



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년02월22일

(11) 등록번호 10-1831553

(24) 등록일자 2018년02월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07D 401/12 (2006.01) *A23L 33/10* (2016.01)

A61K 31/404 (2006.01) *A61K 31/4184* (2006.01)

A61K 31/4192 (2006.01) *A61K 31/4439*

(2006.01)

(52) CPC특허분류

C07D 401/12 (2013.01)

A23L 33/10 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2017-0010397

(22) 출원일자 2017년01월23일

심사청구일자 2017년01월23일

(56) 선행기술조사문헌

WO2012122891 A1

WO2014000319 A2

WO1995021836 A1

WO2012130159 A1

(73) 특허권자

계명대학교 산학협력단

대구광역시 달서구 달구벌대로 1095 (신당동)

(72) 발명자

서영호

대구광역시 수성구 청수로 261, 1410동 1301호 (황금동, 캐슬골드파크 4단지)

(74) 대리인

특허법인태백

전체 청구항 수 : 총 10 항

심사관 : 윤소라

(54) 발명의 명칭 전이성 유방암의 유용한 신규 화합물 및 이의 의학적 용도

(57) 요약

본 발명은 전이성 유방암의 유용한 신규 화합물 및 이의 의학적 용도에 관한 것으로, 본 발명에서 합성된 신규 화합물인 N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-인돌-5-아민, N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-인돌-6-아민, N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-벤조[d]이미다졸-5-아민 및 N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-벤조[d][1,2,3]트리아졸-5-아민은 전이성 유방암 세포의 세포 생존율을 억제함으로써 유방암 예방 또는 치료용 약학 조성물, 또는 유방암 예방 또는 개선용 건강식품 조성물로 활용될 수 있다.

(52) CPC특허분류

A61K 31/404 (2013.01)

A61K 31/4184 (2013.01)

A61K 31/4192 (2013.01)

A61K 31/4439 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/308 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 20160179

부처명 교육부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 산학협력 선도대학 육성사업

연구과제명 산학협력 선도대학 육성사업-산학공동기술개발비

기 여 율 1/1

주관기관 계명대학교 산학협력단

연구기간 2016.03.01 ~ 2017.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 1]

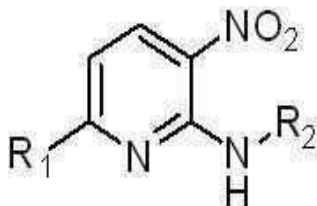


상기 화학식 1에서 R₁ 메톡시이며, R₂는 인돌, 벤조이미다졸 및 벤조트리아졸로 이루어진 군에서 선택됨.

청구항 2

하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 유방암 예방 또는 치료용 약학 조성물:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서 R₁ 메톡시이며, R₂는 인돌, 벤조이미다졸 및 벤조트리아졸로 이루어진 군에서 선택됨.

청구항 3

제 2항에 있어서, 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-인돌-5-아민(N-(6-Methoxy-3-nitropyridin-2-yl)-1H-indol-5-amine), N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-인돌-6-아민(N-(6-Methoxy-3-nitropyridin-2-yl)-1H-indol-6-amine), N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-벤조[d]이미다졸-5-아민(N-(6-Methoxy-3-nitropyridin-2-yl)-1H-benzo[d]imidazol-5-amine) 및 N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-벤조[d][1,2,3]트리아졸-5-아민(N-(6-Methoxy-3-nitropyridin-2-yl)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol-5-amine)에서 선택된 것을 특징으로 하는 유방암 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 4

제 2항에 있어서, 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 유방암 세포의 세포 증식을 억제하는 것을 특징으로 하는 유방암 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 5

제 2항에 있어서, 상기 유방암은 전이성 유방암인 것을 특징으로 하는 유방암 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 6

제 2항에 있어서, 상기 약학적으로 허용가능한 염은 나트륨염, 칼륨염, 칼슘염, 리튬염, 마그네슘염, 세슘염,

아미늄(aminium)염, 암모늄염, 트리에칠아미늄염 및 피리디늄염으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 염기성 염인 것을 특징으로 하는 유방암 예방 또는 치료용 약학 조성물.

