



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0032880
(43) 공개일자 2020년03월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/165 (2006.01) A61K 31/341 (2006.01)
A61K 31/423 (2006.01) A61K 31/4245 (2006.01)
A61K 31/426 (2006.01) A61K 31/44 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/165 (2013.01)
A61K 31/341 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-0112056

(22) 출원일자 2018년09월19일

심사청구일자 2018년09월19일

(71) 출원인

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

남궁완

인천광역시 연수구 원인제로 124, 103동 1905호(동춘동, 한양1차아파트)

김익연

서울특별시 마포구 마포대로24길 16, 109동 202호(아현동, 공덕자이 아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인충현

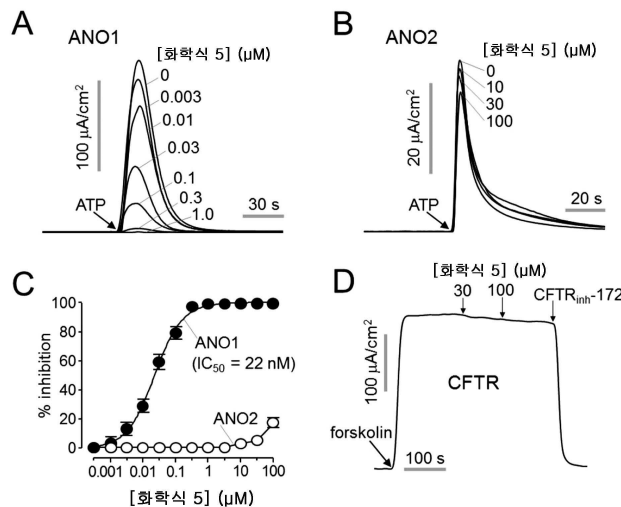
전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 항암용 신규 약학 조성물 및 ANO1 활성억제제

(57) 요약

본 발명은 신규한 항암용 약학 조성물에 관한 것으로서, ANO1(TMEM16A)의 발현을 억제하는 효과가 있는 본 발명의 화합물을 포함하여 항암효과를 달성하게 되는 것이며, 또한 ANO1(TMEM16A)의 발현을 억제하는 본 발명의 화합물을 이용하여 ANO1(TMEM16A) 활성억제제를 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 31/423 (2013.01)

A61K 31/4245 (2013.01)

A61K 31/426 (2013.01)

A61K 31/44 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

(72) 발명자

서요한

전라북도 부안군 부안읍 봉신길 19, 104동 402호(
부안현대아파트)

김진황

경기도 수원시 장안구 정자천로188번길 21, 101동
601호(정자동, 정자 케이티 이-편한세상)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2018R1A6A1A03023718

부처명 교육부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 기초연구기반구축사업

연구과제명 난치성 질환 치료를 위한 트랜스포톤 제어 기술 개발

기 여 율 1/1

주관기관 연세대학교 산학협력단

연구기간 2018.06.01 ~ 2019.02.28

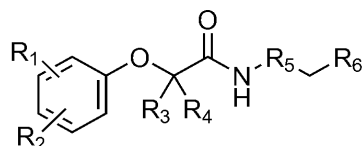
명세서

청구범위

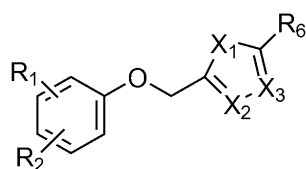
청구항 1

하기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물 또는 약학적으로 허용 가능한 그의 염을 유효성분으로 포함하는 항암용 약학 조성물;

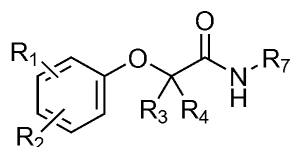
[화학식 1]



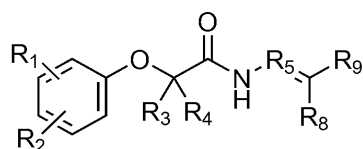
[화학식 2]



[화학식 3]



[화학식 4]

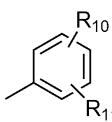




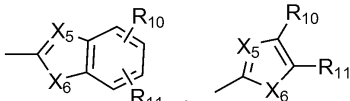
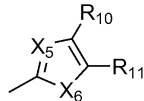
상기 화학식 1 내지 4에서,

상기 R₁ 및 R₂는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택되고;

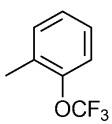
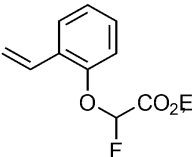


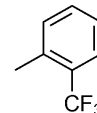
상기 R₃ 및 R₄는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택되며;

상기 R₅는 C, N, S 및 O 중에서 선택되고;

상기 R₆는 , ,  중에서 선택되며;

상기 R₇은  ,  중에서 선택되고;

상기 R₈은 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택되며;

상기 R₉는  ,  ,  ,  ,  중에서 선택되고;

상기 R₁₀ 및 R₁₁은 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬, 카르보닐 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택되며;

상기 X₁ 내지 X₃는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 C, N, O 및 S 중에서 선택되고;

상기 X₄는 C, N, O 및 S 중에서 선택되며;

상기 X₅ 내지 X₆은 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬, 카르보닐 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택됨.

청구항 2

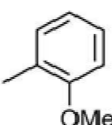
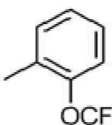
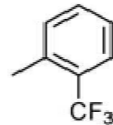
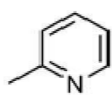
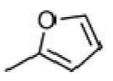
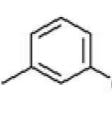
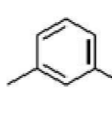
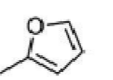
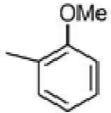
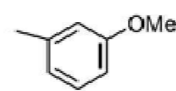
제1항에 있어서, 상기 C1-C6의 알킬은 메틸, 에틸, 이소프로필, 프로필, 부틸, 이소부틸, t-부틸, 펜틸 및 헥실로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 항암용 약학 조성물.

청구항 3

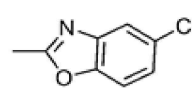
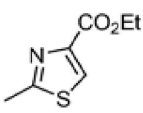
제1항에 있어서, 상기 C1-C6의 알콕시는 메톡시, 에톡시, 이소프로폭시, 프로폭시, 부톡시, 이소부톡시, t-부톡시, 펜톡시 및 헥톡시로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 항암용 약학 조성물.

청구항 4

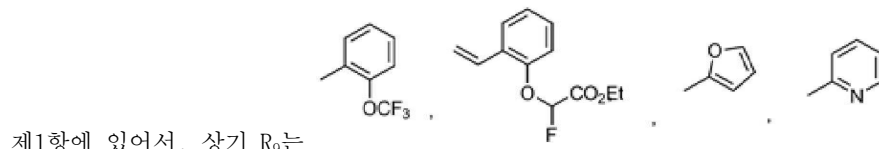
제1항에 있어서, 상기 화학식에서 R₆는

 ,  ,  ,  ,  ,
  ,  ,  ,  ,  로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 항암용 약학 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 R₇은  ,  로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 항암용 약학 조성물.

청구항 6

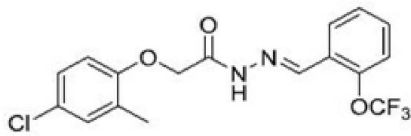


로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 항암용 약학 조성물.

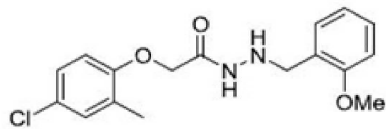
청구항 7

제1항에 있어서, 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물은 하기 [화학식 5] 내지 [화학식 18]로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 항암용 약학 조성물;

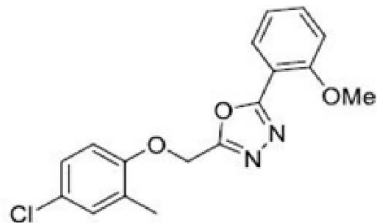
[화학식 5]



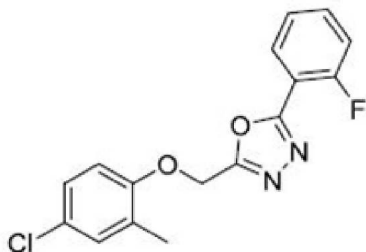
[화학식 6]



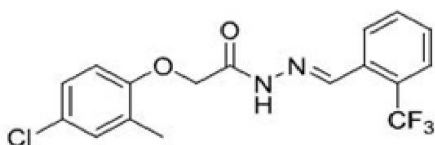
[화학식 7]



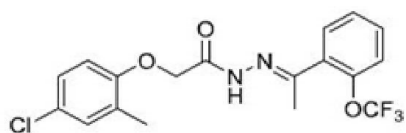
[화학식 8]



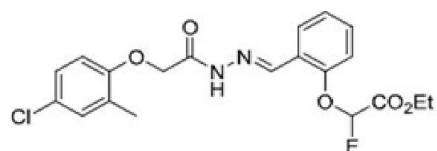
[화학식 9]



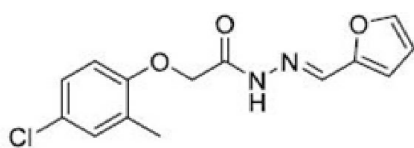
[화학식 10]



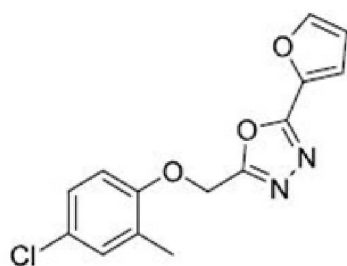
[화학식 11]



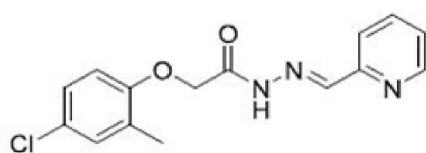
[화학식 12]



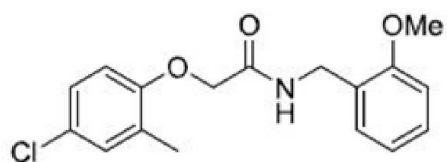
[화학식 13]



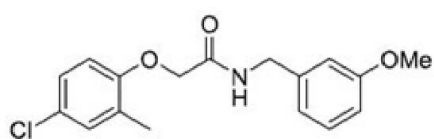
[화학식 14]



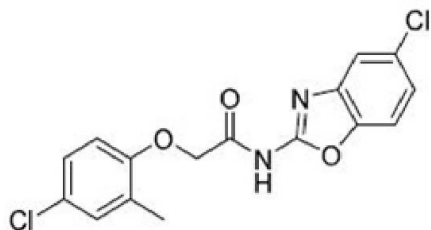
[화학식 15]



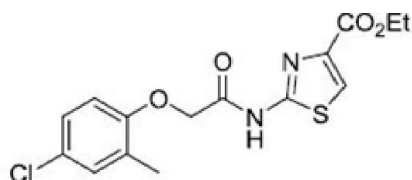
[화학식 16]



[화학식 17]



[화학식 18]



청구항 8

제1항에 있어서, 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물은 IC_{50} [μM]이 0.01-65인 것을 특징으로 하는 항암용 약학 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물은 IC_{50} [μM]이 0.01-0.08인 것을 특징으로 하는 항암용 약학 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물은 암세포 또는 종양세포에 존재하는 ANO1(TMEM16A)의 발현을 억제하는 것을 특징으로 하는 항암용 약학 조성물.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 염은 수화물, 용매화물 및 결정으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 형태인 것을 특징으로 하는 항암용 약학 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서, 상기 약학 조성물에 의해 항암효과가 달성되는 질환은 전립선암, 갑상선암, 위암, 대장암, 폐암, 유방암, 간암, 췌장암, 고환암, 구강암, 기저세포암, 뇌종양, 담낭암, 담도암, 후두암, 망막세포종, 바터펍대부암, 방광암, 복막암, 부신암, 비소세포폐암, 설암, 소세포폐암, 소장암, 수막종, 식도암, 신우요관암, 신장암, 악성골종양, 악성연부조직종양, 악성림프종, 악성흑색종, 안종양, 요도암, 위암, 육종, 인두암, 자궁경부암, 자궁내막암, 자궁육종, 전이성뇌종양, 직장암, 질암, 척수종양, 침샘암, 편도암, 편평상피세포암 및 항문암으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 항암용 약학 조성물.

청구항 13

제1항 내지 제12항으로 이루어진 군중에서 어느 한 항의 약학 조성물을 포함하는 것을 특징으로 하는 항암용 정제.

청구항 14

제1항 내지 제12항으로 이루어진 군중에서 어느 한 항의 약학 조성물을 포함하는 것을 특징으로 하는 항암용 캡슐제.

청구항 15

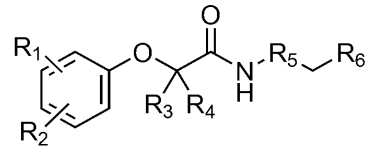
제1항 내지 제12항으로 이루어진 군중에서 어느 한 항의 약학 조성물을 포함하는 것을 특징으로 하는 항암용 시럽제.

청구항 16

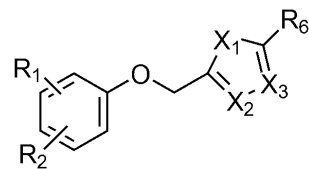
하기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물을 포함하는 ANO1(TMEM16A) 활성 억제제이며,

상기 활성억제제는 생체외(in vitro)에서 ANO1(TMEM16A)의 발현을 억제하는 것을 특징으로 하는 ANO1(TMEM16A) 활성억제제;

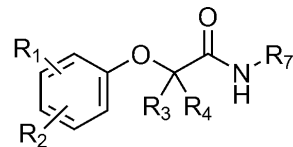
[화학식 1]



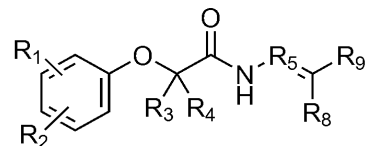
[화학식 2]



[화학식 3]



[화학식 4]

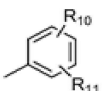




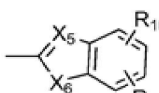
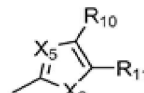
상기 화학식 1 내지 4에서,

상기 R₁ 및 R₂는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택되고;


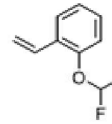



상기 R₃ 및 R₄는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택되며;

상기 R₅는 C, N, S 및 O 중에서 선택되고;

상기 R₆는 , ,  중에서 선택되며;

상기 R₇은  ,  중에서 선택되고;

상기 R₈은 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택되며;

상기 R₉는  ,  ,  ,  ,  중에서 선택되고;

상기 R₁₀ 및 R₁₁은 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬, 카르보닐 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택되며

상기 X₁ 내지 X₃는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 C, N, O 및 S 중에서 선택되고;

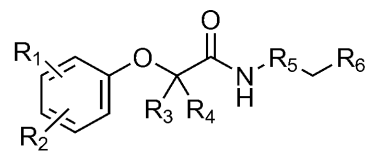
상기 X₄는 C, N, O 및 S 중에서 선택되며;

상기 X₅ 내지 X₆은 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬, 카르보닐 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택됨.

