



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0066190
(43) 공개일자 2011년06월16일

(51) Int. Cl.

C07D 209/86 (2006.01) C07D 209/88 (2006.01)

A61K 31/403 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-7009438

(22) 출원일자(국제출원일자) 2009년10월05일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2011년04월25일

(86) 국제출원번호 PCT/US2009/059558

(87) 국제공개번호 WO 2010/042445

국제공개일자 2010년04월15일

(30) 우선권주장

61/102,913 2008년10월06일 미국(US)

(71) 출원인

인큐론, 엘엘씨

러시아 121069 모스크바 스톨로비 페레울록 6 빌딩 2

(72) 발명자

터커 존

미국 92129 캘리포니아주 샌 디에고 산타페 캐년 플레이스 7039

시비리도프 세르게이

러시아 121374 모스크바 모차츠크에 쇼세 #575 4

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김성기, 강승욱

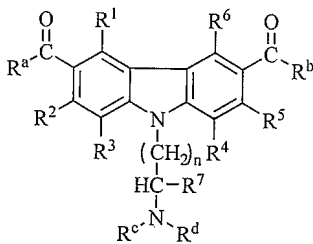
전체 청구항 수 : 총 21 항

(54) 카바졸 화합물 및 이 화합물의 치료학적 용도

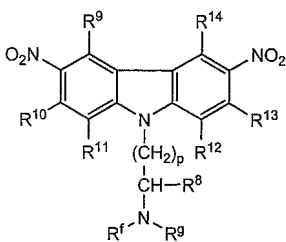
(57) 요약

본 발명은 일반 구조식 I 및 구조식 II의 화합물 및 치료제로서 이 화합물 및 이의 염 및 수화물의 용도를 개시한다. 치료 가능한 질환 및 병태로는 암, 염증성 질환 및 병증, 및 면역결핍 질환을 포함한다.

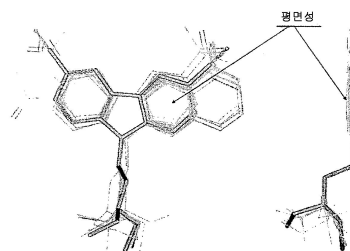
구조식 I



구조식 II



대표도 - 도4



(72) 발명자

브로드스키 레오니드

이스라엘 76284 레호베트 밀러 스트리트 9 아파트
먼트 1

버크하트 캐서린

미국 14032 뉴욕주 콜린스 루트 39 3381

푸말 안드레이

미국 14127 뉴욕주 오차드 파크 애쉬우드 레인 223

구로바 카테리나

미국 14127 뉴욕주 오차드 파크 그레이스톤 레인
61

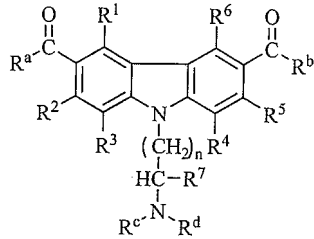
구드코프 안드레이

미국 14052 뉴욕주 이스트 오로라 스위트 로드
1933

특허청구의 범위

청구항 1

하기 구조식을 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물:



[상기 식 중,

R^a 는 수소, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, OR^e , $N(R^e)_2$, 및 SR^e 로 이루어진 군으로부터 선택되고, 대안적으로, R^a 와 R^1 또는 NR^e 와 R^1 중 어느 하나는 이들이 결합된 탄소 원자와 함께 5원 또는 6원 지방족 탄소환 또는 복소환 고리를 형성하고;

R^b 는 수소, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, OR^e , $N(R^e)_2$, 및 SR^e 로 이루어진 군으로부터 선택되고, 대안적으로, R^b 와 R^6 또는 NR^e 와 R^6 중 어느 하나는 이들이 결합된 탄소 원자와 함께 5원 또는 6원 지방족 탄소환 고리 또는 5원 또는 6원 지방족 탄소환 또는 복소환 고리를 형성하고;

R^c 는 수소, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 히드록시알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 및 $C(=O)R^e$ 로 이루어진 군으로부터 선택되거나, R^c 와 R^d 는 함께 임의로 산소 원자를 포함하는 5원, 6원 또는 7원 지방족 고리를 형성하고;

R^d 는 수소, C_{1-6} 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 및 $C(=O)R^e$ 로 이루어진 군으로부터 선택되거나, R^d 와 R^7 은 이들이 결합된 원자와 함께 5원 또는 6원 지방족 고리를 형성하고;

R^e 는, 독립적으로, 수소, C_{1-6} 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되거나, 2개의 R^e 기는 이들이 결합된 질소와 함께 5원 또는 6원 지방족 고리를 형성하고;

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , 및 R^6 은, 독립적으로, 수소, C_{1-6} 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 할로, OR^e , $C(=O)R^e$, $C(=O)OR^e$, $OC(=O)R^e$, $C(=O)N(R^e)_2$, $C(=O)NR^eSO_2R^e$, $N(R^e)_2$, $NR^eC(=O)R^e$, $NR^eC(=O)N(R^e)_2$, CN , NO_2 , CF_3 , OCF_3 , SR^e , SOR^e , SO_2R^e , $SO_2N(R^e)_2$, 및 OSO_2CF_3 으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

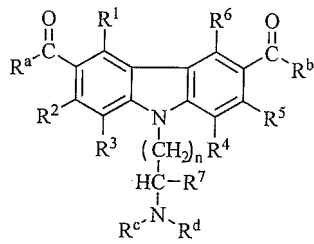
R^7 은 수소, C_{1-6} 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되고;

n 은 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이다].

청구항 2

제1항에 있어서, 하기 일반 구조식 Ia를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물인 화합물:

구조식 Ia



[상기 식 중,

R^a 는 C_{1-3} 알킬, C_{1-4} 할로알킬, C_{3-5} 사이클로알킬, $N(R^e)_2$, 또는 OR^e 이거나, R^a 와 R^1 은 이들이 결합된 탄소 원자와 함께 5원 또는 6원 지방족 탄소환 고리를 형성하고;

R^b 는 C_{1-4} 알킬, C_{1-4} 할로알킬, C_{3-5} 사이클로알킬, $N(R^e)_2$, 또는 OR^e 이거나, R^b 와 R^6 은 이들이 결합된 탄소 원자와 함께 5원 또는 6원 지방족 탄소환 고리 또는 1개의 질소 원자를 포함하는 5원 또는 6원 지방족 고리를 형성하고;

R^c 는 C_{1-6} 알킬, C_{3-5} 사이클로알킬, 또는 C_{1-3} 히드록시알킬이고;

R^d 는 수소, C_{1-4} 알킬, 또는 C_{3-5} 사이클로알킬이거나, R^d 와 R^7 은 이들이 결합된 원자와 함께 1개의 질소 원자를 포함하는 5원 또는 6원 지방족 고리를 형성하거나, R^c 와 R^d 는 함께 임의로 산소 원자를 포함하는 6원 또는 7원 지방족 고리를 형성하고;

R^e 는, 독립적으로, 수소 또는 C_{1-3} 알킬이고;

R^1 은 수소 또는 C_{1-3} 알킬이고;

R^2 는 수소, 히드록시, 또는 C_{1-3} 알콕시이고;

R^3 및 R^4 는, 독립적으로, 수소 또는 C_{1-3} 알킬이고;

R^5 는 수소, 히드록시, C_{1-3} 알콕시, 또는 할로이고;

R^6 은 수소, C_{1-3} 알킬, C_{1-3} 알콕시, 또는 할로이고;

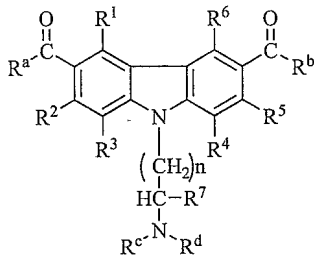
R^7 은 수소 또는 C_{1-3} 알킬이고;

n 은 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이다].

청구항 3

제1항에 있어서, 하기 일반 구조식 Ib를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물인 화합물:

구조식 Ib



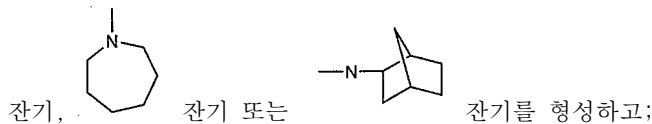
[상기 식 중,

R^a는 메틸, 에틸, n-프로필, 사이클로프로필, NH(CH₃), 또는 OCH₃이거나, R^a와 R¹은 이들이 결합된 탄소 원자와 함께 5원 지방족 탄소환 고리를 형성하고;

R^b는 메틸, 에틸, n-프로필, 사이클로프로필, NH(CH₃), 또는 OCH₃이거나, R^b와 R⁶은 이들이 결합된 탄소 원자와 함께 5원 지방족 탄소환 고리 또는 1개의 질소 원자를 포함하는 5원 지방족 고리를 형성하고;

R^c는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, 사이클로부틸 또는 2-히드록시에틸이고;

R^d는 수소, 메틸, 에틸, 또는 사이클로부틸이거나, R^d와 R⁷은 이들이 결합된 원자와 함께 1개의 질소 원자를 포함하는 5원 지방족 고리를 형성하거나, R^c와 R^d는 함께 모르폴리노 잔기, 테트라하이드로푸릴 잔기, 피페리디닐



R¹은 수소이고;

R²는 수소, 히드록시 또는 메톡시이고;

R³ 및 R⁴는 수소이고;

R⁵는 수소, 히드록시, 메톡시 또는 플루오로이고;

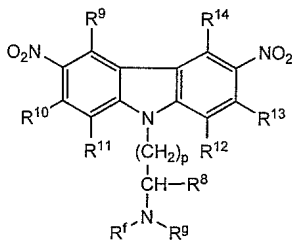
R⁶은 수소, 메틸, 메톡시 또는 플루오로이고;

R⁷은 수소이고;

n은 1 또는 2이다].

청구항 4

하기 구조식을 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물:



[상기 식 중,

R^f 는 수소, C_{1-6} 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 및 $C(=O)R^h$ 로 이루어진 군으로부터 선택되거나, R^f 와 R^g 는 함께 임의로 산소 원자를 포함하는 5원, 6원 또는 7원 지방족 고리를 형성하고;

R^g 는 수소, C_{1-6} 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 및 $C(=O)R^h$ 로 이루어진 군으로부터 선택되거나, R^g 와 R^8 은 이들이 결합된 원자와 함께 5원 또는 6원 지방족 고리를 형성하고;

R^h 는, 독립적으로, 수소, C_{1-6} 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되거나, 2개의 R^h 기는 이들이 결합된 질소와 함께 5원 또는 6원 지방족 고리를 형성하고;

R^8 은 수소, C_{1-6} 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} , 및 R^{14} 는, 독립적으로, 수소, C_{1-6} 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 할로, OR^h , $C(=O)R^h$, $C(=O)OR^h$, $OC(=O)R^h$, $C(=O)N(R^h)_2$, $C(=O)NR^hSO_2R^h$, $N(R^h)_2$, $NR^eC(=O)R^h$, $NR^hC(=O)N(R^h)_2$, CN , NO_2 , CF_3 , OCF_3 , SR^h , SOR^h , SO_2R^h , $SO_2N(R^h)_2$, 및 OSO_2CF_3 으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

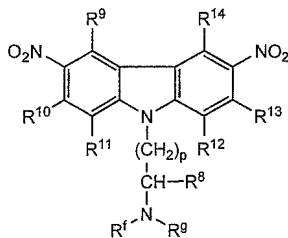
p는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;

단, p가 2일 때, R^f 및 R^g 중 하나는 에틸이 아니다].

청구항 5

제4항에 있어서, 하기 일반 구조식 IIa를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물인 화합물:

구조식 IIa



[상기 식 중,

R^f 는 C_{1-6} 알킬이고;

R^g 는 수소 또는 C_{1-4} 알킬이거나, R^g 와 R^8 은 이들이 결합된 원자와 함께 1개의 질소 원자를 포함하는 5원 또는 6원 지방족 고리를 형성하고;

R^9 는 수소 또는 C_{1-3} 알킬이고;

R^{10} 은 수소, 히드록시, 또는 C_{1-3} 알콕시이고;

R^{11} 및 R^{12} 는, 독립적으로, 수소 또는 C_{1-3} 알킬이고;

R^{13} 은 수소, 히드록시, C_{1-3} 알콕시, 또는 할로이고;

R^{14} 는 수소, C_{1-3} 알킬, 또는 C_{1-3} 알콕시이고;

R^8 은 수소 또는 C_{1-3} 알킬이고;

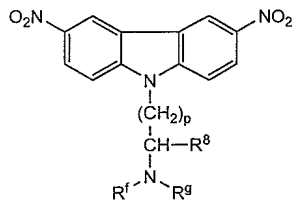
p는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;

단, p가 2일 때, R^f 및 R^g 중 하나는 에틸이 아니다].

청구항 6

제4항에 있어서, 하기 일반 구조식 IIb를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물인 화합물:

구조식 IIb



[상기 식 중,

R^f 는 메틸 또는 에틸이고;

R^g 는 수소 또는 메틸이거나, R^f 와 R^g 은 이들이 결합된 원자와 함께 1개의 질소 원자를 포함하는 5원 지방족 고리를 형성하고;

R^8 은 수소이고;

p는 1 또는 2이다].

청구항 7

제1항에 있어서, R^a 가 메틸, 에틸, $NH(CH_3)$, OCH_3 이거나, R^1 과 함께 5원 지방족 고리를 형성하고; R^b 가 메틸, 에틸, $NH(CH_3)$, OCH_3 이거나, R^6 과 함께 5원 지방족 고리를 형성하거나, R^6 과 함께 5원 질소 함유 지방족 고리를 형성하고; R^d 가 수소, 메틸, 에틸이거나, R^7 과 함께 5원 지방족 고리를 형성하는 것인 화합물.

청구항 8

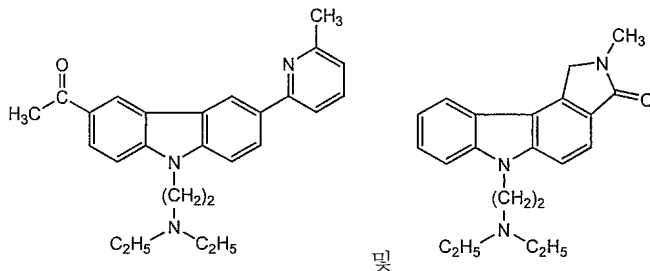
제1항에 있어서, R^1 이 수소이거나, R^a 와 함께 5원 지방족 고리를 형성하고; R^2 가 수소 또는 히드록시이고; R^3 이 수소이고; R^4 가 수소이고; R^5 가 수소 또는 히드록시이고; R^6 이 수소이거나, R^b 와 함께 5원 지방족 고리를 형성하거나, R^b 와 함께 5원 질소 함유 지방족 고리를 형성하고; R^7 이 수소이거나, R^d 와 함께 5원 고리를 형성하고; n이 2 또는 3인 화합물.

청구항 9

제4항에 있어서, R^f 가 메틸 또는 에틸이고; R^g 가 수소, 메틸, 에틸이거나, R^f 및 R^g 과 함께 5원 질소 함유 지방족 고리를 형성하거나, R^8 이 수소이고; R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} , 및 R^{14} 가 수소이고; p가 2 또는 3인 화합물.

청구항 10

하기 구조식을 갖는 화합물:



청구항 11

제1항 또는 제4항에 있어서, p53 활성화에 대한 EC₅₀ 값이 약 1.35 μM 미만인 화합물.

청구항 12

본원의 식별 번호 [560] 내지 [567]에 개시된 군으로부터 선택되는 화합물.

청구항 13

제1항, 제4항 또는 제10항의 화합물, 또는 화합물 100의 치료학적 유효량을 암 치료를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는 암의 치료 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 암은 본원의 식별 번호 [622], [625], [626] 및 [627]에 개시된 군으로부터 선택되는 것인 치료 방법.

청구항 15

제13항에 있어서, 제1항, 제4항 또는 제10항의 화합물, 또는 화합물 100을 화학치료제, 방사선 요법, 미세소관 작용제, 세포성장억제제, TNF 폴리펩티드, 및 이들의 혼합물과 함께 투여하는 것인 치료 방법.

청구항 16

제1항, 제4항 또는 제10항의 화합물, 또는 화합물 100의 치료학적 유효량을 염증성 질환의 치료를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는 염증성 질환의 치료 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, 염증성 질환은 본원의 식별 번호 [629]에 개시된 질환으로부터 선택되는 것인 치료 방법.

청구항 18

제16항에 있어서, 제1항, 제4항, 또는 제10항의 화합물, 또는 화합물 100을 면역억제제과 함께 투여하는 것인 치료 방법.

청구항 19

제1항, 제4항 또는 제10항의 화합물, 또는 화합물 100의 치료학적 유효량을 이를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는 미생물 감염, 원생동물 감염, 또는 바이러스 감염의 치료 방법.

청구항 20

제19항에 있어서, 질환은 말라리아인 치료 방법.

청구항 21

본원의 식별 번호 [630]에 개시된 질환 및 병증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 질환 또는 병증의 치료 방법.

명세서

기술분야

[0001] [관련 출원에 대한 상호 참조]

[0002] 본원은 2008년 10월 6일자에 출원된 미국 가출원 제61/102,913호의 이익을 청구하고, 이것은 본원에 그 전문이 참조문헌으로 포함된다.

[0003] [기술분야]

[0004] 본 발명은 카바졸 화합물, 이 화합물의 제조 방법, 이 화합물을 포함하는 약학 조성물, 및 치료제로서의 이의 용도에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 카바졸 화합물 및 암 치료를 비롯한 다양한 치료학적 영역에서의 이의 용도에 관한 것이다.

배경기술

[0005] 인구가 노령화되면서 인간에서 암의 빈도가 선진국에서 증가하고 있다. 몇몇 형태의 암 및 진단시 질환 상태에 있어서, 이환율 및 사망률은 최근 광범위한 연구에도 불구하고 상당히 개선되지 않고 있다. 세포사의 유도는 가장 매력적인 암 치료 전략 중 하나이다. 종양 세포에서 세포사를 유도할 수 있고/있거나 화학 치료 및 방사선 요법을 강화시키는 물질을 확인하기 위한 특별한 필요성이 존재한다.

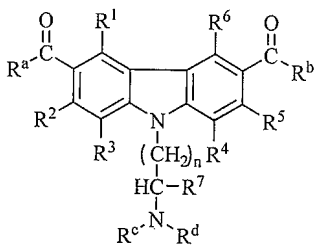
발명의 내용

[0006] 본 발명은 세포사를 유도하는 화합물 및 조성물, 및 암 및 다른 병증의 치료를 필요로 하는 개체에서 암 및 다른 병증의 치료에 있어서 이 화합물의 치료학적 용도에 관한 것이다. 본 발명은 또한 치료학적 화합물을 제조하는 방법에 관한 것이다.

[0007] 더 특히, 본 발명은 암, 염증성 질환, 미생물 감염, 바이러스 감염 및 원생동물 감염과 같은 질환 및 병증을 치료하기 위한 화합물 및 방법에 관한 것이다. 이 화합물은 구조식 I의 화합물의 치료학적 유효량을 이를 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법에서 유용하다.

[0008] 특히, 본 발명은 하기 구조식 I을 갖는 카바졸 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물에 관한 것이다:

[0009] 구조식 I



[0010]

[0011] [상기 식 중,

[0012] R^a는 수소, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 할로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, OR^e, N(R^e)₂, 및 SR^e로 이루어진 군으로부터 선택되고, 대안적으로, R^a와 R¹ 또는 NR^e와 R¹ 중 어느 하나는 이들이 결합된 탄소 원자와 함께 5원 또는 6원 지방족 탄소환 또는 복소환 고리를 형성하고;

[0013] R^b는 수소, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 할로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, OR^e, N(R^e)₂, 및 SR^e로 이루어진 군으로부터 선택되고, 대안적으로, R^b와 R⁶ 또는 NR^e와 R⁶ 중 어느 하나는 이들이 결합된 탄소 원자와 함께 5원 또는 6원 지방족 탄소환 고리 또는 5원 또는 6원 지방족 탄소환 또는 복소환 고리를 형성하고;

[0014] R^c는 수소, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 히드록시알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 및 C(=O)R^e로

이루어진 군으로부터 선택되거나, R^c와 R^d는 함께 임의로 산소 원자를 포함하는 5원, 6원 또는 7원 지방족 고리를 형성하고;

[0015] R^d는 수소, C₁₋₆ 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 및 C(=O)R^e로 이루어진 군으로부터 선택되거나, R^d와 R⁷은 이들이 결합된 원자와 함께 5원 또는 6원 지방족 고리를 형성하고;

[0016] R^e는, 독립적으로, 수소, C₁₋₆ 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되거나, 2개의 R^e 기는 이들이 결합된 질소와 함께 5원 또는 6원 지방족 고리를 형성하고;

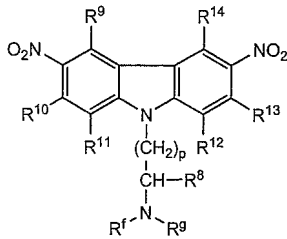
[0017] R¹, R², R³, R⁴, R⁵, 및 R⁶은, 독립적으로, 수소, C₁₋₆ 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 할로, OR^e, C(=O)R^e, C(=O)OR^e, OC(=O)R^e, C(=O)N(R^e)₂, C(=O)NR^eSO₂R^e, N(R^e)₂, NR^eC(=O)R^e, NR^eC(=O)N(R^e)₂, CN, NO₂, CF₃, OCF₃, SR^e, SOR^e, SO₂R^e, SO₂N(R^e)₂, 및 OSO₂CF₃으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0018] R⁷은 수소, C₁₋₆ 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0019] n은 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이다].

[0020] 또한, 본 발명은 하기 구조식 II를 갖는 카바졸 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물에 관한 것이다:

[0021] 구조식 II



[0022]

[0023] [상기 식 중,

[0024] R^f는 수소, C₁₋₆ 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 및 C(=O)R^h로 이루어진 군으로부터 선택되거나, R^f와 R^g는 함께 임의로 산소 원자를 포함하는 5원, 6원 또는 7원 지방족 고리를 형성하고;

[0025] R^g는 수소, C₁₋₆ 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 및 C(=O)R^h로 이루어진 군으로부터 선택되거나, R^g와 R⁸은 이들이 결합된 원자와 함께 5원 또는 6원 지방족 고리를 형성하고;

[0026] R^h는, 독립적으로, 수소, C₁₋₆ 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되거나, 2개의 R^h 기는 이들이 결합된 질소와 함께 5원 또는 6원 지방족 고리를 형성하고;

[0027] R⁸은 수소, C₁₋₆ 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0028] R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹², R¹³, 및 R¹⁴는, 독립적으로, 수소, C₁₋₆ 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 할로, OR^h, C(=O)R^h, C(=O)OR^h, OC(=O)R^h, C(=O)N(R^h)₂, C(=O)NR^hSO₂R^h, N(R^h)₂, NR^hC(=O)R^h, NR^hC(=O)N(R^h)₂, CN, NO₂, CF₃, OCF₃, SR^h, SOR^h, SO₂R^h, SO₂N(R^h)₂, 및 OSO₂CF₃으로 이루어진 군으로부터

선택되고;

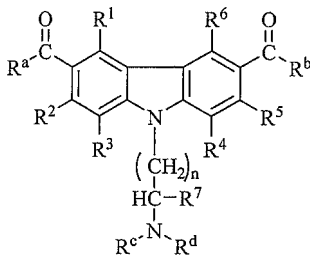
[0029] p는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;

[0030] 단, p가 2일 때, R^f 및 R^g 중 하나는 에틸이 아니다].

[0031] 본 발명에 따라 치료될 수 있는 질환 또는 병증으로는, 예를 들면 암, 염증, 자가면역 질환, 미생물 감염, 원생 동물 감염, 바이러스 감염, 이식편대 숙주 질환, HIV 감염과 관련된 병증, 또는 진암성 세포를 들 수 있다. 치료될 수 있는 암의 형태로는 신장 세포 암종, 육종, 전립선암, 유방암, 췌장암, 골수종, 골수성 및 림프구성 백혈병, 신경아세포종, 교모세포종, 또는 HTLV 감염에 의해 유발된 암을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다.

[0032] 몇몇 실시양태에서, 본 화합물은 하기 일반 구조식 Ia, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물을 갖는다:

[0033] 구조식 Ia



[0034]

[0035] [상기 식 중,

[0036] R^a는 C₁₋₃ 알킬, C₁₋₄ 할로알킬, C₃₋₅ 사이클로알킬, N(R^e)₂, 또는 OR^e이거나, R^a와 R¹은 이들이 결합된 탄소 원자와 함께 5원 또는 6원 지방족 탄소환 고리를 형성하고;

[0037] R^b는 C₁₋₄ 알킬, C₁₋₄ 할로알킬, C₃₋₅ 사이클로알킬, N(R^e)₂, 또는 OR^e이거나, R^b와 R⁶은 이들이 결합된 탄소 원자와 함께 5원 또는 6원 지방족 탄소환 고리 또는 1개의 질소 원자를 포함하는 5원 또는 6원 지방족 고리를 형성하고;

[0038] R^c는 C₁₋₆ 알킬, C₃₋₅ 사이클로알킬, 또는 C₁₋₃ 히드록시알킬이고;

[0039] R^d는 수소, C₁₋₄ 알킬, 또는 C₃₋₅ 사이클로알킬이거나, R^d와 R⁷은 이들이 결합된 원자와 함께 1개의 질소 원자를 포함하는 5원 또는 6원 지방족 고리를 형성하거나, R^c와 R^d는 함께 임의로 산소 원자를 포함하는 6원 또는 7원 지방족 고리를 형성하고;

[0040] R^e는, 독립적으로, 수소 또는 C₁₋₃ 알킬이고;

[0041] R¹은 수소 또는 C₁₋₃ 알킬이고;

[0042] R²는 수소, 히드록시, 또는 C₁₋₃ 알콕시이고;

[0043] R³ 및 R⁴는, 독립적으로, 수소 또는 C₁₋₃ 알킬이고;

[0044] R⁵는 수소, 히드록시, C₁₋₃ 알콕시, 또는 할로이고;

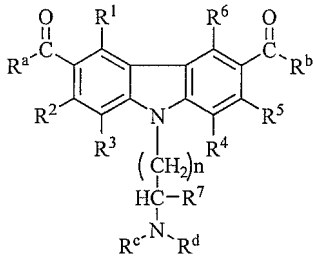
[0045] R⁶은 수소, C₁₋₃ 알킬, C₁₋₃ 알콕시, 또는 할로이고;

[0046] R⁷은 수소 또는 C₁₋₃ 알킬이고;

[0047] n은 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이다].

[0048] 다른 실시양태에서, 본 화합물은 하기 일반 구조식 I b, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물을 갖는다:

[0049] 구조식 I b



[0050]

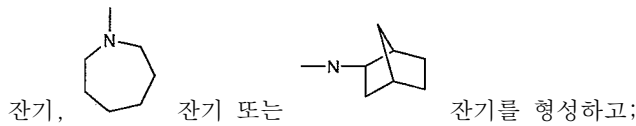
[0051] [상기 식 중,

[0052] R^a는 메틸, 에틸, n-프로필, 사이클로프로필, NH(CH₃), 또는 OCH₃이거나, R^a와 R¹은 이들이 결합된 탄소 원자와 함께 5원 지방족 탄소환 고리를 형성하고;

[0053] R^b는 메틸, 에틸, n-프로필, 사이클로프로필, NH(CH₃), 또는 OCH₃이거나, R^b와 R⁶은 이들이 결합된 탄소 원자와 함께 5원 지방족 탄소환 고리 또는 1개의 질소 원자를 포함하는 5원 지방족 고리를 형성하고;

[0054] R^c는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, 사이클로부틸, 또는 2-히드록시에틸이고;

[0055] R^d는 수소, 메틸, 에틸, 또는 사이클로부틸이거나, R^d와 R⁷은 이들이 결합된 원자와 함께 1개의 질소 원자를 포함하는 5원 지방족 고리를 형성하거나, R^c와 R^d는 함께 모르폴리노 잔기, 테트라하이드로푸릴 잔기, 피페리디닐



[0056] R¹은 수소이고;

[0057] R²는 수소, 히드록시, 또는 메톡시이고;

[0058] R³ 및 R⁴는 수소이고;

[0059] R⁵는 수소, 히드록시, 메톡시, 또는 플루오로이고;

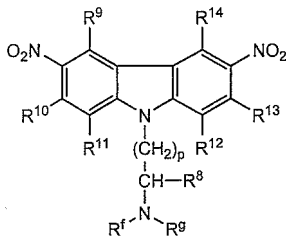
[0060] R⁶은 수소, 메틸, 메톡시 또는 플루오로이고;

[0061] R⁷은 수소이고;

[0062] n은 1 또는 2이다].

[0063] 다른 실시양태에서, 본 화합물은 하기 일반 구조식 II a, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물을 갖는다:

[0064] 구조식 IIa



[0065]

[상기 식 중,

[0067]

R^f는 C₁₋₆ 알킬이고;

[0068]

R^g는 수소 또는 C₁₋₄ 알킬이거나, R^f와 R^g은 이들이 결합된 원자와 함께 1개의 질소 원자를 포함하는 5원 또는 6원 지방족 고리를 형성하고;

[0069]

R⁹는 수소 또는 C₁₋₃ 알킬이고;

[0070]

R¹⁰은 수소, 히드록시, 또는 C₁₋₃ 알콕시이고;

[0071]

R¹¹ 및 R¹²는, 독립적으로, 수소 또는 C₁₋₃ 알킬이고;

[0072]

R¹³은 수소, 히드록시, C₁₋₃ 알콕시, 또는 할로이고;

[0073]

R¹⁴는 수소, C₁₋₃ 알킬, 또는 C₁₋₃ 알콕시이고;

[0074]

R⁸은 수소 또는 C₁₋₃ 알킬이고;

[0075]

p는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;

[0076]

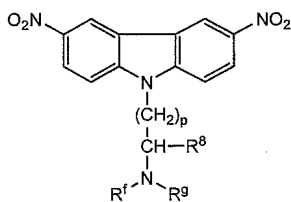
단, p가 2일 때, R^f 및 R^g 중 하나는 에틸이 아니다].

[0077]

또 다른 실시양태에서, 본 화합물은 하기 일반 구조식 IIb, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물을 갖는다:

[0078]

화학식 IIb



[0079]

[상기 식 중,

[0081]

R^f는 메틸 또는 에틸이고;

[0082]

R^g는 수소 또는 메틸이거나, R^f와 R^g은 이들이 결합된 원자와 함께 1개의 질소 원자를 포함하는 5원 지방족 고리를 형성하고;

[0083]

R⁸은 수소이고;

[0084]

p는 1 또는 2이다].

- [0085] 본 발명의 일 양태는 구조식 I, 구조식 Ia, 구조식 Ib, 구조식 II, 구조식 IIa, 또는 구조식 IIb의 1종 이상의 화합물, 또는 구조식 I, 구조식 Ia, 구조식 Ib, 구조식 II, 구조식 IIa, 또는 구조식 IIb의 1종 이상의 화합물을 포함하는 조성물의 치료학적 유효량을 이를 필요로 하는 개체에게 투여하여 병증 또는 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 본 조성물은 TNF 패밀리를 폴리펩티드의 사멸 수용체 활성물질을 더 포함할 수 있다. 활성물질은 TNF 폴리펩티드, 예컨대 NGF, CD40L, CD137L/4-1BBL, TNF- α , CD134L/OX40L, CD27L/CD70, FasL/CD95, CD30L, TNF- β /LT- α , LT- β , 및 TRAIL 중 1종 이상일 수 있다.
- [0086] 본 발명의 다른 양태는 구조식 I 또는 구조식 II의 1종 이상의 화합물을 포함하는 약학 조성물, 및 질환 또는 병증의 치료학적 치료에서 이 조성물의 용도를 제공하는 것이다.
- [0087] 본 발명의 또 다른 양태는 화학치료제, 방사선치료제, 또는 둘 다와 병용하여 구조식 I 및/또는 구조식 II의 화합물을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 의학 병증에 대해 화학치료학적 또는 방사선치료학적 치료를 받는 개체를 치료하는 방법을 제공하는 것이다. 이 방법에 의해 치료되는 적응증의 예로는 암이 있지만, 이것으로 제한되지는 않는다.
- [0088] 본 발명의 상기 양태 및 추가 양태는 본 발명의 하기 비제한적인 바람직한 실시양태의 상세한 설명으로부터 명확할 것이다.

도면의 간단한 설명

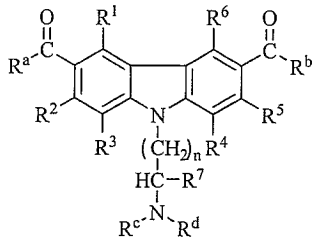
- [0089] 도 1a는 본 발명의 카바졸에 대한 농도에 대해 DMSO 대조군과 비교한 NF- κ B 활성(배수)의 도면이다.
 도 1b는 본 발명의 카바졸에 대해 p53 활성화 및 NF- κ B 억제에 대한 EC₅₀(μ M)의 도면이다.
 도 2a 내지 도 2k는 본 발명의 카바졸에 의해 치료되는 다양한 종양 세포에 대해 농도(μ M)에 대한 세포 생존율(%)의 도면이다.
 도 3은 실시예 7의 화합물을 사용한 HCT 116 sc 이종이식편 모델에서 치료 일수에 대한 종양 용적의 도면을 포함한다.
 도 4는 활성 카바졸 화합물의 3차원 분석을 보여주는 도식도이다.
 도 5는 비활성 카바졸 화합물의 3차원 분석을 보여주는 도식도이다.
 도 6은 활성 카바졸 화합물, 즉 실시예 2의 화합물의 3차원 분석을 보여주는 도식도이다.
 도 7은 비활성 카바졸 화합물, 즉 화합물 200의 3차원 분석을 보여주는 도식도이다.
 도 8은 대조군 비히클로 치료된 마우스(도 8a) 및 실시예 7의 화합물로 치료된 마우스(도 8b)에서 각각의 종양 성장에 대해 치료 일수에 대한 종양 용적(mm³)의 도면을 포함한다.
 도 9는 대조군 비히클 및 실시예 7의 화합물에 의한 치료 일수에 대한 종양 용적(mm³)의 도면을 포함한다.
 도 10은 대조군 비히클로 치료된 마우스(도 10a) 및 실시예 7의 화합물로 치료된 마우스(도 10b)에서 세포 접촉 후 일수에 대한 각각의 마우스의 상대 중량의 도면을 포함한다.
 도 11은 본 발명의 카바졸 화합물이 다양한 암 형태에 효과적이라는 것을 보여주는 13개의 암 세포주에 대해 상대 세포 생존율에 대한 화합물 100의 농도(μ M)의 도면을 포함한다.
 도 12는 플라스모디움 팔시파룸(*Plasmodium falciparum*)(균주 D10)에 대한 다양한 카바졸 화합물의 구충 활성을 보여주는 막대 그래프를 포함한다.
 도 13은 그람 음성 박테리아(도 13a) 및 그람 양성 박테리아(도 13b)에 대한 다양한 카바졸 화합물의 항균 활성을 보여주는 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0090] 본원에 개시된 화합물, 조성물 및 방법과 관련하여, 사용되는 전문용어는 특정한 실시양태를 기재할 목적으로 제한으로서 의도되지 않는다. 명세서 및 특허청구범위에서 사용되는 단수 형태 및 지시어는 문맥상 달리 명확히 기술하지 않은 한 복수 지시어를 포함한다.
- [0091] 본 발명은 하기 일반 구조식 I 및 구조식 II를 갖는 화합물에 관한 것이다. 본원에 개시된 카바졸 화합물, 또

는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물은 암, 염증성 질환, 미생물 감염, 바이러스 감염, 원생동물 감염, 또는 자가면역 질환과 같은 질환 및 병증의 치료에 유용하다:

[0092] 구조식 I



[0093]

[상기 식 중,

[0094]

[0095] R^a 는 수소, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, OR^e , $N(R^e)_2$, 및 SR^e 로 이루어진 군으로부터 선택되거나, R^a 와 R^1 또는 NR^e 와 R^1 중 어느 하나는 이들이 결합된 탄소 원자와 함께 5원 또는 6원 지방족 탄소환 또는 복소환 고리를 형성하고;

[0096] R^b 는 수소, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, OR^e , $N(R^e)_2$, 및 SR^e 로 이루어진 군으로부터 선택되거나, R^b 와 R^6 또는 NR^e 와 R^6 중 어느 하나는 이들이 결합된 탄소 원자와 함께 5원 또는 6원 지방족 탄소환 고리 또는 5원 또는 6원 지방족 탄소환 또는 복소환 고리를 형성하고;

[0097] R^c 는 수소, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 히드록시알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 및 $C(=O)R^e$ 로 이루어진 군으로부터 선택되거나, R^c 와 R^d 는 함께 임의로 산소 원자를 포함하는 5원, 6원 또는 7원 지방족 고리를 형성하고;

[0098] R^d 는 수소, C_{1-6} 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 및 $C(=O)R^e$ 로 이루어진 군으로부터 선택되거나, R^d 와 R^7 은 이들이 결합된 원자와 함께 5원 또는 6원 지방족 고리를 형성하고;

[0099] R^e 는, 독립적으로, 수소, C_{1-6} 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되거나, 2개의 R^e 기는 이들이 결합된 질소와 함께 5원 또는 6원 지방족 고리를 형성하고;

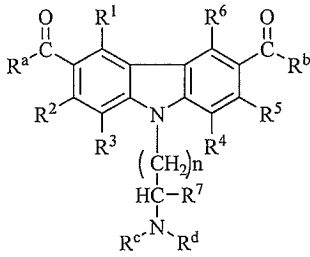
[0100] R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , 및 R^6 은, 독립적으로, 수소, C_{1-6} 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 할로, OR^e , $C(=O)R^e$, $C(=O)OR^e$, $OC(=O)R^e$, $C(=O)N(R^e)_2$, $C(=O)NR^eSO_2R^e$, $N(R^e)_2$, $NR^eC(=O)R^e$, $NR^eC(=O)N(R^e)_2$, CN , NO_2 , CF_3 , OCF_3 , SR^e , SOR^e , SO_2R^e , $SO_2N(R^e)_2$, 및 OSO_2CF_3 로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0101] R^7 은 수소, C_{1-6} 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0102] n은 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이다].

[0103] 바람직한 실시양태에서, 본 화합물은 하기 일반 구조식 Ia, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물을 갖는다:

[0104] 구조식 I a



[0105]

[0106] [상기 식 중,

[0107] R^a 는 C_{1-3} 알킬, C_{1-4} 할로알킬, C_{3-5} 사이클로알킬, $N(R^c)_2$, 또는 OR^c 이거나, R^a 와 R^1 은 이들이 결합된 탄소 원자와 함께 5원 또는 6원 지방족 탄소환 고리를 형성하고;

[0108] R^b 는 C_{1-4} 알킬, C_{1-4} 할로알킬, C_{3-5} 사이클로알킬, $N(R^c)_2$, 또는 OR^c 이거나, R^b 와 R^6 은 이들이 결합된 탄소 원자와 함께 5원 또는 6원 지방족 탄소환 고리 또는 1개의 질소 원자를 포함하는 5원 또는 6원 지방족 고리를 형성하고;

[0109] R^c 는 C_{1-6} 알킬, C_{3-5} 사이클로알킬, 또는 C_{1-3} 히드록시알킬이고;

[0110] R^d 는 수소, C_{1-4} 알킬, 또는 C_{3-5} 사이클로알킬이거나, R^d 와 R^7 은 이들이 결합된 원자와 함께 1개의 질소 원자를 포함하는 5원 또는 6원 지방족 고리를 형성하거나, R^c 와 R^d 는 함께 임의로 산소 원자를 포함하는 6원 또는 7원 지방족 고리를 형성하고;

[0111] R^e 는, 독립적으로, 수소 또는 C_{1-3} 알킬이고;

[0112] R^1 은 수소 또는 C_{1-3} 알킬이고;

[0113] R^2 는 수소, 히드록시, 또는 C_{1-3} 알콕시이고;

[0114] R^3 및 R^4 는, 독립적으로, 수소 또는 C_{1-3} 알킬이고;

[0115] R^5 는 수소, 히드록시, C_{1-3} 알콕시, 또는 할로이고;

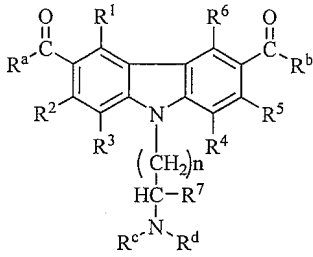
[0116] R^6 은 수소, C_{1-3} 알킬, C_{1-3} 알콕시, 또는 할로이고;

[0117] R^7 은 수소 또는 C_{1-3} 알킬이고;

[0118] n은 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이다].

[0119] 더 바람직한 실시양태에서, 본 화합물은 하기 일반 구조식 I b, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물을 갖는다:

[0120] 구조식 I b



[0121]

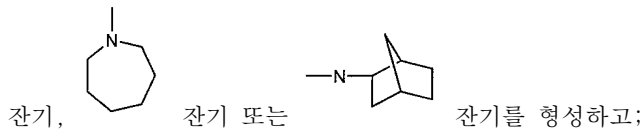
[0122] [상기 식 중,

[0123] R^a는 메틸, 에틸, n-프로필, 사이클로프로필, NH(CH₃), 또는 OCH₃이거나, R^a와 R¹은 이들이 결합된 탄소 원자와 함께 5원 지방족 탄소환 고리를 형성하고;

[0124] R^b는 메틸, 에틸, n-프로필, 사이클로프로필, NH(CH₃), 또는 OCH₃이거나, R^b와 R⁶은 이들이 결합된 탄소 원자와 함께 5원 지방족 탄소환 고리 또는 1개의 질소 원자를 포함하는 5원 지방족 고리를 형성하고;

[0125] R^c는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, 사이클로부틸, 또는 2-히드록시에틸이고;

[0126] R^d는 수소, 메틸, 에틸, 또는 사이클로부틸이거나, R^d와 R⁷은 이들이 결합된 원자와 함께 1개의 질소 원자를 포함하는 5원 지방족 고리를 형성하거나, R^c와 R^d는 함께 모르폴리노 잔기, 테트라하이드로푸릴 잔기, 피페리디닐



[0127] R¹은 수소이고;

[0128] R²는 수소, 히드록시, 또는 메톡시이고;

[0129] R³ 및 R⁴는 수소이고;

[0130] R⁵는 수소, 히드록시, 메톡시, 또는 플루오로이고;

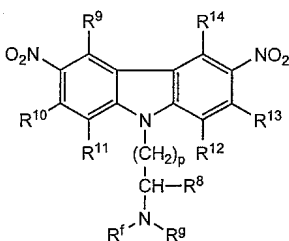
[0131] R⁶은 수소, 메틸, 메톡시 또는 플루오로이고;

[0132] R⁷은 수소이고;

[0133] n은 1 또는 2이다].

[0134] 다른 실시양태에서, 본 발명은 또한 하기 구조식 II를 갖는 카바졸 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물에 관한 것이다:

[0135] 구조식 II



[0136]

[0137] [상기 식 중,

[0138] R^f 는 수소, C_{1-6} 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 및 $C(=O)R^h$ 로 이루어진 군으로부터 선택되거나, R^f 와 R^g 는 함께 임의로 산소 원자를 포함하는 5원, 6원 또는 7원 지방족 고리를 형성하고;

[0139] R^g 는 수소, C_{1-6} 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 및 $C(=O)R^h$ 로 이루어진 군으로부터 선택되거나, R^g 와 R^8 은 이들이 결합된 원자와 함께 5원 또는 6원 지방족 고리를 형성하고;

[0140] R^h 는, 독립적으로, 수소, C_{1-6} 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되거나, 2개의 R^h 기는 이들이 결합된 질소와 함께 5원 또는 6원 지방족 고리를 형성하고;

[0141] R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} , 및 R^{14} 는, 독립적으로, 수소, C_{1-6} 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 할로, OR^h , $C(=O)R^h$, $C(=O)OR^h$, $OC(=O)R^h$, $C(=O)N(R^h)_2$, $C(=O)NR^hSO_2R^h$, $N(R^h)_2$, $NR^eC(=O)R^h$, $NR^hC(=O)N(R^h)_2$, CN , NO_2 , CF_3 , OCF_3 , SR^h , SOR^h , SO_2R^h , $SO_2N(R^h)_2$, 및 OSO_2CF_3 으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

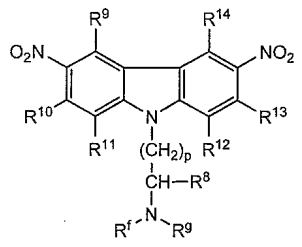
[0142] R^8 은 수소, C_{1-6} 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0143] p 는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;

[0144] 단, p 가 2일 때, R^f 및 R^g 중 하나는 에틸이 아니다].

[0145] 다른 실시양태에서, 본 화합물은 하기 일반 구조식 IIa, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물을 갖는다:

[0146] 구조식 IIa



[0147]
 [0148] [상기 식 중,
 [0149] R^f 는 C_{1-6} 알킬이고;

[0150] R^g 는 수소 또는 C_{1-4} 알킬이거나, R^g 와 R^8 은 이들이 결합된 원자와 함께 1개의 질소 원자를 포함하는 5원 또는 6원 지방족 고리를 형성하고;

[0151] R^9 는 수소 또는 C_{1-3} 알킬이고;

[0152] R^{10} 은 수소, 히드록시, 또는 C_{1-3} 알콕시이고;

[0153] R^{11} 및 R^{12} 는, 독립적으로, 수소 또는 C_{1-3} 알킬이고;

[0154] R^{13} 은 수소, 히드록시, C_{1-3} 알콕시, 또는 할로이고;

[0155] R^{14} 는 수소, C_{1-3} 알킬, 또는 C_{1-3} 알콕시이고;

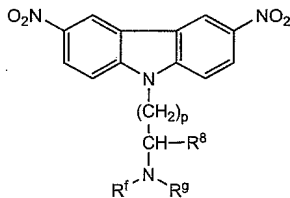
[0156] R^8 은 수소 또는 C_{1-3} 알킬이고;

[0157] p 는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;

[0158] 단, p 가 2일 때, R^f 및 R^g 중 하나는 에틸이 아니다].

[0159] 또 다른 실시양태에서, 본 화합물은 하기 일반 구조식 IIb, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물을 갖는다:

[0160] 구조식 IIb



[0161]

[0162] [상기 식 중,

[0163] R^f 는 메틸 또는 에틸이고;

[0164] R^g 는 수소 또는 메틸이거나, R^f 와 R^g 은 이들이 결합된 원자와 함께 1개의 질소 원자를 포함하는 5원 지방족 고리를 형성하고;

[0165] R^8 은 수소이고;

[0166] p 는 1 또는 2이다].

[0167] 본원에서 사용되는 "알킬"이란 용어는 기재된 수의 탄소 원자를 포함하는 직쇄 및 분지쇄 탄화수소 기, 통상적으로 메틸, 에틸, 및 직쇄 및 분지쇄 프로필 및 부틸 기를 의미한다. "사이클로알킬"이란 용어는 기재된 수의 탄소 원자를 포함하는 환식 탄화수소 기, 예를 들면 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로헥실, 및 사이클로펜틸로서 정의된다.

[0168] "헤테로사이클로알킬"이란 용어는 고리 구조에서 산소, 질소, 및 황으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 이종 원자를 포함하는 단환식, 이환식 및 삼환식 사이클로알킬 기를 의미한다. "헤테로사이클로알킬" 기는 또한 고리에 부착된 옥소 기(=O)를 포함할 수 있다. 헤테로사이클로알킬 기의 비제한적인 예로는 1,3-디옥솔란, 2-피라졸린, 피라졸리딘, 피롤리딘, 피페라진, 피롤린, 2H-피란, 4H-피란, 모르폴린, 티오폴린, 피페리딘, 1,4-디티안, 및 1,4- 디옥산을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다.

[0169] "할로" 또는 "할로겐"이란 용어는 불소, 염소, 염소, 및 요오드를 의미한다.

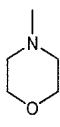
[0170] "할로알킬"이란 용어는 하나 이상, 예를 들면 1개 내지 3개의 할로 치환기, 플루오로, 클로로, 브로모, 요오도, 또는 이들의 조합 중 어느 하나로 치환된 알킬 기를 의미한다. 유사하게, "할로사이클로알킬"은 하나 이상의 할로 치환기를 갖는 사이클로알킬 기로서 정의된다.

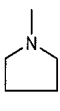
[0171] "아릴"이란 용어는 단독으로 또는 조합되어 단환식 또는 다환식 방향족 기, 바람직하게는 단환식 또는 이환식 방향족 기, 예를 들면 페닐 또는 나프틸을 의미한다. 달리 기재되지 않는 한, "아릴" 기는 비치환되거나, 예를 들면 하나 이상, 특히 1개 내지 3개의 할로, 알킬, 히드록시알킬, 알콕시, 알콕시알킬, 할로알킬, 니트로, 아미노, 알킬아미노, 아실아미노, 알킬티오, 알킬설퍼닐, 및 알킬설폰닐로 치환될 수 있다. 아릴 기의 예로는 페닐, 나프틸, 테트라하이드로나프틸, 2-클로로페닐, 3-클로로페닐, 4-클로로페닐, 2-메틸페닐, 4-메톡시페닐, 3-트리플루오로메틸페닐, 4-니트로페닐 등을 들 수 있다.

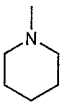
[0172] "헤테로아릴"이란 용어는 1개 또는 2개의 방향족 고리를 포함하고, 방향족 고리에서 적어도 하나의 질소, 산소, 또는 황 원자를 포함하고, 비치환되거나, 예를 들면 하나 이상, 특히 1개 내지 3개의, 치환기, 예컨대 할로, 알킬, 히드록시, 히드록시알킬, 알콕시, 알콕시알킬, 할로알킬, 니트로, 아미노, 알킬아미노, 아실아미노, 알킬티오, 알킬설퍼닐, 및 알킬설폰닐로 치환될 수 있는 단환식 또는 이환식 고리 시스템을 의미한다. 헤테로아릴 기의 예로는 티에닐, 푸릴, 피리딜, 옥사졸릴, 퀴놀릴, 이소퀴놀릴, 인돌릴, 트리아졸릴, 이소티아졸릴, 이속사졸

릴, 이미디졸릴, 벤조티아졸릴, 피라지닐, 피리미디닐, 티아조닐, 및 티아디아졸릴을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다.

- [0173] "알킬렌"이란 용어는 치환기를 갖는 알킬 기를 의미한다. 예를 들면, "C₁₋₃ 알킬렌아릴"이란 용어는 1개 내지 3개의 탄소 원자를 포함하고 아릴 기로 치환된 알킬 기를 의미한다.
- [0174] "히드록시"란 용어는 -OH를 의미한다.
- [0175] "알콕시"란 용어는 -OR(여기서, R은 알킬임)을 의미한다.
- [0176] "아미노"란 용어는 -NH₂를 의미하고, "알킬아미노"이란 용어는 -NR₂(여기서, 하나 이상의 R은 알킬이고, 제2의 R은 알킬 또는 수소임)를 의미한다.
- [0177] "아실아미노"란 용어는 R(=O)N-(여기서, R은 알킬 또는 아릴임)을 의미한다.
- [0178] "알킬티오"란 용어는 -SR(여기서, R은 알킬임)을 의미한다.
- [0179] "니트로"란 용어는 -NO₂를 의미한다.
- [0180] "트리플루오로메틸"이란 용어는 -CF₃을 의미한다.
- [0181] "트리플루오로메톡시"란 용어는 -OCF₃을 의미한다.
- [0182] "시아노"란 용어는 -CN을 의미한다.
- [0183] "알콕시알킬"란 용어는 수소가 알콕시 기에 의해 대체된 알킬 기를 의미한다.
- [0184] "히드록시알킬"이란 용어는 수소가 히드록시 기로 치환된 알킬 기를 의미한다.
- [0185] "알킬설퍼닐"이란 용어는 R-SO₂-(여기서, R은 알킬임)를 의미한다.
- [0186] "알킬설퍼닐"이란 용어는 R-SO₃-(여기서, R은 알킬임)을 의미한다.

