(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년05월27일
(11) 등록번호 10-1523257
(24) 등록일자 2015년05월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 403/06 (2006.01) *A61K 31/4192* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07D 403/12* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2009-7023183
(22) 출원일자(국제) 2008년04월04일
심사청구일자 2013년03월07일
(85) 번역문제출일자 2009년11월05일
(65) 공개번호 10-2009-0130106
(43) 공개일자 2009년12월17일
(86) 국제출원번호 PCT/US2008/059505
(87) 국제공개번호 WO 2008/124651
국제공개일자 2008년10월16일
(30) 우선권주장
60/921,932 2007년04월05일 미국(US)
60/964,254 2007년08월10일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO1996004249 A1
WO2001012575 A1
US5674693 A

(73) 특허권자
쓰레솔드 파마슈티컬스, 인코포레이티드
미국 캘리포니아 94080, 사우스 샌프란시스코, 스위트 300, 하버 웨이 170
(72) 발명자
콜브, 하르트무트 씨
미국 90293 캘리포니아 플레야 델 레이 퍼시픽 애비뉴 6413
월쉬, 조셉 씨.
미국 90272 캘리포니아 퍼시픽 팰리세이드 갈로웨이 스트리트 831
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 남앤드남

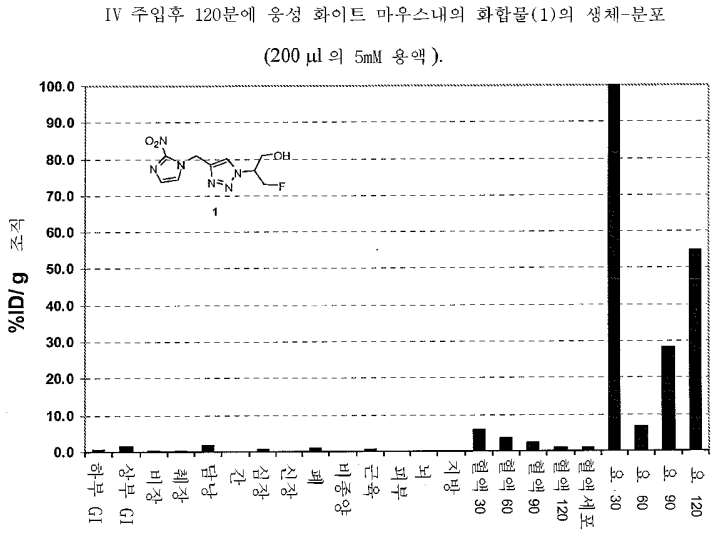
전체 청구항 수 : 총 26 항 심사관 : 신창훈

(54) 발명의 명칭 **니트로-이미다졸 저산소증 영상화제**

(57) 요 약

본 발명은 생체내 저산소 종양 또는 허혈 조직을 검출하기에 유용한 신규한 화학식(I)의 방사성 활성 표지된 생체환원성 트레이서에 관한 것이다. 한 가지 구체예로, 그러한 트레이서는 2-니트로이미다졸 부분, 트리아졸, 약물 동태 향상 치환기를 지닌 대사 안정 링커 및 방사성 동위원소로 구성된다. 바람직한 생체내 영상화 방식은 양전자 방출 단층촬영이다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

간가다르마트, 우메쉬 비.

미국 90034 캘리포니아 로스앤젤레스 베이글리 애비뉴 3714 아파트먼트 6

카리미, 파르하트

미국 02048 매사추세츠 맨스필드 럿지뷰 래인 24

패드겟, 헨리 클립튼

미국 90254 캘리포니아 에르모사 비치 14 스트리트 1225

카시, 다나라크쉬미

미국 90034 캘리포니아 로스앤젤레스 어버랜드 애비뉴 3340 아파트먼트 4

가오, 지용

미국 19096 펜실베니아 웨인우드 트렌트 로드 32

리앙, 퀴안와

미국 91745 캘리포니아 하시엔다 하이츠 클레멘티나 드라이브 2267

콜리어, 토마스 리

미국 18944 펜실베니아 퍼케이지 밀 로드 1811

듀클로스, 브라이언 에이.

미국 49009 미시건 칼라마주 베라 애브뉴 6568

차오, 티에밍

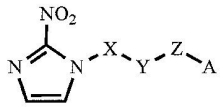
미국 90034 캘리포니아 로스앤젤레스 오버랜드 애비뉴 3701 아파트먼트 에이치265

명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식(I)의 화합물:



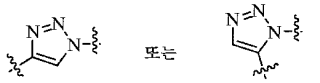
I

상기 식에서,

X는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환된 (C_1-C_{10})알킬렌일이며, 여기서 (C_1-C_{10})알킬렌일 탄소원자중 하나는 -CO-, -CONR'-, -NR'CO-, -NR'-, -O- 또는 -S-로부터 선택된 기에 의해서 대체되거나 대체되지 않고;

각각의 X^1은 독립적으로 히드록실, 티올 및 아미노로 이루어진 군으로부터 선택되며;

Y는 하기 식



Anti-트리아졸 Syn-트리아졸

의 트리아졸릴이고;

Z는 (C_1-C_{10})알킬렌일기이고, 여기서 (C_1-C_{10})알킬렌일기는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환되며;

A는 ^{18}F이고;

R'은 H이거나, (C_1-C_6)알킬, -CO(C_1-C_3)알킬, -CONH(C_1-C_3)알킬 및 -CO_2(C_1-C_3)알킬로 이루어진 군으로부터 선택된다.

청구항 2

제 1항에 있어서, X가 (C_1-C_4)알킬렌일기인 화합물.

청구항 3

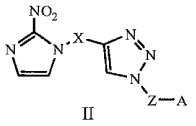
제 2항에 있어서, X가 -CH_2-, -CH_2-CH_2-, -CH_2-CH_2-CH_2- 및 -CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물.

청구항 4

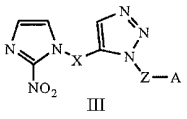
제 1항에 있어서, X가 -CONR'-, -(C_1-C_4)알킬CONR'-, -CONR'(C_1-C_4)알킬- 및 -(C_1-C_4)알킬CONR'(C_1-C_4)알킬로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 R'는 H 또는 (C_1-C_3)알킬인 화합물.

청구항 5

제 1항에 있어서, 하기 화학식(II) 또는 화학식(III)의 화합물:



II



III

상기 식에서,

X는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환된 (C_1-C_{10})알킬렌일이며, 여기서 (C_1-C_{10})알킬렌일 탄소원자중 하나는 -CO-, -CONR'-, -NR'CO-, -NR'-, -O- 또는 -S-로부터 선택된 기에 의해서 대체되거나 대체되지 않고;

각각의 X^1은 독립적으로 히드록실, 티올 및 아미노로 이루어진 군으로부터 선택되며;

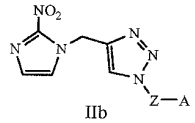
Z는 (C_1-C_{10})알킬렌일기이고, 여기서 (C_1-C_{10})알킬렌일기는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환되며;

A는 ^{18}F이고;

R'은 H이거나, (C_1-C_6)알킬, -CO(C_1-C_3)알킬, -CONH(C_1-C_3)알킬 및 -CO_2(C_1-C_3)알킬로 이루어진 군으로부터 선택된다.

청구항 6

제 1항에 있어서, 화학식(IIb)의 화합물:



IIb

상기 식에서,

Z는 (C_1-C_{10})알킬렌일기이고, 여기서 (C_1-C_{10})알킬렌일기는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환되며;

각각의 X^1은 독립적으로 히드록실, 티올 및 아미노로 이루어진 군으로부터 선택되고;

A는 ^{18}F이다.

청구항 7

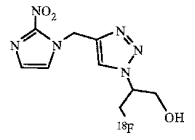
제 1항 내지 제 6항 중 어느 한 항에 있어서, Z가 히드록실, 티올 및 아미노로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개의 기로 치환되거나 치환되지 않은 (C_1-C_4)알킬렌일기인 화합물.

청구항 8

제 7항에 있어서, Z가 -CH_2-, -CH_2-CH_2-,- CH_2-CH_2-CH_2-, -CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-, -CH_2-CH(OH)-, -CH(OH)-CH_2-, -CH(OH)-CH_2-CH_2-, -CH(CH_2OH)-CH_2-, -CH_2-CH(OH)-CH_2-, -CH_2-CH_2-CH(OH)- 및 -CH_2-CH(OH)-CH(OH)-CH_2-으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물.

청구항 9

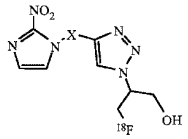
제 1항에 있어서, 하기 화학식의 화합물:



.

청구항 10

하기 화학식(IV)의 화합물:



IV

상기 식에서,

X는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환된 (C_1-C_{10})알킬렌일이며, 여기서, (C_1-C_{10})알킬렌일 탄소원자 중 하나는 -CO-, -CONR'-, -NR'CO-, -NR'-, -O- 또는 -S-로부터 선택된 기에 의해서 대체되거나 대체되지 않고;

R'는 H이거나, (C_1-C_6)알킬, -CO(C_1-C_3)알킬, -CONH(C_1-C_3)알킬 및 -CO_2(C_1-C_3)알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

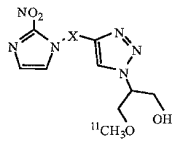
각각의 X^1은 독립적으로 히드록실, 티올 및 아미노로 이루어진 군으로부터 선택된다.

청구항 11

제 10항에 있어서, X가 1 또는 2개의 X^1으로 비치환되거나 치환된 (C_1-C_5)알킬렌일이거나, (C_1-C_{10})알킬렌일 탄소원자중 하나는 -CONR'- 또는 -NR'CO-로부터 선택된 기로 대체되거나 대체되지 않는 화합물.

청구항 12

하기 화학식(V)의 화합물:



V

상기 식에서,

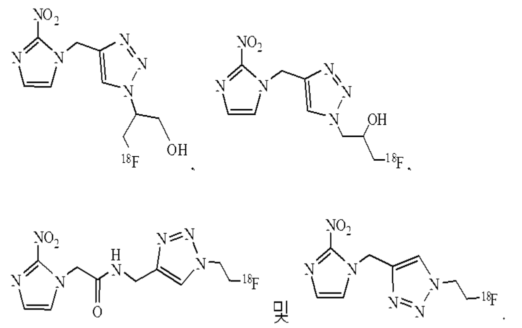
X는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환된 (C_1-C_{10})알킬렌일이며, 여기서, (C_1-C_{10})알킬렌일 탄소원자 중 하나는 -CO-, -CONR'-, -NR'CO-, -NR'-, -O- 또는 -S-로부터 선택된 기에 의해서 대체되거나 대체되지 않고;

R'는 H이거나, (C_1-C_6)알킬, -CO(C_1-C_3)알킬, -CONH(C_1-C_3)알킬 및 -CO_2(C_1-C_3)알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

각각의 X^1은 독립적으로 히드록실, 티올 및 아미노로 이루어진 군으로부터 선택된다.

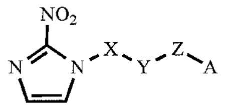
청구항 13

제 1항에 있어서, 하기 화합물들로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물:



청구항 14

PET에 의해 포유동물의 세포내 저산소증을 검출하기 위한, 제 1항에 따른 하기 화학식(I)의 화합물을 포함하는 약학 조성물:



I

상기 식에서, X, Y, Z 및 A는 제 1항에서 정의된 바와 같다.

청구항 15

제 14항에 있어서, X가 (C_1-C_4)알킬렌일기인 약학 조성물.

청구항 16

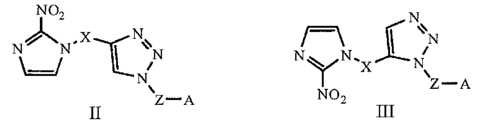
제 15항에 있어서, X가 $-CH_2-$, $-CH_2-CH_2-$, $-CH_2-CH_2-CH_2-$ 및 $-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-$로 이루어진 군으로부터 선택되는 약학 조성물.

청구항 17

제 14항에 있어서, X가 -CONR'-, $-(C_1-C_4)$알킬CONR'-, -CONR'(C_1-C_4)알킬-, 및 $-(C_1-C_4)$알킬CONR'(C_1-C_4)알킬로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서, R'는 H 또는 (C_1-C_3)알킬인 약학 조성물.

청구항 18

제 14항에 있어서, 화합물이 하기 화학식(II) 또는 화학식(III)의 화합물인 약학 조성물:



상기 식에서,

X는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환된 (C_1-C_{10})알킬렌일이며, 여기서 (C_1-C_{10})알킬렌일 탄소원자중 하나는 -CO-, -CONR'-, -NR'CO-, -NR'-, -O- 또는 -S-로부터 선택된 기에 의해서 대체되거나 대체되지 않고;

각각의 X^1은 독립적으로 히드록실, 티올 및 아미노로 이루어진 군으로부터 선택되고;

Z는 (C_1-C_{10})알킬렌일기이고, (C_1-C_{10})알킬렌일기는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환되며;

A는 ^{18}F이고;

R'은 H이거나, (C_1-C_6)알킬, -CO(C_1-C_3)알킬, -CONH(C_1-C_3)알킬 및 -CO_2(C_1-C_3)알킬로 이루어진 군으로부터 선택된다.

청구항 19

제 18항에 있어서, 화합물이 화학식(II)의 화합물인 약학 조성물.

청구항 20

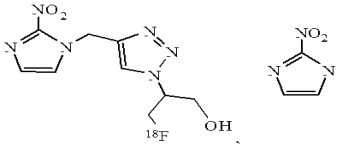
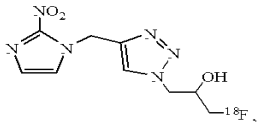
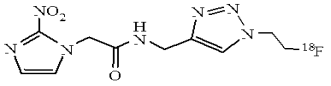
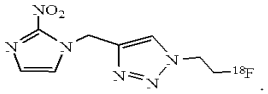
제 14항 내지 제 19항 중 어느 한 항에 있어서, Z가 1, 2 또는 3개의 히드록실기 또는 1, 2 또는 3개의 히드록시(C_1-C_4)알킬기로 치환되거나 치환되지 않은 (C_1-C_4)알킬렌일기인 약학 조성물.

청구항 21

제 20항에 있어서, Z가 -CH_2-, -CH_2-CH_2-, -CH_2-CH_2-CH_2-, -CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-, -CH_2-CH(OH)-, -CH(OH)-CH_2-, -CH(OH)-CH_2-CH_2-, -CH(CH_2OH)-CH_2-, -CH_2-CH(OH)-CH_2-, -CH_2-CH_2-CH(OH)- 및 -CH_2-CH(OH)-CH(OH)-CH_2-로 이루어진 군으로부터 선택되는 약학 조성물.

청구항 22

제 14항에 있어서, 화합물이 하기 화합물들로 이루어진 군으로부터 선택되는 약학 조성물:

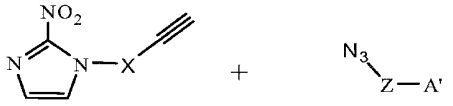

,

,

및

.

청구항 23

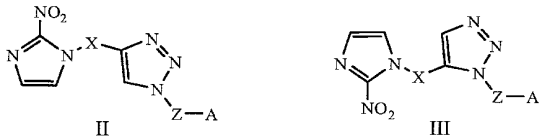
제 14항에 있어서, 세포가 종양 세포 또는 허혈 세포인 약학 조성물.

청구항 24

a) 아지드 치환된 화합물인 A'-Z-N_3를 아세틸렌 치환된 니트로이미다졸로 처리하는 단계로서, 여기서 A'는 이탈기인 단계;



b) 단계 a)의 생성물을 A'를 방사성 표지제로 치환시킴에 의해 방사성 표지시켜 화학식(II) 또는 화학식(III)의 화합물 또는 이들의 혼합물을 형성하는 단계를 포함하는, 제 5항에 따른 화학식(II) 또는 화학식(III)의 화합물 또는 이들의 혼합물을 제조하는 방법:



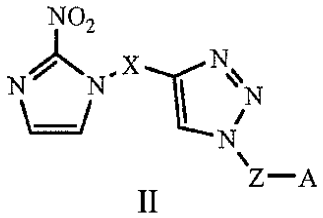
II

III

상기 식에서, X, Z 및 A는 제 5항에서 정의된 바와 같다.

청구항 25

제 24항에 있어서, 화합물이 하기 화학식(II)의 화합물인 방법:



II

상기 식에서, X, Z 및 A는 제 24항에서 정의된 바와 같다.

청구항 26

제 24항에 있어서, 방사성 표지화제가 $K^{18}F$인 방법.

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 생체내 저산소 세포를 검출하기에 유용한 신규한 방사성 활성 표지된 생체 환원 가능한 트레이서에 관한 것이다. 한 가지 특징으로, 본 발명은 낮은 배경 흡수를 디스플레이하여 양호한 종양 대 배경 비를 유도하는 신규한 저산소증 영상화제에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 양전자방출단층촬영술(Positron Emission Tomography: PET)은 질환의 검출에 유용하게 사용되는 분자 영상화 기술이다. PET 영상 시스템은 환자의 조직에서 양전자방출 동위원소의 분포를 기초로 한 영상을 생성시킨다. 동위원소는, 전형적으로, 세포에서 대사되거나 편재되거나 세포내 수용체 부위에 화학적으로 결합하는 분자(예, 글루코오스)에 공유 결합된 양전자-방출 동위원소, 예컨대, F-18, C-11, N-13 또는 O-15로 구성되는 프로브 분자의 주입에 의해서 환자에게 투여된다. 일부의 경우에, 동위원소는 이온성 용액으로서 또는 흡입에 의해서 환자에게 투여된다. 가장 광범위하게 사용되는 양전자-방출 PET 분자 영상 프로브중 하나는 2-데옥시-2-[^{18}F]플루오로-D-글루코오스([^{18}F]FDG)이다.

