(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2012 년 4 월 26 일 (26.04.2012)

PCT

(10) 국제공개번호
WO 2012/053787 A2

(51) 국제특허분류:
C07C 235/38 (2006.01) *A61K 31/167* (2006.01)
C07C 231/02 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2011/007710

(22) 국제출원일: 2011 년 10 월 17 일 (17.10.2011)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2010-0102661 2010 년 10 월 20 일 (20.10.2010) KR

(71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): **한국생명공학연구원 (KOREA RESEARCH INSTITUTE OF BIOSCIENCE AND BIOTECHNOLOGY)** [KR/KR]; 대전시 유성구 과학로 111, 305-806 Daejeon (KR). **동국대학교 산학협력단 (DONGGUK UNIVERSITY INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION)** [KR/KR]; 서울시 중구 필동 3 가 26 번지, 100-715 Seoul (KR).

(72) 발명자; 겸
(75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): **이경 (LEE, Kyeong)** [KR/KR]; 서울시 동작구 신대방 1 동 동작상떼빌 103 동 603 호, 156-759 Seoul (KR). **원미선 (WON, Mi Sun)** [KR/KR]; 대전시 유성구 어은동 52 번지, 305-806 Daejeon (KR). **김환묵 (KIM, Hwan Mook)** [KR/KR]; 대전시 유성구 어은동 52 번지, 305-806 Daejeon (KR). **박성규 (PARK, Song Kyu)** [KR/KR]; 대전시 유성구 어은동 52 번지, 305-806 Daejeon (KR). **이기호 (LEE, Kiho)** [KR/KR]; 대전시 유성구 어은동 52 번지, 305-806 Daejeon (KR). **이기훈 (LEE, Ki Hoon)** [KR/KR]; 대전시 유성구 어은동 52 번지, 305-806 Daejeon (KR). **이창우 (LEE, Chang Woo)** [KR/KR]; 대전시 유성구 어은동 52 번지, 305-806 Daejeon (KR). **이정준 (LEE, Jung Joon)** [KR/KR]; 대전시 유성구 어은동 52 번지, 305-806 Daejeon (KR). **정경숙 (CHUNG, Kyung Sook)** [KR/KR]; 대전시 유성구 어은동 52 번지, 305-806 Daejeon (KR). **김보경 (KIM, Bo Kyung)** [KR/KR]; 대전시 유성구 어은동 52 번지, 305-806 Daejeon (KR). **김영란 (JIN, Yinglan)** [CN/KR]; 서울시 중구 오장동 206-3 넥서스타워 1205 호, 100-310 Seoul (KR). **이승희 (LEE, Seung-hee)** [KR/KR]; 대전시 유성구 어은동 52 번지, 305-806 Daejeon (KR).

(74) 대리인: **이원희 (LEE, Won Hee)**; 서울시 강남구 역삼동 642-16 성지하이츠 2 차 8 층, 135-080 Seoul (KR).

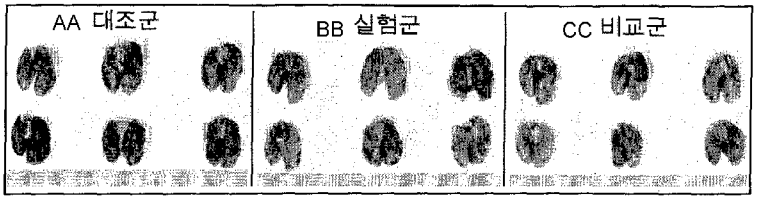
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,

[다음 쪽 계속]

(54) Title: ARYLOXY PHENOXY ACRYLIC COMPOUND HAVING HIF-1 INHIBITION ACTIVITY, METHOD FOR PREPARING SAME, AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION CONTAINING SAME AS AN ACTIVE INGREDIENT

(54) 발명의 명칭 : H I F-1 활성을 저해하는 아릴옥시페녹시아크릴계 화합물, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물

【도 10】



AA ... Control group
BB ... Experimental group
CC ... Comparative group

(57) Abstract: The present invention relates to a compound having HIF-1 inhibition activity, to a method for preparing same, and to a pharmaceutical composition containing same as an active ingredient. The compound of the present invention exhibits anti-cancer activity by inhibiting the activity of HIF-1, which is a transcription factor that plays a significant role in cancer cell growth and metastasis, and does not indicate non-selective, cytotoxic anti-tumour activity. Accordingly, the compound or a pharmaceutically acceptable salt thereof according to the present invention inhibits HIF-1 activity, and therefore can be used as a therapeutic agent for solid tumours such as colon cancer, liver cancer, stomach cancer and breast cancer. In addition, the compound or the pharmaceutically acceptable salt thereof according to the present invention can be used as an active ingredient for a therapeutic agent for diabetic retinopathy or arthritis which may become worse when hypoxia-induced VEGF expression by HIF-1 increases.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]

WO 2012/053787 A2

OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) **지정국** (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도 공개함 (규칙 48.2(g))

본 발명은 HIF-1 활성을 저해하는 화합물, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 화합물은 비선택적인 세포독성에 의해 항암 활성을 나타내는 것이 아니라, 암세포의 성장 및 전이에 중요한 역할을 하는 전사인자인 HIF-1 의 활성을 저해하여 항암 활성을 나타낸다. 따라서, 본 발명에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 HIF-1 활성을 저해하여 대장암, 간암, 위암 및 유방암 등의 다양한 고형암 질환의 치료제로 사용될 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 저산소 상태에서 HIF-1 에 의한 VEGF 의 발현이 증가되어 악화되는 당뇨병성 망막증이나 관절염 치료제의 유효성분으로 사용될 수 있다.

【명세서】

【발명의 명칭】

ＨＩＦ-1 활성을 저해하는 아릴옥시페녹시아크릴계 화합물, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물

【기술분야】

본 발명은 HIF-1의 활성을 저해하는 아릴옥시페녹시아크릴계 화합물, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물에 관한 것이다.

【배경기술】

암은 인류의 지난 수십 년간의 부단한 노력에도 불구하고 난치병 중의 하나로 여전히 남아 있다. 최근에 암세포생물학, 의약 화학 등의 제반 학문의 눈부신 발전과 더불어 글리벡(Gleevec)과 같은 새로운 작용 기전을 가진 항암제가 개발되고 있으며, 인간 게놈 프로젝트(Human Genome Project) 이후 새로운 표적분자들이 대두되고 있다.

HIF-1(Hypoxia Inducible Factor-1)는 저산소증(hypoxia)에서 유도되는 전사인자로서 산소 의존적으로 분해되는 HIF-1α 서브유니트(subunit)와 항시 발현되는 HIF-1β 서브유니트로 구성된 헤테로 다이머(dimer)로서[Cancer Metastasis Rev., 17, 187-195, 1998; Trends Mol. Med., 7, 345-350, 2001], 보통의 산소 농도 조건하에서 HIF-1α 단백질은 산소 의존적으로 402번 및 564번의 프롤린 잔기가 히드록시화되어 암 억제 유전자인 pVHL(Von Hippel-Lindau)단백질과 결합하여 유비퀴틴(ubiquitin)화되고 프로테아좀에 의해 분해되나, 저산소상태에서는 이러한 일련의 반응이 저해되어 HIF-1α 단백질이 축적되어 이미 존재하고 있는 HIF-1β 단백질과 결합하여 핵으로 이동하게 된다[Science 292, 468-472, 2001; Science 292, 468-472, 2001]. HIF-1α의 안정성은 산소분압 외에도 산소감지경로(oxygen sensing pathway)에 관여하는 인자들에 의해 영향을 받게 되며, 이러한 인자들로는 전이금속 이온(transition metal ion), 철 킬레이트제(iron chelator) 또는 항산화제(antioxidant) 등을 들 수 있다. 또한, HIF-1α 단백질은 산소 농도에 상관없이 표피 성장 인자(epidermal growth factor), 헤레굴린(heregulin), 인슐린 유사 성장인자-I(insulin-like growth factors-I)과 인슐린 유사 성장인자-II 등과 같은 성장인자(growth factor)나 ErβB2 등과 같은 온코진(oncogene)의 활성화에 의해 축적되기도 한다. 이러한 성장인자들이 각자의 수용체에 결합하게 되면 PI3K-AKT,

MAPK 신호전달경로가 활성화되고 HIF-1α 단백질의 합성이 증가되어 HIF-1α 단백질이 축적된다.

핵으로 이동한 HIF는 표적 유전자의 프로모터(promoter)상의 HRE(Hypoxia Responsive Element, 5'-ACGTG-3')에 결합하여 유전자의 발현을 유도하게 되는데 HIF에 의해 조절되는 유전자로는 혈관 내피 성장 인자(vascular endothelial growth factor A, VEGF)를 포함하여 현재까지 약 60종 이상이 알려져 있다(*Nat. Rev. Cancer 2*, 38-47, 2002; *J. Biol. Chem. 278*, 19575-19578, 2003; *Nat, Med.* 9, 677-684, 2003; *Biochem. Pharmacol. 64*, 993-998, 2002).

암, 특히 고형암에서의 저산소증은 일반적으로 나타나는 현상으로서, 고형암 세포들은 다양한 유전적인 변화를 거쳐 이러한 저산소 조건에 적응되어 있어 암세포가 더욱 악성화되고 항암제에 대한 내성을 갖게 되는데, 실제로 저산소증은 인간의 모든 암종의 70%이상의 암을 악성화시키는 주요 유발인자로서 알려져 있다 (Nature *386*, 403, 1997; Hockel M and Vaupel P, Semin. Oncol. *28*, 36-41, 2001, Nature Med. *6*, 1335, 2000; Bos et al. Cancer 2003, 97, 1573-1581). HIF-1은 이러한 저산소 상태에 대한 암세포의 적응을 조절하는 가장 중요한 분자로서 알려져 있고, HIF-1α 단백질의 양과 암 환자의 예후는 밀접한 상관 관계를 갖는 것으로 알려져 있다. 암세포가 저산소 조건에 의해 또는 상기에서 언급한 성장 인자의 자극이나 온코진(oncogene)의 활성화, 또는 pVHL과 같은 암 억제유전자의 불활성화에 의해 활성화된 HIF-1은 헥소키나아제 2(hexokinase 2), 글루코스 전달체 1(glucose transporter 1), 에리쓰로포이에틴(erythropoietin), IGF-2, 엔도글린(endoglin), VEGF, MMP-2, uPAR, MDR1 등과 같은 유전자의 발현을 유도하여 세포사(apoptosis)에 대한 내성, 혈관신생능의 증가, 세포증식능의 증가, 침윤(invasion)능의 증가 등의 형질을 획득하게 되어 결국 암 세포는 악성화되게 된다. 따라서, 이와 같이 HIF는 암, 특히 고형암의 성장, 증식 및 악성화에 중요한 역할을 하기 때문에 이를 표적으로 하여 항암제를 개발하려는 연구가 매우 활발히 진행되고 있다(Cancer Res. 62, 4316, 2002; Nat Rev Drug Discovery *2*, 1, 2003; Semenza et al. Nature Reviews Cancer 2003, 3, 721-732). 최근, 탁솔(taxol), 라파마이신(rafamycin) 및 17-AAG(17-allylaminogeldanamycin)와 같은 상당수의 기존에 알려진 항암제들이나, 구아닐레일 사이클라제 활성화제(guanylaly cyclase activator)인 저분자 화합물 YC-1(3-(5'-히드록시메틸-2'-퓨릴)-1-벤질인다졸, 3-(5'-hydroxymethyl-2'-furyl)-1-benzylindazole)이 HIF-1 저해제로서 이들은 여러 단계의 임상실험 중에 있으며

[Johnson et al Nature Reviews Drug Discovery 2003, 2, 1-9; Semenza et al. Nature Reviews Cancer 2003, 3, 721-732; JNCI *95*, 516, 2003], HRE를 활용한 세포 단계에서의 리포터 분석(cell based reporter assay)을 통한 새로운 구조의 HIF-1 저해제 개발도 활발하게 진행되고 있으나(Cancer Res 65, 4918, 2005; Cancer Cell 6, 33, 2004; Cancer Res. *62*, 4316, 2002), 아직 초기 단계이다.

한편, HIF-1은 암 뿐만 아니라 혈관 신생작용의 활성화가 질환의 악화와 관련되는 질환의 치료제 개발의 표적으로 활용될 수 있다. 저산소 상태에서 활성화되는 HIF-1에 의해 유래되는 VEGF와 같은 혈관 신생 인자들은 암은 물론 당뇨병성 망막증과 관절염의 진전과 관련되어 있다. 따라서, 질환 조직의 저산소 상태로부터 활성화되는 HIF-1을 저해하는 화합물은 당뇨병성 망막증이나 류마티스성 관절염과 같은 질환의 새로운 치료제로 활용될 수 있을 것이다(Eiji Ikeda, Pathology International, 2005, Vol 55, 603-610). 그러나 이 분야 역시 아직은 초기 단계이다.

이에 본 발명자들은 HIF-1 활성을 저해하는 화합물을 연구하던 중, HIF-1의 활성 억제, 암 전이 억제 및 신생혈관 형성 저해 효과가 현저히 우수할 뿐만 아니라 인체 내에서 안정성이 향상된 화합물을 합성하고, 본 발명을 완성하였다.

【발명의 상세한 설명】

【기술적 과제】

본 발명의 목적은 HIF-1 활성을 저해하는 신규 화합물을 제공하는 것이다.

본 발명의 다른 목적은 상기 신규 화합물의 제조방법을 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 상기 신규 화합물을 유효성분으로 함유하는 암 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

본 발명의 다른 목적은 상기 신규 화합물을 유효성분으로 함유하는 당뇨병성 망막증 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

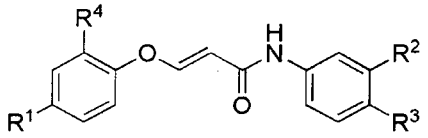
본 발명의 또 다른 목적은 상기 신규 화합물을 유효성분으로 함유하는 류마티스성 관절염 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

【기술적 해결방법】

상기 목적을 달성하기 위하여, 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의

약학적으로 허용가능한 염을 제공한다:

[화학식 1]

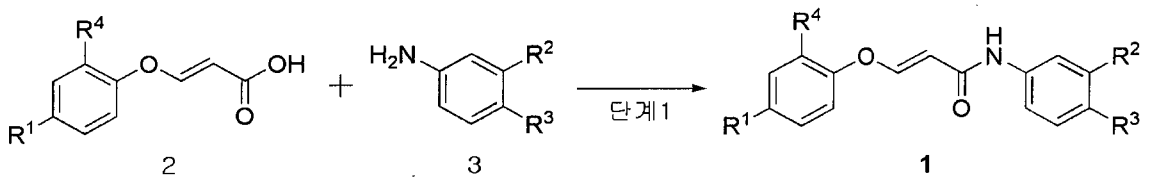


(상기 화학식 1에서, R^1 내지 R^4는 본 명세서에서 정의한 바와 같다).

또한, 본 발명은 하기 반응식 1에 나타난 바와 같이,

화학식 2의 화합물과 화학식 3의 화합물을 출발물질로 하여 후니그(Hunig) 염기와 축합 시약을 넣고 유기용매 하에서 반응시켜 화학식 1을 제조하는 단계를 포함하는 화학식 1의 화합물의 제조방법을 제공한다:

[반응식 1]



2 3 1

(상기 반응식 1에서, R^1 내지 R^4는 본 명세서에서 정의한 바와 같다).

나아가, 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

또한, 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 당뇨병성 망막증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

나아가, 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 류마티스성 관절염 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

【유리한 효과】

본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은, 비선택적인 세포독성에 의해 항암 활성을 나타내는 것이 아니라, HIF-1의 활성을 저해함으로써 HRE 전사활성화를 억제하고, VEGF 및 EPO의 발현을 선택적으로 억제하여 암의 성장 및 전이 등을 억제하므로, 항암제의 유효성분으로 사용될 수 있을 뿐만 아니라, VEGF의 발현이 증가되어 악화되는 당뇨병성 망막증이나 관절염 치료제의 유효성분으로 사용될 수 있다.

【도면의 간단한 설명】

도 1은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물들을 10 μM 농도로 처리시 나타나는 HRE 전사 활성을 측정한 그래프이다.

도 2는 본 발명의 일실시예에 따른 화합물의 HRE 전사 저해 활성을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 3은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물들이 HIF-1α 축적을 저해하는 정도를 나타내는 도면이다.

도 4는 본 발명의 일실시예에 따른 화합물이 HIF-1α 축적을 저해하는 정도를 나타내는 도면이다.

도 5는 본 발명의 일실시예에 따른 화합물이 VEGF 및 EPO의 발현을 저해하는 정도를 나타내는 도면이다.

도 6은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물에 의해 HIF-1α의 발현이 감소하는 것을 광학현미경으로 관찰한 이미지이다.

도 7은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물이 신생혈관 생성에 미치는 영향을 나타낸 그래프이다.

도 8은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물이 신생혈관 생성에 미치는 영향을 나타낸 사진이다.

도 9는 본 발명의 일실시예에 따른 화합물이 세포이동을 억제하는 것을 현미경으로 관찰하며 찍은 사진이다.

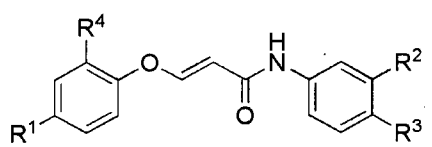
도 10은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물 처리 시 폐의 암 전이 군집 수 변화를 찍은 사진이다.

【발명의 실시를 위한 최선의 형태】

이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 신규 아릴옥시페녹시아크릴계 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

【화학식 1】



상기 화학식 1에서,

R^1은 C_{1-10}직쇄 또는 측쇄 알킬 또는 C_{8-12}2환식고리이고,

R^2는 -H, $COOR_5$, $COOR_5R_6$, $-SO_2NH_2$, $-SO_2C_{1-4}$직쇄 또는 측쇄 알킬 또는 $-CONHR_7$이고,

R^3는 -H, -OH 또는 $COOC_{1-4}$직쇄 또는 측쇄 알킬이고,

R^4는 -H 또는 C_{1-4}직쇄 또는 측쇄 알킬이고,

R^5는 -H, C_{1-4}직쇄 또는 측쇄 알킬, C_{1-4}알콕시이고,

R^6는 $-NH_2$, N 또는 O를 1개 이상 포함하는 5-6각 헤테로고리이고,

R^7은 -H 또는 $-(CH_2)_n-R^8$이고,

R^8은 -H, 고리 내 N 또는 O를 1이상 함유하는 5-6각 헤테로아릴 또는 고리 내 N 또는 O를 1이상 함유하는 5-6각 헤테로고리이고,

n은 0 내지 4의 정수일 수 있다.

