



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0075265
(43) 공개일자 2025년05월28일

- | | |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07H 19/167 (2006.01) A23L 33/13 (2016.01)
A61K 31/7076 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
C07H 19/173 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
C07H 19/167 (2013.01)
A23L 33/13 (2016.08)</p> <p>(21) 출원번호 10-2023-0162538
(22) 출원일자 2023년11월21일
심사청구일자 2023년11월21일</p> | <p>(71) 출원인
한국화학연구원
대전광역시 유성구 가정로 141 (장동)
울산대학교 산학협력단
울산광역시 남구 대학로 93(무거동)</p> <p>(72) 발명자
박성준
대전광역시 유성구 가정로 141
임환정
대전광역시 유성구 가정로 141
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
김영호</p> |
|--|--|

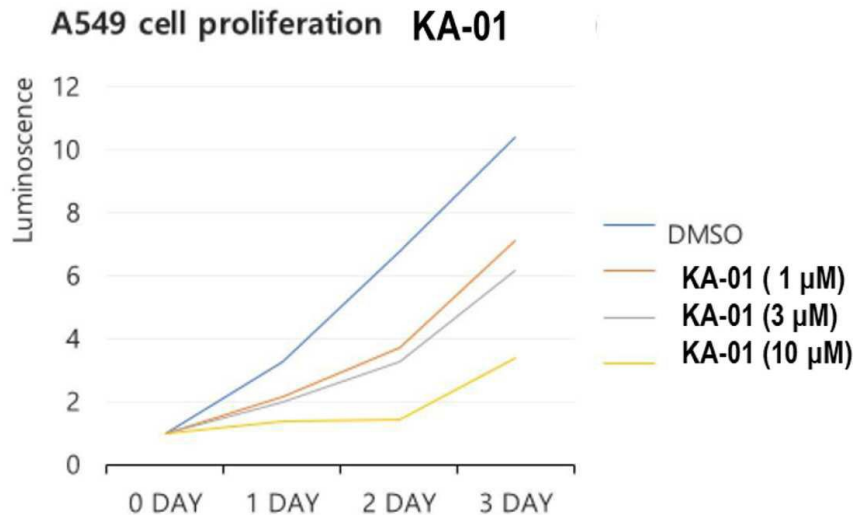
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 USE1 활성을 억제하는 화합물 유도체, 및 이를 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학 조성물

(57) 요약

본 발명은 USE1 (UBA6-specific E2 conjugating enzyme 1) 활성을 억제하는 화합물, 및 이를 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학 조성물에 대한 것으로, 본 발명에 따른 화합물은 아릴기가 치환된 염기쌍 (aryl substituted basepair)과 옥시카보닐설파메이트(oxycarbonylsulfamate)를 기본 구조로 가져서, USE1의 활성을 효과적으로 억제할 수 있는 효과를 가지고 있고, 이를 통해서 종양 성장을 억제할 수 있기 때문에 다양한 암 예방 및/또는 치료에 이용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 31/7076 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

C07H 19/173 (2013.01)

A23V 2002/00 (2023.08)

A23V 2200/308 (2013.01)

(72) 발명자

현지영

대전광역시 유성구 가정로 141

이창환

서울 서초구 서초대로64길 83 (서초동, 월드 메르디앙)101동 502호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2304

과제번호 KB23-04

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 (재단)국가신약개발재단

연구사업명 국가신약개발사업(과기부, 복지부, 산업부)

연구과제명 (EZ)유비퀴틴화를 조절하는 저분자 화합물을 이용한 p53 종양억제기전의 폐암치료제

에 대한 선도물질 도출 연구

기 여 율 50/100

과제수행기관명 한국화학연구원

연구기간 2023.01.01 ~ 2023.10.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 9991008566

과제번호 KB22-07

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 (재단)국가신약개발재단

연구사업명 국가신약개발사업(과기부, 복지부, 산업부)

연구과제명 (EZ)유비퀴틴화를 조절하는 저분자 화합물을 이용한 p53 종양억제기전의 폐암치료제

에 대한 선도물질 도출 연구

기 여 율 40/100

과제수행기관명 한국화학연구원

연구기간 2022.01.01 ~ 2022.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 9991007756

과제번호 KB21-21

부처명 보건복지부

과제관리(전문)기관명 (재단)국가신약개발재단

연구사업명 국가신약개발사업(R&D)(과기정통부, 복지부, 산업부)

연구과제명 (EZ)유비퀴틴화를 조절하는 저분자 화합물을 이용한 p53 종양억제기전의 폐암치료제

에 대한 선도물질 도출 연구

기 여 율 10/100

과제수행기관명 한국화학연구원

연구기간 2021.11.01 ~ 2021.12.31

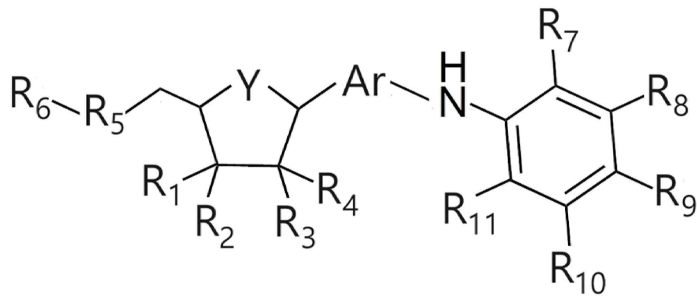
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염:

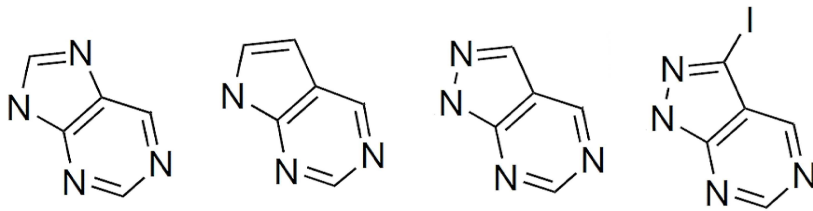
[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

Y는 C 또는 O이고,

Ar은 하기 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 것이고,



R₁ 내지 R₄는 각각 독립적으로 수소, 히드록시기, 할로젠 및 C₁-C₆ 알킬로 이루어진 군으로부터 선택된 것이고,

R₅는 -O-SO₂NR 또는 -NR-SO₂NR₂이고,

R₆은 수소, COOR'' 또는 CN이고,

R₇ 내지 R₉, R₁₁은 각각 독립적으로 수소 또는 C₁-C₆ 알킬이고,

R₁₀은 수소, -C≡CR, COR 및 S-CR'으로 이루어진 군으로부터 선택된 것이고,

R은 수소 또는 C₁-C₆ 알킬이고,

R'은 할로젠이고,

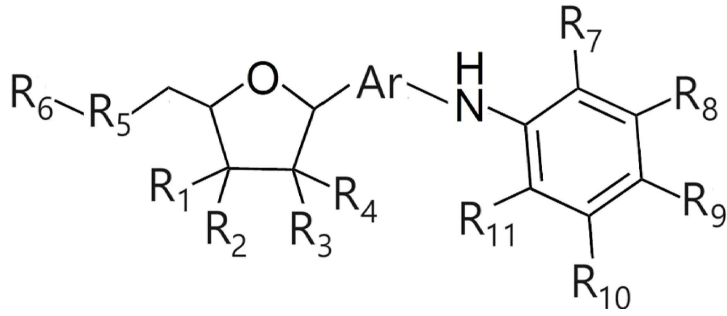
R''은 수소, C-CR' 및 C₁-C₆ 알킬이다.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 화합물은 하기 화학식 2로 표시되는 것인, 화합물:

[화학식 2]



상기 화학식 2에서,

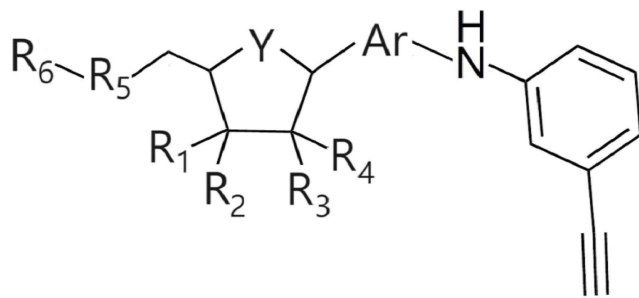
R₁ 내지 R₁₁ 및 Ar은 상기 제 1 항에서 정의된 바와 동일하다.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 화합물은 하기 화학식 3으로 표시되는 것인, 화합물:

[화학식 3]



상기 화학식 3에서,

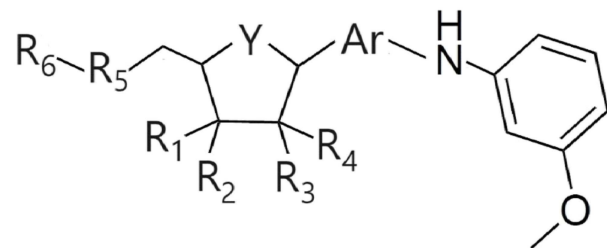
R₁ 내지 R₆ 및 Ar은 상기 제 1 항에서 정의된 바와 동일하다.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 화합물은 하기 화학식 4로 표시되는 것인, 화합물:

[화학식 4]



상기 화학식 4에서,

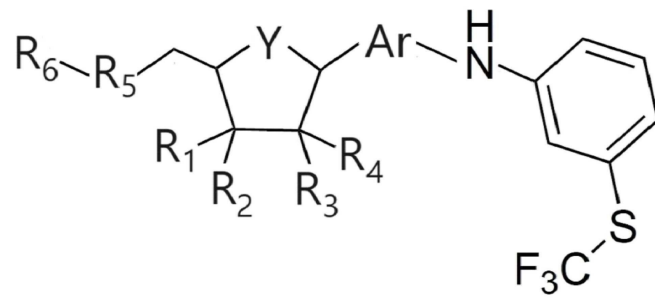
R₁ 내지 R₆ 및 Ar은 상기 제 1 항에서 정의된 바와 동일하다.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 화합물은 하기 화학식 5로 표시되는 것인, 화합물:

[화학식 5]



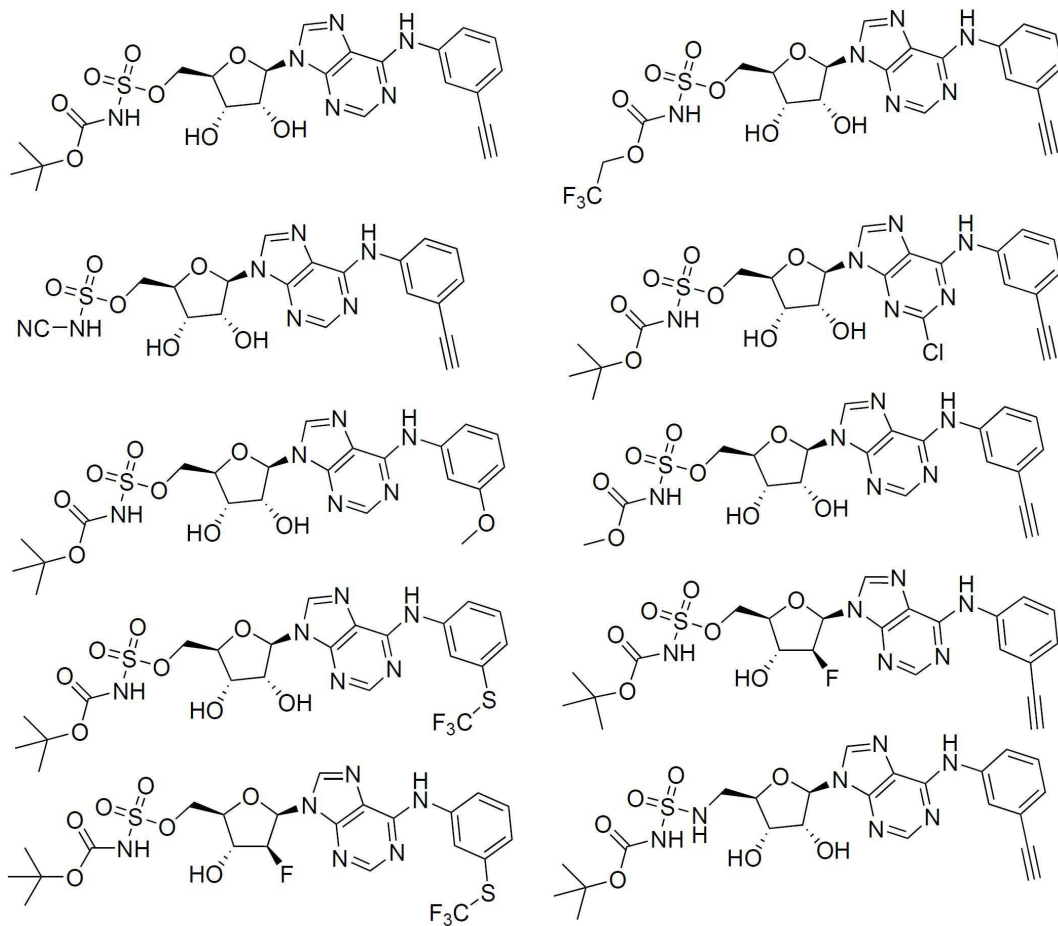
상기 화학식 5에서,

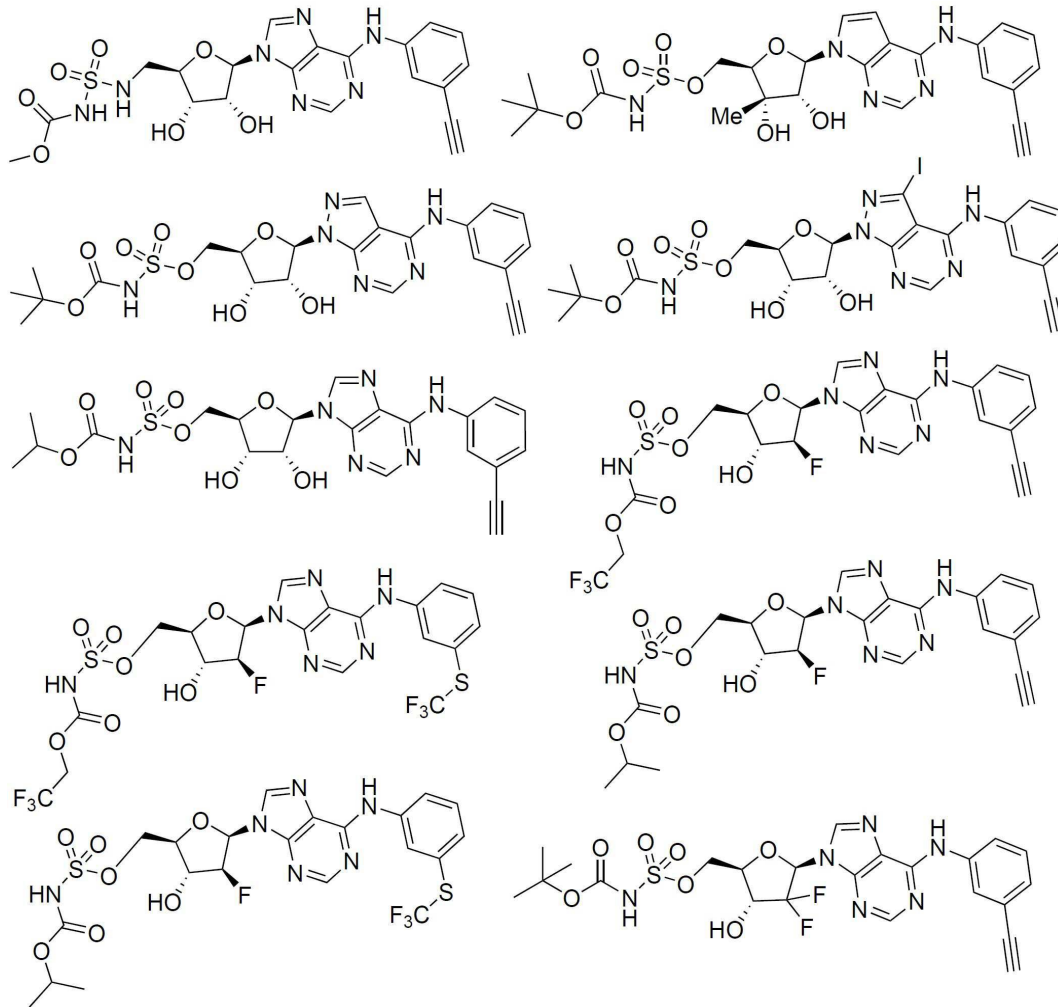
R₁ 내지 R₆ 및 Ar은 상기 제 1 항에서 정의된 바와 동일하다.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 화합물은 하기 화합물들로부터 선택된 것인, 화합물:





청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 화합물을 유효성분으로 포함하는, 암 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 암은 간암, 대장암, 자궁경부암, 신장암, 위암, 전립선암, 유방암, 뇌종양, 폐암, 자궁암, 결장암, 방광암, 혈액암 및 췌장암으로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상인, 암 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 암은 자궁경부암 또는 폐암인, 암 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 화합물을 유효성분으로 포함하는, 암 예방 또는 개선용 건강식품 조성물.

청구항 11

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 화합물을 샘플과 접촉시키는 것을 포함하는, 샘플에서 E1 효소 활성을 감소시키는 방법.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 E1 효소는 UBA6 (Ubiquitin-like modifier activating enzyme 6)인, 샘플에서 E1 효소 활성을 감소시키는 방법.