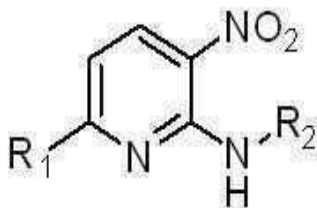
청구항 7

제 2항에 있어서, 상기 약학적으로 허용가능한 염은 염산, 브롬산, 황산, 아황산, 인산, 구연산, 초산, 말레산, 푸마르산, 글루코산, 메탄설폰산, 벤젠설폰산, 캄페르설폰산, 옥살산, 말론산, 글루타릭산, 아세트산, 글리콘산, 석신산, 타타르산, 4-톨루엔설폰산, 갈락투론산, 엠본산, 글루탐산, 시트르산 및 아스파르탄산으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 산성 염인 것을 특징으로 하는 유방암 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 8

하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 유방암 예방 또는 개선용 건강식품 조성물:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서 R₁ 메톡시이며, R₂는 인돌, 벤조이미다졸 및 벤조트리아졸로 이루어진 군에서 선택됨.

청구항 9

제 8항에 있어서, 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-인돌-5-아민(N-(6-Methoxy-3-nitropyridin-2-yl)-1H-indol-5-amine), N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-인돌-6-아민(N-(6-Methoxy-3-nitropyridin-2-yl)-1H-indol-6-amine), N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-벤조[d]이미다졸-5-아민(N-(6-Methoxy-3-nitropyridin-2-yl)-1H-benzo[d]imidazol-5-amine) 및 N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-벤조[d][1,2,3]트리아졸-5-아민(N-(6-Methoxy-3-nitropyridin-2-yl)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol-5-amine)에서 선택된 것을 특징으로 하는 유방암 예방 또는 개선용 건강식품 조성물.

청구항 10

제 8항에 있어서, 상기 유방암은 전이성 유방암인 것을 특징으로 하는 유방암 예방 또는 개선용 건강식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 전이성 유방암의 신규 화합물 및 이의 의학적 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 현재 통계청 자료에 따르면, 한국인의 사망 원인 중 암으로 인한 사망이 1위를 차지하고 있다. 암이란 일반적으로 인체 조직을 이루고 있는 세포 주기에 이상이 생겨 세포가 정상적으로 분화하지 않고 세포분열을 계속하는 질병으로, 개시(initiation), 촉진(promotion) 및 진행(progression)의 세 단계를 거쳐 발생한다. 암의 원인은 환경이나 음식물 속에 포함된 발암 물질에 의해 정상적인 세포의 유전자나 암 억제 유전자에 돌연변이가 일어나고 이러한 세포들이 발암 물질의 지속적인 자극을 받으면서 비 정상적으로 증식하여 암 조직을 형성하는 것으로 알려져 있으나, 암의 발생 원인에 대해서는 아직도 명확하게 밝혀진 바가 없다.

[0003] 그 중 유방암은 여성에서 가장 흔한 악성 질병이다. 우리나라의 경우, 전체 암에서 위암, 폐암, 간암, 대장암에 이어 다섯 번째로 2005년 전체 암 발생의 6.5%(5,444명)를 차지하였으며, 보건복지부 중앙 암 등록 보고서에 의

하면 2002년 유방암이 여성 악성종양의 16.8%를 차지하여 1위에 올랐다. 유방암의 경우 암세포가 주변 조직에 침범하거나 림프절로 전이가 시작되면 완치가 어렵기 때문에 조기발견이 다른 암보다 더욱 중요하다.

[0004] 암은 양성종양(benign tumor)과 악성종양(malignant tumor)으로 구분되는데, 양성종양은 비교적 성장속도가 느리고 종양의 원발생 부위에서 다른 조직으로 이동되는 전이(metastasis)가 발생하지 않는 것에 반해 악성종양은 원발부를 떠나 다른 조직으로 침윤되어 빠르게 성장하는 특징을 가짐으로써 생명을 위협하며 사망에 이르는 아주 중요한 원인이 된다.

