

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2014-0087561 (43) 공개일자 2014년07월09일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) C07F 15/00 (2006.01) A61K 31/24 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)		(71) 출원인 울산대학교 산학협력단 울산광역시 남구 대학로 93
(21) 출원번호 10-2012-0157995		(72) 발명자 지기환 울산 중구 우정3길 9, 104동 903호 (우정동, 선경아파트1차) 송영호 울산 중구 서원1길 40-2, 신태양 302호 (복산동)
(22) 출원일자 2012년12월31일 심사청구일자 2012년12월31일		(74) 대리인 특허법인태백

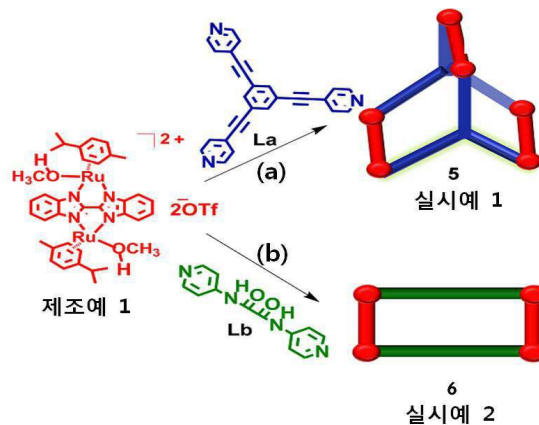
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 신규한 아렌-루테늄 화합물 및 이를 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물

(57) 요약

본 발명은 신규한 아렌-루테늄 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염에 관한 것으로, 이는 암세포의 증식을 낮은 마이크로몰 농도에서 억제하며, 암세포의 세포사멸을 유도하여 암 세포의 활성을 저해함으로써 뛰어난 항암활성을 나타내는데, 암의 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도2



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2012-0798

부처명 교육과학기술부

연구사업명 WCU사업(3유형)

연구과제명 (WCU사업)배위결합이 원동력인 자체조립으로 합성된 무생물적 초분자와 이들의 호스트-게스트 화학(5)

기 여 율 1/1

주관기관 울산대학교 산학협력단

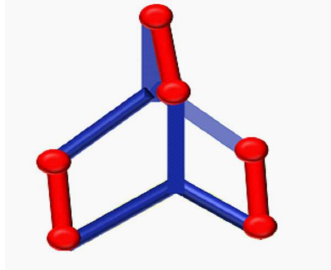
연구기간 2012.09.01 ~ 2013.08.31

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 아렌-루테튬 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 1]



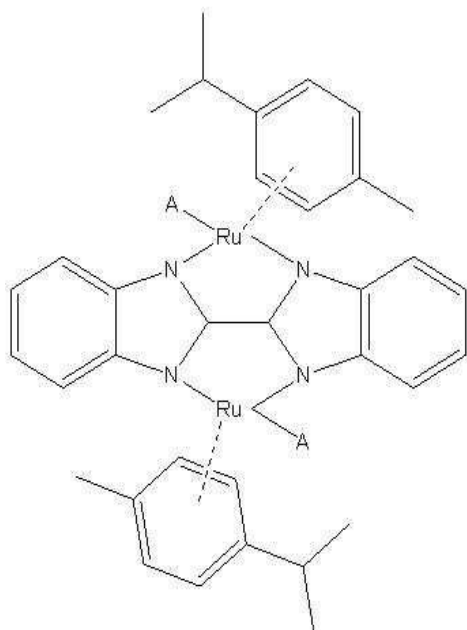
[화학식 2]



상기 화학식 1 및 2에서,



[화학식 3]



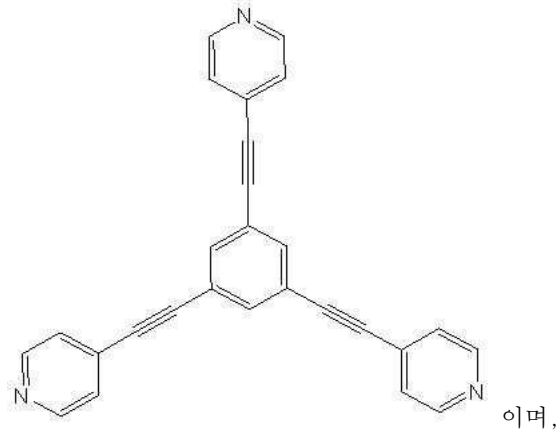
이고,

상기 화학식 3에서 A는 각각 독립적으로 OTf(trifluoromethylsulfonate), 니트레이트(NO_3), OTs(톨루엔-4-설포네이트), OMs(메탄설포네이트), Cl, Br, I, BF_4 , PF_6 , ClO_4 , CH_3COO 또는 CF_3COO 이며,



상기 화학식 1의 는,

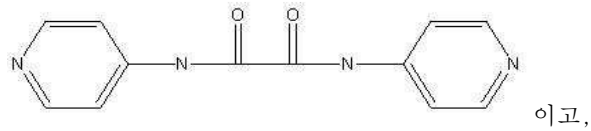
[화학식 4]



이며,

상기 화학식 2의 는,

[화학식 5]



이고,

상기 화학식 4 또는 5의 방향족 고리내의 질소원자와 화학식 3의 루테튬이 결합하여 화학식 1 또는 2의 화합물을 형성함.

청구항 2

제1항의 아렌-루테튬 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 아렌-루테튬 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 암세포의 세포사멸을 통하여 항암활성을 나타내는 것인 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 4

제2항에 있어서,

상기 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물은 담체, 부형제, 붕해제, 감미제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제, 향미제, 향산화제, 완충액, 정균제, 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 보조제를 추가로 포함하는 것인 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 5

제2항에 있어서,

상기 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물의 제형은 과립제, 산제, 피복정, 정제, 환제, 캡슐제, 좌제, 겔, 시럽, 즙, 현탁제, 유제, 점적제 또는 액제로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 6