청구항 13

제11항에 있어서,

상기 샘플은 암 세포를 포함하는 것인, 샘플에서 E1 효소 활성을 감소시키는 방법.

청구항 14

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 화합물을 세포에 처리하는 단계를 포함하는 종양세포의 억제방법.

청구항 15

제7항의 암 예방 또는 치료용 조성물을 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 암의 예방 또는 치료 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 USE1 (UBA6-specific E2 conjugating enzyme 1) 활성을 억제하는 화합물, 및 이를 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학 조성물에 대한 것으로, 본 발명에 따른 화합물은 USE1 의 활성 또는 발현을 억제해서, 종양 성장 억제 효과가 있기 때문에 다양한 암 예방 및/또는 치료에 이용될 수 있다.

배경 기술

[0003] 암(cancer)은 매년 전 세계적으로 1,000만 명의 새로운 환자가 발생하고 있는 주요 질병 중에 하나로, 우리나라의 경우 암으로 인한 사망률은 1위로 전체 사망자의 약 25.5 %를 차지하고 있다. 이러한 경향성은 계속 지속될 것으로 전망되고 있다. 특히, 폐암은 가장 흔한 악성 종양 중 하나이며 전 세계 암 사망률에서 중요한 역할을 한다.

[0004] 암의 치료는 1960년대 수술에 의한 치료를 시작으로 1970년대 방사선 치료 기술을 거쳐 1980년대부터 화학치료 요법이 중요한 치료법으로 사용되고 있다. 그러나 이러한 치료법들은 현재의 생존율과 삶의 질은 이러한 폐암 질환이 있는 환자에게는 여전히 불충분하다. 따라서, 신규한 치료 표적의 확인은 이들 종양 치료에 매우 필수적이다.

[0005] 유비퀴틴-접합 효소 UBE2Z로도 알려진 USE1(UBA6-specific E2 conjugating enzyme 1)은 E2 효소 패밀리의 구성원이다. USE1은 유비퀴틴과 티오에스테르 결합의 형성에 필요한 활성 부위 시스테인 잔기(active site cysteine residue)를 함유하는 E2 촉매 코어 도메인(E2 catalytic core domain)을 포함한다. 흥미롭게도 유비퀴틴 결합을 위해, USE1은 기존의 UBE1 E1 효소가 아니라 UBA6 유비퀴틴 활성화 효소와 특이적으로 반응한다. 최근 연구에서 폐암 환자의 단백질 수준을 분석한 결과, 주변 정상 조직보다 폐암 조직에서 USE1과 UBA6(Ubiquitin-like

modifier activating enzyme 6)가 상승한 것으로 나타났다.

[0006] 즉, USE1의 과발현(overexpression)은 세포와 동물 모두에서 암세포의 증식, 이동 및 침윤을 유의하게 증가시켰고, 폐암 세포에 USE1 수준의 감소는 이러한 영향을 역전시켰고, 이는 USE1이 암 치료를 위한 새로운 타겟임을 시사한다.

[0007] 그러나, 아직까지 USE1의 치료 효능이 폐암-특이적 화합물로는 확인되지 않았다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-1744397호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 USE1(UBA6-specific E2 conjugating enzyme 1)의 활성이나 발현을 효과적으로 억제할 수 있는 화합물을 제공하는 것이다.

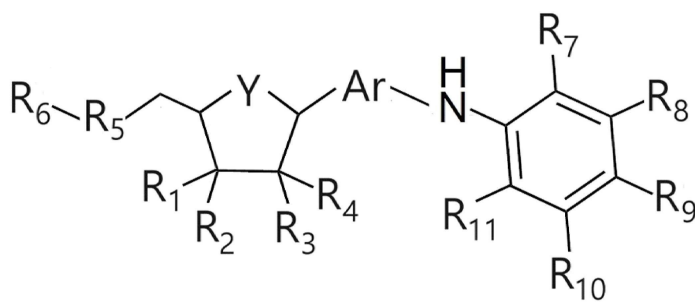
[0011] 또한, 본 발명은 E1 활성화 효소(E1 activating enzyme)인 UBA6의 활성도 효과적으로 억제할 수 있는 화합물을 제공하는 것이다.

[0012] 또한, 본 발명은 USE1 및/또는 UBA6의 활성을 효과적으로 억제함으로써, 종양 억제 효과가 우수하여 폐암을 비롯한 다양한 암의 예방 또는 치료용으로 사용될 수 있는 약학적 조성물을 제공하기 위한 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 제공한다:

[0015] [화학식 1]

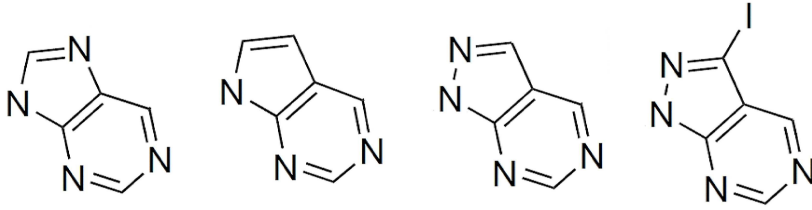


[0016]

[0017] 상기 화학식 1에서,

[0018] Y는 C 또는 O이고,

[0019] Ar은 하기 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 것이고,



[0020]

[0021] R₁ 내지 R₄는 각각 독립적으로 수소, 히드록시기, 할로겐 및 C₁-C₆ 알킬로 이루어진 군으로부터 선택된 것이고,

[0022] R₅는 -O-SO₂NR 또는 -NR-SO₂NR이고,

[0023] R₆은 수소, COOR'' 또는 CN이고,

[0024] R₇ 내지 R₉, R₁₁은 각각 독립적으로 수소 또는 C₁-C₆ 알킬이고,

[0025] R₁₀은 수소, -C≡CR, COR 및 S-CR'으로 이루어진 군으로부터 선택된 것이고,

[0026] R은 수소 또는 C₁-C₆ 알킬이고,

[0027] R'은 할로겐이고,

[0028] R''은 수소, C-CR' 및 C₁-C₆ 알킬이다.

[0030] 또한, 본 발명의 다른 실시형태는 상기한 화합물을 유효성분으로 포함하는, 암 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0031] 상기 암은 간암, 대장암, 자궁경부암, 신장암, 위암, 전립선암, 유방암, 뇌종양, 폐암, 자궁암, 결장암, 방광암, 혈액암 및 췌장암으로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나인 것일 수 있다.

[0032] 상기 암은 자궁경부암 또는 폐암일 수 있다.

[0034] 또한, 본 발명의 다른 실시형태는 상기한 화합물을 유효성분으로 포함하는, 암 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

[0036] 또한, 본 발명의 다른 실시 형태는 상기한 화합물을 샘플과 접촉시키는 것을 포함하는, 샘플에서 E1 효소 활성을 감소시키는 방법을 제공한다.

[0037] 상기 E1 효소는 UBA6 (Ubiquitin-like modifier activating enzyme 6)일 수 있다.

[0038] 상기 샘플은 암 세포를 포함할 수 있다.

[0039] 또한, 본 발명의 다른 실시형태는 상기한 화합물을 세포에 처리하는 단계를 포함하는 종양세포의 억제방법을 제공한다.

[0041] 또한, 본 발명의 다른 실시형태는 상기한 암 예방 또는 치료용 조성물을 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 암 치료가 필요한 환자에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0043] 기타 실시예들의 구체적인 사항들은 상세한 설명 및 도면들에 포함되어 있다.

발명의 효과

- [0044] 본 발명에 따른 화합물은 아릴기가 치환된 염기쌍(aryl substituted basepair)과 옥시카보닐설파메이트(oxycarbonylsulfamate)를 기본 구조로 가져서, USE1의 활성을 효과적으로 억제할 수 있는 효과를 가진다.
- [0045] 또한, 본 발명에 따른 화합물은 UBA6-USE1 효소 캐스케이드(UBA6-USE1 enzyme cascade)에 기반하여, E1 활성화 효소(E1 activating enzyme)인 UBA6의 활성도 효과적으로 억제할 수 있는 효과를 가진다.
- [0046] 이러한 본 발명에 따른 화합물은 USE1 및/또는 UBA6의 활성을 효과적으로 억제할 수 있고, 종양 억제 효과가 우수하여 폐암을 비롯한 다양한 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0048] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 KA-01의 세포 증식력을 분석한 결과이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 KA-01의 세포 군체 형성 능력을 분석한 결과이다.
- 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 KA-01의 상처 치유 능력을 분석한 결과이다.
- 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 KA-01를 처리한 암 조직의 부피 변화 결과이다.
- 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 KA-01를 처리한 암 조직의 크기 변화 결과이다.
- 도 6은 본 발명에 따른 화합물 KA-01의 웨스턴 블롯(Charging assay) 분석 결과이다.
- 도 7은 본 발명에 따른 화합물 KA-02의 웨스턴 블롯 분석 결과이다.
- 도 8은 본 발명에 따른 화합물 KA-03의 웨스턴 블롯 분석 결과이다.
- 도 9은 본 발명에 따른 화합물 KA-04의 웨스턴 블롯 분석 결과이다.
- 도 10은 본 발명에 따른 화합물 KA-05의 웨스턴 블롯 분석 결과이다.
- 도 11은 본 발명에 따른 화합물 KA-06의 웨스턴 블롯 분석 결과이다.
- 도 12는 본 발명에 따른 화합물 KA-07의 웨스턴 블롯 분석 결과이다.
- 도 13은 본 발명에 따른 화합물 KA-08의 웨스턴 블롯 분석 결과이다.
- 도 14는 본 발명에 따른 화합물 KA-09의 웨스턴 블롯 분석 결과이다.
- 도 15는 본 발명에 따른 화합물 KA-10 및 KA-11의 웨스턴 블롯 분석 결과이다.
- 도 16은 본 발명에 따른 화합물 KA-12의 웨스턴 블롯 분석 결과이다.
- 도 17은 본 발명에 따른 화합물 KA-13의 웨스턴 블롯 분석 결과이다.
- 도 18은 본 발명에 따른 화합물 KA-14의 웨스턴 블롯 분석 결과이다.
- 도 19는 본 발명에 따른 화합물 KA-15의 웨스턴 블롯 분석 결과이다.
- 도 20은 본 발명에 따른 화합물 KA-16 및 KA-17의 웨스턴 블롯 분석 결과이다.
- 도 21은 본 발명에 따른 화합물 KA-18의 웨스턴 블롯 분석 결과이다.
- 도 22는 본 발명에 따른 화합물 KA-19의 웨스턴 블롯 분석 결과이다.
- 도 23은 본 발명에 따른 화합물 KA-20의 웨스턴 블롯 분석 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0049] 본 발명은 다양한 변환을 가할 수 있고 여러 가지 실시 예를 가질 수 있는 바, 특정 실시 예들을 도면에 예시하고 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 이는 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변환, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본 발명을 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.

[0050] 본 출원에서 사용한 용어는 단지 특정한 실시예를 설명하기 위해 사용된 것으로, 본 발명을 한정하려는 의도가 아니다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 출원에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0051] 제1, 제2 등의 용어는 다양한 구성요소들을 설명하는데 사용될 수 있지만, 상기 구성요소들은 상기 용어들에 의해 한정되어서는 안 된다. 상기 용어들은 하나의 구성요소를 다른 구성요소로부터 구별하는 목적으로만 사용된다.

[0053] 본 발명자들은 USE1의 과발현(overexpression)이 세포 증식, 이동 및 침윤을 유의하게 증가시키고 폐암 세포의 USE1 발현 억제제가 폐암 세포의 감소에 영향을 준다는 사실을 바탕으로 USE1을 타겟으로 하는 항암제를 연구하던 중, USE1 발현을 억제하는 화합물을 제조하게 되었고, 이러한 화합물들은 아릴기가 치환된 염기쌍(aryl substituted basepair)과 옥시카보닐설파메이트(oxycarbonylsulfamate)를 기본 구조로 가져서, USE1의 활성을 효과적으로 억제할 수 있다는 것을 알게 되어 본 발명을 완성하게 되었다.

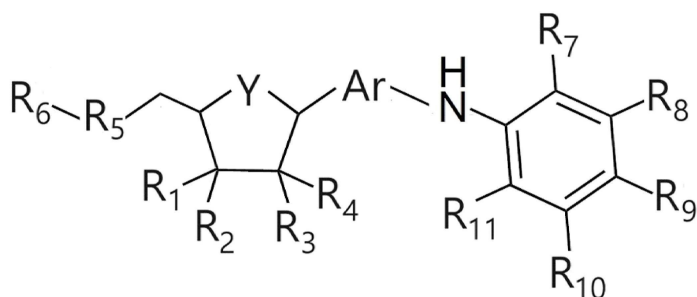
[0054] 또한, 본 발명에 따른 화합물은 UBA6-USE1 효소 캐스케이드(UBA6-USE1 enzyme cascade)에 기반하여, E1 활성화 효소(E1 activating enzyme)인 UBA6의 활성도 효과적으로 억제할 수 있어서, 종양 억제에 더욱 효과적이다.

[0055] 그래서, 본 발명은 E1 활성화 효소, 특히 UBA6를 효과적으로 억제할 수 있는 화합물일 수 있다. 본 발명의 화합물은 시험관내 및 생체 내에서 E1 활성을 억제하기 위해 유용하며, 세포 증식 장애, 특히 암, 및 E1 활성화와 관련된 다른 장애를 치료하기 위해 유용하다.

[0056] 본 발명에 따른 화합물은 USE1 및/또는 UBA6의 활성 수준을 억제하거나 축소시키는 것이 가능하다.

[0058] 이러한 본 발명에 따른 화합물은 하기 화학식(I)로 표현되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:

[0059] [화학식 1]

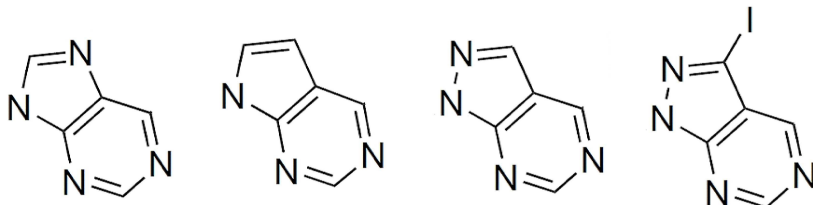


[0060]

[0061] 상기 화학식 1에서,

[0062] Y는 C 또는 O이고,

[0063] Ar은 하기 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 것이고,



[0064]

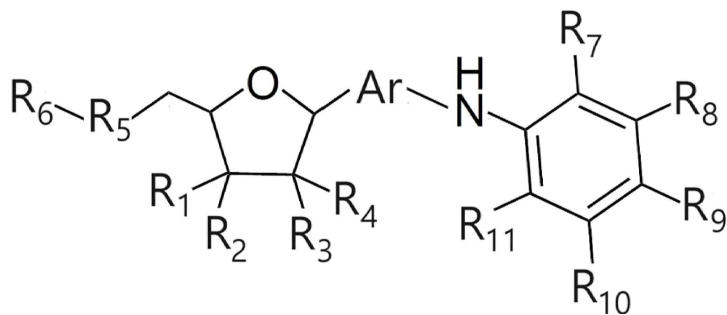
[0065] R₁ 내지 R₄는 각각 독립적으로 수소, 히드록시기, 할로젠 및 C₁-C₆ 알킬로 이루어진 군으로부터 선택된 것이고,

[0066] R₅는 -O-SO₂NR 또는 -NR-SO₂NR이고,

- [0067] R_6 은 수소, COOR'' 또는 CN 이고,
- [0068] R_7 내지 R_{11} 은 각각 독립적으로 수소 또는 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬이고,
- [0069] R_{10} 은 수소, $\text{-C}\equiv\text{CR}$, COR 및 $\text{S-CR}'$ 으로 이루어진 군으로부터 선택된 것이고,
- [0070] R 은 수소 또는 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬이고,
- [0071] R' 은 할로젠이고,
- [0072] R'' 은 수소, $\text{C-CR}'$ 및 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬이다.

[0074] 그리고, 상기 화합물은 하기 화학식 2로 표시되는 화합물일 수 있다:

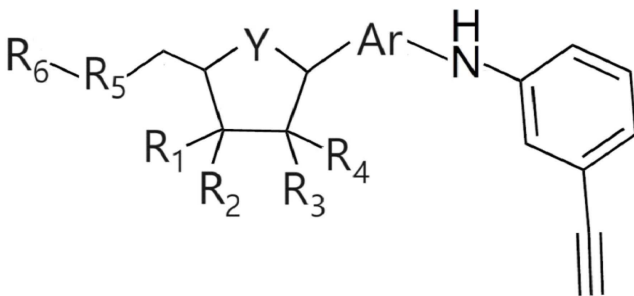
[0075] [화학식 2]



- [0076]
- [0077] 상기 화학식 2에서, R_1 내지 R_{11} 및 Ar 은 상기에서 정의된 바와 동일하다.

[0079] 또한, 상기 화합물은 하기 화학식 3으로 표시되는 것일 수 있다.

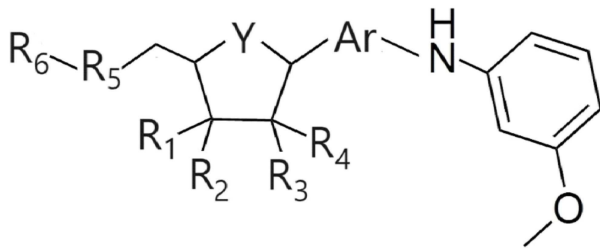
[0080] [화학식 3]



- [0081]
- [0082] 상기 화학식 3에서, R_1 내지 R_6 및 Ar 은 상기에서 정의된 바와 동일하다.