[0005] 암의 치료를 위해서는 수술 요법, 방사선 치료 요법 및 화학요법 등이 사용되고 있으나 많은 연구에도 불구하고 암 환자 전체의 50% 이상이 결국 치유되지 못하고 사망하는 것으로 보고된다. 그에 따른 이유는 외과적으로 절제를 하였다 하더라도 미세하게 전이된 암세포를 제거하지 못하여 암이 재발하거나, 다양한 항암제의 개발에도 불구하고 항암제를 이용한 암 치료 시, 항암제에 대한 암세포 사멸이 유도되지 않거나 초기에는 반응을 보여 종양이 줄어드는 듯 보이지만 치료도중이나 치료가 끝난 후 항암제에 대한 내성이 생긴 암세포들이 급격히 증식하기 때문이다. 오늘날에는 약 60여 종의 다양한 항암제가 사용되고 있으며, 암 발생 및 암세포의 특성에 관한 지식이 많이 알려짐에 따라, 새로운 항암제 개발에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 그러나 항암제들은 반복적으로 장기간 투여되거나 암이 재발된 경우에는 암세포가 항암제에 대한 내성을 획득함으로써 치료 효과를 상실하는 단점이 있다. 또한, 대부분의 항암제는 세포 내 핵산의 합성을 억제하거나 핵산에 직접 결합하여 그 기능을 손상시킴으로 효과를 나타내는데, 이들 항암제는 암세포에만 선택적으로 작용하는 것이 아니라 정상세포, 특히 세포분열이 활발한 조직 세포에도 손상을 입히기 때문에 골수 기능 저하, 위장관 점막 손상, 탈모 등 여러 부작용이 나타나는 단점이 있다. 또한, 방사선 치료도 방사선에 대한 내성을 가지는 암세포가 나타나게 되어 완치가 어렵다. 따라서, 암 치료를 위한 새로운 치료제의 개발이 필요한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제 10-1341195호(2013.12.06 등록)

발명의 내용

해결하려는 과제

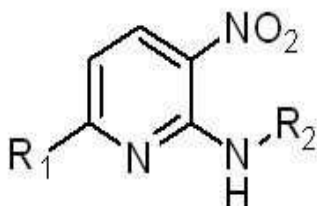
[0007] 본 발명의 목적은 전이성 유방암의 유용한 신규 화합물 및 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공하는 데에 있다.

[0008] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 신규 화합물 및 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 유방암 예방 또는 치료용 약학 조성물, 또는 유방암 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0010] [화학식 1]



[0011]

[0012] 상기 화학식 1에서 R₁ 메톡시이며, R₂는 인돌, 벤조이미다졸 및 벤조트리아졸로 이루어진 군에서 선택됨.

[0013] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 유방암 예방 또는 치료용 약학 조성물, 또는 유방암 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

[0014] [화학식 1]



[0015]

[0016] 상기 화학식 1에서 R₁ 메톡시이며, R₂는 인돌, 벤조이미다졸 및 벤조트리아졸로 이루어진 군에서 선택됨.

발명의 효과

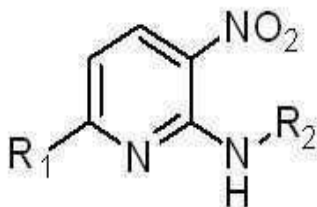
[0017] 본 발명에서 합성된 신규 화합물인 N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-인돌-5-아민, N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-인돌-6-아민, N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-벤조[d]이미다졸-5-아민 및 N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-벤조[d][1,2,3]트리아졸-5-아민은 전이성 유방암 세포의 세포 생존율을 억제함으로써 유방암 예방 또는 치료용 약학 조성물, 또는 유방암 예방 또는 개선용 건강식품 조성물로 활용될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 본 발명의 발명자들은 2-클로로-6-메톡시-3-니트로피리딘에 여러 가지 인다졸 유도체와 인다졸 유도체를 가진 화합물을 합성하여 5b 내지 5e의 신규 화합물을 합성하였으며, 상기 화합물이 전이성 유방암 세포주인 MDA-MB-231 세포의 세포 증식을 억제하는 것을 확인하며 본 발명을 완성하였다.