바람직하게는,

R^1은 C_{1-10}직쇄 또는 측쇄 알킬 또는 이고,

R^2는 -H, $COOR_5$, $COOR_5R_6$, $-SO_2NH_2$, $-SO_2CH_3$ 또는 $-CONHR_7$이고,

R^3는 -H, -OH 또는 $COOCH_3$이고,

R^4는 -H 또는 메틸이고,

R^5는 -H, 메틸, 에틸, 메톡시 또는 에톡시이고;

R^6는 $-NH_2$, N 또는 O를 1개 이상 포함하는 5-6각 헤테로고리이고,

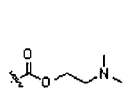
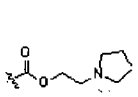
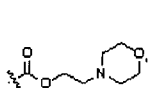
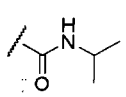
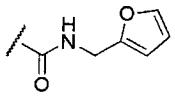
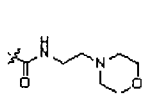
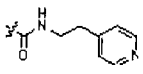
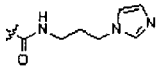
R^7은 -H 또는 $-(CH_2)_n-R^8$이고,

R^8은 -H, 고리 내 N 또는 O를 1이상 함유하는 5-6각 헤테로아릴 또는 고리 내 N 또는 O를 1이상 함유하는 6각 헤테로고리이고,

n은 0 내지 3의 정수일 수 있다.

더욱 바람직하게는,

R^1은 , 또는 이고,

R^2는 -H, -COOH, $-COOCH_3$, $-COOCH_2CH_3$, $-COOCH_2CH_2OCH_3$, $-CONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SO_2CH_3$,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  또는  이고,

R^3은 -H, -OH 또는 $-COOCH_3$이고,

R^4는 -H 또는 메틸이다.

상기 화학식 1의 화합물의 구체적인 예는 아래와 같다.

(1) (*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-벤조산메틸에스테르,

(2) (*E*)-3-(3-(4-*t*-부틸페녹시)아크릴아미도)벤조산메틸에스테르,

(3) (*E*)-3-(3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)아크릴아미도)벤조산메틸에스테르,

(4) (*E*)-3-(3-(4-아다만탄-1-일-2-메틸페녹시)아크릴아미도)벤조산메틸에스테르,

(5) (*E*)-4-(3-(4-아다만탄-1-일페녹시)아크릴아미도)벤조산메틸에스테르,

(6) (*E*)-3-(4-아다만탄-1-일페녹시)-N-(3-설파모일페닐)아크릴아미드,

(7) (*E*)-3-(4-아다만탄-1-일페녹시)-N-(3-(메틸설포닐)페닐)아크릴아미드,

(8) (*E*)-5-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로아미노]-2-히드록시-벤조산메틸에스테르,

(9) (*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-벤조산,

(10) (*E*)-3-(3-(4-아다만탄-1-일페녹시)아크릴아미도)벤조산에틸에스테르,

(11) (*E*)-3-(3-(4-아다만탄-1-일페녹시)아크릴아미도)벤조산2-메톡시에틸에스테르,

(12) (*E*)-3-(3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)아크릴아미도)벤조산 2-(디메틸아미노)에틸에스테르,

(13) (*E*)-3-(3-(4-아다만탄-1-일페녹시)아크릴아미도)벤조산 2-피롤리딘-1-일)에틸에스테르,

(14) (*E*)-3-(3-(4-아다만탄-1-일페녹시)아크릴아미도)벤조산모폴리노에틸에스테르,

(15) (*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-벤즈아미드,

(16) (*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-*N*-이소프로필-벤즈아미드,

(17) (*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-*N*-퓨란-2-일메틸-벤즈아미드,

(18) (*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-*N*-(2-모폴린-4-일-에틸)-벤즈아미드,

(19) (*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-*N*-(2-피리딘-4-일-에틸)-벤즈아미드,

(20) (*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-*N*-(3-이미다졸-1-일-프로필)-벤즈아미드,

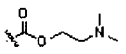
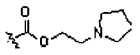
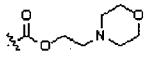
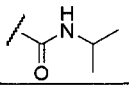
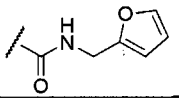
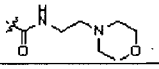
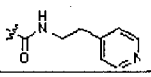
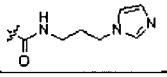
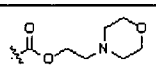
(21) (*E*)-3-(3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)아크릴아미도)벤조산,

(22) (*E*)-2-메톡시에틸 3-(3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)아크릴아미도)벤조에이트, 및

(23) (*E*)-2-모폴리노에틸 3-(3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)아크릴아미도)벤조에이트.

본 발명에 따른 화학식 1의 신규 아릴옥시페녹시아크릴계 화합물의 구체적인 예를 하기 표 1에 정리하였다.

【표 1】

실시예 No.	구조			
	R^1	R^2	R^3	R^4
실시예 1		$COOCH_3$	H	H
실시예 2		$COOCH_3$	H	H
실시예 3		$COOCH_3$	H	H
실시예 4		$COOCH_3$	H	CH_3
실시예 5		H	$COOCH_3$	H
실시예 6		SO_2NH_2	H	H
실시예 7		SO_2CH_3	H	H
실시예 8		$COOCH_3$	OH	H
실시예 9		COOH	H	H
실시예 10		$COOCH_2CH_3$	H	H
실시예 11		$COOCH_2CH_2OCH_3$	H	H
실시예 12			H	H
실시예 13			H	H
실시예 14			H	H
실시예 15		$CONH_2$	H	H
실시예 16			H	H
실시예 17			H	H
실시예 18			H	H
실시예 19			H	H
실시예 20			H	H
실시예 21		COOH	H	H
실시예 22		$COOCH_2CH_2OCH_3$	H	H
실시예 23			H	H

본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 신규 아릴옥시페녹시아크릴계 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염뿐만 아니라, 이로부터 제조될 수 있는 가능한 용매화물, 수화물 또는 프로드럭을 모두 포함한다.

본 발명의 화학식 1의 유도체는 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산 또는 아인산과 같은 무기산류와 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설폰산류와 같은 무독성 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로겐 포스페이트, 디하이드로겐 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β-하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 또는 만델레이트를 포함한다.

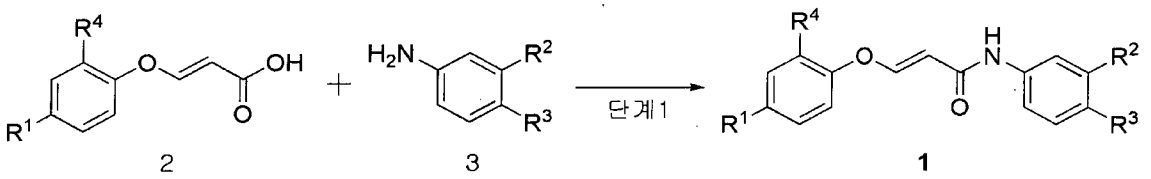
본 발명에 따른 산 부가염은 통상의 방법, 예를 들면, 화학식 1의 화합물을 과량의 산 수용액 중에 용해시키고, 이 염을 수혼화성 유기 용매, 예를 들면 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조할 수 있다. 동량의 화학식 1의 화합물 및 물 중의 산 또는 알코올을 가열하고, 이어서 이 혼합물을 증발시켜서 건조시키거나 또는 석출된 염을 흡입 여과시켜 제조할 수도 있다.

또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다. 또한, 이에 대응하는 은염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 은염(예, 질산은)과 반응시켜 얻는다.

또한, 본 발명은 화학식 1의 신규 아릴옥시페녹시아크릴계 화합물의 제조방법을 제공한다.

본 발명에 따른 제조방법은 하기 반응식 1에 나타낸 바와 같이, 화학식 2의 화합물과 화학식 3의 화합물을 출발물질로 하여 후니그(Hunig) 염기와 축합 시약을 넣고 유기용매 하에서 반응시켜 화학식 1을 제조하는 단계를 포함한다:

[반응식 1]



2 3 1

상기 반응식 1에서, R^1 내지 R^4는 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같다.

이때, 상기 후니그 염기로는 디이소프로필에틸아민(diisopropylamine, DIPEA) 또는 트리에틸아민(triethylamine, TEA)을 사용할 수 있다.

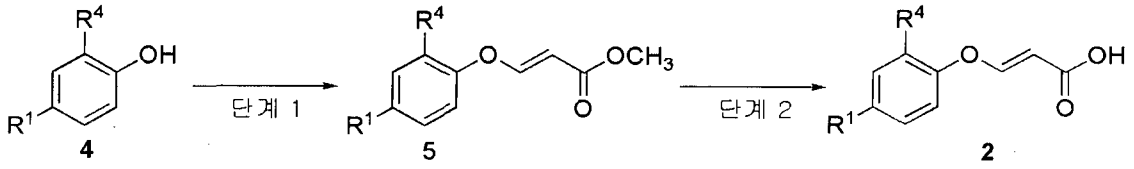
또한, 상기 축합시약으로는 *O*-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-*N,N,N',N'*-테트라메틸유로니움테트라플루오로보레이트(HATU), 1-[3(디메틸아미노)프로필]-3-에틸카보디이미드 염산염(1-[3-(dimethylamino)propyl]-3-ethylcarbodiimide hydrochloride, EDC), *O*-벤조트리아졸-*N,N,N',N'*-테트라메틸-유로니움-헥사플루오로-포스페이트(HBTU), 1-히드록시벤조트리아졸(1-hydroxybenzotriazole, HOBt), 벤조트리아졸-1-일-옥시-트리스-피롤리디노-포스포늄 헥사플로로포스페이트(benzotriazol-1-yl-oxy-tris-pyrrolidinophosphoniumhexa fluoro phosphate, PyBOP) 및 1-히드록시-7-아자벤조트리아졸(1-hydroxy-7-azabenzo triazole)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상을 사용할 수 있다.

나아가, 상기 유기용매로는 디메틸포름아미드(DMF)나 메틸렌클로라이드(CH_2Cl_2)를 사용하는 것이 바람직하다.

상기 화학식 2 및 화하식 3의 화합물은 시판되거나, 공지된 방법으로 합성하여 제조할 수 있다. 일례로, 상기 화학식 2의 화합물은 하기 반응식 2에 나타낸 바와 같이, 화학식 4의 화합물을 마이클 첨가 반응(Michael addition reaction)시켜 화학식 5의 화합물을 제조하는 단계(단계 1); 및

화학식 5의 화합물을 유기용매하에서 LiOH와 반응시켜 화학식 2의 화합물을 제조하는 단계(단계 2)를 포함하는 제조방법을 사용하여 제조할 수 있다:

[반응식 2]



상기 반응식 2에서, R^1 및 R^4는 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같다.

본 발명에 따른 신규 아릴옥시페녹시아크릴계 화합물은 상기 제조방법에 제한되지 않으며, 이외에 이미 공지된 방법뿐만 아니라 미공지된 방법이라도 상기 신규 아릴옥시페녹시아크릴계 화합물을 합성할 수 있는 방법이라면 사용할 수 있다.

상기와 같이 본 발명에 따라 제조된 신규 아릴옥시페녹시아크릴계 화합물은 제조 후, 고속 액체크로마토그래피로 분리 정제한 후 핵자기 공명에 의해 분자구조를 확인할 수 있다.

나아가, 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 함유하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

본 발명의 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 비선택적인 세포독성에 의해 항암 활성을 나타내는 것이 아니라, 암세포의 성장 및 전이에 중요한 역할을 수행하는 전사인자인 HIF-1의 활성을 저해하여 항암 활성을 나타낸다.

상기 HIF-1 활성 저해는 HRE(Hypoxia Responsive Element, 5'-ACGTG-3') 전사 활성 저해, HIF-1α 단백질 축적 저해 또는 HIF-1 표적 유전자 단백질의 발현을 저해하는 일련의 현상을 모두 포함한다.

본 발명에 따른 화학식 1의 화합물의 HIF-1의 HRE 전사 활성 저해 실험 결과, 본 발명에 따른 화합물은, 저산소 조건에서 유사한 구조를 갖는 종래의 화합물보다 HIF-1 활성 저해효과가 현저히 향상되는 것으로 나타났다(도 1 참조). 따라서, 본 발명의 화학식 1의 화합물은 저산소 조건에서 HIF-1의 HRE 전사 활성을 저해하므로 암의 악성화와 관련된 유전자들의 발현을 저해하여 암의 성장 및 전이를 억제할 수 있기 때문에 항암제의 유효성분으로 사용될 수 있다.

또한, 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은, 저산소 조건에서 베타액틴(β-

actin)의 생성에는 영향을 주지 않으면서, HIF-1α 단백질의 생성을 농도 의존적으로 저해하는 것으로 나타났다(도 2 참조). 따라서, 본원 발명의 화합물은 비선택적인 세포 독성에 의해 항암 활성을 나타내는 것이 아니라, HIF-1α 단백질의 축적을 선택적으로 저해하여 암의 성장 및 전이를 억제할 수 있으므로, 항암 활성을 나타내면서 부작용을 최소화할 수 있다.

나아가, 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은, HIF-1의 표적 유전자들 중 암의 증식과 전이에 기여하는 것으로 알려져 있는, 암의 성장 및 암이 다른 조직으로 전이하는데 있어서 중요한 혈관 신생 인자인 VEGF(Vascular endothelial growth factor A) 및 적혈구의 생성을 촉진시키는 EPO(erythropoietin)의 발현을 농도 의존적으로 저해하는 것으로 나타났다(도 3 참조). 이로부터, 본 발명의 화합물은 암의 증식과 전이에 기여하는 HIF-1의 표적 유전자인 VEGF 및 EPO의 발현 저해 작용이 있으므로 항암제의 유효성분으로 사용될 수 있다.

따라서, 본 발명의 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 HIF-1의 활성을 효과적으로 저해하므로 대장암, 간암, 위암, 유방암, 결장암, 골암, 췌장암, 두부 또는 경부 암, 자궁암, 난소암, 직장암, 식도암, 소장암, 항문부근암, 결장암, 나팔관암종, 자궁내막암종, 자궁경부암종, 질암종, 음문암종, 호지킨병, 전립선암, 방광암, 신장암, 수뇨관암, 신장세포암종, 신장골반암종, 중추신경계 종양 등의 다양한 암의 치료제로 사용될 수 있다.

또한, 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 함유하는 HIF-1 활성의 저해를 통하여 당뇨병성 망막증이나 관절염의 치료 효과를 나타내는 약학적 조성물을 제공한다.

상기 HIF-1 활성 저해는 HRE 전사 활성 저해, HIF-1α 단백질 축적 저해 또는 HIF-1 표적 유전자 단백질의 발현을 저해하는 일련의 현상을 모두 포함한다.

HIF-1은 혈관 신생작용의 활성화가 질환의 악화와 관련되는 질환의 치료제 개발에 표적으로 이용될 수 있다. 특히, 저산소 상태에서 활성화되는 HIF-1에 의해 유발되는 VEGF와 같은 혈관 신생 인자들은 당뇨병성 망막증 또는 류마티스성 관절염과 같은 관절염의 진전과 관련되어 있다. 당뇨병성 망막증 또는 관절염은 저산소 상태에서 HIF-1에 의해 VEGF의 발현이 증가되어 악화될 수 있다. 따라서, 질환 조직의 저산소 상태로부터 활성화되는 HIF-1을 저해하는 화합물은 당뇨병성 망막증 또는 관절염의 치료제로 활용되는 것이다(Eiji Ikeda, Pathology International, 2005, Vol 55, 603-610).

상기에서 언급한 바와 같이 본 발명의 화학식 1의 화합물은 저산소 조건에서 대조 유전자인 GAPDH의 발현에는 전혀 영향을 주지 않으면서, 혈관 신생 인자인 VEGF(Vascular endothelial growth factor A)의 발현을 선택적으로 저해할 수 있으므로, 저산소 상태에서 HIF-1에 의한 VEGF의 발현이 증가되어 악화되는 당뇨병성 망막증 또는 관절염 치료제의 유효성분으로 사용될 수 있다.

나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 신규 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 치료적으로 유효한 양으로 암 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 암의 치료방법을 제공한다.

이때, 상기 암으로는 HIF-1α 단백질의 축적이 많이 일어나는 고형암인 대장암, 간암, 위암, 유방암, 결장암, 골암, 췌장암, 두부 또는 경부암, 자궁암, 난소암, 직장암, 식도암, 소장암, 항문부근암, 결장암, 나팔관암종, 자궁내막암종, 자궁경부암종, 질암종, 음문암종, 호지킨병, 전립선암, 방광암, 신장암, 수뇨관암, 신장세포암종, 신장골반암종, 중추신경계 종양 등을 들 수 있다.

또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 신규 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 치료적으로 유효한 양으로 당뇨병성 망막증 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 당뇨병성 망막증의 치료방법을 제공한다.

이때, 상기 화학식 1로 표시되는 신규 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 HIF-1의 활성 및 VEGF 단백질 발현을 저해하여 신생혈관의 생성을 억제하는 것을 특징으로 한다.

나아가, 본 발명은 화학식 1로 표시되는 신규 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 치료적으로 유효한 양으로 류마티스성 관절염 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 류마티스성 관절염의 치료방법을 제공한다.

이때, 상기 화학식 1로 표시되는 신규 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 HIF-1의 활성을 저해하여 신생혈관의 생성을 억제하는 것을 특징으로 한다.

본 발명의 약학적 조성물은 다양한 경구 또는 비경구투여 형태로 제형화할 수 있다. 경구투여용 제형으로는 예를 들면 정제, 환제, 경/연질 캅셀제, 액제, 현탁제, 유화제, 시럽제, 과립제, 엘릭시르제 등이 있는데, 이들 제형은 유효성분 이

외에 희석제(예: 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로즈 및/ 또는 글리신), 활택제(예: 실리카, 탈크, 스테아르산 및 그의 마그네슘 또는 칼슘염 및/또는 폴리에틸렌 글리콜)를 함유하고 있다. 정제는 또한 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분 페이스트, 젤라틴, 메틸셀룰로즈, 나트륨 카복시메틸셀룰로즈 및/ 또는 폴리비닐피롤리딘과 같은 결합제를 함유할 수 있으며, 경우에 따라 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨 염과 같은 붕해제 또는 비등 혼합물 및/또는 흡수제, 착색제, 향미제, 및 감미제를 함유할 수 있다.

