



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년07월13일
(11) 등록번호 10-2420262
(24) 등록일자 2022년07월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 405/04 (2006.01) A61K 31/352 (2006.01)
A61K 31/404 (2006.01) A61K 31/4184 (2006.01)
A61K 31/423 (2006.01) A61K 31/496 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01) C07D 407/04 (2006.01)
C07D 413/04 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C07D 405/04 (2013.01)
A61K 31/352 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2020-0161717

(22) 출원일자 2020년11월26일

심사청구일자 2020년11월26일

(65) 공개번호 10-2021-0065882

(43) 공개일자 2021년06월04일

(30) 우선권주장
1020190152890 2019년11월26일 대한민국(KR)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020140088893 A*

KR1020210065883 A*

US20180353462 A1*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

주식회사 베노바이오

경기도 성남시 수정구 창업로 42 (시흥동) 416호~8호

(72) 발명자

김성욱

서울특별시 서초구 효령로33길 50, 103동 302호

최재혁

경기도 성남시 분당구 장안로62번길 10-1

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

최은선

전체 청구항 수 : 총 5 항

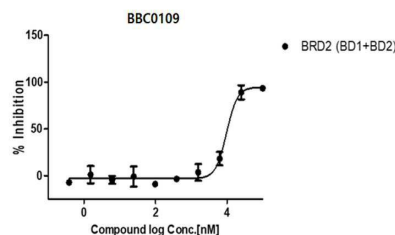
심사관 : 이기철

(54) 발명의 명칭 **신규한 퀘르세틴 리독스 유도체 및 BET 억제제로서의 용도**

(57) 요약

본 발명은 신규한 퀘르세틴 유도체 화합물 및 이의 용도에 관한 것으로, 보다 상세하게는 BET (Bromodomain Extra-Terminal) 단백질에 대하여 저해 활성을 갖는 신규한 퀘르세틴 유도체 화합물 및 이를 포함하는 BET 단백질 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 31/404 (2013.01)
A61K 31/4184 (2013.01)
A61K 31/423 (2013.01)
A61K 31/496 (2013.01)
A61P 31/12 (2018.01)
A61P 35/00 (2018.01)
A61P 37/00 (2018.01)
C07D 407/04 (2013.01)
C07D 413/04 (2013.01)

이인현

경기도 성남시 분당구 야탑동 장미로 101, (장미마을 현대아파트) 822- 1108

조단유텔거터만

1515 홀콤 블리바드 #444 호 휴스턴 텍사스 77030 미국

(72) 발명자

이재연

경기도 수원시 장안구 대평로51번길 22, 244동 304호

박영식

경기도 수원시 영통구 권광로260번길 36, 121동 702호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	0000000000
과제번호	A0080217000416
부처명	중소벤처기업부
과제관리(전문)기관명	한국산업기술진흥원
연구사업명	2020년 혁신분야 창업패키지(사업화)
연구과제명	KRAS 돌연변이성 췌장암 내성 극복을 위한 항암 면역 치료제 신약후보물질 개발
기여율	1/1
과제수행기관명	(주)베노바이오
연구기간	2020.05.01 ~ 2020.12.31

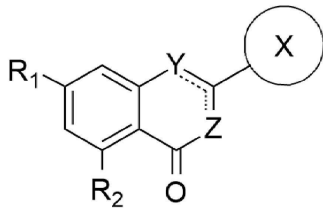
명세서

청구범위

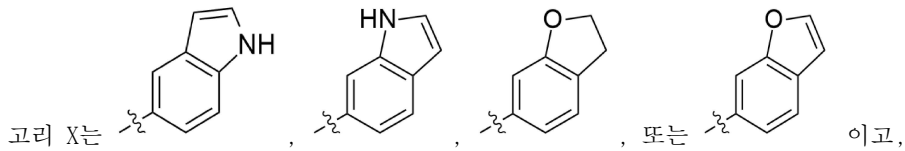
청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염:

[화학식 1]



상기 식에서,



Y는 O이고,

Z는 CR₅이고,

----는 각각 부재 또는 단결합이고,

R₁, R₂, 및 R₅는 각각 독립적으로 H, 또는 -ORa이고,

Ra는 각각 독립적으로 H, 또는 C₁-C₆알킬임.

청구항 2

삭제

청구항 3

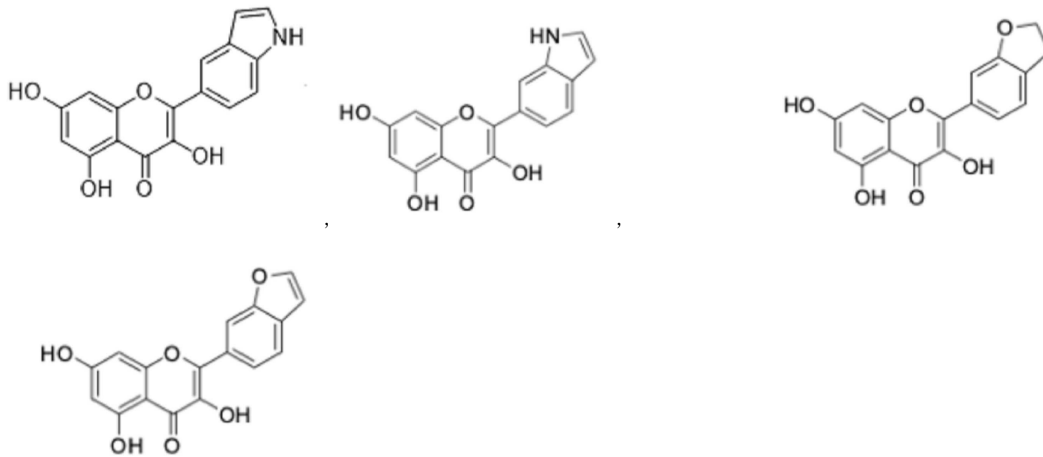
삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

하기 화합물로 이루어진 군에서 선택되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염:



및

청구항 6

제1항 또는 제5항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는, BET(Bromodomain Extra-Terminal) 단백질 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로,

상기 BET 단백질 관련 질환은 암; 자가면역 또는 염증성 질환; 대사 질환; 및 바이러스성 질환으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상이고,

상기 자가면역 또는 염증성 질환은 류마티스성 관절염, 전신 홍반성 루푸스, 다발성 경화증, 제1형 당뇨병, 갑상선 기능 항진증, 근무력증, 크론병, 강직성 척추염, 건선, 자가면역성 악성빈혈 및 쇼그렌 증후군, 알레르기, 알레르기성 비염, 관절염, 천식, 만성 폐쇄성 폐 질환, 퇴행성 관절 질환, 피부염, 장기 거부, 습진, 간염, 염증성 장 질환, 폐혈증, 폐혈증 증후군, 폐혈성 쇼크 및 비알콜성 지방간염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상이고,

상기 대사 질환은 고중성지방혈증, 비만, 고지혈증, 과인슐린혈증, 과혈당증, 동맥경화증, 고혈압, 제2형 당뇨병, 및 인슐린 저항성 질환으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 7

삭제

청구항 8

제6항에 있어서, 상기 암은 혈액암, 다발성 골수종, 급성 골수성 백혈병, 악성 림프종, 재생불량성 빈혈, 흉선 암, 난소암, 자궁경부암, 유방암, 대장암, 간암, 위암, 췌장암, 결장암, 복막 전이암, 피부암, 방광암, 전립선 암, 갑상선암, 폐암, 골육종, 섬유성 종양 및 뇌종양으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

제6항에 있어서, 상기 바이러스성 질환은 소아마비, 급성출혈성 결막염, 바이러스성 수막염, 수족구병, 간염, 근육염, 심근염, 철허염, 유행성 근육통, 뇌염, 감기, 포진성 구협염, 구제역, 천식, 모세기관지염, 기관지염, 만성 폐쇄성 폐질환, 폐렴, 축농증, 중이염, 단순포진, 대상포진, 구내염, 및 수두로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 퀘르세틴 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 이를 유효성분으로 포함하는 BET (Bromodomain Extra-Terminal) 단백질 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 히스톤의 번역 후 변형(post-translational modification; PTM)은 진핵 세포에서 유전자의 발현 및 염색질 체계화의 조절에 관여한다. 특정 라이신 잔기에서의 히스톤 아세틸화는 히스톤 아세틸라아제 및 히스톤 탈아세틸라아제에 의해 조절되는 PTM이다. 히스톤 아세틸화는 브로모도메인이라 불리는 잘 보존된 단백질이 히스톤 및 다른 단백질에서 아세틸화 라이신에 직접 결합하여 단백질 복합체를 동원함으로써 유전자 발현을 제어한다. 인간 게놈에서 60개를 초과하는 브로모도메인 함유 단백질이 존재한다.

[0004] 브로모도메인 함유 단백질 가운데 BET (Bromodomain Extra-Terminal) 패밀리는 BRD2, BRD3, BRD4, 및 BRDT를 포함하며, 정소에 국재하는 BRDT를 제외하고 나머지 단백질들은 다양한 조직에서 넓게 발현된다. 또한, BET 단백질 패밀리가 암, 대사 질환 및 염증을 비롯한 각종 질환과 관련이 있는 것으로 보고되어 왔다.

[0005] 예를 들어, 염색체 전위에 의해 유발되는 BRD4 또는 BRD3, 및 고환 내 핵 단백질 (NUT) 유전자의 종양원성 융합은 NUT 정중선 암종으로 명명되는 공격성 암을 초래한다 (French et al., J Clin Oncol, 22 (2004), 4135-9; French et al., J Clin Pathol, 63 (2008), 492-6). BRD3/4 브로모도메인은 이들 융합 단백질에서 보존되고, 녹다운 (knockdown) 또는 선택적 BET 브로모도메인 억제제인 JQ1가 시험관내 및 동물 종양 모델 둘다에서 이들 암세포의 사멸을 야기한다 (Filippakopoulos et al., Nature, 468 (2010), 1067-73). JQ1 및 다른 선택적 BET 억제제는 BET 브로모도메인에 결합하여 아세틸-리신 결합을 방지하며, 이는 BET 단백질이 염색질과 상호작용하는 것을 방지하고, 그에 의해 전사를 조절하는 것을 방지하는 것으로 알려져 있다.

[0006] BRD4는 RNAi 스크린으로 급성 골수성 백혈병 (AML)에서 표적으로서 확인되었다 (Zuber et al., Nature, 478 (2011), 524-8). 이러한 발견은 시험관내 및 생체내에서 BET 억제제 JQ1 및 I-BET151를 사용하여 검증되었다 (Dawson et al., Nature, 478(2011), 529-33). 또한, BET 억제제가 급성 백혈병, 다발성 골수종 및 다른 혈액 악성종양에서 광범위한 항암 활성을 갖는다는 것이 알려져 있다. 여러 암 모델에서 BET 억제제 종양원성 전사 인자 Myc의 급성 하향조절이 관찰되었다 (Delmore et al., Cell, 146 (2011), 904-17; Mertz et al., Proc Natl Acad Sci US A, 108 (2011), 16669-74). 최근의 연구로부터 BET 억제제가 폐 및 뇌암 등의 다른 암종에 적용될 수 있는 확장 가능성을 시사한다.

[0007] 화학구조 및 BET 결합 방식에 있어서 JQ1와 밀접하게 관련이 있는 다른 BET 억제제인 I-BET762는 마우스 모델에서 주요 염증성 유전자의 발현을 조절하고, 내독소성 쇼크 및 박테리아-유발 패혈증으로부터 인체를 보호하는 것으로 보고되어 있다 (Nicodeme et al., Nature, 468 (2010), 1119-23). 또한, 이러한 결과들은 아테롬성 동맥경화증, 관상 동맥 질환, 이상지혈증, 당뇨병 및 다른 심혈관 질환을 앓고 있는 환자에서의 임상 시험에서 BET 억제제 RVX-208의 임상 평가를 지지하는데 사용되어 왔다 (McNeill, Curr Opin Investig Drugs, 3 (2010), 357-64 및 www.clinicaltrials.gov).

[0008] RVX-208 및 I-BET762는 모두 콜레스테롤의 조직 수준을 감소시키는데 중요한 아포지단백질 A-I를 상향조절하는 것으로 밝혀졌다. 또한, BET 단백질은 여러 바이러스의 증식 및 전사 조절과 관련되어, BET 억제제가 항바이러스 활성을 가질 수 있는 것으로 여겨진다 (Weidner-Glunde, Frontiers in Bioscience 15 (2010), 537-549).

[0009] 몇 가지 브로모도메인 저해제가 임상 및 전 임상에서 알려져 있지만, 질병의 재발 및 치료제에 대한 내성의 문제를 해결할 수 있고 부작용을 줄인 새로운 브로모도메인 저해제의 개발이 절실히 요구되고 있는 실정이다.

[0010] 한편, 산화환원 반응은 많은 생리학적 과정에 존재하고, 산소 분자는 생명에 필요하지만 질병으로 이어지는 반응성 분자를 생성할 수 있다. 자유 라디칼을 포함하여 다른 반응성 화학종도 병리학적 상태를 초래한다. 이전부터 조직 손상과 관련된 호기성 대사가 활성산소종 (ROS)에 의해서 일어난다고 알려져 있었다. ROS 및 최근에 알

려진 반응성질소종 (RNS)은 호르몬과 마찬가지로 세포 신호 전달의 메신저로서 효소의 화학적 변형 등을 야기하고 산화제 수준의 변화를 일으킨다.

[0011] 또한, 20 가지 필수 아미노산 중 시스테인, 메티오닌, 티로신 및 트립토판은 특히 산화되기 쉽다. 따라서, 인체 내에서 대사작용을 하는 이러한 단백질성 물질들은 금속 결합 (metal binding), 다이설파이드 결합 (disulfide bond) 형성, 메틸화 (methylation), 아세틸화 (acetylation) 등 다양한 변형을 야기한다.

[0012] 현재까지 세포의 신호조절 메커니즘에 대한 연구가 인산화에 초점이 맞추어져 있지만, 본 발명은 산화 및 질산화 스트레스로 인해 발생하는 질병에 대하여 "리독스 상태 (redox state)"에 따른 산화 (oxidation), 니트로실화 (S-nitrosylation) 등 리독스 조절 메커니즘을 고려한 리독스 화학 (redox chemistry) 기술을 적용하여 완성되었다. 즉, 본 발명자들은 BET 저해제가 히스톤 단백질의 라이신 잔기를 인식하는데 있어서 리독스 상태에 따른 신호전달 물질 간의 결합 정도가 달라지는 것에 기초하여, 상기 리독스 상태를 고려하여 새로운 브로모도메인 저해제를 연구 및 개발하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

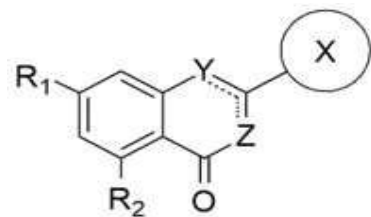
[0014] 본 발명은 BET 단백질 저해 활성이 우수한 신규한 퀘르세틴 (quercetin) 유도체 화합물을 제공하고자 한다.

[0015] 또한, 본 발명은 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 BET 단백질 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

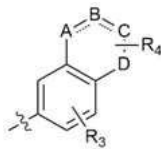
[0017] 본 발명의 일 측면에 따르면, 하기 화학식 1로 표시되는 퀘르세틴 유도체 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 제공한다.

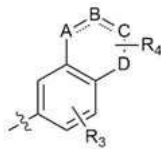
[0018] [화학식 1]



[0019]

[0020] 상기 식에서,



[0021] 고리 X는  ; 또는 치환되거나 비치환된 아릴이고,

[0022] 여기서 A, B, C, 및 D는 각각 독립적으로 C, C(=O), N, O, S 또는 부재이고,

[0023] Y는 C, C(=O), N, O 또는 S이고,

[0024] Z는 CR₅ 또는 NR₅이고,

[0025] ----는 각각 부재 또는 단결합이고,

[0026] R₁, R₂, 및 R₅는 각각 독립적으로 H, 할로, 시아노, 알킬, 알케닐, 알키닐, -C(=O)Ra, -C(=O)N(Ra)(Rb), -C(=O)ORa, -N(Ra)(Rb), -N(Ra)C(=O)Rb, -N(Ra)S(=O)Rb, -N(Ra)S(=O)₂Rb, -NO₂, -ORa, -OC(=O)Ra, -SRa, -S(=O)Ra, -S(=O)N(Ra)(Rb), -S(=O)₂Ra, -S(=O)₂N(Ra)(Rb), 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴이고,

- [0027] R₃는 H, 알킬, 및 -ORa로 이루어진 군에서 선택된 동일하거나 서로 상이한 하나 이상일 수 있고,
- [0028] R₄는 H, 알킬, 알케닐, 및 알키닐로 이루어진 군에서 선택된 동일하거나 서로 상이한 하나 이상일 수 있고,
- [0029] Ra 및 Rb는 각각 독립적으로 H, 할로, 시아노, 알킬, 시클로알킬, 또는 헤테로시클로알킬이다.
- [0030] 본 발명의 다른 일 측면에 따르면, 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 BET 단백질 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0031] 상기 BET 단백질 관련 질환은 암; 자가면역 또는 염증성 질환; 대사 질환; 및 바이러스성 질환으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.

