



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0016041
(43) 공개일자 2013년02월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07C 233/65 (2006.01) C07C 229/38 (2006.01)
A61K 31/166 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2012-0041622

(22) 출원일자 2012년04월20일
심사청구일자 없음

(30) 우선권주장
1020110077863 2011년08월04일 대한민국(KR)

(71) 출원인
재단법인 의약바이오컨버전스연구단
경기도 수원시 영통구 이의동 864-1 차세대융합기술연구원내 B동 8층

(72) 발명자
김성훈
서울특별시 강남구 남부순환로365길 42, 역삼한신아파트 4-1005 (도곡동)
권남훈
서울시 관악구 인현동 1707-1 은천아파트 206동 601호
(뒷면에 계속)

(74) 대리인
이희숙, 김석만

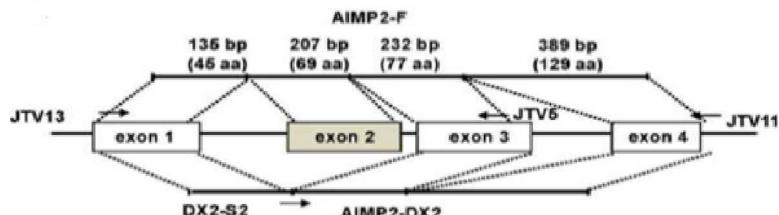
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 신규한 아닐린 유도체 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 신규한 항암용 조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 유도체를 유효성분으로 포함하는 항암용 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 화합물은 새로운 항암제 타겟인 AIMP2-DX2의 활성을 저해하여, 암세포의 사멸을 효과적으로 유도하여 암의 예방 및 치료에 효과적이다. 따라서, 본 발명의 화합물은 암 질환의 예방 및 치료의 목적으로 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

이희숙

서울특별시 강남구 남부순환로 2914, 7동 108호(대
치동, 개포1차우성아파트)

오영선

서울시 관악구 인현동 1658-11번지 305호

김대규

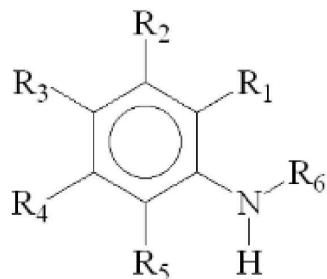
서울시 강남구 도곡동 쌍용예가apt 102동 701호

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 아닐린 유도체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염.

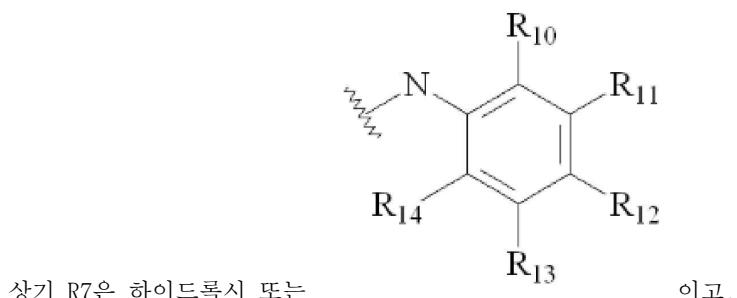
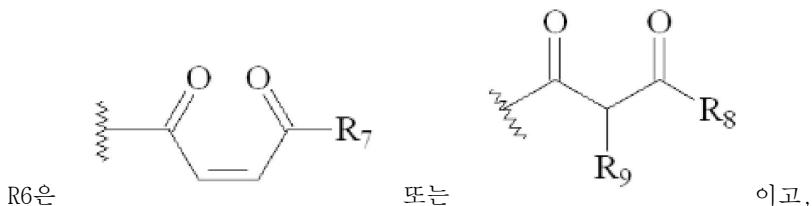
<화학식 1>



상기 식에서,

R1 내지 R5는 각각 수소, C1-C4의 칙쇄, 가지달린 또는 사이클로 알킬,

할로겐, 알콕시 및 하이드록시로 이루어진 군에서 선택된 것이고,



상기 R7은 하이드록시 또는 이고,



상기 R8은 탄소수 1 내지 6개의 알콕시 또는 이고,

상기 R9는 수소 또는 탄소수 1 내지 6개의 알킬이고,

상기 R10 내지 R14는 각각 수소, 메틸, 할로겐 및 메톡시로 이루어진 군에서 선택된 것이다.

청구항 2

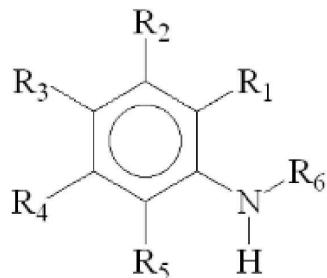
제1항에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 아닐린 유도체는 N¹,N⁴-비스(3,4-디메틸페닐)푸마르아미드, N¹,N⁴-디

-m-톨일푸마르아미드, $N^1-(2,5\text{-디메틸페닐})-N^4-(3,4\text{-디메틸페닐})$ 말레아미드, $N^1,N^4\text{-}m\text{-톨일말레아미드}$, $N^1-(3,4\text{-디메틸페닐})-N^4-(4\text{-플루오로-2\text{-메틸페닐})}$ 말레아미드, $N^1-(3,4\text{-디메틸페닐})-N^4-(3\text{-플루오로-4\text{-메틸페닐})}$ 말레아미드, $N^1-(3,5\text{-디클로로페닐})-N^4-(3,4\text{-디메틸페닐})$ 말레아미드, (Z)-4-[(2,5-디메틸페닐)아미노]-4-옥소부트-2-에노익 산, (Z)-4-[(3,5-디메틸페닐)아미노]-4-옥소부트-2-에노익 산, (Z)-4-[(4-부틸페닐)아미노]-4-옥소부트-2-에노익 산, (Z)-4-옥소-4-(m-톨일아미노)부트-2-에노익 산, (Z)-4-[(4-플루오로페닐)아미노]-4-옥소부트-2-에노익 산, (Z)-4-[(3,5-디클로로페닐)아미노]-4-옥소부트-2-에노익 산, (Z)-4-[(2,4-디클로로-6-메틸페닐)아미노]-4-옥소부트-2-에노익 산, $N^1-(3,4\text{-디메틸페닐})-N^4-(3,5\text{-디메틸페닐})$ 말레아미드, $N^1-(3\text{-부틸페닐})-N^4-(3,4\text{-디메틸페닐})$ 말레아미드, $N^1-(4\text{-브로모페닐})-N^4-(3,4\text{-디메틸페닐})$ 말레아미드, $N^1-(4\text{-플루오로페닐})-N^4-(3\text{-메톡시페닐})$ 말레아미드, $N^1-(3\text{-에틸페닐})-N^4-(4\text{-플루오로페닐})$ 말레아미드, (Z)-4-[(3-플루오로-4-메틸페닐)아미노]-4-옥소부트-2-에노익 산, $N^1,N^4\text{-비스}(3,5\text{-디클로로페닐})$ 푸마르아미드, $N^1,N^4\text{-비스}(4\text{-브로모페닐})$ 푸마르아미드, $N^1,N^4\text{-비스}(3,4\text{-디클로로페닐})$ 푸마르아미드, $N^1,N^4\text{-bis}(3\text{-플루오로-4\text{-메틸페닐})}$ 푸마르아미드, $N^1,N^4\text{-bis}(4\text{-메톡시페닐})$ 말레아미드, $N^1-(3\text{-플루오로-4\text{-메톡시페닐})-N^4-(4\text{-플루오로페닐})$ 말레아미드, $N^1,N^4\text{-bis}(4\text{-플루오로-2\text{-메틸페닐})}$ 말레아미드, $N^1-(2,5\text{-디메틸페닐})-N^3-(3\text{-메톡시페닐})-2\text{-메틸말론아미드}$, $N^1-(4\text{-플루오로페닐})-N^4-(m\text{-톨일})$ 말레아미드, $N^1-(3,5\text{-디메틸페닐})-N^3-(3\text{-메톡시페닐})-2\text{-메틸말론아미드}$, 에틸 3-(안트라센-2-일아미노)-2-메틸-3-옥소프로판산 에스테르, 에틸 3-[(2-클로로-4-하이드록시페닐)아미노]-3-옥소프로판산 에스테르, 및 에틸 3-[(2-클로로-4-하이드록시페닐)아미노]-2-메틸-3-옥소프로판산 에스테르로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 아닐린 유도체 인 것을 특징으로 하는 아닐린 유도체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염.

