

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。 Int. Cl.⁷
C07D 487/04

(11) 공개번호 10-2005-0106388
(43) 공개일자 2005년11월09일

(21) 출원번호	10-2005-0101711(분할)		
(22) 출원일자	2005년10월27일		
(62) 원출원	특허10-2003-0058607		
	원출원일자 : 2003년08월25일	심사청구일자	2003년08월25일

(71) 출원인	이화여자대학교 산학협력단 서울 서대문구 대현동 11-1 이화여자대학교내
(72) 발명자	서명은 서울특별시 서대문구 대현동 이화여자대학교 약학대학 이현정 서울특별시 강남구 압구정동 신현대아파트 109-1006 김진성 서울특별시 동대문구 회기동 65번지 신현대아파트 2-1102
(74) 대리인	특허법인다래

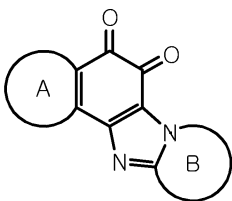
심사청구 : 있음

(54) 신규한 벤조플루오렌 디온계 화합물

요약

본 발명은 하기의 화학식 1로 표시되는 화합물, 약학적으로 허용가능한 그의 염, 그 제조방법 및 그 약학적 조성물에 관한 것이다. 상기 화합물은 세포증식을 효율적으로 억제하므로 각종 암에 대하여 예방, 치료 및 치료보조의 용도로 사용될 수 있다.

[화학식 1]



상기 식에서 A환 및 B환의 정의는 본 발명의 명세서에서 정의한 바와 같다.

색인어

벤조플루오렌, 항암, 세포독성

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

퀴논계 화합물들은 일반적으로 다양한 생리활성을 가지며[R. A. Morton, *Ed. Biochemistry of Quinones*; Academic Press: New York, 1965], 그 중에서도 복소환계(heterocyclic) 퀴논류들은 우수한 항암활성을 가지는 것으로 알려져 있다[G. A. Efimov, L. S. Efres, *Zh. Org. Khim.*, 1967, 3, 162].

서(Suh) 등은 새로운 퀴논계 항암제를 개발하고자 하는 목적으로 6,7-디클로로퀴놀린-5,8-디온과 2-아미노피리딘 유도체를 반응시켜 새로운 구조의 트리아자-벤조[3,2-a]플루오렌-5,6-디온 유도체들을 합성하고, 5가지 인간 종양세포주에 대하여 이들 화합물의 세포독성 효과를 측정하였다. 그 결과 2-메틸-4a,10,11-트리아자-벤조[3,2-a]플루오렌-5,6-디온이 인간 난소암 세포주(SK-OV-3)에 대하여 기존에 사용되고 있는 항암제인 독소루비신보다 항암효과가 우수함을 발견하였다[Y. S. Kim, S. Y. Park, M. E. Suh, H. J. Lee, D. Schollmeyer, *Bio. Org. Chem.*, 2003, 11, 1829].

한편, 트리아자-벤조[3,2-a]플루오렌-5,6-디온 유도체와 같은 오르토-퀴놀린 유도체는 조류 골수아세포종 바이러스 역전사효소(avian myeloblastosis virus reverse transcriptase, AMV-RT)의 작용을 저해하며, 그 저해작용의 정도는 일반적으로 파라-퀴놀린 유도체보다 훨씬 우수하다고 보고되고 있다[Y. Inouye, H. Matsumoto, R. Morishige, Y. Kitahara, A. Kabo, S. Nakamira, *Chem. Pharm. Bull.*, 1991, 39, 994].

본 발명자는 상기의 결과들로부터 착안하여 뛰어난 세포독성 효과를 발휘함으로써 항암기능이 탁월한 신규한 벤조플루오렌 디온계 화합물을 찾아내어 본 발명을 완성하였다.

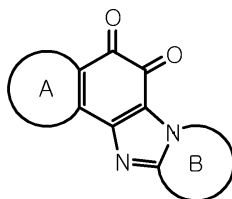
발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명은 신규한 벤조플루오렌 디온계 화합물, 약학적으로 허용가능한 그 염 그리고 상기 화합물의 제조방법 및 상기 화합물 또는 그 염을 유효성분으로 함유하는 항암용 약학적 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

발명의 구성 및 작용

본 발명은 화학식 1로 표시되는 화합물 및 약학적으로 허용가능한 그의 염을 제공한다.

화학식 1



상기 식에서 A환은 , , , , 및  등으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종일 수 있고, B환은 , , 및  등으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종일 수 있다.

상기 A환 및 B환을 표시하는데 있어서, 점선으로 표시된 변은 상기 화학식 1의 구조 중 퀴논고리 및 이미다졸고리와 각각 융합되어(fused) 결합된 변을 표시한 것이다. 또한, 상기 B환을 정의하는데 사용된 R은 수소, 저급알킬기 및 할로젠원자 등으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종일 수 있으며, R₁은 수소 또는 저급알킬기 등일 수 있다.

본 발명의 화학식 1을 포함한 명세서 내용의 전반에 걸쳐 상기 B환의 표시하기 위하여 사용된 상기 R 및 R₁의 정의에 있어서, "저급알킬기" 용어는 1 내지 6개의 탄소원자로 구성된 직쇄 또는 분지쇄 알킬기를 의미하며 그 예로는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, 이차부틸, 펜틸, 이소펜틸, 네오펜틸, 3차펜틸, 1-메틸부틸, 2-메틸부틸, 1,2-디메틸프로필, 헥실, 이소헥실, 1-메틸헥틸, 2-메틸헥틸, 3-메틸헥틸, 1,1-디메틸부틸, 1,2-디메틸부틸, 2,2-디메틸부틸, 1,3-디메틸부틸, 2,3-디메틸부틸, 3,3-디메틸부틸, 1-에틸부틸, 2-에틸부틸, 1,1,2-트리메틸프로필, 1,2,2-트리메틸프로필, 1-에틸-1-메탈프로필 및 1-에틸-2-메틸프로필기가 있고, 상기 R의 정의에 사용된 "할로겐원자" 용어는 불소, 염소, 브롬, 요오드를 의미한다.

