(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0015262
(43) 공개일자 2010년02월12일

(51) Int. Cl.
*C07D 241/44* (2006.01) *C07D 241/36* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2008-0076221
(22) 출원일자 2008년08월04일
심사청구일자 2008년08월04일

(71) 출원인
**한국화학연구원**
대전 유성구 장동 100번지
**고려대학교 산학협력단**
서울 성북구 안암동5가1 고려대학교 내
(72) 발명자
**공영대**
대전광역시 유성구 어은동 한빛A 135-1204
**동미숙**
서울특별시 서초구 방배4동 808-4 그랑씨엘방배주택 504호
*(뒷면에 계속)*
(74) 대리인
**백남훈, 이학수**

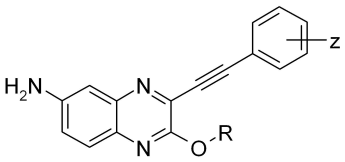
전체 청구항 수 : 총 5 항

# (54) 신규2-치환아미노알킬레닐옥시-3-치환페닐에티닐-6-아미노퀴녹살린 유도체

## *(57) 요 약*

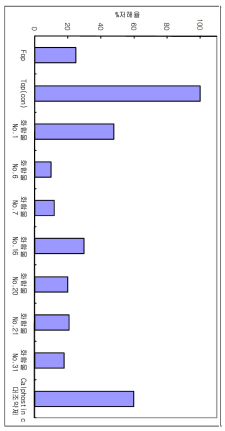
본 발명은 우수한 WNT 유전자 발현 억제 활성을 가지는 다음 화학식 1로 표시되는 신규 2-치환아미노알킬레닐옥시-3-치환페닐에티닐-6-아미노퀴녹살린 유도체와 약제학적으로 허용 가능한 이의 염, 이 화합물의 제조방법, 그리고 이 화합물을항암제로 사용하는 의약적 용도에 관한 것이다.

## *화학식 1*




상기 화학식 1에서, R 및 Z는 각각 발명의 상세한 설명에서 정의한 바와 같다.

*대 표 도* - 도1



(72) 발명자

**황순희**

대전광역시 유성구 하기동 송림마을5단지아파트 506동 1701호

**이태임**

대전광역시 서구 가수원동 779-11

**이상범**

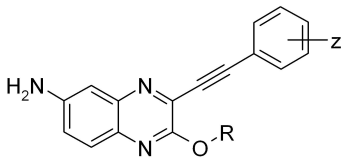
서울특별시 노원구 중계4동 143 우암에이스타워 709호

## *특허청구의 범위*

### 청구항 1

다음 화학식 1로 표시되는 2-치환아미노알킬레닐옥시-3-치환페닐에티닐-6-아미노퀴녹살린 유도체 또는 약제학적으로 허용 가능한 이의 염인 것을 특징으로 하는 화합물 :

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

Z는 수소원자, 할로겐원자, $C_1$-$C_8$ 알킬기 및 $C_1$-$C_8$ 알콕시기를 나타내고;

R은 -X-$NR^1R^2$를 나타내고; X는 직쇄 또는 분쇄의 $C_1$-$C_8$ 알킬렌기 또는 직쇄 또는 분쇄의 $C_2$-$C_{10}$ 알킬렌옥시알킬렌기를 나타내고; $R^1$ 및 $R^2$는 각각 수소원자, 또는 $C_1$-$C_8$ 알킬기이거나, 또는 $R^1$ 및 $R^2$는 이들이 결합된 질소원자와 함께 또는 N, O, S 중에서 선택된 다른 헤테로원자를 추가로 포함시켜 헤테로원자가 1 내지 3개 포함된 5각형 내지 7각형의 지방족 헤테로고리를 형성할 수 있고, 상기 지방족 헤테로고리는 옥소(=O) 및 $C_1$-$C_8$ 알킬 중에서 선택된 치환그룹이 치환 또는 비치환될 수 있다.

### 청구항 2

제 1 항에 있어서,

Z는 수소원자, 할로겐원자, $C_1$-$C_6$ 알킬기 및 $C_1$-$C_6$ 알콕시기를 나타내고;

R은 -X-N($R^1R^2$)를 나타내고;

X는 $C_1$-$C_6$ 알킬렌기 또는 $C_2$-$C_6$ 알킬렌옥시알킬렌기를 나타내고;

$R_1$ 및 $R_2$는 각각 수소원자, 또는 $C_1$-$C_8$ 알킬기이거나, 또는 $R_1$ 및 $R_2$가 결합된 N과 함께 또는 N, O, S 중에서 선택된 다른 헤테로원자를 추가로 포함하여 피롤리딘, 피페리딘, 몰포린, 및 피페라진 중에서 선택된 지방족 헤테로고리를 형성할 수 있고, 상기 지방족 헤테로고리는 옥소(=O) 및 $C_1$-$C_8$ 알킬 중에서 선택된 치환그룹이 치환 또는 비치환된 것을 특징으로 하는 화합물.

### 청구항 3

제 1 항에 있어서,

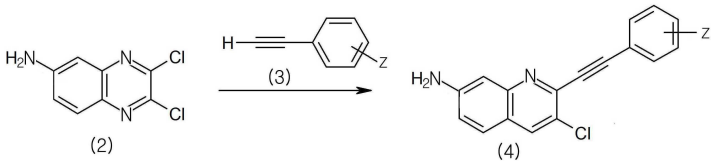
Z는 수소, 염소, 불소, 메틸, 에틸, *n*-프로필, 이소프로필, *n*-부틸, *sec*-부틸, *tert*-부틸, 메톡시, 에톡시, *n*-프로폭시, 이소프로폭시, *n*-부톡시, *sec*-부톡시, 또는 *tert*-부톡시를 나타내고;

R은 메틸아미노에틸렌, 에틸아미노에틸렌, 다이메틸아미노에틸렌, 다이에틸아미노에틸렌, 다이메틸아미노프로필렌, 다이에틸아미노프로필렌, 다이메틸아미노아이소프로필렌, 다이에틸아미노아이소프로필렌, 다이메틸아미노에틸렌옥시에틸렌, 다이에틸아미노에틸렌옥시에틸렌, 다이메틸아미노에틸렌옥시프로필렌, 다이에틸아미노에틸렌옥시프로필렌, 다이메틸아미노에틸렌옥시아이소프로필렌, 다이에틸아미노에틸렌옥시아이소프로필렌, 피롤리딜에틸렌, 피롤리딜프로필렌, 피롤리딜아이소프로필렌, 피페리딜에틸렌, 피페리딜프로필렌, 피페리딜아이소프로필렌, 몰포릴에틸렌, 몰포릴프로필렌, 또는 몰포릴아이소프로필렌을 나타내고;

상기한 피롤리딜, 피페리딜 및 몰포릴 중에서 선택된 지방족 헤테로고리는 옥소(=O), 메틸, 에틸, *n*-프로필, 이소프로필, *n*-부틸, *sec*-부틸, 및 *tert*-부틸 중에서 선택된 치환기로 치환 또는 비치환될 수 있는 것임을 특징으로 하는 화합물.

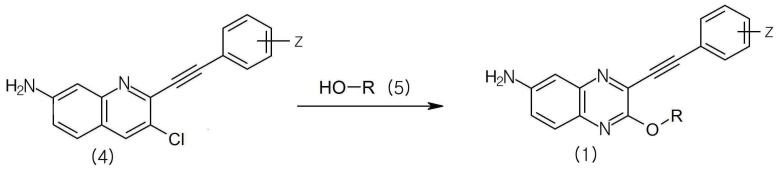
**청구항 4**

하기 화학식 2로 표시되는 2,3-다이클로로-6-아미노퀴녹살린과, 하기 화학식 3으로 표시되는 에티닐기 공여시약을 소노가쉬라 반응(Sonogashira reaction)시켜 하기 화학식 4로 표시되는 에티닐 화합물을 제조하는 단계; 및




상기 반응식에서, Z는 상기 청구항 1에서 정의한 바와 같고,

하기 화학식 4로 표시되는 에티닐 화합물을 하기 화학식 5로 표시되는 알콜 화합물과 염기의 존재 하에서 반응시켜 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 단계;



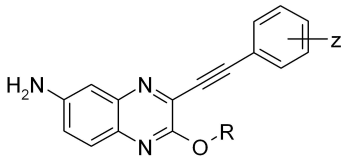

상기 반응식에서, Z, 및 R은 각각 상기 청구항 1에서 정의한 바와 같고,

를 포함하여 이루어지는 것을 특징으로 하는 2-치환아미노알킬레닐옥시-3-치환페닐에티닐퀴녹살린 유도체의 제조방법.

