(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0064991
(43) 공개일자 2025년05월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 333/68 (2006.01) *A61K 31/381* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07D 409/12* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 333/68 (2013.01)
A61K 31/381 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-0150857
(22) 출원일자 2023년11월03일
심사청구일자 2023년11월03일

(71) 출원인
한국과학기술연구원
서울특별시 성북구 화랑로14길 5 (하월곡동)
이화여자대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)
(72) 발명자
김택훈
서울특별시 성북구 화랑로14길 5 (하월곡동)
김재열
서울특별시 성북구 화랑로14길 5 (하월곡동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 무한

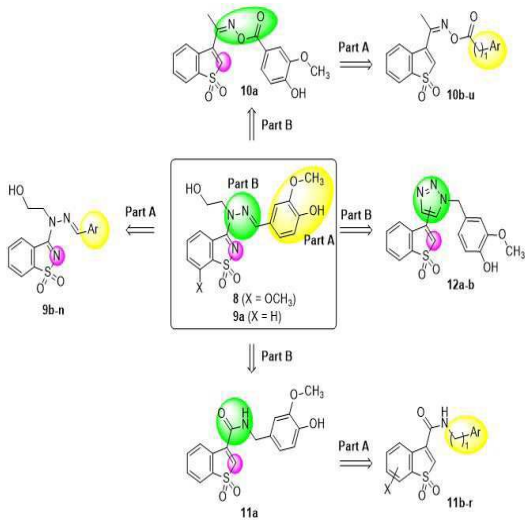
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 **디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 이의 용도**

(57) 요 약

본 발명은 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 상기 유도체를 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 조성물 등에 관한 것으로서, 본 발명의 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체는 암세포의 발생, 성장에 매우 중요한 신호체계로 알려진 히포 경로에서 YAP-TEAD 결합을 효율적으로 저해함으로서 암 세포의 증식 및 성장을 현저하게 억제할 수 있어 암의 예방 또는 치료, 바람직하게는 유방암의 예방 및 치료에 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61P 35/00 (2018.01)
C07D 409/12 (2013.01)
(72) 발명자
유진하
서울특별시 강남구 남부순환로373길 4, 101호 (도곡동, 리치아르떼빌)
손영채
충청북도 청주시 흥덕구 송화로108번길 42, 102동 1802호 (송절동, 청주테크노폴리스지웰아파트)
김용찬
인천광역시 남동구 독점로3번길 38-8, 507호 (구월동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711164165
과제번호 2021R1A2C1093499
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(과기정통부)
연구과제명 합성치사를 이용한 난치성 암 치료를 위한 신규 항암제 타겟 발굴
기 여 율 50/100
과제수행기관명 한국과학기술연구원
연구기간 2022.03.01 ~ 2023.02.28
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711190639
과제번호 2022R1C1C1004804
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(과기정통부)
연구과제명 면역항암제 도출을 위한 아데노신 수용체 리간드와 종양 특이적 활성화 prodrug 개발
기 여 율 30/100
과제수행기관명 이화여자대학교
연구기간 2023.03.01 ~ 2024.02.29
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711200404
과제번호 2022M3E5F3080873
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 인공지능활용혁신신약발굴
연구과제명 인공지능 기반 신약개발 플랫폼 고도화 및 혁신신약 후보물질 도출
기 여 율 20/100
과제수행기관명 이화여자대학교
연구기간 2023.01.01 ~ 2023.12.31

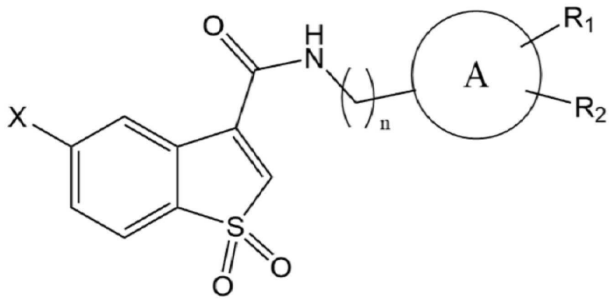
명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 [화학식 1]로 표시되는 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

A는 아릴 또는 헤테로아릴이고,

R_1 및 R_2는 각각 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 알콕시, 하이드록시, 할로겐, CF_3 및 C_1-C_6 알킬로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나이며,

X는 수소 또는 할로겐이고,

n은 0 내지 2의 정수임.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 [화학식 1]에서,

치환된 알콕시는 CF_3로 치환된 것인, 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 [화학식 1]에서,

상기 A는 벤젠 또는 티오펜인, 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 [화학식 1]에서,

상기 R_1 및 R_2는 각각 독립적으로 수소, 메틸, $-OCH_3$, -OH, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$ 및 $-OCF_3$으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인, 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 5

제1항에 있어서,

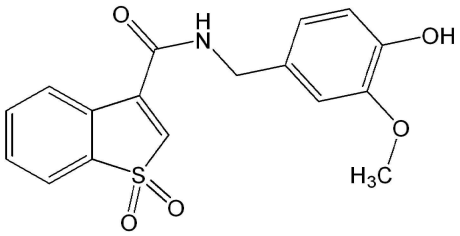
상기 [화학식 1]에서,

상기 할로겐은 Br인, 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 6

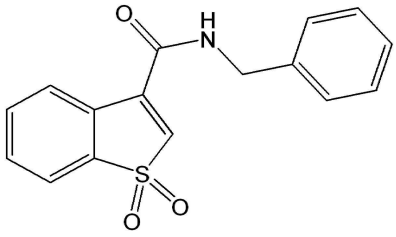
제 1항에 있어서, 상기 [화학식 1] 로 표시되는 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체는 하기 화합물들로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 1-1]



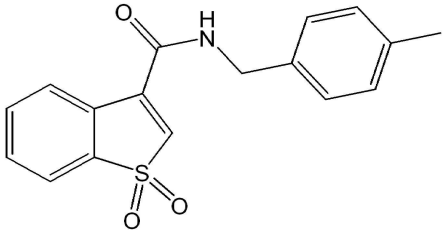
,

[화학식 1-2]



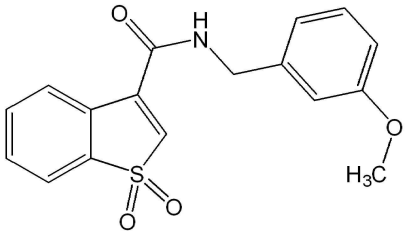
,

[화학식 1-3]



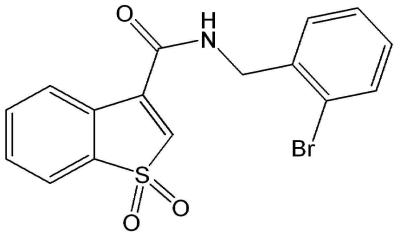
,

[화학식 1-4]



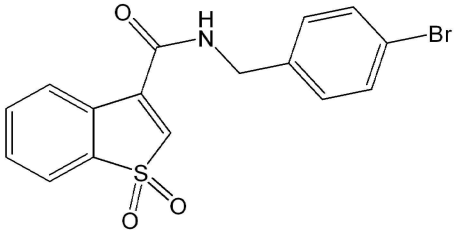
,

[화학식 1-5]



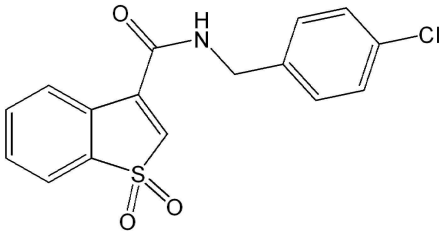
,

[화학식 1-6]



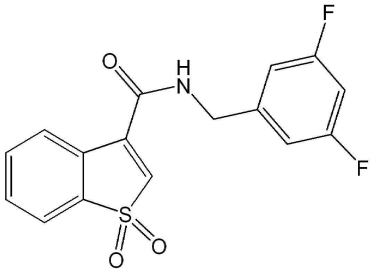
,

[화학식 1-7]



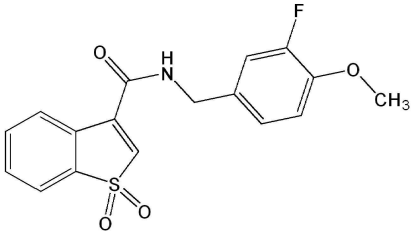
,

[화학식 1-8]



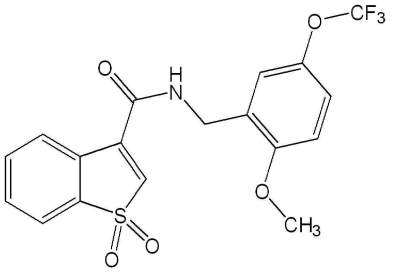
,

[화학식 1-9]



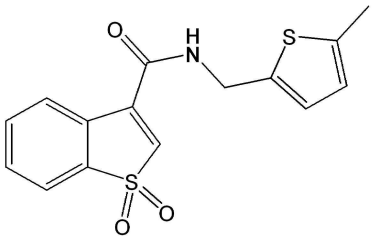
,

[화학식 1-10]



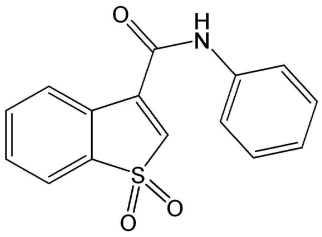
,

[화학식 1-11]



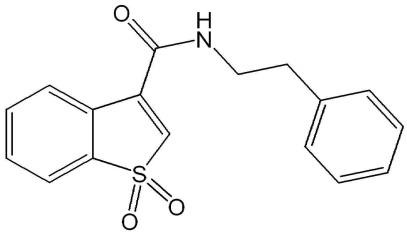
,

[화학식 1-12]



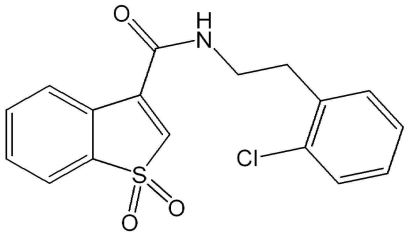
,

[화학식 1-13]



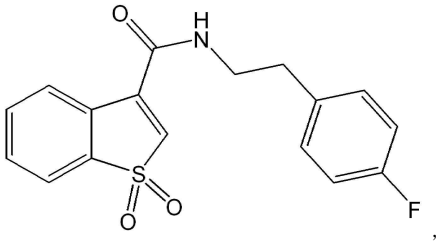
,

[화학식 1-14]



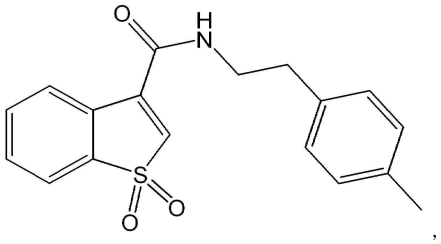
,

[화학식 1-15]



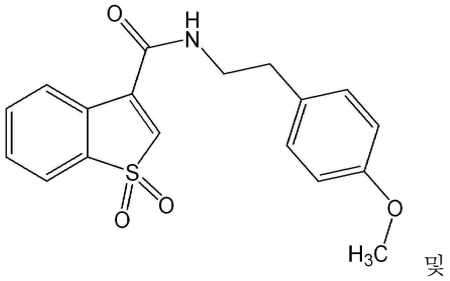
,

[화학식 1-16]



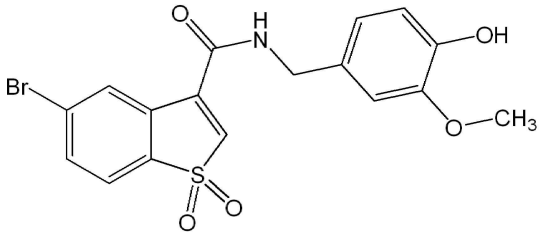
,

[화학식 1-17]



및

[화학식 1-18]



.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체는 YAP-TEAD 상호작용을 억제하는 것을 특징으로 하는 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체의 약학적으로 허용가능한 염은 염산염, 브롬산염, 황산염, 인산염, 질산염, 구연산염, 초산염, 젖산염, 주석산염, 말레산염, 글루콘산염, 숙신산염, 포름산염, 트리플루오로아세트산염, 옥살산염, 푸마르산염, 글루타르산염, 아디프산염, 메탄술폰산염, 벤젠술폰산염, 파라톨루엔술폰산염, 캠퍼술폰산염, 나트륨염, 칼륨염, 리튬염, 칼슘염, 및 마그네슘염으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한

염.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체의 약학적으로 허용가능한 염은 염산염인 것을 특징으로 하는 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 따른 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 포함하는, 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 암은 피부암, 유방암, 자궁암, 식도암, 위암, 뇌 종양, 결장암, 직장암, 대장암, 폐암, 난소암, 자궁경부암, 자궁내막암, 외음부암, 신장암, 혈액암, 췌장암, 전립선암, 고환암, 후두암, 두경부암, 갑상선암, 간암, 방광암, 골육종, 림프종, 혈액암, 흉선암, 요도암, 및 기관지암으로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 암은 유방암인 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 이의 용도 등에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 예 관련 단백질(Yes-associated protein, YAP)과 그와 가까운 상동체인 WW 도메인 함유 전사 조절자 1(WW-domain-containing transcription regulator 1 WWTR1)은 종양유전자로 잘 알려져 있다. 전사 공동 활성화제로서 YAP와 TAZ는 DNA 결합 전사 인자와 결합하여 표적 유전자의 전사와 후속 변형 활동을 활성화한다. YAP 및 TAZ에 결합하는 많은 전사 인자 중 주로 TEA(transcriptional enhancer factor, 전사 강화 인자)-도메인(TEAD) 계열은 세포 증식, 침입 및 전이와 관련된 활동을 포함하여 YAP 및 TAZ의 주요 변형 활동을 중재한다[B. Zhao et al., TEAD mediates YAP-dependent gene induction and growth control, Genes Dev. 22 (2008) 1962-1971.]. YAP와 TEAD는 직접적으로 약물 투여가 가능하지 않기 때문에 이들 사이의 단백질-단백질 상호 작용을 방해하는 화학 물질을 개발하는 데 상당한 관심이 집중되고 있다. TEAD-YAP/TAZ 상호작용의 유전적 및 약리학적 개입은 YAP 의존성 암 모델에서 종양 형성을 상당히 약화시키는 것으로 보고되었다[Y. Liu-Chittenden et al., Genetic and pharmacological disruption of the TEAD-YAP complex suppresses the oncogenic activity of YAP, Genes Dev. 26 (2012) 1300-1305.]. 또한, 황반변성의 광역학 치료에서 감광제로 사용되는 FDA 승인 약물

인 베르테포르핀(verteporfin)은 YAP-TEAD 억제제로 성공적으로 용도가 변경되었다. 그러나 베르테포르핀은 비특이적 단백질 가교제로, YAP-TEAD에 대한 특이성은 불확실하다.

[0004] 이에, 본 발명자들은 hYAP-hTEAD1 복합체의 입체구조를 기반으로 신규한 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체를 포함하는 새로운 YAP-TEAD 억제제를 설계하고 합성한 후 리포터 분석을 통해 YAP/TAZ-TEAD에 대한 활성을 확인하였고, 이것이 암세포 성장을 저해하는 점을 확인하여, 본 발명을 완성해 제공하고자 한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공하는 것이다.

[0007] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 상기 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 제조방법을 제공하는 것이다.

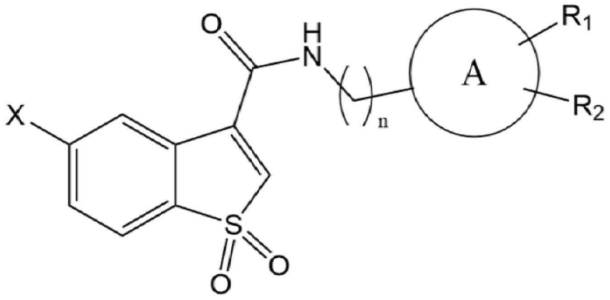
[0008] 또한, 본 발명의 다른 목적은 상기 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당해 기술분야의 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 하기 [화학식 1]로 표시되는 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다:

[0012] [화학식 1]

[0013] 

[0014] 상기 화학식 1에서,

[0015] A는 아릴 또는 헤테로아릴이고,

[0016] R_1 및 R_2는 각각 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 알콕시, 하이드록시, 할로겐, CF_3 및 C_1-C_6 알킬로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나이며,

[0017] X는 수소 또는 할로겐이고,

[0018] n은 0 내지 2의 정수임.

[0019] 일 측에 따르면, 상기 [화학식 1]에서, 치환된 알콕시는 CF_3로 치환된 것일 수 있다.

[0020] 일 측에 따르면, 상기 [화학식 1]에서, 상기 A는 벤젠 또는 티오펜일 수 있다.

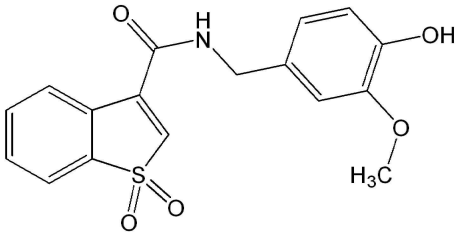
[0021] 일 측에 따르면, 상기 [화학식 1]에서, 상기 R_1 및 R_2는 각각 독립적으로 수소, 메틸, -OCH3, -OH, -F, -Cl,

-Br, -CF3 및 -OCF3으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.

[0022] 일 측에 따르면, 상기 할로겐은 Br일 수 있다.

