



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl.	(45) 공고일자	2007년01월09일
<i>C07D 311/70</i> (2006.01)	(11) 등록번호	10-0666207
<i>C07D 409/12</i> (2006.01)	(24) 등록일자	2007년01월02일

(21) 출원번호	10-2005-0022826	(65) 공개번호	10-2006-0101013
(22) 출원일자	2005년03월18일	(43) 공개일자	2006년09월22일
심사청구일자	2005년03월18일		

(73) 특허권자 한국화학연구원
 대전 유성구 장동 100번지

(72) 발명자 공영대
 대전 유성구 어은동 99 한빛아파트 113동 505호

전문국
대전 유성구 신성동 148-6 한빛빌라 301호

이일영
대전 유성구 장대동 드림월드아파트 111동 501호

황종연
전라북도 순창군 금과면 목동리 675-1번지

조희영
대전 유성구 전민동 엑스포아파트 208동 1103호

공재양
대전광역시 유성구 전민동 엑스포아파트 109동 1503호

(74) 대리인 백남훈
 이학수

(56) 선행기술조사문헌	
KR100492252 B1	KR100547388 B1
KR1020050091124 A	US5629429 A
* 심사관에 의하여 인용된 문헌	

심사관 : 강태현

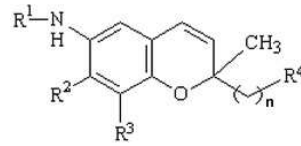
전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) R T K 저해활성을 가지는6-알킬아미노-2,2'-이중치환-벤조피란 유도체

(57) 요약

본 발명은 RTK(Receptor Tyrosine Kinase; 수용체 티로신 효소) 저해활성이 우수한 다음 화학식 1로 표시되는 6-알킬아미노-2,2'-이중치환-벤조피란 유도체와 이의 이성질체, 및 약제학적으로 허용 가능한 이의 염을 항암제로서 사용하는 용도에 관한 것이다.

화학식 1



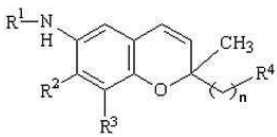
상기 화학식 1에서, R¹, R², R³, R⁴, n은 각각 발명의 상세한 설명에서 정의한 바와 같다.

특허청구의 범위

청구항 1.

다음 화학식 1로 표시되는 6-알킬아미노-2,2'-이중치환-벤조피란 유도체, 또는 약제학적으로 허용 가능한 이의 염이 함유된 것을 특징으로 하는 항암제 :

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

R¹은 C₁~C₁₀의 알킬기, 벤질 또는 치환된 벤질기, 펜에틸기, 2-피리미딜메틸기, 싸이오펜기, 2-메틸싸이오펜메틸기, 5-메틸-2-싸이오펜메틸기, 3-싸이오펜메틸기, 인돌일메틸기, 벤조디옥소란일메틸기, 나프탈렌일메틸기, 또는 퓨라닐메틸기를 나타내고; R² 및 R³는 각각 수소원자, C₁~C₅의 알킬기, 할로젠, 또는 페닐 및 치환된 페닐기를 나타내고; R⁴는 C₁~C₁₀의 알킬기, 페닐기 또는 치환된 페닐기를 나타내고; 그리고 상기한 치환된 페닐기 또는 치환된 벤질기는 C₁~C₆의 알킬기, C₁~C₆의 할로알킬기, 할로젠, 니트로기, 시아노기 및 C₁~C₆의 알콕시기 중에서 선택된 치환체가 1~4개 치환된 페닐기 또는 벤질기이며, n은 1 내지 5의 정수를 나타낸다.

명세서

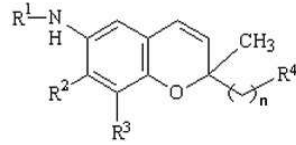
발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 RTK(Receptor Tyrosine Kinase; 수용체 티로신 효소) 저해활성이 우수한 다음 화학식 1로 표시되는 6-알킬아미노-2,2'-이중치환-벤조피란 유도체와 이의 이성질체, 및 약제학적으로 허용 가능한 이의 염을 항암제로서 사용하는 용도에 관한 것이다.

