



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2014년07월30일  
 (11) 등록번호 10-1420613  
 (24) 등록일자 2014년07월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
 C07D 413/04 (2006.01) A61K 35/74 (2006.01)  
 A61K 31/422 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2012-0114008  
 (22) 출원일자 2012년10월15일  
 심사청구일자 2012년10월15일  
 (65) 공개번호 10-2014-0048433  
 (43) 공개일자 2014년04월24일  
 (56) 선행기술조사문헌  
 KR1020090087808 A\*  
 J. Nat. Prod., 2002, 65(12), 1793-1797  
 \*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
 한국해양과학기술원  
 경기도 안산시 상록구 해안로 787 (사동)  
 (72) 발명자  
 이종석  
 경기 안양시 동안구 귀인로 210, 206동 1306호 (평촌동, 귀인마을현대홈타운)  
 신준호  
 서울 영등포구 대림로22길 29, 102동 406호 (대림동, 대림동갑을명가아파트)  
 (뒷면에 계속)  
 (74) 대리인  
 특허법인세원

전체 청구항 수 : 총 2 항

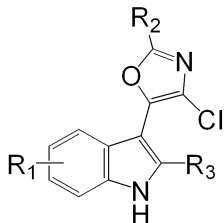
심사관 : 이기철

(54) 발명의 명칭 **신규한 스트렙토클로린 유도체 및 이를 유효성분으로 하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학조성물**

**(57) 요약**

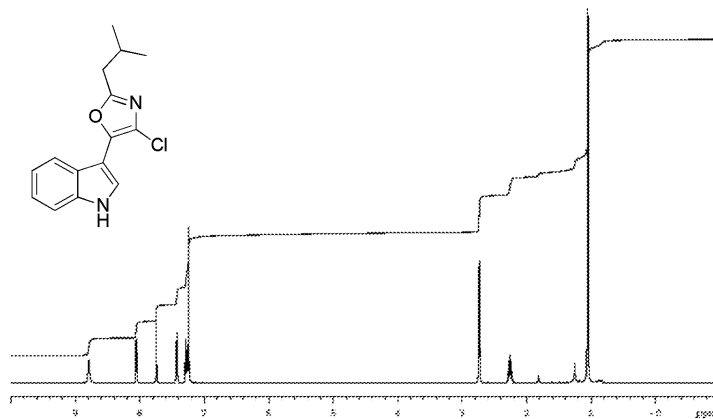
본 발명에서는 기 화학식 1의 구조를 갖는 스트렙토클로린 유도체 및 이를 유효성분으로 하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학조성물을 제공한다.

[화학식 1]



상기 식에서, R<sub>1</sub>은 H, 할로젠, CN, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>알킬 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>알콕시이고, R<sub>2</sub>는 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>할로알킬, C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>아릴 또는 C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>아르알킬이며, R<sub>3</sub>는 H, 할로젠, CN, C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>알킬 또는 C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>아릴이다.

**대표도** - 도1



(72) 발명자

**신희재**

경기 수원시 권선구 금호로 45, 103동 1101호 (금곡동, 삼익1차아파트)

**이연주**

경기 과천시 별양로 12, 319동 1602호 (원문동, 래미안슈르)

**이희승**

서울 광진구 아차산로 552, 7동 1105호 (광장동, 극동아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PM57121

부처명 국토해양부

연구사업명 해외 해양생물자원 개발 및 활용기반 구축

연구과제명 해외 해양생물자원 개발 및 활용기반 구축(4)-총괄

기 여 율 1/2

주관기관 한국해양과학기술원

연구기간 2012.08.01 ~ 2013.06.30

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PE98816

부처명 교육과학기술부

연구사업명 한국해양연구원 연구 운영비 지원

연구과제명 해양생물로부터 항노화 바이오소재 개발 연구

기 여 율 1/2

주관기관 한국해양과학기술원

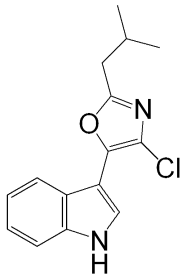
연구기간 2012.03.01 ~ 2012.12.31

**특허청구의 범위**

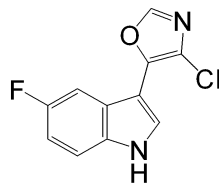
**청구항 1**

4-클로로-5-(1H-인돌-3-일)-2-이소부틸옥사졸(4-chloro-5-(1H-indol-3-yl)-2-isobutyloxazole) (화합물 1); 또는

4-클로로-5-(5-플루오로-1H-인돌-3-일)옥사졸(4-chloro-5-(5-fluoro-1H-indol-3-yl)oxazole) (화합물 2); 인 것을 특징으로 하는 스트렙토클로린 유도체:



(1)



(2).

**청구항 2**

삭제

**청구항 3**

삭제

**청구항 4**

삭제

**청구항 5**

삭제

**청구항 6**

활성성분으로서 제1항의 화합물 (1) 또는 화합물 (2)의 스트렙토클로린 유도체 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염이 조성물 내에서 0.1 내지 90중량% 함유된 암 질환의 예방 및 치료용 약학조성물.

