



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0167945
(43) 공개일자 2022년12월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07F 9/54 (2006.01) A61K 31/662 (2006.01)
A61K 31/675 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07F 9/5442 (2013.01)
A61K 31/662 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-0077327
(22) 출원일자 2021년06월15일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
주식회사 스마틴바이오
충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명1로
194-25 ,3층에이-16호(청주SB플라자)
울산과학기술원
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
(72) 발명자
강병현
울산광역시 울주군 범서읍 구영로 75-9 (구영우미
린1차아파트) 308동 501호
윤남구
경기도 수원시 장안구 경수대로976번길 22, 116동
803호
(74) 대리인
특허법인 아이피에스

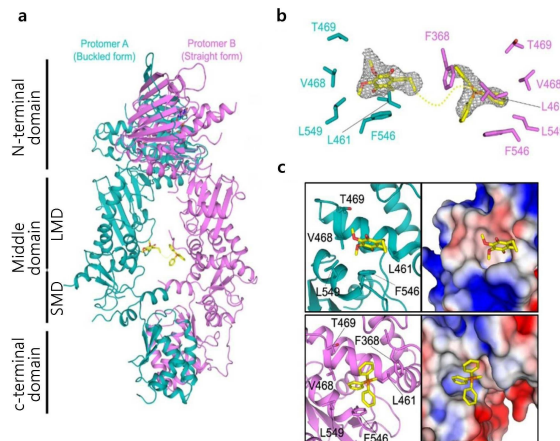
전체 청구항 수 : 총 21 항

(54) 발명의 명칭 TRAP-1 억제제

(57) 요약

본 명세서는 TRAP1을 억제하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다. 이때, 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 TRAP1과 클라이언트 단백질의 결합을 억제할 수 있다. 또한, 본 명세서는 TRAP1을 억제하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 약학적 조성물 및 이의 용도로 제공한다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 31/675 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

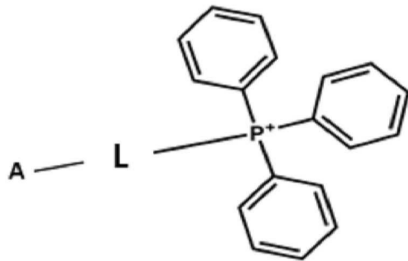
명세서

청구범위

청구항 1

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

[화학식 1]



이때,

L은 $(CH_2)_n$ 을 포함하고,

상기 n은 7이상 40이하의 정수이며,

A는 메틸, 치환 또는 비치환된 아릴, 치환 또는 비치환된 시클로알킬 및 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴 중에서 선택됨.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 A는 할로젠, =O, 히드록실, 옥시카르보닐, 히드록시 C1~5 알킬, C1~5 알킬, C1~5 알케닐, C1~5 알키닐 및 C1~5 알콕시로부터 선택된 하나 이상으로 치환 또는 비치환된 아릴, 시클로알킬 및 헤테로시클릴 중에서 선택되는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 3

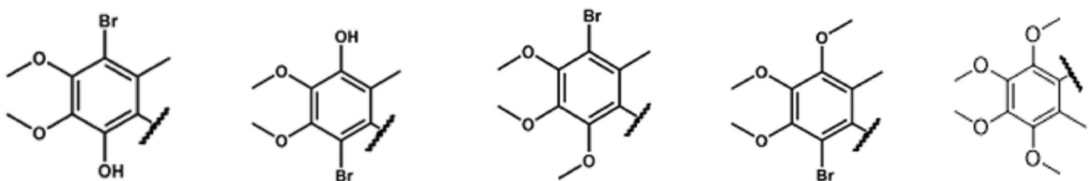
제2항에 있어서,

상기 A는 치환 또는 비치환된 아릴이고,

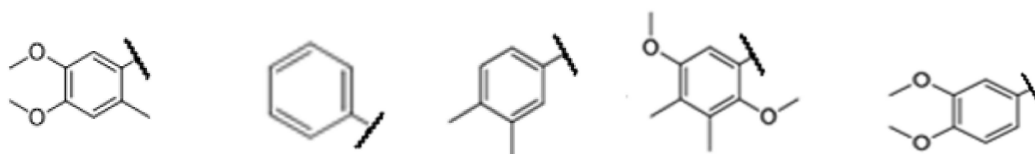
상기 치환 또는 비치환된 아릴은 할로젠, =O, 히드록실, 옥시카르보닐, 히드록시 C1~5 알킬, C1~5 알킬, C1~5 알케닐, C1~5 알키닐 및 C1~5 알콕시로부터 선택된 하나 이상으로 치환된 또는 비치환된 페닐인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 4

제3항에 있어서,



상기 A는



로부터 선택되는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 5

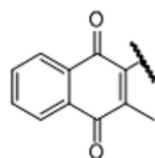
제2항에 있어서,

상기 A는 치환 또는 비치환된 아릴이고,

상기 치환 또는 비치환된 아릴은 할로젠, =O, 히드록실, 옥시카르보닐, 히드록시 C1~5 알킬, C1~5 알킬, C1~5 알케닐, C1~5 알키닐 및 C1~5 알콕시로부터 선택된 하나 이상으로 치환 또는 비치환된 나프탈렌인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 6

제5항에 있어서,



상기 A는 인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 7

제2항에 있어서,

상기 A는 치환 또는 비치환된 아릴이고,

상기 치환 또는 비치환된 아릴은 할로젠, =O, 히드록실, 옥시카르보닐, 히드록시 C1~5 알킬, C1~5 알킬, C1~5 알케닐, C1~5 알키닐 및 C1~5 알콕시로부터 선택된 하나 이상으로 치환 또는 비치환된 벤조디옥솔인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 8

제7항에 있어서,



상기 A는 또는 인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 9

제2항에 있어서,

상기 A는 치환 또는 비치환된 시클로알킬이고,

상기 치환 또는 비치환된 시클로알킬은 할로젠, =O, 히드록실, 옥시카르보닐, 히드록시 C1~5 알킬, C1~5 알킬, C1~5 알케닐, C1~5 알키닐 및 C1~5 알콕시로부터 선택된 하나 이상으로 치환 또는 비치환된 시클로헥실인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 A는 비치환된 시클로헥실인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 11

제2항에 있어서,

상기 A는 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴이고,

상기 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴은 할로젠, =O, 히드록실, 옥시카르보닐, 히드록시 C1~5 알킬, C1~5 알킬, C1~5 알케닐, C1~5 알키닐 및 C1~5 알콕시로부터 선택된 하나 이상으로 치환 또는 비치환된 피롤리딘 또는 크로만인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

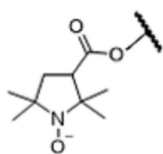
청구항 12

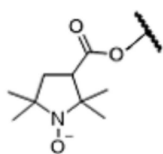
제11항에 있어서,

상기 A는 옥시카르보닐, C1~5 알킬 및 =O 로부터 선택된 하나 이상으로 치환된 피롤리딘인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 13

제12항에 있어서,



상기 A는 인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

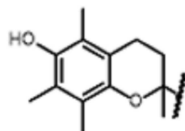
청구항 14

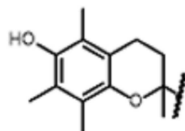
제11항에 있어서,

상기 A는 C1~5 알킬, 히드록실로부터 선택된 하나 이상으로 치환된 크로만-2-일(chroman-2-yl)인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 15

제14항에 있어서,



상기 A는 인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 16

제1항에 있어서,

상기 n은 9이상의 정수인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 17

제1항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 TRAP1 억제제.

청구항 18

제17항에 있어서,

상기 TRAP1 억제제는 CBS에 결합하는 것을 특징으로 하는 억제제.

청구항 19

제1항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 TRAP1 - 클라이언트 단백질 결합 억제제.

청구항 20

제1항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 암 치료용 약학적 조성물.

청구항 21

제1항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상에게 투여하는 것을 포함하는 암 치료 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 명세서는 TRAP1 억제제를 위한 화합물 및 그의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] TRAP1 (Tumor necrosis factor receptor-associated protein-1)은 샤페론 단백질인 HSP90 (heat shock protein-90)의 파라로그 (paralog)로서, 미토콘드리아에만 존재하는 미토콘드리아 단백질 (mitochondrial protein)이다. 본 발명자는 TRAP1 억제제를 위한 화합물을 합성하였고, 상기 화합물을 이용하여 TRAP1을 억제하고, 더 나아가 질병 치료를 위한 약학적 조성물로 화합물의 용도를 인식하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0003] 본 명세서는 일 구현예로, TRAP1을 억제하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0004] 본 명세서는 또 다른 일 구현예로, TRAP1 과 클라이언트 단백질의 결합을 억제하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

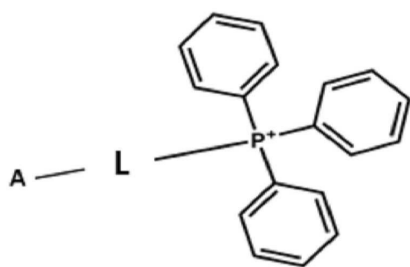
[0005] 본 명세서는 또 다른 일 구현예로, TRAP1을 억제하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.

[0006] 본 명세서는 또 다른 일 구현예로, TRAP1을 억제하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상에서 투여하는 것을 포함하는 질병 치료 방법을 제공한다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 명세서에서는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다:

[0008] [화학식 1]



[0009]

[0010] 이때, L은 $(CH_2)_n$ 을 포함하고,

[0011] 상기 n은 7이상 40이하의 정수이며,

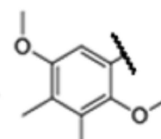
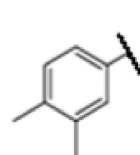
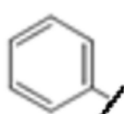
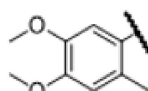
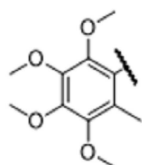
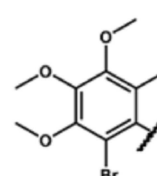
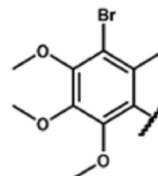
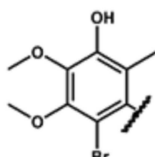
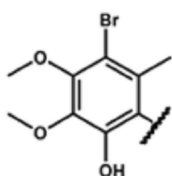
[0012] A는 메틸, 치환 또는 비치환된 아릴, 치환 또는 비치환된 시클로알킬 및 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴 중에서 선택되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 제공한다.

[0013] 이때, 상기 A는 할로젠, =O, 히드록실, 옥시카르보닐, 히드록시 C1~5 알킬, C1~5 알킬, C1~5 알케닐, C1~5 알키닐 및 C1~5 알콕시로부터 선택된 하나 이상으로 치환 또는 비치환된 아릴, 시클로알킬 및 헤테로시클릴 중에서 선택되는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

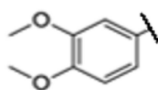
[0014] 이때, 상기 A는 치환 또는 비치환된 아릴이고,

[0015] 상기 치환 또는 비치환된 아릴은 할로젠, =O, 히드록실, 옥시카르보닐, 히드록시 C1~5 알킬, C1~5 알킬, C1~5 알케닐, C1~5 알키닐 및 C1~5 알콕시로부터 선택된 하나 이상으로 치환된 또는 비치환된 페닐인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0016] 이때, 상기 A는



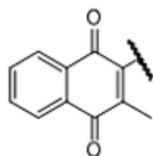
및



로 구성된 군으로부터 선택되는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0017] 이때, 상기 A는 치환 또는 비치환된 아릴이고,

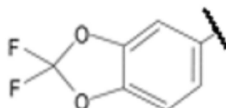
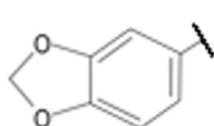
[0018] 상기 치환 또는 비치환된 아릴은 할로젠, =O, 히드록실, 옥시카르보닐, 히드록시 C1~5 알킬, C1~5 알킬, C1~5 알케닐, C1~5 알키닐 및 C1~5 알콕시로부터 선택된 하나 이상으로 치환 또는 비치환된 나프탈렌인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.



[0019] 이때, 상기 A는 인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0020] 이때, 상기 A는 치환 또는 비치환된 아릴이고,

[0021] 상기 치환 또는 비치환된 아릴은 할로젠, =O, 히드록실, 옥시카르보닐, 히드록시 C1~5 알킬, C1~5 알킬, C1~5 알케닐, C1~5 알키닐 및 C1~5 알콕시로부터 선택된 하나 이상으로 치환 또는 비치환된 벤조디옥솔인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.



[0022] 이때, 상기 A는 또는 인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0023] 이때, 상기 A는 치환 또는 비치환된 시클로알킬이고,

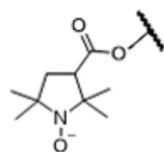
[0024] 상기 치환 또는 비치환된 시클로알킬은 할로젠, =O, 히드록실, 옥시카르보닐, 히드록시 C1~5 알킬, C1~5 알킬, C1~5 알케닐, C1~5 알키닐 및 C1~5 알콕시로부터 선택된 하나 이상으로 치환 또는 비치환된 시클로헥실인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0025] 이때, 상기 A는 비치환된 시클로헥실인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0026] 이때, 상기 A는 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴이고,

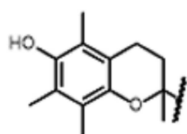
[0027] 상기 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴은 할로젠, =O, 히드록실, 옥시카르보닐, 히드록시 C1~5 알킬, C1~5 알킬, C1~5 알케닐, C1~5 알키닐 및 C1~5 알콕시로부터 선택된 하나 이상으로 치환 또는 비치환된 피롤리딘 또는 크로만인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0028] 이때, 상기 A는 옥시카르보닐, C1~5 알킬 및 =O 로부터 선택된 하나 이상으로 치환된 피롤리딘인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.



[0029] 이때, 상기 A는 인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0030] 이때, 상기 A는 C1~5 알킬, 히드록실로부터 선택된 하나 이상으로 치환된 크로만-2-일(chroman-2-yl)인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.



[0031] 이때, 상기 A는 인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0032] 이때, 상기 n은 9이상의 정수인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0033] 이때, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 TRAP1 억제제를 제공한다.

[0034] 이때, 상기 TRAP1 억제제는 CBS에 결합하는 것을 특징으로 하는 억제제를 제공한다.

[0035] 이때, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 TRAP1 - 클라이언트 단

백질 결합 억제제를 제공한다.

발명의 효과

- [0036] 본 명세서에서 제공하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 이용하면 TRAP-1을 억제할 수 있다.
- [0037] 본 명세서에서 제공하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 이용하면 TRAP-1과 클라이언트 단백질의 결합을 억제할 수 있다.
- [0038] 본 명세서에서 제공하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 약학적 조성물은 TRAP-1 메커니즘과 관련된 특정 질병을 치료하는 용도로 이용될 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에서 제공하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여함을 통해 특정 질병을 치료할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0039] 도1a는 zTRAP1 이량체와 MitoQ 및 AMPPNP가 결합된 전체적인 구조이다. Protomer A와 protomer B는 각각 청록색과 자홍색으로 표시 되어있다.
- 도1b는 TRAP1에 의한 MitoQ의 인식을 자세히 나타낸다. 잔기의 사이드체인이 MitoQ와 상호작용하는 것을 볼 수 있다. Fo-Fc 맵 (회색 메시)는 MitoQ가 없을 때 계산되었다.
- 도1c는 MitoQ 결합 포켓 구조를 나타낸다. 위는 Ub 아래는 TPP 결합 포켓을 나타낸다.
- 도2는 TRAP1과 MitoQ의 결합 결정구조를 나타낸다.
- 도3은 알킬-TPP의 구조를 나타낸다.
- 도4는 알킬-TPP의 TRAP1 내 CBS(Client binding site)결합력 분석 결과를 나타낸다.
- 도5는 항산화제-TPP 컨주게이트 구조를 나타낸다.
- 도6은 항산화제-TPP 컨주게이트의 TRAP1 내 CBS 결합력 분석 결과를 나타낸다.
- 도7은 기타 합성 화합물 구조를 나타낸다.
- 도8은 기타 합성 화합물의 TRAP1 내 CBS 결합력 분석 결과를 나타낸다.
- 도9a는 알킬-TPP의 TRAP1 ATPase 활성 분석 결과를 나타낸다.
- 도9b는 알킬-TPP의 TRAP1의 ATP binding pocket 결합력 분석 결과를 나타낸다. mP는 millipolarization을 나타낸다.
- 도10은 암세포에서 TRAP1 및 Hsp90의 억제 결과를 나타낸다.
- 도11은 링커 길이에 따른 TRAP1 ATPase 활성 분석 결과를 나타낸다.
- 도12는 항산화제-TPP 컨주게이트의 세포에 대한 효과를 나타낸다.
- 도13은 MitoQS, Mito-VitEL, 및 Mito-CPS의 Hsp90 및 TRAP1에 대한 효과 를 나타낸다.
- 도14는 기타 합성 물질의 TRAP1 ATPase 활성 분석 결과를 나타낸다.
- 도15는 기타 합성 물질의 TRAP1 억제 결과를 나타낸다.
- 도16은 기타 합성 물질의 생체 내 종양 성장 억제 효과 결과를 나타낸다.
- 도17은 종양의 웨스턴블랏 결과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0040] 용어 정의
- [0041] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 본 명세서에서 언급된 모든 간행물, 특허 및 기타 다른 참고문헌은 전체가 참고로 포함된다.

- [0043] 이하, 발명의 구체적인 내용을 개시한다.
- [0044] **TRAP-1**
- [0045] TRAP-1은 HSP90의 파라로그 중 하나로, 미토콘드리아에만 존재하는 미토콘드리아 단백질이다. 상기 TRAP-1을 포함한 hsp90은 두개의 단위체(protomer)가 결합되어 있는 구조를 가지고 있다. 이때, 각각의 단위체를 제1단위체, 제2단위체로 명칭한다. 이 때, hsp90에 대하여 특이적인 클라이언트 단백질(client protein)이 결합되면, Hsp90은 서로 떨어져 있던 단위체가 가까워지면서 ATP가 결합하여 분해되고, 클라이언트 단백질의 입체 구조를 형성하는 기능을 한다. 각각의 단위체는 N-말단 부위 (N-terminal domain), 중단 부위 (middle domain), C-말단 부위 (C-terminal domain)으로 구성되어있다. N-말단 부위는 ATP가 결합되어 hsp90s의 활성을 위한 에너지를 생산하는 부위이다. 중단 부위는 각각의 hsp90s에 특이적인 클라이언트 단백질이 결합하는 부위이다. C-말단 부위는 두 개의 단위체가 연결되는 부위이다. hsp90s는 파라로그 간의 N-말단 부위의 상동성이 매우 높으나, 중단 부위의 상동성은 낮은 특징이 있다. 이에 따라, N-말단 부위를 타겟으로 하는 화합물의 경우 hsp90의 파라로그에 대해 비선택적으로 작용하고, 그 이외에 상동성이 낮은 부위를 타겟으로 하는 화합물의 경우 hsp90 파라로그에 대해 선택적으로 작용할 수 있다. 상기 hsp90은 다른 언급이 없는 한 세포질에 존재하는 hsp90s인 Hsp90- α 1, Hsp90- α 2, Hsp90- β 를 포함한다.
- [0046] 또한, 상기 TRAP1이 억제되면, SIRT3 및 SDHB의 발현이 줄어든다고 알려져있다(Interplay between TRAP1 and Sirtuin-3 Modulates Mitochondrial Respiration and Oxidative Stress to Maintain Stemness of Glioma Stem Cells. Cancer Res 79, 1369-1382 참고). 이에 따라, TRAP-1의 억제 여부를 확인하기 위해서, 본 명세서에서는 SIRT3 및 SDHB의 발현을 확인할 수 있다.
- [0047] **아릴**
- [0048] "아릴"이라는 용어는 본 출원에서 사용되는 한 치환된 또는 비치환된 단일-고리 방향족 기로서 고리의 각각의 원자가 탄소인 것을 포함한다. 바람직하게는, 상기 고리는 5- 내지 7-원자고리 고리이고, 더욱 바람직하게는 6-원자고리 고리이다. "아릴"이라는 용어는 또한 폴리시클릭 고리 계로서 2 개 이상의 시클릭 고리를 갖고 2 개의 서로 접한 고리가 2 개 이상의 탄소를 공유하며 적어도 하나의 상기 고리가 방향족인 것을 포함하고, 예를 들어, 상기 다른 시클릭 고리는 시클로알킬, 시클로알케닐, 시클로알킬닐, 아릴, 헤테로아릴, 및/또는 헤테로시클릴일 수 있다. 아릴 기는 벤젠, 나프탈렌, 페난트렌, 페놀, 아닐린, 및 이와 같은 것을 포함한다.
- [0049] **시클로알킬**
- [0050] "시클로알킬" 기는 완전히 포화된 시클릭 탄화수소이다. "시클로알킬"은 모노시클릭 및 바이시클릭 고리를 포함한다. 다르게 정의되지 않는 한 일반적으로, 모노시클릭 시클로알킬기는 3 내지 약 10 개의 탄소 원자를 갖고, 더욱 일반적으로 3 내지 8 개의 탄소 원자를 갖는다. 바이시클릭 시클로알킬의 두 번째 고리는 포화, 불포화 및 방향족 고리로부터 선택될 수 있다. 시클로알킬은 바이시클릭 분자로서 1, 2 또는 3 또는 그 이상의 원자가 2 개의 고리 사이에서 공유된 것을 포함한다.
- [0051] **헤테로시클릭**
- [0052] "헤테로시클릭"이라는 용어는 치환된 또는 비치환된 비방향족 고리 구조이고, 바람직하게는 3- 내지 10-원자고리 고리이고, 더욱 바람직하게는 3- 내지 7-원자고리 고리이며, 이의 고리 구조가 적어도 하나의 헤테로원자, 바람직하게는 1 내지 4 개의 헤테로원자, 더욱 바람직하게는 1 또는 2 개의 헤테로원자를 포함하는 것을 의미한다. "헤테로시클릭" 및 "헤테로시클릭"이라는 용어는 또한 폴리시클릭 고리 계로서 2 개 이상의 시클릭 고리를 갖고 2 개의 서로 접한 고리가 2 개 이상의 탄소를 공유하며 적어도 하나의 상기 고리가 헤테로시클릭인 것을 포함하고, 예시적으로, 다른 시클릭 고리는 시클로알킬, 시클로알케닐, 시클로알킬닐, 아릴, 헤테로아릴, 및/또는 헤테로시클릴일 수 있다. 헤테로시클릭 기는, 예를 들어, 피페리딘, 피페라진, 피롤리딘, 몰폴린, 락톤, 락탐, 및 이와 같은 것을 포함한다.
- [0053] **히드록시알킬**
- [0054] "히드록시알킬"은 적어도 하나의 히드록시 치환기를 갖는 알킬 기로서, 예를 들어, 하나 또는 두 개의 히드록시기로 치환되며 1 내지 6개의 탄소원자를 포함하는 선형의 일가 탄화수소 라디칼 또는 3 내지 6개의 탄소원자를 포함하는 분지형의 일가 탄화수소 라디칼을 의미하며, 단, 두 개의 히드록시기가 존재하는 경우, 이들 둘 모두가 동일한 탄소원자에 존재하지는 않는다. 구체적으로, 히드록시메틸, 2-히드록시에틸, 2-히드록시프로필, 3-히

드록시프로필, 1-(히드록시메틸)-2-메틸프로필, 2-히드록시부틸, 3-히드록시부틸, 4-히드록시부틸, 2,3-디히드록시프로필, 1-(히드록시메틸)-2-히드록시에틸, 2,3-디히드록시부틸, 3,4-디히드록시부틸 및 2-(히드록시메틸)-3-히드록시프로필 및 이와 같은 것을 포함한다.

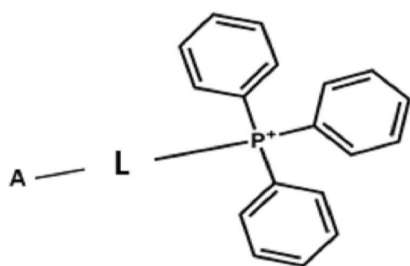
[0055] **약학적으로 허용가능**

[0056] 본 명세서에서 사용된 "약학적으로 허용가능"이라는 용어는, 합리적인 의학적 판단의 범위 내에서, 과도한 독성, 자극, 알러지 반응, 또는 기타 문제 또는 부작용을 보이지 않는 경우를 의미한다. 따라서, 상기 용어는 대상의 조직과 접촉시키기에 적합하고, 합리적인 이익/위험 비율 (benefit/risk ratio)을 갖는 화합물, 물질, 조성물, 및/또는 투여 제형에 대하여 사용한다.

[0057] **화학식 1의 화합물**

[0058] **1.화학식 1**

[0059] [화학식 1]



[0060]

[0061] 본 명세서는 상기 화학식 1의 구조를 갖는 화합물을 제공한다.

[0062] A는 메틸, 치환 또는 비치환된 아릴, 치환 또는 비치환된 시클로알킬 및 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴 중에서 선택될 수 있다.

[0063] L은 $(CH_2)_n$ 을 포함하고,

[0064] 상기 $(CH_2)_n$ 에서 n은 7이상 50이하의 정수일 수 있다. 일 실시예로, 7이상 40이하의 정수일 수 있다. 상기 $(CH_2)_n$ 에서 n은 구체적인 일 실시예로 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 및 40 중 어느 하나의 정수일 수 있다. 다만 이에 제한되지 않는다. 본 명세서에서 상기 L은 연결부 또는 링커에 대응되는 개념으로 이해될 수 있다.

[0065] **2.A의 구조**

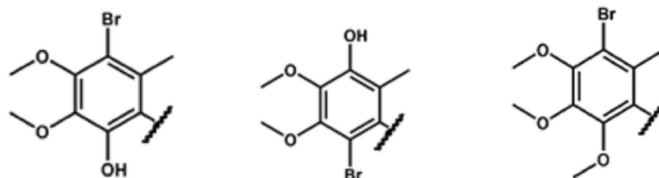
[0066] 1) 메틸

[0067] 상기 A는 일 실시예로, 메틸일 수 있다.

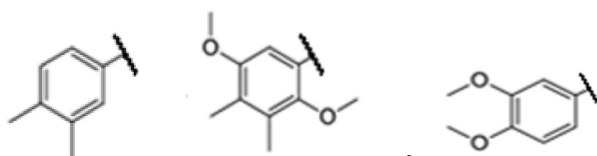
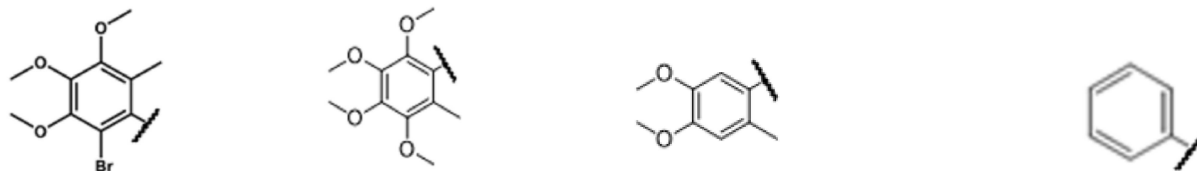
[0068] 2) 치환 또는 비치환된 아릴

[0069] 상기 A는 일 실시예로, 치환 또는 비치환된 아릴일 수 있다.

[0070] 상기 A는 구체적인 일 실시예로, 할로젠, =O, 히드록시, 옥시카르보닐, 히드록시 C1~5 알킬, C1~5 알킬, C1~5 알케닐, C1~5 알키닐 및 C1~5 알콕시로부터 선택된 하나 이상으로 치환된 또는 비치환된 아릴일 수 있다. 상기 A는 보다 더 구체적인 일 실시예로, 할로젠, =O, 히드록시, 옥시카르보닐, 히드록시 C1~5 알킬, C1~5 알킬, C1~5 알케닐, C1~5 알키닐 및 C1~5 알콕시로부터 선택된 하나 이상으로 치환된 또는 비치환된 페닐일 수 있다.



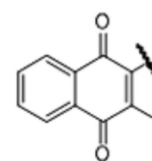
상기 A는 보다 더 구체적인 일 실시예로,



및 로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다.

[0071]

상기 A는 또 다른 구체적인 일 실시예로, 할로겐, =O, 히드록실, 옥시카르보닐, 히드록시 C1~5 알킬, C1~5 알킬, C1~5 알케닐, C1~5 알키닐 및 C1~5 알콕시로부터 선택된 하나 이상으로 치환 또는 비치환된 나프탈렌일 수 있다. 상기 A는 보다 더 구체적인 일 실시예로, C1~5 알킬, =O로부터 선택된 하나 이상으로 치환된 나프탈

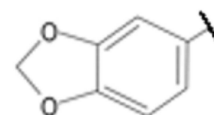


렌-2-일(naphthalen-2-yl)일 수 있다. 상기 A는 보다 더 구체적인 일 실시예로

일 수 있다.

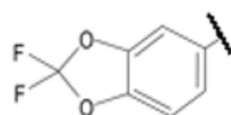
[0072]

상기 A는 또 다른 구체적인 일 실시예로, 할로겐, =O, 히드록실, 옥시카르보닐, 히드록시 C1~5 알킬, C1~5 알킬, C1~5 알케닐, C1~5 알키닐 및 C1~5 알콕시로부터 선택된 하나 이상으로 치환 또는 비치환된 치환 또는 비치환된 벤조디옥솔(benzodioxole)일 수 있다. 상기 A는 보다 더 구체적인 일 실시예로, 1,3-벤조디옥솔 또는



2,2-디플루오로-1,3-벤조디옥솔일 수 있다. 상기 A는 구체적인 일 실시예로,

또는



일 수 있다.

[0073]

다만, 상기 A는 이에 제한되지 않는다.

[0074]

3) 치환 또는 비치환된 시클로알킬

[0075]

상기 A는 일 실시예로, 치환 또는 비치환된 시클로알킬일 수 있다.

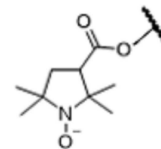
[0076]

상기 A는 구체적인 일 실시예로, 할로겐, =O, 히드록실, 옥시카르보닐, 히드록시 C1~5 알킬, C1~5 알킬, C1~5 알케닐, C1~5 알키닐 및 C1~5 알콕시로부터 선택된 하나 이상으로 치환 또는 비치환된 3 내지 10 개의 탄소를 가지는 모노시클릭 시클로알킬일 수 있다. 보다 더 구체적인 일 실시예로, 상기 A는 할로겐, =O, 히드록실, 옥시카르보닐, 히드록시 C1~5 알킬, C1~5 알킬, C1~5 알케닐, C1~5 알키닐 및 C1~5 알콕시로부터 선택된 하나 이상으로 치환 또는 비치환된 시클로헥실일 수 있다. 다만, 상기 A는 이에 제한되지 않는다.