청구항 3

하기 화학식 1로 표시되는 아닐린 유도체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

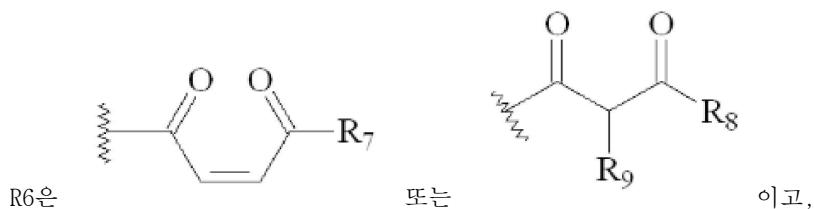
<화학식 1>

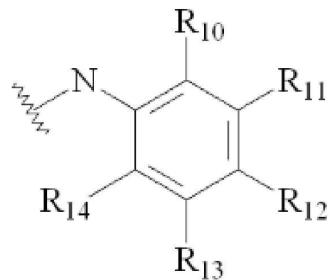


상기 식에서,

R1 내지 R5는 각각 수소, C1-C4의 직쇄, 가지달린 또는 사이클로 알킬,

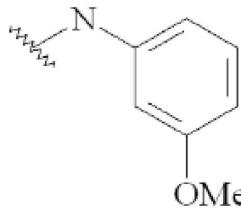
할로겐, 알콕시, 하이드록시 및 카르복실기로 이루어진 군에서 선택된 것이고,





상기 R7은 하이드록시 또는

이고,



상기 R8은 탄소수 1 내지 6개의 알콕시 또는

이고,

상기 R9는 수소 또는 탄소수 1 내지 6개의 알킬이고,

상기 R10 내지 R14는 각각 수소, 메틸, 할로겐 및 메콕시로 이루어진 군에서 선택된 것이다.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 아닐린 유도체는 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산, N^1,N^4 -비스(3,4-디메틸페닐)푸마르아미드, N^1,N^4 -디- m -톨일푸마르아미드, N^1 -(2,5-디메틸페닐)- N^4 -(3,4-디메틸페닐)말레아미드, N^1,N^4 -디- m -톨일말레아미드, N^1 -(3,4-디메틸페닐)- N^4 -(4-플루오로-2-메틸페닐)말레아미드, N^1 -(3,4-디메틸페닐)- N^4 -(3-플루오로-4-메틸페닐)말레아미드, N^1 -(3,5-디클로로페닐)- N^4 -(3,4-디메틸페닐)말레아미드, (Z)-4-[(2,5-디메틸페닐)아미노]-4-옥소부트-2-에노익 산, (Z)-4-[(3,5-디메틸페닐)아미노]-4-옥소부트-2-에노익 산, (Z)-4-[(4-부틸페닐)아미노]-4-옥소부트-2-에노익 산, (Z)-4-옥소-4-(m -톨일아미노)부트-2-에노익 산, (Z)-4-[(4-플루오로페닐)아미노]-4-옥소부트-2-에노익 산, (Z)-4-[(3,5-디클로로페닐)아미노]-4-옥소부트-2-에노익 산, (Z)-4-[(2,4-디클로로-6-메틸페닐)아미노]-4-옥소부트-2-에노익 산, N^1 -(3,4-디메틸페닐)- N^4 -(3,5-디메틸페닐)말레아미드, N^1 -(3-부틸페닐)- N^4 -(3,4-디메틸페닐)말레아미드, N^1 -(4-브로모페닐)- N^4 -(3,4-디메틸페닐)말레아미드, N^1 -(4-플루오로페닐)- N^4 -(3-메톡시페닐)말레아미드, N^1 -(3-에틸페닐)- N^4 -(4-플루오로페닐)말레아미드, (Z)-4-[(3-플루오로-4-메틸페닐)아미노]-4-옥소부트-2-에노익 산, N^1,N^4 -비스(3,5-디클로로페닐)푸마르아미드, N^1,N^4 -비스(4-브로모페닐)푸마르아미드, N^1,N^4 -비스(3,4-디클로로페닐)푸마르아미드, N^1,N^4 -bis(3-플루오로-4-메틸페닐)푸마르아미드, N^1,N^4 -bis(4-메톡시페닐)말레아미드, N^1 -(3-플루오로-4-메톡시페닐)- N^4 -(4-플루오로페닐)말레아미드, N^1,N^4 -bis(4-플루오로-2-메틸페닐)말레아미드, N^1 -(2,5-디메틸페닐)- N^3 -(3-메톡시페닐)-2-메틸말론아미드, N^1 -(4-플루오로페닐)- N^4 -(m -톨일)말레아미드, N^1 -(3,5-디메틸페닐)- N^3 -(3-메톡시페닐)-2-메틸말론아미드, 에틸 3-(안트라센-2-일아미노)-2-메틸-3-옥소프로판산 에스테르, 에틸 3-[(2-클로로-4-하이드록시페닐)아미노]-3-옥소프로판산 에스테르로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 화합물인 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

제3항에 있어서 상기 암은 유방암, 대장암, 폐암, 소세포폐암, 위암, 간암, 혈액암, 콜암, 췌장암, 피부암, 두부 또는 경부암, 피부또는 안구내 흑색종, 자궁암, 난소암, 직장암, 항문부근암, 결장암, 유방암, 나팔관암종,

자궁내막암종, 자궁경부암, 질암, 음문암종, 호지킨병, 식도암, 소장암, 내분비선암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 음경암, 전립선암, 만성 또는 급성 백혈병, 림프구 림프종, 방광암, 신장 또는 수뇨관 암, 신장세포 암종, 신장골반 암종, CNS 종양, 1차 CNS 림프종, 척수 종양, 뇌간신경교종 및 뇌하수체 선종으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 질병인 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 6

제3항에 있어서 상기 암은 폐암인 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

명세서

기술분야

[0001]

본 발명은 신규한 아닐린 유도체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 및 이를 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002]

AIMP2(ARS-interacting multi-functional protein 2)의 유전적 봉괴가 c-myc의 과발현을 유도하고 이로 인해 폐의 치조 상피세포(alveolar epithelial cell)가 과증식되면서 신생쥐의 치사(neonatal lethality)가 유도되며, AIMP2가 TGF- β 에 의해 유도되고 핵으로 이동하여 c-myc의 발현을 억제한다는 것이 분자 및 세포학적 분석으로 밝혀진 바 있다(M. J. Kim, B.-J. Park, Y.-S. Kang, H. J. Kim, J.-H. Park, J. W. Kang, S. W. Lee, J. M. Han, H.-W. Lee, S. Kim, Nat. Genet. 34, 330-336, 2003).

[0003]

[0004]

대한민국 특허출원 제2005-110946호에는, AIMP2가 신규한 암억제자(tumor suppressor)이며, Smad2/3와 직접적 상호작용을 통하여 TGF- β 의 신호전달을 강화시키는 기능을 하며, 암 세포주 및 조직에서 AIMP2의 엑손 2가 결손된 형태의 변이체인 AIMP2DX2가 특이적으로 발현된다는 것이 기술되어 있다. 또한, AIMP2DX2로 형질전환된 세포에서는 TGF- β 와 상관없이 AIMP2 수준이 극적으로 감소되는 것으로서 AIMP2DX2 생성이 AIMP2 활성의 상실을 초래한다는 것이 확인되었다. AIMP2DX2가 AIMP2 수준의 감소를 유발하고, 이로 인한 암 형성과 진행에 밀접하게 연관되어 있으므로 AIMP2DX2의 생성을 통해 폐암, 간암, 피부암, 유방암, 신장암, 골육종 등의 다양한 암을 진단할 수 있음이 밝혀진 바 있다. 상기 특허 출원의 전문이 본원에 참조로 인용된다.

[0005]

[0006]

대한민국 특허출원 제2005-110946호에는, AIMP2가 신규한 암억제자(tumor suppressor)이며, Smad2/3와 직접적 상호작용을 통하여 TGF- β 의 신호전달을 강화시키는 기능을 하며, 암 세포주 및 조직에서 AIMP2의 엑손 2가 결손된 형태의 변이체인 AIMP2-DX2가 특이적으로 발현된다는 것이 기술되어 있다. 또한, AIMP2-DX2로 형질전환된 세포에서는 TGF- β 와 상관없이 AIMP2 수준이 극적으로 감소되는 것으로서 AIMP2-DX2 생성이 AIMP2 활성의 상실을 초래한다는 것이 확인되었다. AIMP2-DX2가 AIMP2 수준의 감소를 유발하고, 이로 인한 암 형성과 진행에 밀접하게 연관되어 있으므로 AIMP2-DX2의 생성을 통해 폐암, 간암, 피부암, 유방암, 신장암, 골육종 등의 다양한 암을 진단할 수 있음이 밝혀진 바 있다. 상기 특허 출원의 전문이 본원에 참조로 인용된다.

[0007]

[0008]

AIMP2-DX2 단백질은 AIMP2 단백질 서열 중 엑손 2의 영역이 결실된 변이체로서, AIMP2 단백질의 서열(312aa version: AAC50391.1 또는 GI:1215669; 320aa version: AAH13630.1, GI:15489023, BC013630.1)은 문헌(312aa version: Nicolaides, N.C., et. al., Genomics 29 (2), 329-334 (1995)/ 320 aa version: Generation and initial analysis of more than 15,000 full-length human and mouse cDNA sequences, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99 (26), 16899-16903 (2002))에 기술되어 있다. 본 발명자에 의해 출원된 한국 특허 출원 10-2003-0018424는 AIMP2 단백질의 암 치료 효과에 대해 기술하고 있으며, 이 특허 문헌에서 기술된 AIMP2 단백질에 대한 설명이 본 출원에 인용된다.