**명세서**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 신규한 스트렙토클로린 유도체 및 이를 유효성분으로 하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학조성물에 관한 것이다.

**배경기술**

[0002] 아래의 화학식으로 표시되는 스트렙토클로린(Streptochlorin)은 강원도 고성군 아야진항 인근 수심 1m 퇴적층에서 채집한 스트렙토마이세스(Streptomyces)속에 속하는 04DH110라고 명명된 변종 박테리아의 배양액에서 추출된 천연물이다.



[0003] Streptochlorin

[0004] 지금까지 알려진 스트렙토클로린의 생리활성에는 고유의 항생활성뿐 아니라 배양된 인간세포의 증식억제작용, NF- $\kappa$ B의 저해를 통한 혈관생성억제, 활성산소를 매개로 하는 미토콘드리아 신호전달체계를 통한 인간 간암종(human hepatocarcinoma)의 세포사멸유도 등이 알려져 있다 (비특허문헌 1 내지 3). 특히 최근의 보고에 의하면 스트렙토클로린은 말벌유충이 외부의 감염으로부터 자신을 방어하는 자가예방체계를 구성하는 9개의 항생물질 중 하나임이 밝혀졌다 (비특허문헌 4).

[0005] 스트렙토클로린은 화학구조적으로 인돌(indole)과 옥사졸(oxazole) 두 개의 헤테로고리가 탄소-탄소  $sp^3$  결합을 통해 하이브리드 형태를 이루고 있으며 체내 동태가 우수한 화합물을 선정하는 가장 간단한 방법인 리핀스키(Lipinski)의 법칙을 충족시켜 항생, 항암소재 등으로의 개발가능성이 높다.

[0006] 따라서 본 연구는 스트렙토클로린의 기본 골격은 유지하면서 인돌 및 옥사졸 고리에 다른 작용기를 갖는 유도체들을 수월하고 효율적으로 합성하여 체내 동태와 효능이 개선된 물질을 도출하는 것을 목표로 추진하게 되었다.

**선행기술문헌**

**비특허문헌**

[0007] (비특허문헌 0001) Shin, H. J.; Jeong, H. S.; Lee, H.-S.; Park, S.-K.; Kim, H. M.; Kwon, H. J. J. Microbiol. Biotechnol. 2007, 17, 1403.  
 (비특허문헌 0002) Park, C.; Shin, H. J.; Kim, G.-Y.; Kwon, T. K.; Nam, T.-J.; Kim, S.-K.; Cheong, J.; Choi, I.-W.; Choi, Y. H. Toxicology in Vitro 2008, 22, 1573.  
 (비특허문헌 0003) Shin, D. Y.; Shin, H. J.; Kim, G.-Y.; Cheong, J. H.; Choi, I.-W.; Kim, S.-K.; Moon, S.-K.; Kang, H. S.; Choi, Y. H. J. Microbiol. Biotechnol. 2008, 18, 1862.  
 (비특허문헌 0004) Kroiss, J.; Kaltenpoth, M.; Schneider, B.; Schwinger, M.-G.; Hertweck, C.; Maddula, R. K.; Strohm, E.; Svatos, A. Nat. Chem. Biol. 2010, 6, 261.

**발명의 내용**

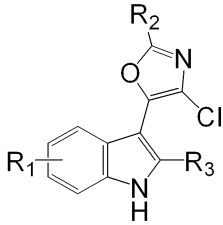
**해결하려는 과제**

[0008] 본 발명의 목적은 항암활성을 갖는 스트렙토클로린 유도체를 제공하는 것이다.  
 [0009] 본 발명의 다른 목적은 상기 스트렙토클로린 유도체를 활성성분으로서 조성물 내에서 1 내지 99중량% 함유되는 것을 특징으로 하는 항암제를 제공하는 것이다.

**과제의 해결 수단**

[0010] 본 발명에서는 하기 화학식 1의 구조를 갖는 스트렙토클로린 유도체를 제공한다.

[0011] [화학식 1]



[0012]

[0013] 상기 식에서, R<sub>1</sub>은 H, Cl, Br, F, CN, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>알킬 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>알콕시이고, R<sub>2</sub>는 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>할로알킬, C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>아릴 또는 C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>아르알킬이며, R<sub>3</sub>는 H, Cl, Br, F, CN, C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>알킬 또는 C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>아틸이다.

[0014] 한편 본 발명에서는 활성성분으로서 상기 화학식 1의 구조를 갖는 화합물이 조성물 내에서 1 내지 99중량% 함유되는 것을 특징으로 하는 항암제를 제공한다.

**발명의 효과**

[0015] 본 발명의 신규한 스트렙토클로린 유도체는 다양한 암세포주에 대한 성장 억제 활성 효과가 있다. 따라서, 암 질환의 예방 및 치료에 유용한 약학조성물로 이용될 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

[0016] 도 1은 본 발명의 스트렙토클로린 유도체 중 하나인 4-클로로-5-(1H-인돌-3-일)-2-이소부틸옥사졸에 대한 수소 핵자기 공명 스펙트럼이고,

도 2는 본 발명의 스트렙토클로린 유도체 중 하나인 4-클로로-5-(1H-인돌-3-일)-2-이소부틸옥사졸에 대한 탄소 핵자기 공명 스펙트럼이다.

