



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0048418  
(43) 공개일자 2015년05월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07F 15/00 (2006.01) A61K 31/295 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-0128461

(22) 출원일자 2013년10월28일

심사청구일자 2013년10월28일

(71) 출원인

울산대학교 산학협력단

울산광역시 남구 대학로 93

(72) 발명자

지기환

울산 중구 우정3길 9, 104동 903호 (우정동, 선경아파트1차)

송영호

울산 중구 서원1길 40-2, 신태양 302호 (복산동)

(74) 대리인

특허법인태백

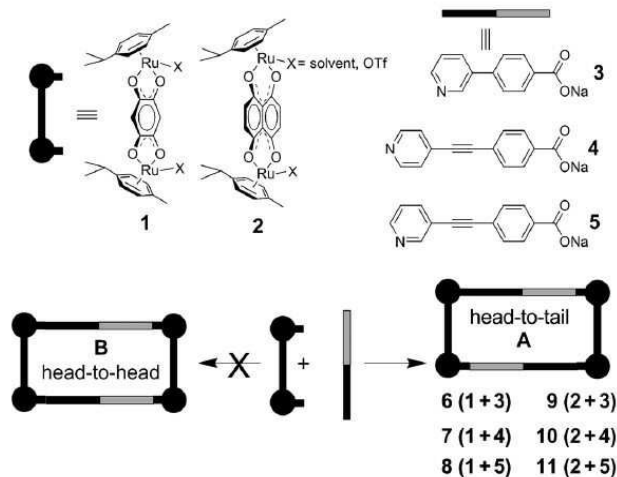
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 신규 루테튬 헤테로고리 화합물 및 이를 유효성분으로 함유하는 암질환의 치료 또는 예방용 약학조성물

(57) 요약

본 발명은 신규 루테튬 헤테로고리 화합물 및 이를 유효성분으로 함유하는 암질환의 치료 또는 예방용 약학조성물에 관한 것으로, 상기 루테튬 헤테로고리 화합물은 A549 (폐암세포주), AGS (위암세포주), HCT-15 (직장암세포주) 및 SK-hep-1 (간암세포주) 세포의 증식을 낮은 마이크로몰 농도에서 억제하며, 세포 성장 사이클을 조절하는 세포사멸을 통하여 암 세포의 활성을 저해함으로써 뛰어난 항암활성을 나타내는 바, 암질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 R33-2008-000-10003

부처명 교육과학기술부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 World Class Universities (WCU) 사업

연구과제명 배위결합이 원동력인 자체조립으로 합성된 무생물적 초분자와 이들의 호스트-게스트 화학

기 여 율 1/1

주관기관 울산대학교

연구기간 2012.09.01 ~ 2013.08.31

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

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

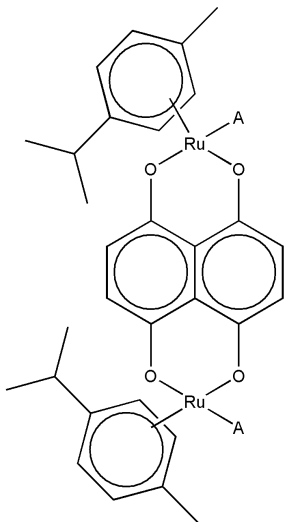
[화학식 1]



상기 화학식 1에서,



[화학식 2]

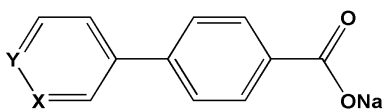


이고,

상기 화학식 2에서 A는 각각 독립적으로 OTf(trifluoromethylsulfonate), 니트레이트( $\text{NO}_3$ ), OTs(톨루엔-4-설포네이트), OMs(메탄설포네이트), Cl, Br, I,  $\text{BF}_4$ ,  $\text{PF}_6$ ,  $\text{ClO}_4$ ,  $\text{CH}_3\text{COO}$  또는  $\text{CF}_3\text{COO}$  이며,

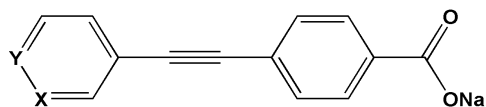


[화학식 3]



또는

[화학식 4]



이고,

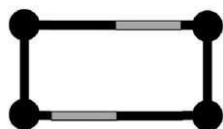
상기 화학식 3 또는 화학식 4에서 X와 Y 중 어느 하나는 질소이고, 다른 하나는 탄소이며,

상기 화학식 2의 루테늄과 화학식 3 또는 화학식 4의 방향족 헤테로고리 내의 질소원자가 결합하여 화학식 1의 화합물을 형성함.

## 청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 루테늄 헤테로고리 화합물은 하기 화학식 1로 표시되는 것을 특징으로 하는 루테늄 헤테로고리 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 1]

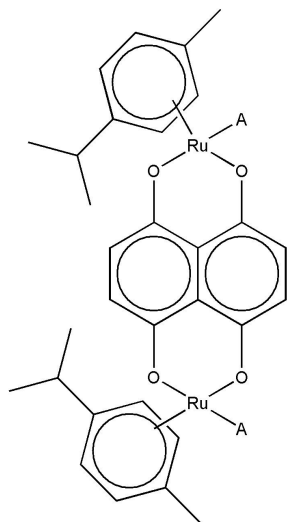


상기 화학식 1에서,



는

[화학식 2]



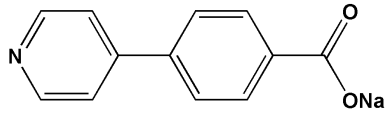
이고,

상기 화학식 2에서 A는 각각 독립적으로 OTf(trifluoromethylsulfonate), 니트레이트( $\text{NO}_3$ ), OTs(톨루엔-4-설포네이트), OMs(메탄설포네이트), Cl, Br, I,  $\text{BF}_4$ ,  $\text{PF}_6$ ,  $\text{ClO}_4$ ,  $\text{CH}_3\text{COO}$  또는  $\text{CF}_3\text{COO}$  이며,



는

[화학식 5]



이며,

상기 화학식 2의 루테늄과 화학식 5의 방향족 헤테로고리 내의 질소원자가 결합하여 화학식 1의 화합물을 형성함.

### 청구항 3

제 1항 또는 제 2항의 루테늄 헤테로고리 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암질환 치료 또는 예방용 약학조성물.

### 청구항 4

제 3항에 있어서, 상기 루테늄 헤테로고리 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 암세포의 세포사멸을 통하여 항암활성을 나타내는 것을 특징으로 하는 암질환 치료 또는 예방용 약학조성물.

### 청구항 5

제 4항에 있어서, 상기 암질환은 고형암인 것을 특징으로 하는 암질환 치료 또는 예방용 약학조성물.

