



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년03월13일
(11) 등록번호 10-1837974
(24) 등록일자 2018년03월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 401/12 (2006.01) A61K 31/4709 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01) C07D 215/26 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-7030702
(22) 출원일자(국제) 2011년05월06일
심사청구일자 2016년04월18일
(85) 번역문제출일자 2012년11월23일
(65) 공개번호 10-2013-0029772
(43) 공개일자 2013년03월25일
(86) 국제출원번호 PCT/HU2011/000043
(87) 국제공개번호 WO 2011/148208
국제공개일자 2011년12월01일
(30) 우선권주장
P1000243 2010년05월06일 헝가리(HU)
(56) 선행기술조사문헌
Journal of the American Chemistry Society,
Vol. 75, No. 17, pp. 4306-4307 (1953)*
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
"아비딘" 쿠타토, 페레즈토 에스 케레스켈데미
코라톨트 펠레로세구 타르사사그
헝가리, 세제드, 올소 키코토 소르 11
우비캄 쿠타토 콜라톨트 페레로세구 탈사사그
헝가리, 부다페스트 에이치-1097 일라토스 우트
33
(72) 발명자
푸스카스, 라슬로
헝가리, 세제드, 에이치-6726, 마그돌나 유. 17
스자보, 크사바
헝가리, 에이치-9021 그올, II/28, 스텐트 이스타
벤 우트자 19-25
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
최덕규, 윤형근

전체 청구항 수 : 총 6 항

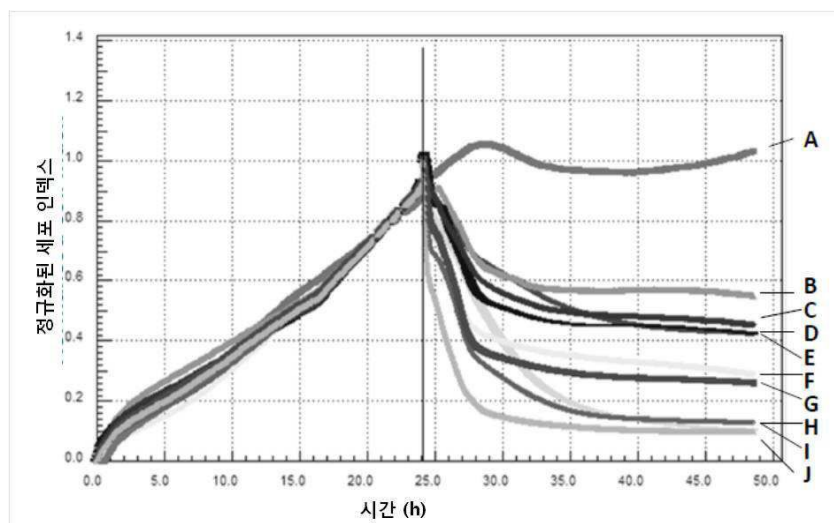
심사관 : 윤소라

(54) 발명의 명칭 8-하이드록시-퀴놀린 유도체

(57) 요약

본 발명은 일반식(I)의 화합물 및 이들의 약학적으로 수용가능한 염에 관한 것이다(일반식(I)에서, R₁은 수소원자, 저급 알킬기, 저급 알케닐기, 저급 시클로알킬기, 아릴기, 아랄킬기 또는 헤테로고리기를 나타내며, 상기 기는 1, 2, 3 또는 4개의 전자 인출기 또는 전자 공여기로 오르토, 메타 및/또는 파라 위치에서 치환되고; R₂는 수소원자, 저급 알킬기, 아릴기, 아랄킬기 또는 헤테로고리기를 나타내며, 상기 기는 하나 이상의 할로겐원자로 선택적으로 치환되고; R₃은 저급 알킬기, 아릴기, 아랄킬기 또는 헤테로고리기를 나타내며, 상기 기는 1, 2, 3 또는 4개의 전자 인출기 또는 전자 공여기로 오르토, 메타 또는 파라 위치에서 선택적으로 치환되고; R₄는 수소원자, 저급 알킬기 또는 모든 산성의 기능기를 나타내고; 그리고 n은 1 또는 2임). 본 발명의 화합물은 주로 신경성 및/또는 산화적 스트레스와 관련된 질병의 치료용 약제로 사용될 수 있다.

대표도 - 도2



(72) 발명자

카니즈샤, 아이반

헝가리, 에이치-6725 세게드, 네메스타카스 우트카 47

가그리스, 마리오

헝가리, 에이치-6724 세게드, 파리즈시 케이알티. 25

마닥시, 레모나

헝가리, 에이치-6414 필토, 애디 엔드레 우트 5

오즈스바리, 벨라

헝가리, 에이치-6726 세게드, 베드레스 우트카 14/비, 9/26

페헬, 릴리아나

헝가리, 에이치-6724 세게드, 막코셀도 솔 34/에이, 2/3

타마스, 가볼

헝가리, 에이치-6722 세게드 스펜다롬사그 유. 4

(56) 선행기술조사문헌

Journal f. prakt. Chemie., Vol. 327, No. 5, pp.871-877 (1985)*

Molecular and Cellular Endocrinology, Vol. 301, pp. 245-250 (2009)*

Journal of Organic Chemistry, Vol. 19, No. 6, pp.907-909 (1954)*

W02009151972 A1*

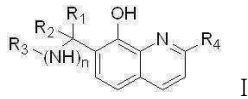
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

명세서

청구범위

청구항 1

하기 일반식(I)의 화합물 또는 이들의 약학적으로 허용가능한 염:



상기 식에서,

R₁은 오르토, 메타 또는 파라 위치에서 수산기, 트리플루오르메틸기 또는 니트로기로 임의 치환된 페닐기; 또는 오르토, 메타 또는 파라 위치에서 할로겐 원자, 트리플루오르메틸기, 니트로기 또는 저급 알킬기로 임의 치환된 피리딜기이고;

R₂는 수소원자이며;

R₃은 오르토, 메타 또는 파라 위치에서 할로겐 원자, 트리플루오르메틸기, 니트로기 또는 저급 알킬기로 임의 치환된 피리미딘기이며;

R₄는 수소원자 또는 메틸기이고; 그리고

n은 1임.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 일반식(I)의 화합물이,

7-((4-메틸피리미딘-2-일아미노)(4-니트로페닐)메틸)퀴놀린-8-올;

7-((4-메틸피리미딘-2-일아미노)(4-(트리플루오로메틸)페닐)메틸)퀴놀린-8-올;

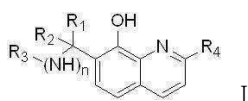
7-[(2-하이드록시페닐)-(4-메틸-피리미딘-2-일아미노)-메틸]-퀴놀린-8-올;

7-[(4,6-디메틸-피리미딘-2-일아미노)-(4-트리플루오로메틸-페닐)-메틸]-퀴놀린-8-올;

로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 일반식(I)의 화합물.

청구항 5

하기 일반식(II)의 8-하이드록시-퀴놀린 유도체를 하기 일반식(III)의 옥소(oxo) 화합물 및 하기 일반식(IV)의 아민과 반응시키는 단계로 이루어지는 것을 특징으로 하는 하기 일반식 (I)의 화합물의 제조방법:



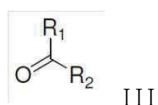
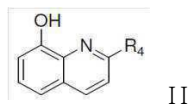
R₁은 오르토, 메타 또는 파라 위치에서 수산기, 트리플루오르메틸기 또는 니트로기로 임의 치환된 페닐기; 또는 오르토, 메타 또는 파라 위치에서 할로겐 원자, 트리플루오르메틸기, 니트로기 또는 저급 알킬기로 임의 치환된 피리딜기이고;

R₂는 수소원자이며;

R₃은 오르토, 메타 또는 파라 위치에서 할로겐 원자, 트리플루오르메틸기, 니트로기 또는 저급 알킬기로 임의 치환된 피리미딘기이며;

R₄는 수소원자 또는 메틸기이고; 그리고

n은 1이고,



상기 치환기는 상기에서 일반식 (I)에서 설명된 것과 동일하고, R_{3'}은 R₃이 의미하는 것으로부터 독립적으로 선택되고 R_{3'}는 수소원자일 수도 있으며, R₃ 및 R_{3'}는 고리식의 이차아민을 형성하면서 서로 연결될 수 있음.

청구항 6

허혈, 제관류 손상, 심혈관 질환, 신경퇴행성 질환, 트라우마, 신경정신병, 및 간, 신장 및 폐 손상으로부터 선택되는 질병 치료용 약학적 조성물로서, (A) 제1항의 화합물, 또는 약학적으로 허용가능한 산 또는 염기로 형성된 상기 화합물의 염, 및 (B) 약학적으로 허용가능한 고체 또는 액체 담체 또는 부형제를 포함하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 7

약제

청구항 8

제6항에 있어서, 상기 신경퇴행성 질환은 알츠하이머 및 헌팅턴병을 포함하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 9

제6항에 있어서, 상기 신경정신병은 우울증 및 불안장애를 포함하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 신규한 퀴놀린 유도체, 퀴놀린 유도체의 합성방법, 퀴놀린 유도체를 포함하고 있는 약제 조성물 및 이러한 약제 조성물의 제조방법에 관한 것으로, 신경계 스트레스 및/또는 산화적 스트레스(oxidative stress)와

[0001]