도 3은 본 발명의 스트렙토클로린 유도체 중 다른 하나인 4-클로로-5-(5-플루오로-1H-인돌-3-일)옥사졸에 대한 수소 핵자기 공명 스펙트럼이고,

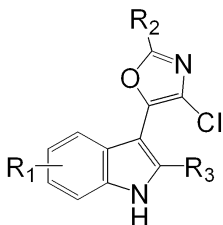
도 4는 본 발명의 스트렙토클로린 유도체 중 다른 하나인 4-클로로-5-(5-플루오로-1H-인돌-3-일)옥사졸에 대한 탄소 핵자기 공명 스펙트럼이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0017] 이하 본 발명을 상세히 설명하고자 한다.

[0018] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 스트렙토클로린 유도체를 제공한다.

[0019] [화학식 1]

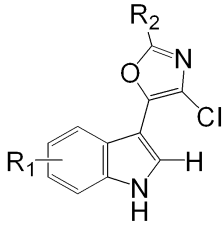


[0020]

[0021] 상기 식에서, R<sub>1</sub>은 H, Cl, Br, F, CN, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>알킬 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>알콕시이고, R<sub>2</sub>는 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>할로알킬, C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>아릴 또는 C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>아르알킬이며, R<sub>3</sub>는 H, Cl, Br, F, CN, C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>알킬 또는 C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>아틸이다.

[0022] 상기 화학식 1의 스트렙토클로린 유도체의 바람직한 예로서는, 예를 들어 아래의 화학식 1a로 표시되는 바와 같이, R<sub>1</sub>이 H, Cl, Br, F, OMe, CN 또는 Me 이고; R<sub>2</sub>는 Me, CF<sub>3</sub>, i-Bu, Bn 또는 Ph이며; R<sub>3</sub>는 H인 화합물일 수 있다.

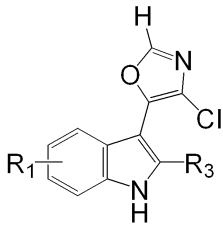
[0023] [화학식 1a]



[0024]

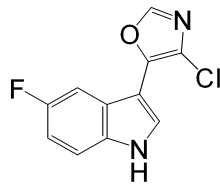
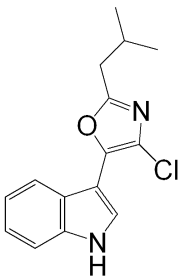
[0025] 상기 화학식 1의 스트렙토클로린 유도체의 또 다른 바람직한 예로서는, 예를 들어 아래의 화학식 1b로 표시되는 바와 같이, R<sub>1</sub>이 H, Cl, Br, F, OMe, CN 또는 Me 이고; R<sub>2</sub>는 H이며, R<sub>3</sub>는 H, Cl, Me 또는 Ph인 화합물일 수 있다.

[0026] [화학식 1b]



[0027]

[0028] 더욱 바람직하게, 본 발명의 화학식 1의 스트렙토클로린 유도체는 아래의 화학식들로 표시되는 4-클로로-5-(1H-인돌-3-일)-2-이소부틸옥사졸(4-chloro-5-(1H-indol-3-yl)-2-isobutyloxazole) (화합물 1) ; 또는 4-클로로-5-(5-플루오로-1H-인돌-3-일)옥사졸(4-chloro-5-(5-fluoro-1H-indol-3-yl)oxazole) (화합물 2)이다:



[0029]

1

2

[0030] 상기 화학식 들에서 있어서 용어의 의미는 하기와 같다:

[0031] 미치환된 것은 모든 치환기가 수소인 것으로 간주한다.

[0032] 할로겐 또는 할로는 F, Cl, Br 또는 I이다.

[0033] 상기 알킬은 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필 또는 이소부틸, tert-부틸과 같은 직쇄 또는 분쇄(branched)된 알킬로서 이해된다.

[0034] 상기 할로알킬은 클로로메틸, 다이클로로메틸, 트리클로로메틸, 플루오르메틸, 다이플루오르메틸, 트리플루오르메틸과 같이, 수소 원자가 전체 또는 부분적으로 할로겐으로 치환된 직쇄 또는 분쇄된 알킬로 간주된다.

[0035] 상기 아릴은 페닐 또는 나프틸을 포함한다.