[0187] "모르폴리노 잔기"란 용어는  를 의미한다.

[0188] "테트라하이드로푸릴 잔기"란 용어는  를 의미한다.

[0189] "피페리디닐 잔기"란 용어는 임의로 -OH 또는 -CH₂OH 기로 치환된  를 의미한다.

[0190] "유효량" 및 "치료학적 유효량"이란 용어는, 화합물 또는 조성물과 관련하여 사용될 때, 원하는 결과를 제공하기 위한 화합물 또는 조성물의 충분한 양을 의미한다. 원하는 또는 필요한 정확한 양은 사용되는 특정한 화합물 또는 조성물, 이의 투여 방식 등에 따라 달라질 것이다. 따라서, 정확한 "유효량" 또는 "치료학적 유효량"을 기술하는 것이 항상 가능한 것이 아니다. 그러나, 적절한 유효량을 오직 임상 실험을 이용하여 본 개시내용을 이해하는 당업자가 결정할 수 있다.

[0191] "적합한"이란 용어는 기재된 목적을 위해 본원에 제공된 화합물 또는 조성물에 상용성인 집합체, 예를 들면 잔기, 치환기, 또는 화합물을 의미한다. 기재된 목적에 대한 적합성을 오직 임상 실험을 이용하여 당업자가 결정할 수 있다.

[0192] "투여한다"란 용어는, 화합물 또는 조성물의 투여량을 기술하기 위해 사용될 때, 화합물 또는 조성물의 단일 용량 또는 수회 용량을 의미한다.

[0193] "생체내"는 동물 또는 인간 내와 같은 살아 있는 피험체 내를 의미한다. 이와 관련하여, 병증 또는 질환, 또는 이들의 증상을 치료하기 위해 피험체에서 치료학적으로 제제를 사용할 수 있다. 제제를 또한 질환 또는 병증 또

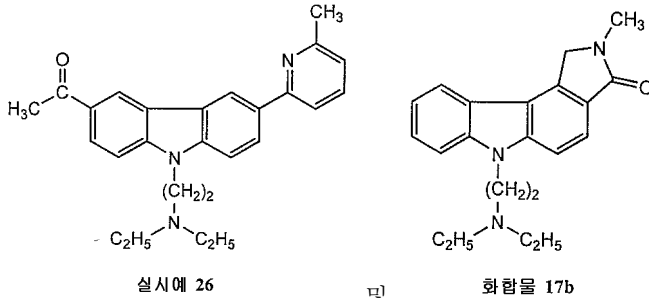
는 이와 관련된 증상의 발병 또는 재발을 방지하기 위한 예방제로서 제제를 사용할 수 있다.

- [0194] "생체외"는 살아 있는 피험체 외부를 의미한다. 생체외 세포 군집의 예로는 실험실내 세포 배양물 및 생물학적 시료, 예컨대 인간 또는 동물로부터 얻은 체액 또는 조직 시료를 들 수 있다. 당해 분야에 널리 공지된 방법에 의해 이 시료를 얻을 수 있다. 생물학적 체액 시료의 예로는 혈액, 뇌척수액, 뇨, 타액을 들 수 있다. 조직 시료의 예로는 종양 및 이의 생검 조직을 들 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명의 화합물을 다양한 분야, 치료 용도 및 실험 용도 둘 다에서 사용할 수 있다.
- [0195] "방사선 증감제"란 용어는 전자기 방사선에 대한 세포의 감수성을 증가시키고/시키거나 전자기 방사선에 의해 치료 가능한 질환의 치료를 증강하기 위한 치료학적 유효량으로 인간 또는 다른 동물에게 투여되는 화합물을 의미한다.
- [0196] "전자기 방사선" 및 "방사선"이란 용어는 10^{-20} 내지 100 미터의 파장을 갖는 방사선을 의미하지만, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0197] "세포사"란 용어는 세포 기능, 증식 및 대사가 멈추는 과정을 의미한다.
- [0198] "암 치료"란 용어는 화학 요법 및 방사선 요법을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는 당해 분야에 공지된 임의의 암 치료를 의미한다.
- [0199] "병용"이란 용어는, 본 발명의 카바졸 화합물의 투여 및 임의의 추가 치료를 기술하기 위해 사용될 때, 카바졸 화합물을 추가 치료, 또는 이의 조합 이전에, 동시에, 또는 이후에 투여할 수 있다는 것을 의미한다.
- [0200] 본원에서 사용되는 "치료한다", "치료하는", "치료" 등의 용어는 질환 또는 병증 및/또는 이와 관련된 증상의 제거, 경감, 또는 완화를 의미한다. 불가능한 것은 아니지만, 질환 또는 병증의 치료는 질환, 병증, 또는 이와 관련된 증상이 완전히 제거될 것을 요하지 않는다. 본원에서 사용되는 "치료한다", "치료하는", "치료" 등의 용어는 질환 또는 병증의 재개, 또는 질환 또는 병증의 재발을 갖지 않지만, 이의 위험이 있거나, 이에 대한 소인이 있는 피험체에서 질환 또는 병증의 재개, 또는 이미 조절되는 질환 또는 병증의 재발의 가능성을 감소시키는 것을 의미하는 "예방적 치료"를 포함할 수 있다. "치료한다"란 용어 및 동의어는 본 발명의 화합물을 이의 치료를 필요로 하는 개체에게 투여하는 것을 고려한다.
- [0201] 본 발명의 의미 내에, "치료"는 또한 급성 또는 만성 징후, 증상 및/또는 기능 이상의 재발 예방 또는 단계 예방, 및 치료를 포함한다. 치료는 예를 들면 증상을 억제하기 위해 대중적으로 맞춰질 수 있다. 이것은, 예를 들면 유지 요법과 관련하여 짧은 기간 동안 실행되거나, 중간 기간 동안 맞춰지거나, 장기간 치료일 수 있다.
- [0202] "포유동물"이란 용어는 인간, 반려 동물(예를 들면, 개, 고양이 및 말), 동물원 동물(예를 들면, 얼룩말, 코끼리 및 큰 고양이), 식량 동물(예를 들면, 소, 돼지, 염소 및 양), 및 실험 동물(예를 들면, 랫트, 마우스, 염소 및 기니아 피그)을 포함한다.
- [0203] 본 발명은 부분적으로 일반 구조식 I 및 구조식 II의 카바졸 화합물을 포함하는 약학 조성물을 국제 특허 출원 제PCT/US05/25884호(지정국: 미국, 이의 내용은 본원에서 참조문헌으로 포함됨)에 기재된 NF- κ B 활성화, 예컨대 NF- κ B 매개 면역 반응 및 병증을 조절하기 위해 사용할 수 있다는 발견에 관한 것이다.
- [0204] 구조식 I의 카바졸 화합물의 바람직한 실시양태에서, R^a는 메틸, 에틸, NH(CH₃), OCH₃이거나, R¹과 함께 5원 지방족 고리를 형성한다. 다른 바람직한 실시양태에서, R^b는 메틸, 에틸, NH(CH₃), OCH₃이거나, R⁶과 함께 5원 지방족 고리를 형성하거나, R⁶과 함께 5원 질소 함유 지방족 고리를 형성한다. 다른 바람직한 실시양태에서, R^d는 수소, 메틸, 에틸이거나, R⁷과 함께 5원 지방족 고리를 형성한다.
- [0205] 바람직한 실시양태에서, R¹은 수소이거나, R^a와 함께 5원 지방족 고리를 형성한다. 다른 바람직한 실시양태에서, R²는 수소 또는 히드록시이다. 또 다른 바람직한 실시양태에서, R³은 수소이다. 추가의 바람직한 실시양태에서, R⁴는 수소이다. 다른 추가의 바람직한 실시양태에서, R⁵는 수소 또는 히드록시이다. 몇몇 바람직한 실시양태에서, R⁶은 수소이거나, R^b와 함께 5원 지방족 고리를 형성하거나, R^b와 함께 5원 질소 함유 지방족 고리를 형성한다. 바람직한 실시양태에서, R⁷은 수소이거나, R^d와 함께 5원 고리를 형성한다. 다른 추가의 바람직

한 실시양태에서, n은 2 또는 3이다.

[0206] 구조식 II의 카바졸 화합물의 바람직한 실시양태에서, R^f는 메틸 또는 에틸이고; R^g는 수소, 메틸, 에틸이거나, R^f 및 R^g과 함께 5원 질소 함유 지방족 고리를 형성하거나, R^g은 수소이고; R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹², R¹³, 및 R¹⁴는 수소이다. 다른 추가의 실시양태에서, p는 2 또는 3이다.

[0207] 각종 병증 및 질환의 치료에 유용한 2종의 추가의 카바졸 화합물은 다음의 화합물이다:



[0208]

[0209] 본 발명은 구조식 I 및 구조식 II의 화합물의 모든 가능한 입체이성체 및 기하이성체를 포함한다. 본 발명은 라세미 화합물 및 광학 활성 이성체 둘 다를 포함한다. 구조식 I 또는 구조식 II의 화합물이 단일 거울상 이성체로서 바람직한 경우, 최종 생성물의 분할에 의해 또는 이성체적으로 순수한 출발 물질 또는 키랄 보조제 시약 이용 중 어느 하나로부터 입체 특이적 합성에 의해 이를 얻을 수 있고, 예를 들면 문헌[Z. Ma et al., *Tetrahedron: Asymmetry*, 8(6), pages 883-888(1997)]을 참조한다. 최종 생성물, 중간체, 또는 출발 물질의 분할을 당해 분야에 공지된 임의의 적합한 방법에 의해 성취할 수 있다. 추가로, 구조식 I 또는 구조식 II의 화합물의 호변이체가 가능한 상황에서, 본 발명은 이 화합물의 모든 호변이체 형태를 포함하는 것으로 의도된다.

[0210] 구조식 I 및 구조식 II의 화합물의 프로드럭을 또한 본 발명의 방법에서 화합물로서 사용할 수 있다. 프로드럭 접근법(여기서, 화합물이 제제 및/또는 투여에 적합한 형태로 유도체화되고, 이후 생체내 약물로서 방출됨)을 화합물의 물리화학 특성을 일시적으로(예를 들면, 생체 가역적으로) 변경시키기 위해 성공적으로 이용할 수 있다는 것이 널리 입증되었다(문헌[H. Bundgaard, Ed., "Design of Prodrugs," Elsevier, Amsterdam, (1985); R.B. Silverman, "The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action," Academic Press, San Diego, chapter 8, (1992); K.M. Hillgren et al., *Med. Res. Rev.*, 15, 83 (1995)] 참조).

[0211] 본 발명의 화합물은 하나 이상의 작용기를 포함할 수 있다. 작용기를, 원하는 경우 또는 필요한 경우, 변형시켜 프로드럭을 제공할 수 있다. 적합한 프로드럭은, 예를 들면 산 유도체, 에컨대 아미드 및 에스테르를 포함한다. 또한, 당업자는 N-옥사이드를 프로드럭으로서 사용할 수 있는 것으로 이해하고 있다.

[0212] 본 발명의 화합물은 염으로서 존재할 수 있다. 본 발명의 화합물의 약학적으로 허용되는 염은 일반적으로 본 발명의 방법에서 바람직하다. 본원에서 사용되는 "약학적으로 허용되는 염"이란 용어는 구조식 I 및 구조식 II의 화합물의 염 또는 양쪽성 형태를 의미한다. 화학식 I 및 화학식 II의 화합물의 염을 화합물의 최종 단리 및 정제 동안 제조하거나, 또는 화합물을 적합한 양이온을 갖는 산과 반응시킴으로써 별도로 제조할 수 있다. 구조식 I 및 구조식 II의 약학적으로 허용되는 화합물의 염은 약학적으로 허용되는 산에 의해 형성되는 산부가염이다. 약학적으로 허용되는 염을 형성하기 위해 이용될 수 있는 산의 예로는 질산, 붕산, 염산, 브롬산, 황산 및 인산과 같은 무기산 및 옥살산, 말산, 숙신산 및 시트르산과 같은 유기산을 들 수 있다. 본 발명의 화합물의 염의 비제한적인 예로는 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 하이드로요오다이드, 설페이트, 비설페이트, 2-히드록시에탄설포네이트, 포스페이트, 인화수소, 아세테이트, 아디페이트, 알기네이트, 아스파테이트, 벤조에이트, 비설페이트, 부티레이트, 캄포레이트, 캄퍼설포네이트, 디글루코네이트, 글리세롤포스페이트, 헤미설페이트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 포르메이트, 숙시네이트, 푸마레이트, 말레에이트, 아스코르베이트, 이세티오네이트, 살리실레이트, 메탄설포네이트, 메시틸렌설포네이트, 나프틸렌설포네이트, 니코티네이트, 2-나프탈렌설포네이트, 옥살레이트, 파모에이트, 펙티네이트, 퍼설페이트, 3-페닐프로피리오네이트, 피크레이트, 피발레이트, 프로피오네이트, 트리클로로아세테이트, 트리플루오로아세테이트, 포스페이트, 글루타메이트, 비카보네이트, 파라톨루엔설포네이트, 운데카노에이트, 락테이트, 시트레이트, 타르트레이트, 글루코네이트, 메탄설포네이트, 에탄디설포네이트, 벤젠 설포네이트 및 p-톨루엔설포네이트 염을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 또한, 본 발명의 화합물에 존재하는 이용 가능한 아미노기를 메틸, 에틸, 프로필 및 부틸 클

로라이드, 브로마이드 및 요오다이드; 디메틸, 디에틸, 디부틸 및 디아밀 설페이트; 데실, 라우릴, 미리스틸 및 스테릴 클로라이드, 브로마이드 및 요오다이드; 및 벤질 및 펜에틸 브로마이드로 4급화할 수 있다. 이전 내용의 견지에서, 본원에 기재된 본 발명의 화합물에 대한 어떠한 언급도 구조식 I 및/또는 구조식 II의 화합물 및 이의 약학적으로 허용되는 염, 수화물, 또는 프로드럭을 포함하는 것으로 의도된다.

- [0213] 구조식 I 및 구조식 II의 화합물을 또한 치료학적 용도의 방법에서 화합물의 유리한 특성을 증진시키는 보조제 부분에 접합 또는 연결시킬 수 있다. 이러한 접합은 관심 있는 특정한 해부학적 부위 또는 구역(예를 들면, 종양)에 화합물의 전달을 증진시키고/시키거나, 표적 세포에서 화합물의 치료학적 농도가 지속되도록 하고/하거나, 화합물의 약동학적 및 약력학적 특성을 변경시키고/시키거나, 화합물의 치료학적 지표 또는 안전성 프로파일을 개선할 수 있다. 적합한 보조제 부분으로는, 예를 들면 아미노산, 올리고펩티드, 또는 폴리펩티드, 예를 들면 항체, 예컨대 단일 클론 항체 및 다른 조각 항체; 및 표적 세포 또는 조직에서 수용체에 대한 천연 또는 합성 리간드를 들 수 있다. 다른 적합한 보조제로는 표적 세포에 의한 화합물의 생체분포 및/또는 흡수를 증강시키는 지방산 또는 지질 부분을 들 수 있다(예를 들면, 문헌[Bradley et al., Clin. Cancer Res. (2001) 7:3229] 참조).
- [0214] 본 발명의 화합물은 NF- κ B의 강력한 억제제이다. 따라서, 화학식 I 및 화학식 II의 화합물은 치료에서의 이용에, 구체적으로 NF- κ B의 억제가 유리한 것으로 고려되는 각종 병증의 치료에 흥미롭다. NF- κ B 억제는 특히 매력적인 표적인데, 왜냐하면 이러한 억제는 아포토시스, 항균, 항원생동물, 항바이러스 및 소염과 같은 효과를 제공하고, 이들 모두 다양한 질환 상태의 치료에 유리하다. 따라서, 화학식 I 및 화학식 II의 화합물은 여러 질병, 질환 및 병증의 치료에서 유용성을 갖는다.
- [0215] NF- κ B 활성을 억제하거나 p53을 활성화하는 화합물의 능력을 측정하여 본 발명의 카바졸 화합물의 효력을 결정한다. 민감한 분석 시스템이 어떠한 효과도 관찰되지 않거나 최소 효과가 관찰되는 농도를 포함하여, 부분 효과가 관찰되는 더 높은 농도를 거쳐, 최대 효과가 관찰되는 포화 농도까지 일련의 농도에 걸쳐 관심 있는 화합물과 접촉하는 용량 반응 분석을 이용하여 p53의 활성화를 통상적으로 측정한다. 이론적으로, 활성물질 화합물의 용량 반응 효과의 이러한 분석을 농도 함수로서 활성화 정도를 나타내는 S자형 곡선으로서 기재할 수 있다. 또한, 곡선은 이론적으로 농도가 분석에서 기준치와 최대 활성 사이의 차이의 50%인 수치로 활성을 증가시키기에 충분한 지점을 통과한다. 이 농도를 유효 농도(50%) 또는 EC₅₀ 값이라 정의한다. EC₅₀ 값을 종래 생화학(무세포) 분석 기법 또는 세포 기반 분석 기법을 이용하여 결정한다.
- [0216] 활성물질의 효율 비교는 대개 비교 EC₅₀ 값과 관련하여 제공되고, 더 큰 EC₅₀은 시험 화합물이 기준 화합물보다 덜 강력하다는 것을 나타내고, 더 작은 EC₅₀은 기준 화합물보다 화합물이 더 강력하다는 것을 나타낸다. 본 발명의 화합물은 루시피라제 리포터 세포주 분석에서 예상치 못한 우수한 효력, 즉 p53 활성화를 나타낸다. 하기 기재된 세포 기반 분석 처리된 본 발명의 화합물은 약 1.35 μ M 미만의 p53 활성화에 대한 EC₅₀ 값을 나타낸다. 특정한 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 약 1.0 μ M 미만의 EC₅₀ 값을 나타낸다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 약 0.75 μ M, 약 0.50 μ M, 약 0.30 μ M, 약 0.20 μ M, 또는 0.05 μ M 미만의 EC₅₀ 값을 나타낸다.
- [0217] 본 발명의 카바졸 화합물의 특히 중요한 용도는 암, 염증, 자가면역 질환, 미생물, 원생동물, 또는 바이러스 감염, 이식편대 숙주 질환, HIV 감염과 관련된 병증, 또는 구성적으로 활성인 NF- κ B에 대해 획득된 의존성을 갖는 전암성 세포의 치료이다. 본 발명에 따라 치료될 수 있는 다양한 암으로는 신장 세포 암종, 육종, 전립선암, 유방암, 췌장암, 골수종, 골수성 및 림프구성 백혈병, 신경아세포종, 교모세포종 및 HTLV 감염에 의해 야기된 암을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0218] 따라서, 화학식 I 및 화학식 II의 화합물은 각종 병증 및 질환의 치료에서 유용한 것으로 고려된다. 따라서, 본 발명은 이러한 병증 및 질환의 치료를 위한 약제의 제조를 위한, 화학식 I 및 화학식 II의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 또는 이들 중 어느 하나를 포함하는 약학 조성물의 용도에 관한 것이다.
- [0219] 본 발명의 화합물은 순수 화학물질로서 치료학적으로 투여할 수 있지만, 구조식 I 또는 구조식 II의 화합물을 약학 조성물 또는 제제로서 투여하는 것이 바람직하다. 따라서, 본 발명은 화학식 I 또는 화학식 II의 화합물을 이에 대한 약학적으로 허용되는 희석제 또는 담체와 함께 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 또한, 본 발명은 화학식 I 또는 화학식 II의 화합물을 이에 대한 약학적으로 허용되는 희석제 또는 담체와 혼합하는 단계를 포함하는 약학 조성물의 제조 방법을 제공한다.
- [0220] 따라서, 본 발명은 추가로 구조식 I 또는 구조식 II의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 프로드럭,

또는 수화물을 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체 및, 임의로, 다른 치료학적 및/또는 예방적 성분과 함께 포함하는 약학 제제를 제공한다. 담체는 제제의 다른 성분과 상용성이고 이의 수혜자에게 해롭지 않다는 점에서 "허용된다".

- [0221] 본 발명의 제제를 표시된 질환의 치료를 위한 표준 방식으로, 예컨대 경구로, 비경구로, 경점막으로(예를 들면, 실하로 또는 협측 투여를 통해), 국소로, 경피로, 직장으로, 또는 흡입(예를 들면, 비강 또는 깊은 폐 흡입)을 통해 투여할 수 있다. 비경구 투여로는 정맥내, 동맥내, 복강내, 피하내, 근육내, 척추관내 및 관절내를 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 비경구 투여는 또한 POWDERJECT™(Powderject Pharmaceuticals, Plc(영국 옥스포드))와 같은 고압 기법을 이용하여 수행할 수 있다. 또한, 상기 조성물을 조성물의 서방 방출 및 느리게 조절되는 i.v. 점적을 허용하는 임플란트 형태로 투여할 수 있다.
- [0222] 협측 투여를 비롯한 경구 투여의 경우, 상기 조성물은 종래 방식으로 제제화된 정제 또는 로렌지 형태일 수 있다. 예를 들면, 경구 투여를 위한 정제 및 캡슐은 종래 부형제, 예컨대 결합제(예를 들면, 시럽, 아카시아, 젤라틴, 소르비톨, 트래거캔스, 전분의 점질류 또는 폴리비닐피롤리돈), 충전제(예를 들면, 락토스, 당, 미정질 셀룰로스, 옥수수 전분, 인산칼슘 또는 소르비톨), 활택제(예를 들면, 스테아르산 마그네슘, 스테아르산, 활석, 폴리에틸렌 글리콜 또는 실리카), 붕괴제(예를 들면, 감자 전분 또는 나트륨 전분 글리콜레이트), 또는 습윤제(예를 들면, 황산 라우릴 나트륨)을 포함할 수 있다. 정제를 당해 분야에 널리 공지된 방법에 따라 코팅할 수 있다.
- [0223] 대안적으로, 본 발명의 화합물을, 예를 들면 경구 액체 제제, 예컨대 수성 또는 유성 현탁액, 용액제, 에멀션, 시럽, 또는 엘릭시르제로 혼입할 수 있다. 또한, 상기 화합물을 포함하는 제제는 사용 전에 물 또는 다른 적합한 비히클과 함께 구성을 위한 건조 제품으로서 존재할 수 있다. 상기 액체 제제는 종래 첨가제, 예를 들면 현탁제, 예컨대 소르비톨 시럽, 메틸 셀룰로스, 글루코스/당 시럽, 젤라틴, 히드록시에틸셀룰로스, 히드록시프로필메틸셀룰로스, 카르복시메틸셀룰로스, 알루미늄 스테아레이트 겔, 및 수소화 식물 지방; 유화제, 예컨대 레시틴, 소르비탄 모노올레이트, 또는 아카시아; (가식유를 포함할 수 있는) 비수성 비히클, 예컨대 아몬드 오일, 분별화 코코넛 오일, 유성 에스테르, 프로필렌 글리콜 및 에틸 알콜; 및 보존제, 예컨대 메틸 또는 프로필 p-히드록시벤조에이트 및 소르빈산을 포함할 수 있다.
- [0224] 상기 제제는 또한 예를 들면 종래 좌제 기제, 예컨대 코코아 버터 또는 다른 글리세라이드를 포함하는 좌제로서 제제화될 수 있다. 흡입용 조성물은 통상적으로 건조 분말로서 투여할 수 있는 용액제, 현탁제 또는 에멀션 형태로 또는 종래 추진체, 예컨대 디클로로디플루오로메탄 또는 트리클로로플루오로메탄을 이용하는 에어로졸 형태로 제공될 수 있다. 통상적인 국소 및 경피 제제는 종래 수성 또는 비수성 비히클, 예컨대 점안액, 크림, 연고, 로션 및 페이스트를 포함하거나, 치료용 반창고, 패치 또는 막 형태이다.
- [0225] 또한, 본 발명의 조성물을 주사 또는 연속 점적에 의한 비경구 투여를 위해 제제화할 수 있다. 주사용 제제는 유성 또는 수성 비히클 중의 현탁제, 용액제 또는 에멀션 형태일 수 있고, 제제화 물질, 예컨대 현탁제, 안정화제 및/또는 분산제를 포함할 수 있다. 대안적으로, 활성 성분은 사용 전에 적합한 비히클(예를 들면, 무균, 발열원 비함유 물)과 함께 구성을 위한 분말 형태일 수 있다.
- [0226] 본 발명의 조성물은 또한 데포트 제제로서 제제화할 수 있다. 이 속효성 제제는 이식(예를 들면, 피하내 또는 근육내)에 의해 또는 근육내 주사에 의해 투여할 수 있다. 따라서, 본 발명의 화합물을 적합한 중합체 또는 소수성 물질(예를 들면, 허용되는 오일 중의 에멀션), 이온 교환 수지과, 또는 난용성 유도체(예를 들면, 난용성 염)로서 제제화할 수 있다.
- [0227] 상기 조성물을 또한 리포솜 제제로서 제제화할 수 있다. 리포솜 제제는 관심 있는 세포 또는 각질층에 침투하고, 세포막과 융합하는 리포솜을 포함할 수 있어서, 세포로 리포솜 내용물을 전달시킬 수 있다. 리포솜은 예를 들면 미국 특허 제5,077,211호, 미국 특허 제4,621,023호 및 미국 특허 제4,508,703호에 기재되어 있고, 이들은 각각 본원에 참조문헌으로 포함된다.
- [0228] 가축 용도를 위해, 화학식 I 또는 화학식 II의 화합물, 또는 약학적으로 허용되는 염 또는 프로드럭을 정상 가축 실험에 따라 적절하게 허용되는 제제로서 투여한다. 수의사는 용이하게 특정 동물에 가장 적절한 용량 섭생 및 투여 경로를 결정할 수 있다. 본 발명의 화합물 및 방법에 의해 치료 가능한 동물로는 애완 동물, 가축, 공연 동물 및 동물원 동물을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0229] **합성 방법**
- [0230] 화학식 I 및 화학식 II의 화합물을 당해 분야에 공지된 임의의 적합한 방법에 의해, 또는 본 발명의 일부를 형

성하는 다음의 공정에 의해 제조할 수 있다. 특히, 구조식 I 및 구조식 II의 화합물을 다음의 합성 반응식에 따라 제조할 수 있다.

[0231] 합성 방법 및 실시예에서 및 명세서에 걸쳐, 약어는 다음의 의미를 갖는다:

DMF	디메틸포름아미드
NaH	수소화나트륨
min	분
TLC	박층 크로마토그래피
CH ₂ Cl ₂	염화메틸렌
CHCl ₃	클로로포름
MeOH	메탄올
Na ₂ SO ₄	황산나트륨
AlCl ₃	염화알루미늄
AcCl	염화아세트
LC-MS	액체 크로마토그래피-질량 분광법
Et ₂ O	디에틸 에테르
Na ₂ CO ₃	탄산나트륨
HPLC	고성능 액체 크로마토그래피
h	시간
NaHCO ₃	중탄산나트륨
NaCl	염화나트륨
HCl	염산
g	그램
eq	당량
mol	몰
mmol	밀리몰
ml	밀리리터
H ₂ SO ₄	황산
K ₂ CO ₃	탄산칼륨
Pd(OAc) ₂	아세트산 팔라듐
Pd(PPh ₃) ₄	테트라(트리페닐포스피노)팔라듐
P(OEt) ₃	트리에톡시포스핀
NaH	수소화나트륨
TFOH	트리플산
EtOH	에탄올
NMR	핵 자기 공명 분광법
EtOAc	에틸 아세테이트
THF	테트라하이드로퓨란
NaOH	수산화나트륨
NMP	N-메틸피롤리디논
DBU	1,8-디아자비사이클로[5.4.0]운데크-7-엔
MsCl	염화메실
TEA	트리에탄올아민
Na ₂ SO ₄	황산나트륨
(Boc) ₂ O	디-tert-부틸 카보네이트
Pv	피리딘
PdCl ₂ (PPh) ₃	디클로로-트리페닐포스피노-팔라듐(II)
PhNO ₂	니트로벤젠
KOAc	아세트산칼륨
Pd(dppf)Cl ₂	디클로로-(비스-디페닐포스피노)페로세닐-팔라듐(II)
AcOK	아세트산칼륨
PPh ₃	트리페닐포스핀
PPh ₃ O	트리페닐포스핀 옥사이드
BBr ₃	트리브로모보론
CH ₃ CN	아세토니트릴
PhSH	티오펜올
Cs ₂ CO ₃	탄산세슘
STAB	나트륨 트리아세톡시보로하이드라이드
NEt ₃	트리에틸아민
DMF	트리메틸포름아미드

[0232]

[0233] 합성 유기 화학의 일반적인 원칙에 따라 보호기를 이용하여 구조식 I 및 구조식 II의 화합물을 제조할 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 보호기 형성 시약은 당업자에게 널리 공지되어 있고, 예를 들면 문헌[T.W. Greene et al., "Protective Groups in Organic Synthesis, Third Edition," John Wiley and Sons, Inc., NY, N. Y. (1999)]을 참조한다. 이 보호기를 적절한 경우 당업자에게 공지된 적절한 염기성, 산성, 또는 수소 분해 조건에 의해 제거한다. 따라서, 당업자는 본원에서 구체적으로 예시되지 않은 구조식 I 및 구조식 II의 화합물을 제조할 수 있다.

[0234]

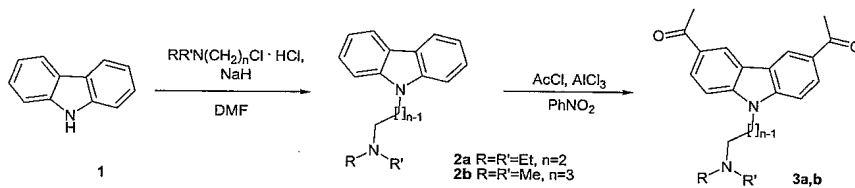
또한, 화학식 I 및 화학식 II의 화합물을 다른 화학식 I 및 화학식 II의 화합물로 전환할 수 있다. 따라서, 예를 들면 특정한 R 치환기를 상호 전환하여 다른 적절하게 치환된 화학식 I 또는 화학식 II의 화합물을 제조할 수 있다. 적절한 상호 전환의 예로는 적합한 수단에 의한 (예를 들면, SnCl₂와 같은 물질 또는 탄소상 팔라

듬과 같은 팔라듐 촉매를 이용하는) OR^a의 히드록시의 상호 전환, 또는 표준 아실화 또는 설폰닐화 조건을 이용한 아미노의 전환된 아미노, 예컨대 아실아미노 또는 설폰닐아미노로의 상호 전환을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다.

[0235] 화학식 I 및 화학식 II의 화합물을 라세미 혼합물로서 별개의 입체이성체로서 제조할 수 있다. 라세미 혼합물을 이의 구성 입체이성체로 분리하기 위해 당해 분야에 공지된 방법을 이용하여, 예를 들면 키랄 컬럼, 예컨대 Hypersil 나프틸 우레아에서 HPLC를 이용하여, 또는 입체이성체의 염의 분리를 이용하여 분할에 의해 라세미체로부터 본 발명의 화합물의 별개의 입체이성체를 제조할 수 있다. 본 발명의 화합물을 적절한 용매로부터 결정화에 의해 또는 적절한 용매의 증발에 의해 용매 분자와 관련하여 분리시킬 수 있다.

[0236] **일반적인 합성 절차**

[0237] [반응식 1]



[0238]

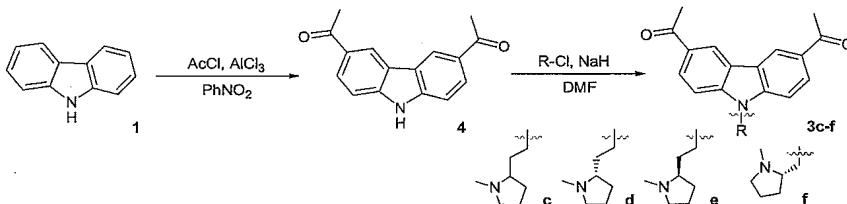
[0239] **카바졸의 알킬화에 대한 일반적인 절차**

[0240] 카바졸 1을 DMF 중에 용해 또는 현탁시켰다. 이후, NaH(3 eq)를 첨가하였다. 발포가 멈출 때까지 혼합물을 5~10 min 기간 동안 실온에서 교반하였다. 염산(1.3 eq)을 첨가하고, 반응 혼합물을 50~60°C에서 2~16 h 기간 동안 유지시켰다(TLC 모니터링; 용리제: CH₂Cl₂/에틸 아세테이트, 출발 카바졸 존재의 경우 1:1; CHCl₃/MeOH, 생성물 순도의 경우 9:1). 생성된 혼합물을 물로 희석시켰다. 침전물이 형성된 경우, 이것을 여과시키고 공기 건조시켰다. 침전물이 형성되지 않으면(표 1), 혼합물을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 추출물을 Na₂SO₄로 건조시키고, 증발시키고, 잔류물을 크로마토그래피(실리카 겔, CHCl₃/MeOH)에 의해 정제하였다. 생성물 2a 및 2b의 수율을 표 1에 나타냈다.

[0241] **알킬화 카바졸의 아실화에 대한 일반적인 절차**

[0242] 카바졸 2를 니트로벤젠 중에 용해시켰다. 용액을 얼음 욕에서 냉각시키고, 이후 AlCl₃(5 eq) 및 AcCl(5 eq)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 2~16 h 기간 동안 유지시켰다(LC-MS 모니터링). 반응 혼합물의 샘플을 Et₂O로 희석시키고, 이것을 침전물로부터 따라 붓고, 이후 MeOH 중에 용해시켰다. 생성된 혼합물을 물로 희석시키고, Na₂CO₃으로 중화시키고, CHCl₃로 추출하였다. 추출물을 증발시켰다. 잔류물을 짧은 실리카 겔 컬럼(CHCl₃/MeOH)에서 크로마토그래피에 의해 정제하여 니트로벤젠을 제거하고, 이후, 필요한 경우, 실리카 겔 컬럼에서 또는 HPLC에 의해 정제하였다. 생성물 3 및 3b의 수율을 표 1에 나타냈다.

[0243] [반응식 2]



[0244]

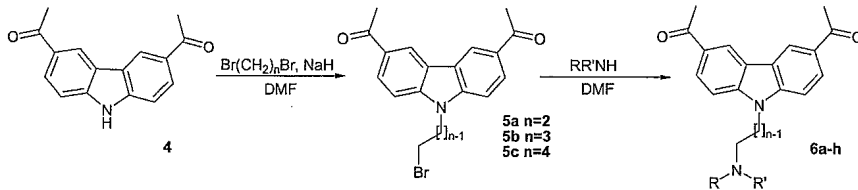
[0245] **3,6-디아세틸카바졸(4)**

[0246] 카바졸 1(16.9 g, 0.1 mol)을 니트로벤젠(300 mL) 중에 용해시켰다. 무수 AlCl₃(54.0 g, 0.4 mol)을, 교반하고 얼음 욕에서 냉각시키면서, 첨가하였다. 이후, AcCl(55.5 g, 0.7 mol)을 천천히 적하하였다. 반응 혼합물을 교반 하에 실온으로 가온시키고 13 h 기간 동안 유지시켰다. 물(500 mL)을, 얼음 욕에서 냉각시키면서, 소량 분획으로 첨가하였다. 냉각 욕을 제거하고, 혼합물을 2 h 기간 동안 환류시키고 CHCl₃(3×150 mL)으로 추출하였다.

합한 추출물을 NaHCO₃ 및 NaCl의 포화 용액으로 순차적으로 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조시키고, 증발시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(실리카 겔, CHCl₃/MeOH)에 의해 정제하여 3,6-디아세틸카바졸(4) 12.5 g(50%)을 얻었다.

[0247] 화합물 4의 알킬화의 경우, 카바졸의 알킬화에 대한 일반적인 절차를 이용하였다. 생성물 3c-f의 수율을 표 1에 나타냈다.

[0248] [반응식 3]



[0249]

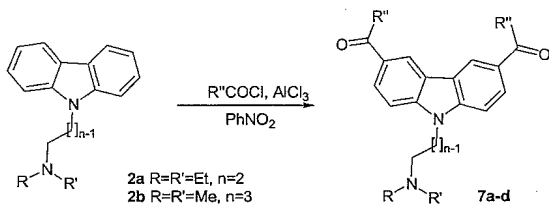
[0250] **브로모알킬디아세틸카바졸 5a-c의 제법**

[0251] 디아세틸카바졸 4를 DMF 중에 용해시키고, 이후 NaH(3 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 10 min 기간 동안 교반하였다. 디브로모알칸(7 eq)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 1 h 기간 동안 유지시켰다(실온에서 5a; 40°C에서 5b; 70°C에서 5c 20 min 기간 동안; TLC 모니터링, CH₂Cl₂/에틸 아세테이트, 에틸 아세테이트 4:1). 이후, 혼합물을 물로 희석시키고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 추출물을 물 및 염수로 세척하고, Na₂SO₄로 건조시키고, 증발시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(실리카 겔, CHCl₃)에 의해 정제하여 5a(21%), 5b(29%), 및 5c(74%)를 얻었다.

[0252] **브로모알킬디아세틸카바졸 5a-c에 의한 아민의 알킬화**

[0253] 브로마이드 5를 DMF 중에 용해시키고, 아민을 첨가하였다(과량, 표 3 참조). 혼합물을 60°C에서 밤새 유지시켰다. (TLC 모니터링, CH₂Cl₂/에틸 아세테이트, 출발 카바졸 존재의 경우 1:1; CHCl₃/MeOH, 생성물 순도의 경우 9:1). 반응 혼합물을 물로 희석시키고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 추출물을 Na₂SO₄로 건조시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(실리카 겔, CHCl₃/MeOH)에 의해 정제하였다. 생성물을 CH₂Cl₂와 MeOH의 혼합물 중에 용해시켰다. 디옥산 중의 4M HCl을 첨가하고, 혼합물을 증발시켰다. 잔류물을 Et₂O로 및, 필요한 경우, 에틸 아세테이트 또는 아세톤으로 분쇄하였다. 생성물 6a-h의 수율을 표 3에 나타냈다.

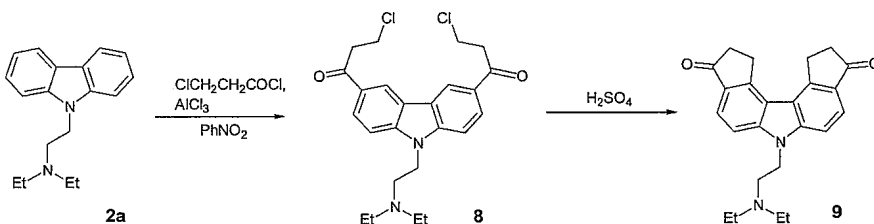
[0254] [반응식 4]



[0255]

[0256] 2의 아실화의 경우, 반응식 1에 기재된 것과 유사한 절차를 이용하였다. 생성물 7a-d의 수율을 표 4에 나타냈다.

[0257] [반응식 5]



[0258]

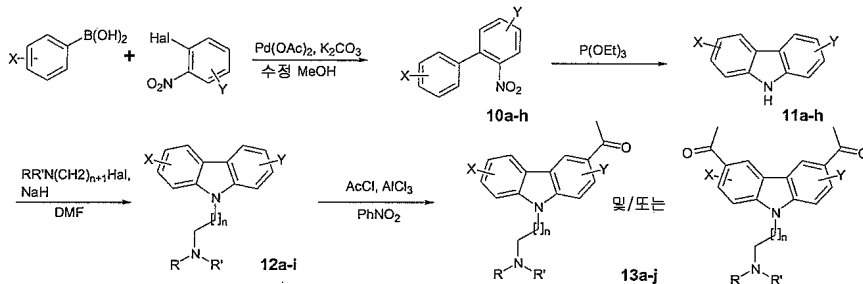
[0259] **3,6-비스(클로로프로피오닐)-9-N,N-디에틸아미노에틸카바졸(8)**

[0260] 니트로벤젠 2 mL 중의 1-N,N-디에틸아미노에틸카바졸(0.23 g, 0.86 mmol)의 용액을 얼음 욕에서 냉각시켰다. AlCl₃(0.57 g, 4.3 mmol) 및 3-클로로프로피오닐 클로라이드(0.4 mL, 4.2 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 밤새 교반하고(L-MS 모니터링), 수성 HCl로 희석시켰다. 생성물을 CHCl₃으로 추출하고, 여액을 증발시켰다. 잔류물을 빨리 짧은 실리카 겔 컬럼(CHCl₃/MeOH)에서 크로마토그래피에 의해 정제하여 이의 하이드로클로라이드로서 화합물 8 0.38 g(91%)을 얻었다.

[0261] **1,2,10,11-테트라하이드로-6-N,N-디메틸아미노에틸-6H-디사이클로펜타[c,g]카바졸-3,9-디온(9)**

[0262] 화합물 2(0.38 g, 0.79 mmol)를 98% H₂SO₄(3 mL) 중에 용해시켰다. 반응 혼합물을 95°C로 가열하고, 이 온도에서 2.5 h 기간 동안 정치시키고(TLC 모니터링, CHCl₃/MeOH, 4:1), 얼음에 부었다. 생성된 혼합물을 건조 Na₂CO₃으로 중화시키고 CHCl₃으로 추출하였다. 추출물을 증발시키고, 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(CHCl₃/MeOH)에 의해 정제하였다. 얻어진 미정제 생성물(0.08 g)을 MeOH 중에 용해시켰다. 디옥산 중의 4M HCl을 첨가하고, 혼합물을 증발시켰다. 잔류물을 MeOH 중에 현탁시키고, 현탁액을 환류시켰다. (고체는 공정에서 용해되지 않았다) 현탁액을 냉각시키고, 고체를 여과시켜 이의 하이드로클로라이드로서 화합물 9 0.007 g(2%)을 얻었다.

[0263] [반응식 6]



[0264]

[0265] **2-메틸-2'-니트로-1,1'-비페닐(10a)**

[0266] 2-메틸페닐보론산(0.64 g, 4.7 mmol) 및 2-니트로요오도벤젠(1.0 g, 4.0 mmol)을 MeOH(20 mL)와 물(4 mL)의 혼합물 중에 용해시켰다. K₂CO₃(1.1 g, 8.0 mmol) 및 Pd(OAc)₂(0.018 g, 0.08 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 아르곤에 의해 플라쉬 처리하고, 50°C로 가열하고, 이 온도에서 밤새 정치시키고, 셀라이트를 통해 여과시켰다. 이것을 MeOH로 세척하였다. 여액을 증발시키고, 잔류물을 추가로 정제하지 않고 사용하였다.

[0267] **4,4'-디메톡시-2-니트로-1,1'-비페닐(10h)**

[0268] 4-메톡시페닐보론산(3.00 g, 19.7 mmol) 및 4-클로로-3-니트로아니솔(3.69 g, 11.6 mmol)을 디옥산(40 mL)과 물(10 mL)의 혼합물 중에 용해시켰다. K₂CO₃(5.44 g, 23.2 mmol) 및 Pd(PPh₃)₄(1.14 g, 0.6 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 아르곤에서 80°C로 가열하고, 이 온도에서 밤새 정치시키고(TLC 모니터링: 헥산/에틸 아세테이트, 4:1), 냉각시키고, 셀라이트를 통해 여과시켰다. 이것을 CH₂Cl₂로 세척하고, 여액을 증발시켰다. 잔류물을 CH₂Cl₂ 중에 용해시키고, 용액을 증발시켜 미정제 비페닐 10h 6.0 g을 얻었고, 이것을 정제하지 않고 고리화하였다.

[0269] 유사한 절차를 이용하여 비페닐 10b-g를 얻었다.

[0270] **카바졸의 합성에 대한 일반적인 절차**

[0271] 미정제 비페닐 10을 (EtO)₃P 중에 용해시켰다. 반응 혼합물을 약 48 h 기간 동안 아르곤 유동 하에 125~140°C에서 유지시키고(TLC 모니터링: 헥산/에틸 아세테이트, 1:1), 물로 희석시켰다. 침전물을 여과시키고 Et₂O로 세척하였다. 침전물이 형성되지 않는 경우, 생성물을 에틸 아세테이트로 추출하고, 추출물을 증발시키고, 잔류물을 짧은 실리카 겔 컬럼(헥산/에틸 아세테이트)에서 정제하였다. 생성물 1 la-g의 수율을 표 5에 나타냈다.

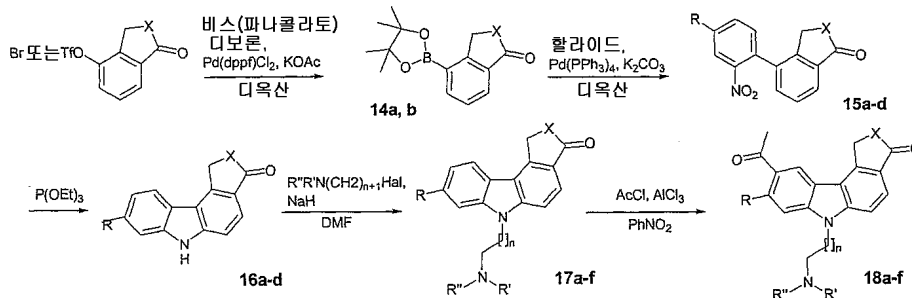
[0272] **2,7-디메톡시-9H-카바졸(11h)**

[0273] 반응을 바이알에서 수행하였다. 미정제 비페닐 10h(6.0 g)을 P(OEt)₃(36 mL) 중에 용해시켰다. 바이알을 아르곤에 의해 플러쉬 처리하였다. 반응 혼합물을 90°C로 가열하고, 이 온도에서 밤새 정치시키고, 냉각시켰다. 그 결과, 카바졸이 침전되었다. Et₂O/CH₂Cl₂ 혼합물을 첨가하였다. 침전물을 여과시키고 CH₂Cl₂로 세척하였다. 여액을 증발시켰다. P(OEt)₃을 다시 첨가하고, 혼합물을 고리화를 위해 24 h 동안 정치시켰다. 침전물 형성이 멈출 때까지 그리고 TLC가 출발 비페닐이 사라졌다는 것을 나타낼 때까지 이 작업을 반복하였다. 전체로, 카바졸 2.9 g을 얻었다(2단계에 대해 계산시 65%)

[0274] 화합물 11의 알킬화의 경우, 카바졸의 알킬화에 대한 일반적인 절차를 이용하였다. 화합물 12a-i의 수율을 표 1에 나타냈다.

[0275] 12의 아실화의 경우, 반응식 1에 기재된 것과 유사한 절차를 이용하였다. 그러나, 모노아세틸화의 경우 AcCl 및 AlCl₃의 양을 1.5 eq로 감소시켰다. 화합물 13a-j의 수율을 표 2에 나타냈다.

[0276] [반응식 7]



[0277]

[0278] 4,4,5,5-테트라메틸-2-(4-인다논-1-일)-[1,3,2]-디옥소보롤란(14a X=CH₂)

[0279] 4-트리플루오로메틸설포닐옥시-1-인다논(9.7 g, 34.6 mmol) 및 비스(피나콜라토)디보론(1.4 g, 45.0 mmol)을 디옥산(100 mL) 중에 용해시켰다. AcOK(6.8 g, 69.2 mmol) 및 Pd(dppf)₂Cl₂(1.3 g, 1.8 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 아르곤 유동 하에 80°C로 가열하고, 이 온도에서 밤새 정치시키고, 냉각시키고, 셀라이트를 통해 여과시켰다. 여액을 증발시켰다. 잔류물을 CH₂Cl₂ 중에 용해시키고 실리카 겔 컬럼(헥산/에틸 아세테이트)에서 정제하여 20%(집괴)의 비스(피나콜라토)디보론을 포함하는 생성물 9.5 g을 얻었다. 생성물을 추가로 정제하지 않고 다음 단계에 사용하였다.

[0280] 브로마이드로부터 보르산 에스테르를 동일한 방식으로 제조하였다. 비스(피나콜라토)디보론 1 eq를 사용하는 경우, 더 순수한 생성물을 얻었다.

[0281] 4,4,5,5-테트라메틸-2-[4-(2-메틸이소인돌리닌-1-온)-일]-[1,3,2]-디옥소보롤란(14b X = NMe)

[0282] 4-브로모-2-메틸이소인돌리닌-1-온(3.23 g, 14.3 mmol) 및 비스(피나콜라토)디보론(4.72 g, 18.6 mmol)을 디옥산(60 mL) 중에 용해시켰다. AcOK(2.80 g, 28.6 mmol) 및 Pd(dppf)₂Cl₂(0.5 g, 0.7 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 아르곤 유동 하에 80°C로 가열하고, 이 온도에서 밤새 정치시키고, 냉각시키고, 셀라이트를 통해 여과시켰다. 여액을 증발시켰다. 잔류물을 CH₂Cl₂ 중에 용해시키고 짧은 실리카 겔 컬럼(헥산/에틸 아세테이트)에서 정제하여 20%(집괴)의 비스(피나콜라토)디보론을 포함하는 생성물 4.2 g을 얻었다. 생성물을 추가로 정제하지 않고 다음 단계에 사용하였다.

[0283] 비페닐 15a(X=CH₂, R=H)

[0284] 4,4,5,5-테트라메틸-2-(4-인다논-1-일)-[1,3,2]-디옥소보롤란(2.17 g, 8.4 mmol) 및 o-니트로요오도벤젠(2.70 g, 10.9 mmol)을 디옥산(30 mL)과 물(5 mL)의 혼합물 중에 용해시켰다. K₂CO₃(2.30 g, 16.7 mmol) 및 Pd(PPh₃)₄(0.48 g, 0.4 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 아르곤 유동 하에 80°C로 가열하고, 이 온도에서 24 h 기간 동안 정치시키고(TLC 모니터링: 헥산/에틸 아세테이트, 4:1), 냉각시키고, 셀라이트를 통해 여과시켰다. 여액을 증발시켰다. 잔류물을 CH₂Cl₂ 중에 용해시켰다. 비용해 침전물을 여과시켰다. 여액을 부분적으로 증발시키고, 생성물을 짧은 실리카 겔 컬럼(헥산/에틸 아세테이트)에서 정제하여 PPh₃O를 포함하는 생성물 2.5 g을 얻

었다. 생성물을 추가로 정제하지 않고 고리화하였다.

[0285] 비페닐 15b(X=CH₂, R=OMe)

[0286] 4,4,5,5-테트라메틸-2-(4-인다논-1-일)-[1,3,2]-디옥소보롤란(1.20 g, 4.6 mmol) 및 o-니트로요오도벤젠(0.87 g, 4.6 mmol)을 디옥산(10 mL)과 물(2 mL)의 혼합물 중에 용해시켰다. K₂CO₃(1.28 g, 9.2 mmol) 및 Pd(PPh₃)₄(0.27 g, 0.2 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 아르곤 유동 하에 80℃로 가열하고, 이 온도에서 24 h 기간 동안 정치시키고(TLC 모니터링: 헥산/에틸 아세테이트, 4:1), 냉각시키고, 셀라이트를 통해 여과시켰다. 여액을 증발시켰다. 잔류물을 CH₂Cl₂ 중에 용해시켰다. 비용해 침전물을 여과시켰다. 여액을 부분적으로 증발시키고, 생성물을 짧은 실리카 겔 컬럼(헥산/에틸 아세테이트)에서 정제하여 PPh₃O를 포함하는 생성물 1.25 g을 얻었다. 생성물을 추가로 정제하지 않고 고리화하였다.