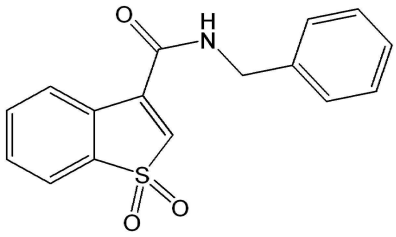
[0023] 일 측에 따르면, 상기 [화학식 1] 로 표시되는 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체는 하기 화합물들로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있다:

[0024] [화학식 1-1]

[0025] 

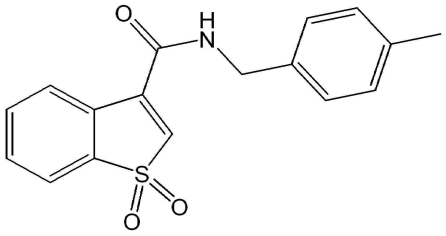
,

[0026] [화학식 1-2]

[0027] 

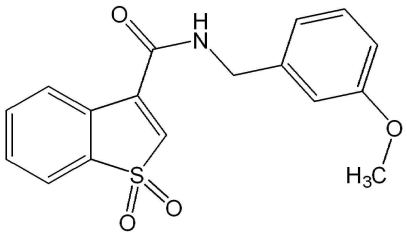
,

[0028] [화학식 1-3]

[0029] 

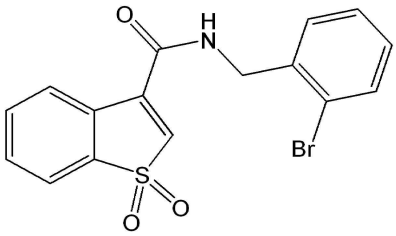
,

[0030] [화학식 1-4]

[0031] 

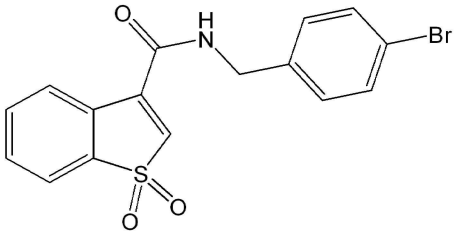
,

[0032] [화학식 1-5]

[0033] 

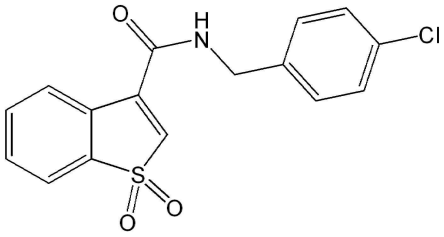
,

[0034] [화학식 1-6]

[0035] 

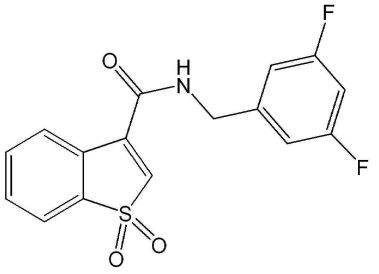
,

[0036] [화학식 1-7]

[0037] 

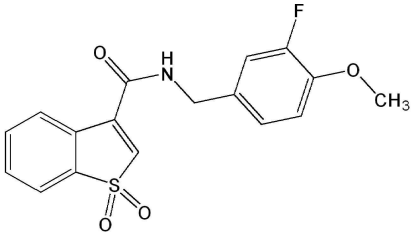
,

[0038] [화학식 1-8]

[0039] 

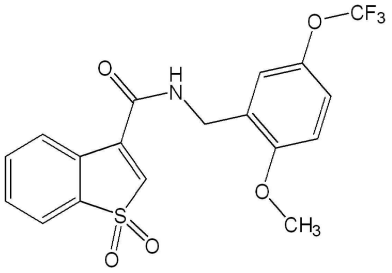
,

[0040] [화학식 1-9]

[0041] 

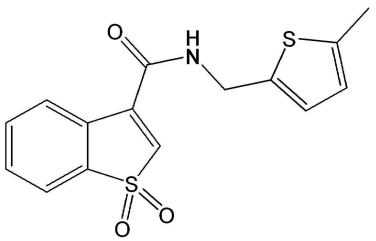
,

[0042] [화학식 1-10]

[0043] 

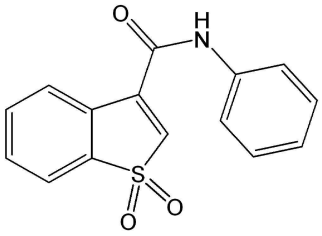
,

[0044] [화학식 1-11]

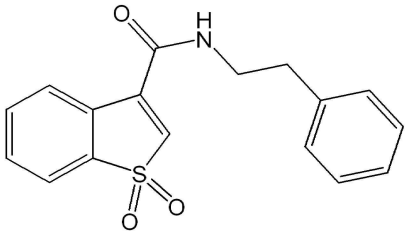
[0045] 

,

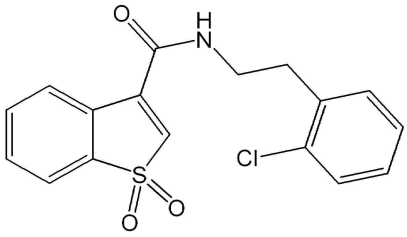
[0046] [화학식 1-12]

[0047] ,

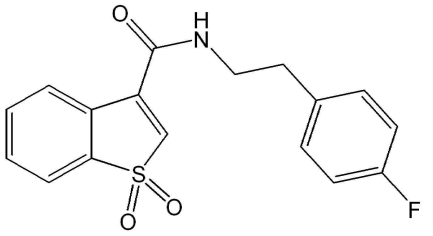
[0048] [화학식 1-13]

[0049] ,

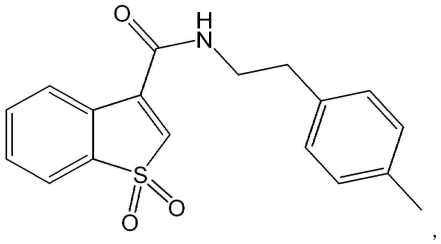
[0050] [화학식 1-14]

[0051] ,

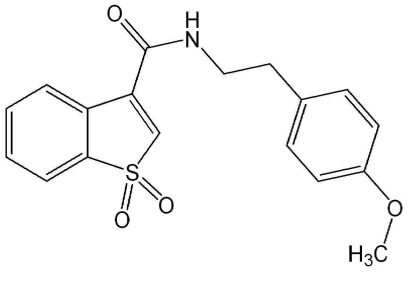
[0052] [화학식 1-15]

[0053] ,

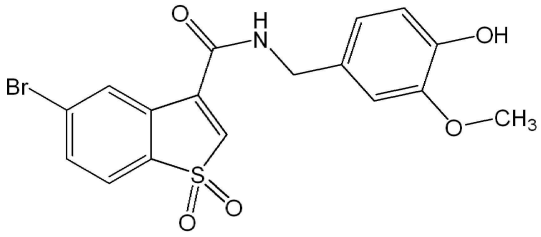
[0054] [화학식 1-16]

[0055] ,

[0056] [화학식 1-17]

[0057]  및

[0058] [화학식 1-18]

[0059]  .

[0060] 일 측에 따르면, 상기 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체는 YAP-TEAD 상호작용을 억제하는 것일 수 있다.

[0061] 일 측에 따르면, 상기 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체의 약학적으로 허용가능한 염은 염산염, 브롬산염, 황산염, 인산염, 질산염, 구연산염, 초산염, 젖산염, 주석산염, 말레산염, 글루콘산염, 숙신산염, 포름산염, 트리플루오로아세트산염, 옥살산염, 푸마르산염, 글루타르산염, 아디프산염, 메탄술폰산염, 벤젠술폰산염, 파라톨루엔술폰산염, 캠퍼술폰산염, 나트륨염, 칼륨염, 리튬염, 칼슘염, 및 마그네슘염으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상일 수 있으며, 바람직하게는 염산염일 수 있다.

[0062] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 상기 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 포함하는, 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물이 제공된다.

[0063] 일 측에 따르면, 상기 암은 피부암, 유방암, 자궁암, 식도암, 위암, 뇌 종양, 결장암, 직장암, 대장암, 폐암, 난소암, 자궁경부암, 자궁내막암, 외음부암, 신장암, 혈액암, 췌장암, 전립선암, 고환암, 후두암, 두경부암, 갑상선암, 간암, 방광암, 골육종, 림프종, 혈액암, 흉선암, 요도암, 및 기관지암으로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나 이상일 수 있으며, 바람직하게는 유방암일 수 있다.

[0066] 또한, 본 발명은 상기 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 암의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[0067] 또한, 본 발명은 암의 예방 또는 치료용 약제의 제조를 위한 상기 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 용도를 제공한다.

[0068] 또한, 본 발명은 상기 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 암의 진단 방법을 제공한다.

[0069] 또한, 본 발명은 암 진단용 약제의 제조를 위한 상기 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 용도를 제공한다.

발명의 효과

[0071] 본 발명은 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 상기 유도체를 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 조성물 등에 관한 것으로서, 본 발명의 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체는 히포 경로의 YAP-TEAD 상호작용을 저해하여 항암효과를 나타내는 바, 암의 예방 또는 치료

에 사용될 수 있다.

[0072] 본 발명의 효과는 이상에서 언급된 것들에 한정되지 않으며, 언급되지 아니한 다른 효과들은 아래의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

[0074] 도 1은 본 발명의 분자 설계 과정을 도식화한 것이다.

도 2는 본 발명의 화합물의 TEAD-YAP 루시퍼라제 어세이 결과를 나타낸 것이다.

도 3은 본 발명의 화합물의 TEAD-TAZ 루시퍼라제 어세이 결과를 나타낸 것이다.

도 4는 MCF10A 세포에서 TEAD-YAP 표적 유전자의 RT-qPCR 분석결과를 나타낸다.

도 5는 TEAD-YAP 루시퍼라제 리포터 분석에 대한 용량-반응 곡선을 나타낸다.

도 6은 인 비트로 풀다운 어세이 결과를 나타낸다.

도 7은 11q의 인 비트로 풀다운 어세이 결과를 나타낸다.

도 8은 FLAG 태그가 붙은 YAP로 형질감염된 HEK293T 세포의 공동 면역침전결과를 나타낸다.

도 9는 로우 파이어플라이와 레닐라 루시퍼라제 및 파이어플라이/레닐라 루시퍼라제 활성 비율을 나타낸다.

도 10은 FLAG-태그된 TEAD2 및 베르테포르핀(VP)을 함유하는 표시된 항체 및 세포 용해물을 이용한 공동 면역침전 분석결과를 나타낸다.

도 11은 베르테포르핀(VP)이 빛 의존성 단백질 응집체를 만드는 것을 보여준다.

도 12는 유방암 세포주의 상대적 생존률을 나타낸다.

도 13은 MDA-MB-231 세포에서 TEAD-YAP 표적 유전자 CTGF의 RT-qPCR결과를 나타낸다.

도 14는 말 혈청 및 EGF가 없는 배지에서 성장한 MCF10A 세포의 상대적 생존률을 나타낸다.

도 15는 YAP 5SA를 과발현하는 MCF10A 세포의 용량-반응 곡선을 나타낸다.

도 16은 YAP 5SA를 발현하는 MCF10A 세포를 사용한 소프트 아가 분석 결과를 나타낸다.

도 17은 TEAD1에서의 분자 도킹 시뮬레이션을 나타낸다.

도 18은 TEAD2에서의 분자 도킹 시뮬레이션을 나타낸다.

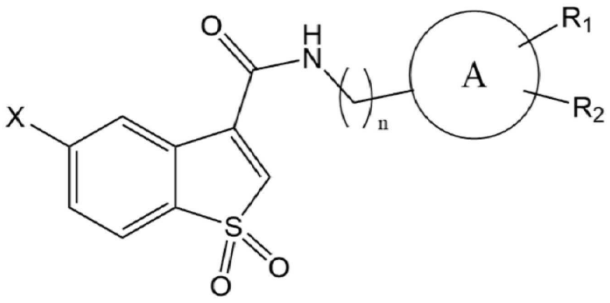
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0075] 본 발명자들은 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염에 대해 예의 연구한 결과, 상기 유도체의 YAP-TEAD 저해 활성을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0076] 보다 구체적으로 상기 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염이 YAP-TEAD 단백질의 결합을 저해함으로써, 암세포주의 증식을 억제할 수 있음을 확인하였다.

[0077] 상기 결과로부터, 본 발명은 하기 [화학식 1]로 표시되는 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다:

[0078] [화학식 1]



[0079]

[0080] 상기 화학식 1에서,

[0081] A는 아릴 또는 헤테로아릴이고,

[0082] R_1 및 R_2는 각각 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 알콕시, 하이드록시, 할로겐, CF_3 및 C_1-C_6 알킬로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나이며,

[0083] X는 수소 또는 할로겐이고,

[0084] n은 0 내지 2의 정수임.

[0085] 본 발명에서, 용어 “치환”은 화합물의 분자 중에 포함되는 원자 또는 원자단을 다른 원자 또는 원자단으로 바꾸어 놓는 반응이다.

[0086] 본 발명에서, 용어 "아릴기"는 단일고리 (예를 들면 페닐) 또는 복수의 축합고리 (예를 들면 나프틸)를 갖는 탄소원자수 3 내지 12의 불포화 방향족 고리화합물을 의미한다. 이러한 아릴기의 예로는 페닐, 나프틸 등을 포함하나, 이들로 한정되지 않는다.

[0087] 본 발명에서, 용어 “헤테로아릴기”는 고리를 구성하는 원자 중 적어도 하나는 N, O 또는 S의 헤테로원자를 갖는 단일고리 또는 복수의 축합고리를 가리킨다. 이러한 헤테로아릴기의 예로는 피리딜기, 피리미디닐기, 피라지닐기, 옥사졸릴기, 푸릴기, 티오페닐기 등을 포함하나, 이들로 한정되지 않는다.

[0088] 본 발명에서, “할로겐기”는 플루오린 (F), 클로라이드 (Cl), 브로민 (Br), 또는 아이오딘 (I) 등일 수 있다.

[0089] 본 발명에서, “히드록시기”는 -OH이다.

[0090] 본 발명에서, “알콕시기”는 산소와 결합된 알킬기를 의미하며, $-O(CH_2)mCH_3$으로 표현될 수 있고, 바람직하게는 메톡시기(-OCH3)일 수 있다. 또한, 본 발명의 알콕시기는 치환 또는 비치환된 것일 수 있으며, 치환된 경우 치환기는 바람직하게는 CF_3로 치환된 것일 수 있고, 가장 바람직하게는 $-OCF_3$일 수 있다.

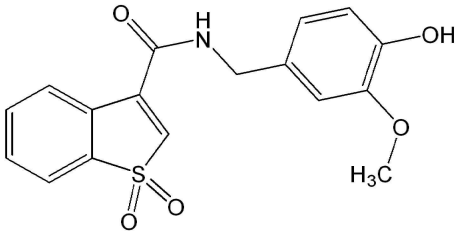
[0091] 일 측에 따르면, 상기 [화학식 1]에서, 상기 A는 벤젠 또는 티오펜일 수 있다.

[0092] 일 측에 따르면, 상기 [화학식 1]에서, 상기 R_1 및 R_2는 각각 독립적으로 수소, 메틸, -OCH3, -OH, -F, -Cl, -Br, -CF3 및 -OCF3으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.

[0093] 일 측에 따르면, 상기 할로겐은 바람직하게는 Br일 수 있다.

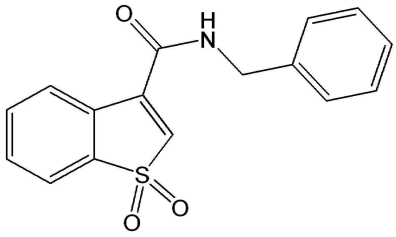
[0094] 본 발명의 바람직한 구현예로서, 상기 [화학식 1] 로 표시되는 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체는 하기 화합물들로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있다:

[0095] [화학식 1-1]

[0096] 

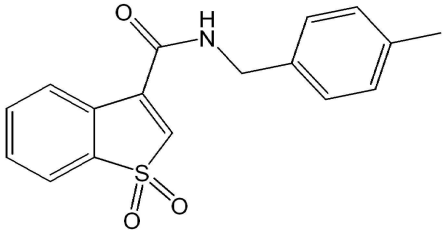
,

[0097] [화학식 1-2]

[0098] 

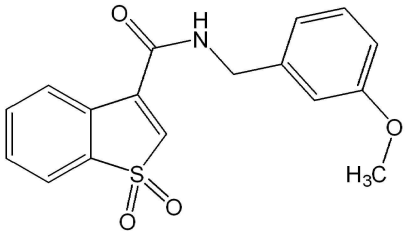
,

[0099] [화학식 1-3]

[0100] 

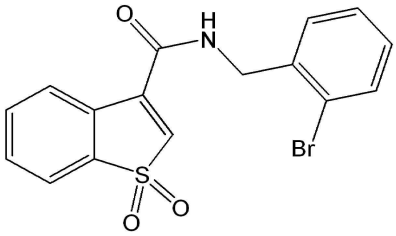
,

[0101] [화학식 1-4]

[0102] 

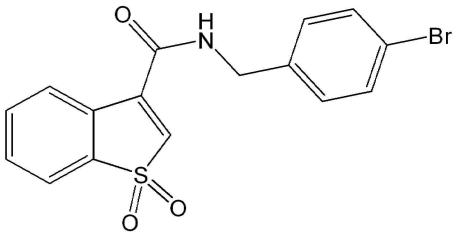
,

[0103] [화학식 1-5]

[0104] 

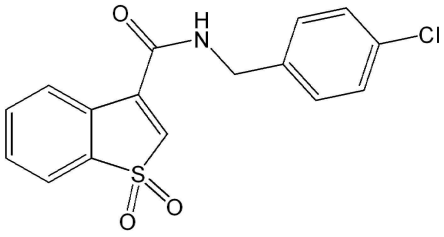
,

[0105] [화학식 1-6]

[0106] 

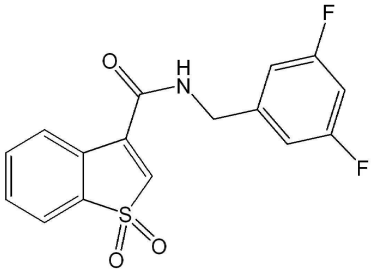
,

[0107] [화학식 1-7]

[0108] 

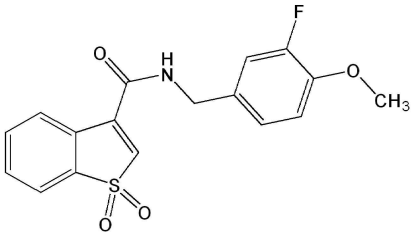
,

[0109] [화학식 1-8]

[0110] 

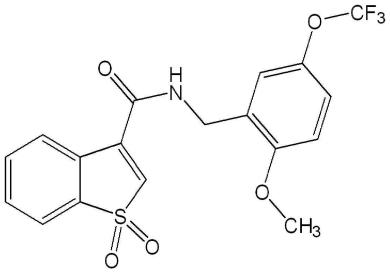
,

[0111] [화학식 1-9]

[0112] 

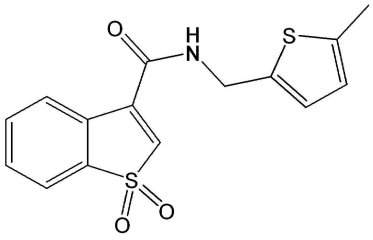
,

[0113] [화학식 1-10]

[0114] 

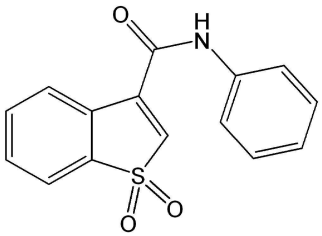
,

[0115] [화학식 1-11]

[0116] 

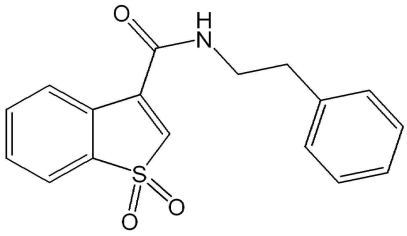
,

[0117] [화학식 1-12]

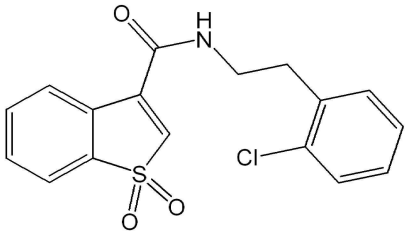
[0118] 

,

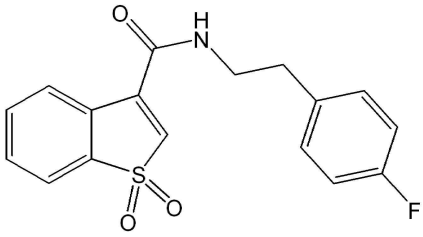
[0119] [화학식 1-13]

[0120] ,

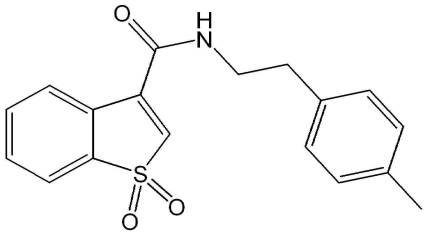
[0121] [화학식 1-14]

[0122] ,

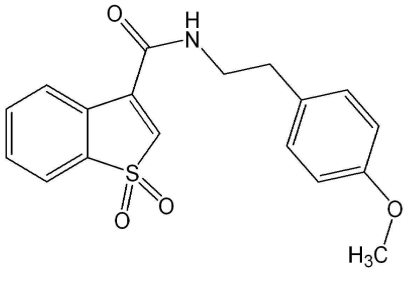
[0123] [화학식 1-15]

[0124] ,

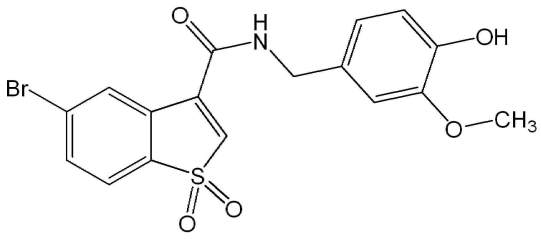
[0125] [화학식 1-16]

[0126] ,

[0127] [화학식 1-17]

[0128]  및

[0129] [화학식 1-18]

[0130] 

.