[0084] 또한, 상기 화합물은 하기 화학식 4로 표시되는 것일 수 있다.

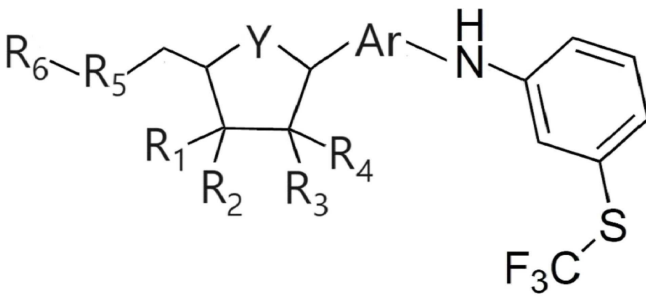
[0085] [화학식 4]



[0086]
[0087] 상기 화학식 4에서, R₁ 내지 R₆ 및 Ar은 상기에서 정의된 바와 동일하다.

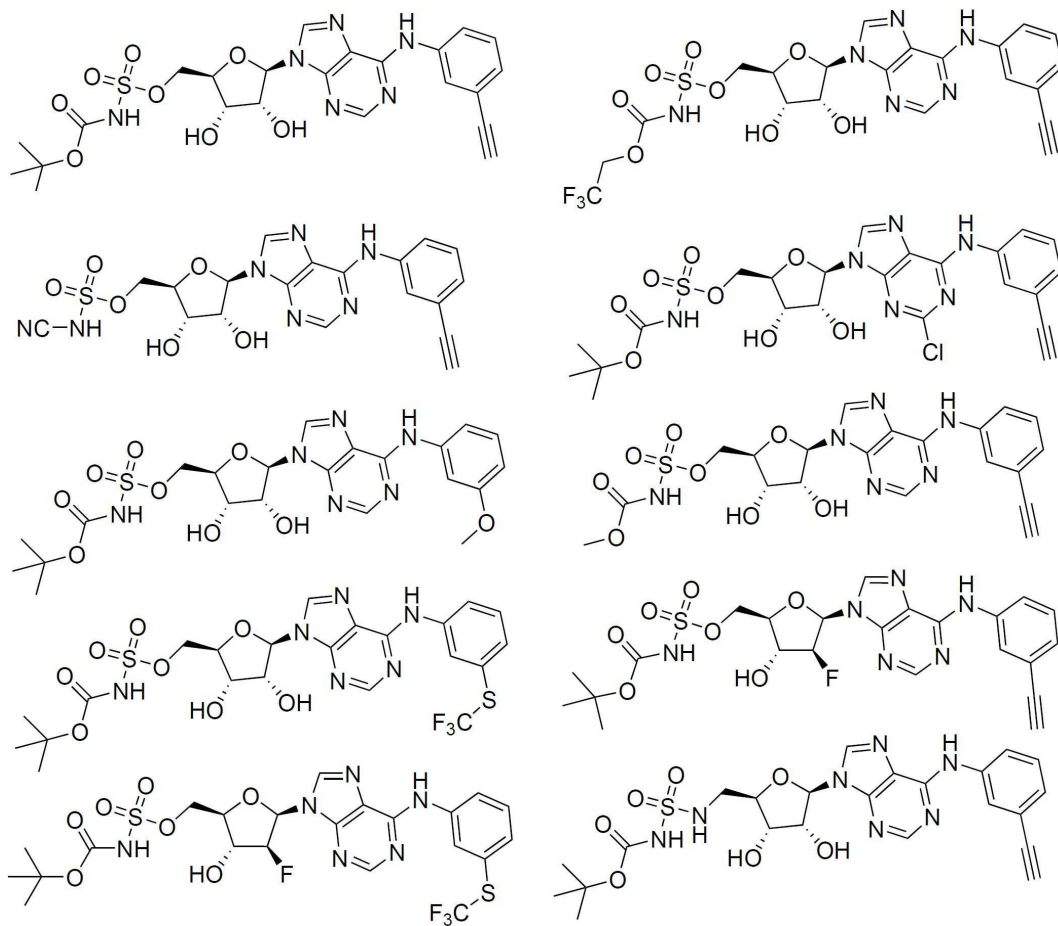
[0089] 또한, 상기 화합물은 하기 화학식 5로 표시되는 것일 수 있다.

[0090] [화학식 5]

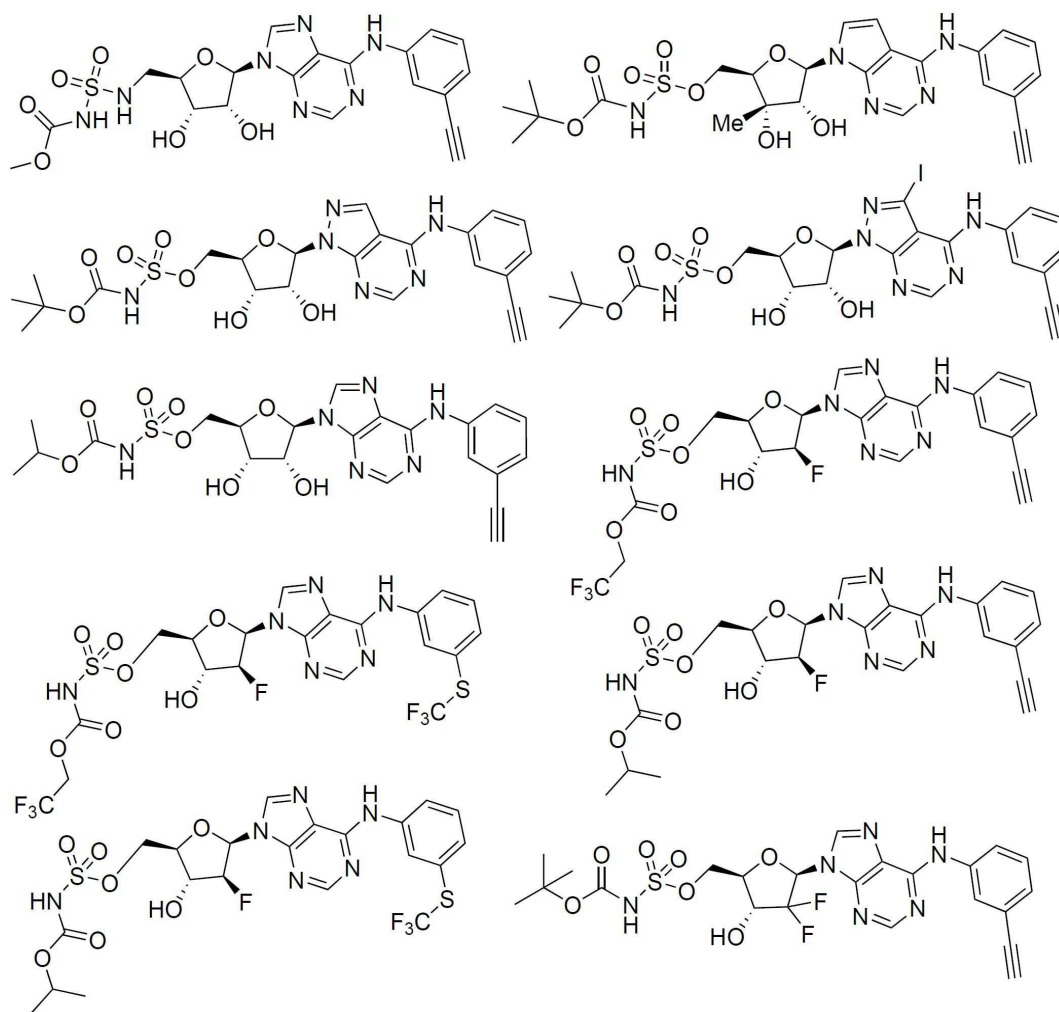


[0091]
[0092] 상기 화학식 5에서, R₁ 내지 R₆ 및 Ar은 상기에서 정의된 바와 동일하다.

[0094] 또한, 상기 화합물은 하기 화합물들로부터 선택된 것일 수 있다:



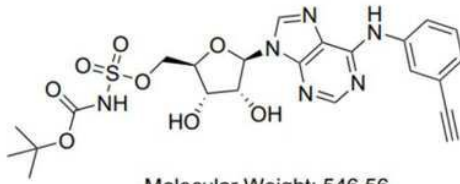
[0095]



[0096]

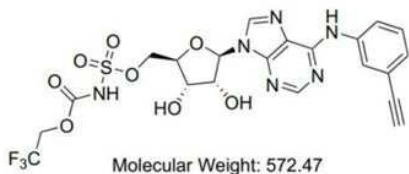
[0098] 또한, 상기 화학식 I의 화합물은 예시적으로 다음과 같은 화합물을 포함할 수 있다.

KA-01



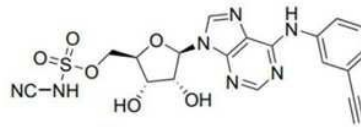
Molecular Weight: 546.56

KA-02



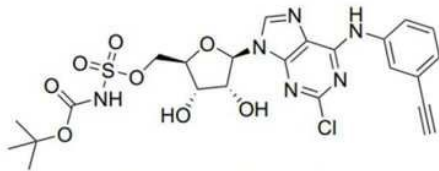
Molecular Weight: 572.47

KA-03



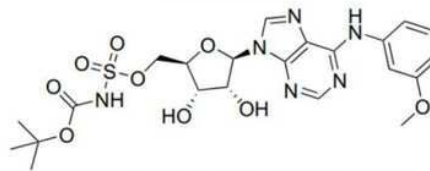
Molecular Weight: 471.45

KA-04



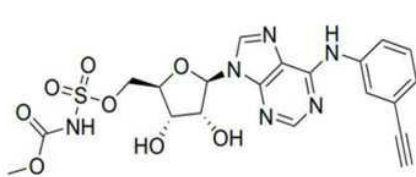
Molecular Weight: 581.00

KA-05



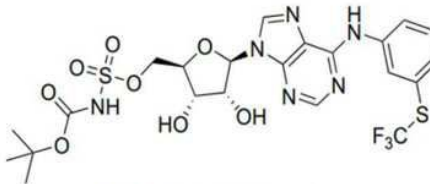
Molecular Weight: 552.56

KA-06



Molecular Weight: 504.47

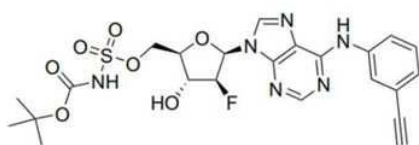
KA-07



Molecular Weight: 622.59

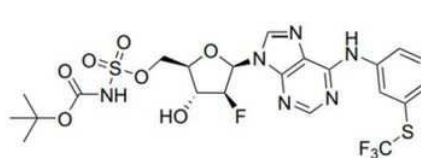
[0099]

KA-08



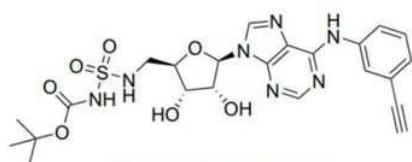
Molecular Weight: 548.55

KA-09



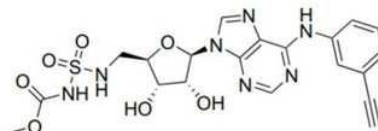
Molecular Weight: 624.58

KA-10



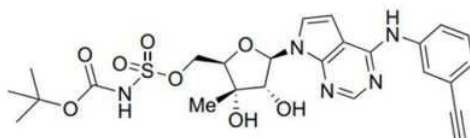
Molecular Weight: 545.57

KA-11



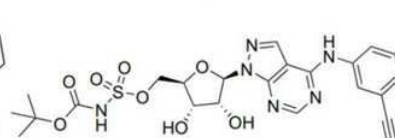
Molecular Weight: 503.49

KA-12



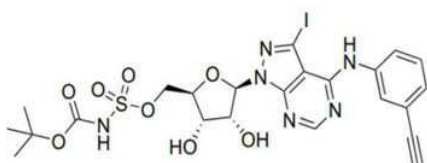
Molecular Weight: 559.59

KA-13



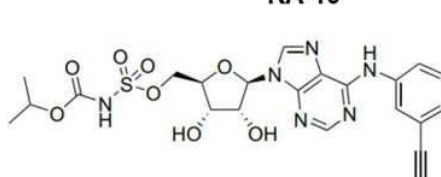
Molecular Weight: 546.56

KA-14



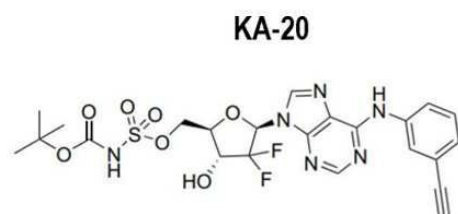
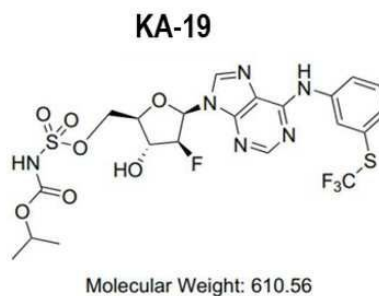
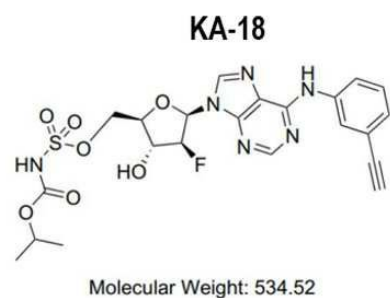
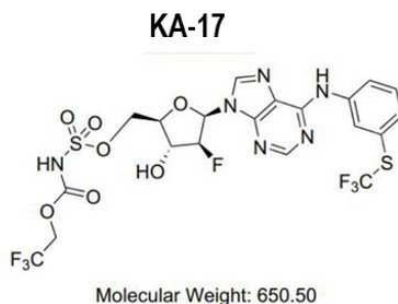
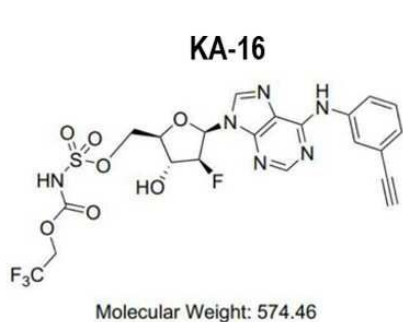
Molecular Weight: 672.45

KA-15



Molecular Weight: 532.53

[0100]



[0101]

[0103]

후술하는 실험예에 기재된 바와 같이, 본 발명자들은 아릴기가 치환된 염기쌍 (aryl substituted basepair)과 옥시카보닐설파메이트(oxycarbonylsulfamate)를 기본 구조로 가지고, 상기 아데노실의 아민기에서 일부가 치환된 다양한 유도체들이 암세포 증식을 억제하고(도 1 참조), 암세포 군집 형성을 억제하며(도 2 참조), 상처 치료 억제 효과가 우수할 뿐만 아니라(도 3 참조), 마우스를 대상으로 한 이종이식 실험에서도 암 조직의 파괴(도 4 참조)와 크기(도 5 참조)를 줄일 수 있다는 것을 확인하였다.

[0104]

이와 함께, 본 발명자들은 본 발명에 따른 다양한 화합물을 이용하여 Charging assay 방법으로 웨스턴 블롯 분석을 하였고, 그 결과 본 발명에 따른 화합물들은 UBA6-Ub (UBA6과 ubiquitin의 결합으로 thioester bond 형성)와 USE1-Ub (UBA6에 전달된 ubiquitin이 USE1에 전달되어 thioester bond 형성)의 생성을 효과적으로 억제할 수 있음을 확인하였다.

[0106]

본 발명에 따른 화합물이 E1 활성화 효소를 표적화하는 것은 세포 분열 및 세포 신호전달의 완전성을 유지하기 위해서이며, 중요하고 다양한 생화학적 경로를 조절할 수 있는 유일한 기회를 제공한다. E1 활성화 효소는 UBL 컨쥬게이션 경로의 첫 번째 단계에서 기능하는데, 이에 따라 E1 활성화 효소를 억제하면 UBL 캐스케이드의 다운스트림을 특이적으로 조절할 수 있다.

[0107]

이와 같이, 이러한 활성화 효소의 억제 및 이에 따른 UBL-컨쥬게이션의 다운스트림을 억제하는 것은 세포 분열, 세포 신호전달, 및 질병 메커니즘을 위해서 중요하게 작용하는 다수의 세포 생리학 기능을 조절하는 방법이다. 따라서, 다양한 세포 기능의 조절물질로서의 UBA6와 같은 E1 효소는 다양한 질병 또는 장애를 치료하는 중요한 치료 타겟이다.