[0003] 글루코오스 수송체 및 헥소키나아제를 주로 표적하는 글루코오스 유사체 [^{18}F]FDG를 사용하는 PET 스케닝은 암의 조기 검출, 스테이징(staging), 및 리스테이징을 위한 정확한 임상 도구이다. PET-FDG 영상화는 또한 암 화학치료 및 화학방사치료를 모니터링하는데 사용되는데, 그 이유는 글루코오스 이용에서의 조기 변화가 발생되는 효과와 관련되는 것이 밝혀졌기 때문이다. 종양 세포의 특성적 특징은 종양 조직을 신속하게 증식시키는 높은 대사성 요구로부터 유발되는 촉진된 해당 속도(glycolysis rate)이다. 글루코오스와 유사하게, FDG는 글루코오스 수송체를 통해서 암세포에 의해서 흡수되며, 헥소키나아제에 의해서 FDG-6 포스페이트로 포스포릴화된다. FDG-6 포스페이트는 그 전하로 인해서 해당작용 사슬에서 더 이상 진행할 수 없거나 세포에 남아서, 높은 해당작용 속도를 지니는 세포가 검출되게 한다.

[0004] 많은 상황에서 유용하지만, 암을 모니터링하는 FDG-PET 영상화에 있어서 한계가 존재한다. 염증성 조직에서의 축적은 FDG-PET의 특이성을 제한한다. 역으로, 비특이적 FDG 흡수가 또한 종양 반응 예측을 위한 PET의 감도를 제한할 수 있다. 치료 유도된 세포 스트레스 반응은 방사선치료 및 화학치료 약물에 의해서 처리된 종양 세포주에서 FDG-흡수를 일시적으로 증가시키는 것으로 입증되었다. 추가로, 생리학적으로 높은 정상의 배경 활성(예, 뇌에서)은 암-관련된 FDG-흡수의 정량화를 신체 일부에서 불가능하게 할 수 있다.

[0005] 이들 제한으로 인해서, 다른 PET 영상 트레이서가 암조직에서의 다른 효소-매개된 변형물, 예컨대, DNA 복제를 위한 3'-[F-18]플루오로-3'-데옥시티미딘(FLT), 및 콜린 키나아제를 위한 [C-11](메틸)콜린 뿐만 아니라, 초고특이적 활성 수용체-리간드 결합(예, 16α[F-18]플루오로에스트라디올) 및 효능적인 유전자 발현(예, [F-18]플루오로-간시클로버([F-18]fluoro-ganciclovir))을 표적하도록 개발되고 있다. 분자 표적된 작용제는 암에서의 비-침습성 PET 영상을 위한 큰 잠재적 가치를 입증하고 있다.

[0006] 이들 연구는 암의 특이적 대사 표적에 대한 비-침습적 PET 영상화의 큰 가치를 입증하고 있다. PET 영상을 환자 관리와 통합시키는 명백한 임상적 가치에도 불구하고, 제한이 존재한다. 특정의 예에서, 현재의 영상 프로브는 특이성이 결여되어 있거나 배경 특성에 대해서 불충분한 신호를 지니고 있다. 또한, 치료적 개입을 위해서 시험되는 새로운 생물학적 표적은 치료적 효능을 평가하기 위한 새로운 영상화 프로브를 필료로 할 것이다.

[0007] 따라서, 종양 표적에 아주 높은 친화성을 보이며 그러한 표적에 대해 특이성을 나타내어 암 약물 개발을 지지하고 건강 관리 제공자에게 질환을 정확하게 진단하고 치료를 모니터링할 수 있는 수단을 제공하는 추가의 바이오마커가 요구되고 있다. 그러한 영상화 프로브는, 단지 나노몰량의 트레이서가 환자에게 주입되면서 환자의 효

과(outcome)를 개선시켜서 더 작은 종양이 검출되게 할 수 있다.

[0008] 암 치료의 임상적 성공에 대한 중요한 사항은 특정 형태의 암이 치료에 어떻게 반응하는지를 예측하는 능력이다. 특이적 종양의 경우에, 인자, 예컨대, 종양의 표현형, 크기 및 위치는 모두 치료학적 치료 결정에 크게 영향을 준다. 표준 화학치료 또는 방사선 치료가 이용되어 다양한 종양을 치료하지만, 특정의 종양 타입은 표준 치료학적 치료에 내성이어서, 환자의 임상적 효과를 악화시킬 수 있다.

[0009] 암 세포 성장의 독특한 성질로 인해서, 이의 증식성 특성은 그의 치료학적 치료를 위한 단서를 제공할 수 있다. 예를 들어, 암성 종양의 신속하고 무질서한 성장 때문에, 이들은 종종 무질서한 신생혈관형성을 전개하여 불량한 혈관화 환경을 유도한다. 문헌[Wang, J. and L. Maurer, *Positron Emission Tomography: Applications in Drug Discovery and Drug Development* Curr. Top. Med. Chem., 2005, 5: p. 1053-1075]. 또한, 혈액 공급으로부터 100 내지 200㎛ 떨어진 환경은 10mmHg 미만의 조직 pO_2가 특징인 저산소성이 될 수 있다. 이러한 저산소 상태로 인해서, 저산소증 유도 가능한 인자-1(HIF-1)의 종양 과발현이 혈관 내피 성장 인자(VEGF), 탄산탈수효소-IX(CA-IX), 및 당분해 효소를 포함한 종양 생존에 필요한 수 가지 단백질의 상향 조절을 유도한다.

[0010] 저산소 종양은 임상적으로 문제가 있다: 이들은 방사선 및 세포독성 치료의 효과 둘 모두에 내성이어서 치료 실패를 초래할 수 있다. 문헌[Adams, G., *Hypoxia-mediated drugs for radiation and chemotherapy.* Cancer, 1981. 48: p. 696-707; Moulder, J. and S. Rockwell, *Hypoxic fractions of solid tumors: experimental techniques, methods of analysis, and a survey of existing data.* Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 1984, 10: p. 695-712; Nordsmark, M., M. Overgaard, and J. Overgaard, *Pretreatment oxygenation predicts radiation response in advanced squamous cell carcinoma of the head and neck.* Radiother. Oncol, 1996. 41 : p. 31-39]. 게다가, 저산소 암 세포는 환자 신체 전체를 통해서 침습적으로 확산되는 것으로 공지된 악성 암으로 분류되고 있다. 문헌[Brizel, D. M., et al., *Tumour oxygenation predicts for the likelihood of distant metastases in human soft tissue sarcoma.* Cancer Res., 1996. 56: p. 941-943; H?ckel, M., et al., *Association between tumor hypoxia and malignant progression in advanced cancer of the cervix.* Cancer Res., 1996. 56: p. 941-943]. 몇 가지 유형의 사람 암은 유방암, 자궁경부암(cervical cancer) 및 비소세포 폐암을 포함한 저산소성 암이 되는 것을 공지되어 있다. 문헌[Vaupel, P., et al., *Oxygenation of human tumours: evaluation of tissue oxygen distribution in breast cancers by computerized O_2 tension measurements*. Cancer Res., 1991, 51 : p. 3316-3322].

[0011] 저산소성 종양은 통상의 방사선 및 세포독성 치료 둘 모두에 불량하게 반응하기 때문에, 고압 O_2, ARCON, 방사선 감작화제 및 생체환원성 세포독성 제제를 포함하는 저산소성 암 세포를 치료하기 위한 몇 가지 대안적인 방법이 존재한다. 문헌[Seddon, B. M. and P. Workman, *The role of functional and molecular imaging in cancer drug discovery and development* Brit. J. Radiol, 2003. 76: p. S 1 28-S 138]. 마지막 예에서, 니트로이미다졸 화학형을 함유하는 생체환원성 제제(bioreductive agent)는 세포내에서 환원되어 결국 세포내 포집되는 라디칼 음이온 대사물질을 형성한다. 산소성 환경에서, 라디칼 음이온은 O_2와 반응하고, 이의 예비대사된 상태로 되돌아간다.

[0012] 환자내의 종양 저산소증의 확인은 치료를 위한 생체환원-기반 치료를 적절히 계획하기 위해서 필요하다. 종양내의 pO_2 농도의 전극 측정을 통해서 종양 저산소증을 측정하는 것은 아무리 잘해도 실현 불가능한 방법이다. 또한, 이러한 기술로는 표면상의 종양에서 정보를 얻는 것이 가능할 뿐이다. 암 세포의 저산소 특성을 검출하는 더욱 일반적이고 덜 침습적인 방법은 세포 pO_2에 반비례하여 저산소 세포내에 편재되는 방사선 표지된 생체환원성 트레이서에 의존한다.

[0013] [^{18}F]F-MISO (Rasey, J. S., et al., *Determining the hypoxic fraction in a rat glioma by uptake of radiolabeled fluoromisonidazole*. Radiat. Res., 2000. 153: p. 84-92; Bentzen, L., et al., *Feasibility of detecting hypoxia in experimental mouse tumours with ^{18}F-fluorinated tracers and positron emission tomography: a study evaluating ^{18}F-fluoromisonidazole and [^{18}F] fluoro-2-deoxy-D-glucose*. Acta. Oncol., 2000. 39: p. 629-637), [^{18}F]F-EF1 (Hustinx, R., et al., *Non-invasive assessment of tumor hypoxia with the 2-nitroimidazole ^{18}F-EFI and PET* J. Nucl. Med., 1999. 4: p. 99P (abstract 401)), [^{18}F]-FETNIM (Chao, K. S., et al., A *novel approach to overcome hypoxic tumor resistance: Cu-ATSM-guided intensity-*

modulated radiation therapy. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 2001. 49: p. 1171-1182; Yang, D.J., et al., Development of ^{18}*F-labeled fluoroerythronitroimidazole as a PET agent for imaging tumor hypoxia*. Radiology, 1995. 194: p. 795-800; Gronroos, T., et al., *Pharmacokinetics of [*^{18}*F]-FETNIM. A potential hypoxia marker for* PET J. Nucl. Med., 2001. 42: p. 1397-1404), [^{18}F]FRP-170 (Ishikawa, Y., et al., *Development of [*^{18}*F]FRP-170 injection for imaging hypoxia by PET.*, Kaku Igaku., 2005. 42: p. 1-10.), 및 [^{62}Cu]-ATSM (Fujibayashi, Y., et al., *Copper-62-ATSM-a new hypoxia imaging agent with high membrane permeability and low redox potential*. J. Nucl. Med., 1997. 38: p. 1155-1160)을 포함한 생체내 저산소 세포를 검출할 수 있는 몇 가지 생체환원성 영상화제가 존재한다.

[0014] 가장 임상적으로 연구된 저산소증 마커중 하나는 [^{18}F]F-MISO, 즉, 저산소 세포 방사선 감작화제 미소니다졸(misonidazole)의 불소 유사체이다. [^{18}F]F-MISO는 환자내의 저산소 종양을 성공적으로 확인하지만, 저산소 종양내로의 완만한 확산은 영상화 전에 장시간을 필요로 하며, 또한 높은 배경 흡수가 작은 종양 대 배경 비를 유도한다. 대안으로서, 몇몇의 그룹은 정상산소 조직(normoxic tissue)으로부터의 트레이서 세척을 증가시킴으로서 종양 대 배경 비를 증가시키기 위해서 친지성이 덜한 특성을 지니는 니트로이미다졸을 제조하였다.

[0015] 이들 저산소 영상화제가 임상적 기대를 보이고 있지만, 신속하고 효능적으로 더욱 정확한 저산소증 검정을 위해서 단시간내에 피크 신호 대 노이즈 비를 유도하는 향상된 약동학적 특징을 지니는 저산소증 트레이서에 대한 충족되지 않은 요구가 있다.

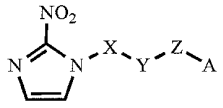
발명의 상세한 설명

[0016] **발명의 요약**

[0017] 본 발명은 낮은 배경 흡수를 나타내어 높은 종양 대 배경 비를 유도하는 신규한 저산소증 영상화제에 관한 것이다. 더욱 특히, 본 발명은 신속하고 우세하게 신장 제거(renal clearance)를 나타내어 낮은 배경 흡수, 낮은 비정상적 흡수 및 일반적으로 높은 종양 대 배경 비를 유도하는 신규의 2-니트로이미다졸 기반 저산소증 영상화제에 관한 것이다.

[0018] 본 발명은 생체내 저산소 종양을 검출하기에 유용한 신규한 방사성 표지된 생체환원성 트레이서에 관한 것이다. 한 가지 구체예에서, 트레이서는 니트로이미다졸 부분, 트리아졸, 약물 동태 향상 치환체를 지닌 대사 안정성 링커 및 단일광자방출 전산화 단층촬영(Single Photon Emission Computed Tomography, STECT) 또는 양전자 방출 단층촬영(PET) 영상화에 적합한 방사성동위원소로 이루어진다. 바람직한 생체내 영상화 방식은 양전자 방출 단층촬영이다. 저산소 세포는 세포독성 및 방사선 치료에 내성이며, 또한 근처 조직으로의 증가된 증식 및 전파 성향을 지녀서, 환자의 암의 저산소 특성의 정확한 검정은 치료 방법 및 효과를 유도하고 이에 크게 영향을 줄 수 있다.

[0019] 한 가지 특징으로, 본 발명은 하기 화학식(I)의 화합물을 제공한다:



I

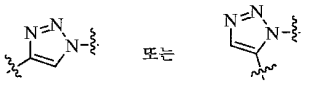
[0020]

[0021] 상기 식에서,

[0022] X는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환된 (C_1-C_{10})알킬렌일이며, 여기서, (C_1-C_{10})알킬렌일 탄소원자 중 하나는 -CO-, -CONR'-, -NR'CO-, -NR'-, -O- 또는 -S-로부터 선택된 기에 의해서 대체되거나 대체되지 않거나, (C_1-C_{10})알킬렌일기의 2, 3 또는 4개의 인접 원자는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환된 (C_3-C_8)시클로알킬 또는 (C_3-C_8)헤테로시클로알킬 고리 또는 이들의 조합을 형성하고;

[0023] 각각의 X^1은 독립적으로 히드록실, 티올, 아미노, 알킬, 알콕시, 티오알킬, 또는 할로이며;

[0024] Y는 다음 식



[0025] Anti-트리아졸 Syn-트리아졸

[0026] 의 트리아졸릴이고;

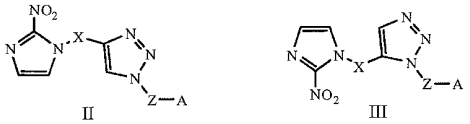
[0027] Z는 탄소원자중 하나가 -CO-, -CONR"-, -NR"CO-, -NR"-, -O- 또는 -S-로부터 선택된 기에 의해서 대체되거나 대체되지 않은 (C_1-C_{10})알킬렌일기이고, (C_1-C_{10})알킬렌일기는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환되며;

[0028] A는 방사성 활성 원소이고;

[0029] R' 및 R"는 각각 독립적으로 H이거나, 각각 독립적으로 (C_1-C_6)알킬, -CO(C_1-C_3)알킬, -CONH(C_1-C_3)알킬 및 -CO_2(C_1-C_3)알킬로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0030] 상기 화합물의 한 가지 변화로, X는 1, 2 또는 3개의 히드록실기 또는 1, 2 또는 3개의 -NH_2 또는 -NH(C_1-C_4)알킬기로 치환되거나 치환되지 않은 (C_1-C_4)알킬렌일기이다. 또 다른 변화로, X는 -CH_2-, -CH_2-CH_2-, -CH_2-CH_2-CH_2-, -CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-, -CH_2-CH(OH)-, -CH(OH)-CH_2-, -CH(OH)-CH_2-CH_2-, -CH_2-CH(OH)-CH_2-, -CH_2-CH_2-CH(OH)- 및 -CH_2-CH(OH)-CH(OH)-CH_2-로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정의 변화로, X는 -CONR'-, -(C_1-C_4)알킬CONR'-, -CONR'(C_1-C_4)알킬-, -(C_1-C_4)알킬CONR'(C_1-C_4)알킬로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서, R'는 H 또는 (C_1-C_3)알킬이다. 상기 화합물의 특정의 변화로, X, Z 또는 A중 어느 하나는 ^{11}C을 포함한다.

