(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0082561
(43) 공개일자 2010년07월19일

(51) Int. Cl.
C07D 421/04 (2006.01) *A61K 31/52* (2006.01)
C07H 23/00 (2006.01) *C07H 21/00* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2009-0001915
(22) 출원일자 2009년01월09일
심사청구일자 2009년01월09일

(71) 출원인
이화여자대학교 산학협력단
서울 서대문구 대현동 11-1 이화여자대학교내
(72) 발명자
정낙신
서울특별시 강남구 역삼2동 755-1 개나리푸르지오 아파트 305동 1003호
이상국
서울특별시 강남구 대치동 대치현대아파트 107동 1202호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김윤배, 강철중, 조영신

전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 신규한 셀레노뉴클레오시드 유도체 또는 이의 약제학적으로허용가능한 염, 및 이들을 유효성분으로 포함하는 약제학적 조성물

(57) 요 약

본 발명은 신규한 셀레노뉴클레오시드 유도체 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 이들의 제조방법, 및 이들을 유효성분으로 포함하는 암 치료 또는 예방용 약제학적 조성물에 관한 것이다.

(72) 발명자

최원준

서울특별시 종로구 신영동 213-1 완성주택 나동 102호

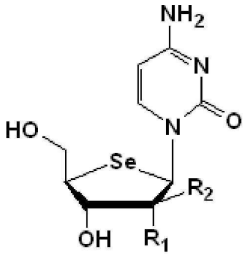
김혜옥

서울특별시 강남구 역삼동 개나리푸르지오 아파트 305동 1003호

특허청구의 범위

청구항 1

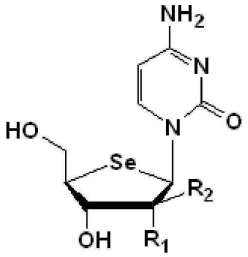
하기 식으로 표시되는 셀레노뉴클레오시드 유도체 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염:



상기 식에서, R_1 및 R_2는 독립적으로 H 또는 F이지만, 양쪽 모두가 H는 아님.

청구항 2

하기 식으로 표시되는 셀레노뉴클레오시드 유도체 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암 치료 또는 예방용 약제학적 조성물:



상기 식에서, R_1 및 R_2는 독립적으로 H 또는 F이지만, 양쪽 모두가 H는 아님.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 암은 대장암, 폐암, 위암, 유방암, 또는 혈액암인 약제학적 조성물.

청구항 4

제2항 또는 제3항에 있어서, 상기 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 추가로 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 5

제2항 또는 제3항에 있어서, 상기 약제학적 조성물은 정맥내 투여, 복강내 투여 또는 경구 투여 형태인 약제학적 조성물.

청구항 6

하기 반응식 1에 나타난 바와 같이 염기성 반응용매에서 화학식 1로 표시되는 화합물 및 트리틸클로라이드를 반응용매의 환류 온도 하에서 12 내지 48 시간 동안 반응시켜 화학식 2로 표시되는 화합물을 제조하고;

방향족 반응용매에서 화합물(2) 및 1,1-티오카르보닐이미다졸을 반응용매의 환류 온도 하에서 1 내지 48 시간 동안 반응시켜 화학식 3으로 표시되는 화합물을 제조하고;

비수소화 극성 반응용매에서 화합물(3) 및 *p*-톨루엔 술폰산 (*p*-TSA)을 과량의 다이하이드로피란과 함께 실온 내지 70℃에서 5 시간 내지 24 시간 동안 반응시켜 화학식 4로 표시되는 화합물을 제조하고;

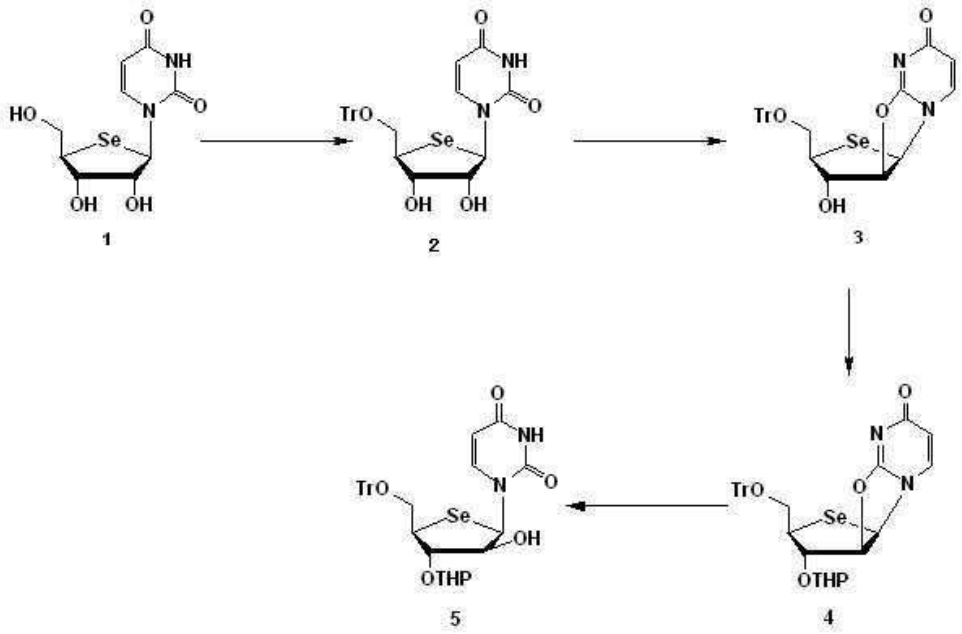
비수소화 극성 반응용매에서 화합물(4) 및 0.1 내지 5.0 M NaOH를 0℃ 내지 50℃에서 1 시간 내지 48 시간 동안 반응시켜 화학식 5로 표시되는 화합물을 제조하고;

하기 반응식 2에 나타난 바와 같이 할로겐화 반응용매에서 화합물(5) 및 다이에칠아미노설퍼 트리플루오라이드를 0℃ 이하의 저온에서 5분 내지 1시간 동안 반응시켜 화학식 6으로 표시되는 화합물을 제조하고;