[0108]

본원에 사용된 용어 "E1," "E1 효소," 또는 "E1 활성화 효소"는 표적 분자로의 유비퀴틴 또는 유비퀴틴 유사물질(ubiquitin-like) ("UBL") 컨쥬게이션을 활성화시키거나 촉진시키는 데에 관여하는 ATP 의존성 활성화 효소 패밀리 중 어느 하나를 의미한다. E1 활성화 효소는 아데닐화/티오에스테르 중간체 형성을 통해 작용하여 트랜스티올레이션(transthiolation) 반응을 통해 적절한 UBL를 각각의 E2 컨쥬게이팅 효소에 전달한다. 이렇게 활성

화된 UBL-E2는 표적 단백질에 대한 UBL 의 궁극적인 컨주게이션을 촉진시킨다. 세포 신호전달, 세포 주기 및 단백질 턴오버에서 역할을 하는 다양한 세포 단백질이 E1 활성화 효소 (예를 들어, UBL)를 통해 조절되는 UBL 컨주게이션을 위한 기질이다. 달리 명시되지 않는 한, "E1 효소"라는 용어는 임의의 E1 활성화 효소 단백질을 의미하는 것으로 의도되며, 이의 예로는 비제한적으로 nedd8활성화 효소 (NAE (APPBP1/Uba3)), 유비퀴틴 활성화 효소 (UAE (Uba1)), sumo 활성화 효소 (SAE (Aos1/Uba2)), 또는 ISG15 활성화 효소 (Ube1L), Ub 활성화 효소 (UBA6 (Ubiquitin-like modifier activating enzyme 6))가 있고, 또한 인간 UBA6 가 있다

[0109] "E1 효소 억제제" 또는 "E1 효소의 억제제"라는 용어는 E1 효소와 상호작용하여 이의 효소 활성을 억제할 수 있는 본원에 정의된 구조를 지닌 화합물을 의미하기 위해 사용된다. E1 효소 활성을 억제한다는 것은 기질 펩티드 또는 단백질로의 유비퀴틴 유사물질 (UBL) 컨주게이션 (예를 들어, 유비퀴틴화)을 활성화시키는 E1 효소의 능력을 감소시키는 것을 의미한다. 다양한 구체예에서, 이러한 E1 효소 활성의 감소는 약 50% 이상, 약 75% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상 또는 약 99% 이상이다.

[0110] 다양한 구체예에서, E1 효소 활성을 감소시키는 데에 필요한 E1 효소 억제제의 농도는 약 1 μ M 미만, 약 500nM 미만, 약 100 nM 미만, 약 50 nM 미만, 또는 약 10 nM 미만이다.

[0111] 일부 구체예에서, 이러한 억제는 선택적인데, 즉, E1 효소 억제제는 또 다른 관련 없는 생물학적 효과를 생성시키는 데에 필요한 억제제의 농도 보다 낮은 농도에서 기질 펩티드 또는 단백질로의 UBL 컨주게이션을 촉진시키는 하나 이상의 E1 효소 (예를 들어, UBA6)의 능력을 감소시킨다. 이러한 일부 구체예에서, E1 효소 억제제는 상이한 E1 효소의 효소 활성을 감소시키는 데에 필요한 억제제의 농도보다 하나의 E1 효소의 활성을 낮은 농도에서 감소시킨다. 다른 구체예에서, E1 효소 억제제는 또 다른 E1 효소의 효소 활성을 또한 감소시키는데, 이러한 효소는 바람직하게는 암에 관여하는 신호 전달 경로의 조절과 관련된 효소 (예를 들어, UBA6)이다.

[0113] 본 발명의 다른 실시형태는 상기한 화합물을 유효성분으로 포함하는, 암 예방 또는 치료용 약학 조성물이다.

[0114] 본 발명에서 포함하는 '암' 은 위암, 결장암, 유방암, 폐암, 비소세포성폐암, 골암, 췌장암, 피부암, 두부 또는 경부암, 피부 또는 안구 내 흑색종, 자궁암, 난소암, 대장암, 직장암, 항문부근암, 나팔관암종, 자궁내막암종, 자궁경부암종, 질암종, 음문암종, 호킨슨병, 식도암, 소장암, 내분비선암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 음경암, 전립선암, 만성 또는 급성 백혈병, 림프구 림프종, 방광암, 신장 또는 수뇨관암, 신장세포 암종, 신장골반 암종, 중추신경계 종양, 1차 CNS 림프종, 척수 종양, 뇌간 신경교종 및 뇌하수체선종으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 질환을 포함하며, 이에 제한되는 것은 아니나, 보다 바람직하게는 자궁경부암 또는 폐암일 수 있다.

[0115] 본 발명에 따른 약학 조성물은 약학 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있다.

[0116] 본 발명에서 사용가능한 담체, 부형제 또는 희석제로는, 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유 등을 들 수 있다.

[0117] 본 발명에 따른 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.

[0118] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 화합물은 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제한다.

[0119] 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0120] 본 발명에 따른 약학 조성물의 투여량은 환자의 나이, 성별, 체중에 따라 달라질 수 있으나, 1일 1회 내지 수회 투여 시, 0.01 ng/kg ~ 10 g/kg의 용량으로 투여할 수 있다.

[0121] 또한, 이러한 투여량은 투여 경로, 질병의 정도, 성별, 체중, 나이 등에 따라서 증감될 수 있다. 따라서, 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0122] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여 (예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 국소에 적용)할 수 있으며, 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강 상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설을 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다.

[0124] 또한, 본 발명의 다른 실시형태는 상기한 화합물을 유효성분으로 함유하는 암 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

[0125] 본 발명의 건강식품 조성물은 분말, 과립, 정제, 캡슐, 시럽 또는 음료의 형태로 제공될 수 있으며, 상기 건강식품 조성물은 유효성분 이외에 다른 식품 또는 식품 첨가물과 함께 사용되고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적 예를 들어 예방, 건강 또는 치료적 처치에 따라 적절하게 결정될 수 있다.

[0126] 상기 건강식품 조성물에 함유된 유효성분의 유효용량은 상기 약학조성물의 유효용량에 준해서 사용할 수 있으나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 유효성분은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있음은 확실하다.

[0127] 상기 건강식품의 종류에는 특별한 제한이 없고, 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등을 들 수 있다.

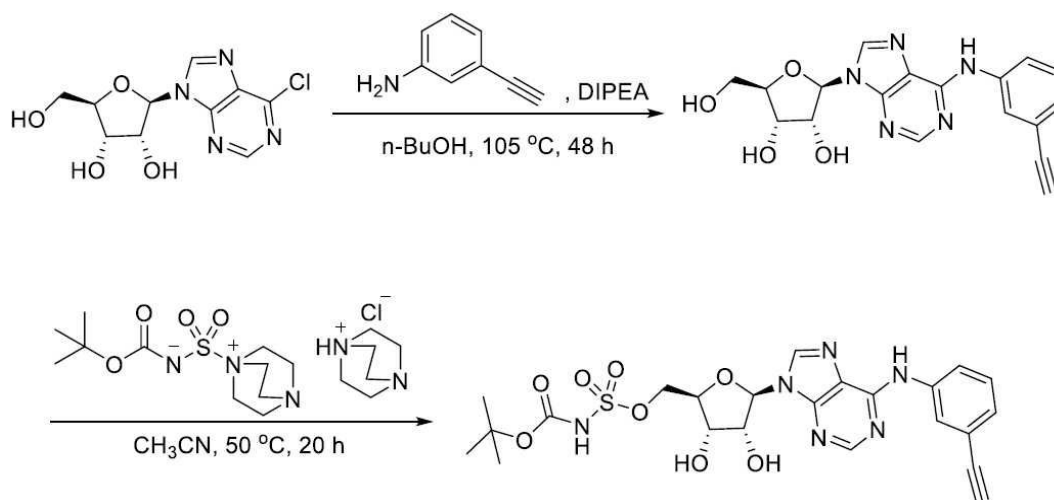
[0129] 본 발명은 하기의 실시예에 의하여 보다 더 잘 이해될 수 있으며, 하기의 실시예는 본 발명의 예시 목적을 위한 것이며, 첨부된 특허청구범위에 의하여 한정되는 보호범위를 제한하고자 하는 것은 아니다.

[0131] [실시예]

[0133] [제조예 1]

[0134] KA-01, KA-02, KA-03의 합성

[0135] KA-01의 합성



[0136]

[0137] KA-01: ((2R,3S,4R,5R)-5-(6-((3-ethynylphenyl)amino)-9H-purin-9-yl)-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-

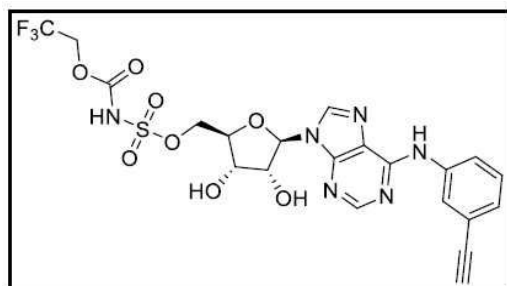
yl)methyl (tert-butoxycarbonyl)sulfamate

[0138] 단계 1: 출발물질 (2R,3R,4S,5R)-2-(6-chloro-9H-purin-9-yl)-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3,4-diol (0.4 g, 1.4 mmol) 을 n-BuOH (1 ml)에 녹이고, 3-ethynylaniline (0.16 ml, 1.5 mmol)과 DIPEA (0.48 ml, 2.8 mmol)를 상온에서 첨가하였다. 반응혼합물을 105 °C에서 48시간 반응시켰다. 반응 혼합물에 물을 첨가하여 반응을 종결한 후, Ethyl acetate로 추출하였다. 유기층에 무수 Na₂SO₄를 첨가하고, 필터한 후, 감압하에서 용매를 제거하였다. CH₂Cl₂/n-hex 조건에서 재결정하여, 목표화합물을 173 mg (68% 수득율) 얻었다.

[0139] 단계 2: 출발물질 (2R,3R,4S,5R)-2-(6-((3-ethynylphenyl)amino)-9H-purin-9-yl)-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3,4-diol (50 mg, 0.136 mmol)을 CH₃CN (1.5 ml)에 녹이고, burgess-type reagent (*Org. Process Res. Dev.* **2015**, *19*, 1299-1307) (44 mg, 0.15 mmol)을 첨가한 후, 50 °C에서 20시간 동안 반응시켰다. 반응 혼합물에 물을 첨가하여 반응을 종결한 후, Ethyl acetate로 추출하였다. 유기층에 무수 Na₂SO₄를 첨가하고, 필터한 후, 감압하에서 용매를 제거하였다. CH₂Cl₂/n-hex 조건에서 재결정하여, 목표화합물을 23 mg (31% 수득율) 얻었다.

[0140] ¹H NMR (300 MHz, MeOD) δ 8.46 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.07 (t, J = 1.9 Hz, 1H), 7.83 - 7.77 (m, 1H), 7.34 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.20 (dt, J = 7.7, 1.3 Hz, 1H), 6.12 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 4.71 (t, J = 5.1 Hz, 1H), 4.54 (dd, J = 6.2, 3.7 Hz, 2H), 4.43 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 4.34 (q, J = 3.9 Hz, 1H), 3.50 (s, 1H), 1.42 (s, 9H)

[0142] **KA-02:** ((2R,3S,4R,5R)-5-(6-((3-ethynylphenyl)amino)-9H-purin-9-yl)-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methyl ((2,2,2-trifluoroethoxy)carbonyl)sulfamate

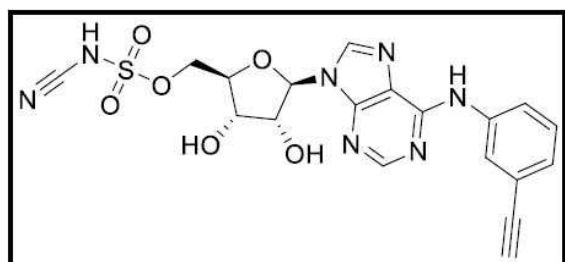


[0143]

[0144] (2R,3R,4S,5R)-2-(6-((3-ethynylphenyl)amino)-9H-purin-9-yl)-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3,4-diol을 출발물질로 하여, **KA-01** 합성 단계2에서 다른 burgess-type reagent (*Adv. Synth. Catal.* **2013**, *355*, 3363-3368)사용하여, **KA-01**과 동일한 방법으로 목표화합물을 얻었다.

[0145] ¹H NMR (300 MHz, MeOD) δ 8.60 (s, 1H), 8.45 (s, 1H), 8.08-8.07 (m, 1H), 7.83-7.79 (m, 1H), 6.16 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 4.73 - 4.67 (m, 1H), 4.53 - 4.42 (m, 2H), 4.41-4.38(m, 1H), 4.33-4.30 (m, 3H), 3.50 (s, 1H)

[0147] **KA-03:** ((2R,3S,4R,5R)-5-(6-((3-ethynylphenyl)amino)-9H-purin-9-yl)-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methyl cyanosulfamate



[0148]

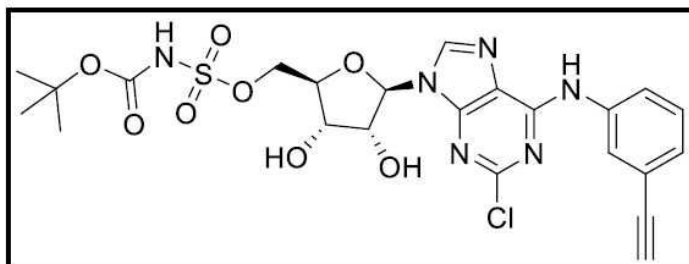
[0149] (2R,3R,4S,5R)-2-(6-((3-ethynylphenyl)amino)-9H-purin-9-yl)-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3,4-diol을 출발물질로 하여, **KA-01** 합성 단계2에서 다른 burgess-type reagent (*Adv. Synth. Catal.* **2013**, *355*, 3363-

3368)사용하여, **KA-01**과 동일한 방법으로 목표화합물을 얻었다.

[0150] ^1H NMR (300 MHz, MeOD) δ 8.49 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.82 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.34 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.19 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.16 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 4.72 - 4.64 (m, 1H), 4.47 - 4.37 (m, 2H), 4.36-4.33 (m, 1H), 3.69 (s, 1H), 3.49 (s, 1H)

[0152] **KA-04의 합성**

[0153] **KA-04:** ((2R,3S,4R,5R)-5-(2-chloro-6-((3-ethynylphenyl)amino)-9H-purin-9-yl)-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methyl (tert-butoxycarbonyl)sulfamate



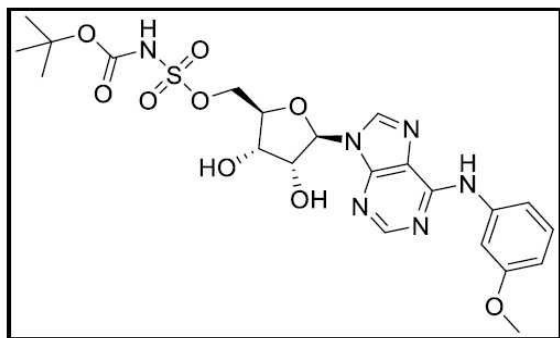
[0154]

[0155] (2R,3R,4S,5R)-2-(2-chloro-6-((3-ethynylphenyl)amino)-9H-purin-9-yl)-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3,4-diol을 출발물질로 하여, **KA-01**의 단계2와 동일한 방법으로 목표화합물을 얻었다.

[0156] ^1H NMR (300 MHz, MeOD) δ 8.46 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.86 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.38 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.24 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 6.09 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 4.67 (t, J = 5.1 Hz, 1H), 4.50 - 4.31 (m, 4H), 3.53 (s, 1H)

[0158] **KA-05의 합성**

[0159] **KA-05:** ((2R,3S,4R,5R)-3,4-dihydroxy-5-(6-((3-methoxyphenyl)amino)-9H-purin-9-yl)tetrahydrofuran-2-yl)methyl (tert-butoxycarbonyl)sulfamate



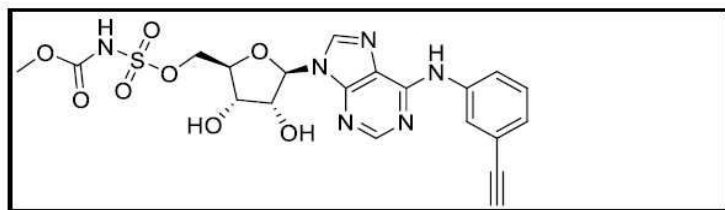
[0160]

[0161] (2R,3S,4R,5R)-2-(hydroxymethyl)-5-(6-((3-methoxyphenyl)amino)-9H-purin-9-yl)tetrahydrofuran-3,4-diol을 출발물질로 하여, **KA-01**의 단계2와 동일한 방법으로 목표화합물을 얻었다.

[0162] LC/MS $[\text{M}+\text{H}]^+ = 553$

[0164] **KA-06의 합성**

[0165] **KA-06:** ((2R,3S,4R,5R)-5-(6-((3-ethynylphenyl)amino)-9H-purin-9-yl)-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methyl (methoxycarbonyl)sulfamate



[0166]

[0167]

(2R,3R,4S,5R)-2-(6-((3-ethynylphenyl)amino)-9H-purin-9-yl)-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3,4-diol을 출발물질로 하여, **KA-01**합성의 단계2에서 다른 burgess-type reagent (CAS 29684-56-8)사용하여, **KA-01**과 동일한 방법으로 목표화합물을 얻었다.