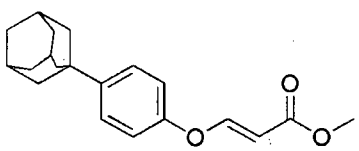
본 발명에 따른 화학식 1의 화합물을 유효성분으로 하는 약학 조성물은 비경구투여할 수 있으며, 비경구투여는 피하주사, 정맥주사, 근육내 주사 또는 흉부내 주사를 주입하는 방법에 의한다. 이때, 비경구투여용 제형으로 제제화하기 위하여 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 안정제 또는 완충제와 함께 물에 혼합하여 용액 또는 현탁액으로 제조하고, 이를 앰플 또는 바이알 단위 투여형으로 제조할 수 있다. 상기 조성물은 멸균되고/되거나 방부제, 안정화제, 수화제 또는 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염 및/또는 완충제 등의 보조제, 및 기타 치료적으로 유용한 물질을 함유할 수 있으며, 통상적인 방법인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 따라 제제화할 수 있다. 유효성분으로서 화학식 1의 화합물은 사람을 포함하는 포유동물에 대해서 하루 0.1 내지 500mg/kg(체중), 바람직하게는 0.5 내지 100mg/kg(체중)의 양으로 1일 1회 또는 분할하여 경구 또는 비경구 경로를 통해 투여할 수 있다.

본 발명의 조성물은 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

【발명의 실시를 위한 형태】

이하, 본 발명을 실시예에 의해 더욱 상세하게 설명한다. 단, 하기의 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 이에 한정되는 것은 아니다.

<제조예 1> (*E*)-3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴산 메틸에스테르 (*E*)-3-(4-Adamantan-1-yl-phenoxy)-acrylic acid methyl ester의 제조

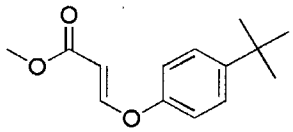


4-(아다만탄-1-일)-페놀 (1.0 mg, 4.38 mmol)과 methyl propiolate (737 mg,

0.74 ㎖, 8.76 mmol)를 톨루인 25 ㎖녹인 후, 반응용액에 Ph_3P(1.15g,4.38mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 115 ℃에서 3 시간 환류하였다. 반응용액을 농축하고 EtoAC와 염화나트륨 수용액으로 분리하였다. 유기층을 무수 $MgSO_4$으로 건조하고 농축하였다. 잔여 물질을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(n-Hexane:EtOAc=50:1)로 분리하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(1.24 g, 수득율 90.6%).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.81 (1H, d, *J* =12.3 Hz, CH),7.35 (2H, d, *J* = 9.3 Hz, aromatic-H), 7.01 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 5.53 (1H, d, *J* = 12.3 Hz, CH), 3.73 (3H, s, OCH_3), 2.10 (3H, m, adamantly-H), 1.89 (6H, m, adamantly-H),1.77 (6H, m, adamantly-H)

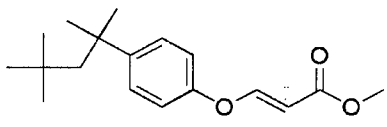
<제조예 2> (*E*)-3-(4-*t*-부틸페녹시)아크릴산메틸에스테르 (*E*)-3-(4-*tert*-Butylphenoxy)acrylicacidmethylester의 제조



t-부틸페놀로부터 상기 제조예 1과 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 노란색 오일로 얻었다(750.7 mg, 수득율 69.1%).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.80 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH), 7.38 (2H, d, J = 9.0 Hz, aromatic-H), 6.99 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 5.53 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH), 3.73 (3H, s, OCH_3), 1.32 (9H, s, CH_3).

<제조예 3> (*E*)-3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)아크릴산메틸에스테르 (*E*)-3-(4-(2,4,4-Trimethylpentan-2-yl)phenoxy)acrylicacidmethylester의 제조

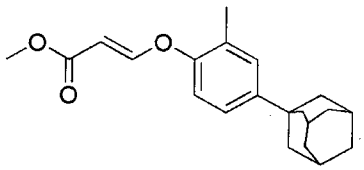


4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페놀로부터 상기 제조예 1과 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 노란색 오일로 얻었다(365.5 mg, 수득율 51.9%).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.8 (1H, d, *J* = 12.3Hz, CH), 7.36 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 6.97 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, aromatic-H), 5.53 (1H, d, *J* =

12.0 Hz, CH), 3.73 (3H, s, OCH_3), 1.73 (2H, s, CH_2), 1.36 (6H, s , CH_3), 0.71 (9H, s, CH_3)

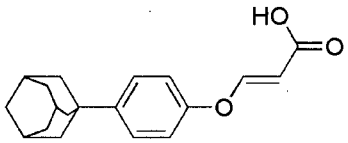
<제조예 4> (*E*)-3-(4-아다만탄-1-일-2-메틸페녹시)아크릴산메틸에스테르 (*E*)-3-(4-Adamantan-1-yl-2-methylphenoxy)acrylicacidmethylester의 제조



4-아다만탄-1-일-2-메틸페놀로부터 상기 제조예 1과 동일한 방법을 실시하여 목적 화합물을 노란색 오일로 얻었다(442.8 mg, 수득율 100%).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.77 (1H, d, *J* = 12.3 Hz, CH), 7.16 7.19 (2H, m,aromatic-H), 6.92 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, aromatic-H), 5.36 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH), 3.71 (3H, s , OCH_3), 2.23 (3H, s, CH_3), 2.10 (3H, m, adamantly-H), 1.89 (6H, m, adamantly-H), 1.77 (6H, m, adamantly-H)

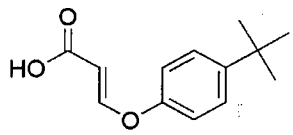
<제조예 5> (*E*)-3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴산 (*E*)-3-(4-Adamantan-1-yl-phenoxy)-acrylic acid의 제조



3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴산메틸에스테르(569 mg, 1.82 mmol)를 혼합용액 THF/H_2O(3:1, 20 mℓ)에 녹인다. 정제수(5 mℓ)에 녹인 리튬 히드록시드 모노하이드레이트(lithium hydroxide monohydrate)(153 mg, 3.65 mmol)을 첨가하고, 반응용액을 12시간 동안 교반하였다. 반응용액을 10% 염산 수용액으로 처리하고, 에틸아세테이트와 염화나트륨 수용액으로 분리하고, 유기층을 무수 황산마그네슘($MgSO_4$)으로 건조하고 농축하였다. 잔여 물질을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(n-Hexane:EtOAc=3:1)로 분리하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(526 mg, 수득율 96.7%).

^{1}H-NMR (DMSD-d_6, 300 MHz) δ 12.07 (1H, s, COOH), 7.55 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, CH), 7.40 (2H, d, *J* = 5.4 Hz, aromatic-H), 7.11 (2H, d, *J* = 5.1 Hz, aromatic-H), 5.44 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, CH), 2.06 (3H, m, adamantly-H), 1.85 (6H, m, adamantly-H), 1.73 (6H, m, adamantly-H)

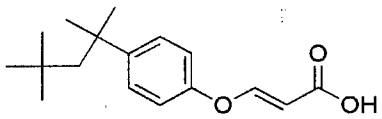
<제조예 6> (*E*)-3-(4-t-부틸페녹시)아크릴산 (*E*)-3-(4-tert-Butylphenoxy) acrylicacid의 제조



(*E*)-3-(4-*t*-부틸페녹시)아크릴산메틸에스테르로부터 상기 제조예 5와 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 노란색 오일로 얻었다(75.1 mg, 수득율 11.0%).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.89 (1H, d, *J* = 12.3 Hz, CH),7.39 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, aromatic-H), 7.00 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 5.50 (1H, d, *J* = 12.3 Hz, CH),1.32 (9H, s, CH_3)

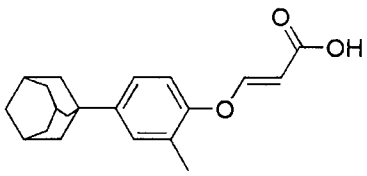
<제조예 7> (*E*)-3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)아크릴산 (*E*)-3-(4-(2,4,4-Trimethylpentan-2-yl)phenoxy)acrylicacid의 제조



(*E*)-3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)아크릴산메틸에스테르로부터 상기 제조예 5와 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 노란색 오일로 얻었다 (1.92 mg, 수득율 43.3%).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.89 (1H, d, *J* = 11.7 Hz, CH), 7.37 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, aromatic-H), 6.98 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 5.50 (1H, d, *J* = 12.3 Hz, CH), 1.73 (2H, s, CH2), 1.36 (6H, s, CH_3), 0.71 (9H, s, CH_3)

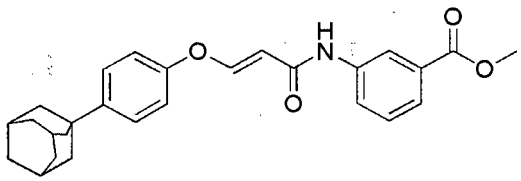
<제조예 8> (*E*)-3-(4-아다만탄-1-일-2-메틸페녹시)아크릴산 (*E*)-3-(4-Adamantan-1-yl-2-methylphenoxy)acrylicacid의 제조



(*E*)-3-(4-아다만탄-1-일-2-메틸페녹시)아크릴산메틸에스테르로부터 상기 제조예 5와 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 노란색 오일로 얻었다(167.4 mg, 수득율 50.2%).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.85 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH), 7.18 7.20 (2H, m, aromatic-H), 6.93 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 5.33 (1H, d, *J* = 12.3 Hz, CH), 2.23 (3H, s, CH_3), 2.10 (3H, m, adamantly-H), 1.89 (6H, m, adamantly-H), 1.77 (6H, m, adamantly-H)

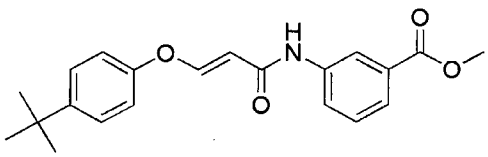
<실시예 1> (*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-벤조산메틸에스테르 (*E*)-3-[3-(4-Adamantan-1-yl-phenoxy)-acryloylamino]-benzoic acid methyl ester의 제조(AC-428)



3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴산(110.6 mg, 0.5 mmol)과 3-아미노벤조산 메틸 에스테르(151.2 mg, 1.0 mmol) 및 HATU(143.8 mg, 0.75 mmol)를 DMF 5 mℓ에 넣고 DIPEA(0.13 mℓ, 0.75 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 상온에서 24 시간 교반하였다. 반응 혼합액을 에틸아세테이트와 10% 염산으로 분리하고, 유기층을 염화나트륨 수용액, 물 순서로 세척하고, 무수 황산마그네슘으로 건조하고 농축하였다. 잔여 물질을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(*n*-Hexane:EtOAc=10:1)로 분리하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(21.5 mg, 수득율 10.6%)

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 8.06 (1H, s, aromatic-H), 7.89 7.95 (2H, m, aromatic-H, CH), 7.77 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, aromatic-H), 7.33 7.42 (3H, m, aromatic-H), 7.02 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 5.68 (1H, d, *J* = 11.7 Hz, CH), 3.90 (3H, s, CH_3), 2.11 (3H, m, adamantly-H), 1.90 (6H, m, adamantly-H), 1.77 (6H, m, adamantly-H).

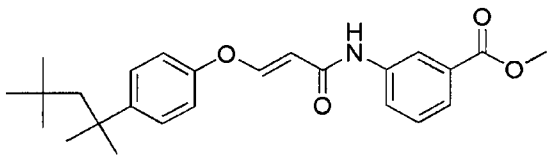
<실시예 2> (*E*)-3-(3-(4-*t*-부틸페녹시)아크릴아미도)벤조산메틸에스테르 (*E*)-3-(3-(4-tert-Butylphenoxy)acrylamido) benzoicacidmethylester의 제조(AC-629)



(*E*)-3-(4-*t*-부틸페녹시)아크릴산으로부터 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(41.0 mg, 수득율 40.0%).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 8.05 (1H, m, aromatic-H), 7.93 7.89 (2H, m, aromatic-H, CH), 7.77 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, aromatic-H), 7.43 7.37 (3H, m, aromatic-H), 7.18 (1H, s, NH), 7.02 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, aromatic-H), 7.00 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 5.66 (1H, d, *J* = 11.4 Hz, CH), 3.91 (3H, s, OCH_3), 1.32 (9H, s, $(CH_3)_3$)

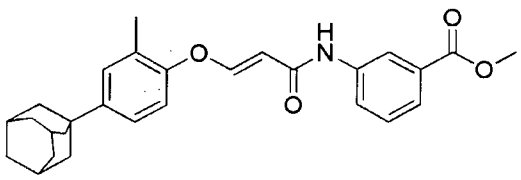
<실시예 3> (*E*)-3-(3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)아크릴아미도)벤조산메틸에스테르 (*E*)-3-(3-(4-(2,4,4-Trimethylpentan-2-yl)phenoxy)acrylamido)benzoicacidmethylester의 제조(AC-630)



(*E*)-3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)아크릴산으로부터 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(733.0 mg, 수득율 62.8%).

^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 300 MHz) δ 8.05 (1H, m, aromatic-H), 7.89 7.93 (2H, m, aromatic-H, CH), 7.78 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, aromatic-H), 7.41 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, aromatic-H), 7.37 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, aromatic-H), 7.11 (1H, s, NH), 7.00 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 5.66 (1H, d, *J* = 11.4 Hz, CH), 3.91 (3H, s, OCH3), 1.73 (2H, s, CH_2), 1.37 (6H, s, $(CH_3)_2$), 0.72 (9H, s, $(CH_3)_3$)

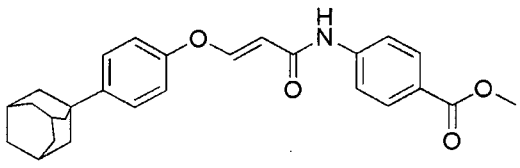
<실시예 4> (*E*)-3-(3-(4-아다만탄-1-일-2-메틸페녹시)아크릴아미도)벤조산메틸에스테르 (*E*)-3-(3-(4-Adamantan-1-yl-2-methylphenoxy)acrylamido)benzoicacidmethylester의 제조(AC-635)



(*E*)-3-(4-아다만탄-1-일-2-메틸페녹시)아크릴산으로부터 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(63.7 mg, 수득율 74.5%).

^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 300 MHz) δ 10.05 (1H, s, NH), 8.27 (1H, m, aromatic-H), 7.82 7.84 (1H, m, aromatic-H), 7.72 (1H, d, *J* = 12.3 Hz, CH), 7.60 - 7.62 (1H, m, aromatic-H), 7.43 (1H, t, *J* = 8.1 Hz, aromatic-H), 7.32 (1H, m, aromatic-H), 7.26 (1H, dd, *J* = 3.0 & 8.55 Hz, aromatic-H), 7.06 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, aromatic-H), 5.58 (1H, d, *J* = 12.3 Hz, CH), 3.84 (3H, s, OCH_3), 2.20 (3H, s, CH_3), 2.06 (3H, m, adamantly-H), 1.87 (6H, m, adamantly-H), 1.74 (6H, m, adamantly-H)

<실시예 5> (*E*)-4-(3-(4-아다만탄-1-일페녹시)아크릴아미도)벤조산메틸에스테르 (*E*)-4-(3-(4-Admantan-1-ylphenoxy)acrylamido)benzoicacidmethylester의 제조(AC-636)

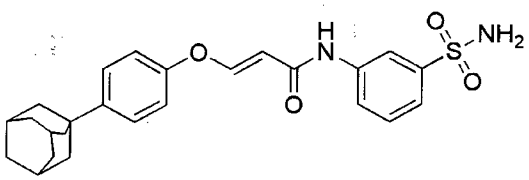


4-아미노벤조산메틸에스테르로부터 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(9.7 mg, 수득율 11.2%).

^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 300 MHz) δ 10.23 (1H, s, NH), 7.91 (2H, d, J=8.7Hz,aromatic-H),7.737.79 (3H, m, aromatic-H, CH), 7.42 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 7.14 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, aromatic-H), 5.83 (1H, d, *J* = 11.7 Hz,CH), 3.82 (3H, s, CH_3), 2.06 (3H, m, adamantly-H), 1.86 (6H, m, adamantly-

H), 1.74 (6H, m, adamantly-H)

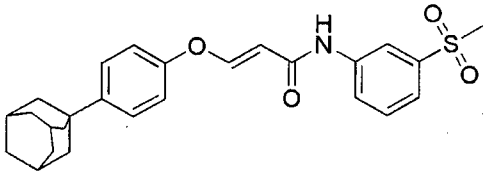
<실시예 6> (*E*)-3-(4-아다만탄-1-일페녹시)-N-(3-설파모일페닐)아크릴아미드 (*E*)-3-(4-Adamantan-1-ylphenoxy)-N-(3-sulfamoylphenyl)acrylamide의 제조(AC-627)



3-아미노벤젠설폰아미드로부터 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(18.2 mg, 수득율 20.1%).

^{1}H-NMR (DMSD-d_6, 300 MHz) δ 10.19 (1H, s, NH), 8.17 (1H, s, aromatic-H), 7.75 7.79 (2H, m, aromatic-H, CH), 7.48 7.49 (2H, m, aromatic-H), 7.43 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 7.14 (2H, d, *J* = 9 Hz, aromatic-H), 5.81 (1H, d, *J* = 11.4 Hz, CH), 2.06 (3H, m, adamantly-H), 1.86 (6H, m, adamantly-H), 1.74 (6H, m, adamantly-H)

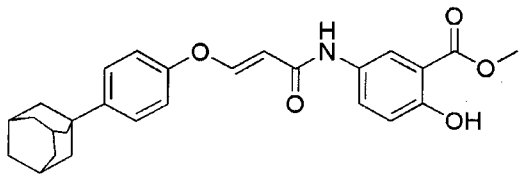
<실시예 7> (*E*)-3-(4-아다만탄-1-일페녹시)-N-(3-(메틸설포닐)페닐)아크릴아미드 (*E*)-3-(4-Adamantan-1-ylphenoxy)-N-(3-(methylsulfonyl)phenyl) acrylamide의 제조(AC-628)



3-(메틸설포닐)벤젠아민으로부터 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(18.2 mg, 수득율 20.2%).