제2항에 있어서,

상기 암은 고형암인 것인 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 7

제2항에 있어서,

상기 고형암은 뇌종양, 양성성상세포종, 악성성상세포종, 뇌하수체 선종, 뇌수막종, 뇌립프종, 핍지교종, 두개 내인종, 상의세포종, 뇌간종양, 두경부 종양, 후두암, 구인두암, 비강/부비동암, 비인두암, 침샘암, 하인두암, 갑상선암, 구강암, 흉부종양, 소세포성 폐암, 비소세포성 폐암, 흉선암, 종격동 종양, 식도암, 유방암, 남성유 방암, 복부종양, 위암, 간암, 담낭암, 담도암, 췌장암, 소장암, 대장암, 직장암, 항문암, 방광암, 신장암, 남성 생식기종양, 음경암, 전립선암, 여성생식기종양, 자궁경부암, 자궁내막암, 난소암, 자궁육종, 질암, 여성외부생 식기암, 여성요도암 또는 피부암인 것인 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 신규한 아렌-루테늄 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 이를 유효성분으로 함유하는 암 의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 금속 약학 분야는 금속 기반 약물의 치료학적 적용 때문에 의학 화학의 중요한 새로운 분야로서 대두되었다. 넓은 범위의 배위수로부터 3차원 공간에서 유기 리간드의 재배열 및 조절 가능한 금속 중심의 접근 가능한 산화-환원상태는 의학 목적에 사용될 수 있는 반응성의 넓은 스펙트럼을 제공한다. 백금 복합체 특히 시스플라틴, 카 보플래틴, 및 옥소플래틴은 그들의 높은 독성 및 불필요한 신경, 간, 및 신장 독성 부작용에도 불구하고, 현재 가장 효과적인 화학적 치료제로서 사용되고 있다. 그러나 백금계 약물과 관련된 높은 전신 독성 및 저항성 문제 들은 대안적인 금속계 항종양제 및 더 안전하고 더욱 효과적인 치료제의 설계 및 약리학적 발전에 관심을 갖는 새 시대를 열었다. 특히, 루테늄 복합체는 백금계 약물에 잘 반응하지 않는 종양에 있어서 저독성 및 고활성을 갖는 금속계 약물로 촉망 받는 새로운 분류를 대표한다. 두 루테늄 복합체, ImH[트랜스RuCl₄(DMSO)Im](NAMI-A) 및 KO1019가 임상 1상을 성공적으로 통과한 최초 1핵 루테늄계 항암 약물이다.

[0003] 다핵 약물 또한 치료 가능한 종양의 범위를 증대시키기 위해 설계되었다. 많은 고분자 백금 화합물, 예를 들면 고분자 링크된 디아미노사이클로헥실 금속 화학적 치료제(AP5346) 및 pt-배위된 교차분지구조를 갖는 폴리글리 세를 폴리머가 선택적 투과, 보유 효과(EPR) 및 긴 범위 가닥간 및 가닥 내 DNA 교차결합을 통해 약물이 선택적 으로 암세포 내에서 축적하도록 하는 이들의 독특한 세포 밖 환경 때문에 잠재적으로 타겟 특정형 종양 세포에 사용될 수 있을 것이다.

[0004] 분자 클립은 역사적으로 백금, 레늄 기반 금속 어셈블리가 주로 이용되어 왔다. 그러나, 기능성 초분자 배위 복합 체는 이리듐, 로듐, 루테늄 기반 어셈블리로 대체가능하게 되었고, 이는 새로운 생리화학적 특성으로 다른 금속들 을 이용한 구조결정이 가능했기 때문이다. 최근 금속-직사각형과 금속-프리즘 자기조립이 가능하도록 0,0-킬레

이팅 리간드와 다리구조를 이루는 다양한 아렌-루테늄 분자 클립이 보고되고 있다.

[0005] 항종양 활성을 가진 루테늄계 화합물은 가치 있는 것으로 평가되고, 특히 백금-기반 분자에 저항성을 가지는 세포에 대한 항암 물질로서 작용할 수 있을 것이다. 이에 따라 다핵 금속-고분자 복합체 화합물에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있는 실정이다.

발명의 내용

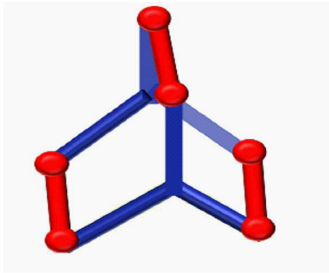
해결하려는 과제

[0006] 따라서 본 발명은 다핵 금속-고분자 복합체의 일종인 신규한 아렌-루테늄 화합물 및 이의 항암 치료 용도를 제공한다.

과제의 해결 수단

[0007] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 아렌-루테늄 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0008] [화학식 1]



[0009]

[0010] [화학식 2]



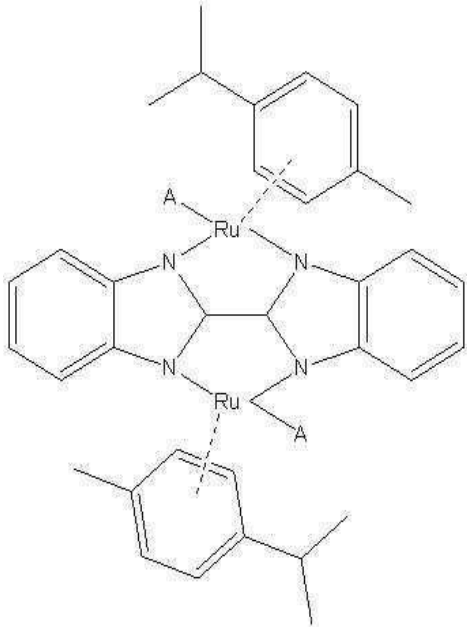
[0011]

[0012] 상기 화학식 1 및 2에서,



[0013] 는,

[0014] [화학식 3]



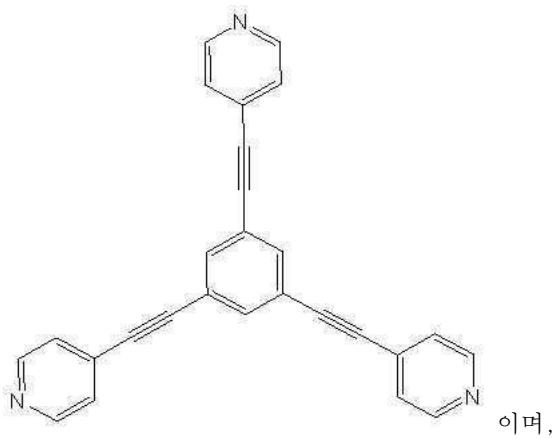
[0015] 이고,

[0016] 상기 화학식 3에서 A는 각각 독립적으로 OTf(trifluoromethylsulfonate), 니트레이트(NO_3), OTs(톨루엔-4-설포네이트), OMs(메탄설포네이트), Cl, Br, I, BF_4 , PF_6 , ClO_4 , CH_3COO 또는 CF_3COO 이며,



[0017] 상기 화학식 1의 는,

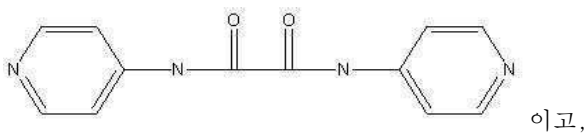
[0018] [화학식 4]



[0019] 이며,

[0020] 상기 화학식 2의 는,

[0021] [화학식 5]



[0022] 이고,

[0023] 상기 화학식 4 또는 5의 방향족 고리내의 질소원자와 화학식 3의 루테튬이 결합하여 화학식 1 또는 2의 화합물을 형성한다.