[0168]

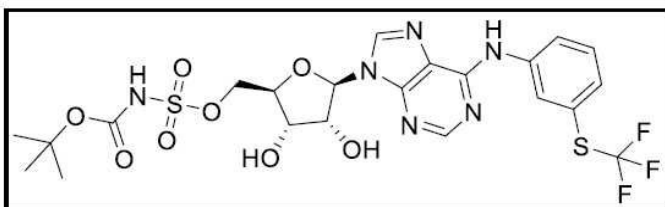
¹H NMR (300 MHz, MeOD) δ 8.60 (s, 1H), 8.45 (s, 1H), 8.08 (t, J = 1.6 Hz, 1H), 7.81 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.34 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.19 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.16 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 4.74 - 4.69 (m, 1H), 4.41 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 4.31 (s, 2H), 3.70 (s, 1H), 3.60 (s, 3H), 3.49 (s, 1H)

[0170]

KA-07의 합성

[0171]

KA-07: ((2R,3S,4R,5R)-3,4-dihydroxy-5-(6-((3-((trifluoromethyl)thio)phenyl)amino)-9H-purin-9-yl)tetrahydrofuran-2-yl)methyl (tert-butoxycarbonyl)sulfamate



[0172]

[0173]

2R,3S,4R,5R)-2-(hydroxymethyl)-5-(6-((3-((trifluoromethyl)thio)phenyl)amino)-9H-purin-9-yl)tetrahydrofuran-3,4-diol을 출발물질로 하여, **KA-01**의 단계2와 동일한 방법으로 목표화합물을 얻었다.

[0174]

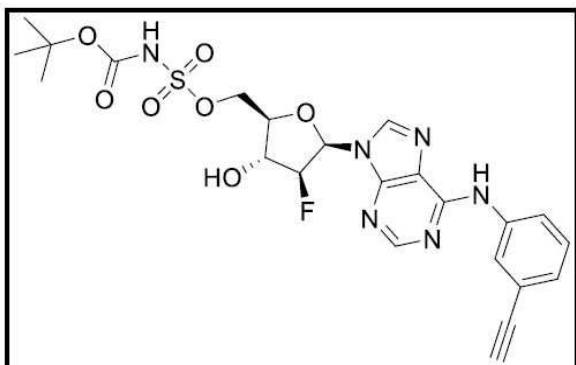
¹H NMR (300 MHz, MeOD) δ 8.49 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.38 - 8.37 (m, 1H), 8.06 - 8.00 (m, 1H), 7.49 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.40 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 6.14 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 4.73 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 4.50 - 4.44 (m, 2H), 4.43 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 4.34 (t, J = 3.7 Hz, 1H), 1.42 (s, 9H)

[0176]

KA-08의 합성

[0177]

KA-08: ((2R,3R,4S,5R)-5-(6-((3-ethynylphenyl)amino)-9H-purin-9-yl)-4-fluoro-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)methyl (tert-butoxycarbonyl)sulfamate



[0178]

[0179]

(2R,3R,4S,5R)-5-(6-((3-ethynylphenyl)amino)-9H-purin-9-yl)-4-fluoro-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3-ol을 출발물질로 하여, **KA-01**의 단계2와 동일한 방법으로 목표화합물을 얻었다.

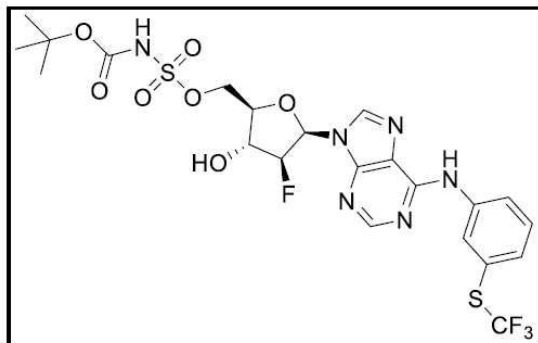
[0180]

¹H NMR (300 MHz, MeOD) δ 8.47 (s, 1H), 8.34 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.06 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 7.80 (dt, J

= 8.3, 1.7 Hz, 1H), 7.35 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.20 (dt, J = 7.6, 1.3 Hz, 1H), 6.59 (dd, J = 17.3, 3.9 Hz, 1H), 5.18 (dt, J = 51.9, 3.5 Hz, 1H), 4.64 (dd, J = 4.3, 2.8 Hz, 1H), 4.56 (d, J = 5.0 Hz, 2H), 4.27 (q, J = 4.8 Hz, 1H), 3.50 (s, 1H), 1.43 (s, 9H)

[0182] KA-09의 합성

[0183] KA-09: ((2R,3R,4S,5R)-4-fluoro-3-hydroxy-5-(6-((3-((trifluoromethyl)thio)phenyl)amino)-9H-purin-9-yl)tetrahydrofuran-2-yl)methyl (tert-butoxycarbonyl)sulfamate



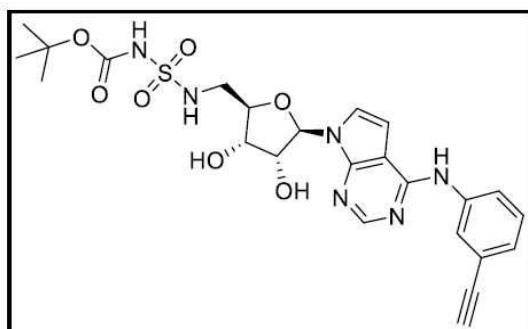
[0184]

[0185] (2R,3R,4S,5R)-4-fluoro-2-(hydroxymethyl)-5-(6-((3-((trifluoromethyl)thio)phenyl)amino)-9H-purin-9-yl)tetrahydrofuran-3-ol을 출발물질로 하여, KA-01의 단계2와 동일한 방법으로 목표화합물을 얻었다.

[0186] ¹H NMR (300 MHz, MeOD) δ 8.52 (s, 1H), 8.43 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 8.40 (t, J = 1.7 Hz, 1H), 8.08 - 8.03 (m, 1H), 7.51 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.42 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 6.61 (dd, J = 17.1, 3.9 Hz, 1H), 5.29 - 5.08 (m, 1H), 4.69 - 4.60 (m, 1H), 4.43 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 4.28 (t, J = 4.7 Hz, 1H), 1.45 (s, 9H)

[0188] KA-10, KA-11 및 KA-12의 합성

[0189] KA-10: tert-butyl (N-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-((3-ethynylphenyl)amino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methyl)sulfamoyl)carbamate

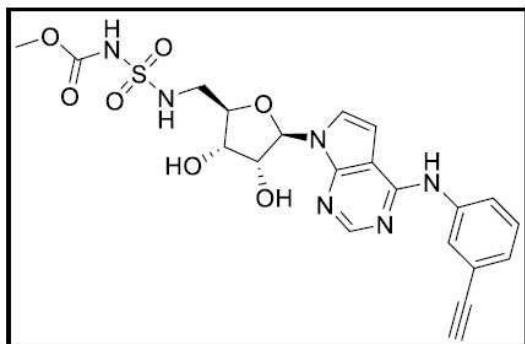


[0190]

[0191] (2R,3S,4R,5R)-2-(aminomethyl)-5-(4-((3-ethynylphenyl)amino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)tetrahydrofuran-3,4-diol를 출발물질로 하여, KA-01의 단계2와 동일한 방법으로 목표화합물을 얻었다.

[0192] ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 10.92 (s, 1H), 10.92 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.98 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.35 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 5.92 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 5.54 (d, J = 6.2 Hz, 1H), 5.34 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 4.74 (q, J = 6.0 Hz, 1H), 4.18 (s, 1H), 4.17 - 4.07 (m, 2H), 3.17 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 1.75 (s, 1H), 1.37 (s, 9H)

[0193] KA-11: methyl (N-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-((3-ethynylphenyl)amino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methyl)sulfamoyl)carbamate



[0194]

[0195]

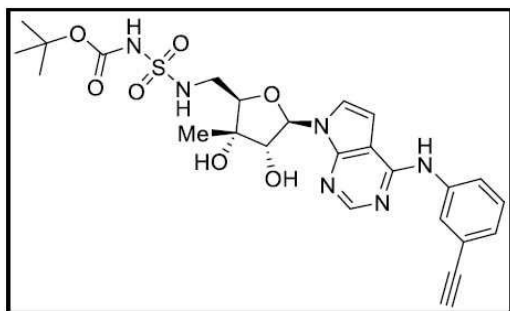
(2R,3S,4R,5R)-2-(aminomethyl)-5-(4-((3-ethynylphenyl)amino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)tetrahydrofuran-3,4-diol를 출발물질로 하여, KA-01합성의 단계2에서 다른 burgess-type reagent (CAS 29684-56-8)사용하여, **KA-01**과 동일한 방법으로 목표화합물을 얻었다.

[0196]

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 10.14 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.18 (t, J = 1.9 Hz, 1H), 7.98 (dd, J = 8.4, 2.2 Hz, 1H), 7.35 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 4.74 (q, J = 6.1 Hz, 1H), 4.18 (s, 1H), 4.14 - 4.07 (m, 2H), 3.56 (s, 3H), 3.05 (q, J = 7.3 Hz, 2H)

[0197]

KA-12: tert-butyl (N-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-((3-ethynylphenyl)amino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3,4-dihydroxy-3-methyltetrahydrofuran-2-yl)methyl)sulfamoyl)carbamate



[0198]

[0199]

(2R,3S,4R,5R)-2-(aminomethyl)-5-(4-((3-ethynylphenyl)amino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-methyltetrahydrofuran-3,4-diol을 출발물질로 하여, **KA-01**의 단계2와 동일한 방법으로 목표화합물을 얻었다.

[0200]

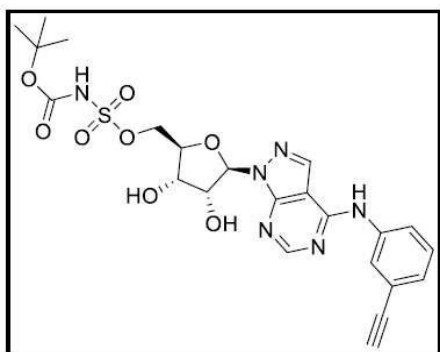
¹H NMR (300 MHz, MeOD) δ 8.31 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.82 - 7.75 (m, 1H), 7.67 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 7.34 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.20 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 3.8 Hz, 1H), 6.36 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 4.40 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 4.37 - 4.35 (m, 2H), 4.22 (t, J = 3 Hz, 1H), 3.50 (s, 1H), 1.52 (s, 3H), 1.47 (s, 9H)

[0202]

KA-13 및 KA-14의 합성

[0203]

KA-13: ((2R,3S,4R,5R)-5-(4-((3-ethynylphenyl)amino)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methyl (tert-butoxycarbonyl)sulfamate

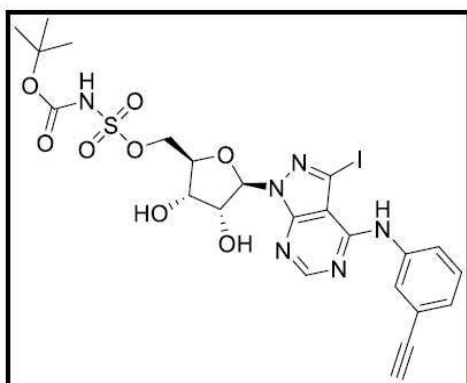


[0204]

[0205] 출발물질 (2R,3R,4S,5R)-2-(4-((3-ethynylphenyl)amino)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3,4-diol을 reference (J. Med. Chem. 1981, 24, 1165-1172)를 참고하여 합성한 후, KA-01의 단계2와 동일한 방법으로 목표화합물을 얻었다.

[0206] ^1H NMR (300 MHz, MeOD) δ 8.46 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.81 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.39 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.28 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.40 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 4.76 - 4.70 (m, 1H), 4.66 (t, J = 5.3 Hz, 1H), 4.39 - 4.21 (m, 2H), 4.24 - 4.15 (m, 1H), 3.55 (s, 1H), 1.40 (s, 9H)

[0208] KA-14: ((2R,3S,4R,5R)-5-(4-((3-ethynylphenyl)amino)-3-iodo-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methyl ((tert-butoxycarbonyl)sulfamate



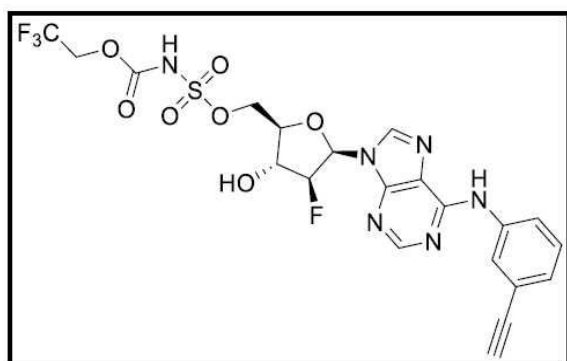
[0209]

[0210] 출발물질 (2R,3R,4S,5R)-2-(4-((3-ethynylphenyl)amino)-3-iodo-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3,4-diol을 reference (J. Med. Chem. 1981, 24, 1165-1172)를 참고하여 합성한 후, KA-01의 단계2와 동일한 방법으로 목표화합물을 얻었다.

[0211] ^1H NMR (300 MHz, MeOD) δ 8.48 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 8.13 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.78 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.41 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.41 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 6.34 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 4.73 - 4.68 (m, 1H), 4.60 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 4.43 (t, J = 6.9 Hz, 1H), 4.30 (t, J = 5.4 Hz, 2H), 3.58 (s, 1H), 1.41 (s, 9H)

[0213] KA-16 및 KA-17의 합성법

[0214] KA-16: ((2R,3R,4S,5R)-5-(6-((3-ethynylphenyl)amino)-9H-purin-9-yl)-4-fluoro-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)methyl ((2,2,2-trifluoroethoxy)carbonyl)sulfamate



[0215]

[0216]

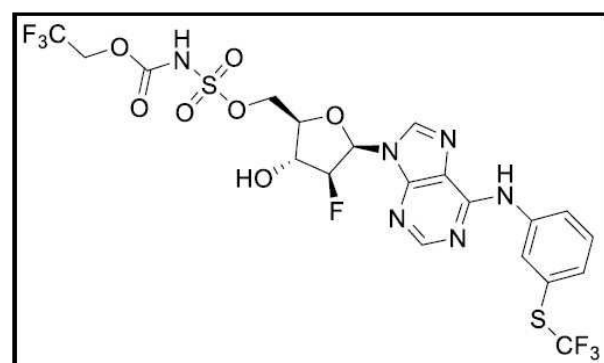
(2R,3R,4S,5R)-5-(6-((3-ethynylphenyl)amino)-9H-purin-9-yl)-4-fluoro-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3-ol을 출발물질로 하여, KA-01 단계2에서 다른 burgess-type reagent (*Adv. Synth. Catal.* 2013, 355, 3363-3368)사용하여, KA-01과 동일한 방법으로 목표화합물을 얻었다.

[0217]

LC/MS $[M+H]^+ = 575$

[0219]

KA-17: ((2R,3R,4S,5R)-4-fluoro-3-hydroxy-5-(6-((3-((trifluoromethyl)thio)phenyl)amino)-9H-purin-9-yl)tetrahydrofuran-2-yl)methyl ((2,2,2-trifluoroethoxy)carbonyl)sulfamate



[0220]

[0221]

(2R,3R,4S,5R)-4-fluoro-2-(hydroxymethyl)-5-(6-((3-((trifluoromethyl)thio)phenyl)amino)-9H-purin-9-yl)tetrahydrofuran-3-ol을 출발물질로 하여, KA-01 단계2에서 다른 burgess-type reagent (*Adv. Synth. Catal.* 2013, 355, 3363-3368)사용하여, KA-01과 동일한 방법으로 목표화합물을 얻었다.

[0222]

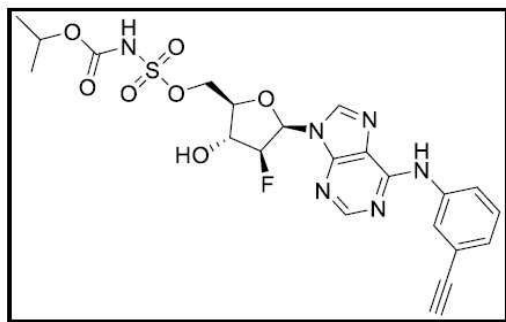
^1H NMR (300 MHz, MeOD) δ 8.51 (s, 1H), 8.43 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.08 - 8.02 (m, 1H), 7.50 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.42 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.60 (dd, $J = 17.2, 3.9$ Hz, 1H), 5.18 (dt, $J = 51.9, 3.4$ Hz, 2H), 4.68 - 4.58 (m, 1H), 4.52 (q, $J = 8.9$ Hz, 2H), 4.39 (d, $J = 5.2$ Hz, 2H), 4.26 (q, $J = 4.8$ Hz, 1H)

[0224]

KA-18 및 KA-19의 합성법

[0225]

KA-18: ((2R,3R,4S,5R)-5-(6-((3-ethynylphenyl)amino)-9H-purin-9-yl)-4-fluoro-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)methyl (isopropoxycarbonyl)sulfamate



[0226]

[0227]

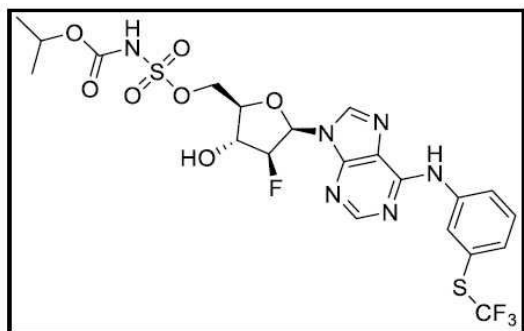
(2R,3R,4S,5R)-5-(6-((3-ethynylphenyl)amino)-9H-purin-9-yl)-4-fluoro-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3-ol을 출발물질로 하여, KA-01 단계2에서 다른 burgess-type reagent (*Org. Process Res. Dev.* **2015**, *19*, 1299-1307)사용하여, KA-01과 동일한 방법으로 목표화합물을 얻었다.

