



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년10월12일
(11) 등록번호 10-1907716
(24) 등록일자 2018년10월05일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07C 39/205 (2006.01) *A61K 31/03* (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01) *C07C 39/215* (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2013-7032115
- (22) 출원일자(국제) 2012년05월04일
 심사청구일자 2017년04월03일
- (85) 번역문제출일자 2013년12월03일
- (65) 공개번호 10-2014-0043369
- (43) 공개일자 2014년04월09일
- (86) 국제출원번호 PCT/AU2012/000482
- (87) 국제공개번호 WO 2012/149608
 국제공개일자 2012년11월08일
- (30) 우선권주장
 2011901663 2011년05월04일 오스트레일리아(AU)
- (56) 선행기술조사문현
 KR1020030011980 A*
 WO2009012910 A1*

*는 심사관에 의하여 인용된 문현

전체 청구항 수 : 총 56 항

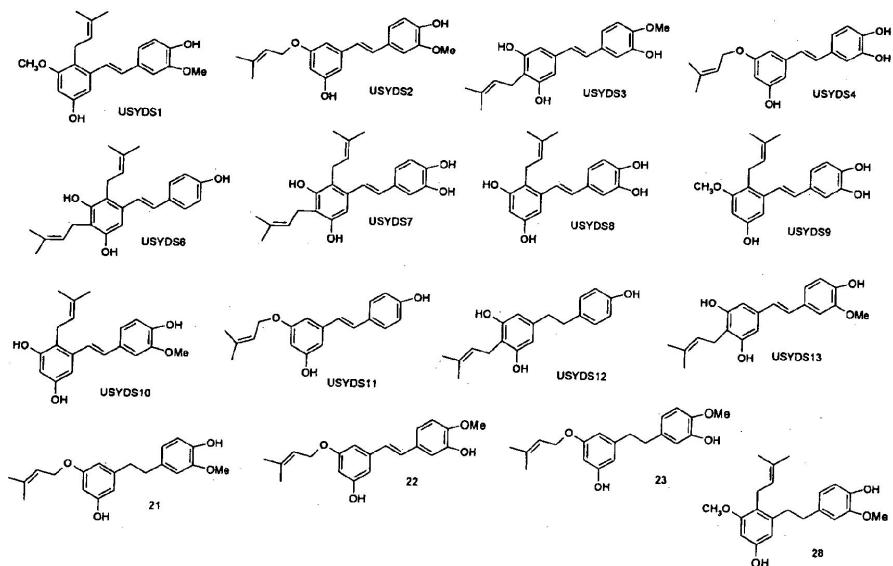
심사관 : 김민수

(54) 발명의 명칭 **프레닐화된 하이드록시스틸벤**

(57) 요 약

본 발명은 프레닐화된 스틸벤 화합물, 및 질병 및 의학적 질환, 예를 들어 암, 피부 노화, 염증, 세균성 또는 진균성 감염 및 면역억제의 치료에 있어서 이러한 화합물의 용도에 관한 것이다.

대 표 도



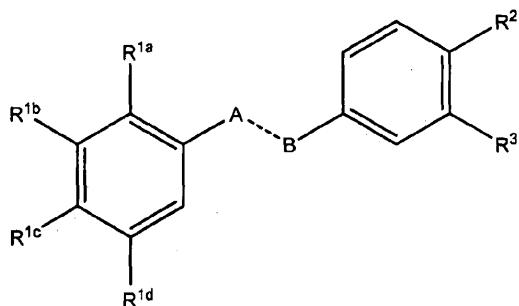
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 Ia의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 치료 효과량을 포함하는, 암, 면역억제, 염증, 세균성 감염, 진균성 감염 또는 피부 노화의 치료를 위한 약학 조성물:

화학식 Ia



상기 식에서,

R^{1a} 는 $CH_2CH=C(CH_3)_2$, $OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $CH=CHCH(CH_3)_2$, $CH=CHC(CH_3)=CH_2$, $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로 ◎] 루어진 군에서 선택되고,

R^{1b} 는 H, OH, OR^4 , $CH_2CH=C(CH_3)_2$, $OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $CH=CHCH(CH_3)_2$, $CH=CHC(CH_3)=CH_2$, $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로 ◎] 루어진 군에서 선택되고,

R^{1c} 는 H, OH, OR^4 , $CH_2CH=C(CH_3)_2$, $OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $CH=CHCH(CH_3)_2$, $CH=CHC(CH_3)=CH_2$, $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로 ◎] 루어진 군에서 선택되고,

R^{1d} 는 H, OH, OR^4 , $CH_2CH=C(CH_3)_2$, $OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $CH=CHCH(CH_3)_2$, $CH=CHC(CH_3)=CH_2$, $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로 ◎] 루어진 군에서 선택되되,

R^{1b} 내지 R^{1d} 중 하나 이상은 OH◎이고;

R^2 는 OH, OR^4 , $CH_2CH=C(CH_3)_2$, $OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $CH=CHC(CH_3)=CH_2$, $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로부터 선택되고;

R^3 은 OH, OR^4 , $CH_2CH=C(CH_3)_2$, $OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $CH=CHC(CH_3)=CH_2$, $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로부터 선택되고;

R^4 는 메틸, 애틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, t-부틸 및 벤질로부터 선택되고;

A----B는 $CH=CH$, $CH=CHX$ 및 CH_2-CH_2X 로부터 선택되고;

X는 $(CH_2)pCH_2$ ◎이고;

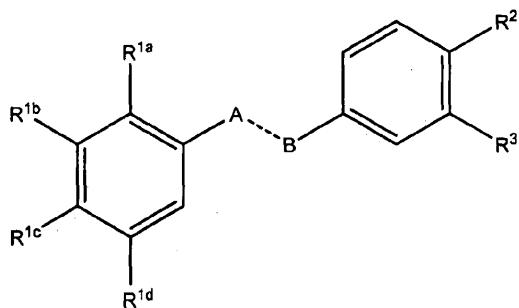
p는 0, 1, 2 및 3으로 이루어진 군으로부터 선택된 정수이다.

청구항 2

하기 화학식 Ia의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 치료 효과량을 포함하는, 암, 면

역억제, 염증, 세균성 감염, 진균성 감염 또는 피부 노화의 치료를 위한 약학 조성물:

화학식 Ia



상기 식에서,

R^{1a} 는 $CH_2CH=C(CH_3)_2$, $CH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로 이루어진 군에서 선택되고,

R^{1b} 는 OH , OR^4 , $OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로 이루어진 군에서 선택되고,

R^{1c} 는 H , $CH_2CH=C(CH_3)_2$, $CH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로 이루어진 군에서 선택되고,

R^{1d} 는 OH 및 OR^4 로 이루어진 군에서 선택되고,

R^{1b} 및 R^{1d} 중 하나 이상은 OH 이고;

R^2 는 OH 또는 OR^4 이고;

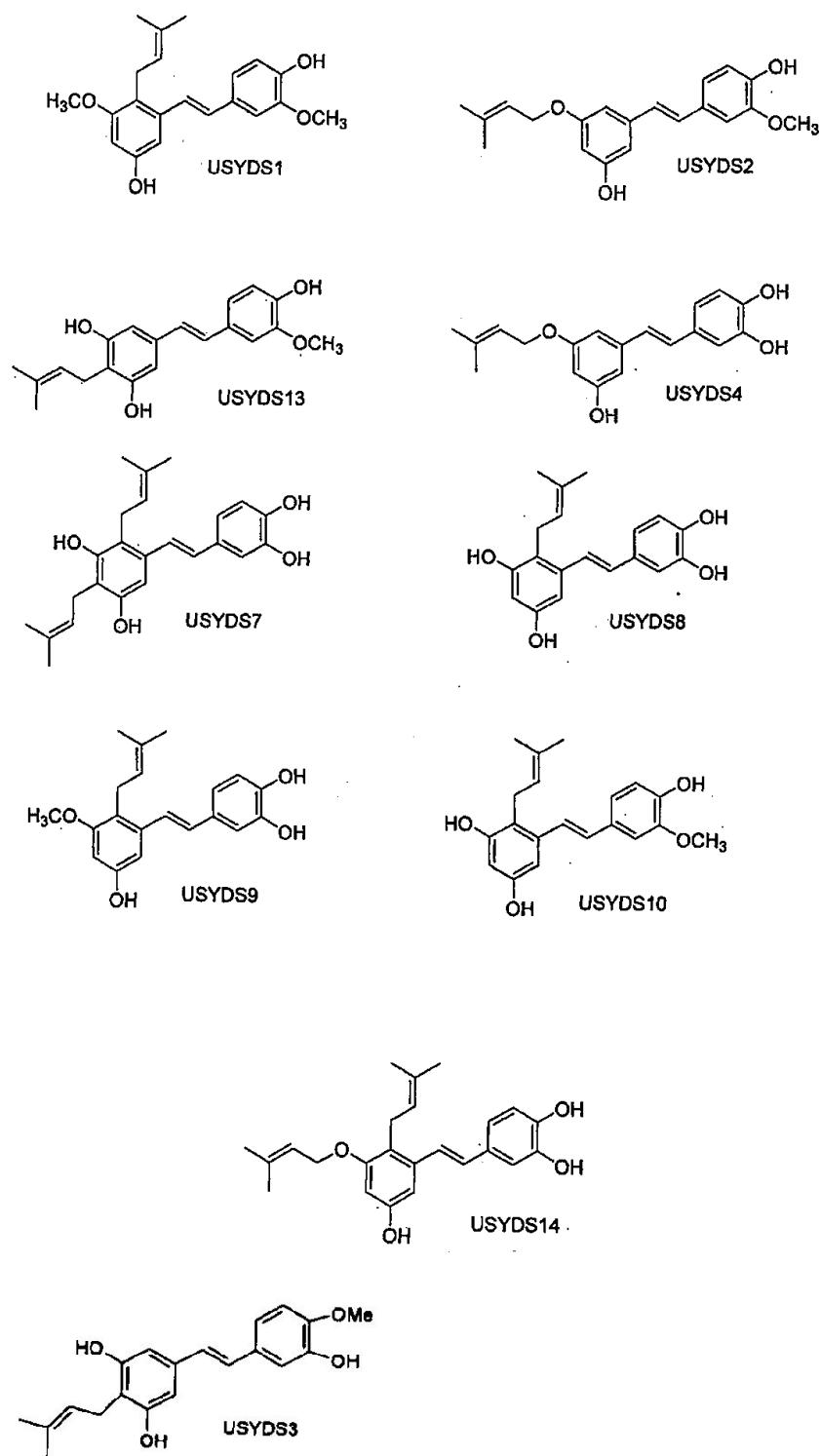
R^3 은 OH , OR^4 , $OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로 이루어진 군에서 선택되고;

R^4 는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, t-부틸 및 벤질로부터 선택되고;

$A-B$ 는 $CH=CH$ 이다.

청구항 3

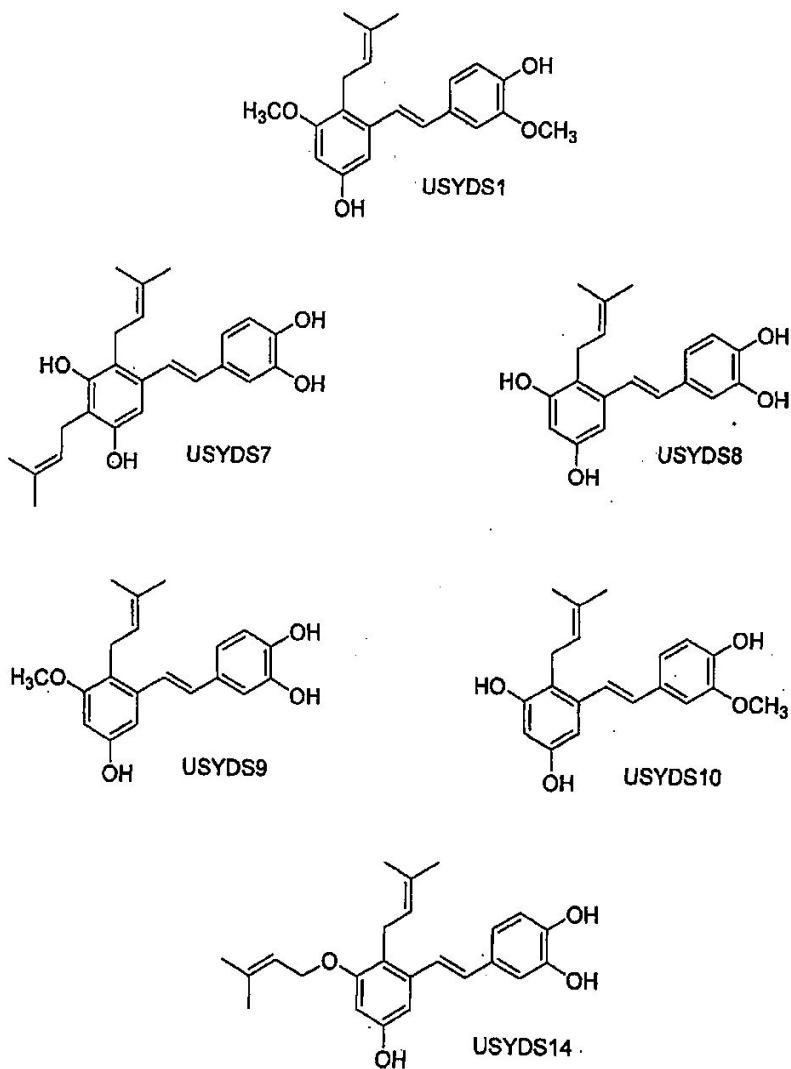
하기 화합물들로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 포함하는, 암 치료를 위한 약학 조성물:



청구항 4

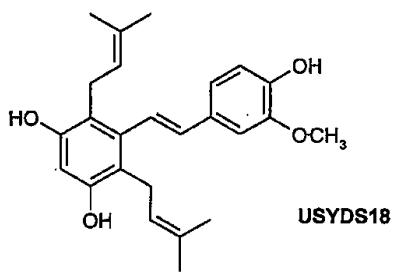
제1항에 있어서,

화학식 Ia의 화합물이 하기 화합물들, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물로 이루어진 군에서 선택되는, 약학 조성물:



청구항 5

하기 화학식 USYDS18의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 포함하는, 암, 면역억제, 염증, 세균성 감염, 진균성 감염 또는 피부 노화의 치료를 위한 약학 조성물:



청구항 6

제1항 내지 제5항중 어느 한 항에 있어서,

암이 백혈병, 비-소세포 폐암, 결장암, 중추신경계(CNS) 암, 흑색종, 난소암, 신장암, 전립선암 또는 유방암인 약학 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서,

암이 백혈병인 약학 조성물.

청구항 8

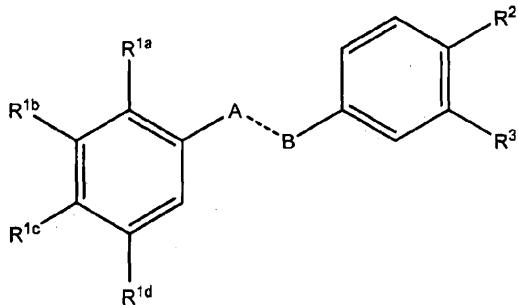
제6항에 있어서,

암이 흑색종인 약학 조성물.

청구항 9

하기 화학식 Ia의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:

화학식 Ia



상기 식에서,

R^{1a} 는 $CH_2CH=C(CH_3)_2$, $CH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로부터 선택되고,

R^{1b} 는 H, OH, OR^{4a} , $CH_2CH=C(CH_3)_2$, $OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $CH=CHCH(CH_3)_2$, $CH=CHC(CH_3)=CH_2$, $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로부터 선택되고,

R^{1c} 는 H, OH, OR^{4a} , $CH_2CH=C(CH_3)_2$, $OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $CH=CHCH(CH_3)_2$, $CH=CHC(CH_3)=CH_2$, $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로부터 선택되고,

R^{1d} 는 H, OH, $CH_2CH=C(CH_3)_2$, $OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $CH=CHCH(CH_3)_2$, $CH=CHC(CH_3)=CH_2$, $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로부터 선택되되,

R^{1b} 내지 R^{1d} 중 하나 이상은 OH이고;

R^2 는 OH 및 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로부터 선택되고;

R^3 은 OH, OR^{4a} , $OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $CH=CHC(CH_3)=CH_2$, $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로부터 선택되고;

R^4 는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, t-부틸 및 벤질로부터 선택되고;

R^{4a} 는 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, t-부틸 및 벤질로부터 선택되고;

A----B는 $CH=CH$, $CH=CHX$ 및 CH_2-CH_2X 로부터 선택되고;

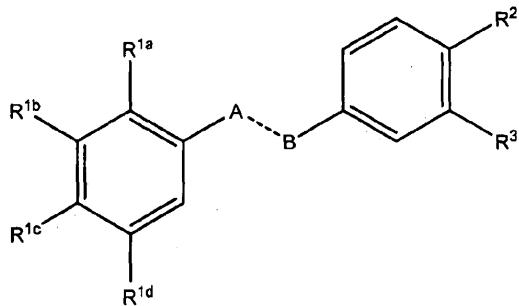
X는 $(CH_2)pCH_2$ 이고;

p는 0, 1, 2 및 3으로 이루어진 균으로부터 선택된 정수이다.

청구항 10

하기 화학식 Ia의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:

화학식 Ia



상기 식에서,

R^{1a} 는 $CH_2CH=C(CH_3)_2$, $CH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로부터 선택되고,

R^{1b} 는 OH , OR^4 , $OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로부터 선택되고,

R^{1c} 는 H , $CH_2CH=C(CH_3)_2$, $CH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로부터 선택되고,

R^{1d} 는 OH , $OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로부터 선택되되,

R^{1b} 및 R^{1d} 중 하나 이상은 OH 이고;

R^2 는 OH 이고;

R^3 는 OH , OR^4 , $OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로부터 선택되고;

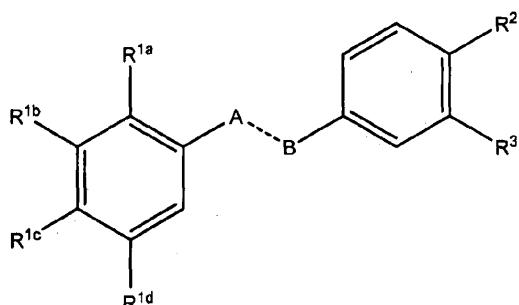
R^4 는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, t-부틸 및 벤질로부터 선택되고;

$A-B$ 는 $CH=CH$ 이다.

청구항 11

하기 화학식 Ia의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:

화학식 Ia



상기 식에서,

R^{1a} 는 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 및 $CH=CHCH(CH_3)_2$ 로부터 선택되고,

R^{1b} 는 OH , OCH_3 , OEt , OPr , O^iPr , OBu , O^iBu , O^tBu , OBn 및 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 로부터 선택되고,

R^{1c} 는 H , $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 및 $CH=CHCH(CH_3)_2$ 로부터 선택되고,

R^{1d} 는 OH이고,

R^2 는 OH이고,

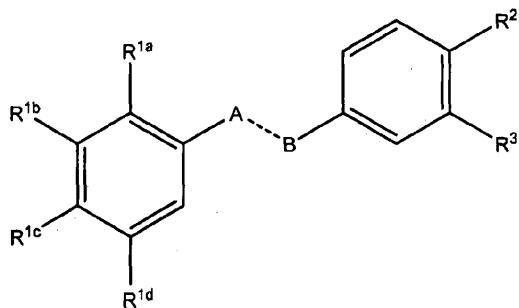
R^3 은 OH, OCH_3 , OEt , OPr , O^iPr , OBu , O^iBu , O^tBu 및 OBn 로부터 선택되고,

A---B는 $CH=CH$ 이다.

청구항 12

하기 화학식 Ia의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:

화학식 Ia



상기 식에서,

R^{1a} 는 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 이고,

R^{1b} 는 OH, OCH_3 , OEt , OPr , O^iPr , OBu , O^iBu , O^tBu , OBn 및 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 로부터 선택되고,

R^{1c} 는 H 및 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 로부터 선택되고,

R^{1d} 는 OH이고,

R^2 는 OH이고,

R^3 은 OH, OCH_3 , OEt , OPr , O^iPr , OBu , O^iBu , O^tBu 및 OBn 로부터 선택되고,

A---B는 $CH=CH$ 이다.

청구항 13

제9항에 있어서,

R^{1b} 내지 R^{1d} 중 하나가 H인 화합물.

청구항 14

제9항 또는 제11항에 있어서,

R^{1b} 내지 R^{1d} 중 어느 것도 H가 아닌 화합물.

청구항 15

제9항에 있어서,

R^{1a} 내지 R^{1d} 중 하나 이상이 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 인 화합물.

청구항 16

제9항에 있어서,

R^{1b} 및 R^{1d} 중 하나 이상이 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 인 화합물.

청구항 17

제9항에 있어서,

R^{1a} 내지 R^{1d} 중 2개 이상이 OH인 화합물.

청구항 18

제9항에 있어서,

R^{1b} 가 OR^4 이고, R^4 가 메틸인 화합물.

청구항 19

제9항 또는 제10항에 있어서,

R^3 이 OR^4 이고, R^4 가 메틸인 화합물.

청구항 20

제9항 또는 제10항에 있어서,

R^2 및 R^3 이 둘다 OH인 화합물.

청구항 21

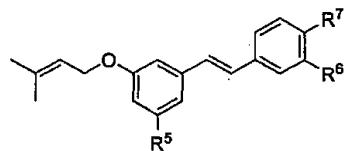
제9항에 있어서,

A---B가 $CH=CH$ 인 화합물.

청구항 22

하기 화학식 Ib의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:

화학식 Ib



상기 식에서,

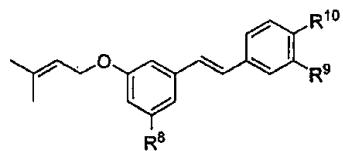
R^5 는 기 OEt , OPr , O^iPr , OBu , O^iBu , O^tBu 및 OBn 으로부터 선택되고;

R^6 및 R^7 은 각각 독립적으로 기 OMe , OEt , OPr , O^iPr , OBu , O^iBu , O^tBu 및 OBn 으로부터 선택된다.

청구항 23

하기 화학식 Ic의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:

화학식 Ic



상기 식에서,

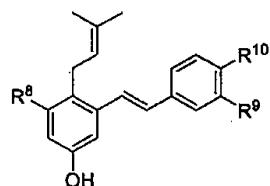
R^8 은 기 OH, OEt, OPr, O^iPr , O^iBu , O^iBu 및 O^tBu 로부터 선택되고;

R^9 및 R^{10} 은 각각 독립적으로 기 OH, OMe, OEt, OPr, O^iPr , O^iBu , O^iBu 및 O^tBu 로부터 선택된다.

청구항 24

하기 화학식 Ie의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:

화학식 Ie



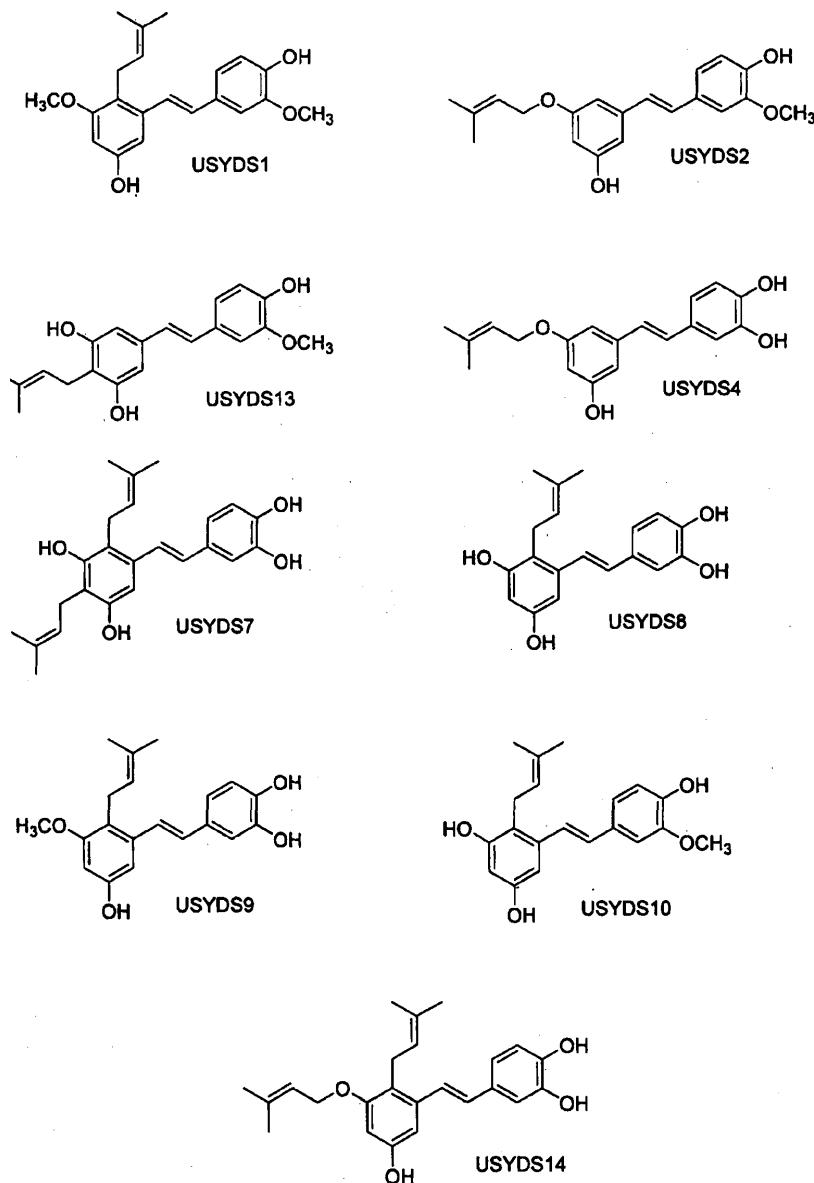
상기 식에서,

R^8 및 R^9 은 각각 독립적으로 기 OH, OMe, OEt, OPr, O^iPr , O^iBu , O^iBu 및 O^tBu 로부터 선택되고,

R^{10} 은 OH이다.

청구항 25

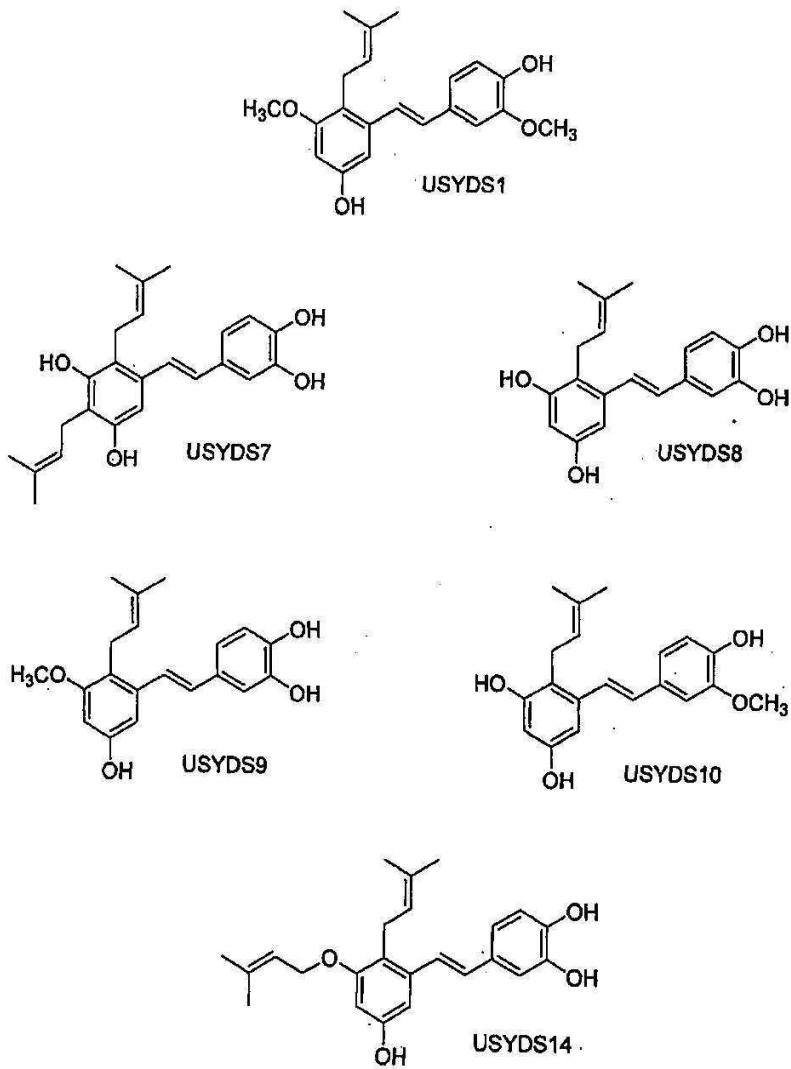
하기 화합물들로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:



청구항 26

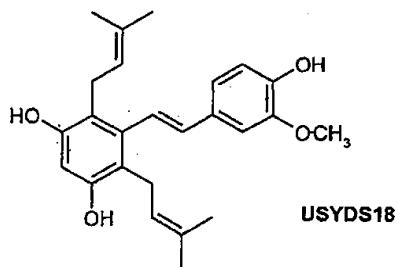
제9항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

하기 화합물들로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:



청구항 27

하기 화학식 USYDS18의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:



청구항 28

제9항 내지 제12항, 제22항 내지 제25항 및 제27항 중 어느 한 항에 있어서,
화학적으로 합성된 화합물.

청구항 29

제9항 내지 제12항, 제22항 내지 제25항 및 제27항 중 어느 한 항에 있어서,

레피도스퍼마 속의 식물에서 유래하는 프로폴리스로부터 단리된 화합물.

청구항 30

제9항 내지 제12항, 제22항 내지 제25항 및 제27항 중 어느 한 항에 있어서,

레피도스퍼마 속의 수지, 겸 또는 삼출물로부터 단리된 화합물.

청구항 31

제9항 내지 제12항, 제22항 내지 제25항 및 제27항 중 어느 한 항에 따른 화합물을 포함하는, 암, 면역억제, 염증, 세균성 감염, 진균성 감염 또는 피부 노화의 치료를 위한 약제.

청구항 32

(i) 하기 반응식 1에 따라서 카복실산을 적합한 약품으로 처리하여 산 클로라이드를 제조하는 단계;

(ii) 하기 반응식 2에 따라서 상응하는 산 클로라이드를 아릴 알켄과 축합하는 단계; 및

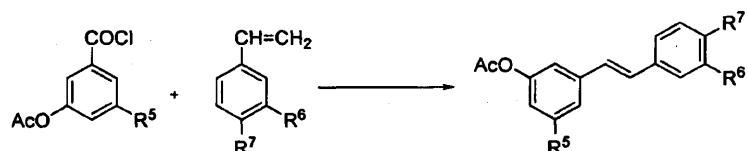
(iii) 하기 반응식 3에 따라서 아세테이트 기를 탈보호하고 알킬화시키는 단계

를 포함하는, 화학식 Ib의 화합물의 제조 방법:

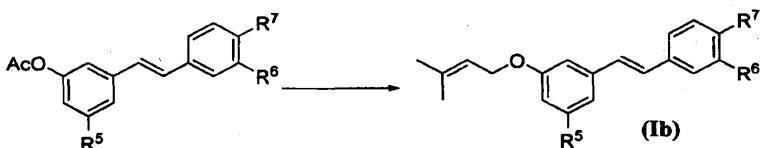
반응식 1



반응식 2



반응식 3



상기 식에서,

R⁵는 기 OMe, OEt, OPr, OⁱPr, OBu, OⁱBu, O^tBu 및 OBn으로부터 선택되고;

R⁶ 및 R⁷은 각각 독립적으로 기 OMe, OEt, OPr, OⁱPr, OBu, OⁱBu, O^tBu 및 OBn으로부터 선택된다.