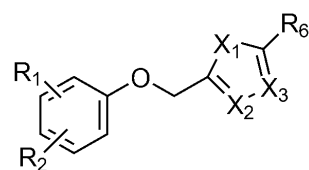
청구항 17

하기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물을 포함하는 물질을 처리하여 생체외(in vitro)에서 ANO1(TMEM16A)의 발현을 억제하는 단계를 포함하는 ANO1(TMEM16A)의 발현을 억제하는 방법;

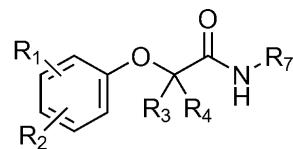
[화학식 1]



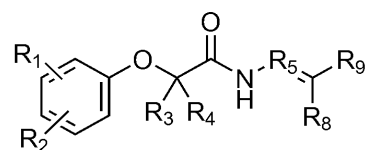
[화학식 2]



[화학식 3]



[화학식 4]

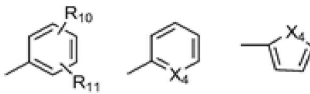


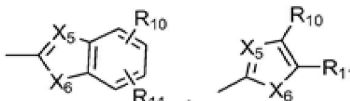
상기 화학식 1 내지 4에서,

상기 R₁ 및 R₂는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택되고;

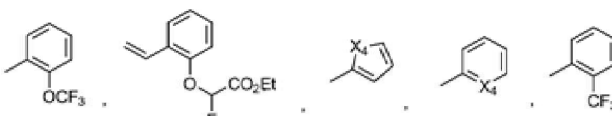
상기 R₃ 및 R₄는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택되며;

상기 R₅는 C, N, S 및 O 중에서 선택되고;

상기 R₆는  중에서 선택되며;

상기 R₇는  중에서 선택되고;

상기 R₈는 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택되며;

상기 R₉는  중에서 선택되고;

상기 R₁₀ 및 R₁₁은 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬, 카르보닐 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택되며

상기 X₁ 내지 X₃는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 C, N, O 및 S 중에서 선택되고;

상기 X₄는 C, N, O 및 S 중에서 선택되며;

상기 X₅ 내지 X₆은 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬, 카르보닐 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택됨.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 항암용 약학 조성물 및 ANO1 활성억제제에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] ANO1은 CaCC(Calcium activated chloride channel)로서, 다양한 세포와 조직에 발현하며 상피세포 체액 분비, 평활근 수축, 세포의 성장, 감각신경 신호전달과 같은 생리학적 기능을 수행한다.
- [0003] 최근 연구에 따르면 ANO1 억제제가 염증성 기도질환, 고혈압, 통증과 같은 ANO1 관련 질환의 치료에 유용할 수 있음이 보고되었다. 예를 들어, ANO1 억제제는 기도상피의 과도한 점액분비를 억제하고 평활근 수축을 억제하여 염증기도 질환에 유익한 효과를 줄 수 있으며, 고혈압 마우스의 혈압을 현저히 감소시켰다.
- [0004] 또한 마우스 열 통증 모델에서 ANO1 활성의 억제가 마우스의 통증을 현저히 감소시키고 캡사이신에 의한 통증 관련 행동 또한 감소시켰다.
- [0005] 최근 ANO1이 유방암, 췌장암, 두경부암, 소화기 암, 전립선 암과 같은 여러 종류의 암세포에 과발현하여 세포의 성장, 증양 형성, 암의 진행에 중요한 역할을 하는 것이 밝혀졌고, ANO1 억제제가 유방암, 췌장암 및 전립선암 세포의 증식과 이동을 유의하게 감소시키는 결과가 보고되었다.
- [0006] ANO1과 ANO2는 CaCC의 기능을 하며 높은 구조적 유사성을 가진다. 상기 ANO2는 후각 신경세포에서 과발현하고 후각 신호 전달에 중요한 역할을 한다. 또한, 시상피질과 해마신경세포에서 스파이크 생성 감소에 관여하며,

ANO2 녹아웃 마우스는 운동기능 장애와 운동 학습 장애를 유발한다는 것이 밝혀졌다.

[0007] 따라서 ANO2 보다 선택적으로 ANO1을 억제하는 억제제를 개발하면 기존의 ANO1 억제제들보다 ANO1 관련 질환에 더 적절한 치료법이 될 수 있다.

[0008] 현재까지 CaCCinh-A01, T16Ainh-A01, MONNA, Ani9 및 AACT (10bm) 등의 ANO1 억제제가 확인되었으며, 상기 Ani9이 ANO2를 억제하지 않는 가장 특이적인 ANO1 억제제였다.

[0009] 따라서, ANO1의 억제 효력을 높이고 ANO2의 억제효력을 낮춘 신규한 화합물들이 요구되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0010] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제10-2014-0112489호

(특허문헌 0002) 대한민국 등록특허 제1719541호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본 발명의 목적은 ANO1(TMEM16A)의 발현을 억제하는 효과가 있는 신규한 항암용 약학 조성물을 제공하는데 있다.

[0012] 또한, 본 발명의 다른 목적은 ANO1(TMEM16A)의 발현을 억제하는 효과가 있는 항암용 정제를 제공하는데 있다.

[0013] 또한, 본 발명의 또 다른 목적은 ANO1(TMEM16A)의 발현을 억제하는 효과가 있는 항암용 캡슐제를 제공하는데 있다.

[0014] 또한, 본 발명의 또 다른 목적은 ANO1(TMEM16A)의 발현을 억제하는 효과가 있는 항암용 시럽제를 제공하는데 있다.

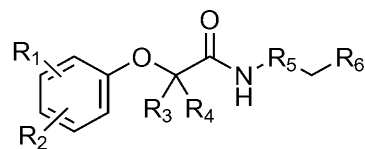
[0015] 또한, 본 발명의 또 다른 목적은 신규한 ANO1(TMEM16A) 활성억제제를 제공하는데 있다.

[0016] 또한, 본 발명의 또 다른 목적은 ANO1(TMEM16A)의 발현을 억제하는 방법을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

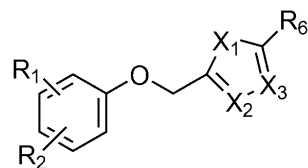
[0017] 상기한 목적을 달성하기 위한 본 발명의 항암용 약학 조성물은 하기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물 또는 약학적으로 허용 가능한 그의 염을 유효성분으로 포함할 수 있다;

[0018] [화학식 1]



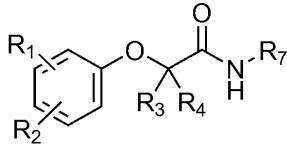
[0019]

[0020] [화학식 2]



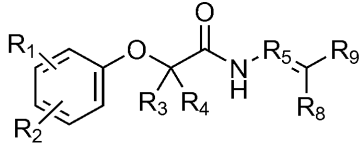
[0021]

[0022] [화학식 3]



[0023]

[0024] [화학식 4]

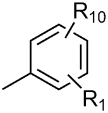


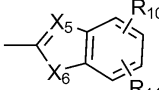
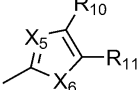


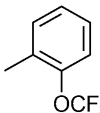
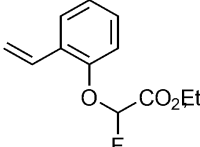


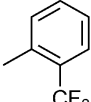
[0025]

[0026] 상기 화학식 1 내지 4에서,

[0027] 상기 R₁ 및 R₂는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택되고; 상기 R₃ 및 R₄는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택되며; 상기 R₅는 C, N, S 및 O 중에서 선택되고;

[0028]

상기 R₆는 , ,  중에서 선택되며; 상기 R₇은 ,  중에서 선택되고; 상기 R₈은 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택되며; 상기 R₉는

, , , ,  중에서 선택되고; 상기 R₁₀ 및 R₁₁은 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬, 카르보닐 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택되며; 상기 X₁ 내지 X₃는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 C, N, O 및 S 중에서 선택되고; 상기 X₄는 C, N, O 및 S 중에서 선택되며; 상기 X₅ 내지 X₆는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬, 카르보닐 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택됨.

[0029] 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물은 AN01의 IC₅₀[uM]이 0.01-65, 바람직하게는 0.01-0.08일 수 있다.

[0030] 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물은 암세포 또는 종양세포에 존재하는 AN01(TM616A)의 발현을 억제할 수 있다.

[0031] 상기 염은 수화물, 용매화물 및 결정으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 형태일 수 있다.

[0032] 상기 약학 조성물에 의해 항암효과가 달성되는 질환은 전립선암, 갑상선암, 위암, 대장암, 폐암, 유방암, 간암, 췌장암, 고환암, 구강암, 기저세포암, 뇌종양, 담낭암, 담도암, 후두암, 망막세포종, 바터펍대부암, 방광암, 복막암, 부신암, 비소세포폐암, 설암, 소세포폐암, 소장암, 수막종, 식도암, 신우요관암, 신장암, 악성골종양, 악성연부조직종양, 악성피프종, 악성흑색종, 안종양, 요도암, 위암, 육종, 인두암, 자궁경부암, 자궁내막암, 자궁육종, 전이성뇌종양, 직장암, 질암, 척수종양, 침샘암, 편도암, 편평상피세포암 및 항문암으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.

[0033] 또한, 상기한 다른 목적을 달성하기 위한 본 발명의 항암용 정제는 상기 약학 조성물을 포함할 수 있다.

[0034] 또한, 상기한 또 다른 목적을 달성하기 위한 본 발명의 항암용 캡슐제는 상기 약학 조성물을 포함할 수 있다.

[0035] 또한, 상기한 또 다른 목적을 달성하기 위한 본 발명의 항암용 시럽제는 상기 약학 조성물을 포함할 수 있다.

[0036] 또한, 상기한 또 다른 목적을 달성하기 위한 본 발명의 ANO1(TMEMP16A) 활성억제제는 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물을 포함하는 ANO1(TMEMP16A) 활성억제제이며, 상기 활성억제제는 생체의(in vitro)에서 ANO1(TMEMP16A)의 발현을 억제할 수 있다.

[0037] 또한, 상기한 또 다른 목적을 달성하기 위한 본 발명의 ANO1(TMEMP16A)의 발현을 억제하는 방법은 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물을 포함하는 물질을 처리하여 생체의(in vitro)에서 ANO1(TMEMP16A)의 발현을 억제하는 단계를 포함할 수 있다.

발명의 효과

[0038] 본 발명의 항암용 약학 조성물은 ANO2 보다 현재 가장 강력하고 선택적으로 ANO1(TMEMP16A) 활성을 억제시킬 수 있으며, 용량 의존적으로 PC-3 세포의 증식을 억제할 수 있을 뿐만 아니라 종래 Ani9에 비해 ANO1 단백질을 감소시키는 효력이 매우 우수하고 혈장 안정성이 우수하다.

[0039] 상기 ANO1(TMEMP16A)은 암세포 또는 종양에 존재하는 CaCC의 일종이며, 이러한 ANO1(TMEMP16A)의 발현을 억제하는 경우 항암작용이 있는 것으로 알려져 있다. 그러므로 본 발명에 따른 항암용 약학 조성물은 ANO1(TMEMP16A)의 활성을 억제하는 효과가 있는 화합물을 포함하여 항암효과를 달성하게 되는 것이다. 또한 ANO1(TMEMP16A)의 발현을 억제하는 화합물을 이용하여 ANO1(TMEMP16A) 활성억제제를 제공하게 된다.

도면의 간단한 설명

[0040] 도 1A는 ANO1을 발현하는 FRT 세포의 침단막 전류 측정 그래프이며, 도 1B는 ANO2를 발현하는 FRT 세포의 침단막 전류 측정 그래프이고, 도 1C는 [화학식 5] 화합물의 농도에 따른 저해 활성을 나타낸 그래프이며, 도 1D는 인간 WT-CFTR 세포를 발현하는 FRT 세포에서 측정된 침단막 전류 그래프이다(CFTR은 20 μ M forskolin에 의해 활성화되었고 [화학식 5] 화합물의 지시 농도가 적용되었다. CFTR은 10 μ M CFTRinh-172에 의해 완전히 저해되었다).

도 2A 내지 2C는 Ani9, [화학식 5]의 화합물 및 [화학식 27]의 화합물의 농도에 따라 ANO1의 높거나 낮은 수준으로 발현하는 PC3 전립선암 세포의 세포생존을 측정한 그래프이다.

도 3A는 마우스의 혈장에서 Ani9와 [화학식 5] 화합물의 안정성을 나타낸 그래프이며, 도 3B는 높은 수준의 ANO1을 발현하는 PC-3 세포에서 ANO1의 웨스턴 블롯 및 ANO1의 단백질 발현량의 변화를 측정한 그래프이다.

도 4A는 Ani9, [화학식 5]의 화합물 및 [화학식 27]의 화합물의 농도에 따라 ANO1을 높게 발현하는 MCF7 유방암 세포에서 세포 생존력을 측정한 그래프이며, 도 4B는 Ani9, [화학식 5]의 화합물 및 [화학식 27]의 화합물의 농도에 따라 ANO1을 높게 발현하는 BxPC3 췌장암 세포에서 세포 생존력을 측정한 그래프이다.

도 5A는 높은 수준의 ANO1을 발현하는 PC-3 세포에서 Ani9, [화학식 10] 화합물 및 [화학식 17] 화합물에 대한 ANO1의 웨스턴 블롯이며, 도 5B는 ANO1을 내재적으로 높게 발현하는 PC3 세포에 Ani9 (10 μ M), [화학식 10] 화합물 (10 μ M), [화학식 17] 화합물(10 μ M)을 처리하고 Western blot 기법을 이용하여 ANO1의 단백질 발현량의 변화를 측정한 그래프이다.

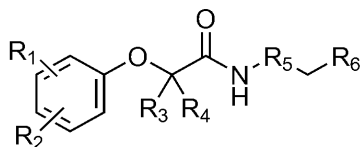
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0041] 본 발명은 ANO1(TMEMP16A)의 발현을 억제하는 효과가 있는 신규한 항암용 약학 조성물에 관한 것이다.

[0042] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

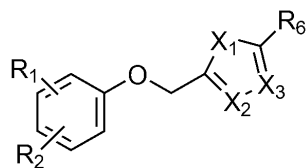
[0043] 본 발명의 신규한 항암용 약학 조성물은 하기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물 또는 약학적으로 허용 가능한 그의 염을 유효성분으로 포함한다.

