



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0100598
(43) 공개일자 2021년08월17일

- | | |
|---|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 307/80 (2006.01) A61K 31/352 (2006.01)
A61K 31/381 (2006.01) C07D 311/16 (2006.01)
C07D 311/18 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
C07D 307/80 (2013.01)
A61K 31/352 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2021-7012850(분할)</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2010년04월30일
심사청구일자 없음</p> <p>(62) 원출원 특허 10-2017-7012122
원출원일자(국제) 2010년04월30일
심사청구일자 2017년05월31일</p> <p>(85) 번역문제출일자 2021년04월28일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/GB2010/000860</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2010/125350
국제공개일자 2010년11월04일</p> <p>(30) 우선권주장
61/174,884 2009년05월01일 미국(US)
0907551.6 2009년05월01일 영국(GB)</p> | <p>(71) 출원인
더 유니버시티 코트 오브 더 유니버시티 오브 던
디
영국 디디1 4에이치엔 던디, 퍼스 로드, 네더케이
트</p> <p>(72) 발명자
에버렛, 스티븐, 알버트
미국, 캘리포니아주 14958-2517, 샌프란시스코,
600 16 스트리트, 제넨테크 홀, 디파트먼트 오브
파마수티컬 케미스트리</p> <p>울하크, 사르지
영국, 던디 디디5 4에이치에이, 모니퍼스, 33 콜
린 길슨 드라이브</p> <p>(74) 대리인
특허법인한얼</p> |
|---|---|

전체 청구항 수 : 총 49 항

(54) 발명의 명칭 증식성 상태의 치료 또는 예방

(57) 요약

본 발명은 예를 들면 시토크롬 P450 1B1(CYP1B1) 및 그의 대립 변이체를 발현시키는 세포를 특징으로 하는 암 및 기타의 증식성 상태의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 신규한 화합물에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 예를 들면 암 또는 기타의 증식성 상태의 치료 또는 예방에서의 의학적 요법에 사용하기 위한 화합물 1종 이상을 포함하는 약학적 조성물, 사람 또는 비-사람 동물 환자에서의 암 또는 기타의 상태를 치료하기 위한 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 예를 들면 CYP1B1 및 그의 대립 변이체를 발현시키는 세포를 특징으로 하는 암 및 기타의 증식성 상태의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 신규한 화합물을 확인하는 방법에 관한 것이다. 마지막으로, 본 발명은 암을 치료하는데 있어서 본 발명의 화합물의 효능을 측정하는 방법에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

A61K 31/381 (2013.01)

C07D 311/16 (2013.01)

C07D 311/18 (2013.01)

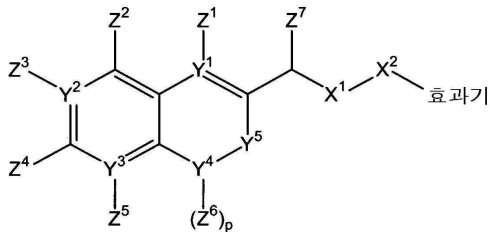
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 I의 화합물 또는 그의 약학적 허용 가능한 염, 에스테르, 아마이드 또는 용매화물:

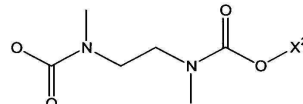
<화학식 I>



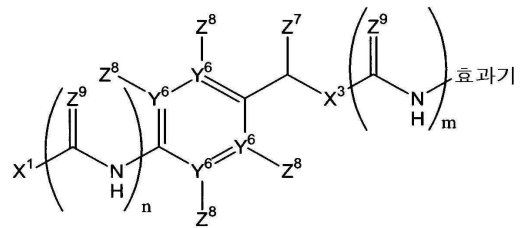
상기 화학식에서,

X^1 은, $-X^1-X^2$, $-O-X^2$, $-S-X^2$, $-SO_2-O-X^2$, $-SO_2NZ^{10}-X^2$, 공액 알켄메틸옥시 또는 공액 알켄메틸티오, 공액 알켄메

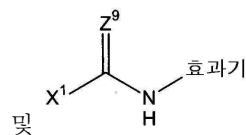
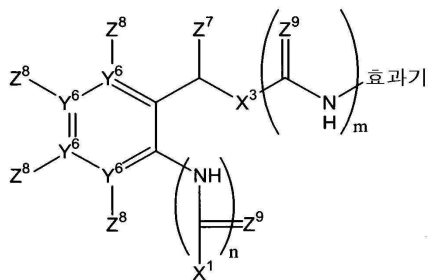
틸 SO_2-O , 공액 알켄메틸- SO_2NZ^{10} 또는 화학식



이 되도록 하는 것이며;



$-X^2$ 는 존재하지 않거나 또는 X^1-X^2 -효과기가



중 하나가 되도록 하는 것이며;

각각의 n 및 m은 독립적으로 0 또는 1이고;

p는 0, 1 또는 2이고;

X^3 은 산소 또는 황이고, 추가로 m이 0인 경우, SO_2-O , SO_2NZ^{10} , 공액 알켄메틸옥시, 공액 알켄메틸티오, 공액 알켄메틸- SO_2-O 또는 공액 알켄메틸- SO_2NZ^{10} 이 될 수 있으며;

각각의 Y^1 , Y^2 및 Y^3 은 독립적으로 탄소 또는 질소이며, 여기서 Y^1 이 질소인 경우 Z^1 은 존재하지 않으며, Y^2 가 질소인 경우 Z^2 은 존재하지 않으며, Y^3 이 질소인 경우 Z^3 은 존재하지 않으며;

Y^4 는 산소, 탄소 또는 질소 원자, 설포시드 또는 설폰이며;

$-Y^5-$ 는 (i) 단일 결합, (ii) $=CH-$ (여기서 $=CH-$ 에서의 이중 결합 =는 Y^4 에 결합되어 있음) 또는 (iii) $-CH_2-$ 또

는 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 이거나 또는, (ii)에서의 수소 원자 또는 (iii)에서의 1개 이상의 수소 원자가 치환기 Z^{11} 로 치환된 (ii) 내지 (iii) 중 하나이며, 여기서 Z^{11} 은 독립적으로 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 아르알킬, 알킬옥시, 알케닐옥시, 알키닐옥시, 아릴옥시, 아르알킬옥시, 알킬티옥시, 알케닐티옥시, 알키닐티옥시, 아릴티옥시, 아르알킬티옥시, 아미노, 히드록시, 티오, 할로, 카르복시, 포르밀, 니트로 및 시아노로부터 선택되며;

각각의 Z^1-Z^4 는 존재할 경우 독립적으로 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 아르알킬, 알킬옥시, 알케닐옥시, 알키닐옥시, 아릴옥시, 아르알킬옥시, 알킬티옥시, 알케닐티옥시, 알키닐티옥시, 아릴티옥시, 아르알킬티옥시, 아미노, 히드록시, 티오, 할로, 카르복시, 포르밀, 니트로 및 시아노로부터 선택되며;

Z^5 는 존재할 경우 독립적으로 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 아르알킬, 알킬옥시, 알케닐옥시, 알키닐옥시, 아릴옥시, 아르알킬옥시, 알킬티옥시, 알케닐티옥시, 알키닐티옥시, 아릴티옥시, 아르알킬티옥시, 아미노, 히드록시, 티오, 카르복시, 포르밀, 니트로 및 시아노로부터 선택되거나 또는, Z^2 와 Z^3 , Z^3 과 Z^4 및 Z^4 와 Z^5 중 하나는 이들이 결합된 원자와 함께 화합물의 나머지 부분에 융합된 방향족 고리를 형성하지만, 단 Z^1 , Z^2 및 Z^4 중 1개 이상은 수소이고;

Z^6 은 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴 및 아르알킬로부터 선택되며;

Y^6 중 어느 것도 질소 원자가 아닐 수 있거나 또는 Y^6 중 1개 또는 2개는 질소 원자일 수 있으며, 나머지는 탄소 원자이며;

각각의 Z^7 은 독립적으로 수소, 알킬 또는 아릴이고;

각각의 Z^8 은 독립적으로 수소, 전자 유인기, 비치환 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬, 치환된 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬, 비치환 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알콕시, 및 치환된 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알콕시로부터 선택되며 여기서 치환된 알킬 또는 알콕시는 에테르, 아미노, 단일- 또는 이중-치환된 아미노, 고리형 $\text{C}_1\text{-C}_5$ 알킬아미노, 이미다졸릴, $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬피페라지닐, 모르폴리노, 티올, 티오에테르, 테트라졸, 카르복실산, 에스테르, 아미도, 단일- 또는 이중-치환된 아미도, N-결합된 아미드, N-결합된 설폰아미드, 설포시, 설포네이트, 설포닐, 설포시, 설포네이트, 설포닐, 포스포노옥시, 포스페이트 및 설폰아미드로부터 선택된 1 또는 2개의 기로 치환되며;

각각의 Z^9 은 독립적으로 산소 또는 황이고;

Z^{10} 은 수소 또는 알킬, 예를 들면 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 알킬이고;

효과기는 약리적 또는 진단적 작용을 갖는 분자이다.

청구항 2

제1항에 있어서, Z^7 또는 각각의 Z^7 은 수소인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, X^1 은 산소인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, Y^1 은 탄소인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 5

제4항에 있어서, Z^1 은 알콕시 또는 아미노인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 6

제4항에 있어서, Z^1 은 수소인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, Z^2 및/또는 Z^4 는 수소인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, Y^4 는 질소, 산소 또는 황인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 9

제8항에 있어서, Y^4 는 산소 또는 황이고, p는 0인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 10

제9항에 있어서, Y^4 는 산소인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, $-Y^5$ -는 단일 결합인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, Y^2 및 Y^3 은 각각 탄소인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 13

제12항에 있어서, Z^3 및 Z^5 는 각각 알콕시 또는 아미노인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 14

제12항에 있어서, Z^3 및 Z^5 는 각각 C_1-C_6 알콕시인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 15

제12항에 있어서, Z^3 및 Z^5 는 각각 메톡시인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 16

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, Z^3 은 수소 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 아르알킬, 알킬옥시, 알케닐옥시, 알키닐옥시, 아릴옥시, 아르알킬옥시, 알킬티옥시, 알케닐티옥시, 알키닐티옥시, 아릴티옥시, 아르알킬티옥시, 아미노, 히드록시, 티오, 카르복시, 포르밀, 니트로 및 시아노로부터 선택된 화합물 또는 그의 약학적

으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, X^1 은, $-X^1-X^2$ 가 $-O-X^2$, $-S-X^2$, $-SO_2-OX^2$ 또는 $-SO_2NZ^{10}-X^2$ 가 되도록 하는 것인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 18

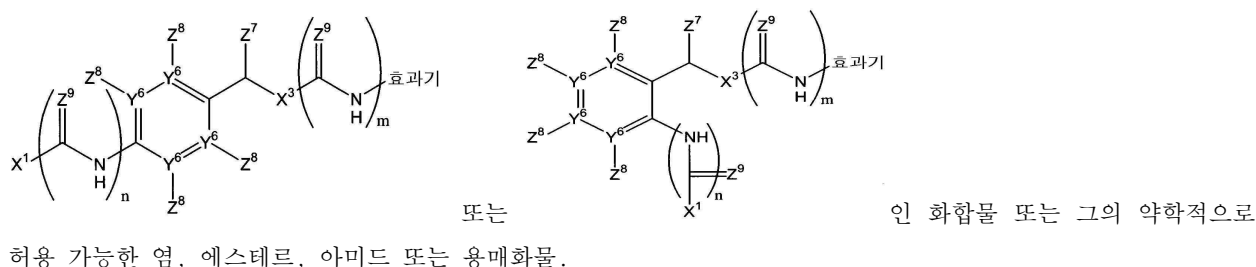
제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, X^1 은 $-X^1-X^2$ 가 $-O-X^2$ 가 되도록 하는 것인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, X^2 가 존재하는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 20

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, X^2 는 존재하지 않거나 또는 X^1-X^2 -효과기는



청구항 21

제19항 또는 제20항에 있어서, n 및 m 중 하나는 0이거나 또는 n 및 m 모두는 0인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 22

제19항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, Z^9 또는 각각의 Z^9 은 산소인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 23

제19항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, Y^6 어느 것도 질소가 아니거나 또는 Y^6 중 하나는 질소인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 24

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, X^2 가 존재하지 않는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 25

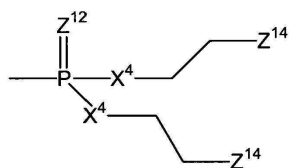
제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 효과기가 세포독성제 또는 세포증식억제제인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 26

제25항에 있어서, 효과기가 산소 또는 황 원자를 통하여 화합물의 나머지 부분에 결합되며, 효과기는 하기 화학

식 II를 갖는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물:

<화학식 II>



(상기 화학식에서, Z^{12} 는 산소 또는 황이고; 각각의 X^4 는 독립적으로 산소, 황 또는 NZ^{13} 이며, 여기서 각각의 $-Z^{13}$ 은 독립적으로 $-(CH_2)_2-Z^{14}$, -알킬 또는 -수소이고; 각각의 Z^{14} 는 독립적으로 클로로, 브로모, 요오도 또는 메실레이트임).

청구항 27

제26항에 있어서, Z^{12} 는 산소인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 28

제26항 또는 제27항에 있어서, 각각의 X^4 는 NZ^{13} 인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 29

제28항에 있어서, 각각의 Z^{13} 은 수소인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 30

제26항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Z^{14} 는 브로모 또는 클로로인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 31

제30항에 있어서, 각각의 Z^{14} 는 브로모인 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 의한 화합물 또는 약학적 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물과 함께 약학적 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물.

청구항 33

의약에 사용하기 위한 제 1항 내지 제 31항 중 어느 한 항의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 34

방법 또는 증식성 상태의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 제1항 내지 제31항 중 어느 한 항의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 증식성 상태가 전암성 또는 악성 세포성 증식, 암, 백혈병, 건선, 골 질환, 섬유증성 질환 또는 죽상경화증인 방법 또는 증식성 상태의 치료 또는 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에

스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 36

제35항에 있어서, 상기 증식성 상태가 방광, 뇌, 유방, 결장, 두경부, 신장, 폐, 간, 난소, 전립선 및 피부 암 으로부터 선택된 예방에 사용하기 위한 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물.

청구항 37

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 의한 화합물 또는 약학적 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물 의 치료적 또는 예방적으로 유효한 양을 증식성 상태의 치료 또는 예방을 필요로 하는 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 증식성 상태의 치료 또는 예방 방법.

청구항 38

방법 또는 증식성 상태의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 약제의 제조를 위한 제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 의한 화합물 또는 약학적 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물의 용도.

청구항 39

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 효과기가 진단 작용을 갖는 분자인 화합물.

청구항 40

제39항에 있어서, 상기 효과기가 형광단인 화합물.

청구항 41

제40항에 있어서, 상기 형광단이 쿠마린, 레소루핀, 플루오레세인 및 로다민으로 구성된 군으로부터 선택된 화 합물.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 형광단이 쿠마린인 화합물.

청구항 43

시토크롬 P450효소에 의하여 특이적으로 활성화된 화합물의 확인 방법으로서, 하기 단계를 포함하는 방법:

(a) 제40항의 화합물 세트를 상기 시토크롬 P450 효소와 접촉시키고, 상기 접촉에 의하여 상기 세트중 1종 이상 의 화합물로부터 상기 형광단을 방출하는지의 여부를 결정하는 단계,

(b) 상기 화합물 세트를 대조군 조직, 조직 또는 세포 추출물, 또는 효소와 접촉시키고, 상기 접촉에 의하여 상 기 세트의 1종 이상의 화합물로부터 상기 형광단을 방출하는지의 여부를 결정하는 단계; 및

(c) 단계 (a)에서의 상기 형광단을 방출하기는 하나, 단계 (b)에서는 방출하지 않거나 또는 훨씬 더 적은 정도 로만 방출하는 상기 화합물 세트에서의 임의의 화합물로서 상기 시토크롬 P450에 의하여 특이적으로 활성화된 상기 화합물을 확인하는 단계.

청구항 44

제43항에 있어서, 상기 P450 효소에 의하여 특이적으로 활성화된 상기 화합물이 단계 (b)에 비하여 단계 (a)에 서 상기 형광단 10배 이상으로 더 방출되는 방법.

청구항 45

제43항 또는 제44항에 있어서, 상기 화합물 세트가 10종 이상의 상이한 화합물을 포함하는 방법.

청구항 46

제43항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물 세트가 20종 이상의 상이한 화합물을 포함하는 방법.

청구항 47

제43항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 하기 단계를 더 포함하는 방법:

(d) 형광단어, 상기 시토크롬 P450 효소의 활성 부위에 결합시키기 위한 약리 작용을 갖는 분자로 교체된 것을 제외하고, 단계 (c)에서 확인한 것과 구조가 동일한 화합물을 모델링하는 단계; 및

(e) 상기 시토크롬 P450 효소에 대한 기질인 것으로 예상되는 단계 (d)에서 모델링된 화합물을 합성하는 단계.

청구항 48

제43항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 시토크롬 P450 효소가 CYP1B1, CYP2S1, CYP2W1, CYP4Z1 및 그의 대립 변이체로 구성된 군으로부터 선택된 방법.

청구항 49

효과기가 약리학적 작용을 갖는 분자인 제1항의 화합물이 암 치료에서 효과적이지의 여부를 결정하는 방법으로, 상기 방법은 암을 가진 동물에게 상기 화합물을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 상기 암은 시토크롬 P450 효소를 구성적으로 발현시키도록 변형된 제조합 세포, 종양 또는 암으로부터 직접 취한 조직, 또는 발원되는 종양 또는 암과 유사한 레벨로 상기 시토크롬 P450 효소를 발현시키는 종양 또는 암으로부터 직접 취한 조직에서 유래하는 조기 계대 세포주로부터의 세포의 이식으로 생긴 것인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 예를 들면 시토크롬 P450 1B1(CYP1B1) 및 그의 대립 변이체를 발현시키는 세포를 특징으로 하는 암 및 기타의 증식성 상태의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 신규한 화합물에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 의약 요법, 예를 들면 암 또는 기타의 증식성 상태의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 1종 이상의 화합물을 포함하는 약학적 조성물뿐 아니라, 사람 또는 비-사람 동물 환자에서의 암 또는 기타의 상태를 치료하는 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 예를 들면 CYP1B1 및 그의 대립 변이체를 발현시키는 세포를 특징으로 하는 암 및 기타의 증식성 상태의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 신규한 화합물을 확인하는 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 암을 치료하는데 있어서 본 발명의 화합물의 효능을 측정하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

CYP1B1은 또한 문헌[Sutter et al., *J. Biol. Chem.*, May 6; 269(18):13092-9, 1994]에 기재된 바와 같이 CYP1A1 및 CYP1A2를 포함하는 다이옥신-유발성 CYP1 유전자 가족의 한 구성원이다. CYP1B1은 스테로이드, 외인성 물질, 약물 및/또는 전구약물을 비롯한 다양한 물질의 대사 및 활성화가 가능한 헴(heme)-티올레이트 모노-옥시게나제 효소이다. CYP1B1 단백질은 상이한 히스토젠 유형의 다양한 원발성 및 전이성 사람 암에서의 높은 빈도수로 발현되며, 정상의 조직에서는 발현되지 않거나 또는 무시할 정도로 발현된다. 문헌[McFadyen MC, Melvin WT and Murray GI, "Cytochrome P450 Enzymes: Novel Options for Cancer Therapeutics", *Mol Cancer Ther.*, 3(3): 363-71, 2004; McFadyen MC and Murray GI, "Cytochrome P450 1B1: a Novel Anticancer Therapeutic Target", *Future Oncol.*, 1(2): 259-63, 2005; Sissung TM, Price DK, Sparreboom A and Figg WD, "Pharmacogenetics and Regulation of Human Cytochrome P450 1B1: Implications in Hormone-Mediated Tumor Metabolism and a Novel Target for Therapeutic Intervention", *Mol. Cancer Res.*, 4(3): 135-50, 2006]을 참조한다.

[0003]

보다 구체적으로는, CYP1B1은 해당 정상의 조직에서는 발현되지 않지만 방광, 뇌, 유방, 결장, 두경부, 신장, 폐, 간, 난소, 전립선 및 피부 암에서는 발현되는 것으로 밝혀졌다. 예를 들면, 문헌[Barnett, et al., *Clin. Cancer Res.*, 13(12): 3559-67, 2007]에는 CYP1B1이 영향을 받지 않는 뇌 조직에서가 아니라 아교모세포종, 역형성별세포종, 췌장교세포종 및 역형성 췌장교세포종을 비롯한 아교세포 종양에서 과발현되는 것으로 보고되어 있으며, 문헌[Carnell, et al., *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 58(2): 500-9, 2004]에는 CYP1B1이 부합된 정상의 전립선 조직에서가 아니라 전립선 전암종에서 과발현되는 것으로 보고되었으며, 문헌[Carnell, et al., 2004 (상동)]에는 또한 방광 암종의 (n=22, 100%)에서 발현되는 것으로 밝혀졌으며; 문헌[Downie, et al., *Clin. Cancer Res.*, 11(20): 7369-75, 2005] 및 [McFadyen, et al., *Br. J. Cancer*, 85(2): 242-6,

2001]에는 정상의 난소 조직에서가 아니라 원발성 및 전이성 난소 암에서 CYP1B1의 발현이 증가된 것으로 보고되어 있으며; 문헌[Gibson, et al., *Mol. Cancer Ther.*, 2(6): 527-34, 2003] 및 [Kumarakulasingham, et al., *Clin. Cancer Res.*, 11(10): 3758-65, 2005]에는 CYP1B1이 부합된 정상의 조직에 비하여 결장 선암종에서 과발현되는 것으로 보고되었다.

[0004] 여러 연구에서는 CYP1B1이 부합된 정상의 조직에 비하여 유방 암에서 과발현되는 것으로 밝혀졌다. 문헌[Murray GI, Taylor MC, McFadyen MC, McKay JA, Greenlee WF, Burke MD and Melvin WT, "Tumor-Specific Expression of Cytochrome P450 CYP1B1", *Cancer Res.*, 57(14): 3026-31, 1997; Haas S, Pierl C, Harth V, Pesch B, Rabstein S, Bruning T, Ko Y, Hamann U, Justenhoven C, Brauch H and Fischer HP, "Expression of Xenobiotic and Steroid Hormone Metabolizing Enzymes in Human Breast Carcinomas", *Int. J. Cancer*, 119(8): 1785-91, 2006; McKay JA, Murray GI, Ah-See AK, Greenlee WF, Marcus CB, Burke MD and Melvin WT, "Differential Expression of CYP1A1 and CYP1B1 in Human Breast Carcinomas", *Biochem. Soc. Trans.*, 24(2): 327S, 1996].

[0005] 문헌[Everett, et al., *J. Clin. Oncology*, 25: 18S, 2007]에는 CYP1B1이 정상의 피부에서가 아니라 악성 흑색 종 및 파종성 질환에서 과발현되는 것으로 보고되었다. 문헌[Chang, et al., *Toxicol. Sci.*, 71(1): 11-9, 2003]에는 CYP1B1 단백질이 정상의 간에는 존재하지 않는 것으로 보고되었으나, 문헌[Everett, et al., 2007 (상동)]에는 이웃하는 정상의 간 조직에서가 아니라 간에 대한 흑색종 단계 IV 전이에서의 CYP1B1 과발현을 확인하였다.

[0006] 문헌[Greer, et al., *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 45: 3701, 2004]에는 CYP1B1이 정상의 상피에서가 아니라 두경부 편평 세포 암종의 악성 진행중에 과발현되는 것으로 보고되어 있다.

[0007] 문헌[McFadyen, et al., *Br. J. Cancer*, 91(5): 966-71, 2004]에서는 해당 정상의 조직에서가 아니라, 신장 암 종에서 CYP1B1을 검출하였다.

[0008] 문헌[Murray, et al., 2004 (상동)]에서는 정상의 폐 조직에 비하여 폐암 세포에서 CYP1B1의 과발현을 나타내기 위하여 면역조직화학을 사용하였다. 문헌[Su, et al., *Anticancer Res.*, 2, 509-15, 2009]에서는 질환의 초기 단계에 비하여 진행된 단계 IV 비-소세포 폐암에서 CYP1B1의 과발현을 나타내기 위하여 면역조직화학을 사용하였다.

[0009] CYP1B1 발현은 다양한 상이한 암 및 기타의 증식성 상태의 특징이며, CYP1B1 발현은 이와 같은 다양한 암 및 기타의 상태를 정의하는데 사용될 수 있다는 것은 상기 인용한 다양한 개시내용으로부터 명백하다. 정상의 (암이 아닌) 세포는 상당한 수준의 CYP1B1을 발현시키지 않으므로, CYP1B1을 발현시키는 세포에서 세포독성을 나타내지만 정상의 세포에서는 실질적으로 비-세포독성인 화합물이 CYP1B1 발현을 특징으로 하는 암에서 표적화 항암제로서의 유용성을 가질 것으로 타당하게 예상할 수 있다. "표적화"는 이러한 화합물이 전신에 전달될 수 있으며, CYP1B1을 발현시키는 암 세포의 존재하에서만 활성화되어 신체의 나머지는 실질적으로 비독성이 되는 것을 의미한다.

[0010] 게다가, 다수의 시토크롬 P450 효소는 다양한 항암 약물을 대사 및 해독시키는 것으로 알려져 있다. 문헌[McFadyen, et al., *Biochem Pharmacol.* 2001, Jul. 15; 62(2): 207-12]에는 비-CYP1B1 발현 세포에 비하여 CYP1B1을 발현시키는 세포에서 도세탁셀의 민감도가 크게 감소된 것으로 입증되었다. 이러한 발견은 세포에서의 CYP1B1의 존재가 일부 세포독성 약물의 민감도를 감소시킬 수 있다는 것을 나타낸다. 그러므로, CYP1B1-활성화된 전구약물은 약물 내성이 CYP1B1에 의하여 매개되는 암의 치료에 유용할 것이다.

[0011] 게다가, CYP1B1 유전자는 암에서 다형성이 크며, CYP1B1 유전자내에 포함된 여러가지 단일 뉴클레오타이드 다형체는 인코딩된 단백질의 발현 및/또는 활성을 변경시키는 것으로 확인되었다. 물론, CYP1B1*3(4326C>G; L432V) 대립유전자는 문헌[Sissung, et al., *Mol Cancer Ther.*, 7(1): 19-26, 2008] 및 여기에 인용된 참고 문헌에 기재된 바와 같이 여러 기질에 대하여 CYP1B1의 증가된 발현 및 효소 역학 모두를 특징으로 한다. 이러한 발견은 CYP1B1뿐 아니라, 효소의 대립 변이체는 전구약물 활성화 및 암 표적화에 기여할 수 있다는 것을 나타낸다.

[0012] 전구약물은 효능의 손실 없이 약물의 원치않는 독성 또는 일부 기타 부정적인 속성을 감소시키는 수단으로서 조사되었다. 전구약물은 화학적으로 변형되어 불활성이 되도록 하지만, 투여후에는 신체내에서 약물의 활성 형태로 대사 또는 전환되는 약물이다. 정상의 조직에 비하여 원발성 종양 및 전이성 질환에서의 CYP1B1의 과발현은 문헌[McFadyen et al., *Mol Cancer Ther.*, 3(3), 363-71, 2004]에서 보고한 바와 같이 표적화된 암 요법에 대한 CYP1B1-활성화된 전구약물의 개발에 대한 무한한 기회를 제공한다. 사실상, 표적화된 암 요법에 대한

CYP1B1-활성화된 전구약물의 발견 및 개발은 문헌[Patterson LH and Murray GI, *Curr Pharm Des.*, 8(15): 1335-47, 2002]에서 보고된 바와 같이 정상의 조직에서 발현된 시토크롬 P450에 의하여 활성화되는 전구약물 알킬화제 시클로포스파미드, 이포스파미드, 다카르바진, 프로카르바진과 같이 임상적으로 사용되는 기존의 비-표적화된 시토크롬 P450-활성화된 전구약물에 비하여 상당한 약리학적 잇점을 제공할 것이다.

[0013] 사람 시토크롬 P450 가계는, 57종의 활성 동종효소를 포함하며, 이는 정상의 대사에 작용하며, 약물의 약물동력학에 영향을 미치며, 약물-약물 상호작용을 통하여 환자에게서 부정적인 결과를 초래한다. 시토크롬 P450 동종효소는 문헌[Ortiz de Montellano, PR (ed.) *Cytochrome P450 : structure, mechanism and biochemistry*, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 2005]에 기재된 바와 같이 사람에게서 공지된 약물의 약 2/3을 대사시키며, 이의 80%는 5종의 동종효소, 이른바 CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 및 CYP3A4에 기인할 수 있다.

[0014] 유전자 중에서는 사람 게놈 프로젝트에서의 개시에 의하여 CYP2R1, CYP2W1, CYP2S1, CYP2S1, CYP2U1이 발견되었으나, 유전자의 작용, 다형태 및 조절은 문헌[Ingelman-Sundberg, M., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 207, 52-6, 2005]에 의하여 보고된 바와 같이 완전하게 규명하고자 한다. CYP1B1 이외에, 다수의 이들 시토크롬 P450 옥시도리덕타제는 간외이며, 암에서 과발현된다. CYP1B1, CYP2A/2B, CYP2F1, CYP2R1, CYP2U1, CYP3A5, CYP3A7, CYP4Z1, CYP26A1 및 CYP 51을 비롯한 여러가지 시토크롬 P450은 문헌[Downie et al., *Clin. Cancer Res.*, 11(20): 7369-75, 2005]에 기재된 바와 같이 면역조직화 및 광학 현미경에 의하여 결정된 바와 같이 정상의 난소에서보다 훨씬 더 높은 레벨의 강도에서 존재한다. 게다가, 원발성 직장결장 암에서의 검출의 유사한 방법을 사용하면, CYP1B1, CYP2S1, CYP2U1, CYP3A5 및 CYP51을 비롯한 여러가지 시토크롬 P450은 종종 문헌[Kumarakulasingham et al., *Clin. Cancer Res.*, 11(10): 3758-65, 2005]에 기재한 바와 같이 정상의 결장에 비하여 과발현된다. 동일한 연구에서, CYP1B1, CYP2A/2B, CYP2F1, CYP4V2 및 CYP39를 비롯한 여러가지 시토크롬 P450은 원발성 종양에서의 이의 존재와 상관관계를 갖는다. 또한, CYP2W1은 문헌[Elder et al., *Eur. J. Cancer*, 45(4): 705-12]에 의한 직장결장 암에서 과발현되는 것으로 밝혀졌다. CYP4Z1은 유방 암종에서 과발현되며, 문헌[Reiger et al., *Cancer Res.*, 64(7): 2357-64, 2004] 및 [Bankovic et al., *Lung Cancer*, 67(2): 151-9, 2010] 각각에 기재된 바와 같이 비-소세포 폐암 촉진 및 진행과 관련된 유전자이다.

[0015] 당업계에서의 주요한 도전은 문헌[Strak K and Guengerich FP, *Drug Metab. Rev.*, 39(2-3): 627-37, 2007]에서 보고된 바와 같이 미지의 기질 특수성을 갖는 이른바 '희귀' 상태의 사람 시토크롬 P450의 작용의 규명이다. 다수의 기질이 CYP1B1에 대하여 공지되어 있으며, 이중 일부는 문헌[Chang TK and Waxman DJ, *Method Mol. Biol.*, 320, 85-90, 2006]에 기재된 바와 같이 CYP1A1, CYP1A2 및 CYP1B1을 비롯한 CYP1 가계의 모든 구성원에 의하여 활성화될 때 효소에 의하여 구체적으로 대사되며, 예를 들면 7-에톡시레스루핀은 산화성 탈에틸화를 겪게 된다. 다수의 형광원(fluorogenic) 및 발광원 프로브 기질은 높은 민감도를 갖는 시토크롬 P450 활성을 평가하는데 이용할 수 있으나, 이들은 넓은 특이성을 나타내며, 그래서 CYP1, CYP2 및 CYP3 가계에서 다양한 시토크롬 P450 효소에 의하여 대사된다. 예를 들면, 문헌[Cali et al., *Expert Opin. Drug Toxicol.*, 2(4): 62-45, 2006]에는 P450-G10로 지칭되는 기법에서 개통벌레 루피퍼라제 발광에 결합되는 발광원 기질의 사용이 기재되어 있다. 또다른 예는 문헌[Waxman DJ and Change TKH, "The use of 7-ethoxycoumarin to monitor multiple enzymes in the human CYP1, CYP2, CYP3 families", *Methods in Molecular Biology*, vol. 320, Cytochrome P450 Protocols, Second Edition, edited by Phillips IR and Shephard, EA, 2006]에 기재된 바와 같이 형광성이 큰 음이온을 방출하는 시토크롬 P450-촉매화된 7-에톡시쿠마린 0-탈에틸화를 겪게 되는 7-에톡시쿠마린이다.

[0016] 문헌[Everett et al., *Biochem. Pharmacol.*, 63, 1629-39, 2002]에는 7-히드록시-4-메틸쿠마린 음이온을 방출하기 위하여 무산소증에서 시토크롬 P450 리덕타제(시토크롬 P450과 혼동하지 않는다)에 의한 모델 인돌리퀴논 전구약물의 환원성 단편화가 기재되어 있다. 모델 전구약물은 사전 선택된 방출 파장에서 비-형광이며, 환원성 단편화는 역학적 분광형광을 사용하여 쿠마린 음이온($\lambda_{ex}=380\text{ nm}/\lambda_{em}=450\text{ nm}$)의 생성을 모니터링하여 정확하게 측정할 수 있다.

[0017] 제한된 수의 화합물(통상적으로 <100) 및 시토크롬 P450 동종효소 사이의 상호작용이 기재되어 있기는 하나, 이와 같은 연구로부터의 결과가 문헌[Rendic, S. "Summary of information on human CYP enzymes: human P450 metabolism data", *Drug Metab. Rev.*, 34, 83-448, 2002]에 기재된 바와 같이 기법, 분석 조건 및 데이터 분석 방법의 차이점으로 인하여 비교가 곤란하다. 다수의 계산 전략은 예상 시토크롬 P450 동종효소 기질 활성 모델을 생성하도록 개선되었으나, 이는 문헌[Veith et al., *Nature Biotechnology*, 27, 1050-55, 2009]에 기재된

바와 같이 시토크롬 P450 동종효소 활성의 단일의 커다란 다양한 데이터 세트의 결여로 인하여 제한된다. 저자는 정상의 조직, 주로 간에서 발현되고 그리고 약물의 이른바 단계 1 대사에 관여하는 5종의 시토크롬 P450 동종효소(CYP1A2, 2C9, 2C19, 2D6 및 3A4)에 대한 17,143 화학적 화합물을 스크리닝하기 위하여 생체발광 효소 기질 억제 분석으로 정량적 고-처리량 스크리닝(HTS)을 사용하여 시토크롬 P450 생체활성 데이터베이스의 구조를 설명하였다. 데이터베이스는 초기 단계 약물 발견 노력을 돕기 위하여 시토크롬 P450 활성에 대한 새로운 예측 모델을 구성 및 테스트하는 것을 돕는다고 결론지었다.

[0018] 문헌[Jensen et al., *J. Med. Chem.*, 50, 501-11, 2007]에는 연장된 연결성 지문에 대한 타니모토 유사성 조사에 기초한 신규한 가우스 커널 가중치 k-최근린 보간법(k-NN) 알고리즘에 기초한 CYP2D6 및 CYP3A4 억제제의 인실리코(in silico) 예측에 대한 방법이 기재되어 있다. 데이터 세트는 사람 간 미세소체에서 CYP2D6 및 CYP3A4 억제에 대하여 테스트한 1153 및 1182 약물 후보의 모델링을 포함한다. CYP2D6의 경우, 분류된 테스트 화합물의 82%는 정확한 부류로 예측되며, CYP3A4는 분류된 테스트 화합물의 88%가 정확하게 분류되었다.

[0019] 이론적으로는, 시토크롬 P450 HTS를 사용하여 종양 및 정상의 조직 시토크롬 P450에 대한 커다란 생체활성 데이터를 구축한 후, 선택적 CYP1B1-활성화된 전구약물의 설계 및 합성에 대한 기초로서 기질 예측 모델을 전개시키면서 정상의 조직 시토크롬 P450에 의한 단계 1 대사와 관련된 약리학적 경향에 대하여 스크리닝할 수 있다. 그러나, 실시의 감소는 종래 기술로부터는 명백하지 않으며, 종양-발현 시토크롬 P450에 의하여 활성화될 때 활성 약물로의 전환의 기전 및 전구약물 구조에 대하여 합리적으로 설명되어야 한다.

[0020] 전구약물 설계에서 이른바 '유발기-링커-효과기' 화학의 사용은 효과기(통상적으로 활성 약물)를 방출하기 위하여 링커의 단편화를 개시하는 유발기의 활성화, 전구약물 형태로 차폐되는 생물학적 활성을 필요로 한다. 종양-발현 시토크롬 P450, 예컨대 CYP1B1

[0021] 에서 표적화된 선택적 전구약물의 모듈 설계는 (1) 선택적 유발기 부분의 확인, (2) 유발기 활성화(일반적으로 방향족 히드록실화에 의한) 이후에 효과적으로 단편화되는 생체안정성 링커의 사용 및 (3) 유발 과정의 효율을 방해하지 않는 적절한 효과기 또는 약물을 필요로 한다. CYP1B1 mRNA는 단백질이 일반적으로 검출되지 않는 모든 정상의 간의 사람 조직에서 구성 발현된다. 반대로, CYP1B1 단백질은 종양에서 높은 레벨로 발현된다. 사람으로부터 기원하는 넓은 범위의 확립 또는 무한증식된 종양 세포주(예컨대 MCF-7 유방 암 세포)는 상당한 시험관 통과는 겪지만 활성 CYP1B1 단백질을 구성 발현시키지 않는 것으로 이해된다. CYP1B1이 MCF-7 유방 종양 세포에서 구성 발현되지 않더라도, 아릴 탄화수소 작용제, 예컨대 다이옥신 TCDD를 사용한 처리에 의하여 mRNA 및 단백질 레벨 모두에서 CYP1 효소 발현을 유발할 수 있다.

[0022] W099/40944에는 담체 골격에 결합된 약물 부분을 포함하는 전구약물이 기재되어 있으며, 전구약물은, 마치 약물 부분을 방출하기 위하여 CYP1B1에 의한 히드록실화와 같이 활성화되는 것으로 기재되어 있다.

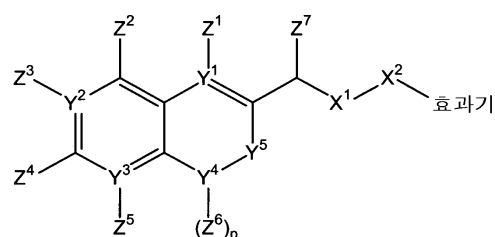
발명의 내용

해결하려는 과제

[0023] 본 출원인은 놀랍게도 본 명세서에 기재된 화합물이 W099/40944에 기재된 것보다 특정의 세포에서, 특히 히드록실화에 의하여 (예를 들어 CYP1B1-발현 세포에 의하여 실시됨) 붕괴되는 화합물의 결과로서 시토크롬 P450 1B1 (이하 CYP1B1)를 발현시키지만, 정상의 세포에서는 발현시키지 않는 세포, 특히 암 세포를 파괴한다는 것을 발견하였다.

[0024] 그러므로, 제1의 측면에 의하면, 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물 또는 그의 약학적 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물에 관한 것이다:

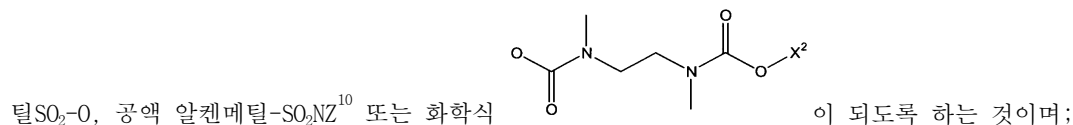
[0025] <화학식 I>



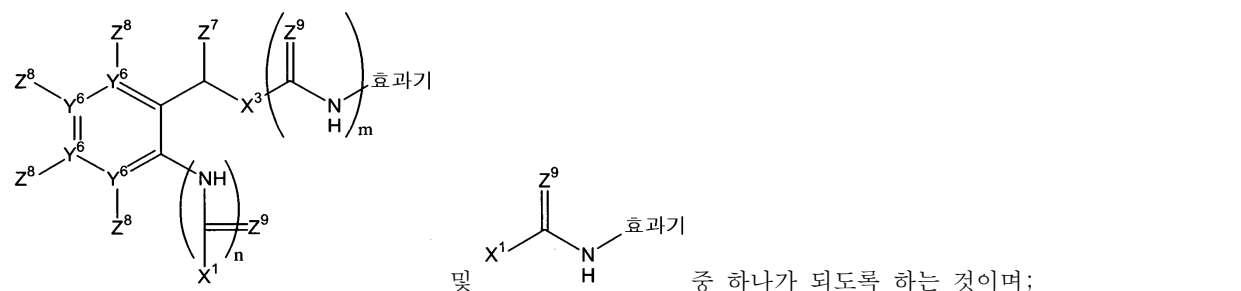
[0026]

[0027] (상기 화학식에서,

[0028] X^1 은, $-X^1-X^2$ 가 $-O-X^2$, $-S-X^2$, $-SO_2-O-X^2$, $-SO_2NZ^{10}-X^2$, 공액 알켄메틸옥시 또는 공액 알켄메틸티오, 공액 알켄메



[0029] $-X^2$ 는 존재하지 않거나 또는 X^1-X^2 -효과기가



[0030] 각각의 n 및 m은 독립적으로 0 또는 1이고;

[0031] p는 0, 1 또는 2이고;

[0032] X^3 은 산소 또는 황이고, 추가로 m이 0인 경우, SO_2-O , SO_2NZ^{10} , 공액 알켄메틸옥시, 공액 알켄메틸티오, 공액 알켄메틸- SO_2-O 또는 공액 알켄메틸- SO_2NZ^{10} 이 될 수 있으며;

[0033] 각각의 Y^1 , Y^2 및 Y^3 은 독립적으로 탄소 또는 질소이며, 여기서 Y^1 이 질소인 경우 Z^1 은 존재하지 않으며, Y^2 가 질소인 경우 Z^3 은 존재하지 않으며, Y^3 이 질소인 경우 Z^5 는 존재하지 않으며;

[0034] Y^4 는 산소, 탄소 또는 질소 원자, 설폭시드 또는 설폰이며;

[0035] $-Y^5-$ 는 (i) 단일 결합, (ii) $=CH-$ (여기서 $=CH-$ 에서의 이중 결합 $=$ 는 Y^4 에 결합되어 있음) 또는 (iii) $-CH_2-$ 또는 $-CH_2CH_2-$ 이거나 또는, (ii)에서의 수소 원자 또는 (iii)에서의 1개 이상의 수소 원자가 치환기 Z^{11} 로 치환된 (ii) 내지 (iii) 중 하나이며, 여기서 Z^{11} 은 독립적으로 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 아르알킬, 알킬옥시, 알케닐옥시, 알키닐옥시, 아릴옥시, 아르알킬옥시, 알킬티옥시, 알케닐티옥시, 알키닐티옥시, 아릴티옥시, 아르알킬티옥시, 아미노, 히드록시, 티오, 할로, 카르복시, 포르밀, 니트로 및 시아노로부터 선택되며;

[0036] 각각의 Z^1-Z^4 는 존재할 경우 독립적으로 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 아르알킬, 알킬옥시, 알케닐옥시, 알키닐옥시, 아릴옥시, 아르알킬옥시, 알킬티옥시, 알케닐티옥시, 알키닐티옥시, 아릴티옥시, 아르알킬티옥시, 아미노, 히드록시, 티오, 할로, 카르복시, 포르밀, 니트로 및 시아노로부터 선택되며;

[0037] Z^5 는 존재할 경우 독립적으로 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 아르알킬, 알킬옥시, 알케닐옥시, 알키닐옥시, 아릴옥시, 아르알킬옥시, 알킬티옥시, 알케닐티옥시, 알키닐티옥시, 아릴티옥시, 아르알킬티옥시, 아미노, 히드록시, 티오, 카르복시, 포르밀, 니트로 및 시아노로부터 선택되거나 또는, Z^2 와 Z^3 , Z^3 과 Z^4 , Z^4 와 Z^5 중 하나는 이들이 결합된 원자와 함께 화합물의 나머지 부분에 융합된 방향족 고리를 형성하지만, 단 Z^1 , Z^2

및 Z^4 중 1개 이상은 수소이고;

[0038] Z^6 은 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴 및 아르알킬로부터 선택되며;

[0039] Y^6 중 어느 것도 질소 원자가 아닐 수 있거나 또는 Y^6 중 1개 또는 2개는 질소 원자일 수 있으며, 나머지는 탄소 원자이며;

[0040] 각각의 Z^7 은 독립적으로 수소, 알킬 또는 아릴이고;

[0041] 각각의 Z^8 은 독립적으로 수소, 전자 유인기, 비치환 C_1-C_6 알킬, 치환된 C_1-C_6 알킬, 비치환 C_1-C_6 알콕시 및 치환된 C_1-C_6 알콕시로부터 선택되며, 여기서 치환된 알킬 또는 알콕시는 에테르, 아미노, 단일- 또는 이중-치환된 아미노, 고리형 C_1-C_5 알킬아미노, 이미다졸릴, C_1-C_6 알킬피페라지닐, 모르폴리노, 티올, 티오에테르, 테트라졸, 카르복실산, 에스테르, 아미도, 단일- 또는 이중-치환된 아미도, N-결합된 아미드, N-결합된 설폰아미드, 설폭시, 설포네이트, 설포닐, 설폭시, 설피네이트, 설피닐, 포스포노옥시, 포스페이트 및 설폰아미드로부터 선택된 1 또는 2개의 기로 치환되며;

[0042] 각각의 Z^9 는 독립적으로 산소 또는 황이고;

[0043] Z^{10} 은 수소 또는 알킬, 예를 들면 C_1-C_4 알킬이고;

[0044] 효과기는 약리적, 진단적 또는 스크리닝 작용을 갖는 분자임).

[0045] 제2의 측면에 의하면, 본 발명은 본 발명의 제1의 측면에 의한 화합물 또는 그의 약학적 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물과 함께 약학적 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물에 관한 것이다.

[0046] 제3의 측면에 의하면, 본 발명은 약제로서 사용하기 위한 본 발명의 제1의 측면에 의한 화합물 또는 그의 약학적 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물에 관한 것이다.

[0047] 제4의 측면에 의하면, 본 발명은 증식성 상태의 치료 또는 예방의 방법에 사용하기 위한 본 발명의 제1의 측면에 의한 화합물 또는 그의 약학적 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물에 관한 것이다.

[0048] 제5의 측면에 의하면, 본 발명은 치료적 또는 예방적으로 유용한 양의 본 발명의 제1의 측면에 의한 화합물 또는 그의 약학적 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물을 증식성 상태의 치료 또는 예방을 필요로 하는 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 증식성 상태의 치료 또는 예방 방법에 관한 것이다.

[0049] 제6의 측면에 의하면, 증식성 상태의 치료 또는 예방의 방법에 사용하기 위한 약제의 제조를 위한 본 발명의 제1의 측면에 의한 화합물 또는 그의 약학적 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 용매화물의 용도에 관한 것이다.