**청구항 5**

하기 화학식 1로 표시되는 2-치환아미노알킬레닐옥시-3-치환페닐에티닐 -6-아미노퀴녹살린 유도체 또는 그 약제학적으로 허용 가능한 염을 함유하여 이루어진 것을 특징으로 하는 암 치료 및 예방용 약제조성물 :

[화학식 1]




상기 화학식 1에서, Z 및 R은 각각 상기 청구항 1에서 정의한 바와 같다.

# *명 세 서*

## *발명의 상세한 설명*

### *기 술 분 야*

[0001] 본 발명은 우수한 WNT 유전자 발현 억제 활성을 가지는 신규 2-치환아미노알킬레닐옥시-3-치환페닐에티닐-6-아미노퀴녹살린 유도체와 약제학적으로 허용 가능한 이의 염, 이 화합물의 제조방법, 그리고 이 화합물을 항암제로 사용하는 의약적 용도에 관한 것이다.

### *배 경 기 술*

[0002] 일반적으로 항암 치료제로 사용되는 물질들은 상당한 독성을 지니고 있으며, 암 세포만을 선택적으로 제거하지 못하므로, 암의 발생 후 이의 치료뿐 아니라 암의 발생을 예방하기 위한 독성이 적고 효과적인 항암제의 개발이 절실히 필요하다.

[0003] '항암제'라 함은 악성종양을 치료하기 위해 사용하는 방법들 중 수술이나 방사선 요법을 제외한 화학요법제를 총칭하는 것으로, 주로 핵산의 합성을 저해하여 항암활성을 나타내는 물질이 대부분이다. 화학요법제는 크

게 대사 길항제(antimetabolites), 알킬화제(alkylating agents), 유사분열억제제(antimitotic drugs), 호르몬제(hormones) 등으로 분류된다. 암세포의 증식에 필요한 대사과정을 저해하는 대사길항제로는 엽산 유도체(methotrexate), 퓨린 유도체(6-mercaptopurine, 6-thioguanine), 피리미딘 유도체(5-fluorouracil, Cytarabine) 등이 있다. DNA의 구아닌 등에 알킬기를 도입하여 DNA의 구조를 변형시키고 사슬을 절단시켜 항암효과를 나타내는 알킬화제로는 니트로겐 머스타드계 화합물(chlorambucil, cyclophosphamide), 에틸렌이민계 화합물(thiotepa), 알킬설포네이트계 화합물(busulfan), 니트로소우레아계 화합물(carmustine), 트리아젠계 화합물(dacarbazine)이 있다. 분열시기 특이성 약물로서 유사분열을 차단하여 세포분열을 억제하는 유사분열억제제에는 악티노마이신 D(actinomycin D), 독소루비신, 블레오마이신, 미토마이신과 같은 항암성항암제, 빈크리스틴, 빈블라스틴과 같은 식물알칼로이드, 탁산환을 포함하는 유사분열 저해제인 탁소이드 등이 포함된다.

이외에 부신피질호르몬이나 프로게스테론과 같은 호르몬제와 시스플라틴 같은 백금함유 화합물이 항암제로서 사용되고 있다.

[0004] 그러나 화학요법제의 가장 큰 문제는 약제 내성으로, 항암제에 의한 초기의 성공적인 반응에도 불구하고 결국에는 치료가 실패하게 되는 주요 요인이다.

[0005] 이에 따라 약제 내성을 감소시킬 수 있는 새로운 작용점의 항암제 개발이 절실히 요구되는 바, WNT 관련 작용점이 새로운 항암 치료제 개발의 한 방법으로 대두되고 있으며, WNT를 저해하는 물질은 암세포에 선택적인 새로운 항암제로서 작용하는 것으로 보고되어 있다. [Nick Barker and Hans Clevers; *Nature*, 2006, 5, 997-1014]

[0006] WNT는 세포막에 존재하는 Frizzled(Fzd) 수용체와 LRP를 함유하는 수용체 복합체와 결합하여 Dvl-Fzd 복합체를 형성하고, CK1γ에 의한 LRP 인산화를 유발시키며, 또한 세포막으로 액신(axin)이 이동하여 세포내에서 LRP와 액신(Axin)이 결합하는 것을 촉진한다. 이러한 과정은 액신(Axin)과 결합된 GSK3β, 및 β-카테닌 등을 해리시켜 자유 β-카테닌이 세포 내에 축적되며, 이것이 핵 내로 침투하여 TCF를 활성화시켜서 세포증식을 일으키게 되는 원인이 된다. 따라서 WNT가 세포막에 존재하는 Fzd-LRP 수용체 복합체와의 결합을 저해하게 되면, β-카테닌에 의한 세포 증식을 억제할 수 있기 때문에 그것에 의해 매개되는 세포증식 경로들을 차단할 것이므로 효과적인 항암제 개발을 기대할 수 있다. [Nico Janssens et. al., *Investigational New Drugs*, 2006]

[0007] 이러한 맥락에서 WNT에 대한 유기저분자 저해제 발굴 및 항암제로서의 개발을 위한 노력들이 진행되어 왔다. 그 결과로 천연물(ZTM000990, PKF118-744 등) 및 일부의 합성화합물(ICG-001, PNU-74654 등)이 보고되었으나, 아직까지 발표된 자료에 의하면 약물성 화학 구조식을 가진 유효물질은 거의 보고된 바 없다.

[0008] 한편, 본 발명자들은 본 발명이 특징으로 하는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물과 마찬가지로 3-페닐에티닐퀴녹살린을 모핵 구조로 하는 2-치환아미노알킬레닐옥시-3-치환페닐에티닐퀴녹살린 유도체에 관한 신규 화합물 발명 및 이 화합물을 포함하는 항암제 발명을 특허출원한 바도 있다(한국특허 출원번호 10-2007-0096340).

[0009] 본 발명은 상기 선출원된 발명과는 동일한 모핵을 갖고 있으면서, 퀴녹살린 고리의 C6 위치에 아미노기($NH_2$)가 결합되어 있는 신규 구조의 화합물을 합성하였고, 또한 신규 화합물은 C6 위치에 아미노기($NH_2$)가 도입됨으로써 수용성(LogP)을 증가시킴으로써 WNT 억제 활성을 월등히 향상시켜 보다 우수한 암 치료제로서 활용이 가능하다.

## *발명의 내용*

### *해결 하고자하는 과제*

[0010] 본 발명은 신규의 2-치환아미노알킬레닐옥시-3-치환페닐에티닐-6-아미노퀴녹살린 유도체 및 약제학적으로 허용가능한 이의 염 화합물을 제공하는데 그 목적이 있다.

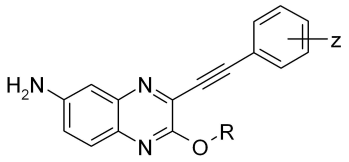
[0011] 또한, 본 발명은 상기한 신규 화합물을 제조하는 방법을 제공하는데 다른 목적이 있다.

[0012] 또한, 본 발명은 상기한 신규 화합물이 WNT 유전자 발현 억제 활성을 가지므로, 이 신규 화합물을 항암제로 사용하는 의약적 용도를 제공하는데 또 다른 목적이 있다.