[0044] [화학식 1]



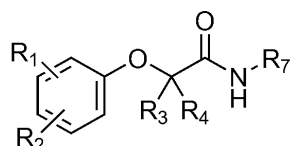
[0045]

[0046] [화학식 2]



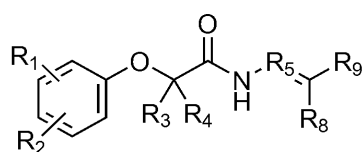
[0047]

[0048] [화학식 3]



[0049]

[0050] [화학식 4]



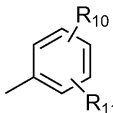
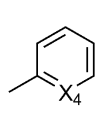
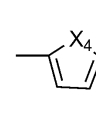
[0051]

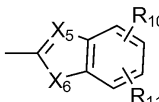
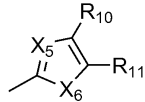
[0052] 상기 화학식 1 내지 4에서,

[0053] 상기 R₁ 및 R₂는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택되고;

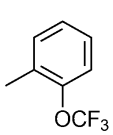
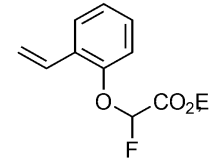
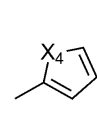
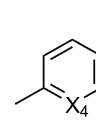
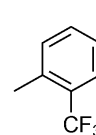
[0054] 상기 R₃ 및 R₄는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택되며;

[0055] 상기 R₅는 C, N, S 및 O 중에서 선택되고;

[0056] 상기 R₆는 , ,  중에서 선택되며;

[0057] 상기 R₇은 ,  중에서 선택되고;

[0058] 상기 R₈은 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택되며;

[0059] 상기 R₉는 , , , ,  중에서 선택되고;

[0060] 상기 R₁₀ 및 R₁₁은 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬, 카르보닐 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택되며;

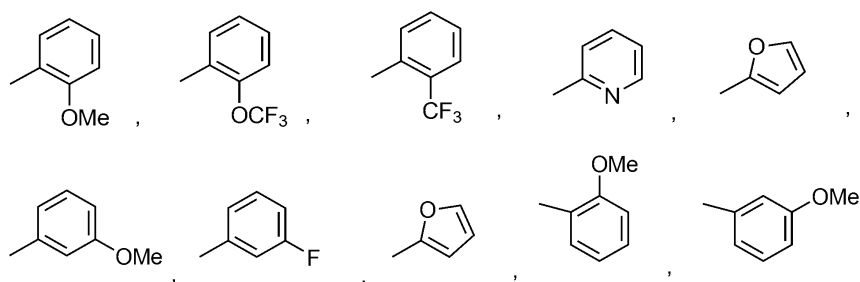
[0061] 상기 X₁ 내지 X₃는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 C, N, O 및 S 중에서 선택되고;

[0062] 상기 X₄는 C, N, O 및 S 중에서 선택되며;

[0063] 상기 X_5 내지 X_6 은 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠, C1-C6의 알킬, 카르보닐 및 C1-C6의 알콕시 중에서 선택된다.

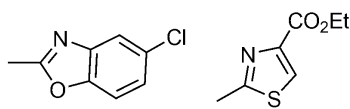
[0064] 이때, 상기 C1-C6의 알킬은 메틸, 에틸, 이소프로필, 프로필, 부틸, 이소부틸, t-부틸, 펜틸 및 헥실로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있으며; 상기 C1-C6의 알콕시는 메톡시, 에톡시, 이소프로폭시, 프로폭시, 부톡시, 이소부톡시, t-부톡시, 펜톡시 및 헥톡시로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있고; 상기 할로젠은 플루오르, 염소, 브롬, 요오드 및 아시타틴으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[0065] 구체적으로, 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물에서 R_6 는



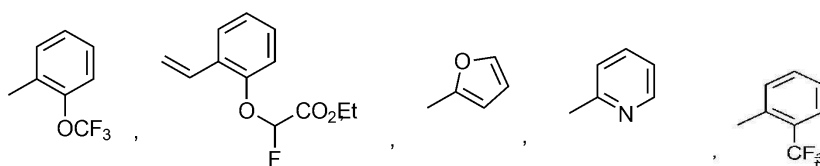
로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나일 수 있으며;

[0066] 상기 R_7 은



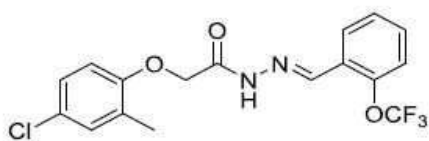
로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나일 수 있고;

[0067] 상기 R_9 는



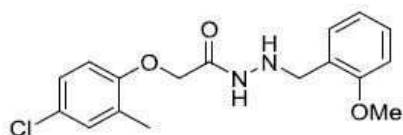
[0068] 또한, 상술한 바와 같은 구조를 갖는 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물에 대한 구체적인 예에 의해서 본 발명이 제한되는 것은 아니지만, 구체적으로 하기 [화학식 5] 내지 [화학식 18]로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[0069] [화학식 5]



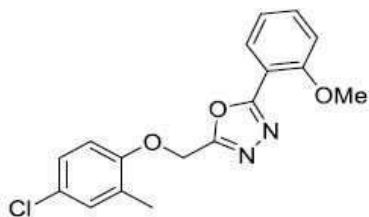
[0070]

[0071] [화학식 6]



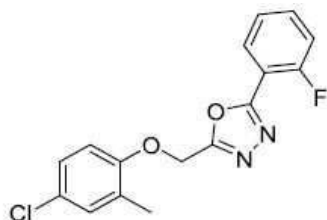
[0072]

[0073] [화학식 7]



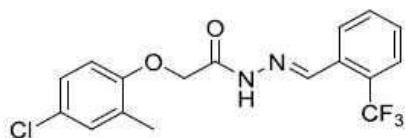
[0074]

[0075] [화학식 8]



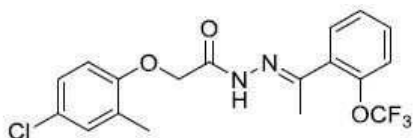
[0076]

[0077] [화학식 9]



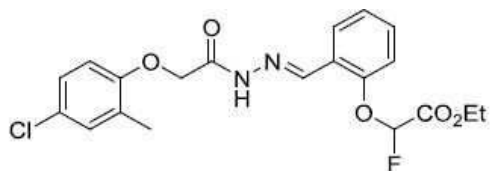
[0078]

[0079] [화학식 10]



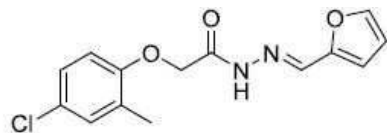
[0080]

[0081] [화학식 11]



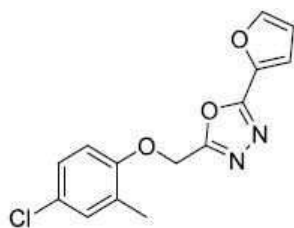
[0082]

[0083] [화학식 12]



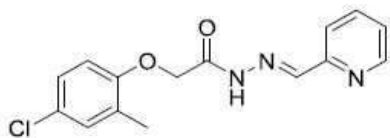
[0084]

[0085] [화학식 13]



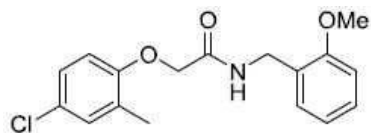
[0086]

[0087] [화학식 14]



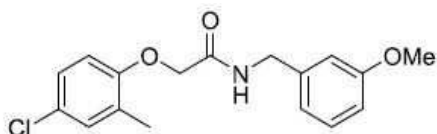
[0088]

[0089] [화학식 15]



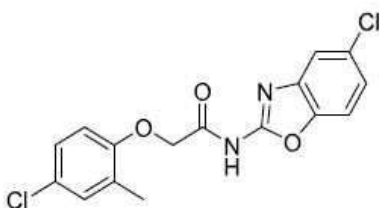
[0090]

[0091] [화학식 16]



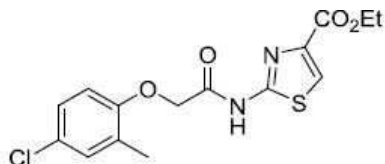
[0092]

[0093] [화학식 17]



[0094]

[0095] [화학식 18]



[0096]

[0097] 본 발명의 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물의 IC_{50} [uM]은 0.01-65, 바람직하게는 0.01-0.08이다.

[0098] 한편, 상기 약학 조성물은 특별한 제한이 있는 것은 아니지만, 바람직하게는 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물에 대하여 약학적으로 허용 가능한 염을 포함할 수 있다. 상기 약학적으로 허용 가능한 염의 일실시예로서 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물의 용해도를 증가시키기 위한 것이라면 모두 이에 해당할 수 있고, 바람직한 일실시예에 산부가염이 해당될 수도 있다.

[0099] 한편, 상기 약학적으로 허용 가능한 염은 인체에 독성이 낮고 모화합물의 생물학적 활성과 물리화학적 성질에 악영향을 주지 않아야 한다. 또한 상기 약학적으로 허용 가능한 염의 제조에 사용될 수 있는 유리산은 무기산과 유기산으로 나눌 수 있다. 무기산은 염산, 황산, 질산, 인산, 과염소산, 브롬산 등이 사용될 수 있다. 유기산은 초산, 메탄설폰산, 에탄설폰산, p-톨루엔설폰산, 푸마린산, 말레산, 말론산, 프탈산, 숙신산, 젖산, 구연산, 시트르산, 글루콘산, 타타르산, 살리실산, 말산, 옥살산, 벤조산, 엠본산, 아스파르트산, 글루탐산 등이 사용될 수 있다. 유기염기부가염 제조에 사용될 수 있는 유기염기는 트리스(히드록시메틸)메틸아민, 디시클로헥실아민 등이다. 아미노산부가염 제조에 사용될 수 있는 아미노산은 알라닌, 글라이신 등의 천연아미노산이다. 또한 본 발명에 따른 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물은 약학적으로 허용 가능한 염뿐만 아니라 모든 수화물 그리고 용매화물도 포함할 수 있다. 상기 수화물 또는 용매화물은 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물을 메탄올, 에탄올, 아세톤, 1,4-디옥

산과 같은 물과 섞일 수 있는 용매에 녹인 다음에 유리산 또는 유리염기를 가한 후에 결정화되거나 또는 재결정화될 수 있다. 그러한 경우, 용매화물(특히 수화물)이 형성될 수 있다. 따라서, 본 발명의 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물을 가지고 동결건조와 같은 방법으로 제조 가능한 다양한 양의 물 함유 화합물 이외에 수화물을 비롯한 화학 양론적 용매화물도 포함할 수 있다.

[0100] 또한, 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물 또는 약학적으로 허용 가능한 그의 염은, 특별한 제한이 있는 것은 아니지만 바람직하게는 전체 조성물 100 중량부에 대하여 1-80 중량부로 포함되는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 20-60 중량부로 포함되는 것이 바람직하다. 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물 또는 약학적으로 허용 가능한 그의 염이 1 중량부 미만으로 포함되는 경우에는 본 발명에서 달성하려는 항암력을 충분히 발현시키기 어려워 바람직하지 않으며, 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물 또는 약학적으로 허용 가능한 그의 염이 80 중량부를 초과하는 경우에는 약학적인 응용 제품으로 제조하기 위한 나머지 물질들의 함량을 제한할 수 있어 바람직하지 않다.

[0101] 한편, 상기 항암용 약학 조성물의 투여 방법은 특별한 제한이 있는 것은 아니지만, 바람직하게는 동맥 또는 정맥 내로 투입하거나, 피하로, 직장으로, 비강으로, 임의의 다른 비경구로도 투입될 수 있으며, 더욱 바람직하게는 동맥 또는 정맥 내로 투입하거나 경구 투여하거나 또는 근육 세포에 직접 투입하는 것이 바람직하다.

[0102] 또한 상기 조성물로부터 선택되는 투여 수준은 화합물의 활성, 투여 경로, 치료되는 병태의 중증도 및 치료되는 환자의 병태 및 이전 병력에 따를 것이다. 그러나 원하는 치료 효과의 달성을 위해 요구되는 것보다 낮은 수준의 화합물의 용량에서 시작하여, 원하는 효과가 달성될 때까지 투여량을 서서히 증가시키는 것은 당업계의 지식 내에 있으며, 바람직한 투여량은 나이, 성별, 체형, 체중에 따라 결정될 수 있다. 상기 조성물은 약제학상 허용 가능한 제약 제제로 제제화되기 전에 추가로 가공될 수 있으며, 바람직하게는 더 작은 입자들로 분쇄 또는 연마될 수 있다. 또한 상기 조성물은 병태 및 치료되는 환자에 따라 달라질 것이지만, 이는 비-독창적으로 결정할 수 있다.

[0103] 또한 상기 약학 조성물에 의해 항암효과가 달성되는 질환은 암세포 또는 종양세포에 존재하는 ANO1(TMEN16A)의 발현을 억제하여 항암효과를 달성하는 질환이라면 제한이 없이 모두 포함될 수 있는 것이지만, 바람직하게는 전립선암, 갑상선암, 위암, 대장암, 폐암, 유방암, 간암, 췌장암, 고환암, 구강암, 기저세포암, 뇌종양, 담낭암, 담도암, 후두암, 망막세포종, 바터팬대부암, 방광암, 복막암, 부신암, 비소세포폐암, 설암, 소세포폐암, 소장암, 수막종, 식도암, 신우요관암, 신장암, 악성골종양, 악성연부조직종양, 악성핀프종, 악성흑색종, 안종양, 요도암, 위암, 육종, 인두암, 자궁경부암, 자궁내막암, 자궁육종, 전이성뇌종양, 직장암, 질암, 척수종양, 침샘암, 편도암, 편평상피세포암 및 항문암으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 질환에 대하여 항암효과를 달성할 수 있다.

[0104] 한편, 본 발명에 따른 상기 약학 조성물은 정제, 캡슐제 및 시럽제에 첨가되어 사용될 수 있다.

[0105] 상기 정제는 제조방법에 있어서 특별한 제한이 있는 것은 아니며, 바람직한 일실시예로서 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물 또는 약학적으로 허용 가능한 그의 염을 포함하는 약학 조성물을 체질하고, 락토오스, 전분 및 젤라틴화 옥수수 전분과 혼합한 후에, 정제수를 첨가하여 분말로 과립화하고, 상기 과립을 건조시킨 후에 스테아르산 마그네슘과 혼합하고 압착하여 제조되며, 이때, 정제의 바람직한 성분 및 함량은 본 발명에 따른 상기 약학 조성물 5.0 mg, 락토오스 BP 150.0 mg, 전분 BP 30.0 mg, 젤라틴화 옥수수 전분 BP 15.0 mg 및 스테아르산 마그네슘 1.0 mg이다.

[0106] 또한 상기 캡슐제는 제조방법에 있어서 특별한 제한이 있는 것은 아니며, 바람직한 일실시예로서 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물 또는 약학적으로 허용 가능한 그의 염을 포함하는 약학 조성물을 체질한 다음 부형제와 혼합한 후에 젤라틴 캡슐에 충전하여 제조되는데, 이때, 캡슐제의 바람직한 성분 및 함량은 본 발명에 따른 상기 약학 조성물 5.0 mg, 전분 100.0 mg 및 스테아르산마그네슘 BP 1.0 mg이다.