상기 화학식 1로 표시되는 화합물 중에서 바람직한 예로는 화학식 1의 상기 A환은  또는  이고, 상기 B환의 정의에 사용된 상기 R은 수소, 메틸기, 에틸기, 프로필기, 이소프로필기, 불소, 염소 및 브롬으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종이며, 상기 R₁은 수소, 메틸기, 에틸기, 프로필기 및 이소프로필기로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종인 화합물들이다.

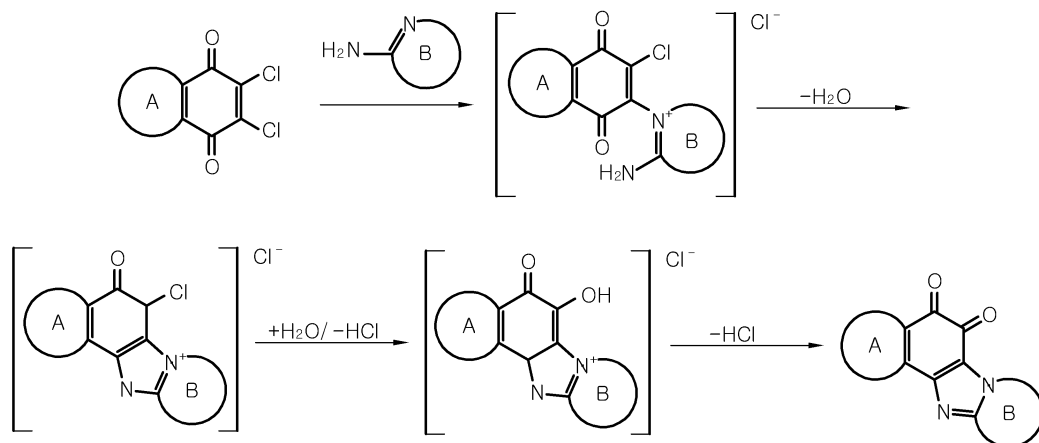
또한, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 구체적인 예로는 다음과 같은 화합물들이 있다.

- i) 10-메틸-1,6b,11-트리아자-벤조[3,2-a]플루오렌-5,6-디온
- ii) 7-메틸-1,6b,11-트리아자-벤조[3,2-a]플루오렌-5,6-디온
- iii) 8-클로로-1,6b,11-트리아자-벤조[3,2-a]플루오렌-5,6-디온
- iv) 1,6b,10,11-테트라아자-벤조[a]플루오렌-5,6-디온
- v) 1,6b,9,11-테트라아자-벤조[a]플루오렌-5,6-디온
- vi) 2,3,6b,11-테트라아자-벤조[a]플루오렌-5,6-디온
- vii) 8-메틸-2,3,6b,11-테트라아자-벤조[a]플루오렌-5,6-디온
- viii) 10-메틸-2,3,6b,11-테트라아자-벤조[a]플루오렌-5,6-디온

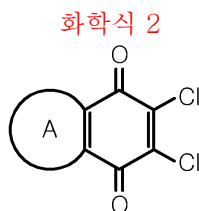
본 발명은 또한, 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법을 제공한다.

하기 도 1은 본 발명의 화합물의 제조방법을 개략적으로 보여주는 도식도이며, 하기 화학식 2 및 3은 본 발명의 화합물을 제조하기 위한 출발물질들이다.

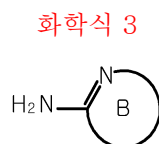
[도 1]



상기 도에서 A환 및 B환의 정의는 화학식 1, 2 및 3에서와 같다.



상기 식에서 A환은 , , , , 및 등으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종이다. 또한, 상기 A환을 표시하는데 있어서, 점선으로 표시된 변은 상기 화학식 2의 구조 중 퀴논고리와 융합되어(fused) 결합된 변을 표시한 것이다.



상기 식에서 B환은 , , 및 등으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종이고, 상기 B환을 정의하는데 사용된 R은 수소, 저급알킬기 및 할로젠원자로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종이며, R₁은 수소 또는 저급알킬기이다. 또한, 상기 B환을 표시하는데 있어서, 점선으로 표시된 변은 상기 화학식 3의 구조 중 C=N 결합이 이루는 한 변을 표시한 것이다.

이하에서 본 발명의 제조방법을 보다 구체적으로 설명한다.

출발물질인 화학식 2의 화합물 및 촉매인 무수 탄산칼륨(K₂CO₃)을 적절한 알콜용매에 용해시킨 후 상기 용액에 화학식 3의 화합물을 가입하여 반응시킨다. 상기 반응에서 사용되는 알콜용매의 바람직한 예로는 메틸알콜, 에틸알콜, 프로필알콜, 부틸알콜 등이 있으며, 특히 에틸알콜 또는 이소프로필알콜이 가장 바람직하다. 이때 화학식 2의 화합물 및 화학식 3의 화합물의 몰비는 당량비 내지 상기 화학식 3의 화합물이 과당량이 되도록 할 수 있으며, 특히 1:1 내지 1:2.5가 바람직하고, 1:1.1 내지 1:2.0 이 가장 바람직하다. 촉매로 사용되는 상기 무수 탄산칼륨은 화학식 2의 화합물에 대하여 0.7 내지 1 당량이 되도록 사용할 수 있다. 상기 반응에 있어서 반응온도는 환류온도가 바람직하고 반응시간은 각각의 화합물마다 반응이 일어나기에 충분한 시간이 부여될 수 있으며, 바람직하게는 10시간 내지 70시간 또는 보다 바람직하게는 15시간 내지 55시간동안 반응시킬 수 있다.