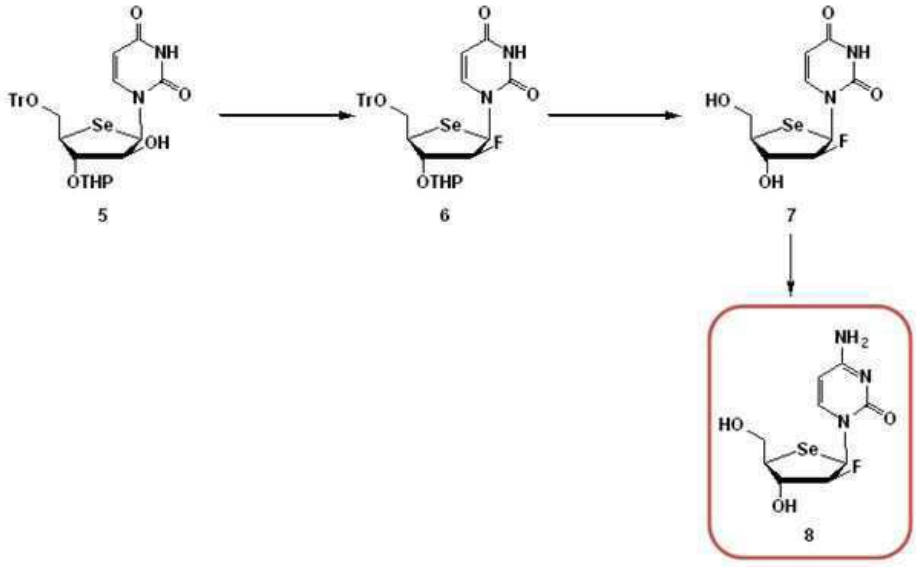
아세트산 수용액 또는 트리플루오로 아세트산 수용액 중에서 화합물(6)을 실온 내지 80℃에서 10 분 내지 5 시간 동안 반응시켜 화학식 7로 표시되는 화합물을 제조하고; 그리고

염기성 반응용매 또는 할로겐화 반응용매에서 화합물(7) 및 아세트산 무수물 (Ac_2O) 또는 아세틸 할라이드(AcX)를 반응시켜 다이아세테이트 화합물을 제조하고, 상기 다이아세테이트 화합물을 비수소화 무수 극성 반응용매에 넣고 포스포러스 옥시클로라이드 ($POCl_3$), 1,2,4-트리아졸, 및 트리에틸아민을 순차적으로 첨가하여 0℃ 내지 실온에서 1 시간 내지 48 시간 동안 반응시킨 후, 얻어진 생성물을 암모니아수와 1,4-디옥산 혼합용액에 용해시켜 실온에서 2 시간 내지 12 시간 동안 반응시키고, 이어서 암모니아의 메탄올 용액에 용해시켜 실온 내지 80℃에서 1 시간 내지 12 시간 동안 반응시켜 화학식 8로 표시되는 셀레노뉴클레오시드 유도체를 제조하는 방법.

반응식 1



반응식 2



청구항 7

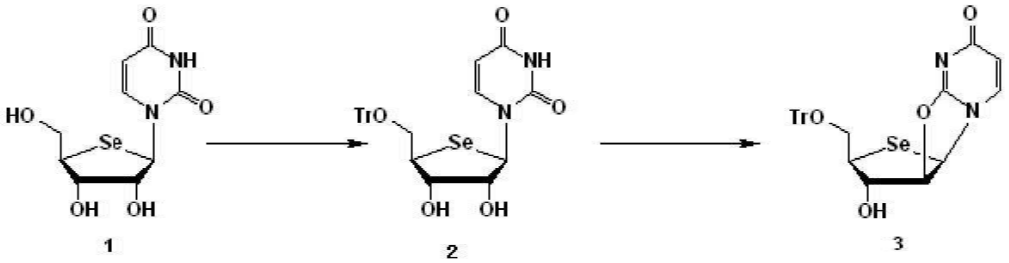
하기 반응식 3에 나타난 바와 같이 염기성 반응용매에서 화학식 1로 표시되는 화합물 및 트리틸클로라이드를 반응용매의 환류 온도 하에서 12 내지 48 시간 동안 반응시켜 화학식 2로 표시되는 화합물을 제조하고;

방향족 반응용매에서 화합물(2) 및 1,1-티오카르보닐이미다졸을 반응용매의 환류 온도 하에서 1 내지 48 시간 동안 반응시켜 화학식 3으로 표시되는 화합물을 제조하고;

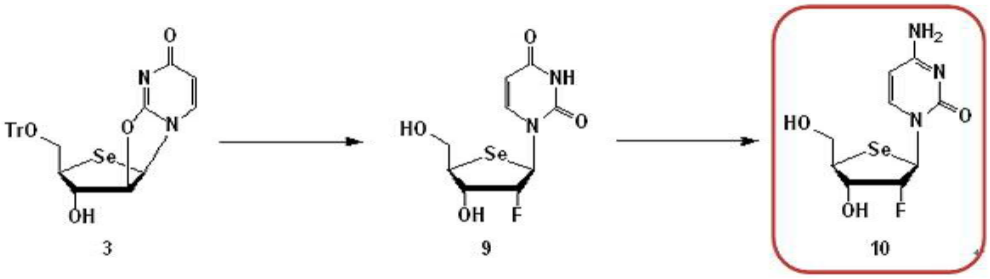
하기 반응식 4에 나타난 바와 같이 에테르계 반응용매에서 화합물(3) 및 과량의 HF/피리딘, 3HF/NEt_3, 또는 테트라부틸암모니움 플루오라이드로부터 선택되는 플루오르 시약을 반응용매의 환류 온도 또는 그 이상의 온도에서 12 시간 내지 48 시간 동안 반응시켜 화학식 9로 표시되는 화합물을 제조하고;

염기성 반응용매 또는 할로겐화 반응용매에서 화합물(9) 및 아세트산 무수물 (Ac_2O) 또는 아세틸 할라이드(AcX)를 반응시켜 다이아세테이트 화합물을 제조하고, 상기 다이아세테이트 화합물을 비수소화 무수 극성 반응용매에 넣고 포스포러스 옥시클로라이드 ($POCl_3$), 1,2,4-트리아졸, 및 트리에틸아민을 순차적으로 첨가하여 0℃ 내지 실온에서 1 시간 내지 48 시간 동안 반응시킨 후, 얻어진 생성물을 암모니아수와 1,4-디옥산 혼합용액에 용해시켜 실온에서 2 시간 내지 12 시간 동안 반응시키고, 이어서 암모니아의 메탄올 용액에 용해시켜 실온 내지 80℃에서 1 시간 내지 12 시간 동안 반응시켜 화학식 10으로 표시되는 셀레노뉴클레오시드 유도체를 제조하는 방법.