[0031] 또 다른 특징으로, 하기 화학식(II) 또는 화학식(III)의 화합물이 제공된다:



[0032] II III

[0033] 상기 식에서,

[0034] X는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환된 (C_1-C_{10})알킬렌일이며, 여기서, (C_1-C_{10})알킬렌일 탄소원자중 하나는 -CO-, -CONR'-, -NR'CO-, -NR'-, -O- 또는 -S-로부터 선택된 기에 의해서 대체되거나 대체되지 않거나, (C_1-C_{10})알킬렌일기의 2, 3 또는 4개의 인접 원자는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환된 (C_3-C_8)시클로알킬 또는 (C_3-C_8)헤테로시클로알킬 고리 또는 이들의 조합을 형성하고;

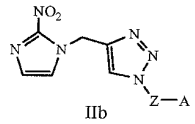
[0035] 각각의 X^1은 독립적으로 히드록실, 티올, 아미노, 알킬, 알콕시, 티오알킬 및 할로로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0036] Z는 탄소원자중 하나가 -CO-, -CONR"-, -NR"CO-, -NR"-, -O- 또는 -S-로부터 선택된 기에 의해서 대체되거나 대체되지 않은 (C_1-C_{10})알킬렌일기이고, (C_1-C_{10})알킬렌일기는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환되며;

[0037] A는 방사성 활성 원소이고;

[0038] R' 및 R"는 각각 독립적으로 H이거나, 각각 독립적으로 (C_1-C_6)알킬, -CO(C_1-C_3)알킬, -CONH(C_1-C_3)알킬 및 -CO_2(C_1-C_3)알킬로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0039] 한 가지 특정의 구체예에서, 화합물(IIb)의 화합물이 제공된다:



IIb

[0040]

[0041] 상기 식에서,

[0042] Z는 탄소원자중 하나가 -CO-, -CONR"-, -NR"CO-, -NR"-, -O- 또는 -S-로부터 선택된 기에 의해서 대체되거나 대체되지 않은 (C_1-C_{10})알킬렌일기이고, (C_1-C_{10})알킬렌일기는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환되며;

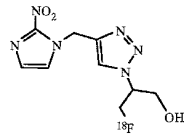
[0043] R"는 H이거나, (C_1-C_6)알킬, -CO(C_1-C_3)알킬, -CONH(C_1-C_3)알킬 및 -CO_2(C_1-C_3)알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0044] 각각의 X^1은 독립적으로 히드록실, 티올, 아미노, 알킬, 알콕시, 티오알킬 또는 할로이고;

[0045] A는 방사성 활성 원소이다.

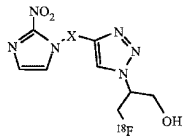
[0046] 상기 화합물 각각에 따른 특정의 변화로, Z는 히드록실, 티올, 아미노, (C_1-C_4)알킬, (C_1-C_4)알콕시, 티오(C_1-C_4)알킬 및 할로로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개의 기로 치환되거나 치환되지 않은 (C_1-C_4)알킬렌일기이다. 상기 화합물의 한 가지 변화로, Z는 -CH_2-, -CH_2-CH_2-,- CH_2-CH_2-CH_2-, -CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-, -CH_2-CH(OH)-, -CH(OH)-CH_2-, -CH(OH)-CH_2-CH_2-, -CH(CH_2OH)-CH_2-, -CH_2-CH(OH)-CH_2-, -CH_2-CH_2-CH(OH)- 및 -CH_2-CH(OH)-CH(OH)-CH_2-으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0047] 상기 화합물 각각에 따른 변화로, A는 ^{18}F 또는 ^{11}C-Me이다. 상기 화합물의 특정의 변화로, A는 ^{18}F이다. 상기 화합물의 한 가지 변화로, 하기 화학식의 화합물이 제공된다:



[0048]

[0049] 또 다른 구체예로, 화학식(IV)의 화합물이 제공된다:



IV

[0050]

[0051] 상기 식에서,

[0052] X는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환된 (C_1-C_{10})알킬렌일이며, 여기서, (C_1-C_{10})알킬렌일 탄소원자 중 하나는 -CO-, -CONR'-, -NR'CO-, -NR'-, -O- 또는 -S-로부터 선택된 기에 의해서 대체되거나 대체되지 않거나, (C_1-C_{10})알킬렌일기의 2, 3 또는 4개의 인접 원자는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환된 (C_3-C_8)시클로알킬 또는 (C_3-C_8)헤테로시클로알킬 고리 또는 이들의 조합을 형성하고;

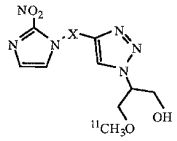
[0053] R'는 H이거나, (C_1-C_6)알킬, -CO(C_1-C_3)알킬, -CONH(C_1-C_3)알킬 및 -CO_2(C_1-C_3)알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0054] 각각의 X^1은 독립적으로 히드록실, 티올, 아미노, (C_1-C_4)알킬, (C_1-C_4)알콕시, 티오(C_1-C_4)알킬 및 할로로 이루

어진 군으로부터 선택된다.

[0055] 상기 화합물의 특정의 변화로, X는 1 또는 2개의 X^1으로 비치환되거나 치환된 (C_1-C_5)알킬렌일이거나, (C_1-C_{10})알킬렌일 탄소원자중 하나는 -CONR'- 또는 -NR'CO-로부터 선택된 기로 대체되거나 대체되지 않거나, (C_1-C_{10})알킬렌일기중의 2, 3 또는 4개의 인접 원자는 1, 2 또는 3개의 X^1으로 비치환되거나 치환된 (C_3-C_8)시클로알킬을 형성하고, X^1은 -OH 또는 $-NH_2$이다.

[0056] 또 다른 구체예에서, 화학식(V)의 화합물이 제공된다:



V

[0057]

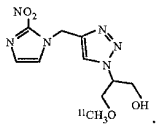
[0058] 상기 식에서,

[0059] X는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환된 (C_1-C_{10})알킬렌일이며, 여기서, (C_1-C_{10})알킬렌일 탄소원자중 하나는 -CO-, -CONR'-, -NR'CO-, -NR'-, -O- 또는 -S-로부터 선택된 기에 의해서 대체되거나 대체되지 않거나, (C_1-C_{10})알킬렌일기의 2, 3 또는 4개의 인접 원자는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환된 (C_3-C_8)시클로알킬 또는 (C_3-C_8)헤테로시클로알킬 고리 또는 이들의 조합을 형성하고;

[0060] R'는 H이거나, (C_1-C_6)알킬, -CO(C_1-C_3)알킬, -CONH(C_1-C_3)알킬 및 $-CO_2$(C_1-C_3)알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0061] 각각의 X^1은 독립적으로 히드록실, 티올, 아미노, 알킬, 알콕시, 티오알킬 및 할로로 이루어진 군으로부터 선택된다.

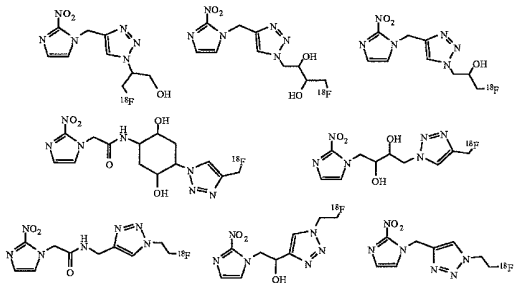
[0062] 상기 화합물의 특정의 변화로, 하기 화학식의 화합물이 제공된다:



.

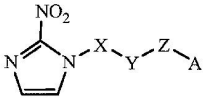
[0063]

[0064] 상기 화합물의 또 다른 특징으로, 하기 화학식의 화합물이 제공된다:



[0065]

[0066] 또 다른 구체예로, a) 하기 화학식(I)의 화합물을 포유동물에게 투여하고, b) 포유동물의 저산소 세포내의 보유된 방사성 활성 원소의 존재를 PET에 의해서 검출함을 포함하여 세포내 저산소증을 검출하는 방법을 제공한다:



I

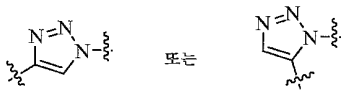
[0067]

[0068] 상기 식에서,

[0069] X는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환된 (C_1-C_{10})알킬렌일이며, 여기서, (C_1-C_{10})알킬렌일 탄소원자 중 하나는 -CO-, -CONR'-, -NR'CO-, -NR'-, -O- 또는 -S-로부터 선택된 기에 의해서 대체되거나 대체되지 않거나, (C_1-C_{10})알킬렌일기의 2, 3 또는 4개의 인접 원자는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환된 (C_3-C_8)시클로알킬 또는 (C_3-C_8)헤테로시클로알킬 고리 또는 이들의 조합을 형성하고;

[0070] 각각의 X^1은 독립적으로 히드록실, 티올, 아미노, 알킬, 알콕시, 티오알킬, 또는 할로이며;

[0071] Y는 다음 식

[0072] 

Anti-트리아졸 Syn-트리아졸

[0073] 의 트리아졸릴이고;

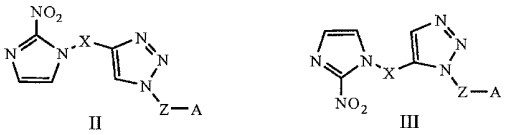
[0074] Z는 탄소원자중 하나가 -CO-, -CONR"-, -NR"CO-, -NR"-, -O- 또는 -S-로부터 선택된 기에 의해서 대체되거나 대체되지 않은 (C_1-C_{10})알킬렌일기이고, (C_1-C_{10})알킬렌일기는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환되며;

[0075] A는 방사성 활성 원소이고;

[0076] R' 및 R"는 각각 독립적으로 H이거나, 각각 독립적으로 (C_1-C_6)알킬, -CO(C_1-C_3)알킬, -CONH(C_1-C_3)알킬 및 -CO_2(C_1-C_3)알킬로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0077] 상기 방법의 한 가지 변화로, X는 1, 2 또는 3개의 히드록실기 또는 1, 2 또는 3개의 $-NH_2$ 또는 -NH(C_1-C_4)알킬기로 치환되거나 치환되지 않은 (C_1-C_4)알킬렌일기이다. 또 다른 변화로, X는 $-CH_2-$, $-CH_2-CH_2-$, $-CH_2-CH_2-CH_2-$, $-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-$, $-CH_2-CH(OH)-$, $-CH(OH)-CH_2-$, $-CH(OH)-CH_2-CH_2-$, $-CH_2-CH(OH)-CH_2-$, $-CH_2-CH_2-CH(OH)-$ 및 $-CH_2-CH(OH)-CH(OH)-CH_2-$로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정의 변화로, X는 -CONR'-, -(C_1-C_4)알킬CONR'-, -CONR'(C_1-C_4)알킬-, -(C_1-C_4)알킬CONR'(C_1-C_4)알킬로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서, R'는 H 또는 (C_1-C_3)알킬이다.

[0078] 상기 방법의 한 가지 특정의 변화로, 화합물은 하기 화학식(II) 또는 화학식(III)의 화합물이다:

[0079] 

[0080] 상기 식에서,

[0081] X는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환된 (C_1-C_{10})알킬렌일이며, 여기서, (C_1-C_{10})알킬렌일 탄소원자 중 하나는 -CO-, -CONR'-, -NR'CO-, -NR'-, -O- 또는 -S-로부터 선택된 기에 의해서 대체되거나 대체되지 않거나, (C_1-C_{10})알킬렌일기의 2, 3 또는 4개의 인접 원자는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환된 (C_3-C_8)시클로알킬 또는 (C_3-C_8)헤테로시클로알킬 고리 또는 이들의 조합을 형성하고;

[0082] 각각의 X^1은 독립적으로 히드록실, 티올, 아미노, 알킬, 알콕시, 티오알킬 및 할로로 이루어진 군으로부터 선택되고;

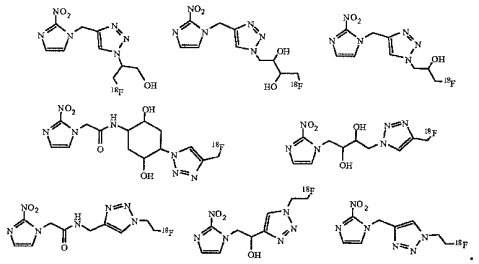
[0083] Z는 탄소원자중 하나가 -CO-, -CONR"-, -NR"CO-, -NR"-, -O- 또는 -S-로부터 선택된 기에 의해서 대체되거나

대체되지 않은 (C_1-C_{10})알킬렌일기이고, (C_1-C_{10})알킬렌일기는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환되며;

[0084] A는 방사성 활성 원소이고; R' 및 R"는 각각 독립적으로 H이거나, 각각 독립적으로 (C_1-C_6)알킬, -CO(C_1-C_3)알킬, -CONH(C_1-C_3)알킬 및 -CO_2(C_1-C_3)알킬로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0085] 상기 방법의 한 가지 변화로, 화합물은 화학식(II)의 화합물이다. 상기 방법의 각각의 또 다른 변화로, Z는 1, 2 또는 3개의 히드록실기 또는 1, 2 또는 3개의 히드록시(C_1-C_4)알킬기로 치환되거나 치환되지 않은 (C_1-C_4)알킬렌일기이다. 또 다른 변화로, Z는 -CH_2-, -CH_2-CH_2-, -CH_2-CH_2-CH_2-, -CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-, -CH_2-CH(OH)-, -CH(OH)-CH_2-, -CH(OH)-CH_2-CH_2-, -CH(CH_2OH)-CH_2-, -CH_2-CH(OH)-CH_2-, -CH_2-CH_2-CH(OH)- 및 -CH_2-CH(OH)-CH(OH)-CH_2-로 이루어진 군으로부터 선택된다. 상기 방법 각각의 특정의 변화로, A는 ^{18}F 또는 ^{11}C-Me이다. 방법의 또 다른 특정의 변화로 A는 ^{18}F이다.

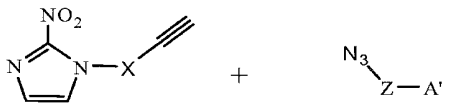
[0086] 상기 방법의 한 가지 변화로, 화합물은 하기 화학식의 화합물이다:



[0087]

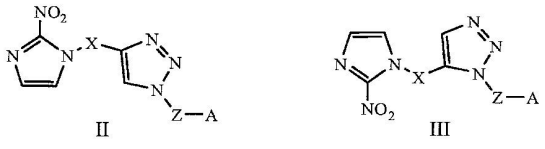
[0088] 상기 방법의 특정의 특징으로, 저산소 세포는 종양 세포 또는 허혈성 세포이다.

[0089] 또 다른 구체예로, a) 아지드 치환된 화합물, 즉, A'가 이탈기인 A'-Z-N_3를 아세틸렌 치환된 니트로이미다졸로 처리, 즉,



[0090]

[0091] 하고; b) 단계 a)의 생성물을 A'를 방사성 표지제로 치환시킴으로써 방사성 표지시켜서 A가 ^{18}F 또는 ^{11}C인 화학식(II) 또는 화학식(III)의 화합물 또는 이들의 혼합물을 형성시켜, 화학식(II) 또는 화학식(III)의 화합물 또는 이들의 혼합물을 제조하는 방법을 제공한다:



II III

[0092]

[0093] 상기 식에서,

[0094] X는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환된 (C_1-C_{10})알킬렌일이며, 여기서, (C_1-C_{10})알킬렌일 탄소원자 중 하나는 -CO-, -CONR'-, -NR'CO-, -NR'-, -O- 또는 -S-로부터 선택된 기에 의해서 대체되거나 대체되지 않거나, (C_1-C_{10})알킬렌일기의 2, 3 또는 4개의 인접 원자는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환된 (C_3-C_8)시클로알킬 또는 (C_3-C_8)헤테로시클로알킬 고리 또는 이들의 조합을 형성하고;

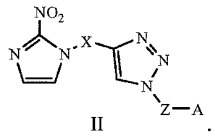
[0095] 각각의 X^1은 독립적으로 히드록실, 티올, 아미노, 알킬, 알콕시, 티오알킬 및 할로로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0096] Z는 탄소원자중 하나가 -CO-, -CONR"-, -NR"CO-, -NR"-, -O- 또는 -S-로부터 선택된 기에 의해서 대체되거나 대체되지 않은 (C_1-C_{10})알킬렌일기이고, (C_1-C_{10})알킬렌일기는 1, 2, 3 또는 4개의 X^1으로 비치환되거나 치환되며;

[0097] A는 방사성 활성 원소이고;

[0098] R' 및 R"는 각각 독립적으로 H이거나, 각각 독립적으로 (C_1-C_6)알킬, -CO(C_1-C_3)알킬, -CONH(C_1-C_3)알킬 및 -CO_2(C_1-C_3)알킬로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0099] 상기 방법의 한 가지 변화로, 화합물은 화학식(II)의 화합물이다:

[0100] 

II .

[0101] 상기 방법의 특정의 변화로, 방사성 표지제는 $K^{18}F$이다.

[0102] **도면에서**

[0103] 도 1은 IV 주입(200㎕의 5mM 용액) 120분 후 웅성 화이트 마우스내 화합물(1)의 생체-분포를 나타낸다.

[0104] **발명의 상세한 설명**

[0105] 본 발명이 이하 보다 상세히 기재될 것이다. 그러나, 본 발명은 많은 다른 형태를 포함하며, 본원에 기재된 구체예로 한정되는 것이 아니며, 이들 구체예는 본 개시사항이 본 기술분야의 전문가에게 본 발명의 범위를 전체적으로 및 완벽하게, 그리고 완전히 이해할 수 있게 제공하고 있는 것이다.

[0106] 본 원에 기재된 신규 화합물은 저산소 종양을 영상화하는데 필요한 필수 2-니트로이미다졸 코어를 함유한다. 기계론적으로, 저산소 조건하의 세포내 생체환원은 2-니트로이미다졸 코어를 변화시키고, 이는 이어서 세포내에서 공유결합적으로 중재된 편재화를 진행한다. 산소성 조건하에, 생체환원된 니트로이미다졸은 그 본래의 상태로 되돌아가며 세포 내 및 외로 자유롭게 확산된다.

