시한 것이다.

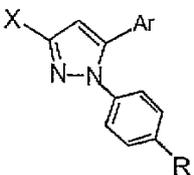
[0015] 도 2는 1,1,1-트리플루오로-4-히드록시-4-펜안트렌-2-일-부트-3-엔-2-온을 공통적인 전구체로서 사용하는 화합물 37-72의 합성을 도시한 것이다.

발명의 상세한 설명

[0017] 본 발명은 신규한 부류의 PDK-1/Akt 신호전달 억제제를 제공한다. 본 명세서에 설명된 화합물은 바람직하지 못한 증식 세포, 예컨대 암 세포에서 아포토시스(apoptosis)를 유도하는 데 유용하다. 또한, 본 명세서에 설명된 화합물은 상처 치유 촉진 및 반흔 예방에도 유용하다. 추가로, 본 명세서에 설명된 화합물은 재발협착증의 예방에서의 용도를 갖는다. 추가로, 본 명세서에 설명된 화합물은 기관 이식에서의 용도를 갖는다.

[0018] 본 명세서에 설명된 화합물은 하기 화학식 I으로 나타낼 수 있다. 또한, 화학식 I의 화합물은 이것의 약학적으로 허용가능한 염, 대사 생성물 및 이들의 전구물질을 포함한다.

[0019] 화학식 I



[0020]

[0021]

상기 식 중,

[0022]

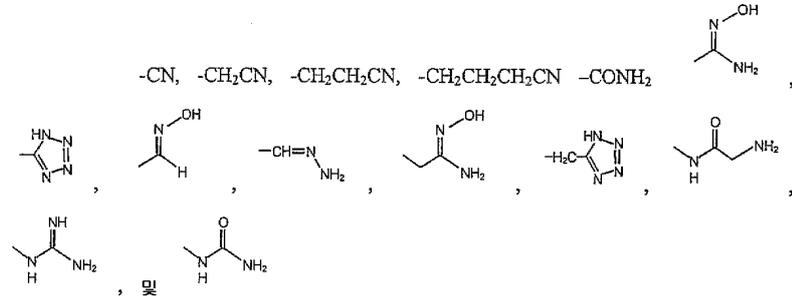
X는 알킬 및 할로알킬 중에서 선택되고;

[0023]

Ar은 페닐, 바이페닐, 나프틸, 안트릴, 펜안트릴 및 플루오레닐로 이루어진 군 중에서 선택되며;

[0024]

R은 하기 화학식의 기들로 이루어진 군 중에서 선택된다. 달리 설명하면, R은 니트릴, 아세트니트릴, 에틸니트릴, 프로필니트릴, 카르복시아미드, 아미딘, 피라졸, 옥심, 히드라존, 아세트아미딘, 아세트아미드, 구아니딘 및 우레아 중에서 선택된다.



[0025]

[0026]

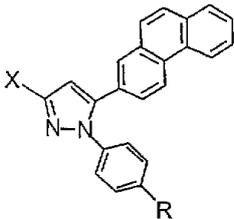
일부 실시양태에서, X는 C₁-C₄ 할로알킬이다. 일부 실시양태에서, X는 CF₃이다. 일부 실시양태에서, Ar은 임의의 치환가능한 위치에서 하나 이상의 라디칼, 예컨대 할로, C₁-C₄ 알킬, C₁-C₄ 할로알킬, 아지도, C₁-C₄ 아지도알킬, 아릴, 알킬아릴, 할로아릴, 할로알킬아릴 및 이들의 조합(이들 예에 국한되는 것은 아님)에 의해 치환될 수 있다. 일부 실시양태에서, Ar은 2-나프틸, 4-바이페닐, 9-안트릴, 2-플루오레닐, 4-아지도페닐, 4-아지도메틸페닐, 4-(2-아지도에틸)페닐, 4-(3-아지도프로필)페닐, 4-(4-아지도부틸)페닐, 4-(4-아지도메틸)페닐, 4-(4-아지도메틸)페닐, 4-메틸페닐, 4-에틸페닐, 4-프로필페닐, 4-부틸페닐, 4-(2-브로모에틸)페닐, 4-(3-브로모프로필)페닐, 4-(4-브로모부틸)페닐, 4-(트리플루오로메틸)페닐, 4-(4-메틸)페닐, 4-(4-브로모메틸)페닐, 4-(4-부틸)페닐, 4-(4-tert-부틸)페닐, 2-클로로페닐, 4-클로로페닐, 2,4-디클로로페닐, 3,4-디클로로페닐, 2,5-디클로로페닐, 2,4-디메틸페닐, 2,5-디메틸페닐, 3,4-디메틸페닐, 3,5-디메틸페닐, 4-(4-클로로)페닐, 4-(3,5-디클로로)페닐, 4-(2,3-디클로로)페닐, 4-(3,5-디메틸)페닐, 4-(2,4,5-트리클로로)페닐, 4-(4-트리플루오로메틸)페닐, 2-펜안트레닐, 3-인돌릴, 2-피롤릴 및 4-(벤질)페닐 중에서 선택된다. 일부 실시양태에서, Ar은 4-(2-브로모에틸)페닐, 4-(3-브로모프로필)페닐, 4-(2-아지도에틸)페닐, 4-(3-아지도프로필)페닐, 4-부틸페닐, 4-t-부틸페닐, 2-나프탈레닐, 3-인돌릴, 4-바이페닐릴, 4'-클로로[1,1'-바이페닐]-4-일, 3',5'-디클로로[1,1'-바이페닐]-4-일, 2',3'-디클로로[1,1'-바이페닐]-4-일, 4'-메틸[1,1'-바이페닐]-4-일, 4'-트리플루오로메틸[1,1'-바이페닐]-4-일, 4'-브로모메틸[1,1'-바이페닐]-4-일, 3',5'-디메틸[1,1'-바이페닐]-4-일, 4'-부틸[1,1'-바이페닐]-4-일, 4'-tert-부틸[1,1'-바이페닐]-4-일, 4-(페닐메틸)페닐, 9H-플루오렌-2-일, 9-안트라세닐, 2-펜안트레닐, 9-펜안트레닐 중에서 선택된다. 일부 실시양태에서, Ar은 2-펜안트레닐이다. 일부 실시양태에서, R은 아미노아세트아미드 및 구아니딘 중에서 선택된다.

[0027]

본 명세서에 설명된 또다른 실시양태는 하기 화학식 II의 화합물이다.

[0028]

화학식 II



[0029]

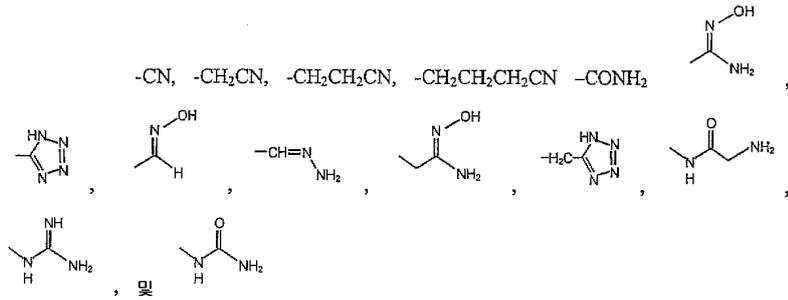
[0030]

상기 식 중,

[0031]

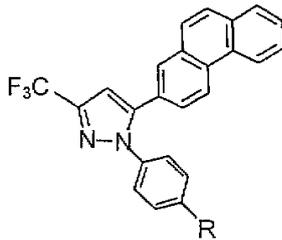
X는 알킬 및 할로알킬 중에서 선택되고; R은 하기 화학식의 기들로 이루어진 군 중에서 선택되거나, 달리 언급하면, R은 니트릴, 아세트니트릴, 에틸니트릴, 프로필니트릴, 카르복시아미드, 아미딘, 피라졸, 옥심, 히드라존, 아세트아미딘, 아세트아미드, 구아니딘 및 우레아 중에서 선택된다. 일부 실시양태에서, X는 C₁-C₄ 할

로알킬이고, 일부 실시양태에서 X는 CF₃이다. 일부 실시양태에서, R은 아미노아세트아미드 또는 구아니딘이다. 또한, 화학식 II의 화합물은 이것의 약학적으로 허용가능한 염, 대사 생성물 및 이들의 프로드러그를 포함한다.



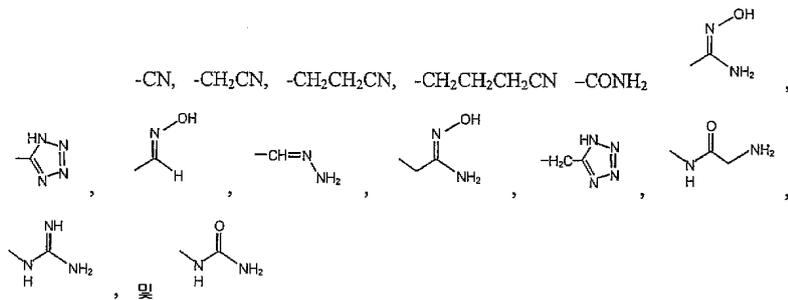
[0033] 본 명세서에 설명된 또다른 실시양태는 하기 화학식 III의 화합물이다.

[0034] 화학식 III

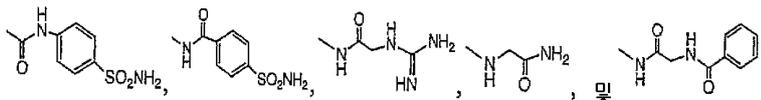


[0035]

[0036] 상기 식 중, R은 하기 화학식의 기들로 이루어진 군 중에서 선택되거나, 달리 언급하면, R은 니트릴, 아세트니트릴, 에틸니트릴, 프로필니트릴, 카르복시아미드, 아미딘, 피라졸, 옥심, 히드라존, 아세트아미딘, 아세트아미드, 구아니딘 및 우레아 중에서 선택된다. 일부 실시양태에서, R은 아미노아세트아미드 또는 구아니딘이다. 또한, 화학식 III은 이것의 약학적으로 허용가능한 염, 대사산물 및 이들의 프로드러그를 포함한다.



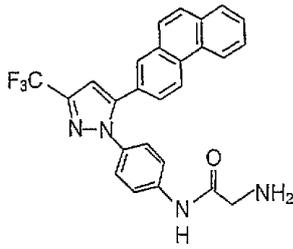
[0038] 또다른 실시양태에서, 화학식 III의 일부 추가적인 화합물은 R에 대한 하기 화학식의 기를 포함한다.



[0039]

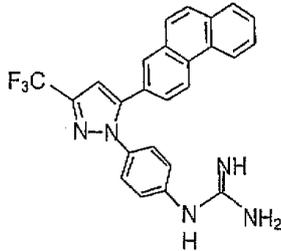
[0040] 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 하기 화학식 IV 또는 V의 화합물이다.

[0041] 화학식 IV



[0042]

[0043] 화학식 V



[0044]

[0045] 본 발명은 또한 화학식 I 내지 IV의 화합물을 사용하여 바람직하지 못한 증식 세포에서 아포토시스 유도 치료가 필요한 환자에 있어 그러한 아포토시스를 유도하는 방법을 제공한다. 이 방법은 그러한 치료가 필요한 환자를 치료적으로 유효한 양의 화학식 I 내지 V의 화합물, 또는 이들의 유도제, 대사산물 또는 약학적으로 허용가능한 염으로 처리하는 단계를 포함한다.

[0046] 본 명세서에 설명된 화합물 및 방법은 암의 발병을 치료, 억제 또는 지연시키는 데 유용하지만, 이에 국한되는 것은 아니다. 상기 화합물 및 방법은 또한 바람직하지 못한 세포 증식의 전암 및 기타 발병의 치료에 유용하다. 화학식 I, II, III, IV 또는 V의 화합물, 또는 이들의 조합물은 바람직하지 못한 세포 증식을 특징으로 하는 장애로 진단되어 있거나 또는 그러한 장애를 발생시키는 위험에 처해 있는 환자에게 투여한다. 상기 화합물 및 방법은 백혈병, 흑색종, 비소세포 폐 암, 결장 암, 중추 신경계 암, 난소 암, 유방 암, 신장 암 및 전립선 암을 비롯한 암을 치료하는 데 유용하지만, 이에 국한되는 것은 아니다. 게다가, 상기 화합물 및 방법은 전암을 지닌 개체에서 뿐만 아니라 이들 장애에 대한 유전자 소인을 갖고 있거나 갖기 쉬운 개체에서 그러한 암들의 성장을 지연시키는 경우에 유용하다.

[0047] 상기 화합물은 원하지 않는 급속한 증식 세포에서 아포토시스를 유도하는 방법에서 유용하고, 상기 방법은 치료적으로 유효한 양의 화학식 I, II, III, IV 또는 V의 화합물을 원하지 않는 급속한 증식 세포에 도입하는 단계를 포함한다. 이 방법에 따르면, 원하지 않는 급속한 증식 세포는 암 세포일 수 있다. 암 세포는 백혈병, 흑색종, 비소세포 폐 암, 결장 암, 중추 신경계 암, 난소 암, 유방 암, 신장 암 및 전립선 암으로 이루어진 군 중에서 선택될 수 있다.

[0048] 추가로, 상기 화합물은 혈관성형술(angioplasty) 또는 스텐트 처치(stent procedure)를 수행한 환자에서 재발협착증을 예방하는 방법에 유용하며, 상기 방법은 치료적으로 유효한 양의 화학식 I, II, III, IV 또는 V의 화합물 또는 이들의 조합물, 또는 이들의 약학적으로 허용가능한 염 및/또는 대사산물을 그러한 혈관성형술 또는 스텐트 처치를 수행한 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0049] 본 명세서에서 사용되는 하기 용어들은 다음과 같은 정의를 포함하지만, 이에 국한되는 것은 아니다.

[0050] 용어 "PDK-1/Akt 신호전달 억제제"란 특정 화합물 또는 화합물들의 조합물이, 블랭크와 대비하여 측정된 경우, 생체내 또는 시험관내 어느 것이든 상관 없이 PDK-1/Akt 신호전달 경로를 중단시킬 수 있다는 것을 의미한다. 하기 실시예에 한가지 방법이 설명되어 있긴 하지만, 현재 공지되어 있거나 추후 개발되는 다른 방법도 또한 이용할 수 있다.