### 청구항 6

제 5항에 있어서, 상기 고형암은 뇌종양, 양성성상세포종, 악성성상세포종, 뇌하수체 선종, 뇌수막종, 뇌림프종, 췌장교종, 두개내인종, 상의세포종, 뇌간종양, 두경부 종양, 후두암, 구인두암, 비강/부비동암, 비인두암, 침샘암, 하인두암, 갑상선암, 구강암, 흉부종양, 소세포성 폐암, 비소세포성 폐암, 흉선암, 종격동 종양, 식도암, 유방암, 남성유방암, 복부종양, 위암, 간암, 담낭암, 담도암, 췌장암, 소장암, 대장암, 직장암, 항문암, 방광암, 신장암, 남성생식기종양, 음경암, 전립선암, 여성생식기종양, 자궁경부암, 자궁내막암, 난소암, 자궁육종, 질암, 여성외부생식기암, 여성요도암 및 피부암으로 이루어진 군에서 선택된 것을 특징으로 하는 암질환 치료 또는 예방용 약학조성물.

## 발명의 설명

## 기술 분야

[0001] 본 발명은 신규 루테늄 헤테로고리 화합물 및 이를 유효성분으로 함유하는 암질환의 치료 또는 예방용 약학조성물에 관한 것이다.

## 배경 기술

[0002] 금속약학 분야는 금속 기반 약물의 치료학적 적용 때문에 의학 화학의 중요한 새로운 분야로서 대두되었다((a) M. Mascini, G. Bagni, M. L. D. Pietro, M. Ravera, S. Baracco and D. Osella, Bio Metals, 2006, 19, 409; (b) T. W. Hambley, Dalton Trans., 2007, 4929). 넓은 범위의 배위수로부터 3차원 공간에서유기 리간드의 재배열 및 조절가능한 금속 중심의 접근가능한 산화-환원상태는 의학 목적에 사용될 수 있는 반응성의 넓은 스펙트럼을 제공한다(U. Schatzschneider and N. Metzler-Nolte, Angew. Chem., Int. Ed., 2006, 45, 1504.).

[0003] 백금 복합체 특히 시스플라틴, 카보플라틴, 및 옥스포플라틴은 그들의 높은 독성 및 불필요한 신경, 간, 및 신장 독성 부작용에도 불구하고((a) Y. Jung and S. J. Lippard, Chem. Rev., 2007, 107, 1387; (b) C. Gianomenico and M. U. S. Christen, Patent 6413953, 2000), 현재 가장 효과적인 화학적 치료제로서 사용되고 있다((a) L. Kelland, Nat. Rev. Cancer, 2007, 7, 573; (b) J. Reedijk, Eur. J. Inorg. Chem., 2009, 1303). 그러나 백금계 약물과 관련된 높은 전신 독성 및 저항성 문제들은 대안적인 금속계 항종양제((a) C. H. A. Goss, W. Henderson, A. L. Wilkins and C. J. Evans, J. Organomet. Chem. 2003, 679, 194; (b) A. G. Quiroga and C. N. Ranninger, Coord. Chem. Rev. 2004, 248, 119; (c) W. Henderson, B. K. Nicholson and E. R. T. Tiekink, Inorg. Chim. Acta, 2006, 359, 2046) 및 더 안전하고 더욱 효과적인 치료제의 설계 및 약리학적 발

전에 관심을 갖는 새 시대를 열었다.

[0004] 특히, 루테튬 복합체는 백금계 약물에 잘 반응하지 않는 종양에 있어서 저독성 및 고활성을 갖는 금속계 약물로 촉망받는 새로운 분류를 대표한다((a) C. G. Hartinger, S. Zorbas-Selfried, M.A. Jakupiec, B. Kynast, H. Zorbas and B. K. Keppler, J. Inorg. Biochem. 2006, 100, 891; (b) Y. K. Yan, M. Melchart, A. Habtemariam and P. J. Sadler Chem. Commun., 2005, 4764). 두 루테튬 복합체, ImH[트랜스 RuCl<sub>4</sub>(DMSO)Im]](NAMI-A) 및 KO1019가 임상 1상을 성공적으로 통과한 최초 1핵 루테튬계 항암 약물이다((a) J. M. Rademaker-Lakhai, D. Van Den Bongard, D. Pluim, J. H. Beijnen and J. H. M. Schellens, Clin. Cancer Res., 2004, 10, 3717; (b) M. Groessl, C. G. Hartinger, K. Polec-Pawlak, M. Jarosz, P. J. Dyson and B. K. Keppler, Chem. Biodiversity, 2008, 5, 1609.).

[0005] 다핵 약물 또한 치료가능한 종양의 범위를 증대시키기 위해 설계되었다. 많은 고분자 백금 화합물((a) Z. Yang, X. Wang, H. Diao, J. Zhang, H. Li, H. Sung and Z. Guo, Chem. Commun., 2007, 3453; (b) N. J. Wheate, A. I. Day, R. J. Blanch, A. P. Arnold, C. Cullinane and J. G. Collins, Chem. Commun., 2004, 1424), 예를 들면 고분자 링크된 디아미노사이클로헥실 금속 화학적 치료제(AP5346) 및 Pt-배위된 고차분지구조를 갖는 폴리글리세롤 폴리머가 선택적 투과, 보유 효과(EPR)(Y. Matsumura and H. Maeda, Cancer. Res., 1986, 46, 6387.) 및 긴 범위 가닥간 및 가닥내 DNA 교차결합을 통해 약물이 선택적으로 암세포 내에서 축적하도록 하는 이들의 독특한 세포막 환경 때문에 잠재적으로 타겟 특정형 종양 세포에 사용될 수 있을 것이다. 이에 따라, 다핵 금속-고분자 복합체 화합물에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있는 실정이다.

## 발명의 내용

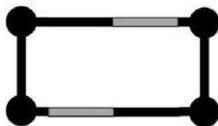
### 해결하려는 과제

[0006] 본 발명은 다핵 금속-고분자 복합체의 일종인 신규한 4핵 아렌-루테튬 화합물 및 이의 항암 치료용 용도를 제공하고자 한다.