[0287] 비페닐 15c(X= NMe, R=H)

[0288] 4,4,5,5-테트라메틸-2-[4-(2-메틸이소인돌리닌-1-온)-일]-[1,3,2]-디옥소보롤란(2.43 g, 8.9 mmol) 및 o-니트로요오도벤젠(2.44 g, 9.80 mmol)을 디옥산(30 mL)과 물(6 mL)의 혼합물 중에 용해시켰다. K₂CO₃(2.50 g, 18.1 mmol) 및 Pd(PPh₃)₄(0.51 g, 0.4 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 아르곤 유동 하에 80℃로 가열하고, 이 온도에서 24 h 기간 동안 정치시키고(TLC 모니터링: 헥산/에틸 아세테이트, 4:1), 냉각시키고, 셀라이트를 통해 여과시켰다. 여액을 증발시켰다. 잔류물을 CH₂Cl₂ 중에 용해시켰다. 비용해 침전물을 여과시켰다. 여액을 부분적으로 증발시키고, 생성물을 짧은 실리카 겔 컬럼(헥산/에틸 아세테이트)에서 정제하여 PPh₃O를 포함하는 생성물 2.3 g을 얻었다. 생성물을 추가로 정제하지 않고 고리화하였다.

[0289] 비페닐 15d(X= NMe, R=OMe)

[0290] 4,4,5,5-테트라메틸-2-[4-(2-메틸이소인돌리닌-1-온)-일]-[1,3,2]-디옥소보롤란(0.97 g, 3.6 mmol) 및 4-클로로-3-니트로아니솔(0.67 g, 3.6 mmol)을 디옥산(10 mL)과 물(2 mL)의 혼합물 중에 용해시켰다. K₂CO₃(0.98 g, 7.2 mmol) 및 Pd(PPh₃)₄(0.21 g, 0.2 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 아르곤 유동 하에 80℃로 가열하고, 이 온도에서 24 h 기간 동안 정치시키고(TLC 모니터링: 헥산/에틸 아세테이트, 4:1), 냉각시키고, 셀라이트를 통해 여과시켰다. 여액을 증발시켰다. 잔류물을 CH₂Cl₂ 중에 용해시켰다. 비용해 침전물을 여과시켰다. 여액을 부분적으로 증발시키고, 생성물을 짧은 실리카 겔 컬럼(헥산/에틸 아세테이트)에서 정제하여 PPh₃O를 포함하는 생성물 0.76 g을 얻었다. 생성물을 추가로 정제하지 않고 고리화하였다.

[0291] 카바졸 16a(X=CH₂, R=H)

[0292] 반응을 바이알에서 수행하였다. 4-(2-니트로페닐)인다논-1(2.54 g, 10.0 mmol)을 P(OEt)₃(8 mL) 중에 용해시켰다. 바이알을 아르곤에 의해 플러쉬 처리하였다. 반응 혼합물을 90℃로 가열하고, 이 온도에서 밤새 정치시키고, 냉각시켰다. 그 결과, 카바졸이 침전되었다. CH₂Cl₂를 첨가하였다. 침전물을 여과시키고 CH₂Cl₂로 세척하였다. 여액을 증발시켰다. P(OEt)₃(2 mL)을 다시 첨가하고, 혼합물을 고리화를 위해 24 h 동안 정치시켰다. 침전물 형성이 멈출 때까지 그리고 TLC가 출발 비페닐이 사라졌다는 것을 나타낼 때까지 이 작업을 반복하였다. 전체로, 카바졸 0.58 g을 얻었다.

[0293] 카바졸 16b(X=CH₂, R=OMe)

[0294] 반응을 바이알에서 수행하였다. 4-(4-메톡시-2-니트로페닐)-인다논-1(1.25 g, 4.4 mmol)을 P(OEt)₃(8 mL) 중에 용해시켰다. 바이알을 아르곤에 의해 플러쉬 처리하였다. 반응 혼합물을 90℃로 가열하고, 이 온도에서 밤새 정치시키고, 냉각시켰다. 그 결과, 카바졸이 침전되었다. CH₂Cl₂를 첨가하였다. 침전물을 여과시키고 CH₂Cl₂로 세척하였다. 여액을 증발시켰다. P(OEt)₃(1 mL)을 다시 첨가하고, 혼합물을 고리화를 위해 24 h 동안 정치시켰다. 침전물 형성이 멈출 때까지 그리고 TLC가 출발 비페닐이 사라졌다는 것을 나타낼 때까지 이 작업을 반복하였다. 전체로, 카바졸 0.39 g을 얻었다.

[0295] 카바졸 16c(X=NMe, R=H)

[0296] 반응을 바이알에서 수행하였다. 4-(2-니트로페닐)-2-메틸이소이놀린-1-온(2.29 g, 8.5 mmol)을 P(OEt)₃(10 mL) 중에 용해시켰다. 바이알을 아르곤에 의해 플러쉬 처리하였다. 반응 혼합물을 90℃로 가열하고, 이 온도에서 밤새 정치시키고, 냉각시켰다. 그 결과, 카바졸이 침전되었다. CH₂Cl₂를 첨가하였다. 침전물을 여과시키고 CH₂Cl₂로 세척하였다. 여액을 증발시켰다. P(OEt)₃(0.5 mL)을 다시 첨가하고, 혼합물을 고리화를 위해 24 h 동안 정치시켰다. 침전물 형성이 멈출 때까지 그리고 TLC가 출발 비페닐이 사라졌다는 것을 나타낼 때까지 이 작업을 반복하였다. 전체로, 카바졸 0.4 g을 얻었다.

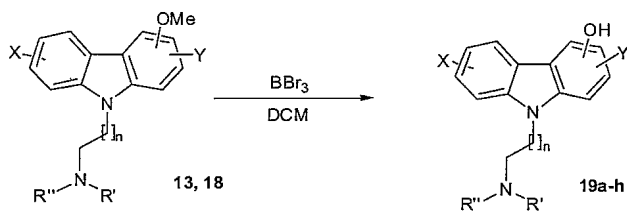
[0297] 카바졸 16d(X=NMe, R=OMe)

[0298] 반응을 바이알에서 수행하였다. 4-(4-메톡시-2-니트로페닐)-2-메틸이소이놀린-1-온(0.76 g, 2.6 mmol)을 P(OEt)₃(6 mL) 중에 용해시켰다. 바이알을 아르곤에 의해 플러쉬 처리하였다. 반응 혼합물을 90℃로 가열하고, 이 온도에서 밤새 정치시키고, 냉각시켰다. 그 결과, 카바졸이 침전되었다. CH₂Cl₂를 첨가하였다. 침전물을 여과시키고 CH₂Cl₂로 세척하였다. 여액을 증발시켰다. P(OEt)₃(0.5 mL)을 다시 첨가하고, 혼합물을 고리화를 위해 24 h 동안 정치시켰다. 침전물 형성이 멈출 때까지 그리고 TLC가 출발 비페닐이 사라졌다는 것을 나타낼 때까지 이 작업을 반복하였다. 전체로, 카바졸 0.34 g을 얻었다.

[0299] 16의 알킬화의 경우, 카바졸의 알킬화에 대한 일반적인 절차를 이용하였다. 생성물 17a-f의 수율을 표 1에 나타냈다.

[0300] 17의 아실화의 경우, 반응식 1에 기재된 것과 유사한 절차를 이용하였다. 생성물 18a-d의 수율을 표 2에 나타냈다.

[0301] [반응식 8]

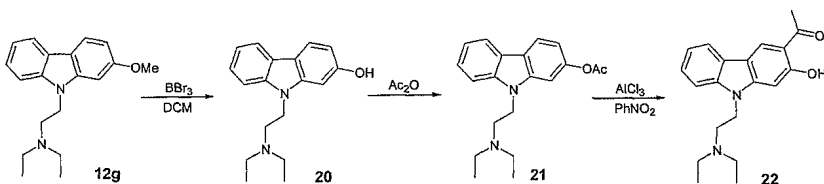


[0302]

[0303] 디메틸화에 대한 일반적인 절차

[0304] 메톡시 화합물을 CH₂Cl₂ 중에 용해시켰다. 용액을 -40℃로 냉각시켰다. DCM 중의 BBr₃의 0.5 M 용액(1개의 메톡시 시기에 대해, 4 eq)을 아르곤 유동 하에 첨가하였다. 10 min 후, 냉각 욕을 제거하였다. 반응 혼합물을 실온으로 가열하고, 1 h 기간 동안 정치시키고(TLC 모니터링, CHCl₃/MeOH, 4:1), 수성 NaHCO₃과 CH₂Cl₂의 혼합물에 부었다. 유기층을 분리시키고, 수성층을 CH₂Cl₂로 한번 더 추출하였다. 합한 추출물을 Na₂SO₄로 건조시키고 증발시켰다. 생성물을 컬럼 크로마토그래피(CHCl₃/MeOH)에 의해 정제하였다. 생성물 19a-h의 수율을 표 6에 나타냈다.

[0305] [반응식 9]



[0306]

[0307] 2-히드록시-9-N,N-디에틸아미노에틸카르바졸(20)

[0308] 2-메톡시-9-N,N-디에틸아미노에틸카르바졸 12g을 CH₂Cl₂(10 mL) 중에 용해시켰다. 용액을 -40℃로 냉각시켰다. BBr₃ DCM(6 mL, 3.00 mmol)의 0.5 M 용액을 아르곤 유동 하에 첨가하였다. 그 결과, 오렌지색 현탁액이 형성되었다. 반응 혼합물을 실온으로 가열하고, 1.5 h 기간 동안 정치시키고, 수성 NaHCO₃과 CH₂Cl₂의 혼합물에

부었다. 유기층을 분리시키고, 수성층을 CH₂Cl₂로 한번 더 추출하였다. 합한 추출물을 Na₂SO₄로 건조시키고 증발시켰다. 생성물을 컬럼 크로마토그래피(CHCl₃/MeOH)에 의해 정제하여 생성물 0.176 g(92%)을 얻었다.

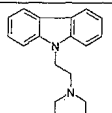
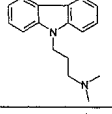
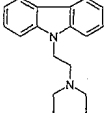
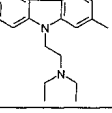
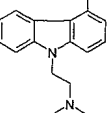
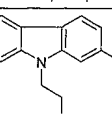
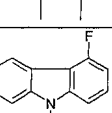
[0309] **2-아세톡시-9-N,N-디에틸아미노에틸카르바졸(21)**

[0310] Ac₂O(2 mL) 중의 화합물 20(0.176 g, 0.62 mmol)의 용액을 30 min 기간 동안 환류시키고 물에 부었다. 생성된 혼합물을 NaHCO₃으로 중화시키고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 추출물을 증발시켜 생성물 0.16 g(79%)을 얻었다.

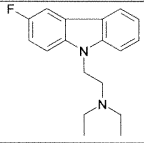
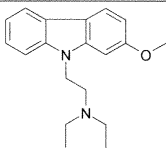
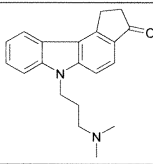
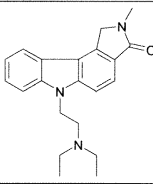
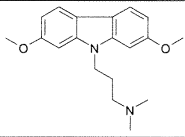
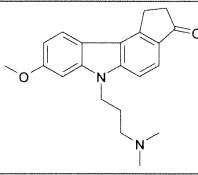
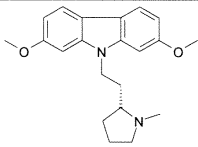
[0311] **3-아세틸-2-히드록시-9-N,N-디에틸아미노에틸카르바졸(22)**

[0312] 화합물 21(0.16 g, 0.49 mmol)을 PhNO₂(2 mL) 중에 용해시키고, AlCl₃(0.1 g, 0.75 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 오일 욕 내에서 100℃로 가열하고, 이 온도에서 2 h 기간 동안 정치시키고, 물로 희석시키고, Na₂CO₃으로 중화시키고, HCl₃으로 추출하였다. 추출물을 증발시켰다. 잔류물을 짧은 실리카 겔 컬럼(CHCl₃/MeOH)에서 크로마토그래피에 의해 정제하여 화합물 22 0.044 g(28%)을 얻었다.

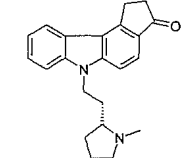
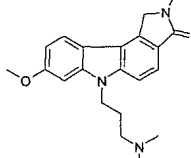
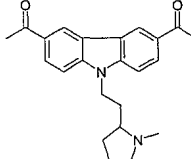
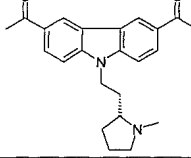
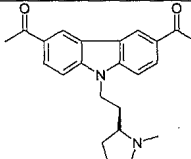
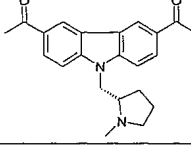
[0313] [표 1] 카바졸의 알킬화

		수율
2a		100%
2b		100%
12a		47%
12b		98% ^a
12c		59% ^a
12d		~25% ^b
12e		39% ^c

[0314]

12f		91%
12g		91% ^a
17a		31%
17b		28%
12h^d		100%
17c		67%
12i^d		100%

[0315]

17d		42%
17e		32%
3c		64%
3d		78%
3e		80%
3f		73%

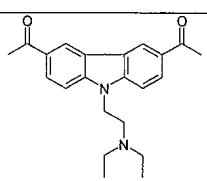
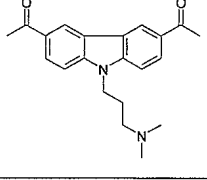
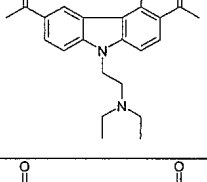
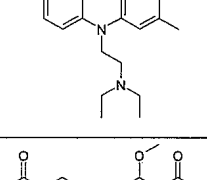
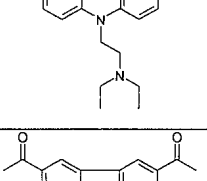
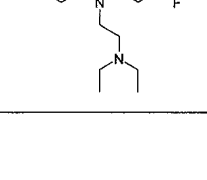
^a DMF 포함. ^b 수율은 정확하지 않음. 미정제 카바졸을 제조하기 위해 사용하였다.

^c 하이드로클로라이드를 통한 정제.

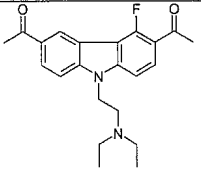
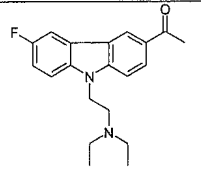
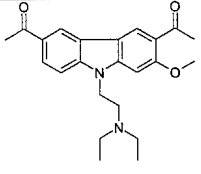
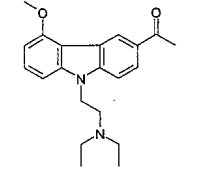
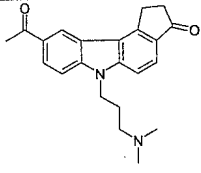
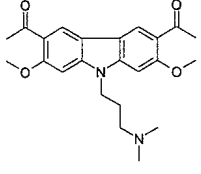
^d 반응 혼합물을 물로 희석한 직후 결정질 물질로서 단리하였다.

[0316]

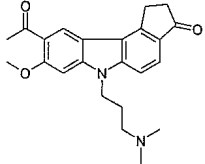
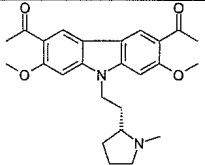
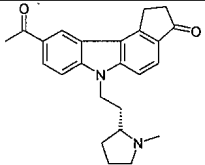
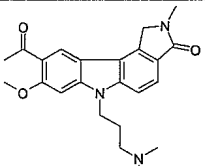
[0317] [표 2] 알킬화 카바졸의 아실화

		수율
3a		57%
3b		64%
13a		55%
13b		31%
13c		63%
13d		92%

[0318]

13e		88%
13f		95%
13g		69%
13h		57% ^a
18a		33%
13i		74%

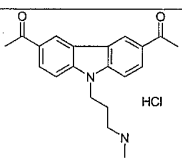
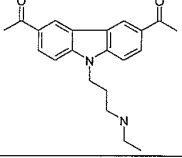
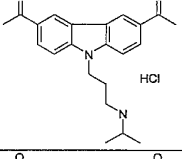
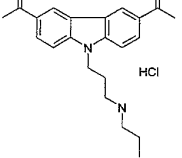
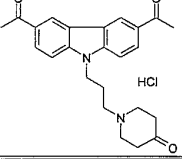
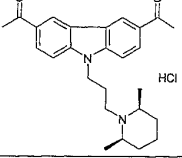
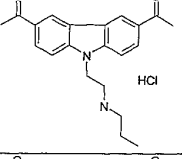
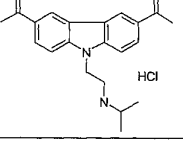
[0319]

18b		b
13j		48%
18c		46% ^a
18d		81%

^a HPLC 정제 후. ^b 출발 화합물과의 혼합물을 단리시키고 추가로 분리하지 않고 사용하였다.

[0320]

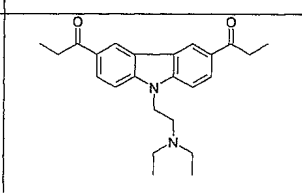
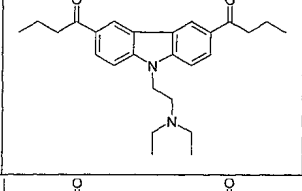
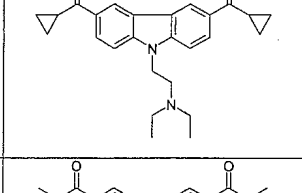
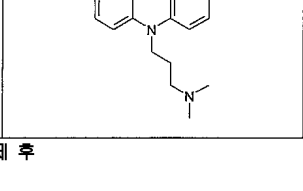
[0321] [표 3] 브로모알킬디아세틸카르바졸에 의한 카르바졸의 알킬화

		수율
6a		78%
6b		96%
6c		73%
6d		77%
6e		41%
6f		54%
6g		54%
6h		46%

[0322]

[0323]

[표 4]

		수율
7a		32%
7b		54%
7c		14% ^a
7d		64%

^a HPLC 정제 후

[0324]

[0325]

[표 5]

	붕소산	할라이드	비페닐	카바졸	수율(할라이드에 대해 계산됨)
11a					35%
11b ^a					39%
11c					82%
11d					b
11e					37%
11f					16% ^c
11g ^a					48%

^a 결정으로서 침전됨. ^b 생성물은 (EtO)₃PO를 포함하였고, 추가로 정제하지 않고 사용하였다.
^c 표적 위치 이성체의 수율만을 기재하였다.

[0326]

[0327] [표 6]

		수율
19a		43%
19b		23% ^a
19c		29% ^b
19d		34% ^b
19e		10% ^a
19f		23% ^c

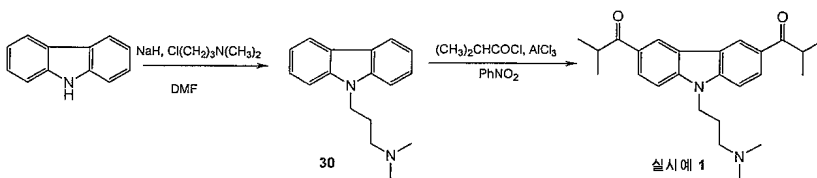
^aHPLC정제 후. ^b혼합물에 의한 작업후 얻고 HPLC에 의해 분리하였다.

^c하이드로클로라이드를 통한 정제.

[0328]

[0329] [실시예]

[0330] 실시예 1



[0331]

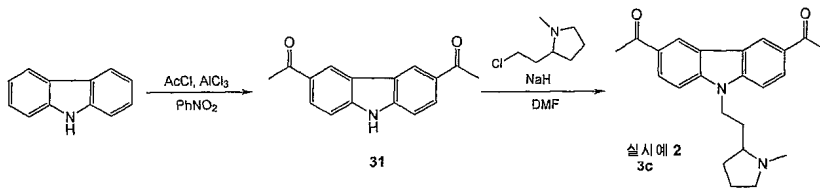
[0332] [3-(9H-카르바졸-9-일)프로필)디메틸아민(30).

[0333] 카바졸 3.0 g(18.0 mmol)을 DMF(20 mL) 중에 용해시켰다. 이후, 파라핀 중의 60% NaH(2.5 g, 62.5 mmol)를 첨가하고 혼합물을 10 min 동안 교반하였다. 2-N,N-디메틸아미노프로필 클로라이드 3.0 g(19.0 mmol)을 분액으로 첨가하고 이때 온도가 45~50℃로 상승하였다. 반응 혼합물을 이 온도에서 2.5 h 동안 유지시켰다(TLC 모니터링, CHCl₃/MeOH, 9:1). 얻어진 집괴를 얼음/물 혼합물 중에 조심스럽게 붓고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 추출물을 Na₂SO₄로 건조시키고 증발시켜 갈색의 유동 오일로서 화합물 30(4.8 g, 100%)을 얻었다.

[0334] 1,1'-{9-[3-(디메틸아미노)프로필]-9H-카바졸-3,6-디일}비스(2-메틸프로판-1-온)(실시예 1).

[0335] 화합물 30(0.25 g, 1.0 mmol)을 니트로벤젠(5 mL) 중에 용해시켰다. AlCl₃(0.6 g, 4.5 mmol) 및 이후 이소부티로일 클로라이드(0.6 mL, 5.7 mmol)를 분액으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 40 min 동안 교반하였다(LC/MS 모니터링). 얻어진 혼합물을 얼음/물 혼합물에 붓고 CHCl₃로 추출하였다. 합한 추출물을 증발시키고 잔류물을 짙고 두꺼운 실리카 겔 컬럼(용리제: CHCl₃/MeOH 99:1→90:10)에서 크로마토그래피에 의해 정제하여 생성물 0.189 g(47%)을 얻었다. ¹H NMR (DMSO-d₆): δ 1.20 (12H, d, J = 6.7 Hz); 1.90-1.97 (2H, m); 2.11 (6H, s); 2.18 (2H, t, J = 6.7 Hz); 3.91 (2H, septet, J = 6.7 Hz), 4.50 (2H, t, J = 6.6 Hz); 7.76 (2H, d, J = 8.7 Hz); 8.14 (2H, dd, J = 8.7 Hz, J = 1.5 Hz); 9.11 (2H, d, J = 1.5 Hz). ELS: 100%, ESI-MS: m/z 392 [M+H]⁺.

[0336] **실시예 2**



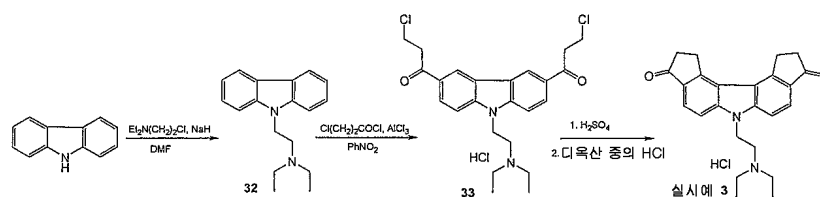
[0337] 1,1'-{9H-카바졸-3,6-디일}디에탄논(31).

[0339] 카바졸(16.9 g, 0.1 mol)을 니트로벤젠(300 mL) 중에 용해시켰다. 무수 AlCl₃(54.0 g, 0.4 mol)을 얼음 욕에서 교반 하에 첨가하였다. 이후, AcCl(55.5 g, 0.7 mol)을 천천히 적하하였다. 반응 혼합물을 교반 하에 실온으로 가온시키고 13 h 동안 유지시켰다. 물(500 mL)을 격렬한 발포를 피하기 위해 얼음 욕에서 냉각 하에 소량 분액으로 첨가하였다. 빙육을 제거하고 혼합물을 콘덴서에 의해 2 h 동안 환류시켰다. 생성물을 클로로포름(3×150 mL)으로 추출하였다. 합한 추출물을 NaHCO₃ 및 NaCl의 포화 용액으로 순차적으로 세척하고 무수 Na₂SO₄로 건조시키고 증발시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(실리카 겔, CHCl₃-MeOH)에 의해 정제하여 12.5 g(50%)을 얻었다.

[0340] 1,1'-{9-[2-(1-메틸피롤리딘-2-일)에틸]-9H-카바졸-3,6-디일}디에탄논(실시예 2, 3c).

[0341] 디아세틸 유도체 31(0.97 g, 3.86 mmol)을 DMF(7 mL) 중에 용해시켰다. NaH(0.54 g, 13.5 mmol)를 첨가하고 혼합물을 실온에서 3-5 min 동안 교반하였다. 2-(2-클로로에틸)-1-메틸피롤리딘 하이드로클로라이드(1.07 g, 5.8 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 60°C에서 24 h 동안 교반하였다(TLC 모니터링, CHCl₃/MeOH, 9:1), 물로 희석시키고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 추출물을 Na₂SO₄로 건조시키고 증발시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(실리카 겔, CHCl₃/MeOH 99:1→90:10)에 의해 정제하여 생성물 0.90 g(64%)을 얻었다. ¹H NMR (DMSO-d₆): δ 1.41-1.49 (1H, m); 1.54-1.73 (3H, m); 1.76-1.85 (1H, m); 1.97-2.13 (3H, m); 2.14 (3H, s); 2.70 (6H, s); 2.86-2.93 (1H, m); 4.46-4.50 (2H, m); 7.72 (2H, d, J = 8.8 Hz); 8.12 (2H, dd, J = 8.8 Hz, J = 1.6 Hz); 9.04 (2H, d, J = 1.6 Hz). ELS: 100%, ESI-MS: m/z 363 [M+H]⁺.

[0342] **실시예 3**



[0343] [2-(9H-카바졸-9-일)에틸]디에틸아민(32).

[0345] 카바졸(10.0 g, 59.8 mmol)을 DMF(60 mL) 중에 용해시켰다. 이후, 파라핀 중의 60% NaH(7.2 g, 180.0 mmol)를

분액으로 첨가하였다. 혼합물을 10 min 동안 교반하였다. 2-N,N-디에틸아미노에틸 클로라이드 하이드로클로라이드(10.5 g, 61.0 mmol)를 분액으로 첨가하고 이때 온도가 50°C로 상승하였다. 반응 혼합물을 이 온도에서 2.5 h 동안 유지시켰다(TLC 모니터링, 헥산/에틸 아세테이트 4:1). 생성된 집괴를 얼음/물 혼합물 중에 조심스럽게 붓고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 추출물을 Na₂SO₄로 건조시키고 증발시켜 갈색의 유동 오일로서 화합물 1(16.0 g, 100%)을 얻었다.

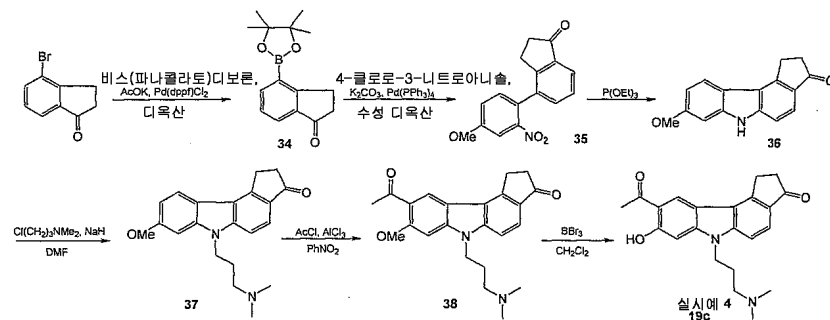
[0346] 1,1'-(9-[2-(디에틸아미노)에틸]-9H-카바졸-3,6-디일)비스(3-클로로프로판-1-온) 하이드로클로라이드(33).

[0347] 니트로벤젠(150 mL) 중의 화합물 32(17.9 g, 67.3 mmol)의 용액을 얼음 욕에서 냉각시켰다. AlCl₃(45.0 g, 337.1 mmol)을 분액으로 첨가하였다. 이후, 3-클로로프로피오닐 클로라이드(32.4 mL, 336.7 mmol)를 10 min 동안 적하하였다. 반응 혼합물을 40 min 동안 교반하고(LC/MS 모니터링), 얼음과 희석 HCl의 혼합물에 붓고, CHCl₃으로 추출하였다. 추출물을 증발시켰다. 잔류물을 두껍고 짧은 컬럼(실리카 겔, CHCl₃/MeOH 99:1→90:10)에서 크로마토그래피에 의해 정제하여 하이드로클로라이드 33 22.9 g(76.3%)을 얻었다.

[0348] 6-[2-(디에틸아미노)에틸]-10,11-디하이드로-1H-디사이클로펜타[c,g]카르바졸-3,9 (2H,6H)-디온 하이드로클로라이드(실시예 3).

[0349] 하이드로클로라이드 2(22.9 g, 51.3 mmol)를 98% H₂SO₄(150 mL) 중에 용해시켰다. 용액을 80°C에서 4 h 동안 유지시키고(TLC 모니터링, CHCl₃/MeOH 4:1), 얼음에 부었다. 생성된 혼합물을 Na₂CO₃으로 중화시키고 CHCl₃으로 추출하였다. 추출물을 증발시켰다. 잔류물을 짧고 두꺼운 컬럼(실리카 겔, CHCl₃/MeOH 99:1→90:10)에서 크로마토그래피에 의해 정제하고 MeOH로부터 재결정화하여 생성물 0.562 g(3%)을 얻었다. 이것을 CH₂Cl₂ 중에 용해시키고 디옥산 중의 HCl을 첨가하고 혼합물을 증발 건조시켰다. 잔류물을 에테르로 세척하고 건조시켜 하이드로클로라이드 0.6358 g을 얻었다. ¹H NMR (DMSO-d₆): δ 1.26 (6H, t, J = 7.4 Hz); 2.77-2.80 (4H, m); 3.42-3.47 (2H, m); 3.23-3.34 (4H, m); 3.83-3.85 (4H, m); 5.88 (2H, t, J = 7.8 Hz); 7.84 (2H, d, J = 8.6 Hz); 7.97 (2H, d, J = 8.6 Hz); 10.75 (1H, br. s). ELSD: 100%, ESI-MS: m/z 375 [M+H]⁺.

[0350] 실시예 4



[0351] 4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)인단-1-온(34).

[0352] 아세트산칼륨(17.8 g, 181.6 mmol) 및 Pd(dppf)Cl₂(3.3 g, 4.5 mmol)를 디옥산(300 mL) 중의 4-브로모-1-인단론(19.3 g, 91.5 mmol) 및 비스(피나콜라토)디보론(23.2 g, 91.3 mmol)의 용액에 첨가하였다. 혼합물을 아르곤 하에 80°C로 가열하고 이 온도에서 16 h 동안 정치시키고 냉각시키고 셀라이트를 통해 여과시키고 증발시켰다. 잔류물을 CH₂Cl₂ 중에 용해시켰다. 생성물을 실리카 겔(용리제: 헥산-에틸 아세테이트 100: 0→50: 50)을 갖는 짧고 두꺼운 컬럼에서 정제하였다. 34의 수율: 23.4 g. 비스(피나콜라토)디보론(약 7 몰%)을 포함하는 생성물을 추가로 정제하지 않고 다음 단계에서 사용하였다.

[0353] 4-(4-메톡시-2-니트로페닐)인단-1-온(35).

[0354] 탄산칼륨(7.5 g, 54.3 mmol) 및 Pd(PPh₃)₄(1.6 g, 1.4 mmol)를 디옥산(80 mL)과 물(20 mL)의 혼합물 중의 4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)인단-1-온 34(7.0 g, 27.1 mmol) 및 4-클로로-3-니트로아니솔(5.1 g, 27.1 mmol)의 용액에 첨가하였다. 얻어진 혼합물을 아르곤 하에 80°C로 가열하고 이 온도에서 16 h 동안 정치시키고(TLC 모니터링, 용리제: 헥산-에틸 아세테이트, 1:1), 냉각시키고 셀라이트를 통해 여과시키고 증

발시키고 CH_2Cl_2 중에 용해시켰다. 이후, 혼합물을 불용성 분액으로부터 여과시키고 실리카 겔에 의해 증발시키고 실리카 겔(용리제: 헥산- CH_2Cl_2 100:0→0:100, CH_2Cl_2 -에틸 아세테이트 100:0→50:50)을 갖는 짧고 두꺼운 컬럼에서 정제하였다. 35의 수율: 5.59 g. 생성물을 추가로 정제하지 않고 다음 단계에서 사용하였다.

[0356] **8-메톡시-1,6-디하이드로사이클로펜타[c]카르바졸-3(2H)-온(36).**

[0357] 얻어진 비페닐 35(5.59 g)를 5개 분액(각각 1.11 g)으로 나누고, 이후 (7 mL마다) $\text{P}(\text{OEt})_3$ 을 각 분액에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 플라스크 내에서 아르곤 취입하고 90°C 이하로 가열하고 이 온도에서 3일 동안 정치시키고 냉각시켰다. 카바졸을 침전시켰다. 이후, 반응 혼합물을 에테르로 희석시키고, 침전물을 여과시키고 CH_2Cl_2 로 세척하였다. 초기 비페닐이 여액 내에 잔류하면(TLC 모니터링, 용리제: 헥산-에틸 아세테이트, 1:1), 이 여액을 증발시키고 (각 플라스크로 1 mL마다) $\text{P}(\text{OEt})_3$ 을 첨가하였다. 혼합물을 1일 동안 반복 고리화하였다. 침전이 멈추고 TLC 데이터가 초기 비페닐이 부재하였다는 것을 보여줄 때까지 절차를 반복하였다. 카바졸 36의 전체 수율: 2.16 g.

[0358] **6-[3-(디메틸아미노)프로필]-8-메톡시-1,6-디하이드로사이클로펜타[c]카르바졸-3(2H)-온(37).**

[0359] 화합물 36(1.0 g, 3.98 mmol)을 CH_2Cl_2 (10 mL) 중에 현탁시켰다; NaH (0.75 g, 12.0 mmol, 3 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 5~10 min 동안 교반하고, 이후 3-디메틸아미노-1-프로필 클로라이드 하이드로클로라이드(0.75 g, 4.74 mmol, 1.2 eq)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 70°C 로 가열하고 이 온도에서 2 h 동안 정치시켰다(TLC 모니터링, 용리제: CH_2Cl_2 -에틸 아세테이트, 1:1 - 초기 카바졸의 존재, CHCl_3 -MeOH, 9:1 - 생성물의 순도). 생성된 혼합물을 물로 희석시키고 에틸 아세테이트로 추출하고 증발시키고 실리카 겔(용리제: CHCl_3 -MeOH 99:1→90:10)을 갖는 짧고 두꺼운 컬럼에서 정제하였다. 37의 수율: 0.84 g(63%).

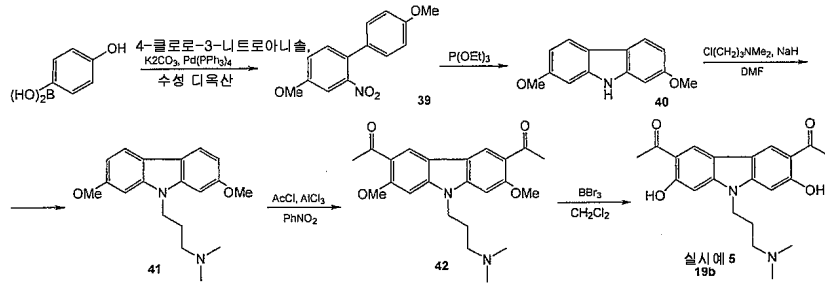
[0360] **9-아세틸-6-[3-(디메틸아미노)프로필]-8-메톡시-1,6-디하이드로사이클로펜타[c]카르바졸-3(2H)-온(38).**

[0361] PhNO_2 (20 mL) 중의 화합물 37(0.84 g, 2.51 mmol)의 용액을 얼음 욕에서 냉각시켰다. 이후, AlCl_3 (1.7 g, 12.7 mmol, 5 eq)을 첨가하고, 그후 AcCl (0.9 mL, 12.7 mmol, 5 eq)을 첨가하였다. 혼합물을 40 min 동안 유지시키고(LC/MS 모니터링), 물로 희석시키고 Na_2CO_3 으로 중화시키고 CHCl_3 으로 추출하고 증발시켰다. 생성물을 짧고 두꺼운 컬럼(용리제: CHCl_3 -MeOH 99:1→90:10)에서 정제하였다. 38의 수율: 0.658 g(69%).

[0362] **9-아세틸-6-[3-(디메틸아미노)프로필]-8-히드록시-1,6-디하이드로사이클로펜타[c]카르바졸-3(2H)-온(실시예 4; 19c).**

[0363] BBr_3 (16.5 mL, 5 eq)의 0.5 M 용액을 아르곤 하에 -40°C 로 냉각된 CH_2Cl_2 (100 mL) 중의 화합물 38(0.658 g, 1.74 mmol)의 용액에 적하하였다. 혼합물을 10 min 동안 유지시키고, 이후 빙육을 제거하고 혼합물을 실온으로 가열하고 1~2 h 동안 유지시켰다(TLC 모니터링, 용리제: CHCl_3 / NH_3 -MeOH, 9:1). 생성된 혼합물을 수성 NaHCO_3 용액과 CH_2Cl_2 의 혼합물에 부었다. 유기층을 분리시키고, 수성층을 CH_2Cl_2 로 추출하고 Na_2SO_4 로 건조시키고 증발시키고 혼합물(CHCl_3 -MeOH-물(40:9:1)) 중에 용해시켰다. 생성물을 용리제로서 상기 혼합물을 사용하여 실리카 겔 컬럼에서 정제하였다. 실시예 4의 수율: 0.258 g(41%). 하이드로클로라이드의 제조를 위해, 분리된 생성물을 혼합물(CH_2Cl_2 -MeOH) 중에 용해시키고, 디옥산 중의 HCl의 용액을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 증발 건조시키고, 잔류물을 에테르로 세척하였다. ^1H NMR 스펙트럼(DMSO- d_6): δ 2.14-2.20 (2H, m); 2.70 (6H, d, J = 4.9 Hz); 2.78-2.81 (2H, m); 3.12-3.17 (2H, m); 3.60-3.62 (2H, m); 4.51 (2H, t, J = 7.1 Hz); 7.28 (1H, s); 7.73 (2H, s 축퇴성 AB 시스템); 8.55 (1H, s); 10.40 (1H, br. s); 12.76 (1H, s). ELSD: 100%, ESI-MS: m/z 364 [M+H]⁺.

[0364] **실시예 5**



[0365]

[0366] **4,4'-디메톡시-2-니트로비페닐(39)**

[0367] 탄산칼륨(9.10 g, 65.9 mmol) 및 Pd(PPh₃)₄(1.90 g, 1.6 mmol)를 디옥산(80 mL)과 물(20 mL)의 혼합물 중에 4-메톡시페닐보론산(5.0 g, 32.9 mmol) 및 4-클로로-3-니트로아니졸(6.17 g, 32.9 mmol)의 용액에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 아르곤 하에 80℃로 가열하고 이 온도에서 16 h 동안 정치시키고(TLC 모니터링, 용리제: 헥산-에틸 아세테이트, 4:1), 냉각시키고 셀라이트를 통해 여과시켰다. 생성물을 CH₂Cl₂로 세척하였다. 잔류물을 CH₂Cl₂ 중에 용해시키고 짧고 두꺼운 컬럼(용리제: 헥산-CH₂Cl₂ 100:0→0:100, CH₂Cl₂-에틸 아세테이트 100:0→50:50)에서 정제하였다. 1의 수율: 8.47 g.

[0368] **2,7-디메톡시-9H-카바졸(40)**

[0369] 화합물 39(8.47 g)를 8 분획(각각 1.06 g)으로 나눴다. 이후, (7 mL마다) P(OEt)₃을 각 분액에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 아르곤 취입하고 90℃로 가열하고 이 온도에서 3일 동안 정치시키고 냉각시키고 에테르로 희석시켰다. 얻어진 침전물을 여과시키고 CH₂Cl₂로 세척하였다. 카바졸 40의 수율: 3.33 g.

[0370] **[3-(2,7-디메톡시-9H-카바졸-9-일)프로필]디메틸아민(40)**

[0371] 화합물 40(0.7 g, 3.1 mmol)을 DMF(6 mL) 중에 현탁시켰다. 수소화나트륨(0.4 g, 10.0 mmol)을 첨가하고 혼합물을 실온에서 5~10 min 동안 교반하였다. 이후, 3-디메틸아미노-1-프로필 클로라이드 하이드로클로라이드(0.73 g, 4.6 mmol)를 첨가하였다. 얻어진 혼합물을 50~60℃로 가열하고 이 온도에서 16 h 동안 정치시키고(TLC 모니터링, 용리제: CH₂Cl₂-에틸 아세테이트, 1:1 - 초기 카바졸의 존재; CH₂Cl₂-MeOH, 9:1 - 생성물의 순도), 물로 희석시켰다. 얻어진 흰색의 침전물을 1 h 동안 정치시켜 침강시키고 여과시키고 공기 중에 건조시켰다. 41의 수율: 0.96 g(100%).

[0372] **1,1'-(9-[3-(디메틸아미노)프로필]-2,7-디메톡시-9H-카바졸-3,6-디일)디에타논(42)**

[0373] 화합물 41(0.96 g, 3.2 mmol)을 PhNO₂(20 mL) 중에 용해시키고, 용액을 얼음 욕에서 냉각시켰다. 이후, AcCl(1.1 mL, 15.4 mmol)을 첨가한 후, AlCl₃(2.1 g, 15.7 mmol)을 분액으로 첨가하였다. 생성된 혼합물을 40 min 동안 유지시키고(LC/MS 모니터링), 물로 희석시키고 Na₂CO₃으로 중화시키고 CHCl₃으로 추출하고 증발시켰다. 생성물을 실리카 겔을 갖는 짧고 두꺼운 컬럼에서 정제하였다. 42의 수율: 0.787 g(62%).

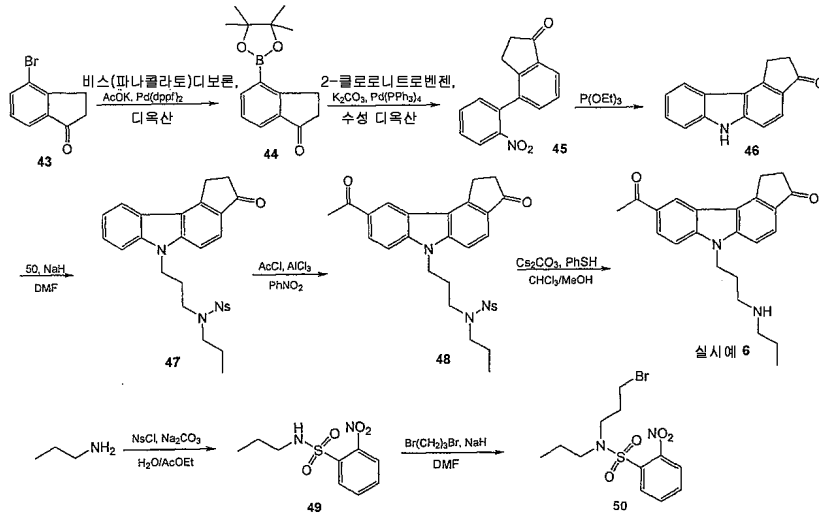
[0374] **1,1'-(9-[3-(디메틸아미노)프로필]-2,7-디히드록시-9H-카바졸-3,6-디일)디에타논(실시예 5; 19b).**

[0375] BBr₃의 0.5 M 용액(22.5 mL)을 아르곤 하에 CH₂Cl₂(90 mL) 중의 화합물 42(0.787 g, 1.99 mmol)의 용액에 적하하고 -40℃로 냉각시켰다. 10 min 후, 빙욕을 제거하고, 혼합물을 실온 이하로 가열하고 1~2 h 동안 유지시켰다(TLC 모니터링, 용리제: 클로로포름-메탄올, 4:1). 생성된 혼합물을 수성 소다 용액과 CH₂Cl₂의 혼합물에 부었다. 유기층을 분리시켰다. 수성층을 CH₂Cl₂로 추출하고 Na₂SO₄로 건조시키고 증발시키고 혼합물 CHCl₃-MeOH-물(40:9:1) 중에 용해시켰다. 생성물을 컬럼에서 정제하였다. 실시예 5의 수율: 0.379 g(52%).

[0376] 이후, 생성물을 혼합물 CH₂Cl₂-MeOH 중에 용해시켰다. 디옥산 중의 HCl 용액을 첨가하였다. 생성된 용액을 증발 건조시키고, 잔류물을 CH₃CN 및 에테르로 세척하였다. 생성물(0.379 g)의 염기 형태로부터 하이드로클로라이드 0.339 g을 분리시켰다.

[0377] $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 2.09-2.13 (2H, m); 2.72 (6H, s); 2.77 (6H, s); 3.13-3.16 (2H, m); 4.34 (2H, t, $J = 7.1$ Hz); 7.13 (2H, s); 8.84 (2H, s); 10.17 (1H, br. s); 12.82 (2H, s). ELS: 100%, ESI-MS: m/z 369 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0378] **실시예 6**



[0379]

[0380] **4-(2-니트로페닐)인단-1-온(45).**

[0381] 탄산칼륨(8.1 g, 58.7 mmol) 및 Pd(PPh₃)₄(1.7 g, 1.5 mmol)를 디옥산(80 mL)과 물(20 mL)의 혼합물 중의 화합물 44(7.51 g, 29.1 mmol) 및 4-클로로-3-니트로벤젠(4.6 g, 29.1 mmol)의 용액에 첨가하였다. 얻어진 혼합물을 아르곤 하에 80°C로 가열하고 이 온도에서 16 h 동안 정치시키고(TLC 모니터링, 용리제: 헥산-에틸 아세테이트, 1:1), 냉각시키고 셀라이트를 통해 여과시키고 증발시켰다. 생성된 생성물을 CH₂Cl₂ 중에 용해시키고 불용성 잔류물을 여과시켰다. 생성된 생성물을 실리카 겔로 증발시키고 짧고 두꺼운 컬럼(용리제: 헥산-CH₂Cl₂ 100:0→0:100, CH₂Cl₂-에틸 아세테이트 100:0→50:50)에서 정제하였다. 화합물 45(5.0 g)를 분리시키고 정제하지 않고 다음 단계에서 사용하였다.

[0382] **1,6-디하이드로사이클로펜타[c]카르바졸-3(2H)-온(46).**

[0383] 화합물 45(5.0 g)를 5 분획(각각 1.0 g)으로 나눴다. (7 mL마다) P(OEt)₃을 각 분액에 첨가하였다. 생성된 생성물을 플라스크 내에서 아르곤 취입하고 90°C로 가열하고 이 온도에서 3일 동안 정치시키고 이후 냉각시켰다. 카바졸 침전물을 에테르로 희석시켰다. 침전물을 여과시키고 에테르로 세척하였다. 초기 비페닐이 여액 중에 존재하는 경우(TLC 모니터링, 용리제: 헥산-에틸 아세테이트, 1:1), 이 여액을 증발시키고 이후 P(OEt)₃(각각의 플라스크에 1 mL)을 첨가하고 1일 동안 고리화하였다. 침전이 멈추고 TLC 데이터가 초기 비페닐이 부재하였다는 것을 보여줄 때까지 절차를 반복하였다. 카르바졸 46(2.7 g)을 얻었다.

[0384] **2-니트로-N-프로필벤젠설포나미드(49).**

[0385] 에틸 아세테이트(25 mL) 중의 2-니트로페닐설포클로라이드(8 g, 36 mmol)의 용액을 프로필아민(3 mL, 36.0 mmol), 에틸 아세테이트(15 mL), Na₂CO₃(4 g, 37.7 mmol) 및 물(25 mL)의 혼합물에 실온에서 적하하였다. 생성된 용액을 2 h 동안 교반하였다(TLC 모니터링, 용리제: CH₂Cl₂). 유기층을 분리시키고 물, 시트르산 용액으로 세척하고 Na₂SO₄로 건조시키고 증발시켰다. 침전물은 흰색 집괴로서 결정화하고 이것을 헥산으로 세척하였다. 49의 수율: (7.47 g, 85%).

[0386] **N-(3-브로모프로필)-2-니트로-N-프로필벤젠설포나미드(50).**

[0387] 1,3-디브로모프로판(8.5 mL, 82.0 mmol, 10 eq)을 DMF(20 mL) 중의 화합물 49(2.0 g, 8.2 mmol)의 용액에 첨가하였다. 이후, NaH(0.6 g, 15.0 mmol)를 분액으로 첨가하였다. 온도를 50~60°C로 상승시켰다. 혼합물을 이 온도

에서 20 min 동안 교반하였다(TLC 모니터링, 용리제: CH₂Cl₂). 이후, 혼합물을 얼음 중에 조심스럽게 부었다. 생성물을 에틸 아세테이트로 추출하고 추출물을 증발시켰다. 잔류물을 헥산에 의해 1,3-디브로모프로판으로부터 세척하였다. 생성된 생성물을 CH₂Cl₂ 중에 용해시키고 실리카 겔(용리제: 헥산-CH₂Cl₂ 100:0→0:100)을 갖는 짧은 고 두꺼운 컬럼에서 정제하였다. 화합물 50(1.87 g, 62%)을 빨리 고리화 가능한 오일로서 분리시켰다.

[0388] 2-니트로-N-[3-(3-옥소-2,3-디하이드로사이클로펜타[c]카르바졸-6(1H)-일)프로필]-N-프로필벤젠설포나미드(47).

[0389] 화합물 46(0.538 g, 2.43 mmol) 및 브로마이드 50(0.9 g, 2.46 mmol)를 CH₂Cl₂(30 mL) 중에 용해시켰다. 이후, NaH(0.15 g, 3.75 mmol, 1.5 eq)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 20 min 동안 교반하였다(TLC 모니터링, 용리제: 헥산-에틸 아세테이트, 1:1). 이후, 혼합물을 얼음에 부었다. 생성물을 에틸 아세테이트로 추출하고 추출물을 회전 증발기 내에서 증발시켰다. CH₂Cl₂의 잔류물을 고진공 하에 제거하였다. 메탄올을 경화된 침전물에 첨가하였다. 생성물을 분쇄하고, 침전물을 여과시켰다. 47의 수율: 0.638 g(52%).

[0390] N-[3-(9-아세틸-3-옥소-2,3-디하이드로사이클로펜타[c]카르바졸-6(1H)-일)프로필]-2-니트로-N-프로필벤젠설포나미드(48).

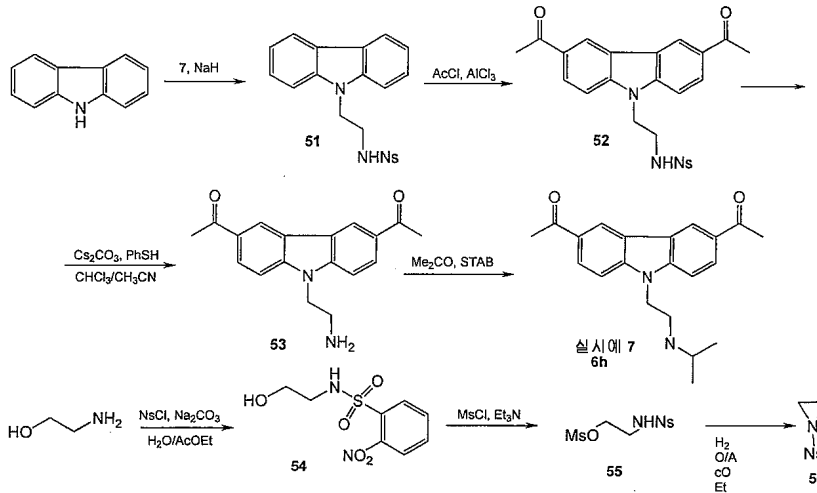
[0391] 화합물 47(0.638 g, 1.26 mmol)을 PhNO₂(7 mL) 중에 용해시켰다. 용액을 얼음 욕에서 냉각시키고 AlCl₃(0.67 g, 5.02 mmol) 및 이후 AcCl(0.45 mL, 6.31 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 40 min 동안 유지시키고(LC/MS 모니터링) 물로 희석시켰다. 생성물을 CH₂Cl₂로 추출하였다. 추출물을 증발시켰다. 잔류물을 증발시키고 생성물을 셀라이트(용리제: CH₂Cl₂-에틸 아세테이트 100: 0→50: 50)를 통해 통과시켰다. 48의 수율: 0.453 g(66%).