[0051] 본 명세서에 사용된 바와 같이 용어 "치료"란 임의의 증상에 대한 예방, 처리 및/또는 치료를 제공할 목적으로 임의의 환자에게 본 명세서에 설명된 하나 이상의 화합물을 투여 및/또는 적용하는 것을 포함하는 의미이다. 본 발명의 개시내용을 목적으로 하는 "치료"는 치유를 제공할 수 있지만, 반드시 치유를 제공할 필요가 없으며, 오

히려 "치료"는 증상의 처리 형태로 존재할 수 있다. 본 명세서에 설명된 화합물을 사용하여 암을 비롯한 원하지 않는 증식 세포를 치료할 때, "치료"는 정상 세포에 미치는 파괴 효과가 최소가 되도록 하면서 원하지 않는 증식 세포의 일부 또는 전부를 파괴시키는 것을 포함하는 의미이다. 암 세포를 비롯한 원하지 않는 증식 세포의 소정의 치료 메카니즘은 세포 수준에서 아포토시스이다.

[0052] 본 명세서에 사용된 바와 같이 용어 "예방"이란 임상으로 명백한 원하지 않는 세포 증식의 발병을 전적으로 예방 또는 지연하거나, 또는 위험에 처해 있는 개체에서 원하지 않는 급속한 세포 증식의 임상 이전 명백한 단계의 발병을 예방 또는 지연한다는 것을 포함하는 의미이다. 또한, 이러한 정의에는 악성 세포의 전이를 예방 또는 지연하거나 또는 악성 세포의 진행을 정지 또는 반전시키는 것도 포함된다. 이는 전암 및 암의 발생 위험에 처해 있는 개체의 예방적 치료를 포함한다. 또한, 이러한 정의에는 혈관성형술 또는 스텐트 처치를 수행한 환자에서 재발협착증을 예방 또는 지연하는 것도 포함된다.

[0053] 용어 "치료적으로 유효한" 및 "약리학적으로 유효한"이란 본 명세서에 설명된 화합물을 사용한 치료에 의해 질환의 중증도의 개선 및 발병의 빈도의 개선 목적을 달성하는 각 제제의 양을 정량화한다는 것을 의미한다. 치료적 유효한 양 또는 생리학적으로 유효한 양은 해당 기술 분야의 당업자에 의해 용이하게 결정할 수 있다.

[0054] 치료를 목적으로 하는 용어 "환자"란 원하지 않는 급속한 세포 증식을 특징으로 하는 장애를 진단받거나, 그러한 장애의 징후를 갖고 있거나 또는 그러한 장애를 발생시키는 위험에 처해 있는 임의의 인간 또는 동물 환자를 포함한다는 것을 의미한다. 그러한 장애는 암 및 전암을 포함하지만, 이에 국한되는 것은 아니다. 예방 방법의 경우, 환자는 임의의 인간 또는 동물 환자이다. 예시하면, 예방을 목적으로 하는 경우, 환자는 원하지 않는 급속한 세포 증식을 특징으로 하는 장애, 예컨대 암을 얻는 위험에 처해 있거나, 또는 그러한 장애를 얻는 것에 대한 유전학적 소인을 갖고 있는 인간 환자일 수 있다. 그 환자는 발암성 제제에 대한 노출로 인하여 위험에 처해 있을 수 있고, 원하지 않는 급속한 세포 증식을 특징으로 하는 질환에 대해 유전학적 소인을 지니는 것 등에 처할 수 있다. 인간 치료에 유용한 것 이외에도, 본 명세서에 설명된 화합물은 또한 반려 동물 및 농장 동물, 예컨대 개, 고양이, 말, 소, 양 및 돼지(이에 국한되는 것은 아님)를 비롯한 포유동물의 수의학적 치료에도 유용하다.

[0055] **용량 및 투여**

[0056] 예비적인 동물 연구에 의하면, 그러한 화합물은 경구 흡수될 수 있으며, TGI보다 몇배 더 높은 평균 혈청 농도를 발생시킬 수 있으며, 보다 중요하게도 1개월 동안 매일 경구 투여한 후 동물에 대하여 거의 독성을 야기하지 않는다(데이터는 기재하지 않음).

[0057] 본 발명의 화합물은 적합한 약학 제제, 예컨대 경구 투여용 정제, 캡슐 또는 엘릭시르, 또는 비경구 투여용 살균 용액 또는 현탁액으로 제제화할 수 있다. 본 명세서에 설명된 치료제는 해당 기술 분야에 잘 알려진 기법 및 절차를 이용하여 약학 조성물로 제제화할 수 있다.

[0058] 본 명세서에 설명된 PDK-1/Akt 신호전달 억제제는 허용되는 약학적 관례에 의해 요구되는 단위 제형(unit dosage form) 내에서 생리학적으로 허용가능한 비히클, 담체, 부형제, 결합제, 보존제, 안정화제, 향미료 등과 배합한다. 이러한 조성물 또는 제제 내의 활성 물질의 양은 지시된 범위의 적합한 용량이 얻어질 정도로 존재한다. 일부 실시양태에서, 그 용량은 PDK-1/Akt 신호전달 억제제 0.1 내지 1000 mg일 수 있다. 일부 실시양태에서, 조성물은 단위 제형 내에 제제화될 수 있으며, 각각의 용량은 1 내지 500 mg을 함유한다. 다른 실시양태에서, 용량은 활성 성분 10 내지 100 mg일 수 있다. 용어 "단위 제형"이란 인간 환자 및 다른 포유동물을 위한 단일 용량으로서 적합한 물리적 불연속 단위를 의미하며, 각각의 단위는 소정의 치료 효과를 생성하도록 계산된 활성 물질의 선결정된 정량을 적합한 약학 부형제와 함께 함유한다. 용량은 수 많은 인자, 예컨대 환자의 연령 및 체형, 치료받고 있는 증상, 증상의 중증도, 및 해당 기술 분야의 당업자에게 알려진 다른 인자에 따라 좌우될 수 있다. 이들 인자를 고려할 경우, 용량은 해당 기술의 당업자에 의해 결정될 수 있다.

[0059] 조성물을 제조하기 위해서, 본 발명의 방법에 사용된 하나 이상의 치료제는 적합한 약학적으로 허용가능한 담체와 혼합한다. 치료제(들)의 혼합 및 첨가시, 형성되는 혼합물은 용액, 현탁액, 에멀션 등일 수 있다. 이들은 해당 기술 분야에 잘 알려진 방법에 따라 제조할 수 있다. 이 형성된 혼합물의 형태는 소정의 투여 방식, 및 선택된 담체 또는 비히클내 화합물의 용해도에 따라 좌우된다. 유효 농도는 바람직하지 못한 세포, 예컨대 암 세포에서 아포토시스를 유도하기에 충분한 것으로 실험적으로 결정할 수 있다.

[0060] 본 발명의 투여에 적합한 약학적 담체 또는 비히클은 구체적인 투여 방식에 적합한 그러한 임의의 담체를 포함한다. 또한, 활성 물질은 또한 소정의 작용을 손상시키지 않은 다른 활성 물질과 혼합하거나, 또는 소정의 작용

을 보충하거나 다른 작용을 갖고 있는 물질과 혼합할 수 있다. 본 발명의 치료제는 조성물내 단독 약학적 활성 성분으로서 제제화할 수 있거나 또는 다른 활성 성분과 조합할 수 있다. 본 발명의 치료제의 유도체, 예컨대 염 또는 프로드러그는 또한 유효한 약학 조성물을 제제화할 때에도 사용할 수 있다.

[0061] 본 발명의 치료제는 이 치료제가 체내로부터 급속히 제거되는 것을 방지하는 담체, 예컨대 경시적 방출(time-release) 제제 또는 코팅과 함께 사용하여 제조할 수 있다. 그러한 담체로는 방출 제어형(controlled release) 제제, 예컨대 마이크로캡슐화된 전달 시스템을 들 수 있지만, 이에 국한되는 것은 아니다. 활성 화합물은 치료 받고 있는 환자에게 미치는 원하지 않는 부작용의 부재 하에 치료적으로 유용한 효과를 발휘하기에 충분한 양으로 약학적으로 허용가능한 담체내에 포함될 수 있다.

[0062] 활성 성분은 1회 투여할 수 있거나, 또는 일정 시간 간격으로 투여될 수 있는 다수의 소량 투여량으로 분할하여 투여할 수 있다. 정확한 치료 용량 및 기간은 치료 중인 질환과 상관관계가 있으며, 생체내 또는 시험관내 시험 데이터로부터 추정하거나 공지된 시험 프로토콜을 이용하여 실험적으로 결정할 수 있는 것으로 이해해야 한다. 용량 및 농도 값은 완화시키고자 하는 증상의 중증도에 따라 달라질 수 있다는 점을 유의해야 한다. 추가로, 임의의 특정 환자의 경우, 구체적인 용량 섭생법은 개인별 수요에 따라, 그리고 조성물의 인체 투여 또는 조성물 투여의 관리에 관한 전문가 판단에 따라 경시적으로 조정해야 한다는 점, 그리고 본 명세서에 설정된 농도 범위는 단지 예시적인 것일 뿐, 특허청구된 조성물의 영역 및 실시를 제한하고자 하는 것은 아니라는 점을 추가로 이해해야 한다.

[0063] 경구용 조성물은 일반적으로 불활성 희석제 또는 식용가능한 담체를 포함하며, 정제로 압착될 수 있거나 젤라틴 캡슐 내에 봉입될 수 있다. 경구 치료 투여 목적의 경우, 활성 화합물(들)은 부형제에 혼입하여 정제, 캡슐 또는 트로키의 형태로 사용할 수 있다. 약학적으로 상용적인 결합제 및 보조제 물질이 조성물의 일부로서 포함될 수 있다.

[0064] 정제, 환제, 캡슐, 트로키 등은 유사한 성질을 지닌 다음의 성분 또는 화합물 중 어느 것이든 함유할 수 있다: 결합제, 예컨대 검 트라가간트, 아카시아, 옥수수 전분 또는 젤라틴(이에 국한되는 것은 아님); 부형제, 예컨대 마이크로결정질 셀룰로즈, 전분 또는 락토즈; 붕해제, 예컨대 알긴산 및 옥수수 전분(이에 국한되는 것은 아님); 활택제, 예컨대 마그네슘 스테아레이트(이에 국한되는 것은 아님); 활택제, 예컨대 콜로이드성 이산화규소(이에 국한되는 것은 아님); 감미제, 예컨대 수크로즈 또는 사카린(이에 국한되는 것은 아님); 및 향미제, 예컨대 페퍼민트, 메틸 살리실레이트 또는 과일 향미제.

[0065] 화학식 I 내지 V의 화합물은 다수의 상이한 메카니즘에 의해 세포 치사를 유발할 수 있지만, 대부분이 실시양태에서, 화학식 I 내지 V의 화합물은 원하지 않는 증식 세포에서 아포토시스를 유도할 수 있다. 용어 "아포토시스"란 프로그램화된 세포 치사의 과정을 의미한다. 개인마다 수십만 개의 노화되거나 손상된 세포가 매일 아포토시스의 과정에 의해 죽고, 체내에서 일정한 다수의 살아있는 세포를 유지하는 찌꺼기와 밀물로 대체된다. 노화되고 손상된 세포는 세포 표면 상에서 유발된 신호에 반응하여 표적화된 세포가 자체 파괴됨으로써 죽는다. 아포토시스는 세포 치사의 다른 메카니즘, 예컨대 세포괴사(necrosis)와는 구별되는데, 상기 세포괴사는 결과적으로 팽윤, 발적, 통증 및 진무름(tenderness)을 비롯한 염증을 야기한다. 아포토시스는 그러한 반응들을 자극하지 않는다. 아포토시스에서, 세포는 주름지고, 파편으로 부서지며, 그 내용물이 염증을 유발하지 않는 방법에 의해 신속히 제거된다. 이러한 이유들 때문에, 급속히 증식하는 세포, 예컨대 암 세포에서 세포괴사보다는 오히려 아포토시스를 유도하는 것이 매우 바람직하다. 그러나, 일부 암 세포에서 돌연변이체는 아포토시스에 대한 이들의 세포의 저항을 부여한다. 화학식 I 내지 V의 화합물은 심지어 돌연변이체 때문에 또는 그외 다른 이유 때문에 아포토시스에 대한 저항을 갖고 있는 암 세포에서도 아포토시스를 유도하는 것으로 밝혀 졌다. 아포토시스는 해당 기술 분야에 공지되어 있는 현미경과 같은 방법에 의한 다른 치료 메카니즘과는 구별될 수 있다.

[0066] 용어 "증식성 세포", "증식 세포", "급속한 증식 세포", "원하지 않는 증식 세포", "원하지 않는 급속한 증식 세포" 등은 환자내에서 암 세포, 전암 세포 및 기타 원하지 않는 급속한 분할 세포를 의미한다.

실시예

[0067] **물질 및 방법**

[0068] **물질:** 4-[5-(4-메틸페닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]벤젠설포나미드는 아메리소스 헬스(Amerisource Health)(펜실베이니아주 델버른 소재)로부터 구입한 캡슐로부터 에틸 아세테이트를 사용하여 추출하고, 이어서 에틸 아세테이트와 헥산의 혼합물로부터 재결정화하였다. 셀 데스 검출 ELISA 키트(The Cell Death

Detection ELISA kit)는 로체 디아그노스틱스(Roche Diagnostics)(독일 만하임 소재)로부터 구입하였다. Akt 및 포스포-⁴⁷³ Ser Akt에 대한 래빗 폴리클로날 항체는 셀 시그널링 테크놀로지스(Cell Signaling Technologies)(매사추세츠주 비벌리 소재)로부터 구입하였다. 마우스 모노클로날 안티-폴리(ADP-리보스) 폴리머라제(PARP) 항체는 파밍겐(Pharmingen)(캘리포니아주 사리 디에고 소재)로부터 제공받았다. PDK-1 키나제 분석(assay) 키트는 업스테이트(Upstate)(뉴욕주 레이크 플라시드 소재)로부터 구입하였다. 다른 화학 물질 및 생화학 물질은 달리 특별하게 언급하지 않는 한 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich)(미조리주 세인트 루이스 소재)로부터 구입하였다. 핵 자기 공명 스펙트럼(¹H NMR)은 브루커(Bruker) 250 MHz 상에서 측정하였다. 화학 이동치(δ)는 달리 특별하게 언급하지 않는 한 용매로서 CDCl₃을 사용하여 TMS 피크에 상대적인 ppm(parts per million)으로 기록하였다. 고분해능 전자분무 이온화 질량 분광법 분석(analyse)은 3-델타 핀니간(Finnigan) FTMS-2000 푸리에 변환 질량 분광계(Fourier Transform mass spectrometer)로 수행하였다.