[0024] 본 발명은 또한, 상기 신규한 아렌-루테늄 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0025] 본 발명에 따른 4핵 아렌-루테늄 화합물은 인간 Colo320 (직장암)에 대하여, 아렌-루테늄 화합물은 Colo320 (직장암), A549 (폐암), MCF-7(유방암) 및 H1299 (폐암) 세포의 증식을 낮은 마이크로몰 농도에서 억제하며, 암세포의 세포사멸을 유도하여 암 세포의 활성을 저해함으로써 뛰어난 항암활성을 나타내는 바, 암의 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

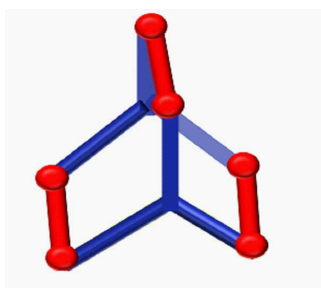
도면의 간단한 설명

[0026] 도 1은 제조예 1에서 합성된 화합물 4의 제조 모식도이다.
 도 2는 실시예 1에서 합성된 화합물 5 및 실시예 2에서 합성된 화합물 6의 제조 모식도이다.
 도 3은 실시예 1에서 합성된 화합물(화학식 1)의 제조 모식도이다.
 도 4는 실시예 2에서 합성된 화합물(화학식 2)의 제조 모식도이다.
 도 5는 CD_3NO_2 에서의 제조예 1에서 합성된 화합물 4(a), 실시예 1에서 합성된 화합물 5 (b) 및 실시예 2에서 합성된 화합물 6 (c)의 1H NMR 스펙트럼 일부이다.
 도 6는 제조예 1에서 합성된 화합물 4, 실시예 1에서 제조된 화합물 5 및 실시예 2에서 제조된 화합물 6에 대한 UV-vis과 형광 스펙트럼이다.
 도 7는 제조예 1에서 제조된 화합물 4(a) 및 실시예 2에서 제조된 화합물 6 (b)의 X-선 구조분석 결과이다(초록색:루테늄, 빨간색:산소, 파란색:질소, 회색:탄소 및 흰색:수소).
 도 8는 제조예 1에서 합성된 화합물 4, 실시예 1에서 제조된 화합물 5, 실시예 2에서 제조된 화합물 6 및 시스플라틴을 처리한 폐암 세포주 H1299의 생존도 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

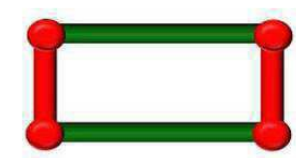
[0027] 본 발명은 하기 화학식 1 또는 2로 표시되는 아렌-루테늄 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0028] [화학식 1]



[0029]

[0030] [화학식 2]



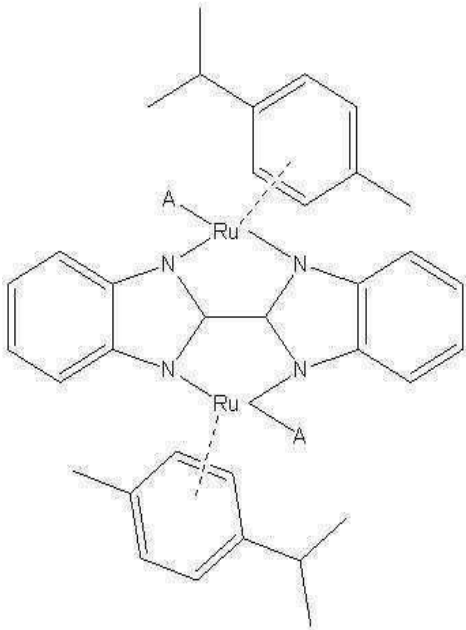
[0031]

[0032] 상기 화학식 1 및 2에서,



[0033] 는,

[0034] [화학식 3]



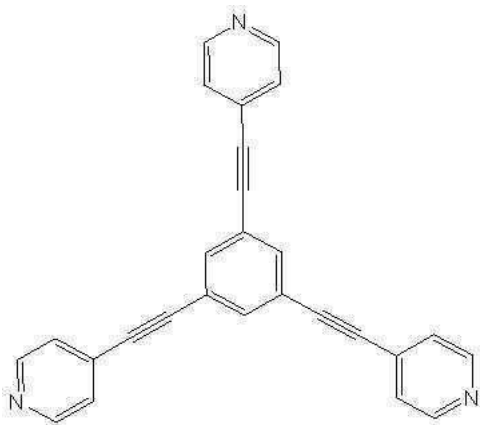
[0035] 이고,

[0036] 상기 화학식 3에서 A는 각각 독립적으로 OTf(trifluoromethylsulfonate), 니트레이트(NO_3), OTs(톨루엔-4-설포네이트), OMs(메탄설포네이트), Cl, Br, I, BF_4 , PF_6 , ClO_4 , CH_3COO 또는 CF_3COO 이며,



[0037] 상기 화학식 1의 는,

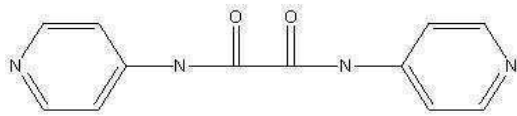
[0038] [화학식 4]



[0039] 이며,

[0040] 상기 화학식 2의  는,

[0041] [화학식 5]



이고,

[0042]

[0043]

상기 화학식 4 또는 5의 방향족 고리내의 질소원자와 화학식 3의 루테튬이 결합하여 화학식 1 또는 2의 화합물을 형성한다.

[0044]

상기 화학식 1 또는 2로 표시되는 본 발명의 아렌-루테튬 화합물은 약학적으로 허용가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산부가염이 유용하다. 유리산으로는 무기산과 유기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 브롬산, 황산, 아황산, 인산 등을 사용할 수 있고, 유기산으로는 구연산, 초산, 말레산, 푸마르산, 글루코산, 메탄설폰산, 아세트산, 글리콘산, 석신산, 타타르산, 4-톨루엔설폰산, 갈락투론산, 엠본산, 글루탐산, 시트르산, 아스파르탄산 등을 사용할 수 있다. 바람직하게는 무기산으로는 염산, 유기산으로는 메탄설폰산을 사용할 수 있다.