[0009] 또한 DNA가 damage가 되었을 때 AIMP2는 p53을 activation 시켜 apoptosis를 촉진한다(Han JM, et. al., Proc Natl Acad Sci U S A, 105: 11206-11211 (2008)). AIMP2-DX2는 이와 같은 AIMP2와 경쟁적으로 작용하여 AIMP2와 p53의 결합을 방해하여 AIMP2의 pro-apoptosis 기능을 저해하여 암을 유발하는 것으로 규명되었다(Choi JW, et al., PLOS GENETICS, 7(3):e1001351, 2011). 따라서 AIMP2-DX2는 새로운 항암제 target이 될 수 있음 상기 문현에 기재되어 있다.

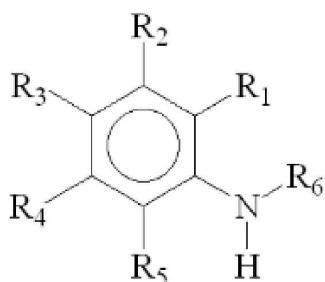
발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 이에 본 발명자는 본 발명자는 AIMP2-DX2의 mRNA를 degradation 시켜 발현을 억제함으로써 암세포의 성장을 억제시킴으로써 세포 독성 없이 암-특이적으로 암을 제어할 수 있는 항암제를 개발하고자 하였으며, 본 명세서에서 화학식 1로 정의된 화합물이 상기한 효과를 나타내어 항암제로 유용함을 밝혀내어 본 발명을 완성하였다.

[0011] 따라서 본 발명의 목적은 하기 화학식 1로 표시되는 아닐린 유도체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 제공하는 것이다.

[0012] <화학식 1>

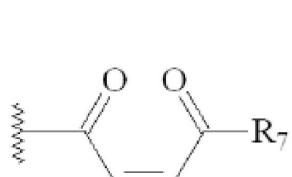


[0013]

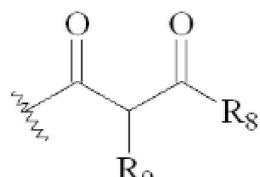
[0014] [상기 식에서,

[0015] R1 내지 R5는 각각 수소, C1-C4의 적쇄, 가지 달린 또는 사이클로 알킬,

[0016] 할로겐, 알콕시 및 하이드록시로 이루어진 군에서 선택된 것이고,

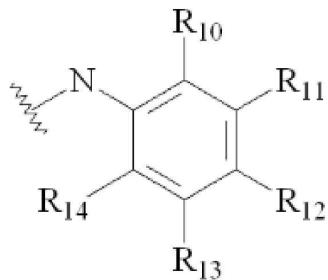


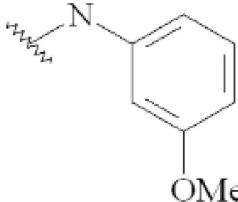
또는

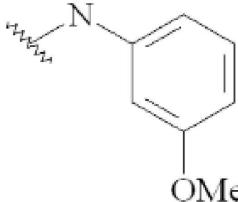


이고,

[0017] R6은



[0018] 상기 R7은 하이드록시 또는 이고,

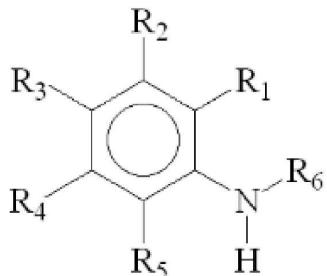
[0019] 상기 R8은 탄소수 1 내지 6개의 알콕시 또는 이고,

[0020] 상기 R9는 수소 또는 탄소수 1 내지 6개의 알킬이고,

[0021] 상기 R10 내지 R14는 각각 수소, 메틸, 할로겐 및 메톡시로 이루어진 군에서 선택된 것이다.]

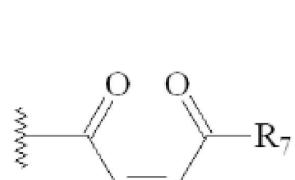
[0022] 본 발명의 다른 목적은 하기 화학식 1로 표시되는 아닐린 유도체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성 분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

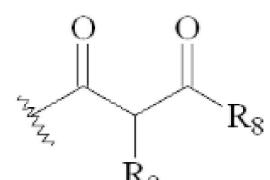
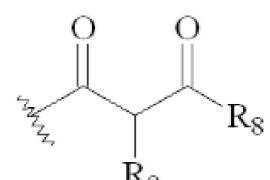
[0023] <화학식 1>

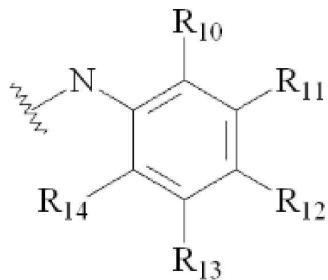


[0024] [상기 식에서,

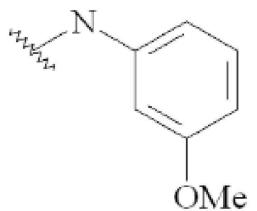
[0025] R1 내지 R5는 각각 수소, C1-C4의 직쇄, 가지달린 또는 사이클로 알킬, 할로겐, 알콕시, 하이드록시 및 카르복실기로 이루어진 군에서 선택된 것이고,



[0026] R6은  또는 이고,



[0028] 상기 R7은 하이드록시 또는 이고,



[0029] 상기 R8은 탄소수 1 내지 6개의 알콕시 또는 이고,

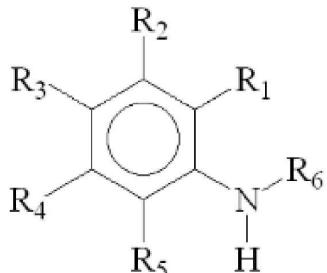
[0030] 상기 R9는 수소 또는 탄소수 1 내지 6개의 알킬이고,

[0031] 상기 R10 내지 R14는 각각 수소, 메틸, 할로겐 및 메콕시로 이루어진 군에서 선택된 것이다.]

과제의 해결 수단

[0032] 상기의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 아닐린 유도체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 제공한다.

[0033] <화학식 1>

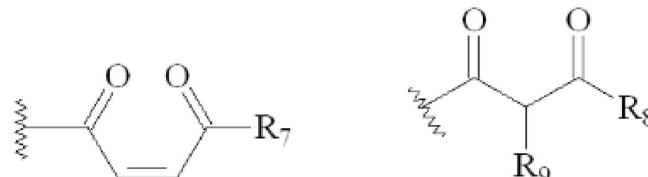


[0034]

[0035] [상기 식에서,

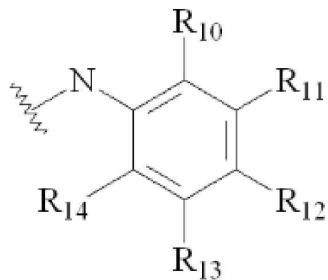
[0036] R1 내지 R5는 각각 수소, C1-C4의 직쇄, 가지달린 또는 사이클로 알킬,

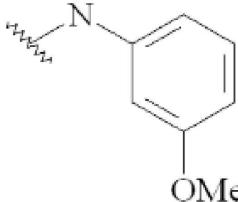
[0037] 할로겐, 알콕시 및 하이드록시로 이루어진 군에서 선택된 것이고,

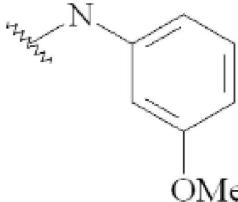


[0038]

R6은 이고,



[0039] 상기 R7은 하이드록시 또는 이고,

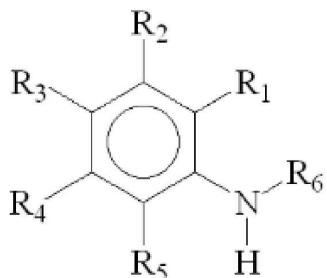
[0040] 상기 R8은 탄소수 1 내지 6개의 알콕시 또는 이고,

[0041] 상기 R9는 수소 또는 탄소수 1 내지 6개의 알킬이고,

[0042] 상기 R10 내지 R14는 각각 수소, 메틸, 할로겐 및 메콕시로 이루어진 군에서 선택된 것이다]

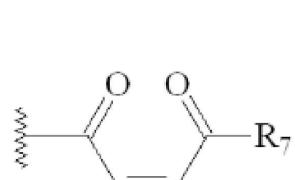
[0043] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 아닐린 유도체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

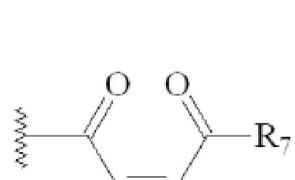
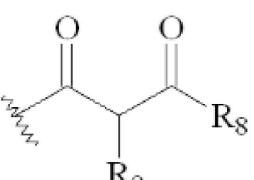
[0044] <화학식 1>

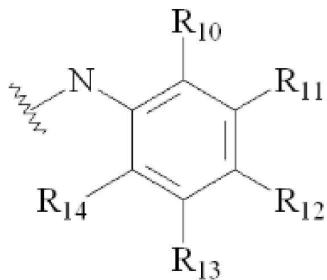


[0045] [상기 식에서,

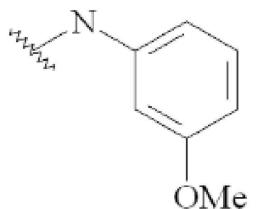
[0047] R1 내지 R5는 각각 수소, C1-C4의 직쇄, 가지달린 또는 사이클로 알킬, 할로겐, 알콕시, 하이드록시 및 카르복실기로 이루어진 군에서 선택된 것이고,



[0048] R6은  또는 이고,



[0049] 상기 R7은 하이드록시 또는 이고,



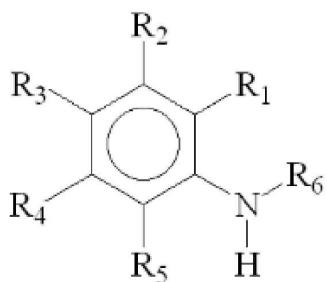
[0050] 상기 R8은 탄소수 1 내지 6개의 알콕시 또는 이고,

[0051] 상기 R9는 수소 또는 탄소수 1 내지 6개의 알킬이고,

[0052] 상기 R10 내지 R14는 각각 수소, 메틸, 할로겐 및 메콕시로 이루어진 군에서 선택된 것이다.]

