



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0089017  
(43) 공개일자 2021년07월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07F 5/02 (2006.01) A61K 31/69 (2006.01)  
A61K 47/50 (2017.01)  
(52) CPC특허분류  
C07F 5/02 (2013.01)  
A61K 31/69 (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2020-0002208  
(22) 출원일자 2020년01월07일  
심사청구일자 2020년01월07일

(71) 출원인  
이화여자대학교 산학협력단  
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)  
한림대학교 산학협력단  
강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)  
(72) 발명자  
류재상  
서울특별시 강남구 삼성로 150, 211동 1208호(대치동, 한보미도맨션)  
알리스테어 로버트 사드라  
강원도 춘천시 삭주로70번길 29(교동)  
허성오  
강원도 춘천시 신동면 풍류1길 84-8  
(74) 대리인  
김경교, 양용, 백서일

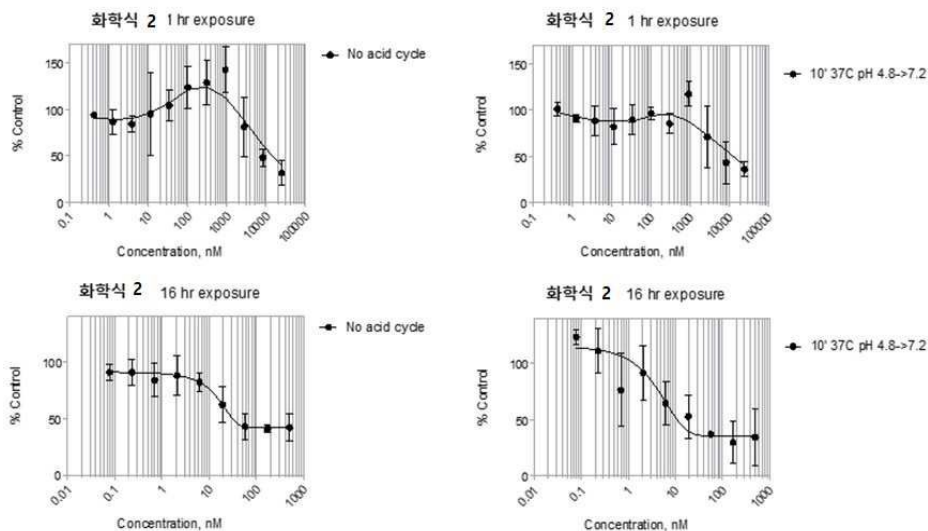
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 신규 보르테조밐 전구약물 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명의 화학식 1의 화합물, 이의 광학이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 뼈에 결합하는 골 지향성 리간드를 보르테조밐에 공유결합으로 연결하여, 뼈 타겟팅 약물 전달용 조성물이며, 보록신 구조를 형성하여 체제화하기에 낮은 수용해도를 갖던 종래 보르테조밐 화합물의 기술적 난점을 극복하였다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

**A61K 47/50** (2017.08)

**A61P 19/00** (2018.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

|             |                                        |
|-------------|----------------------------------------|
| 과제고유번호      | 2017M3A9F5029066                       |
| 부처명         | 과학기술정보통신부                              |
| 과제관리(전문)기관명 | 한국연구재단                                 |
| 연구사업명       | 원천기술개발사업/ 바이오·의료기술개발사업/ 신약 성능 플랫폼 기술개발 |
| 연구과제명       | 골 중앙 치료활성을 갖는 표적지향성 시클리무스 접합체 개발연구     |
| 기 여 율       | 1/1                                    |
| 과제수행기관명     | 이화여자대학교                                |
| 연구기간        | 2017.04.01 ~ 2020.03.31                |

---

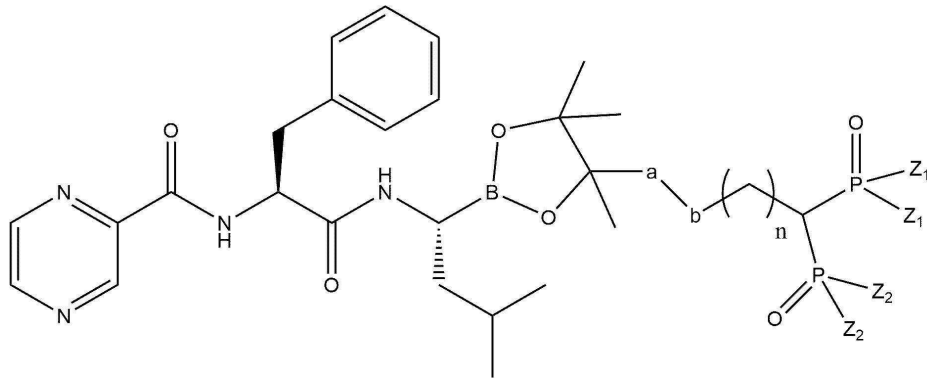
## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

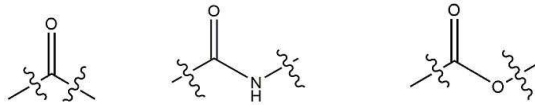
하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학이성질체 또는 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 1]



식 중에서

a는 치환되거나 비치환된 페닐 또는 치환되거나 비치환된  $C_2-C_6$  알킬이고,



b는 , 및 으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나이고,

n은 1 내지 5 중 어느 하나의 정수이고,

$Z_1$ 은  $-OR_1$ 이고,

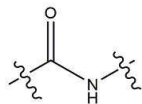
$Z_2$ 는  $-OR_2$ 이고,

$R_1$  및  $R_2$ 는 각각 독립적으로 수소, 치환되거나 비치환된  $C_1-C_5$  알킬 및 치환되거나 비치환된 페닐로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나이다.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, a는 비치환된 페닐인 것인, 화합물, 이의 광학이성질체 또는 약학적으로 허용가능한 염.

#### 청구항 3



제1항에 있어서, b는 인 것인, 화합물, 이의 광학이성질체 또는 약학적으로 허용가능한 염.

#### 청구항 4

제1항에 있어서, n은 3인 것인, 화합물, 이의 광학이성질체 또는 약학적으로 허용가능한 염.

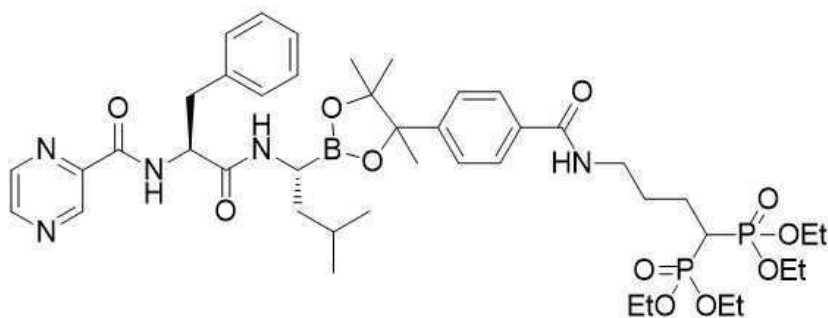
#### 청구항 5

제1항에 있어서, R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>는 각각 독립적으로 -OH, -OEt, -OCH<sub>3</sub> 및 -OBn으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것인, 화합물, 이의 광학이성질체 또는 약학적으로 허용가능한 염.

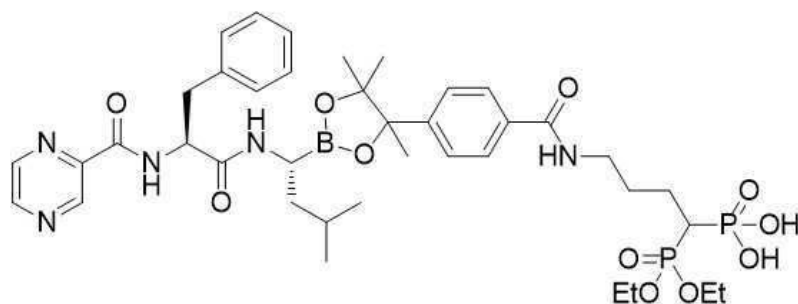
#### 청구항 6

제1항에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화학식 2 내지 5로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나인, 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 약학적으로 허용 가능한 염:

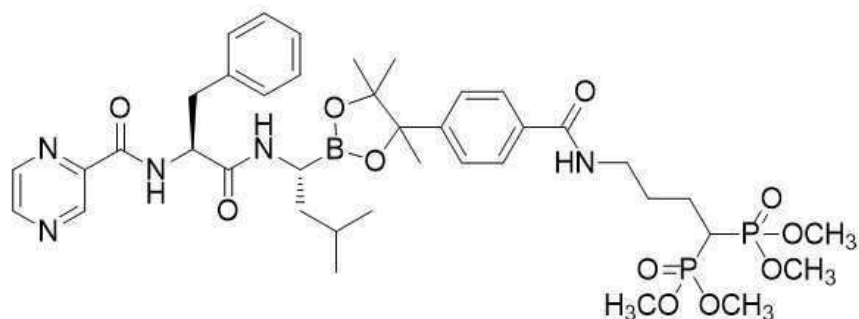
[화학식 2]



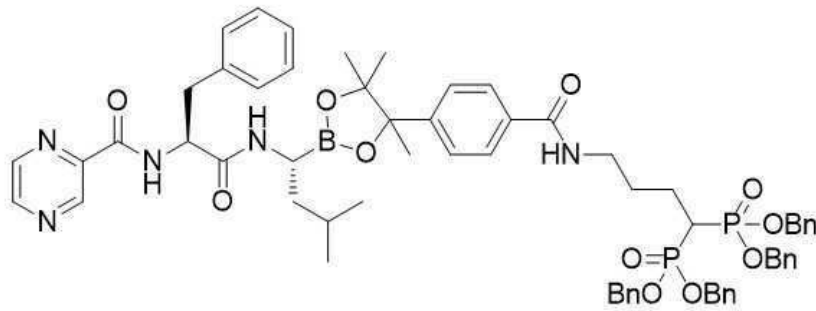
[화학식 3]



[화학식 4]



[화학식 5]



#### 청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 뼈 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

#### 청구항 8

제7항에 있어서, 뼈 질환은 골다공증, 골수염, 골연화증, 암세포의 골전이에 의한 골 손상, 골육종, 다발성 골수종, 골 전이성 전립선암, 추간관 탈출증, 섬유성 골이형성증, 클리펠-파일 증후군 및 낭성 섬유뼈염으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 뼈 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

#### 청구항 9

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 뼈 질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

#### 청구항 10

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 뼈 타겟팅 약물 전달용 조성물.

### 발명의 설명

#### 기술 분야

[0001] 본 발명은 신규 보르테조미드 전구약물 및 이의 용도에 관한 것이다.

#### 배경 기술

[0002] 골육종(osteosarcoma, OS)은 어린이와 젊은 성인에서 가장 흔한 원발성 악성 신생물이며 높은 국소 공격성과 높은 전이성을 특징으로 한다. 골육종의 치료율은 진단 당시 전이가 동반될 때 약 25%이며, 이는 지난 20년 동안 거의 정체 상태에 있어 왔다.

[0003] 다발성 골수종 (Multiple myeloma, MM)은 두 번째로 흔한 파괴적인 클론 혈장 세포 악성 종양으로서 5 년 생존율이 45%에 불과하며 골수에서 발생한다. 새로운 면역 조절 약물과 프로테아좀 억제제의 도입을 포함하여 지난 30년 동안 많은 새로운 약리학적 전략이 개발되었지만 다발성 골수종은 여전히 불치의 상태로 남아 있다.