관련된 질병 뿐만 아니라 다른 질병을 치료하고 예방하는데 본 발명의 신규한 8-하이드록시-퀴놀린-유도체를 사용하는 것에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 본 발명은 세포보호성이 있으며 금속킬레이트(metal chelate)를 형성하는 의료용 약제를 설명한다. 또한, 본 발명의 목적은 허혈(ischemia), 재관류 손상(reperfusion injury), 심혈관 질환, 신경퇴행성 질환(알츠하이머 및 헌팅턴병 포함) 및 트라우마(trauma)를 치료하는 것이다. 또한, 본 발명의 목적은 우울증 및 불안장애와 같은 기타 신경 정신병을 치료하는 것이다. 본 발명의 또 다른 목적은 간, 신장 또는 폐 손상을 치료하는 것이다. 본 발명의 화합물은 신경보호효과 및 심장보호효과를 가진 약제로 사용될 수 있으며, 신경 정신병 치료용으로 사용될 수 있다.
- [0003] 본 발명의 명세서에서 인용된 공개특허 및 인용특허는 발명의 상세한 설명에서 참조문헌으로 인용되었다.
- [0004] 다양한 질병의 원인이 되는 세포 손상 및 세포사멸은 많은 심장혈관성, 신경성 및 염증성 질병의 주된 특징이다. 세포손상은 세포 저산소증 또는 허혈, 다양한 종류의 산화제 또는 활성산소(유리 라디칼)의 생성, 및/또는 다양한 생물학적 매개물질(사이토카인(cytokine), 케모카인(chemokine), 지질 매개물질)의 과잉생성으로 인해 야기될 수 있다. 이러한 과정은 종종 상호의존적이어서, 자가증식하는("자살") 세포 내 사이클의 일부분에서 발생할 수 있으며, 많은 인간 질병의 원인이 될 수 있다. 세포사멸은 일반적으로 세포노화 또는 세포괴사로 분류되지만, 이러한 두 가지 형태는 단지 세포 손상 스펙트럼의 최종현상이다. 세포사멸에 관여하는 세포 내 기작은 복잡하지만, 종종 세포사멸 카스파아제(caspase)로 불리는 세포사멸 영향군(cell death effector family), 미토콘드리아 기능장애, 미토콘드리아 탈분극, 활성산소 생성, 및 세포기질 내로 미토콘드리아 구성요소의 방출(참조문헌: Szabo 2005; Duprez 등, 2009; Degterev es Yuan, 2008; Wang 등, 2009)을 활성화한다. 세포사멸 경로는 폴리(ADP-리보오스) 폴리메라제(poly(ADP-ribose) polymerase, PARP)의 활성을 포함한다. PARP는 핵에서 발현한다(참조문헌: Jagtap 및 Szabbo 2005).
- [0005] 세포손상 및 세포사멸을 예방하는 화합물은 일반적으로 "세포보호(cytoprotective)" 화합물로 명명된다. 세포보호는 다양한 약리학적, 생화학적 방법에 의해 이루어질 수 있다. 이들의 예는 다음과 같다: 산화제 및 활성산소의 스캐빈저(scavenger), 특정 사멸 작동자 경로(death effector pathway)의 억제, 세포막 안정화 등. 허혈 또는 이와 관련된 일부 질병에서, 철 및 구리 양이온은 세포 손상의 원인이 되는 것으로 알려져 있는 Haber-Weiss 경로에서 수산화-유리 라디칼(radical) 형성을 촉매하는 조직으로부터 방출된다. 이러한 금속 양이온의 불활성 또는 킬레이트(chelate) 형성은 세포보호 효과를 줄 수 있다. 따라서, 사이드로포어(siderophores)(예, 데페록사민(deferoxamine))을 형성하는 철-킬레이트가 투약되도록 철 및 구리 양이온의 촉매 효율성을 낮추고자 본 발명의 실험을 수행하였다.
- [0006] 글루탐산염(glutamate)은 화학적 전달자(chemical messenger)로서 글루탐산염을 사용하여 신경계 세포의 시냅토솜으로부터 아연 양이온과 함께 방출되는 것으로 알려져 있다. 신경계 시냅시스(synapsis)내에 방출되는 아연은 항상 시냅토솜 내에 신속하게 축적된다. 허혈, 지속적인 충격 및 뇌 손상으로 인하여, 시냅토솜에서 방출되는 아연은 뉴런을 둘러싸고 있는 세포 외부의 액체에 축적된다. 과도한 양의 아연이 세포체에 들어가면, 아연은 세포노화 또는 세포괴사에 의한 세포사멸을 유발할 수 있다. 이러한 기작에 의해 형성되는 아연-킬레이트는 뇌세포 보호작용(neuroprotection)을 할 수 있으며, 다양한 신경 정신병의 결과에 영향을 끼칠 수 있다(Regland 등, 2001; Koh 등, 1996).
- [0007] 따라서, 아연에 킬레이트 고리를 형성하는 약제는 플라크(plaque) 내에 발생하는 아연을 결합하여 플라크의 구조를 약화함으로써 알츠하이머의 치료에 사용될 수 있다(Frederickson 등, 2005; Schafer 등, 2007). 아연-킬레이트 고리를 형성하는 약제는 헌팅턴병 치료에도 효과적일 수 있다(Nguyen 등, 2005).
- [0008] 다른 세포보호 방법으로, 세포보호효과를 조정하는 세포 내 경로를 도입할 수 있다. 이러한 접근법의 원형은 소위 일컫는 "허혈전처치(ischemic preconditioning)"로, 세포 또는 기관은 세포보호 유전자(예, 항산화 효소, 열충격 단백질, 등)의 발현을 과도하게 유도하기 위하여 단기간 동안 허혈상태가 된다. 효소(HO-1)의 헴옥시게나제(heme oxygenase)의 발현은 일부 실험에서 세포보호효과를 나타냈다(예, Li 등, 2007; Idris 등, 2008).
- [0009] 세포보호 접근법과 관련된 이전 특허출원은 다음에 관한 것이다: 다양한 세포노화 경로 또는 작동체의 억제자(예, 미국특허 제6,949,516호, 제6,737,511호, 제6,737,511호, 제6,544,972호, 제6,521,617호, 제6,495,522

호, 제7,604,989호, 제7,601,846호, 및 제7,533,852호); 세포손상 동안에 미토콘드리아 기능을 유지(예, 미국특허 제6,552,076호, 제6,511,966호, 제7,550,439호, 및 제7,528,174호); PARP 효소의 촉매활성을 직접적으로 억제(예, 미국특허 제6,476,048호, 제6,531,464호, 제7,601,719호, 제7,595,406호, 제7,550,603호, 제7,449,464호, 제7,217,709호, 제6,956,053호, 및 제6,534,651호); 및 세포보호 유전자의 과다조절(힘옥시게나제 포함)(예, 미국특허 제7,524,819호, 및 제7,364,757호).

[0010] 소포체 스트레스를 억제하는데 사용되는 화합물은 미국특허출원공개 제2008/293699호에 기재되어 있다.

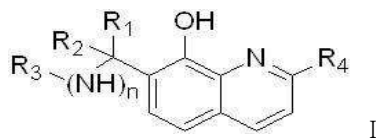
[0011] 세포-기반 스크린시험(cell-based screening test)을 수행하였다. 이 시험에서, 세포손상을 예방하거나 지연하는 화합물을 확인하고자, 특정형태의 세포 손상에 대하여 모의실험하고 화학제품 라이브러리를 스크린하였다(예, Gero 등, 2007).스크린 시험에 의해 세포손상에 대한 효과의 기작을 확인할 수 없으며, 이러한 기작은 2차 시험에 의해 확인 가능하다.

[0012] 세포-기반 스크린방법에 의해서, 우리는 신규한 하이드록시-퀴놀린 유도체를 발견하고 증명하였다. 이 화합물은 산화적 스트레스에 의해 유도된 손상으로부터 세포를 보호하므로, 다양한 질병에 대한 치료 가능성을 보여준다. 본 발명의 화합물은 세포에서 다양한 효과를 보여준다(예, 철-킬레이트 고리를 형성, RARO-활성 억제, 미토콘드리아 기능장애를 억제, 및 철 이온을 형성하는 킬레이트와 힘옥시게나제의 활성). 본 발명을 수행하는 과정에서, 킬레이트화제(chelator)는 유리 형태의 철, 아연 및 구리 양이온 내에 부가되고 이로 인하여 이러한 화합물은 생리계와 접촉하게 되면 상기 양이온과 복합체를 형성한다.

[0013] 본 발명의 약제 조성물은 활성있는 약제로 킬레이트화제를 포함하며, 철, 구리 또는 아연 양이온과 복합결합(complex bond)하지 않는다.

[0014] 본 발명의 또 다른 목적은 세포사멸과 관련된 질병으로 고통받는 환자에서 신경보호효과 및/또는 심장보호효과를 보는 것이다. 뇌세포보호 및/또는 심장보호는 세포독성을 야기하는 공격으로부터 세포를 보호하는 본 발명의 화합물을 치료가 필요한 환자에게 투약함으로써 이루어진다.

[0015] 본 발명의 또 다른 목적은 화학식(I)의 화합물, 및 치료용으로 수용 가능한 이들의 염을 제공하는 것으로,



[0016] I

[0017] 상기 화학식에서,

[0018] R₁은 수소원자, 저급 알킬(alkyl)기, 저급 알켄닐(alkenyl)기, 저급 시클로알킬(cycloalkyl)기, 아릴(aryl)기, 아랄킬(aralkyl)기 또는 헤테로고리(heterocyclic)기를 나타내며, 상기 기는 선택적으로 오르토(ortho), 메타(meta) 및/또는 파라(para) 위치에서 1,2,3 또는 4개의 전자 인출기(electron withdrawing group) 또는 전자 공여기(electron donating group)로 치환되고;

[0019] R₂은 수소원자, 저급 알킬기, 아릴(aryl)기, 아랄킬기 또는 헤테로고리기를 나타내며, 상기 기는 선택적으로 하나 이상의 할로겐(halogen) 원자로 치환되며;

[0020] R₃은 저급 알킬기, 아릴기, 아랄킬기 또는 헤테로고리기를 나타내며, 상기 기는 선택적으로 오르토, 메타 또는 파라위치에서 1,2,3 또는 4개의 전자 인출기 또는 전자 공여기로 치환되며;

[0021] R₄는 수소원자, 저급 알킬기 또는 모든 산성의 기능기를 나타내고; 그리고

[0022] n은 1 또는 2이다.

[0023] 일반식(I)에 따른 화합물의 바람직한 기는 유도체이며, 여기에서,

[0024] R₁은 파라위치에서 전자 인출기로 치환되는 기, 메타위치에서 전자 인출기로 치환되는 기, 또는 오르토, 메타 또는 파라위치에서 전자 공여기로 치환되는 기를 나타내거나; 메타 및 파라위치에서 전자 인출기로 이중 치환되는 기를 나타내거나; 오르토 및 파라위치에서 전자 인출기로 이중 치환되는 기를 나타내거나; 또는 치환되지 않는 헤테로고리기를 나타내고;

[0025] R₃은 파라위치에서 전자 인출기로 치환되는 방향족(aromatic)기를 나타내거나; 또는 오르토, 메타 또는 파라위

치에서 알킬기 및/또는 전자 인출기로 치환되지 않거나 치환되는 헤테로방향족(heteroaromatic) 또는 지방족고리를 나타내며;

[0026] R_2 및 R_4 는 수소원자를 나타내고; 그리고

[0027] n 은 1이다.

[0028] 화학식(I)에 따른 본 발명의 화합물의 특히 바람직한 유도체에서,

[0029] R_1 은 선택적으로 니트로(nitro)기, 트리플루오로메틸(trifluoromethyl)기, 수산기, 플루오르원자 또는 아이소프로옥시(isopropoxy)기, 또는 피리딜(pyridyl)기로 단일 또는 이중 치환되는 페닐기를 나타내고;

[0030] R_2 는 수소원자를 나타내며;

[0031] R_3 은 선택적으로 메틸기, 플루오르원자, 니트로기, 피리미딘(pyrimidyl)기, 피롤리딘(pyrrolidinyl)기, 옥사졸리딘(oxazolidinyl)기, 또는 피라졸(pyrazol)기로 단일 또는 이중 치환된 트리플루오로메틸기, 메톡시-카르보닐(methoxy-carbonyl)기 또는 피리딜기로 선택적으로 단일 또는 이중 치환된 페닐기를 나타내고;

[0032] R_4 는 수소원자를 나타내고; 그리고

[0033] n 은 1이다.

[0034] 실시예의 표제 화합물로 언급되는 8-하이드록시-퀴놀린 유도체가 특히 바람직하다.

[0035] [도면의 간단한 설명]

[0036] 도 1a, 1b 및 1c는 심장 이식 후 실시 예 1에 따른 화합물의 재관류 손상 감소 효과를 나타낸다.

[0037] 도 2는 체외실험에서 살아있는 세포 상에서의 과산화수소에 의한 세포사멸에 대한 본 발명의 일부 화합물의 효과를 나타낸다.

[0038] 도 3은 체외실험에서 혼합된 뉴런 및 성상세포에서 과산화수소에 의한 세포사멸에 있어서 본 발명의 일부 화합물의 효과를 나타낸다.

[0039] 도 4는 고위십자미로(elevated plus-maze) 검사에서 실시예 1에 따른 화합물의 효과를 나타낸다.

[0040] 도 5는 강제수영(forced swimming)검사에서 실시예 1에 따른 화합물의 효과를 나타낸다.

[0041] 발명의 상세한 설명에서 사용되는 단어는 다음과 같이 이해되어야 한다.

[0042] 단어 "저급 알킬기"는 1-4개의 탄소원자를 가진 가지형(branched) 또는 무가지형(unbranched) 알킬기(예, 메틸기, 에틸기, 이소프로필기, 등)를 의미한다.

[0043] 단어 "저급 알켄닐기"는 2-4개의 탄소원자를 가진 가지형 또는 무가지형 알켄닐기(예, 알릴(allyl)기 또는 프로펜일(propenyl)기)를 의미한다.

[0044] 단어 "시클로알킬기"는 3-8개의 탄소원자를 포함하고 있는 고리식(cyclic)기(예, 시클로프로필(cyclopropyl), 시클로부틸(cyclobutyl), 시클로헥실(cyclohexyl)기, 등)를 의미한다.

[0045] 단어 "아릴기"는 한고리식(monocyclic) 또는 두고리식(bicyclic) 방향족 탄화수소기(예, 페닐기, 나프틸기(naphthyl), 등)를 의미한다.