### *과제 해결수단*

[0013] 본 발명은 다음 화학식 1로 표시되는 2-치환아미노알킬레닐옥시-3-치환페닐에티닐-6-아미노퀴녹살린 유도체 및 약제학적으로 허용 가능한 이의 염 화합물을 그 특징으로 한다.

[0014] [화학식 1]

[0015] 

[0016] 상기 화학식 1에서,

[0017] Z는 수소원자, 할로겐원자, $C_1$-$C_8$ 알킬기 및 $C_1$-$C_8$ 알콕시기를 나타내고; R은 -X-$NR^1R^2$를 나타내고; X는 직쇄 또는 분쇄의 $C_1$-$C_8$ 알킬렌기 또는 직쇄 또는 분쇄의 $C_2$-$C_{10}$ 알킬렌옥시알킬렌기를 나타내고; $R^1$ 및 $R^2$는 각각 수소원자, 또는 $C_1$-$C_8$ 알킬기이거나, 또는 $R^1$ 및 $R^2$는 이들이 결합된 질소원자와 함께 또는 N, O, S 중에서 선택된 다른 헤테로원자를 추가로 포함시켜 헤테로원자가 1 내지 3개 포함된 5각형 내지 7각형의 지방족 헤테로고리를 형성할 수 있고, 상기 지방족 헤테로고리는 옥소(=O) 및 $C_1$-$C_8$ 알킬 중에서 선택된 치환그룹이 치환 또는 비치환될 수 있다.

[0018] 또한, 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 용매화물(예를 들면 수화물)의 형태로도 존재할 수 있다.

[0019] 또한, 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하나 또는 그 이상의 비대칭 중심을 가질 수 있고, 이러한 화합물의 경우 거울상 이성질체 또는 부분입체이성질체가 존재할 수 있다. 따라서, 본 발명은 각 이성질체 또는 이들 이성질체 혼합물을 포함한다.

## *발명의 실시를 위한 구체적인 내용*

[0020] 본 발명에 따른 화합물을 정의하는데 이용된 각 치환기에 대해 보다 구체적으로 설명하면 다음과 같다.

[0021] 본 발명에서의 '할로겐 원자'라 함은 불소, 염소, 브롬, 요오드원자를 의미한다.

[0022] 본 발명에서의 '$C_1$-$C_8$의 알킬기'라 함은 메틸, 에틸, *n*-프로필, *i*-프로필, 싸이클로프로필, *n*-부틸, *sec*-부틸, *tert*-부틸, 싸이클로부틸, 싸이클로프로필메틸, *n*-펜틸, 이소펜틸, 네오펜틸, *tert*-펜틸, 싸이클로펜틸, 싸이클로부틸메틸, *n*-헥실, 이소헥실, 싸이클로헥실, 싸이클로펜틸메틸, *n*-헵틸, 싸이클로헥실메틸, *n*-옥틸 등을 포함하는 1개에서 8개까지의 탄소원자를 가지는 직쇄, 분쇄 또는 고리형의 지방족 포화 탄화수소기를 의미한다.

[0023] 본 발명에서의 '$C_1$-$C_8$의 알콕시기'라 함은 메톡시, 에톡시, *n*-프로폭시, 이소프로폭시, *n*-부톡시, *sec*-부톡시, *tert*-부톡시 등을 포함하는 것으로, $C_1$-$C_8$의 알킬기에서 선택된 치환체에 의해 수소원자가 치환된 하이드록시기를 의미한다.

[0024] 본 발명에서의 '$C_1$-$C_8$의 알킬렌기'라 함은 메틸렌, 에틸렌, 트라이메틸렌, 프로필렌, 테트라메틸렌 등을 포함하는 1개에서 8개까지의 탄소원자를 가지는 직쇄 또는 분쇄형 탄화수소기이다.

[0025] 본 발명에서의 '헤테로고리'라 함은 $R_1$ 및 $R_2$가 결합된 N 단독 또는 N, O, S 중에서 선택된 또다른 헤테로원자를 추가로 포함하여 형성된 5각형 내지 8각형의 지방족 또는 방향족 탄화수소 고리기를 의미한다. 구체적으로, 본 발명에서의 '헤테로고리'는 피롤리딘, 피페리딘, 몰포린, 피페라진 중에서 선택된 지방족 헤테로고리이거나, 또는 피롤, 피라졸, 이미다졸, 트라이아졸, 옥사졸, 아이소옥사졸, 옥사다이아졸, 피리딘, 피리다진, 피리미딘, 피라진 중에서 선택된 방향족 헤테로고리가 포함된다.

[0026] 본 발명이 특징으로 하는 상기 화학식 1로 표시되는 2-치환아미노알킬레닐옥시-3-치환페닐에티닐-6-아미노퀴녹살린 유도체에 있어, 바람직하기로는 Z는 수소원자, 할로겐원자, $C_1$-$C_6$ 알킬기 및 $C_1$-$C_6$ 알콕시기를 나타내고; R은 -X-N($R^1R^2$)를 나타내고; X는 $C_1$-$C_6$ 알킬렌기 또는 $C_2$-$C_6$ 알킬렌옥시알킬렌기를 나타내고; $R_1$ 및 $R_2$는 각각 수소원자, 또는 $C_1$-$C_8$ 알킬기이거나, 또는 $R_1$ 및 $R_2$가 결합된 N과 함께 또는 N, O, S 중에서 선택된 다른 헤테로원자를 추가로 포함하여 피롤리딘, 피페리딘, 몰포린, 및 피페라진 중에서 선택된 지방족 헤테로고리를 형성할 수

있고, 상기 지방족 헤테로고리는 옥소(=O) 및 $C_1$-$C_8$ 알킬 중에서 선택된 치환그룹이 치환 또는 비치환된 화합물의 경우이다.

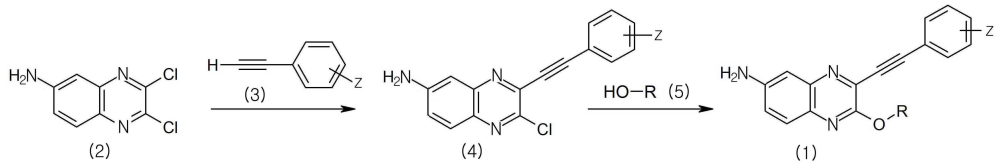
[0027] 상기 화학식 1로 표시되는 2-치환아미노알킬레닐옥시-3-치환페닐에티닐-6-아미노퀴녹살린 유도체에 있어, 보다 바람직하기로는 Z는 수소, 염소, 불소, 메틸, 에틸, *n*-프로필, 이소프로필, *n*-부틸, *sec*-부틸, *tert*-부틸, 메톡시, 에톡시, *n*-프로폭시, 이소프로폭시, *n*-부톡시, *sec*-부톡시, 또는 *tert*-부톡시; R은 메틸아미노에틸렌, 에틸아미노에틸렌, 다이메틸아미노에틸렌, 다이에틸아미노에틸렌, 다이메틸아미노프로필렌, 다이에틸아미노프로필렌, 다이메틸아미노아이소프로필렌, 다이에틸아미노아이소프로필렌, 다이메틸아미노에틸렌옥시에틸렌, 다이에틸아미노에틸렌옥시에틸렌, 다이메틸아미노에틸렌옥시프로필렌, 다이에틸아미노에틸렌옥시프로필렌, 다이메틸아미노에틸렌옥시아이소프로필렌, 다이에틸아미노에틸렌옥시아이소프로필렌, 피롤리딜에틸렌, 피롤리딜프로필렌, 피롤리딜아이소프로필렌, 피페리딜에틸렌, 피페리딜프로필렌, 피페리딜아이소프로필렌, 몰포릴에틸렌, 몰포릴프로필렌, 또는 몰포릴아이소프로필렌을 나타내고; 상기한 피롤리딜, 피페리딜 및 몰포릴 중에서 선택된 지방족 헤테로고리는 옥소(=O), 메틸, 에틸, *n*-프로필, 이소프로필, *n*-부틸, *sec*-부틸, 및 *tert*-부틸 중에서 선택된 치환기로 치환 또는 비치환된 화합물의 경우이다.