[0392] 9-아세틸-6-[3-(프로필아미노)프로필]-1,6-디하이드로사이클로펜타[c]카르바졸-3(2H)-온(실시예 6).

[0393] 화합물 48(0.496 g, 0.91 mmol)을 MeOH(10 mL)와 CHCl₃(15 mL)의 혼합물 중에 현탁시켰다. 혼합물을 가열 비등시켰다. 이후, CS₂CO₃(0.6 g, 1.82 mmol)을 첨가하고 일시에 PhSH(0.2 mL, 1.96 mmol)를 부었다(용액이 청색으로 변했다). 생성된 용액을 2 h 동안 환류시켰다(TLC 모니터링, 용리제: CHCl₃-MeOH, 9:1). 이 기간 동안 반응 혼합물이 녹색으로 변했다. 이후, 혼합물을 증발 건조시켰다. 시트르산의 희석 용액을 첨가하였다. 황색 침전물을 여과시키고 에테르로 세척하고 CH₃CN 중에 현탁시키고 환류시켰다. 냉각시킨 후, 베이지색 침전물을 황색 여액으로부터 여과시키고 이후 에테르로 세척하였다. 생성된 생성물(0.251 g, 76%)을 분리시켰다. 염기성 형태의 하이드로클로라이드로의 전환을 위해, 생성물을 CH₂Cl₂-메탄올 혼합물 중에 용해시켰다. (생성물이 완전히 용해될 때까지, 혼합물을 첨가하였다) 이후, 디옥산 중의 염산의 용액을 첨가하였다. 용액을 증발 건조시켰다. 얻어진 진보라색 침전물을 메탄올 및 아세토니트릴로 세척하였다. 하이드로클로라이드로서의 실시예 6의 수율: 0.118 g.

[0394] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 스펙트럼: δ 0.88 (3H, t, J = 7.32 Hz); 1.53-1.62 (2H, m); 2.13-2.20 (2H, m); 2.73 (2H, s); 2.80-2.83 (4H, m); 2.95-2.96 (2H, m); 3.65-3.68 (2H, m); 4.68 (2H, t, J = 7.3 Hz); 7.81 (1H, d, J = 8.6 Hz); 7.85 (1H, d, J = 8.6 Hz); 8.15 (1H, dd, J = 8.6 Hz, J = 1.3 Hz); 8.70 (1H, br. s); 8.71 (1H, d, J = 1.3 Hz). ELSD: 100%, ESI-MS: m/z 362 [M+H]⁺.

[0395] 실시예 7



[0396]

[0397] N-(2-히드록시에틸)-2-니트로벤젠설포나미드(54).

[0398] 에탄올아민(10 mL, 165 mmol)을 에틸 아세테이트(60 mL) 중에 용해시켰다. 이후, 물(100 mL) 중의 Na₂CO₃(22.7 g, 214.2 mmol)의 용액을 첨가하였다. 이후, 에틸 아세테이트(100 mL) 중의 2-니트로벤젠설포닐 클로라이드(35.0 g, 157.9 mmol)의 용액을 교반 하에 적하하였다. 생성된 용액을 실온에서 2 h 동안 교반하였다(TLC 모니터링, 용리제: CH₂Cl₂). 유기층을 분리시키고 물 및 시트르산 용액으로 세척하고 Na₂SO₄로 건조시키고 증발시켰다. 54의 수율: 흰색 결정으로서 29.5 g(73%).

[0399] 2-[(2-니트로페닐)설포닐]아미노)에틸 메탄설포네이트(55).

[0400] 트리에틸아민(20 mL, 144.6 mmol)을 에틸 아세테이트(300 mL) 중의 화합물 54(29.5 g, 119.9 mmol)의 용액에 첨가하였다. 혼합물을 얼음 욕에서 10°C로 냉각시켰다. 이후, 에틸 아세테이트(50 mL) 중의 염화메실(10.2 mL, 131.8 mmol)의 용액을 20°C 이하의 온도에서 적하하였다. 생성된 용액을 실온에서 3 h 동안 교반하였다(TLC 모니터링, 용리제: 헥산-에틸 아세테이트, 4:1). 반응 혼합물을 여과시켜 침전물-트리에틸아민 하이드로클로라이드를 제거하였다. 여액을 수성 NaHCO₃, 물로 세척하고 증발시켰다. 55의 수율: 결정으로서 32.2 g(83%).

[0401] 1-[(2-니트로페닐)설포닐]아지리딘(56).

[0402] 물(50 mL) 중의 KOH(1.73 g, 31 mmol)의 용액을 에틸 아세테이트(100 mL) 중의 화합물 55(10 g, 31 mmol)의 용액에 첨가하였다. 수성층이 황색으로 염색되었다. 혼합물을 실온에서 1 h 동안 교반하였다(TLC 모니터링, 용리제: 아세테이트, 1:1). 필요한 경우, KOH 용액의 추가 분액(0.5 eq)을 첨가하였다. 유기층을 분리시키고 물, 시트르산 용액(pH 7로), 다시 물로 완전히 세척하고 Na₂SO₄로 건조시키고 증발시켰다. 56의 수율: 황색 유동 오일로서 6.6 g(93%).

[0403] N-[2-(9H-카르바졸-9-일)에틸]-2-니트로벤젠설포나미드(51).

[0404] 카바졸(1.10 g, 6.59 mmol)을 CH₃CN(40 mL) 중에 용해시켰다. 이후, 수소화나트륨(0.33 g, 8.25 mmol)을 첨가하고 혼합물을 실온에서 15-20 min 동안 교반하였다. 이후, CH₃CN(30 mL) 중의 아지리딘 56(1.5 g, 7.89 mmol)의 용액을 1 분액으로 첨가하였다. 생성된 혼합물을 1 h 동안 교반하고(TLC 모니터링, 용리제: 헥산-에틸 아세테이트, 1:1), 물에 붓고, HCl로 pH 1로 산성화시키고 다시 실온에서 교반하였다. 점차, 오렌지색 생성물이 불투명한 용액으로부터 침전되었다. 침전물을 여과시키고 MeOH 및 에테르로 세척하였다. 51의 수율: 오렌지색 결정으로서 2.15 g(83%).

[0405] N-[2-(3,6-디아세틸-9H-카르바졸-9-일)에틸]-2-니트로벤젠설포나미드(52).

[0406] 화합물 51(5.0 g, 12.7 mmol)을 PhNO₂(30 mL) 중에 용해시켰다. 용액을 얼음 욕에서 냉각시켰다. 이후, AlCl₃(8.5 g, 63.7 mmol) 및 이후 AcCl(4.5 mL, 63.1 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 40 min 동안 유지시키고(LC/MS 모니터링) 물로 희석시키고 클로로포름으로 추출하고 증발시켰다. 생성물을 실리카 겔(용리제: CH₂Cl₂-에

틸 아세테이트 100:0→50:50)을 갖는 짧고 두꺼운 컬럼에서 정제하였다. 에탄올과 25% 수성 암모니아(4:1)의 혼합물을 잔류물에 첨가하였다. 생성된 생성물을 1.5-2 h 동안 환류시켰다. 뜨거운 현탁액을 여과시켰다. 생성물 52를 베이지색 결정으로서 분리시켰다(4.11 g, 68%).

[0407] 1,1'-[9-(2-아미노에틸)-9H-카바졸-3,6-디일]디에탄논(53).

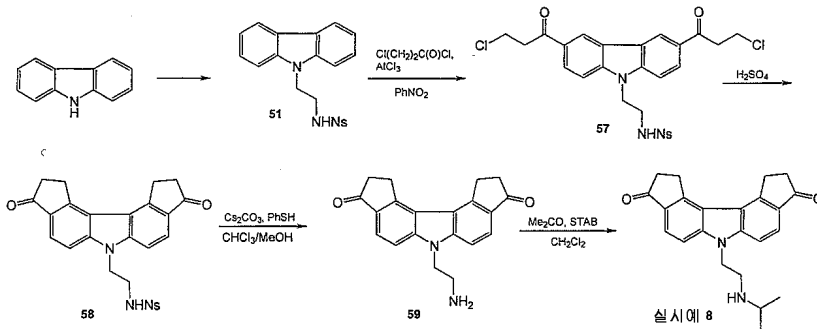
[0408] 화합물 52(4.11 g, 8.58 mmol)를 환류 하에 CH₃CN(150 mL)과 메탄올(50 mL)의 혼합물 중에 용해시켰다. 이후, Cs₂CO₃(8.4 g, 25.78 mmol)을 첨가하고 일시에 PhSH(2.6 mL, 25.48 mmol)를 부었다. 생성된 혼합물을 2.5 h 동안 환류시키고(TLC 모니터링, 용리제: 클로로포름-메탄올, 9:1) 증발 건조시켰다. 이후, 물 및 HCl 용액을 첨가하였다. 그 결과, 모든 고체 생성물이 용해되었다. 에틸 아세테이트가 황색이 되는 것을 멈출 때까지 산성 수성 용액을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 수성층을 NaHCO₃의 포화 용액으로 중화시키고 CH₂Cl₂-MeOH 혼합물(4:1)로 추출하고 추출물을 증발시켰다. 잔류물을 MeCN으로 세척하고 에테르로 세척하였다. 53의 수율: 베이지색 결정으로서 1.25 g(50%).

[0409] 1,1'-[9-[2-(이소프로필아미노)에틸]-9H-카바졸-3,6-디일]디에탄논(실시예 7; 6h).

[0410] 아세톤(5 mL, 68.10 mmol)을 CH₂Cl₂(50 mL) 중의 화합물 53(1.25 g, 4.25 mmol)의 용액에 첨가하였다. 이후, STAB(3.0 g, 14.15 mmol)를 첨가하였다. 얻어진 혼합물을 실온에서 4.5 h 동안 교반하고(TLC 모니터링, 용리제: CHCl₃-MeOH, 9:1) 이후 NaHCO₃의 수성 용액 중에 부었다. 유기층을 분리시켰다. 수성층을 CH₂Cl₂로 추출하였다. 생성물을 Na₂SO₄로 건조시키고 증발시켰다. 잔류물을 컬럼(용리제: CHCl₃-MeOH 99:1→90:10)에서 정제하였다. 실시예 7(1.04 g, 73%)을 신속히 고리화 가능한 오일로서 분리시켰다. 이의 하이드로클로라이드의 제조를 위해, 염기를 CH₂Cl₂ 중에 용해시켰다. 이후, 디옥산 중의 HCl의 용액을 첨가하였다. 혼합물을 증발 건조시켰다. 생성물을 에테르로 세척하였다.

[0411] ¹H NMR (DMSO-d₆) 스펙트럼: δ 1.25 (6H, d, J = 6.6 Hz); 2.72 (6H, s); 3.33-3.39 (3H, m); 4.87 (2H, t, J = 7.3 Hz); 7.92 (2H, d, J = 8.7 Hz); 8.17 (2H, dd, J = 8.7 Hz, J = 1.6 Hz); 9.01 (2H, d, J = 1.6 Hz); 9.24 (1H, br. s); 9.33 (1H, br. s). ELSD: 100%, ESI-MS: m/z 336 [M+H]⁺.

[0412] 실시예 8



[0413]

[0414] 화합물 51의 합성을 실시예 7에 기재하였다.

[0415] N-{2-[3,6-비스(3-클로로프로파노일)-9H-카르바졸-9-일]에틸}-2-니트로벤젠설포나미드(57)

[0416] 화합물 51(20.0 g, 50.6 mmol)을 PhNO₂(130 mL) 중에 용해시키고 용액을 얼음 욕에서 냉각시켰다. 이후, AlCl₃(34.0 g, 254.7 mmol) 및 이후 3-클로로프로피오닐 클로라이드(25.0 mL, 259.8 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 40 min 동안 유지시키고(LC/MS 모니터링) 희석 HCl과 얼음의 혼합물에 붓고, CHCl₃으로 추출하고 16 h 동안 정치시켰다. 얻어진 빛갈색 침전물을 여과시키고 에테르로 세척하였다. 57의 수율: 18.47 g(63%).

[0417] N-[2-(3,9-디옥소-1,2,3,9,10,11-헥사하이드로-6H-디사이클로펜타[c,g]카르바졸-6-일)에틸]-2-니트로벤젠설포나미드(58)

[0418] 황산(200 mL)을 40°C로 가열하였다. 이후, 화합물 57(18.47 g, 32.12 mmol)을 분액으로 첨가하였다. 혼합물을

90℃로 가열하고 이 온도에서 1.5-2 h 동안 정치시켰다(TLC 모니터링, 용리제: CH₂Cl₂-에틸 아세테이트, 4:1). 생성된 혼합물을 얼음에 부었다. 회색 침전물을 여과시키고 CHCl₃-MeOH(4:1)의 혼합물에 의해 필터에서 세척하였다. (필터 위에) 남은 침전물을 DMF로 재결정화하고 CH₃CN으로 세척하고 에테르. 순수한 58의 수율: 2.2 g(14%).

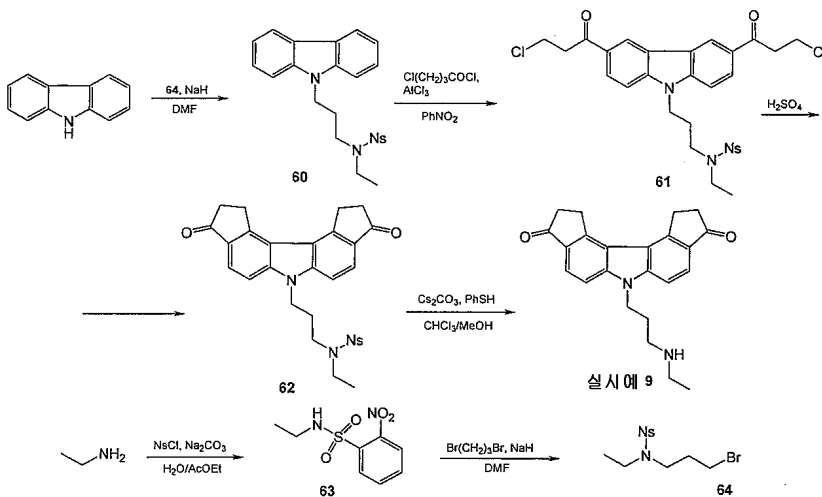
[0419] 6-(2-아미노에틸)-10,11-디하이드로-1H-디사이클로펜타[c,g]카바졸-3,9 (2H,6H)-디온(59)

[0420] 화합물 58(2.2 g, 4.38 mmol)을 클로로포름(200 mL)과 메탄올(200 mL)의 혼합물 중에 현탁시켰다. 이후, Cs₂CO₃(4.3 g, 13.20 mmol) 및 일시에 PhSH(1.3 mL, 12.74 mmol)를 첨가하였다. 용액을 18 h 동안 환류시키고 (LC/MS 모니터링) 증발 건조시켰다. 이후, 시트르산의 수성 용액을 첨가하였다. 얻어진 용액을 수성 NaHCO₃ 용액으로 중화시켰다. 침전물을 여과시키고 CH₃CN 및 에테르로 세척하였다. 분리된 생성물을 정제하지 않고 다음 단계에서 사용하였다.

[0421] 6-[2-(이소프로필아미노)에틸]-10,11-디하이드로-1H-디사이클로펜타[c,g]카바졸-3,9 (2H,6H)-디온(실시예 8)

[0422] 미정제 화합물 59(1.69 g)를 CH₂Cl₂(200 mL) 중에 현탁시켰다. 이후, 아세톤(4 mL) 및 STAB(3.4 g)를 첨가하였다. 혼합물을 24 h 동안 교반하고(TLC 모니터링, 용리제: CHCl₃-MeOH, 9:1), 이후 수성 NaHCO₃ 용액 중에 부었다. 이후, CH₂Cl₂ 및 MeOH의 다른 분액을 첨가하였다. 유기층을 분리시키고 증발시키고 MeCN 및 에테르로 세척하였다. 실시예 8의 수율: 0.759 g. 하이드로클로라이드의 제조를 위해, 분리된 생성물을 CH₂Cl₂와 MeOH의 혼합물 중에 현탁시키고 이후 디옥산 중의 HCl의 용액을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 증발 건조시키고 에탄올을 잔류물에 첨가하였다. 에탄올성 용액을 환류시키고 냉각시키고 침전물을 여과시켰다. 화합물 실시예 8 하이드로클로라이드의 수율: 0.684 g. ¹H NMR (DMSO-d₆) 스펙트럼: δ 1.24 (6H, d, J = 6.6 Hz); 2.77-2.79 (4H, m); 3.34-3.43 (3H, m); 3.81-3.84 (4H, m); 4.91 (2H, t, J = 7.3 Hz); 7.83 (2H, d, J = 8.6 Hz); 7.91 (2H, d, J = 8.6 Hz); 9.11 (2H, br. s). ELSD: 100%, ESI-MS: m/z 360 [M+H]⁺.

[0423] 실시예 9



[0424]

[0425] N-에틸-2-니트로벤젠설폰아미드(63).

[0426] 에틸 아세테이트(250 mL) 중의 2-니트로벤젠설폰일 클로라이드(140 g, 361 mmol)의 용액을 70% 수성 에틸아민(50 mL, 630 mmol), 에틸 아세테이트(100 mL), Na₂CO₃(67 g, 632 mmol) 및 물(250 mL)의 혼합물에 실온에서 적하하였다. 반응 혼합물을 4 h 동안 교반하였다(TLC 모니터링, CH₂Cl₂). 유기층을 분리시키고 물, 시트르산 용액으로 세척하고 Na₂SO₄로 건조시키고 증발시켰다. 잔류물을 흰색 결정질 집괴로 고화시켰다. 집괴를 헥산으로 분쇄하고 여과시키고 건조시켜 생성물 134 g(92%)을 얻었다.

[0427] N-(3-브로모프로필)-N-에틸-2-니트로벤젠설폰아미드(64).

[0428] 화합물 63(7.8 g, 33.9 mmol)을 DMF(100 mL) 중에 용해시켰다. 1,3-디브로모프로판(35 mL, 343.0 mmol) 및 이후 분액으로 NaH(2.7 g, 67.5 mmol)를 첨가하고 이때 온도가 50-60°C로 상승하였다. 반응 혼합물을 이 온도에서 1 h 동안 교반하고(TLC 모니터링, CH₂Cl₂), 얼음/물 혼합물 중에 조심스럽게 붓고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 추출물을 증발시켰다. 잔류물을 헥산으로 세척하여 1,3-디브로모프로판을 제거하였다. 화합물 64(9.7 g, 82%)를 점성의 황색 오일로서 얻었다.

[0429] **N-[3-(9H-카르바졸-9-일)프로필]-N-에틸-2-니트로벤젠설포나미드(60).**

[0430] 카바졸(4.15 g, 24.8 mmol) 및 브로마이드 64(9.7 g, 27.6 mmol)를 DMF(30 mL) 중에 용해시켰다. NaH(2.0 g, 50.0 mmol, 2 eq)를 분액으로 첨가하고 이때 온도가 60°C로 상승하였다. 반응 혼합물을 1 h 동안 교반하고(TLC 모니터링, 헥산/에틸 아세테이트 3:2), 얼음/물 혼합물에 붓고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 잔류물을 에테르로 분쇄하였다. 황색 침전물을 여과시키고 건조시켜 생성물 6.65 g(61%)을 얻었다.

[0431] **N-(3-[3,6-비스(3-클로로프로파노일)-9H-카르바졸-9-일]프로필)-N-에틸-2-니트로벤젠설포나미드(61).**

[0432] 화합물 63(6.65 g, 15.2 mmol)을 PhNO₂(70 mL) 중에 용해시켰다. 용액을 얼음 욕에서 냉각시켰다. AlCl₃(12.2 g, 91.4 mmol) 및 이후 2-클로로프로피오닐 클로라이드(8.8 mL, 91.4 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 40 min 동안 유지시키고(LC/MS 모니터링) 물로 희석시키고 CH₂Cl₂로 추출하였다. 추출물을 증발시켰다. 잔류물을 짧고 두꺼운 컬럼(용리제: CH₂Cl₂/에틸 아세테이트 0:100→50:50)에서 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 잔류물을 에테르로 분쇄하고 여과시키고 건조시켜 녹색의 결정질 생성물 7.60 g(81%)을 얻었다.

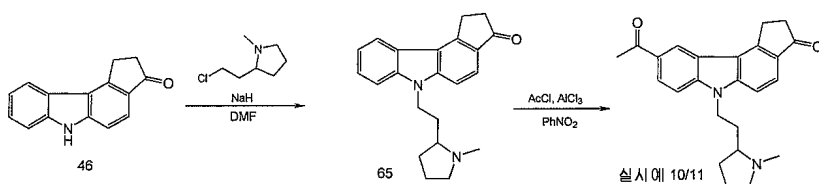
[0433] **N-[3-(3,9-디옥소-1,2,3,9,10,11-헥사하이드로-6H-디사이클로펜타[c,g]카르바졸-6-일)프로필]-N-에틸-2-니트로벤젠설포나미드(62).**

[0434] H₂SO₄(110 mL)를 40°C로 가열하였다. 화합물 61(7.6 g, 12.3 mmol)을 분액으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 100°C로 가열하고 이 온도에서 2 h 동안 정치시키고(TLC 모니터링, CH₂Cl₂/에틸 아세테이트 4:1) 얼음에 부었다. 형성된 회색 침전물을 여과시켰다. 이후, CHCl₃/MeOH 4:1(500 mL)을 필터에 부었다. 필터 위의 고체를 용해시키고 형성된 용액을 분리 깔때기에 옮겼다. Na₂CO₃의 수성 용액을 첨가하였다. 유기층을 분리시키고 Na₂SO₄로 건조시키고 증발시켰다. 아세토니트릴을 잔류물에 첨가하였다. 베이지색 침전물을 여과시키고 아세토니트릴, 에테르로 세척하고 건조시켜 베이지색 결정질 생성물 1.56 g(23%)을 얻었다.

[0435] **6-[3-(에틸아미노)프로필]-10,11-디하이드로-1H-디사이클로펜타[c,g]카바졸-3,9 (2H,6H)-디온(실시예 9).**

[0436] 화합물 62(1.56 g, 2.86 mmol)를 CHCl₃(80 mL)과 MeOH(80 mL)의 혼합물 중에 현탁시켰다. Cs₂CO₃(2.8 g, 8.59 mmol) 및 이후 즉시 PhSH(0.87 mL, 8.53 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 6 h 동안 환류시키고(TLC 모니터링, CHCl₃/MeOH 9:1) 증발 건조시켰다. 수성 시트르산을 첨가하였다. 용액을 NaHCO₃의 용액으로 중화시켰다. 형성된 침전물을 여과시키고 에틸 아세테이트, 아세토니트릴, 물, 다시 아세토니트릴 및 에테르로 세척하여 생성물 0.75 g(73%)을 얻었다. 이것을 이의 하이드로클로라이드로 전환시켰다. 디옥산 중의 4M HCl에 의한 증발 후, 잔류물을 MeOH로 세척하여 하이드로클로라이드 0.59 g을 얻었다. ¹H NMR (DMSO-d₆): δ 1.66 (3H, t, J = 7.3 Hz); 2.09-2.17 (2H, m); 2.73-2.77 (4H, m); 2.86-2.91 (2H, m); 2.95-3.10 (2H, m); 3.77-3.80 (4H, m); 4.70 (2H, t, J = 7.3 Hz); 7.80 (2H, d, J = 8.6 Hz); 7.89 (2H, d, J = 8.6 Hz); 8.83 (2H, br. s). ELSD: 100%, ES1-MS: m/z 360 [M+H]⁺.

[0437] **실시예 10 및 실시예 11**



[0438]

[0439] 화합물 46의 합성을 실시예 6에 기재하였다.

[0440] 6-[2-(1-메틸피롤리딘-2-일)에틸]-1,6-디하이드로사이클로펜타[c]카르바졸-3(2H)-온(65).

[0441] 카바졸 46(0.4 g, 1.81 mmol)을 CH₂Cl₂(7 mL) 중에 용해시키고 이후 NaH(0.22 g, 5.50 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 5~10 min 동안 교반하고 2-(2-클로로에틸)-1-메틸피롤리딘 하이드로클로라이드(0.4 g, 2.17 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 60℃로 가열하고 이 온도에서 4 h 동안 정치시켰다(TLC 모니터링, 용리제: CHCl₃-MeOH, 9:1). 생성된 혼합물을 물에 부었다. 생성물을 에틸 아세테이트로 추출하고 Na₂SO₄로 건조시키고 증발시켰다. 잔류물을 에테르로 분쇄하였다. 침전물을 여과시켰다. 65의 수율: 0.365 g(61%)- S-이성체 및 0.336 g(55%)- R- 이성체.

[0442] 9-아세틸-6-[2-(1-메틸피롤리딘-2-일)에틸]-1,6-디하이드로사이클로펜타[c]카르바졸-3(2H)-온(실시예 10 및 실시예 11).

[0443] 화합물 65(0.336 g, 1.00 mmol)을 PhNO₂(7 mL) 중에 용해시켰다. 용액을 얼음 욕에서 냉각시켰다. 이후, AlCl₃(0.67 g, 5.02 mmol) 및 이후 AcCl(0.36 mL, 5.04 mmol)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 40 min 동안 유지시키고(LC/MS 모니터링) 물로 희석시키고 수성 NaHCO₃ 용액으로 중화시키고 CHCl₃으로 추출하고 증발시켰다. 생성물을 짧고 두꺼운 컬럼(용리제: 100:0→90:10)에서 정제하였다. 생성물의 수율: 0.307 g(82%)(R); S-이성체를 유사하게 얻었다(77%).

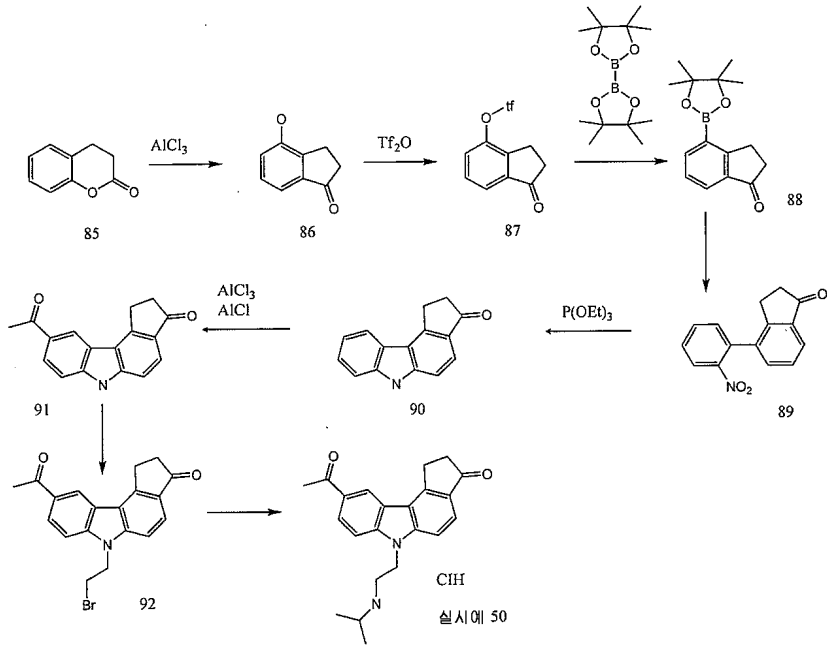
[0444] 실시예 10

[0445] ¹H NMR (DMSO-d₆) 스펙트럼: δ 1.69-1.79 (1H, m); 1.86-2.01 (2H, m); 2.07-2.24 (2H, m); 2.42-2.56 (1H, m); 2.73 (3H, s); 2.75 (3H, d, J = 5.12 Hz); 2.79-2.82 (2H, m); 2.96- 3.05 (1H, m); 3.36-3.43 (1H, m); 3.49-3.57 (1H, m); 3.64-3.67 (2H, m); 4.62-4.75 (2H, m); 7.80 (1H, d, J = 8.6 Hz); 7.87 (1H, d, J = 8.6 Hz); 7.96 (1H, d, J = 8.6 Hz); 8.19 (1H, dd, J = 8.6 Hz, J = 1.5 Hz); 8.70 (1H, d, J = 1.5 Hz); 10.63 (1H, br. s). ELSD: 100%, ESI-MS: m/z 374 [M+H]⁺.

[0446] 실시예 11

[0447] ¹H NMR (DMSO-d₆): δ 1.69-1.79 (1H, m); 1.86-2.01 (2H, m); 2.05-2.24 (2H, m); 2.40-2.46 (1H, m); 2.73 (3H, s); 2.75 (3H, d, J = 5.12 Hz); 2.79-2.82 (2H, m); 2.98-3.02 (1H, m); 3.36-3.43 (1H, m); 3.47-3.57 (1H, m); 3.63-3.66 (2H, m); 4.62-4.75 (2H, m); 7.80 (1H, d, J = 8.6 Hz); 7.87 (1H, d, J = 8.6 Hz); 7.96 (1H, d, J = 8.8 Hz); 8.18 (1H, dd, J = 8.8 Hz, J = 1.4 Hz); 8.69 (1H, d, J = 1.4 Hz); 10.72 (1H, br. s). ELSD: 100%, ESI-MS: m/z 374 [M+H]⁺.

[0448] 실시예 50의 합성



[0449]

[0450] 단계 1. 4-히드록시인단-1-온(86)

[0451] 크로마논 85(100 g, 0.68 mol)를 150℃에서 150 g NaCl 및 500 g AlCl₃ 혼합물에 적하하였다. 생성된 혼합물을 180℃로 가열하고 이후 8 h 동안 교반하였다. 이후, 혼합물을 실온으로 냉각시키고 분쇄 얼음 1 kg을 강력히 교반하면서 첨가하였다. 균질화 후, 혼합물을 여과시키고 1 L 차가운 물로 세척하고 건조시켜 회색 고체로서 4-히드록시인단-1-온(86) 약 80g(80%)을 얻었다.

[0452] 단계 2. 1-옥소-2,3-디하이드로-1H-인덴-4-일 트리플루오로메탄설포네이트(87)

[0453] 트리플릭산 무수물(152 g, 0.54 mol)을 0℃에서 CH₂Cl₂ 1 L 중의 화합물 86 80 g 및 NEt₃ 60 g의 용액에 적하하였다. 생성된 혼합물을 2 h 동안 환류시키고 실온으로 냉각시키고 여과시키고 물(0.5 L)로 세척하고 수성 시트르산(50 g/0.5 L), 염수(0.5 L), Na₂SO₄에서 건조시키고 증발시켜 어두운 액체로서 화합물 87 약 100g(67%)을 얻었다.

[0454] 단계 3. 4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보롤란-2-일)인단-1-온(88)

[0455] 탈기 톨루엔(2 L) 중의 아세트산칼륨(48 g, 0.5 mol, 1.5eq), 트리플레이트 87(100 g, 0.36 mol, 1.1 eq), 비스(피나콜로)디보란(100 g, 0.38 mol, 1.2 eq), PPh₃(5 g, 0.02 mol, 0.06 eq) 및 PdCl₂(PPh₃)₂(6.9 g, 0.01 mol, 0.03 eq)로 이루어지는 혼합물을 아르곤 분위기 하에 밤새 환류시켰다. 생성된 혼합물을 증발 건조시키고 EtOAc/헥산(1/5)에 의해 용리시켜 크로마토그래피시켰다. 원하는 생성물을 포함하는 분획을 수집하고 증발시켜 담황색 고체로서 화합물 88 약 50g(57%)을 얻었다.

[0456] 단계 4. 4-(2-니트로페닐)-인단-1-온(89)

[0457] 탈기 톨루엔(0.5 L), 보롤란 88(10 g, 39 mmol), 2-클로로-1-니트로벤젠(6.3 g, 40 mmol), Pd(PPh₃)₄(3 g, 2.6 mmol) 및 2M Na₂CO₃(200 mL)을 아르곤의 신속한 흐름 하에 혼합하고 생성된 혼합물을 밤새 환류시켰다. 물(200 mL) 및 EtOAc(500 mL)를 첨가하였다. 수성층을 분리시키고 EtOAc(2×500 mL)로 추출하고 합한 추출물 Na₂SO₄에서 건조시켰다. 용매를 감압 하에 증발시키고 미정제 생성물을 컬럼 크로마토그래피(헥산 중의 20% EtOAc)에 의해 정제하여 황색 고체로서 비페닐 중간체 89 9 g(91%)을 얻었다.

[0458] 단계 5. 1,2-디하이드로-6H-사이클로펜타[c]카바졸-3-온(90)

[0459] 비페닐 89(9 g, 35mmol) 및 트리에틸포스파이트를 밀봉 분무기에 첨가하고 120℃에서 밤새 가열하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 혼합물을 여과시켜 1,2-디하이드로-6H-사이클로펜타[c]카바졸-3-온 4 g을 얻었다. 디에틸 에테

므로 침전시켜 원하는 생성물 2 g을 추가로 생성시켰다. 황색 분말로서 일반 수율 90은 77.5%이었다.

[0460] 단계 6. 9-아세틸-1,2-디하이드로-6H-사이클로펜타[c]카바졸-3-온(91)

[0461] 1,2-디하이드로-6H-사이클로펜타[c]카바졸-3-온 90(6 g, 27.1 mmol)을 건조 CH₂Cl₂(100 mL) 중에 현탁시켰다. 무수 AlCl₃(6 g, 45mmol)을 얼음 욕에서 교반하면서 첨가한 후, AcCl(2.4 mL, 33.2 mmol)을 적하하였다. 반응 혼합물을 약 5°C에서 24 h 동안 교반하고 얼음물에 부었다. 침전된 회색 고체를 여과시키고 물(2×100 mL), 아세톤(3×50 mL), 디에틸 에테르(3×50 mL)로 세척하여 9-아세틸-1,2-디하이드로-6H-사이클로펜타[c]카바졸-3-온 91 4 g(56.3%)을 얻었다.

[0462] 단계 7. 9-아세틸-1,2-디하이드로-6-(2-브로모에틸)-사이클로펜타[e]카바졸-3-온(92)

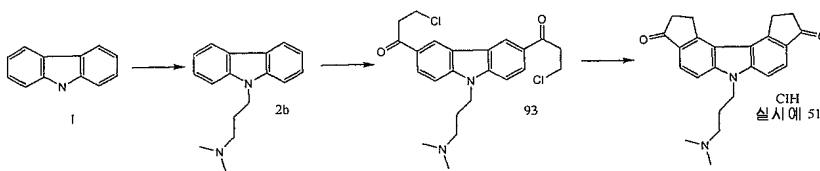
[0463] NaH(60%의 2 g, 50 mmol)를 건조 DMF(100 mL) 중의 화합물 91(4 g, 15.2 mmol)의 현탁액에 첨가하고 혼합물을 수소 방출이 멈출 때까지 실온에서 약 1 h 교반하였다. 1,2-디브로메탄(20g, 106 mmol)을 질소 하에 적하하였다. 반응 혼합물을 실온에서 30 min 동안, 이후 60°C에서 24 h 동안 교반하고 얼음물(300 mL) 중에 부었다. 침전된 회색 고체를 여과시키고 미정제 생성물을 컬럼 크로마토그래피(CHCl₃)에 의해 정제하여 출발 물질 2g 및 크림 고체로서 알킬화 카바졸 92 약 1g(2.7mmol, 전환 물질로부터 35.5%)을 얻었다.

[0464] 단계 8. 9-아세틸-1,2-디하이드로-6-(2-(2-프로필)아미노에틸)-사이클로펜타[e]카바졸-3-온 하이드로클로라이드(실시예 50)

[0465] 브로마이드 92(1 g, 2.7 mmol) 및 2-프로필아민을 밀봉 분무기에 첨가하고 180°C에서 밤새 가열하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 혼합물을 증발 건조시키고 잔류물을 100 ml 중탄산나트륨의 포화 물 용액에 의해 후처리하고 여과시켰다. 필터 케이크를 컬럼 크로마토그래피(CHCl₃/MeOH(10/1))에 의해 정제하였다. 원하는 생성물을 포함하는 분획을 수집하고 증발 건조시키고 40% 물 HCl(10 mL)로 희석시키고 증발 건조시키고 톨루엔(2×100mL)으로 재증발시켜 회색 고체로서 9-아세틸-1,2-디하이드로-6-(2-(2-프로필)아미노에틸)-사이클로펜타[c]카바졸-3-온 하이드로클로라이드(실시예 50) 200 mg(0.52 mmol, 19%)을 얻었다.

[0466] ¹H NMR (DMSO-d₆): 1.23 d (6H), 2.74 s (3H), 2.83 m (2H), 3.67 m (2H), 4.87 m (2H), 7.85 dd (2H), 7.97 d (1H), 8.22 d (1H), 8.71 s (1H), 8.9-9.2 wide (2H).

[0467] 실시예 51의 합성



[0468] 단계 1. 9-(3-디메틸아미노프로필)-카바졸(2b)

[0469] NaH(60%의 14.4 g, 360 mmol)을 아르곤 하에 건조 DMF(200 mL) 중의 카바졸 1(20 g, 119.8 mmol)의 현탁액에 적하하였다. 혼합물을 수소 방출이 멈출 때까지 실온에서 약 1 h 동안 교반하였다. 3-디메틸아미노프로필 클로라이드 하이드로클로라이드(28 g, 180 mmol)를 실온에서 적하하였다. 반응 혼합물을 실온에서 20 min 동안, 이후 60°C에서 3 h 동안 교반하고 차가운 물(500 mL) 중에 부었다. 생성물을 EtOAc(2×500 mL)로 추출하였다. 유기층을 다시 10% HCl(200 mL)로 추출하고 산성층을 EtOAc로 추출하여 반응하지 않은 카바졸을 제거하였다. 포화 암모니아(200 mL)를 첨가하고 생성물을 다시 EtOAc로 추출하였다. 용매를 증발시켜 갈색의 오일로서 9-(2-디메틸아미노프로필)카바졸 2b 25 g(99 mmol, 83%)을 얻었다.

[0471] 단계 2. 3,6-디(4-클로로프로판-2-온-일)-9-(2-디메틸아미노프로필)카바졸(93)

[0472] 9-(2-디메틸아미노프로필)카바졸 2b(25 g, 99 mmol)를 건조 CH₂Cl₂(150 mL) 중에 용해시켰다. 무수 AlCl₃(40 g, 300 mmol)을 교반하고 얼음 욕에서 냉각시키면서 적하하였다. 내부 온도를 5°C보다 낮게 유지시키면서 3-클로로-프로피오닐 클로라이드(30 mL, 312 mmol)를 적하하였다. 반응 혼합물을 이 온도에서 밤새 교반하고 분쇄 얼음에 붓고 CHCl₃/MeOH(1/1)(3×500 mL)로 추출하였다. 추출물을 증발 건조시키고 생성된 녹색 오일을 디에틸 에테르(2×250 mL)로 분쇄하여 회색 분말로서 3,6-디(3-클로로프로피오닐)-9-(2-디메틸아미노프로필)-카바졸 93 20

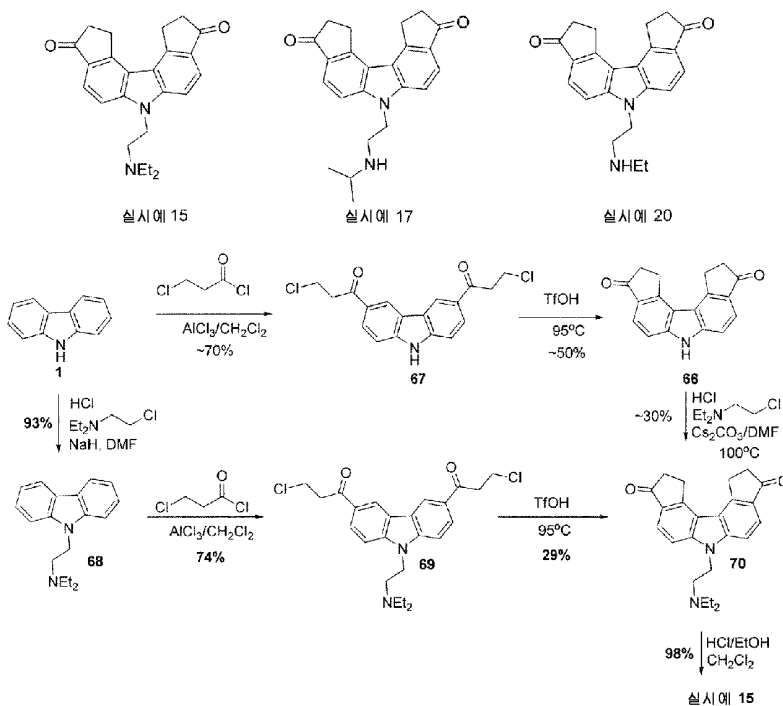
g(46 mmol, 47%)을 얻었다.

[0473] 단계 3. 6-(3-디메틸아미노프로필)-1,2,10,11-테트라하이드로-6H-비스-(사이클로펜타[c]카바졸-3,9-디온(실시예 51)

[0474] 3,6-디-(3-클로로프로피오닐)-9-(2-디메틸아미노프로필)카바졸 93(20 g, 46 mmol)을 실온에서 교반하면서 트리플루오로메탄설폰산(100 g)에 적하하고 반응 혼합물을 95°C로 밤새 가열하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 반응 혼합물을 얼음물에 부었다. 침전물을 여과시키고 포화 중탄산나트륨에 의해 후처리하고 다시 여과시켰다. 생성된 필터 케이크는 약 80%의 원하는 생성물 및 20%의 이성체를 포함하였다. 메탄올로부터 단일 결정화 후, 침전물을 4N HCl/디옥산(100 ml)에 의해 후처리하고 증발 건조시키고 EtOH로부터 재결정화하여 흰색 고체로서 95% 실시예 51 약 2.8 g(7.1 mmol, 15.4%)을 얻었다.

[0475] LCMS: 100%; ¹H NMR (DMSO-d₆) 95%: 2.18 m (2H), 2.71(6H), 2.78 m (4H), 3.15 m (2H), 3.83 m (4H), 4.68 m (2H), 7.85 dd (4H), 10.0 br s(1H).

[0476] 실시예 15 및 실시예 17의 대안적인 합성 및 실시예 20의 합성



[0477]

[0478] 달리 기재되지 않은 한, 시약 및 용매를 상업용 공급업자로부터 얻은 대로 사용하였다. 양성자 핵 자기 공명 스펙트럼을 400 MHz에서 Bruker ARX 400 분광기에서 얻었다. 양성자 스펙트럼에 대한 비교 피크로서 용매 피크를 사용하였다. 반응 진행을 TLC 또는/및 LC-MS 분석에 의해 조절하였다.

[0479] 9-(2-디에틸아미노에틸)-카바졸(68)

[0480] NaH(60%의 14.4 g, 360 mmol, 3 eq)를 아르곤 하에 건조 DMF(200 mL) 중의 카바졸(1)(20 g, 119.8 mmol, 1 eq)의 현탁액에 적하하였다. 수소 방출이 멈출 때까지 혼합물을 실온에서 30 min 동안 교반하였다. 2-디에틸아미노에틸클로라이드 하이드로클로라이드(31 g, 180 mmol, 1.5 eq)를 실온에서 분액으로 적하하였다. 반응 혼합물을 실온에서 20 min 동안, 이후 60°C에서 3 h 동안 교반하고(TLC 모니터링), 차가운 물(1 L)에 부었다. 생성물을 EtOAc(5×200 mL)로 추출하고, 유기층을 다시 10% HCl(400 mL)로 추출하고 산성층을 EtOAc로 추출하여 반응하지 않은 카바졸을 제거하였다. 수성층의 pH를 K₂CO₃으로 약 9로 조정하고 생성물을 EtOAc로 다시 추출하였다. 용매를 증발시켜 갈색의 오일로서 9-(2-디에틸아미노에틸)카바졸(68) 29.5 g(93%)을 얻었다.

[0481] 3,6-디(4-클로로프로판-2-온-일)-9-(2-디에틸아미노에틸)카바졸 하이드로클로라이드(69)

[0482] 9-(2-디에틸아미노에틸)카바졸(68)(17.9 g, 67.3 mmol, 1 eq)을 건조 디클로로메탄(150 mL) 중에 용해시켰다. 무수 AlCl₃(45 g, 337 mmol, 5 eq)을 교반하고 얼음 욕에서 냉각시키면서 적하하였다. 내부 온도를 5°C보다 낮

게 유지시키면서 3-클로로-프로피오닐 클로라이드(32.4 mL, 337 mmol, 5 eq)를 적하하였다. 반응 혼합물을 이 온도에서 15 h 동안 교반하고 차가운 3% HCl(격렬한 발포를 피해야 하였다)에 붓고 CHCl₃(5×500 mL)으로 추출하였다. 추출물을 증발시키고 생성된 녹색 오일을 디에틸 에테르(5×50 mL)로 분쇄하여 진회색 고체로서 3,6-디(3-클로로프로피오닐)-9-(2-디에틸아미노에틸)-카바졸 하이드로클로라이드(69) 24 g(74%)을 얻었다.

[0483] ¹H NMR (DMSO-d₆): 1.27 (t, 6H), 2.72 (q, 4H), 3.75 (m, 6H), 4.02 (m, 4H), 5.00 (t, 2H), 8.00 (d, 2H), 8.17 (d, 2H), 9.16 (s, 2H), 11.42 (s, 1H).

[0484] **6-(3-디에틸아미노에틸)-1,2,10,11-테트라하이드로-6H-비스-(사이클로펜타[c]카르바졸-3,9-디온(70))**

[0485] 3,6-디-(3-클로로프로피오닐)-9-(2-디에틸아미노에틸)카바졸 하이드로클로라이드(69)(5 g, 10.33 mmol, 1 eq)를 실온에서 교반하면서 트리플루오로메탄설폰산(50 g, 333 mmol, 32 eq)에 적하하고 반응 혼합물을 밤새 95℃로 가열하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 반응 혼합물을 얼음물에 부었다. 수성 용액의 pH를 10% NaOH로 9로 조정하고 생성물을 EtOAc/THF = 3/1 혼합물로 추출하였다. 용매를 증발시키고 미정제 생성물을 컬럼 크로마토그래피(EtOAc 중의 10% EtOH)에 의해 정제하여 흰색 고체로서 순수한 중간체 70 1.12 g(29%)을 얻었다.

[0486] MS (ESI): m/z = 375.3 [M+H]⁺; ¹H NMR (DMSO-d₆): 0.70 (t, 6H), 2.41 (q, 4H), 2.68 (m, 6H), 3.73 (m, 4H), 4.55 (t, 2H), 7.77 (s, 4H).

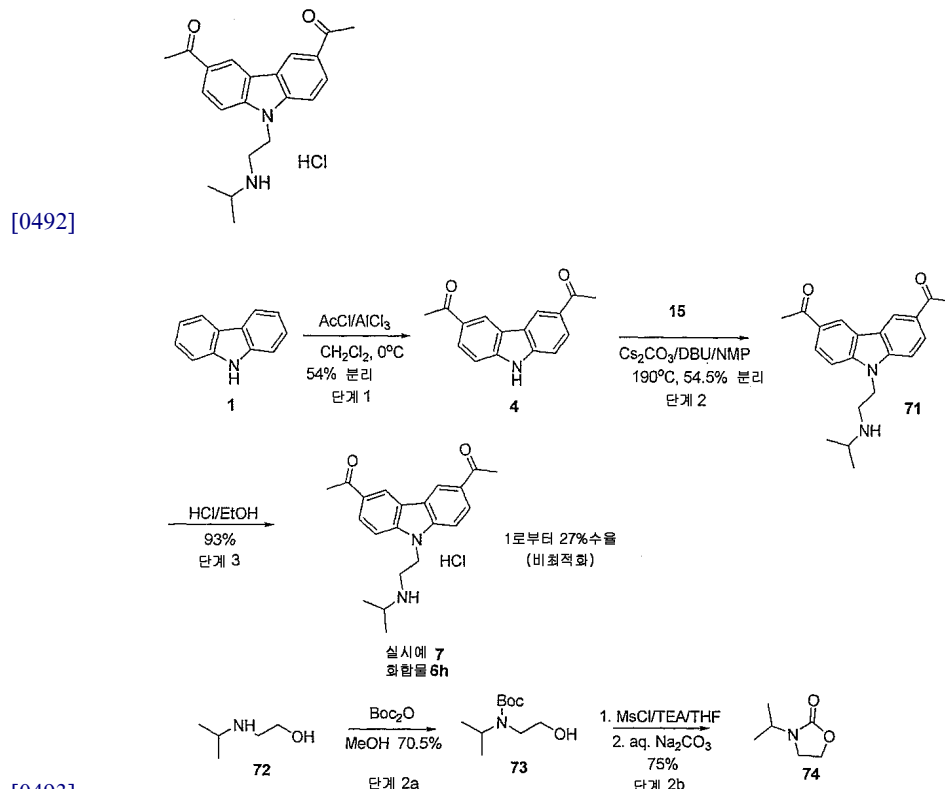
[0487] **실시예 15**

[0488] 중간체 70(1.12 g, 2.99 mmol, 1 eq)을 CH₂Cl₂(20 mL) 중에 용해시키고 에탄올(3.4 g, 93.15 mmol, 30 eq) 중의 10% HCl 용액을 첨가하여 침전물을 아주 많이 형성시켰다. 용매를 감압 하에 증발시키고 잔류물을 뜨거운 MeOH로 분쇄하여 미백색 고체로서 실시예 15 1.17 g(98%)을 얻었다.

[0489] 순도: HPLC에 의해 97.3%; MS (ESI): m/z = 375.3 [M-HCl+H]⁺; m.p. = 312.1 - 314.7℃

[0490] 실시예 17 및 실시예 20을 적절한 클로로아민, 즉, (CH₃)₂CH-NH-CH₂CH₂-Cl 또는 (C₂H₅)NHCH₂CH₂-Cl을 사용하여 동일한 공정에 의해 제조하였다.