[0046] 단어 "아라킬기"는 상기의 정의를 충족하는 상기 아릴기로 단일 또는 이중 치환된 알킬(예, 벤질(benzyl)기, 베타 페닐기에틸기(beta phenylethyl), 등)을 의미한다.

[0047] 단어 "헤테로고리기"는 하나 이상의 산소, 질소 및/또는 황을 포함하는 3 내지 7개의 원소, 바람직하게는 5 또는 6개의 원소를 가진 방향족기(예, 피리딜기, 피리미딘기, 피롤(pyrrole)기, 옥사졸(oxazole)기, 등)를 의미한다.

[0048] 단어 "할로겐 원자"는 브롬(bromine), 플루오로(fluorine), 염소(chlorine) 또는 요오드(iodine) 원자를 의미

하며, 플루오로 및 염소 원자가 바람직하다.

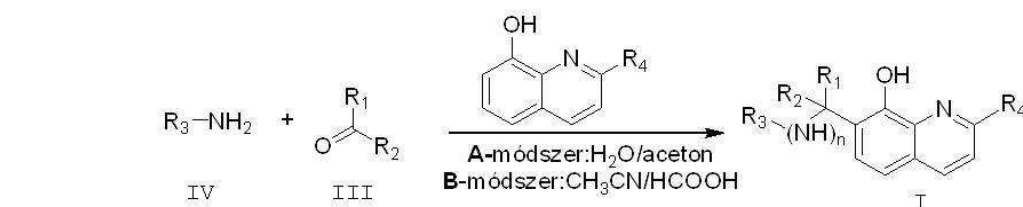
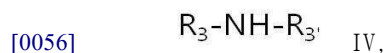
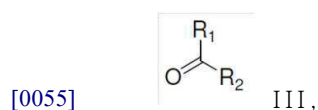
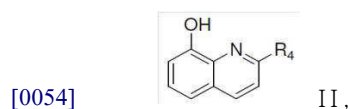
[0049] "전자를 인출하는(electron withdrawing)" 치환기는 바람직하게는 할로젠 원자, 트리플루오로메틸기 또는 니트로기이다.

[0050] "전자를 공여하는(electron donating)" 치환기 중에서, 저급 알킬기(예, 메틸기)가 언급된다.

[0051] "산성의 기능기"는 모든 에스테르기(저급 알콕시카르보닐(alkoxycarbonyl)기, 바람직하게는 메톡시카르보닐(methoxycarbonyl)기), 니트릴(nitrile)기 또는 산아미드(acid amide)기일 수 있다.

[0052] 일반 화학식(I)을 가지는 화합물은 수산기 상에 염기 또는 질소 원자 상에 산성의 염을 형성한다. 염을 형성하기 위하여, 약학적으로 수용 가능한 염기(예, 나트륨 또는 수산화칼륨과 같은 알칼리 금속 수산화물) 또는 약학적으로 수용 가능한 무기산 또는 유기산(예, 염산, 브로민화수소(hydrogen bromide), 아세트산, 푸마르산(fumaric acid), 말레산(maleic acid), 말산(malic acid), 호박산(succinic acid), 주석산(tartaric acid), 벤젠술폰(benzene sulphone)산, p-톨루엔술폰(p-toluene sulphone)산, 메탄술폰(methane sulphone)산, 등)이 사용될 수 있다.

[0053] 또한, 본 발명의 목적은 일반식(I)의 화합물 및 이들의 약학적으로 수용가능한 염의 제조방법을 제공하는 것으로, 일반식(II)의 하이드록시퀴놀린(hydroxyquinoline) 유도체는 일반식(III)의 옥소(oxo)-화합물 및 일반식(IV)의 아민(amine)과 반응한 후(화학식의 치환기는 상기에 정의된 것과 동일하며, R₃은 목적에 독립적으로 선택될 수 있으며, R₃'는 수소원자일 수도 있으며, R₃ 및 R₃'는 고리식 2차 아민을 형성하면서 서로 연결될 수 있다), 수득된 화학식(I)의 화합물은 선택적으로 약학적으로 수용가능한 염으로 선택적으로 전환되거나 이들의 염으로부터 방출된다.



[0058] 반응은 잘 알려진 개조된 Betti 반응을 사용하면서 수행한다(Betti, 1900; Betti, 1903; Phillips 등., 1954; Phillips 등., 1956; Phillips, 1956).

[0059] 반응을 용제 내에서 수행한다. 물 또는 유기성 용제(예, 아세토니트릴(acetonitrile)로 사용될 수 있다. 선택적으로, 반응을 산성의 촉매(예, 포름산(formic acid))가 있는 상태에서 수행한다.

[0060] 출발물질(starting material)에 따라 달리하면서 본 발명의 화합물을 준비하는데 있어서 하기의 방법 A 및 B를 사용하였다:

[0061] 방법 A:

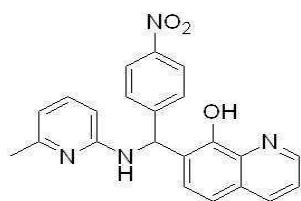
[0062] 2X 부피의 물에 1 mmol의 알데히드(aldehyde)를 부유하거나 녹인 후, 1.1 당량의 1차 아민을 첨가한다. 60 °C에서 1 시간 동안 가열 혼합물로 유지하고, 물 부피에 2 배인 아세토니트릴 또는 아세톤에 녹인 0.6 당량의 8-하이드록시-퀴놀린 용액을 적가한다. 그런 후, 혼합물을 실온에서 식힌 후, 침전물이 형성될 때까지 교반한다. HPLC 및 TLC 방법에 의해 반응을 모니터링한다. 침전물을 여과하고 아세토니트릴로 헹군 후, 건조한다.

[0063] 방법 B:

- [0064] 3X 부피의 아세토니트릴에 1 mmol의 알데히드를 녹이고 1 당량의 아민, 0.6 당량의 8-하이드록시-퀴놀린 및 1V/V% 포름산을 반응 혼합물에 첨가한다. 침전물이 형성되거나 출발(starting)퀴놀린 반점이 사라질 때까지 교반한다. 혼합물을 여과처리하고, 아세토니트릴로 행군 후, 헥산(hexane(이성질체 혼합물))/에틸 아세테이트 혼합물로 크로마토그래피를 수행하고, 알코올 또는 아세토니트릴로 재결정화한다.
- [0065] 반응을 마친 후에, 일반적인 방법(예, 여과 또는 원심분리)을 사용하여 반응 혼합물로부터 목적산물을 분리하고 필요에 따라 잘 알려진 방법(재결정화 또는 크로마토그래피)으로 정제한다.
- [0066] 또한, 본 발명의 목적은 활성 약제 및 불활성 고체와 같은 일반식(I)의 화합물을 포함하는 약제 조성물, 이들의 약학적으로 수용가능한 염, 또는 액상의 약제 운반체(carrier), 및/또는 부형제(賦形劑)를 제공하는 것이다.
- [0067] 본 발명의 약제 조성물은 고체(예, 정제, 캡슐) 반-고체(예, 좌약) 또는 액체(예, 주사가능한 용액)의 조제약일 수 있다. 본 발명의 조제약은 구강으로, 직장으로 또는 비경구적으로 투약될 수 있다. 본 발명의 조성물은 약학적으로 적합한 운반체 및/또는 부형제(예, 녹말, 셀룰로스 또는 셀룰로스-유도체, 젤당, 만니톨(mannitol), 염화나트륨, 탄산나트륨, 자당, 맥아당, 칼슘 탄산염, 등)를 포함할 수 있다.
- [0068] 본 발명의 약제 조성물은 신경성 및/또는 산화적 스트레스와 관련된 질병을 치료하는데 사용될 수 있으며, 이러한 질병을 치료하는 동안에 치료 효과를 가지는 용량의 일반식(I)의 화합물 또는 약학적으로 수용가능한 이들의 염을 치료가 필요한 환자에게 투약한다. 본 발명의 바람직한 구체예로, 신경성 또는 산화적 스트레스와 관련된 질병은 다음 질병에서 선택될 수 있다: 허혈, 재관류 손상, 심혈관 질환, 신경퇴행성 질환(특히 알츠하이머 및 헌팅턴병을 포함), 트라우마, 신경 정신병(특히 우울증 및 불안장애를 포함) 및 간, 신장 및 폐의 손상.
- [0069] 게다가, 본 발명의 약제 조성물은 간, 신장 및 폐 손상이 있을 경우, 및 우울증, 불안장애, 알츠하이머 및 헌팅턴병을 치료하거나 예방하는데 있어서 신경보호작용 및 심장보호효과를 위한 약제로 사용될 수 있다.
- [0070] 또한, 본 발명의 세부사항은 하기 실시예에서 상세히 설명되며, 하기 실시예로 본 발명의 보호범위가 한정되는 것은 아니다.

[0071] **화합물질의 실시예**

- [0072] **실시예 1:** 7-((6-메틸피리딘-2-일아미노)(4-니트로페닐)메틸)퀴놀린-8-올(7-((6-methylpyridin-2-ylamino)(4-nitrophenyl)methyl)quinolin-8-ol)



[0073]

[0074] **방법 A:**

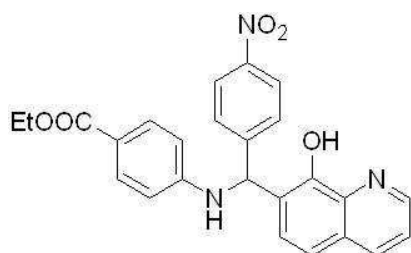
- [0075] 10.1 g(18.5 mmol, Sigma)의 4-니트로-벤즈알데히드(4-nitro-benzaldehyde)에 물(20 ml)을 적가한 후, 2-아미노-6-피콜린(picoline)(7.95 g, 1.1 당량, Aldrich)을 강하게 교반하면서 레몬노란색의 부유액에 첨가하였다. 20 mL의 아세톤(몰농도)과 함께 5.82 g의 8-하이드록시-퀴놀린(0.6 당량, Sigma) 용액을 부유액으로 첨가하고 반응용기를 60 °C에서 4 시간 동안 가열한 후, 용액을 실온에서 식혔다. 침전된 노란색 파우더를 여과하고(7.87 g 50.8%), 적은 양의 아세톤으로 행군 후, 순도를 HPLC(=99.5%)로 확인하였다.

[0076] **방법 B:**

- [0077] 4-니트로-벤즈알데히드(2.8 g, 18.5 mmol, Sigma)을 순수한 아세토니트릴(15 ml, 몰농도)에 녹이고, 2-아미노-6-피콜린(2 g, 1 당량, Aldrich)을 교반하면서 레몬노란색 용액에 첨가하였다. 1.61 g의 8-하이드록시-퀴놀린(0.6 당량, Sigma)을 혼합물에 첨가하고 실온에서 4 일 동안 교반하였다. 침전된 산물(4.2 g, 27.1 %)를 여과하고, 산물의 분자량을 질량 분석기로 확인하고, 구조는 NMR(MW: 386.1)로 나타내고, 순도는 HPLC(=99.6%)로 확인하였다.

[0078] $C_{22}H_{18}N_4O_3$ (MW: 386.1); m.p.: 157-160 °C; HPLC(CH_3CN/H_2O 70:30 Phenomenex C18 282 nm): T_r = 7.14 분 1H NMR **1**(DMSO) a 2.2(3H, s, CH_3), 6.37(1H, d, J = 7.0 Hz), 6.49(1H, d, J = 7.9 Hz), 6.98(1H, d, J = 8.8 Hz, NHCH), 7.28(1H, t, J = 7.9 Hz), 7.40(2H, t, J = 7.9 and 8.8 Hz), 7.50-7.55(1H, m), 7.59-7.66(3H, m), 8.16(2H, d, J = 8.8 Hz), 8.28(1H, d, J = 7.9 Hz), 10.1(1H, 위스콘신de s, OH) ^{13}C NMR **1**(DMSO) a 24.2(CH_3), 51.5(CH), 105.6(CH), 111.6(CH), 117.7(CH), 121.9(CH), 123.5(2xCH), 124.5(Cq), 126.7(CH), 127.7(Cq), 128.2(2xCH), 136.1(CH), 137.3(CH), 138.2(Cq), 146.2(Cq), 148.4(CH), 149.8(Cq), 152.0, 155.7 및 157.3(Cq).