[0028] 한편, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법을 포함한다. 본 발명에 따른 제조방법은 하기 반응식 1에 나타낸 바와 같은 두 단계 제조과정을 포함하여 이루어진다 :

[0029] 하기 화학식 2로 표시되는 2,3-다이클로로퀴녹살린과 하기 화학식 3으로 표시되는 에티닐기 공여시약을 소노가쉬라 반응(Sonogashira reaction)시켜 하기 화학식 4로 표시되는 화합물을 제조하는 과정; 및

[0030] 하기 화학식 4로 표시되는 에티닐 화합물을 하기 화학식 5로 표시되는 알콜 화합물과 염기의 존재 하에서 반응시켜 하기 화학식 1로 표시되는 2-치환아미노알킬레닐옥시-3-치환페닐에티닐 퀴녹살린 유도체를 제조하는 과정.

*반응식 1*

[0031] 


[0032] 상기 반응식 1에서, R, 및 Z는 각각 상기에서 정의한 바와 같다.

[0033] 상기 반응식 1에 따른 본 발명의 제조방법을 보다 상세히 설명하면 다음과 같다.

[0034] 상기 반응식 1에 따른 첫 번째 제조과정에서 사용되는 상기 화학식 3으로 표시되는 에티닐기 공여시약은 상기 화학식 2로 표시되는 2,3-다이클로로퀴녹살린에 대하여 1.0 내지 1.5 몰당량을 사용하는 것이 좋으며, 바람직하게는 1.0 내지 1.1 몰당량을 사용하는 것이다. 또한, 본 발명의 첫 번째 제조과정에 적용되는 '소노가쉬라 반응(Sonogashira reaction)에서 요구되는 조건'이라 함은 통상적인 팔라듐 시약, 통상적인 리간드, 통상적인 구리시약, 통상적인 무기 염기 또는 유기 염기로 이루어진다. 상기한 소노가쉬라 반응은 통상의 용매, 예를 들면 톨루엔, 테트라하이드로퓨란, 다이옥산, 다이메톡시에탄, 다이클로로메탄, 아세토나이트라일, 다이메틸포름아마이드, 물 등을 사용한다. 반응온도는 0 ℃ 내지 용매의 비점 범위, 바람직하게는 실온 내지 100 ℃ 범위를 유지하는 것이 좋고, 반응시간은 1 내지 48시간, 바람직하게는 2 내지 24시간 동안 반응시킨다.

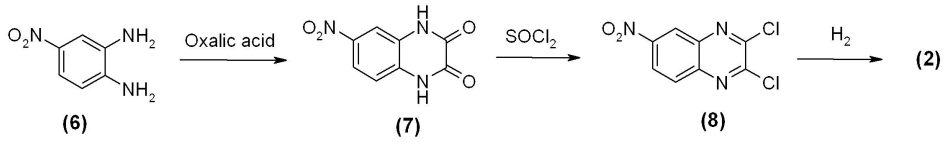
[0035] 상기 반응식 1에 따르는 두 번째 제조과정은 통상의 유기용매, 예를 들면 테트라하이드로퓨란, 다이클로로메탄, 아세토니트릴, 다이메틸포름아마이드 등을 사용하여 수행한다. 반응온도는 0 ℃ 내지 용매의 비점 범위, 바람직하게는 실온 내지 100 ℃ 범위를 유지하는 것이 좋다. 반응시간은 1 내지 48시간, 바람직하게는 3 내지 24시간 동안 반응시킨다. 상기 화학식 5로 표시되는 알콜 화합물은 상기 화학식 4로 표시되는 에티닐 화합물에 대해서 1.0 내지 1.5 몰당량을 사용하는 것이 좋으며, 바람직하게는 1.0 내지 1.1 몰당량을 사용하는 것이다. 또한, 이 반응은 통상의 유기 또는 무기 염기 존재 하에서 수행하는 것이 바람직하며, 예를 들면 수소화나트륨, 수소화칼륨, 수산화나트륨, 수산화칼륨, 탄산나트륨, 탄산칼륨, 탄산세슘, 탄산수소나트륨, 탄산수소칼륨, 트라이에틸아민, 피리딘, DBU 등을 들 수 있다.

[0036] 본 발명에 따른 제조방법을 수행하여 얻어진 상기 화학식 1로 표시되는 화합물들의 생성여부를 확인하기 위하여, 상기한 두 번째 제조과정을 수행한 후에 다중 컬럼크로마토그래피 장비(Quad$^{3+}$; 미국 Biotage사 제품)로

분리 정제하였으며, NMR 및 Mass 스펙트럼으로 화학구조를 분석하였다.

[0037] 본 발명에 따른 제조방법에서 출발물질로 사용하고 있는 상기 화학식 2로 표시되는 6-아미노퀴녹살린은 하기 반응식 2에 나타낸 바와 같은 방법으로 제조하여 사용할 수 있다.

*반응식 2*

[0038] 


[0039] 상기 반응식 2에 따른 제조방법을 간략히 설명하면 다음과 같다.

[0040] 상기 화학식 6으로 표시되는 4-니트로-1,2-페닐렌디아민과 옥살산을 반응시켜, 상기 화학식 7로 표시되는 6-니트로-1,4-디하이드로퀴녹살린-2,3-디온을 제조하고,

[0041] 상기 화학식 7로 표시되는 6-니트로-1,4-디하이드로퀴녹살린-2,3-디온을 티오닐클로라이드와 반응시켜, 상기 화학식 8로 표시되는 2,3-디클로로-6-니트로퀴녹살린을 제조하고,

[0042] 상기 화학식 8로 표시되는 2,3-디클로로-6-니트로퀴녹살린을 수소 환원 반응시켜, 상기 화학식 2로 표시되는 2,3-디클로로-6-아미노퀴녹살린을 제조하는 단계를 포함하여 이루어진다.

[0043] 한편, 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 암세포의 성장을 억제하는 활성 및 WNT 유전자 발현을 억제하는 활성이 우수하여 암 치료 및 예방제로 유용하게 사용될 수 있다.

[0044] 따라서, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는2-치환아미노알킬레닐옥시-3-치환페닐에티닐-6-아미노퀴녹살린 유도체 또는 약제학적으로 허용 가능한 이의 염이 유효성분으로 함유되어 있는 이상 세포 증식으로 유발되는 각종 암의 예방 및 치료제로 유효한 약제조성물을 포함한다.

[0045] 본 발명에서의 약제학적으로 허용 가능한 염은 당해 기술 분야에서 통상적인 방법에 의해 제조될 수 있는 것으로, 예를 들면 염산, 브롬산, 황산, 황산수소나트륨, 인산, 질산, 탄산 등과 같은 무기산과의 염, 개미산, 초산, 프로피온산, 옥살산, 석신산, 벤조산, 시트르산, 말레인산, 말론산, 타르타르산, 글루콘산, 락트산, 게스티스산, 푸마르산, 락토비온산, 살리실릭산, 또는 아세틸살리실릭산(아스피린)과 같은 유기산과의 염, 글리신, 알라닌, 바닐린, 이소루신, 세린, 시스테인, 시스틴, 아스파라진산, 글루타민, 리진, 아르기닌, 타이로신, 프롤린 등과 같은 아미노산과의 염, 메탄설폰산, 에탄설폰산, 벤젠설폰산, 톨루엔설폰산 등과 같은 설폰산과의 염, 나트륨, 칼륨 등의 알칼리금속과의 반응에 의한 금속염, 또는 암모늄 이온과의 염 등을 포함한다.

[0046] 또한, 본 발명의 약제 조성물은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 약제학적으로 허용 가능한 이들의 염에 통상의 무독성 약제학적으로 허용 가능한 담체, 보강제 및 부형제 등을 첨가하여 약제학적 분야에서 통상적인 제제 예를 들면 정제, 캅셀제, 트로키제, 액제, 현탁제 등의 경구 투여용 제제 또는 비경구 투여용 제제로 제조하여, 여러 종류의 종양 예방과 치료에 사용될 수 있다.

