



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0123301
(43) 공개일자 2013년11월12일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 513/08 (2006.01) *C07D 498/08* (2006.01)
A61K 31/429 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2012-7033908
- (22) 출원일자(국제) 2011년05월26일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2012년12월26일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2011/038246
- (87) 국제공개번호 WO 2011/150283
국제공개일자 2011년12월01일
- (30) 우선권주장
61/348,978 2010년05월27일 미국(US)
- (71) 출원인
더 리젠크스 오브 더 유니버시티 오브 콜로라도, 어바디 코포레이트
미국 콜로라도 80203 덴버 제8 플로어 그랜트 스트리트 1800
- (72) 발명자
리우, 슈에동
미국, 콜로라도 80309, 니웃, 존슨 서클 7007
필립스, 앤드류, 제이
미국, 코네티컷 06437, 길포드 롱힐로드 1485
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인 원전

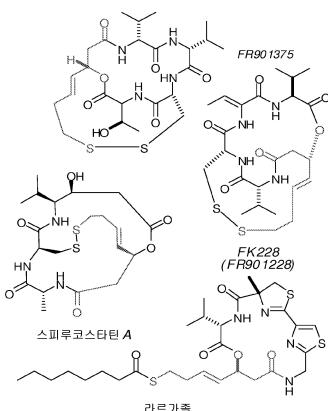
전체 청구항 수 : 총 19 항

(54) 발명의 명칭 히스톤 디아세틸라아제의 저해제들로서 유용한 거대고리 화합물들

(57) 요약

본 발명은 히스톤 디아세틸라아제(HDAC) 저해제 활성을 갖는 일반식 (I)의 신규 거대고리 화합물, 상기 화합물을 포함하는 약학 조성물 및 상기 화합물을 이용한 질병 치료방법을 제공한다.

대 표 도 - 도5



라르가종

(72) 발명자

언절먼노바, 다나

미국, 텍사스 77005, 휴스턴, 롱펠로우 레인 2

나스베척, 크리스토퍼, 지

미국, 메사추세츠 02180, 스톤햄, 필립스 로드 15

장, 간

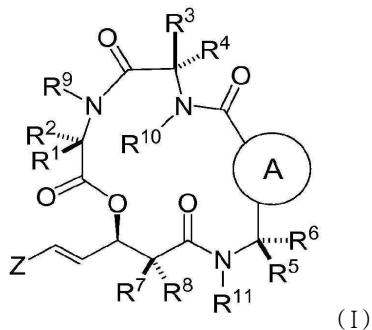
미국, 콜로라도 80309, 니웃, 존슨 셔틀 7007

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 I의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 전구약물 또는 입체이성질체:

[화학식 I]



식 중, "A"는, $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤테로시클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 할로, 히드록실, $-CN$, $-COOH$, $-CF_3$, $-OCH_2F$, $-OR_{20}$, $-NR_{20}R_{22}$, $-NCOR_{20}R_{22}$, $-CONR_{20}R_{22}$ 로부터 선택되는 하나 이상의 기들로 임의치환된, 아릴 또는 헤�테로아릴이고;

Z 는 $-(CH_2)_nSR_{12}^{\circ}$ 이고;

R_1 및 R_2 는 독립적으로 H , 할로, $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬이고,

또는 R_1 과 R_2 는 함께,

또는 R_1 , R_2 중 하나와 R_9 는 $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬을 형성하고,

여기에서 상기 $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬 및 $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬은 $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬, 아릴, 헤�테로아릴, 할로, 히드록실, $-CN$, $-COOH$, $-CF_3$, $-OCH_2F$, $-OR_{20}$, $-NR_{20}R_{22}$, $-NCOR_{20}R_{22}$, $-CONR_{20}R_{22}$ 로부터 선택되는 하나 이상의 기들로 임의치환되고;

R_3 및 R_4 는 독립적으로 H , 할로, $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬이거나, 또는

R_3 과 R_4 는 함께, 또는

R_3 , R_4 중 하나는 R_{10} 과 함께 $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬을 형성하고,

여기에서 상기 $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬 및 $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬은 $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬, 아릴, 헤�테로아릴, 할로, 히드록실, $-CN$, $-COOH$, $-CF_3$, $-OCH_2F$, $-OR_{20}$, $-NR_{20}R_{22}$, $-NCOR_{20}R_{22}$, $-CONR_{20}R_{22}$, $-S(O)R_{20}$ 로부터 선택되는 하나 이상의 기들로 임의치환되고;

R_5 및 R_6 은 독립적으로 H , 할로, $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬이거나, 또는

R_5 과 R_6 은 함께,

또는 상기 R_5 과 R_6 중 하나는 R_{11} 과 $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬을 형성하고,

여기에서 상기 $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬은 $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬, 아릴, 헤�테로아릴, 할로, 히드록실, $-CN$, $-COOH$, $-CF_3$, $-OCH_2F$, $-OR_{20}$, $-NR_{20}R_{22}$, $-NCOR_{20}R_{22}$, $-CONR_{20}R_{22}$ 로부터 선택되는 하나 이상의 기들로 임의치환되고;

R₇ 및 R₈은 독립적으로 H, 할로, C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬, C₃~C₁₀ 헤테로시클로알킬이거나, 또는

R₅ 및 R₆은 함께 C₃~C₁₀ 시클로알킬, C₃~C₁₀ 헤테로시클로알킬을 형성하고,

여기에서 상기 C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬, C₃~C₁₀ 헤테로시클로알킬은 C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬, C₃~C₁₀ 헤테로시클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 할로, 히드록실, -CN, -COOH, -CF₃, -OCH₂F, -OR₂₀, -NR₂₀R₂₂, -NCOR₂₀R₂₂, -CONR₂₀R₂₂로부터 선택되는 하나 이상의 기들로 임의치환되고;

R₉는 독립적으로 H, C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬, C₃~C₁₀ 헤�테로시클로알킬이거나, 또는 R₁, R₂ 중 하나와 함께 C₃~C₁₀ 시클로알킬, C₃~C₁₀ 헤�테로시클로알킬을 형성하고,

여기에서, 상기 C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬, C₃~C₁₀ 헤�테로시클로알킬은 C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬, C₃~C₁₀ 헤�테로시클로알킬, 아릴, 헤�테로아릴, 할로, 히드록실, -CN, -COOH, -CF₃, -OCH₂F, -OR₂₀, -NR₂₀R₂₂, -NCOR₂₀R₂₂, -CONR₂₀R₂₂로부터 선택되는 하나 이상의 기들로 임의치환되고;

R₁₀은 독립적으로 H, C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬, C₃~C₁₀ 헤�테로시클로알킬이거나, 또는 R₃, R₄ 중 하나와 함께 C₃~C₁₀ 시클로알킬, C₃~C₁₀ 헤�테로시클로알킬을 형성하고,

여기에서 상기 C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬, C₃~C₁₀ 헤�테로시클로알킬은 C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬, C₃~C₁₀ 헤�테로시클로알킬, 아릴, 헤�테로아릴, 할로, 히드록실, -CN, -COOH, -CF₃, -OCH₂F, -OR₂₀, -NR₂₀R₂₂, -NCOR₂₀R₂₂, -CONR₂₀R₂₂로부터 선택되는 하나 이상의 기들로 임의치환되고;

R₁₁은 독립적으로 H, C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬, C₃~C₁₀ 헤�테로시클로알킬이거나, 또는 R₅, R₆ 중 하나와 함께 C₃~C₈ 시클로알킬, C₃~C₈ 헤�테로시클로알킬을 형성하고,

여기에서 상기 C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬, C₃~C₁₀ 헤�테로시클로알킬은 C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬, C₃~C₁₀ 헤�테로시클로알킬, 아릴, 헤�테로아릴, 할로, 히드록실, -CN, -COOH, -CF₃, -OCH₂F, -OR₂₀, -NR₂₀R₂₂, -NCOR₂₀R₂₂, -CONR₂₀R₂₂로부터 선택되는 하나 이상의 기들로 임의치환되고;

R₁₂는 독립적으로 H, C₁~C₁₀ 알킬, -COR₂₀, -CONR₂₀R₂₂, -OR₂₀, -COOR₂₀, -COCR₂₀R₂₂NR₂₀R₂₂, -SR₂₀, -P(O)(OR₂₄)₂이고;

R₂₀ 및 R₂₂는 독립적으로 H, C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬, C₃~C₁₀ 헤�테로시클로알킬, 아릴 또는 헤�테로아릴이고;

R₂₄는 독립적으로 H, C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬, C₃~C₁₀ 헤�테로시클로알킬, Na, K 또는 Ca이고;

n = 1~6이고;

m = 1 또는 2이다.

청구항 2

제 1항에 있어서, 식 중 상기 "A"는 적어도 하나의 질소를 갖는 5원 또는 6원 헤테로아릴 고리인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 식 중 상기 "A"는 적어도 하나의 질소를 갖는 5원 헤�테로아릴 고리인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 4

제 1항에 있어서, 식 중 상기 "A"는 적어도 하나의 질소를 갖는 6원 헤�테로아릴 고리인 것을 특징으로 하는 화합물.

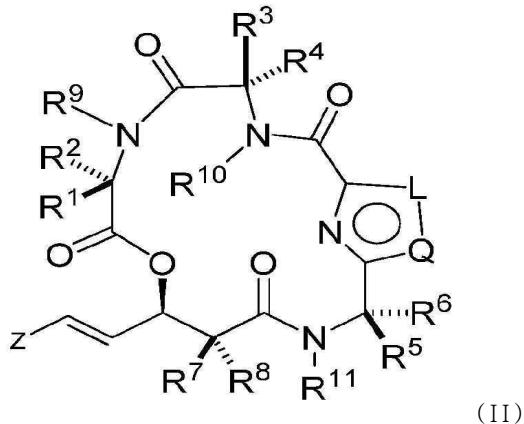
청구항 5

제 1항에 있어서, 식 중 상기 "A"는 5원 또는 6원 아릴 고리인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 6

제 3항에 있어서, 하기 화학식 (II)로 표시되는 것을 특징으로 하는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 전구약물 또는 입체이성질체:

[화학식 II]



식 중,

L 및 Q는 독립적으로 S, O, N 또는 CR₂₆이고;

R₂₆은 독립적으로 H, 할로, C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬, C₃~C₁₀ 헤테로시클로알킬, 아릴, 헤테로아릴이고, 여기에서 상기 C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬, C₃~C₁₀ 헤테로시클로알킬, 아릴 및 헤테로아릴은 C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬, C₃~C₁₀ 헤테로시클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 할로, 히드록실, -CN, -COOH, -CF₃, -OCH₂F, -OR₂₀, -NR₂₀R₂₂, -NCOR₂₀R₂₂, -CONR₂₀R₂₂로부터 선택되는 하나 이상의 기들로 임의지환된다.

청구항 7

제 3항에 있어서, 상기 헤테로아릴은 옥사졸 또는 티아졸인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 8

제 6항에 있어서, 식 중 R⁷ 및 R⁸은 독립적으로 H, CH₃ 또는 F이고;

L은 CR₂₆이고;

Q는 S 또는 O이다.

청구항 9

제 7항에 있어서, 식 중 R₁ 및 R₂는 독립적으로 H, C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬이거나, 또는 R₁ 및 R₂는 함께 C₃~C₁₀ 시클로알킬을 형성하고;

R₃ 및 R₄는 독립적으로 H, C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬이거나, 또는 R₃과 R₄는 함께 C₃~C₁₀ 시클로알킬을 형성하고;

R₅ 및 R₆은 독립적으로 H, C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬이거나, 또는 R₅와 R₆은 함께 C₃~C₁₀ 시클로알킬을 형성하고;

R₇ 및 R₈은 독립적으로 H, C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬이거나, 또는 R₇과 R₈은 함께 C₃~C₁₀ 시클로알킬을 형성

하고;

R_9 , R_{10} 및 R_{11} 은 독립적으로 H 또는 $C_1\sim C_{10}$ 알킬이고;

R_{12} 는 $-COR_{20}$ 이고, 여기에서 R_{20} 은 독립적으로 H 또는 $C_1\sim C_{10}$ 알킬인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 10

제 7항에 있어서, 하기로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 전구약물 또는 입체이성질체:

$S-(E)-4-((7S,10S)-7-0]소프로필-4,4-디메틸-2,5,8,12-테트라옥소-9-옥사-16-티아-3,6,13,18-테트라아자비시클로[13.2.1]옥타데카-1(17),15(18)-디엔-10-일)부트-3-에닐 옥탄티오에이트;$

$S-(E)-4-((7S,10S)-7-0]소프로필-4,4-디메틸-2,5,8,12-테트라옥소-9-옥사-16-티아-3,6,13,18-테트라아자비시클로[13.2.1]옥타데카-1(17),15(18)-디엔-10-일)부트-3-에닐 에탄티오에이트;$

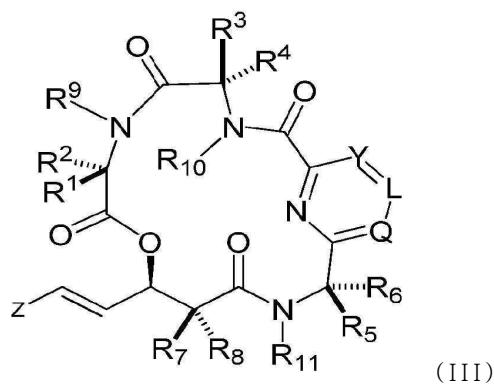
$S-(E)-4-((7S,10S)-7-0]소프로필-2,5,8,12-테트라옥소-9-옥사-16-티아-3,6,13,18-테트라아자스피로[비시클로[13.2.1]옥타데카[1(17),15(18)]디엔-4,1'-시클로프로판]-10-일)부트-3-에닐 옥탄티오에이트; 및$

$S-(E)-4-((7S,10S)-4,4,7-트리메틸-2,5,8,12-테트라옥소-9,16-디옥사-3,6,13,18-테트라아자비시클로[13.2.1]옥타데카-((17),15(18)-디엔-10-일)부트-3-에닐 옥탄티오에이트.$

청구항 11

제 4항에 있어서, 하기 화학식 (III)으로 표시되는 것을 특징으로 하는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 전구약물 또는 입체이성질체:

[화학식 III]



식 중,

L , Q 및 Y 는 독립적으로 S, O, N, 또는 CR_{26} 이고;

R_{26} 은 독립적으로 H, 할로, $C_1\sim C_{10}$ 알킬, $C_3\sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3\sim C_{10}$ 헤테로시클로알킬, 아릴, 헤테로아릴이고, 여기에서 상기 $C_1\sim C_{10}$ 알킬, $C_3\sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3\sim C_{10}$ 헤테로시클로알킬, 아릴 및 헤테로아릴은 $C_1\sim C_{10}$ 알킬, $C_3\sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3\sim C_{10}$ 헤테로시클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 할로, 히드록실, $-CN$, $-COOH$, $-CF_3$, $-OCH_2F$, $-OR_{20}$, $-NR_{20}R_{22}$, $-NCOR_{20}R_{22}$, $-CONR_{20}R_{22}$ 로부터 선택되는 하나 이상의 기들로 임의 치환된다.

청구항 12

제 11항에 있어서, 상기 식 중,

R_1 및 R_2 는 독립적으로 H, $C_1\sim C_{10}$ 알킬, $C_3\sim C_{10}$ 시클로알킬이거나, 또는 R_1 및 R_2 는 함께 $C_3\sim C_{10}$ 시클로알킬을 형성하고;

R_3 및 R_4 는 독립적으로 H, $C_1\sim C_{10}$ 알킬, $C_3\sim C_{10}$ 시클로알킬이거나, 또는 R_3 과 R_4 는 함께 $C_3\sim C_{10}$ 시클로알킬을 형성

하고;

R₅ 및 R₆은 독립적으로 H, C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬이거나, 또는 R₅ 및 R₆은 함께 C₃~C₁₀ 시클로알킬을 형성하고;

R₇ 및 R₈은 독립적으로 H, C₁~C₁₀ 알킬, C₃~C₁₀ 시클로알킬이거나, 또는 R₇ 및 R₈은 함께 C₃~C₁₀ 시클로알킬을 형성하고;

R₉, R₁₀ 및 R₁₁은 독립적으로 H 또는 C₁~C₁₀ 알킬이고;

R₁₂는 -COR₂₀이고, 여기에서 R₂₀은 독립적으로 H 또는 C₁~C₁₀ 알킬인 것을 특징으로 하는 화합물.

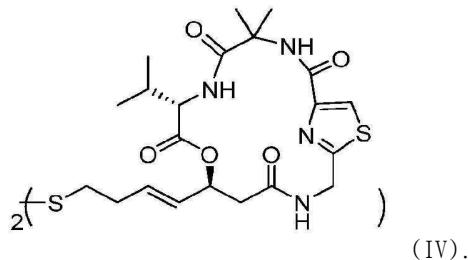
청구항 13

제 11항에 있어서, (7S,10S)-4,4-디메틸-10-[(1E)-4-(옥타노일슬파닐)부트-1-엔-1-일]-7-(프로판-2-일)-9-옥사-3,6,13,19-테트라아자비시클로[13.3.1]노나데카-1(18),15(19),16-트리엔-2,5,8,12-테트론, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 전구약물 또는 입체이성질체인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 14

하기 화학식 IV의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 전구약물 또는 입체이성질체:

[화학식 IV]



청구항 15

제 1항의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물.

청구항 16

제 15항에 있어서, 하나 이상의 항암제들을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 17

제 16항에 있어서, 상기 하나 이상의 항암제들은 시클로포스파미드, 다카르바진, 시스플라틴, 메토트렉세이트, 머캡토푸린, 티오구아닌, 플루오로우라실, 시타라빈, 빈블라스틴, 파클리탁셀, 독소루비신, 블레오마이신, 미토마이신, 프레드니손, 타목시펜, 플루타미드, 아스파라기나아제, 리툭시맙, 트라추주맙, 이마티닙, 레티논산, 아미포스틴, 캄프토테신, 토포테칸, 탈리도미드, CDK 저해제, 프로테아좀 저해제, 및 HDAC 저해제로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 18

제 1항의 화합물의 치료유효량을, 그를 필요로 하는 대상에게 투여하는 것을 포함하는, HDAC 효소들에 의해 매개되는 질병의 치료방법.

청구항 19

제 18항에 있어서, 상기 질병은 암, 염증성 질환들, 자가면역 질환들, 알러지 질환들 및 각종 중추신경계 질환들로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

명세서

기술 분야

[0001] 관련 출원들

[0002] 본 출원은, 2010.5.27 출원된 미국 가출원 번호 61/348,978를 우선권으로 주장하며, 이는 본 명세서에서 그 전체로서 참고문헌으로 포함된다.

[0003] 연방정부 후원 연구 하에 만들어진 발명들에 대한 권리 성명

[0004] 본 발명은 미국 국립 보건원(NIH)에 의해 수여된 R01 CA 107098 및 R01 CA110246 하의 정부 지원으로 본 발명을 만들었다. 정부는 본 발명에 대한 일정 권리를 갖는다.

[0005] 기술분야

[0006] 본 발명은 히스톤 디아세틸라아제(HDAC) 저해 성질을 갖는, 일반적으로 일련의 신규 거대고리 데시펩티드(depsipeptide) 화합물들에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명의 개시는 세포 성장을 선택적으로 저지하고, 종양성신생물(neoplastic) 세포들의 최종 분화를 유도 및/또는 이들의 세포자살(apoptosis)을 일으켜서 이들의 증식을 저해하는 용도에 적합한 화합물들을 설명한다. 본 개시는 이를 신규 거대고리 화합물들의 제조방법, 선택적 저해 HDAC 이소폼들(isoforms)을 포함하여 암에 대한 타겟 치료요법을 제공하는 약학 조성물 및 치료 방법을 기재한다. 본 발명의 화합물들은 염증성 질환들, 자동면역 질환들, 알러지 질환들 및 각종 중추신경계 질환들과 같은 HDAC 조절이상에 의해 유도된 질환들의 처리에도 유용할 수 있다.

배경 기술

[0007] 라르가졸(largazole)은 해양 시아노박테리아 심플로카 종(Symploca sp.)으로부터 기원하여 분리되는 고리형 데시펩티드로, 항종양제인 것으로 나타났다(Taori 등, 2008). 라르가졸은 히스톤 디아세틸라아제들을 특이적으로 타겟하며, 이의 기능장애는 각종 인간 종양과 종종 연관된다.

[0008] 라르가졸은: (i) 각종 세포주들에 대한 nM GI₅₀ 값을 나타낸다(예로서, MDA-MB-231 유방 암종세포들(carcinoma), GI₅₀=7.7nM; U20S, 섬유모세포 클육종 세포들, GI₅₀=55nM; HT29 결장(colon) 세포, GI₅₀=12nM; IMR-32 신경모세포종(neuroblastoma) 세포들(Taori 등 2008), GI₅₀=16nM) (Taori 등, 2008), (ii) 형질전환 세포들 및 비-형질전환 세포들간의 디스플레이 차별 활성 (Nasveschuk 등 2008; Taori 등 2008; Ungermannova 2010) 및 (iii) 다른 데시펩타이드들보다 구조적으로 간단하고, 아마도 합성면에서 다루기가 더 쉽다.