[0107] 본원에 개시된 신규 화합물은 또한 양호한 영상화 약동성을 나타낸다. 이러한 화합물은 신장 분비를 통한 양호한 제거 성질을 지녀서, 간 및 장 부위에서의 낮은 흡수를 나타낸다. 이들 화합물은 또한 혈액 및 근육 조직 둘 모두로부터 신속하게 제거되어 바람직한 종양 대 배경 비를 유도한다. 또한, 이러한 양호한 제거 성질은 "골드 스탠다드(gold standard)" [^{18}F]F-MISO보다 더 이른 시점에 최대 종양 대 배경 비를 나타나게 한다. 이들 트레이서는 비-저산소 종양에 비해서 저산소 종양에 대해 아주 선택적이다. 이종이식 마우스 및 래트에서, 트레이서는 저산소 종양내에 우선적으로 편재되며, 대부분의 경우, 2:1 보다 큰 종양 대 배경 비로 편재된다.

[0108] 이러한 부류의 화합물은, 예를 들어, 화합물(1)이 10,000nM까지의 농도에서 정상 사람 또는 암 세포에 세포독성 효과를 나타내지 않는다는 점에서 세포 수준에서 양성(benign)인 듯하다.

[0109] **정의:**

[0110] 본원에서 사용된 용어, 단수의 표현은 문장에서 달리 명백히 명시하지 않는 한 복수를 포함한다.

[0111] 용어 "알킬"은 전형적으로는 길이가 약 1 내지 20개의 원자 범위인 탄화수소 사슬을 나타낸다. 그러한 탄화수소 사슬은 분지쇄 또는 직쇄일 수 있으며, 전형적으로는 직쇄가 바람직하다. 예시적인 알킬기는 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, 1-메틸부틸, 1-에틸프로필, 및 3-메틸펜틸 등을 포함한다. 본원에서 사용된 용어 "알킬"은 3개 이상의 탄소원자가 언급되는 경우 시클로알킬을 포함한다.

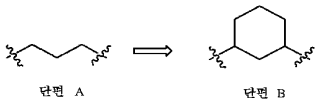
[0112] 용어 "알킬렌일"은 두 개의 상이한 기에 공유결합되는, 전형적으로는 길이가 약 1 내지 20개의 원자, 또는 길이가 1 내지 10개의 탄소원자 범위인 탄화수소 사슬이다. 그러한 탄화수소 사슬은 측쇄 또는 직쇄일 수 있다. 예시적인 알킬렌일기는 에틸레닐, 프로필레닐, iso-프로필레닐, 부틸레닐, iso-부틸레닐, 펜틸레닐, 1-메틸부틸레닐, 1-에틸프로필레닐, 및 3-메틸펜틸레닐 등을 포함하며, 이가 결합은 알킬렌일기중의 탄소원자중 어떠한 탄소원자에 있거나, 특별히 명시될 수 있다. 본원에서 사용된 용어 "알킬렌일"은 또한 3 개 이상의 탄소원자가

언급되는 경우 시클로알킬렌일을 포함한다.

[0113] 용어 "아릴"은 하나 이상의 방향족 고리를 의미하며, 이들 각각은 5 또는 6 개의 코어 탄소를 지닌다. 아릴은 나프틸과 같이 융합되거나 바이페닐과 같이 비융합될 수 있는 다중 아릴 고리를 포함한다. 아릴 고리는 또한 하나 이상의 시클릭 탄화수소, 헤테로아릴, 또는 헤테로시클릭 고리와 융합되거나 비융합될 수 있다. 본원에서 사용된 용어 "아릴"은 헤테로아릴을 포함한다.

[0114] 용어 "생물학적 표적"은 암 (예, 백혈병(leukemia), 림프종(lymphoma), 뇌종양, 유방암, 폐암, 전립선암, 위암, 및 피부암, 방광암, 골암(bone cancer), 자궁경부암, 결장암(colon cancer), 식도암(esophageal cancer), 안암(eye cancer), 담낭암(gallbladder cancer), 간암, 신장암, 후두암(laryngeal cancer), 구강암, 난소암, 췌장암, 음경암(penile cancer), 샘 종양(glandular tumors), 직장암, 소장암, 육종, 고환암, 요도암(urethral cancer), 자궁암, 및 질암), 당뇨병, 퇴행성신경질환(neurodegenerative disease), 심혈관 질환, 호흡기 질환, 소화계통 질환, 감염성 질환, 염증성 질환, 및 자가면역 질환 등을 포함한 다양한 질환 및 병태중 어떠한 질환 및 병태와 연관된 생물학적 경로와 관련되는 어떠한 생물학적 분자일 수 있다. 예시적인 생물학적 경로는, 예를 들어, 세포 주기 조절(예, 세포 증식 및 아폽토시스), 혈관형성, 신호전달 경로(signaling pathway), 종양 억제 경로, 염증화(COX-2), 종양유전자, 및 성장인자 수용체를 포함한다. 생물학적 표적은 "표적 생체거대분자(target biomacromolecule)" 또는 "생체거대분자"로도 일컬어진다. 생물학적 표적은 수용체, 예컨대, 효소 수용체, 리간드-개폐형 이온채널(ligand-gated ion channel), G-단백 결합 수용체 및 전사 인자일 수 있다. 생물학적 표적은 바람직하게는 단백질 또는 단백질 복합체, 예컨대, 효소, 막 수송 단백질, 호르몬, 및 항체이다.

[0115] 용어 "인접 원자"는 서로 인접한 원자를 의미한다. 예를 들어, 문장 "(C_1-C_{10})알킬렌일기중의 2, 3 또는 4개의 인접원자는 비치환되거나 치환된 (C_3-C_8)시클로알킬 또는 (C_3-C_8)헤테로시클로알킬 고리를 형성한다"는 알킬렌일기 또는 링커내의 2, 3 또는 4개의 인접 원자가, 예를 들어, (C_3-C_8)시클로알킬 또는 (C_3-C_8)헤테로시클로알킬 고리의 일부를 형성함을 의미한다. 예를 들어, 하기 단편 "A"로 나타낸 3개의 인접 탄소원자의 경우에, 원자들이 비치환된 (C_3-C_8)시클로알킬기, 예컨대, 시클로헥실기를 형성하면, 단편은 단편 "B"로 나타낸 단편을 형성할 수 있다:

[0116] 

[0117] 용어 "시클로알킬"은, 바람직하게는 3 내지 약 12개의 탄소원자, 더욱 바람직하게는 3 내지 8개의 탄소원자로 이루어진 브릿징된, 융합된 또는 스피로 시클릭 고리를 포함한 포화되거나 불포화되거나 부분적으로 불포화된 시클릭 탄화수소 사슬을 나타낸다.

[0118] 용어 "헤테로아릴"은 1 내지 4 개의 헤테로원자, 바람직하게는 N, O, 또는 S, 또는 이들의 조합을 함유하는 아릴기이다. 헤테로아릴 고리는 또한 하나 이상의 시클릭 탄화수소, 헤테로시클릭, 아릴, 또는 헤테로아릴 고리와 융합될 수 있다.

[0119] 용어 "헤테로사이클" 또는 "헤테로시클릭"은 불포화 또는 방향족 특성을 지니거나, 그렇지 않고 탄소가 아닌 하나 이상의 고리원자를 지니는 3 내지 12개, 바람직하게는 5 내지 7개의 원자의 하나 이상의 고리를 의미한다. 바람직한 헤테로원자는 황, 산소 및 질소를 포함한다.

[0120] 본원에 사용된 용어 "이탈기"는, 예를 들어, 친핵체, 예컨대, 아민, 티올 또는 알콜 친핵체 또는 이들의 염에 의해서 용이하게 대체되는 기를 나타낸다. 그러한 이탈기는 공지되어 있으며, 예를 들어, 카르복실레이트, N-히드록시석신이미드, N-히드록시벤조트리아졸, 할라이드, 트리플레이트, 토실레이트, 노실레이트, -OR 및 -SR 등을 포함한다.

[0121] 본원에서 사용된 용어 "링커"는 1 내지 10개의 원자를 포함하는 사슬을 나타내며, 1, 2 또는 3개의 인접 또는 비-인접 원자 또는 기, 예컨대, C, -NR-, O, S, -S(O)-, -S(O)$_2$-, CO, 및 -C(NR)- 등으로 구성될 수 있으며, 여기서, R은 H이거나, 치환되거나 비치환된 (C_{1-10})알킬, (C_{3-8})시클로알킬, 아릴(C_{1-5})알킬, 헤테로아릴(C_{1-5})알킬, 아미노, 아릴, 헤테로아릴, 히드록시, (C_{1-10})알콕시, 아릴옥시, 헤테로아릴옥시로 이루어진 군으로부터 선택된다. 즉, 예를들어, 링커는 -CH_2-, -CH_2-CH_2-, -CH_2-O-CH_2-, -CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-, -CH_2-NH-CH_2-, -CH_2-CH_2-

NH-CH_2-CH_2-, -CH_2-NHC(O)-CH_2-, -CH_2-C(O)NH-CH_2-, 및 -CH_2-C(O)-CH_2- 등으로 구성될 수 있다. 링커 사슬은 또한 폴리시클릭 및 헤테로방향족 고리를 포함한 포화, 불포화 또는 방향족 고리의 일부를 포함할 수 있다. 본 발명의 화합물의 특정의 특징으로, 기 X 및 Z는 링커 또는 링커 사슬일 수 있다. 본원에서 사용된 표현 "(C_{1-3})알킬"은, 예를 들어, C_1-C_4알킬과 서로 대체적으로 사용되어 동일한 의미를 나타낸다.

[0122] 용어 "환자" 및 "대상자"는 특히 모든 포유동물을 포함한 어떠한 사람 또는 동물 대상을 나타낸다.

[0123] 본원에서 사용된 용어 "방사 화학적"은 공유결합된 방사성 활성 동위원소를 포함한 어떠한 유기, 무기 또는 유기금속 화합물, 어떠한 무기 방사성 활성 이온성 용액(예, Na[^{18}F]F 이온성 용액), 또는 어떠한 방사성 활성 가스(예, [^{11}C]CO_2)를 포함하는 것으로 의도되며, 특히 조직 영상화 목적으로 환자에게 투여(예, 흡입, 복용, 또는 정맥내 주사에 의해서)하기 위한 방사성 활성 분자 영상화 프로브를 포함하고, 그러한 프로브는 본 기술분야에서 방사성의약품, 방사성 추적자, 또는 방사성 리간드로도 일컬어진다. 본 발명은 일차적으로 PET 영상화 시스템에서 사용하기 위한 양전자-방출 분자 영상화 프로브의 합성에 관한 것이지만, 본 발명은 방사성 핵종을 포함한 어떠한 방사성 활성 화합물, 및 그 밖의 영상화 시스템, 예컨대, 단일광자방출 전산화 단층촬영 (Single Photon Emission Computed Tomography, SPECT)에 유용한 방사성 화학약품의 합성에 용이하게 적용될 수 있다.

[0124] 용어 "방사성 활성 동위원소" 또는 "방사성 활성 원소"는 방사성 활성 붕괴(즉, 양전자 방출)를 나타내는 동위원소 및 방사성 활성 동위원소(예, [^{11}C]메탄, [^{11}C]일산화탄소, [^{11}C]이산화탄소, [^{11}C]포스겐, [^{11}C]우레아, [^{11}C]시아노겐 브로마이드, 및 탄소-11을 함유하는 다양한 산 클로라이드, 카르복실산, 알코올, 알데히드, 및 케톤)를 포함한 방사성 표지제를 나타낸다. 그러한 동위원소 또는 원소는 본 기술분야에서 방사성 동위원소 또는 방사성 핵종으로도 일컬어진다. 방사성 활성 동위원소는 원소의 명칭 또는 기호 및 이의 질량수의 다양하게 통상 사용되는 조합(예, ^{18}F, F-18 또는 불소-18)을 이용함으로써 명명된다. 예시적인 방사성 활성 동위원소는 I-124, F-18 플루오라이드, C-11, N-13, 및 0-15을 포함하며, 이들은 각각 4.2 일, 110 분, 20 분, 10 분, 및 2 분의 반감기를 지닌다. 방사성 활성 동위원소는 바람직하게는 유기 용매, 예컨대, 극성 양성자성 용매에 용해된다. 바람직하게는, 본 발명의 방법에 사용되는 방사성 활성 동위원소는 F-18, C-11, I-123, I-124, I-127, I-131, Br-76, Cu-64, Tc-99m, Y-90, Ga-67, Cr-51, Ir-192, Mo-99, Sm-153 및 Tl-201를 포함한다. 바람직하게는 본 발명의 방법에 사용된 방사성 활성 동위원소는 F-18이다. 사용될 수 있는 그 밖의 방사성 활성 동위원소는 As-72, As-74, Br-75, Co-55, Cu-61, Cu-67, Ga-68, Ge-68, I-125, I-132, In-111, Mn-52, Pb-203, Ru-97를 포함한다.

[0125] 본원에서 사용된 용어 "치환된" 또는 "치환체"는 화합물 또는 작용기가 그에 포함된 하나 이상의 수소 원자가기(치환체), 예컨대, C_{1-5}알킬, C_{2-5}알케닐, 할로겐 또는 할로(염소, 불소, 브롬, 요오드 원자), -CF_3, 니트로, 아미노 (-NH_2, -NHR, -NR_2, 등), 옥소(즉, -C(=O)-를 형성), -OH, 카르복실(-COOH), -$COOC_{1-5}$알킬, -OC_{1-5}알킬, -$CONHC_{1-5}$알킬, -$NHCOC_{1-5}$알킬, -$OSOC_{1-5}$알킬, -$SOOC_{1-5}$알킬, -$SOONHC_{1-5}$알킬, -$NHSO_2C_{1-5}$알킬, 아릴, 및 헤테로아릴 등에 의해서 치환됨을 의미하며, 이들 각각은 추가로 치환될 수 있다.

[0126] 용어 "티오알킬"은 -C_{1-5}알킬, C_{2-5}알케닐, 할로겐 또는 할로(염소, 불소, 브롬, 요오드 원자), -CF_3, 니트로, 아미노 (-NH_2, -NHR, -NR_2, 등), 옥소(즉, -C(=O)-를 형성), -OH, 카르복실, -$COOC_{1-5}$알킬, -OC_{1-5}알킬, -$CONHC_{1-5}$알킬, -$NHCOC_{1-5}$알킬, -$OSOC_{1-5}$알킬, -$SOOC_{1-5}$알킬, -$SOONHC_{1-5}$알킬, -$NHSO_2C_{1-5}$알킬, 아릴 및 헤테로아릴로 치환되거나 비치환될 수 있는 C_{1-10}알킬-S-기를 의미한다.

[0127] 본원에서 사용된 용어 "트리아졸"은 1,3,4- 또는 1,2,3-트리아졸 또는 이들의 혼합물을 의미한다. 바람직한 구체예에서, "트리아졸"은 1- 및 5-위치("syn") 또는 1- 및 4-위치("anti") 또는 이들의 혼합으로 치환된 1,2,3-트리아졸이다. 특히 바람직한 구체예에서, 1,2,3-트리아졸은 1- 및 4-위치에서 치환된다.

[0128] **클릭 화학 방법**

[0129] 클릭 화학(Click chemistry)은 화학자에게 후보 영상화제의 라이브러리를 신속하게 생산하는 기회를 제공하고, 그로부터 최적의 약력학적 및 약동학적 성질을 지닌 효능적인 작은 분자 PET 영상화 트레이서가 확인될 수 있다. 클릭 화학은 단지 가장 실제적이며 신뢰할 만한 화학적 전환만을 이용하는 화학 합성에 대한 모듈적 접

근방식(modular approach)이다. 클릭 화학 기술은, 예를 들어, 하기 참조문헌에 기재되어 있으며, 본원에서는 이의 모든 내용을 참조로 통합한다:

1. Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angewandte Chemie, International Edition* **2001**, *40*, 2004-2021.

2. Kolb, H. C.; Sharpless, K. B. *Drug Discovery Today* **2003**, *8*, 1128-1137.

Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angewandte Chemie, International Edition* **2002**, *41*, 2596-2599.

3. Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. *Journal of Organic Chemistry* **2002**, *67*, 3057-3064.

4. Wang, Q.; Chan, T. R.; Hilgraf, R.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B.; Finn, M. G. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, 3192-3193.

5. Lee, L. V.; Mitchell, M. L.; Huang, S.-J.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B.; Wong, C.-H. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, 9588-9589.

6. Lewis, W. G.; Green, L. G.; Grynszpan, F.; Radic, Z.; Carlier, P. R.; Taylor, P.; Finn, M. G.; Barry, K. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2002**, *41*, 1053-1057.

7. Manetsch, R.; Krasinski, A.; Radic, Z.; Raushel, J.; Taylor, P.; Sharpless, K. B.; Kolb, H. C. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126*, 12809-12818.

[0130]

8. Mocharla, V. P.; Colasson, B.; Lee, L. V.; Roeper, S.; Sharpless, K. B.; Wong, C.-H.; Kolb, H. C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 116-120.

9. M. Whiting, J. Muldoon, Y.-C. Lin, S. M. Silverman, W. Lindstrom, A. J. Olson, H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, J. H. Elder, V. V. Fokin, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 1463-1467; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2006**, *45*, 1435-1439.