[0131] 본 발명의 상기 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 암세포의 발생, 성장에 매우 중요한 신호체계로 알려진 히포 경로에서 YAP-TEAD 결합을 효율적으로 저해함으로서 암 세포의 증식 및 성장을 현저하게 억제하는바, 상기 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 이용될 수 있다.

[0132] 본 발명에서, 용어, “약학적으로 허용 가능한 염”은 화합물이 투여되는 유기체에 심각한 자극을 유발하지 않고 화합물의 생물학적 활성과 물성들을 손상시키지 않은 화합물의 제형을 의미한다. 상기 약학적으로 허용 가능한 염은 본 발명의 화합물을 염산, 브롬산, 황산, 질산, 인산 등의 무기산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, p-톨루엔술폰산 등의 술폰산, 타타르산, 포름산, 시트르산, 아세트산, 트리클로로아세트산, 트리플루오로아세트산, 카프릭산, 이소부탄산, 말론산, 석신산, 프탈산, 클루콘산, 벤조산, 락트산, 푸마르산, 말레인산, 살리실산 등과 같은 유기 카본산과 반응시켜 얻어질 수 있다. 또한, 본 발명의 화합물을 염기와 반응시켜, 암모늄염, 나트륨 또는 칼륨염 등의 알칼리 금속염, 칼슘 또는 마그네슘 염 등의 알칼리 토금속염 등의 염, 디시클로헥실아민, N-메틸-D-글루카민, 트리스 (히드록시메틸) 메틸아민 등의 유기염기들의 염 및 아르기닌, 리신 등의 아미노산 염을 형성함으로써 얻어질 수도 있다.

[0133] 또한, 상기 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 약학적으로 허용되는 염뿐만 아니라, 통상의 방법에 의해 제조될 수 있는 모든 염, 수화물 및 용매화물을 모두 포함할 수 있다.

[0134] 또한, 본 발명은 상기 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 암의 예방, 치료, 및/또는 진단 방법을 제공할 수 있다.

[0135] 본 발명에서 용어, "예방"은 본 발명의 조성물의 투여로 암의 발생, 확산 또는 재발을 억제시키거나 지연시키는 모든 행위를 의미하고, "치료"는 본 발명의 조성물의 투여로 상기 질환의 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[0136] 본 발명에서 용어, "약학적 조성물"은 질병의 예방 또는 치료를 목적으로 제조된 것을 의미하며, 각각 통상의 방법에 따라 다양한 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 예컨대, 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽 등의 경구형 제형으로 제형화할 수 있고, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.

[0137] 본 발명에서, "유효성분으로 포함"은 원하는 생물학적 효과를 실현하는데 필요하거나 또는 충분한 양으로 해당 성분이 포함되는 것을 의미한다 실제 적용에 있어서 유효 성분으로 포함되는 양의 결정은 대상 질병을 치료하기 위한 양으로서, 다른 독성을 야기하지 않는 사항을 고려해서 결정될 수 있으며, 예를 들어 치료되는 질병 또는 병태, 투여되는 조성물의 형태, 피험체의 크기, 또는 질병 또는 병태의 심각도 등과 같은 다양한 인자에 따라서 변화될 수 있다 본 발명이 속하는 분야에서 통상의 기술을 지닌 기술자라면 과도한 실험을 동반하지 않고 개별적 조성물의 유효량을 경험적으로 결정할 수 있다.

[0138] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은, 각각의 제형에 따라 상기 기재한 유효성분 이외에 추가로 약학적으로 허용가능한 담체를 1종 이상 포함할 수 있다.

[0139] 상기 약학적으로 허용 가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 덱스트로오스 용액, 말토덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 하나 이상의 혼합물일 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 더 포함할 수도 있다. 또한, 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수도 있다. 더 나아가, 당분야의 적정한 방법으로, 또는 Remington's Pharmaceutical Science (Mack Publishing Company, Easton PA)에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수도 있다.

[0141] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 약학적으로 유효한 양으로 경구 투여하거나 비경구 투여할 수 있으며, 본 발명의 용어 “약학적으로 유효한 양”은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 건강상태, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 배합 또는 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.

[0142] 따라서, 본 발명의 약학적 조성물을 개체에 투여하여 암을 예방, 치료, 및/또는 진단할 수 있으며, 상기 암은 피부암, 유방암, 자궁암, 식도암, 위암, 뇌 종양, 결장암, 직장암, 대장암, 폐암, 난소암, 자궁경부암, 자궁내막암, 외음부암, 신장암, 혈액암, 췌장암, 전립선암, 고환암, 후두암, 두경부암, 갑상선암, 간암, 방광암, 골육종, 림프종, 혈액암, 흉선암, 요도암, 또는 기관지암 등일 수 있으며, 이에 제한되지 않으나, 바람직하게는 YAP 또는 TEAD가 과발현되는 암일 수 있고, 그 비제한적인 예로서 유방암, 바람직하게는 HER-2 양성유방암 또는 삼중음성유방암 등이 있다.

[0143] 본 발명에서 용어, “개체”는 암의 예방, 치료, 및/또는 진단이 필요한 가축, 인간 등의 포유류라면 제한되지 아니하나, 바람직하게는 인간일 수 있다.

[0144] 본 발명의 약학적 조성물은 개체에 투여를 위한 다양한 형태로 제형화 될 수 있으며, 비경구 투여용 제형의 대표적인 것은 주사용 제형으로 등장성 수용액 또는 현탁액이 바람직하다. 주사용 제형은 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁화제를 사용하여 당업계에 공지된 기술에 따라 제조할 수 있다. 예를 들면, 각 성분을 식염수 또는 완충액에 용해시켜 주사용으로 제형화 될 수 있다. 또한, 경구 투여용 제형으로는 예를들면 섭취형 정제, 협측정제, 트로키, 캡슐, 엘릭시르, 서스펜션, 시럽 및 웨이퍼 등이 있는데, 이들 제형은 유효성분 이외에 희석제(예: 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로즈 및/또는 글리신)와 활탁제 (예: 실리카, 탈크, 스테아르산 및 그의 마그네슘 또는 칼슘염 및/또는 폴리에틸렌 글리콜)를 포함할 수 있다. 상기 정제는 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분페이스트, 젤라틴, 트라가칸스, 메틸셀룰로즈, 나트륨 카복시메틸셀룰로즈 및/또는 폴리비닐피롤리딘과 같은 결합제를 포함할 수 있으며, 경우에 따라 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨 염과 같은 붕해제, 흡수제, 착색제, 향미제 및/또는 감미제를 추가로 포함할 수 있다. 상기 제형은 통상적인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0145] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 방부제, 수화제, 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염 또는 완충제와 같은 보조제와 기타 치료적으로 유용한 물질을 추가로 포함할 수 있으며, 통상적인 방법에 따라 제제화 될 수 있다.

[0146] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 경구, 경피, 피하, 정맥 또는 근육을 포함한 여러 경로를 통해 투여될 수 있으며, 활성 성분의 투여량은 투여 경로, 환자의 연령, 성별, 체중 및 환자의 중증도 등의 여러 인자에 따라 적절히 선택될 수 있다. 또한, 본 발명의 조성물은 목적하는 효과를 상승시킬 수 있는 공지의 화합물과도 병행하여 투여할 수 있다.

[0147] 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여 경로로는 경구적으로 또는 정맥 내, 피하, 비강 내 또는 복강 내 등과 같은 비경구적으로 사람과 동물에게 투여될 수 있다. 경구 투여는 설하 적용도 포함한다. 비경구적 투여는 피하주사, 근육 내 주사 및 정맥 주사와 같은 주사법 및 점적법을 포함한다.

[0148] 본 발명의 약학적 조성물에 있어서, 본 발명에 따른 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 총 유효량은 단일 투여량 (single dose)으로 환자에게 투여될 수 있으며, 다중 투여량 (multiple dose)이 장기간 투여되는 분할 치료 방법 (fractionated treatment protocol)에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 질환의 정도에 따라 유효성분의 함량을 달리할 수 있으나, 통상적으로 성인을 기준으로 1회 투여시 100㎍ 내지 3,000㎎의 유효용량으로 하루에 수차례 반복 투여될 수 있다. 그러나 상기 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 농도는 약의 투여 경로 및 치료 횟수뿐 만 아니라 환자의 연령, 체중, 건강 상태, 성별, 질환의 중증도, 식이 및 배설율 등 다양한 요인들을 고려하여 환자에 대한 유효 투여량이 결정될 수 있다.

[0149] 또한, 본 발명에 따른 약학적 조성물은 본 발명의 효과를 보이는 한 그 제형, 투여 경로 및 투여 방법에 특별히 제한되지는 않으며, 본 발명의 약학적 조성물은 유효성분으로서 상기 디옥소-벤조[b]티오펜 골격의 아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 이외에 공지된 항암제를 추가로 포함할 수 있고, 이들 질환의 치료를 위해 공지된 다른 치료와 병용될 수 있다.

[0151] 실시예에서 사용한 용어는 단지 설명을 목적으로 사용된 것으로, 한정하려는 의도로 해석되어서는 안 된다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 명세서에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서 상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0152] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 실시예가 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥 상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.

[0153] 본 발명은 다양한 변환을 가할 수 있고 여러 가지 실시예를 가질 수 있는 바, 이하 특정 실시예들을 도면에 예시하고 상세한 설명에 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 이는 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변환, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본 발명을 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.

[0155] **실시예 1. 실험방법**

[0156] 실시예 1-1. 실험 일반

[0157] 시약과 용매는 상업용 공급업체(Sigma-Aldrich: 미주리주 세인트루이스, Thermofisher: 매사추세츠주 월섬, TCI: 일본 도쿄)로부터 구입하여 달리 명시하지 않는 한 제공된 대로 사용했다. 반응은 실리카겔 60 F_{254}(Merck, Darmstadt, Germany)로 사전 코팅된 유리 시트를 사용하여 분석용 박층 크로마토그래피(TLC)를 통해 모니터링하고 자외선(UV) 광(254 nm) 하에서 시각화했다.

[0158] $CDCl_3$, 중수소화 디메틸 설폭사이드(DMSO-d_6), D_2O 및 CD_3OD에 용해된 화합물의 양성자 핵자기공명(^{1}H-NMR) 스펙트럼을 Bruker Avance 400MHz(Bruker Corporation, Billerica, MA, USA)에서 기록했다. 화학적 이동은 잔류 용매 피크($CHCl_3$: ^{1}H, 7.26ppm; DMSO: ^{1}H, 2.50ppm)를 기준으로 사용하여 백만분율(ppm) 단위의 δ 값으로 표현되었다. 결합 상수(coupling constant)는 헤르츠(Hz) 단위로 제공된다. 피크 패턴은 다음 약어로 표시된다: bs, 넓은 단일선; d, 이중선; dd, 이중선의 이중선; m, 다중선; q, 4중; s, 단일선; t, 삼중선; 및 td, 이중선의 삼중선. 고해상도 스펙트럼은 Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 1.7μ-Q-TOF SYNAPT G2-Si(Waters Corporation: Milford, MA) 고해상도 질량 분석기(HRMS)를 사용하여 얻었다. 컬럼 크로마토그래피는 실리카겔 60(230-400 메쉬)을 사용하여 수행되었다. 모든 크로마토그래피 방법에 대한 용리제 용매(Eluent solvents)는 주어진 부피 대 부피 비율을 갖는 적절한 혼합 용매로 표시되었다.

[0160] 실시예 1-2. 세포 배양

[0161] HEK293T 및 MDA-MB-231 세포(한국세포주은행)를 10% 소태아혈청 및 항생제가 첨가된 둘베코 변형 이글 배지(Dulbecco's modified Eagle's medium, DMEM)에서 배양하였다. MCF-10A 세포를 5% 말 혈청, 10 μg/mL 인슐린, 500 ng/mL 하이드로코르티손, 20 ng/mL 표피 성장 인자, 100 ng/mL 콜레라 독소 및 항생제가 보충된 DMEM/F-12 배지에서 배양했다. 혈청 기아(serum starvation)를 위해 말 혈청이 없는 MCF-10A 성장 배지를 사용했다. HEK293T 세포는 PEI Max(MW 40,000; Polysciences)를 사용하여 형질감염되었다.

[0163] 실시예 1-3. 루시퍼라제 어세이

[0164] TEAD 결합 부위의 8개의 직렬 카피를 갖는 pGL3 파이어플라이 루시퍼라제 벡터(Promega)와 Renilla 루시퍼라제 내부 제어를 위한 pRL-CMV(Promega)를 YAP 및 TEAD2 발현 벡터와 함께 공동 형질감염시켰다. 모든 플라스미드는

임대식 연구원(한국과학기술원)으로부터 기증받았다. 형질감염 16시간 후에 화합물을 첨가하였다. 제조사의 지시에 따라 Dual-Luciferase Reporter Assay System (Promega)을 사용하여 파이어플라이 루시퍼라제 및 레닐라 루시퍼라제 활성을 측정하기 위해 세포를 용해시켰다.

[0166] 실시예 1-4. 역전사 및 정량적 PCR

[0167] TRIzol(Invitrogen)을 사용하여 RNA 추출을 위해 정상 성장 배지의 MDA-MB-231 세포와 혈청으로 1시간 동안 자극된 MCF-10A 세포를 수집했다. 제조업체의 지침에 따라 무작위 6량체를 사용하는 M-MLV 역전사 효소(Enzynomics)를 사용하여 역전사를 수행했다. cDNA는 TOPreal SYBR Green qPCR premix(Enzynomics)를 사용하여 정량적 PCR을 수행하고 CFX Connect 실시간 PCR(Bio-Rad)로 분석했다. qPCR 분석에 사용된 프라이머 서열은 다음과 같다.

[0168] CTGF 정방향 : CAGCATGGACGTTCGTCTG;

[0169] CTGF 역방향 : AACCACGGTTTGGTCCTTGG;

[0170] CYR61 정방향 : GGTCAAGTTACCGGGCAGT;

[0171] CYR61 역방향 : GGAGGCATCGAATCCCAGC;

[0172] GAPDH 정방향 : CTTCGCTCTCTGCTCCTCCT;

[0173] GAPDH 역방향 : GTTAAAAGCAGCCCTGGTGA

[0175] 실시예 1-5. 공면역침전(Coimmunoprecipitation)

[0176] HEK293T 세포를 플래그-TEAD2를 발현하는 플라스미드로 형질감염시켰다. 프로테아제 및 포스파타제 억제제가 보충된 NETN 완충액(10mM Tris-HCl pH 8.0, 0.5% NP-40, 100mM NaCl 및 1mM EDTA)을 사용하여 용해를 위해 형질감염 24시간 후 세포를 수확했다. 세포 용해물을 500㎕ 분취량으로 나누었다. 1㎍ Flag 항체(Wako)와 후보 화합물을 첨가하고 4° C에서 밤새 배양했다. 그런 다음 단백질 A/G 아가로스 비드(Gendepot)를 세포 용해물과 함께 2시간 동안 배양했다. 비드 결합 면역침전제를 NETN 완충액으로 3회 세척하고 웨스턴 블롯팅을 사용하여 검출했다.

[0178] 실시예 1-6. 체외 풀다운 분석

[0179] His6 태그가 붙은 TEAD2217-447 단편은 Escherichia Coli BL21(DE3)에서 발현되었고 정제된 단백질에 대해 시험관 내 팔미토일화가 수행되지 않았다는 점을 제외하고는 Li(W. Zhou, Y. Li, J. Song, C. Li, Fluorescence polaritzation assay for the identification and evaludation of inhibitors at YAP-TEAD protein-protein interface 3, Anal. Biochem. 586 (2019) 113413.)에 의해 기술된 대로 정제되었다. 시험관 내 풀다운 분석을 위해 정제된 His-TEAD2 4㎍을 NETN 완충액에서 Ni-NTA 비드(Thermo Fisher Scientific)와 함께 2시간 동안 사전 배양했다. 외인성 FLAG-태그된 YAP를 함유하는 HEK293T 용해물을 TEAD-YAP 결합을 위해 2시간 동안 용해물에 첨가했다. 비드에 결합된 TEAD-YAP 복합체를 100mM 이미다졸이 첨가된 NETN 완충액으로 5회 세척하고 웨스턴 블롯으로 검출하였다.

[0181] 실시예 1-7. 소프트 한천 콜로니 형성 분석

[0182] MCF-10A 세포를 0.33% 저융점 한천을 함유한 완전 성장 배지에 재현탁한 다음, 0.5% 저융점 한천의 완전 성장 배지로 구성된 고형화된 바닥 한천 층 위에 겹쳐 놓았다. 세포를 3주 동안 배양한 후 크리스탈 바이올렛 용액(대정화학)으로 염색하였다.

[0184] 실시예 1-8. 세포 생존력 분석

[0185] MCF-10A 세포를 96웰 플레이트에 2000개 세포/웰의 밀도로 접종한 후 인산염 완충 식염수로 1회 세척했다. 16시

간 후, 말 혈청 및 EGF가 결여되어 있으며 후보 화합물을 함유하는 성장 배지를 첨가하였다. 제조업체의 지침에 따라 Cell Titer Glo Assay(Promega)를 사용하여 상대 세포 생존력을 분석했다.

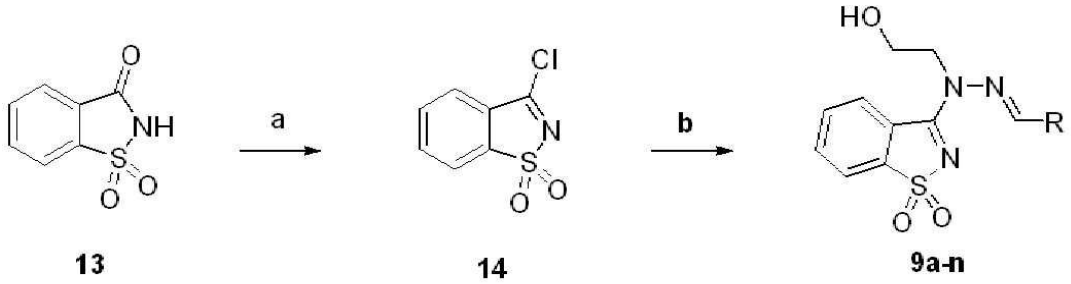
[0187] 실시예 1-9. 분자 도킹 분석

[0188] Schr$\ddot{O}$dinger aestro 버전 13.1(Release 2021-2, Schr$\ddot{O}$dinger, LC, ew ork, Y, SA)을 사용하여 9a 및 11q의 분자 도킹을 수행했다. 9a와 11q의 구조는 Chemdraw를 사용하여 그려졌고, Schr$\ddot{O}$dinger igPrep 프로그램을 사용하여 3D 구조가 생성되었다. LigPrep은 9a 및 11q에 대해 Epik을 사용하여 pH 7.0에서 가능한 모든 호변이성체 및 상태를 생성했다. TEAD(PDB 코드: 3KYS 및 6S64)의 결정 구조는 Protein Data Bank(PDB)에서 얻었다. 단백질 준비 마법사(Protein Preparation Wizard)를 사용하여 결합 순서를 지정하고, pH 7.0에서 수소를 추가하고, 물 분자를 제거하여 단백질을 준비했다. 누락된 사이드 체인과 루프를 완성하기 위해 Prime 소프트웨어가 사용되었다. 마지막으로, 0.30 Å MSD의 기본 제약 조건과 OPLS 2005 역장을 사용하여 억제된 최소화(restrained minimization)를 수행하여 단백질 준비를 완료했다. 분자 도킹 시뮬레이션은 표준 프로토콜(표준 정밀도) 모드에서 Glide 유도 맞춤 도킹 모듈을 사용하여 수행되었다. 9a와 11q의 결합 형태를 분석하여 TEAD의 활성 부위 잔기와 중요한 상호 작용을 확인했다.

