(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0026081
(43) 공개일자 2013년03월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/403 (2006.01) *A61P 9/12* (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01) *A61P 9/00* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-0089469
(22) 출원일자 2011년09월05일
심사청구일자 2011년09월05일

(71) 출원인
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
송규용
대전광역시 유성구 대학로 99, 약학과 (궁동, 충남대학교)
명창선
서울특별시 강남구 역삼동 역삼이편한세상아파트 106동 1502호
김영호
대전광역시 유성구 어은로 57, 107동 301호 (어은동, 한빛아파트)
(74) 대리인
백경업

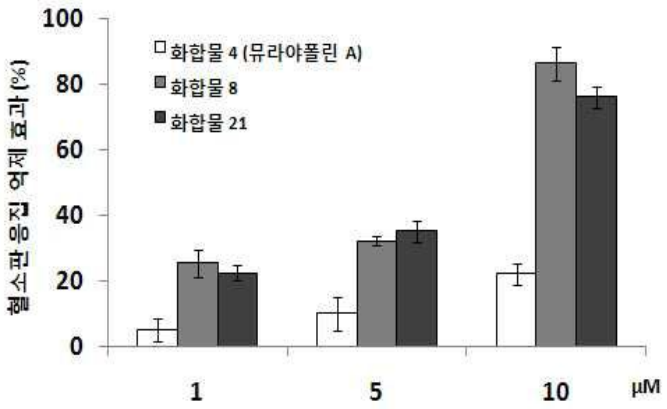
전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 발명의 명칭 **뮤라야폴린 에이 유도체를 유효성분으로 함유하는 혈관 질환의 치료 또는 예방용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 뮤라야폴린 A의 유도체 화합물을 유효성분으로 함유하는 혈소판 응집 억제 효과가 있는 조성물에 관한 것으로, 상기 조성물은 동맥경화증, 고혈압, 협심증, 심근경색, 허혈성 심장질환, 심부전, 경혈관 동맥 성형술 후 발생하는 합병증, 뇌경색, 뇌출혈, 및, 뇌졸중 등과 같은 혈관 질환을 예방 및 치료할 수 있으며, 상기 질병들을 개선할 수 있는 다양한 치료제에도 유용하게 응용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



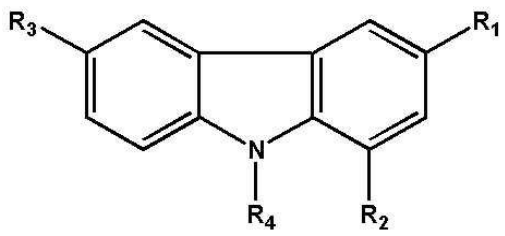
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2009-0093815
부처명 한국연구재단
연구사업명 대학중점연구소사업
연구과제명 심혈관계 질환 치료제 개발 기반연구
주관기관 교육과학부
연구기간 2009.09.01 ~ 2018.08.31

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1의 화합물을 함유하는 것을 특징으로 하는 혈관 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[화학식 1]



상기 화학식 1에서 R_1은 수소, C1~C6 알킬, 포르밀, C1~C6 알킬에스터 또는 카르복실산 중에서 독립적으로 선택되고, R_2는 수소, 하이드록시, C1~C6 알킬, 또는 C1~C6 알킬옥시 중에서 독립적으로 선택되며, 수소, 할로겐 또는 C1~C6 알킬 중에서 독립적으로 선택되고, R_4는 수소, C1~C6 알킬, C2~C6 알케닐 또는 C1~C6 알킬케톤 중에서 독립적으로 선택된다.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 혈관 질환은, 동맥경화증, 고혈압, 협심증, 심근경색, 허혈성 심장질환, 심부전, 경혈관 동맥 성형술 후 발생하는 합병증, 뇌경색, 뇌출혈, 및, 뇌졸중으로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 혈관 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 화학식 1의 화합물은,

1-메톡시-3-메톡시카보닐-*9H*-카바졸,

1-하이드록시-3-메틸-*9H*-카바졸,

1-하이드록시-3-포르밀-*9H*-카바졸,

9-(3-메틸부-2-테닐)-*9H*-카바졸,

9-(3-메틸부-2-테노일)-*9H*-카바졸,

6-브로모-1-메톡시-3-메톡시카보닐-*9H*-카바졸, 및,

6-브로모-1-하이드록시-3-메틸-9H-카바졸

로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 화합물인 것을 특징으로 하는 혈관 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 4

제 1 항 내지 제 3항 중의 어느 한 항에 있어서,

상기 약학 조성물은 혈소판 응집을 억제하는 효과가 있는 것을 특징으로 하는 혈관 질환의 예방 또는 치료용 약

학 조성물.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 뮤라야폴린 A(murrayafoline A) 유도체를 유효성분으로 함유하는 혈관 질환의 치료 또는 예방용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 일반적으로 질병은 사회, 경제, 문화, 환경 등의 요인이 변화함에 따라 여러 가지 다른 형태로 표출된다. 이는 근래의 급속한 경제발전과 생활수준의 향상으로 인해 식생활을 포함한 생활방식이 다양화되면서, 과거의 감염 위주의 질병이 감소하고 선진국형의 만성퇴행성 질환이 증가하는 것으로도 확인할 수 있다.

[0003] 특히 이러한 변화는 고혈압, 동맥경화, 허혈성 심장질환, 뇌경색, 뇌출혈 및 뇌졸중 등의 뇌·심혈관계 질환으로 인한 사망률을 매우 급격하게 증가시키는 데에 일조하고 있는 것으로 알려져 있다. 이러한 뇌·심혈관계 질환은 혈중 콜레스테롤 증가, 지질조성의 변화에 따른 혈액 성분의 변화와 과도한 정신적 긴장 상태가 가장 큰 원인이다.

[0004] 혈액을 구성하는 혈장 및 혈구세포(혈소판)는 혈행 활동에 주로 관여하며, 이들은 혈류의 항상성을 유지하고 혈관의 손상된 부위나 염증 부위에서 지혈과 보호를 통해 인체의 정상적인 기능을 유지시킨다. 그러나 여러 가지 원인에 의해 혈관벽이 과도하게 손상을 받게 되고, 손상된 혈관벽이 콜라겐에 노출되면, 여기에 혈소판이 유착하게 된다. 유착된 혈소판은 ADP(adenosine diphosphate), 트롬빈, 칼슘 등을 유리하고, 트롬복신 A2(TXA2)를 생성하여 주위 혈소판을 활성화시켜 응집하게 된다. 이렇게 생긴 응집물이 혈류에 의해 떨어져 나간 것을 혈전이라 하며, 혈전은 혈류를 따라 흐르다 미세혈관을 막아 심근경색, 허혈 등의 혈행장애를 유발한다(Circulation, 62, 13-18, 1980). 또한, 이 외에도, 혈전의 생성은 동맥경화, 심장질환 및 뇌졸중 등의 질환을 일으킬 수 있는데, 이 때문에, 혈행장애와 관련된 혈관 질환에 대한 약물 개발이 매우 중요해지고 있으며, 최근에 이러한 질환의 예방 및 치료를 위하여 항혈소판 응집 또는 항응고 활성이 우수한 치료제에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다.

[0005] 뮤라야폴린 A는 글리코미스 스테노카르파(*Glycosmis stenocarpa*)에서 분리된 화합물이다. 뮤라야폴린 A는 항진균 효과, 결핵이나 말라리아에 대한 치료 효과, 항암 효과 등과 같은 여러 가지 활성이 있는 것으로 알려져 있다.