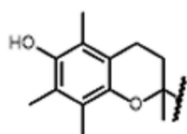
[0077] 4) 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴

[0078] 상기 A는 일 실시예로, 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴일 수 있다.

[0079] 상기 A는 구체적인 일 실시예로, 할로젠, =O, 히드록실, 옥시카르보닐, 히드록시 C1~5 알킬, C1~5 알킬, C1~5 알케닐, C1~5 알키닐 및 C1~5 알콕시로부터 선택된 하나 이상으로 치환 또는 비치환된 피롤리딘, 크로만일 수 있다. 보다 더 구체적인 일 실시예로, 상기 A는 옥시카르보닐, C1~5 알킬 및 =O로부터 선택된 하나 이상으로 치환된 피롤리딘일 수 있다. 또 다른 구체적인 일 실시예로, 상기 A는 C1~5 알킬, 히드록실로부터 선택된 하나 이



상으로 치환된 크로만-2-일(chroman-2-yl)일 수 있다. 상기 A는 구체적인 일 실시예로,



또는 일 수 있다.

[0081] 3. L의 구조

[0082] 상기 화학식 1에서 상기 L은 특정한 길이를 갖는 구조일 수 있다. 일 실시예로, 알킬, 알케닐, 알키닐 및/또는 에틸렌옥시를 포함하는 구조일 수 있다. 구체적인 일 실시예로, 상기 L은 $(CH_2)_n$ 을 포함하는 구조 일 수 있다. 이때, 상기 n은 일 실시예로, 7이상 40이하의 정수일 수 있다. 상기 n은 본 출원의 화합물에서 연결부 또는 링커의 길이를 결정하는 요소로서, 상기 화학식 1의 구조를 갖는 화합물이 TRAP1에 결합하는데 중요한 역할을 할 수 있다.

[0083] 다만, 상기 L의 구조는 이에 제한되지 않는다. 이때, 상기 L의 길이는 일 실시예로, 10, 15, 20 또는 25 앙스트롬 이상인 구조 일 수 있다. 이때, 일 실시예로, 상기 L의 길이는 최대값으로 50, 60, 70, 80 또는 90 앙스트롬인 구조 일 수 있다. 다만, L 길이의 최대값은 이에 제한되지 않는다. 상기 L은 일 실시예로, 상기 길이를 갖는 알킬, 알케닐, 알키닐 및/또는 에틸렌옥시를 포함하는 구조 일 수 있다. 구체적인 일 실시예로, 상기 L은 상기 길이를 갖는 알킬구조 일 수 있다.

[0084] 1) TPP로부터의 거리에 따른 결합능

[0085] 도2의 TRAP1 MitoQ(본 명세서에서 SMX와 상호교환적으로 사용됨)의 결합 결정구조를 참조하면, TRAP1의 두개의 protomer사이의 거리가 약 25Å으로 MitoQ의 Ub모이어티와 TPP 모이어티간의 거리가 적당해야 효과적인 결합이 가능함을 확인할 수 있다. 또한, 더 나아가 알킬-TPP(알킬-TPP의 구조는 도3에 나타냄) 실험 결과를 참고하면, octyl-TPP부터 SB-TM2와의 경쟁적 결합이 가능함을 확인할 수 있다.

[0086] 즉, 본 출원의 화합물 구조에서, TPP에 결합된 알킬 체인 $(CH_2)_n$ 의 길이가 C8이상의 크기를 가지게 되면, 상기 화합물은 TRAP1에 효과적으로 결합할 수 있다. 보다 구체적으로 TPP에 결합된 알킬 체인의 길이가 C8이상의 크기를 가지게 되면, 상기 화합물은 TRAP1의 CBS(client binding site)에 결합할 수 있다. 또한, 이러한 결합력은 TPP와의 거리가 늘어날 수록, 예를 들어, 알킬 체인의 길이가 증가할수록 결합력이 증가한다. 일 구체예에서, 추가적으로, SMX(MitoQ)와의 결합력을 비교하면, dodecyl-TPP, tetradecyl-TPP, hexadecyl-TPP 결합력이 SMX대비 우수한 것으로 나타난다. 또한, 일 실시예에서, 특별히 알킬 체인의 길이가 가장 긴 hexadecyl-TPP에서 SMX 대비 2배 강한 결합력을 확인하였다(표1 및 도4 참고).

표 1

[0087] 알킬-TPP의 TRAP1 결합력 분석 결과

IC ₅₀ (μM), SB-TM2를 이용한 FP 분석		
Drug	IC ₅₀	SMX 대비 활성

TPP-1	N.D.	N.D.
TPP-2	N.D.	N.D.
TPP-4	N.D.	N.D.
TPP-6	18.85 ± 5.39	0.03
TPP-8	2.572 ± 0.258	0.24
TPP-10	0.6931 ± 0.0578	0.90
TPP-12	0.3769 ± 0.0354	1.65
TPP-14	0.3835 ± 0.0392	1.62
TPP-16	0.3091 ± 0.0260	2.01
SMX	0.6227 ± 0.0375	1

2) 항산화제-TPP 컨쥬게이트

항산화제와 TPP가 결합된 컨쥬게이트(MitoQ, Mito-CP, SkQ1, Mito-VitE^L, Mito-TEMPO, MitoQ^S, Mito-VitE, Mito-CP^S의 구조는 도5에 나타냄)를 이용한 실험 결과를 참고하면, 짧은 링커를 가지는 Mito-TEMPO, Mito-CP^S Mito-VitE는 TRAP1 결합력이 없는 것을 확인할 수 있다(표2 및 도6 참고). 즉, 링커의 적당한 거리가 TRAP1의 결합에 필수적임을 확인할 수 있다.

표 2

항산화제-TPP 컨쥬게이트의 TRAP1 결합력 분석 결과

IC ₅₀ (μM), SB-TM2를 이용한 FP 분석		
Drug	IC ₅₀	SMX 대비 활성
SkQ1	0.6959 ± 0.0554	1.18
Mito-CP	1.074 ± 0.0818	0.77
Mito-VitE ^L	0.9187 ± 0.0714	0.90
Mito-TEMPO	N.D.	N.D.
Mito-CP ^S	N.D.	N.D.
Mito-VitE	N.D.	N.D.
SMX	0.824 ± 0.0512	1

3) 기타 합성 화합물

n이 10인 기타화합물(합성 물질들의 구조는 도7에 나타냄)을 이용한 결합 실험 결과를 참고하면, TPP와 다양한 화합물 구조가 특정한 길이를 갖는 탄화수소를 통해 연결된 경우 TRAP1에 대해 결합력을 가지는 것을 확인할 수 있다(표3, 4 및 도8 참고).

표 3

기타 합성 화합물의 TRAP1 결합력 분석 결과

IC ₅₀ (μM), SB-TM2를 이용한 FP 분석		
Drug	IC ₅₀	SMX 대비 활성
SB-U005	0.3853 ± 0.0835	2.051907604
SB-U009	0.9086 ± 0.1363	0.87012987
SB-U011	0.6838 ± 0.0729	1.156186019
SB-U012	0.6010 ± 0.0906	1.31547421
SMX	0.7906 ± 0.0512	1

표 4

[0094]

기타 합성 화합물의 TRAP1 결합력 분석 결과

IC50 (μM), SB-TM2를 이용한 FP 분석		
Drug	IC50	SMX 대비 활성
SB-U014	0.8046 ± 0.0994	0.50
SB-U015	1.835 ± 0.2849	0.22
SB-K001	0.1658 ± 0.0230	2.45
SB-B001	2.966 ± 1.055	0.14
SB-B002	0.1451 ± 0.13	2.80
SMX	0.4063 ± 0.0389	1

[0095]

즉, 상기 화학식 1의 구조를 갖는 화합물이 TRAP1에 결합하는데 중요한 것은 n이 최소한 7이상의 정수를 가진다는 것이다. 또한, n 값이 증가할수록 TRAP1 결합력이 증가하고, 이에 따라, n은 일 실시예로, 최대 20, 30, 40 또는 50의 정수를 가질 수 있다. 다만, n의 최대값은 이에 제한되지 않는다.

[0096]

4. 화학식 1의 염

[0097]

본 명세서에서 개시되는 화합물은 이의 염의 형태를 포함한다. 이때, 염은 제약상 허용되는 염을 포함한다. 본 명세서에서 개시되는 염은 산 부가염(acid addition salt) 또는 염기 부가염(basic addition salt)을 포함한다. 상기 염을 형성하는 예시적인 산은 염산, 황산, 인산, 글리콜산, 락트산, 피루브산, 시트르산, 숙신산, 글루타르산 등을 포함하고, 염을 형성하는 예시적인 염기는 리튬, 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 메틸아민, 트리메틸 아민 등을 포함한다. 다만, 이에 제한되지 않고 당업자에 의해 쉽게 선택될 수 있다.

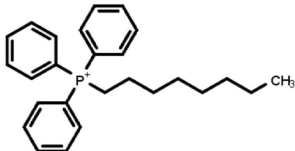
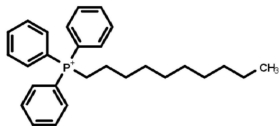
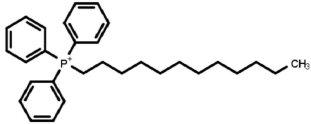
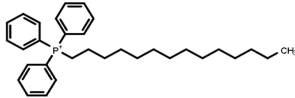
[0099]

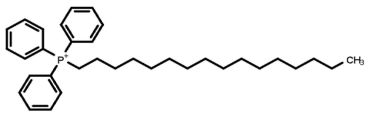
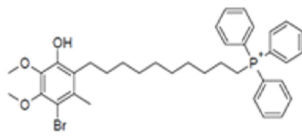
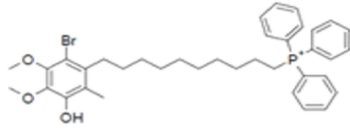
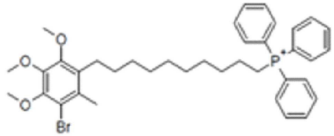
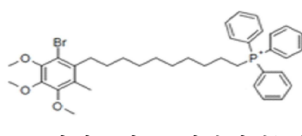
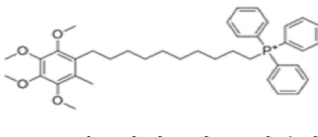
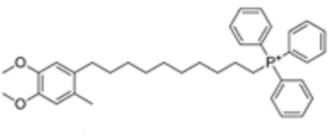
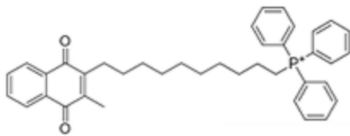
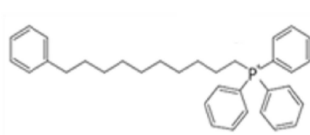
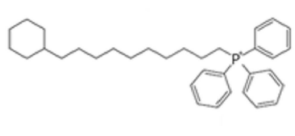
5. 구체적인 화합물의 예시

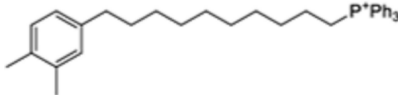
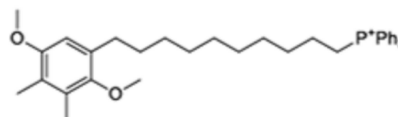
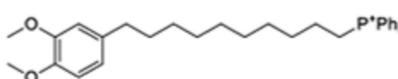
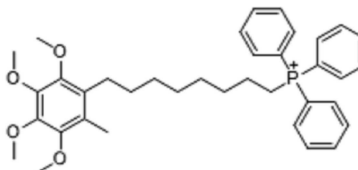
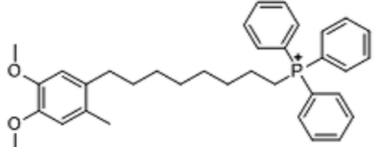
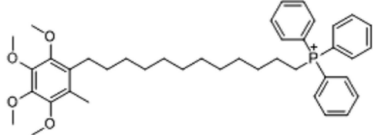
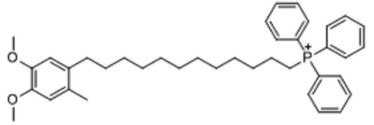
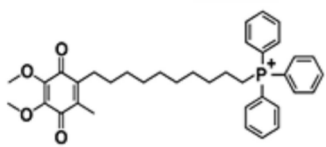
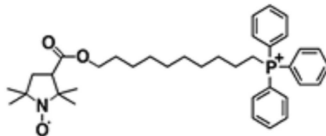
표 5

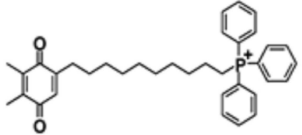
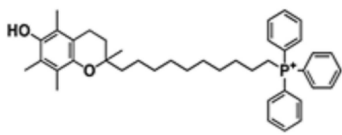
[0100]

본 명세서에서 개시하는 화합물의 구체적인 예시

No.	화합물 명
1	 옥틸트리페닐포스포늄
2	 데실트리페닐포스포늄
3	 도데실트리페닐포스포늄
4	 테트라데실트리페닐포스포늄

5	 헥사데실트리페닐포스포늄
6	 (10-(3-브로모-4,5,6-트리메톡시-2-메틸페닐)데실)트리페닐포스포늄
7	 (10-(2-브로모-5-히드록시-3,4-디메톡시-6-메틸페닐)데실)트리페닐포스포늄
8	 (10-(3-브로모-4,5,6-트리메톡시-2-메틸페닐)데실)트리페닐포스포늄
9	 (10-(2-브로모-3,4,5-트리메톡시-6-메틸페닐)데실)트리페닐포스포늄
10	 트리페닐(10-(2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸페닐)데실)포스포늄
11	 (10-(4,5-디메톡시-2-메틸페닐)데실)트리페닐포스포늄
12	 (10-(3-메틸-1,4-디옥소-1,4-디하이드로나프탈렌-2-일)데실)트리페닐포스포늄
13	 트리페닐(10-페닐데실)포스포늄
14	 (10-사이클로헥실데실)트리페닐포스포늄 클로라이드

15	 (10-(3,4-디메틸 페닐)데실)트리페닐포스포늄
16	 10-(2,5-디메톡시-3,4-디메틸-페닐)데실-트리페닐-포스포늄
17	 (10-(3,4-디메톡시페닐) 데실) 트리페닐포스포늄
18	 트리페닐(8-(2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸페닐)옥틸)포스포늄
19	 (8-(4,5-디메톡시-2-메틸페닐)옥틸)트리페닐포스포늄
20	 트리페닐(12-(2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸페닐)도데실)포스포늄
21	 (12-(4,5-디메톡시-2-메틸페닐)도데실)트리페닐포스포늄
22	 (10-(4,5-디메톡시-2-메틸-3,6-디옥소시클로헥사디엔-1-일)데실)트리페닐포스포늄
23	 2,2,5,5-테트라메틸-3-(((10-(트리페닐포스포니오)데실)옥시)카르보닐)피롤리딘-1-올레이트

24	 (10-(4,5-디메틸-3,6-디옥소시클로헥사-1,4-디엔-1-일)데실)트리페닐포스포늄
25	 (10-(6-히드록시-2,5,7,8-테트라메틸크로만-2-일)데실)트리페닐포스포늄

[0101] II. 화학식 1의 화합물의 용도

[0102] 1. TRAP1 억제

[0103] 본 명세서에서 개시하는 일 발명은, 상기 설명한 화합물의 TRAP1을 억제하는 용도를 제공한다.

[0104] 본 명세서에서 개시하는 화합물은 TRAP1에 결합하여 TRAP1의 기능을 억제함을 통해, SDHB, SIRT3의 발현을 감소시킨다. 또한, 추가적으로 TRAP1 억제제 마커로 알려진 p-AMPK, CHOP(Control of tumor bioenergetics and survival stress signaling by mitochondrial HSP90s. Cancer cell 22, 331-344, Mitochondrial Hsp90s suppress calcium-mediated stress signals propagating from mitochondria to the ER in cancer cells. Molecular cancer 13, 148. 참고)를 증가시킨다(도10, 12, 13, 15 및 17 참고).

[0105] 본 명세서에서 제공하는 화합물은 ATP-pocket-binding-site에 결합하는 것으로 알려진 PU-H71과 달리, TPP-alkyl의 경우 농도 의존적으로 ATPase의 활성을 억제하지 않는다. 즉, 본 명세서에서 제공하는 화합물은 ATPase 활성 억제와는 관련이 없다. 또한, 추가적으로, 본 명세서에서 제공하는 화합물은 ATP binding site에 결합하지 않는다. 이는 본 발명의 일 실시예에서, ATP pocket 결합력 분석을 통해 확인하였다. (도 9, 11 및 14 참고).

[0107] 이에 따라, 본 명세서에서 제공하는 화합물은 TRAP1에 결합하여, TRAP1을 억제할 수 있다. 보다 더 구체적으로, 본 명세서에서 제공하는 화합물은 TRAP1의 ATP binding site에 결합하지 않고 TRAP1을 억제할 수 있다.

[0108] 즉, 본 명세서는 화학식 1의 구조를 갖는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 TRAP1 억제제를 제공할 수 있다. 이때, 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 ATP binding site에 결합하지 않는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0109] 또한, 본 명세서는 화학식 1의 구조를 갖는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 TRAP1 억제제 제조에 이용할 수 있다.

[0110] 2. TRAP1과 클라이언트 단백질 결합의 억제

[0111] 상기 화합물은 TRAP1의 중단 단위체에 결합함을 통해 TRAP1의 활성을 억제할 수 있다. 보다 구체적으로, 상기 화합물은 TRAP1의 Client binding site에 결합하고, ATP binding site에는 결합하지 않으면서 TRAP1의 활성을 억제한다.

[0112] 본 발명자들은 이를 확인하기 위해, TRAP1과 MitoQ의 결합 구조를 분석하여 Client binding site에 결합하는 형광 프로브를 제작한 후, 이를 이용하여 화합물들의 결합력을 분석하였다(도1, 2, 4, 6 및 8 참고). 실험 결과를 참고하면, TPP-알킬, 항산화제-TPP 컨주게이트 및 기타 화합물 모두 TRAP1의 Client binding site에 결합하는 것을 확인할 수 있다. 또한, 더 나아가, ATPase 활성 분석, ATP binding site 결합여부 확인 및 세포질 Hsp90의 억제 여부 확인 결과, 본 명세서의 화합물은 ATP binding site에 결합하지 않고, TRAP1의 활성을 억제하는 것을 확인할 수 있었다(도9, 11 및 14 참고).

[0113] 또한, 구체적으로, 본 명세서의 화합물은 세포질 Hsp90의 클라이언트 단백질(Akt, Cdk4), Hsp90 억제제 마커인 Hsp70(Evidence for Efficacy of New Hsp90 Inhibitors Revealed by Ex Vivo Culture of Human Prostate Tumors. Clinical Cancer Research 18, 3562-3570. 참고)에 영향을 주지 않고, TRAP1만을 선택적으로 억제한다

(도10, 12, 13, 15 및 17 참고).

- [0114] 즉, 본 명세서의 화합물은 TRAP1의 중단 단위체에 결합하고, ATP가 결합되어 hsp90s의 활성을 위한 에너지를 생산하는 N-말단 부위에는 영향을 주지 않는다.
- [0115] 이에 따라, 본 명세서에서 제공하는 화합물은 TRAP1의 중단 단위체에 결합하여 중단 단위체에 결합하는 것으로 알려져 있는 클라이언트 단백질의 결합을 억제할 수 있다. 즉, 본 명세서의 화합물은 TRAP1과 클라이언트 단백질의 결합을 억제하는데 이용될 수 있다.
- [0116] 본 명세서에서는 화학식1의 구조를 갖는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 TRAP1 - 클라이언트 단백질 결합 억제제를 제공할 수 있다.
- [0117] 본 명세서에서는 화학식1의 구조를 갖는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 TRAP1-클라이언트 단백질 결합 억제제 제조에 이용할 수 있다.
- [0118] **3. 약학적 조성물**
- [0119] 본 명세서에서 제공하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 약학적 조성물로 이용될 수 있다. 즉, 본 명세서에서는 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 본 명세서에서는 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 약학적 조성물 제조에 이용할 수 있다.
- [0120] 상기 약학적으로 허용되는 염은 여러가지 생리적으로 허용가능한 유기 및 무기 반대 이온으로부터 유래하는 화합물의 염을 포함한다. 상기 반대 이온은 당업계에서 잘 알려져 있고, 예를 들어, 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 알루미늄, 리튬 및 암모늄, 예를 들어 테트라알킬암모늄 등 (분자가 산성 작용기를 함유할 때); 및 분자가 염기성 작용기를 함유할 때, 유기 또는 무기 산의 염, 예컨대 하이드로크로라이드, 설페이트, 포스페이트, 디포스페이트, 니트레이트 하이드로브로마이드, 타르트레이트, 메실레이트, 아세테이트, 말레이트, 말레에이트, 푸마레이트, 타르트레이트, 숙시네이트, 시트레이트, 락테이트, 파코에이트, 살리실레이트, 스테아레이트, 메탄설폰에이트, p-톨루엔설폰에이트, 및 옥살레이트 등을 포함한다. 적합한 그의 약학적으로 허용가능한 염은 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th Edition, pg. 1418 (1985) 및 P. Heinrich Stahl, Camille G. Wermuth (Eds.), Handbook of Pharmaceutical Salts Properties, Selection, and Use; 2002]에 열거된 것들을 포함한다. 산 부가 염의 예는 산 예컨대 요오드화수소산, 인산, 메타인산, 질산 및 황산, 및 유기산으로, 예컨대 알긴산, 아스코르빈산, 안트라닐산, 벤조산, 캄포르황산, 시트르산, 엠본산 (embonic acid) (파코산), 에탄설폰산, 포름산, 푸마르산, 푸로산, 갈락톤산, 겐티신산, 글루콘산, 글루쿠론산, 글루탐산, 글리콜산, 이소니코틴산, 이소티온산, 란탄산, 말산, 만델산, 메탄설폰산, 뮤신산, 판토텐산, 페닐아세트산, 프로피온산, 사카린산, 살리실산, 스테아르산, 숙신산, 설피닐산, 트리플루오로아세트산 및 아릴설폰산 예를 들어 벤젠설폰산 및 p-톨루엔설폰산으로부터 형성된 염을 포함한다. 알칼리 금속 및 알킬리 토금속 및 유기 염기로 형성된 염기 부가 염의 예는 클로로프로카인, 콜린, N,N-디벤질에틸렌디아민, 디에탄올라민, 에틸렌디아민, 라이신, 메글루마인 (N-메틸글루카민), 및 크로카인, 뿐만 아니라 내부에서 형성된 염을 포함한다. 비-생리적으로 허용가능한 음이온 또는 양이온을 갖는 염은 생리적으로 허용가능한 염의 제조를 위한 및/또는 비-치료적으로, 예를 들어, 시험관 내, 상황에서 사용하기 위한 유용한 중간체로서 본 발명의 범위 안에 있다. 본 출원에 의한 약학적으로 허용가능한 염은 할로젠 염, 즉 플루오르염, 브롬염, 요오드염 등을 포함한다.
- [0121] 상기 약학적 조성물은 TRAP1의 억제를 통해 치료될 수 있는 질병을 치료하는데 이용될 수 있다.
- [0122] 상기 질병은 일 실시예로, 암을 포함한다. 상기 TRAP1은 암과 연관성이 있음이 많이 알려져 있고, TRAP1이 암 치료의 타겟이 될 수 있다(Regulation of Tumor Cell Mitochondrial Homeostasis by an Organelle-Specific Hsp90 Chaperone Network, 2007, Kang et al; Control of Tumor Bioenergetics and Survival Stress Signaling by Mitochondrial HSP90s, 2012, Chae et al; The mitochondrial chaperone TRAP1 as a candidate target of oncotherapy, 2001, Xie et al; TRAP1:a viable therapeutic target for future cancer treatments, 2017, Lettini et al. 참고). 또한, 실험 결과를 참고하면, 본 명세서에서 제공하는 화합물은 암 세포에서 TRAP1을 억제하고 이를 통해, 암의 크기를 줄이는 것을 확인할 수 있다.
- [0123] 이에 따라, 본 명세서의 화합물은 암 치료를 위한 약학적 조성물의 제조에 이용될 수 있다.
- [0124] 본 명세서는 화학식 1의 구조를 갖는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 암 치료용 약학적 조성물을 제공할 수 있다.
- [0125] 이때, 상기 암은 갑상선암, 위암, 대장암, 폐암, 유방암, 간암, 전립선암, 췌장암, 담낭암, 담도암 등을 포함할

수 있다. 다만, 상기 질병은 암에 제한되지 않고, TRAP1과 관련되어 있음이 공지되어 있는 모든 질병을 포함한다.

[0126] 4. 치료 방법

[0127] 본 명세서에서 제공하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 이를 필요로 하는 대상체에게 투여되어 특정 질병을 치료하는데 이용될 수 있다. 즉, 본 명세서는 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 특정 질병 치료 방법을 제공한다.

[0128] 상기 질병은 TRAP1의 억제를 통해 치료가능한 질병을 모두 포함한다. 상기 질병은 일 실시예로, 암을 포함하지만, 이에 제한되지 않고, TRAP1과 관련되어 있음이 공지되어 있는 모든 질병을 포함한다. 이때, 상기 암은 갑상선암, 위암, 대장암, 폐암, 유방암, 간암, 전립선암, 췌장암, 담낭암, 담도암 등을 포함할 수 있다.

[0129] 상기 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것은 다양한 경로를 통해 수행될 수 있다. 예를 들어, 경구 (예를 들어, 수용성 또는 비수용성 용액 또는 현탁액과 같은 드렌치, 알약, 캡슐 (스프링클 캡슐 및 젤라틴 캡슐을 포함함), 덩어리, 가루, 과립제, 혀에 도포하기 위한 페이스트); 구강 점막을 통한 흡수 (예: 설하); 항문, 직장 또는 질 (예를 들어 페서리, 크림 또는 폼); 비경구 (근육 내, 정맥 내, 피하 또는 척수강 내로, 예를 들어 멸균 용액 또는 현탁액으로); 비강; 복강내; 피하; 경피 (예를 들어 피부에 붙이는 패치); 및 국소적 (예를 들어 크림, 연고 또는 피부에 도포되는 스프레이, 또는 안약) 투여를 포함한다.

[0130] 상기 대상체는 인간 등의 포유류이거나, 또는 인간이 아닌 포유류이다. 대상, 예를 들어 인간에게 투여될 때 조성물 또는 화합물은, 예를 들어, 본 출원의 화합물 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물로서 투여되는 것이 바람직할 수 있다. 약학적으로 허용가능한 담체는 기술 분야에서 잘 알려진 것이며, 예를 들어, 물과 같은 수용성 용액 또는 생리학적으로 완충된 식염수 또는 글리콜, 글리세롤, 올리브 오일 등의 오일, 또는 주사가능한 유기 에스테르와 같은 기타 용매 또는 운반체를 포함한다.

[0131] 약학적 조성물의 실제 투여량은 특정 환자, 조성물, 및 투여 방법에 대하여 환자에게 독성을 나타내지 않고, 원하는 치료학적 반응을 달성하기에 효과적인 양의 활성 성분을 수득하기 위하여 달라질 수 있다.

[0132] 선택된 투여량은 특정 화합물 또는 사용된 화합물의 조합, 또는 이의 에스테르, 염 또는 아미드의 활성, 투여 경로, 투여 시간, 사용된 특정 화합물의 배출 속도, 치료 기간, 사용된 특정 화합물과 함께 사용된 기타 약물, 화합물 및/또는 물질, 나이, 성별, 체중, 상태, 일반건강 및 치료 중인 대상의 병력, 및 기타 의학 분야에서 잘 알려진 요인을 포함하는 다양한 요인들에 의존할 것이다.

[0133] 그 분야에서 통상의 지식을 가진 의사 또는 수의사는 약학적 조성물의 필요로 하는 치료학적 유효량을 쉽게 결정하고 또한 처방할 수 있다. 예를 들어, 의사 또는 수의사는 약학적 조성물 또는 화합물의 투여량을 원하는 치료학적 효과를 달성하기 위해서 필요한 정도 보다 낮은 수치에서 시작하고 원하는 효과가 달성될 때까지 천천히 투여량을 증가시킬 수 있다. "치료학적 유효량"은 원하는 치료학적 효과를 도출하기에 충분한 화합물의 농도를 의미한다.

[0134] 일반적으로 화합물의 유효량은 대상의 체중, 성별, 및 병력에 의하여 달라질 수 있다고 이해되고 있다. 유효량에 영향을 주는 다른 요소는 대상의 상태의 심각함, 치료 대상인 장애, 화합물의 안정성, 및, 원하는 경우, 본 출원의 화합물과 함께 투여되는 다른 유형의 치료제를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 총 투여량은 제제를 여러 회 투여하여 전달될 수 있다. 효능 및 투여량을 결정하는 방법은 당업자에게 알려져 있다 (Isselbacher et al. (1996) Harrison's Principles of Internal Medicine 13 ed., 1814-1882, 본 명세서에 참고 문헌으로 포함됨).

[0135] 특정 실시예에서, 본 명세서에서 제공하는 화합물은 단독으로 또는 다른 유형의 치료제와 공동으로 투여될 수 있다. 본 출원에서 사용된 바와 같이, "공동 투여 (conjoint administration)"라는 용어는 그 전에 투여된 치료 화합물이 아직 신체에서 효과가 있는 동안 제2화합물이 투여되도록 2 개 이상의 상이한 치료 화합물을 투여하는 임의의 방식이다 (예를 들어, 2 개의 화합물은 대상에게 동시에 효과적이고, 2 개의 화합물의 동반상승 효과를 포함할 수 있음). 예를 들어, 상이한 치료 화합물은 동일한 제형 또는 별도의 제형으로, 부수적으로 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 특정 실시예에서, 상이한 치료 화합물은 서로 1 시간, 12 시간, 24 시간, 36 시간, 48 시간, 72 시간 또는 1 주일 이내에 투여될 수 있다. 따라서, 이러한 치료를 받는 대상은 상이한 치료 화합물의 병용 효과로부터 이익을 얻을 수 있다.