[0190] **실시예 2. 분자 설계**

[0191] 새로운 저해제 설계를 위해 Inventiva에서 개발한 화합물 8과 9a의 구조를 파트 A와 B로 나누었다. 먼저 히드라존의 파트 A에 다양한 방향족 그룹을 도입하여 구조-활성 관계(SAR)를 연구했다. 기반 유도체를 사용하여 YAP-TEAD 및 TAZ-TEAD 복합체에 대한 합성 화합물(9b-n)의 억제 활성을 평가했다. 다음으로 옥심 에스터(10a) 및 아미드(11a)를 포함하는, 파트 B의 히드라존과 비슷한 크기와 특성을 가지는 디옥소-벤조[b]티오펜 유도체를 설계했다. 옥심 에스터 유도체(10b-u)와 아미드 유도체(11b-r)에 대해 파트 A의 최적화가 계속되었다. 서로 다른 길이의 링커를 사용하여 유도체를 합성하여 디옥소-벤조[b]티오펜과 파트 A의 아릴 그룹 사이의 적절한 길이를 최적화했다. 상기 디옥소-벤조[b]티오펜 유도체의 설계를 도 1에 나타내었다.

[0193] **제조예 1. 중간체 9a 내지 9n의 합성**



9a (R = 3-OCH_3-4-OHPh), 67%
9b (R = 3-OCF_3-4-OHPh), 50%
9c (R = 3-CF_3-4-F-Ph), 68%
9d (R = 3-OCH_3Ph), 67%
9e (R = 2-OCH_3-5-OCF_3Ph), 85%
9f (R = 3,5-OCH_3Ph), 57%
9g (R = 4-CH_3Ph), 63%
9h (R = 3,4,5-OCH_3Ph), 43%
9i (R = 4-CF_3Ph), 76%
9j (R = 4-Cl-Ph), 59%
9k (R = 4-OBnPh), 84%
9l (R = 4-$NHCOCH_3$Ph), 84%
9m (R = 4-$OCH_2(CH_2)_2CH_3$Ph), 49%
9n (R = 2-(5-CH_3)-thiophenyl), 61%

[0194]

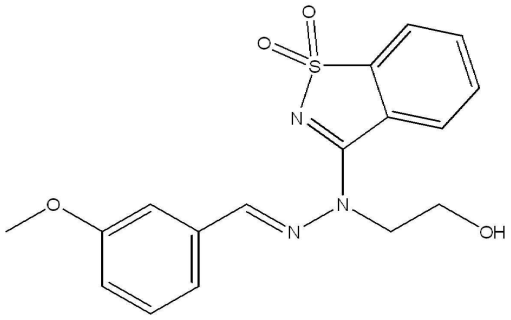
[0195] 화합물 9a-n은 상기 도식화된 대로 제조하였다. 사카린(13)은 1,4-디옥산에서 염화티오닐과 반응하여 주요 중간체인 14를 생성했다. 구체적으로는, 염화티오닐(599 μL, 8.3mmol, 1.5당량)을 질소 대기하에서 1,4-디옥산(78mL, 0.1MmL) 내 사카린(1g, 5.5mmol, 1.0당량) 용액에 첨가했다. 다음으로 DMF(촉매) 두 방울을 첨가했다. 혼합물을 환류 하에 24시간 동안 110℃에서 가열하였다. 반응 종결 후, 반응 혼합물을 감압 농축하고 톨루엔으로 3회 재결정하여 목적 생성물 14(789mg, 70%)를 얻었다.

[0196] 상업적으로 이용 가능한 방향족 알데히드 15a-n은 에탄올에서 2-히드라지노에탄올과 반응하여 16a-n을 생성했다. 구체적으로는, 히드라진 및 아세트산나트륨을 에탄올 중의 알데히드 15a-n 용액에 첨가하였다. 용액을 80℃에서 2시간 동안 가열하였다. 반응이 완료된 후, 혼합물을 진공하에 농축하였다. 고체를 디에틸 에테르로부터 재결정화하여 원하는 화합물 16a-n을 얻었다.

[0197] 화합물 9a-n은 화합물 14를 히드라존 16a-n으로 아민화하여 얻어졌다. 구체적으로는, 화합물 14(1.0 당량) 및 DIPEA(2.0 당량)를 THF(0.1 M) 중 16a-n(1.5 당량)의 용액에 실온에서 첨가하였다. 용액을 가열하고 75℃에서 2시간 동안 교반하였다. 반응이 완료된 후, 반응 혼합물을 헥산으로 재결정하여 원하는 생성물 9a-n(흰색 또는 노란색 고체, 28% 내지 85% 수율)을 얻었다.

[0198] 중간체 9a 내지 9n의 합성결과는 다음과 같다.

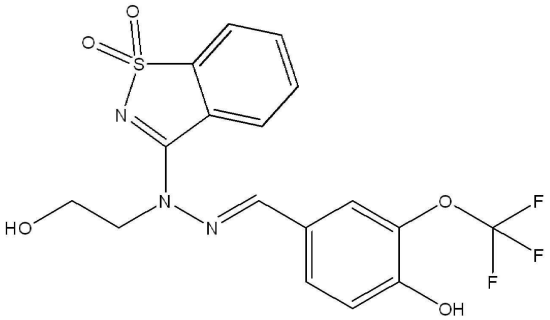
[0200] 제조예 1-1. (*E*)-3-(1-(2-Hydroxyethyl)-2-(3-methoxybenzylidene)hydrazineyl)benzo[*d*]isothiazole 1,1-dioxide (**9a**)



[0201]

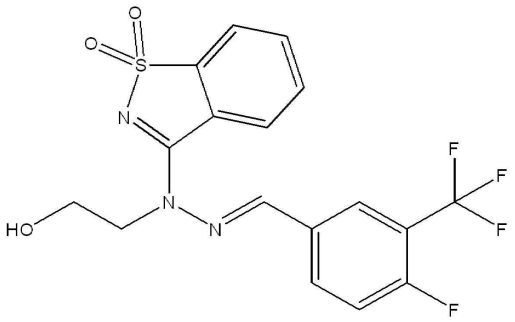
[0202] 수율: 67%; ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8.95-8.93 (m, 1H), 8.54 (s, 1H), 7.96-7.93 (m, 1H), 7.83-7.81 (m, 2H), 7.46 (d, *J* = 6.0, 1H), 7.31 (dd, *J* = 8.2, 1.8 Hz, 1H), 6.93 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 4.51 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 3.99 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 3.97 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 159.28, 149.70, 148.85, 148.15, 143.45, 133.55, 133.48, 130.50, 127.46, 124.96, 122.57, 121.76, 115.89, 110.38, 56.73, 55.43, 48.78; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{34}H_{34}N_6O_{10}S_2Na$ $[2M+Na]^+$: 773.1673; found: 773.1670.

[0204] 제조예 1-2. (*E*)-3-(2-(4-Hydroxy-3-(trifluoromethoxy)benzylidene)-1-(2-hydroxyethyl)hydrazineyl)benzo[*d*]isothiazole 1,1-dioxide (**9b**)

[0205] 

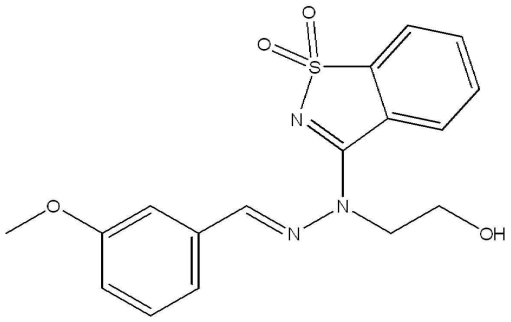
[0206] 수율: 50%; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 8.81-8.69 (m, 1H), 8.58 (s, 1H), 8.09-8.05 (m, 1H), 7.89-7.83 (m, 2H), 7.78-7.67 (m, 2H), 7.18 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 5.13 (s, 1H), 4.42 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.78 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ 161.73, 153.87, 148.47, 145.08, 138.54, 134.47, 134.15, 131.83, 129.53, 129.25, 127.10, 123.09, 122.24 (d, *J* = 256.38 Hz), 119.24, 58.94, 50.05; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{17}H_{14}N_3F_3O_5SNa$ $[M+Na]^+$: 452.0504; found: 452.0500.

[0208] 제조예 1-3. (*E*)-3-(2-(4-Fluoro-3-(trifluoromethyl)benzylidene)-1-(2-hydroxyethyl)hydrazineyl)benzo[*d*]isothiazole 1,1-dioxide (**9c**)

[0209] 

[0210] 수율: 68%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.68 (dd, *J* = 7.1, 1.6 Hz, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.03 (dd, *J* = 6.7, 2.2 Hz, 1H), 7.99-7.90 (m, 2H), 7.75-7.73 (m, 2H), 7.37 (t, *J* = 9.1 Hz, 1H), 4.54 (t, *J* = 5.3 Hz, 2H), 4.17 (t, *J* = 5.1 Hz, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 159.99, 145.79, 143.31, 133.77, 133.59, 133.53 (d, *J* = 12.25 Hz), 130.94 (d, *J* = 3.5 Hz), 130.32, 127.59, 127.14, 122.35 (d, *J* = 272.4 Hz), 121.90, 118.64, 118.43, 117.36 (q, *J* = 15.2 Hz), 56.55, 48.56; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{17}H_{13}F_4N_3O_3SNa$ $[M+Na]^+$: 438.0512; found: 438.0510.

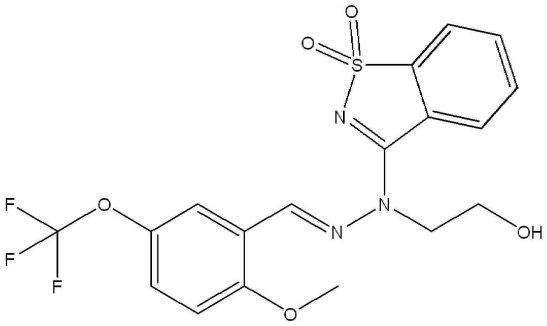
[0212] 제조예 1-4. (*E*)-3-(1-(2-Hydroxyethyl)-2-(3-methoxybenzylidene)hydrazineyl)benzo[*d*]isothiazole 1,1-dioxide (**9d**)



[0213]

[0214] 수율: 67%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.81 (dd, *J* = 6.8, 2.3 Hz, 1H), 8.43 (s, 1H), 7.95 (dd, *J* = 6.5, 2.3 Hz, 1H), 7.72-7.70 (m, 2H), 7.43 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.37-7.27 (m, 2H), 7.06 (dd, *J* = 8.4, 2.5 Hz, 1H), 4.54 (t, *J* = 5.5 Hz, 2H), 4.15 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 3.89 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 161.14, 160.32, 147.51, 144.09, 134.99, 133.20, 133.00, 130.63, 130.44, 128.21, 122.15, 120.95, 117.17, 112.77, 59.59, 55.53, 49.29; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{17}H_{17}N_3O_4SNa$ $[M+Na]^+$: 382.0838; found: 382.0835.

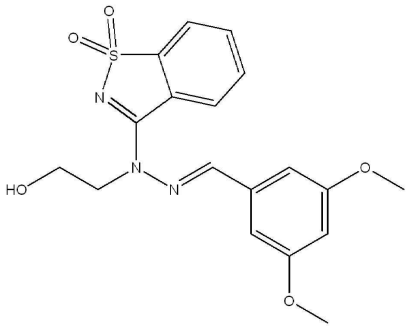
[0216] 제조예 1-5. (*E*)-3-(1-(2-Hydroxyethyl)-2-(2-methoxy-5-(trifluoromethoxy)benzylidene)hydrazineyl)benzo[*d*]isothiazole 1,1-dioxide (**9e**)



[0217]

[0218] 수율: 85%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.73 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 8.72 (s, 1H),) 7.95 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.78-7.65 (m, 3H), 7.31 (dd, *J* = 9.0, 2.9 Hz, 1H), 7.00 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 4.56 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 4.14 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.95 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 160.33, 157.34, 143.80, 143.32, 141.35, 134.27, 133.67, 130.67, 127.73, 125.44, 123.46, 122.34, 120.71 (d, *J* = 255.8 Hz), 120.06, 114.39, 57.32, 57.00, 49.47; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{18}H_{16}F_3N_3O_5SNa$ $[M+Na]^+$: 466.0661; found: 466.0659.

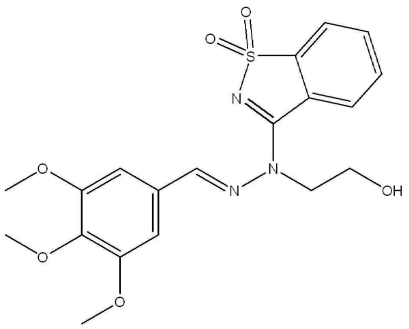
[0220] 제조예 1-6. (*E*)-3-(2-(3,5-Dimethoxybenzylidene)-1-(2-hydroxyethyl)hydrazineyl)benzo[*d*]isothiazole 1,1-dioxide (**9f**)



[0221]

[0222] 수율: 57%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.81 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 8.38 (s, 1H), 7.94 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.78-7.62 (m, 2H), 6.90 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 6.59 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H), 4.53 (t, *J* = 5.5 Hz, 2H), 4.15 (t, *J* = 5.5 Hz, 2H), 3.87 (s, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 161.46, 147.43, 144.08, 135.51, 133.21, 132.92, 130.61, 128.20, 122.15, 106.05, 104.30, 103.35, 59.53, 55.66, 49.31; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{17}H_{17}N_3O_4SNa$ $[M+Na]^+$: 412.0943; found: 412.0942.

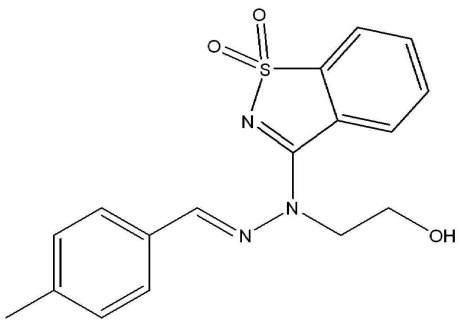
[0224] 제조예 1-7. (*E*)-3-(1-(2-Hydroxyethyl)-2-(3,4,5-trimethoxybenzylidene)hydrazineyl)benzo[*d*]isothiazole 1,1-dioxide (**9g**)



[0225]

[0226] 수율: 63%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.80 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 8.39 (s, 1H), 7.95 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.73 (td, *J* = 7.4, 1.0 Hz, 1H), 7.65 (td, *J* = 7.7, 1.2 Hz, 1H), 7.01 (s, 2H), 4.52 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 4.15 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 3.95 (s, 6H), 3.93 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 160.95, 153.94, 147.42, 144.19, 140.89, 133.24, 132.67, 130.49, 129.06, 128.29, 122.22, 105.22, 61.22, 59.54, 56.35, 49.51; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{19}H_{21}N_3O_6SNa$ $[M+Na]^+$: 442.1049; found: 442.1045.

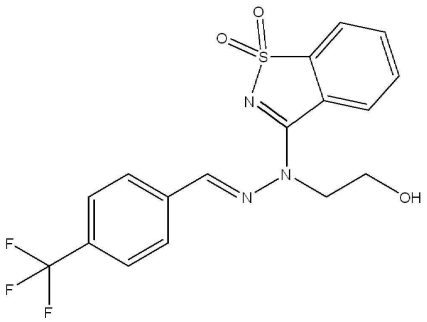
[0228] 제조예 1-8. (*E*)-3-(1-(2-Hydroxyethyl)-2-(4-methylbenzylidene)hydrazineyl)benzo[*d*]isothiazole 1,1-dioxide (**9h**)



[0229]

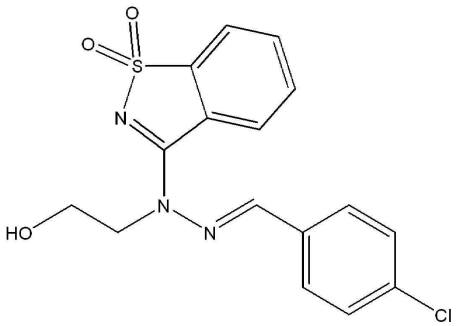
[0230] 수율: 43%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.83-8.76 (m, 1H), 8.44 (s, 1H), 8.01-7.86 (m, 1H), 7.77-7.69 (m, 2H), 7.67-7.61 (m, 2H), 7.32 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 4.53 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 4.14 (t, *J* = 5.5 Hz, 2H), 2.44 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 159.55, 148.65, 143.37, 140.91, 133.62, 133.59, 130.93, 130.47, 129.85, 127.98, 127.35, 121.78, 56.77, 48.69, 21.12; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{17}H_{17}N_3O_3SNa$ $[M+Na]^+$: 366.0889; found: 366.0886.

[0232] 제조예 1-9. (*E*)-3-(1-(2-Hydroxyethyl)-2-(4-(trifluoromethyl) benzylidene)hydrazineyl)benzo[*d*]isothiazole 1,1-dioxide (**9i**)

[0233] 

[0234] 수율: 76%; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 8.78 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 8.10-8.06 (m, 3H), 7.93 (t, *J* = 7.8 Hz, 4H), 5.15 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.50 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 3.83-3.81 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 160.05, 146.74, 143.27, 137.58, 133.77, 133.74, 130.45, 128.59, 127.16, 126.41 (t, *J* = 375.6 Hz), 126.13, 126.10, 121.88, 56.75, 48.66; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{18}H_{16}F_3N_3O_3SNa$ $[M+Na]^+$: 420.0606; found: 420.0603.

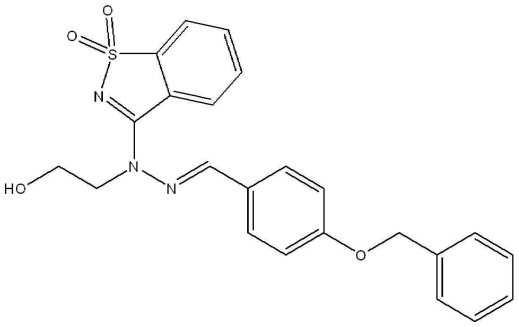
[0236] 제조예 1-10. (*E*)-3-(2-(4-Chlorobenzylidene)-1-(2-hydroxyethyl)hydrazineyl)benzo[*d*]isothiazole 1,1-dioxide (**9j**)

[0237] 

[0238] 수율: 59%; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 8.73 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 8.45 (s, 1H), 7.95 (d, *J* = 6.1 Hz, 1H), 7.76-7.65 (m, 4H), 7.63 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 5.13 (t, *J* = 5.1 Hz, 1H),) 4.53 (t, *J* = 5.3 Hz, 2H), 4.16 (t, *J* = 5.3 Hz, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 159.79, 147.30, 143.31, 135.36, 133.72, 133.67, 132.57, 130.43, 129.63, 129.37, 127.21, 121.84, 56.71, 48.65; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{16}H_{14}ClN_3O_3SNa$ $[M+Na]^+$: 386.0342; found: 386.0340.