[0004] 골 전이성 전립선암은 가장 흔한 암으로 서양 남성의 암 관련 사망 원인 중 2 위를 차지하며 2008년에는 903,500건의 새로운 진단과 258,400건의 사망을 기록했다. 전립선암 발병 사례의 대다수는 질병에 대한 예후는 양호하지만, 일단 전이성 병기로 발전되면 사실상 치료가 불가능하다. 골전이성 전립선 암은 뼈로 전이되는 주요 암종으로 분류되며, 전립선 암환자의 약 75%가 골 전이를 경험하게 된다.

[0005] 상기 골육종, 다발성 골수종, 골 전이성 전립선 암과 같은 뼈 질환을 치료하기 위하여 다양한 연구가 수행되어 왔으며, 그중에서도 mTOR 억제제는 세포 성장과 증식을 억제함으로써 골육종에서 항종양 효과를 나타내며 골육종 환자의 생존율을 향상시킨다는 점이 밝혀졌다.

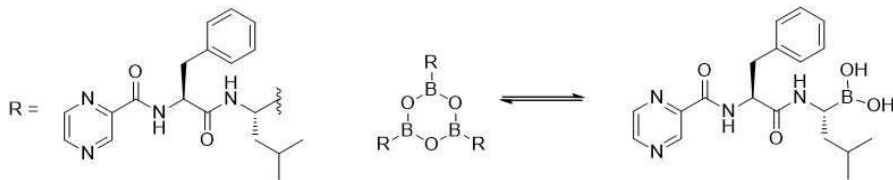
[0006] 다양한 골 질환 치료제가 연구되고 사용되어 왔으나, 메토트렉세이트, 독소루비신(아드리아마이신),

시스플라틴, 에피루비신, 이포스포마이드, 사이클로포스포마이드, 이토포사이드, 젬시타빈 및 토포테칸과 같은 약물들은 뼈 침투력이 약해 고용량으로 사용되며 이는 골수에 영향을 주어 백혈구 레벨을 낮춰 2차 감염을 유발하는 등의 부작용이 나타났으며, 멜팔란, 빈크리스틴(온코빈), 사이클로포스포마이드(시톡산), 이토포사이드(VP-16), 독소루비신(아드리아마이신), 리포솜 독소루비신(독실) 및 벤다무스틴(트레안다)와 같은 약물들은 암 세포뿐만 아니라 정상세포들도 영향을 주어 머리카락 소실, 구강자극, 식욕부진, 구토, 구역질, 면역력 저하 등의 부작용이 매우 심각하다는 문제를 내포하고 있다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0007] 다발성 골수종에 사용되는 보르테조미드는 뼈 침투력이 약해 고용량으로 사용되며 이는 골수에 영향을 주어 백혈구 레벨을 낮춰 2차 감염을 유발하는 등의 부작용이 나타났다. 또한, 고체 상태의 보르테조미드(붕소산 화합물)은 고리형 보론산 무수물인 불용성 보록신의 형태로 존재한다. 물에 넣었을 때, 보록신은 해리되어 그 자체와 단량체 보르테조미드 사이에 평형을 형성하여 약 0.5-1 mg/ml의 수용해도를 나타내며 제제 목적으로는 충분하지 않았다.

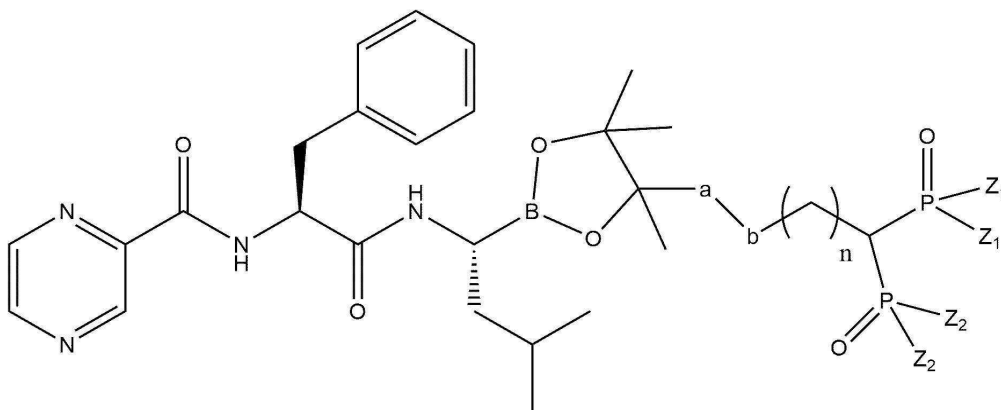


[0008] 이에, 본 발명의 발명자들은 이러한 문제를 해결하기 위해, 뼈에 결합하는 골 지향성 리간드를 보르테조미드(bortezomib)에 공유결합으로 연결하여 기존 뼈 질환 치료제의 문제점을 해결하였다.

### 과제의 해결 수단

[0010] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학이성질체 또는 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다:

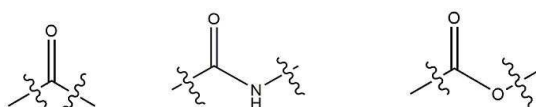
[0011] [화학식 1]



[0012] 식 중에서

[0013]

[0014] a는 치환되거나 비치환된 페닐 또는 치환되거나 비치환된 C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 알킬이고,



[0015] b는 , 및 으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나이고,

[0016] n은 1 내지 5 중 어느 하나의 정수이고,

- [0017]  $Z_1$ 은  $-OR_1$ 이고,
- [0018]  $Z_2$ 는  $-OR_2$ 이고,
- [0019]  $R_1$  및  $R_2$ 는 각각 독립적으로 수소, 치환되거나 비치환된  $C_1-C_5$  알킬 및 치환되거나 비치환된 페닐로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나이다.
- [0020] 또한, 본 발명은 상기 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 뼈 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0021] 또한, 본 발명은 상기 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 뼈 질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.
- [0022] 또한, 본 발명은 상기 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 뼈 타겟팅 약물 전달용 조성물을 제공한다.

### 발명의 효과

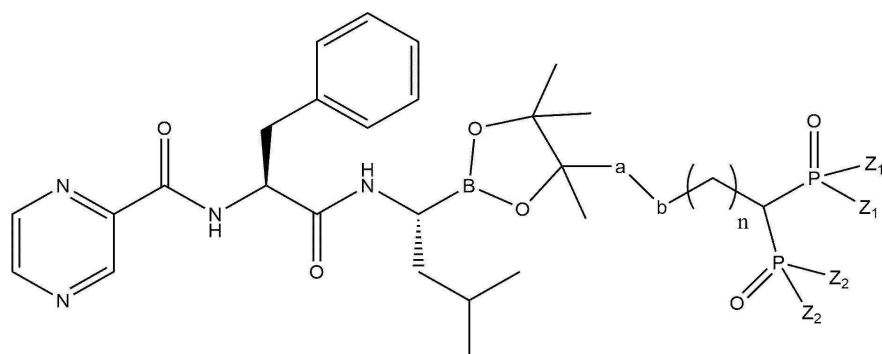
- [0023] 본 발명의 화합물, 이의 광학이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 뼈에 결합하는 골 지향성 리간드를 보르테조밍에 공유결합으로 연결하였으며, 보록신 구조를 형성하여 제제화하기에 낮은 수용해도를 갖던 종래 보르테조밍 화합물의 기술적 난점을 극복하였다.

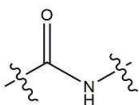
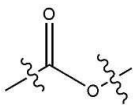
### 도면의 간단한 설명

- [0024] 도 1은 화학식 2의 화합물에 대한 실험예 1 및 2의 실험 결과를 나타낸 것이다.
- 도 2는 화학식 3의 화합물에 대한 실험예 1 및 2의 실험 결과를 나타낸 것이다.
- 도 3은 화학식 4의 화합물에 대한 실험예 1 및 2의 실험 결과를 나타낸 것이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0025] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학이성질체 또는 약학적으로 허용 가능한 염에 관한 것이다:
- [0026] [화학식 1]



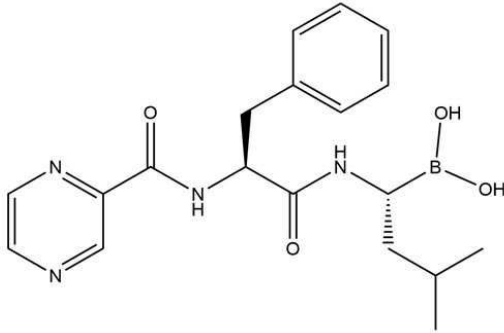
- [0027]
- [0028] 식 중에서
- [0029]  $a$ 는 치환되거나 비치환된 페닐 또는 치환되거나 비치환된  $C_2-C_6$  알킬이고,
- [0030]  $b$ 는 , , 및  으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나이고,
- [0031]  $n$ 은 1 내지 5 중 어느 하나의 정수이고,

[0032]  $Z_1$ 은  $-OR_1$ 이고,

[0033]  $Z_2$ 는  $-OR_2$ 이고,

[0034]  $R_1$  및  $R_2$ 는 각각 독립적으로 수소, 치환되거나 비치환된  $C_2-C_6$  알킬 및 치환되거나 비치환된 페닐로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나이다

[0035] 본 발명에서 보르테조밐은 하기 화학식과 같은 구조를 갖는 화합물을 의미한다.



[0036]

[0037] 상기 보르테조밐은 세포 성장과 증식을 억제함으로써 골육종에서 항종양 효과를 나타내며 골육종 환자의 생존율을 향상시킨다.

[0038] 본 발명에서, 상기 a는 스페이서(Spacer)에 해당하는 화학구조를 의미한다. 스페이서는 약물 전달 화합물이 표적 리간드에 직접 근접하여 치료약물을 부착시키면 약물이 수용체에 결합하는 것이 방해될 수 있으므로, 표적지향성 리간드와 치료약물 사이에 삽입되어 입체적 장애를 회피하도록 설계된 화학구조를 의미한다. 상기 스페이서는 접합체가 수용체에 결합하는 것에 영향을 줄 뿐 아니라, 표적이 아닌 대상에 대한 비특이적 흡착에도 영향을 미친다. 상기 스페이서는 종양세포로의 침투, 대사, 배설 등 약동학 및 약력학에 영향을 줄 수 있기 때문에 스페이서 디자인은 접합체의 성능과 성공 여부에 큰 영향을 준다. 특히 보론산에스터 링커의 트리메틸페닐 부분은 입체 구조가 거대하여 링커의 안정성을 높일 수 있다.

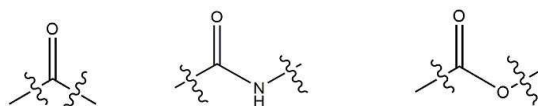
[0039] 특히, 상기 a는 보록신 구조를 형성하여 제제화하기에 낮은 수용해도를 갖던 종래 보르테조밐 화합물의 기술적 난점을 해소하고자 보론산(boronic acid)를 보론산에스터( $R-B(OR)_2$ )로 변형하여 보록신의 형성을 방지하기 위하여 도입한 것으로서, 수용성이 높은 비스포스포네이트(bisphosphonate)와 연결하는 링커부위에 입체장애가 큰 알킬 또는 비치환된 페닐을 도입하여 보론산 에스터 ( $R-B(OR)_2$ )의 안정성을 높일 수 있었다.