[0006] 본 발명자들은 뮤라야폴린 A를 전합성한 후 이를 변형시킨 여러가지 유도체를 합성하였고, 상기 뮤라야폴린 A의 유도체가 혈액응고 억제 효과가 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

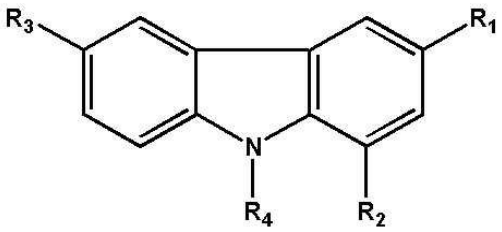
해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 뮤라야폴린 A 유도체를 유효성분으로 함유하는 혈관 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명은 하기 화학식 1의 구조를 갖는 화합물을 유효성분으로 함유하는 혈관 질환의 치료 또는 예방용 조성물인 것을 특징으로 한다.

[0009] [화학식 1]



[0010]

[0011] 상기 화학식 1에서 R_1은 수소, C1~C6 알킬, 포르밀, C1~C6 알킬에스터 또는 카르복실산 중에서 독립적으로 선택되고, R_2는 수소, 하이드록시, C1~C6 알킬, 또는 C1~C6 알킬옥시 중에서 독립적으로 선택되며, 수소, 할로겐 또는 C1~C6 알킬 중에서 독립적으로 선택되고, R_4는 수소, C1~C6 알킬, C2~C6 알케닐 또는 C1~C6 알킬케톤 중에서 독립적으로 선택된다.

[0012] 상기 화학식 1의 화합물은, 바람직하게는,

[0013] 1-메톡시-3-메톡시카보닐-*9H*-카바졸,

[0014] 1-하이드록시-3-메틸-*9H*-카바졸,

[0015] 1-하이드록시-3-포르밀-*9H*-카바졸,

[0016] 9-(3-메틸부-2-테닐)-*9H*-카바졸,

[0017] 9-(3-메틸부-2-테노일)-*9H*-카바졸,

[0018] 6-브로모-1-메톡시-3-메톡시카보닐-*9H*-카바졸, 및,

[0019] 6-브로모-1-하이드록시-3-메틸-9H-카바졸

[0020] 로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 화합물일 수 있다.

[0021] 상기 화학식 1로 표시되는 본 발명의 화합물은 혈소판 응집을 억제하는 효과가 있어 동맥경화증, 고혈압, 협심증, 심근경색, 허혈성 심장질환, 심부전, 경혈관 동맥 성형술 후 발생하는 합병증, 뇌경색, 뇌출혈, 및, 뇌졸중으로 이루어진 군에서 선택되는 혈관 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물로 이용될 수 있다.

[0022] 상기 화학식 1로 표시되는 본 발명의 화합물은 당해 기술 분야에서 통상적인 방법에 따라 제조될 수 있으며, 약학적으로 허용 가능한 염으로 제조될 수 있다.

[0023] 따라서 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 혈관 질환의 예방 또는 치료를 위한 약학 조성물을 제공한다.

[0024] 본 발명에 따른 화합물을 포함하는 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 상기 화합물을 포함하는 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 덱스트로오스, 수크로오스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화 할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레

이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0025] 상기 화합물의 투여량은 치료 받을 대상의 연령, 성별, 체중과, 치료할 특정 질환 또는 병리 상태, 질환 또는 병리 상태의 심각도, 투여경로 및 처방자의 판단에 따라 달라질 것이다. 이러한 인자에 기초한 투여량 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 일반적으로 투여량은 0.01㎎/㎏/일 내지 대략 2000㎎/㎏/일의 범위이다. 더 바람직한 투여량은 0.1㎎/㎏/일 내지 500㎎/㎏/일이다. 투여는 하루에 한 번 투여할 수도 있고, 수 회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다. 본 발명의 화합물은 쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁 내 경막 또는 뇌혈관 내 주사에 의해 투여될 수 있다.

발명의 효과

[0026] 본 발명은 뮤라야폴린 A의 유도체 화합물을 유효성분으로 함유하는 혈소판 응집 억제 효과가 있는 조성물에 관한 것으로, 상기 조성물은 동맥경화증, 고혈압, 협심증, 심근경색, 허혈성 심장질환, 심부전, 경혈관 동맥 성형술 후 발생하는 합병증, 뇌경색, 뇌출혈, 및, 뇌졸중 등과 같은 혈관 질환을 예방 또는 치료할 수 있으며, 상기 질병들을 개선할 수 있는 다양한 치료제에 유용하게 응용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0027] 도 1은 본 발명의 화합물인 1-하이드록시-3-메틸-9H-카바졸(화합물 8) 및 6-브로모-1-하이드록시-3-메틸-9H-카바졸(화합물 21)이 혈소판 응집 억제 효과가 있는 것을 나타낸 그래프이다.

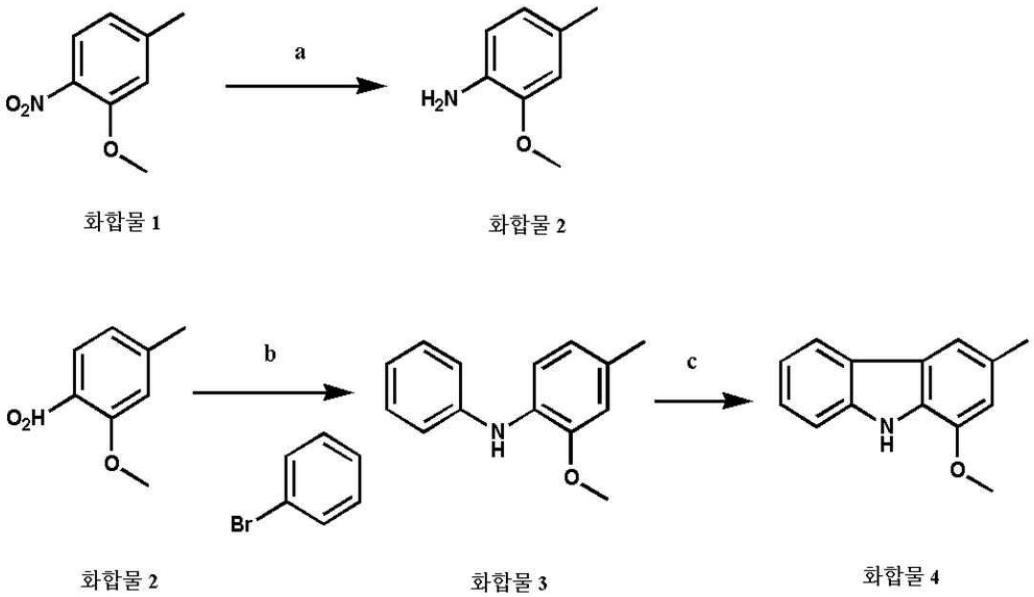
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0028] 이하 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 그러나, 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다. 오히려, 여기서 소개되는 내용이 철저하고 완전해질 수 있도록 그리고 당업자에게 본 발명의 사상이 충분히 전달될 수 있도록 하기 위해 제공되는 것이다.

[0029] <실시예 1. 뮤라야폴린 A 및 이의 유도체의 합성>

[0030] 합성 중간 물질인 뮤라야폴린 A(murrayafoline A, 1-methoxy-3-methyl -9H-carbazole, 화합물 4)의 합성은 5-메틸-2-니트로애니솔(5-methyl-2-nitroanisole, 화합물 1)을 출발물질로 하여 수소화(hydrogenation), 아미노화(amination), 변환(transformation) 과정을 통하여 얻었다. 구체적인 합성 과정은 [반응식 1]에 표시하였으며 다음과 같다.

[0031] [반응식 1]



[0032]

[0033] 1-1. 2-메톡시-4-메틸아닐린(화합물 2)의 제조

[0034] 250㎖ 고압수소반응기에 5-메틸-2-니트로애니솔(화합물 1, 20g, 0.12mol)을 넣고 디클로로메탄(40㎖)과 메탄올(20㎖)을 넣어 용해하였고, 상기 용해물에 팔라듐 카본(1g, 5w/w%, Pd/C activated)을 첨가하였다. 이 후, 상기 반응액을 밀폐하여 40psi의 수소가스 하에서 6시간 동안 교반하였으며, 셀라이트(Celite) 케익 상에서 여과하였다. 여과액을 메탄올(200㎖)로 세척하였으며, 상기 세척된 여액을 감압농축하여 하기 물성치를 갖는 2-메톡시-4-메틸아닐린(화합물 2, 2-methoxy-4-methylaniline) 15.8g을 얻었다.