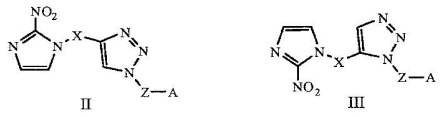
[0131]

[0132] 그 밖의 클릭 화학 작용기, 예컨대, 상기 참조문헌에 기재된 것들이 이용될 수 있지만, 고리 첨가 반응, 특히, 아지드의 알키닐기와의 반응의 이용이 바람직하다. 알킨, 예컨대, 말단 알킨과 아지드는 1,3-쌍극성 고리화첨가반응을 진행하여 1,4-디치환된 1,2,3-트리아졸을 형성시킨다. 대안적으로, 1,5-디치환된 1,2,3-트리아졸은 아지드와 알키닐 시약을 사용함으로써 형성될 수 있다[문헌: Rrasinski, A., Fokin, V.V. & Barry, K. *Organic Letters* 2004, 1237-1240]. 헤테로-디엘스-알더 반응(Hetero-Diels-Alder reaction) 또는 1,3-쌍극성 고리화첨가반응이 또한 수행될 수 있다[문헌: Huisgen *1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry* (Vol. 1) (Padwa, A., ed.), pp. 1-176, Wiley; Jorgensen *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2000, 39, 3558-3588; Tietze, L.F. and Kettschau, G. *Top. Curr. Chem.* 1997, 189, 1-120]. 한 가지 특정의 구체예에서, 본원에 제공된 클릭 화학 방법은 PET 라벨이 추가로 혼입된 신규 화합물을 제공한다.

[0133] 본원 전체에 걸쳐서 인용된 모든 서류의 전체 내용이 본원에서 참조로 통합된다.

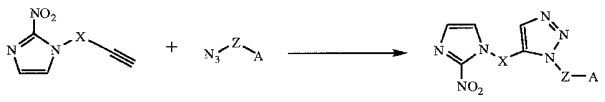
[0134] **실험**

[0135] 화학식(II) 및 화학식(III)의 화합물의 합성을 위한 일반적인 과정이 이하 개괄된다:

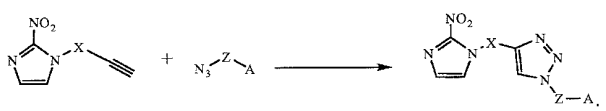
[0136] 

II III

[0137] 1,5-디치환된 ("syn") 트리아졸의 합성을 위한 일반적인 도식:

[0138] 

[0139] 1,4-디치환된 ("anti") 트리아졸의 합성을 위한 일반적인 도식:

[0140] 

[0141] 상기 일반적인 도식에 도시된 바와 같이, A가 이탈기를 포함하는 기, 예컨대, 알킬기이거나 A가 이탈기인 경우, 방사성 활성 동위원소 또는 방사성 활성 원소를 포함하는 트리아졸은, 본원에 개시된 바와 같이, A를 방사성 활성 동위원소 또는 방사성 활성 원소로 대체 또는 치환함으로써 제조될 수 있다.

[0142] 일반적인 실험 조건:

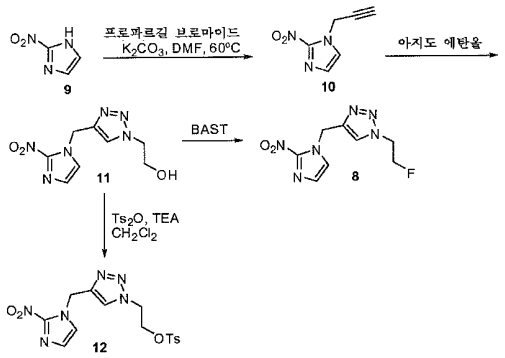
[0143] 모든 반응은 Ar의 대기하에 오븐 건조된 유리제품에서 수행되었다. 실리카겔 카트리지를 이용한 표준 상 정제를 위한 구배 조건은 이하 EtOAc:Hex 혼합물에 대해서 기재된다. 작동 기간이 컬럼 용적(column volumes: cv)으로 주어진다. 검출 파장은 254nm로 설정되었다. 반응을 위한 용매는 무수 등급으로 구매하였으며 추가의 정제 없이 사용하였다.

[0144]

기간 (cv)	0	1.8	19.6	5.4	0	1.8
%EtOAc	0	0	100	100	0	0

[0145] 화합물 8과 화합물 12의 제조:

[0146]



[0147] **2-니트로-1-(프로프-2-이닐)-1H-이미다졸(10)**: 둥근 바닥 플라스크에 2-니트로이미다졸(500 mg, 4.42 mmol), 프로파길 브로마이드(631 mg, 5.31 mmol), 탄산칼륨(733 mg, 5.31 mmol) 및 DMF(5 mL)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. TLC(EtOAc)에서는 반응이 완료됨을 나타냈다. 반응물을 물(20mL)에 붓고 EtOAc(3x20 mL)로 추출하였다. 합한 유기물을 물(5x20 mL)로 세척하였다. 이어서, 유기층을 진공중에서 농축시키고, 용리액으로서 EtOAc:Hex를 사용하는 실리카겔 카트리지상에서 정제하여 571 mg(85% 수율)의 화합물(10)을 담황색 고형물로서 수득하였다. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz), δ: 2.63 (1H, d, J= 5.6 Hz), 5.23 (2H, d, J = 2.4 Hz), 7.20 (1H, d, J= 1.2 Hz), 7.46 (1H, s). 질량 분광분석(lo-res): $C_6H_5N_3O_2$에 대한 계산치: 151.04; 실측치: 152.10 (M+H).

[0148] **2-(4-((2-니트로-1H-이미다졸-1-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)에탄올 (11)**: 둥근 바닥 플라스크에 니트로프로핀(10)(150 mg, 0.99 mmol) 및 아지도 에탄올(86 mg, 0.99 mmol)을 첨가하였다. 이러한 플라스크에 $CuSO_4$(0.04M, 100 uL) 및 소듐 아스코르베이트(0.1 M, 100 uL)를 첨가하였다. 16 시간 후에, 반응물을 EtOAc에 붓고 NH_4OH로 세척하였다. 유기물을 합하고, 잔류물을 용리액으로서 EtOAc:Hex에 이어서 DCM:MeOH를 사용하는 콤비플래시 시스템상에서 정제하여 180 mg(76.3% 수율)의 화합물 11을 투명한 무색 오일로서 수득하였다. 질량 분광분석(lo-res): $C_8H_{10}N_6O_3$에 대한 계산치: 238.08; 실측치: 239.10 (M+H).

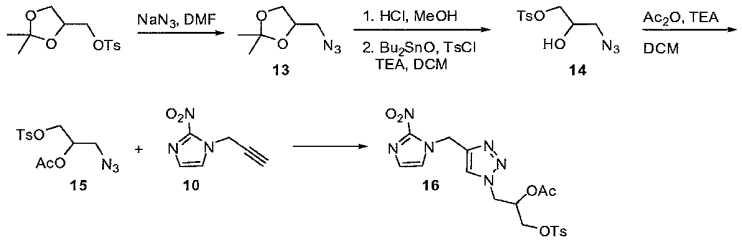
[0149] **2-(4-((2-니트로-1H-이미다졸-1-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)에탄올 (11)**: 둥근 바닥 플라스크에 니트로프로핀(10)(150 mg, 0.99 mmol) 및 아지도 에탄올(86 mg, 0.99 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 60℃에서 밤새 교반하였다. 잔류물을 용리액으로서 EtOAc:Hex에 이어서 DCM:MeOH를 사용하는 콤비플래시 시스템(combiflash system)상에서 정제하여 화합물(11)을 투명한 무색 오일로서 수득하였다.

[0150] **1-(2-플루오로에틸)-4-((2-니트로-1H-이미다졸-1-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸(8)**: 0℃의 DCM(5mL)중의 알코올(11)(20 mg, 0.084 mmol)을 함유한 둥근 바닥 플라스크에 BAST(20.3 mg, 0.126 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 0℃에서 1 시간 동안 교반하였다. 반응물을 진공하에 농축시키고, 용리액으로서 EtOAc:Hex를 사용하는 실리카겔 카트리지상에서 정제하여 12 mg(60% 수율)의 화합물(8)을 투명한 무색 오일로서 수득하였다.

[0151] **2-(4-((2-니트로-1H-이미다졸-1-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)에틸 4-메틸벤젠설포네이트(12)**: 알코올

(11)(160 mg, 0.672 mmol), TEA(136 mg, 1.34 mmol) 및 DCM(5 mL)을 함유한 둥근 바닥 플라스크에 Ts_2O(263 mg, 0.806 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 4 시간 동안 교반하였다. TLC에서는 반응이 완료됨을 나타냈다. 반응물을 진공하에 농축시키고, 용리액으로서 EtOAc:Hex를 사용하는 실리카겔 카트리지상에서 정제하여 140 mg(53 % 수율)의 화합물(12)를 엷은 오랜지색 오일로서 수득하였다. 질량 분광분석(lo-res): $C_{15}H_{16}N_6O_5S$에 대한 계산치: 392.092; 실측치: 393.10 (M+H).

[0152] 화합물(3) 및 화합물(16)의 제조:



[0153]

[0154] **4-(아지도메틸)-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란(13)**: DMF(40 mL)중의 (2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-일)메틸 4-메틸벤젠설포네이트(5.73 g, 20.00 mmol)의 용액에 소듐 아지드(2.6 g, 40.00 mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 80℃에서 18시간 동안 교반하였다. 용매를 감압하에 증발시키고, 물(100 mL)로 희석시키고, 에틸 아세테이트(3x75 mL)로 3회 추출하고, H_2O(100 mL)와 염수(100 mL)로 연속적으로 세척하고, 최종적으로 $MgSO_4$로 건조시켰다. 용매를 진공하에 제거하여 2.2 g의 화합물(13)을 갈색 오일(76 % 수율)로서 수득하였다. ^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 4.21-4.27 (m, 1H), 4.02 (dd, J= 6.4, 8.4 Hz, 1H), 3.74 (dd, J = 6.0, 8.4 Hz, 1H), 3.36 (dd, J= 4.8, 12.8 Hz, 1H), 3.26 (dd, J= 5.6, 12.8 Hz, 1H), 1.43 (s, 3H), 1.33 (s, 3H).

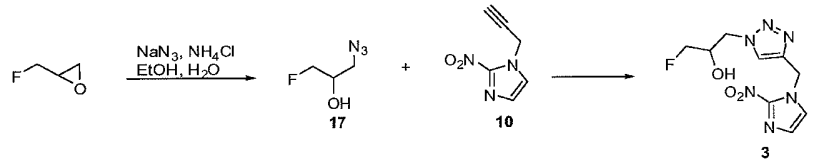
[0155] **3-아지도-2-히드록시프로필 4-메틸벤젠설포네이트(14)**: 4-(아지도메틸)-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란(13)(2.2 g, 13.99 mmol)을 메탄올(25 mL)에 용해시켰다. 이러한 용액에 0℃의 디에틸 에테르중의 HCl 용액(2M, 5 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하고, 이어서, 감압하에 농축시켜 황색 오일을 수득하고, 추가의 정제없이 다음 단계에 사용하였다. 0.5 시간 동안 건조시킨 후에, 잔류물을 CH_2Cl_2(30 mL)에 용해시키고, Bu_2SnO(0.071 mg, 0.3 mmol)로 처리한 다음, TsCl(2.86 g, 15.0 mmol) 및 TEA(2.2 mL, 16 mmol)로 처리하였다. 실온에서 3 시간 동안 교반한 후에, 물(30 mL)을 첨가하고, 유기층을 분리하였다. 수성층을 CH_2Cl_2(2x50mL)로 추출하고, 유기층을 H_2O (50 mL) 및 염수(50 mL)로 연속적으로 세척하고, $MgSO_4$로 건조시켰다. 용매를 진공하에 제거하고, 잔류물을 용리액으로서 33%의 EtOAc/헥산을 사용하는 실리카겔상에서 정제하여 1.86 g의 화합물(14)(48% 수율)을 투명한 무색 오일로서 수득하였다. ^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.77 (d, J= 8.0 Hz, 2H), 7.34 (d, J= 8.0 Hz, 2H), 3.96-4.09 (m, 3H), 3.31-3.40 (m, 2H), 2.43 (s, 3H). 질량 분광분석(lo-res): $C_{10}H_{13}N_3O_4S$에 대한 계산치: 271.06; 실측치: 294.1 ($M + Na^+$).

[0156] **1-아지도-3-(토실옥시)프로판-2-일 아세테이트(15)**: 3-아지도-2-히드록시프로필 4-메틸벤젠설포네이트(14)(1.83 g, 6.70 mmol)를 CH_2Cl_2(15 mL)에 용해시키고, 실온에서 TEA(1.4 mL, 10.00 mmol), 촉매량의 DMAP 및 아세트산 무수물(0.95 mL, 10.00 mmol)로 처리하였다. 1 시간 동안 교반한 후에, 실리카를 반응 혼합물에 첨가하고, 용매를 증발시키고, 잔류물을 용리액으로서 50% EtOAc헥산을 사용하는 실리카겔상에서 정제하여 2.07 g의 화합물(15)(98.8 % 수율)을 걸죽하고 투명한 무색 오일로서 수득하였다. ^1H NMR($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.79 (d, J= 8.4 Hz, 2H), 7.37 (d, J= 8.0 Hz, 2H), 5.02-5.07 (m, 1H), 4.09-4.21 (m, 2H), 3.43-3.53 (m, 2H), 2.46 (s, 3H), 2.05 (s, 3H). 질량 분광분석(lo-res): $C_{12}H_{15}N_3O_5S$에 대한 계산치: 313.07; 실측치: 314.1 ($M + H^+$).

[0157] **1-(4-((2-니트로-1H-이미다졸-1-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)-3-(토실옥시)프로판-2-일 아세테이트(16)**: 2-니트로-1-(프로프-2-이닐)-1H-이미다졸(10)(0.2 g, 1.32 mmol)를 1-아지도-3-(토실옥시)프로판-2-일 아세테이트(15)(0.41 g, 1.32 mmol)와 함께 60℃에서 밤새 가열하였다. 잔류물을 실리카겔 상에서 크로마토그래피

(MeOH/CH_2Cl_2, 1:10)에 의해서 정제하여 화합물(16)을 수득하였다.

[0158] **1-(4-((2-니트로-1H-이미다졸-1-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)-3-(토실옥시)프로판-2-일 아세테이트(16)**: THF(2.5 mL)중의 2-니트로-1-(프로프-2-이닐)-1H-이미다졸 (0.2 gm, 1.32 mmol) 및 1-아지도-3-(토실옥시)프로판-2-일 아세테이트 (0.41 gm, 1.32 mmol)의 용액을 실온에서 CuI(0.025 gm, 0.132 mmol) 및 DIPEA(0.3 mL, 1.46 mmol)로 처리하였다. 반응 혼합물을 밤새 교반한 후에, 실리카를 첨가하고, 용매를 감압하에 증발시키고, 실리카겔상의 크로마토그래피(MeOH/CH_2Cl_2, 1/10)에 의해서 정제하여 1-(4-((2-니트로-1H-이미다졸-1-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)-3-(토실옥시)프로판-2-일 아세테이트(0.5 gm, 81 %)를 백색 고형물로서 수득하였다. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.76-7.78 (m, 3H), 7.35-7.39 (m, 3H), 7.15 (br, 1H), 5.68 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 5.27-5.32 (m, 1H), 4.56-4.67 (m, 2H), 4.19 (dd, J= 4.0, 11.2 Hz, 1H), 4.08 (dd, J= 4.0, 11.2 Hz, 1H), 2.46 (s, 3H), 1.97 (s, 3H); 질량 분광분석(lo-res): $C_{18}H_{20}N_6O_7S$에 대한 계산치: 464.11; 실측치: 465.1 ($M + H^+$).



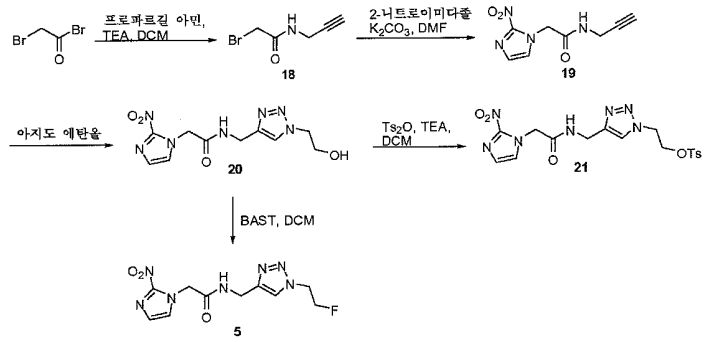
[0159]

[0160] **1-아지도-3-플루오로프로판-2-올(17)**: 에피플루오로히드린(13.15 mmol)을 에탄올(10 ml) 및 물(10 ml)의 혼합물에 용해시켰다. 암모늄 클로라이드(23.6 mmol)를 첨가한 다음, 소듐 아지드(21.91 mmol)를 첨가하였다. 생성되는 용액을 50℃에서 밤새 교반하였다. 에탄올을 진공중에서 제거하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트(2 x 50 ml)로 추출하였다. 이어서, 유기층을 농축시키고, 용리액으로서 EtOAc:Hex를 사용하는 실리카겔 컬럼상에서 정제하여 740 mg의 화합물(17)을 투명한 무색 오일로서 수득하였다. ^{1}H NMR 스펙트럼은 공개된 결과와 일치하였다.

