



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년11월08일
(11) 등록번호 10-1674145
(24) 등록일자 2016년11월02일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 493/04 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)
A61K 31/325 (2006.01) A61K 31/352 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07D 493/04 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
- (21) 출원번호 10-2015-0114106
(22) 출원일자 2015년08월12일
심사청구일자 2015년08월12일
- (56) 선행기술조사문헌
Invest New Drugs, 2012, 30, 1820-1829.*
PLoS ONE 2012, 7(10), e46697
KR 2008-0004332
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌
- (73) 특허권자
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
국민대학교산학협력단
서울특별시 성북구 정릉로 77 (정릉동, 국민대학교)
- (72) 발명자
송규용
대전광역시 중구 태평로 55, 412동 101호 (태평동, 삼부아파트4단지)
오상택
서울특별시 서초구 잠원로 88, 301동 612호 (잠원동, 신반포아파트)
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인 공간

전체 청구항 수 : 총 9 항

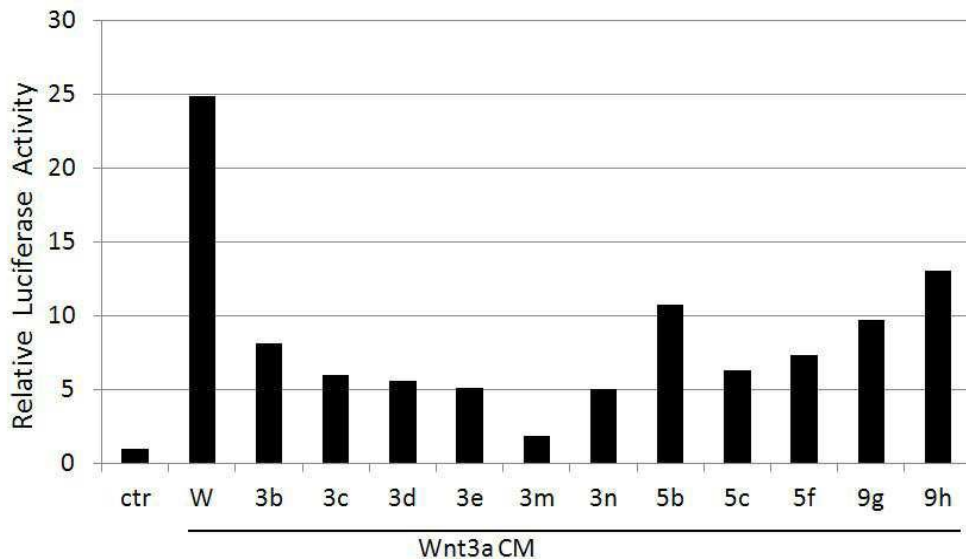
심사관 : 이민정

(54) 발명의 명칭 테쿠르시놀 카바메이트 유도체, 및 이를 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물

(57) 요약

본 발명은 테쿠르시놀 카바메이트 유도체, 및 이를 함유하는 암 치료 또는 예방용 조성물에 관한 것으로서, 상기 테쿠르시놀 카바메이트 유도체는 Wnt/ β -카데닌 경로 억제 활성이 우수하여, 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물 또는 건강기능식품으로 유용하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 31/325 (2013.01)

A61K 31/352 (2013.01)

A23V 2200/308 (2013.01)

(72) 발명자

이지현

대전광역시 서구 청사로 281, 201동 506호(문산동,
샘머리아파트2단지)

김상겸

대전광역시 유성구 엑스포로 448, 503동 1704호(전
민동, 엑스포아파트)

허진혁

대전광역시 서구 갈마로 262, 111동 1903호 (내동,
맑은아침아파트)

손영립

경기도 수원시 장안구 경수대로976번길 22, 127동
906호 (조원동, 수원 한일타운)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 NRF-2013R1A1A2062764

부처명 교육부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 일반연구자지원사업

연구과제명 Wnt 신호전달에서 beta-catenin 분해를 촉진하여 호르몬 저항성 전립선암의 증식을 억제하
는 새로운 계열의 decursin유도체 개발

기 여 율 1/2

주관기관 충남대학교산학협력단

연구기간 2013.11.01 ~ 2016.10.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2012M3A9B2028335

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 의학-첨단과학기술융합 원천기술개발사업

연구과제명 Wnt 신호전달체계 조절을 통한 노년황반변성 치료제 선도화합물 발굴

기 여 율 1/2

주관기관 건국대학교 산학협력단

연구기간 2015.06.01 ~ 2016.05.31

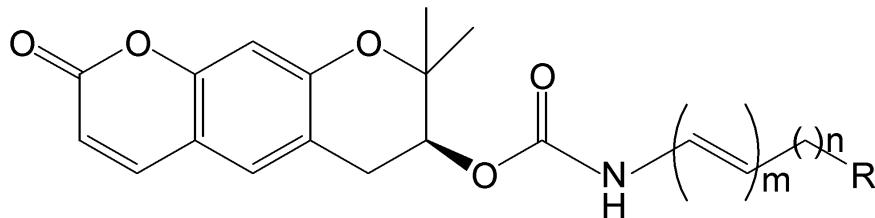
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 I의 데쿠르시놀 카바메이트 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 I]



상기 화학식 I에서,

n은 0 또는 1이고, m은 0이며;

m이 0이고 n이 0일 때, R은 하나 이상의 치환기 R₁으로 치환된 페닐기이거나, 비치환된 시클로펜틸기 또는 시클로헥실기이고, 여기에서 치환기 R₁은 할로겐원자 또는 니트로기이고;

m이 0이고 n이 1일 때, R은 비치환된 페닐기 또는 푸라닐기이다.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 화학식 I의 데쿠르시놀 카바메이트 유도체는, (7S)-(+)-3-니트로페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르, (7S)-(+)-2-니트로페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르, (7S)-(+)-4-니트로페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르, (7S)-(+)-4-클로로페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르, (7S)-(+)-시클로헥실 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르, (7S)-(+)-시클로펜틸 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르, (7S)-(+)-푸르푸릴 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르, 및 (7S)-(+)-벤질 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 데쿠르시놀 카바메이트 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 따른 데쿠르시놀 카바메이트 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 암은 폐암, 위암, 유방암, 구강암, 간암, 자궁경부암, 자궁내막암, 전립선암, 난소암, 갑상선암, 식도암, 대장암, 직장암, 췌장암, 신장암, 및 피부암으로 이루어진 군으로부터 선택된 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

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

청구항 6

제1항 또는 제2항에 따른 테쿠르시놀 카바메이트 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 약제학적 부형제를 포함하는 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 따른 테쿠르시놀 카바메이트 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 암은 폐암, 위암, 유방암, 구강암, 간암, 자궁경부암, 자궁내막암, 전립선암, 난소암, 갑상선암, 식도암, 대장암, 직장암, 췌장암, 신장암, 및 피부암으로 이루어진 군으로부터 선택된 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 암은 전립선암인 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 개선용 건강기능식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 테쿠르시놀 카바메이트 유도체, 및 이를 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 암이란 신생물(neoplasia)이라고도 불리며, 일반적으로 “제어되지 않은 세포성장”으로 특징지어진다. 암 세포의 비정상적인 세포 성장에 의해 종양(tumor)이라고 불리는 세포 덩어리가 형성되어 주위의 조직으로 침투하고 심한 경우에는 신체의 다른 기관으로 전이되기도 한다. 암은 수술, 방사선 및 화학요법으로 치료를 하더라도 많은 경우에 근본적인 치유가 되지 못하고 환자에게 고통을 주며 궁극적으로는 죽음에 이르게 하는 난치성 만성 질환이다.

[0003] 암의 발생요인으로는 여러 가지가 있으나, 내적 요인으로는 유전 인자, 면역학적 요인 등이 있으며, 외적 요인으로는 화학 물질, 방사선, 바이러스 등이 있다. 정상세포가 어떠한 기전을 거쳐 암세포로 형질전환이 되는지에 대해서는 정확하게 규명되지 않았으나, 암의 발생에 관여하는 유전자들, 즉, 종양형성유전자(oncogenes)와 종양억제유전자(tumor suppressor genes) 사이의 균형이 상기 내적 혹은 외적 요인에 의해 무너지는 때 암이 발생한다.

[0004] 암은 혈액암과 고형암으로 크게 분류되며, 폐암, 위암, 유방암, 구강암, 간암, 자궁경부암, 자궁내막암, 전립선암, 난소암, 갑상선암, 식도암, 대장암, 직장암, 췌장암, 신장암, 피부암 등 신체의 거의 모든 부위에서 발생한다. 이 중 전립선암은 남성에 국한된 질병이지만 그 증가세가 뚜렷하여 최근 이를 치료하기 위한 의약품 개발 연구 역시 활발히 증가하고 있다.

[0005] 전립선암은 암의 전이된 정도, 정상 전립선 조직과 종양의 차이, 환자의 나이와 건강 상태를 고려해서, 대기 관찰 요법, 근치적 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료 또는 항암화학요법 등이 있으며 이들 중 한 가지 이상의 방법을 병행하여 치료한다(Oncolink patient guide: prostate cancer, James M. Metz, M. H. 2010, pp. 49-136.).

[0006] 전립선암 환자에서 호르몬 치료를 계속하면 결국에는 호르몬에 반응을 보이지 않는 상태(암을 호르몬만으로는 조절할 수 없는 상태)가 되어 호르몬 저항성 전립선암으로 진행하게 되는데, 전체 전립선암 환자의 약 30%가 호르몬 저항성 전립선암으로 진행되는 것으로 보고 되고 있다(Dr. Patrick Walsh's guide to surviving

prostate cancer, Walsh & Worthington, 2005, PP. 473). 이러한 호르몬 저항성 전립선암의 경우 예후가 극히 불량하여 생존 기간이 1-2년에 불과하고, 현재 도세탁셀(docetaxel)과 에스트라무스틴(estramustine)등과 같은 항암화학요법이 시행되고 있지만 반응률은 12%로 거의 항암효과를 보이고 있지 않아 이때부터는 항암제 등의 투여와 함께 통증을 완화하여 삶의 질을 높이는 것을 치료의 목적으로 하고 있는 실정인 바, 현 상황에서 호르몬 저항성 전립선암에 대한 항암제 개발이 절실히 요구되고 있다.

[0007] 항암제 개발의 표적이 되는 세포신호전달계 가운데 Wnt/ β -카테닌 신호전달계 이상이 인간 전립선 암과 높은 연관성을 가지며, β -카테닌 유전자(CTNNB1)의 아미노-말단-인산화 도메인의 돌연변이에 의해 β -카테닌의 안정화가 나타나는데, 이러한 안정화가 전립선 암환자의 약 5%에서 발견되는 것으로 보고되고 있다(Cancer Res. 1998, 58(12), 2520-2523.; Genes Chromosomes Cancer. 2002, 34(1), 9-16.).

[0008] 또한, 전립선 종양 형성의 Wnt 신호전달 마우스 모델에서는 초기 전립선암과 진행성 전립선암 그룹에서 활성화된 β -카테닌 역할의 중요성을 알 수 있었으며, 두 그룹 모두 전립선 조직에서 안정화된 β -카테닌 증가가 나타났다, 특히 초기 전립선 암보다 진행성 전립선 암에서 비정상적인 β -카테닌의 증가가 높은 빈도로 관찰된 것으로 보고되고 있다(Curr. Drug Targets. 2008, 9(7). 571-580.).

[0009] Wnt/ β -카테닌 신호전달계는, Wnt가 여러 수용체에 리간드로 작용하여 세포 내 신호전달 경로를 자극함으로써 발생과 분화 및 세포증식 등 다양한 과정에서 중요한 역할을 하는데, Wnt가 ligand로 작용하지 않을 때는 GSK3 β , CK1a, Anxin, 그리고 APC가 복합체를 이루어 β -카테닌을 인산화 시키고 인산화된 β -카테닌은 E3 ligase에 의해 유비퀴틴화(ubiquitination)되어 26S 프로테오솜(proteosome)에 의해 분해되게 되는 반면, Wnt가 프리즐드 수용체(Frizzled receptor)와 보조수용체(co-receptor)인 LRP5(lipoprotein receptor-related protein5) 또는 LRP6와 결합을 하면 신호는 비로소 활성화되고 이로 인해 신호 전이가 순차적으로 일어나기 시작하여 β -카테닌이 유리되어 핵 내로 들어간 후, β -카테닌은 LEF(Lymphoid Enhancer-Binding factor)와 TCF(T cell factor) 단백질들과 결합하여 타겟 유전자의 발현을 활성화하고 조절하게 된다. 이때, 그 발현이 활성화되는 타겟 유전자들이 종양형성과 전이에 관련된 암유전자인 *c-myc*, *cyclin D1*, metalloproteinase-7 등의 Wnt/ β -카테닌 반응 유전자(Wnt/ β -catenin-responsive genes)인 것으로 알려져 있다(Science. 1998, 281(5382), 1509-1512.; Nature. 1999, 398(6726), 422-426.; Oncogene, 2002, 21(38). 5861-5867.).