[0045]

본 발명의 상기 화학식 1 또는 2로 표시되는 본 발명의 아렌-루테튬 화합물은 약학적으로 허용되는 염뿐만 아니라, 통상의 방법에 의해 제조될 수 있는 모든 염, 수화물 및 용매화물을 모두 포함한다.

[0046]

본 발명에 따른 부가염은 통상의 방법으로 제조할 수 있으며, 예를 들면 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물을 수산화성 유기용매, 예를 들면 아세톤, 메탄올, 에탄올, 또는 아세토니트릴 등에 녹이고 과량의 유기산을 가하거나 무기산의 산 수용액을 가한 후 침전시키거나 결정화시켜서 제조할 수 있다. 이어서 이 혼합물에서 용매나 과량의 산을 증발시킨 후 건조시켜서 부가염을 얻거나 또는 석출된 염을 흡인 여과시켜 제조할 수 있다.

[0047]

본 발명에 따른 아렌-루테튬 화합물의 제조 모식도를 도 3 및 도 4에 나타내었다. 도 3을 참조하면, 화학식 1의 6핵 아렌-루테튬 화합물은 아마이드 공여체인 화학식 4의 화합물과 루테튬 트리플레이트 수용체인 화학식 3의 화합물을 3:2 비로 반응시켜 제조된다. 또한 도 4를 참조하면, 화학식 2의 4핵 아렌-루테튬 화합물은 아마이드 공여체인 화학식 5의 화합물과 루테튬 트리플레이트 수용체인 화학식 3의 화합물을 1:1 비로 반응시켜 제조된다.

[0048]

본 발명의 한 구체예에서, 상기 화학식 3의 화합물의 A는 OTf(trifluoromethylsulfonate)일 수 있으며, 상기 A는 상기 화학식 4 또는 5의 방향족 고리내의 질소원자와 화학식 3의 루테튬이 결합할 때 이탈하여 최종 생성된 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물과 염을 형성할 수 있다.

[0049]

상기와 같이 제조된 신규한 아렌-루테튬 화합물은 제조 후, 적외선 분광법, 핵자기 공명 스펙트럼, 질량 분광법, 액체 크로마토그 래피법, X-선 구조결정법, 선광도 측정법 및 대표적인 화합물의 원소분석 계산치와 실험치의 비교에 의해 분자구조를 확인할 수 있다.

[0050]

또한 이하 실시예에서 확인할 수 있는 바와 같이, 본 발명에 따른 화학식 1의 6핵 아렌-루테튬 화합물은 인간 Colo320 (직장암), A549 (폐암), MCF-7(유방암) 및 H1299 (폐암) 세포주에 대하여, 화학식 2의 4핵 아렌-루테튬 화합물은 Colo320 (직장암) 세포주의 세포사멸을 유도하여 암 세포의 활성을 저해함으로써 뛰어난 항암활성을 나타내는 바, 항암제의 유효성분으로 사용될 수 있다. 따라서 본 발명은 상기 아렌-루테튬 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물, 항암제의 제조를 위한 상기 아렌-루테튬 화합물의 용도, 상기 아렌-루테튬 화합물을 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 암의 치료 방법을 제공한다.

[0051]

본 발명의 한 구체예에서, 상기 아렌-루테튬 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물은 약학 조성물 100 중량부에 대하여 상기 아렌-루테튬 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 0.01 내지 90 중량부, 0.1 내지 90 중량부, 1 내지 90 중량부, 또는 10 내지 90 중량부로 포함할 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니고, 환자의 상태 및 질환의 종류 및 진행 정도에 따라 달라질 수 있다.

[0052]

본 발명의 다른 구체예에서, 상기 아렌-루테튬 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물은 담체, 부형제, 봉해제, 감미제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제, 향미제, 향산화제, 완충액, 정균제, 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 보조제를 추가로 포함할 수 있다.

- [0053] 구체적으로 담체, 부형제 및 희석제는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 사용할 수 있으며, 경구투여를 위한 고형제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제에는 상기 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트, 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제할 수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테arate, 탈크 같은 윤활제들도 사용할 수 있다. 경구를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 있으며 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제 등이 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0054] 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 아렌-루테늄 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물의 제형은 과립제, 산제, 피복정, 정제, 환제, 캡슐제, 좌제, 젤, 시럽, 즙, 현탁제, 유제, 점적제 또는 액제로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.
- [0055] 본 발명의 일실시예에 따르면 상기 약학 조성물은 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 복강내, 흉골내, 경피, 비측내, 흡입, 국소, 직장, 경구, 안구내 또는 피내 경로를 통해 통상적인 방식으로 대상체로 투여할 수 있다.
- [0056] 상기 아렌-루테늄 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질환의 종류 및 정도, 약물 형태, 투여경로 및 기간에 따라 달라질 수 있으며 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 본 발명의 일실시예에 따르면 이에 제한되는 것은 아니지만 1일 투여량이 0.01 내지 1,000 mg/kg, 구체적으로는 0.1 내지 1,000 mg/kg, 보다 구체적으로는 0.1 내지 100 mg/kg 일 수 있다. 투여는 하루에 한 번 투여할 수도 있고 수회로 나누어 투여할 수도 있으며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것은 아니다.
- [0057] 본 발명에 있어서, 상기 '대상체'는 인간을 포함하는 포유동물일 수 있으나, 이들 예에 한정되는 것은 아니다.
- [0058] 본 발명의 한 구체예에서, 상기 암은 고형암일 수 있으며, 더욱 구체적으로 본 발명에 따른 화학식 1 또는 2의 아렌-루테늄 화합물은 뇌종양(Brain tumor), 양성성상세포종 (Low- grade astrocytoma), 악성성상세포종 (High-grade astrocytoma), 뇌하수체 선종 (Pituitary adenoma), 뇌수막종 (Meningioma), 뇌림프종 (CNS lymphoma), 핍지교종 (Oligodendroglioma), 두개내인종 (Craniopharyngioma), 상의세포종 (Ependymoma), 뇌간종양 (Brain stem tumor), 두경부 종양(Head & Neck tumor), 후두암 (Laryngeal cancer), 구인두암 (Oropharyngeal cancer), 비강/부비동암 (Nasal cavity/PNS tumor), 비인두암 (Nasopharyngeal tumor), 침샘암 (Salivary gland tumor), 하인두암 (Hypopharyngeal cancer), 갑상선암 (Thyroid cancer), 구강암 (Oral cavity tumor), 흉부종양(Chest Tumor), 소세포성 폐암 (Small cell lung cancer), 비소세포성 폐암 (Non small cell lung cancer), 흉선암 (Thymoma), 종격동 종양 (Mediastinal tumor), 식도암 (Esophageal cancer), 유방암 (Breast cancer), 남성유방암 (Male breast cancer), 복부종양 (Abdomen-pelvis tumor), 위암 (Stomach cancer), 간암 (Hepatoma), 담낭암 (Gall bladder cancer), 담도암 (Biliary tract tumor), 췌장암 (pancreatic cancer), 소장암 (Small intestinal tumor), 대장(직장)암 (Large intestinal tumor), 항문암 (Anal cancer), 방광암 (Bladder cancer), 신장암 (Renal cell carcinoma), 남성생식기종양 (Male genital cancer), 음경(요도)암 (Penile cancer), 전립선암 (Prostatic cancer), 여성생식기종양 (Female genital cancer), 자궁경부암 (Cervix cancer), 자궁내막암 (Endometrial cancer), 난소암 (Ovarian cancer), 자궁육종 (Uterine sarcoma), 질암 (Vaginal cancer), 여성외부생식기암 (Vulva cancer), 여성요도암 (Urethral cancer) 또는 피부암 (Skin cancer)의 치료에 사용함이 바람직하다. 보다 더 바람직하게는 폐암, 유방암 또는 직장암의 치료에 사용될 수 있으나 이제 제한되는 것은 아니다.
- [0059] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명