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

R¹은 C₁~C₁₀의 알킬기, 벤질 또는 치환된 벤질기, 페닐메틸기, 2-피리미딜메틸기, 싸이오펜기, 2-메틸싸이오펜메틸기, 5-메틸-2-싸이오펜메틸기, 3-싸이오펜메틸기, 인돌일메틸기, 벤조디옥소란일메틸기, 나프탈렌일메틸기, 또는 푸라닐메틸기를 나타내고; R² 및 R³는 각각 수소원자, C₁~C₅의 알킬기, 할로젠, 또는 페닐 및 치환된 페닐기를 나타내고; R⁴는 C₁~C₁₀의 알킬기, 페닐 또는 치환된 페닐기, 또는 산소 및 황원자 중에서 선택된 헤테로원자를 포함하는 5~7원의 헤테로고리를 나타내고; 그리고 상기한 페닐기 또는 헤테로고리기는 C₁~C₆의 알킬기, C₁~C₆의 할로알킬기, 할로젠, 니트로기, 시아노기 및 C₁~C₆의 알콕시기 중에서 선택된 치환체가 1~4개 치환될 수 있으며, n은 1 내지 5의 정수를 나타낸다.

본 발명은 한국특허출원 제2004-16206호(미국특허 출원 10/970046, 일본특허 출원 2004/357870) 발명으로 특허 출원한 바 있는, 상기 화학식 1로 표시되는 6-알킬아미노-2,2'-이중치환-벤조피란 유도체의 새로운 용도발명이다.

한국특허출원 제2004-16206호는 상기 화학식 1로 표시되는 6-알킬아미노-2,2'-이중치환-벤조피란 유도체가 우수한 5-라이폭시게네이즈(5-LO) 저해효과를 나타내므로 관련 류코트리엔(LTA₄, B₄, C₄, D₄)의 활성으로 유발되는 염증질환, 류마티스성 관절염, 대장염(Colitis), 천식, 건선 등의 예방 및 치료제로 사용하는 용도를 특허출원한 발명이기도 하다.

본 발명자들은 상기 화학식 1로 표시되는 6-알킬아미노-2,2'-이중치환-벤조피란 유도체에 대한 RTK (Receptor Tyrosine Kinase : 수용체 티로신 효소) 저해활성을 확인하고자, RTK 관련 수용체인 EGFR (epidermal growth factor receptor; 상피세포 성장인자 수용체), VEGFR2 (vascular endothelial growth factor receptor 2; 혈관내피세포 성장인자 수용체), PDGFRb (platelet-derived growth factor receptor b; 혈소판유래 성장인자 수용체), 및 FGFR1 (fibroblast growth factor receptor 1; 섬유모세포 성장인자 수용체)의 저해활성을 확인하는 실험을 실시하였다. 그 결과, 상기 화학식 1로 표시되는 6-알킬아미노-2,2'-이중치환-벤조피란 유도체가 RTK 관련 수용체에 대하여 우수한 저해활성을 가짐을 확인함으로써 본 발명을 특허출원하게 된 것이다.

현재 임상에 이용되는 항암제들은 약효나 독성 측면에서 완전하지 못하다. 그러한 이유 때문에 기존의 항암제들이 가지는 문제점들을 극복하고 뛰어난 활성을 가지는 항암제의 개발이 요구된다고 할 것이다.

기존의 항암제들이 가지는 문제점들을 극복할 수 있는 RTK 저해 신규 항암제 개발과 관련하여, 다양한 헤테로고리 화합물이 공지된 바 있다. 그 예로서, 본 발명자들은 한국특허출원번호 제2004-94232호 및 제2004-94233호에 RTK 저해활성을 가지는 신규 퀴놀살린계 헤테로고리 화합물에 대한 특허를 출원한 바도 있다.

그러나, 본 발명이 특징으로 하는 벤조피란계 헤테로고리 화합물이 RTK의 활성억제를 통한 항암제 개발에 전혀 활용된 바가 없기 때문에, 본 발명은 6-알킬아미노-2,2'-이중치환-벤조피란 유도체를 항암제로 사용하는 새로운 용도를 특허 출원한 것이다.

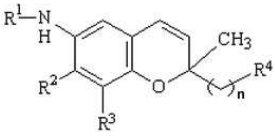
발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명은 6-알킬아미노-2,2'-이중치환-벤조피란 유도체가 우수한 RTK 저해 활성을 나타내므로, 이 화합물을 항암제로 사용하는 용도를 제공하는데 그 목적이 있다.

발명의 구성

본 발명은 다음 화학식 1로 표시되는 6-알킬아미노-2,2'-이중치환-벤조피란 유도체, 이의 이성질체 또는 약제학적으로 허용 가능한 이의 염을 활성성분으로 함유하는 항암제를 그 특징으로 한다.