[0010] 또한, 비정상적인 β -카테닌의 증가로 전립선암의 호르몬 저항성이 유도되는데, β -카테닌의 활성을 효과적으로 차단하였을 경우 호르몬 저항성 전립선암의 성장이 효과적으로 저해되는 것으로 알려져 있어, β -카테닌 단백질의 분해제는 호르몬 저항성 전립선암에 대한 항암제 개발에 매우 효과적인 타겟이 될 수 있다.

[0011] 이에, 본 발명자들은 종래 참당귀에서 분리한 (+)-데쿠르신((+)-decursin)이 β -카테닌 분해를 촉진하여 안드로겐과 상관없이 전립선 암 세포주의 분화를 억제함을 세계 최초로 보고한 바 있다(Mol. Pharmacol. 2007, 72(6), 1599-1606.). 즉, 세포내 증가된 β -카테닌은 핵 내로 들어와 TCF-4와 결합하여 암유전자의 발현을 유도하는데, (+)-데쿠르신이 이들 타겟 유전자인 *Cyclin D1*, *c-myc*의 발현을 억제하는 점을 밝혔다.

[0012] 또한, 본 발명자들은, 호르몬 저항성 전립선암에 대한 항암활성이 뛰어난 CGK-062와 같은 선도물질을 도출하여 보고한 바 있는데, (+)-CGK-062 ($IC_{50}=12.3 \mu M$)는 (+)-데쿠르신($IC_{50}=175.9 \mu M$) 보다 10배 이상 강한 Wnt/ β -카테닌 신호전달 경로 억제 활성을 나타내었다(Plos one. 2012, e46697.).

[0013] 그런데, 위 (+)-CGK-062와 같은 선도물질은, 물에 대한 용해도도 낮을 뿐만 아니라, 화학적 및 대사적 불안정성으로 동물실험 결과 체내로 투여된 후, 신속히 (+)-데쿠르시놀((+)-decursinol)로 전환되는 단점을 지니고 있었던 바, 본 발명자들은, 화학적 및 대사적으로 안정한 데쿠르시놀 카바메이트 유도체를 포함하는 항암용 조성물을 예의연구한 결과, 본 발명을 완성하게 되었다.

[0014] 한편, 데쿠르시놀 페닐티오카바메이트(decursinol phenylthiocarbamate, DPTC)가 전립선암의 치료 용도로 사용할 수 있음이 보고된 바 있으나(Invest Nes Drugs. 2012, 30(5), 1820-1829), 아직까지 본 발명에서와 같은 데쿠르시놀 카바메이트 유도체 또는 이의 항암 치료 용도에 대해서는 개시된 바 없다.

[0015] 또한, 한국등록특허 제812093호에는 데쿠르신 유도체, 이의 제조방법 및 이를 포함하는 암질환의 치료 및 예방용 조성물이 개시되어 있고, 한국등록특허 제1215379호에는 데쿠르시놀 유도체를 포함하는 염증, 암 등의 치료용 약학적 조성물이 개시되어 있으며, 한국등록특허 제1320486호에는 데커신 및/또는 데커시놀 안젤레이트, 또는 데커신 및/또는 데커시놀 안젤레이트를 유효성분으로 하는 당귀추출물을 포함하는 항암 치료보조제 조성물이 개시되어 있으나, 본 발명에서와 같은 데쿠르시놀 카바메이트 유도체 또는 이의 항암 치료 용도에 대해서는 개시

된 바 없다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0016] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제812093호 (데쿠르신 유도체, 이의 제조방법 및 이를 포함하는 암질환의 치료 및 예방용 조성물, 2008.03.04. 등록)
- (특허문헌 0002) 한국등록특허 제1215379호 (데커시놀 유도체를 포함하는 약학적 조성물, 2012.12.18. 등록)
- (특허문헌 0003) 한국등록특허 제1320486호 (데커신 및/또는 데커시놀 안젤레이트, 또는 데커신 및/또는 데커시놀 안젤레이트를 유효성분으로 하는 당귀추출물을 포함하는 항암 치료보조제 조성물, 2013.10.15. 등록)

비특허문헌

- [0017] (비특허문헌 0001) Oncolink patient guide: prostate cancer, James M. Metz, M. H. 2010, pp. 49-136.
- (비특허문헌 0002) Dr. Patrick Walsh' s guide to surviving prostate cancer, Walsh & Worthington, 2005, PP. 473.
- (비특허문헌 0003) Voeller, H. J., et al. Beta-catenin mutations in human prostate cancer. Cancer Res. 1998, 58(12), 2520-2523.
- (비특허문헌 0004) Gerstein, A. V., et al. APC/CTNNB1 (beta-catenin) pathway alterations in human prostate cancers. Genes Chromosomes Cancer. 2002, 34(1), 9-16.
- (비특허문헌 0005) Robinson, D. R., et al. Wnt signaling and prostate cancer. Curr. Drug Targets. 2008, 9(7). 571-580.
- (비특허문헌 0006) He, T. C., et al. Identification of c-MYC as a target of the APC pathway. Science. 1998, 281(5382), 1509-1512.
- (비특허문헌 0007) Tetsu, O., et al. Beta-catenin regulates expression of Cyclin D1 in colon carcinoma cells. Nature. 1999, 398(6726), 422-426.
- (비특허문헌 0008) Takahashi, M., et al. Identification of membrane-type matrix metalloproteinase-1 as a target of the beta-catenin / Tcf4 complex in human colorectal cancers. Oncogene, 2002, 21(38). 5861-5867.
- (비특허문헌 0009) Song, G. Y., et al. Decursin suppresses human androgen-independent PC3 prostate cancer cell proliferation by promoting the degradation of beta-catenin. Mol. Pharmacol. 2007, 72(6), 1599-1606.
- (비특허문헌 0010) Gwak, J. S., et al. Small molecule-based promotion of PKC α -mediated β -catenin degradation suppresses the proliferation of CRT-positive cancer cells. Plos one. 2012, e46697.
- (비특허문헌 0011) Zhang, Y., et al. A synthetic decursin analog with increased in vivo stability suppresses androgen receptor signaling in vitro and in vivo. Invest New Drugs. 2012, 30(5), 1820-1829.
- (비특허문헌 0012) Dignam JD, et al. Accurate transcription initiation by RNA polymerase II in a soluble extract from isolated mammalian nuclei. Nucleic Acids Res. 1983, 11(5), 1475-1489
- (비특허문헌 0013) Park, S., et al. Hexachlorophene inhibits Wnt/ β -catenin pathway by promoting Shiah-Mediated β -catenin degradation. Mol. Pharmacol. 2006, 70, 960-966.

발명의 내용

해결하려는 과제

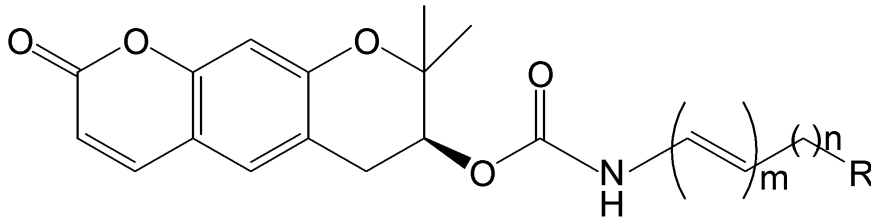
[0018] 본 발명의 목적은 데쿠르시놀 카바메이트 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공하는 데에 있다.

[0019] 또한, 본 발명의 목적은, 하기 화학식 I의 데쿠르시놀 카바메이트 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 또는 건강기능식품을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

[0020] 하기 화학식 I의 데쿠르시놀 카바메이트 유도체(decursinol-carbamate derivative) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염에 관한 것이다.

[0021] [화학식 I]



[0022]

[0023] 상기 화학식 I에서,

[0024] n은 0 내지 4이고, m은 0 또는 1이며;

[0025] m이 0일 때, n은 0 내지 4이고, R은 하나 이상의 치환기 R₁으로 치환되거나 비치환된 페닐기, 푸라닐기, 시클로펜틸기, 또는 시클로헥실기이고, 여기에서 치환기 R₁은 할로겐원자, 니트로기, 히드록시기, 아세틸기, C1 내지 C4 저급 알킬기, C1 내지 C4 저급 알콕시기, 또는 나프틸기이고;

[0026] m이 1일 때, n은 0 내지 2이고, R은 하나 이상의 치환기 R₁으로 치환되거나 비치환된 페닐기, 푸라닐기이고, 여기에서 치환기 R₁은 할로겐원자, 니트로기, 히드록시기, 아세틸기, C1 내지 C4 저급 알킬기, C1 내지 C4 저급 알콕시기, 또는 나프틸기이다.

[0027] 상기 화학식 I의 화합물은, 바람직하게는, (7S)-(+)-3-니트로페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르, (7S)-(+)-2-니트로페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르, (7S)-(+)-4-니트로페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르, (7S)-(+)-4-클로로페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르, (7S)-(+)-시클로헥실 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르, (7S)-(+)-4-에틸페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르, (7S)-(+)-4-메톡시페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르, (7S)-(+)-푸르푸릴 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르, (7S)-(+)-벤질 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르, (7S)-(+)-(E)-2-(4-클로로페닐)에테닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르, 및 (7S)-(+)-(E)-2-(3-플루오로페닐)에테닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 화합물이다.

[0028] 본 발명은, 상기 화학식 I의 데쿠르시놀 카바메이트 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암 치료 또는 예방용 조성물을 제공한다.

[0029] 상기 암은 폐암, 위암, 유방암, 구강암, 간암, 자궁경부암, 자궁내막암, 전립선암, 난소암, 갑상선암, 식도암, 대장암, 직장암, 췌장암, 신장암, 및 피부암으로 이루어진 군에서 선택된 것일 수 있다.

[0030] 본 발명은, 상기 화학식 I의 데쿠르시놀 카바메이트 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 약제학적 부형제를 함유하는 암 치료 또는 예방용 조성물을 제공한다.

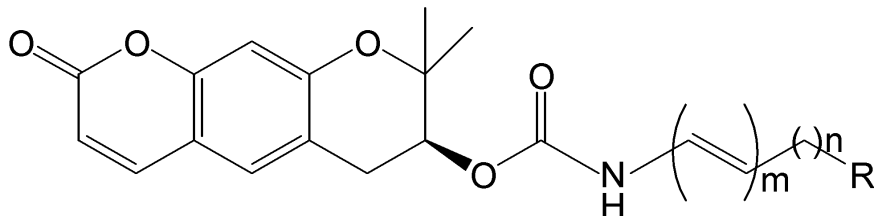
[0031] 또한, 본 발명은, 상기 화학식 I의 데쿠르시놀 카바메이트 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효

성분으로 함유하는 건강기능식품을 제공한다.

[0032] 이하 본 발명을 자세하게 설명한다.

[0033] 본 발명은, 하기 화학식 I의 데쿠르시놀 카바메이트 유도체(decursinol-carbamate derivative) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염에 관한 것이다.

[0034] [화학식 I]



[0035]

[0036] 상기 화학식 I에서,

[0037] n은 0 내지 4이고, m은 0 또는 1이며;

[0038] m이 0일 때, n은 0 내지 4이고, R은 하나 이상의 치환기 R₁으로 치환되거나 비치환된 페닐기, 푸라닐기, 시클로펜틸기, 또는 시클로헥실기이고, 여기에서 치환기 R₁은 할로젠원자, 니트로기, 히드록시기, 아세틸기, C1 내지 C4 저급 알킬기, C1 내지 C4 저급 알콕시기, 또는 나프틸기이고;

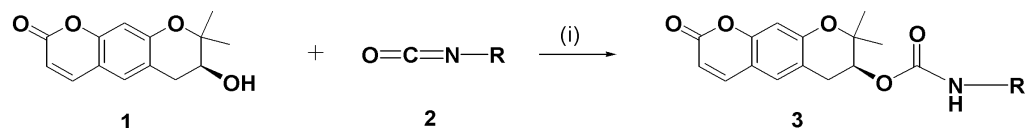
[0039] m이 1일 때, n은 0 내지 2이고, R은 하나 이상의 치환기 R₁으로 치환되거나 비치환된 페닐기, 푸라닐기이고, 여기에서 치환기 R₁은 할로젠원자, 니트로기, 히드록시기, 아세틸기, C1 내지 C4 저급 알킬기, C1 내지 C4 저급 알콕시기, 또는 나프틸기이다.

[0040] 상기 화학식 I의 화합물은, 하기의 반응식들에 도시된 방법에 의해 화학적으로 합성될 수 있지만, 이들 예로만 한정되는 것은 아니다.

[0041] 하기의 반응식들은 본 발명의 대표적인 화합물들의 제조방법을 나타내는 것으로 본 발명의 화합물들은 하기의 반응식들에 도시된 방법에 의해 화학적으로 합성될 수 있지만, 이들 예로만 한정되는 것은 아니다. 즉, 본 발명의 여러 화합물들은 반응식 1 내지 반응식 3의 합성과정에서 사용되는 시약, 용매 및 반응 순서를 바꾸는 등의 작은 변경으로 제조될 수 있다.