[0040] 본 발명에서 용어 "치환되거나 비치환된 페닐"의 경우, 페닐이 치환되는 경우 치환은 각각 독립적으로  $-F$ ,  $-Cl$ ,  $-Br$ ,  $-I$ ,  $-CN$ ,  $-OH$ ,  $-C_1-C_4$ 알킬,  $-O-(C_1-C_4$ 알킬),  $-NH_2$ ,  $-NO_2$ 로 이루어지는 것이 바람직하나, 이에 제한되는 것은 아니다.

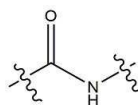
[0041] 본 발명에서 용어 "치환되거나 비치환된  $C_1-C_5$  알킬"의 경우  $C_1-C_5$  알킬이 치환되는 경우 치환은 각각 독립적으로  $-F$ ,  $-Cl$ ,  $-Br$ ,  $-I$ ,  $-CN$ ,  $-OH$ ,  $-C_1-C_4$ 알킬,  $-O-(C_1-C_4$ 알킬),  $-NH_2$ ,  $-NO_2$ 로 이루어지는 것이 바람직하나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0042] 상기 a는 바람직하게 치환되거나 비치환된 페닐 또는 치환되거나 비치환된  $C_2-C_6$  알킬일 수 있다. 구체적인 실시예에서, 상기 a는 비치환된 페닐일 수 있다.

[0043] 본 발명에서, 상기 b는 산분해성 링커에 해당하는 화학구조를 의미한다. 산분해성 링커는 산에 의해 분해되어 표적에서 치료제를 방출할 수 있는 연결체를 의미한다. 종양의 뼈 전이가 일어났을 때 종양 전이 조직의 산-염기 균형이 깨지며 파골 세포가 양성자와 산성 가수분해 효소를 골 흡수 부위로 분비하여 뼈 기질의 무기질과 유기질이 소화된다. 이때 pH 값은 뼈 흡수 미세 환경에서 4.5로 감소한다. 상기 산 분해성 링커는 혈액의 중성 pH에서 안정하게 유지되도록 특별히 고안되었으며, 세포 구획의 산성 환경에서 가수 분해를 거쳐 뼈 질환 치료제를 방출한다는 점에서 기술적 특징이 존재한다.



[0044] 상기 b는 바람직하게 b는 , 및 으로 이루어지는 군에서 선택되는



어느 하나일 수 있다. 구체적인 일 실시예에서, 상기 b는 일 수 있다.

[0045] 본 발명에서, 상기 n은 1 내지 5 중 어느 하나의 정수이다. 구체적인 일 실시예에서, 상기 n은 3일 수 있다.

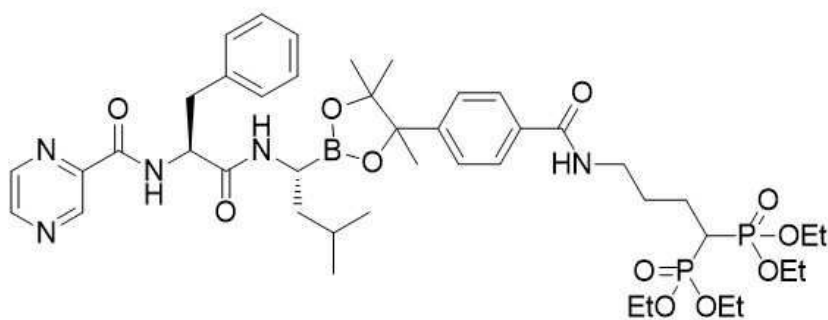
[0046] 본 발명에서, 상기 2개의 인을 포함하는 구조는 비스포스포네이트(Bisphosphonate)에 해당하는 화학구조를 의미한다. 상기 비스포스포네이트 화학구조는 공통적으로 2개의  $\text{PO}_3$  작용기가 하나의 탄소와 공유결합으로 연결되어 있다는 점을 구조적 특징으로 한다. 상기 비스포스포네이트는 광물화 뼈 매트릭스에 결합할 수 있고, 골 매트릭스에서 종양 형성을 억제하며, 전구 세포로부터 파골 세포가 생성되며, 혈관 형성을 억제 할 수 있으며, 파골 세포와 종양 세포의 세포사멸(apoptosis)을 일으킬 수 있다.

[0047] 따라서 상기 비스포스포네이트는 골수종, 골다공증, 뼈 전이 및 기타 뼈 관련 질환을 치료하는 데 사용될 수 있으며, 종양 조직의 혈관 신생을 억제할 수 있으며, 뼈와 강한 결합력과 친화력을 나타낸다. 이에 따라, 비스포스포네이트는 뼈를 표적으로 하는 치료를 위한 우수한 리간드로 사용될 수 있다.

[0048] 상기 Z<sub>1</sub>은 -OR<sub>1</sub>이고, Z<sub>2</sub>는 -OR<sub>2</sub>이고, R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>는 각각 독립적으로 수소, 치환되거나 비치환된 C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 알킬 및 치환되거나 비치환된 페닐로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나, 이에 제한되는 것은 아니며 원하는 치료효과에 따라 적절한 임의의 비스포스포네이트가 사용될 수 있다. 바람직하게는 상기 R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>는 각각 독립적으로 -OH, -OEt, -OCH<sub>3</sub> 및 -OBn으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것일 수 있다.

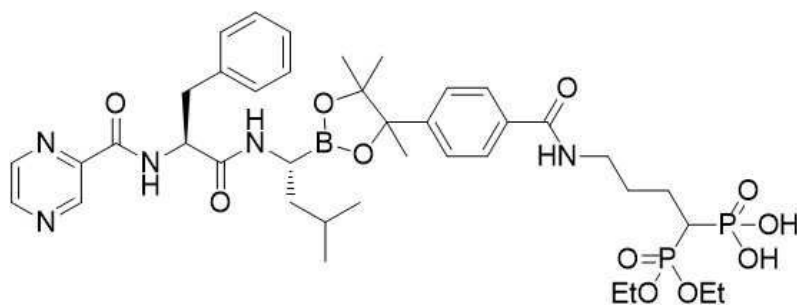
[0049] 구체적으로 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화학식 2 내지 5로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있다:

[0050] [화학식 2]



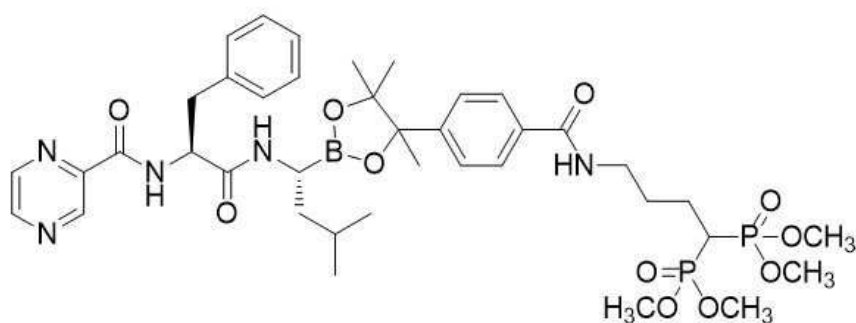
[0051]

[0052] [화학식 3]



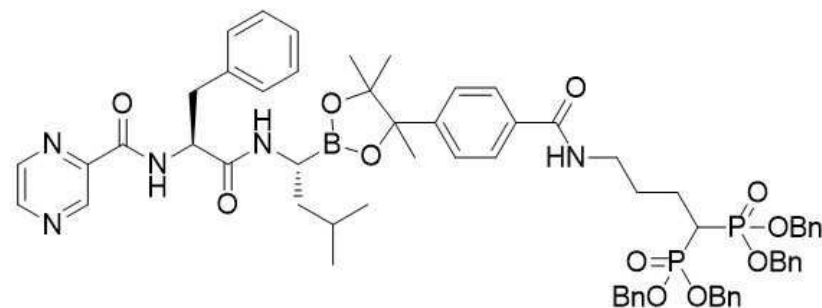
[0053]

[0054] [화학식 4]



[0055]

[0056] [화학식 5]



[0057]

[0058] 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물은 1 개 이상의 비대칭 탄소를 함유할 수 있으며, 이에 따라 라세미체, 라세믹 혼합물, 단일의 에난티오머, 부분입체이성체 혼합물 및 각각의 부분입체이성체로서 존재할 수 있다.

[0059] 이러한 이성질체는 종래기술, 예를 들어 화학식 1로 표시된 화합물은 관 크로마토그래피 또는 HPLC 등의 분할에 의해 분리가 가능하다. 또는, 화학식 1로 표시되는 화합물 각각의 입체 이성질체는 공지된 배열의 광학적으로 순수한 출발 물질 및/또는 시약을 사용하여 입체 특이적으로 합성할 수 있다.

[0060] 본 발명에서 사용되는 용어, “약학적으로 허용가능한 염”은 양이온과 음이온이 정전기적 인력에 의해 결합하고 있는 물질인 염 중에서도 약학적으로 사용될 수 있는 형태의 염을 의미하며, 통상적으로 금속염, 유기 염기와의 염, 무기산과의 염, 유기산과의 염, 염기성 또는 산성 아미노산과의 염 등이 될 수 있다. 예를 들어, 금속 염으로는 알칼리 금속염(나트륨염, 칼륨염 등), 알칼리 토금속염(칼슘염, 마그네슘염, 바륨염 등), 알루미늄염 등; 유기 염기와의 염으로는 트리에틸아민, 피리딘, 피콜린, 2,6-루티딘, 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 시클로헥실아민, 디시클로헥실아민, N,N-디벤질에틸렌디아민 등과의 염; 무기산과의 염으로는 염산, 브롬화수소산, 질산, 황산, 인산 등과의 염; 유기산과의 염으로는 포름산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 프탈

산, 푸마르산, 옥살산, 타르타르산, 말레인산, 시트르산, 숙신산, 메탄술폰산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산 등과의 염; 염기성 아미노산과의 염으로는 아르기닌, 라이신, 오르니틴 등과의 염; 산성 아미노산과의 염으로는 아스파르트산, 글루탐산 등과의 염이 될 수 있다.

**[0061] 화학식 1의 화합물의 용도**

**[0062]** 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학이성질체 또는 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.

**[0063]** 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 광학이성질체 또는 약학적으로 허용 가능한 염; 및 약제학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.

**[0064]** 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물, 이의 광학이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 하는 뼈 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다. 여기서, 상기 뼈 질환은 골다공증, 골수염, 골연화증, 암세포의 골전이에 의한 골 손상, 골육종, 다발성 골수종, 골 전이성 전립선암, 추간판 탈출증, 섬유성 골이형성증, 클리펠-파일 증후군 및 남성 섬유뼈염으로 이루어진 군에서 1종 이상 선택되는 것일 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다.

**[0065]** 본 발명에 따른 조성물은 강력한 독성을 나타내는 뼈 세포독성 물질에 표적분자(targeting moiety)를 부착하도록 구조를 고안하여 악성 세포에 선택적으로 치료제를 전달할 수 있으므로 질환의 치료에 우수한 효과를 나타낼 뿐만 아니라 부작용이 현저하게 적다.

**[0066]** 본 발명의 약학적 조성물은 투여를 위해서 상기 화학식 1의 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 외에 추가로 약제학적으로 허용가능한 부형제를 1 종 이상 더 포함할 수 있다. 예컨대, 약제학적으로 허용 가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로즈 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 부형제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 따라서, 본 발명의 약학적 조성물은 패치제, 액제, 환약, 캡슐, 과립, 정제, 좌제 등일 수 있다. 이들 제제는 당 분야에서 제제화에 사용되는 통상의 방법 또는 Remington's Pharmaceutical Science(최근판), Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법으로 제조될 수 있으며 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 다양한 제제로 제제화될 수 있다.