반응식 3



반응식 4



명 세 서

발명의 상세한 설명

기 술 분 야

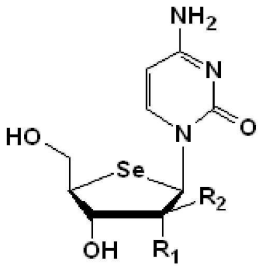
[0001] 본 발명은 신규한 셀레노뉴클레오시드 유도체 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 이들의 제조방법 및 이들을 유효성분으로 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 피리미딘 계열의 염기 및 불소가 도입된 신규한 셀레노뉴클레오시드 유도체 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 및 이들의 우수한 항암 활성을 이용한 암 치료 또는 예방용 약제학적 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] β-아라비노퓨라노실 시토신(1-β-Arabinofuranosyl cytosine, 이하 'ara-C'라 함)은 세포 내부에서 디옥시시티딘 키나제(deoxycytidine kinase)의 작용으로 모노인산으로 전환된 후 삼인산으로 인산화되어 ara-C의 활성형인 ara-C 삼인산이 된다. Ara-C 삼인산은 암세포의 DNA 합성과정에서 DNA 사슬의 연장을 방해함으로써 암세포를 사멸시키므로(Ellison, R. R.; Holland, J. F.; Weil, M.; Jacquillat, C.; Boiron, M.; Bernard, J.; Sawitsky, A.; Rosner, F.; Gussoff, B.; Silver, R. T.; Karanas, A.; Cutter, J.; Spurr, C. L.; Hayes, D. M.; Blom, J.; Leone, L. A.; Haurani, F.; Kyle, R.; Hutchison, J. L.; Forcier, R. J.; Moon, J. H. *Blood* 1968, *32*, 507-523) 백혈병과 같은 혈액암 치료에 효과적으로 사용되고 있는 약제 중 하나이다.

[0003] 그러나 지속적으로 ara-C를 사용할 경우 인산화 효소인 뉴클레오티드 키나제의 활성이 감소되는 등 약제 내성이 증가하는 부작용이 발생함에 따라 새로운 뉴클레오시드 유사체의 개발 필요성이 대두되었다. 이에 본 발명자들은 산소와 이화학적 동등체인 셀레늄(selenium)을 이용하여 1-β-4-셀레노-아라비노퓨라노실 시토신(1-β-4-seleno-arabinofuranosyl cytosine, '4'-seleno-ara-C'라 약칭함)을 합성하여 위암세포(SNU638)에 대한 우수한 항암활성(IC_{50} = 1.5 μM)을 확인하였다(대한민국 특허출원 제2007-0110223호).

[0004] 이에 더 나아가, 본 발명자는 4'-seleno-ara-C에 피리미딘 계열의 염기와 당의 2' 위치에 불소를 도입하여 아래에 도시한 화학식으로 나타나는 신규한 셀레노뉴클레오시드 유도체를 합성하였고, 이의 우수한 항암 활성을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0005] 

[0006] 상기 식에서, R_1 및 R_2는 독립적으로 H 또는 F이지만, 양쪽 모두가 H는 아니다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

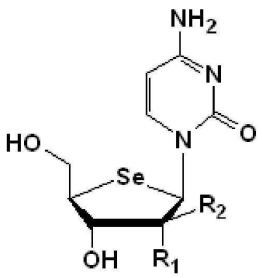
[0007] 본 발명은 ara-C의 장기간 투여에 따른 약제 내성 등의 부작용을 해결하고, ara-C 보다 더 광범위한 항암 효과를 나타내어 백혈병과 같은 비고형암 뿐만 아니라 고형암에도 우수한 억제 효과를 나타내는 신규한 셀레노뉴클레오시드 유도체 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 제공하는 것이다.

[0008] 또한, 본 발명은 우수한 항암 활성을 갖는 신규한 셀레노뉴클레오시드 유도체 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 약제학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 또한, 본 발명은 우수한 항암 활성을 갖는 신규한 셀레노뉴클레오시드 유도체 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제 해결수단

[0010] 본 발명은 하기 식으로 나타내어지는 신규한 셀레노뉴클레오시드 유도체 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 제공하는 것이다.

[0011] 

[0012] 상기 식에서, R_1 및 R_2는 독립적으로 H 또는 F이지만, 양쪽 모두가 H는 아니다.

[0013] 또한, 본 발명은 상기한 셀레노뉴클레오시드 유도체 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 암 치료 또는 예방용 약제학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명에 따른 약제학적 조성물로 치료될 수 있는 암은 고형암 및 비고형암으로서, 특히 대장암, 폐암, 위암, 유방암, 또는 백혈병과 같은 혈액암을 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0015] 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제, 예를 들면 당업계에서 통상적으로 사용되는 희석제, 활택제, 결합제, 붕해제, 감미제, 안정제, 방부제로부터 선택되는 1종 이상을 포함할 수 있으며, 정제, 과립제, 캅셀제, 산제 등으로 제제화될 수 있다.

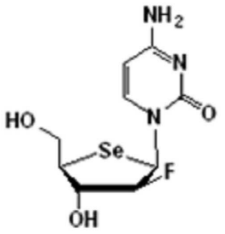
[0016] 바람직하기는 정맥내 투여, 복강내 투여 또는 경구투여의 형태로 사용된다.

[0017] 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 치료효과를 증강시키기 위하여 본 발명에 따른 유효성분 이외에 다른 공지의 항-종양 약제와 함께 투여될 수 있다.

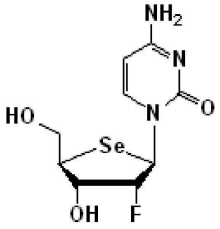
[0018] 본 발명에 따른 약제학적 조성물의 투여량 및 투여 횟수는 환자의 연령, 상태, 체중, 치료하고자 하는 질환의 중증도와 같은 요인들을 고려하여 조절될 수 있다. 바람직하기는, 약제학적 조성물의 유효성분은 환자의 체중 당 1 내지 5 mg/kg으로 1회 내지 수회/1일 투여되는 것이다.

[0019] 또한, 본 발명은 신규한 셀레노뉴클레오시드 유도체 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 제조방법을 제공하는 것이다.

[0020] 화학식 8 또는 10으로 나타나는 본 발명에 따른 화합물의 제조방법의 구체예는 다음과 같다.