[0009] 상기 라르가졸 분자는 입증된 항종양제이나, 향상된 HDAC 저해성을 갖고, 독성 및 생리화학적 프로파일들이 암 치료를 향상시키는 결과를 갖는 개선된 구조적 유사체들에 대한 필요가 항상 있다.

[0010] HDACs의 비교적 비특이적 저해제들로서 알려진 DMSO와 부티레이트는 수년간, 특정 백혈병 세포들이 분화 및 종양성신생물 성장 억제를 유도할 수 있다는 것이 알려져 왔다(Sato 등, 1971; Leder 등, 1975).

[0011] 최근 몇년, HDACs 및 히스톤 아세틸라아제들(HATs)은 전사 조절에 중요한 역할을 하는 것으로서 널리 인식되어 왔다(Minucci and Pelicci 2006). 히스톤 및 히스톤 H4 꼬리들 중 리신의 아세틸화는, 전사에 대해 준비된, 또는 활성적으로 전사된 게놈 영역들의 부분인 염색질 상태에 강하게 상관되었다. 히스톤들의 아세틸화 역시, 염색질 어셈블리, DNA 복구 및 재조합을 포함하는 다른 중요한 세포 기능과 상관된다.

[0012] 인간 게놈 중에는 4개 클래스(class)들로 분류될 수 있는 18개의 효소들이 존재한다(Lane and Chabner 2009). 클래스 I, II 및 IV는 모두, 그들의 활성 자리에 아연 (Zn²⁺) 분자를 포함한다 ((Lane and Chabner 2009)로부터 채택된 표 1).

[0013] 이들의 종양 세포들 중 전사 조절 및 이들의 조절 방해에서의 중요한 역할로 인하여, HDAC의 저해는 암치료제에 효과적인 방법일 수 있음이 가정되어 왔다. 결과적으로, 잠재적인 항암약물로서 HDAC 효소들의 저해제들이 실질적으로 개발되어 왔다 (Marks). 이러한 HDACi에 대한 임상적 적절성은 증명되었으며, 2006년 후반 피부 T-세포 림프종의 치료에 대한 보리노스탯(vorinostat) (Zolinza™ Merck, SAHA=수베로일아닐리드 히드록삼산으로서도 널리 알려져 있음) 및 보다 최근에는 로미펩신(Romidepsin) (FK228) (Marks)의 도입에 의하여 최근 강조되어 왔다.

[0014] HDAC의 촉매활성은 세린 프로테아제 및 메탈로프로테아제 효소들 모두로부터의 특징들을 갖는다. HDAC8 및 세

균성 히스톤 디아세틸라아제-유사 단백질 (HDLP)의 결정 구조들에 기초하여, 디아세틸화 반응에 대한 메커니즘이 제안되어 왔다(Finnin 등 1999; Somoza 등 2004; Vannini 등 2004). 이에는 깊은, 튜브같은 좁은 포켓 (pocket)이 있으며, 이는 바닥 및 그 포켓의 테를 형성하는 내부공으로 뻗어있다 (도 1.1). 이 튜브의 내부는 소수성 및 방향족 잔기들로 구성된다. 아연 이온은 포켓의 바닥에 위치하며, Zn^{2+} 및 His 142, 일반 염기로서 작용하여, 기질의 카르보닐기 상에서의 친핵성 공격을 위해 물 분자를 활성화시킨다. 이는 Tyr 306과 수소결합의 형성에 의해 안정화되는 탄소 4면체 및 리신 이탈기(leaving group)를 양성자화하는 일반산 His 143을 결과로서 수득하여, 아세테이트 생성물과 리신 생성물을 산출한다. His 142 및 His 143은 모두 Asp 166-His 131 차지-릴레이(charge-relay) 시스템에 뒀으며, 이는 His 잔기들의 염기성도를 조절하는 것으로 제안되었다 (도 1.4)(Finnin 등, 1999).

[0015]

대다수의 HDAC 저해제들의 작용 모드는 디아세틸라아제와의 기질 상호작용들과 유사하여, 히스톤 단백질의 꼬리 (tail) 상에 위치된 아세틸화 리신 잔기의 도입을 방해한다. 모든 소형 분자 히스톤 디아세틸라아제 저해제들은 HDAC 저해에 기여하는 3개의 구조 성분들을 갖는다: (1) HDAC의 튜브형 포켓의 가장자리에 정착되는(anchor) 표면 인식 도메인, (2) 아연 결합 자리, (3) 상기 표면 인식 도메인을 아연 결합 자리에 연결하는 링커 영역 (Finnin 등, 1999). 도 1.5 ((Newkirk 등, 2009)으로부터 변경)는 몇몇 알려진 HDAC 저해제들의 일반적인 약물특이분자단(pharmacophore) 모델을 나타낸다.

[0016]

SAHA는 HDACs의 활성 자리에서 말단 헤드록삼산에 의한 Zn^{2+} 이온의 배위에 의한 직접적인 방식으로 HDACs의 변조에 의하여 적어도 부분적으로 그의 항암작용을 나타내지만, 부분적으로는 그의 구조적 단순성으로 인하여, HDACs의 3 클래스들 중에서 좋지않은 선택성을 나타낸다 (Minucci and Pelicci 2006; Lane and Chabner 2009). HDACs의 클래스 I은 암 치료에 더욱 상관되며, HDAC 저해제들의 좋지않은 선택성은 만성 독성들에 대한 원인이 된다는 것이 일반적으로 인식되어져 있다(Minucci and Pelicci 2006; Lane and Chabner 2009). 보다 특이적인 클래스 I HDAC 저해제들을 찾기 위한 조사로, 다수의 천연 생산물 템시펩타이들이 발견되어 왔으며, 이들은 FR901375 (Koh 1991), FK228 (Ueda 등 1994a), 스피루코 스타틴 A(spirucho statin A) (Masuoka 등, 2001) 및 매우 최근에 분리된 라르가졸 (Taori 등, 2008)을 포함한다 (도 2). 템시펩타이드들로 알려진 이들 천연 생산물들은, 이를 모두 (3S,4E)-3-히드록시-7-머캡토-4-헵텐산 측체를 갖는다는 공통점을 갖고 있다 (Newkirk 등, 2009). HDAC의 저해 활성을 풀어내기 위해서는, 이 부류의 화합물들에서 자유 수프히드릴(sulphydryl) (티올)이 노출되어야만 하며, 이는 상기 티올이 활성 자리 Zn^{2+} 이온과 배위하여 촉매작용을 방지하기 때문이다.

[0017]

라르가졸의 Zn^{2+} 결합 부분은, 티오에스테르가 가수분해에 의해 제거되지 않는 경우 비활성이다. 라르가졸-티올은 HDACs를 잠재적으로 저해하는 활성종임이 증명되었다 (Bowers 등, 2008; Ying 등, 2008b). 따라서, 라르가졸은 세포들 내로의 흡수(uptake)시 에스테르아제/리파제들에 의해 활성화되거나 또는 담체/운송 단백질에 접합되어(conjugate) 세포내적으로(intracellularly) 티올로 환원되는 전구약물인 것이 대부분이다. 생물학적으로 유력한(potent) 선도 화합물들의 물리화학적 및 약물동력학적 성질들을 향상시키기 위한 전구약물 설계에서의 현저한 개발들이 있어왔다 (Rautio 등, 2008). 그러나, 이들 전략들이 라르가졸에는 체계적으로 적용되지 않았다.

발명의 내용

[0018]

발명의 요약

[0019]

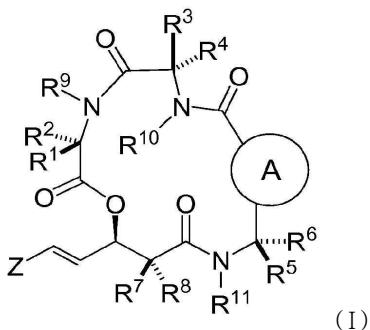
본 발명은 암 치료 분야에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 신규 거대고리 화합물들 및 이들을 포함하는 약학 조성물들을 설명한다. 또한, 본 발명은 이들 화합물들의 제조 및 이용을 위한 신규 공정을 설명한다. 이들 거대고리 화합물들은 HDAC 저해제들이며, 암치료에 대한 항증식제로서 유용하다. 본 명세서에서 설명된 방법들은 항암치료에서 HDACs를 타겟으로 하는 선택성을 갖는 화합물들을 확인하였다. 이들 화합물들은, 그의 기능이상이 종종 각종 인간 종양과 관련된 HDACs를 타겟팅한다 (Marks and Breslow 2007).

[0020]

한 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 전구약물 또는 입체이성질체를 제공한다:

[0021]

[화학식 I]



[0022]

(I)

[0023]

식 중, "A"는, $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤테로시클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 할로, 히드록실, $-CN$, $-COOH$, $-CF_3$, $-OCH_2F$, $-OR_{20}$, $-NR_{20}R_{22}$, $-NCOR_{20}R_{22}$, $-CONR_{20}R_{22}$;로부터 선택되는 하나 이상의 기들로 임의치환된, 아릴 또는 헤�테로아릴이고;

[0024]

Z 는 $-(CH_2)_nSR_{12}$ 이고;

[0025]

R_1 및 R_2 는 독립적으로 H , 할로, $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬이고,

[0026]

또는 R_1 과 R_2 는 함께,

[0027]

또는 R_1 , R_2 중 하나와 R_9 는 $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬을 형성하고, 여기에서 상기 $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬 및 $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬은 $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬, 아릴, 헤�테로아릴, 할로, 히드록실, $-CN$, $-COOH$, $-CF_3$, $-OCH_2F$, $-OR_{20}$, $-NR_{20}R_{22}$, $-NCOR_{20}R_{22}$, $-CONR_{20}R_{22}$ 로부터 선택되는 하나 이상의 기들로 임의치환되고;

[0028]

R_3 및 R_4 는 독립적으로 H , 할로, $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬이거나, 또는

[0029]

R_3 과 R_4 는 함께, 또는

[0030]

R_3 , R_4 중 하나는 R_{10} 과 함께 $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬을 형성하고, 여기에서 상기 $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬 및 $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬은 $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬, 아릴, 헤�테로아릴, 할로, 히드록실, $-CN$, $-COOH$, $-CF_3$, $-OCH_2F$, $-OR_{20}$, $-NR_{20}R_{22}$, $-NCOR_{20}R_{22}$, $-CONR_{20}R_{22}$, $-S(O)_mR_{20}$ 로부터 선택되는 하나 이상의 기들로 임의치환되고;

[0031]

R_5 및 R_6 은 독립적으로 H , 할로, $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬이거나, 또는

[0032]

R_5 과 R_6 은 함께,

[0033]

또는 상기 R_5 과 R_6 중 하나는 R_{11} 과 $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬을 형성하고, 여기에서 상기 $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬은 $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬, 아릴, 헤�테로아릴, 할로, 히드록실, $-CN$, $-COOH$, $-CF_3$, $-OCH_2F$, $-OR_{20}$, $-NR_{20}R_{22}$, $-NCOR_{20}R_{22}$, $-CONR_{20}R_{22}$ 로부터 선택되는 하나 이상의 기들로 임의치환되고;

[0034]

R_7 및 R_8 은 독립적으로 H , 할로, $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬이거나, 또는

[0035]

R_7 및 R_8 은 함께 $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬을 형성하고, 여기에서 상기 $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬은 $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬, 아릴, 헤�테로아릴, 할로, 히드록실, $-CN$, $-COOH$, $-CF_3$, $-OCH_2F$, $-OR_{20}$, $-NR_{20}R_{22}$, $-NCOR_{20}R_{22}$, $-CONR_{20}R_{22}$ 로부터 선택되는 하나 이상의 기들로 임의치환되고;

[0036]

R_9 는 독립적으로 H , $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬이거나, 또는 R_1 , R_2 중 하나와 함께 $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬을 형성하고, 상기 $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클

로알킬은 $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤테로시클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 할로, 히드록실, $-CN$, $-COOH$, $-CF_3$, $-OCH_2F$, $-OR_{20}$, $-NR_{20}R_{22}$, $-NCOR_{20}R_{22}$, $-CONR_{20}R_{22}$ 로부터 선택되는 하나 이상의 기들로 임의치환되고;

[0037] R_{10} 은 독립적으로 H , $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬이거나, 또는 R_3 , R_4 중 하나와 함께 $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬을 형성하고, 여기에서 상기 $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬은 $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬, 아릴, 헤�테로아릴, 할로, 히드록실, $-CN$, $-COOH$, $-CF_3$, $-OCH_2F$, $-OR_{20}$, $-NR_{20}R_{22}$, $-NCOR_{20}R_{22}$, $-CONR_{20}R_{22}$ 로부터 선택되는 하나 이상의 기들로 임의치환되고;

[0038] R_{11} 은 독립적으로 H , $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬이거나, 또는

[0039] R_5 , R_6 중 하나와 함께 $C_3 \sim C_8$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_8$ 헤�테로시클로알킬을 형성하고, 여기에서 상기 $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬은 $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬, 아릴, 헤�테로아릴, 할로, 히드록실, $-CN$, $-COOH$, $-CF_3$, $-OCH_2F$, $-OR_{20}$, $-NR_{20}R_{22}$, $-NCOR_{20}R_{22}$, $-CONR_{20}R_{22}$ 로부터 선택되는 하나 이상의 기들로 임의치환되고;

[0040] R_{12} 는 독립적으로 H , $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $-COR_{20}$, $-CONR_{20}R_{22}$, $-OR_{20}$, $-COOR_{20}$, $-COCR_{20}R_{22}NR_{20}R_{22}$, $-SR_{20}$, $-P(0)(OR_{24})_2$ 이고;

[0041] R_{20} 및 R_{22} 는 독립적으로 H , $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬, 아릴 또는 헤�테로아릴이고;

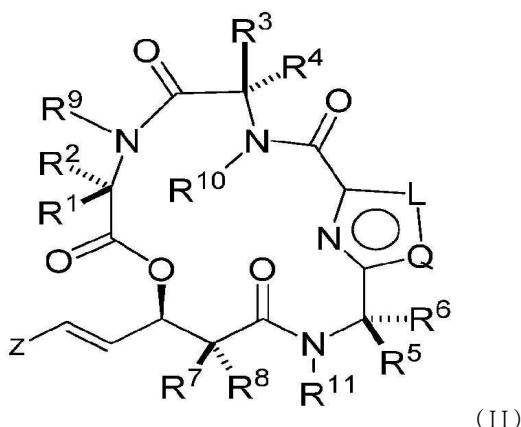
[0042] R_{24} 는 독립적으로 H , $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬, Na , K 또는 Ca 이고;

[0043] $n = 1 \sim 6$ 이고;

[0044] $m = 1$ 또는 2 이다.

[0045] 또다른 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 (II)의 화합물들 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 전구약물 또는 입체이성질체를 제공한다:

[화학식 II]



(II)

[0047]

식 중,

[0049]

L 및 Q 는 독립적으로 S , O , N 또는 CR_{26} 이고;

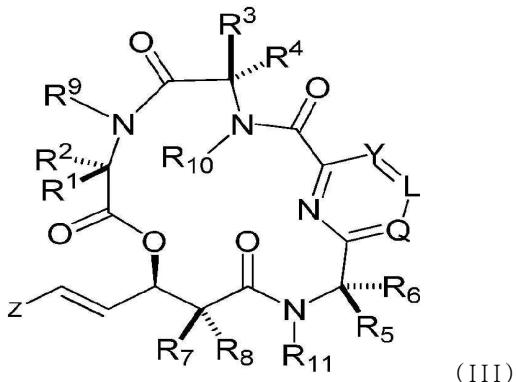
[0050]

R_{26} 은 독립적으로 H , 할로, $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬, 아릴, 헤�테로아릴이고, 여기에서 상기 $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬, 아릴 및 헤�테로아릴은 $C_1 \sim C_{10}$ 알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3 \sim C_{10}$ 헤�테로시클로알킬, 아릴, 헤�테로아릴, 할로, 히드록실, $-CN$, $-COOH$, $-CF_3$, $-OCH_2F$, $-OR_{20}$, $-NR_{20}R_{22}$, $-NCOR_{20}R_{22}$, $-CONR_{20}R_{22}$ 로부터 선택되는 하나 이상의 기들로 임의치환되고;

[0051] $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11}$ 및 Z 는 상기 설명된 바와 같다.

[0052] 또다른 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 (III)의 화합물들 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 전구약물 또는 입체이성질체를 제공한다:

[0053] [화학식 III]



[0054]

식 중,

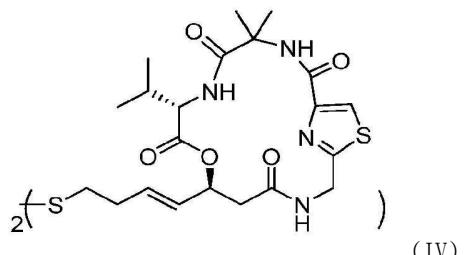
[0056] L, Q 및 Y 는 독립적으로 S, O, N , 또는 CR_{26} 이고;

[0057] R_{26} 은 독립적으로 H , 할로, $C_1\sim C_{10}$ 알킬, $C_3\sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3\sim C_{10}$ 헤테로시클로알킬, 아릴, 헤테로아릴이고, 여기에서 상기 $C_1\sim C_{10}$ 알킬, $C_3\sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3\sim C_{10}$ 헤테로시클로알킬, 아릴 및 헤�테로아릴은 $C_1\sim C_{10}$ 알킬, $C_3\sim C_{10}$ 시클로알킬, $C_3\sim C_{10}$ 헤테로시클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 할로, 히드록실, $-CN$, $-COOH$, $-CF_3$, $-OCH_2F$, $-OR_{20}$, $-NR_{20}R_{22}$, $-NCOR_{20}R_{22}$, $-CONR_{20}R_{22}$ 로부터 선택되는 하나 이상의 기들로 임의 치환되고;

[0058] $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11}$ 및 Z 는 상기 설명된 바와 같다.

[0059] 또다른 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 (IV)의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 전구약물 또는 입체이성질체를 제공한다:

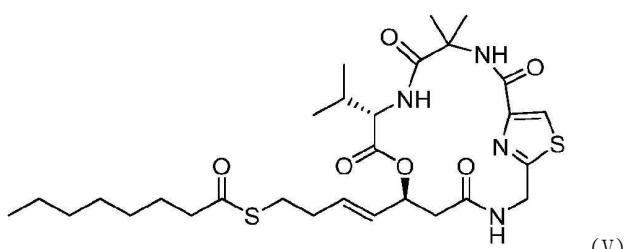
[0060] [화학식 IV]



[0061]

[0062] 또다른 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 (V)의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 전구약물 또는 입체이성질체를 제공한다:

[0063] [화학식 V]

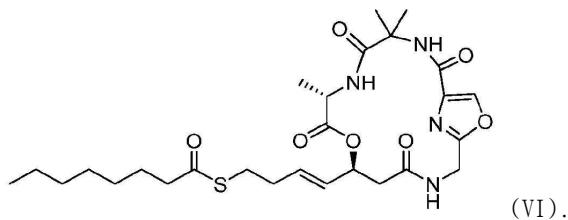


[0064]

[0065] 또다른 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 (VI)의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 전구

약물 또는 입체이성질체를 제공한다:

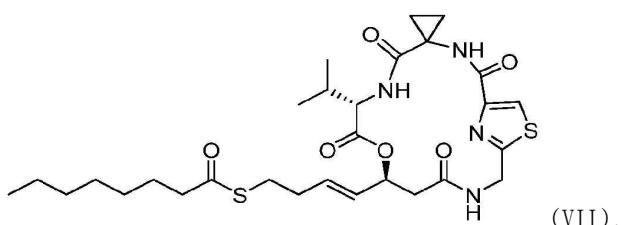
[0066] [화학식 VI]



[0067]

또다른 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 (VII)의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 전구약물 또는 입체이성질체를 제공한다:

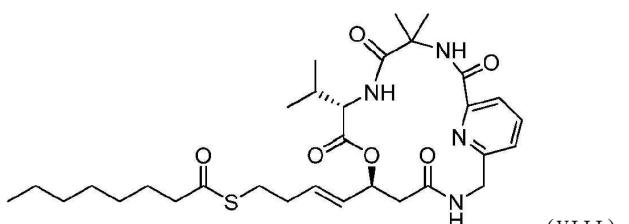
[0069] [화학식 VII]



[0070]

또다른 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 (VIII)의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 전구약물 또는 입체이성질체를 제공한다:

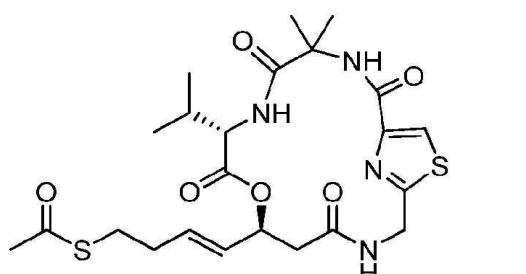
[0072] [화학식 VIII]



[0073]

또다른 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 (IX)의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 전구약물 또는 입체이성질체를 제공한다:

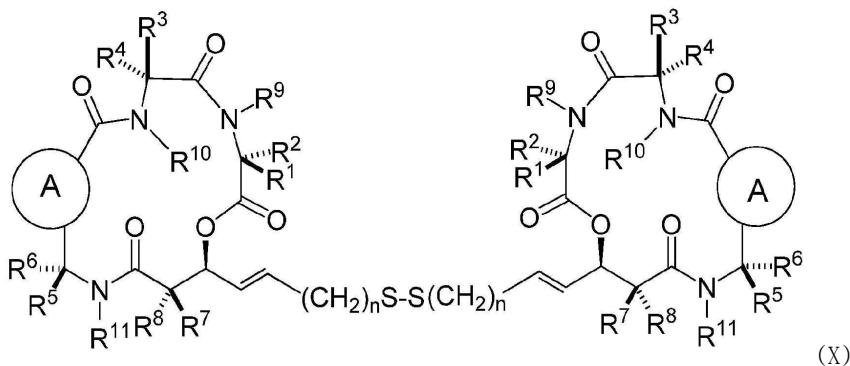
[0075] [화학식 IX]



[0076]

또다른 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 (X)의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 용매화물, 전구약물 또는 입체이성질체를 제공한다:

[0078] [화학식 X]



[0079]

식 중, A, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, R₁₁ 및 n은 상기 설명된 것과 같다.