[0107] 또한 시럽제는 제조방법에 있어서 특별한 제한이 있는 것은 아니며, 바람직한 일실시예로서 정제수 500 ml에 백당을 용해시키고, 별도의 용기에 카르복시메틸셀룰로오스나트륨을 정제수 400 ml에 용해시킨 후에, 상기 백당이 용해된 정제수와 메틸셀룰로오스나트륨이 용해된 정제수를 혼합하고, 메틸파라벤과 프로필파라벤을 첨가하여 용해시키고, 에탄올을 첨가한 후에 정제수를 전체 용액의 용량이 1,000 ml가 되도록 첨가하고, 여기에 상기 [화학

식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물 또는 약학적으로 허용 가능한 그의 염을 포함하는 약학 조성물을 현탁시켜 제조되는데, 이때, 상기 시럽제의 바람직한 성분 및 함량은 본 발명에 따른 상기 약학 조성물 5.0 g, 백당 637.5 g, 카르복시메틸셀룰로오스나트륨 2.0 g, 메틸파라벤 0.28 g, 프로필파라벤 0.12 g, 에탄올 20 mL, 정제수 잔량이다.

[0108]

또한, 본 발명은 ANO1(TMEMP16A) 활성억제제를 제공한다.

[0109]

본 발명의 ANO1(TMEMP16A) 활성억제제는 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물을 포함한다.

[0110]

상기 활성억제제는 생체외(in vitro)에서 ANO1(TMEMP16A)의 활성을 억제하는 것을 특징으로 하는 ANO1(TMEMP16A) 활성억제제이다.

[0111]

본 발명에 따른 상기 ANO1(TMEMP16A) 활성억제제는 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물을 포함하여 ANO1(TMEMP16A)의 활성을 억제하거나 감소시키게 된다. 결국, 이렇게 본 발명에 따른 ANO1(TMEMP16A) 활성억제제를 통해 ANO1(TMEMP16A)의 발현을 억제하거나 감소시키게 되며, 이를 생체내(in vivo)에 적용하는 경우 항암효과를 달성할 수 있다. 다만, 본 발명자들은 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물의 ANO1(TMEMP16A) 활성억제 효과에도 주목하여, 의약발명 이외에 생체외(in vitro) 상에서 ANO1(TMEMP16A)의 활성억제 효과에 대하여도 특허법 제2조 제1호에 따른 '발명'으로 보호받고자, 본 발명에 따른 상기 ANO1(TMEMP16A) 활성억제제에 관한 발명을 청구하는 것이다.

[0112]

이렇게 ANO1(TMEMP16A)의 발현을 억제하거나 감소시킬 수 있음은 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물로 인해 가능하게 된다.

[0113]

또한, 본 발명은 ANO1(TMEMP16A)의 발현을 억제하는 방법을 제공한다.

[0114]

본 발명의 ANO1(TMEMP16A)의 발현을 억제하는 방법은 1) 상기 [화학식 1] 내지 [화학식 4]로 표시되는 군에서 선택된 1종 이상의 화합물을 포함하는 물질을 처리하여 생체외에서 ANO1(TMEMP16A)의 발현을 억제하는 단계를 포함한다.

[0115]

이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시하나, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범주 및 기술사상 범위 내에서 다양한 변경 및 수정이 가능함은 당업자에게 있어서 명백한 것이며, 이러한 변형 및 수정이 첨부된 특허청구범위에 속하는 것도 당연한 것이다.

[0116]

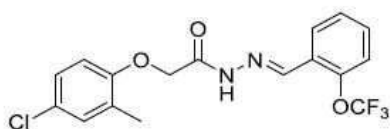
<실시예>

[0117]

합성예 1. [화학식 5]로 표시되는 화합물

[0118]

[화학식 5]



[0119]

EtOH(2.5 mL)에 2-(4-클로로-2-메틸페녹시)아세트하이드라자이드(100 mg, 0.47 mmol) 및 2-(트리플루오로메톡시)벤즈알데히드(79 μ L, 1.2 당량)를 첨가하여 80 $^{\circ}$ C에서 16시간 동안 교반시킨 후 침전된 생성물을 여과하여 수집하고 건조시켜 [화학식 5]로 표시되는 백색 고체를 수득하였다.

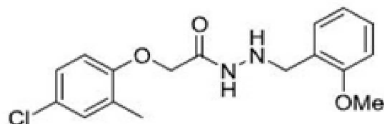
[0121]

White solid, mp: 157.2-158.0 $^{\circ}$ C; 1 H NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.83 (s, 1H, isomer b), 11.76 (s, 1H, isomer a), 8.57 (s, 1H, isomer b), 8.27 (s, 1H, isomer a), 8.06 (d, J = 7.6 Hz, 1H, isomer a), 8.02 (d, J = 8.0 Hz, 1H, isomer b), 7.62-6.54 (m, 3H, isomer b), 7.52-7.43 (m, 3H, isomer a), 7.28-7.12 (m, 3H, isomer a), 6.92-6.84 (m, 3H, isomer b), 5.2 (s, 2H, isomer a), 4.71 (s, 2H, isomer b), 2.24 (s, 3H, isomer b), 2.21 (s, 3H, isomer a); 13 C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 169.0, 155.2, 140.8, 137.2,

131.6, 130.1, 129.9, 128.4, 128.1, 128.0, 127.0, 126.9, 126.6, 126.4, 126.2, 124.0, 121.8, 113.1, 67.0, 65.3, 15.9; HRMS (ESI-QTOF) m/z [M+H]⁺ calcd for C₁₇H₁₅ClF₃N₂O₃ 387.0718, found 387.0719.

[0122] **합성예 2. [화학식 6]으로 표시되는 화합물**

[0123] [화학식 6]



[0124]

[0125] 0 °C에서 TFA(1 mL)에 Ani9(20 mg, 0.06 mmol, 대한민국 등록특허 제1719541호)이 첨가된 용액에 Et₃SiH(19.2 μ L, 2 당량)를 첨가하여 동일한 온도에서 1 시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 15% aq. HCl(1 mL)로 희석하고 헥산(1 mL)으로 세척하였다. 그 다음, 수성층을 KOH 펠릿으로 조심스럽게 염기성화시키고 CH₂Cl₂ (1 mLX2)로 추출하였다. 유기층을 MgSO₄로 건조시키고 감압하에 농축시켜 조잔류 물을 수득하고, 이를 실리카겔 컬럼크로마토그래피(헥산:에틸아세테이트:디클로로 메탄=10:1:2의 부피비)에 의해 정제하여 백색 고체인 [화학식 6]의 화합물을 수득 하였다.

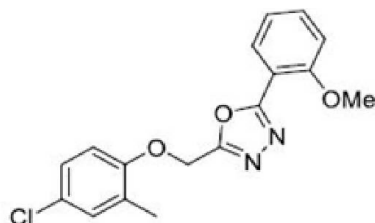
[0126] White solid, mp: 98.2-100.6 °C; ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 7.73 (br s,

[0127] 1H), 7.29 (t, J = 7.0 Hz, 1H), 7.18 (dd, J = 1.2, 7.6 Hz, 1H), 7.14-7.09 (m, 2H), 6.93-6.87 (m, 2H), 6.56 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.04 (s, 1H), 4.50 (s, 1H

[0128] 2H), 4.04 (s, 2H), 3.86 (s, 3H), 2.11 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 166.8, 158.1, 154.0, 131.0, 130.9, 129.5, 128.5, 126.9, 126.8, 125.1, 120.6, 112.5, 110.6, 67.5, 55.6, 51.7, 16.3; HRMS (ESI-QTOF) m/z [M+H]⁺ calcd for C₁₇H₂₀ClN₂O₃ 335.1157, found 335.1154.

[0129] **합성예 3. [화학식 7]로 표시되는 화합물**

[0130] [화학식 7]



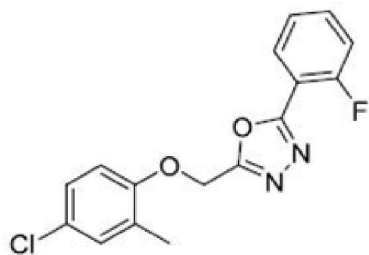
[0131]

[0132] CH₂Cl₂(1 mL)에 Ani9(30 mg, 0.090 mmol, 대한민국 등록특허 제1719541호)이 첨가된 용액에 요오드벤젠디아세테이트(32 mg, 1.1 eq.)를 실온에서 첨가한 후 실온에서 6시간 동안 교반한 다음 반응 혼합물을 진공하에 농축시켜 조잔류물을 수득하고, 이를 실리카겔 컬럼크로마토그래피(헥산:에틸아세테이트:디클로로메탄=20:1:2 내지 10:1:2의 부피비)로 정제하여 백색 고체인 [화학식 7]의 화합물을 수득하였다.

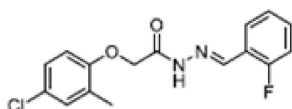
[0133] White solid, mp: 104.8-105.9 °C; ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 7.93 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.52 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.16-7.04 (m, 4H), 6.95 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 5.231 (s, 2H), 3.95 (s, 3H), 2.23 (s, 3H); ¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ 164.7, 162.0, 158.1, 154.6, 133.6, 131.0, 129.5, 126.8, 126.7, 120.9, 113.2, 112.7, 112.1, 60.7, 56.1, 16.3; HRMS (ESI-QTOF) m/z [M+Na]⁺ calcd for C₁₇H₁₅ClN₂NaO₃ 355.0820, found 355.0822.

[0134] **합성예 4. [화학식 8]로 표시되는 화합물**

[0135] [화학식 8]



[0136]

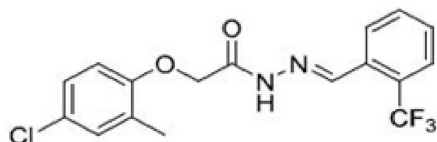


[0137] CH₂Cl₂(1 mL)에 (30 mg, 0.094 mmol)이 첨가된 용액에 요오드벤젠디아세테이트(33 mg, 1.1 eq.)를 실온에서 첨가한 후 실온에서 16시간 동안 교반한 다음 반응 혼합물을 진공하에 농축시켜 조잔류물을 수득하고, 이를 실리카겔 컬럼크로마토그래피(헥산:에틸아세테이트=20:1:2의 부피비)로 정제하여 백색 고체인 [화학식 8]의 화합물을 수득하였다.

[0138] White solid, mp: 96.8-98.7 °C; ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 8.08 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.60-7.53 (m, 1H), 7.31 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.26 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.16-7.11 (m, 2H), 6.94 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 5.34 (s, 2H), 2.24 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 162.7, 161.5, 158.9, 154.5, 134.1, 134.0, 131.1, 130.0, 129.99, 129.6, 127.0, 126.7, 124.9, 124.86, 117.3, 117.1, 113.1, 60.5, 16.2; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₆H₁₃ClF₂N₂O₂ 319.0644, found 319.0641.

[0139] **합성예 5. [화학식 9]로 표시되는 화합물**

[0140] [화학식 9]



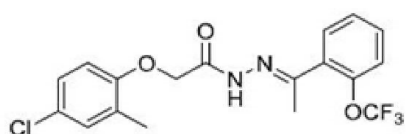
[0141]

[0142] EtOH(2.5 mL)에 2-(4-클로로-2-메틸페녹시)아세트하이드라자이드(100 mg, 0.47 mmol) 및 2-(트리플루오로메틸)벤즈알데히드(74 μL, 1.2 당량)를 첨가한 혼합물을 80 °C에서 12시간 동안 교반한 후 침전된 생성물을 여과 수집하고 건조시켜 백색 고체인 [화학식 9]의 화합물을 수득하였다.

[0143] White solid, mp: 158.2-160.0 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.95 (s, 1H, isomer b), 11.87 (s, 1H, isomer a), 8.66 (s, 1H, isomer b), 8.36 (s, 1H, isomer a), 8.22 (d, *J* = 8 Hz, 1H, isomer a), 8.17 (d, *J* = 8 Hz, 1H, isomer b), 7.83-7.7 (m, 3H, isomer a), 7.67-7.58 (m, 3H, isomer b), 7.27-7.12 (m, 3H, isomer a), 6.93-6.86 (m, 3H, isomer b), 5.23 (s, 2H, isomer a), 4.72 (s, 2H, isomer b), 2.24 (s, 3H, isomer b), 2.21 (s, 3H, isomer a); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 169.2, 164.6, 155.2, 155.0, 139.0, 132.8, 131.8, 130.1, 130.0, 129.9, 128.4, 127.1, 126.9, 126.4, 126.2, 125.9, 124.0, 113.3, 113.1, 67.0, 65.3, 15.9; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₇H₁₅ClF₃N₂O₂ 371.0769, found 371.0765.

[0144] **합성예 6. [화학식 10]으로 표시되는 화합물**

[0145] [화학식 10]



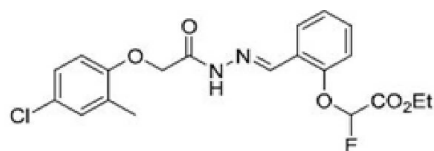
[0146]

[0147] EtOH(2.5 mL)에 2-(4-클로로-2-메틸페녹시)아세트하이드라자이드(100 mg, 0.47 mmol) 및 1-(2-(트리플루오로메톡시)페닐)에탄-1-온(45 μ L, 1.2 당량)을 첨가한 혼합물을 80 $^{\circ}$ C에서 12시간 동안 교반한 후 침전된 생성물을 여과 수집하고 5시간 동안 건조시켜 백색 고체인 [화학식 10]의 화합물을 수득하였다.

[0148] White solid, mp: 119.2-121.0 $^{\circ}$ C; 1 H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.56 (s, 1H, isomer a), 9.35 (s, 1H, isomer b), 7.67 (d, J = 7.6 Hz, 1H, isomer a), 7.48 (d, J = 7.6 Hz, 1H, isomer b), 7.52-7.4 (m, 3H, isomer b), 7.37-7.28 (m, 3H, isomer a), 7.23-7.15 (m, 2H, isomer a), 7.12 (s, 1H, isomer b), 7.05 (dd, J = 2.0, 8.6 Hz, 1H, isomer b), 5.09 (s, 2H, isomer b), 4.69 (s, 2H, isomer a), 2.34 (s, 3H, isomer a), 2.32-2.26 (m, 3H, isomer a, b), 2.21 (s, 3H, isomer b); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 170.4, 163.7, 155.1, 153.5, 152.4, 147.8, 146.9, 146.7, 131.0, 130.8, 130.8, 130.6, 130.5, 130.0, 127.1, 127.0, 127.96, 126.2, 1120.5, 112.6, 112.4, 67.4, 66.1, 16.4, 16.3, 16.2, 16.16; HRMS (ESI-QTOF) m/z [M+H]⁺ calcd for $C_{18}H_{17}ClFNO_3$ 401.0874, found 401.0873.

[0149] **합성예 7. [화학식 11]로 표시되는 화합물**

[0150] [화학식 11]



[0151]

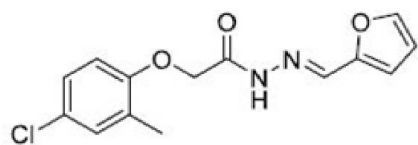
[0152] 2-(4-클로로-2-메틸페녹시)아세트하이드라지드(100 mg, 0.47 mmol), 에틸 2-플루오로-2-(2-포르밀페녹시)아세테이트(126 mg, 1.2 eq.) 및 AcOH(0.25 mL, 용매 10 부피%)의 혼합물을 80 $^{\circ}$ C에서 12시간 동안 교반하여 침전된 생성물을 여과 수집하고 건조시켜 백색 고체인 [화학식 11]의 화합물을 수득하였다.