[0491] **실시예 7(화합물 6h)의 대안적인 합성**



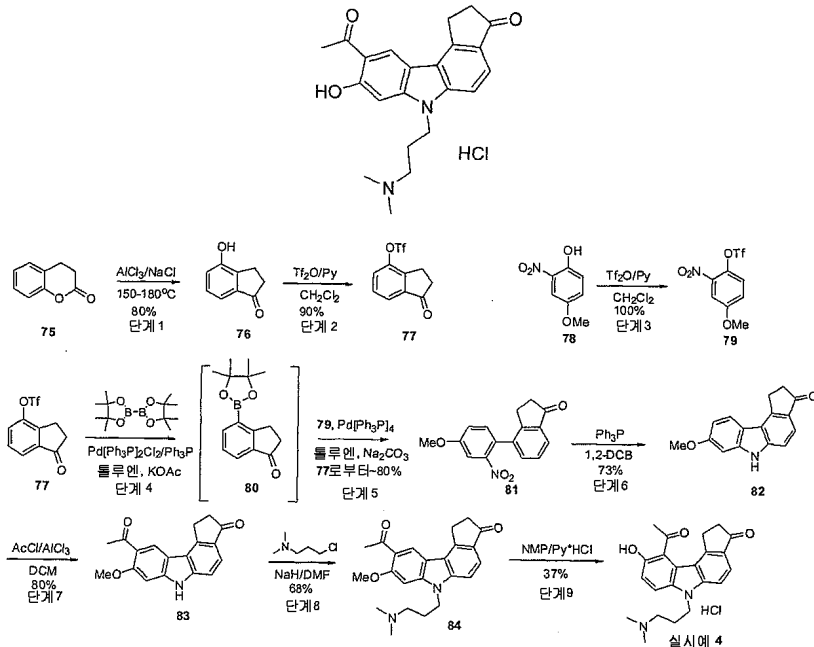
[0493]

- [0494] **실험**
- [0495] 달리 기재되지 않은 한, 시약 및 용매를 상업용 공급업자로부터 얻은 대로 사용하였다. 약성자 핵 자기 공명 스펙트럼을 400 MHz에서 Bruker ARX 400 분광기에서 얻었다. 양성자 스펙트럼에 대한 비교 피크로서 용매 피크를 사용하였다. 반응 진행을 TLC 또는/및 LC-MS 분석에 의해 조절하였다. 달리 기재되지 않은 한, TLC를 실리카에서 수행하였다.
- [0496] **3,6-디아세틸카바졸(4)**
- [0497] 카바졸(20 g, 0.12 mol, 1 eq)을 아르곤 하에 무수 CH₂Cl₂(300 mL) 중에 현탁시키고 생성된 혼합물을 0°C로 냉각시켰다. 내부 온도를 약 0°C에서 유지시키면서, AlCl₃(95.5 g, 0.72 mol, 6 eq)을 혼합물에 적하한 후, 아세틸 클로라이드(25.5 mL, 0.36 mol, 3 eq)를 추가로 적하하였다. 0°C에서 3 h 교반한 후, 아세틸 클로라이드의 다른 분획(5 mL, 0.07 mol, 0.6 eq)을 첨가하고 추가로 2 h 동안 교반을 계속하였다.
- [0498] 반응 혼합물을 교반하면서 얼음에 부었다. 고체를 여과에 의해 수집하고 CH₂Cl₂, 이후 물로 세척하고 진공 오븐에서 50°C에서 건조시켰다. 카바졸 4의 수율 16.3 g(54%). 여액 및 세척을 조합하고 CH₂Cl₂(3×300 mL)로 추출하였다. CH₂Cl₂ 추출물을 포화 NaHCO₃(1×300 mL) 및 염수(1×300 mL)로 세척하였다. Na₂SO₄에서 건조시킨 후, 여액을 증발 건조시켜 미정제 생성물을 얻었고, 이것을 추가로 정제하지 않고 사용하였다.
- [0499] MS (ESI): m/z = 252.0 [M+H]⁺.
- [0500] **2-N-Boc-2-N-이소프로필아미노에탄올(14)**
- [0501] (Boc)₂O(50.8 g, 0.23 mol, 2 eq)을 MeOH(200 mL) 중의 2-N-이소프로필아미노에탄올(72)(22.3 mL, 70%, 0.136 mol)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 주변 온도에서 4 h 동안 교반하고 이후 물(1.2 L)로 희석시키고 생성물을 EtOAc(4×400 mL)로 추출하였다. 합한 EtOAc 추출물을 염수(1×400 mL)로 세척하고 Na₂SO₄에서 건조시켰다. 용매를 증발시키고 미정제 생성물을 컬럼(용리제 헥산: EtOAc 4:1 내지 1:1)에 의해 정제하여 점성의 오일로서 순수한 73 19.5 g(70.5% 수율)을 얻었다.
- [0502] **3-이소프로필-2-옥사졸리디논(74)**
- [0503] MsCl(8.5 mL, 0.109 mol)을 격렬히 교반하면서 -20°C로 냉각된 무수 THF(200 mL) 중의 알콜(73)(18.5 g, 0.091 mol)의 용액 및 TEA(19 mL, 0.137 mol)에 적하하였다. 반응물을 주변 온도로 천천히 (3 h) 가온시켰다. 고체를 여과에 의해 제거하고 THF(20 mL)로 세척하였다. 포화 Na₂CO₃(100 mL)을 여액에 첨가하고 생성된 혼합물을 주변 온도에서 밤새 교반하고 이후 물(200 mL)로 희석시키고 EtOAc(3×200 mL)로 추출하였다. 합한 EtOAc 추출물을 1% HCl(1×200 mL), 염수(1×200 mL)로 세척하고 Na₂SO₄에서 건조시켰다. 용매를 증발시켜 사이클릭 카바메이트(74) 8.8 g(75% 수율)을 얻었고, 이것을 추가로 정제하지 않고 사용하였다.
- [0504] MS (ESI): m/z = 130.1 [M+H]⁺.
- [0505] **3,6-디아세틸-9-(2-N-이소프로필아미노에틸)-카바졸(71)**
- [0506] NMP(150 mL) 중의 3,6-디아세틸카바졸(4)(15.12 g, 0.06 mol), 3-이소프로필-2-옥사졸리디논(74)(7.80 g, 0.06 mol), Cs₂CO₃(39.2 g, 0.12 mol) 및 DBU(9 mL, 0.06 mol)의 혼합물을 190°C에서 24 h 동안 교반하고 이후 H₂O(500 mL)에 붓고 EtOAc(3×300 mL)로 추출하였다. 합한 EtOAc 추출물을 염수(2×200 mL)로 세척하고 Na₂SO₄에서 건조시켰다. 용매를 증발시키고 미정제 생성물을 컬럼 크로마토그래피(용리제: (5 내지 20%) MeOH(0.1%의 NH₃·H₂O 포함)/EtOAc)에 의해 정제하였다. 제1 분획은 반응하지 않은 출발 물질(약 1.7 g)을 포함하였다. 순수한 분획을 합하고 용매를 증발 건조시켜 순수한 분획(71) 9.36 g(NMR로 20% EtOAc 포함)을 얻었다. 덜 순수한 분획을 합하고 증발 건조시키고 잔류물을 EtOAc로 분쇄하여 다른 순수한 생성물 3.47 g을 얻었다. 전체 수율 - 54.5%(EtOAc의 양을 공제한 후);(반응된 출발 물질에 기초하여 61.6% 수율).
- [0507] MS (ESI): m/z = 337.1 [M+H]⁺.
- [0508] **화합물 6h**

[0509] 중간체(71)(3.47 g, 0.0103 mol)을 CH₂Cl₂(30 mL) 중에 용해시키고 생성된 용액을 약 5°C로 냉각시켰다. 10% HCl/EtOH 용액(5.6 g, 0.0153 mol)을 교반하면서 적하하였다. 40 min 후, 용매를 진공 하에 제거하고 잔류물을 고진공 하에 40°C에서 건조시켜 6h 3.5 g(93% 수율)을 얻었다. 유사하게, 다른 71 수확물(9.36 g, 20% EtOAc)을 6h로 전환시켰다.

[0510] 분석 데이터: 순도: HPLC로 99.5%; MS (ESI): m/z = 337.3 [M-HCl+H]⁺; m.p. = 292.7-294.1°C

[0511] 실시예 4의 대안적인 합성



[0512]

[0513] **단계 1.** 4-히드록시-1-인다논(76)을 문헌[Org. Lett., 2007, 9(15), p. 2915-2918]에 따라 디하이드로쿠마린(75)의 염화알루미늄 유도된 재고리화에 의해 합성하였다. 반응을 (75) 100 g에서 수행하여 (76)을 85% 수율로 제공하였다.

[0514] **단계 2.** 인다논(76)을 Py의 존재 하에 CH₂Cl₂ 중의 트리플릭산 무수물과의 반응에 의해, 이후 섬광 크로마토그래피에 의해 90% 수율로 트리플레이트(77)로 전환하였다.

[0515] **단계 3.** 트리플레이트(79)를 4-메톡시-2-니트로페놀(78) 50 g으로부터 출발하여 정량적 수율로 동일한 방식으로 합성하였다.

[0516] **단계 4 및 단계 5.** 문헌[Synthetic Communications, 2006, 36, p. 3809-3820]로부터 비페닐 화합물의 1 용기(one-pot) 합성에 대한 프로토콜 이후, 중간체(81)를 트리플레이트(77) 60 g으로부터 출발하여 80% 수율로 얻었다.

[0517] **단계 6.** 1,2-디클로로벤젠 중의 과량의 트리페닐포스핀의 가열에 의한 비페닐 중간체(81)의 고리화를 처음에 소량 규모로 수행하여 반응 혼합물로부터 에테르에 의한 침전 후 (최적화되지 않은) 약 50% 수율로 예상된 카바졸(82)을 얻었다. 동일한 반응을 (81) 42 g으로 규모 확장하여, 순수한(82) 27 g(73% 수율)을 얻었다.

[0518] **단계 7.** 중간체(82)(27.8 g 규모)의 아세틸화를 표준 프로토콜에 따라 CH₂Cl₂ 중에 수행하여 중간체(83) 26 g(80% 수율)을 얻었다.

[0519] **단계 8.** EtOAc/THF의 1:1 혼합물에 의한 완전한 추출 후, TLC에 의해 기본 불순물을 포함하는 미정제 생성물(84)의 약 68%의 수율을 얻었다. 이것을 추가로 정제하지 않고 탈메틸화 단계에 사용하였다.

[0520] **단계 9.** 기질을 $Py \cdot HCl/NMP$ 의 1:1 혼합물 중에 190°C에서 10 h 동안 가열하여 (84)로부터 메틸 기의 제거를 수행하였다. 정제 후, 컬럼 크로마토그래피에 의해, 실시예 4(자유 염기) 7.8 g(37% 수율)을 얻었다. 이것을 EtOH 중의 10% HCl 용액으로 처리하여 순수한 실시예 4 8.4 g을 얻었다.

- [0521] **실험**
- [0522] 달리 기재되지 않은 한, 시약 및 용매를 상업용 공급업자로부터 받은 대로 사용하였다. 양성자 핵 자기 공명 스펙트럼을 400 MHz에서 Broker ARX 400 분광기에서 얻었다. 양성자 스펙트럼에 대한 기준 피크로서 용매 피크를 사용하였다. 반응의 진행을 TLC 또는/및 LCMS 분석에 의해 조절하였다.
- [0523] **4-히드록시-1-인다논(76)**
- [0524] 무수 염화알루미늄(550 g, 4.135 mol, 4 eq) 및 염화나트륨(105 g, 1.795 mol, 2.7 eq)을 혼합하고 150°C로 가열하였다. 디하이드로쿠마린(75)(100 g, 675.7 mol, 1 eq)을 내부 온도를 150~160°C로 유지시키면서 천천히 첨가하였다. 첨가 후, 온도를 200°C로 증가시키고 반응 혼합물을 1.5 h 동안 교반하고, 뜨겁게 하면서, 자체 접시에 부어 냉각시켰다. 고화된 집괴를 부수고 400 mL 농축 HCl을 포함하는 얼음과 물의 격렬히 교반된 혼합물(4 L)에 첨가하였다. 생성된 현탁액을 1 h 동안 교반하고 여과시키고 물로 세척하고 건조시켜 미정제 4-히드록시-1-인다논(76) 85 g(85%)을 회색 고체로서 얻었다. 이것은 충분히 순수해서 다음 단계에서 사용하였다.
- [0525] **트리플루오로메탄설포산 1-옥소인단-4-일 에스테르(77)**
- [0526] 트리플루오로메탄설포산 무수물(72.3 mL, 429.7 mmol, 1.2 eq)을, 내부 온도를 5°C 미만으로 유지시키면서, 건조 CH₂Cl₂(450 mL) 및 피리딘(87 mL, 1074 mmol, 3 eq) 중의 4-히드록시-1-인다논(77)(53 g, 358.1 mmol, 1 eq)의 현탁액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온까지 가온시키고 1 h 동안 계속해서 교반하였다. CH₂Cl₂(300 mL) 및 물(100 mL)을 반응 혼합물에 첨가하고 유기층을 분리시키고 2% HCl 용액(3×100 mL) 및 포화 NaHCO₃(2×100 mL)으로 후속적으로 세척하고 Na₂SO₄로 건조시켰다. CH₂Cl₂를 증발시키고 미정제 생성물을 섬광 크로마토그래피(헥산 중의 5% 내지 10% EtOAc)로 정제하여 순수한 77 90 g(90%)을 갈색의 액체로서 얻었다.
- [0527] ¹H-NMR (DMSO-d₆): 2.76 (t, 2H), 3.19 (t, 2H), 7.65(dd, 1H), 7.94(2d, 2H).
- [0528] **트리플루오로메탄설포산 4-메톡시-2-니트로페닐 에스테르(78)**
- [0529] 트리플루오로메탄설포산 무수물(60 mL, 350 mmol, 1.2 eq)을, 내부 온도를 5°C 미만으로 유지시키면서, 건조 CH₂Cl₂(550 mL) 및 피리딘(72.5 mL, 897 mmol, 3 eq) 중의 4-메톡시-2-니트로페놀(78)(50.57 g, 298.9 mmol, 1 eq)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온으로 가온시키고 밤새 교반하였다. 물(100 mL)을 반응 혼합물에 첨가하고 유기층을 분리시키고 7% HCl 용액, 이후 포화 NaHCO₃으로 후속적으로 세척하고 Na₂SO₄로 건조시켰다. CH₂Cl₂ 용액을 SiO₂의 패드를 통해 여과시키고 용매를 진공 하에 제거하여 순수한 트리플레이트 79 89 g(99%)을 연회색 액체로서 얻었다.
- [0530] ¹H-NMR (DMSO-d₆): 3.92 (s, 3H), 7.49(dd, 1H), 7.71 (d, 1H), 7.81 (d, 1H).
- [0531] **4-(4-메톡시-2-니트로페닐)-인단-1-온(81)**
- [0532] 탈기된 톨루엔(2 L) 중의 아세트산칼륨(29.44 g, 0.3 mol, 1.5 eq), 트리플레이트(77)(61.44 g, 0.22 mol, 1.1 eq), 비스(피나콜로)디보란(60.94 g, 0.24 mol, 1.2 eq), PPh₃(3.15 g, 0.012 mol, 0.06 eq) 및 PdCl₂(PPh₃)₂(4.21 g, 0.006 mol, 0.03 eq)로 이루어지는 혼합물을 아르곤 분위기 하에 밤새 환류시켰다. 트리플레이트(79)(60.24 g, 0.2 mol, 1 eq), Pd(PPh₃)₄(11.55 g, 0.01 mol, 0.05 eq), 및 2 M Na₂CO₃(800 mL)을 아르곤의 신속한 유동 하에 동일한 플라스크에 연속하여 첨가하고 생성된 용액을 밤새 환류시켰다. 물(200 mL) 및 EtOAc(500 mL)을 첨가하고 수성층을 분리시키고 EtOAc(2×500 mL)로 추출하고 합한 추출물을 Na₂SO₄로 건조시켰다. 용매를 감압에서 증발시키고 미정제 생성물을 컬럼 크로마토그래피(헥산 중의 20% EtOAc)에 의해 정제하여 황색 고체로서 비페닐 중간체(81) 44 g(80%)을 얻었다.
- [0533] **8-메톡시-1,2-디하이드로-6H-사이클로펜타[c]카바졸-3-온(82)**
- [0534] o-디클로로벤젠(400 mL) 중의 4-(4-메톡시-2-니트로페닐)-인단-1-온(81)(42 g, 148.4 mmol, 1 eq) 및 트리페닐포스핀(116 g, 445 mmol, 3 eq)의 용액을 격렬히 교반하면서 4 h 동안 환류시키고 이후 0°C로 냉각시켰다. 디에틸 에테르(4 L)를 첨가하고 침전물을 여과시키고 디에틸 에테르(3×100 mL)로 세척하고 건조시켜 (82) 17 g(46%)을 얻었다. 여액을 증발시키고 잔류물을 차가운 MeOH(5×100 mL)로 세척하여 카바졸(82) 10 g(27%)을 추

가로 얻었다. 전체 수율 27 g(73%).

[0535] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): 2.74 (m, 2H), 3.50 (m, 2H), 3.88 (s, 3H), 6.90 (d, 1H), 7.08 (s, 1H), 7.47 (d, 1H), 7.58 (d, 1H), 7.97 (d, 1H), 1 1.79 (s, 1H).

[0536] **9-아세틸-8-메톡시-1,2-디하이드로-6H-사이클로펜타[c]카바졸-3-온(83)**

[0537] 8-메톡시-1,2-디하이드로-6H-사이클로펜타[c]카바졸-3-온(82)(27.8 g, 1 10.8 mmol, 1 eq)을 건조 디클로로메탄(300 mL) 중에 용해시켰다. 무수 AlCl_3 (29.5 g, 221.5 mmol, 2 eq)을 교반하고 냉각시키면서 분액으로 첨가한 후, AcCl (24 mL, 332.4 mmol, 3 eq)을 적하하였다. 반응 혼합물을 약 5°C 에서 24 h 동안 교반하고 얼음물에 부었다(격렬한 발포를 피해야 하였다). 침전된 오렌지색 고체를 여과시키고 물(10×100 mL), CH_2Cl_2 (3×50 mL), 아세톤(3×50 mL)으로 세척하여 9-아세틸-8-메톡시-1,2-디하이드로-6H-사이클로펜타[c]카바졸-3-온(83) 26 g(80%)을 얻었다.

[0538] **9-아세틸-8-메톡시-1,2-디하이드로-6-(3-디메틸아미노프로필)-사이클로펜타[c]카바졸-3-온(84)**

[0539] NaH (60%의 6.88 g, 171.95 mmol, 2.5 eq)를 건조 CH_2Cl_2 (300 mL) 중의 9-아세틸-8-메톡시-1,2-디하이드로-6H-사이클로펜타[c]카바졸-3-온(83)(26 g, 68.78 mmol, 1 eq)의 현탁액에 첨가하고 수소 방출이 멈출 때까지 혼합물을 실온에서 20-30 min 동안 교반하였다. 3-디메틸아미노프로필 클로라이드 하이드로클로라이드(16.3 g, 103.16 mmol, 1.5 eq)를 질소 하에 적하하였다. 반응 혼합물을 실온에서 30 min 동안, 이후 60°C 에서 24 h 동안 교반하고 얼음물(4 L)에 부었다. 수성 용액을 농축 HCl 로 pH 약 2로 산성화시키고 반응하지 않은 출발 물질을 $\text{EtOAc}/\text{THF} = 3/1$ 혼합물로 추출하였다. 물 층의 pH를 약 9로 조정시, 생성물을 1:1 $\text{EtOAc}:\text{THF}$ 혼합물(10×500 mL)로 추출하였다. 합한 추출물을 염수로 세척하고 Na_2SO_4 로 건조시키고 용매를 증발시켜 LC/MS에 의해 합당하게 순수한 미정제 카바졸(84) 22 g(68%)을 얻었다. 이것을 추가로 정제하지 않고 다음 단계에 사용하였다.

[0540] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): 1.88 (t, 2H), 2.13 (s, 6H), 2.16 (t, 2H), 2.62 (s, 3H), 2.75 (m, 2H), 3.47 (m, 2H), 4.01 (s, 3H), 4.52 (t, 2H), 7.32 (s, 2H), 7.65(dd, 4H), 8.32 (s, 2H).

[0541] **9-아세틸-8-히드록시-1,2-디하이드로-6-(3-디메틸아미노프로필)-사이클로펜타[c]카바졸-3-온**

[0542] NMP (150 mL) 중의 9-아세틸-8-메톡시-1,2-디하이드로-6-(3-디메틸아미노프로필)-사이클로펜타[c]카바졸-3-온(84)(22 g, 58.2 mmol, 1 eq) 및 피리딘 하이드로클로라이드(134.4 g, 1164 mmol, 20 eq)의 용액을 10 h 동안 환류시켰다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고 10% 수성 K_2CO_3 용액(3 L)에 부었다. 침전된 진녹색 고체를 여과시키고 물(5×100 mL)로 세척하고 건조시켰다. 미정제 생성물을 컬럼 크로마토그래피(용리제 EtOAc 중의 10%~20% MeOH)에 의해 정제하여 순수한 9-아세틸-8-히드록시-1,2-디하이드로-6-(3-디메틸아미노프로필)-사이클로펜타[c]카바졸-3-온 7.81 g(37%)을 미황색 고체로서 얻었다.

[0543] MS (ESI): $m/z = 363.3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

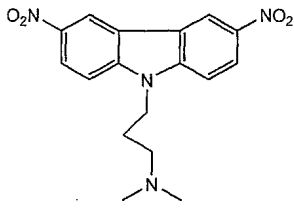
[0544] $^1\text{H NMR}$ (DMSO): 1.86 (t, 2H), 2.17 (s, 6H), 2.20 (t, 2H), 2.79 (m, 2H), 2.81 (s, 3H), 3.52 (m, 2H), 4.43 (t, 2H), 7.15 (s, 2H), 7.66(dd, 4H), 8.50 (s, 2H), 12.71 (s, 1H).

[0545] **실시예 4**

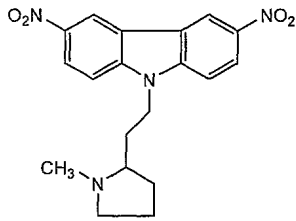
[0546] 9-아세틸-8-히드록시-1,2-디하이드로-6-(3-디메틸아미노프로필)-사이클로펜타[c]카바졸-3-온(7.81 g, 21.46 mmol, 1 eq)을 에탄올(200 mL) 중의 물(20 mL)과 10% HCl 용액(20 mL)의 혼합물 중에 용해시키고 균질한 용액을 증발 건조시켰다. 잔류물을 진공 하에 밤새 건조시켜 실시예 4 8.47 g을 회색 고체로서 얻었다.

[0547] 순도: HPLC로 99.2%; MS (ESI): $m/z = 363.3$ $[\text{M}-\text{HCHH}]^+$; $m.p. = 241.3^\circ\text{C}$ (분해); $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): 2.15 t (2H), 2.68 (3H), 2.69 (3H), 2.80 m (2H), 2.82 (3H), 3.11 m (2H), 3.55 m (2H), 4.53 t (2H), 7.29 (2H), 7.73 dd (4H), 8.52 (2H), 11.00 (1H), 12.76 (1H).

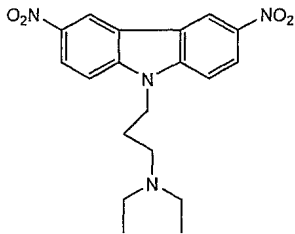
[0548] 구조식 II의 화합물은 구조식 I의 화합물과 유사하게 제조되고, 예를 들면 하기 화합물을 포함한다:



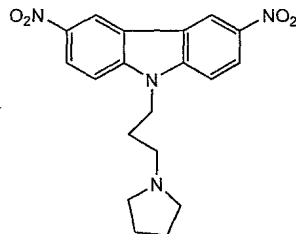
실시예 21



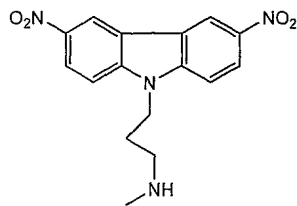
실시예 22



실시예 23



실시예 24

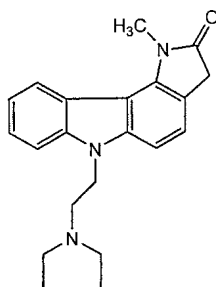


실시예 25

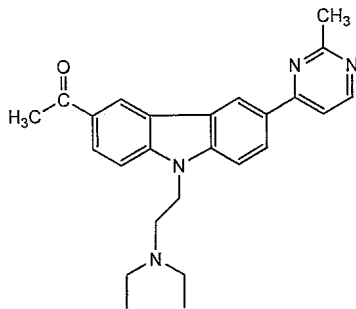
[0549]

[0550]

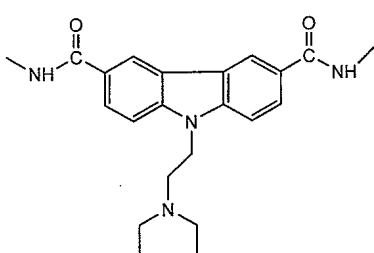
본 발명의 추가의 카바졸 화합물은 하기 화합물이다:



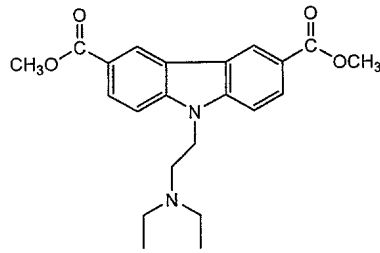
실시예 17b



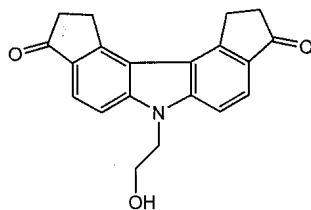
실시예 26



실시예 27



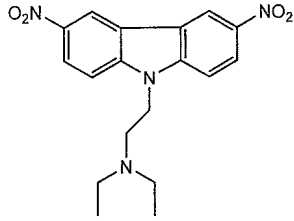
실시예 28



실시예 37

[0551]

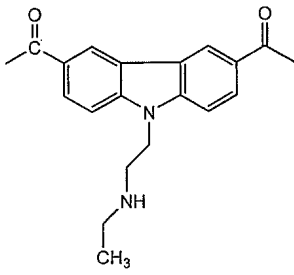
[0552] 본 발명의 방법에서 유용한 화합물은 하기 구조식을 갖는다:



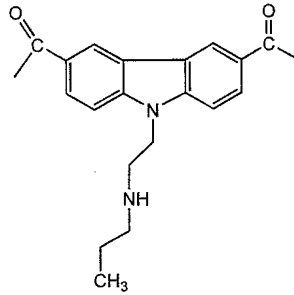
화합물 100

[0553]

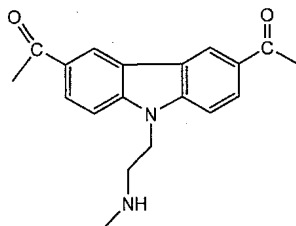
[0554] 구조식 I 을 갖는 추가의 예로는 하기 화합물을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다:



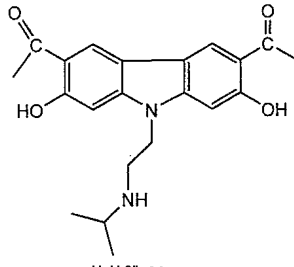
실시예 29



실시예 30

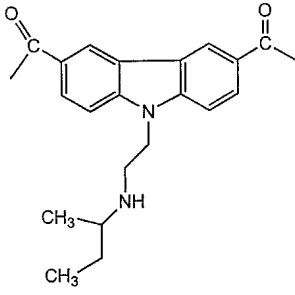


실시예 31

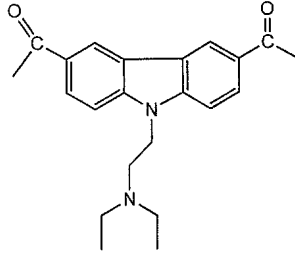


실시예 32

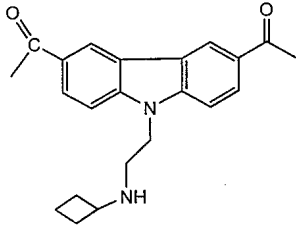
[0555]



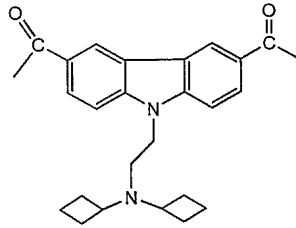
실시예 33



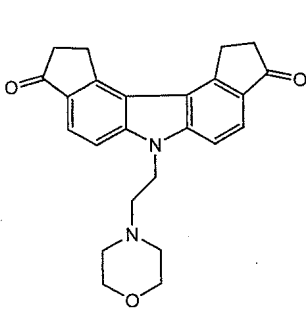
실시예 34



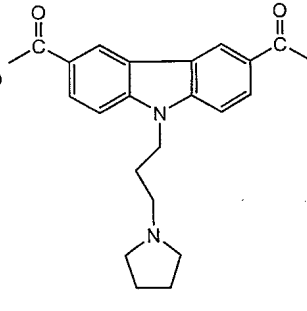
실시예 35



실시예 36

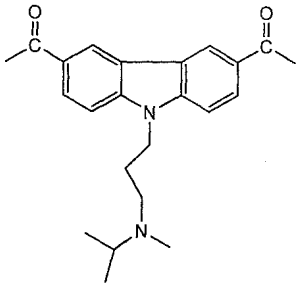


실시예 38

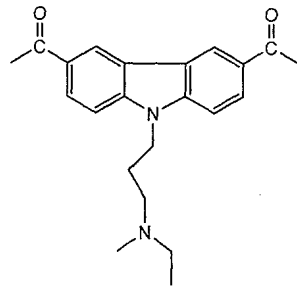


실시예 39

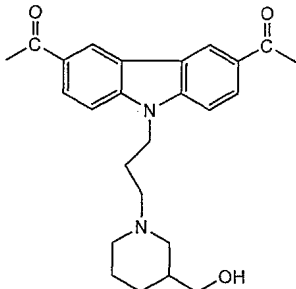
[0556]



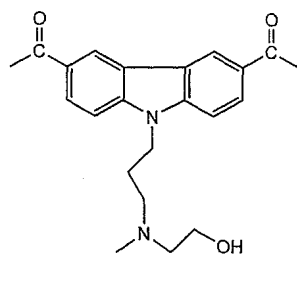
실시예 40



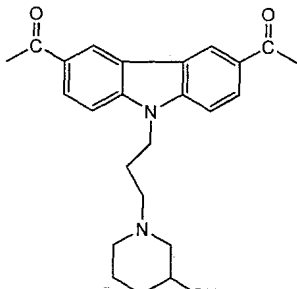
실시예 41



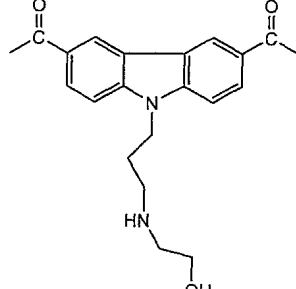
실시예 42



실시예 43

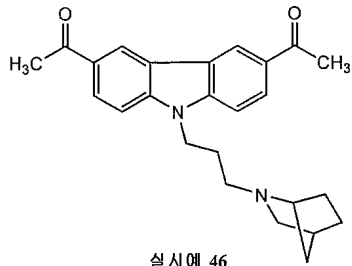


실시예 44

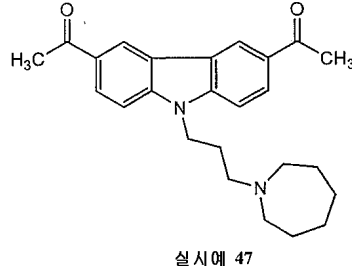


실시예 45

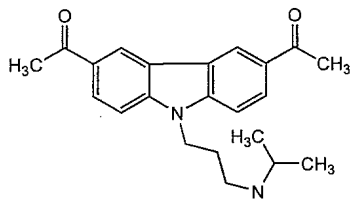
[0557]



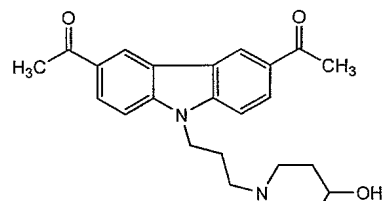
실시예 46



실시예 47



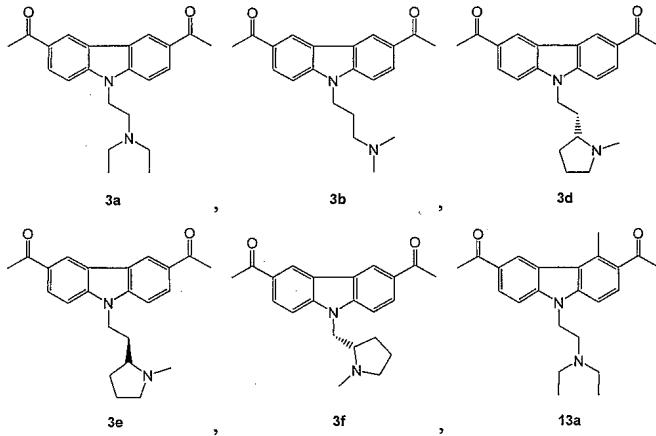
실시예 48



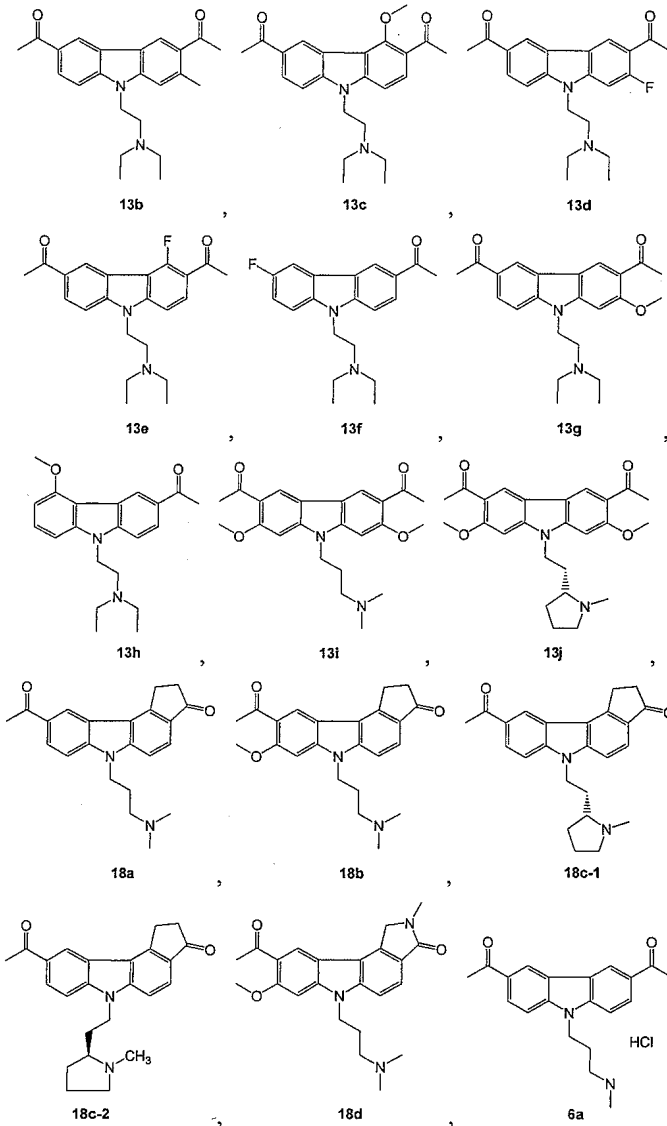
실시예 49

[0558]

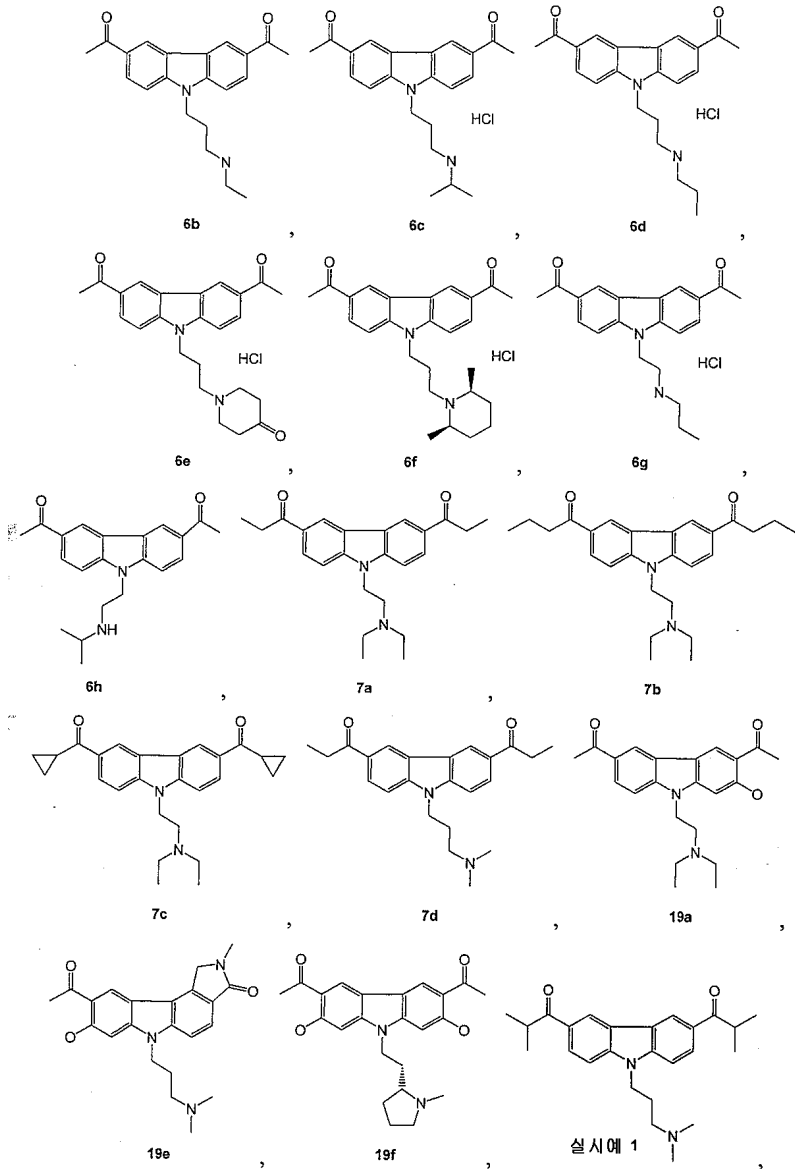
[0559] 따라서, 본 발명의 화합물은 하기 화합물을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다:



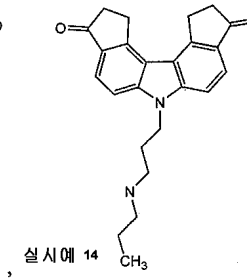
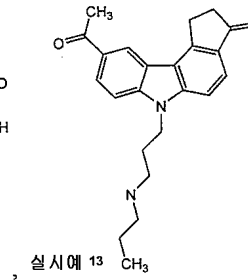
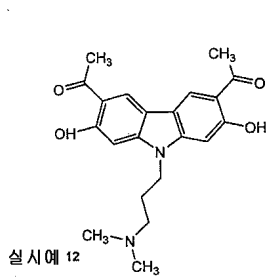
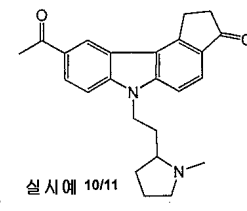
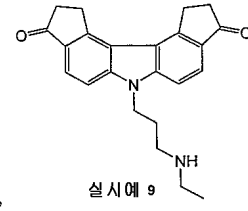
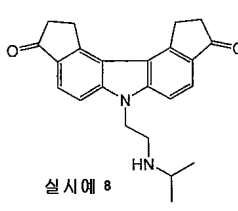
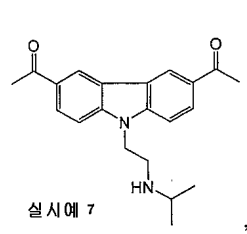
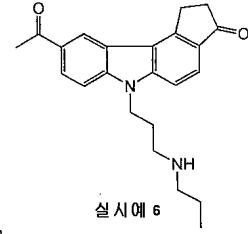
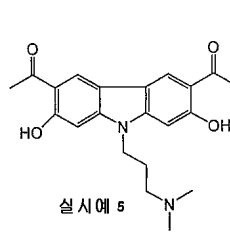
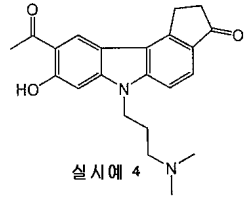
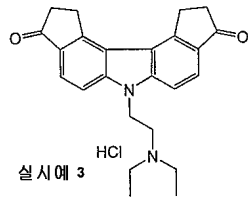
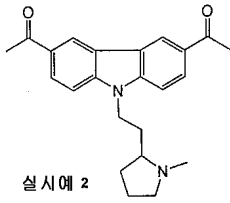
[0560]



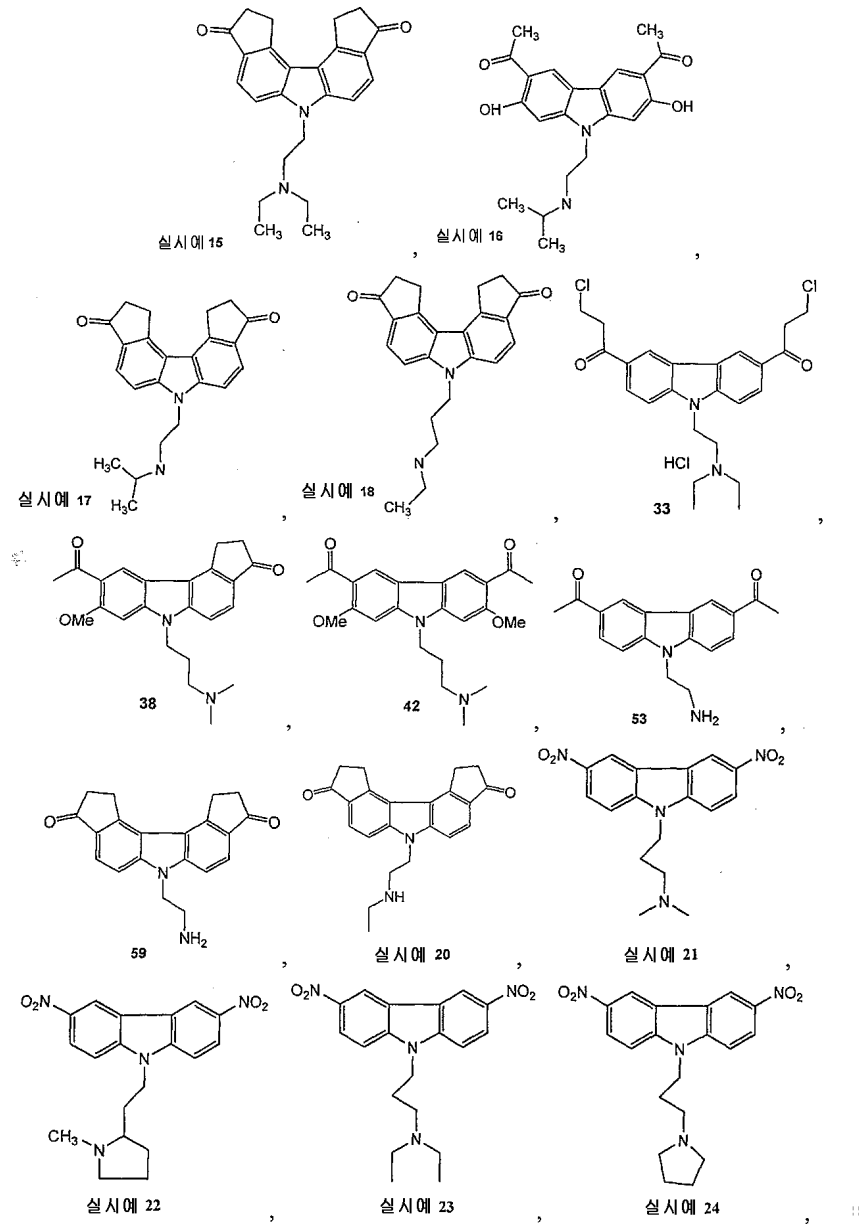
[0561]



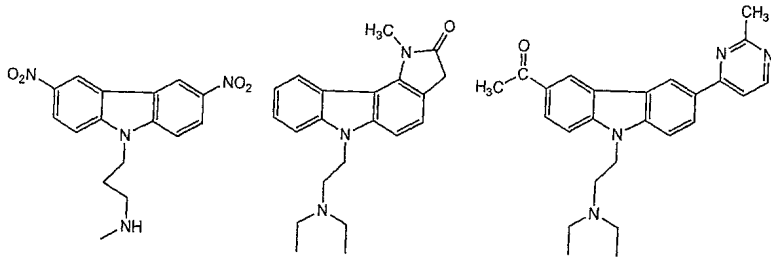
[0562]



[0563]



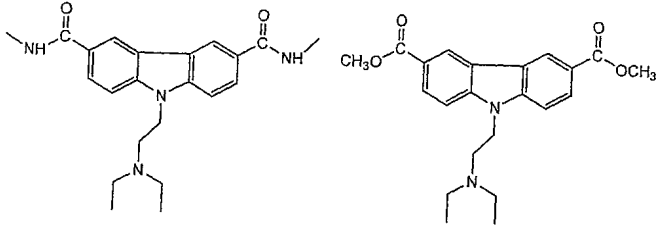
[0564]



실시예 25

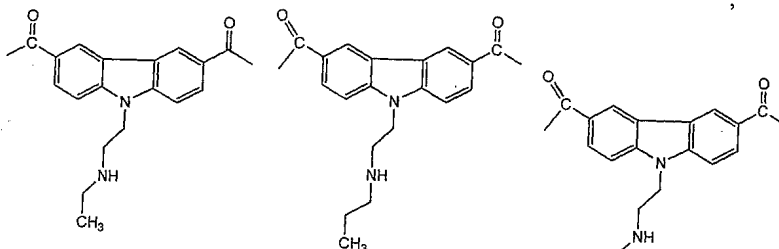
화합물 17b

실시예 26



실시예 27

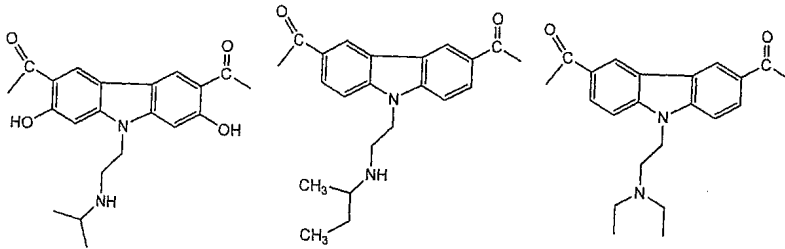
실시예 28



실시예 29

실시예 30

실시예 31

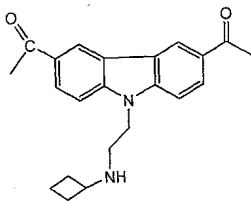


실시예 32

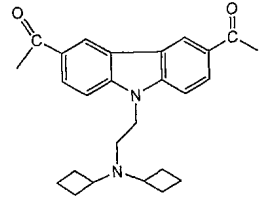
실시예 33

실시예 34

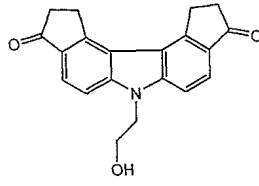
[0565]



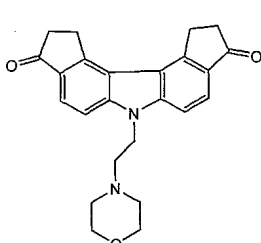
실시예 35



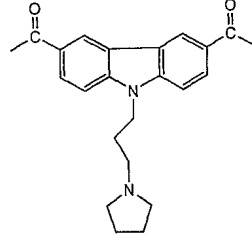
실시예 36



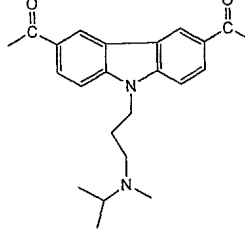
실시예 37



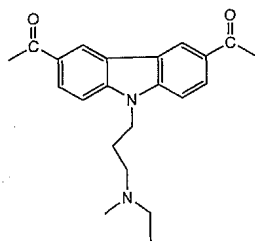
실시예 38



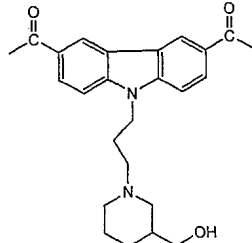
실시예 39



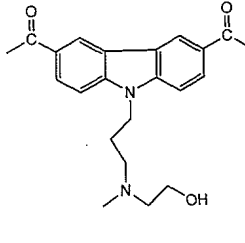
실시예 40



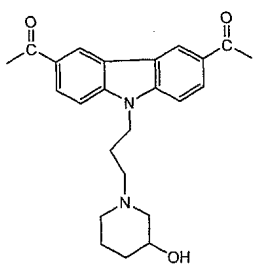
실시예 41



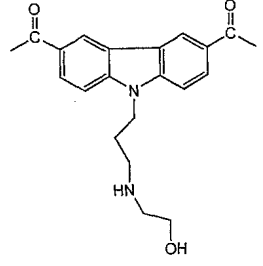
실시예 42



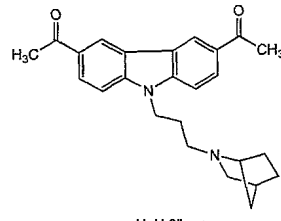
실시예 43



실시예 44

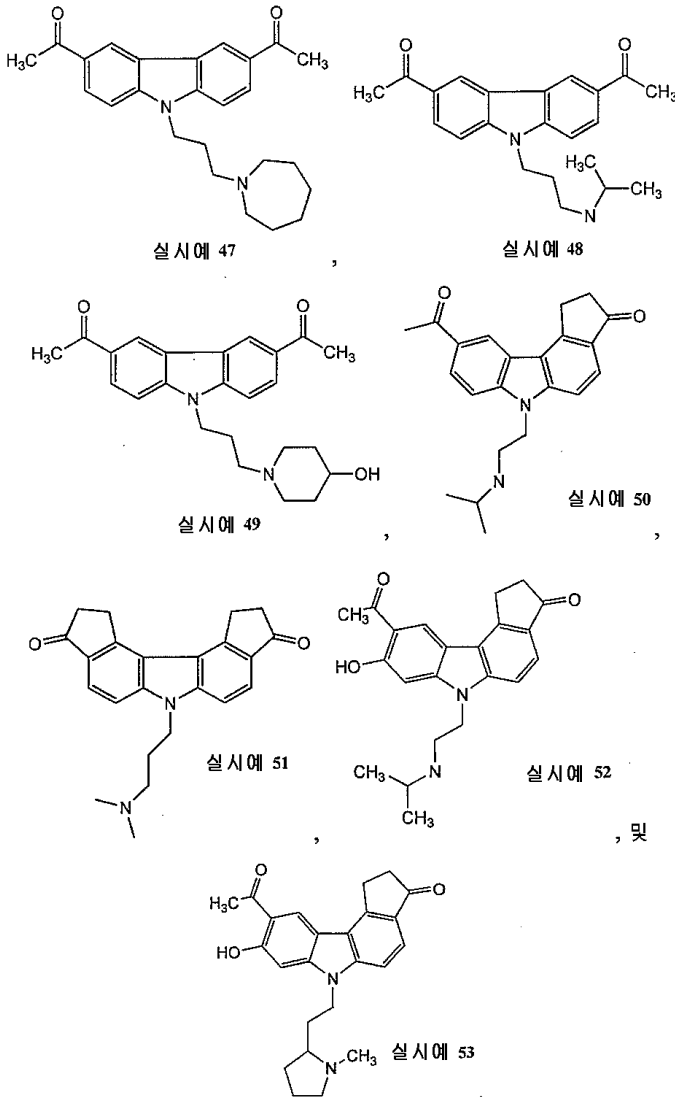


실시예 45



실시예 46

[0566]



[0567]

[0568]

카바졸 화합물의 효력은 p53을 활성화하는 화합물의 능력을 측정하여 결정한다. 특히, p53을 활성화시킬 수 있는 화합물을 확인하기 위해 p53 반응성 루시퍼라제 리포터 세포주를 사용한다. p53의 활성화를 EC₅₀ 값으로 기록하고, 이것은 기초 p53 활성화에 대해 p53 활성을 50% 증가시키는 데 필요한 화합물의 유효 농도이다.