8



10

[0021]

[0022] 화합물 8의 제조

[0023] 하기 반응식 1에 나타난 바와 같이 피리딘이나 트리에틸아민과 같은 염기성 무수용매에서 출발물질인 화합물 1 및 1 내지 2 당량의 트리틸클로라이드를 상기 용매의 환류 온도 하에서 12 내지 48 시간 동안 반응시켜 화합물 2를 제조하고;

[0024] 벤젠이나 톨루엔과 같은 방향족 용매에서 화합물 2 및 1.5 내지 3 당량의 1,1-티오카르보닐이미다졸을 상기 용매의 환류 온도 하에서 1 내지 48 시간 동안 반응시켜 화합물 3을 제조하고;

[0025] 다이메칠포름아미드 (DMF) 또는 테트라하이드로퓨란 (THF)과 같은 비수소화 무수 극성 용매에서 화합물 3 및 촉매량 내지 1 당량의 *p*-TSA (p-Toluene Sulfonic Acid)를 과량의 다이하이드로피란 (DHP)과 함께 실온 내지 70℃에서 5 시간 내지 24 시간 동안 반응시켜 화합물 4를 제조하고;

[0026] 아세토니트릴 (CH_3CN), DMF, 또는 THF와 같은 비수소화 극성 용매에서 화합물 4 및 0.1 내지 5.0 M NaOH를 0℃ 내지 50℃에서 1 시간 내지 48 시간 동안 반응시켜 화합물 5를 제조하고;

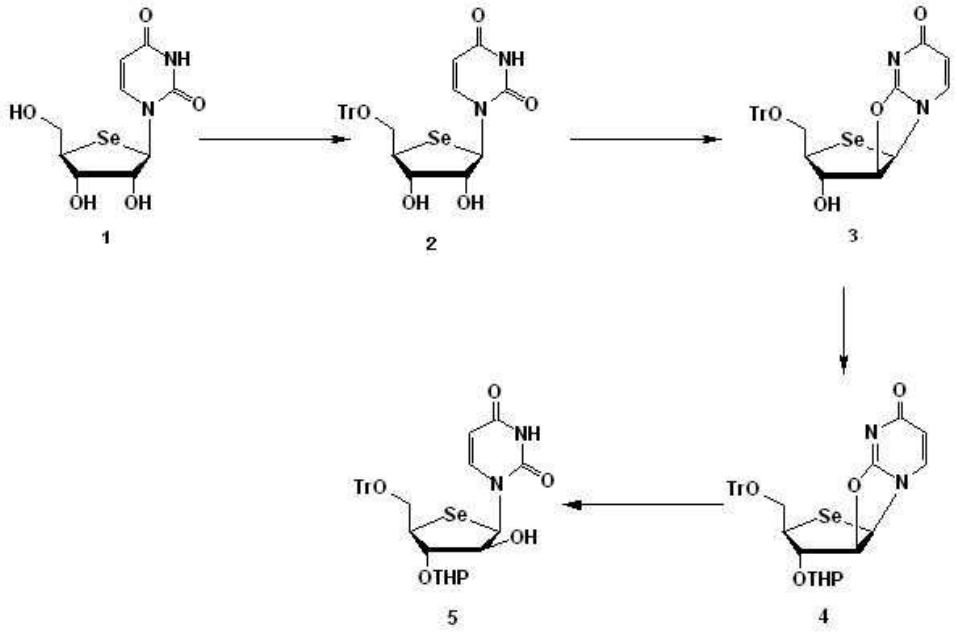
[0027] 하기 반응식 2에 나타난 바와 같이 메틸렌클로라이드 또는 클로로포름과 같은 할로겐화 용매에서 화합물 5 및 1 내지 2 당량의 다이에칠아미노설퍼 트리플루오라이드 (diethylaminosulfur trifluoride: DAST)를 0℃ 이하의 저온에서 5 분 내지 1 시간 동안 반응시켜 화합물 6을 입체특이적으로 제조하고;

[0028] 50 내지 90% 아세트산 수용액 또는 5 내지 50% 트리플루오로아세트산 (trifluoroacetic acid) 수용액에서 화합물 6을 실온 내지 80℃에서 10분 내지 5 시간 동안 반응시켜 화합물 7을 제조하고;

[0029] 피리딘 등의 무수염기성 용매나 메틸렌클로라이드 등의 할로겐화 용매에서 화합물 7 및 2 내지 3 당량의 아세트

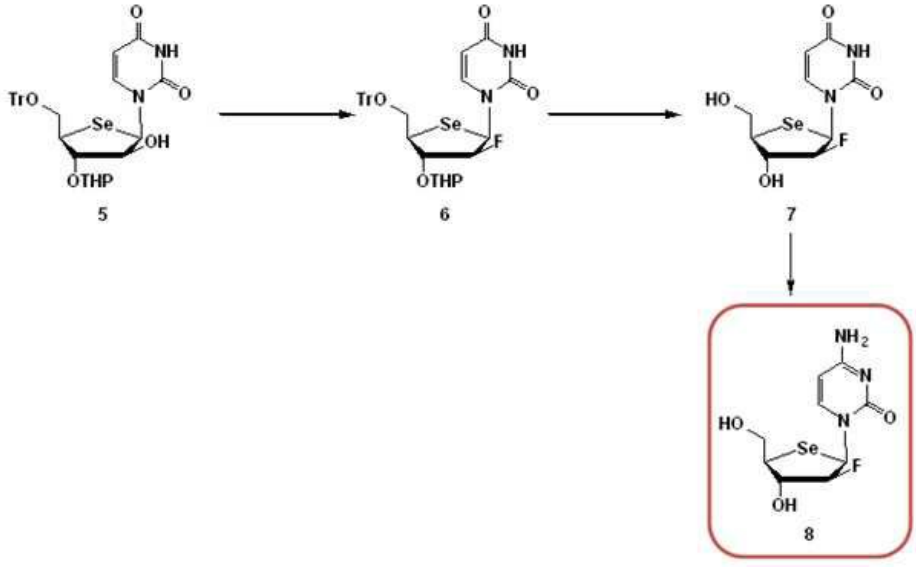
산 무수물 (Ac_2O) 또는 아세틸 할라이드 (AcX)를 반응시켜 다이아세테이트 화합물을 제조하고, 상기 다이아세테이트 화합물을 아세토니트릴 등의 비수소화 무수 극성용매에 넣고 포스포러스 옥시클로라이드 ($POCl_3$), 1,2,4-트리아졸, 및 트리에틸아민을 순차적으로 2 내지 20 당량 첨가하여 0℃ 내지 실온에서 1 시간 내지 48 시간 동안 반응시킨다. 얻어진 생성물을 암모니아수와 1,4-디옥산 혼합용액에 용해시키고 실온에서 2 시간 내지 12 시간 동안 반응시켜 염기부분을 변형시킨 후 암모니아의 메탄올 용액에 용해시키고 실온 내지 80℃에서 1 시간 내지 12 시간 동안 반응시켜 화합물 8을 제조한다.