[0042] 구체적으로, 다음 반응식 1을 통해, 상기 화학식 I에서, m이 0이고 n이 0인 경우에 해당하는, 화합물 3을 수득할 수 있다.

[0043] [반응식 1]

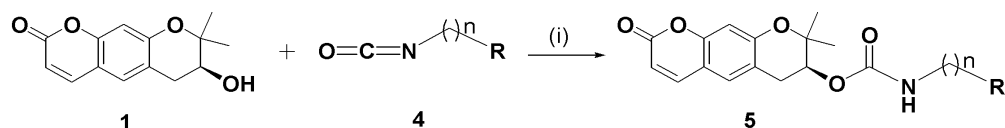


[0044] (i) TEA, 4-DMAP, Dry MC or Dry Benzene, reflux

[0045] 상기 반응식 1은 (+)-데쿠르시놀(화합물 1)을 건조 메틸렌클로라이드(dry MC) 또는 건조 벤젠에 용해시킨 후 다양한 치환기를 갖는 이소시아네이트 화합물(화합물 2), 트리에틸아민(TEA), 4-(디메틸아미노)피리딘(4-DMAP)을 넣고 환류시키면서 반응시켜, 데쿠르시놀 카바메이트 유도체(화합물 3)를 수득하는 과정을 나타낸다. 반응 온도는 특별히 제한되지는 않으나, 일반적으로 25~50℃에서 수행할 수 있고, 바람직하게는 35~45℃에서 수행할 수 있다. 반응 시간은 12시간 내지 30시간 동안 수행할 수 있고, 바람직하게는 20~28시간 동안 교반시켜 다양한 데쿠르시놀 카바메이트 유도체(화합물 3)를 합성할 수 있다.

[0046] 또한, 다음 반응식 2을 통해, 상기 화학식 I에서, m이 0이고 n이 1 내지 4인 경우에 해당하는, 화합물 5를 수득할 수 있다.

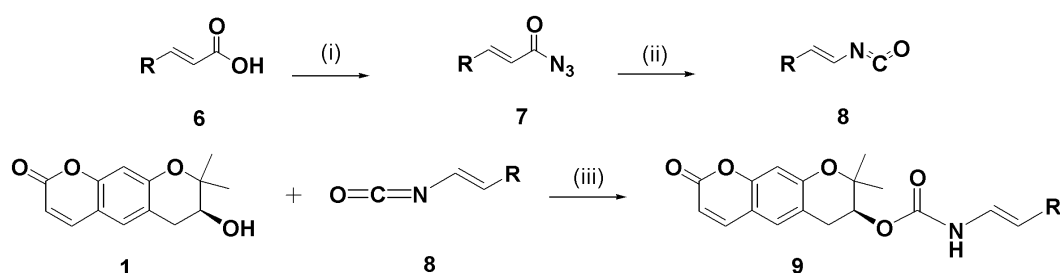
[0047] [반응식 2]



[0048] (i) TEA, 4-DMAP, Dry MC or Dry Benzene, reflux

[0049] 상기 반응식 2는, (+)-데쿠르시놀(화합물 1)을 건조 메틸렌클로라이드 또는 건조 벤젠에 용해시킨 후 이소시아네이트 화합물(화합물 4), 트리에틸아민(TEA), 4-(디메틸아미노)피리딘(4-DMAP)을 넣고 환류시키면서 반응시켜, 데쿠르시놀 카바메이트 유도체(화합물 5)를 수득하는 과정을 나타낸다. 반응 온도는 특별히 제한되지는 않으나, 일반적으로 25~50℃에서 수행할 수 있고, 바람직하게는 35~45℃에서 수행할 수 있다. 반응 시간은 12 시간 내지 30시간 동안 수행할 수 있고, 바람직하게는 20~28시간동안 교반시켜 다양한 데쿠르시놀 카바메이트 유도체(화합물 5)를 합성할 수 있다.

[0050] [반응식 3]



(i) TEA, DPPA, Dry Benzene, reflux; (ii) Dry Benzene, reflux;
(iii) TEA, 4-DMAP, Dry Benzene, reflux

[0051]

[0052] 상기 반응식 3은, 첫 번째 단계로서 다양한 치환기를 갖는 trans-신남산(화합물 6)을 건조 벤젠에 용해시킨 후 트리에틸아민(TEA), 디페닐 포스포릴 아지드(DPPA)를 넣고 반응시킨다. 이때 반응온도는 70~90℃이며, 반응시간은 1시간~5시간이고, 바람직하게는 75~85℃에서 2~5시간 동안 반응한다. 이후, 물과 에틸아세테이트로 추출한 다음 물을 제거한 후 감압농축하여 생성된 조 생성물을 건조벤젠에 녹여 가열환류하면서 반응시키는 두 번째 단계를 진행한다. 이때의 가열온도는 70~90℃이며, 반응시간은 6~18시간이며, 바람직하게는 75~85℃에서 10~14 시간 동안 반응할 수 있다. 그리고 나서, 마지막 단계로서 수득된 다양한 치환기를 갖는 이소시아네이트 화합물(화합물 8)에, (+)-데쿠르시놀(화합물 1)을 넣고, 트리에틸아민(TEA), 4-(디메틸아미노)피리딘(4-DMAP)을 넣고 환류시키면서 반응시킨다. 반응 온도는 특별히 제한되지는 않으나, 일반적으로 25~90℃에서 수행할 수 있고, 바람직하게는 35~85℃에서 수행할 수 있다. 반응 시간은 1시간 내지 30시간 동안 수행할 수 있고, 바람직하게는 2~28시간 동안 교반시켜 다양한 데쿠르신 카바메이트 유도체(9)를 합성할 수 있다.

[0053] 본 발명의 화학식 I의 화합물은 당해 기술분야에서 통상적인 방법에 따라 약학적으로 허용가능한 염으로 제조될 수 있다. 상기 약학적으로 허용가능한 염으로는 약학적으로 허용가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 통상의 방법, 예를 들면 화합물을 과량의 산 수용액에 용해하고, 이 염을 수산화성 유기 용매, 예를 들면 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조할 수 있다. 동물량의 화합물 및 물 중의 산 또는 알코올(예, 글리콜 모노메틸에테르)을 가열하고 이어서 상기 혼합물을 증발시켜서 건조시키거나, 또는 석출된 염을 흡인 여과시킬 수 있다.

[0054] 이 때, 유리산으로는 유기산과 무기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 인산, 황산, 질산, 주석산 등을 사용할 수 있고 유기산으로는 메탄술폰산, *p*-톨루엔술폰산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 시트르산, 말레인산(maleic acid), 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산, 만데르산, 프로피온산(propionic acid), 구연산(citric acid), 젖산(lactic acid), 글리콜산(glycollic acid), 글루콘산(gluconic acid), 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산(glutaric acid), 글루쿠론산(glucuronic acid), 아스파르트산, 아스코르브산, 카본산, 바닐릭산, 히드로아이오딕산 등을 사용할 수 있다. 또한, 염기를 사용하여 본 발명의 화합물을 약학적으로 허용가능한 금속염으로 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리토 금속염은, 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리토 금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물염을 여과한 후 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이 때, 금속염으로서는 특히 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하며, 또한 이에

대응하는 은염은 알칼리 금속 또는 알칼리토 금속염을 적당한 은염(예, 질산은)과 반응시켜 얻을 수 있다.

[0055] 본 발명의 테쿠르시놀 카바메이트 유도체를 포함하는 약학적 조성물은, 암 예방 또는 치료에 사용될 수 있다.

[0056] 본 발명의 약학적 조성물은, 일반적인 암 치료에 적용될 수 있으며, 바람직하게는 폐암, 위암, 유방암, 구강암, 간암, 자궁경부암, 자궁내막암, 전립선암, 난소암, 갑상선암, 식도암, 대장암, 직장암, 췌장암, 신장암, 및 피부암의 치료에 적용될 수 있고, 보다 바람직하게는 전립선암의 치료에 적용될 수 있다. 특히, 본 발명의 조성물은 호르몬 불응성 전립선암의 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

[0057] 본 발명의 약학적 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. 본 발명의 약학적 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 텍스트로오스, 수크로오스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화 할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁액, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁액, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0058] 본 발명의 약학적 조성물의 투여량은 치료 받을 대상의 연령, 성별, 체중과, 치료할 특정 질환 또는 병리 상태, 질환 또는 병리 상태의 심각도, 투여경로 및 처방자의 판단에 따라 달라질 것이다. 이러한 인자에 기초한 투여량 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 일반적으로 투여량은 0.01mg/kg/일 내지 대략 2000mg/kg/일의 범위이다. 더 바람직한 투여량은 0.1mg/kg/일 내지 500mg/kg/일이다. 투여는 하루에 한 번 투여할 수도 있고, 수 회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다. 본 발명의 화합물은 쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁 내 경막 또는 뇌혈관 내 주사에 의해 투여될 수 있다.

[0059] 또한, 본 발명은 테쿠르시놀 카바메이트 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 건강기능식품을 제공한다.

[0060] 상기 건강기능식품은, 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제 등의 형태를 포함하며, 상기 건강기능식품으로는 드링크제, 육류, 소세지, 빵, 캔디류, 스낵류, 면류, 아이스크림을 포함한 낙농제품, 스프, 이온음료를 포함한 음료수, 알코올 음료 및 비타민 복합제를 포함한 영양 공급용 제품이 포함될 수 있다.

[0061] 또한, 상기 건강기능식품에는, 식품학적으로 허용 가능한 식품보조 첨가제가 첨가될 수 있다. 첨가물의 예로서 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소, 조미제 및 향미제를 포함한다. 상술한 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스, 올리고당 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 사이클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등)), 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다.

발명의 효과

[0062] 본 발명은 신규한 테쿠르시놀 카바메이트 유도체, 및 이를 함유하는 암 치료 또는 예방용 조성물에 관한 것으로서, 상기 테쿠르시놀 카바메이트 유도체는 Wnt/ β -카테닌 신호전달 경로 억제 활성이 우수하여, 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물 또는 건강기능식품으로 유용하게 사용될 수 있다. 본 발명의 테쿠르시놀 카바메이트 유도체는, 특히 전립선암의 예방 또는 치료에 유용하게 적용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0063] 도 1은 hFz-1과 TOPFlash를 발현하는 플라스미드로 형질전환된 HEK293 세포에서 본 발명의 데쿠르시놀 카바메이트 유도체에 의해 Wnt/ β -카테닌 신호전달 경로가 억제되는 것을 루시퍼레이스 활성으로 나타낸 그래프이다.

도 2는 본 발명의 화합물 3m 및 3n의 농도 의존적 Wnt/ β -카테닌 신호전달 경로 억제 활성을, CGK-062 화합물과 비교하여 평가한 결과이다.

도 3은 본 발명의 화합물 3m 및 3n과, CGK-062 화합물을 HEK293 세포주에 처리하였을 때의 β -카테닌 분해능을 확인한 결과이다.

도 4는 본 발명의 화합물 3m 및 3n과, CGK-062 화합물을 호르몬 저항성 전립성 암세포주(PC3)에 처리하였을 때의 세포 독성을 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0064] 이하 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 그러나, 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다. 오히려, 여기서 소개되는 내용이 철저하고 완전해지고, 당업자에게 본 발명의 사상을 충분히 전달하기 위해 제공하는 것이다.

[0065] A. 실시예 1 내지 15: 데쿠르시놀 카바메이트 유도체의 제조

[0066] 하기 [반응식 1]에 따라, 다양한 치환기를 갖는 화합물 3a 내지 3o를 제조하였다.