[0047] 본 발명의 약제 조성물에 사용될 수 있는 부형제로는 감미제, 결합제, 용해제, 용해보조제, 습윤제, 유화제, 등장화제, 흡착제, 붕해제, 산화방지제, 방부제, 활탁제, 충진제, 방향제 등이 포함될 수 있다. 예를 들면 락토스, 덱스트로스, 슈크로스, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로오스, 글라이신, 실리카, 탈크, 스테아린산, 스테린, 마그네슘 스테아린산염, 마그네슘 알루미늄 규산염, 녹말, 젤라틴, 트라가칸트 고무, 알지닌산, 소디움 알진산염, 메틸셀룰로오스, 소디움 카르복실메틸셀룰로오스, 아가, 물, 에탄올, 폴리에틸렌글리콜, 폴리비닐피롤리돈, 염화나트륨, 염화칼슘, 오렌지 엣센스, 딸기 엣센스, 바닐라 향 등을 들 수 있다.

[0048] 또한, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물의 인체에 대한 투여용량은 환자의 나이, 몸무게, 성별, 투여형태, 건강상태 및 질병정도에 따라 달라질 수 있으며, 몸무게가 70 kg인 성인환자를 기준으로 할 때 일반적으로 1일 0.01 mg 내지 5000 mg이며, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정 시간간격으로 1일 1회 내지 수회로 분할 투여할 수도 있다.

[0049] 이상에서 설명한 바와 같은 본 발명은 다음의 실시예 및 실험예에 의거하여 더욱 상세히 설명하겠는 바, 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0050] **[실시예] 화합물의 합성**

[0051] **실시예 1.** 2-(*N*,*N*-디메틸)아미노에틸레닐옥시-3-페닐에티닐-6-아미노퀴녹살린 (화합물번호 1)의 합성

[0052] a) 6-니트로-1,4-디하이드로퀴녹살린-2,3-디온 (화학식 7)의 합성

[0053] 화학식 6으로 표시되는 4-니트로-1,2-페닐렌디아민 (10.0 g, 65.3 mmol)과 옥살산 (5.9 g, 65.3 mmol), 3 당량의 HCl (200 mL)를 차례로 넣고 하루 동안 환류 시켰다. 상온에서 식힌 후, 침전물을 여과시키고, 차거운 물로 씻어준 후, 건조시켜 목적화합물인 6-니트로-1,4-디하이드로-2,3-디온을 89% (12.0 g)의 수율로 얻었다.

[0054] $^1$H NMR (500 MHz, DMSO-$d_6$) δ 7.23 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.92-7.96 (m, 2H), 12.24 (br s, 2H).

[0055] b) 2,3-디클로로-6-니트로퀴녹살린 (화학식 8)의 합성

[0056] 화학식 7로 표시되는 6-니트로-1,4-디하이드로퀴녹살린-2,3-디온 (12.0 g, 57.9 mmol)을 클로로포름 (200 mL)에 녹이고, 티오닐클로라이드 (20.7 g, 173.7 mmol)와 디메틸포름아미드 (1 mL)을 넣고 하루 동안 환류 시켰다. 상온에서 식힌 후, 감압 증발시켜 목적화합물인 2,3-디클로로-6-니트로퀴녹살린을 78% (11.2 g)의 수율로 얻었다.

[0057] $^1$H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.21 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 8.59 (dd, *J* = 2.4, 9.2 Hz, 1H), 8.94 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H).

[0058] c) 2,3-디클로로-6-아미노퀴녹살린 (화학식 2)의 합성

[0059] 화학식 8로 표시되는 2,3-디클로로-6-니트로퀴녹살린 (10 g, 41.0 mmol)을 테트라하이드로퓨란 (400 mL)에 넣은 후, 10% Pd/C (~1 g)과 진한 염산 소량을 첨가한 다음, 50 ℃에서 40시간동안 수소화 반응 ($H_2$ gas (~40 psi))을 시켰다. 이 혼합물을 셀라이트로 여과시킨 후, 감압 증발시킨 다음, 컬럼크로마토그래피 ($CH_2Cl_2$)로 정제하여 목적화합물인 2,3-디클로로-6-아미노퀴녹살린을 80% (7.1 g)의 수율로 얻었다.

[0060] $^1$H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 4.32 (br s, 2H), 7.04 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.18 (dd, *J* = 2.5, 9.0 Hz, 1H), 7.80 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H).

[0061] d) 2-클로로-3-페닐에티닐-6-아미노퀴녹살린 (화학식 4)의 합성

[0062] 화학식 2로 표시되는 2,3-디클로로-6-아미노퀴녹살린 (4.0 g, 18.5 mmol)을 디메틸슬폭사이드 (2 mL)에 녹인 후, 화학식 3으로 표시되는 페닐아세틸렌 (2.3 mL, 21.3 mmol), 트리에틸아민 (18.0 mL, 129.6 mmol), 팔라듐(Ⅱ)아세테이트 (290 mg, 1.3 mmol), 요드화구리(I)(437 mg, 1.7 mmol) 및 트리페닐포스핀 (388 mg, 2.0 mmol)을 첨가 한 후, 이 혼합물을 80 ℃로 2시간동안 가열시켰다. 상온에서 식힌 후, 감압 증발시킨 다음, 물과 EtOAc를 사용하여 추출하였다. 이 유기층을 무수 $MgSO_4$로 건조시킨 후, 컬럼크로마토그래피 (EtOAc/hexane, 1:1 v/v)로 정제하여 목적화합물인 2-클로로-3-페닐에티닐-6-아미노퀴녹살린을 62% (3.2 g, regioisomer mixture 83:17 = 5A:5B)의 수율로 얻었다.

[0063] $^1$H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 4.26 (br s, 5A-2H), 4.38 (br s, 5B-2H), 7.02 (d, *J* = 2.5 Hz, 5A-1H), 7.13 (d, *J* = 2.5 Hz, 5A-1H), 7.16 (dd, *J* = 2.6, 7.4 Hz, 5B-1H), 7.18 (dd, *J* = 2.6, 9.0 Hz, 5A-1H), 7.40-7.44 (m, 5A-3H, 5B-3H), 7.67-7.71 (m, 5A-2H, 5B-2H), 7.79 (d, *J* = 9.0 Hz, 5A-1H), 7.86 (d, *J* = 9.0 Hz, 5B-1H).

[0064] e) 2-(*N*,*N*-디메틸)아미노에틸레닐옥시-3-페닐에티닐-6-아미노퀴녹살린 (화학식 1)의 합성

[0065] 2-(*N*,*N*-디메틸아미노)에탄올 (35 mg, 0.39 mmol)을 테트라하이드로퓨란 (6 mL)에 녹인 후, 0 ℃에서 60% 소디움하이라이드(17.2 mg, 0.42 mmol)을 넣고 20분간 교반시킨 다음, 화학식 4로 표시되는 2-클로로-3-페닐에티닐-6-아미노퀴녹살린 (0.1 g, 0.36 mmol)을 테트라하이드로퓨란 (5 mL)에 녹여 적가 시키고 6시간동안 상온에서 교반하였다. 이 혼합물을 감압증발 시킨 다음, 물과 에틸아세테이트를 사용하여 추출하였다. 유기층을 무수 $MgSO_4$로 건조 시키고, 여과한 후 감압 증발시켜 컬럼크로마토그래피 ($CH_2Cl_2$/EtOH, 10:1 v/v)로 분리하여 목적화학물인 2-(*N*,*N*-디메틸)아미노에틸레닐옥시-3-페닐에티닐-6-아미노퀴녹살린을 70% (83 mg)얻었다.