발명의 효과

- [0033] 본 발명에서 제공되는 화학식 1로 표시되는 퀘르세틴 유도체 화합물은 BET 단백질에 대한 저해 활성이 우수하여 상기 BET와 관련된 다양한 질환의 예방 또는 치료제로서 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0035] 도 1은 본 발명의 화합물 1 (BBC0109)에 의한 BRD2 (BD1+BD2) 단백질 결합 저해 활성을 나타낸 그래프이다.
- 도 2는 비교예 1의 화합물 (RVX-208)에 의한 BRD2 (BD1+BD2) 단백질 결합 저해 활성을 나타낸 그래프이다.
- 도 3은 본 발명의 화합물 1 (BBC0109)에 의한 BRD4 (BD1+BD2) 단백질 결합 저해 활성을 나타낸 그래프이다.
- 도 4는 비교예 1의 화합물 (RVX-208)에 의한 BRD4 (BD1+BD2) 단백질 결합 저해 활성을 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0036] 본 발명은 신규한 퀘르세틴 유도체 화합물에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 BET 단백질에 대하여 저해 활성을 갖는 신규한 퀘르세틴 유도체 화합물 및 이를 포함하는 BET (Bromodomain Extra-Terminal) 단백질 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.
- [0037] 다르게 언급되지 않는 한, 본 발명의 설명 및 청구범위에 사용된 용어는 하기에 개시되는 의미를 가진다.
- [0038] 당업계에서 사용되는 관습에 따라, 본원의 화학식에서 "R²"은 잔기 또는 치환기 "R"이 골격 구조에 부착되어 있는 것을 나타내는데 사용된다.
- [0039] "알킬"은 1차, 2차, 3차 및/또는 4차 탄소 원자를 갖는 탄화수소이며, 직쇄형, 분지형 또는 환형, 또는 이들의 조합일 수 있는 포화 지방족 기를 포함한다. 예를 들어, 알킬 기는 1 내지 20개의 탄소 원자 (즉, C₁-C₂₀ 알킬), 1 내지 10개의 탄소 원자 (즉, C₁-C₁₀ 알킬), 또는 1 내지 6개의 탄소 원자 (즉, C₁-C₆ 알킬)를 가질 수 있다. 달리 정의되지 않는 한, 바람직한 실시양태에서, 알킬은 C₁-C₆ 알킬을 지칭한다. 적합한 알킬 기의 예로는 메틸 (Me, -CH₃), 에틸 (Et, -CH₂CH₃), 1-프로필 (n-Pr, n-프로필, -CH₂CH₂CH₃), 2-프로필 (i-Pr, i-프로필, -CH(CH₃)CH₂CH₃), 1-부틸 (n-Bu, n-부틸, -CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-메틸-1-프로필 (i-Bu, i-부틸, -CH₂CH(CH₃)CH₂CH₃), 2-부틸 (s-Bu, s-부틸, -CH(CH₃)CH₂CH₂CH₃), 2-메틸-2-프로필 (t-Bu, t-부틸, -C(CH₃)₃), 1-펜틸 (n-펜틸, -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-펜틸 (-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₃), 3-펜틸 (-CH(CH₂CH₃)₂), 2-메틸-2-부틸 (-C(CH₃)₂CH₂CH₃), 3-메틸-2-부틸 (-CH(CH₃)CH(CH₃)₂), 3-메틸-1-부틸 (-CH₂CH₂CH(CH₃)₂), 2-메틸-1-부틸 (-CH₂CH(CH₃)CH₂CH₃), 1-헥실 (-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-헥실 (-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₂CH₃), 3-헥실 (-CH(CH₂CH₃)(CH₂CH₂CH₃)), 2-메틸-2-펜틸 (-C(CH₃)₂CH₂CH₂CH₃), 3-메틸-2-펜틸 (-CH(CH₃)CH(CH₃)CH₂CH₃), 4-메틸-2-펜틸 (-CH(CH₃)CH₂CH(CH₃)₂), 3-메틸-3-펜틸 (-C(CH₃)(CH₂CH₃)₂), 2-메틸-3-펜틸 (-CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)₂), 2,3-디메틸-2-부틸 (-C(CH₃)₂CH(CH₃)₂), 3,3-디메틸-2-부틸 (-CH(CH₃)C(CH₃)₃), 및 옥틸 (-CH₂)₇CH₃)을 들 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0040] 더욱이, 명세서, 실시예 및 청구항 전반에 걸쳐 사용되는 용어 "알킬"은 비치환된 및 치환된 알킬 기 모두를 포함하는 것으로 의도되며, 이들 중 후자는 트리플루오로메틸 및 2,2,2-트리플루오로에틸과 같은 할로알킬 기 등을 포함하는, 탄화수소 골격의 1개 이상의 탄소 상의 수소를 대체하는 치환기를 갖는 알킬 잔기를 지칭한다.

- [0041] 용어 " C_{x-y} " 또는 " C_x-C_y "는, 아실, 아실옥시, 알킬, 알케닐, 알키닐 또는 알콕시와 같은 화학적 잔기와 함께 사용되는 경우, 사슬 내에 x 내지 y개의 탄소를 함유하는 기를 포함하는 것으로 여겨진다. C_0 알킬은 기가 말단 위치에 있는 경우에는 수소, 내부에 있는 경우에는 결합을 나타낸다. 예를 들어, (C_1-C_6) 알킬기는 사슬 내에 1 내지 6개의 탄소 원자를 함유한다.
- [0042] "알콕시"는 상기 정의된 바와 같은 알킬 기가 산소 원자를 통해 모 화합물에 부착된 것인 화학식 $-O$ -알킬을 갖는 기를 지칭한다. 알콕시 기의 알킬 잔기는 예를 들어, 1 내지 20개의 탄소 원자 (즉, C_1-C_{20} 알콕시), 1 내지 12개의 탄소 원자 (즉, C_1-C_{12} 알콕시), 1 내지 10개의 탄소 원자 (즉, C_1-C_{10} 알콕시), 또는 1 내지 6개의 탄소 원자 (즉, C_1-C_6 알콕시)를 가질 수 있다. 적합한 알콕시 기의 예로는 메톡시 ($-O-CH_3$ 또는 $-OMe$), 에톡시 ($-OCH_2CH_3$ 또는 $-OEt$), 및 t-부톡시 ($-OC(CH_3)_3$ 또는 $-O-tBu$)를 들 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0043] "알케닐"은 1차, 2차, 3차 및/또는 4차 탄소 원자를 갖고, 직쇄형, 분지형 및 환형 기, 또는 이들의 조합을 포함하고, 1개 이상의 불포화 영역, 즉, 탄소-탄소 sp^2 이중 결합을 갖는 탄화수소이다. 예를 들어, 알케닐기는 2 내지 20개의 탄소 원자 (즉, C_2-C_{20} 알케닐), 2 내지 12개의 탄소 원자 (즉, C_2-C_{12} 알케닐), 2 내지 10개의 탄소 원자 (즉, C_2-C_{10} 알케닐), 또는 2 내지 6개의 탄소 원자 (즉, C_2-C_6 알케닐)를 가질 수 있다. 적합한 알케닐 기의 예로는 비닐 ($-CH=CH_2$), 알릴 ($-CH_2CH=CH_2$), 시클로펜테닐 ($-C_5H_7$), 및 5-헥세닐 ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH=CH_2$)을 들 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0044] "알키닐"은 1차, 2차, 3차 및/또는 4차 탄소 원자를 갖고, 직쇄형, 분지형 및 환형 기, 또는 이들의 조합을 포함하고, 1개 이상의 탄소-탄소 sp 삼중 결합을 갖는 탄화수소이다. 예를 들어, 알키닐 기는 2 내지 20개의 탄소 원자 (즉, C_2-C_{20} 알키닐), 2 내지 12개의 탄소 원자 (즉, C_2-C_{12} 알키닐), 2 내지 10개의 탄소 원자 (즉, C_2-C_{10} 알키닐), 또는 2 내지 6개의 탄소 원자 (즉, C_2-C_6 알키닐)를 가질 수 있다. 적합한 알키닐 기의 예로는 아세틸레닉 ($-C\equiv CH$) 및 프로파르길 ($-CH_2C\equiv CH$)을 들 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0045] 본원에서 사용되는 용어 "아릴"은 고리의 원자 각각이 탄소인, 모노시클릭, 바이시클릭 또는 폴리시클릭인, 치환된 또는 비치환된 1가 또는 2가 방향족 탄화수소 기를 포함한다. 바람직하게는, 아릴 고리는 6- 내지 20-원 고리, 6- 내지 14-원 고리, 6- 내지 10-원 고리, 또는 보다 바람직하게는 6-원 고리이다. 아릴 기는 2개 이상의 탄소가 2개의 인접한 고리에 공통인 2개 이상의 시클릭 고리를 갖는 폴리시클릭 고리계일 수 있으며, 여기서 고리 중 1개 이상은 방향족이고, 예를 들어, 다른 시클릭 고리는 시클로알킬, 시클로알케닐, 시클로알키닐, 아릴, 헤테로아릴, 및/또는 헤테로시클로알킬일 수 있다. 아릴 기로는 벤젠, 나프탈렌, 페난트렌, 안트라센, 인덴, 인단, 페놀, 아닐린 등을 들 수 있다.
- [0046] 본원에서 사용되는 용어 "카르보시클릴알킬", 또는 "시클로알킬알킬", 또는 "(시클로알킬)알킬"은 카르보사이클 기 또는 시클로알킬 기로 치환된 알킬 기를 지칭한다.
- [0047] 본원에서 사용되는 용어 "카르보사이클", "카르보시클릴", "카르보시클릭" 또는 "시클로알킬"은 모노시클릭, 바이시클릭 또는 폴리시클릭일 수 있고 고리의 원자 각각이 탄소인 비방향족 포화 또는 불포화, 1가 또는 2가 고리를 지칭한다. 시클로알킬 기는 모노사이클로서 3 내지 7개의 탄소 원자, 바이사이클로서 7 내지 12개의 탄소 원자, 및 폴리사이클로서 약 20개 이하의 탄소 원자를 가질 수 있다. 모노시클릭 시클로알킬은 3 내지 7개의 고리 원자, 보다 전형적으로 5 또는 6개의 고리 원자를 갖는다. 바이시클릭 시클로알킬은 7 내지 12개의 고리 원자를 가질 수 있고, 융합 고리계, 스피로시클릭 고리계 또는 다리 고리계일 수 있다. 예시적인 시클로알킬 기에서, 원자는 바이시클로[4,5], [5,5], [5,6], 또는 [6,6] 시스템으로 배열될 수 있다. 특정 실시양태에서, 시클로알킬은 3 내지 20개의 원자, 또는 3 내지 10개의 원자, 또는 보다 바람직하게는 3 내지 7개의 원자를 함유한다. 시클로알킬의 예로는 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실, 시클로헵틸, 시클로옥틸 등을 들 수 있다. 달리 명시하지 않는 한, 시클로알킬은 본원에 기재된 1개 이상의 치환기에 의해 치환될 수 있다.
- [0048] 본원에서 사용되는 용어 "헤테로시클릴알킬" 및 "헤테로시클로알킬"은 헤테로시클로알킬 기로 치환된 알킬기를 지칭한다.
- [0049] 용어 "헤테로시클릴", "헤테로사이클", "헤테로시클릭", 및 "헤테로시클로알킬"은 고리 구조가 1개 이상의 헤테

로원자, 바람직하게는 1 내지 4개의 헤테로원자, 보다 바람직하게는 1 내지 2개의 헤테로원자를 포함하는, 치환된 또는 비치환된, 1가 또는 2가, 포화 또는 부분 포화 비방향족 고리 구조, 바람직하게는 3- 내지 10-원 고리, 보다 바람직하게는 3- 내지 7-원 고리를 지칭한다. 용어 "헤테로시클릴", "헤테로사이클", "헤테로시클릭", 및 "헤테로시클로알킬"은 또한 2개 이상의 탄소가 2개의 인접한 고리에 공통인 2개 이상의 시클릭 고리를 갖는 폴리시클릭 고리계를 포함하며, 여기서 고리 중 1개 이상은 헤테로시클릭이고, 예를 들어 다른 시클릭 고리는 시클로알킬, 시클로알케닐, 시클로알키닐, 아릴, 헤테로아릴, 및/또는 헤테로시클릴일 수 있다. 바이시클릭 및 폴리시클릭 헤테로시클릭 고리계는 융합, 다리, 또는 스피로 고리계일 수 있다. 치환된 헤테로사이클은 예를 들어, 카르보닐 기를 포함하여 본원에 개시된 임의의 치환기로 치환된 헤테로시클릭 고리를 포함한다. 헤테로시클릴 기는 예를 들어, 피페리딘, 피페라진, 피롤리딘, 모르폴린, 락톤, 락탐 등을 포함한다. 추가로 예시적인 헤테로사이클로는 디히드로피리딘, 디히드로인돌릴, 테트라히드로피리딘(피페리딘), 테트라히드로티오펜, 황-산화된 테트라히드로티오펜, 인돌레닐, 피페리디닐, 4-피페리디닐, 피롤리디닐, 2-피롤리도닐, 피롤리닐, 테트라히드로푸라닐, 테트라히드로퀴놀리닐, 테트라히드로이소퀴놀리닐, 데카히드로퀴놀리닐, 옥타히드로이소퀴놀리닐, 6H-1,2,5-티아디아지닐, 2H,6H-1,5,2-디티아지닐, 피라닐, 크로메닐, 크산테닐, 페녹사티닐, 2H-피롤릴, 3H-인돌릴, 4H-퀴놀리지닐, 프탈라지닐, 나프티리디닐, 퀴놀살리닐, 퀴나졸리닐, 신놀리닐, 프테리디닐, 4aH-카르바졸릴, 카르바졸릴, β-카르볼리닐, 페난트리디닐, 아크리디닐, 페난트롤리닐, 페나지닐, 페노티아지닐, 푸라자닐, 페녹사지닐, 이소크로마닐, 크로마닐, 이미다졸리디닐, 이미다졸리닐, 피라졸리디닐, 피라졸리닐, 피페라지닐, 퀴누클리디닐, 모르폴리닐, 및 옥사졸리디닐 (이들 각각은 치환된 또는 비치환된 것일 수 있음)을 들 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[0050] "헤테로아릴"은 고리 내에 1개 이상의 헤테로원자를 함유하는, 모노시클릭, 바이시클릭 또는 폴리시클릭인, 치환된 또는 비치환된 1가 또는 2가 방향족 기를 지칭한다. 방향족 고리에 함유될 수 있는 적합한 헤테로원자의 비제한적인 예로는 산소, 황 및 질소를 들 수 있다. 폴리시클릭 헤테로아릴 고리계에서, 고리계는 2개 이상의 탄소가 2개의 인접한 고리에 공통인 2개 이상의 시클릭 고리를 가지며, 여기서 고리 중 1개 이상은 헤테로방향족이고, 예를 들어 다른 시클릭 고리는 시클로알킬, 시클로알케닐, 시클로알키닐, 아릴, 헤테로아릴, 및/또는 헤테로시클릴일 수 있다. 헤테로기는 예를 들어, 벤조푸란, 벤조티오펜, 피롤, 푸란, 티오펜, 이미다졸, 인돌, 이소인돌, 이속사졸, 이소티아졸, 옥사졸, 티아졸, 퀴놀린, 이소퀴놀린, 피라졸, 피리딘, 피라진, 피리다진, 및 피리미딘 등 (이들 각각은 치환된 또는 비치환된 것일 수 있음)을 포함한다.