[화학식 1]

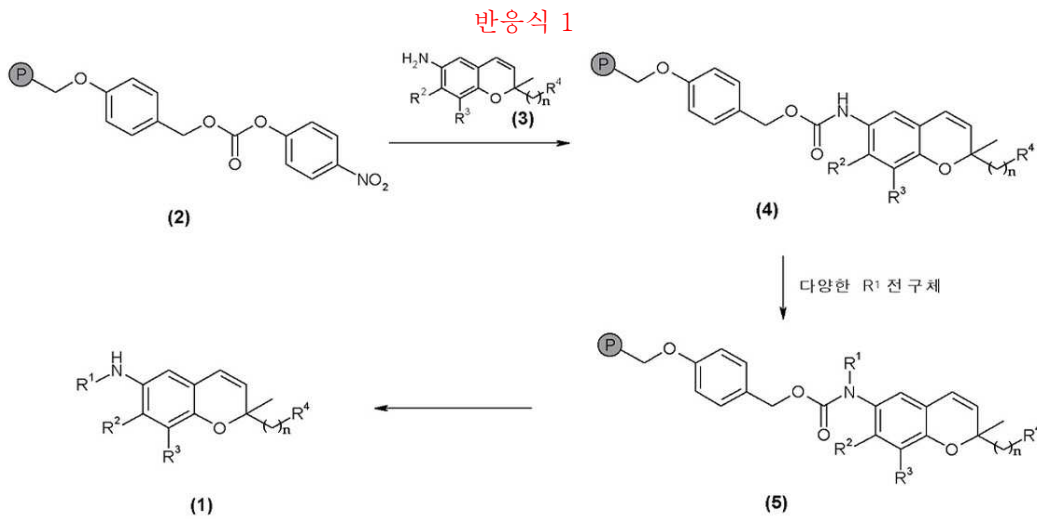


상기 화학식 1에서,

R¹은 C₁~C₁₀의 알킬기, 벤질 또는 치환된 벤질기, 페닐기, 2-피리미딜메틸기, 싸이오펜기, 2-메틸싸이오펜메틸기, 5-메틸-2-싸이오펜메틸기, 3-싸이오펜메틸기, 인돌일메틸기, 벤조디옥소란일메틸기, 나프탈렌일메틸기, 또는 퓨라닐메틸기를 나타내고; R² 및 R³는 각각 수소원자, C₁~C₅의 알킬기, 할로젠, 또는 페닐 및 치환된 페닐기를 나타내고; R⁴는 C₁~C₁₀의 알킬기, 페닐 또는 치환된 페닐기, 또는 산소 및 황원자 중에서 선택된 헤테로원자를 포함하는 5~7원의 헤테로고리를 나타내고; 그리고 상기한 페닐기 또는 헤테로고리는 C₁~C₆의 알킬기, C₁~C₆의 할로알킬기, 할로젠, 니트로기, 시아노기 및 C₁~C₆의 알콕시기 중에서 선택된 치환체가 1~4개 치환될 수 있으며, n은 1 내지 5의 정수를 나타낸다.

본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 6-알킬아미노-2,2'-이중치환-벤조피란 유도체는 키랄탄소가 존재하는 바, 이에 본 발명은 라세믹 화합물 또는 통상의 분리방법에 의하여 분리된 각각의 이성체 화합물 및 이들 이성체 혼합물을 모두 포함한다.

본 발명에 따른 항암제의 활성성분으로 함유되는 상기 화학식 1로 표시되는 6-알킬아미노-2,2'-이중치환-벤조피란 유도체의 제조는, 한국특허출원 제2004-16206호(미국특허 출원 10/970046, 일본특허 출원 2004/357870)에 설명된 조합화학 합성기술법과 동일한 공정으로 수행하여 합성할 수 있다.



상기 반응식 1에서, R¹, R², R³, R⁴ 및 n은 각각 상기에서 정의한 바와 같고; P는 폴리스티렌-디비닐벤젠, 메타아크릴산-디메틸아크릴아미드 및 히드록실 메타아크릴산 중에서 선택된 고분자 중합체 형태의 고체 지지체를 나타낸다.