[0053] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.

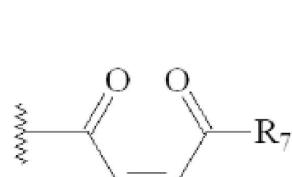
[0054] <화학식 1>



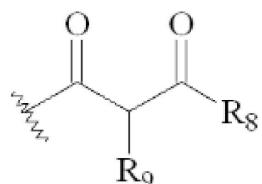
[0055]

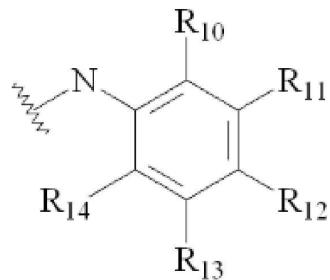
[0056] 본 발명의 화합물은 상기 화학식 1로 표시되며, 상기 식에서

[0057] R1 내지 R5는 각각 수소, C1-C4의 치화, 가지달린 또는 사이클로 알킬, 할로겐, 알콕시, 하이드록시 및 카르복실기로 이루어진 군에서 선택된 것이고,

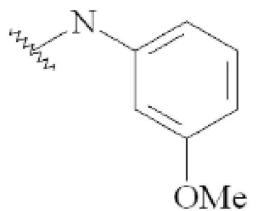


[0058] R6은 이고,





[0059] 상기 R7은 하이드록시 또는 OMe 이고,



[0060] 상기 R8은 탄소수 1 내지 6개의 알콕시 또는 OMe 이고,

[0061] 상기 R9는 수소 또는 탄소수 1 내지 6개의 알킬이고,

[0062] 상기 R10 내지 R14는 각각 수소, 메틸, 할로겐 및 메콕시로 이루어진 군에서 선택된 것임을 특징으로 한다.

[0063]

[0064] 본 발명에서 사용한 용어 “알킬”은, 달리 나타내지 않는 한, 칙쇄 또는 측쇄가 포화된 탄화수소 라디칼을 의미한다.

[0065]

본 발명에서 사용한 용어 “할로겐” 또는 “할로”는 할로겐족 원자를 나타내며, 불소, 염소, 브롬, 요오드 등을 포함한다.

[0066]

본 발명에서 사용한 용어 “알콕시”는, 달리 나타내지 않는 한, 0-알콕시(알킬은 상기 정의됨)를 의미한다.

[0067]

본 발명에서 사용한 용어 “사이클로알킬”은, 달리 나타내지 않는 한, 포화된 탄화수소환을 의미한다.

[0068]

[0069] 더욱 바람직하게는 상기 화학식 1의 화합물을 다음 중에서 선택된다.

[0070] 4-[(3-에톡시)-1,3-디옥소프로필]아미노]-벤조산

[0071] N^1, N^4 -비스(3,4-디메틸페닐)푸마르아미드

[0072] N^1, N^4 -디- m -톨일푸마르아미드

[0073] N^1 -(2,5-디메틸페닐)- N^4 -(3,4-디메틸페닐)말레아미드

[0074] N^1, N^4 -디- m -톨일말레아미드

[0075] N^1 -(3,4-디메틸페닐)- N^4 -(4-플루오로-2-메틸페닐)말레아미드

[0076] N^1 -(3,4-디메틸페닐)- N^4 -(3-플루오로-4-메틸페닐)말레아미드

[0077] N^1 -(3,5-디클로로페닐)- N^4 -(3,4-디메틸페닐)말레아미드

[0078] (Z)-4-[(2,5-디메틸페닐)아미노]-4-옥소부트-2-에노익 산

[0079] (Z)-4-[(3,5-디메틸페닐)아미노]-4-옥소부트-2-에노익 산

[0080] (Z)-4-[(4-부틸페닐)아미노]-4-옥소부트-2-에노익 산

- [0081] (Z)-4-옥소-4-(m-톨일아미노)부트-2-에노익 산
- [0082] (Z)-4-[(4-플루오로페닐)아미노]-4-옥소부트-2-에노익 산
- [0083] (Z)-4-[(3,5-디클로로페닐)아미노]-4-옥소부트-2-에노익 산
- [0084] (Z)-4-[(2,4-디클로로-6-메틸페닐)아미노]-4-옥소부트-2-에노익 산
- [0085] $N^1-(3,4\text{-디메틸페닐})-N^4-(3,5\text{-디메틸페닐})\text{말레아미드}$
- [0086] $N^1-(3\text{-부틸페닐})-N^4-(3,4\text{-디메틸페닐})\text{말레아미드}$
- [0087] $N^1-(4\text{-브로모페닐})-N^4-(3,4\text{-디메틸페닐})\text{말레아미드}$
- [0088] $N^1-(4\text{-플루오로페닐})-N^4-(3\text{-메톡시페닐})\text{말레아미드}$
- [0089] $N^1-(3\text{-에틸페닐})-N^4-(4\text{-플루오로페닐})\text{말레아미드}$
- [0090] (Z)-4-[(3-플루오로-4-메틸페닐)아미노]-4-옥소부트-2-에노익 산
- [0091] $N^1,N^4\text{-비스}(3,5\text{-디클로로페닐})\text{푸마르아미드}$
- [0092] $N^1,N^4\text{-비스}(4\text{-브로모페닐})\text{푸마르아미드}$
- [0093] $N^1,N^4\text{-비스}(3,4\text{-디클로로페닐})\text{푸마르아미드}$
- [0094] $N^1,N^4\text{-bis}(3\text{-플루오로-4-메틸페닐})\text{푸마르아미드}$
- [0095] $N^1,N^4\text{-bis}(4\text{-메톡시페닐})\text{말레아미드}$
- [0096] $N^1-(3\text{-플루오로-4-메톡시페닐})-N^4-(4\text{-플루오로페닐})\text{말레아미드}$
- [0097] $N^1,N^4\text{-bis}(4\text{-플루오로-2-메틸페닐})\text{말레아미드}$
- [0098] $N^1-(2,5\text{-디메틸페닐})-N^3-(3\text{-메톡시페닐})-2\text{-메틸말론아미드}$
- [0099] $N^1-(4\text{-플루오로페닐})-N^4-(m\text{-톨일})\text{말레아미드}$
- [0100] $N^1-(3,5\text{-디메틸페닐})-N^3-(3\text{-메톡시페닐})-2\text{-메틸말론아미드}$
- [0101] 에틸 3-(안트라센-2-일아미노)-2-메틸-3-옥소프로판산 에스테르
- [0102] 에틸 3-[(2-클로로-4-하이드록시페닐)아미노]-3-옥소프로판산 에스테르
- [0103] 에틸 3-[(2-클로로-4-하이드록시페닐)아미노]-2-메틸-3-옥소프로판산 에스테르
- [0104] 본 발명의 화학식 1의 화합물은 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함한다. 이러한 약제학적으로 허용되는 염은 무기산 또는 유기산과의 산부가염이 포함된다. 산부가염으로는 약제학적으로 허용가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산부가염이 유용하다. 유리산으로는 무기산과 유기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 브롬산, 황산, 인산 등을 사용할 수 있고, 유기산으로는 구연산, 초산, 젖산, 주석산, 푸마산, 포름산, 피로피온산, 옥살산, 트리플루오로아세트산, 메탄술폰산, 벤젠설폰산, 말레인산, 벤조산, 글루콘산, 글리콜산, 숙신산, 4-모폴린에탄술폰산, 캠포술폰산, 4-니트로벤젠술폰산, 히드록시-0-술폰산, 4-톨루엔술폰산, 칼륨투론산, 엠보산, 글루탐산, 아스파트산 등을 사용할 수 있다.
- [0105] 본 발명 화학식 1의 화합물은 AIMP2의 세포 내 수준을 정상적으로 회복시킴으로써 손상된 암억제 신호전달 과정인 TGF-beta의 기능을 회복하여 암세포의 성장을 특이적으로 억제하여 세포 사멸을 촉진하는 효과를

나타내었다. 또한, 기존 항암제들이 주로 세포 독성을 유발하여 세포 사멸을 유도하는 것과는 달리, 암-특이적 기전을 타겟으로 발암 기전을 억제하고 정상 신호 전달 체계를 회복함으로써 암을 제어할 수 있어, 종래의 항암제와는 다른 새로운 기전의 항암제로서 유용함을 확인하였다.