### 과제의 해결 수단

[0007] 상기 목적을 해결하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 루테튬 헤테로고리 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0008] [화학식 1]



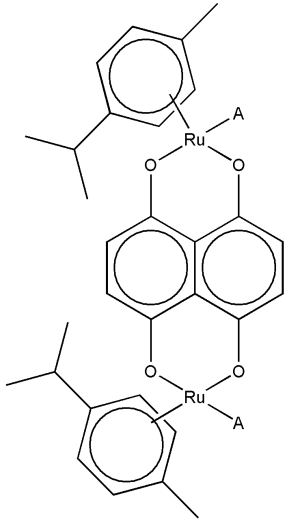
[0009]

[0010] 상기 화학식 1에서,



[0011] 는

[0012] [화학식 2]

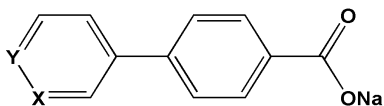


이고,

상기 화학식 2에서 A는 각각 독립적으로 OTf(trifluoromethylsulfonate), 니트레이트( $\text{NO}_3$ ), OTs(톨루엔-4-설포네이트), OMs(메탄설포네이트), Cl, Br, I,  $\text{BF}_4$ ,  $\text{PF}_6$ ,  $\text{ClO}_4$ ,  $\text{CH}_3\text{COO}$  또는  $\text{CF}_3\text{COO}$  이며,

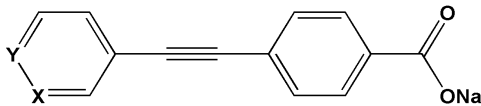


[화학식 3]



또는

[화학식 4]



이고,

상기 화학식 3 또는 화학식 4에서 X와 Y 중 어느 하나는 질소이고, 다른 하나는 탄소이며,

상기 화학식 2의 루테늄과 화학식 3 또는 화학식 4의 방향족 헤테로고리 내의 질소원자가 결합하여 화학식 1의 화합물을 형성한다.

또한, 본 발명은 상기 루테늄 헤테로고리 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암질환 치료 또는 예방용 약학조성물을 제공한다.

### 발명의 효과

본 발명에 따른 루테늄 헤테로고리 화합물은 A549 (폐암세포주), AGS (위암세포주), HCT-15 (직장암세포주) 및 SK-hep-1 (간암세포주) 세포의 증식을 낮은 마이크로몰 농도에서 억제하며, 세포 성장 사이클을 조절하는 세포 사멸을 통하여 암 세포의 활성을 저해함으로써 뛰어난 항암활성을 나타내는 바, 암질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

도 1은 본 발명의 비교예 및 실시예에 따른 화합물의 제조 모식도이다.

도 2는 본 발명의 비교예 및 실시예에 따른 화합물의 MTT 분석 결과이다.

도 3은 본 발명의 화합물 9 내지 11의 아팜토시스 세포사멸 분석 결과이다(A: 미처리, B: 화합물 9 처리, C: 화합물 10 처리, D: 화합물 11 처리, E: 독소루비신 처리).

도 4는 본 발명의 화합물 10의 생체내 항암 활성 분석 결과이다.

도 5는 본 발명의 화합물 10의  $^1\text{H}$  NMR 스펙트럼이다.

도 6은 본 발명의 화합물 10의 X-선 결정 구조이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 루테튬 헤테로고리 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다:

[화학식 1]

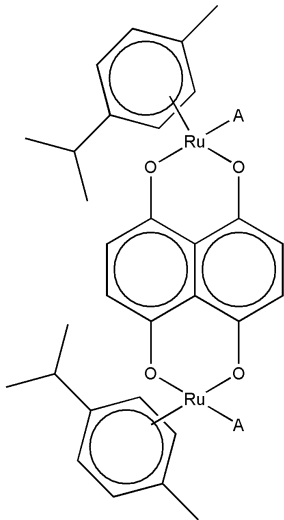


상기 화학식 1에서,



는

[화학식 2]



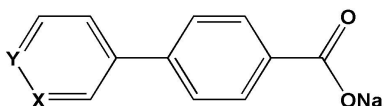
이고,

상기 화학식 2에서 A는 각각 독립적으로 OTf(trifluoromethylsulfonate), 니트레이트( $\text{NO}_3$ ), OTs(톨루엔-4-설포네이트), OMs(메탄설포네이트), Cl, Br, I,  $\text{BF}_4$ ,  $\text{PF}_6$ ,  $\text{ClO}_4$ ,  $\text{CH}_3\text{COO}$  또는  $\text{CF}_3\text{COO}$  이며,



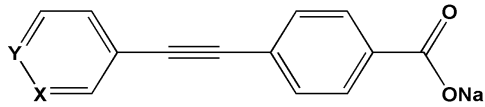
는

[화학식 3]



또는

[화학식 4]



이고,

상기 화학식 3 또는 화학식 4에서 X와 Y 중 어느 하나는 질소이고, 다른 하나는 탄소이며,

상기 화학식 2의 루테늄과 화학식 3 또는 화학식 4의 방향족 헤테로고리 내의 질소원자가 결합하여 화학식 1의 화합물을 형성한다.

보다 바람직하게는, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 루테늄 헤테로고리 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 제공한다:

[화학식 1]

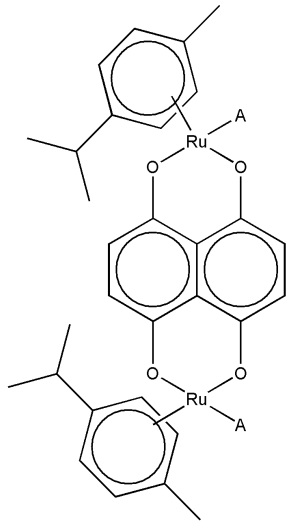


상기 화학식 1에서,



는

[화학식 2]



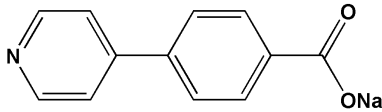
이고,

상기 화학식 2에서 A는 각각 독립적으로 OTf(trifluoromethylsulfonate), 니트레이트( $\text{NO}_3$ ), OTs(톨루엔-4-설포네이트), OMs(메탄설포네이트), Cl, Br, I,  $\text{BF}_4$ ,  $\text{PF}_6$ ,  $\text{ClO}_4$ ,  $\text{CH}_3\text{COO}$  또는  $\text{CF}_3\text{COO}$  이며,



는

[0054] [화학식 5]



[0055]

[0056] 이며,

[0057] 상기 화학식 2의 루테늄과 화학식 5의 방향족 헤테로고리 내의 질소원자가 결합하여 화학식 1의 화합물을 형성한다.

[0058] 본 발명의 루테늄 헤테로고리 화합물은 약학적으로 허용 가능한 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, 말레인산, 피마르산, 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.

[0059] 또한, 본 발명의 루테늄 헤테로고리 화합물은 약학적으로 허용되는 염뿐만 아니라, 통상의 방법에 의해 제조될 수 있는 모든 염, 수화물 및 용매화물을 모두 포함한다.

[0060] 본 발명에 따른 부가염은 통상의 방법으로 제조할 수 있으며, 예를 들면 화학식 1의 화합물을 수산화성 유기용매, 예를 들면 아세톤, 메탄올, 에탄올, 또는 아세토니트릴 등에 녹이고 과량의 유기산을 가하거나 무기산의 산수용액을 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.