**[0067]** 본 발명의 약학적 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여 (예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있으며, 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다. 본 발명의 화학식 1의 화합물의 일일 투여량은 약 0.01 내지 1000 mg/kg 이고, 바람직하게는 0.1 내지 100 mg/kg 이며, 하루 일회 내지 수회에 나누어 투여할 수 있다.

**[0068]** 본 발명의 약학적 조성물은 상기 화학식 1의 유도체 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 외에 동일 또는 유사한 약효를 나타내는 유효성분을 1종 이상 더 포함할 수 있다.

**[0069]** 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 치료학적으로 유효한 양을 대상체에 투여하는 단계를 포함하는, 뼈 질환을 치료하는 방법을 제공한다.

**[0070]** 본 발명에서 사용되는 “치료학적으로 유효한 양”이라는 용어는 뼈 질환의 치료에 유효한 상기 화학식 1의 화합물의 양을 나타낸다.

**[0071]** 본 발명의 치료방법은 상기 화학식 1의 화합물을 투여함으로써, 징후의 발현 전에 질병 그 자체를 다룰 뿐만 아니라, 이의 징후를 저해하거나 피하는 것을 또한 포함한다. 질환의 관리에 있어서, 특정 활성 성분의 예방적 또는 치료학적 용량은 질병 또는 상태의 본성(nature)과 심각도, 그리고 활성 성분이 투여되는 경로에 따라 다양할 것이다. 용량 및 용량의 빈도는 개별 환자의 연령, 체중 및 반응에 따라 다양할 것이다. 적합한 용량 용법은 이러한 인자를 당연히 고려하는 이 분야의 통상의 지식을 가진 자에 의해 쉽게 선택될 수 있다. 또한, 본 발명의 치료방법은 상기 화학식 1의 화합물과 함께 질환 치료에 도움이 되는 추가적인 활성 제제의 치료학적으로 유효한 양의 투여를 더 포함할 수 있으며, 추가적인 활성제제는 상기 화학식 1의 화합물과 함께 시너지 효과 또는 보조적 효과를 나타낼 수 있다.

**[0072]** 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물, 이의 광학이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포

함하는 뼈 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

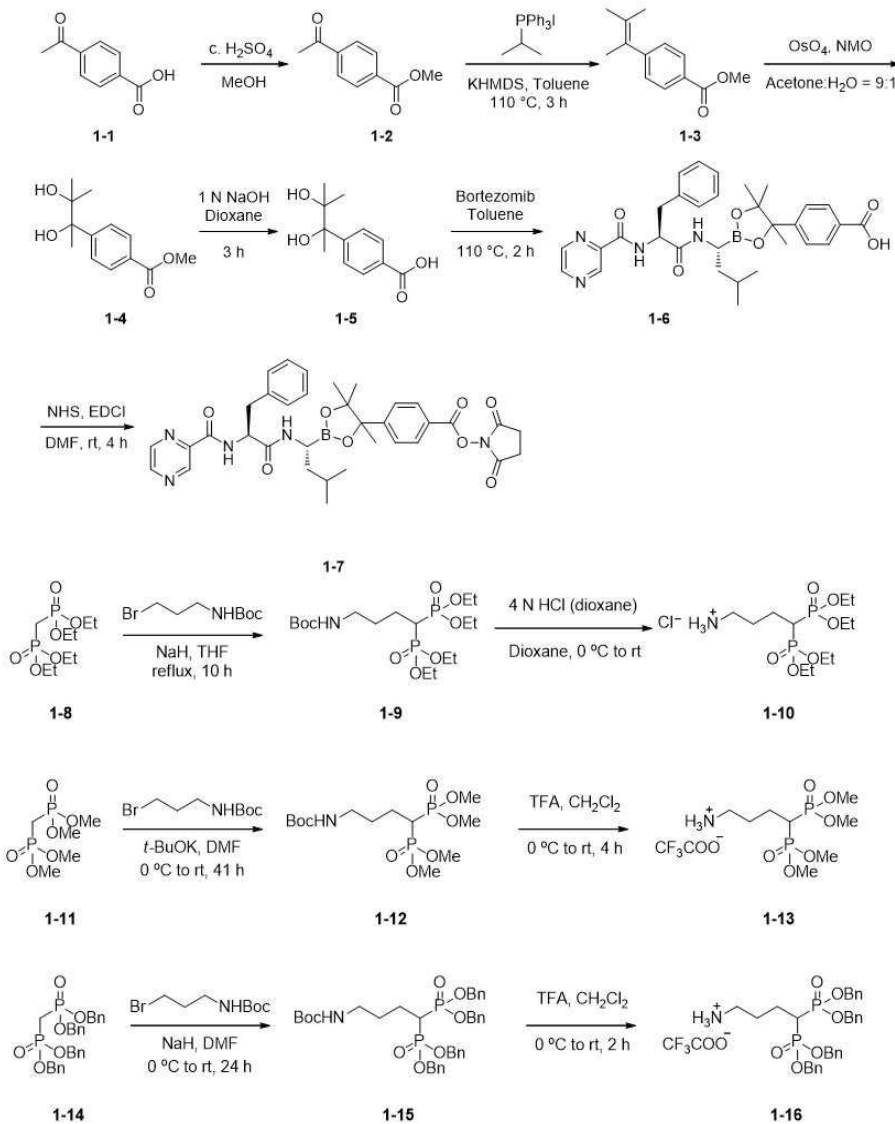
- [0073] 본 발명의 식품 조성물은 건강기능식품으로서 사용될 수 있다. 상기 "건강기능식품"이라 함은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, "기능성"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.
- [0074] 본 발명의 식품 조성물은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 상기 "식품 첨가물"로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전청에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.
- [0075] 본 발명의 식품 조성물은 뼈 질환의 예방 및/또는 개선을 목적으로, 조성물 총 중량에 대하여 상기 화학식 1의 화합물을 0.01 내지 95 %, 바람직하게는 1 내지 80 % 중량백분율로 포함할 수 있다. 또한, 뼈 질환의 예방 및/또는 개선을 목적으로, 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상, 환, 음료 등의 형태로 제조 및 가공할 수 있다.
- [0076] 또한 본 발명은 뼈 질환 치료에 사용하기 위한 화학식 1의 화합물, 이의 광학이성질체 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.
- [0077] 또한, 본 발명은 상기 뼈 질환의 치료용 약제의 제조를 위한 상기 화학식 1의 화합물, 이의 광학이성질체 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 용도를 제공하고자 한다. 약제의 제조를 위한 상기 화학식 1의 화합물은 허용되는 보조제, 희석제, 담체 등을 혼합할 수 있으며, 기타 활성제제와 함께 복합 제제로 제조되어 활성 성분들의 상승 작용을 가질 수 있다.
- [0078] 본 발명의 조성물, 용도, 치료방법에서 언급된 사항은 서로 모순되지 않는 한 동일하게 적용된다.
- [0079] 본 발명은 또한 화학식 1의 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 뼈 타겟팅 약물 전달용 조성물을 제공한다.
- [0080] 상기 뼈 타겟팅 약물 전달용 조성물이란, 뼈 조직에 특이적으로 도달하는 약물 전달용 조성물을 의미하는 것으로, 본 발명에서는 상기 비스포스포네이트가 화학식 1의 화합물, 이의 광학 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염이 비스포네이트의 뼈 친화성으로 인해 체내 뼈 조직에 특이적으로 도달할 수 있는 조성물을 의미한다. 상기 조성물은 뼈 조직에 특이적으로 도달한 후 파골 세포에 의해 산성화된 환경에 의해 산 분해성 링커가 특이적으로 분해되어 뼈 질환 치료제를 특이적으로 방출하게 된다.
- [0081] 상기 뼈 타겟팅 약물 전달용 조성물은 약제학적 제제에 적합한 어떠한 형태로든 제형화하여 사용될 수 있으나, 경구투여 또는 비경구투여를 위한 제형일 수 있으며, 구체적으로는 멸균된 수용액, 비수용성제, 현탁제, 유제, 동결건조제일 수 있다. 제제화할 경우에는 당업계에서 통상적으로 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.
- [0082] 본 발명의 뼈 타겟팅 약물 전달용 조성물은 비수용성제, 현탁용제로써 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.
- [0083] 상기 뼈 타겟팅 약물 전달용 조성물의 약학적 투여 형태는 이들의 약학적 허용 가능한 염의 형태로 사용될 수 있고, 단독으로 또는 타 약학적 활성 화합물과 결합뿐만 아니라 적당한 집합으로도 사용될 수 있다. 상기 염으로는 약학적으로 허용되는 것이라면 특별히 한정되지 않으며, 예를 들면, 염산, 황산, 질산, 인산, 불화수소산, 브롬화수소산, 포름산 아세트산, 타르타르산, 젖산, 시트르산, 푸마르산, 말레산, 숙신산, 메탄술폰산, 벤젠술폰산, 톨루엔술폰산, 나프탈렌술폰산 등을 사용할 수 있다.
- [0084] 본 발명의 뼈 타겟팅 약물 전달용 조성물은 목적하는 바에 따라 비경구투여할 수 있으며, 하루에 체중 1 kg당 0.1~500 mg, 바람직하게는 1~100 mg의 양으로 투여되도록 1회 내지 수회에 나누어 투여할 수 있다. 특정 환자에 대한 투여용량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강 상태, 식이, 투여 시간, 투여 방법, 배설률, 질환의 중증도 등에 따라 변화될 수 있다.
- [0085] **실시예**
- [0086] 이하, 실시예를 통해 본 발명을 더욱 상세히 설명한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 본 발명의 범위가 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0087] **합성예**

[0088] **합성예 1. 중간단계 화합물 1-7, 1-10, 1-13 및 1-16의 합성**

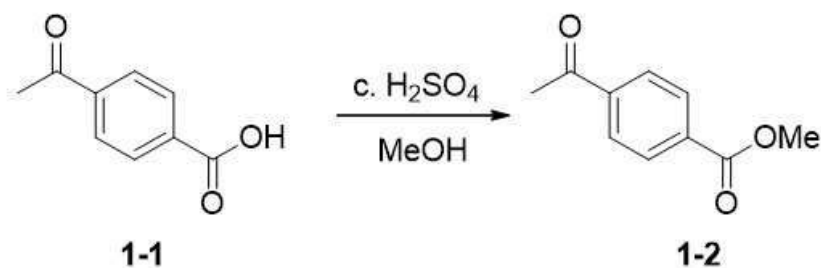
[0089] 상기 화학식 2, 3, 4 및 5의 화합물을 합성하기 위한 중간단계 화합물 1-7, 1-10, 1-13 및 1-16의 합성과정을 하기 반응식 1에 나타내었으며, 구체적인 중간단계 화합물의 합성과정을 하기에 설명하였다.