[0136] 특정 실시예에서, 본 명세서에서 제공하는 화합물과 하나 이상의 추가적인 치료제 (예를 들어, 하나 이상의 추

가적인 화학요법제)의 공동 투여는 본 출원의 화합물 또는 하나 이상의 추가적인 치료제를 각각 개별 투여하는 것에 비해 개선된 효능을 제공한다. 이러한 특정 실시예에서, 공동 투여는 부가적 효과를 제공하며, 여기서 부가적 효과는 본 명세서의 화합물 및 하나 이상의 추가적인 치료제의 개별 투여의 효과의 각각을 합한 것을 의미한다.

[0137] III. 실험예

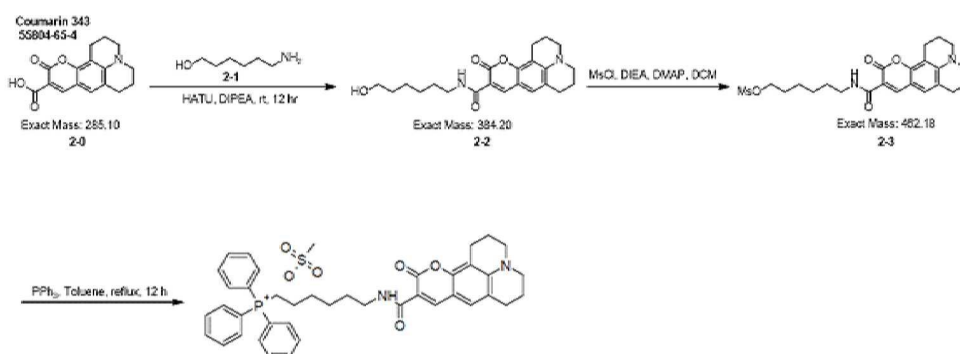
[0138] 1. 화합물 합성

[0139] 본 발명자들은 화합물들의 TRAP1 결합력을 확인하기 위해 TRAP1에 결합하는 형광 프로브인 SB-TM2를 제작하였고, 이외에 실험에 사용하기 위한 화합물들을 합성 및 구입하였다.

[0140] 메틸트리페닐포스포늄 브로마이드(Alfa Aesar (Cat.# A15878)), 에틸트리페닐포스포늄 브로마이드(Alfa Aesar (Cat.# B23096)), 부틸트리페닐포스포늄 브로마이드(Alfa Aesar (Cat.# A10504)), 헥실트리페닐포스포늄 브로마이드(Alfa Aesar (Cat.# A13826)), 옥틸트리페닐포스포늄 브로마이드(Alfa Aesar (Cat.# L02412)), 데실트리페닐포스포늄 브로마이드(Alfa Aesar (Cat.# A11021)), 도데실트리페닐포스포늄 브로마이드(Alfa Aesar (Cat.# A14295)), 테트라데실트리페닐포스포늄 브로마이드(Alfa Aesar (Cat.# L04311)), 헥사데실트리페닐포스포늄 브로마이드(Alfa Aesar (Cat.# A15180)), MitoQ(BioVision, Cat #: B1309), SkQ1(MedchemExpress Cat. #: HY-100474) 및 Mito-TEMPO(SIGMA Cat #: SML0737)구입하여 실험에 사용하였다.

[0141] 1-1. SB-TM2 probe 합성

[0142] SB-TM2: 6-(11-옥소-2,3,5,6,7,11-헥사하이드로-1H-피라노[2,3-f]피리도[3,2,1-ij] 퀴놀린-10-카르복사미도)헥실)트리페닐포스포늄 메탄 설포네이트.



[0143]

[0144] 단계 A. N-(6-하이드록시헥실)-20-옥소-27-옥사-23-아자테트라사이클로헵타데카-(14),1(16),15(18),17(19)-테트라엔-16-카르복사미드

[0145] DMF (30 mL) 내 화합물 14-옥소-20-옥사-16-아자테트라사이클로헵타데카-(8),1(10),9(12),11(13)-테트라엔-10-카르복실산(376.5 mg, 1.31 mmol), 6-아미노헥산-1-올 (170.12 mg, 1.38 mmol), HATU (602.15 mg, 1.58 mmol)의 용액에 DIPEA (511.67 mg, 3.95 mmol)가 첨가되었고, 이어서 25 ° C에서 12시간 동안 교반되었다. LCMS는 스타팅 물질이 소모되고 원하는 생성물이 형성되었음을 보여주었다. 반응 혼합물이 60 mL의 H₂O에 부어지고, 이어서 에틸 아세테이트(50 mL x 2)로 추출되었다. 합한 에틸 아세테이트가 포화된 염수(50 mL x 2)로 세척되고, Na₂SO₄상에서 건조되었다. 유기층이 증발 건조되어 조생성물이 노란 폼으로 제공되었고, 이는 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, Petroleum ether/ EtOAc = 1:0 to 1:4)로 정제되어 원하는 생성물은 노란색 폼으로(465 mg, 1.17 mmol, 92.4% yield)얻어졌다.

[0146] MS (ESI): mass calcd. for C₂₂H₂₈N₂O₄, 384.2; m/z found, 385.2 [M+H]⁺.

[0147] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 1.36 - 1.50 (m, 4 H), 1.51 - 1.72 (m, 4 H), 1.92 - 2.06 (m, 4 H), 2.78 (t, J=6.0 Hz, 2 H), 2.90 (t, J=6.3 Hz, 2 H), 3.28 - 3.39 (m, 4 H), 3.45 (q, J=6.8 Hz, 2 H), 3.65 (t, J=6.5 Hz, 2 H), 7.02 (s, 1 H), 8.61 (s, 1 H), 8.88 (br s, 1 H).

[0148] 단계 B. 6-[(21-옥소-29-옥사-24-아자테트라사이클로헵타데카-1(15),2(17),16(19),18(20)-테트라엔-17-카르보닐)아미노]헥실 메탄설포네이트

[0149] N-(6-하이드록시헥실)-20-옥소-27-옥사-23-아자테트라사이클로헵타데카-(14),1(16),15(18),17(19)-테트라엔-16-카르복사미드 (400 mg, 1.04 mmol)가 DCM (25 mL)에 용해되었고 이어서 DMAP (1.27 mg, 10.40 μ mol) 및 DIEA (1.34 g, 10.40 mmol)가 첨가되었고 생성된 혼합물이 0 ° C로 냉각되었다. MsCl (106 mg, 9.25 mmol)가 적가되고 이어서 2시간동안 0 ° C에서 교반되었다. TLC (petroleum ether : EtOAc = 1:1, Rf = 0.43)는 스타팅 알코올이 소모되고 하나의 주요한 새로운 스팟이 형성되었음을 보여주었다. 혼합물이 디클로로메탄(35 mL) 및 sat. aq. NaHCO₃ (35 mL) 사이에 분배되었다. 유기층이 수집되었고, Na₂SO₄ 상에서 건조되고, 여과되고 진공 하에서 농축되어 조생성물을 노란색 고체로 얻었다. HNMR은 다음 단계 반응을 위해 충분히 순수함을 보여주었다.

[0150] ¹H NMR (400MHz, CDC13) δ 1.36 - 1.56 (m, 4 H), 1.60 - 1.85 (m, 4 H), 1.99 (m, 4 H), 2.78 (m, 2 H), 2.90 (m, 2 H), 3.01 (s, 3 H), 3.26 - 3.39 (m, 4 H), 3.44 (q, J=6.6 Hz, 2 H), 4.23 (t, J=6.5 Hz, 2 H), 7.02 (s, 1 H), 8.61 (s, 1 H), 8.88 (br d, J=4.9 Hz, 1 H).

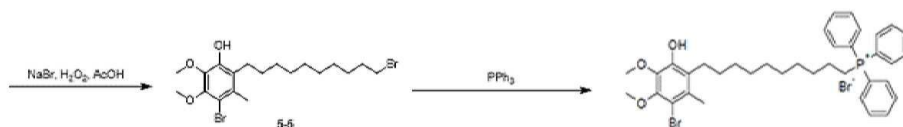
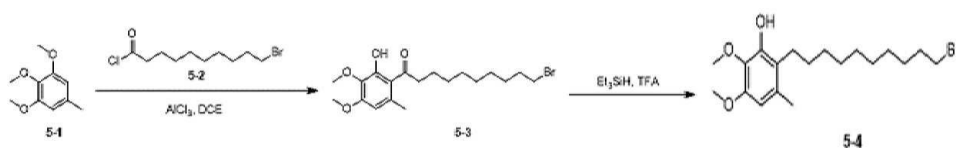
[0151] 단계 C. (6-(11-옥소-2,3,5,6,7,11-헥사하이드로-1H-피라노[2,3-f]피리도 [3,2,1-ij]퀴놀린-10-카르복사미도)헥실)트리페닐포스포늄 메탄 설포네이트

[0152] 6-[(21-옥소-29-옥사-24-아자테트라사이클로헵타데카-1(15),2(17),16(19),18(20)-테트라엔-17-카르보닐)아미노]헥실 메탄 설포네이트 (97 mg, 203.41 μ mol)가 완전히 5 mL의 톨루엔(5 mL) 내 트리페닐포스판 (266.76 mg, 1.02 mmol)과 혼합되었고, 이어서 생성된 용액이 N₂하에 130 ° C에서 18 시간동안 교반되었다. LCMS는 설포네이트가 소모되고 원하는 생성물이 주요 구성물질로 생성되었음을 보여주었다. 반응 혼합물이 실온에서 냉각되고 증발 건조되었다. TLC (DCM : MeOH = 10:1, Rf = 0.24)는 OPPh₃ 아래에 하나의 주요한 새로운 스팟이 형성되었음을 보여주었다. 상기 조생성물은 실리카겔 상에서 플래쉬 컬럼 크로마토그래피(먼저 20분에 걸쳐 50-100% EtOAc in petroleum 로 용리하고 원하는 생성물 위의 모든 불순물을 제거하기 위해 15분 동안 100% 유지하고, 이어서 20분에 걸쳐 0-10% MeOH in DCM 으로 전환하고 20분 동안 10% 유지)로 정제되어 원하는 생성물을 트리페닐포스포늄 메탄설포네이트 염으로 얻었다. 상기 생성물은 추가적으로 동결건조되어 잔류 용매를 제거하여 노란색 고체를 얻었다(106 mg, 145.55 μ mol, 23.85% yield, 98.24% purity).

[0153] MS (ESI): mass calcd. for C₄₀H₄₂N₂O₃P⁺, 629.29; m/z found, 629.5 [M+H]⁺.

[0154] ¹H NMR (400MHz, MeOD) δ 1.45 (m, 2 H), 1.52 - 1.78 (m, 6 H), 1.90 - 2.04 (m, 4 H), 2.69 (s, 3 H), 2.74 - 2.87 (m, 4 H), 3.34 - 3.50 (m, 8 H), 7.08 (s, 1 H), 7.62 - 7.97 (m, 15 H), 8.44 (s, 1 H), 9.04 (br s, 1 H); ³¹P NMR (162 MHz, METHANOL-d₄) δ ppm 23.81 (s, 1 P).

[0155] 1-2. (10-(3-브로모-4,5,6-트리메톡시-2-메틸페닐)데실)트리페닐포스포늄 브로마이드 합성



[0157]

[0158] 단계 A. 10-브로모-1-(2-하이드록시-3,4-디메톡시-6-메틸-페닐)데칸-1-온

[0159] 새로 분말화된 AlCl₃ (457.89 mg, 3.43 mmol)를 건조 DCE(10mL) 내 10-브로모데카노일 클로라이드(0.536 g, 1.89 mmol) 및 1,2,3-트리메톡시-5-메틸-벤젠 (312.86 mg, 1.72 mmol)에 첨가하고, 25°C에서 40hr 동안 교반되었다. LCMS는 원하는 생성물이 주요 구성요소로 형성되었음을 보여주었다. 혼합물이 얼음물에 부어지고 CH₂Cl₂(50mL*2)로 추출되었다. 합한 추출물이 물로 세척되고, Na₂SO₄로 건조되고 농축되어 오일이 얻어졌으며,

이를 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 10:0 to 10:1 Petroleum ether/EtOAc)로 정제하여 무색 오일(520 mg, 66.56% yield)이 얻어졌다.

[0160] MS (ESI): mass calcd. for C₁₉H₂₉BrO₄, 400.12; m/z found, 402.8 [M+H]⁺.

[0161] ¹H NMR (400MHz, CDC13) δ 1.21 - 1.55 (m, 10 H), 1.56 - 1.78 (m, 2 H), 1.85 (m, 2 H), 2.46 (s, 3 H), 2.89 (t, J=7.4 Hz, 2 H), 3.41 (t, J=6.8 Hz, 2 H), 3.88 (d, J=12.3 Hz, 6 H), 6.31 (s, 1 H), 10.38 (s, 1 H).

[0162] 단계 B. 2-(10-브로모데실)-5,6-디메톡시-3-메틸-페놀

[0163] 10-브로모-1-(2-히드록시-3,4-디메톡시-6-메틸-페닐)데칸-1-온 (520 mg, 1.14 mmol)이 TFA (10 mL)에 용해되었고, 이어서 Et₃SiH (2 mL)이 첨가되고, 이어서 80 ° C에서 12시간 동안 교반되었다. LCMS는 스타팅 케톤이 소모되고 하나의 새로운 피크가 형성됨을 보여주었다. 반응 혼합물을 증발 건조시키고, 이를 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 5:0 to 5:1 Petroleum ether/ EtOAc)로 정제하여 무색 오일(410 mg, 82.34% yield)을 얻었다.

[0164] MS (ESI): mass calcd. for C₁₉H₃₁BrO₃, 386.15; m/z found, 388.9 [M+H]⁺.

[0165] ¹H NMR (400MHz, CDC13) δ 1.22 - 1.55 (m, 14 H), 1.86 (quin, J=7.1 Hz, 2 H), 2.26 (s, 3 H), 2.51 - 2.65 (m, 2 H), 3.42 (t, J=6.9 Hz, 2 H), 3.86 (m, 6 H), 5.82 (s, 1 H), 6.29 (s, 1 H).

[0166] 단계 C. 4-브로모-2-(10-브로모데실)-5,6-디메톡시-3-메틸-페놀

[0167] 2-(10-브로모데실)-5,6-디메톡시-3-메틸-페놀(410 mg, 940.98 μmol) 및 NaBr (145.23 mg, 1.41 mmol)이 AcOH (10 mL)에서 용해되고, 이어서 H₂O₂ (160.04 mg, 1.41 mmol, 30%)가 25° C에서 첨가되고, 이어서 2시간 동안 교반되었다. LCMS는 스타팅 물질이 소모되고 새로운 피크가 형성되었음을 보여주었다. 반응 혼합물을 물(50 mL)로 웬칭하였고, EtOAc (40 mL x 2)로 추출하였다. 합한 유기층을 pH > 7까지 포화 NaHCO₃ (40 mL)로 세척하였고, 이어서 Na₂SO₄으로 건조하고, 무색오일(300 mg, crude)로 농축되었다.

[0168] MS (ESI): mass calcd. for C₁₉H₃₀Br₂O₃, 464.06; m/z found, 466.9 [M+H]⁺.

[0169] ¹H NMR (400MHz, CDC13) δ 1.22 - 1.55 (m, 14 H), 1.86 (quin, J=7.1 Hz, 2 H), 2.26 (s, 3 H), 2.51 - 2.65 (m, 2 H), 3.42 (t, J=6.9 Hz, 2 H), 3.85 (s, 3 H), 3.93 (s, 3 H), 5.77 (s, 1 H).

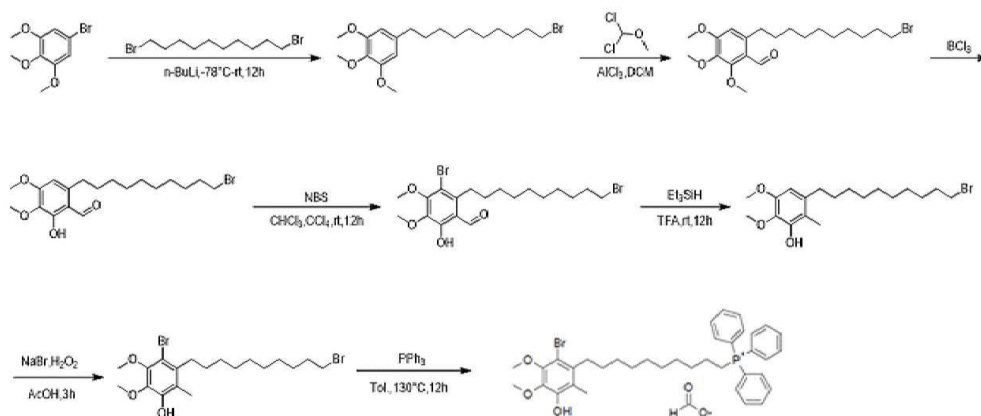
[0170] 단계 D. (10-(3-브로모-4,5,6-트리메톡시-2-메틸페닐)데실)트리페닐포스포늄 브로마이드

[0171] 4-브로모-2-(10-브로모데실)-5,6-디메톡시-3-메틸-페놀 (300 mg, 597.11 μmol) 및 PPh₃ (939.68 mg, 3.58 mmol) 톨루엔 (1 mL)에서 용해되었고, 이어서 N₂하에서 130° C에서 18시간 동안 교반되었다. TLC (DCM: MeOH = 10:1, R_f = 0.2)는 하나의 메인 피크가 OPPh₃ 아래에 형성되었음을 보여주었다. 반응 혼합물을 증발시켜 갈색 잔류물을 얻었고, 이를 Prep-HPLC (Column: 3_Phenomenex Luna C18 75*30mm*3μm; mobile phase: [water(0.2%FA)-ACN]; B%: 52%-82%, 6 min)로 정제하였다. 원하는 생성물이 동결 건조 후 백색 고체로 얻어졌다(16 mg, 12.24% yield, 97.2% purity).

[0172] MS (ESI): mass calcd. for C₃₇H₄₅BrO₃P⁺, 647.23; m/z found, 649.3 [M+H]⁺.

[0173] ¹H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-d) δ 1.13 - 1.70 (m, 16 H), 2.34 (s, 3 H), 2.56 - 2.76 (m, 2 H), 3.65 - 3.79 (m, 2 H), 3.68 - 3.77 (m, 1 H), 3.83 (s, 3 H), 3.88 (s, 3 H), 7.61 - 7.93 (m, 15 H), 8.76 (s, 1 H); ³¹P NMR (162 MHz, CHLOROFORM-d) δ 24.47 (s, 1 P).

[0174] 1-3. (10-(2-브로모-5-히드록시-3,4-디메톡시-6-메틸페닐)데실)트리페닐포스포늄 포르메이트 합성



[0176]

[0177] 단계 A. 5-(10-브로모데실)-1,2,3-트리메톡시-벤젠

[0178] THF (20 mL) 내 5-브로모-1,2,3-트리메톡시-벤젠 (1.3 g, 5.26 mmol, 1 eq)의 용액에 n-BuLi (2.5 M, 2.10 mL, 1 eq)이 -78 ° C에서 적가되었다. 첨가 후, 혼합물이 그 온도에서 1시간 동안 교반되었고, 이어서 THF (10 mL) 내 1,10-디브로모데칸 (3.16 g, 10.52 mmol, 2 eq) 용액이 -78 ° C에서 적가되었다. 생성된 혼합물이 20 ° C에서 11시간 동안 교반되었다. LCMS는 원하는 질량의 50.6%가 검출되었음을 보여주었다. 잔류물이 sat.NH₄Cl (10 mL)로 희석되고 EtOAc (50 mL * 3)로 추출되었다. 합한 유기층이 Na₂SO₄상에서 건조되었고, 감압 하에서 여과 농축되어 잔류물이 얻어졌다. 잔류물이 컬럼 크로마토그래피로 정제되었다(SiO₂, Petroleum ether/Ethyl acetate=100/0 to 95/5). 화합물 5-(10-브로모데실)-1,2,3-트리메톡시-벤젠 (580 mg, 1.02 mmol, 19.35% yield, 68% purity)이 무색 오일로 얻어졌다.

[0179] MS (ESI): mass calcd. for C₁₉H₃₁BrO₃, 387.4; m/z found, 387.1 [M+H]⁺.

[0180] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ = 6.40 (s, 2H), 3.86 (s, 6H), 3.83 (s, 3H), 3.42 (t, J=6.8 Hz, 2H), 2.59 - 2.52 (m, 2H), 1.86 (quin, J=7.2 Hz, 2H), 1.60 (br d, J=5.5 Hz, 2H), 1.48 - 1.38 (m, 2H), 1.38 - 1.26 (m, 10H)

[0181] 단계 B. 6-(10-브로모데실)-2,3,4-트리메톡시-벤즈알데히드

[0182] 5-(10-브로모데실)-1,2,3-트리메톡시-벤젠(580 mg, 1.02 mmol, 1 eq)의 건조 CH₂Cl₂ (2 mL) 용액이 AlCl₃ (239 mg, 1.79 mmol, 97.95 uL, 1.76 eq)의 건조 CH₂Cl₂ (8 mL) 용액에 점차적으로 0° C에서 적가하였다. 혼합물을 동일한 온도에서 45분 동안 교반하고, 디클로로 (메톡시)메탄 (188.97 mg, 1.64 mmol, 145.36 uL, 1.61 eq, 68% purity)의 건조 CH₂Cl₂ (2 mL)용액을 여기에 10분에 걸쳐 점진적으로 적가하였다. 혼합물을 0° C에서 2시간 5분 동안 교반하였다. LCMS는 반응이 완료되었음을 보여주었다. 반응 혼합물이 얼음물 30mL에 부어졌고, 메틸렌 클로라이드 상이 분리되었고, 수성상을 50mL의 메틸렌 클로라이드로 2회 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄상에서 건조하고, 감압 하에서 여과 농축하여 잔류물을 얻었다. 조생성물을 추가적인 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. 화합물 6-(10-브로모데실)-2,3,4-트리메톡시-벤즈알데히드 (510 mg, 858.27 umol, 84.29% yield, 69.9% purity)가 무색 오일로 얻어졌다.

[0183] MS (ESI): mass calcd. for C₂₀H₃₁BrO₄, 415.4; m/z found, 415.1 [M+H]⁺.

[0184] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ = 10.41 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.43 (t, J=6.9 Hz, 2H), 2.99 - 2.92 (m, 2H), 1.93 - 1.82 (m, 2H), 1.49 - 1.39 (m, 4H), 1.32 (br s, 10H)

[0185] 단계 C. 6-(10-브로모데실)-2-히드록시-3,4-디메톡시-벤즈알데히드

[0186] BC13 (1 M, 1.9 mL, 2.21 eq)가 CH₂Cl₂ (10 mL) 내 6-(10-브로모데실)-2,3,4-트리메톡시-벤즈알데히드 (510.00 mg, 858.27 umol, 1eq, 69.9% purity)의 용액에 0° C에서 적가되었다. 혼합물이 0° C에서 30분동안 교반되었

고, 20° C에서 30분동안 교반되었다. LCMS는 반응이 완료되었음을 보여주었다. 잔류물이 얼음물(30 mL)에 부어졌고 CH₂Cl₂ (50 mL * 3)로 추출되었다. 합한 유기층이 Na₂SO₄상에서 건조되었고, 감압 하에서 여과 농축하여 잔류물을 얻었다. 잔류물이 컬럼크로마토그래피(SiO₂, Petroleum ether/Ethyl acetate=100/0 to 95/5)로 정제되었다. 화합물 6-(10-브로모데실)-2-히드록시-3,4-디메톡시-벤즈알데히드(300 mg, 583.06 umol, 67.93% yield, 78% purity)가 무색오일로 얻어졌다.

[0187] MS (ESI): mass calcd. for C₁₉H₂₉BrO₄, 401.3; m/z found, 401.1 [M+H]⁺.

[0188] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ = 12.30 - 12.20 (m, 1H), 10.24 - 10.03 (m, 1H), 6.34 (s, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.43 (t, J=6.9 Hz, 2H), 2.90 - 2.83 (m, 2H), 1.88 (quin, J=7.1 Hz, 2H), 1.70 - 1.60 (m, 2H), 1.50 - 1.38 (m, 3H), 1.49 - 1.29 (m, 1H)

[0189] 단계 D. 3-브로모-2-(10-브로모데실)-6-히드록시-4,5-디메톡시-벤즈알데히드

[0190] CHCl₃ (2.5 mL) 및 CCl₄ (2.5 mL) 내 6-(10-브로모데실)-2-히드록시-3,4-디메톡시-벤즈알데히드 (250 mg, 622.92 umol, 1 eq)의 용액에 NBS (133.04 mg, 747.51 umol, 1.2 eq)가 0° C에서 첨가되었다. 혼합물이 0° C에서 1시간 동안 교반 되었다. 이어서 혼합물이 11시간동안 20° C에서 교반되었다. LCMS는 반응이 완료되었음을 보여주었다. 혼합물이 sat. NaHCO₃ (10 mL)으로 희석되었고 EtOAc (20 mL * 3)로 추출되었다. 합한 유기층이 Na₂SO₄상에서 건조되었고, 감압 하에서 여과 농축하여 잔류물을 얻었다. 잔류물을 prep-TLC (SiO₂, Petroleum ether/Ethyl acetate= 4:1)로 정제하였다. 화합물 3-브로모-2-(10-브로모데실)-6-히드록시-4,5-디메톡시-벤즈알데히드(200 mg, 307.77 umol, 49.41% yield, 73.9% purity)를 노란색 오일로 얻었다.

[0191] MS (ESI): mass calcd. for C₁₉H₂₈Br₂O₄, 480.2; m/z found, 481.0 [M+H]⁺.

[0192] 단계 E. 5-(10-브로모데실)-2,3-디메톡시-6-메틸-페놀

[0193] CH₂Cl₂ (4 mL) 내 3-브로모-2-(10-브로모데실)-6-히드록시-4,5-디메톡시-벤즈알데히드(190 mg, 292.38 umol, 1 eq, 73.9% purity) 및 Et₃SiH (169.99 mg, 1.46 mmol, 233.50 uL, 5 eq)의 용액에 0° C에서 TFA (708.40 mg, 6.21 mmol, 460 uL, 21.25 eq)가 5분에 걸쳐 추가 갈때기를 통해 적가되었다. 반응 혼합물이 0° C에서 2시간 동안 교반되었다. LCMS는 반응이 완료되었음을 보여주었다. 혼합물이 천천히 sat. NaHCO₃ (50 mL)에 부어졌고 CH₂Cl₂ 100 mL (100 mL * 3)로 추출하였다. 합한 유기층이 Na₂SO₄상에서 건조되었고, 감압 하에서 여과 농축되어 잔류물이 얻어졌다. 잔류물이 prep-TLC (SiO₂, Petroleum ether: Ethyl acetate=4:1)로 정제되었다. 화합물 5-(10-브로모데실)-2,3-디메톡시-6-메틸-페놀(130 mg, 241.64 umol, 82.65% yield, 72% purity)이 무색오일로 얻어졌다.

[0194] 단계 F. 4-브로모-5-(10-브로모데실)-2,3-디메톡시-6-메틸-페놀

[0195] AcOH (5 mL) 내 5-(10-브로모데실)-2,3-디메톡시-6-메틸-페놀 (130 mg, 241.64 umol, 1 eq, 72%purity) 및 NaBr (37.29 mg, 362.46 umol, 11.65 uL, 1.5 eq)의 교반된 용액에 H₂O₂ (41.09 mg, 362.46 umol, 34.82 uL, 30% purity, 1.5 eq)가 첨가되었고, 이어서 20° C에서 3시간 동안 교반되었다. LCMS는 반응이 완료되었음을 보여주었다. 잔류물이 sat NaHCO₃: Na₂S₂O₃ =10:1 (30) mL으로 희석되었고 EtOAc (30 mL * 3)으로 추출되었다. 합한 유기층이 염수(10 mL)로 세척되고, Na₂SO₄상에서 건조되고, 감압 하에서 여과 농축되어 잔류물이 얻어졌다. 조생성물이 추가 정제없이 다음 단계에서 사용되었다. 화합물 4-브로모-5-(10-브로모데실)-2,3-디메톡시-6-메틸-페놀(140 mg, 195.18 umol, 80.77% yield, 65% purity)이 노란색 오일로 얻어졌다.

[0196] MS (ESI): mass calcd. for C₁₉H₃₀Br₂O₃, 466.3; m/z found, 466.9 [M+H]⁺.

[0197] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ = 5.73 (s, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.34 (t, J=6.9 Hz, 2H), 2.71 - 2.64 (m, 2H), 2.14 (s, 3H), 1.84 - 1.76 (m, 2H), 1.37 (br d, J=4.1 Hz, 7H), 1.24 (br s, 7H)

[0199] 단계 G. (10-(2-브로모-5-히드록시-3,4-디메톡시-6-메틸페닐)데실)트리페닐포스포늄 포르메이트

[0200] 톨루엔 (2 mL) 내 4-브로모-5-(10-브로모데실)-2,3-디메톡시-6-메틸-페놀(140 mg, 195.18 umol, 1 eq, 65%

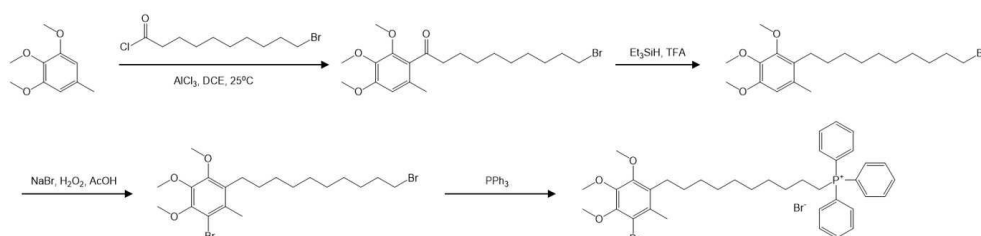
purity) 및 PPh_3 (255.96 mg, 975.88 μmol , 5 eq)의 교반된 용액이 125 ° C에서 N_2 하에서 8시간 가열되었다. LCMS는 반응이 완료되었음을 보여주었다. 용매를 진공하에서 제거하여 잔류물을 얻었다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , Petroleum ether/Ethyl acetate=100/0 to 0/100; Ethyl acetate: MeOH=100/0 to 92/8)로 정제하였다. 잔류물을 prep-HPLC (FA condition; column: Xtimate C18 100*30mm*3 μm ; mobile phase: [water(0.225%FA)-ACN]; B%: 40%-70%, 8min)로 정제하였다. 화합물 (10-(2-브로모-5-히드록시-3,4-디메톡시-6-메틸페닐)데실)트리페닐포스포늄 브로마이드(6 mg, 8.61 μmol , 4.41% yield, 99.54% purity)가 무색 겔으로 얻어졌다.