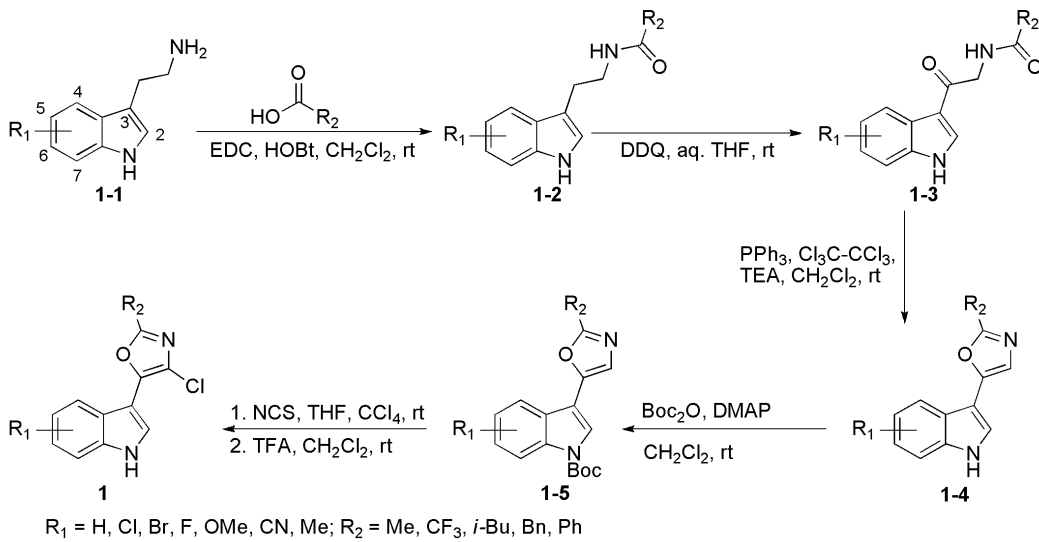
[0036] 본 발명은 상기 제조방법으로 얻어지는 상기 화학식 1로 표시되는 스트렙토클로린 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0037] 본 발명의 화학식 1로 표시되는 스트렙토클로린 유도체는 세포의 성장 저해에 활성을 보인다. 실험에 의하면, 항암활성의 측정을 위하여 사용되는 것으로서, 예를 들어, 미국 NCI(National Cancer Institute)에서 제공하는 6

개의 세포주, 구체적으로, ACHN, HCT15, MDA-MB231, NCI-H23, NUGC-3 및 PC-3에 대하여 0.1 내지 100 $\mu$ g/ml의 농도에서 세포의 성장 저해에 활성을 보인다.

- [0039] 따라서, 본 발명에 따르는 스트렙토클로린 유도체는 항암제의 유효성분으로 사용될 수 있다.
- [0040] 본 발명의 암 질환의 예방 및 치료용 조성물은, 조성물 총 중량에 대하여 상기 스트렙토클로린 유도체를 0.1 내지 90% 중량으로 포함한다. 그러나 상기와 같은 조성은 반드시 이에 한정되는 것은 아니고, 환자의 상태 및 질환의 종류 및 진행 정도에 따라 변할 수 있다.
- [0041] 본 발명의 스트렙토클로린 유도체를 포함하는 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.
- [0042] 본 발명에 따른 스트렙토클로린 유도체를 포함하는 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 화합물 또는 추출물을 포함하는 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제에는 상기 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜 (propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈 (tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0043] 본 발명의 화합물 또는 추출물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 화합물 또는 추출물은 1일 0.01 mg/kg 내지 10 g/kg으로, 바람직하게는 1 mg/kg 내지 1 g/kg으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수 있다. 따라서, 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0044] 본 발명의 조성물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내 (intracerebroventricular) 주사에 의해 투여될 수 있다.
- [0045] 또한 본 발명에서는 화학식 1로 표시되는 스트렙토클로린 유도체의 제조방법을 제공한다.
- [0046] 구체적으로, 화학식 1로 표시되는 스트렙토클로린 유도체는 i) 옥사졸 환의 4번-위치에 염소가 치환되지 않는 해당 구조의 인돌일옥사졸 또는 그 전구체로부터 인돌 환의 N-H 와 보호기를 반응시키는 제1단계; ii) 옥사졸 환의 4번-위치에 할로겐화 반응을 수행하는 제2단계; 및 iii) 인돌 환의 N-H 보호기를 제거하는 제3단계를 포함한다.
- [0047] 예를 들어, 다음의 반응경로 1에 따라 4-클로로-5-(1H-인돌-3-일)-2-이소부틸옥사졸로 대표되는 화합물 7의 스트렙토클로린 유도체 합성과정을 아래에 설명한다.

[0048] [반응경로 1]



[0049]

[0050]

스트렙토클로린 유도체 합성의 첫 단계로서 시약제조사로부터 쉽게 얻을 수 있는 트립타민(tryptamine) **1-1**을 출발물질로 하여 이소발레르산(isovaleric acid)과의 EDC (1-ethyl-3-[3-dimethylaminopropyl]carbodiimide) 중합반응을 통해 중간체 **1-2**를 얻을 수 있다. 중간체 **1-2**는 DDQ (2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone)와의 반응을 통해 산화되어 케톤 **1-3**으로 전환이 되고 이어서 케톤 **1-3**을 로빈슨-가브리엘 사이클로하이드레이션(Robinson-Gabriel cyclodehydration) 조건에서 반응시키면 인돌 환의 3번 탄소에 옥사졸이 도입된 중간체 **1-4**를 얻을 수 있다. 앞서 설명한 일련의 반응들에 의해 합성된 중간체 **1-4**인 인돌 2차 아민은 염소화 반응에서의 불필요한 부반응을 방지하기 위하여 Boc (*tert*-butyl carbamate)을 도입하여 보호한다(중간체 **1-5**). 마지막 단계로서 NCS (*N*-chlorosuccinimide)를 이용하여 중간체 **1-5**의 옥사졸 4번 위치에 선택적으로 염소를 도입하고 Boc보호기는 TFA (trifluoroacetic acid)를 이용하여 제거하여 화합물 **1**을 얻을 수 있다.