[0051] 용어 "헤테로시클릴", "헤테로사이클", "헤테로시클릭", 및 "헤테로시클로알킬"은 고리 구조가 1개 이상의 헤테로원자, 바람직하게는 1 내지 4개의 헤테로원자, 보다 바람직하게는 1 내지 2개의 헤테로원자를 포함하는, 치환된 또는 비치환된, 1가 또는 2가, 포화 또는 부분 포화 비방향족 고리 구조, 바람직하게는 3- 내지 10-원 고리, 보다 바람직하게는 3- 내지 7-원 고리를 지칭한다. 용어 "헤테로시클릴", "헤테로사이클", "헤테로시클릭", 및 "헤테로시클로알킬"은 또한 2개 이상의 탄소가 2개의 인접한 고리에 공통인 2개 이상의 시클릭 고리를 갖는 폴리시클릭 고리계를 포함하며, 여기서 고리 중 1개 이상은 헤테로시클릭이고, 예를 들어 다른 시클릭 고리는 시클로알킬, 시클로알케닐, 시클로알키닐, 아릴, 헤테로아릴, 및/또는 헤테로시클릴일 수 있다. 바이시클릭 및 폴리시클릭 헤테로시클릭 고리계는 융합, 다리, 또는 스피로 고리계일 수 있다. 치환된 헤테로사이클은 예를 들어, 카르보닐 기를 포함하여 본원에 개시된 임의의 치환기로 치환된 헤테로시클릭 고리를 포함한다. 헤테로시클릴 기는 예를 들어, 피페리딘, 피페라진, 피롤리딘, 모르폴린, 락톤, 락탐 등을 포함한다. 추가로 예시적인 헤테로사이클로는 디히드로피리딘, 디히드로인돌릴, 테트라히드로피리딘(피페리딘), 테트라히드로티오펜, 황-산화된 테트라히드로티오펜, 인돌레닐, 피페리디닐, 4-피페리디닐, 피롤리디닐, 2-피롤리도닐, 피롤리닐, 테트라히드로푸라닐, 테트라히드로퀴놀리닐, 테트라히드로이소퀴놀리닐, 데카히드로퀴놀리닐, 옥타히드로이소퀴놀리닐, 6H-1,2,5-티아디아지닐, 2H,6H-1,5,2-디티아지닐, 피라닐, 크로메닐, 크산테닐, 페녹사티닐, 2H-피롤릴, 3H-인돌릴, 4H-퀴놀리지닐, 프탈라지닐, 나프티리디닐, 퀴놀살리닐, 퀴나졸리닐, 신놀리닐, 프테리디닐, 4aH-카르바졸릴, 카르바졸릴, β-카르볼리닐, 페난트리디닐, 아크리디닐, 페난트롤리닐, 페나지닐, 페노티아지닐, 푸라자닐, 페녹사지닐, 이소크로마닐, 크로마닐, 이미다졸리디닐, 이미다졸리닐, 피라졸리디닐, 피라졸리닐, 피페라지닐, 퀴누클리디닐, 모르폴리닐, 및 옥사졸리디닐 (이들 각각은 치환된 또는 비치환된 것일 수 있음)을 들 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[0052] 본원에서 사용되는 용어 "할로" 및 "할로젠"은 할로젠을 의미하고, 클로로, 플루오로, 브로모, 및 요오드를 포함한다.

[0053] "아미노"는 -NH₂기를 나타낸다.

[0054] "시아노"는 -CN기를 나타낸다.

[0055] "니트로"는 -NO₂기를 나타낸다.

[0056] "카복시"는 -C(O)OH 기를 나타낸다.

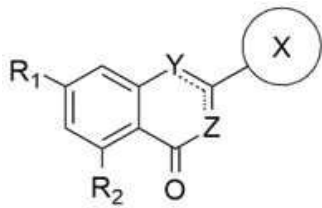
[0057] "알데하이드"는 -CHO기를 나타낸다.

[0058] "알콕시카르보닐"은 -C(O)O(알킬) 또는 -C(O)O(사이클로알킬)기를 나타내며, 여기서 상기 알킬 및 사이클로알킬은 상기에 정의된 바와 같다.

[0059] "아실 할라이드"는 -C(O)-할로젠기를 포함하는 화합물을 나타낸다.

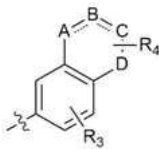
[0061] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염에 관한 것이다.

[0062] [화학식 1]



[0063]

[0064] 상기 식에서,



[0065] 고리 X는 ; 또는 치환되거나 비치환된 아릴이고,

[0066] 여기서 A, B, C, 및 D는 각각 독립적으로 C, C(=O), N, O, S 또는 부재이고,

[0067] Y는 C, C(=O), N, O 또는 S이고,

[0068] Z는 CR₅ 또는 NR₅이고,

[0069] ---는 각각 부재 또는 단결합이고,

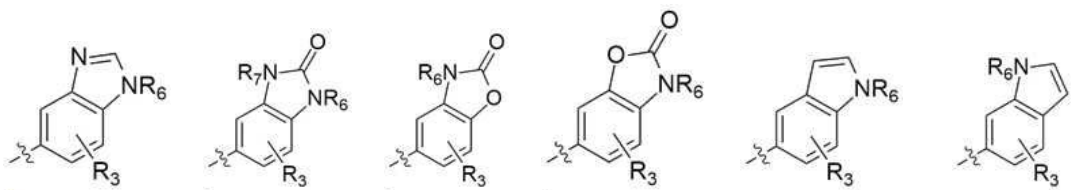
[0070] R₁, R₂, 및 R₅는 각각 독립적으로 H, 할로, 시아노, 알킬, 알케닐, 알키닐, -C(=O)Ra, -C(=O)N(Ra)(Rb), -C(=O)ORa, -N(Ra)(Rb), -N(Ra)C(=O)Rb, -N(Ra)S(=O)Rb, -N(Ra)S(=O)₂Rb, -NO₂, -ORa, -OC(=O)Ra, -SRa, -S(=O)Ra, -S(=O)N(Ra)(Rb), -S(=O)₂Ra, -S(=O)₂N(Ra)(Rb), 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴이고,

[0071] R₃는 H, 알킬, 및 -ORa로 이루어진 군에서 선택된 동일하거나 서로 상이한 하나 이상일 수 있고,

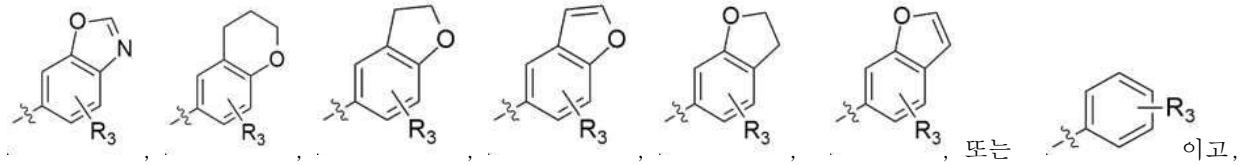
[0072] R₄는 H, 알킬, 알케닐, 및 알키닐로 이루어진 군에서 선택된 동일하거나 서로 상이한 하나 이상일 수 있고,

[0073] Ra 및 Rb는 각각 독립적으로 H, 할로, 시아노, 알킬, 시클로알킬, 또는 헤테로시클로알킬이다.

[0074] 일 실시태양에서, 상기 화학식 1의 화합물에서,



[0075] 상기 고리 X는



[0076] R₃은 H, C₁-C₆알킬, 및 -ORa로 이루어진 군에서 선택된 동일하거나 서로 상이한 하나 이상일 수 있고, 여기서, Ra는 H, C₁-C₆알킬, 시클로알킬, 또는 N, O, 또는 S에서 선택된 헤테로원자를 포함하는 3원 내지 10원 헤테로시클로알킬이고,

[0077] R₆ 및 R₇은 각각 독립적으로 H, 또는 C₁-C₆알킬일 수 있다.

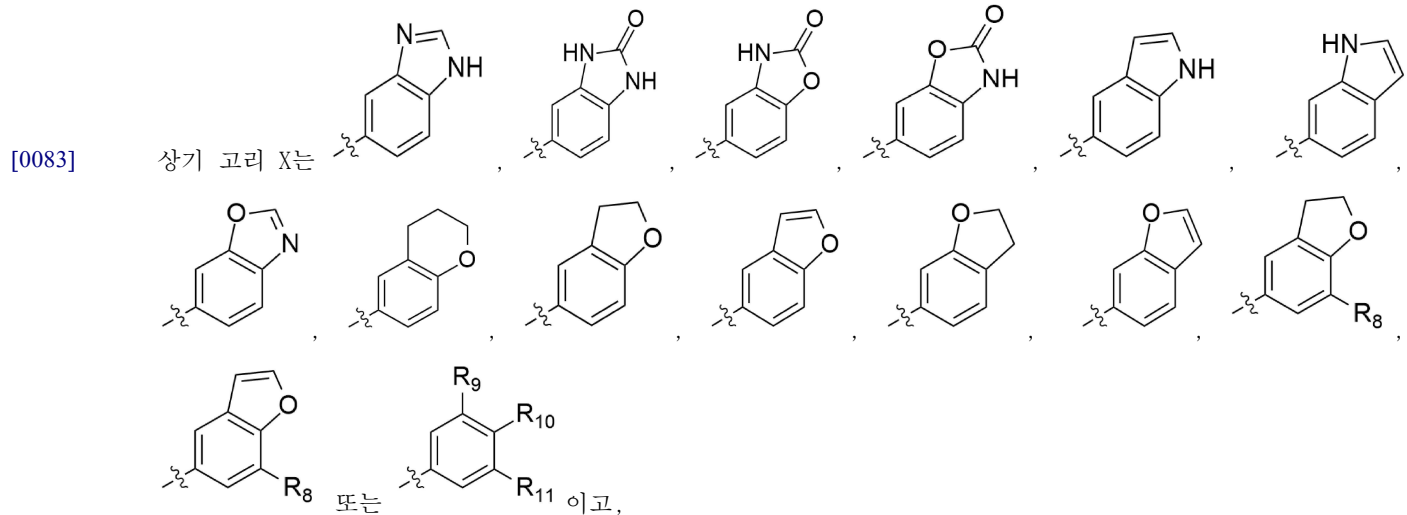
[0078] 일 실시태양에서, 상기 화학식 1의 화합물에서,

[0079] Y는 N 또는 O이고,

[0080] Z는 CR₅ 또는 NR₅이고,

[0081] R₁, R₂ 및 R₅는 각각 독립적으로 H, C₁-C₆알킬, OH, 또는 -O-C₁-C₆알킬일 수 있다.


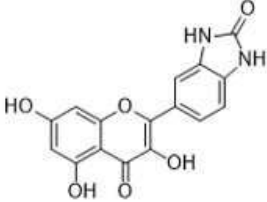
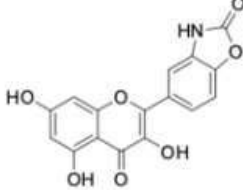
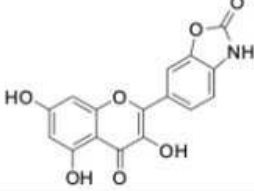
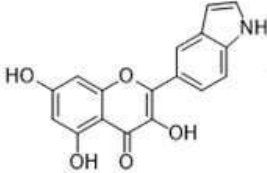
[0082] 일 실시태양에서, 상기 화학식 1의 화합물에서,



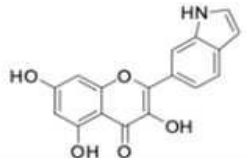
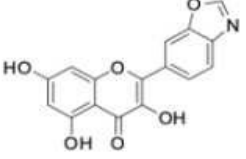
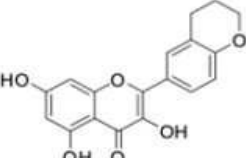
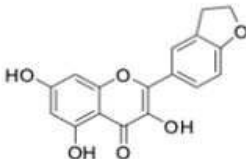
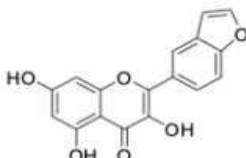
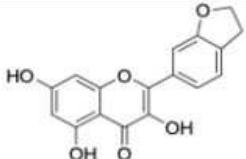
[0084] R₈은 H, 또는 C₁-C₆알킬이고,

[0085] R₉, R₁₀ 또는 R₁₁은 각각 독립적으로 H, C₁-C₆알킬, 또는 -ORa이고, 여기서, Ra는 H, C₁-C₆알킬, 또는 O의 헤테로원자를 포함하는 3원 내지 10원 헤테로시클로알킬일 수 있다.

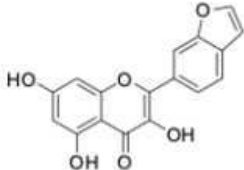
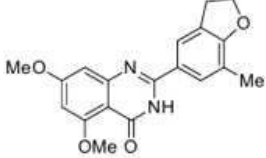
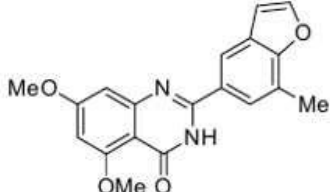
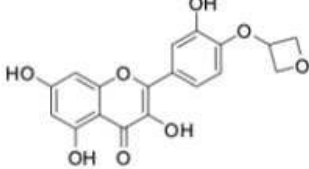
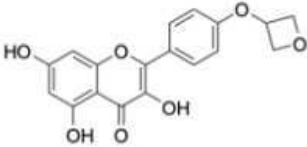
[0086] 본 발명에 따른 바람직한 예는 다음과 같으나, 이에 한정되지 않는다.

번호	화합물	구조
1	BBC0109	
2	BBC0110	
3	BBC0111	
4	BBC0113	
5	BBC0114	

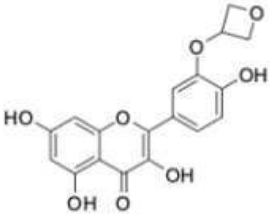
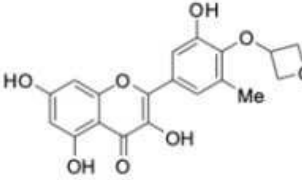
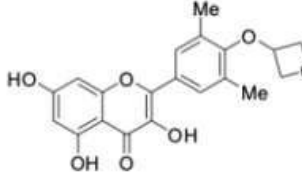
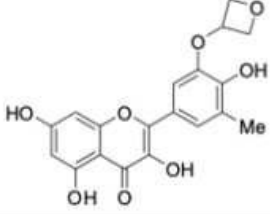
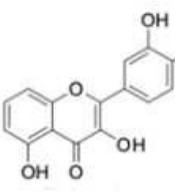
[0088]

6	BBC0115	
7	BBC0116	
8	BBC0309	
9	BBC0310	
10	BBC0311	
11	BBC0312	

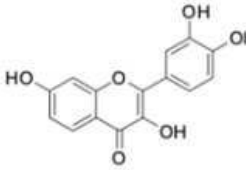
[0089]

12	BBC0313	
13	BBC0406	
14	BBC0407	
15	BBC0301	
16	BBC0302	

[0090]

17	BBC0303	
18	BBC0305	
19	BBC0306	
20	BBC0307	
21	BBC0104	

[0091]

22	BBC0105	
----	---------	---

[0092]

[0094]

본 발명에 따른 화합물은 약학적으로 허용되는 염을 형성할 수 있다. 이러한 약학적으로 허용되는 염에는 약학적으로 허용되는 음이온을 함유하는 무독성 산부가염을 형성하는 산이면 특별히 한정되지 않는다. 예를 들면, 염산, 황산, 질산, 인산, 브롬화수소산, 요오드화수소산 등과 같은 무기산; 타타르산, 포름산, 시트르산, 아세트산, 트리클로로아세트산, 트리플로로아세트산, 글루콘산, 벤조산, 락트산, 푸마르산, 말레인산 등과 같은 유기산; 메탄설폰산, 벤젠설폰산, p-톨루엔설폰산, 나프탈렌설폰산 등과 같은 설폰산 등에 의해 형성된 산부가염을 들 수 있다.

[0095]

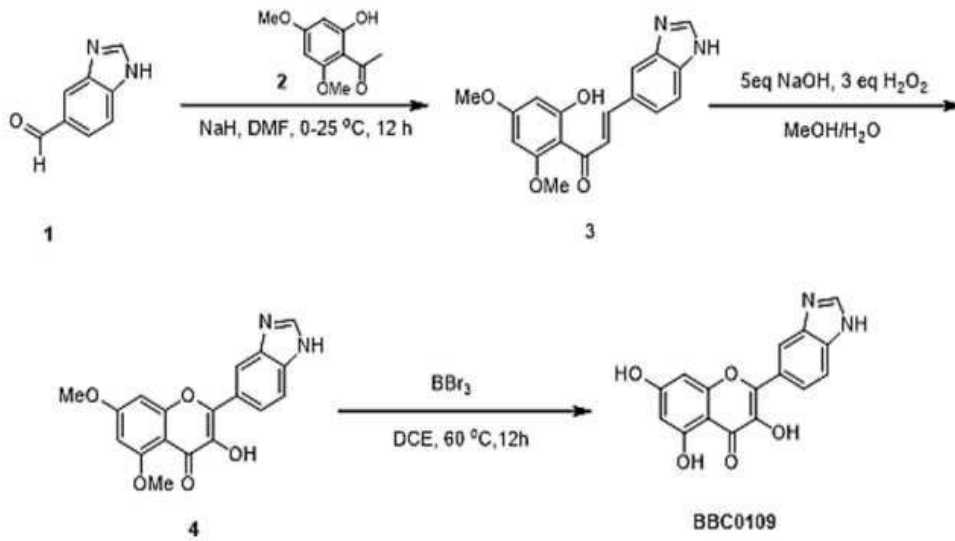
다른 일 측면에서, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 BET (Bromodomain Extra-Terminal) 단백질 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0096]

본 발명의 약학적 조성물은 그에 포함되는 화학식 1로 표시되는 화합물이 BET 단백질을 저해함으로써, 이와 관련된 다양한 질환을 예방 또는 치료하는 데 유용하다. 상기 BET 단백질 관련 질환은 암; 자가면역 또는 염증성 질환; 대사 질환; 또는 바이러스성 질환 일 수 있다.