청구항 33

(i) 하기 반응식 1에 따라서 카복실산을 적합한 약품으로 처리하여 산 클로라이드를 제조하는 단계;

(ii) 하기 반응식 2에 따라서 상응하는 산 클로라이드를 아릴 알켄과 축합하는 단계;

(iii) 하기 반응식 3에 따라서 아세테이트 기를 탈보호하고 알킬화시키는 단계; 및

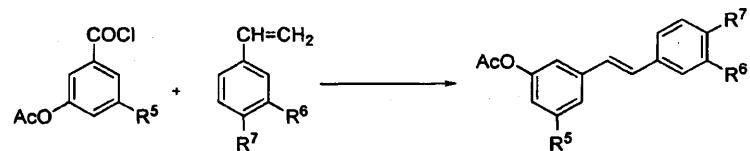
(iv) 하기 반응식 4에 따라서 수소화 반응시키는 단계

를 포함하는, 화학식 Ic의 화합물 및 화학식 Id의 화합물의 제조 방법:

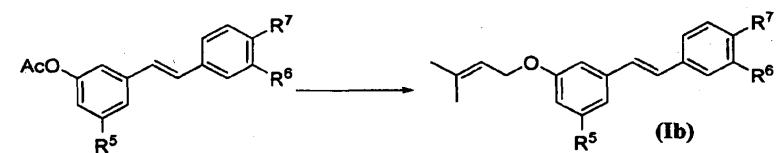
반응식 1



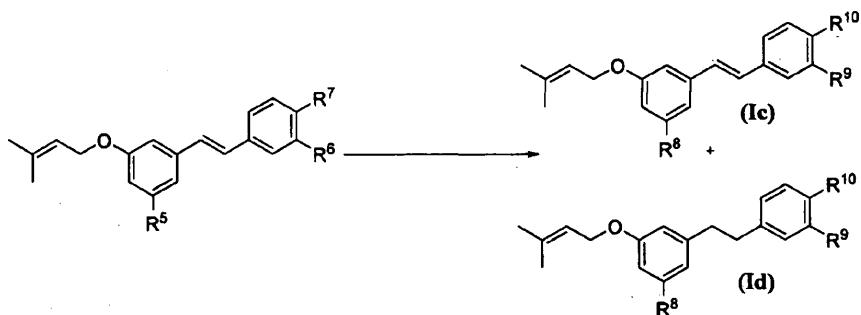
반응식 2



반응식 3



반응식 4



상기 식에서,

R^5 는 기 OMe, OEt, OPr, O^iPr , OBu, O^iBu , O^tBu 및 OBn으로부터 선택되고,

R^6 및 R^7 은 각각 독립적으로 기 OMe, OEt, OPr, O^iPr , OBu, O^iBu , O^tBu 및 OBn으로부터 선택되되,

R^5 , R^6 및 R^7 중 하나 이상은 OBn이고,

R^8 은 OH, OMe, OEt, OPr, O^iPr , OBu, O^iBu 및 O^tBu 로부터 선택되고,

R^9 및 R^{10} 은 각각 독립적으로 OH, OMe, OEt, OPr, O^iPr , OBu, O^iBu 및 O^tBu 로부터 선택된다.

청구항 34

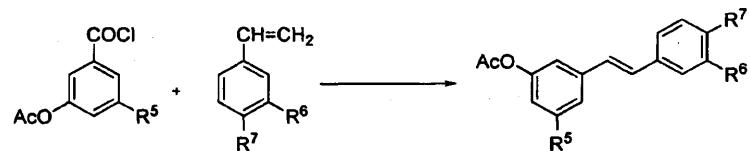
- 하기 반응식 1에 따라서 카복실산을 적합한 약품으로 처리하여 산 클로라이드를 제조하는 단계;
- 하기 반응식 2에 따라서 상응하는 산 클로라이드를 아릴 알켄과 축합하는 단계;
- 하기 반응식 3에 따라서 아세테이트 기를 탈보호하고 알킬화시키는 단계;
- 하기 반응식 4에 따라서 수소화 반응시키는 단계;
- 하기 반응식 5에 따라서 프레닐 기를 채배열하는 단계; 및
- 하기 반응식 6에 따라서 수소화 반응시키는 단계

를 포함하는, 화학식 Ie의 화합물 및 화학식 If의 화합물의 제조 방법:

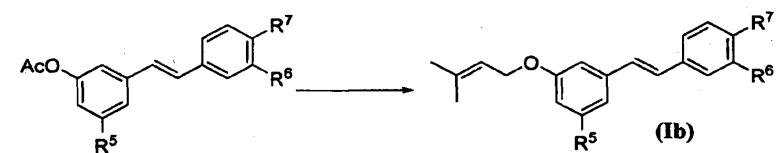
반응식 1



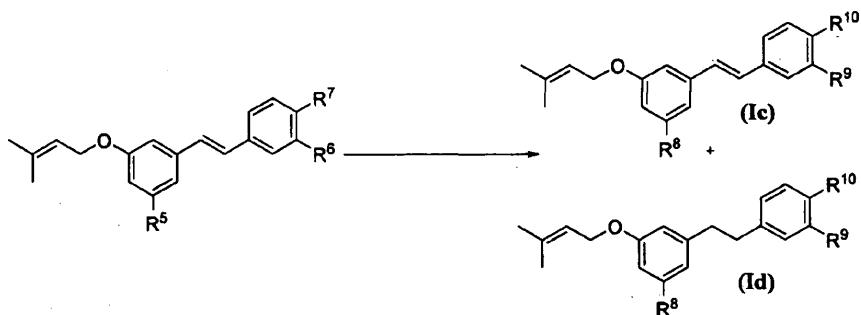
반응식 2



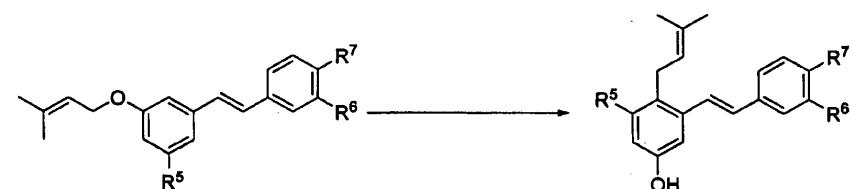
반응식 3



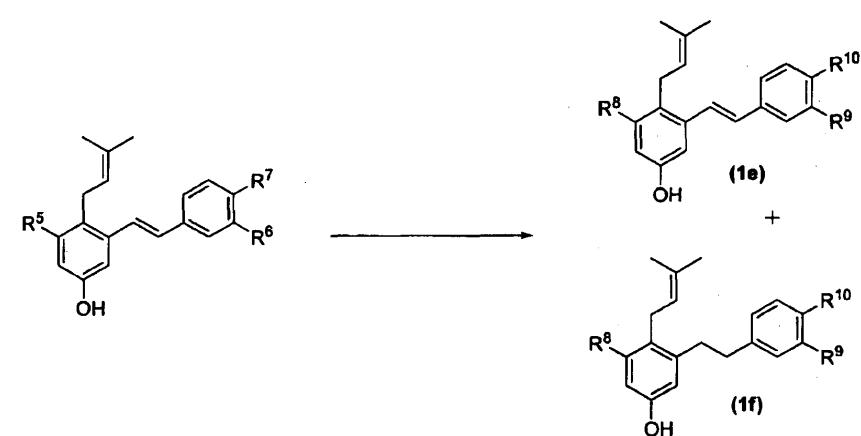
반응식 4



반응식 5



반응식 6



상기 식에서,

R^5 는 기 OMe, OEt, OPr, O^iPr , OBu, O^iBu , O^tBu 및 OBn으로부터 선택되고,

R^6 및 R^7 은 각각 독립적으로 기 OMe, OEt, OPr, O^iPr , OBu, O^iBu , O^tBu 및 OBn으로부터 선택되되,

R^5 , R^6 및 R^7 중 하나 이상은 OBn이고,

R^8 은 OH, OMe, OEt, OPr, O^iPr , OBu, O^iBu 및 O^tBu 로부터 선택되고,

R^9 및 R^{10} 은 각각 독립적으로 OH, OMe, OEt, OPr, O^iPr , OBu, O^iBu 및 O^tBu 로부터 선택된다.

청구항 35

제32항 내지 제34항중 어느 한 항에 있어서,

단계 (ii)의 축합 반응이 팔라듐 촉매의 존재하에 수행되는 제조 방법.

청구항 36

제35항에 있어서,

팔라듐 촉매가 팔라듐(II) 아세테이트인 제조 방법.

청구항 37

제32항 내지 제34항중 어느 한 항에 있어서,

단계 (iii)의 알킬화 반응이 금속 하이드라이드 및 할로겐화된 프레닐 시약의 존재하에 수행되는 제조 방법.

청구항 38

제37항에 있어서,

금속 하이드라이드가 나트륨 하이드라이드인 제조 방법.

청구항 39

제37항에 있어서,

할로겐화된 프레닐 시약이 $BrCH_2CH=C(CH_3)_2$ 인 제조 방법.

청구항 40

제33항 또는 제34항에 있어서,

단계 (iv) 또는 (vi)의 수소화 반응이 용매의 혼합물중에서 팔라듐 촉매의 존재하에 수행되는 제조 방법.

청구항 41

제40항에 있어서,

팔라듐 촉매가 탄소상의 팔라듐인 제조 방법.

청구항 42

제40항에 있어서,

용매의 혼합물이 1,4-사이클로헥사다이엔 및 에탄올을 포함하는 제조 방법.

청구항 43

제34항에 있어서,

단계 (v)의 재배열이 마그네슘 실리케이트 입자, 실리카 또는 알루미나 입자의 존재하에 수행되는 제조 방법.

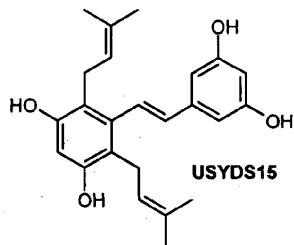
청구항 44

제34항 또는 제43항에 있어서,

단계 (v)의 재배열이 마이크로파 방사선 또는 빛의 존재하에 수행되는 제조 방법.

청구항 45

하기 화학식 USYDS15의 화합물:



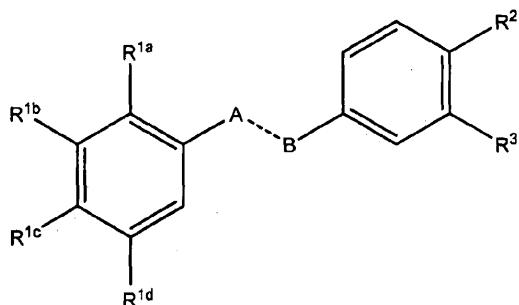
청구항 46

제45항의 화합물을 포함하는, 암, 면역억제, 염증, 진균성 또는 세균성 감염 또는 피부 노화의 치료를 위한 약제.

청구항 47

하기 화학식 Ia의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:

화학식 Ia



상기 식에서,

R^{1a} 는 H이고,

R^{1b} 는 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 및 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 로부터 선택되고,

R^{1c} 는 H이고,

R^{1d} 는 OH이고,

R^2 는 OH 및 OR^4 로부터 선택되고,

R^3 은 OH 및 OR^4 로부터 선택되고,

R^4 는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, t-부틸 및 벤질로부터 선택되고,

A---B는 $CH=CH$ 이다.

청구항 48

제47항에 있어서,

R^{1b} 가 OCH₂CH=C(CH₃)₂인 화합물.

청구항 49

제47항 또는 제48항에 있어서,

R² 가 OH인 화합물.

청구항 50

제47항 또는 제48항에 있어서,

R² 가 OR⁴이고 R⁴ 가 메틸인 화합물.

청구항 51

제47항 또는 제48항에 있어서,

R³ 이 OH인 화합물.

청구항 52

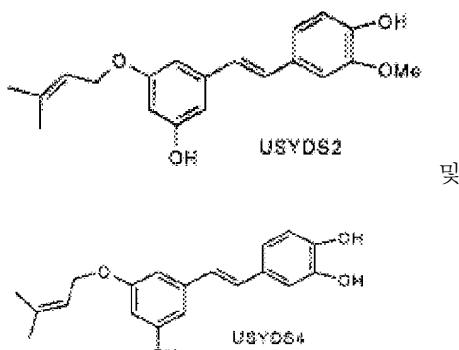
제47항 또는 제48항에 있어서,

R³ 이 OR⁴이고 R⁴ 가 메틸인 화합물.

청구항 53

제47항 또는 제48항에 있어서,

하기 화합물들로 이루어진 군에서 선택되는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:



청구항 54

제47항 또는 제48항에 따른 화합물의 제조 방법으로서, 상기 화합물이 레피도스퍼마 속의 식물에서 유래하는 프로폴리스로부터 단리되는, 제조 방법.

청구항 55

제47항 또는 제48항에 따른 화합물의 제조 방법으로서, 상기 화합물이 레피도스퍼마 속의 수지, 겸 또는 삼출물로부터 단리되는, 제조 방법.

청구항 56

제47항 또는 제48항에 따른 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 및 약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는, 암, 면역억제, 염증, 세균성 또는 진균성 감염 또는 피부 노화의 치료를 위한 약학 조성물.

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신규한 브레닐화된 스틸벤 화합물 및 질병 및 의학적 질환, 예를 들어 암 및 피부 노화의 치료에 있어서 이러한 화합물의 용도에 관한 것이다.

[0002] 관련 출원에 대한 상호참조

[0003] 본원은 오스트레일리아 특허출원 제2011901663호(이의 내용은 본원에 참고로서 혼입되어 있음)를 우선권 주장한다.

배경기술

[0004] 프로폴리스(또는 소위 봉교(bee glue))는 특정 나무 및 관목의 새순 및 쌍의 삼출물 및 분비물로부터 작업자 꿀벌(아피스 멜리페라(*Apis mellifera*))에 의해 수집된 복합 수지 물질이다. 프로폴리스는 벌집내의 구멍 및 균열을 밀봉시키고 미생물 감염으로부터 보호하기 위해 벌에 의해 사용된다.

[0005] 프로폴리스는 생체활성 물질의 풍부한 공급원이고 프로폴리스의 의약 용도는 고대 문명까지 거슬러 올라간다. 현재, 프로폴리스는 천연 건강 제품으로서 광범위하게 이용가능하고, 화장품에 광범위하게 사용된다. 그러나, 주로 상이한 식물 공급원 또는 식물 공급원의 혼합물로부터 수집하는 꿀벌로부터 유래하는 화학 조성의 광범위한 변형 때문에, 현대 의학에서의 용도는 제한적이다. 프로폴리스의 조성은 벌꿀이 접근하는 주변 식물상 (flora)에 따라 변하고, 또한 식물상의 차이는 프로폴리스 조성의 차이를 야기할 수 있다. 예를 들어, 플라보노이드가 유럽 프로폴리스의 주요 약리학적 활성 화합물이고, 폴리프레닐화된 벤조페논이 쿠바 및 베네주엘라 프로폴리스의 주요 성분이고, 프레닐화된 신남산 유도체가 브라질 프로폴리스에서 우세함이 공지되어 있다.

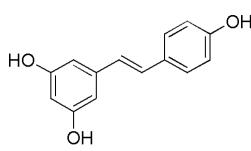
[0006] 꿀벌에 의해 생산된 프로폴리스의 식물 유래의 인식이 단일 식물 공급원으로부터의 프로폴리스가 생산되어 고 품질 및 효능의 의약의 제조를 가능하게 하는 바람직한 위치에 벌집을 위치시키는 것을 가능하게 한다.

[0007] 프로폴리스의 약으로서의 진귀함은 비교적 비-극성이고 항생제 특성을 갖는 천연 물질을 인식할 수 있는 꿀벌의 선택적인 수집 능력에 의해 결정된다. 보고된 바와 같이, 프로폴리스의 통상적인 공급원은 잎 및 꽃눈 삼출물이고, 이들은 미생물에 의한 공격으로부터 식물 조직의 여린 성장을 보호하기 위하여 높은 항생제 특성을 갖는다. 꿀벌이 상처입거나 병든 식물 조직으로부터 삼출물을 수집함이 또한 보고되었다. 이러한 공급원은 잠재적으로 곤충, 미생물 및 바이러스로부터의 공격 또는 상처에 반응하여 식물에 의해 생산된 항생제 물질이 풍부하다.

[0008] 벌이 단순히 프로폴리스로서 공지된 식물 물질을 수집하는지 여부, 또는 벌에 의한 대사적인 변형 또는 침가가 존재하는지 여부는 종래 연구로부터 명백하지가 않다. 그러나, 꿀벌로부터 부가된 상당한 양의 물질의 증거 또는 대사 변형을 위한 강한 증거는 나타나지 않았다.

[0009] 따라서, 프로폴리스를 완전히 이롭게 이용할 수 있도록 지리학적인 특정 위치에서의 프로폴리스의 조성에 관해 보다 잘 이해하는 것이 요구된다.

[0010] 본 발명에 이르게 된 연구에서, 본 발명자들은 캥거루 아일랜드(사우스 오스트레일리아)에서 분리한 프로폴리스 샘플의 조사를 수행하였고, 놀랍게도, 활성 구성요소로서 플라보노이드를 통상적으로 함유하는 다른 프로폴리스 와는 달리, 캥거루 아일랜드 프로폴리스가 스텔벤, 보다 구체적으로, 하기 도시된 레스베라트롤과 핵심 구조가 유사한 신규한 프레닐화 폴리하이드록시스틸벤(pPHOS)을 함유함을 발견하였다:



레스베라트롤

[0011]

[0012] 레스베라트롤은, 매우 진귀한 음식의 높은 소비에도 불구하고, 프랑스인의 심장마비의 낮은 발병률에 공헌하는 것으로 여겨지는 적포도주의 구성요소이다. 실제로, 레스베라트롤은 죽상경화증 및 관동맥성 심장병을 야기하는 LDL 산화를 억제하는 것으로 나타났다. 레스베라트롤은 또한 예방적인 항-노화 약물중 납 화합물이고, 또한 항암 및 산화방지 활성을 갖는 것으로 밝혀졌다.

[0013]

그러나, 이의 치료 특성에도 불구하고, 레스베라트롤은 매우 불량한 경구 생체이용가능성을 나타내고, 창자 및 간에서 글루쿠론에이트 및 설페이트 접합물로 신속하게 물질대사된다. 레스베라트롤의 생체내 효능은 단지 높은 농도(5g 이하) 또는 정맥내 또는 국소 적용과 같은 직접적인 투여의 경우에 관찰된다.

[0014]

최근, 글락소스미스클라인(GlaxoSmithKline: GSK) 파마슈티컬(Pharmaceutical)은 다발성 골수종의 치료에 있어서 레스베라트롤(3 내지 5g)의 독점적인 제형(SRT501)의 IIa 상 임상 시험을 수행하였지만, 제형이 극소의 효능

만 제공하고 시험중인 여러 환자에서 신부전이 발병되었으므로 상기 시험이 중단되었다.

[0015] 프레닐화된 하이드록시스틸벤은 주로 모라세아에(*Moraceae*) 과(뽕나무 과, 예컨대 모루스 알바(*Morus alba*)(뽕나무), 및 다양한 아르토카르푸스(*Artocarpus*) 종) 및 파바세아에(*Fabaceae*) 과(콩 과, 예컨대 아라키스 하이포가에아(*Arachis hypogaea*)(땅콩))로부터의 식물에서 보고되었다. 단리된 화합물은 항-염증, 항미생물 및 산화방지 활성을 나타내는 것으로 보고되었고, 이에 따라 프레닐 기가 하이드록시스틸벤의 생물학적 활성에 불리한 영향을 주지 않음을 시사한다.

[0016] 실제로, 프레닐화된 하이드록시스틸벤은 이의 친지성에 기인하여 하이드록시스틸벤, 예컨대 레스베라트롤의 낮은 생체이용가능성의 문제를 회피한다. 하나 이상의 프레닐 기의 존재에 기인하여, 화합물이 더욱 용이하게 세포 막을 통과할 수 있고, 글루쿠론에이트 및 살레이트 접합물의 형성이 회피될 수 있고, 이에 따라 화합물의 생체이용가능성을 개선하고, 더욱 일반적으로 새로운 치료제의 개발을 위한 보다 우수한 약물 후보를 제공한다. 종래에, 레스베라트롤의 테트라메톡시 유도체가 레스베라트롤보다 용이하게 래트의 혈액-뇌 장벽을 통과할 수 있음이 증명되었다.

[0017] 따라서, 캉거루 아일랜드의 프로폴리스 샘플로부터 단리된 신규한 pPHOS 유도체는 암과 같은 질병의 치료에 있어서 신규한 치료제의 개발을 위한 강력한 후보이다.

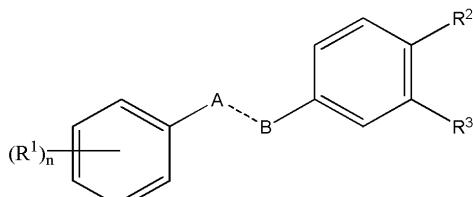
[0018] 본원에 포함된 문헌, 법령, 자료, 장치, 제품 등에 대한 임의의 논의는 이러한 임의의 또는 모든 내용이 종래 기술의 근거의 일부를 형성하거나 본원의 각각의 청구항의 우선일 전에 존재하는 것으로서 본 발명이 속하는 분야의 통상적이고 일반적인 지식임을 승인하는 것으로서 이해되어서는 안 된다.

발명의 내용

[0019] 본 발명에 이르게 된 연구에서, 본 발명자들은 다수의 신규한 프레닐화 폴리하이드록시스틸벤(pPHOS) 유도체를 단리하고 합성하였고, 이러한 화합물이 암 세포주, 특히 백혈병 및 흑색종 세포주의 패널에서 높은 효능 및 선택성을 나타내는 시험판내 실험을 수행하였다. 다른 예비적인 실험에서, 다수의 신규한 pPHOS 유도체가 SIRT1 효소의 활성을 조절하는 것으로 밝혀졌고, 이는 본 발명의 신규한 pPHOS 화합물이 광범위한 질병의 치료를 위한 치료제에 이를 수 있음을 나타낸다.

[0020] 따라서, 본 발명의 제1 양상에서, 하기 화학식 I의 화합물, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 상기 화합물을 포함하는 약학 조성물의 치료 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함하는 암의 치료 방법이 제공된다:

[0021] [화학식 I]



[0022]

[0023] 상기 식에서,

[0024] R¹은 독립적으로 H, OH, OR⁴, CH₂CH=C(CH₃)₂, OCH₂CH=C(CH₃)₂, CH=CHCH(CH₃)₂, CH=CHC(CH₃)=CH₂, OCH=CHCH(CH₃)₂ 또는 OCH=CHC(CH₃)=CH₂이 되, 하나 이상의 R¹은 CH₂CH=C(CH₃)₂, OCH₂CH=C(CH₃)₂, CH=CHCH(CH₃)₂, CH=CHC(CH₃)=CH₂, OCH=CHCH(CH₃)₂ 또는 OCH=CHC(CH₃)=CH₂이 고;

[0025] R²는 OH, OR⁴, CH₂CH=C(CH₃)₂, OCH₂CH=C(CH₃)₂, CH=CHCH(CH₃)₂, CH=CHC(CH₃)=CH₂, OCH=CHCH(CH₃)₂ 및 OCH=CHC(CH₃)=CH₂로부터 선택되고;

[0026] R³은 H, OH, OR⁴, CH₂CH=C(CH₃)₂, OCH₂CH=C(CH₃)₂, CH=CHCH(CH₃)₂, CH=CHC(CH₃)=CH₂, OCH=CHCH(CH₃)₂ 및

OCH=CHC(CH₃)=CH₂로부터 선택되고;

[0027] R⁴는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, t-부틸 및 벤질로부터 선택되고;

[0028] n은 1, 2, 3 및 4로 이루어진 군으로부터 선택된 정수이고;

[0029] A---B는 CH=CH, CH₂-CH₂, CH=CHX 및 CH₂-CH₂X로부터 선택되고;

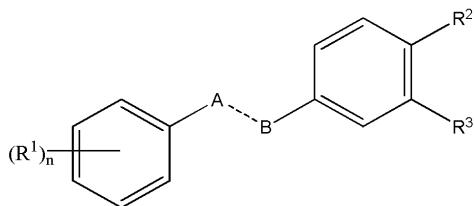
[0030] X는 (CH₂)_pCH₂이고;

[0031] p는 0, 1, 2 및 3으로 이루어진 군으로부터 선택된 정수이되;

[0032] R²가 OH이고 R³이 H 또는 OH이고 A---B가 CH=CH이고 n이 3이고 R¹ 기중 2개가 OH인 경우, 세 번째 R¹기는 CH=CHCH(CH₃)₂가 아니다.

[0033] 본 발명의 제2 양상에서, 하기 화학식 I의 화합물, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 상기 화합물을 포함하는 약학 조성물의 치료 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함하는 암의 치료 방법이 제공된다:

[0034] 화학식 I



[0035]

[0036] 상기 식에서,

[0037] R¹은 독립적으로 H, OH, OR⁴, CH₂CH=C(CH₃)₂, OCH₂CH=C(CH₃)₂, CH=CHCH(CH₃)₂, CH=CHC(CH₃)=CH₂, OCH=CHCH(CH₃)₂

또는 OCH=CHC(CH₃)=CH₂이 되, 하나 이상의 R¹은 CH₂CH=C(CH₃)₂, OCH₂CH=C(CH₃)₂, CH=CHCH(CH₃)₂, CH=CHC(CH₃)=CH₂, OCH=CHCH(CH₃)₂ 또는 OCH=CHC(CH₃)=CH₂이고;

[0038] R²는 OH, OR⁴, CH₂CH=C(CH₃)₂, OCH₂CH=C(CH₃)₂, CH=CHCH(CH₃)₂, CH=CHC(CH₃)=CH₂, OCH=CHCH(CH₃)₂ 및 OCH=CHC(CH₃)=CH₂로부터 선택되고;

[0039] R³은 H, OH, OR⁴, CH₂CH=C(CH₃)₂, OCH₂CH=C(CH₃)₂, CH=CHCH(CH₃)₂, CH=CHC(CH₃)=CH₂, OCH=CHCH(CH₃)₂ 및 OCH=CHC(CH₃)=CH₂로부터 선택되고;

[0040] R⁴는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, t-부틸 및 벤질로부터 선택되고;

[0041] n은 1, 2, 3 및 4로 이루어진 군으로부터 선택된 정수이고;

[0042] A---B는 CH=CH, CH₂-CH₂, CH=CHX 및 CH₂-CH₂X로부터 선택되고;

[0043] X는 (CH₂)_pCH₂이고;

[0044] p는 0, 1, 2 및 3으로 이루어진 군으로부터 선택된 정수이다.

[0045] 제3 양상에서, 약제로서 사용하기 위한 제1 양상 또는 제2 양상에 따른 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학 조성물이 제공된다.

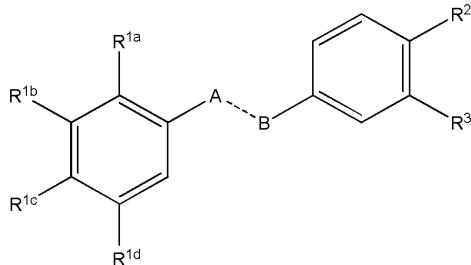
[0046] 제4 양상에서, 치료법에 사용하기 위한 제1 양상 또는 제2 양상에 따른 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학 조성물이 제공된다.

[0047] 본 발명의 제5 양상에서, 암의 치료에 사용하기 위한 제1 양상 또는 제2 양상에 따른 화학식 I의 화합물 또는

이의 약학 조성물이 제공된다.

- [0048] 본 발명의 제6 양상에서, 제1 양상 또는 제2 양상에 따른 화학식 I의 화합물 또는 상기 화합물을 포함하는 약학 조성물의 치료 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함하는, 면역억제의 치료 방법이 제공된다.
- [0049] 본 발명의 제7 양상에서, 제1 양상 또는 제2 양상에 따른 화학식 I의 화합물 또는 상기 화합물을 포함하는 약학 조성물의 치료 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함하는, 염증의 치료 방법이 제공된다.
- [0050] 본 발명의 제8 양상에서, 제1 양상 또는 제2 양상에 따른 화학식 I의 화합물 또는 상기 화합물을 포함하는 약학 조성물의 치료 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함하는, 세균성 또는 진균성 감염의 치료 방법이 제공된다.
- [0051] 본 발명의 제9 양상에서, 제1 양상 또는 제2 양상에 따른 화학식 I의 화합물 또는 상기 화합물을 포함하는 약학 조성물의 치료 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함하는, 피부 노화의 치료 방법이 제공된다.
- [0052] 본 발명의 제10 양상에서, 암의 치료용 약제의 제조에 있어서, 제1 양상 또는 제2 양상에 따른 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학 조성물의 용도가 제공된다.
- [0053] 본 발명의 제11 양상에서, 면역억제의 치료용 약제의 제조에 있어서, 제1 양상 또는 제2 양상에 따른 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학 조성물의 용도가 제공된다.
- [0054] 본 발명의 제12 양상에서, 염증의 치료용 약제의 제조에 있어서, 제1 양상 또는 제2 양상에 따른 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학 조성물의 용도가 제공된다.
- [0055] 본 발명의 제13 양상에서, 세균성 또는 진균성 감염의 치료용 약제의 제조에 있어서, 제1 양상 또는 제2 양상에 따른 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학 조성물의 용도가 제공된다.
- [0056] 본 발명의 제14 양상에서, 피부 노화의 치료용 약제의 제조에 있어서, 제1 양상 또는 제2 양상에 따른 화학식 I의 화합물 또는 이의 약학 조성물의 용도가 제공된다.
- [0057] 본 발명의 추가 양상에서, 상기 정의된 화합물 또는 약학 조성물, 및 본원에 기술된 방법 및 용도를 위한 하나 이상의 추가 치료제를 포함하는 조합이 제공된다.
- [0058] 본 발명의 제15 양상에서, 하기 화학식 Ia의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물이 제공된다:

[0059] [화학식 Ia]



[0060]

상기 식에서,

- [0062] R^{1a} , R^{1b} , R^{1c} 및 R^{1d} 는 각각 독립적으로 H, OH, OR^4 , $CH_2CH=C(CH_3)_2$, $OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $CH=CHC(CH_3)=CH_2$, $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 또는 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ 이 되고, R^{1a} 내지 R^{1d} 중 하나 이상은 $CH_2CH=C(CH_3)_2$, $OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $CH=CHC(CH_3)=CH_2$, $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 또는 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ 이 고;
- [0063] R^2 는 OH, OR^4 , $CH_2CH=C(CH_3)_2$, $OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $CH=CHC(CH_3)=CH_2$, $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로부터 선택되고;
- [0064] R^3 은 H, OH, OR^4 , $CH_2CH=C(CH_3)_2$, $OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $CH=CHC(CH_3)=CH_2$, $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로부터 선택되고;

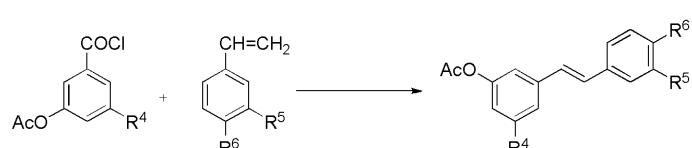
- [0065] R^4 는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, t-부틸 및 벤질로부터 선택되고;
- [0066] A---B는 $CH=CH$, CH_2-CH_2 , $CH=CHX$ 및 CH_2-CH_2X 로부터 선택되고;
- [0067] X는 $(CH_2)pCH_2$ 이고;
- [0068] p는 0, 1, 2 및 3으로 이루어진 군으로부터 선택된 정수이되;
- [0069] (i) R^3 이 H이고 R^2 가 OH 또는 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 인 경우, R^{1b} 및 R^{1d} 는 독립적으로 OH 또는 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 가 아니고;
- [0070] (ii) R^3 이 H이고 R^{1a} 내지 R^{1d} 중 하나가 H이고 R^{1a} 내지 R^{1d} 중 하나 이상이 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 인 경우, A---B는 $CH=CH$ 가 아니다.
- [0071] 본 발명의 제16 양상에서, 하기 화학식 Ia의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물이 제공된다:
- [0072] 화학식 Ia
-
- [0073]
- [0074] 상기 식에서,
- [0075] R^{1a} , R^{1b} , R^{1c} 및 R^{1d} 는 각각 독립적으로 H, OH, OR^4 , $CH_2CH=C(CH_3)_2$, $OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $CH=CHC(CH_3)=CH_2$, $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 또는 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ 이되, R^{1a} 내지 R^{1d} 중 하나 이상은 $CH_2CH=C(CH_3)_2$, $OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $CH=CHC(CH_3)=CH_2$, $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 또는 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ 이고;
- [0076] R^2 및 R^3 은 각각 독립적으로 OH, OR^4 , $CH_2CH=C(CH_3)_2$, $OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $CH=CHC(CH_3)=CH_2$, $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 및 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ 로부터 선택되고;
- [0077] R^4 는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, t-부틸 및 벤질로부터 선택되고;
- [0078] A---B는 $CH=CH$, CH_2-CH_2 , $CH=CHX$ 및 CH_2-CH_2X 로부터 선택되고;
- [0079] X는 $(CH_2)pCH_2$ 이고;
- [0080] p는 0, 1, 2 및 3으로 이루어진 군으로부터 선택된 정수이다.
- [0081] 본 발명의 제17 양상에서, 제15 양상 또는 제16 양상에 따른 화학식 Ia의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 및 약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약학 조성물이 제공된다.
- [0082] 제18 양상에 따라서, 제15 양상 또는 제16 양상에 따른 화학식 Ia의 화합물 또는 상기 화합물을 포함하는 약학 조성물의 치료 효과량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여함을 포함하는, 암, 면역억제, 염증, 세균성 감염, 진균성 감염 또는 피부 노화의 치료 방법이 제공된다.
- [0083] 본 발명의 제19 양상에 따라서, 암, 면역억제, 염증, 세균성 감염, 진균성 감염 또는 피부 노화의 치료용 약제의 제조에 있어서, 제15 양상 또는 제16 양상에 따른 화학식 Ia의 화합물 또는 이의 약학 조성물의 용도가 제공된다.
- [0084] 본 발명의 제20 양상에 따라서, (i) 하기 반응식 1에 따라서 카복실산을 적합한 약품으로 처리하여 산 클로라이

드를 제조하는 단계; (ii) 하기 반응식 2에 따라서 상응하는 산 클로라이드를 아릴 알켄과 축합하는 단계; 및 (iii) 하기 반응식 3에 따라서 아세테이트 기를 탈보호하고 알킬화시키는 단계를 포함하는, 화학식 Ib의 화합물의 제조 방법이 제공된다:

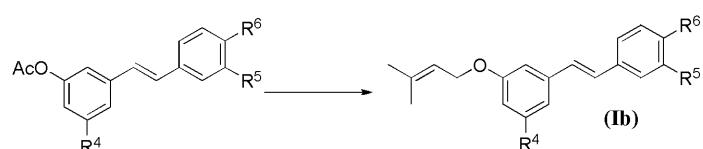
[0085] [반응식 1]



[0086] [반응식 2]



[0089] [반응식 3]

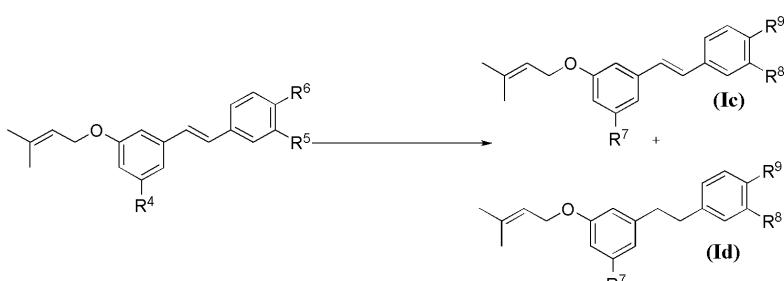


[0091] 상기 식에서,

[0092] R⁴, R⁵ 및 R⁶은 각각 독립적으로 기 OMe, OEt, OPr, OⁱPr, OBu, OⁱBu, O^tBu 및 OBn으로부터 선택된다.