^{1}H-NMR (DMSD-d_6, 300 MHz) δ 10.29 (1H, s, NH), 8.26 (1H, s, aromatic-H), 7.86 7.90 (1H, m, aromatic-H), 7.79 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH),7.57 7.59 (2H, m, aromatic-H), 7.43 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 7.14 (2H, d, *J* = 9 Hz, aromatic-H), 5.82 (1H, d, *J* = 12.3 Hz, CH), 2.19 (3H, s, CH_3), 2.06 (3H, m, adamantly-H), 1.86 (6H,m,adamantly-H), 1.74 (6H, m, adamantly-H)

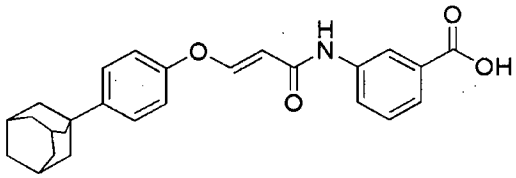
<실시예 8> (*E*)-5-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로아미노]-2-히드록시-벤조산메틸에스테르 (*E*)-5-[3-(4-Adamantan-1-yl-phenoxy)-acryloylamino]-2-hydroxy-benzoicacidmethylester의 제조(AC-551)



5-아미노-2-히드록시-벤조산메틸에스테르로부터 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(52.6 mg, 수득율 34.6%).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 10.61 (1H, s, NH), 8.11 (1H, s, OH), 7.89 (1H, d, *J* = 11.7 Hz, CH), 7.50 7.52 (1H, m, aromatic-H), 7.36 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 7.03 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 6.95 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 6.93 (1H, s, aromatic-H), 5.62 (1H, d, *J* = 11.1 Hz, CH), 3.94 (3H, s, CH_3), 2.11 (3H, m, adamantly-H), 1.90 (6H, m, adamantly-H), 1.77 (6H, m, adamantly-H)

<실시예 9> (*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-벤조산 (*E*)-3-[3-(4-Adamantan-1-yl-phenoxy)-acryloylamino]-benzoicacid의 제조(AC-553)

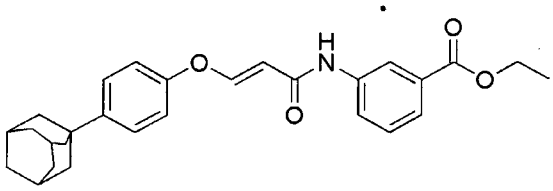


(*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-벤조산메틸에스테르로부터 상기 제조예 5와 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(19.2 mg, 수득율 65.7%).

^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 300 MHz) δ 10.08 (1H, s, NH), 8.23 (1H, s, aromatic-H), 7.86 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 7.75 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH), 7.60 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, aromatic-H), 7.39 7.44 (3H, m, aromatic-H), 7.14 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, aromatic-H), 5.81 (1H, d, *J* = 11.7 Hz, CH), 2.06 (3H, m, adamantly-H), 1.86 (6H, m, adamantly-H), 1.74 (6H, m, adamantly-H)

<실시예 10> (*E*)-3-(3-(4-아다만탄-1-일페녹시)아크릴아미도)벤조산에틸에스

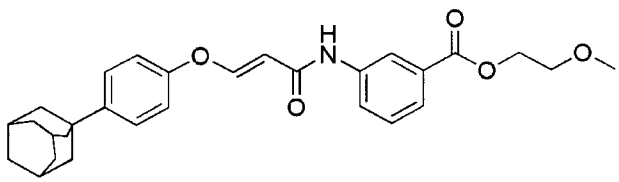
테르 (*E*)-3-(3-(4-Adamantan-1-ylphenoxy)acrylamido)benzoicacidethylester의 제조(AC-610)



3-아미노벤조산 에틸 에스테르로부터 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(44.6 mg, 수득율 50.0%).

^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 300 MHz) δ 10.12 (1H, s, NH), 8.26 (1H, d, *J* = 1.2 Hz, aromatic-H), 7.89 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, aromatic-H), 7.77 (1H, dd, *J* = 1.5 & 12.2 Hz, CH), 7.62 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, aromatic-H), 7.41 7.47 (3H, m, aromatic-H), 7.14 (2H, d, *J* = 7.2 Hz, aromatic-H), 5.81 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH), 4.31 (2H, q, *J* = 6.9Hz, CH_2), 3.90(3H, s, CH3), 2.06 (3H, m, adamantly-H), 1.86 (6H, m, adamantly-H), 1.74 (6H, m, adamantly-H), 1.32 (3H, t, *J* = 7.2 Hz, CH_3)

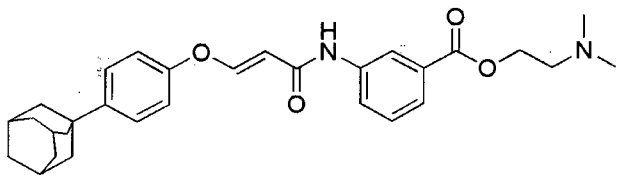
<실시예 11> (*E*)-3-(3-(4-아다만탄-1-일페녹시)아크릴아미도)벤조산2-메톡시에틸에스테르 (*E*)-3-(3-(4-Adamantan-1-ylphenoxy)acrylamido)benzoicacid 2-methoxyethylester의 제조(AC-611)



3-아미노벤조산 2-메톡시에틸에스테르로부터 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(569.8 mg, 수득율 51.1%).

^{1}H-NMR (DMSO-d_6,300 MHz) δ 10.14 (1H, s, NH), 8.24 (1H, s, aromatic-H), 7.92 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 7.77 (1H, d, *J* = 11.4 Hz, CH), 7.63 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, aromatic-H), 7.41 7.48 (3H, m, aromatic-H), 7.14 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, aromatic-H), 5.81 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH), 4.39 (2H, m, CH_2), 4.39 (2H, m, CH_2), 3.31 (3H, s, CH_3), 2.06 (3H, m, adamantly-H), 1.86 (6H, m, adamantly-H), 1.74 (6H, m, adamantly-H)

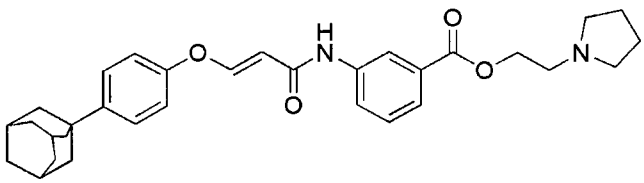
<실시예 12> (*E*)-3-(3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)아크릴아미도)벤조산 2-(디메틸아미노)에틸에스테르 (*E*)-3-(3-(4-adamantan-1-yl-phenoxy)acrylamido) benzoicacid 2-(dimethylamino)ethylester의 제조(AC-632)



(*E*)-3-(3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)아크릴아미도)벤조산(60 mg, 0.144 mmol)와 2-(디메틸아미노)에틸 클로라이드.염산(31.1 mg, 0.216 mmol)를 DMF(3 mℓ)에 녹인 후, 반응 용액에 K_2CO_3(39.8 mg, 0.288 mmol)를 추가하고 60 ℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합액을 에틸아세테이트와 $NaHCO_3$수용액으로 분리하고, 유기층을 염화나트륨 수용액, 물 순서로 세척하고, 무수 황산마그네슘으로 건조하고 농축하였다. 잔여 물질을 Prep-TLC(*n*-Hexane:EtOAc=10:1)로 분리하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다 (21.5 mg, 수득율 10.6%).

^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 300 MHz) δ 10.13 (1H, s, NH), 8.25 (1H, m, aromatic-H), 7.88 7.91 (1H, m, aromatic-H), 7.77 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH), 7.61 - 7.63 (1H, m, aromatic-H), 7.41 - 7.48 (3H, m, aromatic-H), 7.14 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, aromatic-H), 5.81 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH), 4.35 (2H, t, *J* = 6.0Hz, CH2), 2.61 (2H, t, *J* = 6.0 Hz, CH_2), 2.21 (6H, s, $N(CH_3)_2$), 2.06 (3H, m, adamantly-H), 1.87 (6H, m, adamantly-H), 1.74 (6H, m, adamantly-H)

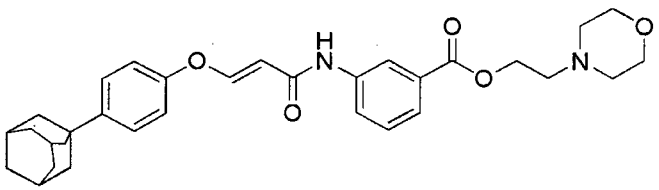
<실시예 13> (*E*)-3-(3-(4-아다만탄-1-일페녹시)아크릴아미도)벤조산 2-피롤리딘-1-일)에틸에스테르 (*E*)-3-(3-(4-adamantan-1-ylphenoxy)acrylamido) benzoicacid 2-(pyrrolidin-1-yl)ethylester의 제조(AC-633)



2-(피롤리딘-1-일)에틸 클로라이드.염산으로부터 상기 실시예 12와 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(9.3 mg, 수득율 18.6%).

^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 300 MHz) δ 10.13 (1H, s, NH), 8.26 (1H, s, aromatic-H), 7.90 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 7.77 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH), 7.62 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, aromatic-H), 7.45 (1H, t, *J* = 8.1 Hz, aromatic-H), 7.42 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 7.14 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, aromatic-H), 5.81 (1H, d, *J* = 11.4 Hz, CH), 4.37 (2H, t, *J* = 5.7 Hz, CH_2), 2.78 (2H, t, *J* = 5.4 Hz, CH_2), 2.50 2.53 (4H, m, CH_2), 2.06 (3H, m, adamantly-H), 1.86 (6H, m, adamantly-H), 1.74 (6H, m, adamantly-H), 1.68 (4H, m, CH_2)

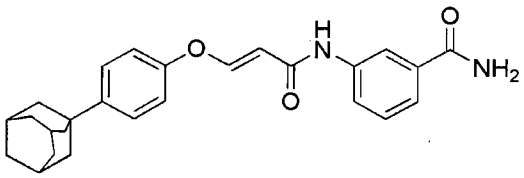
<실시예 14> (*E*)-3-(3-(4-아다만탄-1-일페녹시)아크릴아미도)벤조산모폴리노에틸에스테르 (*E*)-3-(3-(4-adamantan-1-ylphenoxy)acrylamido)benzoicacid morpholinoethylester의 제조(AC-634)



모폴리노에틸 클로라이드.염산으로부터 상기 실시예 12와 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(9.3 mg, 수득율 18.6%).

^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 300 MHz) δ 10.13 (1H, s, NH), 8.27 (1H, m, aromatic-H), 7.86 7.89 (1H, m, aromatic-H), 7.76 (1H, d, *J* = 11.7 Hz, CH), 7.62 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, aromatic-H), 7.41 - 7.48 (3H, m, aromatic-H), 7.14 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, aromatic-H), 5.81 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH), 4.38 (2H, t, *J* = 6.0 Hz, CH_2), 3.56 (4H, t, *J* = 5.1 Hz, CH_2), 2.68 (2H, t, *J* = 6.0 Hz, CH_2), 2.47 (4H, t, *J* = 4.8 Hz, CH_2), 2.06 (3H, m, adamantly-H), 1.86 (6H, m, adamantly-H), 1.74 (6H, m, adamantly-H)

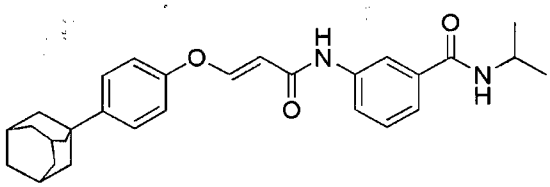
<실시예 15> (*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-벤즈아미드 (*E*)-3-[3-(4-Adamantan-1-yl-phenoxy)-acryloylamino]-benzamide의 제조(AC-552)



(*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-벤조산과 NH_4Cl로부터 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(9.3 mg, 수득율 18.6%).

^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 300 MHz) δ 10.03 (1H, s, NH), 8.02 (1H, m, aromatic-H), 7.91 (1H, br-s, NH_2), 7.79 7.82 (1H, m, aromatic-H), 7.74 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH), 7.51 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, aromatic-H), 7.42 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, aromatic-H), 7.36 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, aromatic-H), 7.31(1H, br-s, NH_2), 7.13 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, aromatic-H), 5.83 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH), 2.06 (3H, m, adamantly-H), 1.86 (6H, m, adamantly-H), 1.73 (6H, m, adamantly-H)

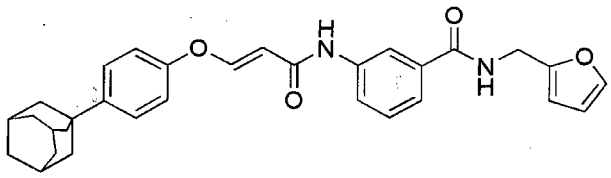
<실시예 16> (*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-*N*-이소프로필-벤즈아미드 (*E*)-3-[3-(4-Adamantan-1-yl-phenoxy)-acryloylamino]-*N*-isopropyl-benzamide의 제조(AC-550)



3-아미노-*N*-이소프로필-벤즈아미드로부터 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(57.8 mg, 수득율 37.1%).

^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 300 MHz) δ 10.03 (1H, s, NH), 8.18 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, NHCH), 7.96 (1H, s, aromatic-H), 7.82 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, aromatic-H), 7.82 (1H, d, *J* = 11.7 Hz, CH), 7.33 7.49 (4H, m, aromatic-H), 7.13 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, aromatic-H), 5.83 (1H, d, *J* = 12.3 Hz, CH), 4.01 4.11 (1H, m, CH $(CH_3)_2$), 2.06 (3H, m, adamantly-H), 1.86 (6H, m, adamantly-H), 1.74 (6H, m, adamantly-H), 1.15 (6H, d, *J* = 6.6 Hz, CH_3)

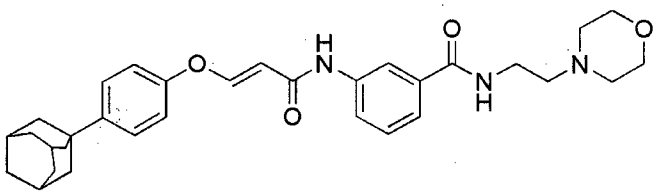
<실시예 17> (*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-*N*-퓨란-2-일메틸-벤즈아미드 (*E*)-3-[3-(4-Adamantan-1-yl-phenoxy)-acryloylamino]-*N*-furan-2-ylmethyl-benzamide의 제조(AC-559)



(*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-벤조산과 푸르푸릴아민(furfurylamine)으로부터 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(37.7 mg, 수득율 63.3%).

^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 300 MHz) δ 10.05 (1H, s, NH), 8.92 (1H, t, *J* = 6Hz, $NHCH_2$), 8.03 (1H, m, aromatic-H), 7.79 7.82 (1H, m, aromatic-H), 7.74 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH), 7.56 (1H, m, aromatic-H), 7.51 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, aromatic-H), 7.42 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, aromatic-H), 7.37 (1H, t, *J* = 8.1 Hz, aromatic-H), 7.13 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 6.39 (1H, m, aromatic-H), 6.26 (1H, d, *J* = 3.3 Hz, aromatic-H), 5.83 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH), 4.44 (2H, d, *J* = 5.4 Hz, CH_2), 2.06 (3H, m, adamantly-H), 1.86 (6H, m, adamantly-H), 1.73 (6H, m, adamantly-H)

<실시예 18> (*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-*N*-(2-모폴린-4-일-에틸)-벤즈아미드 (*E*)-3-[3-(4-Adamantan-1-yl-phenoxy)-acryloylamino]-*N*-(2-morpholin-4-yl-ethyl)-benzamide의 제조(AC-571)

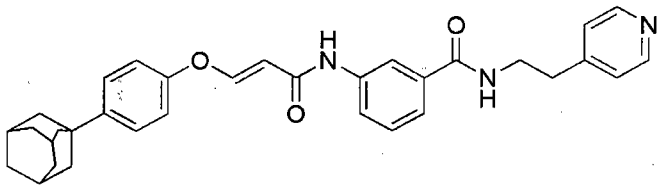


3-아미노-*N*-(2-모폴리노에틸)벤즈아미드로부터 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(42.9 mg, 수득율 40.5%).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.98 (1H, s, aromatic-H), 7.90 (1H, d, *J* = 11.7 Hz, CH), 7.79 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, aromatic-H), 7.48 (1H, d, *J* = 8.1 Hz,

aromatic-H), 7.35 7.42 (3H, m, aromatic-H), 7.04 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 6.93 (1H, m, $NHCH_2$), 5.70 (1H, d, *J* = 11.7 Hz, CH), 3.75 (4H, t, *J* = 4.5 Hz, CH2), 3.53 3.59 (2H, m, CH_2), 2.61 (2H, t, *J* = 6.0 Hz, CH_2), 2.52 (4H, t, *J* = 4.5 Hz, CH_2), 2.11 (3H, m, adamantly-H), 1.90 (6H, m, adamantly-H), 1.77 (6H, m, adamantly-H)

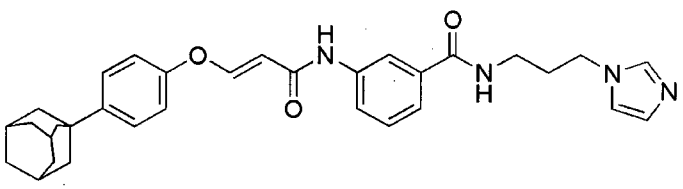
<실시예 19> (*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-*N*-(2-피리딘-4-일-에틸)-벤즈아미드 (*E*)-3-[3-(4-Adamantan-1-yl-phenoxy)-acryloylamino]-*N*-(2-pyridin-4-yl-ethyl)-benzamide의 제조(AC-554)



3-아미노-*N*-(2-피리딘-4-일-에틸)-벤즈아미드로부터 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(81.2 mg, 수득율 66.5%).