[0228]

¹H NMR (300 MHz, MeOD) δ 8.46 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 8.41 - 8.37 (m, 1H), 8.07 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.81 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.35 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.20 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 6.58 (dd, J = 17.2, 3.9 Hz, 1H), 5.12 (dd, J = 51.8, 3.1 Hz, 1H), 4.62 (d, J = 14.6 Hz, 1H), 4.65 - 4.57 (m, 1H), 4.45 - 4.38 (m, 2H), 4.27 - 4.23 (m, J = 4.9 Hz, 1H), 3.64 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 3.50 (s, 1H), 1.21 (d, J = 6.2 Hz, 6H)

[0229]

KA-19: ((2R,3R,4S,5R)-4-fluoro-3-hydroxy-5-(6-((3-((trifluoromethyl)thio)phenyl)amino)-9H-purin-9-yl)tetrahydrofuran-2-yl)methyl (isopropoxycarbonyl)sulfamate



[0230]

[0231]

(2R,3R,4S,5R)-4-fluoro-2-(hydroxymethyl)-5-(6-((3-((trifluoromethyl)thio)phenyl)amino)-9H-purin-9-yl)tetrahydrofuran-3-ol을 출발물질로 하여, KA-01 단계2에서 다른 burgess-type reagent (*Org. Process Res. Dev.* **2015**, *19*, 1299-1307)사용하여, KA-01과 동일한 방법으로 목표화합물을 얻었다.

[0232]

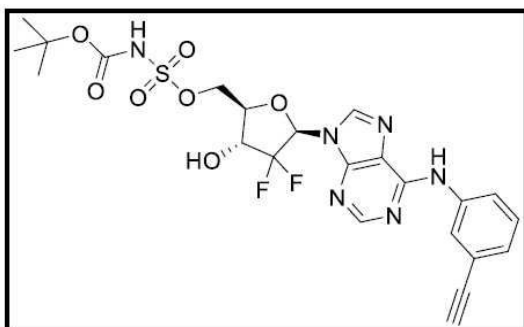
LC/MS $[M+H]^+ = 611$

[0234]

KA-20의 합성

[0235]

KA-20: ((2R,3R,5R)-5-(6-((3-ethynylphenyl)amino)-9H-purin-9-yl)-4,4-difluoro-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)methyl (tert-butoxycarbonyl)sulfamate



[0236]

[0237]

(2R,3R,5R)-5-(6-((3-ethynylphenyl)amino)-9H-purin-9-yl)-4,4-difluoro-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-

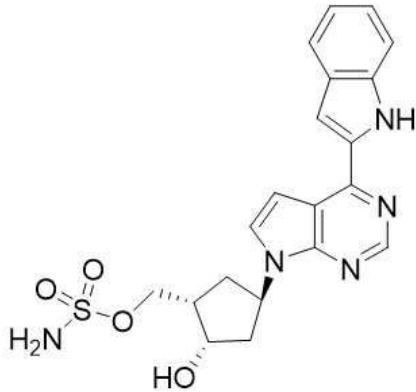
3-ol을 출발물질로 하여, KA-01의 단계2와 동일한 방법으로 목표화합물을 얻었다.

[0238] LC/MS $[M+H]^+ = 567$

[0240] [비교예] : 기존에 공지된 화합물의 준비

[0241] 비교예로서 기존에 공지된 화합물을 상기한 실시예와 동일 또는 유사한 방법으로 준비하였다.

[0242] UBA6i는 특허 WO2014/022744 A1에 공지된 화합물 (I-01)이고, 구조는 아래와 같다.



[0243]

[0245] [실험예 1] : 세포 증식 분석

[0246] 세포 증식 정도를 CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay Kit (G9241, Promega)로 분석하였다. 2 x 10⁴ 개의 A549 세포를 96-well 세포 배양 접시에 키우고 첫날부터 3일 뒤까지 분석을 진행하였다. 분석 전에 CellTiter-Glo 시약과 분석에 이용할 세포 배양 접시를 실온에 30분 노출시켜 온도를 실온으로 조정하였다.

[0247] 시약을 PBS에 1/10으로 희석한 100 μ l와 본 발명에 따른 KA-01을 1 μ M, 3 μ M, 10 μ M씩 각각 처리하고 실온에서 5분간 Orbital shaker에서 반응시켰다. 그 후 추가로 10분간 실온에서 반응시킨 후 GloMax®96 Microplate Luminometer (Promega) 기기에서 발광 세기를 측정하였다.

[0248] 그 결과는 도 1에 나타난 바와 같다. 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 KA-01의 세포 증식력을 분석한 결과이다. 여기에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 KA-01을 처리하면 농도의존적으로 세포 증식을 억제할 수 있음을 확인할 수 있었다.

[0250] [실험예 2] : 세포 군체 형성 분석

[0251] A549 세포를 PBS용액으로 한번 세척한 후, 1분동안 37°C, CO₂ 배양기에서 트립신화하였다. 떼어낸 A549 세포는 1,200 rpm에서 5분 동안 원심분리하였다. 배양용액을 이용하여 세포를 섞어준 후, 혈구계수계(hemocytometer)를 이용하여 ml 당 1,000개의 세포를 준비하였다. 미리 2 ml의 배양을 첨가한 6 웰 플레이트에 준비된 A549 세포를 1 ml 첨가한 다음, 본 발명에 따른 KA-01을 1 μ M, 3 μ M, 10 μ M씩 각각 처리한 후 잘 섞어주었다. 37°C, CO₂ 배양기에서 10일에서 20일 동안 세포를 배양시킨 후, 배양액을 제거하였으며, PBS로 한번 세척 후, 3.7% PFA (EMS, 15710-S) 용액으로 5분간 세포를 고정시켰다. 0.05% 크리스탈 바이올렛(Sigma-Aldrich, C3886) 용액으로 30분 동안 염색한 후 플레이트의 염색약을 수돗물을 이용하여 제거하였으며, 플레이트가 마를 때까지 기다린 후 스캔 또는 사진을 찍었다.

[0252] 그 결과는 도 2에 나타난 바와 같다. 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 KA-01의 세포 군체 형성 능력을 분석한 결과이다. 여기에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 KA-01을 처리하면 농도의존적으로 세포 군체 형성을 억제할 수 있음을 확인할 수 있었다.

[0254] **[실험예 3] : 상처 치유 능력 분석**

[0255] A549 세포의 이동(migration) 능력을 알아보기 위해서 상처 치유 분석(Wound healing assay)을 시행하였다. A549 세포를 PBS 용액으로 한번 세척한 후, 1분동안 37℃의 CO₂ 배양기에서 트립신화하였다. 떼어낸 A549 세포는 1,200 rpm, 5분동안 원심분리하였으며, 배양용액을 이용하여 세포를 다시 섞어준 후, 혈구계수계(hemocytometer)를 이용하여 ml 당 500,000개의 세포를 준비하였다.

[0256] 그 후 6웰 플레이트의 바닥면에 한 줄 또는 두 줄의 선을 그은 후, 먼저 1 ml의 배양용액을 각각의 웰에 넣었다. 준비된 A549 세포를 1 ml씩 첨가한 다음, 본 발명에 따른 KA-01을 1 μM, 3 μM, 10 μM씩 각각 처리한 후 플레이트를 골고루 흔들었으며, 그 후 37℃, CO₂ 배양기에서 세포를 배양하였다. 세포밀집도가 80 ~ 90 %되었을 때, 200P tip을 이용하여 조심스레 선을 그었고, 배양액을 이용하여 조심스레 두 번 세척하였다. 그 후 현미경(NiKon eclipse Ti-U)을 이용하여 100배의 0시간의 사진을 얻었다. 다음 사진을 얻을 시, 세포를 데워진 배양액으로 한번 세척해준 후, 사진을 얻었으며, 사진의 분석은 Image J program을 이용하여 분석하였다.

[0257] 그 결과는 도 3에 나타난 바와 같다. 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 KA-01의 상처 치유 능력을 분석한 결과이다. 여기에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 KA-01을 처리하면 농도의존적으로 상처 치유(wound healing) 능력이 탁월함을 알 수 있었다.

[0259] **[실험예 4] : 암세포 이종 이식 분석**

[0260] 4~6 주령의 수컷 BALB/c nude 쥐들을 임의의 실험군으로 분류하였다. 쥐들의 피하 부위에 마리당 1×10^7 의 A549 세포를 100 μl 부피로 주사하였다. 7일 뒤부터 성장한 암 조직의 부피를 모니터링 (장축 x 단축 x 단축 / 2)하고, 약 50 mm³ 정도가 됐을 때 치료실험을 시작하였다.

[0261] Vehicle을 음성대조군, MLN4924 60 mg/kg 용량을 양성대조군으로 하고, 본 발명에 따른 KA-01 12.5 mg/kg, 25 mg/kg, 50 mg/kg 용량을 복강내 투여하는 방식으로 2일~3일 간격으로 주사하였다. 약물 주사와 동시에 암 조직 부피와 크기, 그리고 쥐의 몸무게를 측정하여 모니터링하였다.

[0262] 그 결과는 도 4 및 도 5에 나타난 바와 같다. 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 KA-01을 처리한 암 조직의 부피 변화 결과이다. 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 KA-01을 처리한 암 조직의 크기 변화 결과이다. 여기에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 KA-01을 처리하면 암 조직의 부피와 크기가 농도의존적으로 줄어드는 것을 확인할 수 있었다.

[0264] **[실험예 5] : 웨스턴 블롯(Western blotting assay) 분석**

[0265] A549 세포를 5×10^5 개로 6-well 세포 배양 접시에 키운 후 KA-01을 포함한 본 발명에 따른 다수의 화합물 각각을 다양한 농도로 처리하였다.

[0266] 이후 상기 세포를 MES lysis buffer (50 mM MES pH 4.5, 150 mM NaCl, 0.5 mM, 0.5 mM β-mercaptoethanol, 0.2% NP-40, protease inhibitors)를 사용해서 용해시킨 후 원심분리를 통해 단백질을 추출하였다. 그리고, 추출된 단백질을 NuPAGETMLDS Sample Buffer와 혼합하여 분석용 샘플을 제작하였다. 이어서, 20 μg 단백질 샘플을 non-reducing BoltTM Bis-Tris Plus Mini Protein Gels (4-12%)을 통해 전기영동을 진행하였다. 일부 샘플은 전기영동 전에 0.5 mM β-mercaptoethanol을 처리하여 환원된 상태로 실험에 사용하였다. 분리된 단백질은 1차 항체와 HRP (horseradish peroxidase)가 붙어있는 2차 항체를 반응시키고, ECL 용액 (Clarity Western ECL Substrate)을 사용하여 화학 발광을 확인하였다.

[0267] 그 결과는 도 6 내지 도 23에 나타난 바와 같다. 도 6은 본 발명에 따른 화합물 KA-01의 웨스턴 블롯(Western blotting assay) 분석 결과이고, 도 7은 본 발명에 따른 화합물 KA-02의 웨스턴 블롯 분석 결과이고, 도 8은 본 발명에 따른 화합물 KA-03의 웨스턴 블롯 분석 결과이고, 도 9은 본 발명에 따른 화합물 KA-04의 웨스턴 블롯 분석 결과이고, 도 10은 본 발명에 따른 화합물 KA-05의 웨스턴 블롯 분석 결과이고, 도 11은 본 발명에 따른 화합물 KA-06의 웨스턴 블롯 분석 결과이고, 도 12는 본 발명에 따른 화합물 KA-07의 웨스턴 블롯 분석 결과이고, 도 13은 본 발명에 따른 화합물 KA-08의 웨스턴 블롯 분석 결과이고, 도 14는 본 발명에 따른 화합물 KA-09의 웨스

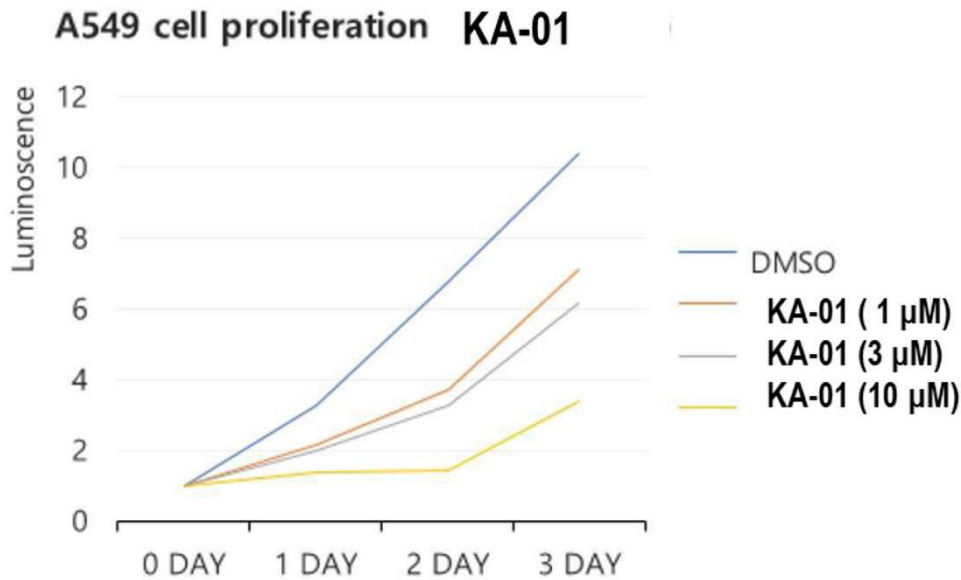
턴 블롯 분석 결과이고, 도 15는 본 발명에 따른 화합물 KA-10 및 KA-11의 웨스턴 블롯 분석 결과이고, 도 16은 본 발명에 따른 화합물 KA-12의 웨스턴 블롯 분석 결과이고, 도 17은 본 발명에 따른 화합물 KA-13의 웨스턴 블롯 분석 결과이고, 도 18은 본 발명에 따른 화합물 KA-14의 웨스턴 블롯 분석 결과이고, 도 19는 본 발명에 따른 화합물 KA-15의 웨스턴 블롯 분석 결과이고, 도 20은 본 발명에 따른 화합물 KA-16 및 KA-17의 웨스턴 블롯 분석 결과이고, 도 21은 본 발명에 따른 화합물 KA-18의 웨스턴 블롯 분석 결과이고, 도 22는 본 발명에 따른 화합물 KA-19의 웨스턴 블롯 분석 결과이고, 도 23은 본 발명에 따른 화합물 KA-20의 웨스턴 블롯 분석 결과이다.

- [0268] 도 6에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물 KA-01은 UBA6-Ub와 USE1-Ub의 생성을 효과적으로 억제할 수 있었고, 그 중에서도 KA-01을 3.0 μ M 농도 이상으로 사용하는 경우 USE1-Ub는 거의 나타나지 않았다. 도 6에서, Control은 DMSO를 이용한 결과이다.
- [0269] 도 7에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물 KA-02는 UBA6-Ub와 USE1-Ub의 생성을 효과적으로 억제할 수 있었고, 그 중에서도 KA-02를 10.0 μ M 농도 이상으로 사용하는 경우 USE1-Ub는 거의 나타나지 않았다.
- [0270] 도 8에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물 KA-03는 UBA6-Ub와 USE1-Ub의 생성을 효과적으로 억제할 수 있었고, 그 중에서도 KA-03를 100 μ M 농도 이상으로 사용하는 경우 USE1-Ub가 현저히 나타나지 않았다.
- [0271] 도 9에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물 KA-04는 UBA6-Ub와 USE1-Ub의 생성을 효과적으로 억제할 수 있었고, 그 중에서도 KA-04를 30.0 μ M 농도 이상으로 사용하는 경우 USE1-Ub는 거의 나타나지 않았다.
- [0272] 도 10에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물 KA-05는 UBA6-Ub와 USE1-Ub의 생성을 효과적으로 억제할 수 있었고, 그 중에서도 KA-05를 100.0 μ M 농도 이상으로 사용하는 경우 USE1-Ub는 거의 나타나지 않았다.
- [0273] 도 11에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물 KA-06은 UBA6-Ub와 USE1-Ub의 생성을 효과적으로 억제할 수 있었고, 그 중에서도 KA-06을 50.0 μ M 농도 이상으로 사용하는 경우 USE1-Ub 생성이 억제되었음을 확인하였다.
- [0274] 도 12에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물 KA-07은 UBA6-Ub와 USE1-Ub의 생성을 효과적으로 억제할 수 있었고, 그 중에서도 KA-07을 3.0 μ M 내지 10.0 μ M 농도 이상으로 사용하는 경우 USE1-Ub는 거의 나타나지 않았다.
- [0275] 도 13에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물 KA-08은 UBA6-Ub와 USE1-Ub의 생성을 효과적으로 억제할 수 있었고, 그 중에서도 KA-08을 0.5 μ M 농도 이상으로 사용하는 경우 USE1-Ub는 거의 나타나지 않았다.
- [0276] 도 14에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물 KA-09는 UBA6-Ub와 USE1-Ub의 생성을 효과적으로 억제할 수 있었고, 그 중에서도 KA-09를 30.0 μ M 농도 이상으로 사용하는 경우 USE1-Ub는 크게 줄어들었다.
- [0277] 도 15에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물 KA-10은 UBA6-Ub와 USE1-Ub의 생성을 효과적으로 억제할 수 있었고, 그 중에서도 KA-10을 30.0 μ M 농도 이상으로 사용하는 경우 USE1-Ub는 크게 줄어들었다.
- [0278] 도 15에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물 KA-11은 UBA6-Ub와 USE1-Ub의 생성을 효과적으로 억제할 수 있었고, 그 중에서도 KA-11을 30.0 μ M 농도 이상으로 사용하는 경우 USE1-Ub는 크게 줄어들었다.
- [0279] 도 16에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물 KA-12는 UBA6-Ub와 USE1-Ub의 생성을 효과적으로 억제할 수 있었고, 그 중에서도 KA-12를 30.0 μ M 농도 이상으로 사용하는 경우 USE1-Ub는 크게 줄어들었다.
- [0280] 도 17에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물 KA-13은 UBA6-Ub와 USE1-Ub의 생성을 효과적으로 억제할 수 있었고, 그 중에서도 KA-13을 30.0 μ M 농도 이상으로 사용하는 경우 USE1-Ub는 크게 줄어들었다.
- [0281] 도 18에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물 KA-14는 UBA6-Ub와 USE1-Ub의 생성을 효과적으로 억제할 수 있었고, 그 중에서도 KA-14를 30.0 μ M 농도 이상으로 사용하는 경우 USE1-Ub는 크게 줄어들었다.
- [0282] 도 19에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물 KA-15는 UBA6-Ub와 USE1-Ub의 생성을 효과적으로 억제할 수 있었고, 그 중에서도 KA-15를 10.0 μ M 농도 이상으로 사용하는 경우 USE1-Ub는 거의 나타나지 않았다.
- [0283] 도 20에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물 KA-16은 UBA6-Ub와 USE1-Ub의 생성을 효과적으로 억제할 수 있었고, 그 중에서도 KA-16을 10.0 μ M 농도 이상으로 사용하는 경우 USE1-Ub는 크게 줄어들었다.
- [0284] 도 20에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물 KA-17은 UBA6-Ub와 USE1-Ub의 생성을 효과적으로 억제할 수 있었고, 그 중에서도 KA-17을 10.0 μ M 농도 이상으로 사용하는 경우 USE1-Ub는 크게 줄어들었다.