상기 반응 후 필요에 따라 당해 기술분야의 숙련자에게 알려진 또는 그 숙련자가 알 수 있는 적절한 추출 또는 정제과정 등과 같은 후처리과정을 거칠 수 있다. 상기 후처리과정의 바람직한 예는 하기에서 기술할 실시예에서 적절히 보여줄 것이다.

본 발명의 화합물의 약학적으로 허용가능한 염은 예를 들면 충분히 염기성인 본 발명의 화합물의 산 부가 염, 예를 들면 무기 또는 유기산(예를 들면, 염산, 브롬화 수소산, 황산, 인산, 메탄설폰산, 벤젠설폰산, 트리플루오로아세트산, 시트르산, 락트산 또는 말레산)과의 산 부가염이다. 또한, 충분히 산성인 본 발명의 화합물의 약학적으로 허용가능한 염기 부가 염은 알칼리금속 염, 예를 들면 리튬, 나트륨 또는 칼륨 염; 알칼리토금속 염, 예를 들면 칼슘 또는 마그네슘 염; 암모늄 염; 또는 생리적으로 허용가능한 양이온을 제공하는 유기 염기와 염, 예를 들면, 메틸아민, 디메틸아민, 트리메틸아민, 피페리딘, 모르폴린 또는 트리스-(2-히드록시에틸)아민과의 염이다. 상기 염은 모두 본 발명의 범주에 들어가고 이들은 종래 방법으

로 제조될 수 있다. 예를 들면, 이들은 산성 및 염기성 단체를 일반적으로 화학식량적 비율로 적절한 수성, 비수성 또는 부분 수성매질에서 접촉시켜 제조될 수 있다. 염은 적절하게 여과, 바람직하게는 에테르성 또는 탄화수소 용매인 비-용매와의 침전 후의 여과, 용매의 증발, 또는 수성 용매의 경우의 냉동건조에 의해 회수될 수 있다.

본 발명은 또한, 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 약학적으로 허용가능한 그 염을 유효성분으로 함유하는 항암용 약학적 조성물을 제공한다.

본 발명의 항암용 약학적 조성물은 포유동물, 특히 인간에서 과다증식(예를 들면, 암질환)의 예방, 치료 또는 치료보조 등의 용도로 사용될 수 있다. 특히, 다양한 양성 또는 악성 인간의 종양(폐암, 난소암, 피부암, 흑색종암, 중추신경암, 결장암, 신장암, 간암, 방광암, 유방암, 위암, 자궁암, 전립선암, 췌장암, 외음부암, 갑상선암, 육종, 교아종, 다양한 두부 및 경부 종양 등), 특히 바람직하게는 폐암, 난소암, 흑색종암, 중추신경계암, 또는 결장암의 치료를 위한 치료제 또는 치료보조제, 예방제로 사용될 수 있다.

본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있으며, 일회 또는 여러 회에 걸쳐 경구적, 비경구적 또는 국소적으로 투여할 수 있다.

본 명세서에서 사용된 용어 "비경구적"은 제한없이, 피하주사, 정맥주사, 동맥주사 또는 주입기술을 포함한다. 또한 용어 "국소적"은 입 및 코의 점막 및 피부 등 통상의 경로에 의한 투여뿐 아니라, 흡입분무 및 직장투여를 포함한다.

상기 약학적 조성물은 고체, 반고체 또는 액체 용량 형태(예를 들어, 정제, 캡셀제, 환제, 분말제, 좌제, 용액제, 엘릭서, 시럽제, 현탁제, 크림제, 함당정제, 페이스트 및 분무제 형태)일 수 있다. 본 분야에 공지되어 있듯이, 본 명세서에 기재된 프탈라진 유도체의 투여경로는 사용될 조성물의 형태에 따라 선택한다. 일반적으로, 활성 화합물의 정확한 용량의 처리 및 투여가 용이하도록 본 명세서에 기재한 억제제의 단위용량 형태를 사용하는 것이 바람직하다. 일반적으로 본 발명의 치료 효과를 갖는 화합물은 총 조성물 중량에 대해 약 0.1 내지 약 95 중량% 범위의 농도수준, 즉 목적하는 단위용량을 제공하기에 충분한 양의 용량형태로 존재한다.

본 발명의 약학적 조성물은 일반적으로 유효성분을 기준으로 1 일 약 0.01 내지 100 mg/kg의 양을 단일 또는 다중용량 형태로 투여하나, 개인의 건강상태 또는 병리학적 소견 등에 의하여 복용량을 달리 결정할 수 있다.