[0093] 하나의 양태에서, 상기 방법은 (iv) 하기 반응식 4에 따라서 수소화 반응시키는 단계를 추가로 포함한다:

[0094] [반응식 4]



[0095]

[0096] 상기 식에서,

[0097] R⁴, R⁵ 및 R⁶은 상기 정의된 바와 같되, R⁴, R⁵ 및 R⁶중 하나 이상은 OBn이고;[0098] R⁷, R⁸ 및 R⁹는 각각 독립적으로 OH, OMe, OEt, OPr, OⁱPr, OBu, OⁱBu 및 O^tBu로부터 선택된다.

[0099] 다른 양태에서, 상기 방법은 (v) 하기 반응식 5에 따라서 프레닐 기를 재배열하는 단계; 및 (vi) 하기 반응식 6에 따라서 수소화 반응시키는 단계를 추가로 포함한다:

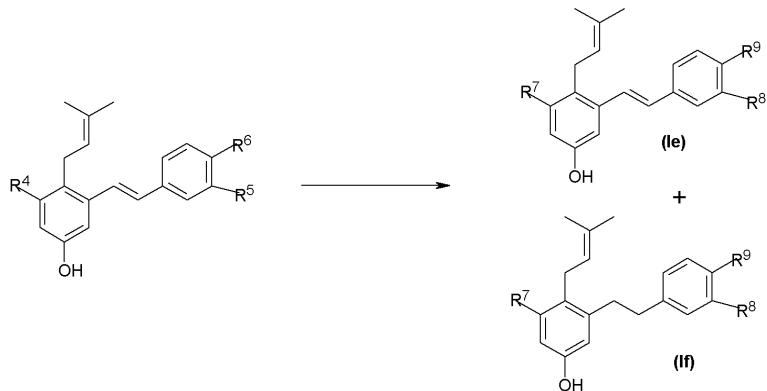
[0100] [반응식 5]



[0101]

[0102]

[반응식 6]



[0103]

[0104]

상기 식에서,

[0105]

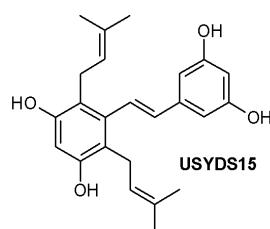
 R^4 , R^5 및 R^6 은 상기 정의된 바와 같되, R^4 , R^5 및 R^6 중 하나 이상은 OBn 이고;

[0106]

 R^7 , R^8 및 R^9 는 각각 독립적으로 OH, OMe, OEt, OPr, OⁱPr, OBu, OⁱBu 및 O^tBu로부터 선택된다.

[0107]

본 발명의 제21 양상에서, 하기 확인된 바와 같은 화학식 USYDS15의 화합물이 제공된다:



[0108]

[0109]

제21 양상에 따른 화합물 USYDS15, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 및 약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약학 조성물이 또한 제공된다.

[0110]

본 발명의 제23 양상에서, 암, 면역억제, 염증, 진균성 또는 세균성 감염, 또는 피부 노화의 치료용 약제의 제조에 있어서, 제21 양상에 따른 화합물 또는 제22 양상에 따른 약학 조성물의 용도가 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0111]

도 1은 단리된 및 합성된 프레닐화 폴리하이드록시스틸렌 유도체중 일부의 모음이다.

도 2는 신규한 O- 및 C-프레닐화 폴리하이드록시스틸렌 유도체의 합성을 요약하는 반응식이다.

도 3은 다양한 세포주에 대한 화합물 USYDS1에 의한 인간 암 세포 성장의 억제에 대한 투여량 반응 곡선을 나타낸다.

도 4는 다양한 세포주에 대한 화합물 USYDS2에 의한 인간 암 세포 성장의 억제에 대한 투여량 반응 곡선을 나타낸다.

도 5는 다양한 세포주에 대한 화합물 USYDS3에 의한 인간 암 세포 성장의 억제에 대한 투여량 반응 곡선을 나타낸다.

도 6은 다양한 세포주에 대한 화합물 USYDS4에 의한 인간 암 세포 성장의 억제에 대한 투여량 반응 곡선을 나타낸다.

도 7은 다양한 세포주에 대한 화합물 USYDS9에 의한 인간 암 세포 성장의 억제에 대한 투여량 반응 곡선을 나타낸다.

도 8은 다양한 세포주에 대한 화합물 USYDS6에 의한 인간 암 세포 성장의 억제에 대한 투여량 반응 곡선을 나타낸다.

낸다.

도 9는 다양한 세포주에 대한 화합물 USYDS7에 의한 인간 암 세포 성장의 억제에 대한 투여량 반응 곡선을 나타낸다.

도 10은 유리 라디칼 포집에 대한 스틸벤 화합물의 효과를 그래프로 나타낸다.

도 11은 스틸벤 화합물에 의한 NAD-의존성 데아세틸라제 시르투인-2(SIRT1) 효소의 농도 의존적인 억제를 그래프로 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0112]

본 명세서의 전반에 걸쳐, 단어 "포함하다" 또는 "포함하는"과 같은 변형은 언급된 요소, 정수 또는 단계, 또는 요소, 정수 또는 단계의 군을 포함하되, 임의의 다른 요소, 정수 또는 단계, 또는 요소, 정수 또는 단계의 군을 제외하지는 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0113]

치료법에 사용하는 경우, 본원에 정의된 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물의 치료 효과량을 조 화학물질로서 투여할 수 있는 것이 가능하지만, 본 발명의 한 양상에서, 활성 성분은 약학 조성물로서 제공된다. 따라서, 다른 양태에서, 본 발명은 제1, 제2, 제15 및 제16 양상에 따른 화학식 I 또는 Ia의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체, 희석제 또는 부형제와 함께 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 상기 담체, 희석제 또는 부형제는 제형의 다른 성분과 상용성이고 이의 수용자에게 해롭지 않다는 의미에서 허용되어야 한다.

[0114]

적용되는 경우, 본 발명의 화학식 I 또는 Ia의 화합물을 비롯한 본 발명의 화합물은 약학적으로 허용되는 염의 형태일 수 있고/있거나 약학적으로 허용되는 염으로서 투여될 수 있다.

[0115]

본원에 사용된 바와 같이, 용어 "약학적으로 허용되는 염"은 전신 투여에 관해 독성학적으로 안전한 염을 지칭한다. 약학적으로 허용되는 염은 알칼리 또는 알칼리 토 금속 염, 예컨대 나트륨, 리튬, 칼륨, 칼슘, 마그네슘 등, 및 비-독성 암모늄, 4차 암모늄, 및 아민 양이온, 예컨대, 비제한적으로 암모늄, 테트라메틸암모늄, 테트라에틸암모늄, 메틸아민, 다이메틸아민, 트라이메틸아민, 트라이에틸아민, 에틸아민, 트라이에탄올아민 등으로부터 선택될 수 있다.

[0116]

본원에 사용된 바와 같이, 용어 "약학적으로 허용되는 부형제"는 전신 투여에 안전하게 사용될 수 있는 고체 또는 액체 충전제, 희석제 또는 캡슐화 물질을 지칭한다. 구체적인 투여 경로에 따라서, 당해 분야에 널리 공지된 다양한 담체가 사용될 수 있다. 이러한 담체 또는 부형제는 당, 전분, 셀룰로스 및 이의 유도체, 맥아, 젤라틴, 활석, 칼슘 설페이트, 식물성 오일, 합성 오일, 폴리올, 알긴산, 포스페이트 완충 용액, 에멀젼화제, 등 장성 염수 및 발열원-부재 물로부터 선택될 수 있다.

[0117]

본원에 사용된 바와 같이, 용어 "용매화물"은 용질(본 발명에서, 화학식 I 또는 Ia의 화합물 또는 이의 염 또는 생리학적 작용성 유도체) 및 용매에 의해 형성된 다양한 화학량론의 복합물을 지칭한다. 본 발명의 목적을 위한 이러한 용매는 용질의 생물학적 활성을 방해할 수 있다. 적합한 용매의 예는, 비제한적으로, 물, 메탄올, 에탄올 및 아세트산을 포함한다. 특히, 사용된 용매는 약학적으로 허용되는 용매이다. 적합한 약학적으로 허용되는 용매의 예는, 비제한적으로, 물, 에탄올, 아세트산, 글리세롤, 액체 폴리에틸렌 글리콜 및 이들의 혼합물을 포함한다. 구체적인 용매는 물이다.

[0118]

화학식 I 또는 Ia의 화합물은 "전구약물"의 형태로 투여될 수 있다. 전구약물은 생체내에서 활성 형태로 변형되는 화합물의 불활성 형태이다. 적합한 전구약물은 화합물의 활성 형태의 에스터, 포스폰에이트 에스터 등을 포함한다.

[0119]

상기 구체적으로 언급된 성분 이외에, 제형은 해당 제형의 형태를 고려하여 당해 분야에 통상적인 다른 약품을 포함할 수 있음이 이해되어야 한다.

[0120]

본 발명의 화합물은 인간 또는 동물 환자의 질병의 치료에 적합할 수 있다. 한 양태에서, 환자는 인간, 말, 개, 고양이, 양, 소 또는 영장류를 비롯한 포유동물이다. 한 양태에서, 환자는 인간이다. 다른 양태에서, 환자는 인간이 아니다.

[0121]

본원에 사용된 바와 같이, 용어 "효과량"은, 예를 들어 연구원 또는 임상의에 의해 추구되는 조직, 시스템, 동물 또는 인간의 생물학적 또는 의학적 반응을 유도하는 약물 또는 의약의 양을 의미한다. 또한, 용어 "치료 효과량"은 이러한 양을 수용하지 않은 상응하는 대상에 비해 질병, 질환 또는 부작용의 개선된 치료, 치유 예방

또는 개선, 또는 질병 또는 질환의 진행 속도의 감소를 야기하는 임의의 양을 의미한다. 이러한 용어는 또한 정상적인 생리학적 작용을 강화시키는데 효과적인 양의 이의 범위내에 포함한다.

[0122] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "치료"는 본 발명의 화합물을 포함하는 약학 조성물을 투여하지 않는 경우와 비교되는 증상에 대한 방어 또는 억제, 증상의 치료, 증상의 발생의 자연, 증상의 발생의 중증도의 감소 및/또는 개체가 앓고 있는 증상의 수 또는 유형의 감소를 지칭한다. 용어 "치료"는 완화적인 설정에서의 사용을 포함한다.

[0123] 본 발명의 화합물의 제조에 있어서 문자내에서 하나 이상의 민감한 기를 보호하여 바람직하지 않은 부반응을 예방하는 것이 필수적이고/하거나 바람직할 수 있음이 당업자에게 인정될 것이다. 본 발명에 따라 사용하기에 적합한 보호기는 당업자에게 널리 공지되어 있고, 전통적인 방식으로 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌["Protective groups in organic synthesis" by T. W. Greene and P. G. M. Wuts (John Wiley & sons 1991)] 또는 문헌["Protecting Groups" by PJ. Kocienski (Georg Thieme Verlag 1994)] 참고). 적합한 아미노 보호기의 예는 아실 유형 보호기(예컨대, 폼일, 트라이플루오로아세틸, 아세틸), 방향족 우레탄 유형 보호기(예컨대, 벤질옥시카본일(Cbz) 및 치환된 Cbz), 지방족 우레탄 보호기(예컨대, 9-플루오렌일메톡시카본일(Fmoc), t-부틸옥시카본일(Boc), 이소프로필옥시카본일, 사이클로헥실옥시카본일) 및 알킬 유형 보호기(예컨대, 벤질, 트라이틸, 클로로트라이틸)를 포함한다.

[0124] 본 발명의 제1, 제2 또는 제8 양상에 따라서, 치료되는 암은 백혈병, 비-소세포 폐암, 결장암, 종추신경계(CNS)암, 흑색종, 난소암, 신장암, 전립선암 또는 유방암이다. 가장 바람직하게는, 치료되는 암은 백혈병 또는 흑색종이다.

[0125] 제1 내지 제9 양상의 바람직한 양태에서, 화학식 I의 화합물은 화학식 Ia의 구조를 갖는다.

[0126] 본 발명의 제10 또는 제19 양상에 따라서, 바람직하게는, 약제가 하기 암의 치료에 사용된다; 백혈병, 비-소세포 폐암, 결장암, CNS 암, 흑색종, 난소암, 신장암, 전립선암 또는 유방암. 가장 바람직하게는, 약제가 백혈병 또는 흑색종의 치료에 사용된다.

[0127] 제10 내지 제14 양상의 바람직한 양태에서, 화학식 I의 화합물은 화학식 Ia의 구조를 갖는다.

[0128] 본 발명의 화합물의 항종양 효과는 유일한 치료법으로서 적용될 수 있거나, 또한 하나 이상의 다른 물질 및/또는 치료를 포함할 수 있다. 이러한 결합 치료는 치료법의 개별적인 성분의 동시, 순차 또는 별도 투여에 의해 달성될 수 있다. 의학적 종양학 분야에서, 암을 앓는 각각의 환자를 치료하기 위하여 상이한 형태의 치료의 조합, 예컨대 수술, 방사선요법 및/또는 화학요법의 조합을 사용하는 것이 통상적인 실무이다. 구체적으로, 혈관 형성 억제제 및/또는 혈관 투과성 감소제와 함께 하는 조사 또는 치료가 종양내의 저산소성 조직의 양을 강화시킬 수 있다. 따라서, 본 발명의 화합물의 효능은 방사선요법 및/또는 혈관형성 억제제의 결합 치료에 의해 개선될 수 있다.

[0129] 이러한 조합의 개별적인 성분은 치료 과정중에 상이한 시간에 별도로, 또는 분할된 또는 단일 조합 형태로 동시에 투여될 수 있다. 따라서, 본 발명은 동시 또는 교대 치료의 모든 섭생법을 포함하는 것으로서 이해되어야 하고, 용어 "투여"는 이에 따라 해석되어야 한다. 본 발명의 화합물과 다른 항신생물제의 조합의 범위는 원칙적으로 암의 치료에 유용한 임의의 약학 조성물과의 임의의 조합을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0130] 동일한 제형내에서 조합되는 경우, 2개의 화합물이 안정하고, 서로 상용성이고 제형내의 다른 성분과 상용성이어야 하고, 투여를 위해 제형화될 수 있음이 인정될 것이다. 별도로 제형화되는 경우, 이들은 당해 분야에서 이러한 화합물에 대해 공지된 바와 같은 방식으로 적절하게, 적절한 제형으로 제공될 수 있다.

[0131] 본 발명의 약학 조성물은 임의의 적절한 경로, 예를 들어 경구(예컨대, 볼 또는 설하), 직장, 비강, 국소(예컨대, 볼, 설하 또는 경피), 질 또는 비경구(예컨대, 피하, 근육내, 정맥내 또는 피내) 경로에 의한 투여를 위해 제형화될 수 있다. 따라서, 본 발명의 약학 조성물은, 예를 들어, 정제, 캡슐, 분말, 과립, 로젠지, 크림 또는 액체 제제, 예컨대 경구 또는 멸균 비경구 용액 또는 혼탁액으로서 제형화될 수 있다. 이러한 약학 제형은 약학 분야에 공지된 임의의 방법에 의해, 예를 들어 활성 성분을 담체 또는 부형제와 결합시킴으로써 제조될 수 있다. 이러한 약학 제형은 경구 투여에 적합한 장용 코팅 과립, 정제 또는 캡슐, 및 자연 방출 제형으로서 제조될 수 있다.

[0132] 화합물이 동일한 질병에 대해 활성인 제2 치료제와 병용으로 사용되는 경우, 각각의 화합물의 투여량은 화합물이 단독으로 사용되는 경우와는 상이할 수 있다. 적절한 투여량은 당업자에 의해 용이하게 인정될 것이다.

[0133] 제15 양상에 따른 본 발명의 한 양태에서, R^{1a} 내지 R^{1d} , R^2 , R^3 , R^4 및 A----B가 상기 정의된 바와 같되, (i) R^3 이 H인 경우, R^{1b} 및 R^{1d} 가 독립적으로 OH 또는 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 가 아니고, (ii) R^3 이 H이고 R^{1a} 내지 R^{1d} 중 하나가 H이고 R^{1a} 내지 R^{1d} 중 하나 이상이 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 인 경우, A----B는 $CH=CH$ 가 아닌 화학식 Ia의 화합물이 제공된다.

[0134] 제15 또는 제16 양상에 따라서, 본 발명의 바람직한 양태에서, R^{1a} 내지 R^{1d} 중 2개는 H이다. 다른 바람직한 양태에서, R^{1a} 내지 R^{1d} 중 하나는 H이고, 다른 양태에서, R^{1a} 내지 R^{1d} 중 어느 것도 H가 아니다.

[0135] 바람직한 양태에서, R^{1a} 내지 R^{1d} 중 하나 이상은 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 이고, 다른 바람직한 양태에서, R^{1a} 내지 R^{1d} 중 하나 이상은 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 이다.

[0136] 특정 양태에서, R^{1a} 내지 R^{1d} 중 하나 이상은 하이드록실이고, 다른 특정 양태에서, R^{1a} 내지 R^{1d} 중 2개 이상은 하이드록실이다. 다른 양태에서, R^{1a} 내지 R^{1d} 중 하나 이상은 OR^4 이고, R^4 는 메틸이고, 또 다른 양태에서, R^4 는 벤질이다.

[0137] 제15 또는 제16 양상에 따른 본 발명의 바람직한 양태에서, R^2 및 R^3 중 하나 이상은 하이드록실이다. 다른 바람직한 양태에서, R^2 및 R^3 은 하이드록실이다.

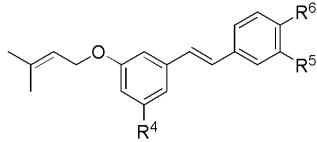
[0138] 다른 양태에서, R^2 및 R^3 중 하나 이상은 OR^4 이고, R^4 는 메틸이고, 또 다른 양태에서, R^4 는 벤질이다.

[0139] 본 발명의 바람직한 양태에서, 화학식 Ia의 기 A----B는 $CH=CH$ 또는 $CH=CHX-\circ$ 이고, X는 $(CH_2)_pCH_2$ 이고, p는 0, 1, 2 및 3으로 이루어진 균으로부터 선택된 정수이다.

[0140] 본 발명의 다른 양태에서, 화학식 Ia의 기 A----B는 CH_2-CH_2 또는 CH_2-CH_2X 이고, X는 $(CH_2)_pCH_2$ 이고, p는 독립적으로 0, 1, 2 및 3으로 이루어진 균으로부터 선택된 정수이다.

[0141] 바람직한 양태에서, 제15 또는 제16 양상에 따른 화학식 Ia의 화합물은 하기 화학식 Ib의 구조를 갖는다:

[0142] [화학식 Ib]



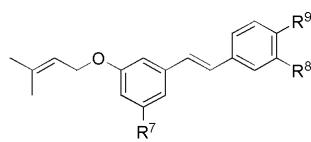
[0143]

[0144] 상기 식에서,

[0145] R^4 , R^5 및 R^6 은 각각 독립적으로 기 OMe, OEt, OPr, OⁱPr, OBu, OⁱBu, O^tBu, O^tBn으로부터 선택된다.

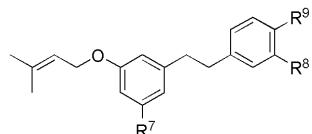
[0146] 다른 바람직한 양태에서, 제15 또는 제16 양상에 따른 화학식 Ia의 화합물은 하기 화학식 Ic 또는 Id의 구조를 갖는다:

[0147] [화학식 Ic]



[0148]

[0149] [화학식 Id]



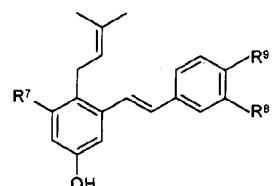
[0150]

[0151] 상기 식에서,

[0152] R⁷, R⁸ 및 R⁹는 각각 독립적으로 기 OH, OMe, OEt, OPr, OⁱPr, OBu, OⁱBu, O^tBu로부터 선택된다.

[0153] 또 다른 바람직한 양태에서, 제15 또는 제16 양상에 따른 화학식 Ia의 화합물은 하기 화학식 Ie 또는 If의 구조를 갖는다:

[0154] [화학식 Ie]



[0155]

[0156] [화학식 If]

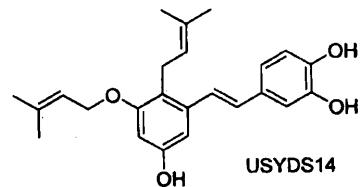


[0157]

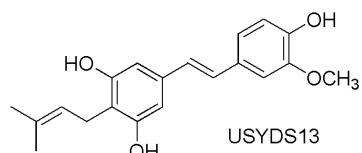
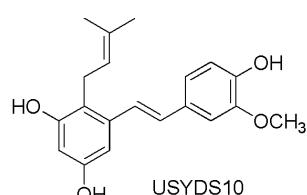
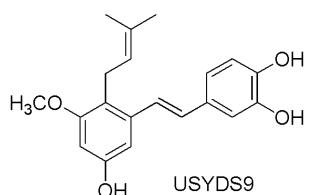
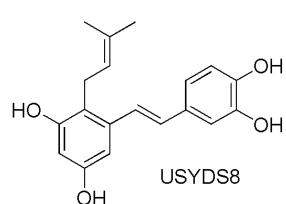
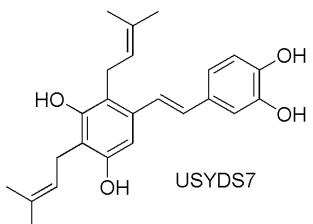
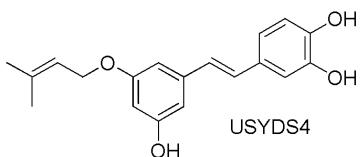
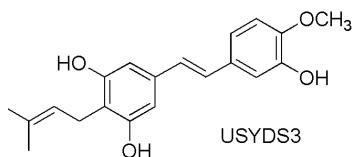
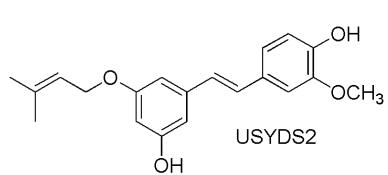
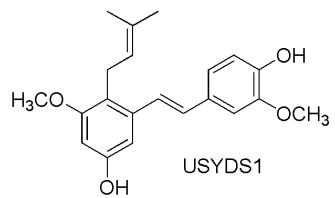
[0158] 상기 식에서,

[0159] R⁷, R⁸ 및 R⁹는 각각 독립적으로 기 OH, OMe, OEt, OPr, OⁱPr, OBu, OⁱBu, O^tBu로부터 선택된다.

[0160] 바람직하게는, 제15 또는 제16 양상에 따른 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물은 하기 화합물들로 이루어진 군으로부터 선택된다:

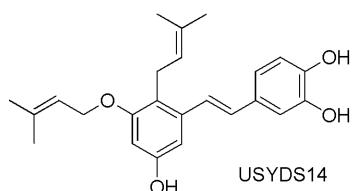
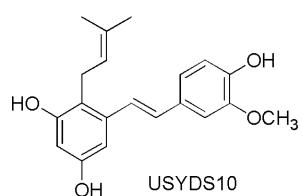
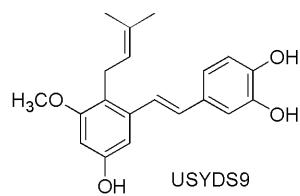
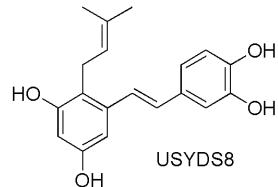
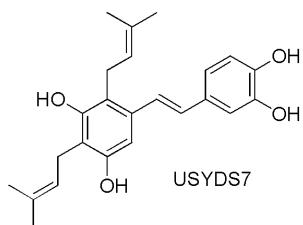
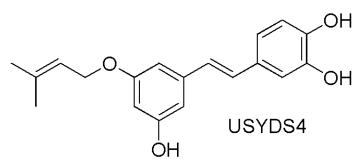
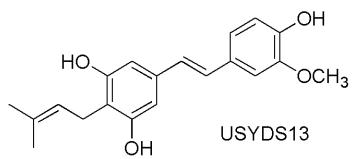
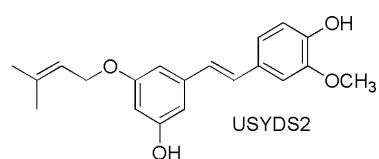
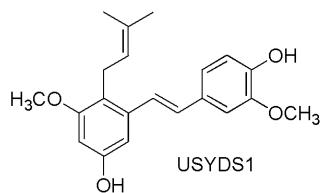


[0161]



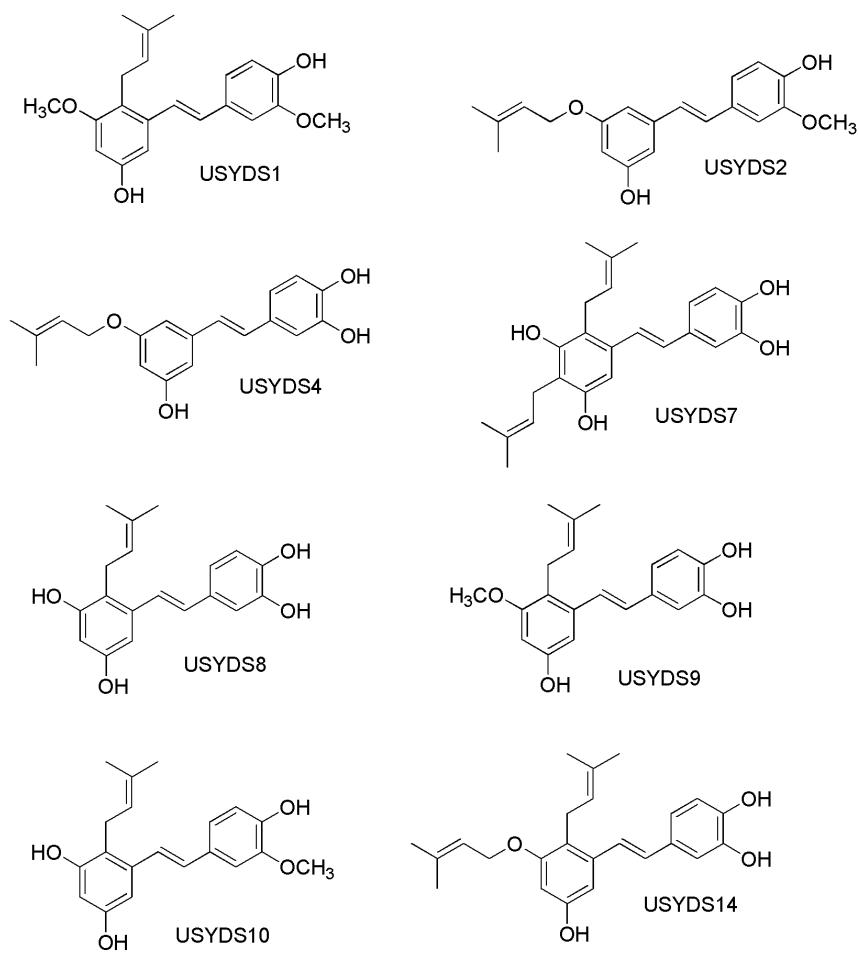
[0162]

더욱 바람직하게는, 제15 또는 제16 양상에 따른 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물은 하기 화합물들로 이루어진 군으로부터 선택된다:



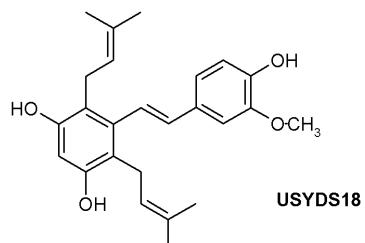
[0164]

한 양태에서, 제15 또는 제16 양상에 따른 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물은 하기 화합물들로 이루어진 군으로부터 선택된다:



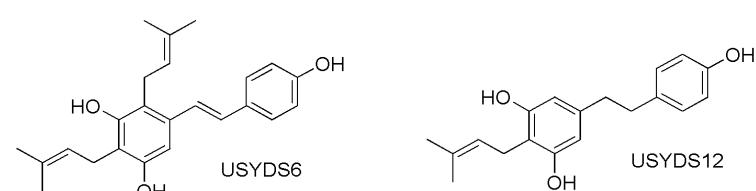
[0166]

[0167] 다른 바람직한 양태에서, 화합물은 USYDS18이다:



[0168]

[0169] 다른 바람직한 양태에서, 제15 양상에 따른 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물은 하기 화합물들로 이루어진 군으로부터 선택된다:



[0170]

[0171] 프레닐화 폴리하이드록시스틸렌 유도체의 항암 활성을 측정하기 위한 예비적인 시험관내 분석에서, 본 발명자들은 모든 유도체, USYDS1 내지 USYDS7 및 USYDS13에 대한 암 세포 성장의 구조 의존적 억제를 관찰하였다. 대부분의 이러한 화합물은 거의 모든 백혈병 세포주(CCRF-CEM, HL-60(TB), K-562, MOLT-4, RPMI-8226, SR)의 강력한 억제를 나타냈다. 일부 세포주에서, 성장은 나노-몰 농도에서 억제되었다. USYDS1이 암 세포 성장의 억제에 있어서 가장 강력한 활성을 나타냈고, USYDS10, USYDS9, USYDS2 및 이어서 USYDS14가 뒤따른다. 유도체 USYDS10 및 14에 대한 암 세포 성장의 구조 의존적 억제가 또한 관찰되었다. 구조-활성 연구는 2 위치에서의 C-프레닐화 및 3 위치에서의 메톡시 기를 나타냈고, 암 세포의 억제를 지향하는 가장 높은 효능을 나타냈다.