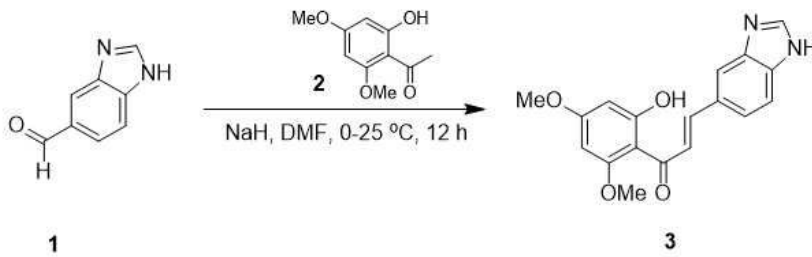
- [0097] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 압은 혈액압, 다발성 골수종, 급성 골수성 백혈병, 악성 림프종, 재생불량성 빈혈, 흉선암, 난소암, 자궁경부암, 유방암, 대장암, 간암, 위암, 췌장암, 결장암, 복막 전이암, 피부암, 방광암, 전립선암, 갑상선암, 폐암, 골육종, 섬유성 종양 및 뇌종양으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상 일 수 있지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.
- [0098] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 자가면역 또는 염증성 질환은 류마티스성 관절염, 전신 홍반성 루푸스, 다발성 경화증, 제1형 당뇨병, 갑상선 기능 항진증, 근무력증, 크론병, 강직성 척추염, 건선, 자가면역성 악성빈혈 및 쇼그렌 증후군, 알레르기, 알레르기성 비염, 관절염, 천식, 만성 폐쇄성 폐 질환, 퇴행성 관절 질환, 피부염, 장기 거부, 습진, 간염, 염증성 장 질환, 패혈증, 패혈증 증후군, 패혈성 쇼크 및 비알콜성 지방간염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상 일 수 있지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.
- [0099] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 대사 질환은 고중성지방혈증, 비만, 고지혈증, 과인슐린혈증, 과혈당증, 동맥경화증, 고혈압, 제2형 당뇨병, 및 인슐린 저항성 질환으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상 일 수 있지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.
- [0100] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 바이러스성 질환은 소아마비, 급성출혈성 결막염, 바이러스성 수막염, 수족구병, 간염, 근육염, 심근염, 췌장염, 유행성 근육통, 뇌염, 감기, 포진성 구협염, 구제역, 천식, 모세기관지염, 기관지염, 만성 폐쇄성 폐질환, 폐렴, 축농증, 중이염, 단순포진, 대상포진, 구내염, 및 수두로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상 일 수 있지만, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0101] 본 발명의 또 다른 구현예에 따르면, 상기 약학적 조성물을 포함하는 약학적 제제를 제공한다.
- [0102] 본 발명의 약학적 제제는 정제, 환제, 산제, 캡슐제, 시럽 또는 에멀전 등의 다양한 경구 투여 형태 또는 주사제 등의 근육 내, 정맥 내 또는 피하 투여와 같은 비경구 투여 형태일 수 있다.
- [0103] 또한, 상기 약학적 제제는 유효성분 외에 통상의 무독성의 약학적으로 허용 가능한 첨가제로, 구체적인 예를 들면 담체, 첨가제 및 부형제로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상이 첨가되어 통상적인 방법에 따라 제제화될 수 있다.
- [0104] 이하, 본 발명을 하기 실시예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 의해 한정되는 것은 아니다.
- [0106] **[실시예]**
- [0107] 화합물의 구조는 핵자기공명(NMR) 및 질량분석법(MS)으로 확인되었다. NMR은 Bruker Avance-400 또는 Bruker Avance 300 기기로 측정되었다. 측정을 위한 용매는 중수소 치환된-다이메틸 설펝사이드 (DMSO-d6), 중수소 치환된-클로로포름 (CDCl₃) 및 중수소 치환된-메탄올 (CD₃OD)였으며, 내부 표준은 테트라메틸실란 (TMS)이었다.
- [0108] 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC)는 플래시 크로마토그래피 또는 컬럼 크로마토그래피에 의해 수행되었다.
- [0109] 박막 크로마토그래피(TLC)는 실리카 겔 플레이트상에서 수행하였다. 1000 메쉬 실리카겔이 박막 크로마토그래피에 사용되었다. 또한, TLC에 사용된 실리카겔 플레이트의 치수는 20-25 μm였고, 생성물 정제에 사용된 실리카겔 플레이트의 치수는 40 내지 45 μm였다.
- [0110] 시각화를 위해 수증에서 자외선, 요오드, 과망간산칼륨을 사용하였다
- [0111] 본 발명의 공지된 출발 물질은 당업계의 통상적인 합성 방법으로 제조될 수 있으며, 또는 Alfa Aesar, Aldrich 등으로부터 구입될 수 있다.
- [0113] **실시예 1: 화합물 1 (BBC0109)의 합성**

[0114] [반응식]



[0115]

[0116] 단계 1. 3-(1H-벤즈이미다졸-5-일)-1-(2-하이드록시-4,6-다이메톡시페닐)프로-2-펜-1-온의 제조

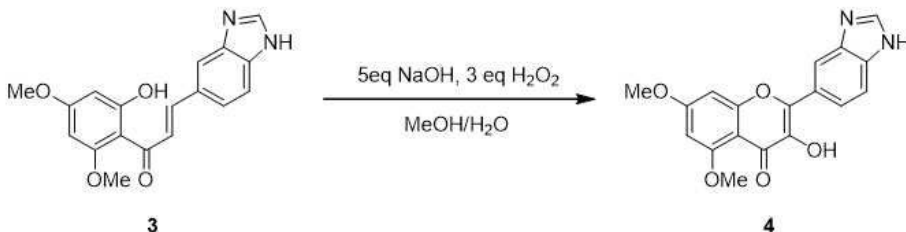


[0117]

[0118] 1-(2-하이드록시-4,6-다이메톡시페닐)케텐 (500 mg, 2.55 mmol, 1 eq)를 DMF(15 mL)에 녹인 다음, 0°C에서 수산화나트륨(254.84 mg, 6.37 mmol, 60% purity, 2.5 eq)과 1H-벤즈이미다졸-5-카르보알데하이드(409.69 mg, 2.80 mmol, 1.1 eq)를 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응이 완결되면 증류수와 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층은 무수 황산나트륨을 이용하여 건조하고, 농축한 다음 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 중간체 3 (300 mg, 924.98 umol, 36.30% yield)을 수득하였다.

[0119] LCMS: RT= 0.821 min, m/z: 325.2 (M + H)+

[0121] 단계 2. 2-(1H-벤즈이미다졸-5-일)-3-하이드록시-5,7-다이메톡시-4H-크로멘-4-논의 합성

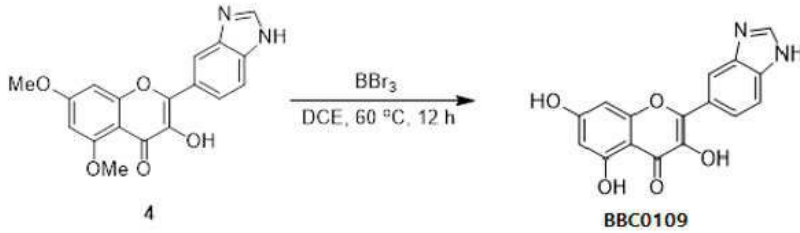


[0122]

[0123] 3-(1H-벤즈이미다졸-5-yl)-1-(2-하이드록시-4,6-다이메톡시페닐)프로-2-펜-1-온 (270 mg, 832.49 umol, 1eq)을 메탄올 (60 mg)/물 (30mL)에 녹인 다음, 0°C에서 수산화나트륨 (170.09 mg, 4.25 mmol, 5.11 eq) 및 과산화수소 (288.00 mg, 2.54 mmol, 244.07 uL, 30% purity, 3.05 eq)를 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응이 완결되면 증류수로 희석하고 pH 5로 조정한 다음 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층은 무수 황산나트륨을 이용하여 건조하고, 농축하여 중간체 4 (120mg)를 수득하였다.

[0124] LCMS: RT= 0.650 min, m/z: 339.0 (M + H)⁺

[0126] 단계 3. 2-(1H-벤즈이미다졸-5-일)-3,5,7-트리하이드록시-4H-크로멘-4-온(BBC0109)의 제조



[0127]

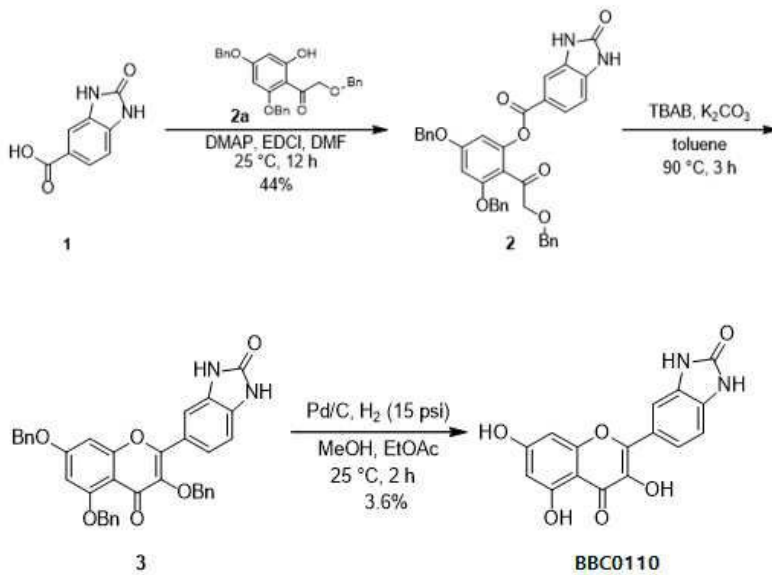
[0128] 2-(1H-벤즈이미다졸-5-일)-3-히드록시-5,7-다이메톡시-4H-크로멘-4-온 (50 mg, 147.79 umol, 1 당량)을 디클로로에테인(3 mL)에 녹인 다음 여기에 삼브롬화붕소(370.25 mg, 1.48 mmol, 142.40 uL, 10 eq)를 첨가한 후 60 °C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응이 완료되면 메탄올을 첨가하고 농축한 다음 prep-HPLC로 정제하여 화합물 1 (3.23 mg, 9.67 umol, 3.27% yield, 92.9% purity)을 수득하였다.

[0129] ¹H NMR (400 MHz, METHANOL-d₄) δ ppm 8.60 (1H, s), 8.33 (1H, s), 8.15-8.22 (1H, m), 7.77 (1H, d, J = 8.4 Hz), 6.49 (1H, d, J = 2.0 Hz), 6.24 (1H, d, J = 2.0 Hz)

[0130] LCMS: RT= 2.049 min, m/z: 311.0 (M + H)⁺

[0132] 실시예 2: 화합물 2 (BBC0110)의 합성

[0133] [반응식]



[0134]

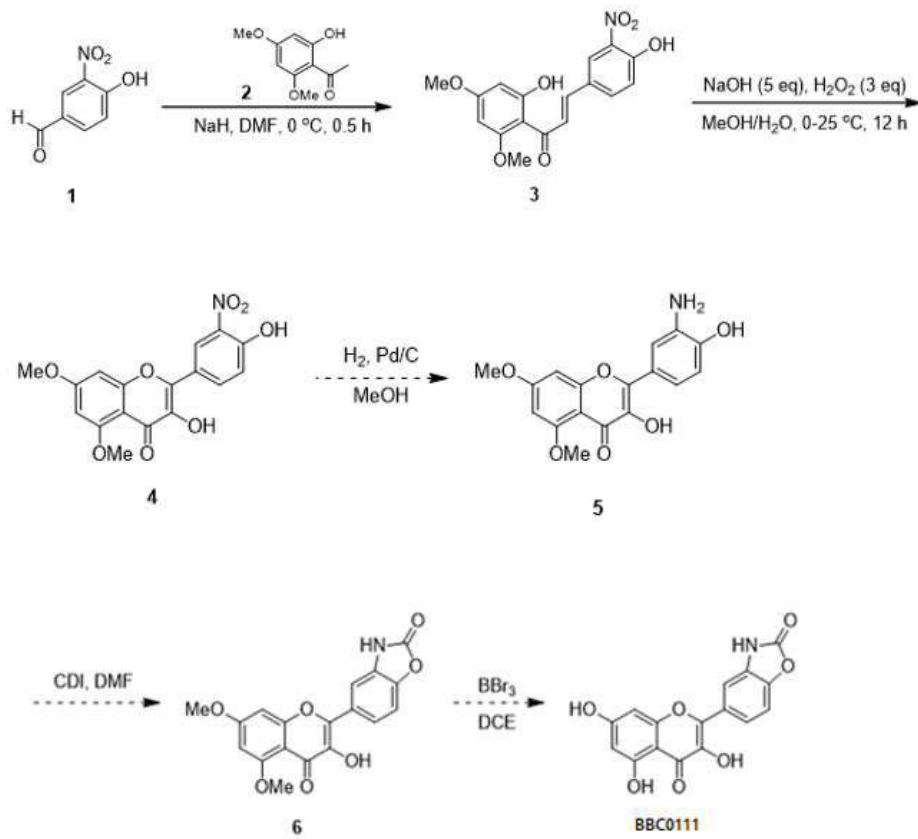
[0135] 2-옥소-1,3-디하이드로벤즈이미다졸-5-카르복실산 1 (196.0 mg, 1.1 mmol, 2.0 eq)으로부터 5-(3,5,7-trihydroxy-4-oxo-chromen-2-yl)-1,3-dihydrobenzimidazol-2-one (BBC0110) (2.64 mg, 7.3 umol, 3.6% yield, 90.5% purity)을 상기의 반응식으로 수득하였다.

[0136] LCMS: RT= 2.270 min, m/z: 327.0 (M + H)⁺

[0137] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 10.71-10.88 (1H, m) 7.78-7.87 (2H, m) 7.08 (1H, d, J = 8.4 Hz) 6.39 (1H, d, J = 1.6 Hz) 6.15 (1H, d, J = 2.0 Hz).