[0066] $^1$H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ σ 2.45 (s, 6H), 2.92 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 4.62 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 7.09-

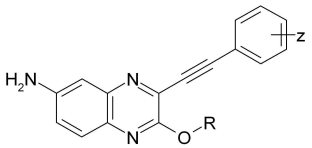
7.10 (m, 2H), 7.36-7.38 (m, 3H), 7.58-7.61 (m, 3H)/ MS (ESI, m/z) 333 ($[M+H]^+$)

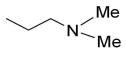
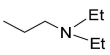
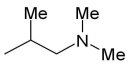
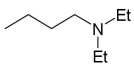
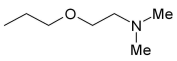
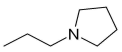
[0067] 상기 실시예에 따른 제조방법으로 합성된 화합물들의 구조와 분석 데이타를 다음 표 1에 정리하여 나타내었다.

[0068] $^1$H NMR 스펙트럼은 Bruker Avance 500 MHz에 기록하였고, 화학적 시프트(δ)는 내부 표준으로서 트리메틸실란(TMS)과 관계있는 ppm으로 기록하였다. 모든 표본은 다른 방법으로 명시되지 않았다면 DMSO-$d_6$ 및 $CDCl_3$에서 용해시켰다. MS 데이터는 Waters사의 Mass 모델에서 기록하였다.

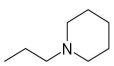
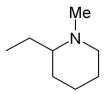
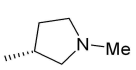
표 1

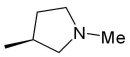
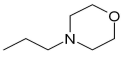
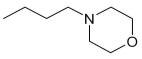
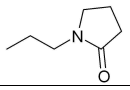
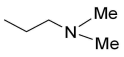
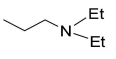
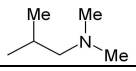
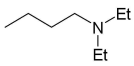
[0069]



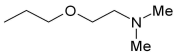
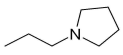
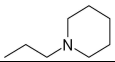
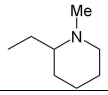
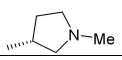
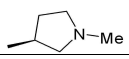
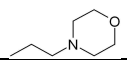
| 화합물 번호 | Z | R | $^1$H NMR(500MHz, $CDCl_3$, δ) / MS(ESI, m/z) |
|---|---|---|---|
| 1 | H |  | 2.45 (s, 6H), 2.92 (t, $J$ = 5.6 Hz, 2H), 4.62 (t, $J$ = 5.6 Hz, 2H), 7.09-7.10 (m, 2H), 7.36-7.38 (m, 3H), 7.58-7.61 (m, 3H) / 333 ($[M+H]^+$) |
| 2 | H |  | 1.17 (t, $J$ = 7.15 Hz, 6H), 2.88 (q, $J$ = 2.7 Hz, 4H), 3.15 (t, $J$ = 5.3 Hz, 2H), 4.68 (t, $J$ = 5.6 Hz, 2H), 7.10 (dd, $J$ = 2.6 Hz, $J$ = 8.6 Hz, 1H), 7.15 (d, $J$ = 2.5 Hz, 1H), 7.38-7.65 (m, 3H), 7.60-7.66 (m, 3H) / 361 ($[M+H]^+$) |
| 3 | H |  | 1.45 (d, $J$ = 6.2 Hz, 3H), 2.41 (s, 6H), 2.61-2.66 (m, 1H), 2.80-2.84 (m, 1H), 5.54-5.57 (m, 1H), 7.08 (dd, $J$ = 2.6 Hz, $J$ = 8.8 Hz, 1H), 7.13 (d, $J$ = 2.6 Hz, 1H), 7.36-7.40 (m, 3H), 7.59 (d, $J$ = 8.7 Hz, 1H), 7.63-7.65 (m, 2H) / 347 ($[M+H]^+$) |
| 4 | H |  | 1.12 (t, $J$ = 7.2 Hz, 6H), 2.13-2.18 (m, 2H), 2.73 (q, $J$ = 7.2 Hz, 4H), 2.92 (t, $J$ = 7.8 Hz, 2H), 4.53 (t, $J$ = 6.0 Hz, 2H), 7.11-7.15 (m, 2H), 7.39-7.44 (m, 3H), 7.62-7.66 (m, 3H) / 375 ($[M+H]^+$) |
| 5 | H |  | 2.29 (s, 6H), 2.62 (t, $J$ = 5.6 Hz, 2H), 3.77 (t, $J$ = 5.6 Hz, 2H), 3.94 (t, $J$ = 4.8 Hz, 2H), 4.65 (t, $J$ = 4.8 Hz, 2H), 7.11-7.15 (m, 2H), 7.40-7.42 (m, 3H), 7.60-7.65 (m, 3H) / 377 ($[M+H]^+$) |
| 6 | H |  | 1.80-1.83 (m, 2H), 1.90-1.92 (m, 1H), 2.13 (m, 1H), 2.48-2.49 (m, 1H), 2.65 (s, 3H), 3.08 (m, 1H), 3.33-3.34 (m, 1H), 4.46-4.47 (m, 1H), 4.55-4.58 (m, 1H), 7.06-7.10 (m, 2H), 7.34-7.37 (m, 3H), 7.55-7.58 (m, 3H) / 359 ($[M+H]^+$) |
| 7 | H |  | 1.87 (m, 4H), 2.94 (m, 4H), 3.16 (t, $J$ = 5.1 Hz, 2H), 4.72 (t, $J$ = 5.4 Hz, 2H), 7.12-7.15 (m, 2H), 7.40-7.43 (m, 3H), 7.61-7.64 (m, 3H) / 359 ($[M+H]^+$) |

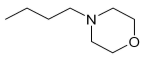
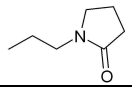
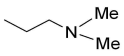
[0070]

| | | | |
|---|---|---|---|
| 8 | H |  | 1.46 (m, 2H), 1.58-1.69 (m, 4H), 2.81 (m, 4H), 3.07 (t, $J$ = 5.4 Hz, 2H), 4.72 (t, $J$ = 5.4 Hz, 2H), 7.10 (dd, $J$ = 2.6 Hz, $J$ = 8.8 Hz, 1H), 7.14 (d, $J$ = 2.5 Hz, 1H), 7.38-7.41 (m, 3H), 7.60-7.65 (m, 3H) / 373 ($[M+H]^+$) |
| 9 | H |  | 1.38 (m, 1H), 1.65-1.80 (m, 3H), 1.81-1.84 (m, 1H), 1.97-1.99 (m, 1H), 2.24-2.25 (m, 1H), 2.53 (s, 4H), 2.93-2.97 (m, 1H), 4.52-4.55 (m, 1H), 4.61-4.64 (m, 1H), 7.09 (dd, $J$ = 2.6 Hz, $J$ = 8.8 Hz, 1H), 7.14 (d, $J$ = 2.4 Hz, 1H), 7.38-7.40 (m, 3H), 7.61-7.65 (m, 3H) / 373 ($[M+H]^+$) |
| 10 | H |  | 2.22-2.26 (m, 1H), 2.48-2.54 (m, 1H), 2.55 (s, 3H), 2.89-2.95 (m, 3H), 3.61 (m, 1H), 5.60-5.62 (m, 1H), 7.10 (dd, $J$ = 2.5 Hz, $J$ = 8.8 Hz, 1H), 7.14 (d, $J$ = 2.5 Hz, 1H), 7.39-7.40 (m, 3H), 7.60 (d, $J$ = 8.8 Hz, 1H), 7.64-7.66 (m, 2H) / 345 ($[M+H]^+$) |