[0020] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0021] [화학식 1]



[0022]

[0023] 상기 화학식 1에서 R₁ 메톡시이며, R₂는 인돌, 벤조이미다졸 및 벤조트리아졸로 이루어진 군에서 선택됨.

[0025] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 유방암 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

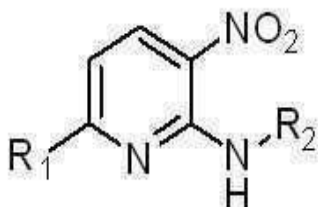
[0026] [화학식 1]



[0027]

[0028] 상기 화학식 1에서 R₁ 메톡시이며, R₂는 인돌, 벤조이미다졸 및 벤조트리아졸로 이루어진 군에서 선택됨.

- [0030] 바람직하게는, 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-인돌-5-아민(N-(6-Methoxy-3-nitropyridin-2-yl)-1H-indol-5-amine), N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-인돌-6-아민(N-(6-Methoxy-3-nitropyridin-2-yl)-1H-indol-6-amine), N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-벤조[d]이미다졸-5-아민(N-(6-Methoxy-3-nitropyridin-2-yl)-1H-benzo[d]imidazol-5-amine) 및 N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-벤조[d][1,2,3]트리아졸-5-아민(N-(6-Methoxy-3-nitropyridin-2-yl)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol-5-amine)에서 선택된 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아님을 명시한다.
- [0031] 바람직하게는, 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 유방암 세포의 세포 증식을 억제할 수 있다.
- [0032] 바람직하게는, 상기 유방암은 전이성 유방암일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아님을 명시한다.
- [0033] 바람직하게는, 상기 약학적으로 허용가능한 염은 나트륨염, 칼륨염, 칼슘염, 리튬염, 마그네슘염, 세슘염, 아미늄(aminium)염, 암모늄염, 트리에칠아미늄염 및 피리디늄염으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 염기성 염일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아님을 명시한다.
- [0034] 바람직하게는, 상기 약학적으로 허용가능한 염은 염산, 브롬산, 황산, 아황산, 인산, 구연산, 초산, 말레산, 푸마르산, 글루코산, 메탄설폰산, 벤젠설폰산, 캄페설폰산, 옥살산, 말론산, 글루타릭산, 아세트산, 글리콘산, 석신산, 타타르산, 4-톨루엔설폰산, 갈락투론산, 엠본산, 글루탐산, 시트르산 및 아스파르트산으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 산성 염일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아님을 명시한다.
- [0035] 본 발명의 조성물이 약학 조성물인 경우, 상기 유효성분 이외에 약제학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있는데, 이러한 약제학적으로 허용되는 담체는 약품 제제 시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘, 미네랄 오일 등을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 상기 약학 조성물은 첨가제 및 보조제로서 충진제, 중량제, 결합제, 윤활제, 습윤제, 붕해제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 방향제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0036] 상기 약학 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수용액, 유제, 동결건조제, 좌제 및 멸균 주사용액으로 제형화할 수 있다.
- [0037] 상기 약학 조성물은 증상 정도에 따라 투여 방법이 결정되는데, 정맥내 투여, 동맥내 투여, 복강내 투여, 근육내 투여, 흉골내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 안구내 투여, 직장 내 투여, 국소 투여, 경구 투여 및 흡입을 통해 통상적인 방식으로 투여할 수 있다.
- [0038] 상기 약학 조성물의 유효성분의 유효량은 질환의 예방 또는 치료 요구되는 양을 의미한다. 따라서, 질환의 종류, 질환의 중증도, 조성물에 함유된 유효 성분 및 다른 성분의 종류 및 함량, 제형의 종류 및 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자에 따라 조절될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아님을 명시한다.
- [0040] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 유방암 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.
- [0041] [화학식 1]



- [0042]
- [0043] 상기 화학식 1에서 R₁ 메톡시이며, R₂는 인돌, 벤조이미다졸 및 벤조트리아졸로 이루어진 군에서 선택됨.
- [0044] 바람직하게는, 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-인돌-5-아민(N-(6-Methoxy-3-nitropyridin-2-yl)-1H-indol-5-amine), N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-인돌-6-

아민(N-(6-Methoxy-3-nitropyridin-2-yl)-1H-indol-6-amine), N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-벤조[d]이미다졸-5-아민(N-(6-Methoxy-3-nitropyridin-2-yl)-1H-benzo[d]imidazol-5-amine) 및 N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-벤조[d][1,2,3]트리아졸-5-아민(N-(6-Methoxy-3-nitropyridin-2-yl)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol-5-amine)에서 선택될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아님을 명시한다.