[0240] 제조예 1-11. (*E*)-3-(2-(4-(Benzyloxy)benzylidene)-1-(2-hydroxyethyl)hydrazineyl)benzo[*d*]isothiazole

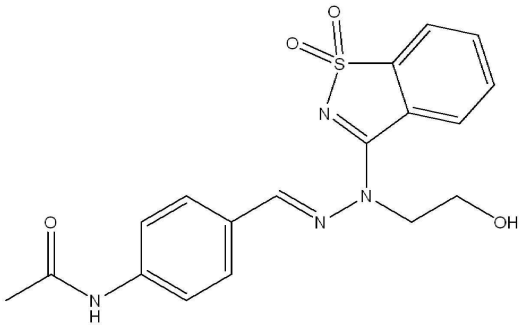
1,1-dioxide (**9k**)



[0241]

[0242] 수율: 84%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.81-8.75 (m, 1H), 8.41 (s, 1H), 7.94 (dd, *J* = 5.9, 2.8 Hz, 1H), 7.77-7.65 (m, 4H), 7.53-7.35 (m, 5H), 7.10 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 5.16 (s, 2H), 4.52 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 4.14 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 161.35, 160.86, 147.79, 136.41, 133.09, 133.00, 130.65, 129.84, 128.89, 128.43, 128.31, 127.61, 126.47, 122.09, 115.77, 77.48, 70.36, 59.62, 49.53; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{23}H_{21}N_3O_4SNa$ $[M+Na]^+$: 458.1151; found: 458.1146.

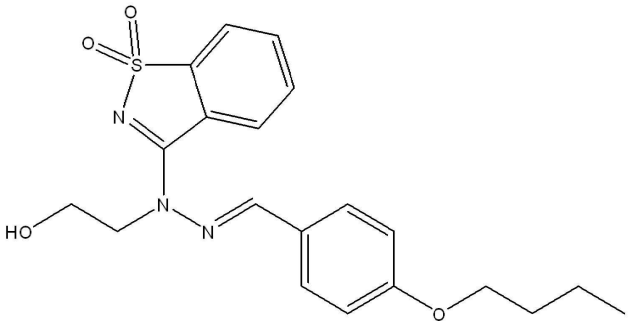
[0244] 제조예 1-12. (*E*)-*N*-(4-((2-(1,1-Dioxidobenzo[*d*]isothiazol-3-yl)-2-(2-hydroxyethyl)hydrazineylidene)methyl)phenyl)acetamide (**9l**)



[0245]

[0246] 수율: 84%; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 10.24 (s, 1H), 8.84 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 8.60 (s, 1H), 8.07 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.96 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.88 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.85-7.70 (m, 4H), 5.14 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.45 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 3.80 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 2.10 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 168.76, 159.42, 148.41, 143.35, 141.73, 133.74, 130.59, 128.88, 128.05, 127.34, 121.73, 119.13, 56.77, 54.90, 48.72, 24.17; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{18}H_{18}N_4O_4SNa$ $[M+Na]^+$: 409.0947; found: 409.0943.

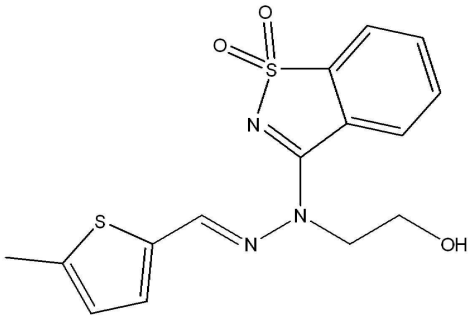
[0248] 제조예 1-13. (*E*)-3-(2-(4-Butoxybenzylidene)-1-(2-hydroxyethyl)hydrazineyl)benzo[*d*]isothiazole 1,1-dioxide (**9m**)



[0249]

[0250] 수율: 49%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.89-8.74 (m, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.00-7.86 (m, 1H), 7.75-7.58 (m, 4H), 7.01 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 4.51 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 4.13 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 4.05 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 1.91-1.69 (m, 2H), 1.64-1.43 (m, 2H), 1.00 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 161.85, 160.80, 148.06, 144.05, 133.07, 132.98, 130.70, 129.82, 128.34, 125.97, 122.04, 115.35, 68.15, 59.53, 49.57, 31.31, 19.36, 13.97; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{20}H_{23}N_3O_4SNa$ $[M+Na]^+$: 424.1307; found: 424.1305.

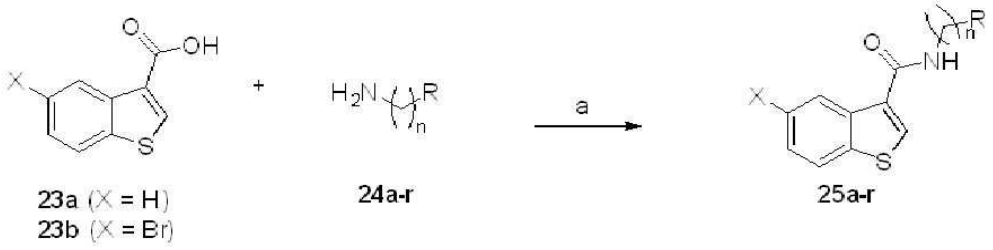
[0252] 제조예 1-14. (*E*)-3-(1-(2-Hydroxyethyl)-2-((5-methylthiophen-2-yl)methylene)hydrazineyl)benzo[*d*]isothiazole 1,1-dioxide (**9n**)

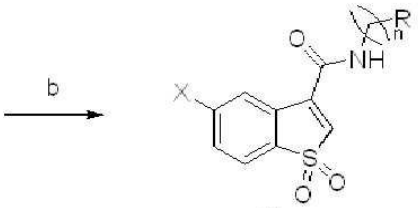


[0253]

[0254] 수율: 61%; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 8.86-8.79 (m, 1H), 8.77 (s, 1H), 8.11-8.04 (m, 1H), 8.00-7.81 (m, 2H), 7.45 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H), 6.95 (dd, *J* = 3.7, 1.2 Hz, 1H), 5.20-5.10 (m, 1H), 4.39 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 3.78-3.76 (m, 2H), 2.55 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 159.00, 144.43, 143.43, 143.10, 136.05, 133.67, 133.49, 133.42, 130.38, 127.31, 127.08, 121.81, 56.77, 48.95, 15.53; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{15}H_{15}N_3O_3S_2Na$ $[M+Na]^+$: 372.0453; found: 372.0448.

[0256] **제조예 2. 화합물 11a 내지 11r의 합성**





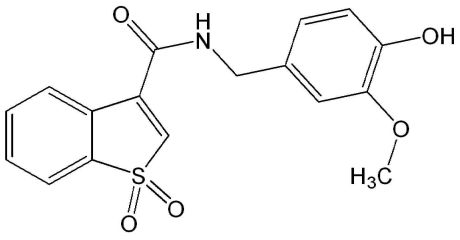
11a (n = 1, X = H, R = 3-OCH_3-4-OH-Ph), 90%
11b (n = 1, X = H, R = Ph), 84%
11c (n = 1, X = H, R = 4-CH_3Ph), 83%
11d (n = 1, X = H, R = 3-OCH_3Ph), 57%
11e (n = 1, X = H, R = 2-Br-Ph), 71%
11f (n = 1, X = H, R = 4-Br-Ph), 56%
11g (n = 1, X = H, R = 4-Cl-Ph), 53%
11h (n = 1, X = H, R = 3,5-F-Ph), 41%
11i (n = 1, X = H, R = 3-F-4-OCH_3Ph), 53%
11j (n = 1, X = H, R = 2-OCH_3-5-OCF_3Ph), 59%
11k (n = 1, X = H, R = 2-(5-CH_3)-dioxothiophenyl), 40%
11l (n = 0, X = H, R = Ph), 52%
11m (n = 2, X = H, R = Ph), 84%
11n (n = 2, X = H, R = 2-Cl-Ph), 78%
11o (n = 2, X = H, R = 4-F-Ph), 98%
11p (n = 2, X = H, R = 4-CH_3Ph), 51%
11q (n = 2, X = H, R = 4-OCH_3-Ph), 57%
11r (n = 1, X = Br, R = 3-OCH_3-4OH-Ph), 11%

[0257]

[0258] 아미드 유도체 11a-r은 상기 도식화된 대로 합성하였다. 화합물 25a-r은 HATU 존재 하에서 벤조[b]티오펜-3-카르복실산 23a-b와 방향족 아민 24a-r의 아미드 결합에 의해 얻어졌다. 구체적으로는, HATU를 실온에서 DMF(0.2 M) 중 카르복실산(1.0 당량), 아민(1.0 당량) 및 DIPEA(3.0 당량)의 용액에 첨가했다. 반응 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 반응이 완료된 후 증류수를 넣고 퀜칭(quenching)하고 DCM으로 추출하였다. 생성된 유기층을 무수 $MgSO_4$로 감압 건조하였다. 목적 생성물인 25a-r은 추가적인 정제 과정 없이 다음 반응에 사용하였다.

[0259] 이후 m-CPBA를 사용하여 화합물 25a-r을 산화시켜 화합물 11a-r을 얻었다. 구체적으로는, 25a-r(1.0당량)을 DCM(0.1M)에 용해시켜 얻은 용액을 0℃에서 5분 동안 교반하였다. 이 용액에 m-CPBA(2.5당량)를 첨가하고 온도를 실온으로 높이면서 24시간 동안 교반하였다. 반응이 완료된 후 증류수를 넣고 퀜칭하고 DCM으로 추출하였다. 얻은 유기층을 무수 $MgSO_4$로 건조시킨 후 감압 농축한 후 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 원하는 화합물 11a-r(11~90% 수율)을 얻었다. 25k의 2-(5-메틸)-티오페닐을 m-CPBA에 의해 산화시켜 2-(5-메틸)-디옥소티오페닐 화합물(11k)을 얻었다.

[0261] 제조예 2-1. *N*-(4-Hydroxy-3-methoxybenzyl)benzo[*b*]thiophene-3-carboxamide 1,1-dioxide (**11a**)

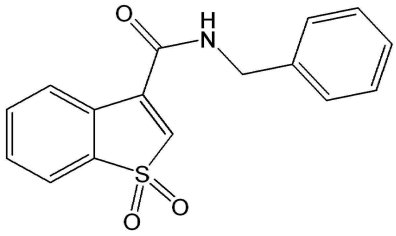


[0262]

[0263] 수율: 90%; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 9.34 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 7.91 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.72 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.67 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 6.91 (s, 1H), 6.74 (s, 2H), 4.35 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H), 3.76 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 161.24, 154.51, 147.50, 145.68,

137.44, 136.71, 134.16, 131.21, 129.36, 129.07, 125.28, 121.43, 120.01, 115.26, 111.92, 55.58, 42.37; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{17}H_{15}NO_5SNa$ $[M+Na]^+$: 368.0569; found: 368.0566.

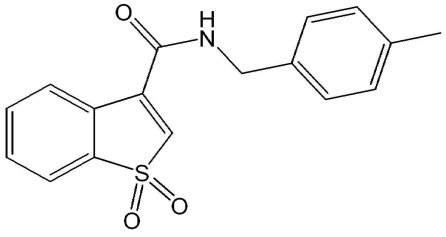
[0265] 제조예 2-2. *N*-Benzylbenzo[*b*]thiophene-3-carboxamide 1,1-dioxide (**11b**)



[0266]

[0267] 수율: 84%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.95 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.71 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.64-7.52 (m, 2H), 7.47-7.31 (m, 5H), 6.82 (s, 1H), 6.41 (s, 1H), 4.62 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 161.56, 138.60, 137.16, 136.94, 134.07, 131.30, 129.35, 129.17, 128.54, 128.27, 128.15, 126.00, 121.63, 44.19; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{16}H_{13}NO_3SNa$ $[M+Na]^+$: 322.0514; found: 322.0508.

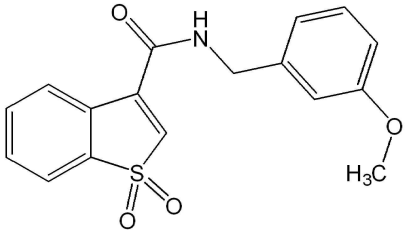
[0269] 제조예 2-3. *N*-(4-Methylbenzyl)benzo[*b*]thiophene-3-carboxamide 1,1-dioxide (**11c**)



[0270]

[0271] 수율: 83%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.94 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 7.4Hz, 1H), 7.62-7.54 (m, 2H), 7.22-7.16 (m, 4H), 6.80 (s, 1H), 6.50 (s, 1H), 4.56 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H), 2.36 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 161.49, 138.66, 138.10, 137.18, 134.05, 133.87, 131.28, 129.82, 129.35, 128.48, 128.14, 125.99, 121.62, 43.98, 21.28; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{17}H_{15}NO_3SNa$ $[M+Na]^+$: 336.0671; found: 336.0672.

[0273] 제조예 2-4. *N*-(3-Methoxybenzyl)benzo[*b*]thiophene-3-carboxamide 1,1-dioxide (**11d**)

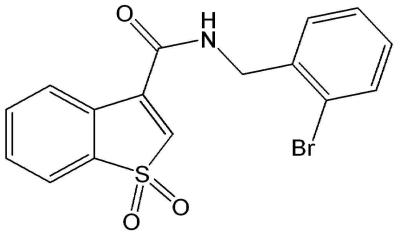


[0274]

[0275] 수율: 57%; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 9.45 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.85 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.76-7.65 (m, 3H), 7.27 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.99-6.90 (m, 2H), 6.85 (dd, *J* = 7.5, 2.3 Hz, 1H), 4.44 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.75 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 161.46, 159.36, 139.97,

137.33, 136.72, 134.18, 131.24, 129.55, 129.50, 129.33, 125.30, 121.46, 119.51, 113.00, 112.52, 55.01, 42.43; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{17}H_{15}NO_4SNa$ $[M+Na]^+$: 352.0620; found: 352.0626.

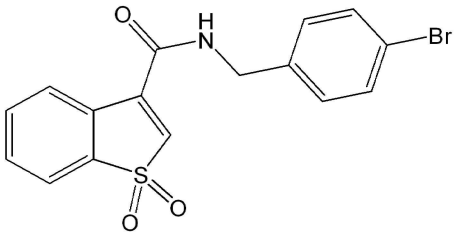
[0277] 제조예 2-5. *N*-(2-Bromobenzyl)benzo[*b*]thiophene-3-carboxamide 1,1-dioxide (**11e**)



[0278]

[0279] 수율: 71%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.91 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 7.72 (t, *J* = 4.1 Hz, 1H), 7.62-7.58 (m, 3H), 7.46 (dd, *J* = 7.6, 1.4 Hz, 1H), 7.34 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.22-7.20 (m, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.59 (s, 1H), 4.69 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 161.49, 138.50, 137.23, 136.08, 134.05, 133.30, 131.31, 131.10, 130.09, 129.26, 128.75, 128.15, 125.94, 124.08, 121.66, 44.55; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{16}H_{13}BrNO_3S$ $[M+H]^+$: 379.9775; found: 379.9774.

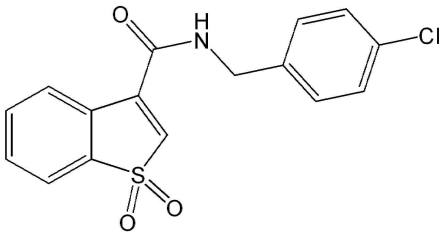
[0281] 제조예 2-6. *N*-(4-Bromobenzyl)benzo[*b*]thiophene-3-carboxamide 1,1-dioxide (**11f**)



[0282]

[0283] 수율: 56%; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 9.50 (t, *J* = 5.3 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.86 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.70-7.65 (m, 3H), 7.55 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H), 7.33 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 4.45 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 162.01, 138.38, 137.72, 137.18, 134.66, 131.74, 130.13, 125.84, 121.94, 120.59, 42.37, 31.43, 22.54, 14.44; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{32}H_{23}Br_2N_2O_7S_2$ $[2M-H]^-$: 752.9359; found: 752.9370.

[0285] 제조예 2-7. *N*-(4-Chlorobenzyl)benzo[*b*]thiophene-3-carboxamide 1,1-dioxide (**11g**)

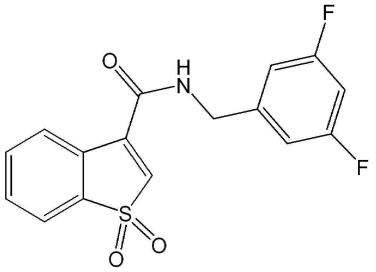


[0286]

[0287] 수율: 53%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.74-7.72 (m, 1H), 7.45-7.38 (m, 4H), 7.14 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.08 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.79 (s, 1H), 4.34 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ

161.72, 138.13, 136.56, 135.65, 134.02, 133.48, 131.07, 129.23, 129.21, 128.87, 128.66, 125.85, 121.29, 43.05; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{16}H_{13}ClNO_3S$ $[M+H]^+$: 334.0301; found: 334.0299.

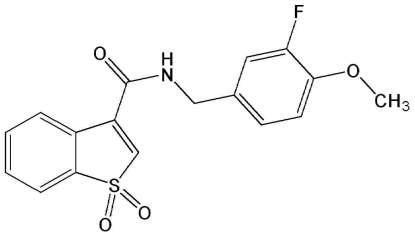
[0289] 제조예 2-8. *N*-(3,5-Difluorobenzyl)benzo[*b*]thiophene-3-carboxamide 1,1-dioxide (**11h**)



[0290]

[0291] 수율: 41%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.95 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 7.71-7.69 (dd, *J* = 6.3, 1.1 Hz, 1H), 7.61-7.59 (m, 2H), 6.90 (s, 1H), 6.87-6.85 (m, 3H), 6.77-6.75 (m, 1H), 4.58 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 162.44 (dd, *J* = 13.2, 246.1 Hz), 161.76, 143.21 (t, *J* = 9.1 Hz), 137.13, 136.73, 134.18, 131.25, 129.95, 129.27, 125.39, 121.47, 110.36 (d, *J* = 18.5 Hz), 102.47 (t, *J* = 25.9 Hz), 41.83; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{16}H_{12}NO_3S$ $[M+H]^+$: 336.0428; found: 336.0502.

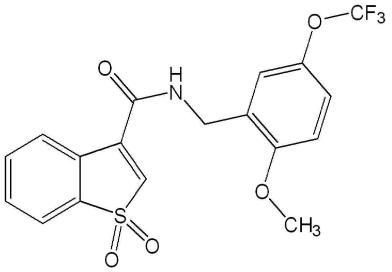
[0293] 제조예 2-9. *N*-(3-Fluoro-4-methoxybenzyl)benzo[*b*]thiophene-3-carboxamide 1,1-dioxide (**11i**)



[0294]

[0295] 수율: 53%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.94 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.72-7.70 (m, 1H), 7.66-7.54 (m, 2H), 7.10-7.02 (m, 2H), 6.95 (t, *J* = 8.6 Hz, 1H), 6.83 (s, 1H), 6.48 (s, 1H), 4.53 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H), 3.90 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 161.43, 152.51, 146.16 (t, *J* = 10.7 Hz), 137.28, 136.71, 134.17, 131.28 (d, *J* = 10.8 Hz), 129.62, 129.29, 125.32, 123.70 (d, *J* = 3.5 Hz), 121.45, 115.20, 115.02, 113.76, 56.02, 41.63; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{17}H_{14}FNO_4SNa$ $[M+Na]^+$: 370.0526; found: 370.0524.