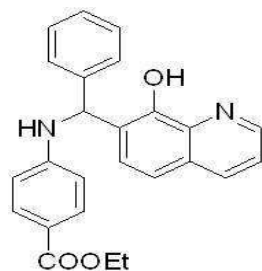
[0079] 실시예 2: 에틸 4-((8-하이드록시퀴놀린-7-일)(4-니트로페닐) 메틸아미노)벤조에이트(Ethyl 4-((8-hydroxyquinolin-7-yl)(4-nitrophenyl) methylamino)benzoate)



[0080]

[0081] 상기 화합물은 실시예 1의 화합물에서 설명된 방법 A 및 방법 B에 의해 제조되며, 출발물질로 벤조카인 (benzocaine)(Sigma), 4-니트로-벤즈알데히드(Sigma) 및 8-하이드록시퀴놀린이 출발물질로 사용된다는 점에서 차이가 있다. 칼럼크로마토그래피(column chromatography)에 의해 정제된 산물은 다음과 같다: $C_{25}H_{21}N_3O_5$ (MW: 443.2); 수율: 50 mg(30.9%, 방법 A). HPLC(CH_3CN/H_2O 70:30 Phenomenex C-18 254 nm): T_r = 8.82 분.

[0082] 실시예 3: 4-[[8-하이드록시퀴놀린-7-yl)-페닐-메틸]-아미노)-벤조산 에틸 에스테르(4-[[8-hydroxyquinolin-7-yl)-phenyl-methyl]-amino)-benzoic acid ethyl ester)

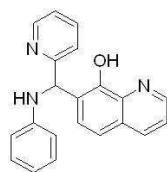


[0083]

[0084] $C_{25}H_{22}N_2O_3$ (MW: 398.1)

[0085] 상기 화합물은 실시예 1의 방법 A에 의해 제조하였다.

[0086] 실시예 4: 7-(페닐아미노-피리딘-2-일-메틸)-퀴놀린-8-올(7-(phenylamino-pyridin-2-yl-methyl)-quinolin-8-ol)

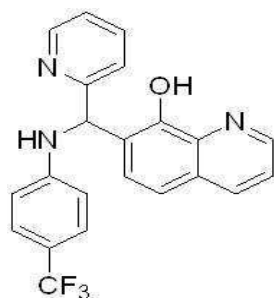


[0087]

[0088] $C_{21}H_{17}N_3O$ (MW: 327.1)

[0089] 상기 화합물은 실시예 1의 방법 A에 의해 제조하였다.

[0090] 실시예 5: 7-[피리딘-2-일-(4-트리플루오로메틸-페닐아미노)-메틸]-퀴놀린-8-올(7-[pyridin-2-yl-(4-trifluoromethyl-phenylamino)-methyl]-quinolin-8-ol)



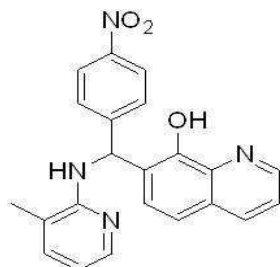
[0091]

[0092] 화합물은 실시예 1의 화합물에서 설명된 방법 A 및 B에 의해서 제조하였으며, 카복스알데히드(carboxaldehyde) (물농도)를 출발 알데히드로 사용하고 4-트리플루오로메틸-아닐린(4-trifluoromethyl-aniline(Sigma))을 1차 아민으로 사용하였다는 점에서 차이가 있다.

[0093] 칼럼크로마토그래피에 의해 정제된 산물은 다음과 같다: $C_{22}H_{16}F_3N_3O$ (MW: 395.1); 수율: 151 mg, (42.1%, 방법 B); m.p.: 158-161 °C; HPLC(CH_3CN/H_2O 70:30 Phenomenex C18 254 nm): T_r = 10.39 분.

[0094] 1H NMR 5(DMSO) a 6.31(1H, d, J = 7.1 Hz), 6.79(1H, d, J = 7.6 Hz), 7.27(1H, t, J = 5.1 Hz), 7.29-7.37(4H, m), 7.47-7.54(3H, m), 7.75(1H, t, J = 7.2 Hz), 7.74(1H, d, J = 8.5 Hz), 8.24(1H, d, J = 8.3 Hz), 8.55(1H, d, J = 4.1 Hz), 8.85(1H, d, J = 3.2 Hz), 10.24(1H, 위스콘신de s).

[0095] 실시예 6: 7-[(3-메틸-피리딘-2-일아미노)-(4-니트로-페닐)-메틸]-퀴놀린-8-올(7-[(3-methyl-pyridin-2-ylamino)-(4-nitro-phenyl)-methyl]-quinolin-8-ol)

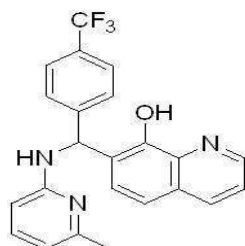


[0096]

[0097] $C_{22}H_{18}N_4O_3$; (MW+1: 386, 1)

[0098] 실시예 1의 방법 A를 사용하여 제조하였다.

[0099] 실시예 7: 7-[(6-메틸-피리딘-2-일아미노)-(4-트리플루오로메틸-페닐)-메틸]-퀴놀린-8-올(7-[(6-methyl-pyridin-2-ylamino)-(4-trifluoromethyl-phenyl)-methyl]-quinolin-8-ol)

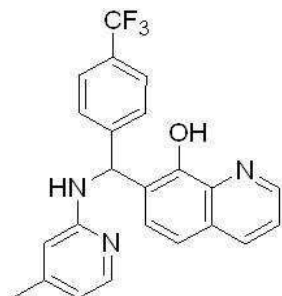


[0100]

[0101] 상기 화합물은 실시예 1의 화합물에서 설명된 방법 A 및 B에 의해 제조하였으며, 4-트리플루오로메틸 벤즈알데

히드(Sigma), 2-아미노-6-피콜린 및 8-하이드록시-퀴놀린을 출발물질로 사용한다는 점에 있어서 차이가 있다. 수득된(방법 B) 산물은 다음과 같다: $C_{23}H_{18}F_3N_3O$ (MW: 409.1); (229 mg, 32.5 %); m.p.: 136-138 °C; HPLC(CH_3CN/H_2O 70:30 Phenomenex C18 254 nm): T_r = 10.18 분.

[0102] 실시예 8: 7-[(4-메틸-피리딘-2-일아미노)-(4-트리플루오로메틸페닐)-메틸]-퀴놀린-8-올(7-[(4-methyl-pyridin-2-ylamino)-(4-trifluoromethylphenyl)-methyl]-quinolin-8-ol)

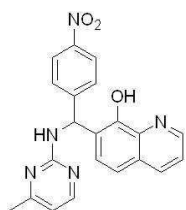


[0103]

[0104] 상기 화합물은 실시예 1의 화합물에서 설명된 방법 B에 의해 제조하였으며, 2-아미노-4-메틸-피리딘(물농도), 4-트리플루오로메틸-벤즈알데히드(Sigma) 및 8-하이드록시-퀴놀린(Sigma)을 출발물질로 사용하였다는 점에서 차이가 있다. 수득된 산물은 다음과 같다: $C_{23}H_{18}F_3N_3O$ (MW: 409.1); 수율: 230 mg, (29.6%) m.p.: 104-107 °C;

HPLC(CH_3CN/H_2O 70:30 Phenomenex C18 282 nm): T_r = 7.61 분 1H NMR **8**(DMSO) a 2.18(3H, s, CH_3), 6.41(1H, d, J = 5.1 Hz), 6.44(1H, s, NH), 6.49(1H, d, J = 4.9 Hz), 7.07(1H, d, J = 9.2 Hz), 7.39(1H, d, J = 8.9 Hz), 7.49-7.54(1H, m), 7.58(2H, d, J = 7.9 Hz), 7.63(2H, d, J = 8.3 Hz), 7.73(1H, d, J = 7.9 Hz), 7.85(2H, d, J = 7.9 Hz), 8.03- 8.08(1H, m), 8.12(2H, d, J = 8.5 Hz), 8.27(1H, d, J = 8.2 Hz), 8.81- 8.86(1H, m); ^{13}C -NMR **8**(DMSO) a 23.5(CH_3), 51.8(NHCH), 109.5(CH), 117.6(CH), 121.8(CH), 124.5(Cq), 125.1(CH), 125.6(2xCH), 126.8(CH), 127.7(2xCH), 127.8(Cq), 130.1(CH), 134.7(Cq), 136.1(CH), 138.1(Cq), 148.2(Cq), 148.5(CH), 149.6(Cq), 157.7(CH), 161.6(Cq), 166.3(Cq).

[0105] 실시예 9: 7-((4-메틸피리미딘-2-일아미노)(4-니트로페닐) 메틸)퀴놀린-8-올 (7-((4-methyl pyrimidine-2-ylamino)(4-nitrophenyl) methyl)quinolin-8-ol)

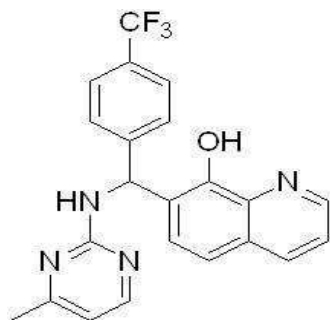


[0106]

[0107] 상기 화합물은 실시예 1의 화합물에서 설명된 방법 B로 생산하였으며, 2-아미노-4-메틸-피리미딘(Sigma), 4-니트로-벤즈알데히드 및 8-하이드록시-퀴놀린을 출발물질로 사용하였다는 점에서 차이가 있다. 수득된 산물은 다음과 같다: $C_{21}H_{17}N_5O_3$, (MW: 387.1); 수율: 344 mg, (49.6%); m.p.: 136-145 °C; HPLC(CH_3CN/H_2O 70:30 Phenomenex C18 282 nm): T_r = 5.21 분 1H NMR **9**(DMSO) a 2.14(3H, s, CH_3), 6.35(1H, d, J = 5.8 Hz), 6.55(1H, s), 7.00(1H, d, J = 8.0 Hz), 7.36-7.43(2H, m), 7.50-7.55(1H, m), 7.56(1H, d, J = 7.5 Hz), 7.60(1H, d, J = 8.5 Hz), 7.79(1H, d, J = 5.5 Hz), 8.15(2H, d, J = 8.5 Hz), 8.28(1H, d, J = 8.5 Hz), 8.84(s, 1H), 10.1(s, 1H); ^{13}C NMR **9**(DMSO) a 20.6(CH_3), 51.6(NHCH), 109.0(CH), 114.2(CH), 117.7(CH), 121.9(CH), 123.5(2xCH), 124.6(Cq), 126.7(CH), 127.7(Cq), 128.2(2xCH), 136.1(CH), 138.2(Cq), 146.2(Cq), 147.1(Cq), 147.2(CH), 148.5(CH), 149.8, 152.0 및 157.9(3 Cq).