[0061] 본 발명에 따른 화학식 1의 루테늄 헤테로고리 화합물은 양쪽자리성 공여체인 화학식 3 또는 화학식 4의 화합물과 루테늄 수용체인 화학식 2의 화합물을 1:1 몰비로 반응시킴으로서 용이하게 제조될 수 있으며, 상기 반응은 메탄올, 니트로메탄 또는 이들의 혼합용액(1:1 부피비)에서 이루어질 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 반응은 실온 내지 60 °C의 온도에서 12 내지 24시간 동안 교반 하에 일어날 수 있으며, 농축된 반응 혼합물에 디에틸 에테르를 첨가하면 순수한 자기집합된 화학식 1의 루테늄 헤테로고리 화합물을 얻을 수 있다.

[0062] 상기와 같이 본 발명에 따라 제조된 화학식 1의 루테늄 헤테로고리 화합물은 제조 후, 적외선 분광법, 핵자기 공명 스펙트럼, 질량 분광법, 액체 크로마토그 래피법, X-선 구조결정법, 선광도 측정법 및 대표적인 화합물의 원소분석 계산치와 실측치의 비교에 의해 분자구조를 확인할 수 있다.

[0063] 또한, 이하 실시예에서 확인할 수 있는 바와 같이, 본 발명에 따른 화학식 1의 루테늄 헤테로고리 화합물은 A549 (폐암세포주), AGS (위암세포주), HCT-15 (직장암세포주) 및 SK-hep-1 (간암세포주) 세포의 증식을 낮추는 마이크로몰 농도에서 억제하며, 세포 성장 사이클을 조절하는 세포사멸을 통하여 암 세포의 활성을 저해함으로써 뛰어난 항암활성을 나타내는 바, 항암제의 유효성분으로 사용될 수 있다.

[0064] 따라서 본 발명은 화학식 1의 루테늄 헤테로고리 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암질환의 치료 또는 예방용 약학조성물, 항암제의 제조를 위한 상기 루테늄 헤테로고리 화합물의 용도, 상기 루테늄 헤테로고리 화합물을 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 암질환의 치료방법을 제공한다.

[0065] 본 발명의 한 구체예에서, 상기 약학조성물은 약학조성물 100 중량부에 대하여 화학식 1의 루테늄 헤테로고리 화합물을 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.

[0066] 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 약학조성물은 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 포함할 수 있다.

[0067] 구체적으로 담체, 부형제 및 희석제는 락토즈, 덱스트로즈, 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 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카

보네이트, 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 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0068] 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 약학조성물의 제형은 과립제, 산제, 피복정, 정제, 환제, 캡슐제, 좌제, 젤, 시럽, 즙, 현탁제, 유제, 점적제 또는 액제로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.

[0069] 본 발명의 일실시예에 따르면, 상기 약학조성물은 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 복강내, 흉골내, 경피, 비측내, 흡입, 국소, 직장, 경구, 안구내 또는 피내 경로를 통해 통상적인 방식으로 대상체로 투여할 수 있다.

[0070] 상기 약학조성물의 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.

[0071] 본 발명에 있어서, 상기 '대상체'는 인간을 포함하는 포유동물일 수 있으나, 이들 예에 한정되는 것은 아니다.

[0072] 본 발명의 한 구체예에서, 상기 암질환은 고형암일 수 있으며, 더욱 구체적으로 본 발명에 따른 화학식 1의 루테늄 헥테로고리 화합물은 뇌종양(Brain tumor), 양성성상세포종 (Low-grade astrocytoma), 악성성상세포종 (High-grade astrocytoma), 뇌하수체 선종 (Pituitary adenoma), 뇌수막종 (Meningioma), 뇌림프종 (CNS lymphoma), 뿔지교종 (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 위암, 간암, 폐암 또는 직장암의 치료에 사용될 수 있으나 이제 제한되는 것은 아니다.

[0073] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 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.

#### [0074] <참조예 1> 출발 물질 합성 및 NMR 분석방법

[0075] 본 실험에 사용된 루테늄 수용체 1은 종래 문헌(Angew. Chem. 2008, 120, 3833-3836; Angew. Chem. Int. Ed. 2008, 47, 3773-3776), 루테늄 수용체 2는 종래 문헌(Chem. Asian J. 2011, 6, 1595-1603)에 따라 합성하였고, 양쪽자리성 공여체 3 내지 5는 종래 문헌(J. Am. Chem. Soc. 1998, 120, 8563-8564)에 따라 합성하였다. 이때, 중수소화 용매는 캄브리지 동위원소 실험실(Andover, MA)에서 구입하였고, 용매는 표준 문헌 절차에 따라 건조

시키고 증류시켰다.

[0076] NMR 스펙트럼은 Bruker 300 MHz 스펙트로미터에서 기록되었다.  $^1\text{H}$  NMR 스펙트럼에서의 화학적 이동( $\delta$ )은 내부 표준물질인 테트라메틸실란에 대한 상대적 ppm으로 기록되었다. 자기조립에 대한 질량 스펙트럼은 MassLynx 작동 시스템으로 전자스프레이 이온화를 이용한 Micromass Quattro II triple-quadrupole 질량 스펙트로미터 상에서 기록되었다.

[0077] <비교예 1> 화합물 6 제조

[0078] MeOH(1 mL)에 용해된 루테늄 수용체 1(9.1 mg, 0.01 mmol) 용액에  $\text{CH}_3\text{NO}_2$ (1 mL)에 용해된 양쪽자리성 공여체 3(2.2 mg, 0.01 mmol) 용액을 한방울씩 첨가하였다. 그 후, 상기 혼합물을 60℃에서 24시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 여과하고 감압 하에서 용매를 제거하였다. 남아있는 고체를 디에틸에테르로 세정하여 포도주색 분말을 얻었다(수율 90%).

[0079]  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $[\text{D}_4]\text{MeOH}$ ):  $\delta$ =8.57 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=5.4$  Hz, 2H), 8.21 (s, 2H), 7.93 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=7.4$  Hz, 2H), 7.74 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=5.6$  Hz, 2H), 7.38 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=8.3$  Hz, 4H), 6.93 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=8.3$  Hz, 4H), 5.94-6.15 (m, 8H), 5.69-5.85 (m, 12H), 2.84-2.89 (m, 4H), 2.29 (s, 6H), 2.17 (s, 6H), 1.32 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=6.9$  Hz, 12H), 1.31 ppm (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=6.9$  Hz, 12H);

[0080]  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $[\text{D}_6]\text{acetone}$ ):  $\delta$ =184.6, 182.9, 154.4, 152.4, 142.0, 136.6, 130.8, 128.9, 126.1, 122.6, 122.3, 103.5, 100.9, 99.2, 99.1, 95.6, 94.8, 83.7, 82.1, 80.9, 79.2, 31.2, 31.1, 21.7, 21.5, 17.7, 17.2 ppm;

[0081] MS (ESI): m/z: 1762.77  $[\text{6-OTf}]^+$ .