- [0172] 이러한 연구에서 대부분의 pTHOS는 광범위한 생물학적 활성을 나타내는 피세아탄을 구조(공지된 천연 발생 화합물)상에 축조된 구조를 가진다. 광범위한 종양 세포, 예컨대 백혈병, 림프종; 유방, 전립선, 결장의 암 및 흑색종의 증식을 억제하는 이의 능력에 기인하여 이의 항암 특성에 대하여 현재 많은 주의를 끌고 있다. 이의 항암 효과는 세포-주기 억제를 통해 Bid, Bax, Bik, Bok, Fas의 상향조절; Bcl-xL의 P21WAF1 하향조절; BCL-2, cIAP, 카스파제의 활성화, 미토콘드리아 포텐셜의 손실 및 시토크롬 c의 방출을 매개한다. 피세아탄을은 또한 일부 전사 인자, 예컨대 NF-κB(유리 라디칼, 자외선 조사, 시토카인 또는 미생물 항원에 의해 유발된 세포 스트레스에 반응하여 중심적인 역할을 함), JAK-1(세포외 시토카인에 반응하여 세포 활성을 제어하는 STAT 경로에서의 핵심 전사)의 활성화를 억제하는 것으로 나타났다.
- [0173] 본 연구에 기술된 pTHOS가 피세아탄에서 나타난 생물학적 활성의 스펙트럼과 유사한 스펙트럼을 나타냄이 판찰되었다. 또한, pTHOS(즉, USYDS1, GI₅₀ 값: 0.02 내지 5 μM)는 거의 모든 유형의 종양 세포의 증식의 억제에 있어서 피세아탄(IC₅₀ 값: 5 내지 100 μM)보다 약 250배 더욱 강력한 것으로 나타났다. 따라서, 본원에서 제공된 pTHOS는 약학 연구 및 개발을 위한 매력적인 리드이고 암의 병리생리학을 더욱 이해하기 위한 생물학적 도구일 것이다.
- [0174] 화합물 USYDS1 및 화합물 USYDS2의 강력한 세포독성은 이들의 계산된 로그 분배 계수(Log P) 값에 의해 증명된 바와 같은 이들의 증가된 소수성에 의해 설명될 수 있다. USYDS1 및 USYDS2는 하이드록시스틸벤 레스베라트를의 Log P 값의 거의 2배의 값을 갖는다. 치료 화합물에 대한 Log P의 효과는 주로 조직 침투 및 분포와 관련이 있다. 보다 높은 Log P 값은 화합물이 보다 용이하게 세포 막을 통과하고 세포에 들어가도록 할 것이다.
- [0175] 다른 예비 실험에서, 0- 및 C-프레닐화된 하이드록시스틸벤 유도체의 특정 예가 SIRT1 효소(시르투인 계열의 단백질의 일원(무성 정보 조절기 2 단백질(silent information regulator two protein), Sir 2)의 농도 의존적 억제를 나타내는 것으로 밝혀졌다.
- [0176] 시르투인은 모델 유기체의 노화 및 장수에 대한 중요한 조절기인 것으로 나타났다. 시르투인의 유전학 및 생리학에 대한 연구는 이러한 효소 계열이 다양한 세포 과정, 예컨대 유전자 사일렌싱(silencing), 세포 사멸(cell death), 지방산 대사, 신경 보호 및 수명 신장에서 중요한 역할을 함을 나타냈다.
- [0177] 임의의 특정 이론에 얹매이려는 것은 아니지만, SIRT1 활성의 조절이 암, 대사 증후군, 비만, 신경퇴행성 질환 및 노화-관련 질병을 비롯한 질병의 치료를 위한 치료제의 개발을 유도할 수 있음이 제안된다.
- [0178] 제15 또는 제16 양상에 따른 바람직한 양태에서, 화학식 Ia의 화합물이 화학적으로 합성된다. 다른 바람직한 양태에서 화학식 Ia의 화합물은 레피도스퍼마(Lepidosperma) 속의 식물에서 유래하는 프로폴리스로부터 단리된다. 또 다른 바람직한 양태에서, 화학식 Ia의 화합물은 레피도스퍼마 속의 수지, 겸 또는 삼출물로부터 단리된다.
- [0179] 본 발명의 제20 양상에 따라서, 화학식 Ib, Ic, Id, Ie 또는 If의 화합물의 제조에 있어서, 바람직하게는 단계 (ii)의 축합 단계는 팔라듐 촉매의 존재하에 수행된다. 바람직하게는, 팔라듐 촉매는 팔라듐(II) 아세테이트이다.
- [0180] 바람직하게는, 단계 (iii)의 알킬화 단계는 금속 하이드라이드 및 할로겐화된 프레닐 시약의 존재하에 수행된다. 바람직하게는, 금속 하이드라이드는 나트륨 하이드라이드이지만; 다른 공지된 금속 하이드라이드가 사용될 수 있음이 당업자에게 인정되어야 한다. 가장 바람직하게는, 할로겐화된 프레닐 시약은 BrCH₂CH=C(CH₃)₂이다.
- [0181] 바람직한 양태에서, 단계 (iv) 또는 (vi)의 수소화 단계는 용매의 혼합물중에서 팔라듐 촉매의 존재하에 수행된다. 가장 바람직하게는, 팔라듐 촉매는 탄소상의 팔라듐이고, 용매의 혼합물은 1,4-사이클로헥사다이엔 및 에탄올을 포함한다. 그러나, 임의의 다른 적합한 시약 및 용매가 사용될 수 있음이 당업자에게 인정되어야 한다.
- [0182] 바람직한 양태에서, 단계 (v)의 재배열 반응은 마그네슘 실리케이트 입자(플로리실(Florisil, 등록상표)), 실리카 또는 알루미나 입자의 존재하에 수행된다. 다른 바람직한 양태에서, 재배열 반응은 마이크로파 방사선 또는 빛의 존재하에 수행될 수 있다. 또 다른 바람직한 양태에서, 단계 (v)의 재배열 반응은 마그네슘 실리케이트 입자(플로리실(등록상표)), 실리카 또는 알루미나 입자의 존재하에 마이크로파 방사선 또는 빛의 존재하에 수행된다.
- [0183] 본 발명을 수행하기 위한 방식

[0184] 본 발명의 성질을 더욱 잘 이해하도록, 다수의 실시예가 하기 기술된다.

재료

[0186] 사초(레피도스퍼마 비씨둠(*Lepidosperma viscidum*))로부터 수집하는 것으로 관찰된 꿀벌을 플라스틱 관에 포획하고, 캡핑하고, 냉동하였다. 프로폴리스를 보유하는 벌 뒷다리의 구역을 절단하고, 모았다. 식물로부터의 수지를 수집하고, 분석할 때까지 -20°C에서 저장하였다. 식물 샘플을 수득하고, 환기된 오븐(써머라인(Thermoline), 오스트레일리아 뉴사우스웨일즈 소재)에서 40°C에서 밤새 건조하여 오스트레일리아 시드니 소재 시드니 대학 존 레이 박물관의 부교수인 식물학자 헨우드 머레이(Murray Henwood)에게 확인을 위해 바우처 견본을 제공하였고, 레피도스퍼마 비스씨둠 화학형 1a(바우처 번호 Duke 100222-42) 및 레피도스퍼마 비스씨둠 화학형 2a(바우처 번호 Duke 100221-21)로서 등록되었다.

[0187] 벌집 덮개 아래에 프로폴리스 매트가 각각 장착된 3개의 10-프레임 상자로 이루어진 76개의 벌집을 사용하여 프로폴리스 샘플을 수집하였다. 개별적으로 번호가 매겨진 벌집을 캱거루 아일랜드 중부의 남쪽에 위치하는 양봉장 부지내의 위치에서 사용하였다.

[0188] 정상(normal-phase) 단-컬럼 크로마토그래피(NPSCC)를 위해 실리카겔 60 F₂₅₄ 및 실리카겔 60H로 예비코팅된 박막 크로마토그래피 시트를 머크(Merck)로부터 입수하였다. TLC 판을 UVGL-58 미네랄-라이트 램프(mineral-light lamp)(멀티밴드(Multiband) UV-2544/366)로 시각화하였다.

[0189] 단리 및 합성에 사용된 모든 화학물질, 예컨대 중수소화 NMR 용매, 예컨대 클로로폼-*d* 및 메탄올-*d*₄, 중수소화 다이메틸 셀록사이드(*d*₆-다이메틸 셀록사이드)를 시그마-알드리치 피티와이 리미티드(Sigma-Aldrich Pty Ltd, 오스트레일리아 뉴사우스웨일즈 캐슬 힐 소재)로부터 입수하였다. 헥산, 클로로다이클로로메탄, 에틸 아세테이트, 이소프로판올, 에탄올, 메탄올 및 아세트산을 비롯한 용매는 분석용 등급이었고, 아작스 파인 켐(Ajax Fine Chem, 오스트레일리아 뉴사우스웨일즈 타렌 포인트 소재) 또는 아시아 퍼시픽 스페셜티 케미칼 리미티드(Asia Pacific Specialty Chemical Ltd(APS))에서 입수되었다.

[0190] 40 내지 60°C의 수 육 온도를 갖는 로타베이퍼(Rotavapor) 모델 R-114 회전 증발기를 사용하여 용매 분획을 증발시켰다. 진공 조절기 V-800 또는 V-850이 장착된 진공 펌프 V-700 또는 배큐브랜드(Vacuubrand) MD 4C NT 격판 펌프(배큐브랜드 게엠베하(Vacuubrand GMBH), 독일 베르타임 소재)를 사용하였다. 다이렉트토르(DirectTorr) 진공 펌프(사젠티-웰치(Sargent-Welch), 미국 베팔로 소재)를 사용하는 납코(Napco) 5831 진공 오븐(납코, 미국 솔트 레이크 시티 소재)에 의해 최종 건조를 수행하였다.

[0191] 분취용 HPLC를 역상 컬럼(그레이스(Grace), 알티마(Altima) C18 5 μM 22mm ID x 250mm)상에서 시마쓰 분취용 구배 LC-8A 시스템(주입 부피 500 μl, 메탄올(75%) 및 물을 사용하여 10 mL/분으로 용리하고 자외선-가시광선 검출기(시마쓰 SPD-20A)로 280nm에서 검출함)상에서 수행하였다. 분석용 HPLC를 시마쓰 UFLC, LC-20AD 펌프, SIL-20A HT 오토샘플러상에서, 휴렛-팩커드 컬럼(뉴클레오실(NUCLEOSIL) 100C18, 5 μm, 4mm x 125mm, 주입 부피 20 μl를 사용하고, 메탄올-물-아세트산(70:29.8:0.2)을 사용하여 1 mL/분으로 용리하고, 자외선-가시광선 검출기(시마쓰 SPD-20A)로 230nm에서 검출함)을 사용하여 수행하였다.

[0192] ¹H 및 ¹³C 핵자기공명(NMR) 분석을 SMS 오토샘플러가 장착된 베리언(Varian) 400MHz 시스템(팔로 알토(Palo Alto), 미국 캘리포니아주 소재)상에서 수행하였다. NMR 스펙트럼은 테트라메틸실란(TMS)을 참고하였다. 질량 스펙트럼을 엑스칼리부르(Xcalibur) 1.2 데이터 시스템을 사용하는 씨모핀니간(ThermoFinnigan) TSQ 7000(LC-MS/MS 시스템) 및 핀니간 폴라리스 이온 트랩(Finnigan Polaris Ion Trap) MS/MS 시스템(핀난간, 미국 산 호세 소재)으로부터 수득하였다.

[0193] 식물 및 프로폴리스 견본의 ¹H-NMR 화학적 프로파일의 측정

[0194] 줄기(0.1g), 벌 뒷다리(0.01g) 및 벌집 프로폴리스(1.0g)의 베이스로부터의 수지 샘플을 실온에서 15분 동안 에틸 아세테이트로 추출하였다. 추출물을 여과하고, 감압하에 건조하고, ¹H-NMR 및 HPLC로 분석하였다. 사초 유형-1로부터의 샘플이 주요 성분으로서 프레닐화된 하이드록시스틸벤 및 신나메이트를 함유하는 것으로 밝혀진 반면, 사초 유형-2로부터의 샘플은 상기 논의된 바와 같은 주요 성분으로서 프레닐화된 스틸벤만을 나타냈다. 이어서, 프로폴리스 샘플을 성분의 단리를 위해 선택하였다.

[0195] 캱거루 아일랜드의 프로폴리스로부터의 프레닐화 폴리하이드록시스틸벤의 단리 및 확인

[0196]

일반적인 방법

[0197]

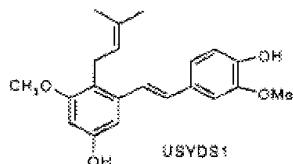
프로폴리스(10g)를 1시간 동안 교반하면서 실온에서 클로로다이클로로메탄으로 추출하였다. 추출물을 정상 단-컬럼 크로마토그래피(NPSCC)로 정제하였다. 0, 1, 2, 4, 8, 10, 15, 20, 50 및 100%의 클로로다이클로로메탄(DCM) 및 에틸 아세테이트(EtOAc)로 이루어진 이동상(2 x 100mL)의 단계식 구배를 사용함으로써, TLC 및 NMR에 의해 분석될 성분을 용리하였다. 이어서, 필요에 따라, 헥산 및 EtOAc 또는 헥산 및 이소프로판올로 이루어진 상이한 이동상을 사용하여 동일한 NPSCC상에서 화합물의 추가 정제를 수행하였다. 필요에 따라, 정상 분취용 HPLC를 또한 사용하여 화합물을 추가로 정제하였다(시마즈 LC-8A). 실리카 컬럼(알티마(등록상표) 실리카 10 μm, 10cm x 250cm)을 통해서 상온에서 헥산중 2% 이소프로판올의 이동상을 사용하여 10 mL/분의 유량으로 화합물을 용리하였다. 화합물의 용리를 UV 검출기(UV/Vis SPD-20A)로 280nm에서 모니터링하였다. 이러한 정제된 화합물의 구조 및 정체성을 ^1H - 및 ^{13}C -NMR, 및 고 해상도 질량 분광법을 비롯한 질량 분광법에 의해 특징규명하였다. 단리된 화합물의 상세한 구조적 분석을 또한, 필요에 따라, 그래디언트 헤테로뉴클레어 멀티플 본드 코하어런스(Gradient Heteronuclear Multiple Bond Coherence, GHMBC)를 사용하는 2D-NMR에 의해 수행하였다.

[0198]

단리된 프레닐화 폴리하이드록시스틸벤 유도체:

[0199]

(E)-2-(3-메틸-2-부텐-1-일)-4',5-다이하이드록시-3,3'-다이메톡시스틸벤(USYDS1)



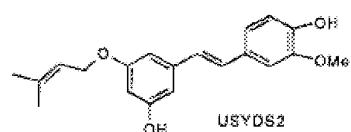
[0200]

[0201]

연황색 액체. $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_4$ ^1H NMR (메탄올- d_4 , 400MHz): R_t 14.64분. δ 7.16 (d, J = 16 Hz, 1H), 7.07 (d, J = 4 Hz, 1H), 6.94 (dd, J = 8, 4 Hz, 1H), 6.86 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.78 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 4 Hz, 1H), 6.34 (d, J = 4 Hz, 1H), 5.06 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.39 (m, 2H), 1.80 (bs, 3H), 1.66 (bs, 3H). ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 100MHz) δ 158.5, 154.4, 146.7, 145.6, 138.1, 130.6, 130.4, 130.3, 124.3, 123.7, 120.7, 120.6, 114.5, 108.2, 103.9, 98.2, 55.9, 55.7, 25.8, 24.5, 18.0; CI-MS: m/z 339 ($M-1$)⁻, HRESIMS: m/z 341.1749 ($M+\text{H}$)⁺, $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{O}_4$ 에 대한 계산치 341.1747.

[0202]

(E)-3-(3-메틸-2-부텐일옥시)-4',5-다이하이드록시-3'-메톡시스틸벤(USYDS2)



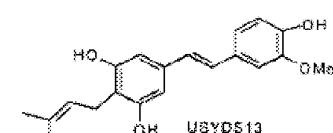
[0203]

[0204]

연황색 액체. $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_4$ ^1H NMR (메탄올- d_4 , 400MHz): R_t 15.46분. δ 7.12 (d, J = 4 Hz, 1H), 7.01 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.97 (dd, J = 8, 4 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.78 (d, J = 8 Hz, 2H), 6.56 (m, 2H), 6.24 (m, 1H), 5.46 (m, 1H), 4.52 (d, J = 4 Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 1.79 (bs, 3H), 1.76 (bs, 3H). ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 100MHz) δ 160.2, 156.9, 146.7, 145.5, 139.9, 138.6, 129.9, 129.2, 126.2, 120.6, 119.4, 114.7, 108.4, 105.9, 105.4, 101.5, 65.0, 55.9, 25.8, 18.2; CI-MS m/z 325 ($M-1$)⁻, HRESIMS m/z 327.15938 ($M+\text{H}$)⁺, $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{O}_4$ 에 대한 계산치 327.1591.

[0205]

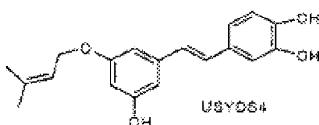
(E)-4-(3-메틸-2-부텐-1-일)-3,4',5-트라이하이드록시-3'-메톡시스틸벤(USYDS13)



[0206]

[0207] 연황색 액체. $C_{20}H_{22}O_4$ 1H NMR (메탄올- d_4 , 400MHz): R_t 11.46분. δ 7.08 (d, J = 4 Hz, 1H), 6.93 (dd, J = 8, 4 Hz, 1H), 6.91 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.78 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.77 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.46 (s, 2H), 5.23 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.28 (m, 2H), 1.76 (bs, 3H), 1.65 (bs, 3H); ^{13}C NMR-GHMBC (메탄올- d_4 , 100MHz): δ 157.4 (2C, C-3/5, H-2/6, H-1"), 149.3 (1C, C-3', H-2', H-5', OCH₃), 147.6 (1C, C-4', H-2'), H-6"), 137.7 (1C, C-1', H-베타), 131.4 (1C, C-1, H-알파), 131.3 (1C, C-3", H-1", H-4", H-5"), 128.7 (1C, C-베타, H-2', H-알파), 127.6 (1C, C-알파, H-2/6, H-6'), 124.8 (1C, C-2", H-1", H-4", H-5"), 121.2 (1C, C-6', H-2', H-베타), 116.5 (1C, C-5'), 116.1 (1C, C-4, H-2/6, H-1"), 110.4 (1C, C-2', H-베타), 105.9 (2C, C-2/6, H-2/6, H-알파), 56.5 (1C, OCH₃), 26.1 (1C, C-4", H-5"), 23.5 (1C, C-1"), 18.1 (1C, C-5", H-4"); CI-MS: m/z 325 (M-1)⁻; HRMS: 325.14453 [M-1]⁻, ($C_{20}H_{21}O_4$ •)[•] 대한 계산치 325.14398).

[0208] (E)-3-(3-메틸-2-부텐일옥시)-3',4',5-트라이하이드록시스틸렌(USYDS4)

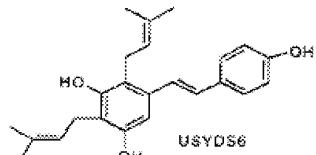


[0209]

[0210] 연황색 액체. $C_{19}H_{20}O_4$ 1H NMR (메탄올- d_4 , 400MHz): R_t 18.62분. δ 6.98 (d, J = 4 Hz, 1H), 6.94 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.85 (dd, J = 8, 4 Hz, 1H), 6.80 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.74 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.53 (m, 2H), 6.23 (m, 1H), 5.46 (m, 1H), 4.51 (d, J = 4 Hz, 2H), 1.79 (bs, 3H), 1.76 (bs, 3H); ^{13}C NMR (메탄올- d_4 , 100MHz): δ 160.2, 158.2, 145.2, 145.1, 139.8, 136.9, 129.5, 128.5, 125.5, 119.9, 118.8, 114.9, 112.4, 105.2, 103.8, 100.7, 64.4, 24.4, 24.4, 16.8; CI-MS: m/z 311 (M-1)⁻; HREIMS: m/z 335.1252 (M+Na)⁺, $C_{19}H_{20}O_4$ •Na• 대한 계산치 335.1259.

[0211]

(E)-2,4-다이(3-메틸-2-부텐-1-일)-3,4',5-트라이하이드록시스틸렌(USYDS6)

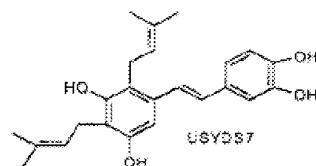


[0212]

[0213] 회백색 고체. $C_{24}H_{28}O_3$ 1H NMR (메탄올- d_4 , 400MHz): R_t 9.35분. δ 7.30 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.11 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.80 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.76 (d, J = 8 Hz, 2H), 6.63 (s, 1H), 5.21 (m, 1H), 5.10 (m, 1H), 3.41 (m, 2H), 3.35 (m, 2H), 1.81 (bs, 3H), 1.78 (bs, 3H), 1.68 (bs, 6H); CI-MS: m/z 363 (M-1)⁻.

[0214]

(E)-2,4-다이(3-메틸-2-부텐-1-일)-3,3',4',5-테트라하이드록시스틸렌(USYDS7)

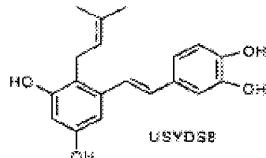


[0215]

[0216] 회백색 고체. $C_{24}H_{28}O_4$ 1H NMR (메탄올- d_4 , 400MHz): R_t 10.46분. δ 7.07 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.94 (d, J = 4 Hz, 1H), 6.79 (dd, J = 8, 4 Hz, 1H), 6.73 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.71 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.62 (s, 1H), 5.21 (m, 1H), 5.10 (m, 1H), 3.41 (m, 2H), 3.35 (m, 2H), 1.81 (bs, 3H), 1.78 (bs, 3H), 1.68 (bs, 6H); ^{13}C NMR (메탄올- d_4 , 100MHz): δ 153.23, 152.79, 145.04, 144.84, 134.98, 130.52, 130.26, 129.75, 128.67, 124.08, 123.94, 122.93, 118.56, 118.51, 115.32, 114.93, 112.30, 103.85, 24.54, 24.49, 24.46, 22.32,

16.74, 16.54; CI-MS: m/z 379 ($M-1$)⁻; HRMS: 379.19148 [$M-1$]⁻, ($C_{24}H_{27}O_4$ 에 대한 계산치 379.19092).

[0217] (*E*)-2-(3-메틸메틸-2-부텐-1-일)-3',4',5-테트라하이드록시스틸벤(USYDS8)

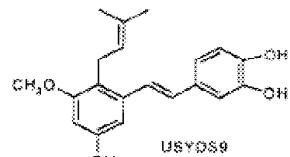


[0218]

[0219] $C_{19}H_{20}O_4$ 1H NMR (아세톤- d_6 , 400MHz): δ 7.07 (d, J = 2 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.89 (dd, J = 8, 2 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.80 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2 Hz, 1H), 6.35 (d, J = 2 Hz, 1H), 5.15 (t, J = 7 Hz, 1H), 3.42 (d, J = 7 Hz, 2H), 1.81 (s, 3H), 1.65 (s, 3H). ^{13}C NMR (아세톤- d_6 , 100MHz): δ 155.9, 155.8, 145.4, 145.3, 138.4, 130.1, 129.7, 129.4, 124.5, 123.9, 117.4, 119.0, 115.4, 112.9, 103.4, 101.6, 24.0, 25.0, 17.2. HRESIMS: (m/z) 313.1434 ($M+H$)⁺, $C_{19}H_{21}O_4$ 에 대한 계산치 313.1440.

[0220]

(*E*)-2-(3-메틸-2-부텐-1-일)-3',4',5-트라이하이드록시-3-메톡시스틸벤(USYDS9)

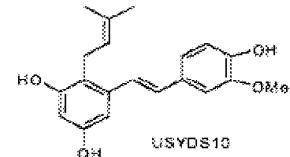


[0221]

[0222] $C_{20}H_{22}O_4$ 1H NMR (아세톤- d_6 , 400MHz): δ 7.16 (d, J = 16 Hz, 1H), 7.07 (d, J = 2 Hz, 1H), 6.90 (dd, J = 8, 2 Hz, 1H), 6.85 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.71 (d, J = 2 Hz, 1H), 6.39 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 5.09 (1H, t, J = 7 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.40 (d, J = 7 Hz, 2H), 1.80 (s, 3H), 1.64 (s, 3H). ^{13}C NMR (아세톤- d_6 , 100MHz): δ 158.5, 156.3, 145.3 (2C), 138.0, 130.1, 130.0, 129.6, 123.7, 124.2, 119.1, 118.9, 115.3, 112.9, 103.7, 98.1, 55.0, 25.0, 23.9, 17.2. HRESIMS: m/z 327.1592 ($M+H$)⁺, $C_{20}H_{23}O_4$ 에 대한 계산치 327.1596.

[0223]

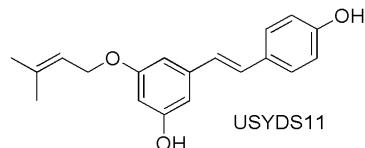
(*E*)-2-(3-메틸-2-부텐-1-일)-3,4',5-트라이하이드록시-3'-메톡시스틸벤(USYDS10)



[0224]

[0225] $C_{20}H_{22}O_4$ 1H NMR: (아세톤- d_6 , 400MHz) δ 7.13 (d, J = 16 Hz, 1H) 7.02 (dd, J = 8, 2 Hz, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.92 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.85 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.66 (d, J = 2 Hz, 1H), 6.30 (d, J = 2 Hz, 1H), 5.20 (t, J = 7 Hz, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.43 (d, J = 7 Hz, 2H), 1.84 (s, 3H), 1.75 (s, 3H). ^{13}C NMR (아세톤- d_6 , 100MHz): δ 155.4, 154.4, 146.7, 145.7, 138.8, 133.6, 131.2, 130.1, 124.2, 122.5, 120.5, 117.7, 114.6, 108.4, 105.3, 102.5, 55.9, 25.8, 25.1, 18.0. HRESIMS: m/z 349.1411 ($M+Na$)⁺, $C_{20}H_{22}O_4Na$ 에 대한 계산치 349.1416.

[0226] (E)-3-(3-메틸-2-부텐일옥시)-4',5-다이하이드록시스틸렌(USYDS11)

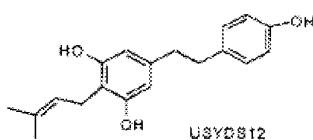


[0227]

[0228] $C_{19}H_{22}O_3$ 1H NMR ($CDCl_3$, 400MHz): δ 7.38 (dd, $J = 7, 2$ Hz, 2H), 7.00 (d, $J = 16$ Hz, 1H), 6.84 (d, $J = 16$ Hz, 1H), 6.82 (dd, $J = 7, 2$ Hz, 2H), 6.64 (t, $J = 2$ Hz, 1H), 6.56 (t, $J = 2$ Hz, 1H), 6.33 (t, $J = 2$ Hz, 1H), 5.50 (t, $J = 7$ Hz, 1H), 4.51 (d, $J = 7$ Hz, 2H), 1.81 (s, 3H), 1.76 (s, 3H). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100MHz): δ 160.4, 156.7, 155.4, 139.9, 138.4, 130.1, 128.8, 128.0 (2C), 126.3, 119.5, 115.6 (2C), 105.6, 105.5, 101.3, 64.9, 25.8, 18.2.

[0229]

(4-(3-메틸-2-부텐-1-일)-3,4',5-트라이하이드록시다이하이드로스틸렌(USYDS12)

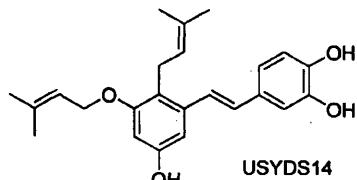


[0230]

[0231] $C_{19}H_{22}O_4$ 1H NMR: (CD_3OD , 400MHz) δ 6.97 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 6.66 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 6.13 (s, 2H), 5.22 (t, $J = 7$ Hz, 1H), 3.24 (d, $J = 7$ Hz, 2H), 2.72 (m, 2H), 2.64 (m, 2H), 1.74 (s, 3H), 1.64 (s, 3H). ^{13}C NMR (CD_3OD , 100MHz): δ 155.5 (2C), 154.9, 140.3, 132.9, 129.4, 128.9 (2C), 123.6, 114.6 (2C), 112.3, 106.5 (2C), 38.0, 36.8, 24.5, 21.7, 16.5.

[0232]

(E)-2-(3-메틸-2-부텐-1-일)-3-(3-메틸-2-부텐일옥시)-3',4',5-트라이하이드록시스틸렌(USYDS14)

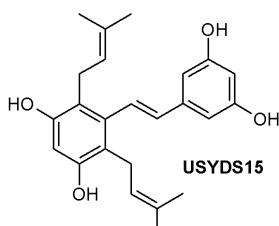


[0233]

[0234] 무색 고체, 수율 12mg. ESI-MS: m/z 379 $[M-1]^-$, 1H -NMR (메탄올- d_4 400MHz): δ 7.07 (d, $J = 16$ Hz, 1H), 6.96 (d, $J = 4$ Hz, 1H), 6.80 (dd, $J = 8, 4$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 16$ Hz, 1H), 6.74 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 6.61 (d, $J = 4$ Hz, 1H), 6.32 (d, $J = 4$ Hz, 1H), 5.47 (m, 1H), 5.06 (m, 1H), 4.48 (m, 2H), 3.37 (m, 2H), 1.78 (m, 6H), 1.75 (m, 3H), 1.66 (m, 3H). ^{13}C -NMR (100MHz, CD_3OD): δ 16.75, 16.80, 23.84, 24.45, 24.54, 64.86, 99.04, 103.41, 112.39, 114.96, 118.71, 119.14, 120.14, 123.54, 123.97, 129.51, 129.70, 130.01, 136.78, 137.95, 145.08, 145.09, 155.59, 157.47. HRMS: 379.19148 $[M-1]^-$, ($C_{24}H_{27}O_4$ 에 대한 계산치 379.19092).

[0235]

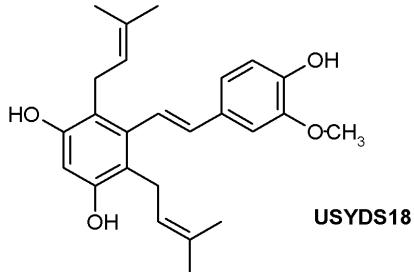
(E)-2,6-다이(3-메틸-2-부텐-1-일)-3,3',5,5'-테트라하이드록시스틸렌(USYDS15)



[0236]

[0237] 무색 고체, 수율 9mg. ESI-MS: m/z 379 [M-1]⁻, ¹H NMR (메탄올-d₄, 400MHz): δ 6.91 (br t, 1H), 6.82 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.73 (d, J = 1 Hz, 2H), 6.28 (s, 1H), 6.27 (d, J = 16 Hz, 1H), 5.12 (m, 2H), 3.26 (d, J = 6 Hz, 4H), 1.65 (m, 6H), 1.59 (m, 6H). ¹³C-NMR (100MHz, CD₃OD): δ 16.75, 24.53, 25.60, 112.27, 114.86, 117.66, 118.24, 124.06, 124.63, 130.20, 133.33, 139.41, 144.73, 144.97, 153.04. HRMS: 379.19149 [M-1]⁻, (C₂₄H₂₇O₄에 대한 계산치 379.19092).

[0238] (E)-2,6-다이(3-메틸-2-부텐-1-일)-3',5-트라이하이드록시-3'-메톡시스틸벤(USYDS18)



[0239]

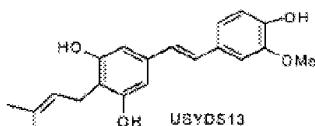
[0240] 수율 5mg. ESI-MS: m/z 393 [M-1]⁻. ¹H NMR: (CD₃OD, 400MHz) δ 7.03 (d, J = 2 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 17 Hz, 1H), 6.85 (dd, J = 8, 2 Hz, 1H), 6.77 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.33 (d, J = 17 Hz, 1H), 6.30 (s, 1H), 5.14 (br t, J = 6 Hz, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.26 (br d, J = 6 Hz, 4H), 1.66 (br s, 6H), 1.60 (br s, 6H). ¹³C NMR (CD₃OD, 100MHz): δ 18.37 (2C), 26.12 (2C), 27.20 (2C), 56.53, 102.58, 110.27, 116.42, 119.23 (2C), 121.03, 126.02 (2C), 126.31, 130.41 (2C), 131.7, 134.87, 140.95, 147.51, 149.26, 154.65 (2C). HRMS: 417.20363 [M+23]⁺, (C₂₅H₃₀O₄Na에 대한 계산치 417.20418).

프레닐화 폴리하이드록시스틸벤의 화학적 개질 및 합성

[0242] A. O-프레닐화 폴리하이드록시스틸벤으로의 재배열

[0243] 자일렌(2ml)중 USYDS2(5mg) 및 플로리실(5mg)의 혼합물을 마이크로파 반응기(씨이엠 디스커버 마이크로웨이브 (CEM Discover Microwave))에서 120°C에서 30분 동안 가열하였다. 생성물을 감압하에 건조하고, NPSCC를 사용하여 정제하였다. 2개의 재배열 생성물이 약 30%의 합한 수율로 관찰되었다.

[0244] 관찰된 주요 생성물은 (E)-4-(3-메틸-2-부텐-1-일)-3',5-트라이하이드록시-3'-메톡시스틸벤(USDYS13)이었다:



[0245]

[0246] 관찰된 소수 생성물은 (E)-2-(3-메틸-2-부텐-1-일)-3',5-트라이하이드록시-3'-메톡시스틸벤(USYDS10)이었다.

[0247] B. 프레닐화 폴리하이드록시스틸벤의 합성

[0248] 1. 3,5-다이하이드록시벤조산 메틸 에스터(1)의 제조

[0249] 무수 메탄올(150ml)중 3,5-다이하이드록시벤조산(10g, 64.9mmol)의 용액에 아세틸 클로라이드(2ml, 28.1mmol)를 적가하였다. 혼합물을 N₂하에 17시간 동안 환류하였다. 용매를 증발시키고, 잔사를 에틸 아세테이트(100ml)에 용해시킨 후, 포화 나트륨 수소 카본에이트(3 x 100ml)로 세척하였다. 합한 유기 층을 물(2 x 100ml)로 세척하고, 나트륨 설페이트상에서 건조하고, 여과하고, 진공중에 농축하여 화합물 2를 무색 고체(9.80g, 90%)로서 수득하였다: 용점 167 내지 168°C(문헌¹ 용점 168 내지 169°C); ¹H NMR (400MHz, ¹³C-CD₃OD): δ 8.66 (s, 2H), 7.00 (d, J = 2.4 Hz, 2H), 6.59 (t, J = 2.4 Hz, 2H), 3.83 (s, 3H).