[0050] 제7의 측면에 의하면, 본 발명은

[0051] (a) 효과기가 형광단인 본 발명의 제1의 측면에 의한 화합물 세트를 시토크롬 P450 효소와 접촉시키고, 접촉에 의하여 상기 세트중 1종 이상의 화합물로부터 형광단을 방출하는지의 여부를 결정하는 단계,

[0052] (b) 상기 화합물 세트를 대조군 조직, 조직 또는 세포 추출물 또는 효소와 접촉시키고, 상기 접촉이 상기 세트중 1종 이상의 화합물로부터 형광단을 방출하는지의 여부를 결정하는 단계; 및

[0053] (c) 단계 (a)에서의 형광단을 방출하기는 하나, 단계 (b)에서는 방출하지 않거나 또는 훨씬 더 적은 정도로만 방출하는 화합물 세트에서의 임의의 화합물로서 시토크롬 P450에 의하여 특이적으로 활성화된 화합물을 확인하는 단계를 포함하는, 시토크롬 P450 효소에 의하여 특이적으로 활성화된 화합물의 확인 방법에 관한 것이다.

[0054] 제8의 측면에 의하면, 본 발명은 화합물을 암을 가진 동물에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 암은 시토크롬 P450 효소를 구성 발현시키도록 변형된 제조합 세포, 종양 또는 암으로부터 직접 취한 조직 또는, 발원되는 종양 또는 암과 유사한 레벨로 시토크롬 P450 효소를 발현시키는 종양 또는 암으로부터 직접 취한 조직으로부터 유래하는 조기 통과 세포주로부터의 세포의 이식으로부터 발생하는, 효과기가 약리학적 작용을 갖는 분자인 본 발명의 화합물이 암 치료에서 효과적인지의 여부를 결정하는 방법에 관한 것이다.

[0055] 본 발명의 추가의 측면 및 실시양태는 하기의 논의를 따른다.

과제의 해결 수단

[0056] 본 발명은 하기에 구체적으로 기재한 바와 같은 세포증식억제, 세포독성, 진단 또는 스크리닝 분자가 될 수 있는 이른바 효과기 분자가 반응하여 화학식 I의 화합물을 형성하여 화학적으로 변형되는 전구약물의 제공으로부터 유래한다. 본 출원인은 화학식 I의 화합물의 히드록실화, 특히 CYP1B1-유발된 히드록실화가 직접 히드록실화 또는, 에폭시드 형성을 통한 히드록실화에서 자발적으로 발생하는 화학식 I의 화합물의 붕괴에 의한 효과기 분자를 방출한다는 것을 발견하였다.

[0057] 개요에서, 화학식 I의 화합물의 구조는 3가지의 부분, 유발기 구역, 링커 및 효과기 분자를 포함하는 것으로 간주할 수 있다. 유발기는 통상적으로 CYP1B1-유발된 히드록실화에 대한 기질로서 작용하며, 일반적으로 화학식 I의 왼쪽에 도시된 이중고리 부분 및 그의 치환기를 포함하며, 즉 Y^1-Y^5 , Z^1-Z^6 을 포함하는 화합물의 부분 및 이들 부분의 일부가 결합된 나머지 탄소 원자를 포함하는 것으로 이해할 수 있다. 화합물의 유발기 구역은 $C(Z^7)-X^1-X^2$ 단위를 포함하는 연결 구역을 통하여 이와 같이 라벨링된 효과기 분자에 결합된다.

[0058] 이제, 화학식 I의 화합물의 3개의 구역-유발기, 링커 및 효과기 구역-을 설명하고자 한다.

[0059] 하기의 논의에서, 반대의 의미로 표시하지 않는 한, 하기에 제시된 의미를 갖는 것으로 이해하여야 하는 다수의 용어를 참조한다.

[0060] 알킬이라는 것은 직쇄형, 고리형 또는 분지형(반대의 의미로 표시하지 않는 한, 통상적으로 직쇄형)일 수 있는 포화된 히드رو카르빌 라디칼을 의미한다. 알킬 기가 불포화의 1개 이상의 부위를 가질 경우, 이는 탄소-탄소 이중 결합 또는 탄소-탄소 삼중 결합으로 이루어질 수 있다. 알킬 기가 탄소-탄소 이중 결합을 포함할 경우, 알케닐 기가 제공되며; 탄소-탄소 삼중 결합의 존재는 알키닐 기를 제공한다. 통상적으로 알킬, 알케닐 및 알키닐 기는 1 내지 25개의 탄소 원자, 더욱 일반적으로 1 내지 10개의 탄소 원자, 더욱 일반적으로 여전히 1 내지 6개의 탄소 원자를 포함하며, 알케닐 및 알키닐 기에서의 하한치는 2개의 탄소 원자이며, 시클로알킬 기에서는 3개의 탄소 원자인 것으로 이해될 것이다.

[0061] 알킬, 알케닐 또는 알키닐 기는 예를 들면 1회, 2회 또는 3회, 예를 들어 1회 치환될 수 있으며, 즉 알킬기의 1개 이상의 수소 원자가 명백하게 치환될 수 있다. 이러한 치환기의 예로는 할로(예를 들어 플루오로, 클로로, 브로모 및 요오도), 아릴 히드록시, 니트로, 아미노, 알콕시, 알킬티오, 카르복시, 시아노, 티오, 포르밀, 에스테르, 아실, 티오아실, 아미도, 설펜아미도, 카르바메이트 등을 들 수 있다.

[0062] 카르복시라는 것은 탈양성자화된 형태(CO_2^-)가 될 수 있는 작용기 CO_2H 를 의미한다.

[0063] 할로는 플루오로, 브로모, 클로로 또는 요오도이다.

[0064] 아실 및 티오아실은 화학식 $-C(O)-$ 알킬 또는 $-C(S)-$ 알킬 각각의 작용기를 의미하며, 여기서 알킬은 상기에서 정의한 바와 같다.

[0065] 에스테르는 부분 $-OC(=O)-$ 를 포함하는 작용기를 의미한다.

[0066] 아미도는 부분 $-N(H)C(=O)-$ 를 포함하는 작용기를 의미하며; 카르바메이트는 부분 $-N(H)C(=O)O-$ 를 포함하는 작용기를 의미하며; 설펜아미도는 부분 $-SO_2N(H)_2-$ 를 포함하는 작용기를 의미하며, 여기서 제시된 각각의 수소 원자는 (독립적으로 설펜아미도에서) 알킬 또는 아릴로 치환될 수 있다.

[0067] 알킬옥시(알콕시와 동의어) 및 알킬티오 부분은 각각 화학식 $-O-$ 알킬 및 $-S-$ 알킬이며, 여기서 알킬은 상기에서 정의한 바와 같다.

[0068] 마찬가지로, 알케닐옥시, 알키닐옥시, 알케닐티오 및 알키닐티오는 화학식 $-O$ 알케닐, $-O$ 알키닐, $-S$ 알케닐 및 S 알키닐이며, 여기서 알케닐 및 알키닐은 상기에서 정의한 바와 같다.

[0069] 아미노 기는 화학식 $-N(R)_2$ 의 기를 의미하며, 여기서 각각의 R은 독립적으로 수소, 알킬 또는 아릴, 예를 들어 불포화, 비치환 C_1-C_6 알킬, 예컨대 메틸 또는 에틸이거나 또는 질소 원자 N에 결합된 2개의 R이 결합된다. 이의 일례로는 $-R-R-$ 이 알칸으로부터 특히 말단 탄소 원자로부터 2개의 수소 원자가 제거되어 아민의 질소 원자와 함께 고리를 형성한 것으로부터 명백하게 유래하는 알킬렌 디라디칼을 형성하는 것이다. 공지된 바와 같이 고

리형 아민에서의 디라디칼은 반드시 알킬렌일 필요는 없으며; 모르폴린(여기서 -R-R-은 $-(CH_2)_2O(CH_2)_2-$ 임)은 고리형 아미노 치환기가 생성될 수 있는 일레이다.

[0070] 또한, 본 명세서에서 아미노는 이와 같은 아미노 기를 포함하는 화합물로부터 생성된 아민의 4차화 또는 양성자화된 유도체를 그의 범위내에서 포함하는 것으로 이해하여야 한다. 후자의 예는 염, 예컨대 염산염인 것으로 이해할 수 있다.

[0071] 아릴은 방향족 화합물로부터 수소 원자를 제거하여 형성된 라디칼을 의미한다.

[0072] 아릴렌 디라디칼은 방향족 부분으로부터 2개의 수소 원자를 제거하여 유래하며, 구체적으로 반대의 의미로 표시하지 않는 한, 통상적으로 단일고리, 예를 들면 페닐렌이다. 당업자에게 공지된 바와 같이, 헤테로방향족 부분은 1개 이상의 탄소 원자 및 이에 결합된 수소 원자 대신에 1개 이상의 이종원자, 통상적으로 O, N 또는 S를 포함하는 방향족 부분의 하부예이다. 대표적인 헤테로방향족 부분의 예로는 피리딘, 푸란, 피롤 및 피리미딘을 들 수 있다. 헤테로방향족 고리의 추가의 예로는 피리딜, 피리다진(여기서 2개의 질소 원자는 방향족 6-원 고리에서 이웃함); 피라진(여기서 2개의 질소는 6-원 방향족 고리에서 1,4-위치함); 피리미딘(여기서 2개의 질소 원자는 6-원 방향족 고리에서 1,3-위치함); 또는 1,3,5-트리아진(여기서 3개의 질소 원자는 6-원 방향족 고리에서 1,3,5-위치함)을 들 수 있다.

[0073] 아릴 또는 아릴렌 라디칼은 전자 유인 기[예를 들면 할로, 시아노(-CN), 할로알킬, 아마이드, 니트로, 케토(-COR), 알케닐, 알킬닐, 4차 아미노(-N⁺R₃), 에스테르, 아마이드(-CONR₂), N-결합된 아마이드(-NR-C(=O)-R), N-결합된 설포아미도(-NR-S(=O)₂R), 설포시(-S(=O)₂OH), 설포네이트(S(=O)₂OR), 설포닐(S(=O)₂R) 및 설포아미드(-S(=O)₂-NR₂)로부터 선택된 기(여기서 (각각의) R은 독립적으로 C₁-C₆ 알킬 기로부터 선택됨)], C₃-C₂₀ 헤테로시클릭 기 또는 C₃-C₂₀ 아릴 기, 통상적으로 C₁-C₆ 알킬 기, 비치환 C₁-C₆ 알콕시 및 치환된 C₁-C₆ 알콕시로 1회 이상 치환될 수 있으며, 여기서 치환된 알킬 또는 알콕시는 에테르, 아미노, 단일- 또는 이중-치환된 아미노, 고리형 C₁-C₅ 알킬아미노, 이미다졸릴, C₁-C₆ 알킬피페라지닐, 모르폴리노, 티올, 티오에테르, 테트라졸, 카르복실산, 에스테르, 아마이드, 단일- 또는 이중-치환된 아마이드, N-결합된 아마이드(-NR-C(=O)-R), N-결합된 설포아미드(-NR-S(=O)₂-R), 설포시(-S(=O)₂OH), 설포네이트(S(=O)₂OR), 설포닐(S(=O)₂R), 설포시(S(=O)OH), 설포네이트(S(=O)OR), 설포닐(S(=O)R), 포스포노옥시(-OP(=O)(OH)₂), 포스페이트(OP(=O)(OR)₂) 및 설포아미드(-S(=O)₂-NR₂)로부터 선택된 1개 이상의 기로 치환되며, 여기서 (각각의) R은 독립적으로 C₁-C₆ 알킬 기, C₃-C₂₀ 헤테로시클릭 기 또는 C₃-C₂₀ 아릴 기로부터 선택된다.

[0074] 화학식 I의 화합물의 유발기 구역은 일반적으로 제2의 고리(방향족 또는 비-방향족일 수 있는 Y¹, Y⁴ 및 Y⁵ 부분을 포함함)에 융합된 방향족 고리(제시한 바와 같이 Y² 및 Y³ 부분을 포함함)를 포함하는 이중고리 부분을 포함한다.

[0075] 이론으로 한정하지는 않지만, 예를 들어 CYP1B1에 의하여 실시되는 히드록실화에 대한 기질로서 화학식 I의 화합물의 활성은 Z² 또는 Z⁴가 수소인 경우 또는 Y¹-Z¹이 C-H인 경우 히드록실화될 가능성이 있는 유발기 부분의 구조에 의하여 부분적으로 달성되며, 그리하여 히드록실화는 Z² 및 Z⁴가 결합된 것 및 Y¹(여기서 Y¹은 탄소임)의 3개의 탄소 원자중 하나에서 발생되는 것으로 밝혀졌다. 도 2에 도시한 바와 같이, SU025-04로 표시된 본 발명의 대표적인 화합물에서의 임의의 이들 위치에서의 히드록실화는 히드록실화가 발생하는 위치에 따라서 1,4-, 1,6- 또는 1,8-제거인 제거 과정에 의하여 화합물이 자발적으로 분해된다.

[0076] 화학식 I의 화합물의 구조로부터 Z² 및 Z⁴가 Y¹을 통하여 링커 부분에 결합된 탄소 원자의 공액에 의하여, 화합물의 Z⁶-Y⁴-Y⁵ 구역의 성질을 갖는 화합물의 자발적인 분해에 대한 임의의 3가지 기전이 독립적으로 실시될 수 있다는 것에 유의한다. 그래서, 화학식 I의 화합물의 이와 같은 구역의 다양한 성질은 하기에서 논의되는 바와 같이 내성을 가질 수 있다. 또한, 공액의 구역의 연속은 특히 본 명세서에 기재된 공액 X¹ 부분을 사용하여 달성된다.

[0077] 화학식 I의 화합물에서, Y¹, Y² 및 Y³으로 나타낸 각각의 원자는 독립적으로 탄소 원자 또는 질소 원자가 될 수

있다. 관련 원자가 질소 원자인 경우, 각각의 치환기(Z^1 , Z^3 또는 Z^5 각각)는 존재하지 않는다. 본 발명의 특징의 실시양태에서, Y^2 또는 Y^3 은 탄소 원자이다. 본 발명의 특정한 실시양태에서, Y^2 및 Y^3 모두는 탄소 원자이다. Y^2 또는 Y^3 모두가 탄소 원자이거나 또는 Y^2 및 Y^3 이 탄소 원자이거나 또는 Y^2 또는 Y^3 중 어느 것도 탄소 원자가 아닌 이들 실시양태에 의하면, Y^1 은 탄소 원자가 될 수 있다.

[0078] 치환기 Z^1 , Z^2 및 Z^4 는 일반적으로 특허청구범위 제1항에 기재된 바와 같을 수 있다. 그러나, 이들 부분중 1종 이상은 화합물의 히드록실화에 대한 부위가 가능하도록 하는 수소 원자이다. 본 발명의 특징 실시양태에서, Z^2 또는 Z^4 는 수소이다. 기타의 실시양태에서, Z^2 및 Z^4 는 수소이다. Z^2 또는 Z^4 가 수소 원자이거나 또는 Z^2 및 Z^4 모두가 수소 원자이거나 또는 Z^2 또는 Z^4 중 어느 것도 수소 원자가 아닌 실시양태에서, Z^1 은 수소일 수 있다. 본 발명의 특징의 실시양태에서, 각각의 Z^1 , Z^2 및 Z^4 는 수소 원자이다.

[0079] 방향족 고리상의 이웃하는 치환기(즉 Z^2 또는 Z^4 또는, Z^3 또는 Z^5 각각)와 함께 Z^3 또는 Z^4 는 이들 치환기가 결합된 방향족 고리의 원자와 함께 화합물의 나머지 부분에 융합된 방향족 고리를 형성할 수 있다. 그래서, Z^2 가 결합된 탄소 원자 및 Y^2 와 함께 Z^2 및 Z^3 은 방향족 고리를 형성할 수 있다. 유사하게, 예를 들면 Z^4 , Z^5 및, Z^4 가 결합된 탄소 원자와 Y^3 은 함께 방향족 고리를 형성할 수 있다.

[0080] 본 발명의 특징의 실시양태에서, 치환기 Z^2 와 Z^3 , Z^3 과 Z^4 및 Z^4 와 Z^5 의 쌍중 어느 것도 융합된 방향족 고리를 형성하지 않거나 또는 단 2개의 쌍만이 함께 융합된 방향족 고리를 형성할 수 있다. 그래서, 특징의 실시양태에서, Y^2 와 Y^3 을 포함하는 방향족 고리에 융합된 방향족 고리는 존재하지 않는다.

[0081] 구체적으로, 치환기 Z^3 및 Z^5 는 통상적으로 화학식 I의 화합물의 나머지 부분에 융합된 방향족 고리의 일부가 아니다. 만약 그러한 경우, 즉 이들 부분이 개개의 치환기인 경우, Z^3 은 알킬, 알케닐, 알킬닐, 아릴, 아르알킬, 알킬옥시, 알케닐옥시, 알킬닐옥시, 아릴옥시, 아르알킬옥시, 알킬티옥시, 알케닐티옥시, 알킬닐티옥시, 아릴티옥시, 아르알킬티옥시, 아미노, 히드록시, 티오, 할로, 카르복시, 포르밀, 니트로 및 시아노가 될 수 있으며, Z^5 는 알킬, 알케닐, 알킬닐, 아릴, 아르알킬, 알킬옥시, 알케닐옥시, 알킬닐옥시, 아릴옥시, 아르알킬옥시, 알킬티옥시, 알케닐티옥시, 알킬닐티옥시, 아릴티옥시, 아르알킬티옥시, 아미노, 히드록시, 티오, 카르복시, 포르밀, 니트로 및 시아노가 될 수 있다. 본 발명의 특징의 실시양태에서, Z^3 은 알킬, 알케닐, 알킬닐, 아릴, 아르알킬, 알킬옥시, 알케닐옥시, 알킬닐옥시, 아릴옥시, 아르알킬옥시, 알킬티옥시, 알케닐티옥시, 알킬닐티옥시, 아릴티옥시, 아르알킬티옥시, 아미노, 히드록시, 티오, 할로, 카르복시, 포르밀, 니트로 및 시아노가 될 수 있다.

[0082] 본 발명의 특징의 실시양태에서, Z^3 및 Z^5 는 수소 원자를 제외한 개개의 치환기이다. Z^3 및 Z^5 가 동일한 치환기이거나 또는 그 밖에 본 발명의 특징의 실시양태에 의한 Z^3 및 Z^5 는 전자 공여 기, 예컨대 알콕시, 알킬티옥시, 아릴옥시, 아릴티옥시이다. 본 발명의 특정한 실시양태에서, Z^3 또는 Z^5 는 모두 아미노 또는 알콕시, 예를 들면 C_1 - C_6 알콕시이다. 이러한 알콕시 기의 예로는 메톡시, 에톡시, 이소프로폭시, n-프로폭시 등이다. 본 발명의 특징의 실시양태에서, Z^3 또는 Z^5 또는, Z^3 및 Z^5 는 메톡시이다. 본 발명의 특징의 실시양태에서, Z^3 및 Z^5 는 동일하며, 바로 앞에서 언급한 치환기 또는 치환기의 유형 중 임의의 것이 된다. 상기에서 보고한 바와 같이, 화학식 I의 화합물은 Z^6 - Y^4 - Y^5 를 포함하는 부분에서 구조가 상당히 변경될 수 있다. 그래서, Y^4 는 산소, 황, 설펜 시드 또는 설펜일 수 있으며, 그래서 Z^6 치환기가 존재하지 않거나($p=0$), 질소 ($p=0$ 또는 1) 또는 탄소 원자 ($p=1$ 또는 2)가 존재한다. 본 발명의 특징의 실시양태에서, $p=0$ 이고, Y^4 는 산소, 황, 설펜 또는 설펜시드이다. 본 발명의 특정한 실시양태에서, $p=0$ 이고, Y^4 는 산소 또는 황이다. 본 발명의 특징의 실시양태에서, $p=0$ 이고, Y^4 는 산소이다.

[0083] $-Y^5-$ 는 (i) 단일 결합[이러한 실시양태에서는 Y^5 가 효과적으로 존재하지 않으므로 유발기 부분이 5-원 고리에 융합된 6-원 방향족 Y^2- 및 Y^3- 함유 고리에 기초함]; 또는 (ii) $=CH-$ (이 경우 이중 결합은 Y^4 에 결합됨)중 하나가 될 수 있다. 이와 같은 본 발명의 실시양태에서, 유발기 부분은 2개의 융합된 방향족 고리로 이루어지며, 당업자는 $-Y^5-$ 가 $=CH-$ 인 경우 Y^4 는 질소 원자 및 $p=0$ 또는 탄소 원자 및 $p=1$ 이라는 것을 이해할 것이다. 마지막으로, $-Y^5-$ 는 (iii) $-CH_2-$ 또는 $-CH_2CH_2-$ (이 경우 유발기 부분이 Y^2 및 Y^3 으로 치환된 방향족 6-원 고리에 융합된 6- 또는 7-원 고리를 포함하는 이중고리계를 포함함)가 될 수 있다. 본 발명의 특징의 실시양태에서, $-Y^5-$ 에 대하여 수소 원자 또는 1개 이상의 수소 원자 또는 (ii) 및 (iii)에 기재된 수소 원자는 Z^{11} 부분, 예를 들면 알킬 또는 할로 부분으로 치환될 수 있다. 본 발명의 특징의 실시양태에서, Z^{11} 은 존재하지 않는다. 본 발명의 특정한 실시양태에서, $-Y^5-$ 는 단일 결합이고, 예를 들면 여기서 $p=0$ 이고, Y^4 는 산소, 황, 설펜 또는 설폭시드이며, $p=0$ 이고, Y^4 는 산소 또는 황이며, 특히 $p=0$ 이며, Y^4 는 산소이다.

[0084] 이제, 결합 부분 $CH(Z^7)-X^1-X^2$ 를 설명한다.

[0085] Z^7 은 수소 또는 알킬 또는 아릴 기이며, 본 발명의 특징의 실시양태에서는 비치환이다. 본 발명의 특징의 실시양태에서, Z^7 또는 각각의 Z^7 은 알킬 기, 예를 들어 비치환 알킬 기, 예컨대 비치환 C_1-C_6 알킬 기이다. Z^7 부분의 예로는 메틸 및 에틸을 들 수 있다. 본 발명의 특정한 실시양태에서, $-CH(Z^7)-$ 이 메틸렌이 되도록 Z^7 은 수소이다. 기타의 실시양태에서, Z^7 부분 또는 각각의 Z^7 부분은 치환된 알킬 기, 예를 들어 치환된 메틸 또는 에틸 기이다. 이러한 실시양태의 예로는 아미노-치환된 알킬 기, 예를 들어 모르폴리노 또는 피페리디닐 알킬 기 또는 개선된 수용해도를 부여하는 기타의 기를 들 수 있다. 대안으로, Z^7 , 각각의 Z^7 또는 1개 이상의 Z^7 은 임의로 치환된 헤테로아릴 부분, 예컨대 피리디닐이 될 수 있다.

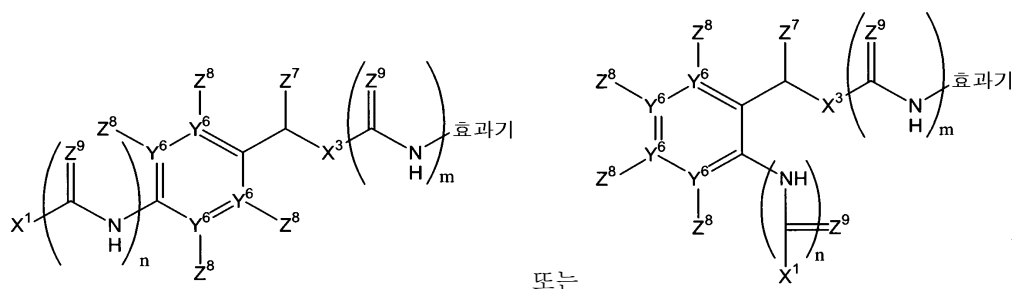
[0086] X^1 은 다양한 결합 원자 또는 2가 결합 부분이 될 수 있으며, 예를 들면 X^1 은 산소, 황, 설포아미드 또는 설포네이트 에스테르가 될 수 있다. 또한, X^1 은 에탄-1,2-디일비스(메틸카르바메이트) 또는 공액 알켄메틸옥시 부분이 될 수 있다.

[0087] 공액 알켄메틸옥시 부분이라는 것은 화학식 $(=CH-CH)_q=CH-CH_2-O-$ 의 부분을 의미하며, 여기서 q 는 0 내지 6, 예를 들면 0 내지 3, 예를 들어 0 또는 1의 정수이다. 당업자라면 알켄메틸옥시 부분에 제시된 산소 원자가 황 원자 SO_2-O 또는 SO_2NZ^{10} 부분으로 치환되어 상기에서 언급한 바와 같이 공액 알켄메틸 설포네이트 또는 공액 알켄메틸 설포아미드 부분을 제공할 수 있으며, 여기서 설포아미드 부분(SO_2-O 및 SO_2-NZ^{10})의 산소, 황 원자 또는 설포네이트는 X^2 에 결합되거나 또는 이 부분이 존재하지 않을 경우 효과기가 된다.

[0088] 본 발명의 특징의 실시양태에 의하면, X^1 은 산소 또는 황이다. 본 발명의 다수의 실시양태에서, X^1 은 산소이다.

[0089] X^2 는, X^1 및 효과기 부분 사이에 삽입되거나 또는 존재하지 않는 임의의 추가 결합 부분이다.

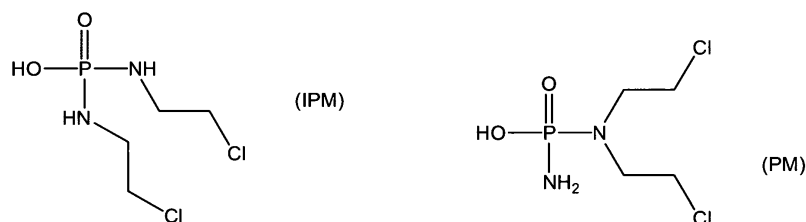
[0090] X^2 는 본 명세서에 기재한 바와 같은 다양한 부분으로 이루어질 수 있거나 또는 존재하지 않을 수 있다. 본 발명의 특징의 실시양태에서, X^2 는 존재하지 않거나 또는 X^1-X^2 -효과기



- [0091] 예를 들면 X^2 는 아릴렌- $\text{CH}(Z^7)X^3$ 부분(이하 $-\text{ArCH}(Z^7)X^3-$ 부분) 및/또는 아마이드 부분을 포함할 수 있다. 존재할 경우, $-\text{Ar}-\text{CH}(Z^7)X^3-$ 부분은 1 또는 2개의 아마이드 또는 티오아מיד 기($\text{C}(Z^9)\text{NH}$)에 의하여 측면에 위치할 수 있다. 하나의 아마이드 또는 티오아מיד 기가 측면에 위치할 경우, 이는 X^1 부분 및 $-\text{Ar}-\text{CH}(Z^7)X^3$ (여기서 $n=1$) 부분의 방향족 고리 사이에 직접 위치할 수 있거나 또는 X^3 및 효과기 부분(여기서 $m=1$) 사이에 위치할 수 있다. 대안으로, 아마이드 또는 티오아מיד 기는 이들 위치중 2개 모두에 존재할 수 있거나 또는 존재하지 않을 수 있다. 본 발명의 특징의 실시양태에서, $n=0$ 및 $m=1$ 이다. X^2 가 $-\text{Ar}-\text{CH}(Z^7)X^3-$ 부분을 포함하는 경우, 1 또는 2개의 아마이드 또는 티오아מיד 부분이 측면에 위치하거나 또는 위치하지 않거나 간에, 아마이드 또는 티오아מיד 부분을 통하여 직접적으로 또는 간접적으로 방향족 고리에 결합된 X^1 부분은 $-\text{Ar}-\text{CH}(Z^7)X^3$ 계의 $\text{CH}(Z^7)X^3$ 부분에 대하여 오르토 위치인 방향족 고리에서의 2개의 위치에 또는 파라 위치에 결합될 수 있다. $-\text{Ar}-\text{CH}(Z^7)X^3-$ 부분을 포함하는 X^2 부분의 방향족 고리에서의 결합점을 조절하는 것은 효과기 분자의 1,4-, 1,6- 또는 1,8-제거를 가능케 한다. X^2 의 특징의 실시양태에서 존재하는 아릴렌 기가 헤테로방향족일 수 있으며, 즉 1 또는 2개의 또는 원자 Y^6 는 질소 원자일 수 있으며, 나머지는 탄소 원자일 수 있는 것으로 이해한다. 헤테로아릴렌 부분의 일례로는 피리딜렌이 있으며, 여기서 하나의 Y^6 은 질소 원자이다. 본 발명의 다수의 실시양태에서, 각각의 Y^6 은 존재할 경우 탄소 원자가 된다.
- [0092] 아릴렌 기가 X^2 부분에 존재하는 경우, 이는 특허청구범위 제1항에서 정의한 바와 같이 독립적으로 선택될 수 있는 치환기 Z^8 에 의하여 4개의 위치(즉 화학식 I의 화합물의 효과기 및 유발기 말단에 아릴렌 기를 결합시키지 않음)중 임의의 것에서 나타난 바와 같이 치환될 수 있다.
- [0093] X^2 가 1개 이상의 아마이드 또는 티오아מיד 부분 $-\text{CH}(Z^9)\text{NH}$ 를 포함할 경우, 이는 통상적으로 존재할 경우 (각각의) Z^9 는 산소가 되어 1개 이상의 아마이드 부분을 제공하지만, 1개보다 많은 Z^9 이 존재할 경우 각각의 Z^9 는 독립적으로 선택될 수 있기는 하다.
- [0094] 마지막으로, 화학식 I의 화합물의 효과기 부분은 세포, 통상적으로 CYP1B1이 발현되는 것에서 목적하는 표적화된 효과를 제공하는 부분이 된다. 효과기 성분은 화학식 I의 화합물로부터 방출될 때 약리학적, 진단적 또는 스크리닝 작용을 갖는 임의의 분자가 될 수 있다. 약리학적 또는 진단적 작용은 효과기 성분이 방출시 방출되는 세포에 식별 가능한 약리학적 또는 진단적 효과를 갖는 것을 의미한다.
- [0095] 당업자는 화학식 I의 화합물에서의 효과기 성분(효과기)이 방출시 X^1 -의 일부, 예를 들어 산소 또는 황 원자로서 또는 X^2 의 일부, 예를 들어 X^3 , 예를 들어 산소 또는 황 원자로서 본 명세서에 기재된 원자를 포함할 수 있는 것으로 이해할 것이다. 그러나, 화학식 I의 화합물의 유발기, 링커 및 효과기 부분 사이는 단순히 본 발명의 화합물의 설명으로 구별될 수 있으며, 당업자는 본 발명의 화합물에서의 효과기 부분이 히드록실화-유발된 분해시 방출되는 효과기 분자의 별크로 이루어지나, 방출되는 효과기 분자에서의 원자중 하나 또는 일부는 X^1 이거나, X^1 또는 X^2 의 일부 및 사실상 그 밖의 것(예를 들어 물 분자로부터 얻은 수소 원자)인 것으로 본 명세서에 기재된 원자에 의하여 제공될 수 있다는 것을 숙지할 것이다. 대안으로, 효과기 분자는 예를 들면 케토 또는 포르밀기를 통한 화학식 I의 화합물의 나머지에 결합될 수 있다.
- [0096] 약리학적 효능을 갖는 효과기 분자는 예를 들면 그의 방출을 실시하게 되는 세포가 발현될 때(예를 들어 CYP1B1-발현 세포) 세포증식억제 또는 세포독성 효과를 갖는 임의의 화학물질이 될 수 있다. 알려진 바와 같이, 세포독성 분자는 세포에 대하여 독성인 분자인 반면, 세포증식억제제는 세포의 성장 및/또는 복제를 억제하는 것이다.
- [0097] 본 발명의 특징의 실시양태에서, 효과기 분자는 세포독성제이다. 사용할 수 있는 세포독성제의 예로는 알킬화제, 항유사분열제, 항폴린산제, 항대사물질, DNA-손상제 및 효소 억제제(예를 들면 티로신 키나제 억제제)를 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 가능한 세포독성 약물 부분의 특정예로는 비스(할로에틸)포스포포아미데이트, 시클로포스포아미드, 겐시타빈, 시타라빈, 5-플루오로우라실, 6-머캅토프린, 캅토테신, 토포테칸, 독소루비신, 다우노루비신, 두오카르마이신, 에토포시드, 듀토포시드, 콤프레타스타틴 A-4, 빈블라스틴, 빈크리스틴,

AQ4N, 히드록시우레아, 메이탄신, 에네디엔, 에포틸론, 탁산, 블레오마이신, 칼리케아미신, 콜키친, 다카르바진, 닥티노마이신, 에피루비신, 에피루비신 유도체, 플루다라빈, 히드록시우레아펜타토스타틴, 메토트렉세이트, 미토마이신, 미토크산트론, 카르보플라틴, 시스플라틴, 탁셀, 6-티오구아닌, 빈카 알칼로이드, 백금 배위결합 복합체, 안트라센디온, 치환된 우레아, 메틸 히드라진 유도체 및 질소 머스타드를 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0098] 본 발명의 특징의 실시양태에서, 효과기 분자는 포스포르아미드 머스타드이며, 즉 인산의 히드록실 기중 1 또는 2개, 통상적으로 2개가 질소 머스타드 또는 그의 산소- 또는 황-함유 유사체에 대하여 교환되고, 임의로 P(=O)가 P(=S)로 치환된 인산 유도체이다. 본 명세서에서의 질소 머스타드는 머스타드 기체(1,5-디클로로-3-티아펜탄)와 구조적으로 관련되어 있는 비-특이성 알킬화 아민으로서 정의되며, 여기서 황 원자는 질소 원자로 치환되며, 임의로 하나의 클로로에틸 측쇄는 수소 원자 또는 알킬 기로 치환되거나 또는 하나 또는 2개 모두의 말단 클로로로 치환기는 이탈기, 예컨대 브로모, 요오도 또는 메실레이트(-OSO₂CH₃)로 치환된다. 포스포르아미드 머스타드의 예로는 하기 포스포르아미드 머스타드(PM) 및 이소포스포르아미드 머스타드(IPM)로서 알려진 화합물을 들 수 있다:



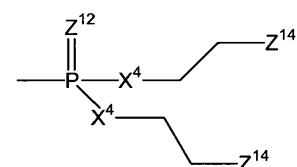
[0099]

[0100] 그래서, 화합물 PM은 포스포르아미드 머스타드로서 공지된 화합물의 일례일 뿐 아니라, 유형의 명칭인 것에 유의하는데, 이는 히드록실 기중 하나가 질소 머스타드에 대하여 교환된(기타의 히드록실 기가 아미노 기(NH₂)에 대하여 교환된) 인산의 유도체인 것으로 간주할 수 있기 때문이다.

[0101] 효과기 분자가 포스포르아미드 머스타드인 본 발명의 실시양태에서, 인산 유도체의 히드록실 기의 1 또는 2개, 통상적으로는 2개는 질소 머스타드의 산소- 또는 황-함유 유사체에 대하여 교환되며, 이는 질소 머스타드가, 클로로에틸 아민이 존재하지 않으며, 질소 원자가 황 또는 산소 원자에 대하여 교환된 유사체로 치환된 포스포르아미드 머스타드라는 것을 의미한다.

[0102] 본 발명의 특정한 실시양태에서, 효과기 분자는 산소 또는 황 원자를 통하여 화합물의 나머지 부분에 결합되며, 효과기는 하기 화학식 II를 갖는다:

[0103] <화학식 II>



[0104]

[0105] (상기 화학식에서,

[0106] Z¹²는 산소 또는 황이고;

[0107] 각각의 X⁴는 독립적으로 산소, 황 또는 NZ¹³이고, 여기서 각각의 -Z¹³은 독립적으로 -(CH₂)₂-Z¹⁴, -알킬 또는 -수소이며;

[0108] 각각의 Z¹⁴는 독립적으로 클로로, 브로모, 요오도 또는 메실레이트임).

[0109] 본 발명의 특징의 실시양태에서, Z¹²는 산소이다. 상기의 실시태양 및 기타의 구체적인 실시태양에서, 각각의 X⁴는 동일하다. 상기의 실시태양 및 기타의 구체적인 실시태양에서, 각각의 X⁴는 NZ¹³이다. 상기의 실시태양 및 기타의 구체적인 실시태양에서, 각각의 Z¹³은 수소이다. 본 발명의 상기의 실시태양 및 기타의 구체적인 실시태

양에서, 각각의 Z^{14} 는 동일하며 및/또는 브로모 또는 클로로이다. 본 발명의 특정한 실시양태에서, 각각의 존재하는 Z^{14} (2, 3 또는 4개의 Z^{14} 부분이 될 수 있음)는 브로모이다.

[0110] 대안으로, 효과기 분자는 진단 작용을 수행하는 것일 수 있으며, 예를 들면 CYP1B1이 발현되는 종양의 성질에 대한 확인 또는 더 완전한 이해를 가능케 한다. 진단 분자인 효과기 분자의 유형의 예로는 형광단 분자를 들 수 있다. 이는 암 세포의 진단에 유용할 수 있다. 형광단 화합물의 예로는 쿠마린, 레소루핀, 플루오레신 및 로다민을 들 수 있으며, 사실상 효과기 분자로서 쿠마린을 포함하는 본 발명의 화합물에 실시한 다수의 실험에 의하여, 본 발명의 생육성이 입증되었다(하기 실시예 부문 참조).

[0111] 그래서, 효과기가 진단 작용을 수행하는 화학식 I의 화합물이 진단 방법에서 사용될 수 있으며, 이러한 방법은 본 발명의 추가의 측면을 이룬다는 것을 이해할 것이다. 그러므로, 본 발명은 증식성 상태, 예를 들면 전암성 또는 악성 세포성 증식, 암, 백혈병, 건선, 골 질환, 섬유증성 질환 또는 죽상경화증, 예를 들면 방광, 뇌, 유방, 결장, 두경부, 신장, 폐, 간, 난소, 전립선 및 피부 암으로부터 선택된 증식성 상태의 진단 방법에 사용하기 위한 화학식 I의 화합물 또는 그의 약학적 허용 가능한 염, 에스테르, 아마이드 또는 용매화물에 관한 것이며, 상기 방법은 화학식 I의 화합물 또는 약학적 허용 가능한 염, 에스테르, 아마이드 또는 용매화물을 상기 증식성 상태를 갖거나 또는 갖는 것으로 의심되는 개체에게 투여하고, 개체에서의 방출된 효과기 분자의 분포에 대하여 모니터링하여 진단이 실시되도록 하는 것을 포함한다.

[0112] 대안으로, 효과기는 CYP1B1 및 그의 대립 변이체에 의하여 활성화될 때 단편이 되는 유발기 및 링커 조합을 확인하기 위하여, 예를 들면 모델 전구약물 라이브러리 수집의 일부로서 스크리닝 작용을 수행하는 것일 수 있다. 효과기 분자의 유형의 일례로는 형광단 분자가 있다. 형광단 화합물의 예로는 널리 알려진 쿠마린, 레소루핀, 플루오레신 및 로다민을 들 수 있다. 사실상, 효과기 분자로서 쿠마린을 포함하는 본 발명의 화합물에 대하여 실시한 다수의 실험에서 본 발명의 생육성이 입증되었다(하기 실시예 1 부문 참조). 효과기가 스크리닝 작용을 수행하는 화학식 I의 화합물이 CYP1B1에 의하여 활성화된 전구약물의 설계 및 합성에 대하여 유발기 및 링커 조합을 확인하는데 사용될 수 있으며, 이러한 방법이 본 발명의 추가의 측면을 이루는 것으로 이해한다.

[0113] 효과기가 모델 전구약물 라이브러리 수집의 일부로서 스크리닝 작용을 수행하는 화학식 I의 화합물은 예를 들어 CYP1B1 및 그의 대립 변이체, 예컨대 CYP1B1*3에 대한 선택성을 갖는 전구약물의 설계 및 합성을 안내하기 위하여 시토크롬 P450 기질 예측 모델과 조합하여 사용될 수 있는 것으로 이해한다. 명백히 하기 위하여, 모델 전구약물 라이브러리와 기질 예측 모델의 조합은 기본적인 설계 원칙인 전구약물 활성화에 대한 기질 특이성 및 CYP1B1에 의한 단편화와 관련이 있다. 게다가, 효과기가 스크리닝 작용을 수행하는 화학식 I의 화합물은 CYP1A1, CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 및 CYP3A4에 의하여 예시되는 정상의 조직 시토크롬 P450에 의하여 활성화되지 않는 전구약물의 설계 및 합성을 안내하기 위하여 시토크롬 P450 기질 예측 모델과 조합하여 사용될 수 있는 것으로 이해한다. 기질 예측 모델의 예로는 디스크립터, 예컨대 연장된 연결성 지문(이에 한정되지 않음)에 대한 타니모토 유사성 조사에 기초한 가우스 커널 가중치 k-NN 알고리즘이다. 전구약물 설계에 대한 시토크롬 P450 기질 예측 모델은 구조적으로 다양한 화합물 수집으로부터의 시토크롬 P450 HTS로부터 유래하는 생체활성 데이터베이스에 구축될 수 있다. 사실상, CYP1B1 기질 예측 모델과 조합되어 사용되는 효과기 분자로서 쿠마린을 포함하는 본 발명의 화합물에 대하여 실시한 다수의 실험에 의하여 본 발명의 생육성이 입증되었다(실시예 1 및 실시예 2 참조).

[0114] 대안으로, 효과기는 암 및 기타의 증식성 상태에서 과발현된 CYP1B1 및/또는 기타의 시토크롬 P450 및 그의 대립 변이체에 의하여 활성화될 경우 단편화되는 유발기 및 링커 조합을 확인하기 위하여 모델 전구약물 라이브러리 수집의 일부로서 스크리닝 작용을 수행하는 것이 될 수 있다. 효과기 분자의 유형의 일례는 형광단 분자이다. 형광단 화합물의 예로는 쿠마린, 레소루핀, 플루오레신 및 로다민을 들 수 있다. 암에서 과발현된 CYP1B1 이외의 시토크롬 P450의 예로는 CYP2A/2B, CYP2F1, CYP2R1, CYP2S1, CYP2U1, CYP2W1, CYP3A5, CYP3A7, CYP4Z1, CYP26A1 및 CYP51을 들 수 있다.

[0115] 효과기가 모델 전구약물 라이브러리 수집의 일부로서 스크리닝 작용을 수행하는 화학식 I의 화합물은 암 및 기타의 증식성 상태에서 과발현된 CYP1B1 및/또는 기타의 시토크롬 P450 및 그의 대립 변이체에 대한 선택성을 갖는 전구약물의 설계 및 합성을 안내하기 위하여 시토크롬 P450 기질 예측 모델과 조합되어 사용될 수 있는 것으로 이해한다. 효과기 분자의 유형의 일례는 형광단 분자가 있다. 형광단 화합물의 예로는 쿠마린, 레소루핀, 플루오레신 및 로다민을 들 수 있다. 암에서 과발현되는 CYP1B1을 제외한 시토크롬 P450으로는 CYP2A/2B, CYP2F1, CYP2R1, CYP2S1, CYP2U1, CYP2W1, CYP3A5, CYP3A7, CYP4Z1, CYP26A1 및 CYP51을 들 수 있다. 기질

예측 모델의 예로는 디스크립터, 예컨대 연관된 연결성 지문(이에 한정되지 않음)에 대한 타니모토 유사성 조사에 기초한 가우스 커널 가중치 k-NN 알고리즘이다. 전구약물 설계에 대한 시토크롬 P450 기질 예측 모델은 구조적으로 다양한 화합물 수집으로부터의 시토크롬 P450 HTS로부터 유래하는 생체활성 데이터베이스에 구축될 수 있다.

[0116] 본 발명의 측면 및 실시양태에 의하면, 예를 들면 화합물 세트가 통상적으로 복수의 화합물, 예를 들면 10개 이상, 예를 들면 20개 이상의 화합물을 포함하는 본 발명의 제7의 측면에 의하여 효과기가 스크리닝 작용을 수행한다. 특정의 실시양태에서, 이러한 세트는 100개, 1,000개, 10,000개 또는 심지어는 100,000개까지의 화합물을 포함할 수 있다. 이러한 화합물 세트, 즉 효과기가 형광단인 본 발명의 제1의 측면에 의한 복수의 화합물뿐 아니라, 효과기가 이와 같이 한정되지 않으며 및/또는 화합물이 약학적 허용 가능한 염, 에스테르, 아마이드 또는 용매화물이 될 수 있는 기타의 복수의 화합물은 본 발명의 추가의 측면을 이룬다.

[0117] 화합물이 형광단을 단계 (a)에서는 방출하지만, 단계 (b)에서는 방출하지 않거나 또는 훨씬 더 적은 정도로 방출하는 본 발명의 제7의 측면의 실시양태에 의하면, P450 효소는 통상적으로 단계 (b)에 비하여 단계 (a)에서 상기 형광단을 10배 이상, 예를 들어 20배 이상 방출한다는 것을 의미한다.

[0118] 예를 들어 본 발명의 제7의 측면의 실시양태에 의하여 스크리닝이 적중(hit)할 경우, 예를 들면 통상적으로 단계 (a)에서 화합물은 형광단을 방출하지만, 단계 (b)에서는 방출하지 않거나 또는 훨씬 더 적은 정도로 방출하는 화합물을 생성할 경우, 본 발명의 제7의 측면의 방법은 임의로 하기의 추가의 단계를 포함한다:

[0119] (d) 형광단을, 상기 시토크롬 P450 효소의 활성 부위에 결합하기 위한 약리 작용을 갖는 분자로 교체되는 것을 제외하고, 단계 (c)에서 확인한 것과 구조가 동일한 화합물을 모델링하는 단계; 및

[0120] (e) 상기 시토크롬 P450 효소에 대한 기질인 것으로 예측되는 단계 (d)에서 모델링된 화합물을 합성하는 단계.

[0121] 대안으로, 이들 단계((d) 및 (e))는 본 발명의 제7의 측면의 필수 단계(즉 (a)-(c))에 대하여 독립적으로 실시될 수 있으며, 여전히 본 발명의 추가의 실시양태를 구성할 수 있다.

[0122] 통상적으로 시토크롬 P450 효소는 CYP1B1, CYP2S1, CYP2W1, CYP4Z1 및 그의 대립 변이체, 예를 들면 CYP1B1 및 그의 대립 변이체, 예를 들어 CYP1B1로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0123] 본 발명의 측면은 절제된 암 검체로부터 유래하는 시험관내 조기 통과 수 <20의 원발성 사람 종양 세포주의 사용에 관한 것이다. 하기 실시예 4 및 실시예 5에 기재된 원발성 두경부 편평 세포 암종 세포주 UT-SCC는 mRNA 및 단백질 레벨에서 CYP1B1을 구성 발현시키며, 면역결핍 마우스(예를 들면 누드 또는 중증 복합 면역 결핍 SCID 마우스)에게 높은 생착율로 피하 이식되어 시토크롬 P450 단백질 발현의 구성 발현이 환자에서 발원 종양의 것과 부합하는 원발성 사람 종양 이종이식을 생성할 수 있다. 이러한 원발성 사람 종양 이종이식 모델은, 발원 환자 종양과 유사하게 시토크롬 P450 mRNA/단백질 발현을 유지하여 효과기 부분이 암 치료에서 약리학적 활성을 갖는 제제인 본 발명의 화합물의 효능을 평가하는데 사용될 수 있다. 게다가, 임상면에서 이들 원발성 사람 종양 이종이식 모델은 효과기 부분이 약리학적 활성을 갖는 제제인 본 발명의 화합물의 반응이 맞춤형 화학요법에 대한 유용성을 나타내는 임상적 반응 및 결과와 상관 관계를 갖는지를 체크하는데 사용될 수 있다. 원발성 사람 종양 모델은 또한 효과기 부분이 약리학적 활성을 갖는 제제인 제1항의 화합물의 효능을 표준의 화학요법과 비교하고, 그리하여 제1항의 화합물 단독 또는 기타의 화학요법제와 병행한 제1항의 화합물에 대하여 가장 효과적인 요법을 확인하는데 사용될 수 있다.