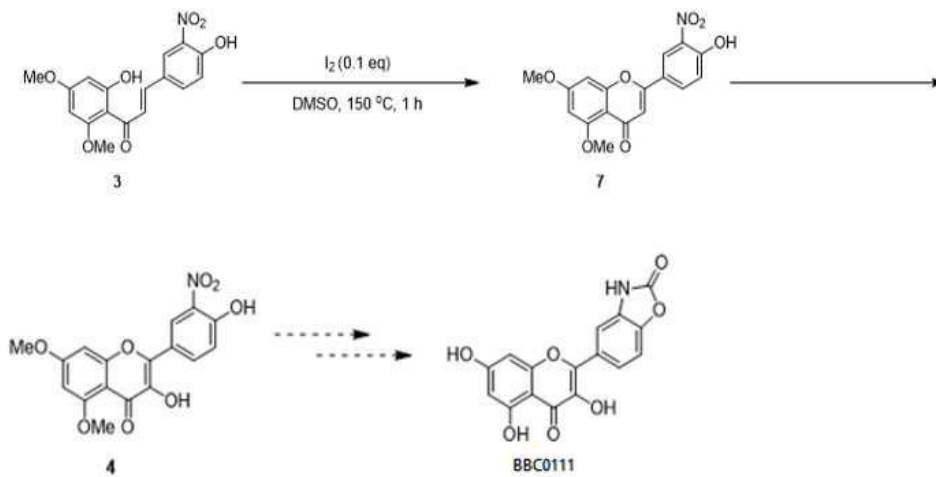
[0139] 실시예 3: 화합물 3 (BBC0111)의 합성

[0140] [반응식 1]



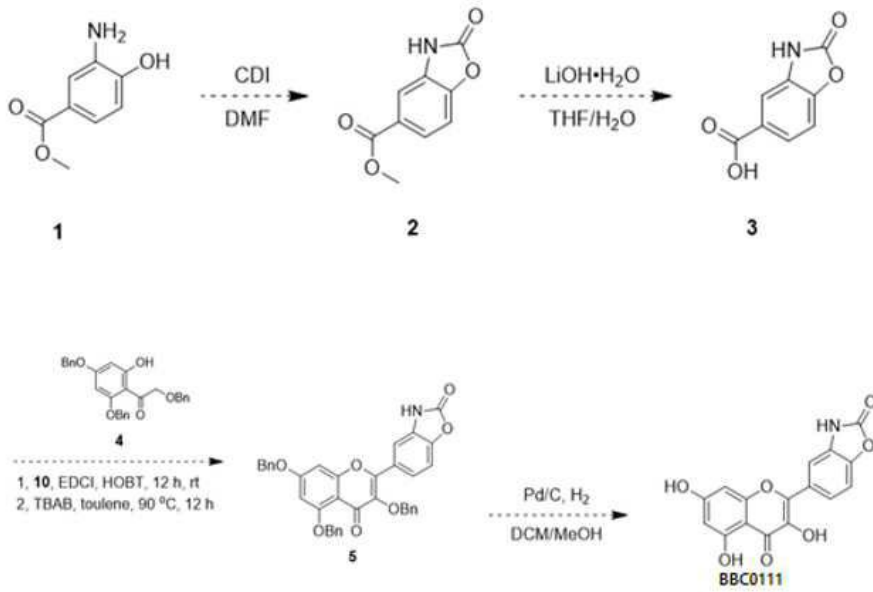
[0141]

[0142] [반응식 2]



[0143]

[0144] [반응식 3]

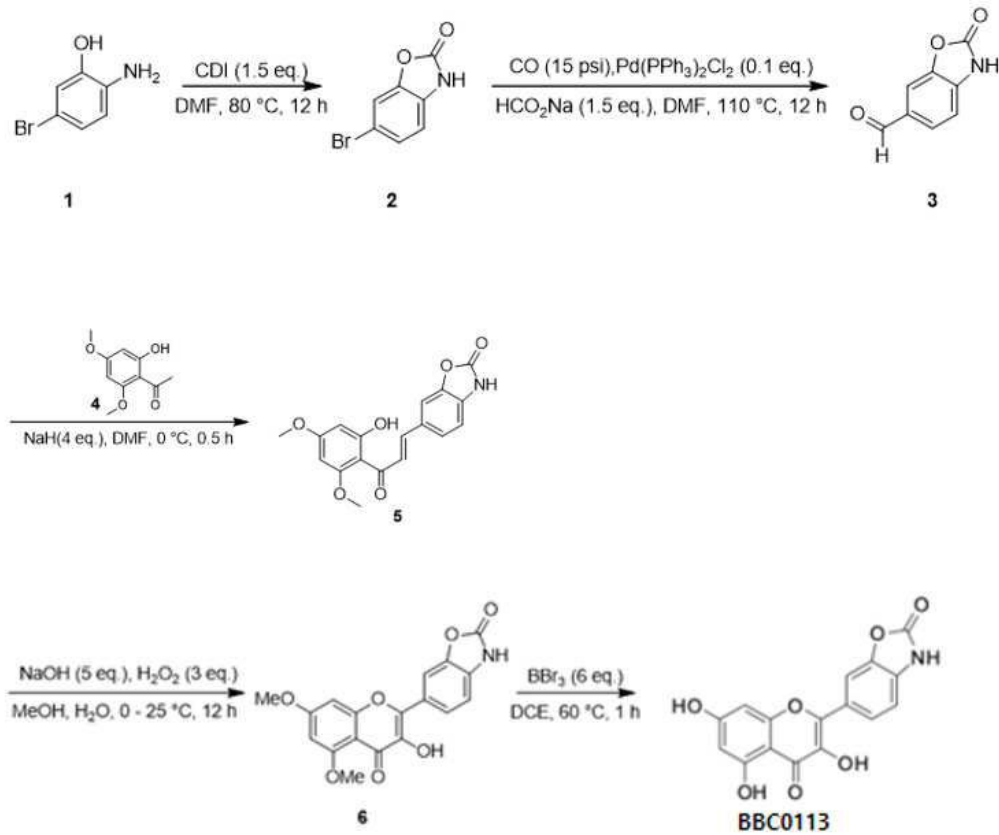


[0145]

[0146] 상기 반응식 1-3 중 어느 하나의 반응식으로 BBC0111의 화합물을 제조하였다.

[0148] 실시예 4: 화합물 4 (BBC0113)의 합성

[0149] [반응식]



[0150]

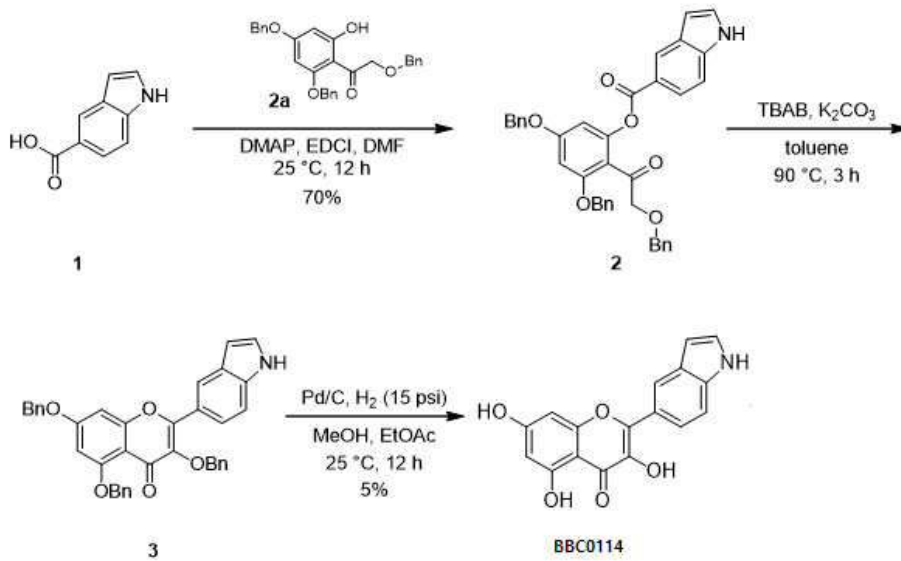
[0151] 2-아미노-5-브로모-페놀 1 (1.0 g, 5.32 mmol, 1.0 eq)로부터 6-(3,5,7-트리히드록시-4-옥소-크로멘-2-yl)-3H-1,3-벤즈옥사졸-2-온 (BBC0113) (4.6 mg, 12.8 umol, 18.2% yield, 91% purity)을 수득하였다.

[0152] LCMS: RT= 2.447 min, m/z: 328.0 (M + H)+

[0153] ^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ ppm 8.11 (2H, s), 7.22 (1H, br d, $J = 8.0$ Hz), 6.44 (1H, s), 6.20 (1H, s)

[0155] 실시예 5: 화합물 5 (BBC0114)의 합성

[0156] [반응식]



[0157]

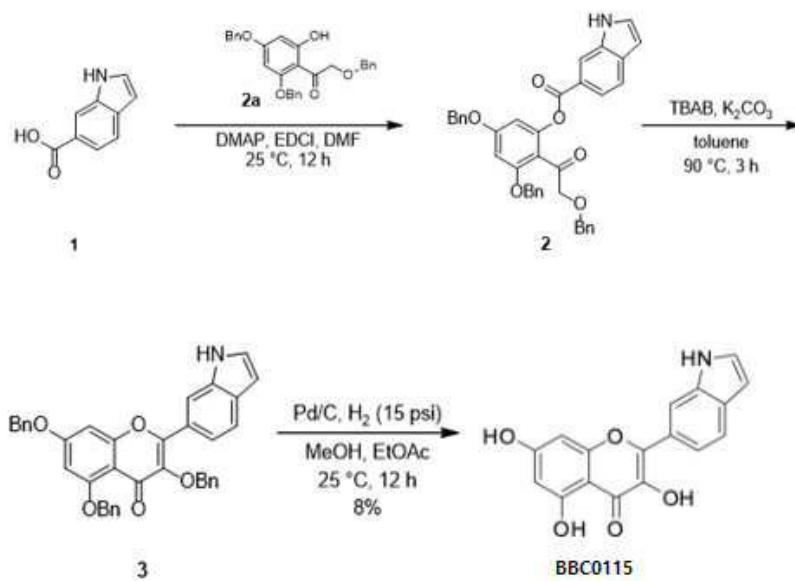
[0158] 1H-인돌-5-카르복실산 1 (92.2 mg, 572.0 μmol , 2.0 eq)으로부터 3,5,7-트리하이드록시-2-(1H-인돌-5-일)크로멘-4-온 (BBC0114) (2.38 mg, 7.16 μmol , 4.6% yield, 93% purity)을 수득하였다.

[0159] LCMS: RT= 2.666 min, m/z: 310.0 (M + H)⁺

[0160] ^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ ppm 8.50 (1H, d, $J = 1.2$ Hz) 7.99 (1H, dd, $J = 8.8, 1.6$ Hz) 7.50 (1H, d, $J = 8.8$ Hz) 7.32 (1H, d, $J = 3.2$ Hz) 6.58 (1H, dd, $J = 3.2, 0.8$ Hz) 6.45 (1H, d, $J = 2.0$ Hz) 6.20 (1H, d, $J = 2.0$ Hz)

[0163] 실시예 6: 화합물 6 (BBC0115)의 합성

[0164] [반응식]



[0165]

[0166] 1H-인돌-6-카르복실산 1 (106.4 mg, 660.1 μmol , 2.0 eq)으로부터 3,5,7-트리하이드록시-2-(1H-인돌-6-일)크로

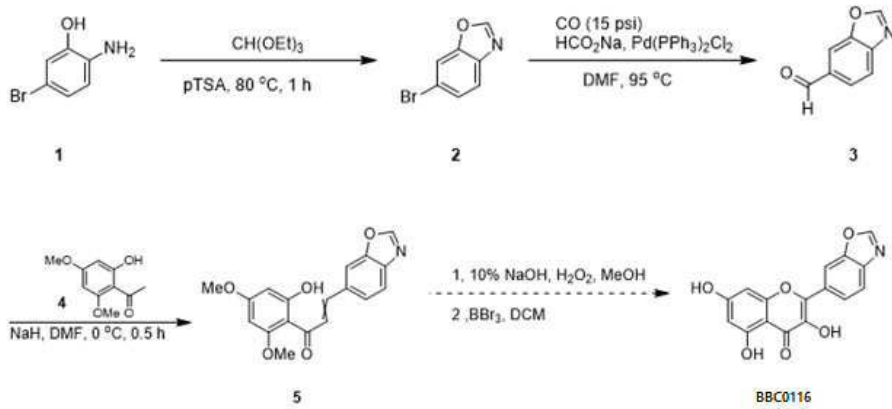
멘-4-온 (BBC0115) (4.73 mg, 13.8 umol, 8.0% yield, 90.4% purity)을 수득하였다.

[0167] LCMS: RT= 2.711 min, m/z: 310.0 (M + H)⁺

[0168] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 12.52 (1H, s) 11.45 (1H, br s) 10.81 (1H, s) 9.48 (1H, s) 8.39 (1H, s) 7.82 (1H, dd, J = 8.4, 1.6 Hz) 7.69 (1H, d, J = 8.4 Hz) 7.54 (1H, t, J = 2.8 Hz) 6.45-6.54 (2H, m) 6.21 (1H, d, J = 2.0 Hz)

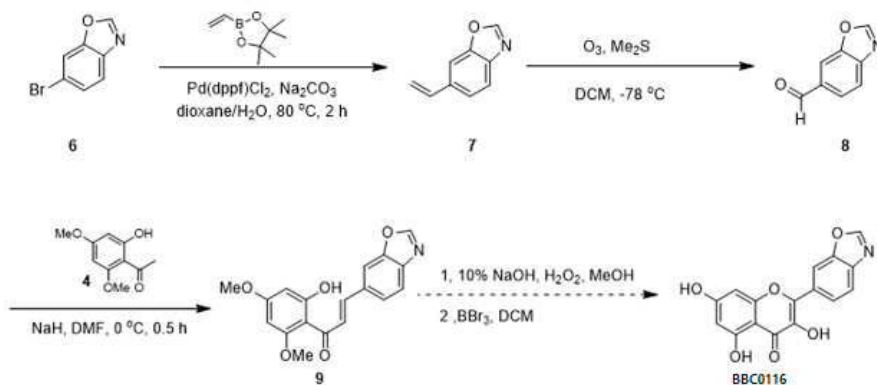
[0170] 실시예 7: 화합물 7 (BBC0116)의 합성

[0171] [반응식 1]



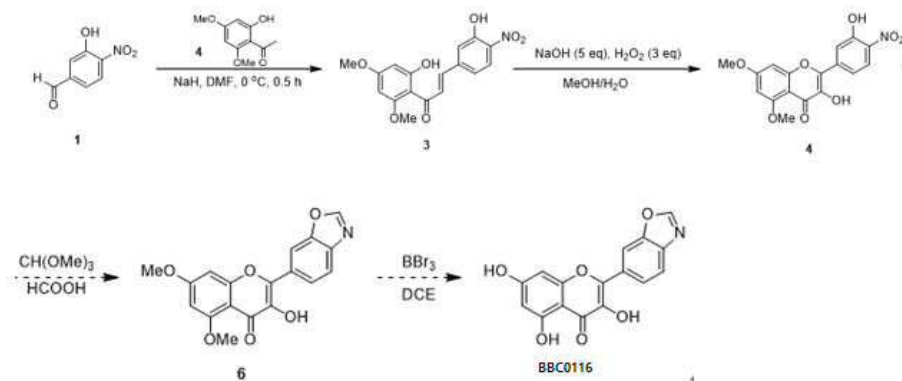
[0172]

[0173] [반응식 2]



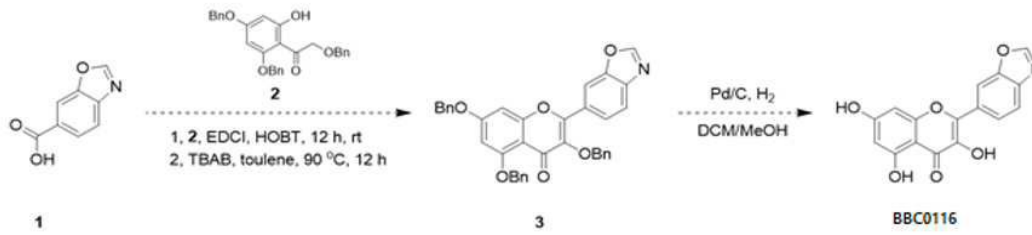
[0174]

[0175] [반응식 3]



[0176]

[0177] [반응식 4]

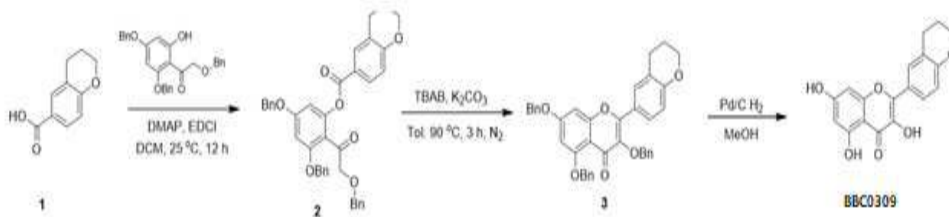


[0178]

[0179] 상기 반응식 1 내지 4 중 하나의 방법으로 화합물 7 (BBC0116)을 제조하였다.

[0181] 실시예 8: 화합물 8 (BBC0309)의 합성

[0182] [반응식]



[0183]

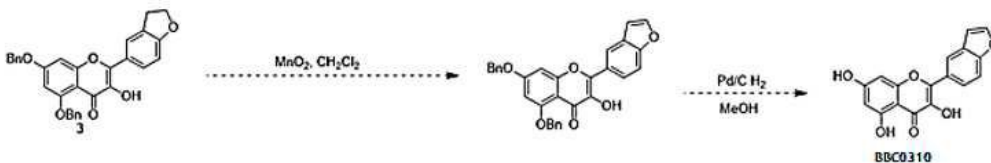
[0184] 크로멘-6-카르복실산 1 (55 mg, 308.67 umol, 2 eq)으로부터 2-크로멘-6-일-3,5,7-트리하이드록시-크로멘-4-온 (10.85 mg, 32.55 umol, 13.87% yield, 97.893% purity)을 수득하였다.