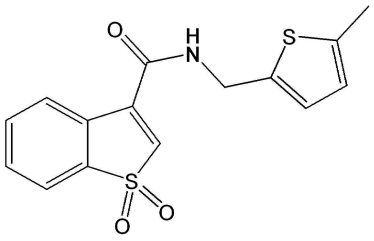
[0297] 제조예 2-10. *N*-(2-Methoxy-5-(trifluoromethoxy)benzyl)benzo[*b*]thiophene-3-carboxamide 1,1-dioxide (**11j**)



[0298]

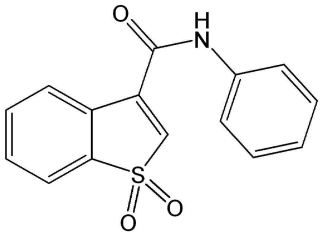
[0299] 수율: 59%; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 9.35 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.77-7.64 (m, 3H), 7.28 (d, J = 11.7 Hz, 1H), 7.11 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 4.44 (d, J = 5.7 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 161.41, 156.21, 142.64 (d, J = 2.0 Hz), 138.73, 137.17, 134.05, 131.56 (d, J = 149.8 Hz), 131.29, 128.39, 126.47, 125.93, 123.42, 122.22, 121.60, 111.31, 77.36, 56.17, 39.78; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{18}H_{14}F_3NO_5SNa$ $[M+Na]^+$: 436.0398; found: 436.0446.

[0301] 제조예 2-11. *N*-((5-Methylthiophen-2-yl)methyl)benzo[*b*]thiophene-3-carboxamide 1,1-dioxide (**11k**)

[0302] 

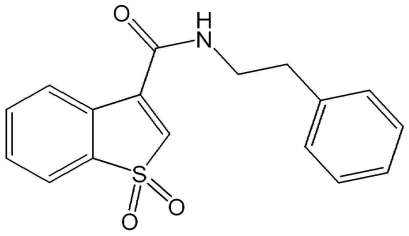
[0303] 수율: 40%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.92 (q, J = 2.7 Hz, 1H), 7.72 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.61-7.53 (m, 2H), 7.03-7.00 (m, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.69 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 6.37 (t, J = 2.1 Hz, 1H), 4.51 (d, J = 5.9 Hz, 2H), 2.14 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 161.69, 139.93, 138.34, 137.10, 136.63, 134.18, 131.31, 129.88, 129.07, 125.67, 125.46, 123.11, 121.48, 33.38, 8.61; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{30}H_{26}N_2O_{10}S_4Na$ $[2M+Na]^+$: 725.0367; found: 725.0362.

[0305] 제조예 2-12. *N*-Phenylbenzo[*b*]thiophene-3-carboxamide 1,1-dioxide (**11l**)

[0306] 

[0307] 수율: 52%; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 10.85 (s, 1H), 7.96 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.84 (t, J = 3.7 Hz, 2H), 7.80-7.65 (m, 4H), 7.40 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 7.18-7.14 (m, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 159.98, 138.03, 137.55, 136.67, 134.26, 131.34, 129.94, 129.16, 128.89, 125.24, 124.58, 121.56, 120.17; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{15}H_{11}NO_3SNa$ $[2M+Na]^+$: 593.0818; found: 593.0811.

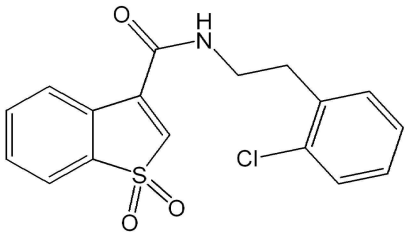
[0309] 제조예 2-13. *N*-Phenethylbenzo[*b*]thiophene-3-carboxamide 1,1-dioxide (**11m**)



[0310]

[0311] 수율: 84%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.82-7.76 (m, 1H), 7.74-7.66 (m, 1H), 7.58-7.55 (m, 2H), 7.35 (dd, *J* = 7.5, 6.1 Hz, 2H), 7.29 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.25-7.19 (m, 2H), 6.66 (s, 1H), 6.07 (s, 1H), 3.78-3.64 (m, 2H), 2.94 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 161.63, 138.89, 138.12, 137.20, 134.02, 131.30, 129.29, 129.11, 128.88, 128.25, 127.17, 125.85, 121.63, 41.02, 35.40; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{17}H_{15}NO_3SNa$ $[M+Na]^+$: 336.0698; found: 336.0677.

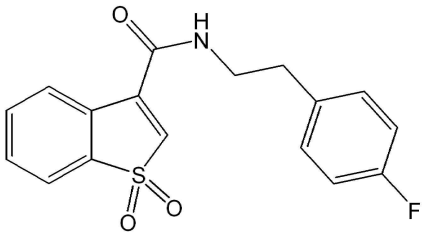
[0313] 제조예 2-14. *N*-(2-Chlorophenethyl)benzo[*b*]thiophene-3-carboxamide 1,1-dioxide (**11n**)



[0314]

[0315] 수율: 78%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.87-7.81 (m, 1H), 7.75-7.68 (m, 1H), 7.64-7.52 (m, 2H), 7.43-7.35 (m, 1H), 7.24-7.19 (m, 3H), 6.73 (s, 1H), 6.30 (s, 1H), 3.76-3.71 (m, 2H), 3.09 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 161.74, 138.78, 137.14, 136.05, 134.26, 134.02, 131.28, 131.16, 130.02, 129.32, 128.66, 128.34, 127.41, 125.95, 121.59, 39.80, 33.11; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{17}H_{14}ClNO_3SNa$ $[M+Na]^+$: 370.0298; found: 370.0282.

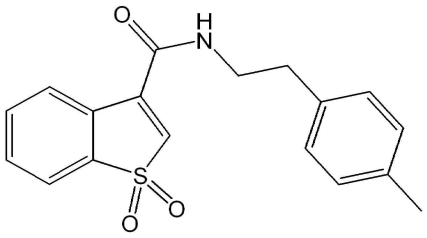
[0317] 제조예 2-15. *N*-(4-Fluorophenethyl)benzo[*b*]thiophene-3-carboxamide 1,1-dioxide (**11o**)



[0318]

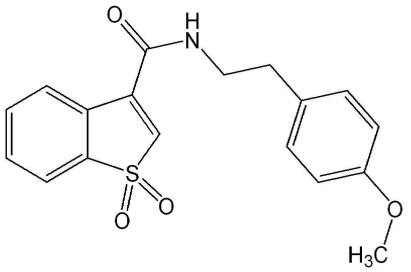
[0319] 수율: 98%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.79 (t, *J* = 4.0 Hz, 1H), 7.71 (t, *J* = 4.1 Hz, 1H), 7.59-7.57 (m, 2H), 7.19 (q, *J* = 4.6 Hz, 2H), 7.02 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.71 (s, 1H), 6.23 (s, 1H), 3.71-3.66 (m, 2H), 2.91 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 163.21, 161.68, 160.77, 138.81, 137.11, 134.06, 131.34, 130.28, 129.28, 128.24, 125.86, 121.62, 115.87 (d, *J* = 21.3 Hz), 41.14, 34.70; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{17}H_{14}FNO_3SNa$ $[M+Na]^+$: 354.0598; found: 354.0568.

[0321] 제조예 2-16. *N*-(4-Methylphenethyl)benzo[*b*]thiophene-3-carboxamide 1,1-dioxide (**11p**)

[0322] 

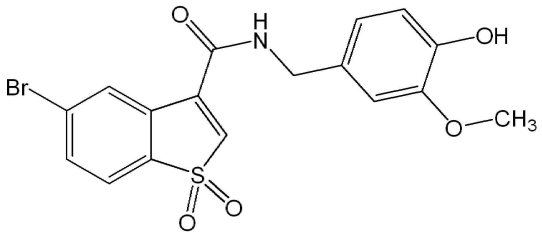
[0323] 수율: 51%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.84-7.76 (m, 1H), 7.73-7.67 (m, 1H), 7.63-7.53 (m, 2H), 7.17-7.06 (m, 4H), 6.67 (s, 1H), 6.14 (s, 1H), 3.71-3.66 (m, 2H), 2.89 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.34 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 161.61, 138.91, 137.16, 136.74, 134.96, 133.99, 131.26, 129.75, 129.34, 128.74, 128.21, 125.89, 121.58, 41.07, 34.92, 21.18; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{18}H_{17}NO_3SNa$ $[M+Na]^+$: 350.0798; found: 350.0818.

[0325] 제조예 2-17. *N*-(4-Methoxyphenethyl)benzo[*b*]thiophene-3-carboxamide 1,1-dioxide (**11q**)

[0326] 

[0327] 수율: 57%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.80-7.78 (m, 1H), 7.72-7.70 (m, 1H), 7.59-7.57 (m, 2H), 7.14 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.88 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.66 (s, 1H), 6.00 (s, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.71-3.66 (m, 2H), 2.88 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 161.49, 158.58, 138.77, 137.00, 133.89, 131.13, 129.94, 129.72, 129.23, 128.07, 125.78, 121.44, 114.32, 55.31, 41.08, 34.36; HRMS (ES+) m/z calculated for $C_{36}H_{35}N_2O_8S_2$ $[2M+H]^+$: 687.183; found: 687.1829.

[0329] 제조예 2-18. 5-Bromo-*N*-(4-hydroxy-3-methoxybenzyl)benzo[*b*]thiophene-3-carboxamide 1,1-dioxide (**11r**)

[0330] 

[0331] 수율: 11%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.17 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.72 (dd, *J* = 8.1, 1.5 Hz, 1H), 7.58 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.92 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.87-6.73 (m, 3H), 6.29 (s, 1H), 5.64 (s, 1H), 4.53 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H), 3.92 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 160.83, 147.52, 145.73, 136.00, 135.73, 133.81, 131.59, 130.90, 128.95, 128.15, 127.44, 123.27, 120.11, 115.25, 111.96, 55.59, 42.47; HRMS

(ES+) m/z calculated for $C_{34}H_{28}Br_2N_2O_{10}S_2Na$ $[2M+Na]^+$: 868.9450; found: 868.9377.

[0334] **실험예**

[0335] 실험예 1. TEAD-YAP 활성 리포터 루시퍼라제 어세이

[0336] 먼저, 최소한의 프로모터와 TEAD 전사 인자 결합 부위의 8개 탠덤 카피의 제어 하에 파이어플라이 루시퍼라제 유전자를 포함하는 TEAD-YAP 활성 리포터 루시퍼라제 분석을 사용하여 세포에서 TEAD-YAP 상호 작용을 억제하는 화합물의 활성을 평가했다. 이 리포터는 TEAD-YAP 및 TEAD-TAZ의 전사 활성을 측정할 수 있다. 인산화 및 후속 핵세포질 셔틀링을 조절함으로써 TEAD-YAP 활성에 영향을 미치는 화합물의 가능성을 제거하기 위해 과잉 활성 비인산화성 YAP 5SA 및 TAZ 5SA 돌연변이를 사용했다. TEAD-YAP에 대한 결과를 도 2에, TEAD-TAZ에 대한 결과를 도 3에 나타내었으며, 모두에 대한 모든 화합물의 억제 활성에서 유사한 패턴을 관찰했다.

[0337] 첫 번째 시리즈인 화합물 9a 내지 9n의 경우 치환된 벤질과 티오펜과 같은 헤테로사이클을 히드라존 스캐폴드에 도입하고 새로 합성된 화합물에 대해 루시퍼라제 리포터 분석을 수행하여 그 결과를 하기 표 1에 나타내었다. 대부분의 화합물은 약한 억제 활성을 나타냈다. 따라서 파트 A의 벤질 치환체 구조와 억제 활성 사이의 관계를 결정하는 것이 곤란하였으며, 티오펜이 페닐로 대체된 화합물 9n은 화합물 9a보다 더 나은 억제 활성을 갖는 유일한 화합물로 나타났다.

표 1

[0338]

화합물	R =	% 억제활성도 (TEAD-YAP)	% 억제활성도 (TEAD-TAZ)
9a	3-(OCH_3)-4-OH-Ph	56±3	58±6
9b	3-(OCF_3)-4-OH-Ph	59±5	75±4
9c	3-CF_3-4-F-Ph	87±6	84±5
9d	3-OCH_3-Ph	86±6	81±17
9e	2-(OCH_3)-5-(OCF_3)-Ph	80±8	75±19
9f	3,5-$(OCH_3)_2$-Ph	87±5	78±14
9g	3,4,5-$(OCH_3)_3$-Ph	85±7	83±11
9h	4-CH_3-Ph	89±4	95±8
9i	4-CF_3-Ph	80±11	87±13
9j	4-Cl-Ph	77±5	87±7
9k	4-(OBn)-Ph	77±8	90±18
9l	4-$NHC(O)CH_3$-Ph	84±5	87±5
9m	4-($O(CH_2)_3CH_3$)-Ph	93±7	101±9
9n	2-(5-CH_3)-thiophenyl	46±4	48±9
DMSO		100±6	100±3
베르테포르핀		23±2	34±24
엠티 벡터		0±0	0±0

[0339] 다음으로 히드라진을 비슷한 크기의 옥심 에스터로 대체한 화합물 10a 내지 10u의 억제 활성을 평가하여 하기 표 2에 나타내었다. 3-메틸-4-히드록시페닐이 옥심 에스터에 직접 부착된 화합물 10a는 옥심 에스터와 3-메틸-4-히드록시페닐 사이에 하나의 추가 탄소가 있는 화합물 10r보다 더 나은 억제 활성을 나타냈다. 이는 벤질기와 옥심 에스테르 사이의 연결 길이가 억제 활성에 중요하다는 것을 시사한다(TEAD-YAP에서 각각 53% 및 90%, TEAD-TAZ에서 각각 61%와 86%). 페닐 고리를 갖는 옥심 에스터 유도체가 YAP-TEAD 상호작용을 방해하는 데 효과적인 것으로 확인되었다.

표 2

[0340]

화합물	n =	R =	% 억제활성도 (TEAD-YAP)	% 억제활성도 (TEAD-TAZ)
10a	0	3-CH_3-4-OH-Ph	53±8	61±5
10b	0	Ph	73±15	88±16
10c	0	4-F-Ph	86±23	111±12
10d	0	2-Cl-Ph	91±10	91±6
10e	0	4-Cl-Ph	105±16	111±3
10f	0	4-Br-Ph	78±11	95±6
10g	0	4-CN-Ph	106±16	118±6
10h	0	3-CF_3-Ph	99±18	98±12
10i	0	4-CF_3-Ph	98±14	103±5
10j	0	2-F-4-CF_3-Ph	101±13	101±2
10k	0	2-F-4-CF_3-Ph	90±23	102±5
10l	0	3-F-5-CF_3-Ph	100±16	102±8
10m	0	4-F-3-CF_3-Ph	77±10	90±6
10n	0	2,4-$(OCH_3)_2$-Ph	92±16	104±10
10o	0	3,5-$(CH_3)_2$-Ph	74±8	80±12
10p	0	3,5-$(CF_3)_2$-Ph	83±23	100±12
10q	0	2-OCH_3-5-OCF_3-Ph	59±4	78±8
10r	1	3-CH_3-4-OH-Ph	90±13	86±5
10s	1	Ph	87±10	81±5
10t	1	2-(5-CH_3)-furanyl	97±8	97±8
10u	1	2-(5-CH_3)-thiophenyl	99±8	99±8
DMSO			100±6	100±3
베르테포르핀			23±2	34±24
엠티 벡터			0±0	0±0

[0341] 다음으로, 아미드 유도체 11a-r의 억제 활성을 평가하여 하기 표 3에 나타내었다. 3-메틸-4-히드록시페닐을 포함하는 화합물 11a는 9a(56% 및 58%)와 비슷한 억제 활성(55% 및 61%)을 나타냈으며 시리즈 중 가장 우수한 효능을 나타내었다. 대부분의 아미드 화합물은 옥심 에스터 및 히드라존 유도체보다 더 나은 억제 효능을 나타냈다. 아미드와 페닐 사이의 길이를 최적화하기 위해 두 개의 탄소(11m-q)로 연결된 화합물을 합성하였다. 화합물 11m-q는 하나의 탄소(11a-k)에 연결된 아미드 유도체보다 전반적으로 더 나은 활성을 나타냈다. 4-톨루일 치환 화합물 11c(n=1) 및 11p(n=2) 중에서 11p가 더 나은 억제를 나타냈다. 화합물 11q(n=2, R=4-OCH3-Ph)는 효과적인 디옥소-벤조[d]이소티아졸 유도체 9a와 비교할 때 더 높은 억제 효능을 나타냈다. 페닐에 직접 연결된 화합물 11l도 합성되어 억제 활성에 대해 테스트되었다. 아미드와 벤젠 고리 사이의 거리는 억제에 영향을 주었다.

표 3

[0342]

화합물	n =	R =	X =	% 억제활성도 (TEAD-YAP)	% 억제활성도 (TEAD-TAZ)
11a	1	3-OCH_3-4-OH-Ph	H	55±5	61±5
11b	1	Ph	H	54±12	73±4
11c	1	4-CH_3-Ph	H	73±10	88±6
11d	1	3-OCH_3-Ph	H	62±15	77±7
11e	1	2-Br-Ph	H	69±4	74±12
11f	1	4-Br-Ph	H	72±3	85±16
11g	1	4-Cl-Ph	H	76±17	78±12
11h	1	3,5-diF-Ph	H	69±7	76±5
11i	1	3-F-4-OCH_3-Ph	H	58±13	76±3

11j	1	2-OCH_3-5-OCF_3-Ph	H	67±10	81±8
11k	1	2-(5-CH_3)-dioxothiophenyl	H	86±1	86±1
11l	0	Ph	H	72±4	90±9
11m	2	Ph	H	70±6	74±5
11n	2	2-Cl-Ph	H	66±12	68±10
11o	2	4-F-Ph	H	74±20	81±8
11p	2	4-CH_3-Ph	H	64±6	63±11
11q	2	4-OCH_3-Ph	H	56±9	56±8
11r	2	3-OCH_3-4-OH-Ph	Br	84±20	96±5
DMSO				100±6	100±3
Verteporfin				23±2	34±24
Empty vector				0±0	0±0

[0344] 실험예 2. 화합물 11q의 TEAD-YAP 단백질-단백질 상호작용 억제 확인

[0345] 정량적 PCR을 사용하여 유방 상피 세포주 MCF10A에서 내인성 수준에서 TEAD-YAP 전사 복합체의 억제에 대한 추가 검증을 위해 하기 표 4에 나타난 8개의 화합물을 선택했다.

표 4

Compound	% inhibition (TEAD-YAP)	% inhibition (TEAD-TAZ)
9a (ref)	44	42
9b	41	25
9n	54	52
10a	47	39
10q	41	22
11a	45	39
11i	42	24
11q	44	44

[0346]

[0347] 혈청 자극 시 MCF10A는 YAP를 빠르게 활성화하고 표적 유전자 CTGF(결합 조직 성장 인자) 및 CYR61(시스테인이 풍부한 혈관 신생 유도제 61)의 전사를 활성화했다. 표 4에 나타나듯이, 추정 후보 화합물, 특히 11q를 사용한 치료가 CTGF 및 CYR61 mRNA 발현 수준을 강력하게 감소시키는 것을 확인할 수 있었다. 화합물이 TEAD-YAP 단백질 상호 작용의 진정한 억제제인지를 확인하기 위하여 공동 면역 침전 실험을 수행하였다. 과발현된 TEAD2를 미끼로 사용하고 10q 또는 11q를 세포 용해물에 첨가한 경우 공동 면역침전된 YAP의 유의한 감소가 관찰되었다(도 4). 화합물 11q는 TEAD-YAP 상호작용에 대한 억제 활성에 대해 Inventiva가 설계한 기준 화합물 9a와의 추가 검증 및 비교를 위해 선택되었다.