[0124] 게다가, 본 발명의 일부로서, 환자로 부터 직접 절제하여 얻은 종양 조직을 직접 이식하고, 예를 들면 누드, SCID 및 비만이 없는 당뇨병/중증 복합 면역 결핍(NOD/SCID) 마우스에게 피하 이식하여 원발성 사람 종양 이종이식을 유도할 수 있다. 발원 종양의 조직학적 및 유전 특징을 보유하는 다양한 각종 암에 대한 1세대 원발성 사람 종양 이종이식을 생성할 수 있으며, 그리하여 발원 종양과 유사한 레벨에서 CYP1B1 mRNA/단백질을 구성 발현시킨다. 이러한 원발성 사람 종양 이종이식 모델은, 발원 환자 종양과 유사한 CYP1B1 mRNA/단백질 발현을 유지하여 효과기 부분이 암 치료에서 약리학적 활성을 갖는 제제인 본 발명의 화합물의 효능을 평가하는데 사용될 수 있다. 게다가, 임상면에서 이와 같은 원발성 사람 종양 이종이식 모델은 효과기 부분이 약리학적 활성을 갖는 제제인 제1항의 화합물의 반응이 맞춤형 화학요법의 유용성을 나타내는 임상적 반응 및 결과와 상관 관계를 갖는지의 여부를 체크하는데 사용될 수 있다. 원발성 사람 종양 모델은 또한 효과기 부분이 약리학적 활성을 갖는 제제인 본 발명의 화합물의 효능을 표준의 화학요법과 비교하고 그리하여 본 발명의 화합물 단독으로 또는 기타의 화학요법제와 병행한 본 발명의 화합물에 대한 가장 효과적인 요법을 확인하는데 사용될 수 있다.

[0125] 본 발명의 제8의 측면에 의하여, 발원하는 종양 또는 암으로부터의 것과 유사한 레벨에서 상기 시토크롬 P450

효소를 발현시키는 종양 또는 암으로부터 직접 취한 조직으로부터 유래하는 조기 통과 세포주로부터의 세포의 이식으로부터 암이 발생하는 경우, 발원하는 종양 또는 암의 것에 10% 이내, 예를 들면 5% 이내인 경우 레벨이 유사한 것으로 간주할 수 있다.

- [0126] 본 발명에 의한 용도의 경우, 화합물 또는 그의 생리학적 허용 가능한 염, 용매화물, 에스테르 또는 아미드는 화합물 또는 그의 생리학적 허용 가능한 염, 에스테르, 아미드 또는 기타의 생리학적 작용 유도체와 그의 1개 이상의 약학적 허용 가능한 담체 및 임의로 기타 치료 및/또는 예방 성분을 함께 포함하는 약학적 제제로서 제시될 수 있다. 임의의 담체(들)는 제제의 기타의 성분과의 적합성면에서 허용 가능하며, 그의 수용체에 대하여 유해하지 않다.
- [0127] 본 발명에 의한 화합물의 생리학적 허용 가능한 염의 예로는 유기 카르복실산, 예컨대 아세트산, 락트산, 주석산, 말레산, 구연산, 피루브산, 옥살산, 푸마르산, 옥살로아세트산, 이세티온산, 락토비온산 및 숙신산; 유기 설펜산, 예컨대 메탄설펜산, 에탄설펜산, 벤젠설펜산 및 p-톨루엔설펜산 및 무기 산, 예컨대 염산, 황산, 인산 및 설파산과의 산 부가 염을 들 수 있다.
- [0128] 생리학적 허용 가능한 에스테르 또는 아미드, 특히 에스테르의 측정은 당업자에게 공지되어 있다.
- [0129] 기재된 용도/방법중 임의의 하나에서 사용될 수 있는, 본 명세서에 기재된 화합물의 해당 용매화물을 제조, 정제 및/또는 취급하는 것이 편리하거나 또는 바람직할 수 있다. 용어 용매화물은 용질, 예컨대 화합물 또는 화합물의 염 및 용매의 복합체를 지칭하는데 사용된다. 용매가 물인 경우, 용매화물은 기질의 분자당 존재하는 물 분자의 수에 따라 수화물, 예를 들면 일수화물, 이수화물, 삼수화물 등으로 지칭될 수 있다.
- [0130] 본 발명의 화합물은 다양한 입체이성체 형태로 존재할 수 있으며, 상기에서 정의된 바와 같은 본 발명의 화합물은 거울상 이성체 및 라세미 혼합물을 비롯한 모든 입체이성체 형태 및 그의 혼합물을 포함한다. 본 발명은 그의 범위내에서 화학식 I 또는 화학식 II의 화합물의 개별적인 거울상 이성체뿐 아니라, 이러한 거울상 이성체의 완전 또는 부분 라세미 혼합물을 비롯한 임의의 입체이성체 형태 또는 입체이성체의 혼합물의 사용을 포함한다.
- [0131] 또한, 당업자는 항암 전구약물, 예컨대 본 명세서에 기재된 것은 종양-표적화 부분, 예컨대 종양-표적화 펩티드, 예를 들면 파지-발현된 펩티드 라이브러리의 발생을 통하여 확인된 작은 펩티드의 부착에 의한 특정한 종양에 대하여 표적화될 수 있다는 것을 이해할 것이다. 이러한 펩티드 또는 기타의 부분은 이를 포함하는 공액이 특정 암, 특히 고형 종양에 대하여 표적화되는 것을 도울 수 있다. 따라서, 공액, 즉 종양-표적화 부분에 공액을 형성한 본 발명의 화합물의 제공은, 이러한 공액의 사용을 포함하거나 또는 관여하는 본 명세서에 기재된 조성물, 용도 및 방법에서와 같이 본 발명의 추가의 측면을 형성한다.
- [0132] 본 발명의 화합물은 당업계에서 용이하게 이용 가능한 제제 및 기법 및/또는 하기에 기재된 바와 같은 예시의 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 본 발명의 화합물은 CYP1B1 효소를 발현시키는 세포에서 세포독성을 나타내지만, CYP1B1을 발현시키지 않는 정상 세포에서는 실질적으로 비독성인 것으로 밝혀졌다. 본 발명의 화합물은 또한 CYP1A1 효소를 발현시키는 세포에서 세포독성을 나타낼 수 있다. 그러므로, 실제로 본 발명의 화합물은 세포독성제에 대하여 (통상적으로 CYP1B1에 의하여) 전환되는 비독성 전구약물이다.
- [0133] 적절하게는, 본 발명의 화합물은 하기에서 정의된 바와 같은 세포독성 IC_{50} 값이 10 μM 미만, 이롭게는 5 μM 미만, 예를 들면 1.0 μM 또는 0.5 μM 미만이다.
- [0134] 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 세포독성은 CYP1B1을 발현시키도록 조작된 세포를 사용하여 상이한 연속 희석으로 화합물을 배양하여 측정할 수 있다. 적절하게는 상기 세포는 제조함 CYP1B1 및 시토크롬 P-450 리덕타제(CPR)를 포함할 수 있는 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포일 수 있다. 높은 레벨의 작용성 효소가 사람 P-450 리덕타제를 사용하여 동시발현될 경우, 이는 디히드로폴산 리덕타제(DHFR) 유전자 증폭을 사용하여 달성될 수 있다. 통상적으로, 조작된 세포는 화합물과 함께 배양될 수 있으며, 적절한 시간(예를 들면 96 시간) 경과 후, 배양액중의 생 세포의 수의 표시를 제공하기 위하여 적절한 분석 체제를 사용하여 추가로 배양한다(예를 들면 1.5 시간 동안). 적절한 분석 체제는 조직 배양 매체중에서 가용성인 포르마잔 생성물로 세포에 의하여 생체환원되는 MTS(하기 참조)이다. 포르마잔 생성물의 흡광도는 510 nm에서 직접 측정할 수 있으며, 490 nm 또는 510 nm에서의 흡광도의 양에 의하여 측정되는 바와 같은 정량적 포르마잔 생성물은 배양액중의 생 세포의 수에 직접 비례한다. 본 발명에 의한 화합물의 IC_{50} 값을 측정하는 상세한 방법은 하기 실시예 3에 기재한다.
- [0135] 비교에 의하여, 본 발명의 화합물의 IC_{50} 값은 CYP1B1을 포함하지 않는 세포(예를 들면 차이니즈 햄스터 난소 세포), 예를 들면 야생형 CHO 세포에서 측정할 수 있다. 본 발명의 화합물은 CYP1B1 발현 세포에 대한 폴드 선택

성이 200 이상인 것이 적절할 수 있으며, 여기서 "폴드 선택성"은 비-CYP1 발현 세포에서의 소정의 화합물의 IC_{50} 값 및 CYP1B1 발현 세포에서의 동일한 화합물의 IC_{50} 값의 지수로서 정의된다.

- [0136] 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 세포독성은 또한 실시예 4에 기재된 바와 같이 두경부 편평 세포 암종을 갖는 환자로부터 유래하는 원발성 두경부 종양 세포를 사용한 상이한 연속 희석으로 화합물을 배양하여 측정할 수 있다.
- [0137] 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물의 생체내 효능은 원발성 사람 종양 이종이식 모델을 생성하기 위하여 CYP1B1을 구성 발현시키는 원발성 두경부 편평 세포 암종 종양 세포를 누드 마우스의 옆구리에 피하 이식하고, 실시예 5에 기재한 바와 같이 종양 성장에 대한 전구약물 처치의 효과를 측정할 수 있다.
- [0138] 그리하여, 본 발명은 또한 본 발명의 특징의 실시양태에서 CYP1B1을 발현시키는 세포를 특징으로 하는, 예를 들면 증식성 상태를 비롯한 사람 및 비-사람 동물에서 증식성 질병 또는 질환의 요법으로서 사람 또는 동물 신체의 치료, 특히 증식성 상태의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 전술한 약학적 허용 가능한 에스테르, 아마이드, 염, 용매화물 및 전구약물을 비롯한 본 발명의 화합물중 1종 이상의 용도를 포함한다. 보다 특히, 본 발명은 본 발명의 특징의 실시양태에서 CYP1B1 발현을 특징으로 하는 암 치료를 위한 본 발명의 화합물중 1종 이상의 용도를 포함한다.
- [0139] 본 명세서에서 "증식성 상태"라는 것은 시험관내 또는 생체내이건간에 종양 또는 과다형성 성장과 같은 원치않는 과도한 또는 비정상적 세포의 원치않는 또는 조절되지 않는 세포성 증식을 특징으로 하는 질환 또는 질병을 의미한다. 증식성 상태의 예로는 악성 신생물 및 종양, 암, 백혈병, 건선, 골 질환, 섬유증성 질환(예를 들면 결합 조직) 및 죽상경화증을 비롯한 전암성 및 악성 세포성 증식을 들 수 있다.
- [0140] 상기 증식성 상태는 본 발명의 특징의 실시양태에서 CYP1B1을 발현시키는 세포를 특징으로 할 수 있다.
- [0141] 상기 증식성 상태는 방광, 뇌, 유방, 결장, 두경부, 신장, 폐, 간, 난소, 전립선 및 피부 암으로부터 선택될 수 있다. 일부 실시양태에서, 상기 증식성 상태는 고형 종양을 포함할 수 있다.
- [0142] 본 명세서에서 "치료"라는 것은 사람 또는 비-사람 동물(예를 들면 수의학적 적용에서)이건간에 증식성 상태에 대한 일부의 목적하는 치료적 효과가 달성되는 요법에 의한 치료를 의미하며; 예를 들면 진행 속도의 감소, 진행 속도의 중지, 질병의 완화 또는 상태의 치유를 비롯한 질병 진행의 억제이다. 예방적 수단으로서의 치료도 또한 포함된다. 본 명세서에서 방지 또는 예방에 대한 언급은 상태의 완전한 방지를 나타내거나 또는 필요로 하지 않으며; 그 대신 이의 표시는 본 발명에 의한 예방 또는 방지를 통하여 감소 또는 지연시킬 수 있다. "치료적 유효량"이라는 것은 타당한 이익/유해 비율에 상응하는 치료적 효과를 생성하기에 효과적인 본 발명의 1종 이상의 화합물 또는, 그러한 1종 이상의 화합물을 포함하는 약학적 배합물의 양을 의미한다.
- [0143] 그러므로, 본 발명의 화합물은 항암제로서 사용될 수 있다. 본 명세서에서의 용어 "항암제"는 암을 치료하는 화합물(즉 암의 치료에 유용한 화합물)을 의미한다. 본 발명의 화합물의 항암 효과는 세포 증식의 조절, 혈관 형성의 억제, 전이의 억제, 아포프토시스의 촉진 또는 침습의 억제를 비롯한 1종 이상의 기전을 통하여 발생할 수 있다.
- [0144] 본 발명의 화합물의 적절한 투약량은 환자마다 다르게 변경될 수 있는 것으로 이해한다. 최적의 투약량의 결정은 일반적으로 본 발명의 치료의 임의의 위험 또는 유해한 부작용에 대한 치료적 잇점의 레벨의 균형을 포함한다. 선택한 투약량 레벨은 특정 화합물의 활성, 투여 경로, 투여 시간, 화합물의 배설 속도, 처치 기간, 병행에 사용되는 기타의 약물, 화합물 또는 물질 및 환자의 연령, 성별, 체중, 상태, 신체 건강 및 이전의 병력을 비롯한 다양한 요인에 의하여 결정된다. 일반적으로 투약량이 목적하는 효과를 달성하도록 작용의 부위에서 국소 농도를 달성하도록 하기는 하나, 화합물(들)의 양 및 투여 경로는 궁극적으로는 의사의 판단에 따른다.
- [0145] 생체내 투여는 처치 과정에 걸쳐 연속적으로 또는 단속적으로 단일 투여로 실시될 수 있다. 투여의 가장 효과적인 수단 및 투약량을 결정하는 방법은 당업자에게 공지되어 있으며, 요법에 사용되는 배합물, 요법의 목적, 처치되는 표적 세포 및 처치되는 개체에 따라 달라진다. 단일 또는 복수의 투여는 치료하는 의사가 선택한 투약량 레벨 및 방식으로 실시될 수 있다.
- [0146] 약학적 배합물은 경구, 국소(진피, 협측 및 설하 포함), 직장 또는 비경구(피하, 피내, 근육내 및 정맥내 포함), 비강 및 예를 들면 흡입에 의한 폐 투여에 적절한 것을 포함한다. 배합물은 적절한 경우 불연속적인 투약량 단위로 간편하게 제시될 수 있으며, 약학 업계에 공지된 임의의 방법에 의하여 생성될 수 있다. 방법은 통상적으로 활성 화합물을 액체 담체 또는 미분 고체 담체 또는 모두와 화합되게 한 후, 필요한 경우 생성물을 목

적하는 제형으로 성형하는 단계를 포함한다.

- [0147] 담체가 고체인 경구 투여에 적절한 약학적 배합물은 단위 투약 배합물, 예컨대 각각 소정량의 활성 화합물을 포함하는 거환, 캡슐 또는 정제로서 제시되는 것이 가장 바람직하다. 정제는 임의로 1종 이상의 보조 성분과 함께 압축 또는 성형에 의하여 생성될 수 있다. 압축 정제는 활성 화합물을 결합제, 윤활제, 불활성 희석제, 윤활 제제, 계면활성제 또는 분산제와 임의로 혼합된 분말 또는 과립과 같은 자유 유동 제형으로 적절한 기계로 압축시켜 생성될 수 있다. 성형 정제는 불활성 액체 희석제를 사용하여 활성 화합물을 성형하여 생성될 수 있다. 정제는 임의로 코팅될 수 있으며, 코팅되지 않을 경우 임의로 스코어링 처리될 수 있다. 캡슐은 활성 화합물 단독으로 또는 1종 이상의 보조 성분과 혼합하여 캡슐 외피에 충전시킨 후, 이를 통상의 방식으로 밀봉시켜 생성될 수 있다. 카세제는 임의의 보조 성분(들)과 함께 활성 화합물을 라이스 페이퍼 외피에 밀봉시킨 캡슐과 유사하다. 활성 화합물은 또한 예를 들면 투여 직전에 물에 현탁시킬 수 있거나 또는 음식에 뿌릴 수 있는 분산성 과립으로서 배합될 수 있다. 과립은 예를 들면 사세(sachet)로 포장할 수 있다. 담체가 액체인 경구 투여에 적절한 제제는 수성 또는 비-수성 액체중의 액체 또는 현탁액으로서 또는 수중유 액체 에멀전으로서 제시될 수 있다.
- [0148] 경구 투여용 제제는 조절된 방출 투약 형태, 예를 들면 활성 화합물을 적절한 방출 조절 매트릭스로 배합하거나 또는 적절한 방출 조절 필름으로 코팅시킨 정제를 포함한다. 이와 같은 제제는 특히 예방 용도에 간편할 수 있다.
- [0149] 담체가 고체인 직장 투여에 적절한 약학적 제제는 단위 투약 좌제로서 제시되는 것이 가장 바람직하다. 적절한 담체로는 코코아 버터 및 당업계에서 통상적으로 사용되는 기타의 물질을 들 수 있다. 좌제는 활성 화합물을 연화되거나 또는 용융된 담체(들)와 혼합한 후, 냉각시키고, 몰드에서 성형시켜 간편하게 형성될 수 있다.
- [0150] 비경구 투여에 적절한 약학적 제제로는 수성 또는 유성 비이클중의 활성 화합물의 무균 액체 또는 현탁액을 들 수 있다.
- [0151] 주사용 제제는 일시 주사 또는 지속 주입을 위하여 변형될 수 있다. 이러한 제제는 사용할 때까지 제제의 투입 후 밀봉되는 단위 투약 또는 다중 투약 용기로 제시되는 것이 편리하다. 대안으로, 활성 화합물은 사용전 적절한 비이클, 예컨대 무균, 무-발열원 수로 이루어진 분말 형태일 수 있다.
- [0152] 활성 화합물은 또한 근육내 주사 또는 이식에 의하여 예를 들면 피하 또는 근육내 투여될 수 있는 장시간 작용하는 데포 제제로서 배합될 수 있다. 데포 제제의 예로는 적절한 중합체 또는 소수성 물질 또는 이온 교환 수지를 포함할 수 있다. 이와 같은 장시간 작용하는 제제는 특히 예방용으로 편리하다.
- [0153] 협강을 통한 폐 투여에 적절한 제제는 활성 화합물을 포함하며 그리고 바람직하게는 직경이 0.5 내지 7 미크론 범위내인 입자가 수용체의 기관세지에 전달되도록 제시된다.
- [0154] 하나의 가능성으로서, 이와 같은 제제는 흡입 장치에 사용하기 위한 예를 들면 젤라틴의 관통 가능한 캡슐로 또는, 대안으로 활성 화합물, 적절한 액체 또는 기체 추진제 및 임의로 기타의 성분, 예컨대 계면활성제 및/또는 고체 희석제를 포함하는 자기 추진 제제로서 편리하게 제시될 수 있는 미분쇄 분말의 형태이다. 적절한 액체 추진제로는 프로판 및 클로로플루오로카본을 들 수 있으며, 적절한 기체 추진제로는 이산화탄소를 들 수 있다. 활성 화합물이 액체 또는 현탁액의 액적의 형태로 분배되는 자기 추진 제제도 또한 사용할 수 있다.
- [0155] 이와 같은 자기 추진 제제는 당업자에게 공지된 것과 유사하며, 기존의 방법에 의하여 생성될 수 있다. 적절하게는 이들은 목적하는 스프레이 성질을 갖는 수동 조작 가능하거나 또는 자동으로 작동하는 밸브가 제공된 용기에 제시되며, 이류계는 밸브는 각각의 작동시 고정된 부피, 예를 들면 25 내지 100 μ l를 전달하는 계측 형태를 갖는다.
- [0156] 또다른 가능성으로서, 활성 화합물은 분무기 또는 호흡 보조기에 사용하여 가속된 기류 또는 초음파 진탕을 사용하여 흡입용 미세 액적 미스트를 생성하는 액체 또는 현탁액의 형태가 될 수 있다.
- [0157] 비강 투여에 적절한 제제는 일반적으로 폐 투여를 위한 상기 기재된 것과 유사한 제제를 포함한다. 이와 같은 제제가 일반적으로 비강내에 유지될 수 있는 10 내지 200 미크론 범위내의 입자 직경을 가질 경우, 이는 적절한 입자 크기를 갖는 분말의 사용 또는 적절한 밸브의 선택에 의하여 달성될 수 있다. 기타의 적절한 제제는 코에 가까이 댄 용기로부터 비강 통과를 통한 신속한 흡입에 의한 투여를 위하여 입자 직경이 20 내지 500 미크론 범위내인 거친 입자를 포함하며, 점비제는 수성 또는 유성 액체 또는 현탁액중에 0.2 내지 5% w/v의 활성 화합물을 포함한다.

- [0158] 진술한 담체 성분 이외에 상기 기재한 약학적 제제는 적절한 1종 이상의 추가의 담체 성분, 예컨대 희석제, 완충액, 향미제, 결합제, 계면활성제, 농후화제, 율활제, 방부제(항산화제 포함) 등 그리고 제제가 의도하는 수용체의 혈액과 등장성이 되도록 하기 위하여 포함되는 물질을 포함할 수 있는 것으로 이해하여야 한다.
- [0159] 약학적 허용 가능한 담체는 당업계에 공지되어 있으며, 이의 비제한적인 예로는 0.1 M, 바람직하게는 0.05 M 인 산업 완충액 또는 0.8% 염수를 들 수 있다. 추가로 약학적 허용 가능한 담체는 수성 또는 비-수성 액체, 현탁액 및 에멀전이 될 수 있다. 비-수성 용매의 예로는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물성유, 예컨대 올리브유 및 주사용 유기 에스테르, 예컨대 에틸 올레이트를 들 수 있다. 수성 담체로는 염수 및 완충 매체를 비롯한 물, 알콜성/수성 액체, 에멀전 또는 현탁액을 들 수 있다. 비경구 비이클로는 염화나트륨 용액, 링거 텍스트로스, 텍스트로스 및 염화나트륨, 락테이트 링거 또는 고정유를 들 수 있다. 방부제 및 기타의 첨가제, 예컨대 항균제, 항산화제, 킬레이트화제, 불활성 기체 등이 존재할 수 있다.
- [0160] 국소 제제에 적절한 제제는 예를 들면 젤, 크림 또는 연고를 제공할 수 있다.
- [0161] 치료하고자 하는 부위, 예를 들어 상처 또는 궤양에 직접 분무 또는 살포할 수 있는 액체 또는 분말 제제도 또한 제공될 수 있다. 대안으로, 담체, 예컨대 붕대, 거즈, 메쉬 등은 제제와 함께 분무 또는 살포된 후, 치료하고자 하는 부위에 적용될 수 있다.
- [0162] 수의학적 용도를 위한 치료 제제는 간편하게 분말 또는 액체 농축액 형태일 수 있다. 표준 수의학적 제제 실시예에 의하면, 통상의 수용성 부형제, 예컨대 락토스 또는 수크로스를 분말에 투여하여 그의 물리적 성질을 개선시킬 수 있다. 그래서, 본 발명의 특히 적절한 분말은 50 내지 100% w/w, 바람직하게는 60 내지 80% w/w의 활성 성분(들) 및 0 내지 50% w/w, 바람직하게는 20 내지 40% w/w의 통상의 수의학적 부형제를 포함한다. 이들 분말은 예를 들면 동물 음용수에 희석시키거나 또는 중간 프리믹스에 의하여 동물 사료에 첨가될 수 있다.
- [0163] 본 발명의 액체 농축액은 적절하게는 화합물 또는 그의 유도체 또는 염을 포함하며, 수의학적으로 허용 가능한 수-혼화성 용매, 예를 들면 폴리에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 글리세롤, 글리세롤 포르말 또는, 30% v/v 이하의 에탄올과 혼합된 상기 용매를 임의로 포함할 수 있다. 액체 농축액은 동물의 음용수에 투여할 수 있다.
- [0164] 일반적으로, 1종 이상의 본 발명의 화합물의 적절한 투약량은 1일 개체의 체중 1 kg당 약 1 μ g 내지 약 5,000 μ g 범위내가 될 수 있으며, 예를 들면 1일 개체의 체중 1 kg당 1, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 1,000, 2,500 또는 5,000 μ g일 수 있다. 화합물(들)이 염, 용매화물, 전구약물 등인 경우, 투여되는 양은 부모 화합물을 기준으로 하여 계산될 수 있으며, 그리하여 사용하고자 하는 실제의 중량은 이에 비례하여 증가될 수 있다.
- [0165] 일부 실시양태에서, 본 발명의 화합물 1종 이상은 상기 기재된 유형의 증식성 상태의 치료를 위한 병행 요법으로, 예를 들면 기타의 치료제와 함께 사용될 수 있다. 이와 같은 기타 치료제의 비제한적인 예로는 토포이소머라제 억제제, 알킬화제, 항대사물질, DNA 결합제 및 미세관 억제제(튜블린 표적제), 예컨대 시스플라틴, 시클로포스파미드, 독소루비신, 에토포시드, 이리노테칸, 플루타라빈, 5FU, 탁산 또는 미토마이신 C를 들 수 있다. 기타의 치료제는 당업자에게 명백할 것이다. 기타의 요법과 병행된 활성 화합물의 경우, 2종 이상의 치료가 개별적으로 변경되는 투약 스케줄로 그리고 상이한 경로를 통하여 제공될 수 있다.
- [0166] 상기 제시된 제제와 본 발명의 화합물의 병행은 의사의 통상의 지식 및 숙련된 개업의에게 공지된 투약 요법을 사용하여 투약량을 선택하는 의사의 판단에 따른다.
- [0167] 본 발명의 화합물을 1, 2, 3, 4종 이상, 바람직하게는 1 또는 2종, 바람직하게는 1종의 치료제와 병행 요법으로 투여할 경우, 화합물은 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 순차적으로 투여되는 경우, 이는 짧은 간격으로(예를 들면 5-10 분에 걸쳐) 또는 긴 간격으로(예를 들면 1, 2, 3, 4 이상의 시간 간격 또는 심지어 필요할 경우 더 긴 기간) 투여될 수 있으며, 정확한 투약 요법은 치료제(들)의 성질에 상응한다.
- [0168] 본 발명의 화합물은 또한 비-화학요법 치료, 예컨대 방사선요법, 광역학 요법, 유전자 요법, 수술 및 조절된 식이와 함께 투여될 수 있다.
- [0169] 이제, 본 발명은 하기의 비제한적인 실시예를 참조하여 예시하고자 한다.

발명의 효과

- [0170] 본 발명에 따른 신규 화합물은 시토크롬 P450 1B1(CYP1B1) 및 그의 대립 변이체를 발현시키는 세포를 특징으로 하는 암 및 기타의 증식성 상태의 치료 또는 예방에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0171] 도 1은 형질전환된 CHO/CYP1B1/CPR 세포주에서의 CYP1B1 발현(패널 A) 및 형질전환된 CHO/CYP1A1/CPR 세포주에서의 CYP1A1 발현(패널 B)의 검출을 나타내는 웨스턴 블롯을 도시한다. 세부적인 사항은 하기의 실험 부문에 제공한다.

도 2a는 본 발명의 화합물(본 명세서에서 SU025-04로 지칭함)의 CYP1B1-유발된 3-히드록실화에 이어서 1,4 제거에 의한 세포독성 효과기 분자(N,N'-비스(2-클로로에틸)포스포로디아미테이트(또한 염화IPM으로 공지됨)의 자발적인 방출에 대한 기전을 도시한다.

도 2b는 본 발명의 화합물(본 명세서에서 SU025-04로 지칭함)의 CYP1B1-유발된 4-히드록실화에 이어서 1,6 제거에 의한 세포독성 효과기 분자(N,N'-비스(2-클로로에틸)포스포로디아미테이트(또한 염화IPM으로 공지됨)의 자발적인 방출의 기전을 도시한다.

도 2c는 본 발명의 화합물(본 명세서에서 SU025-04로 지칭함)의 CYP1B1-유발된 6-히드록실화에 이어서 1,8 제거에 의한 세포독성 효과기 분자(N,N'-비스(2-클로로에틸)포스포로디아미테이트(또한 염화IPM으로 공지됨)의 자발적인 방출의 기전을 도시한다.

도 3은 본 발명의 화합물(본 명세서에서 SU024-1-03으로 지칭함)의 CYP1B1-유발된 6-히드록실화에 이어서 1,8 제거에 의한 효과기 분자의 자발적인 방출의 기전을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0172] 화합물의 제조

[0173] 개론

[0174] ^1H , ^{13}C 및 ^{31}P 핵 자기 공명(NMR) 스펙트럼은 제시된 용매중에서 Bruker Avance DPX 500 MHz 또는 Bruker Avance 300 MHz 분광계상에서 기록하였다. 화학 이동은 ppm 단위로 표시하였다. 시그널 분할 패턴은 단일선(s), 넓은 단일선(bs), 이중선(d), 삼중선(t), 사중선(q), 다중선(m) 또는 이의 조합으로서 기재한다. 저 해상도 전기분무(ES) 질량 스펙트럼은 이동상으로서 메탄올/물(95:5) 또는 물 아세트ونی트릴(1:1) + 0.1% 포름산을 사용하여 양의 이온 모드로 실시한 Bruker MicroTof 질량 분광계상에서 기록하였다. 고 해상도 전기분무 측정법은 Bruker Microtof 질량 분광계상에서 실시하였다. LC-MS 분석은 (0 내지 20% MeOH/H₂O)로 용출시키는 Agilent HPLC 1100(Phenomenex Gemini Column 5 μ C18 110 Å 50×3.0 mm 및, Bruker Microtof 질량 분광계를 직렬 연결한 다이오드 어레이 검출기를 사용하여 실시하였다. 컬럼 크로마토그래피는 실리카 겔(230-400 메쉬) 또는 RediSep[®].4, 12, 40 또는 80 g 실리카 예비충전된 컬럼으로 실시하였다. 모든 출발 물질은 시판되며, 추가의 정제 없이 사용하였다. 모든 반응은 반대의 의미로 명시하지 않는 한 건조 및 불활성 조건하에서 실시하였다.

[0175] [하기에서 괄호안에 표시한 칼표(†)를 사용하여 나타낸 화합물은 본 발명의 예는 아니지만, 본 발명의 보다 나은 이해를 돕기 위하여 포함시켰다].

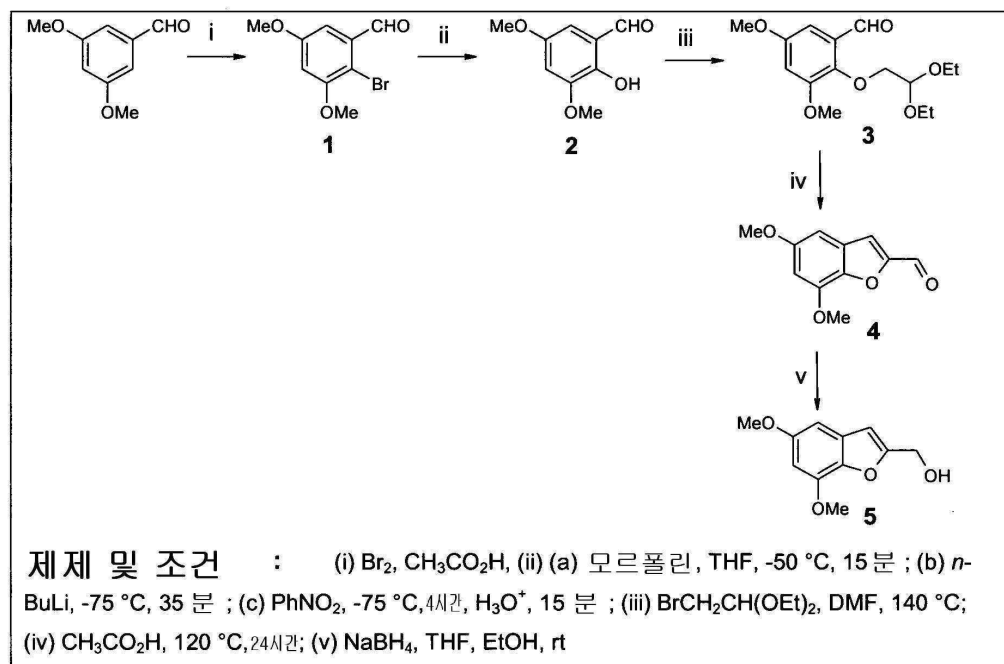
[0176] 1. 포스포로아미테이트 머스타드 전구약물

코드	구조	코드	구조
SU025-04		SU046-04	

[0177]

[0178] 포스포로아미테이트 전구약물 SU025-04 및 SU046-04의 합성

[0179] 1. 전구약물의 유발기 성분의 합성



[0180]

[0181] 2-브로모-3,5-디메톡시벤즈알데히드(1)

[0182]

3,5-디메톡시벤즈알데히드(12.6 g, 76 mmol)를 아세트산(350 ml)에 용해시켰다. 생성된 무색 용액을 0°C 로 냉각하였다. 에타노산(50 ml)중의 브롬(3.9 ml)의 용액을 1 시간에 걸쳐 적가하였다. 첨가가 완료되면, 얼음조를 제거하고, 생성된 담녹색 용액을 밤새 실온에서 교반하였다. 저온수를 용액에 첨가하였다. 생성된 백색 고체를 진공 여과로 수집하고, 물로 행구었다. 그후, 고체를 EtOAc에 재용해시키고, 실리카 겔상에 흡착시켰다. 생성물을 헥산/EtOAc(4:1)으로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 1(12.5 g, 66%)을 백색 고체로서 얻었다. $m/z = 345.98$

[0183]

(M+H). ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ : 10.43 (1 H, s, CHO), 7.06 (1 H, s, ArH), 6.73 (1 H, s, ArH), 3.93 (3H, s, CH_3O), 3.86 (3H, s, CH_3O). ^{13}C NMR (500MHz, CDCl_3): δ : 192.09(CHO), 159.92 (C-5), 157.02 (C-3), 134.67 (C-1), 109.12 (C-2), 105.83, 103.37 (C-4 & C-6), 56.60 (OMe), 55.82 (OMe).

[0184]

[0185] 2-히드록시-3,5-디메톡시벤즈알데히드(2)

[0185]

모르폴린(2.05 g, 24 mmol) 및 THF(40 ml)를 교반 바아, 격막 캡, 적하 깔때기, 온도계 및 아르곤 투입구가 장착된 3목 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 플라스크를 드라이 아이스-아세톤 배쓰중에서 -50°C 로 냉각시키고, 헥산중의 $n\text{-BuLi}$ 의 용액(1.6M, 15 ml, 24 mmol)을 한꺼번에 첨가하였다. 10 분후, THF(30 ml)중의 1(4.9 g, 20 mmol)의 용액을 주사기를 통하여 4 분에 걸쳐 적가하고, 혼합물을 약 -75°C 로 20 분에 걸쳐 냉각시켰다. 헥산중의 $n\text{-BuLi}$ (1.6M, 20 ml, 32 mmol)를 45 분에 걸쳐 온도를 -75°C 에서 유지하면서 적가하였다. $n\text{-BuLi}$ 의 첨가를 완료한 후, 용액을 35 분 동안 교반하였다. 10 ml THF중의 니트로벤젠(6.90 g, 46 mmol)의 용액을 온도를 -75°C 에서 유지하면서 적하 깔때기로부터 첨가하였다. 생성된 질은 혼합물을 -75°C 에서 4 시간 동안 교반한 후, 실온으로 가온되도록 하였다. 6N HCl을 사용하여 pH 1로 산성화하고, 15 분 동안 교반하였다. 염수(100 ml)로 희석한 후, THF를 진공하에서 제거하였다. 수용액을 디에틸 에테르(4×40 ml)로 추출하였다. 합한 유기층을 2 N NaOH(3×40 ml)로 추출하였다. 합한 NaOH 추출물을 디에틸 에테르(3×20 ml)로 세정한 후, 진한 HCl을 사용하여 pH 1로 산성화하였다. 생성된 혼합물을 CH_2Cl_2 (3×20 ml)로 추출하고, 합한 유기 추출물을 염수로 세정하고, 건조시키고(MgSO_4), 실리카 겔상에 흡착시켰다. 생성물을 EtOAc/헥산(1:2)으로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하였다. 순수한 2(2.0 g, 55%)를 황색 고체로서 얻었다. $m/z = 183.06$ (M+H). ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ : 10.71 (1 H, s, OH), 9.91 (1 H, s, CHO), 6.77 (1 H, d, $J_{4,6} = 2.8$ Hz, H-6), 6.61 (1 H, d, $J_{4,6} = 2.8$ Hz, H-4), 3.92 (3H, s, OMe), 3.84 (3H, s, OMe). ^{13}C NMR CDEPT135 (500MHz, CDCl_3): δ :

196.11 (CHO), 107.93 (C-6), 103.90 (C-4), 56.29 (OMe), 55.83 (OMe).

[0186] 2-(2,2-디에톡시에톡시)-3,5-디메톡시벤즈알데히드(3)

[0187] DMF(100 ml)중의 2(1.1 g, 6.0 mmol) 및 K_2CO_3 (1.0 g, 7.2 mmol)를 포함하는 교반된 현탁액에 브로모아세트알데히드 디에틸 아세탈(0.93 ml, 6.0 mmol)을 적가하였다. 혼합물을 4 시간 동안 환류하였다. 냉각후, 침전물을 여과 제거하고, 용매를 진공하에서 증발시켰다. 미정제 잔류물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 헥산/EtOAc(4:1)으로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 3(1.2 g, 67%)을 맑은 오일로서 얻었다. 1H NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ : 10.50 (1 H, s, CHO), 6.88 (1 H, d, $J_{4,6}$ = 2.9 Hz, H-6), 6.74 (1H, d, $J_{4,6}$ = 2.9 Hz, H-4), 4.83 (1H, t, $J_{4,6}$ = 5.3 Hz, CH), 4.14 (2H, d, $J_{4,6}$ = 5.3 Hz, CH_2), 3.88 (3H, s, OMe), 3.83 (3H, s, OMe), 3.77-3.71) (2H, m, CH_2CH_3), 3.63-3.58 (2H, m, CH_2CH_3), 1.24 (6H, t, J = 7.1 Hz, 2 x CH_3).

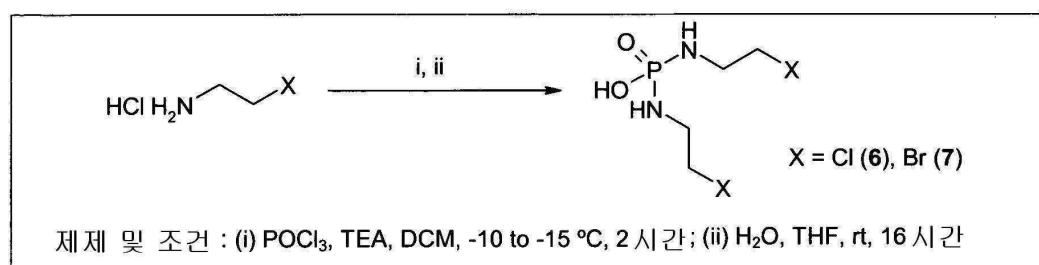
[0188] 5,7-디메톡시벤조푸란-2-카르보알데히드(4)

[0189] 아세트산(35 ml)중의 3(1.2 g, 4.0 mmol)의 교반된 용액을 16 시간 동안 환류시켰다. 냉각후, 용액을 무수 상태로 증발시켰다. 미정제 생성물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 헥산/EtOAc(2:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 4(230 mg, 28%)를 백색 고체로서 얻었다. 1H NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ : 9.89 (1H, s, CHO), 7.50 (1H, s, H-3), 6.69 (1H, d, $J_{4,6}$ = 2.2 Hz, H-6), 6.64 (1H, d, $J_{4,6}$ = 2.2 Hz, H-4), 4.01 (3H, s, OMe), 3.87 (3H, s, OMe). ^{13}C NMR CDEPT 135, (500MHz, $CDCl_3$): δ : 179.91(CHO), 153.37 (C-2), 116.10 (C-3), 101.80 (C-6), 94.90 (C-4), 56.20 (OMe), 55.88(OMe).

[0190] (5,7-디메톡시벤조푸란-2-일)메탄올(5)

[0191] 화합물 4(460 mg, 2.23 mmol)를 THF(5 ml) 및 EtOH(1 ml)에 용해시켰다. $NaBH_4$ (102 mg, 2.68 mmol)를 부분으로 나누어 0°C에서 격렬하게 교반하면서 첨가하였다. 현탁액을 0°C에서 15 분 동안 교반한 후, 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하였다. 미정제 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 물, 염수로 세정하고, 건조시켰다($MgSO_4$). 잔류물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 헥산/EtOAc(1:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 5(388 mg, 82%)를 오일로서 얻었다. m/z = 209.08 (M+H). 1H NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ : 6.62 (1 H, s, H-3), 6.60 (1H, s, H-6), 6.46 (1H, s, H-4), 4.76 (2H, s, 2- CH_2), 3.99 (3H, s, OMe), 3.85(3H, s, OMe). ^{13}C NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ : 157.23 (C-5), 156.72 (C-1), 145.36 (C-7), 139.50 (C-1a), 129.38 (C-4a), 104.62 (C-3), 96.96 (C-6), 94.58 (C-4), 57.98 (2- CH_2), 55.95 (OMe), 55.83 (OMe).

[0192] 2. 전구약물의 효과기 성분의 합성



[0193]

[0194] N,N-비스(2-클로로에틸)포스폰아미드산(6)

[0195] CH_2Cl_2 (110 ml)중의 2-클로로에틸아민 염산염(7.2 g, 62 mmol)의 현탁액에 $POCl_3$ (2.84 ml, 31 mmol)을 15 분에 걸쳐 -78°C에서 격렬하게 교반하면서 첨가한 후, CH_2Cl_2 (30 ml)중의 TEA(17.5 ml, 124 mmol)의 용액을 4 시간에 걸쳐 첨가하였다. 반응 혼합물을 -78°C에서 1 시간 동안 교반한 후, 실온이 되도록 하고, 2 시간 동안 교반하였다. 생성된 고체를 여과하고, 저온의 EtOAc로 세정하였다. 고체를 버렸다. 여과액을 진공하에 약 5 ml로 농축시키고, EtOAc(10 ml)를 첨가하였다. 생성된 현탁액을 여과하고, EtOAc(2×10 ml)로 세정하였다. 고체를 다시 버렸다. 여과액을 진공하에서 무수 상태로 농축시켰다. 잔류물을 THF(7 ml)에 용해시킨 후, 수성 NaBr

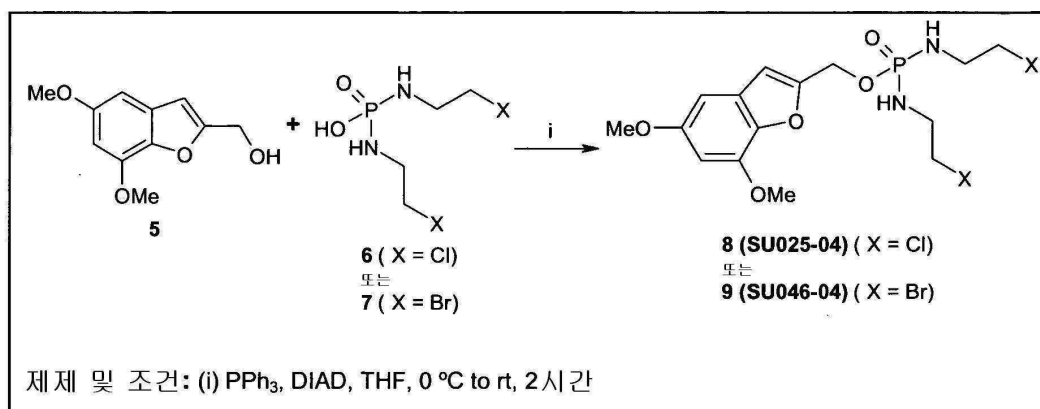
용액(100 ml 물중의 NaBr (5 g))을 0℃에서 20 분에 걸쳐 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 가온시키고, 15 시간 동안 수조내에서 교반하였다. 백색 고체가 반응 혼합물로부터 침전되었다. 그후, 혼합물을 -20℃에서 냉동기 내에서 2 시간 동안 유지하였다. 결정질 고체를 여과하고, 저온수(2×50 ml, 0℃) 및 저온의 EtOAc(2×50 ml, 0℃)로 세정하였다. 실온에서 진공하에서 밤새 건조시킨 후, 생성물 6(1.8 g, 26%)을 백색 고체로서 얻었다. ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6): δ : 5.29 (3H, br, OH & NH), 3.55 (4H, t, J = 7.0Hz, 2 x CH₂), 3.01 (4H, dt, J = 12.2, 7.0 Hz, 2 x CH₂). ^{31}P NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ : 12.28 ppm.

[0196] N,N-비스(2-브로모에틸)포스포아미드산(7)

[0197] 화합물 7은 상기와 유사한 방법을 사용하여 합성하였다. 18% 수율(1.64 g)로 얻었

[0198] 다. ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6): δ : 6.08 (3H, s, OH & NH), 3.46 (4H, t, J = 7.0 Hz, 2 x CH₂), 3.01 (4H, dt, J = 12.2, 7.0 Hz, 2 x CH₂). ^{31}P NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ : 12.23 ppm.

[0200] 3. SU025-04 및 SU046-04의 합성에 대한 커플링 반응



[0201]

[0202] 5,7-디메톡시벤조푸란-2-일)메틸 N,N'-비스(2-클로로에틸)포스포르디아미데이트(8) SU025-04

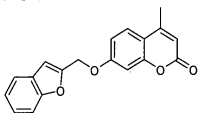
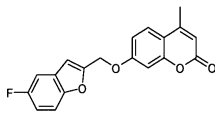
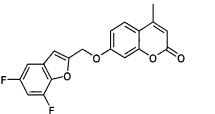
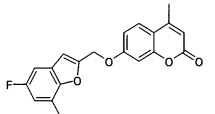
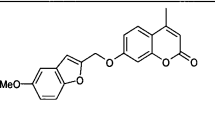
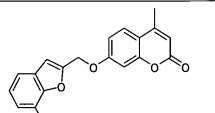
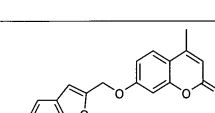
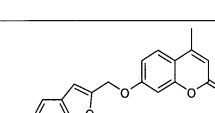
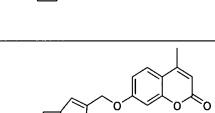
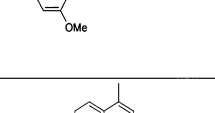
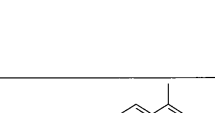
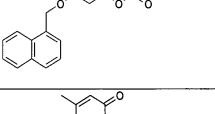
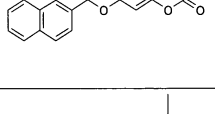
[0203] THF(20 ml)중의 5(300 mg, 1.44 mmol), 6(479 mg, 2.16 mmol) 및 PPh₃(565 mg, 2.16 mmol)의 현탁액에 DIAD(0.426 ml, 2.16 mmol)를 0℃에서 적가하였다. 생성된 현탁액을 실온으로 가온시키고, 2 시간 동안 교반하였다. 용매를 제거하고, 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피(톨루엔중의 70% 아세톤)로 정제하여 8(250 mg, 42%)을 오일로서 얻었다. m/z = 823.08 (2M+H). ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6): δ : 7.27 (2H, s, 2 xNH), 6.75 (1H, s, ArH-3), 6.62 (1H, d, $J_{4,6}$ = 2.3 Hz, ArH-4), 6.49 (1H, d, $J_{4,6}$ = 2.3 Hz, ArH-6), 5.13 (2H, d, J = 9.3 Hz, 2H), 3.99 (3H, s, OMe), 3.86 (3H, s, OMe), 3.29 (4H, m, 2 x CH₂), ^{31}P NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ : 14.76 ppm. HRMS: Calcd for C₁₅H₂₁N₂O₅PCl₂Na, 433.0463; found 433.0471.