[0069] 화학 물질의 합성

[0070] 표 1에 열거된 화합물은 하기와 같이 제조하고 시험하였다. 화합물명, 양성자 핵 자기 공명(¹H NMR) 및 고분해능 질량 분광법(HRMS) 데이터는 하기 요약하였다. 화합물 1 내지 36을 합성하는 데 이용된 절차는 하기 실시예에서 설명한다.

[0071] [표 1]

[0072] 화합물 1-36의 명명법, ¹H NMR(양성자 핵자기 공명) 및 HRMS(고분해능 질량 분광법) 특성

화합물	설명
1	4-[4-[5-(4-(2-브로모에틸)페닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]벤젠설폰아미드 ¹ H-NMR δ 3.16 (t, J= 6.4, 2.0Hz, 2H), 3.60 (t, J= 6.4, 2.0 Hz, 2H), 4.90 (s, 2H), 6.75 (s, 1H), 7.13 (d, J= 8.0Hz, 2H), 7.20 (d, J= 8.0 Hz, 2H), 7.47 (d, J= 8.5Hz, 2H), 7.91 (d, J= 8.5Hz, 2H) C ₁₈ H ₁₅ BrF ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 495.9913; 실제질량, 495.9943
	4-[5-(4-(3-브로모프로필)페닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]벤젠설폰아미드 ¹ H-NMR δ 2.16 (m, 2H), 2.81 (t, J= 7.1 Hz, 2H), 3.41 (t, J= 6.4 Hz, 2H), 5.08 (s, 2H), 6.76 (s, 1H), 7.15 (d, J= 8.2 Hz, 2H), 7.25 (d, J= 8.2 Hz, 2H), 7.47 (d, J= 8.5 Hz, 2H), 7.90 (d, J= 8.5 Hz, 2H) C ₁₉ H ₁₇ BrF ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 510.0069; 실제질량, 510.0042
3	4-[5-(4-(2-아지도에틸)페닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]벤젠설폰아미드 ¹ H-NMR δ 2.90 (t, J= 6.8 Hz, 2H), 3.51 (t, J= 6.8 Hz, 2H), 5.49 (s, 2H), 6.76 (s, 1H), 7.17 (d, J= 8.3 Hz, 2H), 7.24 (d, J= 8.3 Hz, 2H), 7.42 (d, J= 8.7 Hz, 2H), 7.85 (d, J= 8.7, 2.0 Hz, 2H) C ₁₈ H ₁₅ F ₃ N ₆ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 459.0821; 실제질량, 459.0817
	4-[5-(4-(3-아지도프로필)페닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]벤젠설폰아미드 ¹ H-NMR δ 1.83 (m, 2H), 2.64 (t, J= 7.5 Hz, 2H), 3.20 (t, J= 7.5 Hz, 2H), 5.31 (br s, 2H), 6.67 (s, 1H), 7.07 (m, 4H), 7.35 (dd, J= 7.5, 2.0 Hz, 2H), 7.79 (d, J= 7.5, 2.0 Hz, 2H) C ₁₉ H ₁₇ F ₃ N ₆ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 473.0978; 실제질량, 473.0946
5	4-[5-(4-(부틸)페닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]벤젠설폰아미드 ¹ H-NMR δ 0.93 (t, J= 7.2 Hz, 3H), 1.36 (m, 2H), 1.64 (m, 2H), 2.63 (t, J= 7.6 Hz, 2H), 5.54 (sm 2H), 6.76 (s, 1H), 7.15 (d, J= 8.3 Hz, 2H), 7.20 (d, J= 8.3 Hz, 2H), 7.45 (dt, J= 8.8, 2.0 Hz, 2H), 7.88 (dt, J= 8.8, 2.0 Hz, 2H) C ₂₀ H ₂₀ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 446.1120; 실제질량, 446.1149
	4-[5-(4-(1-부틸)페닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]벤젠설폰아미드 ¹ H-NMR δ 1.33 (s, 9H), 4.90 (s, 2H), 6.53 (s, 1H), 7.32 (dd, J= 9.7 Hz, 4H), 7.42 (d, J= 8.8 Hz, 2H), 8.02 (d, J= 8.8 Hz, 2H) C ₂₀ H ₂₀ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 446.1120; 실제질량, 446.1118
7	4-[5-(2-나프탈레닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]벤젠설폰아미드 ¹ H-NMR δ 5.47 (s, 2H), 6.89 (s, 1H), 7.18 (dd, J= 8.6, 1.6 Hz, 1H), 7.42 (bd, J= 8.6 Hz, 2H), 7.51-7.55 (m, 2H), 7.78-7.83 (m, 6H) C ₂₀ H ₁₄ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 440.0651; 실제질량, 440.0657
	4-[5-(3-인돌릴)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]벤젠설폰아미드 ¹ H-NMR δ (acetone-d ₆) 6.69 (br s, 1H), 7.03-7.08 (m, 2H), 7.19 (t, J= 7.2 Hz, 1H), 7.40 (d, J= 7.8 Hz, 1H), 7.50 (d, J= 7.8 Hz, 1H), 7.67 (d, J= 8.7 Hz, 2H), 7.92 (d, J= 8.7 Hz, 2H) C ₁₈ H ₁₃ F ₃ N ₄ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 429.0603; 실제질량, 429.0606
9	4-[5-(4-비이페닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]벤젠설폰아미드 ¹ H-NMR δ 4.81 (s, 2H), 6.75 (s, 1H), 7.23 (d, J= 8.5 Hz, 2H), 7.34-7.56 (m, 5H), 7.56 (m, 4H), 7.86 (d, J= 8.5 Hz, 2H) C ₂₂ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 466.0807; 실제질량, 466.0811

[0073]

[0074]

화합물	설명
10	4-[5-(4'-클로로[1,1'-바이페닐]-4-일)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]벤젠설폰아미드
	¹ H-NMR δ 6.42 (s, 2H), 6.83 (s, 1H), 7.30 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.40-7.59 (m, 8H), 7.92 (d, J = 8.2 Hz, 2H)
	C ₂₂ H ₁₅ ClF ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 500.0418; 실제질량, 500.0432
11	4-[5-(3',5'-디클로로[1,1'-바이페닐]-4-일)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]벤젠설폰아미드
	¹ H-NMR δ 4.85 (s, 2H), 6.82 (s, 1H), 7.30 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.36 (s, 1H), 7.37-7.57 (m, 6H), 7.93 (d, J = 8.8 Hz, 2H)
	C ₂₂ H ₁₄ Cl ₂ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 534.0028; 실제질량, 534.0016
12	4-[5-(2',3'-디클로로[1,1'-바이페닐]-4-일)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]벤젠설폰아미드
	¹ H-NMR δ 4.85 (s, 2H), 6.76 (s, 1H), 7.18-7.25 (m, 3H), 7.35-7.49 (m, 6H), 7.88 (d, J = 8.6 Hz, 2H)
	C ₂₂ H ₁₄ Cl ₂ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 534.0028; 실제질량, 533.9999
13	4-[5-(2',4',5'-트리클로로[1,1'-바이페닐]-4-일)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]벤젠설폰아미드
	¹ H-NMR δ 4.86 (s, 2H), 6.77 (s, 1H), 7.25 (dt, J = 8.6, 2.0 Hz, 2H), 7.37 (dt, J = 8.6, s.0 Hz, 2H), 7.39 (s, 1H), 7.46 (dt, J = 8.8, 2.0 Hz, 2H), 7.54 (s, 1H), 7.88 (dt, J = 8.9, 1.2 Hz, 2H)
	C ₂₂ H ₁₃ Cl ₃ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 567.9638; 실제질량, 567.9679
14	4-[5-(4'-메틸[1,1'-바이페닐]-4-일)-3-(트리플루오로메틸)-1H-1-일]벤젠설폰아미드
	¹ H-NMR δ 2.32 (s, 3H), 4.57 (s, 2H), 6.72 (s, 1H), 7.18-7.21 (m, 4H), 7.39-7.52 (m, 6H), 7.84 (d, J = 8.9 Hz, 2H)
	C ₂₃ H ₁₈ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 480.0964; 실제질량, 480.0961
15	4-[5-(4'-트리플루오로메틸[1,1'-바이페닐]-4-일)-3-(트리플루오로메틸)-1H-1-일]벤젠설폰아미드
	¹ H-NMR δ 5.19 (s, 2H), 6.86 (s, 1H), 7.36 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.53 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.65 (m, 6H), 7.92 (d, J = 8.5 Hz, 2H)
	C ₂₃ H ₁₅ F ₆ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 534.0681; 실제질량, 534.0677
16	4-[5-(4'-브로모메틸[1,1'-바이페닐]-4-일)-3-(트리플루오로메틸)-1H-1-일]벤젠설폰아미드
	¹ H-NMR δ 3.92 (s, 2H), 4.93 (s, 2H), 6.66 (s, 1H), 7.03-7.26 (m, 8H), 7.38 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.82 (d, J = 8.6 Hz, 2H)
	C ₂₃ H ₁₇ BrF ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 558.0069; 실제질량, 558.0112
17	4-[5-(3',5'-디메틸[1,1'-바이페닐]-4-일)-3-(트리플루오로메틸)-1H-1-일]벤젠설폰아미드
	¹ H-NMR δ 2.40 (s, 6H), 5.38 (br s, 2H), 6.83 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 7.25 (m, 4H), 7.50 (dd, J = 6.7, 1.7 Hz, 2H), 7.59 (dd, J = 6.7, 1.7 Hz, 2H), 7.92 (dd, J = 6.7, 1.7 Hz, 2H)
	C ₂₄ H ₂₀ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 494.1120; 실제질량, 494.1119
18	4-[5-(4'-부틸[1,1'-바이페닐]-4-일)-3-(트리플루오로메틸)-1H-1-일]벤젠설폰아미드
	¹ H-NMR δ 0.96 (t, J = 7.5 Hz, 3H), 1.41 (m, 2H), 1.66 9m, wH), 2.68 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 5.20 (br s, 2H), 6.84 (s, 1H), 7.29 (dd, J = 8.2, 2.0 Hz, 4H), 7.53 (dt, J = 8.2, 2.0 Hz, 4H), 7.62 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.93 (d, J = 8.5 Hz, 2H)
	C ₂₆ H ₂₄ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 522.1433; 실제질량, 522.1466
19	4-[5-(4'-tert-부틸[1,1'-바이페닐]-4-일)-3-(트리플루오로메틸)-1H-1-일]벤젠설폰아미드
	¹ H-NMR δ 1.35 (s, 9H), 4.87 (s, 2H), 6.59 (s, 1H), 7.44-7.57 (m, 6H), 7.58 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.92 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 8.12 (d, J = 7.5 Hz, 2H)
	C ₂₈ H ₂₄ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 522.1433; 실제질량, 522.1401
20	4-[5-(4-(페닐메틸)페닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-1-일]벤젠설폰아미드
	¹ H-NMR δ 3.71 (s, 2H), 4.74 (s, 2H), 6.52 (s, 1H), 6.91-7.11 (m, 9H), 7.27 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.69 (d, J = 8.9 Hz, 2H)
	C ₂₃ H ₁₈ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 480.0964; 실제질량, 580.0938

[0075]

화합물	설명
21	4-[5-(9H-플루오렌-2-일)-3-(트리플루오로메틸)-1H-1-일]벤젠설포나미드 ¹ H-NMR δ 3.88 (s, 2H), 4.64 (s, 2H), 6.68 (s, 1H), 7.26-7.38 (m, 4H), 7.56 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.74-7.81 (m, 3H), 7.90 (d, J = 8.7 Hz, 2H) C ₂₃ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 478.0807; 실제질량, 478.0771
	4-[5-(9-안트라세닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-1-일]벤젠설포나미드 ¹ H-NMR δ 4.63 (s, 2H), 6.93 (s, 1H), 7.33 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 7.45-7.55 (m, 8H), 8.04 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 8.60 (s, 1H) C ₂₄ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 490.0807; 실제질량, 490.0769
23	4-[5-(2-펜안트라레닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-1-일]벤젠설포나미드 ¹ H-NMR δ (600 MHz) 4.89 (s, 2H), 6.92 (s, 1H), 7.37 (d, J = 8.5, 1.4 Hz, 1H), 7.51 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.54-7.69 (m, 3H), 7.80 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.86-7.92 (m, 4H), 8.64 (d, J = 8.4 Hz, 2H) C ₂₄ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 490.0807; 실제질량, 490.0805
	4-[5-(9-펜안트라레닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-1-일]벤젠설포나미드 ¹ H-NMR δ 4.76 (s, 2H), 6.90 (s, 1H), 7.43-7.84 (m, 11H), 8.72 (t, J = 7.8 Hz, 2H) C ₂₄ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₂ S; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 490.0807; actual mass, 490.0833
25	4-[5-(2-펜안트라레닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-1-일]벤젠카복사미드 ¹ H-NMR δ 5.75-6.05 (br d, 2H), 7.0 (s, 1H), 7.50 (dd, J = 8.5, 1.4 Hz, 1H), 7.55 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.77 (m, 3H), 7.88 (m, 3H), 7.90 (m, 2H), 8.72 (m, 2H) C ₂₃ H ₁₆ F ₃ N ₃ O; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 454.0038; 실제질량, 454.1142
	4-[5-(2-펜안트라레닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-1-일]벤조니트릴 ¹ H-NMR δ 6.91 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.50 (d, J = 2.0 Hz, 2H), 7.63-7.79 (m, 5H), 7.83 (d, J = 2.0 Hz, 2H), 7.92 (m, 1H), 8.64 (d, J = 8.4 Hz, 2H) C ₂₃ H ₁₄ F ₃ N ₃ O; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 436.1032; 실제질량, 436.1032
27	4-[5-(2-펜안트라레닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-1-일]-N-히드록시-벤즈미딘 ¹ H-NMR δ 7.10 (s, 1H), 7.34 (dd, J = 4.0, 0.9 Hz, 1H), 7.36 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 7.37 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 7.42-7.45 (m, 3H), 7.46 (d, J = 0.8 Hz, 1H), 7.51-7.52 (m, 2H), 7.53 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.91 (s, 1H) C ₂₃ H ₁₇ F ₃ N ₃ O; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 469.1220; 실제질량, 469.1247
	5-(2-펜안트라레닐)-3-(트리플루오로메틸)-4-(1H-테트라졸-5-일페닐)-1H-피라졸 ¹ H-NMR δ 6.82 (s, 1H), 7.28 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.38 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.48-7.74 (m, 5H), 7.74 (d, J = 2.5 Hz, 2H), 7.95 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 8.47 (d, J = 8.7 Hz, 2H) C ₃₂ H ₁₉ F ₃ N ₆ ; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 479.1202; 실제질량, 479.1225
29	4-[5-(2-펜안트라레닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]벤즈알데히드 옥심 ¹ H-NMR δ 6.81 (s, 1H), 7.27-7.30 (m, 3H), 7.47 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.52-7.57 (m, 4H), 7.6.8 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.75-7.79 (m, 2H), 8.48-8.53 (m, 2H) C ₂₃ H ₁₆ F ₃ N ₃ O; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 454.1137; 실제질량, 454.1106
	4-[5-(2-펜안트라레닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]벤즈알데히드 히드라존 ¹ H-NMR δ 6.81 (s, 1H), 7.27-7.30 (m, 2H), 7.33 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.42 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.53-7.55 (m, 2H), 7.57-7.60 (m, 2H), 7.68 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.75 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 7.80 (s, 1H), 8.48-8.55 (m, 2H) C ₂₃ H ₁₇ F ₃ N ₄ ; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 453.1297; 실제질량, 453.1302
31	4-[5-(2-펜안트라레닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]-페닐]-아세토니트릴 ¹ H-NMR δ 3.77 (s, 2H), 6.93 (s, 1H), 7.29-7.33 (m, 4H), 7.66-7.86 (m, 6H), 8.65 (t, J = 7.0 Hz, 3H) C ₂₆ H ₁₆ F ₃ N ₃ ; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 450.1151; 실제질량, 450.1188