[0080]

또다른 측면에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된, 화합물들 또는 하나 이상의 화합물들의 약학적으로 허용가능한 염들 및 약학적으로 허용가능한 담체의 약학 조성물들을 제공한다.

[0081]

또다른 측면에서, 본 발명은, 본 명세서에 기재된 하나 이상의 화합물들의 치료유효량을 그를 필요로 하는 실험 대상(subject)에게 투여하는 것을 포함하는, HDAC 효소들에 의해 매개되는 질병들의 치료방법을 제공한다. 다른 방법들은 본 발명의 하나 이상의 화합물들을 다른 항암제들과 함께 투여함에 의한 병용치료(co-therapies)를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0082]

도 1은 전사 조절에서 HAT 및 HDAC의 잠재적인 역할을 예시한다.

A) HAT 및 HDAC에 의한 히스톤 변경.

B) 유전자 발현의 조절은 공동활성화제(co-activator) 또는 공동억제제(co-repressor) 복합체에 의해 스위치된다. 도면 및 설명은 (Kim 등, 2003)으로부터 변경 적용됨.

도 2는 HDLP-TSA 복합체들의 몇몇 구체예들을 나타낸다.

A) 활성자리 포켓에서 TSA의 공간-충전(Space-filling) 표현. TSA의 히드록삼산기, 대부분의 지방성 사슬 및 디메틸아미노-페닐기의 일부는 묻혀있다(TSA의 표면적의 60%).

B) HDLP-TSA 상호작용들의 도식적 표현. 패널들 및 부분 설명은 (Finnin 등, 1999)으로부터 변경 적용되었다.

도 3은 아연-의존성 HDACs의 작용의 제안된 메커니즘을 나타낸다.

도 4는 HDACi 약물특이분자단의 한 구체예를 나타낸다. 상단 캡 영역; 아연-결합부분과 함께, 바닥의 링커. 도면 및 설명은 (Newkirk 등, 2009)으로부터 변경 적용되었다.

도 5는 천연생산물 템시펩타이드 HDAC 저해제들이다. 주요 티올-함유 도메인을 나타내었다.

도 6은 HDAC 저해를 실시하는 라르가졸 및 FK228의 가능한 활성화를 나타낸다. 라르가졸은 가수분해시 대용 티올로 전환되어, 상기 효소의 활성 자리로부터 멀리 아연을 킬레이트결합하므로써 HDAC를 탈활성화시키는 전구약물이다. 유사한 방식으로, FK228에서 이황화물 결합의 환원은 HDACs를 잠재적으로 저해하는 티올을 자유롭게한다.

도 7은 라르가졸, 및 라르가졸의 몇몇 구조적 유사체들의 구조를 제공한다. 실시예 1은 CGN 552로서도 언급된다.

도 8은 라르가졸, 이의 선택된 유사체들을 나타내는 예시적인 데이터들을 나타내며, SAHA는 HCT 116 암세포주에서 H3 과아세틸화(hyperacetylation)를 촉진한다.

a) 라르가졸 (L) 및 SAHA는 시간-의존적인 방식으로 H3 탈아세틸화를 저해한다. HCT 116 세포들은 10nM 라르가졸 또는 200nM SAHA로, 패널에 나타낸 횟수만큼 처리되었다. 세포 추출물들은 SDS-PAGE 전기영동을 통하여 분리되었고, 결과의 밴드들은 항-아세틸-H3 항체들을 이용하여 검출되었다. DMSO-처리된 세포들은 음성 대조구로서의 역할을 하며, 한편 GAPDH의 발현은 동일한 부하를 나타내는데 사용되었다.

b) HCT116 세포들은 라르가졸, 그의 선택적 유사체들 및 SAHA에 대하여 투여량-의존적 방식으로 반응한다. 세포들은 $1 \mu M$ 내지 $100nM$ 범위의 농도의 표시 화합물로, 8시간 동안 처리되었으며, 항-아세틸히스톤 H3 항체로 면역블로팅되었다. CGN-722, CGN-552 및 CGN-596은 라르가졸 (L) 및 SAHA보다 약간 더 효능있는 디아세틸라아제 저해제들이다. 티오에스테르의 케톤, (CGN-363)으로의 전환은 화합물이 HDAC 저해에 대하여 비활성이 되도록 한다.

도 9는 SAHA, 라르가졸 및 그의 선택된 유사체 실시예 1이 HCT 116 암세포주에서의 유전자 발현 프로파일에서 구분되는 변화를 일으킨다는 것을 나타내는 DNA 마이크로어레이(microarray) 데이터를 나타낸다. a) 나타낸 처리에 따른 HCT 116 세포들에서 유전자 발현 프로파일들 중 계층적 클러스터링(clustering) 및 히트맵(heatmaps) 변화들, b) 고유 및 공통된 유전자 세트들을 나타내는 벤다이어그램(Venn diagrams)으로 상기 세트들의 발현 수준은 6시간 및 24시간 째에서 나타낸 처리에 노출시 2배가 넘게 변화되었다.

표 1은 HDAC 이소폼들의 분류를 나타낸다. 클래스 I은 HDAC 1, 2, 3 및 8로 이루어진다. 클래스 II는 HDAC 4, 5, 6, 7, 9 및 10으로 이루어진다.

표 2는 본 발명의 실시예의 화합물들과 함께 라르가졸, 라르가졸 유사체들의 암세포 성장 저해에 대한 효과를 나타내는 예시적인 데이터를 나타낸다.

인간 암세포주들 HCT116, SW480 및 MDA-MB231에서의 라르가졸의 세포독성 효과의 비교분석. HME는 대조구로서 사용되었다. 8,000개 세포들을, 96-웰 플레이트들에 도말하였으며, 여기에서 상기 1열 및 10열은 DMSO로 처리되었으며, 2열은 백그라운드(background) 수준을 수립하기 위하여 세포들이 없었으며, 3~9열은 감소되는 농도로 화합물들을 포함하였다. 세포들을 라르가졸과 함께 48시간 동안 인큐베이션하였으며, 이어서 크리스탈(crystal) 보라색 염료로 염색하였다. Tecan Sail re II 플레이트 리더기를 이용하여 $588nM$ 에서의 흡광도를 측정하였다. 6개의 복제물들에서 실험을 수행하였으며, GraphPad Prism (San Diego, CA)을 이용하여 데이터의 최소제곱 비선형 회귀분석에 의해 농도-반응 곡선들을 만들었다. 각 화합물에 대한 성장 저해 (GI_{50})는 대조구와 비교하여 A588에서 50% 감소를 일으키는 약물 농도로서 정의하였다.

표 3은 DMSO에 비교하여, 나타낸 화학물질들을 이용한 처리시, 그 발현 수준이 2배까지 변화된 유전자들의 수를 요약한 것이다.

각 샘플에 대한 발현 값 파일들은 Robust Multichip Average (RMA) 알고리즘을 이용하여 생성하였다. 차별(differential) 발현은 R 소프트웨어 패키지 리마(limma)를 이용하여 결정하여 선형 모델 및 경험적 베이스 통계학(Bayesian statistics)을 생성하였다. 유전자들은, Benjamini와 Hochberg 방법을 이용한 다중 검정시험에 대하여 조정된 P 값이 $\leq 5\%$ 이고, 로그-2배 변화가 ≤ 1 또는 ≥ -1 인 경우, 차별적으로 발현되는 것으로 고려되었다.

발명의 상세한 설명

하기 설명은 단지 예시적인 것으로, 본 발명의 개시, 적용 또는 용도들을 제한하고자 하는 것은 아니다.

정의들

본 명세서에서 사용된, "...를 치환"이라는 표현은, 제 1의 화합물 또는 약물의 일정 실험대상으로의 투여를 제2의 화합물 또는 약물로 바꾸어 그 실험대상에게 투여한다는 것을 의미한다. 예로서, 중독성 화합물을 크라톱(Kratom) 추출물로 치환할 수 있으며, 이는 중독성 화합물 대신 크라톱 추출물을 실험대상에게 투여하는 것이다.

본 명세서에서 사용된, "...에 대한 우려(at risk for)"라는 표현은, 환자에게 특정 질환 또는 병에 걸리기 쉽게 되도록 하는, 환자가 나타내는 의학적 상태 또는 의학적 상태들의 세트를 의미하는 것이다. 예로서, 이들 상태들은 이에 제한되지는 않지만, 행동, 감정, 화학적, 생화학적 또는 환경적 영향들을 포함하는 영향들로부터 초래될 수 있다.

본 명세서에서 사용된, "유효량"이라는 표현은, 임상적으로 유익한 결과를 달성(즉, 예로서 증상의 감소)하는 약제를 포함하는 약학 조성물의 특정량을 의미한다. 이러한 조성물들의 독성 및 치료 효능은 세포 배양 또는 실험 동물들에서의 표준 제약학적 절차들, 예로서 LD_{50} 결정 (개체군 중 50% 치사율에 대한 투여량) 및 ED_{50} (개체군 중 50% 치료효능에 대한 투여량) 결정에 의해 결정될 수 있다. 독성 및 치료 효과간의 투여량 비율은 치료 지수(therapeutic index)로, 이는 LD_{50}/ED_{50} 의 비로서 표현될 수 있다. 큰 치료 지수들을 나타내는 화합물들

이 바람직하다. 이들 세포 배양 분석들 및 추가적인 동물 연구들로부터 수득된 데이터는 인간 용도에서의 투약량(dosage) 범위를 조제하는데 사용될 수 있다. 이러한 화합물들의 투약량은 바람직하게는, 독성이 적거나 없이, ED₅₀ 을 포함하는 순환 농도 범위 내에 있다. 상기 투약량은 사용된 투약량 형태, 환자의 민감도, 및 투여 경로에 따라, 이 범위 내에서 변화된다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은 "증상"이라는 표현은, 환자에서 관찰되는 질환 또는 물리적 장애의 주관적 또는 객관적인 임의의 증거를 의미한다. 예로서, 주관적인 증거는 일반적으로 환자 자신이 알리는 것에 기초하며, 이는 이에 제한되지는 않지만, 통증, 두통, 시각 장애, 오심 및/또는 구토를 포함할 수 있다. 다른 계는, 객관적 증거는 일반적으로, 이에 제한되지는 않지만, 체온, 전혈구(complete blood count), 지질 패널들(panels), 갑상선 패널들, 혈압, 심박속도, 심전도, 조직체 영상 스캔들 및 기타 의학적 시험 결과들을 포함하는 의학적 시험의 결과이다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "질환"이라는 용어는, 생명 기능들의 수행을 방해하거나 또는 변경시키는, 살아있는 동물 또는 그의 부분들 중 하나의 정상적 상태의 임의의 손상을 의미한다. 정후와 증상들을 구분하므로써 전형적으로 나타나며, 이는 일반적으로 하기에 대한 반응이다: i) 환경적 요인들 (영양부족, 산업적 위해(hazard), 또는 기후); ii) 특이적 전염성 요인들(벌레, 세균 또는 바이러스들); iii) 생물체의 고유 결합들(유전적 이상); 및/또는 iv) 이들 요인들의 조합들.

처리된 실험대상에 비하여, 비처리된 실험대상에서의 임의의 증상 표현들 참조시, 본 명세서에서 사용된 용어들, "감소", "저해", "축소", "억제", "줄어듬", "방지" 및 문법적인 균등 표현들 ("보다 적은", "더 작은" 등 포함)은, 처리된 실험대상에서 증상들의 양 및/또는 크기가 비처리된 실험대상에 비하여, 임의의 의학적으로 훈련된 인력에 의해 임상적으로 타당하게 인식되어지는 임의의 양만큼 더 작았음을 의미한다. 한 구체예에서, 처리된 실험대상의 증상의 양 및/또는 크기는, 비처리된 실험대상에서의 증상의 양 및/또는 크기에 비하여 적어도 10%, 적어도 25%, 적어도 50%, 적어도 75% 및/또는 적어도 90% 더 낮다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "저해(inhibitory) 화합물"이라는 표현은, 결합 파트너가 그의 천연 리간드들에 대하여 비반응성이 되도록 하는 상태로 결합 파트너와 상호작용(즉, 예로서 부착, 결합, 등)할 수 있는 임의의 화합물을 의미한다. 저해 화합물들은, 이에 제한되지는 않지만, 작은 유기분자들, 항체들 및 단백질들/펩티드들을 포함할 수 있다.

본 명세서에 사용된 것과 같은, "부착된"이라는 표현은 매개물 (또는 담체) 및 약물간의 임의의 상호작용을 의미한다. 부착은 가역적 또는 비가역적일 수 있다. 이러한 부착은, 이에 제한되지는 않지만, 공유 결합, 이온 결합, 반데르발스 힘 또는 마찰력 등을 포함한다. 약물은 함침, 통합, 코팅, 혼탁액 중, 용액 중, 혼합되는 경우, 매개물 (또는 담체)에 부착된다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "약물" 또는 "화합물"이라는 용어는, 바람직한 효과를 달성하는, 투여될 수 있는 임의의 약학적으로 유효한 성분을 의미한다. 약물들 또는 화합물들은 합성 또는 천연, 비-펩티드, 단백질들 또는 펩티드들, 올리고뉴클레오티드들 또는 뉴클레오티드들, 다당류들 또는 당류일 수 있다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "투여된" 또는 "투여"라는 표현은, 조성물이 환자에서 의도된 효과를 갖도록 하는, 환자에게 조성물을 제공하는 임의의 방법을 의미한다. 투여의 예시적인 방법으로, 직접 메커니즘, 예컨대 국소 조작 투여 (즉, 예로서, 혈관외 배치), 구강 섭취, 경피 패치, 국소, 흡입, 좌약 등)에 의한 것이다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "환자"라는 표현은, 인간 또는 동물로, 입원할 필요는 없다. 예로서, 외래 환자들, 요양소에서의 사람들도 "환자"이다. 환자는 임의의 연령의 인간 또는 인간이 아닌 동물을 포함할 수 있으며, 따라서 성인 및 아동 (즉, 어린이)을 모두 포함한다. 상기 "환자"라는 표현은, 의약적 치료에 대한 필요를 내포하는 것이므로, 따라서 환자는 자발적으로 또는 비자발적으로, 임상적으로 또는 기초과학 연구 지원에서의 실험의 일부일 수 있다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "대상(subject)"이라는 표현은, 척추동물, 바람직하게는 포유동물, 더욱 바람직하게는 영장류, 더더욱 바람직하게는 인간을 의미한다. 포유동물들은, 이에 제한됨 없이, 인간, 영장류, 야생 동물들, 야생으로 돌아간(feral) 동물들, 농장 동물들, 운동경기용 동물들 및 애완동물들을 포함한다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "친화도"라는 용어는, 물질들 또는 입자들을 화학적 조합에 들어가게 하고 유지하도록 하는, 상기 물질들 또는 입자들간의 어떤 인력을 의미한다. 예로서, 수용체에 높은 친화도를 갖는 억

제제 화합물은, 낮은 친화도를 갖는 억제제 화합물에 비하여, 그 수용체가 그의 천연 리간드들과 상호작용하는 것을 방해하는데 더 큰 효능을 제공할 것이다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "...으로부터 유래된"이라는 표현은, 화합물 또는 서열의 공급원을 의미한다. 한 측면에서, 화합물 또는 서열은 생물체 또는 특정 종들로부터 유래될 수 있다. 또 다른 면에서, 화합물 또는 서열은 더욱 큰 복합체 또는 서열로부터 유래될 수 있다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "시험 화합물"은, 저해 화합물로서의 후보자로 고려되는 임의의 화합물 또는 분자를 의미한다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "단백질"이라는 용어는, 웨티드 결합들에 의해 연결된 아미노산 잔기들로 구성되며, 탄소, 수소, 질소, 산소, 대개 황 원소들을 포함하는, 임의의 다양한 자연적으로 존재하는 극히 복잡한 성분들 (효소 또는 항체와 같은)을 의미한다. 일반적으로, 단백질은 수백개의 아미노산들을 포함한다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "웨티드"라는 용어는, 둘 이상의 아미노산들로부터 유래된 임의의 각종 아미드들로, 상기 하나의 산의 아미노기가 다른 하나의 산의 카르복실기와 조합되어 있는 것을 의미하며, 일반적으로 단백질의 일부 가수분해에 의해 수득된다. 일반적으로, 웨티드는 수십개의 아미노산들을 포함한다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "약학적으로" 또는 "약물학적으로 허용가능한"이라는 표현은, 동물 또는 인간에 투여시 부작용, 알레르기, 또는 기타 좋지않은 반응들을 생성하지 않는 분자체들(molecular entities) 및 조성물들을 의미한다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "약학적으로 허용가능한 담체"라는 표현은, 이에 제한되지는 않지만, 물, 에탄올, 폴리올 (예로서, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 및 액상 폴리에틸렌 글리콜 등), 그의 적당한 혼합물들, 및 채소유, 코팅들, 등장성 및 흡수 지연제들, 리포좀, 상업적으로 입수가능한 세제들, 등을 포함하는, 임의의 모든 용매들, 또는 분산매질을 포함한다. 보조 생활성 성분들도 이러한 담체들에 통합될 수 있다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "정제된" 또는 "분리된"이라는 표현은, 각종 기타 성분들을 제거하기 위하여 처리된(즉, 예로서 분획화) 웨티드 조성물을 의미할 수 있으며, 이 조성물은 그의 발현된 생물학적 활성을 실질적으로 유지한다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "샘플"이라는 용어는, 그의 가장 광범위한 의미로 사용되며, 환경 및 생물학적 샘플들을 포함한다. 환경 샘플들은 흙과 물과같은 환경으로부터의 물질을 포함한다. 생물학적 샘플들은 인간을 포함한 동물, 인간, 액체(예로서, 혈액, 혈장 및 혈청), 고체 (예로서, 변), 조직, 액상 음식 (예로서, 우유), 및 고체상 음식(예로서, 채소들)일 수 있다. 예로서, 폐 샘플은 기관지내시경(BAL: bronchoalveolar lavage)에 의하여 수집될 수 있으며, 이는 폐 조직들로부터 유래된 체액 및 세포들을 포함한다. 생물학적 샘플은 세포, 조직 추출물, 체액, 세포로부터 분리된 염색체들 또는 염색체외 성분들, 게놈 DNA (용액상 또는 예컨대 서던 블롯(Southern blot) 분석에 대한 고체 지지체에 결합된 형태), RNA (용액상 또는 예컨대 노던 블롯(Northern blot) 분석에 대한 고체 지지체에 결합된 형태), cDNA (용액상 또는 고체 지지체에 결합된 형태) 등을 포함할 수 있다.

"생물학적으로 활성"이라는 표현은, 구조적, 조절적 또는 생화학적 기능들을 갖는 임의의 분자를 의미한다. 예로서, 생물학적 활성은, 예로서 단백질 활성을 결여한 세포들에서 야생형 성장의 복구에 의하여 결정될 수 있다. 단백질 활성을 결여한 세포들은 많은 방법들에 의하여 생성될 수 있다 (즉, 예로서 점 돌연변이 및 프레임-시프트(frame-shift) 돌연변이). 상보성은 단백질 활성을 결여하는 세포들을 단백질, 유도체 또는 그의 일부를 발현하는 발현 벡터로 형질감염시키므로써 달성된다.