[0035] 수율 : 96.2%;

[0036] 적갈색 오일상;

[0037] R_f = 0.41(*n*-hexane:ethyl acetate=3:1);

[0038] ^{1}H NMR($CDCl_3$) : δ ppm 6.604(m, 3H), 3.807(s, 3H), 3.604(br, NH_2), 2.255(s, 3H)

[0039] 1-2. 2-메톡시-4-메틸-*N*-페닐벤젠아민(화합물 3)의 제조

[0040] 완전히 건조시킨 250㎖ 라운드 플라스크에 팔라듐 디아세테이트(336.7mg, 5mol%, $Pd(OAc)_2$), 트리사이클로헥실포스핀(842mg, 10mol%, PCy_3), 포타슘 포스페이트 트리베이직(14.1g, 66mmol), 상기 실시예 1-1에서 제조한 2-메톡시-4-메틸아닐린(화합물 2, 4.1g, 30mmol), 브로모벤젠(C_6H_5Br, 4.71g, 30mmol)을 넣어 무수 *N*-메틸피롤리디논(NMP)으로 용해하였다. 이를 질소가스 하에서 130℃에서 3일 동안 가열환류하였고, 상기 반응액을 냉각한 후 증류수와 디클로로메탄으로 추출한 뒤 상기 디클로로메탄 층을 농축하였다. 이 후, 실리카겔 컬럼 분리를 통해 상기 농축액에서 하기 물성치를 갖는 2-메톡시-4-메틸-*N*-페닐벤젠아민(화합물 3, 2-methoxy-4-methy-*N*-phenylbenzeneamine) 2.53g을 얻었다.

[0041] 수율 : 39.5%;

[0042] 갈색 오일상;

[0043] R_f = 0.57(*n*-hexane:ethyl acetate=5:1);

[0044] MS(*m/z*) 214 $(M+H)^+$;

[0045] ^{1}H NMR($CDCl_3$) : δ (ppm) 7.221(m, 3H), 7.081(d, J=7.6Hz, 2H), 6.881(t, J=7.2Hz, 1H), 6.703(s, 1H), 6.689(d, J=10.8Hz, 1H), 5.984(br, NH), 3.844(s, 3H), 2.312(s, 3H)

[0046] 1-3. 1-메톡시-3-메틸-*9H*-카바졸(화합물 4)의 제조

[0047] 100㎖ 라운드 플라스크에 상기 실시예 1-2에서 제조한 2-메톡시-4-메틸-*N*-페닐벤젠아민(화합물 3, 3g, 14.1mmol), 팔라듐 디아세테이트(157.1mg, 5mol%, $Pd(OAc)_2$), 탄산칼륨(193mg, 10mol%, K_2CO_3), 피밸릭산(26g, pivalic acid)을 측량하여 넣었고, 110℃으로 맞춰진 내유성 시험기(oil bath)에서 하루 동안 교반하였다. TLC 경향을 살피며 출발물질이 남아 팔라듐 디아세테이트(157.1mg, 5mol%, $Pd(OAc)_2$)와 탄산칼륨(193mg, 10mol%, K_2CO_3)을 추가하였으며, 16시간 후에 출발물질이 TLC 상에서 거의 사라진 것을 확인한 후 반응을 종료하였다. 상기 반응액을 냉각한 후 디클로로메탄과 수포화 탄산나트륨으로 분액하였으며, 디클로로메탄 층을 황산나트륨으로 탈수한 후 여과하여 여액을 감압농축하였다. 이 후, 실리카겔 컬럼 분리를 통해 상기 농축액에서 하기 물성치를 갖는 1-메톡시-3-메틸-*9H*-카바졸(화합물 4, murrayafoline A, 1-methoxy-3-methyl-*9H*-carbazole) 1.54g을 얻었다.

[0048] 수율 : 51.9%;

[0049] 갈색 고체상(solid);

[0050] m.p 54℃;

[0051] R_f = 0.380(*n*-hexane:ethyl acetate=5:1);

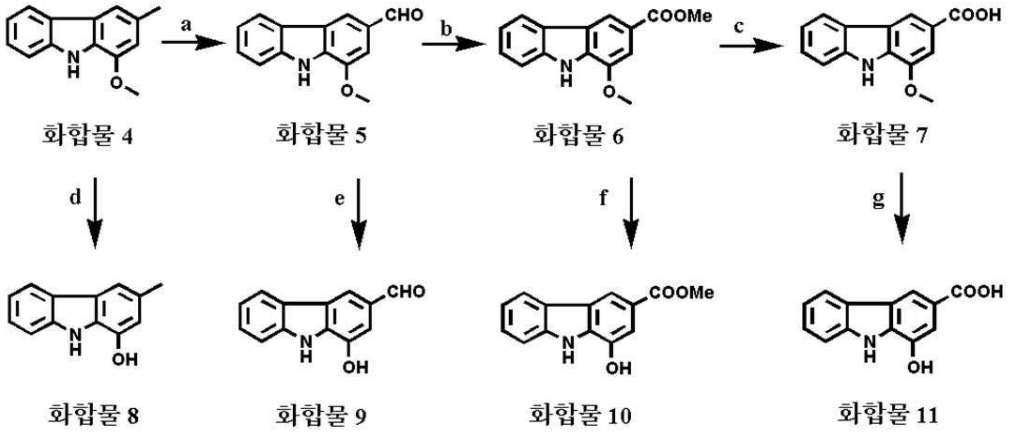
[0052] MS(*m/z*) 212 $(M+H)^+$;

[0053] ^{1}H NMR($CDCl_3$) : δ (ppm) 8.153(br, NH), 8.011(d, J=8.0Hz, 1H), 7.474(s, 1H), 7.402(m, 2H), 7.195(t, J=7.4Hz, 1H), 6.731(s, 1H), 3.992(s, 3H), 2.531(s, 3H)

[0054] 이 후, 뮤라야폴린 A의 유도체를 합성하기 위해, 상기 뮤라야폴린 A(화합물 4)의 3번 위치 메틸기를 알데히드, 카르복시레이트, 카르복산으로 치환하였고 치환된 유도체 각각의 1번 위치 메톡시기에 디메틸레이션(demethylation) 과정을 통해 히드록시기를 도입하였다.

[0055] 구체적인 합성 과정은 반응식 2에 나타나 있으며 다음과 같다.

[0056] [반응식 2]



Reagents and Conditions
a) DDQ, MeOH, H_2O, RT, 20m
b) MnO_2, KCN, MeOH, RT, 24h
c) KOH, EtOH, H_2O, RT, 1h
d) BBr_3, dry MC, -20℃, 24h
e) BBr_3, dry MC, -20℃, 3d
f) BBr_3, dry MC, -20℃, 24h
g) BBr_3, dry MC, RT, 24h

[0057]

[0058] 1-4. 1-메톡시-3-포르밀-*9H*-카바졸(화합물 5)의 제조

[0059] 100㎖ 라운드 플라스크에 상기 실시예 1-3에서 제조한 1-메톡시-3-메틸-*9H*-카바졸(화합물 4, 300mg, 1.42mmol)을 넣고 메탄올과 증류수 10:1(v:v) 용액 30㎖로 용해하였다. 여기에 2,3-디클로로-5,6-디시아노-1,4-벤조퀴논(1.35g, 5.96mmol, DDQ)을 넣고 상기 반응액을 실온에서 20분간 교반하였고, 이를 감압농축한 후 디클로로메탄과 증류수로 분액하였으며, 디클로로메탄 층을 황산나트륨으로 탈수 후 여과하여 여액을 감압농축하였다. 이후, 실리카겔 컬럼 분리를 통해 상기 디클로로메탄층의 농축액에서 하기 물성치를 갖는 1-메톡시-3-포르밀-9H-카바졸(화합물 5, 1-methoxy-3-formyl-*9H*-carbazole) 200mg을 얻었다.