[0030] 반응식 1



[0031]

[0032] 반응식 2



[0033]

[0034] 화합물 10의 제조

[0035] 하기 반응식 3으로 나타난 바와 같이 피리딘이나 트리에틸아민과 같은 염기성 무수용매에서 출발물질인 화합물 1 및 1 내지 2 당량의 트리틸클로라이드를 상기 용매의 환류 온도 하에서 12 내지 48 시간 동안 반응시켜 화합물 2를 제조하고;

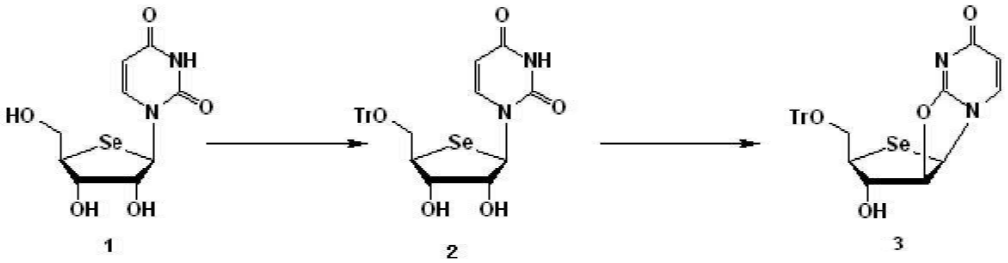
[0036] 벤젠이나 톨루엔과 같은 방향족 용매에서 화합물 2 및 1.5 내지 3 당량의 1,1-티오카르보닐이미다졸을 상기 용

매의 환류 온도 하에서 1 내지 48 시간 동안 반응시켜 화합물 3을 제조하고;

[0037] 하기 반응식 4로 나타난 바와 같이 1.4-디옥산과 같은 에테르 용매에서 화합물 3 및 과량의 HF/피리딘 또는 $3HF/NEt_3$, 테트라부틸암모니움 플루오라이드 (tetrabutylammonium fluoride: TBAF) 등의 플루오로 시약을 반응 용매의 환류 온도 또는 그 이상의 온도에서 12 시간 내지 48 시간 동안 반응시켜 화합물 9를 입체선택적으로 제조하고;

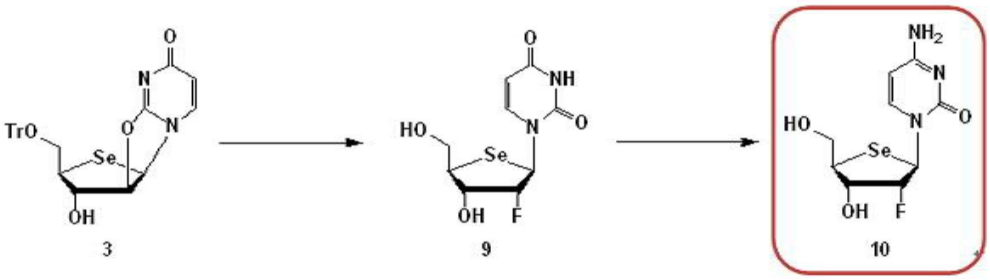
[0038] 피리딘 등의 무수염기성 용매나 메틸렌클로라이드 등의 할로겐화 용매에서 화합물 9 및 2 내지 3 당량의 아세트산 무수물 (Ac_2O) 또는 아세틸 할라이드 (AcX)를 반응시켜 다이아세테이트 화합물을 제조하고, 상기 다이아세테이트 화합물을 아세토니트릴 등의 비수소화 무수 극성용매에 넣고 포스포러스 옥시클로라이드 ($POCl_3$), 1,2,4-트리아졸, 및 트리에틸아민을 순차적으로 2 내지 20 당량 첨가하여 0℃ 내지 실온에서 1 시간 내지 48 시간 동안 반응시킨다. 얻어진 생성물을 암모니아수와 1,4-디옥산 혼합용액에 용해시키고 실온에서 2 시간 내지 12 시간 동안 반응시켜 염기부분을 변형시킨 후 암모니아의 메탄올 용액에 용해시키고 실온 내지 80℃에서 1 시간 내지 12 시간 동안 반응시켜 화합물 10을 제조한다.

[0039] 반응식 3



[0040]

[0041] 반응식 4



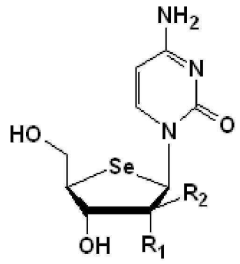
[0042]

효 과

[0043] 본 발명은 신규한 셀레노뉴클레오시드 유도체 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 제공하고, 이들 화합물의 광범위한 항암활성을 확인함으로써 이들 화합물을 포함하는 암 치료 또는 예방용 약제학적 조성물을 제공하는 효과를 가진다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

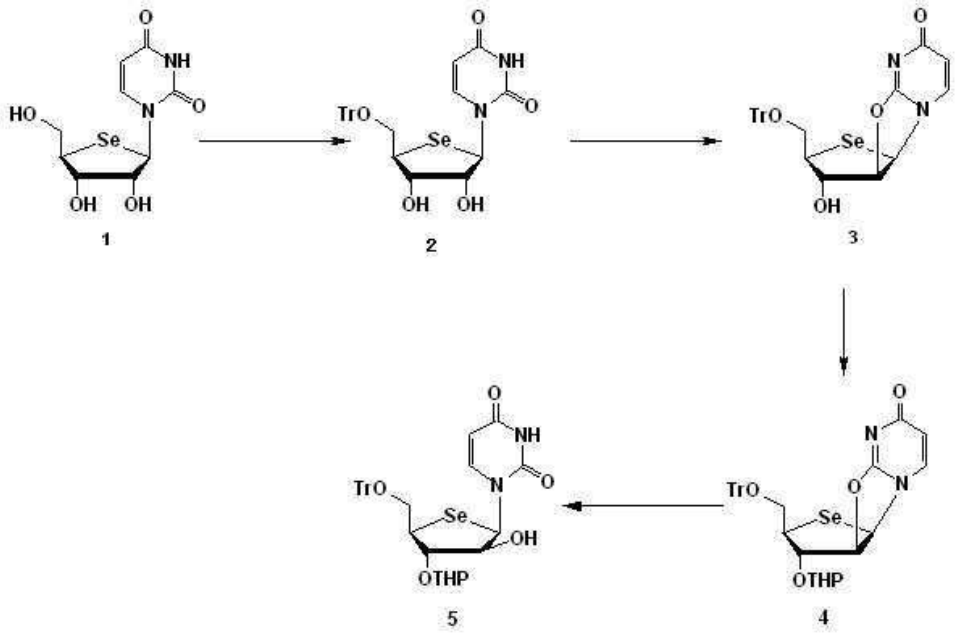
[0044] 본 발명은 하기 식으로 나타내어지는 신규한 셀레노뉴클레오시드 유도체 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염를 제공하는 것이다.



[0045]

[0046] 상기 식에서, R_1 및 R_2는 독립적으로 H 또는 F이지만, 양쪽 모두가 H는 아니다.

[0047] 본 발명에 따른 셀레노뉴클레오시드 유도체의 구체적인 제조예는 다음과 같다.