표 1

[0067]

[반응식 1]

(i) TEA, 4-DMAP, Dry MC or Dry Benzene, reflux

실시예	화합물 2, 3	R	R ₁ (R이 갖는 치환기)
실시예 1	2a, 3a	-phenyl	-4-COCH ₃
실시예 2	2b, 3b	-phenyl	-3-NO ₂
실시예 3	2c, 3c	-phenyl	-2-NO ₂
실시예 4	2d, 3d	-phenyl	-4-NO ₂
실시예 5	2e, 3e	-phenyl	-4-Cl
실시예 6	2f, 3f	-phenyl	-4-OCH ₃
실시예 7	2g, 3g	-phenyl	-
실시예 8	2h, 3h	-phenyl	4-CH ₃
실시예 9	2i, 3i	-phenyl	-3-OCH ₃
실시예 10	2j, 3j	-phenyl	-2-OCH ₃
실시예 11	2k, 3k	-phenyl	-1-naphthyl
실시예 12	2l, 3l	-phenyl	-2-OH
실시예 15	2m, 3m	-cyclopentyl	-
실시예 13	2n, 3n	-cyclohexyl	-
실시예 14	2o, 3o	-phenyl	-4-CH ₂ CH ₃

- [0068] <실시예 1. (7S)-(+)-4-아세틸페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-4-acetylphenyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 3a)의 제조>
- [0069] 상기 [반응식 1]에 나타난 바와 같이, 라운드 플라스크에 (+)-데쿠르시놀(200mg, 0.812mmol)을 건조 메틸렌클로라이드(Dry MC) 20ml에 용해시킨 후 4-아세틸페닐 이소시아네이트(1.827mmol), 트리에틸아민(TEA, 204 μ l, 1.462mmol), 4-(디메틸아미노)피리딘(DMAP, 59.5mg, 0.487mmol)을 넣고 40℃에서 24시간 동안 반응시켰다. 반응 용액을 감압 농축하여 얻은 잔사를 실리카겔 칼럼 분리를 통하여 정제해 원하는 생성물인 화합물 3a를 얻었다.
- [0070] 수율 : 80.1%;
- [0071] 아이보리색 고체상(ivory solid);
- [0072] mp: 223.4℃;
- [0073] Rf = 0.45 (n-HX:EA=1:1);
- [0074] $[\alpha]_D^{17} +110.0667$ (c=0.3, DMSO);
- [0075] $^1\text{H NMR}(400\text{MHz}, \text{DMSO}-d_6)$: 10.129(s, NH), 7.931(d, $J=9.6\text{Hz}$, 1H), 7.887(d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.595(d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.515(s, 1H), 6.826(s, 1H), 6.272(d, $J=9.6\text{Hz}$, 1H), 5.102(t, $J=3.4\text{Hz}$, 1H), 3.295(dd, $J=4.4$, 17.6Hz, 1H), 2.973(dd, $J=3.2$, 17.6Hz, 1H), 2.499(s, Ac), 1.425(s, CH3), 1.341(s, CH3);
- [0076] IT-TOF/MS 430.1153[M+Na]+.
- [0077] <실시예 2. (7S)-(+)-3-니트로페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-3-nitrophenyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 3b)의 제조>
- [0078] 4-아세틸페닐 이소시아네이트 대신 3-니트로페닐 이소시아네이트로 바꾸는 점만 제외하고는 화합물 3a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 3b를 얻었다.
- [0079] 수율 : 68.4%;
- [0080] 노란색 고체상(yellow solid);
- [0081] mp: 138.1℃;
- [0082] Rf = 0.56 (n-HX:EA=1:1);
- [0083] $[\alpha]_D^{26} +87.0867$ (c=3, CHCl_3);
- [0084] $^1\text{H NMR}(400\text{MHz}, \text{DMSO}-d_6)$: 10.282(s, NH), 8.490(s, 1H), 7.932(d, $J=9.2\text{Hz}$, 1H), 7.848(dd, $J=1.2$, 8.0Hz, 1H), 7.782(d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.557(m, 1H), 7.514(s, 1H), 6.825(s, 1H), 6.271(d, $J=9.6\text{Hz}$, 1H), 5.127(t, $J=3.4\text{Hz}$, 1H), 3.303(dd, $J=4.4$, 17.6Hz, 1H), 2.985(dd, $J=3.2$, 17.6Hz, 1H), 1.427(s, CH3), 1.343(s, CH3);
- [0085] IT-TOF/MS 433.1085[M+Na]+.
- [0086] <실시예 3. (7S)-(+)-2-니트로페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-2-nitrophenyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 3c)의 제조>
- [0087] 4-아세틸페닐 이소시아네이트 대신 2-니트로페닐 이소시아네이트로 바꾸는 점만 제외하고는 화합물 3a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 3c를 얻었다.
- [0088] 수율 : 90.0%;

- [0089] 노란색 고체상(yellow solid);
- [0090] mp: 113.1℃,
- [0091] $R_f = 0.42$ (n-HX:EA=1:1);
- [0092] $[\alpha]_D^{26} +38.2600$ (c=3, CHCl₃);
- [0093] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): 10.054(s, NH), 7.938(m, 2H), 7.658(t, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.531(s, 1H), 7.495(d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.334(t, $J=7.8$ Hz, 1H), 6.830(d, $J=1.2$ Hz, 1H), 6.284(dd, $J=1.6, 9.6$ Hz, 1H), 5.057(s, 1H), 3.270(dd, $J=4.0, 18.0$ Hz, 1H), 2.898(d, $J=17.2$ Hz, 1H), 1.408(s, CH₃), 1.315(s, CH₃);
- [0094] IT-TOF/MS 433.1078[M+Na]⁺.
- [0095] <실시예 4. (7S)-(+)-4-니트로페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-4-nitrophenyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 3d)의 제조>
- [0096] 4-아세틸페닐 이소시아네이트 대신 4-니트로페닐 이소시아네이트로 바꾸는 점만 제외하고는 화합물 3a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 3d를 얻었다.
- [0097] 수율 : 41.1%;
- [0098] 노란색 고체상(yellow solid);
- [0099] mp: 265.7℃;
- [0100] $R_f = 0.52$ (n-HX:EA=1:1);
- [0101] $[\alpha]_D^{17} +131.2000$ (c=0.3, DMSO);
- [0102] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): 10.450(s, NH), 8.217(d, $J=8.8$ Hz, 1H), 8.188(d, $J=9.2$ Hz, 2H), 7.932(d, $J=9.6$ Hz, 1H), 7.726(d, $J=9.6$ Hz, 1H), 7.702(d, $J=9.2$ Hz, 2H), 7.512(s, 1H), 6.827(s, 1H), 6.273(d, $J=9.6$ Hz, 1H), 5.129(t, $J=3.2$ Hz, 1H), 3.296(dd, $J=4.4, 12.4$ Hz, 1H), 2.984(d, $J=15.2$ Hz, 1H), 1.424(s, CH₃), 1.338(s, CH₃);
- [0103] IT-TOF/MS 433.1082[M+Na]⁺.
- [0104] <실시예 5. (7S)-(+)-4-클로로페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-4-Chlorophenyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester, 화합물 3e)의 제조>
- [0105] 4-아세틸페닐 이소시아네이트 대신 4-클로로페닐 이소시아네이트로 바꾸는 점만 제외하고는 화합물 3a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 3e를 얻었다.
- [0106] 수율 : 30.5%;
- [0107] 백색 고체상(white solid);
- [0108] mp: 233.5℃;
- [0109] $R_f = 0.62$ (n-HX:EA=1:1);
- [0110] $[\alpha]_D^{18} +70.8667$ (c=0.3, DMSO);
- [0111] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): 9.876(s, NH), 7.909(d, $J=9.6$ Hz, 1H), 7.485(m, 3H), 7.305(d, $J=8.8$ Hz, 2H), 6.807(s, 1H), 6.260(d, $J=9.6$ Hz, 1H), 5.074(t, $J=3.6$ Hz, 1H), 3.270(dd, $J=4.0, 8.0$ Hz, 1H), 2.945(dd, $J=2.8, 17.6$ Hz, 1H), 1.410(s, CH₃), 1.326(s, CH₃);

- [0112] IT-TOF/MS 422.0786[M+Na]⁺.
- [0113] <실시예 6. (7S)-(+)-4-메톡시페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-4-Methoxyphenyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 3f)의 제조>
- [0114] 4-아세틸페닐 이소시아네이트 대신 4-메톡시페닐 이소시아네이트로 바꾸는 점만 제외하고는 3a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 3f를 얻었다.
- [0115] 수율 : 65.4%;
- [0116] 백색 고체상(white solid);
- [0117] mp: 180.1℃;
- [0118] R_f = 0.40 (n-HX:EA=1:1);
- [0119] $[\alpha]_D^{26} +95.4533$ (c=3, CHCl₃);
- [0120] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): 9.515(s, NH), 7.928(d, J=9.6Hz, 1H), 7.507(s, 1H), 7.364(d, J=8.0Hz, 2H), 6.835(d, J=8.4Hz, 2H), 6.810(s, 1H), 6.267(d, J=9.6Hz, 1H), 5.037(t, J=3.8Hz, 1H), 3.262(dd, J=4.4, 17.6Hz, 1H), 2.926(dd, J=3.2, 18.0Hz, 1H), 1.407(s, CH₃), 1.328(s, CH₃);
- [0121] IT-TOF/MS 418.1249[M+Na]⁺.
- [0122] <실시예 7. (7S)-(+)-페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-Phenyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 3g)의 제조>
- [0123] 4-아세틸페닐 이소시아네이트 대신 페닐 이소시아네이트로 바꾸는 점만 제외하고는 화합물 3a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 3g를 얻었다.
- [0124] 수율 : 57.0%;
- [0125] 회백색 고체상(gray-white solid);
- [0126] mp: 153.7℃;
- [0127] R_f = 0.55 (n-HX:EA=1:1);
- [0128] $[\alpha]_D^{26} +103.2667$ (c=3, CHCl₃);
- [0129] ¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆): 9.690(s, NH), 7.917(d, J=9.6Hz, 1H), 7.499(s, 1H), 7.483-7.450(m, 2H), 7.250(t, J=7.8Hz, 2H), 6.974(t, J=7.3Hz, 1H), 6.811(s, 1H), 6.262(d, J=9.3Hz, 1H), 5.068(t, J=3.75Hz, 1H), 3.277(dd, J=3.9, 17.7Hz, 1H), 2.942(dd, J=3.3, 17.7Hz, 1H), 1.418(s, 3H), 1.336(s, 3H); IT-TOF/MS 388.1135[M+Na]⁺.
- [0130] <실시예 8. (7S)-(+)-p-톨릴페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-p-tolylphenyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 3h)의 제조>
- [0131] 4-아세틸페닐 이소시아네이트 대신 p-톨릴 이소시아네이트로 바꾸는 점만 제외하고는 화합물 3a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 3h를 얻었다.
- [0132] 수율 : 35.0%;
- [0133] 백색 고체상(white solid);
- [0134] mp: 215.9℃;

- [0135] $R_f = 0.43$ (n-HX:EA=1:1);
- [0136] $[\alpha]_D^{26} +96.7133$ (c=3, CHCl_3);
- [0137] ^1H NMR(300MHz, DMSO-d_6): 9.576(s, NH), 7.922(d, $J=9.6\text{Hz}$, 1H), 7.503(s, 1H), 7.335(d, $J=7.5\text{Hz}$, 2H), 7.049(d, $J=8.1\text{Hz}$, 2H), 6.808(s, 1H), 6.263(d, $J=9.6\text{Hz}$, 1H), 5.043(t, $J=3.4\text{Hz}$, 1H), 3.266(dd, $J=3.9$, 17.7Hz, 1H), 2.930(dd, $J=3$, 17.7Hz, 1H), 2.212(s, 3H), 1.409(s, 3H), 1.330(s, 3H);
- [0138] IT-TOF/MS 402.1296[M+Na]+.
- [0139] <실시예 9. (7S)-(+)-3-메톡시페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-3-methoxyphenyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 3i)의 제조>
- [0140] 4-아세틸페닐 이소시아네이트 대신 3-메톡시페닐 이소시아네이트로 바꾸는 점만 제외하고는 화합물 3a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 3i를 얻었다.
- [0141] 수율 : 44.0%;
- [0142] 백색 고체상(white solid);
- [0143] mp: 171°C;
- [0144] $R_f = 0.461$ (n-HX:EA=1:1);
- [0145] $[\alpha]_D^{28} +100.4867$ (c=3, CHCl_3);
- [0146] ^1H NMR(400MHz, DMSO-d_6): 9.670(s, NH), 7.925(d, $J=9.6\text{Hz}$, 1H), 7.507(s, 1H), 7.147(t, $J=8.2\text{Hz}$, 2H), 7.019(d, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 6.811(s, 1H), 6.561(dd, $J=2$, 8Hz, 1H), 6.265(d, $J=9.6\text{Hz}$, 1H), 5.060(t, $J=3.8\text{Hz}$, 1H), 3.686(s, 3H), 3.274(dd, $J=4.4$, 18Hz, 1H), 2.94(dd, $J=3.2$, 17.6Hz, 1H), 1.412(s, 3H), 1.334(s, 3H);
- [0147] IT-TOF/MS 418.1200[M+Na]+.
- [0148] <실시예 10. (7S)-(+)-2-메톡시페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-2-methoxyphenyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 3j)의 제조>
- [0149] 4-아세틸페닐 이소시아네이트 대신 2-메톡시페닐 이소시아네이트로 바꾸는 점만 제외하고는 화합물 3a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 3j를 얻었다.
- [0150] 수율 : 77.6%;
- [0151] 백색 고체상(white solid);
- [0152] mp: 199.1°C;
- [0153] $R_f = 0.26$ (n-HX:EA=2:1);
- [0154] $[\alpha]_D^{28} +72.8867$ (c=3, CHCl_3);
- [0155] ^1H NMR(400MHz, DMSO-d_6): 8.466(s, NH), 7.901(d, $J=9.6\text{Hz}$, 1H), 7.617(s, 1H), 7.473(s, 1H), 7.054(t, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 6.976(d, $J=8\text{Hz}$, 1H), 6.883(t, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 6.792(s, 1H), 6.253(d, $J=9.2\text{Hz}$, 1H), 5.010(t, $J=4\text{Hz}$, 1H), 3.743(s, 3H), 3.244(dd, $J=4.4$, 17.2Hz, 1H), 2.909(dd, $J=4$, 17.6Hz, 1H), 1.394(s, 3H), 1.331(s, 3H);
- [0156] IT-TOF/MS 418.1222[M+Na]+.