- [0106] 본 발명의 일실시예에서는 폐암 세포주에 다양한 화합물을 처리하여 폐암 세포주를 억제하는 화합물을 탐색한 결과 본 발명의 화합물 중 하나인 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산(4-[(3-ethoxy-1,3-dioxopropyl)amino]-benzoic acid)가 AIMP2-DX2의 활성을 억제하며, 정상세포에 독성이 없는 것을 확인하였다.
- [0107] 본 발명의 다른 일실시예에서는 상기 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산을 폐암세포주에 처리하여 폐암세포를 억제하는지 여부를 MTT 어세이를 통하여 측정하였다. 그 결과 폐암 세포는 본 발명의 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산 화합물의 처리 시간 및 농도 의존적으로 사멸 되는 것을 확인하였다.
- [0108] 본 발명의 다른 일실시예에서는 폐암 세포주가 이식된 마우스를 이용하여 *in vivo*에서 본 발명의 화합물이 폐암을 억제하는지 확인하였다. 그 결과 본 발명의 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산은 효과적으로 마우스의 종양의 크기를 억제하는 것을 확인하였다.
- [0109] 본 발명의 다른 일실시예에서는 본 발명의 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산과 같이 아닐린 구조를 공유하는 다양한 신규 유도체를 제조하여 상기 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산과 동일효과를 보이는지 확인하였다.
- [0110] 그 결과 본 발명의 아닐린 유도체들은 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산과 같이 효과적으로 암세포의 AIMP2-DX2의 활성을 억제하는 것을 확인하였다.
- [0111] 이로써 본 발명의 아닐린 유도체는 효과적으로 암세포를 억제하는 것을 확인하였다.
- [0112] 따라서 본 발명은 화학식 1로 표시되는 아닐린 유도체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 암 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0113]
- [0114] 본 발명의 항암용 조성물은 이에 한정되지 않지만 바람직하게는 약학적 조성물을 말한다. 상기 약학적 조성물은 약학적으로 허용되는 담체와 함께 적합한 형태로 제형화 될 수 있다. '약학적으로 허용되는'이란 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 통상적으로 위장 장애, 현기증 등과 같은 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 조성물을 말한다. 약학적으로 허용되는 담체로는 예를 들면, 락토스, 전분, 셀룰로스 유도체, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 등과 같은 경구 투여용 담체 및 물, 적합한 오일, 식염수, 수성 글루코스 및 글리콜 등과 같은 비경구 투여용 담체 등이 있으며 안정화제 및 보존제를 추가로 포함할 수 있다. 적합한 안정화제로는 아황산수소나트륨, 아황산나트륨 또는 아스코르브산과 같은 항산화제가 있다. 적합한 보존제로는 벤즈알코늄 클로라이드, 메틸-또는 프로필-파라벤 및 클로로부탄올이 있다. 그 밖의 약학적으로 허용되는 담체로는 다음의 문헌에 기재되어 있는 것을 참고로 할 수 있다(Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1995). 본 발명의 약학적 조성물은 공지의 방법에 따라 다양한 비경구 또는 경구 투여용 형태로 제조될 수 있다. 비경구 투여용제형의 대표적인 것으로는 주사용 제형으로 등장성 수용액 또는 혼탁액이 바람직하다. 주사용 제형은 적합한 분산제 또는 습윤제 및 혼탁화제를 사용하여 당업계에 공지된 기술에 따라 제조할 수 있다. 예를 들면, 각 성분을 식염수 또는 완충액에 용해시켜 주사용으로 제형화될 수 있다. 또한, 경구 투여용 제형으로는 이에 한정되지는 않으나, 분말, 과립, 정제, 환약 및 캡슐 등이 있다.
- [0115] 상기와 같은 방법으로 제형화된 약학적 조성물은 유효량으로 경구, 경피, 피하, 정맥 또는 근육을 포함한 여러 경로를 통해 투여될 수 있다. 상기에서 '유효량'이란 환자에게 투여하였을 때, 예방 또는 치료 효과를 나타내는 화합물 또는 추출물의 양을 말한다. 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여량은 투여 경로, 투여 대상, 연령, 성별 체중, 개인차 및 질병 상태에 따라 적절히 선택할 수 있다. 바람직하게는, 상기 항암용 조성물은 질환의

정도에 따라 유효성분의 함량을 달리할 수 있으나, 성인을 기준으로 할 때 통상적으로 1회 투여시 $0.0001\mu\text{g}$ 내지 10kg의 유효용량으로 하루에 수차례 반복 투여될 수 있다.

[0116] 상기 본 발명의 항암용 조성물은 암의 치료에 매우 효과적이다. 상기 암으로는 예를들면, 이에 한정되지는 않으나 유방암, 대장암, 폐암, 소세포폐암, 위암, 간암, 혈액암, 골암, 췌장암, 피부암, 두부 또는 경부암, 피부또는 안구내 흑색종, 자궁암, 난소암, 직장암, 항문부근암, 결장암, 유방암, 나팔관암종, 자궁내막암종, 자궁경부암, 질암, 음경암, 호지킨병, 식도암, 소장암, 내분비선암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 음경암, 전립선암, 만성 또는 급성 백혈병, 림프구 림프종, 방광암, 신장 또는 수뇨관 암, 신장세포암종, 신장골반 암종, CNS 종양, 1차 CNS 림프종, 척수 종양, 뇌간신경교종, 뇌하수체 선종과 같은 암 또는 이들 암의 하나 이상의 조합일 수 있으며 바람직하게는 폐암 일 수 있다.

발명의 효과

[0117] 따라서, 본 발명의 상기 화학식 1의 화합물은 새로운 항암제 타겟인 AIMP2-DX2의 활성을 저해하여, 암세포의 사멸을 효과적으로 유도하여 암의 예방 및 치료에 효과적이다. 따라서, 본 발명의 화합물은 암 질환의 예방 및 치료의 목적으로 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0118] 도 1은 본 발명 화합물의 AIMP2-DX2억제 기작을 밝히기 위하여 사용된 프라이머의 위치 지도이다.

도 2는 루시퍼라제 분석을 위하여 폐암세포주에 도입된 DX2-luciferase 백터(AIMP2-DX2프로모터 하에서 발현되고 조절된 백터)이다.

도 3은 본 발명의 화합물이 AIMP2-DX2를 특이적으로 농도의존적으로 억제하는 것을 확인한 실험결과이다(BC-DXI01: 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산, Non: 비투여군, 0.04, 0.4, 4: BC-DXI01 처리 농도(uM), DX2: AIMP2-DX2의 발현량, AIMP2: AIMP2의 발현량, Tubulin: Tubulin의 발현량).

도 4는 본 발명의 화합물이 AIMP2-DX2를 특이적으로 처리시간 의존적으로 억제하는 것을 확인한 실험결과이다(BC-DXI01: 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산, DX2: AIMP2-DX2의 발현량, AIMP2: AIMP2의 발현량, Tubulin: Tubulin의 발현량, Actin: Actin 발현량).

도 5는 본 발명의 화합물이 AIMP2-DX2를 특이적으로 처리시간 의존적으로 억제하는 것을 확인한 실험결과이다(BC-DXI01: 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산, DX2: AIMP2-DX2의 발현량, AIMP2: AIMP2의 발현량, Actin: Actin 발현량).

도 6은 본 발명의 화합물이 폐암세포를 억제하는 활성을 *in vitro*에서 확인한 실험결과이다(Y축: 세포 생존율(비투여군(Non)을 기준으로 한 상대적 생존율), 0.04, 0.4, 4 : 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산 처리 농도(uM), DMSO: DMSO 처리 군).

도 7은 본 발명 화합물에 의하여 유도된 폐암세포에서의 세포사멸 정도를 확인한 FACS 실험결과그래프이다(Y축: 세포사멸 비율(%), X축: 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산 처리 농도(uM)).

도 8은 본 발명 화합물의 염이 본 발명 화합물과 동일한 효과를 나타내는지를 실험한 결과이다(BC-DXI01: 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산, DX2: AIMP2-DX2의 발현량, Actin: Actin 발현량, Salt: BC-DXI01의 염, Ori: BC-DXI01의 original 형태, 0, 0.5, 1, 2, 4 : 처리 시간(h)).

도 9는 본 발명의 화합물이 폐암세포를 억제하는 활성을 *in vivo*에서 확인한 쥐 종양의 부피확인 결과이다(Y축: 종양 부피(mm^3), G1: 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산 비투여군, G2: 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산 50mg/kg 처리군, X축: 투여 후 시간(day)).

도 10은 본 발명의 화합물이 폐암세포를 억제하는 활성을 *in vivo*에서 확인한 쥐 체중을 확인한 결과이다(Y축: 체중(g), G1: 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산 비투여군, G2: 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산 50mg/kg 처리군, X축: 투여 후 시간(day)).