경구 투여를 위하여, 시트르산 나트륨, 탄산칼슘 및 인산디칼슘과 같은 여러가지 부형제를 함유하는 정제는, 전분 바람직하게는 감자 또는 타피오카 전분, 알긴산 및 특정 규산염 착물과 같은 여러가지 붕해제 및 폴리비닐 피롤리돈, 슈크로스, 젤라틴 및 아라비아 검과 같은 결합제와 함께 사용할 수 있다. 또한, 마그네슘 스테아레이트, 나트륨 라우릴 술페이트 및 탈크와 같은 윤활제는 정제화를 위해 때때로 매우 유용하다. 유사한 형태의 고체 조성물이 연질 및 경질-충진 젤라틴 캡셀 내의 충진제로서 사용될 수도 있다. 이와 관련된 바람직한 물질에는 락토오스 또는 유당뿐만 아니라 고분자량의 폴리에틸렌 글리콜이 포함된다. 수성 현탁제 또는 엘릭서를 경구 투여하는 것이 바람직한 경우, 이에 함유되는 필수적인 활성성분을 여러 가지 감미제 또는 향미제, 착색제 또는 안료 및 필요에 따라, 유화제 및/또는 현탁화제 뿐만 아니라 물, 에탄올, 프로필렌 글리콜, 글리세린 및 이와 유사한 여러가지 혼합물과 같은 희석제와 함께 혼합하여 사용할 수 있다.

비경구 투여를 위해서는, 각종 물질이 약제학적 부문에서 유용한 바와 같이 본 발명 조성물에서 담체, 보조제 및 비히클로서 사용될 수 있다. 유성용액, 현탁액 또는 유화액과 같은 주사제는 필요한 적정 분산제 또는 습윤제 및 현탁화제를 사용하여 공지 기술에 의해 제형화시킬 수 있다. 멸균 주사제에는 예를 들어 멸균 비발열성물 또는 1,3-부탄디올과 같은 비경구적으로 허용되는 무독성 희석제 또는 용매를 사용할 수도 있다. 사용될 수 있는 기타의 허용가능한 비히클 및 용매에는 5% 텍스트로스 주사액, 링거주사액 및 염화나트륨 등장주사액이 있다. 또한 멸균, 비휘발성 오일은 통상 용매 또는 현탁화매질로서 사용된다. 이런 목적으로 합성 모노-, 디- 또는 트리글리세라이드를 포함하여 어떠한 혼합 비휘발성 오일이라도 사용될 수 있다. 올레산과 같은 지방산이 주사 조성물의 제조에 사용될 수도 있다.

본 발명의 약학적 조성물의 직장투여용 좌제는, 상온에서는 고체이나 체온에서는 액체이어서 직장에서 용융되어서 약물을 방출하는 코코아 버터, 폴리에틸렌 글리콜 등과 같은 적합한 비자극성 부형제와 약물을 혼합함으로써 제조될 수 있다.

또한, 본 발명의 약학적 조성물은 국부적으로 투여될 수도 있으며, 이러한 용도로는 표준 약제학적 실시예에 따라 크림제, 쉐브(salves), 젤리, 페이스트, 연고제 등으로 투여함이 바람직하다.

하기의 실시예는 본 발명을 실시하기 위한 출발물질 및 본 발명의 화합물의 제조를 예시하고 그 세포독성 효과를 측정함으로써 본 발명을 설명하기 위한 것이며, 이로써 본 발명의 범위를 제한하고자 함은 아니다.

[실시예]

실시예 1) 10-메틸-1,6b,11-트리아자-벤조[3,2-a]플루오렌-5,6-디온

1-a) 6,7-디클로로퀴놀린-5,8-디온의 제조

6,7-디클로로퀴놀린-5,8-디온은 논문에 발표된 방법으로 제조하였다[C. W. Schellhammer, S. Peteren, G. Domagk, *Ann*, 1959, 624, 108].

1-a-1) 5-니트로-8-히드록시퀴놀린·HCl

8-히드록시퀴놀린(Merck, 담쉬타트, 독일) 29g(0.2mol)을 물 100ml와 얼음 100g에 넣고 교반하고, 여기에 농축염산(37%) 37.5 mL를 넣은 후 얼음 중탕하에서 1시간동안 교반하였다. 상기 과정에서 얻어진 혼합액에 NaNO₂(소듐 나이트라이트) 15g을 물 25mL에 녹인 수용액을 0-4℃를 유지하면서 적하깔대기(dropping funnel)를 이용하여 서서히 적가하였다. 상기 과정에서 얻어진 혼합액을 0℃에서 24시간동안 방치한 후 유지시키고 생성된 침전을 흡인여과한 후 얼음물로 수회 세척하여 pH5-6이 되도록 하여 황색 고체 결정을 수득하고 이를 상온 건조시켰다.

녹는점 : 250℃ 이상

1-a-2) 5-아미노-8-히드록시퀴놀린·H₂SO₄

상기 과정에서 수득한 5-니트로-8-히드록시퀴놀린·HCl 40g(0.2mol)을 물 160ml에 녹인 후 여기에 5N-NaOH 용액 260ml를 가하고 55℃까지 가열하여 교반하였다. 여기에 환원제 Na₂S₂O₄(소듐 히드로설파이트) 95g을 한꺼번에 가하여 반응물의 온도가 자발적으로 90-95℃가 되게 하고 75℃를 유지시켜 1시간동안 교반하였다. 상기 반응물에 N₂ 기체를 통과시켜 버블링하여 50℃까지 냉각시킨 후 12N-H₂SO₄ 250ml를 서서히 가하고 이때 생성되는 SO₂ 및 SO₃ 기체를 감압하에서 제거하였다. 생성된 침전물을 흡인여과하여 적황색 결정을 수득하고 이를 상온 건조시켰다.