"라벨" 또는 "검출가능한 라벨"라는 표현이 본 명세서에서 사용되며, 분광분석, 광화학, 생화학, 면역화학, 전기적, 광학적 또는 화학적 수단에 의하여 검출가능한 임의의 조성물을 의미한다. 이러한 라벨들은, 라벨된 스트렙토아비딘 접합물(streptavidin conjugate)로 염색을 위한 비오틴, 자성 비즈(magnetic beads)(예로서, Dynabeads®), 형광 염료들(예로서, 플루오레신(fluorescein), 텍사스 레드(texas red), 로다민, 녹색 형광 단백질 등), 방사성 라벨들(예로서, ^3H , ^{125}I , ^{35}S , ^{14}C 또는 ^{32}P), 효소들(예로서, 호스 래디쉬 폐록시다아제, 알칼리성 포스파타아제 및 ELISA에 일반적으로 사용되는 것들), 및 열량측정 라벨들, 예컨대 콜로이드성 금 또는 착색된 유리 또는 플라스틱(예로서, 폴리스티렌, 폴리프로필렌, 라텍스, 등) 비즈를 포함한다. 이러한 라벨들의 이용을 알려주는 특허들은, 이에 제한되지는 않지만, 미국특허 3,817,837; 3,850,752; 3,939,350; 3,996,345; 4,277,437; 4,275,149; 및 4,366,241을 포함한다 (이들 모두 참고문헌으로 통합된다). 본 발명에서 고려된 표

지들은 많은 방법들에 의하여 검출될 수 있다. 예로서, 방사성라벨들은 사진 필름 또는 신틸레이션 계수기들 (scintillation counters)을 이용하여 검출될 수 있고, 형광 마커들은 방출광을 검출하기 위한 광검출기를 이용하여 검출될 수 있다. 효소 라벨들은 상기 효소에 기질을 제공하고, 효소의 기질에 대한 작용에 의해 생성된 반응 생성물을 검출하므로써 전형적으로 검출되며, 열량측정 라벨들은 착색된 라벨을 단순히 시각화하므로써 검출된다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "접합물(conjugate)"이라는 용어는, 둘 이상의 부분들을 결합시키므로써 형성된 임의의 화합물을 나타낸다.

"부분" 또는 "기"는 식, 화학명 또는 구조에 의해 명명된 임의의 유형의 문자 배열이다. 특정 구체예들과 관련하여, 접합물은 하나 이상의 부분들 또는 화학적 기들을 포함하는 것으로 언급된다. 이는 화학식의 그 부분이, 접합물의 문자 배열에 결합하여 그 일부가 되기 위하여, 일정 위치에서 치환된다는 것을 의미한다. 부분들은 직접적으로 공유결합적으로 결합될 수 있지만, 2 이상의 부분들의 결합이 서로 직접적이어야만 하는 것으로 의도된 것은 아니다. 연결기, 가교기, 또는 결합기는, 이에 제한되지는 않지만, 하나 이상의 아미드기(들)과 같은 공유결합들에 의해 부분들을 연결하여, 그 부분들에 결합할 수 있는 임의의 문자배열을 의미한다. 추가적으로, 접합물은 비치환될 수 있지만, 상기 접합물은, 연결기들에 연결 및/또는 부분들에 연결된 각종 추가의 치환기들을 가질 수 있다.

"폴리머" 또는 "폴리머기"라는 표현은 반복적으로 연결된 부분들로 구성된 화학종들을 의미한다. 특정 구체예들에서, 반복 부분들의 수는 3 이상 또는 10 초과인 것이 바람직하다. 연결된 부분들은 구조적으로 동일할 수 있거나 또는 부분 구조의 변형을 가질 수 있다. "모노머성 폴리머(monomeric polymer)" 또는 "호모폴리머(homopolymer)"는, 동일한 반복되는 비대칭적 서브유닛(subunit)을 포함하는 폴리머이다. "코폴리머"는 2 이상의 유형의 모노머 종들로부터 유래된, 즉 2 이상의 상이한 화학 비대칭적 서브유닛들로부터 유래된 폴리머이다. "블록 코폴리머들"은 공유결합들에 의해 연결된 2 이상의 종들의 폴리머 서브유닛들로 구성되는 폴리머들이다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "치환된"이라는 용어는, 문자 배열 중 적어도 하나의 수소 원자가 치환기로 대체된 것을 의미한다. 옥소 치환기 ("=O")의 경우, 2개의 수소 원자들이 치환된다. 치환된 경우, 하기 하나 이상의 기들은 "치환기들"이다. 치환기들은, 이에 제한되지는 않지만, 할로겐, 히드록시, 옥소, 시아노, 니트로, 아미노, 알킬아미노, 디알킬아미노, 알킬, 알콕시, 알킬티오, 할로알킬, 아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴, 헤테로아릴알킬, 헤테로사이클 및 헤테로사이클알킬, 및 $-NRaRb$, $-NRaC(=O)Rb$, $-NRaC(=O)NRaNRb$, $-NRaC(=O)ORb$, $-NRaSO2Rb$, $-C(=O)Ra$, $-C(=O)ORa$, $-C(=O)NRaRb$, $-OC(=O)NRaRb$, $-OR$, $-SR$, $-SORo$, $-S(=O)aR$, $-OS(=O)2Ra$ 및 $-S(=O)ORa$ 을 포함한다. 추가적으로, 상기 치환기들은 상기 치환기들 중 하나 이상으로 더욱 치환되어, 상기 치환기는 치환된 알킬, 치환된 아릴, 치환된 아릴알킬, 치환된 헤테로사이클, 또는 치환된 헤테로사이클알킬을 포함한다. 본 문맥에서 Ra 및 Rb는 동일하거나 상이할 수 있으며, 독립적으로, 수소, 알킬, 할로알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴, 아릴알킬, 치환된 아릴알킬, 헤테로사이클, 치환된 헤테로사이클, 헤테로사이클알킬 또는 치환된 헤테로사이클알킬일 수 있다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "비치환된"이라는 표현은 화합물에 부착된 추가의 치환기들을 포함하지 않는 임의의 화합물을 의미하며, 상기 화합물은 보호기(들)을 포함하지 않는다. 예로서, 비치환된 프롤린은 프롤린의 아미노기가 알킬기들로 2치환된 것으로 고려될 수 있다 하더라도 프롤린 아미노산이다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "알킬"이라는 용어는, 1 내지 10의 탄소 원자들을 포함하는, 임의의 직쇄 또는 분지된, 비시클릭(non-cyclic) 또는 시클릭, 불포화 또는 포화 지방족 탄화수소를 의미하며, 한편 "저급 알킬"이라는 용어는 알킬과 동일한 의미를 갖지만 1 내지 6개 탄소 원자들을 포함한다. "고급 알킬"이라는 용어는 알킬과 동일한 의미를 갖지만 2 내지 10개 탄소 원자들을 포함한다. 대표적인 포화 직쇄 알킬들은, 이에 제한되지는 않지만, 메틸, 에틸, n-프로필, n-부틸, n-펜틸, n-헥실, n-헵틸, n-옥틸, n-노닐 등을 포함하며; 포화 분지 알킬들은, 이에 제한되지는 않지만, 이소프로필, sec-부틸, 이소부틸, tert-부틸, 이소펜틸 등을 포함한다. 시클릭 알킬들은 동일한 원자에 결합된 2개의 알킬기들을 결합하므로써 또는 인접한 원자들에 각각 결합된 2개의 알킬기들을 결합하므로써 수득될 수 있다. 대표적인 포화 시클릭 알킬들은, 이에 제한되지는 않지만, 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실 등을 포함하며; 불포화 시클릭 알킬들은, 이에 제한되지는 않지만, 시클로펜테닐 및 시클로헥세닐 등을 포함한다. 시클릭 알킬들은 본 명세서에서 "호모사이클들(homocycles)" 또는 "호모시클릭 고리들"로서도 언급된다. 불포화 알킬들은 인접 탄소 원자들간에 적어도 하나의 이중 또는 삼중 결합을 포함한다(각각, "알케닐" 또는 "알킬"로서 언급된다). 대표적인 직쇄 및 분지 알케닐들은, 이에 제한되지는 않지만, 에틸렌, 프로필렌, 1-부테닐, 2-부테닐, 이소부틸렌, 1-펜테닐, 2-펜테

닐, 3-메틸-1-부테닐, 2-메틸-2-부테닐, 2,3-디메틸-2-부테닐 등을 포함하는 한편; 대표적인 직쇄 및 분지 알킬들은, 이에 제한되지는 않지만, 아세틸레닐, 프로피닐, 1-부티닐, 2-부티닐, 1-펜티닐, 2-펜티닐, 3-메틸-1-부티닐 등을 포함한다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "아릴"이라는 용어는, 임의의 방향족 카르보시클릭 부분을 의미하며, 이에 제한되지는 않지만, 예컨대 페닐 또는 나프틸이 있다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "아릴알킬" 또는 "아르알킬"이라는 용어는, 아릴 부분으로 치환된 적어도 하나의 알킬 수소 원자들을 갖는 임의의 알킬을 의미하며, 이에 제한되지는 않지만, 예컨대 벤질, $-(CH_2)_2$ 페닐, $-(CH_2)_3$ 페닐, $-CH(CH_3)_2$ 페닐 등이 있다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "할로겐"이라는 용어는 임의의 플루오로, 클로로, 브로모 또는 요오도 부분을 의미한다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "할로알킬"이라는 용어는, 할로겐으로 치환된 적어도 하나의 수소 원자를 갖는 임의의 알킬을 의미하며, 예컨대 트리플루오로메틸 등이 있다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "헤테로아릴"이라는 용어는, 5원 내지 10원의, 질소, 산소 및 황으로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 갖고, 이에 제한되지는 않지만 모노시클릭 및 비시클릭 고리계들을 모두 포함하는, 적어도 하나의 탄소 원자를 포함하는, 임의의 방향족 헤테로사이클 고리를 의미한다. 대표적인 헤테로아릴들은, 이에 제한되지는 않지만, 푸릴, 벤조푸라닐, 티오페닐, 벤조티오페닐, 피롤릴, 인돌릴, 이소인돌릴, 아자인돌릴, 피리딜, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 옥사졸릴, 이소옥사졸릴, 벤족사졸릴, 피라졸릴, 이미다졸릴, 벤즈이미다졸릴, 티아졸릴, 벤조티아졸릴, 이소티아졸릴, 피리다지닐, 피리미디닐, 피라지닐, 트리아지닐, 시놀리닐, 프탈라지닐 또는 퀴나졸리닐을 포함한다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "헤테로아릴알킬"이라는 용어는, 예컨대 $-CH_2$ 페리디닐, CH_2 페리미디닐, 등과 같은 헤테로아릴 부분으로 치환된 적어도 하나의 알킬 수소 원자를 갖는 임의의 알킬을 의미한다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "헤테로사이클 고리" 또는 "헤테로시클릭 고리"라는 용어는, 포화, 불포화 또는 방향족이고, 질소, 산소 및 황으로부터 독립적으로 선택되는 1 내지 4개의 헤테로원자들을 포함하는, 임의의 4-원 내지 7-원 모노시클릭 또는 7-원 내지 10-원 비시클릭의 헤테로시클릭 고리를 의미하며, 상기 질소 및 황 헤테로원자들은 임의 산화될 수 있으며, 질소 헤테로원자는 임의 4차화될 수 있으며, 이는 상기 헤테로사이클을 중임의의 것이 벤젠 고리와 융합된 비시클릭 고리들을 포함한다. 상기 헤�테로사이클은 임의의 헤테로원자 또는 탄소원자를 통하여 부착될 수 있다.

헤테로사이클들은 상기 정의된 것들에 의해 예시된 헤�테로아릴들을 포함할 수 있다. 따라서, 상기 열거된 헤테로아릴들에 추가하여, 헤테로사이클들은, 이에 제한되지는 않지만, 모르폴리닐, 피롤리디노닐, 피롤리디닐, 피페리디닐, 히단토이닐, 발레로락타밀(valerolactamyl), 옥시라닐, 옥세타닐, 테트라하이드로푸라닐, 테트라하이드로피라닐, 테트라하이드로페리디닐, 테트라하이드로페리미디닐, 테트라하이드로티오페닐, 테트라하이드로티오페라닐, 테트라하이드로페리미디닐, 테트라하이드로티오페닐 등을 포함할 수도 있다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "헤테로시클로알킬"이라는 용어는 헤테로사이클로 치환된 적어도 하나의 알킬 수소 원자를 갖는 임의의 알킬, 예컨대 $-CH_2$ 모르폴리닐(morpholiny1) 등이 있다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "호모사이클" 또는 "시클로알킬"이라는 용어는, 3~7 탄소 원자들을 포함하는 임의의 포화 또는 불포화된 (그러나 방향족인) 카르보시클릭 고리를 의미하며, 이에 제한되지는 않지만, 예컨대 시클로프로판, 시클로부탄, 시클로펜탄, 시클로헥산, 시클로헵탄, 시클로헥센 등이 있다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "알킬아미노"라는 용어는, 질소 브릿지(bridge)를 통해 부착된 적어도 하나의 알킬 부분을 의미하며 (즉, $-N-$ (알킬)N, 예컨대 디알킬아미노), 이에 제한되지는 않지만, 메틸아미노, 에틸아미노, 디메틸아미노, 디에틸아미노 등이 있다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "알킬옥시" 또는 "알콕시"라는 용어는, 산소 브릿지를 통해 부착된 임의의 알킬 부분을 의미하며 (즉, $-O-$ 알킬), 이에 제한되지는 않지만, 메톡시, 에톡시 등이 있다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "알킬티오"라는 용어는, 황 브릿지를 통해 부착된 임의의 알킬 부분을 의미하

며 (즉, -S-알킬), 이에 제한되지는 않지만, 메틸티오, 에틸티오 등이 있다.

"알케닐"이라는 용어는, 그 안에 하나 이상의 이중결합들을 갖는, 비분지되거나 또는 분지된 탄화수소 사슬을 의미한다. 알케닐기의 이중결합은 다른 불포화된 기에 대하여 비켤레(unconjugated) 또는 켤레(conjugated)일 수 있다. 적당한 알케닐기들은, 이에 제한되지는 않지만, 비닐, 알릴, 부테닐, 펜테닐, 헥세닐, 부타디에닐, 펜타디에닐, 헥사디에닐, 2-에틸헥세닐, 2-프로필-2-부테닐, 4-(2-메틸-3-부텐)-펜테닐을 포함한다. 알케닐기는 비치환되거나 또는 1 또는 2개의 적당한 치환기들로 치환될 수 있다.

"알키닐"이라는 용어는, 그 안에 하나 이상의 3중 결합들을 갖는 비분지되거나 또는 분지된 탄화수소 사슬을 의미한다. 알키닐기의 3중 결합은 다른 불포화기에 대하여 켤레가 아니거나 켤레일 수 있다. 적당한 알키닐 기들은, 이에 제한되지는 않지만, 에티닐, 프로피닐, 부티닐, 펜티닐, 헥시닐, 메틸프로피닐, 4-메틸-1-부티닐, 4-프로필-2-펜티닐, 및 4-부티닐-2-헥시닐을 포함한다. 알키닐기는 비치환되거나 또는 1개 또는 2개의 적당한 치환기들로 치환될 수 있다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "염들"이라는 용어는, 그 안에 포함된 확인된 화합물들과 복합체를 형성하는 임의의 염을 의미한다. 이러한 염들의 예들은, 이에 제한되지는 않지만, 무기산들(예로서, 염산, 하이드로브롬산, 황산, 인산, 질산 등)과 형성되는 산부가 염들, 및 이에 제한되지는 않지만, 아세트산, 옥살산, 타르타르산, 숙신산, 말산, 푸마르산, 말레산, 아스코르빈산, 벤조산, 탄닌산, 파모인산(pamoic acid), 알긴산, 폴리글루탐산, 나프탈렌 술폰산, 나프탈렌, 디술폰산, 및 폴리갈اكت론산과 같은 유기산과 형성된 염들을 포함한다. 염 화합물들은 당업자에게 알려진 약학적으로 허용가능한 4차 염들로서 투여될 수도 있으며, 이는 특이적으로 화학식 $-NR, R', R''+Z-$ 의 4차 암모늄염들을 포함하며, 여기에서 R, R', R'' 은 독립적으로 수소, 알킬, 또는 벤질이고, Z 는, 이에 제한되지는 않지만, 클로라이드, 브로마이드, 요오디드, 알콕사이드, 툴루엔술포네이트, 메틸술포네이트, 술포네이트, 포스페이트, 또는 카르복실레이트(예컨대 벤조에이트, 숙시네이트, 아세테이트, 글리콜레이트, 말리에이트, 말레이트, 푸마레이트, 시트레이트, 타르트레이트, 아스코르베이트, 신나모에이트, 만넬로에이트, 및 디페닐아세테이트)를 포함하는 반대이온(counter ion)이다. 염 화합물들은, 치환 또는 비치환된 일부 화학식을 갖는 약학적으로 허용가능한 퍼리던 양이온 염들로서 투여될 수도 있으며: 여기에서 Z 는 반대이온으로, 이에 제한되지는 않지만, 클로라이드, 브로마이드, 요오디드, 알콕사이드, 툴루엔술포네이트, 메틸술포네이트, 술포네이트, 포스페이트, 또는 카르복실레이트(예컨대 벤조에이트, 숙시네이트, 아세테이트, 글리콜레이트, 말리에이트, 말레이트, 푸마레이트, 시트레이트, 타르트레이트, 아스코르베이트, 신나모에이트, 만넬로에이트, 및 디페닐아세테이트)를 포함한다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "전구약물(prodrug)"이라는 용어는, 가수분해, 산화, 또다르게는 생물학적 조건(시험관 내 또는 생체 내)하에서 반응하여 본 발명의 화합물을 제공할 수 있는 화합물의 유도체를 의미한다. 전구약물들은 생물학적 조건들 하에서 일부 반응에 대해서만 활성이 될 수 있으나, 이들은 미반응된 형태로 활성을 가질 수 있다. 본 명세서에서 고려된 전구약물들의 예들은, 제한없이, 본 발명의 화합물들의 유사체들 또는 유도체들, 및/또는 염 형성이 가능한 경우 그들의 염들을 포함하며, 특히 티올 부분에 결합하는 아연 유도체들을 포함한다. 전구약물 부분들의 예들은 치환 및 비치환된, 분지 또는 비분지된 저급 알킬 에스테르 부분들(예로서, 프로피온산 에스테르들), 저급 알케닐 에스테르들, 디-저급알킬-아미노 저급-알킬 에스테르들(예로서, 디메틸아미노에틸 에스테르), 아실아미노 저급 알킬 에스테르들(예로서, 아세틸옥시메틸 에스테르), 아실옥시 저급 알킬 에스테르들(예로서, 피발로일옥시메틸 에스테르), 아릴 에스테르들(페닐 에스테르), 아릴-저급 알킬 에스테르들(예로서, 벤질 에스테르), 헤테로아릴 에스테르들(니코티네이트 에스테르), 치환된(예로서, 메틸, 할로 또는 메톡시 치환기들로) 아릴 및 아릴-저급 알킬 에스테르들, 아미드류, 저급-알킬 아미드들, 디-저급 알킬 아미드들, 및 히드록시 아미드들을 포함한다. 자연에 존재하는 아미노산 에스테르들 또는 그들의 거울상이성질체들, 디펩티드 에스테르들, 포스페이트 에스테르들, 메톡시포스페이트 에스테르들, 디술피드들 및 디술피드 이합체들이 있다. 전구약물들 및 이들의 이용은 당 분야에 공지이다(예로서, Berge 등, 1977 참조). 전구약물들은 공지의 방법들을 이용하여 전형적으로 제조될 수 있으며, 예컨대 Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery (Manfred E. Wolff ed. 1995) 및 (Rautio, 2008)에 기재된 것들이 있다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "반응성 기들"은 친핵체들, 친전자체들 또는 라디칼 활성기들, 즉 라디칼들의 존재 하에서 반응하는 기들을 의미한다. 친핵체는 두 결합 전자들을 모두 공여하므로써 그의 반응 파트너(친전자체)에 화학 결합을 형성하는 부분이다. 친전자체들은 이들 전자들을 수용한다. 친핵체들은 친핵성 치환에 참여할 수 있으며, 이에 의하여 친핵체가 성분 상에 완전한 또는 부분적인 양의 하전에 이끌리게 되고, 그가 결합되는 기를 치환시킨다. 다르게는, 친핵체들은 카르보닐기의 치환에 참여할 수 있다. 카르복실산들은 숙시닐