[0153] 상기 에틸 2-플루오로-2-(2-포르밀페녹시)아세테이트는 아세톤(6 mL)에 2-히드록시벤즈알데히드(200 mg, 1.64 mmol) 및 에틸 2-브로모-2-플루오로아세테이트 (230 μ L, 1.2 당량)를 첨가한 혼합물에 K_2CO_3 (679 mg, 3 당량)을 첨가하여 실온에서 3시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 진공에서 농축시켜 조잔류물을 수득한 다음, 유기 혼합물인 CH_2Cl_2 및 H_2O 로 추출하였다. 상기 유기층을 $MgSO_4$ 상에서 건조시키고 진공 농축시킨 후 잔류물을 실리카겔 컬럼크로마토그래피(헥산:에틸아세테이트:디클로로메탄 = 20:1:2의 부피비)로 정제하여 무색의 오일인 에틸 2-플루오로-2-(2-포르밀페녹시)아세테이트를 수득하였다.

[0154] White solid, mp: 100.3-101.5 $^{\circ}$ C; 1 H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.50 (s, 1H, isomer a), 9.03 (s, 1H, isomer b), 8.51 (s, 1H, isomer a), 8.20-8.15 (m, 1H, isomer a, b), 7.91 (d, J = 7.2 Hz, isomer b), 7.47-7.40 (m, 1H, isomer a, b), 7.25-7.12 (m, 4H for isomer a, 3H for isomer b), 7.07 (dd, J = 8.4 Hz, 1H, isomer b), 6.77 (d, J = 8.4 Hz, 1H, isomer a), 6.71 (d, J = 8.8 Hz, 1H, isomer b), 6.05-5.86 (m, 1H, isomer a, b), 5.13 (s, 2H, isomer b), 4.66 (s, 2H, isomer a), 4.41-4.32 (m, 2H, isomer a, b), 2.33 (s, 3H, isomer a), 2.30 (s, 3H, isomer b), 1.40-1.32 (m, 3H, isomer a, b); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 169.4, 164.1, 163.8, 155.1, 154.4, 153.9, 144.0, 139.5, 132.3, 132.0, 131.0, 130.7, 127.6, 127.0, 126.2, 125.0, 116.9, 116.7, 113.1, 112.7, 103.9, 103.8, 101.6, 101.56, 67.8, 66.2, 62.9, 62.8, 16.3, 16.2, 14.0, 13.99; HRMS (ESI-QTOF) m/z [M+Na]⁺ calcd for $C_{20}H_{20}ClFNO_5$ 445.0937, found 445.0936.

[0155] **합성예 8. [화학식 12]로 표시되는 화합물**

[0156] [화학식 12]



[0157]

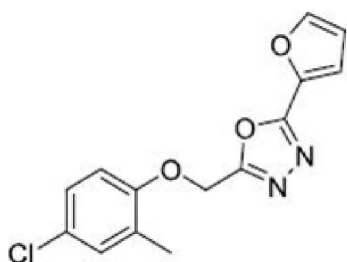
[0158] EtOH(2.5 mL)에 2-(4-클로로-2-메틸페녹시)아세트하이드라자이드 (100 mg, 0.47 mmol) 및 푸란-2-카르브알데히

트(46 μ L, 1.2 당량)를 혼합한 혼합물을 80 $^{\circ}$ C에서 18시간 동안 교반한 후 침전된 생성물을 여과 수집하고 건조시켜 백색 고체인 [화학식 12]의 화합물을 수득하였다.

[0159] White solid, mp: 140.5–143.7 $^{\circ}$ C; 1 H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6) δ 11.57 (s, 1H, isomer a), 11.48 (s, 1H, isomer b), 8.18 (s, 1H, isomer b), 7.89 (s, 1H, isomer a), 7.86–7.81 (m, 1H, isomer a, b), 7.27–7.11 (m, 2H, isomer a, b), 6.93–6.90 (m, 1H, isomer a, b), 6.88 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, isomer b), 6.8 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, isomer a), 6.65–6.61 (m, 1H, isomer a, b), 5.09 (s, 2H, isomer a), 4.67 (s, 2H, isomer b), 2.23 (s, 3H, isomer b), 2.20 (s, 3H, isomer a); 13 C NMR (100 MHz, DMSO-*d*6) δ 168.6, 164.1, 155.2, 154.9, 149.1, 149.0, 145.4, 145.1, 137.7, 134.0, 130.1, 129.9, 128.8, 128.4, 126.4, 126.3, 124.6, 124.0, 114.0, 113.8, 113.2, 113.0, 112.2, 112.19, 67.0, 65.0, 15.9; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₄H₁₄ClN₂O₃ 293.0687, found 293.0687.

[0160] **합성예 9. [화학식 13]으로 표시되는 화합물**

[0161] [화학식 13]



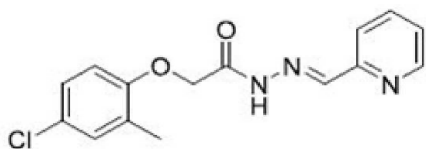
[0162]

[0163] CH₂Cl₂(1 mL)에 [화학식 12]의 화합물(30 mg, 0.102 mmol)이 첨가된 용액에 요오드벤젠디아세트이트(36 mg, 1.1 eq.)를 실온에서 첨가한 후 실온에서 16시간 동안 교반한 다음 반응 혼합물을 진공하에 농축시켜 조잔류물을 수득하고, 이를 실리카겔 컬럼크로마토그래피(헥산:에틸아세트이트:디클로로메탄 = 20:1:2의 부피비)로 정제하여 백색 고체인 [화학식 13]의 화합물을 수득하였다.

[0164] White solid, mp: 110.6–112.3 $^{\circ}$ C; 1 H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.66 (s, 1H), 7.21 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 7.16–7.10 (m, 2H), 6.92 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.62 (dd, *J* = 3.2 Hz, 1H), 5.30 (s, 2H), 2.23 (s, 3H); 13 C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 161.6, 158.7, 154.4, 146.2, 139.1, 131.1, 129.5, 127.0, 126.7, 115.0, 113.0, 112.4, 60.3, 16.2; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₄H₁₂ClN₃O₂ 291.0531, found 291.0530.

[0165] **합성예 10. [화학식 14]로 표시되는 화합물**

[0166] [화학식 14]



[0167]

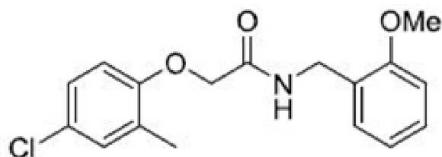
[0168] EtOH(2.5 mL)에 2-(4-클로로-2-메틸페녹시)아세트하이드라자이드(100 mg, 0.47 mmol) 및 피콜린데히드(53 μ L, 1.2 당량)를 첨가한 혼합물을 80 $^{\circ}$ C에서 12 시간 동안 교반하여 침전된 생성물을 여과 수집하고 건조시켜 백색 고체인 [화학식 14]의 화합물을 수득하였다.

[0169] White solid, mp: 179.8–180.2 $^{\circ}$ C; 1 H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6) δ 11.81 (s, 1H, isomer a, b), 8.61 (s, 1H, isomer a, b), 8.31 (s, 1H, isomer b), 8.04 (s, 1H, isomer a), 8.02–7.80 (m, 2H, isomer a, b), 7.41 (s, 1H, isomer a, b), 7.28–7.10 (m, 2H, isomer a, b), 6.95–6.64 (m, 1H, isomer a, b), 5.21 (s, 2H), 4.72 (s, 2H), 2.29–2.15 (m, 3H, isomer a, b); 13 C NMR (100 MHz, DMSO-*d*6) δ 169.1, 164.5, 155.2, 154.9, 152.8, 149.6, 149.5, 148.0, 144.3, 136.9, 136.8, 130.1, 129.9, 128.8, 128.4, 126.4, 126.3, 124.6, 124.4, 124.0, 120.0, 119.8, 113.3, 113.1, 66.9, 65.2, 15.9; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for

C15H15ClN3O2 304.0847, found 304.0843.

[0170] 합성예 11. [화학식 15]로 표시되는 화합물

[0171] [화학식 15]



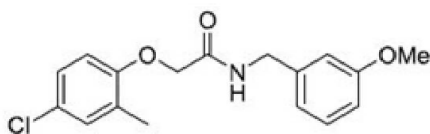
[0172]

[0173] CH₂Cl₂(1 mL)에 2-(4-클로로-2-메틸페녹시)아세트산(53 mg, 0.26 mmol)이 첨가된 용액에 2-메톡시벤질아민(42 μ L, 1.2 eq.), EDC-HCl(78 mg, 1.5 당량), DMAP (2 mg, 0.05 당량) 및 Et₃N(76 μ L, 2 당량)을 0 °C에서 첨가한 후 40 °C에서 16시간 동안 교반한 다음 반응 혼합물을 CH₂Cl₂(2 mL)로 희석하고 15% HCl(1 mL)로 세척하였다. 수성층을 CH₂Cl₂(2 mL)로 한번 더 추출하고 유기층을 MgSO₄로 건조시키고 감압하에 농축시켜 조잔류물을 수득한 후 상기 농축물을 실리카겔 컬럼크로마토그래피(헥산:에틸아세테이트:디클로로메탄=20:1:2 내지 10:1:2의 부피비)로 정제하여 [화학식 15]의 화합물을 수득하였다.

[0174] White solid, mp: 91.6-93.5 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.31-7.24 (m, 2H), 7.20 (br s, 1H), 7.13 (s, 1H), 7.08 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.93 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 6.87 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.93 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 4.53 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 4.53 (s, 2H), 3.81 (s, 3H), 2.24 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 167.6, 157.7, 130.8, 129.8, 129.2, 128.2, 126.9, 126.5, 125.8, 120.9, 112.5, 110.3, 67.7, 55.3, 39.4, 16.2; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₇H₁₉ClN₃O₃ 320.1048, found 320.1045.

[0175] 합성예 12. [화학식 16]으로 표시되는 화합물

[0176] [화학식 16]



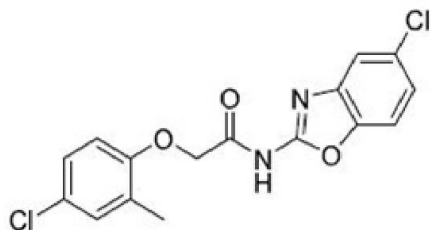
[0177]

[0178] CH₂Cl₂(1 mL)에 2-(4-클로로-2-메틸페녹시)아세트산(50 mg, 0.25 mmol)이 첨가된 용액에 3-메톡시벤질아민(38 μ L, 1.2 eq.), EDC-HCl(72 mg, 1.5 당량), DMAP(1.5 mg, 0.05 당량) 및 Et₃N(70 μ L, 2 당량)을 0 °C에서 첨가한 후 40 °C에서 16시간 동안 교반한 다음 반응 혼합물을 CH₂Cl₂(2 mL)로 희석하고 15% HCl(1 mL)로 세척하였다. 수성층을 CH₂Cl₂(2 mL)로 한번 더 추출하고 수득된 유기층을 MgSO₄로 건조시키고 감압하에 농축시켜 조잔류물을 수득하고, 이를 실리카겔 컬럼크로마토 그래피(헥산:에틸아세테이트:디클로로메탄 = 20:1:2 내지 10:1:2의 부피비)로 정제하여 백색 고체인 [화학식 16]의 화합물을 수득하였다.

[0179] Light yellow solid, mp: 95.8-96.5 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.26 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.16-7.10 (m, 2H), 6.88-6.78 (m, 4H), 6.70 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.55-4.51 (m, 4H), 3.78 (s, 3H), 2.20 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 168.1, 160.1, 154.1, 139.3, 131.0, 130.0, 128.5, 126.9, 119.8, 113.2, 113.2, 112.8, 68.0, 55.4, 43.1, 16.4; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₇H₁₇ClN₃O₃ 320.1048, found 320.1043.

[0180] 합성예 13. [화학식 17]로 표시되는 화합물

[0181] [화학식 17]



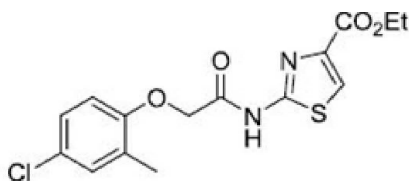
[0182]

[0183] CH₂Cl₂(1 mL)에 2-(4-클로로-2-메틸페녹시)아세트산(50 mg, 0.25 mmol)이 첨가된 용액에 0 °C에서 5-클로로벤조[d]옥사졸-2-아민(50 mg, 1.2 eq), EDC-HCl(72 mg, 1.5 당량), DMAP(1.5 mg, 0.05 당량) 및 Et₃N(70 μ l, 2 당량)을 첨가한 후 혼합물을 30 °C에서 16시간 동안 교반한 다음 반응 혼합물을 CH₂Cl₂(2 mL)로 희석하고 15% HCl(1 mL)로 세척하였다. 수성층을 CH₂Cl₂(2 mL)로 한번 더 추출하고 수득된 유기층을 MgSO₄로 건조시키고 감압하에 농축시켜 조잔류물을 수득하고, 이를 실리카겔 컬럼크로마토그래피(헥산:에틸아세테이트:디클로로메탄 = 20:1:2의 부피비)로 정제하여 백색 고체인 [화학식 17]의 화합물을 수득하였다.

[0184] White solid, mp: 165.5-168.2 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.28 (br s, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.42 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.27 (dd, *J* = 2.0, 8.4 Hz, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.16 (dd, *J* = 2.0, 8.4 Hz, 1H), 6.75 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 4.75 (s, 2H), 2.34 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 165.2, 154.5, 153.5, 146.7, 131.3, 130.6, 128.7, 127.6, 127.0, 124.6, 119.2, 113.1, 111.1, 68.1, 29.7, 16.4; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₆H₁₃Cl₂N₂O₃ 351.0298, found 351.0296.

[0185] **합성예 14. [화학식 18]로 표시되는 화합물**

[0186] [화학식 18]



[0187]

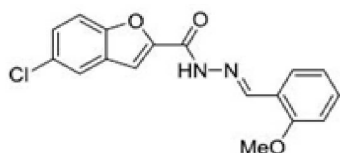
[0188] CH₂Cl₂(1 mL)에 2-(4-클로로-2-메틸페녹시)아세트산(50 mg, 0.25 mmol)이 첨가된 용액에 0 °C에서 4-(에톡시카보닐)티아졸-2-아미늄브로마이드(76 mg, 1.2 당량), EDC-HCl(72 mg, 1.5 당량), DMAP(1.5 mg, 0.05 당량) 및 Et₃N(70 μ l, 2 당량)을 첨가한 후 실온에서 16시간 동안 교반한 다음 반응 혼합물을 CH₂Cl₂(2 mL)로 희석하고 15% HCl(1 mL)로 세척하였다. 수성층을 CH₂Cl₂(2 mL)로 한번 더 추출하고 수득된 유기층을 MgSO₄로 건조시키고 감압하에 농축시켜 조잔류물을 수득하고, 이를 실리카겔 컬럼크로마토그래피(헥산:에틸아세테이트:디클로로메탄 = 10:1:2의 부피비)로 정제하여 백색 고체인 [화학식 18]의 화합물을 수득하였다.