- [0157] <실시예 11. (7S)-(+)-1-나프틸페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르(7S)-(+)-1-naphthylphenyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl -ester: 화합물: 3k)의 제조>
- [0158] 4-아세틸페닐 이소시아네이트 대신 1-나프틸 이소시아네이트로 바꾸는 점만 제외하고는 3a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 3k를 얻었다.
- [0159] 수율 : 47.3%;
- [0160] 갈색 고체상(brown solid);
- [0161] mp: 120.6℃;
- [0162] R_f = 0.281 (MeOH:H₂O=5:1);
- [0163] $[\alpha]_D^{28} +43.4667$ (c=3, CHCl₃);
- [0164] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): 9.680(s, NH), 7.994-7.916(m, 3H), 7.745(d, J=7.6Hz, 1H), 7.514(s, 5H), 6.825(s, 1H), 6.280(d, J=9.2Hz, 1H), 5.091(s, 1H), 3.293(d, J=15.2Hz, 1H), 3.001(d, J=16.8Hz, 1H), 1.461(s, 3H), 1.352(s, 3H);
- [0165] IT-TOF/MS 438.1322[M+Na]⁺.
- [0166] <실시예 12. (7S)-(+)-2-히드록시페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-2-hydroxyphenyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 3l)의 제조>
- [0167] 라운드 플라스크에 (7S)-(+)-2-메톡시페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르(3j, 50mg, 0.126mmol)를 넣고 건조 메틸렌클로라이드(Dry MC) 20ml에 녹인다. BBr₃ (46μl, 0.378mmol)을 넣고 상온에서 3시간을 교반하였다. TLC 확인 후 에틸아세테이트(EA)와 물로 추출해 유기층을 취한 다음 탈수한 후 칼럼 분리를 하여 하기 물성치를 갖는 화합물 3l을 얻었다.
- [0168] 수율 : 72%;
- [0169] 갈백색 고체상(brown-white solid);
- [0170] mp: 118.4℃;
- [0171] R_f = 0.41 (n-HX:EA=1:1);
- [0172] $[\alpha]_D^{24} +71.7000$ (C=1, CHCl₃);
- [0173] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): 9.651(s, NH), 8.347(s, 1H), 7.929(d, J=9.2Hz, 1H), 7.505(s, 2H), 6.927-6.885(m, 1H), 6.823-6.800(m, 2H), 6.738(t, J=7.4Hz, 1H), 6.267(d, J=9.6Hz, 1H), 4.997(t, J=4.2Hz, 1H), 3.253(dd, J=4.4, 17.6Hz, 1H), 2.929(dd, J=4, 17.6Hz, 1H), 1.397(s, 3H), 1.333(s, 3H);
- [0174] IT-TOF/MS 404.1102[M+Na]⁺.
- [0175] <실시예 13. (7S)-(+)-시클로헥실 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-cyclohexyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 3n)의 제조>
- [0176] 4-아세틸페닐 이소시아네이트 대신 시클로헥실 이소시아네이트로 바꾸는 점만 제외하고는 화합물 3a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 3n을 얻었다.
- [0177] 수율 : 10.2%;
- [0178] 백색 고체상(white solid);

- [0179] mp: 170.5℃;
- [0180] Rf = 0.44 (n-HX:EA=1:1);
- [0181] $[\alpha]_D^{19} +32.1600$ (c=2.5, CHCl₃);
- [0182] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): 7.915(d, J=9.6Hz, 1H), 7.475(s, 1H), 7.153(d, J=8Hz, 1H), 6.760(s, 1H), 6.252(d, J=9.6Hz, 1H), 4.904(t, J=4Hz, 1H), 3.212-3.155(m, 2H), 2.807(dd, J=4, 17.6Hz, 1H), 1.738-1.473(m, 10H), 1.331(s, 3H), 1.281(s, 3H);
- [0183] IT-TOF/MS 394.1635[M+Na]⁺.
- [0184] <실시예 14. (7S)-(+)-4-에틸페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-4-ethylphenyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 3o)의 제조>
- [0185] 4-아세틸페닐 이소시아네이트 대신 4-에틸페닐 이소시아네이트로 바꾸는 점만 제외하고는 화합물 3a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 3o을 얻었다.
- [0186] 수율 : 85.9%;
- [0187] 백색 고체상(white solid);
- [0188] mp: 133.2 ℃;
- [0189] Rf = 0.312(n-HX:EA=2:1);
- [0190] $[\alpha]_D^{24} +88.3600$ (C=3, CHCl₃);
- [0191] ¹H NMR(400MHz, acetone-d₆): 7.858(d, J=9.2Hz, 1H), 7.485-7.433(m, 3H), 7.135(d, J=8.8Hz, 2H), 6.721(s, 1H), 6.207(d, J=9.6Hz, 1H), 5.087(t, J=4.4Hz, 1H), 3.309(dd, J=4.8, 17.6Hz, 1H), 2.986(dd, J=4, 17.6Hz, 1H), 2.575(q, J=8Hz, 2H), 1.421(s, 3H), 1.398(s, 3H), 1.175(t, J=7.6Hz, 3H)
- [0192] ESI-MS m/z 394.0 [M+H]⁺.
- [0193] <실시예 15. (7S)-(+)-시클로펜틸 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-cyclopentyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 3m)의 제조>
- [0194] 4-아세틸페닐 이소시아네이트 대신 시클로펜틸 이소시아네이트로 바꾸는 점만 제외하고는 3a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 3m를 얻었다.
- [0195] 수율 : 43.2%;
- [0196] 백색 고체상(white solid);
- [0197] mp: 158.5℃;
- [0198] Rf = 0.41 (n-HX:EA=1:1);
- [0199] $[\alpha]_D^{24} +29.0533$ (c=3, CHCl₃);
- [0200] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): 7.920(d, J=9.6Hz, 1H), 7.475(s, 1H), 7.254(d, J=7.2Hz, 1H), 6.759(s, 1H), 6.253(d, J=9.6Hz, 1H), 4.902(t, J=3.8Hz, 1H), 3.827-3.734(m, 1H), 3.182(dd, J=4.4, 17.6Hz, 1H), 2.810(dd, J=3.2, 17.6Hz, 1H), 1.768-1.701(m, 2H), 1.591-1.511(m, 3H), 1.484-1.390(m, 3H), 1.334(s, 3H), 1.279(s, 3H);
- [0201] IT-TOF/MS 380.1468[M+Na]⁺.

B. 실시예 16 내지 21: 데쿠르시놀 카바메이트 유도체의 제조

하기 [반응식 2]에 따라, 다양한 치환기를 갖는 화합물 5a 내지 5f를 제조하였다.

표 2

[반응식 2]

실시예	화합물 4, 5	n	R	R ₁ (R이 갖는 치환기)
실시예 16	4a, 5a	2	-phenyl	-
실시예 17	4b, 5b	2	-phenyl	-4-OCH ₃
실시예 18	4c, 5c	1	-2-furanyl	-
실시예 19	4d, 5d	3	-phenyl	-
실시예 20	4e, 5e	4	-phenyl	-
실시예 21	4f, 5f	1	-phenyl	-

<실시예 16. (7S)-(+)-페닐에틸 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-phenylethyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 5a)의 제조>

4-아세틸페닐 이소시아네이트 대신 페닐에틸 이소시아네이트로 바꾸는 점만 제외하고는 3a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 5a를 얻었다.

수율 : 67.6%;

회백색 고체상(white solid);

mp: 145.5 °C;

R_f = 0.46 (n-HX:EA=1:1);

$[\alpha]_D^{26} +27.2800$ (c=3, CHCl₃);

¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): 7.934(d, J=9.6Hz, 1H), 7.505-7.479(m, 1H), 7.357(t, J=5.2Hz, 1H), 7.270-7.235(m, 2H), 7.196-7.149(m, 3H), 6.840-6.767(m, 1H), 6.263(d, J=9.2Hz, 1H), 4.932-4.889(m, 1H), 3.188-3.155(m, 3H), 2.890-2.765(m, 1H), 2.680(t, J=7.2Hz, 2H), 1.312(s, 3H), 1.271(s, 3H);

IT-TOF/MS 416.1355[M+Na]⁺.

<실시예 17. (7S)-(+)-4-메톡시페닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-4-methoxyphenethyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl -ester: 화합물 5b)의 제조>

4-아세틸페닐 이소시아네이트 대신 4-메톡시페닐 이소시아네이트로 바꾸는 점만 제외하고는 3a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 5b를 얻었다.

수율 : 35.2%;

아이보리색 고체상(ivory solid);

mp: 118.5 °C;

- [0220] $R_f = 0.56$ (n-HX:EA=1:1);
- [0221] $[\alpha]_D^{26} +21.9933$ (c=3, CHCl_3);
- [0222] $^1\text{H NMR}(400\text{MHz}, \text{CDCl}_3)$: 7.581(d, $J=9.2\text{Hz}$, 1H), 7.156(s, 1H), 7.063(d, $J=8.0\text{Hz}$, 2H), 6.804(d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 6.754(s, 1H), 6.211(d, $J=9.2\text{Hz}$, 1H), 4.960(t, $J=4.4\text{Hz}$, 1H), 4.835(s, NH), 3.766(s, OCH₃), 3.389(m, 2H), 3.155(dd, $J=4.4$, 17.6Hz, 1H), 2.866(dd, $J=4.0$, 17.2Hz, 1H), 2.732(t, $J=6.8\text{Hz}$, 2H), 1.371(s, CH₃), 1.326(s, CH₃);
- [0223] IT-TOF/MS 446.1470[M+Na]⁺.
- [0224] <실시예 18. (7S)-(+)푸르푸릴 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)furfuryl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 5c)의 제조>
- [0225] 4-아세틸페닐 이소시아네이트 대신 푸르푸릴 이소시아네이트로 바꾸는 점만 제외하고는 3a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 5c를 얻었다.
- [0226] 수율 : 65.7%;
- [0227] 갈색 고체상(brown solid);
- [0228] mp: 71.0 °C;
- [0229] $R_f = 0.35$ (n-HX:EA=1:1);
- [0230] $[\alpha]_D^{18} +7.6000$ (c=0.3, DMSO);
- [0231] $^1\text{H NMR}(400\text{MHz}, \text{CDCl}_3)$: 7.589(d, $J=9.6\text{Hz}$, 1H), 7.336(m, 1H), 7.165(s, 1H), 6.753(s, 1H), 6.214(m, 3H), 5.225(m, 1H), 5.001(t, $J=4.2\text{Hz}$, 1H), 4.346(d, $J=5.2\text{Hz}$, 2H), 3.177(dd, $J=4.4$, 17.2Hz, 1H), 2.900(dd, $J=4.0$, 17.2Hz, 1H), 1.390(s, CH₃), 1.336(s, CH₃);
- [0232] IT-TOF/MS 392.1118[M+Na]⁺.
- [0233] <실시예 19. (7S)-(+)3-페닐프로필 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)3-Phenylpropyl carbamic acid 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 5d)의 제조>
- [0234] 4-아세틸페닐 이소시아네이트 대신 3-페닐프로필 이소시아네이트로 바꾸는 점만 제외하고는 화합물 3a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 5d를 얻었다.
- [0235] 수율 : 69.7%;
- [0236] 백색 고체상(white solid);
- [0237] mp: 135.6 °C;
- [0238] $R_f = 0.35$ (n-HX:EA=1:1);
- [0239] $[\alpha]_D^{24} +31.9733$ (C=3, CHCl_3);
- [0240] $^1\text{H NMR}(400\text{MHz}, \text{acetone-d}_6)$: 7.839(d, $J=10\text{Hz}$, 1H), 7.399(s, 1H), 7.286-7.146(m, 5H), 6.684(s, 1H), 6.479(t, $J=6\text{Hz}$, 1H), 6.193(d, $J=9.2\text{Hz}$, 1H), 4.968(t, $J=4.4\text{Hz}$, 1H), 3.255-3.138(m, 3H), 2.909-2.829(m, 1H), 2.638(t, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 1.813(quin, $J=7.2\text{Hz}$, 2H), 1.363(s, 3H), 1.353(s, 3H);
- [0241] ESI-MS m/z 407.9 [M+H]⁺.
- [0242] <실시예 20. (7S)-(+)4-페닐부틸 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-

에스테르((7S)-(+)-4-Phenylbutyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2*H*,8*H*-pyrano[3,2-*g*]chromen-7-yl-ester: 화합물 5e)의 제조>

[0243] 4-아세틸페닐 이소시아네이트 대신 4-페닐부틸 이소시아네이트로 바꾸는 점만 제외하고는 화합물 3a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 5e를 얻었다.