[0569]

EC₅₀ 값을 결정하기 위한 p53 활성화 분석은 다음과 같이 수행하였다:

[0570]

정의 및 전문용어

[0571]

ConALuc: p53 반응성 루시퍼라제 리포터 작제물

[0572]

DMSO: 디메틸 설펝사이드

[0573]

FBS: 소 태아 혈청

[0574]

장비

[0575]

96웰 광도계-플루오로스칸(예를 들면, Fluoroscan, LabSystems, Inc, 설정 프로그램, 통합 시간은 0.1 초이고, PMT 전압은 1000이고, 지체 시간은 0이다.

[0576]

멀티채널 피펫 50~300 μl 범위

[0577]

96웰 플레이트

[0578]

물질

[0579]

리포터 세포주:

- [0580] HT1080-L(ConALuc 리포터를 갖는 인간 섬유육종 세포)
- [0581] RCC45ConALuc(ConALuc 리포터를 갖는 인간 신장 세포 암종 세포주)
- [0582] 표준 DMEM 배지
- [0583] 표준 RPMI 배지
- [0584] pen/strep(페니실린/스트렙토마이신) 100x
- [0585] 무균 PBS 중 트립신-EDTA 10배 희석 내지 1X
- [0586] PBS
- [0587] Bright-Glo 루시퍼라제 분석 시스템(Fisher PR-E2620)
- [0588] DMSO 중 9-아미노아크리딘(9aa) 20 mM(Sigma A38401), p53 활성물질(양성 대조군)
- [0589] DMSO 중 화합물 100 20 mM(Chembridge), p53 활성물질(양성 대조군)
- [0590] DMSO(Fisher D 128-500)(음성 대조군)

[0591] **방법**

- [0592] 1. HT1080-L 또는 RCC45ConALuc 세포 중 어느 하나인 2가지의 유형의 표준 세포를 사용하였다. 세포주 둘 다 p53 반응성 루시퍼라제 리포터 작제물을 안정하게 발현하였다.
- [0593] 2. HT1080-L 세포를 10% FBS를 포함하는 DMEM 배지 중에 배양하였다. RCC45ConALuc 세포를 10% FBS를 포함하는 RPMI 배지(Pen/Strep를, 원하는 경우, 첨가하여 최종 농도를 1%로 만든다) 중에 배양하였다. 세포주 둘 다 5% CO₂로 37°C에서 습윤 인큐베이터 내에서 성장시켰다. 정상 배양의 경우, 세포주 둘 다 HT1080-L에 대해 1:20의 비로 그리고 RCC45ConALuc 세포에 대해 1:5의 비로 (세포가 80~90% 포화상태일 때) 3~4일마다IX 트립신-EDTA를 사용하여 분할하였다.
- [0594] 3. 실험 전날, 세포를 37°C 인큐베이터 내에서 IX 트립신/EDTA 용액 중에 약 5분 동안 트립신 분해하고 96웰 플레이트 내에서 플레이팅하였다. HT1080-L 세포를 50 μl의 부피로 표준 DMEM 배지 내에서 1×10⁴/웰의 밀도로 시딩하였다. RCC45ConALuc를 표준 RPMI 배지 내에서 50 μl의 부피로 2×10⁴/웰의 밀도로 시딩하였다.
- [0595] 4. 다음날, 다양한 카바졸 화합물을 표준 DMEM 배지 내에서 스톡 용액의 희석에 의해 제조하여 세포를 하기 표 1에서의 최종 화학 농도로 처리하였다. DMSO 중에 스톡 용액을 만들었다. 통상적으로, 20 mM 스톡 용액으로서 화합물질을 만들었다. 그러나, 이 농도는 소정 화합물의 용해도에 따라 달라지고, 따라서 실제 스톡 농도를 실험 시간에 기록하였다(예를 들면, 덜 가용성인 화합물이 5 또는 10 mM의 스톡 농도를 가질 수 있다).
- [0596] 5. 각각의 시험 화합물은 96웰 플레이트의 2줄을 사용하였고, 따라서 4개의 화합물(예를 들면, W, X, Y, Z)을 동시에 하나의 플레이트 내에서 시험하였다. 시험 화합물 이외에, 각각의 플레이트는 양성 대조군 및 음성 대조군을 포함하였다. 양성 대조군으로서, 9aa를 3 μM의 용량으로 사용하였다. 음성 대조군으로서, DMSO를 최종 농도 0.1%로 사용하였다.

[0597] [표 1] 화합물질의 최종 농도를 갖는 실험 플레이트의 도식

	양성 대조군	음성 대조군	라이브러리 화합물(Cpd W, X, Y, Z) (uM)									
			0.039	0.078	0.156	0.313	0.625	1.25	2.5	5	10	20
Cpd W	DMSO	3 uM 9aa	0.039	0.078	0.156	0.313	0.625	1.25	2.5	5	10	20
Cpd W	DMSO	3 uM 9aa	0.039	0.078	0.156	0.313	0.625	1.25	2.5	5	10	20
Cpd X	DMSO	3 uM 9aa	0.039	0.078	0.156	0.313	0.625	1.25	2.5	5	10	20
Cpd X	DMSO	3 uM 9aa	0.039	0.078	0.156	0.313	0.625	1.25	2.5	5	10	20
Cpd Y	DMSO	3 uM 9aa	0.039	0.078	0.156	0.313	0.625	1.25	2.5	5	10	20
Cpd Y	DMSO	3 uM 9aa	0.039	0.078	0.156	0.313	0.625	1.25	2.5	5	10	20
Cpd Z	DMSO	3 uM 9aa	0.039	0.078	0.156	0.313	0.625	1.25	2.5	5	10	20
Cpd Z	DMSO	3 uM 9aa	0.039	0.078	0.156	0.313	0.625	1.25	2.5	5	10	20

- [0598]
- [0599] 1. 플레이트에 첨가되는 화합물질의 희석액을 표준 DMEM 내에서 2X 농도로서 만들고 50 μl의 부피로 상응하는

웰에 첨가하였다.

- [0600] 2. 화학물질을 40 μM (최고 농도의 2X, 예를 들면 20 μM)으로부터 출발하여 2배 연속 희석에 의해 표준 DMEM 중에 희석시켰다. 하나의 세포주에 대해, 최소 부피는 표준 DMEM 중의 각각의 농도의 화학물질의 2X 워킹 용액 125 μl 이었다.
- [0601] 3. 각각의 플레이트에서 하나의 농도로 첨가되는 양성 대조군 이외에, 화합물 100의 양성 대조군, 또는 스크리닝의 각 단계에서 가장 활성인 화합물을 전체 농도 범위로 각각의 분석 실행에 첨가하여 (실행 중에서 p53 활성화의 용량 반응 곡선의 비교에 의해 예상되는) 적절하고 강건한 분석 수행을 보장하였다.
- [0602] 4. 화합물에 의해 유도된 세포 사멸이 루시퍼라제 활성을 검출하는 것을 허용하지 않으므로, 화합물 첨가 16시간 후, 최고 농도의 화합물을 갖는 모든 웰을 독성 효과의 존재에 대해 현미경에 의해 확인하였다. 세포독성이 명확한 경우, 독성의 존재에 대해 동일한 화합물의 다른 용량을 확인하였다. 독성 효과를 야기하는 최저 용량을 기록하였다. 세포독성이 (0.3 μM 이하의 현재 용량 도식에서) 3~4 최저 화합물 용량에서 관찰되는 경우에, 화합물을 더 낮은 농도 범위에서 별도로 재시험하여, 적어도 4회의 2배 상이한 용량의 화합물을 세포독성의 징후 없이 시험되도록 하였다.
- [0603] 5. 현미경 검사 후, Bright Glo 루시퍼라제 분석 시스템 15 μl 를 각각의 웰에 첨가하고, RT에서 5분 항온처리 후, 플레이트를 측정 시간 0.1 초로 96웰 플레이트 광도계에서 판독하였다. 진탕 단계가 측정 전에 포함되었다.
- [0604] 6. 동일한 플레이트에서 DMSO 대조군에 대해 루시퍼라제 활성의 평균에 의해 각각의 화학물질 농도에서의 검출된 루시퍼라제 활성을 나눠 각각의 화학물질의 각각의 농도에 대한 루시퍼라제 활성화의 배수를 계산하였다. 이후, 배수를 화학물질 농도에 대해 좌표로 나타내서 화합물이 활성인지를 결정하였다. 데이터로부터, 최대 활성화 배수 및 E_{max} (최대 p53 활성화를 발생시키는 농도) 둘 다를 결정하였다.
- [0605] 7. 각각의 화합물에 대해, 이 분석을 추가로 2회 반복하였다. 3회 실행을 완료하자마자, 원본 데이터를 사용하여 EC_{50} 값을 계산하였다.
- [0606] 2회 중복 시험 사이에 차이가 10% 초과 판독의 경우 10% 증가한 경우;
- [0607] DMSO 처리된 세포의 사멸을 관찰될 때;
- [0608] DMSO 처리된 세포의 루시퍼라제 활성화에 대해 양성 대조군(화합물 3a, 0.4 μM)에 의해 처리된 세포에서 3배 미만의 루시퍼라제 유도인 경우;
- [0609] 양성 대조군(예를 들면, 화합물 100, 0.03~20 μM)에 의해 루시퍼라제 유도의 용량 의존 곡선을 얻을 수 없는 무능력인 경우
- [0610] 분석을 무효인 것으로 간주하였다.

[0611] 다음은 본 발명의 방법에서 유용한 다양한 카바졸 화합물에 대한 EC₅₀ 값의 비제한적인 예이다:

화합물	EC ₅₀ 값 (p53 활성화, μM)
화합물 100	1.30
실시예 21	0.83
실시예 22	0.53
화합물 3a	0.29
화합물 3b	0.49
화합물 7d	0.64
실시예 23	0.88
실시예 24	0.78
실시예 25	0.88
실시예 2	0.64
실시예 27	0.54
실시예 15	0.03
화합물 19a	0.40
화합물 3e	0.78
실시예 7	0.37
실시예 4	0.07
화합물 18c-1	0.08
화합물 18c-2	0.10
화합물 19e	0.07
실시예 13	0.22
실시예 14	0.05
실시예 6	0.24
실시예 17	0.04
실시예 18	0.09
실시예 38	0.12

[0612]

[0613]

본 발명의 화합물 및 약학 조성물은 활성 성분이 이의 의도하는 목적을 성취하기 위한 치료학적 유효량으로 투여되는 것을 포함한다. "치료학적 유효량"은 원하는 효과를 성취하도록 하는 본 발명의 카바졸 화합물의 양을 의미한다. 카바졸 화합물의 독성 및 치료학적 효율은, 예를 들면 LD₅₀(집단의 50%에 치명적인 용량) 및 ED₅₀(집단의 50%에서 치료학적으로 효과적인 용량)을 결정하기 위해 세포 배양물 또는 실험 동물에서 표준 약학 절차에 의해 결정할 수 있다. 독성 및 치료학적 효과 사이의 용량비는 LD₅₀과 ED₅₀ 사이의 비로서 표현되는 치료학적 지표이다. 높은 치료학적 지표를 나타내는 화합물이 바람직하다. 이러한 데이터로부터 얻은 데이터를 인간에서 사용하기 위한 용량 범위를 제제화하는 데 사용할 수 있다. 용량은 바람직하게는 독성이 거의 없거나 없는 ED₅₀을 포함하는 순환 화합물 농도의 범위 내에 있다. 용량은 이용되는 제형, 및 이용되는 투여 경로에 따라 이 범위 내에 변할 수 있다. 치료학적 유효량의 결정은 특히 본원에 제공된 자세한 개시내용의 견지에서 당업자의 능력 내에 적절하다.

[0614]

치료에서 사용하는 데 필요한 구조식 I 또는 구조식 II의 카바졸 화합물의 치료학적 유효량은 치료하고자 하는 병증의 성질, 활성이 바람직한 시간 기간, 및 환자의 연령 및 증상에 따라 변하고, 궁극적으로 주치의가 결정한다. 투여량 및 간격을 개체별로 조정하여 원하는 치료학적 효과를 유지시키기에 충분한 카바졸 화합물의 혈장 수치를 제공할 수 있다. 원하는 용량을 단일 용량으로, 또는 적절한 간격으로 투여되는 복수 용량으로, 예를 들면 1일 1회, 2회, 3회, 4회 이상의 부분용량으로 투여할 수 있다. 복수 용량이 대개 바람직하거나, 필요하다. 예를 들면, 본 발명의 카바졸 화합물을 4일 간격으로 1일 1용량 전달되는 4회 용량(q4d×4); 3일 간격으로 1일 1용량 전달되는 4회 용량(q3d×4); 5일 간격으로 1일당 전달되는 1용량(qd×5); 3주 동안 1주 1용량(qwk3); 5회 1일 용량, 그리고 2일 휴지 및 추가 5회 1일 용량(5/2/5); 또는, 상황에 적절한 것으로 결정되는 임의의 용량 섭생의 간격으로 투여할 수 있다.

[0615]

구조식 I 또는 구조식 II의 카바졸 화합물을 포함하는 조성물, 또는 이들을 포함하는 조성물의 용량은 약 1 ng/kg 내지 약 200 mg/kg, 약 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 약 100 mg/kg, 또는 약 1 mg/kg 내지 약 50 mg/kg일 수 있다. 조성물의 용량은 약 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는 임의의 용량일 수 있다. 조성물의 용량은 약 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 75 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 125 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 175 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 225 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 275 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 325 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 350 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 375 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 425 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 450 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 475 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 525 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 550 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 575 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 600 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 625 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 650 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 675 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 700 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 725 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 750 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 775 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 800 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 825 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 850 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 875 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 900 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 925 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 950 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 975 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, 20 mg/kg, 25 mg/kg, 30 mg/kg, 35 mg/kg, 40 mg/kg, 45 mg/kg, 50 mg/kg, 60 mg/kg, 70 mg/kg, 80 mg/kg, 90 mg/kg, 100 mg/kg, 125 mg/kg, 150

mg/kg, 175 mg/kg, 또는 200 mg/kg을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는 임의의 용량일 수 있다. 상기 용량은 평균 경우의 예이지만, 더 높은 또는 더 낮은 용량이 가치 있는 개별적인 경우가 존재할 수 있고, 그대로 본 발명의 범위 내에 있다.

- [0616] 다른 치료제와 병용되어 투여될 때, 본 발명의 카바졸 화합물을 비교적 낮은 용량으로 투여할 수 있다. 또한, 표적 물질의 사용은 필요한 용량을 비교적 낮게 할 수 있다. 특정 화합물을 적은 독성 및 높은 청소율과 같은 인자(이들로 제한되지는 않음)로 인해 비교적 높은 용량으로 투여할 수 있다.
- [0617] 인간 용도의 경우, 구조식 I 또는 구조식 II의 화합물을 단독으로 투여할 수 있지만, 일반적으로 의도된 투여 경로 및 표준 약학 실행과 관련하여 선택되는 약학 담체와 혼합하여 투여한다. 화학식 I 또는 화학식 II의 화합물을 약학 제제로 가공하는 것을 수월하게 하기 위한 부형제 및 보조제를 포함하는 하나 이상의 생리학적으로 허용되는 담체를 사용하여 본 발명에 따라 사용하기 위한 약학 조성물을 종래 방식으로 제제화할 수 있다.
- [0618] 본 발명의 카바졸 화합물을 다른 항암 치료, 예컨대 화학 요법 및/또는 방사선 요법과 동시에 또는 기계처럼 규칙적으로 투여할 수 있다. 용어 "동시" 또는 "동시에"는 다른 항암 치료제 및 카바졸 화합물을 서로 6시간, 3시간 이하 내에 투여한다는 것을 의미한다. "기계처럼 규칙적으로"란 용어는 항암 치료와 상이한 시간에 반복 투여 및/또는 항암 치료 섭생과 비교하여 일정한 간격에서 다른 항암 치료의 투여를 의미한다.
- [0619] 카바졸 화합물, 또는 카바졸 화합물을 포함하는 조성물을 경구로, 비경구로, 설하로, 경피로, 직장으로, 경점막으로, 국소로, 흡입을 통해, 협측 투여를 통해, 또는 이들의 조합(이들로 제한되지는 않음)을 비롯한 임의의 방식으로 투여할 수 있다. 비경구 투여로는 정맥내, 동맥내, 복강내, 피하내, 근육내, 척추관내, 및 관절내를 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 또한, 카바졸 화합물을 화합물의 서방 방출 및 느리게 조절되는 i.v. 점적을 허용하는 임플란트 형태로 투여할 수 있다.
- [0620] 본 발명의 카바졸 화합물을 각종 질환 및 병태를 치료하는 데 사용할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 화합물을 암의 치료에서 방사선 및/또는 화학치료제와 병용하여 사용할 수 있다. 예를 들면, 카바졸 화합물을 대사 길항 물질, 예를 들면 메토틱세이트 또는 5-플루오로우라실(5-FU)에 의해 종래 치료되는 종양의 치료를 증대시키기 위해 사용할 수 있다.
- [0621] 본 발명의 카바졸 화합물의 용도는 암 세포의 부분 또는 완전 회귀, 즉 세포 집단으로부터 이 세포의 부분 또는 완전 소실을 발생시킬 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 방법을 이용하여 종양 성장의 속도를 감소시키거나, 종양의 크기 또는 수를 감소시키거나, 부분 또는 완전 종양 회귀를 유도할 수 있다.
- [0622] 본 발명의 카바졸 화합물을 사용하여 이를 필요로 하는 개체에게 투여하여 생체내 질환 또는 병증을 치료할 수 있다. 질환 또는 병증은 암일 수 있다. 암종, 예컨대 방광암(예컨대, 가속 및 전이 방광암), 유방암, 대장암(예컨대, 결장암), 신장암, 간암, 폐암(예컨대, 소세포 및 비소세포 폐암 및 폐 선암), 난소암, 전립선암, 고환암, 비노생식관암, 림프구암, 직장암, 후두암, 췌장암(예컨대, 외분비계 췌장암종), 식도암, 위암, 담낭암, 자궁경부암, 갑상선암, 신장암 및 피부암(예컨대, 편평 세포 암종); 림프 계통의 조혈 종양, 예컨대 백혈병, 급성 림프성 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, B 세포 림프종, T 세포 림프종, 호치킨 림프종, 비호치킨 림프종, 털 세포 림프종, 조직구성 림프종 및 버케트(Burkett) 림프종, 골수성 계통의 조혈 종양, 예컨대 급성 및 만성 골수성 백혈병, 골수이형성 증후군, 골수성 백혈병 및 전골수성 백혈병; 중추 및 말초 신경계의 종양, 예컨대 성상세포종, 신경아세포종, 신경교종, 및 신경초종; 중간엽 유래의 종양, 예컨대 섬유육종, 횡문근육종 및 골육종; 및 다른 종양, 예컨대 흑색종, 색소성 건피증, 각질극 세포종, 정상피종, 갑상선 여포암, 기형암종, 신장 세포 암종(RCC), 췌장암, 골수종, 골수성 및 림프구성 백혈병, 신경아세포종 및 교모세포종(이들로 제한되지는 않음)을 비롯한 각종 암을 치료할 수 있다.
- [0623] 인간 성인 T 림프아세포성 백혈병(ATL)의 원인 물질인 HTLV의 tax에 의해 유도된 형질전환은 RCC에 관련된 동일한 분자 표적을 공유할 수 있다. 예를 들면, NF-κB는 tax 형질전환된 세포에서 구성적으로 활성화이다. RCC와 유사하게, p53 활성화는 tax 형질전환된 세포에서 NF-κB의 활성화를 통해 억제되고, p53 억제는 p300의 봉쇄를 포함하지 않는다. p53 활성화의 공유된 메커니즘에 기초하여, 본 발명의 조성물을 또한 이용하여 HTLV 유도 백혈병을 치료할 수 있다. 이의 p53 상태와 무관하게, 대부분의 인간 암은 구성적으로 과활성화 NF-κB를 갖는다. 또한, 본 발명의 조성물은 전이 활성 NF-κB 복합체를 이의 p53 상태와 무관하게 임의의 종양의 치료에 사용될 수 있는 전이 억제 복합체로 재프로그래밍하여 NF-κB를 억제할 수 있다. HIV LTR이 NF-κB 활성화에 강하게 의존하므로, HIV 감염을 치료하는 데 본 발명의 조성물을 추가로 사용할 수 있다.
- [0624] 또한, 본 발명의 조성물을 보조 치료제로서 사용하여 구성적 NF-κB 활성화에 의해 야기될 수 있는 항암 약물

내성을 극복할 수 있다. 항암 약물은 본원에 기재된 바대로 화학치료제 또는 방사선일 수 있다.

[0625] 본 발명의 하나의 방법은 단일 또는 이중 가닥 DNA 절단을 발생시키거나 또는 DNA 복제 또는 세포 증식을 차단할 수 있는 화학치료제와 병용하여 본 발명의 카바졸 화합물의 치료학적 유효량의 투여를 포함한다. 대안적으로, 본 발명의 방법은 암 세포의 증식을 차단하는 데 활성을 갖는 허세핀과 같은 항체의 사용을 포함하는 치료와 병용하여 본 발명의 하나 이상의 카바졸 화합물의 치료학적 유효량의 투여를 포함한다. 따라서, 결장암, 두경부암, 췌장암, 유방암, 위암, 방광암, 외음부암, 백혈병, 림프종, 흑색종, 신장 세포 암종, 난소암, 뇌종양, 골육종, 및 폐암종과 같은 암은 화학치료제 또는 항체와 병용하여 본 발명의 카바졸의 투여에 의한 치료 증대에 감수성이다.

[0626] 본 발명에 의해 치료 가능한 암으로는 또한 고체 종양, 즉 암종 및 육종을 들 수 있다. 암종은 주변 조직을 침윤(즉, 공격)시키고 전이를 발생시키는 상피 세포로부터 유도된 악성 신생물을 포함한다. 선암은 선 조직, 또는 인지 가능한 선 구조를 형성하는 조직으로부터 유도된 암종이다. 다른 광범위한 카테고리의 암으로는 세포가 배아 결합 조직과 같은 섬유성 또는 균질한 물질로 임베딩되는 종양인 육종을 들 수 있다. 본 발명은 또한 백혈병, 림프종, 및 통상적으로 종양 덩어리로서 존재하지 않지만, 혈관계 또는 림프관망상계에 분포되는 다른 암을 비롯하여 골수계 또는 림프계의 암의 치료를 가능하게 한다.

[0627] 본 발명의 카바졸 화합물에 의해 치료 가능한 암의 추가 형태로는 예를 들면 성인 및 소아 종양학, 고체 종양/악성의 성장, 점액 및 원형 세포 암종, 국소적 진행 종양, 전이암, 인간 연부 조직 육종, 예컨대 유잉 육종, 암 전이, 예컨대 림프 전이, 특히 두경부의 편평 세포 암종, 식도 편평 세포 암종, 경구 암종, 혈액 세포 악성, 예컨대 다발성 골수종, 백혈병, 예컨대 급성 림프성 백혈병, 급성 비림프성 백혈병, 만성 림프성 백혈병, 만성 골수성 백혈병 및 털 세포 백혈병, 삼출성 림프종(체강 기반 림프종), 흉선 림프종 폐암(예컨대, 소세포 암종, 피부 T 세포 림프종, 호치킨 림프종, 비호치킨 림프종, 부신피질의 암, ACTH 생성 종양, 비소세포 암, 유방암, 예컨대 소세포 암종 및 선관성 암종), 위장관 암(예컨대, 위암, 대장암, 결장암 및 결장 종양 형성과 관련된 폴립), 췌장암, 간암, 비뇨기과 암(예컨대, 방광암, 예컨대 원발성 표재성 방광 종양, 방광의 침습성 전이 세포 암종 및 근육 침습성 방광암), 전립선암, 여성 생식기의 악성 종양(예컨대, 난소 암종, 원발성 복막 상피 신생물, 자궁경부 암종, 자궁내막암, 질암, 외음부의 암, 자궁암 및 난포에서의 고체 종양), 남성 생식기의 악성 종양(예컨대, 고환암 및 음경암), 신장암(예컨대, 신장 세포 암종), 뇌암(예컨대, 내재성 뇌 종양, 신경아세포종, 성상 뇌 종양, 신경교종, 및 중추 신경계에서의 전이 종양 세포 침입), 골암(예컨대, 골종 및 골육종), 피부암(예컨대, 악성 흑색종, 인간 피부 케라티노사이트의 종양 진행, 및 편평 세포 암), 갑상선암, 망막아세포종, 신경아세포종, 복막 삼출, 악성 흉막 삼출, 중피종, 윌름스 종양, 담낭 암, 영양아층 신생물, 혈관주위세포종, 및 카포시 육종을 들 수 있다. 따라서, 본 발명의 카바졸 화합물의 투여는 치료 섭생을 증대시킬 것으로 예상된다.

[0628] 본 발명의 화합물은 또한 염증성 질환의 치료에서 약물의 효율을 강화시킬 수 있다. 본 발명의 카바졸 화합물은 전염증성 NF-κB 표적, 예컨대 TNF, IL-1, IL-6, IL-8 및 많은 다른 표적의 발현/분비의 억제를 포함하는 NF-κB 반응의 강력한 억제제이다. 따라서, 본 발명의 카바졸에 의한 NF-κB의 억제는 국소 및 전신 염증성 반응을 억제시킬 수 있다. 본 발명의 카바졸과 매우 유사한 메커니즘에 의해 작용하는 것으로 가설되는 퀴나크리딘은 자가면역 질환 및 만성 염증의 치료를 위한 소염 물질로서 널리 사용되고 있다.

[0629] 본 발명의 방법에 적합한 화합물과의 병용 요법에 의해 이익을 얻을 수 있는 질환의 예로는 류마티스성 관절염, 건선, 백반증, 웨게너(Wegener) 육아종증 및 전신성 홍반성 루푸스(SLE)를 들 수 있다. 관절염, 웨게너 육아종증 및 SLE의 치료는 대개 면역억제 요법, 예컨대 이온화 방사선, 메토트렉세이트 및 사이클로포스파미드의 사용을 포함한다. 이러한 치료는 통상적으로 직접적으로 또는 간접적으로 DNA 손상을 유도한다. 문제가 되는 면역 세포 내에 NF-κB의 억제 및/또는 p53의 활성화는 세포가 이러한 표준 치료에 의한 조절에 더 감수성 있게 만든다. 건선 및 백반증은 통상 자외선 방사선(UV)에 의해 소랄렌과 병용하여 치료한다. 본 발명의 카바졸 화합물은 UV 및 소랄렌의 사멸 효과를 유도하고, 이러한 치료 섭생의 치료학적 지표를 증가시킨다. 일반적으로, 본 발명의 방법에 유용한 카바졸 화합물은 현재 사용되는 면역억제 약물과 병용할 때 염증성 질환 세포의 조절을 강화시킨다.

[0630] 상기 병증 이외에, 본 발명은 또한 죽상동맥경화증, 재협착, 혈관염, 신염, 망막증, 신장 질환, 증식성 피부 질환, 건선, 켈로이드 상처, 광선 각화증, 스티븐스 존슨 증후군, 류마티스성 관절염(RA), 전신성 유년성 만성 관절염(JCA), 골다공증, 전신성 홍반성 루푸스, 눈의 과증식성 질환, 예컨대 상피세포 성장 저하, 증식성 초자체 망막증(PVR), 당뇨병성 망막증, 혈관 증식성 질환, 어린선 및 유두종(이들로 제한되지 않음)과 같은 병증을 치료하는 방법에서 사용할 수 있다.

- [0631] 또한, 본 발명의 카바졸은 예를 들면 살모넬라를 비롯한 그람 양성 및 그람 음성 박테리아에 대한 항균 활성; 항원생동물성 활성; 및 항바이러스 활성을 나타낸다.
- [0632] 당업자가 이해하는 바대로, 추가 활성 또는 보조 제제를 본원에 기재된 방법에서 사용할 수 있다. 본원에서 치료에 대한 언급은 또한 확립된 질환 또는 증상의 예방 및 치료로 확장된다.
- [0633] 본 발명을 생체의 세포 군집에 적용할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 카바졸 화합물을 생체의 사용하여 소정의 적응증, 세포 유형, 환자 및 다른 파라미터에 대해 본 발명의 카바졸 화합물의 최적 스케줄 및/또는 투여 방식을 결정할 수 있다. 이러한 용도로부터 모은 정보를 실험 목적을 위해 또는 임상에서 이용하여 생체내 치료에 대한 프로토콜을 설정한다. 본 발명이 적합한 다른 생체의 용도는 당업자에게 명확하다.
- [0634] 본 발명의 카바졸 화합물을 또한 방사선과 병용하여 투여할 수 있다. 전자기 방사선에 의해 치료 가능한 질환으로는 신생 질환, 양성 및 악성 종양, 및 암성 세포를 들 수 있다.
- [0635] 본원에 기재되지 않은 다른 질환의 전자기 방사선 치료가 또한 본 발명에 의해 고려된다. 본 발명의 바람직한 실시양태는 감마-방사선(10^{-20} 내지 10^{-13} m), X선 방사선(10^{-12} 내지 10^{-9} m), 자외선(10 nm 내지 400 nm), 가시광선(400 nm 내지 700 nm), 적외선 방사선(700 nm 내지 1 mm), 및 마이크로파 방사선(1 mm 내지 30 cm)의 전자기 방사선을 이용한다.
- [0636] 많은 암 치료 프로토콜이 현재 전자기 방사선, 예를 들면 X선에 의해 활성화되는 방사선 증감제를 이용한다. X선 활성화 방사선 증감제의 예로는 메트로니다졸, 미소니다졸, 테스메틸미소니다졸, 피모니다졸, 에타니다졸, 니모라졸, 미토마이신 C, RSU 1069, SR 4233, EO9, RB 6145, 니코틴아미드, 5-브로모데옥시우리딘(BUdR), 5-요오도데옥시우리딘(IUdR), 브로모데옥시시티딘, 플루오로데옥시우리딘(FUdR), 히드록시우레아, 시스팔라틴 및 치료학적으로 효과적인 유사체 및 이들의 유도체를 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0637] 암의 광역학 치료(PDT)는 감광제의 방사선 활성물질로서 가시광선을 이용한다. 광역학 방사선 증감제의 예로는 헤마토포르피린 유도체, PHOTOFRIN[®], 벤조포르피린 유도체, NPe6, 주석 에티오포르피린(SnET2), 페오보비드(pheorbobide)- α , 박테리오클로로필- α , 나프탈로시아닌, 프탈로시아닌, 아연 프탈로시아닌, 및 치료학적으로 효과적인 유사체 및 이들의 유도체를 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0638] 방사선 증감제를 본 발명의 카바졸 화합물 이외에 하나 이상의 화합물의 치료학적 유효량과 병용하여 투여할 수 있고, 이러한 화합물로는 표적 세포에 방사선 증감제의 혼입을 증진시키는 화합물, 표적 세포에 치료제, 영양소 및/또는 산소의 유동을 조절하는 화합물, 추가 방사선의 존재 또는 부재 하에 종양에 작용하는 화학치료제, 또는 암 또는 다른 질환을 치료하기 위한 다른 치료학적으로 효과적인 화합물을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 방사선 증감제와 병용하여 사용할 수 있는 추가 치료제의 예로는 5-플루오로우라실(5-FU), 류코보린, 산소, 카보겐, 적혈구 수혈, 과불화탄소(예를 들면, FLUOSOLW[®]-DA), 2,3-DPG, BW12C, 칼슘 채널 차단제, 펜톡시필린, 혈관 생성 억제 화합물, 히드랄라진 및 L-BSO를 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0639] 화학치료제는 아포토시스를 유도하는 임의의 약리학적 물질 또는 화합물일 수 있다. 약리학적 물질 또는 화합물은, 예를 들면 소형 유기 분자, 펩티드, 폴리펩티드, 핵산, 또는 항체일 수 있다. 사용할 수 있는 화학치료제로는 알킬화제, 대사 길항 물질, 호르몬 및 이의 길항제, 천연 생성물 및 이의 유도체, 방사성 동위원소, 항체, 및 천연 생성물, 및 이의 복합체를 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 예를 들면, 본 발명의 카바졸 화합물을 항생제, 예컨대 독소루비신 및 다른 안트라사이클린 유사체, 질소 머스타드, 예컨대 사이클로포스파미드, 피리미딘 유사체, 예컨대 5-플루오로우라실, 시스팔라틴, 히드록시우레아, 탁솔 및 이의 천연 및 합성 유도체 등과 함께 투여할 수 있다. 다른 예로서, 유방의 선암과 같은 혼합 종양의 경우에(여기서, 종양은 고나도트로핀 의존적 및 고나도트로핀 비의존적 세포를 포함함), 화합물을 루프로라이드 또는 고세렐린(LH-RH의 합성 펩티드 유사체)과 병용하여 투여할 있다. 다른 항종양성 프로토콜은 본원에서 "부가 항종양성 양상"이라고도 불리는 다른 치료 양상, 예를 들면 수술 또는 방사선과 억제제 화합물의 사용을 포함한다. 본 발명에서 유용한 추가 화학치료제는 호르몬 및 이의 길항제, 방사성 동위원소, 항체, 천연 생성물, 및 이들의 복합체를 포함한다.
- [0640] 본 발명의 방법에 유용한 화학치료제의 예는 하기 표에 기재되어 있다.

[0641] 표 1

[0642] 알킬화제 천연 제품

[0643]	<u>질소 머스타드</u>	<u>항유사분열 약물</u>
[0644]	메클로르에타민	
[0645]	사이클로포스파미드	
[0646]	이포스파미드	<u>탁산</u>
[0647]	멜팔란	파클리탁셀
[0648]	클로람부실	빈카 알카로이드
[0649]	우라실 머스타드	빈블라스틴(VLB)
[0650]	테모졸로미드	빈크리스틴
[0651]		비노렐빈
[0652]	<u>니트로소우레아</u>	빈데신
[0653]	카르무스틴(BCNU)	탁소테레(Taxotere) [®] (도세탁셀)
[0654]	로무스틴(CCNU)	에스트라무스틴
[0655]	세무스틴(메틸-CCNU)	에스트라무스틴 포스페이트
[0656]	클로르메틴	
[0657]	스트렙토조신	<u>에피포도필로톡신</u>
[0658]		에토포시드
[0659]	<u>에틸렌이민/메틸-멜라민</u>	테니포시드
[0660]	트리에틸렌멜라민(TEM)	
[0661]	트리에틸렌 티오포스포르아미드	<u>항생제</u>
[0662]	(티오테과)	악티모마이신 D
[0663]	헥사메틸멜라민	다우노마이신(루비도마이신)
[0664]	(HMM, 알트레타민)	독소루비신(아드리아마이신)
[0665]		미톡산트로네이다루비신
[0666]	<u>알킬 설포네이트</u>	블레오마이신
[0667]	부술판	스플리카마이신(미트라마이신)
[0668]	피포브로만	미트로마이신-C
[0669]		닥티노마이신
[0670]	<u>트리아진</u>	아피디콜린
[0671]	다카르바진(DTIC)	에피루비신
[0672]		이다루비신
[0673]	<u>대사 길항 물질</u>	다우노루비신
[0674]	<u>엽산 유사체</u>	미트라마이신
[0675]	메토트렉세이트	테옥시 코-포르마이신
[0676]	트리메트렉세이트	
[0677]	페메트렉스트	<u>효소</u>

[0678]	(다중 표적 엽산 길항제)	L-아스파라기나제
[0679]		L-아르기나제
[0680]	<u>피리미딘 유사체</u>	
[0681]	5-플루오로우라실	<u>방사선 증감제</u>
[0682]	플루오로데옥시우리딘	메트로니다졸
[0683]	젬시타빈	미소니다졸
[0684]	시토신 아라비노시드	테스메틸미소니다졸
[0685]	(AraC, 시타라빈)	피모니다졸
[0686]	5-아자시티딘	에타니다졸
[0687]	2,2'-디플루오로데옥시-시티딘	니모라졸
[0688]	플록수리딘	RSU 1069
[0689]	펜토스타틴	E09
[0690]		RB 6145
[0691]	<u>퓨린 유사체</u>	<u>비스테로이드성 항안드로겐</u>
[0692]	6-머캅토피린	SR4233
[0693]	6-티오구아닌	플루타미드
[0694]	아자티오프린	니코틴아미드
[0695]	2'-데옥시코포르마이신	5-브로모데옥시우리딘
[0696]	(펜토스타틴)	5-요오도데옥시우리딘
[0697]	에리스로히드록시노닐-아데닌(EHNA)	브로모데옥시시티딘
[0698]	플루다라빈 포스페이트	
[0699]	2-클로로데옥시아데노신	<u>기타 물질</u>
[0700]	(클라드리빈, 2-CdA)	<u>백금 배위 복합체</u>
[0701]		시스플라틴
[0702]	<u>I형 토포이소머라아제 억제제</u>	카보플라틴
[0703]	캄프토테신	옥살리플라틴
[0704]	토포테칸	안트라세넨디온
[0705]	이리노테칸	미톡산트론
[0706]	<u>생물학적 반응 개질제</u>	치환 우레아
[0707]	G-CSF	히드록시우레아
[0708]	GM-CSF	
[0709]		<u>메틸히드라진 유도체</u>
[0710]	<u>분화 물질</u>	N-메틸히드라진(MIH)
[0711]	레티노산 유도체	프로카바진

[0712]	<u>호르몬 및 길항제</u>	<u>부신피질 억제제</u>
[0713]	<u>아드레노코티코스테로이드/길항제</u>	미토탄(o,p'-DDD)
[0714]	프레드니솔론 및 등가물	아이노글루테티미드
[0715]	텍사메타손	
[0716]	아이노글루테티미드	<u>시토카인</u>
[0717]		인터페론(α, β, γ)
[0718]	<u>프로게스틴</u>	인터류킨-2
[0719]	히드록시프로게스테론 카프로에이트	

[0720]	메드록시프로게스테론 아세테이트	<u>광감작제</u>
[0721]	메게스트롤 아세테이트	헤마토포르피린 유도체
[0722]		PHOTOFRIN®
[0723]	<u>에스트로겐</u>	벤조포르피린 유도체
[0724]	디에틸stil베스트롤	Npe6
[0725]	에티닐 에스트라디올/등가물	주석 에티오포르피린(SnET2)
[0726]		페오보라이드-α
[0727]	<u>항에스트로겐</u>	박테리오클로로필-α
[0728]	타목시펜	나프탈로시아닌
[0729]		프탈로시아닌
[0730]	<u>안드로겐</u>	아연 프탈로시아닌
[0731]	테스토스테론 프로피오네이트	

[0732]	플루옥시메스테론/등가물	<u>방사선</u>
[0733]		X선
[0734]	<u>항안드로겐</u>	자외선
[0735]	플루타미드	감마 방사선
[0736]	고나도트로핀 방출	가시광선
[0737]	호르몬 유사체	적외선 방사선
[0738]	루프로라이드	마이크로파 방사선

[0739] 방사선 증감제와 병용하여 특히 유용한 화학치료제의 예로는, 예를 들면 캄프토테신, 카보플라틴, 시스팔라틴, 다우노루비신, 독소라비신, 인터페론(알파, 베타, 감마), 이리노테칸, 히드록시우레아, 클로람부실, 5-플루오로우라실(5-FU), 메토티렉세이트, 2-클로로아데노신, 플루다라빈, 아자시티딘, 겐시타빈, 페메트렉스트, 인터류킨 2, 이리노테칸, 도세탁셀, 파클리탁셀, 토포테칸, CPT-11, 아나스트라졸, 레트라졸, 카페시타빈, 렐록사핀, 사이클로포스파미드, 이포사르니드, 드록사핀, 및 치료학적으로 효과적인 유사체 및 이들의 유도체를 들 수 있다.

[0740] 미세소관 작용제는 세포 유사분열과 상호작용하고 이의 세포독성 활성화에 대해 당해 분야에 널리 공지되어 있다. 본 발명에서 유용한 미세소관 작용제로는 알로콜키신(NSC 406042), 할리콘드린 B(NSC 609395), 콜키신(NSC 757), 콜키신 유도체(예를 들면, NSC 33410), 돌라스타틴 10(NSC 376128), 마이탄신(NSC 153858), 리조신(NSC 332598), 파클리탁셀(NSC 125973), 탁솔® 유도체(예를 들면, NSC 608832), 티오킨신 NSC 361792), 트리틸 시스테인(NSC 83265), 황산 빈블라스틴(NSC 49842), 황산 빈크리스틴(NSC 67574), 천연 및 합성 에포틸론, 예컨대 에포틸론 A, 에포틸론 B, 및 디스코테르몰리드(이들로 제한되지는 않음)(문헌[Service, (1996) Science,

274:2009] 참조), 에스트라무스틴, 노코다졸, MAP4 등을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 이러한 물질의 예는 또한 문헌[Bulinski (1997) J. Cell Sci. 110:3055-3064; Panda (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:10560-10564; Muhlrardt (1997) Cancer Res. 57:3344-3346; Nicolaou (1997) Nature 397:268-272; Vasquez (1997) Mol. Biol. Cell. 8:973-985; Panda (1996) J. Biol. Chem 271:29807-29812]에 기재되어 있다.

- [0741] 사용할 수 있는 세포성장억제제로는 호르몬 및 스테로이드(예컨대, 합성 유사체): 17- α -에티닐에스트라디올, 디에틸stil베스트롤, 테스토스테론, 프레드니손, 플루옥시메스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 테스톨락톤, 메케스트롤아세테이트, 메틸프레드니솔론, 메틸-테스토스테론, 프레드니솔론, 트리암시놀론, 클로로트리아니센, 히드록시프로게스테론, 아미노글루티미드, 에스트라무스틴, 메드록시프로게스테론아세테이트, 루프로라이드, 플루타르니드, 토레미펜, 졸라텍스를 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0742] 다른 세포성장억제제는 항혈관형성제, 예컨대 기질 단백분해효소 억제제, 및 다른 VEGF 억제제, 예컨대 항VEGF 항체 및 소형 분자, 예컨대 ZD6474 및 SU668이다. 항Her2 항체를 또한 사용할 수 있다. EGFR 억제제는 EKB-569(비가역적 억제제)이다. 또한, EGFR 및 Src 억제제에 면역특이적인 항체 C225가 포함된다.
- [0743] 또한, 안드로겐 의존성 암종이 비증식성이게 만드는 CASODEX[®](비칼루타미드, Astra Zeneca)가 세포성장억제제로서 사용하기에 적합하다. 세포성장억제제의 또 다른 예는 에스트로겐 의존성 유방암의 증식 또는 성장을 억제하는 항에스트로겐 TAMOXIFEN[®]이다. 세포 증식성 신호의 형질도입의 억제제는 세포성장억제제이다. 대표적인 예로는 표피 성장 인자 억제제, Her-2 억제제, MEK-1 키나제 억제제, MAPK 키나제 억제제, PI3 억제제, Src 키나제 억제제, 및 PDGF 억제제를 들 수 있다.
- [0744] 종양 세포에서 아포토시스를 유도하는 이의 독특한 능력으로 인해, TNF 패밀리의 구성원은 강력한 항암 약물인 것으로 고려된다. 그러나, 많은 종양 세포는 자살 리간드의 프로아포토산(proapoptotic acid)을 탈출하고, 이로써 자살 리간드 감수성 암에 대한 이 제제의 사용을 감소시키고 종양이 숙주 면역 반응을 탈출하도록 한다. NF- κ B의 억제제의 용도를 이용하여 종양 세포를 자살 리간드, 예컨대 TNF 폴리펩티드의 사멸에 감작시킬 수 있다.
- [0745] TNF 폴리펩티드는 리간드의 TNF 슈퍼패밀리의 구성원일 수 있다. TNF 폴리펩티드의 대표적인 예로는 NGF, CD40L, CD137L/4-1BBL, TNF- α , CD134L/OX40L, CD27L/CD70, FasL/CD95, CD30L, TNF- β /LT- α , LT- β , 및 TRAIL을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. TNF 슈퍼패밀리의 구성원은 아포토시스를 촉진할 수 있는 면역 시스템의 유지 및 작용에 관여하는 천연 단백질이다. TNF 폴리펩티드는 정상 세포에서가 아니라 종양에서 주로 아포토시스를 유도하는 TRAIL일 수 있다. 이러한 소위 "자살 리간드"의 활성화는 이의 세포내 부분에서 구조적으로 유사한 사멸 도메인을 포함하는 TNF 수용체 패밀리의 구성원과의 결합에 의해 중재되는 것으로 생각된다. 각각의 사멸 리간드에 특이적인 이 수용체의 결합은 케스케이드의 활성화를 발생시키는 사건의 케스케이드의 활성화를 촉진한다. TNF 폴리펩티드에 의해 결합된 TNF-R 수용체의 대표적인 예로는 LNGFR/p75, CD40, CD137/4-1BB/IL4, TNFR1/p55/CD120a, TNFR2/p75/CD120b, CD134/OX40/ACT35, CD27, Fas/CD95/APO-1, CD30/Ki-1, LT- β R, DR3, DR4, DR5, DcR1/TRID, TR2, GITR 및 오스테오프로테게린을 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0746] 또한, TNF 폴리펩티드 대신에 다른 물질을 사용할 수 있는 것으로 생각된다. 예를 들면, TNF 폴리펩티드의 활성을 모방하는 항체를 사용할 수 있다. 이러한 항체의 대표적인 예로는 FAS, TRAIL 수용체, 또는 TNFR에 대한 효능제 항체를 들 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 또한, 압타머 및 상응하는 수용체를 활성화시킬 수 있는 다른 합성 리간드를 사용할 수 있다.
- [0747] 또한, 환자에서 종양이 본 발명의 카바졸 화합물에 의해 치료될 수 있는지를 진단할 수 있다. 종양의 시료를 환자로부터 얻는다. 종양의 세포를 이후 p53 리포터 시스템, 예컨대 p53 반응성 lacZ 리포터에 의해 형질유도한다. 형질유도된 세포를 이후 화합물과 함께 항온처리한다. 대조군보다 많은 p53 매개 신호의 생성은 종양이 카바졸 화합물에 의해 치료될 수 있다는 것을 나타낸다.
- [0748] 도 1a 및 도 1b는 본 발명의 카바졸이 TNF 치료 세포에서 NF- κ B 번역 활성을 억제하는 것(도 1a) 및 p53 활성화 및 NF- κ B 억제에 대한 활성 농도(EC₅₀ 값)의 비교(도 1b)를 보여주는 도면이다.
- [0749] 본 발명의 카바졸 화합물은 실험실내(도 2) 및 생체내(도 3) 상당한 항암 특성을 갖는다. 도 2는 여러 농도의 4종의 본 발명의 카바졸 화합물에 의한 1시간 동안 치료 후 이의 p53 상태가 다른 종양 세포에 대한 다양한 카바졸 화합물의 효과를 보여준다. 세포 생존을 메틸렌 블루 염색에 의해 72시간에 평가한다. 따라서, 본 발명의 카바졸 화합물에 의한 p53 활성화는 주요한 자살 유도 신호가 아닐 수 있지만, 오히려 구성적 활성 NF- κ B의 비활성화에 의해 야기되는 세포 스트레스의 유형을 반영할 수 있다는 것이 가설되지만, 신뢰되지 않는다.

[0750] 시험된 종양 세포는 HCT116 대장 선암 p53 wt(도 2a), MDA-MB-231 유방 선암 p53 mut(도 2b), DLD1 대장 암종 p53 wt(도 2c), A549 폐 선암 p53 wt(도 2d), Caki1 신장 세포 암종 p53 wt(도 2e), HT29 대장 선암 p53 mut(도 2f), H1299 폐 선암 p53 결실(도 2g), MCF7 유방 선암 p53 wt(도 2h), RCC45 신장 세포 암종 p53 wt(도 2i), ACHN 신장 세포 암종(도 2j), 및 HT1080 폐 섬유육종(도 2k)이다. 도 3에서 시험된 종양 세포는 HCT116 sc 이중이식편 모델이다.

[0751] 분석된 본 발명의 카바졸 화합물은 DNA 손상을 유도하지 않았다(표 I). 따라서, 본 발명의 카바졸 화합물의 세포독성이 암 세포가 정상 세포보다 더 감수성인 NF-κB 억제제를 수반하는 비유전 독성 세포 스트레스의 독특한 유형으로부터 발생하는 것으로 가설된다. 이는 본 발명의 카바졸이 항암 치료제의 매우 효과적인 신규한 종류라는 것을 제시한다.

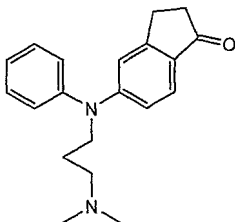
[0752] [표 I] DNA 및 DNA 손상 반응성 신호 전달을 비교하기 위한 본 발명의 카바졸 화합물 및 독소루비신의 효과의 요약

화합물	세포 편제	γ H2AX 염색	ATM/ATR 활성화	Chk1/2 인	p53 인	토포 II 억제제		Ames 시험
						세포내	시험관내	
화합물 100	세포질	무	무	무	S392	무	결찰	음성
화합물 6h	세포질	무	무	무	S392	무	결찰	음성
실시예 3	세포질	무	무	무	ND	ND	결찰	음성
독소루비신	핵	유	유	유	S15, 46, 392	유	결찰	음성

ND - 측정 안됨.