[0201] MS (ESI): mass calcd. for $\text{C}_{37}\text{H}_{45}\text{BrO}_3\text{P}^+$, 648.6; m/z found, 649.2 [M+H]⁺.

[0202] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 8.56 (br s, 1.309H), 7.78 - 7.59 (m, 15H), 3.84 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.44 (br s, 2H), 2.70 - 2.59 (m, 2H), 2.13 (s, 3H), 1.50 (br s, 4H), 1.40 - 1.12 (m, 12H)

[0203] ^{31}P NMR (162MHz, CDCl_3) δ = 24.17 (s, 1P)

[0204] 1-4. (10-(3-브로모-4,5,6-트리메톡시-2-메틸페닐)데실)트리페닐포스포늄 브로마이드 합성



[0205]

[0206] 단계 A. 10-브로모-1-(2,3,4-트리메톡시-6-메틸-페닐)데칸-1-온

[0207] DCE (10 mL) 내 4-브로모-1,2,3-트리메톡시-5-메틸-벤젠(449.11 mg, 1.72 mmol) 및 10-브로모데카노일 클로라이드(536.94 mg, 1.89 mmol)의 교반된 용액에 AlCl_3 (206.41 mg, 1.55 mmol)이 첨가되었고, 이어서 25 ° C에서 18시간 동안 교반되었다. LCMS는 원하는 생성물이 주요 구성물질로 형성되었음을 보여주었다. TLC (Petroleum ether : EtOAc = 3:1, R_f = 0.4)는 하나의 주요 새로운 스팟이 형성되었음을 보여주었다. 반응 혼합물이 얼음물에 부어졌고 DCM (30 mL x3)으로 추출되었고, 이어서 Na_2SO_4 상에서 건조되었고, 농축되어 노란색 오일이 얻어졌고, 이는 실리카겔에서 플래쉬 컬럼으로 정제되어(0-100% EtOAc in petroleum ether over 30 min)무색 오일이 얻어졌다(215 mg, 29.1% yield).

[0208] MS (ESI): mass calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{BrO}_4$, 414.14; m/z found, 416.8 [M+H]⁺.

[0209] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 1.32 (m, 8 H), 1.38 - 1.49 (m, 2 H), 1.67 (m, 2 H), 1.86 (quin, J=7.2 Hz, 2 H), 2.19 (s, 3 H), 2.75 (t, J=7.4 Hz, 2 H), 3.41 (t, J=6.9 Hz, 2 H), 3.77 - 3.92 (m, 9 H), 6.48 (s, 1 H).

[0211] 단계 B. 4-(10-브로모데실)-1,2,3-트리메톡시-5-메틸-벤젠

[0212] TFA (10 mL) 내 10-브로모-1-(2,3,4-트리메톡시-6-메틸-페닐)데칸-1-온 (210 mg, 455.03 μmol)의 교반된 용액에 Et_3SiH (1.46 g, 12.52 mmol, 2 mL)이 25 ° C에서 첨가되었고, 이어서 2시간 동안 80° C에서 교반되었다. LCMS는 원하는 생성물이 주요 구성물질로 생성되었음을 보여주었다. TLC (petroleum ether: EtOAc = 4:1, R_f =0.45)는 하나의 주요 새로운 스팟이 형성되었음을 보여주었다. 반응 혼합물을 진공하에 증발 건조시켜 무색 오일이 얻어졌고, 이는 실리카겔에서 플래쉬컬럼 크로마토그래피로 추가 정제되었다(25 g, 0-50% EtOAc in petroleum ether over 30 min). 원하는 생성물 4-(10-브로모데실)-1,2,3-트리메톡시-5-메틸-벤젠(118 mg, 250.93 μmol , 55.15% yield)이 무색 오일로 얻어졌다.

[0213] MS (ESI): mass calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{BrO}_3$, 400.16; m/z found, 403.0 [M+H]⁺.

[0214] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 1.20 - 1.54 (m, 14 H), 1.77 - 1.96 (m, 2 H), 2.27 (s, 3 H), 2.46 - 2.64 (m,

2 H), 3.42 (t, J=6.8 Hz, 2 H), 3.76 - 3.97 (m, 9 H), 6.49 (s, 1 H).

[0216] 단계 C. 1-브로모-5-(10-브로모데실)-2,3,4-트리메톡시-6-메틸-벤젠

[0217] AcOH (5 mL) 내 4-(10-브로모데실)-1,2,3-트리메톡시-5-메틸-벤젠 (118 mg, 250.93 μ mol) 및 NaBr (38.73 mg, 376.39 μ mol)의 교반된 용액에 H₂O₂ (42.68 mg, 376.39 μ mol)가 첨가되었고, 이어서 25 ° C에서 2시간 동안 교반되었다. LCMS는 원하는 생성물이 주요 구성물질로 형성되었음을 보여주었다. 반응 혼합물을 EtOAc/H₂O(80 mL/60 mL)사이에서 분배하였다. 유기층을 pH >7까지 sat. aq. NaHCO₃ (60 mL)으로 세척하였다. 수집된 유기층을 Na₂SO₄상에서 건조하고, 농축하여 노란색 오일(140 mg, crude)을 얻었다. HNMR은 다음 단계에 충분한 순도로 원하는 생성물과 일치함을 보여주었다.

[0218] MS (ESI): mass calcd. for C₂₀H₃₂Br₂O₃, 478.07; m/z found, 481.0 [M+H]⁺.

[0219] ¹H NMR (400MHz, CDC13) δ 1.20 - 1.52 (m, 14 H), 1.78 - 1.94 (m, 2 H), 2.36 (s, 3 H), 2.62 (m, 2 H), 3.42 (t, J=6.9 Hz, 2 H), 3.81 - 3.98 (m, 9 H).

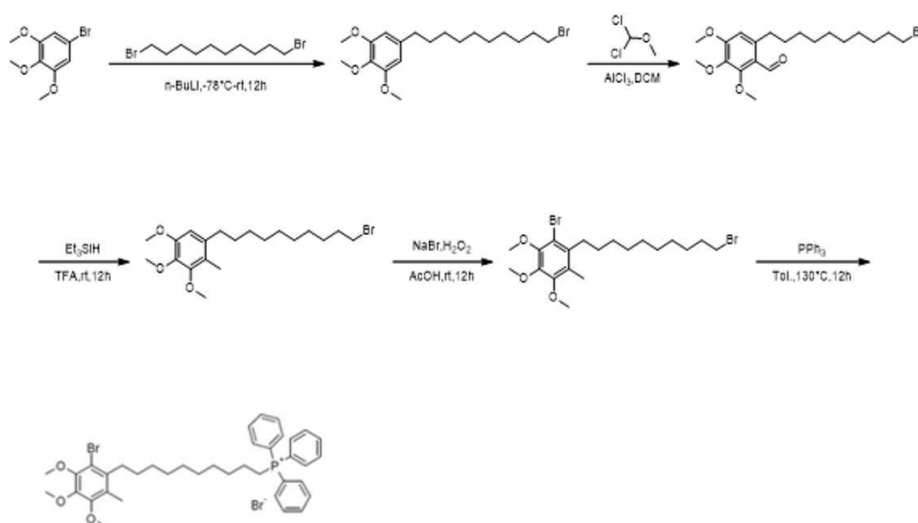
[0221] 단계 D. (10-(3-브로모-4,5,6-트리메톡시-2-메틸페닐)데실)트리페닐포스포늄 브로마이드

[0222] 톨루엔 (1 mL) 내 1-브로모-5-(10-브로모데실)-2,3,4-트리메톡시-6-메틸-벤젠 (140 mg, 279.13 μ mol) 및 PPh₃ (366.06 mg, 1.40 mmol)의 교반된 용액을 130 ° C에서 N₂하에 18시간동안 가열하였다. LCMS는 원하는 생성물이 형성되었음을 보여주었다. TLC(DCM: MeOH = 10:1, R_f = 0.2)는 OPPh₃하에 주요한 새로운 피크가 형성되었음을 보여주었다. 반응 혼합물을 증발시켜 갈색 잔류물을 얻었고, 이는 실리카겔 상에서 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제되었다(25 g, 0-15% MeOH in DCM over 30 min). 원하는 생성물이 동결건조 후에 백색 고체로 얻어졌다 (108.5 mg, 51.41% yield, 98.2% purity).

[0223] MS (ESI): mass calcd. for C₃₈H₄₇BrO₃P⁺, 661.24; m/z found, 663.3 [M+H]⁺.

[0224] ¹H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-d) δ 1.12 - 1.50 (m, 12 H), 1.64 (m, 4 H), 2.34 (s, 3 H), 2.52 - 2.71 (m, 2 H), 3.77 - 3.97 (m, 11 H), 7.60 - 7.97 (m, 15 H); ³¹P NMR (162 MHz, CHLOROFORM-d) δ 24.53 (s, 1 P).

[0225] 1-5. (10-(2-브로모-3,4,5-트리메톡시-6-메틸페닐)데실)트리페닐포스포늄 브로마이드 합성



[0226]

[0227] 단계 A. 5-(10-브로모데실)-1,2,3-트리메톡시-벤젠

[0228] THF (30 mL) 내 5-브로모-1,2,3-트리메톡시-벤젠 (2 g, 8.09 mmol, 1 eq)의 용액에 n-BuLi (2.5 M, 3.24 mL, 1

eq)을 -78 ° C에서 적가하였다. 첨가 후, 혼합물을 그 온도에서 1시간동안 교반하였고, 이어서 THF (10 mL) 내 1,10-디브로모데칸 (4.86 g, 16.19 mmol, 2 eq) 용액을 -78 ° C에서 적가하였다. 생성된 혼합물을 20 ° C에서 11시간 동안 교반하였다. LCMS는 원하는 질량의 20%가 검출되었음을 보여주었다. 잔류물은 sat.NH₄Cl (10 mL)로 희석되었고 EtOAc (50 mL * 3)로 추출되었다. 합한 유기층은 Na₂SO₄상에서 건조되었고, 여과되었고 감압 하에서 농축되어 잔류물이 얻어졌다. 잔류물이 컬럼크로마토그래피(SiO₂, Petroleum ether/Ethyl acetate=100/0 to 95/5)로 정제되었다. 화합물 5-(10-브로모데실)-1,2,3-트리메톡시-벤젠 (430 mg, 395.86 umol, 4.89% yield, 35.66% purity)이 무색 오일로 얻어졌다.

[0229] MS (ESI): mass calcd. for C₁₉H₃₁BrO₃, 387.4; m/z found, 389.1 [M+H]⁺.

[0230] 단계 B. 6-(10-브로모데실)-2,3,4-트리메톡시-벤즈알데히드

[0231] 5-(10-브로모데실)-1,2,3-트리메톡시-벤젠 (430 mg, 395.86 umol, 1 eq, 35.66% purity)의 건조 CH₂Cl₂ (2 mL) 용액에 AlCl₃ (178 mg, 1.33 mmol, 72.95 uL, 3.37 eq)의 건조 CH₂Cl₂ (6 mL) 용액이 점진적으로 0° C에서 적가되었다. 혼합물이 같은 온도에서 45분 동안 교반되었고, 디클로로(메톡시)메탄 (140 mg, 1.22 mmol, 107.69 uL, 3.08 eq)의 건조 CH₂Cl₂ (2 mL)용액이 10분에 걸쳐 점진적으로 적가되었다. 혼합물이 0° C에서 2시간 5분 동안 교반되었다. LCMS 는 반응이 완료되었음을 보여주었다. 반응 혼합물이 얼음물 30 mL에 부어졌고, 메틸렌 클로라이드 상이 분리되고, 수성 상이 50 mL의 메틸렌 클로라이드로 2번 추출되었다. 합한 유기층이 Na₂SO₄상에서 건조되었고, 여과되고 감압 하에서 농축되어 잔류물이 얻어졌다. 조생성물이 추가의 정제없이 다음 단계에 사용되었다. 화합물 6-(10-브로모데실)-2,3,4-트리메톡시-벤즈알데히드(410 mg, 384.97 umol, 97.25% yield, 39% purity)를 무색 오일로 얻었다.

[0232] MS (ESI): mass calcd. for C₂₀H₃₁BrO₄, 415.4; m/z found, 415.2 [M+H]⁺.

[0234] 단계 C. 1-(10-브로모데실)-3,4,5-트리메톡시-2-메틸-벤젠

[0235] 6-(10-브로모데실)-2,3,4-트리메톡시-벤즈알데히드(410 mg, 384.97 umol, 1 eq, 39% purity) 및 Et₃SiH (447.64 mg, 3.85 mmol, 614.89 uL, 10 eq)의 혼합물에 TFA (3 mL)가 첨가되었다. 혼합물은 20 ° C에서 12시간 동안 교반되었다. LCMS는 반응이 완료되었음을 보여주었다. 혼합물이 천천히 sat. NaHCO₃ (50 mL)에 부어지고 CH₂Cl₂ (50 mL*3)로 추출되었다. 합한 유기층이 Na₂SO₄상에서 건조되었고, 여과되고 감압 하에서 농축되어 잔류물이 얻어졌다. 잔류물이 prep-TLC (SiO₂, Petroleum ether/Ethyl acetate = 4:1)로 정제되었다. 화합물 1-(10-브로모데실)-3,4,5-트리메톡시-2-메틸-벤젠 (120 mg, 152.18 umol, 39.53% yield, 50.9% purity)이 무색 오일로 얻어졌다.

[0236] MS (ESI): mass calcd. for C₂₀H₃₃BrO₃, 401.4; m/z found, 402.8 [M+H]⁺.

[0238] 단계 D. 1-브로모-2-(10-브로모데실)-4,5,6-트리메톡시-3-메틸-벤젠

[0239] AcOH (4 mL) 내 1-(10-브로모데실)-3,4,5-트리메톡시-2-메틸-벤젠 (120 mg, 152.18 umol, 1 eq, 50.9% purity) 및 NaBr (15.66 mg, 152.18 umol, 4.89 uL, 1 eq)의 교반된 용액에 H₂O₂ (17.25 mg, 152.18 umol, 14.62 uL, 30% purity, 1 eq)이 첨가되었고, 이어서 20 ° C에서 12시간 동안 교반되었다. LCMS는 반응이 완료되었음을 보여주었다. 잔류물을 sat NaHCO₃: Na₂S₂O₃ =10:1 (30) mL으로 희석하고 EtOAc (30 mL * 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(10 mL)로 세척하고, Na₂SO₄상에서 건조하였고, 여과하고 감압 하에서 농축하여 잔류물을 얻었다. 조생성물을 추가의 정제없이 다음 단계에서 사용하였다. 화합물 1-브로모-2-(10-브로모데실)-4,5,6-트리메톡시-3-메틸-벤젠 (130 mg, crude)을 노란색 오일로 얻었다.

[0240] MS (ESI): mass calcd. for C₂₀H₃₂Br₂O₃, 480.3; m/z found, 480.9 [M+H]⁺.

[0242] 단계 E. 1-브로모-2-(10-브로모데실)-4,5,6-트리메톡시-3-메틸-벤젠

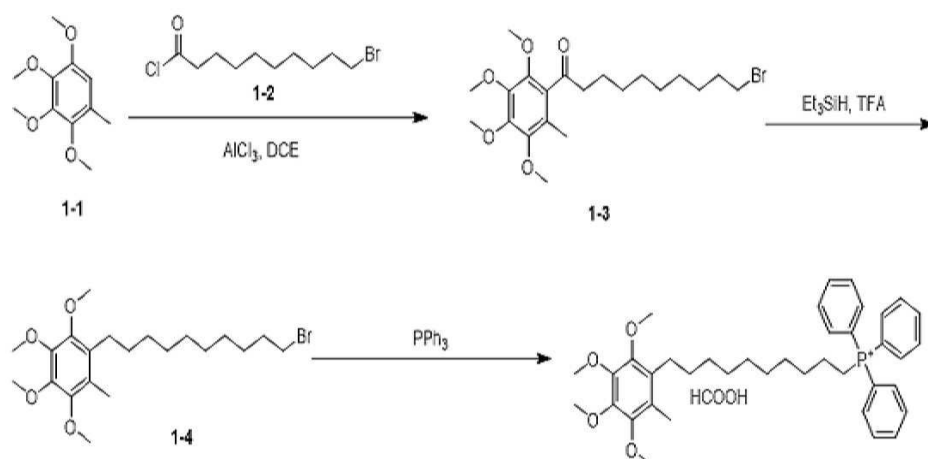
[0243] 톨루엔 (2 mL) 내 1-브로모-2-(10-브로모데실)-4,5,6-트리메톡시-3-메틸-벤젠 (130 mg, 162.41 umol, 1 eq,

60% purity) 및 PPh_3 (212.99 mg, 812.04 μmol , 5 eq)의 교반된 용액이 125 ° C에서 N_2 하에 12시간동안 가열되었다. LCMS는 반응이 완료되었음을 보여주었다. 용매를 진공하에 제거하여 잔류물을 얻었다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피 (SiO_2 , Petroleum ether/Ethyl acetate=100/0 to 0/100; Ethyl acetate:MeOH=100/0 to 92/8)로 정제하였다. 화합물 1-브로모-2-(10-블라히테실)-4,5,6-트리메톡시-3-메틸-벤젠 (30 mg, 39.69 μmol , 24.44% yield, 98.234% purity)을 무색 오일로 얻었다.

[0244] MS (ESI): mass calcd. for $\text{C}_{38}\text{H}_{47}\text{BrO}_3\text{P}^+$, 662.7; m/z found, 663.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0245] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 7.93 - 7.66 (m, 15H), 3.94 - 3.78 (m, 11H), 2.78 - 2.67 (m, 2H), 2.22 (s, 3H), 1.64 (br s, 4H), 1.50 - 1.34 (m, 4H), 1.25 (br d, J=10.1 Hz, 8H) ^{31}P NMR (162MHz, CDCl_3) δ = 24.54 (s, 1P)

[0246] 1-6.포름산, 트리페닐(10-(2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸페닐)데실)포스포늄 염 합성



[0247] 단계 A. 10-브로모-1-(2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸-페닐)데칸-1-온

[0249] DCE (15 mL) 내 1,2,3,4-테트라메톡시-5-메틸-벤젠(710 mg, 3.35 mmol, 1 eq) 및 10-브로모데카노일 클로라이드(992.09 mg, 3.68 mmol, 1.1 eq)의 교반된 용액에 AlCl_3 (401.45 mg, 3.01 mmol, 164.53 μL , 0.9 eq)이 첨가되고 이어서 25 ° C에서 18시간 동안 교반되었다. LCMS는 스타팅 물질이 완전히 소모되었음을 보여주었다. 반응 혼합물이 DCM (15ml*3)으로 10ml H_2O 로 추출되었다. 이어서 합한 유기층이 증발 건조되어 생성물이 얻어졌다. 잔류물이 플래쉬 실리카 겔 크로마토그래피(ISCO®; 20 g SepaFlash® Silica Flash Column, Eluent of 15-20% Ethyl acetate/Petroleum ethergradient @ 45 mL/min)로 정제되었다. 화합물 10-브로모-1-(2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸-페닐)데칸-1-온 (800 mg, crude)이 노란색 오일로 얻어졌다.

[0250] MS (ESI): mass calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{BrO}_5$, 444.15; m/z found, 445.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0252] 단계 B. 1-(10-브로모데실)-2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸-벤젠

[0253] TFA (15 mL) 내 10-브로모-1-(2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸-페닐)데칸-1-온 (350 mg, 785.83 μmol , 1 eq)의 교반된 용액에 트리에틸실란(2.55 g, 21.91 mmol, 3.50 mL, 27.89 eq)이 25° C에서 첨가되었고, 이어서 2시간 동안 80 ° C에서 교반되었다. LCMS는 스타팅 물질이 완전히 소모되었음을 보여주었다. 반응 혼합물이 진공하여 농축되어 조생성물이 얻어졌다. 잔류물이 플래쉬 실리카 겔 크로마토그래피(ISCO®; 40 g SepaFlash® Silica Flash Column, Eluent of 15-20% Ethyl acetate/Petroleum ethergradient @ 45 mL/min)로 정제되었다. 화합물 1-(10-브로모데실)-2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸-벤젠 (150 mg, 347.70 μmol , 44.25% yield)을 무색 오일로 얻었다.

[0254] MS (ESI): mass calcd. for $C_{21}H_{35}BrO_4$, 430.17; m/z found, 433.2 [M+3]⁺.

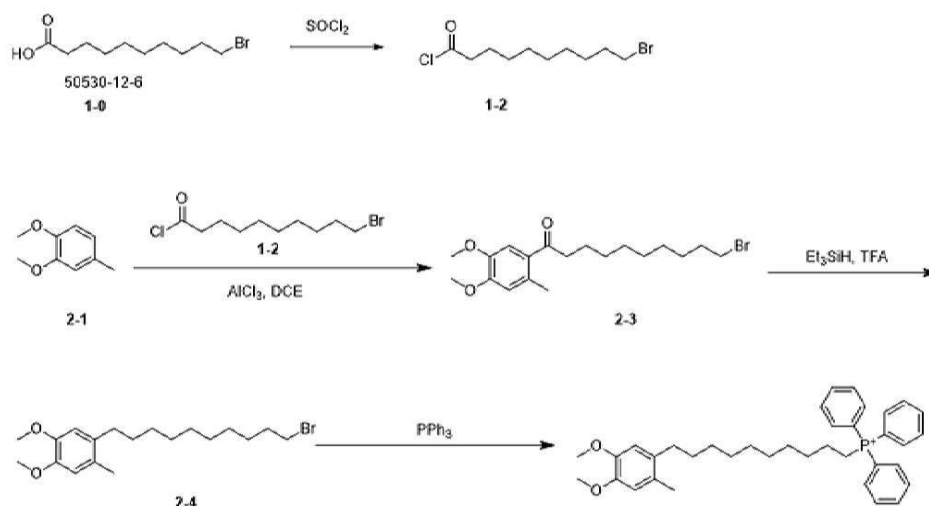
[0256] 단계 C. 포름산, 트리페닐 (10-(2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸페닐)데실) 포스포늄 염

[0257] 톨루엔 (1 mL) 내 1-(10-브로모데실)-2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸-벤젠 (130 mg, 301.34 μ mol, 1 eq) 및 PPh₃ (344.51 mg, 1.31 mmol, 4.36 eq)의 교반된 용액을 130 ° C에서 N₂하에 18시간 동안 가열하였다. LCMS는 스타팅 물질이 완전히 소모되었음을 보여주었다. 반응 혼합물이 진공하에 농축되어 조생성물이 얻어졌다. 잔류물이 prep-HPLC (FA condition).column: Xtimate C18 100*30mm*10 μ m;mobile phase: [water(0.225%FA)-ACN];B%: 40%-70%,10min로 정제되었다. 화합물 트리페닐-[10-(2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸-페닐)데실]포스포늄(64.7 mg, 103.30 μ mol, 34.28% yield, 98% purity)이 노란색 오일로 얻어졌다.

[0258] MS (ESI): mass calcd. for $C_{39}H_{50}O_4P^+$, 613.34; m/z found, 613.6 [M+H]⁺.

[0259] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.17 - 1.37 (m, 12 H) 1.40 - 1.59 (m, 4 H) 2.04 - 2.11 (m, 3 H) 2.49 (br s, 2 H) 3.55 - 3.60 (m, 2 H) 3.65 - 3.68 (m, 3H) 3.69 - 3.72 (m, 3 H) 3.76 - 3.81 (m, 6 H) 7.72 - 7.84 (m, 12 H) 7.87 - 7.97 (m, 3 H) 8.21 - 8.43 (m, 1 H)

[0260] 1-7.포름산, (10-(4,5-디메톡시-2-메틸페닐)데실)트리페닐포스포늄 염 합성



[0262]

[0263] 단계 A. 10-브로모데카노일 클로라이드

[0264] DCM (4 mL) 내 10-브로모데칸 산(500 mg, 1.99 mmol, 1 eq)의 혼합물에 SOCl₂ (947.36 mg, 7.96 mmol, 577.66 μ L, 4 eq)가 첨가되었다. 반응 혼합물이 25 ° C에서 2시간 동안 교반되었다. TLC는 스타팅물질이 완전히 소모되었음을 보여주었다. 반응 혼합물이 진공하에서 농축되었다. 조생성물은 정제하지 않았다. 화합물 10-브로모데카노일 클로라이드(500 mg, crude)가 주황색 오일로 얻어졌다.

[0265] 단계 B. 10-브로모-1-(4,5-디메톡시-2-메틸페닐)데칸-1-온

[0266] DCE (10 mL) 내 1,2-디메톡시-4-메틸-벤젠 (250 mg, 1.64 mmol, 1 eq) 및 10-브로모데카노일 클로라이드 (487.17 mg, 1.81 mmol, 1.1 eq) 용액에 AlCl₃ (197.13 mg, 1.48 mmol, 80.79 μ L, 0.9 eq)가 첨가되었다. 혼합물이 25 ° C에서 16시간 동안 교반되었다. LCMS는 스타팅물질이 완전히 소모되었음을 보여주었다. 반응 혼합물이 H₂O (10 mL)로 퀀팅되었고 혼합물이 여과되었다. 반응 여과물이 DCM (20 mL*3)으로 추출되었다. 유기층이 분리되었고, Na₂SO₄상에서 건조되고, 여과되고 감압 하에서 농축되어 잔류물을 얻었다. 잔류물이 플래쉬 실리카 겔 크로마토그래피(ISCO®; 12 g SepaFlash® Silica Flash Column, Eluent of 0~20% Ethyl acetate/Petroleum ethergradient @ 80 mL/min)로 정제되었다. 화합물 10-브로모-1-(4,5-디메톡시-2-메틸-페닐)데칸-1-온 (300

mg, 737.59 μmol , 44.90% yield, 94.740% purity)이 백색 고체로 얻어졌다.

[0267] MS (ESI): mass calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{BrO}_3$, 384.13; m/z found, 387.0 $[\text{M}+3]^+$.

[0268] ^1H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-d) δ ppm 1.32 - 1.38 (m, 2 H) 1.52 - 1.69 (m, 4 H) 1.78 (quin, $J=7.13$ Hz, 4 H) 2.28 (t, $J=7.50$ Hz, 2 H) 2.42 (s, 3 H) 2.79 (t, $J=7.38$ Hz, 2 H) 3.33 (t, $J=6.82$ Hz, 2 H) 3.84 (d, $J=4.25$ Hz, 6 H) 6.59 - 6.70 (m, 1 H) 7.10 - 7.17 (m, 1 H)

[0270] 단계 C. 1-(10-브로모데실)-4,5-디메톡시-2-메틸벤젠

[0271] TFA (10 mL) 내 10-브로모-1-(4,5-디메톡시-2-메틸-페닐)데칸-1-온 (250 mg, 648.79 μmol , 1 eq)의 용액에 Et_3SiH (1.82 g, 15.65 mmol, 2.50 mL, 24.13 eq)이 첨가되었다. 혼합물이 80 ° C에서 2시간 동안 교반되었다. LCMS는 스타팅물질이 완전히 소모되었음을 보여주었다. 반응 혼합물이 진공하에서 농축되어 조생성물이 얻어졌다. 잔류물이 플래쉬 실리카겔 크로마토그래피(ISCO®; 20 g SepaFlash® Silica Flash Column, Eluent of 0~15% Ethyl acetate/Petroleum ether gradient @ 80 mL/min)로 정제되었다. 화합물 1-(10-브로모데실)-4,5-디메톡시-2-메틸-벤젠 (130 mg, 350.07 μmol , 53.96% yield)이 무색오일로 얻어졌다.

[0272] MS (ESI): mass calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{BrO}_2$, 370.15; m/z found, 371.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0273] ^1H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-d) δ ppm 1.14 - 1.35 (m, 12 H) 1.41 (dt, $J=15.10$, 7.65 Hz, 2 H) 1.73 (quin, $J=7.16$ Hz, 2 H) 2.09 - 2.19 (m, 3 H) 2.36 - 2.43 (m, 2 H) 3.28 (t, $J=6.82$ Hz, 2 H) 3.72 (d, $J=3.13$ Hz, 6 H) 6.43 - 6.62 (m, 2 H)

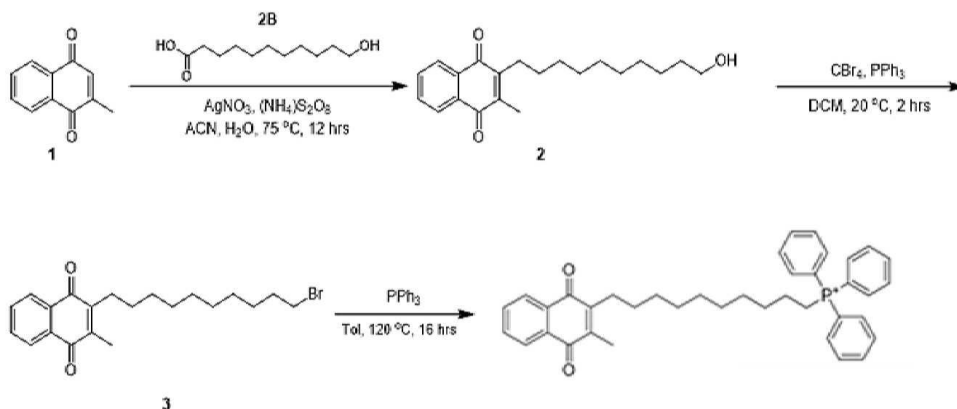
[0275] 단계 D. 포름산, (10-(4,5-디메톡시-2-메틸페닐)데실)트리페닐포스포늄 염

[0276] 톨루엔 (5 mL) 내 1-(10-브로모데실)-4,5-디메톡시-2-메틸-벤젠 (100 mg, 269.29 μmol , 1 eq)의 용액에 PPh_3 (353.16 mg, 1.35 mmol, 5 eq)이 첨가되었다. 혼합물이 130 ° C에서 24시간 동안 교반되었다. LCMS는 스타팅물질이 완전히 소모되었음을 보여주었다. 반응 혼합물이 진공하에서 농축되어 조생성물이 얻어졌다. 잔류물이 prep-HPLC (FA condition:column: Phenomenex Luna C18 75*30mm*3um;mobile phase: [water(0.225%FA)-ACN];B%: 35%-70%,35min)로 정제되어 원하는 화합물(40 mg, purity 93.747%)이 백색 고체로 얻어졌고, 이는 prep-HPLC (condition: column: Phenomenex Luna C18 75*30mm*3um;mobile phase: [water(0.225%FA)-ACN];B%: 35%-70%,35min)로 추가로 분리되었다. 화합물 10-(4,5-디메톡시-2-메틸-페닐)데실-트리페닐-포스포늄 (17 mg, 27.41 μmol , 10.18% yield, 96.703% purity, FA)이 무색 오일로 얻어졌다.