[0048]

[0049] **중간체 화합물 3의 합성**

[0050] 화합물 1을 피리딘이나 트리에틸아민과 같은 염기성 무수용매에 용해시키고 교반시킨 용액에 트리틸클로라이드를 1 내지 2 당량 가하여 환류 온도에서 12 내지 48 시간 반응시켜 5번 위치의 1급 하이드록실기에 선택적으로 보호화반응을 수행하여 화합물 2를 제조하고; 화합물 2를 벤젠이나 톨루엔과 같은 방향족 용매에 용해시킨 후 1,1-티오카르보닐이미다졸을 1.5 내지 3 당량 넣고 환류 온도 수준의 고온에서 1 내지 48 시간 반응시켜 화합물 3을 얻는다.

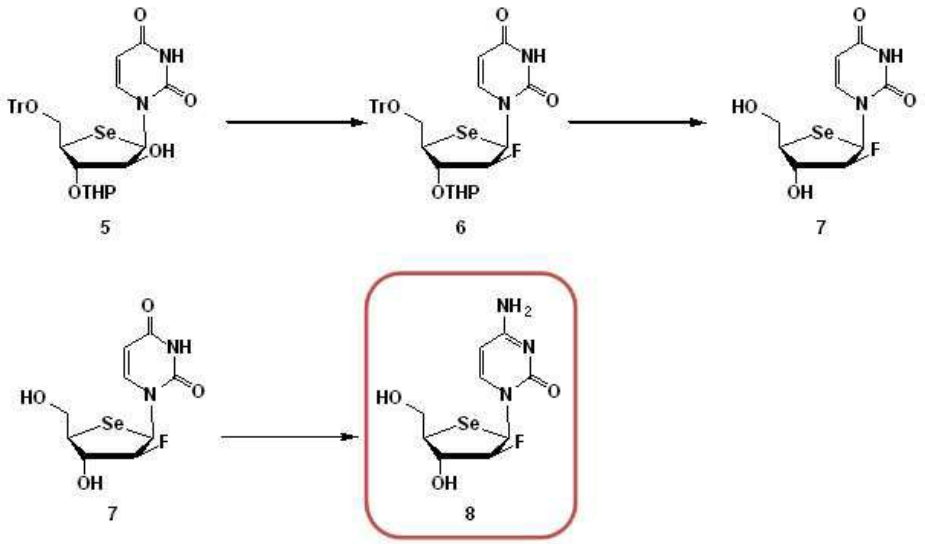
[0051] 3: ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) 7.73 (d, 1H, J = 7.2 Hz), 7.39-7.20 (m, 15H), 6.33 (d, 1H, J = 7.2 Hz), 6.05 (d, 1H, J = 7.2 Hz), 5.41 (ddd, 1H, J = 7.2, 2.4 and 0.4 Hz), 4.79 (d, 1H, J = 2.4 Hz), 3.95 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 3.15 (t, 1H, J = 9.6 Hz); FAB-MS m/z 533 ($M+H^+$).

[0052] **중간체 화합물 5의 합성**

[0053] 화합물 3을 다이메칠포름아미드 (DMF)나 테트라하이드로퓨란 (THF) 등의 비수소화 무수극성 용매에 용해시킨 후 0℃ 또는 실온에서 *p*-TSA (p-Toluene Sulfonic Acid)를 촉매량 내지 1 당량을 가하고 다이하이드로피란 (DHP)을 2 내지 20 당량 수준의 과량으로 넣고 실온 내지 70℃에서 5 시간 내지 24 시간 동안 반응시켜 화합물 4를 제조하고; 화합물 4를 아세토니트릴이나 다이메칠포름아미드 (DMF) 또는 테트라하이드로퓨란 (THF) 등의 비수소화 극성 용매에 용해시킨 후 0.1 내지 5.0 M NaOH 를 넣어 0℃ 내지 50℃에서 1 시간 내지 48 시간 동안 교반시켜 화합물 5를 제조한다.

[0054] 5: ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) 8.11 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 8.05 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 7.48-7.24 (m, 30H), 6.57 (d, 1H, J = 4.8 Hz), 6.43 (d, 1H, J = 4.8 Hz), 5.56 (d, 1H, J = 8.4 Hz), 5.48 (d, 1H, J = 8.0

Hz), 4.81 (t, 1H, *J* = 3.2 Hz), 4.59 (t, 1H, *J* = 2.4 Hz), 4.30 (t, 1H, *J* = 4.0 Hz), 4.26 (t, 1H, *J* = 4.8 Hz), 4.25 (m, 2H), 3.91 (m, 1H), 3.79-3.68 (m, 3H), 3.74 (dd, 1H, *J* = 9.2, 6.4 Hz), 3.63 (td, 1H, *J* = 6.4, 3.6 Hz), 3.58 (dd, 1H, *J* = 10.8, 9.2 Hz), 3.54 (dd, 1H, *J* = 9.2, 7.2 Hz), 3.50 (m, 1H), 3.38 (m, 1H), 1.82-1.45 (m, 12H); FAB-MS m/z 635 ($M+H^+$).



[0055]

[0056] **화합물 7의 합성**

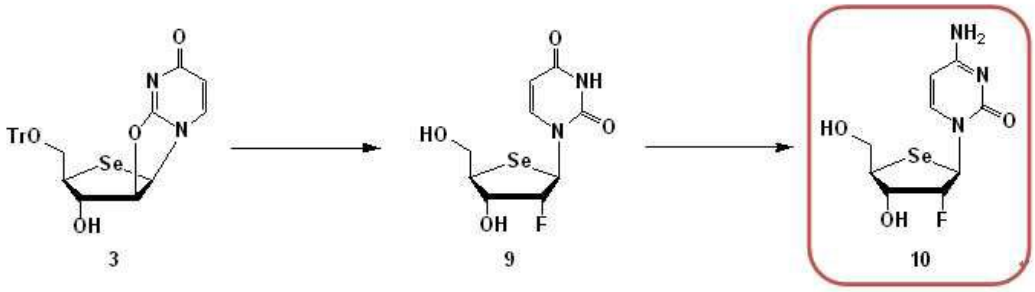
[0057] 화합물 5를 메틸렌클로라이드나 클로로포름 등의 할로겐화 용매에 용해시킨 후 다이에칠아미노설퍼 트리플루오라이드 (diethylaminosulfur trifluoride: DAST)를 1 내지 2 당량을 넣어 0℃ 이하의 저온에서 5 분 내지 1 시간 동안 교반시켜 불소화합물 6을 입체특이적으로 제조하고; 화합물 6을 50 내지 90% 아세트산 수용액 또는 5 내지 50% 트리플루오로아세트산 (trifluoroacetic acid) 수용액에 넣어 용해시키고 실온 내지 80℃로 가열하여 10 분 내지 5 시간 동안 반응시켜 화합물 7을 제조한다.