[0189] White solid, mp: 154.0-155.0 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.79 (br s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.13 (dd, *J* = 2.4, 8.8 Hz, 1H), 6.72 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 4.73 (s, 2H), 4.41 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.31 (s, 3H), 1.4 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 166.9, 161.4, 156.6, 153.7, 142.1, 131.4, 129.1, 127.7, 127.0, 122.9, 113.2, 67.8, 61.7, 16.5, 14.5; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₁₅H₁₅ClN₂NaO₄S 377.0333, found 377.0331.

[0190] <비교예>

[0191] **비교합성예 1. [화학식 19]로 표시되는 화합물**

[0192] [화학식 19]

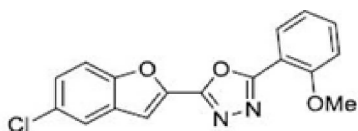


[0193]

[0194] White solid, mp: 193.0–196.0 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.22 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.88 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.77–7.70 (m, 2H), 7.51 (dd, *J* = 2.0, 8.8 Hz, 1H), 7.44 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.11 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.03 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 157.9, 154.2, 152.9, 149.3, 144.3, 131.9, 128.6, 128.2, 127.1, 125.6, 122.3, 122.1, 120.8, 113.6, 111.9, 110.1, 55.7; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₇H₁₄ClN₂O₃ 329.0687, found 329.0688.

[0195] 비교합성예 2. [화학식 20]으로 표시되는 화합물

[0196] [화학식 20]

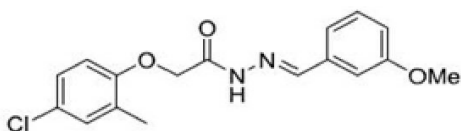


[0197]

[0198] Light yellow solid, mp: 156.4–159.0 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.04 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.60–7.49 (m, 3H), 7.40 (dd, *J* = 2.0, 8.8 Hz, 1H), 7.15–7.07 (m, 2H), 4.02 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 163.7, 158.2, 157.3, 154.1, 142.4, 133.7, 130.8, 129.8, 128.8, 127.4, 121.8, 121.0, 113.3, 112.4, 112.1, 109.3, 56.2; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₇H₁₂ClN₂O₃ 327.0531, found 327.0532.

[0199] 비교합성예 3. [화학식 21]로 표시되는 화합물

[0200] [화학식 21]

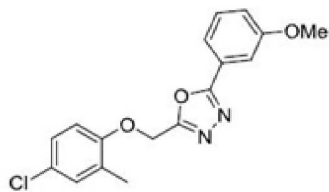


[0201]

[0202] White solid, mp: 188.2–190.5 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.64 (s, 1H, isomer a), 11.55 (s, 1H, isomer b), 8.26 (s, 1H, isomer b), 7.97 (s, 1H, isomer a), 7.45–7.1 (m, 4H, isomer a, b), 7.0 (s, 1H, isomer a, b), 6.95–6.75 (m, 1H, isomer a, b), 5.18 (s, 2H, isomer a) 4.69 (s, 2H, isomer b), 3.78 (s, 3H, isomer a, b), 2.30–2.13 (m, 3H, isomer a, b); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 169.0, 164.2, 159.5, 155.3, 154.9, 147.8, 143.7, 135.5, 135.4, 130.1, 130.0, 129.9, 128.8, 128.4, 126.4, 126.3, 124.5, 123.9, 120.1, 119.6, 116.4, 115.9, 113.2, 113.0, 111.5, 111.3, 66.9, 65.3, 55.2, 15.9; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₇H₁₈ClN₂O₃ 333.1000, found 333.1003.

[0203] 비교합성예 4. [화학식 22]로 표시되는 화합물

[0204] [화학식 22]

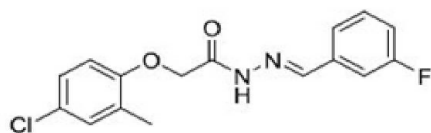


[0205]

[0206] Light yellow solid, mp: 86.0–86.1 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.64 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.59 (s, 1H) 7.42 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.17–7.07 (m, 3H), 6.94 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 5.31 (s, 2H), 3.88 (s, 3H), 2.24 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 165.9, 162.3, 160.1, 154.5, 131, 130.4, 129.5, 126.9, 126.7, 124.6, 119.6, 118.7, 113.1, 111.8, 60.6, 55.7, 16.2; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₇H₁₆ClN₂O₃ 331.0844, found 331.0845.

[0207] 비교합성예 5. [화학식 23]으로 표시되는 화합물

[0208] [화학식 23]

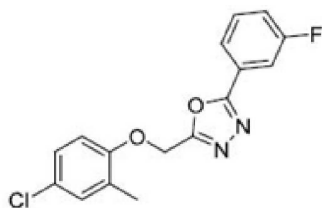


[0209]

[0210] White solid, mp: 200.3–201.8 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.7 (s, 1H, isomer a, b), 8.29 (s, 1H, isomer b) 8.0 (s, 1H, isomer a), 7.61–7.43 (m, 3H, isomer a, b), 7.32–7.12 (m, 3H, isomer a, b), 6.91–6.85 (m, 1H, isomer a, b) 5.20 (s, 2H, isomer a), 4.70 (s, 2H, isomer b), 2.23 (s, 3H, isomer b), 2.2 (s, 3H, isomer a); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 169.1, 164.3, 163.6, 161.2, 155.3, 154.9, 142.4, 136.6, 130.9, 130.8, 130.1, 129.9, 128.4, 126.4, 126.3, 123.9, 123.6, 116.8, 113.1, 112.9, 112.7, 66.9, 65.3, 15.9; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₆H₁₅ClFN₂O₂ 321.0801, found 321.0806.

[0211] 비교합성예 6. [화학식 24]로 표시되는 화합물

[0212] [화학식 24]

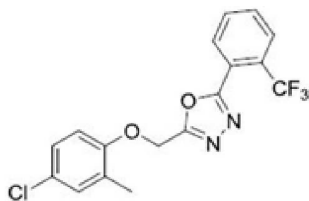


[0213]

[0214] White solid, mp: 85.2–87.8 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.87 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.77 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.55–7.47 (m, 1H), 7.3–7.23 (m, 1H), 7.17–7.12 (m, 2H), 6.93 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 5.32 (s, 2H), 2.24 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 165.0, 164.96, 164.2, 162.6, 161.7, 154.5, 131.2, 131.1, 131.1, 129.5, 127.0, 126.7, 125.5, 125.4, 123.0, 122.98, 119.5, 119.3, 114.4, 114.2, 113.0, 60.5, 16.2; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₆H₁₃ClFN₂O₂ 319.0644, found 319.0643.

[0215] 비교합성예 7. [화학식 25]로 표시되는 화합물

[0216] [화학식 25]

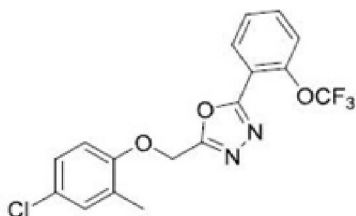


[0217]

[0218] White solid, mp: 70.8–72.0 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.09–8.05 (m, 1H), 7.89–7.85 (m, 1H), 7.74–7.70 (m, 2H), 7.17–7.11 (m, 2H), 6.91 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 5.34 (s, 2H), 2.23 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 164.4, 163.5, 154.4, 132.4, 132.4, 132.1, 132.1, 132.1, 131.1, 129.6, 126.7, 112.8, 60.4, 16.1; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₇H₁₃ClF₃N₂O₂ 369.0612, found 369.0613.

[0219] 비교합성예 8. [화학식 26]으로 표시되는 화합물

[0220] [화학식 26]

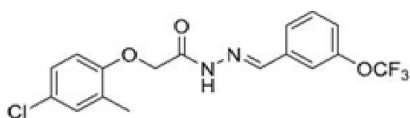


[0221]

[0222] Light yellow solid, mp: 85.6–86.6 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.18 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.62 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.52–7.41 (m, 2H), 7.18–7.09 (m, 2H), 6.92 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 5.34 (s, 2H), 2.23 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 163.2, 163.0, 154.4, 146.6, 133.5, 131.0, 130.9, 129.5, 127.6, 126.9, 126.6, 122.5, 121.8, 119.2, 117.8, 112.8, 60.4, 16.0; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₇H₁₃ClF₃N₂O₃ 385.0561, found 385.0563.

[0223] 비교합성예 9. [화학식 27]로 표시되는 화합물

[0224] [화학식 27]

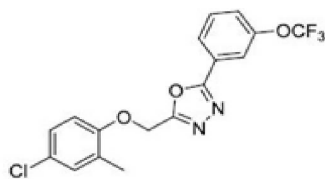


[0225]

[0226] White solid, mp: 176.4–179.2 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.76 (s, 1H, isomer a), 11.70 (s, 1H, isomer b), 8.33 (s, 1H, isomer b), 8.03 (s, 1H, isomer a), 7.76–7.65 (m, 3H, isomer a), 7.62–7.53 (m, 3H, isomer b), 7.42 (t, *J* = 8.4 Hz, 1H, isomer a, b), 7.28–7.12 (m, 3H, isomer a), 6.92–6.83 (m, 3H, isomer b), 5.20 (s, 2H, isomer a), 4.71 (s, 2H, isomer b), 2.24 (s, 3H, isomer b), 2.20 (s, 3H, isomer a); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 169.2, 164.4, 155.2, 154.9, 148.8, 146.1, 142.1, 136.6, 136.5, 131.0, 130.8, 130.1, 129.9, 128.7, 128.4, 126.4, 126.4, 126.2, 124.5, 123.9, 122.5, 122.1, 121.3, 118.8, 118.7, 113.2, 113.1, 67.0, 65.3, 15.9; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₇H₁₅ClF₃N₂O₃ 387.0718, found 387.0715.

[0227] 비교합성예 10. [화학식 28]로 표시되는 화합물

[0228] [화학식 28]

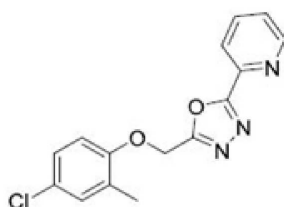


[0229]

[0230] White solid, mp: 80.3–80.8 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.02 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.58 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.42 (d, *J* = 8.4, 1H), 7.17–7.10 (m, 2H), 6.94 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 5.33 (s, 2H), 2.24 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 164.7, 162.7, 154.4, 149.8, 131.1, 131.0, 129.5, 127.1, 126.7, 125.5, 125.4, 124.6, 121.8, 119.7, 113.0, 60.5, 16.2; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₇H₁₃ClF₃N₂O₃ 385.0561, found 385.0568.

[0231] 비교합성예 11. [화학식 29]로 표시되는 화합물

[0232] [화학식 29]

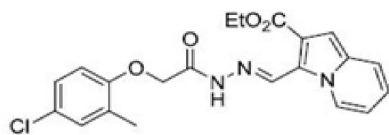


[0233]

[0234] White solid, mp: 118.3–120.0 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.80 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H), 8.27 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.95–7.87 (m, 1H), 7.50 (dd, *J* = 5.2, 6.8 Hz, 1H), 7.16–7.10 (m, 2H), 6.94 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 5.35 (s, 2H), 2.23 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 164.9, 163.1, 154.3, 150.4, 143.1, 137.3, 130.9, 129.4, 126.7, 126.5, 126.2, 123.4, 112.7, 60.2, 16.1; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₅H₁₃ClN₃O₂ 302.0691, found 302.0690.

[0235] 비교합성예 12. [화학식 30]으로 표시되는 화합물

[0236] [화학식 30]

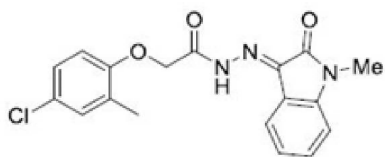


[0237]

[0238] Yellow solid, mp: 169.0–170.2 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.81 (s, 1H, isomer b), 11.74 (s, 1H, isomer b), 9.70 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H, isomer b), 9.32 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H, isomer a), 9.21 (s, 1H, isomer b), 9.00 (s, 1H, isomer a), 7.73 (t, *J* = 8 Hz, 1H, isomer a, b), 7.28–6.84 (m, 6H, isomer a, b), 5.24 (s, 2H, isomer a), 4.73 (s, 2H, isomer b), 4.38–4.27 (m, 2H, isomer a, b), 2.29–2.15 (m, 3H, isomer a, b), 1.41–1.28 (m, 3H, isomer a, b); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 168.4, 163.8, 155.3, 155.0, 140.1, 137.1, 134.5, 134.4, 130.1, 129.9, 128.2, 127.7, 126.4, 126.3, 121.7, 121.5, 120.2, 115.0, 113.2, 113.0, 104.1, 104.0, 66.9, 65.5, 60.5, 16.0, 14.2; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₁H₂₁ClN₃O₄ 414.1215, found 414.1218.

[0239] 비교합성예 13. [화학식 31]로 표시되는 화합물

[0240] [화학식 31]

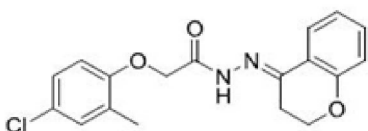


[0241]

[0242] Yellow solid, mp: 209.3-210.8 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 13.81 (s, 1H, isomer a), 12.63 (s, 1H, isomer b), 7.83 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H, isomer a), 7.58 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H, isomer b), 7.41 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, isomer a, b), 7.22-7.11 (m, 3H, isomer a, b), 6.88 (d, *J* = 8 Hz, 1H, isomer a, b), 6.74 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, isomer a, b), 5.24 (s, 2H, isomer b), 4.75 (s, 2H, isomer a), 3.27 (s, 3H, isomer a, b), 2.44 (s, 3H, isomer a), 2.31 (s, 1H, isomer b); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 166.1, 161.2, 153.9, 144.1, 138.9, 132.2, 131.2, 129.4, 126.9, 126.7, 123.7, 123.6, 122.4, 121.0, 119.5, 112.1, 109.1, 67.5, 66.0, 26.0, 25.6, 16.6, 16.4; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₈H₁₇C₁N₃O₃ 358.0953, found 358.0958.

[0243] 비교합성예 14. [화학식 32]로 표시되는 화합물

[0244] [화학식 32]

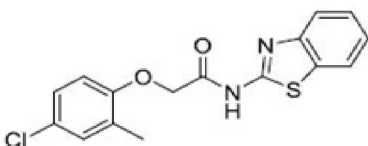


[0245]

[0246] White solid, mp: 215.4-217.5 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.96 (s, 1H, isomer a), 10.62 (s, 1H, isomer b), 8.00-7.92 (m, 1H, isomer a, b), 7.35-7.12 (m, 3H, isomer a, b), 7.03-6.95 (m, 1H, isomer a, b), 6.90 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H, isomer a), 6.83 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, isomer b), 5.23 (s, 2H, isomer a), 4.76 (s, 2H, isomer b), 4.31-4.20 (m, 2H, isomer a, b), 2.89-2.80 (m, 2H, isomer a, b), 2.22 (s, 3H, isomer a, b); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 169.6, 164.1, 157.1, 156.9, 155.3, 154.9, 147.9, 142.8, 131.4, 131.0, 130.1, 129.9, 128.5, 128.3, 126.4, 126.2, 124.8, 124.7, 124.3, 123.9, 121.3, 120.3, 117.5, 117.4, 113.0, 66.5, 65.6, 64.5, 25.6, 25.1, 16.0; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₁₈H₁₇C₁N₃NaO₂ 367.0820, found 367.0824.