^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 300MHz) δ 10.04 (1H, s, NH), 8.53 (1H, t, *J* = 5.4 Hz, $NHCH_2$), 8.46 (2H, d, *J* = 6.0 Hz, aromatic-H), 8.00 (1H, s, aromatic-H), 7.78 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, aromatic-H), 7.75 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH), 7.41 7.44 (3H, m, aromatic-H), 7.36 (1H, t, *J* = 7.5 Hz, aromatic-H), 7.27 (2H, d, *J* = 5.7 Hz, aromatic-H), 5.83 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH), 3.49 3.55 (2H, m, CH_2), 2.87 (2H, t, *J* = 6.9 Hz, CH2), 2.06 (3H, m, adamantly-H), 1.86 (6H, m, adamantly-H), 1.74 (6H, m, adamantly-H)

<실시예 20> (*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-*N*-(3-이미다졸-1-일-프로필)-벤즈아미드 (*E*)-3-[3-(4-Adamantan-1-yl-phenoxy)-acryloylamino]-*N*-(3-imidazol-1-yl-propyl)-benzamide의 제조(AC-555)

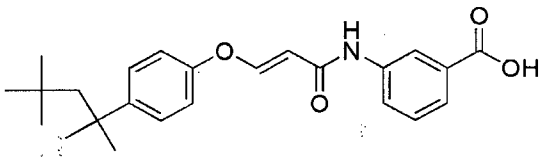


3-아미노-*N*-(3-이미다졸-1-일-프로필)-벤즈아미드로부터 상기 실시예 1과 동

일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(41.3 mg, 수득율 23.2%).

^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 300 MHz) δ 10.05 (1H, s, NH), 8.49 (1H, t, *J* = 5.4 Hz, $NHCH_2$), 8.02 (1H, s, aromatic-H), 7.81 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, aromatic-H), 7.75 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH), 7.65 (1H, s, aromatic-H), 7.49 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, aromatic-H), 7.42 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 7.38 (1H, t, *J* = 7.8 Hz, aromatic-H), 7.21 (1H, s, aromatic-H), 7.13 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 6.89 (1H, s, aromatic-H), 5.83 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH), 4.01 (2H, t, *J* = 6.9 Hz, CH_2), 3.19 3.25 (2H, m, CH_2), 2.06 (3H, m, adamantly-H), 1.95 (2H, m, CH_2), 1.86 (6H, m, adamantly-H), 1.74 (6H, m, adamantly-H)

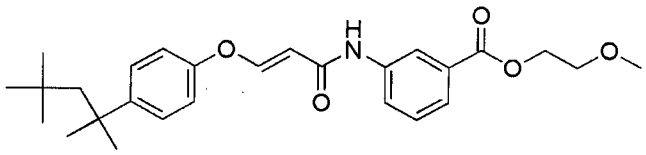
<실시예 21> (*E*)-3-(3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)아크릴아미도)벤조산 (*E*)-3-(3-(4-(2,4,4-trimethylpentan-2-yl)phenoxy)acrylamido)benzoic acid의 제조



(*E*)-3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)아크릴산 메틸에스테르로부터 상기 제조예 5와 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(646.7 mg, 수득율 86.5%).

^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 300 MHz) δ 12.92 (1H, s, COOH), 10.09 (1H, s, NH), 8.24 (1H, s, aromatic-H), 7.87 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 7.74 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH), 7.61 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, aromatic-H), 7.40 7.46 (3H, m, aromatic-H), 7.11 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 5.85 (1H, d, *J* = 12.3 Hz, CH), 1.73 (2H, s, CH_2), 1.33 (6H, s, CH_3), 0.69 (9H, s, CH_3)

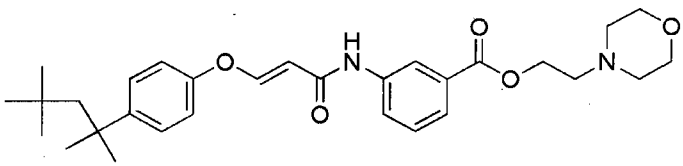
<실시예 22> (*E*)-2-메톡시에틸 3-(3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)아크릴아미도)벤조에이트 (*E*)-2-methoxyethyl 3-(3-(4-(2,4,4-trimethylpentan-2-yl)phenoxy)acrylamido)benzoate의 제조(AC-695)



(*E*)-3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)아크릴산과 3-아미노벤조산 2-메톡시에틸에스테르로부터 상기 실시예 12와 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(61.1 mg, 수득율 53.2%).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ 8.02 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, aromatic-H), 7.96 (1H, s, aromatic-H), 7.91 (1H, d, *J* = 11.6 Hz, CH), 7.80 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, aromatic-H), 7.41 (1H, t, *J* = 7.98 Hz, aromatic-H), 7.37 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 7.09 (1H, s, NH), 7.00 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, aromatic-H), 5.65 (1H, d, *J* = 11.6 Hz, CH), 4.47 (2H, t, *J* = 4.7 Hz, CH_2), 3.73 (2H, t, *J* = 4.8 Hz, CH_2), 3.44 (3H, s, OCH_3), 1.74 (2H, s, CH_2), 1.37 (6H, s, CH_3), 0.72 (9H, s, CH_3)

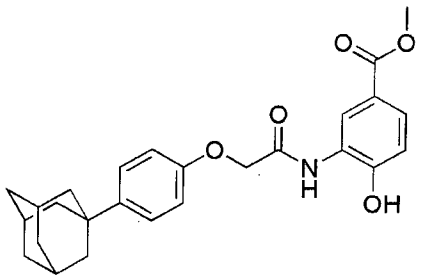
<실시예 23> (*E*)-2-모폴리노에틸 3-(3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)아크릴아미도)벤조에이트 (*E*)-2-morpholinoethyl 3-(3-(4-(2,4,4-trimethylpentan-2-yl)phenoxy)acrylamido)benzoate의 제조(AC-694)



(*E*)-3-(3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)아크릴아미도)벤조산과 모폴리노에틸 클로라이드.염산으로부터 상기 실시예 12와 동일한 방법으로 실시하여 목적 화합물을 흰색 고체로 얻었다(402.9 mg, 수득율 71.4%).

^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 500 MHz) δ 10.14 (1H, s, NH), 8.27 (1H, s, aromatic-H), 7.88 - 7.80 (1H, m, aromatic-H), 7.75 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH), 7.62 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, aromatic-H), 7.44 - 7.47 (3H, m, aromatic-H), 7.11 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, aromatic-H), 5.85 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH), 4.39 (2H, t, *J* = 5.71 Hz, CH_2), 3.56 (4H, t, *J* = 4.44 Hz, CH_2), 2.68 (2H, t, *J* = 5.75 Hz, CH_2), 2.48 (4H, m, CH_2), 1.73 (2H, s, CH_2), 1.34 (6H, s, CH_3), 0.69 (9H, s, CH_3)

<비교예 1> 3-[2-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아세틸아미노]-4-히드록시-벤조산 메틸 에스테르 (3-[2-(4-Adamantan-1-yl-phenoxy)-acetylamino]-4-hydroxy-benzoic acid methyl ester)의 제조



4-아다만탄-1-일-페녹시 아세트산(143.2 mg, 0.5 mmol)을 THF 5 ml 및 옥살릴 클로라이드(oxalyl chloride, 178.5 mg, 0.11 ml, 1.5 mmol)에 용해시키고, DMF를 적가하였다. 한 시간 동안 상온에서 반응시킨 후에, 3-아미노-4-히드록시-벤조산 메틸 에스테르(125.4 mg, 0.75 mmol) 및 피리딘 0.05 ml를 첨가하고, 혼합물을 상온에서 반응시켰다. 반응이 완료된 후, 에틸 아세테이트와 염화나트륨 수용액으로 분리하고, 유기층을 무수 황산 마그네슘으로 건조시키고, 농축시켰다. 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(N-Hexane: EtOAc:MeOH=6:3:1)로 분리하여 목적 화합물(183.2 mg, 수득율:84.1%)을 흰색 고체로 얻었다.

^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 300 Hz) 11.10(1H, s, OH), 9.24(1H, s, NH), 8.69(1H, m, aromatic-H), 7.60-7.64 (1H, m, aromatic-H), 7.30(2H, d, J=8.4 Hz, aromatic-H), 6.94-6.99 (3H, m, aromatic-H), 4.74(2H, s, CH_2), 3.79(3H, s, CH_3), 2.04(3H, m, adamantly-H), 1.83(6H, m, adamantly-H), 1.72(6H, m, adamantly-H)

<실험예 1> HIF-1에 의해 매개된 HRE 전사활성화 저해도 측정

본 발명의 실시예에서 제조된 화합물의 HIF-1 전사활성 저해도를 측정하기 위해 전달체(reporter)로서 루시퍼라아제(luciferase)를 이용하는 pGL3-basic 벡터(Promega사)에 인간 VEGF 유전자에 존재하는 HRE(Hypoxia Responsive Element, 5'-ACGTG-3')가 여섯 번 반복되도록 멀티클로닝사이트(multi-cloning site)에 복제시켜 pGL3-HRE-루시퍼라아제(pGL3-HRE-luciferase) 벡터를 제조하여 사용하였다.

48-웰 세포 배양 용기에서 인간 직장암 세포주인 HCT116 세포(제조사)를 파

종하고, 하루가 지난 다음, 폴리펙트 시약(Polyfect reagent, 제조사)을 이용하여 25 ng의 pGL3-HRE-루시퍼라아제 벡터와 2.5 ng의 레닐라(Renilla) 대조군 벡터를 함께 형질전환(transfection)시켰다. 24시간 동안 배양한 후 배지를 교체하고, 4시간 동안 추가 배양한 다음, 실시예에서 제조된 화합물들을 각각 10 μM 농도로 처리하고, 저산소 조건(산소 1%, 질소 94%, 이산화탄소 5%)에서 12시간 배양하였다. RIPA 완충용액(RIPA buffer)을 이용하여 용해물(lysate)을 얻어 이중-루시퍼라아제 리포터 분석 시스템(Dual-luciferase assay system, Promega사)을 사용하여 저산소 조건에서 유도된 루시퍼라아제의 활성을 측정함으로써 각 실시예에서 제조된 화합물들의 HIF-1 저해 활성을 측정한 결과를 도 1에 나타내었다. 또한, 실시예 1에서 제조된 화합물 및 비교예 1의 화합물을 각각 0, 1, 3, 5, 10, 20 μM 농도로 처리한 것을 제외하고는 상기와 동일한 방법으로 실행하여 저산소 조건에서 유도된 루시퍼라아제의 활성을 측정함으로써 실시예 1 및 비교예 1에서 제조된 각 화합물의 HIF-1 저해 활성을 비교한 결과를 하기 표 2 및 도 2에 나타내었다.

【표 2】

HRE전사활성도(%) 비교		
	실시예 1의 화합물	비교예 1의 화합물
0 μM	100	100
1 μM	57.7	119.4
3 μM	32.1	121.5
5 μM	25.4	98.8
10 μM	23.0	75.6
20 μM	19.8	43.1

도 1은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물들을 10 μM 농도로 처리시 나타나는 HRE 전사 활성을 측정한 그래프이다.

도 2는 본 발명의 일실시예에 따른 화합물이 HRE 전사 저해 활성을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

표 2, 도 1 및 도 2에 나타난 바와 같이, 저산소 조건에서 유도되는 HIF-1에 의해 매개된 HRE 전사활성화에 본 발명에 따른 화합물들이 미치는 영향을 측정한 결과, HRE 활성을 현저히 저해하는 것으로 나타났다. 그 중에서 실시예 1의 화합물(AC-428)이 비교예 1의 화합물에 비하여 암 세포주에서 약 3배 이상 우수한 HRE 전사활성 저해도를 가지고 있음을 확인할 수 있다.

따라서, 본 발명에 따른 화합물은 HIF-1에 의해 활성화되는 HRE 전사활성을 저해하여 암의 성장 및 전이 등을 억제할 수 있으므로, 항암제의 유효성분으로 유

용하게 사용될 수 있다.

<실험예 2> 저산소 상태에서의 HIF-1α 축적 저해도 측정

HIF-1α 단백질은 HIF-1을 구성하는 단백질의 하나로서 HIF-1 표적 유전자들의 발현에 중요한 역할을 한다.

상기 실험예 1을 통해 강한 HIF-1 전사활성 저해도를 나타낸 화학식 1의 화합물에 대하여 직장암 세포주인 HCT116 세포에서 HIF-1α 축적(accumulation) 저해도를 측정하였다. 구체적으로는, 본 발명의 실시예에서 제조된 화합물들이 저산소(hypoxia) 조건에 의해 유도되는 HIF-1α 단백질의 생성을 저해하는 효과를 웨스턴 블롯(Western blot) 분석법을 이용하여 측정하였다. 또한, 실시예 1에서 제조된 화학식 1의 화합물 및 비교예 1에서 제조된 화합물이 저산소(hypoxia) 조건에 의해 유도되는 HIF-1α 단백질의 생성을 농도의존적으로 저해하는 효과를 웨스턴 블롯(Western blot) 분석법을 이용하여 비교하였다.

먼저, 세포배양용기에서 인간의 직장암 세포주인 HCT116 세포(제조사)를 2×10^5 cell/ml로 파종하고, 24시간 동안 배양한 다음, 저산소 조건(산소 1%, 질소 94%, 이산화탄소 5%, 도 1에서 1% O_2로 표시)에서 4시간 동안 전처리하여 HIF-1α의 축적을 유도한 후, 화학식 1의 화합물을 DMSO 용매에 녹여 0~30 μM의 농도로 HCT116 세포에 처리한 다음, 상기 저산소 조건에서 12시간 동안 배양한 다음 RIPA 완충용액을 이용하여 핵 추출물을 조제하였다. 이때, 저산소 조건에 따른 HIF-1 표적 유전자의 발현을 비교하기 위하여 산소 20%를 포함하는 대조군과 함께 실험을 수행하였다. 상기 핵 추출물 각 시료당 약 30 ㎍을 SDS PAGE(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)로 분리하고 폴리비닐리덴 플루오라이드 막(polyvinylidene fluoride membrane)에 옮긴 후 HIF-1α 항체(R,D System 사) 및 HRP(horseradish peroxidase)로 표식된 2차 항체(Amersham-Pharmacia사)를 사용하여 HIF-1α 단백질의 양을 검출하였고, 내부 대조 유전자로 GAPDH를 사용하였다.

또한 본 발명의 실시예에 따른 화합물이 종양억제자 VHL(Von Hippel-Lindau)의 발현에 미치는 영향을 알아보기 위하여 VHL 단백질을 처리하였다.

나아가, 각 PVDF 막에 동일한 양의 핵 추출물이 함유되어 있는 것을 다시 확인하기 위해, HIF-1α를 검출에 사용한 막에서 HIF-1α 항체를 2-메르캅토에탄올을 함유한 완충 용액을 사용하여 떼어내고, 다시 베타액틴(β-actin)을 이용하여 베타액틴의 양을 검출하였다. 그 결과를 도 3 및 도 4에 나타내었다.

도 3은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물들이 HIF-1α 축적을 저해하는 정도를 나타내는 도면이다.

도 4는 본 발명의 일실시예에 따른 화합물이 HIF-1α 축적을 저해하는 정도를 나타내는 도면이다.

도 3 및 도 4에 나타난 바와 같이, 본 발명의 실시예에서 제조된 화학식 1의 화합물들은 저산소 조건에서 GAPDH 또는 베타액틴(β-actin)의 생성에는 영향을 주지 않으면서 HIF-1α 단백질의 생성을 농도 의존적으로 저해하고 종양억제자 VHL의 발현을 증가시키고 있음을 확인할 수 있다.

따라서, 본 발명에 따른 화합물은 암을 악성화시키는 HIF-1α의 축적을 억제하고 종양억제자 VHL의 발현을 증가시키므로, 항암제의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있다.

<실험예 3> HIF-1의 표적 유전자인 VEGF 및 EPO 발현에 화학식 1의 화합물이 미치는 영향 측정(RT-PCR, reverse transcriptase polymerase chain reaction 분석)

HIF-1의 표적 유전자들 중, VEGF(Vascular endothelial growth factor A)는 암의 성장 및 암이 다른 조직으로 전이하는데 있어서 중요한 혈관 신생 인자이고, EPO(erythropoietin)는 적혈구의 생성을 촉진시키는 역할을 하는 인자이다. 이들 표적 유전자들은 암의 증식과 전이에 기여하는 것으로 알려져 있다.

본 발명에 따른 화합물의 HIF-1 저해 활성을 확인하기 위하여, 실시예 1에서 제조된 화학식 1의 화합물이 HIF-1의 대표적인 표적 유전자인 VEGF 및 EPO의 발현을 저해하는 정도를 측정하였다. 구체적으로는, 직장암 세포주인 HCT116 세포를 사용하여 다음과 같은 방법으로 측정하였다.

세포배양용기에서 HCT116 세포를 2×10^5 cell/ml로 파종하고, 24시간 동안 배양한 다음, 저산소 조건(산소 1%, 질소 94%, 이산화탄소 5%) 상태로 4시간 동안 처리하여 HIF-1α의 축적을 유도한 후, 실시예 1에서 제조된 화합물을 0, 10, 20 μM의 농도로 처리한(실험군) 다음, 상기 저산소 조건에서 12시간 동안 배양하고, 트리졸(trizol)을 이용하여 mRNA를 정제하였다. 이때, 비교예 1에서 제조된 화합물에 따른 HIF-1 표적 유전자의 발현을 비교하기 위하여 0, 10, 15, 20 μM의 농도로

처리한 대조군과 함께 실험을 수행하였다. 다음으로, 정제한 mRNA를 RT-PCR 키트(Invitrogen사)를 이용하여 cDNA를 합성하고 RT-PCR과 실시간 RT-PCR을 이용하여 HIF-1α의 표적 유전자인 VEGF(Vascular endothelial growth factor A) 및 EPO(erythropoietin)의 mRNA 양을 측정하였다. 이때, 내부 대조 유전자로 GAPDH를 동시에 증폭하여 화학식 1의 화합물의 VEGF, EPO에 대한 선택적 발현 저해 활성을 측정하였다. 그 결과를 도 5에 나타내었다.

도 5는 본 발명의 일실시예에 따른 화합물이 VEGF 및 EPO의 발현을 저해하는 정도를 나타내는 도면이다.

도 5에 나타난 바와 같이, 실시예 1에서 제조된 화학식 1의 화합물은 저산소 조건에서 내부 대조 유전자인 GAPDH의 발현에는 전혀 영향을 주지 않았다. 그러나 HIF-1의 표적 유전자인 VEGF 및 EPO의 발현은 실시예 1의 화합물의 농도에 의존적으로 저해됨을 확인할 수 있다.

따라서, 본 발명의 화학식 1의 화합물은 암의 성장 및 암이 다른 조직으로 전이하는데 중요한 인자인 VEGF 및 EPO의 발현을 선택적으로 저해할 수 있기 때문에 항암제의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있다. 또한, 저산소 상태에서 VEGF의 발현이 증가되어 악화되는 당뇨병성 망막증이나 관절염 치료제의 유효성분으로도 유용하게 사용될 수 있다.