[0204] 5,7-디메톡시벤조푸란-2-일)메틸 N,N'-비스(2-브로모에틸)포스포르디아미데이트(9) SU046-04

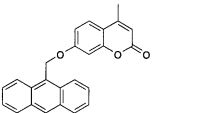
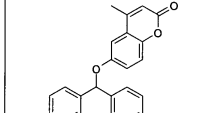
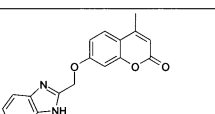
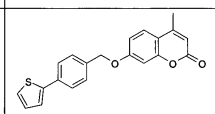
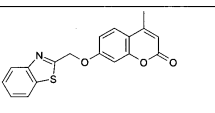
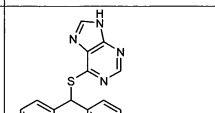
[0205] 화합물 9(SU046-04)는 상기와 유사한 방법을 사용하여 합성하였다. 25% 수율(10 mg)로 얻었다. m/z = 500.96 (M+H), 1000.93 (2M+H). ^1H NMR (500MHz, CDCl₃): δ : 6.76 (1H, s, ArH-3), 6.61 (1H, d, $J_{4,6}$ = 2.2 Hz, ArH-4), 6.48 (1H, d, $J_{4,6}$ = 2.2 Hz, ArH-6), 5.13 (2H, d, J =9.4 Hz, 2H), 3.99 (3H, s, OMe), 3.86 (3H, s, OMe), 3.49-3.45 (4H, m, 2 x CH₂), 3.40-3.33 (4H, m, 2 x CH₂) 3.23 (2H, bs, NH). ^{13}C NMR (500MHz, CDCl₃): δ : 156.98, 152.91, 145.58, 139.97, 129.06, 128.24, 107.45, 97.70, 94.56, 59.73, 56.00, 42.90, 34.76, 30.98. HRMS: Calcd for C₁₅H₂₁N₂O₅PBr₂Na, 520.9453; found 520.9454.

[0206]

2. 에테르 및 티오에테르-결합된 모델 전구약물

TLE-M2-SU010A		VG015-05	
VG016-05 (†)		VG017-05	
VG027-05		VG029-05	
VG035-04		VG028-05	
VG035-05			
TLE- M1-SU001A (†)		VG040-03	
TLE- M1-SU004A (†)		VG039-03	

[0207]

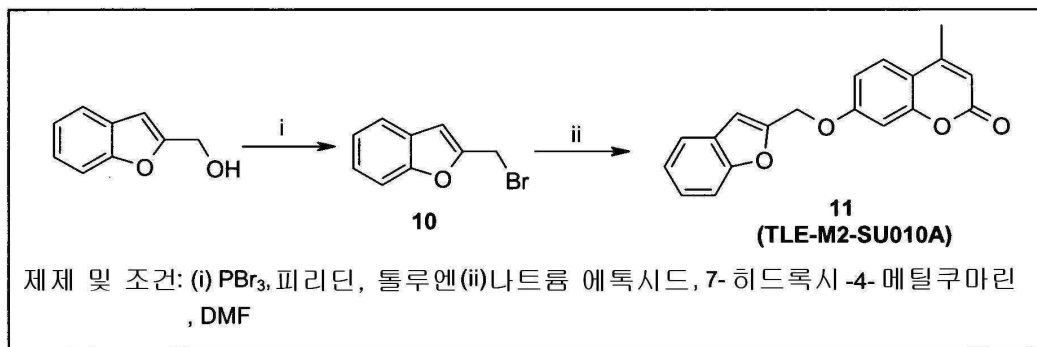
SU06-02 (†)		SU010-02 (†)	
VG033-03		VG015-04 (†)	
VG014-04		VG015-02 (†)	

[0208]

[0209]

에테르 및 티오에테르 결합된 전구약물의 합성

[0210] 7-(벤조푸란-2-일메톡시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(10) TLE-M2-SU010A



[0211]

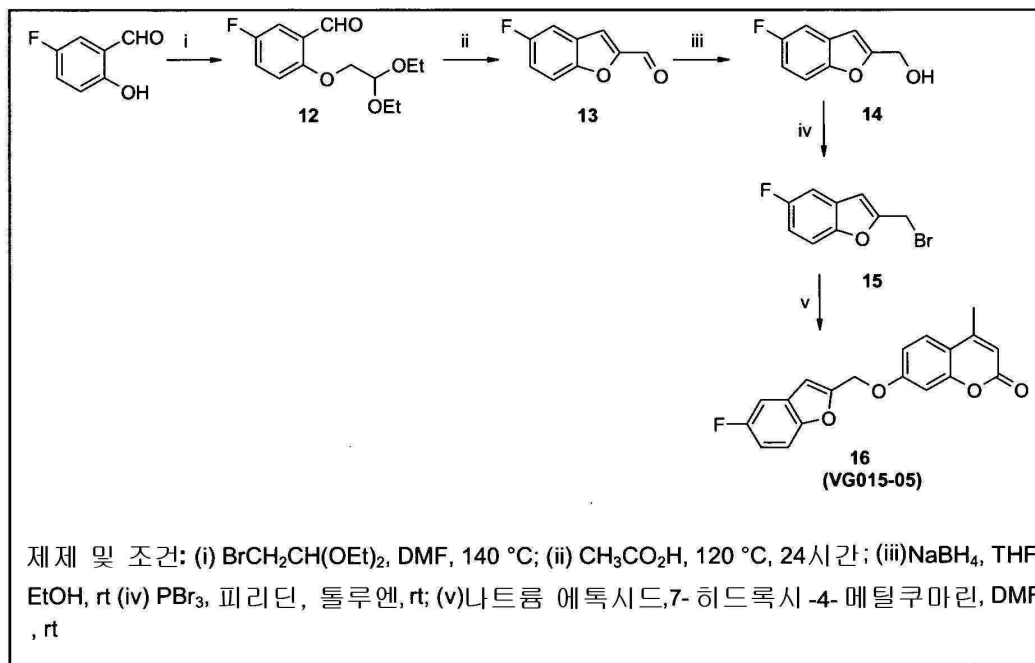
[0212] 2-(브로모메틸)벤조푸란(10)

[0213] 벤조푸란-2-일 메탄올(1.0 g, 6.7 mmol)을 톨루엔(50 ml)에 용해시키고, 피리딘(653 μl , 8.1 mmol)을 첨가하였다. 용액을 0°C로 냉각하였다. PBr_3 (760 μl , 8.1 mmol)를 15 분에 걸쳐 적가하였다. 반응 혼합물을 실온이 되게 하고, 1 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 K_2CO_3 용액으로 세정하고, EtOAc(3×30 ml)로 추출하였다. EtOAc 층을 염수로 세정하고, 건조시켰다(MgSO_4). 용매를 진공하에서 증발로 제거하고, 생성물을 헥산:EtOAc(4:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 10(780 mg, 55%)을 오일로서 얻었다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ : 7.57 (1 H, d, J = 7.75 Hz, H-4), 7.52 (1H, d, J = 8.40, H-7), 7.35 (1H, t, J = 8.90, H-4), 7.27 (1H, t, J = 8.9Hz, H-5), 6.79 (1H, s, H-3), 4.64 (2H, s, 2- CH_2). ^{13}C NMR CDEPT 135, (500MHz, CDCl_3): δ : 155.34 (C-2), 152.65 (C-7a), 129.08 (C-3a), 125.20 (C-6), 123.16 (C-5), 121.34 (C-C-4), 111.46 (C-7), 106.30 (C-3), 23.61 (CH_2 -Br).

[0214] 7-(벤조푸란-2-일메톡시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(11) TLE-M2-SU010A

[0215] 나트륨 에톡사이드(77 mg, 1.13 mmol)를 DMF(10 ml)에 0°C에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(200 mg, 1.13 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반하였다. 이 혼합물에 10(200 mg, 0.94 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 염수, 물 및 1M NaOH(2×30 ml)로 세정하였다. 유기 층을 건조시키고(MgSO_4), 헥산:EtOAc(2:1)로 용출시키는 생성물을 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 11(35 mg, 12%)을 백색 고체로서 얻었다. m/z = 307(M+H). ^1H NMR (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 7.75-7.60 (2H, m, ArH), 7.40-7.25 (2H, m, ArH), 7.23 (1H, s, ArH), 7.12 (2H, d, CH), 6.25 (1H, s, CH), 5.41 (2H, s, CH_2), 2.38 (3H, s, CH_3).

[0216] 7-((5-플루오로벤조푸란-2-일)메톡시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(16) VG015-05



[0217]

[0218] 2-(2,2-디에톡시에톡시)-5-플루오로벤조알데히드(12)

[0219]

DMF(10 ml)중의 2-히드록시-5-플루오로벤조알데히드(500 mg, 3.57 mmol) 및 K_2CO_3 (524 mg, 13.79 mmol)를 포함하는 교반된 현탁액에 브로모아세트알데히드 디에틸 아세탈(0.6 ml, 3.93 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 4 시간 동안 환류하였다. 냉각후, 침전물을 여과 제거하고, 용매를 진공하에서 증발시켰다. 미정제 잔류물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 헥산/EtOAc(4:1)으로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 12(300 mg, 33%)를 오일로서 얻었다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ : 10.30 (1H, s, CHO), 7.31 (1H, d, $J = 7.85\text{Hz}$), 7.10 (1H, t, $J = 7.80\text{Hz}$), 6.87 (1H, d, $J = 8.86\text{ Hz}$), 4.75 (1H, s, CH), 3.97 (2H, d, $J = 2.35\text{ Hz}$, CH_2), 3.67-3.64 (2H, m, CH_2CH_3) 3.53-3.50 (2H, m, CH_2CH_3), 1.11 (6H, t, $J = 6.00\text{ Hz}$, 2 x CH_3).

[0220]

5-플루오로벤조푸란-2-카르보알데히드(13)

[0221]

아세트산(10 ml)중의 12(300 mg, 4.0 mmol)의 교반된 용액을 24 시간 동안 환류시켰다. 냉각후, 용액을 무수상태로 증발시켰다. 미정제 생성물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 헥산/EtOAc(4:1)으로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 13(180 mg, 94%)을 백색 고체로서 얻었다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ : 9.89 (1 H, s, CHO), 7.57 (2H, m, ArH), 7.41 (1H, d, $J = 7.20\text{ Hz}$), 7.26 (1H, d, $J = 6.94\text{ Hz}$, H-4). ^{13}C NMR CDEPT 135, (500MHz, CDCl_3): δ : 179.74 (CHO), 117.73 (C-3), 117.25 (C-7), 113.81 (C-6), 108.68 (C-4).

[0222]

(5-플루오로벤조푸란-2-일)메탄올(14)

[0223]

화합물 13(180 mg, 1.10 mmol)을 EtOH(12 ml)에 용해시켰다. NaBH_4 (45 mg, 1.21 mmol)를 부분으로 나누어 0°C 에서 격렬하게 교반하면서 첨가하였다. 현탁액을 0°C 에서 15 분 동안 교반한 후, 실온에서 1.5 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하였다. 미정제 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 물, 염수로 세정하고, 건조시켰다(MgSO_4). 용매를 진공하에서 증발로 제거하였다. 잔류물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 헥산/EtOAc(3:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 14(150 mg, 91%)를 백색 고체로서 얻었다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ : 7.36 (1H, d, $J = 8.35\text{ Hz}$, H-7), 7.19 (1H, d, $J = 7.80$, H-4), 7.00 (1H, t, $J = 8.75\text{ Hz}$, H-6), 6.60 (1H, s, H-3), 4.75 (2H, s, CH_2).

[0224]

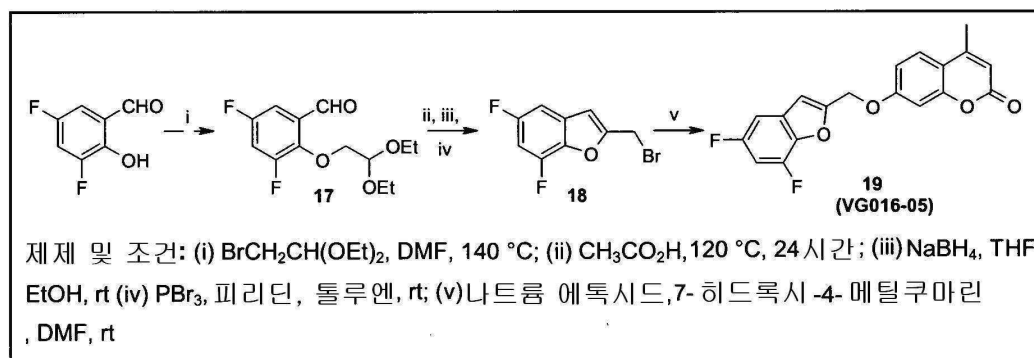
2-(브로모메틸)-5-플루오로벤조푸란(15)

[0225] 화합물 14(150 mg, 0.90 mmol)를 톨루엔(10 ml)에 용해시키고, 용액을 0℃로 냉각하였다. PBr_3 (102 μl , 1.08 mmol)를 15 분에 걸쳐 적가하였다. 반응 혼합물을 실온이 되게 하고, 1 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하였다. 잔류물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 헥산/EtOAc(4:1)으로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 15(150 mg, 72%)를 오일로서 얻었다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ : 7.43 (1H, d, J = 7.60 Hz, H-7), 7.21 (1H, t, J = 8.10, H-4), 7.06 (1H, t, J = 8.90, H-4), 6.75 (1H, s, H-3), 4.60 (2H, s, 2- CH_2). ^{13}C NMR CDEPT 135, (500MHz, CDCl_3): δ : 113.08 (C-7), 112.08 (C-6), 106.87 (C-4), 106.34 (C-3), 60.42 ($\text{CH}_2\text{-Br}$).

[0226] 7-((5-플루오로벤조푸란-2-일메톡시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(16) VG015-05

[0227] 나트륨 에톡시드(8.9 mg, 0.13 mmol)를 DMF(3 ml)에 0℃에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(25.4 mg, 0.14 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반하였다. 이 혼합물에 15(30 mg, 0.13 mmol)를 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 헥산:EtOAc(3:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 16(9.0 mg, 21%)을 백색 고체로서 얻었다. m/z = 325.20 (M+H).

[0228] 7-((5,7-디플루오로벤조푸란-2-일메톡시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(19) VG016-05



[0229] 2-(2,2-디에톡시에톡시)-3,5-디플루오로벤조알데히드(17)

[0230] DMF(10 ml)중의 2-히드록시-3,5-플루오로벤조알데히드(1.0 g, 6.32 mmol) 및 K_2CO_3 (960 mg, 6.95 mmol)를 포함하는 교반된 현탁액에 브로모아세트알데히드 디에틸 아세탈(1.07 ml, 6.95 mmol)을 적가하였다. 혼합물을 4 시간 동안 환류하였다. 냉각후, 침전물을 여과 제거하고, 용매를 진공하에서 증발시켰다. 미정제 잔류물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 헥산/EtOAc(4:1)으로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 17(380 mg, 22%)을 오일로서 얻었다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3):

[0232] δ : 10.41 (1H, s, CHO), 7.29 (1H, d, J = 6.80 Hz), 7.10 (1H, t, J = 8.30 Hz), 4.80 (1H, s, CH), 4.20 (2H, d, J = 3.25 Hz, CH_2), 3.71 (2H, t, J = 7.10 Hz, CH_2CH_3), 3.57 (2H, t, J = 7.45 Hz, CH_2CH_3), 1.19 (6H, t, J = 6.25 Hz, 2 x CH_3).

[0233] 2-(브로모메틸)-5,7-디플루오로벤조푸란(18)

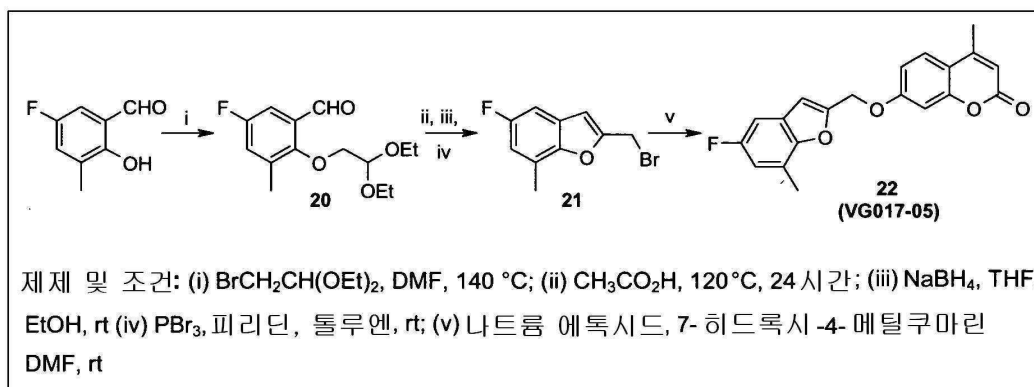
[0234] 아세트산(10 ml)중의 17(380 mg, 1.39 mmol)의 교반된 용액을 24 시간 동안 환류시켰다. 냉각후, 용액을 무수 상태로 증발시켰다. 미정제 생성물(300 mg)을 EtOH(5 ml)에 용해시켰다. NaBH_4 (73 mg, 1.98 mmol)를 부분으로 나누어 0℃에서 격렬하게 교반하면서 첨가하였다. 현탁액을 0℃에서 15 분 동안 교반한 후, 실온에서 1.5 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하였다. 미정제 잔류물(280 mg)을 톨루엔(20 ml)에 용해시키고, 용액을 0℃로 냉각하였다. PBr_3 (142 μl , 1.52 mmol)를 15 분에 걸쳐 적가하였다. 반응 혼합물을 실온이 되게 하고, 1 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하였다. 잔류물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 헥산/EtOAc(4:1)으로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 18(210 mg, 61%)을 얻었다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ : 7.03 (1H, d, J = 7.50 Hz, H-4), 6.87 (1H, t, J = 9.80, H-5), 6.79 (1H, s, H-3),

4.59 (2H, s, 2-CH₂).

[0236] 7-((5,7-디플루오로벤조푸란-2-일)메톡시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(19) VG016-05

[0237] 나트륨 에톡시드(8.9 mg, 0.13 mmol)를 DMF(3 ml)에 0℃에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(25.4 mg, 0.14 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반하였다. 이 혼합물에 2-(브로모메틸)-5-플루오로벤조푸란(30 mg, 0.12 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 헥산:EtOAc(3:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 19(8.8 mg, 21%)를 백색 고체로서 얻었다. *m/z* = 343.12 (M+H).

[0239] 7-((5,7-디플루오로벤조푸란-2-일)메톡시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(22) VG017-05



[0240]

[0241] 2-(2,2-디에톡시에톡시)-5-플루오로-3-메틸벤즈알데히드(20)

[0242] DMF(8ml)중의 5-플루오로-2-히드록시-3-메틸벤즈알데히드(1.0 g, 6.49 mmol) 및 K₂CO₃(980 mg, 7.10 mmol)를 포함하는 교반된 현탁액에 브로모아세트알데히드 디에틸 아세탈(1.10 ml, 7.15 mmol)을 적가하였다. 혼합물을 4 시간 동안 환류하였다. 냉각후, 침전물을 여과 제거하고, 용매를 진공하에서 증발시켰다. 미정제 잔류물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 플래쉬 크로마토그래피로 정제하였다. 생성물을 헥산/EtOAc(4:1)로 용출시켜 20(350 mg, 20%)을 오일로서 얻었다. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ: 10.40 (1H, s, CHO), 7.32 (1H, d, *J* = 7.30 Hz, ArH), 7.14 (1H, d, *J* = 7.75 Hz, ArH), 4.85 (1H, s, CH), 3.95 (2H, s, CH₂), 3.75 (2H, t, *J* = 7.15 Hz, CH₂CH₃), 10 3.61 (2H, t, *J* = 7.20 Hz, CH₂CH₃), 2.36 (3H, s, CH₃), 1.24 (6H, t, *J* = 5.65 Hz, 2 x CH₃).

[0243] 2-(브로모메틸)-5-플루오로-7-메틸벤조푸란(21)

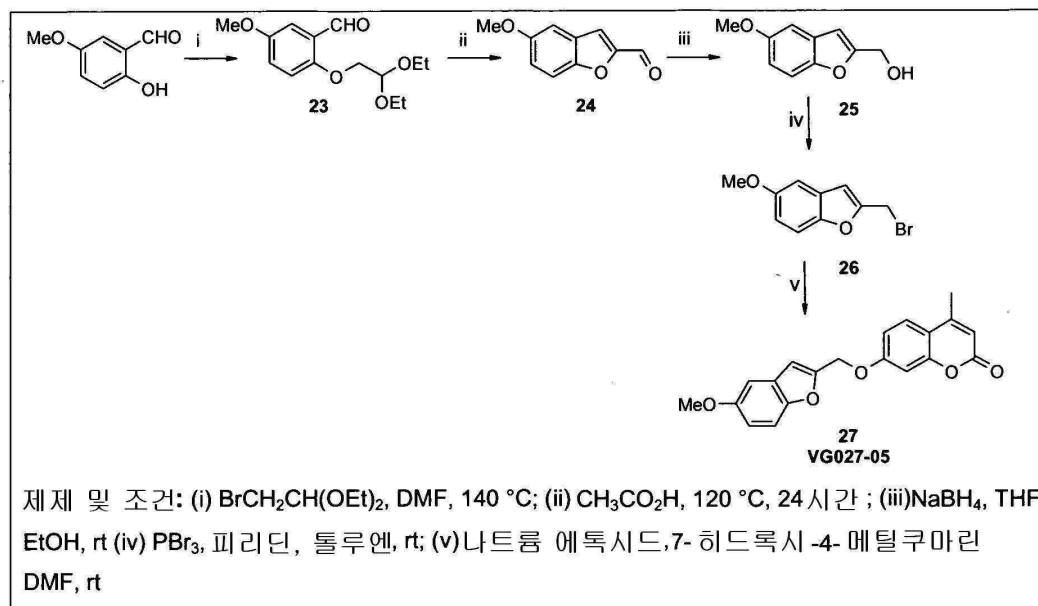
[0244] 아세트산(10 ml)중의 20(350 mg, 1.30 mmol)의 교반된 용액을 24 시간 동안 환류시켰다. 냉각후, 용액을 무수 상태로 증발시켰다. 미정제 생성물(300 mg)을 THF(5 ml)에 용해시켰다. NaBH₄(78 mg, 2.02 mmol)를 부분으로 나누어 0℃에서 격렬하게 교반하면서 첨가하였다. 현탁액을 0℃에서 15 분 동안 교반한 후, 실온에서 1.5 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하였다. 미정제 잔류물(260 mg)을 톨루엔(20 ml)에 용해시키고, 용액을 0℃로 냉각하였다. PBr₃(135 μl, 1.44 mmol)를 15 분에 걸쳐 적가하였다. 반응 혼합물을 실온이 되게 하고, 1 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하였다. 잔류물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 헥산/EtOAc(4:1)으로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 21(200 mg, 36%)을 얻었다. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ: 7.03 (1 H, d, *J* = 7.50 Hz, H-4), 6.88 (1H, t, *J* = 9.80, H-5), 6.75 (1H, s, H-3), 4.69 (2H, s, 2-CH₂), 2.54 (3H, s, CH₃).

[0245] 7-((5,7-디플루오로벤조푸란-2-일)메톡시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(22) VG017-05

[0246] 나트륨 에톡시드(8.9 mg, 0.13 mmol)를 DMF(3 ml)에 0℃에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(25.4 mg, 0.14 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교

반하였다. 이 혼합물에 21(30 mg, 0.12 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 헥산:EtOAc(3:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 22를 백색 고체(11 mg, 26%)로서 얻었다. $m/z = 33.20$ (M+H).

[0247] 7-((5-메톡시벤조푸란-2-일메톡시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(27) VG027-05



[0248]

[0249] 2-(2,2-디에톡시에톡시)-5-메톡시벤즈알데히드(23)

[0250] DMF(20 ml)중의 2-히드록시-5-메톡시벤즈알데히드(2.0 g, 13.16 mmol) 및 K_2CO_3 (2.18 g, 15.79 mmol)를 포함하는 교반된 현탁액에 브로모아세트알데히드 디에틸 아세탈(2.43 ml, 15.79 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 4 시간 동안 환류하였다. 냉각후, 침전물을 여과 제거하고, 용매를 진공하에서 증발시켰다. 미정제 잔류물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 플래쉬 크로마토그래피로 정제하였다. 생성물을 헥산:EtOAc(4:1)로 용출시켜 표적 화합물 23(1.10 g, 31%)을 오일로서 얻었다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ : 10.49 (1H, s, CHO), 7.33 (1H, d, $J = 3.30$

[0251] Hz, ArH), 7.12 (1H, dd, $J = 5.75$ & 3.30 Hz, ArH), 6.97 (1H, d, $J = 9.05$ Hz), 4.87 (1H, t, $J = 5.25$ Hz, CH), 4.09 (2H, d, $J = 5.25$ Hz, CH_2), 3.81-3.78 (2H, m, CH_2CH_3), 3.67-3.64 (2H, m, CH_2CH_3), 1.26 (6H, t, $J = 7.05$ Hz, $2 \times \text{CH}_3$).

[0252] 5-메톡시벤조푸란-2-카르브알데히드(24)

[0253] 아세트산(10 ml)중의 23(1.0 g, 3.74 mmol)의 교반된 용액을 16 시간 동안 환류시켰다. 냉각후, 용액을 무수 상태로 증발시켰다. 미정제 생성물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 헥산:EtOAc(4:1)으로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 24(160 mg, 24%)를 백색 고체로서 얻었다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ : 9.80 (1H, s, 25 CHO), 7.49-7.45 (2H, m, ArH), 7.12-7.09 (2H, m, ArH), 3.85 (3H, s, OCH_3).

[0255] (5-메톡시벤조푸란-2-일)메탄올(25)

[0256] 화합물 24(3.5 g, 19.9 mmol)를 EtOH(20 ml)에 용해시켰다. NaBH_4 (957 mg, 25.87 mmol)를 부분으로 나누어 0°C 에서 격렬하게 교반하면서 첨가하였다. 현탁액을 0°C 에서 15 분 동안 교반한 후, 실온에서 1.5 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하였다. 잔류물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 헥산:EtOAc(2:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 25(3.0 g, 85%)를 백색 고체로서 얻었다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ : 7.36 (1H, d, $J = 8.90$ Hz, H-7), 7.02 (1H, d, $J = 2.6$, H-4), 6.90 (1H, dd, $J = 6.30$ & 2.60 ,

H-6), 6.61 (1H, s, H-3), 4.76 (2H, s, 2-CH₂), 3.86 (3H, s, OCH₃), 2.16 (1H, bs, OH). ¹³C NMR CDEPT 135, (500MHz, CDCl₃): δ : 113.07 (C-7), 111.69 (C-6), 104.34(C-4), 103.60(C-3), 58.24(CH₂), 55.92 (OCH₃).

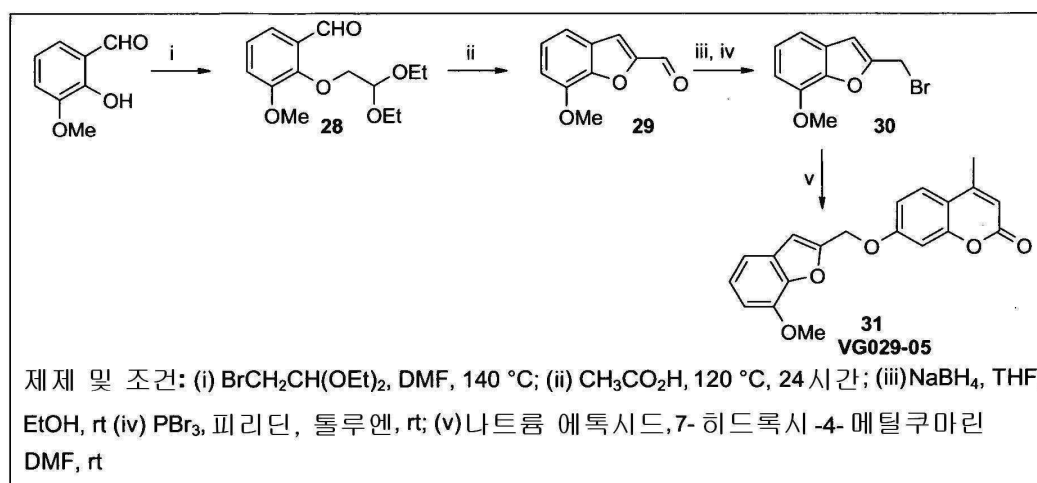
[0257] 2-(브로모메틸)-5-메톡시벤조푸란(26)

[0258] 화합물 25(40 mg, 0.22 mmol)를 톨루엔(5 ml)에 용해시키고, 용액을 0℃로 냉각하였다. PBr₃(21 μl, 0.22 mmol)를 10 분에 걸쳐 적가하였다. 반응 혼합물을 실온이 되게 하고, 1 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하였다. 잔류물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 헥산/EtOAc(4:1)으로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 26(40 mg, 74%)을 오일로서 얻었다. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ : 7.39 (1H, d, J = 8.90 Hz, H-7), 7.01 (1H, d, J = 2.55, H-4), 6.94 (1H, dd, J = 6.35 & 2.60, H-6), 6.72 (1H, s, H-3), 4.61 (2H, s, 2-CH₂), 3.86 (3H, s, OCH₃).

[0259] 7-((5-메톡시벤조푸란-2-일)메톡시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(27) VG027-05

[0260] 나트륨 에톡시드(12 mg, 0.18 mmol)를 DMF(5 ml)에 0℃에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(32 mg, 0.17 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반하였다. 이 혼합물에 26(40 mg, 0.17 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 헥산:EtOAc(3:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 27(17mg, 30%)을 백색 고체로서 얻었다. m/z = 337.04 (M+H), 673.13 (2M+H).

[0261] 7-((7-메톡시벤조푸란-2-일)메톡시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(31) VG029-05



[0262]

[0263] 2-(2,2-디에톡시에톡시)-3-메톡시벤즈알데히드(28)

[0264] DMF(15 ml)중의 2-히드록시-3-메톡시벤즈알데히드(4.0 g, 26.3 mmol) 및 K₂CO₃(4.36 g, 31.60 mmol)를 포함하는 교반된 현탁액에 브로모아세트알데히드 디에틸 아세탈(4.86 ml, 31.60 mmol)을 적가하였다. 혼합물을 4 시간 동안 환류하였다. 냉각후, 침전물을 여과 제거하고, 용매를 진공하에서 증발시켰다. 미정제 잔류물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 헥산/EtOAc(4:1)으로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 28(2.60 g, 36%)을 얻었다. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ : 10.53 (1H, s, CHO), 7.42 (1H, m, ArH), 7.14-7.12 (2H, m, ArH), 4.83 (1H, t, J = 5.30 Hz, CH), 4.21 (2H, d, J = 5.35 Hz, CH₂), 3.90 (3H, s, OCH₃), 3.74-3.71 (2H, m, CH₂CH₃) 3.60-3.57 (2H, m, CH₂CH₃), 1.22 (6H, t, J = 7.05 Hz, 2 x CH₃).

[0265] 7-메톡시벤조푸란-2-카르보알데히드(29)

[0266] 아세트산(10 ml)중의 28(2.0 g, 7.46 mmol)의 교반된 용액을 24 시간 동안 환류시켰다. 냉각후, 용액을 무수 상태로 증발시켰다. 미정제 생성물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 헥산/EtOAc(4:1)으로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 29(450 mg, 34%)를 백색 고체로서 얻었다. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ : 9.89 (1H, s, CHO), 7.55 (1H, s, ArH), 7.30 (1H, d, J = 6.95 Hz, ArH), 7.24 (1H, t, J = 7.85, ArH), 6.97 (1H, d, J =

6.90 Hz), 4.02 (3H, s, OCH₃).

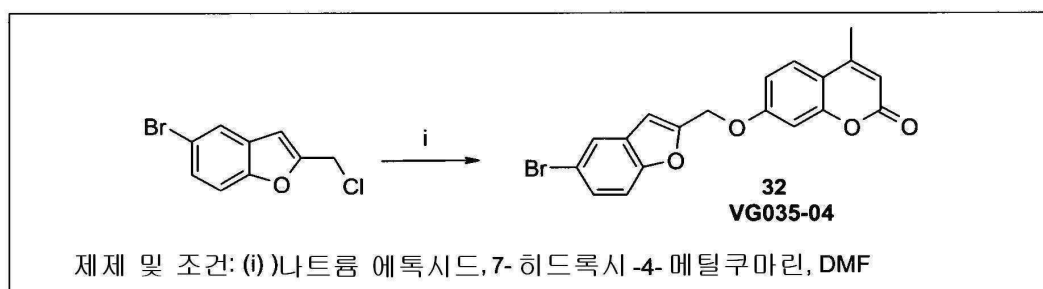
[0267] 2-(브로모메틸)-7-메톡시벤조푸란(30)

[0268] 화합물 29(450 mg, 2.56 mmol)를 EtOH(10 ml)에 용해시켰다. NaBH₄(104 mg, 2.81 mmol)를 부분으로 나누어 0℃에서 격렬하게 교반하면서 첨가하였다. 현탁액을 0℃에서 15 분 동안 교반한 후, 실온에서 1.5 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하였다. 생성된 미정제 알콜 잔류물을 톨루엔(5 ml)에 용해시키고, 용액을 0℃로 냉각하였다. PBr₃(240 μl, 2.56 mmol)를 10 분에 걸쳐 적가하였다. 반응 혼합물을 실온이 되게 하고, 1 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하였다. 잔류물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 헥산/EtOAc(4:1)으로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 30(150 mg, 24%)을 오일로써 얻었다. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ: 7.19-7.17 (2H, m, ArH), 6.85 (1H, d, *J* = 5.60, ArH), 6.78 (1H, s, ArH), 4.62 (2H, s, 2-CH₂), 4.04 (3H, s, OCH₃).

[0269] 7-((7-메톡시벤조푸란-2-일)메톡시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(31) VG029-05

[0270] 나트륨 에톡시드(12 mg, 0.18 mmol)를 DMF(5 ml)에 0℃에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(32 mg, 0.17 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반하였다. 이 혼합물에 30(40 mg, 0.17 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 헥산:EtOAc(3:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 31(14 mg, 25%)을 백색 고체로써 얻었다. *m/z* 337.04 (M+H), 673.13 (2M+H).

[0271] 7-((5-브로모벤조푸란-2-일)메톡시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(32) VG035-04

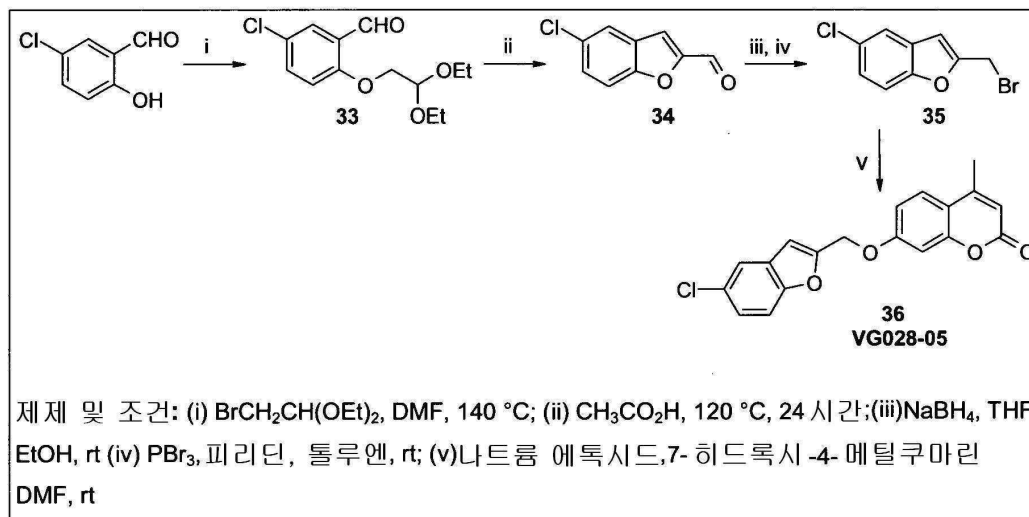


[0272]

[0273] 7-((5-브로모벤조푸란-2-일)메톡시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(VG035-04)

[0274] 나트륨 에톡시드(76 mg, 1.10 mmol)를 DMF(10 ml)에 0℃에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(215 mg, 1.22 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반하였다. 이 혼합물에 5-브로모-2-(클로로메틸)벤조푸란(250 mg, 1.02 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 헥산:EtOAc(3:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 32(120 mg, 31%)를 백색 고체로써 얻었다. *m/z* 386 (M+H). ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆): δ = 7.91 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, ArH), 7.71 (1H, d, *J* = 8.80 Hz, ArH), 7.61 (1H, d, *J* = 8.75, ArH), 7.49 (1H, dd, *J* = 6.70 & 2.05 Hz, ArH), 7.20 (1H, d, *J* = 2.45 Hz, ArH), 7.13 (1H, s, ArH), 7.09 (1H, dd, *J* = 6.30 & 2.50, ArH), 6.25 (1H, s, CH), 5.43 (2H, s, CH₂), 2.41 (3H, s, CH₃). ¹³C NMR CDEPT 135, (500MHz, CDCl₃): δ: 127.55 (ArCH), 126.59 (ArCH), 124.04 (ArCH), 113.32 (ArCH), 112.56 (ArCH), 111.44 (ArCH), 106.87 (ArCH), 101.66 (ArCH), 62.40 (CH₂), 16.11 (CH₃).

[0275] 7-((5-클로로벤조푸란-2-일)메톡시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(36) VG028-05



[0276]

[0277] 5-클로로-2-(2,2-디에톡시에톡시)벤즈알데히드(33)

[0278] DMF(20 ml)중의 5-클로로-2-히드록시벤즈알데히드(5.0 g, 32.1 mmol) 및 K_2CO_3 (4.87 g, 35.3 mmol)의 교반된 현탁액에 브로모아세트알데히드 디에틸 아세탈(5.43 ml, 35.3 mmol)를 적가하였다. 혼합물을 4 시간 동안 환류하였다. 냉각후, 침전물을 여과 제거하고, 용매를 진공하에서 증발시켰다. 미정제 잔류물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 플래쉬 크로마토그래피로 정제하였다. 생성물을 헥산/EtOAc(4:1)로 용출시켜 33(4.10 g, 38%)을 오일로서 얻었다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ : 10.42 (1H, s, CHO), 7.76 (1H, d, J = 2.8 Hz, ArH), 7.46 (1H, dd, J = 6.15 &

[0279] 2.75 Hz, ArH), 6.96 (1H, d, J = 8.90 Hz, ArH), 4.87 (1H, t, J = 5.25 Hz, CH), 4.10 (2H, d, J = 5.25 Hz, CH_2), 3.80-3.77 (2H, m, CH_2CH_3), 3.67-3.62 (2H, m, CH_2CH_3), 1.24 (6H, t, J = 7.05 Hz, 2 x CH_3).

[0280] 5-클로로벤조푸란-2-카르보알데히드(34)

[0281] 아세트산(20 ml)중의 33(4.10 g, 15.07 mmol)의 교반된 용액을 24 시간 동안 환류시켰다. 냉각후, 용액을 무수상태로 증발시켰다. 미정제 생성물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 헥산/EtOAc(4:1)으로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 34(550 mg, 20%)를 백색 고체로서 얻었다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ : 9.91 (1H, s, CHO), 7.76 (1H, d, J = 1.85 Hz, ArH), 7.57 (1H, d, J = 8.90 Hz, ArH), 7.53 (1H, s, ArH), 7.50 (1H, dd, J = 8.90 & 2.10 Hz, ArH).

[0282] 2-(브로모메틸)-5-클로로벤조푸란(35)

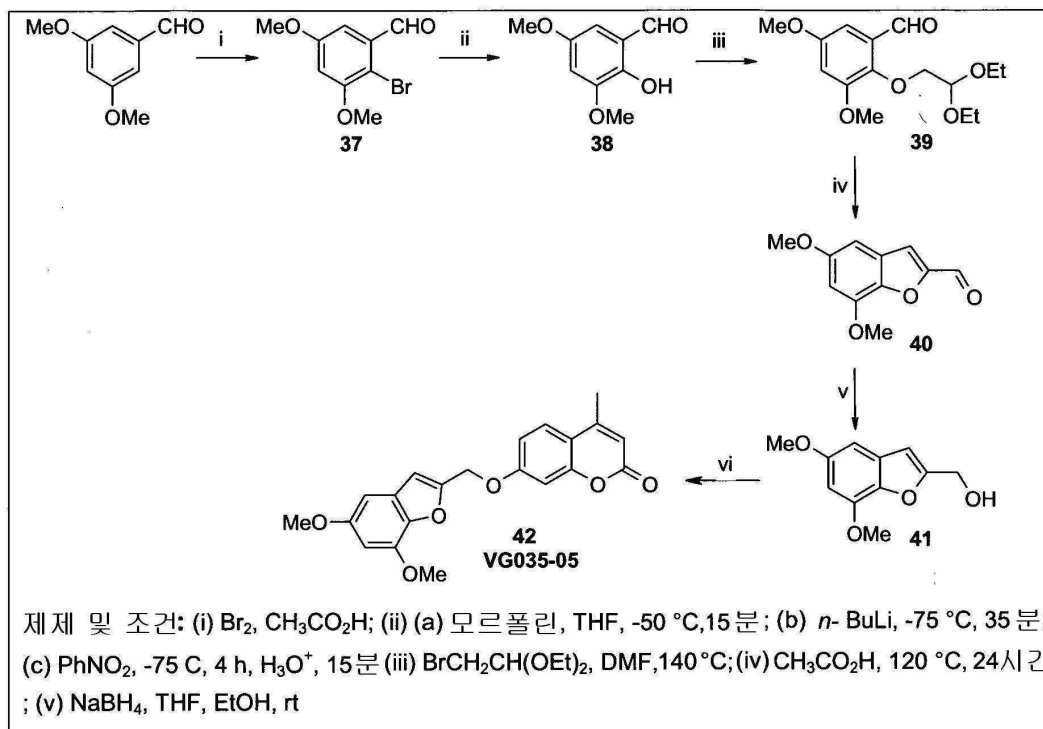
[0283] 화합물 34(160 mg, 0.89 mmol)를 EtOH(5 ml)에 용해시켰다. NaBH_4 (36 mg, 0.98 mmol)를 부분으로 나누어 0°C에서 격렬하게 교반하면서 첨가하였다. 현탁액을 0°C에서 15 분 동안 교반한 후, 실온에서 1.5 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하였다. 생성된 미정제 알콜 잔류물을 톨루엔(5 ml)에 용해시키고, 용액을 0°C로 냉각하였다. PBr_3 (92 μl , 0.98 mmol)를 10 분에 걸쳐 적가하였다. 혼합물을 실온이 되게 하고, 1 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하였다. 잔류물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 헥산/EtOAc(4:1)으로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 35(128 mg, 57%)를 오일로서 얻었다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ : 7.48 (1H, d, J = 2.05 Hz, ArH), 7.37 (1H, d, J = 8.70, ArH), 7.25 (1H, dd, J = 8.80 & 2.05Hz ArH), 6.68 (1H, s, ArH), 4.55 (2H, S, 2- CH_2).

[0284] 7-((5-클로로벤조푸란-2-일)메톡시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(36) VG028-05

[0285] 나트륨 에톡시드(60 mg, 0.24 mmol)를 DMF(5 ml)에 0°C에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(47 mg, 0.27 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반하였다. 이 혼합물에 2-(브로모메틸)-5-메톡시벤조푸란(40 mg, 0.17 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생

성된 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 헥산:EtOAc(3:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 표적 화합물을 백색 고체(2.7 mg, 3%)로서 얻었다. m/z 341.10 (M+H).

[0287] 7-((5,7-디메톡시벤조푸란-2-일)메톡시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(42) VG035-05



[0288]

[0289] 2-브로모-3,5-디메톡시벤즈알데히드(37)

[0290]

3,5-디메톡시벤즈알데히드(12.6 g, 76 mmol)를 아세트산(350 ml)에 용해시켰다. 생성된 무색 용액을 0°C 로 냉각하였다. 아세트산(50 ml)중의 브롬의 용액(3.9 ml)을 1 시간에 걸쳐 적가하였다. 첨가가 완료되면, 얼음조를 제거하고, 생성된 담녹색 용액을 밤새 실온에서 교반하였다. 저온수를 용액에 첨가하였다. 생성된 백색 고체를 진공 여과로 수집하고, 물로 행구었다. 그후, 고체를 EtOAc에 재용해시키고, 실리카 겔상에 흡착시켰다. 생성물을 헥산/EtOAc(4:1)으로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 37(12.5 g, 66%)을 백색 고체로서 얻었다. m/z = 344.98 (M+H). ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ : 10.43 (1H, s, CHO), 7.06 (1H, s, ArH), 6.73 (1H, s, ArH), 3.93 (3H, s, CH_3O), 3.86 (3H, s, CH_3O). ^{13}C NMR (500MHz, CDCl_3): δ : 192.09 (CHO), 159.92 (C-5), 157.02 (C-3), 134.67 (C-1), 109.12 (C-2), 105.83, 103.37 (C-4 & C-6), 56.60 (OMe), 55.82 (OMe).

[0291]

2-히드록시-3,5-디메톡시벤즈알데히드(38)

[0292]

모르폴린(2.05 g, 24 mmol) 및 THF(40 ml)를 교반 바아, 격막 캡, 적하 깔때기, 온도계 및 아르곤 투입구가 장착된 건조된 3목 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 플라스크를 드라이 아이스-아세톤 배쓰중에서 -50°C 로 냉각시키고, 헥산중의 $n\text{-BuLi}$ 의 용액(1.6M, 15 ml, 24 mmol)을 한꺼번에 첨가하였다. 10 분후, THF(30 ml)중의 2-브로모-3,5-디메톡시벤즈알데히드 37(4.9 g, 20 mmol)의 용액을 주사기를 통하여 4 분에 걸쳐 적가하고, 혼합물을 약 -75°C 로 20 분에 걸쳐 냉각시켰다. 헥산중의 $n\text{-BuLi}$ (1.6M, 20 ml, 32 mmol)을 45 분에 걸쳐 온도를 -75°C 에서 유지하면서 적가하였다. $n\text{-BuLi}$ 의 첨가를 완료한 후, 용액을 35 분 동안 교반하였다. 10 ml THF중의 니트로벤젠(6.90 g, 46 mmol)의 용액을 적하 깔때기로부터 온도를 -75°C 에서 유지하면서 첨가하였다. 생성된 짙은 혼합물을 -75°C 에서 4 시간 동안 교반한 후, 실온으로 가온되도록 하였다. 6N HCl을 사용하여 pH 1로 산성화하고, 15 분 동안 교반하였다. 염수(100 ml)로 희석한 후, THF를 진공하에서 제거하였다. 수용액을 디에틸 에테르(4×40 ml)로 추출하였다. 합한 유기층을 2 N NaOH(3×40 ml)로 추출하였다. 합한 NaOH 추출물을 디에틸 에테르(3×20 ml)로 세정한 후, pH 1로 진한 HCl을 사용하여 산성화하였다. 생성된 혼합물을 CH_2Cl_2 (3×20

mℓ)로 추출하고, 합한 유기 추출물을 염수로 세정하고, 건조시키고(MgSO_4), 실리카 겔상에 흡착시켰다. 생성물을 EtOAc/헥산(1:2)으로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 38(2.0 g, 55%)을 황색 고체로서 얻었다. $m/z = 183.06$ (M+H). ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ : 10.71 (1H, s, OH), 9.91 (1H, s, CHO), 6.77 (1H, d, $J_{4,6} = 2.8$ Hz, H-6), 6.61 (1H, d, $J_{4,6} = 2.8$ Hz, H-4), 3.92 (3H, s, OMe), 3.84 (3H, s, OMe). ^{13}C NMR CDEPT135 (500MHz, CDCl_3): δ : 196.11 (CHO), 107.93 (C-6), 103.90 (C-4), 56.29 (OMe), 55.83 (OMe).