[0247] 비교합성예 15. [화학식 33]으로 표시되는 화합물

[0248] [화학식 33]

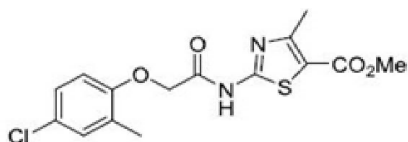


[0249]

[0250] White solid, mp: 167.3-170.9 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.70 (br s, 1H), 7.84 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.81 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.47 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.35 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.15 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.75 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 4.74 (s, 2H), 2.35 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 166.7, 156.4, 153.7, 148.4, 131.4, 129.0, 127.1, 126.6, 124.5, 121.6, 121.5, 113.1, 67.7, 16.5; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₆H₁₄C₁N₂O₂S 333.0459, found 333.0461.

[0251] 비교합성예 16. [화학식 34]로 표시되는 화합물

[0252] [화학식 34]

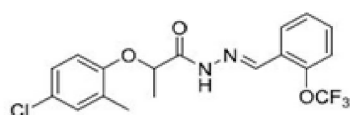


[0253]

[0254] White solid, mp: 202.8-204.0 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.55 (br s, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.15 (dd, *J* = 2.0, 8.8 Hz, 1H), 6.73 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.72 (s, 2H), 3.87 (s, 3H), 2.66 (s, 3H), 2.33 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 166.4, 163.1, 157.8, 156.9, 153.6, 131.4, 128.9, 127.8, 127.1, 116.6, 113.2, 67.7, 52.1, 17.3, 16.5; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₅H₁₆ClN₂O₄S 355.0514, found 355.0513.

[0255] 비교합성예 17. [화학식 35]로 표시되는 화합물

[0256] [화학식 35]

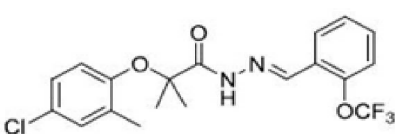


[0257]

[0258] White solid, mp: 147.5-149.1 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.55 (s, 1H, isomer a), 9.15 (s, 1H, isomer b), 8.38 (s, 1H, isomer a), 8.20 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, isomer a), 8.02 (s, 1H, isomer b), 7.84 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, isomer b), 7.49-7.41 (m, 1H, isomer a, b), 7.36-7.30 (m, 1H, isomer a, b), 7.28-7.23 (m, 1H, isomer a, b), 7.19 (s, 1H, isomer a), 7.15-7.08 (m, 1H, isomer a, b), 7.02 (dd, *J* = 8.6 Hz, 1H, isomer b), 6.78 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, isomer a), 6.63 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, isomer b), 5.55 (q, *J* = 6.8 Hz, 1H, isomer b), 4.78 (q, *J* = 6.8 Hz, 1H, isomer a), 2.31 (s, 3H, isomer a), 2.27 (s, 3H, isomer b), 1.71 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, isomer b), 1.67 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, isomer a); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 173.0, 168.4, 153.7, 142.9, 132.0, 131.7, 131.3, 130.9, 129.6, 127.9, 127.4, 127.35, 127.3, 127.2, 127.1, 126.3, 126.2, 120.9, 114.8, 76.3, 71.5, 19.0, 18.1, 16.6, 16.4; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₈H₁₇ClF₃N₂O₃ 401.0874, found 401.0873.

[0259] 비교합성예 18. [화학식 36]으로 표시되는 화합물

[0260] [화학식 36]

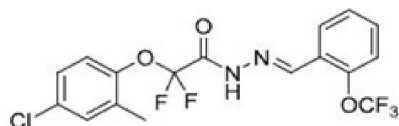


[0261]

[0262] White solid, mp: 175.8-178.2 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.93 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.21 (dd, *J* = 1.2, 7.6 Hz, 1H), 7.43 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H), 7.33 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.26 (m, 1H), 7.18 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.05 (dd, *J* = 2.4, 8.8 Hz, 1H), 6.81 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 2.26 (s, 3H), 1.61 (s, 6H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 171.3, 151.2, 147.8, 142.3, 132.7, 131.8, 131.3, 128.4, 127.8, 127.3, 126.6, 126.4, 121.8, 121.0, 120.9, 119.2, 82.2, 25.3, 17.1; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₉H₁₉ClF₃N₂O₃ 415.1031, found 415.1035.

[0263] 비교합성예 19. [화학식 37]로 표시되는 화합물

[0264] [화학식 37]



[0265]

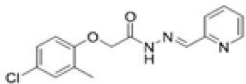
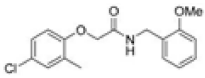
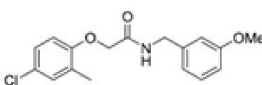
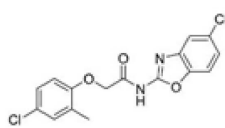
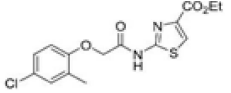
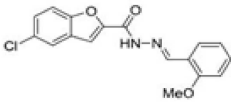
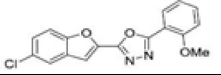
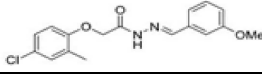
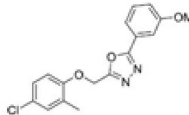
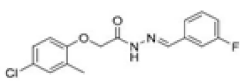
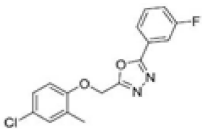
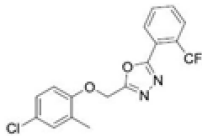
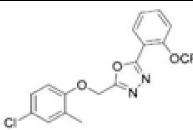
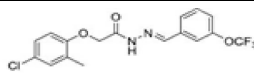
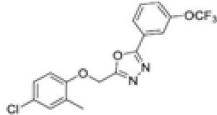
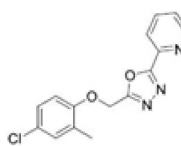
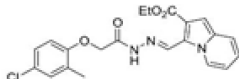
[0266] White solid, mp: 167.4-170.2 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.53 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 8.23 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.51 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H), 7.38 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.30 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.28-7.25 (m, 1H), 7.19 (s, 2H), 2.32 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 155.6, 155.2, 148.0, 146.0, 145.3, 133.4, 132.5, 132.1, 131.3, 127.9, 127.3, 127.0, 125.5, 123.4, 120.9, 114.6, 16.5; HRMS (ESI-QTOF) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₇H₁₃ClF₅N₂O₃ 423.0529, found 423.0527.

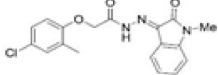
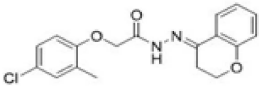
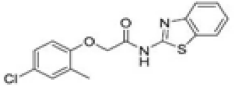
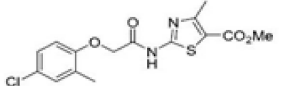
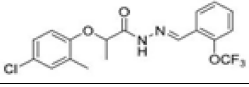
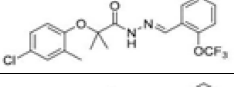
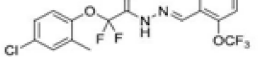
[0267] <시험예>

[0268] 시험예 1. ANO2보다 ANO1 선택 억제

표 1

구분	구조	IC ₅₀ (uM) of ANO1	IC ₅₀ (uM) of ANO2
대조군 [Ani9]		0.0970.01	>100
실시예 1 [화학식 5]		0.0210.005	NA
실시예 2 [화학식 6]		10.70.14	>100
실시예 3 [화학식 7]		19.40.01	12.40.05
실시예 4 [화학식 8]		21.20.17	>100
실시예 5 [화학식 9]		0.210.04	NA
실시예 6 [화학식 10]		0.30.02	>100
실시예 7 [화학식 11]		15.70.01	59.40.45
실시예 8 [화학식 12]		25.70.01	NA
실시예 9 [화학식 13]		63.80.02	>100

실시예 10 [화학식 14]		31.30.57	>100
실시예 11 [화학식 15]		20.60.02	13.10.07
실시예 12 [화학식 16]		53.70.05	>100
실시예 13 [화학식 17]		14.20.07	NA
실시예 14 [화학식 18]		14.80.01	>100
비교예 1 [화학식 19]		>100	>100
비교예 2 [화학식 20]		>100	>100
비교예 3 [화학식 21]		>100	NA
비교예 4 [화학식 22]		>100	>100
비교예 5 [화학식 23]		>100	NA
비교예 6 [화학식 24]		>100	>100
비교예 7 [화학식 25]		>100	>100
비교예 8 [화학식 26]		>100	NA
비교예 9 [화학식 27]		>100	NA
비교예 10 [화학식 28]		>100	NA
비교예 11 [화학식 29]		>100	NA
비교예 12 [화학식 30]		>100	>100

비교예 13 [화학식 31]		>100	NA
비교예 14 [화학식 32]		>100	NA
비교예 15 [화학식 33]		>100	>100
비교예 16 [화학식 34]		>100	NA
비교예 17 [화학식 35]		>100	NA
비교예 18 [화학식 36]		NA	>100
비교예 19 [화학식 37]		>100	>100

[0270] 위 표 1에 나타난 바와 같이, 실시예 1 내지 14의 화합물은 ANO2보다 ANO1이 선택적으로 우수한 저해 활성을 보이는 것을 확인하였으나, 비교예 1 내지 19의 화합물은 ANO1 및 ANO2 모두 저해 활성이 없는 것으로 확인되었다.

[0271] 특히, 오르토 위치에 트리플루오로메톡시기를 갖는 아실히드라존인 실시예 1(화학식 5)의 화합물은 가장 강력한 ANO1 저해 활성을 나타내었고, 메타 위치에 트리플루오로메톡시기를 갖는 비교예 9(화학식 27)의 화합물은 ANO1을 저해하지 않는 것을 확인하였다. 이는 기능성 부분의 배향의 중요하다는 것을 의미한다.

[0272] 또한, 실시예 6(화학식 10)의 화합물은 실시예 1(화학식 5)의 화합물에 비하여 다소 약한 저해 활성을 보이는 것을 확인하였다.

[0273] 시험예 2. Short-circuit currents 측정을 통한 CFTR, ANO2 보다 ANO1의 활성을 선택적으로 억제하는 [화학식 5] 화합물의 효과

[0274] 도 1A는 [화학식 5] 화합물의 ANO1(TMEN16A) 활성 억제 효과를 나타낸 그래프이다.

[0275] 구체적으로, ANO1을 발현하는 흰쥐갑상선 세포를 DMEM/Ham's F12 배양액으로 Transwell에 5일간 배양하여 분화시킨 뒤 Ussing chamber를 이용하여 short-circuit currents를 측정하였다. 그리고 Ussing chamber의 basolateral bath에는 Regular HCO₃⁻ solution (120 mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 2.5 mM HEPES, 1 mM CaCl₂, 10 mM Glucose, 25 mM NaHCO₃)을 넣고 luminal bath에는 70 mM Cl⁻로 유지시켜 Cl⁻-gradient를 만들어서 20분간 안정화시켰다. 그 후에 [화학식 5] 화합물을 농도별(0, 0.003, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1.0 μM)로 처리하고 20분 동안 반응시킨 다음 ATP(100 μM)를 넣어 ANO1 활성을 통한 Cl⁻-분비 억제 효과를 측정한 것이다.

[0276] 또한, 도 1B는 ANO2를 발현하는 흰쥐갑상선세포를 Transwell에서 6일간 DMEM/Ham's F12 배양액으로 분화시킨 뒤 short-circuit currents를 측정한 후, 20 분간 Regular HCO₃-solution으로 Cl⁻-gradient를 만들고 후에 [화학식 5] 화합물을 농도별(0, 10, 30, 100 μM)로 처리하고 20분 동안 반응시킨 후 ATP(100 μM)를 넣어 ANO2 활성을 통한 Cl⁻-분비 억제 효과를 측정한 것이다.

[0277] 또한, 도 1C는 short-circuit currents로 측정한 [화학식 5] 화합물의 ANO1과 ANO2에 의한 Cl⁻-분비 억제 효과를 Graphpad prism을 이용하여 dose response curve를 나타낸 것이다.

[0278] 또한, 도 1D는 CFTR을 발현하는 흰쥐 갑상선세포를 Transwell에서 6일간 DMEM/Ham's F12 배양액으로 분화시킨 뒤 short-circuit currents를 측정한 후, 20 분간 Regular HCO₃-solution으로 Cl⁻-gradient를 만들고 forskolin 10 μM 을 처리하여 CFTR 채널을 활성화시켰으며, 그 후에 [화학식 5] 화합물을 30, 100 μM로 처리한 다음

CFTRinh-17210 μM 를 넣어 CFTR에 의한 Cl^- 이동을 억제한 결과를 나타낸 것이다.

[0279] 도 1A 내지 1D에 도시된 바와 같이, 본 발명의 [화학적 5] 화합물은 종래의 Ani9 화합물(CAS Registry Number: 356102-14-2)보다 ANO1의 활성을 4배 이상 강하게 억제하는 것을 규명하였다([화학적 5] 화합물: IC_{50} 22 nM). 또한 ANO1과 구조적 유사성이 높은 ANO2의 활성을 100 M의 [화학적 5] 화합물이 17.1%만 억제시켰다.

[0280] 더욱이 100 μM 의 고농도로 처리한 [화학적 5] 화합물이 Cl^- 를 분비하는 CFTR의 활성을 억제하지 않는 것을 확인하였다.

[0281] 이러한 결과는 [화학적 5] 화합물이 ANO2와 CFTR 채널의 활성을 억제하는 것 보다 ANO1의 활성을 1000배 이상 선택적으로 억제한다고 할 수 있다.

[0282] 시험예 3. [화학적 5] 화합물의 PC3(전립선암) 세포의 성장 억제 효과에 대한 규명

[0283] 도 2A 내지 2C는 Ani9, [화학적 5]의 화합물 및 [화학적 27]의 화합물의 농도에 따라 ANO1의 높거나 낮은 수준으로 발현하는 PC3 전립선암 세포의 세포생존을 측정한 그래프이다. 세포 생존력은 MTS 분석에 의해 결정되었다(평균 \pm S.E., $n = 4$). * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

[0284] 도 2A는 ANO1을 높게 발현하는 PC3 세포와 ANO1을 발현하지 않는 PC3 세포를 96 well micro plate에 약 5×10^3 개씩 배양하고 24시간 후 Ani9를 농도별(0.03, 0.1, 1, 3, 10 μM)로 각 세포에 처리해 주었다. 24시간 후에 MTS solution을 각 well 당 20 μl 씩 넣어 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30분 동안 5% CO_2 에서 배양한 후 micro plate reader기로 490 nm의 흡광도를 측정하였다.