<실험예 4> 정맥투여에 의한 생체 내 항암 활성 측정 1

실시예 1에서 제조된 화합물을 정맥투여하였을 때의 직장암 성장 억제 활성을 평가하기 위해 마우스에서의 생체 내(*in vivo*) 항암 활성을 측정하였다. 구체적으로는, 군마다 5 마리의 누드 마우스로 실험군 및 대조군을 구성하여 마우스의 체중변화, 종양크기 및 종양무게를 측정하여 항암 활성을 측정하였다.

6주령의 암컷 누드 마우스(출처:BALB/c nu/nu, Charles River사)는 실험기간 동안 항온, 항습이 유지되는 무균 상태로 사육하였다. 누드 마우스를 마취시킨 후 4×10^{7} cells/mouse의 이식농도로 인체유래 직장암 세포주인 HCT116 세포를 직장 조직에 이식하고, 수술용 클립으로 봉하였다. 직장암 세포주를 이식한 후 칼리퍼스로 암의 크기를 측정하여 암의 크기가 54.5 mm^{3}으로 자랐을 때, 실시예 1에서 제조된 화합물을 투여하였다. 구체적으로는, 실험군에 대해서는 실시예 1의 화합물을 살린

(saline) 80%, DMAC 10% 및 트윈 80(Tween 80) 10%로 구성되는 용매(이하, '용매 A'라고 함)에 용해시켜 화합물의 농도가 30 mg/kg가 되도록 하여, 각각 15 ml/kg 용량으로 매일 1회씩 정맥투여하였다. 대조군은 화합물을 첨가하지 않은 용매 A만 15 ml/kg씩 매일 1회 경구투여하였고, 비교군은 토포테칸 2 mg/kg가 되도록 하여, 각각 15 ml/kg 용량으로 매일 1회씩 정맥투여하였다. 이후 암 세포주의 크기 및 체중은 0, 2, 3, 4, 5, 6, 8일째에 1회씩 측정하였다.

종양의 크기(tumor volume)는 하기의 수학식 1로 계산하였고, 실시예 1의 화합물을 반복하여 정맥투여 시의 독성 정도를 알아보기 위한 마우스의 체중변화를 표 3에 나타내었고, 종양 무게 및 크기의 변화를 표 4에 나타내었다. 이때, 표 4의 저해도(%)는 하기 수학식 2로 계산하였는데, 화합물에 의한 종양 생성의 저해도를 백분율로 나타낸 것이다.

【수학식 1】

$$\text{종양의크기}(mm^3)=(\text{종양세포의장축길이},mm)\times(\text{종양세포의단축길이},mm)^2\times 0.5$$

【수학식 2】

$$\text{저해도}(\%)=\left[\frac{(\text{대조군종양크기}-\text{실험군종양크기})}{\text{대조군종양크기}}\right]\times 100$$

【표 3】

실시예 1의 화합물을 반복 정맥투여 시 마우스의 체중 변화(%)								
군 (n=5)	투여량 (mg/kg)	투여 경과 일 수						
		0	2	3	4	5	6	8
대조군	0	100.0 ±0.0	103.2 ±0.9	102.5 ±0.9	102.0 ±0.6	104.2 ±3.3	106.6 ±3.9	105.5 ±4.6
비교군	2	100.0 ±0.0	101.7 ±1.0	101.8 ±1.1	103.2 ±5.4	99.1 ±1.4	98.7 ±1.7	95.6 ±1.4
실험군	30	100.0 ±0.0	96.5 ±2.9	94.7 ±2.3	96.0 ±3.5	100.3 ±1.5	101.4 ±2.5	99.9 ±2.3

표 3에 나타난 바와 같이, 실시예 1의 화합물을 30 mg/kg의 용량으로 누드 마우스 에 반복 정맥투여한 기간 동안 특이한 일반 증상은 관찰되지 않았으며, 마우스 체중 변화의 최종일(8일째) 결과를 보면 대조군과 비교하여 실험군에서 통계적으로 유의한 체중 감소는 없는 것을 알 수 있다. 따라서, 화학식 1의 화합물은

독성이 거의 없어 항암제의 유효성분으로 사용될 수 있다.

【표 4】

화학식 1의 화합물의 반복 경구투여에 의한 종양크기 변화(mm^3)						
군 (n=5)	투여량 (mg/kg/day)	투여 경과 일 수				
		0	2	4	6	8
대조군	0	0.0±0.0	30.0 ±5.3	105.7 ±29.0	215.5 ±52.8	325.7 ±65.8
비교군	2	0.0±0.0	16.5 ±3.9	44.3 ±10.1	69.1 ±13.2	93.1 ±22.3
저해도(%)		-	44.9	58.1	67.9	71.4
실험군	30	0.0±0.0	19.4 ±5.8	50.6 ±20.9	114.3 ±36.8	176.8 ±50.0
저해도(%)		-	35.3	52.1	47.0	45.7

표 4에 나타난 바와 같이, 실시예 1에서 제조된 화합물을 30 mg/kg을 투여한 실험군은 대조군에 비하여 45.7%로 암세포의 성장을 저해하였음을 알 수 있다.

따라서, 본 발명의 화합물을 정맥투여할 경우 생체 내 항암 활성을 가지며, 독성이 거의 없어 항암제의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있다.

<실험예 5> 정맥투여에 의한 생체 내 항암 활성 측정 2

실시예 1에서 제조된 화합물을 정맥투여하였을 때의 신장암 성장 억제 활성을 평가하기 위해 마우스에서의 생체 내(*in vivo*) 항암 활성을 측정하였다. 구체적으로는, 군마다 5 마리의 누드 마우스로 실험군 및 대조군을 구성하여 마우스의 체중변화, 종양크기 및 종양무게를 측정하여 항암 활성을 측정하였다.

6주령의 암컷 누드 마우스(출처:BALB/c nu/nu, Charles River사)는 실험기간 동안 항온, 항습이 유지되는 무균 상태로 사육하였다. 누드 마우스를 마취시킨 후 4×10^7 cells/mouse의 이식농도로 인체유래 신장암 세포주인 Caki-1 세포주를 신장 조직에 이식하고, 수술용 클립으로 봉하였다. 신장암 세포주를 이식한 후 칼리퍼스로 암의 크기를 측정하여 암의 크기가 52.7 mm^3으로 자랐을 때, 실시예 1에서 제조된 화합물을 투여하였다. 구체적으로는, 실험군에 대해서는 실시예 1의 화합물을 크레모포아(Cremophor) 10%, DMAC 10% 및 pH 10 완충용액 80%로 구성되는 용매(이

하, '용매 B'라고 함)에 용해시켜 화합물의 농도가 20 mg/kg가 되도록 하여, 각각 15 ml/kg 용량으로 매일 1회씩 정맥투여하였다. 대조군은 화합물을 첨가하지 않은 용매 B만 15 ml/kg씩 매일 1회 경구투여하였고, 비교군은 토포테칸 2 mg/kg가 되도록 하여, 각각 15 ml/kg 용량으로 매일 1회씩 정맥투여하였다. 이후 암 세포주의 크기 및 체중은 0, 2, 4, 7, 9, 11, 14일째에 1회씩 측정하였다.

종양의 크기(tumor volume)는 실험예 4의 상기 수학식 1로 계산하였고, 실시예 1의 화합물을 반복하여 정맥투여 시의 독성 정도를 알아보기 위한 마우스의 체중변화를 표 5에 나타내었고, 종양 무게 및 크기의 변화를 표 6에 나타내었다. 이때, 표 6의 저해도(%)는 하기 수학식 2로 계산하였는데, 화합물에 의한 종양 생성의 저해도를 백분율로 나타낸 것이다.

【표 5】

화학식 1의 화합물의 반복 정맥투여에 의한 마우스의 체중 변화(%)								
군 (n=5)	투여량 (mg/kg/day)	투여 경과 일 수						
		0	2	4	7	9	11	14
대조군	0	100.0 ±0.0	103.5 ±1.1	104.0 ±1.6	104.9 ±2.7	105.0 ±2.7	105.4 ±3.1	106.6 ±5.4
실험군	20	100.0 ±0.0	104.7 ±1.7	105.3 ±2.2	105.5 ±3.1	106.6 ±4.9	107.3 ±6.8	109.5 ±6.4
비교군	2	100.0 ±0.0	104.7 ±1.9	103.8 ±3.8	103.4 ±2.6	101.8 ±3.6	103.0 ±3.6	102.9 ±5.3

표 5에 나타난 바와 같이, 실시예 1의 화합물을 20 mg/kg의 용량으로 누드 마우스에 반복 정맥투여한 기간 동안 특이한 일반 증상은 관찰되지 않았으며, 마우스 체중 변화의 최종일(14일째) 결과를 보면 대조군과 비교하여 실험군에서 통계적으로 유의한 체중 감소는 없는 것을 알 수 있다. 따라서, 화학식 1의 화합물은 독성이 거의 없어 항암제의 유효성분으로 사용될 수 있다.

【표 6】

실시예 1의 화합물의 반복 정맥투여에 의한 종양크기 변화 및 최종일의 종양 무게

군 (n=5)	투여량 (mg/kg/day)	종양크기(mm^3)							종양무게(mg)
		투여 경과 일 수							
		0	2	4	7	9	11	14	14
대조군	0	0.0 ±0.0	20.9 ±4.0	52.8 ±11.9	102.3 ±12.2	148.9 ±30.4	204.5 ±39.2	289.7 ±64.5	909.3 ±216.0
실험군	20	0.0 ±0.0	17.1 ±2.0	41.4 ±13.5	77.6 ±11.8	107.0 ±18.5	141.9 ±14.8	200.2 ±34.2	640.0 ±61.8
저해도(%)		-	18.4	21.6	24.2	28.2	30.6	30.9	29.6
비교군	2	0.0 ±0.0	16.7 ±2.3	38.7 ±4.8	67.8 ±8.6	88.5 ±19.6	120.9 ±36.0	156.9 ±51.3	472.4 ±137.6
저해도(%)		-	20.1	26.6	33.8	40.6	40.9	45.8	48.0

표 6에 나타난 바와 같이, 실시예 1에서 제조된 화합물을 20 mg/kg을 투여한 실험군은 대조군에 비하여 약 30%의 종양성장 억제 효과가 관찰되었다.

추가적으로, 본 실험예 5에서 나타난 항암 활성 결과가 HIF-1α의 발현 감소에 의한 것인지 알아보기 위하여 종양조직의 면역반응실험을 실시하였다. 구체적으로, 비교군으로 토포테칸(topotecan)을 처리하고, 실험군으로 실시예 1의 화합물을 처리하여 종양조직의 면역반응 실험을 실시하였고, 그 결과를 도 6에 나타내었다.

도 6은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물에 의해 HIF-1α의 발현이 감소하는 것을 광학현미경으로 관찰한 이미지이다.

도 6에 나타난 바와 같이, 대조군의 경우에는 HIF-1α의 발현이 뚜렷히 관찰되지만, 실시예 1의 화합물을 투여한 경우에는 쥐의 종양조직에서 HIF-1α 발현이 확연히 감소함을 알 수 있다.

따라서, 본 발명의 화학식 1의 화합물을 정맥투여할 경우 종양조직에서 HIF-1α 발현을 감소시켜 항암 활성을 가지며, 독성이 거의 없어 항암제의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있다.

<실험예 6> 신생혈관생성 억제 활성 평가

화학식 1의 화합물이 신생혈관생성을 억제하는 정도와 종양이 감소되는 정도를 확인하고자 다음과 같이 실험을 수행하였다.

구체적으로, 6주령 암컷 쥐(C57BL) 5마리를 1군으로 하여 B16F10 melanoma 세포주를 이식하고 암세포 배양 후 화학식 1의 화합물 20 mg/kg 농도로 5일간 매일 복강 투여하여 종양이 감소되는 정도와 신생혈관 형성 억제 정도를 관찰하였다. 대조군으로는 10% DMAC, 10% 크레모포아 및 80% 버퍼(pH 10)의 혼합용액을 매일마다 투여하였고, 비교군으로는 토포테칸(Topotecan) 2 mg/kg을 2일마다 1회 투여하여, 마우스의 체중변화 및 생성된 신생혈관 수를 측정하였고, 그 결과를 표 7, 표 8, 도 7 및 도 8에 나타내었다. 이때, 하기 표 8의 종양크기는 실험예 4의 수학식 1로 계산하였고, 저해도는 실험예 4의 상기 수학식 2로 계산하였다.

【표 7】

실시예 1의 화합물 복강 투여 시 마우스의 체중 변화(%)				
군 (n=5)	투여량 (mg/kg)	투여 경과 일 수		
		0	2	5
대조군	0/day	100.0±0.0	102.9±0.7	107.5±1.7
실험군	20/day	100.0±0.0	102.6±1.6	107.6±3.9
비교군	2/2day	100.0±0.0	101.2±0.6	103.7±1.4

표 7에 나타난 바와 같이, 실시예 1의 화합물을 20 mg/kg의 용량으로 누드 마우스에 반복 복강투여한 기간 동안 특이한 일반 증상은 관찰되지 않았으며, 마우스 체중 변화의 최종일(5일째) 결과를 보면 각 대조군과 비교하여 각 실험군에서 통계적으로 유의한 체중 감소는 없는 것을 알 수 있다. 따라서, 화학식 1의 화합물은 독성이 거의 없어 항암제의 유효성분으로 사용될 수 있다.

【표 8】

화학식 1의 화합물의 반복 복강투여에 의한 종양크기 변화(mm^3)					
군 (n=5)	투여량 (mg/kg)	투여 경과 일 수			
		0	3	4	5
대조군	0/day	0.0±0.0	33.4±6.4	47.0±7.8	78.5±11.2
실험군	20/day	0.0±0.0	26.8±3.6	36.4±4.8	55.8±5.8
저해도(%)		-	19.7	22.5	28.9
비교군	2/2day	0.0±0.0	20.9±2.6	27.1±2.3	42.9±4.5
저해도(%)		-	37.4	42.4	45.4

표 8에 나타난 바와 같이, 실시예 1에서 제조된 화합물을 20 mg/kg을 투여한 실험군은 대조군에 비하여 28.9%로 암세포의 성장을 저해하였음을 알 수 있다.

도 7은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물이 신생혈관 생성에 미치는 영향을 나타낸 그래프이다.

도 8은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물이 신생혈관 생성에 미치는 영향을 나타낸 사진이다.

도 7 및 도 8에 나타난 바와 같이, 실시예 1의 화합물을 종양 조직에 처리하였을 경우에는 아무런 처리를 하지 않은 경우에 비하여 신생혈관 생성 수가 약 40% 감소되었음을 확인하였다.

따라서, 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은 신생혈관생성 억제 활성이 있으므로, 항암제의 유효성분으로 사용될 수 있다.

<실험예 7> 세포이동(cell migration) 억제 효과 평가

실시예 1의 화합물이 세포이동을 억제하는 효과를 평가하기 위하여, 상처-치료(wound-healing) 실험을 수행하였다. 구체적으로는, 6-웰 세포배양용기에 인서트(제조사: Ibidi)를 핀셋을 이용하여 중앙에 잘 놓고 HCT116 세포를 3×10^5 cell/ml 농도로 각 웰에 70 ㎕씩 넣었다. 다음으로, 인서트 주위에 배지를 채워 넣어 주고 24시간 후 핀셋을 이용하여 인서트를 조심히 제거한 후 배지로 세포가 접시 바닥에서 떨어지지 않도록 하면서 세척하였다. 그리고, 대조군에는 DMSO가 첨가된 희석한 배지를 넣어주고, 실험군에는 10 μM의 실시예 1의 화합물이 첨가된 희석한 배지를 넣어준 다음 48시간이 지난 후 현미경으로 세포이동의 저해를 확인하였다. 그 결과를 도 9에 나타내었다.

도 9는 본 발명의 일실시예에 따른 화합물이 세포이동을 억제하는 것을 현미경으로 관찰하며 찍은 사진이다.

도 9에 나타난 바와 같이, 실시예 1의 화합물을 10 μM 처리하였을 경우에는 세포이동이 현저히 감소함을 확인하였다.

따라서, 본 발명에 따른 화합물은 세포이동 억제 활성이 있으므로, 항암제의 유효성분으로 사용될 수 있다.

<실험예 8> 암 전이 활성 억제 평가

실시예 1의 화합물이 암 전이를 억제하는 정도를 확인하고자 다음과 같이 실험을 수행하였다.

구체적으로, 6주령 암컷 쥐(C57BL) 6마리를 1군으로 하여 B16F10 melanoma 세포주를 이식하고 암세포 배양 후 화학식 1의 화합물 20 mg/kg 농도로 12일간 매일 복강 투여하여 종양이 감소되는 정도와 신생혈관 형성 억제 정도를 관찰하였다. 대조군에는 정제수를 매일마다 투여하였고, 비교군에는 토포테칸(Topotecan) 2 mg/kg을 2일마다 1회 투여하여, 마우스의 체중변화 및 암 전이 정도를 측정하였고, 그 결과를 표 9, 표 10 및 도 10에 나타내었다.

【표 9】

실시예 1의 화합물 복강 투여 시 마우스의 체중 변화(%)							
군 (n=6)	투여량 (mg/kg)	투여 경과 일 수					
		0	2	5	7	9	12
대조군	0/day	100.0 ±0.0	101.4 ±2.5	105.5 ±2.9	105.0 ±2.5	106.8 ±2.6	107.1 ±2.7
실험군	20/day	100.0 ±0.0	98.7 ±3.4	101.2 ±4.6	103.4 ±3.8	107.6 ±2.8	107.6 ±3.3
비교군	2/2day	100.0 ±0.0	101.0 ±2.9	103.5 ±6.1	104.0 ±4.6	104.3 ±6.2	103.7 ±5.5

표 9에 나타난 바와 같이, 실시예 1의 화합물을 20 mg/kg의 용량으로 누드 마우스에 반복 복강투여한 기간 동안 특이한 일반 증상은 관찰되지 않았으며, 마우스 체중 변화의 최종일(12일째) 결과를 보면 대조군과 비교하여 실험군에서 통계적으로 유의한 체중 감소는 없는 것을 알 수 있다. 따라서, 화학식 1의 화합물은 독성이 거의 없어 항암제의 유효성분으로 사용될 수 있다.