[0060] 수율 : 62.7%;

[0061] 고체상(solid);

[0062] m.p 166℃;

[0063] R_f = 0.41(*n*-hexane:ethyl acetate=2:1);

[0064] MS(*m/z*) 226 $(M+H)^+$;

[0065] ^1H NMR($CDCl_3$) : δ (ppm) 10.058(s, CHO), 8.612(br, NH), 8.200(s, 1H), 8.116(d, J=8.0Hz, 1H), 7.512(m, 2H), 7.466(s, 1H), 7.324(t, J=7.2Hz, 1H), 4.072(s, 3H)

[0066] 1-5. 1-메톡시-3-메톡시카보닐-*9H*-카바졸(화합물 6)의 제조

[0067] 100㎖ 라운드 플라스크에 상기 실시예 1-4에서 제조한 1-메톡시-3-포르밀-*9H*-카바졸(화합물 5, 150mg, 0.66mmol)을 넣고 30㎖의 메탄올로 용해하였다. 여기에 이산화망간(1.65g, 17.3mmol, MnO_2)과 칼륨 시아네이트(208mg, 3.2mmol, KCN)를 넣은 후, 실온에서 24시간 동안 교반하였다. 상기 반응액은 감압농축 후 농축액을 디클로로메탄과 증류수로 분액하였으며, 디클로로메탄 층은 다시 황산나트륨으로 탈수 후 여과하여 여액을 감압농축하였다. 이 후, 실리카겔 컬럼 분리를 통해 상기 디클로로메탄 층의 농축액에서 하기 물성치를 갖는 1-메톡시-3-메톡시카보닐-*9H*-카바졸(화합물 6, 1-methoxy-3-methoxycarbonyl-*9H*-carbazole) 150mg을 얻었다.

[0068] 수율 : 88.7%;

[0069] 고체상(solid);

[0070] m.p 195℃;

[0071] R_f = 0.20(*n*-hexane:ethyl acetate=2:1);

[0072] MS(*m/z*) 256 $(M+H)^+$;

[0073] ^1H NMR($CDCl_3$) : δ (ppm) 8.476(br, NH+1H), 8.096(d, J=7.2Hz, 1H), 7.589(s, 1H), 7.474(m, 2H), 7.281(t, J=7.4Hz, 1H), 4.047(s, 3H), 3.980(s, 3H)

[0074] 1-6. 1-메톡시-3-카르복실-*9H*-카바졸(화합물 7)의 제조

[0075] 100㎖ 라운드 플라스크에 상기 실시예 1-5에서 제조한 1-메톡시-3-메톡시카보닐-*9H*-카바졸(화합물 6, 100mg, 0.39mmol)을 넣고 에탄올과 증류수 2.3:1 혼액 50㎖로 용해하였다. 여기에 수산화칼륨(110mg, 1.96mmol, KOH)을 넣은 후, 1시간 동안 가열환류하였고, 상기 반응액을 냉각한 후 3N HCl를 적가하여 pH 2로 산처리하였다. 산처리 후에는 상기 반응액을 에틸아세테이트와 증류수로 분액하였고, 에틸아세테이트 층을 수거하여 황산나트륨으로 탈수한 후 여과하여 여액을 감압농축하였다. 이 후, 실리카겔 컬럼 분리를 통해 상기 농축액에서 하기 물성치를 갖는 1-메톡시-3-카르복실-*9H*-카바졸(화합물 7, 1-methoxy-3-carboxyl-*9H*-carbazole) 83mg을 얻었다.

[0076] 수율 : 88.3%;

[0077] 고체상(solid);

[0078] m.p 242℃;

[0079] R_f = 0.28(*n*-hexane:ethyl acetate=2:1);

[0080] MS(*m/z*) 242 $(M+H)^+$;

[0081] ^1H NMR(acetone-d_6) : δ (ppm) 10.809(br, NH), 8.514(s, 1H), 8.220(d, J=8.0Hz, 1H), 7.634(d, J=8.4Hz, 1H), 7.614(s, 1H), 7.460(t, J=7.2Hz, 1H), 7.264(t, J=7.2Hz, 1H), 4.081(s, 3H)

[0082] 1-7. 1-하이드록시-3-메틸-*9H*-카바졸(화합물 8)의 제조

[0083] 100㎖ 라운드 플라스크에 상기 실시예 1-3에서 제조한 1-메톡시-3-메틸-*9H*-카바졸(화합물 4, 뮤라야폴린 A, 211.26mg, 1mmol)을 넣고, 무수 디클로로메탄에 용해된 보론 트리브로마이드 1M 용액(3㎖, 3mmol, BBr_3 1M solution in dry MC)을 적가하였다. 이 후, 상기 반응액을 -20℃에서 하루 동안 교반하여 TLC상 출발물질이 사라진 것을 확인 후 반응을 종료하였고, 상기 반응액을 냉각 후 실리카겔 컬럼 분리를 통해 상기 반응액에서 하기 물성치를 갖는 1-하이드록시-3-메틸-*9H*-카바졸(화합물 8, 1-hydroxy-3-methyl-*9H*-carbazole) 94mg을 얻었다.

[0084] 수율 : 47.6%;

[0085] 고체상(solid);

[0086] m.p 123℃;

[0087] R_f = 0.11(*n*-hexane:ethyl acetate=5:1);

[0088] MS(*m/z*) 198 $(M+H)^+$;

[0089] ^1H NMR($CDCl_3$) : δ (ppm) 8.108(br, NH), 8.005(d, J=7.6Hz, 1H), 7.473(s, 1H), 7.408(m, 2H), 7.198(m, 1H), 6.650(s, 1H), 4.897(br, OH), 2.468(s, 3H)

[0090] 1-8. 1-하이드록시-3-포르밀-*9H*-카바졸(화합물 9)의 제조

[0091] 10㎖ 라운드 플라스크에 상기 실시예 1-4에서 제조한 1-메톡시-3-포르밀-*9H*-카바졸(화합물 5, 50mg, 0.44mmol)을 넣고 -78℃에 장치하였으며, 여기에 무수 디클로로메탄에 용해된 보론 트리브로마이드 1M 용액(2.66㎖, 6mmol, BBr_3 1M solution in dry MC)을 두 번에 나누어 적가하였다. 상기 반응액을 -20℃에서 3일간 교반하였으며, 에틸아세테이트와 증류수로 분액하였다(반응온도가 높을 경우 1-하이드록시-3-카르복실-*9H*-카바졸[화합물 11] 생성). 상기 에틸아세테이트 층을 수거하여 황산나트륨으로 탈수한 후 이를 여과한 여액을 감압농축하였으

며, 실리카겔 컬럼 분리를 통해 상기 농축액에서 하기 물성치를 갖는 1-하이드록시-3-포르밀-*9H*-카바졸(화합물 9, 1-hydroxy-3-formyl-*9H*-carbazole) 17mg을 얻었다.