[0285] 도 2B는 상기 도 2A와 동일한 방법으로 [화학적 5]의 화합물을 농도별로 PC3 세포에 처리하였고, 도 2C는 [화학적 5]의 화합물과 구조적 유사성이 높지만 ANO1의 활성을 억제하지 않는 [화학적 27]의 화합물을 농도별로 PC3 세포에 처리하고 MTS solution을 각 well 당 20 μl 씩 넣어 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30분 동안 5% CO_2 에서 배양한 후 micro plate reader기로 490 nm의 흡광도를 측정하였다.

[0286] 도 2A 내지 2C에 도시된 바와 같이, MTS assay 결과, ANO1을 높게 발현하는 PC3 세포와 ANO1을 발현하는 않는 PC3 세포에서 Ani9과 [화학적 27]의 화합물의 세포 생존을 억제 효과는 미미하였지만 [화학적 5]의 화합물은 ANO1을 높게 발현하는 PC3 세포의 성장을 선택적으로 또한 농도 의존적으로 억제하는 것을 규명하였다.

[0287] 시험예 4. [화학적 5]의 화합물이 plasma stability와 PC3 세포에서 내재적으로 발현하는 ANO1 단백질을 감소시키는 효과 규명

[0288] 도 3A는 마우스의 혈장에서 Ani9와 [화학적 5] 화합물의 안정성을 나타낸 그래프이며, 도 3B는 높은 수준의 ANO1을 발현하는 PC-3 세포에서 ANO1의 웨스턴 블롯이다.

[0289] 도 3A는 각각 5 μM 농도의 Ani9과 [화학적 5] 화합물을 마우스의 혈장(plasma)에 넣고 37 $^{\circ}\text{C}$ 의 shaking incubator로 시간별로 0, 30, 60, 120, 240분 동안 반응시켰다. 그 다음, 원심분리기를 이용하여 13,000 rpm의 속도로 10분 동안 단백질을 침전시킨 후 상층액만 모아서 LC-MS/MS로 남아있는 Ani9과 [화학적 5] 화합물의 농도를 측정하였다.

[0290] 또한, 도 3B는 ANO1을 내재적으로 높게 발현하는 PC3 세포에 Ani9(3, 10 μM), [화학적 5] 화합물(3, 10 μM)을 처리하고 Western blot 기법을 이용하여 ANO1의 단백질 발현량의 변화를 측정한 것이다.

[0291] 도 3A 및 3B에 도시된 바와 같이, Ani9는 혈장 안정성이 낮았지만 [화학적 5] 화합물은 Ani9 보다 마우스의 혈장 안정성이 높았고, 반감기는 Ani9이 32분이었지만 [화학적 5] 화합물은 104분으로 월등히 긴 것을 확인하였다.

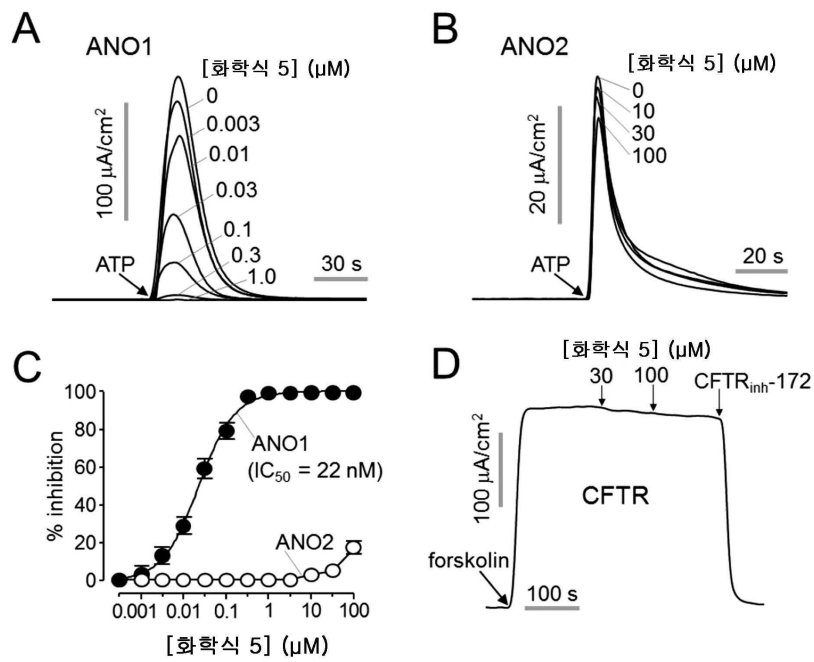
[0292] 또한, 내재적으로 ANO1을 발현하는 PC3(전립선암세포)에서 Ani9(3, 10 μM)이 ANO1의 발현량을 $5.2 \pm 6.3\%$ 및 $29.2 \pm 3.4\%$ 로 감소시켰지만 [화학적 5] 화합물(3, 10 μM)은 ANO1의 발현량을 $59.8 \pm 4.6\%$ 및 $66.5 \pm 4.7\%$ 로 감소시킨 것을 확인하였다.

[0293] 이는 [화학적 5] 화합물(3, 10 μM)이 Ani9보다 ANO1의 발현량을 약 11.5배, 2.28배 더 감소시킴을 규명한 것이다.

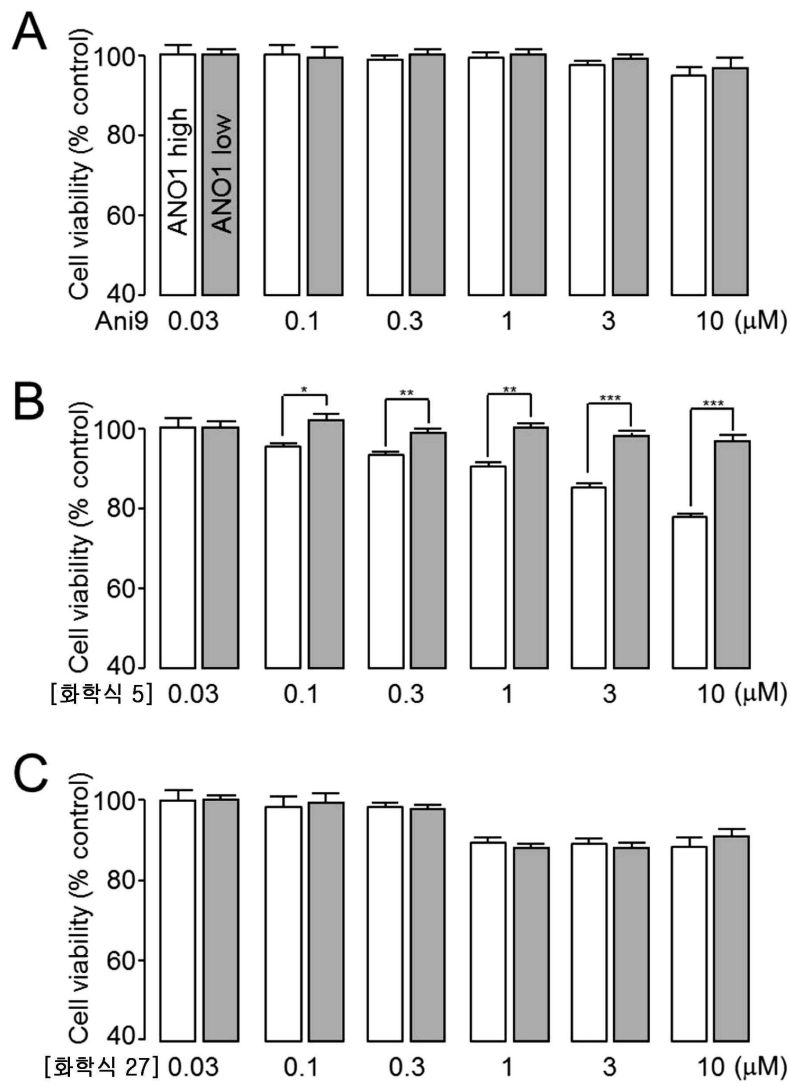
- [0294] SAR 분석 결과, [화학식 5] 화합물(22 nM의 IC50 값을 가짐)을 비롯한 몇 가지 새로운 화합물이 강력한 ANO1 억제제로 사용될 수 있음을 확인하였다. 선택도 분석에 따르면 [화학식 5] 화합물이 ANO1에 대해 매우 선택적이며 ANO2보다 1,000 배 이상 높은 선택성을 보이는 것을 확인하였다.
- [0295] 이 결과는 [화학식 5] 화합물이 현재 가장 강력하고 선택적인 ANO1 억제제라는 것을 의미한다. [화학식 5] 화합물은 용량 의존적으로 PC-3 세포의 증식을 억제하는 것으로 나타났다. 또한, [화학식 5] 화합물은 Ani9에 비해 ANO1 단백질을 감소시키는 효과가 매우 크고 혈장 안정성이 우수함을 보여주었다.
- [0296] **시험예 5. [화학식 5] 화합물의 MCF7 유방암 세포와 BxPC3 췌장암 세포에 대한 성장 억제 효과 규명**
- [0297] 도 4A는 Ani9, [화학식 5]의 화합물 및 [화학식 27]의 화합물의 농도에 따라 ANO1을 높게 발현하는 MCF7 유방암 세포에서 세포 생존력을 측정한 그래프이며, 도 4B는 Ani9, [화학식 5]의 화합물 및 [화학식 27]의 화합물의 농도에 따라 ANO1을 높게 발현하는 BxPC3 췌장암 세포에서 세포 생존력을 측정한 그래프이다. 세포 생존력은 MTS 분석에 의해 결정되었다(평균 \pm S.E., $n = 4$).
- [0298] 도 4A 및 4B는 ANO1을 높게 발현하는 MCF7 유방암 세포와 BxPC3 췌장암 세포를 96 well micro plate에 약 5×10^3 개씩 배양하고 24시간 후 Ani9, [화학식 5], [화학식 27]를 농도별(0.01, 0.03, 0.1, 1, 3, 10, 30 μ M)로 각 세포에 처리해 주었다. 24시간 후에 MTS solution을 각 well 당 20 μ l씩 넣어 37 $^{\circ}$ C에서 30분 동안 5% CO2에서 배양한 후 micro plate reader기로 490 nm의 흡광도를 측정하였다.
- [0299] 도 4A 및 4B에 도시된 바와 같이, MTS assay 결과 ANO1을 높게 발현하는 MCF7 유방암 세포와 BxPC3 췌장암 세포에서 Ani9과 [화학식 27]의 화합물의 세포 생존을 억제 효과는 미미하였지만, [화학식 5]의 화합물은 ANO1을 높게 발현하는 MCF7 유방암 세포와 BxPC3 췌장암 세포의 성장을 선택적으로 또한 농도 의존적으로 억제하는 것을 확인하였다.
- [0300] **시험예 6. [화학식 10] 및 [화학식 17]의 화합물이 PC3 세포에서 내재적으로 발현하는 ANO1 단백질을 감소시키는 효과 규명**
- [0301] 도 5A는 높은 수준의 ANO1을 발현하는 PC-3 세포에서 Ani9, [화학식 10] 화합물 및 [화학식 17] 화합물에 대한 ANO1의 웨스턴 블롯이며, 도 5B는 ANO1을 내재적으로 높게 발현하는 PC3 세포에 Ani9 (10 μ M), [화학식 10] 화합물 (10 μ M), [화학식 17] 화합물(10 μ M)을 처리하고 Western blot 기법을 이용하여 ANO1의 단백질 발현량의 변화를 측정한 그래프이다.
- [0302] 도 5A 및 5B에 도시된 바와 같이, 내재적으로 ANO1을 발현하는 PC3(전립선암세포)에서 Ani9(10 μ M)이 ANO1의 발현량을 $23.8 \pm 1.5\%$ 로 감소시켰지만, [화학식 10] 화합물(10 μ M) 및 [화학식 17] 화합물(10 μ M)은 ANO1의 발현량을 각각 $28.9 \pm 0.9\%$ 및 $48.8 \pm 2.9\%$ 로 감소시킨 것을 확인하였다.
- [0303] 이는 [화학식 10] 화합물 및 [화학식 17] 화합물(10 μ M)이 Ani9보다 ANO1 채널의 활성을 억제하는 효력은 비교적 약하지만 ANO1의 발현량을 각각 약 1.21배, 2.05배 더 감소시킴을 규명한 것이다.

도면

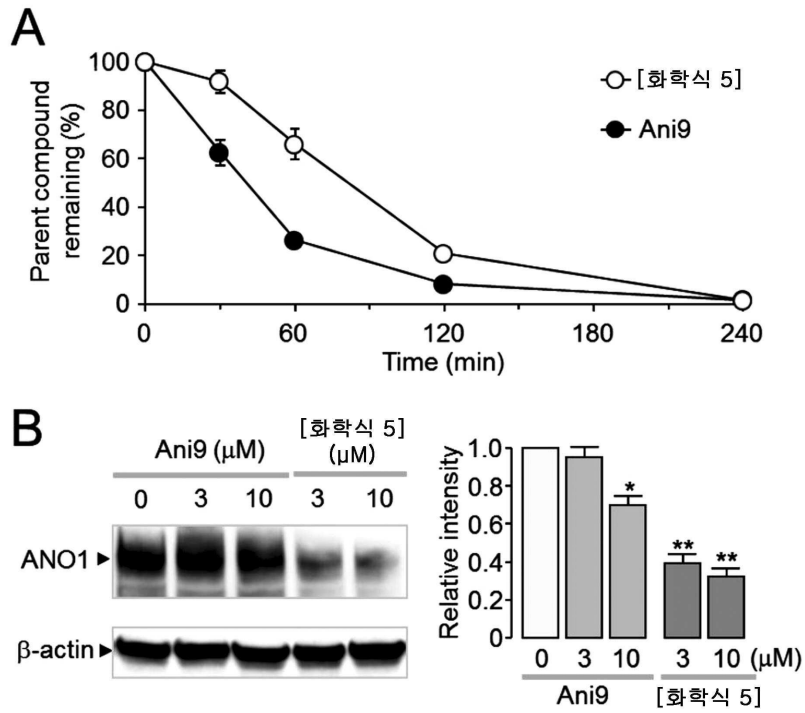
도면1



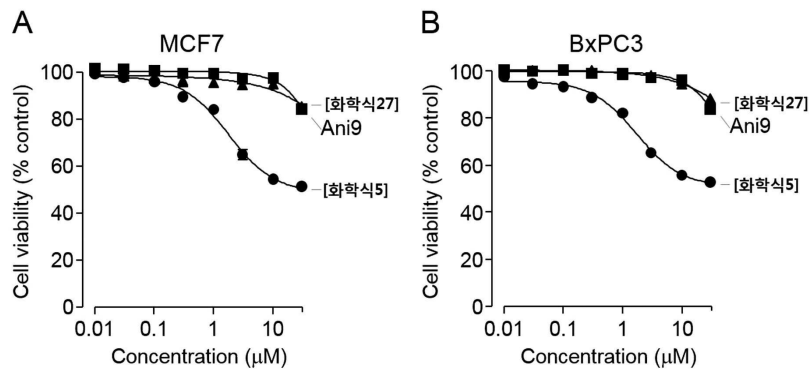
도면2



도면3



도면4



도면5