[0293] 2-(2,2-디에톡시에톡시)-3,5-디메톡시벤즈알데히드(39)

[0294] DMF(100 mℓ)중의 38(1.1 g, 6.0 mmol) 및 K_2CO_3 (1.0 g, 7.2 mmol)를 포함하는 교반된 현탁액에 브로모아세트알데히드 디에틸 아세탈(0.93 mℓ, 6.0 mmol)을 적가하였다. 혼합물을 4 시간 동안 환류하였다. 냉각후, 침전물을 여과 제거하고, 용매를 진공하에서 증발시켰다. 미정제 잔류물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 플래쉬 크로마토그래피로 정제하였다. 생성물을 헥산/EtOAc(4:1)로 용출시켜 39(1.2 g, 67%)를 오일로서 얻었다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ : 10.50 (1H, s, CHO), 6.88 (1H, d, $J_{4,6} = 2.9$ Hz, H-6), 6.74 (1H, d, $J_{4,6} = 2.9$ Hz, H-4), 4.83 (1H, t, $J_{4,6} = 5.3$ Hz, CH), 4.14 (2H, d, $J_{4,6} = 5.3$ Hz, CH_2), 3.88 (3H, s, OMe), 3.83 (3H, s, OMe), 3.77-3.71 (2H, m, CH_2CH_3), 3.63-3.58 (2H, m, CH_2CH_3), 1.24 (6H, t, $J = 7.1$ Hz, 2 x CH_3).

[0295] 5,7-디메톡시벤조푸란-2-카르브알데히드(40)

[0296] 아세트산(35 mℓ)중의 39(1.2 g, 4.0 mmol)의 교반된 용액을 16 시간 동안 환류시켰다. 냉각후, 용액을 무수 상태로 증발시켰다. 미정제 생성물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 헥산/EtOAc(2:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 40(230 mg, 28%)을 백색 고체로서 얻었다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ : 9.89 (1H, s, CHO), 7.50 (1H, s, H-3), 6.69 (1H, d, $J_{4,6} = 2.2$ Hz, H-6), 6.64 (1H, d, $J_{4,6} = 2.2$ Hz, H-4), 4.01 (3H, s, OMe), 3.87 (3H, s, OMe). ^{13}C NMR CDEPT 135, (500MHz, CDCl_3): δ : 179.91 (CHO), 153.37 (C-2), 116.10 (C-3), 101.80 (C-6), 94.90 (C-4), 56.20 (OMe), 55.88 (OMe).

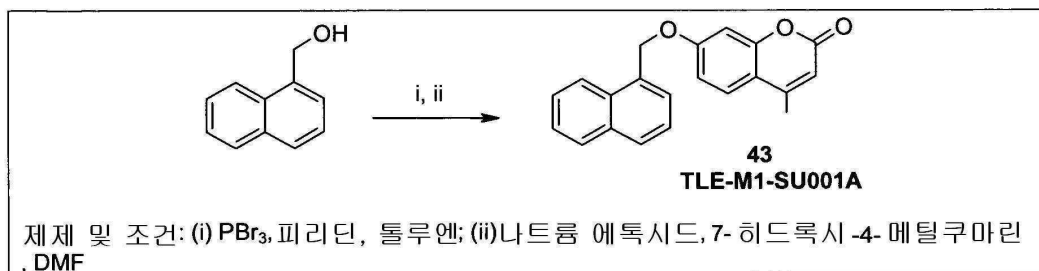
[0297] (5,7-디메톡시벤조푸란-2-일)메탄올(41)

[0298] 화합물 39(460 mg, 2.23 mmol)를 THF(5 mℓ) 및 EtOH(1 mℓ)에 용해시켰다. NaBH_4 (102 mg, 2.68 mmol)를 부분으로 나누어 0℃에서 격렬하게 교반하면서 첨가하였다. 현탁액을 0℃에서 15 분 동안 교반한 후, 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하였다. 미정제 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 물, 염수로 세정하고, 건조시켰다(MgSO_4). 잔류물을 실리카 겔상에 흡착시키고, 헥산/EtOAc(1:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 41(388 mg, 82%)을 백색 고체로서 얻었다. $m/z = 209.08$ (M+H). ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ : 6.62 (1H, s, H-3), 6.60 (1H, s, H-6), 6.46 (1H, s, H-4), 4.76 (2H, s, 2- CH_2), 3.99 (3H, s, OMe), 3.85 (3H, s, OMe). ^{13}C NMR (500MHz, CDCl_3): δ : 157.23 (C-5), 156.72 (C-1), 145.36 (C-7), 139.50 (C-1a), 129.38 (C-4a), 104.62 (C-3), 96.96 (C-6), 94.58 (C-4), 57.98 (2- CH_2), 55.95 (OMe), 55.83 (OMe).

[0299] 7-((5,7-디메톡시벤조푸란-2-일)메톡시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(42) VG035-05

[0300] 화합물 41(130 mg, 0.63 mmol)을 톨루엔(5 mℓ)에 용해시키고, 용액을 0℃로 냉각하였다. PBr_3 (64 μl , 0.69 mmol)를 10 분에 걸쳐 적가하였다. 반응 혼합물을 실온이 되게 하고, 1 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하였다. 미정제 잔류물을 그 다음 단계에 사용하였다. 나트륨 에톡시드(80 mg, 0.24 mmol)를 DMF(5 mℓ)에 0℃에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(47 mg, 0.27 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반하였다. 이 혼합물에 2-(브로모메틸)-5-메톡시벤조푸란(40 mg, 0.17 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 헥산:EtOAc(3:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 42(2.7 mg, 3%)를 백색 고체로서 얻었다. $m/z = 367.05$ (M+H), 30 733.15 (2M+H).

[0302] 4-메틸-7-(나프탈렌-1-일메톡시)-2H-크로멘-2-온(43) TLE-M1-SU001A



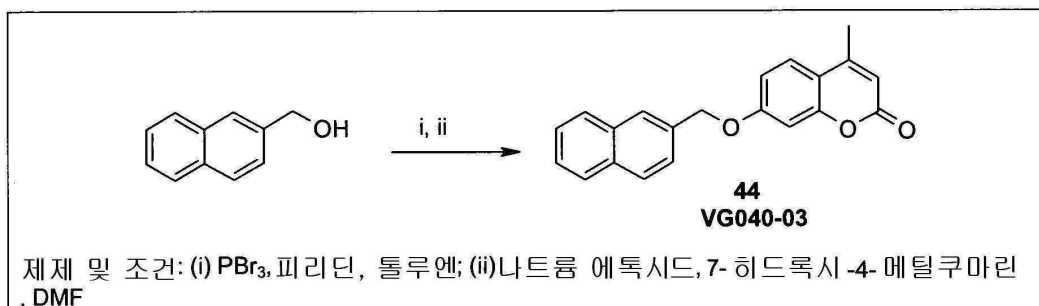
[0303]

[0304] 1-나프탈렌 메탄올(2.0 g, 12.7 mmol)을 톨루엔(30 ml)에 용해시키고, 피리딘(1.02 ml, 12.7 mmol)을 첨가하였다. 용액을 0℃로 냉각하였다. PBr_3 (1.19 ml, 12.7 mmol)를 15 분에 걸쳐 적가하였다. 반응 혼합물을 실온이 되게 하고, 1 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 K_2CO_3 용액으로 세정하고, EtOAc(3×30 ml)로 추출하였다. EtOAc 층을 염수로 세정하고, 건조시켰다(MgSO_4). 용매를 진공하에서 증발로 제거하여 1-(브로모메틸)나프탈렌(1.5 g, 53%)을 무색 오일로서 얻었다. 이러한 중간체를 다음 반응에 사용하였다.

[0305]

나트륨 에톡시드(169 mg, 2.49 mmol)를 DMF(5 ml)에 0℃에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(438 mg, 2.49 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반한 후, 실온이 되도록 하였다. 이 혼합물에 1-(브로모메틸)나프탈렌(500 mg, 2.26 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 16 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 염수(2×50 ml), 물(2×50 ml) 및 1M NaOH(2×30 ml)로 세정하였다. 유기 층을 건조시키고(MgSO_4), 생성물을 헥산:EtOAc(2:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 43(200 mg, 28%)을 백색 고체로서 얻었다. $\text{Mpt} = 181\text{--}183^\circ\text{C}$. ^1H NMR (500MHz, acetone- d_6): $\delta = 8.10$ (1H, d, ArH), 8.00–7.99 (2H, m, Ar), 7.97–7.71 (2H, m, ArH), 7.70–7.53 (3H, m, ArH), 7.24 (1H, s, ArH), 7.09 (1H, d, CH), 6.23 (1H, s, CH), 5.68 (2H, s, CH_2), 2.40 (3H, s, CH_3).

[0306] 4-메틸-7-(나프탈렌-2-일메톡시)-2H-크로멘-2-온(44) VG040-03

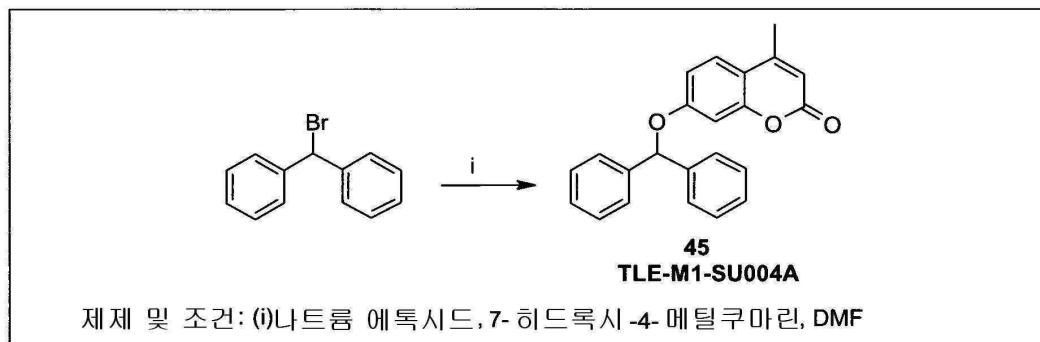


[0307]

[0308] 나프탈렌-2-일메탄올(2.0 g, 12.7 mmol)을 톨루엔(30 ml)에 용해시키고, 피리딘(1.02 ml, 12.7 mmol)을 첨가하였다. 용액을 0℃로 냉각하였다. PBr_3 (1.19 ml, 12.7 mmol)를 15 분에 걸쳐 적가하였다. 혼합물을 실온이 되게 하고, 1 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 K_2CO_3 용액으로 세정하고, EtOAc(3×30 ml)로 추출하였다. EtOAc 층을 염수로 세정하고, 건조시켰다(MgSO_4). 용매를 진공하에서 증발로 제거하여 미정제 1-(브로모메틸)나프탈렌을 얻었다. 중간체를 그 다음 반응에 사용하였다. 나트륨 에톡시드(169 mg, 2.49 mmol)를 DMF(5 ml)에 0℃에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(438 mg, 2.49 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반한 후, 실온이 되도록 하였다. 이 혼합물에 1-(브로모메틸)나프탈렌(500 mg, 2.26 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 16 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 염수(2×50 ml), 물(2×50 ml) 및 1M NaOH(2×30 ml)로 세정하였다. 유기 층을 건조시키고(MgSO_4), 생성물을 헥산:EtOAc(2:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 44(1.44 g, 36%)를 백색 고체로서 얻었다. $m/z = 317.12$ (M+H), 633.24 (2M+H). ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): $\delta = 7.93\text{--}7.87$ (4H, m, ArH), 7.58–7.52 (4H, m, Ar), 6.97 (1H, t, J =

2.43 Hz, ArH), 6.16 (1H, s, ArH), 5.32 (2H, s, CH₂), 2.41 (3H, s, CH₃).

[0309] 7-(벤즈히드릴옥시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(45) TLE-M1-SU004A



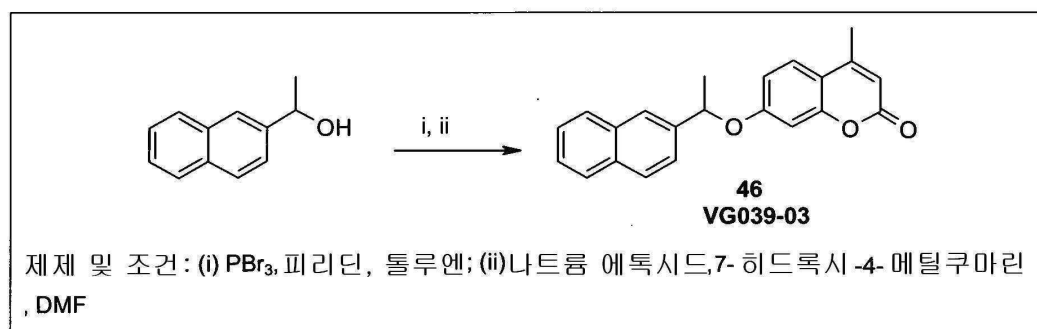
[0310]

[0311]

나트륨 에톡사이드(165 mg, 2.43 mmol)를 DMF에 0℃에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(428 mg, 2.43 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반한 후, 실온이 되도록 하였다. 이 혼합물에 브롬화디페닐메틸(500 mg, 2.02 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 16 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 염수(2×30 ml), 물(2×30 ml) 및 1M NaOH(2×30 ml)로 세정하였다. 유기 층을 건조시키고(MgSO₄), 생성물을 헥산:EtOAc(2:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 45(200 mg, 29%)를 백색 고체로서 얻었다. Mpt = 146-148 °C. ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆): δ = 7.63 (1H, d, ArH), 7.53 (4H, d, ArH), 7.38 (4H, t, ArH), 7.29 (2H, t, ArH), 7.09 (2H, d, ArH), 7.04 (1H, d, ArH), 6.75 (1H, s, ArH), 6.18 (1H, s, CH), 2.37 (3H, s, CH₃). ¹³C NMR (500MHz, DMSO-d₆, DEPT135): δ = 160.2, 154.4, 153.2, 140.8, 129.90, 128.0, 126.8, 113.7, 111.4, 111.2, 102.9, 80.2, 18.2.

[0312]

4-메틸-7-(1-(나프탈렌-2-일)에톡시)-2H-크로멘-2-온(46) VG039-03



[0313]

[0314]

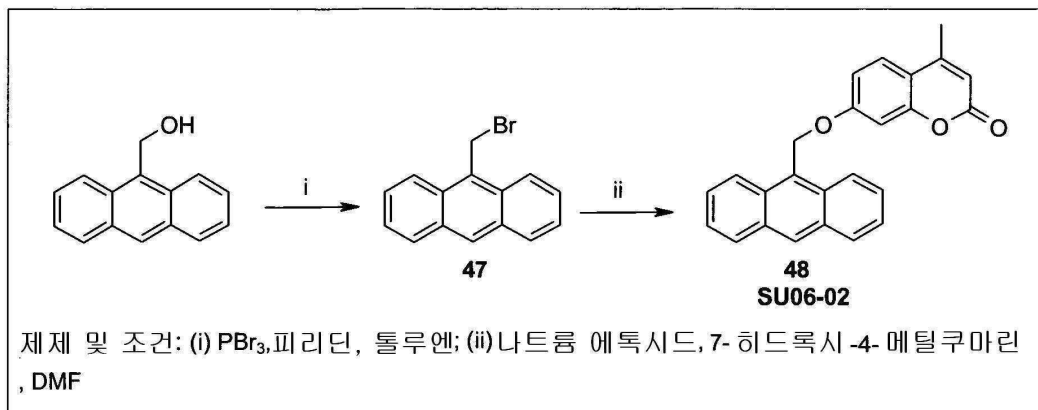
1-(나프탈렌-2-일)에탄올(2.0 g, 11.6 mmol)을 톨루엔(30 ml)에 용해시켰다. 용액을 0℃로 냉각하였다. PBr₃(1.09 ml, 11.6 mmol)를 15 분에 걸쳐 적가하였다. 반응 혼합물을 실온이 되게 하고, 1 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 K₂CO₃ 용액으로 세정하고, EtOAc(3×30 ml)로 추출하였다. EtOAc 층을 염수로 세정하고, 건조시켰다(MgSO₄). 용매를 진공하에서 증발로 제거하여 미정제 2-(1-브로모에틸)나프탈렌을 얻었다. 중간체를 다음 단계에 사용하였다.

[0315]

나트륨 에톡사이드(63.4 mg, 0.93 mmol)를 DMF(5 ml)에 0℃에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(147 mg, 0.84 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반한 후, 실온이 되도록 하였다. 이 혼합물에 2-(1-브로모에틸)나프탈렌(200 mg, 0.85 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 16 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 염수(2×50 ml), 물(2×50 ml) 및 1M NaOH(2×30 ml)로 세정하였다. 유기 층을 건조시키고(MgSO₄), 생성물을 헥산:EtOAc(2:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 46(60 mg, 21%)을 백색 고체로서 얻었다. m/z = 331.15 (M+H), 661.29 (2M+H). ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆):

δ = 7.97 (1H, s, ArH), 7.93-7.86 (3H, m, ArH), 7.60-7.50 (4H, m, Ar), 6.99 (1 H, q, J = 6.45 & 2.35 Hz, ArH), 6.96 (1H, d, J = 2.40 Hz, ArH), 6.13 (1H, s, ArH), 5.84 (1H, q, J = 6.35 Hz, CH), 2.26 (3H, s, CH₃), 1.67 (3H, d, J = 6.35 Hz, CH₃).

[0316] 7-(안트라센-9-일메톡시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(48) SU06-02



[0317]

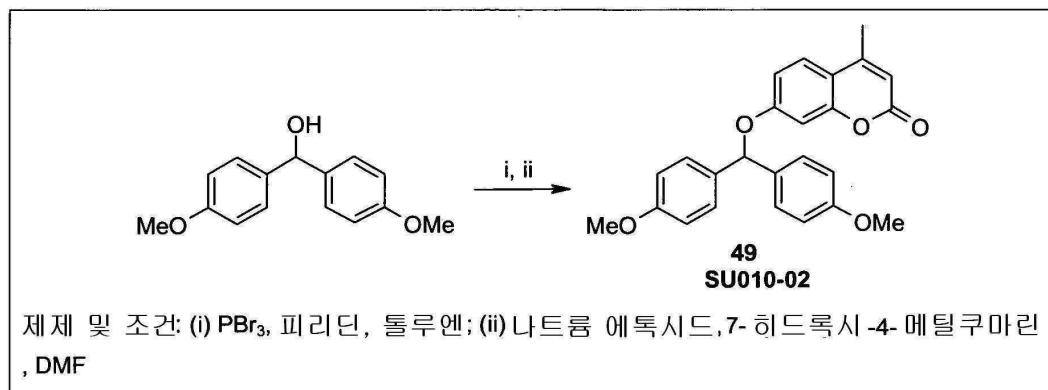
[0318] 9-(브로모메틸)안트라센(47)

[0319] 톨루엔(100 mL)중의 9-안트라센메탄올(2.0 g, 9.6 mmol)의 교반중인 현탁액에 0°C에서 PBr₃(1.2 mL, 12.51 mmol)를 첨가하고, 현탁액을 0°C에서 1 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 실온이 되게 하고, 추가의 1 시간 동안 교반하였다. 혼합물은 황색으로 변색되었다. K₂CO₃(10 mL)를 첨가하여 반응을 종결시켰다. 톨루엔을 진공하에서 증발로 제거하였다. 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 포화 수성 K₂CO₃, 물 및 염수로 세정하고, 건조시켰다(MgSO₄). 용매를 진공하에서 증발로 제거하고, 미정제 잔류물을 헥산:EtOAc(2:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 47(1.4 g, 54%)을 황색 고체로서 얻었다. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ = 8.45 (1H, s, Ar-10H), 8.27 (2H, d, Ar-1, 8H), 8.00 (2H, d, Ar-4, 6H), 7.62 (2H, d, Ar-2, 7H), 7.48 (2H, d, Ar-3, H), 5.50 (2H, s, CH₂).

[0320] 7-(안트라센-9-일메톡시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(48) SU06-02

[0321] 나트륨 에톡시드(151 mg, 2.21 mmol)를 DMF(5 mL)에 0°C에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(390 mg, 2.21 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반한 후, 실온이 되도록 하였다. 이 혼합물에 47(500 mg, 1.85 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 16 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 염수, 물 및 1M NaOH(2×30 mL)로 세정하였다. 유기 층을 건조시키고(MgSO₄), 생성물을 헥산:EtOAc(2:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 48(200 mg, 30%)을 황색 고체로서 얻었다. Mpt = 216-218 °C. ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆): δ = 8.10 (1H, d, ArH), 8.00-7.99 (2H, m, Ar), 7.97-7.71 (2H, m, ArH), 7.70-7.53 (3H, m, ArH), 7.24 (1H, s, ArH), 7.09 (1H, d, CH), 6.23 (1H, s, CH), 5.68 (2H, s, CH₂), 2.40 (3H, s, CH₃). ¹³C NMR (500MHz, DMSO-d₆, DEPT135): δ = 160.8 (qC), 152.0 (2 x qC), 129.0 (2 x CH), 128.9 (2 x CH), 126.8, (2 x CH), 126.8 (Ar CH), 126.5 (Ar CH), 125.3 (Ar CH), 124.1 (ArCH), 112.9 (쿠마린 3-CH), 111.2 (쿠마린 6-CH), 101.7 (쿠마린 8-CH), 62.9 (CH₂), 18.2 (CH₃).

[0322] 7-(비스(4-메톡시페닐)메탄올)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(49) SU010-02



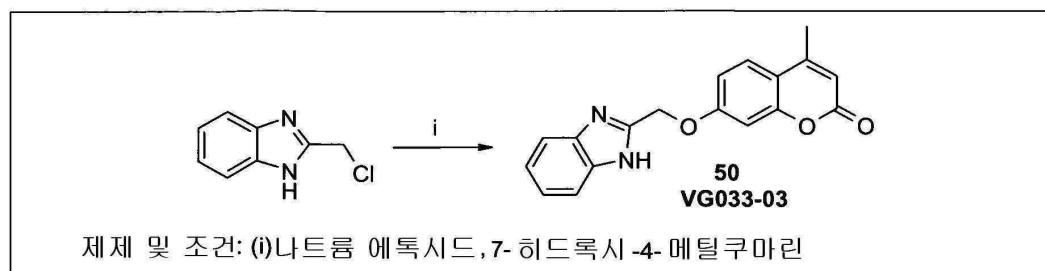
[0323]

[0324]

비스(4-메톡시페닐)메탄올(2.0 g, 8.2 mmol)을 톨루엔(60 mL)에 용해시키고, 피리딘(661 μL , 8.2 mmol)을 첨가하였다. 용액을 0°C로 냉각하였다. PBr_3 (768 μL , 8.2 mmol)를 15 분에 걸쳐 적가하였다. 반응 혼합물을 실온으로 가온시키고, 1 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 K_2CO_3 용액으로 세정하고, EtOAc(3×30 mL)로 추출하였다. EtOAc 층을 염수로 세정하고, 건조시켰다(MgSO_4). 용매를 진공하에서 증발로 제거하여 미정제 생성물 4,4'-(브로모메틸렌)비스(메톡시벤젠)(780 mg, 31%)을 무색 오일로서 얻었다. 이를 추가로 정제하지 않고 그 다음 반응 단계에 사용하였다. 나트륨 에톡사이드(133 mg, 1.96 mmol)를 DMF(5 mL)에 0°C에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(345 mg, 1.96 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반하였다. 이 혼합물에 4,4'-(브로모메틸렌)비스(메톡시벤젠)(500 mg, 1.63 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 16 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 염수, 물 및 1M NaOH(2×30 mL)로 세정하였다. 유기 층을 건조시키고(MgSO_4), 생성물을 헥산:EtOAc(2:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 49(100 mg, 15%)를 백색 고체로서 얻었다. $\text{Mpt} = 142\text{--}145^\circ\text{C}$. $m/z = 403$ (M+H). ^1H NMR (500MHz, acetone- d_6): $\delta = 7.60$ (1H, d, ArH), 7.45 (4H, d, ArH), 7.04 (1H, d, ArH), 6.94 (5H, d, ArH), 6.56(1H, s, ArH), 6.10 (1H, s, qCH), 3.78 (6H, s, 2 x CH_3O), 2.39 (3H, s, CH_3). ^{13}C NMR (500MHz, acetone- d_6 , DEPT135): $\delta = 206.3$ (qC), 134.1 (2 x qC), 129.3 (2 x CH), 129.2 (2 x CH), 129.0, (2 x CH), 126.9 (Ar CH), 114.4 (Ar CH), 114.7 (Ar CH), 115.1 (Ar CH), 112.5 (Ar CH), 104.0 (Ar CH), 81.7 (CH), 55.6 (2 x CH_3), 18.2 (CH_3).

[0325]

7-((1H-벤조[d]이미다졸-2-일)메톡시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(50) VG033-03



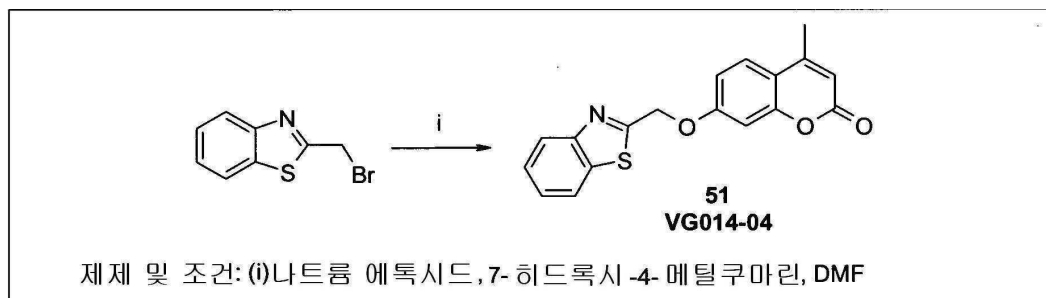
[0326]

[0327]

나트륨 에톡사이드(82 mg, 1.20 mmol)를 DMF(10 mL)에 0°C에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(253 mg, 1.44 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반하였다. 이 혼합물에 2-(클로로메틸)-1H-벤조[d]이미다졸(200 mg, 1.20 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 헥산:EtOAc(3:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 50(200 mg, 54%)을 백색 고체로서 얻었다. $m/z = 307.11$ (M+H), 613.22 (2M+H). ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6): $\delta = 12.75$ (1 H, brs, NH), 7.74 (1H, d, $J = 8.85$ Hz, ArH), 7.60–7.59 (2H, m, ArH), 7.23–7.12 (4H, m, ArH), 6.25 (1H, s, ArH), 5.48 (2H, s, CH_2),

2.40 (3H, s, CH₃). ¹³C NMR CDEPT 135, (500MHz, CDCl₃): δ : 206.52 (qC), 160.80, 160.03, 154.52, 153.33, 149.27, 126.57, 126.28, 122.04, 119.42, 113.64, 112.50, 111.47, 101.86, 101.77, 64.23, 30.67, 18.10.

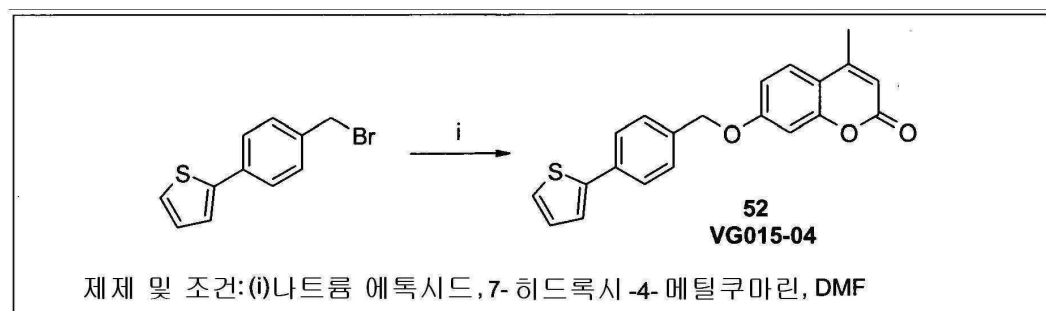
[0328] 7-(벤조[d]티아졸-2-일메톡시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(51) VG014-04



[0329]

[0330] 나트륨 에톡사이드(30 mg, 0.44 mmol)를 DMF(10 ml)에 0°C에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(77 mg, 0.44 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반하였다. 이 혼합물에 2-(클로로메틸)-1H-벤조[d]이미다졸(100 mg, 0.44 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 헥산:EtOAc(3:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 51(25 mg, 18%)을 백색 고체로서 얻었다. *m/z* = 324.06 (M+H), 647.12 (2M+H).

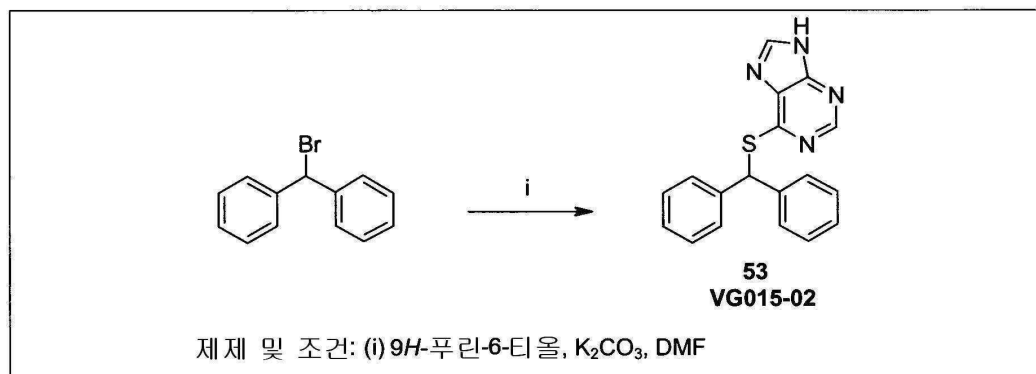
[0331] 4-메틸-7-(4-(티오펜-2-일)벤질옥시)-2H-크로멘-2-온(52) VG015-04



[0332]

[0333] 나트륨 에톡사이드(27 mg, 0.40 mmol)를 DMF(10 ml)에 0°C에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(70 mg, 0.40 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반하였다. 이 혼합물에 2-(클로로메틸)-1H-벤조[d]이미다졸(100 mg, 0.40 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 헥산:EtOAc(3:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 52(30 mg, 18%)를 백색 고체로서 얻었다. *m/z* = 349.09 (M+H), 697.16 (2M+H).

[0334] 6-(벤즈히드릴티오)-9H-푸린(53)(VG015-02)



[0335]

[0336] 6-머캅토프린(151 mg, 0.88 mmol)을 DMF(5 ml)에 용해시켰다. K₂CO₃(122 mg, 1.2 mmol)를 첨가하고, 생성된 현

탁액에 브롬화디페닐 메틸(200 mg, 0.8 mmol)을 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 4 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 얼음에 붓고, 생성된 침전물을 여과로 분리하고, 에테르로 세정하고, 진공하에 건조시켜 53(35 mg, 14%)을 백색 고체로서 얻었다. $m/z = 319$ (M+H). ^1H NMR (500MHz, acetone): $\delta = 8.46$ (1H, s, CH), 8.2 (1H, s, CH), 7.4 (4H, m, CH, $J=3$), 7.2 (4H, m, CH, $J=3.83$), 7.1 (2H, m, CH, $J=2.12$), 6.7 (1H, s, CH).

[0337]

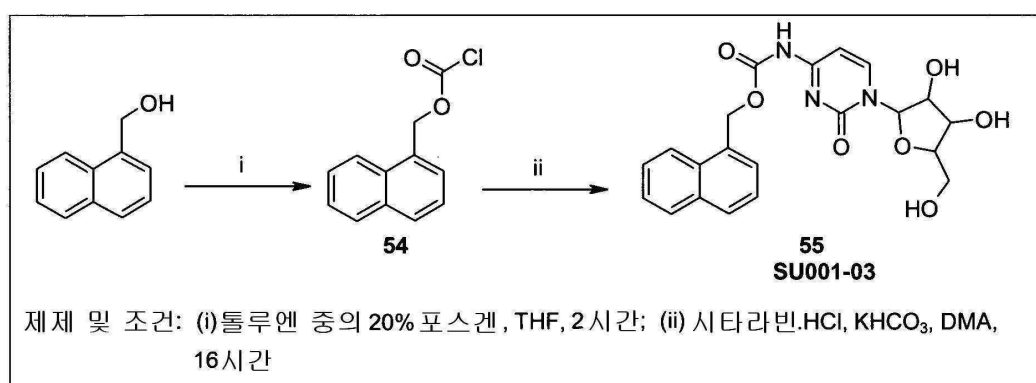
3. 카르바메이트-결합된 뉴클레오시드 유사 전구약물

SU001-03		SU0044-2a/02 (†)	
SU0023/02		SU0044-3a/02 (†)	
SU050-03		SU048-04	

[0338]

[0339]

나프탈렌-1-일메틸 1-(3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)테트라히드رو푸란-2-일)-2-옥소-1,2-디히드로피리미딘-4-일카르바메이트(55) SU001-03



[0340]

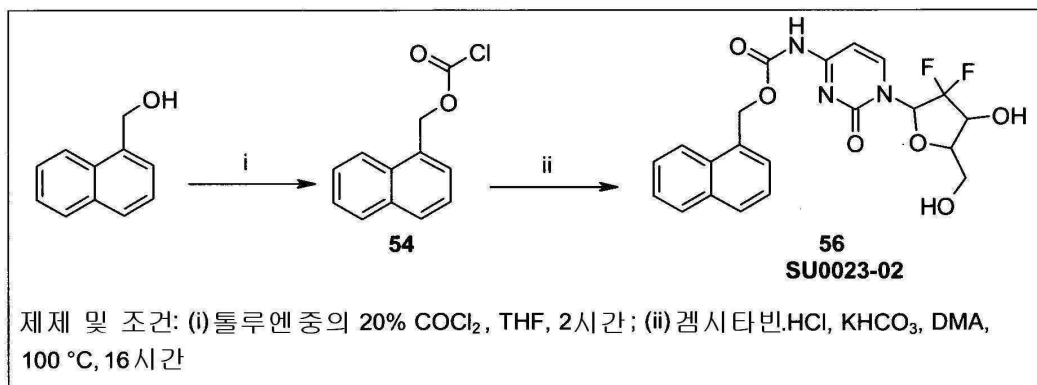
[0341]

나프탈렌-1-일메탄올(3.0 g, 19.0 mmol)을 한번에 THF(30 ml)중의 COCl_2 (13.3 ml, 톨루엔중의 COCl_2 의 20% 용액으로서)에 첨가하였다. 반응을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 과량의 COCl_2 및 THF를 감압하에서 제거하였다. 고체 잔류물을 고온의 헥산에 용해시키고, 여과하였다. 그 후, 헥산을 서서히 진공하에서 증발로 제거하여 클로로포름이트 중간체 54를 백색 고체로서 얻었다. 이를 그 다음 단계에서 바로 사용하였다. 54(330 mg, 1.5 mmol) 및 KHCO_3 (252 mg, 2.52 mmol)을 디메틸 아세트아미드(5 ml)중의 시타라빈·HCl(243 mg, 0.87 mmol)의 용액에 첨가하고, 혼합물을 16 시간 동안 실온에서 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하고, 생성물을 DCM중의 2.5%-12% MeOH의 구배로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 55(38 mg, 10%)를 백

색 고체로서 얻었다. $m/z = 428.15(M+H)$

[0342]

나프탈렌-1-일메틸 1-(3,3-디플루오로-4-히드록시-5-(히드록시메틸)테트라히드로푸란-2-일)-2-옥소-1,2-디히드로피리미딘-4-일카르바메이트(56) SU0023-02



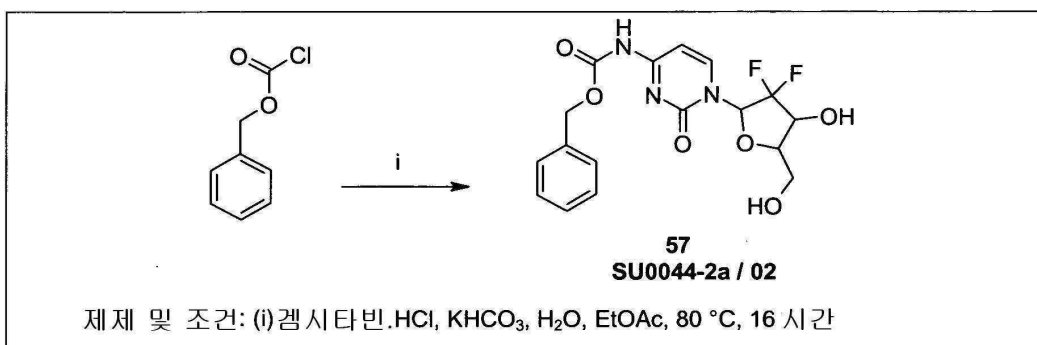
[0343]

[0344]

나프탈렌-1-일메탄올(1.0 g, 6.3 mmol)을 THF(20 ml)중의 COCl_2 (4.4 ml, 톨루엔중의 COCl_2 의 20% 용액으로서)에 한번에 첨가하였다. 반응을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 과량의 COCl_2 및 THF를 감압하에서 제거하였다. 고체 잔류물을 고온의 헥산에 용해시키고, 여과하였다. 그후, 헥산 용매를 서서히 진공하에서 증발로 제거하여 클로로포름에이트 중간체 54를 백색 고체로서 얻었다. 이를 그 다음 단계에서 바로 사용하였다. 겐시타빈·HCl(200 mg, 0.67 mmol)을 H_2O (2 ml)에 용해시켰다. 이에 KHCO_3 (67 mg, 0.67 mmol) 및 54(147 mg, 0.67 mmol)를 첨가하고, 에틸 아세테이트(5 ml)에 예비용해시켰다. 혼합물을 100°C 에서 16 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하고, 생성물을 에틸 아세테이트중의 3% MeOH로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 56(15 mg, 5%)을 오일로서 얻었다. $m/z = 448.13(M+H)$

[0345]

벤질 1-(3,3-디플루오로-4-히드록시-5-(히드록시메틸)테트라히드로푸란-2-일)-2-옥소-1,2-디히드로피리미딘-4-일카르바메이트(57) SU0044-2a/02



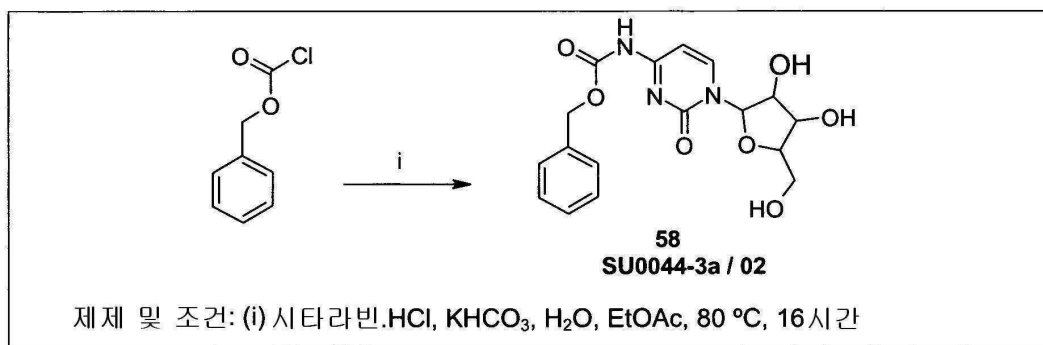
[0346]

[0347]

겐시타빈·HCl(200 mg, 0.67 mmol)을 H_2O (2 ml)에 용해시켰다. 이에 KHCO_3 (67 mg, 0.67 mmol) 및 벤질 카르보노클로이드산염(95 μl , 0.67 mmol)을 첨가하고, 에틸 아세테이트(5 ml)에 예비용해시켰다. 혼합물을 80°C 에서 16 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하고, 생성물을 에틸 아세테이트중의 3% MeOH로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 57(40 mg, 15%)을 오일로서 얻었다. $m/z = 398.12 (M+H)$

[0348]

벤질 1-(3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)테트라히드로푸란-2-일)-2-옥소-1,2-디히드로피리미딘-4-일카르바메이트(58) SU0044-3a/02



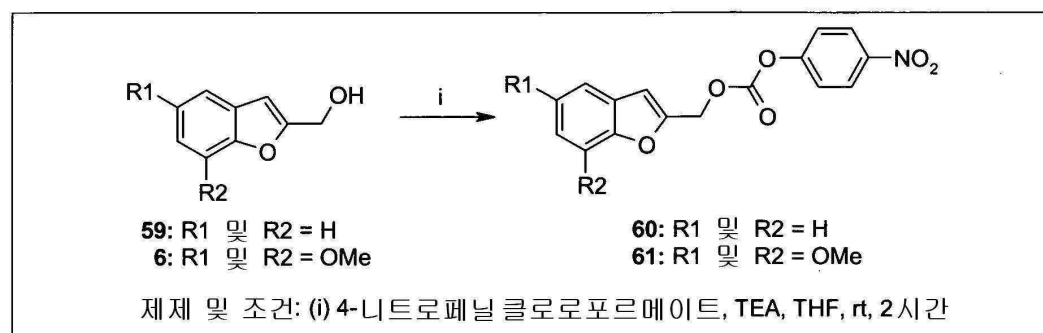
[0349]

[0350]

시타라빈·HCl(200 mg, 0.72 mmol)을 H₂O(2 ml)에 용해시켰다. 이에 KHCO₃(72 mg, 0.72 mmol) 및 벤질 카르보노클로이드산염(107 μ l, 0.72 mmol)을 첨가하고, 에틸 아세테이트(5 ml)에 예비용해시켰다. 혼합물을 80 °C에서 16 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하고, 생성물을 에틸 아세테이트중의 3% MeOH로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 58(40 mg, 15%)을 오일로서 얻었다. m/z = 378.13 (M+H)

[0351]

벤조푸란-2-일메틸 4-니트로페닐 카보네이트(60) 및 (5,7-디메톡시벤조푸란-2-일)메틸 4-니트로페닐 카보네이트(61)



[0352]

[0353]

벤조푸란-2-일메틸 4-니트로페닐 카보네이트(60)

[0354]

THF(5 ml)중의 벤조푸란-2-일메탄올 59(300 mg, 2.03 mmol)의 용액을 0 °C로 냉각하였다. TEA(280 μ l, 2.03 mmol)를 적가한 후, p-니트로페닐 클로로포르메이트(282 mg, 3.05 mmol)를 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하고, 미정제 잔류물을 헥산:EtOAc(3:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 60(350 mg, 54%)을 백색 고체로서 얻었다. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ = 8.31 (2H, m, ArH), 7.62 (1H, d, J = 7.70 Hz, ArH), 7.54 (1H, d, J = 7.70 Hz, ArH), 7.43-7.27 (3H, m, ArH), 7.29 (1H, t, J = 7.72 Hz, ArH), 6.93 (1H, s, ArH), 5.43 (2H, s, CH₂). ¹³C NMR CDEPT 135, (500MHz, CDCl₃): δ = 125.47, 125.37, 123.23, 121.80, 121.66, 111.60, 108.53, 62.95.

[0355]

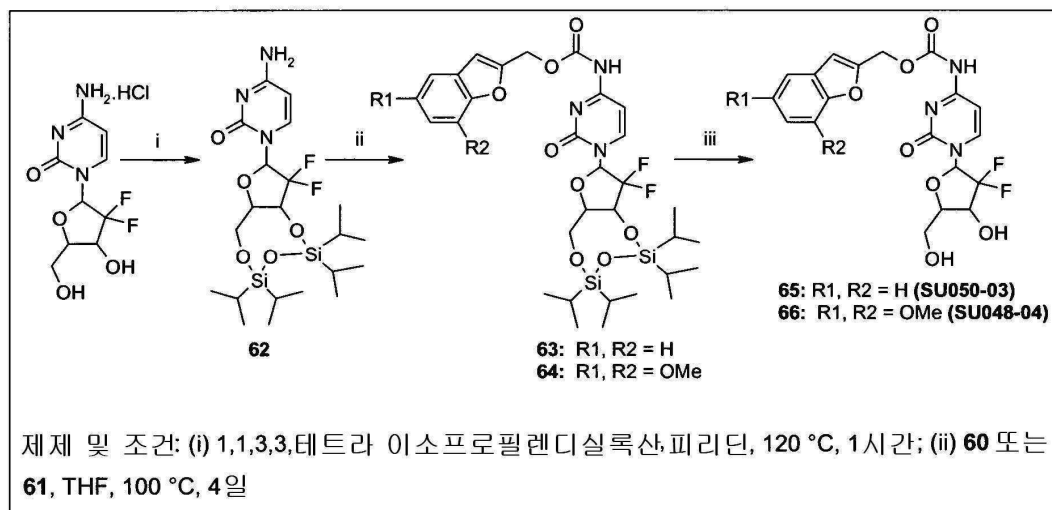
(5,7-디메톡시벤조푸란-2-일)메틸 4-니트로페닐 카보네이트(61)

[0356]

THF(3 ml)중의 (5,7-디메톡시벤조푸란-2-일)메탄올 6(100 mg, 0.48 mmol)의 용액을 0 °C로 냉각하였다. TEA(69 μ l, 0.48 mmol)를 적가한 후, p-니트로페닐 클로로포르메이트(100 mg, 0.72 mmol)를 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하고, 미정제 잔류물을 헥산:EtOAc(3:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 61(120 mg, 67%)을 백색 고체로서 얻었다. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ = 8.29 (2H, d, J = 9.0 Hz, ArH), 7.40 (2H, d, J = 9.0 Hz, ArH), 6.82 (1H, s, ArH), 6.63 (1H, s, ArH), 6.52 (1H, s, ArH), 5.39 (2H, s, CH₂), 4.00 (3H, s, OCH₃), 3.85 (3H, s, OCH₃).