[0161] **1-플루오로-3-(4-((2-니트로-1H-이미다졸-1-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)프로판-2-올(3)**: 바이알(vial)에 플루오로아지드(17)(690 mg, 5.79 mmol) 및 1-프로피닐-2-니트로이미다졸(876 mg, 5.79 mmol)을 첨가하였다. 이러한 플라스크에 THF(3 mL), t-BuOH(3 mL), 물(3 mL), $CuSO_4$(185 mg, 1.16 mmol) 및 소듐 아스코르베이트(1.15 g, 5.79 mmol)를 첨가하였다. 16 시간 후에, 반응물을 EtOAc에 붓고 NH_4OH로 세척하였다. 유기물을 합하고, 이어서, 물질을 용리액으로서 EtOAc:Hex를 사용하는 실리카겔 컬럼상에서 정제하였다. 이어서, 물질을 EtOAc:Hex를 사용하는 재결정을 통해서 추가로 정제하여 65 mg(4% 수율)의 담황색 결정을 수득하였다. ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz), δ: 4.04 (1H, br d, J = 20.4 Hz), 4.20-4.47 (4H, m), 5.53 (1H, br s), 5.66 (2H, s), 7.16, (1H, s), 7.68 (1H, s), 8.05 (1H, s).

[0162] **1-플루오로-3-(4-((2-니트로-1H-이미다졸-1-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)프로판-2-올(3)**: 바이알에 플루오로아지드(17)(5.79 mmol) 및 1-프로피닐-2-니트로이미다졸(5.79 mmol)을 첨가하였다. 용액을 60℃에서 밤새 교반하였다. 이어서, 물질을 용리액으로서 EtOAc:Hex를 사용하는 실리카겔 컬럼상에서 정제하였다. 이어서, 물질을 EtOAc:Hex를 사용하는 재결정을 통해서 추가로 정제하여 담황색 결정을 수득하였다.

[0163] 화합물(5) 및 화합물(21)의 제조:



[0164]

[0165] **2-브로모-N-(프로프-2-이닐)아세타미드(18)**: 0℃의 2-브로모아세틸 브로마이드(10 g, 49.5 mmol), TEA(5.01 g, 49.5 mmol) 및 DCM(20 mL)을 함유하는 둥근 바닥 플라스크에 프로파길 아민(2.73 g, 49.5 mmol)을 DCM (10 mL)중의 용액으로서 1 시간에 걸쳐서 적가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응물을 물(20mL)에 붓고, 포화된 $NaHCO_3$(1x20mL)로 세척하였다. 유기층을 1N HCl(1x20 mL)로 세척하였다. 유기층을 농축시켜 건조시키고, 용리액으로서 EtOAc:Hex를 사용하는 실리카겔 카트리지상에서 정제하여 2.44 g(28% 수율)의 화합물(18)을 담황색 고형물로서 수득하였다. ^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz), δ: 2.25 (1H, s), 3.84 (2H, s), 4.05 (2H, s), 6.82 (1H, br s). 질량 분광분석(lo-res): C_5H_6BrNO에 대한 계산치: 174.96; 실측치: 176.00, 178.00 (M+H).

[0166] **2-(2-니트로-1H-이미다졸-1-일)-N-(프로프-2-이닐)아세타미드(19)**: 둥근 바닥 플라스크에 DMF(10 mL)중의 알킨(18)(1.56 g, 8.84 mmol), 2-니트로이미다졸(10)(1 g, 8.84 mmol) 및 K_2CO_3(1.22 g, 8.84 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 밤새 교반하였다. 반응물을 물(100 mL)로 희석시키고, 생성되는 침전물(1.2 g)을 여과해내고, 물(2x40 mL)로 세척하였다. 수성층을 EtOAc로 추출하였다. 유기층을 농축시켜 건조시키고, 침전물과 합하였다. 물질을 용리액으로서 EtOAc:Hex를 사용하는 실리카겔 카트리지상에서 정제하여 화합물(19)를 백색 고형물(324 mg, 18%)로서 수득하였다. 질량 분광분석(lo-res): $C_8H_8N_4O_3$에 대한 계산치 208.06; 실측치: 209.10 (M+H).

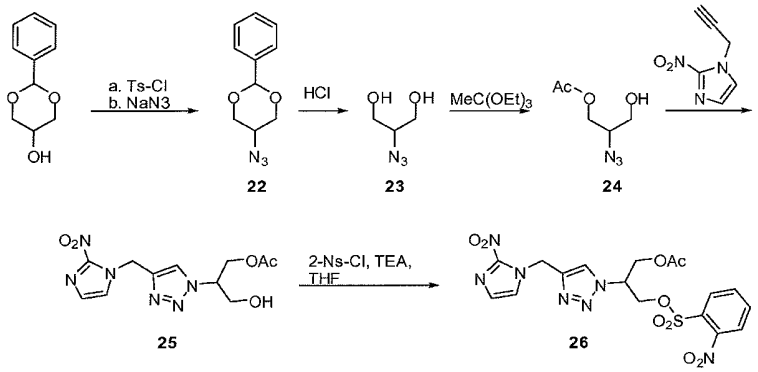
[0167] **N-((1-(2-히드록시에틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)-2-(2-니트로-1H-이미다졸-1-일)아세타미드(20)**: 바이알에 알킨(375 mg, 1.8 mmol) 및 아지도에탄올(157 mg, 1.8 mmol)을 첨가하였다. 이러한 바이알에 THF(5 mL), DIPEA(345 μL, 1.98 mmol) 및 요오드화구리(34.3 mg, 0.18 mmol)를 첨가하였다. 몇 시간 후에, 소듐 아스코르베이트(50 mg)를 첨가하여 반응을 완료시켰다. 이어서, 물질을 용리액으로서 EtOAc:Hex를 사용하는 실리카겔 컬럼상에서 정제하였다. 이어서, 물질을 EtOAc:Hex를 사용하는 재결정을 통해서 추가로 정제하여 300 mg(56% 수율)의 화합물(20)을 고형물로서 수득하였다.

[0168] **N-((1-(2-히드록시에틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)-2-(2-니트로-1H-이미다졸-1-일)아세타미드(20)**: 바이알에 알킨(375 mg, 1.8 mmol) 및 아지도에탄올(157 mg, 1.8 mmol)을 첨가하였다. 용액을 60℃에서 밤새 가열하였다. 이어서, 물질을 용리액으로서 EtOAc:Hex를 사용하는 실리카겔 컬럼상에서 정제하였다. 이어서, 물질을 EtOAc:Hex를 사용하는 재결정을 통해서 추가로 정제하여 화합물(20)을 고형물로서 수득하였다.

[0169] **2-(4-((2-(2-니트로-1H-이미다졸-1-일)아세트아미도)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)에틸 4-메틸벤젠설포네이트(21)**: 둥근 바닥 플라스크에 알코올(20) (106 mg, 0.359 mmol), TEA(36.3 mg, 0.359 mmol) 및 DCM(10 mL)을 첨가하였다. Ts_2O(117 mg, 0.359 mmol)를 한 분획으로 첨가하였다. 반응물을 실온에서 4 시간 동안 교반하였다. 반응물을 이어서 농축시켜 건조시키고, 용리액으로서 EtOAc:Hex를 사용하는 실리카겔 카트리지상에서 정제하여 55 mg(34 % 수율)의 화합물(21)을 백색 고형물로서 수득하였다. 질량 분광분석(lo-res): $C_{17}H_{19}N_7O_6S$에 대한 계산치: 449.11; 실측치: 450.1(M+H).

[0170] **N-((1-(2-플루오로에틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)메틸)-2-(2-니트로-1H-이미다졸-1-일)아세타미드(5)**: 0℃의 DCM(5mL)중의 알코올(20)(20mg, 0.07 mmol)을 함유하는 둥근 바닥 플라스크에 BAST(20.3 mg, 0.126 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 0℃에서 1 시간 동안 교반하였다. 반응물을 진공하에 농축시키고, 용리액으로서 EtOAc:Hex를 사용하는 실리카겔 카트리지상에서 정제하여 화합물(5)을 투명한 무색 오일로서 수득하였다.

[0171] 화합물(1) 및 화합물(26)의 제조:



[0172]

[0173] **2-페닐-1,3-디옥산-5-일 4-메틸벤젠설포네이트**: 2 리터의 둥근바닥 플라스크에 2-페닐-1,3-디옥산-5-올 (50 g, 277 mmol), 트리에틸 아민(42.1 g, 416 mmol), DMAP(3.39 g, 27.7 mmol) 및 디클로로메탄(1 L)을 첨가하였다. 반응물을 0℃로 냉각하였다. 이러한 용액에 토실 클로라이드(58.2 g, 305 mmol)를 첨가하고, 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응물을 물(800 mL)에 붓고, DCM으로 추출하였다. 유기층을 합하고, 농축 건조시켰다. 미정제 혼합물을 EtOAc:Hex로부터 재결정하여 88 g(96% 수율)의 백색 고형물을 수득하였다. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz), δ: 2.44 (3H, s), 4.09 (2H, dd, J= 13.6, 2 Hz), 4.27 (2H, dd, J= 13.6, 1.6 Hz), 4.51 (2H, pseudo t, J= 1.6 Hz), 7.33-7.36 (5H, m), 7.44-7.45 (2H, m), 7.85 (2H, d, J = 8.39 Hz). 질량 분광분석 (lo-res): $C_{17}H_{18}O_5S$에 대한 계산치: 334.09; 실측치: 335.1 (M+H).

[0174] **5-아지도-2-페닐-1,3-디옥산(22)**: 1L의 둥근바닥 플라스크에 2-페닐-1,3-디옥산-5-일 4-메틸벤젠설포네이트(40 g, 120 mmol) 및 DMF(500 mL)를 첨가하였다. NaN_3(31.3 g, 478 mmol)를 물(150mL)중의 용액으로서 첨가하였다. 반응물을 105℃에서 2일 동안 교반하였다. 이어서, 반응물을 농축 건조시켰다. 고형물을 물(700mL)에 용해시키고, EtOAc (3x500 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 물(5x)로 세척하고, 농축시켜 건조시켜서 오랜지색 고형물을 수득하였다. 이어서, 물질을 헥산으로부터 재결정하여 20.7 g(84% 수율)의 화합물(22)를 담황색 고형물로서 수득하였다. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz), δ: 3.67 (2H, pseudo t, J= 11.59 Hz), 3.78-3.88 (1H, m), 4.36-4.04 (2H, m), 7.36-7.39 (3H, m), 7.45-7.47 (2H, m). 질량 분광분석(lo-res): $C_{10}H_{11}N_3O_2$에 대한 계산치: 205.09; 실측치: 178.1 (M+H-N_2).

[0175] **2-아지도프로판-1,3-디올(23)**: Et_2O (294 mL)중의 화합물(22)(21.7 g, 106 mmol)을 함유하는 1 L의 둥근바닥 플라스크에 진한 HCl(126 mL)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 이어서, 물질을 진공하에 실리카겔상에서 농축시키고, 용리액으로서 EtOAc:Hex(20% EtOAc 내지 100% EtOAc)를 사용하여 정제하여 10.5 g(84% 수율)의 화합물(23)을 황색/호박색 오일로서 수득하였다. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz), δ: 1.94 (2H, br s), 3.63-3.68 (1H, m), 3.75-3.86 (4H, m).

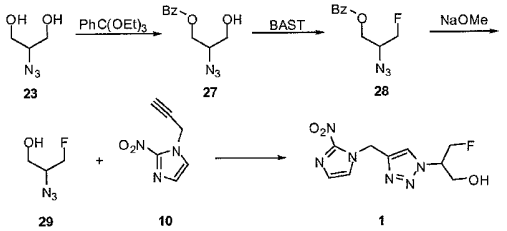
[0176] **2-아지도-3-히드록시프로필 아세테이트(24)**: 2-아지도프로판-1,3-디올(23)(10.46 g, 89.3 mmol)을 CH_2Cl_2(450 mL)에 용해시키고, 촉매량의 p-톨루엔 설폰산 일수화물(340 mg, 1.8 mmol) 및 트리에틸오르토아세테이트(24.4 mL, 134 mmol)로 실온에서 1 시간 동안 처리하였다. 오르토에스테르의 형성이 완료된 후에, 화학양론적 양의 물(2.4 mL, 134 mmol)을 혼합물에 첨가하였다. 이어서 혼합물을 40분 동안 교반하고, 이어서 진공중에서 농축시켰다. 용리액으로서 EtOAc:Hex(5% EtOAc 내지 100% EtOAc)를 사용하는 실리카겔 카트리지상에서 잔류물을 정제하여 8.14 g(57% 수율)의 화합물(24)을 투명한 무색 오일로서 수득하였다. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz), δ: 2.45 (1H, br s), 2.12 (3H, s), 3.63-3.78 (3H, m), 4.20-4.30 (2H, m).

[0177] **3-히드록시-2-(4-((2-니트로-1H-이미다졸-1-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)프로필 아세테이트(25)**: 화합물(24)(500 mg, 3.14 mmol) 및 1-프로피닐-2-니트로이미다졸(475 mg, 3.14 mmol)을 함유하는 바이알을 60℃에서 밤새 가열하였다. 생성된 고형물을 용리액으로서 EtOAc:Hex를 사용하는 실리카겔 카트리지상에서 정제하여 504

mg(52% 수율)의 백색 고형물을 수득하였다.

[0178] **3-히드록시-2-(4-((2-니트로-1H-이미다졸-1-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)프로필 아세테이트(25)**: t-BuOH:THF:H_2O(120mL, 1:1:1)중의 화합물(24)(5.5 g, 34.9 mmol)을 함유하는 바이알에 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$(435 mg, 1.75 mmol), 소듐 아스코르베이트(691 mg, 3.49 mmol) 및 1-프로피닐-2-니트로이미다졸(5.27 g, 34.9 mmol)을 첨가하고, 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 이어서, 반응물을 실리카 상에서 농축시켜 건조시켰다. 생성된 고형물을 용리액으로서 50% EtOAc:Hex에 이어서 10% MeOH:DCM를 사용하는 실리카겔 카트리지 상에서 정제하여 9.17 g(90% 수율)의 점성의 황색 오일을 수득하였다. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz), δ: 2.06 (3H, s), 4.11-4.13 (2H, m), 4.47-4.59 (2H, m), 4.81-4.84 (1H, m), 5.72 (2H, s), 7.17 (1H, d, J= 1.12 Hz), 7.38 (1H, d, J = 1.12 Hz), 7.88 (1H, s). 질량 분광분석(lo-res): $C_{11}H_{14}N_6O_5$에 대한 계산치: 310.10; 실측치: 311.10 (M+H).

[0179] **(2-(4-((2-니트로-1H-이미다졸-1-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)-3-(2-니트로페닐설포닐옥시)프로필 아세테이트)(26)**: 0℃의 DCM (200 mL)중의 화합물(25)(9.17 g, 29.6 mmol)을 함유하는 둥근 바닥 플라스크에 TEA(8.3 mL, 59.2 mmol) 및 4Å 분자체(molecular sieves)(2 g)를 첨가하였다. 반응물을 1 시간 동안 교반하였다. 2-니트로벤젠설포닐 클로라이드(7.87 g, 35.5 mmol)를 첨가하고, 반응물을 실온으로 가온하였다. 반응물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 반응물을 실리카겔상에서 진공중 농축시키고, 용리액으로서 MeOH:DCM (2% MeOH:DCM 내지 10% MeOH:DCM)를 사용하는 실리카겔 카트리지상에서 정제하여 9.74 g의 담황색 고형물을 수득하였다. 물질을 EtOAc:Hex을 사용하는 재결정을 통해서 추가로 정제하여 4.5 g(30.5% 수율)의 백색 고형물을 수득하였다. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz), δ: 2.06 (3H, s), 4.54 (2H, d, J= 5.6 Hz), 4.75 (2H, dt, J = 11.2, 6.80), 5.12-5.16 (1H, m), 5.68 (2H, d, J= 3.20), 7.17 (1H, d, J= 0.8 Hz), 7.33 (1H, d, J= 1.12 Hz), 7.75-7.87 (4H, m), 8.09 (1H, dd, J= 7.59, 1.2 Hz). 질량 분광분석(lo-res): $C_{17}H_{17}N_7O_9S$에 대한 계산치: 495.08; 실측치: 496.10 (M+H).



[0180]

[0181] **2-아지도-3-히드록시프로필 벤조에이트(27)**: 순수한 화합물(23)(1.48 g, 12.65 mmol)을 CH_2Cl_2(127 mL)에 용해시키고, CH_2Cl_2중의 촉매량의 p-톨루엔 설폰산 일수화물(0.048 g, 20 μmol) 및 (트리메톡시메틸)벤젠(3.26 mL, 18.98 mmol)으로 실온에서 1 시간 동안 처리하였다. 오르토에스테르의 형성이 완료된 후에, 화학양론적 양의 물(340 μL, 18.98 mmol)을 혼합물에 첨가하였다. 이어서, 혼합물을 40분 동안 교반하고, 진공중에서 농축시켰다. 25% EtOAc/헥산을 사용하는 실리카겔 플래시 크로마토그래피에 의해서 잔류물을 정제하여 2.6 g의 모노아실화된 생성물(27)(93% 수율)을 투명한 무색 오일로서 수득하였다. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 8.03-8.06 (m, 2H), 7.58 (tt, J= 1.6, 2.0, 1.6 IH), 7.43-7.47 (m, 2H), 4.54 (dd, J = 4.4, 12.0 Hz, 1H), 4.46 (dd, J = 6.8, 12.0 Hz, 1 H), 3.85-3.91 (m, 1H), 3.80 (dd, J = 4.8, 11.6 Hz, 1H), 3.73 (dd, J = 6.0, 11.6 Hz, 1H).