도 11은 본 발명의 화합물이 폐암세포를 억제하는 활성을 *in vivo*에서 확인한 동물실험 결과사진이다(Y축: 종양

무게(g), G1: 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산 비투여군, G2: 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산 50mg/kg 처리군).

도 12는 본 발명의 화합물이 폐암세포를 억제하는 활성을 *in vivo*에서 확인한 동물실험 결과사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0119] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다.

[0120] 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0121] <실시예 1>

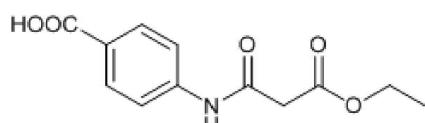
[0122] AIMP2-DX2 억제제 탐색

[0123] 본 발명자들은 미국의 ChemDive사로부터 구입한 화합물 라이브러리 중에서 AIMP2-DX2의 활성을 특이적으로 억제하는 화합물을 탐색하고자, 폐암 세포주인 H460에 pGL2-DX2(pGL2-DX2, 도 2 참조)를 transfection 하고 24시간 배양 후 화합물을 처리하였다. 이후 4시간을 추가 배양한 후, 제조사 프로토콜(Promega, 미국)에 따른 루시퍼라제 분석 키트로 루미노미터를 이용하여 루시퍼라제 활성을 측정하였다.

[0124] 그 결과, 22개의 화합물이 1차적으로 탐색되었고, 22개의 화합물을 정상 세포인 WI-26 세포에 처리하여 48시간 후에 MTT 어세이를 하여, 세포 독성이 없는 것을 최종적으로 선택한 결과, 하기 화학식 2의 화합물(4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산)이 선택되었다(data 미도시).

[0125]

[0126] <화학식 2>



[0127]

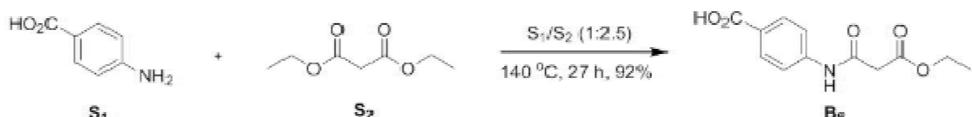
[0128] <실시예 2>

[0129] 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산(4-[(3-ethoxy-1,3-dioxopropyl)amino]-benzoic acid)의 합성

[0130] 하기 S1의 카르복실산(2.00g, 14.9mmol)과 하기 S2의 디에틸말론애니트(11.1mL, 72.9mmol)를 140°C에서 27시간 동안 저어서 혼합하였다. 혼합물은 실온으로 식힌 다음 끓는 디에틸 에테르에 정치시켜 두었다. 얻어진 혼합물을 식히고 필터한 후 백색분말의 4-[(3-ethoxy-1,3-dioxopropyl)amino]-benzoic acid(3.30g, 92%)을 수득하였다.

[0131] NMR 및 MS 분석결과는 다음과 같다.

[0132] ^1H NMR ((CD₃)₂SO, 300MHz) δ 12.7(s, 1H), 10.5(s, 1H), 7.91(d, J =8.7Hz, 2H), 7.69(d, J =8.6Hz, 2H), 4.13(q, J =7.1Hz, 2H), 3.50(s, 2H), 1.20(t, J =7.1Hz, 3H); MS(ES⁺) m/z calcd for C₁₂H₁₃NO₅(M⁺) 251.1, found 251.8



[0134] <실시예 3>

[0135] 본 발명 화합물이 AIMP2-DX2 활성에 미치는 영향 조사

[0136] 본 발명자들은 상기 화학식 2의 화합물이 AIMP2-DX2의 활성이 미치는 영향을 조사하기 위하여, AIMP2 항체와 AIMP2-DX2 항체(네오믹스(한국)에서 구입)를 이용하여 웨스턴 블러트과 RT-PCR을 수행하였다.

[0137] RT-PCR은 다음과 같이 실시되었다.

[0138] 전체 RNA(total-RNA)를 제조사(Qiagen)의 프로토콜에 따라서 분리하였다. 신선하게 준비된 조직($3 \times 3 \times 3\text{mm}$)을 작은 조각으로 자르고, 350ul 라이시스 완충액으로 혼합하여, 호모게나이저 또는 주사기로 균질화시켰다. 350ul의 70% 에탄올을 첨가한 뒤에, 라이세트(lysate)를 여러번 아래위로 흔들어서, 컬럼에 로딩하고 13,000 RPM으로 15초간 원심분리하였다. 컬럼을 세척 완충액으로 2번 세척한 후에, RNA를 40ul의 RNase-free DW로 용출하였다. 역전사를 위하여, 1ug의 분리된 RNA를 AIMP2와 DX2 특이적 프라이머의 주형으로 사용하였다. 역전사 후, DW 3배로 희석시키고, 1ul를 0.5ul dNTP(각 2.5mM), 0.5ul의 도 1에 표시된 프라이머(각 10pM), 1.5ul DMSO 및 0.1ul Taq 폴리미라제(5U/u1)을 포함하는 30ul PCR 반응에 사용하였다.

[0139] 웨스턴 블러트은 다음과 같이 진행되었다.

[0140] 세포를 본 발명의 화합물로 일정 시간 동안 처리하고 프로테이제(protease)를 포함하는 RIPA 완충액을 이용하여 세포에서 단백질을 추출하고, 10 내지 12% SDS-PAGE를 이용해서 분리한 뒤, 특이적 항체로 ECL 시스템을 이용하여 면역블랏팅 하였다.

[0141] 그 결과, 본 발명 화합물의 처리 시간 및 농도 의존적으로 AIMP2-DX2 단백질의 발현만이 감소 되고, AIMP2 단백질의 발현에는 영향을 미치지 않음을 확인하였다(도 3 및 도 4A 참조).

[0142] 또한 시간에 따른 본 발명의 화합물이 AIMP2-DX2의 mRNA에 미치는 영향을 조사하기 위하여 RT-PCR을 수행한 결과, 흥미롭게도 본 발명의 화합물은 AIMP2의 mRNA는 분해시키지 않고, 화합물 처리 2시간 이후에 AIMP2-DX2의 mRNA만 특이적으로 분해시킴을 확인하였다(도 4B 참조).

[0143] 더 짧은 시간에도 분해시키는지 확인하여 위하여, 화합물을 30분, 1시간, 2시간, 3시간, 4시간 동안 각각 처리한 다음 RT-PCR을 한 결과, 도 5에 도시한 바와 같이, 본 발명의 화합물 처리 후 30분부터 AIMP2-DX2를 특이적으로 분해시킴을 확인할 수 있었다.

[0144] 상기 결과로부터 본 발명의 화합물은 항암제 target이 되는 AIMP2-DX2의 mRNA를 분해시켜 AIMP2-DX2 활성을 저해하는 것을 확인하였다.

[0145] <실시예 4>

[0146] 본 발명 화합물이 폐암 억제 in vitro 효과

[0147] <4-1> MTT 어세이

[0148] 본 발명자들은 상기 화학식 2의 본 발명의 화합물의 폐암 억제 효과를 확인하기 위하여 하기와 같이 실험하였다.

[0149] 폐암 세포주 NCI-H460를 10% 태아 소 혈청, 1% 폐니실린을 포함하는 스트렙토마이신의 RPMI (HyQ RPMI-1640, Hyclone) 배지에서 48시간 배양한 다음, 이를 96웰 플레이트에 옮겨서 12시간 이후 배지를 serum free RPMI 배지로 교체한 다음, 상기 화학식 1의 화합물을 0.04uM, 0.4uM 및 4uM을 처리하고 24시간, 48시간, 72시간 뒤에 각각 MTT 어세이를 하였다.

[0150] 그 결과 도 6에 나타낸 바와 같이, 폐암 세포가 본 발명의 화합물의 처리 시간 및 농도 의존적으로 사멸되는 것을 확인할 수 있었다.

[0151] <4-2> FACS 분석

[0152] 폐암 세포주 NCI-H460를 10% 태아 소 혈청, 1% 폐니실린을 포함하는 스트렙토마이신의 RPMI (HyQ RPMI-1640, Hyclone)에서 배양하였다. WI-26 세포주를 10% 태아 소 혈청, 1% 폐니실린을 포함하는 스트렙토마이신의 DEMD(Dulbeccos modified Eagles medium, Hyclone)에서 배양하였다. 본 발명의 화합물이 세포주기에 미치는 영향을 살펴보기 위하여, 세포를 2% FBS를 포함하는 배지에서 본 발명의 화합물을 처리하여 배양하고, 세포를 모아서 FACS 분석하였다.

[0153] 그 결과 도 7에서 보는 바와 같이, 본 발명의 화합물을 처리하는 경우 암세포의 세포사멸(apoptosis) 비율이 농도의존적으로 향상되는 것을 확인하였다.

[0154] <4-3> 본 발명 화합물의 염(salt form)의 효과 실험

[0155] 본 발명의 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산의 salt form을 제조하여 실시예 3과 동일한 방법으로 AIMP2-DX2의 억제효과를 측정하였다. 그 결과 [도 8]에서 보는 바와 같이, 본 발명의 화합물의 염은 농도 의존적으로 암세포의 AIMP2-DX2를 억제는 것을 확인하였다. 이로써 본 발명 화합물의 염이 효과적으로 암세포를 억제하는 것을 확인하였다.