[0045] 바람직하게는, 상기 유방암은 전이성 유방암일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아님을 명시한다.

[0047] 상기 건강식품 조성물은 분말, 과립, 정제, 캡슐, 시럽 또는 음료의 형태로 제공될 수 있으며, 상기 건강식품 조성물은 상기 유효성분 이외에 다른 식품 또는 식품 첨가물과 함께 사용되고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적 예를 들어 예방, 건강 또는 치료적 처치에 따라 적절하게 결정될 수 있다.

[0048] 상기 건강식품 조성물에 함유된 상기 유효성분의 유효용량은 상기 약학 조성물의 유효용량에 준해서 사용할 수 있으나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 유효성분은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있음은 확실하다.

[0049] 상기 건강식품의 종류에는 특별한 제한이 없고, 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등을 들 수 있다.

[0051] 이하에서는 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0053] 실시예 1 : 시약 및 기기

[0054] 본 실험에서 사용한 시약은 시그마-알드리치(sigma-aldrich, Sigma, St. Louis, Mo, USA), 아크로스 오르가닉스(acros organics, Thermo Fisher Scientific In., Gell, Belgium) 및 알파 에이사(alfa aesar, Johnson Matthey Company, Karlsruhe, Germany)에서 구매하였다. 대부분의 시약은 별도의 정제 과정을 거치지 않고 사용하였다. 합성 실험은 아르곤(argon) 또는 대기 하에서 진행하였으며, 합성 후 생성물의 정제를 위해 재결정법을 이용하였다.

[0055] 박막 크로마토그래피(thin layer chromatography, TLC) 실험을 위해 실리카 겔 플레이트(silica gel plate, silica gel 6 F254, 25 mm)는 머크(Merck, Darmstadt, Germany)에서 구입하였다.

[0056] 화합물의 구조 분석은 JNM-ECZR 500(JEOL, Tokyo, Japan)을 이용하여 ^1H 및 ^{13}C 핵자기공명(nuclear magnetic resonance, NMR) 스펙트럼을 측정하여 분석하였다. NMR 용매는 $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ (euriso-top)를 이용하였으며, 화학적 이동값(δ)은 ppm으로 나타내었고 피크는 s(single), d(doublet), t(triplet), m(multiplet) 및 dd(doublet of doublet)로 표시하였다.

[0057] 생물학적 활성 평가를 위해, 이미지 분석기(image analyser, Fuji, Tokyo, Japan) 및 마이크로플레이트 리더기(microplate reader, TECAN, Mannedorf, Switerland)를 이용하였다.

[0059] 실시예 2 : 화합물 합성

[0060] 1) N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-인돌-5-아민(N-(6-Methoxy-3-nitropyridin-2-yl)-1H-indol-5-amine) (화합물 5b)

[0061] 2-클로로-6-메톡시-3-니트로피리딘(2-Chloro-6-methoxy-3-nitropyridine) (0.10 g, 0.53 mmol), 5-아미노 벤즈 이미다졸(5-amino benzimidazole) (0.07 g, 0.53 mmol) 및 트리메틸아민(trimethylamine, TMA) (0.08 mL, 0.58 mmol)을 메탄올(methanol)에 녹인 후, 120°C에서 18시간 동안 교반시켰다. 대기 하에서 식힌 후, 물을 천천히 첨가하여 30분 동안 교반시켰다. 생성된 고체 생성물을 필터하여 얻은 후, 메탄올로 세척하고 건조시켜 화합물 5b를 얻었다(61% 수율).