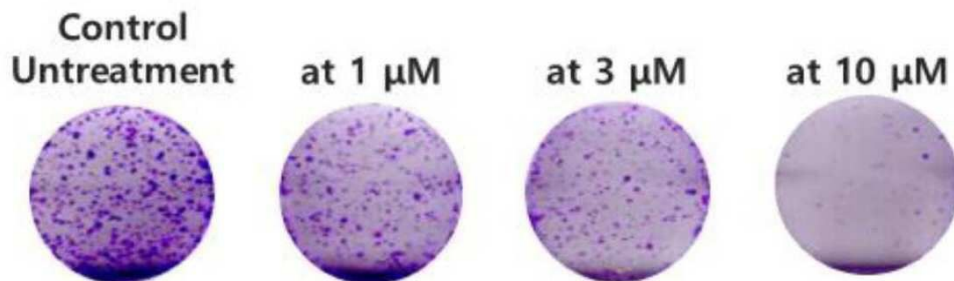
- [0285] 도 21에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물 KA-18은 UBA6-Ub와 USE1-Ub의 생성을 효과적으로 억제할 수 있었고, 그 중에서도 KA-18을 10.0 μM 농도 이상으로 사용하는 경우 USE1-Ub는 거의 나타나지 않았다.
- [0286] 도 22에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물 KA-19는 UBA6-Ub와 USE1-Ub의 생성을 효과적으로 억제할 수 있었고, 그 중에서도 KA-19를 10.0 μM 농도 이상으로 사용하는 경우 USE1-Ub는 거의 나타나지 않았다.
- [0287] 도 23에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물 KA-20은 UBA6-Ub와 USE1-Ub의 생성을 효과적으로 억제할 수 있었고, 그 중에서도 KA-20을 10.0 μM 농도 이상으로 사용하는 경우 USE1-Ub는 거의 나타나지 않았다.
- [0289] 상기에서는 본 발명을 특정의 바람직한 실시예에 관련하여 도시하고 설명하였지만, 이하의 특허청구범위에 의해 마련되는 본 발명의 기술적 특징이나 분야를 이탈하지 않는 한도 내에서 본 발명이 다양하게 개조 및 변화될 수 있다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 명백한 것이다.