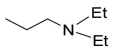
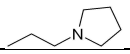
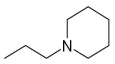
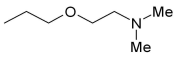
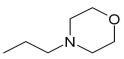
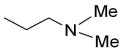
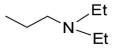
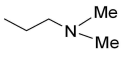
| | | | |
|---|---|---|---|
| 11 | H |  | 2.20-2.23 (m, 1H), 2.47-2.51 (m, 1H), 2.54 (s, 3H), 2.88-2.92 (m, 3H), 3.40-3.41 (m, 1H), 5.59-5.63 (m, 1H), 7.10 (dd, *J* = 2.6 Hz, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.14 (d,*J* = 2.6 Hz, 1H), 7.39-7.40 (m, 3H), 7.60 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.64-7.66 (m, 2H) / 345 ($[M+H]^+$) |
| 12 | H |  | 2.70 (m, 4H), 2.92 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.69-3.71 (m, 4H), 4.64 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 7.08-7.11 (m, 1H), 7.14-7.15 (m, 1H), 7.37-7.40 (m, 3H), 7.62-7.64 (m, 3H) / 375 ($[M+H]^+$) |
| 13 | H |  | 2.06-2.12 (m, 2H), 2.49 (m, 4H), 2.63 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.72 (t, *J* = 4.6 Hz, 4H), 4.55 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 7.09 (dd, *J* = 2.6 Hz, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.14 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 7.36-7.41 (m, 3H), 7.60 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.64-7.67 (m, 2H) / 389 ($[M+H]^+$) |
| 14 | H |  | 373 ($[M+H]^+$) |
| 15 | 4-OMe |  | 2.46 (s, 6H), 2.92 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 4.63 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 6.92 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 7.09-7.13 (m, 2H), 7.57-7.63 (m, 3H) / 363 ($[M+H]^+$) |
| 16 | 4-OMe |  | 1.12 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H), 2.74 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H), 3.04 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 3.83 (s, 3H), 4.61 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 6.89 (d, *J* = 5.1 Hz, 2H), 7.07 (dd, *J* = 2.5 Hz, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.13 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.59 (d, *J* = 8.8 Hz, 3H) / 391 ($[M+H]^+$) |
| 17 | 4-OMe |  | 377($[M+H]^+$) |
| 18 | 4-OMe |  | 1.15 (t, *J* = 7.2 Hz, 6H),2.17-2.20 (m, 2H), 2.79 (q, *J*= 7.0 Hz, 4H), 2.94 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 4.53 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 6.90-6.91 (m, 2H), 7.08-7.10 (m, 1H), 7.14 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 7.58-7.61 (m, 3H) / 405 ($[M+H]^+$) |

[0071]

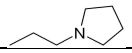
| | | | |
|---|---|---|---|
| 19 | 4-OMe |  | 2.28 (s, 6H), 2.60 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.76 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.94 (t, *J* = 3.6 Hz, 2H), 4.64 (t, *J* = 3.6 Hz, 2H), 6.91-6.93 (m, 2H) 7.10-7.13 (m, 2H), 7.58-7.61 (m, 3H) / 407 ($[M+H]^+$) |
| 20 | 4-OMe |  | 1.81-1.86 (m, 2H), 1.92-1.94 (m, 1H), 2.12-2.16 (m, 1H), 2.42-2.44 (m, 1H), 2.66 (s, 3H), 2.90-2.94 (m, 1H), 3.17-3.21 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 4.43-4.47 (m, 1H), 4.56-4.59 (m, 1H), 6.91 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 7.10-7.12 (m, 2H), 7.57 (d, *J* = 1.9 Hz, 2H), 7.61 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H) / 389 ($[M+H]^+$) |
| 21 | 4-OMe |  | 1.81-1.87 (m, 4H), 2.83 (m, 4H), 3.07 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 4.67 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 6.91 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H), 7.07-7.12 (m, 2H), 7.57-7.61 (m, 3H) / 389 ($[M+H]^+$) |
| 22 | 4-OMe |  | 403 ($[M+H]^+$) |
| 23 | 4-OMe |  | 403 ($[M+H]^+$) |
| 24 | 4-OMe |  | 375 ($[M+H]^+$) |
| 25 | 4-OMe |  | 375 ($[M+H]^+$) |
| 26 | 4-OMe |  | 405 ($[M+H]^+$) |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 27 | 4-OMe |  | 2.07-2.12 (m, 2H), 2.51(m, 4H), 2.63 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.72 (t, *J* = 4.6 Hz, 4H), 3.83 (s, 3H), 4.55 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 6.89-6.92 (m, 2H), 7.07-7.09 (m, 1H), 7.14 (s, 1H), 7.26-7.61 (m, 3H), / 419 ($[M+H]^+$) |
| 28 | 4-OMe |  | 1.94-2.00 (m, 2H), 2.37 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 3.68-3.71 (m, 2H), 3.80 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 4.62 (t, *J* = 5.1 Hz, 2H), 6.91-6.93 (m, 2H), 7.08-7.10 (m, 1H), 7.14 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 7.57-7.61 (m, 3H) / 403 ($[M+H]^+$) |
| 29 | 4-Me |  | 2.39 (s, 3H), 2.43 (s, 6H), 2.88 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 4.61 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 7.08 (dd,*J* = 2.5 Hz, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.14 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.19 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.54 (d,*J* = 8.1 Hz, 2H), 7.61 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H) / 347 ($[M+H]^+$) |

[0072]

| | | | |
|---|---|---|---|
| 30 | 4-Me |  | 1.12 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H), 2.38 (s, 3H), 2.76 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H), 3.06 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 4.60 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 7.08 (dd, *J* = 2.5 Hz, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.14 (d,*J* = 2.5 Hz, 1H), 7.18 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.58 (d, *J* = 5.0 Hz, 2H), 7.59 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H) / 375 ($[M+H]^+$) |
| 31 | 4-Me |  | 1.79-1.82 (m, 2H), 1.90-1.95 (m, 1H), 2.07-2.09 (m, 1H), 2.34-2.37 (m, 1H), 2.38 (s, 3H), 2.63 (s, 3H), 2.82-2.86 (m, 1H), 3.16 (t, *J*= 7.3 Hz, 1H), 4.43-4.46 (m, 1H), 4.51-4.55 (m, 1H), 7.08 (dd, *J* = 2.5 Hz, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.14 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.18 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.54 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.60 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H) / 373 ($[M+H]^+$) |
| 32 | 4-Me |  | 373($[M+H]^+$) |
| 33 | 4-Me |  | 1.44-1.47 (m, 2H), 1.61-1.65 (m, 4H), 2.38 (s, 3H), 2.71 (m, 4H), 2.97 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 4.66 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 7.08 (dd, *J* = 2.5 Hz, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.13 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.18 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.53 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.59 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H) / 387 ($[M+H]^+$) |
| 34 | 4-Me |  | 2.30 (s, 6H), 2.40 (s, 3H), 2.63 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.77 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.94 (t, *J* = 2.9 Hz, 2H), 4.65 (t, *J* = 4.7 Hz, 2H), 7.10-7.14 (m, 2H), 7.20 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.53 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.60 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H) / 391 ($[M+H]^+$) |
| 35 | 4-Me |  | 2.38 (s, 3H), 2.70-2.71 (m, 4H), 2.91 (t, *J* = 5.5 Hz, 2H), 3.70 (t, *J* = 4.6 Hz, 4H), 4.64 (t, *J* = 5.5 Hz, 2H), 7.80 (dd, *J* = 2.5 Hz, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.14 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.19 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.52 (d,*J* = 8.0 Hz, 2H), 7.59 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H) / 389 ($[M+H]^+$) |
| 36 | 4-Cl |  | 2.43 (s, 6H), 2.88 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 4.61 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 7.08 (dd,*J* = 2.5 Hz, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.14 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.19 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.54 (d,*J* = 8.1 Hz, 2H), 7.61 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H) / 366($[M+H]^+$) |
| 37 | 4-Cl |  | 1.12 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H), 2.76 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H), 3.06 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 4.60 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 7.08 (dd, *J* = 2.5 Hz, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.14 (d,*J* = 2.5 Hz, 1H), 7.18 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.58 (d, *J* = 5.0 Hz, 2H), 7.59 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H) / 394($[M+H]^+$) |
| 38 | 4-F |  | 2.43 (s, 6H), 2.88 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 4.61 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 7.08 (dd,*J* = 2.5 Hz, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.14 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.19 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.54 (d,*J* = 8.1 Hz, 2H), 7.61 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H) / 350($[M+H]^+$) |

[0073]

| | | | |
|---|---|---|---|
| 39 | 4-F |  | 1.79-1.82 (m, 2H), 1.90-1.95 (m, 1H), 2.07-2.09 (m, 1H), 2.34-2.37 (m, 1H), 2.63 (s, 3H), 2.82-2.86 (m, 1H), 3.16 (t, *J*= 7.3 Hz, 1H), 4.43-4.46 (m, 1H), 4.51-4.55 (m, 1H), 7.08 (dd, *J* = 2.5 Hz, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.14 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.18 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.54 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.60 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H) / 376($[M+H]^+$) |
| 40 | 4-F |  | 376($[M+H]^+$) |

[0074] **[실험예]**

[0075] 또한, 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 신규 화합물들의 약리 활성을 다음의 실험예의 방법으로 실험하였다.