에스테르들을 생성하고, 이들 에스테르들은 아미노알킬들과 반응하여 아미드를 형성하므로써 종종 친전자성으로 된다. 다른 일반적인 친핵성 기들로는 티오알킬, 히드록시알킬, 1차 및 2차 아민들, 및 엔올류(enols) 및 알킬 금속 복합체들과 같은 탄소 친핵체들이 있다. 반응성 기들을 이용한 단백질들, 올리고사카라이드들 및 세포들을 결찰하는 다른 바람직한 방법들이 (Lemieux and Bertozzi 1998)에 기재되어 있으며, 이는 본 명세서에 참고문헌으로서 통합된다. 또 다른 바람직한 방법은, 스타우딩거 결찰(Staudinger ligation)을 위한 반응성 기들, 즉 "클릭 화학(click chemistry)"에 아지드 포함 부분 및 알카닐 반응성기들을 제공하여 트리아졸들을 형성한다. 친전자성 카르보닐을 이용한 탄소 친핵체 엔올레이트의 마이클 부가(Michael additions), 또는 알데히드 또는 케톤을 이용한 친핵성 1차 또는 2차 아민의 쉬프염기(schiffbase) 형성도 이용될 수 있다. 생체접합(bioconjugation)의 다른 방법들이 (Hang and Bertozzi 2001) 및 (Kiick 등, 2002)에서 제공되며, 이들 모두 본 명세서에 참고문헌으로서 포함된다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "생체적합성"이라는 표현은 숙주에서 실질적인 유해 반응을 이끌어내지 않는 임의의 물질을 의미한다. 외래 물질이 생체 내로 도입되는 경우, 그 물질이 그 숙주에 부정적인 효과를 미치는 염증성 반응과 같은 면역반응을 유도할 것이라는 우려는 항상 있다. 본 발명의 의미에서, 생체적합성은 설계된 적용에 따라 평가되며; 예로서; 밴드(bandage)는 피부에 생체적합성으로 간주되는 한편, 이식된 의약 기기는 신체의 내부 조직들과 생체적합성인 것으로 간주된다. 바람직하게는, 생체적합성 물질들은, 이에 제한되지는 않지만, 생분해성 및 생체안정성 물질들을 포함한다. 이러한 물질을 포함하는 임플란트가 숙주 동물 내 그의 임플란트 위치와 밀접하게 연관된 경우 실질적인 유해 반응은 일어나지 않으며, 반응은 ASTM에서 제공된 물질로부터 적합한 것으로서 인식 및 수립된 조직 반응보다 더욱 양호하다. 생체적합성 시험방법(Biocompatibility Test Methods)에 대한 ASTM 분과 위원회 F04.16는 의약 및 외과 물질 및 기기들에 대한 생체적합성 기준들을 개발하여 왔다. 예로서, 혈류와 접촉되어 사용되는 물질들은 혈액적합성 표준들에 맞는 물질들로 구성되어야만 한다. 이들 시험들 중 하나는, 세포들의 파괴인 용혈반응을 일으킬 수 있는, 적혈구 세포들의 손상에 대한 것으로, 재료들의 용혈성 평가(Assessment of Hemolytic Properties of Materials)에 대한 F 756 실시에 설명된 것과 같이 있다.

본 명세서에서 사용된 것과 같은, "생활성 성분"은, 임의의 각종 화학 부분들로, 이에 제한되지는 않지만, 펩티드들, 단백질들, 효소들, 수용체들, 기질들, 지질들, 항체들, 항원들 및 핵산들과 같은 생체분자와 결합하는 것을 의미한다. 특정의 바람직한 구체예에서, 생활성 성분은 생체분자이지만, 상기 생활성 성분을 생체분자들에 제한하고자 하는 것은 아니다. 다른 바람직한 구체예들에서, 생활성 성분들은 소수성, 친수성 또는 정전기 상호작용들을 제공하며, 예컨대 생리학적 pH에서 음이온인 폴리카르복시산이 있다. 또 다른 바람직한 구체예에서, 알칼리성 성장 인자들(7 초과의 등전점을 가짐)은 폴리카르복실레이트들에 의해 바람직한 정전기적 상호작용들을 보유하며, 이어서 제어 및 유지되는 방식으로 유리된다.

"암"은 비정상적인 세포들이 제어없이 분열되고, 다른 조직들에 침투할 수 있는 질병들에 사용되는 용어이다. 암에는 100여개가 넘는 상이한 종류가 있다. 대부분의 암들은 그들이 시작된 장기 또는 세포 유형에 따라 명명되며 - 예로서, 결장에서 시작된 암은 결장암; 피부 기저핵들에서 시작된 암은 기저세포 암종으로 명명된다. 암의 주요 카테고리들은 암종들, 육종들, 백혈병들, 림프종들 및 흑색종들, 및 중추신경계 암들을 포함한다. 일부 혼합 암 유형들은, 이에 제한되지는 않지만, 방광암, 유방암, 결장암 및 직장암, 자궁내막암, 신장(신장세포) 암, 백혈병, 폐암, 흑색종, 비호지킨성 림프종(non-Hodgkin's lymphoma), 췌장암, 전립선암, 피부암 (비-흑색종) 및 갑상선암을 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서에서의 치료에 대해 고려되는 암들은 결장암들 및 유방암들이다.

"포함한다", "포함하는"이라는 표현은, 미국 특허법에 따른 광범위한 의미를 갖는 것으로 의도되며, "함유하다", "함유하는" 등을 의미할 수 있다.

발명의 구체예들

2008년 1월경, 라르가졸이 심플로카(Symploca)속의 남조류로부터 분리되고, 그의 Key Largo 위치에 따라 명명되었다(Luesch 등, University of Florida). 상기 화합물은 형질전환된 포유동물 상피세포주 MDA-MB231에서 7.7nM의 GI₅₀를 이용하여 항증식 활성이 실험되었다 (Taori 등, 2008). 부가적으로, 라르가졸은 정상 세포들에 대해 암을 우선적으로 타겟팅하며, 이는 이 해양 성분이 중요한 합성 타겟 뿐만 아니라 잠재적으로 유용한 암 화학치료제가 되도록 한다 (Taori 등, 2008). 첫번째로 보고된 라르가졸의 합성은 Luesch과 동료들 (Ying 등, 2008b)에 의해 완성되었으며, 이어서 Phillips 그룹 (Nasveschuk 등, 2008), Cramer 그룹 (Seiser 등, 2008), Williams 그룹 (Bowers 등, 2008), 및 Ghosh 그룹 (Ghosh and Kulkarni 2008)이 뒤따랐다. 이의 항암 활성에

대한 분자적 기초는 히스톤 디아세틸라아제들 (HDAC) 저해인 것으로 제안되어 왔다(Ying 등, 2008b).

HDAC 저해제들은 고체 및 혈액학적 악성종양들의 치료에 대해 효능있는 항암제들의 새로운 부류인 것으로 제안되어 왔다. 현 저해제들인 나트륨 부티레이트와 같은 HDACs, 트리코스타틴 A(Trichostatin A (TSA)), 수베로일 아닐리드 히드록삼산(SAHA), FK228, 및 기타 물질들은, 세포 주기 억제, DNA 손상 복구, 자유라디칼 소거 및 세포자살에 요구되는 유전자들 및 그들의 단백질 생성물들을 조절하므로써 그들의 항-종양 효과를 나타낼 수 있다 (Marks 2010). 예로서, SAHA는 진전된 피부 T-세포 림프종의 치료에 대해 인가되었다 (Marks 2007). 기타 몇몇 HDAC 저해제들은 현재 암치료를 위한 임상 시험들 중에 있다 (Marks 2010).

라르가졸의 구조는 티아졸 고리에 융합된 4-메틸티아졸린 및 옥타논 티오에스테르 측쇄를 포함하는 16-원 거대 고리인, 천연물에서는 거의 발견되지 않는 단위를 포함한다 (Taori 등, 2008; Newkirk 등, 2009). HDAC 단백질의 표면과 상호작용하는 것은 화합물의 거대고리 부분인 것으로 가정된 반면, 측쇄는 HDAC의 활성 자리 내로 삽입되고, 아연을 킬레이트 결합하여, 기질 탈아세틸화의 종료를 일으키는 결과를 가져온다 (Newkirk 등, 2009). (도 4).

라르가졸의 약물특이분자단(pharmacophore)을 더욱 규정하기 위하여, 세포의 세포질 내로 그의 도입시, 상기 티오에스테르 부분은 신속히 가수분해되어 자유 티올기를 생성하며, 이는 HDAC 포켓의 바닥에 있는 아연 이온과 상호작용할 수 있고, 잠재적으로 효소 활성을 저해한다는 것이 합당하다(도 6).

라르가졸 티올이 반응성 종들이라는 것을 확인하기 위하여, 몇몇 기들은 티올 유도체를 합성하였고, 종양 세포 성장 저해 및 세포 또는 시험관 내 HDAC 저해 분석들에서 생화학적 효능을 평가하였다. 이들 발견들은 상기 티올 유도체가 화합물 처리된 세포 추출물을 이용하는 유사한 HDAC 저해를 가진다는 것을 나타내었다 (Bowers 등, 2008; Ying 등, 2008a; Ying 등, 2008b). 세포들이 라르가졸 또는 라르가졸 티올로 처리되는 생체 내 실험들에서, 부모 분자는 HDAC 저해에 대하여 더욱 높은 효능을 갖는다 (IC_{50} 51nM 대 티올 대사산물에 대하여 209nM) (Ying 등, 2008a).

항증식 활성과 관련하여, 상반되는 데이터세트들(datasets)이 2 그룹에 의해 제시되었다: Ying 등은 라르가졸 및 티올 유사체가 HCT116 세포들에서 각각 GI_{50} 값 44nM 및 38nM으로, 유사한 성장저해 활성을 나타낸다는 것을 보여준다. William의 군은, 일련의 흑색종 세포주들을 이용하여 라르가졸이 그의 티올 대사산물에 비하여 (IC_{50} 380~2600nM) 일정한 우월한 효능(IC_{50} 45~315nM)을 갖는다는 것을 증명하였다. 이들은 세포독성에서의 차이가 티오에스테르 라르가졸의 보다 우월한 침투성에 있다고 추정하였다 (Bowers 등, 2008). 생체 내, 디아세틸라아제 활성을 측정하기 위하여, 클래스 I 및 클래스 II로부터의 정제된 전장 HDAC 단백질들을 형광단-접합된 기질 및 라르가졸 또는 라르가졸 티올과 함께 인큐베이션되었다. 결과들은, 라르가졸 자체는, 그 환원된 형태에 비하여 더욱 약한 HDAC 저해제일 뿐 아니라, HDAC6에 비해 HDACs 1, 2 및 3에 대한 라르가졸의 현저한 선호도를 나타낸다 (Bowers 등, 2008). 세포-베이스 분석들에서의 차이의 결여를 고려시, 티오에스테르는 실험 조건 하에서 열개될(cleaved) 가능성이 있다.

추가적으로, 히드록실들은 아연을 킬레이트하지 않기 때문에, -SH의 -OH로의 대체는 HDAC 분석에서 독성 효과 및 저해 활성을 방해한다 (Bowers 등, 2008); (Ying 등, 2008a)). 이들을 함께 고려시, 상기 티올은 두 활성들 모두에 대해 필수불가결하며; 따라서 HDAC의 저해는 그의 항종양 효과를 촉진한다는 것을 추측할 수 있다. 생합성 면에서, 자연은 그의 안정성 증가 및 원하지 않는 산화로부터 그를 보호하기 위하여 타겟 반응성 종보다는 전구약물로서 라르가졸을 생산하였다 (Ying 등, 2008b). 흥미롭게도, 유사 보호-및-유리 메커니즘이 천연 성분 FK228에서 관찰된다 (Shigematsu 등, 1994), (Ueda 등, 1994a; Ueda 등, 1994b). 이러한 독특한 환형 화합물은 이황화물 결합을 포함하며, 이는 글루타티온 환원효소에 의해 부테닐 티올로 가수분해시 아연 잔기쪽으로 뻗어 HDAC의 활성을 종료시킨다 (도 6; 및 (Furumai 등, 2002)).

옥타노일 사슬은 아연에 킬레이트하기 위하여 HDAC 포켓 내로 삽입되어, HDAC 생물학적 활성의 감쇠를 일으키는 링커이기 때문에, 옥타노일 사슬의 최적 길이를 시험하기 위하여 일련의 유사체들을 제조하였다. 라르가졸 및 FK228은 거대고리 및 아연 결합기 사이에 4개의 원자 링커를 포함하는 것으로 여겨진다. 전체 옥타노일 사슬이 결여된 거대고리는 HDACs를 저해하지도, 세포들에서 어떤 독성 활성도 가질 수 없어, 이는 라르가졸의 HDAC 저해제로서의 역할에서 티올기의 중요성을 더욱 입증하는 것이다. 생체 내 및 시험관 내 HDAC 분석 및 HCT116 결장암 세포주에 대한 세포생육성 분석에 의하여 측정된 바에 따르면, 지방족 사슬을 짧게하는 것이나 연장 중 어느 것도 유리한 구조적 변경은 아니다 (표 2). 이들 결과들은 라르가졸 테일의 천연적 길이가 최적임을 제안한다 (Ying 등, 2008a; Ying 등, 2008b; Newkirk 등, 2009). 나아가, 캡 영역 내 2개의 변화들이 Leusch와 동료

들에 의하여 조사 및 보고되었다: 발린에서 알라닌으로의 치환 및 라르가졸 에피머(epimer) (17R) (Ying 등, 2008a). 상기 Val-, Ala 화합물은, 라르가졸에 비하여 모든 저해 활성들에서 2배 감소를 나타내었으며, 이는 발린 잔기가 쉽게 상호교환될 수 있음을 나타낸다. 에피머 유사체는 HDAC 저해제로서 양호하지 않게 작용하였으며, 이는 C17 위치에서 S 구조의 중요성을 암시하는 것이다 (Ying 등, 2008a). 최근, 라르가졸에 대한 구조 활성 관련성 연구가 Zeng 등에 의해 더욱 실시되었으며 (Zeng 등 2010), 여기에서 이들은 발린을 류신 및 페닐 알라닌으로 치환하였으며, 몇몇 암세포주들에 대한 저해 활성이 약간 감소되었음을 관찰하였다 (예로서, 라르가졸에 대한 GI₅₀는 80nM이었던 한편, HCT 116 세포들에서 560nM 및 260nM이 Leu 1 및 Phe 1에 대해 각각 측정되었다). 흥미롭게도, 발린을 티로신으로 교환하였을 때, 이는 암세포들에 대한 효능에서의 저하를 일으켰으며, 이는 정상 세포들에서 GI₅₀를 크게 증가시켰으며, 정상 세포주들에 대한 (HEK293:GI₅₀ 100 μM; HLF: GI₅₀ 100 μM, 한편 라르가졸의 HEK293에서 GI₅₀은 1.36 μM이고, HLF 세포들에서는 0.98 μM) 치료 범위 (HCT-116: GI₅₀ 0.39 μM; A549: GI₅₀ 1.46 μM)를 매우 크게 향상시킨다. 따라서, 이는 라르가졸 상에 Tyr의 배치가, 상기 화합물이 정상 세포들 대신 암세포에서 HDACs를 선택하도록 강화될 수 있음을 제안하였다 (Zeng 등 2010).

결과적으로, 라르가졸과 같은 거대고리 HDAC 저해제들은 HDACs의 생물학을 연구하기 위한 도구로서의 잠재성을 보여주는 동시에, 라르가졸이 정상 세포들 보다는 암세포들을 사멸시키는데 대한 선호로 인하여, 이는 암 치료제로서의 큰 가망성을 갖는다(즉, 얇은 치료 범위를 포함). 라르가졸의 장점은, HDAC 저해제들에서는 거의 발견되지 않는 특징인, 클래스 I 디아세틸라제들에 대한 높은 선택성이 있다는 사실에도 있다.

한 구체예에서, 본 발명은 라르가졸의 유사체들을 생성하고, 그들의 결장암 및 유방암 세포주들에서의 항증식 효과들을 평가하므로써, 라르가졸의 구조-활성 관련성에 대한 향상 방법을 고려한다.

한 구체예에서, 본 발명은 본 발명의 화합물들의 암세포 성장에 대한 저해 효과를 결정하기 위하여 상기 화합물들의 스크리닝 방법을 제공한다.

또다른 구체예에서, 본 발명은 16-원 거대고리 주쇄를 생성하므로써 라르가졸의 효능 및 선택성을 증가시키는 방법을 제공한다.

또다른 구체예에서, 본 발명은 항종양 활성의 특이성을 개선시키는 결과를 초래하는 4-메틸티아졸린의 고리를 파괴시킴으로써 라르가졸의 신규 유사체들을 제공하며, 예로서 상기 신규 유사체들의 생체 내 항종양 효과는, 4-메틸티아졸린 고리가 아직 파괴되지 않은 화합물들에 비해 필적하는 효능인 것으로 나타나며, 한편 상기 신규 유사체에 의해 영향을 받은 유전자들의 수는 24시간 라르가졸 처리에 의해 변화된 것의 단지 1/3이다. 이러한 관찰은, 신규 유사체들이 라르가졸과 구분되며, 보다 적은 부작용들을 가질 것임을 제안한다.

또다른 구체예에서, 라르가졸 분자의 발린은 거대고리 내에서 글리신, 알라닌, 류신 및 이소류신으로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산으로 치환되었다.

또다른 구체예에서, 발린의 글리신으로의 치환은 유도 화합물의 효능을 3배까지 향상시켰다.

본 발명의 또다른 구체예에서, 본 명세서에서 설명된 하나 이상의 화합물들에 추가하여, 적어도 하나의 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물이 제공된다. 상기 조성물은 바람직한 투여 경로에 대한 임의의 적당한 형태를 취할 수 있다. 조성물이 경구 투여되는 경우, 임의의 적당한 경구 전달가능한 투약 형태가 사용될 수 있으며, 이는 이에 제한되지는 않지만, 정제, 캡슐(고체 또는 액체 충전됨), 산제, 과립, 시럽 및 기타 액체, 엘릭시르(elixirs), 흡입제, 트로쉬(troches), 로젠제(lozenges), 및 용액들을 포함한다. 주사가능한 조성물들 또는 정맥 주입액들은 용액, 혼탁액 및 에멀션의 형태로도 제공된다.

또다른 구체예에서, 본 발명에 따른 약학 조성물은, 예로서 효능을 증가시키거나 부작용을 감소시키기 위한 하나 이상의 추가 약제들을 포함할 수 있다. 따라서, 일부 구체예들에서, 약학 조성물은 HDAC에 의해 직접 또는 간접적으로 매개되는 질병의 치료 또는 저해에 유용한 활성 성분들로부터 선택되는 하나 이상의 추가 치료제들을 더 포함한다. 이러한 활성 성분들의 예들은, 이에 제한되지는 않지만, 암, 헌팅턴병, 낭포성 섬유증, 간 섬유증, 신장 섬유증, 폐 섬유증, 피부 섬유증, 류마티즘성 관절염, 당뇨병 또는 심부전증을 치료 또는 저해하기 위한 약제이다.

또다른 구체예에서, 포함되는 추가적인 치료제는 항암제이다. 항암제의 예들을 이에 제한되지는 않지만 다음을 포함한다: 시클로포스파미드, 다카르바진(dacarbazine) 및 시스플라틴과 같은 알킬화제들; 메토트렉세이트, 머캡토퓨린, 티오구아닌, 플루오로우라실 및 시타라빈과 같은 항-대사물질들; 빈블라스틴 및 파클리탁셀과 같은 식물성 알칼로이드들; 독소루비신, 블레오마이신 및 미토마이신과 같은 항종양성 항생제들; 프레드니손, 타목시

펜 및 플루타미드와 같은 호르몬류/항호르몬류; 기타 유형의 항암제들, 예컨대 아스파라기나아제, 리툭시맙, 트라추주맙(trastuzumab), 이마티닙(imatinib), 레티논산 및 유도체들, 콜로니(colony) 자극 인자들, 아미포스틴(amiostine), 캄프토테신(camptothecin), 토포테칸(topotecan), 탈리도미드(thalidomide) 유사체들, 예컨대 레날리도미드(lenalidomide), CDK 저해제들, 벨케이드(Velcade)와 같은 프로테아제 저해제들, 및 기타 HDAC 저해제들.

또다른 구체예에서, 본 발명은 비정상 세포 증식 및/또는 분화로 인해 발생되는 질병들을 그를 필요로 하는 실험대상에서 저해 또는 치료하는 방법을 제공하며, 이는 본 발명에 따른 하나 이상의 화합물들의 치료 유효량을 상기 실험대상에 투여하는 것을 포함한다. 한 구체예에서, 질환 저해 또는 치료 방법은 유효량의 본 발명의 하나 이상의 화합물 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 조성물을, 그를 필요로 하는 실험대상에게 투여하는 것을 포함한다. 투여되는 조성물은 항암제와 같은 치료제를 더 포함할 수 있다.