[0357]

벤조푸란-2-일메틸 1-(3,3-디플루오로-4-히드록시-5-(히드록시메틸)테트라히드로푸란-2-일)-2-옥소-1,2-디히드로피리미딘-4-일카르바메이트(65) SU050-03 및 (5,7-디메톡시벤조푸란-2-일)메틸 1-(3,3-디플루오로-4-히드록시-5-(히드록시메틸)테트라히드로푸란-2-일)-2-옥소-1,2-디히드로피리미딘-4-일카르바메이트(66) SU048-04



[0358]

[0359]

4-아미노-1-(9,9-디플루오로-2,2,4,4-테트라이소프로필렌테트라히드로-6H-푸로[3,2-f][1,3,5,2,4]트리옥사디실로신-8-일)피리미딘-2(1H)-온(62)

[0360]

젬시타빈·HCl(1.0 g, 3.3 mmol)을 피리딘(10 ml)중에서 10 분 동안(2×5 ml) 교반하였다. 피리딘을 증발로 제거하였다. 피리딘(10 ml)을 첨가하고, 1,1,3,3-테트라이소프로필렌디실록산(1.17 ml, 3.63 mmol)을 적가하였다. 생성된 혼합물을 100℃에서 16 시간 동안 교반하였다. 1,1,3,3-테트라이소프로필렌디실록산(1 ml)의 추가의 부분을 첨가하고, 혼합물을 120℃에서 1 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 용매를 진공하에 증발로 제거하였다. 생성된 미정제 고체를 EtOAc/에테르(1:1)로부터 재결정시켜 62(600 mg, 36%)를 백색 고체로서 얻었다. $m/z = 506.23$ (M+H)

[0361]

벤조푸란-2-일메틸 1-(9,9-디플루오로-2,2,4,4-테트라이소프로필렌테트라히드로-6H-푸로[3,2-f][1,3,5,2,4]트리옥사디실로신-8-일)-2-옥소-1,2-디히드로피리미딘-4-일카르바메이트(63)

[0362]

THF(5 ml)중의 62(300 mg, 0.59 mmol)의 교반된 용액에 벤조푸란-2-일메틸 4-니트로페닐 카보네이트(223 mg, 0.71 mmol)를 첨가하였다. 생성된 용액을 100℃에서 4 일 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하고, 생성물을 분취용 HPLC로 정제하여 63(350 mg, 87%)을 오일로서 얻었다. $m/z = 680.0$ (M+H), 1359.49(2M+H)

[0363]

벤조푸란-2-일메틸 1-(3,3-디플루오로-4-히드록시-5-(히드록시메틸)테트라히드로푸란-2-일)-2-옥소-1,2-디히드로피리미딘-4-일카르바메이트(65) SU050-03

[0364]

화합물 63(200 mg, 0.29 mmol)을 THF(1.5 ml)에 용해시켰다. 여기에 불소화테트라-n-부틸암모늄을 첨가하고, 생성된 용액을 실온에서 15 분 동안 교반하였다. 용매를 진공하에 증발로 제거하였다. 생성물을 EtOAc중의 5% MeOH로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 65(30 mg, 23%)를 오일로서 얻었다. $m/z = 438.14$ (M+H), 874.24(2M+H)

[0365]

(5,7-디메톡시벤조푸란-2-일)메틸 1-(3,3-디플루오로-4-히드록시-5-(히드록시메틸)-테트라히드로푸란-2-일)-2-옥소-1,2-디히드로피리미딘-4-일카르바메이트(66) SU048-04

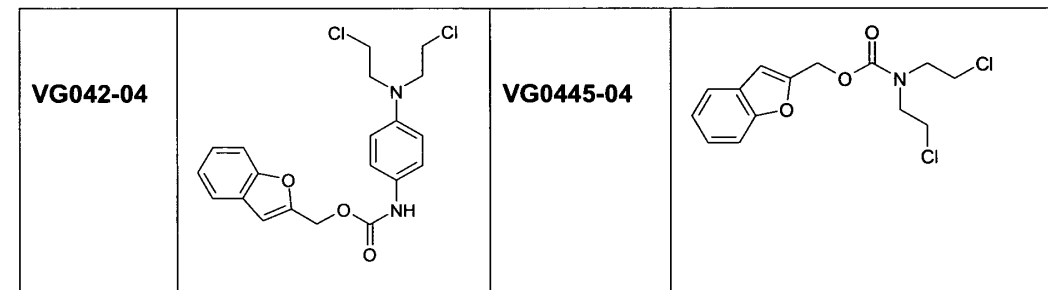
[0366]

THF(5 ml)중의 62(108 mg, 0.21 mmol)의 교반된 용액에 61(100 mg, 0.27 mmol)을 첨가하였다. 생성된 용액을 100℃에서 4 일 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하여 64를 오일로서 얻었다. 이를 추가의 정제 없이 그 다음 단계에서 사용하였다. 화합물 64(100 mg, 0.14 mmol)를 THF(1.5 ml)에 용해시켰다. 이에 불소화테트라-n-부틸암모늄을 첨가하고, 생성된 용액을 실온에서 15 분 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하였다. 생성물을 EtOAc중의 5% MeOH로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 66(18 mg, 26%)를 오일로서 얻었다. $m/z = 498.14$ (M+H), 995.29 (2M+H). ^1H NMR (500MHz, acetone- d_6): δ = 9.60 (1H, bs, NH), 8.34 (1H, d, $J = 7.62$ Hz, ArH), 7.26 (1H, d, $J = 9.00$ Hz, ArH), 6.92 (1H, s, ArH), 6.71 (1H, d, $J = 2.20$ Hz, ArH), 6.56 (1H, d, $J = 2.20$ Hz, ArH), 6.26 (1 H, t, $J = 7.56$ Hz, CH), 5.64 (2H, s, CH_2), 4.55-4.45 (1H, m, CH), 4.05-4.02 (2H, m, CH_2), 3.97 (3H, s, OCH_3), 3.91-3.3.87 (1H, m, CH), 3.82 (3H, s, OCH_3), 2.92 (2H, bs, OH).

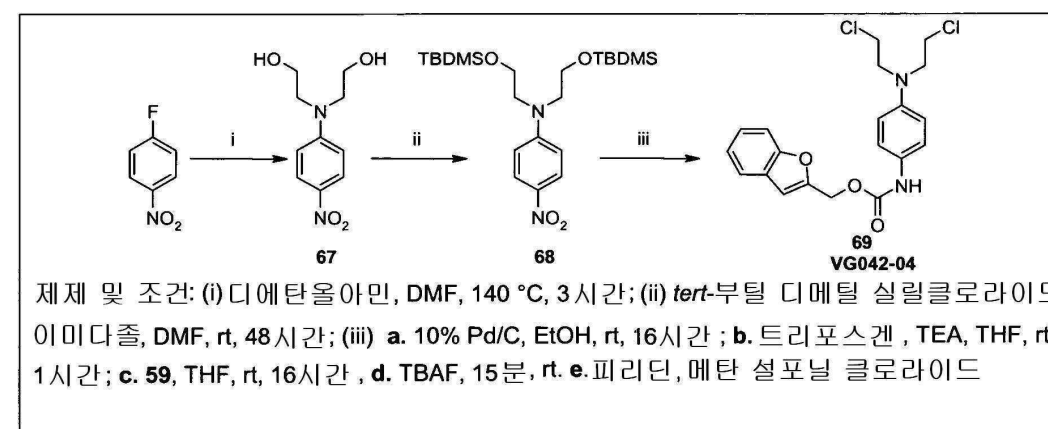
[0367] 4. 카르바메이트-결합된 질소 및 아닐린 머스타드 전구약물

[0368]

[0369]



벤조푸란-2-일메틸 4-(비스(2-클로로에틸)아미노)페닐카르바메이트(VG042-04)



[0370]

[0371]

2,2'-(4-니트로페닐아잔디일)디에탄올(67)

[0372]

디에탄올아민(2.70 ml, 2.5 mmol)을 DMF(30 ml)중의 1-플루오로-4-니트로벤젠(1.0 g, 7.09 mmol)에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 140°C에서 3.5 시간 동안 교반하였다. 용액을 실온으로 냉각시키고, 용매를 진공하에 증발로 제거하였다. 잔류물을 EtOAc(30 ml)에 용해시키고, 물(3×10 ml) 및 염수(3×20 ml)로 세정하고, 건조시켰다(MgSO₄). 용매를 진공하에서 증발로 제거하고, 생성물을 EtOAc로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 67(400 mg, 25%)을 황색 고체로서 얻었다. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ = 8.06 (2H, d, J = 9.50 Hz, ArH), 6.87 (2H, d, J = 9.50 Hz, ArH), 4.27 (2H, t, J = 5.35 Hz, 2 xOH), 3.83 (4H, q, J = 5.55 & 5.45 Hz, 2xCH₂), 3.74 (4H, t, J = 5.62 Hz, 2x CH₂).

[0374]

N,N-비스(2-(*tert*-부틸디메틸실릴옥시)에틸)-4-니트로아닐린(68)

[0375]

DMF(10 ml)중의 67(400 mg, 1.77 mmol) 및 이미다졸(481 mg, 7.08 mmol)의 냉각된 용액에 염화tert-부틸 디메틸 실릴(2.72 mg, 3.54 mmol)을 적가하였다. 혼합물을 실온이 되도록 하고, 48 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하고, 생성물을 에테르중의 10% EtOAc로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 68(200 mg, 25%)을 황색 고체로서 얻었다. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ = 8.06 (2H, d, J = 9.45 Hz, ArH), 6.65 (2H, d, J = 9.45 Hz, ArH), 3.80 (4H, t, J = 5.80 Hz, 2xCH₂), 3.62 (4H, t, J = 5.80 Hz, 2x CH₂), 0.85 (18H, s, 6 xCH₃), -0.01 (12H, s, 4 x CH₃).

[0377]

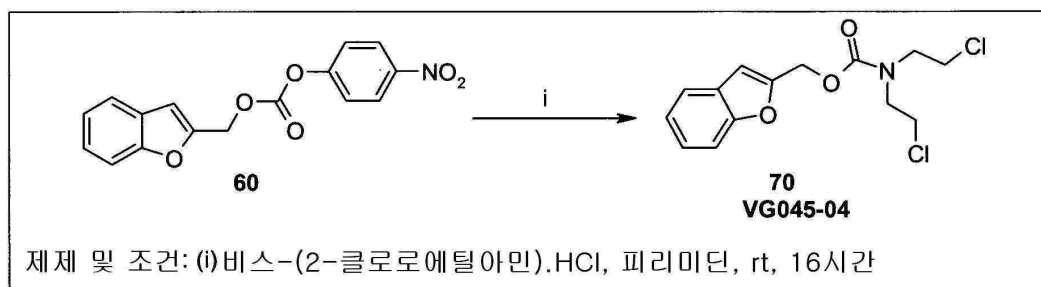
벤조푸란-2-일메틸 4-(비스(2-클로로에틸)아미노)페닐카르바메이트(69) VG042-04

[0378]

화합물 68(200 mg, 0.44 mmol)을 10% 탄소상 Pd(20 mg)의 존재하에 수소로 처리하였다. 16 시간 동안 교반한 후, 혼합물을 셀라이트로 여과하고, 용매를 진공하에서 증발로 제거하여 중간체 아미노 아닐린 생성물을 얻었다. 이를 THF(15 ml)중의 트리에틸아민(260 μl, 0.70 mmol)의 존재하에서 트리포스겐(195 mg, 0.70 mmol)과 반응시켰다. 1시간 동안 실온에서 교반한 후 백색 침전물을 여과로 제거하고, 용매를 진공하에서 증발로

제거하여 이소시아네이트 아닐린의 미정제 잔류물을 얻었다. 이를 그 다음 단계에서 바로 사용하였다. 이소시아네이트 중간체를 THF(10 ml)에 용해시켰다. 용액을 0℃로 냉각하였다. 벤조푸란-2-일메탄올 59(100 mg, 1.35 mmol)를 첨가하고, 생성된 혼합물을 실온에서 16 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 얼음상에서 냉각시키고, TBAF(996 μ l, 3.38 mmol)를 5 분에 걸쳐 적가하였다. 생성된 혼합물을 실온이 되도록 한 후, 20 분 동안 교반하였다. THF를 진공하에 증발로 제거하였다. 중간체를 피리딘(5 ml)에 용해시키고, 이에 염화메탄 설포닐(12.5 μ l, 0.16 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 피리딘을 진공하에서 증발로 제거하고, 미정제 생성물을 헥산:EtOAc(3:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 69(5 mg, 2%)를 백색 고체로서 얻었다. m/z = 408.07(M+H), 837.16(2M+H)

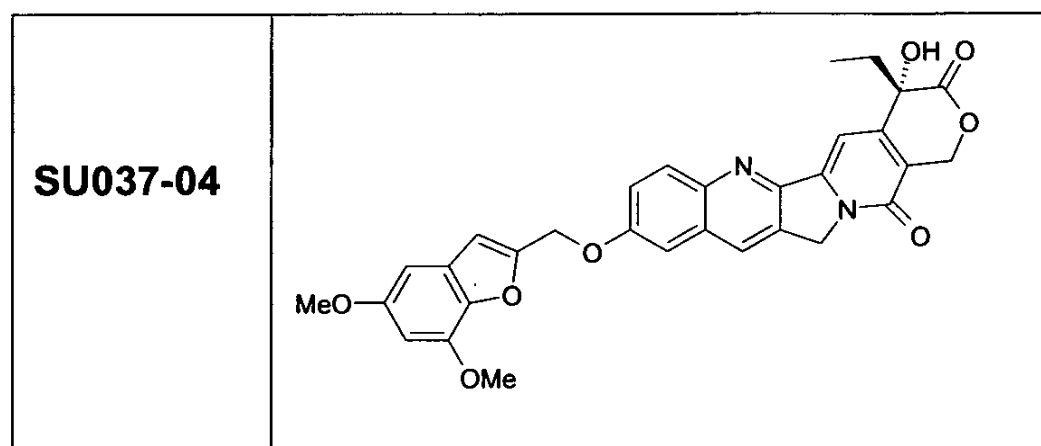
[0379] 벤조푸란-2-일메틸 비스(2-클로로에틸)카르바메이트(70) VG045-04



[0380]

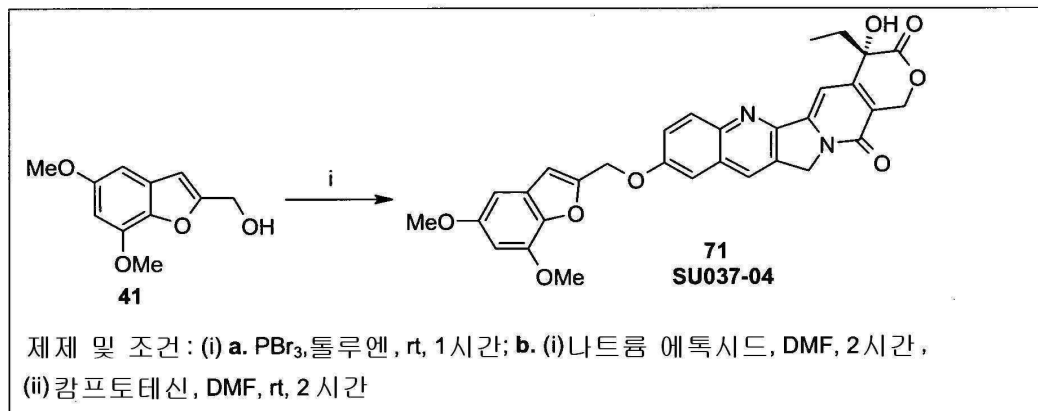
[0381] 피리딘(3 ml)중의 60(200 mg, 0.64 mmol)의 용액을 피리딘(25 ml)중의 비스(2-클로로에틸아민) · 염산염(227 mg, 1.28 mmol)의 용액에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16 시간 동안 교반하였다. DCM(10 ml)을 첨가하고, 혼합물을 2% 구연산 용액(2×50 ml), 물(50 ml), 염수(50 ml)로 세정하고, 건조시켰다(MgSO₄). 용매를 진공하에서 증발로 제거하고, 생성물을 CH₂Cl₂:헥산(2:1)으로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 70(125 mg, 62%)을 오일로서 얻었다. m/z = 338.05 (M+Na). ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ = 7.60 (1H, d, J = 7.70 Hz, ArH), 7.51 (1H, d, J = 8.05 Hz, ArH), 7.33 (1H, t, J = 6.80 Hz, ArH), 7.26 (1H, t, J = 6.80 Hz, ArH), 6.79 (1H, s, ArH), 5.28 (2H, s, CH₂), 3.72-3.63 (8H, m, 4 x CH₂).

[0383] 5. 에테르-결합된 토포이소머라제 I 억제제 전구약물



[0384]

[0385] 5,7-디메톡시벤조푸란-2-일)메틸-캄프토테신(71) SU037-04



[0386]

[0387] 화합물 41(100 mg, 0.48 mmol)을 톨루엔(5 ml)에 용해시키고, 용액을 0°C로 냉각하였다. PBr_3 (46 μl , 0.48 mmol)를 10 분에 걸쳐 적가하였다. 반응 혼합물을 실온이 되게 하고, 1 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하였다. 미정제 잔류물을 그 다음 단계에 사용하였다.

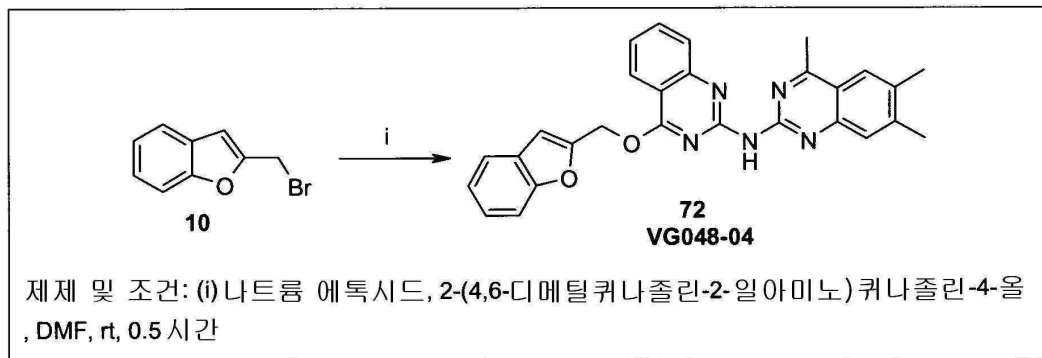
[0388] 나트륨 에톡사이드(15 mg, 0.22 mmol)를 DMF(5 ml)에 0°C에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 캄프토테신(81 mg, 0.22 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반하였다. 이 혼합물에 이전의 단계로부터의 미정제 잔류물인 2-(브로모메틸)-5,7-디메톡시벤조푸란(50 mg, 0.18 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 DCM:EtOAc(2:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 표적 화합물을 백색 고체(10 mg, 10%)로서 얻었다. $m/z = 555.19(\text{M}+\text{H})$

[0389] 6. 에테르-결합된 티로신 키나제 억제제 전구약물

VG048-04		SU01-A-04	
SU01-B-04		SU01-C-04	

[0390]

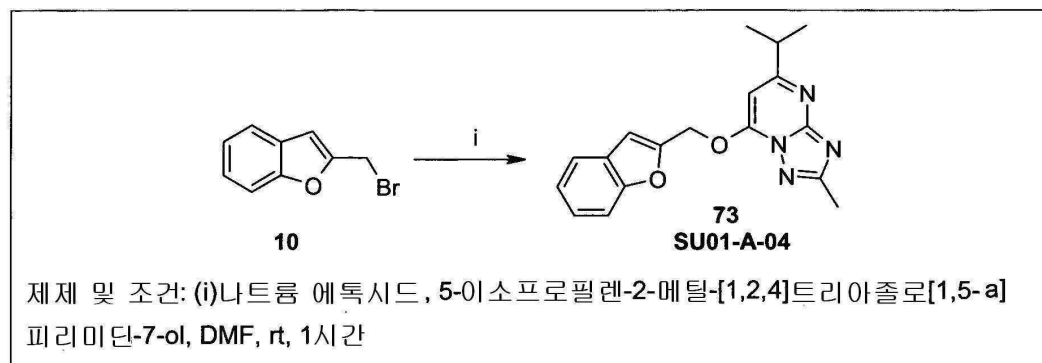
[0391] N-(4-(벤조푸란-2-일메톡시)퀴나졸린-2-일)-4,6,7-트리메틸퀴나졸린-2-아민(72) VG048-04



[0392]

[0393] 나트륨 에톡시드(3 mg, 0.05 mmol)를 DMF(2 mL)에 0°C에서 첨가하고, 현탁액을 5 분 동안 교반하였다. 2-(4,6-디메틸퀴나졸린-2-일아미노)퀴나졸린-4-올(15 mg, 0.05 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반하였다. 이 혼합물에 2-(브로모메틸)벤조푸란(16 mg, 0.08 mmol)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하여 미정제 백색 고체를 얻었다. 이를 저온의 에테르 및 EtOAc로 세정하여 정제하여 72(3 mg, 11%)를 백색 고체로서 얻었다. m/z = 462.2(M+H)

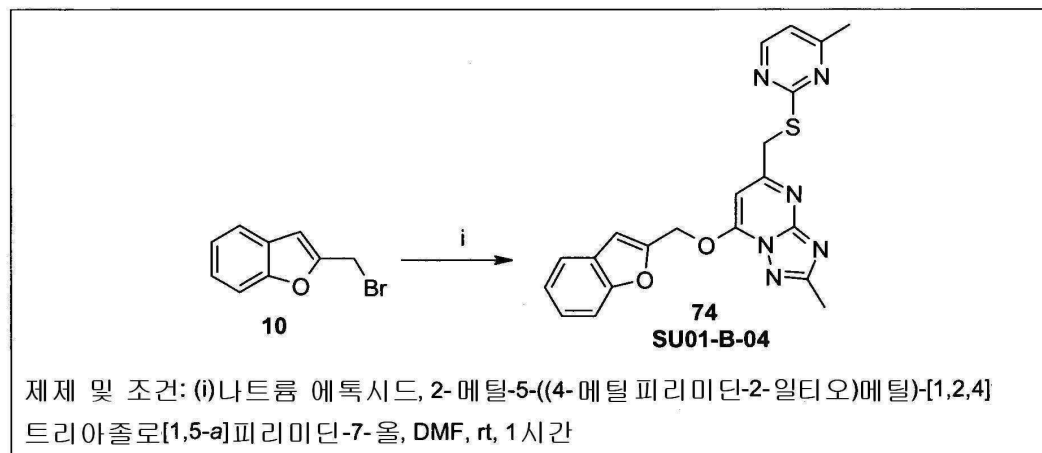
[0394] 7-(벤조푸란-2-일메톡시)-5-이소프로필렌-2-메틸-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리미딘(73) SU01-A-04



[0395]

[0396] 나트륨 에톡시드(7.2 mg, 0.10 mmol)를 DMF(2 mL)에 0°C에서 첨가하고, 현탁액을 5 분 동안 교반하였다. 5-이소프로필렌-2-메틸-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리미딘-7-올(20 mg, 0.10 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반하였다. 이 혼합물에 2-(브로모메틸)벤조푸란(16 mg, 0.08 mmol)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하여 미정제 백색 고체를 얻었다. 이를 반-분취용 HPLC로 정제하여 73(6.3 mg, 19%)을 백색 고체로서 얻었다. m/z = 323.13(M+H), 645.27(2M+H)

[0397] 7-(벤조푸란-2-일메톡시)-2-메틸-5-((4-메틸피리미딘-2-일티오)메틸)-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리미딘(74) SU01-B-04



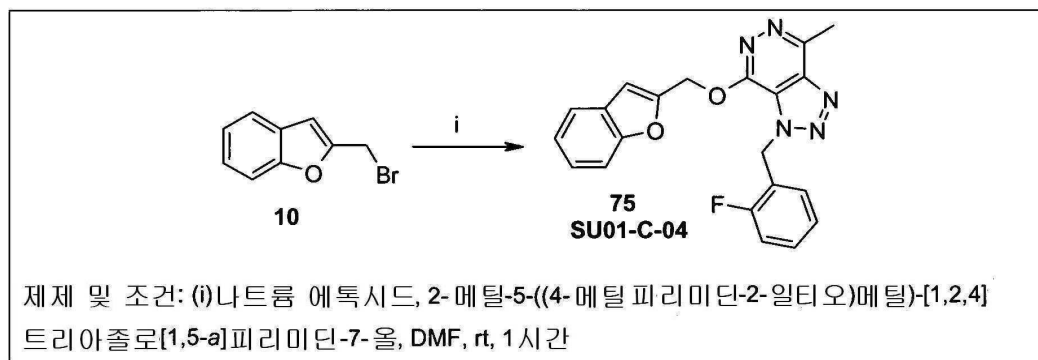
[0398]

[0399]

나트륨 에톡시드(4.7 mg, 0.07 mmol)를 DMF(2 ml)에 0℃에서 첨가하고, 현탁액을 5 분 동안 교반하였다. 2-메틸-5-((4-메틸피리미딘-2-일티오)메틸)-[1,2,4]트리아졸로[1,5-a]피리미딘-7-올(20 mg, 0.07 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반하였다. 이 혼합물에 10(16 mg, 0.08 mmol)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하여 미정제 백색 고체를 얻었다. 이를 반-분취용 HPLC로 정제하여 74(5.2 mg, 18%)를 백색 고체로서 얻었다. m/z = 419.09(M+H), 837.23(2M+H)

[0400]

7-(벤조푸란-2-일메톡시)-1-(2-플루오로벤질)-4-메틸-1H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-d]피리다진(75) SU01-C-04



[0401]

[0402]

나트륨 에톡시드(5.2 mg, 0.08 mmol)를 DMF(2 ml)에 0℃에서 첨가하고, 현탁액을 5 분 동안 교반하였다. 1-(2-플루오로벤질)-4-메틸-1H-[1,2,3]트리아졸로[4,5-d]피리다진-7-올(20 mg, 0.08 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반하였다. 이 혼합물에 2-(브로모메틸)벤조푸란(16 mg, 0.08 mmol)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하여 미정제 백색 고체를 얻었다. 이를 반-분취용 HPLC로 정제하여 75(3 mg, 10%)를 백색 고체로서 얻었다. m/z = 390.07(M+H), 801.12(2M+Na)

[0403]

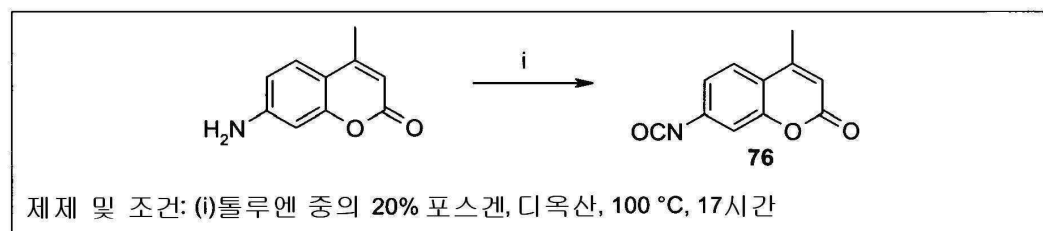
7. 카르바메이트-결합된 모델 쿠마린 전구약물

TLE- M1-SU001C (†)		SU030-7-03	
SU002102 (†)		SU030-8-03 (†)	
VG032-03		SU033-03	
VG037-03		SU018-03	
SU024-2-03		VG032-05	
SU024-3-03 (†)		VG036-05	
SU030-4-03		VG041-05	

[0404]

[0405]

7-이소시아나토-4-메틸쿠마린(76)



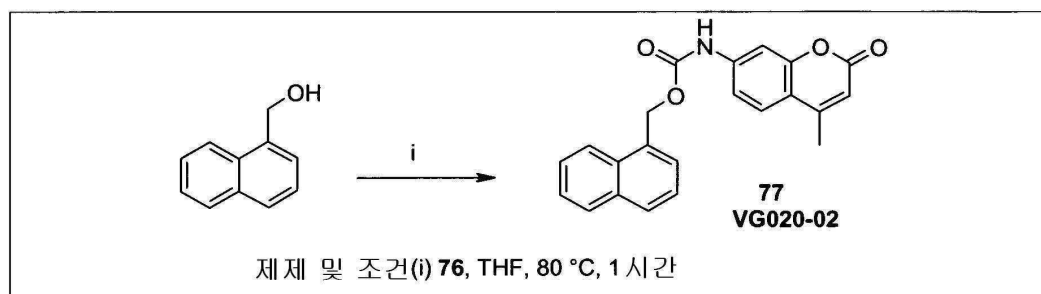
[0406]

[0407]

드라이 아이스 응축기 및 자기 교반기가 장착된 200 ml 3목 플라스크에 톨루엔중의 용액중의 20% 포스겐(2.0 ml) 및 디옥산(80 ml)의 용액을 넣었다. 이 혼합물에 7-아미노-4-메틸-2H-크로멘-2-온(2.00 g, 11.4 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 100°C에서 12 시간 동안 교반하였다. 초기의 황색이 사라졌으며, 백색 고체가 침전되었다. 톨루엔중의 추가의 20% 포스겐 용액(7.0 ml)을 첨가하고, 혼합물을 추가의 5 시간 동안 가열하고, 이때 용액이 맑아졌다. 과량의 포스겐 및 미량의 HCl을 용액에 질소 기체를 버블링시켜 제거하였다. 뿌연 용액을 여과하여 미반응 7-아미노-4-메틸-2H-크로멘-2-온을 제거하고, 농축시켜 76(0.5 g, 25%)을 백색 고체로서 얻었다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 7.50 (1H, d, J = 7.40 Hz, ArH), 7.46 (2H, s, ArH), 6.20 (1H, s, ArH), 2.35

(3H, s, CH₃): ir (CH₂Cl₂) 2314 (N=C=O), 1726 and 1615 cm⁻¹.

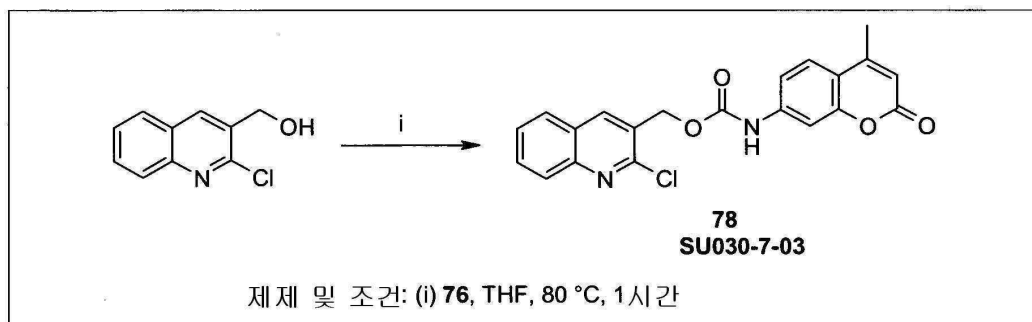
[0409] 나프탈렌-1-일메틸 4-메틸-2-옥소-2H-크로멘-7-일카르바메이트(77) VG020-02



[0410]

[0411] 나프탈렌-1-일메탄올(56 mg, 0.28 mmol) 및 76(200 mg, 1.27 mmol)을 THF(2 ml)에 용해시켰다. 생성된 혼합물을 실온에서 15 분 동안 교반한 후, 80°C에서 1 시간 동안 교반하였다. THF를 진공하에 증발로 제거하였다. 잔류물을 실리카상에서 흡착시키고, CH₂Cl₂/헥산/EtOAc(1:1:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 77(3 mg, 5%)을 백색 고체로서 얻었다. m/z = 360.14(M+H), 719.27(2M+H)

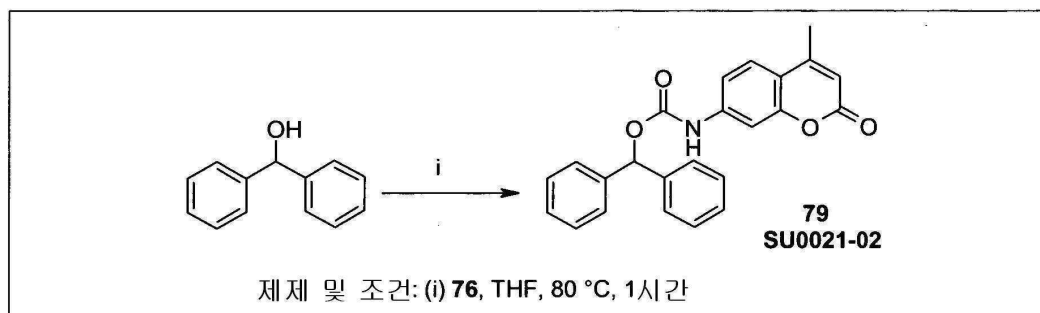
[0412] (2-클로로퀴놀린-3-일)메틸 4-메틸-2-옥소-2H-크로멘-7-일카르바메이트(78) SU030-7-03



[0413]

[0414] (2-클로로퀴놀린-3-일)메탄올(100 mg, 0.52 mmol) 및 76(155 mg, 0.77 mmol)을 THF(2 ml)에 용해시켰다. 생성된 혼합물을 실온에서 15 분 동안 교반한 후, 80°C에서 1 시간 동안 교반하였다. THF를 진공하에서 증발로 제거하였다. 잔류물을 실리카상에서 흡착시키고, CH₂Cl₂/EtOAc(1:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 78(38 mg, 19%)을 백색 고체로서 얻었다. m/z = 395.08(M+H)

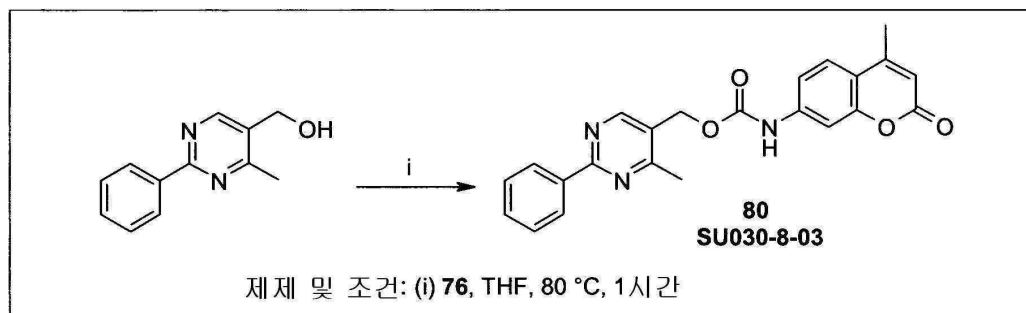
[0415] 벤즈히드릴 4-메틸-2-옥소-2H-크로멘-7-일카르바메이트(79) SU0021-02



[0416]

[0417] (2-클로로퀴놀린-3-일)메탄올(119 mg, 0.65 mmol) 및 76(70 mg, 0.35 mmol)을 THF(2 ml)에 용해시켰다. 생성된 혼합물을 실온에서 15 분 동안 교반한 후, 80°C에서 1 시간 동안 교반하였다. THF를 진공하에 증발로 제거하였다. 잔류물을 실리카상에서 흡착시키고, CH₂Cl₂/EtOAc(1:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 79(50 mg, 37%)를 백색 고체로서 얻었다. m/z = 386.16(M+H)

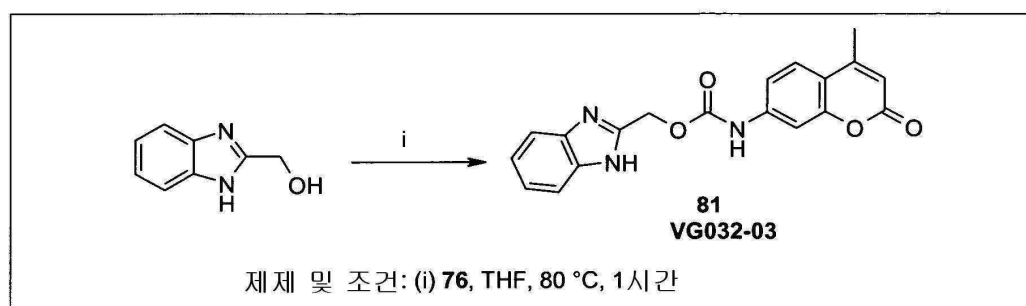
[0418] 벤즈히드릴 4-메틸-2-옥소-2H-크로멘-7-일카르바메이트(80) SU0021-02



[0419]

[0420] (4-메틸-2-페닐피리미딘-5-일)메탄올(100 mg, 0.50 mmol) 및 76(151 mg, 0.75 mmol)을 THF(2 ml)에 용해시켰다. 생성된 혼합물을 실온에서 15 분 동안 교반한 후, 80℃에서 1 시간 동안 교반하였다. THF를 진공하에 증발로 제거하였다. 잔류물을 실리카상에서 흡착시키고, CH₂Cl₂/EtOAc(1:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 80(70 mg, 35%)을 백색 고체로서 얻었다. m/z = 402.15(M+H)

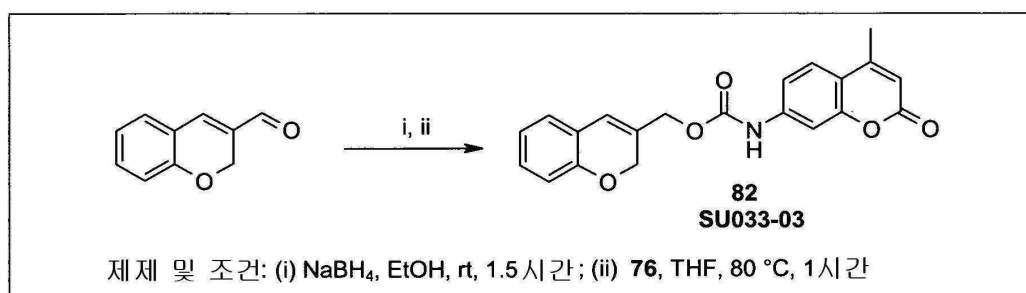
[0421] (1H-벤조[d]이미다졸-2-일)메틸 4-메틸-2-옥소-2H-크로멘-7-일카르바메이트(81) VG032-03



[0422]

[0423] (1H-벤조[d]이미다졸-2-일)메탄올(200 mg, 1.35 mmol) 및 76(272 mg, 1.35 mmol)을 THF(2 ml)에 용해시켰다. 생성된 혼합물을 실온에서 15 분 동안 교반한 후, 80℃에서 1 시간 동안 교반하였다. THF를 진공하에 증발로 제거하였다. 잔류물을 실리카상에서 흡착시키고, CH₂Cl₂/EtOAc(1:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 81(80 mg, 17%)을 백색 고체로서 얻었다. m/z = 350.12(M+H)

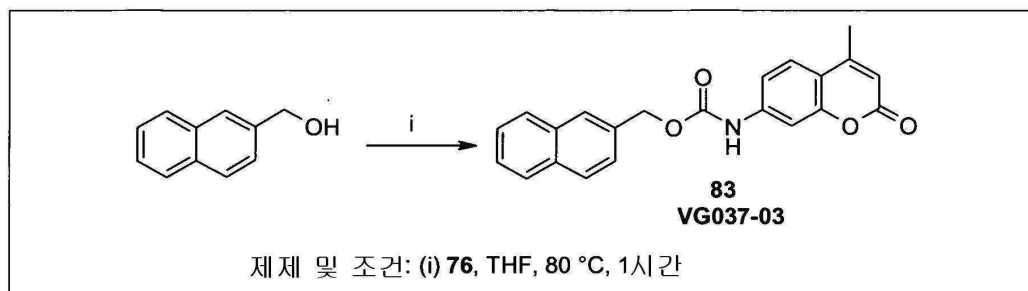
[0424] (2H-크로멘-3-일)메틸 4-메틸-2-옥소-2H-크로멘-7-일카르바메이트(82) SU033-03



[0425]

[0426] 2H-크로멘-3-카르브알데히드(500 mg, 3.13 mmol)를 EtOH(10 ml)에 용해시켰다. NaBH₄(119 mg, 3.13 mmol)를 부분으로 나누어 0℃에서 격렬하게 교반하면서 첨가하였다. 현탁액을 0℃에서 15 분 동안 교반한 후, 실온에서 1.5 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하여 알콜 중간체를 오일로 얻었다. 이를 THF(5 ml)에 용해시키고, 76(155 mg, 0.77 mmol)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 15 분 동안 교반한 후, 80℃에서 1 시간 동안 교반하였다. THF를 진공하에 증발로 제거하였다. 잔류물을 실리카상에서 흡착시키고, CH₂Cl₂/EtOAc(1:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 82(80 mg, 8%)를 백색 고체로서 얻었다. m/z = 364.12(M+H), 727.23(2M+H).

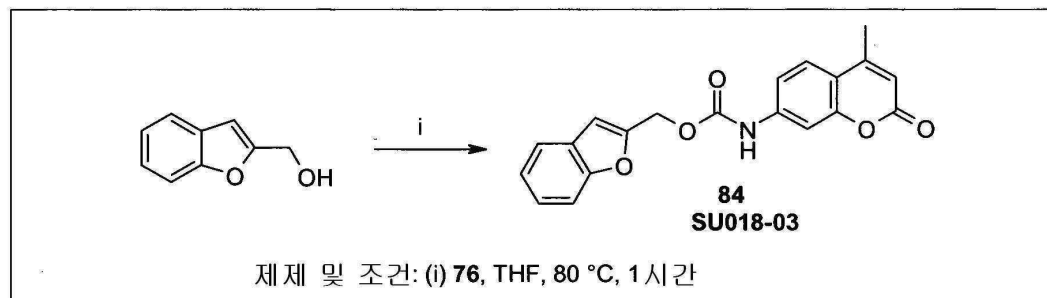
[0427] 나프탈렌-2-일메틸 4-메틸-2-옥소-2H-크로멘-7-일카르바메이트(83) VG037-03



[0428]

[0429] 나프탈렌-2-일메탄올(200 mg, 1.27 mmol) 및 76(279 mg, 1.39 mmol)을 THF(2 ml)에 용해시켰다. 생성된 혼합물을 실온에서 15 분 동안 교반한 후, 80℃에서 1 시간 동안 교반하였다. THF를 진공하에 증발로 제거하였다. 잔류물을 실리카상에서 흡착시키고, CH₂Cl₂/EtOAc(1:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 83(26 mg, 6%)을 백색 고체로서 얻었다. m/z = 360.13(M+H), 719.25(2M+H)

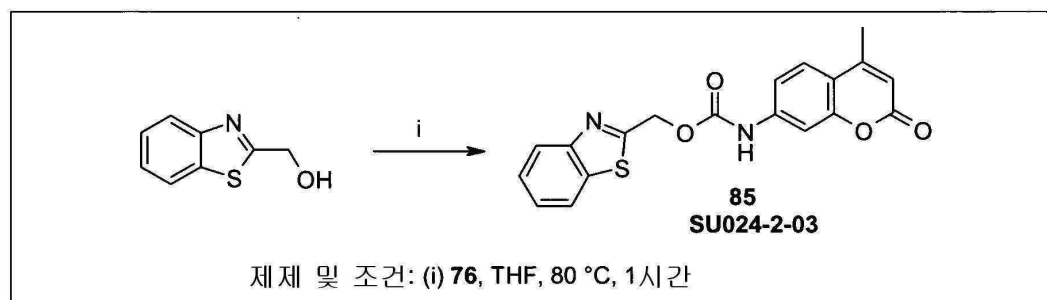
[0430] 벤조푸란-2-일메틸 4-메틸-2-옥소-2H-크로멘-7-일카르바메이트(84) SU018-03



[0431]

[0432] 벤조푸란-2-일메탄올(300 mg, 2.03 mmol) 및 76(407 mg, 2.03 mmol)을 THF(2 ml)에 용해시켰다. 생성된 혼합물을 실온에서 15 분 동안 교반한 후, 80℃에서 1 시간 동안 교반하였다. THF를 진공하에 증발로 제거하였다. 잔류물을 실리카상에서 흡착시키고, CH₂Cl₂/EtOAc(1:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 84(130 mg, 18%)를 백색 고체로서 얻었다. m/z = 350.09(M+H), 699.17(2M+H)

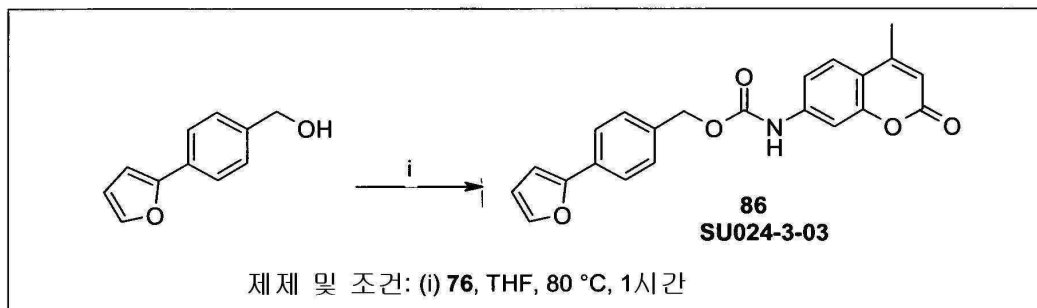
[0433] 벤조[d]티아졸-2-일메틸 4-메틸-2-옥소-2H-크로멘-7-일카르바메이트(85) SU024-3-03



[0434]

[0435] 벤조[d]티아졸-2-일메탄올(200 mg, 1.21 mmol) 및 76(365 mg, 1.8 mmol)을 THF(2 ml)에 용해시켰다. 생성된 혼합물을 실온에서 15 분 동안 교반한 후, 80℃에서 1 시간 동안 교반하였다. THF를 진공하에 증발로 제거하였다. 잔류물을 실리카상에서 흡착시키고, CH₂Cl₂/EtOAc(1:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 85(90 mg, 20%)를 백색 고체로서 얻었다. m/z = 367.02(M+H), 733.13(2M+H)

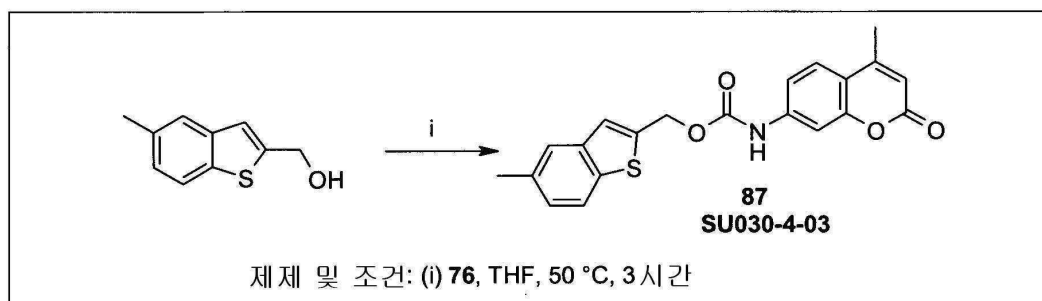
[0436] 4-(푸란-2-일)벤질 4-메틸-2-옥소-2H-크로멘-7-일카르바메이트(86) SU024-3-03



[0437]

[0438] (4-(푸란-2-일)페닐)메탄올(100 mg, 0.57 mmol) 및 76(139 mg, 0.69 mmol)을 THF(10 mL)에 용해시켰다. 생성된 혼합물을 실온에서 15 분 동안 교반한 후, 80°C에서 1 시간 동안 교반하였다. THF를 진공하에 증발로 제거하였다. 잔류물을 실리카상에서 흡착시키고, CH₂Cl₂/EtOAc(1:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 표적 화합물(20 mg, 9%)을 백색 고체로서 얻었다. m/z = 376.11(M+H), 751.22(2M+H)

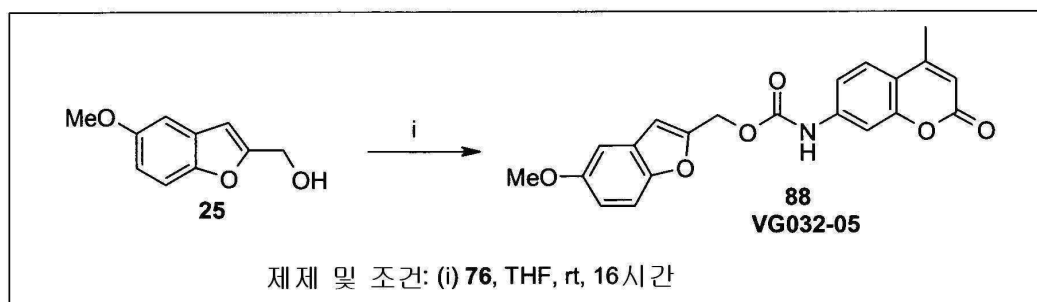
[0439] (5-메틸벤조[b]티오펜-2-일)메틸 4-메틸-2-옥소-2H-크로멘-7-일카르바메이트(87) SU030-4-03



[0440]

[0441] (5-메틸벤조[b]티오펜-2-일)메탄올(100 mg, 0.56 mmol) 및 76(136 mg, 0.67 mmol)을 THF(2 mL)에 용해시켰다. 생성된 혼합물을 실온에서 15 분 동안 교반한 후, 50°C에서 3 시간 동안 교반하였다. THF를 진공하에 증발로 제거하였다. 잔류물을 실리카상에서 흡착시키고, CH₂Cl₂/EtOAc(1:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 87(38 mg, 18%)을 백색 고체로서 얻었다. m/z = 380.09(M+H), 759.17(2M+H)