[0082] <비교예 2> 화합물 7 제조

[0083] MeOH(1 mL)에 용해된 루테늄 수용체 1(9.1 mg, 0.01 mmol) 용액에 MeOH(1 mL)에 용해된 양쪽자리성 공여체 4(2.6 mg, 0.01 mmol) 용액을 한방울씩 첨가하였다. 그 후, 상기 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 여과하고 감압 하에서 용매를 제거하였다. 남아있는 고체를 디에틸에테르로 세정하여 포도주색 분말을 얻었다(수율 93%).

[0084]  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $[\text{D}_4]\text{MeOH}$ ):  $\delta$ =8.36 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=6.6$  Hz, 4H), 7.62 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=6.6$  Hz, 4H), 7.27 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=8.3$  Hz, 4H), 7.14 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=8.3$  Hz, 4H), 6.09 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=6.2$  Hz, 4H), 6.02 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=6.4$  Hz, 4H), 5.72-5.83 (m, 12H), 2.82-2.96 (m, 4H), 2.29 (s, 6H), 2.20 (s, 6H), 1.34 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=6.9$  Hz, 12H), 1.31 ppm (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=6.9$  Hz, 12H);

[0085]  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $[\text{D}_6]\text{acetone}$ ):  $\delta$ =184.8, 183.1, 169.8, 153.0, 136.9, 134.4, 131.1, 128.9, 128.0, 123.4, 122.5, 119.2, 103.3, 100.9, 99.0, 98.1, 95.6, 86.4, 83.7, 82.1, 81.4, 79.0, 48.8, 31.1, 21.7, 21.6, 17.7, 17.2 ppm;

[0086] MS (ESI): m/z: 830.57  $[\text{7-2OTf}]^{2+}$ .

[0087] <비교예 3> 화합물 8 제조

[0088] 물(1 mL)에 용해된 루테늄 수용체 1(9.1 mg, 0.01 mmol) 용액에  $\text{CH}_3\text{NO}_2$ (1 mL)에 용해된 양쪽자리성 공여체 5(2.6 mg, 0.01 mmol) 용액을 한방울씩 첨가하였다. 그 후, 상기 혼합물을 60℃에서 24시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 여과하고 감압 하에서 용매를 제거하였다. 남아있는 고체를 디에틸에테르로 세정하여 포도

주색 분말을 얻었다(수율 91%).

[0089]  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $[\text{D}_4]\text{MeOH}$ ):  $\delta$ =8.61 (s, 2H), 8.30 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=4.7$  Hz, 2 H), 8.23 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=8.1$  Hz, 2 H), 7.47 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=7.7$  Hz, 2H), 7.28 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=8.5$  Hz, 4H), 7.21 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=8.7$  Hz, 4H), 6.08 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=6.3$  Hz, 4H), 6.04 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=6.4$  Hz, 4H), 5.74-5.87 (m, 12 H), 2.79-2.95 (m, 4H), 2.30 (s, 6 H), 2.17 (s, 6H), 1.34 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=6.9$  Hz, 12 H), 1.33 ppm (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=6.9$  Hz, 12H);

[0090]  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $[\text{D}_6]\text{acetone}$ ):  $\delta$ =184.6, 182.9, 169.4, 154.3, 152.5, 142.1, 136.5, 130.7, 128.9, 126.2, 123.5, 122.6, 122.3, 119.2, 103.5, 100.9, 99.2, 95.6, 94.8, 84.9, 83.8, 82.1, 80.9, 79.1, 31.1, 21.7, 21.6, 17.7, 17.2 ppm;

[0091] MS (ESI):  $m/z$ : 830.57  $[\text{8-20Tf}]^{2+}$ .

#### [0092] <실시예 1> 화합물 9 제조

[0093] MeOH(1 mL)에 용해된 루테늄 수용체 2(9.6 mg, 0.01 mmol) 용액에  $\text{CH}_3\text{NO}_2$ (1 mL)에 용해된 양쪽자리성 공여체 3(2.2 mg, 0.01 mmol) 용액을 한방울씩 첨가하였다. 그 후, 상기 혼합물을 60℃에서 24시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 여과하고 감압 하에서 용매를 제거하였다. 남아있는 고체를 디에틸에테르로 세정하여 바다색 분말을 얻었다(수율 88%).

[0094]  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $[\text{D}_4]\text{MeOH}$ ):  $\delta$ =8.60 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=3.8$  Hz, 2H), 8.40 (s, 2 H), 7.73 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=8.3$  Hz, 2 H), 7.55-7.62 (m, 2 H), 7.30 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=8.0$  Hz, 4H), 7.17 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=9.9$  Hz, 4H), 7.09 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=9.8$  Hz, 4H), 6.87 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=8.2$  Hz, 4 H), 5.85 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=6.1$  Hz, 4H), 5.81 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=6.0$  Hz, 4 H), 5.61 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=6.1$  Hz, 4 H), 5.51 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=6.0$  Hz, 4 H), 2.85-2.93 (m, 4H), 2.19 (s, 6 H), 2.10 (s, 6H), 1.30 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=6.8$  Hz, 12 H), 1.28 ppm (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=6.8$  Hz, 12H);

[0095]  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $[\text{D}_6]\text{acetone}$ ):  $\delta$ =171.7, 170.0, 154.3, 146.0, 139.3, 138.7, 138.4, 136.8, 135.7, 129.9, 128.9, 128.5, 127.6, 126.5, 112.9, 112.1, 102.0, 100.9, 99.1, 96.6, 86.6, 82.7, 81.5, 78.8, 30.8, 30.6, 21.6, 21.6, 16.7, 16.4 ppm;

[0096] MS (ESI):  $m/z$ : 856.91  $[\text{9-20Tf}]^{2+}$ .

#### [0097] <실시예 2> 화합물 10 제조

[0098] MeOH(1 mL)에 용해된 루테늄 수용체 2(9.6 mg, 0.01 mmol) 용액에 MeOH(1 mL)에 용해된 양쪽자리성 공여체 4(2.6 mg, 0.01 mmol) 용액을 한방울씩 첨가하였다. 그 후, 상기 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 여과하고 감압 하에서 용매를 제거하였다. 남아있는 고체를 디에틸에테르로 세정하여 바다색 분말을 얻었다(수율 92%, 도 5 참조).

[0099]  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $[\text{D}_4]\text{MeOH}$ ):  $\delta$ =8.46 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=6.2$  Hz, 4H), 7.55 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=6.1$  Hz, 4H), 7.17 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=9.7$  Hz, 4H), 7.12 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=8.2$  Hz, 4H), 7.08 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=9.9$  Hz, 4 H), 7.03 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=8.2$  Hz, 4H), 5.83-5.86 (m, 8H), 5.59 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=6.3$  Hz, 4H), 5.54 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=6.0$  Hz, 4H), 2.78-2.84 (m, 4 H), 2.21 (s, 6H), 2.12 (s, 6H), 1.33 (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=7.2$  Hz, 12 H), 1.29 ppm (d,  $^3\text{J}(\text{H,H})=3.2$  Hz, 12H);

[0100]  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $[\text{D}_4]\text{MeOH}$ ):  $\delta$ =172.3, 171.0, 170.3, 151.802, 137.8, 136.8, 136.3, 134.3, 130.7, 128.4, 127.4, 122.8, 122.5, 118.294, 111.8, 110.7, 103.2, 99.7, 99.6, 97.6, 86.2, 84.5, 82.4, 78.7, 30.7,

30.6, 21.1, 21.1, 16.4, 15.9 ppm;

MS (ESI): m/z: 880.93 [10-20Tf]<sup>2+</sup>.