[0244] 수율 : 75%;

[0245] 연한 백색-노랑색 반고체상(pale-white-yellow semi solid);

[0246] mp: 106.9 °C;

[0247] R_f = 0.35(n-HX:EA=1:1);

[0248] $[\alpha]_D^{24} +29.1933$ (C=3, CHCl₃);

[0249] ¹H NMR(400MHz, acetone-d₆): 7.797(d, *J*=9.6Hz, 1H), 7.340(s, 1H), 7.270-7.131(m, 5H), 6.663(s, 1H), 6.428(t, *J*=5.6Hz, 1H), 6.179(d, *J*=9.6Hz, 1H), 4.958(t, *J*=4.4Hz, 1H), 3.228-3.138(m, 3H), 2.924-2.831(m, 1H), 2.602(t, *J*=7.6Hz, 2H), 1.659-1.582(m, 2H), 1.561-1.487(m, 2H), 1.346(s, 3H), 1.338(s, 3H);

[0250] ESI-MS *m/z* 422.1 [M+H]⁺.

[0251] <실시예 21. (7S)-(+)-벤질 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2*H*,8*H*-피라노[3,2-*g*]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-Benzyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2*H*,8*H*-pyrano[3,2-*g*]chromen-7-yl-ester: 화합물 5f)의 제조>

[0252] 4-아세틸페닐 이소시아네이트 대신 벤질 이소시아네이트로 바꾸는 점만 제외하고는 3a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 5f를 얻었다.

[0253] 수율 : 60.6%;

[0254] 백색 고체상(white solid);

[0255] mp: 89.5 °C;

[0256] R_f = 0.32(n-HX:EA=1:1);

[0257] $[\alpha]_D^{24} +20.6933$ (C=3, CHCl₃);

[0258] ¹H NMR(300MHz, acetone-d₆): 7.815(d, *J*=9Hz, 1H), 7.38(s, 1H), 7.29-7.22(m, 6H), 6.67(s, 1H), 6.18(d, *J*=12Hz, 1H), 4.99(t, *J*=6Hz, 1H), 4.37-4.32(m, 2H), 3.235(dd, *J*=6, 18Hz, 1H), 2.93-2.87(m, 1H), 1.36(s, 6H)

[0259] ESI-MS *m/z* 380.1 [M+H]⁺.

[0260] **C. 실시예 22 내지 31: 데쿠르시놀 카바메이트 유도체의 제조**

[0261] 하기 [반응식 3]에 따라, 다양한 치환기를 갖는 화합물 9a 내지 9j를 제조하였다.

표 3

[0262]

[반응식 3] (i) TEA, DPPA, Dry Benzene, reflux; (ii) Dry Benzene, reflux; (iii) TEA, 4-DMAP, Dry Benzene, reflux			
실시예	화합물 6, 7, 8, 9	R	R ₁ (R이 갖는 치환기)
실시예 22	6a, 7a, 8a, 9a	-phenyl	-
실시예 24	6c, 7c, 8c, 9c	-phenyl	-3-OCH ₃
실시예 25	6d, 7d, 8d, 9d	-phenyl	-4-OCH ₃
실시예 26	6e, 7e, 8e, 9e	-phenyl	-2-OCH ₃
실시예 27	6f, 7f, 8f, 9f	-phenyl	-3,4-(OCH ₃) ₂
실시예 28	6g, 7g, 8g, 9g	-phenyl	-4-Cl
실시예 29	6h, 7h, 8h, 9h	-phenyl	-3-F
실시예 30	6i, 7i, 8i, 9i	-phenyl	-3,4,5-(OCH ₃) ₃
실시예 31	6j, 7j, 8j, 9j	-(2-furanyl)	-

[0264]

<실시예 22. (7S)-(+)-(E)-2-페닐에테닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-(E)-2-phenylethenyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 9a)의 제조>

[0265]

라운드 플라스크에 trans-신남산(500mg, 3.37mmol)를 건조 벤젠 20ml에 용해시킨 후 트리에틸아민(TEA, 234μl, 1.683mmol), 디페닐 포스포릴 아지드(Diphenyl phosphoryl azide, DPPA, 362μl, 1.683mmol)을 넣고 80℃에서 3시간 반응시켰다. 물과 에틸아세테이트(EA)로 추출한 다음 황산나트륨으로 물을 제거한 후 감압 농축한 조 생성물(crude product)를 다시 건조 벤젠에 녹여 80℃에서 하루 가열환류 시켰다. 여기에 (+)-데쿠르시놀(207mg, 0.841mmol)을 넣고 트리에틸아민(TEA, 281μl, 2.019mmol), 4-(디메틸아미노)피리딘(4-(dimethylamino)pyridine, DMAP, 82mg, 0.673mmol)을 넣고 80℃에서 3시간 반응시켰다. 반응 용액을 감압 농축하여 얻은 잔사를 실리카겔 칼럼 분리를 통하여 정제해 화합물 9a를 얻었다.

[0266]

수율 : 13.8%;

[0267]

백갈색 고체상(brown-white solid);

[0268]

mp: 112.4 °C;

[0269]

R_f = 0.45 (n-HX:EA=1:1);

[0270]

[α]_D²⁶ +93.4467 (c=3, CHCl₃);

[0271]

¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): 9.876(d, J=10.4Hz, NH), 7.928(d, J=10.1Hz, 1H), 7.504(s, 1H), 7.258(m, 4H), 7.121(m, 2H), 6.809(s, 1H), 6.269(d, J=9.6Hz, 1H), 6.019(d, J=14.8Hz, 1H), 5.055(s, 1H), 3.261(dd, J=3.6, 18.0Hz, 1H), 2.920(d, J=17.2Hz, 1H), 1.392(s, CH₃), 1.322(s, CH₃);

[0272]

IT-TOF/MS 390.1346[M+Na]⁺.

- [0273] 삭제
- [0274] 삭제
- [0275] 삭제
- [0276] 삭제
- [0277] 삭제
- [0278] 삭제
- [0279] 삭제
- [0280] 삭제
- [0281] 삭제
- [0282] <실시예 24. (7S)-(+)-(E)-2-(3-메톡시페닐)에테닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2*H*,8*H*-피라노[3,2-*g*]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-(E)-2-(3-methoxyphenyl)ethenyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2*H*,8*H*-pyrano[3,2-*g*]chromen-7-yl-ester: 화합물 9c)의 제조>
- [0283] trans-신남산 대신 3-메톡시신남산으로 바꾸는 점만 제외하고는 화합물 9a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 9c를 얻었다.
- [0284] 수율 : 31.3%;
- [0285] 노랑색-백색 고체상(yellow-white solid);
- [0286] mp: 116.9 °C;
- [0287] R_f = 0.39 (n-HX:EA=1:1);
- [0288] $[\alpha]_D^{26} +109.4333$ (c=3, CHCl₃);
- [0289] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): 9.895(d, *J*=10.0Hz, NH), 7.926(d, *J*=9.2Hz, 1H), 7.501(s, 1H), 7.153(m, 2H), 6.838(d, *J*=7.6Hz, 1H), 6.809(s, 1H), 6.685(dd, *J*=2.0, 8.4Hz, 1H), 6.269(d, *J*=9.2Hz, 1H), 5.991(d, *J*=14.8Hz, 1H), 5.058(t, *J*=3.8Hz, 1H), 3.260(dd, *J*=4.0, 18.0Hz, 1H), 2.920(dd, *J*=2.8, 17.6Hz, 1H), 1.390(s, CH₃), 1.320(s, CH₃);
- [0290] IT-TOF/MS 444.1422[M+Na]⁺.
- [0291] <실시예 25. (7S)-(+)-(E)-2-(4-메톡시페닐)에테닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2*H*,8*H*-피라노[3,2-*g*]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-(E)-2-(4-methoxyphenyl)ethenyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2*H*,8*H*-pyrano[3,2-*g*]chromen-7-yl-ester: 화합물 9d)의 제조>
- [0292] trans-신남산 대신 4-메톡시신남산으로 바꾸는 점만 제외하고는 화합물 9a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여,

하기 물성치를 갖는 화합물 9d를 얻었다.

- [0293] 수율 : 29.0%;
- [0294] 갈색 고체상(brown solid);
- [0295] mp: 107.3 °C;
- [0296] R_f = 0.425 (n-HX:EA=1:1);
- [0297] $[\alpha]_D^{28} +85.3733$ (c=3, CHCl₃);
- [0298] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): 9.766(d, J=10Hz, 1H), 7.926(d, J=9.2Hz, 1H), 7.501(s, 1H), 7.197(d, J=8.8Hz, 2H), 7.009-6.947(m, 1H), 6.835-6.806(m, 3H), 6.268(d, J=9.6Hz, 1H), 5.974(d, J=14.8Hz, 1H), 5.042(t, J=3.4Hz, 1H), 3.711(s, 3H), 3.254(dd, J=4, 17.6Hz, 1H), 2.910(dd, J=3, 17.8Hz, 1H), 1.387(s, 3H), 1.317(s, 3H);
- [0299] IT-TOF/MS 444.1419[M+Na]⁺.
- [0300] <실시예 26. (7S)-(+)-(E)-2-(2-메톡시페닐)에테닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-(E)-2-(2-methoxyphenyl)ethenyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 9e)의 제조>
- [0301] trans-신남산 대신 2-메톡시신남산으로 바꾸는 점만 제외하고는 화합물 9a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 9e를 얻었다.
- [0302] 수율 : 32.7%;
- [0303] 갈색 고체상(brown solid);
- [0304] mp: 114.7 °C;
- [0305] R_f = 0.45 (n-HX:EA=1:1);
- [0306] $[\alpha]_D^{28} +62.4933$ (c=3, CHCl₃);
- [0307] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): 9.826(d, J=10Hz, 1H), 7.924(d, J=9.6Hz, 1H), 7.498(s, 1H), 7.270(d, J=7.2Hz, 1H), 7.204-7.094(m, 2H), 6.941-6.809(m, 3H), 6.279-6.200(m, 2H), 5.040(s, 1H), 3.763(s, 3H), 3.254(dd, J=4, 18Hz, 1H), 2.918(d, J=15.2Hz, 1H), 1.389(s, 3H), 1.320(s, 3H);
- [0308] IT-TOF/MS 444.1418[M+Na]⁺.
- [0309] <실시예 27. (7S)-(+)-(E)-2-(3,4-디메톡시페닐)에테닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-(E)-2-(3,4-Dimethoxyphenyl)ethenyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 9f)의 제조>
- [0310] trans-신남산 대신 3,4-디메톡시신남산으로 바꾸는 점만 제외하고는 9a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 9f를 얻었다.
- [0311] 수율 : 14.6%;
- [0312] 갈색 고체상(brown solid);
- [0313] mp: 108.3 °C;
- [0314] R_f = 0.4193 (n-HX:EA=1:2);
- [0315] $[\alpha]_D^{24} +85.0333$ (c=3, CHCl₃);
- [0316] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): 9.774(d, J=9.6Hz, 1H), 7.929(d, J=9.6Hz, 1H), 7.504(s, 1H), 7.053-6.992(m,

1H), 6.877-6.737(m, 4H), 6.270(d, $J=9.6\text{Hz}$, 1H), 5.963(d, $J=14.4\text{Hz}$, 1H), 5.049(t, $J=3.6\text{Hz}$, 1H), 3.752(s, 3H), 3.705(s, 3H), 3.259(dd, $J=4$, 18Hz, 1H), 2.911(dd, $J=3$, 17.8Hz, 1H), 1.388(s, 3H), 1.320(s, 3H);

[0317] IT-TOF/MS 474.1525[M+Na]⁺.

[0318] <실시예 28. (7S)-(+)-(E)-2-(4-클로로페닐)에테닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-(E)-2-(4-chlorophenyl)ethenyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 9g)의 제조>

[0319] trans-신남산 대신 4-클로로신남산으로 바꾸는 점만 제외하고는 9a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 9g를 얻었다.

[0320] 수율 : 30.2%;

[0321] 노란색 고체상(yellow solid);

[0322] mp: 103.9 °C;

[0323] $R_f = 0.48$ (n-HX:EA=1:1);

[0324] $[\alpha]_D^{24} +89.9067$ (c=3, CHCl₃);

[0325] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): 9.932(d, $J=9.6\text{Hz}$, 1H), 7.915(d, $J=9.6\text{Hz}$, 1H), 7.488(s, 1H), 7.312-7.257(m, 4H), 7.190-7.129(m, 1H), 6.800(s, 1H), 6.261(d, $J=9.2\text{Hz}$, 1H), 6.004(d, $J=14.8\text{Hz}$, 1H), 5.058(t, $J=3.6\text{Hz}$, 1H), 3.257(dd, $J=4$, 17.6Hz, 1H), 2.919(dd, $J=2.6$, 17.6Hz, 1H), 1.389(s, 3H), 1.320(s, 3H);

[0326] IT-TOF/MS 448.0929[M+Na]⁺.