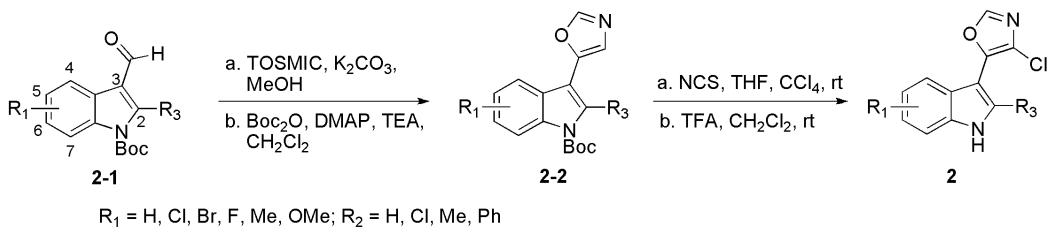
[0051]

본 발명에서, 인돌일옥사졸의 전구체라 함은 인돌 환을 가지고 있으나 옥사졸 환은 완성되지 않는 화합물에서, 부가 반응 등에 의하여 옥사졸 환이 완성될 수 있는 관능기를 가진 인돌 유도체를 말한다. 인돌일옥사졸의 전구체를 이용하여 본 발명의 스트렙토클로린 유도체를 합성하는 경우에는 상기 제1단계와 제2단계 사이에 옥사졸환을 완성하는 단계가 추가될 수 있다.

[0052]

예를 들어, 다음의 반응경로 2에 따라 4-클로로-5-(5-플루오로-1H-인돌-3-일)옥사졸로 대표되는 화합물 10의 스트렙토클로린 유도체를 제조할 수 있다.

[0053] [반응경로 2]



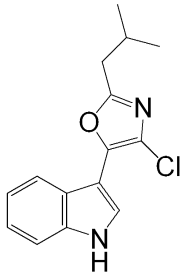
[0054]

[0055]

출발물질 **2-1**은 염기인 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>와 함께 메탄올 용액에서 토실메틸이소시아나이드(tosylmethylisocyanide, TOSMIC)와 반응하여 옥사졸(oxazole) 고리를 만든다(van Leusen's oxazole synthesis). 이후 보호기인 Boc을 인돌(indole)의 2차 아민기에 도입하면 화합물 **9**를 얻을 수 있다. **2-2**번 화합물은 다시 NCS (*N*-chlorosuccinimide)와 반응하여 옥사졸(oxazole) 4번 위치에 염소가 도입되고 최종 물질인 화합물 **2**는 TFA (trifluoroacetic acid)를 이용하여 보호기를 제거한 후 얻을 수 있다.