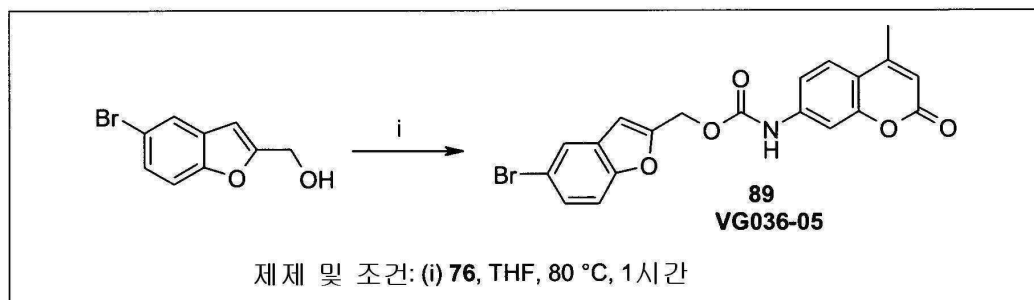
[0442] (5-메톡시벤조푸란-2-일)메틸 4-메틸-2-옥소-2H-크로멘-7-일카르바메이트(88) VG032-05



[0443]

[0444] (5-메톡시벤조푸란-2-일)메탄올 25(200 mg, 1.12 mmol) 및 76(190 mg, 0.95 mmol)을 THF(10 mL)에 용해시켰다. 생성된 혼합물을 실온에서 15 분 동안 교반한 후, 실온에서 16 시간 동안 교반하였다. THF를 진공하에 증발로 제거하였다. 잔류물을 실리카상에서 흡착시키고, 헥산/EtOAc(1:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 88(20 mg, 5%)을 백색 고체로서 얻었다. m/z = 380.13(M+H), 759.26(2M+H)

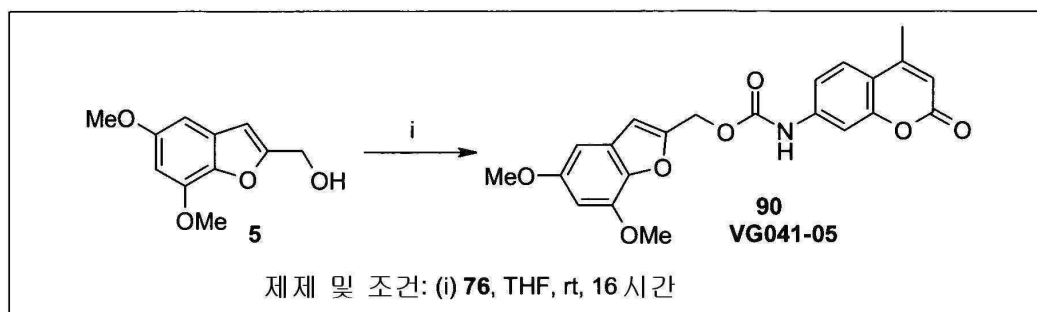
[0445] (5-브로모벤조푸란-2-일)메틸 4-메틸-2-옥소-2H-크로멘-7-일카르바메이트(89) VG036-05



[0446]

[0447] (5-브로모벤조푸란-2-일)메탄올(100 mg, 0.44 mmol) 및 76(106 mg, 0.52 mmol)을 THF(2 ml)에 용해시켰다. 생성된 혼합물을 실온에서 15 분 동안 교반한 후, 80°C에서 1 시간 동안 교반하였다. THF를 진공하에 증발로 제거하였다. 잔류물을 실리카상에서 흡착시키고, CH₂Cl₂/EtOAc(1:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 89(5.0 mg, 3%)를 백색 고체로서 얻었다. m/z = 429.10(M+H)

[0448] (5,7-디메톡시벤조푸란-2-일)메틸 4-메틸-2-옥소-2H-크로멘-7-일카르바메이트(90) VG041-05



[0449]

[0450] (5,7-디메톡시벤조푸란-2-일)메탄올 5(50 mg, 0.24 mmol) 및 7-이소시아나토-4-메틸쿠마린(58 mg, 0.29 mmol)을 THF(10 ml)에 용해시켰다. 생성된 혼합물을 실온에서 16 시간 동안 교반하였다. THF를 진공하에 증발로 제거하였다. 잔류물을 실리카상에서 흡착시키고, CH₂Cl₂/EtOAc(1:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 90(5.0 mg, 3%)을 백색 고체로서 얻었다. m/z = 410.04(M+H)

[0451]

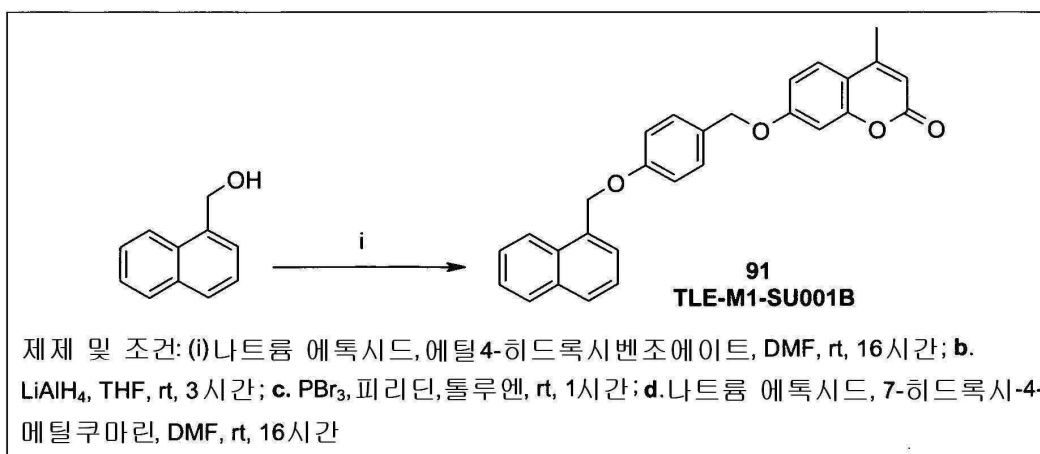
8. 연장된 링커: 옥시벤질 에테르, 카르바메이트 벤질 에테르, 옥시벤질 카르바메이트

TLE- M1- SU001B (†)	
TLE- M1- SU004 (†)	
SU010B-02	
VG021-03 (†)	
SU024-1-03	
VG040-05	
SU032-02 (†)	

[0452]

[0453]

4-메틸-7-(4-나프탈렌-1-일메톡시)벤질옥시)-2H-크로멘-2-온(91) TLE-M1-SU001B



[0454]

[0455]

DMF중의 나트륨 에톡시드(924 mg, 13.6 mmol)의 현탁액을 0℃에서 10 분 동안 교반하였다. 에틸 4-히드록시 벤조에이트(2.26 g, 13.6 mmol)를 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반한 후, 실온 이 되도록 하였다. 이 혼합물에 1-(브로모메틸)나프탈렌(2.0 g, 9.0 mmol)을 적가하였다[(DMF(5 ml)에 예비용

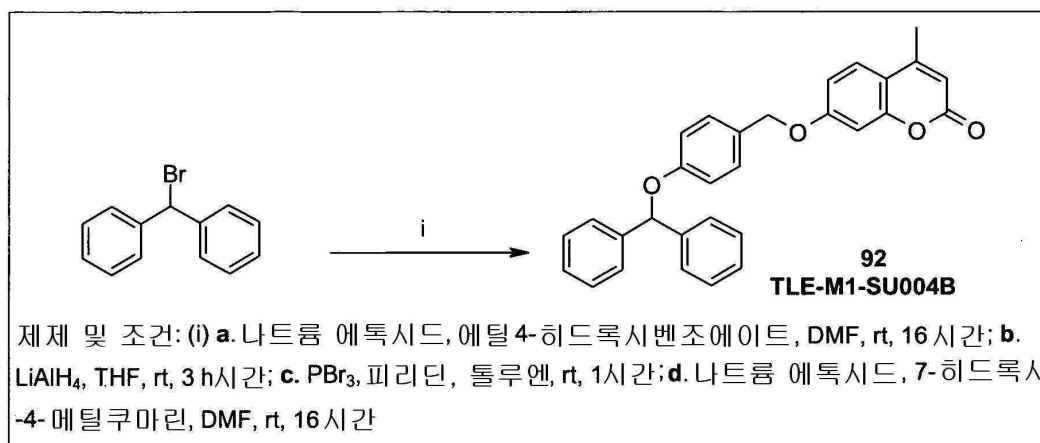
해시킴]. 생성된 혼합물을 실온에서 16 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 염수, 물 및 1M NaOH(2×30 ml)로 세정하였다. 유기 층을 건조시키고(MgSO₄), 용매를 진공하에서 증발로 제거하여 에틸 4-(나프탈렌-1-일메톡시)벤조에이트(1.7 g, 5.55 mmol)를 얻었다. 이를 THF에 용해시키고, LiAlH₄(211 mg, 5.55 mmol)를 부분으로 나누어 격렬하게 교반하면서 첨가하였다. 현탁액을 실온에서 3 시간 동안 교반하였다. THF를 진공하에서 증발로 제거하였다. 미정제 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 물, 염수로 세정하고, 건조시켰다(MgSO₄). EtOAc를 진공하에서 증발로 제거하여 4-(나프탈렌-1-일메톡시)페닐)메탄올(1.3 g, 4.9 mmol)을 미정제 생성물로서 얻었다. 이를 추가로 정제하지 않고 그 다음 반응 단계에 사용하였다. 4-(나프탈렌-1-일메톡시)페닐)메탄올(1.0 g, 3.8 mmol)을 톨루엔(30 ml)에 용해시키고, 피리딘(305 μ l, 3.8 mmol)을 첨가하였다. 용액을 0℃로 냉각하였다. PBr₃(359 μ l, 3.8 mmol)를 15 분에 걸쳐 적가하였다. 혼합물을 실온 이하가 되게 하고, 1 시간 동안 교반하였다. K₂CO₃ 용액으로 세정하고, EtOAc(3×30 ml)로 추출하였다. EtOAc 층을 염수로 세정하고, 건조시켰다(MgSO₄). 용매를 진공하에서 증발로 제거하여 1-((4-(브로모메틸)페녹시)메틸)나프탈렌(660 mg, 53%)을 얻었다. 중간체를 다음의 반응에 사용하였다.

[0456]

나트륨 에톡시드(156 mg, 2.29 mmol)를 DMF에 0℃에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(403 mg, 2.29 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 0.5 시간 동안 교반한 후, 실온이 되도록 하였다. 이 혼합물에 1-((4-(브로모메틸)페녹시)메틸)나프탈렌(500 mg, 1.53 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 16 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 염수(2×50 ml), 물(2×50 ml) 및 1M NaOH(2×30 ml)로 세정하였다. 유기 층을 건조시키고(MgSO₄), hexan:EtOAc(2:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 91(200 mg, 31%)을 백색 고체로서 얻었다. Mpt = 154-156 °C; ¹H NMR (500MHz, acetone-d₆): δ = 8.10 (1H, d, ArH), 8.00-7.99 (2H, m, Ar), 7.97-7.71 (2H, m, ArH), 7.70-7.53 (3H, m, ArH), 7.24 (1H, s, ArH), 7.09 (1H, d, CH), 6.23 (1H, s, CH), 5.68 (2H, s, CH₂), 2.40 (3H, s, CH₃). ¹³C NMR (500MHz, acetone-d₆, DEPT135): δ = 154.6 (qC), 153.4 (qC), 133.3 (qC), 131.1, 129.8, 128.9, 128.7, 128.5, 126.9, 126.7, 126.5, 126.4, 126.0, 125.9, (11 x Ar CH), 125.3, (Ar CH), 123.8(Ar CH), 114.8(Ar CH), 113.1(Ar CH), 112.7(Ar CH), 111.2(Ar CH), 111.1(Ar CH), 101.7(CH), 69.6 & 67.9(2 x CH₂), 18.1(CH₃)

[0457]

7-(4-(벤즈히드릴옥시)벤질옥시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(92) TLE-M1-SU004B



[0458]

[0459]

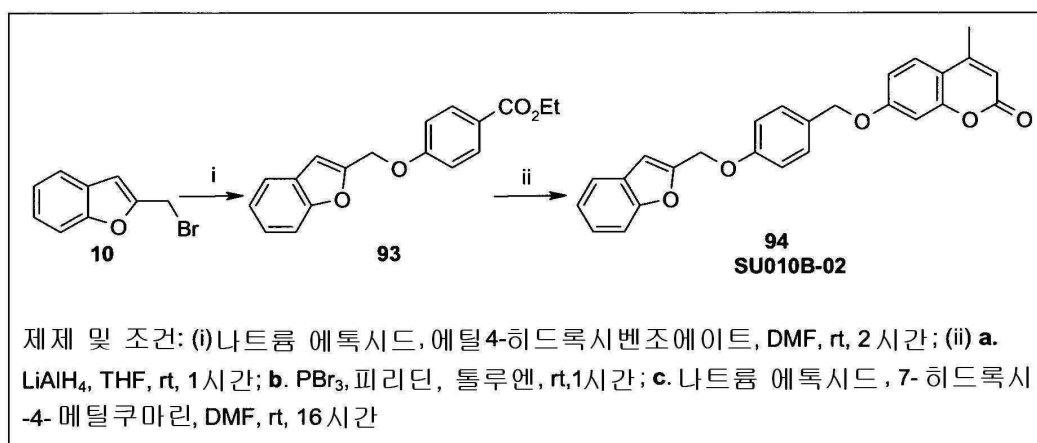
나트륨 에톡시드(661 mg, 9.7 mmol)를 DMF(5 ml)에 0℃에서 첨가하였다. 생성된 현탁액을 15 분 동안 교반하였다. 에틸 4-히드록시 벤조에이트(1.61 g, 9.7 mmol)를 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반한 후, 실온이 되도록 하였다. 이 혼합물에 브롬화디페닐메틸(2.0 g, 8.1 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 16 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 염수, 물 및 1M NaOH(2×30 ml)로 세정하였다. 유기 층을 건조시키고(MgSO₄), 용매를 진공하에서 증발로 제거하여 에틸 4-(벤즈히드릴옥시)벤조에이트(1.0 g, 3.0 mmol)를 얻었다. 그후, 이를 THF(5 ml)에 용해시키고, LiAlH₄(114 mg, 3.0 mmol)를 부분으로 나누어 격렬하게 교반하면서 첨가하였다. 현탁액을 실온에서 3 시간 동안 교반하였다. THF를 진공하에서 증발로 제거하였다. 미정제 잔류물을

EtOAc중에서 취하고, 물, 염수로 세정하고, 건조시켰다(MgSO₄). EtOAc를 진공하에서 증발로 제거하여 (4-(벤즈히드릴옥시)페닐)메탄올(760 mg, 2.62 mmol)을 미정제 생성물로서 얻었다. 이를 추가로 정제하지 않고 그 다음 반응 단계에 사용하였다.

[0460] (4-(벤즈히드릴옥시)페닐)메탄올(500 mg, 1.72 mmol)을 톨루엔(20 ml)에 용해시키고, 피리딘(139 μ l, 1.72 mmol)을 첨가하였다. 용액을 0℃로 냉각하였다. PBr₃(163 μ l, 1.72 mmol)를 15 분에 걸쳐 적가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 그후, 포화 K₂CO₃ 용액으로 세정하고, EtOAc(3×30 ml)로 추출하였다. EtOAc 층을 염수로 세정하고, 건조시켰다(MgSO₄). 용매를 진공하에서 증발로 제거하여 ((4-(브로모메틸)펜옥시)메틸렌)디벤젠을 오일(450 mg, 74%)로서 얻었다. 중간체를 다음의 반응에 사용하였다.

[0461] 나트륨 에톡시드(87 mg, 1.28 mmol)를 DMF(3 ml)에 0℃에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(225 mg, 1.28 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반한 후, 실온이 되도록 하였다. 이 혼합물에 ((4-(브로모메틸)펜옥시)메틸렌)디벤젠(300 mg, 1.53 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 16 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 염수(2×50 ml), 물(2×50 ml) 및 1M NaOH(2×30 ml)로 세정하였다. 유기 층을 건조시키고(MgSO₄), 헥산:EtOAc(2:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 92(80 mg, 21%)를 백색 고체로서 얻었다. Mpt = 179-181 °C. ¹H NMR (500MHz, acetone-d₆): δ = 7.66 (1H, d, ArH), 7.56 (4H, d, ArH), 7.39-7.34 (6H, m, ArH), 7.08 (2H, d, ArH), 6.97 (2H, d, ArH), 6.93 (2H, d, ArH), 6.51 (1H, s, CH), 6.12 (1H, s, CH), 5.12 (2H, s, CH₂), 2.42 (3H, s, CH₃).

[0462] 7-(4-(벤조푸란-2-일메톡시)벤질옥시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(94) SU010B-02



[0463]

[0464] 에틸 4-(벤조푸란-2-일메톡시)벤조에이트(93)

[0465] 나트륨 에톡시드(580 mg, 8.5 mmol)를 DMF(10 ml)에 0℃에서 첨가하였다. 생성된 현탁액을 15 분 동안 교반하였다. 에틸 4-히드록시 벤조에이트(1.4 g, 8.5 mmol)를 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반한 후, 실온이 되도록 하였다. 이 혼합물에 10(1.5 g, 7.1 mmol)을 적가하고, DMF(5 ml)에 예비용해시켰다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 염수, 물 및 1M NaOH(2×30 ml)로 세정하였다. 유기 층을 건조시키고(MgSO₄), 용매를 진공하에서 증발로 제거하여 93을 백색 고체(920 mg, 44%)로서 얻었다. m/z = 423.18 (M+H). ¹H NMR (500MHz, Acetone-d₆): δ = 8.0 (2H, d, ArH), 7.60 (1H, d, ArH), 7.30-7.15 (2H, m, ArH), 7.27-7.19 (1H, m, CH), 7.00 (2H, d, ArH), 6.80 (1H, s, CH), 5.20 (2H, s, CH₂), 4.10 (2H, q, CH₂), 1.25 (3H, t, CH₃).

[0466] 7-(4-(벤조푸란-2-일메톡시)벤질옥시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(94) U010B-02

[0467] 화합물 93(400 mg, 1.29 mmol)을 THF(15 ml)에 용해시키고, LiAlH₄(49 mg, 1.29 mmol)를 부분으로 나누어 격렬하게 교반하면서 첨가하였다. 현탁액을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. THF를 진공하에서 증발로 제거하였다. 미정제 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 물, 염수로 세정하고, 건조시켰다(MgSO₄). EtOAc를 진공하에서 증

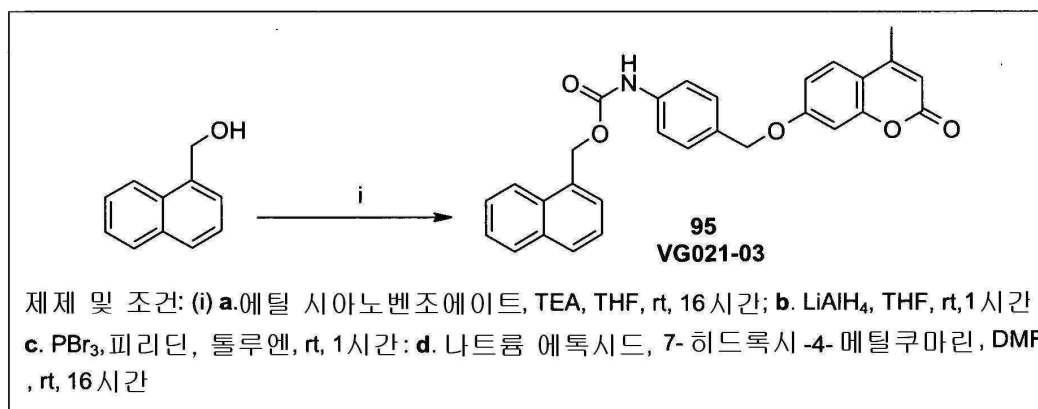
발로 제거하여 (4-(벤조푸란-2-일메톡시)페닐)메탄올(220 mg, 67%)을 미정제 생성물로서 얻었다. 이를 톨루엔(10 ml)에 용해시켰다. 용액을 0℃로 냉각하였다. PBr₃(98 μ l, 1.04 mmol)를 15 분에 걸쳐 적가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 그후, 포화 K₂CO₃ 용액으로 세정하고, EtOAc(3×30 ml)로 추출하였다. EtOAc 층을 염수로 세정하고, 건조시켰다(MgSO₄). 용매를 진공하에서 증발로 제거하여 2-((4-(브로모메틸)펜옥시)메틸)벤조푸란을 무색 오일(132 mg)로서 얻었다. 중간체를 다음의 반응에 사용하였다.

[0468]

나트륨 에톡시드(43 mg, 0.63 mmol)를 DMF에 0℃에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(110 mg, 0.63 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반한 후, 실온이 되도록 하였다. 이 혼합물에 93(132 mg, 0.42 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 16 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 염수(2×50 ml), 물(2×50 ml) 및 1M NaOH(2×30 ml)로 세정하였다. 유기 층을 건조시키고(MgSO₄), 헥산:EtOAc(2:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 94(80 mg, 47%)를 백색 고체로서 얻었다. Mpt = 153-155 °C. m/z = 413 (M+H). ¹H NMR (500MHz, Acetone-d₆): δ = 7.56-7.46 (2H, m, CH), 7.40 (1 H, t, J = 8.2, CH), 7.34 (2H, d, J = 8.50, CH), 7.27-7.19 (1H, m, CH), 7.14-7.09 (1H, m, CH), 7.00-6.98 (2H, d, CH, J = 11.8), 6.86-6.80 (3H, m, CH), 5.99 (1H, s, CH), 5.14 (2H, s, CH₂), 5.03 (2H, s, CH₂), 2.28 (3H, s, CH₃).

[0469]

나프탈렌-1-일메틸 4-((4-메틸-2-옥소-2H-크로멘-7-일옥시)메틸)페닐카르바메이트(95) VG021-03



[0470]

[0471]

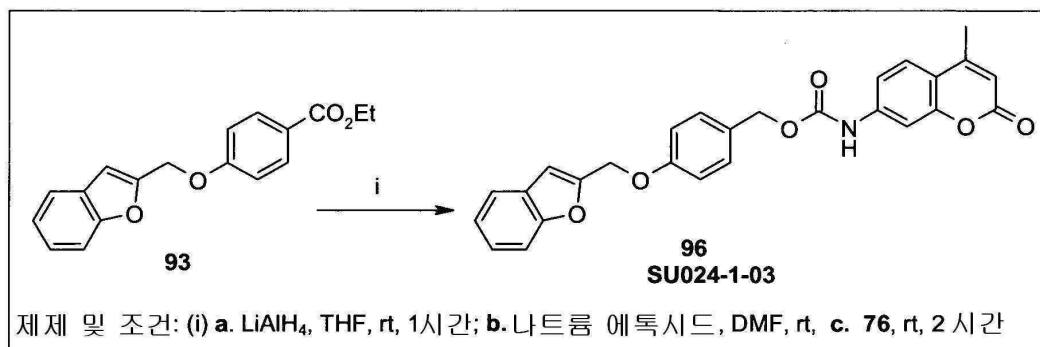
THF(30 ml)중의 나프탈렌 메탄올(4.0 g, 25.3 mmol)의 교반된 용액에 TEA(100 μ l)를 첨가하였다. 이에 에틸시아노벤조에이트(4.0 g, 21.0 mmol)를 적가하고, THF(10 ml)에 예비용해시켰다. 생성된 용액을 실온에서 16 시간 동안 교반하였다. 용매를 증발로 제거하여 미정제 중간체 에틸 4-((나프탈렌-1-일메톡시)카르보닐아미노)벤조에이트(1.3 g)를 얻었다. 그후, 이를 THF(15 ml)에 용해시키고, LiAlH₄(141 mg, 3.75 mmol)를 부분으로 나누어 격렬하게 교반하면서 첨가하였다. 현탁액을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. THF를 진공하에서 증발로 제거하였다. 미정제 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 물, 염수로 세정하고, 건조시켰다(MgSO₄). EtOAc를 진공하에서 증발로 제거하여 (나프탈렌-1-일메틸 4-(히드록시메틸)페닐카르바메이트(500 mg, 1.62 mmol)를 미정제 생성물로서 얻었다. 이를 톨루엔(10 ml)에 용해시켰다. 용액을 0℃로 냉각하였다. PBr₃(154 μ l, 1.62 mmol)를 15 분에 걸쳐 적가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하여 나프탈렌-1-일메틸 4-(브로모메틸)페닐카르바메이트를 오일(300 mg)로서 얻었다. 중간체를 추가로 정제하지 않고 하기 반응에 사용하였다.

[0472]

나트륨 에톡시드(44 mg, 0.65 mmol)를 DMF에 0℃에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(114 mg, 0.70 mmol)을 서서히 첨가하고, 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반한 후, 실온이 되도록 하였다. 이 혼합물에 2-((4-(브로모메틸)펜옥시)메틸)벤조푸란(200 mg, 0.42 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 16 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 염수(2×50 ml), 물(2×50 ml) 및 1M NaOH(2×30 ml)로 세정하였다. 유기 층을 건조시키고(MgSO₄), 헥산:EtOAc(2:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 95(160 mg, 63%)를 백색 고체로

서 얻었다. Mpt =153-155 °C. m/z = 488.2 (M+H). ^1H NMR (500MHz, Acetone- d_6): δ = 7.56-7.46 (2H, m, CH), 7.40(1H, t, J = 8.2, CH), 7.34 (2H, d, J =8.50, CH), 7.27-7.19 (1H, m, CH), 7.14-7.09 (1H, m, CH), 7.00-6.98 (2H, d, CH, J =11.8), 6.86-6.80 (3H, m, CH), 5.99 (1H, s, CH), 5.14 (2H, s, CH_2), 5.03 (2H, s, CH_2), 2.28 (3H, s, CH_3).

[0473] 4-(벤조푸란-2-일메톡시)벤질 4-메틸-2-옥소-2H-크로멘-7-일카르바메이트(96) SU024-1-03)



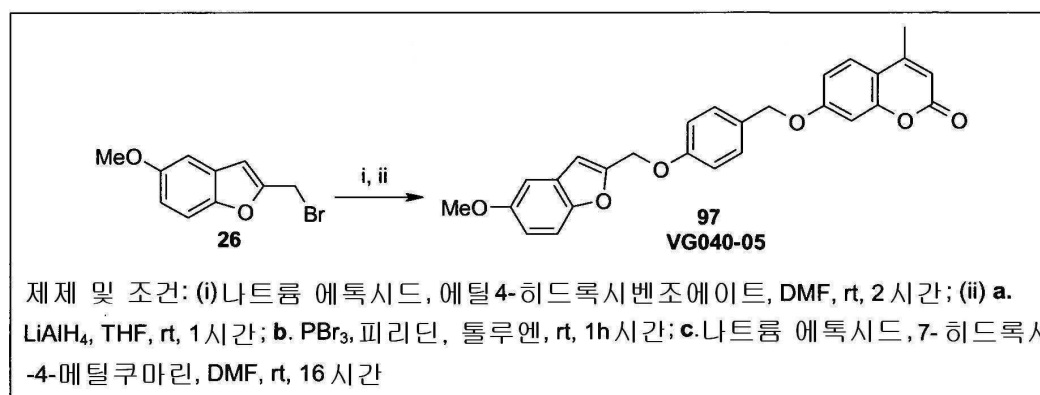
[0474]

[0475] 화합물 93(300 mg, 1.01 mmol)을 THF(15 ml)에 용해시키고, LiAlH_4 (38 mg, 1.01 mmol)를 부분으로 나누어 격렬하게 교반하면서 첨가하였다. 현탁액을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. THF를 진공하에서 증발로 제거하였다. 미정제 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 물, 염수로 세정하고, 건조시켰다(MgSO_4). EtOAc를 진공하에서 증발로 제거하여 4-(벤조푸란-2-일메톡시)페닐)메탄올(150 mg, 0.59 mmol)을 미정제 생성물로서 얻었다. 이를 추가의 정제 없이 그 다음 단계에서 사용하였다.

[0476]

나트륨 에톡시드(40 mg, 0.59 mmol)를 DMF에 0°C에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 4-(벤조푸란-2-일메톡시)페닐)메탄올(150 mg, 0.59 mmol)을 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반한 후, 실온이 되도록 하였다. 이 혼합물에 76(130 mg, 0.65 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하였다. 미정제 잔류물을 헥산:EtOAc(2:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 표적 화합물(20 mg, 8%)을 백색 고체로서 얻었다. m/z = 456.10 (M+H). ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6): δ = 10.22 (1H, bs, NH), 7.69-7.64 (2H, m, ArH), 7.58 (1H, d, J = 8.15 Hz, ArH), 7.55 (1H, s, ArH), 7.42 (2H, d, J = 8.00 Hz, ArH), 7.33 (1H, t, J = 7.70 Hz, ArH), 7.26 (1H, t, J = 7.5 Hz, ArH), 7.11 (2H, d, J = 8.28 Hz, ArH), 7.06 (1H, s, ArH), 6.23 (1H, s, ArH), 5.29 (2H, s, CH_2), 5.12 (2H, s, CH_2), 2.37 (3H, s, CH_3).

[0477] 7-(4-((5-메톡시벤조푸란-2-일)메톡시)벤질옥시)-4-메틸-2H-크로멘-2-온(97) VG040-05



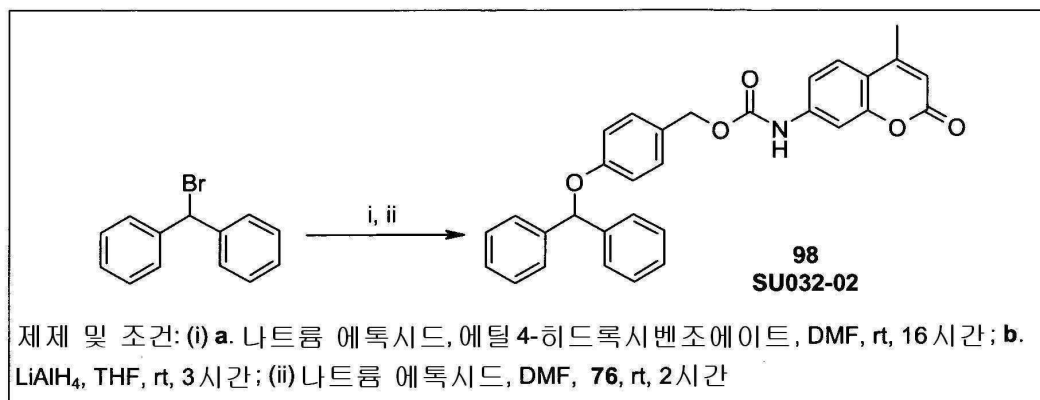
[0478]

[0479] 나트륨 에톡시드(62 mg, 0.90 mmol)를 DMF(3 ml)에 0°C에서 첨가하였다. 생성된 현탁액을 15 분 동안 교반하였다. 에틸 4-히드록시 벤조에이트(148 mg, 0.90 mmol)를 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반한 후, 실온이 되도록 하였다. 이 혼합물에 26(180 mg, 0.75 mmol)을 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하여 미정제 중간체(150 mg)를 얻었다.

다. 그후, 이를 THF(5 ml)에 용해시키고, LiAlH_4 (34 mg, 0.90 mmol)를 부분으로 나누어 격렬하게 교반하면서 첨가하였다. 현탁액을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. THF를 진공하에서 증발로 제거하였다. 미정제 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 물, 염수로 세정하고, 건조시켰다(MgSO_4). EtOAc를 진공하에서 증발로 제거하여 (4-((5-메톡시벤조푸란-2-일)메톡시)페닐)메탄올(120 mg)을 미정제 생성물로서 얻었다. 이를 톨루엔(4 ml)에 용해시켰다. 용액을 0°C로 냉각하였다. PBr_3 (84 μl , 1.04 mmol)를 5 분에 걸쳐 적가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공하에서 증발로 제거하여 2-((4-(브로모메틸)펜옥시)메틸)-5-메톡시벤조푸란을 무색 오일(90 mg)로서 얻었다. 중간체를 다음의 반응에 사용하였다.

[0480] 나트륨 에톡시드(22 mg, 0.31 mmol)를 DMF(2 ml)에 0°C에서 첨가하고, 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 7-히드록시-4-메틸쿠마린(54 mg, 0.31 mmol)을 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 0.5 시간 동안 교반하였다. 이 혼합물에 2-((4-(브로모메틸)펜옥시)메틸)-5-메톡시벤조푸란(90 mg, 0.23 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 16 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 헥산:EtOAc(1:1)로 용출시키는 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 94(22 mg, 7%)를 백색 고체로서 얻었다. $m/z = 443(\text{M}+\text{H})$

[0481] 4-(벤즈히드릴옥시)벤질 4-메틸-2-옥소-2H-크로멘-7-임카르바메이트(98) SU032-02



[0482]

[0483] 나트륨 에톡시드(300 mg, 4.05 mmol)를 DMF(10 ml)에 0°C에서 첨가하였다. 생성된 현탁액을 10 분 동안 교반하였다. 에틸 4-히드록시 벤조에이트(739 mg, 4.05 mmol)를 서서히 첨가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 20 분 동안 교반하였다. 이 혼합물에 브롬화디페닐메틸(1.0 g, 4.05 mmol)을 부분으로 나누어 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 16 시간 동안 교반하였다. DMF를 진공하에서 증발로 제거하고, 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 물 및 염수로 세정하였다. 유기 층을 건조시키고(MgSO_4), 용매를 진공하에서 증발로 제거하여 에틸 4-(벤즈히드릴옥시)벤조에이트(830 mg)를 얻었다. 그후, 이를 THF(5 ml)에 용해시키고, LiAlH_4 (114 mg, 3.0 mmol)를 부분으로 나누어 격렬하게 교반하면서 첨가하였다. 현탁액을 실온에서 3 시간 동안 교반하였다. THF를 진공하에서 증발로 제거하였다. 미정제 잔류물을 EtOAc중에서 취하고, 물, 염수로 세정하고, 건조시켰다(MgSO_4). EtOAc를 진공하에서 증발로 제거하여 (4-(벤즈히드릴옥시)페닐)메탄올(760 mg, 2.62 mmol)을 미정제 생성물로서 얻었다. 이를 추가로 정제하지 않고 그 다음 반응 단계에 사용하였다.

[0484] 톨루엔(10 ml)중의 (4-(벤즈히드릴옥시)페닐)메탄올(100 mg, 0.34 mmol) 및 76의 용액을 2 시간 동안 환류시켰다. 반응이 실온으로 냉각되도록 하고, 생성된 침전물을 여과하고, 저온의 에테르 및 EtOAc로 세정하여 98(100 mg, 60%)을 백색 고체로서 얻었다. $m/z = 491.55(\text{M}+\text{H})$

[0485] 생물학적 활성

[0486] 실시예 1: 전구약물의 CYP1B1 대사

[0487] CYP1 동종효소 및 사람 간 미세소체(HLM)에 의한 벤조푸란 에테르 및 카르바메이트 결합된 쿠마린의 단편화에 대한 치환기 효과

[0488] 시판중인 Supersomal™ CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1 및 푸울링 처리한 사람 간 미세소체(영국 옥스포드에 소재하는 BD 첼테스트 공급)는 간을 비롯한 정상 조직에서 발현된 시토크롬 P450 효소에 대하여 암에서 발현된 CYP1B1에 의한 전구약물 단편화의 효율 및 선택성을 조절하는 구조적 특징에 기초한 구조 활성 관계(SAR)를 확인하기 위

한 효소 스크린으로 이루어진다. HLM은 사람 환자 간으로부터 유래하며, 공급처에 의하면 CYP1A1 또는 CYP1B1 이 아니라 CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4 및 CYP4A를 비롯한 시토크롬 P450의 배터리(battery)를 포함한다.

[0489] 통상의 Supersomal™ CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1 효소 대사 연구는 pH 7.4 및 37°C에서 10 mmol dm⁻³ 인산칼륨 완충액중의 10 μmol 효소, 100 μmol dm⁻³ NADPH를 사용하였다. Supersomal™ 효소 대사는 최종 농도 10 μmol dm⁻³ 전구약물 및 0.5% DMSO를 생성하기 위하여 DMSO에 용해시킨 전구약물의 스톱 용액을 첨가하여 개시하였다. HLM 스크리닝은 pH 7.4 및 37°C에서 10 mmol dm⁻³ 인산칼륨 완충액중의 60 μl 미세소체, 100 μmol dm⁻³ NADPH를 1.5 ml의 총 반응 부피로 사용하였다.

[0490] 본 발명의 화합물은 에테르에 결합된 일련의 헤테로방향족 유발기 및, 7-히드록시-4-메틸쿠마린 및 7-아미노-4-메틸쿠마린 각각의 히드록실 기에 결합된 카르바메이트 링커를 포함한다. 본 발명의 추가의 예는 헤테로방향족 유발기가 이른바 연장된 옥시벤질 에테르 링커(-Ar-CH(Z⁷)X³-가 -페닐-CH₂O-)를 통하여 7-히드록시-4-메틸쿠마린의 히드록실 기에 커플링된 화합물을 포함한다. 본 발명의 추가의 예는 헤테로방향족 유발기가 이른바 연장된 옥시벤질 카르바메이트 링커를 통하여 7-아미노-4-메틸쿠마린의 아미노 기에 커플링된 화합물을 포함한다. 본 발명의 추가의 예는 헤테로방향족 유발기가 카르바메이트 벤질 에테르 링커를 통하여 7-히드록시-4-메틸쿠마린의 히드록실 기에 커플링된 화합물을 포함한다.

[0491] 7-히드록시-4-메틸쿠마린 및 7-아미노-4-메틸쿠마린 모두는 생리학적 pH 7.4에서 부분적으로는 탈양성자화되며, 쿠마린 음이온 모두는 450 및 445 nm 각각의 형광 방출 파장 최대값으로 형광성이 높다. 쿠마린이 본 발명에 기재된 링커를 통하여 헤테로방향족 유발기에 결합될 경우, 쿠마린 음이온의 형광은 약화된다. 그러므로, 헤테로방향족 유발기의 효소 히드록실화 및 생성된 링커 단편화는 역학 형광측정에 의한 쿠마린 음이온의 방출에 의하여 실시간으로 모니터링할 수 있다. 이러한 전구약물 설계 전략은 모노-옥시게나제 효소인 CYP1B1과 혼동되지 않는 P450 리덕타제에 의한 이른바 생체환원성 저산소성-활성화된 전구약물의 단편화를 모니터링하는데 성공적으로 사용되었다. 예를 들면 문헌[Everett SA et al., Modifying rates of reductive elimination of leaving groups from indolequinone prodrugs: a key factor in controlling hypoxia-selective drug release", *Biochem Pharmacol.*, 63: 1629-39, 2002]을 참조한다.

[0492] 링커 단편화를 나타내는 쿠마린 음이온의 방출은 5 nm에서 설정된 여기 및 방출 슬릿을 갖는 Cary Eclipse 역학 형광측정계로 1 cm 경로 길이 형광 세포를 사용하여 모니터링하였다. 본 발명의 화합물로부터 쿠마린 음이온 방출은 여기 파장 λ_{ex}=350 nm 및 방출 파장 λ_{em}=450 nm에서 검출되었다. 형광 강도에서의 변화는 효소 대사와 동일한 기기 설정치를 사용하여 pH 7.4에서 10 mmol dm⁻³ 인산칼륨 완충액에서의 쿠마린 농도(0 내지 3.5 μmol dm⁻³) 대 형광 강도의 선형 보정 플롯에 대하여 정량화하였다.

[0493] CYP1 동종효소 및 HLM-활성화된 단편화 및 벤조푸란 에테르로부터의 쿠마린 및 카르바메이트-결합된 쿠마린의 방출에 대한 특이적 단편화 활성(pmol 쿠마린 min⁻¹ pmol 시토크롬 P450⁻¹으로)을 하기 표 3에 기재하였다. 벤조푸란의 5- 및 7-위치중 하나 또는 모두에서 전자 공여 치환기(Me, MeO) 또는 전자 유인 치환기(Cl, Br, F)는 단편화 특이성 및 효율 모두에 대하여 상당한 효과를 갖는다. 벤조푸란상의 4- 및 6-위치는 비치환되는데(R⁴ 및 R⁶=H), 이는 아마도 제한된 기전에 의하여 에테르 또는 카르바메이트 링커 단편화를 유발하는데 필수적인 효소 히드록실화에 대한 위치이기 때문이다. 치환기를 지배하는 구조 활성 관계(SAR)는 벤조푸란 및 CYP1 동종효소-유발된 단편화 효능에 대하여 5- 및 7-위치에서 영향을 미치며, 선택적으로는 에테르 또는 카르바메이트 링커 단편화에 대하여 예측 가능하지 않다.

[0494] 에테르-결합된 쿠마린을 갖는 Z³=H, Z⁵=H인 SU10A(하기 표 3 참조)는 CYP1A1, CYP1A2 및 CYP1B1뿐 아니라 HLM에 의하여 단편화된다. HLM의 경우, 10 μmol dm⁻³ α-나프토폴라본(CYP1-선택적 효소 억제제)의 포함은 CYP1A2가 전적으로 HLM-매개된 쿠마린 방출에 관련이 있다는 것을 나타내는 SU10A 단편화를 억제한다. 그러므로, 벤조푸란은 CYP1 동종효소에 의한 에테르-결합된 전구약물의 단편화를 촉진할 수 있는 일반 유발기 부분이다.

[0495] Z³=F, Z⁵=F인 VG016-04(또한 하기 표 3 참조)에서 벤조푸란상에서의 전자 유인 치환기는 CYP1 동종효소 및 에테

르 링커의 HLM-유발된 단편화를 억제한다. 그러나, $Z^3=MeO$, $Z^5=MeO$ 인 VG035-05(또한 하기 표 3 참조)에서의 전자 공여 치환기는 링커 단편화가 CYP1A 또는 HLM에 대하여 관찰되지 않았으므로, 에테르 결합의 CYP1B1-특이성 단편화가 발생한다. CYP1B1를 사용한 VG035-05에 대한 특이성 단편화 활성은 13.65 ± 1.00 pmol 쿠마린 min^{-1} pmol 시토크롬 P450⁻¹이며, 이는 조사한 각종 벤조푸란 에테르-결합된 쿠마린의 효능중 가장 높다(하기 표 3 참조). 그러므로, 5,7-디메톡시벤조푸란 부분은 암에서 관찰되는 효소인 CYP1B1에 의한 에테르-결합된 전구약물의 단편화를 특이적으로 유발하는데 사용될 수 있다.

[0496] VG035-04(에테르-결합된 쿠마린을 포함함)와는 반대로, $Z^3=MeO$, $Z^5=MeO$ 인 VG041-05(해당 카르바메이트-결합된 쿠마린을 포함함)는 (CYP1A2 또는 CYP1B1이 아닌) CYP1A1에 의하여 특이성 단편화 활성= 5.51 ± 0.06 pmol 쿠마린 min^{-1} pmol 시토크롬 P450⁻¹으로 선택적으로 단편화된다. 하기 표 3에 의하면, 카르바메이트 링커를 포함하는 화학식 B의 모든 화합물의 예는 CYP1B1이 아니라 CYP1A1에 의하여 단편화된다. 유일한 예외는 CYP1B1 특이성 단편화 활성= 1.53 ± 0.09 pmol 쿠마린 min^{-1} pmol 시토크롬 P450⁻¹을 생성하는 $X^3=MeO$, $Z^5=MeO$ 인 VG032-05이며, 이는 에테르 링커를 포함하는 VG027-05보다 약 6배 더 낮다.

[0497] 실시예 2

[0498] 모델 전구약물 라이브러리와 CYP1B1 기질 예측 모델의 조합은 전구약물 활성화 및 단편화에 대한 기질 특이성을 연결한다

[0499] CYP1B1에 대한 생체활성 데이터셋을 구축하기 위한 고속 다중 스크린(HTS)의 실시

[0500] 표적 효소 CYP1B1은 기질 특이성 모델을 구축하기 위한 커다란 생체활성 데이터셋 및 활성 분화 하부구조의 확인을 위한 ChemDiv Diversity 50,000 테스트 화합물 수집 및 ChemDiv 키나제 표적화된 10,000 테스트 화합물 수집을 비롯한 2개의 통상의 라이브러리에 대하여 스크리닝하였다. HTS는 액체 취급기(Beckman FXp), 벌크 지급기(Matrix Wellmate) 및 발광성 평판 판독기[몰레큘라 디바이스 애널리스트(Molecular Devices Analyst) AD 평판 판독기]를 사용하여 소형 384-웰 포맷으로 실시하였다. P450-GloTM 분석은 시토크롬 P450 활성을 측정하기 위한 발광 방법을 제공한다. 통상의 반응은 사람 Supersomal CYP1B1 + 리덕타제(BD GentestTM, UK) 제조합 효소를, CYP1B1에 대하여서는 기질이지만, 루시페라제에 대하여서는 아닌 발광원 시토크롬 P450 기질, 이른바 루시페린 6' 클로로에틸 에테르(루시페린-CEE)와 함께 배양하여 실시하였다. 루시페린-CEE는 루시페린 검출제(CYP1B1 발광 분석 키트, P450-GloTM, 미국 매디슨에 소재하는 프로메가)와의 제2의 반응에서 검출되는 루시페린 생성물로 전환된다. 제제는 시토크롬 P450 반응을 동시에 중지시키며, 반감기 >2 시간으로 안정한 발광 시그널을 개시한다. 제2의 반응에서 생성된 광의 양은 CYP1B1의 활성화에 비례한다. 생화학 종말점은 루시페린-CEE에 대한 겉보기 $K_m(20 \mu mol dm^{-3})$ 에서 작용하는 효소($0.5 pmol/Well$)의 기질 억제이다. 분석은 384-웰 포맷으로 실시할 경우 통상적으로 0.6보다 큰 우수한 Z' -인자(여기서 $Z'=1.0$ 은 완벽하게 강력한 매우 높은 재현 가능한 분석을 나타냄)를 특징으로 한다. 음의 대조군은 효소 표적의 비변형 상태를 정의하는 활성의 레벨인 반면, 양성 대조군은 적중을 정의하는 활성의 레벨이다. 음의 대조군은 테스트 화합물의 가용화에 사용되는 1% DMSO의 등가의 농도 및 CYP1B1/KPO₄/NADPH/기질 반응 혼합물을 포함한다. 분석에서 양의 대조군은 $5 \mu mol dm^{-3}$ 의 최종 농도에서 CYP1B1 효소 활성을 완전하게 억제하는 α -나프토폴라본과의 CYP1B1/KPO₄/NADPH 기질 반응 혼합물을 포함한다. 양의 대조군 및 음의 대조군은 잔존하는 320 웰에 부착된 테스트 화합물을 사용한 모든 384-웰 평판의 외부 컬럼에 부착된다. 적중의 정의는 $0.5 \mu mol dm^{-3}$ 의 농도에서 80-100%에 의한 기질 억제제 CYP1B1 활성인 테스트 화합물이다.