[0277] MS (ESI): mass calcd. for $\text{C}_{37}\text{H}_{46}\text{O}_2\text{P}^+$, 553.32; m/z found, 553.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0278] ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1.16 - 1.31 (m, 10 H) 1.38 - 1.60 (m, 6 H) 2.16 (s, 3 H) 2.40 - 2.48 (m, 2 H) 3.56 - 3.60 (m, 2 H) 3.69 (d, $J=2.75$ Hz, 6 H) 6.68 (s, 1 H) 6.72 (s, 1 H) 7.74 - 7.85 (m, 12 H) 7.87 - 7.94 (m, 3 H) 8.44 (s, 1 H)

[0279] 1-8.(10-(3-메틸-1,4-디옥소-1,4-디하이드로나프탈렌-2-일)데실)트리페닐포스포늄 합성



[0281]

[0282] 화합물 2의 제조 절차

[0283]

Cpd.1 (10.0 g, 58.0 mmol, 1.00 eq) 및 Cpd.2B (12.9 g, 63.8 mmol, 1.10 eq)를 첨가하고, AgNO₃ (9.87 g, 58.0 mmol, 1.00 eq)를 ACN (100 mL) 및 H₂O (100 mL)로 채워진 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 혼합물에 H₂O (100 mL) 내 (NH₄)₂S₂O₈ (15.9 g, 69.6 mmol, 15.1 mL, 1.20 eq)의 용액을 적가하였다. 혼합물이 75 ° C에서 암흑 하에 4시간 동안 교반되었다. LCMS (ET36187-5-P1L, Cpd.2: RT = 1.431 min)는 부분적으로 소모된 Cpd.1 및 형성된 Cpd.2를 보여주었다. 혼합물을 20 ° C로 냉각시켰다. 혼합물을 EtOAc (100.0 mL x 3)로 추출하였다. 유기층을 NaHCO₃ (50.0 mL) 및 염수(50.0 mL)로 세척하였다. 유기층을 진공에서 농축하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, Petroleum ether/Ethyl acetate = 1/0 to 0/1)로 정제하였다. Cpd.2 (5.91 g, 17.9 mmol, 30.9% yield)를 백색 고체로 얻었다.

[0284]

화합물 3의 제조 절차

[0285]

DCM (200.0 mL)으로 충전된 3구 둥근 바닥 플라스크에 Cpd.2 (2.00 g, 6.09 mmol, 1.00 eq)를 추가하였다. CBr₄ (2.42 g, 7.31 mmol, 1.20 eq) 및 PPh₃ (1.92 g, 7.31 mmol, 1.20 eq)를 혼합물에 추가하였다. 반응물을 20 ° C에서 2시간 동안 교반하였다. TLC (Petroleum ether/Ethyl acetate = 15/1 R_f = 0.53)는 소모된 Cpd.2 및 형성된 Cpd.3를 보여주었다. LCMS (ET36249-7-p1a, Cpd.3: RT = 1.678 min)는 Cpd.3이 형성되었음을 보여주었다. 진공에서 농축하였다. 잔류물이 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, Petroleum ether/Ethyl acetate = 2/1 to 15/1)로 정제되었다. Cpd.3 (1.10 g, 2.81 mmol, 46.1% yield)을 노란색 오일로 얻었다.

[0286]

¹H NMR: ET36249-7-P1a (400 MHz, CDCl₃).

[0287]

δ 8.07~8.09 (m, 2H), 7.68~7.70 (m, 2H), 3.41 (t, J = 4 Hz, 2H), 2.63 (t, J = 8 Hz, 2H), 2.20 (s, 3H), 1.48~1.87 (m, 2H), 1.30~1.46(m, 15H).

[0288]

표적 화합물의 제조 절차

[0289]

Cpd.3 (0.20 g, 511 μmol, 1.00 eq)을 Tol. (1.40 mL)로 충전된 1구 둥근 바닥 플라스크에 추가하였다. 혼합물에 PPh₃ (160 mg, 613 μmol, 1.20 eq)를 추가하였다. N₂로 3회 탈기하였다. 120 ° C에서 16시간 동안 저어주었다. TLC (Dichloromethane/Methanol = 10/1, R_f = 0.50)는 Cpd.3가 소모되고 반응이 완료되었음을 보여주었다. HPLC (ET36249-13-p1e)는 표적의 순도가 91.2%임을 보여주었다. 진공에서 농축하여 Tol. (1.40 mL)을 제거하였다. 잔류물을 MeOH (4.00 mL)로 채웠다. 잔류물을 prep-TLC (Dichloromethane/Methanol = 10/1)로 정제하였다. 표적(12.0 mg, 18.3 μmol, 3.59% yield)을 옅은색 겔으로 얻었다.

[0290]

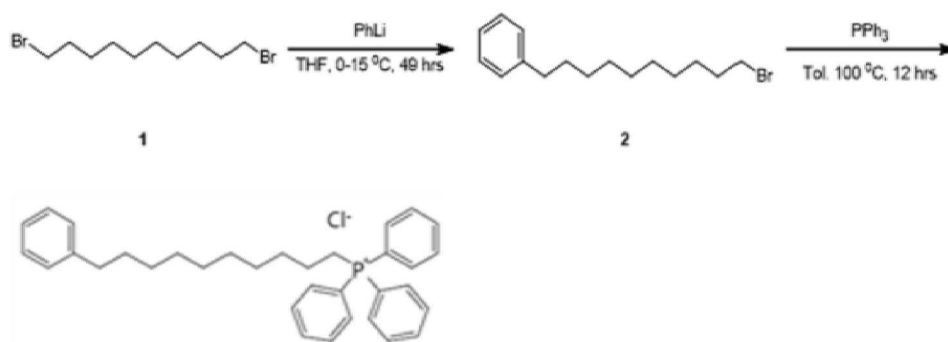
¹H NMR: ET36249-13-P1d (400 MHz, MeOD-d₄).

[0291]

δ 7.88~8.04 (m, 2H), 7.75~7.87 (m, 15H), 3.42~3.35 (m, 2H), 2.63 (t, J = 8 Hz, 2H), 2.16 (s, 3H), 1.28~1.69 (m, 16H).

[0292]

1-9.트리페닐(10-페닐데실)포스포늄 클로라이드 합성



[0294]

[0295]

[0296]

화합물 2의 제조 절차

Cpd.1 (3.00 g, 10.0 mmol, 1.00 eq)을 THF (7.50 mL)에 0 ° C에서 첨가하였다. 혼합물을 N₂로 3번 탈기하였다. PhLi (1.80 M, 1.83 mL, 0.33 eq)를 용액에 0 ° C에서 적가하였다. 1 시간 동안 0 ° C에서 교반하고, 15 ° C로 가온하였다. 48시간 동안 15 ° C에서 교반하였다. TLC (Petroleum ether : Ethyl acetate= 1 : 0, R_f (Cpd.2) = 0.60)는 Cpd.1이 소모되고 반응이 완료되었음을 보여주었다. 진공에서 농축하였다. 추가정제는 하지 않았다. Cpd.2 (2.30 g, crude)를 무색 오일로 얻었다.

[0297]

¹H NMR: ET41362-1-P1C1 (400 MHz, CDC13)

[0298]

δ 7.27-7.26 (m, 2H), 7.19-7.17 (d, J = 8 Hz, 2H), 1.89-1.82 (m, 15H), 1.59-1.52 (m, 9H), 1.30 (s, 32H), 0.94-0.90 (t, J = 8 Hz, 12H).

[0300]

트리페닐(10-페닐데실)포스포늄 클로라이드의 제조 절차

[0301]

Cpd.2 (0.70 M, 11.0 mL, 1.00 eq)를 톨루엔(27.0 mL)에 15 ° C에서 첨가하였다. PPh₃ (4.06 g, 15.4 mmol, 2.00 eq)를 용액에 첨가하였다. 혼합물을 N₂로 3번 탈기하고 100° C로 가열하였다. 12시간 동안 100° C에서 교반하였다. TLC (Dichloromethane : Methanol= 20 : 1, R_f (target 1) = 0.30)는 Cpd.2가 소모되고 반응이 완료되었음을 보여주었다. 진공에서 농축하였다. 실리카겔 크로마토그래피 (Dichloromethane : Methanol= 100 : 0 to 20 : 1)로 조생성물을 정제하였다. 표적 1 (27.0 mg, 54.8 μmol, 7.09e-1% yield, 97.5% LCMS (ET41362-3-P1J1) purity)을 노란색 오일로 얻었다.

[0302]

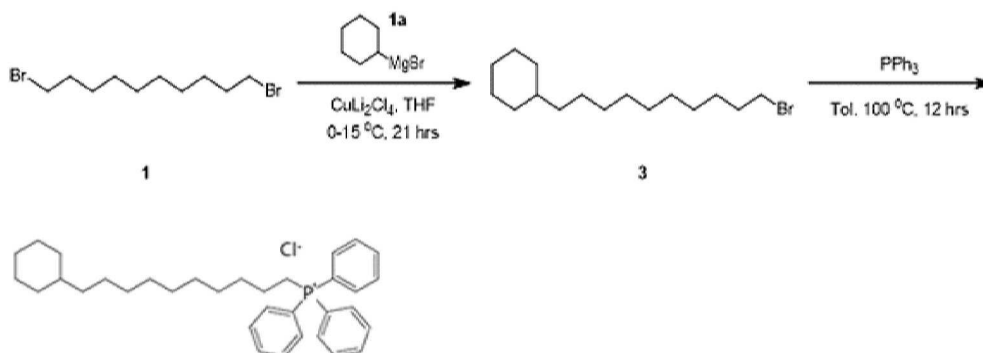
¹H NMR: ET41362-3-P1J1 (400 MHz, CDC13)

[0303]

δ 7.79-7.71 (d, J = 32 Hz, 15H), 7.28-7.16 (m, 6H), 3.95-3.74 (m, 4H), 2.59-2.55 (t, J = 8 Hz, 2H), 1.62-1.56 (m, 4H), 1.25-1.20 (d, J = 20 Hz, 10H).

[0304]

1-10.(10-사이클로헥실데실)트리페닐포스포늄 클로라이드 합성



[0305]

[0306]

화합물 3의 제조 절차

[0307] THF (3.00 mL)에 Cpd.1 (3.00 g, 10.0 mmol, 1.00 eq)을 0 ° C에서 첨가하였다. 혼합물을 N₂로 3번 탈기하였다. 용액에 CuLi₂C₁₄ (0.10 M, 999 uL, 0.01 eq)를 첨가하였다. Cpd.1a (1.00 M, 12.0 mL, 1.20 eq)를 0 ° C에서 용액에 적가하였다. 1시간 동안 0 ° C에서 교반되었고, 15 ° C로 가온하였다. 20시간동안 15 ° C에서 교반하였다. TLC (Petroleum ether : Ethyl acetate= 1 : 0, R_f (Cpd.3) = 0.80) 는 Cpd.1이 소모되고 반응이 완료되었음을 보여주었다. 진공에서 농축하였다. 추가정제는 하지 않았다. Cpd.3 (3.90 g, crude)을 무색오일로 얻었다.

[0308] ¹H NMR: ET41362-2-P1C1 (400 MHz, CDC13)

[0309] δ 3.43-3.40 (t, J = 8 Hz, 1H), 1.70-1.67 (m, 15H), 1.20-1.12 (m, 14H), 0.90-0.84 (m, 8H).

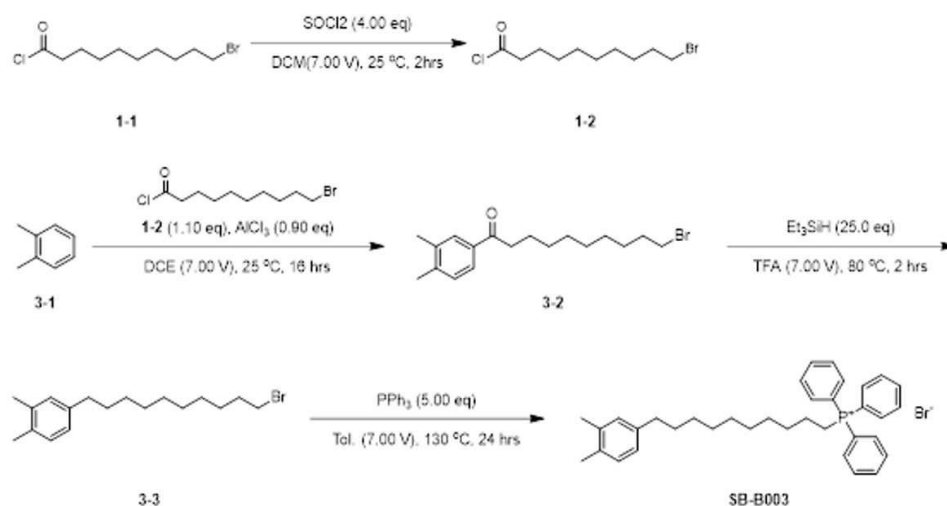
[0311] (10-사이클로헥실데실)트리페닐포스포늄 클로라이드의 제조 절차

[0312] Cpd.3 (0.70 M, 18.3 mL, 1.00 eq)을 톨루엔(16.0 mL)에 15 ° C에서 첨가하였다. PPh₃ (6.74 g, 25.7 mmol, 2.00 eq)을 용액에 첨가하였다. 혼합물을 N₂로 3번 탈기하고, 100° C로 가열하였다. 12시간 동안 100° C에서 교반하였다. TLC (Dichloromethane : Methanol= 20 : 1, R_f (target 2) = 0.20)는 Cpd.3이 소모되고 반응이 완료되었음을 보여주었다. 진공에서 농축하였다. 조생성물을 실라가겔 크로마토그래피(Dichloromethane : Methanol= 100 : 0 to 20 : 1)로 정제하였다. 타겟 2 (0.02 g, 40.4 umol, 3.14e-1% yield, 98.1% LCMS (ET41362-4-P1J1) purity)를 노란색 오일로 얻었다.

[0313] ¹H NMR: ET41362-4-P1C1 (400 MHz, CDC13)

[0314] δ 7.89-7.70 (m, 15H), 3.83 (s, 2H), 2.60 (s, 2H), 1.68-1.62 (m, 9H), 1.18 (s, 18H), 0.87-0.79 (m, 2H).

[0315] 1-11.(10- (3, 4-디메틸 페닐) 데실) 트리페닐 포스포늄 브로마이드 제조.



[0316]

[0317] 단계 A. 10-브로모데카노일 클로라이드

[0318] DCM (210 mL) 내 10-브로모데칸산(30.0 g, 119 mmol, 1.00 eq) 용액에 SOCl₂ (56.8 g, 478 mmol, 34.7 mL, 4.00 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 1시간 동안 교반하였다. TLC1 (Petroleum ether : ethyl acetate = 5 : 1, R_f (start material) = 0.30, R_f (product) = 0.52)은 출발물질이 완전히 소모되었음을 보여주었다. 혼합물을 진공에서 농축시켰다. 10-브로모데카노일 클로라이드(30.0 g, crude)가 노란색 오일로 얻어졌다.

[0319] 단계 B. 10-브로모-1-(3,4-디메틸페닐)데칸-1-온

[0320] DCE (35.0 mL) 내 o-자일렌 (5.00 g, 47.1 mmol, 5.69 mL, 1.00 eq) 및 10-브로모데카노일 클로라이드 (14.0 g, 51.8 mmol, 1.10 eq)의 용액에 AlCl₃ (5.65 g, 42.4 mmol, 2.32 mL, 0.90 eq)가 첨가되었다. 혼합물을 25°C

에서 16시간 동안 교반하였다. TLC (Petroleum ether : Ethyl acetate = 5 : 1, starting material Rf = 0.70, Rf (product) = 0.88)는 출발물질이 완전히 소모되었음을 보여주었다. 혼합물을 얼음물(50.0 mL)에 붓고 DCM (50.0 mL)으로 추출하였다. 유기상을 분리하고 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 컬럼크로마토그래피(SiO₂, Petroleum ether : Ethyl acetate = 1 : 0 to 1 : 1)로 정제하였다. 10-브로모-1-(3,4-디메틸페닐)데칸-1-온 (6.00 g, 13.4 mmol, 28.3% yield, 75.5% purity)을 HNMR (ET47086-1-P1A2) 및 LCMS (ET47086-1-P1A1, T = 0.996, M + 1 = 339.2)로 확인한 노란색 고체로 얻었다.

[0321] ¹H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-d) δ = 7.74 (s, 1H) 7.70 (dd, J = 7.60, 1.64 Hz, 1H) 7.21 (d, J = 7.60 Hz, 1H) 3.41 (t, J = 6.80 Hz, 2H) 2.93 (t, J = 7.60 Hz, 2H) 2.32 (s, 6H) 1.86 (quin, J = 7.20 Hz, 2H) 1.73 (quin, J = 7.20 Hz, 2H) 1.26 - 1.49 (m, 10H)

[0322] 단계 C. 4-(10-브로모데실)-1, 2-디메틸-벤젠

[0323] TFA (7.00 mL) 내 10-브로모-1-(3,4-디메틸페닐)데칸-1-온 (1.00 g, 2.95 mmol, 1.00 eq)의 용액에 Et₃SiH (8.57 g, 73.7 mmol, 11.8 mL, 25.0 eq)가 첨가되었다. 혼합물을 80℃에서 2시간 동안 교반하였다. TLC (Petroleum ether : ethyl acetate = 5 : 1, Rf (start material) = 0.7, Rf (product) = 0.6)는 출발물질이 완전히 소모되었음을 보여주었다. 혼합물을 물(10.0 mL)에 붓고, 이어서 EtOAc (5.00 mL x 3)로 추출하고, 합한 유기층을 염수(10.0 mL)로 세척하였다. 잔류물을 컬럼크로마토그래피(SiO₂, Petroleum ether : Ethyl acetate=1 : 1 to 0 : 1)로 정제하였다. 4-(10-브로모데실)-1, 2-디메틸-벤젠(0.20 g, 615 μmol, 20.8% yield)을 무색오일로 얻었다.

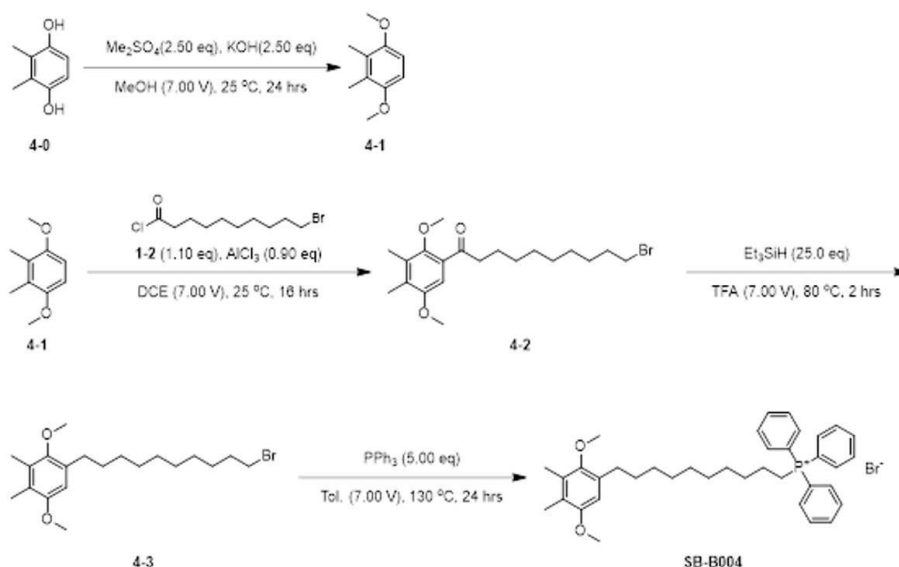
[0324] 단계 D: 브로마이드 10- (3, 4-디메틸페닐) 데실 트리페닐 포스포늄 염

[0325] Tol. (7.00 mL) 내 4-(10-브로모데실)-1, 2-디메틸-벤젠 (0.20 g, 618 μmol, 1.00 eq)의 용액에 PPh₃ (806 mg, 3.07 mmol, 5.00 eq)이 첨가되었다. 혼합물을 130℃에서 18시간 동안 교반하였다. TLC1 (Dichloromethane : Methanol = 5 : 1, Rf (product) = 0.4), TLC2 (Petroleum ether : Ethyl acetate = 5 : 1, Rf (start material) = 0.8)는 출발물질이 완전히 소모된 것을 보여주었다. 혼합물을 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 PE : MTBE = 2 : 1 (1 mL)로 25℃에서 30분 동안 분쇄하였다. 브로마이드 10- (3, 4-디메틸페닐) 데실 트리페닐 포스포늄염(0.05 g, 84.2 μmol, 13.6% yield, 98.9% purity, Br-)을 백색 고체로 얻었고, 이는 HNMR (ET46959-5-P1B1), LCMS (ET46959-5-P1B1, T = 2.958, M+ = 507.2, HPLC (ET46959-5-P1A3, T = 4.121, Purity = 98.9 %)로 확인되었다.

[0326] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆)

[0327] δ = 7.93 - 7.86 (m, 3H), 7.84 - 7.73 (m, 12H), 7.00 (d, J = 7.60 Hz, 1H), 6.92 (s, 1H), 6.86 (br d, J = 7.60 Hz, 1H), 3.56 (br t, J = 14.4 Hz, 2H), 2.48 - 2.43 (m, 2H), 2.16 (d, J = 5.20 Hz, 6H), 1.57 - 1.38 (m, 6H), 1.20 (br d, J = 15.2 Hz, 10H)

[0328] 1-12.10-(2,5-디메톡시-3,4-디메틸-페닐)데실-트리페닐-포스포늄 제조



[0329]

[0330] 단계 A. 10-브로모-1-(2,5-디메톡시-3,4-디메틸-페닐)데칸-1-온

[0331] EtOH (70.0 mL) 내 2,3-디메틸벤젠-1,4-디올 (11.0 g, 79.6 mmol, 1.00 eq)의 용액에 KOH (11.2 g, 199 mmol, 2.50 eq) 및 디메틸 셀레이트 (25.1 g, 199 mmol, 18.9 mL, 2.50 eq)가 첨가되었다. 혼합물은 0°C에서 3.5시간 동안 교반되었다. TLC1 (Petroleum ether : ethyl acetate = 5 : 1, Rf (start material) = 0.10, Rf (product) = 0.70)은 출발물질이 완전히 소모되었음을 보여주었다. 혼합물을 3M HCl (100 mL)에 부은 다음, 이어서 PE (50.0 mL x 3)로 추출하고, 합한 유기층을 1M HCl (50.0 mL), water (50.0 mL), brine (50.0 mL)로 세척하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO2, Petroleum ether : Ethyl acetate = 1 : 0 to 0 : 1)로 정제하였다. 10-브로모-1-(2,5-디메톡시-3,4-디메틸-페닐)데칸-1-온 (6.00 g, 36.1 mmol, 45.3% yield)이 갈색 고체로 얻어졌고, LCMS (ET46959-3-P1A1, T = 0.795, M + H = 167.3) 및 HNMR (ET46959-3-P1A1)로 확인되었다.

[0332] 1H NMR (ET46959-3-P1A1, 400 MHz, DMSO-d6)

[0333] δ = 6.71 (s, 2H), 3.70 (s, 6H), 2.06 (s, 6H)

[0334] 단계 B. 10-브로모-1-(2,5-디메톡시-3,4-디메틸-페닐)데칸-1-온

[0335] DCE (7.00 mL) 내 1,4-디메톡시-2,3-디메틸 벤젠 (1.00 g, 6.02 mmol, 1.14 mL, 1.00 eq) 및 10-브로모데카놀 일 클로라이드 (1.78 g, 6.62 mmol, 1.10 eq)의 용액에 AlCl3 (722 mg, 5.41 mmol, 296 μ L, 0.90 eq)를 첨가하였다. 혼합물은 25°C에서 2시간 동안 교반되었다. TLC (Petroleum ether : ethyl acetate = 5 : 1, Rf (start material) = 0.83, Rf (product) = 0.72)는 출발물질이 완전히 소모되었음을 보여주었다. 반응 혼합물은 H2O (10.0 mL)로 퀀칭되었고 혼합물은 여과되었다. 반응 여과액은 DCM (20.0 mL x 3)으로 추출되었다. 유기상은 분리되었고, Na2SO4상에서 건조되었고, 여과되고 감압 하에서 농축되어 잔류물을 얻었다. 잔류물은 컬럼크로마토그래피(SiO2, Petroleum ether : Ethyl acetate = 1 : 0 to 0 : 1)로 정제하였다. 10-브로모-1-(2,5-디메톡시-3,4-디메틸-페닐)데칸-1-온 (500 mg, 1.25 mmol, 20.8% yield)이 노란색 고체로 얻어졌고, 이는 HNMR (ET46959-6-P1A1), LCMS (ET46985-6-P1A2, T = 1.011, M + H = 399.3)로 확인되었다.

[0336] 1H NMR : (ET46959-6-P1A1, 400 MHz, DMSO-d6)

[0337] δ = 6.89 (s, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.59 (s, 3H), 2.93 (t, J = 7.20 Hz, 2H), 2.16 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 1.39 - 1.24 (m, 16H)

[0338] 단계 C. 1-(10-브로모데실)-2,5-디메톡시-3,4-디메틸-벤젠

[0339]

[0340] TFA (5.00 mL) 내 10-브로모-1-(2,5-디메톡시-3,4-디메틸-페닐)데칸-1-온 (500 mg, 1.25 mmol, 1.00 eq)의 용

액에 Et_3SiH (3.64 g, 31.3 mmol, 5.00 mL, 25.0 eq)이 첨가되었다. 혼합물이 80℃에서 2시간 동안 교반되었다. TLC (Petroleum ether : ethyl acetate = 5 : 1, R_f (start material) = 0.7, R_f (product) = 0.6)는 출발물질이 완전히 소모되었음을 보여주었다. 혼합물이 물(10.0 mL)에 부어지고, 이어서 EtOAc (5.00mL x 3)로 추출되고, 합한 유기층은 염수(10.0 mL)세척되었다. 잔류물이 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , Petroleum ether : Ethyl acetate = 1 : 0 to 0 : 1)로 정제되었다. 1-(10-브로모데실)-2,5-디메톡시-3,4-디메틸-벤젠 (0.20 g, 519 μmol , 41.4% yield)이 얻은 노란색 오일로 얻어졌고, 이는 HNMR (ET46959-8-P1A), LCMS (ET46959-8-P1A, T = 1.055. M + H = 385.3)로 확인되었다.

[0341] ^1H NMR (ET46959-8-P1A, 400 MHz, DMSO-d_6)

[0342] δ = 6.63 - 6.56 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.54 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.77 (q, J = 7.20 Hz, 2H), 1.59 - 1.48 (m, 2H), 1.41 - 1.21 (m, 14H))

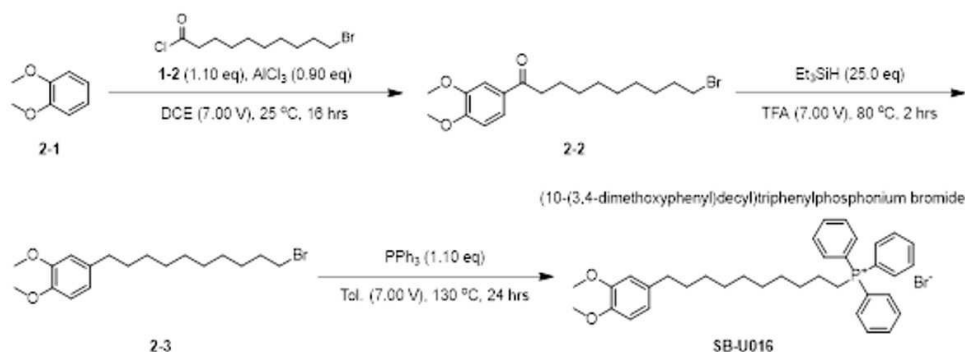
[0343] 단계 D. 포름산, 10-(2,5-디메톡시-3,4-디메틸-페닐)데실-트리페닐-포스포늄염

[0344] Tol. (3.50 mL) 내 1-(10-브로모데실)-2,5-디메톡시-3,4-디메틸-벤젠(0.20 g, 519 μmol , 1.00 eq)의 용액에 PPh_3 (272 mg, 1.04 mmol, 2.00 eq)이 첨가되었다. 혼합물이 130℃에서 18시간 동안 교반되었다. TLC1 (Dichloromethane : Methanol = 5 : 1, R_f (product) = 0.4), TLC2 (Petroleum ether : Ethyl acetate = 5 : 1, R_f (start material) = 0.8)는 출발물질이 완전히 소모되었음을 보여주었다. 혼합물은 진공에서 농축되었다. 잔류물은 prep-HPLC (column : Phenomenex Luna C18 75 x 30mm x 3 μm ; mobile phase : [water (FA) - ACN]; B%: 40% - 75%, 8min)로 정제되었다. 포름산, 10-(2,5-디메톡시-3,4-디메틸-페닐) 데실-트리페닐-포스포늄염(30.0 mg, 52.5 μmol , 10.1% yield, 99.3% purity)이 노란색 겔으로 얻어졌고, 이는 HNMR (ET46959-9-P1A), LCMS (ET46959-9-P1A, T = 2.938. M+ = 567.2), HPLC (ET46959-9-P1B, T = 4.052, Purity = 99.3%)로 확인되었다.