[0182] **2-아지도-3-플루오로프로필 벤조에이트(28)**: 화합물(27)(9 g, 40.72 mmol)을 CH_2Cl_2(70 mL)에 용해시키고, 실온에서 BAST(3.75 mL, 20.36 mmol)로 처리하였다. 1 시간 동안 교반한 후에, 추가의 3.75 mL(20.36 mmol)의 BAST를 실온에서 적가하였다. 추가로 1 시간 동안 교반한 후에, 추가의 3.75 mL(20.36 mmol)의 BAST를 실온에서 적가하고, 반응 혼합물을 12 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화된 $NaHCO_3$로 켄칭시키고, 유기층을 H_2O와 염수로 연속적으로 세척하고, $MgSO_4$로 건조시키고, 용매를 진공하에 제거하였다. 잔류물을 용리액으로 25% 에테르:헥산을 사용하는 실리카겔상에서 정제하여 3.24 g(37% 수율) 의 화합물(28)을 투명한 무색 오일로서 수득하였다. 5 g의 화합물(27)을 또한 회수하였다. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 8.04-8.07 (m, 2H), 7.60 (tt, J = 1.6, 2.0, 1.6, 1H), 7.45-7.49 (m, 2H), 4.62-4.70 (m, 1H), 4.52-4.57 (m, 2H), 4.42-4.46 (m, 1H),

3.98-4.08 (m, 1H), 3.73 (dd, J = 6.0, 11.6 Hz, 1H).

[0183] **2-아지도-3-플루오로프로판-1-올(29)**: 화합물(28)(1.63 g, 7.30 mmol)을 메탄올(15 mL)에 용해시키고, 실온에서 NaOMe(0.8 g, 14.8 mmol)로 처리하였다. 1 시간 동안 교반한 후에, 실리카를 반응 혼합물에 첨가하고, 용매를 증발시키고, 용리액으로서 50% EtOAc/헥산을 사용하는 실리카겔상에서 정제하여 0.828 g의 화합물(29)(95% 수율)을 투명한 무색 오일로서 수득하였다. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 4.59-4.68 (m, 1H), 4.47-4.56 (m, 1H), 3.68-3.84 (m, 3H).

[0184] **3-플루오로-2-(4-((2-니트로-1H-이미다졸-1-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)프로판-1-올(1)**: 바이알에 알킨(10)(1.9 g, 12.6 mmol) 및 화합물(29)(1.5 g, 12.6 mmol)을 첨가하였다. 용액을 60℃에서 밤새 가열하였다. 이어서, 물질을 용리액으로서 10% MeOH:CH_2Cl_2를 사용하는 실리카겔 컬럼상에서 정제하였다. 이어서, 물질을 EtOAc:Hex를 사용하는 재결정을 통해서 추가로 정제하여 화합물(1)을 고형물로서 수득하였다.

[0185] **3-플루오로-2-(4-((2-니트로-1H-이미다졸-1-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)프로판-1-올(1)**: t-BuOH:THF:H_2O (22.5 mL, 1:1:1)중의 화합물(10)(1.9 g, 12.6 mmol) 및 화합물(29)(1.5 g, 12.6 mmol)의 용액을 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$(0.31 g, 1.26 mmol) 및 소듐 아스코르베이트 (0.5 g, 2.52 mmol)로 처리하고, 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 유기 용매를 진공하에 제거하고, 잔류물을 CH_2Cl_2에 용해시키고, H_2O에 이어서 염수로 연속적으로 세척하고, 이어서, $MgSO_4$로 건조시켰다. 이어서 용매를 진공중에서 농축시키고, 잔류물을 용매로서 10% MeOH:CH_2Cl_2를 사용하는 실리카겔상에서 정제하여 화합물(1)(3.00 g, 88%)을 백색 고형물로서 수득하였다. 생성물을 EtOAc/헥산으로부터의 재결정을 통해서 추가로 정제하였다. ^{1}H NMR ($(CD_3)_2CO$, 400 MHz) δ: 8.15 (s, 1H), 7.57 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 7.11 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 5.79 (s, 2H), 4.87-5.05 (m, 2H), 4.82 (dd, J = 4.0, 10.0 Hz, 1H), 4.17-4.45 (m, 1H), 4.03 (t, J = 5.6 Hz, 2H). ^{13}C NMR ($(CD_3)_2CO$, 100 MHz) δ: 141.8, 127.9, 127.1, 123.5, 83.0, 81.3, 63.0 (d, J = 18.69 Hz, 1C), 60.5 (d, J = 6.73 Hz, 1C), δ: 44.8; ^{19}F NMR ($(CD_3)_2CO$, 376 MHz) 230.2 (ddd, J = 19.18, 19.55, 21.60 Hz, 1F); 질량 분광분석(lo-res): $C_9H_{11}FN_6O_3$에 대한 계산치: 270.09; 실측치: 271.1 (M+H).

[0186] **[F-18]-표지된 저산소증 트레이서를 위한 방사성 표지화 과정에 대한 설명: 방사성 표지화를 위한 [F-18] 플루오라이드를 제조하는 일반적인 제법:**

[0187] 반응은 GINA-스타 소프트웨어(GINA-Star software)를 사용하여 컴퓨터에 의해서 제어되는 익스플로라® RN 화학 모듈(explora® RN chemistry module)에서 수행하였다.

[0188] [F-18] 플루오라이드 이온 제조: 사이클로트론 표적(cyclotron target)에서 생성되는 수성 [F-18] 플루오라이드 이온을 화학 모듈상에 위치된 음이온 교환수지 카트리지에 전달하고, 그에 트래핑시켰다. 이어서, F-18을 물(0.4mL)중의 탄산칼륨(3mg)의 용액을 사용하여 반응 용기내로 희석시켰다. 이어서, 아세토니트릴(1mL)에 용해된 크립토픽스® 222(Kryptofix® 222)(20mg)을 반응 용기에 첨가하였다.

[0189] 용액을 농축시켜 건조시켜서 아세토니트릴과 물(70-95℃, 감압(250mbar) 및 아르곤 스트림하에)을 제거하였으며, 이는 비교적 건조한 고도로 활성화된 형태의 [F-18]플루오라이드 이온을 생성시킬 것이다.

[0190] **[F-18](8)을 위한 방사성 표지화 반응:**

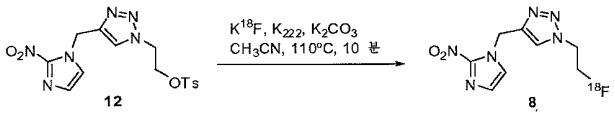
[0191] 아세토니트릴(0.9mL)중의 전구체(12)(20 μmol)의 용액을 건조된 [F-18] 플루오라이드 이온에 첨가하였다. 혼합물을 약 110℃로 10분 동안 가열하여 [F-18]플루오라이드 이온과 반응시켰다.

[0192] 반응 혼합물의 정제 및 살균 여과: 미정제 [F-18]-표지된 트레이서 생성물 용액을 샘플 루프(1.5mL)에 옮기고, 이어서, 반-제조 HPLC 컬럼((Ex. ACE C 18, 5AQ, 250 x 10 mm, 10% 에탄올 / 10% 물 (v/v), 4.0 mL/min)상에 주입하였다.

[0193] 익스플로라® RN 화학 모듈에 UV 및 가이거 뮤엘러(Geiger Mueller(GM)) 검출기 둘 모두를 장착하였다. 생성물을 유통(flow-through) 방사성 활성 및 UV(254nm) 검출기에 의해서 모니터링되는 컬럼을 통해서 수집하였다.

[0194] 기재된 용리 조건하에, [F-18](8)의 체류 시간은 약 8 내지 10분이었다. [F-18]-표지된 트레이서를 함유하는 분획을 살균 필터(0.22㎛)를 통해서 통과시키고, 무균 바이알에 수집하였다. 수집된 약물의 용적은 전형적으로는 8 내지 10mL였다.

[0195] [F-18](8)에 대한 방사성 표지화 반응

[0196] 

[0197] 방사화학적 수율: 2.05% 감쇄 보정됨

[0198] 방사화학적 순도: 100%

[0199] **[F-18](3)를 위한 방사성 표지화 반응:**

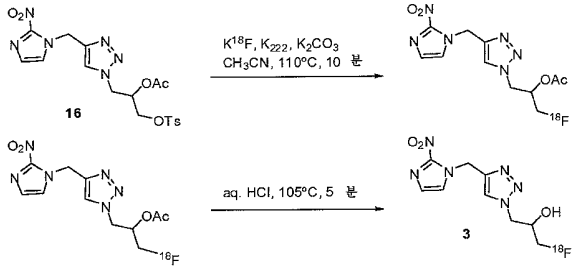
[0200] 아세토니트릴(0.5 mL)과 t-BuOH(0.5 mL)의 혼합물에 용해된 전구체(16)(15 ± 5 mg, 20-40 μmol)의 용액을 무수 [F-18]플루오라이드를 함유하는 반응 용기에 첨가하였다. 용기를 125 ± 15 ℃로 7.5 ± 2.5 분 동안 가열하여 노실레이트 이탈기를 [F-18] 플루오라이드로 대체시켰다.

[0201] 냉각시키고, 아세토니트릴 및 t-부탄올을 증발시킨 후에, 수성 염산(1.0 N, 0.8 mL)을 첨가하고, 혼합물을 110 ± 5 ℃로 7.5 ± 2.5 분 동안 가열하였다. 이러한 가열은 아세테이트기를 가수분해하여 그러한 아세테이트기를 히드록실기로 전환시킨다. 이러한 가수분해 반응은 미정제 [F-18](3)을 형성시켰다. 반응 혼합물을 냉각시키고, 나트륨 아세테이트(2.0 M, 0.4 mL)의 첨가에 의해서 중화시켰다.

[0202] 반응 혼합물의 정제 및 살균 여과: 미정제 [F-18]-표지된 트레이서 생성물 용액을 샘플 루프(1.5mL)에 옮기고, 이어서, 반-제조 HPLC 컬럼((Ex. Synergi, 250 x 10 mm, 5% 에탄올 / 95% 물 (v/v), 5.0 mL/min)상에 주입하였다.

[0203] 익스플로라® RN 화학 모듈에 UV 및 가이거 뮤엘러 검출기 둘 모두를 장착하였다. 생성물을 유통 방사성 활성 및 UV(254nm) 검출기에 의해서 모니터링되는 컬럼을 통해서 수집하였다.

[0204] 기재된 용리 조건하에, [F-18](3)의 체류 시간은 약 8 내지 10분이었다. [F-18]-표지된 트레이서를 함유하는 분획을 살균 필터(0.22㎛)를 통해서 통과시키고, 무균 바이알에 수집하였다. 수집된 약물의 용적은 전형적으로는 8 내지 10mL였다.

[0205] 

[0206] 방사화학적 수율: 38.42% 감쇄 보정됨

[0207] 방사화학적 순도: 100%

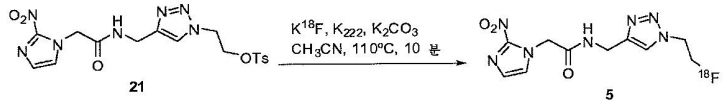
[0208] **[F-18](5)를 위한 방사성 표지화 반응:**

[0209] 아세토니트릴(0.5 mL)과 t-BuOH(0.5 mL)의 혼합물에 용해된 전구체(21)(15 ± 5 mg, 20-40 μmol)의 용액을 무수 [F-18]플루오라이드를 함유하는 반응 용기에 첨가하였다. 용기를 125 ± 15 ℃로 7.5 ± 2.5 분 동안 가열하여 노실레이트 이탈기를 [F-18] 플루오라이드로 대체시켰다.

[0210] 반응 혼합물의 정제 및 살균 여과: 미정제 [F-18]-표지된 트레이서 생성물 용액을 샘플 루프(1.5mL)에 옮기고, 이어서, 반-제조 HPLC 컬럼((Ex. Synergi, 250 x 10 mm, 21 mM 92% 포스페이트 완충액중의 8% 에탄올(v/v), 4 mL/min)상에 주입하였다.

[0211] 익스플로라® RN 화학 모듈에 UV 및 가이거 뮤엘러 검출기 둘 모두를 장착하였다. 생성물을 유통 방사성 활성 및 UV(254nm) 검출기에 의해서 모니터링되는 컬럼을 통해서 수집하였다.

[0212] 기재된 용리 조건하에, [F-18](5)의 체류 시간은 약 7 내지 9분이었다. [F-18]-표지된 트레이서를 함유하는 분획을 살균 필터(0.22㎛)를 통해서 통과시키고, 무균 바이알에 수집하였다. 수집된 약물의 용적은 전형적으로는 8 내지 10mL였다.

[0213] 

[0214] 방사화학적 수율: 12.14% 감쇄 보정됨

[0215] 방사화학적 순도: 40%

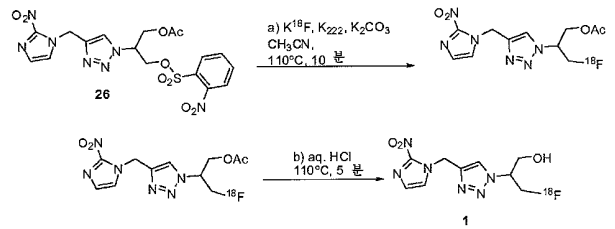
[0216] **[F-18](1)을 위한 방사성 표지화 반응:**

[0217] 아세토니트릴(0.5 mL)과 t-BuOH(0.5 mL)의 혼합물에 용해된 전구체(26)(15 ± 5 mg, 20-40 μmol)의 용액을 무수 [F-18]플루오라이드를 함유하는 반응 용기에 첨가하였다. 용기를 125 ± 15 ℃로 7.5 ± 2.5 분 동안 가열하여 노실레이트 이탈기를 [F-18] 플루오라이드로 대체시켰다.

[0218] 냉각시키고, 아세토니트릴 및 t-부탄올을 증발시킨 후에, 수성 염산(1.0 N, 0.8 mL)을 첨가하고, 혼합물을 110 ± 5 ℃로 7.5 ± 2.5 분 동안 가열하였다. 이러한 가열은 아세테이트기를 가수분해하여 그러한 아세테이트기를 히드록실기로 전환시켰다. 이러한 가수분해 반응은 미정제 [F-18](1)을 형성시켰다. 반응 혼합물을 냉각시키고, 나트륨 아세테이트(2.0 M, 0.4 mL)의 첨가에 의해서 중화시켰다.

[0219] 반응 혼합물의 정제 및 살균 여과: 미정제 [F-18](1)을 함유하는 반응 혼합물을 알루미나 셉-팩 라이트(sep-pak lite)(미반응된 [F-18]플루오라이드를 제거하기 위해)를 통해서 통과시키고, 이어서, HPLC 샘플 루프에 옮겼다. 미정제 반응 물질을 반-제조 HPLC 컬럼(워터스 ACE AQ 역상 반-제조 컬럼(250 x 10 mm), p/n ACE-126-2510, 250 x 10 mm, 21 mM 95% 포스페이트 완충액중의 5% 에탄올, 5.0 mL/min)을 사용하는 크로마토그래피 분리를 통해서 정제하였다. 컬럼 유출을 일련으로 연결된 UV(254nm)와 방사분석 검출기를 이용하여 모니터링하였다.

[0220] 익스플로라® RN 화학 모듈에 UV 및 가이거 뮤엘러 검출기 둘 모두를 장착하였다. 생성물을 유통 방사성 활성 및 UV(254nm) 검출기에 의해서 모니터링되는 컬럼을 통해서 수집하였다. 기재된 용리 조건하에, [F-18](1)의 체류 시간은 약 17 ± 5분이었다. 무균의 빈 수집 바이알에 1 내지 6% 에탄올, 75 mg/mL의 아스코르브산 및 95% 21 mM 포스페이트를 함유하는 5 내지 10mL의 무균 희석액을 미리 충전시켰다. HPLC 정제 컬럼을 통해서 용리된 정제된 [F-18](1)분획을 0.2㎛ 살균 필터를 통해서 미리 충전된 수집 바이알내로 처리하였다. 전체 방사성 활성에 대한 처리중 검정을 기초로 하여, 충분한 아스코르브산 및 무균 희석액을 첨가하여 아스코르브산 농도를 5%(50mg/mL)로 조절하고, 방사성활성 농도를 30 mCi/mL 이하로 조절하였다.

[0221] 

[0222] 방사화학적 수율: 34% 감쇄 보정됨

[0223] 방사화학적 순도: 100%

[0224] **[F-18](1)을 위한 대안적인 방사성 표지화 반응:**

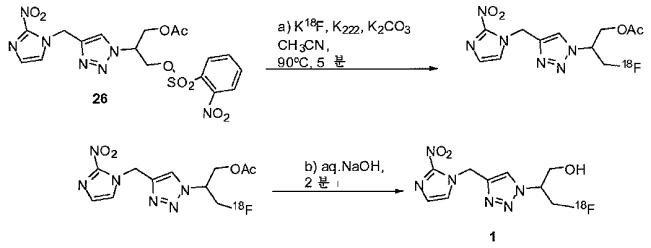
[0225] 방사성 활성 [F-18] 플루오라이드를 0.5 mL의 K222/K_2CO_3 용액(9 mL의 MeCN 및 9 mL의 H_2O중의 660 mg의 K222 및 210 mg의 K_2CO_3)와 함께 3mL V-바이알에 옮겼다. [F-18]플루오라이드를 Ar 흐름하에서 3 x 1 mL MeCN와 함께 공비건조시켰다. 하였다. 아세토니트릴(1.0 mL)에 용해된 전구체(26)(16 ± 5 mg, 20-40 μmol)을 무수

[F-18]플루오라이드를 함유하는 반응 용기에 첨가하였다. 용기를 95 ± 5 ℃로 7.5 ± 2.5 분 동안 가열하여 노실레이트 이탈기를 [F-18]플루오라이드로 대체하였다.