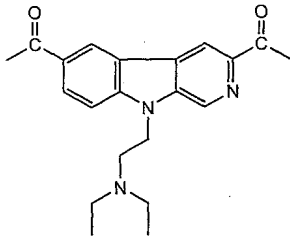
[0753]

[0754] 본 발명의 중요한 특징에 따라, 활성 및 비활성 카바졸 분자의 형태이성체의 3차원(3D) 중첩에 의하면 이의 활성에 기여하는 화합물의 특징이 드러났다. 한가지 중요한 특징은 카바졸 코어의 평면성이다. 형태이성체의 다수의 3차원 정렬과 비교하여, 모든 활성 카바졸 화합물에서, 카바졸 코어 구역이 평면인 것으로 밝혀졌다(도 4). 비활성 화합물은 평면 또는 비평면일 수 있다(도 5). 분자 구조에 대해 유사한 원자 분포를 갖는 화합물의 추가의 구조 연구에 의하면 카바졸 고리 구역의 평면성은 카바졸 화합물에 의한 p53 활성화의 효력을 결정하는 데 중요한 것으로 확인되었다(도 6 및 도 7). 활성 카바졸, 즉 실시예 2를 도 6에 나타냈다. 비활성 카바졸, 즉 화합물 200을 도 7에 나타냈다. 화합물 200은 하기 구조식을 갖는다:



[0755]

[0756] p53을 활성화할 수 있는 카바졸 화합물이 평면 구조를 갖는다는 발견은 이 화합물의 작용 메커니즘이 DNA 개제를 통해 매개된다는 신뢰되지 않는 가설을 이끌었다. p53 활성화 효력과 카바졸 코어의 평면 구조 사이의 상관관계는 DNA를 개제하는 능력을 반영하는 것으로 가설된다. 이 가설을 시험하기 위해, 카바졸 화합물은 사실상 p53-DNA 복합체로부터 취한 3차원 DNA 구조로 개제된다(ITUP PDB 구조). 초기 개제를 다음과 같이 수행한다. 활성 카바졸 분자, 즉 화합물 300을 DNA 구조에 중첩시켜 평면 고리 구역이 2개의 적중(stack) 염기쌍 사이에 그리고 이에 평행하게 위치한다. 이후, 개제 분자를 p53의 Arg280에 대해 배치시킨다. Arg280 잔사는 p53-DNA 상호작용에 중요한 것으로 생각된다. 문헌[M. Kitayner et al., Molecular Cell, 22, pages 741-753, June 2006]을 참조한다. 이러한 폭력적 중첩은 2개 구조의 원자 사이의 반데르발스 상호작용을 위반한다. MOLOC 분자 메카닉 소프트웨어 패키지를 이용하여, 합한 DNA-분자 구조에서 반데르발스 및 비틀림각 인장을 감소시키도록 3차 DNA-카바졸 유사체-p53 복합체를 최적화한다. 최적화 후, 활성 분자의 위치를 DNA 적중 염기쌍에 평행한 고리면을 갖는 DNA에서 동공에 맞춘다. 이러한 최적화 절차의 결과로서, 카바졸 고리 치환기에 위치한 수소 결합 받개(HBA)를 주홈(major groove)에 위치시키고 카바졸 질소에 부착된 측쇄를 좁은 부홈(minor groove)에 위치시킨다. 화합물 300은 하기 구조식을 갖는다:



[0757]

[0758]

이 실험의 결과로서, p53 활성화 카바졸 화합물을 수용하도록 잘 형성된 내부 동공을 갖는 dsDNA 단편을 생성시킨다. GOLD 소프트웨어 패키지를 이용하여, 분자 도킹(docking)을 공지된 p53 활성을 갖는 각종 카바졸 화합물에서 수행한다. 평균적으로, 고효성 분자(p53 활성화 $EC_{50} < 130 \mu M$ 는 $EC_{50} > 130 \mu M$ 을 갖는 분자보다 이 동공에 훨씬 더 잘 맞는 것으로 입증되었다. 고효성 카바졸 화합물의 형태이성체를 공동 내에 균일하게 위치시키는 반면, 맞춤 품질은 약한 p53 활성화 효력을 갖는 카바졸 화합물 중에서 감소한다. 대부분의 비활성 분자는 매우 낮은 맞춤 품질을 특징으로 한다.

[0759]

카바졸 질소에 부착된 치환기를 DNA의 부흥으로 적절하게 배치시키는 것은 우수한 p53 활성을 성취하는 데 중요할 수 있다. 간단하게, 부흥으로의 측쇄의 맞춤은 카바졸 화합물의 전체 맞춤을 개선시킨다. 또한, 활성 카바졸 화합물의 3차원 중첩의 원자 표결 분석은 측쇄에서 양으로 하전된 아미노기가 활성을 성취하는 데 중요하다는 것을 나타낸다.

[0760]

카바졸 치환기에서 HBA(수소 결합) 원자의 위치, 및 이의 정체는 p53 활성을 성취하는 데 중요하다. 저품질의 HBA 원자(즉, 질소)는 카바졸 화합물의 활성을 약화시킨다. 카바졸 치환기에서 HBA 원자의 부재는 화합물을 비활성으로 만든다. 모든 고효성 화합물은 비회전된 카바졸 치환기를 갖는다. DNA 공동으로의 고효성($EC_{50} < 130 nM$) 및 활성(EC_{50} 약 1 nM) 분자의 도킹은 우수한 HBA 원자를 갖는 회전된 카바졸 치환기가 DNA 원자와 수소 결합을 생성시킬 수 있다는 것을 입증한다. 반대로, 비회전된 카바졸 치환기는 DNA와 수소 결합하지 않고, 이것은 이의 고효성을 발생시킨다.

[0761]

실시에 7(화합물 6h)의 항종양 활성을 B16 흑색종 신제닉(singenic) 종양 모델을 사용하여 다음과 같이 입증하였다. C57BL/6 마우스를 복부 2개소에서 5×10^4 개의 쥐과 B16 흑색종 세포에 의해 피부내로 접종하였다. 하나 이상의 종양 접종 개소가 종양(평균 크기 약 6 mm)으로 발생하는 경우, 치료를 시작하였다. 마우스를 0.5% 메틸셀룰로스 비히클 대조군 또는 30 mg/kg 실시예 7(n=5 마우스/치료군) 중 어느 하나에 의해 14일까지 경구 위관 영양법에 의해 매일 치료하였다. 종양 측정치를 1~2일마다 디지털 캘리퍼스로 수집하였다. 개별 종양에 대한 치료 효과를 도 8a 및 도 8b에 나타냈다. 실시예 7 치료군으로부터 얻은 하나의 마우스를 제외하고, 치료군(<10% 변화) 중 어느 하나에 대해 전체 마우스 종양에 대한 효과가 관찰되지 않았다. 9일째에, 비히클 대조군(68% 성장 억제)과 비교하여 실시예 7 치료군에서 종양 성장이 대략 3배 감소하였다.

[0762]

실시에 7의 항종양 활성을 확인하기 위해, 카바졸 화합물(30 mg/kg)을 HCT116 이종이식편 모델을 이용하여 경구로 전달하였다. 이 시험에서, 무흉선 누드 마우스를 5×10^6 개의 HCT116 종양 세포에 의해 2개소로 접종하였다. 종양의 90%가 접종 7일 내지 11일 사이에 나타났다. 0.5% 메틸셀룰로스 중의 실시예 7의 화합물 30 mg/kg 또는 0.5% 메틸셀룰로스 비히클 대조군에 의한 경구 1일 치료는 마우스당 하나 이상의 종양이 크기가 20~25 mm³에 달할 때 시작하였다. 대조군 종양이 1,000 mm³에 달할 때까지 마우스를 치료하였다. 치료 시작 후, 마우스를 전체 상태, 체중 감소 및 생존, 및 하루 걸러 측정된 종양의 크기에 대해 모니터링하였다.

[0763] [표 2] 실험군

군	마우스 수	세포주	처리	투여 방식	투여 스케줄	종양 측정; 모니터링
1 (대조군)	10	HCT116	0.5% 메틸셀룰로스	po	종양이 20-25 mm ³ 에 도달하면 1일 1회 D1-D5, D8-D12, D15-D19; 25g 마우스 체중마다 250 μ l의 부피	종양이 가시적이 되면 하루 걸러 1회; 매일 모니터링; 하루 걸러 마우스 체중
2	10	HCT116	0.5% 메틸셀룰로스 중에 실시예 7 7.5 mg/kg	po	종양이 20-25 mm ³ 에 도달하면 1일 1회 D1-D5, D8-D12, D15-D19; 25g 마우스 체중마다 250 μ l의 부피	종양이 가시적이 되면 하루 걸러 마우스 체중

[0764] D-데이

[0765] 이 시험에서, 2군에서 마우스 100%가 실험에서 생존하였다. 비히클 치료 대조군 1에서 체중 감소가 관찰되지 않았지만, 2군에서, 3마리 마우스는 실험 종료시 15~20% 중량 감소하였다. 2군에서 나머지 마우스의 체중은 원래 체중의 95~105% 범위에서 변동하였다. 어떠한 다른 비정상 징후도 2군의 마우스 외관, 활성, 또는 거동에서 확인되지 않았다.

[0766] 대조군 1에서, 더 빠르게 성장하는 종양과 더 느리게 성장하는 종양 사이의 규칙적 편차에서 예상할 수 있는 것처럼, HCT116 종양은 지수로 성장하였다. 실시예 7 치료군 2에서, 모든 종양의 성장은 비히클 치료 대조군 1과 비교하여 지연되었다. 치료 시작 14일에, 치료된 종양은 가장 느리게 성장하는 대조군 종양의 크기(530 mm³)를 얻지 못했다. 종양의 평균 성장에서, 실시예 7에 의한 치료는 비히클 대조군 1과 비교하여 약 3.5의 인자(73%의 억제)로 종양 성장을 억제하였다. 하나의 치료된 종양이 완전히 치유되고, 부검시 종양 대신에 오직 최소의 결합 조직 형태 형성이 발견된다는 것이 중요하다. 몇몇 치료된 종양의 크기가 대조군 종양보다 더 느리게 증가할 뿐만 아니라, 감소하였고, 이것은 실시예 7의 화합물에 의한 치료의 결과로서 종양 세포사 및 종양 파괴를 시사한다. 이 결과는 치료 처음 3~5일 동안 관찰되었고, 이후 처리된 종양은 계속해서 느리게 성장하였다.

[0767] 이 실험은 실시예 7의 화합물이 nude 마우스에서 HCT116 피하내 이종이식편 종양의 성장에 억제 효과를 갖는다는 것을 보여준다. 성장 억제 값은 73%이고, 이는 NCI 표준에 의해 유의적인 항암 활성(>42%)인 것으로 간주된다. 상기 결과를 도 3 및 도 8-10에 도시하였다.

[0768] 도 3은 실시예 7의 화합물 및 대조군(MC)에 의한 HCT116 대장 암종 이종이식편 종양의 치료를 보여주는 종양 성장의 평균 곡선이다. 실시예 7의 화합물에 의해 치료된 종양은 실질적으로 종양 용적 감소를 나타냈다. 종양 용적 대 치료 일수의 그래프에서의 막대는 표준 편차를 나타낸다. 도 8은 대조군 비히클(도 8a) 및 실시예 7의 화합물(도 8b)에 의해 마우스에서 치료된 각각의 종양의 성장을 보여주는 좌표를 포함한다.

[0769] 도 9는 실시예 7의 화합물에 의해 치료된 마우스에서 100 mm³까지의 각각의 종양의 성장을 보여주는 것이다. 도 10은 치료 첫날 동안 종양 크기가 감소하였고, 종양이 치유되었다는 것을 보여주는 것이다.

[0770] 도 11은 카바졸 화합물, 즉 상기 기재된 분석에서 p53을 활성화시키는 화합물 100이 각종의 다양한 시험된 암 세포에 대해 유의적인 항암 활성을 나타낸다는 것을 입증하는 것이다. 도 11에 제시된 세포주를 각각 96웰 플레이트에 시딩하였다. 다음날, 세포를 일련의 농도의 화합물 100으로 처리하였다. 24시간 동안 치료하였고, 이때에 화합물이 충전된 배지를 화합물 비함유 배지로 대체하고, 비히클 대조군(DMSO)으로만 치료된 대조군 웰이 단층에 도달할 때까지(통상적으로 48시간 내) 세포를 성장시켰다. 이후, 세포를 고정시키고 50% 메탄올 중의 0.5% 메틸렌 블루로 염색시켰다. 염료를 1% SDS로 용리시키고 흡수율을 650 nm에서 측정하였다. 데이터를 화합물 100의 농도에 대한 650 nm에서의 흡수율로서 나타냈다.

[0771] 실시예 7, 실시예 15 및 실시예 13의 화합물은 강력한 항암 활성을 나타냈다. 이 3종의 화합물을 사용한 효율 시험에서, 비흉선 nude 마우스를 Caki1 인간 신장 세포 암종 세포의 현탁액에 의해 뒤엎구리 둘 다로 피하내 접종하였다. 마우스에서 하나 이상의 종양이 20-50 mm³에 도달할 때, 치료를 개시하였다. 마우스를 0.2% 히드록시 메틸 셀룰로스 중에 제제화된 실시예 7 30 mg/kg, 실시예 15 5 mg/kg, 또는 실시예 13 25 mg/kg 중 하나에 의해 위관영양법에 의해 경구로 치료하였다. 양성 대조군으로서, 하나의 군을 신장 세포 암종의 치료에 대해 승인된 약물인 수니티닙 40 mg/kg로 치료하였다. 5일 투여/2일 비투여 스케줄로 4주 동안 치료하였다. 치료를 완료한 후, 추가로 4주 동안 마우스를 모니터링하여 얼마나 빨리 종양 성장이 정상으로 복귀하는지를 측정하였다. 모든 3종의 화합물은 비히클 대조군(24일(치료 종료)에, 실시예 7 73% 억제, 실시예 15 50% 억제, 실시예 13 62% 억제)과 비교하여 유의적인 종양 성장 억제를 야기하였다. 실시예 7 및 실시예 13 및, 약한 정도로, 실시예 15의

이 항암 효과는 실질적으로 수니티닙 대조군(42%)보다 높았다. 본 화합물의 어떠한 것에 의한 치료의 중단도 종양의 신속한 재성장을 야기하지 않는다는 것이 흥미롭다. 대조적으로, 수니티닙 치료의 중단은 즉각적인 종양 성장을 발생시켜, 40일에 수니티닙과 비히클 대조군 사이에 관찰되는 종양 용적에서 유의차가 없었다.

[0772] 요약하자면, 모든 3종의 카바졸은 심지어 치료가 완료된 후에도 지속되는 종양 성장 억제를 발생시켰다. 효력의 순서는 실시예 7이 실시예 13보다 높고, 실시예 13은 실시예 15보다 높았다. 실시예 7에 의한 치료는 실시예 13 및 실시예 15과 비교하여 명확한 부작용을 발생시키지 않았다. 더 심각한 부작용이 실시예 13에서 관찰되었고, 여기서 2마리 마우스가 단기간 치료로부터 배제되어야 했고, 1마리 마우스를 조기 안락사를 발생시키는 체중 감소로 인해 영구적으로 제거하였다. 따라서, 실시예 7이 이 시험에서 "가장 안정한" 카바졸인 것으로 보인다. 실시예 15만이 단기간에 10~15% 체중 감소를 야기하므로, 이 화합물은 이 종양 모델에서 2번째로 가장 안정하였다. 결과에 기초하여, 실시예 7은 부작용의 부재 하에 강력한 항암 활성(70~80% 억제)을 갖는 바람직한 화합물이다.

[0773] 다른 시험에서, 인간 HCT-8 회맹부 선암 이종이식편을 갖는 누드 마우스에서의, 그리고 인간 HT-29 대장 선암 이종이식편을 갖는 누드 마우스에서의 가장 내약성인 용량(MTD)에서 실시예 7, 실시예 15 및 실시예 13의 항암 활성 및 독성을 평가하였다. 인간 HCT-8 및 HT-29 대장 이종이식편에 대해 MTD에서 나란히 실시예 7, 실시예 15 및 실시예 13의 항암 효율 및 독성의 또한 비교를 수행하였다.

[0774] 상기 기재된 바대로, 실시예 7, 실시예 15 및 실시예 13은 누드 또는 SCID 마우스에서 다양한 인간 종양 이종이식편 sc에 대한 항암 효율을 입증하는 것이다(예컨대, HCT-116, DLD1, Caki1 및 MDA-MB-231 종양, 이들 종양 세포는 마우스에 세포 현탁액으로서 접종됨). 약 50 mg 종양 편을 이식하여 누드 마우스에서 확립된 HCT-8(비교적 화학 요법, 예컨대 5-FU 및 이리노테칸에 감수성임) 및 HT-29(비교적 화학 요법에 감수성임) 이종이식편에 대해 이의 반복적인 MTD에서 이 3종의 화합물의 생체내 항암 효율 및 독성을 평가하였다. 이 연구에서, HCT-8 및 HT29 대장 암 종양에 대한 3종의 카바졸의 항암 효과 및 독성을 (종양 이식 약 7일 후) 종양 크기가 150~200 mg에 도달했을 때 시작하는 치료와 비교한다.

[0775] 물질 및 방법

[0776] 동물. 8주령 내지 12주령 암컷 비흉선 누드 마우스(nu/nu, 체중 22~25 g)를 Harlan Sprague Dawley Inc.(인디애나주 인디애나폴리스)로부터 얻고 제도적으로 승인된 동물 프로토콜에 따라 5마리의 마우스/케이지에서 임의량의 물 및 음식에 의해 유지시켰다.

[0777] 약물. 모든 3종의 화합물을 실시예 15에 대해 0.5 mg/ml, 실시예 7에 대해 3 mg/ml 및 실시예 13에 대해 2.5 mg/ml의 농도로 0.2% 히드록시프로필베타셀룰로스 중에 제제화하였다.

[0778] 종양. 인간 회맹부 선암 HCT-8 및 대장 선암 HT-29 이종이식편을 사용하였다. 이종이식편을 초기에 s.c 10⁶개의 세포에 주사하여 확립하고 종양을 종양이 1~1.5 g에 도달할 때 계대 종양으로부터 투관침을 통해 약 50 mg 비괴사 종양(2~3 조각)을 이식하여 몇세대 계대시켰다.

[0779] 약물 용량 및 스케줄. 1주 5일 4주 동안(5일/주×5) 또는 마우스가 대형 종양으로 인해 희생될 때까지 실시예 15: 5 mg/kg/day; 실시예 7: 30 mg/kg/day; 및 실시예 13: 25 mg/kg/day에 의해 MTD에서 모든 화합물을 경구(p.o.) 투여하였다. 종양이 150~200 mg에 도달할 때 종양 이식 7일 후 치료를 개시하였다. 대조군에서의 마우스는 (치료군으로서 동일한) 마우스 체중 20 g당 200 μl로 비히클(0.2% 히드록시프로필베타셀룰로스)을 투여받았다. 5마리의 마우스를 10개 종양(왼쪽 및 오른쪽 옆구리에서 각각 1개 종양)을 갖는 각각의 실험군에 대해 사용하였다.

[0780] 종양 측정. 종양의 2개 축(mm)(L, 가장 긴 축; W, 가장 짧은 축)을 버니어 캘리퍼스(Vernier caliper)에 의해 측정하였다. 화학식: 종양 중량 = 1/2(L×W²)을 이용하여 종양 중량(mg)을 산출하였다. 종양 측정을 약물 치료와 동시에 치료후 주 3~4회 매일 하였다.

[0781] 최대 허용 복용량(MTD) 및 독성 평가. MTD는 원래 체중의 20% 미만의 체중 감소를 갖는 마우스에서 약물 관련 치사율을 야기하지 않는 최고 약물 용량으로서 정의되고 독성은 가역적이었다. 약물 유도 독성의 동력학(체중 감소, 설사 및 치사율)을 치료 후 처음 10일 동안 및 그 후 매 2일마다 측정하였다.

[0782] 항암 활성. 동시에 비치료된 대조군(MTWCG)과 비교된 치료군(MTWG)의 평균 종양 중량인 최대 종양 성장 억제(MTRI)(MTRI = MTWG-MTWCG)/MTWCG×100%)에 의해 항암 활성을 평가하였다. 종양 배가 시간(TDT)은 종양이 이의 초기 중량의 2배에 도달하는 평균 시간으로서 정의된다. 종양 반응을 종양 중량이 초기 종양 크기의 적어도

50%로 감소할 때 부분 종양 반응(PR)으로서 나타내고, 완전 종양 반응(CR)은 종양 발생 초기 부위에서 측지시 종양을 검출할 수 없는 무능력으로서 정의된다.

[0783] **결과**

[0784] (a) HCT-8 이종이식편을 갖는 누드 마우스에서 실시예 15, 실시예 7 및 실시예 13의 항암 활성 및 독성.

[0785] 하기 표에서의 데이터는 HCT-8 이종이식편을 갖는 누드 마우스에 매주 p.o. 5일 투여 및 2일 비투여로 투여되는 비히클 대조군, 실시예 15, 실시예 7 및 실시예 13의 항암 활성 및 독성을 보여준다. 데이터는 실시예 13 및 실시예 15가 35~40%의 억제율로 HCT-8 이종이식편에 대해 적절한 항암 활성을 갖고 비히클 대조군(배가 시간: 4.8 일)과 비교하여 종양 성장을 각각 17%(실시예 13) 및 57%(실시예 15) 지연시킨다는 것을 보여준다. 마우스가 희생될 것을 요하는 넓은 종양 용적 때문에 실시예 13 및 실시예 15에 대한 계획된 4개 코스의 치료를 완성하지 못했다. 실시예 7은 종양 성장의 65.9% 및 142% 지연의 억제율로 HCT-8 이종이식편에 대해 실시예 13 및 실시예 15보다 훨씬 더 활성이었다. 실시예 7은 어떠한 PR 또는 CR도 생성하지 못했다. 독성과 관련하여, 비히클은 주마다 5일 투여 및 2일 비투여×2~4주에서 각각의 HCT-8 종양의 동물군에 의해 경증 독성을 생성하였다.

[0786] [표 3] 인간 HCT-8 회맹부 선암 이종이식편을 갖는 누드 마우스에서 실시예 15, 실시예 7 및 실시예 13의 항암 활성 및 독성

치료 (mg/kg/d)	항암		활성		독성(%)	
	MTGI(%)	TDT(일)	PR(%)	CR(%)	MWL	치사율
대조군-비히클	-	4.8±0.3	0	0	5.5±1.9	0
실시예 15(5)	40.0±18.6	7.5±3.5	0	0	10.0±3.8	0
실시예 7(30)	65.9±11.0	11.6±2.5	0	0	12.2±6.8	0
실시예 13(25)	35.7±20.0	5.6±1.2	0	0	8.5±2.9	0

[0787]

[0788] MTRI: 최대 종양 성장 억제; TDT: 종양 배가 시간; PR: 부분 종양 반응; CR: 완전 종양 반응; MWL: 치료전 체중의 최대 체중 감소. 대조군은 마우스 체중 20 g당 200 μl에서 0.2% 히드록시프로필메틸셀룰로스(비히클)를 투여 받았다. (왼쪽 및 오른쪽 옆구리에서) 10개 종양을 갖는 각각의 실험군에 대해 5마리의 마우스를 사용하였다.

[0789] (b) HT-29 이종이식편을 갖는 누드 마우스에서 실시예 15, 실시예 7 및 실시예 13의 항암 활성 및 독성.

[0790] 하기 표에서의 데이터는 HCT-8과 비교하여 대부분의 화학치료제에 더 내성인 HT-29 이종이식편을 갖는 누드 마우스에 매주 p.o. 5일 투여 및 2일 비투여로 투여되는 비히클 대조군, 실시예 15, 실시예 7 및 실시예 13의 항암 활성 및 독성을 보여준다. 데이터는 모든 3종의 화합물이 HCT-8보다 이 종양에 대해 더 활성이라는 것을 보여준다. 유사하게, 실시예 13은 48%의 억제율로 3종 중 가장 덜 활성인 화합물이고, 종양 성장을 50% 지연시켰다(대조군에 대한 종양 배가 시간은 7.8일이다). 실시예 15는 유사한 종양 성장 억제율(58%)을 생성시켰지만, 실시예 7과 비교하여 종양 성장 지연(76% 대 122% 지연)에 효과를 덜 가졌다. PR 또는 CR은 3종 물질에 의해 생성되지 않았다. 독성과 관련하여, 실시예 7 및 실시예 13은 체중 감소를 덜 발생시켰다. 실시예 7은 18% 체중 감소 및 40% 치사율로 HCT-8 실험과 비교하여 HT-29 실험에서 더 독성이었다.

[0791] [표 4] 인간 HT-29 대장 선암 이종이식편을 갖는 누드 마우스에서 실시예 15, 7, 및 13의 항암 활성 및 독성

치료 (mg/kg/d)	항암		활성		독성(%)	
	MTGI(%)	TDT(일)	PR(%)	CR(%)	MWL	치사율
대조군-비히클	-	7.8±0.8	0	0	5.6±4.2	0
실시예 15(5)	58.4±6.4	13.1±2.3	0	0	17.9±6.8	40
실시예 7(30)	58.5±17.4	17.3±4.8	0	0	7.6±5.1	0
실시예 13(25)	47.6±6.7	11.7±1.2	0	0	4.4±2.2	0

[0792]

[0793] MTRI: 최대 종양 성장 억제; TDT: 종양 배가 시간; PR: 부분 종양 반응; CR: 완전 종양 반응; MWL: 치료전 체중의 최대 체중 감소. 대조군은 마우스 체중 20 g당 200 μl에서 0.2% 히드록시프로필메틸셀룰로스(비히클)를 투여 받았다. (왼쪽 및 오른쪽 옆구리에서) 10개 종양을 갖는 각각의 실험군에 대해 5마리의 마우스를 사용하였다.

[0794] **결론**

[0795] 결론으로, 실시예 15 및 실시예 13은 적절한 항암 활성을 나타내는 반면, 실시예 7은 HCT-8 및 HT-29 이종이식편 둘 다에 대해 항암 효율이 더 우수하였다;

[0796] 실시예 15는 HT-29 연구에서 실시예 7 및 실시예 15보다 더 독성이었다;

[0797] 대부분의 다른 화학치료제에 대한 반응과 달리, HT-29 이종이식편은 HCT-8 이종이식편에 의해 관찰된 반응과 비

교하여 모든 3종의 카바졸에 더 감수성이었다;

- [0798] 데이터는 실시예 7이 HCT-8 및 HT-29 이중이식편 둘 다에 대해 바람직한 화합물이라는 것을 보여준다.
- [0799] 다른 실험에서, 신경아세포종의 쥐과 모델에서 실시예 7의 항암 활성을 입증하였다. N-myc(TH-MYCN) 형질전환 마우스는 초기 발생 동안 신경외배엽 세포에서 발현되는 티로신 히드록실라제 프로모터의 조절 하에 인간 N-myc 암유전자를 보유하고, 마우스는 인간 신경아세포종의 쥐과 등가물을 발생시켰다. 이 마우스는 종양 부위 및 이의 전이, 종양의 조직학, 신경아세포종 관련 마커 단백질에 대한 양성 염색, 시냅스 및 신경분비과립의 존재, 인간 신경아세포종에서 관찰되는 것과 신터니(syntenic)인 위치에서 염색체의 획득 및 소실, 및 발생하는 종양에서 특이적으로 N-myc의 카피수의 증폭을 비롯한 인간 질환에 의해 몇몇 중요한 특징을 보유하는 훌륭한 모델인 것으로 증명되었다.
- [0800] 현대 화학 요법은 많은 암에 대해 생존율을 극적으로 개선시켰다. 그러나, 신경아세포종에 대한 임상 설정에서 다중 약물 내성 발생은 치료 실패의 주원인 중 하나이고, 다중 약물 내성을 피하는 것은 막대한 임상 가능성을 갖는다. 신경아세포종에서 이전에 원인으로 보이지 않았던 신규 경로를 표적으로 하는 약물이 치료 프로토콜에 대한 신규 방식을 제공한다.
- [0801] 시험 결과는 고용량이 몇몇 마우스에서 독성을 나타내는 것으로 밝혀졌지만 실시예 7의 화합물이 신경아세포종의 이 모델에서 놀라운 항암 활성을 갖는다는 것을 보여준다. 실시예 7 30 mg/kg으로 치료된 마우스는 신속히 예상하지 못하게(몇몇 경우에 밤새 2 g) 체중이 감소하였고 작은 비장에 의한 사망 및 탈수 징후가 관찰되었다. 치료에서 생존한 마우스는 15 내지 47일로 연장되는 기간 동안 종양이 없었지만, 모든 마우스를 동일한 스케줄에 따라 치료하지 않았다. 용량을 체중 감소에 따라 변경하였다. 결과에 따라, 실시예 7은 신경아세포종의 TH-MYCN 모델에서 우수한 효율을 나타냈다.
- [0802] 현대 화학 요법은 많은 암에 대해 생존율을 극적으로 개선시켰다. 그러나, 신경아세포종에 대한 임상 설정에서 다중 약물 내성 발생은 치료 실패의 주원인 중 하나이고, 다중 약물 내성을 피하는 것은 막대한 임상 가능성을 갖는다. 신경아세포종에서 이전에 원인으로 보이지 않았던 신규 경로를 표적으로 하는 약물이 치료 프로토콜에 대한 신규 방식을 제공한다.
- [0803] 실시예 7의 1일 투여는 또한 유방 발암 MMTV-neu 형질전환 마우스 모델에서 종양 발병을 예방하였다.
- [0804] 유방암(BC)은 이 악성 종양의 높은 발병률 및 가능한 치료의 제한된 성공으로 인해 심각한 건강 관리 이슈이다. 실질적인 정도의 가능성을 갖는 몇몇 특이적 유전 인자에 따른 이 질환의 가족력은 BC에 대해 개체가 소인을 갖게 하는 것으로 알려져 있다. 따라서, 높은 BC 위험군으로부터의 여성은 이론적으로 예방학적 항BC 치료로부터 이익을 얻을 수 있다. 본 발명의 카바졸 화합물은 종양 성장 억제제를 야기하는 방향으로 몇몇 암 관련 세포 경로를 조절할 수 있다. 실시예 7의 화합물은 치료 용량(20~25 mg/kg)으로 투여될 때 마우스에서 심각한 부작용을 야기하지 않았다. 실시예 7은 Ames 분석에서 돌연변이 활성을 나타내지 않았다. 이 연구에서, 실시예 7은 마우스에서 BC에 대해 예방제로서 시험하였다.
- [0805] 동물 모델: FVB 균주의 배경에서 MMTV-neu 암컷 마우스는 에스트로겐 자극에 반응성인 MMTV 프로모터 하에 비활성화 Her2 프로토-암유전자를 발현하였다. 마우스는 나이 24주로부터 시작하여 자연적인 유방 종양을 발생시켰고, 정상적으로 동물의 70~80%가 10월령의 나이에 종양을 발생시켰다. 이 시험의 목적은 (a) 실시예 7에 의해 치료된 마우스 대 비히클 대조군(물)에서 종양 발생률을 비교하는 것, 및 (b) 실시예 7에 의해 치료된 마우스 대 비히클 대조군의 체중 증가 및 일반적인 외관을 비교하는 것이다.
- [0806] 연구 설계: 40마리 암컷 마우스를 21일령의 나이에 사육 부모로부터 이주시키고 별개의 케이지(4마리 마우스/케이지)에 배치하였다. 이때에, 마우스에 표지하고 치료군 또는 대조군(각각 20마리의 마우스)에 배정하였다. 군 둘 다에서의 체중을 매주 측정하였다. 4주령의 나이로부터 출발하여, 치료군으로부터 얻은 마우스에 실시예 7을 포함하는 물을 공급하였다. 치료군 및 대조군에서의 액체 소모를 매일 추산하였다. 이 측정에 기초하여, 마우스 체중 1g당 액체 소모 계산하고, 식수에서 실시예 7 농도를 원하는 치료 용량으로 조정하였다. 실시예 7의 새로운 용액을 매주 제조하였다. 마우스를 유방선의 축진에 의해 종양 형성에 대해 매주 모니터링하였다. 마우스를 축적 종양 크기가 부피 1000 mm³에 도달했을 때 희생시켰다.

[0807]

군	마우스 수	표적 용량	전달 방식
1	20	무(물)	매일 마실
2	20	약 25 mg/kg 실시예 7	매일 마실

[0808] 예비 결과: 치료군으로부터 얻은 마우스는 매일 20 mg/kg의 평균 속도로 실시예 7을 소모하였다. 다양성은 식수를 통한 약물 전달의 제한된 정확성 때문이었다. 중량 분포에서 치료군과 대조군 사이에 차이가 없거나, 동물 의관에서 비정상성이 없었다.

[0809] 실험 과정에서, 치료군과 대조군 사이에 몇몇 자연스런 사망이 일어났다. 동물이 종양이 없었고 현대식의 대단한 병리학 검사가 명확한 비정상성을 나타내지 않았으므로 사망의 원인은 명확하지 않았다. 마우스 중 어떤 것도 실시예 7 투여 시작 수주 후보다 빨리 죽지 않았다. 시험 동안, 3개의 대조군 마우스는 각각 약 15주, 41주 및 42주의 나이에 죽었다. 7마리 마우스가 실시예 7 군에서 12주 내지 45주(실험 치료 시작 이후 7주 내지 41주) 범위의 여러 나이에 죽었다.

[0810] 21마리 및 19마리 마우스가 각각 대조군 및 치료군에서 종양을 갖는 나이에 도달하였다. 이들 중에서, 대조군 마우스 중 14마리(67%) 및 실시예 7을 투여받는 마우스 중 7마리(37%)에서 종양이 발생하였다.

[0811] 이 실험은 다음의 사실을 보여준다:

[0812] (a) 매일 약 20 mg/kg로 식수와 함께 실시예 7의 만성 투여는 마우스 체중에서 변화를 발생시키지 않았다;

[0813] (b) 실시예 7 치료군 대 대조군에서 사망률이 더 높았지만, 차이가 통계학적으로 유의하지 않았고 치료 기간과 마우스 사망 사이에 상관관계가 없었다; 그리고

[0814] (c) 실시예 7에 의해 치료된 마우스 대 대조군 동물 중에서 종양 부담의 비율이 더 낮았다.

[0815] 본 발명의 카바졸 화합물은 또한 항기생충 활성을 나타낸다. 특히, 시험 화합물의 존재 또는 부재 하에 실험실 내 플라스모듐 팔시파툼(균주 D10)을 배양하여 말라리아 기생충에 대한 카바졸 화합물의 효과를 시험하였다. 시험을 위해 (p53 활성화와 관련하여) 활성 및 비활성 카바졸 화합물을 선택하고, 종래 항말라리아제인 퀴나크린도 선택하였다. 표 5는 화합물의 구조를, p53 활성화 분석에서 이의 EC₅₀ 값과 함께 요약한 것이다.

[0816] [표 6] 시험 화합물

화합물	구조	EC ₅₀ , μM
실시예 2		0.64
화합물 400		불활성
실시예 7		0.37
화합물 500		불활성
실시예 18		0.09
퀴나크린 (QC)		약 5

[0817] 실시예 2, 화합물 400, 및 실시예 7을 29 nM, 57 nM 및 143 nM 농도에서 시험하였다. 화합물 500, 실시예 18 및 퀴나크린을 오직 143 nM에서 시험하였다.

[0819] 각 실험에서, 1000개의 적혈구를 현미경에 의해 평가하여 감염된 세포의 수를 결정하였다. 대조군 실험(시험 화합물을 첨가하거나 또는 PBS를 첨가하지 않음)에서, 감염된 세포의 백분율은 1.6% 내지 6.4% 변했다. 연구에서 결정된 감염성 감소 지수를 도 12에 도시하였다. p53 활성화 분석의 효력은 명확히, 그러나 간접적으로, 실험실 내 플라스모듐 팔시파툼의 억제와 연관되었다. p53 활성화 분석에서의 3종의 화합물(실시예 2, 실시예 7 및 실시예 18) 활성은 퀴나크린과 비교하여 항말라리아 활성을 나타낸다. p53 활성화 분석에서 비활성인 화합물(화합

물 400 및 화합물 500)은 기생충혈 감소를 나타내지 않았다.

- [0820] 실시예 7, 실시예 13 및 실시예 15의 화합물은 또한 항원생동물 활성을 나타냈다. 인간 아프리카 트리파노소마 증(human African trypanosomiasis, HAT) 또는 "수면병"은 가장 중요하지만, 똑같이 가장 무시되는 열대 감염증 하나이다. 이것은 체체 파리(*Glossina spp*)에 물려 원생동물인 트리파노소마 브루케이(*Trypanosoma brucei*)에 의해 야기되고, 이는 인간을 통해 전염된다. 1960년대에 거의 없어졌지만, HAT는 체체 파리가 서식하는 여러 사하라 사막 이남 지역에서 유행병 규모로 다시 나타났다. 세계 보건 기구(World Health Organization)에 따르면, 약 500,000명의 사람들이 현재 트리파노소마를 보유하고 있고 치료되지 못한 채 죽는다. HAT와 관련된 높은 사망률은, 적어도 부분적으로, 용이하게 투여될 수 있는 효과적인 약물의 부재로 인한 것이다.
- [0821] HAT를 치료하기 위해 현재 사용되는 약물은 오래되었고, 독성이고, 현장에서 투여하기 어렵다. 초기 단계 질환을 치료하기 위해 사용되는 수라민(suramin) 및 펜타미딘은 클리닉에서 주사되어야 한다. 그러나, 질환이 고질적인 아프리카의 지방에서는 건강 클리닉에 대한 접근이 흔치 않다. 또한, 많은 초기 단계 환자는 치료를 구하지 않는데, 왜냐하면 이들은 감염되었다는 것을 모르기 때문이다. 이는 위험 인구의 열악한 스크리닝, 및 초기 단계 HAT 증상의 가변적이고, 간헐적이고, 비교적 온화한 성질로 인한 것이다. 명확한 증상이 생기기까지, 환자는 대개 이미 질환의 후기 단계에 있다. 후기 단계 HAT의 치료는 특히 곤란한데, 왜냐하면 그야말로 주사시 환자를 타오르게 하는 비소제인 멜라소프롤의 주사를 수반하기 때문이다. 이러한 치료는 너무 고통스러워 많은 환자가 치료를 거부하고 물리적으로 제지되고 약물 투여가 강제되어야 한다. 또한, 멜라소프롤은 치료된 환자의 5~20%에서 사망을 야기하는 중대한 부작용을 갖는다. 이러한 이유와 약물 내성의 예상된 문제점으로 인해, 현재의 구식 약제를 대체할 새로운 경구로 생물학적으로 이용가능한 약물의 파이프라인을 생성하기 위한 시급한 필요가 존재한다.
- [0822] 시험은 실시예 7, 실시예 13 및 실시예 15의 화합물이 실험실내 현저한 항T. 브루케이 활성(낮은 나노몰 IC₅₀)을 갖는다는 것을 보여준다. 예비 T. 브루케이 비활성화 실험을 실험실내 수행하였다. T. 브루케이의 생활사는 체체 파리에서 "순환적" 발생 단계를 포함하고, 인간에서 "혈류"를 형성한다. 기생충이 질환 유도 발생 단계를 포함하므로, 모든 연구를 기생충의 혈류 단계로 수행하였다.
- [0823] 실시예 7, 실시예 13 및 실시예 15의 상대적 항트리파노소마 활성을 평가하기 위해, 그리고 기생충의 50%를 사멸하는 각 화합물의 농도(IC₅₀)를 결정하기 위해, T. 브루케이를 일련의 화합물 농도에 노출시켰다. 종래 항HAT 약물인 수라민을 양성 대조군으로서 사용한다.
- [0824] 24웰(웰마다 배지 500 μ l) 플레이트 내에서 혈류 T. 브루케이를 시딩하였다(3×10^3 개의 세포/mL). 화합물의 농축액(실시예 7의 경우 0~200 nM, 실시예 13의 경우 0~20 nM, 및 실시예 15의 경우 0~3 nM)을 세포(이중 배양)에 첨가하였다. 대조군 배양액에 동등 부피의 DMSO를 넣었다. 기생충이 약물의 존재 하에 배양 48시간 후 검출되지 않았으므로, 모든 3종의 시험 화합물은 T. 브루케이를 완전히 제거하였다. 대조군 배양액을 3×10^6 /mL의 밀도로 기생충을 포함하는 DMSO(비히클)로 처리하였다.
- [0825] 트리파노소마 박멸 활성은 각각 약 43 nM, 약 6~11 nM, 및 약 0.5 nM의 IC₅₀ 값으로 실시예 15보다 적은 실시예 13, 실시예 13보다 적은 실시예 7의 순서로 증가하였다. 수라민의 IC₅₀은 300 nM 이상이었다.
- [0826] 따라서, 본 발명의 화합물은 트리파노소마 박멸 약물로서 개발하기에 훌륭하였다.
- [0827] 상이한 균류 균주에 대한 활성에 대해 실시예 15의 화합물을 시험하였다. 실시예 15 실험실내 감수성 시험을 31개의 임상 및 실험실 균류 균주에 대해 CLSI M27A3 및 M38A2 방법에 의해 수행하였다. 일반적으로, 선택된 균주는 현재 항균 약물에 대해 상이한 감수성 패턴을 나타냈다. 실시예 15의 평가를 위해, 8개의 아스퍼질러스 종(*Aspergillus spp.*), 21개의 칸디다 종(*Candida spp.*), 1개의 크립토크커스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*) 및 1개의 데바리오마이세스 한세니(*Debaryomyces hansenii*) 균주를 시험하였다.
- [0828] 아스퍼질러스 종 균주: 8개의 아스퍼질러스 종 균주를 연구 내내 사용하였다. 6개의 A. 푸미가투스(*fumigatus*), 1개의 A. 플라부스(*flavus*) 및 1개의 A. 테레우스(*terreus*)를 또한 사용하였다. A. 푸미가투스 균은 2개의 이트라코나졸 내성 균주(RIT13 및 RIT5 균주)(1), 1개의 트리아졸 교차 내성 균주(MUT10)(2, 3), 1개의 에키노칸딘 교차 내성 균주(EMFRS678P)(4) 및 2개의 야생형 감수성 단리물(R21 및 ATCC 13073)을 포함하였다. "비-푸미가투스" 균주는 A. 테레우스 단리물(천연적으로 암포테리신 B에 덜 감수성임)을 제외하고 모든 이용 가능한 항균제에 감수성이었다(5).

- [0829] 칸디다 종 균주: 20개의 칸디다 종 임상 단리물 및 1개의 실험실 대조군 균주(*C. 알비칸스* SC5314)를 연구에서 사용하였다. 수집에서 다음을 포함한다:
- [0830] 5개의 *C. 알비칸스* 단리물, 2개의 야생형 균주(SC5314 및 ATCC 36082), 1개의 에키노칸딘 내성 단리물 (M205)(6) 및 2개의 플루코나졸 내성 임상 단리물(3795 및 3184)(7).
- [0831] 3개의 *C. 크루세이(krusei)* 균주, 1개의 ATCC 대조군 균주(ATCC 6258 CLSI 대조군), 및 2개의 동질유전자 임상 균주(98 및 100). 100은 에키노칸딘 교차 내성이었다(8, 9).
- [0832] 2개의 *C. 글라브라타(glabrata)* 균주, 1개의 야생형 임상 균주(3168) 및 1개의 에키노칸딘 교차 내성 단리물 (3830)(10).
- [0833] 2개의 *C. 트로피칼리스(tropicalis)* 균주, 1개의 ATCC 대조군 균주(ATCC 750) 및 1개의 에키노칸딘 교차 내성 (T3)(11).
- [0834] 2개의 *C. 두블리니엔시스(dublinsiensis)* 균주 1개의 야생형 균주(3949) 및 에키노칸딘 모순 효과를 갖는 다른 것(M204).
- [0835] 4개의 천연 감소된 에키노칸딘 감수성 칸디다 종(12): 1개의 *C. 오르톱실로시스(orthopsilosis)*(981224), 1개의 *C. 메타실로시스(metapsilosis)*(2006-113), *C. 파라실로시스(parapsilosis)*(ATCC 22019 CLSI 대조군) 및 *C. 구 일리에르몽디(guilliermondii)*(ATCC6260)(13).
- [0836] 다른 칸디다 종 및 속: 1개의 *C. 루고사(rugosa)*(M83), 1개의 *C. 리폴리티카(M159)*, *C. 루시타니아(200450)*, 1 개의 *크립토크커스 네오포르만스(499)* 및 1개의 *테바리오마이세스 한세니*.
- [0837] 감수성 시험: 효모(M27A3)(14) 및 곰팡이(M38A2)(15)에 대한 CLSI 표준화 방법을 이용하여 실시예 15 실험실내 감수성 시험을 수행하였다. 24시간 및 48시간에 MIC(최소 억제 농도) 판독을 수행하였다.

[0838] [표 7] 실시예 15에 대한 균류 균주의 실험실내 감수성

균주	유기체	유전자형	표현형	실시예 15	
				MIC [*] (24시간)	MIC [*] (48시간)
ATCC13073	A. 푸미가투스	WT	감수성	2.56	5.13
R21	A. 푸미가투스	WT	감수성	1.28	2.56
MUT10	A. 푸미가투스	Cyp51Ap G138C	트리아졸 교차 저항	0.66	1.28
RIT5 ^a	A. 푸미가투스	AfuMDR3 및 AfuMDR4는 구성적으로 과발현됨	이트라코나졸 저항	0.66	1.28
RIT13 ^a	A. 푸미가투스	아졸+ Cyp51 Ap G54E에 의해 유도된 AfuMDR3 및 AfuMDR4 과발현	이트라코나졸 저항	1.61	1.28
EMFRS678P	A. 푸미가투스	Fks1pS678P	에키노칸딘 교차 저항	1.28	2.56
AFCLF9128	A. 플라부스	WT	감수성	0.33	0.33
At123	A. 테레우스	WT	내재적으로 AMB 내성	0.08	1.28
SC5314	C. 알비칸스	WT	감수성	0.04	0.08
ATCC36082	C. 알비칸스	WT	감수성	0.04	0.04
M205	C. 알비칸스	Fks1pS645P	에키노칸딘 교차 저항	0.16	0.33
3795	C. 알비칸스	Erg11p F136L/K134R	플루코나졸 저항	0.16	0.16
3184	C. 알비칸스	CDR1 과발현	플루코나졸 저항	0.33	0.66
3168	C. 클라브라타	WT	감수성	0.16	0.16
3830	C. 클라브라타	Fks2pS663P	에키노칸딘 교차 저항	0.16	0.16
ATCC3258	C. 크루세이	WT	감수성(자연적으로 플루코나졸 내성)	0.33	0.66
98 ^b	C. 크루세이	WT	감수성(자연적으로 플루코나졸 내성)	0.33	0.33
100 ^b	C. 크루세이	Fks1pF655F/C	에키노칸딘 교차 저항	0.33	0.33
ATCC750	C. 트로피칼리스	WT	감수성	0.08	0.16
T3	C. 트로피칼리스	Fks1pS645S/P ^a	에키노칸딘 교차 저항	0.04	0.08
3949	C. 두블리니엔시스	WT	감수성	0.16	0.16
204	C. 두블리니엔시스	WT	에키노칸딘 모순 효과	0.16	0.16
M159	C. 리폴리티카	WT	감수성	0.02	0.08
M83	C. 루고사	WT	감수성	0.16	0.66
200450	C. 루시타니아	WT	감수성	0.04	0.16
ATCC6260	C. 구일리메르몽디	WT	에키노칸딘 교차 감소 감수성	0.08	0.16
ATCC22019	C. 파랍실로시스	WT	에키노칸딘 교차 감소 감수성	0.08	0.08
981224	C. 오르토티실로시스	WT	에키노칸딘 교차 감소 감수성	0.16	0.16
2006-113	C. 메탐실로시스	WT	에키노칸딘 교차 감소 감수성	0.16	0.16
20124	테바리오마이세스 한세니	WT	감수성	0.16	0.16
499	크립토크커스 네오포르만스	WT	감수성	0.02	0.08

* 2회 반복의 기하학적 평균(단위: μM).

a. C. 알비칸스 등가물에 상응하는 아미노산 숫자.

[0839]

[0840]

아스퍼질루스 종. 실시예 15 감수성: A. 플라부스 및 A. 테레우스 균주는 A. 푸미가투스 균주(24시간 MIC Geom. 각각 평균 0.40 및 1.59 μM)보다 실시예 15에 더 민감하였다. 또한, 감수성 및 아졸 또는 에키노칸딘 내성 균주 사이에 MIC 차이가 없었다(표 7).

[0841]

효모 실시예 15 감수성: 아졸- 또는 에키노칸딘-내성 또는 -감수성 단리물 사이에 실시예 15 MIC 차이가 없었다. 평균적으로, 효모 MIC는 아스퍼질루스 종보다 8배 낮았다. MIC(표 7). 실시예 15로부터 얻은 MIC는 종래 항균 약물에 대해 상용성이거나, 또는 MIC보다 더 우수하였다. 아졸 및 에키노칸딘 내성 균주는 실시예 15에 대해 감수성이었다.

[0842]

아스퍼질루스 푸미가투스 생존물에 대한 실시예 15의 효과: XTT 생존물 분석을 이용한 A. 푸미가투스의 Af293 균주에 대한 실시예 15의 항균 활성을 평가하였다. 이 균주를 선택하는데, 왜냐하면 이것은 최고로 규명된 균주 중 하나이고 A. 푸미가투스 게놈을 서열 분석하기 위해 사용되는 균주이기 때문이다. XTT 생존물 분석은 전자 커플링제로서 메나디온의 존재 하의 테트라졸륨 염(XTT)의 환원에 기초한다. 생육 균류의 수와 XTT 환원의 양

사이에 관계식이 존재한다(16).

방법

[0843]

[0844]

XTT 분석을 수행하는 데 이미 기재된 동일한 방법(17)을 이용하였다. Af293 분생자를 클로르암페니콜 및 젠타미신을 갖는 Sabouraud BHI 슬란트(Becton Dickinson, MD)에서 플레이팅하고, 7일 내지 10일 동안 실온에서 항온처리하고, 정상 식염수(NS) 중의 0.05% Tween 20 10 ml로 슬란트를 세척하여 수확하였다. 이후, 분생자 현탁액을 100 μ m 필터를 통해 통과시키고, 혈구계수기에서 계수하고, 2.0×10^6 개의 CFU/ml로 희석시켰다. 이후, 분생자를 MOPS(모르폴린프로판설펜산) 완충 RPMI(pH 7.0) 중에 1:50 희석시켰다. DMSO 중에 용해된 실시예 15의 스톡 용액을 사용하였다. 실시예 15를 MOPS 완충 RPMI(pH 7.0) 중에 희석시켰다(DMSO의 최종 농도: 균류 현탁액에 첨가 전에 2%). 약물 함유 배지를 각각의 웰에 첨가한 후, 분생자 현탁액(100 μ l)을 첨가하였다(t=0 h). 대조군 웰은 분생자, 배지, 및 약물이 없는 비히클을 포함하였다. 블랭크 웰은 분생자만이 없는 배지로 이루어졌다. 균류가 첨가되지 않은 광범위한 농도의 실시예 15를 이용한 초기 실험은 실시예 15 시약이 XTT 분석에서 광학 밀도에 영향을 미치지 않는다는 것을 나타낸다. 플레이트를 37°C에서 항온처리하고, XTT 분석을 본질적으로 이미 기재된 바(16)와 같이, 그러나 약간 변경하여 24시간에서 수행하였다. XTT의 스톡 용액(Sigma Chemical, 미국 미주리주 세인트 루이스)을 NS(1 mg/ml) 중에 용해시켰다. 전자 커플링 물질 메나디온 10 mM 용액(Sigma Chemical)을 아세톤 중에 제조하고 이후 NS 중에 1:10 희석시켰다. 워킹 용액은 4.0 ml XTT로 이루어지고 0.5 ml 메나디온을 사용 직전 제조하였다. 배합 용액 50 μ l를 각각의 웰에 첨가하고, 플레이트를 37°C에서 2시간 동안 항온처리하였다. 상청액 100 μ l를 새로운 플레이트에 옮기고, 450 nm에서의 광학 밀도(OD₄₅₀)를 Labsystems Multiskan Plus 플레이트 리더를 사용하여 측정하였다. 각각의 웰에서의 XTT 및 메나디온의 최종 농도는 각각 200 μ g/ml 및 25 μ m이었다.

[0845]

실시예 15는 Af293에 대해 항균 활성을 가졌다. IC₅₀은 대략 2.5 μ M이었다. 균류 성장의 완전한 억제는, 웰의 시각적 검사에 기초하여, 12.5 μ M보다 높은 실시예 15 농도에서 나타났다.