[0185] LCMS: RT= 2.857 min, m/z: 327.0 (M + H)⁺

[0186] ¹H NMR (400 MHz, DMSO): δ (ppm) 12.44 (1H, s), 7.95 - 7.84 (2H, m), 6.88 (1H, d, J=8.40 Hz), 6.43 (1H, d, J=2.00 Hz), 6.18 (1H, d, J=2.00 Hz), 4.32 - 4.12 (2H, m), 2.82 (2H, t, J=6.00 Hz), 2.04 - 1.83 (2H, m)

[0188] 실시예 9: 화합물 9 (BBC0310)의 합성

[0189] [반응식]



[0190]

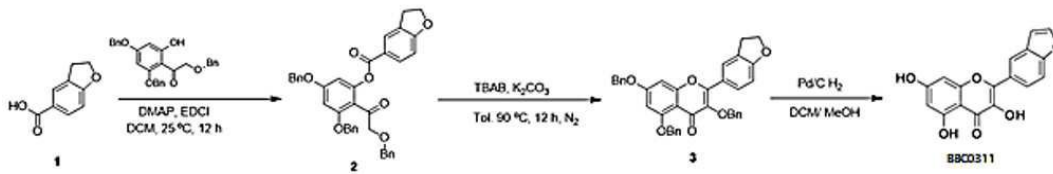
[0191] 벤조퓨란-5-카복실릭산(143mg, 881.94umol, 2eq)과 2-벤질록시-1-(2,4-다이벤질록시-6-하이드록시페닐)에탄올 (200mg, 440.0. umol, 1eq)로부터 2-(벤조퓨란-5-일)-3,5,7-트리하이드록시-크로멘-4-온 (BBC0310) (19.45mg, 61.51 umol, 14.88% yield, 98.112% purity)을 수득하였다.

[0192] LCMS: RT= 2.834 min, m/z: 311.0 (M + H)⁺

[0193] ¹H NMR (400 MHz, DMSO): δ (ppm) 8.52 (1H, s), 8.16 (1H, d, J = 8.8 Hz), 8.10 (1H, d, J = 2.40 Hz), 7.77 (1H, d, J = 8.80 Hz), 7.12 (1H, d, J = 1.2 Hz), 6.48 (1H, d, J = 2.0 Hz), 6.20 (1H, d, J = 2.00 Hz).

[0195] 실시예 10: 화합물 10 (BBC0311)의 합성

[0196] [반응식]



[0197]

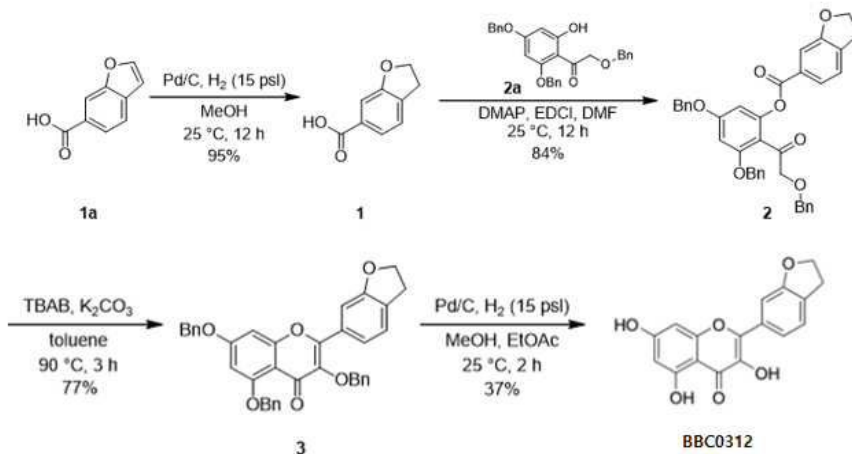
[0198] 2-벤질옥시-1-(2,4-다이벤질옥시-6-하이드록시-페닐)에타논 (200mg, 440.03 μmol , 1 eq)와 2,3-다이하이드로벤조퓨란-5-카복실릭산 (148.00mg, 901.57 μmol , 2.05eq)로부터 2-(2,3-다이하이드로벤조퓨란-5-일)-3,5,7-트라이하이드록시-크로멘-4-온 (BBC0311) (41.24mg, 126.61 μmol , 36.88% yield, 95.867% purity)를 수득하였다.

[0199] LCMS: RT= 2.436 min, m/z: 313.0 (M + H)⁺

[0200] ¹H NMR (400 MHz, MeOD): δ (ppm) 8.09 (1H, s), 8.01 (1H, dd, J = 8.8, 1.6 Hz), 6.85 (1H, d, J = 8.8 Hz), 6.40 (1H, d, J = 2.0 Hz), 6.18 (1H, d, J = 2.4 Hz), 4.63 (2H, t, J = 8.8 Hz), 3.27 (2H, s).

[0202] 실시예 11: 화합물 11 (BBC0312)의 합성

[0203] [반응식]



[0204]

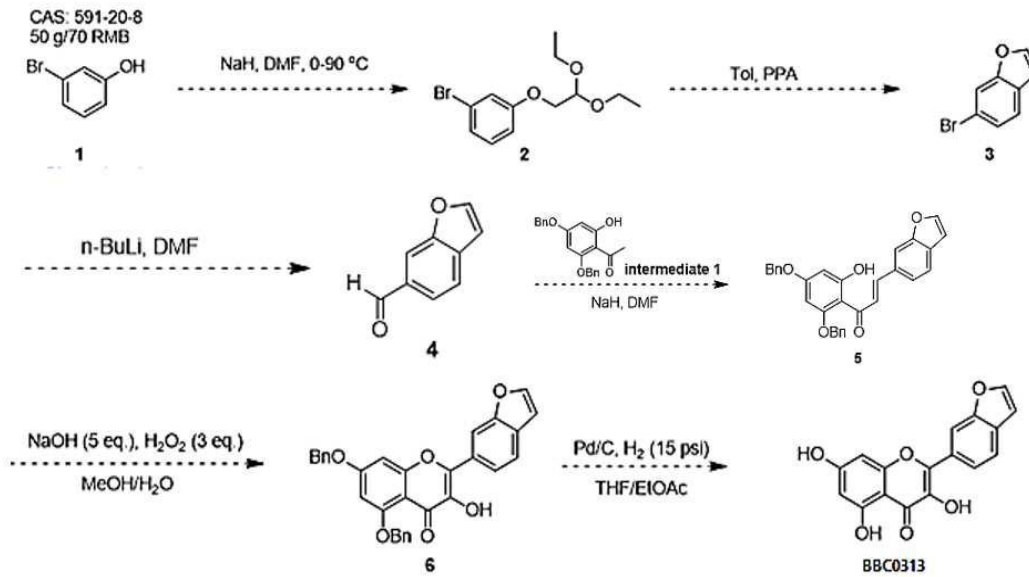
[0205] 벤조퓨란-6-카복실릭산 (300.0mg, 1.85 mmol, 1.0 eq)로부터 2-(2,3-다이하이드로벤조퓨란-6-일)-3,5,7-트라이하이드록시-크로멘-4-온 (BBC0312) (29.12mg, 88.7 μmol , 36.9% yield, 95.1% purity)를 수득하였다.

[0206] LCMS: RT= 2.762 min, m/z: 313.1 (M + H)⁺

[0207] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 12.36 (1H, s) 10.85 (1H, br s) 9.61 (1H, br s) 7.67 (1H, dd, J = 8.0, 1.2 Hz) 7.53 (1H, d, J = 1.2 Hz) 7.39 (1H, d, J = 8.0 Hz) 6.46 (1H, d, J = 2.0 Hz) 6.20 (1H, d, J = 2.0 Hz) 4.58 (2H, t, J = 8.8 Hz) 3.24 (2H, t, J = 8.8 Hz).

[0209] 실시예 12: 화합물 12 (BBC0313)의 합성

[0210] [반응식]



[0211]

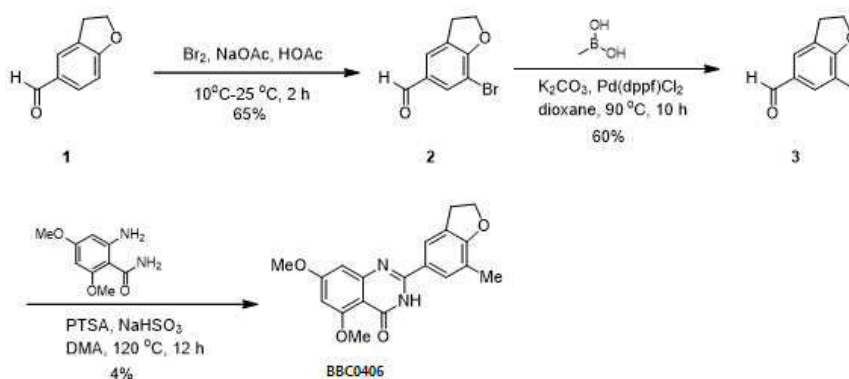
[0212] 2-(3,4-다이하이드록시페닐)-3,5,7-트라이하이드록시-크로멘-4-온 (15.0g, 49.6 mmol, 1.0eq)으로부터 2-(벤조퓨란-6-일)-3,5,7-트라이하이드록시-크로멘-4-온 (BBC0313) (13mg, 40.7 umol, 26.3% yield, 97.1% purity)를 수득하였다.

[0213] LCMS: RT= 2.836 min, m/z: 97.1 (M + H)+

[0214] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 12.39 (1H, s) 8.43 (1H, s) 8.16 (1H, d, J = 2.0 Hz) 8.11 (1H, dd, J = 8.4, 1.6 Hz) 7.82 (1H, d, J = 8.4 Hz) 7.07 (1H, dd, J = 2.0, 0.8 Hz) 6.52 (1H, d, J = 2.0 Hz) 6.22 (1H, d, J = 2.0 Hz).

[0216] 실시예 13: 화합물 13 (BBC0406)의 합성

[0217] [반응식]



[0218]

[0219] 2,3-다이하이드로벤조퓨란-5-카르보알데하이드 1 (500 mg, 3.37 mmol, 1 eq)으로부터 5,7-디메톡시-2-(7-메틸-2,3-다이하이드로벤조퓨란-5-yl)-3H-퀴나졸린-4-온 (BBC0406) (13 mg, 38.11 umol, 4.15% yield, 99.2% purity)을 수득하였다.

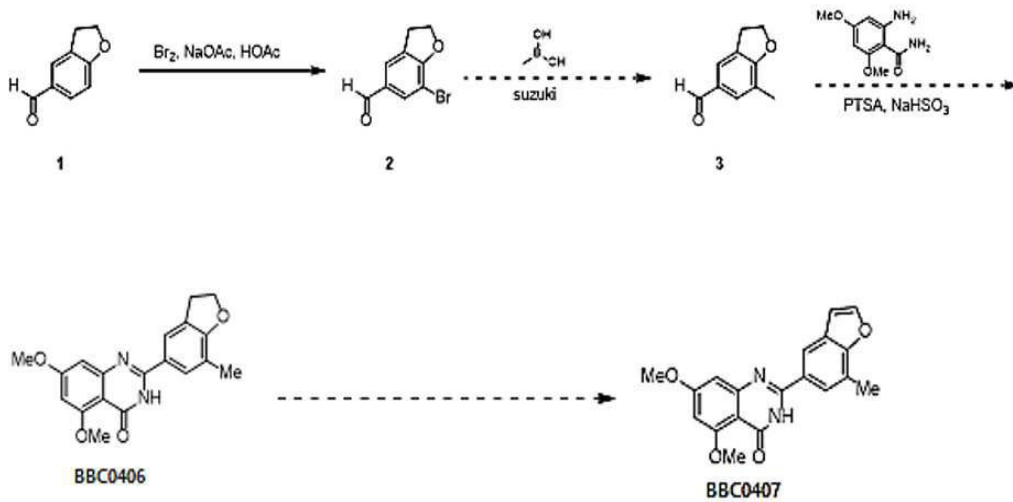
[0220] LCMS: RT= 2.200 min, m/z: 339.1 (M + H)+

[0221] ¹H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-d) δ ppm 8.98 (1 H, br s), 7.71 (1 H, s), 7.60 (1 H, s), 6.80 (1 H, d, J = 2.4 Hz) 6.44 (1 H, d, J = 2.4 Hz), 4.68 (2 H, t, J = 8.8 Hz), 3.98 (3 H, s), 3.92 (3 H, s), 3.30 (2

H, t, J = 8.8 Hz), 2.28 (3 H, s).

[0223] 실시예 14: 화합물 14 (BBC0407)의 합성

[0224] [반응식]



[0225] .

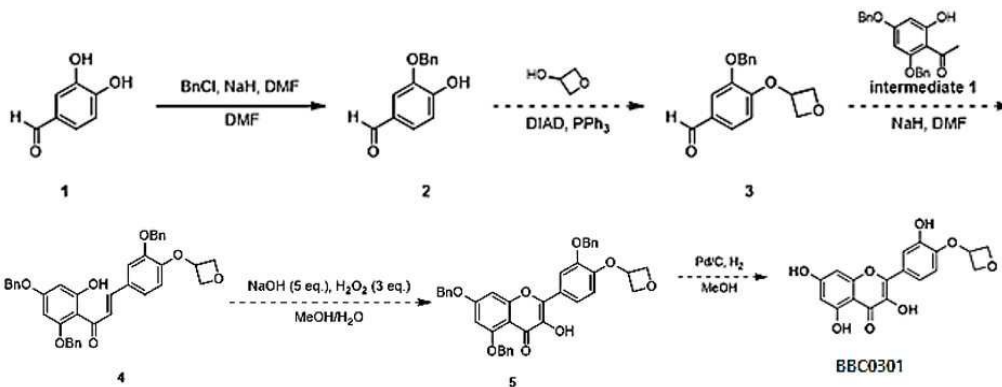
[0226] 2,3-다이하이드로벤조퓨란-5-카발데하이드 (1g, 6.75 mmol, 1 eq)로부터 5,7-다이메톡시-2-(7-메틸벤조퓨란-5-일)-3H-퀴나졸린-4-온 (BBC0407) (6.77mg, 19.14 μmol , 43.17% yield, 95.070% purity)를 수득하였다.

[0227] LCMS: RT= 2.264 min, m/z: 337.1 (M + H)+

[0228] ^1H NMR (400 MHz, MeOD): δ (ppm) 8.15 (1H, s), 7.91 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 7.85 (1H, s), 7.00 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 6.86 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 6.61 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 3.96 (6H, m), 2.64 (3H, s).

[0230] 실시예 15: 화합물 15 (BBC0301)의 합성

[0231] [반응식]



[0232] .

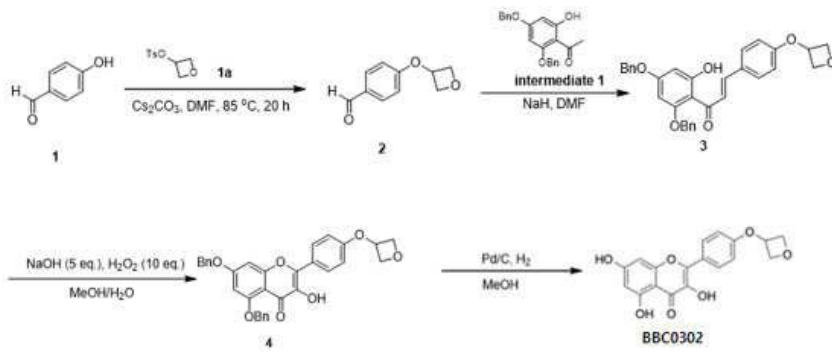
[0233] 3,4-다이하이드록시벤잘데하이드 (1.0g, 7.24 mmol, 1.0 eq)로부터 3,5,7-트라이하이드록시-2-[3-하이드록시-4-(옥시탄-3-일록시)페닐]크로멘-4-온 (BBC0301) (5.57 mg, 15.3 μmol , 19% yield, 98.3% purity)를 수득하였다.

[0234] LCMS: RT= 2.465 min, m/z: 359.0 (M + H)+

[0235] ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 12.43 (1H, s) 10.82 (1H, s) 9.47-9.54 (2H, m) 7.72 (1H, d, $J = 2.4$ Hz) 7.58 (1H, dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz) 6.74 (1H, d, $J = 8.8$ Hz) 6.42 (1H, d, $J = 2.0$ Hz) 6.20 (1H, d, $J = 2.0$ Hz) 5.32 (1H, t, $J = 5.6$ Hz) 4.94 (2H, t, $J = 6.8$ Hz) 4.61 (2H, dd, $J = 7.6, 5.2$ Hz).