[0345] ^1H NMR (ET46959-9-P1A, 400 MHz, DMSO-d_6)

[0346] δ = 8.52 (s, 1H), 7.92 - 7.86 (m, 3H), 7.83 - 7.74 (m, 12H), 6.61 - 6.56 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.54 (s, 5H), 2.10 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.56 - 1.38 (m, 7H), 1.30 - 1.15 (m, 11H)

[0347] 1-13.(10-(3,4-디메톡시페닐) 데실) 트리페닐포스포늄 브로마이드 제조



[0348]

[0349] 단계 1: 10-브로모-1-(3,4-디메톡시페닐)데칸-1-온

[0350] DCE (35.0 mL) 내 1,2-디메톡시벤젠 (5.00 g, 36.2 mmol, 4.63 mL, 1.00 eq) 및 10-브로모데카노일 클로라이드 (10.7 g, 39.8 mmol, 1.10 eq)의 용액에 AlCl_3 (4.34 g, 32.6 mmol, 1.78 mL, 0.90 eq)가 첨가되었다. 혼합물이 25℃에서 16시간동안 교반되었다. 혼합물이 얼음물(50.0 mL)에 부어지고 DCM (50.0 mL)으로 추출되었다. 유기상이 분리되고 진공에서 농축되었다. 잔류물이 컬럼크로마토그래피(SiO_2 , Petroleum ether : Ethyl acetate = 1 : 0 to 1 : 1)로 정제되었다. 10-브로모-1-(3,4-디메톡시페닐) 데칸-1-온 (3.00 g, 7.92 mmol, 21.8% yield, 98.0% purity)이 백색 고체로 얻어졌다.

[0351] MS (ESI) : mass calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{BrO}_3$, 370.11; m/z found, 371.2 [M + H]⁺.

[0352] ^1H NMR (400 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}$)

[0353] δ = 7.59 (dd, J = 8.32, 1.96 Hz, 1H), 7.54 (d, J = 1.96 Hz, 1H), 6.89 (d, J = 8.44 Hz, 1H), 3.95 (d, J = 3.32 Hz, 6H), 3.41 (t, J = 6.84 Hz, 2H), 2.92 (t, J = 7.40 Hz, 2H), 1.85 (quin, J = 7.16 Hz, 2H), 1.66 - 1.78 (m, 2H), 1.27 - 1.50 (m, 10H)

[0354] 단계 2: 4-(10-브로모데실)-1,2-디메톡시벤젠

[0355] TFA (15.0 mL) 내 10-브로모-1- (3, 4-디메톡시페닐) 데칸-1-온 (2.00 g, 5.39 mmol, 1.00 eq)의 용액에 Et_3SiH (15.7 g, 134 mmol, 21.5 mL, 25.0 eq)이 첨가되었다. 혼합물이 80°C에서 1시간 동안 교반되었다. 혼합물이 진공에서 농축되었다. 잔류물이 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , Petroleum ether : Ethyl acetate = 1 : 0 to 10 : 1)로 정제되었다. 4-(10-브로모데실)-1,2-디메톡시-벤젠(1.00 g, 2.79 mmol, 51.7% yield, 99.5% purity)이 얻은 노란색 오일로 얻어졌다.

[0356] MS (ESI): mass calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{BrO}_2$, 356.14; m/z found, 357.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

[0357] 단계 3: (10-(3,4-디메톡시페닐)데실)트리페닐포스포늄 브로마이드

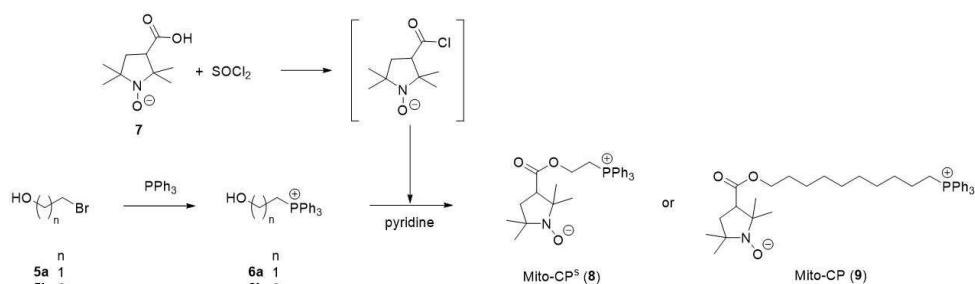
[0358] Tol. (1.40 mL) 내 4-(10-브로모데실)-1,2-디메톡시-벤젠(200 mg, 559 μmol , 1.00 eq)의 용액에 PPh_3 (161 mg, 615 μmol , 1.10 eq)이 첨가되었다. 혼합물이 130°C에서 12시간 동안 교반되었다. 혼합물이 진공에서 농축되었다. 조생성물을 MeCN (2.00 mL)으로 20°C에서 1시간 동안 분쇄하고, 이어서 역상(neutral condition)으로 정제하였다. 10-(3,4-디메톡시페닐)데실-트리페닐-포스포늄 (50.0 mg, 92.3 μmol , 16.4% yield, 99.6% purity)이 노란색 검은색으로 얻어졌다.

[0359] MS (ESI): mass calcd. for $\text{C}_{36}\text{H}_{44}\text{BrO}_2\text{P}$, 618.23; m/z found, 539.2 $[\text{M}]^+$.

[0360] ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)

[0361] δ = 7.85 - 7.95 (m, 3H), 7.73 - 7.84 (m, 12H), 6.82 (d, J = 8.16 Hz, 1H), 6.75 (d, J = 1.84 Hz, 1H), 6.66 (dd, J = 8.08, 1.83 Hz, 1H), 3.70 (d, J = 7.96 Hz, 6H), 3.48 - 3.63 (m, 2H), 2.47 (br s, 2H), 2.07 (s, 1H), 1.37 - 1.59 (m, 6H), 1.10 - 1.32 (m, 10H)

[0362] 1-14.Mito-CP(2,2,5,5-테트라메틸-3-(((10-(트리페닐포스포니오)데실)옥시)카르보닐)피롤리딘-1-올레이트) 및 Mito-CP^S(2,2,5,5-테트라메틸-3-((2-(트리페닐포스포니오)에톡시)카르보닐)피롤리딘-1-올레이트)제조.



[0363]

[0364] (2-히드록시에틸)트리페닐포스포늄(6a).

[0365] 2-브로모에탄올 (1.5 mmol), PPh_3 (1.0 mmol), 및 아세토니트릴 (20 mL)의 혼합물을 24시간 동안 환류하였다. 실온으로 냉각 후에, 용매는 회전 증발을 통해 제거되었다. 잔류 연-황색 오일을 에틸 에테르로 2회 세척하여 포스포늄염 6a를 얻었다. Yield: 77%; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.95 - 7.56 (m, 15H), 5.21 (s, 1H), 4.14 (d, J = 16.6 Hz, 2H), 3.83 (s, 2H).

[0366] (10-히드록시데실)트리페닐포스포늄(6b).

[0367] 6a의 합성 절차를 10-브로모데칸올 (1.5 mmol)과 함께 적용하여 생성물을 갈색 오일로 얻었다. Yield: 85%; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.92 - 7.83 (m, 6H), 7.79 (dd, J = 7.7, 5.8 Hz, 3H), 7.70 (m, 6H), 3.91 - 3.81 (m, 2H), 3.63 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 1.69 - 1.50 (m, 12H), 1.31 (m, 4H).

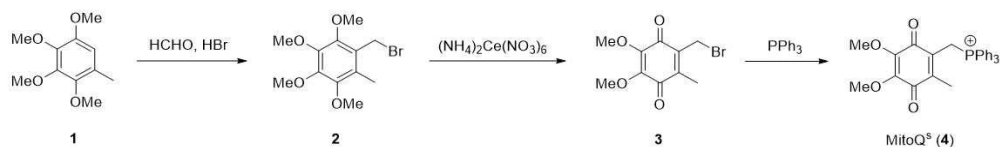
[0368] 2,2,5,5-테트라메틸-3-((2-(트리페닐포스포니오)에톡시)카르보닐)피롤리딘-1-올레이트(Mito-CPs; 8).

[0369] 벤젠 내 3-카르복시-2,2,5,5-테트라메틸피롤리딘-1-올레이트(7, 1.0 mmol)의 용액에 피리딘(1.0 mmol)이 첨가되었다. 플라스크는 아이스 배스에서 계속 냉각시키고 티오닐 클로라이드(2.0 mmol)를 1시간 동안 적가하였다. 용매는 진공 증발을 통해 제거되었다. 생성된 잔류물과 (2-히드록시에틸)트리페닐포스포늄(6a, 1.0 mmol)을 디클로로메탄(10 mL)에 용해시켰다. 이 용액에, 피리딘(1.0 mmol)을 아이스 배스 하에 적가하고 실온에서 6시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 수성 NaHCO₃ 용액으로 킨칭하고 에틸아세테이트(60 ml x 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na₂SO₄상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 증발시켰다. 조생성물을 MPLC (MeOH 5% in DCM)로 정제하여 화합물을 얻었다 (21%); HRMS (ESI, m/z) calculated for C₂₉H₃₄NO₃P [M]⁺ 475.2276, found 475.2260.

[0370] 2,2,5,5-테트라메틸-3-(((10-(트리페닐포스포니오)데실)옥시)카르보닐)피롤리딘 -1-올레이트 (Mito-CP; 9).

[0371] 8의 합성 절차를 (10-히드록시데실)트리페닐포스포늄(6b, 1.0 mmol)과 함께 적용하여 9를 갈색 오일로 얻었다. Yield: 24%; HRMS (ESI, m/z) calculated for C₃₇H₅₀NO₃P [M]⁺ 587.3528, found 587.3524.

[0372] 1-15.MitoQ^S:((4,5-디메톡시-2-메틸-3,6-디옥소시클로헥사-1,4-디엔-1-일)메틸)트리페닐포스포늄 브로마이드 제조.



[0373]

[0374] 1-(브로모메틸)-2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸벤젠(2).

[0375] 1,2,3,4-테트라메톡시-5-메틸벤젠 (2.721 g, 12.7 mmol) 및 파라포름알데히드 (0.763 g, 25.4 mmol)를 47% HBr (10 mL)에 용해시켰다. 이어서 혼합물을 40℃에서 2시간 동안 교반하고 실온에 두었다. 반응이 완료된 후, 생성물을 헥산(40 mL)으로 추출하고 합한 유기층을 소듐 설페이트 상에서 건조하였다. 남은 용매를 진공에서 제거하여 밝은 노란색 오일 2를 생성하였다 (yield: 88%); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.61 (s, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 2.27 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 148.5, 148.0, 147.8, 144.7, 126.6, 124.9, 61.3, 61.1, 61.1, 60.8, 26.6, 11.1.

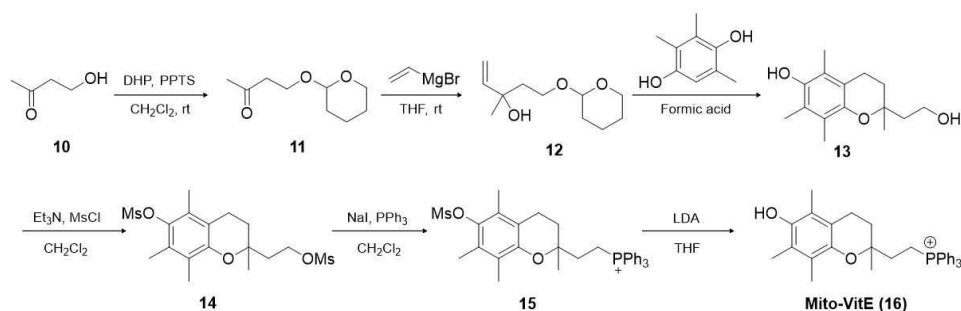
[0376] 2-(브로모메틸)-5,6-디메톡시-3-메틸시클로헥사-2,5-디엔-1,4-디온(3).

[0377] 중간체 2 (211 mg, 0.687 mmol)를 THF (10 mL)에 용해시켰다. 이어서 물(10 mL)에 녹인 암모늄 세륨(IV) 질산염(1.5 g, 2.74 mmol)을 반응 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 반응 완료 후, 생성된 혼합물을 DCM (20 mL)으로 추출하고 추출물을 중성이 될 때까지 염수로 세척하였다. 이어서 합한 유기층을 소듐 설페이트 상에서 건조시키고 남은 용매를 진공에서 제거하였다. 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피로 정제하여 노란색 오일 3을 얻었다(yield: 45%); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.39 (s, 2H), 4.03 (s, 3H), 4.02 (s, 3H), 2.17 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 183.9, 181.6, 145.0, 144.5, 141.7, 137.6, 61.4, 61.3, 21.5, 12.0; MS (ESI, m/z) calculated for C₁₀H₁₂BrO₄ [M+H]⁺ 274.99, found 275.00.

[0378] (((4,5-디메톡시-2-메틸-3,6-디옥소시클로헥사-1,4-디엔-1-일)메틸)트리페닐포스포늄 (MitoQs; 4).

[0379] 3 (22.31 mg, 0.0726 mmol) 및 트리페닐포스포늄(57.1 mg, 0.218 mmol)을 ACN (10 mL)에 용해시키고 반응 혼합물을 밤새 환류시켰다. 실온으로 생각한 후, 남은 용매를 진공에서 제거하였다. 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피로 정제하여 흰색 고체 4를 얻었다(yield: 18%); ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.88-7.81 (m, 3H), 7.70-7.64 (m, 6H), 7.62-7.55 (m, 6H), 3.80 (s, 3H), 3.52 (s, 3H), 3.34 (s, 2H), 1.81 (d, J = 1.5 Hz, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 182.74 (d, J = 3.3 Hz), 182.65 (d, J = 2.3 Hz), 145.80, 145.70, 145.21, 143.96, 135.27 (d, J = 3.0 Hz), 134.30 (d, J = 10.1 Hz), 130.37 (d, J = 12.8 Hz), 118.14 (d, J = 85.9 Hz), 61.31, 61.26, 24.81 (d, J = 49.8 Hz), 14.68 (d, J = 2.7 Hz); HRMS (ESI, m/z) calculated for C₂₈H₂₆O₄P [M]⁺ 457.1563, found 457.1566.

[0380] 1-16. Mito-VitE:2-(6-히드록시-2,5,7,8-테트라메틸크로만-2-일)에틸)트리페닐포스포늄 제조.



[0381]

[0382] 4-(테트라히드로-2H-피란-2-일)부탄-2-온 (11).

[0383] CH_2Cl_2 (15 ml) 내 4-히드록시부탄-2-온 (11.35 mmol) 및 3,4-디히드로-2H-피란 (15.89 mmol)의 용액에, 피리디늄 p-톨루엔설포네이트(1.135 mmol, 0.1 eq)를 첨가하고 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 이어서 반응 혼합물을 진공에서 농축하고 잔류물을 Et₂O (50 mL)에 용해시켰다. 이를 포화 수성 NaCl (40 mL) 및 H₂O (10 mL)로 세척하고, 무수 MgSO_4 로 건조하고, 여과하고 진공에서 농축하여 화합물 11을 얻었다. Yield: 64%; ¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.60 (t, J = 3.4 Hz, 1H), 4.00 (dt, J = 10.2, 6.2 Hz, 1H), 3.89 - 3.80 (m, 1H), 3.69 (dt, J = 10.1, 6.3 Hz, 1H), 3.55 - 3.45 (m, 1H), 2.71 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 2.20 (s, 3H), 1.83 - 1.64 (m, 3H), 1.60 - 1.54 (m, 3H).

[0384] 3-메틸-5-((테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)펜트-1-엔-3-올(12).

[0385] 비닐마그네슘 브로마이드(13.35 mmol)를 THF (25 ml) 내 11 (5.81 mmol) 용액에 -78 ° C에서 첨가하였다. 이를 2시간 동안 교반 한 다음 30분에 걸쳐서 실온으로 가온했다. 포화 수성 NH_4Cl (50 mL)를 적가하고 이를 Et₂O로 추출하였다. 합한 유기상을 포화 수성 NaCl로 세척하고, 무수 MgSO_4 상에서 건조하고, 여과하고 농축하여 옅은 노란색 오일을 얻었다. 조생성물을 MPLC로 정제하였다. Yield:93%; ¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.90 (ddd, J = 16.7, 10.7, 5.8 Hz, 1H), 5.38 - 5.27 (m, 2H), 5.10 (ddd, J = 10.3, 8.7, 1.4 Hz, 1H), 4.67 - 4.53 (m, 1H), 3.97 (dt, J = 9.7, 4.2 Hz, 1H), 3.83 (td, J = 11.5, 5.6 Hz, 1H), 3.59 - 3.45 (m, 3H), 1.97 (m, 1H), 1.80 - 1.72 (m, 2H), 1.59 - 1.49 (m, 3H), 1.29 (t, J = 5.0 Hz, 3H).

[0386] 2-(2-히드록시에틸)-2,5,7,8-테트라메틸크로만-6-올 (13).

[0387] 포름산(10 ml) 내 12 (5.39 mmol) 및 새로 제조된 2,3,5-트리메틸벤젠-1,4-디올 (4.49 mmol)의 용액이 질소환경 하에 3.5시간 동안 환류되었다. 반응 혼합물을 으깬 얼음에 붓고 유기물질을 Et₂O로 추출하였다. 합한 유기상을 H₂O로 세척하고, 무수 MgSO_4 로 건조하고, 진공에서 농축하였다. 갈색 유성 잔류물을 MeOH 및 conc. HCl에 용해시키고 아르곤 하에서 30분 동안 환류시켰다. 용매를 진공에서 제거한 후, 잔류물을 Et₂O에 용해시켰다. 아르곤 하에서 H₂O, 포화 수성 NaHCO_3 , H₂O로 다시 세척하고, 무수 MgSO_4 로 건조하고, 여과하고, 농축하여 갈색 오일을 얻었다. 조생성물을 MPLC로 정제하여 화합물을 얻었다. Yield: 35%; ¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.30 (s, 1H), 4.23 (s, 1H), 3.97 - 3.86 (m, 2H), 2.66 (dd, J = 9.8, 6.2 Hz, 2H), 2.17 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 1.97 (m, 2H), 1.93 - 1.82 (m, 2H), 1.29 (s, 3H).

[0388] 2,5,7,8-테트라메틸-2-(2-((메틸설포닐)옥시)에틸)크로만-6-일 메탄설포네이트(14).

[0389] CH_2Cl_2 (2 ml) 내 13 (0.479 mmol) 및 트리에틸아민 (2.88 mmol)의 용액에 메탄설포닐 클로라이드(1.055 mmol)를 첨가하고 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 CH_2Cl_2 (20 mL)로 희석하였다. 이것을 H₂O로 세척하고, 무수 MgSO_4 로 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축하여 백색 고체를 얻었다. 이를 EtOH로부터 재결정하여 생성물을 얻었다. Yield: 43%; ¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.56 - 4.45 (m, 2H), 4.41 (dd, J = 14.8, 8.7 Hz, 2H), 3.25 (s, 3H), 3.00 (s, 3H), 2.63 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 2.23 (d, J = 13.2 Hz, 6H), 2.09 (s, 3H), 1.86 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 1.31 (s, 3H).

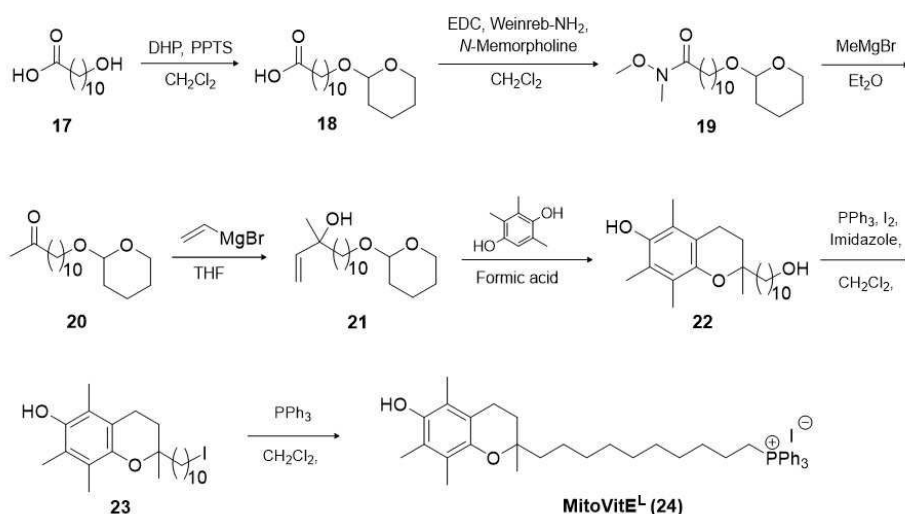
[0390] 트리페닐(2-(2,5,7,8-테트라메틸-6-((메틸설포닐)옥시)크로만-2-일)에틸)포스포늄 (15).

[0391] 14(0.256 mmol), 요오드화 나트륨(192 mg, 1.279 mmol), 및 트리페닐포스핀 (1.279 mmol)의 혼합물을 Kimax 튜브에서 아르곤으로 플러싱하고, 이어서 밀봉하고 반응을 90 ° C에서 48시간 동안 용융물로 교반하였다. 조생성물을 CH₂Cl₂에 용해시키고 석유 에테르로부터 3회 침전시켰다. 생성물을 메탄올에 용해시키고 -Oms가 로딩된 음이온 교환 컬럼을 통과시켰다. 잔류 용매를 진공에서 제거하여 순수한 생성물 15를 얻었다. Yield: 39%; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.87 - 7.72 (m, 9H), 7.66 (td, J = 7.9, 3.4 Hz, 6H), 4.12 (m, 2H), 3.28 (s, 3H), 2.61 - 2.49 (m, 2H), 2.25 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 2.05 (s, 2H), 2.03 (s, 3H), 2.00 (d, J = 6.5 Hz, 2H), 1.49 (s, 3H).

[0392] (2-(6-히드록시-2,5,7,8-테트라메틸크로만-2-일)에틸)트리페닐포스포늄(Mito-VitE; 16).

[0393] 리튬 디이소프로필아미드(0.119 mmol, 1 M solution in THF)가 0 ° C에서 THF (2 ml) 내 15 (0.100 mmol)의 용액에 첨가되었다. 30분 후 용액을 실온으로 가온하고 이어서 수성 포화 NH₄OMs (10 mL)을 첨가하였다. 수성층을 CH₂Cl₂로 3번 추출하고 유기상을 합하여 무수 MgSO₄상에서 건조하고, 여과하고, 진공에서 농축하였다. 잔류물을 MPLC로 정제하여 생성물 16을 얻었다. Yield: 9%; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.85 - 7.73 (m, 4H), 7.71 - 7.58 (m, 11H), 3.77 - 3.64 (m, 2H), 3.41 - 3.28 (m, 2H), 2.17 (s, 3H), 2.07 (d, J = 11.7 Hz, 6H), 1.94 (m, 4H), 1.34 (d, J = 7.6 Hz, 3H); HRMS (ESI, m/z) calculated for C₃₃H₃₆O₂P [M]⁺ 495.2447, found 495.2445.

[0394] 1-17.Mito-VitE^L: (10-(6-히드록시-2,5,7,8-테트라메틸크로만-2-일)데실)트리페닐포스포늄 아이오다이드 제조



[0395] 11-((테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)운데실산 (18).

[0396] 11-((테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)운데실산 (18).

[0397] CH₂Cl₂ (15 ml) 내 11-히드록시운데실산(17, 11.35 mmol), 3,4-디히드로-2H-피란 (15.89 mmol), 및 피리디늄 p-톨루엔설포네이트(1.135 mmol)의 용액을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 진공에서 농축하고 잔류물을 Et₂O (50 mL)에 용해시켰다. 이를 포화 수성 NaCl (40 mL) 및 H₂O (10 mL)로 세척하고, 무수 MgSO₄상에서 건조하고, 여과하고, 진공에서 농축하여 18을 얻었다. Yield: 46%; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.63 - 4.48 (m, 1H), 3.88 (ddd, J = 11.1, 7.6, 3.3 Hz, 1H), 3.75 - 3.64 (m, 1H), 3.55 - 3.48 (m, 1H), 3.38 (dt, J = 9.6, 6.7 Hz, 1H), 2.34 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 1.91 - 1.44 (m, 14H), 1.32 (d, J = 24.9 Hz, 8H).

[0398] N-메톡시-N-메틸-11-((테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)운데카나미드(19). CH₂Cl₂ (10 mL) 내 18 (5.23 mmol)의 용액에, N,O-디메틸히드록실아민 히드로클로라이드(5.75 mmol) 및 N-메틸모르폴린(5.75 mmol)을 -15 ° C에서 연속적으로 첨가하였다. 10분 후, N-(3-디메틸아미노프로필)-N'-데틸카르보디이미드 히드로클로라이드(1.62 g, 5.75 mmol)를 15분에 걸쳐 나누어 첨가하고 3시간 동안 -15 ° C에서 교반하였다. 반응을 1M HCl (5 mL) 첨가로

켄칭하고 유기물을 CH_2Cl_2 (3 x 50 mL)로 추출하였다. 유기 추출물을 합하고 포화 NaHCO_3 용액(50 mL)으로 세척하고, MgSO_4 로 건조하고, 여과하고 증발시켜 원하는 아마이드 19 (yield: 80%)를 얻었으며, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에서 사용하였다. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.60 (dd, J = 20.5, 17.9 Hz, 1H), 3.87 (ddd, J = 11.1, 7.4, 3.5 Hz, 1H), 3.79 - 3.65 (m, 4H), 3.50 (dt, J = 5.1, 4.5 Hz, 1H), 3.38 (dt, J = 9.6, 6.7 Hz, 1H), 3.18 (s, 3H), 2.41 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.90 - 1.78 (m, 1H), 1.76 - 1.47 (m, 14H), 1.29 (s, 8H).

[0399] 12-((테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)도데칸-2-온 (20).

[0400] Et_2O (13 mL) 내 19 (4.18 mmol)의 용액에 MeMgI (10.45 mmol)를 0°C 에서 첨가하였다. 동일한 온도에서 3시간 동안 교반한 후, 포화 수성 NH_4Cl 용액(30 mL)을 반응 혼합물에 첨가하였다. 유기층을 분리하고 수성 층을 tBuOMe (3 X 30 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4 로 건조시키고 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 화합물 20을 얻었다. Yield: 80%; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.61 - 4.54 (m, 1H), 3.87 (ddd, J = 11.1, 7.4, 3.4 Hz, 1H), 3.77 - 3.66 (m, 1H), 3.55 - 3.46 (m, 1H), 3.38 (dt, J = 9.6, 6.7 Hz, 1H), 2.41 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.13 (s, 3H), 1.90 - 1.76 (m, 1H), 1.72 (ddd, J = 11.9, 6.0, 3.2 Hz, 1H), 1.63 - 1.47 (m, 14H), 1.37 - 1.20 (m, 6H).

[0401] 3-메틸-13-((테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)트리덱-1-엔-3-올(21).

[0402] 비닐마그네슘 브로마이드(8.3 mmol, 2.5 eq)를 THF (15 ml) 내 20 (3.32 mmol)의 용액에 -78°C 에서 첨가하였다. 이 용액은 2시간 동안 교반되었고 이어서 30분에 걸쳐서 실온으로 가온되었다. 포화 수성 NH_4Cl (50 mL)이 적가되고 유기 물질이 Et_2O 로 추출되었다. 합한 유기층이 포화 수성 NaCl 로 세척되었고, 무수 MgSO_4 상에서 건조되고, 여과되고, 농축되고, MPLC로 정제되어 화합물 21을 얻었다. Yield: 93%; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.91 (dd, J = 17.4, 10.8 Hz, 1H), 5.20 (dd, J = 17.4, 1.2 Hz, 1H), 5.04 (dd, J = 10.8, 1.2 Hz, 1H), 4.64 - 4.51 (m, 2H), 3.87 (ddd, J = 11.0, 7.4, 3.3 Hz, 2H), 3.77 - 3.65 (m, 2H), 3.56 - 3.46 (m, 2H), 3.38 (dt, J = 9.5, 6.7 Hz, 2H), 1.90 - 1.77 (m, 2H), 1.71 (tt, J = 16.3, 7.0 Hz, 2H), 1.64 - 1.46 (m, 10H), 1.27 (s, 8H).

[0403] 2-(10-히드록시데실)-2,5,7,8-테트라메틸크로만-6-올 (22).

[0404] 포름산 (10 ml) 내 21 (3.08 mmol) 및 새로 제조된 2,3,5-트리메틸벤젠-1,4-디올 (2.56 mmol) 용액이 질소 환경 하에서 3.5시간 동안 환류되었다. 반응 혼합물을 으깬 얼음에 붓고 유기 물질을 아르곤 하에 Et_2O 로 추출하였다. 합한 유기상을 H_2O 로 세척하고, 무수 MgSO_4 상에서 건조하고, 진공에서 농축하였다. 갈색 잔류물을 MeOH 및 conc. HCl 에 용해시키고, 반응 혼합물을 아르곤 하에서 추가로 30분 동안 환류시켰다. 용매를 진공에서 제거하고 잔류물을 Et_2O 에 용해시켰다. 아르곤 하에서 H_2O , 포화 수성 NaHCO_3 , H_2O 로 다시 세척하고, 무수 MgSO_4 로 건조하고, 여과하고, 농축하여 갈색 오일을 얻었다. 이것을 MPLC로 정제하여 화합물 22를 얻었다. Yield: 35%; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.38 (s, 1H), 3.62 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 2.59 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.15 (s, 3H), 2.10 (s, 6H), 1.76 (qq, J = 13.9, 7.1 Hz, 2H), 1.64 - 1.24 (m, 17H), 1.22 (s, 3H).

[0405] 2-(10-아이오도데실)-2,5,7,8-테트라메틸크로만-6-올 (23).

[0406] CH_2Cl_2 (2 ml) 내 트리페닐포스핀 (0.348 mmol), 1H-이미다졸 (0.348 mmol), 및 아이오딘 (0.182 mmol)의 용액에 CH_2Cl_2 (2 ml) 내 22 (0.165 mmol)의 용액을 0°C 에서 주사기를 통해 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 추가로 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 Na_2SO_3 , H_2O , 염수 용액으로 세척하였고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 생성된 잔류물을 MPLC로 정제하여 화합물 23을 얻었다. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.19 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 3.19 (t, J = 4.0 Hz, 2H), 2.60 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.16 (m, 3H), 2.11 (s, 6H), 1.90 - 1.69 (m, 5H), 1.63 - 1.47 (m, 4H), 1.44 - 1.21 (m, 10H), 0.99 - 0.95 (m, 1H), 0.86-0.83 (m, 3H).

[0407] (10-(6-히드록시-2,5,7,8-테트라메틸크로만-2-일)데실)트리페닐포스포늄 아이오다이드(Mito-VitE; 24).