1. A.M. Nascimento, et al., 2003, 47:1719-26.
2. G. Garcia-Effron, et al., 2008, *J Clin Microbiol*, 46:1200-6.
3. S.J. Howard, et al., 2006, *Int J Antimicrob Agents*, 28:450-3.
4. E.M. Rocha, et al., 2007, *Antimicrob Agents Chemother*, 51:4174-6.
5. W.J. Steinbach, et al., 2004, *Clin Infect Dis.*, 39: 192-8.
6. G.S. Garcia-Effron, et al. *Antimicrob Agents Chemother*.
7. S. Perea, et al., 2001, *Antimicrob Agents Chemother*, 45:2676-84.
8. M. Hakki, et al., 2006, *Antimicrob Agents Chemother*, 50:2522-4.
9. J.N. Kahn, et al., 2007, *Antimicrob Agents Chemother*, 51:1876-8.
10. J.D. Cleary, et al. 2008, *Antimicrob Agents Chemother*, 52:2263-5.
11. G. Garcia-Effron, et al. 2008, *Antimicrob Agents Chemother*, 52:4181-3.
12. G. Garcia-Effron, et al. 2008, *Antimicrob Agents Chemother*, 52:2305-12.
13. D.S. Perlin, 2007, *Drug Resist Update*, 10:121-30.
14. Clinical Laboratory Standard Institute, C.L.S.I., 2008, 3rd ed., 28 (14).
15. Clinical Laboratory Standard Institute, C.L.S.I., 2008, 2nd ed., 28(16).
16. J. Meletiadis, et al., 2001, *J Clin Microbiol*, 39:3402-8.
17. Y.F. Brun et al., 2007, *Antimicrob Agents Chemother*, 51(5):1804-12.

[0846]

[0847]

본 발명의 카바졸 화합물은 또한 항균 활성을 나타낸다. 특히, 그람 양성(바실루스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*)) 및 음성 대조군(DH5- α) 박테리아에 대한 본 발명의 카바졸 화합물의 효과를 다음의 절차에 의해 결정하고, 도 13a 및 도 13b에 요약하였다.

[0848]

그람(-) 및 그람(+) 박테리아에 대한 카바졸 화합물의 효과를 평가하기 위한 실험실내 시험.

- [0849] **장비**
- [0850] 96웰 플레이트 리더(예를 들면, Multiscan, LabSystems, Inc)
- [0851] 멀티채널 피펫 50-300 μ l 범위
- [0852] 필터 팁
- [0853] 96웰 플레이트(Corning Costar 카탈로그 3598호)
- [0854] 100 mm 페트리 접시
- [0855] 무균 1 μ l 접종 루프(Fisher 22-170-209)
- [0856] 14 ml 스냅-캡(snap-cap) 환저 튜브(Falcon 352059)
- [0857] **물질**
- [0858] DH5- α (이 콜라이 그람(-) 박테리아)
- [0859] 바실루스 서브틸리스(그람(+)) 박테리아)
- [0860] Difco LB Agar(DH5- α 에 대한 BD 244510)
- [0861] Difco LB Broth(DH5- α 에 대한 BD 244610)
- [0862] Difco Nutrient Broth(B. 서브틸리스에 대한 BD 233000)
- [0863] Difco Nutrient Agar(B. 서브틸리스에 대한 BD 212000)
- [0864] **방법**
- [0865] **시약 제조**
- [0866] DH5- α 를 성장시키기 위한 플레이트를 제조하기 위해, MilliQ 물 1 L마다 Difco LB Agar 40 g을 혼합하였다. 액체 설정에서의 오토클레이브. 용액을 포함하는 용기를 냉각시킬 때, 100 mm 페트리 접시에 붓고 한천 겔로서 수분 축적을 방지하기 위해 뚜껑을 약간 닫았다. 한천 설정 전에 형성된 버블을 터트렸다. 4°C에서 저장하였다.
- [0867] DH 5- α 를 성장시키기 위한 배지를 제조하기 위해, MilliQ 물 1 L마다 Difco LB broth 25 g을 혼합하였다. 무균화하기 위한 액체 설정에서의 오토클레이브.
- [0868] B. 서브틸리스를 성장시키기 위한 플레이트를 제조하기 위해, MilliQ 물 1 L마다 Difco Nutrient Agar 23 g을 혼합하였다. 액체 설정에서의 오토클레이브. 용액을 포함하는 용기를 냉각시킬 때, 100 mm 페트리 접시에 붓고 한천 겔로서 수분 축적을 방지하기 위해 뚜껑을 약간 닫았다. 한천 설정 전에 형성된 버블을 터트렸다. 4°C에서 저장하였다.
- [0869] B. 서브틸리스를 성장시키기 위한 배지를 제조하기 위해, MilliQ 물 1 L마다 Difco Nutrient broth 8 g을 혼합하였다. 무균화하기 위한 액체 설정에서의 오토클레이브.
- [0870] **박테리아 제조**
- [0871] 세포 독성 분석 시작 2일 전에, DH5- α 및 B. 서브틸리스를 글리세롤 스톱으로부터 상응하는 배지 1 ml로 접종하였다. 진탕하면서 37°C에서 1일 동안 성장시켰다.
- [0872] 무균 접종 루프를 사용하여 적절한 한천 플레이트에서 각각의 박테리아를 스트리킹(streaking)하고 박테리아 인큐베이터에서 37°C에서 밤새 성장시켰다.
- [0873] 무균 접종 루프를 사용하여, 박테리아의 단일 콜로니를 선택하고 14 ml 스냅 캡 튜브에서 상응하는 배지 5 ml를 접종하였다. 진탕하면서 37°C에서 밤새(약 16시간) 성장시켰다.
- [0874] 다음날, 박테리아가 지수 성장 중이라는 것을 보장하기 위해 배양을 위해 OD600nm를 측정하였다(OD600nm = 0.4~0.8)
- [0875] **세포 독성 분석(1)**
- [0876] 0.002의 OD600nm로 DH5- α 및 B. 서브틸리스의 배양액 5 ml를 희석하고, 이는 (플레이트의 수에 따라) 실험에

충분한 용적으로 약 2×10^6 개의 세포/ml에 해당하였다. X 96웰 플레이트(X=소정 실험에 필요한 플레이트 수)의 각각의 웰에 50 μ l를 플레이팅하였다.

[0877] 화합물을 표 2에 따라 0.005~50 μ M부터 3배 희석으로 플레이트에 첨가하였다.

[0878] 시험을 위한 화학물질을 각각 DH5- α 및 B. 서브틸리스 연구에 대해 LB Broth 또는 Nutrient Broth 중의 스톱 용액의 희석에 의해 제조하였다. 세포를 하기 반응식(표 8)에 표시된 최종 화학물질 농도로 처리하였다. 스톱 용액을 DMSO 중에 만들었다. 통상적으로, 화학물질을 20 mM 스톱 용액으로서 만들었다. 그러나, 이 농도는 소정의 화학물질의 용해도에 의존하고 실제 스톱 농도는 실험 시간에 주의해야 한다.

[0879] [표 8] 화학물질의 최종 농도를 갖는 실험 플레이트의 도식

	양성 대조군	음성 대조군	카바졸 화합물 (Cpd W, X, Y, Z) (μ M)									
			0.00762	0.0229	0.0686	0.206	0.617	1.25	1.85	5.56	16.67	50
Cpd W	100 μ g/ml 암피실린	DMSO	0.00762	0.0229	0.0686	0.206	0.617	1.25	1.85	5.56	16.67	50
Cpd W	100 μ g/ml 암피실린	DMSO	0.00762	0.0229	0.0686	0.206	0.617	1.25	1.85	5.56	16.67	50
Cpd X	100 μ g/ml 암피실린	DMSO	0.00762	0.0229	0.0686	0.206	0.617	1.25	1.85	5.56	16.67	50
Cpd X	100 μ g/ml 암피실린	DMSO	0.00762	0.0229	0.0686	0.206	0.617	1.25	1.85	5.56	16.67	50
Cpd Y	100 μ g/ml 암피실린	DMSO	0.00762	0.0229	0.0686	0.206	0.617	1.25	1.85	5.56	16.67	50
Cpd Y	100 μ g/ml 암피실린	DMSO	0.00762	0.0229	0.0686	0.206	0.617	1.25	1.85	5.56	16.67	50
Cpd Z	100 μ g/ml 암피실린	DMSO	0.00762	0.0229	0.0686	0.206	0.617	1.25	1.85	5.56	16.67	50
Cpd Z	100 μ g/ml 암피실린	DMSO	0.00762	0.0229	0.0686	0.206	0.617	1.25	1.85	5.56	16.67	50

[0880]

[0881] 시험하고자 하는 각각의 라이브러리 화학물질은 96웰 플레이트의 2열을 필요로 하고, 따라서 4종의 화학물질(예를 들면, W, X, Y, Z)을 하나의 플레이트에서 동시에 시험할 수 있었다. 시험 화학물질 이외에, 각각의 플레이트는 양성 대조군 및 음성 대조군을 포함해야 한다. 양성 대조군으로서, 암피실린을 100 μ g/ml에서 사용하였다. 음성 대조군으로서, DMSO를 사용된 시험 화합물의 최고 부피에 해당하는 양(50 μ M에 대해 약 0.25% DMSO)으로 사용하였다.

[0882] 플레이트에 첨가하고자 하는 화학물질의 희석액을 적절한 박테리아 배지 중에 2X 농도로서 만들고 50 μ l의 부피 중에 상응하는 웰에 첨가하였다.

[0883] 화학물질을 50 μ M로부터 출발하여 3배 연속 희석에 의해 적절한 박테리아 배지 중에 희석시켰다(예를 들면, 최고 농도(예를 들면, 50 μ M)의 2X=100 μ M). 최고 2X 농도의 300 μ l가 필요한데, 1/3을 사용하여 모든 후속 희석에 대해 첫번째 희석액 및 200 μ l 배지를 만들기 위해서이다. 최고 2X 농도의 100 μ l를 200 μ l 배지와 혼합하고 이후 첫번째 희석액 100 μ l를 200 μ l의 배지와 혼합하여 다음 희석액을 제조하였다. 모두 10개의 2X 용량이 제조될 때까지 이 공정을 반복하였다.

[0884] 각각의 플레이트에서 하나의 농도로 첨가되는 양성 대조군 이외에, 암피실린의 양성 대조군을 완전한 농도 범위(3배 희석액)로 각각의 분석 실험에 첨가하여 (실험 사이의 용량 반응 곡선의 비교에 의해 추산된) 적절한 및 강력한 분석 수행을 보장하였다.

[0885] 박테리아를 포함하는 96웰 플레이트에 카바졸 화합물의 첨가 이후, 플레이트를 48시간 동안 37°C 박테리아 인큐베이터에 옮겼다. 접종 후, 96웰 플레이트의 각각의 웰에 대한 OD600nm를 측정하였다.

[0886] **데이터 분석**

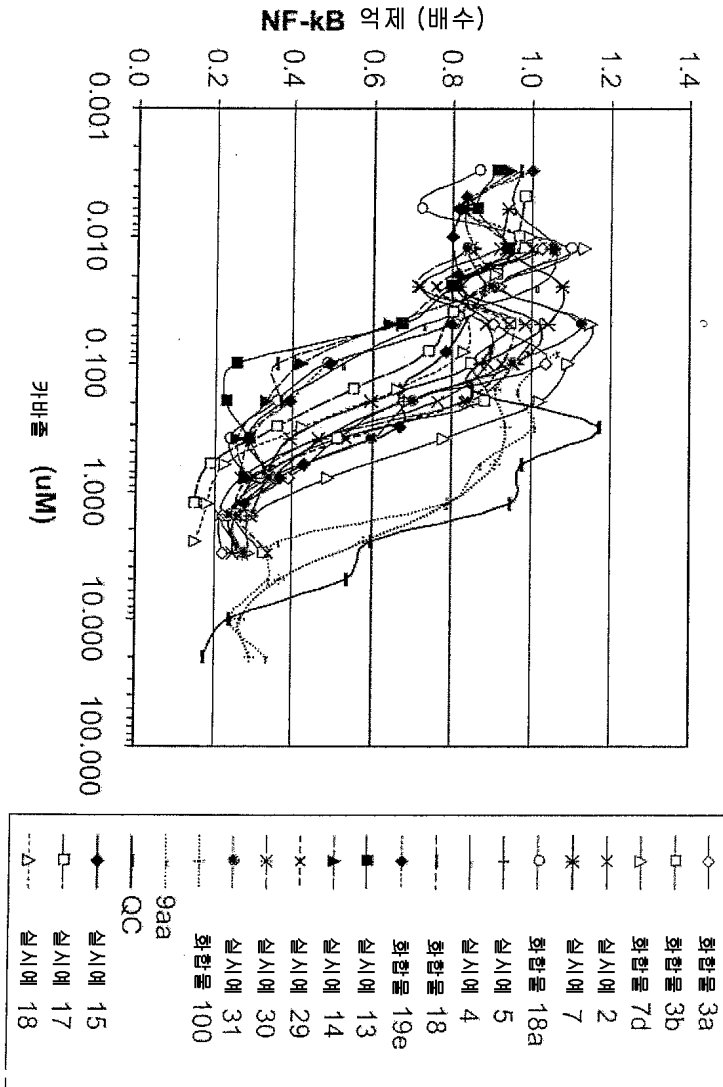
[0887] 시험 용액의 평균 OD600nm을 DMSO 대조군의 평균 OD600nm로 나누고 100을 곱하여 DMSO 대조군(%) (즉, 세포 독성(%))을 만들어서, 화합물 용액의 평균 OD600nm를 DMSO 대조군의 평균 OD600nm와 비교하였다. DMSO 대조군(%)을 S자형 곡선을 생성하기 위해 화합물 농도에 대해 플롯팅하였다. 3회 실험을 완료한 후, IC₅₀ 계산을 위해 모든 3회 실험에 대한 원본 데이터를 사용하였다.

[0888] 시험 결과는 실시예 15, 실시예 7, 실시예 4, 실시예 12, 실시예 13, 실시예 17 및 실시예 18의 카바졸 화합물 및 화합물 18c-1이 일련의 효력에 걸쳐 B. 서브틸리스 및 HB 101 이 콜라이에 대한 항균 효과를 나타낸다는 것을 보여준다. 그람(+) 박테리아는 본 발명의 카바졸 화합물에 더 민감한 것으로 보인다. 또한, 몇몇 카바졸 화합물, 예를 들면 실시예 15 및 실시예 17은 암피실린 대조군보다 박테리아에 더 효과적이었다. 따라서, 본 발명

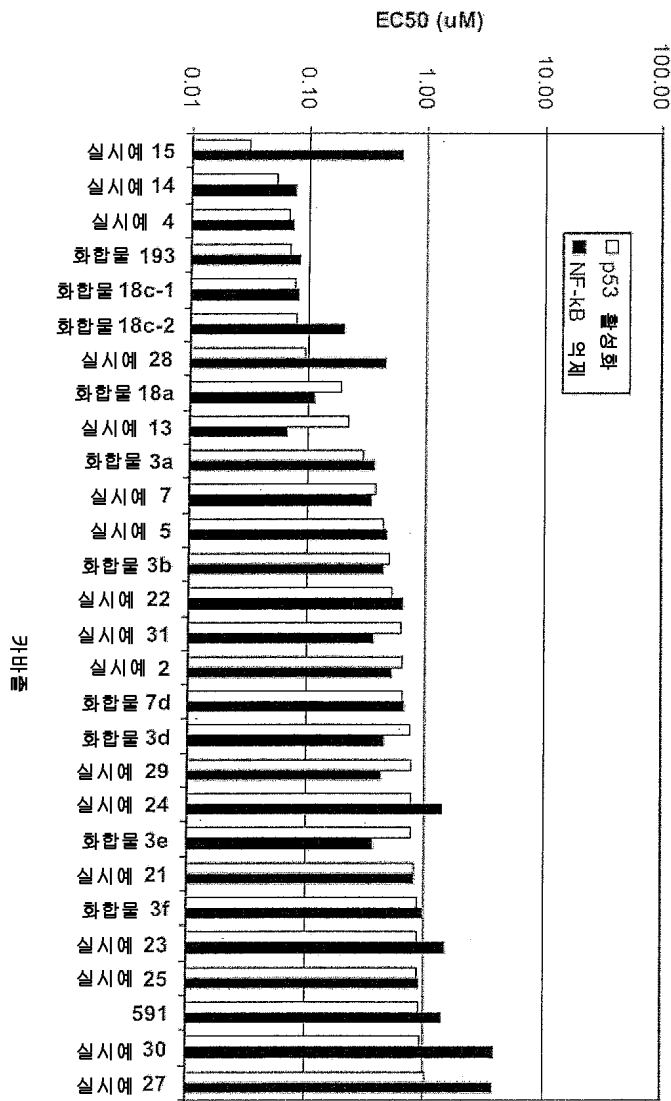
의 카바졸 화합물은 확실한 항균 활성을 나타낸다.

도면

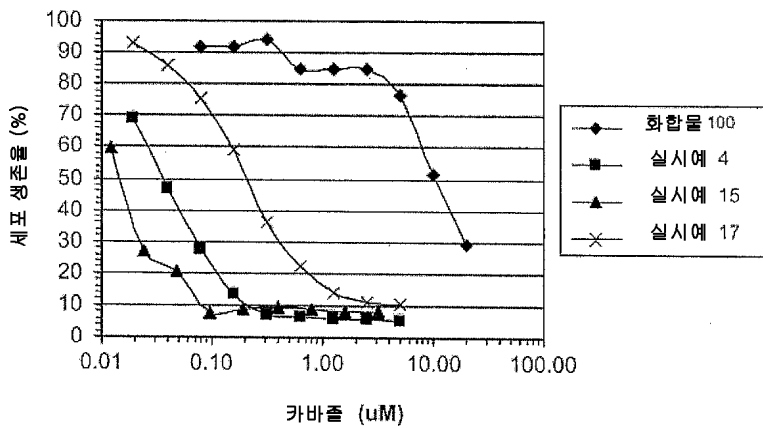
도면1a



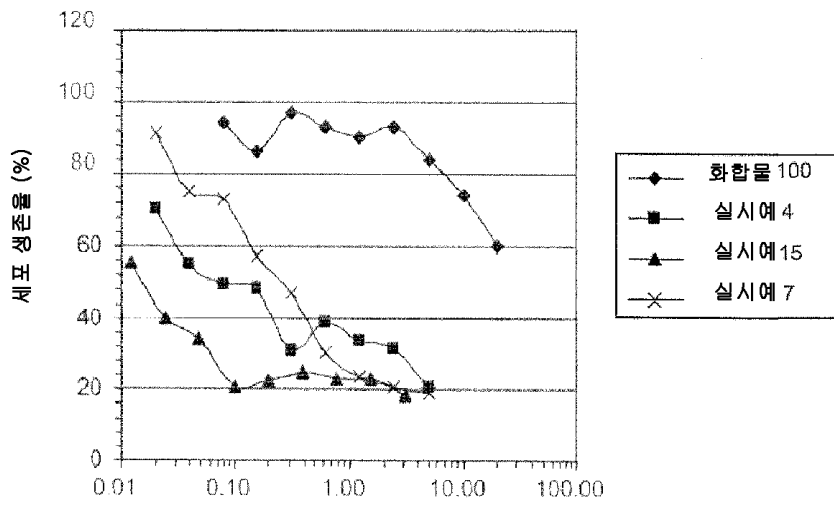
도면1b



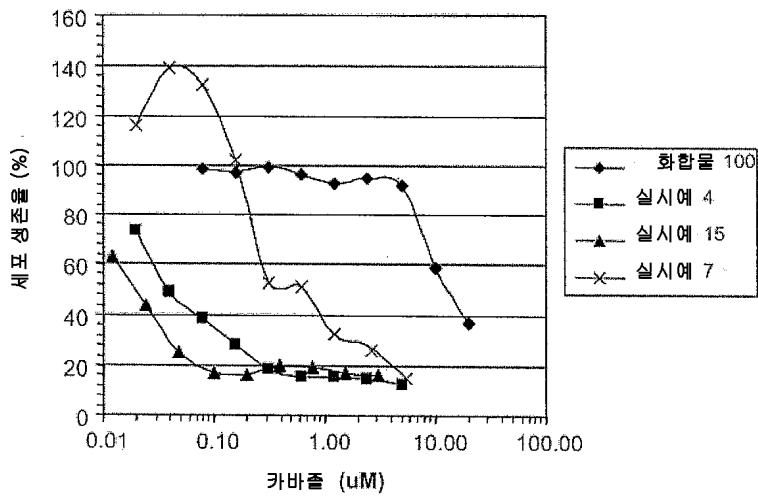
도면2a



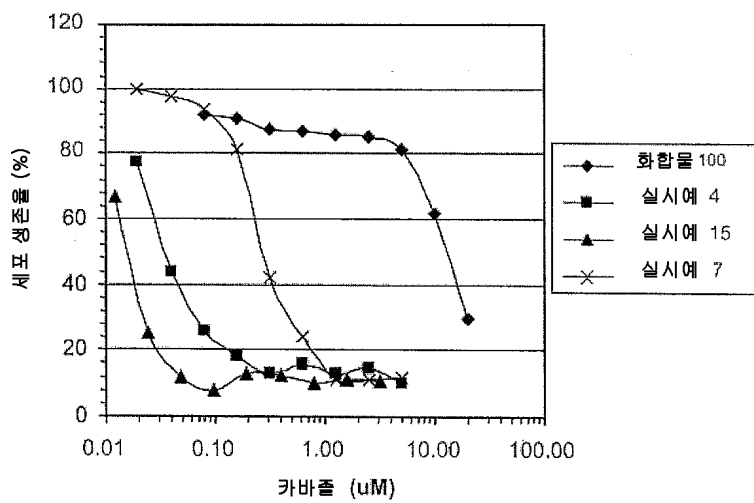
도면2b



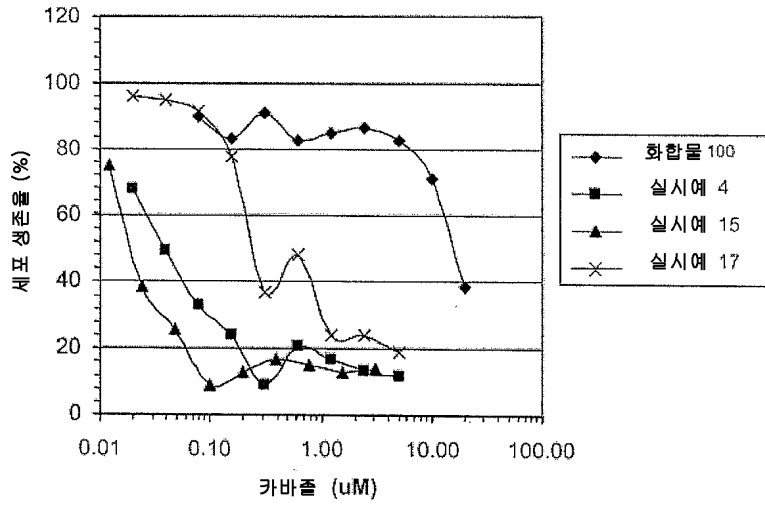
도면2c



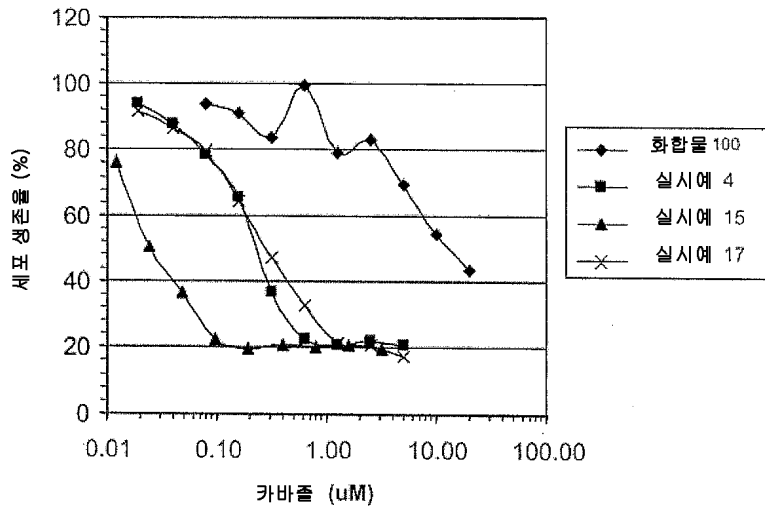
도면2d



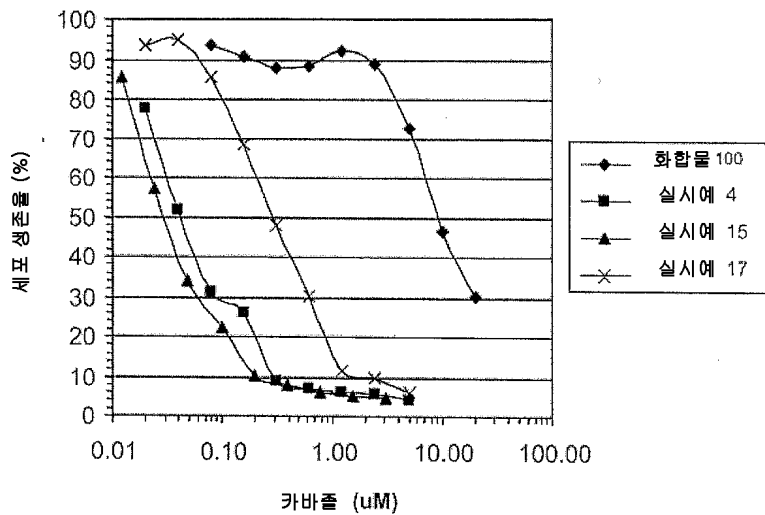
도면2e



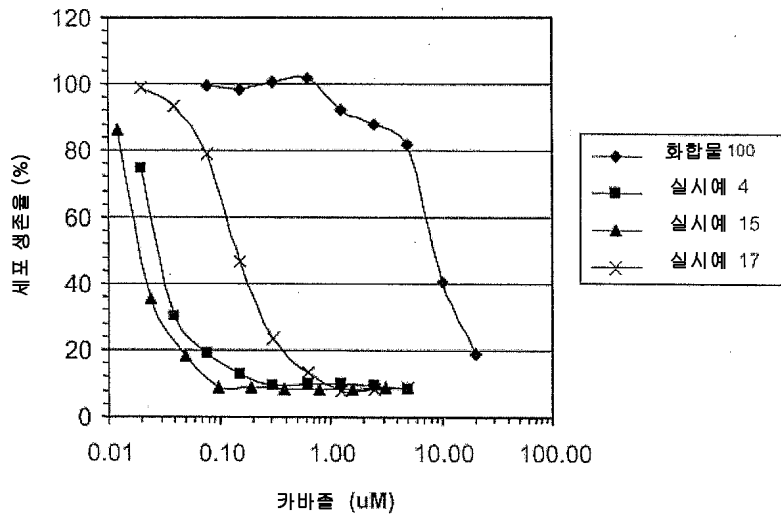
도면2f



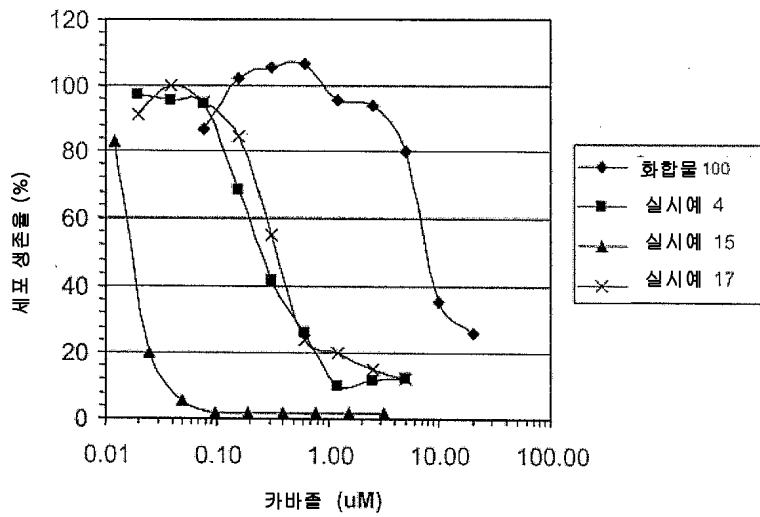
도면2g



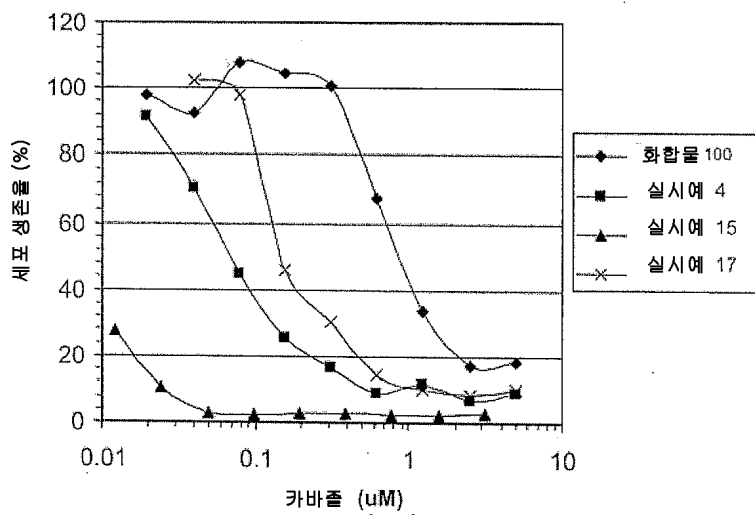
도면2h



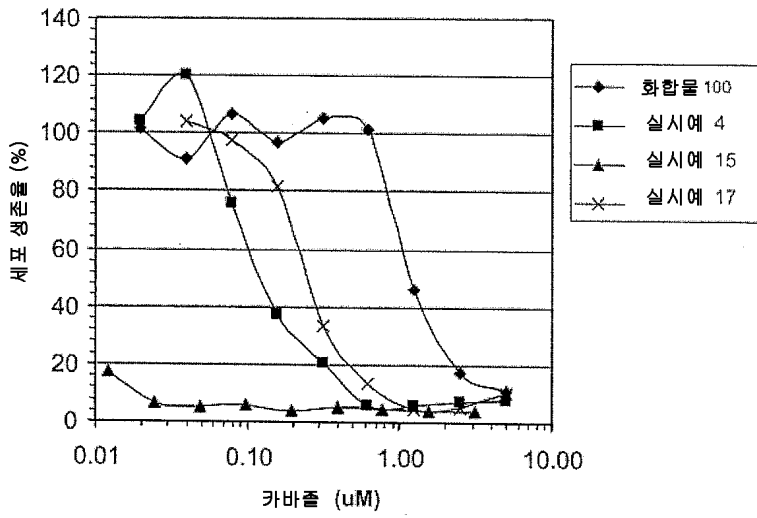
도면2i



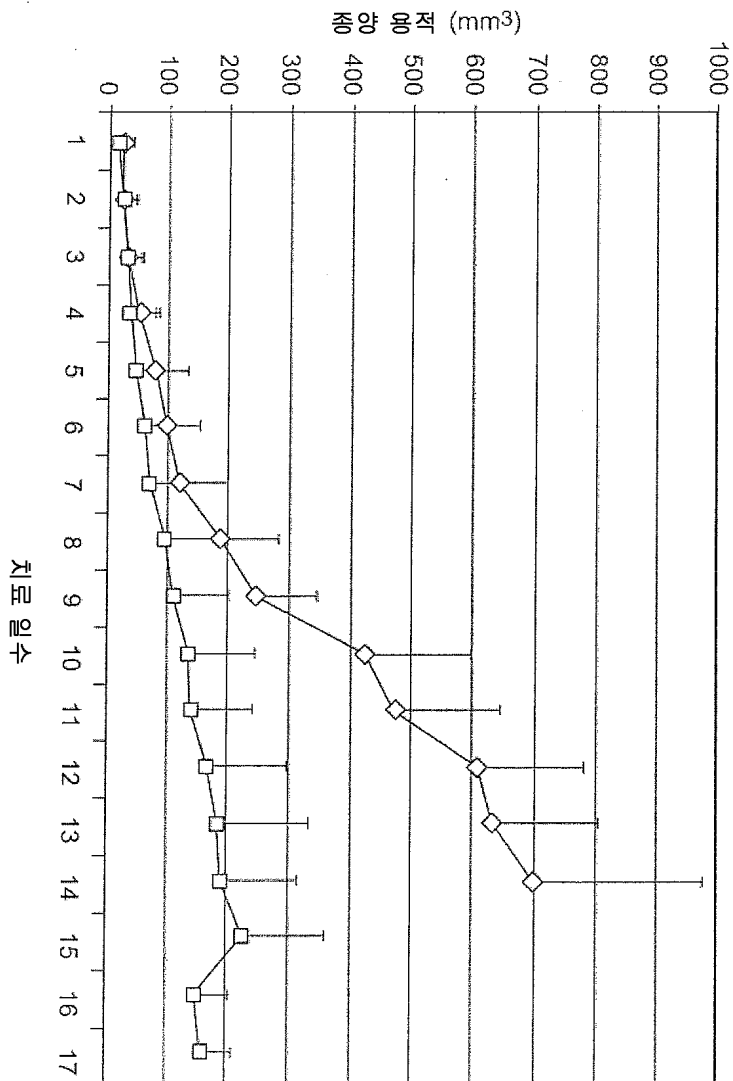
도면2j



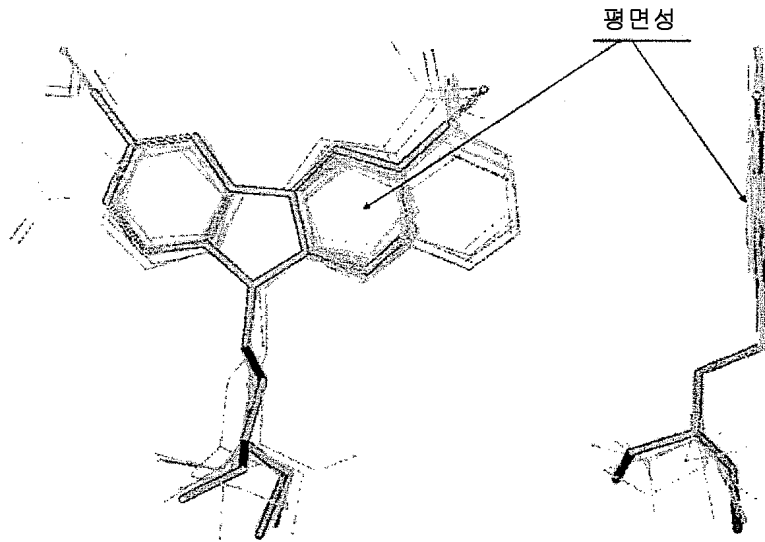
도면2k



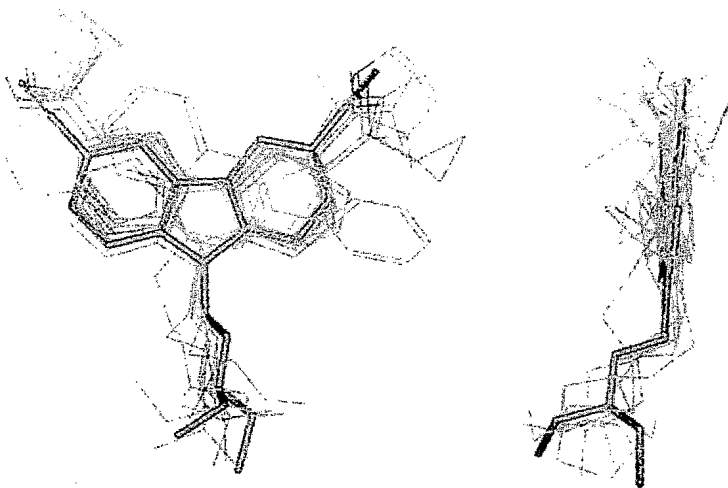
도면3



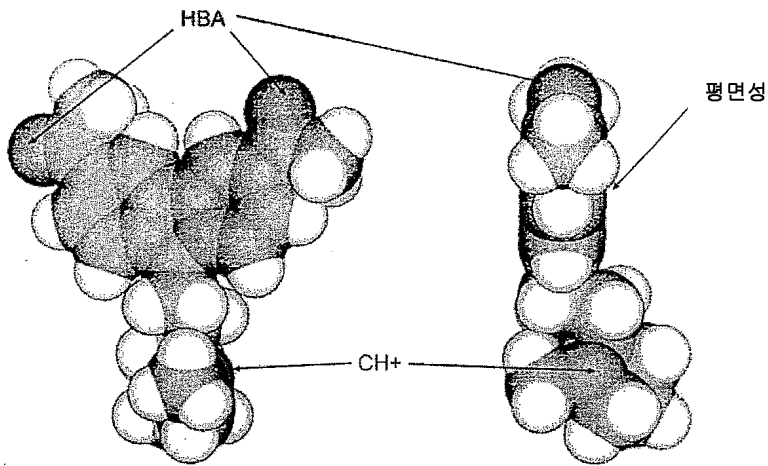
도면4



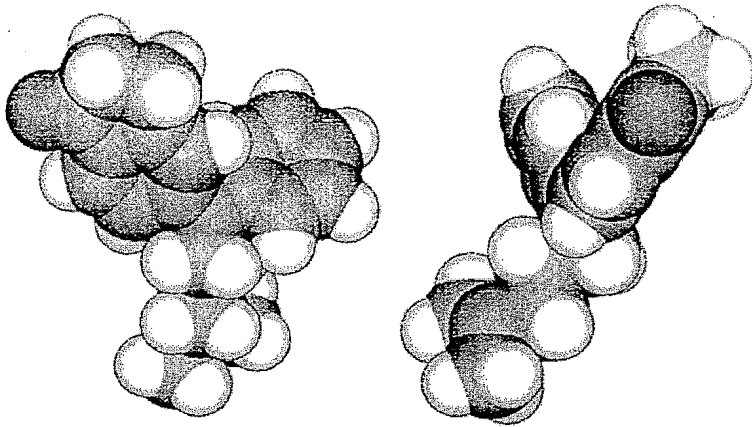
도면5



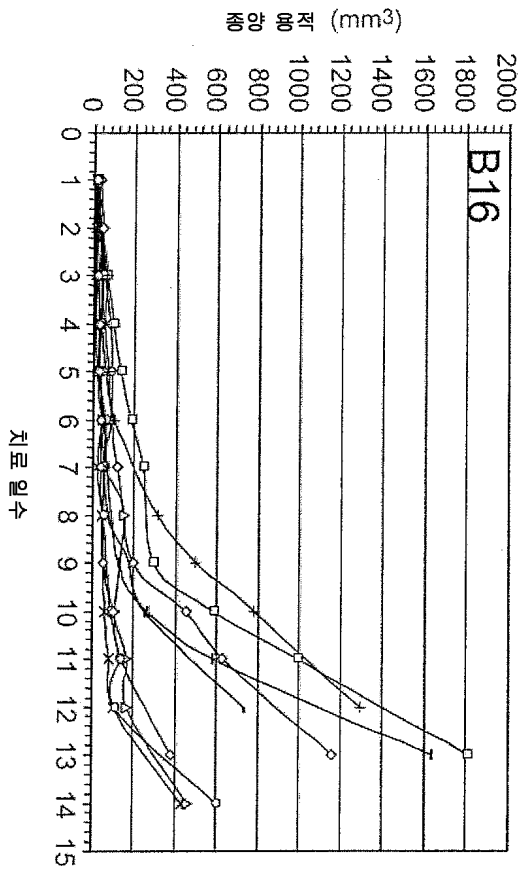
도면6



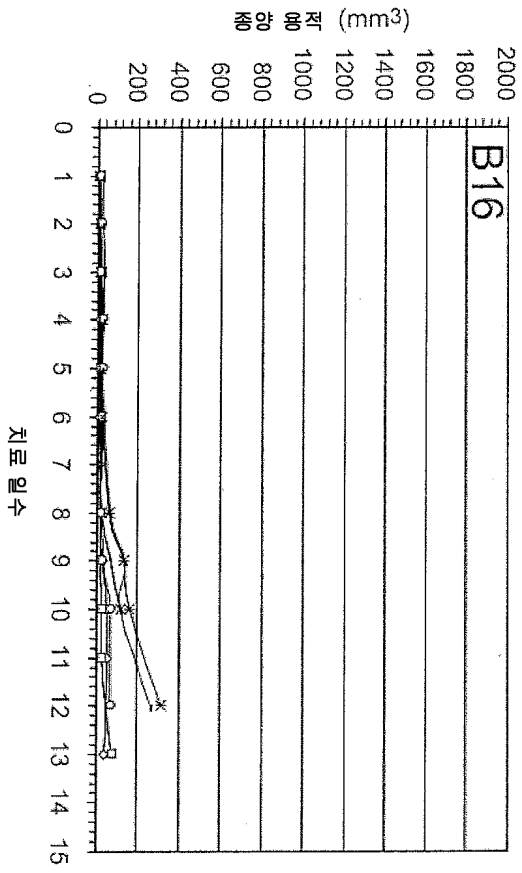
도면7



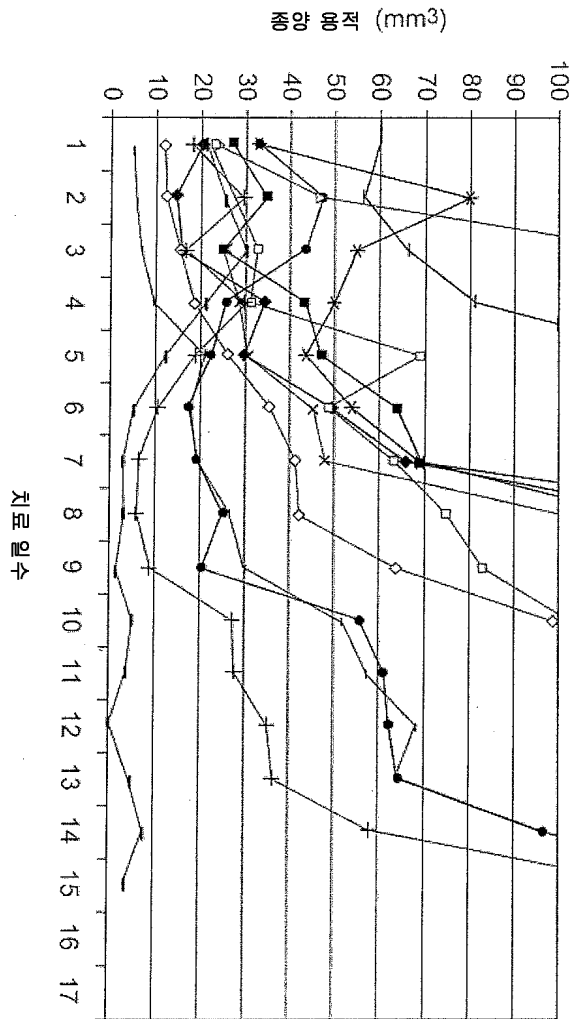
도면8a



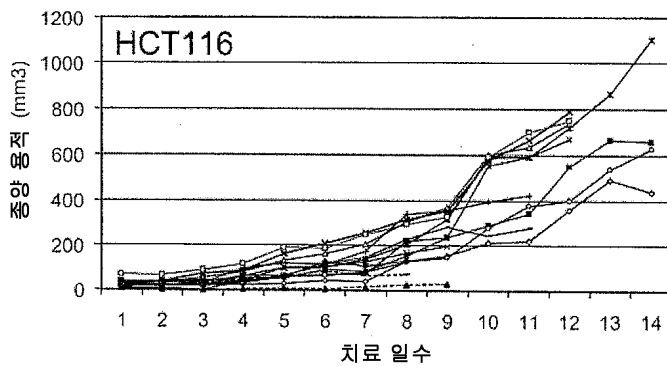
도면8b



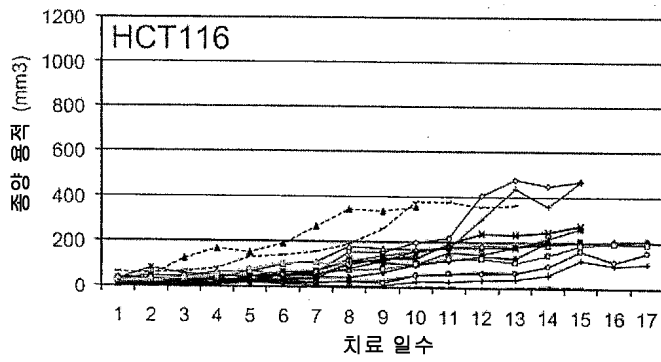
도면9a



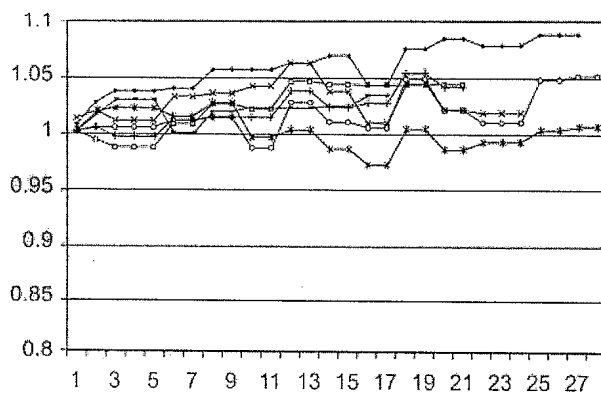
도면9b



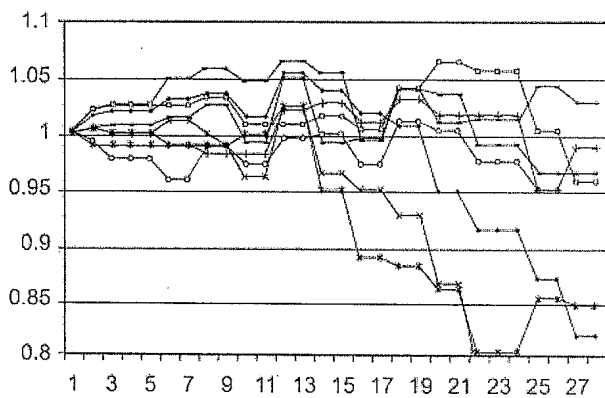
도면9c



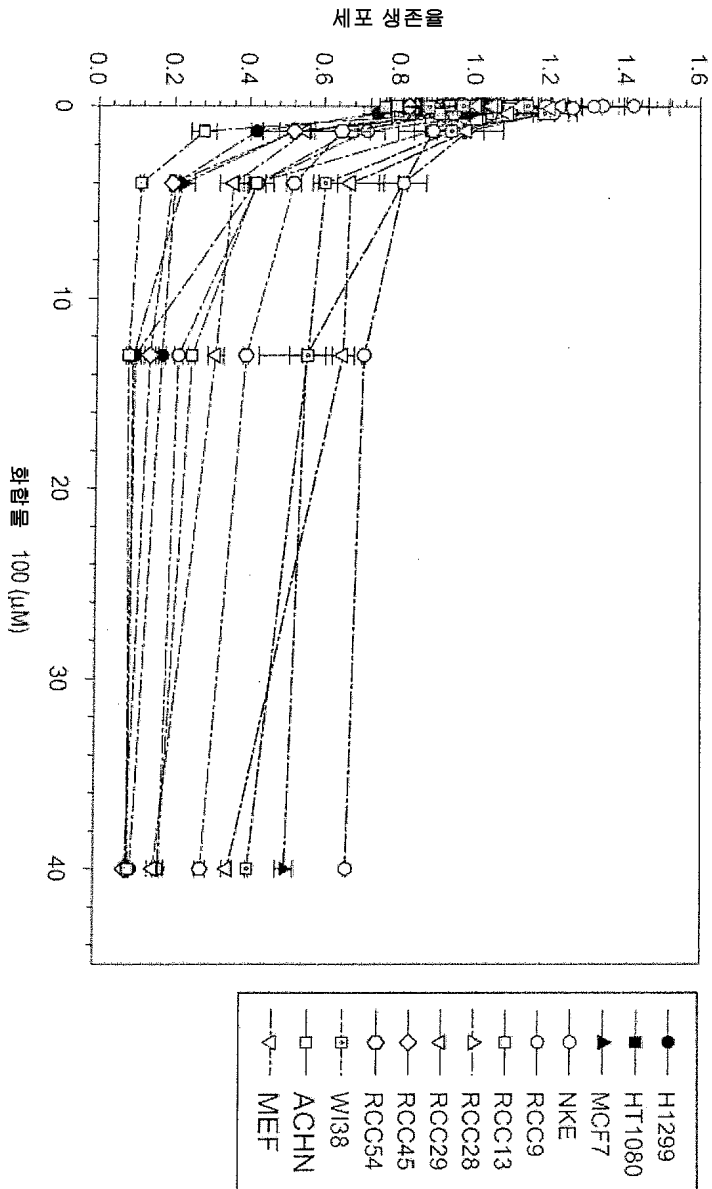
도면10a



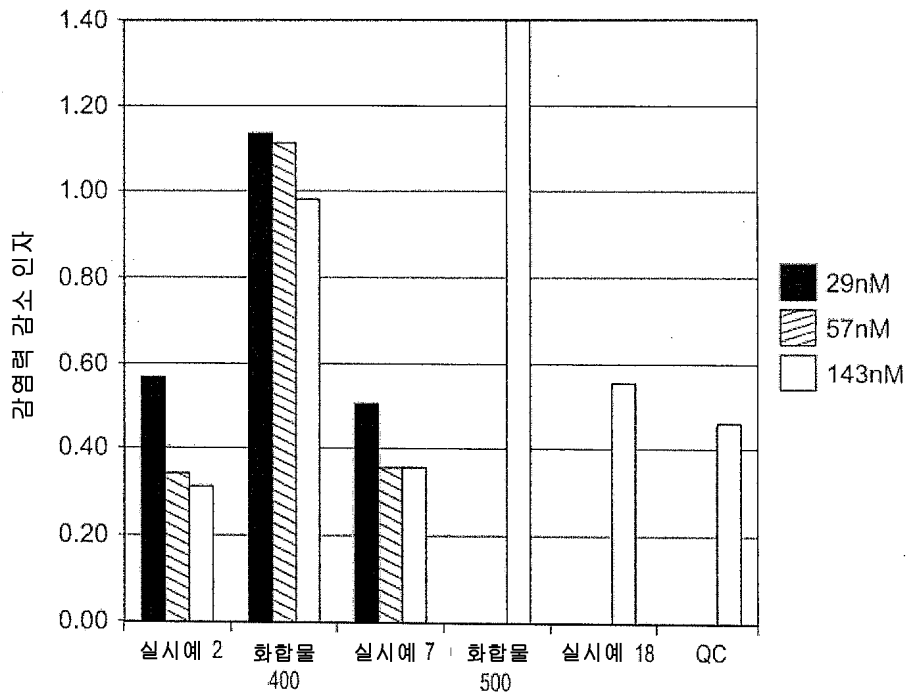
도면10b



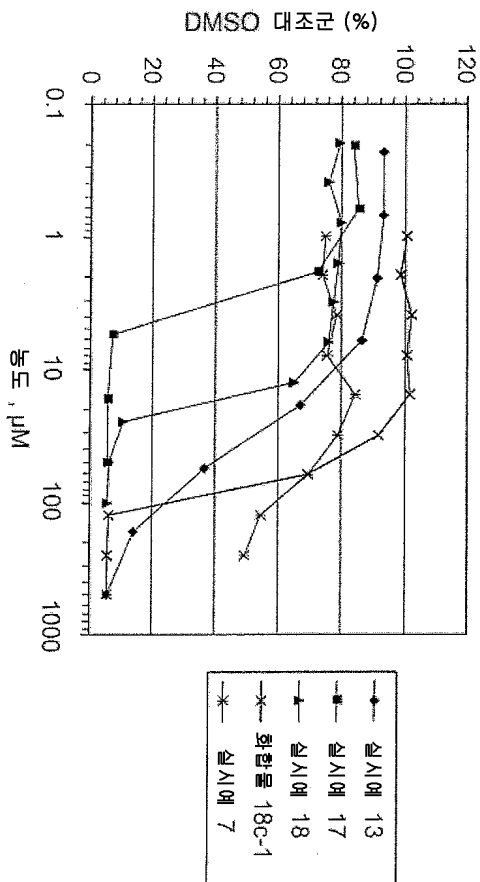
도면11



도면12



도면13a



도면13b