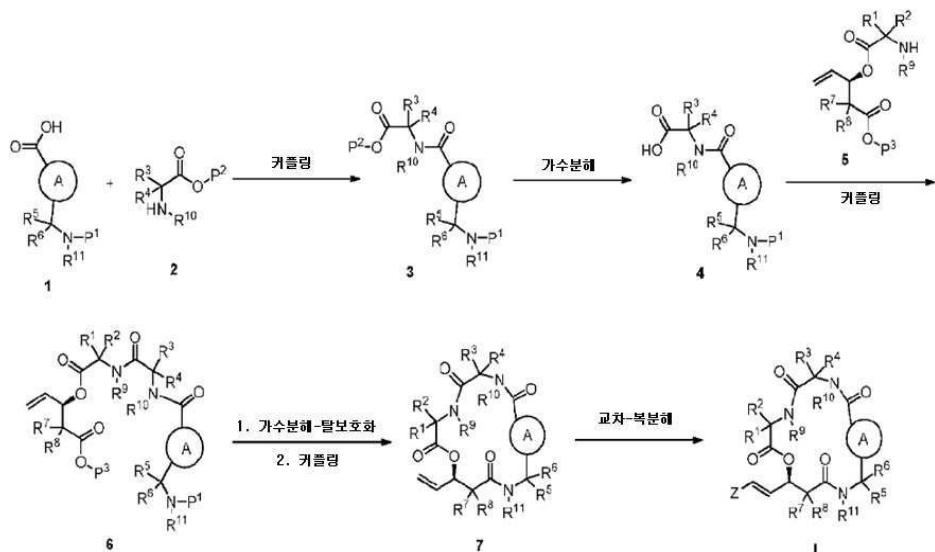
비록 본 발명은 다수의 구체예들을 참조하여 구체적으로 나타내고 설명하였으나, 당업자들은 형태 및 상세한 내용에서의 변화들이 여기 개시된 각종 구체예들에 만들어질 수 있고, 그러한 여기 개시된 각종 구체예들은 본 발명의 청구범위들을 제한하고자 하는 것은 아님을 이해할 것이다. 여기 인용된 모든 참고문헌들은 그 전체로서 참고문헌으로 통합된다.

본 발명의 화합물들

본 발명의 화합물들은 본 명세서에서 그들의 화학 구조 및/또는 화학명들에 의해 정의된다. 본 발명의 화합물들은 일반적으로 IUPAC 또는 CAS 명명 체계에 따라 명명된다. 당 기술분야의 당업자에게 공지된 약어표시들이 사용될 수 있다. 화합물이 화학 구조 및 화학명 모두로써 언급되는 경우, 및 화학 구조와 화학명이 맞지 않으면, 화학 구조가 본 화합물의 정체성을 결정한다.

본 발명의 화학식 I의 화합물을 하기 일반 도식, 반응식 I에 따라 합성하였다:

[반응식 I]



도식 중 일반식 1의 아릴 또는 헤테로아릴 중간체들 및 일반식 2의 아민 중간체들을 당 기술 분야의 방법들 또는 상업적으로 유용한 방법에 의해 합성할 수 있다 (Sigma-Aldrich; Advanced Chem Tech; Pep tech; Synthatech). 일반식 1의 산들과 일반식 2의 아민들의 커플링은, EDCI (1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필) 카르보디이미드) 또는 HATU (2-(7-아자-1H-벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트)와 같은 적당한 시약들을 이용하는 알려진 커플링 방법들에 의하여 일반식 4의 아미드들을 제공한다. 일반식 3의 에스테르들의 가수분해는 일반식 4의 산들을 제공하며, 이는 순차적으로 일반식 5의 아민과 커플링되어 일반식 6의 화합물들을 산출한다. 커플링체들의 예들로 EDCI (1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필) 카르보디이미드) 또는 HATU (2-(7-아자-1H-벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트)가 있다. 일반식 6의 화합물들의 아민 보호기의 가수분해 및 제거에 이어, 거대고리화는 일반식 7의 거대락탐을 제공한다. 거대고리화는 일반식 6의 화합물들의 탈보호된 아미노산들을 테트라하이드로푸란과 같은 용매 중 디이소프로필에틸아민, HATU (2-(7-아자-1H-벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트)와 반

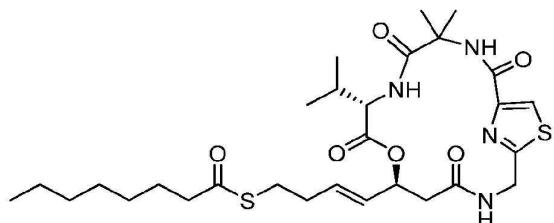
응시키므로써 달성될 수 있다. 일반식 7의 화합물들은 올레핀 교차 복분해 반응에 의해 본 발명의 화학식 I의 화합물로 전환된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0084] 실시예들

[0085] 하기 실시예들은 단지 예시적인 목적으로만 제공되며, 본 발명의 범주를 제한하고자 하는 것은 아니다.

[0086] 실시예 1 S-(E)-4-((7S,10S)-7-이소프로필-4,4-디메틸-2,5,8,12-테트라옥소-9-옥사-16-티아-3,6,13,18-테트라아자비시클로[13.2.1]옥타데카-1(17),15(18)-디엔-10-일)부트-3-에닐 옥탄티오에이트.



[0087]

단계 1: 메틸 2-(2-((tert-부톡시카르보닐아미노)메틸)티아졸-4-카르복스아미도)-2-메틸프로파노에이트의 제조: 50mL 염화메틸렌이 담긴 등근바닥 플라스크에, 2-((tert-부톡시카르보닐아미노)메틸)티아졸-4-카르복실산(2.0g, 7.74mmole) 및 메틸 2-아미노-2-메틸프로파노에이트 염산염 (1.25g, 8.13mmole)을 첨가하였다. 이 혼합물에, 트리에틸아민 (5.4mL, 38.7mmole)을 첨가하고, 이어서 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필) 카르보디이미드 (2.97g, 15.5mmole) 및 히드록시벤조트리아졸 (2.09g, 15.5mmole)을 그 후 첨가하였다. 결과 혼합물을 실온에서 하룻밤 동안 교반하였다. 이 혼합물을 그 후 염화메틸렌으로 회석하였다. 혼합물을 물로 세척하고, 수성층을 염화메틸렌으로 추출하였다. 조합된 유기층을 그 후 Na_2SO_4 상에서 건조시키고 여과하였다. 여과물을 농축하였으며, 1:1 EtOAc/헥산으로 용리하여 실리카겔 컬럼 크로마토그래프에 의하여 정제하여 원하는 생성물을 제공하였다 (2.40g, 87% 수율).

단계 2: 2-(2-((tert-부톡시카르보닐아미노)메틸)티아졸-4-카르복스아미도)-2-메틸프로판산의 제조: 메틸 2-(2-((tert-부톡시카르보닐아미노)메틸)티아졸-4-카르복스아미도)-2-메틸프로파노에이트(2.4g, 6.7mmole)를 10mL 메탄올 및 3mL 물 중에 용해시켰다. 이 혼합물에, 수산화리튬 1수화물 (0.56g, 13.4mmole)을 첨가하였다. 반응물을, TLC가 출발물질의 완전한 소비를 나타낼 때까지, 실온에서 교반하였다. 이 혼합물에, 물 및 EtOAc를 첨가하고, 수성층을 2N HCl로 산성화하여 약 pH 7로 하였다. 층들을 분리하고 수성층을 EtOAc로 추출하였다. 조합된 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축하여 원하는 생성물을 백색 고체로서 제공하였다 (2.3g, 정량적 수율).

단계 3: tert-부틸 (3S)-3-[(2S)-2-(2-((tert-부톡시)카르보닐)아미노)메틸]-1,3-티아졸-4-일]포름아미도}-2-메틸프로판아미도)-3 메틸부타노일옥시)펜트-4-에노에이트의 제조: 10mL 디메틸포름아미드 중의 2-(2-((tert-부톡시카르보닐아미노)메틸)티아졸-4-카르복스아미도)-2-메틸프로판산 (1.26g, 3.67mmole) 용액에 HBTU (0-벤조트리아졸-N,N',N'-테트라메틸-우로늄-헥사플루오로-포스페이트) (1.67g, 4.40mmole) 및 디이소프로필에틸아민 (2.0mL, 11.0mmole)를 첨가하였다. 결과의 반응 혼합물을 실온에서 10분 동안 교반하였다. (S)-tert-부틸 3-((S)-2-아미노-3-메틸부타노일옥시)펜트-4-에노에이트 (1.0g, 3.67mmole)를 첨가하고, 결과의 혼합물을 하룻밤 동안 교반하였다. 물 및 EtOAc를 첨가하고, 층들을 분리하였다. 수성층을 EtOAc로 추출하고, 조합된 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조하고 농축하였다. 1:1 Hex/EtOAc로 용리하여 컬럼 크로마토그래프에 의해 정제하여 원하는 생성물을 수득하였다 (2.1g, 96% 수율).

단계 4: (7S,10S)-7-이소프로필-4,4-디메틸-10-비닐-9-옥사-16-티아-3,6,13,18-테트라아자비시클로[13.2.1]옥타데카-1(17),15(18)-디엔-2,5,8,12-테트라온의 제조: 10mL 염화메틸렌 중 (7S,10S)-7-이소프로필-4,4-디메틸-10-비닐-9-옥사-16-티아-3,6,13,18-테트라아자비시클로[13.2.1]옥타데카-1(17),15(18)-디엔-2,5,8,12-테트라온 (200mg, 0.33mmole)의 용액을 0°C로 냉각시켰다. 이 혼합물에, 10mL의 트리플루오로아세트산을 첨가하였다. 이 혼합물을 0°C에서 1.5시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하고, 톨루엔과 3회 및 테트라하이드로푸란과 1회 공비혼합하여(azeotroped) 아민-산을 제공하였다. 제 2의 등근바닥 플라스크에 70mL 중 테트라하이드로푸란 중, HATU (381mg, 1.0mmole) 및 N,N-디이소프로필에틸아민(0.51mL, 2.85mmole)을 넣었다. 이 혼합물을 0°C로

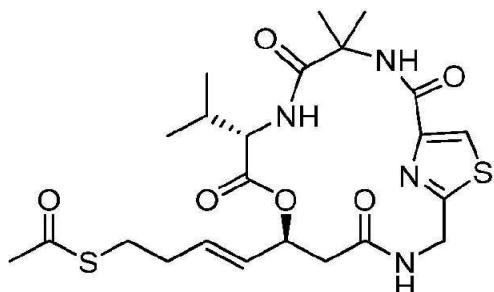
냉각시켰다. 14mL 테트라하이드로 푸란 중 상기 조생의 아민-산의 용액을 주사 펌프를 이용하여 8시간에 걸쳐 첨가하였다. 반응 혼합물을 그 후 4°C의 냉각실에서 하룻밤 동안 교반하였다. 그 후 실온으로 가온하고 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 그 후 물로 수냉하였다. 층들을 분리하고 수성층을 EtOAc로 추출하였다. 조합된 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 농축하였다. 이 혼합물을, EtOAc를 이용하여 용리하여 실리카 겔 크로마토그래피에 의하여 정제하여 원하는 생성물을 제조하였다. 이를 역상 크로마토그래피에서 0~100%물/ CH_3CN 로 용리하여 더욱 정제하여 원하는 생성물을 얻었다(45mg, 32% 수율).

단계 5: (7S,10S)-10-((E)-4-브로모부트-1-에닐)-7-이소프로필-4,4-디메틸-9-옥사-16-티아-3,6,13,18-테트라아자비시클로[13.2.1]옥타데카-1(17),15(18)-디엔-2,5,8,12-테트라온의 제조: 2mL의 1,2-디클로로에탄 중 (7S,10S)-7-이소프로필-4,4-디메틸-10-비닐-9-옥사-16-티아-3,6,13,18-테트라아자비시클로[13.2.1]옥타데카-1(17),15(18)-디엔-2,5,8,12-테트라온(20mg, 0.047mmole)의 혼합물에 4-브로모-1-부텐 (25.6mg, 0.19mmole) 및 잔-1(Zhan-1) 촉매 (3.2mg, 0.0047mmole)를 첨가하였다. 이 혼합물을 간단히 탈기한 후 밀봉 투브 내에서 85 °C에서 하룻밤 동안 가열하였다. 이 조생성물을 농축하고, 실리카겔 플러그(plug)를 통과시켜 원하는 생성물과 회수된 출발 물질의 혼합물(2:1 비율)을 수득하였다. 이를 역상 크로마토그래피로 더욱 정제시키고, 0~80% 물/CH₃CN로 용리하여 원하는 생성물을 수득하였다 (8mg, 32% 수율).

단계 6: S-(E)-4-((7S,10S)-7-이소프로필-4,4-디메틸-2,5,8,12-테트라옥소-9-옥사-16-티아-3,6,13,18-테트라아자비시클로[13.2.1]옥타데카-1(17),15(18)-디엔-10-일)부트-3-에닐 옥탄티오에이트의 제조: 1mL 아세톤 중 (7S,10S)-10-((E)-4-브로모부트-1-에닐)-7-이소프로필-4,4-디메틸-9-옥사-16-티아-3,6,13,18-테트라아자비시클로 [13.2.1] 옥타데카-1(17),15(18)-디엔-2,5,8,12-테트라온 (15mg, 0.028mmole)의 혼합물에, K_2CO_3 (16mg, 0.12mmole) 및 옥탄티온 S-산(octanethioic S-acid) (14mg, 0.085mmole)을 실온에서 첨가하였다. 이 혼합물을 4시간 동안 실온에서 교반하였다. 용매를 증발시켰다. 조생의 혼합물을 실리카 젤 플러그를 통과시켰다. 0~90% 물/ CH_3CN 로 용리하여 역상 크로마토그래피에 의해 더욱 정제하여 원하는 생성물을 수득하였다 (4mg, 23% 수율). ^1H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.02 (s, 1H), 7.62 (s, 1H), 6.47 (d, J = 10.85Hz, 1H), 6.33 (dd, J = 8.65, 4.50 Hz, 1H), 5.83~5.67 (m, 2H), 5.64~5.56 (m, 1H), 5.18 (dd, J = 17.31, 8.22 Hz, 1H), 4.64 (dd, J = 9.87, 3.97 Hz, 1H), 4.37 (dd, J = 17.21, 4.01 Hz, 1H), 2.87 (t, J =7.2 Hz, 2H), 2.81~2.61(m, 2H), 2.51 (t, J =7.5 Hz, 2H), 2.30(m, 3H), 1.90 (s, 3H), 1.59 (m, 2H), 1.57(s, 3H), 1.27 (m, 8H), 0.88 (m, 5H), 0.69 (d, J =6.82Hz, 3H)

S-(E)-4-((7S,10S)-7-이소프로필-4,4-디메틸-2,5,8,12-테트라옥소-9-옥사-16-티아-3,6,13,18-테트라아자비시클로[13.2.1]옥타데카-1(17),15(18)-디엔-10-일)부트-3-에닐 옥탄티오에이트 제조의 다른 경로: 1 mL 디클로로에탄 중 (7S,10S)-7-이소프로필-4,4-디메틸-10-비닐-9-옥사-16-티아-3,6,13,18-테트라아자비시클로[13.2.1]옥타데카-1(17),15(18)-디엔-2,5,8,12-테트라온 (32.5mg, 0.077mmole, 단계 4로부터 제조) 및 S-부트-3-에닐 옥탄티오에이트(33mg, 0.15mmole)의 혼합물에 그렐라 촉매(Grela catalyst)(5mg, 0.077mmole)를 첨가하였다. 이 혼합물을 아르콘으로 수 분 동안 퍼징하고 85°C에서 2시간 동안 가열하였다. 추가의 옥탄티오에이트(16.5mg, 0.077mmole) 및 그렐라 촉매(5mg, 0.077mmole)를 첨가하였다. 2시간을 더 교반하였다. 용매를 증발시키고 혼합물을 실리카겔 크로마토그래피로 정제하여 원하는 생성물을 수득하였다 (21.3mg, 46%). MS (ESI) $[M+Na]^+$ = 631.3

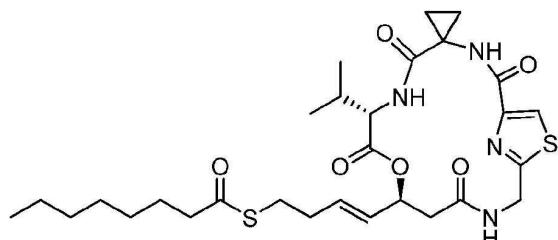
실시예 2: S-(E)-4-((7S,10S)-7-아이소프로필-4,4-디메틸-2,5,8,12-테트라옥소-9-옥사-16-티아-3,6,13,18-테트라아자비시클로[13.2.1]옥타데카-1(17),15(18)-디엔-10-일)부트-3-에닐 에탄티오에이트.



[0096]

[0097] 0.5mL 아세톤 중 (7S,10S)-10-((E)-4-브로모부트-1-에닐)-7-이소프로필-4,4-디메틸-9-옥사-16-티아-3,6,13,18-테트라아자비시클로[13.2.1]옥타데카-1(17),15(18)-디엔-2,5,8,12-테트라온 (20mg, 0.038mmole) (실시예의 단계 5에서 제조됨) 혼합물에 K_2CO_3 (10.5mg, 0.08mmole) 및 티오아세트산 (6mg, 0.08mmole)을 실온에서 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 용매를 증발시켰다. 조생의 혼합물을, EtOAc로, 그 후 EtOAc 중 10% MeOH로 용리하여 실리카 젤 크로마토그래피로 정제해서 원하는 생성물을 수득하였다 (19mg, 96% 수율). MS (ESI) $[M+Na]^+$ = 547.2

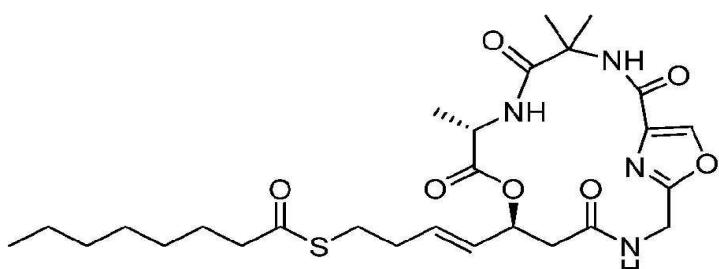
[0098] 실시예 3: S-(E)-4-((7S,10S)-7-이소프로필-2,5,8,12-테트라옥소-9-옥사-16-티아-3,6,13,18-테트라아자스피로[비시클로[13.2.1]옥타데카[1(17),15(18)]디엔-4,1'-시클로프로판]-1-일)부트-3-에닐 옥탄티오에이트.



[0099]

[0100] 이 화합물을, 적절한 출발 물질들을 이용하여 실시예 1의 절차에 따라 제조하였다. MS (ESI) $[M+Na]^+$ = 629.2

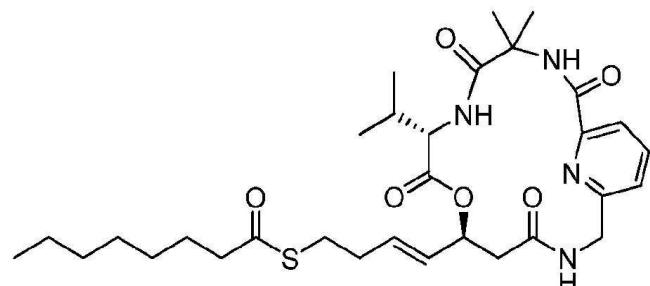
[0101] 실시예 4: S-(E)-4-((7S,10S)-4,4,7-트리메틸-2,5,8,12-테트라옥소-9,16-디옥사-3,6,13,18-테트라아자비시클로[13.2.1]옥타데카-1(17),15(18)-디엔-10-일)부트-3-에닐 옥탄티오에이트.



[0102]

[0103] 이는 적절한 출발 물질들을 이용하여 실시예 1의 절차에 따라 제조하였다. MS (ESI) $[M+Na]^+$ = 587.3

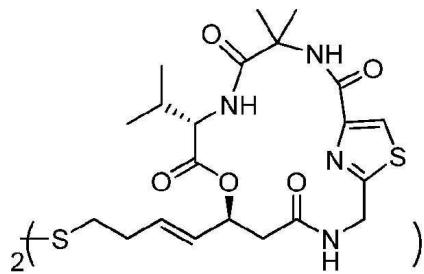
[0104] 실시예 5: (7S,10S)-4,4-디메틸-10-[(1E)-4-(옥타노일슬파닐)부트-1-엔-1-일]-7-(프로판-2-일)-9-옥사-3,6,13,19-테트라아자비시클로[13.3.1]노나데카-1(18),15(19),16-트리엔-2-테트론.