녹는점 : 250℃ 이상

1-a-3) 6,7-디클로로퀴놀린-5,8-디온

상기 과정에서 수득한 5-아미노-8-히드록시퀴놀린·H₂SO₄ 40g(0.15mol)에 농축염산 50ml를 가하고 55℃까지 가열하여 교반하였다. 상기 과정에서 얻어진 반응혼합물에 NaClO₃(소듐 클로레이트) 20g을 최소량의 물 30ml에 녹인 용액을 천천히 적가하였다. 상기 과정의 혼합액을 50-60℃를 유지하면서 30분동안 교반한 후 얼음물에 상기 혼합액을 붓고 생성된 침전물을 흡인 감압 여과한 후 얼음물로 세척하였다. 이때 얻어진 생성물을 에탄올로 재결정하여 미황색 분말을 수득하고 이를 상온 건조시켰다.

수득물 : 30g(90% 이상), 녹는점 : 220-222℃

1-b) 10-메틸-1,6b,11-트리아자-벤조[3,2-a]플루오렌-5,6-디온

6,7-디클로로퀴놀린-5,8-디온 1.0g(4.7mmol)과 무수 K₂CO₃ 0.6g(4.4mmol)을 무수 에탄올 50ml에 넣은 후 용해시켰다. 이 혼합액에 2-아미노-4-메틸-피리딘(Aldrich, 위스콘신, 미국) 0.7ml(6.2mmol)을 가한 후 50시간 동안 가열 환류하였다. 이 반응액을 냉각시켜 석출되는 결정을 감압 여과한 후 에탄올로 재결정하여 주황색 고체를 얻었다.

수득물 : 0.352g (28%) 녹는점 : 300℃ 이상

IR (KBr, cm^{-1}) : 1650 (C=O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : 9.17 (br. d, J 6.8 Hz, 1H), 8.90 (dd, J 4.8 and 1.2 Hz, 1H), 8.35 (dd, J 7.6 and 1.2 Hz, 1H), 7.44 (m, 2H), 7.12 (t, J 6.8 Hz, 1H), 2.75 (s, 3H)

원소분석 : $\text{C}_{15}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$ (M.W. : 263.25)

계산치 : C 68.44 H 3.45 N 15.96

측정치 : C 68.58 H 3.45 N 15.61

실시예 2) 7-메틸-1,6b,11-트리아자-벤조[3,2-a]플루오렌-5,6-디온

6,7-디클로로퀴놀린-5,8-디온 1.0g(4.7mmol)과 무수 K_2CO_3 0.6g(4.4mmol)을 무수 에탄올 50ml에 넣은 후 용해시켰다. 이 혼합액에 2-아미노-6-메틸-피리딘(Aldrich, 위스콘신, 미국) 0.7g(6.3mmol)을 가한 후 50시간 동안 가열 환류하였다. 이 반응액을 냉각시켜 석출되는 결정을 감압 여과한 후 에탄올로 재결정하여 짙은 노란색 고체를 얻었다.

수득물 : 0.623g (50%) 녹는점 : 300°C 이상

IR (KBr, cm^{-1}) : 1649 (C=O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : 9.01 (dd, J 4.8 and 1.6 Hz, 1H), 8.55 (dd, J 8.0 and 1.6 Hz, 1H), 7.77 (d, J 8.8 Hz, 1H), 7.64 (dd, J 8.0 and 4.8 Hz, 1H), 7.54 (dd, J 8.8 and 7.2 Hz, 1H 1H), 6.99 (d, J 7.2 Hz, 1H), 3.11 (s, 3H)

원소분석 : $\text{C}_{15}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$ (M.W. : 263.25)

계산치 : C 68.44 H 3.45 N 15.96

측정치 : C 67.97 H 3.47 N 15.69

실시예 3) 8-클로로-1,6b,11-트리아자-벤조[3,2-a]플루오렌-5,6-디온

6,7-디클로로퀴놀린-5,8-디온 1.0g(4.7mmol)과 무수 K_2CO_3 0.6g(4.4mmol)을 무수 이소프로필 알콜 50ml에 넣은 후 용해시켰다. 이 혼합액에 2-아미노-5-클로로피리딘(Aldrich, 위스콘신, 미국) 1.2g(9.2mmol)을 가한 후 34시간 동안 가열 환류하였다. 이 반응액을 냉각하고 용매를 제거한 후 생성된 물질을 메틸렌 클로라이드(CH_2Cl_2)로 추출, 무수 MgSO_4 로 건조, 농축한 후 얻어진 물질을 에탄올로 재결정하여 주황색 고체를 얻었다.

수득물 : 0.596g (45%) 녹는점 : 300°C 이상

IR (KBr, cm^{-1}) : 1649 (C=O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : 9.32 (dd, J 2.0 and 0.6 Hz, 1H), 8.88 (dd, J 4.8 and 1.6 Hz, 1H), 8.36 (dd, J 7.6 and 1.6 Hz, 1H), 7.84 (dd, J 9.2 and 0.6 Hz, 1H), 7.61 (dd, J 9.2 and 2.0 Hz, 1H), 7.46 (dd, J 7.6 and 4.8 Hz, 1H).