[0076]

화합물	설명
32	2-[4-[5-(2-펜안트라렌)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]-페닐]-N-히드록시-아세트아미드
	¹ H-NMR δ 3.30 (s, 1H), 3.38 (s, 1H), 6.83 (s, 1H), 7.20-7.41 (m, 4H), 7.59-7.89 (m, 6H), 8.55-8.60 (m, 3H)
	C ₂₆ H ₁₉ F ₃ N ₄ O; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 461.1580; 실제질량, 461.1584
33	5-(2-펜안트라렌)-3-(트리플루오로메틸)-4-(1H-테트라졸-5-일메틸페닐)-1H-피라졸
	¹ H-NMR δ 4.45 (s, 2H), 7.15 (s, 1H), 7.42 (s, 4H), 7.53 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 7.66-7.76 (m, 3H), 7.89 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 8.01 (m, 2H), 8.78 (t, J = 6.9 Hz, 2H)
	C ₂₆ H ₁₇ F ₃ N ₆ ; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 493.1335; 실제질량, 493.1359
34	2-아미노-N-[4-[5-(2-펜안트라렌)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]-페닐]아세트아미드
	¹ H-NMR δ 3.48 (s, 2H), 6.92 (s, 1H), 7.35 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.42 (dd, J = 8.6, 1.7 Hz, 1H), 7.62-7.72 (m, 5H), 7.79 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.85-7.94 (m, 2H), 8.62 (t, J = 8.5 Hz, 2H), 9.56 (br s, 1H)
	C ₂₆ H ₁₉ F ₃ N ₄ O; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 483.1403; 실제질량, 483.1389
35	4-[5-(2-펜안트라렌)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]-페닐-구아닌
	¹ H-NMR δ 6.90 (s, 1H), 7.19 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.34 (dd, J = 8.7, 2.0 Hz, 1H), 7.39 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.61-7.67 (m, 3H), 7.79 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.84-7.91 (m, 3H), 8.62 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 9.95 (s, 1H)
	C ₂₅ H ₁₈ F ₃ N ₅ ; HRMS (M + H): 이론질량, 446.1587 (M+H); 실제질량, 446.1596 (M+H)
36	4-[5-(2-펜안트라렌)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]-페닐-우레아
	¹ H-NMR δ 6.98 (s, 1H), 7.19 (dt, J = 8.9, 2.1 Hz, 2H), 7.34-7.42 (m, 3H), 7.51-7.62 (m, 4H), 7.70 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.81-7.85 (m, 2H), 8.59-8.64 (m, 2H)
	C ₂₅ H ₁₇ F ₃ N ₄ O; HRMS (M + Na ⁺): 이론질량, 469.1252; 실제질량, 469.1199

[0077]

[0078]

세포 배양: PC-3(p53-/-) 인간 안드로겐-비반응성 전립선 암 세포는 ATTC(American Type Tissue Collection) (버지니아주 마나사스 소재)로부터 구입하였다. 세포는 5% CO₂를 함유하는 습도 조절된 항온기에서 37°C로 10% 소 태아 혈청(FBS; Gibco 제품)으로 보충된 RPMI 1640 배지(뉴욕주 그랜드 아일랜드 소재, Gibco 제품) 중에 배양 처리하였다.

[0079]

세포 생존 능력 분석: PC-3 세포 생존 능력에 미치는 4-[5-(4-메틸페닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]벤젠설폰아미드 및 이것의 유도체의 효과는 MTT{[3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-2,5-디페닐-2H-테트라졸륨 브로 마이드]} 분석을 6회 반복으로 이용함으로써 평가하였다. 세포는 96 웰의 평탄한 바닥 평판 내에서 10% FBS-보충된 RPMI 1640 배지 중에 24 시간 동안 성장시키고, 1% 혈청-함유 RPMI 1640 배지 중에서 DMSO 중에 용해된 화합물 1-36의 다양한 농도(최종 농도 ≤ 0.1%)에 상이한 시간 간격 동안 노출하였다. 대조군은 약물-처리된 세포 내의 것과 동일한 농도로 DMSO 비히클을 함유하였다. 배지는 제거하고, 10% FBS 함유 RPMI-1640 배지 중에서 MTT 0.5 mg/ml의 200 μl로 대체하고, 세포를 2 시간 동안 37°C로 CO₂ 항온기에서 항온 처리하였다. 상청액을 웰로부터 제거하고, 환원된 MTT 염료를 200 μl/웰 DMSO 중에 가용화시켰다. 570 nm에서의 흡광도를 평판 판독 기 상에서 측정하였다.

[0080]

세포 증식: PC-3 세포는 10% FBS-함유 RPMI 1640 배지 중에서 50,000 세포/웰로 6 웰 평판 내로 시딩 처리하였다. 24 시간 부착 기간을 수행한 후, 세포는 10% FBS-함유 RPMI-1640 배지 중에서 화합물 1-36 또는 DMSO 비히클의 지시 농도로 3회 반복 처리하였다. 상이한 시간 간격에서, 세포는 트립신화에 의해 수거하고, 쿨터(Coulter) 카운터 모델 Z1 D/T(캘리포니아주 풀러톤 소재, Beckman Coulter 제품)를 사용하여 계수하였다.

[0081]

아포토시스 분석: 2가지 방법을 이용하여 약물 유도된 아포토시스 세포 치사를 평가하였다: 셀 테스 디텍션 ELISA 키트(독일 만하임 소재, Roche Diagnostics 제품)에 의한 DNA 단편화의 검출 및 폴리-(ADP-리보스)폴리머라제(PARP) 절단의 웨스턴 블롯(Western blot) 분석. ELISA는 제조업자의 지침서에 따라 수행하였고, 유도된 아포토시스 치사 후 발생된 모노뉴클레오솜 또는 올리고뉴클레오솜의 형태인 세포질 히스톤-결합된 DNA 단편의 정량적인 측정을 기초로 한다. 요약하건대, 4 × 10⁵ PC-3 세포는 처리하기 전에 24 시간 동안 T-25 플라스크 내에서 배양하였다. 세포는 DMSO 비히클 또는 시험 재제를 사용하여 지시된 농도로 6-24 시간 동안 처리하고, 수집한 후, 2 × 10³ PC-세포에 상당한 세포 용해물을 ELISA에 사용하였다. PARP 절단 분석의 경우, 약물 처리된 세포는 4-8 시간 처리 후 수거하고, 얼음 냉각된 PBS로 세정한 후, 20 mM Tris-HCl, pH 8, 137 mM NaCl, 1 mM CaCl₂, 10% 글리세롤, 1% Nonidet P-40, 0.5% 테옥시클로레이트, 0.1% SDS, 100 μM 4-(2-아미노에틸)벤젠설폰닐 플루오라이드, 10 μg/mL 루베타인 및 10 μg/mL 아프로티닌을 함유하는 용해 버퍼 중에 현탁시켰다. 용해가능한 세포 용해물은 5 분 동안 10,000 g으로 원심분리 처리한 후 수집하였다. 각각의 용해물로부터 유래한 동등한 양

의 단백질(60-100 μg)은 8% SDS-폴리아크릴아미드 겔 중에 재용해시켰다. 밴드는 니트로셀룰로즈 막으로 전이되었는데, 안티-PARP 항체로 면역블롯팅 처리하여 분석하였다.

[0082] **면역블롯팅:** Akt 및 포스포-Akt의 웨스턴 블롯 분석에 관한 일반적인 절차는 설명하면 다음과 같다. 세포는 PBS 중에 세척하고, 초음파 분해기에 의해 5 초 동안 초음파 처리된 SDS 샘플 버퍼 중에 현탁시키고, 5 분 동안 비등시켰다. 간단하게 원심분리 처리한 후, 용해성 분획으로부터 유래한 동등량 단백질 농도는 미니겔(Minigel) 장치 상에서 10% SDS-폴리아크릴아미드 겔 중에 용해시키고, 반건조 트랜스퍼 세포를 사용하여 니트로셀룰로즈 막에 이동시켰다. 트랜스블롯팅 처리된 막은 0.05% Tween 20(TBST)을 함유하는 TBS로 3회 세척하였다. 5% 비지방 밀크를 함유하는 TBST로 60 분 동안 차단한 후, 막은 제1 항체를 사용하여 TBST-5% 저지방 우유 중에서 1:1,000 희석으로 4°C에서 12 시간 동안 항온 처리하고, 이어서 TBST로 3회 세척하였다. 막은 양(goat) 안티-래빗 IgG-HRP 결합체(1:1,000)를 사용하여 실온에서 1 시간 동안 프로브 처리하고, TBST로 3회 세척하였다. 면역블롯은 강화형 화학발광으로 가시화하였다.

[0083] **PDK-1 키나제 활성:** 이 시험관내 분석은 제조업자의 지침서에 따라 PDK-1 키나제 분석 키트(뉴욕주 레이크 플라시드 소재, Upstate 제품)를 사용하여 수행하였다. 이 세포 유리 분석(cell-free assay)는, DMSO 비히클 또는 시험 제제의 존재 하에서, 그 하류 키나제 및 혈청- 및 글루코코르티코이드-조절된 키나제(SGK)를 활성화하는, 바꾸어 말하면 Akt/SGK-특이적 펩티드 기질 RPRAATF를 [γ ³²]-ATP로 포스포틸화하는 제조합 PDK-1의 성능을 기초로 한다. 이어서, [γ ³²P]-포스포틸화된 펩티드 기질은 P81 포스포셀룰로즈 페이퍼를 사용하여 잔기 [γ ³²P]-ATP로부터 분리하고, 0.75% 인산으로 3회 세척한 후 섬광 계수기로 정량화하였다. 기록된 값은 2회의 독립적인 측정치의 평균을 나타낸다.

[0084] **면역침전된 Akt 키나제 분석:** Akt 면역침전은 변형된 공지 절차에 따라 수행하였다. PC-3 세포는 DMSO 비히클 또는 시험 제제를 사용하여 지시된 농도로 2 시간 동안 처리하고, 이어서 50 mM Tris-HCl, pH 7.5, 1% Triton X-100, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 50 mM 플루오르화나트륨, 10 mM 나트륨 β -글리세로포스페이트, 0.1% 2-머캅토에탄올, 0.1 mM 페닐메틸설포닐 플루오라이드, 및 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 아프로티닌, 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 펩스타틴 및 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 루펩틴을 함유하는 버퍼 A 중에서 1 시간 동안 4°C에서 용해하였다. 세포 용해물을 5 분 동안 10,000 g으로 원심분리하고, 상청액을 안티-Akt로 4°C에서 60 분 동안 처리하고, 이어서 단백질 G-아가로즈 비이드로 추가 60 분 동안 처리하였다. 면역침전물은 상기 설명한 바와 같이 Akt/SGK-특이적 펩티드 기질 RPRAATF를 사용하여 Akt 키나제 활성을 분석하는 데 사용하였다. 값은 2개의 독립적인 측정치의 평균을 나타낸다.

[0085] **통계적 분석:** 각각의 실험은 달리 특별하게 언급하지 않는 한 3회 반복하여 수행하였다. 모든 실험은 상이한 경우 적어도 2회 반복하여 수행하였다. 필요한 경우, 데이터는 평균 \pm 95% 신뢰 구간으로서 나타낸다.

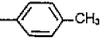
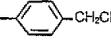
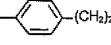
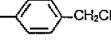
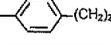
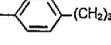
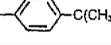
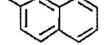
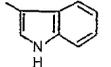
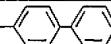
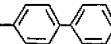
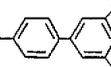
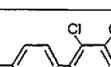
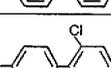
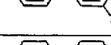
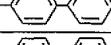
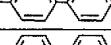
[0086] 24개의 대표적인 유도체의 구조, PDK-1 키나제 활성 및 PC-3 세포 성장을 억제하는 데 있어서 그 화합물의 효능을 하기 표 2에 요약 기재한다.

[0087] [표 2]

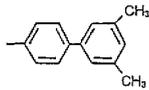
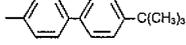
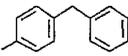
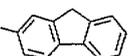
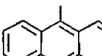
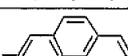
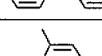
[0088] 4-[5-(4-메틸페닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]벤젠설포나미드 및 화합물 37-60(1-24)에 대한 구조, 및 제조합 PDK-1 키나제 활성을 억제하고 PC-3 세포에서 아포토시스 치사를 유도하는 그 화합물의 효능



[0089]

번호	Ar	IC ₅₀ (μM)	
		PDK-1	PC-3
비교 화합물		48	30
37		42	18
38		38	17
39		32	17
40		34	18
41		20	9
42		34	18
43		24	11
44		65	31
45		21	11
46		22	9
47		18	10
48		23	10
49		9	5
50		15	8
51		18	8
52		20	11

[0090]

번호	Ar	IC ₅₀ (μM)	
		PDK-1	PC-3
53		17	9
54		32	15
55		32	15
56		15	8
57		16	9
58		12	7
59		9	5
60		42	23

[0091]

[0092]

이들 화합물은, 인돌 유도체 44를 제외하고는, 4-[5-(4-메틸페닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]벤젠설포나미드에 대하여 개선된 PDK-1 억제 및 항-증식 활성을 나타내었다. 추가로, 이들 화합물 중 어느 것도 측정 가능한 COX-2 억제 활성(데이터는 도시되어 있지 않음)을 나타내지 않았다. PDK-1 억제 활성의 일반적인 증가는 방향족 고리, 즉 트리시클릭 방향족 고리(57-59) > 치환된 바이페닐(45-55) > 치환된 페닐(37-42)의 증가하는 벌크한 정도(bulkiness)에 따른 것으로 알려졌다. 이들 데이터는 방향족계가 효소 포켓의 소수성 영역에 결합하였다는 점을 시사해 보여준다. 검사된 24개의 유사체 중에서도 특히 화합물 59는, 표 2에 기록되어 있는 바와 같이, PDK-1 활성 및 PC-3 세포 생존 능력을 억제하는 데 각각 9 μM의 및 5 μM의 IC₅₀ 값을 지닌 최적합한 유도체를 나타내었다. 이들 IC₅₀ 값은 4-[5-(4-메틸페닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]벤젠설포나미드의 활성에 비하여 5배 내지 6배 개선된 활성(각각 48 μM 및 30 μM)에 상응하였다. 그러나, 화합물 60은 화합물 59와 비교할 경우, PDK-1 억제 활성의 감소를 나타내었는데, 이는 트리시클릭 방향족 고리의 바람직하지 못한 배향에 의해 부과된 입체 장애에 기인한 것일 수 있었다.