2. 3-하이드록시-5-벤질옥시벤조산 메틸 에스터(2)의 제조

무수 N,N-다이메틸폼아미드(DMF)(100mℓ)중 NaH(광유중 60% 분산액, 3.3g, 137.3mmol)의 혼탁액에 무수 DMF(30mℓ)중 화합물 2(10g, 59.5mmol)의 용액을 0℃에서 N₂하에 첨가하고, 벤질 브로마이드(6.4mℓ, 53.8mmol)를 적가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하고, 차가운 물(50mℓ)로 급랭시키고, 차가운 1M HCl(20mℓ)로 산성화시키고, 다이에틸 에터(3 x 50mℓ)로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 물(2 x 50mℓ)로 세척하고, 나트륨 설페이트상에서 건조하고, 여과하고, 진공중에 증발시켰다. 생성물을, 클로로폼/에탄올로 이루어진 NPSCC를 사용하여 정제하여 화합물 2를 회백색 고체로서 수득하였다(4.5g, 60%): 용점 97 내지 98℃(문현³ 용점 98℃); C₁₅H₁₄O₄ ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8.01 (s, 1H), 7.43-7.33 (m, 5H), 7.24 (dd, J = 2.0, 1.2 Hz, 1H), 7.20 (dd, J = 2.0, 1.2 Hz, 1H), 6.70 (t, J = 2.0 Hz, 1H), 5.07 (s, 2H), 3.90 (s, 3H).

3. 3-하이드록시-5-벤질옥시벤조산(3)의 제조

메탄올(30mℓ)중 화합물 2(4.5g, 16.7mmol)의 용액에 1M NaOH(60mℓ, 60mmol)를 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 45℃에서 4시간 동안 N₂하에 교반하고, 1M HCl(50mℓ)을 첨가하여 용액을 산성화시키고, 에틸 아세테이트(3 x 40mℓ)로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 물(2 x 30mℓ)로 세척하고, 나트륨 설페이트상에서 건조하였다. 용매를 진공중에 증발시켜 화합물 3을 회백색 고체로서 수득하였다(4.02g, 94%): 용점 196 내지 198℃; C₁₄H₁₂O₄ ¹H NMR (400MHz, 아세톤-d₆) δ 7.42-7.33 (m, 5H), 7.21 (dd, J = 2.4, 1.2 Hz, 1H), 7.11 (dd, J = 2.4, 1.2 Hz, 1H), 6.68 (t, J = 2.4 Hz, 1H), 5.07 (s, 2H).

4. 3-하이드록시-5-메톡시벤조산(4)의 제조

표제 화합물을, 벤질 브로마이드 대신에 메틸 요오다이드를 사용함으로써 상기한 바와 같이 제조하여 화합물 4를 회백색 고체로서 수득하였다, 용점 199 내지 200℃(문현⁴ 용점 199 내지 200℃); C₈H₈O₄ ¹H NMR (400MHz, 아세톤-d₆) δ 8.01 (s, 2H), 7.16 (t, J = 1.2 Hz, 1H), 7.13 (t, J = 1.2 Hz, 1H), 6.15 (t, J = 2.4 Hz, 1H), 3.82 (s, 3H).

5. 3-아세톡시-5-벤질옥시벤조산(5)의 제조

아세트산 무수물(20mℓ, 21.6mmol)중 화합물 3(4.02g, 17.6mmol)의 용액에 피리딘(10%, 0.15mℓ, 1.76mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반하고, 물(30mℓ)로 급랭시키고, 0.1M HCl(10mℓ)로 산성화시키고, 에틸 아세테이트(3 x 40mℓ)로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 물(2 x 30mℓ)로 세척하고, 나트륨 설페이트상에서 건조하고, 여과하였다. 용매를 진공중에 증발시키고, 헥산/에틸 아세테이트의 혼합물(1:1)로부터 재결정화시켜 화합물 5를 핑크색 결정으로서 수득하였다(3.86g, 96%): 용점 133 내지 134℃; C₁₆H₁₄O₅ ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.59 (dd, J = 2.4, 1.2 Hz, 1H), 7.45 (dd, J = 2.4, 1.2 Hz, 1H), 7.43-7.34 (m, 5H), 6.99 (t, J = 2.4 Hz, 1H), 5.1 (s, 2H), 2.32 (s, 3H).

6. 3-아세톡시-5-메톡시벤조산(6)의 제조

상기 5 단계에 의해 제조된 표제 화합물을 사용하여 화합물 6을 회백색 고체로서 수득하였다: 용점 151 내지 153℃; C₁₀H₁₀O₅ ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.50 (dd, J = 2.0, 1.4 Hz, 1H), 7.43 (dd, J = 2.0, 1.4 Hz, 1H), 6.90 (t, J = 2.0 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 2.32 (s, 3H).

7. 3-메톡시-4-벤질옥시벤즈알데하이드(7)의 제조

무수 DMF(50mℓ)중 NaH(광유중 60% 분산액, 1.6g, 66.6mmol)의 혼탁액에 0℃에서 N₂하에 무수 DMF(20mℓ)중 바닐린(4-하이드록시-3-메톡시 벤즈알데하이드, 4g, 26.3mmol)에 주사기를 통해 천천히 첨가하고, 벤질 브로마이드(3mℓ, 25.2mmol)를 적가하였다. 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반하고, 차가운 물(30mℓ)로 급랭시키고, 차가운 1M HCl(15mℓ)로 급랭시키고, 다이에틸 에터(3 x 40mℓ)로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 물(2 x 30mℓ)로 세척하고, 나트륨 설페이트상에서 건조하고, 감압하에 건조하여 화합물 7을 무색 고체(6g, 92%)로서 수득하였다: 용점 60 내지 62℃(문현⁶ 용점 61 내지 62℃); C₁₅H₁₄O₃ ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 9.84 (s, 1H),

7.43-7.31 (m, 7H), 7.00 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.25 (s, 2H), 3.95 (s, 3H).

8. 4-메톡시-3-벤질옥시벤즈알데하이드(8)의 제조

표제 화합물을 단계 7에 기술된 바와 같이 제조하여 화합물 8을 무색 고체로서 수득하였다: 용점 61 내지 63°C (문헌⁷ 용점 61 내지 63°C); C₁₅H₁₄O₃ ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 9.80 (s, 1H), 7.49-7.31 (m, 7H), 7.00 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 5.20 (s, 2H), 3.97 (s, 3H).

9. 4-에텐일-2-메톡시-1-벤질옥시벤젠(9)의 제조

무수 테트라하이드로푸란(THF)(15mL)중 메틸트라이페닐포스포늄 브로마이드(6.5g, 18.2mmol)의 혼탁액에 N₂하에 0°C에서 칼륨 *tert*-부톡사이드(2.3g, 20.5mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 실온까지 가온하였다. 무수 THF(15mL)중 벤질 바닐린(7)(4g, 16.5mmol)의 용액을 적가하고, 2시간 동안 교반한 후, 차가운 물(20mL)로 급랭시키고, 0.1M HCl(20mL)로 산성화시키고, 에틸 아세테이트(3 x 40mL)로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 20% 수성 나트륨 클로라이드(20mL)로 세척한 후, 감압하에 건조하였다. 생성물을 헥산/에틸 아세테이트로 이루어진 단계식 이동상을 사용하는 NPSCC에 의해 정제하여 화합물 9를 무색 고체로서 수득하였다(3.37g, 85%); 용점 53 내지 54°C(문헌⁸ 용점 50 내지 51°C); C₁₆H₁₆O₂ ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.45-7.28 (m, 5H), 6.99 (d, J = 2 Hz, 1H), 6.90 (dd, J = 4, 1 Hz, 1H), 6.83 (d, J = 4 Hz, 1H), 6.68 (dd, J = 17, 1 Hz, 1H), 5.64 (dd, J = 17, 1 Hz, 1H), 5.17 (s, 2H), 5.14 (d, J = 1 Hz, 1H), 3.92 (s, 3H).

10. 5-에텐일-2-메톡시-1-벤질옥시벤젠(10)의 제조

표제 화합물을 단계 9에 기술된 바와 같이 제조하여 화합물 10을 회백색 고체로서 수득하였다: 용점 68 내지 69°C(문헌⁹ 용점 68 내지 69°C); C₁₆H₁₆O₂ ¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ 7.48-7.31 (m, 5H), 7.01 (d, J = 2 Hz, 1H), 6.97 (dd, J = 8, 2 Hz, 1H), 6.85 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.64 (dd, J = 17, 1 Hz, 1H), 5.56 (dd, J = 17, 1 Hz, 1H), 5.17 (s, 2H), 5.12 (d, J = 1 Hz, 1H), 3.92 (s, 3H).

11. E-1-[3-아세톡시-5-벤질옥시페닐]-2-[3-메톡시-4-벤질옥시페닐]에텐(11)의 제조

자일렌(3mL)중 N,N-비스(2,6-다이이소프로필)다이하이드로 이미다졸륨 클로라이드(0.093g, 10%, 0.217mmol) 및 Pd(OAc)₂(0.048g, 10%, 0.217mmol)의 용액에 N₂하에 실온에서 자일렌(2mL)중 화합물 5(0.7g, 2.17mmol)의 산 클로라이드를 첨가하고, 이어서 자일렌(3mL)중 4-에틸모폴린(0.04mL, 0.316mmol) 및 시약 9(0.627g, 2.61mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 130°C에서 18 내지 22시간 동안 가열하였다. 용매를 진공중에 증발시키고, 생성물을 NPSCC(이동상으로서 헥산/에틸 아세테이트 3:1)로 정제하여 화합물 11을 황색 오일로서 수득하였다(0.33g, 31.6%); C₃₁H₂₈O₅ ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.45-7.28 (m, 13H), 7.06 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 17 Hz, 1H), 6.97 (dd, J = 6, 2 Hz, 1H), 6.89 (m, 1H), 6.62 (t, J = 2 Hz, 1H), 5.18 (s, 2H), 5.07 (s, 2H), 3.94 (s, 3H), 2.30 (s, 3H); ¹³C NMR (100MHz, CDCl₃) δ 169.39, 159.78, 151.81, 149.79, 148.32, 139.82, 137.00, 136.57, 130.48, 129.78, 128.63 (2C), 128.58 (2C), 128.10, 127.88, 127.55 (2C), 127.24 (2C), 126.02, 119.98, 113.95, 112.02, 110.50, 109.48, 107.28, 71.0, 70.27, 56.02, 21.19; CI-MS m/z (%): 481 (M+1)⁺, 503 (M+Na)⁺; HRMS: m/z 503.1828 (M+Na)⁺, C₃₁H₂₈O₅Na에 대한 계산치 503.1834.

12. E-1-[3-아세톡시-5-벤질옥시페닐]-2-[3-벤질옥시-4-메톡시페닐]에텐(12)의 제조

표제 화합물을 단계 11에 기술된 바와 같이 제조하여 화합물 5의 산 클로라이드를 시약 10과 축합하였다. 생성물을 헥산/톨루엔의 혼합물(2:1)로부터 재결정화시켜 황색 침상 결정을 수득하였다; C₃₁H₂₈O₅ 용점 133 내지 134°C; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.49-7.29 (m, 10H), 7.07 (d, J = 2 Hz, 1H), 7.05 (dd, J = 8, 2 Hz, 1H), 6.97 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.95 (t, J = 2 Hz, 1H), 6.89 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.84 (t, J = 2 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.62 (t, J = 2 Hz, 1H), 5.18 (s, 2H), 5.07 (s, 2H), 3.94 (s, 3H), 2.30 (s, 3H); ¹³C NMR (100MHz, CDCl₃) δ 169.39, 159.76, 151.80, 149.90, 148.34, 139.83, 137.05, 136.58, 129.94, 129.78, 128.64 (2C), 128.60 (2C), 128.11, 127.94, 127.58 (2C), 127.38 (2C), 125.88, 120.59, 112.00, 111.91,

111.81, 110.52, 107.22, 71.16, 70.27, 56.06, 21.18 (CH_3CO); CI-MS m/z 481 ($\text{M}+1$)⁺, 503 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺; HRMS m/z 503.1832 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺, $\text{C}_{31}\text{H}_{28}\text{O}_5\text{Na}$ 에 대한 계산치 503.1834.

[0272] 13. *E*-1-[3-아세톡시-5-메톡시페닐]-2-[3-메톡시-4-벤질옥시페닐]에텐(13)의 제조

표제 화합물을 단계 11에 기술된 바와 같이 제조하여 화합물 6의 산 클로라이드를 시약 9와 축합시켜 표제 화합물을 회백색 고체로서 수득하였다; 용점 104 내지 106°C; $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_5$ ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.45–7.30 (m, 8H), 7.07 (d, J = 2 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.98 (dd, J = 8, 2 Hz, 1H), 6.90 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.88 (m, 1H), 5.18 (s, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 2.31 (s, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, CDCl_3) δ 169.41, 160.58, 151.83, 149.78, 148.31, 139.76, 137.00, 130.49, 129.72, 128.58 (2C), 127.88, 127.24 (2C), 126.07, 119.97, 113.94, 111.73, 109.67, 109.46, 106.54, 71.01, 56.02, 55.50, 21.18; CI-MS m/z 405 [$\text{M}+1$]⁺; HRMS m/z 405.1695 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{O}_5$ 에 대한 계산치 405.1702.

[0274] 14. *E*-1-[3-하이드록시-5-벤질옥시페닐]-2-[3-메톡시-4-벤질옥시페닐]에텐(14)의 제조

혼합된 용매($\text{MeOH}/\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$, 3/3/3mℓ)중 스틸벤 11(0.04g, 0.083mmol)의 용액에 NaOH (0.02g, 0.35mmol)를 0°C에서 N_2 에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온까지 가온하고, 3시간 동안 교반하였다. 용액을 0.1M HCl (5mℓ)로 산성화시키고, 에틸 아세테이트(3 x 20mℓ)로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 20% 수성 나트륨 클로라이드(10mℓ)로 세척하고, 나트륨 설페이트상에서 건조하고, 진공중에 증발시켰다. 생성물을 NPSCC(헥산/에틸 아세테이트의 이동상)에 의해 정제하고, 재결정화시켜 화합물 14를 무색 고체(0.016g, 44.5%)로서 수득하였다; 용점 114 내지 115°C; $\text{C}_{29}\text{H}_{26}\text{O}_4$ ^1H NMR (400MHz, 메탄올- d_4) δ 7.45–7.28 (m, 10H), 7.06 (d, J = 2 Hz, 1H), 7.00 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.98 (dd, J = 8, 2 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.86 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.71 (t, J = 2.0 Hz, 1H), 6.59 (t, J = 2 Hz, 1H), 6.38 (t, J = 2 Hz, 1H), 5.18 (s, 2H), 5.07 (s, 2H), 3.95 (s, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, 메탄올- d_4) δ 160.29, 156.78, 149.76, 148.19, 139.92, 136.98, 136.84, 130.65, 129.20, 128.61 (2C), 128.57 (2C), 128.02, 127.88, 127.49 (2C), 127.26 (2C), 126.54, 119.94, 113.96, 109.45, 105.97, 105.69, 101.54, 71.02, 70.01, 56.03; CI-MS: 461 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺, 439 ($\text{M}+1$)⁺; HRMS m/z 439.1908 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, $\text{C}_{29}\text{H}_{27}\text{O}_4$ 에 대한 계산치 439.1909.

[0276] 15. *E*-1-[3-하이드록시-5-벤질옥시페닐]-2-[3-벤질옥시-4-메톡시페닐]에텐(15)의 제조

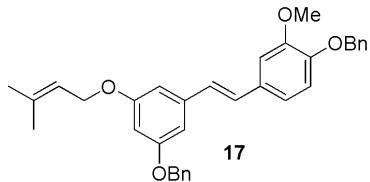
화합물 12의 염기성 가수분해를 화합물 14에 기술된 바와 같이 수행하여 표제 화합물을 무색 고체로서 수득하였다; 용점 117 내지 119°C; $\text{C}_{29}\text{H}_{26}\text{O}_4$ ^1H NMR (400MHz, 메탄올- d_4) δ 7.49–7.30 (m, 10H), 7.07 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.06 (dd, J = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 6.96 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.79 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 6.99 (t, J = 1.6 Hz, 1H), 6.57 (t, J = 2.0 Hz, 1H), 6.38 (t, J = 2.4 Hz, 1H), 5.19 (s, 2H), 5.07 (s, 2H), 3.90 (s, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, 메탄올- d_4) δ 160.20, 158.30, 149.68, 148.25, 139.70, 137.41, 137.31, 130.62, 128.16, 128.07 (2C), 128.05 (2C), 127.52, 127.41 (3C), 127.15 (2C), 126.62, 120.35, 111.95 (2C), 105.67, 104.09, 101.11, 70.88, 69.56, 55.10; CI-MS: m/z 461 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺, 439 ($\text{M}+1$)⁺; HRMS m/z 439.1907 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, $\text{C}_{29}\text{H}_{27}\text{O}_4$ 에 대한 계산치 439.1909.

[0278] 16. *E*-1-[3-하이드록시-5-메톡시페닐]-2-[3-메톡시-4-벤질옥시페닐]에텐(16)의 제조

화합물 13의 염기성 가수분해를 화합물 14에 대해 기술된 바와 같이 수행하여 표제 화합물을 황색 고체로서 수득하였다; 용점 110 내지 112°C; $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}_4$ ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.45–7.28 (m, 5H), 7.07 (d, J = 2 Hz, 1H), 7.00 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.98 (dd, J = 8, 2 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 17 Hz, 1H), 6.85 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.62 (t, J = 2 Hz, 1H), 6.57 (t, J = 2 Hz, 1H), 6.31 (t, J = 2 Hz, 1H), 5.17 (s, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.81 (s, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, CDCl_3) δ 161.08, 156.86, 149.73, 148.16, 139.85, 136.96, 130.69,

129.11, 128.57 (2C), 127.90, 127.29 (2C), 126.61, 119.95, 113.97, 109.47, 105.72, 104.73, 100.72, 71.03, 56.03, 55.36; CI-MS, m/z 384 ($M+Na$)⁺, 363 ($M+1$)⁺; HRMS m/z 363.1592 ($M+H$)⁺, $C_{23}H_{23}O_4$ 에 대한 계산치 363.1596.

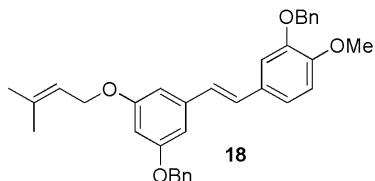
[0280] 17. *E*-1-[3-(3-메틸-2-부텐일옥시)-5-벤질옥시페닐]-2-[3-메톡시-4-벤질옥시페닐]에텐(17)의 제조



[0281]

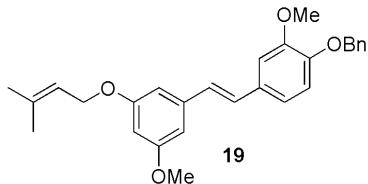
[0282] 무수 DMF(5mℓ)중 NaH(광유중 60% 분산액, 0.0051g, 0.213mmol)의 혼탁액에 N_2 하에 0°C에서 DMF(3mℓ)중 스틸벤 14(0.04g, 0.091mmol)를 적가하고, 이어서 3,3-다이메틸알릴 브로마이드(0.011mℓ, 0.091mmol)를 적가하였다.² 혼합물을 실온에서 2 내지 3시간 동안 교반한 후, 차가운 물(5mℓ)로 급랭시키고, 차가운 0.1M HCl(5mℓ)로 산성화시키고, 다이에틸 에터(3 x 10mℓ)로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 물(2 x 10mℓ)로 세척하고, 감압하에 건조하였다. 생성물을 NPSCC(이동상으로서 헥산/에틸 아세테이트)에 의해 정제하여 화합물 17을 황색 오일로서 수득하였다(0.02g, 43.3%); $C_{34}H_{34}O_4$ 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.46-7.28 (m, 10H), 7.07 (d, J = 2 Hz, 1H), 7.01 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.96 (d, J = 2 Hz, 1H), 6.90 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.73 (t, J = 2 Hz, 1H), 6.68 (t, J = 2 Hz, 1H), 6.48 (t, J = 2 Hz, 1H), 5.52 (m, 1H), 5.17 (s, 2H), 5.07 (s, 2H), 4.52 (d, J = 7 Hz, 2H), 3.95 (s, 3H), 1.80 (d, J = 1 Hz, 3H), 1.76 (d, J = 1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) δ 160.21, 160.12, 149.78, 148.14, 139.49, 138.35, 137.03, 136.94, 130.76, 128.94, 128.59 (2C), 128.56 (2C), 127.94, 127.86, 127.54 (2C), 127.24 (2C), 126.97, 119.87, 119.53, 113.98, 109.43, 105.38, 105.32, 101.14, 71.01, 70.09, 64.84, 56.03, 25.85, 18.22; CI-MS: m/z 529 ($M+Na$)⁺, 507 ($M+1$)⁺; HRMS m/z 507.2528 ($M+H$)⁺, $C_{34}H_{35}O_4$ 에 대한 계산치 507.2535.

[0283] 18. *E*-1-[3-(3-메틸-2-부텐일옥시)-5-벤질옥시페닐]-2-[3-벤질옥시-4-메톡시페닐]에텐(18)의 제조



[0284]

[0285] 화합물 15의 프레닐화를 화합물 17에 기술된 바와 같이 수행하여 표제 화합물을 회백색 고체로서 수득하였다; 융점 88 내지 90°C; $C_{34}H_{34}O_4$ 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.49-7.32 (m, 10H), 7.08 (d, J = 2 Hz, 1H), 7.06 (dd, J = 8, 2 Hz, 1H), 6.97 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.89 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.71 (t, J = 2 Hz, 1H), 6.66 (t, J = 2 Hz, 1H), 6.47 (t, J = 2 Hz, 1H), 5.53 (m, 1H), 5.20 (s, 2H), 5.07 (s, 2H), 4.52 (d, J = 6 Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 1.80 (d, J = 1 Hz, 3H), 1.75 (d, J = 1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) δ 161.04, 160.95, 150.51, 149.11, 140.24, 139.03, 137.81, 137.67, 130.91, 129.57, 129.27 (4C), 128.66, 128.58, 128.22 (2C), 128.05 (2C), 127.50, 121.10, 120.20, 112.48, 112.40, 105.95, 105.86, 101.60, 71.55, 70.47, 65.18, 56.36, 26.00, 18.33; CI-MS: m/z 529 ($M+Na$)⁺, 507 ($M+1$)⁺; HRMS m/z 507.2530 ($M+H$)⁺, $C_{34}H_{35}O_4$ 에 대한 계산치 507.2535.

[0286] 19. *E*-1-[3-(3-메틸-2-부텐일옥시)-5-메톡시페닐]-2-[3-메톡시-4-벤질옥시페닐]에텐(19)의 제조

[0287]

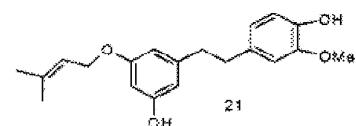
화합물 16의 프레닐화를 화합물 17에 대해 기술된 바와 같이 수행하여 표제 화합물을 회백색 결정으로서 수득하였다; 용점 66 내지 69°C; $C_{28}H_{30}O_4$ 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.45-7.28 (m, 5H), 7.08 (d, J = 2 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.98 (d, J = 2 Hz, 1H), 6.90 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.67 (t, J = 2 Hz, 1H), 6.64 (t, J = 2 Hz, 1H), 6.40 (t, J = 2 Hz, 1H), 5.53 (m, 1H), 5.17 (s, 2H), 4.53 (d, J = 7 Hz, 2H), 3.96 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 1.81 (d, J = 1 Hz, 3H), 1.76 (d, J = 1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) δ 160.91, 160.23, 149.76, 148.14, 139.46, 138.35, 137.04, 130.78, 128.90, 128.56 (2C), 127.87, 127.25 (2C), 127.02, 119.86, 119.56, 113.98, 109.44, 104.96, 104.49, 100.37, 71.02, 64.82, 56.04, 55.36, 25.86, 18.22; CI-MS: m/z 453 ($M+Na$) $^+$; HRMS m/z 453.2036 ($M+Na$) $^+$, $C_{28}H_{30}O_4Na$ 에 대한 계산치 453.2042.

[0289] 20. (*E*)-3-(3-메틸-2-부텐일옥시)-4',5-다이하이드록시-3'-메톡시스틸벤(20, USYDS2와 동가)의 제조

[0290]

무수 에탄올(8mℓ)중 화합물 17(0.02g, 0.035mmol)의 용액에 1,4-사이클로헥사다이엔(3mℓ, 0.030mmol) 및 Pd-C(10%, 0.002g)를 첨가하였다. 혼합물을 N_2 하에 교반하고, 80°C에서 4시간 동안 환류하였다. 용액을 여과하고, 감압하에 건조하여 오일 잔사를 수득하고, 고 성능 액체 크로마토그래피(HPLC)로 정제하여 화합물 20을 황색 오일로서 수득하였다; $C_{20}H_{22}O_4$ 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.02 (d, J = 2 Hz, 1H), 7.00 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.99 (d, J = 2 Hz, 1H), 6.91 (dd, J = 8, 1 Hz, 1H), 6.85 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.64 (t, J = 2 Hz, 1H), 6.56 (t, J = 2 Hz, 1H), 6.33 (t, J = 2 Hz, 1H), 5.53 (m, 1H), 4.52 (d, J = 7 Hz, 2H), 3.95 (s, 3H), 1.82 (d, J = 1 Hz, 3H), 1.76 (d, J = 1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) δ 160.38, 156.70, 146.67, 145.69, 139.87, 138.37, 129.73, 129.29, 126.15, 120.63, 119.49, 114.54, 108.24, 105.58, 105.38, 101.29, 64.85, 55.92, 25.85, 18.22; CI-MS: m/z 325 ($M-1$) $^-$; HRMS m/z 327.1588 ($M+H$) $^+$, $C_{20}H_{22}O_4$ 에 대한 계산치 327.1596.

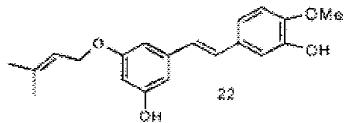
[0291] 21. 3-(3-메틸-2-부텐일옥시)-4',5-다이하이드록시-3'-메톡시다이하이드로-스틸벤(21)의 제조



[0292]

화합물 20의 벤질 기의 제거중에 가교 C=C상의 이중 결합의 수소화에 의해 표제 화합물을 수득하였다. 표제 화합물을 연황색 오일로서 수득하였다; $C_{20}H_{24}O_4$ 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 6.84 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.69 (dd, J = 8, 2 Hz, 1H), 6.62 (d, J = 2 Hz, 1H), 6.34 (t, J = 2 Hz, 1H), 6.26 (t, J = 2.0 Hz, 1H), 6.24 (t, J = 2 Hz, 1H), 5.46 (m, 1H), 5.46 (s, 1H), 4.68 (s, 1H), 4.53 (d, J = 7 Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 2.85 (m, 4H), 1.80 (d, J = 0.4 Hz, 3H), 1.73 (d, J = 0.5 Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) δ 160.11, 156.44, 146.22, 144.46, 143.73, 138.23, 133.61, 120.95, 119.55, 114.15, 111.10, 107.89, 107.58, 99.62, 64.72, 55.84, 38.29, 37.23, 25.84, 18.18; CI-MS: m/z 351 ($M+Na$) $^+$; HRMS m/z 351.1566 ($M+Na$) $^+$, $C_{20}H_{24}O_4Na$ 에 대한 계산치 351.1572.

[0294] 22. (E)-3-(3-메틸-2-부텐일옥시)-3',5-다이하이드록시-4'-메톡시스틸벤(22)의 제조

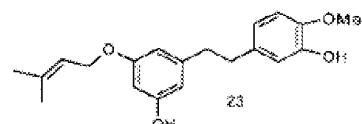


[0295]

화합물 18의 벤질 기의 제거를 화합물 20에 대해 기술된 바와 같이 수행하여 표제 화합물을 연황색 오일로서 수득하였다; $C_{20}H_{22}O_4$ 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.13 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J = 16$ Hz, 1H), 6.97 (dd, $J = 8, 2$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J = 16$ Hz, 1H), 6.64 (t, $J = 2$ Hz, 1H), 6.57 (t, $J = 2$ Hz, 1H), 6.33 (t, $J = 2$ Hz, 1H), 5.60 (s, 1H), 5.52 (m, 1H), 4.77 (s, 1H), 4.52 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 1.82 (d, $J = 1$ Hz, 3H), 1.76 (d, $J = 1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) δ 160.37, 156.69, 146.51, 145.75, 139.83, 138.36, 130.87, 128.92, 126.78, 119.51, 119.40, 111.84, 110.62, 105.66, 105.48, 101.33, 65.18, 56.36, 26.00, 18.33; CI-MS: m/z 349.1408 ($M+Na$) $^+$, $C_{20}H_{22}O_4Na$ 에 대한 계산치 349.1416.

[0297]

23. 3-(3-메틸-2-부텐일옥시)-3',5-다이하이드록시-4'-메톡시다이하이드로-스틸벤(23)의 제조

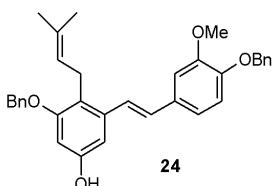


[0298]

화합물 18의 벤질 기의 제거중에 측쇄상의 이중 결합의 수소화에 의해, 표제 화합물을 수득하였다. 표제 화합물을 연황색 오일로서 수득하였다; $C_{20}H_{24}O_4$ 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 6.79 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 6.77 (d, $J = 4$ Hz, 1H), 6.66 (dd, $J = 8, 2$ Hz, 1H), 6.35 (t, $J = 2$ Hz, 1H), 6.27 (m, 1H), 5.56 (s, 1H), 5.50 (m, 1H), 4.74 (s, 1H), 4.46 (d, $J = 7$ Hz, 2H), 3.88 (s, 3H), 2.80 (m, 4H), 1.80 (d, $J = 1$ Hz, 3H), 1.74 (d, $J = 1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) δ 160.11, 156.42, 145.41, 144.80, 144.51, 138.18, 135.07, 119.73, 119.59, 114.59, 110.55, 107.81, 107.49, 99.64, 64.73, 55.00, 38.05, 36.89, 25.83, 18.18; CI-MS: m/z 351 ($M+Na$) $^+$; HRMS m/z 351.1566 ($M+Na$) $^+$, $C_{20}H_{24}O_4Na$ 에 대한 계산치 351.1572.

[0300]

24. E-1-[2-(3-메틸-2-부텐일)-5-하이드록시-3-벤질옥시페닐]-2-[3-메톡시-4-벤질옥시페닐]에텐(24)

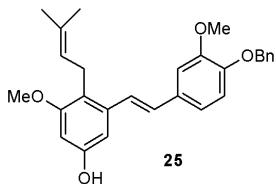


[0301]

톨루엔(30mL)중 화합물 17(0.024g, 0.061mmol)의 용액에 100-200 메쉬 플로리실(0.24g, 10x)을 첨가하고, 110 °C에서 N_2 하에 4시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 진공중에 증발시키고, 적색-갈색 잔사를 NPSCC(이동상으로서 헥산/에틸 아세테이트)로 정제하여 갈색 고체를 수득하였다(0.014g, 58.3%). 생성물을 헥산/에틸 아세테이트(3:1) 혼합물로부터 재결정화시켜 화합물 24를 회백색 고체로서 수득하였다; 용점 145 내지 150°C; $C_{34}H_{34}O_4$ 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.46-7.28 (m, 10H), 7.20 (d, $J = 16$ Hz, 1H), 7.06 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 6.97 (dd, $J = 8, 2$ Hz, 1H), 6.88 (d, $J = 16$ Hz, 1H), 6.87 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 6.68 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 6.40 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 5.18 (s, 2H), 5.17 (m, 1H), 5.05 (s, 2H), 4.69 (s, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.48 (d, $J = 7$ Hz, 2H), 1.73 (d, $J = 1$ Hz, 3H), 1.67 (d, $J = 1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) δ 157.60, 154.27, 149.76, 148.08, 138.31, 137.14, 137.04, 131.18, 130.59, 130.35, 128.56 (2C), 128.49 (2C), 127.86, 127.78, 127.23 (2C), 127.21 (2C), 124.74, 123.63, 121.13, 119.85, 113.99, 109.47,

104.31, 99.53, 71.03, 70.29, 55.98, 25.77, 24.69, 18.01.

[0303] 25. *E*-1-[2-(3-메틸-2-부텐일)-5-하이드록시-3-메톡시페닐]-2-[3-메톡시-4-벤질옥시페닐]에텐(25)의 제조



[0304]

[0305] 화합물 19의 재배열을 화합물 24에 대해 기술된 바와 같이 수행하여 분홍색 고체를 수득하였다: 용점 161 내지 162°C; $C_{28}H_{36}O_4$ 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.46-7.28 (m, 5H), 7.19 (d, J = 16 Hz, 1H), 7.06 (d, J = 2 Hz, 1H), 6.97 (dd, J = 8, 2 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.66 (t, J = 2 Hz, 1H), 6.40 (t, J = 2 Hz, 1H), 5.18 (s, 2H), 5.13 (m, 1H), 4.64 (s, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.42 (d, J = 6 Hz, 2H), 1.80 (d, J = 1 Hz, 3H), 1.68 (d, J = 1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) δ 158.56, 154.35, 149.76, 148.07, 138.11, 137.04, 131.21, 130.63, 130.24, 128.56 (2C), 127.86, 127.22 (2C), 124.73, 123.61, 120.78, 119.84, 113.99, 109.42, 103.88, 98.21, 71.03, 55.97, 55.68, 25.77, 24.46, 17.98; CI-MS: m/z 453 ($M+Na$) $^+$, 431 ($M+1$) $^+$; HRMS m/z 431.2217 ($M+1$) $^+$, $C_{28}H_{31}O_4$ 에 대한 계산치 431.2222.