원소분석 : $\text{C}_{14}\text{H}_6\text{ClN}_3\text{O}_2$ (M.W. : 283.67)

계산치 : C 59.28 H 2.13 N 14.81

측정치 : C 59.00 H 2.11 N 14.56

실시예 4) 1,6b,10,11-테트라아자-벤조[a]플루오렌-5,6-디온

6,7-디클로로퀴놀린-5,8-디온 1.0g(4.7mmol)과 무수 K_2CO_3 0.6g(4.4mmol)을 무수 이소프로필 알코올 50ml에 넣은 후 용해시켰다. 이 혼합액에 2-아미노-피리미딘(Aldrich, 위스콘신, 미국) 0.6g(6.3mmol)을 가한 후 48시간 동안 가열 환류하였다. 이 반응액을 냉각하고 용매를 제거한 후 생성된 물질을 메틸렌 클로라이드(CH_2Cl_2)로 추출, 무수 $MgSO_4$ 로 건조, 농축한 후 얻어진 물질을 컬럼 크로마토그래피 (에틸아세테이트 : n-헥산 : 메탄올 = 4 : 4 : 1)로 분리한 후 에탄올로 다시 재결정하여 노란색 고체를 얻었다.

수득물 : 0.145g (12%) 녹는점 : 300℃ 이상

*IR (KBr, cm^{-1}) : 1649 (C=O)

1H -NMR ($CDCl_3$) : 9.49 (dd, J 6.4 and 1.2 Hz, 1H), 8.94 (dd, J 4.8 and 1.2 Hz, 1H), 8.89 (dd, J 8.0 and 1.2 Hz, 1H), 8.38 (dd, J 8.0 and 4.8 Hz, 1H), 7.49 (dd, J 6.4 and 4.0 Hz, 1H), 7.28 (dd, J 6.4 and 4.0 Hz, 1H).

원소분석 : $C_{13}H_6N_4O_2$ (M.W. : 250.21)

계산치 : C 62.40 H 2.42 N 22.39

측정치 : C 62.25 H 2.36 N 22.14

실시예 5) 1,6b,9,11-테트라아자-벤조[a]플루오렌-5,6-디온

6,7-디클로로퀴놀린-5,8-디온 1.0g(4.7mmol)과 무수 K_2CO_3 0.6g(4.4mmol)을 무수 이소프로필 알코올 50ml에 넣은 후 용해시켰다. 이 혼합액에 2-아미노-피라진(Aldrich, 위스콘신, 미국) 0.6g(6.2mmol)을 가한 후 50시간 동안 가열 환류하였다. 이 반응액을 냉각하고 용매를 제거한 후 생성된 물질을 메틸렌 클로라이드(CH_2Cl_2)로 추출, 무수 $MgSO_4$ 로 건조, 농축한 후 얻어진 물질을 컬럼 크로마토그래피 (에틸아세테이트 : n-헥산 : 메탄올 = 3 : 3 : 1)로 분리한 후 메탄올로 다시 재결정하여 노란색 고체를 얻었다.

수득물 : 0.102g (8%) 녹는점 : 300℃ 이상

IR (KBr, cm^{-1}) : 1649 (C=O)

1H -NMR ($CDCl_3$) : 9.43 (d, J 1.6 Hz, 1H), 9.13 (dd, J 4.4 and 1.6 Hz, 1H), 8.98 (dd, J 4.8 and 1.6 Hz, 1H), 8.44 (dd, J 8.0 and 1.6 Hz, 1H), 8.40 (d, J 4.4 Hz, 1H), 7.55 (dd, J 8.0 and 1.6 Hz, 1H).

원소분석 : $C_{13}H_6N_4O_2$ (M.W. : 250.21)

계산치 : C 62.40 H 2.42 N 22.39

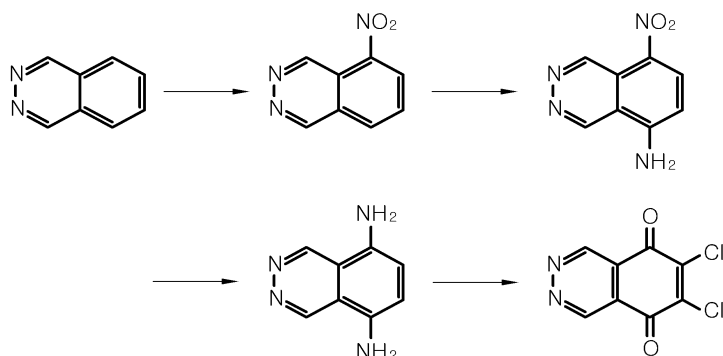
측정치 : C 62.87 H 2.55 N 22.34

실시예 6) 2,3,6b,11-테트라아자-벤조[a]플루오렌-5,6-디온

6-a) 6,7-디클로로프탈라진-5,8-디온의 제조

6,7-디클로로프탈라진-5,8-디온은 논문에 발표한 방법으로 제조하였다[J. S. Kim, K. J. Shin, D. C. Kim, Y. K. Kang, D. J. Kim, K. H. Yoo and S. W. Park, *Bull. Korean Chem. Soc.* 2002, 23, 1425].

[도]



상기 도는 6,7-디클로로-5,8-프탈라진디온의 제조방법을 개략적으로 보여주는 도식도이다. 이하에서 상기 제조과정을 보다 상세히 설명한다.

6-a-1) 5-니트로프탈라진

프탈라진(Merck, 담쉬타트, 독일)(20.0g, 0.15mol)을 농축황산(150ml) 중에 용해시킨 후, 0℃에서 상기 용액에 질산칼륨(73.2g, 0.72mol)을 작은 분량으로 나누어 가입하고, 다시 55-60℃를 유지하며 2일간 가열하였다. 상기 혼합물을 0℃에서 물로 희석한 후 수산화나트륨 용액으로 중화하고 그 침전물을 여과함으로써 5-니트로프탈라진을 수득하였다.