의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

하기의 실험예들은 본 발명에 따른 각각의 실시예에 공통적으로 적용되는 실험예를 제공하기 위한 것이다.

1. X-선 구조분석

X-ray 회절 실험은 포항 가속기 연구실에 있는 싱크로트론 라디에이션을 이용하여 수행되었다. 제조된 화합물의 단결정으로부터 회절 데이터를 포항의 포항 가속기 연구실(PAL:Pohang Accelerator Laboratory)의 초분자 결정학 빔 라인 2D를 이용하여, 100K 에서 싱크로트론 방사선($\lambda = 0.75000 \text{ \AA}$)을 이용한 ADSC 양자 210 CCD 회절미터상에서 수집하였다. 초기 데이터는 HKL2000을 이용하여 가공 및 축소하였다. 구조는 직접적인 방법에 의해 규명되었고, SHELXTL 프로그램 패키지에 있는 적절한 소프트웨어를 이용하여 F^2 에서의 최소자승법으로 full-matrix least-squares refinement로 정련하였다. 모든 비-수소 원자는 이방성으로 정련되었고, 메탄올의 OH기를 제외한 수소원자는 기하학적으로 이상적인 위치에 가해졌다. CCDC 907587에 본 발명의 화학식 3의 화합물에 대한 결정학상의 보조데이터가 게시되어 있다. 이는 www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif 또는 Cambridge Crystallographic Data Centre에서 무료로 얻을 수 있다.

2. NMR 스펙트럼 분석

^1H 및 ^{13}C NMR 스펙트럼은 Bruker 300 MHz 스펙트로미터에서 기록되었다. ^1H NMR 스펙트럼에서의 화학적 이동(δ)은 테트라메틸실란(Me_4Si)을 국제 표준(0.0ppm)으로 한 상대적인 ppm 값으로 기록되었다.

3. UV-Vis 및 형광 스펙트럼 분석

UV-Vis 스펙트럼은 Cary-100 Conc로 분석하였다. 형광 적정(Fluorescence titration) 연구는 HORIBA FluoroMax-4 형광강도계로 수행되었다.

<제조예 1> 화학식 3의 화합물 제조방법

본 발명 화합물의 아렌-루테늄 금속 수용체인 화학식 3의 화합물의 제조반응식을 도 1에 나타내었다. 도 1a를 참조하면, 파라 시멘(p-cymene) 복합체 **1** 은 비스-벤즈이미다졸 **2**와 반응한 후, 소듐 아세테이트와 1:1:2 몰비로 이합체 **3**을 형성하였다.

도 1b를 참조하면, 이합체 화합물 **3**은 메탄올에서 AgOTf 와 반응하여 루테늄과 OTf^- 가 상호작용하는 제조예 1의 화합물 **4**로 전환되었다. 실제 용매상에서 존재하는 구조를 확인해 볼때, 용매인 메탄올이 루테늄과 상호작용하며 OTf^- 와 염을 형성할 수 있음을 알 수 있었다.

^1H , ^{13}C NMR과 HR-ESI-MS 분광법으로 알아낸 순수한 생성물은 다이에틸 에터를 가하면 노란색을 띠는 갈색 고형으로 분리되어 수득되었다.

상기 제조예 1에서 수득된 화합물 **4**의 ^1H NMR 스펙트럼을 도 5에 나타내었다. 도 5을 참조하면, $\delta = 8.00$ 과 7.50 ppm 에서 비스-벤즈이미다졸 양성자와 상응하는 두 개의 다중선을 나타내었다. 파라 시멘 양성자는 $\delta = 6.43$ 과 6.30 ppm 에서 두 개의 이중선을 나타내었다. 화학식 3의 화합물의 HR-ESI-MS 분석은 852.0 에서 $[\text{4} - \text{OSO}_2\text{CF}_3]^-$ 의 동위원소 비율에 따라 이론적 패턴에 따른 피크를 나타내었다.

상기 화합물의 X-선 결정구조를 도 7a에 나타내었다. 도 7a를 참조하면, 메탄올 용액에서의 다이에틸 에터 증기 확산을 통해 화학식 3의 화합물의 단결정이 메탄올에 의해 인지되는 두 개의 불안정한 결합자리를 가진 물질의 구조를 가지는 것을 확인시켜 주었다(초록색:루테늄, 빨간색:산소, 파란색:질소, 회색:탄소 및 흰색:수소). 즉, 루테늄에 용매에 존재하는 메톡시기가 결합되고, AgOTf 의 OTf^- 와 염을 형성하는 상태로 존재하는 것을 확인할 수 있었다.

[0073] <실시예 1> 화학식 1의 화합물 제조

[0074] 화학식 1의 화합물 제조반응식 및 모식도를 도 2a 및 도 3에 나타내었다. 도 2a 및 도 3을 참조하면, 상기 제조예 1에서 제조된 OTf⁻ 염 화합물과 화학식 4의 화합물인 1,3,5-트리스(4-피리딜에티닐) 벤젠(La)을 3:2 몰비로 처리하여 실시예 1의 화합물(프리즘 5)을 제조하였다. 실시예 1의 화합물 5는 제조예 1의 화합물의 루테늄과 1,3,5-트리스(4-피리딜에티닐) 벤젠의 질소원자가 결합한 구조를 형성하며, 제조예 1의 화합물에 존재하던 OTf⁻와 염을 형성하였다.