- [0056] 이하, 실시예를 통하여 본 발명의 구성 및 그에 따른 효과를 보다 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 본 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 예시일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [0057] 화합물 1의 합성
- [0058] 위의 반응경로 1에 따라 4-클로로-5-(1H-인돌-3-일)-2-이소부틸옥사졸을 합성하였다.
- [0059] (1) 화합물 1-2의 합성
- [0060] 트립타민 **1-1** ( $R_1 = H$ , 500.8 mg, 3.13 mmol), isovaleric acid (0.4 mL), EDC (659.1 mg) 그리고 HOBt (464.6 mg)을  $CH_2Cl_2$ 에 녹이고 상온에서 21 시간 교반한다. 출발물질이 사라지면 반응용액을 물과  $CH_2Cl_2$ 로 희석하여 유기층을 추출한다. 추출액에 남아있는 소량의 물은  $Na_2SO_4$ 로 제거하고 필터를 이용하여 용액을 걸러낸다. 반응용액을 증류농축장치를 이용하여 농축한다. 칼럼크로마토그래피 (헥산/에틸아세테이트 = 9:1 에서 1:1)를 이용하여 농축된 반응혼합물에서 화합물 **1-2** ( $R_1 = H$ ,  $R_2 = i-Bu$ , 653.3 mg, 2.67 mmol, 86%)을 얻었다.
- [0061] (2) 화합물 1-3, 1-4의 합성
- [0062] 물과 THF (비율 = 1:9)에 화합물**1-2** ( $R_1 = H$ ,  $R_2 = i-Bu$ , 50.5 mg, 0.21 mmol)을 녹인다. 온도를  $0^\circ C$ 로 낮추고 반응용액에 DDQ (107.9 mg)를 첨가하여 같은 온도에서 1시간동안 교반한다. 반응용액을 에틸아세테이트와 물로 희석하고 유기층을 추출한 다음 증류농축장치를 이용하여 농축한다. 혼합물의 분리없이 농축된 반응물을  $CH_2Cl_2$ 에 녹이고  $Ph_3P$  (108.4 mg),  $Cl_3CCCl_3$  (97.9 mg), triethylamine (0.1 mL)와 혼합용액을 만든다. 반응용액을 상온에서 25시간 동안 교반한 후 물과 에틸아세테이트로 희석하여 유기층을 추출한다. 추출된 유기층은  $Na_2SO_4$ 로 처리한 후 필터하여 농축한다. 농축액을 칼럼크로마토그래피 (헥산/에틸아세테이트 = 3:1)를 이용하여 화합물 **1-4** ( $R_1 = H$ ,  $R_2 = i-Bu$ , 15.0 mg, 30%)을 얻었다.
- [0063] (3) 화합물 1-5의 합성
- [0064] 화합물 **1-4** ( $R_1 = H$ ,  $R_2 = i-Bu$ , 35.6 mg, 0.15 mmol)을  $CH_2Cl_2$ 에 녹이고  $Boc_2O$  (38.8 mg), triethylamine (30.9  $\mu L$ ), DMAP (1.8 mg)과 섞어 균일한 용액을 만든 후 상온에서 2시간 교반한다. 반응용액을 물과 에틸아세테이트로 희석하고 유기층을 추출한 후  $Na_2SO_4$ 로 처리하여 농축한다. 농축액을 칼럼크로마토그래피 (헥산/에틸아세테이트 = 3:1)를 이용하여 화합물 **1-5** ( $R_1 = H$ ,  $R_2 = i-Bu$ , 30.4 mg, 60%)을 얻었다.
- [0065] (4) 화합물 1의 합성
- [0066] 화합물 **1-5** ( $R_1 = H$ ,  $R_2 = i-Bu$ , 30.0 mg, 0.0881 mmol)을 THF/ $CCl_4$  (1:1)에 용해한 후 상온에서 반응용액에 NCS (14.1 mg)을 첨가한 다음 같은 온도에서 45시간 교반한다. 반응용액을 물과 에틸아세테이트로 희석하고 유기층을 추출하여  $Na_2SO_4$ 로 처리한다. 증류농축장치에 의해 농축된 반응물을 다시  $CH_2Cl_2$ 에 녹이고 TFA를 첨가한 다음 상온에서 16시간 교반한다. 반응용액을 물과 에틸아세테이트로 희석하고 유기층을 추출하여  $Na_2SO_4$ 로 처리한다. 필터를 한 다음 증류농축장치를 이용하여 농축한다. 칼럼크로마토그래피 (헥산/에틸아세테이트 = 9:1)를 이용하여 농축된 반응혼합물에서 화합물 **1** ( $R_1 = H$ ,  $R_2 = i-Bu$ , 15.2 mg, 0.06 mmol, 63%)을 얻었다.
- [0067] 대표화합물  $R_1 = H$ ,  $R_2 = i-Bu$



[0068]

[0069]  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) d 8.79 (bs, 1H), 8.05 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.74 (d,  $J = 2.5$  Hz, 1H), 7.42 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.23-7.30 (m, 2H), 2.73 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 2.40-2.27 (m, 1H), 1.05 (d,  $J = 6.6$  Hz, 6H) (도1 참조)

[0070]  $^{13}\text{C NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) d 161.4, 142.5, 135.9, 124.7, 123.3, 123.0, 121.5, 121.1, 121.0, 111.7, 104.3, 37.5, 27.8, 22.6 (도2 참조)

[0071] **MS** (APCI) calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}$  274.1, found  $m/z$  275.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0072] **MP**: 98 ~ 101 °C ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , brown color)

[0073] 화합물 2의 합성

[0074] 위의 반응경로 2에 따라 4-클로로-5-(5-플루오로-1H-인돌-3-일)옥사졸을 합성하였다.

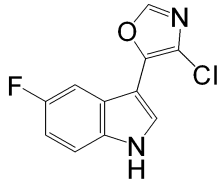
[0075] (1) 화합물 2-2의 합성

[0076] 화합물 2-1 ( $R_1 = 5\text{-F}$ ,  $R_2 = \text{H}$ , 388.9 mg, 1.48 mmol)을 메탄올에 녹인 후 반응용액에 TOSMIC (317.2 mg)과  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (224.6 mg)를 첨가하여 2시간 30분 동안 환류한다. 반응종료 후 물과 에틸아세테이트로 희석하여 유기층을 추출한다.  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 처리 후 증류농축기를 이용하여 농축된 반응용액을 다시  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 로 녹이고 이 용액에  $\text{Boc}_2\text{O}$  (63.1 mg), triethylamine (43.7  $\mu\text{L}$ ), DMAP (2.9 mg)과 섞어 균일한 용액을 만든 후 상온에서 10분 간 교반한다. 반응용액을 물과 에틸아세테이트로 희석하고 유기층을 추출한 후  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 처리하여 농축한다. 농축액을 칼럼크로마토그래피 (헥산/에틸아세테이트 = 3:1)를 이용하여 화합물 2-2 ( $R_1 = 5\text{-F}$ ,  $R_2 = \text{H}$ , 69.0 mg, 15%)을 얻었다.