### <실시에 3> 화합물 11 제조

물(1 mL)에 용해된 루테늄 수용체 2(9.6 mg, 0.01 mmol) 용액에 CH<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>(1 mL)에 용해된 양쪽자리성 공여체 5(2.6 mg, 0.01 mmol) 용액을 한방울씩 첨가하였다. 그 후, 상기 혼합물을 60℃에서 12시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 여과하고 감압 하에서 용매를 제거하였다. 남아있는 고체를 디에틸에테르로 세정하여 바다색 분말을 얻었다(수율 90%).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, [D<sub>6</sub>]acetone): δ=8.76 (s, 2H), 8.63 (d, <sup>3</sup>J(H,H)=4.6 Hz, 2H), 8.33 (d, <sup>3</sup>J(H,H)=7.9 Hz, 2H), 7.52-7.58 (m, 2H), 7.23 (d, <sup>3</sup>J(H,H)=9.8 Hz, 4H), 7.17 (d, <sup>3</sup>J(H,H)=8.4 Hz, 4H), 7.07 (d, <sup>3</sup>J(H,H)=9.8 Hz, 4 H), 7.01 (d, <sup>3</sup>J(H,H)=8.3 Hz, 4 H), 6.05 (d, <sup>3</sup>J(H,H)=6.2 Hz, 4H), 5.99 (d, <sup>3</sup>J(H,H)=5.8 Hz, 4H), 5.83 (d, <sup>3</sup>J(H,H)= 6.2 Hz, 4 H), 5.60 (d, <sup>3</sup>J(H,H)=5.8 Hz, 4H), 2.85-3.02 (m, 4H), 2.19 (s, 6H), 2.18 (s, 6H), 1.36 (d, <sup>3</sup>J(H,H)=6.8 Hz, 12H), 1.31 ppm (d, <sup>3</sup>J(H,H)=6.9 Hz, 12H);

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, [D<sub>6</sub>]acetone): δ=170.7, 170.1, 169.5, 153.5, 151.7, 141.6, 138.5, 137.9, 136.3, 130.5, 128.9, 125.9, 123.561, 122.0, 119.2, 111.9, 110.7, 102.9, 100.1, 99.2, 96.7, 94.6, 85.0, 84.8, 82.7, 82.4, 79.0, 48.8, 30.7, 21.5, 16.6, 16.5 ppm;

MS (ESI): m/z: 1910.93 [11-OTf]<sup>+</sup>.

### <실험예 1> 암세포 성장 저해 분석 - MTT 분석

앞선 비교예 및 실시예에서 합성한 화합물들의 암세포에 대한 성장 저해 분석 실험을 수행하였다.

보다 구체적으로, 암세포를 10% 열 비활성화 소 태아 혈청(FBS) 및 1% 항생제가 보강된 돌베코 변형 이글 배지(DMEM) 및 RPMI 1640 배지에서 37 ℃ 및 5% CO<sub>2</sub> 하에서 배양하였다. 각 다른 세포들의 현탁액을 96 웰 플레이트에 1x10<sup>4</sup> 세포수/웰의 농도로 분주하였다. 다음으로 MTT를 인산 완충액(PBS, pH 7.2)에 용해시키고 여과시켜 5 mg/ml의 저장용액으로서 제조하였다. 비교예 및 실시예에서 합성한 각 화합물을 DMSO에 용해시킨 용액을 배지에 용해시키고 적절한 농도로 단계별 희석하여 최종 DMSO(디메틸설폭사이드) 농도가 0.1%가 되도록 준비하였다. 이렇게 준비된 비교예 및 실시예에서 합성한 화합물 용액을 처리한 후 10 μL의 MTT 용액을 각 웰에 첨가하였다. 37 ℃ 및 5% CO<sub>2</sub> 하에서 4시간 동안 배양시킨 다음, 100 μL의 DMSO를 각 웰에 첨가하였다. 이후 상기 96 웰 플레이트를 효소 연결된 면역흡착제 분석법(ELISA) 리더기로 550 nm에서 흡광도를 읽음으로써 상기 화합물을 처리한 세포와 비처리한 세포의 흡광도의 비로부터 세포 생존도 및 생존한 세포의 백분율을 측정하였다. 이때, 비교를 위하여 실시예에 따른 화합물 대신 종래 항암제로 사용되는 시스플라틴(cisplatin) 및 독소루비신(doxorubicin)을 각각 처리하여 동일하게 실험하였다.

세포 성장 저해에 대한 IC<sub>50</sub> 값은 선형 회귀 함수를 사용하여 약물 농도의 로그에 대한 생존한 세포의 로그 백분율의 플롯(plot)을 피팅(fitting)함으로써 측정되었다.

그 결과, 다음 표 1와 같이 화합물 9 내지 11이 A549 (폐암세포주), AGS (위암세포주), HCT-15 (직장암세포주) 및 SK-hep-1 (간암세포주)에 대한 항암 활성을 나타내었고, 특히, 화합물 10이 가장 뛰어난 항암 활성을 나타내었다. 반면, 화합물 6 내지 8은 항암 활성이 없는 것으로 나타났다 (IC<sub>50</sub> > 200 μM).

표 1

| 화합물 | IC <sub>50</sub> [M] |     |        |          |
|-----|----------------------|-----|--------|----------|
|     | A549                 | AGS | HCT-15 | SK-hep-1 |

|       |        |        |        |       |
|-------|--------|--------|--------|-------|
| 6     | >200   | >200   | >200   | >200  |
| 7     | >200   | >200   | >200   | >200  |
| 8     | >200   | >200   | >200   | >200  |
| 9     | 32.76  | 8.00   | 38.71  | 24.24 |
| 10    | 30.94  | 5.68   | 23.41  | 19.28 |
| 11    | 124.72 | 17.18  | 129.19 | 82.97 |
| 시스플라틴 | 10.44  | 129.81 | 12.20  | 14.93 |
| 독소루비신 | 2.09   | 1.49   | 8.44   | 2.75  |

[0113] 그리고, 도 2에 도시된 바와 같이, 화합물 9 내지 11은 농도의존적으로 암세포에 대한 항암 활성을 나타내었다.