[0408] 23 (0.25 mmol) 및 트리페닐포스핀(327 mg, 1.25 mmol)의 혼합물을 Kimax 튜브에서 아르곤으로 플러싱하고, 밀

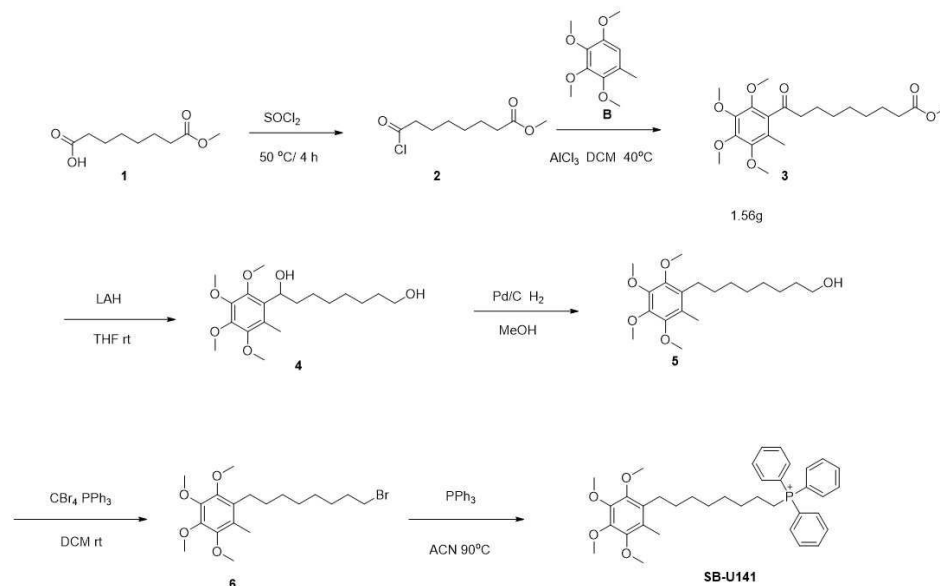
봉하고, 용유물로 90 ° C에서 48시간 동안 교반하였다. 조생성물을 CH₂Cl₂에 용해시키고 석유에테르로부터 3회 침전시켰다. 잔류 용매를 진공에서 제거하여 24를 얻었다. Yield: 12 %; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.86 - 7.79 (m, 9H), 7.73 - 7.68 (m, 6H), 3.76-3.71 (m, 2H), 2.59 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.15 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 1.81-1.72 (m, 2H), 1.63-1.62 (m, 4H), 1.37-1.36 (m, 2H), 1.21-1.18 (m, 15H); HRMS (ESI, m/z) calculated for C₄₁H₅₂O₂P [M]⁺ 607.3699, found 607.2697.

[0409]

1-18.SB-U141:

트리페닐(8-(2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸페닐)옥틸)포스포늄의

제조



[0410]

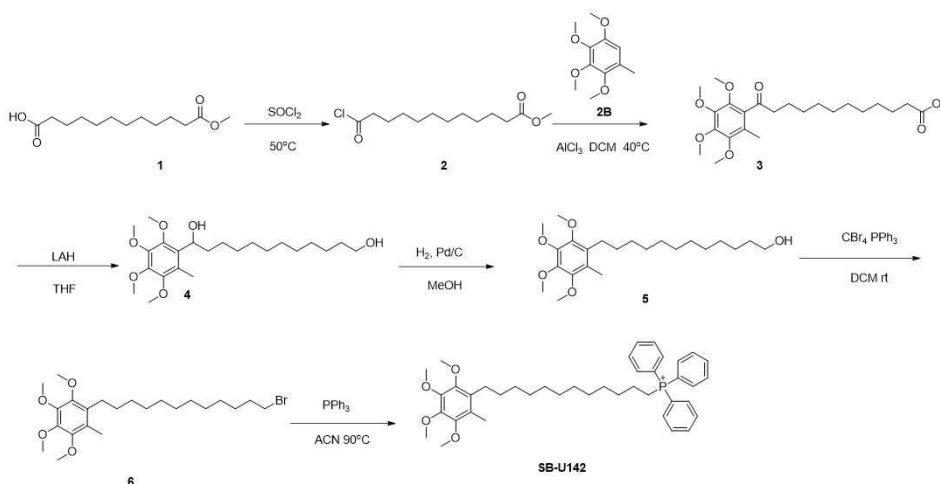
8-메톡시-8-옥소옥타노이산(1)을 SOCl₂와 50 °C에서 4시간 반응하여 메틸-8-클로로-8-옥소옥타노에이트(2)를 확보하였다. 2와 1,2,3,4-테트라메톡시-5-메틸벤젠을 AlCl₃과 디클로로메탄(DCM)에서 40 °C로 반응시켜 메틸 9-옥소-9-(2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸페닐)노나노에이트(3)를 합성하였다. 3을 LAH와 THF에서 상온 반응하여 1-(2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸페닐)옥탄-1,8-디올 (4)을 합성하였다. 4를 Pd/C H₂와 MeOH에서 반응하여 8-(2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸페닐)옥탄-1-올(5)을 합성하였다. 5를 CBr₄PPh₃와 DCM에서 반응하여 1-(8-브로모 옥틸)-2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸벤젠(6)을 확보하였다. 6을 PPh₃와 ACN에서 90 °C로 반응하여 트리페닐(8-(2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸페닐)옥틸)포스포늄(SB-U141)을 확보하였다.

[0411]

1-19.SB-U142:

트리페닐(12-(2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸페닐)도데실)포스포늄의

제조

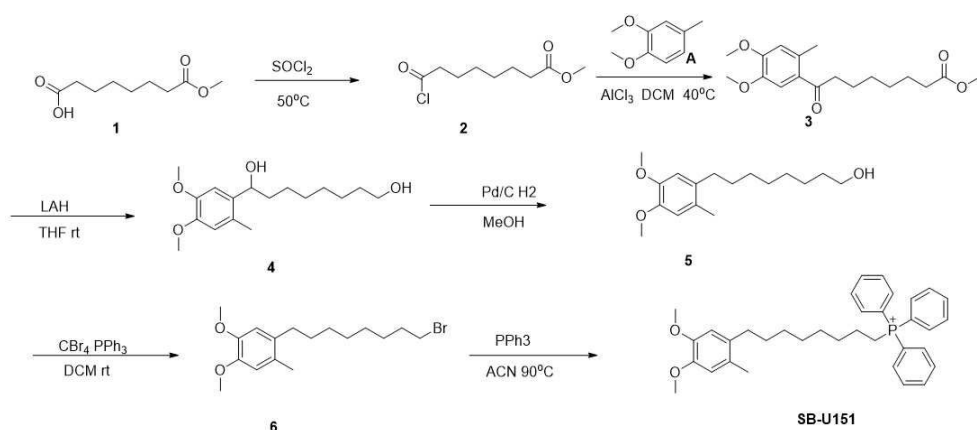


[0412]

12-메톡시-12-옥소도데칸산(1)을 SOCl₂와 50 °C에서 4시간 반응하여 메틸 12-클로로-12-옥소도데카노에이트(2)를

합성하였다. 2와 1,2,3,4-테트라메톡시-5-메틸벤젠, AlCl_3 을 DCM에서 40°C 반응하여 메틸 12-옥소-12-(2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸페닐)도데카노에이트(3)를 확보하였다. 3과 LAH를 THF에서 반응하여 1-(2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸페닐)도데칸-1,12-디올(4)을 확보하였다. 4를 H_2 , Pd/C와 MeOH에서 반응하여 12-(2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸페닐)도데칸-1-올(5)을 확보하였다. 5와 CBr_4 PPh_3 를 DCM에서 상온 반응하여 1-(12-브로모도데실)-2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸벤젠(6)을 합성하였다. 6을 PPh_3 와 ACN에서 90°C 로 반응하여 트리페닐(12-(2,3,4,5-테트라메톡시-6-메틸페닐)도데실)포스포늄(SB-U142)을 합성하였다.

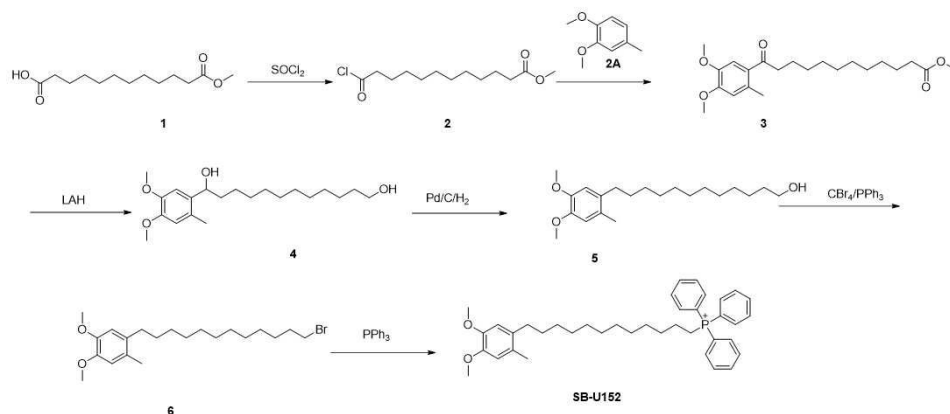
[0413] 1-20.SB-U151: (8-(4,5-디메톡시-2-메틸페닐)옥틸)트리페닐포스포늄의 제조



[0414]

[0415] 8-메톡시-8-옥소옥탄산을 SOCl_2 와 50°C 에서 반응하여 메틸 8-클로로-8-옥소옥타노에이트(2)를 확보하였다. 2를 AlCl_3 와 DCM에서 40°C 에서 반응하여 메틸 8-(4,5-디메톡시-2-메틸페닐)-8-옥소옥타노에이트(3)를 확보하였다. 3을 LAH와 THF에서 상온 반응하여 1-(4,5-디메톡시-2-메틸페닐)옥탄-1,8-디올(4)을 확보하였다. 4와 Pd/C H_2 를 MeOH에서 반응하여 8-(4,5-디메톡시-2-메틸페닐)옥탄-1-올(5)을 확보하였다. 5를 CBr_4 PPh_3 와 DCM에서 상온 반응하여 1-(8-브로모옥틸)-4,5-디메톡시-2-메틸벤젠(6)을 확보하였다. 6을 PPh_3 와 ACN에서 90°C 에서 반응하여 (8-(4,5-디메톡시-2-메틸페닐)옥틸)트리페닐포스포늄(SB-U151)을 확보하였다.

[0416] 1-21. SB-U152: (12-(4,5-디메톡시-2-메틸페닐)도데실)트리페닐포스포늄의 제조



[0417]

[0418] 12-메톡시-12-옥소도데칸산을 SOCl_2 와 50°C 에서 4시간 반응하여 메틸 12-클로로-12-옥소도데카노에이트(2)를 합성하였다. 2를 1,2-디메톡시-4-메틸벤젠과 반응하여 메틸 12-(4,5-디메톡시-2-메틸페닐)-12-옥소도데카노에이트(3)를 합성하였다. 3을 LAH와 반응하여 1-(4,5-디메톡시-2-메틸페닐)도데칸-1,12-디올(4)을 합성하였다. 4를 Pd/C/ H_2 와 반응하여 12-(4,5-디메톡시-2-메틸페닐)도데칸-1-올(5)을 합성하였다. 5를 CBr_4 / PPh_3 와 반응하여 1-

(12-브로모도데실)-4,5-디메톡시-2-메틸벤젠(6)을 합성하였다. 6을 PPh_3 와 반응하여 (12-(4,5-디메톡시-2-메틸페닐)도데실)트리페닐포스포늄(SB-U152)을 합성하였다.

[0419] 실시예 2. 재조합 단백질 제조

[0420] zTRAP1, hTRAP1을 암호화하는 유전자를 N- 말단 헥사-히스티딘 태그에 이어 TEV 프로테아제 절단 부위가 있는 변형된 pET-Duet 벡터에 클로닝하고 E. coli BL21 (DE3) 세포에서 발현시켰다. 20° C에서 0.4mM IPTG로 유도 후 15 시간 후, 세포를 수확하고 초음파처리로 용해시켰다. Ni^{2+} 친화성 크로마토그래피 컬럼 (GE Healthcare)에 용해물의 가용성 분획이 적용되었다. 헥사-히스티딘 태그를 TEV 프로테아제에 의해 절단하고, 단백질을 25mM Tris-HCl pH 7.5, 150mM NaCl, 5 μM beta-메르캅토에탄올 (beta-ME)을 포함하는 완충액에서 겔 여과 크로마토그래피로 추가로 정제하였다.

[0421] 실시예 3. 구조 분석

[0422] 본 발명자들은 TRAP1에 결합하는 화합물의 구조를 도출하기 위해, TRAP1과 MitoQ의 결합 구조를 분석하였다.

[0423] 정제된 zTRAP1은 1:1.5 몰비로 AMPPNP와 혼합되었다. 결정화는 Lavery et al., 2014에서 설명한대로 수행되었다. 결정이 성장한 후 0.1mM MitoQ를 결정화 drop에 첨가하고 24 시간 동안 배양하였다. X-선 회절 실험을 위해 결정을 20 % 글리세롤을 포함하는 웰 용액으로 옮기고 액체 질소에서 급속 냉동하였다. 회절 데이터는 Pohang Accelerator Laboratory (PAL)의 빔라인 5C에서 수집되었으며 HKL-2000 소프트웨어를 사용하여 처리되었다 (Otwinowski and Minor, 1997). MitoQ의 전자 밀도는 difference Fourier 방법으로 계산되었습니다. 모델 구축 및 정제는 각각 Coot 및 Phenix 프로그램 (Adams et al., 2010; Emsley et al., 2010)에 의해 수행되었다.

[0424] 구조분석 결과, TRAP1의 두개의 protomer사이의 거리가 약 25Å으로 Ub 모이어티와 TPP 모이어티간의 거리가 적당해야 TRAP1 내의 CBS에 결합함을 확인하였다. 이를 바탕으로 적당한 길이를 가지는 화합물 구조가 TRAP1에 결합하는데 필수적임을 확인하였다(도1 및 2 참고).

[0425] 실시예 4. 결합력 분석

[0426] FP(Fluorescence polarization) 분석

[0427] 실시예 4-1. SB-TM2 프로브 이용

[0428] Human full-length TRAP1 단백질(400nM)과 SB-TM2 probe (100 nM)이 포함된 FP buffer (35 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 4.3 mM Na_2HPO_4 , 1.4 mM KH_2PO_4 (pH 7.3), 1 mM DTT, 2 mM MgCl_2 , 0.1 mg/mL BSA)에 분석하고자 하는 물질을 첨가하여 (최종 부피 100 μl), 상온에서 1시간 동안 반응 (96 well plate). SYNERGY NEO microplate reader를 사용하여 excitation wavelength 440 nm, emission wavelength 500 nm로 설정하여 FP를 측정하였다.

[0429] 그 결과, TPP-8부터는 SB-TM2와의 경쟁적 결합이 가능함을 확인하여, alkyl chain의 길이가 C8이상의 크기를 가지게 되면, TRAP1의 CBS에 결합할 수 있음을 확인하였다. 또한, alkyl chain의 길이가 증가할수록 결합력이 증가함을 확인하였다. 더 나아가, SMX(MitoQ)와의 결합력 비교에서 TPP-12, TPP-14, TPP-16의 결합력이 SMX(MitoQ)대비 우수한 것으로 확인되었으며, 특별히 alkyl chain의 길이가 가장 긴 TPP-16에서 SMX 대비 2배 강한 결합력을 확인하였다. (도 4참고).

[0430] 또한, TPP가 결합된 항산화제들 중에서, TPP와 항산화제 간의 연결거리가 충분한 경우, TRAP1의 CBS에 결합함을 확인하였다(도6 참고).

[0431] 추가적으로, TPP와 탄화수소로 연결된 기타 합성 물질들에서 TRAP1의 CBS에 대한 결합력이 있음을 확인하였다 (도8 참고).

[0432] 실시예 4-2. PU-H71-FITC 이용

[0433] FP 분석을 위해, 정제된 재조합 TRAP1 (400nM)을 2시간 동안 증가하는 억제제 농도의 존재 하에 Taldone et al., 2013에 기재된 대로 합성된 형광 프로브 PU-H71-FITC (10nM)와 함께 배양하였다. 실온에서 마이크로 플레이트 리더 (Synergy NEO, BioTek)를 사용하여 형광 편광을 측정하였다.

[0434] 그 결과, 알킬-TPP는 PU-H71-FITC(ATP binding site를 타겟으로 하는 Hsp90/TRAP1 억제제)와 경쟁하지 않으며, ATP binding site에 결합하지 않음을 확인할 수 있었다(도9b 참고).

[0435] 또한, 긴 링커를 가지는 TPP-항산화제 컨쥬게이트의 경우도 PU-H71-FITC(ATP binding site를 타겟으로 하는

Hsp90/TRAP1 억제제)와 경쟁하지 않으며, ATP binding site에 결합하지 않음을 확인할 수 있었다(도11b 참고).

[0437] **실시예 5. ATPase 활성 분석**

[0438] 본 발명자들은 본 명세서에서 개시하는 화합물들이 TRAP1 내의 ATP binding site에 결합하여 ATPase의 활성에 영향을 주는지 확인하기 위해, 분석을 실시하였다.

[0439] PiColorLock Gold Phosphate Detection Kit (Abcam)를 사용하여 TRAP1의 ATPase 활성을 측정하였다. 0.5 μ M TRAP1 (야생형 또는 돌연변이)을 다양한 농도의 억제제와 함께 30 분 동안 사전 인큐베이션 한 다음, 50mM Tris-HCl, 20mM KCl 및 6mM MgCl₂ (pH 7.4)을 포함하는 ATPase 활성 분석 버퍼에서 37 ° C에서 3 시간 동안 0.2mM ATP와 함께 인큐베이션하였다. 다음으로, 20 μ L의 PiColorLock Gold 시약과 촉진제 혼합물 (100 : 1)을 각 샘플 (100 μ L)에 첨가하였다. 5분 배양 후, 10 μ L의 안정제를 첨가하여 발색을 중단하였다. 흡광도는 마이크로 플레이트 리더 (Synergy NEO, BioTek)를 사용하여 620 nm에서 측정되었다. 미반응 샘플의 흡광도를 빼서 background signal을 정규화하였다.

[0440] 그 결과, 알킬-TPP의 경우, PU-H71이 농도가 증가함에 따라 ATPase 활성이 감소하는 것과 달리, 농도의존적으로 ATPase의 활성을 감소시키는 경향을 보이지 않았다(도9a 참고). 이는 알킬-TPP가 ATP binding site에 결합하여 ATPase 활성을 억제하는 PU-H71과 다른 방식으로 작용한다는 것을 의미한다.

[0441] 또한, TPP-항산화제 컨쥬게이트 및 기타 합성 물질(SB-U011,014,015)의 경우에도, 농도의존적으로 ATPase의 활성을 감소시키는 경향을 보이지 않았다(도11a 및 14 참고).

[0443] **실시예 6. 단백질 발현 분석**

[0444] 본 발명자들은 본 명세서에서 개시하는 화합물들이 TRAP1 또는 세포질 Hsp90을 억제하는지 확인하기 위해, 단백질 발현 분석을 실시하였다.

[0445] 세포배양 및 처리

[0446] 인간 암 세포주 22Rv1은 American Type Culture Collection (ATCC)에서 구입했으며 공급 업체가 권장한대로 유지되었다. 간단히 기재하면, 암세포는 10 % 소태아혈청 (FBS; ATCC)과 1 % 페니실린/스트렙토 마이신 (GIBCO)을 포함하는 DMEM 또는 RPMI 배지 (GIBCO)에서 37 ° C, 5% CO₂의 가습 분위기에서 배양되었다. 세포는 6 개월 이상 배양되지 않았다.

[0447] 22Rv1세포는 5 μ M의 각각 화합물들로 처리되어 2시간 동안 배양된 후 웨스턴 블랏으로 분석되었다.

[0448] 항체

[0449] Anti-Phospho-AMPK α , anti-Cdk4, anti-CHOP 및 anti-SIRT3 항체는 Cell Signaling Technology에서 구입하였다. anti-Akt 및 anti-AMPK는 Santa Cruz Biotechnology에서 구입하였다. anti-Hsp70은 BD Biosciences에서 구입하였다. 항 α -액틴 항체는 MP Biomedicals에서 구입하였다. anti-SDHB는 Abcam에서 구입하였다.

[0450] 웨스턴블랏

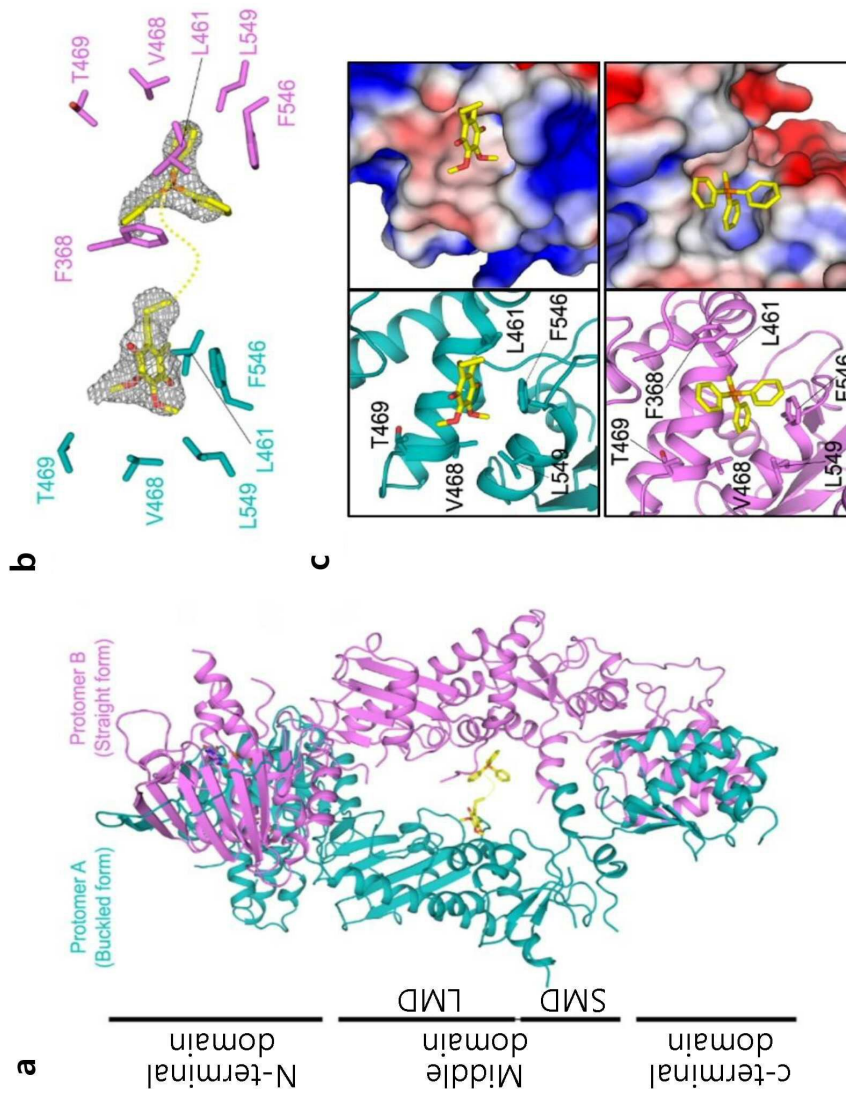
[0451] 세포 용해물을 SDS-PAGE로 분리하고 PVDF 막으로 옮겼다. 막을 TBST (0.05 % Tween-20을 함유하는 TBS)에서 10% 탈지유로 실온에서 1시간 동안 블락하고 4° C에서 밤새 1차 항체와 함께 배양하였다. 막을 TBST로 1시간 동안 3회 세척하고 TBST 중 10 % 탈지유에 희석된 2차 항체(1:5000)와 함께 1 시간 동안 배양하였다. 막을 TBST로 3회 세척하고 강화된 화학 발광 검출 키트 (BioRad)를 사용하여 시각화하였다.

[0452] 실험 결과, TPP-10 내지 16의 경우 TRAP1을 억제하여 SDHB 및 SIRT3이 감소된 것을 확인할 수 있었고, 그 중에서도 TPP-14 및 16이 강력한 효과를 가지는 것을 확인할 수 있었다. 그러나, 알킬-TPP 중 어느 것도 Akt, Cdk4 단백질의 발현에 변화를 야기하지 않았고, Hsp90 억제의 마커로 사용되는 Hsp70에도 변화를 야기하지 않았다(도 10참고). 이는 일정한 길이를 갖는 알킬-TPP가 TRAP1을 억제하고, 세포질 Hsp90에는 영향을 미치지 않음을 확인할 수 있다.

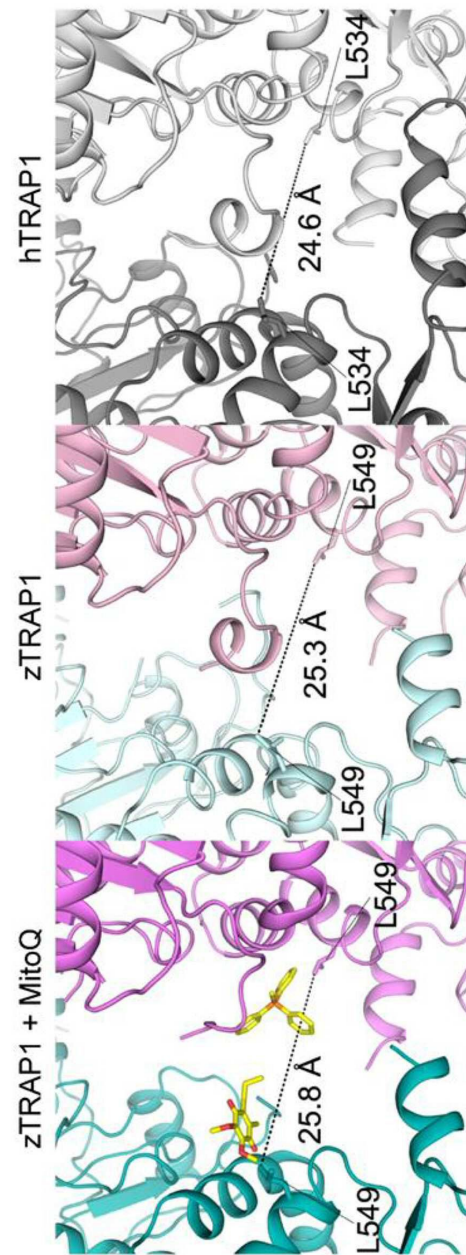
- [0453] 또한, TPP-항산화제 컨쥬게이트의 경우, 긴 링커를 가지는 컨쥬게이트의 경우 Hsp90의 억제 없이 TRAP1억제에 따라 SDHB, SIRT3의 감소가 나타나고, 짧은 링커의 경우 단백질 발현에 영향을 주지 않았다(도12 참고). 이는 적당한 길이를 갖는 TPP-컨쥬게이트만이 TRAP1을 억제함을 확인할 수 있다. 추가적으로, 짧은 링커를 가지는 화합물과 달리, 적당한 길이를 가지는 링커의 경우 TRAP1 억제에 따른 마커로서, AMPK를 활성화(p-AMPK)시키고, mitochondrial unfolded protein response의 유도(CHOP)하는 것을 확인할 수 있다(도13 참고).
- [0454] 또한, 기타 합성 화합물의 경우에도 TRAP1을 억제하는 것을 웨스턴 블랏 결과를 통해 확인할 수 있다(도15 참고).
- [0456] **실시예 7. 암에 대한 화합물의 효과 확인 위한 In vivo 실험**
- [0457] 생체 내 마우스 이중 이식.
- [0458] 면역 결핍 무 흉선 누드 마우스 (수컷, 8 주령)는 OrientBio에서 구입하였다. 마우스는 UNIST In Vivo Research Center의 병원균이 없는 시설 (12시간 암/광주기)에서 유지하고 표준식이와 물을 공급하였다. 모든 동물 실험은 UNIST (UNISTACUC-19-11)에 의해 승인되었다. 22Rv1 세포(1×10^7)를 누드 마우스의 양쪽 측면에 피하 주사하였다. 종양 크기가 약 100mm^3 에 도달하면 PBS 중 20% cremophor EL(Sigma)에 용해된 비히클(DMSO) 및 3mg / Kg 약물 (MitoQ, SB-U014 및 SB-U015)을 매일 복강 내 투여했다. 종양 부피는 전자 캘리퍼스를 사용하여 매일 측정하고 다음 공식을 사용하여 계산하였다. $V = 1/2 \times (\text{폭})^2 \times \text{길이}$. 실험이 끝나면 동물을 안락사시키고 조직학 및 웨스턴 블랏을 위해 종양을 수집하였다. 밴드 강도는 ImageJ 소프트웨어 (National Insutitute of Health, USA)를 사용하여 정량화되었다. 이때 웨스턴 블랏은 상기 기재된 방식과 동일하게 수행되었다.
- [0459] 실험결과, SB-U014,015를 처리한 경우 DMSO를 처리한 경우와 비교하여 종양의 크기가 작아지고, 종양의 무게도 감소한 것을 확인할 수 있었다(도16 참고). 또한, 웨스턴 블랏 결과, TRAP1 억제에 따라 SDHB, SIRT3의 감소가 나타나고, AMPK를 활성화(p-AMPK)시키고, mitochondrial unfolded protein response의 유도(CHOP)가 나타나고, Akt, Cdk4 및 Hsp70에는 변화가 나타나지 않았다(도17 참고).
- [0460] 이를 통해, 본 명세서에서 개시하는 화합물이 TRAP1억제를 통해 암 세포의 성장을 억제하고, 암 세포의 크기를 감소시킨다는 것을 확인할 수 있었다.