[0076] **실험예 1. 암세포 증식억제효과 실험**

[0077] 비소폐암세포인 A549와 Wnt2 플라스미드를 영구 발현시킨 A549/Wnt2 세포를 96-well 플레이트(Falcon)에 각 웰(well)당 5000개로 분주하고, 24시간 배양기($CO_2$ gas 5%, 37℃)에서 배양하였다. 세포는 10% FBS가 들어간 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium, Gibco)에서 배양하였다. 24시간 후에 배지를 걷어내고 시험약물이 들어간 배지(10% FBS, DMEM)로 갈아주고 48시간 배양하였다. 배지를 걷어내고 well당 무혈청 DMEM 80 μL와 MTS 용액 (CellTiter 96 non-radioactive cell proliferation assay kit - Promega, Madison, WI, USA) 20 μL를 첨가해주었다. 플레이트를 $CO_2$ 배양기에서 90분간 발색 반응시키고 마이크로 플레이트 판독기를 이용하여 490 nm에서의 흡광도 값을 측정하였다. 각 시험약물에 대한 세포 증식 억제 효과를 하기 수학식 1의 수식으로 계산하였으며, 그 결과는 하기 표 2에 나타내었다.

*수학식 1*

[0078]
$$\text{세포증식억제율}(\%) = \frac{\text{시험군 } OD_{490} - \text{배양액 } OD_{490}}{\text{대조군 } OD_{490} - \text{배양액 } OD_{490}} \times 100$$

[0079] 이때 대조군은 비소폐암세포에 0.1% DMSO만을 첨가한 것이고, 배양액은 0.1% DMSO를 첨가한 10% FBS DMEM을 일컫는다. 약물은 최종농도를 세포에 처리시 DMSO 0.1%를 첨가하도록 DMSO에 녹여 비소폐암세포에 처리하였다.

*표 2*

[0080]

| 시험화합물 | Wnt2/A549 inhibition ($IC_{50}$, μM) |
|---|---|
| 화합물번호 1 | 0.15 |
| 화합물번호 3 | 0.37 |
| 화합물번호 4 | 0.58 |
| 화합물번호 5 | 0.47 |
| 화합물번호 6 | 0.42 |
| 화합물번호 7 | 0.06 |
| 화합물번호 8 | 0.07 |
| 화합물번호 9 | 0.17 |
| 화합물번호 11 | 0.87 |
| 화합물번호 13 | 1.25 |
| 화합물번호 15 | 0.21 |
| 화합물번호 20 | 0.09 |
| 화합물번호 21 | 0.12 |
| 화합물번호 29 | 0.13 |
| 화합물번호 31 | 0.09 |
| 화합물번호 32 | 0.07 |
| Calphostin c (대조약제) | 3.01 |

[0081] **실험예 2. WNT 경로 (β-catenin binding) 억제 효과 실험**

[0082] Wnt2를 영구 발현시킨 A549/wnt2 세포를 24-well 플레이트에, 각 well당 10× $10^4$개로 분주하고 24시간동안 배양기($CO_2$ gas, 37℃)에서 배양하였다. 세포는 10% FBS가 들어간 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium, Gibco)에서 배양하였다. 24시간 후에는 트랜스펙션 키트(TransFast Transfection Reagent, promega, Madison, WI, USA)를 이용하여, 각 well당 Topflash 플라스미드 1 μg, 그리고 형질감염 효율을 확인하기 위한 pCMV β-gal 0.5 μg을 동시에 형질 감염시켰다. 24시간 후에 배지를 걷어내고 시험약물이 들어간 배지(10% FBS, DMEM)로 갈아주고 48시간 배양하였다. 48시간 후에 배지를 걷어내고 차가운 인산염 완충 생리식염수(PBS)로 씻어주고, 각 well당 수동 세포용해 완충액(1× passive lysis buffer, Promega 사) 100 μL를 첨가한 후 15분간 세포를 용해시켰다. 그리고 세포 용해액 20 μL를 100 μL의 루시퍼라제 분석 시약(Luciferase assay system, promega 사)에 섞어주고 발광분석기(Hidex, Finland)로 10초 동안 루시퍼라제 활성을 측정하였다. β-갈락토시다제 활성은 96-well 플레이트에 β-gal 분석 완충액(100× $Mg^{2+}$ 용액, 인산나트륨 (0.1 M, pH 7.5) 그리고 1× ONPG, Sigma) 180 μL에 20 μL의 세포 용해액을 섞어주고 약 40분간 발색 반응시킨 뒤 마이크로 플레이트 판독기에서 520 nm에서의 흡광도 값을 측정하였다. Wnt 경로 활성도는 β-갈락토시다제 활성 값으로 루시퍼라제 활성 값을 보정해서 측정하였다. Fop flush는 Wnt 경로의 위양성(false positive) 결과를 얻는 것을 방지하기 위한 것으로 일정 수준 값이 기본적으로 나오는 것을 확인하였다. Top flush 결과는 Wnt 경로의 활성을 측정하기 위한 것으로 Wnt 경로 저해정도는 하기 수학식 2와 같은 수식으로 계산하였으며, 그 결과는 첨부도면 도 1로서 나타내었다.

*수학식 2*

[0083]
$$\text{WNT경로저해율}(\%) = \frac{\text{대조군 활성} - \text{시험군 활성}}{\text{대조군 활성}} \times 100$$

[0084] **[제제화예]**

[0085] 한편, 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 신규 화합물은 목적에 따라 여러 형태로 제제화가 가능하다. 다음은 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 활성성분으로 함유시킨 몇몇 제제화 방법을 예시한 것으로 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0086] 제제 1. 정제(직접 가압)

[0087] 활성성분 5.0 mg을 체로 친 후, 락토스 14.1 mg, 크로스포비돈 USNF 0.8 mg 및 마그네슘 스테아레이트 0.1 mg을 혼합하고 가압하여 정제로 만들었다.

[0088] 제제 2. 정제(습식 조립)

[0089] 활성성분 5.0 mg을 체로 친 후, 락토스 16.0 mg과 녹말 4.0 mg을 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 만들었다.

[0090] 제제 3. 분말과 캡슐제

[0091] 활성성분 5.0 mg을 체로 친 후에, 락토스 14.8 mg, 폴리비닐 피롤리돈 10.0 mg, 마그네슘 스테아레이트 0.2 mg와 함께 섞었다. 혼합물을 적당한 장치를 사용하여 단단한 No. 5 젤라틴 캡슐에 채웠다.

[0092] 제제 4. 주사제

[0093] 활성성분 100 mg을 함유시키고, 그 밖에도 만니톨 180 mg, $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 26 mg 및 증류수 2974 mg를 함유시켜 주사제를 제조하였다.

## *산업이용 가능성*

[0094] 이상의 실험예를 통하여 확인된 바와 같이, 본 발명에 따른 신규 화합물들은 우수한 항암효과를 보여주고 있으므로, 신규 항암제 개발에 유용하다.

## *도면의 간단한 설명*

[0095] 도 1은 본 발명의 화합물에 대한 WNT 유전자 발현 억제율을 나타낸 그래프이다.

## 도면

### 도면1