#### [0114] <실험예 2> 세포 이미지 분석

[0115] AGS 세포를 이용하여 세포 이미지 기반 아파토티시스 분석을 수행하였다. 이때, 분석은 Tali 이미지 기반 세포분석기를 이용하였다. AGS 세포 용액물 (100 mL,  $1 \times 10^5$  내지  $1 \times 10^7$  cell/mL)을 마이크로 원심분리 튜브로 옮긴 후, 죽은 세포를 염색하기 위하여 PI(Propidium Iodide)-기반 Tali Dead Cell Red 시약 (1 mL)을 첨가하여 얻어진 용액을 진탕하여 혼합하였다. 이러한 세포 혼합물을 암실 실온에서 1 내지 5분 동안 배양하였다. 배양 후, Tali 이미지 기반 세포분석기 상에서 분석하였다. Tali 기기는 3개-채널 (명시야, 녹색형광, 적색형광) 벤치-탑 분석 플랫폼으로서, 녹색형광단백질(GFP), 적색형광단백질(RFP) 발현, 아파토티시스 및 세포 생존 분석에 유용하다.

[0116] 그 결과, 도 3B 및 도 3C와 같이 화합물 9 및 10은 아파토티시스를 통해 AGS 세포사를 유도하는 반면, 도 3D와 같이 아파토티시스와 무관하게 AGS 세포사를 유도하는 것으로 확인되었다.

#### [0117] <실험예 3> 생체 내 항암 활성 검토 - 중공섬유(hollow-fiber; HF) 분석

[0118] AGS 세포를 배양 플라스크( $75 \text{ cm}^2$ )에서 5%  $\text{CO}_2$  분위기 하 95% 상대 습도로  $37^\circ\text{C}$ 에서 배양하였다. 폴리비닐리덴 플루오라이드 HF는 1 mm 내부 직경과 500 kDa 분획 분자량을 갖는 것을 사용하였다. 멸균 HF를 먼저 정상 성장 배지에 씻은 후, AGS 세포를  $5 \times 10^5$  cell/mL의 밀도로 로딩하였다. 뜨거운 smooth-jaw 니들 홀더로 길이 방향으로 매 1.5 cm마다 각 섬유를 열 봉합하고, 핸들링 편의를 위해 2 mm 꼬리를 갖는 단편으로 잘랐다. 가장 높은 분주 밀도에서 각 섬유는 1.5 cm이었다.

[0119] 각 HF 단편은 약  $10^5$  세포를 함유하였다. 로딩된 HF는 이식 전 세포외에서 24 시간 동안 정상 성장 조건 하에서 유지시켰다. HF의 생체 내 이식을 위해, 6주령 수컷 누드 마우스를 사용하였다. 모든 동물은 12시간 명암 주기 하에서 사육하였고 식이 및 물을 제한하지 않았다.

[0120] 마우스를 졸레틸(Zoletil)과 롬펀(Rompun)으로 마취시키고, HF를 피하(SC)와 복강(IP) 부위로 이식하였고, 절개 부위를 피부 스테이플을 이용하여 밀봉하였다. 2일 후, 수컷 마우스를 튜브식으로 체중 대비 100 mg/kg을 7일 동안 식이하였다. HF 내 살아있는 세포수를 분석하기 위하여, HF를 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA, 0.5 mL)로 옮겨 메스로 길이방향으로 반정도 자르고 EDTA 용액에서 3분 동안 세정하였다. 그 후, HF를 트립신(0.5 mL)에서 5분 동안 세정한 후, 배지에서 3분 동안 세정하였다. 모든 세정액을 모아 500g에서 5분 동안 원심분리 하여 세포를 수확하였다. 살아있는 세포 수를 트리판 블루 색소 배제법을 이용하여 측정하였다.

[0121] 그 결과, 도 4와 같이 화합물 10의 처리에 의해 중공섬유에서 AGS 세포의 세포억제율이 IP 및 SC 부위에서 각각 약 27% 및 8%로 나타났다.

#### [0122] <실험예 4> X-선 구조 분석

[0123] X-선 회절 분석에 적합한 화합물 10의 단결정은 아세톤 내 복합체의 농축용액 내에 디에틸에테르의 진공 분산에 의해 얻었다. 이러한 화합물 10의 단결정으로부터 회절 데이터를 거대분자 결정학 빔 라인 6B1, 포항 가속기 연구소(PAL)에서 100 K 에서 싱크로트론 방사선( $\lambda = 0.800000 \text{ \AA}$ )을 이용한 ADSC 양자 210 CCD 회절미터상에서

수집하였다. 초기 데이터를 프로그램 HKL2000을 이용하여 가공 및 축소하였다. 구조는 직접적 방법에 의해 규명되었고, SHELXTL 프로그램 패키지에 있는 적절한 소프트웨어를 이용하여  $F^2$ 상에 full-matrix least-squares refinement로 정련하였다. CCDC-914628(10)에 본 실험에 필요한 결정학상의 보조 데이터가 게시되어 있고, 이는 [www.ccdc.cam.ac.uk/data\\_request/cif](http://www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif) 또는 Cambridge Crystallographic Data Centre, 12, Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK 에서 무료로 얻을 수 있다.

그 결과, 화합물 10의 X-선 회절 데이터는 다음 표 2 및 도 6과 같다.

표 2

| Bond      | Length [Å] | Bond      | Length [Å] |
|-----------|------------|-----------|------------|
| Ru1-O     | 2.087(5)   | Ru1-O1    | 2.072(5)   |
| Ru1-O2    | 2.047(5)   | Ru2-O3    | 2.058(5)   |
| Ru2-O4    | 2.041(5)   | Ru2-N     | 2.120(7)   |
| Bonds     | Angle [°]  | Bonds     | Angle [°]  |
| Ru2-Ru1-O | 96.8(5)    | Ru1-Ru2-N | 78.3(7)    |
| O2-Ru1-O1 | 84.3(2)    | O2-Ru-O   | 81.0(2)    |
| O1-Ru-O   | 84.1(2)    | O3-Ru2-O4 | 87.3(2)    |
| O4-Ru2-N  | 82.0(2)    | O3-Ru2-N  | 82.9(2)    |

한편, 본 발명에 따른 화합물 10은 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.

#### <제제예 1> 정제(직접 가압)

화합물 10 5.0mg을 체로 친 후, 락토스 14.1 mg, 크로스포비돈 USNF 0.8 mg 및 마그네슘 스테아레이트 0.1 mg을 혼합하고 가압하여 정제로 제조하였다.

#### <제제예 2> 정제(습식 조립)

화합물 10 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.

#### <제제예 3> 분말과 캡슐제

화합물 10 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.