[0090] [반응식 1]



[0091]

[0092] **합성예 1-1. 메틸 4-아세틸벤조에이트의 합성 (1-2)**



[0094]

[0095]

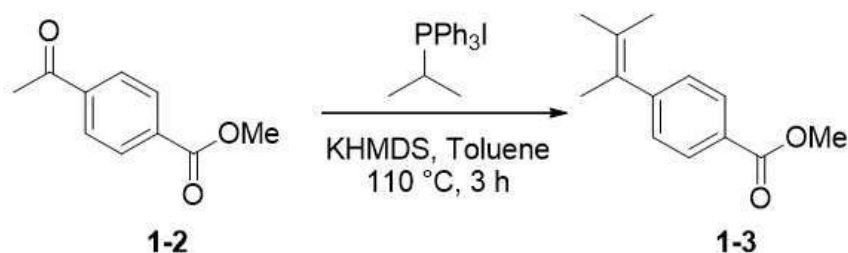
아르곤 기체 하에서 4-아세틸 벤조산(100 mg, 0.609 mmol, 1 당량)을 MeOH(1 mL)에 녹인 후, 촉매 량의 황산을 추가하였다. 반응 혼합물을 64 ° C에서 16 시간 동안 가열 환류 시켰다. 반응 혼합물을 상온으로 냉각시킨 후, 가스 발생이 멈출 때 까지 고체 NaHCO<sub>3</sub>를 추가하여 반응을 종료 시켰다. 생성된 고체를 여과하고 메탄올로 세척한 후, 여액을 감압 증류하여 농축하였다. 농축액을 EtOAc(10 mL)에 녹이고 물(10 mL)로 세척하였다. 수층을 EtOAc(10 mL × 3)로 추출하고 유기층을 모아 농축한 후, 컬럼 크로마토그래피(7:3 → 2:3 Hexane/EtOAc)로 정제하여 목적 화합물 **1-2**를 흰색 고체로 수득 (85 mg, 78%) 하였다.

[0096]

$R_f = 0.4$  (EtOAc:Hexanes = 30:70). <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.12 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 8.01 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 3.95 (s, 3H), 2.65 (s, 3H).

[0097]

**합성예 1-2. 메틸 4-(3-메틸부트-2-엔-2-일)벤조에이트의 합성 (1-3)**



[0098]

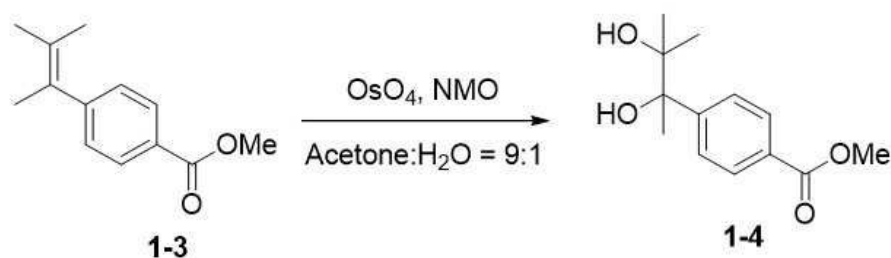
[0099]

아르곤 기체 하에서 이소프로필 포스포늄 아이오다이드 염(242.8 mg, 0.56 mmol, 2 당량)을 무수 톨루엔에 녹이고 0 °C에서 KHMDs(1.1 mL, 0.56 mmol, 2 당량, 0.5 M 톨루엔 용액)를 적가 하였다. 붉은색 반응 혼합물을 10 분간 교반한 후, 메틸-4-아세틸벤조에이트 **1-2**(50 mg, 0.28 mmol, 1 당량)를 무수 톨루엔(2 mL)에 녹여 상온에서 적가 하였다. 반응 혼합물을 3 시간 동안 가열 환류 시킨 후, 상온으로 냉각하고 10% EtOAc/Hexane (10 mL)으로 희석하고 물(5 mL)을 추가하여 반응을 종결시켰다. CELITE로 여과하고 고체를 10% EtOAc/Hexane(10 mL)으로 세척하였다. 여액의 유기층을 분리하고 수층을 EtOAc(10 mL × 3)으로 추출하였다. 유기층을 모아 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>으로 건조하고 여과한 후, 여액을 감압 농축하였다. 농축액을 컬럼 크로마토그래피(EtOAc:Hexanes = 2:98)로 정제하여 목적 **화합물 1-3**(50 mg, 87%)를 무색 오일로 수득 하였다.

[0100]

$R_f = 0.5$  (EtOAc:Hexanes = 5:95). <sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.98 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.19 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 1.96 (s, 3H), 1.82 (s, 3H), 1.58 (s, 3H).

[0101] 합성예 1-3. 메틸 4-(2,3-디히드록시-3-메틸부탄-2-일)벤조에이트의 합성 (1-4)



[0102]

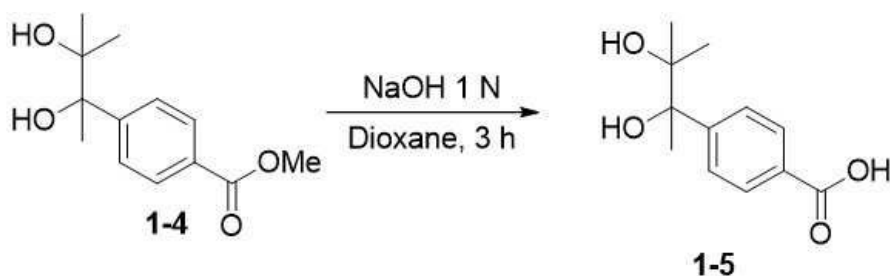
[0103] **화합물 1-3**(45 mg, 0.22 mmol, 1 당량)을 아세톤(2.25 mL)과 물(0.25 mL)에 녹이고, 고체 NMO(38 mg, 0.33 mmol, 1.5 당량)를 한 번에 첨가 하고, OsO<sub>4</sub>(0.14 mL, 0.0022 mmol, 0.01 당량, 0.4 wt% 수용액)를 주사기를 통해 첨가 하였다. 반응 혼합물을 실온에서 48 시간 동안 교반 한 후, 감압농축 하였다. 농축액을 물(2 mL)로 희석하고 EtOAc(10 mL × 2)로 추출 하였다. 유기층을 모아 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>으로 건조시키고, 여과한 후 여액을 감압 농축하였다. 갈색 농축액을 컬럼 크로마토그래피 (EtOAc:hexane = 30:70)로 정제하여 디올 **화합물 1-4**(38 mg, 72%)를 연갈색 오일로 수득하였다.

[0104]

R<sub>f</sub> = 0.3 (EtOAc:Hexanes = 30:70). <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.99 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.59 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 3.92 (s, 3H), 2.64 (s, 1H), 1.92 (s, 1H), 1.70 (s, 3H), 1.67 (s, 3H), 1.28 (s, 3H).

[0105]

합성예 1-4. 4-(2,3-디히드록시-3-메틸부탄-2-일)벤조산의 합성 (1-5)



[0106]

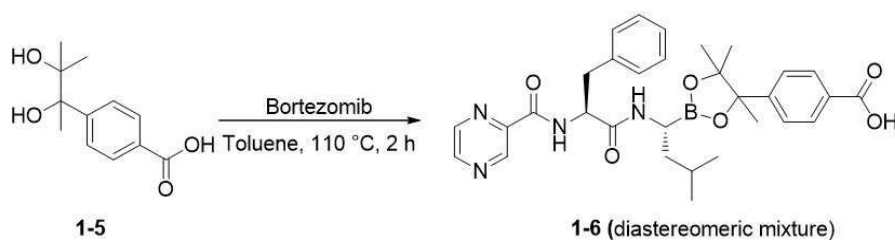
[0107] 에스테르 **화합물 1-4**(35 mg, 0.15 mmol)를 1,4-디옥신(0.5 mL)으로 녹이고, 1 N NaOH 수용액(0.37 mL, 0.37 mmol)을 0 °C에서 적가 하였다. 담 회색 용액을 실온에서 3 시간 교반 한 후, 반응 혼합물을 0 °C로 냉각시키고 pH = 4가 될 때까지 1 N HCl(0.4 mL)을 첨가 하였다. 수층을 EtOAc(5 mL × 3)로 추출하고, 유기층을 모아 염수로 세척하였다. 유기층을 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>으로 건조시키고, 감압 증발시켜 연갈색 고체의 **화합물 1-5**(35 mg, 100%)을 수득 하였다.

[0108]

R<sub>f</sub> = 0.2 (EtOAc:Hexanes = 50:50). <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 12.71 (s, 1H), 7.83 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.61 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 4.92 (s, 1H), 4.29 (s, 1H), 1.49 (s, 3H), 1.09 (s, 3H), 0.91 (s, 3H).

[0109]

합성예 1-5. 4-(4,5,5-트리메틸-2-((R)-3-메틸-1-((S)-3-페닐-2-(피라진-2-카복사미도)프로판아미도)부틸)-1,3,2-디옥사보롤란-4-일)벤조산의 합성 (1-6)



[0110]

[0111] 아르곤 기체 하에서 디올 화합물 1-5(30 mg, 0.134 mmol, 1 당량) 및 보르테조미프(51 mg, 0.134 mmol, 1 당량)

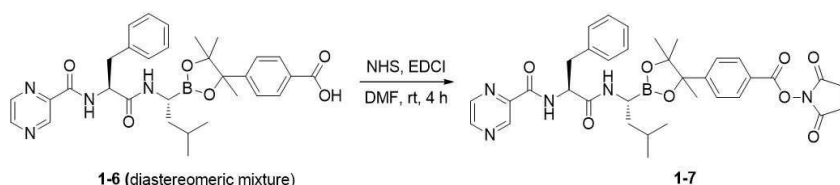
을 무수 톨루엔(1 mL)에 녹이고, 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 110 °C 온도에서 2 시간 동안 가열 환류 하였다. 반응 혼합물을 상온으로 냉각하고 톨루엔을 감압 증발시켜 농축하였다. 갈색 잔류물을 컬럼 크로마토그래피 (MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 4:96)로 정제하여 보론 산 에스테르 **화합물 1-6**(35 mg, 45%)을 연갈색 오일로 얻었다.

[0112]

$R_f$  = 0.5 (MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 10:90). <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, inseparable 1:1 diastereomeric mixture): δ 12.76 (brs, 1H), 9.56-9.72 (m, 1H), 9.10-9.16 (m, 1H), 8.95-9.05 (m, 1H), 8.85-8.92 (m, 1H), 8.70-8.80 (m, 1H), 7.75-7.90 (m, 2H), 7.50-7.60 (m, 2H), 7.15-7.33 (m, 5H), 4.92-5.05 (m, 1H), 3.13-3.26 (m, 2H), 2.50-2.60 (m, 1H), 1.53-1.70 (m, 1H), 1.35-1.45 (m, 3H), 1.15-1.35 (m, 5H), 0.80-0.90 (m, 6H), 0.55-0.62 (m, 3H).