[0093]

검사한 모든 화합물에서는 PDK-1과 PC-3 성장 억제 효능 간의 상관관계가 존재하였는데, 이는 항증식 효과에 대한 PDK1 억제제의 메카니즘적 관련성을 시사한다. 전반적으로, PC-3 세포 증식을 억제하기 위한 IC₅₀ 값은 PDK-1 억제 값의 약 1/2이었다. 이러한 불일치는 Aug-처리된 세포에서 단백질 포스파타제 2A(PP2A)에 의한 PDK-1 억제와 수분하는 재조합 Akt 탈포스포릴화 간의 메카니즘적 상승효과로부터 야기될 수 있는데, 이는 결과적으로 증가된 Akt-탈활성화를 초래한다. 이러한 전제를 검토하기 위해서, PC-3 세포는 화합물 59의 상이한 농도로 2 시간 동안 처리하고, AM에 대한 필연적인 결과는 2가지 독립적인 분석: 면역침전된 Akt 키나제 활성 및 Akt 포스포릴화 상태에 의해 평가하였다. 2가지 평가는 일관된 결과를 제공하였다.

[0094]

키나제 분석에 따르면, 세포내 Akt 활성화를 억제하기 위한 화합물 59의 IC₅₀ 값은 5 μM이었다. 화합물 59도 다른 어떤 화합물도 모두 면역침전된 Akt 활성에 대하여 직접적인 억제 효과를 나타내지 못하였다. 한편, 웨스턴 블롯 분석은 화합물 59를 사용하여 5 μM 및 그 이상으로 수행한 PC-3 세포의 처리가 유의적인 Akt 탈포스포릴화를 유도하였다는 것을 보여준다.

[0095]

PDK-1/Akt 신호전달의 억제는, DNA 단편화 및 PARP 절단에 의해 입증된 바와 같이, 용량-의존 방식으로 1% FBS-함유 RPMI 1640 배지 중에서 PC-3 세포내 아포토시스 치사를 유도하였다. 24 시간에서 50% PC-3 세포 치사를 유도하는 데 요구되는 화합물 59의 용량은 5 μM이었다. PC-3 세포 치사를 유도하는 화합물 59의 용량은 약물 처리된 세포에서 Akt 활성화를 억제하는 것과 일치하였다. 게다가, FC-3 세포 증식에 미치는 화합물 59의 효과는

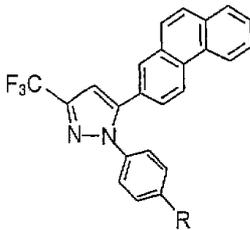
10% FBS 보충된 RPMI 1640 배지 중에서 검사하였다. 1 μM 에서 화합물 59는 실질적인 항증식 활성을 나타내었다. 동시에, 이들 데이터는 PC-3 성장 억제에서 화합물 59의 시험관내 효능을 명백히 나타내었다.

[0096] 모델링은 화합물 59가 PDK-1의 2개의 로브들 사이에서 깊게 갈라진 틈(cleft) 내에 위치한 ATP-결합 도메인 내로 도킹되었다는 것을 보여준다. 화합물 59가 결합을 위해 ATP와 경쟁을 하긴 하지만, 화합물 59에 대한 결합 방식은 ATP의 것과 다소 상이한 것으로 밝혀졌다. 벤젠설폰아미드 부위가 아데닌-결합 모티프를 차지하고 있긴 하지만, 평면상 피라졸 부위는 리보스 고리에 수직이었다. 이러한 배열은 트리포스페이트-결합 포켓 뒤로 인접한 펜안트렌을 배치하였다. 이 펜안트렌 고리는 글리신 농후한 루프에 의해 연결된 2개의 인접한 β 시트의 부분을 포함하는 잔기 88-96에 의해 형성된 비극성 영역과 소수성 상호작용을 형성하였다.

[0097] 12개의 대표적인 유도체의 구조, PDK-1에 대한 그 유도체의 효능, 및 PC-3 세포에서 아포토시스 치사를 유도하는 그 유도체의 능력은 하기 표 3에 요약 기재하였다.

[0098] [표 3]

[0099] 화합물 25-36의 구조, 및 재조합 PDK-1 키나제 활성을 억제하고 PC-3 세포내 아포토시스 치사를 유도하는 상기 화합물의 효능. 이들 화합물의 일반 구조식은 표 위에 도시되어 있다.



[0100]

번호	R	IC ₅₀ (μM)	
		PDK-1	PC-3
61	-CONH ₂	12	7
62	-CN	45	30
63		40	25
64		52	32
65		25	14
66	-CH=N-NH ₂	16	10
67	-CH ₂ CN	42	25
68		15	8
69		45	27
70		5	5
71		2	3
72		40	24

[0101]

[0102] 이들 유도체 중 특히 화합물 70 및 71은 PDK-1 억제에 대한 IC₅₀ 값 5 μM 및 2 μM 각각을 나타내었는데, 이들 값은 화합물 59에 비하여 2배 및 5배의 효능 증가를 나타내었다. 화합물 70 및 71은 2-아미노아세트아미드(-NHCO(CH₂)₂NH₂) 및 구아니딘(-NHC(=NH)NH₂)의 측쇄를 각각 보유하고 있다. 화합물 59와 마찬가지로, 상기 화합물들은 면역침전된 Akt 키나제 활성에 대하여 상당한 직접적인 억제를 전혀 나타내지 않았고, 또한 50 μM 이하의 농도

에서 검출된 임의의 측정가능한 COX-2 억제 활성화도 존재하지 않았다. 심지어는 1 μ M에서도 어느 쪽 제제에 PC-3 세포를 노출시키는 것은 결과적으로 포스포-Akt 수준의 상당한 증가를 유도하였다. 이러한 효능상 개선은 이들 유도체의 경우 단백질-리간드 상호작용에서 수소 결합의 강화를 반영하였다. 이 전제는 ATP-결합 부위 내로 화합물 71을 모델링된 도킹을 수행함으로써 지지되었다. 화합물 71의 구아니디노기는 ATP의 퓨린 고리의 부분 구조와 유사하였는데, 이는 도킹 모델에 의해 상세히 설명된 바와 같이 Ser160 및 Ala162와 수소 결합의 형성을 허용하였다.

[0103] **PDK-1/Akt 신호전달 억제제의 세포 효과:** 화합물 70 및 71은 모두 DNA 단편화 및 PARP 절단에 의해 입증된 바와 같이, 용량-의존적 방식으로 1% FBS-함유 배지 중에서 PC-3 세포내 아포토시스 치사를 유도하였다. 이들 제제는 2.5 μ M보다 더 큰 농도로 아포토시스 유도에서 화합물 59보다 더 큰 효능을 나타내었다. 게다가, 이들 유도체는 백혈병, 흑색종, 폐 암, 결장 암, 뇌 암, 난소 암, 유방 암, 전립선 암 및 신장 암을 나타내는 60개의 인간 종양 세포주에 대하여 선별하기 위해서 국립 암 센터(NCI: National Cancer Center)에 시행하는 DTP(Developmental Therapeutic Program)에 제출하였다. 5% FBS-함유 배지 중에 2일 노출시킨 후 각 부류의 종양 세포로부터 유래한 한가지 대표적인 세포주의 용량-의존적 데이터는 도 1C에 도시하였는데, 도 1C는 1, RPMI-8226 백혈병 세포; 2, NCI-H322M 비소세포형 폐 암 세포; 3, HT29 결장 암 세포; 4, U251 CNS 암 세포; 5, SK-MEL-28 흑색종 암 세포; 6, SK-OV-3 난소 암 세포; RXF 393 신장 암 세포; 8, PC-3 전립선 암 세포; 9, MDA-MB-231 유방 암 세포를 포함하였다. 이들 세포 주 중 많은 것들은 0.1 μ M만큼 낮은 농도에서 양 제제의 성장 억제 효과에 반응하였다.

[0104] 60개 세포주 분석에서, 각 세포주에 대한 3개의 용량 반응 파라미터는 성장 억제 곡선을 기초로 하여 계산하였다. 이들 파라미터는 G150(결과적으로 50% 성장 억제를 유도하는 농도), TGI(결과적으로 도구 성장 억제를 유도하는 농도) 및 LC50(결과적으로 개시점의 것과 비교할 경우 약물 치료의 종료점에서 측정된 단백질 수준의 50% 감소를 유도하는 농도)를 포함한다. 2일 처리 후 화합물 70 및 71에 대하여 60개의 상이한 세포주 중에서 이들 파라미터의 평균은 각각 다음과 같이 하였다: G150: 1.1 및 1.2 μ M; TGI 3.2 및 2.9 μ M; LC50: 24 및 8.5 μ M. 이들 데이터는 화합물 70 및 71의 시험관내 효능을 명백히 입증해 보여준다. 양 제제는 3-5 μ M 요법적 범위에서 종양 세포주의 다양한 영역에서 세포 성장을 완전히 억제할 수 있었다.

[0105] 암 세포 생존 및 증식에서 PDK-1/Akt 신호전달의 보존된 역할의 측면에서, 이러한 경로는 경구적으로 생체이용 가능한 소분자 억제제를 개발하기 위해서 치료적으로 관련성 있는 표적을 나타낸다.

[0106] ATP-결합 포켓 내로 화합물 59의 인 실리코(*in silico*) 도킹은 분자가 ATP 결합 도메인 내로 고정되는데, 부분적으로 설펜아미드와 Ala162의 아미드 사이의 수소 결합을 통해 고정되었다는 것을 보여준다. 또한, Ala162는 다른 리간드, 예컨대 ATP¹⁷ 및 UCN-01을 PDK-1에 고정시키는 데 중요한 역할을 하는 것으로 보고되어 있다. 동시에, 이들 데이터는 화합물 59의 설펜아미드 부위가 효능을 최적화하기 위해서 변경예로 수정할 수 있다는 것을 보여준다.

[0107] 따라서, 설펜아미드 작용기를 2-아미노아세트아미드(-NHC(O)CH₂NH₂) 및 구아니딘(-NHC(=NH)NH₂)로 치환하는 것은 화합물 70 및 71을 각각 유도하였고, 이들 화합물은 모두 IC₅₀ 값 5 및 2 μ M으로 각각 개선된 PDK-1 억제를 나타내었다. 화합물 71의 ATP 결합 부위 내로의 도킹은 구아니딘 부위와 Ser160의 골격상 산소 간의 추가 수소 결합의 존재를 나타내었는데, 이는 효능의 강화가 수소 결합의 증가에 기인한 것일 수 있다는 것을 시사한다. 그러나, 리간드 결합에 미치는 이들 측쇄의 효과는, 표 3에 요약된 구조-활성 관련성에 의해 예시되어 있는 바와 같이, 미묘하다.

[0108] PDK-1 억제에서 화합물 70 및 71의 고효능은 낮은 μ M 농도에서 Akt 활성화를 효과적으로 차단하고 PC-3 세포내 아포토시스 세포 치사를 효과적으로 유도하는 그 화합물의 능력으로 반영되었다(도 1A, 1B). 보다 중요하게도, 세포 증식 및 생존에서 PDK-1/Akt 신호전달의 보존된 역할 때문에, 이들 제제는 검사된 모든 60개 인간 종양 세포주에서 혈청-함유 배지내 세포 성장의 억제시 평균 G150(50% 세포 성장 억제) 값 각각 1.2 μ M 및 1.3 μ M; 건조한(arid) TGI(총 성장 억제) 값 각각 3.2 μ M 및 2.9 μ M으로 효능을 나타내었다. 본 발명자들의 예비적인 동물 연구는 이들 화합물이 경구적으로 흡수될 수 있고, TGI보다 몇배 높은 평균 혈청 농도를 생성할 수 있으며, 보다 중요하게는 1개월 동안 매일 경구 투여한 후 동물에게 거의 독성을 유발하지 않았다는 것을 보여준다(데이터는 도시되어 있지 않음).

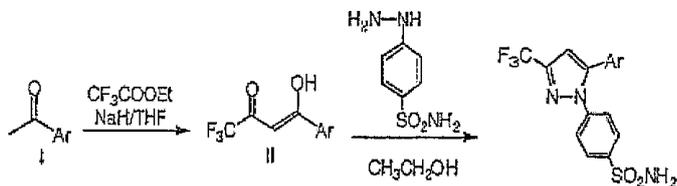
[0109] 무모 마우스에서 상이한 종양 제노아라프트(zenoaraft)에 대한 생체내 효능의 시험은 현재 본 연구실에서 진행 중에 있다. 또한, 이들 제제의 독성학적 및 약리학적 시험은 NCI에서 다루고 있는 RAID(Rapid Access to

Intervention Development) 프로그램 하에서 수행될 것이다.

[0110] **화합물 37-60에 대한 일반적인 합성 절차**

[0111] 모든 화학 시약 및 유기 용매는 달리 특별하게 언급하지 않는 한 Aldrich(미조리주 세인트 루이스 소재)로부터 구입하였다. 화합물 1-24는 반응식 1에서 설명된 2 단계의 일반적인 절차에 따라 합성하였으며, 여기서 Ar은 각각의 방향족 고리 구조를 나타낸다.