[0058] 7: ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) 8.25 (dd, 1H, *J* = 8.4, 1.6 Hz), 6.65 (dd, 1H, *J* = 14.8, 5.2 Hz), 5.73 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz), 4.95 (ddd, 1H, *J* = 50.4, 5.6 and 5.2 Hz), 4.37 (m, 1H), 3.98 (ddd, 1H, *J* = 11.6, 6.0 and 1.6 Hz), 3.83 (ddd, 1H, *J* = 11.6, 6.8 and 1.6 Hz), 3.58 (m, 1H); FAB-MS m/z 322 ($M+Na^+$).

[0059] **화합물 8의 합성**

[0060] 화합물 7을 피리딘 등의 무수염기성 용매나 메틸린클로라이드 등의 할로겐화 용매에 용해시킨 후 아세트산 무수물 (Ac_2O) 또는 아세틸 할라이드 (AcX)를 2 내지 3 당량 넣고 반응시켜 다이아세테이트 화합물을 제조하고, 상기 다이아세테이트 화합물을 아세토니트릴 등의 무수 비수소화 극성용매에 넣고 포스포러스 옥시클로라이드 ($POCl_3$), 1,2,4-트리아졸, 및 트리에틸아민을 순차적으로 2 내지 20 당량 첨가하여 0℃ 내지 실온에서 1 시간 내지 48 시간 동안 반응시켰다. 얻어진 생성물을 암모니아수와 1,4-디옥산 혼합용액에 용해시키고 실온에서 2 시간 내지 12 시간 동안 반응시켜 염기부분을 변형시킨 후 암모니아의 메탄올 용액에 용해시키고 실온 내지 80℃에서 1 시간 내지 12 시간 동안 반응시켜 화합물 8을 제조한다.

[0061] 8: ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) 8.22 (dd, 1H, *J* = 7.6, 2.0 Hz), 6.80 (dd, 1H, *J* = 17.2, 4.8 Hz), 5.73 (d, 1H, *J* = 7.6 Hz), 4.95 (dt, 1H, *J* = 50.4, 5.2 Hz), 4.40 (m, 1H), 3.98 (ddd, 1H, *J* = 11.6, 6.4 and 1.6 Hz), 3.82 (ddd, 1H, *J* = 11.6, 6.8 and 1.6 Hz), 3.61 (m, 1H); FAB-MS m/z 307 ($M-H^+$).



[0062]

[0063] **화합물 9의 합성**

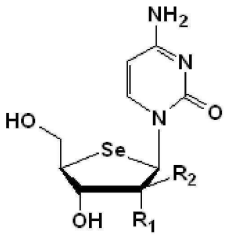
[0064] 화합물 3을 1.4-디옥산 등의 에테르 용매에 용해시키고 HF/피리딘이나 3HF/NEt_3, 테트라부틸암모니움 플루오라이드 (tetrabutylammonium fluoride: TBAF) 등의 플루오로 시약을 1 당량 이상 과량 넣고 반응용매의 환류 온도 또는 그 이상의 온도에서 일반적인 반응용기나 밀폐된 반응용기에서 12 시간 내지 48 시간 동안 반응시킨 결과 화합물 9를 입체선택적으로 제조한다.

[0065] 9: ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) 8.17 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 6.46 (dd, 1H, J = 14.0, 6.0 Hz), 5.79 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 5.21 (ddd, 1H, J = 50.0, 6.0 and 3.2 Hz), 4.39 (ddd, 1H, J = 13.2, 4.4 and 3.2 Hz), 3.93 (dd, 1H, J = 12.0, 5.6 Hz), 3.85 (dd, 1H, J = 12.0, 5.6 Hz), 3.62 (m, 1H); FAB-MS m/z 310 ($M+H^+$).

[0066] 화합물 10의 합성

[0067] 화합물 9를 화합물 8의 합성방법과 동일한 방법으로 반응시킨 결과 화합물 10을 합성한다.

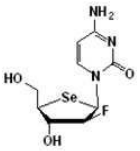
[0068] 10: ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) 8.19 (d, 1H, J = 7.2 Hz), 6.48 (dd, 1H, J = 14.4, 5.6 Hz), 5.97 (d, 1H, J = 7.2 Hz), 5.17 (ddd, 1H, J = 50.0, 5.6 and 3.2 Hz), 4.35 (ddd, 1H, J = 15.6, 5.2 and 3.2 Hz), 3.95 (dd, 1H, J = 11.6, 5.2 Hz), 3.85 (dd, 1H, J = 11.6, 5.6 Hz), 3.63 (dq, 1H, J = 5.6, 2.0); FAB-MS m/z 307 ($M-H^+$).



[0069]

[0070] 표 1

[0071]

화합물	구조식	R_1	R_2
8		수소	불소
10		불소	수소

[0072] **실시예**

[0073] 화합물 8의 제조

[0074] 화합물 1 (0.850 g, 2.77 mmol)을 피리딘 (30 mL)에 용해시키고 교반시킨 다음, 트리틸 클로라이드 (trityl chloride) (1.633 g, 5.86 mmol)를 가하여 100℃에서 24 시간 동안 환류시켜 화합물 2 (1.096 g, 72%)를 얻었다. 화합물 2 (1.096 g, 1.99 mmol)를 톨루엔 (40 mL)에 용해시킨 다음 1,1-티오카르보닐 이미다졸 (0.709 g, 3.98 mmol)을 넣고 환류시켜 화합물 3 (1.026 g, 97%)을 얻었다.

[0075] 얻어진 화합물 3 (1.026 g, 1.93 mmol)을 건조한 디메틸 포름아미드 (DMF) (20 mL)에 용해시킨 후 0℃에서 p-TSA (p-Toluene Sulfonic Acid) (0.076 g, 0.40 mmol)와 다이하이드로피란 (DHP) (1.75 mL, 19.30 mmol)을 넣고 실온에서 24 시간 동안 반응시켜 화합물 4 (1.117 g, 94%)를 얻었다. 얻어진 화합물 4 (1.117 g, 1.81 mmol)를 아세토니트릴 (CH_3CN, 10 mL)에 용해시킨 후 1M NaOH (5 mL)를 넣고 상온에서 24 시간 동안 반응시켜 화합물 5 (1.006 g, 90%)를 얻었다.

[0076] 위에서 얻어진 화합물 5 (1.006 g, 1.59 mmol)를 메틸렌클로라이드 (25 mL)에 용해시킨 후 디에틸아미노설퍼 트리플루오라이드 (diethylaminosulfur trifluoride: DAST) (0.32 mL, 2.38 mmol)를 넣어 0℃에서 15분 동안 반응시켜 화합물 6 (0.404 g, 40%)을 얻었다.