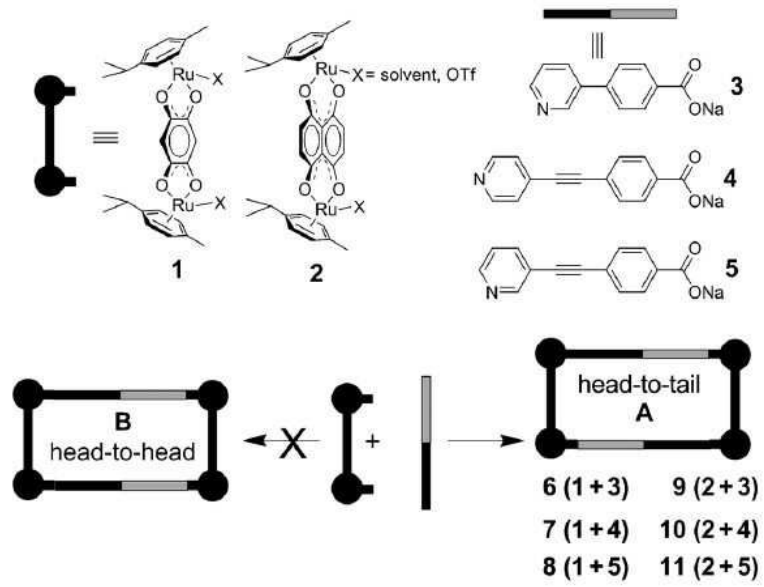
#### <제제예 4> 주사제

화합물 10 100 mg, 만니톨 180 mg,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  26 mg 및 증류수 2974 mg를 혼합하였다. 상기 혼합 용액을 투명 유리로 된 앰플 중에 충전시키고, 유리를 용해시킴으로써 상부 격자하에 봉입시키고, 120 °C에서 15분 이상 오토클레이브시켜 살균하여 주사제를 제조하였다.

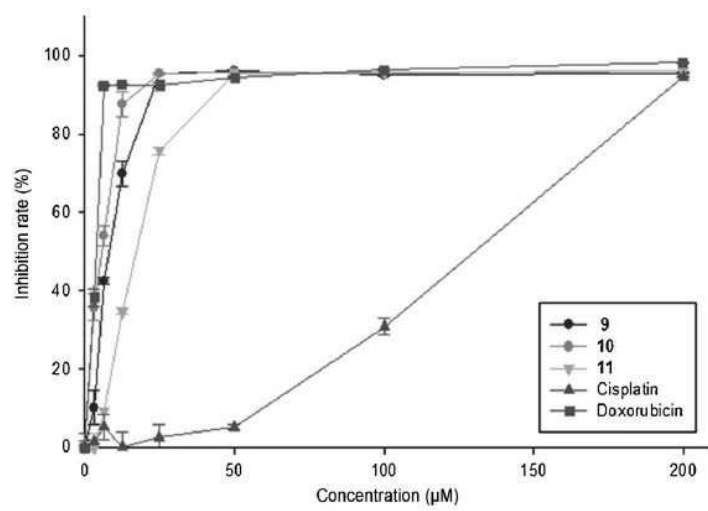
이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시예일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

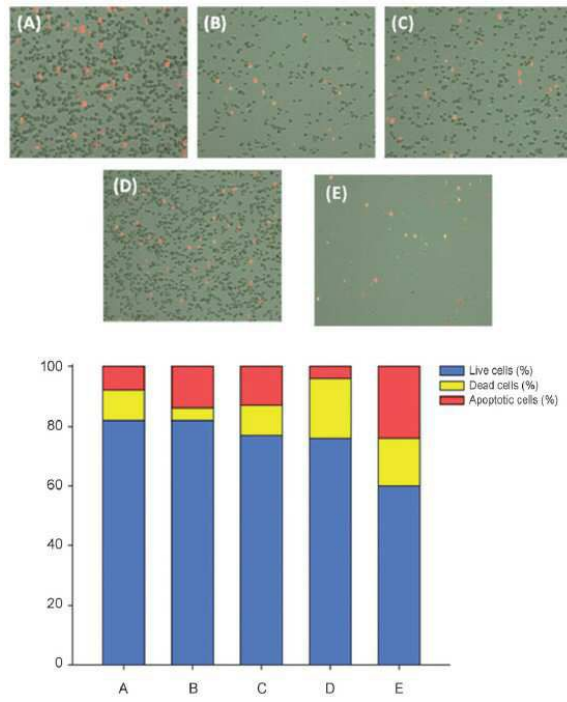
도면1



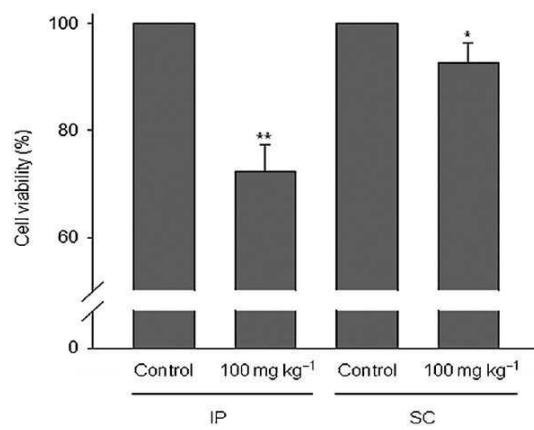
도면2



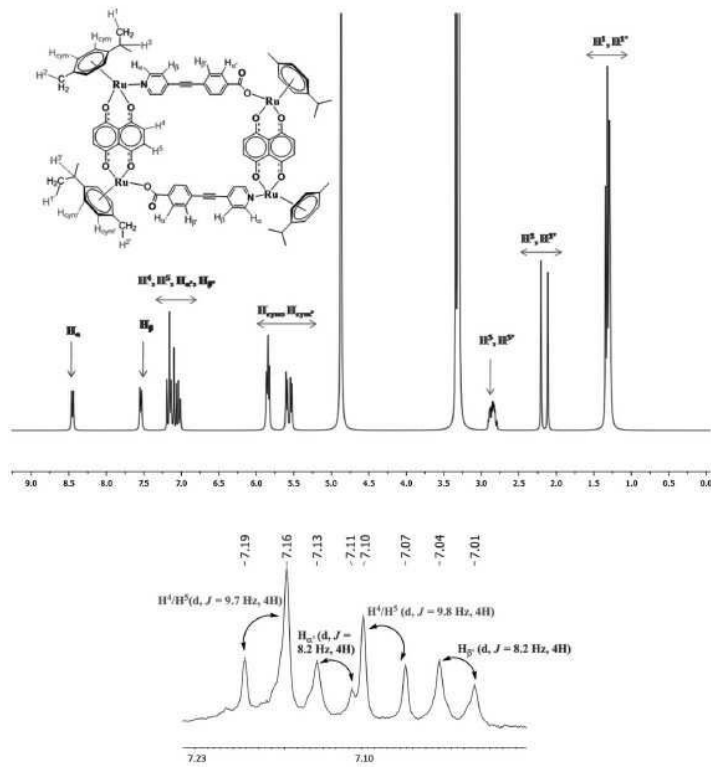
도면3



도면4



도면5



도면6