[0105]

[0106] 이는 적절한 출발 물질들을 이용하여 실시예 1의 절차에 따라 제조하였다. MS (ESI) $[M+Na]^+$ = 625.3

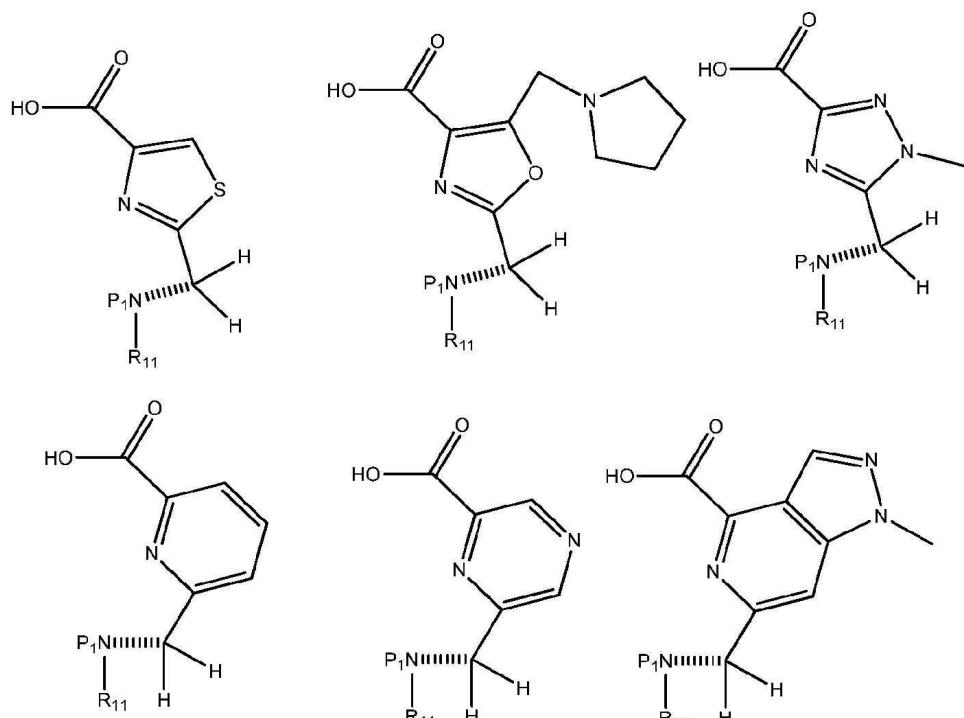
[0107] 실시예 6: 다이머 (7S,10S)-7-이소프로필-10-((E)-4-(((E)-4-((7R,10R)-7-이소프로필-4,4-디메틸-2,5,8,12-테트라옥소-9-옥사-16-티아-3,6,13,18-테트라아자비시클로[13.2.1]옥타데카-1(17),15(18)-디엔-10-일)부트-3-에닐)디슬파닐)부트-1-에닐)-4,4-디메틸-9-옥사-16-티아-3,6,13,18-테트라아자비시클로[13.2.1]옥타데카-1(17),15(18)-디엔-2-테트라온.



[0108]

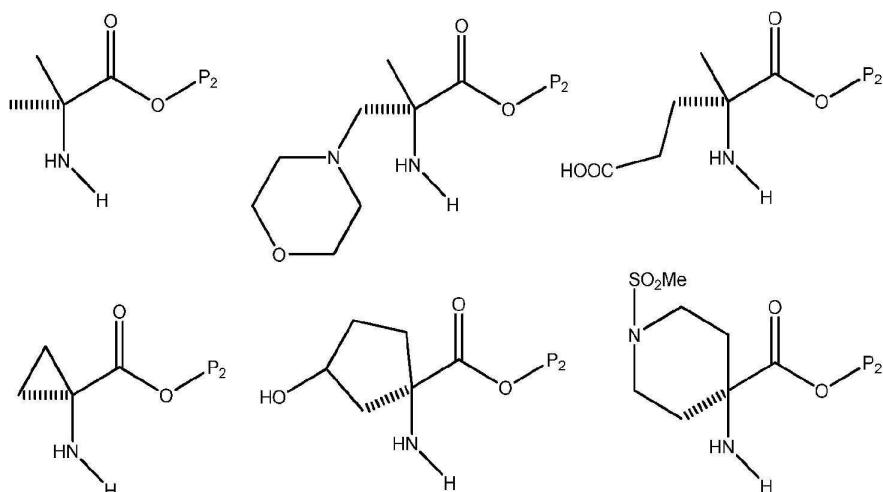
[0109] 2mL CH₃CN 중의 S-(E)-4-((7S,10S)-7-이소프로필-4,4-디메틸-2,5,8,12-테트라옥소-9-옥사-16-티아-3,6,13,18-테트라아자비시클로[13.2.1]옥타데카-1(17),15(18)-디엔-10-일)부트-3-에닐 옥탄티오에이트 (10mg, 0.016mmole)의 용액 중에, 수성 NH₃(28.9%, 0.2mL)를 첨가하였다. 이 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 그 후, 0.2mL의 추가 수성 암모니아를 첨가하고, 반응물을 하루동안 교반하였다. 추가의 0.2mL 수성 암모니아를 첨가하고, 결과 혼합물을 하룻밤 동안 교반하였다. 또 다른 0.1mL의 수성 NH₃를 첨가하고, 6시간 동안 교반하였다. 이를 농축하고 잔기를 EtOAc/MeOH (10/1)로 용리하여 실리카 젤 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다. 원하는 생성물을 포함한 분획들을 조합하였다. 이를 역상 크로마토그래피로, 0~80% CH₃CN/물로 기울기 용리하여 다시 정제하여 원하는 생성물을 수득하였다 (6.5 mg, 82%). MS (ESI) [M+Na]⁺ = 985.3

[0110] 하기는 반응식 I 중 화학식 1의 화합물들의 비제한적인 예들이다:



[01111]

[0112] 한기는 밤을식 | 중화학식 2의 화합물들의 비제한적인 예들이다:



[0113]

[0114]

실시예 7: 세포배양

[0115]

SW480, HCT116, 및 MDA-MB231 세포주들을 미국 종균협회(American Tissue Culture Collection: ATCC)로부터 구매하였다. SW480 및 MDA-MB231 세포들은 습윤된 5% CO₂ 분위기 중 37°C에서 10% 우태아 혈청으로 보충된 둘째 코 변형 이글 배지(Dulbecco's modified Eagle's medium) 중에서 배양되었다. HCT116 세포주는 1.5mM L-글루타민 및 10% 우태아 혈청 [ATCC; Cat. No. 30-2020]을 갖는 맥코이 5a 배지 [ATCC; Cat. No. 30-2007] 중에서 배양되었다. HME 세포들 (Clonetics, San Diego, CA; 공여자 4144)을 클로네틱스의 추천 배지(Clonetics' recommended medium) 및 보충물(52 μg/ml 소 뇌하수체 추출물, 0.5 μg/ml 하이드로코르티손, 0.01 μg/ml 인간 표피 성장인자, 5 μg/ml 인슐린, 50 μg/ml 젠타마이신 및 50ng/ml 암포테리신-B) 중에서 무혈청 배양하였다.

[0116]

실시예 8: 세포 생육성 분석

[0117]

상이한 암들로부터의 8,000개 세포들을 편평한 바닥의 96-웰 마이크로플레이트들 내에 도말하였다. (세포들은 없지만, 동일한 부피의 매질을 포함하는 백그라운드 대조구 웰들은 각 분석 플레이트 중에 포함되었다). 접종한지 24시간 후, 새로운 매질을 첨가하였다. 시험관 내 세포독성을 평가하기 위하여, 각 화합물을 DMSO 중에 용해시키고 시험 직전에 제조하고, 세포 배양물들에 첨가하기 전에 완전한 배지 내로 희석시켰다. 시험 화합물들을 그 후 지정된 감소하는 농도의 배양 매질에 첨가하였다 (600nM에서 10nM). 세포 생육성은 48시간 후, 에탄올 중에 용해시킨 크리스탈 보라색 염료 (Sigma-Aldrich)를 이용하여 측정하였으며, 흡광도는 Tecan Sail re II 플레이트 리더기를 이용하여 588nm에서 측정하였다. 시험들은 6회 반복하여 측정하였으며, GraphPad Prism (San Diego, CA)을 이용하여 데이터의 최소제곱 비선형 회귀분석에 의하여 농도-반응 곡선들을 만들었다. 각 화합물에 대한 성장 저해 (GI₅₀)는 대조구들에 비교하여 A₅₈₈에서 50% 감소를 일으키는 약물 농도로서 정의된다.

[0118]

실시예 9: 웨스턴 블로팅

[0119]

웨스턴 블로팅 분석을 위하여, 총 단백질 추출물을 용해 버퍼(50mM Tris-Cl [pH 8.0], 5mM EDTA, 150mM NaCl, 1% NP-40, 0.1% SDS 및 1mM 폐닐메틸су포닐 플루오라이드)에서 세포들을 용해시키므로써 제조하였다. 50 μg의 총 가용성 단백질들을 SDS-PAGE에 의하여 분리하였다. 단백질들을 니트로셀룰로오스 막으로 옮기고, 그 막을 4% 무지방 우유로 1시간 동안 차단한 후, 4°C에서 아세틸화 히스톤 H3 (1:1000, Upstate, #06-599), 에즈린(Ezrin) (1:10000, Sigma, E-8897), 글리세르알데하이드 3-포스페이트 디하이드로게나아제 (GAPDH; 1:20000, Santa Cruz, sc-47724), 히스톤 H3 (H3; 1:1000, Santa Cruz, sc-8654)에 대한 일차 항체들과 함께 하룻밤 동안 인큐베이션하였다. 막들을 퍼옥시다아제 접합된 이차 항체들과 함께 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. Super Signal WestDura를 이용하여 검출을 수행하였다. Ezrin 및 GAPDH의 발현을 부하/loading 대조구로서 이용하였다.

[0120]

실시예 10: 라르가졸 및 이의 유사체들의 암세포 성장에 대한 효과 판단을 위한 분석

[0121]

상이한 암세포들 또는 비형질전환된 세포들로부터의 8,000개 세포들을 편평한 바닥의 96-웰 마이크로플레이트들 내에 도말하였다. (세포들은 없지만, 동일한 부피의 매질을 포함하는 백그라운드 대조구 웰들은 각 분석 플레이트 중에 포함되었다). 접종한지 24시간 후, 새로운 매질을 첨가하였다. 시험관 내 세포독성을 평가하기 위

하여, 각 화합물을 DMSO 중에 용해시키고 시험 직전에 제조하고, 세포 배양물들에 첨가하기 전에 완전한 배지내로 희석시켰다. 시험 화합물들을 그 후 지정된 감소하는 농도의 배양 매질에 첨가하였다 (600nM에서 10nM). 세포 생육성은 48시간 후, 에탄올 중에 용해시킨 크리스탈 보라색 염료 (Sigma-Aldrich)를 이용하여 측정하였으며, 흡광도는 Tecan Sail re II 플레이트 리더기를 이용하여 588nm에서 측정하였다. 시험들은 6회 반복하여 측정하였으며, GraphPad Prism (San Diego, CA)을 이용하여 데이터의 최소제곱 비선형 회귀분석에 의하여 농도-반응 곡선들을 만들었다. 각 화합물에 대한 성장 저해 (GI_{50})는 대조구들에 비교하여 A_{588} 에서 50% 감소를 일으키는 약물 농도로서 정의된다.

[0122] **실시예 11:** 라르가졸 및 이의 유사체들의 암세포들의 유전자 발현 프로파일들에 대한 효과 결정을 위한 DNA 마이크로어레이 연구

HCT116 세포들을 약 60% 컨플루언시(confluence)에서 3벌 접종하였다. 8시간 후, 세포들을 비히를 대조구 DMSO (0.01%), SAHA (200 μ M), 라르가졸 (20nM) 또는 실시예 1 (20 nM)로 처리하였다. 세포들을 6 또는 24시간 동안 인큐베이션한 후, 이어서 포스페이트-비페화된 식염수로 세척하였다. 총 RNA를, 세척 후 즉시 RNeasy Mini RNA 추출 키트 (QIAGEN Inc., Valencia, CA)를 이용하여 추출하였다. 콜로라도-덴버 대학 건강과학 센터 (University of Colorado-Denver Health Sciences Center)에서, 총 RNA 농도를 Lambda 800 UV/VIS 분광기 (PerkinElmer, Waltham, MA)를 이용하여 결정하였으며, 라벨링 혼성화, 세척 및 스캔하였다. 3개의 GeneChip [®] Human Gene 1.0 ST (Affymetrix, Santa Clara, CA) 어레이들을, 총 24 어레이들에 대하여, 각 시기, 세포 유형들 및 처리들에 이용하였다. 각 샘플에 대한 발현 값 파일들은 Robust Multichip Average (RMA) 알고리즘을 이용하여 생성하였다. 차별 발현은 R 소프트웨어 패키지 리마를 이용하여 결정하여, 선형 모델 및 경험적 베이스 통계학을 생성하였다. 유전자들은, Benjamini와 Hochberg 방법을 이용한 다중 검정시험에 대하여 조정된 P 값이 $\leq 5\%$ 이고, 로그-2배 변화가 ≤ 1 또는 ≥ -1 인 경우, 차별적으로 발현되는 것으로 고려되었다. GeneSpring GX (Agilent, Santa Clara, CA) 소프트웨어를 사용하여 계층적 클러스터링 및 히트맵을 작성하였다.

[0124] 참고문헌들

- Allfrey, V.G., Faulkner, R., and Mirsky, A.E. 1964. Acetylation and Methylation of Histones and Their Possible Role in the Regulation of RNA Synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 51: 786-794.
- Berge, S.M., Bighley, L.D., and Monkhouse, D.C. 1977. Pharmaceutical salts. *Journal of pharmaceutical sciences* 66(1): 1-19.
- Bowers, A., West, N., Taunton, J., Schreiber, S.L., Bradner, J.E., and Williams, R.M. 2008. Total synthesis and biological mode of action of largazole: a potent class I histone deacetylase inhibitor. *J Am Chem Soc* 130(33): 11219-11222.
- Finnin, M.S., Donigian, J.R., Cohen, A., Richon, V.M., Rifkind, R.A., Marks, P.A., Breslow, R., and Pavletich, N.P. 1999. Structures of a histone deacetylase homologue bound to the TSA and SAHA inhibitors. *Nature* 401(6749): 188-193.
- Furumai, R., Matsuyama, A., Kobashi, N., Lee, K.-H., Nishiyama, M., Nakajima, H., Tanaka, A., Komatsu, Y., Nishino, N., Yoshida, M., and Horinouchi, S. 2002. FK228 (depsipeptide) as a natural prodrug that inhibits class I histone deacetylases. *Cancer Res* 62(17): 4916-4921.
- Ghosh, A.K. and Kulkarni, S. 2008. Enantioselective total synthesis of (+)-largazole, a potent inhibitor of histone deacetylase. *Org Lett* 10(17): 3907-3909.
- Hang, H.C. and Bertozzi, C.R. 2001. Chemosselective approaches to glycoprotein assembly. *Accounts of chemical research* 34(9): 727-736.
- Kiick, K.L., Saxon, E., Tirrell, D.A., and Bertozzi, C.R. 2002. Incorporation of azides into recombinant proteins for chemoselective modification by the Staudinger ligation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(1): 19-24.
- Kim, D.H., Kim, M., and Kwon, H.J. 2003. Histone deacetylase in carcinogenesis and its inhibitors as anti-cancer agents. *J Biochem Mol Biol* 36(1): 110-119.
- Koh, K.T. 1991. In (ed. F.P.C. Ltd).
- Lane, A.A. and Chabner, B.A. 2009. Histone deacetylase inhibitors in cancer therapy. *J Clin Oncol* 27(32): 5459-5468.

[0125]

- Leder, A., Orkin, S., and Leder, P. 1975. Differentiation of erythroleukemic cells in the presence of inhibitors of DNA synthesis. *Science* 190(4217): 893-894.
- Lemieux, G.A. and Bertozzi, C.R. 1998. Chemoselective ligation reactions with proteins, oligosaccharides and cells. *Trends in biotechnology* 16(12): 506-513.
- Marks, P.A. 2010. The clinical development of histone deacetylase inhibitors as targeted anticancer drugs. *Expert Opin Investig Drugs* 19(9): 1049-1066.
- Marks, P.A. and Breslow, R. 2007. Dimethyl sulfoxide to vorinostat: development of this histone deacetylase inhibitor as an anticancer drug. *Nat Biotechnol* 25(1): 84-90.
- Masuoka, Y., Shin-Ya, K., Furihata, K., Nagai, K., Suzuki, K., Hayakawa, Y., and Seto, H. 2001. Phoeninstatin, a new gene expression-enhancing substance produced by *Acremonium fusigerum*. *J Antibiot (Tokyo)* 54(2): 187-190.
- Minucci, S. and Pelicci, P.G. 2006. Histone deacetylase inhibitors and the promise of epigenetic (and more) treatments for cancer. *Nat Rev Cancer* 6(1): 38-51.
- Nasveschuk, C.G., Ungermannova, D., Liu, X., and Phillips, A.J. 2008. A concise total synthesis of largazole, solution structure, and some preliminary structure activity relationships. *Org Lett* 10(16): 3595-3598.
- Newkirk, T.L., Bowers, A.A., and Williams, R.M. 2009. Discovery, biological activity, synthesis and potential therapeutic utility of naturally occurring histone deacetylase inhibitors. *Nat Prod Rep* 26(10): 1293-1320.
- Rautio, J., Kumpulainen, H., Heimbach, T., Oliyai, R., Oh, D., Jarvinen, T., and Savolainen, J. 2008. Prodrugs: design and clinical applications. *Nat Rev Drug Discov* 7(3): 255-270.
- Sato, T., Friend, C., and De Harven, E. 1971. Ultrastructural changes in Friend erythroleukemia cells treated with dimethyl sulfoxide. *Cancer Res* 31(10): 1402-1417.
- Seiser, T., Kamena, F., and Cramer, N. 2008. Synthesis and biological activity of largazole and derivatives. *Angew Chem Int Ed Engl* 47(34): 6483-6485.
- Shigematsu, N., Ueda, H., Takase, S., Tanaka, H., Yamamoto, K., and Tada, T. 1994. FR901228, a novel antitumor bicyclic depsipeptide produced by *Chromobacterium violaceum* No. 968. II. Structure determination. *J Antibiot (Tokyo)* 47(3): 311-314.
- Somoza, J.R., Skene, R.J., Katz, B.A., Mol, C., Ho, J.D., Jennings, A.J., Luong, C., Arvai, A., Buggy, J.J., Chi, E., Tang, J., Sang, B.-C., Verner, E., Wynands, R., Leahy, E.M., Dougan, D.R., Snell, G., Navre, M., Knuth, M.W., Swanson, R.V., McRee,

- D.E., and Tari, L.W. 2004. Structural snapshots of human HDAC8 provide insights into the class I histone deacetylases. *Structure* 12(7): 1325-1334.
- Taori, K., Paul, V.J., and Luesch, H. 2008. Structure and activity of largazole, a potent antiproliferative agent from the Floridian marine cyanobacterium *Symploca* sp. *J Am Chem Soc* 130(6): 1806-1807.
- Ueda, H., Manda, T., Matsumoto, S., Mukumoto, S., Nishigaki, F., Kawamura, I., and Shimomura, K. 1994a. FR901228, a novel antitumor bicyclic depsipeptide produced by *Chromobacterium violaceum* No. 968. III. Antitumor activities on experimental tumors in mice. *J Antibiot (Tokyo)* 47(3): 315-323.
- Ueda, H., Nakajima, H., Hori, Y., Goto, T., and Okuhara, M. 1994b. Action of FR901228, a novel antitumor bicyclic depsipeptide produced by *Chromobacterium violaceum* no. 968, on Ha-ras transformed NIH3T3 cells. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* 58(9): 1579-1583.
- Ungermannova, D. 2010. P27 as a Molecular Target for Cancer Therapeutics: Discovering Small Molecule Inhibitors of P27 Proteolysis and Structure-Activity Relationship and Mechanistic Studies of Largazole, A Potent Inhibitor of Histone Deacetylase. Ph.D. thesis. University of Colorado-Boulder, Boulder, CO, USA
- Vannini, A., Volpari, C., Filocamo, G., Casavola, E.C., Brunetti, M., Renzoni, D., Chakravarty, P., Paolini, C., De Francesco, R., Gallinari, P., Steinkühler, C., and Di Marco, S. 2004. Crystal structure of a eukaryotic zinc-dependent histone deacetylase, human HDAC8, complexed with a hydroxamic acid inhibitor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(42): 15064-15069.
- Manfred E. Wolff 1995. Burger's medicinal chemistry and drug discovery. 5th Edition. Volume 1: Principles and Practice. Manfred E. Wolff (ed.), Wiley-Interscience, New York. 172-178, 931-932.