[0348] 특히, TEAD-YAP 상호작용은 테스트된 농도(10μM)에서 9a에 의해 방해되지 않았다. 결과는 동일한 농도에서 TEAD-YAP 표적 유전자 발현이 최소한으로 감소한 관찰과 일치했다(도 4). 이를 통해 11q가 디옥소-벤조[b]티오펜 스캐폴드(IC50 = 12.7μM)를 갖는 더욱 강력한 TEAD-YAP/TAZ 억제제임을 확인할 수 있었다. 이는 루시퍼라제 리포터 분석(도 5)에서 베르테포르핀(IC50 = 8.6μM)과 비슷하고 기준 화합물 9a(IC50= 26.5 μM)보다 우수했다. 11q의 작용 메커니즘은 정제된 His-태그된 TEAD 단백질을 사용한 시험관 내 풀다운 분석을 통해 확인되었다. 화합물 11q는 용량 의존적 방식으로 TEAD-YAP 단백질 상호작용(도 6)을 강력하게 억제했다(IC50= 12.7

μM; 도 7). 특히, 참조 화합물 9a와 합성 화합물 11q 사이의 TEAD-YAP 상호 작용을 억제하는 효능의 차이는 루시퍼라제 리포터 분석(도 5)에 비해 qPCR, 공동면역침전 및 시험관 내 풀다운 분석(도 4, 6 및 8)에서 더 컸다. 실제로, 우리는 9a 처리된 세포에서 정규화에 사용되는 CMV 구동 내부 제어 Renilla 루시퍼라제 활성의 실질적인 증가를 확인했으며, 이에 따라 원시 파이어플라이 루시퍼라제 활성이 최소한으로 감소하면서 파이어플라이/레닐라 루시퍼라제 활성 비율이 감소했다(도 9). 특히, 베르테포르핀에 의한 TEAD-YAP 상호작용의 억제는 이전에 보고된 것만큼 강력하지 않았다(도 6). 이는 이전에 보고된 바와 같이 단백질 복합체가 침전되는 동안 베르테포르핀이 빛에 노출되어 단백질 응집체가 형성되기 때문일 수 있다(도 10). 특히, 화합물 11q는 비특이적 단백질 가교를 유도하지 않았다(도 11).

[0350] 실험예 3. 화합물 11q의 YAP의 전환 활동 역전 확인

[0351] YAP/TAZ 활동의 손실로 인해 성장 정지 및 세포 사멸이 발생하기 때문에 합성된 화합물이 YAP의 변형 특성을 약화시킬 가능성을 테스트했다. 예상한 대로 11q 치료는 YAP와 TAZ를 과발현하는 삼중 음성 유방암 세포 MDA-MB-231과 Hs578T의 생존력을 현저하게 감소시켰다(도 12). 11q 처리된 MDA-MB-231 세포주에서 CTGF mRNA의 유의한 하향조절이 관찰되었으며(도 13), 이는 YAP/TAZ 활성의 감소가 암세포 생존력을 감소시켰음을 보여준다. 화합물 11q는 MCF10A 세포에서 YAP 과발현에 의해 부여된 혈청 독립적 성장을 강력하게 억제했다(도 14 및 도 15). TEAD-YAP 리포터 발현보다 세포 성장의 더 나은 억제를 관찰할 수 있었다(예: 생존 가능성 분석의 경우 GI50=3.2 μM 대 11q에 대한 리포터 분석의 경우 IC50=12.7 μM, 도 15).

[0352] 마지막으로, 11q가 소프트 한천 콜로니 형성 분석에서 MCF10A 세포의 YAP 과발현에 의해 유도된 앵커리지 독립적 콜로니 파생물을 완전히 폐지했음을 추가로 검증했다(도 16). 이에 따라 본원발명의 화합물 11q가 YAP 및 TAZ의 활성 발현으로 암을 치료할 가능성이 있는 강력한 TEAD-YAP/TAZ 상호작용 억제제임을 확인할 수 있었다.

[0354] 실험예 4. 분자 도킹 시뮬레이션

[0355] 새로 식별된 디옥소-벤조[d]이소티아졸과 디옥소-벤조[b]티오펜 유도체가 인터페이스 2 또는 3에 결합할지 여부를 예측하기 위해 분자 도킹 분석을 수행했다.

[0356] 먼저, 히드라존-디옥소-벤조[d]이소티아졸 9a와 아미드-디옥소-벤조[b]티오펜 유도체 11q가 TEAD1 단백질(PDB: 3KYS)의 인터페이스 3에 도킹되었다. 9a는 인터페이스 3에서 Phe370 및 Glu393과 H-결합을 형성하는 것으로 예측되었다(도 17의 A). YAP가 9a와 정렬되면 YAP가 디옥소술폰과 겹치게 되어(도 17의 B), 9a는 인터페이스 3에 바인딩될 때 YAP-TEAD 상호 작용을 방해할 수 있다. 그러나 도킹 점수는 -4,964로 계산되어 유의미하지 않았다. 가장 큰 YAP-TEAD 억제 활성을 보인 화합물 11q에는 디옥소설폰 및 벤조[b]티오펜 고리가 각각 π-π 스태킹 상호작용 및 H-결합을 통해 Asp243 및 Tyr406과 상호작용할 것으로 예측되었음에도 불구하고 -5.199의 도킹 점수가 할당되었다.

[0357] 다음으로 TEAD2(PDB: 6S64)의 인터페이스 2에 9a와 11q를 도킹했으며, 9a와 11q의 도킹 점수는 각각 -8.480과 -7.130으로 계산되었다. 결과는 9a와 11q가 인터페이스 3에 도킹되었을 때 계산된 것보다 훨씬 더 우수하였다. 이는 인터페이스 3보다는 인터페이스 2에 결합하는 9a 또는 11q에 대해 보다 에너지적으로 안정적인 생성물이 형성될 것으로 예측되었음을 나타낸다.

[0358] 화합물 9a와 11q는 인터페이스 2에서 서로 다른 도킹 포즈를 가질 것으로 예측되었다(도 18의 A). 9a의 경우, 히드라존의 하이드록시에틸 그룹은 TEAD의 Lys389 및 Asn385와 H-결합 상호작용을 형성하는 반면, 페놀의 하이드록실 그룹은 결합 부위를 차지하는 Val402와 H-결합을 형성하는 것으로 예측되었다(도 18의 B). 11q의 디옥소 그룹은 Lys389와 H-결합을 형성하는 것으로 예측되었으며, 페닐 고리는 Phe386 및 Phe350과 π-π 스태킹 상호작용을 형성했다(도 18의 C). 우리는 YAP이 9a 및 11q와 정렬되면 YAP와 작은 분자가 겹칠 것이라고 예측했다(도 18의 D). 따라서 이들 화합물은 인터페이스 2에 결합하여 YAP와 TEAD 사이의 상호 작용을 억제한다.

[0361] 이상과 같이 실시예들이 비록 한정된 도면에 의해 설명되었으나, 해당 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 상기를 기초로 다양한 기술적 수정 및 변형을 적용할 수 있다. 예를 들어, 설명된 기술들이 설명된 방법과 다

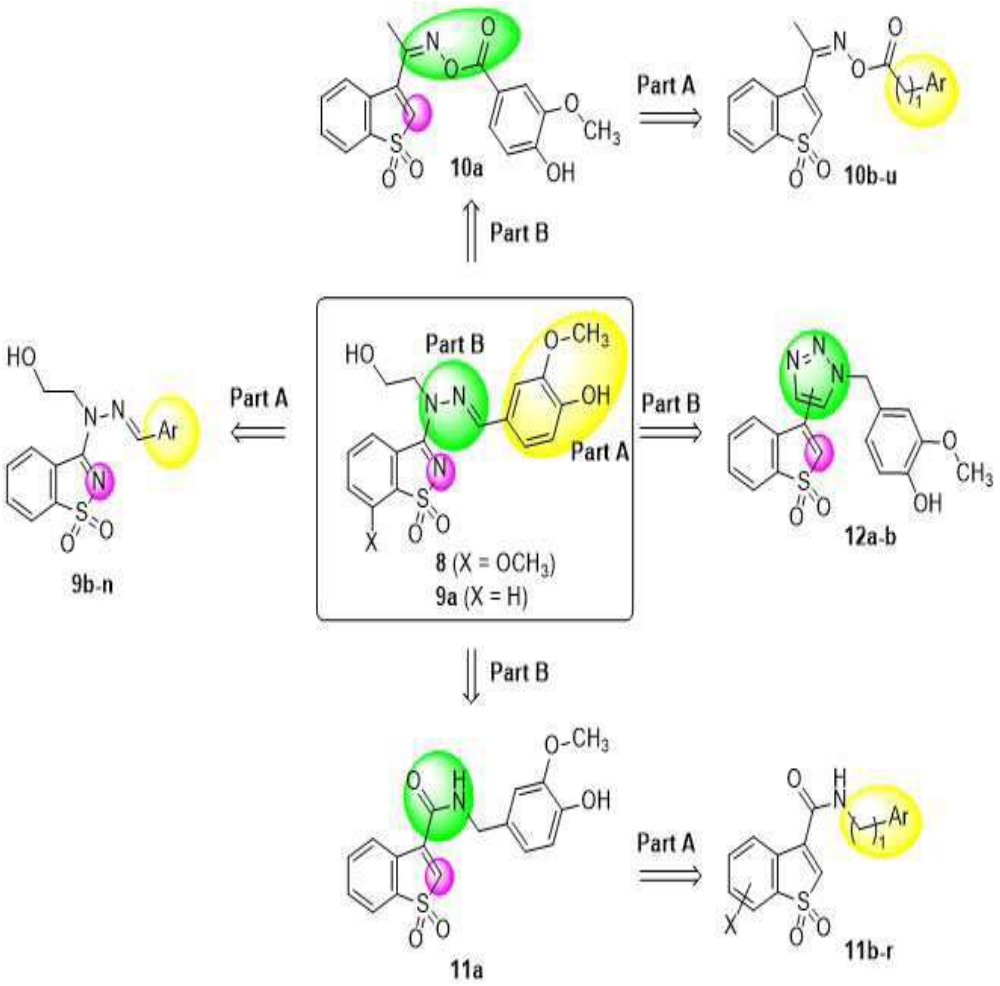
른 순서로 수행되거나, 및/또는 설명된 시스템, 구조, 장치, 회로 등의 구성요소들이 설명된 방법과 다른 형태로 결합 또는 조합되거나, 다른 구성요소 또는 균등물에 의하여 대치되거나 치환되더라도 적절한 결과가 달성될 수 있다.

[0362] 그러므로, 다른 구현들, 다른 제조예들 및 특허청구범위와 균등한 것들도 후술하는 청구범위의 범위에 속한다.

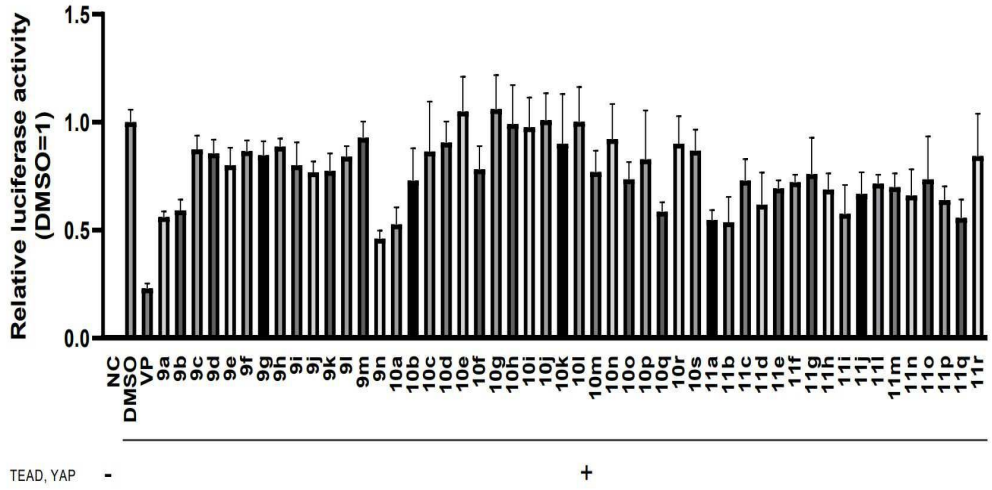
[0364] 본 발명은 미래원천의공학기술개발사업=>난치성 질환 제어를 위한 테라그노시스 기술 개발(2E31620:20220101~20221231:) 및 과학기술정보통신부-중견연구자지원사업=>합성치사를 이용한 난치성 암 치료를 위한 신규 항암제 타겟 발굴(2N65470:20220301~20230228:) 과제의 지원으로 완성되었다.

도면

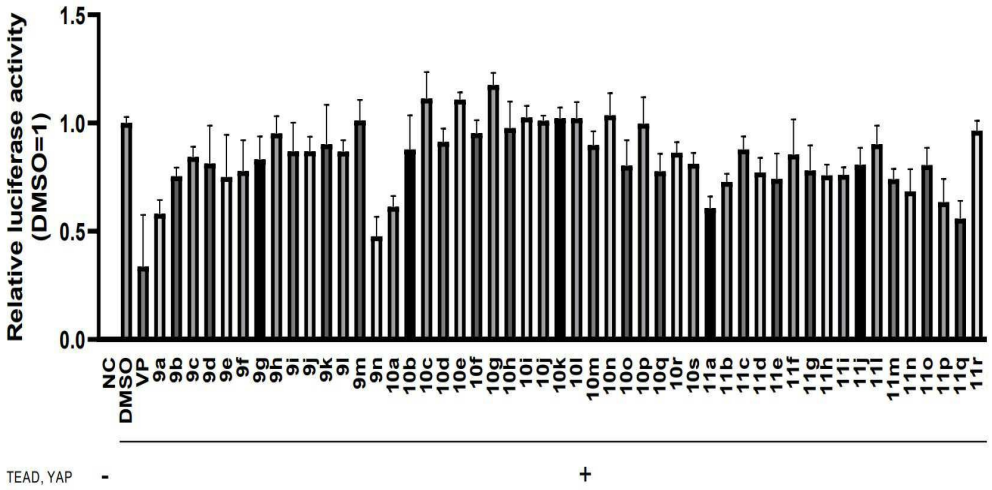
도면1



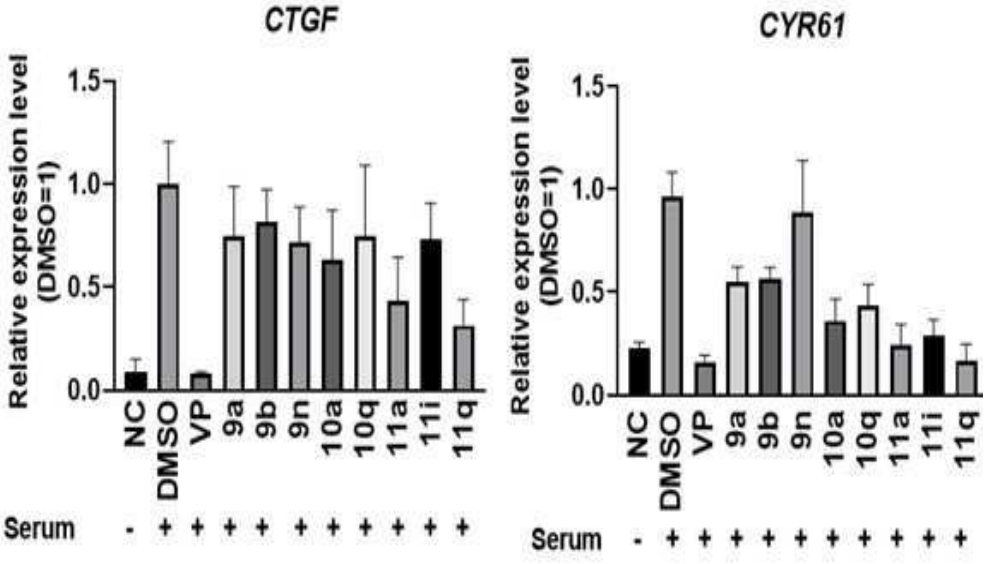
도면2


Relative luciferase activity (DMSO=1)
1.5
1.0
0.5
0.0
NC
DMSO
VP
9a
9b
9c
9d
9e
9f
9g
9h
9i
9j
9k
9l
9m
9n
10a
10b
10c
10d
10e
10f
10g
10h
10i
10j
10k
10l
10m
10n
10o
10p
10q
10r
10s
11a
11b
11c
11d
11e
11f
11g
11h
11i
11j
11l
11m
11n
11o
11p
11q
11r
TEAD, YAP
-
+

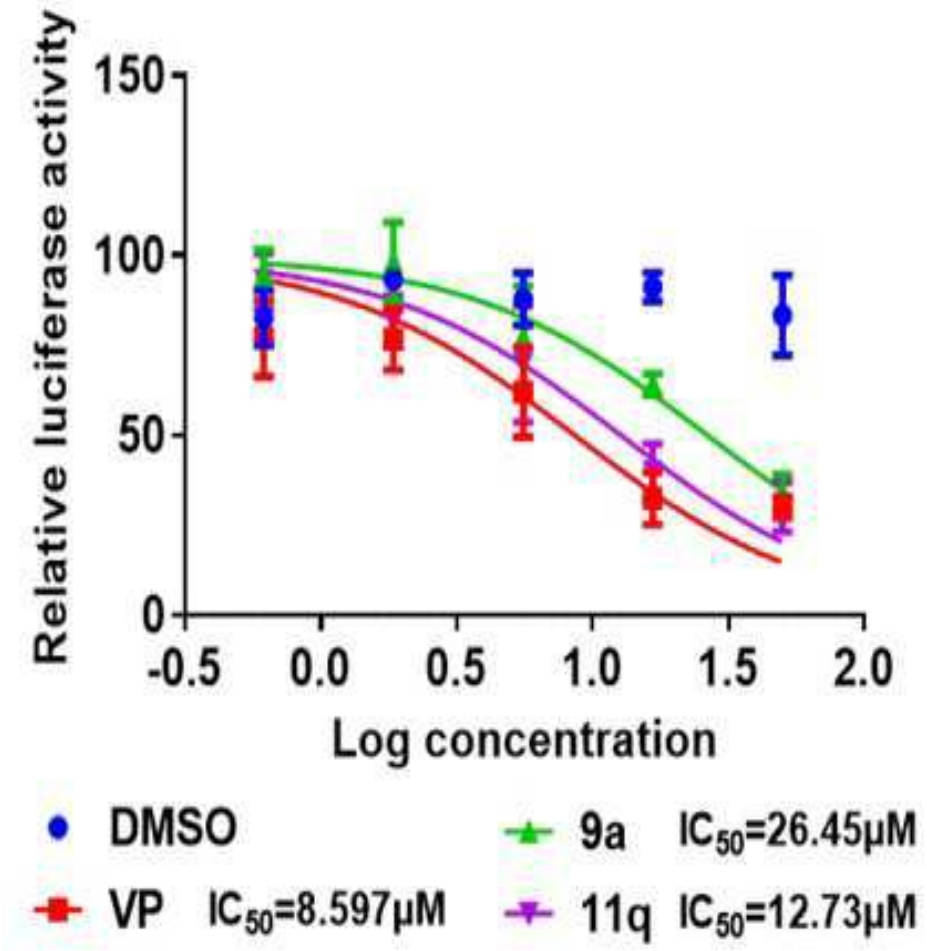
도면3


Relative luciferase activity (DMSO=1)
1.5
1.0
0.5
0.0
NC
DMSO
VP
9a
9b
9c
9d
9e
9f
9g
9h
9i
9j
9k
9l
9m
9n
10a
10b
10c
10d
10e
10f
10g
10h
10i
10j
10k
10l
10m
10n
10o
10p
10q
10r
10s
11a
11b
11c
11d
11e
11f
11g
11h
11i
11j
11l
11m
11n
11o
11p
11q
11r
TEAD, YAP
-
+