[0077] (2) 화합물 2의 합성

[0078] 화합물 2-2 ( $R_1 = 5\text{-F}$ ,  $R_2 = \text{H}$ , 58.9 mg, 0.1948 mmol)을 THF/ $\text{CCl}_4$  (1:1)에 용해한 후 상온에서 반응용액에 NCS (31.2 mg)을 첨가한 다음 같은 온도에서 49시간 교반한다. 반응용액을 물과 에틸아세테이트로 희석하고 유기층을 추출하여  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 처리한다. 증류농축장치에 의해 농축된 반응물을 다시  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 에 녹이고 TFA를 첨가한 다음 상온에서 14시간 교반한다. 반응용액을 물과 에틸아세테이트로 희석하고 유기층을 추출하여  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 처리한다. 필터를 한 다음 증류농축장치를 이용하여 농축한다. 칼럼크로마토그래피 (헥산/에틸아세테이트 = 9:1에서 3:1)를 이용하여 농축된 반응혼합물에서 화합물2 ( $R_1 = 5\text{-F}$ ,  $R_2 = \text{H}$ , 22.4 mg, 0.09 mmol, 49%)을 얻었다.

[0079] 대표화합물  $R_1 = 5\text{-F}$ ,  $R_2 = \text{H}$



- [0080]
- [0081] <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) δ 10.98 (bs, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.02 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 7.69 (dd, *J* = 10.0, 2.2 Hz, 1H), 7.55 (dd, *J* = 8.8, 4.6 Hz, 1H), 7.06 (dt, *J* = 9.2, 2.2 Hz, 1H) (도3 참조)
- [0082] <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) δ 159.3 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>C-F</sub> = 234.0 Hz, C-F), 149.6, 143.7, 133.9, 127.0, 125.8 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>C-F</sub> = 10.7 Hz, C=C), 121.9, 114.1 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>C-F</sub> = 10.3 Hz, C-H), 111.9 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>C-F</sub> = 26.5 Hz, C-H), 105.9 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>C-F</sub> = 24.7 Hz, C-H), 103.8 (d, <sup>4</sup>*J*<sub>C-F</sub> = 4.7 Hz, C-C) (도4 참조)
- [0083] <sup>19</sup>F NMR (470 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) δ -124.4
- [0084] MS (APCI) calcd for C<sub>11</sub>H<sub>6</sub>ClFN<sub>2</sub>O 236.0, found *m/z* 236.8 [M]<sup>+</sup>
- [0085] MP: 212 ~ 215 °C (acetone, brown color)

[0086] 세포성장 저해활성 측정

[0087] 이렇게 각기 다른 두 합성 경로를 통해 얻어진 스트렙토클로린 유도체 **7**과 **10**에 대한 항암 활성을 측정하기 위해 미국의 NCI (National Cancer Institute)에서 제공한 6개의 세포주를 사용하였다 (Table 1). 모든 세포주는 10세대(passage) 내에서 사용하였고, 세포주의 배양을 위해서 RPMI1640과 10%의 송아지 혈청을 함유한 배양액을 사용하였다.

[0088] 세포성장저해활성 측정은 한국생명공학연구원 바이오평가센터에서, NCI의 방법에 따라서 시행하였다. 각각의 세포주를 96-well plate에 투입(loading) 후, 실험용액(working solution)을 최종농도가 30, 10, 3, 1, 0.3ug/ml 이 되도록 처리하였다. 배양(Incubation) 후 약물을 처리한 플레이트를 50% TCA로 고정하였다. 플레이트를 물로 세척, 건조한 후 SRB 용액 (0.4% sulforhodamine B in 1% acetic acid) 을 가하고 결합하지 않은 염색 시약은 0.1% 초산을 가하여 세척하였다. 다시 건조를 한 후에 10 mM 트리스 베이스(Tris Base; pH 10.5)로 염색시약을 용해시켰다. 흡광도는 540 nm에서 측정하였으며, 측정된 흡광도는 용매처리군에 대한 백분율로 계산하였고 이를 바탕으로 시험물질의 GI<sub>50</sub> 값을 계산하여, 그 결과를 아래의 표 1에 정리하였다. 대조군으로서 스트렙토클로린과 아드리아마이신(Adriamycin)을 함께 평가하였다.