[0156] <실시예 5>

[0157] 본 발명 화합물이 폐암 억제 in vivo 효과

[0158] 인체 유래의 폐암 세포주인 NCI-H460 세포가 이식된 누드마우스에 시험물질인 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산(Benzoic acid, 4-[(3-ethoxy-1,3-dioxopropyl)amino]-)를 복강 및 피하투여 한 후, 종양의 성장 억제 효과를 평가하였다. 군구성은 음성대조군, 50 및 100 mg/kg 용량의 시험물질투여군의 총 3 군으로 각 군당 10 마리씩 설정하였다. 음성대조군은 부형제인 DMSO 및 Tween80, PEG400, 주사용수의 혼합용액을, 50 및 100 mg/kg 용량의 시험물질투여군은 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산(Benzoic acid, 4-[(3-ethoxy-1,3-dioxopropyl)amino]-)를, 1 일 1 회, 27 일간, 부검일을 포함하여 총 28 회 복강 (4 회) 및 피하 (24 회)투여 하였다. 관찰기간 동안 매일 1 회 일반증상을 관찰하였고, 동물의 체중 및 종양의 부피는 주 2 회 측정하였다. 부검 전일 모든 개체를 18 시간 이상 절식하였고, 부검일에 시험물질을 투여한 후 0.5, 1 및 2 시간째에 각 군당 3 마리, 3 마리 및 4 마리를 개체별로 혈액을 채취하고 종양을 적출하였다. 채취한 혈액은 EDTA 가 함유된 tube에 넣고 원심분리 하여 혈장을 분리하였고, 적출된 종양은 중량을 측정하였다. 혈장과 종양의 절반은 액체 질소로 급속 냉동시킨 후 냉동상태로, 나머지 절반은 10 % 중성완충포르말린용액에 고정하여 시험의뢰자에게 송부하였다.

[0159] 그 결과 [도 9]에서 보는 바와 같이, 본 발명의 화합물을 처리한 군의 종양의 부피는 대조군에 비하여 현저히 감소된 것을 확인하였다.

[0160] 또한 [도 10]에서 보는 바와 같이, 마우스의 체중은 대조군과 본 발명 화합물 처리군이 차이가 없어, 본 발명의 화합물이 다른 독성이 없는 것을 확인하였다.

- [0161] 또한 [도 11]에서 보는 바와 같이, 본 발명의 화합물을 처리한 군의 종양의 무게는 대조군에 비하여 현저히 감소된 것을 확인하였다.
- [0162] 또한 본 발명의 화합물을 처리한 군과 대조군 마우스의 종양을 관찰한 결과 [도 12]에서 보는 바와 같이 본 발명의 화합물을 처리한 군의 종양이 육안으로도 구별이 가능하도록 현저히 감소한 것을 확인하였다.

[0163] <실시예 6>

본 발명 화합물의 폐암 억제 효과

[0165] 상기 암 억제 효과가 입증된 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산과 유사한 구조의 신규 아닐린 유도체를 합성하고(표 1 내지 4 참조), 이들의 암 억제효과를 확인하기 위하여 실시예 1과 동일한 방법으로 폐암세포주인 A549, H460에 pGL-DX-2를 도입하고 24시간 배양 후 화합물을 처리하고 4시간 추가 배양 후 루시피라제 활성을 측정하였다. 본 발명의 화합물 대신 DMSO를 처리한 것을 음성대조군(N.C), 본 발명의 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산을 처리한 것을 양성대조군(P.C)으로 함께 측정하였다.

[0166] 그 결과 [표 5] 및 [표 6]에서 보는 바와 같이, 본 발명의 신규 아닐린 유도체들은 대조군에 비하여 AIMP2-DX2의 수준을 억제시켜 4-[(3-에톡시-1,3-디옥소프로필)아미노]-벤조산과 같이 암 억제 효과가 우수한 것을 확인하였다.

표 1

번호	구조	명칭
1		N1,N4-bis(3,4-dimethylphenyl)fumaramide
2		N1,N4-di-m-tolylfumaramide
3		N1-(2,5-dimethylphenyl)-N4-(3,4-dimethylphenyl)maleamide
4		N1,N4-di-m-tolylmaleamide
5		N1-(3,4-dimethylphenyl)-N4-(4-fluoro-2-methylphenyl)maleamide
6		N1-(3,4-dimethylphenyl)-N4-(3-fluoro-4-methylphenyl)maleamide
7		N1-(3,5-dichlorophenyl)-N4-(3,4-dimethylphenyl)maleamide
8		(Z)-4-[(2,5-dimethylphenyl)amino]-4-oxobut-2-enoic acid
9		(Z)-4-[(3,5-dimethylphenyl)amino]-4-oxobut-2-enoic acid

[0167]

표 2

번호	구조	명칭
10		(Z)-4-[(4-butylphenyl)amino]-4-oxobut-2-enoic acid
11		(Z)-4-oxo-4-(m-tolylamino)but-2-enoic acid
12		(Z)-4-[(4-fluorophenyl)amino]-4-oxobut-2-enoic acid
13		(Z)-4-[(3,5-dichlorophenyl)amino]-4-oxobut-2-enoic acid
14		(Z)-4-[(2,4-dichloro-6-methylphenyl)amino]-4-oxobut-2-enoic acid
15		N1-(3,4-dimethylphenyl)-N4-(3,5-dimethylphenyl)maleamide
16		N1-(3-butylphenyl)-N4-(3,4-dimethylphenyl)maleamide
17		N1-(4-bromophenyl)-N4-(3,4-dimethylphenyl)maleamide
18		N1-(4-fluorophenyl)-N4-(3-methoxyphenyl)maleamide
19		N1-(3-ethylphenyl)-N4-(4-fluorophenyl)maleamide

표 3

번호	구조	명칭
20		(Z)-4-[(3-fluoro-4-methylphenyl)amino]-4-oxobut-2-enoic acid
21		N1,N4-bis(3,5-dichlorophenyl)fumaramide
22		N1,N4-bis(4-bromophenyl)fumaramide
23		N1,N4-bis(3,4-dichlorophenyl)fumaramide
24		N1,N4-bis(3-fluoro-4-methylphenyl)fumaramide
25		N1,N4-bis(4-methoxyphenyl)maleamide
26		N1-(3-fluoro-4-methylphenyl)-N4-(4-fluorophenyl)maleamide
27		N1,N4-bis(4-fluoro-2-methylphenyl)maleamide
28		N1-(2,5-dimethylphenyl)-N3-(3-methoxyphenyl)-2-methylmalonamide
29		N1-(4-fluorophenyl)-N4-(m-tolyl)maleamide

표 4

번호	구조	명칭
30		N1-(3,5-dimethylphenyl)-N3-(3-methoxyphenyl)-2-methylmalonamide
31		ethyl 3-(anthracen-2-ylamino)-2-methyl-3-oxopropanoate
32		ethyl 3-[(2-chloro-4-hydroxyphenyl)amino]-2-methyl-3-oxopropanoate
33		ethyl 3-[(2-chloro-4-hydroxyphenyl)amino]-2-methyl-3-oxopropanoate

[0170]

표 5

번호	이름(IUPAC Name)	A549세포 에서의 AIMP2-DX2 활성	H460세포 에서의 AIMP2-DX2 활성
1	N1,N4-bis(3,4-dimethylphenyl)fumaramide	14179	7101
2	N1,N4-di-m-tolylfumaramide	14072	7292
3	N1-(2,5-dimethylphenyl)-N4-(3,4-dimethylphenyl)maleamide	10043	7749
4	N1,N4-di-m-tolylmaleamide	9605	8189
5	N1-(3,4-dimethylphenyl)-N4-(4-fluoro-2-methylphenyl)maleamide	9643	7427
6	N1-(3,4-dimethylphenyl)-N4-(3-fluoro-4-methylphenyl)maleamide	10551	8901
7	N1-(3,5-dichlorophenyl)-N4-(3,4-dimethylphenyl)maleamide	8268	5019
8	(Z)-4-[(2,5-dimethylphenyl)amino]-4-oxobut-2-enoic acid	6705	7648
9	(Z)-4-[(3,5-dimethylphenyl)amino]-4-oxobut-2-enoic acid	6786	7064
10	(Z)-4-[(4-butylphenyl)amino]-4-oxobut-2-enoic acid	12399	8045
11	(Z)-4-oxo-4-(m-tolylamino)but-2-enoic acid	6328	7143
12	(Z)-4-[(4-fluorophenyl)amino]-4-oxobut-2-enoic acid	7937	7031
13	(Z)-4-[(3,5-dichlorophenyl)amino]-4-oxobut-2-enoic acid	8049	7855
14	(Z)-4-[(2,4-dichloro-6-methylphenyl)amino]-4-oxobut-2-enoic acid	240	230
15	N1-(3,4-dimethylphenyl)-N4-(3,5-dimethylphenyl)maleamide	6981	8621
16	N1-(3-butylphenyl)-N4-(3,4-dimethylphenyl)maleamide	6871	7511
17	N1-(4-bromophenyl)-N4-(3,4-dimethylphenyl)maleamide	6975	5718
18	N1-(4-fluorophenyl)-N4-(3-methoxyphenyl)maleamide	4239	3246