[0092] 수율 : 36.3%;

[0093] 고체상(solid);

[0094] m.p 252℃;

[0095] R_f = 0.18(*n*-hexane:ethyl acetate=1:1);

[0096] MS(*m/z*) 212 $(M+H)^+$;

[0097] ^1H NMR(acetone-d_6) : δ (ppm) 10.864(br, NH), 10.019(s, CHO), 9.431(s, OH), 8.281(s, 1H), 8.212(d, J=7.6Hz, 1H), 7.660(d, J=8.0Hz, 1H), 7.476(t, J=7.6Hz, 1H), 7.445(s, 1H), 7.279(t, J=7.4Hz, 1H)

[0098] 1-9. 1-하이드록시-3-메톡시카보닐-*9H*-카바졸(화합물 10)의 제조

[0099] 10㎖ 라운드 플라스크에 상기 실시예 1-5에서 제조한 1-메톡시-3-메톡시카보닐-*9H*-카바졸(화합물 6, 100mg, 0.39mmol)을 넣고 -78℃에 장치하였으며, 여기에 무수 디클로로메탄에 용해된 보론 트리브로마이드 1M 용액(1.175㎖, 3mmol, BBr_3 1M solution in dry MC)을 적가하였다. 상기 반응액을 -20℃에서 24시간 동안 교반하였으며, 에틸아세테이트와 증류수로 분액하였다. 상기 에틸아세테이트 층을 수거하여 황산나트륨으로 탈수한 후 여과한 여액을 감압농축하였으며, 실리카겔 컬럼 분리를 통해 상기 농축액에서 하기 물성치를 갖는 1-하이드록시-3-메톡시카보닐-*9H*-카바졸(화합물 10, 1-hydroxy-3-methoxycarbonyl-*9H*-carbazole) 42mg을 얻었다. 또한 상기 반응의 결과로, 1-하이드록시-3-메톡시카보닐-*9H*-카바졸(화합물 10)과 1-하이드록시-3-카르복실-*9H*-카바졸(화합물 11)을 1.6:1(w:w)의 비율로 동시에 얻을 수 있었다.

[0100] 수율 : 44.4%;

[0101] 고체상(solid);

[0102] m.p 208℃;

[0103] R_f = 0.62(*n*-hexane:ethyl acetate=1:2);

[0104] MS(*m/z*) 242 $(M+H)^+$;

[0105] ^1H NMR(acetone-d_6) : δ (ppm) 10.667(br, NH), 9.140(br, OH), 8.393(s, 1H), 8.197(d, J=7.6Hz, 1H), 7.624(d, J=8.0Hz, 1H), 7.595(s, 1H), 7.450(t, J=8.0Hz, 1H), 7.249(t, J=7.6Hz, 1H), 3.893(s, 3H)

[0106] 1-10. 1-하이드록시-3-카르복실-*9H*-카바졸(화합물 11)의 제조

[0107] 10㎖ 라운드 플라스크에 상기 실시예 1-6에서 제조한 1-메톡시-3-카르복실-*9H*-카바졸(화합물 7, 20mg, 0.17mmol)을 넣고 무수 디클로로메탄 5㎖로 용해하였고, 이를 -20℃에 장치하였으며, 여기에 무수 디클로로메탄에 용해된 보론 트리브로마이드 1M 용액(0.994㎖, 6mmol, BBr_3 1M solution in dry MC)을 적가하였다. 상기 반응액을 실온에서 24시간 교반하였으며, 에틸아세테이트와 증류수로 분액 후, 상기 에틸아세테이트 층을 수거하여 황산나트륨으로 탈수한 후 여과한 여액을 감압농축하였다. 이 후, 실리카겔 컬럼 분리를 통해 상기 농축액에서 하기 물성치를 갖는 1-하이드록시-3-카르복실-*9H*-카바졸(화합물 11, 1-hydroxy-3-carboxyl-*9H*-carbazole) 9mg을 얻었다.

[0108] 수율 : 47.8%;

[0109] 고체상(solid);

[0110] m.p 272℃;

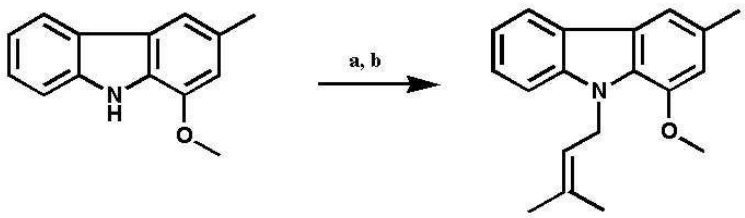
[0111] R_f = 0.33(*n*-hexane:ethyl acetate=1:2);

[0112] MS(*m/z*) 228 $(M+H)^+$;

[0113] ^{1}H NMR(acetone-d_6) : δ (ppm) 10.665(br, NH), 9.174(br, OH), 8.430(s, 1H), 8.201(d, J=7.6Hz, 1H), 7.625(d, J=8.4Hz, 1H), 7.624(s, 1H), 7.448(t, J=7.8Hz, 1H), 7.248(t, J=7.4Hz, 1H)

[0114] 1-11. 1-메톡시-3-메틸-9-(3-메틸부-2-테닐)-*9H*-카바졸(화합물 12)의 제조

[0115] [반응식 3]



화합물 4 화합물 12

Reagent and Conditions
a) KOH, 18-crown-6, Toluene; Reflux, 30m
b) 3,3-dimethyl-aryl-bromide, Toluene; 110℃, 90m

[0116]

[0117] 100㎖ 라운드 플라스크에 상기 실시예 1-3에서 제조한 1-메톡시-3-메틸-*9H*-카바졸(화합물 4, 뮤라야폴린 A, 211.26mg, 1mmol)을 넣고 20㎖의 톨루엔으로 용해한 후, 수산화칼륨(168.3mg, 3mmol, KOH)과 18-크라운-6(26mg, catalyst amount, 18-crown-6)을 넣고 30분간 가열환류하였다. 여기에 10㎖의 톨루엔에 용해한 3,3-디메틸아릴 브로마이드(174mg, 1.5mmol)를 천천히 적가하였으며, 이를 110℃에서 90분 동안 가열환류하였다. 이후, 상기 반응액을 실온으로 냉각 후 감압농축하였으며 실리카겔 컬럼 분리를 통해 상기 농축액에서 하기 물성치를 갖는 1-메톡시-3-메틸-9-(3-메틸부-2-테닐)-*9H*-카바졸(화합물 12, 1-methoxy-3-methyl-9-(3-methylbut-2-enyl)-*9H*-carbazole) 121mg을 얻었다.

[0118] 수율 : 43.3%;

[0119] 고체상(solid);

[0120] m.p 64℃;

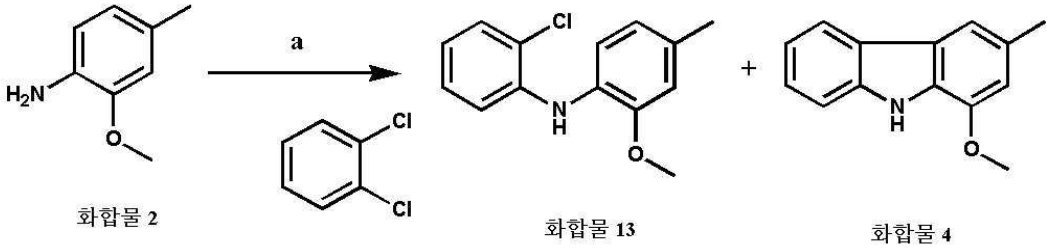
[0121] R_f = 0.52(*n*-hexane:ethyl acetate=2:1);

[0122] MS(*m/z*) 280 $(M+H)^+$;

[0123] ^{1}H NMR($CDCl_3$) : δ (ppm) 8.004(d, J=7.6Hz, 1H), 7.352(m, 4H), 6.734(s, 1H), 5.264(m, 3H), 3.957(s, 3H), 2.506(s, 3H), 1.872(s, 3H), 1.657(s, 3H)

[0124] 1-12. *N*-(2-클로로페닐)-2-메톡시-4-메틸벤젠아민(화합물 13)의 제조

[0125] [반응식 4]



화합물 2 화합물 13 화합물 4

Reagent and Conditions
a) 1,2-dichlorobenzene, $Pd(OAc)_2$, PCy_3, Potassium phosphate, NMP, 130℃, 5d

[0126]

[0127] 100㎖ 라운드 플라스크에 팔라듐 디아세테이트(22.4mg, 0.1mmol, $Pd(OAc)_2$), 트리사이클로헥실 포스핀(57.8mg, 0.2mmol, PCy_3), 포타슘 포스페이트 트리베이직(934mg, 4.4mmol), 상기 실시예 1-1에서 제조한 화합물 2-메톡시-4-메틸아닐린(화합물 2, 330mg, 2.4mmol), 1,2-디클로로벤젠(247.8㎕, 2.2mmol)을 넣어 무수 *N*-메틸피롤리디논(20㎖, NMP)으로 용해하였다. 이를 질소가스 하에서 130℃에서 5일 동안 가열환류하였다. 이 후, 상기, 가열환류된 반응액을 냉각하고, 에테르와 포화 염화나트륨 수용액으로 상기 반응액을 추출한 뒤 용매를 농축하였으며, 실리카겔 컬럼 분리를 통해 상기 농축액에서 하기 물성치를 갖는 *N*-(2-클로로페닐)-2-메톡시-4-메틸벤젠아민(화합물 13, *N*-(2-chlorophenyl)-2- methoxy-4-methylbenzenamine) 63.8mg을 얻었다.