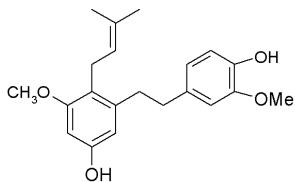
[0306] 26. (*E*)-2-(3-메틸-2-부텐-1-일)-3,4',5-트라이하이드록시-3'-메톡시-스틸벤(26, USYDS10과 등가)의 제조

[0307] 무수 에탄올(6mL)중 화합물 24(0.02g, 0.035mmol)의 용액에 1,4-사이클로헥사다이엔(3mL) 및 Pd-C(10%, 0.0035mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 N_2 하에 교반하고, 80°C에서 4시간 동안 가열하였다. 용액을 여과하고, 진공중에 증발시켜 오일 잔사를 수득하고, NPSCC(이동상으로서 헥산/에틸 아세테이트)에 의해 정제하고, 이어서 정상 HPLC(이동상으로서 2:1 헥산/이소프로판올)에 의해 정제하여 표제 화합물을 연황색 오일로서 수득하였다: USYDS10의 데이터와 유사한 데이터.

[0308] 27. (*E*)-2-(3-메틸-2-부텐-1-일)-5,4'-다이하이드록시-3',3-다이메톡시-스틸벤(27, USYDS1과 등가)의 제조

[0309] 표제 화합물을 화합물 25에 기술된 과정에 의해 제조하여 화합물 27을 연황색 오일로서 수득하였다: $C_{21}H_{24}O_4$ 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.17 (d, J = 16 Hz, 1H), 7.01 (dd, J = 12, 2 Hz, 1H), 7.0 (d, J = 2 Hz, 1H), 6.91 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 16 Hz, 1H), 6.66 (t, J = 2 Hz, 1H), 6.36 (t, J = 2 Hz, 1H), 5.15 (m, 1H), 4.64 (s, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.42 (d, J = 7 Hz, 2H), 1.81 (d, J = 1 Hz, 3H), 1.68 (d, J = 1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) δ 158.57, 154.37, 146.68, 145.60, 138.18, 130.61, 130.44, 130.27, 124.28, 123.67, 120.73, 120.58, 114.55, 108.26, 103.88, 98.18, 55.88, 55.71, 25.79, 24.48, 17.98; CI-MS: m/z 339 ($M-1$) $^-$; HRMS m/z 363.1566 ($M+Na$) $^+$, $C_{21}H_{24}O_4Na$ 에 대한 계산치 363.1572.

[0310] 28. 2-(3-메틸-2-부텐-1-일)-5,4'-다이하이드록시-3',3-다이메톡시다이하이드로-스틸벤(28)의 제조



[0311]

[0312] 화합물 27의 벤질 기의 제거중에 측쇄상 이중 결합의 수소화에 의해, 표제 화합물을 수득하였다. 표제 화합물을 연황색 오일로서 수득하였다: $C_{21}H_{26}O_4$ 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 6.86 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.70 (dd, J = 8, 2 Hz, 1H), 6.64 (d, J = 2 Hz, 1H), 6.30 (d, J = 2 Hz, 1H), 6.24 (d, J = 2 Hz, 1H), 5.48 (s, 1H), 5.07 (m, 1H), 4.67 (s, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.28 (d, J = 6 Hz, 2H), 2.82 (m, 4H), 1.74 (d,

$J = 1$ Hz, 3H), 1.66 (d, $J = 1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, CDCl_3) δ 158.63, 154.23, 146.23, 143.73, 142.01, 133.93, 130.59, 123.87, 120.92, 120.67, 114.21, 111.02, 107.96, 96.90, 55.84, 55.60, 37.19, 35.49, 25.76, 24.38, 17.95; CI-MS: m/z 365 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺; HRMS m/z 365.1723 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺, $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_4\text{Na}$ 에 대한 계산치 365.1729.

[0313] 프레닐화 폴리하이드록시스틸벤 유도체의 생물학적 평가

1. 프레닐화 폴리하이드록시스틸벤 유도체의 항암 활성

A) 7개의 프레닐화 폴리하이드록시스틸벤 유도체, 즉 USYDS1, USYDS2, USYDS4, USYDS6, USYDS7, USYDS9 및 USYDS13을 하기 표 1에 제시된 바와 같이 미국 국립 암 연구소(National Cancer Institute, NCI)에서 소정 범위의 농도(1×10^{-8} 내지 1×10^{-4} M)에서 60개의 세포주에 대해 세포 성장의 억제에 대하여 평가하였다.

[0316] 시험관내 암 선별의 방법: NCI에서 채택한 일반적인 방법

인간 종양 세포주를 5% 소 태아 혈청 및 2mM L-글루타민을 함유하는 RPMI 1640 배지에서 성장시켰다. 전형적인 실험의 경우, 세포를 개별적인 세포주의 배가 시간에 따라 5,000 내지 40,000 세포/웰의 평균배양 밀도로 $100\mu\text{l}$ 의 96-웰 마이크로티터 플레이트에 접종하였다. 세포 접종 후, 마이크로티터 플레이트를 37°C, 5% CO_2 , 95% 공기 및 100% 상대 습도에서 24시간 동안 항온처리한 후, 약물을 첨가하였다.

[0318] 24시간 후, 각각의 세포주의 2개의 플레이트를, 약물의 첨가 시 각각의 세포주를 위한 세포 집단의 측정을 나타내기 위하여, 클로로트라이클로로아세트산(TCA)으로 동일 반응계에서 고정하였다. 실험 약물을 목적 최종 최대 시험 농도의 400배로 다이메틸 셀록사이드(DMSO)에 용해시키고, 사용 전에 냉동 저장하였다. 약물 첨가 시, 냉동된 농축물의 분취량을 해빙하고, $50\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 젠타미신을 함유하는 완전 배지로 목적 최종 최대 시험 농도의 2배 까지 희석하였다. $100\mu\text{l}$ 의 약물의 분취량을 이미 $100\mu\text{l}$ 의 배지를 함유하는 적절한 마이크로티터 웰에 첨가하여 요구되는 최종 약물 농도를 생성하였다.

[0319] 약물의 첨가 후, 플레이트를 추가로 48시간 동안 37°C, 5% CO_2 , 95% 공기 및 100% 상대 습도에서 항온처리하였다. 부착 세포의 경우, 차가운 TCA를 첨가함으로써 분석을 종결시켰다. $50\mu\text{l}$ 의 차가운 50%(w/v) TCA(최종 농도, 10% TCA)를 적절히 첨가함으로써 세포를 동일 반응계에서 고정하고, 4°C에서 60분 동안 항온처리하였다. 상청액을 폐기하고, 플레이트를 수돗물로 5회 세척하고, 대기 건조하였다. 설포로다민 B(SRB) 용액($100\mu\text{l}$)을 1% 아세트산중 0.4%(w/v)로 각각의 웰에 첨가하고, 플레이트를 실온에서 10분 동안 항온처리하였다. 염색 후, 1% 아세트산으로 5회 세척함으로써, 결합되지 않은 염료를 제거하고, 플레이트를 대기 건조하였다. 이어서, 결합된 스테인을 10mM 트라이즈마 염기로 가용화시키고, 흡광도를 515nm의 파장에서 자동화된 플레이트 판독기상에서 판독하였다. 혼탁 세포의 경우, 방법은, $50\mu\text{l}$ 의 80% TCA의 조심스럽게 첨가하여 웰의 저부에 가라앉은 세포를 고정함으로써 분석을 종결하고(최종 농도, 16% TCA), 흡광도를 515nm의 파장에서 자동화된 플레이트 판독기상에서 판독하는 것을 제외하고는, 동일하다. GI_{50} 값(세포 성장의 50% 억제에 필요한 농도), TGI 값(세포 성장의 완전한 억제에 필요한 농도) 및 LC_{50} 값(50% 세포 치사 또는 사멸에 필요한 농도)를 각각의 USYDS1, USYDS2, USYDS4, USYDS6, USYDS7, USYDS9 및 USYDS13에 대해 계산하고, 결과를 하기 표 1 내지 3에 제공한다.

[0320] [표 1]

[0321] 인간 암 세포 성장에 대한 pPHOS USYDS1, USYDS2 및 USYDS13의 효과

화합물	USYDS1 (μM)			USYDS2 (μM)			USYDS13 (μM)		
	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀
백혈병									
CCRF-CEM	0.35	24.6	>100	5.06	>100	>100	6.56	>100	>100
HL-60 (TB)	0.02	0.06	68.9	1.34	9.77	>100	2.55	17.1	>100
K-562	0.04	11.7	>100	0.48	>100	>100	4.08	57.5	>100
MOLT-4	0.43	12.3	80.2	4.16	28.3	>100	2.95	13.7	>100
RPMI-8226	0.11	14.8	>100	4.32	52.8	>100	9.05	51.6	>100
SR	0.04	24.4	>100	0.54	>100	>100	2.80	>100	>100
비-소세포 폐암									
A549/ATCC	0.50	11.3	40.3	3.28	13.0	42.1	4.01	20.4	>100
EKVX	10.8	24.3	54.4	9.04	25.2	66.4	12.8	54.6	>100
HOP-62	0.44	16.0	42.2	4.44	18.5	43.4	5.66	20.4	53.7
HOP-92	0.06	12.3	39.6	3.98	21.1	60.1	5.96	30.5	>100
NCI-H226	3.13	13.3	45.6	5.43	19.1	46.4	10.9	50.1	>100
NCI-H23	0.28	15.1	62.5	2.89	23.6	>100	5.66	28.0	>100
NCI-H322M	11.8	25.7	55.9	9.64	22.7	52.3	5.90	28.5	>100
NCI-H460	0.23	1.38	42.0	2.47	10.9	58.7	3.09	15.6	>100
NCI-H522	0.02	-	44.8	1.14	3.57	14.7	2.13	59.8	25.6
결장암									
COLO 205	3.86	16.1	42.6	17.3	31.7	57.9	15.6	28.9	53.8
HCC-2998	1.07	11.5	35.8	4.61	17.3	46.4	11.0	30.6	85.3
HCT-116	0.30	11.1	40.4	2.09	11.9	40.0	4.33	15.6	45.6
HCT-15	0.05	16.1	>100	0.76	17.8	97.3	4.25	20.5	84.5
HT29	4.73	15.3	44.4	17.4	32.2	59.6	17.8	36.9	76.8
KM12	0.32	13.9	46.7	2.09	11.7	45.0	3.15	16.1	49.0
SW-620	0.04	15.1	44.3	0.53	14.0	40.7	3.98	15.9	42.8
CNS 암									
SF-268	0.25	14.1	50.2	4.50	19.2	51.6	6.17	32.9	>100
SF-295	0.65	16.2	55.7	3.94	14.7	49.2	5.22	23.5	77.5
SF-539	0.04	14.4	48.6	1.92	13.8	50.2	7.32	29.9	>100
SNB-19	0.17	19.3	51.5	5.02	20.4	53.6	8.02	24.2	64.5
SNB-75	0.03	20.2	72.0	2.14	10.3	55.8	5.47	36.6	>100
U251	0.37	10.9	36.0	2.96	14.7	41.0	5.47	20.7	57.6
흑색종									
LOX IMVI	0.05	16.2	58.8	1.56	19.4	>100	4.48	20.2	80.0
MALME-3M	3.47	25.8	78.3	1.88	26.2	94.9	5.53	32.1	>100
M14	0.04	13.9	44.0	0.53	15.4	49.4	4.92	18.5	51.6
MDA-MB-435	0.03	13.8	43.0	0.34	11.0	41.3	3.08	15.9	>100
SK-MEL-2	0.32	10.6	38.0	1.25	9.59	41.6	3.09	9.37	40.2
SK-MEL-28	10.9	23.8	51.7	5.04	19.4	46.7	5.64	22.5	70.5
SK-MEL-5	0.05	0.75	5.99	1.58	11.5	34.3	2.50	8.54	29.2
UACC-257	2.53	17.7	45.4	7.89	20.6	46.0	5.35	18.1	44.0
UACC-62	1.62	18.3	46.6	3.73	15.9	44.6	5.30	19.7	58.8
난소암									
IGROV1	2.65	27.9	>100	5.84	46.7	>100	6.70	86.2	>100

[0322]

OVCAR-3	0.26	-	37.3	3.02	10.7	36.1	7.98	39.8	>100
OVCAR-4	0.58	18.4	52.0	5.34	28.0	>100	9.68	74.8	>100
OVCAR-5	6.0	21.4	55.3	10.1	24.8	60.9	13.9	79.3	>100
OVCAR-8	0.08	11.7	50.0	2.80	14.8	44.6	5.48	59.8	>100
ADR-RES	0.03	-	70.7	0.40	4.95	>100	4.41	>100	>100
SK-OV-3	0.19	11.6	34.7	3.69	14.9	38.9	7.96	36.2	>100
신장암									
786-0	0.48	14.0	>100	3.55	15.9	98.8	5.24	24.5	>100
A498	1.84	8.45	32.2	10.3	23.8	55.2	3.88	21.0	63.5
ACHN	0.07	14.0	44.6	3.76	17.5	52.1	5.11	>100	>100
CAKI-1	4.77	39.3	>100	6.13	>100	>100	5.90	>100	>100
RXF-393	0.03	-	39.1	1.35	5.46	23.6	5.48	18.9	46.5
SN12C	0.99	16.9	54.2	4.02	18.8	60.2	7.16	>100	>100
TK-10	4.10	15.7	40.5	4.69	14.3	40.1	6.98	31.4	>100
UO-31	0.25	16.0	51.3	2.60	16.9	48.9	4.16	38.1	>100
전립선암									
PC-3	0.42	16.1	47.9	3.84	18.7	65.8	6.36	>100	>100
DU-145	0.06	12.7	38.6	3.05	12.5	37.8	6.82	31.6	>100
유방암									
MCF7	0.23	13.0	52.9	1.24	15.0	41.0	0.68	19.9	82.7
MDA-MB-231	0.15	2.43	61.2	0.25	2.10	15.7	1.63	7.82	>100
BT-549									
HS 578T	0.02	-	>100	1.28	10.3	>100	2.40	15.0	>100
T-47D	0.72	19.8	67.4	5.66	33.6	>100	2.92	14.7	70.5
MDA-MB-468	0.36	8.37	33.2	2.72	9.41	36.8	1.68	7.63	>100

[0323]

[표 2]

[0325] 인간 암 세포 성장에 대한 pPHOS USYDS4, USYDS9 및 USYDS6의 효과

화합물	USYDS4 (μM)			USYDS9 (μM)			USYDS6 (μM)		
	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀
백혈병									
CCRF-CEM	3.50	>100	>100	2.14	>100	>100	2.96	9.17	82.1
HL-60 (TB)	2.59	6.04	>100	0.20	0.43	0.95	2.07	4.83	15.4
K-562	2.35	>100	>100	0.33	13.9	>100	1.46	4.13	22.6
MOLT-4	4.31	21.6	>100	1.27	6.77	>100	1.59	4.27	16.8
RPMI-8226	2.35	25.4	>100	0.45	>100	>100	2.34	5.61	62.0
SR	0.95	>100	>100	-	-	-	-	-	-
비-소세포 폐암									
A549/ATCC	4.74	25.6	>100	2.62	41.5	>100	2.69	8.42	33.7
EKVX	9.55	59.6	>100	26.4	>100	>100	7.19	21.4	54.4
HOP-62	6.49	26.3	83.4	2.87	>100	>100	5.11	17.5	44.0
HOP-92	1.92	13.6	62.3	0.62	>100	>100	1.86	4.67	14.5
NCI-H226	5.14	23.1	78.0	18.6	57.9	>100	1.47	30.1	61.5
NCI-H23	3.42	20.8	81.9	1.43	>100	>100	3.38	15.7	47.6
NCI-H322M	12.8	54.7	>100	0.76	>100	>100	1.16	25.5	56.2
NCI-H460	3.65	20.3	>100	0.47	10.3	75.7	1.89	3.90	8.06
NCI-H522	1.07	2.54	6.04	0.15	0.45	44.8	2.18	5.15	17.8
결장암									
COLO 205	9.72	23.0	53.5	21.7	83.6	>100	16.0	30.2	57.2
HCC-2998	5.16	19.0	53.4	4.18	21.2	>100	2.81	8.78	32.2
HCT-116	4.55	16.0	40.6	1.40	12.8	75.0	1.89	3.78	7.54
HCT-15	1.77	34.9	>100	0.43	>100	>100	2.13	6.26	48.2
HT29	16.3	32.5	64.7	18.6	46.6	>100	5.44	17.6	48.3
KM12	3.27	14.2	46.5	0.52	12.2	63.9	2.21	4.37	8.64
SW-620	2.97	16.6	46.5	0.31	15.3	75.0	1.84	3.54	6.82
CNS 암									
SF-268	3.89	23.2	>100	0.63	37.6	>100	2.78	8.97	44.3
SF-295	7.29	24.3	70.9	2.60	20.5	>100	6.78	20.8	53.2
SF-539	3.45	22.3	97.5	0.28	1.02	>100	4.48	17.6	57.1
SNB-19	10.5	25.8	63.8	0.55	>100	>100	6.38	20.6	52.7
SNB-75	1.77	9.11	48.3	0.24	-	>100	6.67	21.4	54.0
U251	3.67	15.6	45.5	0.59	19.6	>100	2.33	5.31	16.7
흑색종									
LOX IMVI	3.82	19.3	58.5	0.64	58.6	>100	1.76	3.42	6.68
MALME-3M	7.25	30.6	>100	0.62	>100	>100	2.80	8.56	37.1
M14	0.91	15.4	46.3	0.30	5.69	>100	2.82	8.46	33.4
MDA-MB-435	0.36	21.6	>100	0.13	0.42	>100	3.37	10.8	42.1
SK-MEL-2	2.18	6.57	31.0	2.17	12.1	>100	13.1	33.6	86.1
SK-MEL-28	9.18	27.6	77.9	8.14	>100	>100	11.2	24.0	51.3
SK-MEL-5	1.42	8.35	30.0	0.39	2.52	>100	2.29	6.17	22.1
UACC-257	5.44	19.4	48.6	6.15	59.2	>100	3.49	14.4	39.8
UACC-62	4.53	16.8	44.4	3.22	34.8	>100	10.3	23.5	53.8
난소암									
IGROV1	3.74	44.8	>100	4.57	>100	>100	5.23	17.7	54.1

[0326]

OVCAR-3	3.98	15.0	44.9	0.90	3.84	24.8	2.10	4.31	8.85
OVCAR-4	3.98	50.4	>100	5.48	>100	>100	4.40	16.1	43.5
OVCAR-5	15.9	51.4	>100	30.7	>100	>100	5.86	20.0	53.3
OVCAR-8	4.94	31.1	>100	0.50	38.3	>100	2.95	9.51	42.9
ADR-RES	1.11	48.3	>100	0.29	3.69	>100	3.46	15.2	51.2
SK-OV-3	8.91	57.0	>100	0.50	5.12	>100	13.9	27.1	53.2
신장암									
786-0	4.41	20.5	>100	2.99	18.7	>100	2.46	6.96	28.8
A498	9.07	23.5	55.2	10.3	53.5	>100	11.7	25.0	53.1
ACHN	4.57	>100	>100	0.66	>100	>100	3.94	14.6	50.4
CAKI-1	5.25	>100	>100	19.1	>100	>100	8.37	22.6	55.7
RXF-393	2.17	15.3	46.0	0.23	0.63	>100	2.15	5.39	18.7
SN12C	3.94	20.0	74.1	1.76	83.5	>100	2.85	7.98	30.8
TK-10	3.87	9.66	>100	5.34	41.2	>100	3.36	9.33	31.2
UO-31	3.31	20.7	66.4	0.46	>100	>100	2.51	7.50	33.5
전립선암									
PC-3	4.47	22.0	87.9	2.92	>100	>100	1.80	3.89	8.44
DU-145	6.37	44.6	>100	0.35	2.62	>100	3.47	12.9	40.1
유방암									
MCF7	2.57	18.2	51.1	2.81	>100	>100	4.02	18.0	60.5
MDA-MB-231	1.04	18.4	>100	0.38	2.61	>100	1.72	4.54	17.2
HS 578T	1.00	7.11	>100	0.20	0.73	>100	1.67	5.29	35.8
T-47D	2.13	6.93	>100	4.78	36.9	>100	5.03	20.3	57.9
MDA-MB-468	2.53	9.51	55.1	2.42	8.48	>100	2.30	6.39	26.0

[0327]

[표 3]

0329] 인간 암 세포 성장에 대한 pPHOS USYDS7의 효과

화합물	USYDS7 (μM)						
	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀	흑색종	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀
백혈병							
CCRF-CEM	2.73	8.48	71.2	LOX IMVI	1.71	3.41	6.81
HL-60 (TB)	2.39	5.06	13.8	MALME-3M	1.97	4.46	10.4
K-562	2.14	4.78	17.4	M14	1.79	3.71	7.73
MOLT-4	2.01	5.19	26.5	MDA-MB-435	2.29	6.47	31.7
RPMI-8226	2.31	6.01	61.1	SK-MEL-2	3.20	7.82	42.9
비-소세포 폐암				SK-MEL-28	3.65	11.8	36.7
A549/ATCC	1.88	4.06	8.78	SK-MEL-5	1.80	3.68	7.54
EKVV	4.25	14.7	44.9	UACC-257	2.18	5.93	23.0
HOP-62	3.67	15.0	51.6	UACC-62	2.80	7.84	31.5
HOP-92	1.52	4.21	14.2	난소암			
NCI-H226	2.28	6.24	28.1	IGROV1	3.12	8.39	36.7
NCI-H23	1.81	5.22	29.5	OVCAR-3	1.82	3.36	6.19
NCI-H322M	5.29	18.1	44.7	OVCAR-4	2.85	11.1	66.8
NCI-H460	1.64	3.22	6.33	OVCAR-5	3.04	11.6	39.0
NCI-H522	1.61	3.57	7.92	OVCAR-8	1.68	3.65	7.95
결장암				ADR-RES	2.23	7.90	42.4
COLO 205	1.79	4.34	12.2	SK-OV-3	5.98	19.4	46.5
HCC-2998	1.95	4.26	9.34	신장암			
HCT-116	1.57	3.02	5.82	786-0	1.99	4.47	10.2
HCT-15	1.29	3.78	22.0	A498	11.1	23.8	50.8
HT29	3.64	10.8	45.8	ACHN	2.58	9.12	37.6
KM12	1.93	3.88	7.79	CAKI-1	4.24	16.2	49.0
SW-620	1.58	3.19	6.42	RXF-393	1.53	3.23	6.80
CNS 암				SN12C	1.65	3.16	6.03
SF-268	2.26	5.47	22.7	TK-10	3.62	11.2	34.3
SF-295	3.37	11.4	44.6	UO-31	1.60	3.46	7.46
SF-539	2.21	6.14	35.2	유방암			
SNB-19	2.80	8.64	39.9	MCF7	2.10	12.0	57.9
SNB-75	2.98	12.8	49.1	MDA-MB-231	1.49	3.89	10.7
U251	1.49	2.93	5.74	HS 578T	1.84	8.09	50.9
전립선암				T-47D	1.88	6.09	43.5
PC-3	2.02	4.57	11.3	MDA-MB-468	2.12	4.84	13.9
DU-145	2.65	7.62	28.3				

[0330]

0331] 요약하면, 모든 프레닐화 폴리하이드록시스테일벤 유도체 USYDS1 내지 USYDS9 및 USYDS13은 암 세포 성장의 구조

의존적 억제를 나타냈다. 일부 세포주에서, 성장이 nM 농도로 억제되었다. USYDS1은 암 세포 성장의 억제에서 가장 강력한 활성을 나타냈고, USYDS9 및 이어서 USYDS2가 뒤를 이었다. 시험된 다른 pPHOS 화합물은 중간 정도의 억제제인 것으로 나타났다. 도 3 내지 9는 상기 표에 제시된 다양한 세포주에 관하여, 화합물 USYDS1 내지 USYDS9 및 USYDS13에 의한 인간 암 세포 성장의 억제에 대한 투여량 반응 곡선을 도시한다.

[0332] 이러한 pPHOS가 세포 성장을 억제하는데 요구되는 농도(GI₅₀ 륈)에 비해 세포 사멸을 야기하는 농도(LC₅₀ 륈) 또는 고사를 야기하는 농도에서 적어도 10배 과량으로 요구됨이 주목할 만하다. 이는 pPHOS가 암 세포의 프로그램화된 세포 사멸(아폽토시스) 또는 세포 주기 억제를 유발할 수 있음을 나타낸다.

[0333] B) 2개의 프레닐화 폴리하이드록시스틸벤 유도체, 즉 USYDS10 및 USYDS14가, 하기 표 4A 및 4B에 제시된 바와 같이, 미국 국립 암 연구소(NCI)에서 소정 범위의 농도(1×10^{-8} 내지 1×10^{-4} M)에서 지시된 세포주에 대한 세포 성장의 억제에 대해 평가되었다.

[표 4A]

USYDS10의 암 세포 성장에 대한 억제 효과

	GI50	TGI	LC50
백혈병			
HL-60(TB)	3.27E-7	1.88E-6	> 1.00E-4
K-562	3.86E-7	3.17E-5	> 1.00E-4
MOLT	5.96E-7	1.99E-5	> 1.00E-4
RPMI	3.24E-7	1.63E-5	> 1.00E-4
SR	1.88E-7	> 1.00E-4	> 1.00E-4
비-소세포 폐암			
A549/ATCC	6.60E-7	2.25E-5	> 1.00E-4
EKVV	1.22E-5	7.34E-5	> 1.00E-4
HOP	5.81E-7	1.77E-5	4.23E-5
HOP	3.98E-7	2.63E-5	9.32E-5
NCI-H226	5.35E-6	3.50E-5	> 1.00E-4
NCI-H23	3.80E-7	1.52E-5	7.83E-5
NCI-H322M	1.18E-5	3.14E-5	8.37E-5
NCI-H460	3.81E-7	1.29E-5	6.61E-5
NCI-H522	3.49E-7	1.46E-5	4.22E-5
결장암			
COLO	1.53E-5	2.97E-5	5.77E-5
HCC-2998	1.81E-6	1.19E-5	3.98E-5
HCT-116	4.80E-7	1.30E-5	4.27E-5
HCT-15	4.98E-7	2.09E-5	> 1.00E-4
HT29	5.72E-6	2.13E-5	6.90E-5
KM12	4.97E-7	1.53E-5	8.58E-5
SW-620	3.62E-7	2.15E-5	8.55E-5
CNS 암			
SF-268	1.40E-6	4.96E-5	> 1.00E-4
SF-295	2.01E-6	1.91E-5	> 1.00E-4
SF-539	3.76E-7	1.29E-5	4.17E-5
SNB-19	6.13E-7	2.28E-5	> 1.00E-4
SNB-75	2.36E-7	1.22E-5	3.61E-5
U251	4.19E-7	1.62E-5	7.88E-5
흑색종			
LOX IMVI	5.72E-7	1.93E-5	8.00E-5
MALME-3M	1.87E-5	4.17E-5	9.29E-5
M14	2.84E-7	1.42E-5	4.16E-5
MDA-MB-435	3.85E-8	2.56E-7	> 1.00E-4
SK-MEL-2	5.76E-7	3.26E-5	> 1.00E-4
SK-MEL-28	5.72E-7	1.69E-5	4.30E-5
SK-MEL-5	2.91E-7	1.27E-5	3.60E-5
UACC-257	1.17E-5	2.94E-5	7.37E-5
UACC-62	5.21E-7	1.55E-5	4.28E-5
난소암			

[0336]

IGROV1	2.03E-6	> 1.00E-4	> 1.00E-4
OVCAR-3	3.72E-7	2.03E-5	> 1.00E-4
OVCAR-4	1.03E-6	1.82E-5	5.77E-5
OVCAR-5	8.92E-6	2.80E-5	8.31E-5
OVCAR-8	4.67E-7	6.50E-5	> 1.00E-4
NCI/ADR-RES	1.83E-7	8.04E-7	> 1.00E-4
SK-OV-3	4.22E-7	1.14E-5	3.42E-5
신장암			
786-0	6.81E-7	2.01E-5	7.45E-5
A498	2.17E-6	7.85E-6	3.48E-5
ACHN	9.03E-7	3.79E-5	> 1.00E-4
CAKI-1	5.39E-7	6.68E-5	> 1.00E-4
RXF 393	2.21E-7		3.76E-5
SN12C	6.71E-7	2.98E-5	> 1.00E-4
TK-10	9.55E-6	5.15E-5	> 1.00E-4
UO-31	8.78E-7	2.17E-5	9.52E-5
전립선암			
PC-3	2.27E-6	3.12E-5	> 1.00E-4
DU-145	4.42E-7	2.05E-5	> 1.00E-4
유방암			
MCF7	3.32E-7	1.30E-5	5.06E-5
MDA-MB-231/ATCC	6.42E-7	3.20E-5	> 1.00E-4
HS 578T	2.92E-7	2.60E-5	> 1.00E-4
BT-549	7.98E-7	1.90E-5	4.93E-5
T-47D	1.47E-6	2.47E-5	> 1.00E-4
MDA-MB-468	3.73E-7	1.44E-5	4.49E-5

[0337]

[0338]

[표 4B]

[0339]

USYDS14의 암 세포 성장에 대한 억제 효과

	GI50	TGI	LC50
백혈병			
HL-60(TB)	4.06E-6	1.63E-5	> 1.00E-4
K-562	8.33E-7	1.42E-5	> 1.00E-4
MOLT-4	4.03E-6	2.10E-5	> 1.00E-4
RPMI-8226	4.07E-6	2.45E-5	> 1.00E-4
SR	6.70E-7	2.46E-5	> 1.00E-4
비-소세포 폐암			
A549/ATCC	4.33E-6	1.65E-5	4.55E-5
EKVK	6.45E-6	2.12E-5	5.17E-5
HOP-62	1.43E-6	3.77E-6	9.98E-6
HOP-92	1.49E-6	7.58E-6	3.29E-5
NCI-H226	1.72E-6	3.60E-6	7.52E-6
NCI-H23	2.92E-6	1.73E-5	5.76E-5
NCI-H322M	1.25E-5	2.57E-5	5.28E-5
NCI-H460	3.87E-6	1.49E-5	5.12E-5
NCI-H522	7.50E-7	2.26E-6	5.85E-6
결장암			
COLO 205	1.46E-5	2.85E-5	5.57E-5
HCC-2998	2.90E-6	1.06E-5	4.07E-5
HCT-116	4.20E-6	1.60E-5	4.66E-5
HCT-15	2.06E-6	1.04E-5	4.33E-5
HT29	1.40E-5	2.91E-5	6.09E-5
KM12	3.74E-6	1.44E-5	5.74E-5
SW-620	2.88E-6	1.67E-5	6.38E-5
CNS 암			
SF-268	4.65E-6	1.78E-5	4.85E-5
SF-295	3.91E-6	1.53E-5	4.31E-5
SF-539	2.96E-6	1.05E-5	3.78E-5
SNB-19	5.01E-6	2.01E-5	5.22E-5
SNB-75	1.79E-6	7.80E-6	2.93E-5
U251	3.09E-6	1.27E-5	3.94E-5
흑색종			
LOX IMVI	1.36E-6	3.37E-6	8.35E-6
MALME-3M	3.14E-6	2.18E-5	5.48E-5
M14	2.95E-6	1.36E-5	5.00E-5
MDA-MB-435	3.73E-7	8.45E-6	4.00E-5
SK-MEL-2	3.72E-6	1.25E-5	4.12E-5
SK-MEL-28	3.05E-6	1.64E-5	4.16E-5
SK-MEL-5	5.54E-7	1.87E-6	4.46E-6
UACC-257	1.02E-5	2.35E-5	5.40E-5
UACC-62	2.61E-6	1.32E-5	3.91E-5

[0340]

난소암			
IGROV1	3.65E-6	1.37E-5	6.54E-5
OVCAR-3	3.52E-6	1.35E-5	4.11E-5
OVCAR-4	2.98E-6	1.36E-5	3.86E-5
OVCAR-5	1.24E-5	2.58E-5	5.36E-5
OVCAR-8	3.59E-6	1.56E-5	6.49E-5
NCI/ADR-RES	7.80E-7	1.14E-5	4.93E-5
SK-OV-3	2.85E-6	1.37E-5	3.72E-5
신장암			
786-0	3.44E-6	1.18E-5	4.00E-5
A498	1.30E-5	2.66E-5	5.46E-5
ACHN	2.98E-6	1.25E-5	3.65E-5
CAKI-1	3.59E-6	1.75E-5	4.54E-5
RXF 393	1.07E-6	3.58E-6	1.48E-5
SN12C	3.61E-6	1.51E-5	4.20E-5
TK-10	3.79E-6	1.21E-5	3.54E-5
UO-31	3.71E-6	1.79E-5	4.63E-5
전립선암			
PC-3	6.65E-6	2.16E-5	5.50E-5
DU-145	8.20E-6	2.11E-5	4.75E-5
유방암			
MCF7	2.74E-6	1.18E-5	4.19E-5
MDA-MB-231/ATCC	3.15E-6	1.43E-5	4.53E-5
HS 578T	2.71E-6	2.05E-5	> 1.00E-4
BT-549	4.27E-6	1.63E-5	4.69E-5
T-47D	2.71E-6	7.84E-6	6.18E-5
MDA-MB-468	1.42E-6	4.12E-6	1.64E-5

[0341]

[0342] 요약하자면, 모든 프레닐화 폴리하이드록시스틸벤 유도체 USYDS10 및 USYDS14가 암 세포 성장의 구조 의존적 억제를 나타냈다.