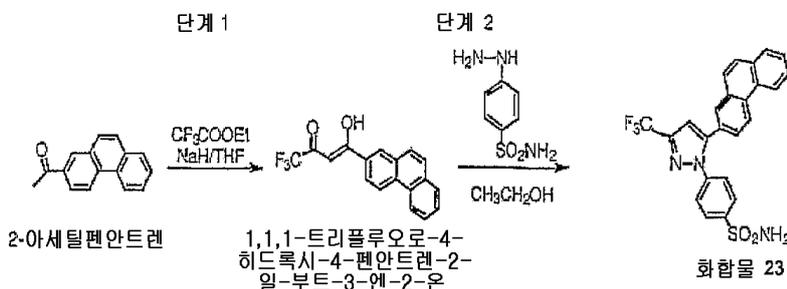
반응식 1



[0112]

[0113] 화합물 59는 화합물의 기 합성을 예시하는 예(반응식 2)로서 본 명세서에서 이용한다. 다른 화합물은 상이한 방향족 고리 구조(화합물 I 및 II)를 지닌 각각의 중간체 및 전구물질을 통해 동일한 절차를 수행한다.

반응식 2



[0114]

[0115] **실시예 1**

[0116] **1,1,1-트리플루오로-4-히드록시-4-펜안트렌-2-일-부트-3-엔-2-온 전구체 합성(단계 1)**

[0117] 무수 테트라히드로푸란(THF) 중의 수소화나트륨(NaH; 0.13 g, 5.4 mmol)의 현탁액에 질소 하에서 에틸 트리플루오로아세테이트(CF₃COOEt; 0.64 g, 4.5 mmol)를 첨가하였다. 25°C에서 10 분 동안 교반한 후, 그 용액에 THF 5 mL 중의 2-아세틸펜안트렌(1 g, 4.5 mmol)을 적가하였다. 이 혼합물은 투명해지고 30 분 이내에 오렌지 색상이 나타났는데, 이것을 2 시간 동안 추가로 교반한 후, 진공 하에 농축하였다. 잔류물을 수 중에 현탁시키고, 에틸 아세테이트(15 mL)로 2회 추출하였다. 유기 상을 분리하고, 황산나트륨으로 건조시킨 후, 진공 하에 진공 농축하여 생성물(황색 고체; 1.29 g, 90% 수율)을 얻었다. 생성물을 추가 정제 없이 직접 사용하였다.

[0118] **실시예 2**

[0119] **화합물 59의 합성(단계 2)**

[0120] 에탄올 40 mL 중의 1,1,1-트리플루오로-4-히드록시-4-펜안트렌-2-일-부트-3-엔-2-온(1.29 g, 4.1 mmol)의 교반된 용액에 4-히드라지노벤젠-1-설포나미드 히드로클로라이드(1.1 g; 4.9 mmol)를 첨가하였다. 이 혼합물을 12 시간 동안 환류시키고, 실온으로 냉각시키며, 진공 하에 농축 건조하였다. 잔류물을 에틸 아세테이트 중에 용해시키고, 물로 세척하였다. 유기층을 황산나트륨으로 건조시키고, 진공 하에 농축하였다. 미정제 생성물은 실리카 겔 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 화합물 59(1.52 g, 80% 수율)을 얻었다.

[0121] **실시예 3-14**

[0122] **화합물 61-72의 합성**

- [0123] 화합물 61-72는 공통의 전구물질로서 전술한 단계 1의 생성물, 1,1,1-트리플루오로-4-히드록시-4-펜안트렌-2-일-부트-3-엔-2-온을 사용하여 합성하였다(반응식 3, 오기 !, 참고 자료는 없음).
- [0124] **실시예 3**
- [0125] **4-[5-(2-펜안트라세닐)-3-(트리플루오로메틸)-H-피라졸-1-일]-벤젠카르복사미드(61)의 합성(단계 3).**
- [0126] 25℃에서 에탄올 40 mL 중의 1,1,1-트리플루오로-4-히드록시-4-펜안트렌-2-일-부트-3-엔-2-온(1.29 g, 4.1 mmol)의 교반된 용액에 (4-카르바모일페닐)-히드라진 히드로클로라이드(0.92 g, 4.9 mmol)를 첨가하였다. 이 혼합물을 12 시간 동안 환류시키고, 실온으로 냉각시킨 후, 진공 하에 농축 건조시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트 중에 용해시키고, 물로 세척하였다. 유기층을 황산나트륨으로 건조시키고, 진공 하에 농축하였다. 미정제 생성물을 실리카 겔 플래쉬 크로마토그래피(에틸 아세테이트-헥산, 1:1)로 정제하여 화합물 61(1 g, 60% 수율)을 얻었다.
- [0127] **실시예 4**
- [0128] **4-[5-(2-펜안트레닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]-벤조니트릴(62)의 합성(단계 4)**
- [0129] 25℃에서 에탄올 60 mL 중의 1,1,1-트리플루오로-4-히드록시-4-펜안트렌-2-일-부트-3-엔-3-온(2.45 g, 7.7 mmol)의 교반된 용액에 4-시아노페닐히드라진 히드로클로라이드(2.53 g, 15 mmol)를 첨가하였다. 이 혼합물을 환류 하에 12 시간 동안 교반하고, 실온으로 냉각시키고, 진공 하에 농축 건조시켰다. 잔류물을 메틸렌 클로라이드 중에 용해시키고, 물로 세척하였다. 유기층을 황산나트륨으로 건조시키고, 진공 하에 농축하였다. 미정제 생성물을 실리카 겔 플래쉬 크로마토그래피(에틸 아세테이트-헥산, 1:4)로 정제하여 화합물 62(2.7 g, 85% 수율)를 얻었다.
- [0130] **실시예 5**
- [0131] **4-[5-(2-펜안트레닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]-N-히드록시벤즈아미딘(63)의 합성(단계 5)**
- [0132] 메탄올(3 mL) 중의 Na 금속(8.3 mg, 0.36 mmol)의 현탁액에 히드록실아민 히드로클로라이드(25 mg, 0.36 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 10 분 동안 교반하고, 화합물 62(1224 mg, 0.3 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 2 시간 동안 환류시킨 후, 25℃에서 추가 16 시간 동안 교반하고, 진공 하에 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피(에틸 아세테이트-헥산, 1:4 내지 1:1)로 정제하여 화합물 63(120 mg, 76% 수율)을 얻었다.
- [0133] **실시예 6**
- [0134] **5-(2-펜안트레닐)-3-(트리플루오로메틸)-4-(1H-테트라졸-5-일페닐)-1H-피라졸(64)의 합성(단계 6)**
- [0135] 10% HCl 5 mL 중의 화합물 62(125 mg, 0.3 mmol), NH₄Cl(123.7 mg) 및 NaN₃(58.5 mg, 0.9 mmol)을 함유하는 혼합물을 첨가하고, 메틸렌 클로라이드 20 mL로 2회 추출하였다. 유기상을 황산나트륨으로 건조시키고, 진공 하에 농축 건조시켰다. 미정제 생성물을 실리카 겔 플래쉬 크로마토그래피(에틸 아세테이트-헥산, 1:4)로 정제하여 화합물 64(96 mg, 70% 수율)를 얻었다.
- [0136] **실시예 7**
- [0137] **4-[5-(2-펜안트레닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]-벤즈알데히드 옥심(65)의 합성(단계 7)**
- [0138] -40℃에서 THF 5 mL 중의 화합물 62(0.417 g, 1.1 mmol)의 용액에 DIBAL-H(3.1 mL, 3.1 mmol, 헥산 중의 1.0 M)를 적가하였다. 혼합물을 8 시간 동안 교반하였고, 10% 아세트산 5 mL 중에 부어 넣었으며, 30 분 동안 교반하였다. 유기층을 황산나트륨으로 건조시키고, 진공 하에 농축 건조시켰다. 미정제 생성물을 실리카 겔 플래쉬 크로마토그래피(에틸 아세테이트-헥산, 1:4)로 정제하여 알데히드 중간체(141 mg, 0.34 mmol)를 생성하였고, 이것을 에탄올 5 mL 중의 히드록실아미드 히드로클로라이드(211 mg) 및 K₂CO₃를 함유하는 용액에 즉각 첨가하였다. 이 혼합물을 환류 하에 16 시간 동안 교반하였다. 용매를 제거한 후, 잔류물을 CH₂Cl₂로 추출하고, 물로 세척하였다.
- [0139] **실시예 8**
- [0140] **4-[5-(2-펜안트레닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]-벤즈알데히드 히드라존(66)의 합성(단계 8)**

- [0141] 화합물 66(124 mg, 85 % 수율)은 히드라진 모노히드레이트(153 mg, 3.1 mmol)를 히드록실아민 히드로클로라이드 대신 사용했다는 점을 제외하고는 화합물 65와 같은 동일한 방식으로 합성하였다.
- [0142] **실시예 9**
- [0143] **4-[[5-(2-펜안트레닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]-페닐]-아세트니트릴(67)의 합성(단계 9)**
- [0144] (a) (4-히드라지노페닐)아세트니트릴 히드로클로라이드의 제조. 수(20 mL) 중의 아질산나트륨(3.15 g, 45.7 mmol)의 용액은 -10°C 이하의 온도를 유지할 수 있는 속도로 진한 염화수소 용액(55 mL) 중의 4-아미노벤조니트릴(5 g, 42.3 mmol)의 냉각된(-15°C) 교반 현탁액에 적가하였다. 첨가를 완료한 후, 반응 혼합물을 신속히 여과하여 고체를 제거하고, 여과액을 -10°C 이하의 온도를 유지할 수 있는 속도로 진한 염화수소 용액(37 mL) 중의 SnCl₂·2H₂O(47.7 g, 0.21 mol)의 냉각된(-20°C) 교반 용액에 조금씩 첨가하였다. 이 용액을 추가 15 분 동안 교반한 후, 고체를 수집하고, 디에틸 에테르(4×25 mL)로 세척한 후, 건조하여 (4-히드라지노페닐)아세트니트릴 히드로클로라이드(5.6 g, 78%)를 얻었다.
- (b) 화합물 67의 제조. 에탄올(20 mL) 중의 (4-히드라지노페닐)아세트니트릴 히드로클로라이드(0.32 g, 1 mmol) 및 1,1,1-트리플루오로-4-히드록시-4-펜안트렌-2-일-부트-3-엔-2-온(0.18 g, 1.1 mmol)의 혼합물을 환류 하에 24 시간 동안 교반하고, 실온으로 냉각시킨 후, 진공 하에 농축 건조시키고, 에틸 아세테이트에 용해시켰다. 유기층을 황산마그네슘으로 건조시키고, 진공 하에 농축 건조시켰다. 미정제 생성물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(헥산-에틸 아세테이트, 2:1)로 정제하여 화합물 67(0.35 g, 81% 수율)을 얻었다.
- [0145] **실시예 10**
- [0146] **2-{4-[5-(2-펜안트레닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]-페닐}-N-히드록시-아세트아미딘(68)의 합성(단계 10)**
- [0147] 에탄올(10 mL) 중의 화합물 67(0.43 g, 1 mmol) 및 히드록실아민 히드로클로라이드(0.075 g, 1.1 mmol)의 용액을 환류 하에 8 시간 동안 교반하고 진공 하에 농축 건조하였다. 잔류물을 수 중에 용해시키고, 포화 NaHCO₃ 용액을 첨가하여 pH 8-9로 만들고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기층을 황산마그네슘으로 건조시키고, 진공 하에 농축 건조시켰다. 미정제 생성물을 디에틸 에테르-헥산 중에서 재결정화하여 화합물 68(0.32 g, 71% 수율)을 얻었다.
- [0148] **실시예 11**
- [0149] **5-(2-펜안트레닐)-3-(트리플루오로메틸)-4-(1H-테트라졸-5-일메틸페닐)-1H-피라졸(69)의 합성(단계 11)**
- [0150] 톨루엔(5 mL) 중의 화합물 67(0.43 g, 1 mmol), 나트륨 아지드(0.08 g, 1.2 mmol) 및 트리에틸아민 히드로클로라이드(0.12 g, 1.2 mmol)를 함유하는 혼합물을 100°C에서 5 시간 동안 교반하고, 실온으로 냉각한 후, 물(10 mL)로 추출하였다. 수상에 36% 염화수소 용액을 적가하여 형성된 테트라졸 69를 염으로 석출하였다. 여과 후, 고체를 진공 하에 건조시켜 화합물 69(0.39 g, 84% 수율)을 얻었다.
- [0151] **실시예 12-14**
- [0152] **1-(4-니트로페닐)-5-페닐-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸(III)의 합성(단계 12)**
- [0153] 에탄올 40 mL 중의 1,1,1-트리플루오로-4-히드록시-4-펜안트렌-2-일-부트-3-엔-2-온(1.29 g, 4.1 mmol)의 용액에 교반하에서 4-니트로페닐히드라진 히드로클로라이드(0.93 g, 4.9 mmol)를 첨가하고, 1 시간 동안 환류시킨 후, 실온으로 냉각시키고, 진공 하에 농축 건조시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트 중에 용해시키고, 물로 세척하였다. 유기상을 황산마그네슘으로 건조시키고, 진공 하에 농축 건조시켰다. 미정제 생성물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 III(0.88 g, 50% 수율)을 얻었다.
- [0154] **4-[5-(2-펜안트레닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]페닐아민(IV)의 합성(단계 13)**
- [0155] 에탄올 20 mL 중의 화합물 III(0.88 g, 2 mmol)의 용액에 산화백금(27 mg, 0.12 mmol)을 첨가하고, 12 시간 동안 55 psi에서 H₂ 하에 교반한 후, 여과하여 촉매를 제거하고, 진공 하에 농축 건조시켰다. 미정제 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 화합물 IV(0.57 g, 70% 수율)를 얻었다.
- [0156] **실시예 12**
- [0157] **2-아미노-N-{4-[5-(2-펜안트레닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]-페닐}-아세트아미드(70)의 합성(단계**

14 및 15)

[0158] 테트라히드로푸란 10 mL 중의 t-부틸옥시카르보닐(t-BOC)-글리신(0.25 g, 1.4 mmol) 및 화합물 IV(0.57 g, 1.4 mmol)의 용액에 1-[3-(디메틸아미노)프로필]-3-에틸카르보디이미드 히드로클로라이드(0.41 g, 2.1mmol)를 첨가하고, 12 시간 동안 25℃에서 교반한 후, 회전식 증발기에서 진공 하에 농축 건조시켰다. 잔류물을 수 중에 현탁시키고, 생성물을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기상을 황산마그네슘으로 건조시키고 진공 하에 농축 건조시켜 화합물 V(0.67 g., 85% 수율)를 얻었다. 화합물 V(0.67 g, 1.2 mmol)를, 진한 HCl 용액 0.7 mL를 함유하는 에틸 아세테이트 8 mL 중에 용해시키고, 2 시간 동안 실온에서 교반한 후, 진공 하에 농축 건조시켰다. 미정제 생성물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 70(0.49 g, 90% 수율)을 백색 분말로서 얻었다.