[0128] 수율 : 15.1%;

[0129] 오일상(oil);

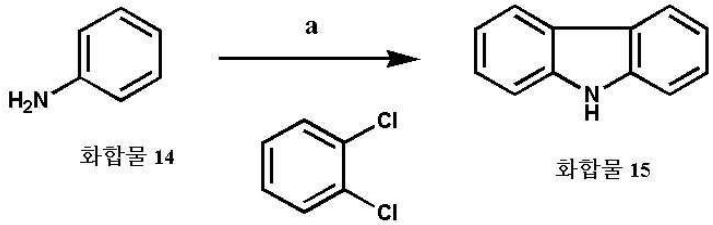
[0130] R_f = 0.718(*n*-hexane:ethyl acetate=3:1);

[0131] MS(*m/z*) 248 $(M+H)^+$;

[0132] ^1H NMR($CDCl_3$) : δ (ppm) 7.340(d, J=7.6Hz, 1H), 7.253(m, 1H), 7.203(d, J=8.0Hz, 1H), 7.110(t, J=7.6Hz, 1H), 6.752(m, 3H), 6.315(br, NH), 3.864(s, 3H), 2.341(s, 3H)

[0133] 1-13. *9H*-카바졸(화합물 15)의 제조

[0134] [반응식 5]



화합물 14 화합물 15

Reagent and Conditions
a) $Pd(OAc)_2$, PCy_3, Potassium phosphate, NMP, 130℃, 18h

[0135]

[0136] 100㎖ 라운드 플라스크에 팔라듐 디아세테이트(300.1mg, 1.34mmol, $Pd(OAc)_2$), 트리사이클로헥실 포스핀(751mg, 2.68mmol, PCy_3), 포타슘 포스페이트 트리베이직(12.5g, 59.1mmol), 아닐린(화합물 14, 3g, 32.2mmol), 1,2-디클로로벤젠(3.32㎖, 29.5mmol)을 넣어 무수 *N*-메틸피롤리디논(NMP)으로 용해하였다. 이를 질소가스 하에서 130℃에서 18시간 동안 가열환류하였다. 상기 가열환류된 반응액을 냉각 후, 이를 에테르와 포화 염화나트륨 수용액으로 추출한 뒤 용매를 농축하였고, 실리카겔 컬럼 분리를 통해 상기 농축액에서 하기 물성치를 갖는 *9H*-카바졸(화합물 15, *9H*-carbazole) 2.2g을 얻었다.

[0137] 수율 : 44.9%;

[0138] 고체상(solid);

[0139] m.p 247℃;

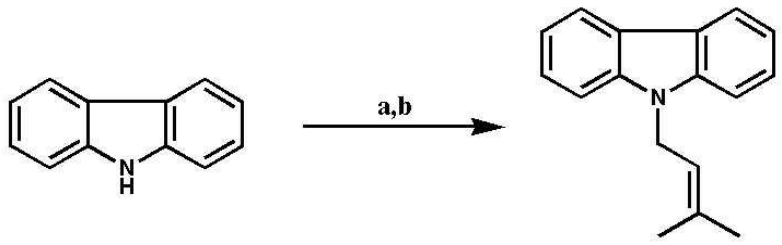
[0140] R_f = 0.36(*n*-hexane:ethyl acetate=5:1);

[0141] MS(*m/z*) 168 $(M+H)^+$;

[0142] ^1H NMR($CDCl_3$) : δ (ppm) 8.085(d, J=7.6Hz, 2H), 8.066(br, NH), 7.425(m, 4H), 7.239(m, 2H)

[0143] 1-14. 9-(3-메틸부-2-테닐)-*9H*-카바졸(화합물 16)의 제조

[0144] [반응식 6]



화합물 15 화합물 16

Reagent and Conditions
a) KOH, 18-crown-6, Toluene; Reflux, 30m
b) 3,3-Dimethyl-aryl-bromide, Toluene; 110℃, 90m

[0145]

[0146] 100㎖ 라운드 플라스크에 상기 실시예 1-13에서 제조한 *9H*-카바졸(화합물 15, 167.21mg, 1mmol)을 넣고 20㎖의 톨루엔으로 용해한 후, 수산화칼륨(168mg, 3mmol, KOH)과 18-크라운-6(12mg, catalyst amount, 18-crown-6)을 넣고 30분간 가열환류하였다. 여기에 10㎖의 톨루엔에 용해한 3,3-디메틸아릴 브로마이드(174.6㎕, 1.5mmol)를 천천히 적가하였으며, 이를 110℃에서 하루 동안 가열환류하였다. 이 후, 상기 가열환류한 반응액을 실온으로 냉각 후 감압농축하였으며, 실리카겔 컬럼 분리를 통해 상기 농축액에서 하기 물성치를 갖는 9-(3-메틸부-2-테닐)-*9H*-카바졸(화합물 16, 9-(3-methylbut-2-enyl)-*9H*-carbazole) 204mg을 얻었다.

[0147] 수율 : 86.8%;

[0148] 고체상(solid);

[0149] m.p 87℃;

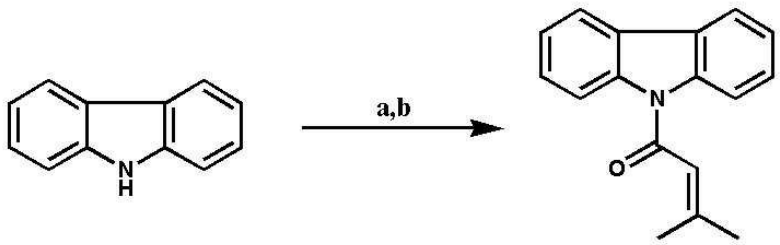
[0150] R_f = 0.366(*n*-hexane:ethyl acetate=9:1);

[0151] MS(*m/z*) 236 $(M+H)^+$;

[0152] ^1H NMR($CDCl_3$) : δ (ppm) 8.112(d, J=8.0Hz, 2H), 7.425(m, 4H), 7.226(m, 2H), 5.286(d, J=6.4Hz, 1H), 4.900(d, J=6.4Hz, 2H), 1.932(s, 3H), 1.708(s, 3H)

[0153] 1-15. 9-(3-메틸부-2-테노일)-*9H*-카바졸(화합물 17)의 제조

[0154] [반응식 7]



화합물 15 화합물 17

Reagents and Conditions
a) KOH, 18-crown-6, Toluene; Reflux, 30m
b) Dimethyl acrylic acid, N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiminohydrochloride, 18-crown-6, 110℃, 1d

[0155]

[0156] 100㎖ 라운드 플라스크에 상기 실시예 1-13에서 제조한 *9H*-카바졸(화합물 15, 200mg, 1.196mmol)을 넣고 20㎖의 톨루엔으로 용해한 후, 수산화칼륨(671 mg, 11.96mmol, KOH)과 18-크라운-6(20mg, catalyst amount, 18-crown-6)을 넣고 30분간 가열환류한 후 3,3-디메틸아크릴릭산(239mg, 2.392mmol), N-(3-디메틸아미노프로필)-N'-에틸카보디이미드 하이드로클로라이드(458mg, 2.392mmol), 18-크라운-6(20mg, catalyst amount, 18-crown-6)을 넣고 하루 동안 가열환류하였다. 이 후 상기 가열환류한 반응액을 실온으로 냉각 후 디클로로메탄과 증류수를 이용하여 추출하였으며 추출액은 감압농축하였고, 실리카겔 컬럼 분리를 통해 상기 농축액에서 하기 물성치를 갖는 9-(3-메틸부-2-테노일)-*9H*-카바졸(화합물 17, 9-(3-methylbut-2-enoyl)-*9H*-carbazole) 151mg을 얻었다.