Ying, Y., Liu, Y., Byeon, S.R., Kim, H., Luesch, H., and Hong, J. 2008a. Synthesis and activity of largazole analogues with linker and macrocycle modification. *Org Lett* 10(18): 4021-4024.

Ying, Y., Taori, K., Kim, H., Hong, J., and Luesch, H. 2008b. Total synthesis and molecular target of largazole, a histone deacetylase inhibitor. *J Am Chem Soc* 130(26): 8455-8459.

Zeng, X., Yin, B., Hu, Z., Liao, C., Liu, J., Li, S., Li, Z., Nicklaus, M.C., Zhou, G., and Jiang, S. Total synthesis and biological evaluation of largazole and derivatives with promising selectivity for cancers cells. *Org Lett* 12(6): 1368-1371.

[0127]

[0128]

본 발명은 다수의 구체예들을 참조하여 나타내고, 기재되었으나, 본 발명의 기술사상 및 범주에서 벗어나지 않으면서 여기 개시된 각종 구체예들에서 형태 및 상세한 내용에서의 변화들이 만들어질 수 있음과, 여기 개시된 각종 구체예들은 본 발명의 특허청구범위들을 제한하고자 하는 것이 아님을 당업자는 이해할 수 있을 것이다. 본 명세서에서 언급된 모든 참고문헌들은 그 전체가 참고로서 본 발명에 통합된다.

표 1

클래스	효소들	Zn ²⁺ 의존성	위치	발현
I	HDAC1, HDAC2, HDAC3, HDAC8	있음	핵	편재
IIa	HDAC4, HDAC5, HDAC7, HDAC9	있음	핵 및 세포질	조직 특이적
IIb	HDAC6, HDAC10	있음	세포질	조직 특이적
III	Sirtuins 1-7	없음	다양	다양
IV	HDAC11	있음	핵 및 세포질	편재

[0130]

표 2

[0131]

nM 단위의, 세포성장 저해 GI₅₀

화합물 (nM)	HCT-116	세포주들 MDA-MB231	HME
라르가졸	28	71±8	600
CGN-362	600	600	600
CGN-363	600	600	600
CGN-722	9±1	27±6	600
실시예 1	16±2	53	600
실시예 4	17	53±3	600

표 3

DMSO 대조구에 비교해 나타낸 화학물질들로 처리시 그 발현 수준이 2배 변화된 유전자들의 수 요약.

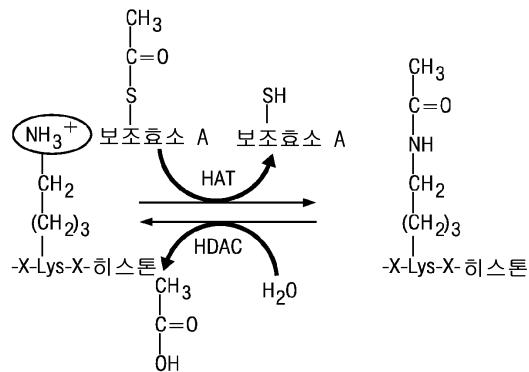
2배-변화 유전자의 수

라르가졸 @6hr	529
라르가졸 @24 hr	566
실시예 1 @ 6 hr	421
실시예 1 @ 24 hr	174
SAHA @ 6 hr	338
SAHA @ 24 hr	34
총	32321

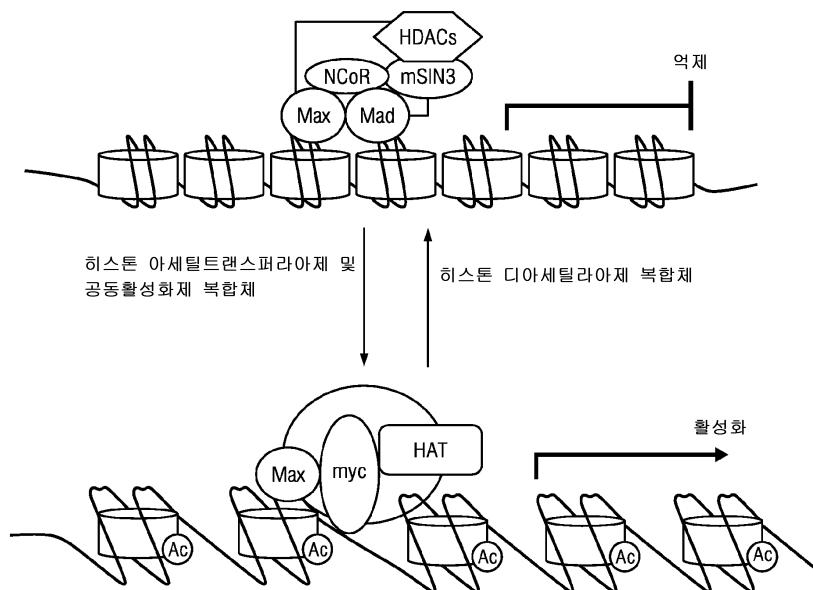
[0132]

도면

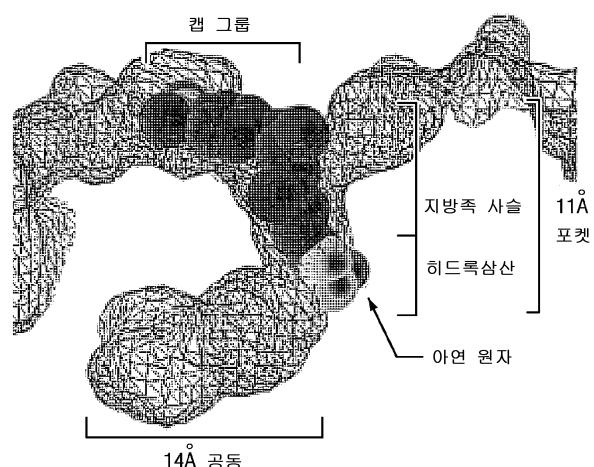
도면 1a



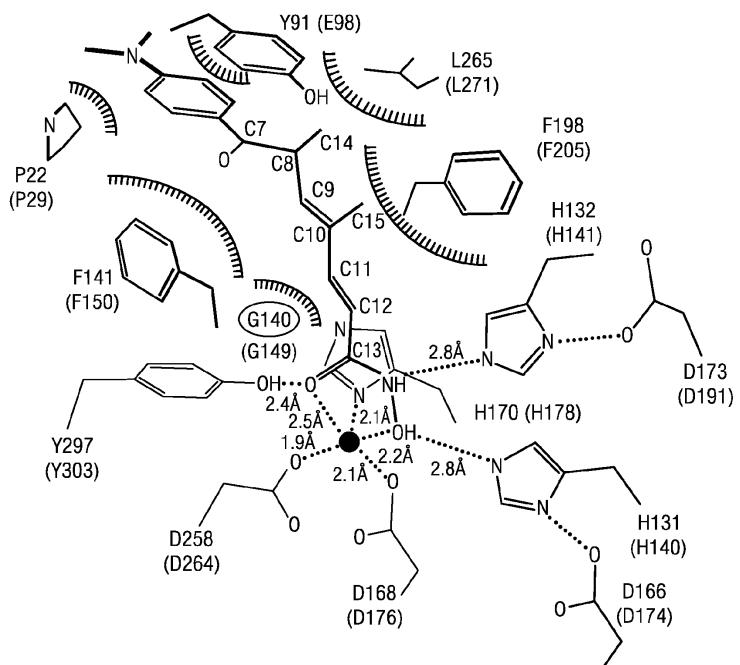
도면 1b



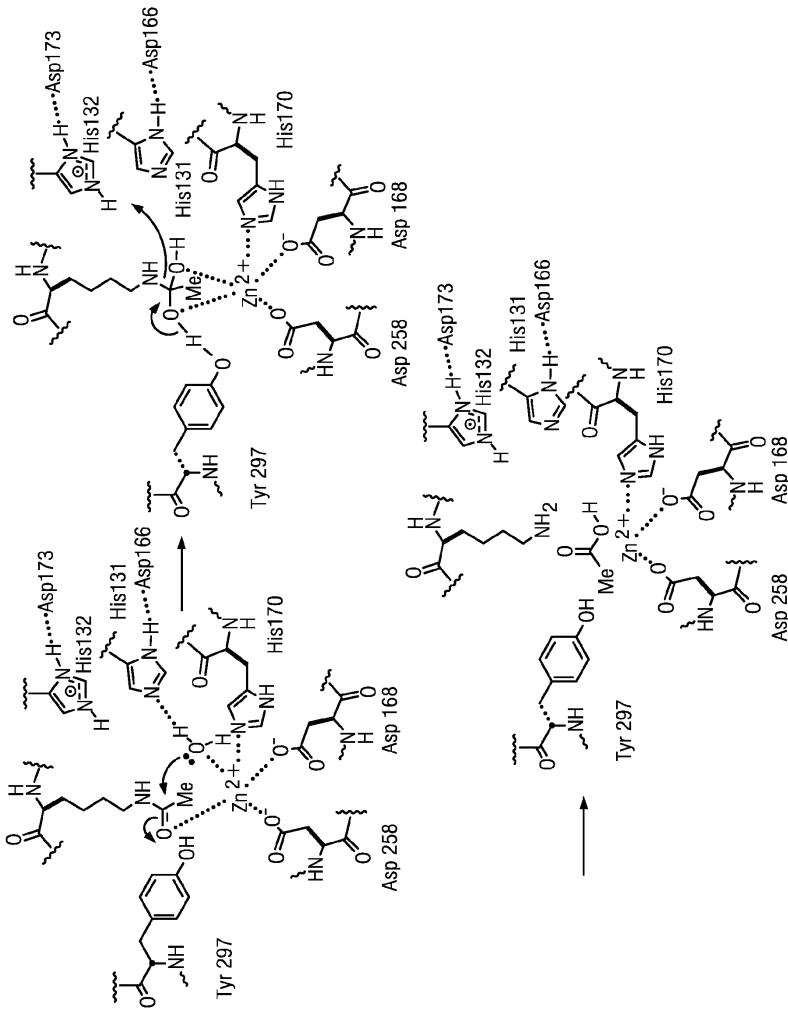
도면 2a



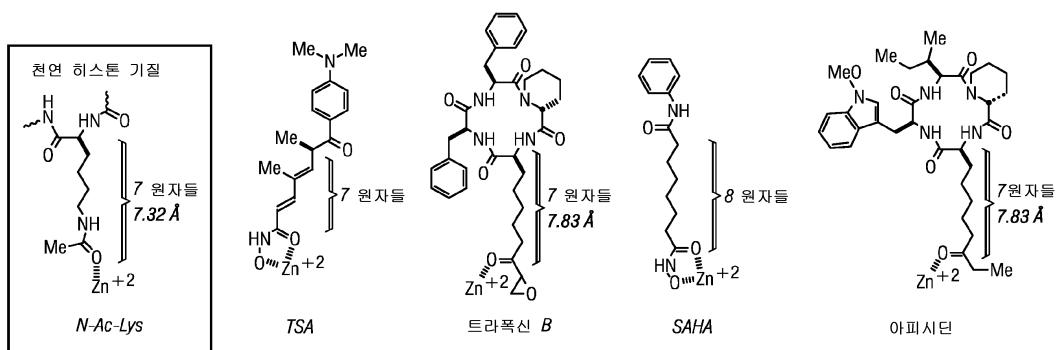
도면2b



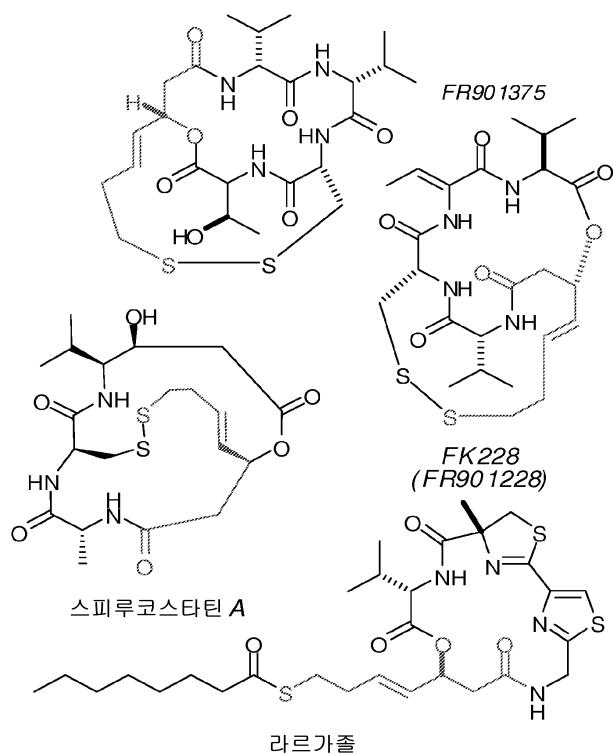
도면3



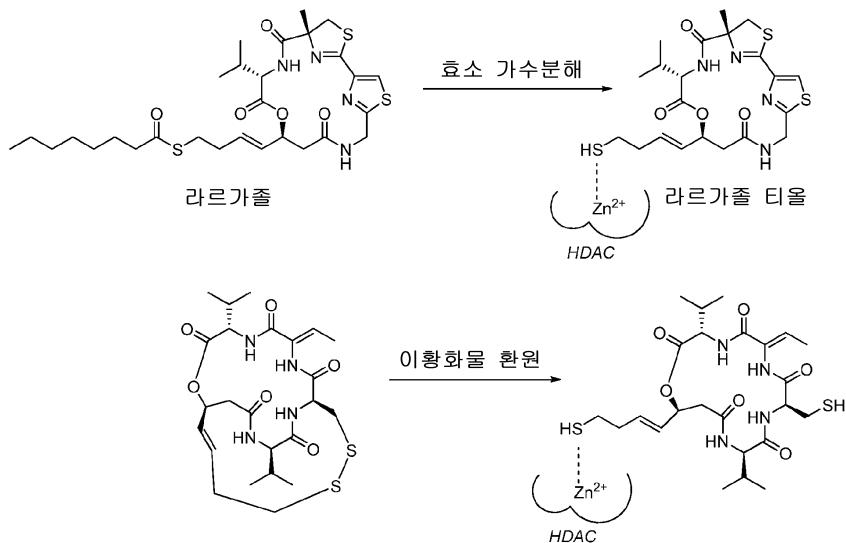
도면4



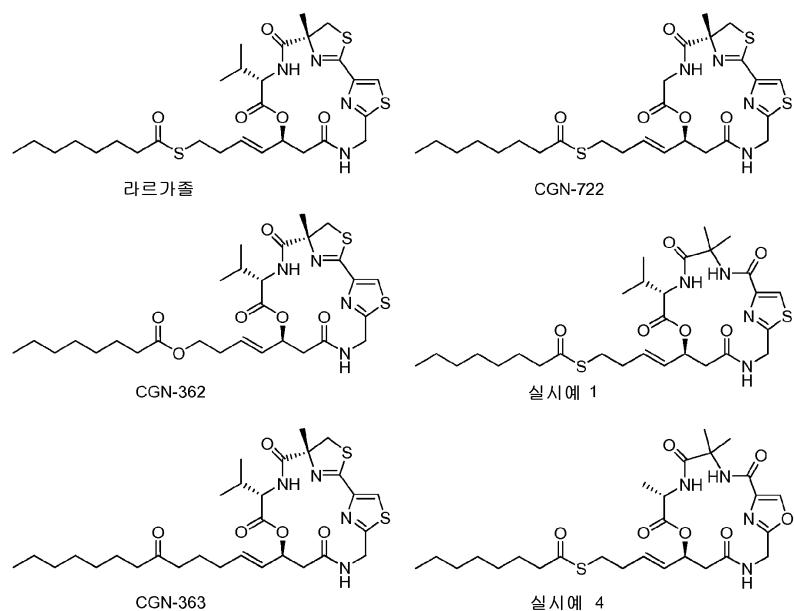
도면5



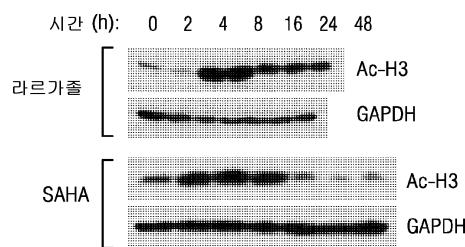
도면6



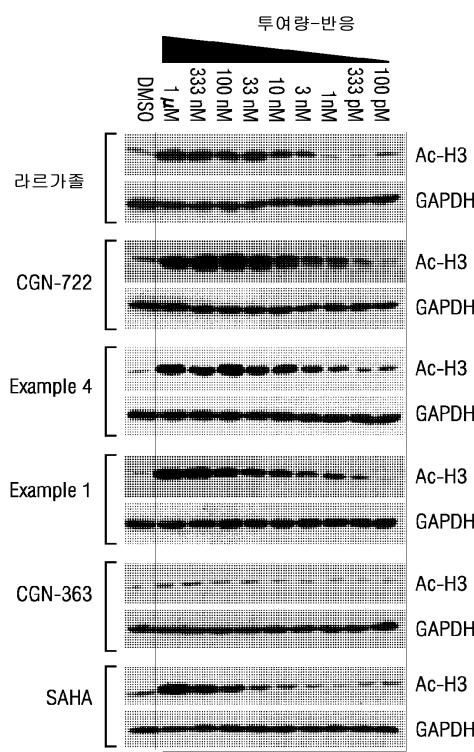
도면7



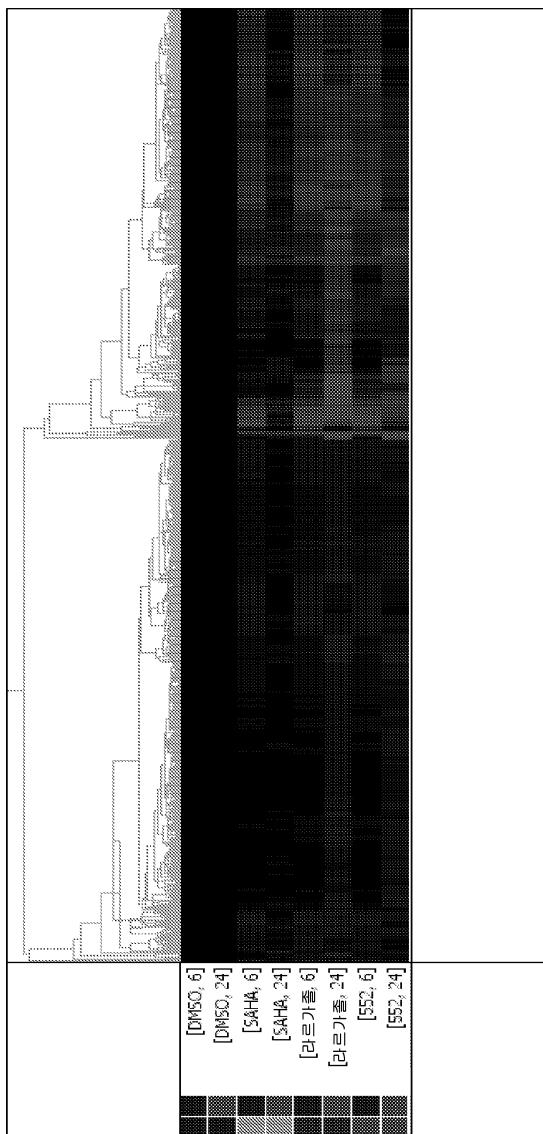
도면8a



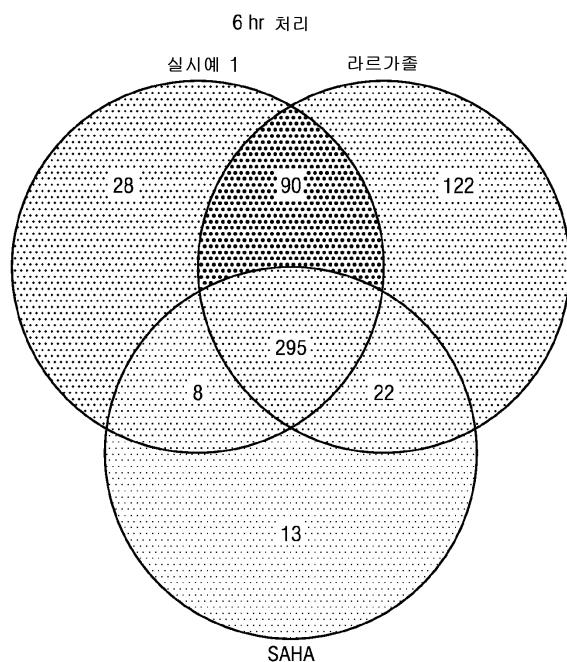
도면8b



도면9a



도면9b



도면9c