표 1

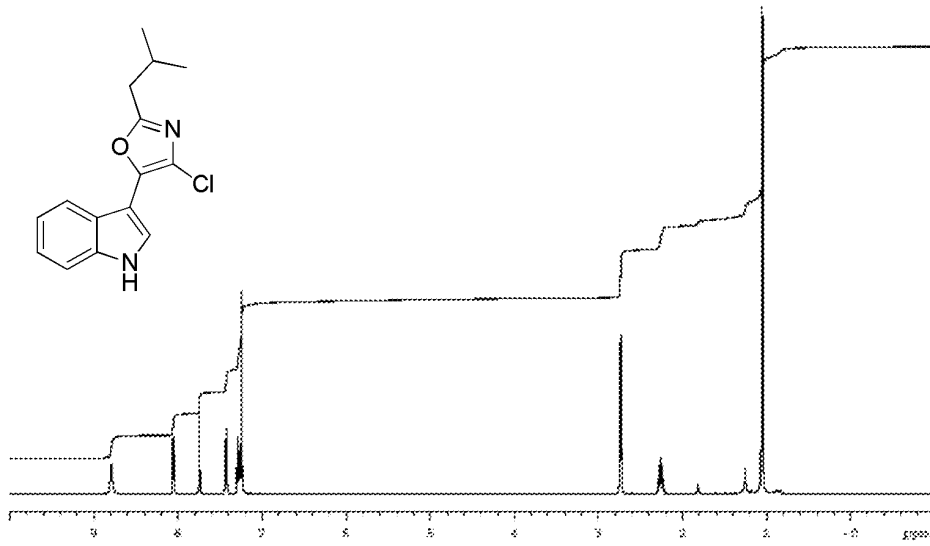
[0089]

화합물	항암활성(Anticancer activity; GI <sub>50</sub> , μg/mL)					
	ACHN	HCT15	MDA-MB231	NCI-H23	NUGC-3	PC-3
1	26.1	11.02	12.40	20.46	16.87	17.44
2	19.95	9.91	16.86	16.11	7.41	5.05
streptochlorin	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
ADR	0.02667	0.05054	0.02172	0.00872	0.06065	0.11680

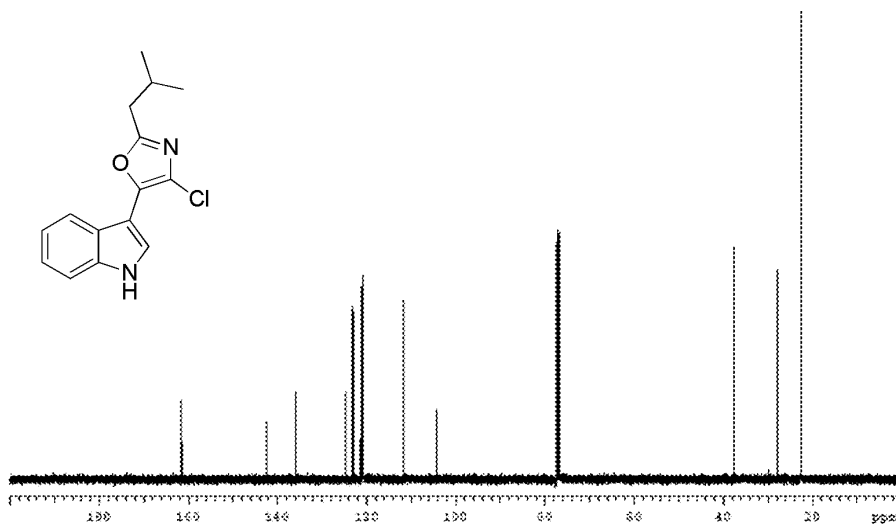
[0090] 대표물질인 화합물 **1**과 **2**는 상기한 6개의 암세포주에 대하여 원물질인 스트렙토클로린보다 좋은 암세포 성장억 제력을 갖는 것으로 나타났다. 특히 화합물 **2**는 HCT15/NUGC-3/PC-3 세 종류의 암세포주에 대해서 스트렙토클로린 보다 월등한 활성을 갖는 것으로 나타났다.

도면

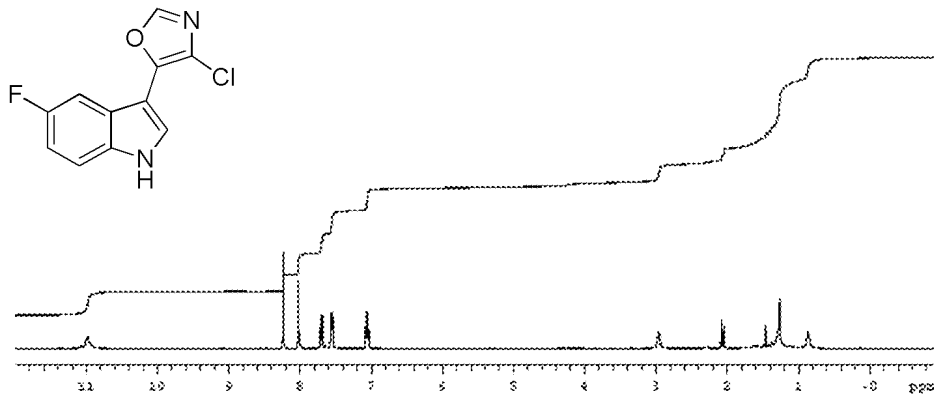
도면1



도면2



도면3



도면4