[0077] 이어서 얻어진 화합물 6 (0.404 g, 0.64 mmol)을 80% 아세트산 (AcOH, 10 mL)에 넣어 용해시킨 다음 60℃로 가열하여 반응시켜 화합물 7 (59 mg, 92%)을 얻었다. 위에서 얻어진 화합물 7 (75 mg, 0.24 mmol)을 피리딘 (3 mL)에 용해시킨 다음 아세트산 무수물 (Ac_2O, 0.09 mL, 0.97 mmol)을 넣어 반응시켜 다이아세테이트 화합물을 얻고, 이 다이아세테이트 화합물을 아세토니트릴 (3 mL)에 넣고 $POCl_3$ (0.22 mL, 2.40 mmol), 1,2,4-트리아졸 (0.182 g, 2.64 mmol), 트리에틸아민 (0.30 mL, 2.16 mmol)을 순차적으로 첨가하여 실온에서 12 시간 동안 반응시켰다. 이 생성물을 암모니아수와 1,4-디옥산 혼합용액 (1:4, 5 mL)에 용해시키고 실온에서 12 시간 동안 반응시켜 염기부분을 변형시킨 후 암모니아의 메탄올 용액 (5 mL)에 용해시키고 실온에서 12 시간 동안 반응시켜 화합물 8 (38 mg, 50%)을 합성하였다

[0078] 화합물 10의 제조

[0079] 화합물 1 (0.850 g, 2.77 mmol)을 피리딘 (30 mL)에 용해시키고 교반시킨 다음, 트리틸 클로라이드(trityl chloride) (1.633 g, 5.86 mmol)를 가하여 100℃에서 24시간 동안 환류시켜 화합물 2 (1.096 g, 72%)를 얻었다. 화합물 2 (1.096 g, 1.99 mmol)를 톨루엔 (40mL)에 용해시킨 다음 1,1-티오카르보닐 이미다졸 (0.709 g, 3.98 mmol)을 넣고 환류시켜 화합물 3(1.026 g, 97%)을 얻었다.

[0080] 위에서 얻어진 화합물 3 (314 mg, 0.591 mmol)을 1,4-디옥산 (6 mL)에 용해시킨 다음 HF/피리딘 (0.15 mL, 5.91 mmol)을 넣어 반응시켜 화합물 9 (33.4 mg, 18%)를 얻었다.

[0081] 위에서 얻어진 화합물 9 (33.4 mg, 0.107 mmol)를 피리딘 (3 mL)에 용해시킨 다음 아세트산 무수물 (Ac_2O, 0.05 mL, 0.535 mmol)을 넣어 반응시켜 다이아세테이트 화합물을 얻고, 이 다이아세테이트 화합물을 아세토니트릴 (3 mL)에 넣고 $POCl_3$ (0.20 mL, 2.14 mmol), 1,2,4-트리아졸 (0.162 g, 2.35 mmol), 트리에틸아민 (0.27 mL, 1.92 mmol)을 순차적으로 첨가하여 실온에서 12 시간 동안 반응시켰다. 이 생성물을 암모니아수와 1,4-디옥산 혼합용액 (1:4, 3 mL)에 용해시키고 실온에서 12 시간 동안 반응시켜 염기부분을 변형시킨 후 암모니아의 메탄올 용액 (3 mL)에 용해시키고 실온에서 12 시간 동안 반응시켜 화합물 10 (19.5 mg, 59%)을 합성하였다.

[0082] 시험예: 시험관 내에서 사람 암세포 성장 저해 효능 측정 (인 비트로 시험)

[0083] 본 발명에 따른 화합물의 항암 활성을 확인하기 위하여, 실시예에서 제조된 화합물 8 및 10, 그리고 대조시료로서의 ara-C가 암세포 성장에 미치는 영향을 술포호다민 B (sulforhodamine B: SRB법)로 측정하였다 (Lee et al, Chemico-Biol. Interact., 115, 215-228 (1998)). 사람 암세포주 (HCT116, 사람대장암세포; A549, 사람폐암세포; SNU638, 사람위암세포; LS174T, 사람대장암세포; MDA-MB-231, 사람유방암세포; T47D, 사람유방암세포)를 10% 소 태아 혈청(FBS), 1% 폴리술폰(POLYSULFONE, PSF) 등을 함유한 EMEM(Eagle's minimum essential medium) 배지에서 계대 배양하였다. 96-웰 플레이트의 각 웰에 10% DMSO에 녹아있는 시료 10㎕와 상기 세포현탁액 190㎕(5×10^4 cells/mL)(EMEM 배지)를 넣고 3일간 배양하였다. 적어도 16 웰에 상기 세포현탁액 190㎕를

넣고 30분간 배양하여 실험 전의 음성대조(zero-day control)로 사용하였다. 배양한 세포를 10% 트리클로로 아세트산(trichloroacetic acid, TCA)으로 고정시킨 후 SRB 용액으로 염색하고, 10 Mm 트리스 베이스 (Tris-base)로 염색액을 용해시킨 다음 515nm에서 흡광도를 측정하였다. 10% DMSO에서 배양한 경우를 대조군으로 하여 각 시험 물질처리에 따른 세포 성장율을 아래의 식에 따라 환산하였다.

[0084]

$$\text{성장율}\% = \frac{OD(sample) - OD(0\text{-}day)}{OD(10\%DMSO) - OD(0\text{-}day)} \times 100$$

[0085] 성장율은 위의 식으로 나타낸 바와 같이 시료를 처리하지 않은 대조군의 흡광도(OD)를 100%로 하고 시료 처치군의 흡광도 값(OD(sample))을 대조군에 대한 백분율로 나타내었으며, 각 물질은 5가지 농도 (200㎛M, 40㎛M, 8㎛M, 1.6㎛M, 0.32㎛M)에서 삼중 시험의 평균값±표준편차로 구하였다. 각 화합물이 암세포 성장에 미치는 영향을 확인하기 위하여 IC_{50} 값을 아래 표 2에 나타내었다. IC_{50} 값은 50% 성장율에 대한 시험 물질의 농도이다.

[0086] 표 2

[0087]

시료	HCT116	A549	SNU638	LS174T	MDA-MB-231	T47D
8	0.03	0.68	0.15	0.31	7.4	0.79
10	27.8	92.9	19.1	ND	ND	ND
ara-C (대조시료)	0.8	2.75	0.8	ND	ND	ND

[0088] (단위: ㎛M)

[0089] ND: Not Determined

[0090] 표 2로부터 본 발명에 따른 화합물 8 및 10은 약 0.3 내지 200㎛M 농도에서 시험된 암 세포주에 대한 50%의 증식억제작용이 있는 것으로 확인되었다. 즉, 시험관 내 시험 결과 본 발명에 따른 화합물은 대장암, 폐암, 위암, 및 유방암과 같은 다양한 암 세포에 대한 증식억제작용을 가지고 있는 것으로 확인되었다.