2. 다양한 하이드록시스틸벤의 계산된 로그 분배 계수(Log P) 값

[0344] USYDS1 및 USYDS2 및 공지된 하이드록시스틸벤에 대해 계산된 Log P 값이 하기 표 5에 제공된다.

[0345]

[표 5]

[0346]

다양한 하이드록시스틸벤의 계산된 Log P 값

화합물 USYDS2	5.37	라포티게닌	2.82
화합물 USYDS1	5.58	페닐 기가 없는 화합물 USYDS1	3.49
레스베라트롤	3.14	피노실빈	3.68
피세아단올	1.90		

[0347]

[0348] pPHOS 화합물, 예를 들어 USYDS1 및 USYDS2의 강력한 억제가, 이들의 계산된 로그 분배 계수(Log P) 값에 의해 증명되는 바와 같이, 이들의 증가된 소수성에 의해 설명될 수 있다. USYDS1 및 USYDS2는 하이드록시스틸벤 레스베라트롤의 Log P 값의 거의 2배의 Log P 값을 갖는다. 치료 화합물에 대한 Log P는 주로 조직 침투 및 분포와 관련이 있다. 보다 높은 Log P 값은 화합물이 보다 용이하게 세포 막을 통과하고 세포에 도입되도록 할 것이다.

[0349]

3. UV-조사된 인간 피부 세포에 대한 프레닐화 폴리하이드록시스틸벤 유도체의 효과

[0350]

정상적인 성인 인간 케라티노사이트(NHK) 세포(인비트로겐(Invitrogen), 오스트레일리아 빅토리아 소재)를 12-웰 배양 플레이트중에서 칼슘 및 인간 케라티노사이트 성장 보충물(HKGS, 1ml 당 0.2ng EGF, 1ml 당 5mg 인슐린, 1ml 당 5mg 트랜스페린, 1ml 당 0.18mg 하이드로코르티손 및 0.2% 소 뇌하수체 추출물을 함유함)(인비트로겐, 오스트레일리아 빅토리아 소재)이 보충된 케라티노사이트 성장 배지 에필라이프(Epilife)에서 서브콘플루언트(subconfluent) 상태에 도달할 때까지 배양하였다. 세포를 5% 이산화 탄소를 갖는 가습된 인큐베이터에서 37°C에서 24시간 동안 24-웰 플레이트에서 1 ml/웰 당 5×10^3 세포의 밀도까지 배양하고, 하기 프로토콜에

따라 시험하였다.

[0351] UV 조사의 최적 선량의 결정

[0352] 상기 밀도에서 시딩된 세포를 PBS(포스페이트 완충 염수)로 2회 세척한 후 MED(최소 흥반 용량, 1 MED = 25.43/광도)로서 공지된 소정 범위의 UVA 및 UVB 선량으로 조사하였다. 세포를 성장 배지로 대체하고, 5% 이산화탄소를 갖는 가습된 인큐베이터로 37°C에서 약 24시간 동안 배양하였다. 세포 생존율을 MTS 분석(셀티터(CellTiter) 96(등록상표) 아쿠어스 원(AQuieous One) 용액 세포 증식 분석)(프로메가(Promega), 오스트레일리아 빅토리아 소재)을 사용하여 측정하였다.

[0353] 구제 분석

[0354] 세포를 PBS로 2회 세척하고, PBS의 박층으로 대체한 후, 상기 측정된 UVA 및 UVB의 최적 선량으로 조사하였다. 조사 직후, 세포를 소정 범위의 농도로 시험 샘플을 함유하는 새로운 배양 배지로 대체하고, 추가로 가습된 CO₂ 인큐베이터에서 37°C에서 24시간 동안 항온처리하였다. 상청액을 수집하고, PGE2 및 사이토카인(IL1, 6, 8, 10 및 12) 농도를 ELISA 키트에 의해 측정할 때까지 -80°C에서 유지하였다.

[0355] 보호 분석

[0356] 세포를 PBS로 2회 세척하고, 상이한 농도의 시험 화합물을 함유하는 PBS의 박층으로 대체한 후, 상기 측정된 UVA 및 UVB의 최적 선량으로 조사하였다. 조사 직후, 세포를 새로운 배양 배지로 대체하고, 추가로 가습된 CO₂ 인큐베이터에서 37°C에서 24시간 동안 항온처리하였다. 상청액을 수집하고, PGE2 및 사이토카인(IL1, 6, 8, 10 및 12) 농도를 ELISA 키트에 의해 측정할 때까지 -80°C에서 유지하였다.

[0357] 허위 처리된 대조군 배양액을 UV 조사에 노출한 것을 제외하고는 동일하게 취급하였다. USYDS1, 2, 13, 5 및 7 및 프로폴리스 추출물을 포함하는 스틸벤 화합물을 0.1, 1 및 10 μM 또는 μg/ml로 시험하였다.

[0358] UV 조사의 최적 선량의 측정에 대한 결과는 1 MED의 UVA 및 UVB 조사에서, 세포 생존율에 대한 유의한 효과가 없음을 나타냈다. 따라서, 이러한 상태는 구제 분석에서 사이토카인의 수준에 대한 스틸벤 및 프로폴리스 추출물의 효과의 조사를 위해 선택되었다.

[0359] UV 조사된 인간 상피 케라티노사이트(HEK)에서의 사이토카인 생산의 조절에 대한 예비적인 조사에서, USYDS1 및 USYDS2의 혼합물이 IL-6, TGF α, G-CSF 및 GM-CSF의 생산을 적절히 억제함(2 내지 3배)이 관찰되었다. 그러나, 프레닐화 폴리하이드록시스틸벤 유도체가 UV 조사된 세포로부터의 IL-8 및 IL-1r α 생산을 유의하게 증가시킴(4 내지 5배)이 밝혀졌다. IL-8은 면역 반응의 발생에서 중요한 역할을 하는 것으로 공지되어 있다. 반면에, IL-1r α(천연 발생 사이토카인 수용체 길항제)는 염증 과정 중에 IL-1의 해로운 효과를 억제하는데 중요한 역할을 한다. 따라서, 이러한 예비적인 결과는 본 발명의 프레닐화 폴리하이드록시스틸벤 유도체가 면역억제 및 염증과 관련된 병태의 치료를 위한 양호한 후보군일 수 있음을 증명한다.

4. 스틸벤 및 프로폴리스 추출물의 산화방지 활성

[0361] 1,1-다이페닐-2-피크릴하이드라질(DPPH^{*}) 포집 활성 분석

[0362] (1,1-다이페닐-2-피크릴하이드라질) DPPH 분석은 517nm에서 DPPH^{*} 라디칼의 감소를 측정함으로써 천연 생성물의 화합물 또는 추출물의 유리 라디칼 포집 능력을 시험하는데 통상적으로 사용된다. 이의 라디칼 형태에서, DPPH^{*}는 이의 흡수 전자에 기인하여 517nm에서 강한 흡광도를 나타낸다. 산화방지제 또는 라디칼 포집제에 의한 감소 시, 흡수가 사라지고, 라디칼의 포집에 의해 생성된 탈색은 취해진 전자의 수에 대해 화학량론적이다(DPPH^{*} + AH → DPPH:H + A^{*}). DPPH 분석을 하기한 바와 같이 단계식 과정으로 수행하였다.

[0363] DPPH(0.1mM)의 메탄올 용액을 어두운 용기에서 실온에서 20분 동안 교반하였다. 용액을 400 내지 750nm 사이에서 스캔하여 최대 파장(λ_{max}, 약 510nm)을 수득하였다. DPPH 용액의 농도를 메탄올로 조정하여 약 1.0의 최대 흡광도를 유발하였다. 상이한 농도의 시험 샘플 및 표준 산화방지 용액(0.05ml)을 큐벳중의 0.95ml의 메탄올에 DPPH 용액에 첨가하였다. 시험 샘플의 최종 농도는 0.1, 1, 10, 50, 100 및 200 μM이었다. 혼합물을 격렬하게 진탕하고, 실온에서 30분 동안 암흑에 방치시켰다. 생성된 용액의 흡광도를 최대 파장(약 510nm)에서 측정하였다. 흡광도의 감소는 시험 샘플의 유리 라디칼 포집 효과를 나타냈다. 시험 샘플의 투여량 반응 곡선을 평가

하여 이들의 IC₅₀ (UV 흡광도의 50% 감소를 나타내는 농도)을 측정하였다.

[0364] 결과

[0365] 본 연구에서 pPHOS 화합물은 강한 효과를 나타낸 USYDS7을 제외하고는, 유리 라디칼 포집에 대한 중간 내지 약한 효과를 나타냈다. 이러한 결과는 도 10에 도시된다.

[0366] 5. 니코틴아미드 아데닌 디이뉴클레오티드(NAD)-의존적 테아세틸라제 시르투인-2(SIRT1)에 대한 스틸벤 유도체의 효과

[0367] SIRT1은 NAD-의존적 히스톤 테아세틸라제인 Sir2 계열(클래스 III)의 일원이다. SIRT1 효소에 의한 탈아세틸화는 히스톤, 종양 억제제 p53, 포크헤드 전사 인자(FOXO), 퍼옥시좀 증식자-활성화된 수용체-γ (PPAR γ) 및 공활성화제-1α (PGC-1α)를 비롯한 많은 기질을 표적으로 할 수 있다.¹⁰ SIRT1은 많은 생리병리학적 과정의 조절, 예컨대 염증, 세포 노화, 아폽토시스/증식, 대사 및 세포 주기 조절에 관여하는 것으로 나타났다(문현[Chung, Yao et al. 2010]). 따라서, SIRT1 활성의 조절은 많은 질병, 예컨대 암, 대사 증후군, 비만, 신경퇴행성 질환, 골격근 기능이상 및 노화-관련 질병을 조절하는 잠재적인 치료 표적일 수 있다.¹¹

[0368] SIRT1 분석 키트(케이만 케미컬(Cayman Chemical), 미국 미시간주 앤 아버 소재)는 SIRT1 억제제 또는 활성화제를 선별하기 위한 형광-계 방법을 제공한다. 분석을 제조자의 설명서에 따라 수행하였다. 간략하게, 분석은 2개의 단계로 이루어지고, 둘다 동일한 플레이트에서 수행된다. 제1 단계에서, p53 서열 Arg-His-Lys-Lys(ε-아세틸)-AMC (7-아미노-4-메틸쿠마린)를 포함하는 기질이 이의 보조기질 NAD⁺와 함께 인간 재조합 SIRT1과 같이 항온처리된다. 탈아세틸화는 제2 단계에서 현상액에 의한 처리가 350 내지 360nm의 여기 파장 및 450 내지 465nm의 방출 파장에서 형광 플레이트 판독기를 사용하여 분석되는 형광 생성물을 방출하도록 기질을 민감하게 만든다. 스틸벤을 3개의 농도(1, 10 및 100 μM)에서 분석하였다. 데이터는 각각 3회 수행된 2개의 독립적인 실험을 나타낸다.

[0369] 결과

[0370] 레스베라트롤을 제외한 모든 스틸벤은 도 11A 및 11B에 도시된 바와 같이, SIRT1의 농도 의존적 억제를 나타냈다. SIRT1 활성의 조절은 암, 대사 증후군, 비만, 신경퇴행성 질환 및 노화-관련 질병을 비롯한 질병의 치료를 위한 치료제의 개발을 유도할 수 있다.

[0371] 6. 사초 유형-1 프로폴리스의 USYDS1, USYDS2 및 에탄올계 추출물의 항균 활성

[0372] 요약

[0373] 최소 억제 농도(MIC) 선별을 14개의 세균 균주 및 4개의 화합물을 사용하여 수행하였다. MIC를 미국 국제진단 검사표준 및 임상검사실 품질협회(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 지침에 따른 배양액 극소희석 방법에 의해 측정하였다. MIC 선별을 64 내지 0.06 μg/ml의 연속적인 2배 희석액으로 화합물을 함유하는 96-웰 플레이트상에서 수행하였다. 세균 접종을 매주 새로이 준비되는 적절한 한천 플레이트상에서 성장한 배양균으로부터의 양이온-조정된 뮐러 힌톤(Mueller Hinton) 배지 배양액으로 준비하였다. 성장 대조군 및 멸균 대조군이 각각의 분석 플레이트에 포함되었다. 분석 플레이트를 외기 인큐베이터에서 35 ± 2°C에서 16 내지 20시간(MRSA의 경우 24시간) 동안 항온처리하고, 세균 성장을 관찰하고, 기록하였다. MIC 선별에 있어서 기준 화합물 레보플록사신의 모든 MIC는 CLSI S100-A20에 기술된 표준 범위에 속한다. 3개의 시험 샘플의 효능은 USYDS1 > USYDS2 > 에탄올계 프로폴리스 추출물의 순서이다.

[0374] 1. 재료

[0375] 1.1. 균주

[0376]

MIC 선별을 위한 세균 패널

미생물	그램	균주	¹ 내성	² 플라스미드	배양 조건	MIC 스크리닝 조건
에스케리치아 콜라이	G	ATCC (25922)			TSA, 와기, 35 ± 2 °C	CAMHB, 와기, 35±2 °C, 20 hr
슈도모나스 아에루기노사	G	ATCC (27853)			TSA, 와기, 35 ± 2 °C	CAMHB, 와기, 35±2 °C, 20 hr
클레브시엘라 뉴모니아에	G	ATCC (700603)	AMP, AZT, CFX, CPD, CAZ, CHL, PIP, TET	예	TSA, 와기, 35 ± 2 °C	CAMHB, 와기, 35±2 °C, 20 hr
해모필러스 인플루엔자에	G	ATCC (49247)			초콜릿 한천, 5% CO2, 35±2 °C	HTM, 와기, 35±2 °C, 20 hr
아시네토박ter 칼코아세티쿠스	G+	ATCC (51432)	IMI		TSA, 와기, 35 ± 2 °C	CAMHB, 와기, 35±2 °C, 20 hr
엔테로코커스 파에시움	G+	ATCC (700221)	VAN		TSA + 5% 양 혈액, 와기, 35 ± 2 °C	CAMHB, 와기, 35±2 °C, 20 hr
엔테로코커스 파에칼리스	G+	ATCC (29212)			TSA + 5% 양 혈액, 와기, 35 ± 2 °C	CAMHB, 와기, 35±2 °C, 20 hr
스트렙토코커스 피요개네스	G+	ATCC (700492)			TSA + 5% 양 혈액, 5% CO2, 35 ± 2 °C	CAMHB + 3% 말 혈액, 와기, 35±2 °C, 20 hr
스트렙토코커스 뉴모니아에	G+	ATCC (49619)	PEN		TSA + 5% 양 혈액, 5% CO2, 35 ± 2 °C	CAMHB + 3% 말 혈액, 와기, 35±2 °C, 20 hr
스트렙토코커스 뉴모니아에	G+	임상적인 단리물	ERY		TSA + 5% 양 혈액, 5% CO2, 35 ± 2 °C	CAMHB + 3% 말 혈액, 와기, 35±2 °C, 20 hr
스타필로코커스 아우레우스	G+	ATCC (29213)			TSA, 와기, 35 ± 2 °C	CAMHB, 와기, 35±2 °C, 20 hr
스타필로코커스 아우레우스	G+	ATCC (43300)	MET, OXA		TSA, 와기, 35 ± 2 °C	CAMHB, 와기, 35±2 °C, 20 hr
스타필로코커스 아우레우스	G+	임상적인 단리물	LEV		TSA, 와기, 35 ± 2 °C	CAMHB, 와기, 35±2 °C, 20 hr
스타필로코커스 아우레우스	G+	임상적인 단리물	MET, ERY, CLI		TSA, 와기, 35 ± 2 °C	CAMHB, 와기, 35±2 °C, 20 hr

[0377]

[0378] ¹공지된 내성; ²공지된 플라스미드 존재

[0379]

약어: TSA, 트립티카제 대두 한천; CAMHB, 양이온-조정된 뮐러 힌톤 배양액; HTM, 해모필러스 시험 배지; AMP, 암피실린; AZT, 아스트레오남; CFX, 세폭시틴; CPD, 세프포독심; CAZ, 세프타지덤; CHL, 클로람페니콜; PIP, 피페라실린; TET, 테트라사이클린; IMI, 이미페넴; VAN, 반코마이신; PEN, 페니실린; ERY, 에리트로마이신; MET, 메티실린; OXA, 옥사실린; LEV, 레보플록사신; CLI, 클린다마이신.

[0380]

1.2. 배지 및 시약

[0381]

트립티카제 대두 한천(BD 211043), 양이온-조정된 뮐러 힌톤 배양액(BD 212322), 해모필러스 시험 배지 베이스(플루카(Fluka) 51295), 헤민(Hemin)(플루카 51280), β -NAD(플루카 43410), 레보플록사신(시그마(Sigma) 28266), 양 혈액(쿼드 파이브(Quad Five) 630-500), 용해된 말 혈액(쿼드 화이브 205-500), 0.5 맥파랜드(McFarland) 바륨 살레이트 표준, 멸균 0.85% NaCl(w/v).

[0382] **2. 방법**

[0383] 2.1. 세균 균주 제조

[0384] A. MIC 선별 2일 전에 동결된 냉동 저장(-80°C)으로부터 세균 균주를 소생시켰다. 적절한 한천 플레이트의 표면상에 기다란 자국을 내고, 플레이트를 적절한 대기중에서 35 ± 2°C에서 20 내지 24시간 동안 항온처리하였다.

[0385] 연쇄상구균: TSA II, 5% CO₂

[0386] 장구균: TSA II, 외기

[0387] 해모필러스 인플루엔자에: 초콜릿 한천, 5% CO₂

[0388] 패널내의 다른 균주: TSA, 외기

[0389] B. 유사한 형태의 5 내지 10개의 웰-단리된 콜로니를 선택하고, 멸균 루프를 사용하여 새로운 한천 플레이트상에 다시 기다란 자국을 냈다. 플레이트를 상기 적절한 대기중에서 35 ± 2°C에서 20 내지 24시간 동안 항온처리하였다.

[0390] 2.2. 화합물 플레이트의 제조

[0391] 화합물 저장 용액을 MIC 선별 및 즉시 사용하는 날에 100% DMSO에서 제조하였다. 화합물 저장 농도 = [(최고 시험 농도) x 103 μl / 3 μl](예컨대, 요구되는 최고 시험 농도가 분석 플레이트에서 64 μg/ml인 경우, 저장 농도 = 64 x 103 / 3 = 2.2 mg/ml). 시험 화합물의 효능을 달리 언급되지 않는 한 100%로 추정하는 반면, 기준 화합물의 효능을 제조자의 분석 데이터에 따라 계산하였다.

[0392] 화합물 당 11개의 2배 희석액을 제조한 후, 3μl를 시험 플레이트의 각각의 웰에 옮겼다. MIC 선별에서 DMSO의 최종 농도는 약 3%이었다.

[0393] 2.3. 세균 접종의 제조

[0394] A. 4°C 냉장고로부터 배지 배양액을 취하고, 실온까지 가온하였다.

[0395] B. 새로운 배양 플레이트로부터의 콜로니를 멸균 루프를 사용하여 5ml의 염수로 옮기고, 잘 혼합하였다. 탁도계를 사용하여 탁도를 측정하고, 탁도를 0.5 맥파랜드 바륨 살레이트 표준으로 조정하였다. 다르게는, 1 내지 2개의 콜로니를 500μl의 염수로 옮기고, 플레이트 판독기를 사용하여 OD625를 약 0.1로 조정하였다.

[0396] C. 세균 접종원을 그램-양성 및 까다로운 균주에 대해 1:280, 및 그램-음성 균주에 대해 1:400으로 상응하는 배지 배양액(CAMHB, CAMHB + 3% 용해된 말 혈액, HTM)(예컨대, 10ml의 CAMHB로의 35.6μl 접종원, 또는 10ml의 CAMHB로의 25μl의 접종원)으로 희석하였다.

[0397] H. 인플루엔자에: HTM

[0398] 연쇄상구균: CAMHB + 3% 용해된 말 혈액

[0399] 패널내의 다른 균주: CAMHB

[0400] 2.4. 분석 플레이트의 제조

[0401] A. 100μl의 세균 접종원을 웰 B12, D12, F12 및 H12를 제외하고는 화합물 플레이트의 각각의 웰에 첨가하였다.

[0402] B. 100μl의 배지 배양액을 화합물 플레이트의 웰 B12, D12, F12 및 H12에 첨가하였다.

[0403] C. 4개의 플레이트를 함께 쌓고, 멸균 플레이트 뚜껑으로 덮었다. 외기 인큐베이터를 35 ± 2°C에서 16 내지 20시간(MRSA에 대해 24시간) 동안 항온처리하였다.

[0404] 2.5. 콜로니 계수의 수행

[0405] A. 세균 접종원(0.5 맥파랜드)을 염수 용액중에서 일련의 10-1 내지 10-7로 희석하였다(예컨대, 100μl 세균 접종원 + 900μl 염수).

[0406] B. 100μl의 각각의 희석액(10-4, 10-5, 10-6 및 10-7)을 CAMHA 플레이트에 3회 펼치고, 액체를 10분 동안 한천에 담그고, 한천 플레이트를 뒤집고, 35 ± 2°C에서 24시간 동안 항온처리하였다.

[0407] 2.6. MIC의 기록 및 CFU의 계산

[0408] A. 화합물 관리 시스템에서 화합물 플레이트 레이아웃을 개방하고, 분석 플레이트 바코드를 체크하였다.

[0409] B. 분석 플레이트를 MIC 판독기의 상부에 위치시키고, 확대 거울을 조정하여 각각의 웰을 판독하고, 원시 데이터로서 성장 상태를 기록하였다. 고속 고-해상도 스캐너를 사용하여 각각의 분석 플레이트의 포토 이미지를 (선택적으로) 기록하였다.

[0410] C. CLSI 지침에 따라서 MIC 중단점을 측정하였다.

[0411] D. 콜로니를 계수하고, 세균 접종원의 CFU를 계산하였다.

[0412] 3. 결과

[0413] 3.1. MIC 요약 표

[0414] MIC 선별을 14개의 세균 균주(11개의 ATCC 균주 및 3개의 임상적인 단리물) 및 4개의 화합물(USYDS1, USYDS2 및 프로폴리스의 에탄올계 추출물 및 기준 화합물 레보플록사신)을 사용하여 수행하였다. MIC를 하기 표 6에 요약하였다. 본 연구에서 수득한 기준 화합물 레보플록사신의 MIC 값은 S100-A20 [2]에 기술된 표준 범위에 속하였다. MIC 선별에서 DMSO의 최종 농도는 약 3%이었고, 대부분의 미생물의 성장을 억제하지 않았다.

[0415] [표 6]

[0416] 14개의 세균 균주에 대한 USYDS1, USYDS2 및 프로폴리스의 에탄올계 추출물의 MIC($\mu\text{g}/\text{mL}$)(레보플록사신은 기준 화합물임).

화합물	레보플록사신		USYDS1		USYDS2		에탄올계 프로폴리스 추출물	
			Exp 1	Exp 2	Exp 1	Exp 2	Exp 1	Exp 2
아시네토박тер 칼코아세티쿠스	4	4	>64	>64	>64	>64	>64	>64
에스캐리치아 콜라이	<0.0625	<0.0625	16	16	64	32	>64	>64
엔테로코커스 파에칼리스 (ATCC 29212)	1	1	16	16	32	32	64	64
엔테로코커스 파에시움 (ATCC 700221)	>64	>64	8	16	32	32	64	32
헤모필러스 인플루엔자에	<0.0625	<0.0625	32	32	32	32	64	64
클레브시엘라 뉴모니아에	1	1	>64	>64	>64	>64	>64	>64
슈도모나스 아에루기노사	1	1	>64	>64	>64	>64	>64	>64
스타필로코커스 아우레우스 (ATCC 29213)	0.5	0.25	16	8	32	16	32	32
스타필로코커스 아우레우스 (ATCC 43300)	0.25	0.25	8	8	16	16	32	32
스타필로코커스 아우레우스 (레보플록사신-내성)	64	64	8	8	16	16	16	16
스타필로코커스 아우레우스 (MRSA, 에리트로마이신 및 클린다마이신-내성)	8	8	8	8	16	16	32	32
스트렙토코커스 뉴모니아에 (ATCC 49619)	0.5	0.5	32	32	32	32	32	32
스트렙토코커스 피요게네스 (ATCC	0.5	0.5	64	64	64	64	>64	>64

[0417]

700942)								
스트렙토코커스 뉴모니아에 (에리트로마이신- 내성)	1	1	32	32	32	64	64	>64

[0418]

4. 논의

[0419]

프레닐화된 테트라하이드록시스틸렌 USYDS1 및 USYDS2는 USYDS1 > USYDS2 > 프로폴리스 에탄올계 추출물의 효능 등급을 갖는 중간 정도의 항균 활성을 나타냈다.

[0420]

7. 키나제 활성에 대한 USYDS1, USYDS2 및 USYDS10 화합물의 효과

[0422]

연구된 키나제가 하기 열거되었다.

번호	키나제	번호	키나제	번호	키나제	번호	키나제
1	ABL2	20	CDK4/사이클린D3	39	FGFR3	58	PKAc γ
2	AKT1	21	CDK5/사이클린P25	40	FGR	59	PKC α
3	AKT2	22	CDK6/사이클린D1	41	FLT1 (VEGFR1)	60	PKC β I
4	AKT3	23	CDK6/사이클린D3	42	FLT3	61	PKC γ
5	ALK1	24	CDK7/사이클린H1/MNAT 1	43	GSK3 α	62	PKC ε
6	AMPK (A1/B1/G1)	25	CHK1	44	HER2	63	PKC Θ
7	AMPK (A2/B1/G1)	26	c-KIT	45	IGF1R	64	PKC δ
8	오로라 A	27	c-KIT(W654A)	46	InsR	65	PKC δ
9	오로라 B	28	EGFR(T790M,L858R)	47	KDR	66	PKC τ
10	오로라 C	29	EphA1	48	LCK	67	PLK2
11	AXL	30	EphA2	49	NEK2	68	PLK3
12	BLK	31	EphA3	50	p38 β	69	RAF1
13	BTK	32	EphA4	51	PDGFR β	70	BRAF
14	CAMK1	33	EphB1	52	PI3K α	71	BRAF(v599E)
15	CDK1/사이클린 A2	34	EphB2	53	PI3K β	72	RET
16	CDK1/사이클린 B	35	EphB3	54	PI3K γ	73	RON
17	CDK2/사이클린 A2	36	ERK1	55	PI3K δ	74	SRC
18	CDK3/사이클린 E1	37	FGFR1(V561M)	56	PKAc α	75	TrkA
19	CDK4/사이클린 D1	38	FGFR2	57	PKAc β	76	TrkB

[0423]

실험

재료:

* 키나제-글로(플러스)(Kinase-Glo(Plus))/ADP-글로어세이(Gloassay) 완충액

25mM HEPES, 10mM MgCl₂, 0.01% 트리톤(Triton) X-100, 100 μg/mlBSA, 2.5mMDTT, pH 7.4.

* 칼리퍼 분석 완충액

100mM HEPES, 10mM MgCl₂, 100 μl/L 브리즈(Brij)35(30%), 1mM DTT, pH 7.4.분석 기질

* MBP 단백질, 비작용성 MEK1, Rb 단백질을 시그널챔(SignalChem)으로부터 입수하였다. 폴리(glu:tyr)(4:1)을 시그마로부터 입수하였다. PIP2를 케이만으로부터 입수하였다. 펩티드 기질은 중국 에이치디 바이오사이언시스(HD Biosciences)에서 합성되었다.

ATP를 시그마로부터 입수하였다. 키나제글로플러스(KinaseGloPlus) 시약, 키나제글로레전트(KinaseGloReagent) 및 ADP 글로레전트를 프로메가로부터 입수하였다.

분석 과정 - 칼리퍼 포맷

96-웰 분석 플레이트에서 키나제, 기질, ATP 및 화합물을 혼합하였다(총 부피는 50μl임). 분석 플레이트를 30 °C에서 1시간 동안 항온처리하였다. 20μl의 35mM EDTA를 첨가함으로써 반응을 중단시키고, 26μl의 중단된 반응물을 384-웰 분석 플레이트로 옮겼다. 플레이트 판독기상에서 분석 플레이트를 판독하였다.

분석 과정 - ADP-글로포맷(GloFormat)

키나제, 기질, ATP 및 화합물을 384-웰 분석 플레이트에서 혼합하였다(총 부피는 10μl임). 분석 플레이트를 30 °C에서 1시간 동안 항온처리하였다. 10 μl/웰의 ADP 글로레전트를 분석 플레이트에 첨가하고, 27°C에서 40분 동안 항온처리하였다.

20 μl/웰 검출 시약을 분석 플레이트에 첨가하고, 27°C에서 30분 동안 항온처리하였다. 분석 플레이트를 플레이트 판독기상에서 판독하였다.

분석 과정 - 키나제-글로(플러스)포맷

[0439] 키나제, 기질, ATP 및 화합물을 384-웰 분석 플레이트에서 혼합하였다(총 부피는 $10\mu\text{l}$ 임). 분석 플레이트를 30 °C에서 1시간 동안 항온처리하였다. $10\mu\text{l}/\text{웰}$ 키나제글로(플러스) 시약을 반응 혼합물에 첨가한 후, 27°C에서 20분 동안 항온처리하였다. 분석 플레이트를 플레이트 판독기상에서 판독하였다.

[0440] * 100% 효과를 ATP 및 기질은 함유하지만 화합물 및 효소 없이 수행하였다.

[0441] * 0% 효과를 ATP, 기질 및 효소를 함유하지만 화합물 없이 수행하였다.

[0442] * SB202190은 키나제 p38 β 에 대한 기준 화합물이었고; 스타우로스포린(STSP)은 잔류하는 키나제에 대한 기준 화합물이었다.

결과

[0444] 60%보다 많이 억제한 키나제를 하기 표에 요약한다. 모든 3개의 화합물이 키나제 TrKA 및 PI3K δ 및 PI3K γ 를 억제함에 흥미롭게 주목한다. USYDS1 및 USYDS10이 둘다 키나제에 대한 유사한 억제 활성을 나타내는 것으로 보인다.

화합물	키나제
USYDS1	FLT3, TrKA, CDK2/사이클린A2, CDK4/사이클린D3, PI3K α , PI3K δ , PI3K γ
USYDS2	TrkA, PI3K β , PI3K δ , PI3K γ
USYDS10	FLT3, TrkA, KDR, FLT1, CDK2/사이클린A2, PI3K α , PI3K β , PI3K δ , PI3K γ , CDK1/사이클린B

[0445]

8. USYDS1의 급성 독성 연구

방법

하나의 마우스에 400mg/kg의 IP 주입을 제공하고, 제2 마우스는 200mg/kg IP의 투여량을 수용하고, 제3 마우스는 단일 투여량의 100mg/kg IP를 수용하였다. 마우스를 2주의 기간 동안 관찰하였다. 마우스가 체중의 20% 초과를 잃거나, 상당한 독성의 다른 신호가 존재하는 경우, 마우스를 희생시켰다. 3마리의 마우스가 모두 희생되어야 하는 경우, 다음의 3개의 투여량 수준(50, 25, 12.5 mg/kg)을 유사한 방식으로 시험하였다. 이러한 과정을 허용 투여량이 발견될 때까지 반복하였다. 이때, 이러한 투여량이 최대 허용 투여량(MTD)으로 지정되고, 항-종양 시험중에 실험 마우스에게 제공된 물질의 양을 계산하는데 사용되었다. 마우스는 임의로 사료 및 물에 접근하도록 허용되었다. 약물을 200 mg/ml의 농도로 100% DMSO에 용해시켰다.