본 발명에 따른 항암제를 구성하는 활성물질로서, 상기 화학식 1로 표시되는 6-알킬아미노-2,2'-이중치환-벤조피란 유도체의 약제학적으로 허용 가능한 염은 당해 기술분야에서 통상적인 방법에 의해 제조될 수 있는 것으로, 예를 들면, 염산, 브롬화수소, 황산, 황산수소나트륨, 인산, 탄산 등의 무기산과의 염 또는 개미산, 초산, 옥살산, 벤조산, 시트르산, 타르타르산, 글루콘산, 게스티스산, 푸마르산, 락토비온산, 살리실릭산, 또는 아세틸살리실릭산(아스피린)과 같은 유기산과 함께 약제학적으로 허용 가능한 이들의 산의 염을 형성하거나, 또는 나트륨, 칼륨 등의 알칼리금속이온과 반응하여 이들의 금속염을 형성하거나, 또는 암모늄 이온과 반응하여 또 다른 형태의 약제학적으로 허용 가능한 염을 형성할 수도 있다.

또한, 본 발명의 항암제는 활성물질 이외에 통상의 무독성 약제학적으로 허용 가능한 담체, 보강제 및 부형제 등을 첨가하여 약제학적 분야에서 통상적인 제제 예를 들면 정제, 캡슐제, 트로키제, 액제, 현탁제 등의 경구투여용 제제 또는 비경구 투여용 제제로 제제화할 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 활성물질의 인체에 대한 투여용량은 환자의 나이, 몸무게, 성별, 투여형태, 건강상태 및 질환정도에 따라 달라질 수 있으며, 몸무게가 70 kg인 성인환자를 기준으로 할 때 일반적으로 0.01 ~ 1000 mg/일이며, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정 시간간격으로 1일 1회 내지 수회로 분할 투여할 수도 있다.

이상에서 설명한 바와 같은 본 발명은 다음의 실시예에 의하여 상기 화학식 1로 표시되는 6-알킬아미노-2,2'-이중치환-벤조피란 유도체의 항암활성을 확인할 것이며, 다만 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법과 이의 제제화 방법에 대한 구체적 실시예는 한국특허출원 제2004-16206호(미국특허 출원 10/970046, 일본특허 출원 2004/357870)로 대신하고자 한다.

실시예. RTK (receptor tyrosine kinase)의 억제실험

EGFR (epidermal growth factor receptor; 상피세포 성장인자 수용체)과 VEGFR2 (vascular endothelial growth factor receptor 2; 혈관내피세포 성장인자 수용체), PDGFRb (platelet-derived growth factor receptor b; 혈소판유래 성장인자 수용체), FGFR1 (fibroblast growth factor receptor 1; 섬유모세포 성장인자 수용체)의 티로신 키나제 활성도를 Alpha ScreenTM P-Tyr-100 assay 방법 (Perkin Elmer 사)으로 측정하였다.

알파스크린(AlphaScreen) 이라 함은 Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay를 의미하며, Luminescent Oxygen Radical Channel을 이용하는 Immunoassay 방법이다. 본 실험에서는 비오틴화된 폴리[Glu:Tyr] (4:1) (Packard BioScience 사)를 반응효소에 대한 기질로 사용하였고, 이 기질들과 결합할 수 있도록 스트렙타비딘 (streptavidin)이 코팅된 공여체 비드와 인산화된 기질을 인지하여 반응할 수 있는 항체 (P-Tyr-100)가 결합된 수용체 비드가 사용되었다. EGFR은 Sigma사 (St. Louse, MO, USA)에서 구매하였고, VEGFR2와 PDGFRb, FGFR1은 ProQuinase사(Germany)에서 각각 구매하였다.