6-a-2) 5-니트로-8-아미노프탈라진

상기 5-니트로프탈라진(26.0g, 0.15mol)의 에탄올(1.5L)용액에 HONH₂·HCl(62.0g, 0.89mol)의 메탄올(1L)용액을 50-55℃에서 3시간동안 서서히 가입하며 교반하였다. 상기 반응혼합물을 얼음물로 냉각하고 생성된 침전물을 여과함으로써 5-니트로-8-아미노프탈라진을 얻었다.

6-a-3) 5,8-디아미노프탈라진

상기에서 얻어진 5-니트로-8-아미노프탈라진(14.2g, 74.7mmol)을 메탄올(700ml) 중에 용해시킨 후, 상기 용액에 FeCl₃(70.0mg, 0.43mmol) 및 차코올(charcoal)(4.50g)을 가입하였다. 상기 혼합물을 5시간 동안 환류시키고 셀라이트(celite)를 사용하여 여과함으로써 5,8-디아미노프탈라진을 수득하였다.

6-a-4) 6,7-디클로로-5,8-프탈라진디온

상기에서 수득한 5,8-디아미노프탈라진(7.09g, 44.3mmol)을 농축염산(90.0ml) 중에서 용해시킨 후 0℃에서 상기 용액에 NaClO₃(6.08g, 49.6mmol)을 일부분씩 수회에 걸쳐 가입하였다. 상기 반응혼합물을 실온에서 1시간동안 교반한 다음, 물을 가하여 냉각하고 침전물을 여과함으로써 6,7-디클로로-5,8-프탈라진디온을 수득하였다.

6-b) 2,3,6b,11-테트라아자-벤조[a]플루오렌-5,6-디온

6,7-디클로로프탈라진-5,8-디온 0.5g(2.2mmol)과 무수 K₂CO₃ 0.3g(2.2mmol)을 무수 에탄올 30ml에 넣은 후 용해시켰다. 이 혼합액에 2-아미노피리딘(Aldrich, 위스콘신, 미국) 0.4g(4.3mmol)을 가한 후 18시간 동안 가열 환류하였다. 이 반응액을 냉각시키고 용매를 제거한 후 생성된 물질을 메틸렌 클로라이드(CH₂Cl₂)로 추출, 무수 MgSO₄로 건조, 농축한 후 얻어진 물질을 컬럼 크로마토그래피 (에틸아세테이트 : n-헥산 : 메탄올 = 4 : 4 : 3)로 분리한 후 에탄올로 다시 재결정하여 고동색 고체를 얻었다.

수득률 : 0.112g (20%) 녹는점 : 300℃ 이상

IR (KBr, cm^{-1}) : 1649 (C=O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : 10.01 (s, 1H), 9.64 (s, 1H), 9.34 (d, J 6.8 Hz, 1H), 7.66 (d, J 8.8 Hz, 1H), 7.78 (t, J 8.8 Hz, 1H), 7.36 (t, J 6.8 Hz, 1H)

원소분석 : $\text{C}_{13}\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_2$ (M.W. : 250.21)

계산치 : C 62.40 H 2.42 N 22.39

측정치 : C 62.87 H 2.55 N 22.34

실시예 7) 8-메틸-2,3,6b,11-테트라아자-벤조[a]플루오렌-5,6-디온

6,7-디클로로프탈라진-5,8-디온 0.5g (2.2mmol)과 무수 K_2CO_3 0.3g(2.2mmol)을 무수 에탄올 30ml에 넣은 후 용해시켰다. 이 혼합액에 2-아미노-5-메틸-피리딘(Aldrich, 위스콘신, 미국) 0.5g(4.6mmol)을 가한 후 18시간 동안 가열 환류하였다. 이 반응액을 냉각시키고 용매를 제거한 후 생성된 물질을 메틸렌 클로라이드(CH_2Cl_2)로 추출, 무수 MgSO_4 로 건조, 농축한 후 얻어진 물질을 컬럼 크로마토그래피 (에틸아세테이트 : n-헥산 : 메탄올 = 2 : 3 : 1)로 분리한 후 에탄올로 다시 재결정하여 붉은색 고체를 얻었다.

수득률 : 0.121g (21%) 녹는점 : 300℃ 이상

IR (KBr, cm^{-1}) : 1654 (C=O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : 10.02 (d, J 1.2 Hz, 1H), 9.57 (d, J 1.2 Hz, 1H), 9.10 (d, J 1.2 Hz, 1H), 7.81 (br. d, J 9.2 Hz, 1H), 7.57 (d, J 9.2 Hz, 1H), 2.46 (s, 3H)

원소분석 : $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_2$ (M.W. : 264.24)

계산치 : C 63.64 H 3.05 N 21.20

측정치 : C 62.87 H 2.55 N 22.34

실시예 8) 10-메틸-2,3,6b,11-테트라아자-벤조[a]플루오렌-5,6-디온

6,7-디클로로프탈라진-5,8-디온 0.5g(2.2mmol)과 무수 K_2CO_3 0.3g(2.2mmol)을 무수 에탄올 30ml에 넣은 후 용해시켰다. 이 혼합액에 2-아미노-3-메틸-피리딘(Aldrich, 위스콘신, 미국) 0.5g(4.6mmol)을 가한 후 16시간 동안 가열 환류하였다. 이 반응액을 냉각시키고 용매를 제거한 후 생성된 물질을 메틸렌 클로라이드(CH_2Cl_2)로 추출, 무수 MgSO_4 로 건조, 농축한 후 얻어진 물질을 컬럼 크로마토그래피 (에틸아세테이트 : n-헥산 : 메탄올 = 2 : 3 : 1)로 분리한 후 에틸렌 아세테이트와 n-헥산으로 다시 재결정하여 보라색 고체를 얻었다.