[0449]

결과

군	투여량 (mg/kg/투여)	경로	사망 일수	생존자/총 일	주사 부피
1	100	IP	없음	1/1	0.5 $\mu\text{L}/\text{gm}$ 체중
2	200	IP	1	0/1	1 $\mu\text{L}/\text{gm}$ 체중
3	400	IP	1	0/1	2 $\mu\text{L}/\text{gm}$ 체중

[0450]

USYDS1의 MTD가 100 mg/kg으로 측정되었다. 이러한 농도는 적은 포유동물 독성을 나타내고, 추가 항-종양 시험에 사용된다. USYDS1에 대한 중공 섬유 분석(BEC/C)이 진행중이다. 중공 섬유 분석은 마우스 이종이식 모델에서의 평가 전에 소정 범위의 암 세포주에 대한 신규한 추정적 화학치료 화합물에 대한 예비적인 빠른 스크린이다. 중공 섬유 모델은 전통적인 이종이식 모델에 비해 보다 짧은 평가 시간 및 감소된 화합물 요건을 갖는다. 이러한 모델은 이종이식에서 암 세포 유형의 효과적인 선택을 가능하게 한다.

프레닐화 폴리하이드록시스틸벤 유도체의 공급원인 수지를 생성하는 식물의 화학형

상이한 장소로부터의 레피도스페마 속의 식물로부터 수득한 수지, 검 또는 삼출물을 프레닐화 폴리하이드록시스틸벤 함량에 대한 정량적인 $^1\text{H-NMR}$ (q-NMR)에 의해 분석하였고, 이는 C- 및 O-프레닐화된 유도체, O-메틸화된 및 비-O-메틸화된 유도체를 포함하였다. 상기 수지로부터의 이러한 프레닐화 폴리하이드록시스틸벤 유도체의 상이한 비율이 이에 따라 식물을 분류하는 기준을 형성한다.

[0454] 이제까지 확인된 3개 이상의 상이한 화학형의 레피도스페마 식물은 다수의 하위-화학형을 나타낸다. 유형 1은 C- 및 O-프레닐화된 유도체 둘다를 대략적으로 동등한 비율로 함유하는 가장 통상적인 식물이다. 유형 2 식물은 단지 C-프레닐화된 유도체를 함유한다. 반면, 유형 3 식물은 O-메틸화된 프레닐화 폴리하이드록시스틸벤 유도체를 전혀 함유하지 않는다.

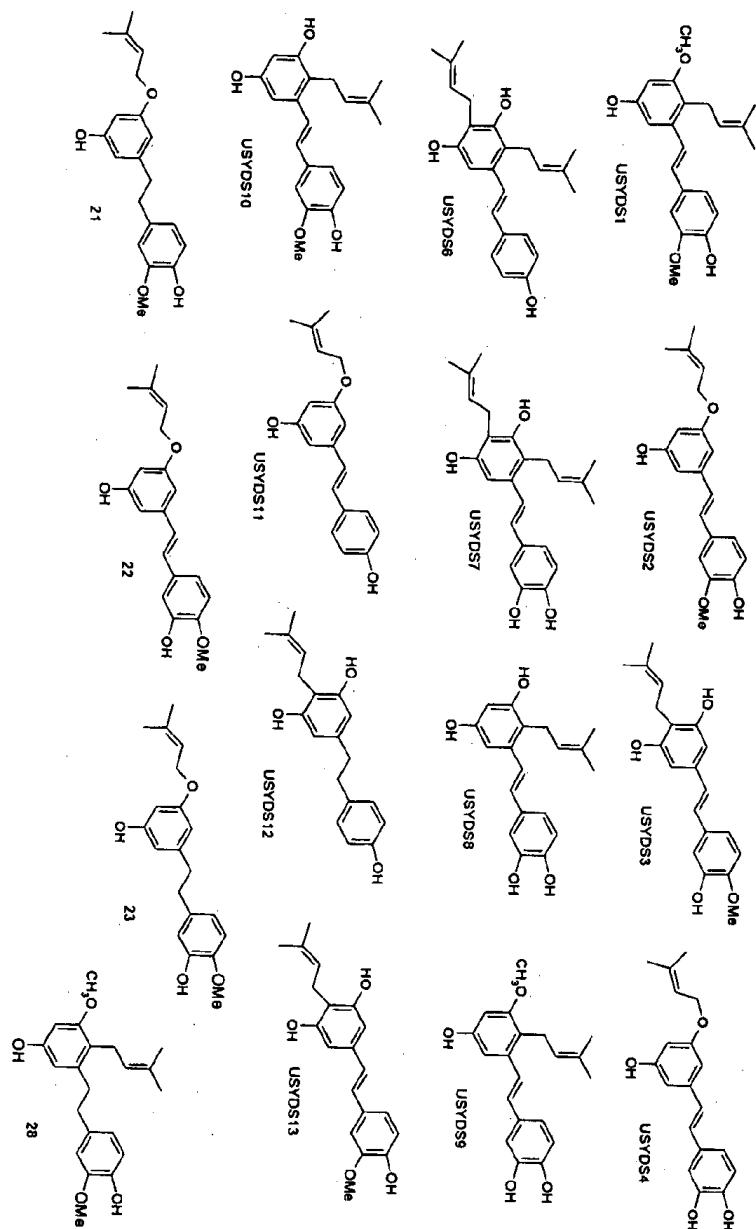
[0455] 많은 변형 및/또는 개질이 광범위하게 기술된 본 발명의 범위를 벗어남이 없이 특정 양태로 제시된 본 발명에 수행될 수 있음이 당업자에게 인정될 것이다. 따라서, 본 발명의 양태는 모든 면에서 설명적이고 비제한적인 것으로 간주되어야 한다.

[0456] 참고문헌

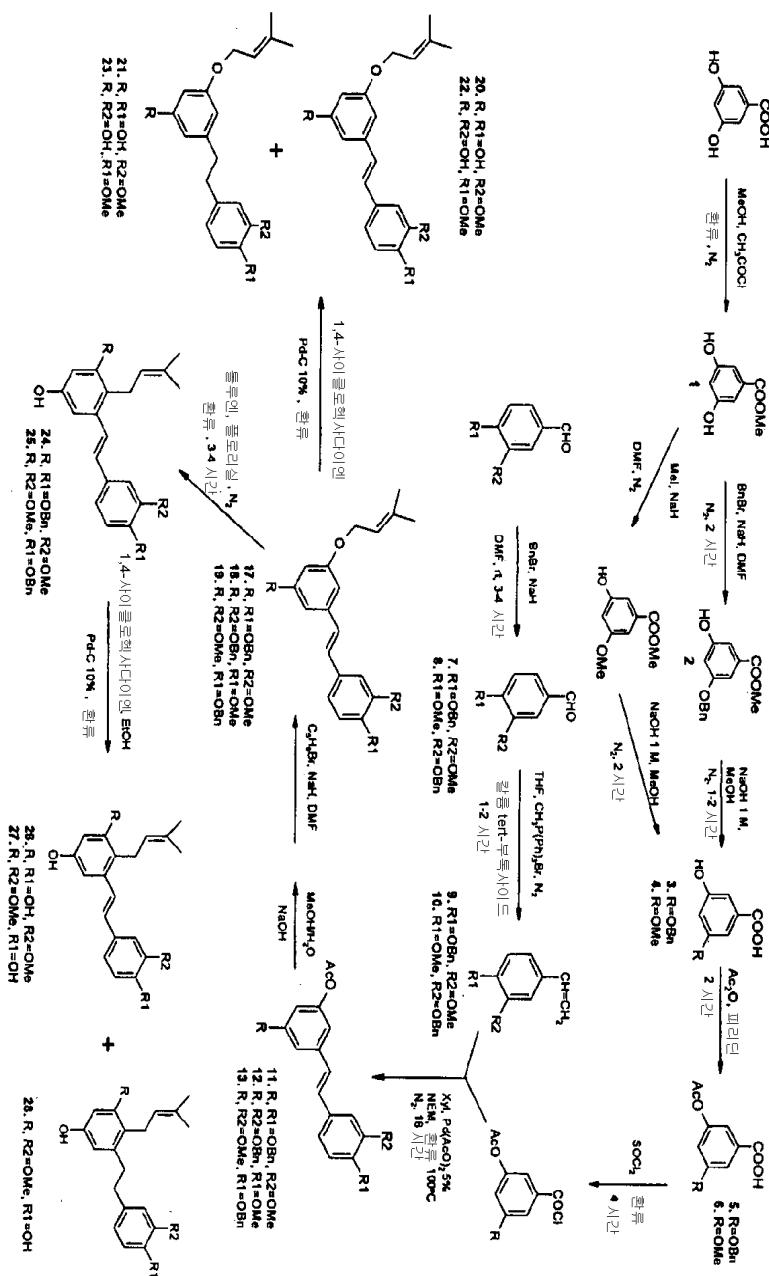
- [0457] (1) 문헌[Denmark, E.; Regens, C. S.; Tetsuya, K. *J. of Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2774-2276].
- [0458] (2) 문헌[Ali, I. A. I.; Fathalla, W. *Heteroatom Chemistry* **2006**, *17*, 280-288].
- [0459] (3) 문헌[Krohn, K.; Thiem, J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1977**, 1186-1190].
- [0460] (4) 문헌[Soerme, P.; Arnoux, P.; Kahl-Knutsson, B.; Leffler, H.; Rini, J. M.; Nilsson, U. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 1737-1743].
- [0461] (5) 문헌[Andrus, M. B.; Liu, J.; Meredith, E. L.; Nartey, E. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 4819-4822].
- [0462] (6) 문헌[Rao, M. L. N.; Awasthi, D. K.; Banerjee, D. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 1979-1981].
- [0463] (7) 문헌[Yang, P.-Y.; Zhou, Y.-G. *Tetrahedron Asymmetry* **2004**, *15*, 1145-1149].
- [0464] (8) 문헌[Rooney, J. M. *Journal of Macromolecular Science, Part A* **1986**, *23*, 823 - 829].
- [0465] (9) 문헌[Batsomboon, P.; Phakhodee, W.; Ruchirawat, S.; Ploypradith, P. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 4009-4012].
- [0466] (10) 문헌[Michan, S.; Sinclair D. *Biochem. J.* **2007**, *404*, 1-13].
- [0467] (11) 문헌[Yamamoto H.; Schoonjans K.; Auwerx J. *Mol. Endocrinol.* **2007**, *21*, 1745-1755].

도면

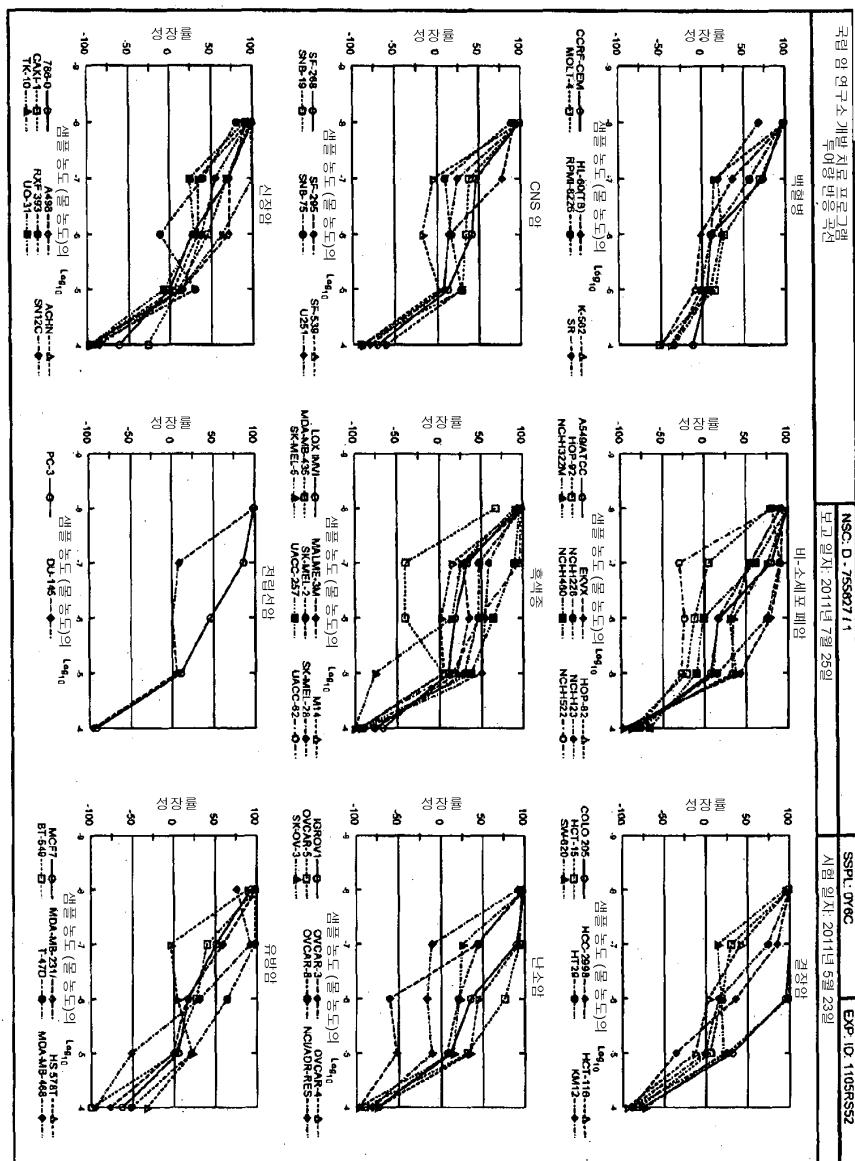
도면1



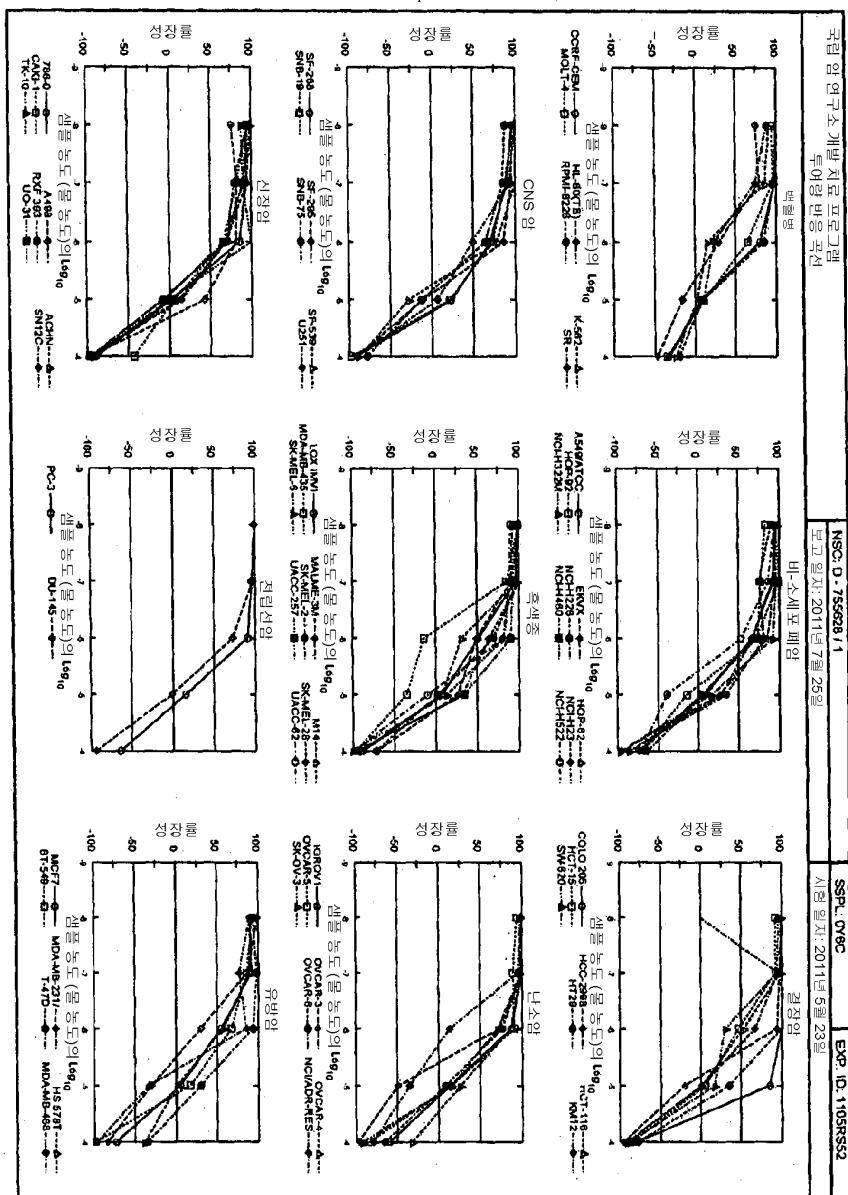
도면2



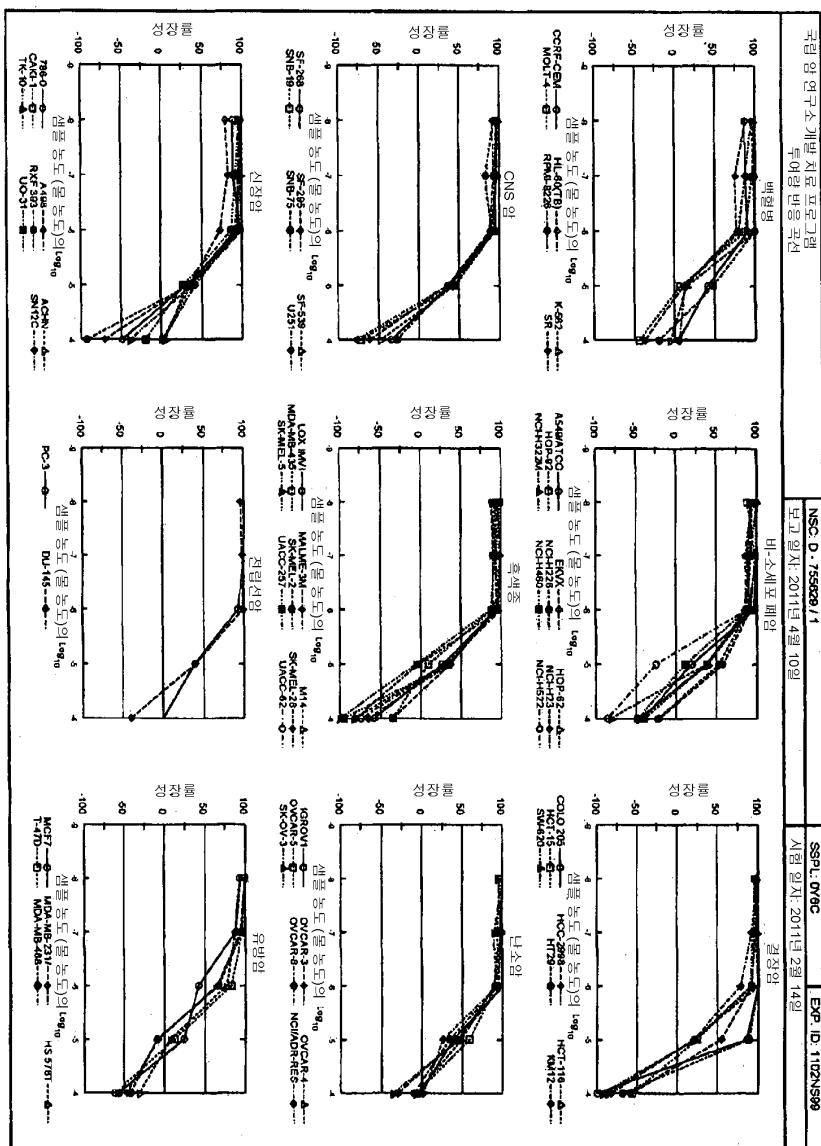
도면3



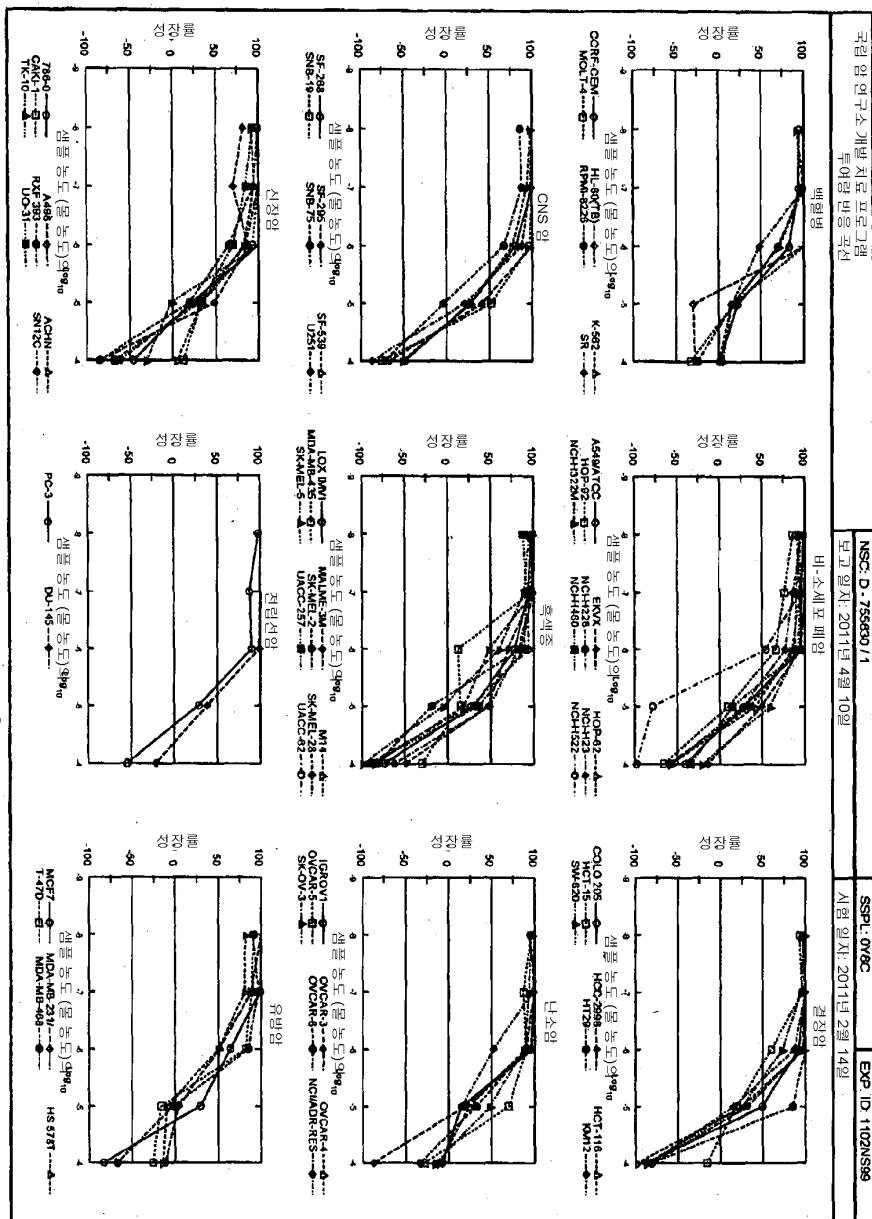
도면4



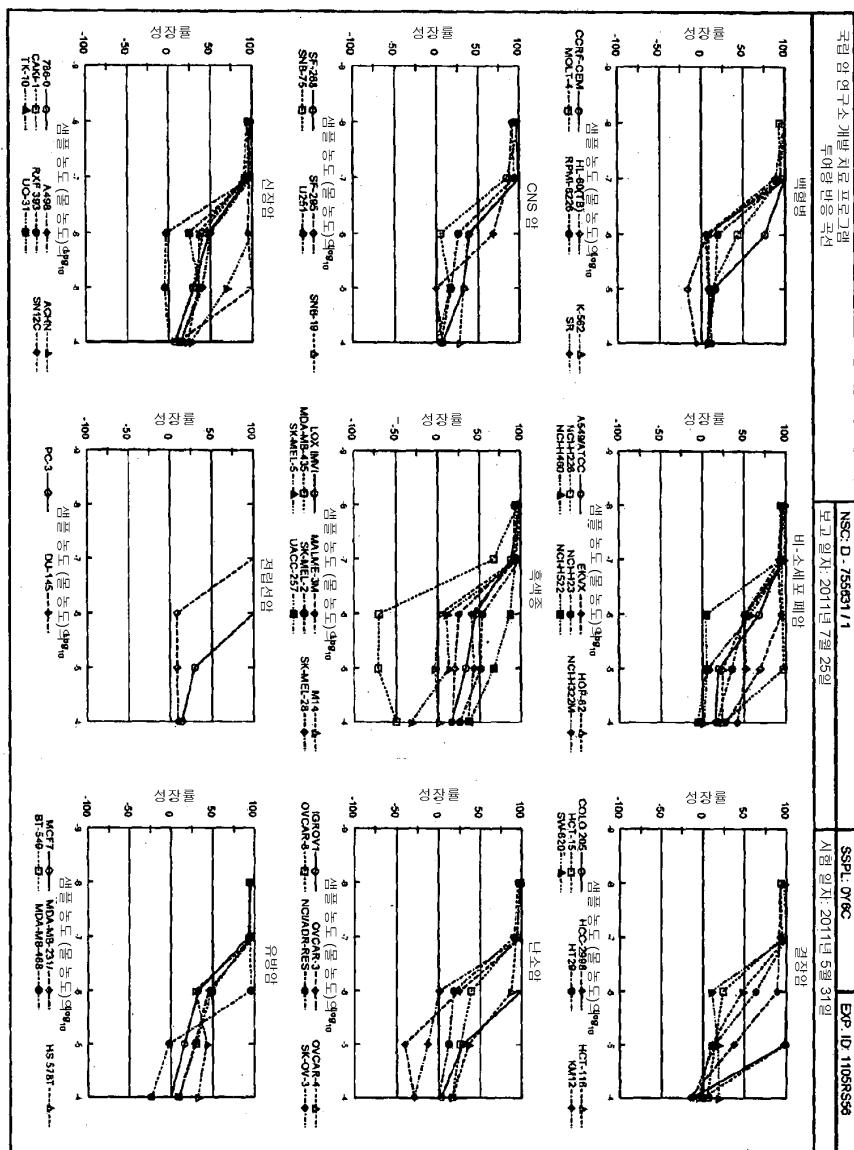
도면5



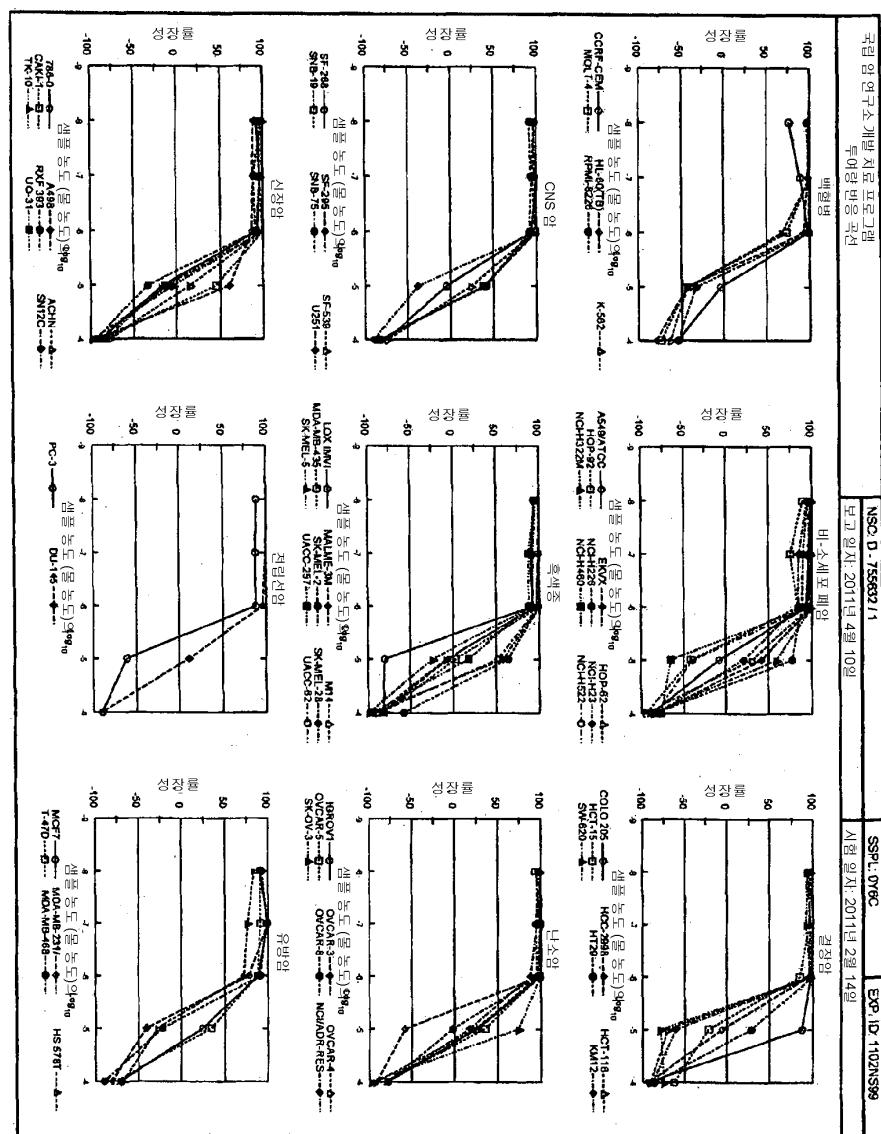
도면6



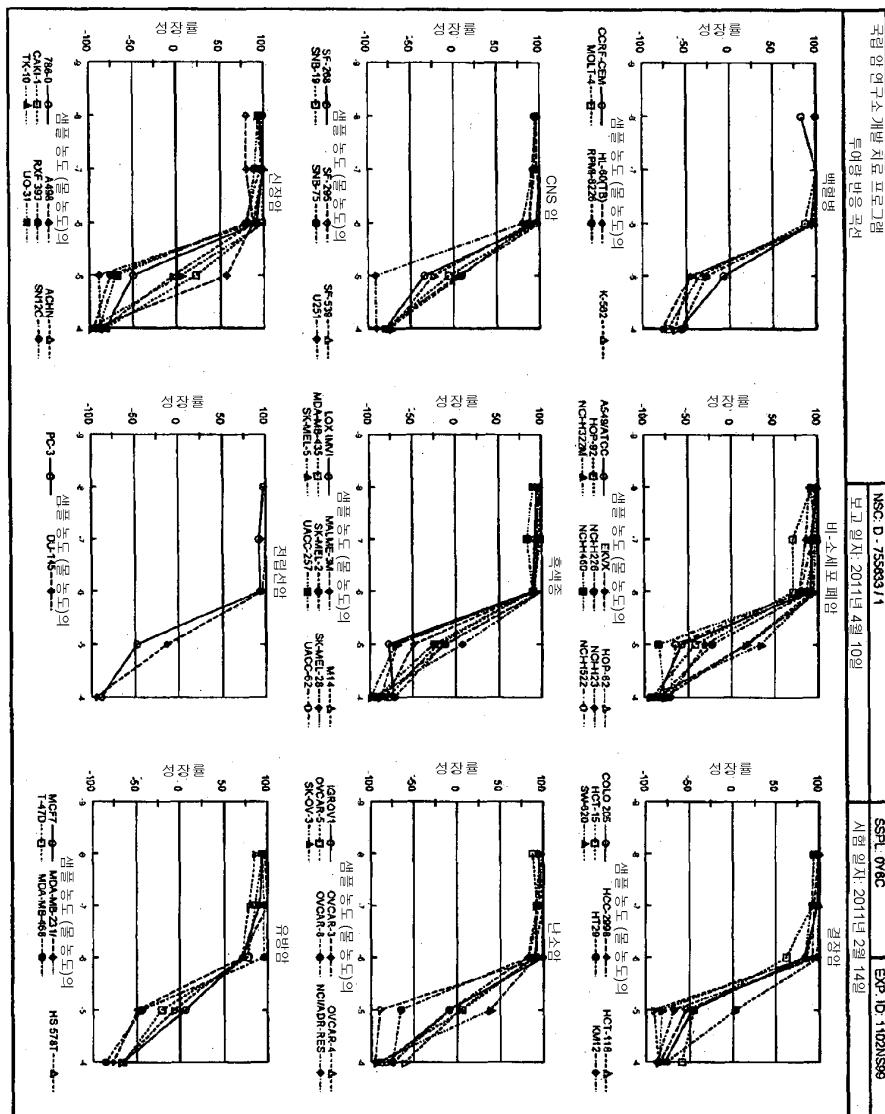
도면7



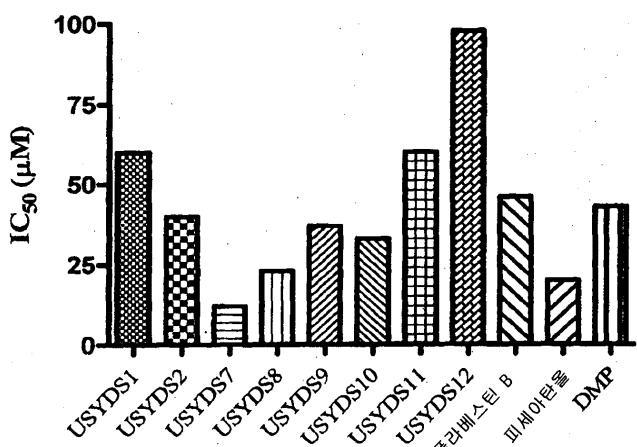
도면8



도면9



도면10



도면11