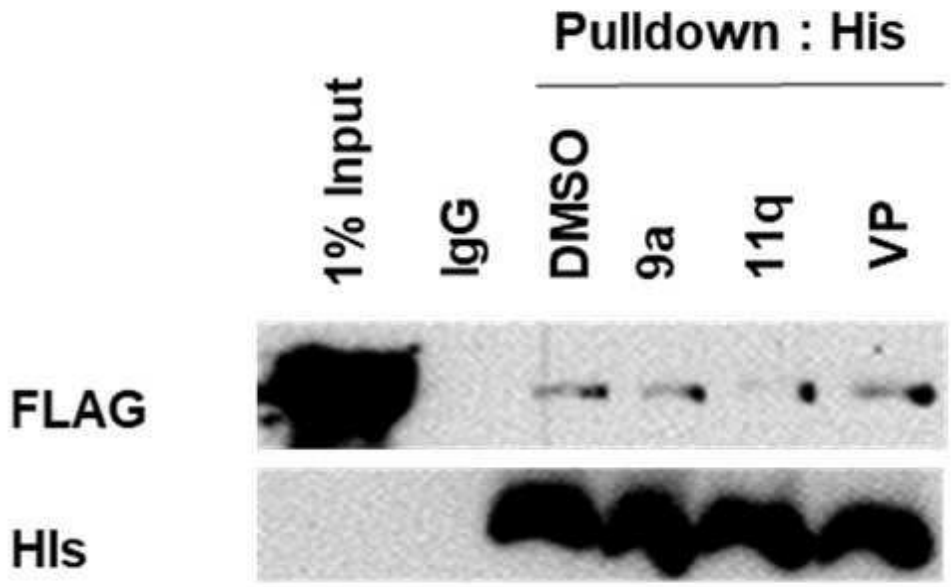
도면4


CTGF
Relative expression level (DMSO=1)
1.5
1.0
0.5
0.0
NC
DMSO
VP
9a
9b
9n
10a
10q
11a
11i
11q
Serum
- + + + + + + + + + +
CYR61
Relative expression level (DMSO=1)
1.5
1.0
0.5
0.0
NC
DMSO
VP
9a
9b
9n
10a
10q
11a
11i
11q
Serum
- + + + + + + + + + +

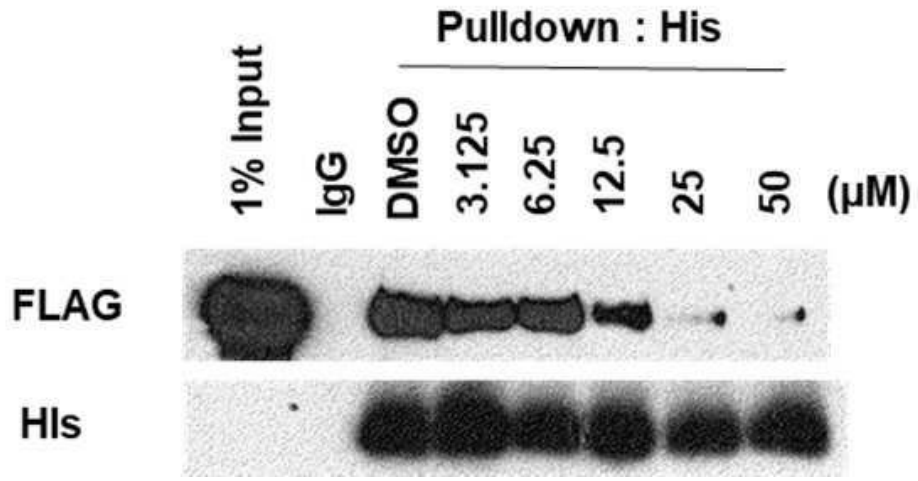
도면5


Relative luciferase activity
150
100
50
0
-0.5
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
Log concentration
DMSO
VP IC50=8.597μM
9a IC50=26.45μM
11q IC50=12.73μM

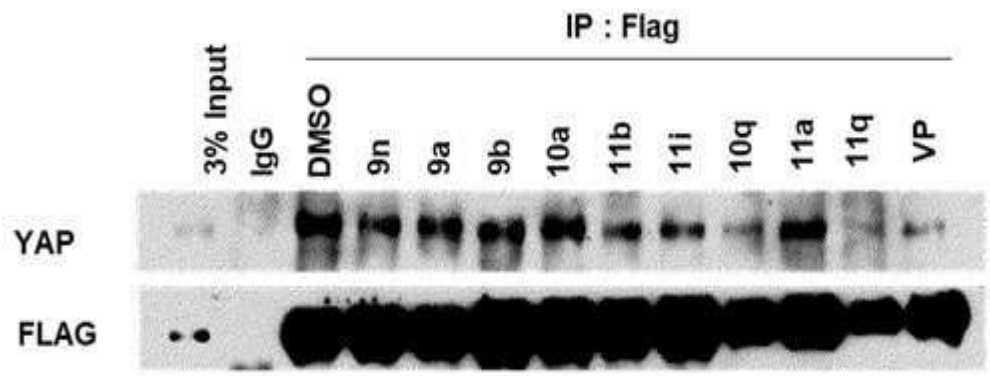
도면6


Pulldown : His
1% Input
IgG
DMSO
9a
11q
VP
FLAG
Hls

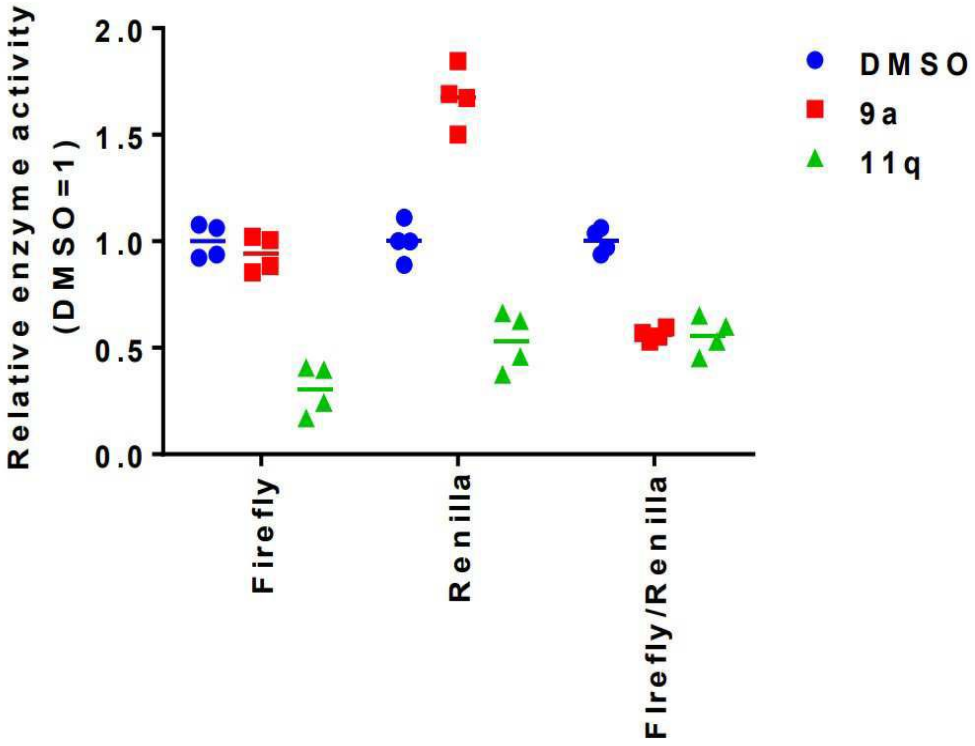
도면7


Pulldown : His
1% Input
IgG
DMSO
3.125
6.25
12.5
25
50
(μM)
FLAG
Hls

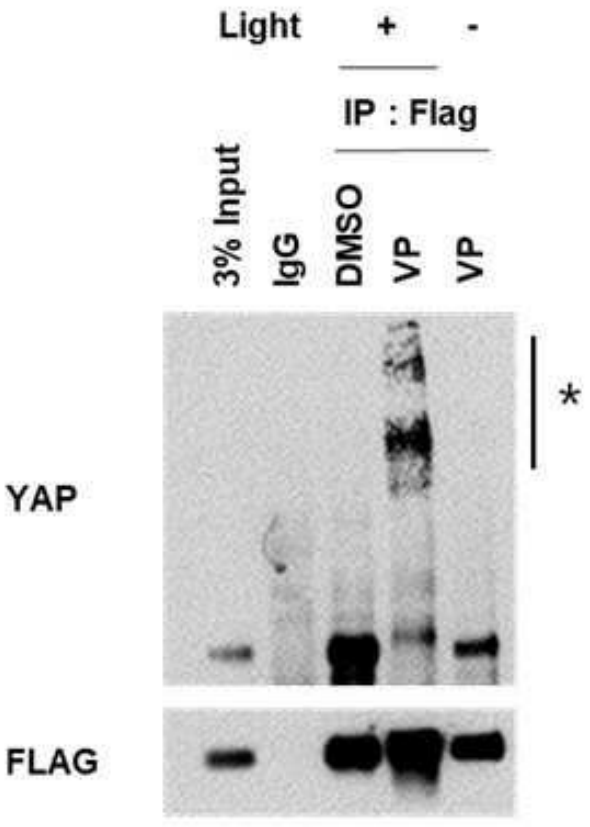
도면8


IP : Flag
3% Input
IgG
DMSO
9n
9a
9b
10a
11b
11i
10q
11a
11q
VP
YAP
FLAG

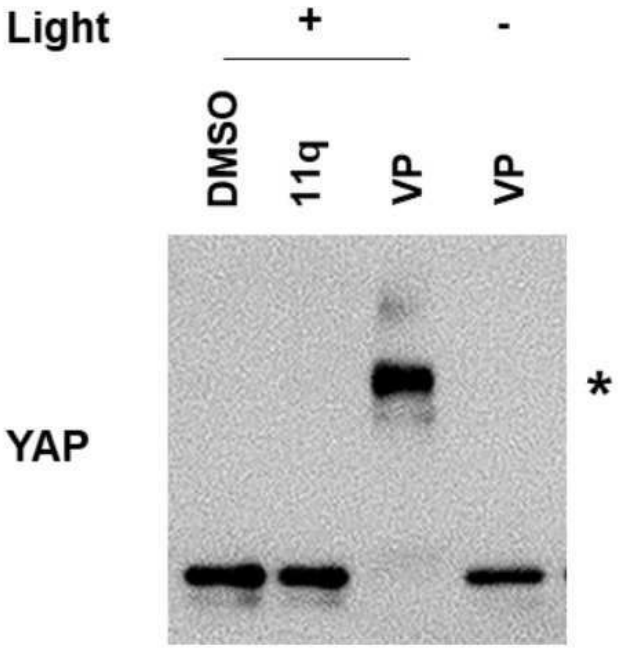
도면9


Relative enzyme activity
(DMSO=1)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Firefly
Renilla
Firefly/Renilla
DMSO
9a
11q

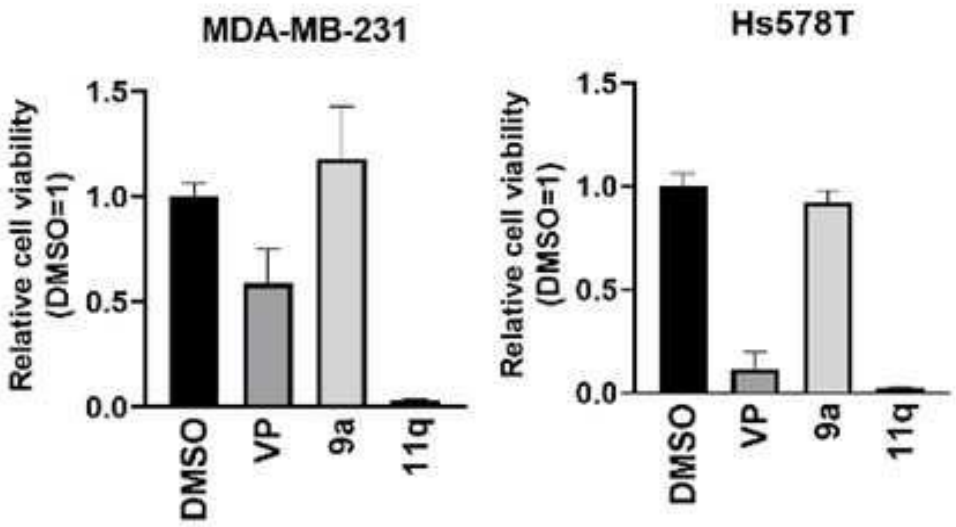
도면10


Light
+
-
IP : Flag
3% Input
IgG
DMSO
VP
VP
YAP
FLAG
*

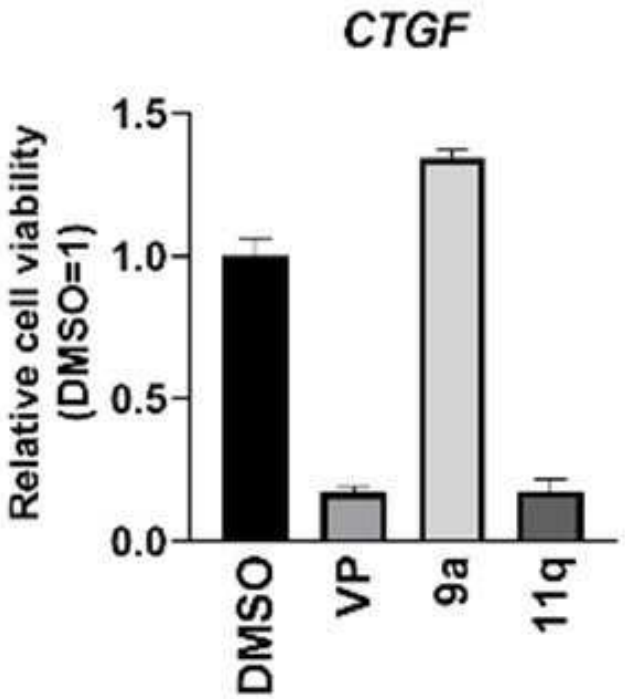
도면11


Light
+
-
DMSO
11q
VP
VP
YAP
*

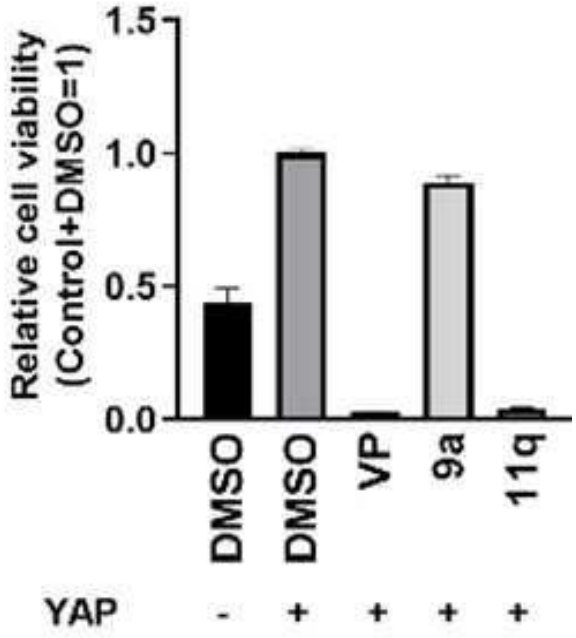
도면12


MDA-MB-231
Hs578T
Relative cell viability (DMSO=1)
1.5
1.0
0.5
0.0
DMSO
VP
9a
11q

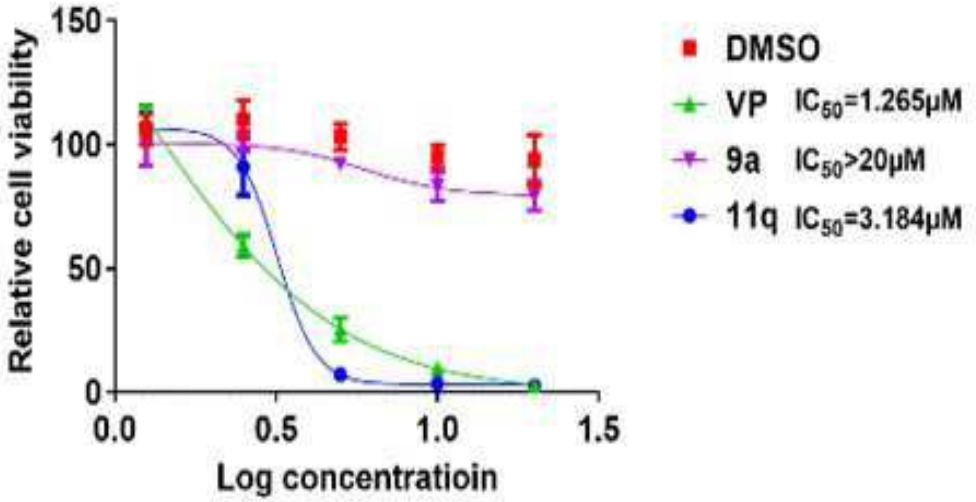
도면13


CTGF
Relative cell viability (DMSO=1)
1.5
1.0
0.5
0.0
DMSO
VP
9a
11q

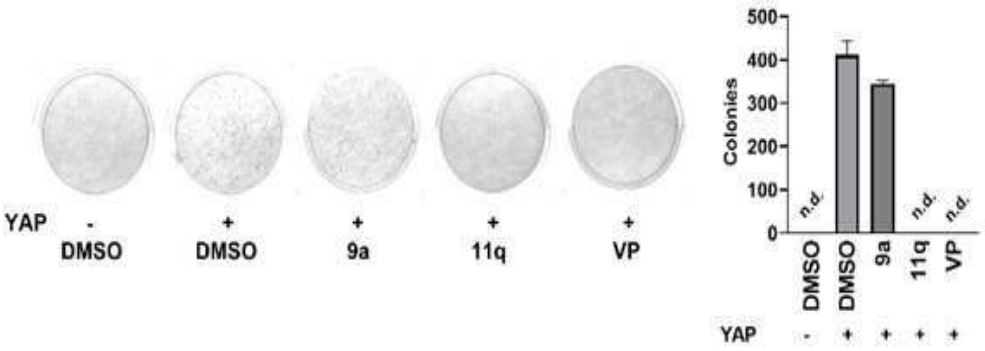
도면14


Relative cell viability
(Control+DMSO=1)
1.5
1.0
0.5
0.0
DMSO
DMSO
VP
9a
11q
YAP
-
+
+
+
+

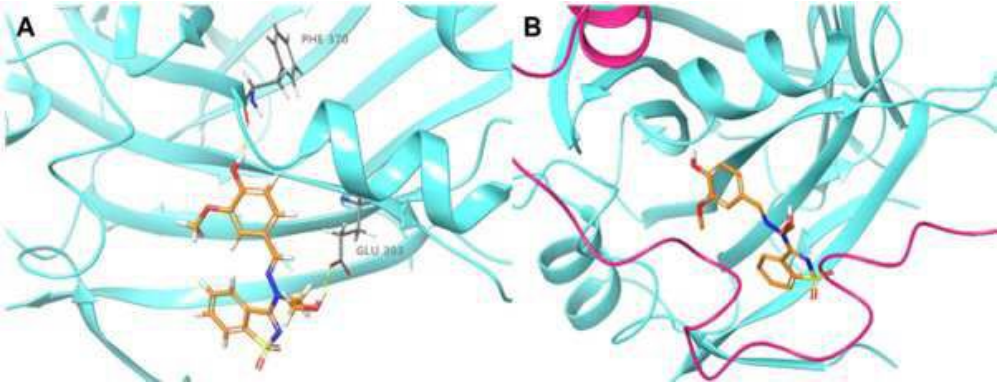
도면15


Relative cell viability
150
100
50
0
0.0
0.5
1.0
1.5
Log concentratioin
DMSO
VP IC50=1.265μM
9a IC50>20μM
11q IC50=3.184μM

도면16



도면17



도면18