[0062] ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 11.13 (s, 1H), 10.53 (s, 1H), 8.14 (d, J = 9 Hz, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.41-7.31 (m, 3H), 6.43 (s, 1H), 6.30 (d, J = 9 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ 166.2,

150.7, 138.4, 133.5, 129.2, 127.6, 126.2, 121.6, 118.0, 114.5, 111.2, 101.8, 101.3, 54.5.

[0064] 2) N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-인돌-6-아민(N-(6-Methoxy-3-nitropyridin-2-yl)-1H-indol-6-amine) (화합물 5c)

[0065] 2-클로로-6-메톡시-3-니트로피리딘 (0.10 g, 0.53 mmol), 5-아미노인돌(5-aminoindole) (0.07 g, 0.53 mmol) 및 트리메틸아민 (0.08 mL, 0.58 mmol)을 메탄올에 녹인 후, 120℃에서 18시간 동안 교반시켰다. 대기 하에서 식힌 후, 물을 천천히 첨가하여 30분 동안 교반시켰다. 생성된 고체 생성물을 필터하여 얻은 후, 메탄올로 세척하고 건조시켜 화합물 5c를 얻었다(76% 수율).

[0066] ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 11.13 (s, 1H), 10.53 (s, 1H), 8.41 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.41-7.31 (m, 3H), 6.43 (s, 1H), 6.30 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H). ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆) δ 166.2, 150.6, 138.4, 133.5, 129.2, 127.5, 126.1, 121.6, 118.0, 114.4, 111.1, 101.7, 101.3, 54.5.

[0068] 3) N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-벤조[d]인다졸-5-아민(N-(6-Methoxy-3-nitropyridin-2-yl)-1H-benzo[d]imidazol-5-amine) (화합물 5d)

[0069] 2-클로로-6-메톡시-3-니트로피리딘 (0.10 g, 0.53 mmol), 6-아미노인돌(6-aminoindole) (0.07 g, 0.53 mmol) 및 트리에틸아민(trimethylamine, TEA) (0.08 mL, 0.58 mmol)을 메탄올에 녹인 후, 120℃에서 18시간 동안 교반시켰다. 대기 하에서 식힌 후, 물을 천천히 첨가하여 30분 동안 교반시켰다. 생성된 고체 생성물을 필터하여 얻은 후, 메탄올로 세척하고 건조시켜 화합물 5d를 얻었다(90% 수율).

[0070] ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 11.20 (s, 1H), 10.60 (s, 1H), 8.40 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 8.0 (s, 1H), 7.50 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H). ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆) δ 166.2, 150.1, 138.5, 135.8, 131.4, 125.6, 124.8, 121.8, 119.7, 115.2, 105.3, 101.9, 101.0, 54.8.

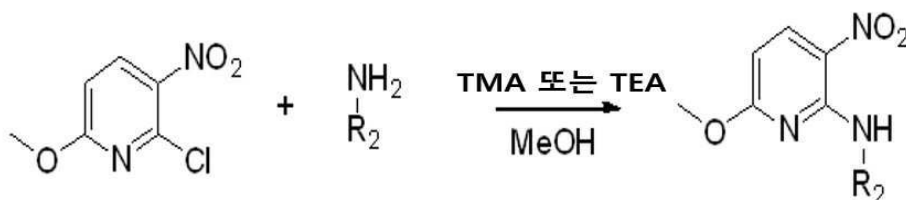
[0072] 4) N-(6-메톡시-3-니트로피리딘-2-일)-1H-벤조[d][1,2,3]트리아졸-5-아민(N-(6-Methoxy-3-nitropyridin-2-yl)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol-5-amine) (화합물 5e)

[0073] 2-클로로-6-메톡시-3-니트로피리딘 (0.13 g, 0.69 mmol), 5-아미노-1H-벤조트리아졸(5-amino-1H-benzotriazole) (0.09 g, 0.69 mmol) 및 트리에틸아민 (0.11 mL, 0.76 mmol)을 메탄올에 녹인 후, 120℃에서 24시간 동안 교반시켰다. 대기 하에서 식힌 후, 물을 천천히 첨가하여 30분 동안 교반시켰다. 생성된 고체 생성물을 필터하여 얻은 후, 메탄올로 세척하고 건조시켜 화합물 5e를 얻었다(61% 수율).