【표 10】

실시예 1의 화합물 복강 투여 시 암 전이 군집 수의 변화 개수		
군(n=6)	투여량(mg/kg)	전이된 종양 군집 수
대조군	0	306.8±23.1
실험군	20/day	207.0±47.5
전이 저해도(%)	-	32.5
비교군	2/2day	148.3±49.4
전이 저해도(%)	-	51.7

도 10은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물 처리 시 폐의 암 전이 군집 수 변화를 찍은 사진이다.

표 10 및 도 10에 나타난 바와 같이, 실험 최종일(day 12)에 마우스를 희생시켜 폐의 종양 군집 수를 육안으로 계수한 결과 대조군은 평균 306.8개의 전이 군집을 형성한 반면에, 실시예 1의 화합물 20 mg/kg을 투여한 실험군은 평균 207개의 전이 군집만을 형성하여, 32.5%의 통계적으로 유의한 전이 억제 활성을 나타냈다.

따라서, 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은 암 전이 억제 활성이 있으므로, 항암제의 유효성분으로 사용될 수 있다.

이하, 본 발명의 조성물을 이용한 제제예를 예시한다.

<제제예 1> 산제의 제조

화학식 1의 화합물	2 g
유당	1 g

상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충진하여 산제를 제조하였다.

<제제예 2> 정제의 제조

화학식 1의 화합물	100 mg
옥수수 전분	100 mg
유당	100 mg
스테아린산 마그네슘	2 mg

상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제 제조방법에 따라 타정하여 정제를 제조하였다.

<제제예 3> 캡슐제의 제조

화학식 1의 화합물	100 mg
옥수수전분	100 mg
유당	100 mg
스테아린산 마그네슘	2 mg

상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

<제제예 4> 주사액제의 제조

화학식 1의 화합물	10 ㎍/㎖
묽은 염산 BP	pH 3.5로 될 때까지
주사용 염화나트륨 BP	최대 1 ㎖

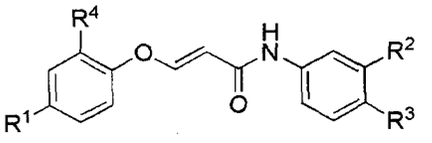
적당한 용적의 주사용 염화나트륨 BP 중에 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물을 용해시키고, 생성된 용액의 pH를 묽은 염산 BP를 사용하여 pH 3.5로 조절하고, 주사용 염화나트륨 BP를 사용하여 용적을 조절하고 충분히 혼합하였다. 용액을 투명 유리로 된 5 ㎖ 타입 I 앰플 중에 충전시키고, 유리를 용해시킴으로써 공기의 상부 격자하에 봉입시키고, 120 ℃에서 15 분 이상 오토클래이브시켜 살균하여 주사액제를 제조하였다.

【청구의 범위】

【청구항 1】

하기 화학식 1로 표시되는 신규 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염

[화학식 1]



(상기 화학식 1에서,

R^1은 C_{1-10}직쇄 또는 측쇄 알킬 또는 C_{8-12}2환식고리이고;

R^2는 -H, $COOR_5$, $COOR_5R_6$, $-SO_2NH_2$, $-SO_2C_{1-4}$직쇄 또는 측쇄 알킬 또는 $-CONHR_7$이고;

R^3는 -H, -OH 또는 $COOC_{1-4}$직쇄 또는 측쇄 알킬이고;

R^4는 -H 또는 C_{1-4}직쇄 또는 측쇄 알킬이고;

R^5는 -H, C_{1-4}직쇄 또는 측쇄 알킬, C_{1-4}알콕시이고;

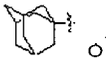
R^6는 $-NH_2$, N 또는 O를 1개 이상 포함하는 5-6각 헤테로고리이고;

R^7은 -H 또는 $-(CH_2)_n-R^8$이고;

R^8은 -H, 고리 내 N 또는 O를 1이상 함유하는 5-6각 헤테로아릴 또는 고리 내 N 또는 O를 1이상 함유하는 5-6각 헤테로고리이고;

n은 0 내지 4의 정수이다).

【청구항 2】

제1항에 있어서, 상기 R^1은 C_{1-10}직쇄 또는 측쇄 알킬 또는  이고;

R^2는 -H, $COOR_5$, $COOR_5R_6$, $-SO_2NH_2$, $-SO_2CH_3$ 또는 $-CONHR_7$이고;

R^3는 -H, -OH 또는 $COOCH_3$이고;

R^4는 -H 또는 메틸이고;

R^5는 -H, 메틸, 에틸, 메톡시 또는 에톡시이고;

R^6는 $-NH_2$, N 또는 O를 1개 이상 포함하는 5-6각 헤테로고리이고;

R^7은 -H 또는 $-(CH_2)_n-R^8$이고;

R^8은 -H, 고리 내 N 또는 O를 1이상 함유하는 5-6각 헤테로아릴 또는 고리 내 N 또는 O를 1이상 함유하는 6각 헤테로고리이고;

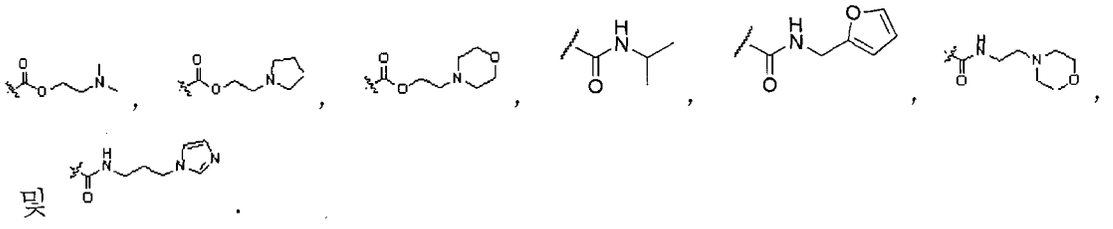
n은 0 내지 3의 정수인 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

【청구항 3】

제1항에 있어서, 상기 R^1은 , 또는 인 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

【청구항 4】

제1항에 있어서, 상기 R^2는 -H, -COOH, $-COOCH_3$, $-COOCH_2CH_3$, $-COOCH_2CH_2OCH_3$, $-CONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SO_2CH_3$ 또는 하기 구조식으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:



【청구항 5】

제1항에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은

(*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-벤조산메틸에스테르,

(*E*)-3-(3-(4-*t*-부틸페녹시)아크릴아미도)벤조산메틸에스테르,

(*E*)-3-(3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)아크릴아미도)벤조산메틸에스테르,

(*E*)-3-(3-(4-아다만탄-1-일-2-메틸페녹시)아크릴아미도)벤조산메틸에스테르,

(*E*)-4-(3-(4-아다만탄-1-일페녹시)아크릴아미도)벤조산메틸에스테르,

(*E*)-3-(4-아다만탄-1-일페녹시)-N-(3-설파모일페닐)아크릴아미드,

(*E*)-3-(4-아다만탄-1-일페녹시)-N-(3-(메틸설포닐)페닐)아크릴아미드,

(*E*)-5-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로아미노]-2-히드록시-벤조산메틸에스테르,

(*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-벤조산,

(*E*)-3-(3-(4-아다만탄-1-일페녹시)아크릴아미도)벤조산에틸에스테르,

(*E*)-3-(3-(4-아다만탄-1-일페녹시)아크릴아미도)벤조산2-메톡시에틸에스테르,

(*E*)-3-(3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)아크릴아미도)벤조산 2-(디메틸아미노)에틸에스테르,

(*E*)-3-(3-(4-아다만탄-1-일페녹시)아크릴아미도)벤조산 2-피롤리딘-1-일)에틸에스테르,

(*E*)-3-(3-(4-아다만탄-1-일페녹시)아크릴아미도)벤조산모폴리노에틸에스테르,

(*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-벤즈아미드,

(*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-*N*-이소프로필-벤즈아미드,

(*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-*N*-퓨란-2-일메틸-벤즈아미드,

(*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-*N*-(2-모폴린-4-일-에틸)-벤즈아미드,

(*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-*N*-(2-피리딘-4-일-에틸)-벤즈아미드,

(*E*)-3-[3-(4-아다만탄-1-일-페녹시)-아크릴로일아미노]-*N*-(3-이미다졸-1-일-프로필)-벤즈아미드,

(*E*)-3-(3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)아크릴아미도)벤조산,

(*E*)-2-메톡시에틸 3-(3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)아크릴아미도)벤조에이트, 및

(*E*)-2-모폴리노에틸 3-(3-(4-(2,4,4-트리메틸펜탄-2-일)페녹시)아크릴아미도)벤조에이트로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는

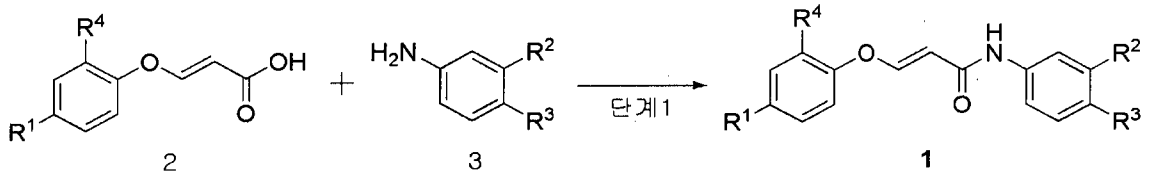
화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

【청구항 6】

하기 반응식 1에 나타난 바와 같이,

화학식 2의 화합물과 화학식 3의 화합물을 출발물질로 하여 후니그(Hunig) 염기와 축합 시약을 넣고 유기용매 하에서 반응시켜 화학식 1을 제조하는 단계(단계 1)를 포함하는 화학식 1의 화합물의 제조방법:

[반응식 1]



2 3 1

(상기 반응식 1에서, R^1, R^2, R^3 및 R^4는 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같다).

【청구항 7】

제6항에 있어서, 상기 후니그 염기는 디이소프로필에틸아민(diisopropylamine, DIPEA) 또는 트리에틸아민(triethylamine, TEA)인 것을 특징으로 하는 화합물의 제조방법.

【청구항 8】

제6항에 있어서, 상기 축합시약은 *O*-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-*N,N,N',N'*-테트라메틸유로니움테트라플루오로보레이트(HATU), 1-[3(디메틸아미노)프로필]-3-에틸카보디이미드 염산염(1-[3-(dimethylamino)propyl]-3-ethylcarbodiimide hydrochloride, EDC), *O*-벤조트리아졸-*N,N,N',N'*-테트라메틸-유로니움-헥사플루오로-포스페이트(HBTU), 1-히드록시벤조트리아졸(1-hydroxybenzotriazole, HOBt), 벤조트리아졸-1-일-옥시-트리스-피롤리디노-포스포늄헥사플루오로포스페이트(benzotriazol-1-yl-oxy-tris-pyrrolidino- phosphoniumhexafluoro phosphate, PyBOP) 및 1-히드록시-7-아자벤조트리아졸(1-hydroxy-7-azabenzo triazole)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하는 화합물의 제조방법.

【청구항 9】

제6항에 있어서, 상기 유기용매는 디메틸포름아미드(DMF) 또는 메틸렌클로라이드(CH_2Cl_2)인 것을 특징으로 하는 화합물의 제조방법.

【청구항 10】

제1항의 화합물을 유효성분으로 함유하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

【청구항 11】

제10항에 있어서, 상기 암은 HIF-1α 단백질의 축적이 많이 일어나는 고형암인 대장암, 간암, 위암, 유방암, 결장암, 골암, 췌장암, 두부 또는 경부암, 자궁암, 난소암, 직장암, 식도암, 소장암, 항문부근암, 결장암, 나팔관암종, 자궁내막암종, 자궁경부암종, 질암종, 음문암종, 호지킨병, 전립선암, 방광암, 신장암, 수뇨관암, 신장세포암종, 신장골반암종 및 중추신경계 종양으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

【청구항 12】

제10항에 있어서, 상기 조성물은 HIF-1의 활성을 저해하여 항암 활성을 나타내는 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

【청구항 13】

제1항의 화합물을 유효성분으로 함유하는 당뇨병성 망막증 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

【청구항 14】

제13항에 있어서, 상기 조성물은 HIF-1의 활성 및 VEGF 단백질 발현을 저해하여 신생혈관의 생성을 억제하는 것을 특징으로 하는 당뇨병성 망막증 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

【청구항 15】

제1항의 화합물을 유효성분으로 함유하는 류마티스성 관절염 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

【청구항 16】

제15항에 있어서, 상기 조성물은 HIF-1의 활성을 저해하여 신생혈관의 생성을 억제하는 것을 특징으로 하는 류마티스성 관절염 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

【청구항 17】

제1항의 화학식 1로 표시되는 신규 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 치료적으로 유효한 양으로 암 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 암의 치료방법.

【청구항 18】

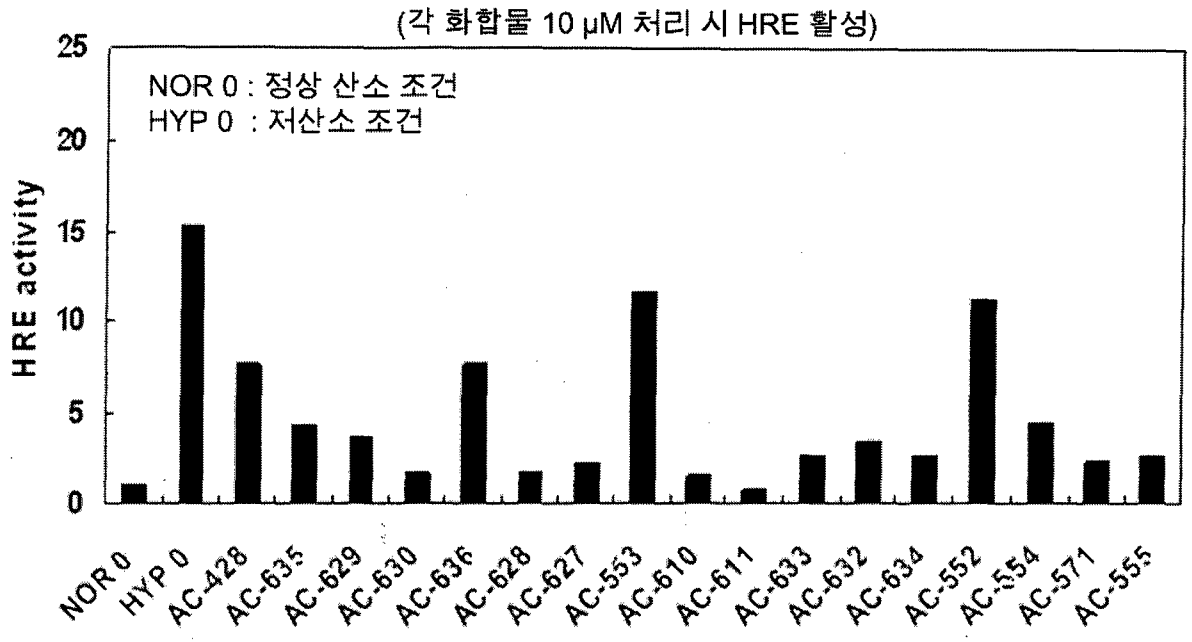
제1항의 화학식 1로 표시되는 신규 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 치료적으로 유효한 양으로 당뇨병성 망막증 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 당뇨병성 망막증의 치료방법.

【청구항 19】

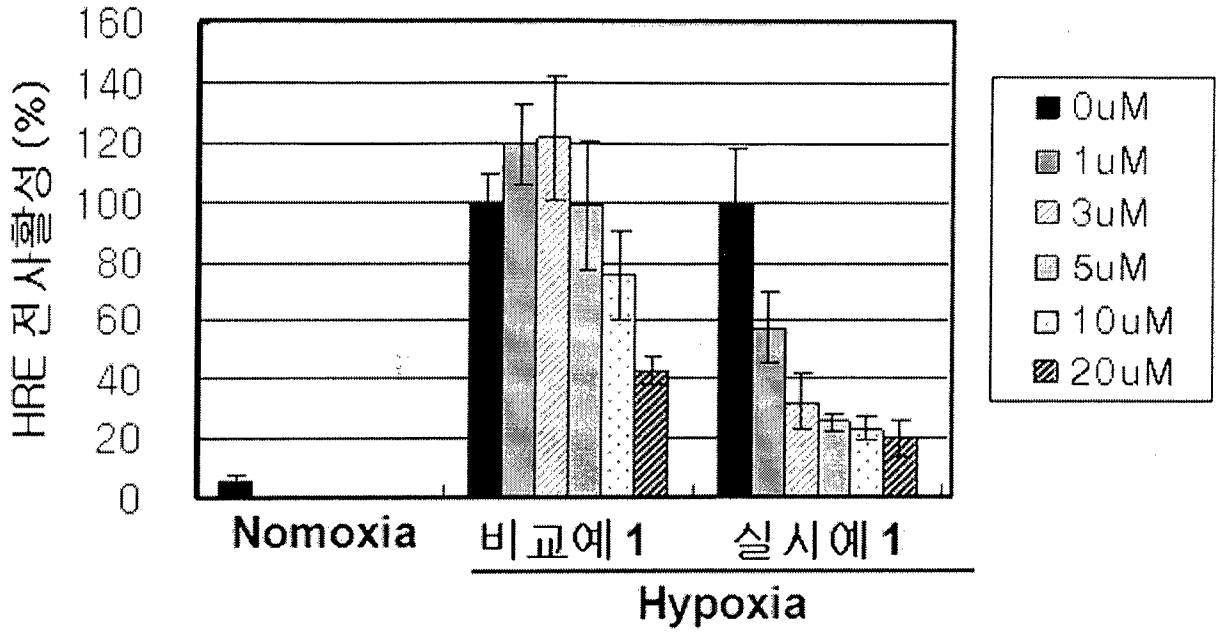
제1항의 화학식 1로 표시되는 신규 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 치료적으로 유효한 양으로 류마티스성 관절염 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 류마티스성 관절염의 치료방법.