[0327] <실시예 29. (7S)-(+)-(E)-2-(3-플루오로페닐)에테닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-(E)-2-(3-Fluorophenyl)ethenyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 9h)의 제조>

[0328] trans-신남산 대신 trans-3-플루오로신남산으로 바꾸는 점만 제외하고는 화합물 9a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 9h를 얻었다.

[0329] 수율 : 37.3%;

[0330] 노란색 고체상(yellow solid);

[0331] mp: 101.5 °C;

[0332] $R_f = 0.48$ (n-HX:EA=1:1);

[0333] $[\alpha]_D^{24} +89.1600$ (c=3, CHCl₃);

[0334] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): 9.967(d, $J=10\text{Hz}$, 1H), 7.896(d, $J=9.2\text{Hz}$, 1H), 7.468(s, 1H), 7.284-7.078(m, 4H), 6.900(t, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 6.792(s, 1H), 6.253(d, $J=9.6\text{Hz}$, 1H), 6.030(d, $J=14.4\text{Hz}$, 1H), 5.067(s, 1H), 3.254(dd, $J=4$, 18Hz, 1H), 2.925(d, $J=16\text{Hz}$, 1H), 1.393(s, 3H), 1.321(s, 3H);

[0335] IT-TOF/MS 432.1218[M+Na]⁺.

[0336] <실시예 30. (7S)-(+)-(E)-2-(3,4,5-트리메톡시페닐)에테닐 카바믹산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-(E)-2-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)ethenyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 9i)의 제조>

[0337] trans-신남산 대신 3,4,5-트리메톡시신남산으로 바꾸는 점만 제외하고는 화합물 9a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 9i를 얻었다.

[0338] 수율 : 79.8%;

- [0339] 노란색 고체상(yellow solid);
- [0340] mp: 59.1 °C;
- [0341] R_f = 0.54 (n-HX:EA=1:2);
- [0342] $[\alpha]_D^{19} +59.5000$ (c=3, CHCl₃);
- [0343] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): 9.861(d, J=10.4Hz, 1H), 7.928(d, J=9.6Hz, 1H), 7.502(s, 1H), 7.146-7.085(m, 1H), 6.809(s, 1H), 6.549-6.512(m, 2H), 6.271(d, J=9.6Hz, 1H), 5.959(d, J=14.4Hz, 1H), 5.060(t, J=3.6Hz, 1H), 3.764(s, 6H), 3.607(s, 3H), 3.266(dd, J=6, 18.8Hz, 1H), 2.916(dd, J=3.6, 18Hz, 1H), 1.392(s, 3H), 1.321(s, 3H);
- [0344] IT-TOF/MS 504.1627[M+Na]⁺.
- [0345] <실시예 31. (7S)-(+)-(E)-2-(푸란-2-일)에테닐 카바미산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르((7S)-(+)-(E)-2-(furan-2-yl)ethenyl carbamic acid, 8,8-dimethyl-2-oxo-6,7-dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-7-yl-ester: 화합물 9j)의 제조>
- [0346] trans-신남산 대신 3-(2-푸릴)아크릴산으로 바꾸는 점만 제외하고는 화합물 9a 합성방법과 동일한 반응을 수행하여, 하기 물성치를 갖는 화합물 9j를 얻었다.
- [0347] 수율 : 69.7%;
- [0348] 갈색 고체상(brown solid);
- [0349] mp: 58.5 °C;
- [0350] R_f = 0.47 (n-HX:EA=1:1);
- [0351] $[\alpha]_D^{19} +79.6933$ (c=3, CHCl₃);
- [0352] ¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆): 9.894(d, J=10.2Hz, 1H), 7.920(d, J=9.6Hz, 1H), 7.493(s, 2H), 6.984(dd, J=10.2, 14.7Hz, 1H), 6.798(s, 1H), 6.401-6.383(m, 1H), 6.264(d, J=9.6Hz, 1H), 6.197-6.185(m, 1H), 5.912(d, J=14.4Hz, 1H), 5.056(t, J=3.6Hz, 1H), 3.254(dd, J=4.2, 18Hz, 1H), 2.917(dd, J=3.3, 17.7Hz, 1H), 1.384(s, 3H), 1.313(s, 3H);
- [0353] ESI-MS m/z 382.2 [M+H]⁺.
- [0354] <실험예 1. 데쿠르시놀 카바메이트 유도체의 Wnt/β-카테닌 신호전달 경로 억제활성 평가>
- [0355] (1) 실험재료 및 플라스미드의 준비
- [0356] 상기 실시예들에서 합성된 데쿠르시놀 카바메이트 유도체를 DMSO(Sigma사) 및 LiCl로 용해하였다. 인간 프리즐 레드 cDNA(Human Frizzled cDNA)는 PCR(polymerase chain reaction)에 의해 각 세포에서 복제되었고, pCDN3.1 벡터 (Invitrogen) 내로 서브-복제되었다. pTOPflash 리포터 플라스미드는 Upstate Biotechnology(Lake Placid, NY, USA)에서 구입하였다(FEBSLett20054213). CyclinD1 프로모터를 포함한 리포터 플라스미드는 PCR 과 pRL-null 벡터 삽입에 의해 분비된 TCF-4 response elements의 promoter resions을 증폭시켜 준비하며, pCyclin D1-RL 등을 얻었다.
- [0357] (2) 세포 배양, 형질주입 및 루시퍼레이즈 어세이
- [0358] HEK293 및 Wnt3a-분비 L 세포주는 ATCC(American Type Culture Collection, Manassas, VA)에서 구입하였으며, 10% 우태아혈청(FBS), 120 μg/ml 페니실린 및 200 μg/ml 스트렙토마이신을 보충한 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium)에서 배양하였다. Wnt-3a 조정 배지(Wnt3a conditioned medium, Wnt3a CM)는 Wnt3a-분비 L 세포를 10%[v/v] FBS가 포함된 DMEM에서 4일간 배양한 후, 상기 배양된 DMEM 배지를 수거하여 0.22 μm 필터로 무균화하여 준비하였다. 새 DMEM(10%[v/v] FRB 포함)를 추가하여, 세포를 3일간 더 배양한 후, 배지를 수집하여 이전 배지와 합하였다. 형질 주입(transfection)은 제조사의 설명에 따라 Lipofectamine 2000(Invitrogen)을

가지고 수행하였다. 루시퍼레이스 어세이(Luciferase assays)는 듀얼 루시퍼레이스 키트(Dual Luciferase Assay kit, Promega, Madison, WI)를 사용하였다.

[0359] (3) 세포기반 스크리닝(Screening for a Small-Molecule inhibitor of Wnt/ β -catenin Signaling)

[0360] HEK 293 리포터 (TOP-Flash) 세포주는 G418(1 mg/ml)을 포함한 배지를 사용하여, hFz-1과 TOPFlash를 발현하는 플라스미드와 함께 상호-형질 전환된 HEK293을 선정함으로써 구축되었다. 상기 세포주는 24시간동안 복제와 증식하여 각 well 마다 15,000개의 세포들로 96-well plate에서 배양된다. Wnt3a CM을 추가하여 넣고, 여기에 테쿠르시놀 카바메이트 유도체(화합물 3b, 3c, 3d, 3e, 3m, 3n, 5b, 5c, 5f, 9g, 9h)를 30 μ M의 농도로 각 well에 넣어 실험군으로 하였다. 15시간 후 플레이트를 사용하여 루시퍼레이스 활성을 측정하였다.

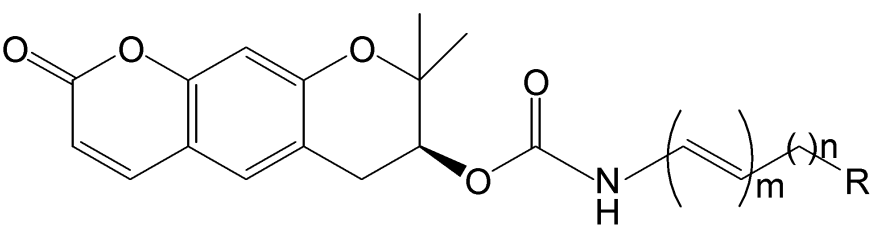
[0361] 즉, Wnt/ β -카테닌의 신호전달을 억제하는 물질을 찾기 위하여, HEK293 세포를 안정적으로 형질전환해서, TOPFlash 리포터 및 hFz-1 발현 플라스미드를 포함하는 HEK293 리포터 세포를 만들었다. HEK293 리포터 세포가 Wnt3a CM과 함께 항온배양 되었을 때, TOPFlash 리포터 활성은 매우 증가하였다. 이 후, 테쿠르시놀 카바메이트 유도체를 처리하여 억제 활성을 관찰하였다. 대조군은 Wnt3a CM의 존재 또는 부존재하에서 분석되었다. TOPFlash의 활성은 Cell titer 활성으로 표준화(normalize) 하였다.

[0362] 본 실험 결과는, 하기 도 1에 나타난 바와 같이, 테쿠르시놀 카바메이트 유도체를 처리하지 않은 상태에서 세포주(HEK293)에 Ligand(Wnt3a)를 처리할 경우 활성이 증가됨을 알 수 있다.

[0363] (4) Wnt/ β -카테닌 신호전달 경로의 억제활성 실험결과

[0364] 루시퍼레이스 어세이 결과, Wnt/ β -카테닌 경로의 억제활성을 측정한 결과는 도 1 및 하기 표 4와 같다.

표 4

<카바메이트 형태의 테쿠르시놀 유도체의 Wnt/ β -카테닌 경로 억제 활성 결과>					
[화학식 I]					
					
화합물	m	n	R	R ₁ (R이 갖는 치환기)	% of inhibition
3b	0	0	phenyl	-3-NO ₂	61.55
3c	0	0	phenyl	-2-NO ₂	71.69
3d	0	0	phenyl	-4-NO ₂	73.43
3e	0	0	phenyl	-4-Cl	75.70
3m	0	0	N-cyclopentyl	-	92.36
3n	0	0	N-cyclohexyl	-	79.57
5b	0	2	phenyl	-4-OCH ₃	49.35
5c	0	1	2-furanyl	-	70.01
5f	0	1	phenyl	-	70.56
9g	1	0	phenyl	-4-Cl	60.85
9h	1	0	phenyl	-3-F	47.32

[0367] 상기 표 1에서와 같이, 카바메이트 형태의 테쿠르시놀 유도체는 Wnt/ β -카테닌 경로 억제 활성 효과를 나타내었다. 특히, 3c, 3d, 3e, 3m, 3n, 5c, 5f 화합물은 70% 이상의 우수한 Wnt/ β -카테닌 경로 억제 활성 효과를 나타내었으며, 이는 선행문헌의 테쿠르시놀 페닐티오카바메이트기(DPTC)의 Wnt/ β -카테닌 경로 억제 활성 효과 보

다 5배 이상 우수한 것으로 확인되었다.

[0368] <실험예 2. 데쿠르시놀 유도체의 농도-의존 활성화평가>

[0369] (1) 루시퍼레이스 활성화평가

[0370] 실험예 1의 평가에서 억제 활성이 우수했던 화합물 3m 및 3n의 농도 의존 활성을 CGK-062(3(S)-(3,4-dihydroxy-phenyl)-acrylic acid 2,2-dimethyl-8-oxo-3,4 -dihydro-2H,8H-pyrano[3,2-g]chromen-3-yl-ester) 화합물과 비교하여 평가하였다. 그 실험방법은 실험예 1의 루시퍼레이스 활성 측정 방법과 마찬가지로 진행하되, 화합물 3m 및 3n과, CGK-062를 각각 2.5 μ M, 5 μ M, 10 μ M, 20 μ M 및 40 μ M의 농도로 처리하는 점만 달리하였다.

[0371] 도 2에서 확인되는 바와 같이, 3m의 경우 특히 CGK-062(도 2~4에서 "CGK062"로 표시됨)나 3n 보다 더 적은 농도에서도 높은 억제활성을 나타내었다.

[0372] (2) 웨스턴 블랏팅(western blotting)

[0373] 화합물 3m 및 3n의 농도에 따른 β -카테닌 단백질의 레벨 변화를 확인하기 위해 웨스턴 블랏팅을 실시하였다. HEK293 리포터 세포주에 화합물 3m 및 3n과, CGK-062를 각각 2.5 μ M, 5 μ M, 10 μ M, 20 μ M 및 40 μ M의 농도로 15시간 동안 처리하였다.