[0157] 수율 : 50.6%;

[0158] 오일상(oil);

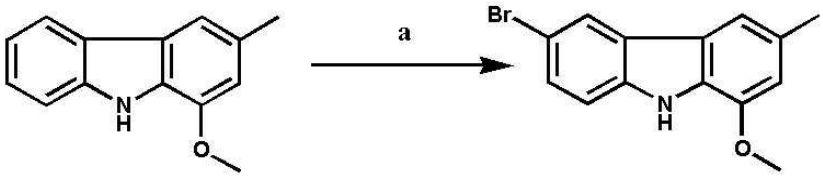
[0159] R_f = 0.50(*n*-hexane:ethyl acetate=5:1);

[0160] MS(*m/z*) 250 $(M+H)^+$;

[0161] $_1$H NMR($CDCl_3$) : δ (ppm) 8.158(d, J=8.4Hz, 2H), 7.984(td, J=0.8, 8.4Hz, 2H), 7.449(td, J=7.8, 1.2Hz, 2H), 7.351(td, J=7.6, 1.2Hz, 2H), 6.456(s, 1H), 2.246(s, 3H), 2.096(s, 3H)

[0162] 1-16. 6-브로모-1-메톡시-3-메틸-*9H*-카바졸(화합물 18)의 제조

[0163] [반응식 8]



화합물 4 화합물 18

Reagent and Conditions
a) NBS, dry MC, RT, 6h

[0164]

[0165] 100㎖ 라운드 플라스크에 디클로로메탄에 1-메톡시-3-메틸-9H-카바졸 (4, 270mg, 1.27mmol) 그리고 N-bromosuccinate (248mg, 1.38mmol, NBS)를 넣고 RT에서 6시간 동안 교반한 후, 상기 교반된 반응액을 농축하였다. 이후, 실리카겔 컬럼 분리를 통해 상기 농축액에서 하기 물성치를 갖는 6-브로모-1-메톡시-3-메틸-9H-카바졸 (14, 6-bromo-1-methoxy-3-methyl-9H-carbazole)을 222mg 얻었다.

[0166] 수율 : 59.8%;

[0167] 고체(solid);

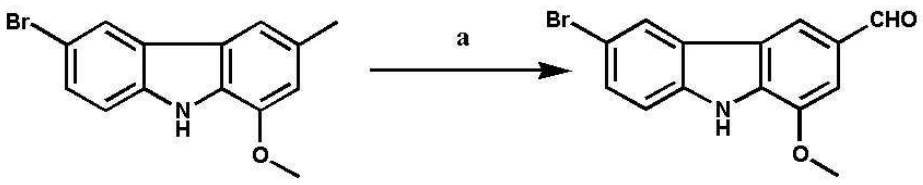
[0168] m.p 179℃;

[0169] R_f = 0.38(*n*-hexane:ethyl acetate=3:1);

[0170] ^{1}H NMR(CD_3OD) : δ(ppm) 8.878(s, 1H), 8.230(s, 1H), 7.494(d, J=12 Hz) 7.266(d, J= 12 Hz), 6.757(s, 1H), 3.954(s, 3H), 2.521 (s, 3H);

[0171] 1-17. 6-브로모-1-메톡시-9H-카바졸-3-카바알데하이드(화합물 19)의 제조

[0172] [반응식 9]



화합물 18 화합물 19

Reagents and Conditions
a) DDQ, MeOH, H_2O, RT, 6h

[0173]

[0174] 100㎖ 라운드 플라스크에 상기 실시예 1-16에서 제조한 6-브로모-1-메톡시-3-메틸-*9H*-카바졸(화합물 18, 200mg, 0.69mmol)을 넣고 메탄올과 증류수 10:1 용액 30㎖로 용해하였다. 여기에 2,3-디클로로-5,6-디시아노-1,4-벤조퀴논(693mg, 2.9mmol, DDQ)을 넣고, 실온에서 6시간 동안 교반하였다. 이 후, 상기 교반된 반응액을 감압농축한 후 상기 농축액을 디클로로메탄과 증류수로 분액하였으며, 디클로로메탄 층을 수거하여 황산나트륨으로 탈수 후 여과하여 여액을 감압농축하였다. 실리카겔 컬럼 분리를 통해 상기 황산나트륨 탈수 및 여과된 농축액에서 하기 물성치를 갖는 6-브로모-1-메톡시-9H-카바졸-3-카바알데하이드(화합물 19, 6-bromo-1-methoxy-3-*9H*-carbazole-3-carbaldehyde)를 87mg 얻었다.

[0175] 수율 : 41.46%;

[0176] 고체(solid);

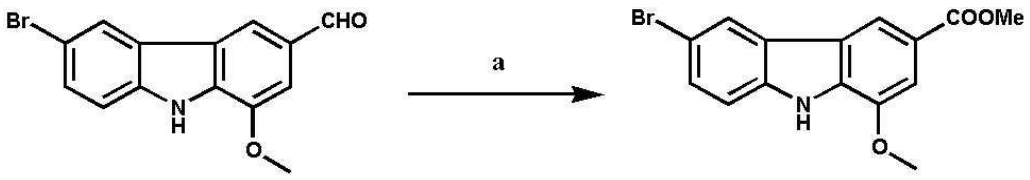
[0177] m.p 252℃;

[0178] R_f = 0.44(*n*-hexane:ethyl acetate=3:1);

[0179] ^{1}H NMR(CD_3OD) : δ (ppm) 11.410 (br, CHO), 10.465 (s, 1H), 8.920 (s, 1H), 7.681 (d, 2H,J=1.6 Hz), 7.476 (s, 1H), 4.108 (s, 3H)

[0180] 1-18. 6-브로모-1-메톡시-3-메톡시카보닐-*9H*-카바졸(화합물 20)의 제조

[0181] [반응식 10]



화합물 19 화합물 20

Reagents and Conditions
a) MnO_2, KCN, MeOH , RT, 24h

[0182]

[0183] 100㎖ 라운드 플라스크에 상기 실시예 1-17에서 제조한 6-브로모-1-메톡시-*9H*-카바졸-3-카바알데하이드(화합물 19, 50mg, 0.164mmol)을 넣고 30㎖의 메탄올로 용해하였다. 여기에 이산화망간(374mg, 4.3mmol, MnO_2)과 칼륨 시아네이트(51.5mg, 0.8mmol, KCN)를 넣은 후, 실온에서 24시간 교반하였다. 이 후, 상기 교반된 반응액을 감압농축한 후 이를 디클로로메탄과 증류수로 분액하였으며, 디클로로메탄 층을 수거하여 황산나트륨으로 탈수 후 여과하여 여액을 감압농축하였다. 실리카겔 컬럼 분리를 통해 상기 황산나트륨 탈수 및 여과과정을 거친 농축액에서 하기 물성치를 갖는 6-브로모-1-메톡시-3-메톡시카보닐-*9H*-카바졸(화합물 20, 6-bromo-1-methoxy-3-methoxycarbonyl-*9H*-carbazole) 45mg을 얻었다.