[0113]

**합성예 1-6. 2,5-디옥시피롤리딘-1-일 4-(4,5,5-트리메틸-2-((R)-3-메틸-1-((S)-3-페닐-2-(피라진-2-카복사미도)프로판아미도)부틸)-1,3,2-디옥사보롤란-4-일)벤조에이트의 합성 (1-7)**



[0114]

[0115]

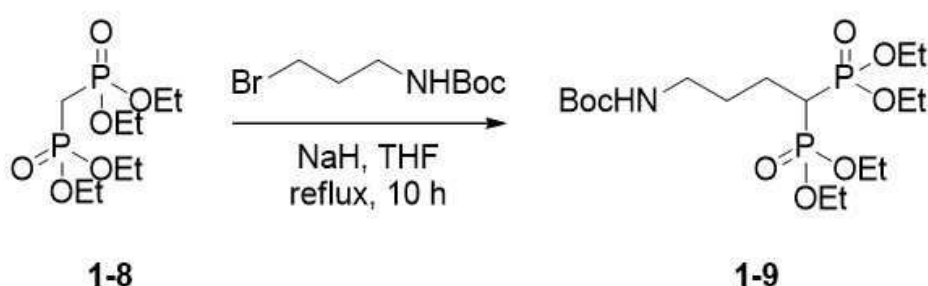
아르곤 기체 하에서 **화합물 1-6**(35 mg, 0.061 mmol, 1 당량), NHS(8.4 mg, 0.073 mmol, 1.2당량) 및 EDCI(17.6 mg, 0.092 mmol, 1.5 당량)를 무수 DMF(1 mL)에 녹였다. 반응 혼합물을 실온에서 3 시간 동안 교반 한 후, 얼음 냉수(10 mL)에 부었다. 수층을 EtOAc(15 mL × 2)로 추출하고, 유기 층을 모아 염수로 세척하고, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>으로 건조하였다. 고체를 여과하고, 여액을 감압 농축하여 **화합물 1-7**을 끈적한 액체(40 mg, 98%)로 수득 하였다.

[0116]

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, inseparable 1:1 diastereomeric mixture): δ 9.32-9.37 (m, 1H). 8.72-8.79 (m, 1H), 8.50-8.60 (m, 1H), 8.26-8.37 (m, 1H), 8.04-8.13 (m, 2H), 7.56-7.64 (m, 2H), 7.29-7.35 (m, 4H), 7.20-7.29 (m, 1H), 6.56-6.65 (m, 1H), 4.88-5.00 (m, 1H), 3.16-3.32 (m, 2H), 2.82-2.89 (m, 5H), 1.60 (s, 3H), 1.49-1.55 (m, 3H), 1.35-1.49 (m, 3H), 0.83-0.92 (m, 6H), 0.75-0.83 (m, 3H).

[0117]

**합성예 1-7. 터트-부틸 4,4-비스(디에톡시포스포릴)부틸카바메이트의 합성 (1-9)**



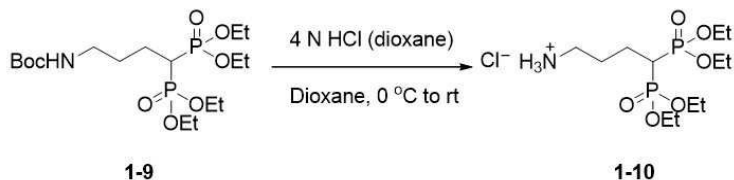
[0118]

[0119]

아르곤 기체 하에서 NaH(42 mg, 1.04 mmol, 1 당량, 미네랄 오일 중 60 %)가 들어있는 플라스크에 무수 THF(2 mL)를 첨가 하였다. 혼합물을 0 °C로 냉각시키고 테트라 에틸 메틸렌 비스포스포네이트 **1-8**(300 mg, 1.04 mmol, 1 당량)를 무수 THF(2 mL)에 녹여 첨가 하였다. 발포가 관찰되었다. 생성된 혼합물을 실온에서 45 분 동안 교반 한 후, 0 °C로 냉각하고 3-(Boc-amino)propyl bromide(248 mg, 1.04 mmol, 1 당량)을 무수 THF(3 mL)에 녹여 첨가 하였다. 투명한 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반 한 후, 10 시간 동안 가열 환류 하였다. 이어서, 반응 혼합물을 얼음 냉수에 부어 반응을 종결하였다. THF를 감압 증발시킨 후, 농축액을 물(5 mL)로 희석하고 EtOAc(15 mL × 2)로 추출 하였다. 모든 유기 층을 염수로 세척하고, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조 시키고, 솜을 통해 여과하고, 여액을 감압 농축하였다. 무색 잔류물을 크로마토그래피(MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 2:98)로 정제하여 목적하는 **화합물 1-9** (200 mg, 43%)을 무색 액체로서 수득 하였다.

[0120]  $R_f = 0.4$  (MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 5:95). <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4.10-4.24 (m, 8H), 3.07-3.19 (m, 2H), 2.29 (tt, J = 6.0, 24.4 Hz, 1H), 1.87-2.05 (m, 2H), 1.70-1.82 (m, 2H), 1.40-1.50 (m, 9H), 1.28-1.40 (m, 12H).

[0121] **합성예 1-8. 테트라에틸 4-아미노부탄-1,1-디일디포스포네이트의 합성 (1-10)**

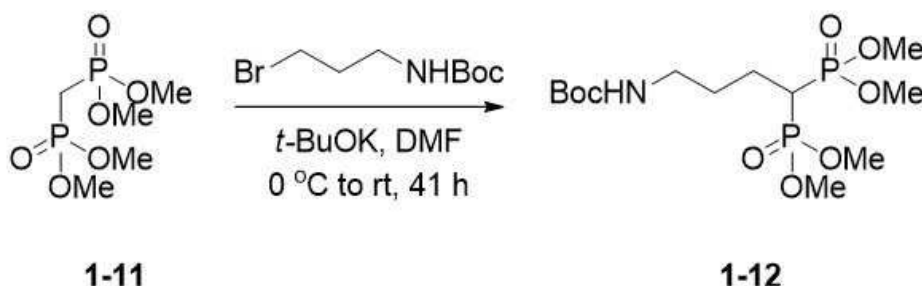


[0122]

[0123] 아르곤 기체 하에서 **화합물 1-9**(48 mg, 0.107 mmol, 1 당량)을 1,4-다이옥신(0.5 mL)에 녹였다. 혼합물을 0 °C로 냉각시키고 HCl (0.13 mL, 0.539 mmol, 5 당량, 1,4-다이옥신 4 M 용액)을 첨가 하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 교반 한 후, 추가 분량의 HCl (0.13 mL, 0.539 mmol, 5 당량, 1,4-다이옥신 4 M 용액)을 첨가 하였다. 반응 완료 후 모든 휘발물을 감압 제거 하였다. 잔류물을 에테르(2 mL × 2)로 세척하고 컬럼 크로마토그래피 (MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 5:95 → 25:75)로 정제하여 원하는 **화합물 1-10** (27 mg, 72%)를 무색 액체로서 수득 하였다.

[0124]  $R_f = 0.4$  (MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 20:80). <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 4.00-4.11 (m, 8H), 2.56-2.77 (m, 3H), 1.70-1.87 (m, 4H), 1.24 (tt, J = 2.0, 7.2 Hz, 12H).

[0125] **합성예 1-9. 터트-부틸 4,4-비스(디메톡시포스포닐)부틸카바메이트의 합성 (1-12)**

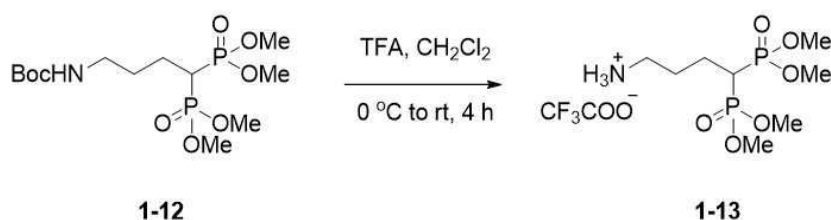


[0126]

[0127] 아르곤 기체 하에서 tBuOK (53 mg, 0.473 mmol, 1.1 당량)을 무수 DMF (0.25mL)에 녹인 후, 0 °C로 냉각시키고 **화합물 1-11**(100 mg, 0.43 mmol, 1 당량)를 무수 DMF(0.75 mL)에 녹여 첨가하고, 생성된 혼합물을 실온에서 15 분 동안 교반 하였다. 투명한 담황색 용액인 반응 혼합물을 0 °C로 냉각하고 3-(Boc-amino)propyl bromide(307.6 mg, 1.29 mmol, 3 당량)를 무수 DMF(1 mL)에 녹여 첨가 하였다. 이어서, 투명한 반응 혼합물을 실온에서 교반하고 41 시간 후, 0 °C에서 NH<sub>4</sub>Cl 포화수용액을 첨가하였다. 수층을 EtOAc (20 mL × 3)로 추출 하고, 유기 층을 모아 염수로 세척한 후, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조 시키고, 솜을 통해 여과하여 감압 농축하였다. 무색 농축액(200 mg)을 크로마토그래피 (MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 2:98 → 10:90)로 정제하여 무색의 점착성 액체로서 목적 하는 **화합물 1-12** (70 mg, 41%)을 수득 하였다.

[0128] <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4.55-4.80 (brs, 1H), 3.75-3.90 (m, 12H), 3.05-3.22 (m, 2H), 2.36 (tt, J = 6.9, 24.4 Hz, 1H), 1.84-2.04 (m, 2H), 1.66-1.84 (m, 2H), 1.45 (s, 9H).

[0129] 합성예 1-10. 4,4-비스(디메톡시포스포릴)부탄-1-아미늄 2,2,2-트리플루오로아세테이트의 합성 (1-13)

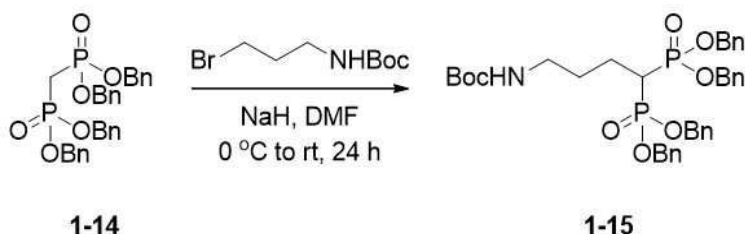


[0130]

[0131] 아르곤 기체 하에서 **화합물 1-12**(44 mg, 0.113 mmol, 1 당량)을 무수  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (0.5 mL)에 녹이고 0 °C에서 TFA(0.05 mL, 0.678 mmol 6.0 당량)를 첨가 하였다. 반응 혼합물을 실온에서 4 시간 교반 한 후, 감압 농축시켜 얻은 투명한 액체 잔류물을 에테르(1 mL  $\times$  4)로 세척 하였다. 잔류물을 감압 농축 시키고 **화합물 1-13**(15 mg, 45%)을 무색 액체로서 수득 하였다.

[0132]  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.75-3.90 (m, 12H), 2.72-3.0 (m, 3H), 1.85-2.03 (m, 4H).

[0133] 합성예 1-11. 터트-부틸 4,4-비스(비스(벤질옥시)포스포릴)부틸카바메이트의 합성 (1-15)

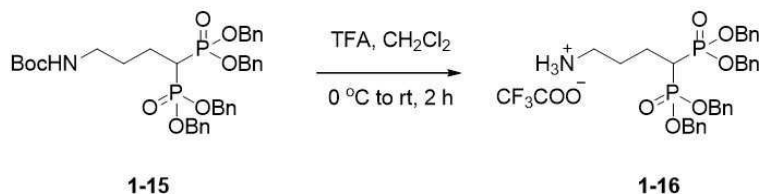


[0134]

[0135] NaH(19.4 mg, 0.485 mmol, 1.3 당량, 미네랄 오일 중 60 %)를 플라스크에 넣고 무수 DMF(0.3 mL)를 아르곤 기체 하에서 첨가 하였다. 혼합물을 0 °C로 냉각시키고 테트라 벤질 메틸렌 비스포스포네이트 **1-14**(200 mg, 0.373 mmol, 1 당량)를 무수 DMF(0.5 mL)에 녹여 첨가 하였다. 발포가 관찰되었다. 생성된 혼합물을 실온에서 10 분 동안 교반 한 후, 0 °C에서 3-(Boc-amino)propyl bromide(266.4 mg, 1.119 mmol, 3 당량)을 무수 DMF(0.5 mL)에 녹여 첨가 하였다. 이어서, 투명한 반응 혼합물을 실온에서 24 시간 동안 교반 한 후, 포화  $\text{NH}_4\text{Cl}$  수용액을 첨가하였다. 수층을  $\text{EtOAc}$  (15 mL  $\times$  2)로 추출하고 유기층을 모아 염수로 세척하고, 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고, 숨을 통해 여과하고, 감압 농축하였다. 무색 농축액을 크로마토그래피로 정제 하여 무색 액체로 **1-15**(80 mg, 24%)를 수득하였다.