표 6

[0172]

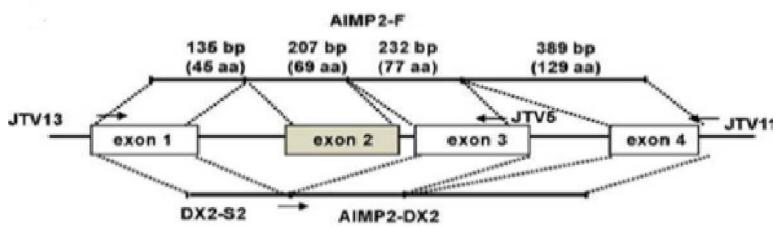
번호	이름(IUPAC Name)	A549세포에서의 AIMP2-DX2 활성	H460세포에서의 AIMP2-DX2 활성
19	N1-(3-ethylphenyl)-N4-(4-fluorophenyl)maleamide	3978	3715
20	(Z)-4-[(3-fluoro-4-methylphenyl)amino]-4-oxobut-2-enoic acid	6446	7639
21	N1,N4-bis(3,5-dichlorophenyl)fumaramide	7285	6061
22	N1,N4-bis(4-bromophenyl)fumaramide	5647	6377
23	N1,N4-bis(3,4-dichlorophenyl)fumaramide	5352	6391
24	N1,N4-bis(3-fluoro-4-methylphenyl)fumaramide	5812	7094
25	N1,N4-bis(4-methoxyphenyl)maleamide	5152	6085
26	N1-(3-fluoro-4-methylphenyl)-N4-(4-fluorophenyl)maleamide	6525	6428
27	N1,N4-bis(4-fluoro-2-methylphenyl)maleamide	5586	6029
28	N1-(2,5-dimethylphenyl)-N3-(3-methoxyphenyl)-2-methylmalonamide	6691	7722
29	N1-(4-fluorophenyl)-N4-(m-tolyl)maleamide	5662	5916
30	N1-(3,5-dimethylphenyl)-N3-(3-methoxyphenyl)-2-methylmalonamide	7291	7167
31	ethyl 3-(anthracen-2-ylamino)-2-methyl-3-oxopropanoate	5771	6346
32	ethyl 3-[(2-chloro-4-hydroxyphenyl)amino]-3-oxopropanoate	19889	4848
33	ethyl 3-[(2-chloro-4-hydroxyphenyl)amino]-2-methyl-3-oxopropanoate	18631	5403
P.C	4-[(3-ethoxy-1,3-dioxopropyl)amino]-benzoic acid (실시예1)	11651	5012
N.C	DMSO 첨가	20089	8627

산업상 이용가능성

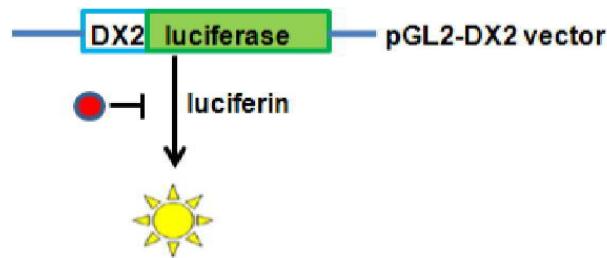
[0173] 이상 살펴본 바와 같이, 본 발명의 화합물은 새로운 항암제 타겟인 AIMP2-DX2의 활성을 저해하여, 암세포의 사멸을 효과적으로 유도하여 암의 예방 및 치료에 효과적이다. 따라서, 본 발명의 화합물은 암 질환의 예방 및 치료의 목적으로 사용될 수 있어 산업상 이용가능성이 높다.

도면

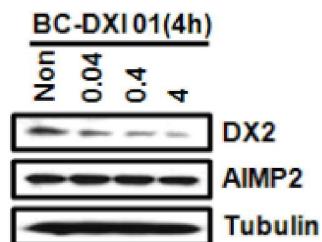
도면1



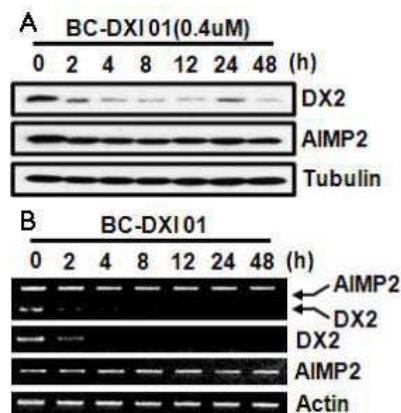
도면2



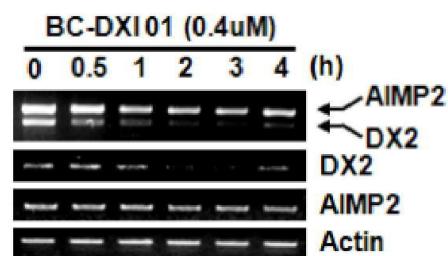
도면3



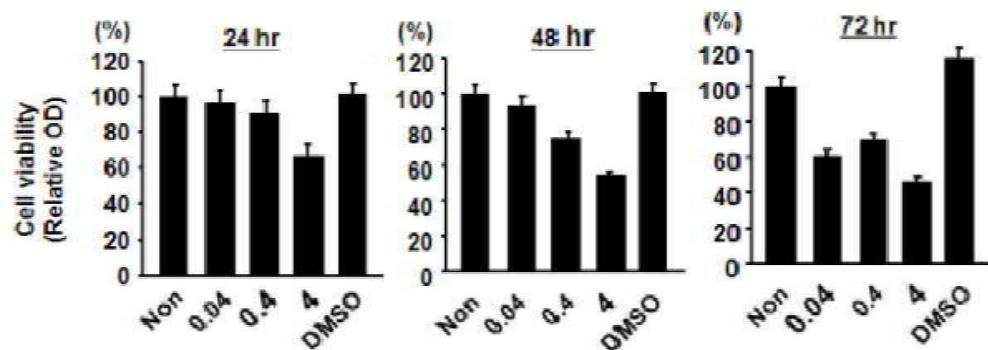
도면4



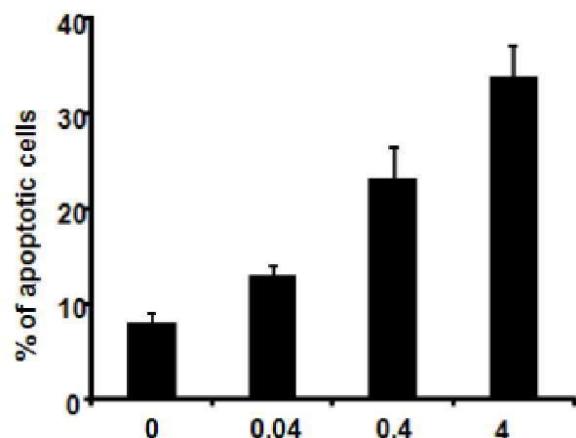
도면5



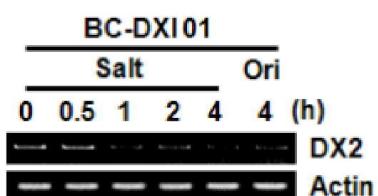
도면6



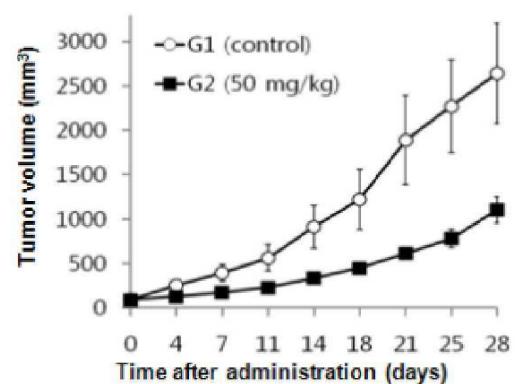
도면7



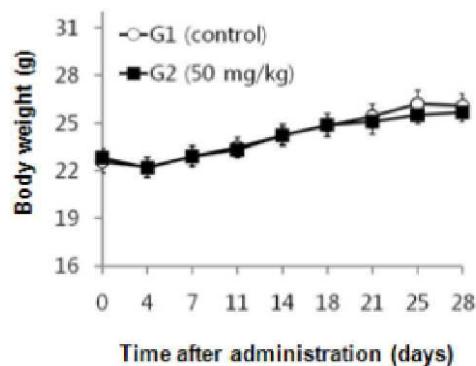
도면8



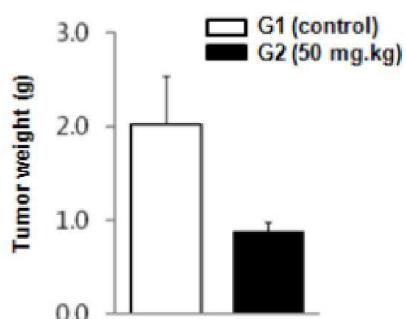
도면9



도면10



도면11



도면12