[0108] 실시예 10: 7-((4-메틸피리미딘-2-일아미노)(4-(트리플루오로메틸)페닐)메틸)퀴놀린-8-올(7-((4-

methylpyrimidine-2-ylamino)(4-(trifluoromethyl)phenyl)methyl)quinolin-8-ol)



[0109]

[0110]

상기 화합물은 실시예 1의 화합물에서 설명된 방법 A 및 B로 생산하였으며, 4-트리플루오로메틸-벤즈알데히드 및 2-아미노-4-메틸-피리미딘이 알데히드 및 아민 소스(source)(물농도)로 사용되었다는 점에서 차이가 있다. 수득된(방법 B) 산물은 다음과 같다: 수율: 1.7 g, (34.8%); $C_{22}H_{17}F_3N_4O$; (MW: 410.1), m.p.: 144-147 °C;

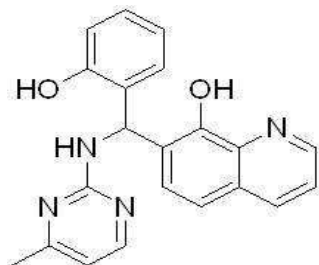
HPLC(CH_3CN/H_2O 70:30 Phenomenex C18 254 nm): T_r = 7.75 분 1H NMR **10**(DMSO) a 2.24(3H, s, CH_3), 6.49(1H, d, J = 5.1 Hz), 7.07(1H, d, J = 9.0 Hz, $NHCH$), 7.39(1H, d, J = 8.5 Hz), 7.49-7.55(1H, m), 7.58(2H, d, J = 7.7 Hz), 7.64(2H, d, J = 7.9 Hz), 7.74(1H, d, J = 8.5 Hz), 8.07(1H, d, J = 8.9 Hz), 8.14(1H, d, J = 4.9 Hz), 8.28(1H, d, J = 7.7 Hz), 8.83(1H, s), 10.08(1H, Wide s).

[0111]

^{13}C NMR **10**(DMSO) a 23.6(CH_3), 51.7($NHCH$), 110.4(CH), 117.6(CH), 121.8(CH), 124.6(Cq), 125.2(2x CH), 126.8(CH), 127.2(Cq), 127.4(Cq), 127.7(Cq), 127.8(2x CH), 136.1(CH), 138.1(Cq), 148.2(Cq), 148.4(CH), 149.8, 149.6, 161.6 및 167.6(4 Cq).

[0112]

실시예 11: 7-[(2-하이드록시페닐)-(4-메틸-피리미딘-2-일아미노)-메틸]-퀴놀린-8-올(7-[(2-hydroxyphenyl)-(4-methyl-pyrimidin-2-ylamino)-methyl]-quinolin-8-ol)



[0113]

[0114]

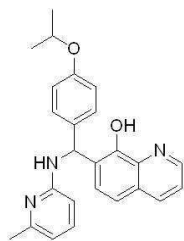
상기 화합물은 실시예 1의 화합물에서 설명된 방법 B에 의해 제조하였으며, 2-하이드록시-벤즈알데히드(물농도) 및 2-아미노-4-메틸-피리미딘(Sigma)이 출발물질로 사용되었다는 점에서 차이가 있다. 침전된 산물은 다음과 같다: 수율: 45 mg; $C_{21}H_{18}N_4O_2$; (MW: 358.1).

[0115]

1H NMR **11**(DMSO) a 2.21(3H, s, CH_3), 6.39-6.46(2H, m), 6.69(1H, t, J = 6.4 Hz), 6.75(1H, d, J = 7.7 Hz), 7.23(1H, d, J = 7.0 Hz), 7.32(1H, d, J = 8.4 Hz), 7.44-7.51(2H, m), 7.57(2H, d, J = 8.0 Hz), 8.09(1H, d, J = 5.4 Hz), 8.25(1H, d, J = 8.0 Hz), 8.79(1H, 위스콘신de s), 9.47(1H, 위스콘신de s, OH), 9.80(1H, 위스콘신de s, OH).

[0116]

실시예 12: 7-[(4-아이소프로옥시페닐)-(6-메틸-피리딘-2-일아미노)-메틸]-퀴놀린-8-올(7-[(4-isopropoxyphenyl)-(6-methyl-pyridin-2-ylamino)-methyl]-quinolin-8-ol)



[0117]

[0118]

상기 화합물은 실시예 1의 화합물에서 설명된 방법 B로 제조하였으며, 이소프로필-옥시-벤즈알데히드(몰농도)를 알데히드로 사용하였다는 점에서 차이가 있다. 칼럼크로마토그래피에 의해 정제된 산물은 다음과 같다: 수율 135 mg, (63.1%), m.p.: 132-134 °C; HPLC(CH₃CN/H₂O 70:30 Phenomenex C18 282 nm): T_r = 9.23 분

[0119]

실시예 13: 7-[(2-하이드록시페닐)-(6-메틸-피리딘-2-일아미노)-메틸]-퀴놀린-8-올(7-[(2-hydroxyphenyl)-(6-methyl-pyridin-2-ylamino)-methyl]-quinolin-8-ol)



[0120]

[0121]

상기 화합물은 실시예 1의 화합물에서 설명된 방법 B에 의해 제조하였으며, 출발물질로써 살리실알데히드(salicylaldehyde)(몰농도), 2-아미노-6-피롤린(1 당량) 및 8-하이드록시-퀴놀린(0.6 당량)을 사용하여 반응을 수행하였다는 점에서 차이가 있다. 산물의 침전은 다음과 같다: C₂₂H₁₉N₃O₂; (MW: 357.1), 수율 1.6 g, (50.9%); m.p.: 189-191 °C; HPLC(CH₃CN/H₂O 70:30 Phenomenex C18 282 nm): T_r = 5.05 분

[0122]

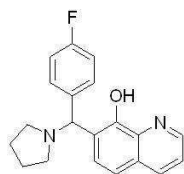
¹H NMR **13**(DMSO) a 2.23(3H, s), 6.34(1H, d, J = 6.0 Hz), 6.38(1H, d, J = 7.1 Hz), 6.69(1H, t, J = 7.2 Hz), 6.80(2H, m), 7.02(2H, m), 7.18(1H, d, J = 6.2 Hz), 7.25(1H, d, J = 6.8 Hz), 7.36(1H, d, J = 7.4 Hz), 7.42-7.54(1H, m), 7.64(1H, d, J = 7.9 Hz), 8.25(1H, d, J = 7.1 Hz), 8.80(1H, s), 9.85(1H, s)

[0123]

¹³C NMR **13**(DMSO) a 23.9(CH₃), 47.8(CHNH), 111.1(CH), 115.7(CH), 116.7(CH), 118.7(CH), 121.5(CH), 125.3(Cq), 127.2(CH), 127.4(Cq), 127.8(CH), 128.3(CH), 129.2(Cq), 135.9(CH), 137.5(CH), 138.2(Cq), 148.1(CH), 149.7, 155.1, 155.6 및 157.6(4 x Cq).

[0124]

실시예 14: 7-[(4-플루오로페닐)-(피롤리딘(pyrrolidin)-1-일)-메틸]-퀴놀린-8-올(7-[(4-fluorophenyl)-(pyrrolidin-1-yl)-methyl]-quinolin-8-ol)



[0125]

[0126]

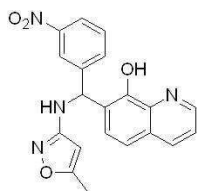
C₂₀H₁₉FN₂O; (MW: 322.2)

[0127]

상기 화합물은 실시예 1의 방법 A로 제조하였다.

[0128]

실시예 15: 7-[[[(5-메틸-1,2-옥사졸-3-일)아미노](3-니트로페닐)메틸]퀴놀린-8-올(7-[[[(5-methyl-1,2-oxazol-3-yl)amino](3-nitrophenyl)methyl]quinolin-8-ol)

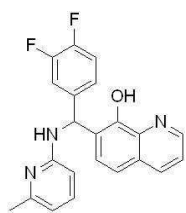


[0129]

[0130] $C_{20}H_{16}N_4O_4$; (MW: 376.1)

[0131] 상기 화합물은 실시예 1의 방법 A로 제조하였다.

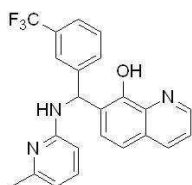
[0132] 실시예 16: 7-((6-메틸피리딘-2-일아미노)(3,4-디플루오로페닐)메틸)퀴놀린-8-올(7-((6-methylpyridin-2-ylamino)(3,4-difluorophenyl)methyl)quinolin-8-ol)



[0133]

[0134] 상기 화합물은 실시예 1의 화합물에서 설명된 방법 B로 제조하였으며, 3,4-디플루오로벤즈알데히드(difluorobenzaldehyde)가 2-아미노-6-피콜린 및 8-하이드록시-퀴놀린과 반응한다는 점에서 차이가 있다. 침전되는 백색 파우더는 다음과 같다: $C_{22}H_{17}F_2N_3O$ (MW: 377.1); 수율: 275 mg (53.3%). m.p.: 162-165 °C; HPLC(CH_3CN/H_2O 70:30 Phenomenex C18 282 nm): 7.97 분.

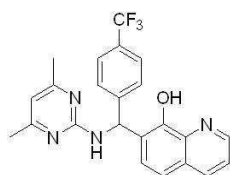
[0135] 실시예 17: 7-((6-메틸피리딘-2-일아미노)(3-(트리플루오로메틸페닐)메틸)퀴놀린-8-올(7-((6-methylpyridin-2-ylamino)(3-(trifluoromethylphenyl)methyl)quinolin-8-ol)



[0136]

[0137] 상기 화합물은 실시예 1의 화합물에서 설명된 방법 B로 제조하였으며, 더 높은 수율을 보였다. 침전된 흰색 파우더는 다음과 같다: $C_{23}H_{18}F_3N_3O$ (MW: 409.1); 수율: 356 mg, 57.3 %. m.p.: 140-143 °C, HPLC(MeOH/ H_2O 80:20 Phenomenex C18 254 nm): 10.21 분.

[0138] 실시예 18: 7-[(4,6-디메틸-피리미딘-2-일아미노)-(4-트리플루오로메틸-페닐)-메틸]-퀴놀린-8-올(7-[(4,6-dimethyl-pyrimidin-2-ylamino)-(4-trifluoromethyl-phenyl)-methyl]-quinolin-8-ol)



[0139]

[0140] 상기 화합물은 실시예 1의 화합물에서 설명된 방법 B에 의해 제조하였으며, 더 높은 수율을 보였다. 침전된 백색 파우더는 다음과 같다: $C_{23}H_{19}F_3N_4O$ (MW: 424.2); 수율: 255 mg, (54.6 %).

- [0141] 실시예 19: 7-[(6-메틸-피리딘-2-일아미노)-피리딘-2-일-메틸]-퀴놀린-8-올(7-[(6-methyl-pyridin-2-ylamino)-pyridin-2-yl-methyl]-quinolin-8-ol)



[0142]

- [0143] 상기 화합물은 실시예 1의 화합물에서 설명된 방법 B로 제조하였다. 침전된 노란색이 감도는 흰색 파우더는 다음과 같다: $C_{21}H_{18}N_4O$ (MW: 342.2); 수율: 1.2 g, (70.5%). m.p.: 155-157 °C.

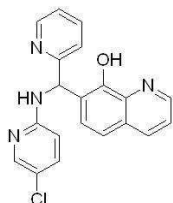
- [0144] 실시예 20: 7-[(5-플루오로-피리딘-2-일아미노)-피리딘-2-일-메틸]-퀴놀린-8-올(7-[(5-fluoro-pyridin-2-ylamino)-pyridin-2-yl-methyl]-quinolin-8-ol)



[0145]

- [0146] 상기 화합물은 실시예 1의 화합물에서 설명된 방법 B로 제조하였다. 백색상을 띄는 칼럼크로마토그래피에 의해 정제된 파우더는 다음과 같다: $C_{20}H_{15}FN_4O$ (MS: 346,1), 수율 45 mg, (18.4 %). m.p.: 165-168 °C, HPLC(CH_3CN/H_2O 70:30 Phenomenex C18 282 nm): 4.44 분.

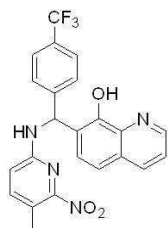
- [0147] 실시예 21: 7-[(5-클로로-피리딘-2-일아미노)-피리딘-2-일-메틸]-퀴놀린-8-올(7-[(5-chloro-pyridin-2-ylamino)-pyridin-2-yl-methyl]-quinolin-8-ol)



[0148]

- [0149] 상기 화합물은 실시예 1의 화합물에서 설명된 방법 B로 생산하였으며, 2-아미노-5-클로로-피리딘, 2-피리딘-카복스알데히드 및 8-하이드록시-퀴놀린을 반응에 사용하였고, 반응 혼합물을 60 °C에서 3 일간 가열하였다. 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제된 회색을 흰색 파우더 산물을 다음과 같이 수득하였다: $C_{20}H_{15}ClN_4O$ (MW: 362.1); 수율: 55 mg, (23.7 %). m.p.: 160-162 °C, HPLC(CH_3CN/H_2O 70:30 Phenomenex C18 282 nm): 5.69 분.