[0226] 냉각시키고, 아세토니트릴을 약 0.1mL로 증발시킨 후에, 수성 염산(0.05N, 2.0 mL)을 첨가하고, 혼합물을 60 ± 5 ℃로 3 ± 1 분 동안 가열하였다. 이러한 가열은 아세테이트기를 가수분해하여 그러한 아세테이트기를 히드록실기로 전환시킨다. 이러한 가수분해 반응은 미정제 [F-18](1)을 형성시켰다.

[0227] 반응 혼합물의 정제 및 살균 여과: 미정제 반응 물질을 반-제조 HPLC 컬럼(페노메넥스 루나(Phenomenex Luna) 역상 반-제조 컬럼(250 x 10 mm, 10μ), 6% 에탄올, 5.0 mL/min)을 사용하는 크로마토그래피 분리를 통해서 정제하였다. 컬럼 유출을 일련으로 연결된 UV(254nm)와 방사분석 검출기를 이용하여 모니터링하였다.

[0228] 익스플로라® RN 화학 모듈에 UV 및 가이거 뮤엘러 검출기 둘 모두를 장착하였다. 생성물을 유통 방사성 활성 및 UV(254nm) 검출기에 의해서 모니터링되는 컬럼을 통해서 수집하였다. 기재된 용리 조건하에, [F-18](1)의 체류 시간은 약 17 ± 5분이었다. 무균의 빈 수집 바이알에 1 내지 6% 에탄올, 75 mg/mL의 아스코르브산 및 95% 21 mM 포스페이트를 함유하는 5 내지 10mL의 무균 희석액을 미리 충전시켰다. HPLC 정제 컬럼을 통해서 용리된 정제된 [F-18](1)분획을 0.2㎛ 살균 필터를 통해서 미리 충전된 수집 바이알내로 처리하였다. 전체 방사성 활성에 대한 처리중 검정을 기초로 하여, 충분한 아스코르브산 및 무균 희석액을 첨가하여 아스코르브산 농도를 5%(50mg/mL)로 조절하고, 방사성활성 농도를 30 mCi/mL 이하로 조절하였다.

[0229] 

[0230] 방사화학적 수율: 34% 감쇄 보정됨

[0231] 방사화학적 순도: 100%

[0232] **HX 시리즈에 대한 생물학적 데이터**

[0233] **동물 실험**

[0234] 1) HX4의 생체-분포 및 생체-안정성

[0235] 1A: 마우스에서의 연구

[0236] **방법**: 화합물(1)을 DMSO중에 용해시켜 100mM 원액을 생성시켰다. 이어서, 이를 3% 솔루톨을 함유하는 1X PBS로 희석시켜 5mM 농도가 되게 하였다. 200㎕의 5mM 화합물(1) 용액을 이소플루오란 마취하의 마우스 동물의 꼬리 정맥내로 주입하였다. 2 시간 동안 생체내 흡수시켰다.

[0237] 혈액 및 요 샘플을 30, 60, 90 및 120분에 수집하였다. 샘플들을 즉각적으로 얼음속에 넣어 화합물 분해를 방지하였다. 혈액 및 요 샘플링을 120분에 완료한 후에, 마우스를 경추탈골시켜 희생시켰다. 하기 전체 기관을 30 내지 40분 이내에 다음 순서로 수거하였다: 하부 GI, 상부 GI, 비장, 췌장, 담낭, 간, 심장, 신장, 폐, 양쪽 다리로부터의 약 0.3g의 근육, 등에서의 약 0.4g의 피부, 전체 뇌 및 복부 내부에서의 약 0.4g의 지방.

[0238] 조직을 동력공급된 균질화기를 사용하여 균질화시키기 전에, 샘플에 비례적인 양의 용해 완충액(약 5ml/조직g)을 첨가하였다. 50㎕의 용해 완충액을 혈액 및 요 샘플에 첨가한 다음, 약하게 와동시켰다. 200㎕의 기관 균질물을 1.5mL 에펜도르프 튜브(Eppendorf tube)내로 샘플링하였다. 모든 샘플을 100℃에서 2 분 동안 가열하여 단백질을 변성시키고, 이어서, 15분 동안 얼음속에 넣었다. 이어서, 40㎕의 포름산을 기관 샘플에 첨가하고, 20㎕를 혈액 및 요 샘플에 첨가하였다. 모든 튜브를 와동시켜서 샘플을 산과 완전히 혼합하였다. 이어서, 샘플을 15분 동안 얼음 위에 올려놓은 후에, 13000rpm으로 15분 동안 4℃에서 원심분리하였다. 30㎕의 상등액을 MSD 분석을 위해서 HPLC 바이알에 옮겼다.

[0239] 광범위한 화합물(1) 농도에 의한 표준 곡선을 조직 용해물 처리에 대한 상기 방법과 동일한 방법을 이용하여 작도하였다. 화합물의 상응하는 피크를 우선 표준으로 확인하였다. 피크의 면적을 측정하고 샘플중의 화합물(1)

농도의 산정을 위한 표준 상관 곡선내로 전환시켰다. 각 샘플중의 화합물의 양은 % 주입된 도즈(dose)/g 조직(%ID/g 조직)으로 나타낸다.

[0240] **IB: 래트에서의 연구**

[0241] **방법**: 화합물(1) 용액을 앞서 기재한 바와 같이 제조하였다. 1mL의 10mM 화합물(1) 용액을 이소플루오란 마취하의 래트에게 정맥내(꼬리 정맥) 주입하였다. 혈액 및 요 샘플을 주입 전에 및 주입 후 15, 30, 60, 90 및 120분에 채취하였다. 샘플 처리 및 LC/MS 측정은 IA에 기재된 마우스 샘플과 동일하다.

[0242] **결과:**

[0243] 마우스 데이터(도 1):

[0244] 마우스에서, 화합물(1)의 혈중 수준은 30분에서 4.1 %ID/g였으며, 120분에서는 0.59%로 감소하였다. 요중 높은 %ID/g 및 혈액중 낮은 %ID/g으로 주어진 혈중 제거 및 요 분비는 신속하였다(요중 30분에서 95.6 %ID/g, 혈액중 30분에서 4.1 %ID/g). 요 분비 지수(120분에서의 혈액중 %ID/g로 나눈 요중 %ID/g를 평균함)는 88.69였다. 담낭 및 GI계에서의 화합물(1)의 수준은 낮았다.

[0245] 래트 데이터(도 2):

[0246] 래트에서, 화합물(1)의 혈중 수준은 30분 및 120분에서 각각 0.67 및 0.15%ID/g이었다. 요중 수준은 30분에 5.3%ID/g였다. 요 분비 지수(120분에서의 혈중 %ID/g로 나눈 요중 %ID/g를 평균함)는 36.62였다. 담낭 및 GI계에서의 화합물(1)의 수준은 낮았다.

[0247] 따라서, 요중 높은 %ID/g 및 혈액중 낮은 %ID/g으로 주어진 화합물(1)의 래트의 요 분비 및 혈액중 제거는 신속하였다.

[0248] 2) 사람 표준 및 암 세포주에서의 HX4의 세포독성 검정

[0249] **방법**: 검정은 3-[4,5-디메틸티아졸-2-일]-2,5-디페닐 테트라졸륨 브로마이드를 착색된 포르마잔 결정으로 환원시키는 살아있는 세포의 능력을 기반으로 한다. Ls174T 사람 직장결장 샘암종(Ls174T human colorectal adenocarcinoma), A172 사람 뇌 아교모세포종(A172 human brain glioblastoma), MRC5 사람 정상 폐 섬유아세포(MRC5 human normal lung fibroblast), 및 ALM 12 마우스 정상 간 세포주(ALM 12 mouse normal liver cell line)를 본 연구에서 선택하였다. 세포를 상이한 농도의 화합물(1)(0, 100, 500, 1000, 5000, 10000 nM)과 함께 24 시간 동안 배양하고, 이어서, 0.5 mg/ml의 3-[4,5-디메틸트리아졸-2-일]-2,5-디페닐 테트라졸륨 브로마이드와 함께 1 시간 동안 인큐베이션하였다. 세포를 용해시키고, 포르마잔 결정을 2-프로판올과 함께 1 시간 동안 용해시키고, 생성되는 착색된 2-프로판올의 광학 밀도를 측정하였다. 생존 세포 백분율을 광학 밀도를 기초로 하여 계산하였다.

[0250] 결과: 이들 4가지의 세포주(정상 및 암성) 모두에서, 통계적으로, 상이한 농도의 화합물(1)로 처리된 살아있는 세포의 수는 비처리된 대조 세포의 수와 차이를 보이지 않았다. 따라서, 화합물(1)은 정상 또는 암 세포에 세포독성이 아니다(도 3 내지 도 5).

[0251] **영상화 프로토콜**: (도 6)

[0252] 각각의 PET 주사(scanning) 과정 동안(2 시간까지) 동물을 이소플루란/산소 흡입을 이용하여 마취시켰다. 마취된 동물을 각각의 PET 주사동안 가열된 패드상에 올려놓았다. 전형적인 주입용적은 250μCi의 활성을 전형적으로 함유하는 250㎕였다. 계속해서, F18-표지된 트레이서의 투여 직후에 역학적 PET 주사를 시작하였다.

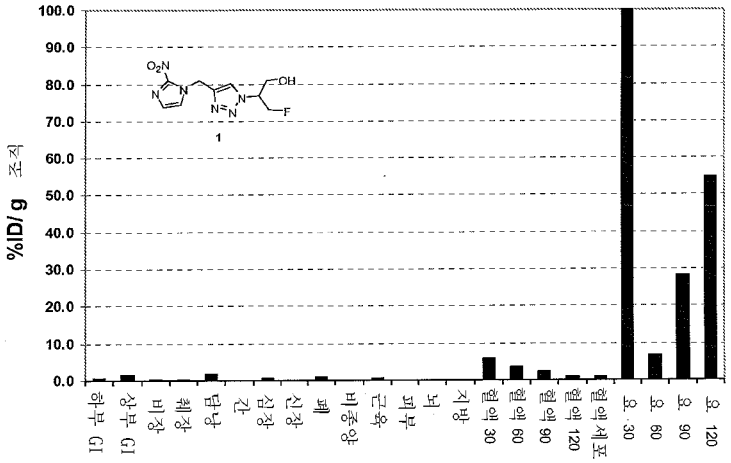
[0253] 본 기술분야의 전문가라면 광범위한 본 발명의 개념을 벗어나지 않으면서 상기된 구체예에서 변화가 있을 수 있다는 것을 인지할 것이다. 따라서, 본 발명은 개시된 특정의 구체예로 한정되는 것이 아니라, 첨부된 특허청구범위에 의해서 정의된, 본 발명의 사상 및 범위내의 변화를 포함함이 이해될 것이다. 많은 예시적인 구체예, 특징 및 변화가 본원에 제공되고 있지만, 본 기술분야의 전문가라면 구체예, 특징 및 변화의 특정의 변화, 변환, 추가 및 조합 및 특정의 서브조합을 인지할 것이다. 첨부된 특허청구범위는 그 범위 내에 있는 그러한 모든 변화, 변환, 추가 및 조합 및 특정의 서브조합을 포함하는 것으로 해석되어야 한다.

도면

도면1

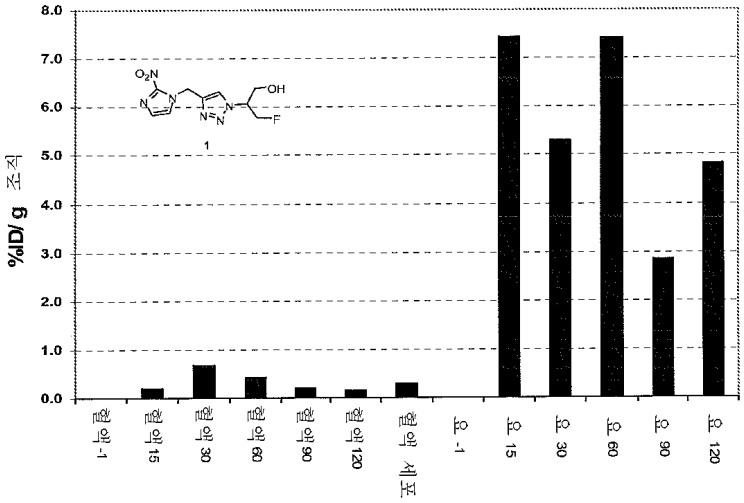
IV 주입후 120분에 웅성 화이트 마우스내의 화합물(1)의 생체-분포

(200 μl 의 5mM 용액).

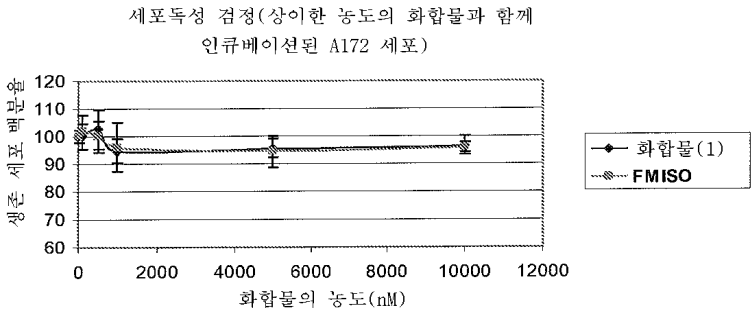


도면2

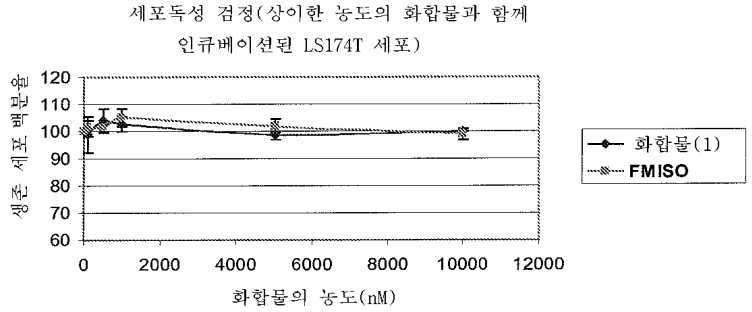
야생형 래트내의 화합물(1)의 혈장 및 요 약리학적 연구(10mM 농도 1ml)



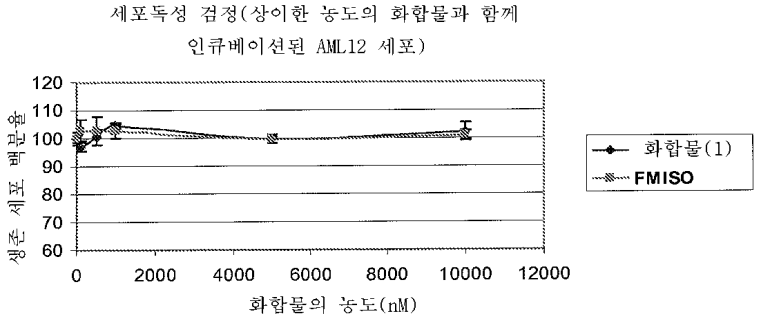
도면3


세포독성 검정(상이한 농도의 화합물과 함께
인큐베이션된 A172 세포)
생존 세포 백분율
120
110
100
90
80
70
60
0
2000
4000
6000
8000
10000
12000
화합물의 농도(nM)
화합물(1)
FMISO

도면4


세포독성 검정(상이한 농도의 화합물과 함께
인큐베이션된 LS174T 세포)
생존 세포 백분율
120
110
100
90
80
70
60
0
2000
4000
6000
8000
10000
12000
화합물의 농도(nM)
화합물(1)
FMISO

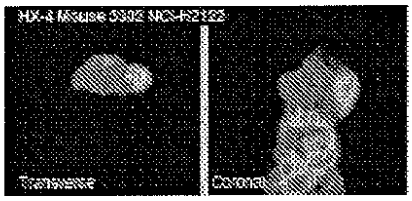
도면5


세포독성 검정(상이한 농도의 화합물과 함께
인큐베이션된 AML12 세포)
생존 세포 백분율
120
110
100
90
80
70
60
0
2000
4000
6000
8000
10000
12000
화합물의 농도(nM)
화합물(1)
FMISO

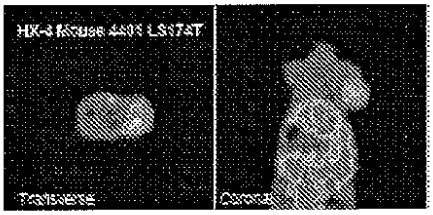
도면6

PET 영상

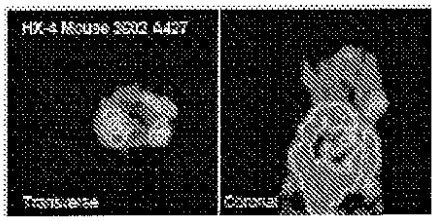
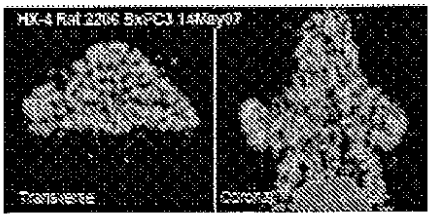
무흉선 마우스내 저산소 NCI 이종이식 종양



무흉선 마우스내 저산소 LS174T 이종이식 종양



무흉선 마우스내 저산소 A427 이종이식 종양



무흉선 래트내 비-저산소 BXPC3 이종이식 종양