[0184] 수율 : 82.11%;

[0185] 고체상(solid);

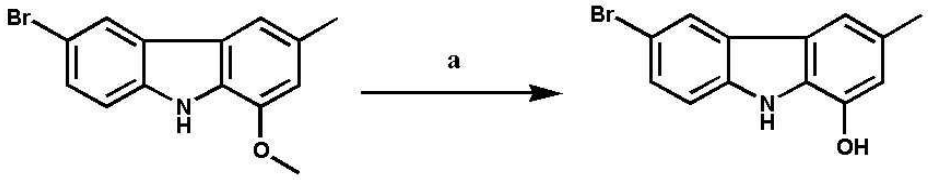
[0186] m.p 268℃;

[0187] R_f = (*n*-hexane:ethyl acetate=3:1);

[0188] ^{1}H NMR(DMSO) : δ (ppm) 12.275 (br, NH), 8.856 (1H, d, J= 0.2 Hz), 7.659 (2H, dd, J= 0.2, 8.4 Hz), 7.552 (1H, d, J=8.4 Hz), 7.429 (1H, s), 4.045 (3H, s), 3.900 (3H, s)

[0189] 1-19. 6-브로모-1-하이드록시-3-메틸-9H-카바졸(화합물 21)의 제조

[0190] [반응식 11]



화합물 18 화합물 21

Reagents and Conditions
a) BBr_3, dry MC, -20℃, 1d

[0191]

[0192] 100㎖ 라운드 플라스크에 상기 1-16에서 제조한 6-브로모-1-메톡시-3-메틸-9*H*-카바졸(화합물 18, 85mg, 0.293mmol)을 넣고, 무수 디클로로메탄에 용해된 보론 트리브로마이드 1M 용액(1.35㎖, 1.35mmol, BBr_3 1M solution in dry MC)을 적가하였고, 상기 반응액을 -20℃에서 하루 동안 교반하여 TLC상 출발물질이 사라진 것을 확인한 후 반응을 종료하였다. 이 후, 상기 반응액을 냉각 후 실리카겔 컬럼 분리를 통해 하기 물성치를 갖는 6-브로모-1-하이드록시-3-메틸-*9H*-카바졸(화합물 21, 6-bromo-1-hydroxy-3-methyl-*9H*-carbazole) 15mg을 얻었다.

[0193] 수율 : 18.6%;

[0194] 고체상(solid);

[0195] m.p 197℃;

[0196] R_f = 0.2(*n*-hexane:ethyl acetate=3:1);

[0197] ^{1}H NMR($CDCl_3$) : δ (ppm) 8.245(s, 1H), 8.109(s, 1H), 7.494(q, J=4 Hz, 3H), 7.323(d, J=8.4 Hz, 1H), 2.547 (s, 3H)

[0198] **<실시예 2. 뮤라야폴린 A 유도체의 혈소판 응집 억제 효과 확인>**

[0199] 상기 실시예 1에서 합성된 유도체들의 혈소판 응집 억제 효과를 확인하기 위하여 [Arch Pharm Res, 2010, 33(3), 387-394]에 개시된 방법을 이용하였다.

[0200] 이를 위해, 뉴질랜드 흰 토끼의 귀의 동맥으로부터 혈액을 채취한 후, 0.8% 시트르산(citric acid, w/v), 2.2% 트리소듐 시트레이트(trisodium citrate, w/v), 2% 덱스트로스(dextrose, w/v)를 포함한 혈액 응집 억제제인 0.15% 시트레이트 덱스트로스(citrate dextrose, v/v) 용액과 반응시켰다. 상기 반응물을 230×g에서 10분 동안 원심 분리해서 PRP(platelet rich plasma)를 얻었다. PRP를 다시 800×g에서 15분 동안 원심분리하고 0.35% BSA(bovine serum albumin)와 0.4mM EGTA(ethylene glycol tetraacetic acid)를 포함한 HEPES 버퍼(137mM NaCl, 2.7mM KCl, 1mM $MgCl_2$, 5.6mM glucose, 3.8mM HEPES[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid]; pH 6.5)에 세척하여 혈소판을 분리하였다. 세척한 혈소판은 HEPES 버퍼(pH 7.4)에 4×10^8세포/㎖로 조절하여 정지시켰다(Atherosclerosis 2009. 206(2), 375-382). 혈소판 응집은 Born(1963)과 Born&Cross(1963)의 혼탁도 측정 방법에 개시된 응집검출계(aggregometer, Chrono-Log)로 측정했다. 이를 위해, 혈소판 침전액을 응집검출계 속에서 37℃로 배양했고, 1,000rpm으로 스티링(stirring) 한 후, 본 발명의 화합물들을 각각 가했다. 3분 후, 혈소판 응집이 콜라겐(collagen, 10㎍/㎖)에 의해 일어나기 시작했으며, 상기 반응들에 대한 결과는 도 1 및 하기 표 1에 나타냈다. 표 1에 개시된 화합물들은 뮤라야폴린 A(화합물 4)보다 뛰어난 혈소판 응집 효과가 있는 것으로 확인되었다.

표 1

[0201]

화합물 (10)	Inhibition (%)
화합물 4 (뮤라야폴린 A)	22.3
화합물 6	52.7
화합물 8	86.2
화합물 9	47.6
화합물 16	53.9
화합물 17	56.4
화합물 20	59.7
화합물 21	75.9
무처리군	-

[0202] **<실시예 3. 독성실험>**

[0203] 3-1. 급성독성

[0204] 본 발명의 화합물 4 내지 21을 단기간에 과량을 섭취하였을 시 급성적(24시간 이내)으로 동물체내에 미치는 독성을 조사하고, 치사율을 결정하기 위하여 본 실험을 수행하였다. 일반적인 마우스인 ICR 마우스 계통 20마리를 대조군은 10마리, 실험군은 10마리씩 배정하였다. 대조군에는 아무것도 투여하지 않았으며, 실험군은 화합물 4 내지 21을 2.0g/kg(일반적인 동물실험에서 사용되는 양의 50배 정도)의 농도로 경구 투여하였다. 투여 24시간 후에 각각의 치사율을 조사한 결과, 대조군과 2.0g/kg 농도의 화합물 4 내지 21을 투여한 실험군은 모두 생존하였다.

[0205] 3-2 . 실험군 및 대조군의 장기 및 조직 독성 실험

[0206] C57BL/6J 생쥐를 대상으로 동물의 각 장기(조직)에 미치는 영향을 조사하기 위하여 화합물 4 내지 21을 투여한

실험군과 용매만을 투여한 대조군의 동물들로부터 8주 후 혈액을 채취하여 GPT(glutamate-pyruvate transferase) 및 BUN(Blood Urea Nitrogen)의 혈액 내 농도를 Select E(Vital Scientific NV, Netherland) 기기를 이용하여 측정하였다. 그 결과, 간독성과 관계있는 것으로 알려진 GPT와 신장독성과 관계있는 것으로 알려진 BUN의 경우, 대조군과 비교하여 실험군은 별다른 차이를 보이지 않았다. 또한, 각 동물로부터 간과 신장을 취하여 통상적인 조직절편 제작과정을 거쳐 광학현미경으로 조직학적 관찰을 시행하였으며 특이한 이상이 관찰되지 않았다.

[0207] **<사용예 1. 약학적 제제예>**

[0208] **1-1. 정제의 제조**

[0209] 본 발명의 화합물 1-하이드록시-3-메틸-*9H*-카바졸(화합물 8) 20g을 락토오스 175.9g, 감자전분 180g 및 콜로이드성 규산 32g과 혼합하였다. 이 혼합물에 10% 젤라틴 용액을 첨가시킨 후, 분쇄해서 14 메쉬체를 통과시켰다. 이것을 건조시키고 여기에 감자전분 160g, 활석 50g 및 스테아린산 마그네슘 5g을 첨가해서 얻은 혼합물을 정제로 만들었다.

[0210] **1-2. 주사액제의 제조**

[0211] 본 발명의 화합물 1-하이드록시-3-메틸-*9H*-카바졸(화합물 8) 0.5g을 증류수에 용해시켜서 100㎖를 만들었다. 이 용액을 병에 넣고 20℃에서 30분간 가열하여 멸균시켰다.

도면

도면1