[0237] 실시예 16: 화합물 16 (BBC0302)의 합성

[0238] [반응식]



[0239]

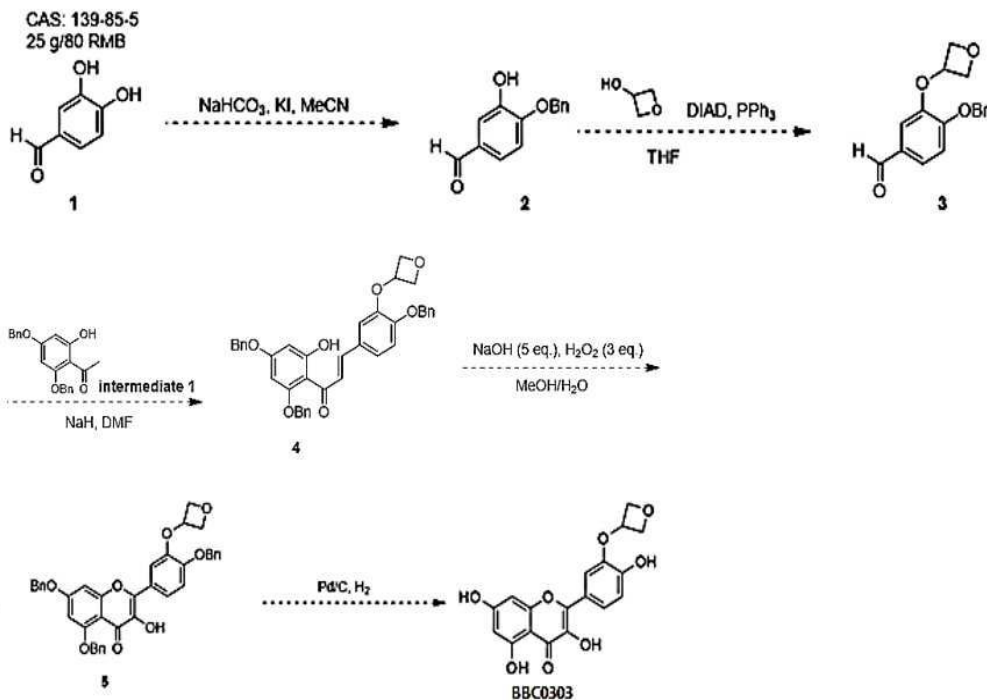
[0240] 4-히드록시벤즈알데하이드 1 (65 mg, 532.26 μmol , 1.21 eq)으로부터 3,5,7-트리히드록시-2-[4-(옥세탄-3-일옥시)페닐]크로멘-4-온 (1.69 mg, 4.49 μmol , 46.95% yield, 91% purity)를 수득하였다.

[0241] LCMS: RT= 2.792 min, m/z: 343.1 (M + H)⁺

[0242] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.19 (2H, d, J = 8.8 Hz), 6.91 (2H, d, J = 8.8 Hz), 6.41 (1H, d, J = 2.0 Hz), 6.19 (1H, d, J = 2.0 Hz), 5.41-5.35 (1H, m), 5.08-5.04 (2H, m), 6.74-4.69 (2H, m).

[0244] 실시예 17: 화합물 17 (BBC0303)의 합성

[0245] [반응식]



[0246]

[0247] 3,4-다이하이드록시벤잘데하이드 (200.0 mg, 1.45 mmol, 1.0 eq) 으로부터 3,5,7-트라이하이드록시-2-[4[하이 드록시-3-(옥시탄-3-일옥시)페닐]크로멘-4-온 (BBC0303) (5.11 mg, 13.41 μmol , 9.6% yield, 94% purity)를 수 득하였다.

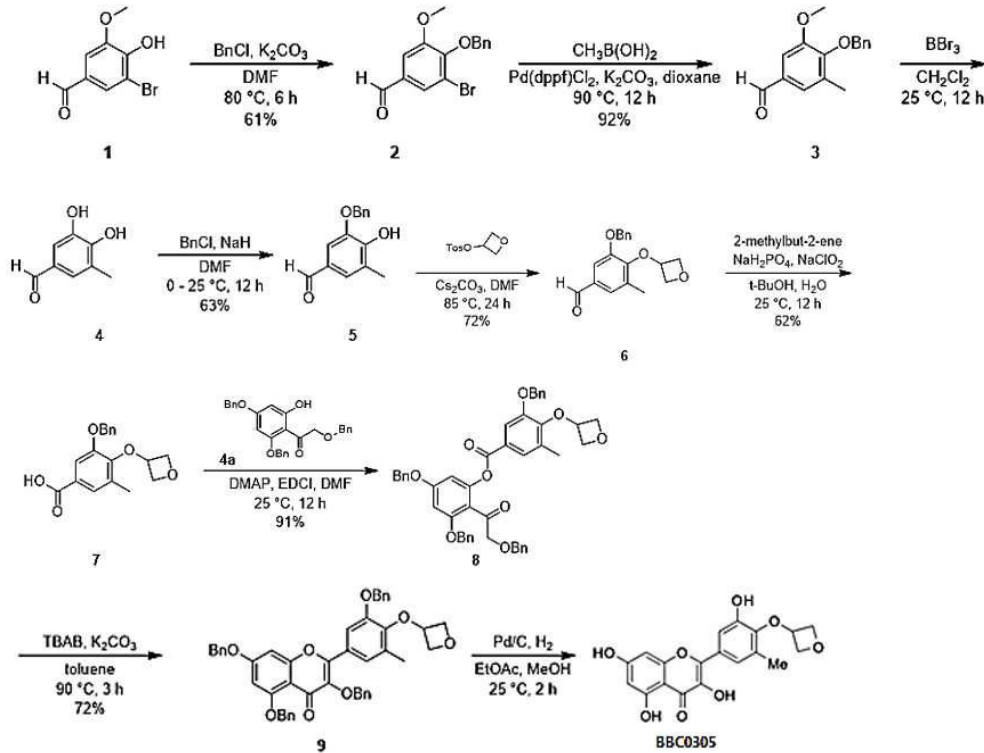
[0248] LCMS: RT= 2.471 min, m/z: 359.0 (M + H)⁺

[0249] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 10.79 (1H, s) 9.93 (1H, s) 9.46 (1H, s) 7.70 (1H, dd, J = 8.4, 2.0 Hz) 7.45 (1H, d, J = 2.0 Hz) 6.99 (1H, d, J = 8.4 Hz) 6.48 (1H, d, J = 2.0 Hz) 6.19 (1H, d, J = 2.0

Hz) 5.29 (1H, t, J = 5.6 Hz) 4.91 (2H, t, J = 6.8 Hz) 4.66 (2H, dd, J = 7.6, 5.6 Hz).

[0251] 실시예 18: 화합물 18 (BBC0305)의 합성

[0252] [반응식]



[0253]

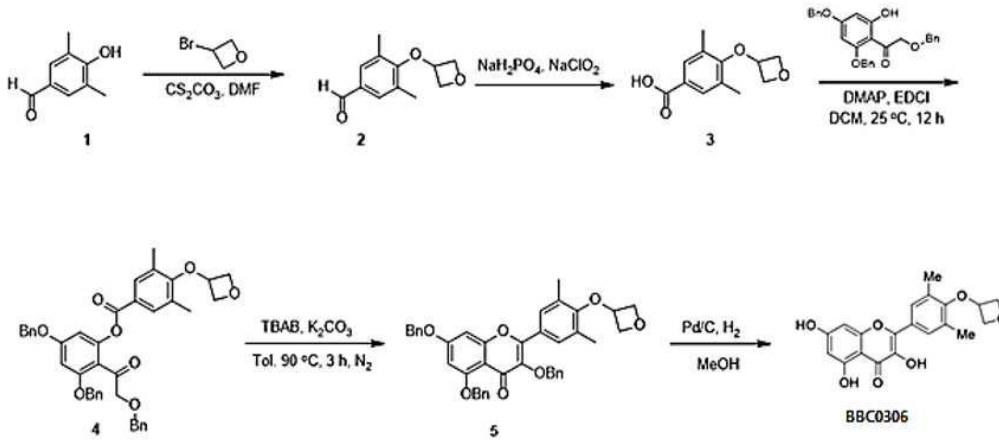
[0254] 3-브로모-4-하이드록시-5-메톡시-벤즈알데히드로부터 1 (2.0 g, 8.66 mmol, 1.7 mL, 1.0 eq)으로부터 3,5,7-트리하이드록시-2-[3-하이드록시-5-메틸-4-(옥세탄-3-일옥시)페닐]크로멘-4-온 (BBC0305) (6 mg, 15.79 μmol , 98% purity)를 수득하였다.

[0255] LCMS: RT= 2.607 min, m/z: 373.1 (M + H)⁺

[0256] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 12.31-12.49 (1H, m) 9.65-9.90 (1H, m) 7.59 (1H, d, J = 2.0 Hz) 7.45 (1H, d, J = 1.6 Hz) 6.39 (1H, d, J = 2.0 Hz) 6.18 (1H, d, J = 2.0 Hz) 5.14 (1H, t, J = 5.6 Hz) 4.73-4.81 (2H, m) 4.64-4.71 (2H, m) 2.24 (3H, s).

[0258] 실시예 19: 화합물 19 (BBC0306)의 합성

[0259] [반응식]



[0260]

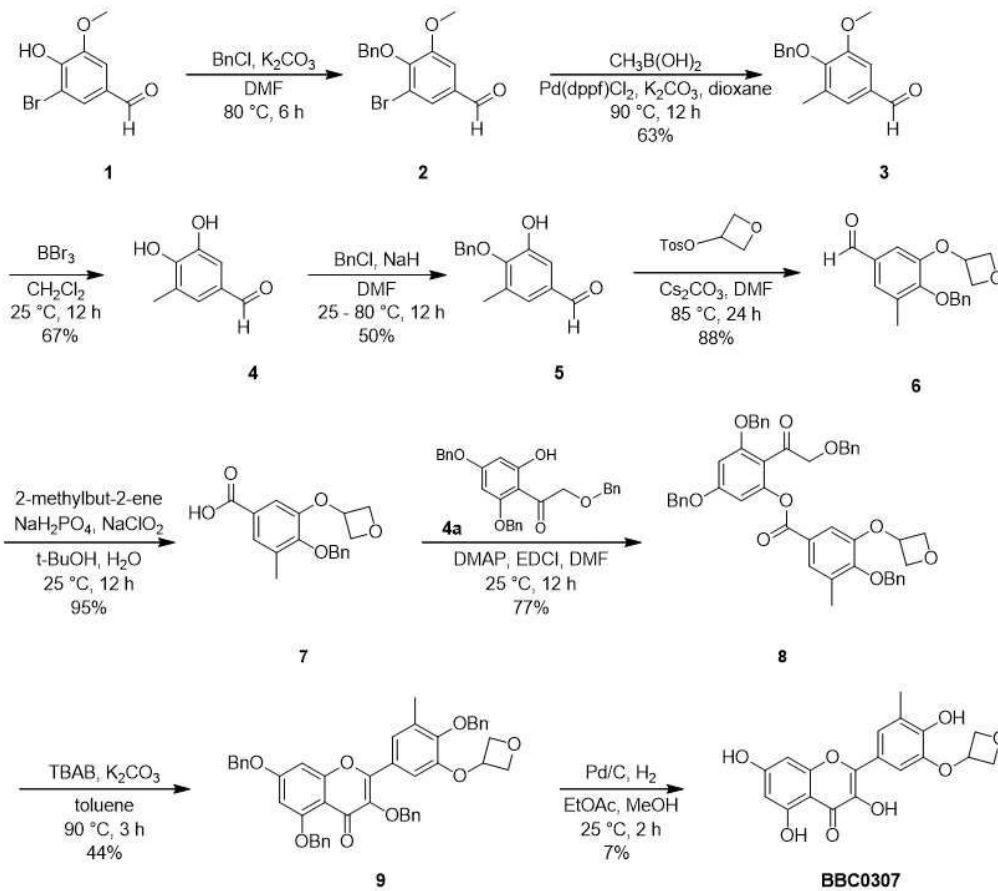
[0261] 4-하이드록시-3,5-디메틸-벤즈알데히드 1 (1 g, 6.66 mmol, 1 eq)로부터 2-[3,5-디메틸-4-(옥세탄-3-일옥시)페닐]-3,5,7-트리하이드록시-크로멘-4-온 (BBC0306) (23.28 mg, 61.68 umol, 15.81% yield, 98.128% purity)를 수득하였다.

[0262] LCMS: RT= 2.876 min, m/z: 371.0 (M + H)⁺

[0263] ¹H NMR (400 MHz, DMSO): δ (ppm) 7.85 (2H, s), 6.44 (1H, d, J=2.00 Hz), 6.18 (1H, d, J=2.00 Hz), 4.94 (1H, q, J=6.20 Hz), 4.83 (2H, t, J=6.40 Hz), 4.80 - 4.76 (2H, m), 2.23 (6H, s).

[0265] 실시예 20: 화합물 20 (BBC0307)의 합성

[0266] [반응식]



[0267]

[0268] 3-브로모-4-하이드록시-5-메톡시-벤즈알데히드 1 (2.0 g, 8.66 mmol, 1.7 mL, 1.0 eq)로부터 3,5,7-트리메톡시-2-[4-하이드록시-3-메틸-5-(옥세탄-3-일옥시)페닐]크로멘-4-온 (**BBC0307**) (5.99 mg, 15.0 μmol , 6.9% yield, 93.5% purity)를 수득하였다.

[0269]

LCMS: RT= 2.654 min, m/z: 373.1 (M + H)⁺

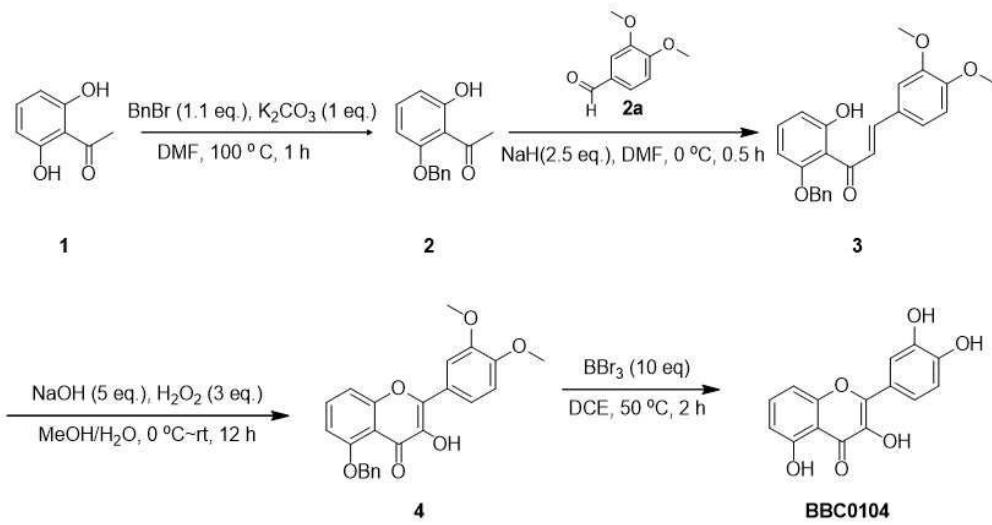
[0270]

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 12.44 (1H, br d, J = 1.6 Hz) 7.62 (1H, s) 7.31 (1H, s) 6.47 (1H, d, J = 2.0 Hz) 6.17 (1H, d, J = 2.0 Hz) 5.30 (1H, br t, J = 5.6 Hz) 4.91 (2H, t, J = 6.8 Hz) 4.65-4.72 (2H, m) 2.22 (3H, s).

[0272]

실시예 21: 화합물 21 (**BBC0104**)의 합성

[0273] [반응식]



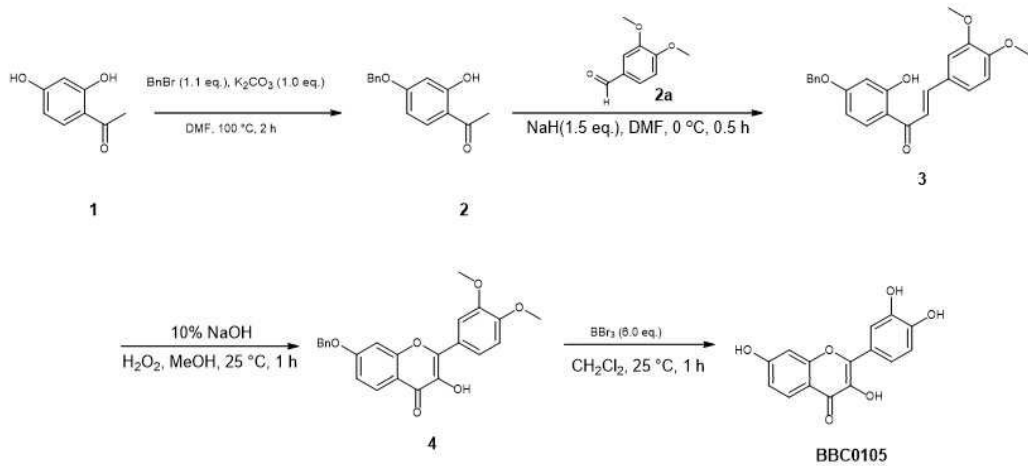
[0274]

[0275] 1-(2,6-디하이드록시페닐)에타논 **1** (1.0 g, 6.57 mmol, 1.0 eq)로부터 2-(3,4-디하이드록시페닐)-3,5-디하이드록시-크로멘-4-온 (**BBC0104**) (19 mg, 64.89 μ mol, 52.48% yield, 97.75% purity)를 수득하였다.