분석(Assay)은 희석 384 웰 플레이트 (Greiner Bio-One사)를 사용하여 다음의 3 과정을 통하여 진행되었다. 첫째, RTK 효소 (EGFR 5 ng/ VEGFR 2.5 ng/ PDGFR 10 ng/ FGFR 2.5 ng)를 알려진 표준 억제제인 Tyrphostin A51 (Upstate Biotech사) 혹은 시험하고자 하는 화합물과 384 웰 플레이트의 각 웰에 첨가하여 10 μ L의 부피로 15분 동안 상온에서 반응시켰다. 둘째, 반응 15분 후, 각 웰에 5 μ L의 비오틴화된 폴리[Glu:Tyr] (4:1)와 ATP를 각각 최종농도가 5 nM과 100 mM이 되도록 첨가하여 1 시간(PDGFR의 경우는 2 시간)동안 상온에서 효소 반응을 진행시켰다. 이때 효소 반응에 사용된 완충액의 조성은 50 mM Tris-HCl (pH7.5), 5 mM MgCl₂, 5 mM MnCl₂, 2 mM DTT와 0.01% Tween-20이다. 셋째, 효소 반응 후, 여기에 공여체 및 수용체 비드 (각각 20 mg/ml)가 포함된 10 μ L의 capture buffer를 첨가하여 1시간 동안 상온에 방치하였다. 이 과정은 어두운 상태에서 이루어지며 진행 중인 효소 반응을 중지시키면서 공여체-스트렙타비딘과 수용체 P-Tyr-100 비드가 인산화 된 기질을 인지하는 단계이다. Capture buffer의 조성(2.5배 농도)은 62.5 mM HEPES (pH7.4), 250 mM NaCl, 100 mM EDTA 그리고 BSA 0.25%이다.

반응이 종료된 후, 효소의 활성도는 FusionTM microplate 분석장치 (PerkinElmer사)를 이용하여 AlphaScreen 신호를 측정하여 구하였다. Dose-response를 보기 위한 실험은 triple로 수행하였다. 즉, 저해제를 희석하여 6농도 이상에서의 % 저해율을 구하고, 얻어진 결과를 프로그램 PrismTM (GraphPad software, San Diego, CA)으로 nonlinear regression fitting하여 IC₅₀ 값을 구하였다.

본 실험에 적용된 대표적인 화합물의 구조를 다음 표 1에 나타내었다. 또한 각 시험화합물에 대한 약효시험 결과는 다음 표 2에 나타내었다.

[표 1]

 (1)					
시험화합물	R ¹	R ²	R ³	n	R ⁴
화합물번호 1-4	4-MeO-Bn	H	H	0	Me
화합물번호 1-8	2-Me-Bn	H	H	0	Me
화합물번호 1-26	4-EtO-Bn	H	H	0	Me
화합물번호 1-44	4-MeO-Bn	H	H	1	Me
화합물번호 1-75		H	H	1	Me
화합물번호 1-106	4-EtO-Bn	H	H	2	Me
화합물번호 1-131	2-F-Bn	H	H	2	Ph
화합물번호 1-142	4-NO ₂ -Bn	H	H	2	Ph
화합물번호 1-146	4-EtO-Bn	H	H	2	Ph
화합물번호 1-180	2-NO ₂ -Bn	H	H	2	4-MeO-Ph
화합물번호 1-222	4-NO ₂ -Bn	Me	H	0	Me
화합물번호 1-235		Me	H	0	Me
화합물번호 1-244	4-MeO-Bn	Me	H	1	Me
화합물번호 1-315		Me	H	2	Me
화합물번호 1-354		Me	H	2	Ph
화합물번호 1-356		Me	H	2	Ph
화합물번호 1-436		H	Ph	0	Me

[표 2]

대표적인 실시예 화합물의 생물 검정 결과

시험화합물	VEGFR2 (% at 20 μM)	EGFR (% at 20 μM)	FGFR (% at 20 μM)	PDGFR (% at 20 μM)
화합물번호 1-4	64.21	58.78	50.21	50.00
화합물번호 1-8	56.45	55.24	50.01	50.70
화합물번호 1-26	67.31	65.28	61.18	58.90
화합물번호 1-44	58.28	56.31	54.10	51.00
화합물번호 1-75	66.91	64.84	62.00	58.00
화합물번호 1-106	70.10	68.91	65.00	60.20
화합물번호 1-131	79.57	67.86	60.07	60.00
화합물번호 1-142	88.10	83.65	85.27	85.00
화합물번호 1-146	82.23	66.55	57.82	50.00
화합물번호 1-180	73.30	70.10	62.58	58.00
화합물번호 1-222	68.40	64.84	58.20	51.00
화합물번호 1-235	82.31	76.95	70.58	68.00
화합물번호 1-244	75.73	68.10	52.47	58.00
화합물번호 1-315	87.70	87.42	75.65	70.00
화합물번호 1-354	75.89	74.59	64.55	60.00
화합물번호 1-356	83.17	76.99	72.98	70.00
화합물번호 1-436	65.23	64.31	55.61	52.10

발명의 효과

이상에서 설명한 바와 같이, 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 신규 화합물은 RTK에 대한 억제활성을 우수하여 항암제로서 개발에 유용하다.