[0075] 상기 화합물의 ¹H NMR 스펙트럼을 도 5b에 나타내었다. 도 5b를 참조하면, ¹H NMR 스펙트럼에서 피리딜 양성자에 상응하는 두 개의 이중선이 $\delta = 7.85, 6.93$ ppm에서 나타났고, 비스-벤즈이미다졸 양성자에 상응하는 두 개의 다중선이 $\delta = 8.08, 7.64$ ppm에서 나타났다. 또, 공여자 La의 벤질 양성자로 인해 단일선이 $\delta = 7.29$ ppm에서, 파라 시멘 양성자의 두 개의 이중선은 $\delta = 6.64, 6.17$ ppm에서 관찰되었다.

[0076] <실시예 2> 화학식 2의 화합물 제조

[0077] 화학식 2의 화합물 제조반응식 및 모식도를 도 2b 및 도 4에 나타내었다. 도 2b 및 도 4를 참조하면, 제조예 1에서 제조된 OTf⁻ 염 화합물과 화학식 5의 화합물인 N,N-다이(피리딘-4일)옥살아마이드 (Lb)를 1:1 몰비로 처리하여 동일한 양으로 자기조립된 실시예 2의 화합물(직사각형 6)을 제조하였다. 실시예 2의 화합물은 밀도 범함수 이론(DFT: density functional theory)에서 정하는 바와 같이 파라 시멘에서 생략된 아이소프로필과 메틸 그룹이 기하학적으로 최적화된 이차원 직사각형을 가지는 것으로 나타났다(도 4 참조). 또한 실시예 2의 화합물 6은 제조예 1의 화합물의 루테늄과 N,N-다이(피리딘-4일)옥살아마이드의 방향족 고리 내 질소원자가 결합한 구조를 형성하며, 제조예 1의 화합물에 존재하던 OTf⁻와 염을 형성하였다.

[0078] 이를 보여주는 상기 실시예 2의 화합물 6의 X-선 결정구조를 도 7b에 나타내었다. 도 7b를 참조하면, 실시예 2의 화합물 6은 제조예 1에 따른 화합물(도 7a)의 루테늄과 상호작용하던 용매의 메탄올 대신, 화학식 5의 방향족 고리내 질소원자가 결합하여 사각 고리 화합물을 형성함을 알 수 있다(초록색:루테늄, 빨간색:산소, 파란색:질소, 회색:탄소 및 흰색:수소).

[0079] 상기 실시예 2의 화합물 6의 ¹H NMR 스펙트럼을 도 5c에 나타내었다. 도 5c를 참조하면, ¹H NMR 스펙트럼에서 피리딜 양성자에 상응하는 두 개의 이중선이 $\delta = 7.68, 7.14$ ppm에서 나타났고, 비스-벤즈이미다졸 양성자에 상응하는 두 개의 다중선은 $\delta = 8.03, 7.58$ ppm에서 나타났다. 또, 공여자 Lb의 아민기의 양성자에 상응하는 단일선이 $\delta = 9.57$ ppm에서, 파라 시멘 양성자의 두 개의 이중선은 $\delta = 6.59, 6.11$ ppm에서 관찰되었다.

[0080] <실험예 1> UV-vis 과 형광 스펙트럼 분석

[0081] 각 화합물의 UV-Vis 흡광도를 도 6에 나타내었다. 도 6을 참조하면, 높은 에너지 밴드는 제조예 1에서 제조된 화합물은 $\lambda_{abs} = 323$ nm, 화학식 1의 화합물은 $\lambda_{abs} = 310$ nm, 화학식 2의 화합물은 $\lambda_{abs} = 316, 289$ nm (솔더부분)에서 나타났다. 모든 물질은 $\lambda_{abs} = 449$ nm에서 낮은 에너지 금속-리간드 전하 이동 밴드(Low energy metal-ligand charge transfer bands)가 나타내었다. 290 nm의 들뜬 상태에서 제조예 1의 화합물 4는 $\lambda_{em} = 358$ nm, 실시예 1의 화합물 5는 $\lambda_{em} = 365$ nm, 실시예 2의 화합물 6은 $\lambda_{em} = 380$ nm에서 방출밴드가 관찰되었다. 실시예 1의 화합물의 경우, 상대적으로 강한 형광은 에티닐기로 인한 π 컨쥬게이션의 확장으로 인한 것으로 판단된다(도 6 참조).

[0082] <실험예 2> 각 세포주에 대한 항암 활성 분석(MTS 분석)

[0083] 모든 암세포주에 각 화합물을 24시간 동안 처리하였고, 3-(4,5-다이메틸싸이아조-2-릴)-5-(3-카르복시메톡시페닐)-2-(4-설포페닐)-2H-테트라졸리움 (MTS)을 이용하여 암 화학치료제인 시스플라틴을 대조군으로 한 세포 증식 분석 활성을 측정하였다.

[0084] MTS 분석 결과를 하기 표 1에 나타내었다. 표를 참조하면, Colo320 세포주만이 시스플라틴에 민감성을 보이는 반면, A549, MCF-7, H1299 세포주는 저항성을 가지는 것으로 밝혀졌다. 각 세포주에 대한 제조예 1의 화합물 4, 실시예 1의 화합물 5, 실시예 2의 화합물 6, 시스플라틴의 효과가 표 1에 요약되어 있다.

표 1

화합물	IC ₅₀ μ M ^[a]			
	Colo320	A549	H1299	MCF7
제조예 1의 화합물 4	>100	>100	>100	>100
실시예 1의 화합물 5	78.86	15.42	15.65	8.41
실시예 2의 화합물 6	13.94	>100	>100	>100
시스플라틴	38.6	>100	>100	>100

[0086] [a] IC₅₀ : 세포생존률 50% 저해하는 약물최소농도

[0087] 표 1을 참조하면, 모든 세포주는 제조예 1에서 제조된 화합물 4에 저항성을 가졌고, 실시예 2의 화합물 6은 Colo320 세포주에만 활성을 나타내었다. 실시예 1의 화합물 5는 모든 세포주에 대한 증식을 막고, 적은 농도에 서도 효과적으로 성장을 저해할 수 있음을 알 수 있었다.

[0088] 실시예 1의 화합물 5가 세포사멸을 감소시켰음을 명확히 하기 위해 H1299 세포주를 각각 10 μ M의 실시예 1의 화합물 5와 시스플라틴으로 12시간 동안 처리한 후, 이를 TUNEL로 염색시키고 FACS 분석을 수행한 결과를 도 8에 나타내었다. 도 8을 참조하면, 시스플라틴과 실시예 1의 화합물 5는 각각 25%와 18%의 비율로 H1299 세포사멸을 초래하였는데, 이 결과는 실시예 1의 화합물 5의 활성이 시스플라틴의 활성보다 우수함을 의미하는 것이다. 특히 세포사멸의 활성 메커니즘을 보이지 않는 백금 기반 분자에 저항성을 보이는 목적 세포주를 위하여 이용 가능함을 알 수 있었다.