[0501] 파이프라인 파일럿(Pipeline Pilot)(미국 샌디에고에 소재하는 사이테직)을 사용하여 UCSF SMDC에서 컴퓨터 과학자가 지원하는 CYP1B1 HTS로부터의 SAR을 확인하기 위한 대량의 데이터를 간소화 및 통합시켰다. 소프트웨어는 (1) 적중 대 비-적중의 예비 SAR 결과, (2) 적중 모집단의 물리화학적 성질, 예를 들어 분자량, 계산된 log P, H-원자 공여체/수용체 상호작용, (3) 고리 단편 및 작용기의 주파수 측정 및 (4) 미래 전구약물 설계에 대한 토대로서 CYP1B1 기질 억제의 예측을 위한 인 실리코 모델의 정의를 확인하는데 사용된다. 중요하게는, 상당수의 적중 약 10%는 분자량이 400 내지 500이고, 이는 화합물 수집 모두에 이용 가능한 테스트 화합물의 최대 분자량이다. 이러한 정보는 CYP1B1 기질 특이성을 유지하면서 허용 가능한 전구약물의 최대 분자량을 정의한다. CHEMAPPSTM(미국 캘리포니아주 라 줄라)로부터의 SARvision v2에서의 적중 스카폴드의 구조 분석에 의하여 테스트

트 화합물이 반응식 1에 보고된 커플링 화학으로의 직접 통합을 위한 정확한 작용기(예를 들어 유발기 히드록시 메틸 치환기)를 지지하지 않는다는 것을 확인하였다. 그러나, 적중 대 비-적중에서의 높은 주파수를 갖는 고리 단편을 확인함으로써 커플링 반응에 대하여 적절히 작용화될 수 있는 유발기 부분에 대한 템플레이트를 확인할 수 있다.

[0502] 전구약물 설계의 지원에서 시토크롬 P450 기질 억제제를 예측하기 위한 인 실리코 모델

[0503] 전구약물 설계에서의 주요한 과제는 표적 효소에 대한 기질 특이성을 유지하면서 유발기, 링커 및 효과기 화학을 통합시키는 전략을 정의하는 것이다. CYP1B1 HTS는 잠재적인 유발기 부분을 확인하는데 있어서 매우 중요하나, 적중은 링커 및 효과기 약물을 구체화하는 차후의 선도물질 도출('hit to lead')은 최종 전구약물 구조가 표적 효소 활성화에 대하여 최적이지 아니라는 것을 의미한다.

[0504] 2개의 HTS 스크린(총 60,000개의 테스트 화합물)으로부터 구조적 데이터의 방대한 양의 최적의 사용은 연장된 연결성 지문에 대한 타니모토 유사성 조사에 기초한 가우스 커널 가중치 k-최근린 보간법(k-NN) 알고리즘을 사용한 시토크롬 P450 1B1 기질 억제제의 인 실리코 예측 모델을 개발하여 달성된다. CYP1B1 커널 가중치 k-NN 모델의 최적의 변수는 ChemDiv Diverse 및 키나제 라이브러리로부터 45,000개 및 9,000개의 테스트 화합물로부터 선택된 트레이닝 세트에 대한 리브-원-아웃(leave-one-out) 교차 검증을 사용하여 선택하였다. 나머지 테스트 화합물 총 6,000개는 기질 억제제를 예측하기 위하여 모델의 정확도를 확인하기 위한 내부 테스트 설정으로 사용하였다. >20이지만, <80%인 억제제를 나타내는 임의의 테스트 화합물은 비-분류로 표시하였다. 모델은 89%의 분류된 비-기질 억제제 및 95%의 분류된 기질 억제제를 정확하게 예측하였다. CYP1B1 기질 예측 모델 프로토콜은 표준 화학 드로잉 패키지, 예컨대 ChemDraw/IsisDraw에 대한 인터페이스를 통한 추정 전구약물의 도킹을 촉진하기 위하여 사이테직 웹 포트(Scitegic Web Port)에 업로드하였다.

[0505] 외부 테스트 화합물 세트를 사용한 CYP1B1 기질 예측 모델의 확인

[0506] CYP1B1 기질 예측 모델에 대한 외부 테스트 설정으로 이루어진 384-웰 스톡 평판을 구성하며, 이는 (1) 예를 들면 테트라메톡시스틸벤, β -에스트라디올, α -나프토폴라본, 에톡시레소루핀, 레스베라트롤을 비롯한 공지의 CYP1B1 기질 억제제, (2) 예를 들면 퀸딘(CYP2D6의 유효한 특이성 억제제), 설파페나졸(CYP2C9의 유효한 특이성 억제제)을 비롯한 CYP1B1 기질 억제제가 아닌 화합물 및 (3) 모델 전구약물 VG016-05 및 VG035-05 및 (4) 포스포아미테이트 머스타드 전구약물 SU025-04 및 SU046-04를 포함한다. 외부 테스트 설정 스톡 농도는 DMSO 중에서 10 mmol dm^{-3} 이고, 0.5 mmol dm^{-3} 의 최종 농도에서 CYP1B1 기질 억제율은 주요한 CYP1B1 HTS에 대하여 기재된 것과 동일한 방법을 사용하여 측정하였다. 실험을 3회 실시하여 CYP1B1 활성의 평균 기질 억제율(%) $\pm$ 표준 편차를 얻었다. 모든 외부 테스트 설정 구조는 기질 억제율(%)의 실제의 생화학적 측정과 비교하기 위하여 CYP1B1의 기질 억제율(%)의 예측값을 생성하는 사이테직 웹 포트를 통하여 CYP1B1 기질 예측 모델에 대한 질문으로서 처리하였다.

[0507] CYP1B1에 대한 기질 억제율(%)의 비교 실측값 및 예측값은 하기와 같다:

CYP1B1 기질 억제율(%)			
화합물	실측값	예측값	정확도
테트라메톡시스틸벤	95.76 $\pm$ 0.33	97.34	98%
β -에스트라디올	72.34 $\pm$ 0.45	76.12	95%
α -나프토폴라본	99.12 $\pm$ 0.23	92.45	93%
에톡시레소루핀	92.13 $\pm$ 0.56	87.23	95%
레스베라트롤	72.34 $\pm$ 0.56	76.45	95%
설파페나졸	2.89 $\pm$ 0.15	4.25	68%
퀸딘	1.63 $\pm$ 0.34	2.56	64%
VG016-05	2.45 $\pm$ 0.32	2.98	82%
VG035-05	97.34 $\pm$ 0.32	93.56	96%
SU025-04	91.22 $\pm$ 0.48	87.36	96%
SU046-04	96.45 $\pm$ 0.22	92.34	96%

[0508]

[0509] CYP1B1 기질 예측 모델은 화합물의 외부 테스트 세트를 사용하여 모델의 검증을 확인하는, 다양한 활성을 갖는 화합물의 복수의 유형에 대한 CYP1B1의 기질 억제율(%)을 예측하는데 있어서 정확하다. 중요하게는, 본 발명의 단계에서, 모델은 전구약물 단편화 및 7-히드록시-4-메틸 쿠마린 음이온 방출의 효능에 대하여 직접적으로 연결

될 수 있는 CYP1B1 기질 억제에 관하여 2가지 모델 전구약물 VG016-05 및 VG035-05의 활성을 정확하게 예측할 수 있었다. 하기 표 3에 의하면, 벤조푸란 유발기의 R⁵ 및 R⁷에서의 전자 공여 또는 전자 유인 치환기는 방향족 히드록실화 및 단편화에 대하여 모델 전구약물을 활성화시킨다. R⁵ 및 R⁷이 F, 즉 VG016-05에서와 같이 전자 유인 치환기인 경우, 모델 전구약물은 정확하게 예측된 바와 같이 CYP1B1을 활성화시키지 못하며, 그 결과 링커의 단편화는 존재하지 않는다. R⁵ 및 R⁷이 MeO, 즉 VG035-05에서와 같은 전자 공여 치환기인 경우와는 반대로, 모델 전구약물은 효능이 높은 링커의 단편화를 초래하는 것으로 정확하게 예측된 바와 같이 CYP1B1에 의하여 활성화된다. 디메톡시벤조푸란 유발기 부분을 포스포아미데이트 머스타드 전구약물 SU025-04 및 SU046-04에 투입하는 것은 CYP1B1의 우수한 기질 억제제인 것으로 정확하게 예측되는 화합물을 생성한다. 결론적으로, CYP1B1 생체활성의 데이터베이스에 기초하여 모델 전구약물 라이브러리 및 CYP1B1 기질 예측 모델의 조합은 특이성 CYP1B1-활성화된 전구약물의 설계를 촉진한다.

[0510] 실시예 3

[0511] CYP1A1 및 CYP1B1 동중효소를 발현시키기 위하여 조작된 CHO 세포 및 야생형 CHO 세포에서의 전구약물 세포독성

[0512] 조작된 CHO 세포는 CYP1 발현에 의하여 매개된 선택적 세포 사멸을 예시하는데 사용된다. 하기 설명한 실험에서, CYP1A1(CHO/CYP1A1) 또는 CYP1B1(CHO/CYP1B1) 효소를 발현시키기 위하여 조작된 야생형 CHO 세포에 화합물 을 노출시켰다.

[0513] CHO 세포: 문헌[Ding S, et al., *Arch. Biochem. Biophys.*, 348: 403-410, 1997, 그 개시 내용은 본 명세서에 참고로 포함됨]의 방법에 의하여 10% FCS, 1 단위/ml 각각의 하이포크산틴 및 티미딘 및 페니실린(100 IU/ml) 및 스트렙토마이신(100 µg/ml)이 보충된 α-MEM에서의 표준 세포 배양 조건하에 차이니스 햄스터 난소(CHO) DUKXB11 세포를 성장시켰다. 세포를 37°C에서 습윤화된 대기 및 5% CO₂ 중에서 성장시켰다.

[0514] CHO/CYP1A1 및 CHO/CYP1B1 세포: 상기 문헌(상동)에 기재된 방법에 의하여 0.4 mg/ml G418 디설페이트 염 및 0.3 µM 메토티렉세이트(영국 도셋 길링엄에 소재하는 시그마/알드리치 컴파니)가 보충된 CHO 세포에 대한 표준 배양 배지를 사용하여 제조함 CYP1A1 및 제조함 CYP1B1 동시발현 P450 리덕타제, 이른바 (CHO/CYP1A1) 및 (CHO/CYP1B1) 각각을 포함하는 CHO 세포를 배양하였다. 세포를 37°C에서 습윤화된 대기 및 5% CO₂ 중에서 성장 시켰다.

[0515] 제조함 CYP1A1 및 CYP1B1 발현

[0516] 사람 cDNA CYP1A1 또는 CHO 세포에서의 cDNA CYP1B1의 디히드로폴산 리덕타제(DHFR) 유전자 증폭은 사람 P450 리덕타제[상동; Ding S, et al., *Biochem J.*, 356 (Pt 2): 613-9, 2001]를 사용하여 동시발현시킬 경우 높은 레벨의 작용성 효소를 달성하는데 사용된다. 개질된 CYP1A1 또는 CYP1B1 cDNA를 소화시키고, 포유동물 발현 벡터 pDHFR에 결합시켜 플라스미드 pDHFR/1A1 및 pDHFR/1B1 각각(상동)을 생성한다. CHO DUKXB11로의 세포 배양 및 DNA 형질전환은 문헌에 기재된 방법에 의하여 실시하며, 뉴클레오시드 결핍 배지(상동)에서의 성장에 의한 DHFR+ 표현형에 대하여 선택한 세포를 형질전환시켰다. DHFR+ 클론을 푸올링시키고, 형질전환된 CYP1A1 또는 CYP1B1 cDNA의 증폭에 대하여 MTX의 농도를 증가시켜(0.02 내지 0.1 µM) 성장시켰다. 0.1 mM MTX 선택에서 살아남은 세포 클론을 분리한 후, 추가로 0.3 µM MTX를 사용하여 선택하였다. 생성된 세포주를 면역블로팅에 의하여 CYP1A1 또는 CYP1B1 발현에 대하여 분석하였다. 전장 사람 시토크롬 P450 리덕타제(CPR) cDNA를 포함하는 플라스미드 pcDNA/HR로 높은 레벨의 각각의 효소를 발현시키는 세포주를 안정하게 형질전환시키고, 문헌(상동)에 기재된 방법에 의하여 G418(0.8 mg/ml) 및 MTX(0.3 µM)를 사용하여 선택하였다. 내성 클론을 분리한 후, G418의 농도를 0.4 mg/ml로 감소시키고, 세포주의 균질성을 반복된 클로닝으로 확인하였다. CPR cDNA로 차 후에 형질전환된 cDNA CYP1A1를 지니는 플라스미드로 형질전환된 CHO 세포주는 CHO/CYP1A1로 표시하며, CPR cDNA로 차 후에 형질전환된 cDNA CYP1B1을 지니는 플라스미드로 형질전환된 CHO 세포주는 CHO/CYP1B1로 표시한다.

[0517] CYP1A1 및 CYP1B1의 면역화학 검출

[0518] 세포를 수거하고, 문헌[Ding S, et al., 1997, 그 개시 내용은 본 명세서에 참고로 포함됨]에서의 표준 방법을 사용하여 초음파로 용해시켰다. 단백질(통상적으로 50 µg의 용해물)을 SDS/PAGE에 의하여 분리하고, 니트로셀룰로스 막에 옮기고, 표준 방법[Paine MJ, et al., *Arch. Biochem. Biophys.*, 328: 380-388, 1996, 그 개시 내용은 본 명세서에 참고로 포함됨]을 사용하여 프로브 처리하였다. 사람 CYP1A1 + 리덕타제 Supersomes™, 사람

CYP1A2 + 리덕타제 Supersomes™ 및 CYP1B1 + 리덕타제 Supersomes™(BD 바이오사이언시즈, 영국 옥스포드 소재)을 세포주에서 효소 발현의 면역화학적 검출에 대한 양성 대조군(통상적으로 0.03 내지 0.3 pmol)으로서 사용하였다. WB-1B1 원발성 항체(희석 1:1,500, BD 바이오사이언시즈, 영국 옥스포드 소재) 및 CYP1A1(희석 1:2,000, 캔서 리서치 테크놀로지, 영국 런던 소재)로 교차 반응하는 항-CYP1A2 항체를 사용하여 CYP1B1 및 CYP1A1 발현을 각각 검출하였다. 2차 항체는 1:500 희석으로 사용되는 염소 항-토끼 IgG이다. 개선된 화학발광(ECL) 웨스턴-블롯 검출 키트(GE 헬스케어 라이프 사이언시즈, 영국 버킹엄셔에 소재하는 애머삼)를 사용하여 면역블롯을 생성하였다.

[0519] 조작된 CHO 세포에서의 CYP1A1 및 CYP1B1 발현의 웨스턴-블롯 특성화

[0520] 첨부한 도면의 도 1a는 비형질전환된 CHO DUKXB11 세포 또는 CHO/CYP1A1 세포주 어느 것에서도 검출되지 않는 CHO/CYP1B1 세포주로부터의 용해물중에서 CYP1B1 단백질 발현의 검출을 나타내는 통상의 웨스턴-블롯이다. 밴드는 56 kDa의 분자량에 해당하며, 이는 사람 CYP1B1 Supersomal™ 효소에 대한 밴드에 부합된다. 도 1b는 비형질전환된 CHO DUKXB11 세포 또는 CHO/CYP1B1 세포주 어느 것에서도 검출되지 않는 CHO/CYP1A1 세포주로부터의 용해물에서의 CYP1A1 단백질 발현의 검출을 나타내는 통상의 웨스턴-블롯이다. 밴드는 60 kDa의 분자량에 해당하며, 이는 항-CYP1A2 항체의 교차 반응성에 의하여 검출되는 사람 CYP1A1 Supersomal™ 효소에 대한 밴드에 부합된다.

[0521] 작용성 CYP1 효소 활성

[0522] 에톡시레스루핀 O-탈에틸화(EROD) 분석은 작용성 CYP1 활성을 확인하는데 널리 사용된다. 문헌[Chang TK and Waxman DJ, "Enzymatic Analysis of cDNA-Expressed Human CYP1A1, CYP1A2 and CYP1B1 with 7-Ethoxyresorufin as Substrate", *Methods Mol. Biol.*, 320: 85-90, 2006, 그 개시 내용은 본 명세서에 참고로 포함됨]. 분석은 580 nm에서의 형광 방출에 의하여 연속적으로 모니터링되는 효소 생성물 레소루핀을 생성하기 위한 CYP1A1, CYP1A2 및 CYP1B1에 의한 7-에톡시레스루핀의 O-탈알킬화를 측정한다. 효소 활성을 측정하기 위한 대안의 분석은 CYP1 효소에 대한 발광원 기질로서 루시페린-CEE를 사용하는 시판중인 Promega P450-Glo™ 분석이다. 문헌[Calì JJ, et al., *Expert. Opin. Drug Metabolism Toxicol.*, 2(4): 629-45, 2006, 그 개시 내용은 본 명세서에 참고로 포함됨]. 선택적 및 비-선택적 CYP1 억제제를 사용한 EROD 분석 및 Promega P450-Glo™ 분석은 상기 언급한 CHO 세포주가 예상되는 CYP1 효소를 작용성 형태로 발현시킨다는 것을 확인하는데 사용된다.

[0523] 억제제의 부재하에서, CHO/CYP1A1 및 CHO/CYP1B1(그러나, 야생형 CHO 세포 아님)은 7-에톡시레스루핀을 레소루핀으로 또는 루시페린-CEE를 루시페린으로 전환시켜 이들 세포에서 작용성 CYP1 발현을 확인하였다(하기 표 1 참조).

[0524] 예상한 바와 같이, 광범위 CYP1 억제제, α -나프토폴라본의 첨가가 CYP1 발현 세포주 모두에서의 활성을 폐지시킨다(하기 표 1 참조). 선택적 억제제, 테트라메톡시스틸벤은 CYP1A1에 비하여 CYP1B1에 대하여 선택성이 30배이다. 문헌[Chun YJ, Kim S, Kim D, Lee SK and Guengerich FP, "A New Selective and Potent Inhibitors of Human Cytochrome P450 1B1 and its Application to Antimutagenesis", *Cancer Res* 61(22): 8164-70, 2001]. 테트라메톡시스틸벤은 CYP1 발현 세포주 모두에서 고 농도로 활성을 폐지시키며, 저 농도에서는 CYP1B1 발현 세포에서의 활성을 (CYP1A1 발현 세포에 비하여) 선택적으로 감소시킨다(하기 표 1 참조).

[0525] 이러한 결과는 CYP1A1 및 CYP1B1 발현 레벨이 예상되는 바와 같다는 것을 독립적으로 확인시킨다.

[0526] CHO, CHO/CYP1A1 및 CHO/CYP1B1 세포주에서의 세포독성 IC₅₀ 값의 측정

[0527] 100 μ l의 필수 세포 배양 배지중에서의 CHO, CHO/CYP1A1 또는 CHO/CYP1B1의 단일 세포 현탁액을 96-웰 평판에 웰당 1,500개 세포의 세포 밀도로 파종하고, 배양기내에서 24 시간 동안 37°C에서 넣었다. 그후, DMSO중의 테스트 화합물의 스톱 용액을 100, 30, 10, 3, 1, 0.3, 0.1, 0.03, 0.01, 0.003, 0.001, 0 μ M의 농도 범위를 제공하도록 첨가하였다. DMSO 0.2%의 최종 농도는 다양한 CHO 세포주의 성장 특징에 영향을 미치지 않는 것으로 밝혀졌다. 모든 배지를 흡인시키고 그리고 100 μ l의 새로운 배지로 교체하여 증발로 인한 배지의 손실을 보충한 후 세포를 테스트 화합물과 함께 72 또는 96 시간 동안 배양하였다. 세포를 20 μ l의 MTS 분석 제제와 함께 1.5 시간 동안 배양하고, 510 nm에서 웰당 흡광도를 평판 판독기를 사용하여 측정하였다. 각각의 테스트 화합물 농도에 대한 평균 흡광도 및 표준 편차를 (a) 세포 + 배지, (b) 세포 + DMSO 0.2%를 포함하는 배지, (c) 배지 단독 및 (d) DMSO 0.2% 및 0 내지 100 μ mol dm⁻³의 테스트 화합물 농도 범위를 포함하는 배지를 비롯한 일

련의 대조군에 대하여 계산하였다. 세포독성 IC_{50} 값은 세포 성장율(100% 세포 성장은 무처리 대조군 세포에 해당함) 대 테스트 화합물 농도의 플롯으로부터 계산하였다.

[0528] 세포독성 IC_{50} 값은 본 명세서에서 세포의 50%를 사멸시키는 화합물의 농도로서 정의되며, 폴드 선택성은 비-CYP1 발현 세포에서의 IC_{50} 을 CYP1A1 또는 CYP1B1 발현 세포에서의 IC_{50} 으로 나누어서 계산한다. 분별 세포독성 IC_{50} 비는 정상의 CHO 세포에서의 화합물 IC_{50} 을 CYP1A1 또는 CYP1B1 형질전환된 CHO 세포에서의 IC_{50} 으로 나누어 계산하였다.

[0529] Promega™ CellTiter 96® 수성 비-방사성 세포 증식(MTS) 분석

[0530] 통상적으로 입수 가능한 MTS 분석은 증식, 세포독성 또는 화학민감성 분석으로 생육성 세포의 수를 측정하는 균질한 비색 방법이다. 분석은 테트라졸륨 화합물 [3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-5-(3-카르복시메톡시페닐)-2-(4-설포페닐)-2H-테트라졸륨, 내부 염; MTS] 및 전자 커플링 제제(페나진 메토설페이트) PMS의 용액으로 이루어진다. MTS는 세포에 의하여 조직 배양 배지중에서 가용성인 포르마잔 생성물로 생체환원된다. 510 nm에서의 포르마잔 생성물의 흡광도는 96-웰 분석 평판으로부터 직접 측정할 수 있다. 490 또는 510 nm에서의 흡광도의 양에 의하여 측정된 바와 같은 포르마잔 생성물의 양은 배양액중에 살아있는 세포의 수에 직접 비례한다.

[0531] 본 발명의 2개의 화합물(SU025-04 및 SU046-04)은 CYP1B1에 의하여 활성화될 경우, 포스포르아미데이트 머스타드 N,N-비스(2-클로로-에틸)포스포르아미드(CI-IPM) 및 N,N-비스(2-브로모-에틸)포스포르아미드(Br-IPM) 각각을 방출하도록 설계된다. 2가지의 포스포르아미데이트 머스타드 CI-IPM 및 Br-IPM의 높은 독성은 전구약물 SU025-04 및 SU046-04 각각에 투입시 상당히 감소된다. SU025-04 및 SU046-04 모두는 야생형 CHO 세포에서 72 시간 노출후 세포독성 IC_{50} 값이 $0.007 \mu\text{mol dm}^{-3}$ 미만인 CI-IPM 및 Br-IPM에 비하여 72 또는 96 시간 노출에서 야생형 CHO 세포에서의 세포독성 IC_{50} 값이 $10 \mu\text{mol dm}^{-3}$ 이상이다(하기 표 2 참조). 2가지 전구약물의 활성화 기전은 CHO-야생형(CYP1 효소 발현이 결핍됨), CHO/1A1 및 CHO/CYP1B1 세포에서의 비교 세포독성 IC_{50} 값으로부터 유추할 수 있다. 예를 들면, SU025 및 SU046은 야생형 CHO 세포에서는 독성이 낮지만, 72 시간 노출에서 각각 1,689 및 5,075의 분별 세포독성 IC_{50} 비를 산출하는 CHO/1B1 세포에 대한 독성은 높다. 96 시간의 더 긴 노출 시간에서는 CYP1B1-선택적 전구약물 SU025-04 및 SU046-04는 비-CYP1B1 발현 세포에 비하여 CYP1B1 발현 세포에 대한 독성이 3,367 및 5,400배 더 크다(하기 표 2 참조). 그러므로, 화합물 SU025-04 및 SU046-04는 명백하게 CYP1B1-활성화된 전구약물이 된다. SU025-04 및 SU046-04는 유사하게 72 시간 노출에서 분별 세포독성 IC_{50} 비가 <1인 야생형 CHO 및 CHO/CYP1A1 세포에 대하여 세포독성이 낮은 것으로 나타났는데, 이는 독성이 큰 포스포르아미데이트 머스타드가 CYP1A1 활성화에 의하여 방출되지 않는다는 것을 나타낸다(하기 표 2 참조). 문헌으로부터 예상되는 바와 같이, CYP1 효소가 아니라 CYP2B6 및 CYP3A4에 의하여 활성화될 때 알킬화 이소포스포아미데이트 머스타드를 또한 생성하는 2종의 임상적으로 사용되는 전구약물 이포스파미드 및 시클로포스파미드(예를 들면 문헌[McFadyen MC, Melvin WT and Murray GI, "Cytochrome P450 Enzymes: Novel Options for Cancer Therapeutics", *Mol Cancer Ther.*, 3(3): 363-71, 2004])는 이와 같은 세포독성 분석에 사용되는 $100 \mu\text{mol dm}^{-3}$ 의 최고 농도 및 최장 96 시간의 노출 시간에서 모두 비독성이다(또한, 하기 표 2 참조).

[0532] 실시예 4

[0533] 원발성 사람 종양 세포주에서의 전구약물 세포독성

[0534] CYP1B1을 구성 발현시키는 원발성 사람 두경부 편평 세포 암종 종양 세포주(UT-SCC-14)에서의 전구약물 세포독성

[0535] 문헌[Greer, et al., *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 45: 3701, 2004]에는 CYP1B1이 정상의 상피에서가 아니라 두경부 편평 세포 암종(HNSCC)의 악성 진행중에 과발현되는 것으로 보고되었다. HNSCC를 갖는 암 환자로부터 원발성 UT-SCC-14 종양 세포주를 분리하였다(예를 들어 문헌[Yaromina et. al., *Radiother Oncol.*, 83: 304-10, 2007] 및 [Hessel et al., *Int J Radiat Biol.*, 80: 719-27, 2004] 참조). 환자는 25세의 남성으로 하기의 임상병리학적 변수를 특징으로 하는 HNSCC를 갖는다: 위치, scc 혀; T₃ N₁, M₀; 부위, 혀; 병변, 원발성; 등급 G2. UT-SCC-14 세포주는 mRNA 및 단백질 레벨에서 CYP1B1을 구성 발현시키며, CYP1B1의 과발현을 특징으로 하는 사람 암으로부터 유래하는 암 세포에서의 화합물 세포독성을 입증하는데 사용된다. 문헌[Greer, et al.,

in *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 45: 3701, 2004].

- [0536] UT-SCC-14 종양 세포: 문헌[Hessel et al., *Int J Radiat Biol.*, 80: 719-27, 2004, 그 개시 내용은 본 명세서에 참고로 포함됨]의 방법에 의하여 페니실린 100 IU/ml/스트렙토마이신($100 \mu\text{g/ml}$, 5 ml)과 함께 소 태아 혈청(50 ml), 비-필수 아미노산($100\times$, 5 ml), 피루브산나트륨(100 mmol dm^{-3} , 5 ml), L-글루타민(200 mmol dm^{-3} , 5 ml)이 보충된 EMEM(500 ml)중의 표준 세포 배양 조건하에서 HNSCC 세포주를 성장시켰다.
- [0537] 원발성 두경부 종양 세포주에서 전구약물 세포독성 IC_{50} 값의 측정
- [0538] 96-웰 평판상에서 웰당 2,000개의 세포로 UT-SCC-14 종양 세포 현탁액 및 필요할 경우 $100 \mu\text{l}$ 의 웰당 총 부피를 산출하도록 새로운 배지를 첨가한다. 4 시간 동안 배양기내에서 세포가 부착되도록 하였다. 4 시간 후, 96-웰 평판의 바닥에 세포가 부착되었는지를 현미경으로 확인한 후, 배지를 꺼내고, 에탄올중의 테스트 화합물의 스톱 용액을 포함하는 새로운 배지로 교체하여 웰당 $100 \mu\text{l}$ 의 최종 부피에서 0, 0.001, 0.003, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, $100 \mu\text{mol dm}^{-3}$ 의 최종 농도를 산출하였다. 에탄올 0.2%의 최종 농도는 UT-SCC-14 세포주의 성장 특징에 영향을 미치지 않는 것으로 밝혀졌다. 모든 배지를 흡인시키고 그리고 $100 \mu\text{l}$ 의 새로운 배지로 교체하여 증발로 인한 배지의 손실을 보충한 후 UT-SCC-14 세포를 테스트 화합물과 함께 72 시간 동안 배양하였다. 세포를 $20 \mu\text{l}$ 의 MTS 분석 제제와 함께 1.5 시간 동안 배양하고, 510 nm에서의 웰당 흡광도를 평판 판독기를 사용하여 측정하였다. 각각의 테스트 화합물 농도에 대한 평균 흡광도 및 표준 편차는 (a) 세포 + 배지, (b) 세포 + 에탄올 0.2%를 포함하는 배지, (c) 배지 단독 및 (d) 에탄올 0.2% 및 0 내지 $100 \mu\text{mol dm}^{-3}$ 의 다양한 테스트 화합물 농도를 포함하는 배지를 포함하는 일련의 대조군에 대하여 계산하였다. 세포독성 IC_{50} 값은 테스트 화합물 농도에 대하여 세포 성장율(100% 세포 성장이 미처치 대조군 세포에 해당함)의 플롯으로부터 계산하였다.
- [0539] 세포독성 IC_{50} 값은 본 명세서에서 UT-SCC-14 종양 세포의 50%를 사멸시키는 화합물의 농도로서 정의된다. 통상적으로 입수 가능한 MTS 분석은 증식, 세포독성 또는 화학민감성 분석에서의 생육성 세포의 수를 측정하기 위한 균질한 비색 방법이며, 상기 실시예 3에서 기재한 바와 같이 사용하였다.
- [0540] 2가지의 본 발명의 화합물(SU025-04 및 SU046-04)은 CYP1B1에 의하여 활성화될 때 포스포르아미데이트 머스타드 N,N-비스(2-클로로-에틸)포스포르아미드 머스타드(CI-IPM) 및 N,N-비스(2-브로모-에틸)포스포르아미드 머스타드(Br-IPM)를 각각 방출하도록 설계된다. 72 시간 노출후 UT-SCC-14 종양 세포에서의 SU025-04 및 SU046-04에 대한 세포독성 IC_{50} 값은 각각 $0.05 \pm 0.01 \mu\text{mol dm}^{-3}$ 및 $0.02 \pm 0.01 \mu\text{mol dm}^{-3}$ 이다. 데이타에 의하면, CYP1B1을 과발현시키는 HNSCC를 갖는 암 환자로부터의 UT-SCC14 세포주에서 SU025-04 및 SU046-04의 유효한 세포독성을 나타낸다.
- [0541] SU025-04 및 SU046-04는 UT-SCC-14와 동일한 조건하에서 배양된 UT-SCC-8, UT-SCC-9 및 UTSCC-10을 포함하는 3가지의 추가의 원발성 두경부 세포주를 평가하였다. SU025-04의 경우 세포독성 $\text{IC}_{50}(\mu\text{mol dm}^{-3})$ 은 72 시간 노출후 UT-SCC-8(0.31 ± 0.06), UT-SCC-9(0.43 ± 0.07), UT-SCC-10(0.22 ± 0.03)이었다. SU025-04의 경우 세포독성 $\text{IC}_{50}(\mu\text{mol dm}^{-3})$ 은 72 시간 노출후 UT-SCC-8(0.06 ± 0.02), UT-SCC-9(0.15 ± 0.02), UT-SCC-10(0.09 ± 0.03)이었다. 데이타는 SU046-04가 CYP1B1을 구성 발현시키는 다양한 원발성 두경부 세포주에 대하여 SU025-04보다 더욱 유효한 세포독소라는 것을 나타낸다.
- [0542] 본 발명의 한 화합물인 SU037-04은 CYP1B1에 의하여 활성화될 때 캄프토테신을 방출하도록 설계되었다. SU037-04의 경우 각각의 원발성 종양 세포주에 대한 세포독성 $\text{IC}_{50}(\mu\text{mol dm}^{-3})$ 은 72 시간 노출후 UT-SCC-8(0.56 ± 0.04), UT-SCC-9(0.22 ± 0.08), UT-SCC-10(0.21 ± 0.04), UT-SCC-14(0.12 ± 0.07)이다.
- [0543] 본 발명의 한 화합물인 SU048-04는 CYP1B1에 의하여 활성화될 경우 겐시타빈을 방출하도록 설계되었다. UT-SCC-14 종양 세포주에서 SU048-04에 대한 세포독성 IC_{50} 은 72 시간 노출후 $0.94 \pm 0.02 \mu\text{mol dm}^{-3}$ 이었다. $10 \mu\text{mol dm}^{-3}$ 에서 α -나프토플라본(유효한 CYP1B1 억제제)과의 동시배양은 SU048-04의 독성을 $12.2 \pm 0.2 \mu\text{mol dm}^{-3}$ 로 크게 감소시켜 세포에서 구성 발현된 CYP1B1에 의한 전구약물의 활성화에 대한 간접적 증거를 제공하였다.

[0544] 실시예 5

[0545] CYP1B1을 구성 발현시키는 원발성 사람 종양 이중이식 모델에서의 SU046-04의 항종양 활성

[0546] 원발성 UTSCC-14 세포주 3×10^6 을 nude 마우스의 옆구리에 피하 이식하였다. 종양 부피가 100 내지 150 mm³인 경우 마우스를 1개의 군당 10 마리의 동물로 무작위로 추출하였다. SU046-04를 PBS중의 12, 25 및 50 mg/kg 대 비이콜 단독으로 5일간 매일/2일 휴식의 2개의 사이클로 복강내 투여하였다. 종양 부피를 캘리퍼를 사용하여 4 일마다 측정하였다. 비이콜 단독에 비하여 모든 3개의 처리 아암에서 상당한 종양 성장 억제가 관찰되었다. 28일에서의 종양 성장 지연은 4/10 완전 반응으로 12 mg/kg에서 31%, 25 mg/kg에서 56% 및 50 mg/kg에서 90%이었다. 최대 노출 250 mg/kg후 유해한 효과 또는 상당한 체중 손실은 관찰되지 않았다.

표 1. 형광발생 및 발광 기질을 사용하여 CYP1A1 또는 CYP1B1으로 안정하게 형질전환된 차이나이즈 햄스터 난소(CHO) 세포주에서 특이적인 CYP1 효소 활성

화학적 억제제	^a 특이적 활성/μmol 레소루핀 또는 루시페린 min ⁻¹ mg 단백질 ⁻¹					
	CHO		CHO/CYP1A1		CHO/CYP1B1	
	에독시레소루핀	루시페린-CEE	에독시레소루핀	루시페린-CEE	에독시레소루핀	루시페린-CEE
^b α-나프토폴라본	nd	nd	29 ± 4	21 ± 3	19 ± 3	22 ± 4
10 μmol dm ⁻³	nd	nd	nd	nd	nd	nd
TMS						
5 μmol dm ⁻³	nd	nd	nd	nd	nd	nd
10 nmol dm ⁻³	nd	nd	26 ± 4	20 ± 5	5 ± 2	3 ± 2

^a CYP1 효소에 대한 발광 기질로서 루시페린-CEE를 사용하여 형광성 에독시레소루핀 O-탈에틸화 분석(EROD) 또는 포로메가 P450-GloTM 분석법을 포함하는 두 방법으로 측정되었다.

CYP1A1 K_m app ~ 30 μmol dm⁻³에 대한 루시페린-CEE

CYP1B1 K_m app ~ 20 μmol dm⁻³에 대한 루시페린-CEE

CYP1A1 및 CYP1B1의 K_m ~ 0.27 μmol dm⁻³에 대한 에독시레소루핀

nd=활성이 검출되지 않음.

^b α-나프토폴라본은 10 μmol dm⁻³에서 모든 CYP1 효소를 억제함.

^c 테트라메톡시스타일벤(TMS)는 CYP1A1보다 30배 더 많은 6 nmol dm⁻³의 IC₅₀를 갖는 CYP1B1의 선택적 억제제이며 또한 두 효소를 >1 μmol dm⁻³로 억제한다.

[0547]

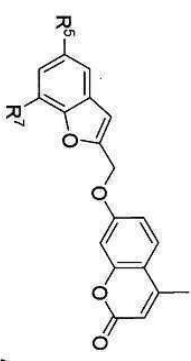
표 2. 이소포스포리아미드 머스터드 (IPM), 시클로포스파미드 및 이포스파미드와 비교하여 CYP1A1 또는 CYP1B1에 안정적으로 형질전환된 차이나이즈 햄스터 난소(CHO)내 전구약물의 시험관내 세포독성(IC₅₀)

화합물	세포독성(IC ₅₀) / $\mu\text{mol dm}^{-3}$							
	CHO 72시간	CHO/CYP1B1 72시간	IC ₅₀ ratio 72시간	CHO/CYP1A1 72시간	IC ₅₀ ratio 72시간	CHO 96시간	CHO/CYP1B1 96시간	IC ₅₀ 비 96시간
SU025-04	15.2 ± 0.2	0.009 ± 0.005	1689	25.5 ± 1.0	< 1	10.1 ± 0.3	0.003 ± 0.002	3367
CI-IPM	0.007 ± 0.004	0.008 ± 0.005	< 1	0.006 ± 0.002	1.2			
SU046-04	20.3 ± 1.2	0.004 ± 0.002	5075	20.3 ± 2.1	< 1	16.2 ± 0.2	0.003 ± 0.001	5400
Br-IPM	0.005 ± 0.002	0.004 ± 0.002	1.25	0.005 ± 0.003	1			
이포스파미드	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
시클로포스파미드	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

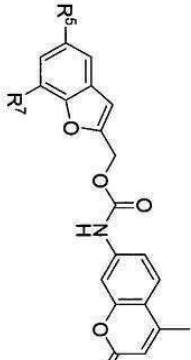
^aPromega™ CellTiter 96® 수성 비-방사성 세포 증식(MTS) 분석을 이용하여 측정된 세포독성;
^b노출 시간은 72시간 또는 96시간, 투약량은 0 내지 100 $\mu\text{mol dm}^{-3}$
^cCYP1A1 또는 CYP1B1에 형질전환된 차이나이즈 햄스터 난소(CHO)세포주내 IC₅₀정산 CHO세포주에서 화합물 IC₅₀로부터 계산된 IC₅₀ 비
 ND = 탐지 불가능, 가장 높은 화합물 농도 테스트에서 관찰된 <50% 독성이 나타남.

표 3. CYP1 효소 및 사람 간 미세소체(HLM)에 의한 벤조푸란 에테르 및 카르바메이트 결합된 쿠마린의 단편화에 대한 치환기 효과

화합물	구조	치환기	^{a,b} 특이적인 단편화 활성 / pmol 쿠마린 min ⁻¹ pmol 시토크롬 P450 ⁻¹			
			CYP1A1	CYP1A2	CYP1B1	HLM



A



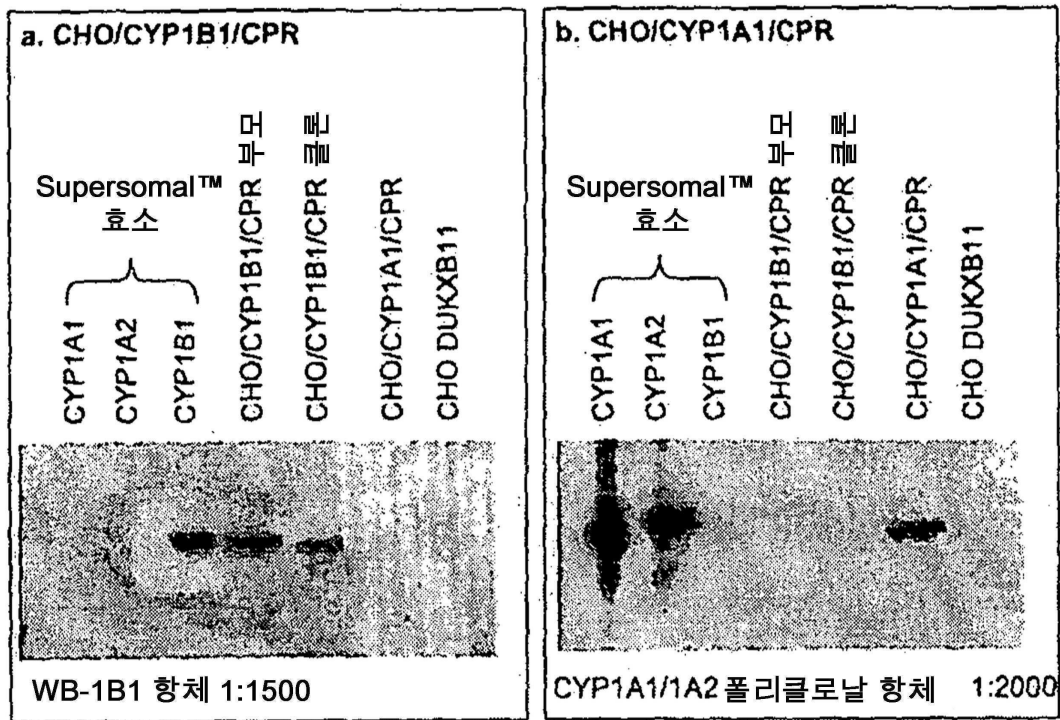
B

SU010A	A	R ⁵ = H; R ⁷ = H	20.91 ± 0.34	8.66 ± 0.28	5.19 ± 0.15	22.8 ± 0.69
VG015-05	A	R ⁵ = F; R ⁷ = H	19.35 ± 3.08	nd	3.16 ± 0.28	nd
VG016-05	A	R ⁵ = F; R ⁷ = F	방출되지 않음	방출되지 않음	방출되지 않음	방출되지 않음
VG017-05	A	R ⁵ = F; R ⁷ = Me	5.39 ± 1.34	nd	2.95 ± 0.59	nd
VG027-05	A	R ⁵ = MeO; R ⁷ = H	88.10 ± 5.69	20.93 ± 0.59	11.83 ± 0.15	8.98 ± 0.49
VG029-05	A	R ⁵ = H; R ⁷ = MeO	19.53 ± 1.07	nd	6.45 ± 1.15	nd
VG035-04	A	R ⁵ = Br; R ⁷ = H	28.08 ± 1.98	nd	8.85 ± 0.28	nd
VG028-05	A	R ⁵ = Cl; R ⁷ = H	17.52 ± 0.83	nd	6.67 ± 0.01	nd
VG035-05	A	R ⁵ = MeO; R ⁷ = MeO	방출되지 않음	방출되지 않음	13.65 ± 1.00	방출되지 않음
SU018-03	B	R ⁴ = H; R ⁷ = H	2.41 ± 0.18	방출되지 않음	방출되지 않음	방출되지 않음
VG032-05	B	R ⁴ = MeO; R ⁷ = H	12.19 ± 3.02	방출되지 않음	1.53 ± 0.09	3.21 ± 0.25
VG036-05	B	R ⁵ = Br; R ⁷ = H	방출되지 않음	방출되지 않음	방출되지 않음	방출되지 않음
VG041-05	B	R ⁵ = MeO; R ⁷ = MeO	5.51 ± 0.06	방출되지 않음	방출되지 않음	방출되지 않음

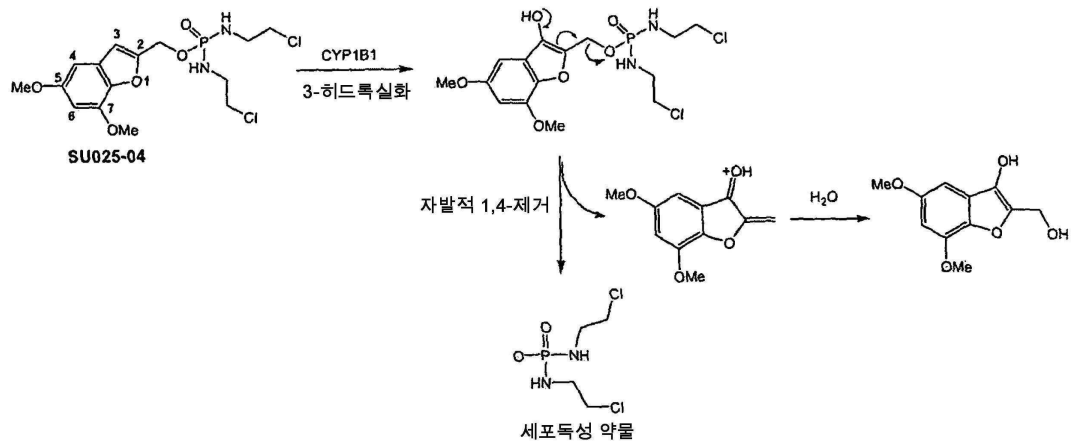
^a 에테르 또는 카르바메이트 링의 단편화는 여기 / 방출 파장을 이용한 역학적 형광측정으로 쿠마린 음이온 방출을 통해 모니터링되었다.
 λ_{ex} = 350 nm/ λ_{em} = 450 nm. CYP1 효소 농도는 10pmol이고 HLM의 양은 1.5ml의 최종 반응액 중 60 μl이다.
 특이적인 단편화 활성은 세가지 측정의 평균 ± 표준 편차로 인용되었다. nd = 탐지 불가능

도면

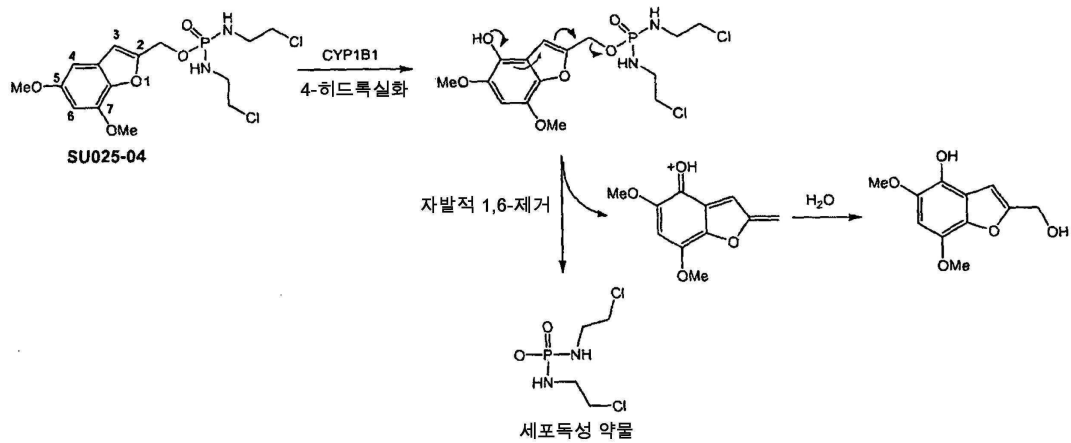
도면1



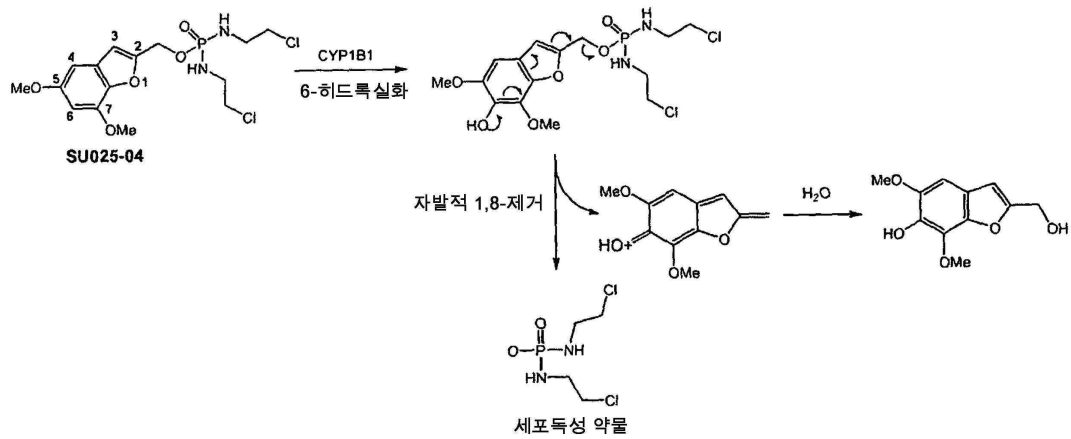
도면2a



도면2b



도면2c



도면3