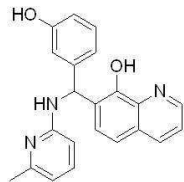
- [0150] 실시예 22: 7-[(5-메틸-6-니트로-피리딘-2-일아미노)-(4-트리플루오로메틸-페닐)-메틸]-퀴놀린-8-올(7-[(5-methyl-6-nitro-pyridin-2-ylamino)-(4-trifluoromethyl-phenyl)-methyl]-quinolin-8-ol)



[0151]

[0152] 상기 화합물은 실시예 1의 화합물에서 설명된 방법 B로 생산하였으며, 2-아미노-5-메틸-6-니트로-피리딘, 4-트리플루오로메틸-벤즈알데히드 및 8-하이드록시-퀴놀린을 사용하고 반응 혼합물을 7 일간 60 °C에서 가열하였다는 점에서 차이가 있다. 노란색이 감도는 흰색 파우더는 다음과 같다: $C_{23}H_{17}F_3N_4O_3$; (MW: 454.1), 수율: 26 mg, (10 %). m.p. = 300 °C, HPLC(CH_3CN/H_2O 70:30 Phenomenex C18 282 nm): T_r = 5.60 분

[0153] 실시예 23: 7-[(3-하이드록시-페닐)-(6-메틸-피리딘-2-일아미노)-메틸]-퀴놀린-8-올(7-[(3-hydroxy-phenyl)-(6-methyl-pyridin-2-ylamino)-methyl]-quinolin-8-ol)



[0154]

[0155] 상기 화합물은 실시예 1의 화합물에서 설명된 방법으로 생산하였으며, 3-하이드록시-벤즈알데히드가 2-메틸-6-피콜린 및 8-하이드록시-퀴놀린과 반응한다는 점에서 차이가 있다. 칼럼크로마토그래피에 의해 정제된 흰색 파우더는 다음과 같다: $C_{22}H_{19}N_3O_2$; (MW: 357.2), 수율: 211 mg, (80.2 %). m.p.: 187-189 °C, HPLC(CH_3CN/H_2O 70:30 Phenomenex C18 282 nm): T_r = 3.97 분.

[0156] 생물학상의 실시예

[0157] 실시예 24: 7-((6-메틸피리딘-2-일아미노)(4-니트로페닐)메틸)퀴놀린-8-올에 의한 매트릭스 메틸로프로테이나아제(Matrix metalloproteinase) 2(MMP-2, 72 kDa 겔라티나아제(gelatinase)) 및 매트릭스 메틸로프로테이나아제 9(MMP-9, 92 kDa 겔라티나아제)의 활성 억제

[0158] H9c2 래트(rat) 배아 심근세포(ATCC, Rockville, MD, 미국)를 10 % 소 혈청, 4 mM L-글루타민(Sigma-Aldrich, 헝가리), 100 IU/ml 페니실린 및 100 ug/ml 스트렙토마이신을 포함하고 있는 Dulbecco's modified Eagle's 배지에서 배양하였다. H9c2 상층액 시료에 30 mM의 DMSO(1000-배로 희석)를 포함하고 있는 원액에서 실시예 1의 화합물(7-((6-메틸피리딘-2-일아미노)(4-니트로페닐)메틸)퀴놀린-8-올) 30 uM을 전기영동 전에 첨가한다. 대조군으로 실시예 1의 화합물을 포함하고 있지 않는 DMSO를 첨가하였다. 전기영동 후에, 겔을 반으로 자른 후, 리네이처(renature)하고; 반은 실시예 1의 화합물을 최종농도 30 uM으로 첨가하여 인큐베이트하고, 나머지 반은 (대조군) 실시예 1의 화합물 없이 인큐베이트한다. 실시예 1의 화합물은 72 kDa의 겔라티나아제(MMP-2)가 인큐베이션 동안에 존재하면 이를 완벽하게 억제한다. 또한, 실시예 1의 화합물은 92 kDa 겔라티나아제(MMP-9)를 억제하고, 72 kDa 겔라티나아제는 비교적 적은 정도로 억제한다.

[0159] MMP-9 및 MMP-2는 세포-매트릭스 상호작용 및 생물 항상성에 관여하는 인테그린(integrin) 시그널의 파괴로 인한 저산소증 재산소화(hypoxia reoxygenation) 후의 카스파아제에 의해 조절된 내피세포 사멸에 관여한다. MMP-2 및 MMP-9 억제자는 카스파아제-3 활성을 유의적으로 줄이고 내피세포 사멸을 줄인다(Lee 등, 2004).

[0160] 실시예 25: 실시예 1(7-((6-메틸피리딘-2-일아미노)(4-니트로페닐)메틸)퀴놀린-8-올)의 화합물은 심장 이식 후의 재관류 손상을 감소시킨다.

[0161] 심장 이소이식(異所移植) 실험모델을 초기에 설명된 방식으로(폴리(ADP-리보오스) 실험하였으며, 폴리메라제의 억제는 심장이식 후 발생하는 허혈-재관류를 감소시켰다(Szabo 등 2002). 요약하면, 다음과 같다: 공여 심장은 Lewis 래트로부터 이식되었다. 4 °C에서 1 시간 동안 허혈 보호를 한 후에, 공여자 심장의 대동맥과 폐동맥을 수여자 래트의 대동맥 또는 대정맥과 문합(吻合)하여 복강 내로 이식하였다. 모든 실험동물은 "실험동물보호지침"; National Academy of Sciences에 의해 준비된 National Society of Medical Research and the Guide for the care and Use of Laboratory Animals; 출판인: 미국립보건원(NIH 출판 No. 86-23, 1996년에 교정됨)에 따라 다루었다.

[0162] 이식 후의 기능측정은 다음과 같이 수행하였다: 좌심실수축기압(LVSP, left ventricular systolic pressure),

좌심실이완기말압(left ventricular end diastolic pressure, LVEDP), 혈압변환율(dp/dt) 및 이완시간정수(relaxation time constant, TE)는 심실 내의 벌룬(ballon)을 사용하면서 다른 LV를 가지고 Millar micromanometer(Millar Instruments, Inc.)를 사용하여 측정하였다. 전체적인 관상동맥 혈류(CBF)는 혈관주위의 초음파 흐름(flow) 시료를 사용하여 공여자의 대동맥 상에서 측정하였다. 기준선을 결정한 후에, 내피-의존적인 혈관확장신경제인 아세틸콜린(acetylcholine)(ACH, 1 nmol/l, 0.2 ml) 및 브레디키닌(bradykinin)(BK 0.1 nmol/l, 0.2 ml), 및 내피-독립적인 혈관확장신경제인 나트륨 니트로프루시드(nitroprussid)(SNP, 10 nmol/l, 0.2 ml)를 공여자 대동맥에 의하여 이식된 장기의 관상동맥 내로 직접적으로 주입하였다. 주입하는 중에, CBF는 기준선 값으로 되돌아 가도록 하였다. 혈관확장신경제 반응은 기준선으로부터 CBF의 최대 백분율 변화로 표시되었다.

[0163] 이식된 두 그룹을 관찰하였다($n=6$ /각각의 그룹). 대동맥 검자(鉗子)를 느슨하게 하기 직전에 일반적인 식염수(대조군) 또는 실시예 1의 화합물(3 mg/kg)을 천천히 주입하기 시작하였고, 재관류(再灌流)를 진행하는 첫 5 분간 지속하였다.

[0164] 심장수축 및 심장확장 기능 측정, 및 그룹 A(대조군) 및 그룹 B(실시예 1의 화합물)에서의 CBF는 재관류를 시작한 후 1 시간 동안 수행하였다.

[0165] 혈류역학 파라미터 및 심근 혈류는 60 분의 재관류 후에 관찰하였다. 수여자의 심박률 및 대동맥 혈압은 모든 그룹에서 동일하였다. 심장수축 기능 회복은 대조군에서보다 실시예 1의 화합물로 처리된 실험군에서 유의적으로 우수했다. LVSP 및 최고값의 양성 dp/dt 는 실시예 1의 화합물로 처리된 군에서 유의적으로 높았다($P=0.05$).

[0166] 실시예 1의 화합물로 처리된 군에서의 심장수축 심장기능 곡선은 운반체로 처리된 군과 비교할 때 상승된 경향이 뚜렷하다(도 1a 및 도 1b). LVEDP 는 그룹 간에 수치 차이를 보이지 않았다. 심장확장협력곡선(심장확장말기 혈압-부피와 관련)은 모든 그룹에서 유사하였다(도 1c).

[0167] **실시예 26: 일반식(I)에 따른 화합물의 처리는 심장, 뉴런 및 간 세포에서의 체외실험에서 과산화수소에 의한 세포사멸을 방지하였다.**

[0168] H9c2 래트 배아 심근세포(ATCC, Rockville, MD, 미국)는 10 % 소 혈청, 4 mM L-글루타민(Sigma-Aldrich, 헝가리), 100 IU/ml 페니실린 및 100 ug/ml 스트렙토마이신을 포함하고 있는 Dulbecco's modified Eagle's 배지에서 배양하였다. 세포를 96-웰 미세적정(microtitration) 배양접시(10 000 세포/웰)에 적정하고 24 시간 후에, 1 % H_2O_2 (Sigma) 용액(0.2 mM 최종농도)을 처리하였다. 다양한 농도로 일반식(I)을 가진 다양한 화합물을 30 분간 처리한 후에, 세포의 생존률을 3 시간 및 24 시간 후에 MTT(3-(4,5-디메틸-2-티아졸릴)-2,5-디페닐-2H-테트라조리움 브로미드((3-(4,5-dimethyl-2-티아졸yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide))로 분석하였다.

[0169] 3-(4,5-디메틸-2-티아졸릴)-2,5-디페닐-2H-테트라조리움 브로미드(MTT, Serva)를 최종농도 0.5 mg/ml로 세포에 첨가하고 37 °C에서 1 시간 동안 배양하였다. 세포를 PBS로 행구고, 포르마잔(formazan) 염료를 이소프로판올에 녹였다. 전환된 포르마잔 염료의 양은 570 nm에서 Powerwave reader(Biotek, 위스콘신nooski, VT)로 읽었으며, 배경 측정은 690 nm에서 하였다. 눈금곡선은 연속적으로 희석된 세포의 MTT를 전환하는 정도를 측정하고 생존한 세포 수를 Gen5 소프트웨어를 사용하여 계산함으로써 얻었다. H_2O_2 에 시료를 3 시간 및 24 시간 노출한 후에 측정하였다.

[0170] **실시예 27: 일반식(I)을 가지는 다양한 화합물의 처리로 인하여 체외실험에서 과산화수소에 의한 간 세포 사멸은 방지되었다.**

[0171] Hep3B 인간혈종세포(ATCC, Rockville, MD, 미국)는 10 % 소 혈청, 4 mM L-글루타민(Sigma-Aldrich, 헝가리), 100 IU/ml 페니실린 및 100 ug/ml 스트렙토마이신을 포함하고 있는Dulbecco's modified Eagle's 배지에서 배양하였다. 세포는 습도가 높은 공기와 5 % CO_2 를 포함하고 있는 37 °C 배양기에서 100 mm TC 배양접시(Orange Scientific, Belgium)에 배양하였다.

[0172] 세포를 젤라틴(gelatin)이 전 처리된 96-웰 E-배양접시(Roche) 미세적정 배양접시에 적정하고(10 000 세포/웰), 16 시간 동안 배양하였다. 다양한 농도로 일반식(I)의 다양한 화합물을 30 분간 처리한 후에, 2 분 간격으로 세포 생존률을 지속적으로 측정하는 RT-CES 방법(Roche)을 사용하여 Excelligence 기구로 측정하였다. 결과

는 도 2에 도시하였다. 곡선 "A"는 처리되지 않은 대조군을 나타내고, 곡선 "I"는 잘 알려진 PARP 억제제인 화합물 PJ34를 나타내며, 곡선 "J"는 과산화수소로 처리된 대조군을 나타낸다.