도면

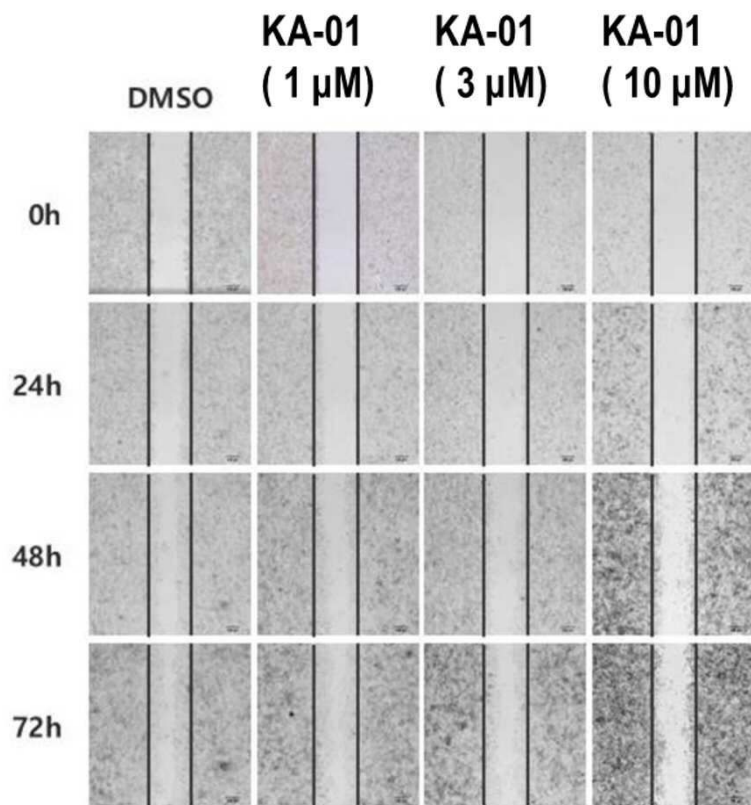
도면1



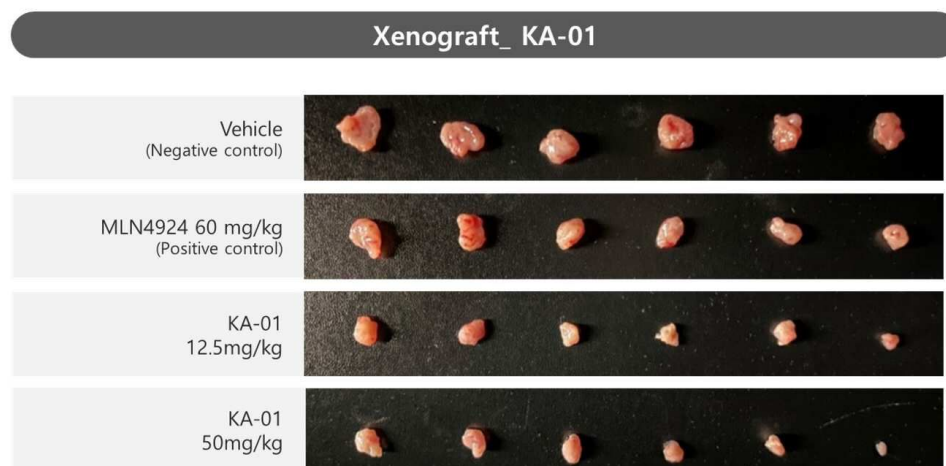
도면2



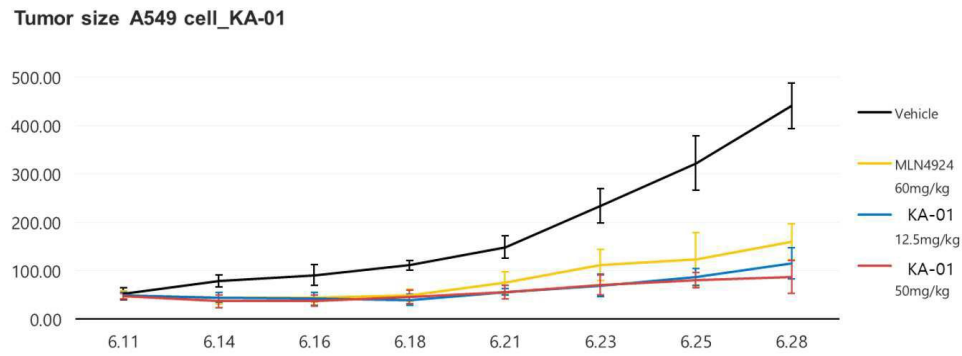
도면3



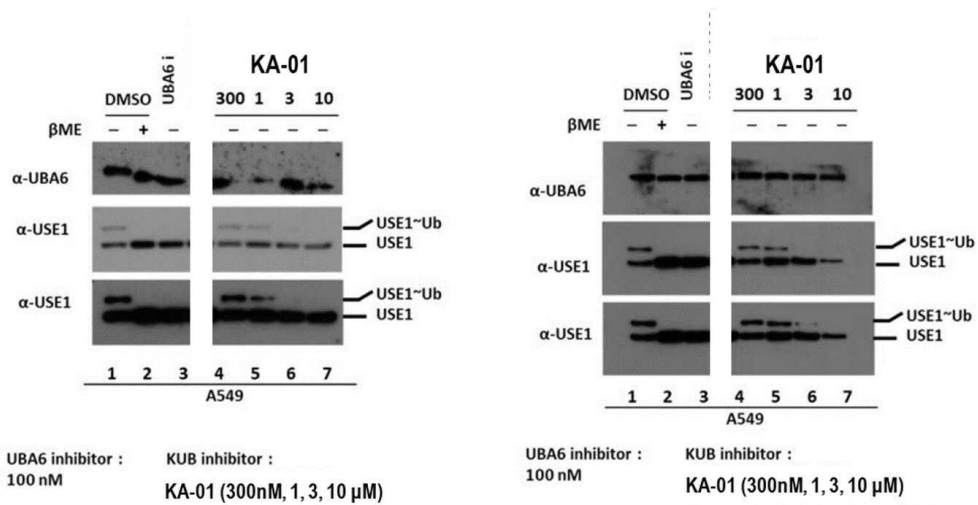
도면4



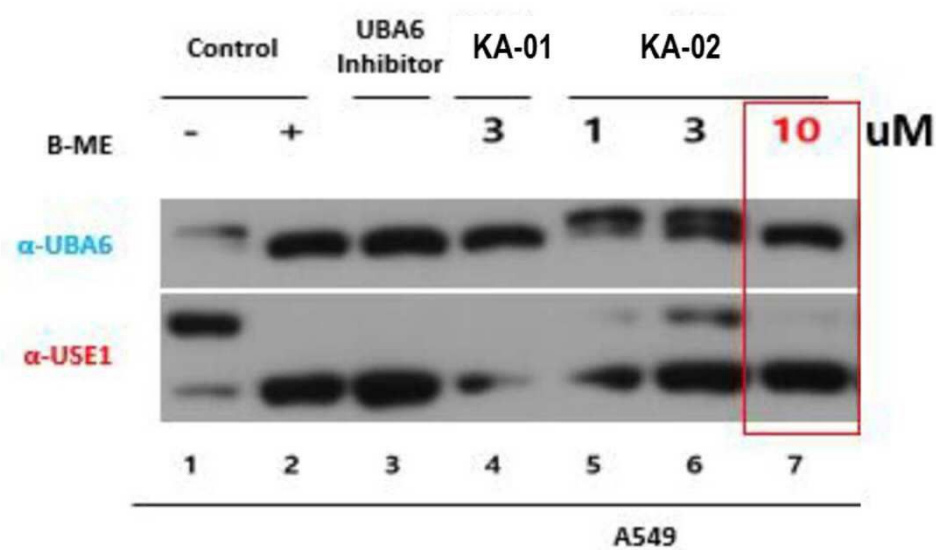
도면5



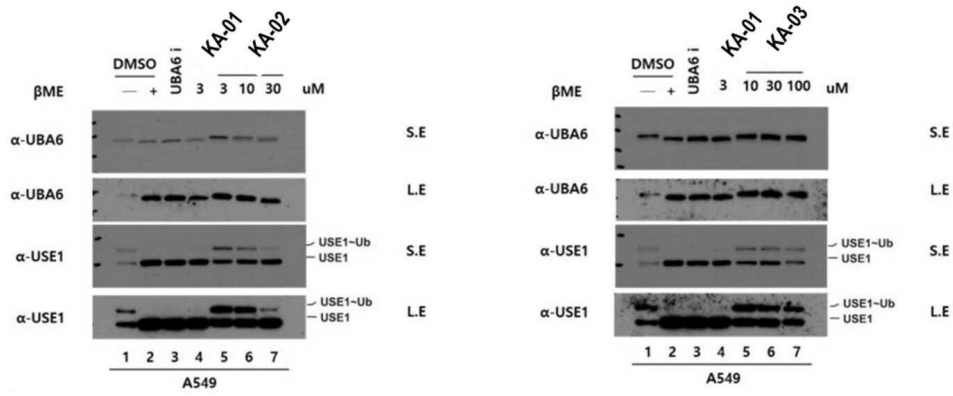
도면6



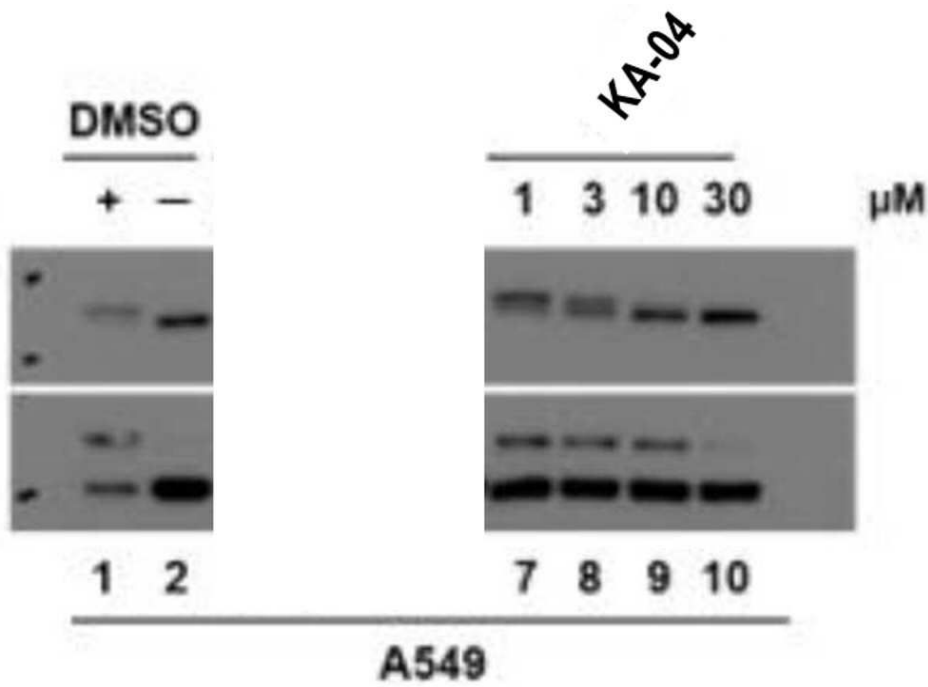
도면7



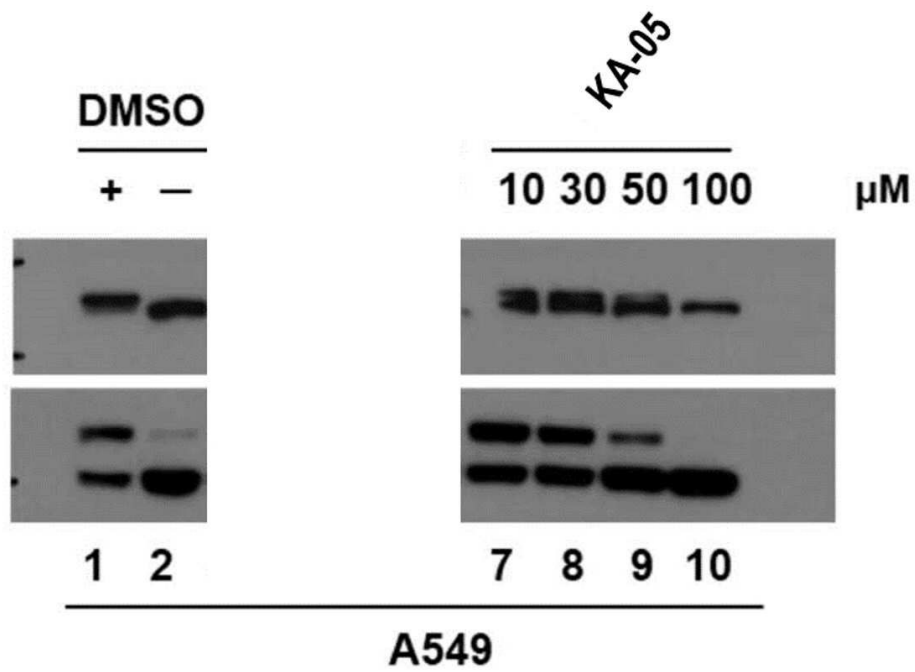
도면8



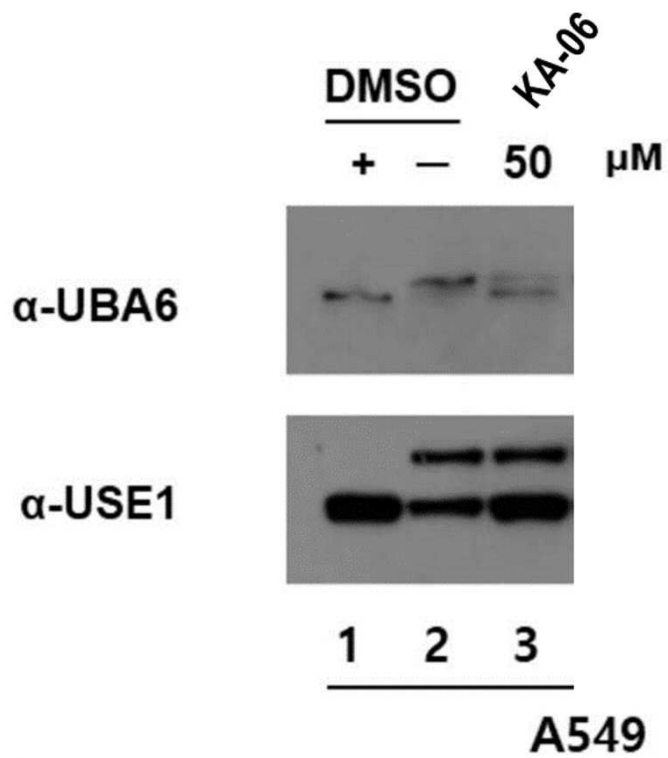
도면9



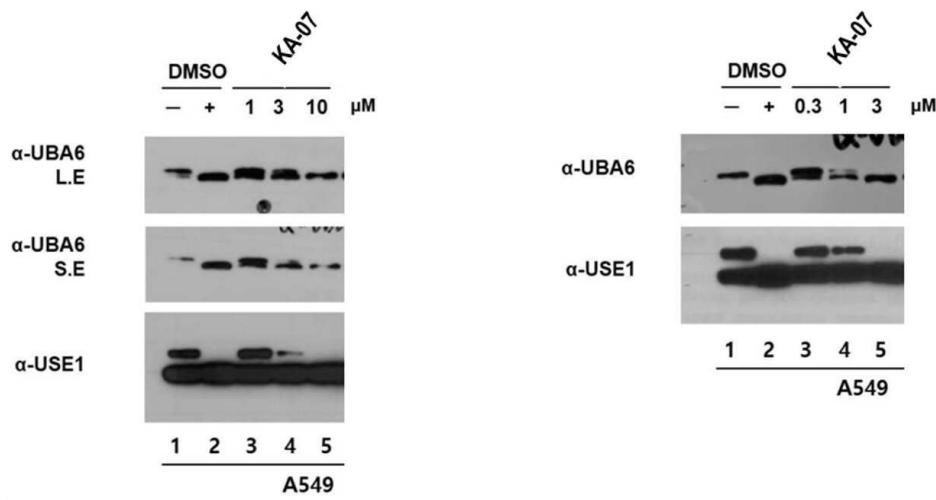
도면10



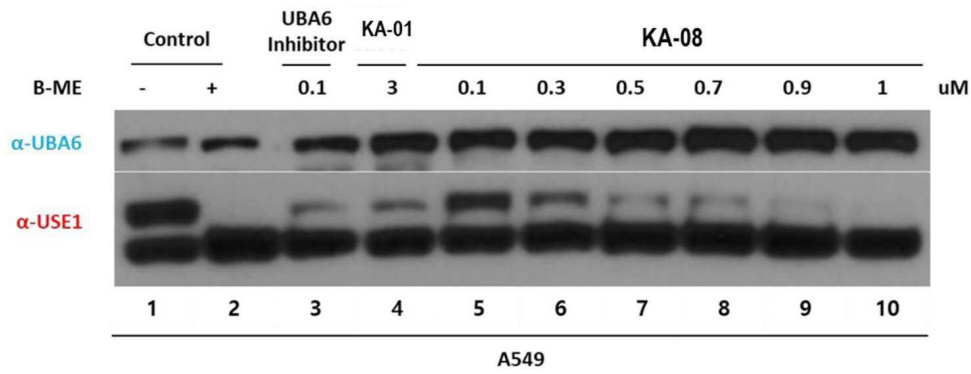
도면11



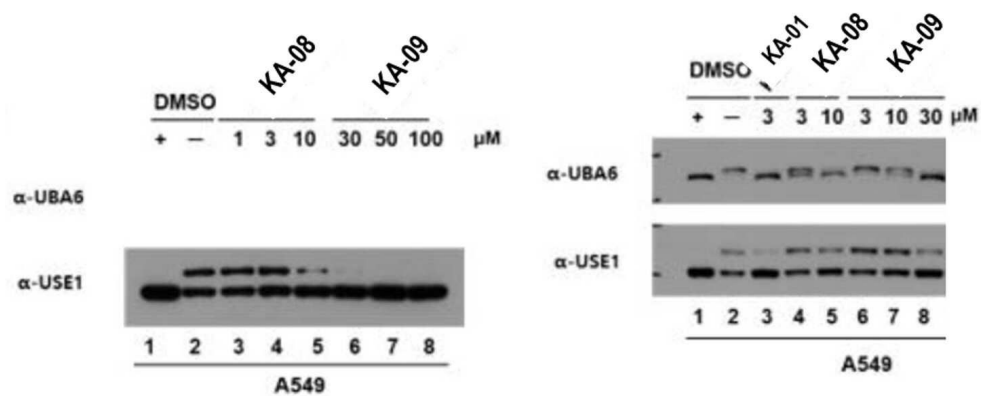
도면12



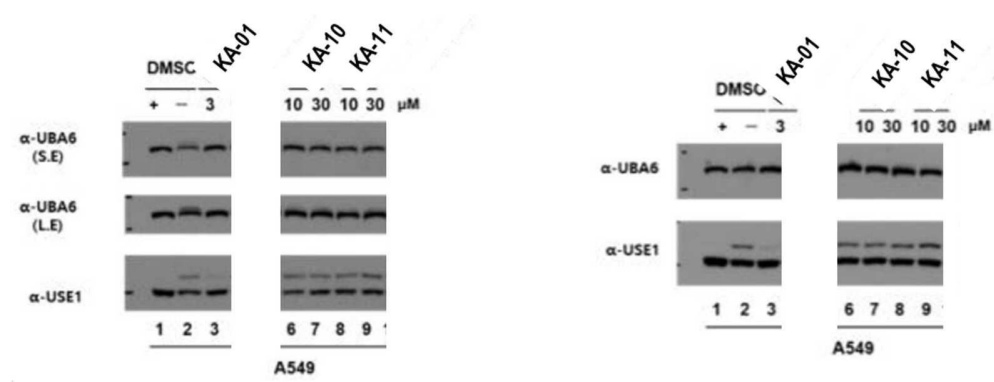
도면13



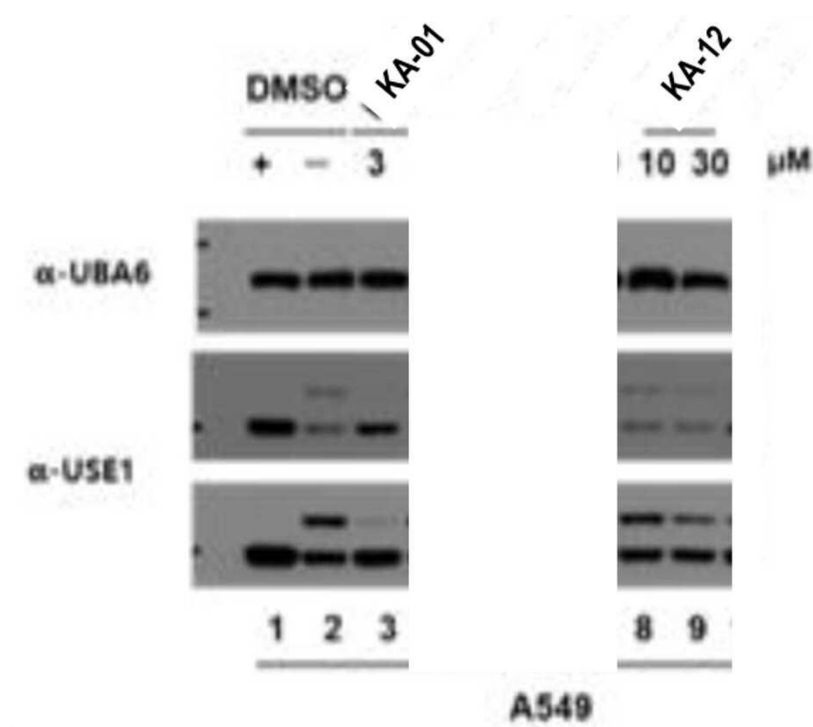
도면14



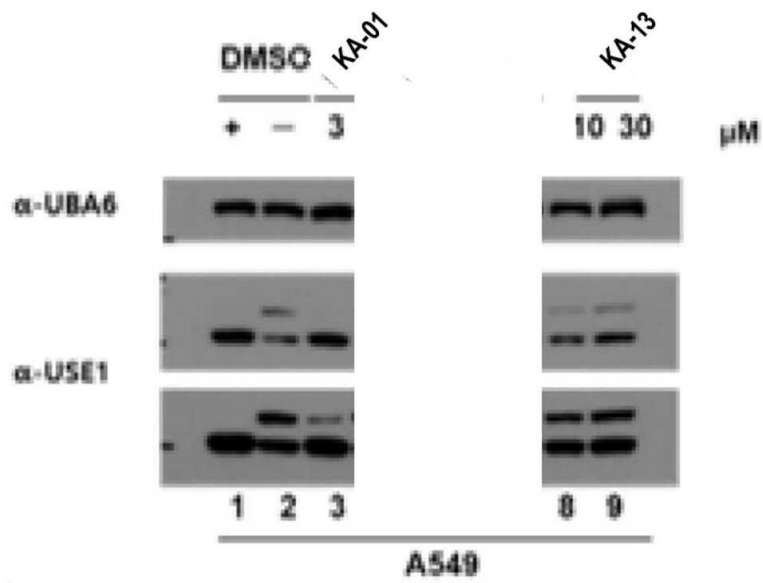
도면15



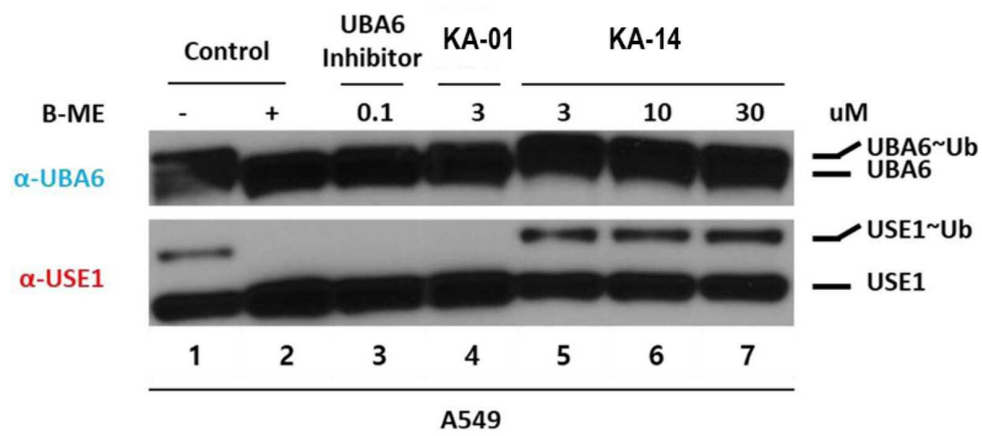
도면16



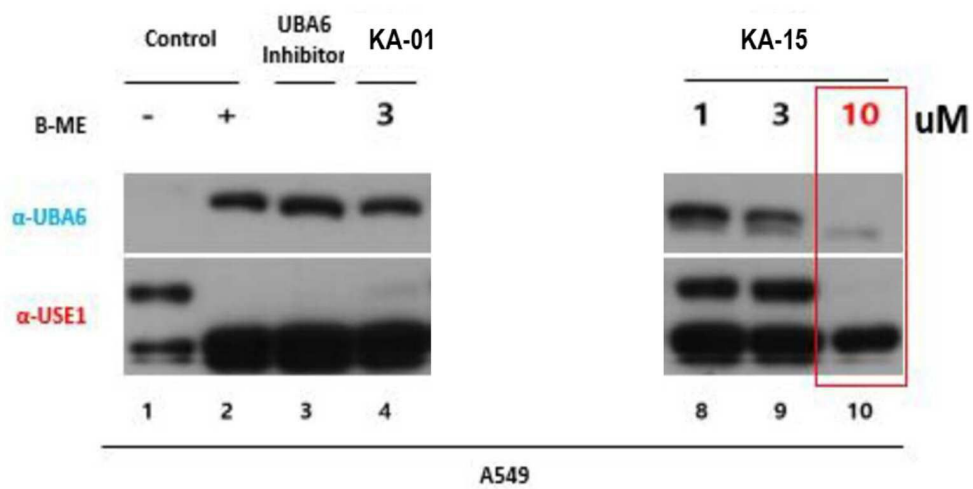
도면17



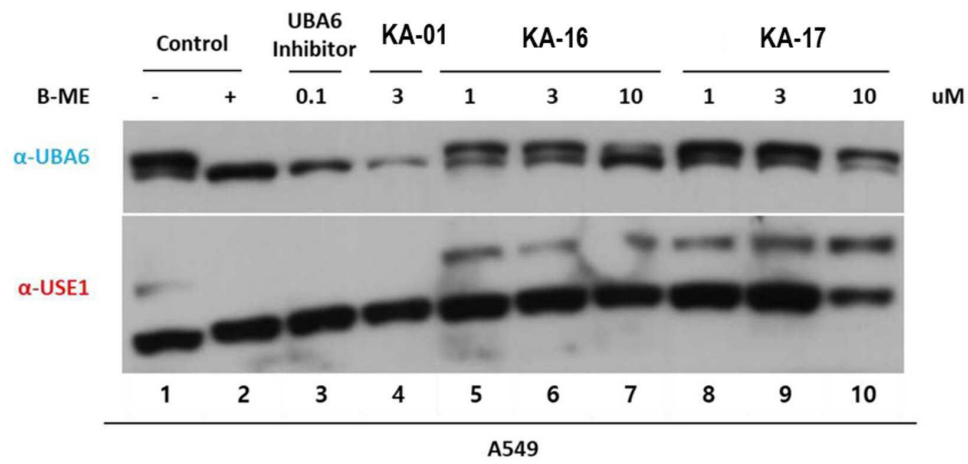
도면18



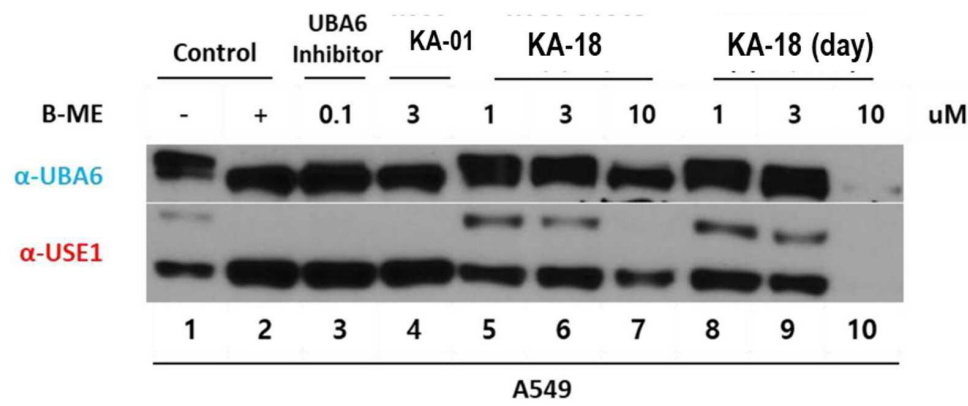
도면19



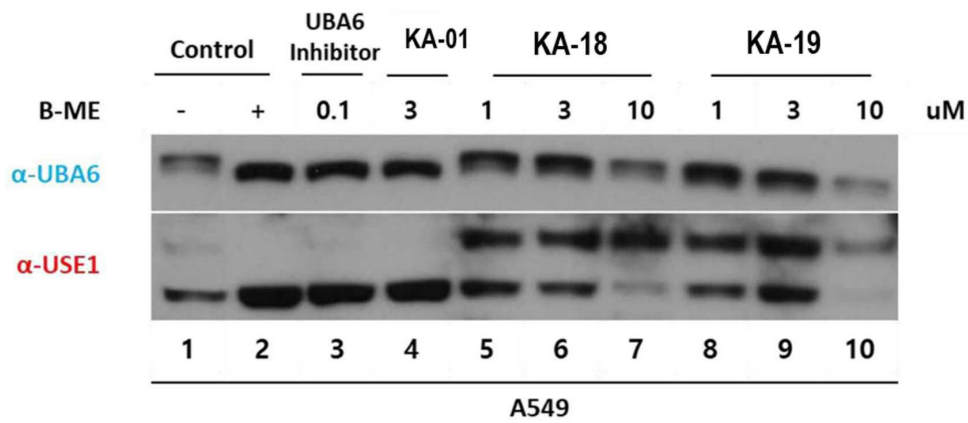
도면20



도면21



도면22



도면23