[0276] LCMS: RT= 0.735 min, m/z: 287 (M + H)⁺

[0277] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 12.41 (1H, s), 9.60 (2H, br s), 9.35 (1H, br s), 7.74 (1H, d, J = 2.0 Hz), 7.58 - 7.65 (2H, m), 7.12 (1H, d, J = 8.0 Hz), 6.91 (1H, d, J = 8.0 Hz), 6.76 (1H, d, J = 8.0 Hz).

[0279] 실시예 22: 화합물 22 (BBC0105)의 합성



[0280]

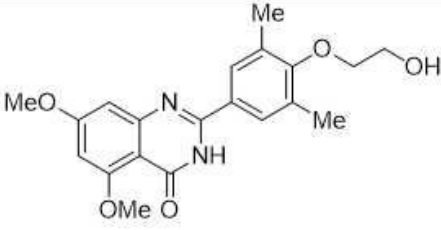
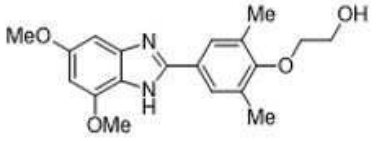
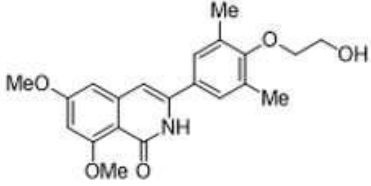
[0281] 1-(2,4-디하이드록시페닐)에타논 **1** (1.0 g, 6.57 mmol, 847.5 μ L, 1.0 eq)로부터 2-(3,4-디하이드록시페닐)-3,7-디하이드록시-크로멘-4-온 (BBC0105) (12.0 mg, 39.95 μ mol, 40.4% yield, 95.3% purity)를 수득하였다.

[0282] LCMS: RT= 3.420 min, m/z: 287.0 (M + H)⁺

[0283] ¹H NMR (400 MHz, METHANOL-d₄) δ ppm 7.99 (1H, d, J = 9.2 Hz) 7.77 (1H, d, J = 2.0 Hz) 7.67 (1H, dd, J = 8.4, 2.00 Hz) 6.88-6.95 (3H, m).

[0285] [비교예]

[0286] 비교예 1 내지 3의 화합물들을 WUXI APPTec (SHANGHAI) CO. LTD로부터 구입하여 본 발명의 신규한 퀘르세틴 화합물들과 BET 억제 효과를 비교하였다.

비교예	구조식
1	 <p style="text-align: center;">RVX-208</p>
2	 <p style="text-align: center;">BBC0206</p>
3	 <p style="text-align: center;">BBC0204</p>

[0287]

[0289] **[시험예]**

[0290] 본 발명에 따른 신규 화합물의 BET 단백질 패밀리 중 하나인 BRD2(BD1, BD2, BD1+BD2), BRD3(BD1, BD2, BD1+BD2), BRD4(BD1, BD2, BD1+BD2)의 브로모도메인과 테트라아세틸화된 히스톤 H4 펩티드 간의 상호작용 억제 능력을 평가하기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0292] **시험예 1: BRD2 단백질에 대한 결합 억제 효과**

[0293] BET 단백질 중 BRD2 단백질에 대한 본 발명의 화합물 및 비교예 화합물의 결합 억제 효과를 하기와 같이 실험하였다.

[0294] 백색 옵티플레이트 (OptiPlate)-384 (퍼킨엘머(PerkinElmer))에서 DMSO(100 μM 개시 농도) 중의 10 mM 스투크로부터의 분석 버퍼에서 화합물을 1: 5 계대 희석으로 희석시켰다. 100 nM GST-BRD2 (BD1, BD2, BD1 + BD2) 및 100 nM 바이오티닐화된 아세틸-히스톤 H4 (Lys5, 8, 12, 16) 펩티드로 이루어진 혼합물을 분석 버퍼 (50mM HEPES pH 7.4; 25mM NaCl; 0.05% 트윈 (Tween) 20; 0.1% 소혈청알부민 (BSA); 10 mM 다이티오프레이트(DTT))에서 제조하였다. 6 μl의 혼합물을 상기 희석액에 가한 후, 각각 10 μg/ml 농도의 분석 버퍼 중의 퍼킨엘머로부터의 6 μl의 예비 혼합된 알파리사 글루타티온 억셉터 비즈 (AlphaLISA Glutathione Acceptor Beads) 및 알파스크린 스트렙타비딘 도너 비즈 (AlphaScreen Streptavidin Donor Beads)를 첨가하고, 샘플들을 어두운 곳에서 실온에서 30분 동안 300 rpm으로 진탕배양하였다. 이후, 퍼킨엘머의 알파스크린 프로토콜을 사용하여 퍼킨엘머 인비전 HTS 멀티라벨 리더 (PerkinElmer Envision HTS Multilabel Reader)로 신호를 측정하였다. 각각의 플레이트는 바이오티닐화된 아세틸-히스톤 H4 펩티드 및 GST-BRD2 (BD1, BD2, BD1 + BD2)가 빠져나가고 분석 버퍼로 대체된 음성 대조군을 함유하였다.

[0295] 소프트웨어 그래프패드 프리즘 (GraphPad Prism)을 계산용으로 사용하는 경우, 낮은 기준 값으로서 음성대조군 값을 입력하였다. 또한, 양성 대조군 (단백질/펩티드 혼합물을 갖는 프로브 분자 I-BET762)을 피펫팅하였다. IC50 값의 결정은 그래프패드 프리즘 3.03 소프트웨어(또는 이의 업데이트 버전)를 사용하여 수행하여, 그 결과

를 하기 표 1, 도 1 및 도 2에 나타내었다.

표 1

	화합물	BRD2 (BD1)	BRD2 (BD2)	BRD2 (BD1+BD2)
비교예1	RVX-208	32,005	1,643	29,360
비교예2	BBC0206	65,151	>50,000	>20,000
비교예3	BBC0204	29,758	5,344	73,431
실시예1	BBC0109	8,626	-	9,702
실시예2	BBC0110	9,060	-	-
실시예4	BBC0113	12,248	5115	-
실시예5	BBC0114	4,136	-	-
실시예6	BBC0115	5,238	-	-
실시예8	BBC0309	7,035	-	-
실시예9	BBC0310	10,080	-	-
실시예10	BBC0311	5,850	3,792	-
실시예11	BBC0312	3,686	-	-
실시예12	BBC0313	4,627	499	-
실시예15	BBC0301	16,946	-	-
실시예16	BBC0302	2,399	-	-
실시예17	BBC0303	8,348	-	-
실시예18	BBC0305	6,547	-	-
실시예19	BBC0306	2,706	-	-
실시예20	BBC0307	18,481	-	-
실시예21	BBC0104	8,518	-	-
실시예22	BBC0105	8,885	-	-

[0298] 상기 표 1에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 실시예 화합물들은 비교예 1의 화합물과 비교하여, BRD2 단백질에 대한 억제 활성이 모두 우수한 것을 확인하였다. 특히, 실시예 1의 화합물은 비교예 1의 화합물과 비교하여, BRD2 (BD1) 및 BRD2 (BD1+BD2)의 IC50 값이 약 30% 수준인 것을 알 수 있다. 특히, 실시예 11 및 19의 화합물은 비교예 1의 화합물과 비교하여 BRD2 (BD1)의 IC50 값이 10% 미만인 것을 알 수 있다. 따라서, 본 발명의 화합물은 기존의 BET 억제제 (RVX-208) 보다 더 우수한 BRD2 단백질 억제 효과를 갖는다.

[0299] **시험예 2: BRD3 단백질에 대한 결합 억제 효과**

[0300] 상기 시험예 1과 동일한 방법으로 BRD3 (BD1, BD2, BD1+BD2) 단백질에 대한 본 발명의 화합물 및 비교예 화합물의 결합 억제 효과를 확인하는 실험을 수행하였다. 그 결과를 하기 표 2에 나타내었다.

[0301]

표 2

	화합물	BRD3 (BD1)	BRD3 (BD2)	BRD3 (BD1+BD2)
비교예1	RVX-208	23,398	2,033	>100,000
비교예2	BBC0206	>50,000	>150,000	>50,000
비교예3	BBC0204	45,280	-	>100,000
실시예1	BBC0109	-	-	20,776
실시예2	BBC0110	-	-	20,097
실시예4	BBC0113	17,075	-	-
실시예5	BBC0114	7,983	-	51,347
실시예6	BBC0115	7,180	-	86,037
실시예8	BBC0309	1,461	-	-
실시예9	BBC0310	3,261	-	-
실시예10	BBC0311	7,200	-	-
실시예11	BBC0312	2,640	-	-
실시예12	BBC0313	1,897	-	-
실시예13	BBC0406	11,136	-	-
실시예15	BBC0301	-	-	29,362

실시예17	BBC0303	3,181	-	95,569
실시예18	BBC0305	3,002	-	-
실시예19	BBC0306	1,412	1,344	-
실시예20	BBC0307	9,291	-	-

[0303] 상기 표 2에 나타난 바와 같이, 본 발명의 실시예 화합물들은 비교예 1의 화합물과 비교하여, BRD3 단백질에 대한 억제 활성이 모두 우수한 것을 확인하였다. 특히, 실시예 1의 화합물은 비교예 1의 화합물과 비교하여, BRD3 (BD1+BD2)의 IC50 값이 훨씬 더 낮은 것을 알 수 있다. 특히, 실시예 12 및 19의 화합물은 비교예 1의 화합물과 비교하여 BRD3 (BD1)의 IC50 값이 10% 미만인 것을 알 수 있다. 따라서, 본 발명의 화합물은 기존의 BET 억제제 (RVX-208) 보다 더 우수한 BRD3 단백질 억제 효과를 갖는다.

[0305] **시험예 3: BRD4 단백질에 대한 결합 억제 효과**

[0306] 상기 시험예 1과 동일한 방법으로 BRD4 (BD1, BD2, BD1+BD2) 단백질에 대한 본 발명의 화합물 및 비교예 화합물의 결합 억제 효과를 확인하는 실험을 수행하였다. 그 결과를 하기 표 3, 도 3 및 도 4에 나타내었다.

표 3

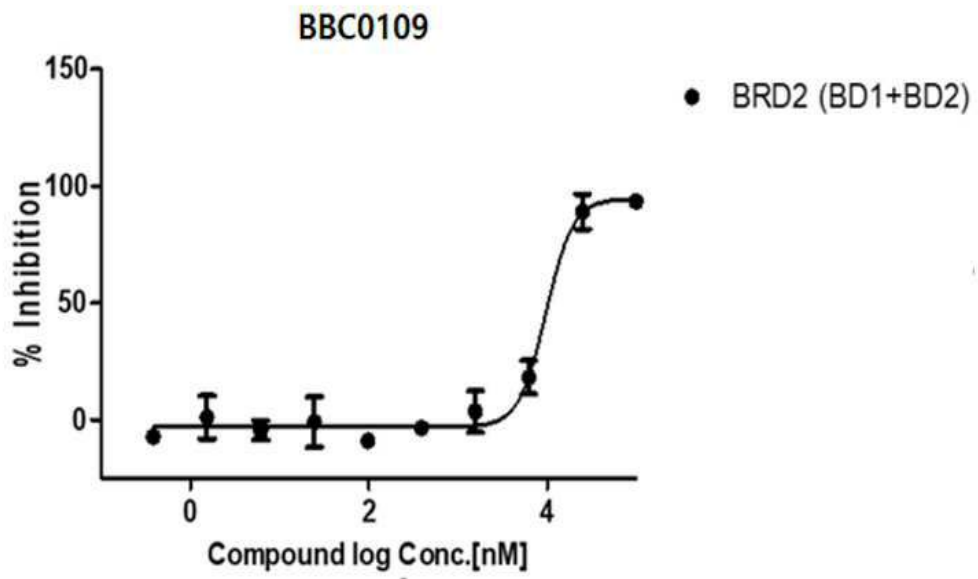
	화합물	BRD4 (BD1)	BRD4 (BD1+BD2)
비교예1	RVX-208	23,656	97,219
비교예2	BBC0206	>50,000	>20,000
비교예3	BBC0204	35,138	97,174
실시예1	BBC0109	-	15,579
실시예2	BBC0110	15,519	38,634
실시예15	BBC0301	-	30,270
실시예20	BBC0307	-	87,294

[0310] 상기 표 3에 나타난 바와 같이, 본 발명의 실시예 화합물들은 비교예 1의 화합물과 비교하여, BRD4 단백질에 대한 억제 활성이 모두 우수한 것을 확인하였다. 특히, 실시예 1의 화합물은 비교예 1의 화합물과 비교하여, BRD4 (BD1+BD2)의 IC50 값이 훨씬 더 낮은 것을 알 수 있다. 따라서, 본 발명의 화합물은 기존의 BET 억제제 (RVX-208) 보다 더 우수한 BRD4 단백질 억제 효과를 갖는다.

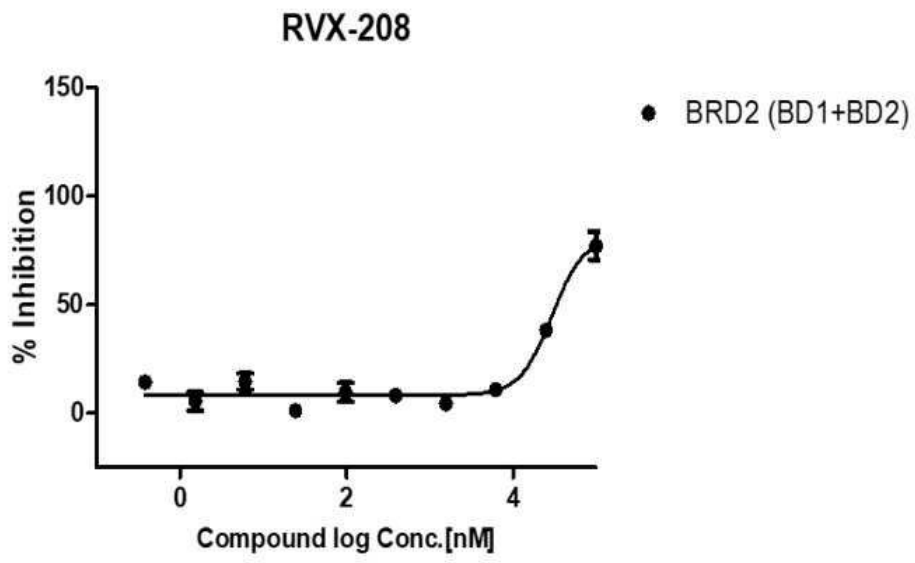
[0311] 결국, 본 발명의 화합물은 BRD2(BD1, BD2, BD1+BD2), BRD3(BD1, BD2, BD1+BD2), BRD4(BD1, BD2, BD1+BD2)의 단백질에 대해서 모두 우수한 억제 효과를 가지므로, BET 관련 질환의 치료 및 예방에 효과적으로 사용될 수 있다.

도면

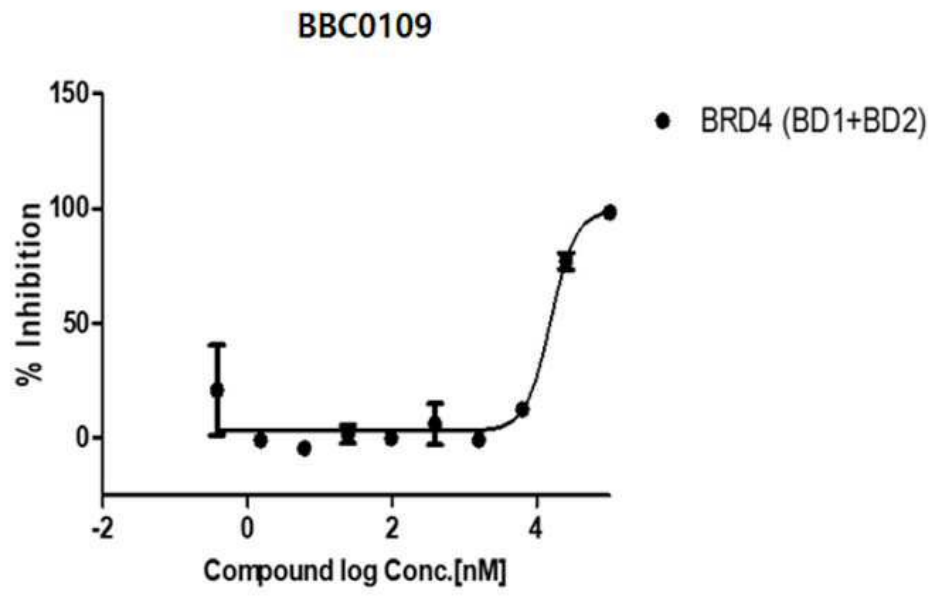
도면1



도면2



도면3



도면4