수득률 : 0.089g (15%) 녹는점 : 300℃ 이상

IR (KBr, cm^{-1}) : 1655 (C=O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : 10.12 (d, J 1.2 Hz, 1H), 9.62 (d, J 1.2 Hz, 1H), 9.20 (br. d, J 6.8 Hz, 1H), 7.55 (dd, J 6.8 and 4.4 Hz, 1H), 7.24 (d, J 4.4 Hz, 1H), 2.77 (s, 3H)

원소분석 : $C_{14}H_8N_4O_2$ (M.W. : 264.24)

계산치 : C 63.64 H 3.05 N 21.20

측정치 : C 63.74 H 2.67 N 20.78

실시예 9) 세포독성 시험

세포독성 시험에 사용된 암세포주(NCI 연구소, 미국)들은 인간 폐암 세포주 (A549), 인간 난소암 세포주 (SK-OV-3), 인간 흑색종암 세포주 (SK-MEL-2), 인간 중추 신경계암 세포주 (XF498), 인간 결장암 세포주 (HCT15) 이며 상기 세포주들에 대하여 SRB (Sulforhodamin B)평가를 실시하였다.

상기 세포를 표준 96-웰 평면바닥 미소적정 플레이트(standard 96-well flat bottom microtiter plates)에 접종시킨 후 24시간 동안 미리 배양시키고, 피검물질들(실시예1 내지 7의 화합물 및 비교물질)을 각각 고농도에서 저농도로 희석하여 웰에 주입하였다(농도 $\mu\text{g/ml}$: $10 > 1 > 0.1 > 0.01 > 0.001 > 0.0001$). 상기 처리된 세포들을 48시간 동안 배양시킨 후 각각의 웰에서 배지를 제거하고, 4℃에서 10%의 트리클로로아세트산으로 고정시켰다. 상기 트리클로로아세트산을 세척한 후, 상기 처리된 세포들을 0.4%의 SRB 용액에 첨가하고 실온에서 30분간 배양시켰다. 상기 세포들을 다시 세척한 후, 바운드 스테인(bound stain) 트리스 완충용액(pH 10.5) 10ml에 녹여서 착색하였다.

착색된 세포의 흡광도를 미소적정 플레이트 판독기(microtiter plate reader, Molecular Divesces E-max, 썬니베일, 미국)를 이용하여 520nm에서 측정하였다. 비교물질로 독소루비신(doxorubicin)과 에토포시드(etoposide)를 사용하였으며, 피검물질과 비교물질의 ED_{50} ($\mu\text{g/mL}$)값은 하기 표 1에 나타내었다.

표 1.

피검물질	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF 498	HCT 15
독소루비신	0.093	0.21	0.11	0.187	0.19
에토포시드	0.577	1.84	1.37	1.43	0.97
실시예 1	0.054	0.073	0.11	0.033	0.044
실시예 2	0.23	1.04	1.08	0.2	0.71
실시예 3	0.59	0.55	0.65	0.45	0.99
실시예 4	0.12	0.061	0.034	0.081	0.077
실시예 5	0.051	0.02	0.032	0.03	0.047
실시예 6	0.022	0.20	0.12	0.12	0.10
실시예 7	3.54	1.01	1.77	1.77	0.92

발명의 효과

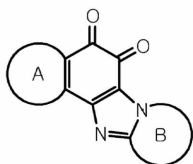
본 발명의 벤조플루오렌 디온계 화합물은 기존의 항암물질에 비하여 세포독성 효과가 뛰어나므로, 본 발명의 화합물 또는 그의 염을 함유하는 약학적 조성물은 여러 가지 암질환, 특히 폐암, 난소암, 흑색종암, 중추신경계암, 또는 결장암의 치료를 위한 치료제 또는 예방제로 사용될 수 있다.

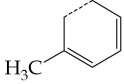
(57) 청구의 범위

청구항 1.

화학식 1로 표시되는 화합물 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염.

[화학식 1]



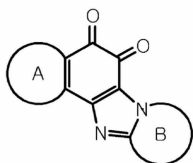
상기 식에서 A환이  일 때 B환은 , , 또는  이고, A환이  일 때 B환은  이며,

상기 A환 및 B환을 표시하는데 있어서, 점선으로 표시된 변은 상기 화학식 1의 구조 중 퀴논고리 및 이미다졸고리와 각각 융합되어(fused) 결합된 변을 표시한 것이다.

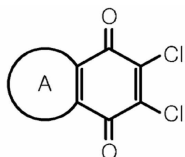
청구항 2.

화학식 2의 화합물 및 화학식 3의 화합물을 무수 탄산칼륨(K_2CO_3)을 촉매로 하여 알콜용매 중에서 반응시켜 화학식 1의 화합물을 제조하는 방법.

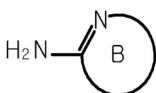
[화학식 1]

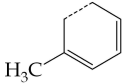


[화학식 2]



[화학식 3]



상기 식에서 A환이  일 때 B환은 , , 또는  이고, A환이  일 때 B환은  이며,

상기 A환 및 B환을 표시하는데 있어서, 점선으로 표시된 변은 상기 화학식 1의 구조 중 퀴논고리 및 이미다졸고리와 각각 융합되어(fused) 결합된 변을 표시한 것이다.

청구항 3.

제 1항에 따른 화합물 또는 그 염을 유효성분으로 함유하는 항암용 약학적 조성물.

청구항 4.

제 3항에 있어서, 폐암, 난소암, 흑색종암, 중추신경계암 및 결장암으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 암 질환의 예방, 치료 또는 치료보조제로서의 약학적 조성물.