[0159] 실시예 13

[0160] 4-[5-(2-펜안트레닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]-페닐-구아니딘(71)의 합성(단계 16)

[0161] 에탄올 7 mL 중의 화합물 IV(0.57 g, 1.4 mmol)의 용액에 시안아미드(89 mg, 2.1 mmol) 및 1N HCl 1.5 mL를 첨가하였다. 이 혼합물을 24 시간 동안 환류시키고, 진공 하에 농축 건조시켰다. 생성물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 71(0.25 g, 40% 수율)을 백색 고체로서 얻었다.

[0162] 실시예 14

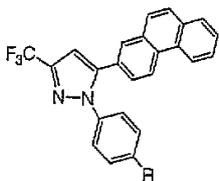
[0163] 4-[5-(2-펜안트레닐)-3-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-1-일]페닐 우레아(72)의 합성(단계 17)

[0164] 아세트산(50 mL), 물(12 mL) 및 에탄올(20 mL)을 함유하는 250 mL 둥근 바닥 플라스크 내에 화합물 IV(2.25 g, 5.6 mmol)을 첨가하고, 이어서 나트륨 이소시아네이트(0.74 g, 11.2 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 1.5 시간 동안 교반한 후, 1N 수산화나트륨을 첨가하여 중화시키고, 이어서 pH가 7.0에 도달할 때까지 수산화나트륨 펠릿을 첨가하였다. 생성물을 분리한 후, 물 100 mL로 세척하고, 황산마그네슘으로 건조시킨 후, 용매를 제거하여 미정제 생성물을 얻었다. 정제를 실리카 겔 크로마토그래피(헥산-에틸 아세테이트, 3:2 내지 헥산-아세톤, 1:3)로 수행하여 화합물 72를 얻었다.

[0165] 실시예 15

[0166] 추가 화합물의 제조

[0167] 하기 표 3에 기재된 화합물은 상기 실시예의 방법을 이용하여 제조하였다.



[0168]

[0169] [표 4]

[0170] 추가의 화합물

화합물	R	명명법
73		4-(5-펜안트렌-2-일-3-트리플루오로메틸-피라졸-1-일)-N-(4-설파모일-페닐)-벤즈아미드
74		N-[4-(5-펜안트렌-2-일-3-트리플루오로메틸-피라졸-1-일)-페닐]-4-설파모일-벤즈아미드
75		2-구아니디노-N-[4-(5-펜안트렌-2-일-3-트리플루오로메틸-피라졸-1-일)-페닐]-아세트아미드
76		2-[4-(5-펜안트렌-2-일-3-트리플루오로메틸-피라졸-1-일)-페닐아미노]-아세트아미드
77		N-[4-(5-펜안트렌-2-일-3-트리플루오로메틸-피라졸-1-일)-페닐카르바모일]-메틸-벤즈아미드

[0171]

- [0172] 실시예 16
- [0173] 몇가지 암 세포주에 대한 화합물 70 및 71의 스크리닝
- [0174] 암 스크리닝 패널의 인간 종양 세포주는 5% 소 태아 혈청 및 2 mM L-글루타민을 함유하는 RPMI 1640 배지 중에서 성장시켰다. 전형적인 스크리닝 실험의 경우, 세포는 개별 세포주의 이중 배가 시간에 따라 좌우되는 5,000 내지 40,000 세포/웰 범위에 상응하는 평판배양 밀도에서 100 μ L로 96 웰 미량역가 평판 내에 접종하였다. 세포 접종 후, 미량역가 평판은 실험 약물의 첨가 이전에 37°C, 5% CO₂, 95% 공기 및 100% 상대 습도에서 24 시간 동안 항온 처리하였다.
- [0175] 24 시간 후, 각 세포주의 2개 평판을 TCA로 원 위치에 고정하여 약물 첨가시(Tz) 각 세포주에 대한 세포 집단의 측정을 나타내었다. 실험 약물을 디메틸 설펡사이드 중에서 소정의 최종 최대 시험 농도의 400 배로 가용화시키고, 사용하기 전에 동결하여 저장하였다. 약물 첨가시, 동결된 농축물의 분취액을 해동하고, 50 μ g/ml 겐타마이신을 함유하는 완전 배지를 사용하여 최종 최대 시험 농도를 2배 희석하였다. 추가의 4개, 10배 또는 1/2 로그 배의 연속 희석액을 만들어 총 5개의 약물 농도와 대조군을 제공하였다. 이들 상이한 약물 희석액의 분취액 100 μ l, 이미 배지 100 μ l를 이미 함유하고 있는 적당한 미량역가 웰에 첨가하였다.
- [0176] 약물 첨가를 수행한 후, 평판을 37°C, 5% CO₂, 95% 공기 및 100% 상대 습도에서 추가의 48 시간 동안 항온 처리하였다. 부착성 세포의 경우, 분석은 차가운 TCA를 첨가하여 종료하였다. 세포는 차가운 50%(w/v) TCA(최종 농도, 10% TCA) 50 μ l를 부드럽게 첨가하여 원 위치에 고정하고, 4°C에서 60 분 동안 항온 처리하였다. 상정액을 버리고, 평판을 수돗물로 5회 세척하고, 공기 하에 건조시켰다. 1% 아세트산 중 0.4%(w/v)로 된 설포아민 B(SRB) 용액(100 μ l)을 각각의 웰에 첨가하고, 평판을 실온에서 10 분 동안 항온 처리하였다. 염색 처리한 후, 미결합된 염료는 1% 아세트산으로 5회 세척하여 제거하고, 평판을 공기 중에서 건조시켰다. 이어서, 결합된 염료는 10 mM 트리즈마 염기로 가용화시키고, 흡광도를 자동화 평판 판독기 상에서 파장 515 nm로 판독하였다. 현탁 세포의 경우, 방법론은 분석이 80% TCA(최종 농도, 16% TCA) 50 μ l를 부드럽게 첨가하여 웰의 바닥에 침전된 세포를 고정함으로써 종료된다는 점을 제외하고는 동일하였다. 7회 흡광도 측정치[시간 제로, (Tz), 대조군 성장, (C), 및 5가지 농도 수준에서 약물의 존재 하의 시험 성장, (Ti)]을 이용하여, 성장 백분율은 약물 농도 수준 각각에서 계산하였다. 성장 억제 백분율은 하기 수학적
- [0177] $T_i \geq T_z$ 인 농도의 경우 $[(T_i - T_z) / (C - T_z)] \times 100$
- [0178] $T_i < T_z$ 인 농도의 경우 $[(T_i - T_z) / T_z] \times 100$
- [0179] 으로 계산하였다.
- [0180] 3가지 용량 반응 파라미터는 각각의 실험 체제에 대하여 계산하였다. 50%의 성장 억제(GI₅₀)는 수학적 $[(T_i - T_z) / (C - T_z)] \times 100 = 50$ 으로부터 계산하였고, 이것은 약물 항온 처리 동안 대조군 세포에서 (SRB 염색에 의해 측정되는 바와 같이) 순 단백질 증가의 50% 감소를 결과적으로 유도하는 약물 농도이다. 결과적으로 총 성장 억제를 유도하는 약물 농도(TGI)는 $T_i = T_z$ 로부터 계산하였다. 치료를 수행한 후 세포의 순 손실량을 나타내는 LC₅₀(개시점의 것과 비교했을 때, 약물 처리의 종료점에서 측정된 단백질의 50% 감소를 결과적으로 유도하는 약물 농도)는 수학적 $[(T_i - T_z) / T_z] \times 100 = -50$ 로부터 계산하였다. 값들은 활성 수준이 도달되었는지, 하지만 효과가 도달되었는지 또는 초과되었는지에 관하여 상기 3가지 파라미터 각각에 계산하였고, 그 파라미터에 대한 값은 시험된 최대 또는 최소 농도보다 크거나 적은 것으로 표시하였다.
- [0181] 설명된 방법은 국립 보건원에서 실시하는 DTP(Developmental Therapeutics Program)에 의해 제공된 스크리닝 서비스 하에 60개 세포주의 패널에 대하여 화합물 70 및 71을 시험하는 데 이용하였다. 도 1C에는 1, RPMI-8226 백혈구 세포; 2, NCI-NCI-H322M 비소세포 암 세포; 3, HT29 결장 암 세포; 4, U251 CNS 암 세포; 5, SK-MEL-28 흑색종 암 세포; 6, SK-OV-3 난소 암 세포; 7, RXF 393 신장 암 세포; 8, PC-3 전립선 암 세포; 9, MDA-MB-231 유방 암 세포가 도시되어 있다.
- [0182] 전체 60개 세포주에 대한 화합물 70 및 71을 시험한 결과는 하기 표 5 및 6에 도시하였다. 시험은 NCIDTP(National Cancer Institute Developmental Therapeutics Program)으로 수행하였다. 도시된 결과는 시험 관내 시험 결과였다.

[0183]

[표 5]

[0184] 60개 암 세포주에 대하여 화합물 70을 시험한 결과

패널/세포주 백혈병	시간 제료	Log10 농도										G150	TGI	LC50	
		Ctrl	-4.0	-7.0	-6.0	-5.0	-4.0	-3.0	-2.0	-1.0	-0.0				-1.0
CCRF-CEM	0.295	1.099	0.893	0.946	0.523	0.168	0.194	74	81	28	-41	-34	3.87E-07	2.49E-06	>1.00E-04
K-562	0.397	1.467	1.435	1.022	0.681	0.209	0.247	97	62	33	-38	-17	2.57E-07	3.34E-06	>1.00E-04
MOLT-4	0.313	1.048	0.954	0.951	0.614	0.190	0.296	89	87	41	-42	-6	6.36E-07	1.10E-06	>1.00E-04
RPML-8226	0.332	0.945	0.766	0.701	0.547	0.164	0.229	85	72	42	-51	-11	5.97E-07	2.84E-06	.
SR	0.164	0.902	0.816	0.796	0.605	0.265	0.363	84	80	45	-27	.	7.11E-07	4.17E-06	>1.00E-04
비소세포 폐암															
A549/ATCC	0.363	1.279	1.294	1.149	0.831	0.155	0.292	102	86	51	-57	-31	1.82E-06	2.96E-06	.
ECVX	0.297	0.860	0.891	0.860	0.796	0.156	0.193	110	100	75	-72	-65	1.40E-06	3.25E-06	1.00E-06
HOP-62	0.510	1.395	1.310	1.330	1.075	0.155	0.217	90	93	64	-79	-57	1.27E-06	3.01E-06	7.13E-06
HOP-92	1.070	1.526	1.509	1.474	1.465	0.095	0.267	96	89	87	-91	-75	1.61E-06	3.07E-06	5.87E-06
NCI-H226	1.190	1.594	1.593	1.586	1.429	0.505	0.614	100	98	59	-58	-48	1.20E-06	3.21E-06	.
NCI-H23	0.487	1.655	1.671	1.673	1.295	0.097	0.156	101	102	67	-79	-66	1.30E-06	2.87E-06	6.33E-06
NCI-H322M	0.626	3.465	1.363	1.562	1.420	0.100	0.269	40	51	43	-84	-57	.	2.18E-06	5.40E-06
NCI-H460	0.318	1.843	1.799	1.499	0.830	0.173	0.213	97	77	34	-80	-33	4.21E-07	2.64E-06	>1.00E-04
NCI-H522	0.766	1.549	1.626	1.718	1.528	0.260	0.486	110	122	97	-66	-37	1.95E-06	3.94E-06	.
결장암															
COLO 205	0.221	1.412	1.286	1.252	0.916	0.104	0.239	89	87	58	-53	1	1.19E-06	.	.
HCT-116	9.114	0.708	0.751	0.665	0.452	0.104	0.146	107	93	57	-9	5	1.27E-06	.	>1.00E-04
HCT-15	0.279	0.875	0.760	0.599	0.562	0.149	0.278	81	54	47	-47	.	3.65E-07	3.19E-06	>1.00E-04
HCT9	0.215	1.451	1.365	1.299	0.801	0.078	0.159	92	88	47	-65	-26	4.58E-07	2.64E-06	.
HML2	0.535	2.184	2.151	2.044	1.425	0.146	0.264	98	81	54	-73	-51	1.07E-06	2.67E-06	6.62E-06
SW-620	0.187	1.302	1.197	1.198	0.736	0.127	0.136	100	100	54	-33	-28	1.12E-06	4.23E-06	>1.00E-04
CNS 암															
SV-268	0.376	1.142	1.016	0.930	0.789	0.252	0.280	84	72	54	-33	-26	1.11E-06	4.18E-06	>1.00E-04
SV-295	0.421	1.224	1.173	1.190	0.915	0.225	0.287	94	96	62	-47	-32	1.28E-06	3.71E-06	>1.00E-04
SNB-19	0.532	1.721	1.562	1.655	1.230	0.219	0.334	87	94	59	-59	-39	1.18E-06	3.15E-06	.
U251	0.391	1.361	1.298	1.139	0.810	0.144	0.320	180	82	46	-63	-18	7.75E-07	2.64E-06	.
흑색종															
LOX IMVI	0.353	1.166	1.206	0.974	0.742	0.176	0.352	105	76	48	-50	.	4.16E-07	1.07E-06	.
MALME-3M	0.666	1.165	1.123	1.128	1.102	0.210	0.290	92	93	87	-67	-56	1.74E-06	3.67E-06	7.73E-06
M14	0.315	0.986	0.875	0.974	0.916	0.211	0.256	98	98	90	-33	-19	2.10E-06	3.37E-06	>1.00E-04
SK-MEL-2	0.456	0.883	0.943	0.956	0.885	0.289	0.330	114	117	100	-17	-28	2.33E-06	5.49E-06	>1.00E-04
SK-MEL-28	0.530	1.482	1.426	1.320	1.130	0.071	0.218	94	83	63	-47	-59	1.23E-06	2.64E-06	5.69E-06
SK-MEL-5	0.549	2.147	1.995	1.958	1.659	0.136	0.364	91	88	69	-75	-34	1.36E-06	3.02E-06	.
UACC-62	0.675	1.600	1.649	1.546	1.407	0.137	0.364	105	94	79	-80	-46	1.53E-06	3.15E-06	.
난소암															
ZGROV1	0.462	1.060	1.444	1.103	0.902	0.235	0.302	97	107	74	-49	-35	1.66E-06	1.87E-06	>1.00E-04
OVCAR-2	0.466	0.929	0.879	0.849	0.816	0.140	0.301	89	83	76	-70	-35	1.52E-06	1.32E-06	.
OVCAR-3	0.539	1.121	1.114	1.073	1.086	0.093	0.172	99	92	94	-82	-68	1.78E-06	3.41E-06	6.53E-06
OVCAR-5	0.512	1.507	1.480	1.540	1.412	0.087	0.148	97	103	90	-83	-71	1.71E-06	3.32E-06	6.45E-06
OVCAR-8	0.400	1.101	1.078	1.114	0.755	0.269	0.306	97	102	51	-33	-24	1.82E-06	4.03E-06	>1.00E-04
SK-OV-3	0.199	1.623	1.514	1.597	1.262	0.083	0.362	91	98	71	-79	-24	1.37E-06	2.96E-06	.
신장암															
786-0	0.652	1.358	2.012	1.897	1.440	0.181	0.299	104	95	60	-72	-54	1.20E-06	2.85E-06	6.79E-06
A498	0.945	2.261	2.230	2.590	2.201	0.660	0.433	98	126	95	-10	-54	2.30E-06	6.75E-06	6.69E-05
ACHN	0.374	1.026	0.985	1.037	0.829	0.150	0.313	94	102	70	-60	-16	1.42E-06	1.45E-06	.
CAX1-1	0.597	1.862	1.662	1.802	1.126	0.147	0.335	87	95	42	-75	-44	7.03E-07	2.27E-06	.
HXP 393	0.403	0.801	0.766	0.700	0.628	0.177	0.441	91	75	56	-56	10	1.14E-06	.	.
SN12C	0.504	1.233	1.209	1.194	1.093	0.203	0.308	96	94	78	-65	-47	1.58E-06	1.81E-06	.
TK-10	0.671	1.496	1.512	1.432	1.304	0.138	0.200	102	100	77	-80	-70	1.48E-06	3.16E-06	6.47E-06
UO-31	0.443	1.782	1.572	1.563	1.356	0.161	0.285	84	84	58	-64	-36	1.17E-06	3.29E-06	.
전립선암															
PC-3	0.242	0.996	0.910	0.763	0.593	0.055	0.108	89	89	47	-77	-55	7.05E-07	2.18E-06	6.02E-06
DU-145	0.327	0.961	0.993	1.018	0.895	0.078	0.112	105	109	90	-76	-60	1.73E-06	3.17E-06	6.95E-06
유방암															
MCF7	0.452	1.672	1.566	1.541	0.982	0.196	0.255	91	89	43	-57	-44	7.18E-07	2.72E-06	.
NCI/ADR-RES	0.556	1.904	1.883	1.878	1.217	0.229	0.212	98	98	49	-59	-62	9.54E-07	2.45E-06	3.28E-06
MDA-MB-231/ATCC	0.642	0.988	0.900	0.809	0.843	0.173	0.306	100	71	58	-73	-52	1.15E-06	2.77E-06	4.67E-06
MDA-MB-435	0.514	1.286	1.221	1.279	1.110	0.351	0.313	105	99	86	-34	-38	2.05E-06	5.25E-06	>1.00E-04
BT-20	0.494	1.469	1.562	1.447	1.126	0.127	0.347	103	98	68	-69	-14	1.35E-06	3.13E-06	.
BT-589	0.492	0.957	0.912	0.891	0.785	0.143	0.195	90	86	53	-71	-60	1.45E-06	2.95E-06	6.98E-06
T-47D	0.423	1.019	0.921	1.071	0.935	0.205	0.232	84	109	86	-58	-44	1.82E-06	4.21E-06	.