[0089] 한편, 본 발명에 따른 상기 화합물은 목적에 따라 여러 형태로 제제화가 가능하다. 하기는 본 발명에 따른 상기 화합물을 활성성분으로 함유시킨 몇몇 제제화 방법을 예시한 것으로 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0090] <제제예 1> 정제(직접 가압)

[0091] 활성성분 5.0mg을 체로 친 후, 락토스 14.1 mg, 크로스포비돈 USNF 0.8 mg 및 마그네슘 스테아레이트 0.1 mg을 혼합하고 가압하여 정제로 제조하였다.

[0092] <제제예 2> 정제(습식 조립)

[0093] 활성성분 5.0 mg을 체로 친 후, 락토스 16.0 mg과 녹말 4.0mg을 섞었다. 폴리솔베이트 80 0.3 mg을 순수한 물에 녹인 후 이 용액의 적당량을 첨가한 다음, 미립화하였다. 건조 후에 미립을 체질한 후 콜로이달 실리콘 디옥사이드 2.7 mg 및 마그네슘 스테아레이트 2.0 mg과 섞었다. 미립을 가압하여 정제로 제조하였다.

[0094] <제제예 3> 분말과 캡슐제

[0095] 활성성분 5.0 mg을 체로 친 후에, 락토스 14.8 mg, 폴리비닐 피롤리돈 10.0 mg, 마그네슘 스테아레이트 0.2 mg와 함께 혼합하였다. 상기 혼합물을 적당한 장치를 사용하여 단단한 No. 5 젤라틴 캡슐에 넣어 캡슐제를 제조하였다.

[0096] <제제예 4> 주사제

[0097] 활성성분 100 mg, 만니톨 180 mg, Na₂HPO₄·12H₂O 26 mg 및 증류수 2974 mg를 혼합하였다. 상기 혼합 용액을 투명

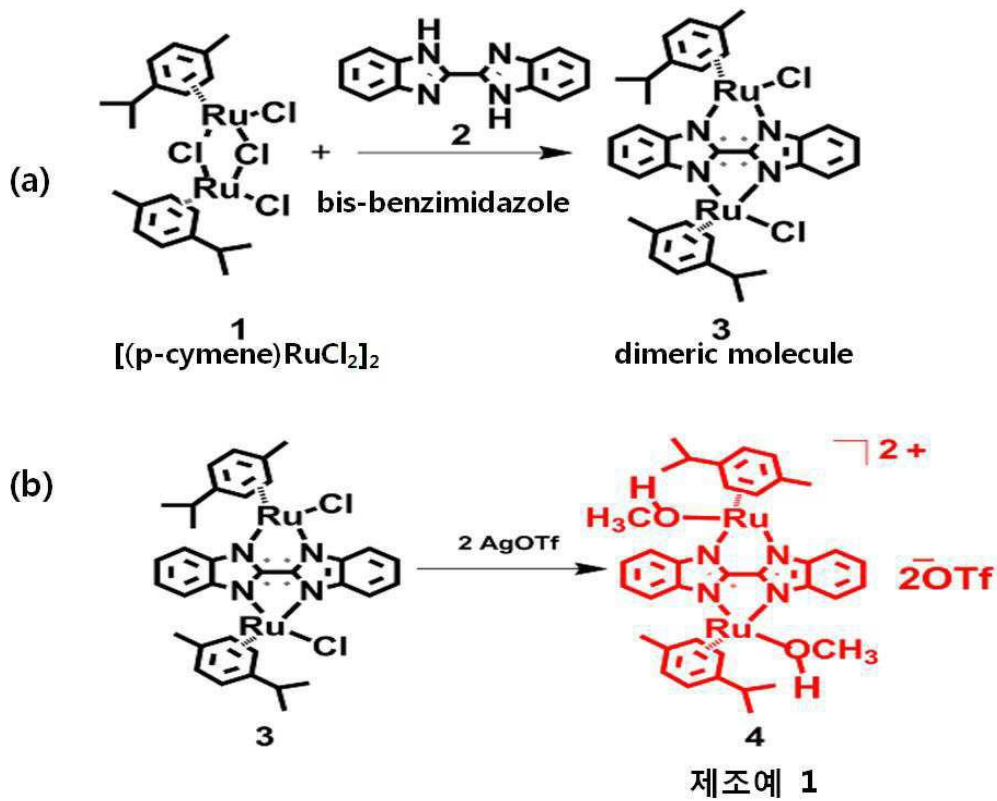
유리로 된 앰플 중에 충전시키고, 유리를 용해시킴으로써 상부 격자하에 봉입시키고, 120 ℃에서 15분 이상 오토클레이브시켜 살균하여 주사제를 제조하였다.

[0098]

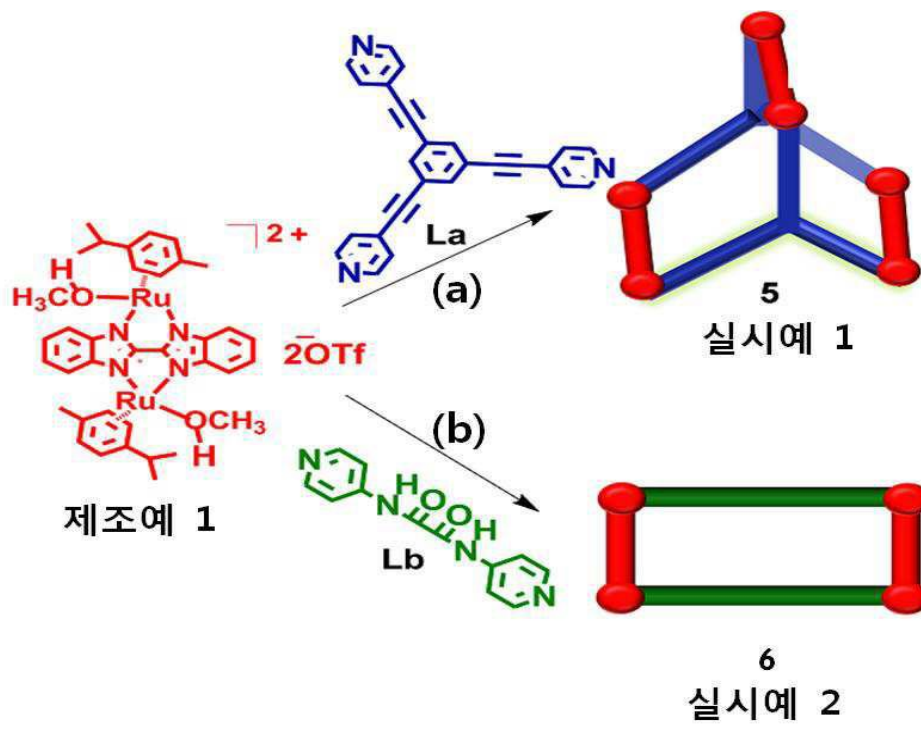
이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시예일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