[0074] ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 10.62 (s, 1H), 8.47 (d, J = 9.5 Hz, 1H), 8.37 (s, 1H), 7.92 (d, J = 9.5 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.42 (d, J = 9.5 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H).

[0076] 실시예 2에서 합성된 화합물의 반응식 및 수율은 하기 반응식 1 및 표 1에 나타내었다.

[0077] [반응식 1]

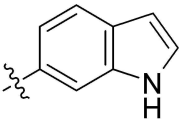
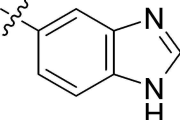
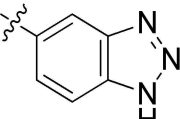


[0078]

표 1

[0079]

	R ₂	수율 (%)	생산물
1		61	5b

2		76	5c
3		90	5d
4		61	5e

[0081] 실시예 3 : 세포 배양

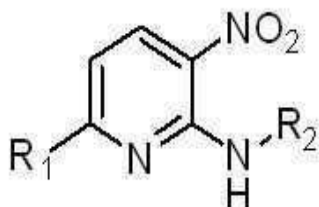
[0082] 사람 전이성 유방암 세포주(breast cancer cell line)인 MDA-MB-231 세포는 ATCC(American Type Culture Collection, Rockville, MD, USA)로부터 분양 받았으며, 10% 우태아혈청(fetal bovine serum, FBS) 및 1% 페니실린/스트렙토마이신(penicillin/streptomycin)이 첨가된 DMEM 배지를 이용하여 37℃, 5% CO₂ 배양기에서 1주일 기준으로 2 내지 3회 계대 배양하였다.

[0084] 실시예 4 : 세포 생존율 측정

[0085] MDA-MB-231 세포를 이용하여 합성된 화합물에 의한 세포 생존율을 확인하기 위해 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 분석을 수행하였다. 플레이트에 세포가 약 80% 정도가 자랐을 때 2×10^3 세포/웰 농도가 되도록 DMEM 배지로 희석한 후, 세포 현탁액을 96 웰 플레이트의 각 웰에 100 μ L씩 넣고 14시간 동안 배양하였다. 화합물을 각 농도 별로(5b 내지 5e : 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 30, 50, 70, 100 μ M) 처리한 배양액으로 갈아준 뒤, 3일 동안 배양하였다. 그 후, 각 웰에 MTT 시약을 10 μ L씩 첨가하고 37℃, 5% CO₂ 배양기에서 4시간 동안 반응시켰다. 이후, 배양액을 제거하고 웰 마다 디메틸 설펝사이드(dimethyl sulfoxide, DMSO)를 100 μ L씩 첨가하였다. 마이크로플레이트 리더기로 560/690 nm에서 반응 생성물인 포르마잔(formazan)의 흡광도를 측정하여 농도에 따른 세포 생존율을 EC₅₀(μ M) 값으로 나타내었다.

[0086] 그 결과, 화합물 5b 내지 5e의 EC₅₀ 값은 각각 28.18, 69.18, 44.67, 34.46 μ M로 측정되었으며, 화합물 5b, 5e, 5d, 5c 순으로 전이성 유방암 세포의 세포 생존율을 더 낮은 농도에서 효과적으로 억제하는 것을 확인하였다.

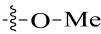
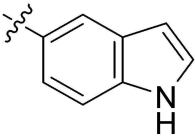
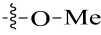
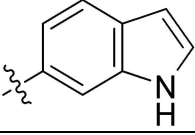
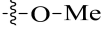
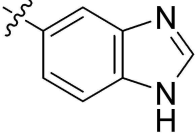
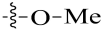
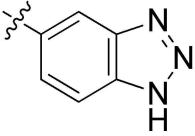
화학식 1



[0088]

표 2

[0089]

화합물	R ₁	R ₂	MDA-MB-231 (EC ₅₀ ; μM)
5b			28.18
5c			69.18
5d			44.67
5e			34.46

[0091]

이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술한 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

[0092]

본 발명의 범위는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.