[0136]  $R_f$  = 0.3 ( $\text{EtOAc}:\text{Hexane}$  = 50:50).  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.35-7.24 (m, 20H), 5.08-4.92 (m, 8H), 3.07-2.91 (m, 2H), 2.36 (tt,  $J$  = 24.3, 6.0 Hz, 1H), 2.06-1.81 (m, 2H), 1.62 (h,  $J$  = 7.4 Hz, 2H), 1.42 (s, 9H).

[0137] 합성예 1-12. 4,4-비스(비스(벤질옥시)포스포릴)부탄-1-아미늄 2,2,2-트리플루오로아세테이트의 합성 (1-16)



[0138]

[0139] 아르곤 기체 하에서 **화합물 1-15**(80 mg, 0.115 mmol, 1 당량)를 무수  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1.0 mL)에 녹이고 0 °C로 냉각시킨 후, TFA(0.05 mL, 0.691 mmol, 6.0 당량)를 첨가하여 실온에서 교반 하였다. 2 시간 후, 반응물을 감압 농축하였다. 투명한 농축액을 컬럼 크로마토그래피 ( $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$  = 2:98  $\rightarrow$  25:75)로 정제하여 목적하는 **화합물 1-**

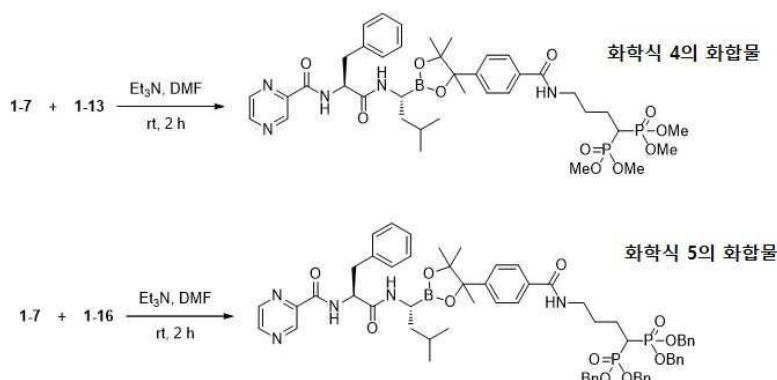
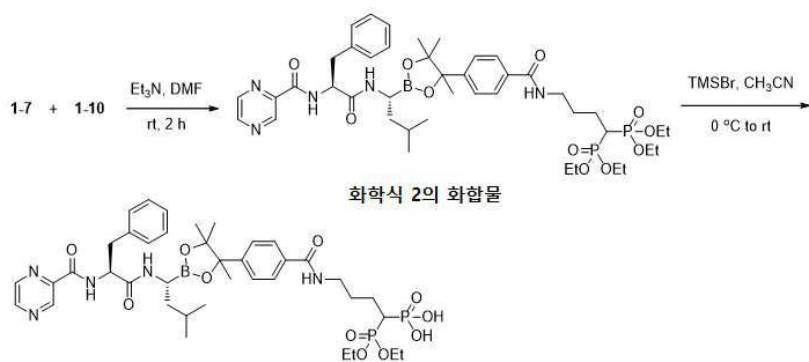
16(70 mg, 86%)를 무색 점착성 액체로서 수득 하였다.

[0140]  $R_f = 0.2$  (MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 10:90), <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  7.37-7.25 (m, 20H), 5.06-4.93 (m, 8H), 2.82-2.70 (m, 4H), 2.03-1.79 (m, 3H).

[0141] **합성예 2. 화학식 2, 3, 4 및 5의 화합물의 합성**

[0142] 상기 합성예 1에서 제조한 중간단계 화합물 1-7, 1-10, 1-11 및 1-13을 기반으로 제조한 화학식 2, 3, 4 및 5의 화합물의 합성과정을 하기 반응식 2에 나타내었으며, 구체적인 합성과정을 하기에 설명하였다.

[0143] [반응식 2]



[0144]

[0145] **합성예 2-1. 테트라에틸 4-(4-(4,5,5-트리메틸-2-((R)-3-메틸-1-((S)-3-페닐-2-(피라진-2-카복사미도)프로판아미도)부틸)-1,3,2-디옥사보롤란-4-일)벤즈아미도)부탄-1,1-디일디포스포네이트 (화학식 2의 화합물)**



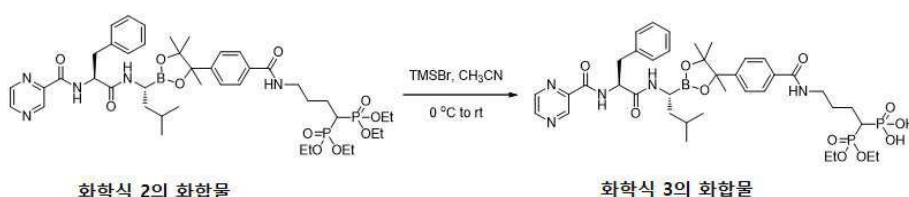
[0146]

[0147] **화합물 1-10**(22 mg, 0.063 mmol, 1 당량)을 플라스크에 넣고 아르곤 기체 하에 NHS 에스테르 **화합물 1-7**(42 mg, 0.063 mmol, 1 당량)을 무수 DMF(1 mL)에 녹여 첨가 한 후, Et<sub>3</sub>N (0.013 mL, 0.094 mmol, 1.5 당량)을 주사기를 통해 첨가 하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반 한 후, 냉수(20 mL)에 붓고 10 분 동안 교반 하였다. 수층을 EtOAc(15 mL × 2)로 추출 하였다. 유기 층을 모아 염수로 세척하고, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고 숨을 통해 여과 하였다. 여액을 감압 증류하여 투명한 액체를 얻었다. 농축액을 칼럼 크로마토그래피 (MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 5:95 → 10:90)로 정제하여 목적 화합물 **화학식 2의 화합물**(40 mg, 70%)을 무색 액체로서 얻었다.

다.

[0148]  $R_f = 0.5$  (MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 10:90). <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, inseparable 1:1 diastereomeric mixture): δ 9.34 (dd, J = 2.5, 1.5 Hz, 2H), 8.77 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 8.74 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.57 (dd, J = 2.5, 1.5 Hz, 1H), 8.51 (dd, J = 2.5, 1.5 Hz, 1H), 8.33 (t, J = 8.1 Hz, 2H), 7.86 – 7.79 (m, 4H), 7.47 (dd, J = 8.4, 2.9 Hz, 4H), 7.36 – 7.18 (m, 10H), 7.13 – 7.06 (m, 2H), 6.41 (t, J = 4.3 Hz, 2H), 4.90 (qd, J = 7.9, 6.4 Hz, 2H), 4.24 – 4.09 (m, 16H), 3.55 – 3.46 (m, 4H), 3.31 – 3.14 (m, 4H), 3.03 – 2.96 (m, 2H), 2.34 (ttt, J = 24.3, 5.5, 2.3 Hz, 2H), 2.20 – 1.72 (m, 8H), 1.59 (d, J = 3.2 Hz, 6H), 1.50 (d, J = 3.6 Hz, 6H), 1.48 – 1.38 (m, 4H), 1.33 (td, J = 7.1, 2.0 Hz, 24H), 1.20 – 0.99 (m, 2H), 0.91 – 0.82 (m, 12H), 0.76 (d, J = 2.9 Hz, 6H). <sup>31</sup>P-NMR (162 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 23.78.

[0149] **합성예 2-2.** 1-(에톡시(히드록시)포스포릴)-4-(4-(4,5,5-트리메틸-2-((R)-3-메틸-1-((S)-3-페닐-2-(피라진-2-카복사미도)프로판아미도)부틸)-1,3,2-디옥사보롤란-4-일)벤즈아미도)부틸 포스포산의 합성 (화학식 3의 화합물)



[0150]

[0151] 아르곤 기체 하에서 **화학식 2의 화합물**(30 mg, 0.033 mmol, 1 당량)을 무수 CH<sub>3</sub>CN (0.5 mL)에 녹였다. 반응 혼합물을 0 °C로 냉각시키고 TMSBr(0.022 mL, 0.166 mmol, 5 당량)을 첨가 하였다. 그 후 반응 혼합물을 실온에서 4 시간 동안 교반 한 후, 반응물을 감압 농축시키고 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(1 mL × 2)로 세척하여 **화학식 3의 화합물**(25 mg, 98%)을 황색 고체로서 수득 하였다.

[0152] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.96 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.67 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 8.61 (dd, J = 2.5, 1.3 Hz, 1H), 7.61 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.54 – 7.46 (m, 2H), 7.32 – 7.11 (m, 5H), 4.84 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 4.01 (hept, J = 7.0, 6.4 Hz, 4H), 3.88 (dq, J = 14.7, 7.3 Hz, 2H), 3.30 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 3.14 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 2.67 – 2.52 (m, 1H), 2.27 (dd, J = 23.7, 5.8 Hz, 1H), 1.76 (d, J = 5.8 Hz, 4H), 1.51 (s, 3H), 1.19 – 1.13 (m, 3H), 1.13 – 1.08 (m, 6H), 1.06 (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 0.69 (d, J = 5.1 Hz, 3H), 0.67 (d, J = 4.7 Hz, 3H).

[0153] **합성예 2-3.** 테트라메틸 4-(4-(4,5,5-트리메틸-2-((R)-3-메틸-1-((S)-3-페닐-2-(피라진-2-카복사미도)프로판아미도)부틸)-1,3,2-디옥사보롤란-4-일)벤즈아미도)부탄-1,1-디일디포스포네이트의 합성 (화학식 4의 화합물):



[0154]

[0155] 아르곤 기체 하에서 **화합물 1-13**(22 mg, 0.037 mmol, 1 당량)과 NHS 에스테르 **화합물 1-7**(24.9 mg, 0.037 mmol, 1 당량)을 무수 DMF(0.5 mL)에 녹이고 Et<sub>3</sub>N(0.008 mL, 0.055 mmol, 1.5 당량)을 마이크로 시린지를 통해 첨가 하였다. 반응 혼합물을 실온에서 3 시간 동안 교반 한 후, 0 °C에서 NH<sub>4</sub>Cl 포화 수용액(10 mL)과 물(10 mL)로 희석 하였다. 수층을 EtOAc(15 mL × 2)로 추출 하였다. 유기 층을 모아 염수로 세척하고, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로

건조시키고, 숨을 통해 여과하고, 감압 하에서 농축하였다. 무색 농축액을 크로마토그래피 (MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 2:98 → 10:90)로 정제하여 목적하는 **화학식 4의 화합물**(17 mg, 54%)을 무색 점착성 액체로서 수득 하였다.