도면

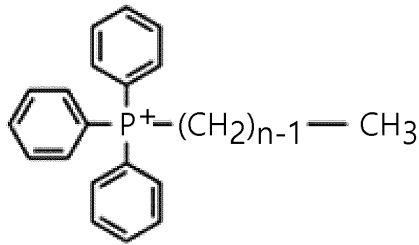
도면1



도면2

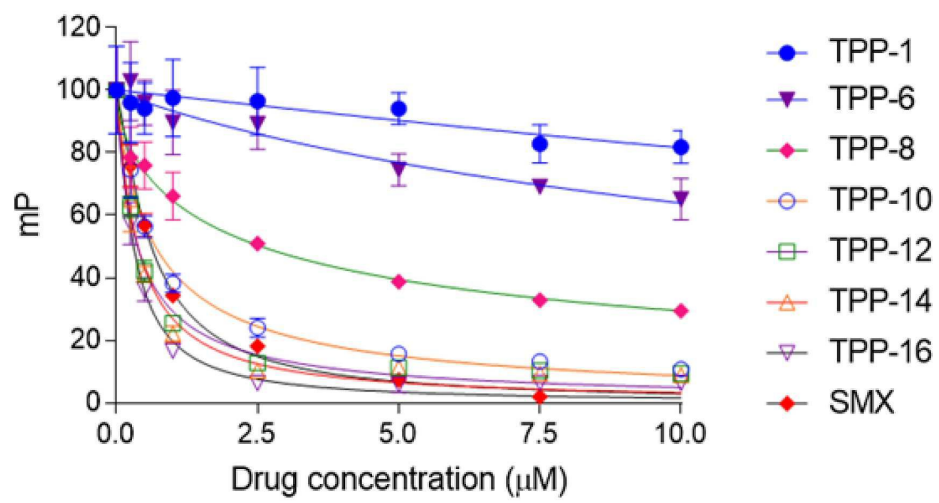


도면3

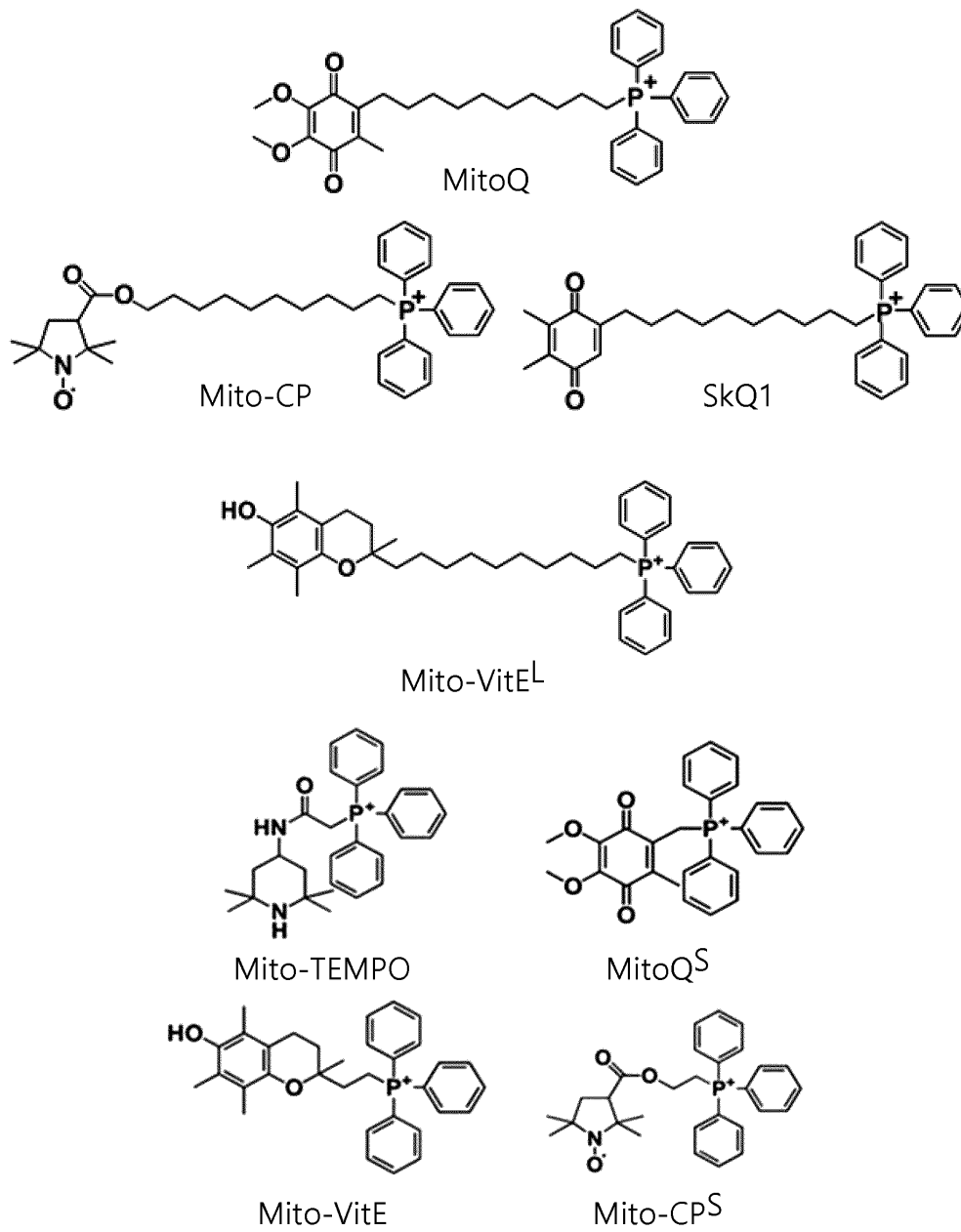


n	name	description
1	TPP-1	metyl-TPP
2	TPP-2	ethyl-TPP
4	TPP-4	butyl-TPP
6	TPP-6	hexyl-TPP
8	TPP-8	octyl-TPP
10	TPP-10	decyl-TPP
12	TPP-12	dodecyl-TPP
14	TPP-14	tetradecyl-TPP
16	TPP-16	hexadecyl-TPP

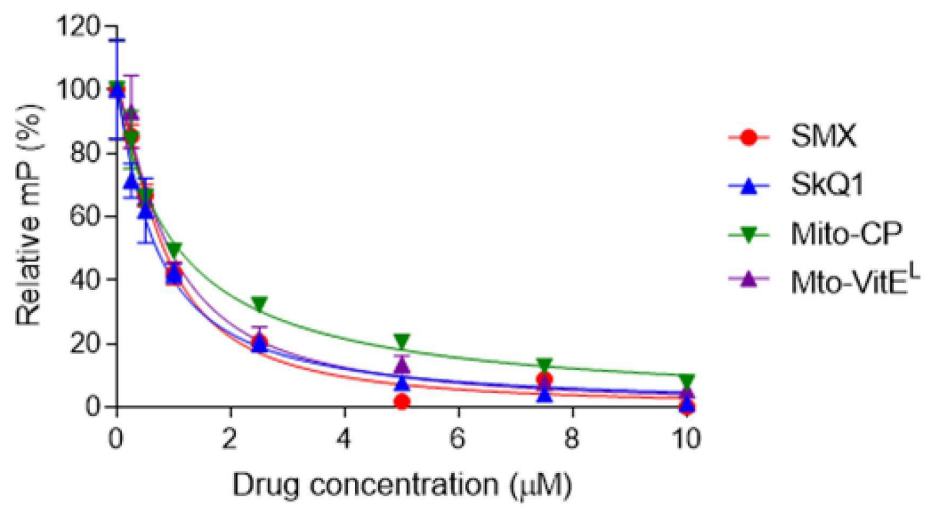
도면4



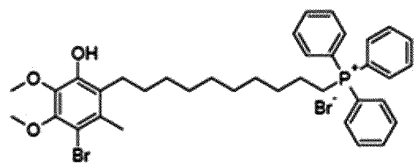
도면5



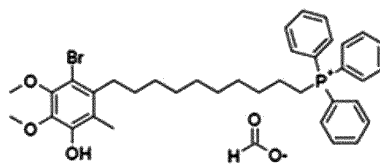
도면6



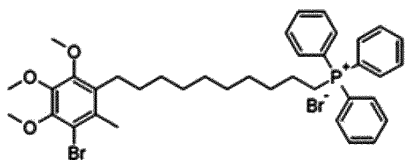
도면7



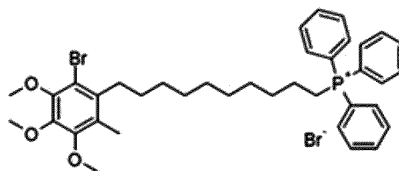
SB-U005



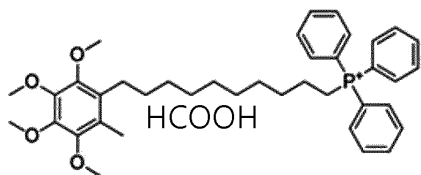
SB-U009



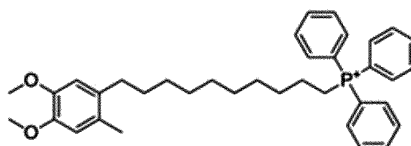
SB-U011



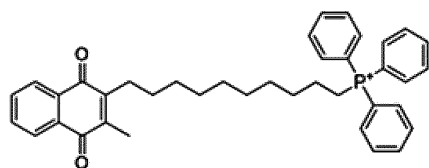
SB-U012



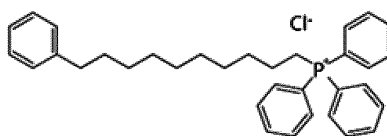
SB-U014



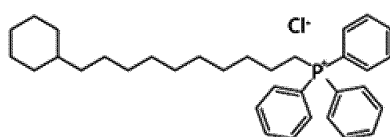
SB-U015



SB-K001



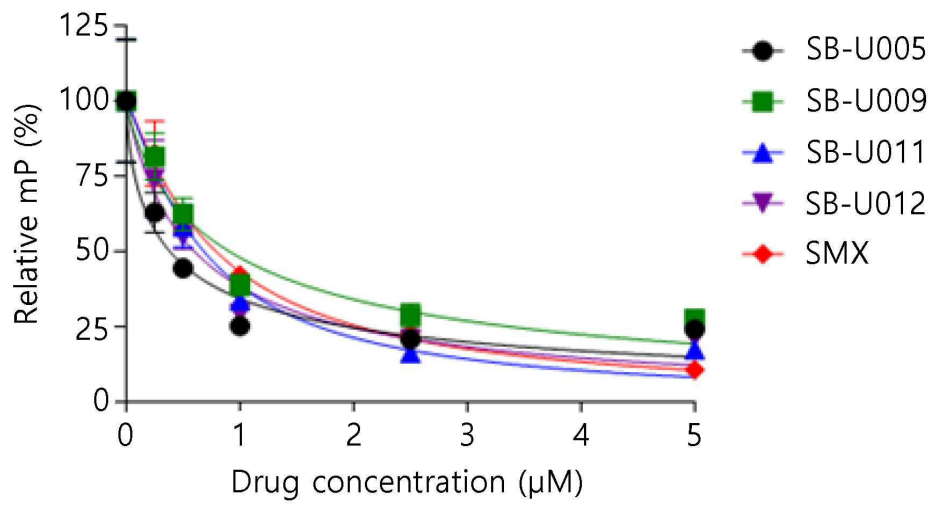
SB-B001



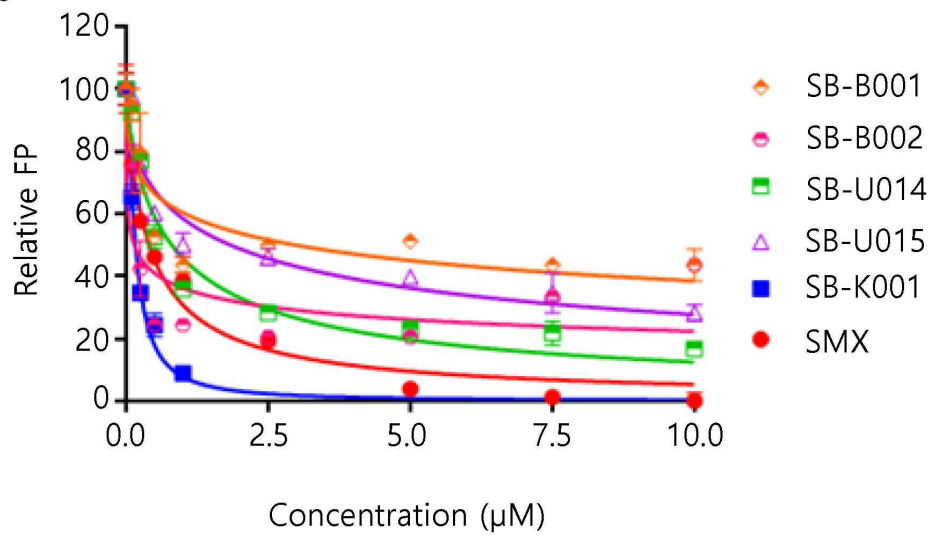
SB-B002

도면8

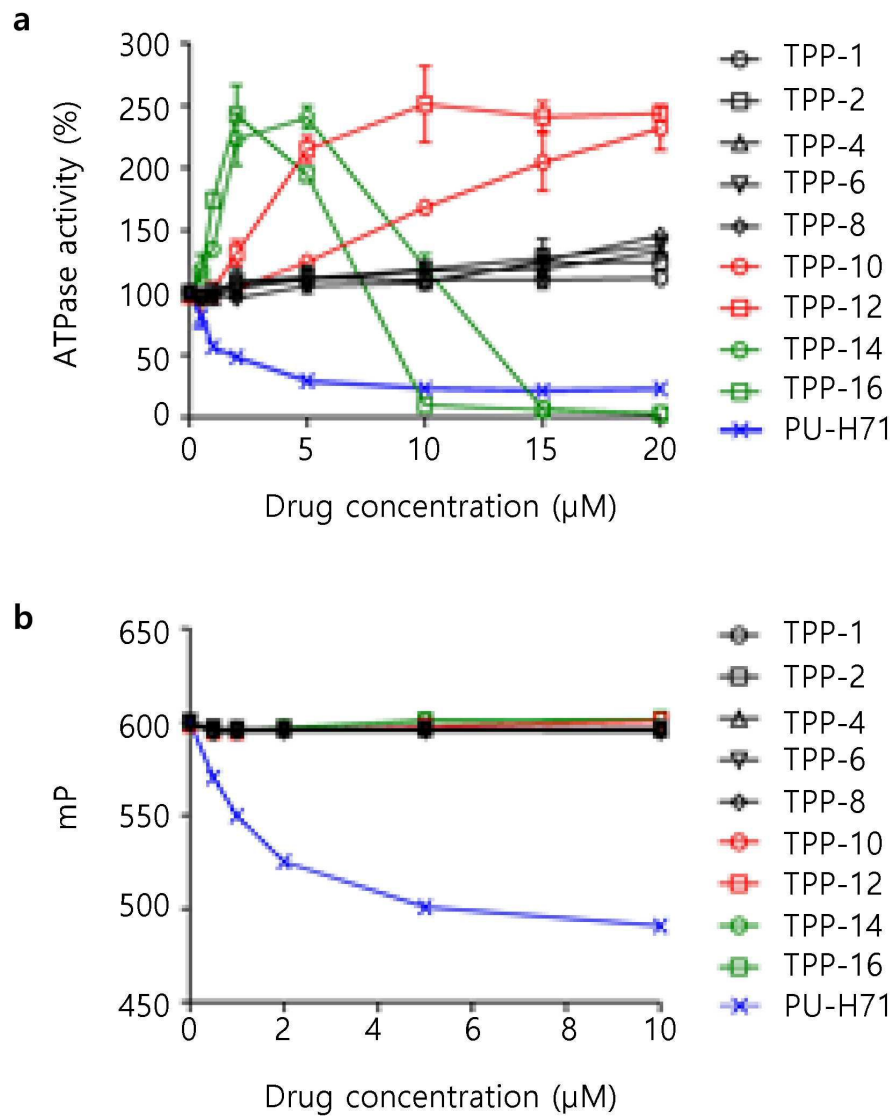
a



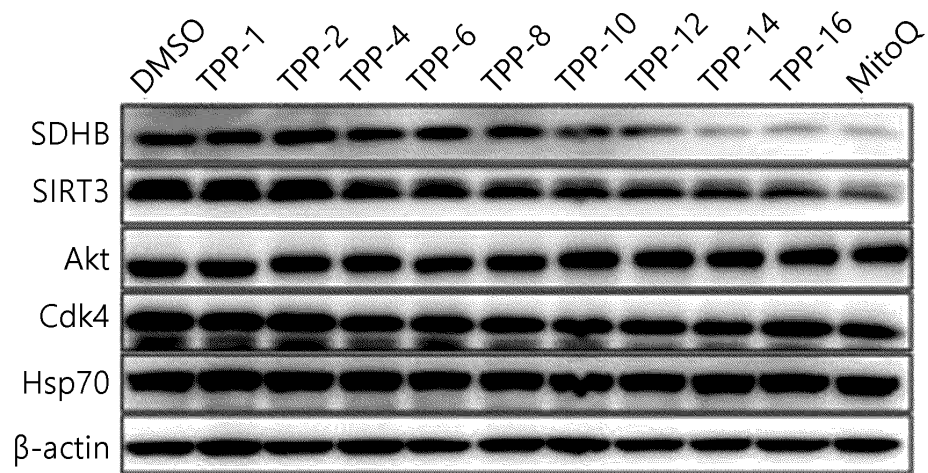
b



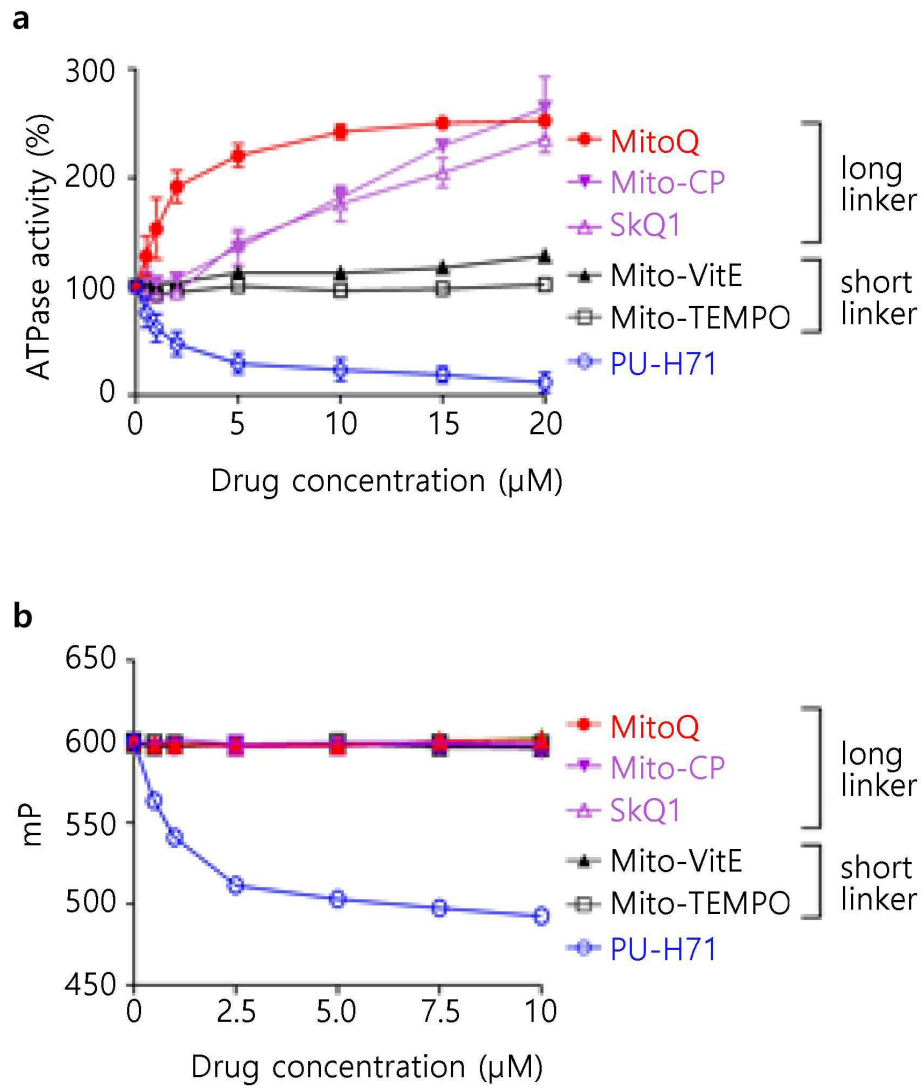
도면9



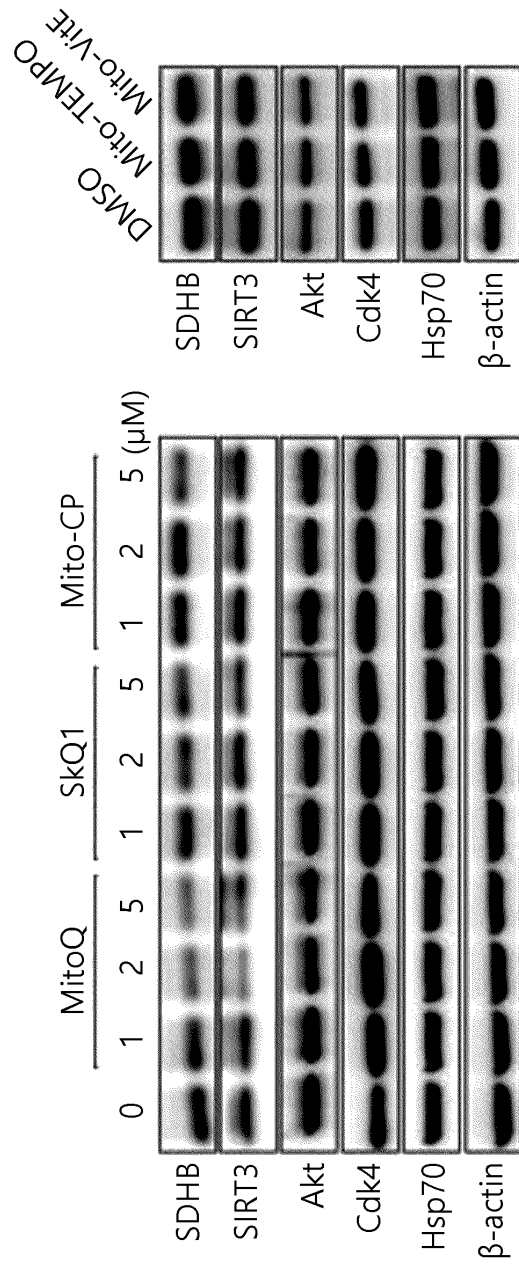
도면10



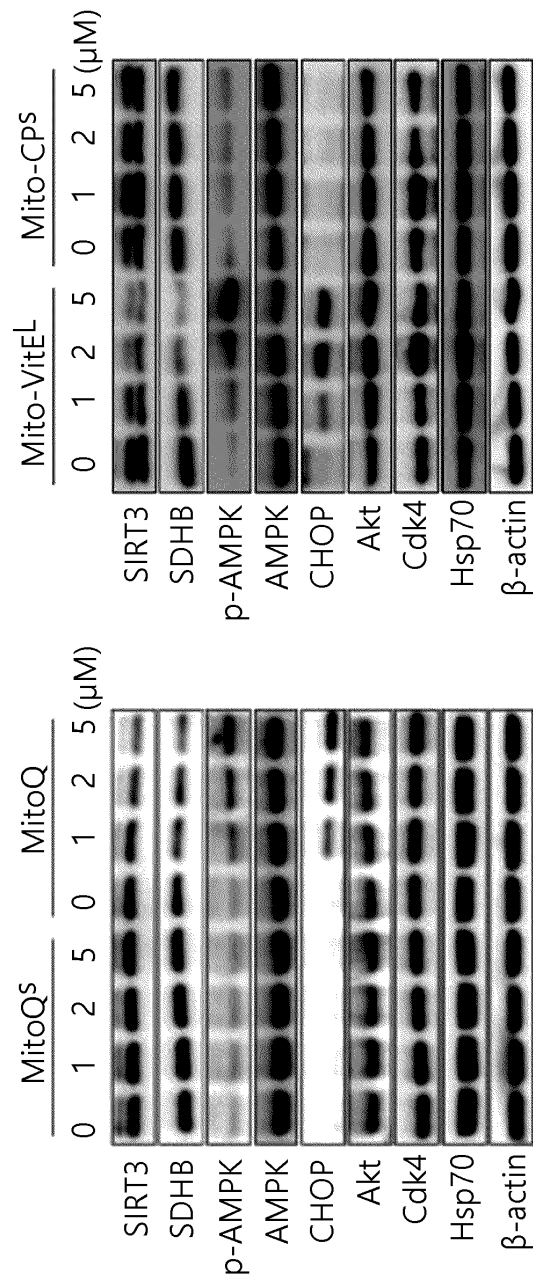
도면11



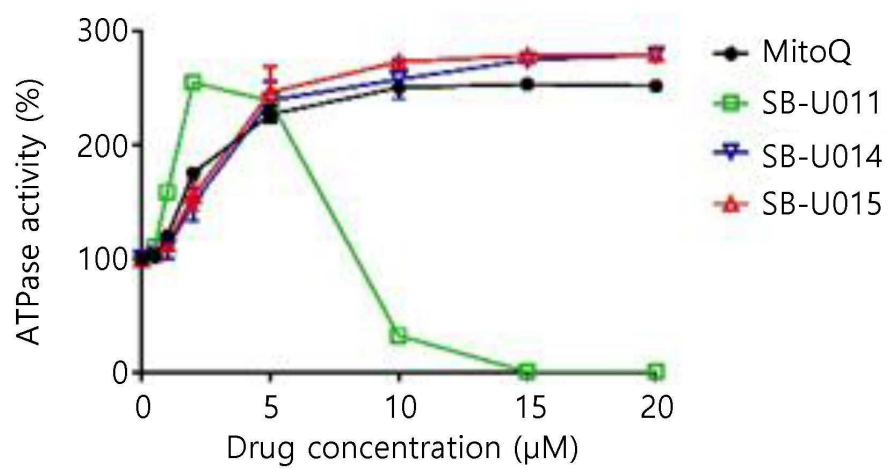
도면12



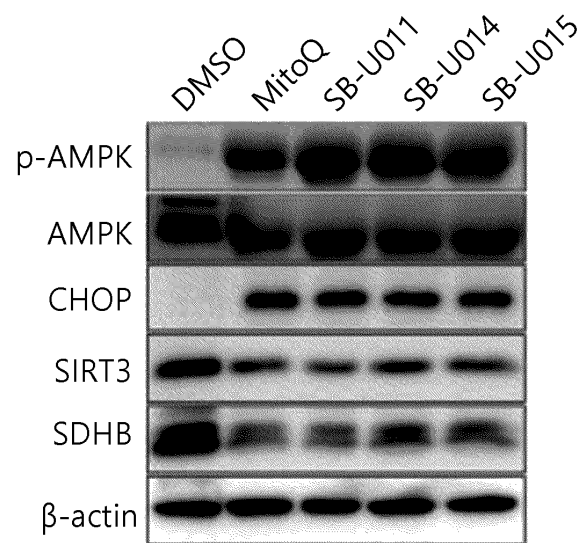
도면13



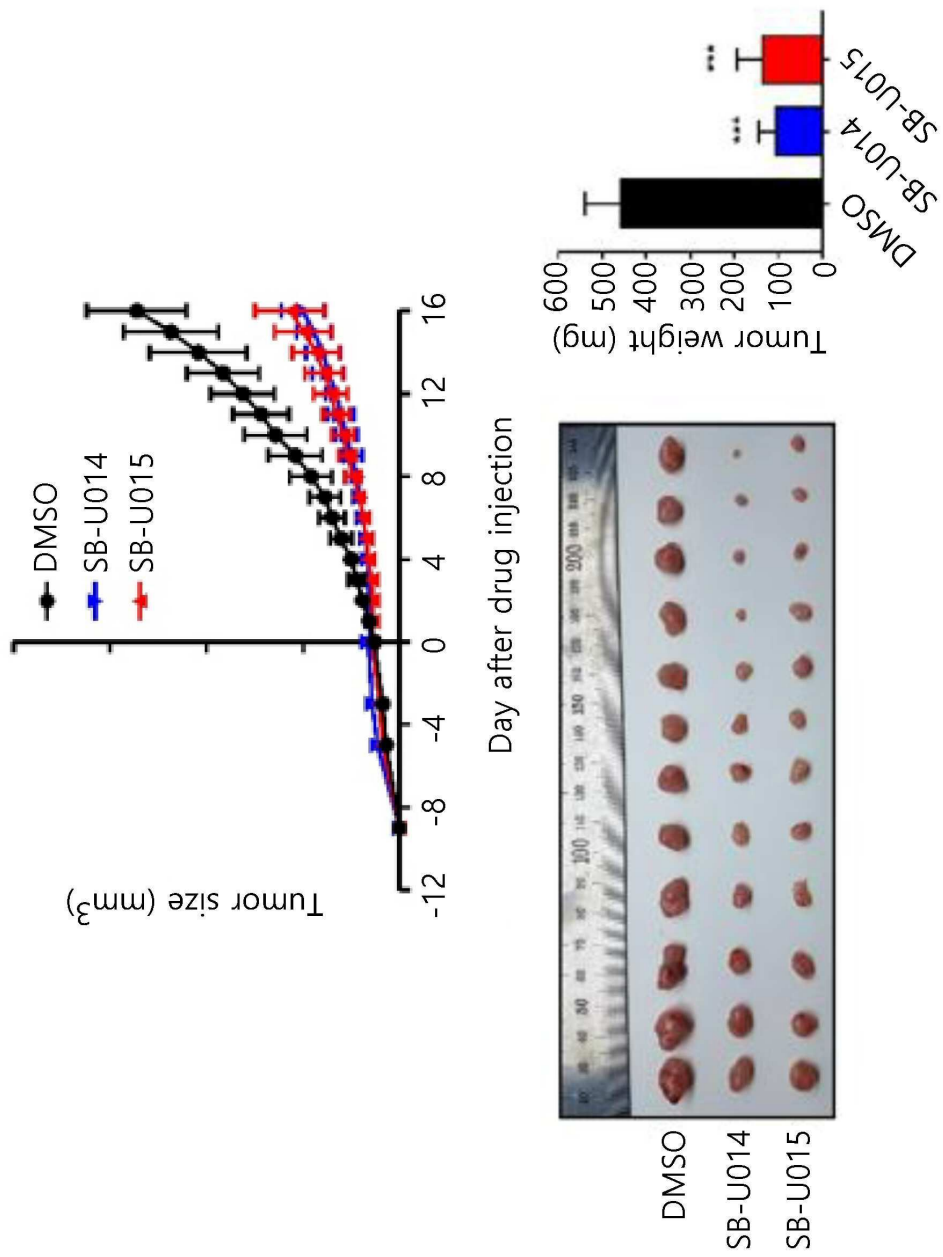
도면14



도면15



도면16



도면17