[0185]

[0186]

[표 6]

[0187] 60개 암세포주에 대하여 화합물 71을 시험한 결과

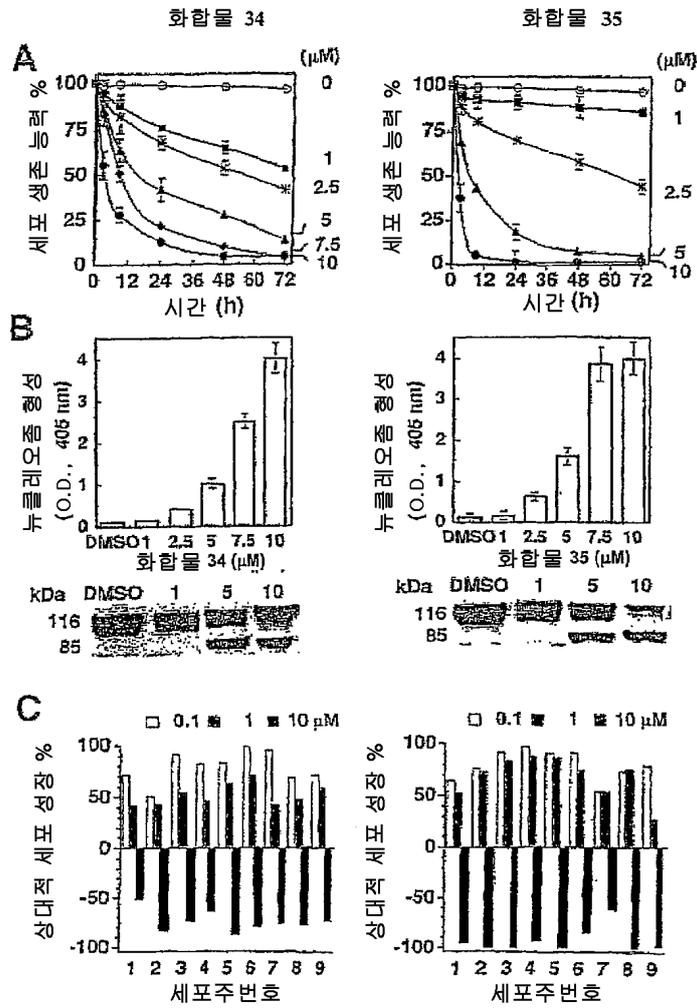
패널/세포주	시간 제본	Log10 농도										G150	TGI	IC50	
		Ctrl	-4.0	-7.0	-6.0	-5.0	-4.0	-3.0	-2.0	-1.0	-0.0				-1.0
백혈병															
CCRF-C228	0.295	0.340	0.408	0.411	0.718	0.003	0.140	78	79	65	-39	-53	1.22E-06	2.48E-06	5.00E-06
K-562	0.297	1.401	1.338	1.263	0.438	0.120	0.119	84	89	13	-58	-60	1.26E-07	1.52E-06	7.77E-06
HL60-4	0.313	0.357	0.833	0.736	0.451	0.143	0.143	81	66	23	-56	-64	2.33E-07	1.08E-06	8.75E-06
RFMT-3226	0.332	0.682	0.536	0.559	0.513	0.036	0.176	58	65	52	-95	-47	1.03E-06	2.25E-06	.
NR	0.364	0.868	0.688	0.503	0.254	0.234	0.287	62	42	-10	-36	-21	3.46E-08	1.75E-07	>1.00E-04
비소세포 폐암															
A549/ATCC	0.363	1.175	1.140	1.105	1.121	-0.032	0.135	96	96	93	-100	-63	1.48E-06	3.04E-06	5.51E-06
EK7X	0.557	0.841	0.713	0.737	0.711	-0.008	0.145	55	63	54	-100	-74	1.06E-06	2.24E-06	1.74E-06
HOP-62	0.510	1.280	1.285	1.267	1.255	0.011	0.329	109	97	96	-90	-36	1.72E-06	3.12E-06	.
HOP-92	1.070	1.647	1.597	1.591	1.561	0.089	0.767	86	82	50	-91	-28	1.03E-06	2.26E-06	.
HCT-H23	0.457	1.569	1.565	1.515	2.679	-9.041	0.151	33	87	101	-100	-67	1.79E-06	3.18E-06	5.66E-06
HCT-H322M	0.626	1.181	0.998	1.049	1.011	-0.052	0.257	85	76	73	-100	-59	1.36E-06	2.54E-06	5.14E-06
HCT-H460	0.319	1.792	1.654	1.658	1.650	0.021	0.257	91	91	90	-97	-29	1.64E-06	3.04E-06	.
HCT-H527	0.766	1.671	1.509	1.550	1.471	0.037	0.439	82	87	78	-85	-43	1.45E-06	2.92E-06	.
결장암															
HCT-116	0.221	1.316	1.166	1.028	0.930	0.009	0.151	95	83	73	-96	-32	1.36E-06	2.69E-06	.
HCT-116	0.114	0.714	0.607	0.633	0.525	-0.022	0.058	82	86	68	-100	-49	1.29E-06	2.55E-06	.
HCT-15	0.279	0.893	0.669	0.779	0.797	-0.003	0.082	64	81	84	-100	-71	1.54E-06	2.87E-06	5.36E-06
HCT29	0.215	1.333	1.276	1.238	1.136	-0.051	0.003	96	91	82	-100	-99	1.50E-06	2.83E-06	5.32E-06
HML2	0.525	1.497	1.867	1.832	1.777	0.013	0.307	94	91	87	-98	-43	1.59E-06	2.97E-06	.
SW-620	0.187	1.073	0.923	0.993	1.060	-0.048	0.015	83	91	98	-100	-92	1.75E-06	1.13E-06	5.60E-06
CNS 암															
SP-288	0.376	1.016	0.893	0.939	0.886	0.148	0.278	81	88	80	-61	-26	1.63E-06	3.69E-06	.
SP-289	0.421	1.107	0.830	0.931	0.997	-0.025	0.195	85	74	84	-100	-54	1.57E-06	2.86E-06	5.35E-06
U87-MG	0.532	1.481	1.385	1.385	1.351	0.063	0.317	90	90	86	-88	-40	1.61E-06	3.12E-06	.
U87-MG	0.491	1.316	1.125	1.059	1.123	0.026	0.404	96	89	96	-93	12	1.74E-06	.	.
흑색종															
LOX CV71	0.353	1.164	0.948	1.033	0.935	0.008	0.185	73	84	72	-98	-23	1.34E-06	2.65E-06	5.22E-06
HALME-3H	0.666	0.594	0.837	0.838	0.826	0.089	0.333	51	54	50	-87	-50	1.01E-06	2.33E-06	1.00E-04
M14	0.315	0.935	0.792	0.823	0.816	-0.004	0.210	74	82	81	-100	-33	1.44E-06	2.80E-06	.
SK-MEL-2	0.466	0.830	0.775	0.829	0.780	-0.020	0.334	85	97	87	-100	-29	1.57E-06	2.91E-06	.
SK-MEL-28	0.530	1.508	1.439	1.408	1.367	-0.002	0.240	93	90	86	-100	-53	1.55E-06	2.89E-06	5.18E-06
SK-MEL-45	0.549	1.040	1.621	1.762	1.813	0.143	0.363	97	113	116	-74	-34	2.22E-06	4.07E-06	.
SK-MEL-62	0.675	1.477	1.323	1.338	1.301	-0.041	0.272	81	83	78	-100	-60	1.44E-06	2.74E-06	5.24E-06
난소암															
IGROV1	0.462	1.931	0.897	0.983	0.806	-0.039	0.216	85	83	55	-100	-53	1.07E-06	2.26E-06	4.75E-06
OVCAR-3	0.460	0.868	0.833	0.792	0.770	-0.043	0.131	91	81	76	-100	-72	1.40E-06	2.70E-06	5.20E-06
OVCAR-4	0.530	1.123	1.011	0.999	0.945	-0.021	0.179	81	79	70	-100	-66	1.31E-06	2.58E-06	5.08E-06
OVCAR-5	0.512	1.592	1.538	1.437	1.559	-0.033	0.474	95	86	97	-100	-8	1.73E-06	3.11E-06	.
OVCAR-8	0.400	0.960	0.923	0.946	0.934	-0.001	0.126	82	96	94	-100	-69	1.69E-06	1.05E-06	5.52E-06
SK-OV-3	0.399	1.327	1.261	1.245	1.093	0.062	0.278	93	91	75	-85	-30	1.43E-06	2.94E-06	.
신장암															
786-O	0.652	1.931	1.862	1.668	1.663	0.046	0.458	86	96	80	-93	-30	1.44E-06	1.91E-06	.
A498	0.945	2.207	2.413	2.087	1.869	1.903	0.540	116	91	73	-76	-43	1.65E-05	4.35E-05	>1.00E-04
ACHN	0.374	1.026	0.898	0.902	0.964	0.034	0.291	86	81	90	-91	-22	1.67E-06	1.15E-06	.
CNT-1	0.597	1.767	1.735	1.642	1.604	-0.067	0.315	97	89	103	-100	-47	1.83E-06	3.22E-06	.
RXF 393	0.403	0.829	0.582	0.629	0.629	0.150	0.385	62	53	53	-61	-4	.	2.91E-06	.
SN12C	0.568	1.115	1.050	0.998	1.045	-0.014	0.224	88	78	87	-100	-62	1.57E-06	2.91E-06	5.40E-06
786-10	0.672	1.134	1.032	1.047	0.998	-0.021	0.245	78	90	71	-100	-64	1.32E-06	2.59E-06	5.09E-06
UO-31	0.443	1.467	1.373	1.407	1.332	-0.030	0.280	91	96	87	-100	-35	1.57E-06	1.92E-06	.
직립선암															
PC-3	0.242	1.058	0.863	0.846	0.857	-0.022	0.179	75	73	75	-100	-26	1.38E-06	2.67E-06	.
DU-145	0.327	0.835	0.694	0.767	0.769	-0.074	-0.019	72	87	85	-100	-100	1.55E-06	2.89E-06	5.37E-06
음방암															
HCC-T	0.452	1.540	1.467	1.340	1.507	0.073	0.229	93	82	97	-84	-49	1.82E-06	3.04E-06	.
HCC/ADH-LES	0.556	1.942	1.920	1.882	1.874	0.490	0.294	98	96	99	-12	-47	2.64E-06	7.73E-06	>1.00E-04
HCC-HU-213/ATCC	0.644	0.804	0.756	0.830	0.789	0.015	0.100	47	78	27	-88	-39	.	1.66E-06	.
HIS 578T	0.534	1.167	1.099	1.165	1.127	0.169	0.333	89	100	94	-69	-38	1.86E-06	3.78E-06	.
HCC-HU-413	0.404	1.498	1.376	1.362	1.444	-0.073	0.295	89	89	95	-100	-27	1.70E-06	3.07E-06	.
T-47D	0.423	0.750	0.541	0.570	0.529	0.100	0.199	16	37	32	-75	-53	<1.00E-08	1.93E-06	5.72E-06

[0188]

[0189] 본 명세서에 설명된 실시예는 설명된 화합물의 합성 및 적용을 예시하기 위한 것이다. 실시예는 본 명세서에서 기술된 본 발명의 영역을 한정하기 위한 것이 아니다.

도면

도면1



도면2