- [0173] 본 발명의 실험에서, 일반식(I)에 따른 하기의 화합물을 테스트하였다(도 2의 곡선은 표준화된 세포 인덱스에서 본 발명의 화합물의 효과를 보여준다):
- [0174] 7-((4-니트로페닐아미노)(페닐)메틸)퀴놀린-8-올(곡선 "B"),
- [0175] 4-[(8-하이드록시퀴놀린-7-일)-페닐-메틸]-아미노}-벤조산 에틸 에스테르(곡선 "C", 실시예 3),
- [0176] 7-((4-페닐피페리딘-1-일)(티오펜(thiophen)-2-일)메틸)퀴놀린-8-올(곡선 "D"),
- [0177] 7-((6-메틸피리딘-2-일아미노)(4-(트리플루오로메틸)페닐)메틸)퀴놀린-8-올(곡선 "E"),
- [0178] 7-((4-플루오로페닐)(티아졸-2-일아미노)메틸)퀴놀린-8-올(곡선 "F"),
- [0179] 7-(페닐아미노-피리딘-2-일-메틸)-퀴놀린-8-올(곡선 "G", 실시예 4), 및
- [0180] 7-[(4-플루오로페닐)-(피로딘-1-일)-메틸]-퀴놀린-8-올(곡선 "H", 14).
- [0181] Hep3B 인간 혈종세포에서의 세포보호효과를 확인하고자 H₂O₂를 처리하고 30 분 후에 시험을 수행하였다. 250 μ M의 과산화수소를 세포에 사용하였다. 과산화수소를 적용하는 동안에는 세포성장이 일직선이었다. 그러나, 본 발명에 따른 일반식(I)의 다양한 화합물을 처리한 지 30 분 후에, 세포 인덱스 곡선의 경사면은 유의적으로 변하였으며, 이는 본 발명의 화합물이 세포보호효과가 있음을 보여준다.

[0182] **실시예 28: 일반식(I)을 가지는 다양한 화합물의 처리는 체외실험에서 혼합된 일차 뉴런 및 성상세포 상에서 과산화수소에 의한 세포 사멸을 방지한다.**

[0183] 세포를 습도가 높은 공기 및 5 % 이산화탄소를 포함하고 있는 37 °C 배양기에서 100 mm TC 배양접시(Orange Scientific, Belgium)에 배양하였다. 뇌의 뉴런 및 성상세포의 혼합배양은 Griffin S 등(Griffin 등, 2005)의 방법에 따라 이루어졌다. 세포는 10 % 소태아 혈청 및 1 % 비필수 아미노산용액(Sigma-Aldrich, 헝가리)를 포함하고 있는 Eagle's minimal essential 배지에서 배양하였다. 결과는 도 3에 도시하였다. 곡선 "K"는 미처리된 대조군을 나타내며, 곡선 "P" PJ34로 처리된 대조군을 나타내고, 곡선 "Q"는 과산화수소로 처리된 대조군을 나타낸다.

[0184] 세포는 젤라틴으로 전 처리된 96-웰 E-배양접시(Roche) 미세적정 배양접시에 적정하고(10 000 세포/웰), 16 시간 동안 배양하였다. 5 μ M 농도로 본 발명의 일반식(I)을 가진 하기의 화합물 처리하기 5 분 전에 두었다:

- [0185] 7-((6-메틸피리딘-2-일아미노)(4-니트로페닐)메틸)퀴놀린-8-올(곡선 "L", 실시예 1),
- [0186] 7-[(6-메틸-피리딘-2-일아미노)-(4-트리플루오로메틸-페닐)-메틸]-퀴놀린-8-올(곡선 "M", 실시예 7),
- [0187] 에틸 4-((8-하이드록시퀴놀린-7-yl)(4-니트로페닐)메틸아미노)벤조에이트(곡선 "N", 실시예 2) 및
- [0188] 7-((4-메틸피리딘-2-일아미노)(4-(트리플루오로메틸)페닐)메틸)퀴놀린-8-올(곡선 "O", 실시예 10).

[0189] 세포의 생존률은 2 분 간격으로 연속적으로 세포 인덱스를 측정하는 RT-CES 방법(Roche)을 사용하는 Excelligence 기구로 측정하였다. 일반식(I)을 가진 화합물을 포함하고 있지 않은 대조군에서 총 세포의 90%를 파괴하는 100 μ M의 H₂O₂를 첨가하였다.

[0190] **실시예 29: 실시예 1에 따른 화합물(7-((6-메틸피리딘-2-일아미노)(4-니트로페닐)메틸)퀴놀린-8-올)이 래트의 행동에 끼치는 영향**

[0191] **실험 동물**

[0192] Charles River 실험실(Budapest, 헝가리)에서 받은 Wistar 래트를 시험동물로 사용하였다. 약 2개월령의 래트(체중 200-300 g)를 사용하였다. 동물은 약 1 주일간 관리하였다. 동물에게 표준실험먹이(Charles River 실험실, Budapest, 헝가리)와 수돗물을 자유식으로 공급하였다. 온도 및 습도는 각각 22 \pm 2 °C 및 60 \pm 10 %이다. 래트를 5 개의 그룹으로 분리하여 45x35x25 cm의 Makrolon 우리에 두었다. 12 시간의 밤/낮 사이클을 사

용하였고, 조명은 19:00에 켜었다. 실험은 낮 시간에 수행하였다. 실험은 1986년 11월 24일자의 European Communities Council Directive(86/609/EEC, the Animal Welfare Committee of the Institute of Experimental Medicine 의 조약 및 승인)에 따라서 수행하였다.

[0193] 실시예 29.1: 고위십자미로검사(elevated plus-maze test)에 의한 실시예 1의 화합물의 불안-억제효과 확인

[0194] 고위십자미로검사

[0195] 고위십자미로검사용으로 흑색 금속박스를 사용하였다. 박스 크기는 다음과 같다: 암(arm) 길이: 40 cm, 암 너비: 12 cm, 벽 높이: 30 cm 및 플랫폼 높이: 70 cm. 열린 암은 0.5 cm의 선반으로 둘러싸여 있다. 실험은 Pellow 등, 1985에 기재된 것처럼 수행하였다.

[0196] 백색광(light phase)의 초기 시간에, 운반체, 실시예 1에 따른 화합물(2 mg/kg), 실시예 1에 따른 화합물(8 mg/kg) 및 클로르디아제폭시드(chlordiazepoxide)(8 mg/kg)(각각의 그룹 내에서 n=10)를 래트에 투약하였다. 클로르디아제폭시드는 초기 시험에서 확연하게 불안증세를 감소시켰다. 투약 후 2시간 후에, 닫힌 암 방향을 향하고 있는 래트의 머리를 장비의 중심부에 두었다. 노출시간은 5분이었다. 닫힌 암으로 들어가는 것은 움직인다는 것을 나타내고, 열린 암의 용도는 불안의 정도를 알려주는 것이다. 열린 암의 사용은 두 가지 변수에 의해 특징지어진다: 열린 암에서 소비한 시간의 퍼센트 및 열린 암으로 들어가는 횟수의 퍼센트(100×열린 암으로 들어감/열린 암과 닫힌 암으로 들어감)(Pellow 등, 1985; Hogg, 1996).

[0197] 결과는 도 4에 도시하였다. 도 4에서 "실시예 1"은 실시예 1의 화합물을 나타내고, CDP는 클로르디아제폭시드를 나타낸다.

[0198] 실시예 29.2: 실시예 1에 따른 화합물의 우울증에서의 효과

[0199] 강제수영검사

[0200] 논문(Porsolt 등, 1978)에서 설명된 것처럼, 래트를 강제로 수영하도록 하였다. 첫날, 모든 래트를 30 cm까지 물로 채워진 15 cm 너비, 35 cm 높이의 유리실린더에 두었다. 이 높이의 물에서 래트의 꼬리가 실린더 바닥에 닿지 않는다. 물 온도는 24±0.5 °C이다. 다음 날, 래트에게 운반체, 실시예 1의 화합물 2 mg/kg, 실시예 1의 화합물 8 mg/kg, 및 30 mg/kg의 이미프라민(imipramine)을 투약하였다. 이전 실험에서, 이미프라민은 부유하는 것을 확연하게 감소시켰으며, 이는 우울증과 관련된 주된 행동 특징이다. 2 시간의 휴식 후에, 래트를 또 다시 5 분간 강제수영시켰다. 동물의 행동을 실린더에서 2 미터 떨어진 위치의 비디오 카메라로 녹화하였다. 다음과 같은 행동들이 녹화되었다:

[0201] 몸부림(동물은 실린더 벽을 기어오르면서 실린더에서 나오려고 시도함); 수영(실린더 주변을 수영함); 및 부유(물 위로 머리 부분을 내미는 데 필요한 움직임만을 함). 이 실험에서 부유 시간은 우울증과 유사한 행동을 나타낸다.

[0202] 결과는 도 5에 도시하였다. "도 1"은 실시예 1의 화합물을 나타낸다.

[0203] 실시예 30: 다양한 암 세포주 상에서 본 발명에 따른 화합물의 세포독성 효과

[0204] 본 실험에서, HepG2 및 Hep3B(인간 간암세포), SUM149PT(인간 유방암 세포), K562(인간 적혈구모세포 백혈병세포), U87(인간 신경교종세포), CCRF-CEM(인간 백혈병 세포) 세포를 사용하였으며, 이들 세포는 U87, CCRF-CEM: Dulbecco's Modified Eagle 배지(D-MEM)(높은 포도당)(Gibco BRL, carlsbad, 캘리포니아, 미국), 페니실린(50 IU/ml)-스트렙토마이신(50 mg/ml), 및 10 % 소태아 혈청에서 배양하였다.

[0205] HepG2, Hep3B, SUM149PT의 1:1 혼합: Dulbecco's Modified Eagle 배지(D-MEM)(높은 포도당)(Gibco BRL, carlsbad, 캘리포니아, 미국) 및 Nutrient Mixture F-12 Ham(Sigma, St. Louis, MO, 미국), 페니실린(50 IU/ml)-스트렙토마이신(50 mg/ml), 10 % 소태아 혈청.

[0206] CCRF-CEM: RPMI Media 1640(Gibco BRL, Carlsbad, 캘리포니아, 미국), 페니실린(50 IU/ml -스트렙토마이신(50 mg/ml), 10 % 소태아 혈청.

- [0207] 세포를 96-웰 미세적정 배양접시(10,000 세포/웰)에 접종하고 24 시간 후에, 세포를 다양한 물질과 배양하였다. 배양 후에, MTS 시험(3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-5-(3-카복시메톡시페닐)-2-(4-설포페닐)-2H-테트라조리움(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulphophenyl)-2H-tetrazolium)(Promega, Madison, 위스콘신, 미국)의 0.5 mg/ml를 세포로 추가한 후, 1 시간 동안 37 °C에서 배양하였다. 세포를 PBS로 행구고, 포르마잔 염료를 이소프로판올에 녹였다. 전환된 포르마잔 염료의 양은 570 nm에서 Powerwave reader(Biotek, 위스콘신nooski, VT)로 측정하였으며, 이때 배경 파장은 690 nm이다. 연속적으로 희석된 세포의 MTS를 전환하는 정도를 측정하고, 생존한 세포수는 Gen5 소프트웨어를 사용하여 개수하는 방식으로 눈금 곡선을 그렸다.
- [0208] 다양한 세포를 사용한 본 발명의 실험결과는 표 1에 기재하였다. 표 1에서 각각 물질의 EC50 값을 기재하였다 (MTS 시험 결과를 기초로 한 세포의 절반이 사멸한 농도).
- [0209] 본 발명의 화합물이 다양한 암세포주에서 세포독성 효과를 보임을 관찰할 수 있다.