[0156] <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 9.35 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 9.35 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.78 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 8.74 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 8.58 (dd, J = 2.5, 1.5 Hz, 1H), 8.51 (dd, J = 2.5, 1.5 Hz, 1H), 8.33 (t, J = 8.8 Hz, 2H), 7.83 - 7.76 (m, 4H), 7.48 (dd, J = 8.4, 2.8 Hz, 4H), 7.35 - 7.20 (m, 10H), 6.91 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 6.38 (t, J = 4.5 Hz, 2H), 4.96 - 4.84 (m, 2H), 3.88 - 3.75 (m, 24H), 3.50 (td, J = 7.2, 6.7, 3.3 Hz, 4H), 3.31 - 3.22 (m, 2H), 3.25 - 3.14 (m, 2H), 3.04 - 2.95 (m, 2H), 2.42 (dddt, J = 30.0, 24.4, 5.7, 2.7 Hz, 2H), 2.18 - 1.81 (m, 8H), 1.59 (s, 4H), 1.58 (s, 3H), 1.50 (s, 4H), 1.49 (s, 3H), 1.48 - 1.34 (m, 4H), 1.31 - 1.14 (m, 2H), 0.91 - 0.83 (m, 12H), 0.77 (s, 3H), 0.76 (s, 3H).

[0157] **합성예** 2-4.  
**디벤질-4-(4-(4,5,5-트리메틸-2-((R)-3-메틸-1-((S)-3-페닐-2-(피라진-2-카복사미도)프로판아미도)부틸)-1,3,2-디옥사보롤란-4-일)벤즈아미도)부탄-1,1-디일디포스포네이트의 합성 (화학식 5의 화합물)**



[0158]

[0159] 아르곤 기체 하에서 **화합물 1-16**(40 mg, 0.056 mmol, 1 당량)과 NHS 에스테르 **1-7**(44.7 mg, 0.067 mmol, 1.2 당량)을 무수 DMF(0.5 mL)에 녹이고 Et<sub>3</sub>N(0.012 mL, 0.085 mmol, 1.5 당량)을 시린지를 통해 첨가 하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반 한 후, 0 °C에서 NH<sub>4</sub>Cl 포화 수용액(10 mL)과 물(10 mL)로 희석 하였다. 수층을 EtOAc(15 mL × 2)로 추출 하였다. 유기층을 모아 염수로 세척하고, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 숨을 통해 여과하고, 감압 하에서 농축하였다. 무색 농축액을 크로마토그래피 (MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 2:98 → 6:94)로 정제하여 목적하는 **화학식 5의 화합물**(35 mg, 54%)을 무색 점착성 액체로서 수득 하였다.

[0160] <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 9.39-9.32 (m, 2H), 8.76 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.73 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.58-8.52 (m, 1H), 8.49 (dd, J = 2.5, 1.5 Hz, 1H), 8.32 (t, J = 9.0 Hz, 2H), 7.80-7.73 (m, 4H), 7.45 (d, J = 8.0 Hz, 4H), 7.36-7.17 (m, 50H), 6.80 (t, J = 5.5 Hz, 2H), 6.26 (s, 2H), 5.08-4.92 (m, 16H), 4.86 (ddd, J = 13.9, 7.9, 6.3 Hz, 2H), 3.35 (d, J = 6.2 Hz, 4H), 3.30-3.14 (m, 4H), 3.01 (dt, J = 6.9, 3.9 Hz, 2H), 2.50-2.29 (m, 2H), 2.14-1.91 (m, 4H), 1.82 (d, J = 24.5 Hz, 4H), 1.58 (s, 6H), 1.50 (s, 3H), 1.49 (s, 3H), 1.48-1.37 (m, 4H), 1.29-1.21 (m, 2H), 0.91-0.82 (m, 12H), 0.76 (s, 3H), 0.75 (s, 3H).

[0161] **실험예 1. 1시간 노출에 따른 SHSY5Y 세포에 대한 생존 능력 분석**

[0162] 골 중앙이 만들어내는 pH 4.8 약산성 조건에서 화합물을 처리한 후, SHSY5Y 세포에 투여하면 링커가 분리되어 보르테조미드와 비스포스포네이트가 분리되며, 분리된 보르테조미드는 SHSY5Y 세포에 대해 세포독성을 나타내므로 SHSY5Y 세포에 대한 생존 능력을 분석하는 실험을 수행하였다.

[0163] 세포에 첨가하기 전, 화합물을 처리하지 않거나 37 °C에서 10 분 동안 시트 레이트 완충제(citrate buffer)에서 pH 4.8로 처리한 다음, 100 mM 강도의 시트르산 인산염 완충 용액으로 pH 7.2으로 만들었다. 사용 된 화합물의 용량 범위는 DMEM 배지 (DMEM, 항생제가 보충 된 10 % FBS)에서 0-25 uM이었다. 96-웰 평판 바닥 플레이트(96-well flat-bottom plates)에서 웰당 20,000의 SHSY5Y 세포를 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>-공기 배양기(5% CO<sub>2</sub>-air incubator)에서 100 uL로 1 시간 동안 표시된 화합물에 노출시켰다. 이어서, 세포를 190 uL의 얼음 완전 배지 (ice-cold complete media)로 각각 3 회 세척 한 후, 190 uL의 완전한 DMEM 배지에 재현탁시켰다. 5% CO<sub>2</sub>-공기 배양기((5% CO<sub>2</sub>-air incubator)에서 37 °C에서 16 시간 동안 세포 배양 후, MTT(3-(4,5-디메틸 티아졸-2-일)-

2,5-디페닐 테트라졸륨 브로마이드, 테트라 졸) 분석을 사용한 세포 생존력 측정(cell viability measurement)을 수행하였다. 측정값은 미처리 세포(untreated cell)에 대해 정규화(normalized) 하였다. 화학식 2, 3 및 4의 화합물에 대한 결과를 각각 도 1, 2 및 3에 나타내었다.

[0164] 그 결과 본 화합물이 농도 의존적으로 SHSY5Y 세포에 대해 세포 독성이 있음을 확인하였다.

[0165] **실험예 2. 16시간 노출에 따른 SHSY5Y 세포에 대한 생존 능력 분석**

[0166] 세포에 첨가하기 전, 화합물을 처리하지 않거나 37 °C에서 10 분 동안 시트 레이트 완충제(citrate buffer)에서 pH 4.8로 처리한 다음, 100 mM 강도의 시트르산 인산염 완충 용액으로 pH 7.2으로 만들었다. 사용 된 화합물의 용량 범위는 DMEM 배지(DMEM, 항생제가 보충된 10% FBS)에서 0-500 nM이었다.

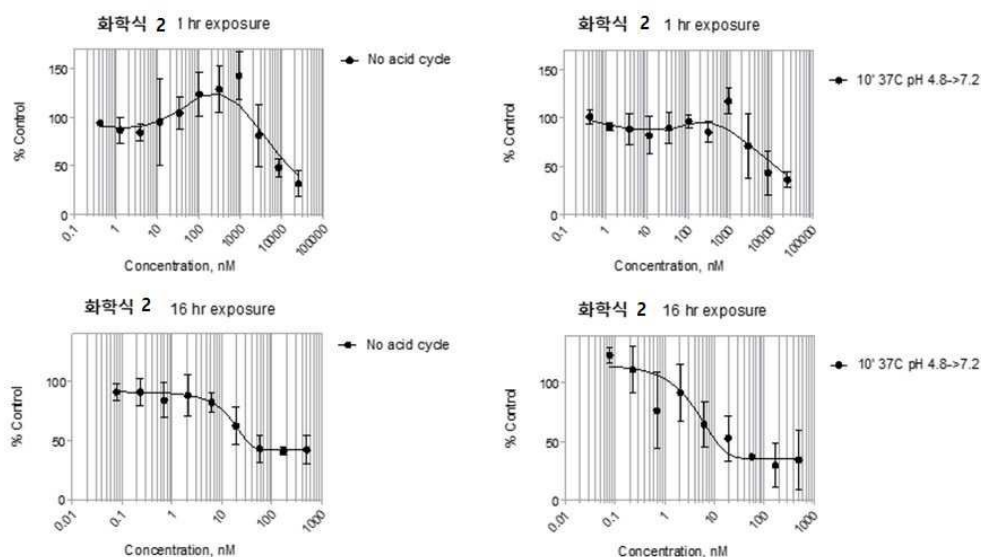
[0167] 96-웰 평판 바닥 플레이트(96-well flat-bottom plates)에서 웰당 10,000 개의 SHSY5Y 세포를 190 ul의 완전한 DMEM 배지에서 16 시간 동안 지시 된 화합물과 함께 인큐베이션 하였다. 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>-공기 배양기(5% CO<sub>2</sub>-air incubator)에서 16 시간 동안 세포 배양 후, MTT (3-(4,5-디메틸 티아졸-2-일)-2,5-디페닐 테트라졸륨 브로마이드, 테트라졸 분석을 사용한 세포 생존력 측정(cell viability measurement)을 수행하였다. 측정값은 미처리 세포(untreated cell)에 대해 정규화(normalized) 하였다. 화학식 2, 3 및 4의 화합물에 대한 결과를 각각 도 1, 2 및 3에 나타내었다.

[0168] 골 중앙이 만들어내는 약산성 조건인 pH 4.8에서 화합물을 처리한 후, SHSY5Y 세포에 투여하면 링커가 분리되어 보르테조밋과 비스포스포네이트가 분리되고, 분리된 보르테조밋이 세포독성을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 도1, 도2, 도3에서 화합물의 농도 의존적으로 세포독성을 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

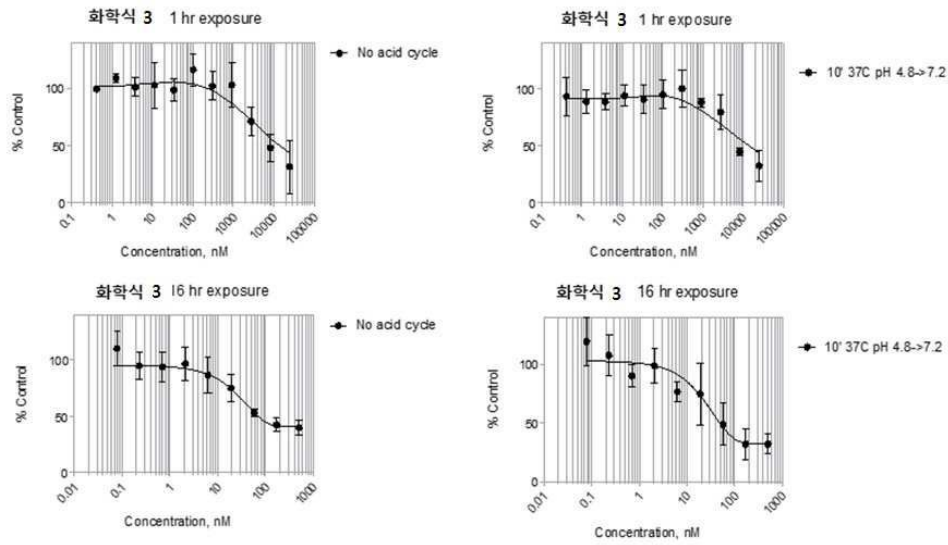
[0170] 이상과 같이 실시예를 통하여 본 발명을 설명하였다. 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 기술자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 상술한 실시예들은 모든 면에 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해되어야 한다. 본 발명의 범위는 상세한 설명보다는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위 그리고 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

## 도면

### 도면1



도면2



도면3