【도면】

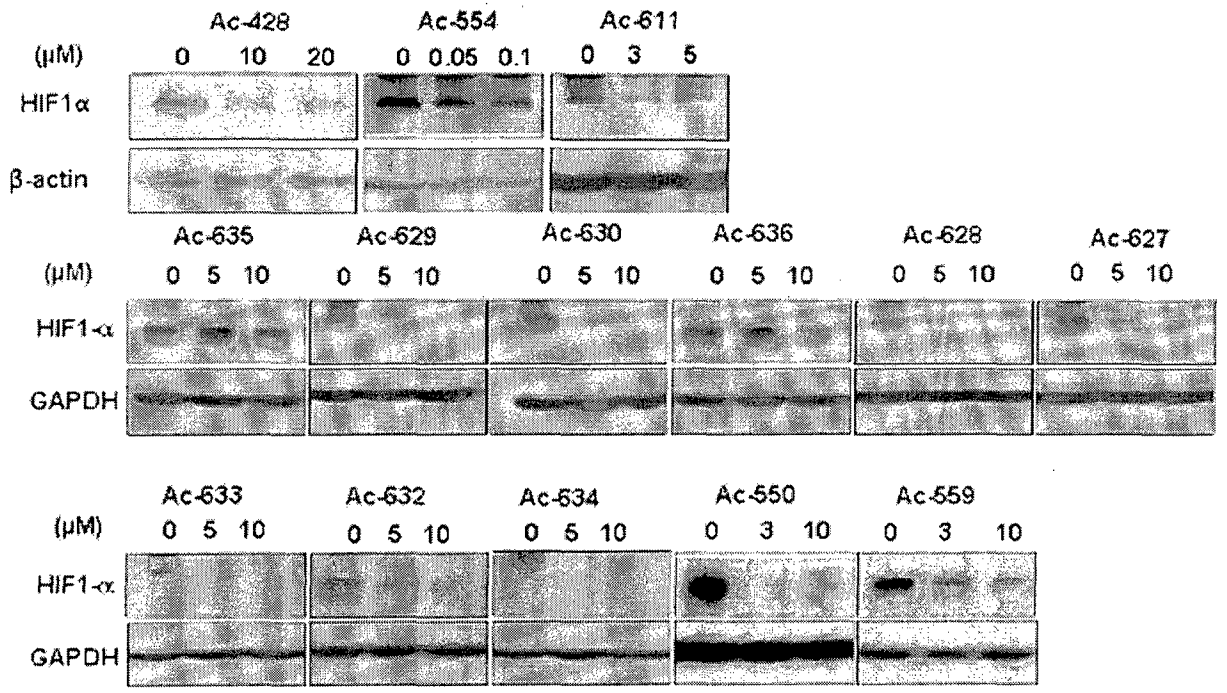
【도 1】


(각 화합물 10 μM 처리 시 HRE 활성)
NOR 0 : 정상 산소 조건
HYP 0 : 저산소 조건
HRE activity
25
20
15
10
5
0
NOR 0
HYP 0
AC-428
AC-635
AC-629
AC-630
AC-636
AC-628
AC-627
AC-553
AC-610
AC-611
AC-633
AC-632
AC-634
AC-552
AC-554
AC-571
AC-555

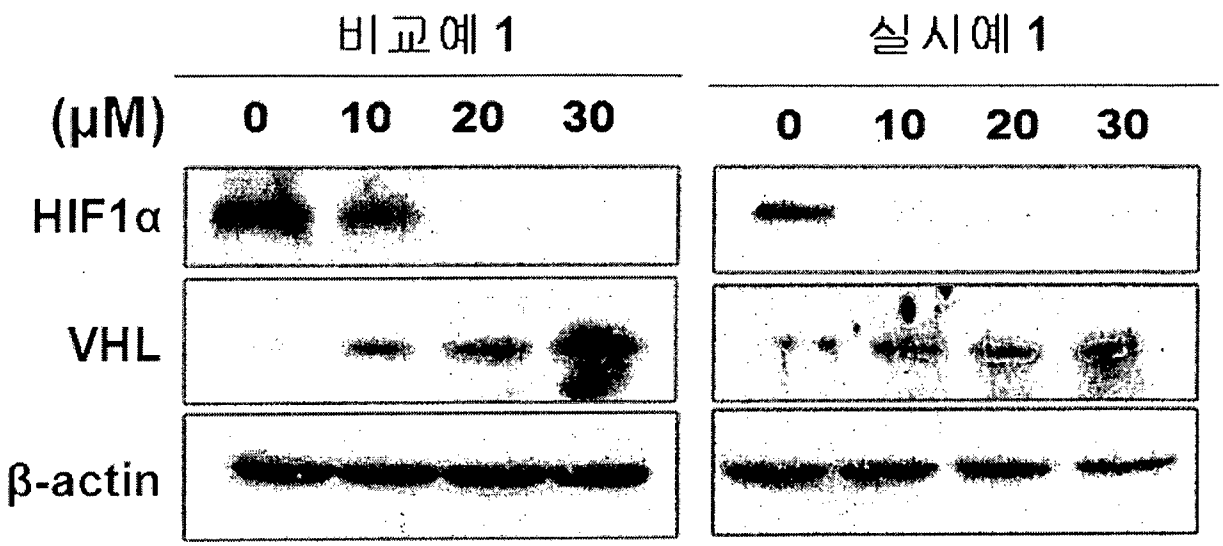
【도 2】


HRE 전사활성 (%)
160
140
120
100
80
60
40
20
0
Nomoxia
비교예 1
실시예 1
Hypoxia
0uM
1uM
3uM
5uM
10uM
20uM

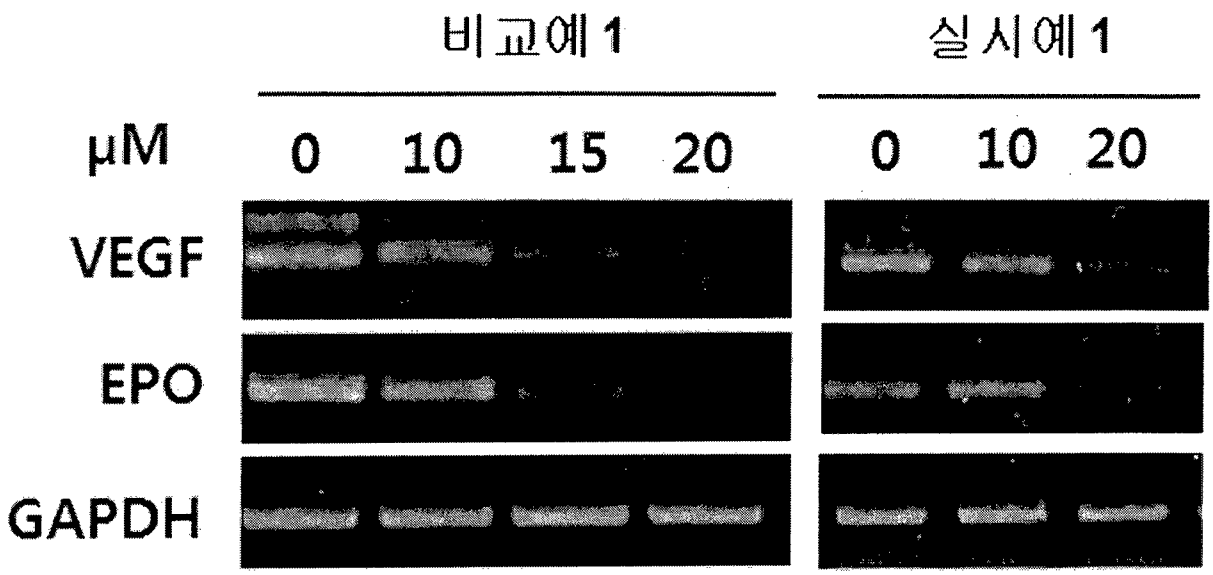
【도 3】


Ac-428
Ac-554
Ac-611
(μM)
0 10 20
0 0.05 0.1
0 3 5
HIF1α
β-actin
Ac-635
Ac-629
Ac-630
Ac-636
Ac-628
Ac-627
(μM)
0 5 10
HIF1-α
GAPDH
Ac-633
Ac-632
Ac-634
Ac-550
Ac-559
(μM)
0 5 10
0 3 10
HIF1-α
GAPDH

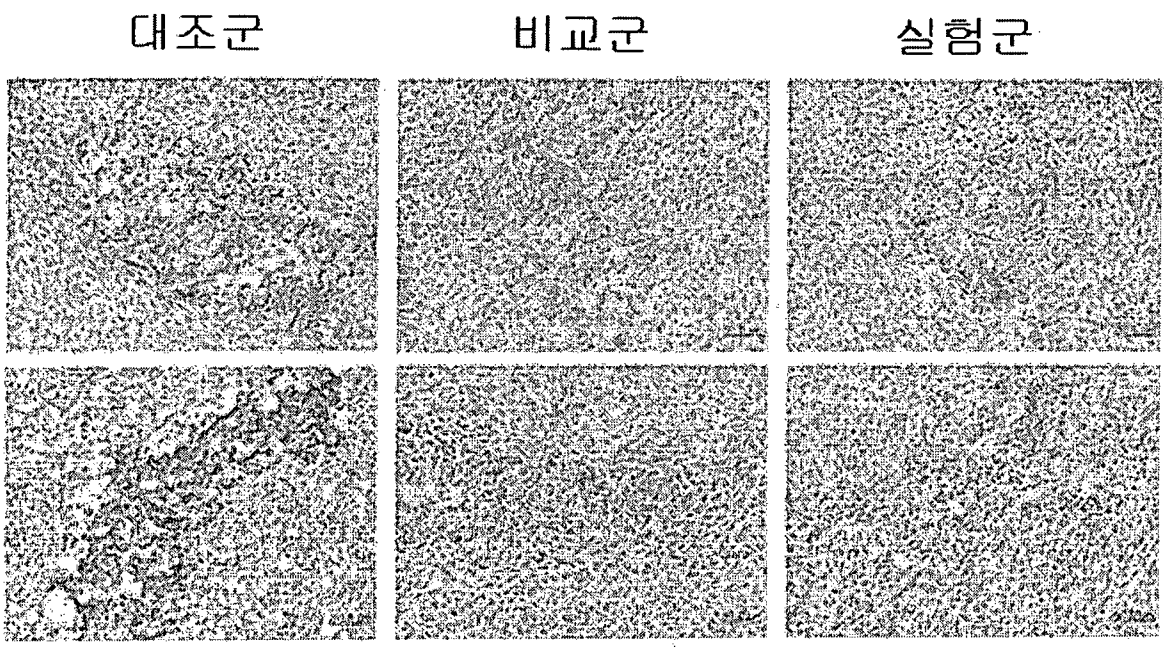
【도 4】



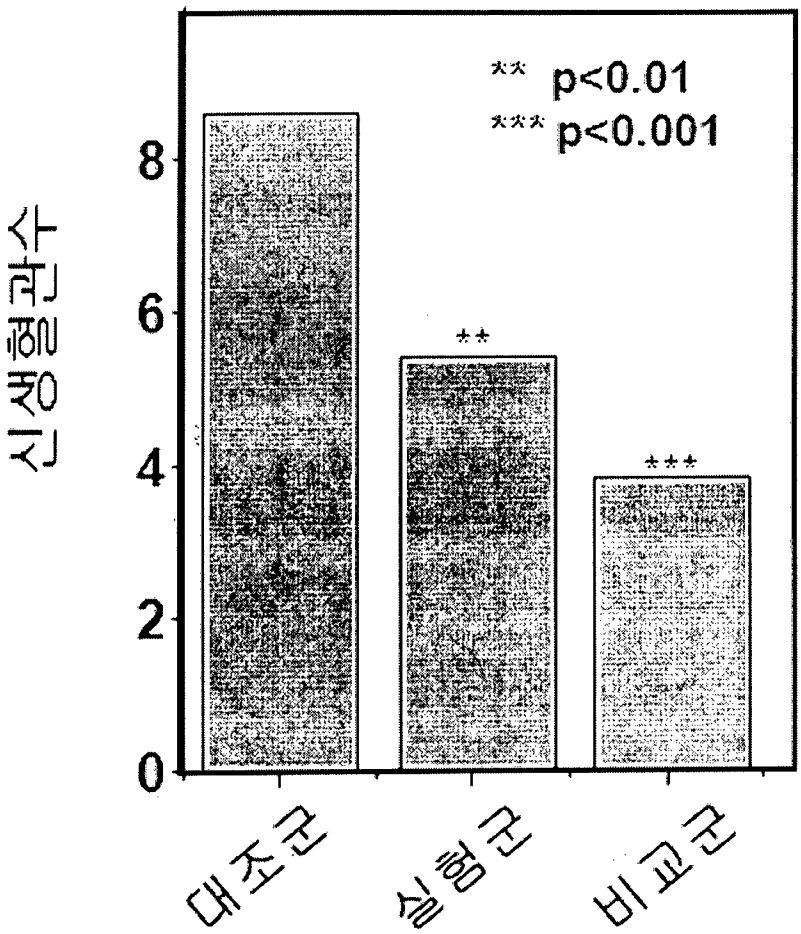
【도 5】



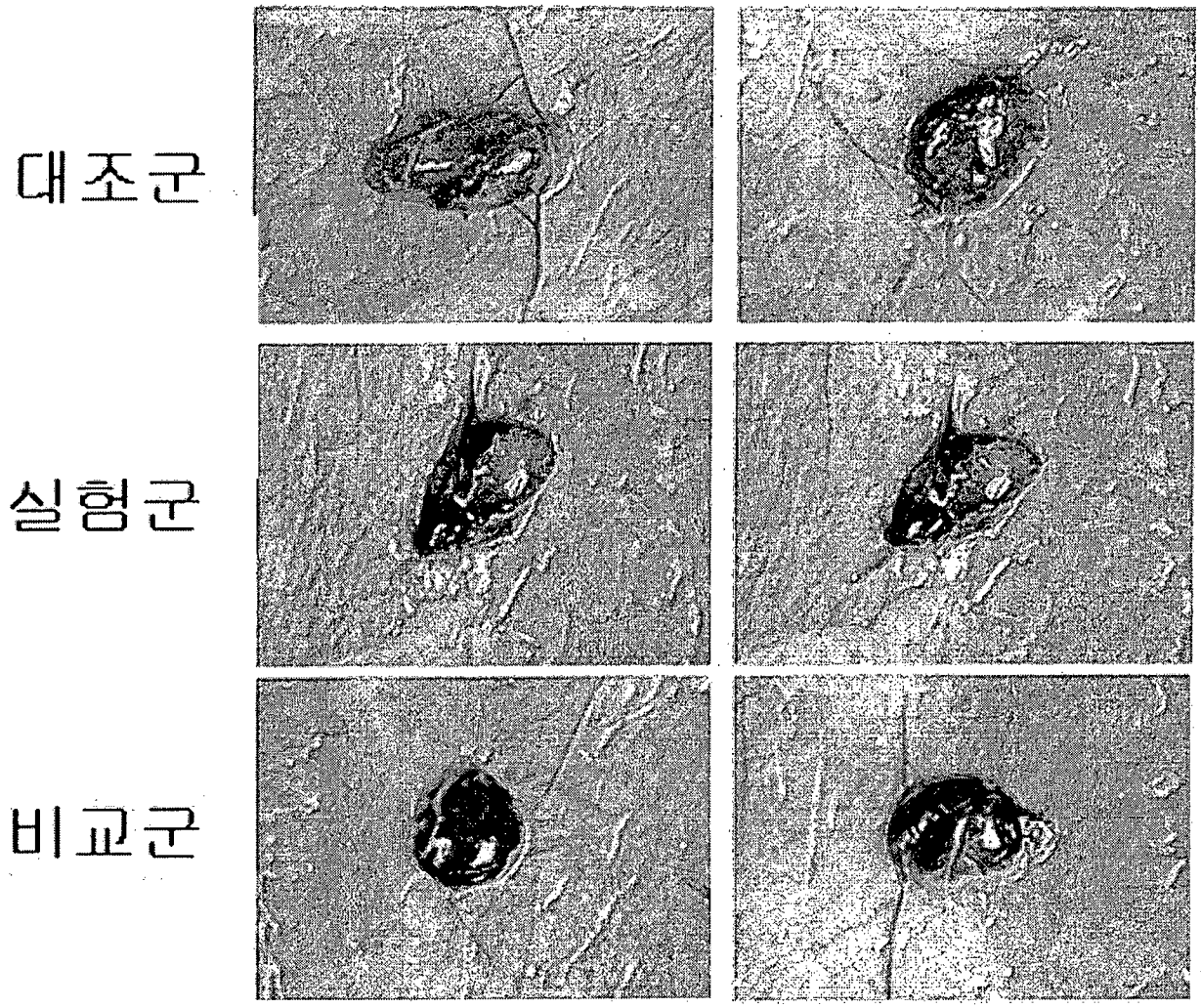
【도 6】



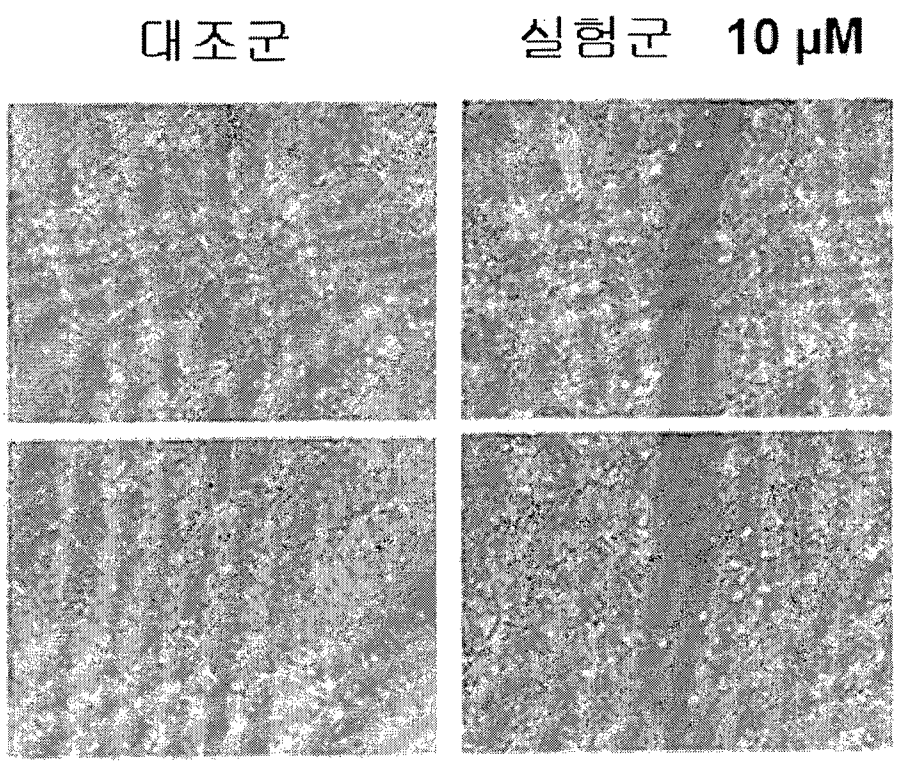
【도 7】



【도 8】



【도 9】



【도 10】