[0374] 세포질 분획은 이전에 기재되었던 방식으로 준비되었고(Nucleic Acids Res. 1983, 11(5), 14751489) 단백질은 4-12% 구배 SDS-PAGE(인비트로젠)에서 분리되었고, 니트로셀룰로오즈 막(바이오-레드, 헤르쿨레스, CA, USA)로 전달되었다. 상기 막은 5% 논팩 밀크로 블로킹되었고, 항-베타-카테닌 항체(BD 트랜스덕션 레버레토리, 렉싱턴, KY, USA), 항-사이클린 D1 항체(산타 크루즈 바이오테크놀로지, 산타 크루즈, CA, USA), 및 항-액틴 항체(셀 시그널링 테크놀로지, 비버리, MA, USA)로 탐색되었다. 막은 호스레디쉬 퍼옥시다아제(horseradish peroxidase) 연결 항-쥐 IgG 항체(산타 크루즈 바이오테크놀로지)로 항온반응되었고, ECL 시스템(산타크루즈 바이오테크놀로지)을 이용하여 시각화되었다.

[0375] 도 3에서 확인되는 바와 같이, HEK293 리포터 세포에서 3m 화합물은 용량의존적으로 β -카테닌 반응 전사(β -catenin Response Transcription: CRT)를 감소시켰으며, 세포질내 β -카테닌을 하향조절하였다. 이러한 결과를 통해, 화합물 3m이 CGK-062와 비교하여 볼 때, 더 낮은 농도에서 억제 활성을 나타냄을 알 수 있고, 화합물 3m이 더욱 효과적으로 β -카테닌을 분해하여 β -카테닌의 단백질 레벨을 줄임으로써 Wnt/ β -카테닌 신호전달 경로를 억제한다고 볼 수 있다.

[0376] <실험예 3. 전립선암 세포주에 데쿠르시놀 카바메이트 유도체 처리시의 세포독성측정>

[0377] 루시퍼레이스 어세이에 의한 분석법은 억제활성에 의한 것 외에 화합물(chemical)에 대한 독성(toxicity)에 의한 세포사멸 때문에 낮은 수치가 나올 수 있다. Cell viability test란 살아있는 세포의 ATP 값을 측정하는 방법으로, 루시퍼레이스 어세이와 함께 수행함으로써 cell viability에는 영향을 미치지 않고 β -카테닌 반응 전사(CRT)만을 효과적으로 감소시킬 수 있는 물질을 선정할 수 있어야 한다.

[0378] 따라서, cell viability를 알아보기 위해 CellTiter-Glo Assay를 실시하며 수행 방법은 문헌에 기재된 방법(Mol. Pharmacol. 2006, 70, 960-966)에 따라 실험하였다.

[0379] 즉, PC3 세포(전립선암 세포, ACTT(American type Culture Collection)으로부터 구매)를 96-well plates(5000 cells)에 접종한 후, 화합물 3m, 3n 및 GCK-062를 48시간동안 처리하였다. 개개 시료들의 cell viability를 3회씩 Cell Titer-Glo assay kit(Cat# G7570, Promega)을 사용하여 제조사의 지시서대로 측정하였다.

[0380] Cell viability 분석 결과, 도 4에서 확인되는 바와 같이, 화합물 3m 및 3n은 PC3 세포의 사멸 효과를 나타내었으며, 특히 화합물 3m은 CGK062와 유사한 정도로 PC3 세포의 viability를 감소시켰다.

[0381] 한편, CGK-062는 물에 대한 용해도도 낮을 뿐만 아니라, 화학적 및 대사적 불안정성으로 동물 체내로 투여된 후, 신속히 (+)-데쿠르시놀로 전환되는 문제가 있는 것에 비해, 화합물 3m 및 3n은 물에 대한 용해도도 높을 뿐만 아니라 화학적 및 대사적 안정성을 가져 항암제로 유용하게 사용될 수 있는 이점이 있는 것으로 확인되었다.

[0382] <실험예 3. 독성실험>

[0383] 실험예 3-1. 급성독성

[0384] 본 발명의 화합물 3b 내지 3e, 3m, 3n, 5b, 5c, 5f, 9g, 및 9h를 단기간에 과량을 섭취하였을 시 급성적(24시

간 이내)으로 동물체내에 미치는 독성을 조사하고, 치사율을 결정하기 위하여 본 실험을 수행하였다. 일반적인 마우스인 ICR 마우스 계통을 대조군에 5마리, 각 실험군은 5마리씩 배정하였다. 대조군에는 아무것도 투여하지 않았으며, 실험군은 화합물 3b 내지 3e, 3m, 3n, 5b, 5c, 5f, 9g, 및 9h를 2.0g/kg(일반적인 동물실험에서 사용되는 양의 50배 정도)의 농도로 경구 투여하였다. 투여 24시간 후에 각각의 치사율을 조사한 결과, 대조군과 2.0g/kg 농도의 화합물 3b 내지 3e, 3m, 3n, 5b, 5c, 5f, 9g, 및 9h를 투여한 실험군은 모두 생존하였다.

[0385] 실험예 3-2 . 실험군 및 대조군의 장기 및 조직 독성 실험

C57BL/6J 생쥐를 대상으로 동물의 각 장기(조직)에 미치는 영향을 조사하기 위하여 화합물 3b 내지 3e, 3m, 3n, 5b, 5c, 5f, 9g, 및 9h를 투여한 실험군과 용매만을 투여한 대조군의 동물들로부터 8주 후 혈액을 채취하여 GPT(glutamate-pyruvate transferase) 및 BUN(Blood Urea Nitrogen)의 혈액 내 농도를 Select E(Vital Scientific NV, Netherland) 기기를 이용하여 측정하였다. 그 결과, 간독성과 관계있는 것으로 알려진 GPT와 신장독성과 관계있는 것으로 알려진 BUN의 경우, 대조군과 비교하여 실험군은 별다른 차이를 보이지 않았다. 또한, 각 동물로부터 간과 신장을 취하여 통상적인 조직절편 제작과정을 거쳐 광학현미경으로 조직학적 관찰을 시행하였으며 특이한 이상이 관찰되지 않았다.

[0387] <제제예 1. 약학적 제제>

[0388] 제제예 1-1. 정제의 제조

본 발명의 화합물 3m((7S)-(+)-시클로펜틸 카바미산 8,8-디메틸-2-옥소-6,7-디히드로-2H,8H-피라노[3,2-g]크로멘-7-일-에스테르, 실시예 15) 20g을 락토오스 175.9g, 감자전분 180g 및 콜로이드성 규산 32g과 혼합하였다. 이 혼합물에 10% 젤라틴 용액을 첨가시킨 후, 분쇄해서 14 메쉬체를 통과시켰다. 이것을 건조시키고 여기에 감자전분 160g, 활석 50g 및 스테아린산 마그네슘 5g을 첨가해서 얻은 혼합물을 정제로 만들었다.

[0390] 제제예 1-2. 주사액제의 제조

본 발명의 화합물 3m 0.5g을 증류수에 용해시켜서 100ml를 만들었다. 이 용액을 병에 넣고 20℃에서 30분간 가열하여 멸균시켰다.

[0392] <제제예 2. 식품 제조>

[0393] 제제예 2-1. 조리용 양념의 제조

본 발명의 화합물 3m을 0.2~10.0 중량%로 하여 건강 증진용 조리용 양념을 제조하였다.

[0395] 제제예 2-2. 밀가루 식품의 제조

본 발명의 화합물 3m을 0.1~5.0 중량%로 하여 밀가루에 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강 증진용 식품을 제조하였다.

[0397] 제제예 2-3. 스프 및 육즙(gravies)의 제조

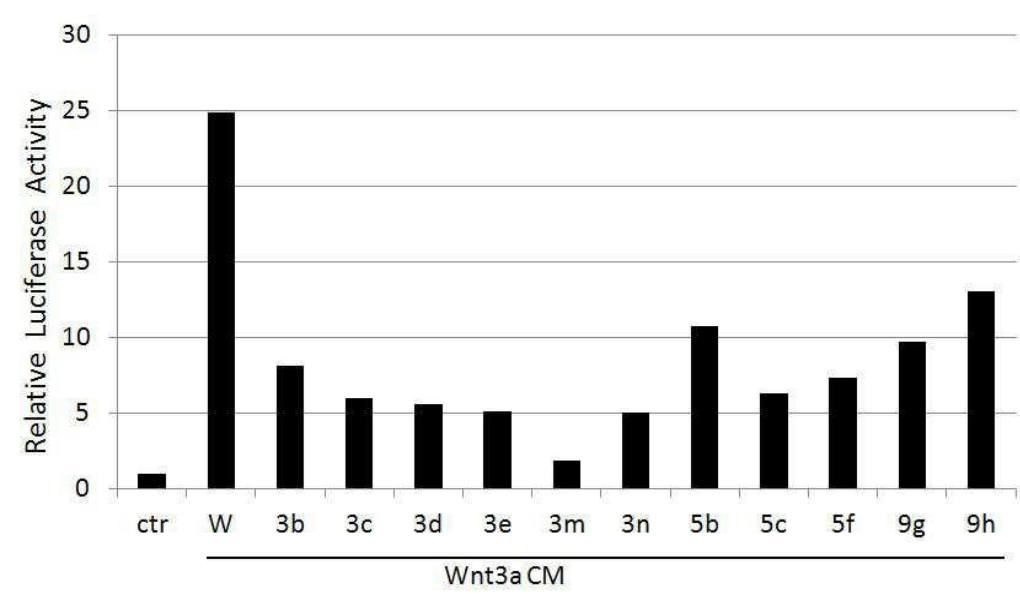
본 발명의 화합물 3m을 0.1~1.0 중량%로 하여 스프 및 육즙에 첨가하여 건강 증진용 육가공 제품, 면류의 수프 및 육즙을 제조하였다.

[0399] 제제예 2-4. 유제품(dairy products)의 제조

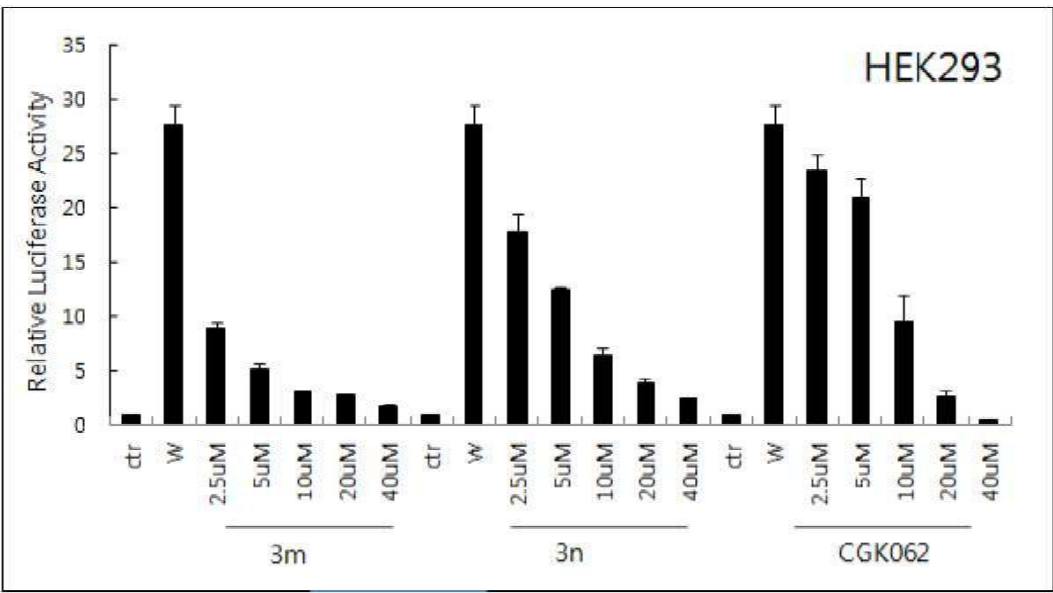
본 발명의 화합물 3m을 0.1~1.0 중량%로 하여 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.

도면

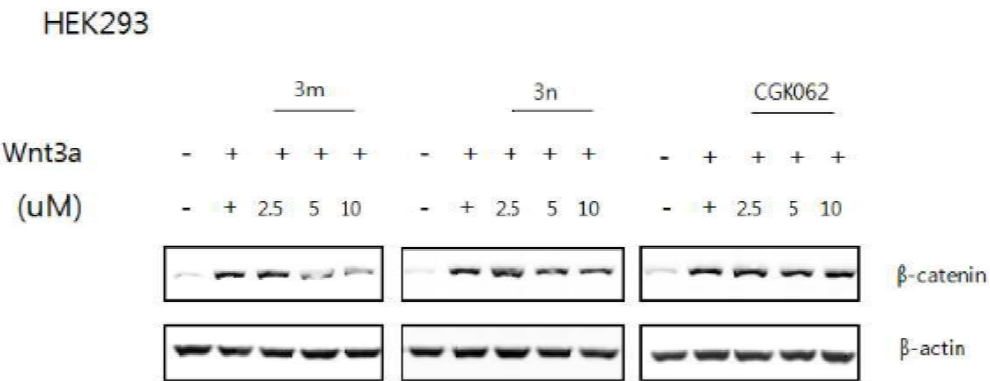
도면1



도면2



도면3



도면4