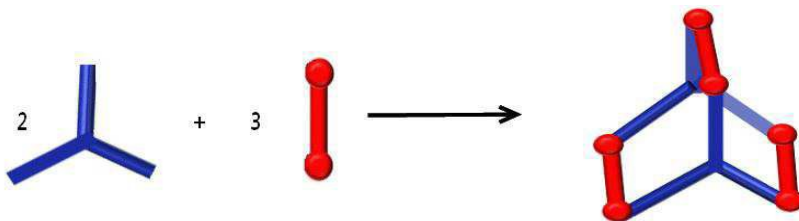
도면1



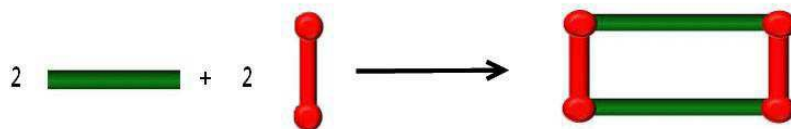
도면2



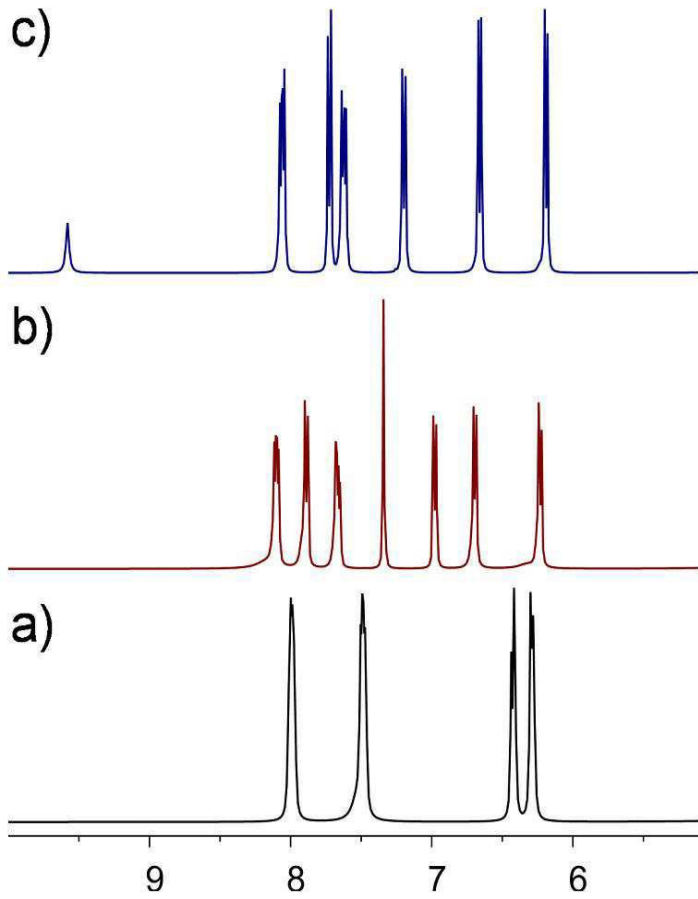
도면3



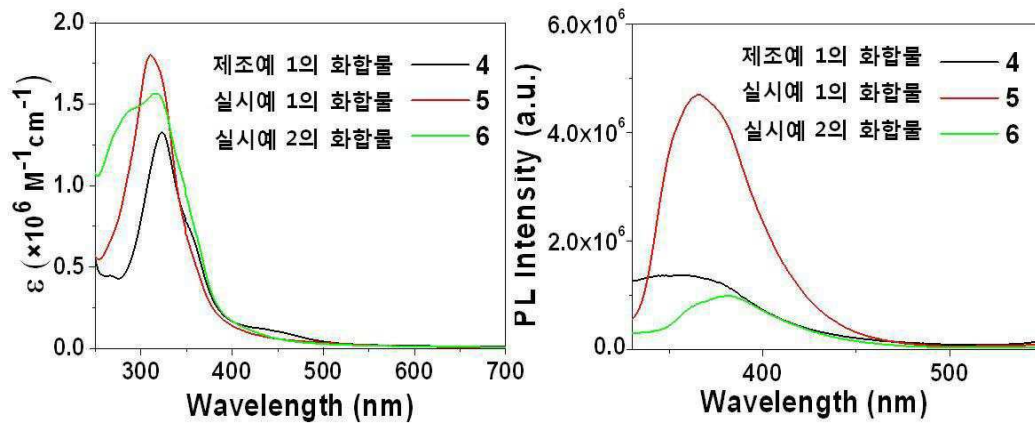
도면4



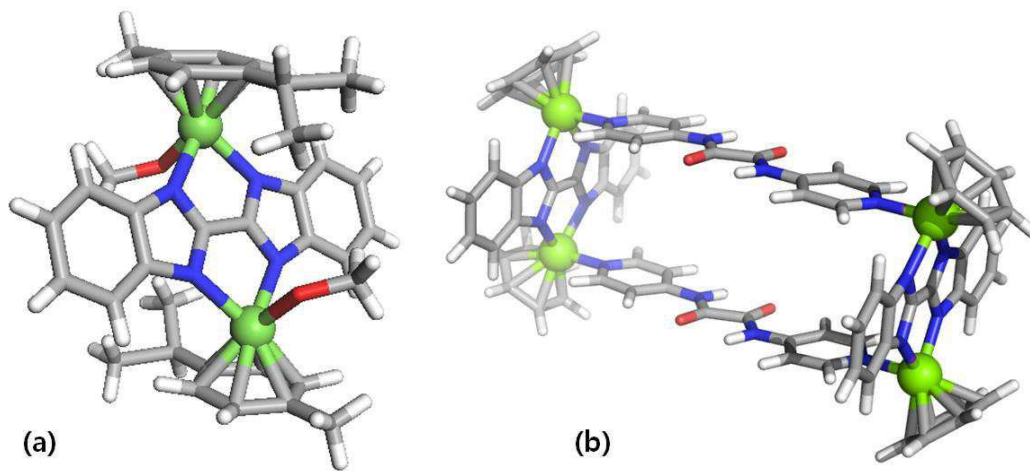
도면5



도면6



도면7



도면8