표 1

[0210] 다양한 인간 암 세포주에서 다양한 퀴놀린 유도체의 세포증식억제 효과

화합물의 이름 (실시예 no.)	세포 주 (종류)					
	CCRF-CEM (백혈병)	Hep3B (간)	HepG2 (간)	K562 (백혈병)	SUM149PT (유방)	U87 (신경교종(膠腫))
7-((6-메틸피리딘-2-일아미노)(4-니트로페닐)메틸)퀴놀린-8-올 (실시예 1)	1.0		0.5	1.0	10.0	2.5
7-[(6-메틸-피리딘-2-일아미노)-(4-트리플루오로메틸-페닐)-메틸]-퀴놀린-8-올(실시예 7)	0.3	5.0	0.5	15.0		
메틸 4-((8-하이드록시퀴놀린-7-일)(4-니트로페닐)메틸아미노)벤조에이트 (실시예 2)	1.0	5.0	2.5			4.0
7-[피리딘-2-일-(4-트리플루오로메틸-페닐아미노)-메틸]-퀴놀린-8-올(실시예 5)	0.1	2.0	2.0			3.5
7-((4-메틸피리미딘-2-일아미노)(4-(트리플루오로메틸)페닐)메틸)퀴놀린-8-올 (실시예 10)			1.0	7.0	5.0	5.0
7-[(2-하이드록시페닐)-(4-메틸-피리미딘-2-일아미노)			1.0	5.0		
7-[(4-메틸-피리딘-2-일아미노)-(4-트리플루오로메틸페닐)-메틸]-퀴놀린-8-올(실시예 8)				8.0	10.0	
7-((6-메틸피리딘-2-일아미노)(3,4-디플루오로페닐)메틸)퀴놀린-8-올(실시예 16)			5.0	1.5		2.5
7-((6-메틸피리딘-2-일아미노)(2-플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐)메틸)퀴놀린-8-올			1.0	1.5		2.5

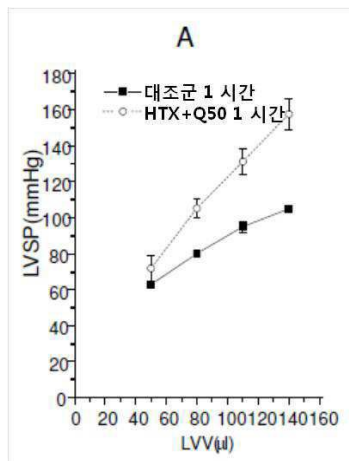
- [0211] 참조문헌:
- [0212] Betti, 1900: Betti, M. Gazz. Chim. Ital. 1900년 30 II, 301.
- [0213] Betti, 1903: Betti, M. Gazz. Chim. Ital. 1903년 33 II, 2.
- [0214] Britton 등, 2002: Britton RS, Leicester KL, Bacon BR. Iron toxicity and chelation therapy. Int J Hematol. 2002년 10월;76(3):219-228.
- [0215] Duprez 등, 2009: Duprez L, Wirawan E, Vanden Berghe T, Vandenabeele P. Major cell death pathways at a glance. Microbes Infect. 2009년 11월;11(13):1050-1062.
- [0216] Degterev es Yuan, 2008: Degterev A, Yuan J. Expansion and evolution of cell death programmes. Nat Rev Mol Cell Biol. 2008년 5월;9(5):378-390.
- [0217] Frederickson 등, 2005: Nature Reviews Neuroscience, Vol.6, 449-462.
- [0218] Gero 등, 2007: Gero D, Modis K, Nagy N, Szoleczky P, Toth ZD, Dorman G, Szabo C. Oxidant-induced cardiomyocyte injury: identification of the cytoprotective effect of a dopamine 1 receptor agonist using a cell-based high-throughput assay. Int J Mol Med. 2007년 11월;20(5):749-761.
- [0219] Griffin 등, 2005: Griffin S, Clark JB es Canevari L: J Neurochem 95: 1015-1022, 2005년.
- [0220] Hogg, 1996: Hogg S. A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. Pharmacol Biochem Behav. 1996년 5월;54(1):21-30.
- [0221] Idris 등, 2008: Idriss NK, Blann AD, Lip GY. Hemoxygenase-1 in cardiovascular disease. J Am Coll Cardiol. 2008년 9월 16;52(12): 971-978.
- [0222] Jagtap es Szabo 2005: Jagtap P, Szabo C. Poly(ADP-ribose) polymerase and the therapeutic effects of its inhibitors. Nat Rev Drug Discov. 2005 5월ischemia. Science. 1996 May 17;272(5264):1013-1016;Koh 등, 2001년: Science, Vol.272, 1013-1016.
- [0223] Lewen 등, 2000: Lewen A, Matz P, Chan PH. Free radical pathways in CNS injury. J Neurotrauma. 2000년, 10월;17(10):871-890.
- [0224] Lee 등, 2004: S.R. Lee, E.H. Lo: J. Cereb. Blood Flow Metab. 2004년, 6월; 24(7):720-727.
- [0225] Li 등, 2007: Li C, Hossieny P, Wu BJ, Qawasmeh A, Beck K, Stocker R. Pharmacologic induction of heme oxygenase-1. Antioxid Redox Signal. 2007년 12월;9(12):2227-2239.
- [0226] Nguyen 등, 2005년: PNAS, Vol.102(33), 11840-11845.
- [0227] Pellow 등, 1985년: Pellow, S., Chopin, P., File, S. E. & Briley, M. (1985) J. Neurosci. Methods, Vol.14, 149-167.
- [0228] Phillips 등, 1954년: J. P. Phillips, R. W. Keown, Q. Fernando; J. Org. Chem., 1954년, 19 (6), 907.
- [0229] Phillips 등, 1956: J. P. Phillips, E. M. Barrall; J. Org. Chem. 1956년, 21, 692.
- [0230] Phillips, 1956년: J. P. Phillips, Chem. Rev. 1956, 56, 286.
- [0231] Porsolt 등, 1978년: Porsolt RD, Anton G, Deniel M, Jalfre M (1978): Eur J Pharmacol, Vol.47, 379-391.
- [0232] Regland 등, 2001년: Regland B, Lehmann W, Abedini I, Blennow K, Jonsson M, Karlsson I, Sjogren M, Wallin A, Xilinas M, Gottfries CG. Treatment of Alzheimer's disease with clioquinol. Dement Geriatr Cogn Disord. 2001년 11월-12월;12(6):408-414.
- [0233] Schafer 등, 2007년: J Mol Med, Vol. 85, 405-413.
- [0234] Szabo 등, 2002년: Szabo G, Bahrle S, Stumpf N, Sonnenberg K, Szabo E, Pacher P, Csont T, Schulz R, Dengler TJ, Liaudet L, Jagtap PG, Southan GJ, Vahl CF, Hagl S, Szabo C.: Circ. Res. 2002년 1월, 11;90(1):100-106.

[0235] Szabo, 2005: Szabo C. Mechanisms of cell necrosis. Crit Care Med. 2005 Dec;33(12 Suppl):S530-534.

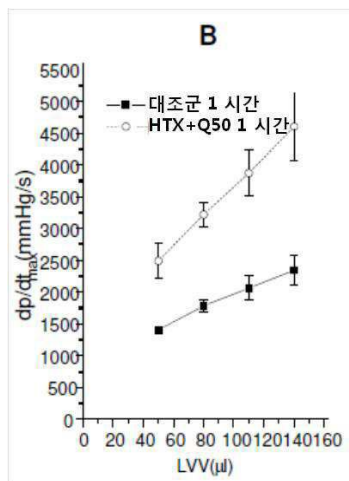
[0236] Wang 등, 2009: Wang Y, Dawson VL, Dawson TM. Poly(ADP-ribose) signals to mitochondrial AIF: a key event in parthanatos. Exp Neurol. 2009 Aug;218(2):193-202.

도면

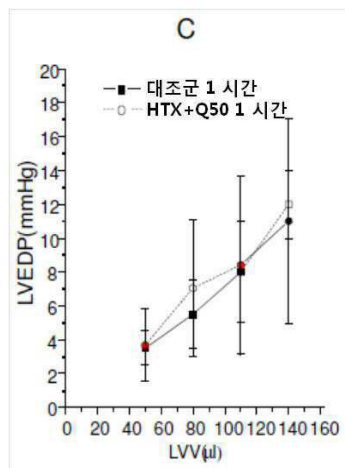
도면1a



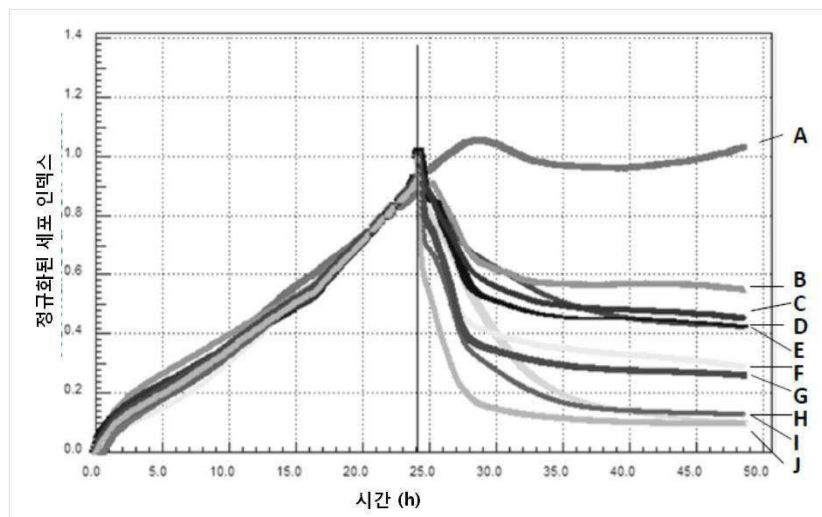
도면1b



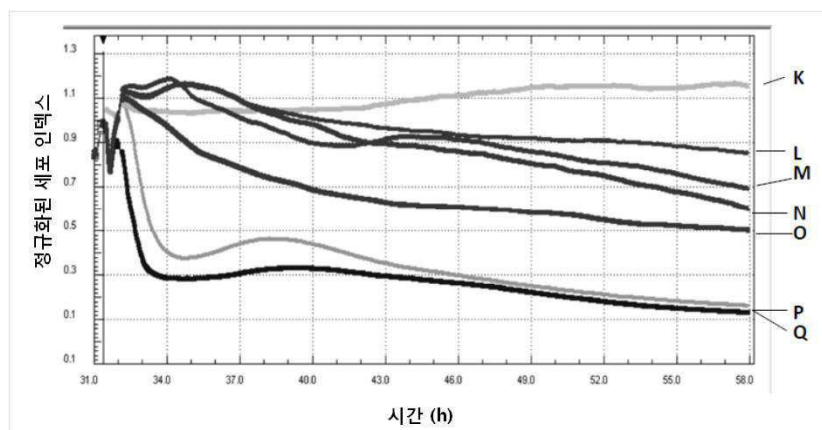
도면1c



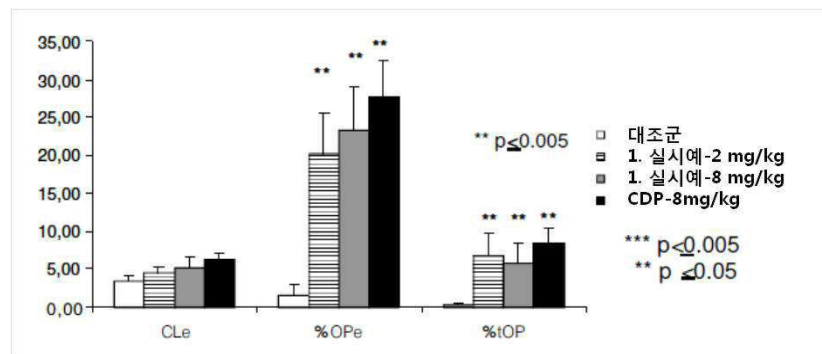
도면2



도면3



도면4



도면5

